

2012 年度

修士論文

硝酸態窒素に汚染された湧水群における  
無機態窒素の動態と水質特性の解析

21131015 白鳥 聖也

指導教員 地球環境保全学 准教授 中谷暢丈

酪農学園大学大学院酪農学研究科

## 目次

I .緒論	1
II .試料と方法	10
III .結果と考察	20
IV .総合考察	39
V .要約	40
謝辞	42
参考文献	42
付表	47

## I. 緒論

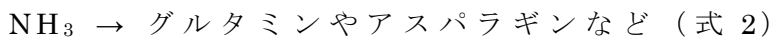
### 1. 環境中での窒素循環と硝酸態窒素の問題点

大気中の大半を占める窒素は、環境中において様々な化学形態で存在する元素である。その中でもアンモニウムイオン ( $\text{NH}_4^+$ ) は、グルタミン合成酵素により、アミノ基として付加されることでアミノ酸の基本物質であるグルタミン等へ合成される<sup>31)</sup>。したがって、窒素は動植物の体を構成するタンパク質やアミノ酸の合成に欠かせない物質である。

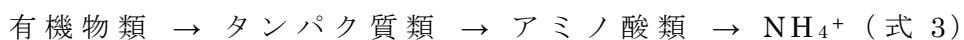
大気中の窒素 ( $\text{N}_2$ ) は菌体や植物体によって、  
窒素固定



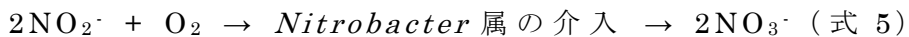
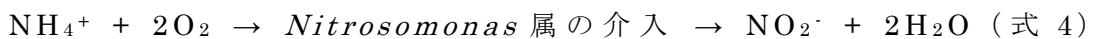
有機化



無機化



硝化



脱窒



$2\text{NO}_2^- + 3\text{H}_2 \rightarrow \text{亜硝酸還元酵素の介入} \rightarrow \text{N}_2 + 2\text{H}_2\text{O} + 2\text{OH}^-$  (式 7)

等の反応を介して様々な化学形態を変えながら環境中で循環されている<sup>15)</sup> (図 1)。

硝化反応において最終生成物質である硝酸態窒素は、1999 年から環境庁により、要監視項目から水質汚濁や飲用水、地下水に係わる環境基準の項目に移行され、亜硝酸性窒素を含めて 10 mgN/L 以下という基準値が定められた<sup>13)</sup>。しかしながら、硝酸態窒素の汚染源となるのは生活排水、家畜排せつ物及び畑地への施肥といった人の生活に密着しており、その対策は非常に難しい<sup>13)</sup>。

## 2. 硝酸態窒素の生体内挙動とメトヘモグロビン血症の事例

ヒトに対する健康被害に関しては、多量の硝酸塩に曝露された場合において、メトヘモグロビン血症や発がん性のあると言われていていることから有害であるとされる。

硝酸塩は体内において一部は亜硝酸塩に還元される。この還元された亜硝酸塩の作用により、赤血球中のヘモグロ빈はメトヘモグロビンに酸化される。メトヘモグロビンにはヘモグロビンのような酸素運搬能力がない。そのため、ヒトの血液中に含まれるメトヘモグロビンの濃度が 10 %を超えると酸欠に陥り、メトヘモグロビン血症と呼ばれる中毒症状を引き起こす<sup>5)</sup>。アメリカでは、局所麻酔

薬であるベンゾカインやプリロカインを投与したことにより発症したメトヘモグロビン血症の242事例が報告されている<sup>6)</sup>。他にも、希釈した粉ミルクを摂取した幼児が発症した事例も報告されている<sup>29)</sup>。国内では、硝酸態窒素に汚染された井戸水を摂取した新生児に中毒症状が出た症例や、解熱鎮痛剤に含まれるフェナセチンや貸しおむつについているニトロベンゾールによる症例も報告されている<sup>25)</sup>。

ヒト以外では、日本国内において高濃度の硝酸態窒素を含んだ飼料で飼育されていたウシが大量死した事例が報告された。その死因を調査した結果、ウシの胃内は還元的条件にあり、経口摂取した硝酸態窒素は亜硝酸性窒素に還元されやすい性質があることが示唆された<sup>3)</sup>。

メトヘモグロビン血症を発症するその他の要因としては、自動車などの排ガスに含まれる窒素酸化物である一酸化窒素（NO）や二酸化窒素（NO<sub>2</sub>）を呼吸によって暴露することで、ヘモグロビンが酸化されることもわかっている<sup>4)</sup>。

リロンデル(2006)<sup>5)</sup>によると、硝酸塩の暴露により懸念されている発がん性に関して、マウスへの硝酸塩の投与実験では、抗発がん性を示したという結果が報告された。また、硝酸塩の関係性が疑われている遺伝子異常や甲状腺肥大、高血圧などに関しても、原因と

して実証されている事例はなく、いまだに硝酸塩の人的影響には不明な点も多い。

### 3. 国内における硝酸態窒素の環境基準達成状況

2010 年に環境省が行った河川水の調査（ $n=22834$ ）の結果によると、硝酸態窒素の環境基準超過率は 0.18%（超過本数 41）とされており、河川においてはおおむね良好な基準達成状況であるといえる、また過去に超過したという記録のある地点における調査（ $n=3171$ ）では今現在も環境基準を超過していた地点は 3 地点とほとんどの地点で環境基準を満たし、硝酸態窒素汚染の状況には改善が見られる<sup>9)</sup>。

しかし、地下水の調査結果では、日本国内の地下水における硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素の環境基準達成率は、これまで調査を行っていない井戸を対象とする概況調査において 4.3%、観測が始まった 1999 年以降に環境基準を超過した井戸を対象とする継続監視調査では 47.2%となっている<sup>8)</sup>。このことから、地下水において硝酸態窒素に一度汚染されると長期にわたって汚染が続き改善が難しいことが考えられる。また、北海道における地下水の硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素の環境基準達成率は、概況調査で 1.6%、継続監視調査では 43.75%であり、全国で行われた結果に比べれば低い事が報

告された<sup>8)</sup>。その原因として、日本国内の中で他県と比べて冷涼な気候下である北海道における土壌の特徴として、大気から土壌への窒素沈着量は少ない事や<sup>21)</sup>、無機化・硝化の過程の中で、無機化は起こりやすいが硝化は起こりにくい、また、その合計値は国内では少ないといった結果が示されている<sup>22)</sup>。そのことから、環境省の都道府県別に行った地下水調査で北海道の汚染率が低かった原因としては、北海道の土地柄により地下水の硝酸態窒素汚染は起こりにくいということ。また、単純に他県と比べると北海道は調査範囲が広い割に、調査井戸数が少なく、北海道の地下水汚染の実態が把握しきれていない可能性の2つが考えられる。

また、国内における生活用水全体の地下水依存度は22%程度であるが、地域別でみると50%以上の地域が存在する<sup>11)</sup>。このデータからわかるように、地下水の汚染は人々の生活に直接の影響があり、深刻なものであることが考えられる。

#### 4. 地下水中における硝酸態窒素の動態と特徴に関わる先行研究

水中における硝酸態窒素である硝酸イオンは負の電荷を帯び、ケイ酸塩を基盤とする土壌もまた負の電荷を帯びているため、土壌中では電氣的に反発しあう。そのため、硝酸態窒素は土壌に非常に吸着されにくい性質を有する。一方、正の電荷をもつアンモニウムイ

オンは陽イオン交換作用により一旦土壤に吸着されるものの、吸着した土壤表面において硝化細菌による硝化作用により速やかに硝酸イオンとなるため、やがて土壤から流出してしまう特徴を有する<sup>19)</sup>。このため、窒素施肥などが行われている土地の地下水は硝酸態窒素による汚染がされやすい傾向にあると考えられる。

糟谷ら<sup>23)</sup>によると、深さ 100 m 以内の地下水中における硝酸態窒素濃度は酸化還元電位 250 mV を境にこれよりも高い場合は硝酸態窒素濃度も高く、低い場合は硝酸態窒素濃度も低い傾向にあることを報告している。また、溶存酸素濃度 (DO) との関係を見ると、低 DO 下において硝酸態窒素濃度は低く、高 DO 下において硝酸態窒素濃度は高い傾向にある。さらに、井戸の深さも不透水層の有無によるところもあるが、10 m 以内の井戸に関しては硝酸態窒素濃度は高い傾向にあることが示されている<sup>23)</sup>。

## 5. 美々川の概要

美々川は、勇払平原に位置する千歳市南部から苫小牧市東部へと北から南へ流れる流路延長 18.2 km の河川である (図 2)。その流域には、高速道路や鉄道、空港など北海道の交通を支える施設のほか、近郊に工業都市がある一方、湿原や森林、丘陵、砂丘、湖沼といった多彩な自然環境が見られる。美々川の河川水は、最終的にラ



ムサール条約に登録されているウトナイ湖へ流入する。ウトナイ湖は、世界的に貴重な水鳥の中継・越冬地であり、周辺で観察される鳥類は国内で記録される種数の約半数を占める<sup>33)</sup>。美々川やウトナイ湖のそのような環境を支えているのは美々川源流部における、数十か所の湧水群である。

美々川は、上層の支笏火砕流堆積層からなる不圧帯水層と、さらに下層に存在する支笏降下軽石層が被圧地下水層となった層を水源とする（図 3）。浸透性の高い支笏降下軽石層が浸食により陥没した斜面に露頭することで、美々川の河川水の 90 %を占める非常に豊富な湧水が起こっている。また、支笏降下軽石層は非常に粒形の粗い層のため、地形上の流域面積よりも、地下水流域ははるかに広い<sup>2)</sup>。

美々川の流域における植生に関しては、源流から上流部において、絶滅危惧種であるチトセバイカモをはじめとするバイカモ類や、スギナモ等が生息しており、中流域の湿地帯はクサヨシに覆われ、下流域にはコウホネ等が生息している。また、魚群に注目したところ、サケの産卵床やニジマスなどと湧水環境に特化した魚群が生息している<sup>24)</sup>。森林構成は上流からミズナラ林、ハンノキ林、ヨシクラスの湿原、河道や湖沼内の水生植物群落といった多様な森林が野鳥をはじめとする野生生物にとって重要な生息地となっている<sup>10)</sup>。

美々川流域は非常に豊かな自然を有した河川であるが、1984 年以降美々橋付近において硝酸態窒素濃度が増加し、2003 年には環境基準である 10 mgN/L に切迫する値を記録した。硝酸態窒素中の窒素安定同位体比は肥料よりも鶏糞のほうに類似していたため、近隣に広がる養鶏農家をはじめとする家畜糞尿が主な原因として挙げられている<sup>32)</sup>。2004 年に、家畜糞尿を適切に処理する事を目的とし、直接土壌に野積みする事を禁止した「家畜排せつ物の管理の適正化及び利用の促進に関する法律」が施行された。その、施行に対し 2001 年に「高度発酵肥料 駒里生産センター」が竣工され、産卵鶏 70 万羽、育成鶏 19 万羽から排泄される鶏糞に相当する 46.8 t/日の鶏糞が処理できるようになった。さらに、2004 年以降は残りの業者も独自に処理施設を完成させたといわれており、そのことから美々川の硝酸態窒素汚染の問題に関しては終息が期待された。

また、谷川ら<sup>26)</sup>の行った北海道内におけるアンケート調査によると、家畜排せつ物法に基づく管理基準の遵守状況は、家畜意排せつ物法が施行された 2004 年の 11 月時点で約 57～77 %であったが、2006 年の 2 月になると約 85 %まで上昇していた。しかし、家畜排せつ物法によるもう一つの管理基準である「家畜排せつ物の年間発生量、処理の方法及び処理方法別の数量の記載義務」に対し実施していると答えた農家は約 40%、さらに実際に家畜排せつ物を計量

していると答えた農家は 7%に留まっているという結果であった<sup>26)</sup>。  
この事から家畜排泄の適切な処理に関してはまだまだ課題が残っていると考えられる。

一方、本研究地である美々川では、未だに硝酸態窒素汚染は深刻であることが確認されている<sup>17,30)</sup>。また、美々川湧水群における硝酸態窒素濃度は湧水ごとに一定ではなく、隣り合った湧水であっても硝酸およびアンモニア態窒素の濃度は大きく異なることが確認された。さらに、水質データをクラスター解析したところ、美々川の湧水は硝化の過程により 4 種類に分類される事が示唆された<sup>18)</sup>。硝化反応が完了したとみられる湧水、硝化反応は未完了である湧水が存在することから、この湧水群の水質には硝化反応を抑制する要因があると考えられる。

## 6. 目的

本研究では、

- 1.美々川源流部湧水群における硝酸態窒素汚染の現状把握
- 2.各湧水の水質を特徴づける要因の解明
- 3.硝化反応の抑制要因を実験的に推定

以上の 3 点を目的とした。

## Ⅱ．試料と方法

### 1. 現地調査

試料は美々川源流部の湧水（ $n=49$ ）を用いた（図 4）。

2011 年の調査は、5 月、6 月、7 月、9 月に各月一回行ったが、7 月の調査まではイオンクロマトグラフィーによる陽イオン類の分析において  $\text{NH}_4^+$  の分離が悪かったが、溶離液に 18-crown-6 ether を添加することで問題が改善されたことから、データに一番信頼ができ、尚且つ美々川の水質には季節変動が認められなかったため 9 月のデータを代表として用いた。

2012 年には培養実験の試料採取のため 5 月、7 月に一回、8 月に 2 回の調査（ $n=12\sim13$ ）を行った。また、9 月に一度確認されている全ての湧水点を対象とした調査（ $n=49$ ）を行った。

現地では水温、DO、電気伝導度（EC）、pH、酸化還元電位（ORP）を表 1 に示す簡易測定機器で測定した。

### 2. 室内実験

現地にて直接ポリ瓶に採取した水試料は直ちに冷暗所に保管し研究室に持ち帰った後、各種イオン類、亜硝酸、アルカリ度、全窒素（TN）、化学的酸素要求量（COD）の測定を行なった。各種測定方法は、基本的には JIS K 0102 工場排水試験法に従い、以下に示

す手順にて行った。

#### (1) 各種イオン類（イオンクロマトグラフ法）

各特級試薬から調整した 1 mmol/L 混合標準溶液（CaCl<sub>2</sub>、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、MgSO<sub>4</sub>、KNO<sub>3</sub>、NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> の混合溶液）を随時希釈した溶液についてイオンクロマトグラフを用いて測定し、各種陽イオン（Na<sup>+</sup>、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Ca<sup>2+</sup>）及び陰イオン（Cl<sup>-</sup>、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>）の検量線を作成した。その後、フィルター孔径 0.45 μm の濾紙で濾過を行った水試料について分析を行った。分析条件は、表 2 に示す。

#### (2) 亜硝酸イオン（ナフチルエチレンジアミン吸光光度法）

標準溶液は、市販の 1000 mg/L のものを 10 μmol/L に希釈して用いた。標準溶液に規定量の超純水を加え 10 mL としたものと濾過した試料 10 mL にそれぞれスルファニルアミド溶液を 1 mL ずつ加え混合したのち 5 分間放置し、その後二塩化 *N*-1-ナフチルエチレンジアミンモニウム溶液をそれぞれに 1 mL 加え混合し 20 分放置した。その後、溶液の一部をガラスセルに移し、波長 540 nm の吸光度を測定した。標準溶液の結果から検量線を作成し、各試料の亜硝酸濃度を計算した。

なお、発色操作に使用した試薬の調整方法は以下のとおりである。

- ・スルファニルアミド（4-アミノベンゼンスルホンアミド）溶液

スルファニルアミド 10 g を濃塩酸 300 mL と超純水 400 mL で

溶かし更に超純水を加え 1000 mL とした。着色ガラス瓶に入れて冷暗所で保管した。

・二塩化 *N*-1-ナフチルエチレンジアンモニウム溶液

*N*-1-ナフチルエチレンジアミン二塩酸塩 (*N*-1-ナフチルエチレンジアンモニウム) 1.0 g を超純水で溶かして 1000 mL とした。着色ガラス瓶に入れて冷暗所で保管した。

(3) アルカリ度 ( $\text{HCO}_3^-$ 当量)

未濾過試料 100 mL を三角フラスコに分取し、指示薬としてブロモクレゾールグリーン・メチルレッド・エタノール溶液を数滴加え、あらかじめファクター ( $f$ ) を求めた 0.05 mmol/L 塩酸を滴下した。試料の色が灰紫を呈したところで沸騰させてあるウォーターバスに入浴させ二酸化炭素を追い出し放冷後再び試料の色が灰紫になるまで操作を繰り返し、最終的な滴下量を測定した。

その後次式によりアルカリ度 ( $A$  mmol/L) を求めた。

$$A = f \times a \times 0.05 \times 2 \times 1000 \div V$$

$f$ : 0.05 mmol/L 塩酸のファクター

$a$ : 滴定に要した 0.05 mM 塩酸 (mL)

$0.05 \times 2$ : 0.1 mmol/L 塩酸 1 mL の水素イオン相当量 (mmol)

$V$ : 試料量 (mL)

#### (4) COD<sub>Mn</sub> (過マンガン酸カリウムによる酸消費量)

300 mL 三角フラスコに試料水 100 mL、硫酸 (1+2) 10 mL と 200 g/L 硝酸銀 5 mL を加え混合し、さらにあらかじめ標定しておいた 5 mmol/L 過マンガン酸カリウム (KMnO<sub>4</sub>) 10 mL を加え、速やかに沸騰浴槽に入れ、30 分間加熱した。その後、12.5 mmol/L シュウ酸ナトリウム 10 mL を加え、透明になるまで混合した。液温が 50 °C 以上の間に 5 mmol/L KMnO<sub>4</sub> を滴定し、滴下量から COD (Omg/L) を求めた。また、100 mL 超純水を操作ブランクとして同様の操作を行なった。

計算方法を以下に示す。

$$\text{COD}_{\text{Mn}} (\text{Omg/L}) = (a-b) \times f \times 1000 \div V \times 0.2$$

a : 滴定に要した 5 mmol/L KMnO<sub>4</sub> 量 (mL)

b : ブランクにて滴定に要した 5 mmol/L KMnO<sub>4</sub> 量 (mL)

f : 5 mmol/L KMnO<sub>4</sub> ファクター

V : 試料水 (mL)

0.2 : 5 mmol/L KMnO<sub>4</sub> の 1 mL あたりの酸素相当量 (mg)

#### (5) 全窒素 (ペルオキシ二硫酸カリウム・水酸化ナトリウム分解法)

分解瓶に試料 50 mL を入れ、分解溶液 (水 250 mL に対し水酸化ナトリウム 10 g とペルオキシ二硫酸カリウム 7.5 g を溶かした

もの)を 10 mL を加えた。密栓を確認し、加圧滅菌器に入れ、120℃で 30 分間加熱分解した。放冷後、上澄み 5 mL をねじ口試験管に入れ、そこに塩酸 (1+16) を 1 mL 加え pH を調整した。溶液の一部を石英セルに移し、波長 220 nm の吸光度を測定した。標準試料として乾燥させた硝酸カリウムを超純水に溶かし、10 µg/mL に調整したものを用いた。規定量の超純水を加え 5 mL としたものに塩酸 (1+500) を 1 mL 加え pH 調整を行ったものの吸光度を測定し検量線を作成し、試料の窒素量の定量を行なった。

### 3. 培養実験

#### (1) 酸素供給の有無による条件下での無機態窒素の動態

予備実験として、DO、EC、pH、硝酸態窒素濃度、アンモニア態窒素濃度と周辺の状況から特徴のある地点 5 地点を選んだ (表 3)。現地にて非密閉容器 (ポリ瓶) に採水した後、恒温機内に入れ 30 °C で 50 日間に渡って培養した。ほぼ 4 日おきに各種無機イオン濃度を測定した。また、2011 年度の結果から、グループ 2~4 に分類された湧水 ( $n=35$ ) は、極端に DO が低い地点が多かったことを踏まえ、DO が供給される環境下であれば硝化反応はまだ続くであろうという仮定を元に、ポリ瓶にて直接試料を採水し 30 °C に設定した恒温機内で 40 日間の培養を行い、おおよそ 10 日おきに無機イオン



濃度の測定を行った。

また、予備実験において無機態窒素の動態に顕著な反応が起きた地点に対し、湧水しなかった場合の硝酸態窒素動態を模擬的に追うため、密閉容器（フラン瓶）に採水し恒温機内で 30℃、10℃ の条件にて 100 日間の培養をおこない、おおよそ 10 日おきに無機イオン濃度の測定を行った。それぞれの分析項目は  $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{NO}_2^-$  である。

## (2) BOD の測定

BOD は密閉容器に封入された試料の 5 日間という期間における菌体の酸素消費量を計測するものであり、この活性が低ければ低いほど硝化反応が制限されやすいものであると考えられる。測定方法は、以下のとおりである。

事前に植種液の検定を行うため、酪農学園大学敷地内の森にて採取した A0 層（0~5 cm）の土壤に超純水を加えよく混合し 30℃ で 0~7 日間培養した試料を用意した。グルタミン酸・D(+)グルコースそれぞれ 150 mg/L になるように調整した混合溶液を 3.33 mL ずつ加えたフラン瓶に各試料を 4 本ずつ満水になるまで静かに分注し、静かに密栓した。それらを 20℃ に設定した恒温機に入れ、15 分静置した後一本ずつ取り出し、マグネッตスターラーで 350 rpm の速度にて攪拌しつつ DO メーターにて DO を測定し BOD 開始

時の DO とした。5 日間の静置後、取り出した試料をそれぞれマグネットスターラーで 350 rpm の速度にて攪拌しつつ DO メーターで DO を測定し BOD 終了時の DO とした。開始時と終了時における DO の変化率が 40~70% の範囲に入り、より中間点に近いものを最適植種液とした。実試料の測定は各試料 300 mL に対し植種液原液を 5 % に薄めた植種希釈液を 150 mL 加えた混合試料と植種希釈液をそれぞれ植種液検定と同様の方法で測定を行った。また、普通に行う BOD とは異なり、有機物の不足が起こらないように植種液の検定時と同じく、グルタミン酸・D(+)グルコースそれぞれ 150 mg/L になるように調整した混合溶液を 3.33 mL ずつ加えたフラスコ瓶にて行った。

最終的な計算方法は以下のとおりである。

$$\text{BOD (mg/L)} = (a - b) \times (x \div y) \div (c \div d)$$

a : 試料の開始時と終了時の DO の差

b : 植種希釈液単体の開始時と終了時の DO の差

x : 混合試料に含まれる植種液の割合 (%)

y : 植種希釈液中の植種液の量 (%)

c : 混合試料中の植種希釈液の量 (mL)

d : 混合試料の総量 (mL)

#### 4. 統計解析方法

トリリニアダイアグラム以外の解析は、PASWS® Statistics 17.0 (IBM Co.) を用いて行なった。

##### (1) トリリニアダイアグラム

トリリニアダイアグラムとは、各イオンの当量濃度比を視覚的に把握するために開発され、中央に置かれる菱形のキーダイアグラム中に主要陽イオン組成と陰イオン組成から特徴的な 4 群に分類させて、地下水の水質を示す図である (図 5)。測定試料の各種イオンの電気当量値 (meq/L) を当てはめた際にできるイオン組成が図の中のどこに配置されるかで、その試料の水質を示すことができ、多試料の組成を一つの図にまとめて表現できるという利点がある<sup>2)</sup>。本研究では、硝酸態窒素汚染の進行度や硝化脱窒の過程を推定するため、通常のトリリニアダイアグラムを一部改変した。 $\text{SO}_4^{2-}$ のところに  $\text{NO}_3^-$ 、Na+K のところに  $\text{NH}_4^+$  が追加されており、これによって無機態窒素汚染の現状をより図示しやすいようにしている。また、プロットの種類を DO の値で、1 mg/L 以下、1 以上 5 mg/L 以下、5 以上 9 mg/L 以下の 3 種類に分けて表示した。

トリリニアダイアグラムの作製には、「Catch My Earth.com」のサイトより Excel 上でトリリニアダイアグラムを作ることができるフリーソフト「ppplot10」をダウンロードして利用した<sup>1)</sup>。

## (2) 主成分分析

N 個の水質試料が  $p$  変量を座標軸とする  $p$  次元空間に分布することを想定し、その空間における試料の分散が最大になる方向の直線を第一主成分とする。次に、第一主成分と直行する  $p-1$  次元空間における標本分布の分散が最大になる方向を第 2 主成分とする。この過程を各種分散による全分散に対する寄与率が 100%に近接するまで行う<sup>17)</sup>。そこで得られた寄与率が一定以上の主成分を座標軸とする散布図を作成することにより、試料の相互関係の検討や分類を可能とする統計手法である。

## (3) クラスター解析

階層的クラスター分析は標本相互の  $p$  変量に関する類似度（距離）の検討を通し、標本軍の分類を行う手法である。主成分分析と同様に  $p$  変量よりなる  $p$  次元空間に標本の分布を想定し、この空間内での標本間の距離に基づいて、近いものから順次クラスター（標本の集団）を形成し、デンドログラム（樹形図）を構築していく。この過程では、標本とクラスター間のみではなく、クラスター相互の間でも同様の距離計算が行われている。

クラスター解析を行う際にはクラスター構成成分として何を選ぶかによって帰ってくる結果が大きく変わるため、あらかじめ主成

分分析や 2 変量の相関図を作成するべきである。

## 5. 美々川流域およびその周辺の調査

### (1) 美々川流域

源流部における高濃度の硝酸態窒素による流域への影響を調べるため、2011 年 9 月に、美々川流域をカヌーで下りながら採水をした。さらに、ウトナイ湖の流出口及び各支流とその流域の地下水の採水が可能な 1 地点において採水を行った。調査地点は、図 6 に赤い丸で示した ( $n=14$ )。現地にて採取した試料は源流部で採取した試料と同じ項目について測定を行った。

### (2) 美々川周辺の農場

美々川流域にある井戸を備えた農場として、酪農学園大学が出資している畜産農場にて浅井戸 (20 m) と深井戸 (20 m、70 m 混合井戸)、その近隣の畑作農家の浅井戸 (30~40 m) と深井戸 (70~80 m) の水を 2011 年 7 月に採取した。場所は、図 8 に黄色い丸で畜産農場と畑作農家の 2 点示す。持ち帰った試料は、ほかの試料同様の分析項目について分析を行った。この際のイオンクロマトグラフィーによる分析は既に 18-crown-6 ether の添加がされており、良好なアンモニウムイオンの分離が確認されている。

### Ⅲ．結果と考察

#### 1. 美々川源流部の水質

2012 年に行なった美々川源流部の現地測定項目及び各種水質項目の結果を表 4-1、4-2 にまとめて示した。EC 値は、平均 23.6、範囲 15～38 mS/m (25 °C) を示し、湧水間で非常に大きなばらつきを示した。このことから、湧水のイオン組成および汚染の程度は大きく異なることが予想された。また、EC 値の高い地点は後述するように  $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{NH}_4^+$ 、カリウムイオン ( $\text{K}^+$ ) の濃度が高い地点であったことから、それらのイオンが湧水中の高 EC 値を示す根元になっていた。

pH は、平均 6.26、範囲 5.7～6.7 を示した。生活環境の保全に関する環境基準の河川 AA～C 型の示す 6.5～8.5 の範囲<sup>27)</sup>に収まらない地点が多く、やや酸性に傾いていることが示された。これは、森林土壌中において硝化反応が進むことで、硝酸態窒素含有量の増加にともない pH の低下が見られる<sup>27)</sup>という報告もあることから、美々川湧水中の硝化反応は全体的にある程度進んでいることが考えられる。

ORP は、平均 288、範囲 248～347 mV とおおむね酸化傾向にあった。250 mV 付近を境に高い値であれば硝化反応、低い値であれば脱窒反応のどちらかに反応が進む<sup>23)</sup>。このことから、美々川湧

水中では硝化反応が停止し、還元的な環境になっている地点が存在すると考えられる。また、このことは  $\text{NO}_3^-$  濃度と有意な正の相関関係がある（表 5）ことからわかる。

DO は、平均 3.92、範囲 0.2～8.1 mg/L と大きなばらつきが確認された。これは、地下水への涵養から湧出までの時間や地下水系の深さといった物理的要因や、汚染源の違いから硝化などによる酸素消費量の差等の化学的要因が考えられる。また、DO はその他ほとんどの項目と有意な負の相関関係が見られた。特に、 $\text{NH}_4^+$  や全窒素、 $\text{K}^+$  との相関係数は約 -0.8 と高い負の相関を示した。また、 $\text{K}^+$  は家畜ふん堆肥に豊富に含まれている<sup>14)</sup>こともあり、DO の低い地点では汚染物質、特に糞尿を由来とする物質の濃度が高いことが示唆された。

## (1) 窒素成分

### 1) 硝酸および亜硝酸態窒素汚染の現状

調査を行った 2011 年と 2012 年の各湧水地点（ $n=49$ ）における硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素濃度のヒストグラムを図 7 に示す。両年ともに、硝酸態窒素濃度及び亜硝酸態窒素濃度の環境基準（10 mgN/L 以下）を大幅に超過していた。2012 年の環境基準の超過率は 91.8% となり、依然深刻な硝酸態及び亜硝酸態窒素汚染が続いて

いることが示された。また、2011 年と比較すると、濃度分布をみると、2011 年において 10~14 mgN/L に偏重していた値が 2012 年は 12~16 mgN/L 付近となり、硝酸態及び亜硝酸態窒素の高濃度が示唆された。

過去に研究室で行われたデータ<sup>17, 18, 30)</sup>より、2004 年から 2012 年かけて美々川源流部において計測された硝酸態窒素濃度の平均、最大、最少、標準誤差より作成した箱ひげグラフを図 8 に示す。2004 年から現在にかけて、硝酸態窒素濃度の平均値では大きな変化はないが、2010 年以降採水地点を河川 1 地点から湧水点に変更し、2010 年 ( $n=14$ )、2011 年 ( $n=49$ ) と採取試料数を増やしたところ、より高濃度の硝酸態窒素汚染が確認された。

## 2) アンモニア態窒素汚染の現状

調査を行った 2011 年と 2012 年の各湧水地点 ( $n=49$ ) におけるアンモニア態窒素濃度のヒストグラムを図 9 に示す。両年に共通し、ほとんどの地点において水産用水基準 (0.1 mgN/L 以下) を下回り、検出限界値付近となっていた。検出された地点については、2011 年に比べ 2012 年において硝酸態窒素濃度と同様に高濃度化している傾向が見られた。硝化反応の観点から、アンモニア態窒素は硝酸態窒素のソースとなりうる物質であるため今後も監視を続けるこ



との必要性が示唆される。

### 3) アンモニア態窒素および硝酸態窒素濃度の散布図

図 10 にアンモニア態窒素及び硝酸態窒素濃度の散布図を示す。

アンモニア態窒素と硝酸態窒素の間に明瞭な関係は見られなかった。2011 年と比べると、2012 年のアンモニア態窒素の濃度が増加する傾向が見られた。アンモニア態窒素濃度が検出限界値付近であった地点は 2012 年においても同様であったが、アンモニア態窒素が高濃度であった地点において、硝酸態窒素の濃度も上がっているため無機態窒素汚染としては 2011 年よりも悪化していることが示唆される。アンモニア態窒素濃度が上昇した原因として、 $K^+$ の濃度が 2011 年は平均 8.09 mg/L、範囲 3.63～23.6 mg/L、2012 年は平均 8.64 mg/L、範囲 3.85～22.4 mg/L と平均値は多少上昇し、2012 年から 2011 年の濃度を差し引いた値では、-3.16～9.00 mg/L と大きな変動をしており、家畜排せつ物を由来とする汚染の状況が悪化していることが考えられる。

### 4) 全窒素 (TN)

#### ① 各湧水の全窒素濃度分布

全窒素濃度は、11～34 mg/L と非常に大きなばらつきがあること

が確認された（表 4-1、4-2）。湖沼の基準ではあるが、環境保全に関する類型環境基準値（1 mg/L 以下）と照らし合わせると、非常に高濃度で窒素化合物が存在していることがわかる。また、全窒素濃度と  $\text{NH}_4^+$ 濃度の相関が強い正の相関を示したことから（表 5）、 $\text{NH}_4^+$ が高濃度で検出された地点において高濃度な全窒素の値が計測されたものと考えられる。

## ② 全窒素中に占める無機態窒素の割合

イオンクロマトグラフィーおよび吸光光度計で得られた硝酸態窒素および亜硝酸態窒素とアンモニア態窒素の値を合計したもののから①で得られた全窒素の値で除したものに 100 を乗じ、全窒素に占める無機イオン態窒素（ionN）の割合を求めた（表 4-1、4-2）。無機態窒素の割合はおおむね全窒素の 90%付近を占めていることから、美々川の窒素の存在形態はほとんど無機態窒素であることが考えられる。また、ところどころ 100%を超える部分が見られる地点は、無機態窒素の濃度が高い地点である。また、備考欄に「ピンク」と書かれている地点は、全窒素の分解を行った際に分解後の試料がピンク色に着色し（写真 1）、ピンク色となった地点の全窒素濃度は 22.9～34.1 mgN/L と非常に高濃度であった。そのことから、正確に全窒素の値を測定できていない可能性が考えられる。尚、そ

の阻害物質の1つとして考えられる JIS K 0102 に記載されている臭素イオンは陰イオンクロマトグラフィーにより測定上検出限界値付近であることから、別の要因であることが示唆された。

#### 5) 硝酸態窒素汚染原因の簡易判別

三上ら<sup>16)</sup>によると、堆肥と化学肥料では含まれている硫酸イオン ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) の量に差があり、試料中に含まれる  $\text{NO}_3^-$  と  $\text{SO}_4^{2-}$  の存在比 (電気当量換算) で汚染源がどちらであるか簡易的に判別することができる。その判別関数は以下のとおりである。

$$Z = -0.1483C_{\text{NO}_3} + 1.5991C_{\text{SO}_4} - 1.1207$$

$C_{\text{NO}_3}$  :  $\text{NO}_3^-$  濃度 [meq/L]

$C_{\text{SO}_4}$  :  $\text{SO}_4^{2-}$  の濃度 [meq/L]

上記の式を美々川の湧水群から得られた水質データに適用し、2011年度と2012年度について作成した散布図を図11に示す。判別関数で得られた  $\text{SO}_4^{2-}$  の値を超えると施肥が原因となる畑地タイプ、超えないものは家畜排せつ物などが原因となる酪農タイプの2つに分かれる。解析の結果、美々川の汚染源はどちらの年も家畜糞尿が由来とされる汚染であることが示された。このことから、美々川における無機態窒素汚染は、2011年度と比較すると、アンモニア態窒素が増加したことによって悪化する傾向にあったが、その汚

染源としては依然として家畜糞尿であることが示唆された。

## (2) 多変量解析による湧水の水質特徴解析と分類

### 1) トリリニアダイアグラム

2012 年における各採水地点のイオン組成からトリリニアダイアグラムを作成したところ、全体的に硝酸態窒素汚染が進んでいる河川を示すⅠ型にプロットが集中し、DO が低い地点において浅い地下水であるⅡ型に分布を示した（図 12）。また、Ⅰ型に分類されたプロットも非常に広い分布を示した。陰イオン又は陽イオンの組成を示す左右の三角図に注目すると、左の三角図に表示された陽イオンでは、低 DO の地点は  $\text{Na}+\text{K}+\text{NH}_4$  の高い方面に多く、右の三角図に表示された陰イオンでは、 $\text{HCO}_3^-$  が高い傾向が示された。これらは、DO の高い地点では、硝化反応によって  $\text{NH}_4^+$  が  $\text{NO}_3^-$  となるため、キーダイアグラム上では  $\text{NO}_3^-$  を多く含む組成に傾く。したがって、DO の低い地点では硝化反応が進行しないため、 $\text{NO}_3^-$  を含む全体から見た組成比は低く、 $\text{NH}_4^+$  を含む組成比の高い右下の方へプロットされる傾向が示される。

2011 年に作成されたトリリニアダイアグラム（図 13）と比較すると、2012 年の水質はプロットされた値の DO 値と無機態窒素汚染に対する傾向は変わらないものの、キーダイアグラム及び陰イオン

組成、陽イオン組成におけるプロットの分散性が非常に高いことがわかる。このことから 2011 年と 2012 年では、特に鉱物類の組成において水質は大きく変化していることが示唆された。

## 2) クラスター解析

クラスター解析を行う上で、2 変量の相関の強いものを抽出する必要があるため、窒素に関する項目と、各項目とのお互いに相関の比較的強く ( $r > 0.30$  前後) みられる EC、DO、ORP、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{NO}_2^-$ 、 $\text{HCO}_3^-$  及び全窒素の値からクラスター解析を行った (図 14)。

クラスター解析の結果を各種水質の測定結果と比較したところ、まず、最初の分岐は全窒素濃度とアンモニア態窒素濃度の違いで分かれた。その後は硝酸態窒素、アンモニア態窒素濃度及び DO 値によりクラスターが作成されたと考えられる。さらに細分化してゆくと、全窒素及びアンモニア態窒素濃度の低いグループとされた側では、

グループ 1：アンモニア態窒素濃度が未検出または定量限界付近で

あり、硝酸態窒素濃度も比較的低い地点

となり、アンモニア態窒素濃度が非常に低いことから、ほぼ硝化が完了したものが分けられたグループであると考えられる。

次に、全窒素、アンモニア態窒素濃度の高いグループとされた側では、

グループ 2：硝酸態窒素濃度は最も高濃度で検出され、アンモニア態窒素濃度はばらつきが認められるが、DO 値が低く、ORP 値が高い地点

グループ 3：硝酸態窒素及びアンモニア態窒素濃度がともに高く、DO 値は極めて低い地点、グループ 2 と比べ ORP 値が低い傾向にあり、新たな無機態窒素汚染の進んでいる可能性のある地点

に類別され、これらは汚染源の影響が大きく、硝化反応が未完了、もしくはほとんど起こっていない地域であることが示唆された。

### 3) 主成分分析

現地で測定した項目（EC、pH、ORP、DO）および持ち帰った後に測定した項目（ $\text{Na}^+$ 、 $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{HCO}_3^-$ 、全窒素、ionN）全てを対象に、美々川源流部の水質を決定付ける要因を解析するため主成分分析を行った。その結果を表 6 に示す。第一主成分（FAC1）の上位には、EC や  $\text{NH}_4^+$ 、や TN 等の窒素汚染に関する物質や家畜糞尿に多く含まれる  $\text{K}^+$ が挙げられた。また、下位に配置された  $\text{Cl}^-$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 等は風化作

用により岩石等から染み出る鉱物類である。これらのことから、FAC1 の分類は「家畜糞尿による汚染度と涵養から湧水までの時間」であると考えられる。すなわち、FAC1 が大きければ大きいほど、家畜糞尿の影響を強く受け、涵養から湧水までの時間が長い地点であると考えられる。第 2 主成分 (FAC2) には  $\text{NO}_3^-$  と ORP が挙げられたことから、FAC2 の分類は「硝化の進行度」であると考えられる。 $\text{HCO}_3^-$  の存在形態は湧水までの過程によって決まる。すなわち、湧水までの時間が長いことにより水試料中の pH を決定付ける  $\text{HCO}_3^-$  の存在形態が  $\text{Ca}^{2+}\text{-HCO}_3^-$  型から  $\text{Na}^+\text{-HCO}_3^-$  型へ変化する<sup>9)</sup>。この事より、FAC3 は「 $\text{HCO}_3^-$  の存在形態」と推測される。

また、各試料の FAC1、FAC2 で得られた項目の数値とその得点を乗じていったものの合計を標準化することで主成分得点を算出し、横軸に FAC1 (汚染度)、縦軸に FAC2 (硝化度) の散布図を作成した (図 15)。この図を見ると、FAC1 が 0 以下の汚染度の低い地点に比べ、0 以上の汚染度の高い地点は FAC2 値の分散が大きく、硝化反応の進行に大きな偏りがあることがわかる。また、FAC1 が 0 以上で FAC2 が 1 以下の地点では、汚染度の高さに対し、 $\text{NO}_3^-$  や ORP が低いことから、硝化反応の進んでいない事による硝酸態窒素の潜在的な汚染が懸念される。FAC1 に対する DO の成分得点は大きな負の値を示していることから、FAC1 が高い地点において

DO が低いことが予想される。これに DO が補給されたと仮定すると、FAC2 の上昇、つまり  $\text{NO}_3^-$  や ORP の上昇を伴い全体的に左上へ推移することが予想される。また、その後硝化反応が落ち着いた際、ORP の低下により FAC2 の値は低下し、FAC1 の値が 0 以下の地点が密集している場所に収斂することを示唆する。

さらに、前項のクラスター解析の結果に照らし合わせ、主成分分析の結果を並び替えたところ、グループ 1 では、汚染度を示す FAC1 が全て負の値を示した（表 7）。つまり、このグループは汚染度や鉱物分が低い事を示している。また、FAC2 をみると、地点 2 を境に 2 つに分類できると考えられる。地点 2 より上は、概ね正の値を示し、硝化反応が起きている環境下、または硝化反応が終了した環境下であると考えられる。そして、地点 2 以下は FAC1 が低いため、早い段階で硝化反応が終了した地点であると考えられる。このことから、グループ 1 は地点 2 を境にさらに 2 グループに分けることが妥当であることが示唆された。グループ 2 では、FAC1 および FAC2 の値が正の値を示した（表 8）。地点 6 の FAC1 の値が突出し、後述するグループ 3 の値のほうが近いが、FAC2 の値が高いことから、この地点はこのグループに所属することは正しいと考えられる。グループ 3 では、FAC1 においておおむね 1 を超え、汚染度が高いことがわかる（表 9）。しかしながら、FAC2 の値が地点 32 を境に



値が違う傾向が見られる。地点 32 より上の地点では、FAC2 の値は -0.1~0.4 付近をさし、途中で硝化反応が止まっていることが考えられる。そして、地点 32 以下の地点では深い地下水で、早い段階の時点で硝化反応が止まり、長時間そのまま地下を流れ、湧水した地点であると考えられる。このことから、このグループもグループ 1 と同様に 2 グループに分類することが妥当であると考えられる。

以上の結果からクラスター解析のグループを分類し直すと、デンドログラムでの分類とグループの詳細は次のようになることが示唆される（図 16）。

グループ 1：汚染度が低く、湧水までの時間が短い地下水で、硝化反応は終了している地点

グループ 2：汚染度は低く、湧水までの時間が短い地下水で、グループ 1 よりもさらに早く硝化反応が終了した地点

グループ 3：汚染度が高く、硝化反応が激しく起こったが、反応が終わるまえに何らかの影響を受け硝化反応が止まった地点

グループ 4：汚染度が極めて高く、硝化反応は早い段階で止まった地点

グループ 5：汚染度が高く、硝化反応は極めて早い段階で止まった地点

#### 4) 2011 年の解析結果

2011 年の研究結果より硝化の過程のばらつきにより湧水時の水質特性の差異が生じていることが示唆され、また本研究においてもそれらの水質（DO、pH、ORP、EC、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{HCO}_3^-$ ）をクラスター解析にかけたところ、グループは 4 つに分かれることが示唆された（図 17）、その 4 つのグループを硝酸・アンモニア態窒素による汚染度の低いものをグループ 1、硝化はほぼ終わり硝酸態窒素汚染の顕著なものをグループ 3、アンモニア態窒素が検出された 2 グループのうち、アンモニア態窒素が低い方をグループ 2、高い方をグループ 4 とした。

また、アンモニア態窒素濃度と硝酸態窒素濃度で散布図を作成したところ（図 18）、アンモニア態窒素が検出限界値付近のもの、アンモニア態窒素が検出されたが硝酸態窒素濃度は低いもの、硝酸態窒素濃度は高いがアンモニア態窒素濃度は低いところ、硝酸態窒素、および亜硝酸態窒素濃度の高いところ、と 4 つに分かれることが示唆され、クラスター解析の結果が支持された。

## 2. 培養実験

### (1) 硝化反応が抑制される要因の追及

硝化反応に必要なものは、1)酸素、2)有機物、3)硝化細菌の存在

量、4)土壌および土壌溶液の pH の 4 つである。

これらのどの要素が欠けても健全な硝化反応は抑制される。たとえば、pH は 7 前後が最適で 6~9 の範囲で速やかに進行し、5 以下、10 以上になると阻害されることが知られている<sup>27)</sup>今回の場合どのサンプルも pH5 以下および 10 以上に該当する地点はなかったため、考察からは除外した。

#### 1) 酸素供給の有無による条件下における無機態窒素の動態

予備実験として、同一試料( $n=5$ )を使用して酸素供給ありと酸素供給無しという 2 つの条件下での硝化反応の硝酸態窒素濃度の変化を確認した。その結果、酸素供給のある条件下において、元々  $\text{NH}_4^+$  を含む地点 28 では培養途中から硝酸態窒素濃度が増加したが、元々  $\text{NH}_4^+$  の含まれない地点では変化は確認されなかった (図 19)。このことから、この実験条件では地点 2、9、11、14 において、無機化作用によって新たに  $\text{NH}_4^+$  が発生し、直ちに硝化されるということではなく、地点 28 における結果から、湧水までの間に硝化反応が終了しなかった地点では、湧水後に改めて硝化反応がおこることが示唆された。

一方、地点 28 について、密閉容器内にて培養したところ、培養温度の違いによって多少の違いが見られたものの、酸素供給有りの

条件に比べ、培養終了時の硝酸態窒素濃度は明らかに低濃度であった（図 20）。これらのことから、地点 28 の硝化反応は酸素の不足が制限因子となり、反応途中で湧水した試料であることが示唆された。

以上を踏まえ、2012 年には 2011 年にグループ 2~4 に分類された湧水試料（ $n=35$ ）を用いて、酸素供給ありの条件下で培養実験を行ったところ、予備実験での結果と同じく、硝酸態窒素濃度が大きく増加した地点、変化が見られなかった地点が確認された（図 21~22）。この違いには試料に含まれる  $\text{NH}_4^+$  濃度の違いが反映されていたことから、 $\text{NH}_4^+$  の存在が硝化反応の進行に重要な要因であることが示唆された。

アンモニア態窒素に注目すると、培養開始時に  $\text{NH}_4^+$  が検出されその濃度が速やかに減少した地点（図 23）、濃度が緩やかに減少した地点（図 24）、培養開始時から  $\text{NH}_4^+$  濃度は検出限界付近で推移した地点（図 25）の 3 つに分かれた。速やかに硝化反応が進んだ地点の試料では、減少速度に差は見られるものの、初期の濃度にかかわらず培養 25 日目にはほぼ検出限界値となった。地点 26 においてのみ培養 25 日目のアンモニア態窒素濃度は 2.16 mgN/L と他の結果から外れる形になった。また、この地点のアンモニア態窒素濃度は、培養期間中に一度増加しており、新たにアンモニア態窒素が

生成されていることが考えられる。無機態窒素の動態（図 26）に注目すると、アンモニア態窒素濃度の減少がほぼ止まった時点で亜硝酸態窒素の濃度も下がり、40 日目の時点でアンモニア態窒素が残存しているのにもかかわらず亜硝酸態窒素は検出限界値となっている。このことから、25～40 日目の間になんらかの硝化反応における制限因子が働いたということが示唆される。

培養開始時から終了時にかけて検出限界付近で推移した地点に関しては、ほとんどの地点で硝化反応は完了しており、これ以上の無機態窒素汚染は起こりにくい地点であると考えられる。

## 2) 有機物濃度の影響

COD は有機物を化学的に酸分解する際に消費される過マンガン酸カリウムの量からそれに相当する酸素量を計測するもので、一般的にその値が高ければ高いほどその試料に含まれる有機物量が多いと考えられる。測定結果として、COD の値は 0.01～5 mgO/L と試料間において大きなばらつきが認められた。TN と同じく COD は湖沼において定められている基準である。その基準値と比較すると、美々川の湧水群の有機物汚染の汚染度合いは非常にきれいな地点と、少し有機物による汚染が認められている地点であることがわかる。また、地点 26 をはじめとする多少の有機物汚染が見られる地

点において、本来の色は白である軽石に黒い色素沈着が確認されることに加え、湧水周辺に鉄バクテリアが見られる地点があることから、有機物に付着した還元性の Fe や Mn が存在する可能性が考えられる。硝化反応の制限因子としての有機物量は、大きなばらつきは確認されたものの、COD の値が 2 番目に低かった地点である地点 41 においてアンモニア態窒素の減少、硝酸態窒素の増加といった硝化反応に見られる無機態窒素動態が見られたため、この地点の 0.4 mgO/L という COD の値があれば硝化の制限要因にはならず、その他の条件さえ満たせば硝化反応は起こりうると考えられる。

### 3) 生物活性の影響

途中では有機物が不足し、生物体が十分な働きを発揮できないことを防ぐため、JIS K 0102 工場排水試験法における BOD の項に記載されている植種液の検定方法にのっとり、150 mg/L の濃度に調整した L-グルタミン酸+D(+)グルコース混合溶液を添加し、生物の働きを最大にした状態で BOD の測定をした。その結果、3.9～9.3 mgO/L と大きなばらつきが見られ、各湧水間で生物活性量に差がある事が示唆された。好気性の環境下における培養実験で、アンモニア態窒素の減少量にも試料間の差があったことから、湧水間の硝化反応の進行速度には違いがあることが示唆される。しかし、BO

D の値が最少であった 3.9 mgO/L の地点 35 においても硝化反応は確認されたことから、BOD の値は硝化反応を起こすのに十分な値であったと考えられる。

### 3. 美々川流域および周辺における硝酸態窒素汚染の現状

#### (1) 美々川流域

美々川源流部の北部、および南部の合流地点を採水点とした本流の硝酸態窒素及びアンモニア態窒素濃度を図 27 に示す、源流部の合流地点では約 14 mgN/L と高かった硝酸態窒素濃度は川を下るにつれ減少し、ウトナイ湖への流入直前にあたる最後の支流である丹治川の合流地点においては約 2 mgN/L と環境基準を満たす結果となった。また、アンモニア態窒素濃度も源流部においてはやや高濃度であったが、下流域では検出限界付近であった。これらのことから、美々川源流部の高濃度の硝酸態窒素汚染は、美々川流域において大問題となるような影響は与えず、むしろ流域の窒素源となっていることが考えられた。また、美々川流域の支流では、硝酸態窒素やアンモニア態窒素濃度は源流部に比べると非常に低かった。さらに、美沢川以降における支流は流量が豊富であるため、美々川本流の硝酸態窒素を希釈している効果があると示唆された（図 28）。

本流及び支流におけるイオン濃度組成を図 29 に示した。美々川

源流部の各種イオン濃度は全体的に一回り高く、特に  $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{NH}_4^+$  が高いが、本流を下るにつれだんだん低濃度化した。その他のイオン組成も川を下るにつれそのイオン組成比を保ったまま減少していることが分かった。このことから、美々川の源流部以外の支流は、非常に無機イオン類が少なく、本流に合流することで美々川源流部の高濃度な無機イオン類が希釈されていることが示唆される。また、支流において、全体的に各種イオン濃度は低く、先ほどの考察を肯定する結果となった（図 30）。しかし、丹治川において  $\text{Cl}^-$  と  $\text{Na}^+$  の濃度が異様に高く、上流付近に多数あるゴルフ場において使用された、凍結防止剤の影響ではないかと考えられた。

## (2) 美々川周辺農場における地下水の水質

美々川流域の植苗地区の酪農農場とそのすぐ近くにある畑作農場に存在する井戸の水の分析結果を表 10 に示す。浅い井戸にはどちらも硝酸態窒素濃度が高濃度であったが、深井戸では検出限界値付近であった。さらに、深井戸では、DO 値が非常に低く、ORP は強い還元状態を示す負の値であった。このことから、この地区の農家における地下水の硝酸態窒素は、浅井戸から深井戸にかけて健全な脱窒反応によって還元されていることや、もしくは、浸透による硝酸態窒素の流入量が少ない事が示唆される。また、浅井戸では



そこまで高濃度ではなかったが、深井戸で  $\text{Na}^+$  が異様に高いことが分かる。 $\text{Cl}^-$  の値が高くはないため、融雪剤の影響ではないことが考えられ、 $\text{Mg}^{2+}$  の値も高くなっていたことから、この地域の地下深くの鉱物が風化作用を受けた際に溶出する鉱物の影響ではないかと示唆される。また、畑作農家の深井戸における高濃度の  $\text{K}^+$  は近隣の酪農農場からの流出ではないかと考えられる。

#### IV. 総合考察

美々川源流部では、硝酸態窒素濃度は 2004 年からいったん減少する傾向を見せたが、近年再び上昇する傾向を見せている、また近年はアンモニア態窒素濃度も大きく上昇していることから汚染源の環境が悪化する方向に変化していることが考えられる。また、汚染源の簡易判別では、いまだに家畜排せつ物が由来であることが示唆された。それに加え、美々川の水質は 5 つの汚染グループに分かれた。

培養実験により、美々川における硝化反応の制限要因として、有機物量、生物活性は硝化反応を起こすのに十分な値であり、硝化反応の制限要因にはなりえないと考えられる。しかし、 $\text{NH}_4^+$  が残存しており、DO 値の低かった地点でのみ好氣的環境下において硝化反応が見られたことから、硝化反応の制限要因は酸素であることを

示唆する。また、好氣的な環境下で行った培養実験において、実験開始時の平均硝酸態窒素濃度が 13.9 mgN/L であったのに対し、実験終了時の平均硝酸態窒素濃度は 19.3 mgN/L と実験開始前に比べて硝酸態窒素濃度が 38.8% 上昇していた。このことから、美々川には潜在的な硝酸態窒素汚染が存在することが考えられる。

美々川の流域において、本流の硝酸態窒素濃度は、硝酸態窒素が低濃度であった支流の豊富な水による希釈効果によってウトナイ湖へ流入する頃にはほぼ正常な濃度となっていることから、ウトナイ湖の生態への懸念はないと考えられる。また、中流域に存在する酪農・畑作農家の井戸水では、浅井戸でこそ高濃度の硝酸態窒素が検出されたものの、深井戸ではほぼ検出限界値付近と硝酸態窒素汚染は解消されていた。このことから、美々川源流部における硝酸態窒素汚染の汚染源は相当深刻な状態なのではないかと考えられる。

## V. 要約

The purpose of this study is to examine the present of  $\text{NO}_3\text{-N}$  pollution and the factors causing the differences in the pollution levels in the spring waters at headwater of Bibi River, Chitose, Japan. Most of  $\text{NO}_3\text{-N}$  concentrations in the spring waters were over the environmental standard of 10 mgN/L, suggesting that

the  $\text{NO}_3\text{-N}$  pollution still remain at headwater of Bibi River. While the  $\text{NH}_4\text{-N}$  concentrations at 33 of 49 spring waters were less than detection limit, the high  $\text{NH}_4\text{-N}$  concentrations were observed at the rest waters. From the relationships between the concentrations of  $\text{NO}_3^-$  and  $\text{SO}_4^{2-}$ , it could be explained that the primary source of  $\text{NO}_3\text{-N}$  is the waste of domestic animals. In addition, there is a significant positive correlation between  $\text{NH}_4^+$  and  $\text{K}^+$ , suggesting that the pollution of nitrogen species in the spring waters has been expanded by the waste of domestic animals. As a result of principal component analysis, it was suggested that the water quality of each spring waters was determined by the quantity of inorganic nitrogen species and the residence time for ground water, and by the degree of nitrification.

In the incubation experiment, the nitrification reaction was observed in the spring waters with low dissolved oxygen and high  $\text{NH}_4^+$  concentration under the aerobic conditions. Therefore, it suggests that the nitrification reaction in the spring waters could be suppressed by deficiency of dissolved oxygen. From what has been discussed above, it was concluded that the pollution by

the waste of domestic animals in the spring waters at headwater of Bibi River induce the deficiency of dissolved oxygen, resulting in the differences in  $\text{NO}_3\text{-N}$  pollution levels observed among spring waters.

#### 謝 辞

まず、本研究を行うに当たり、試料の採取に協力してくださいました農家の皆様、また、調査や実験を手伝ってくださいました水質化学研究室の皆様に深く御礼申し上げます。

そして、ルミノロジー研究室の泉賢一 准教授、生態系物質循環研究室の保原達 准教授、環境地球化学研究室の吉田磨 准教授には当修士論文の副査として貴重な時間を割いて本論や要旨の添削や審査を行ってくださいました、本当にありがとうございました。

最後に、日ごろから研究の進み具合を気にかけていただき、終始温かく見守り指導して下さいました水質化学研究室の中谷暢丈 准教授に心より厚くお礼申し上げます。

#### 参 考 文 献

1) 濱田洋平.2003.ppplot10, Catch My Earth.com,URL:

<http://homepage3.nifty.com/catchmyearth/jp/index.html>

- 2) 北海道室蘭土木現業所.2007.美々川自然再生計画書，第一章
- 3) 石神健司，井上和幸.1976.Metabolism of Nitrate and Methemoglobinemia in Ruminants. 帯広畜産大学研究報告，10: 45-55
- 4) 石井邦彦.1989.アカタラセミアマウスに一酸化窒素，二酸化窒素暴露時のメトヘモグロビン生成．岡山医学会雑誌,101 巻 5-6 号： 473-488
- 5) J.リロンデル，J-L. リロンデル,訳:越野正義.2006.硝酸塩は本当に危険か - 崩れた有害仮説と真実 - .第一版.65-125, 164-168.農文協.東京
- 6) Joanne Guay.2009.Methemoglobinemia Related to Local Anesthetics: A Summary of 242 Episodes. Anesth Analg.108(3):837-845
- 7) 環境省.2009.水質汚濁にかかわる環境基準について
- 8) 環境省.2012.平成 22 年度地下水質測定結果
- 9) 環境省.2012.平成 22 年度公共水域水質測定結果
- 10) 一澤麻子，宮木雅美，西川洋子.2000.美々川周辺地域の植生とその変化．北海道環境科学研究センター所報第 27 号： 69-74
- 11) 国土交通省.2007.健全な地下水の保全・利用に向けて
- 12) 小笹康人.2005.熊本県における地下水質の地域特性．全国環境

研会誌 30 巻 4 号： 31-37

- 13) 公害対策研究センター.2005.硝酸性窒素による地下水汚染対策の手引き
- 14) 小柳 渉, 安藤義昭, 和田富広.2007.土壌塩類集積を軽減する家畜ふん堆肥利用法. 北信越畜産学会報(94): 29-34
- 15) 松中照夫.2003.土壌学の基礎. 199-207.農文協.東京
- 16) 三上英敏, 高田雅之, 三島啓雄.2009.地下水硝酸汚染に係わる汚染源簡易判定の手順. 北海道環境科学研究センター所報(35): 27-34
- 17) 永田啓介.2011.卒業論文「美々川源流部湧水群における硝酸態窒素濃度の原因解明」
- 18) 中道厚之.2012.卒業論文「美々川源流部湧水群のイオン組成から見た地下水系の解析」
- 19) 西尾道徳.2005.農業と環境汚染—日本と世界の土壌環境政策と技術—. 109.農文協.東京.
- 20) 沖泰三, 鶴巻道二.1998.水質の図式解釈と多変量解析(その 2) 図式表現法と多変量解析の比較. 日本地下水理化学研究所論文収録集(第 6 集): 107-117
- 21) 柴田英昭.2004.大気—森林—河川系の窒素移動と循環. 地球環境 Vol.9 No.1: 75-82

- 22) 柴田英昭，戸田浩人，稲垣善之，舘野隆之輔，木庭啓介，福澤加里部.2010.森林源流域における窒素の生物地球化学過程と溪流水質の形成．地球環境 Vol.15 No.2: 133-143
- 23) 糟谷真宏，小竹美恵子，寺井久慈，松尾敬子，豊田一郎.1994.愛知県の農耕地および農村集落における地下水中硝酸イオン濃度とその支配因子．水環境学会誌第 17 巻第 9 号: 578-586
- 24) 高橋浩揮，丸岡昇，竹内亀代司，古西力.2006.美々川自然再生計画の取り組みについて．リバーフロント研究所報告，第 17 号
- 25) 田中淳子，今井博則，森山伸子，斎藤久子，堀米仁志，中村了正，滝田斎，田島静子.1996.未熟児・新生児 井戸水が原因で高度のメトヘモグロビン血症を呈した 1 新生児例．小児科臨床 49: 1661-1665
- 26) 谷川昇，古市徹，石井一英，清水心太.2007.アンケート調査による北海道の畜産農家における家畜排せつ物適正処理の現状分析．廃棄物学会論文誌，Vol.18, NO.6: 392-399
- 27) 戸田浩人.1994.森林土壌中における窒素無機化の反応速度論的解析(Ⅱ)土壌の含水率および pH の違いが窒素無機化過程に及ぼす影響．日本森林学会誌 76: 540-546
- 28) 鶴巻道二，沖泰三.1998.水質の図式解釈と多変量解析(その 1)

水質資料の取り扱いと図式表現．日本地下水理化学研究所論文収録集(第6集): 94-106

29) United States.1992.Surveillance for waterborne disease outbreaks

30) 渡邊泰平.2010.卒業論文「美々川流域における水質の現状～硝酸態窒素を中心とした水質の経年変化～」

31) 山谷知行.2001.代謝. 53-58. 朝倉書店. 東京

32) 余湖典昭.2008.窒素安定同位体比による美々川の硝酸態窒素汚染源に関する研究．北海道河川防災研究センター紀要(XIX), 14: 1-12

33) 財団法人日本野鳥の会.2006.ウトナイ湖・勇払原野保全構想報告書



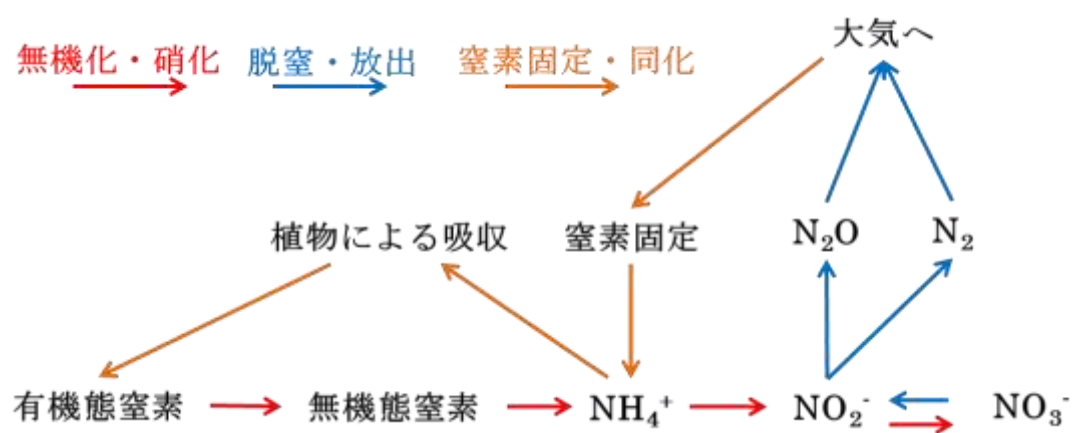


図 1 環境中における窒素循環の模式図.

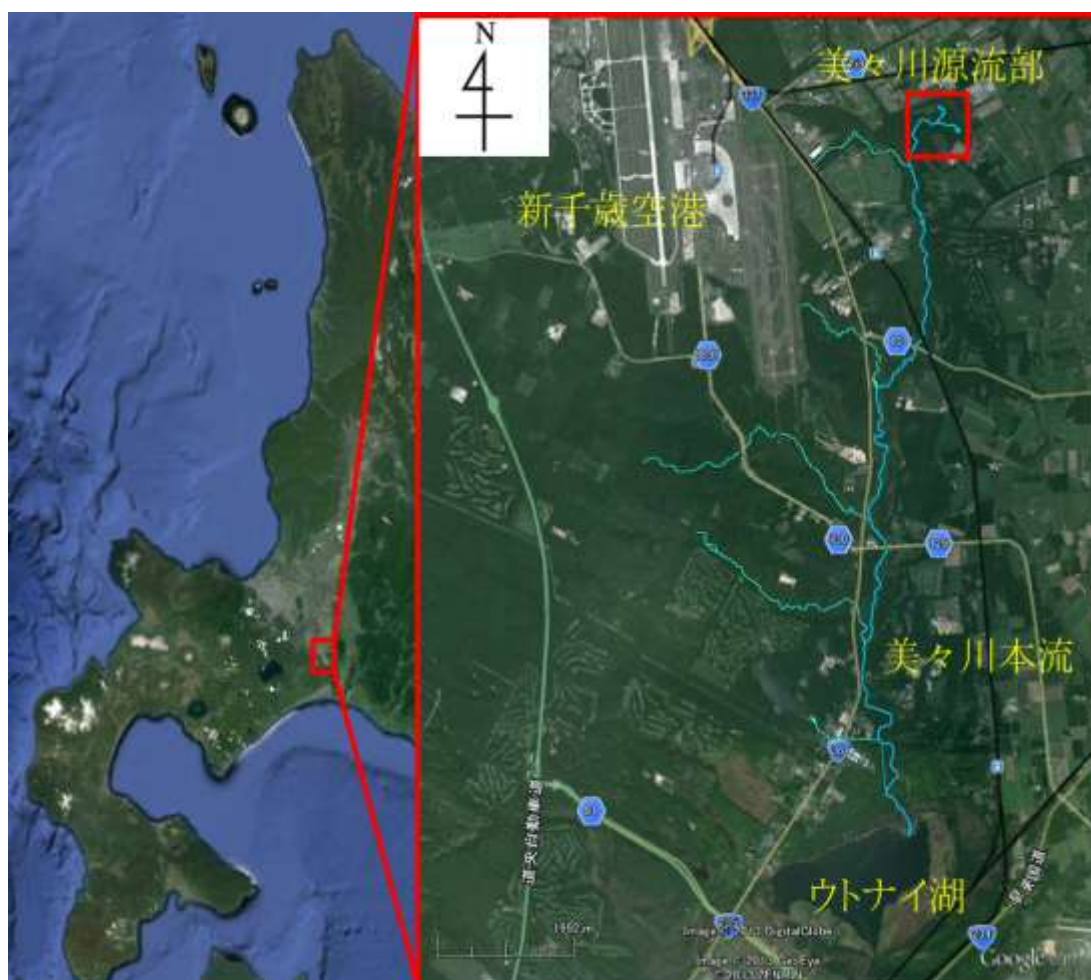


図 2 美々川の位置.

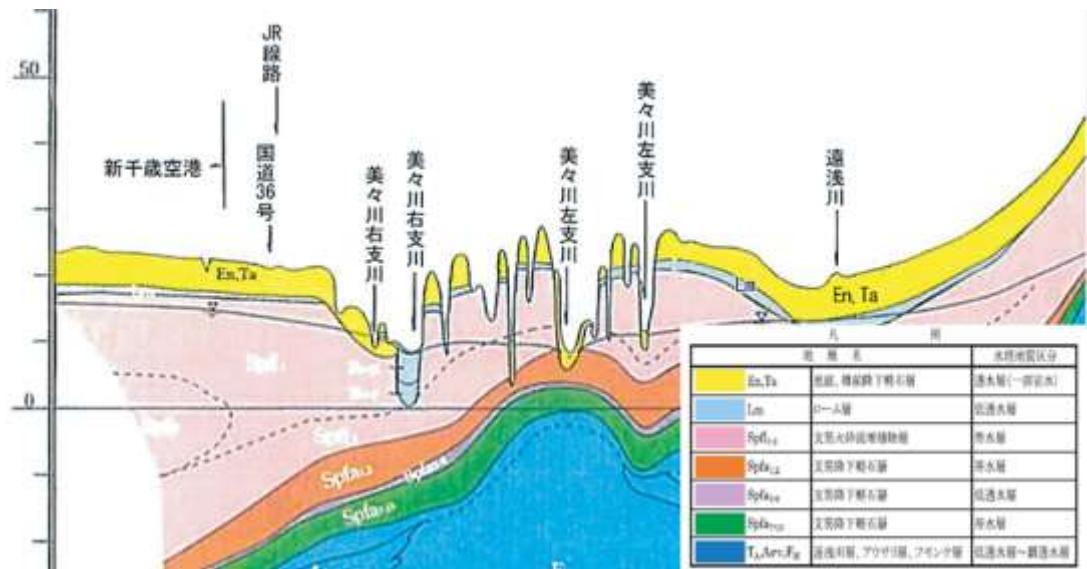


図 3 美々川周辺の地質断面図 19)。

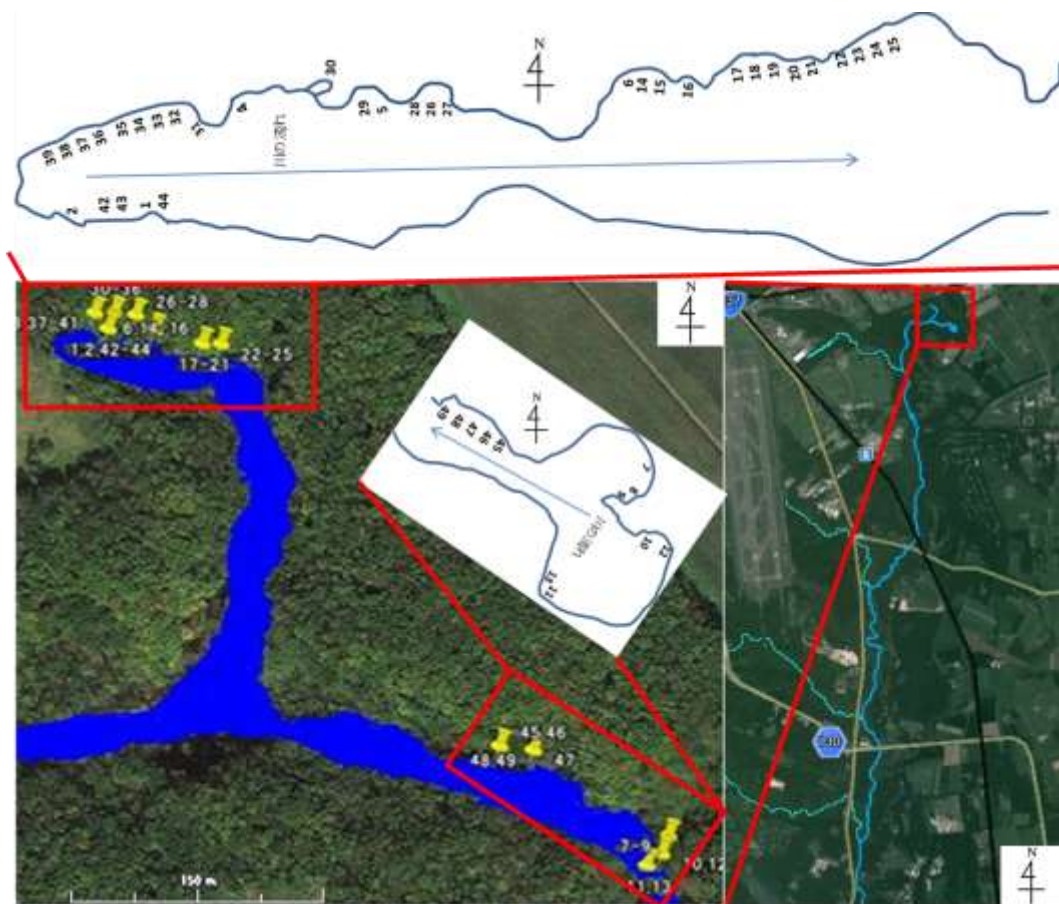


図 4 美々川源流部の試料採取地点。

表 1 各種項目の測定機器.

測定項目	測定機器	測定方法
水温	TOX-999	接触式水温計
D O	東興科学研究所	隔膜電極法
EC	WM-32EP	電気伝導度法
pH	東亜ディーケーケー	ガラス電極法
ORP	RM-30P 東亜ディーケーケー	白金電極法

表 2 陽および陰イオンクロマトグラフィーの分析条件.

項目	陽イオン	陰イオン
本体	PIA-1000 島津製作所	IC-20 DIONEX
カラム	TSKgel SUPER-I/C 東ソー株式会社	IonPaC AS4A-SC DIONEX
オープン温度	40℃	35℃
流速	0.8 mL/min	1.5 mL/min
サプレッサー	なし	50 mA
溶離液	2 mmol/L HNO <sub>3</sub> 15 mmol/L 18-crown-6 ether	1.8 mmol/L Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> 1.7 mmol/L NaHCO <sub>3</sub>

表 3 予備実験にて使用された地点の基礎データ.

地点NO.	pH	D O mg/L	EC mS/m	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mgN/L	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> mgN/L	備考
2	-	4.19	19.6	9.09	0.00	地点2のpHは器具破損により測定なし DO、ECの値は中間位、周辺植物多数
9	6.24	7.71	17.5	13.1	0.00	ヨコエビ多数
11	6.39	8.74	15.1	8.71	0.00	DO高・EC低
14	6.32	5.78	22.8	14.0	0.00	DO、ECの値は中間位
28	5.81	0.09	34.5	13.8	9.14	DO低い・EC高い、植物なし

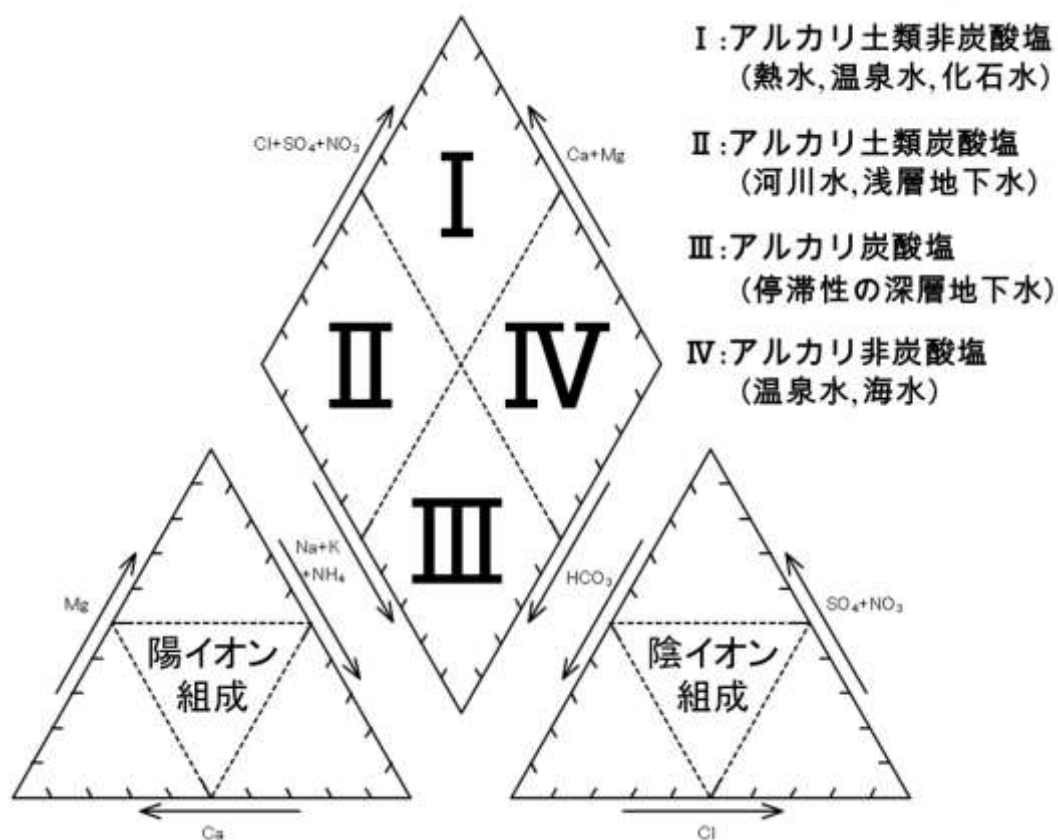


図 5 トリリニアダイアグラムにおける分類例.

I 型と III 型 の 中間 に V 型 として 中間 型 を 置く 場合 も ある .





表 4-1 現地測定項目及び各種水質項目と、最大(max)、最少(min)、平均(ave)標準誤差(se).

地点名	EC mS/m	pH	ORP mV	DO mg/L	Cl <sup>-</sup> mg/L	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg/L	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> mg/L	Na <sup>+</sup> mg/L	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> mg/L	K <sup>+</sup> mg/L	Mg <sup>2+</sup> mg/L	Ca <sup>2+</sup> mg/L	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> μg/L	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mmol/L	全窒素 mgN/L	COD Omg/L	BOD mg/L	ionN %	備考欄
	n=49	n=49	n=49	n=49	n=49	n=49	n=49	n=49	n=49	n=49	n=49	n=49	n=49	n=49	n=49	n=35	n=35	n=49	
1	17.2	6.25	286	4.81	11.5	48.3	17.7	7.07	0.00	4.96	4.77	25.5	0.751	0.72	11.02	3.81	6.56	99.0	
2	20.3	6.29	272	4.55	15.0	44.9	16.9	8.09	0.00	4.70	5.42	27.9	0.751	0.99	10.80	0.98	5.80	93.8	
3	20.0	6.02	285	1.93	13.2	67.4	15.9	7.20	0.00	7.87	4.52	26.1	0.536	0.82	15.83	1.08	5.88	96.2	
4	34.9	6.34	253	0.920	17.9	35.9	17.8	9.94	18.2	16.6	8.35	41.4	30.8	3.32	22.94	2.87	7.58	97.1	ピンク
5	34.2	6.23	276	0.430	14.5	70.3	23.4	8.70	18.2	19.8	7.63	35.4	42.7	2.40	30.46	3.03	7.28	98.6	ピンク
6	32.8	5.95	320	0.670	13.0	70.6	24.2	7.76	23.7	21.4	6.46	25.4	12.8	2.11	34.01	2.12	9.23	101	ピンク
7	17.9	6.26	295	7.87	10.1	54.2	18.6	6.34	0.0424	4.39	5.17	26.8	2.79	0.70	12.98	n.m.	n.m.	94.6	
8	18.9	6.37	292	7.43	11.7	58.0	17.7	6.32	0.00	4.31	5.42	27.5	1.61	0.89	13.85	n.m.	n.m.	94.6	
9	18.3	6.55	286	6.76	10.4	55.8	17.6	6.28	0.00	3.85	5.53	25.2	3.32	0.58	13.43	n.m.	n.m.	93.7	
10	17.1	5.77	277	8.10	10.9	59.3	17.5	6.35	0.00	4.21	5.44	26.8	0.536	0.75	14.03	n.m.	n.m.	95.4	
11	15.0	6.29	286	7.37	9.11	33.9	18.6	5.88	0.00	4.07	4.92	20.3	0.751	0.66	8.32	n.m.	n.m.	91.9	
12	19.4	5.94	275	5.84	13.0	51.1	15.9	7.32	0.00	4.37	6.46	26.7	0.536	0.96	12.11	n.m.	n.m.	95.4	
13	18.4	6.15	284	7.37	10.5	53.7	18.7	6.14	0.00	3.93	5.85	25.9	0.751	0.41	16.13	n.m.	n.m.	75.1	
14	30.2	6.25	315	0.950	13.4	95.2	26.1	7.81	9.40	12.0	7.03	28.3	33.1	0.95	28.07	1.24	8.80	103	
15	27.5	5.95	345	0.690	14.9	107	24.2	8.70	2.46	8.42	8.58	35.4	3.75	0.81	25.15	0.69	7.26	103	
16	28.4	6.35	347	1.52	15.5	118	25.2	8.96	0.00	7.87	8.91	38.9	0.214	0.75	25.77	0.32	7.08	104	
17	23.6	5.93	324	4.80	12.6	61.9	18.2	12.1	0.00	5.54	7.30	29.5	0.751	1.38	14.35	2.28	7.24	97.5	
18	24.8	6.45	318	5.01	13.4	52.2	16.4	16.6	0.00	6.54	6.35	25.8	3.97	1.65	12.10	1.97	9.27	97.5	
19	24.2	6.34	322	4.61	13.4	52.0	17.3	14.5	0.00	6.56	6.60	27.2	6.11	1.48	14.95	2.26	8.45	78.6	
20	22.1	6.14	323	5.19	13.4	57.7	18.3	9.14	0.0788	5.46	6.84	28.0	2.68	1.08	14.21	n.m.	n.m.	92.1	
21	21.9	6.17	322	5.08	12.9	64.2	17.1	9.07	0.00	4.98	7.05	29.1	0.536	0.95	12.09	n.m.	n.m.	120	
22	21.4	6.38	304	5.86	11.9	60.2	14.5	11.9	0.00	5.40	6.15	25.9	2.36	1.17	13.66	0.01	7.10	99.5	
23	21.7	6.41	299	5.55	10.9	55.1	12.9	14.0	0.00	5.61	5.67	23.5	1.07	1.31	12.74	1.75	8.74	97.7	
24	22.5	6.60	298	5.90	10.9	55.7	12.7	14.6	0.00	5.54	5.64	23.4	1.18	1.37	13.31	1.30	8.68	94.4	
25	22.3	6.47	301	5.66	10.3	61.4	15.2	12.9	0.00	5.50	5.87	24.7	2.14	1.20	14.21	0.81	6.03	97.6	
26	33.3	6.21	290	1.28	13.7	67.5	25.7	7.89	21.0	22.4	6.35	29.2	5.68	2.07	32.09	2.95	7.94	98.4	ピンク
27	33.8	6.30	282	0.970	13.4	64.7	24.4	7.82	23.7	21.9	6.08	26.8	9.11	2.15	33.47	2.48	9.14	98.6	ピンク

表 4-2 現地測定項目及び各種水質項目(続き)

pH	ORP mV	DO mg/L	Cl <sup>-</sup> mg/L	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg/L	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> mg/L	Na <sup>+</sup> mg/L	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> mg/L	K <sup>+</sup> mg/L	Mg <sup>2+</sup> mg/L	Ca <sup>2+</sup> mg/L	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> μg/L	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mmol/L	全窒素 mgN/L	COD Omg/L	BOD mg/L	ionN %	備考欄
n=49	n=49	n=49	n=49	n=49	n=49	n=49	n=49	n=49	n=49	n=49	n=49	n=49	n=49	n=35	n=35	n=49	
6.27	279	1.06	13.6	72.9	26.0	8.19	16.5	20.9	6.66	31.0	19.3	1.87	27.35	2.52	7.34	107	
6.23	276	1.01	16.7	73.7	22.4	9.56	22.1	19.5	7.76	37.3	19.5	2.52	34.13	3.34	7.91	99.0	ピンク
6.45	267	0.310	17.0	67.3	23.1	9.49	20.8	16.9	7.55	36.5	12.1	2.40	26.94	3.15	6.11	116	
6.38	248	0.450	15.0	57.3	19.9	8.69	16.5	17.4	8.08	37.2	14.0	2.47	23.15	3.52	4.95	111	
6.35	251	0.970	12.8	61.7	16.1	7.90	13.3	12.8	6.23	32.4	33.1	1.84	24.80	3.68	5.57	97.9	ピンク
6.40	251	0.380	12.8	54.9	16.1	7.88	13.7	11.8	6.34	33.2	10.8	1.95	23.23	1.80	5.77	99.1	
6.74	257	0.210	13.0	49.4	16.2	7.77	12.4	10.8	6.05	32.2	27.6	1.92	21.09	2.13	4.58	98.6	
6.24	256	0.510	12.2	44.3	15.8	7.61	12.1	10.7	6.22	31.6	69.3	1.39	19.70	4.46	3.97	98.6	
6.26	262	0.370	11.8	46.3	15.7	7.60	8.67	9.73	5.91	30.3	19.9	1.97	17.87	1.82	7.66	96.3	
6.14	274	1.93	10.6	57.3	15.0	7.06	0.102	5.99	5.09	27.0	1.50	0.85	13.60	1.60	7.33	95.8	
6.34	258	4.78	10.9	56.3	14.8	6.89	0.00	5.33	4.67	25.2	1.18	0.70	13.15	0.74	6.44	96.7	
6.11	272	4.53	10.9	52.5	14.1	6.68	0.00	5.09	4.02	22.4	3.22	0.52	12.74	1.90	7.52	93.1	
6.12	276	3.93	11.0	55.2	14.2	6.61	0.00	5.56	3.93	22.2	2.25	0.52	14.02	5.08	5.63	89.0	
6.03	276	5.68	11.6	43.0	17.2	6.47	0.00	5.13	4.32	23.9	1.72	0.70	10.49	0.45	6.07	92.6	
6.25	276	3.63	15.7	43.8	16.9	8.58	0.00	4.82	5.77	28.5	1.50	1.04	10.84	0.74	6.83	91.3	
6.20	281	5.15	15.0	49.7	18.2	7.52	0.00	4.69	5.08	27.4	3.32	0.73	12.17	0.80	7.21	92.3	
6.35	273	3.79	12.4	46.8	17.5	6.88	0.00	7.31	4.48	23.5	1.93	0.64	11.49	1.56	7.74	92.1	
6.33	299	7.11	10.9	65.2	15.8	6.39	0.00	4.09	6.10	26.2	1.50	0.51	15.51	n.m.	n.m.	95.0	
5.97	302	7.47	10.7	64.7	16.2	6.33	0.0121	4.07	5.98	26.7	5.15	0.57	15.40	n.m.	n.m.	94.9	
6.52	307	7.25	9.3	64.3	14.5	5.64	0.00	5.01	4.89	23.3	1.07	0.60	15.38	n.m.	n.m.	94.5	
6.46	301	7.08	10.1	63.3	16.0	6.22	0.00	4.07	5.81	25.5	1.18	0.62	14.77	n.m.	n.m.	96.7	
6.27	305	7.12	10.2	62.9	15.7	6.23	0.00	3.88	5.69	23.7	2.36	0.43	15.82	n.m.	n.m.	89.8	
6.74	347	8.10	17.9	118	26.1	16.6	23.7	22.4	8.91	41.4	69.27	3.32	34.13	5.08	9.27	119.88	
5.77	248	0.210	9.11	33.9	12.7	5.64	0.00	3.85	3.93	20.3	0.21	0.41	8.32	0.01	3.97	75.13	
6.26	288	3.92	12.6	59.8	18.1	8.40	5.17	8.64	6.06	28.2	8.67	1.22	17.87	2.04	7.03	96.85	
0.03	347	0.385	0.30	2.20	0.52	0.36	1.18	0.84	0.17	0.680	1.97	0.10	1.03	0.20	0.22	1.21	

n.m.は未測定を示す。

検出限界値未満となったNH<sub>4</sub><sup>+</sup>の濃度は0.00とする。

備考欄においてピンクと表記している地点は、試料分解の際に試料がピンク色を呈した地点を指す。

表 5 2 変量間の相関係数表.

	EC	pH	ORP	DO	Cl <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Na <sup>+</sup>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	全窒素	ionN	COD	BOD
EC																		
pH	0.150																	
ORP	-0.122	-0.172																
DO	-0.821**	-0.057	0.290*															
Cl <sup>-</sup>	0.730**	-0.030	-0.096	-0.663**														
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0.369**	-0.136	0.587**	-0.292*	0.235													
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	0.672**	-0.184	0.240	-0.507**	0.531**	0.608**												
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	0.570**	0.127	-0.391**	-0.617**	0.322*	-0.000	0.238											
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0.887**	0.212	-0.338*	-0.711**	0.652**	-0.033	0.379**	0.548**										
Na <sup>+</sup>	0.293*	0.271	0.318*	-0.099	0.266	0.028	-0.093	-0.007	0.384**									
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0.904**	0.090	-0.357*	-0.767**	0.549**	0.150	0.612**	0.612**	0.857**	0.001								
K <sup>+</sup>	0.914**	0.042	-0.246	-0.787**	0.575**	0.256	0.698**	0.539**	0.831**	0.068	0.965**							
Mg <sup>2+</sup>	0.742**	0.016	0.277	-0.494**	0.673**	0.546**	0.582**	0.350*	0.594**	0.353*	0.482**	0.496**						
Ca <sup>2+</sup>	0.769**	0.063	-0.160	-0.684**	0.796**	0.365**	0.493**	0.510**	0.682**	0.120	0.595**	0.574*	0.835**					
全窒素	0.894**	-0.003	-0.032	-0.746**	0.529**	0.551**	0.768**	0.517**	0.684**	-0.001	0.894**	0.911**	0.613**	0.624**				
ionN	0.527**	0.081	0.015	-0.462**	0.388**	0.391**	0.373**	0.214	0.400**	0.096	0.427**	0.437**	0.484**	0.487**	0.399**			
COD	0.390*	0.045	-0.457**	-0.438**	0.086	-0.195	0.095	0.522**	0.452**	-0.137	0.527**	0.480**	0.033	0.223	0.367*	0.016		
BOD	0.152	-0.080	0.451**	0.121	0.009	0.211	0.280	-0.255	0.133	0.413*	0.086	0.195	0.096	-0.218	0.208	-0.151	-0.165	

\*\*=p<0.01 \*=p<0.05



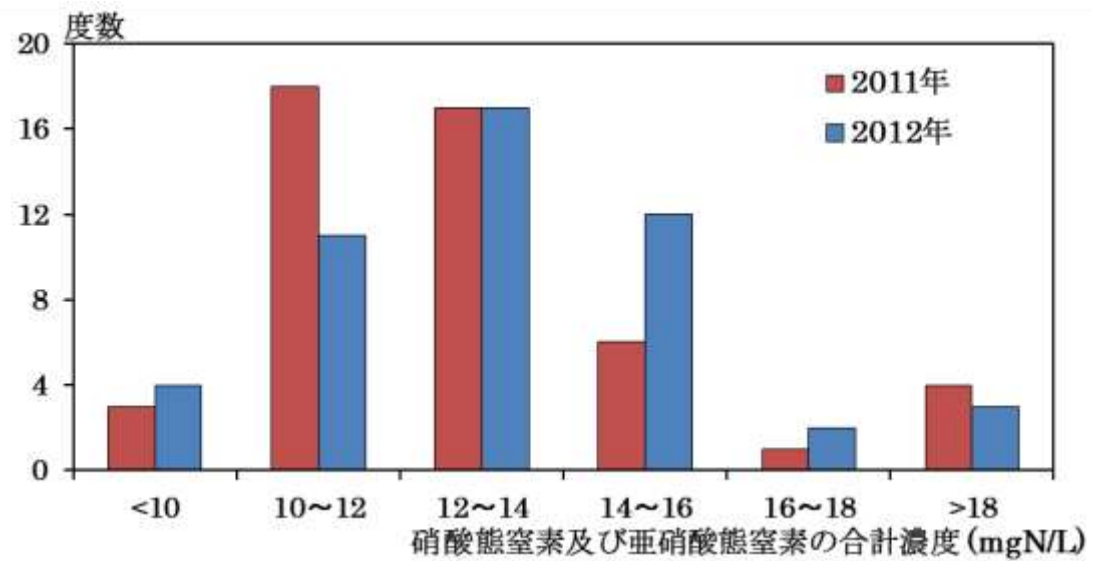


図 7 硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素の合計した濃度のヒストグラム  
( $n=49$ ).

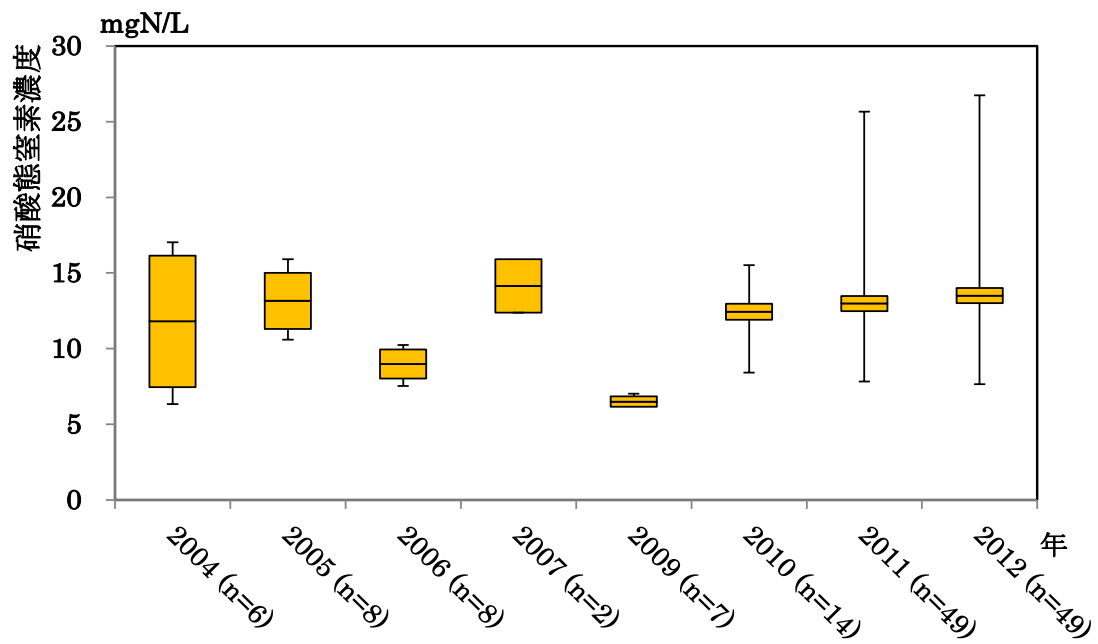


図 8 美々川源流部湧水における 2004 年度から 2012 年度にかける  
硝酸態窒素濃度の推移. 2004 年から 2009 年のデータは年平均  
を利用している (15)(16)(25).

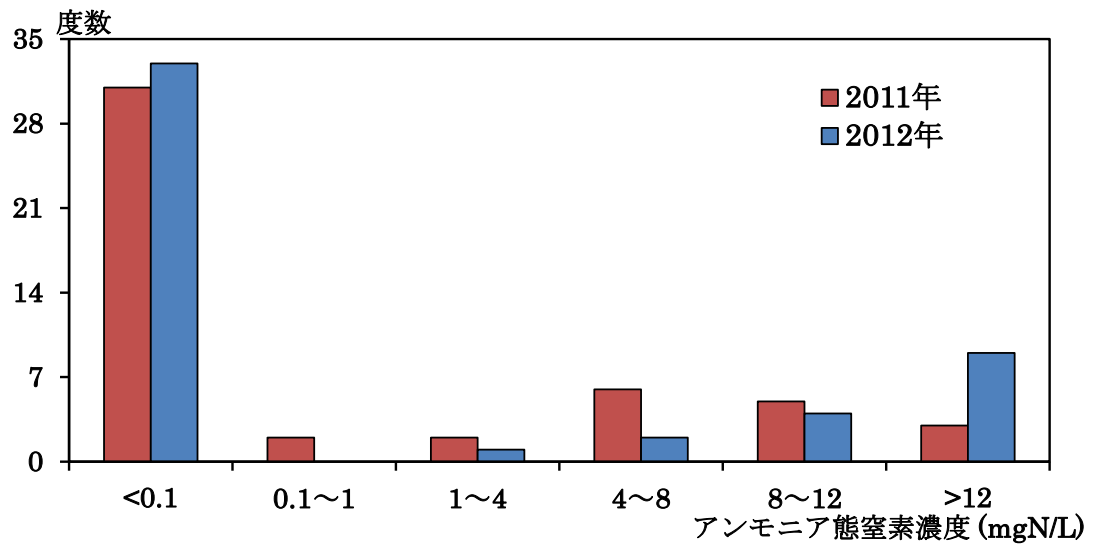


図 9 アンモニア態窒素濃度のヒストグラム ( $n=49$ ).

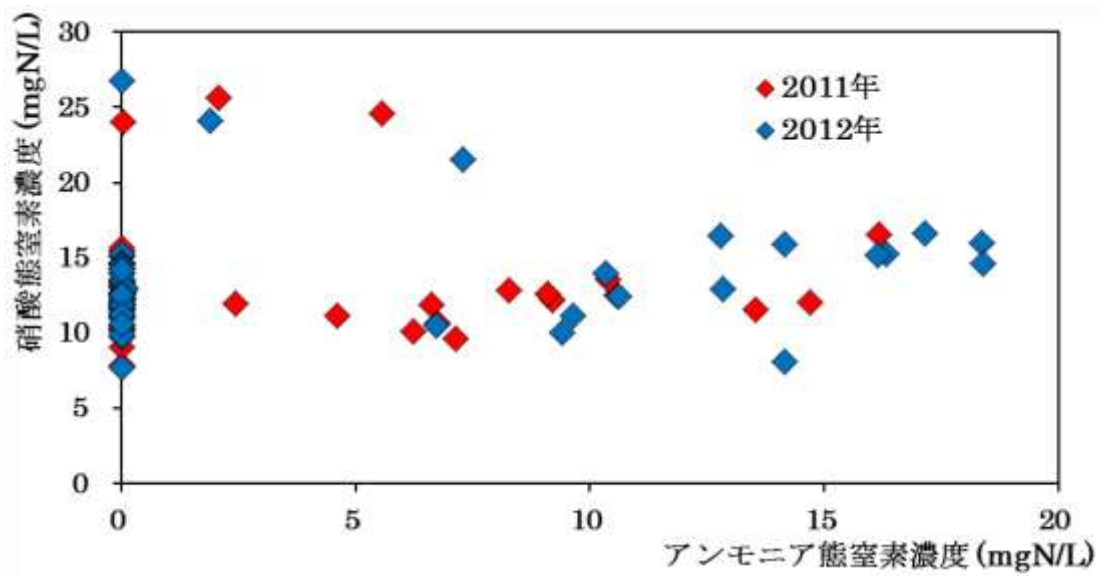


図 10 硝酸およびアンモニア態窒素濃度の分布図.

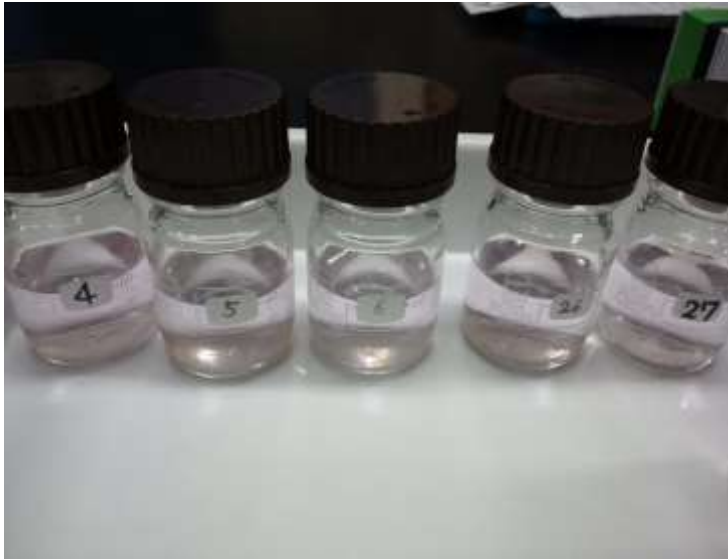


写真 1 ペルオキシ二硫酸カリウム分解法でピンク色を呈した試料.

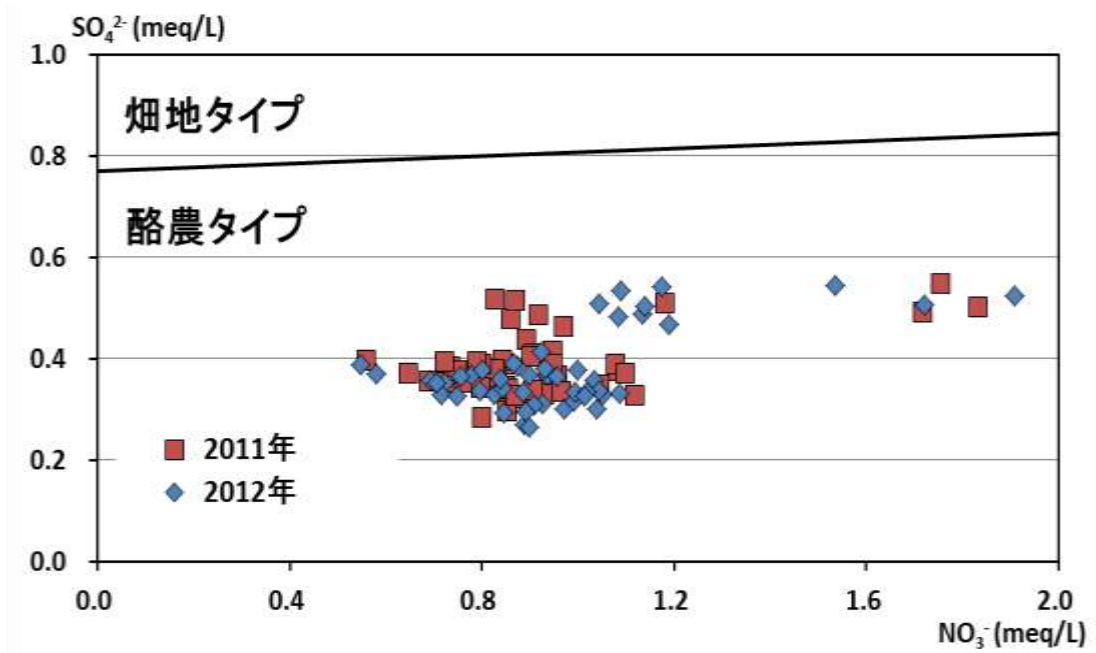


図 11 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>と SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>濃度の散布図.

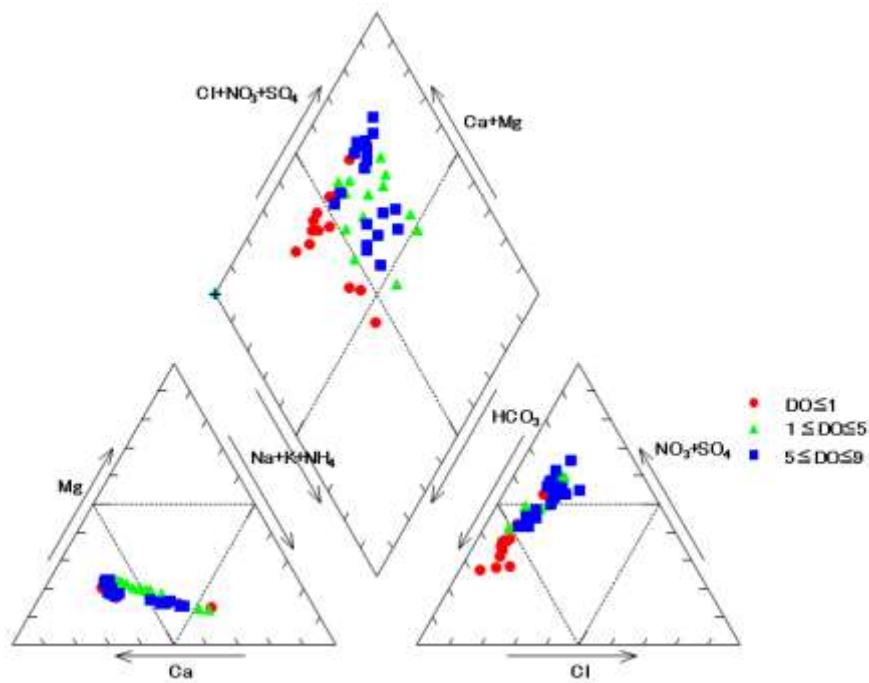


図 12 イオン組成から作成したトリリニアダイアグラム(2012 年).

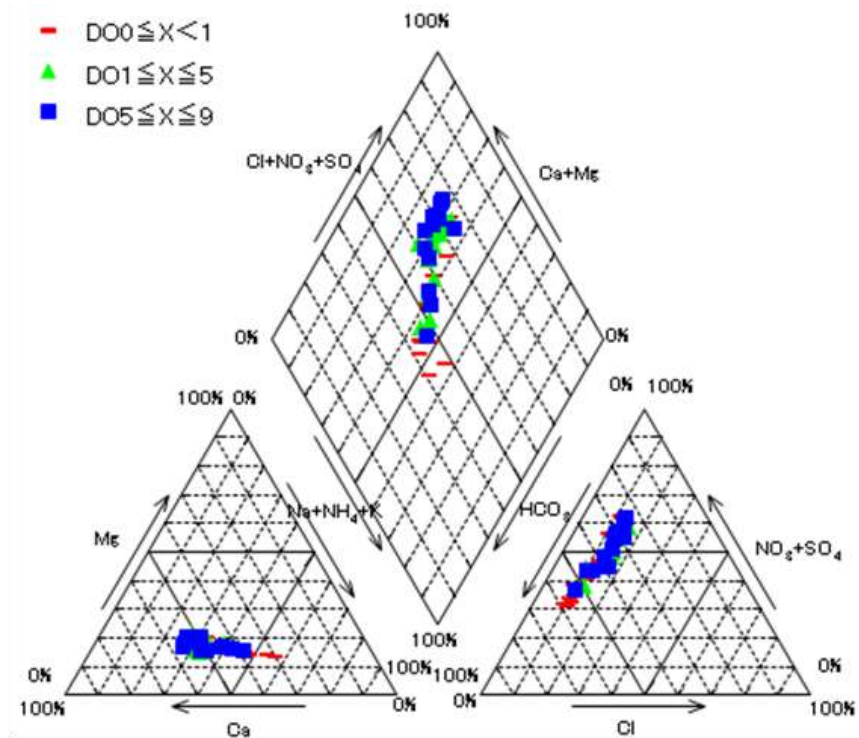


図 13 イオン組成から作成したトリリニアダイアグラム(2011 年).



表 6 主成分分析の各項目における成分得点.

項目	成分得点		
	FAC1	FAC2	FAC3
EC	.983	-.022	.095
K <sup>+</sup>	.909	-.154	-.184
TN	.901	.103	-.257
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	.897	-.278	-.189
DO	-.856	.169	.074
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	.852	-.334	.263
Ca <sup>2+</sup>	.829	.047	.127
Cl <sup>-</sup>	.767	.060	.186
Mg <sup>2+</sup>	.763	.404	.278
SO <sub>4</sub> <sup>2+</sup>	.709	.428	-.352
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	.609	-.417	-.081
ionN	.564	.184	.075
ORP	-.139	.899	.192
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	.408	.792	-.157
Na <sup>+</sup>	.184	.148	.865
pH	.077	-.324	.553
寄与率	50.9%	14.8%	10%

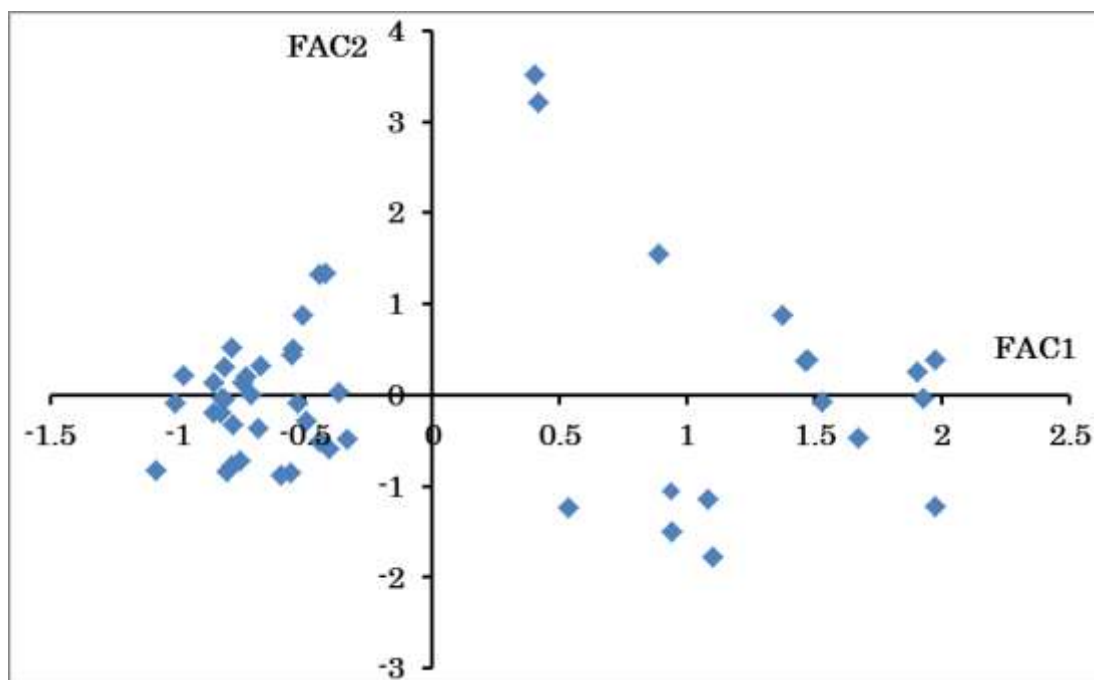


図 15 FAC1 と FAC2 の散布図.

表 7 グループ 1 の各地点における主成分分析の結果.

サンプル名	FAC1	FAC2	FAC3
46	-0.786	0.506	-1.011
48	-0.854	0.132	-0.132
45	-0.812	0.306	-0.302
47	-1.006	-0.090	-0.310
49	-0.973	0.205	-0.625
7	-0.822	-0.046	-0.639
8	-0.709	-0.005	-0.278
23	-0.812	-0.056	1.880
24	-0.827	-0.195	2.352
22	-0.673	0.315	1.421
25	-0.729	0.199	1.537
17	-0.441	1.317	0.730
20	-0.506	0.867	0.368
18	-0.544	0.502	2.789
19	-0.547	0.434	1.908
21	-0.419	1.328	0.630
2	-0.401	-0.596	0.349
44	-0.553	-0.854	-0.394
41	-0.754	-0.727	-1.015
42	-0.333	-0.487	0.487
11	-1.081	-0.828	-0.719
9	-0.780	-0.326	-0.100
43	-0.494	-0.295	-0.223
1	-0.682	-0.375	-0.406
12	-0.523	-0.097	-0.435
39	-0.804	-0.851	-0.924
37	-0.442	-0.511	-0.588
40	-0.787	-0.783	-1.036
10	-0.741	0.127	-1.472
3	-0.365	0.027	-0.956
13	-0.858	-0.196	-1.064



表 8 グループ 2 の各地点における主成分分析の結果.

サンプル名	FAC1	FAC2	FAC3
15	0.419	3.207	-0.593
16	0.406	3.508	0.294
6	1.380	0.866	-1.479
14	0.891	1.543	-0.985

表 9 グループ 3 の各地点における主成分分析の結果.

サンプル名	FAC1	FAC2	FAC3
26	1.466	0.370	-0.990
27	1.534	-0.078	-0.925
5	1.930	-0.042	-0.272
29	1.979	0.374	0.122
28	1.477	0.380	-0.733
30	1.905	0.254	0.800
32	1.086	-1.154	-0.019
33	0.938	-1.054	0.278
31	1.676	-0.478	0.733
34	0.943	-1.508	0.902
35	1.103	-1.784	-0.235
36	0.537	-1.240	0.005
4	1.980	-1.232	1.641
38	-0.592	-0.885	-0.361

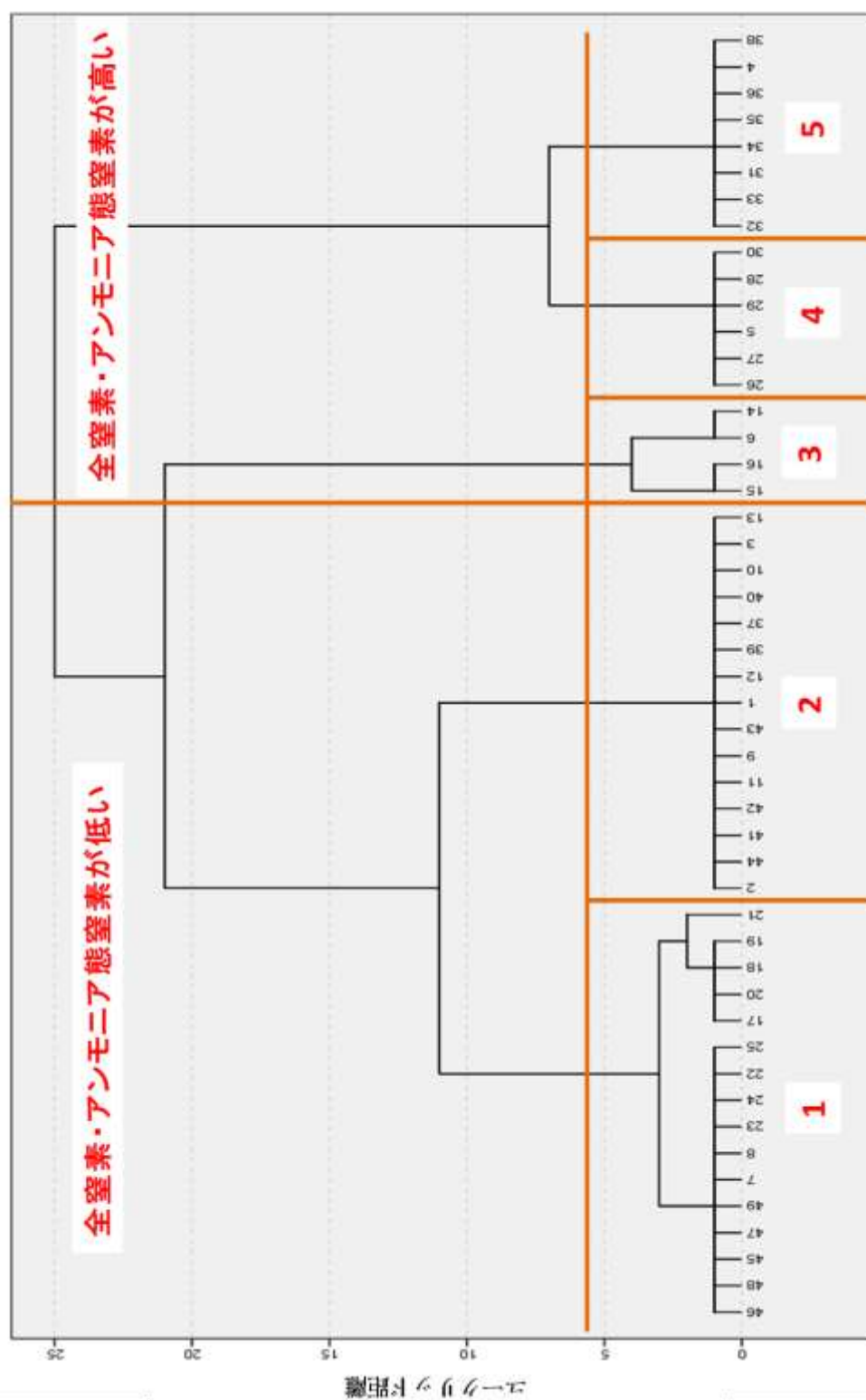


図 16 主成分分析の結果から分類しなおされたデンドログラム.

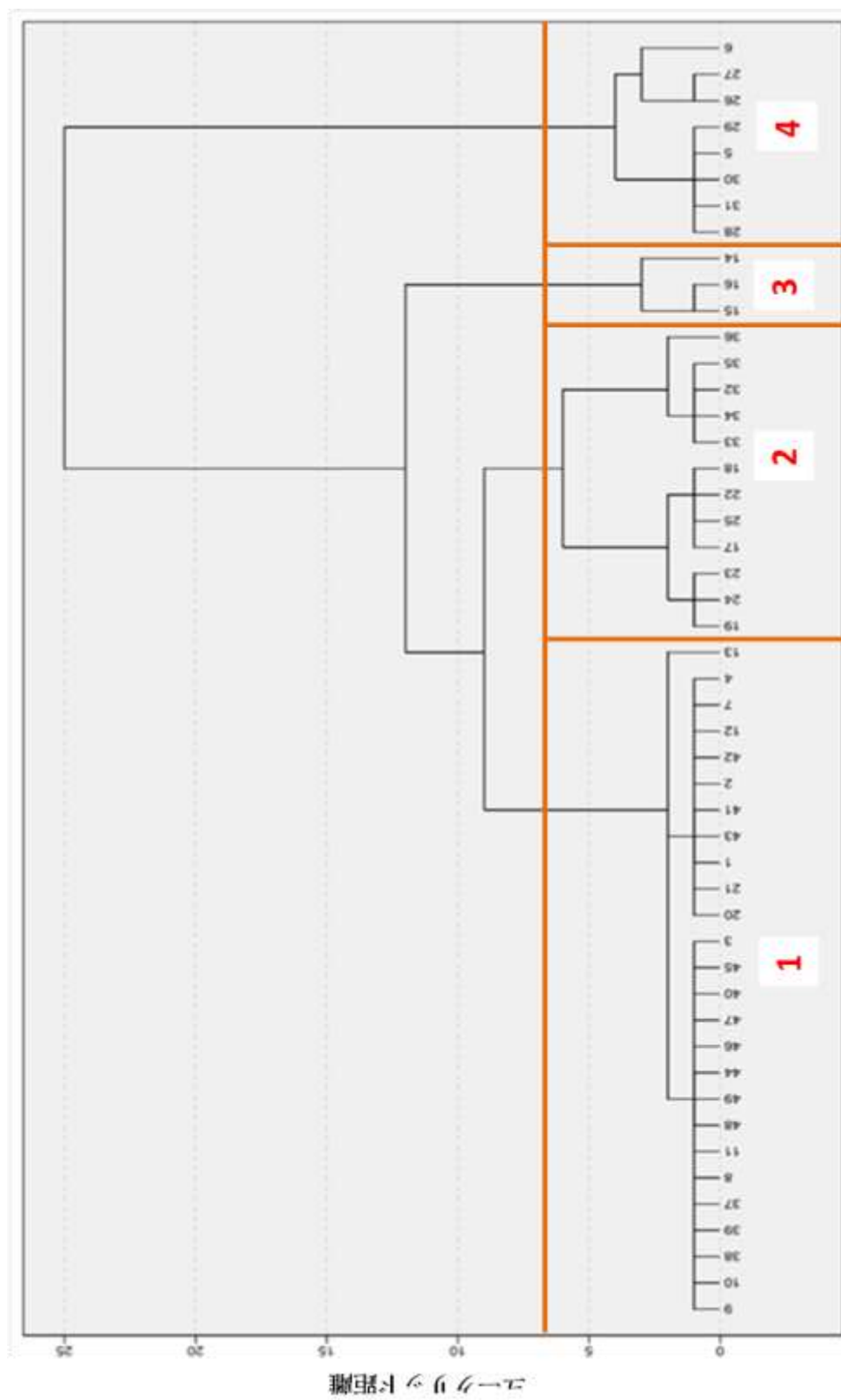


図 17 クラスタ解析の結果 (2011 年).

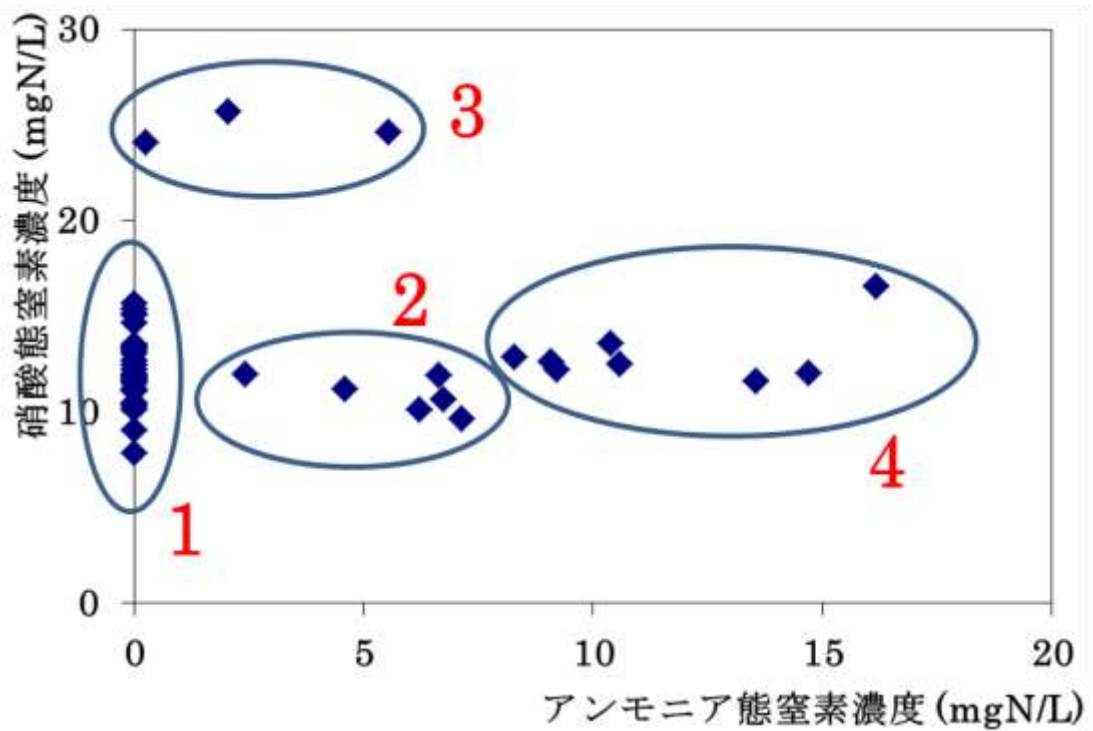


図 18 アンモニア態窒素濃度および硝酸態窒素濃度の分布(2011 年).

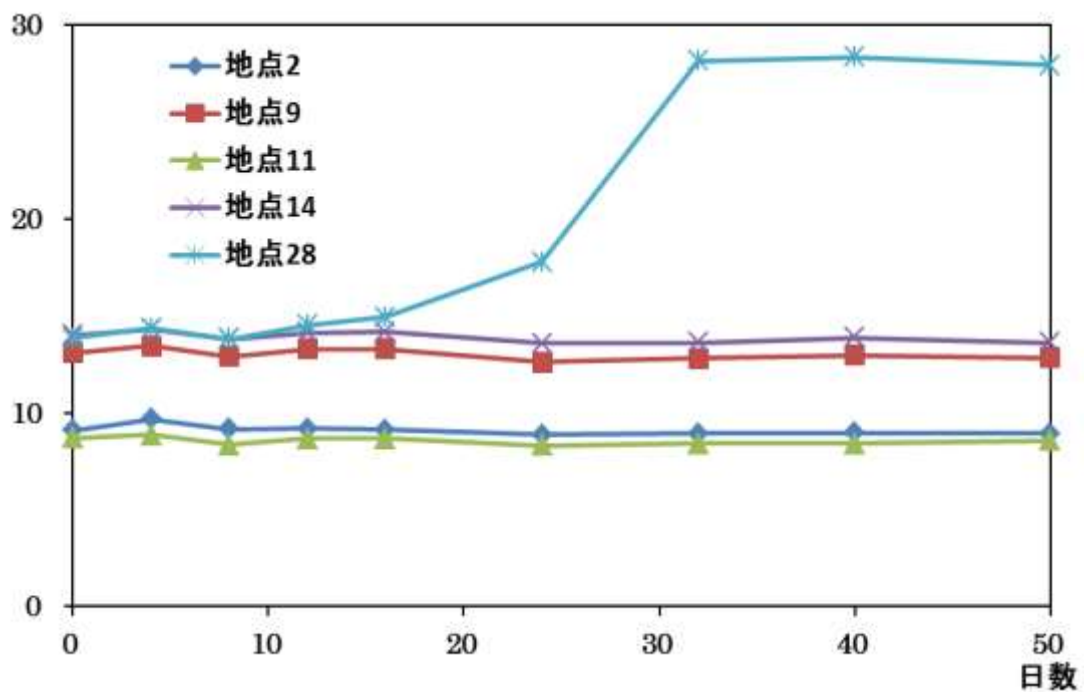


図 19 酸素供給のある条件下における硝酸態窒素濃度の推移.

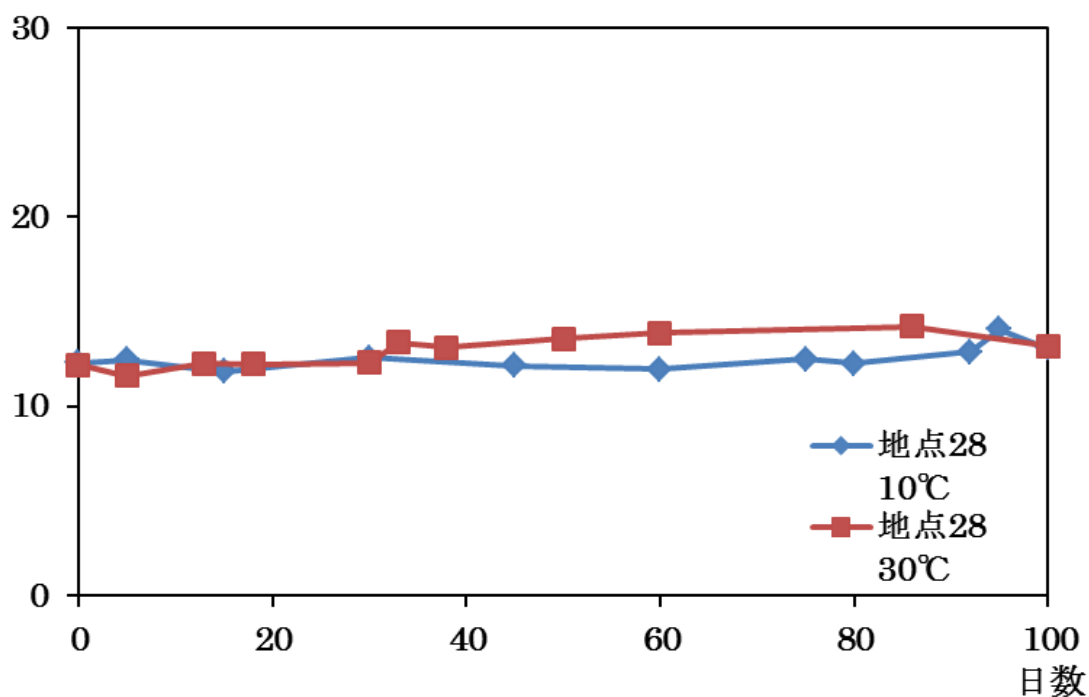


図 20 酸素供給のない条件下における硝酸態窒素濃度の推移.

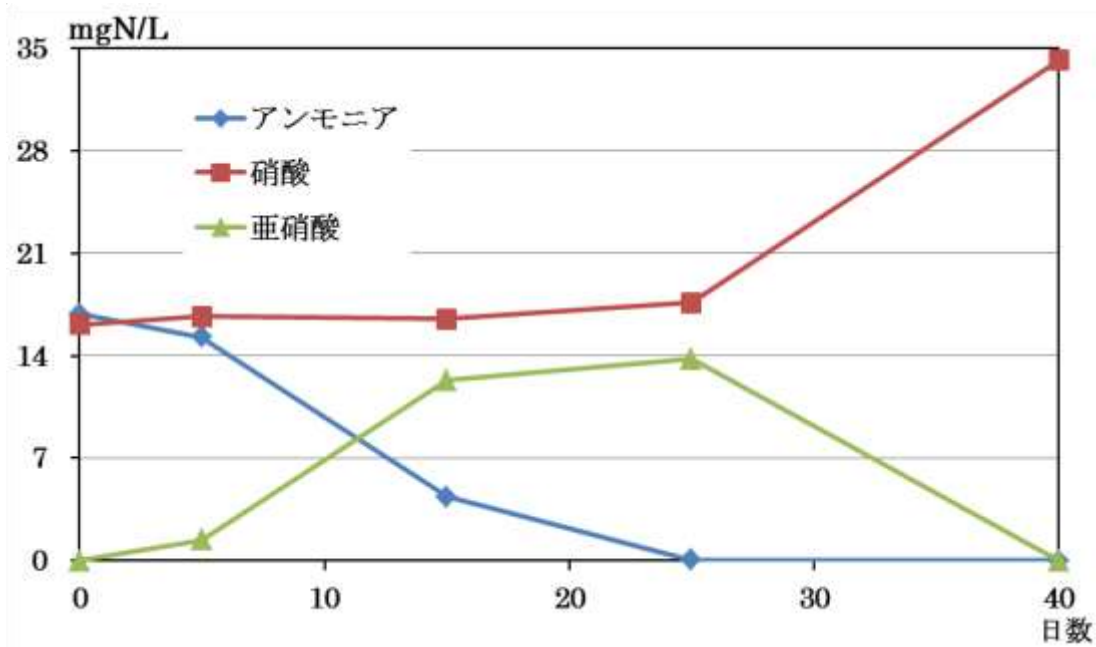


図 21 地点 29 試料における培養期間中の無機態窒素濃度の変化.

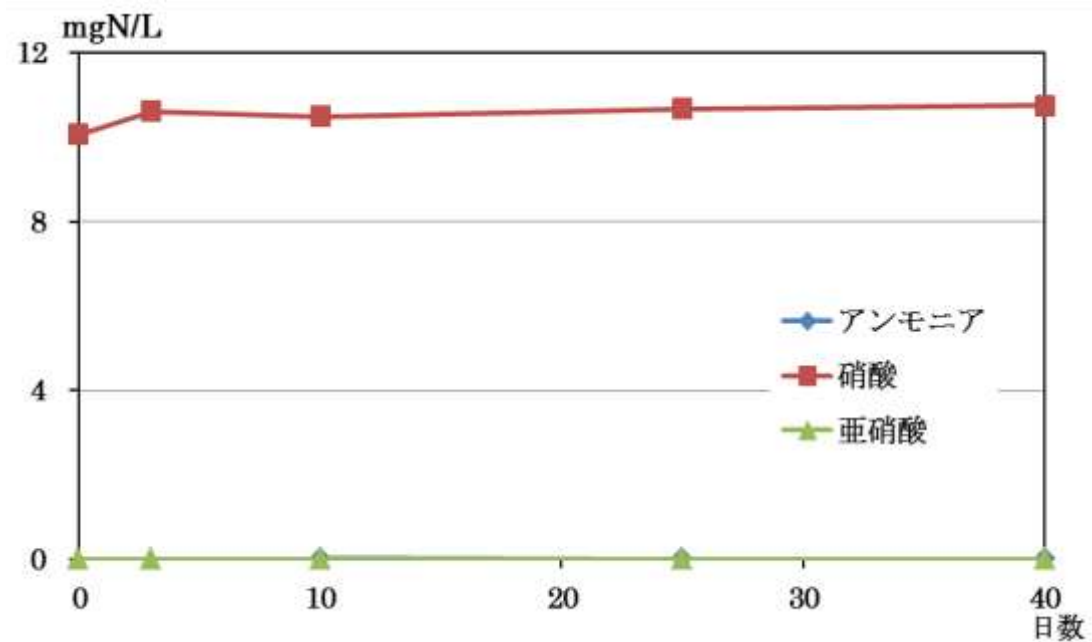


図 22 地点 42 試料における培養期間中の無機態窒素濃度の変化。

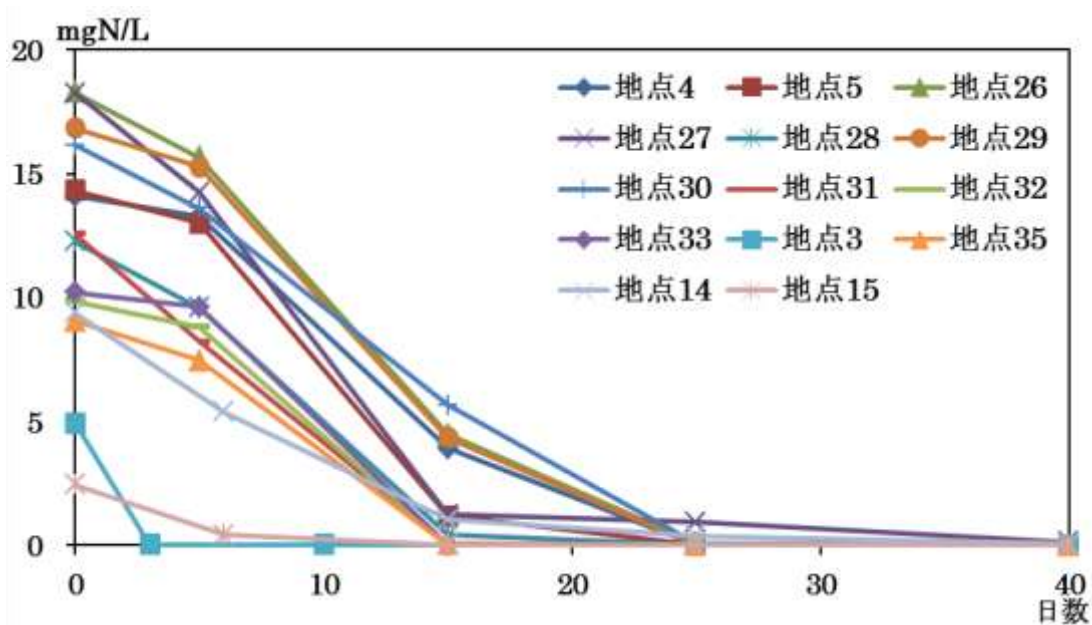


図 23 速やかに硝化反応の進んだ地におけるアンモニア態窒素濃度の推移。

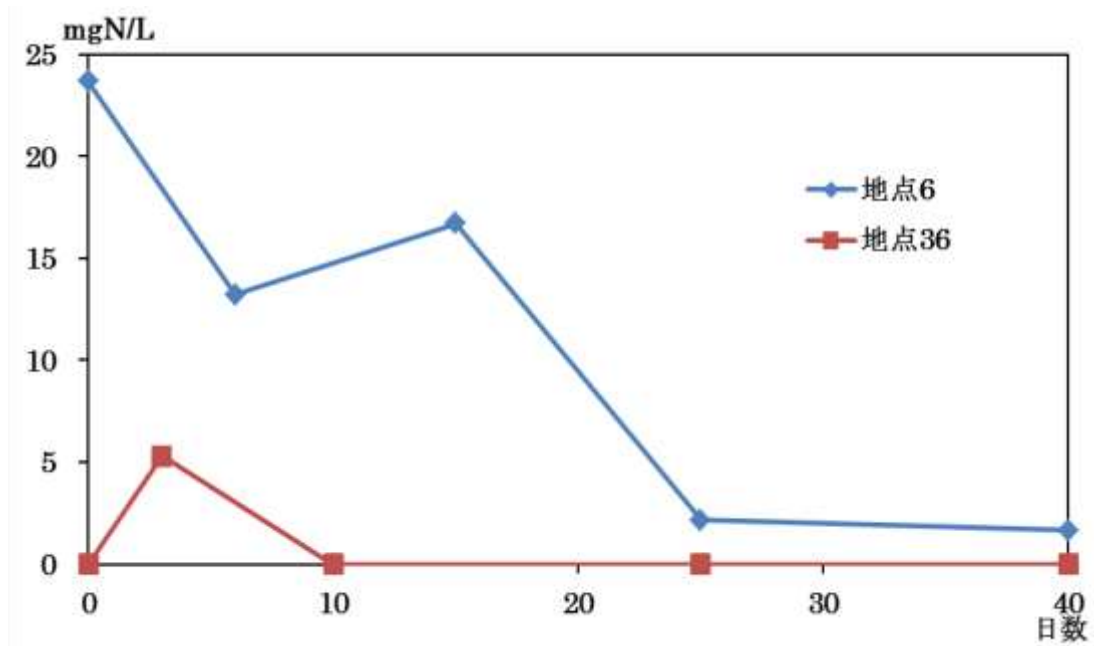


図 24 緩やかなアンモニア態窒素の減少が見られた地点の推移.

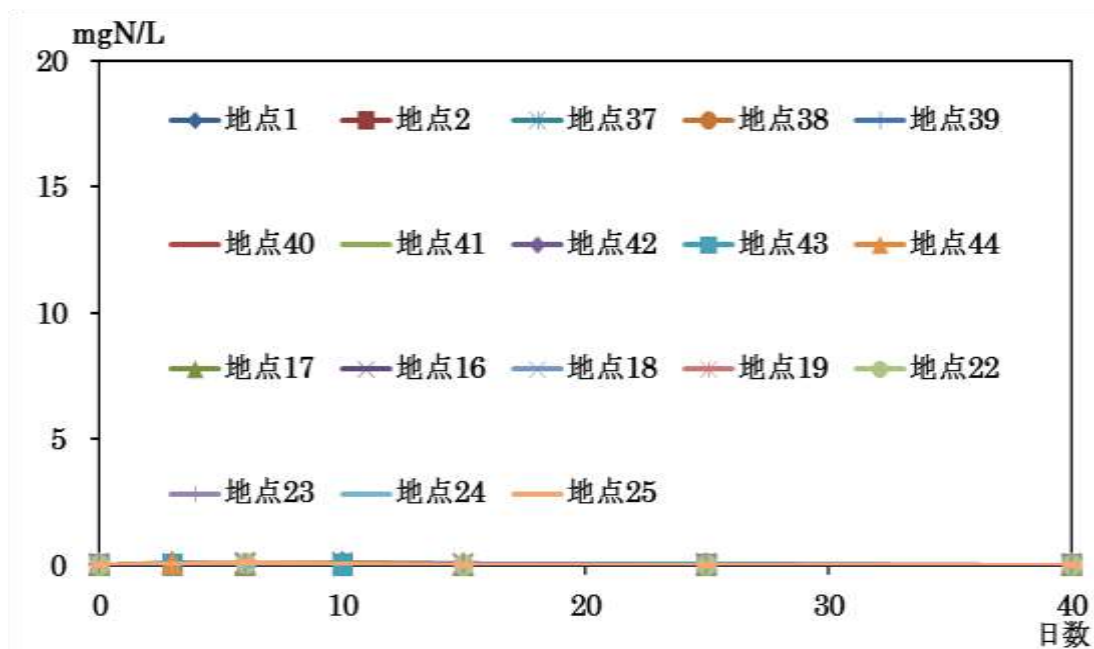


図 25 アンモニア態窒素濃度の変化が見られなかった地点の推移.

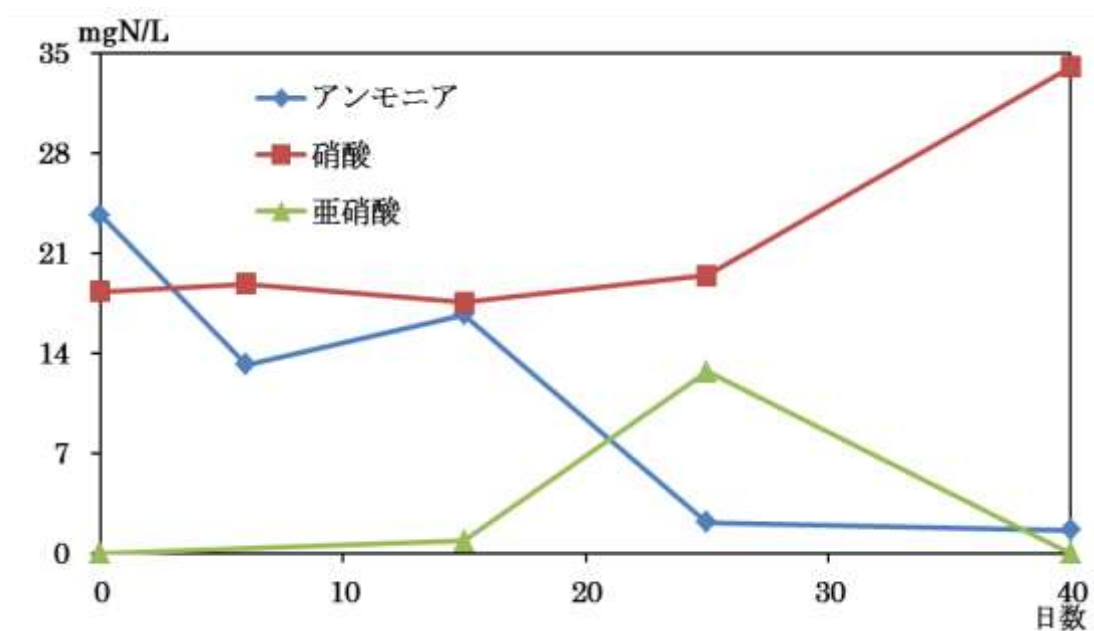


図 26 一度アンモニア態窒素の上昇が見られた地点 26 における無機態窒素濃度の推移.

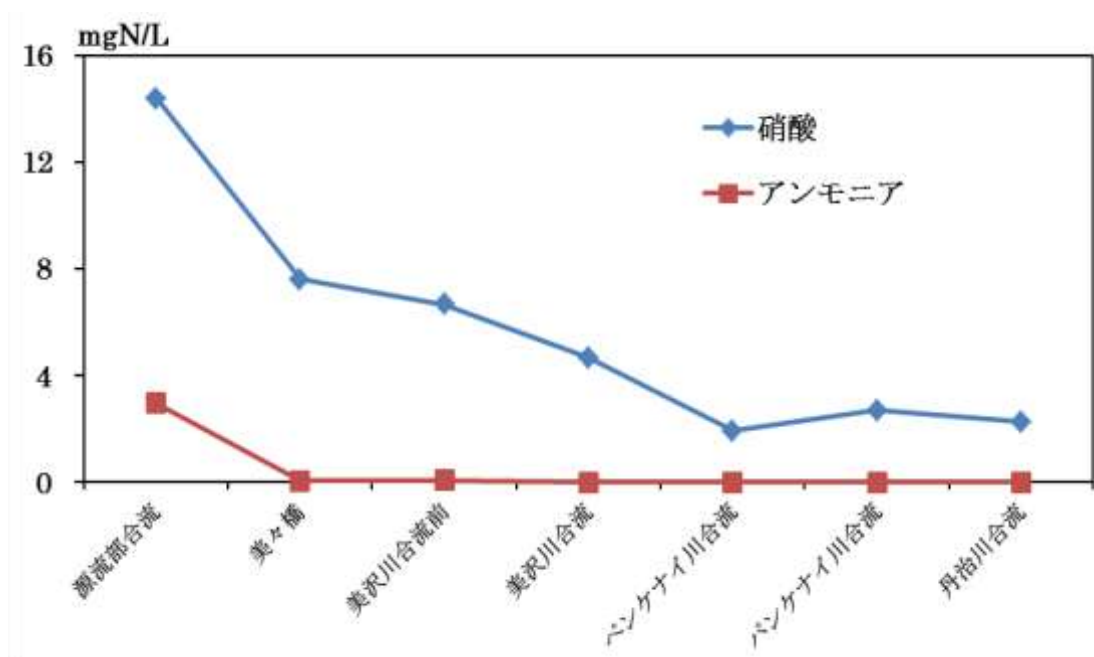


図 27 美々川本流における硝酸態及びアンモニア態窒素濃度の推移.



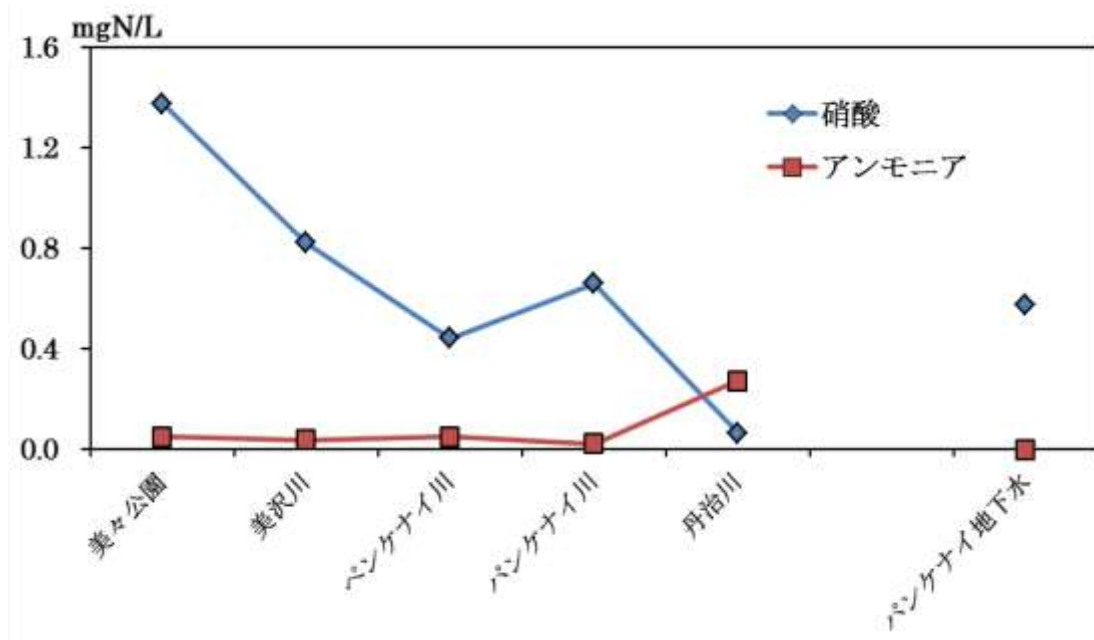


図 28 美々川の支流における硝酸態及びアンモニア態窒素濃度分布。

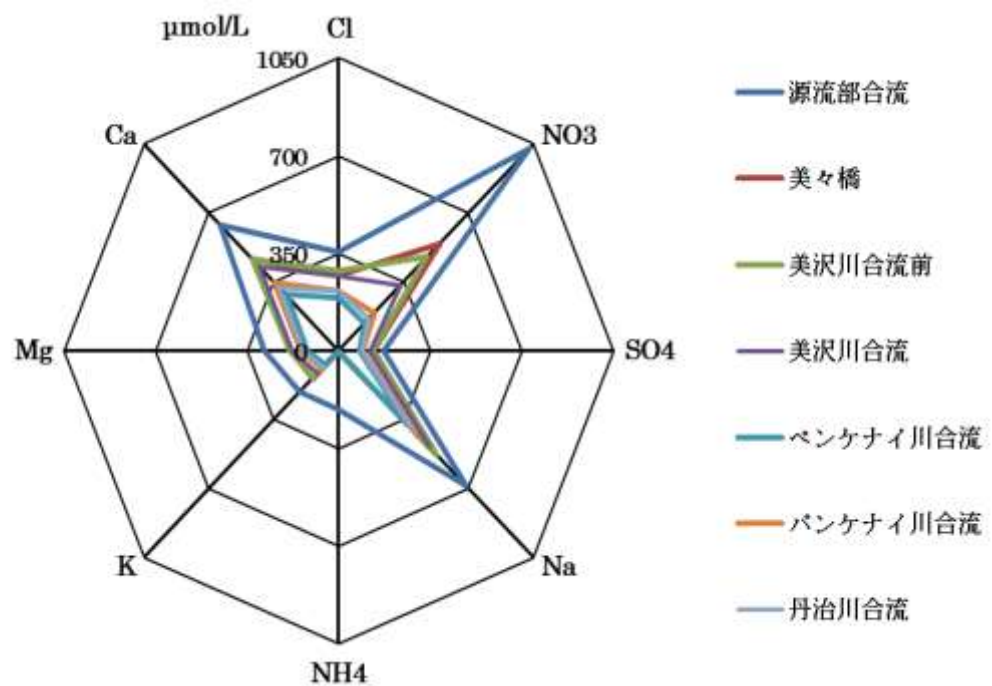


図 30 美々川流域の本流におけるイオン濃度組成。

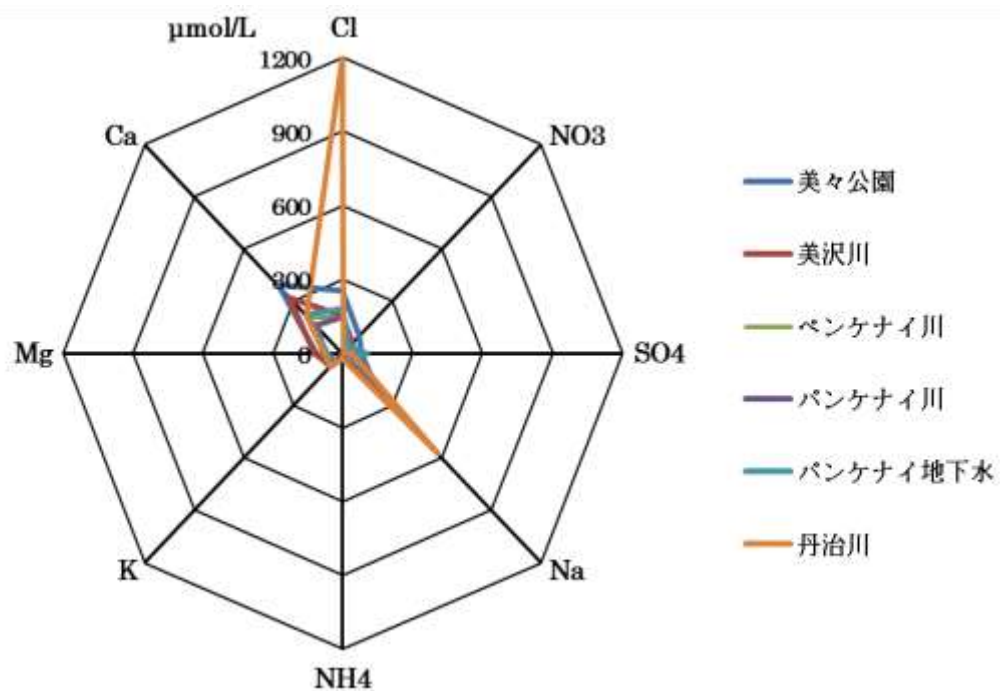


図 30 美々川流域の支流におけるイオン濃度組成。

表 10 美々川流域の酪農・畑作農家の井戸水の測定結果。

農場の種類	井戸の種類	DO	EC	pH	ORP	Cl <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Na <sup>+</sup>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup>
		mg/L	mS/m		mV	mg/L	mgN/L	mg/L	mg/L	mgN/L	mg/L	mg/L	mg/L
酪農	浅井戸	14.9	25	6.05	233	4.32	11.0	13.2	14.5	0.00	4.67	6.85	33.3
酪農	深井戸	1.2	38	7.81	-125	1.79	0.052	0.05	58.5	0.00	4.59	15.4	17.1
畑作	浅井戸	9.6	24	6.44	258	4.55	7.2	13.5	13.6	0.00	6.06	5.83	29.7
畑作	深井戸	0.63	31	7.56	-13	1.73	0.11	0.07	35.5	0.00	18.1	17.0	15.8