

助成研究テーマ： 琵琶湖・淀川流域の流下に伴う難分解性有機窒素成分の変化に関する研究

大阪府立環境農林水産総合研究所

相子 伸之

中嶋 昌紀

小西 弘和

上田真由美

中西 博隆

滋賀県琵琶湖環境科学研究センター

早川 和秀

1. はじめに

大阪湾では、総量規制や下水道整備などにより、流域からの流入負荷量が減少し、昔に比べて水質が改善されてきた。近年、生活史が大阪湾で完結する底生魚介類の漁獲量が減少していることやノリの色落ちなど、海域によってはむしろ低栄養状態となっているのではないかと懸念されている。

著者らは、これまでに琵琶湖南湖～淀川～大阪湾にかけて微生物に利用されにくい難分解性有機窒素（当該窒素の性質からより適した表記として、以下「難利用性有機窒素」とする）の研究を行ってきた。海水同様の塩分を含み、海水中の微生物を植種した試料を用いて生分解性試験を行った。その結果、琵琶湖南湖あるいは大阪湾湾央・湾口の試料では難利用性有機窒素が含まれていることが明らかになった。

そこで、本研究では大阪湾の難利用性有機窒素の挙動解明を目指すとともに、その季節変化を検証することを目的とした。特に本年は、琵琶湖・淀川水系について継続して調査を行うとともに、その他の主要な窒素負荷源となる神崎川、大和川の河川水についても、難利用性有機窒素の有無と特性を検証した。

2. 方法

琵琶湖の南湖中央、瀬田川の唐橋、淀川の枚方大橋と伝法大橋、および大阪湾の湾口（OS-3）、湾央（OS-8）、湾奥（OS-17、18）で、平成26年5月から平成27年12月まで2ヶ月に1度の頻度で水を採取した（図1）。また、平成28年5月、7月、10月には琵琶湖の南湖中央、淀川の枚方大橋、神崎川の神崎橋、および大和川の遠里小野橋で採水した。

採取した試料は、水質分析を行うとともに

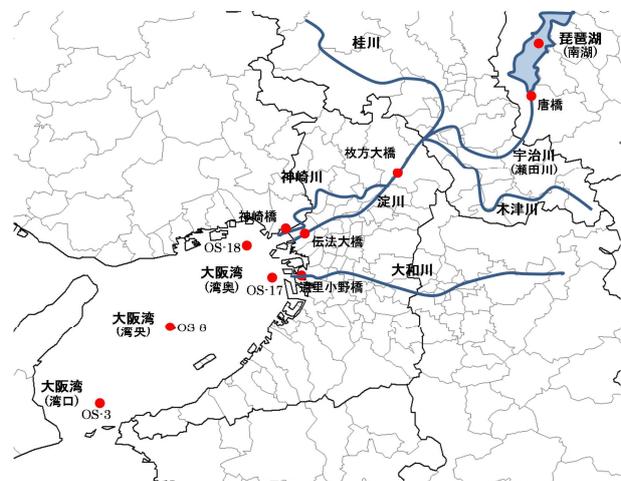


図1. 採水地点

に、生分解性試験に供した。生分解性試験では、琵琶湖および淀川から大阪湾に流入した際の難利用性成分の組成を調べるために試料を調製した。すなわち、1000 mL 容量の褐色メジウムビンに採取した試料 720 mL に人工海水のもと（マリンアート）を加えて塩分を調整し、植種水として大阪湾湾口部（OS-3：図 1）の海水を 80 mL 加えた。調製した試料に通気性のシリコ栓でフタをして、20°C の温度条件で 60rpm で攪拌し、好氣的に 100 日間培養した。

琵琶湖と河川から採取した試料、およびそれらを 100 日間生分解した試料を、ガラスファイバーフィルター（GF/F）で懸濁物質とろ液にろ別した。懸濁物質をろ別したフィルターは錫カップで包み、元素分析計（FlashEA1112、Thermo 社製）を用いて懸濁態窒素（PON）を分析した。ろ液は、オートアナライザー（SWAAT、BLTEC 社製）で各態窒素濃度（溶存態窒素（TDN）、アンモニア態窒素（NH₄-N）、亜硝酸態窒素（NO₂-N）、硝酸態窒素濃度（NO₃-N））を測定した。また、100 日間生分解後のろ液の 3 次元励起蛍光スペクトルを 3 次元蛍光分光光度計（Aqualog、堀場製作所社製）により分析した。3 次元励起蛍光スペクトルの測定で得られた数値は、10mg/L のキニーネ溶液の分析結果から、次式（1）を用いて QSU 値を算出した。また、それぞれのピークに起因する物質¹⁾ は表 1 に示した。

$$\text{QSU} = (\text{ピークの蛍光強度}) / (\text{キニーネ水溶液の励起 345nm/蛍光 450nm の蛍光強度}) \dots (1)$$

表 1. 励起／蛍光波長と起因すると推定される物質の関係

対象ピーク	波長: nm(励起/蛍光)	物質
Peak1	230/300	タンパク質様
Peak2	230/340	タンパク質様
Peak3	230/424	フルボ酸様、フミン酸様
Peak4	280/340	タンパク質様
Peak5	320/424	フルボ酸様、フミン酸様
Peak6	345/434	フルボ酸様、フミン酸様

ここで難利用性窒素の概念図を図 2 に示す。河川から採取した生分解前の試料中には、懸濁態有機窒素（PON）、溶存態有機窒素（DON）、および溶存無機態窒素（DIN：アンモニア態窒素（NH₄-N）、亜硝酸態窒素（NO₂-N）、および硝酸態窒素（NO₃-N））が含まれている。このうち PON と DON は 100 日間生分解で一部は DIN に無機化される。生分解後に DIN として検出された窒素は、一次生産で利用される窒素として「利用性窒素」とした。一方で、生分解後に PON あるいは DON として残存した窒素は、難利用性懸濁態有機窒素（難利用性 PON）あるいは難利用性溶存態有機窒素（難利用性 DON）とした。



図 2. 難利用性有機窒素の概念図

3. 結果

3.1 流入河川水の生分解後の窒素濃度組成

琵琶湖・淀川水系の生分解前あるいは生分解後の全窒素濃度 (PON+DON+DIN) は、若干の変動はあるものの概ね一致した (図 3)。また、2 年間を通じて全窒素濃度は、琵琶湖南湖と唐橋で低く、枚方大橋と伝法大橋で高く、流下に伴い増加する傾向であった。これらの 4 地点で 11 回採水したいずれの試料中にも難利用性有機窒素 (PON+DON) が含まれていることが明らかになった。また、難利用性有機窒素濃度は、琵琶湖～唐橋～枚方大橋の流下方向に若干の増加傾向が見られた (図 4)。なお、伝法大橋の難利用性有機窒素濃度は上流の枚方大橋より低くなることが多く海水からの影響が考えられた。

全窒素に占める難利用性有機窒素の割合は、2 年間を通じて全窒素濃度が低濃度の琵琶湖南湖と唐橋で高く、枚方大橋と伝法大橋で低くなった (図 5)。また、これらの割合については季節的な変動傾向は確認されなかった。

神崎川の神崎橋および大和川の遠里小野橋では、3 回の採水とも全窒素濃度は枚方大橋より高かった。また、いずれの試料中にも難利用性有機窒素が含まれ、その割合は 1～2 割程度であり、枚方大橋のそれと同程度であった。

これらの結果から、大阪湾の窒素負荷の大部分を占める淀川、神崎川、および大和川の下流では難利用性有機窒素が含まれており、湾奥から大阪湾に流入することが示唆された。

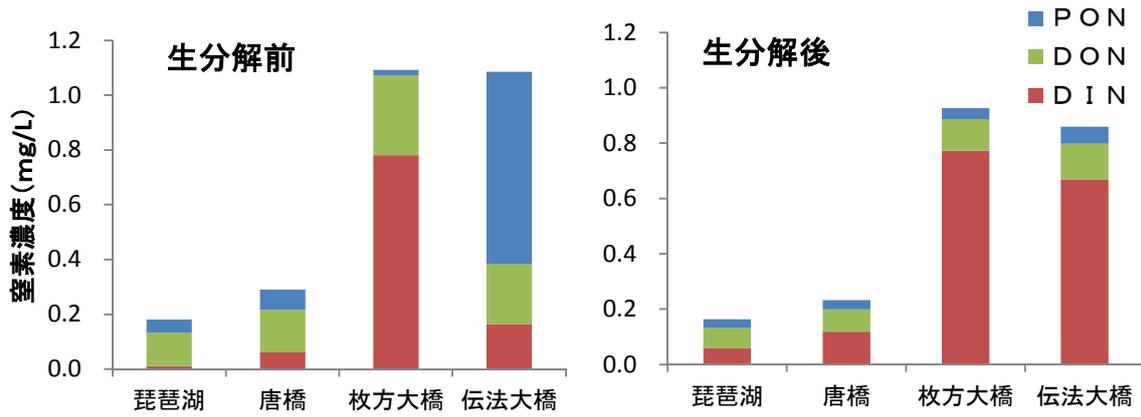


図 3. 生分解前あるいは生分解後の窒素濃度の測定例
(2014年7月に各地点より採取し、100日間生分解を実施)

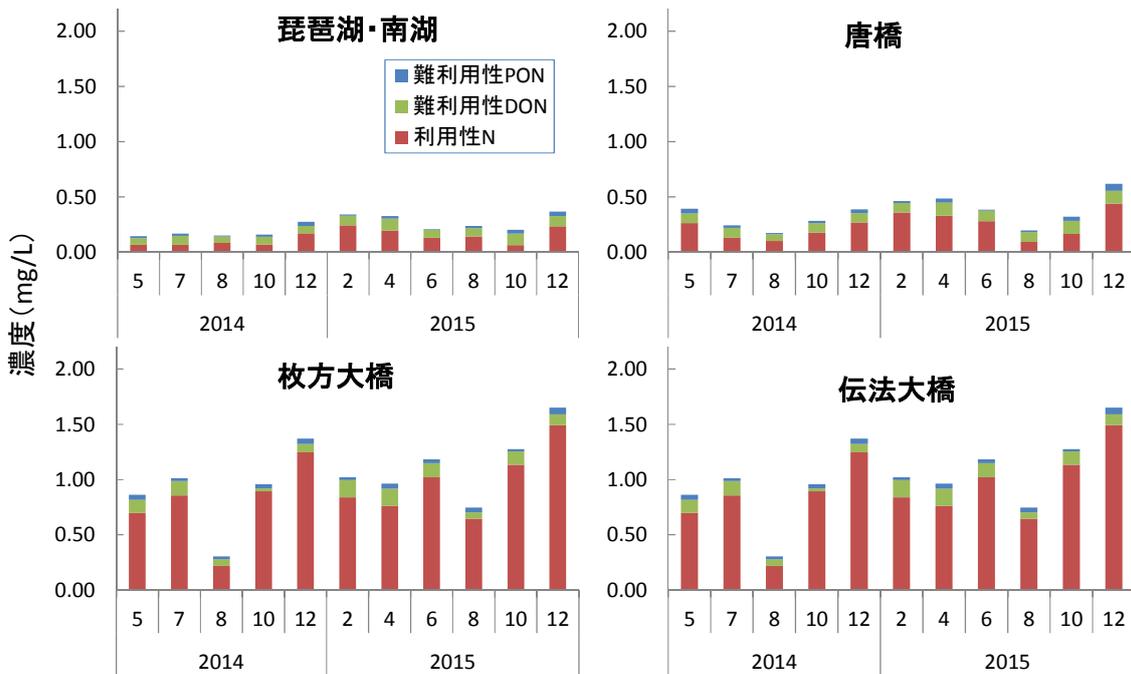


図 4. 琵琶湖・淀川の生分解後の各態窒素濃度

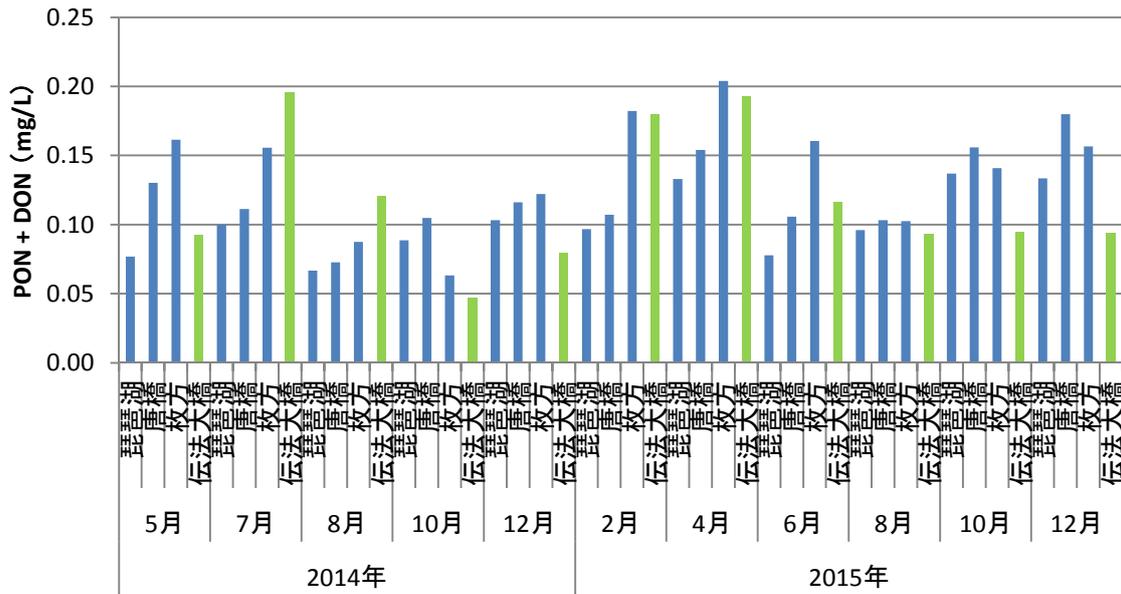


図5. 流下に伴う難利用性有機窒素濃度の変化

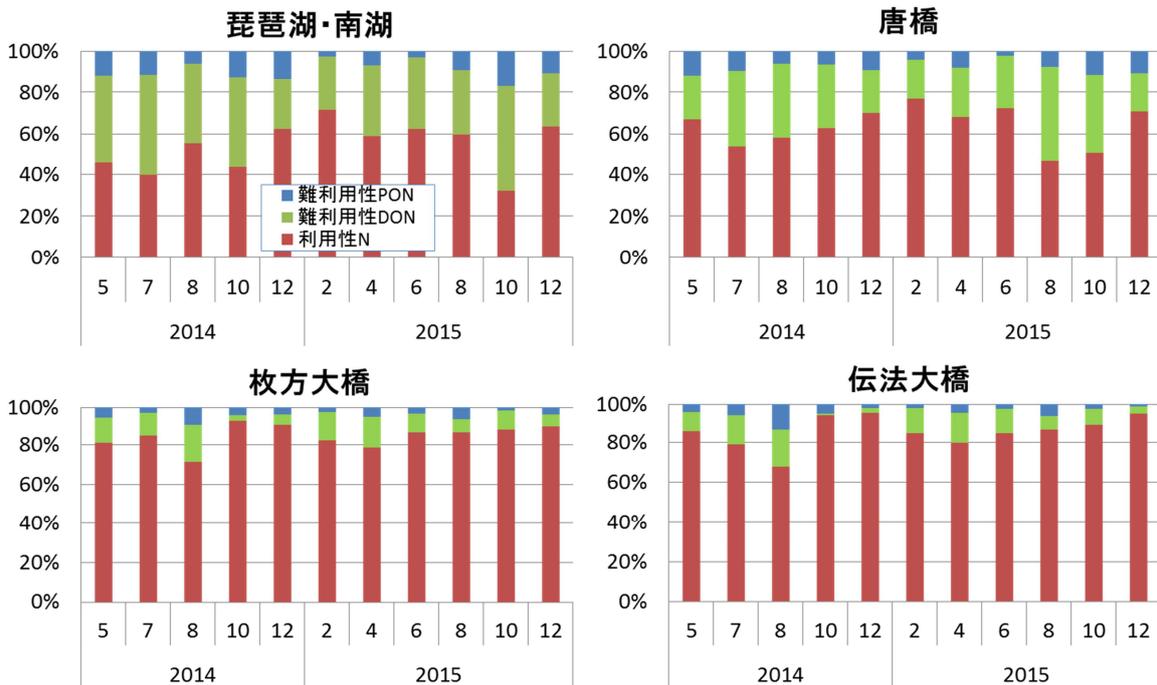


図6. 琵琶湖・淀川の難利用性窒素の割合

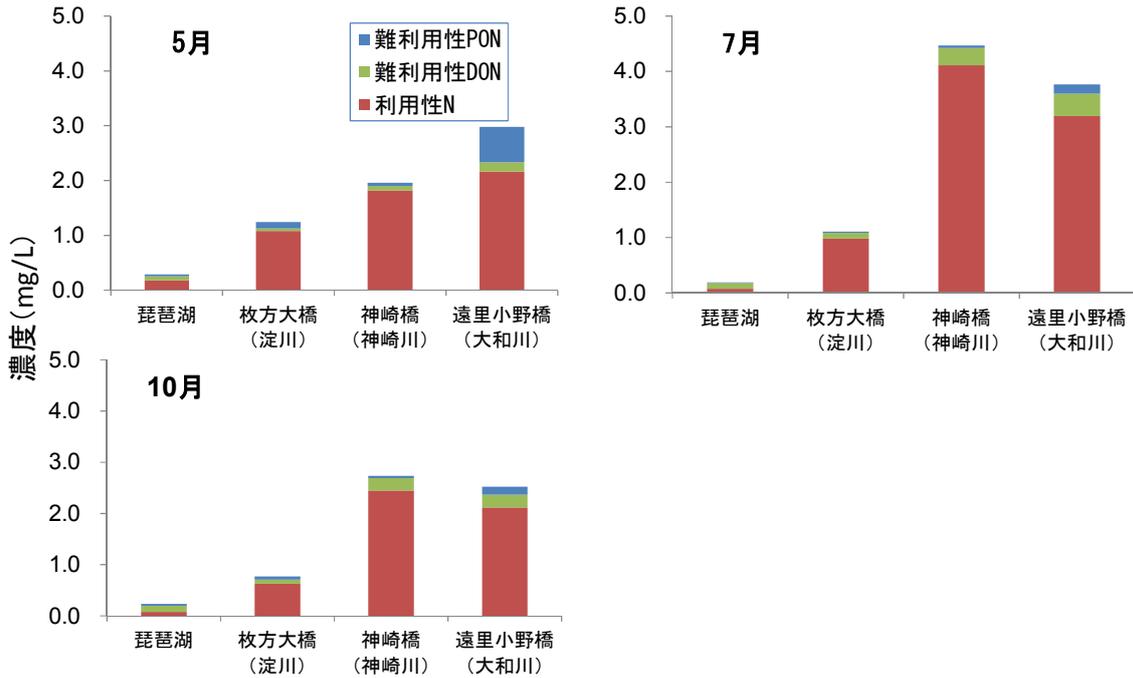


図7. 大阪湾に流入する河川の生分解後の各態窒素濃度

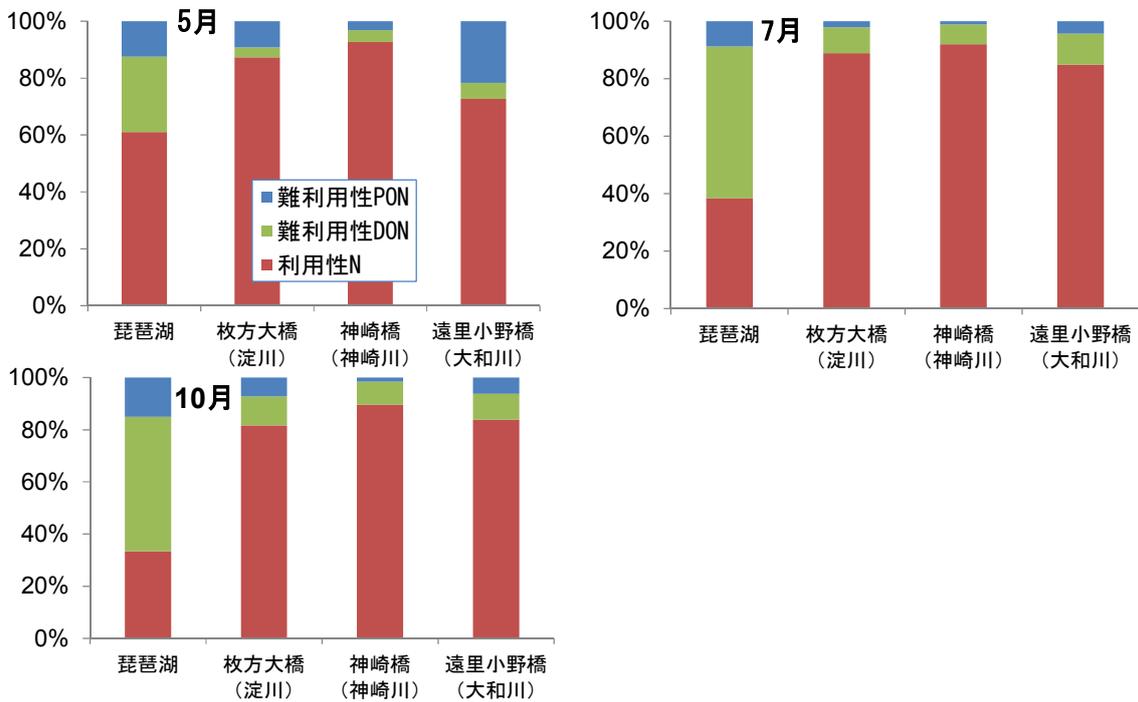


図8. 大阪湾に流入する河川の琵琶湖・淀川の難利用性窒素の割合

3.2 3次元蛍光スペクトル

100日間生分解後のろ過試料の3次元蛍光スペクトルは、採水地点で蛍光強度に差があるものの、海域を含むすべての試料で類似した形状を示した(図9)。試料中の蛍光強度はpeak 2とpeak 3付近で蛍光強度が高かった(図10)。また、peak 1~6のすべての蛍光強度は枚方大橋(淀川)にくらべて、神崎橋(神崎川)と遠里小野橋(大和川)で高かった。

昨年度までに得られた琵琶湖・淀川水系(宇治川、木津川、桂川を含む)のpeak 1~6の蛍光強度と本年度に得られた神崎川および大和川の蛍光強度の相関関係を表3に示す。peak 3とpeak 5、peak 3とpeak 6、およびpeak 5とpeak 6で相関係数が約1となった。すなわち、peak 3、peak 5とpeak 6の3つの蛍光強度は同一の物質を示していると示唆された。

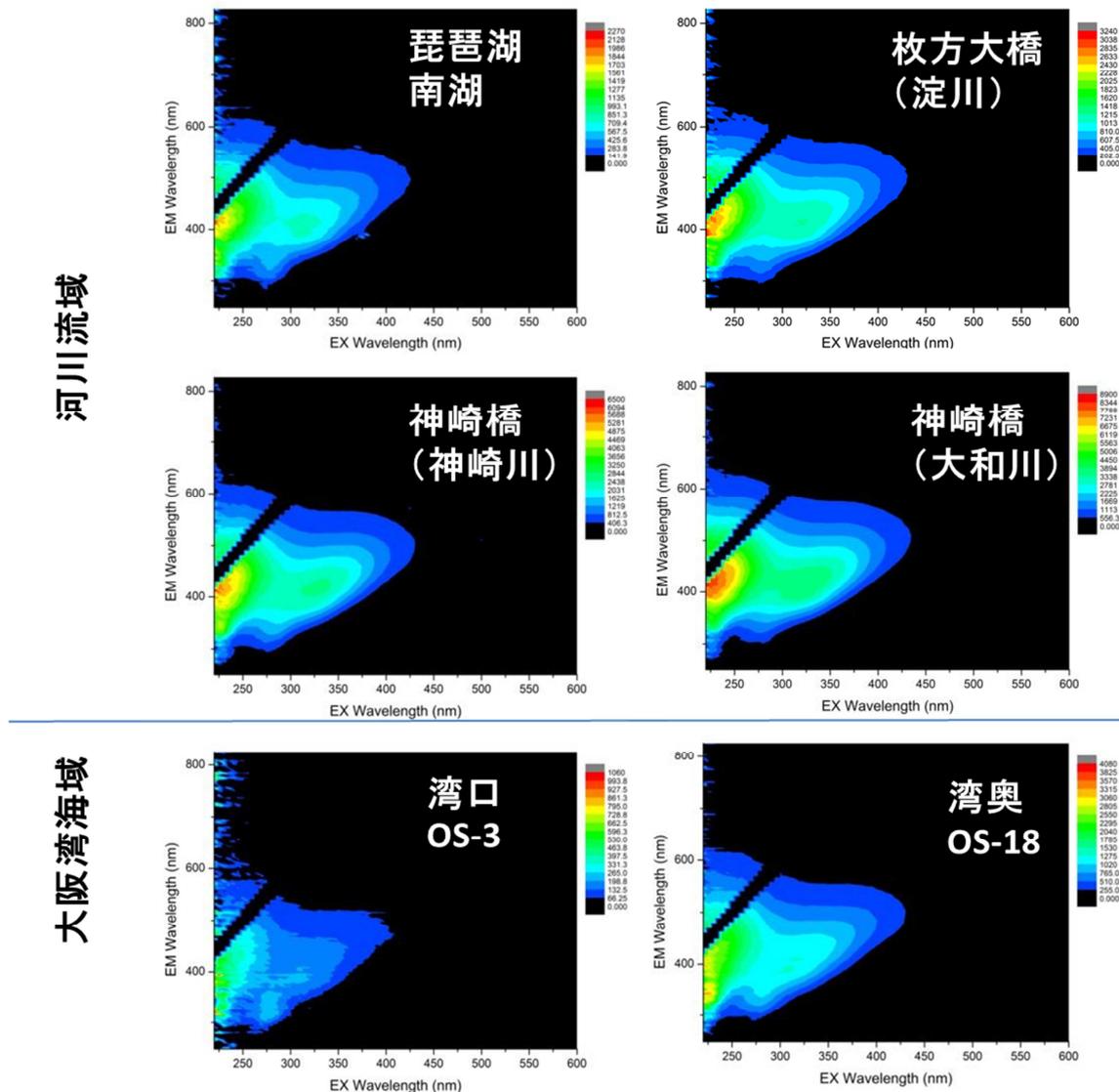


図6 生分解後の3次元蛍光スペクトルの例
(河川流域は2016年10月、大阪湾海域は2016年9月採水した)

そこで、peak1~4の蛍光強度と100日間生分解後の溶存有機窒素濃度、すなわち難利用性溶存態有機窒素濃度との関係を図8に示す。peak1(タンパク質様)では、相関係数(R)は0.7199となり有意水準 $p < 0.05$ で正の相関がみられた(図8)。一方で、peak2(タンパク質様)、peak3(フルボ酸様、フミン酸様)、およびpeak4(タンパク質様)は、0.5165、0.5984、および0.5374とpeak1と比べて相関係数は低いものの有意水準 $p < 0.05$ で正の相関がみられた。難利用性有機窒素がこれらのピークに起因する物質であることが推察された。

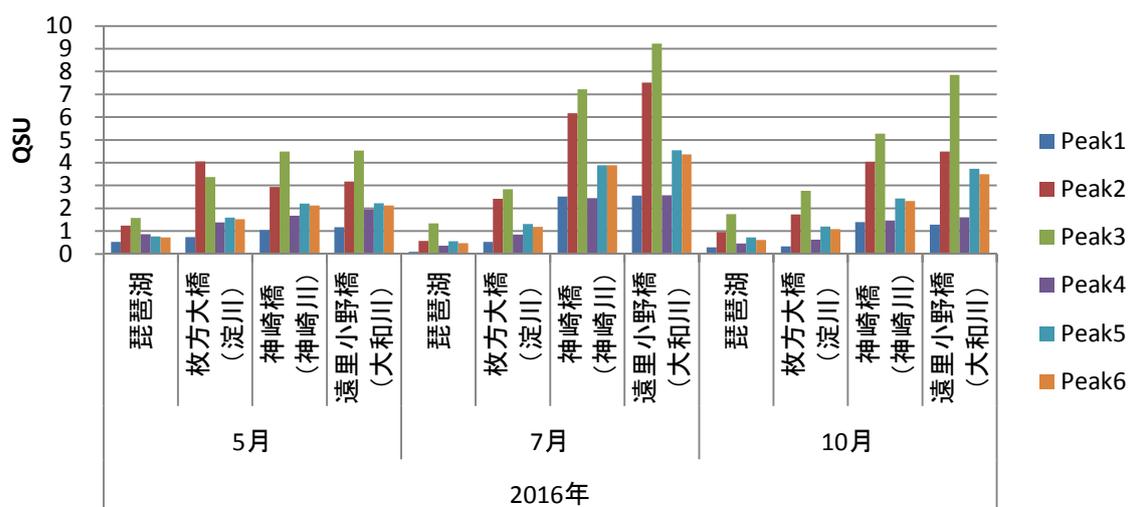


図10 生分解後の蛍光強度

表3 それぞれの peak* の蛍光強度の相関係数 (n=66**)

	Peak1	Peak2	Peak3	Peak4	Peak5	Peak6
Peak1	-	0.89	0.87	0.93	0.90	0.91
Peak2	-	-	0.85	0.92	0.85	0.85
Peak3	-	-	-	0.90	0.99	0.98
Peak4	-	-	-	-	0.92	0.93
Peak5	-	-	-	-	-	1.00
Peak6	-	-	-	-	-	-

* : peak1~6の励起/蛍光波長および起因する物質については、先述の表1に示した。

** : 一部欠測となったため測定数は peak1 で n=45、peak2 で n=63

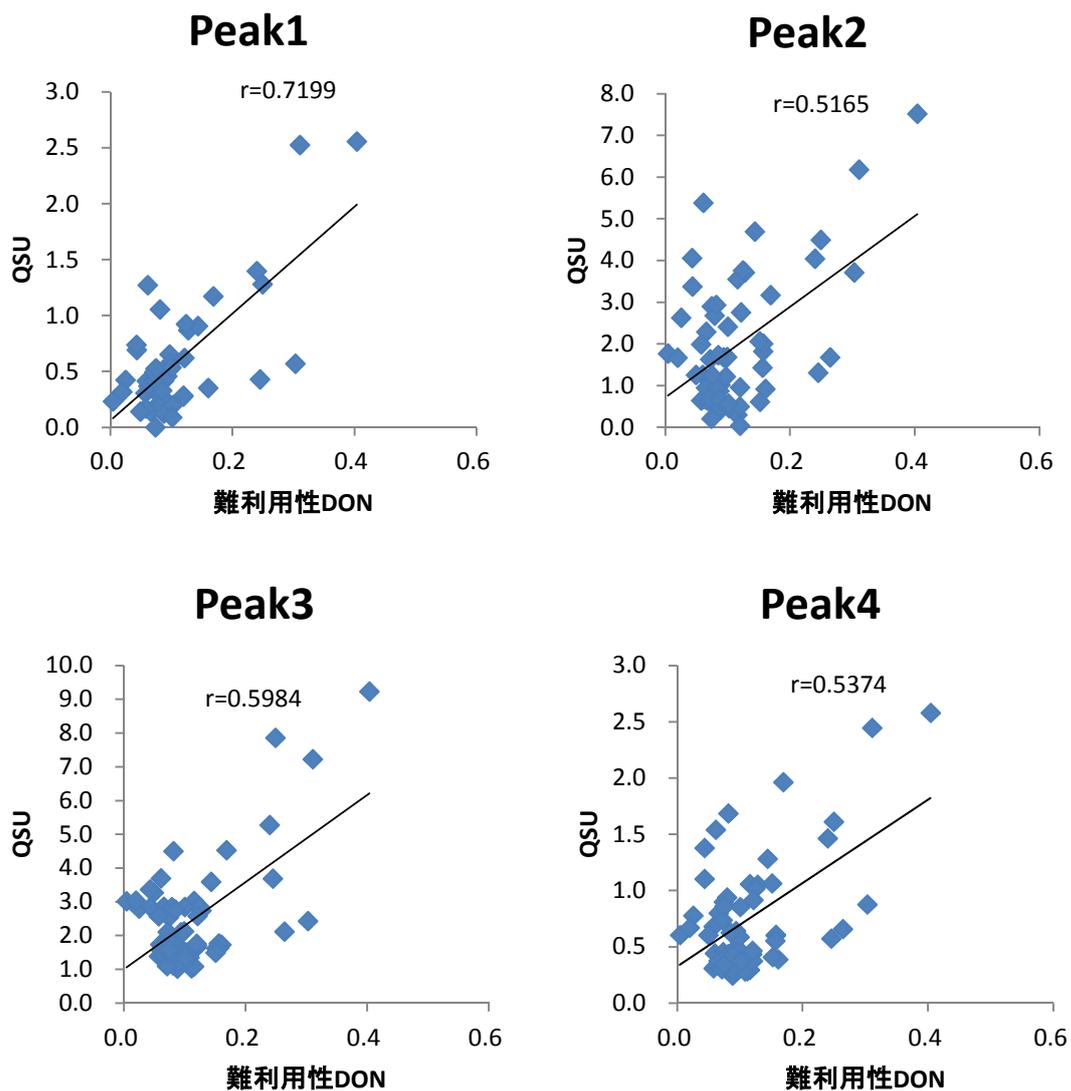


図 11. 難利用性有機態窒素 (DON) と蛍光強度の関係
(図中の数値は、直線回帰式の相関係数 (r) を示す)

参考文献

- 1) 福島武彦, 中島俊之, 今井章雄, 松重一夫, 尾崎則篤: EEMS による水中様存有機物の特性解析, 水環境学会誌, Vol. 24, No. 10, pp. 686-692, 2001