

落葉を利用した銚田川の脱窒に関する研究

塚本 和貴[†], 山口 悟^{†*}

[†]茨城県立銚田第二高等学校 生物部化学班 〒311-1517 茨城県銚田市銚田 1158

(2019年3月1日 受付; 2019年3月28日 受理)

Abstract

銚田市を流れる銚田川は現在、窒素濃度が環境基準値を超過し、大きな問題となっている。そこで本研究では、銚田川の窒素濃度を減少させることを目的とした。銚田川全域の水質調査結果から、窒素濃度の低い支流付近は草木が茂り、川底にたくさんの落葉が堆積していることが分かった。このことから落葉は自然の浄化作用において重要な役割を果たしていると考え、落葉を利用した窒素濃度減少の検討を行った。その結果、落葉は NO_2^- 濃度と NO_3^- 濃度を減少させる効果を持つことがわかった。また、実験に使用したバクテスタは分光光度計を用いることで定量化できることがわかった。さらに窒素濃度を減少させる生物の解明の実験から、 NO_2^- 濃度と NO_3^- 濃度の減少は、落葉に寄生する脱窒菌による脱窒効果であることが示唆された。

Introduction

銚田市は平成 17 年に、銚田町・旭村・大洋村の一町二村が合併し誕生した。主な産業はメロンを中心とした農業であり、全国トップクラスの農業産出額を誇る産地でもある。

銚田市を流れる川の一つに銚田川がある。銚田川は、戦国時代から戦前までの間、水運の拠点として人々の生活を支えてきた。また、たくさんの魚が生息し、子どもたちの遊び場として人々に親しまれた川でもある。しかし現在では、農業用水路の確保のための護岸工事により、川の流れに勢いはなくなってしまった。さらに、下水道が設備されていない銚田市では生活排水や農場・牧場からの排水が直接川へ流れ込み、現在では非常に汚れた川となってしまった。

図 1 に、2008 年 7 月 9 日付けの茨城新聞の記事を示した。この記事にあるように、銚田川の窒素濃度が環境基準値を超過し、現在大きな問題となっている。そこで本研究では、銚田川の窒素濃度を減少させる方法を考案することを目的とした。



図 1 2008 年 7 月の茨城新聞の記事

I. 銚田川全域の水質調査

銚田川の現状を知るため、銚田川の枝分かれした 12 ポイントと市街地 1 ポイントの計 13 ポイントを選択し、銚田川全域の水質調査を行った。

Experimental

器具: pH メーター (中村理工工業株式会社), 温度計, バケツ, ロープ, スポイト, バクテスタ (共立理化学研究所)

測定項目 (pH, COD, NO_2^- , NO_3^- , NH_4^+ , PO_4^{3-})

調査方法: 銚田川全域調査は 2008 年 6 月 14 日に実施した。銚田川の枝分かれした 12 ポイントと市街地 1 ポイントの計 13 ポイントで水質調査を実施した。バケツにロープをつけ川底の水を採取し、測定項目を調査した。COD は高濃度と低濃度を調査し、 PO_4^{3-} は低濃度を調査した。

Results and Discussion

図 2 に水質調査した 13 ポイントが描かれている銚田川の全域地図を示した。調査した 13 ポイントの COD, NO_2^- , NO_3^- , NH_4^+ , PO_4^{3-} 濃度のペンタダイアグラムを図 3 に示した。

また、表 1 に、平成 10 年から 18 年における COD, 全窒素 (T-N: 有機物由来の窒素, NO_2^- , NO_3^- , NH_4^+ の合計した濃度), 全りん (T-P) の結果を示した¹⁾。

* Corresponding author. e-mail address: ymgstr@***.***

. = gmail.com

Present address: 茨城県立水戸第一高等学校

〒310-0011 茨城県水戸市三の丸 3-10-1

表1 平成10年から平成18年におけるCOD, 全窒素 (T-N), 全りん (T-P) 単位: ppm

	H10	H11	H12	H13	H14	H15	H16	H17	H18
COD	5.4	5.5	5.6	5.7	5.4	5.2	4.7	5.3	6.3
T-N	6.2	6.7	6.2	6.7	7.0	7.5	7.3	8.9	12.0
T-P	0.073	0.081	0.080	0.085	0.093	0.11	0.074	0.087	0.085

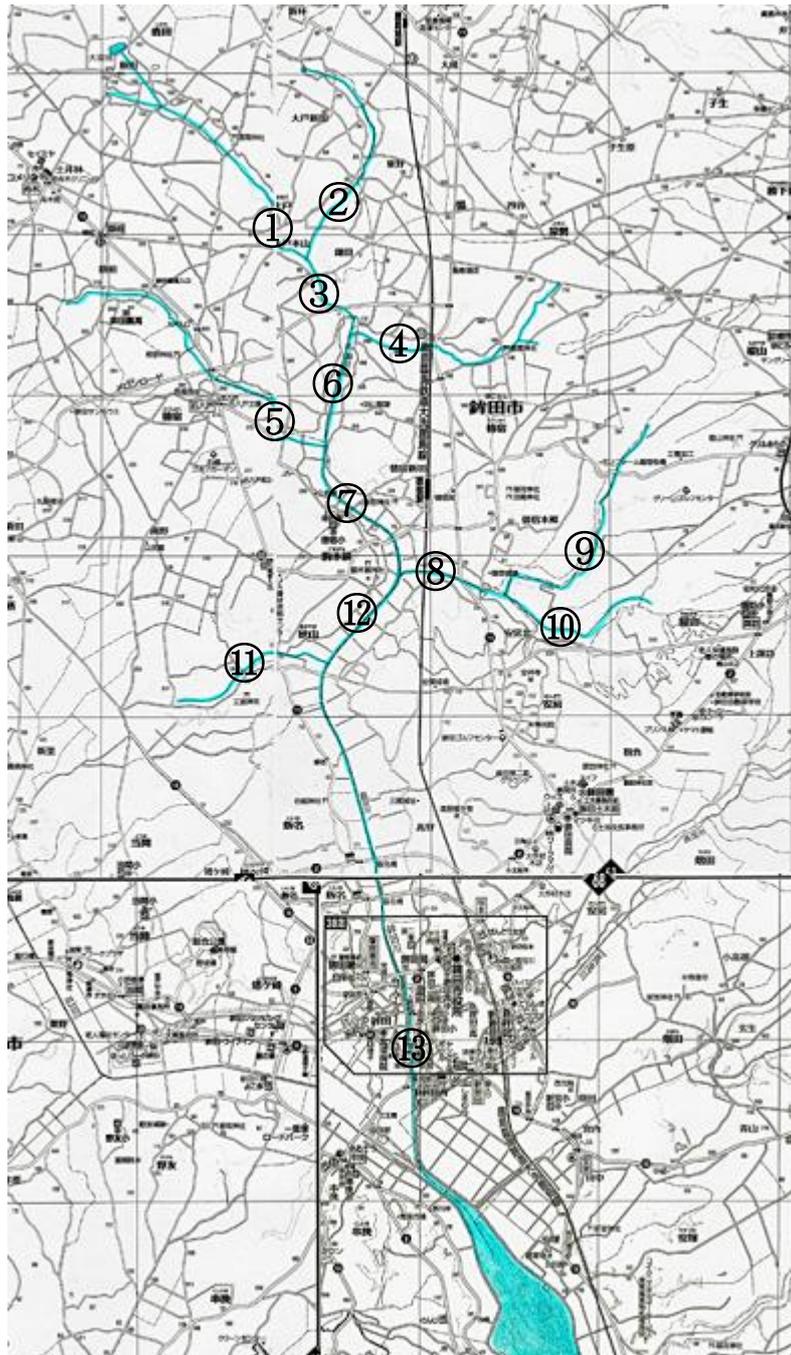
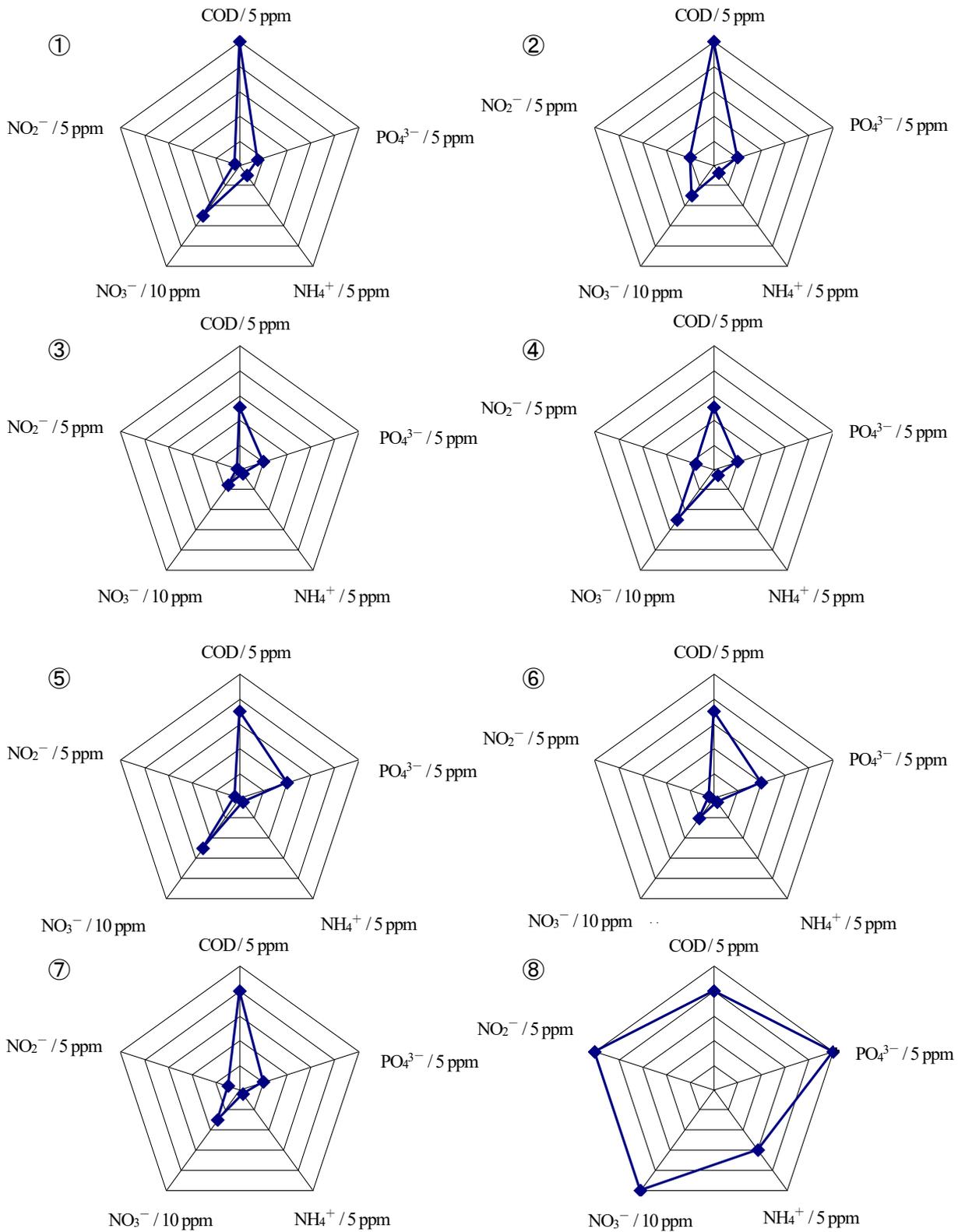


図2 鉾田川全域地図と調査ポイント



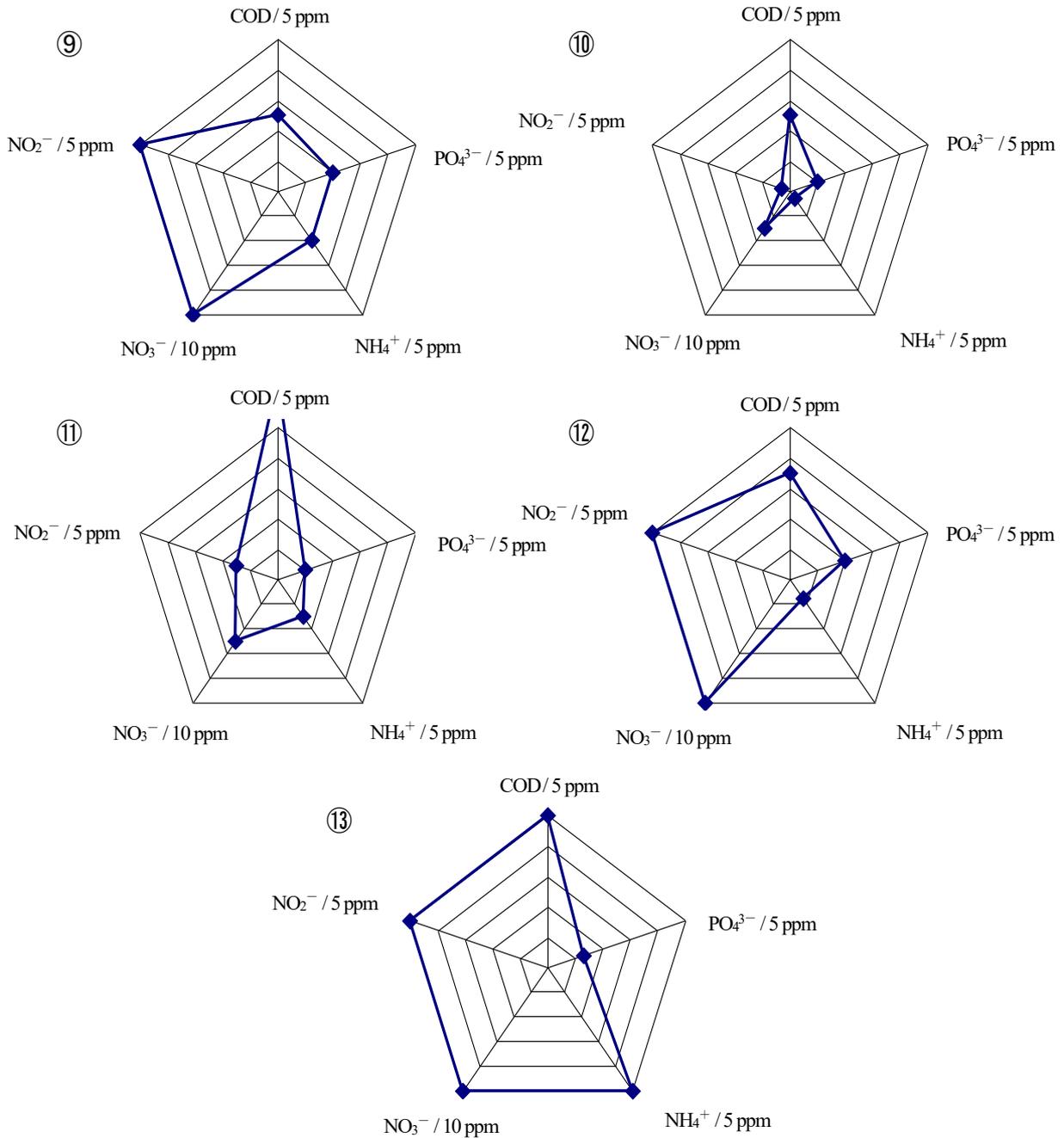


図3 13ポイントのCOD, NO₂⁻, NO₃⁻, PO₄³⁻, NH₄⁺濃度のペンタダイアグラム

今回の水質調査の結果から、COD、T-N(NO₂⁻, NO₃⁻, NH₄⁺濃度の合計)、T-Pの最も大きな値はそれぞれ、10 ppm, 15.5 ppm, 0.5 ppmであった。したがって、調査した全ての項目において、表1にあった過去9年間と比べても、大きな値であり、図1にある新聞記事を裏付ける結果が得られた。T-Nに関しては、私達が実施した調査項目はNO₂⁻, NO₃⁻, NH₄⁺の3つである。表1にあるT-Nは有機物由来の窒素、NO₂⁻, NO₃⁻, NH₄⁺の4つの合計であるが、私達の調査したT-Nは、表1の中で最も大きなH18の値よりも3.5 ppm上回っていた。

調査の結果から、ポイント①, ②, ④, ⑤, ⑩, ⑪のような銚田川支流付近において、亜硝酸イオン“NO₂⁻”と硝酸イオン“NO₃⁻”濃度はそれぞれ、0.2 ppm以下や5 ppm以下と、他のポイントと比べて低い値を示すことがわかった。一方、銚田川の支流が集まった本流付近、ポイント⑫では、NO₂⁻濃度とNO₃⁻濃度はそれぞれ、0.5 ppmと10 ppmと非常に高く、さらに銚田市の市街地付近、ポイント⑬ではNO₂⁻とNO₃⁻濃度だけではなく、NH₄⁺濃度も5 ppmと非常に高くなっていた。

銚田市の商店街を流れる下流付近の川は護岸工事のためコンクリートの壁になり、緑が少ない環境になってしまった。また、市街地付近は、生活排水の流れている水路が銚田川に直接連結されているため、泡だった排水なども大量に流されているのを何度も目にした。さらに、銚田川と北浦がつながる場所には水門があり、それが頻繁に閉じられているため、川の流れの勢いもなくなった。結果として、川の水が滞留し、透明度のかなり低い濁った悪臭を放つ川となっている。

一方、支流付近には、草木が生い茂った場所が多かった。川の流れの勢いがあり、透明度も高く、川底にはたくさんの落葉が堆積しているのが確認できた。そこで、銚田川支流部と下流部の違いから、落葉には何らかの浄化作用があると考え、落葉を利用することにより窒素濃度が減少するか検討した。

また、ポイント⑨のペンタダイアグラムから⑨の地区では NO_2^- 濃度と NO_3^- 濃度はそれぞれ、0.5 ppm と 10 ppm と非常に高いことがわかった。これはこの近くにある牧場が原因であると考えられる。

II. 落葉を利用した窒素濃度減少の検討

銚田川全域の水質調査から、落葉は自然の浄化作用において重要な役割を果たしていることが示唆された。そこで本実験では、落葉の効果で NO_2^- 濃度、 NO_3^- 濃度、 NH_4^+ 濃度のような窒素類の濃度が減少するか検討した。

Experimental

器具: 水槽2個, ポイント⑬から採取した水 34 L, 落葉 40 g, 温度計, パックテスト (共立理化学研究所) 測定項目 (pH, COD, NO_2^- , NO_3^- , NH_4^+ , PO_4^{3-})

実験方法: 図2において、銚田川で NH_4^+ 最も NO_2^- 濃度、 NO_3^- 濃度、 NH_4^+ 濃度の高かったポイント⑬の水を採取し、17 L ずつ2つの水槽 (水槽Aと水槽B) に移した。水槽Aには水に20分間浸した落葉を40 g 投入し、水槽Bは落葉を投入せず、ほぼ毎日水槽A, 水槽Bの水温, 各パックテストの値を測定した。本実験は、2008年7月から9月の2ヶ月間にわたり実施した。

Results and Discussion

図4は、水槽Aの亜硝酸イオン ' NO_2^- ' 濃度と硝酸イオン ' NO_3^- ' 濃度の7月3日~30日までの変化を示している。縦軸は NO_2^- 濃度と NO_3^- 濃度を合わせた値 (窒素濃度) を表し、横軸は日付を表している。

7月2日に採取したポイント⑬の水は、窒素濃度が 5.15 ppm であった。落葉を投入し、翌日の7月3日に

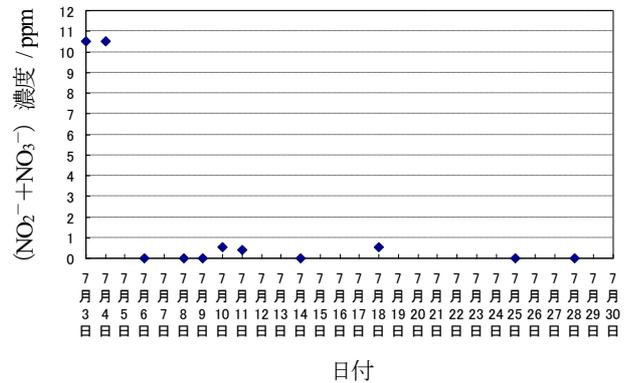


図4 水槽Aの ($\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$) 濃度の変化

窒素濃度を測定したところ 10.5 ppm まで上昇した。これは投入した落葉の水洗いが不十分であったためであると考えられる。落葉を投入して4日後の7月6日には窒素濃度はゼロになってしまった。その後も、わずかな値の上下は見られたが、窒素濃度はほぼゼロのままであった。

図5は、水槽Bの ($\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$) 濃度の変化を示している。縦軸は NO_2^- 濃度と NO_3^- 濃度を合わせた値 (窒素濃度) を表し、横軸は日付を表している。7月2日に落葉を投入しなかった水槽Bでは、7月11日まで観測したが、窒素濃度は 5.15 ppm と変化は見られなかった。

7月14日に、水槽Bにも水槽Aと同じ種類の40 gの落葉を投入した。これまで窒素濃度は 5.15 ppm であ

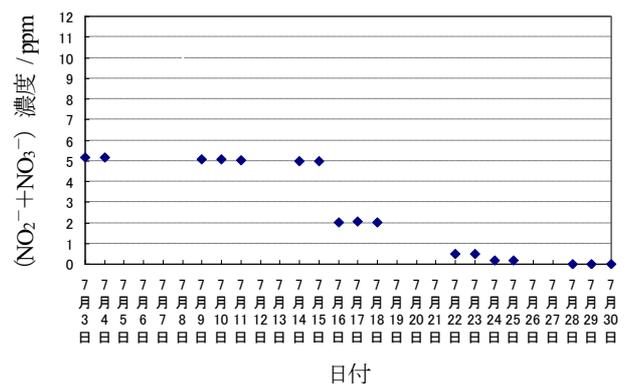


図5 水槽Bの ($\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$) 濃度の変化

ったが、投入して2日後に窒素濃度が 2.02 ppm まで減少し始め、9日後の7月28日には窒素濃度はゼロになった。したがって、水槽Bでも水槽Aの再現性を確認できた。

水槽 A と水槽 B の結果から、水槽 A でのみ窒素濃度はゼロまで減少した。さらに、窒素濃度の変化が見られなかった水槽 B に落葉を投入したところ、水槽 A の再現性を確認できた。したがって、落葉の効果により窒素濃度が減少することが明らかとなった。

図 6 は、水槽 B に落葉を投入した 14 日から減少途中の 18 日までの計 5 日間の水を、霞ヶ浦環境科学センターの装置を借りて、紫外線吸光度法による全窒素濃度の測定結果を示している。全窒素濃度とは、有機物由来の窒素濃度、 NH_4^+ 濃度、 NO_2^- 濃度、 NO_3^- 濃度の 4 つを足した値である。その結果、5 日間で全窒素濃度は約 2 ppm 減少したことがわかった。

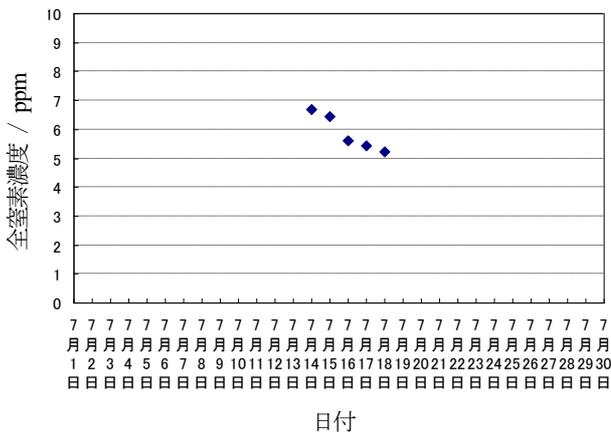


図 6 全窒素濃度の変化

図 7 と図 8 はそれぞれ水槽 A と水槽 B における NH_4^+ 濃度の変化を表している。落葉を投入した水槽 A において、 NH_4^+ 濃度の値は、ばらつきがあるものの、0.2 ppm のまま変化は見られなかった。水槽 B でも水槽 A と同じように NH_4^+ 濃度に変化は見られなかった。また 7 月 14 日に、水槽 B に落葉を投入したが NH_4^+ 濃度に変化はなかった。

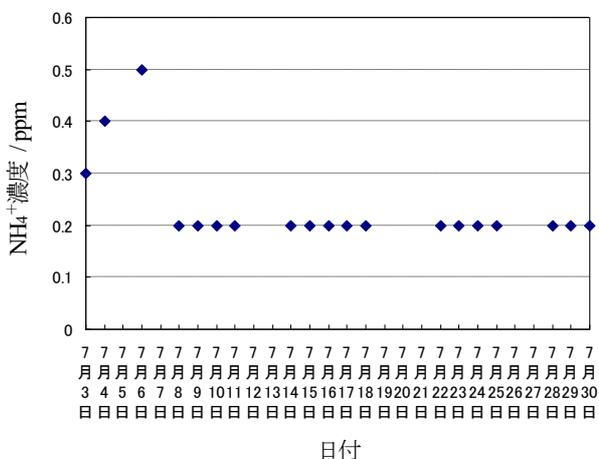


図 7 水槽 A における NH_4^+ 濃度の変化

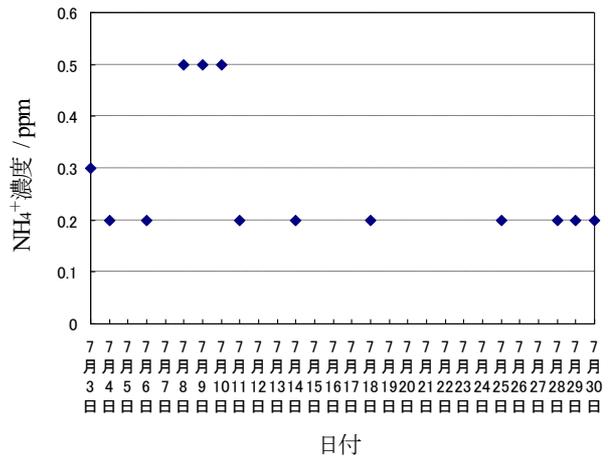


図 8 水槽 B における NH_4^+ 濃度の変化

図 7 と図 8 に示した水槽 A と水槽 B の結果から落葉の投入により、 NH_4^+ 濃度は減少しないことがわかった。そこで、落葉には NH_4^+ を酸化させる効果はないと考えた。図 6 から落葉の投入により全窒素濃度も減少することがわかった。落葉には NH_4^+ 濃度を減少させない、つまり NH_4^+ を酸化させる効果を持たないという結果から、全窒素濃度の減少は有機物由来の窒素濃度と NH_4^+ 濃度の減少ではなく、 NO_2^- 濃度と NO_3^- 濃度の減少によるものであると考えられる。図 5 の 14 日～18 日までに NO_2^- 濃度と NO_3^- 濃度は約 3 ppm 減少し、図 6 では全窒素濃度が約 2 ppm 減少している。目測で行うといったバックテストの精度を考えると、それらの値には有意な差はなく、上記の考察を支持していると思われる。したがって落葉には NO_2^- 濃度と NO_3^- 濃度を減少させる効果を持つこと示唆された。

また、落葉の投入では NH_4^+ 濃度は減少しないという結果から、 NO_2^- 濃度と NO_3^- 濃度の減少は落葉の吸着によるものではないと考えられる。

III. 可視光線吸光度法によるバックテストの定量化に関する評価

これまでの実験は、バックテストの色を付属のシートから目測で判断し、各濃度を判断していた。そのため、荒いデータとなってしまっている。そこで分光光度計を用い、バックテストを定量化できるか評価した。

Experimental

器具： NO_3^- 用バックテスト (共立理化学研究所)、ストップウォッチ、分光光度計 (エルマ)

試薬：硝酸カリウム (1級 純度 99.0% 関東化学)

実験方法：本実験は、2008 年 12 月から 2009 年 7 月まで実施した。

Results and Discussion

本実験では、共立理化学研究所のHPにあった還元ナフチルエチレンジアンミン法を参考にし、定量化できるか評価した²⁾。

硝酸カリウム“KNO₃”を水道水に溶解し、NO₃⁻濃度が1 ppm～10 ppmの水溶液を作製した。それを銚田川のモデル水とした。石英セルに2 mLのモデル水とパックテストの試薬を加え、よく振りながら3分間振り混ぜた。分光光度計にセットし、539 nmの可視光線で

吸光度を測定した。同じ方法で1 ppm～10 ppmまでの吸光度を計測し、検量線を作成した。

図9は12月2日から12月8日に作成した検量線と、それら5日間の平均を取った検量線を示した。縦軸は吸光度、横軸はNO₃⁻濃度を表している。

12月2日から12月8日の個々の検量線ではバラツキはあるものの、平均した検量線では $R^2=0.97$ と非常にバラツキの少ない検量線を引くことができた。また、5日間の検量線から得られた直線の傾きは、0.0207～0.0228と非常に正確な検量線が得られた。

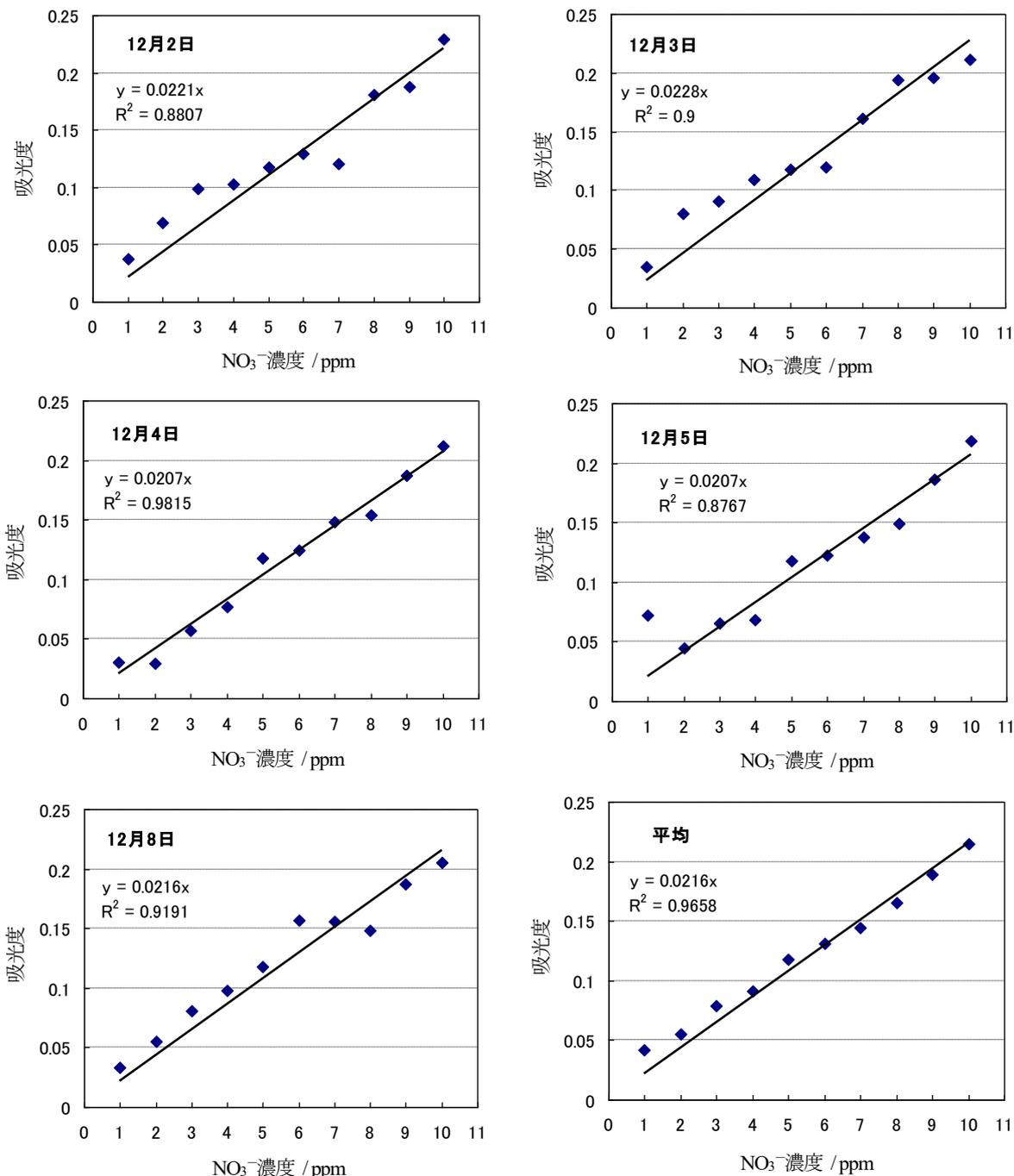


図9 5日間に得られた検量線と5日を平均した検量線

本実験では、使用したパックテストに同封された資料に書かれたように、パックテスト試薬を銚田川モデル水に加えてから3分後の吸光度を測定した。しかし、参考文献2には、試薬を加えて1分間攪拌し15分間放置した測定溶液の吸光度を測定すると書かれていた。そこで、パックテスト試薬を加えて2秒間攪拌した後、その測定溶液の吸光度が時間とともにどのように変化するか評価した。

図10に、一例としてNO₃⁻濃度が3ppmの銚田川モデル水にパックテスト試薬を加えた測定溶液の吸光度を、1分おきに30分間観測した結果を示した。縦軸は吸光度、横軸は時間を表している。

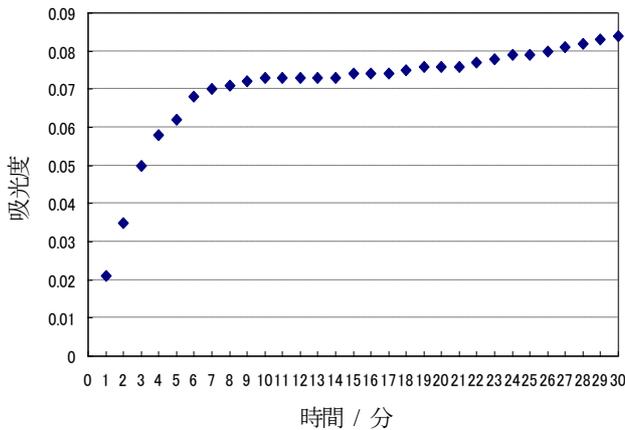


図10 NO₃⁻濃度が3ppmのパックテスト試料溶液における吸光度の時間変化

その結果、パックテストの試薬を加えて1~5分間では、吸光度の値は急激に0.07まで増加した。しかし、10分を過ぎると吸光度の値は上昇しているものの、0.07からの急激な上昇は見られなかった。

この結果から、パックテストの試薬を投入してから、5分以内に吸光度の値を測定した場合、わずかな時間のずれで、その誤差が大きくなる可能性が高いと考えられる。しかし、試薬を投入してから10分以降の吸光度は緩やかな変化のため、その誤差も小さくなると考えられる。そこで、吸光度を測定する際には、パックテスト試薬を投入してから10分後の値を測定することにより、時間的なロスと吸光度の誤差が減らせると考えた。

図11と図12に12月25日と1月10日の検量線を示した。縦軸は吸光度、横軸はNO₃⁻濃度を表している。

図9の5日間の平均では0.0216だった検量線の傾きは、図11の12月25日のグラフでは、0.185であった。さらに、図12の1月10日では、0.014と傾きがさらに小さくなった。これは、パックテストの試薬が気温の低い条件下ではNO₃⁻とよく反応が進まないためであると考えた。したがって、パックテストの試薬の反応

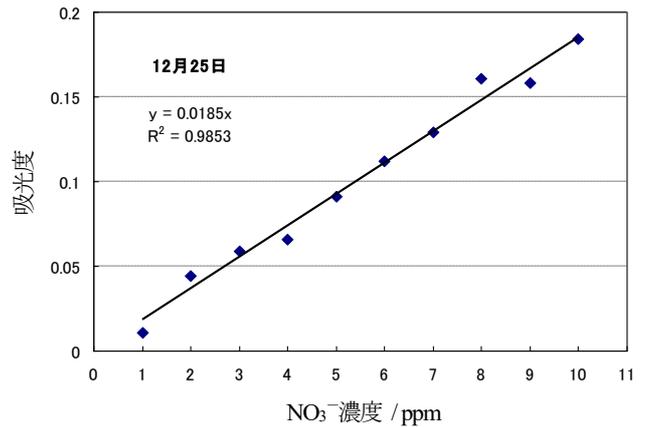


図11 12月25日に作成した検量線

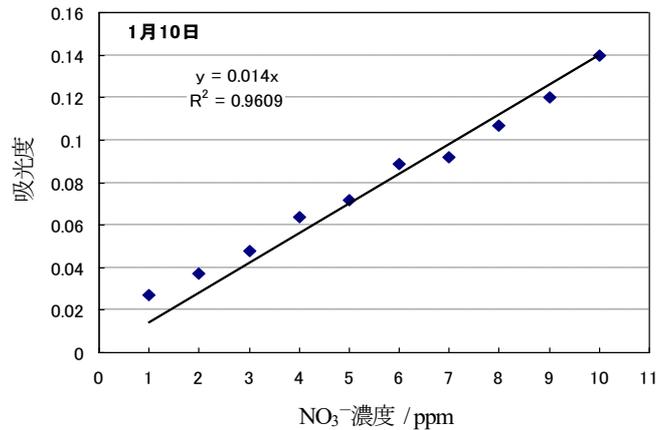


図12 1月10日に作成した検量線

速度は気温に大きく依存しているため、実験を行う際は、その度に検量線を作成する必要があることがわかった。

次に、実際にパックテストを用いた可視光線分光光度法による、落葉を投入した実験を行った。

図13は、もみじの落葉を加えた銚田川モデル水における1月15日~2月2日までNO₃⁻濃度の変化を示している。縦軸はNO₃⁻濃度で、横軸は日付を表している。1月15日にもみじの落葉を投入し、濃度を測定し

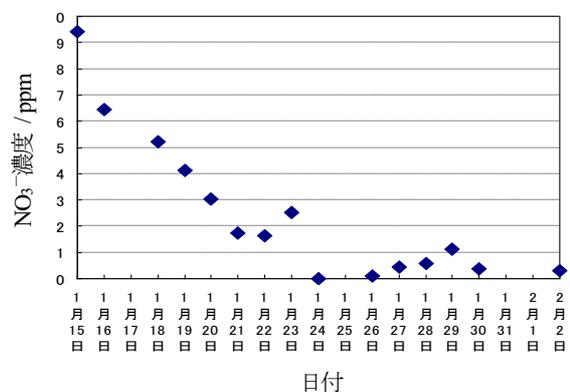


図13 パックテストを用いた可視光線分光光度法による落葉(もみじ)水槽のNO₃⁻濃度変化

たところ、値は 9.4 ppm であった。その翌日、濃度は 6.4 ppm まで減少し、多少の誤差はあるが、1 月 14 日には濃度はゼロまで減少し、その後もほぼゼロのまま濃度は変化しなかった。

図 14 に、椿の落葉を加えた鉾田川モデル水における 6 月 24 日～7 月 15 日までの NO_3^- 濃度の変化を示した。縦軸は NO_3^- 濃度を表し、横軸は日付を表している。

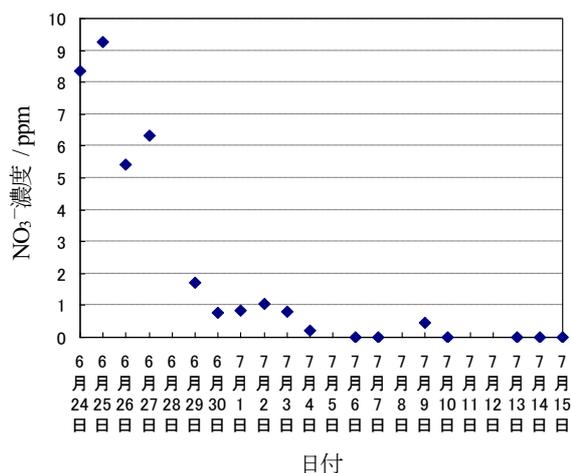


図 14 パックテストを用いた可視光線及分光光度法による落葉（椿）水槽の NO_3^- 濃度変化

6 月 24 日に椿の落葉を投入し、濃度の測定を行った。その結果、濃度は 8.3 ppm であった。濃度は徐々に減少していき、6 月 30 日には濃度は 0.77 ppm まで減少した。7 月 4 日以降はほぼゼロになった。

分光光度計を用いて検量線を作成し、濃度を測定することで、滑らかな曲線を描きながら濃度の減少を観測することができた。この結果から、分光光度計を用いることで、パックテストは定量化できることがわかった。

IV. 窒素濃度を減少させる生物の解明

落葉の効果で窒素濃度が減少することがわかった。その効果は、落葉の内生菌によるものと考えた。そこで本実験では、その内生菌を特定することを目的とした。

Experimental

器具: 密封できる水槽 1 個、超音波洗浄器（エスエヌディ）、分光光度計（エルマ）、窒素ポンベ、椿の落葉 5.5 g、 NO_3^- 用パックテスト（共立理化学研究所）

試薬: 硝酸カリウム（1 級 純度 99.0% 関東化学）

実験方法: 密封できる水槽に NO_3^- 濃度を 10 ppm にした鉾田川モデル水（水道水に硝酸カリウム KNO_3 を必要量溶解したもの）を 5 L 入れた。窒素雰囲気下で実験を行うため、5 分間、超音波洗浄機にかけ、さらに窒素ガスでバブリングした。水槽に椿の落葉 5.5 g を投入し、 NO_3^- 濃度を測定した。測定を行う度に、フタを開閉するため、密封するときには窒素で置換した。本実験は、2009 年 6 月から 2009 年 7 月まで実施した。

Results and Discussion

図 15 は窒素置換した水槽における 7 月 16 日～30 日までの NO_3^- 濃度の変化を示している。縦軸は NO_3^- 濃度を表し、横軸は日付を表している。

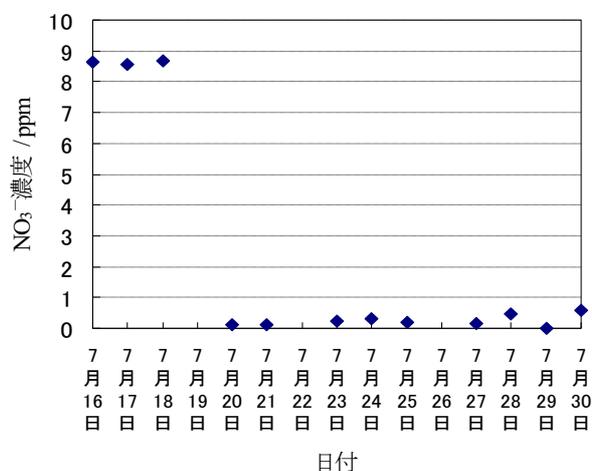


図 15 窒素置換された水槽における NO_3^- 濃度の変化

落葉を投入した 7 月 16 日から、7 月 18 日までの 2 日間、 NO_3^- 濃度は約 8.7 ppm で、ほとんど値に変化は見られなかった。7 月 20 日になると、 NO_3^- 濃度は急激に 0.12 ppm まで減少し、それ以後の NO_3^- 濃度はほとんどゼロになった。

実験から、窒素雰囲気下においても、 NO_3^- 濃度はゼロまで減少することが明らかとなった。よって、 NO_3^- の減少は、嫌気条件で行われることがわかった。

落葉にはカビのような多くの内生菌が寄生していることがわかっている³⁾。したがって、落葉の内生菌の中に脱窒菌が含まれており脱窒が起こったため NO_3^- 濃度が減少したと考えた。

Conclusions

鉾田川全域の水質調査結果から、支流付近では NO_2^- 濃度と NO_3^- 濃度が低く、下流付近では高いことがわかった。支流付近の川底には落葉が堆積しており、落葉の効果で NO_2^- 濃度と NO_3^- 濃度が低くなると考えた。

落葉を利用した窒素濃度減少の検討から、 NO_2^- 濃度と NO_3^- 濃度の減少は、落葉による吸着ではなく、落葉の持つ効果であることがわかった。また、落葉には NH_4^+ を酸化させる効果を持たないこともわかった。

これまでの実験から、目測で評価するパックテストの信憑性に疑問をもつようになったため、パックテストの定量化に関する評価の実験を行った。その結果として、パックテストは可視光線分光光度法という方法で定量化できることがわかった。パックテストの試薬の反応速度は室温と時間に大きく依存することが明らかとなり、 NO_3^- 濃度を計測する際には、パックテスト試薬を加え 10 分後の吸光度を測定して、検量線を作成するという条件を確立した。

窒素濃度を減少させる生物の解明の実験から、落葉に寄生する脱窒菌の効果で、脱窒により NO_3^- 濃度が減少することが示唆された。

References

- 1) For Pure Water 清らかな水のために 霞ヶ浦問題協議会, 霞ヶ浦環境科学センター 平成20 (2008年) 3月発行
- 2) 共立理化学研究所 水試料中の硝酸イオン分析, http://kyoritsu-lab.co.jp/technical/data/reagent/u1900/u1900_data/u1900_no3.pdf (2009年8月現在)
- 3) 川崎 雪野, “タブノキに内生する真菌の種類とその季節的変動”平成12年度卒業研究 茨城大学教育学部

Acknowledgement

本研究を進めるにあたり、茨城大学教育学部教授 小野 義隆 先生にご指導・ご助言頂きました。心より感謝申し上げます。

本研究を行うにあたり、財団法人 げんでん ふれあい茨城財団 第12回げんでん科学技術振興事業(平成21年)よりご支援を頂きました。心より感謝申し上げます。