

(1) 土壌内硝化速度の時空分布

EVOLUTION OF NITRIFICATION RATE PROFILE IN SOIL

山口 登志子^{*}・寺西 靖治^{*}
Toshiko YAMAGUCHI^{*}, Seiji TERANISHI^{*}

ABSTRACT ; Evolution of nitrification rate profile in a soil column is attempted to calculate by a finite difference method using experimentally obtained profiles of $\text{NO}_3\text{-N}$. This is a numerical inverse problem of reactive convection-dispersive equation. The dependences of nitrification rate on $\text{NO}_3\text{-N}$ concentration, vertical distance, and time are linear, exponential decrease, and step response with overshoot, respectively.

KEYWORDS ; land treatment, nitrogen removal, nitrification rate evolution, reactive convection-dispersion

1. はじめに

土壌内急速浸透処理法において汚水中のNは主に脱窒素により除去される。本研究では脱窒素の前段階としての硝化過程に着目し、連続浸透流における土壌内硝化速度について解析を試みる。

一般にNの生物学的変換過程は Michaelis-Menten 式に従うとされる。従来、土壌内硝化・脱窒速度も、土壌内全域について、その両極端の場合に分け、1次反応あるいは0次反応として解析されてきた。^{1)~3)}しかし、実際にはNの変換を行う微生物数(または活性)は土壌内で時間的・空間的に変化しており、Michaelis-Menten型の反応速度式を一律に適用するのは問題がある。反応項(基質変換速度)の函数形としては既報⁴⁾で提案したように、基質濃度依存(Michaelis-Menten型)、微生物鉛直分布(指数函数的減少)、微生物数発展(ロジスティック)のテンソル積の形が妥当と考えられるが、まず第一段階としては反応項のあるがままの姿を正しく把握する必要がある。

本研究では土壌カラムを用いて NH_4Cl 溶液の連続供給実験を行い、Nのカラム内分布を経時的に調べ、反応項(本研究では硝化速度)の時空分布を求める。

2. 反応項の時空分布

反応項の時空分布は差分表示した次の反応移流分散方程式により求めることができる。

$$\frac{C_i^{n+1} - C_i^{n-1}}{2\Delta t} + u \frac{C_{i+1}^n - C_{i-1}^n}{2\Delta x} - D \frac{C_{i+1}^n - 2C_i^n + C_{i-1}^n}{(\Delta x)^2} = \phi_i^n \quad (1)$$

ここにC:基質濃度, u:間隙内平均流速, D:分散係数, x:土壌内距離, t:時間, ϕ :反応項(基質変換速度)である。 ϕ は生成を正,消費を負とする。 Δx , Δt は距離および時間方向の格子間隔で, $i\Delta x$, $n\Delta t$ における基質濃度を C_i^n , 反応項を ϕ_i^n とする。 $C(x, t)$, D , u が実測値として与えられれば ϕ_i^n を求めることができる。

* 広島大学 Hiroshima University

3. 実験方法

3.1 実験装置

本研究で用いた土壌カラムは Fig.1 に示すように、内径 20 cm、長さ 55 cm の塩化ビニルパイプにマサ土を高さ 50 cm に充てんしたものである。カラム内の浸透水を採水するため、5 ~ 10 cm 間隔に採水管を通した。採水管は塩化ビニルパイプ (8 × 6 mm) に直径 0.5 mm の穴を多数あけ、中に直径 5 mm のテフロン棒を通したものである。また、カラム内のガスを採取するために上・中・下層 (土壌表面よりそれぞれ 8, 16, 32 cm) にガス採取管をとりつけた。

NH₄Cl 溶液は電磁定量ポンプにより注射針 (4 本) を通して土壌表面に供給した。

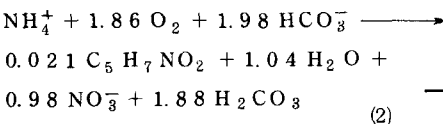
カラムに充てんした土はマサ土に畑土を約 2 % (乾燥重量比) 添加し混合したもので、充てん量は 25.8 kg、間隙率は 39 % である。マサ土および畑土はそれぞれ、5.0 mm、2.5 mm のフルイを通した。畑土の添加は、マサ土へ硝化菌を接種して硝化反応を促進するために行った。カラムに充てんした混合土の化学的・微生物学的性質を Table 1 に示す。

3.2 実験条件

本研究では土壌内硝化過程を調べるため、NH₄Cl 溶液を土壌カラムに連続供給し、カラム内の NH₄-N、NO₃-N、NO₂-N の時空分布を測定した。カラム充てん土については実験前後に硝化・脱窒活性、硝化菌・脱窒菌数、TN の測定を行った。土壌間隙中のガス組成も経時的に調べた。

実験条件を Table 2 に示す。土壌カラムは 3 本作成し、番号を Ni-1、Ni-2、Ni-3 とした。

供給液の組成は NH₄Cl、NaHCO₃ および KH₂PO₄ である。KH₂PO₄ は P/N=0.1 となるよう添加した。NaHCO₃ は無機炭素源として、また硝化反応において生成する H⁺ イオンを中和する目的で加えた。添加量は、硝化菌の細胞合成を含めた次の硝化反応式における理論値の 1.5 倍とした。



間隙内平均流速と分散係数は既報⁹⁾と同様の方法で求めた。

3.3 分析方法

土壌カラム内の浸透水は真空ポンプにより吸引採水し、遠心分離 (3,500 rpm で 5 分間) した後、分析した。分析項目と方法は次のとおりである。

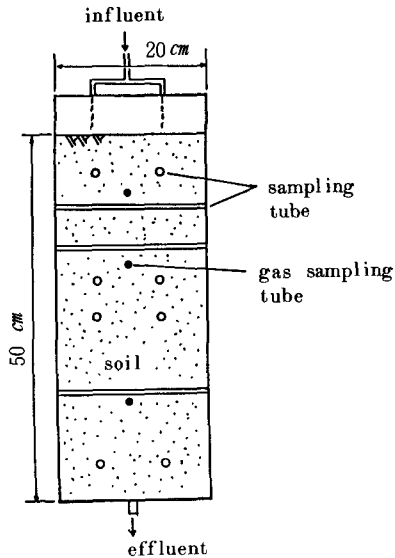


Fig.1 Soil column.

Table 1 Chemical and microbiological characteristics of soil used.

CEC (me/100g)	1.5
TN (mg/kg)	360
TP (mg/kg)	340
TC (%)	0.06
TOC (%)	0.05
Ammonium-oxidizing bacteria (MPN/g)	1.4×10^5
Nitrite-oxidizing bacteria (MPN/g)	3.6×10^4
Denitrifiers (MPN/g)	5.3×10^4
Activity of nitrifiers (%)	0.5

Table 2 Data of experiments.

column	concentra- tion of NH ₄ -N (mg/l)	applica- tion rate (mm/day)	pore-water velocity (cm/hr)	disper- sivity (cm ² /hr)
Ni-1	20		3.0	6.3
Ni-2	40	150	3.1	7.6
Ni-3	60		2.9	8.1

period of experiments : 56 days

- 1) $\text{NO}_3 - \text{N}$: 紫外吸光光度法 (水質汚濁に係る環境基準による方法)
- 2) $\text{NO}_2 - \text{N}$: ナフチルエチレンジアミン・スルファニル酸法 (下水試験方法-1974)
- 3) $\text{NH}_4 - \text{N}$: 直接比色法 (下水試験方法-1974)

流出水についてはこの他に pH, 電導度, 酸消費量 (pH 4.8, JIS K0102-1981), TOC, IC を測定した。

カラム内の土壌間隙のガス組成はガスクロマトグラフ (充填剤: Molecular Sieve 13X, Active Carbon) により分析した。

3.4 土の分析

マナ土の比重, 含水比, 粒度試験は「土質試験法」⁶⁾, TC は CHN アナライザー, TOC, TP, TN は, 「土壌養分分析法」⁷⁾, 硝化・脱窒菌数は「土壌微生物実験法」⁸⁾ によった。

硝化活性は, 「土壌微生物実験法」の「硝化作用の測定法」を参考に, 次のような方法で測定した。

- 1) 風乾した試料土 (乾土 20 g 相当) を 100 ml 三角フラスコにとる。
- 2) $\text{NH}_4 - \text{N}$ 5 mg (NH_4Cl) と NaHCO_3 89.1 mg を添加する。全水分量が最大容水量の 60~70% となるように添加量を調節する。
- 3) ポリエチレンフィルムでシールし, 30°C で培養する。
- 4) 試料作成直後および一定期間培養後, サンプルをとり出し, 試料土を約 200 ml の純水で洗浄しながら吸引ろ過する。
- 5) ろ液の量を測り, $\text{NO}_3 - \text{N}$ を分析する。
- 6) 別に純水 ($\text{NH}_4 - \text{N}$, NaHCO_3 を含まない) のみを同量添加したサンプルを作り, ブランク試験を行う。
- 7) 添加 $\text{NH}_4 - \text{N}$ 量に対する $\text{NO}_3 - \text{N}$ 生成量の百分率で硝化活性を表わす。

脱窒活性試験法は次のとおりである。

- 1) 乾土 20 g 相当の風乾土を 20 ml サンプルびんにとり, $\text{NO}_3 - \text{N}$ 5 mg (KNO_3) とメタノール ($\text{C}/\text{N} = 1.0$) を加える。水量は全量で 10 ml となるようにし, フタをして 30°C で培養する。
- 2) 以下の操作は硝化活性試験法の 4)~6) と同じである。 $\text{NO}_3 - \text{N}$ 減少量を脱窒量とし, $\text{NO}_3 - \text{N}$ 減少率で脱窒活性を表わす。

4. 結果と考察

4.1 N 成分のカラム内分布

カラム Ni-1 における N 成分のカラム内分布の経時変化を Fig. 2 に示す。本研究では N 成分の実測濃度 (C) は, 供給 $\text{NH}_4 - \text{N}$ 濃度を C_s として相対濃度 C/C_s で表わす。

供給した $\text{NH}_4 - \text{N}$ は 5~10 cm ではほぼ 0 となる。実験初期の $\text{NH}_4 - \text{N}$ の減少は, $\text{NO}_3 - \text{N}$ あるいは $\text{NO}_2 - \text{N}$ の生成量と対応していないので, 吸着によるものと考えられる。

$\text{NO}_2 - \text{N}$ は初期には検出されたが ($C/C_s = 0.3$ 以下), 5 日以降ではほとんど検出されなかった。 $\text{NO}_3 - \text{N}$ は徐々に濃度が

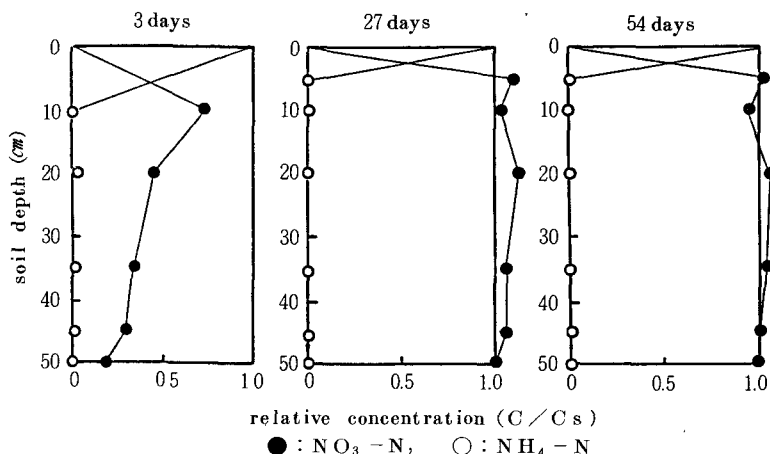


Fig. 2 Concentration profiles of N (Ni-1).

高くなり、5～7日にC/Cs=1.0を超えたが、その後、カラム全域ではばC/Cs=1.0となった。Ni-2、Ni-3においても同様の結果がえられ、硝化は5～10 cmで完了している。

実験終了後の土のTNは50～260 mg/kgで、実験前に比べてどのカラムでもやや減少しており、Nの蓄積は認められなかった。

4.2 カラム内ガス組成

実験期間中の土壌間隙内のガス組成は、O₂ 15～21%、N₂ 74～84%、CO₂ 1～3%である。どのカラムにおいても、上・中・下層でガス組成に大差はみられなかった。

4.3 流出水のpH、IC

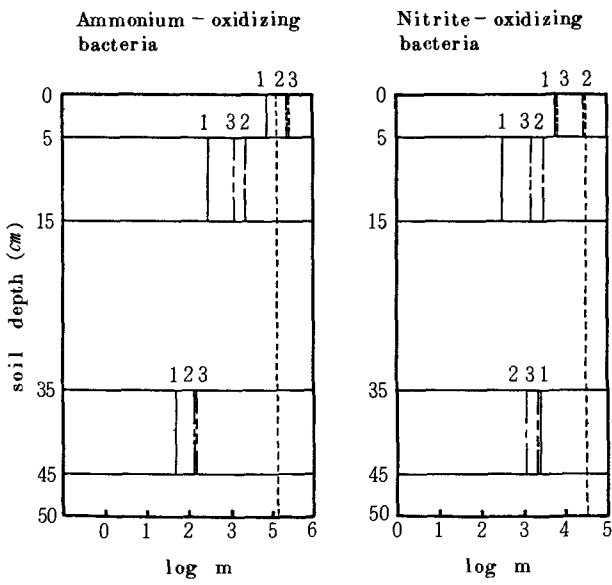
流出水のpHは7.5～8.0であった（供給液pH 8.2～8.6）。

各カラムにおけるIC (NaHCO₃)消費量は式(2)における理論値とほぼ一致した。

4.4 土の硝化活性・硝化菌分布

実験前後の土のアンモニア酸化細菌および亜硝酸酸化細菌のカラム内分布をFig. 3に示す。いずれも実験前と比べて上層（0～5 cm）ではほとんど変化なく、中層（5～15 cm）、下層（35～45 cm）では減少している。これは、NH₄-N、NO₂-Nのカラム内分布からわかるように中・下層にはそれぞれの細菌の基質が供給されなかったため、細菌数が減少したものと考えられる。

硝化活性は培養24時間と72時間の平均値を48時間硝化活性として表わした。（Table 3）
どのカラムにおいても上層の硝化活性は明らかに



m:MPN/g, 1:Ni-1, 2:Ni-2, 3:Ni-3, initial

Fig. 3 Distributions of nitrifiers.

Table 3 Activity of nitrifiers.

Soil depth (cm)	Column		
	Ni-1	Ni-2	Ni-3
0 ~ 5	2.9 %	8.1 %	5.3 %
5 ~ 15	0.9	1.4	0.3
35 ~ 45	0.1	0.4	0.3

initial = 0.5 %

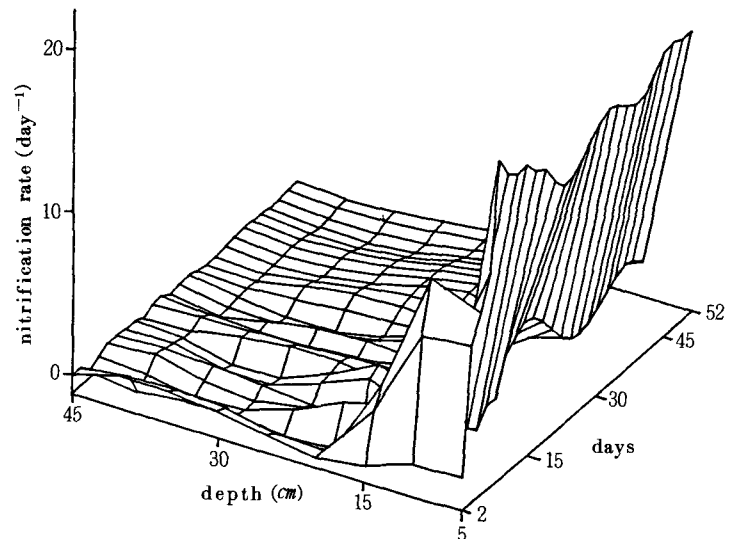


Fig. 4 Evolution of nitrification rate profile (Ni-2).

実験前と比べて増大しているが、中・下層では大差ないことがわかる。この活性分布は Fig. 3 とよく一致しており、いずれも鉛直方向にはほぼ指数函数的に減少している。

また、カラム下層で脱窒素が起っている可能性が考えられるので、実験後に脱窒活性・脱窒菌分布を調べたが、脱窒菌は $1.4 \sim 2.9 \times 10^3$ MPN/g、脱窒活性（24 時間）は 29 ~ 34 % で、ほぼ一様であった。土壌内ガス組成（4.2）ともあわせて、脱窒素の可能性は小さいと考えられる。

4.5 硝化速度の時空分布

本研究でえられた実測データから、第 2 節で述べた方法により、硝化速度の時空分布を求めた。

$\Delta x = 5$ cm, $\Delta t = 1$ 日として $\text{NO}_3\text{-N}$ の実測データをスプライン補間し、各格子点の C_i^n を求め、 ϕ_i^n を計算した。ここでは、式(1)における基質濃度 C を C/C_s と無次元化して与えた。Fig. 4 に硝化速度の時空分布の 1 例を示す (Ni-2)。Ni-1 ~ 3 で $\text{NH}_4\text{-N}$ 供給速度が異なるにもかかわらず、硝化速度の値も分布の形も非常によく類似している。

定常期における硝化速度と、アンモニア酸化細菌のカラム内分布は Fig. 5 に示すようによく対応している。

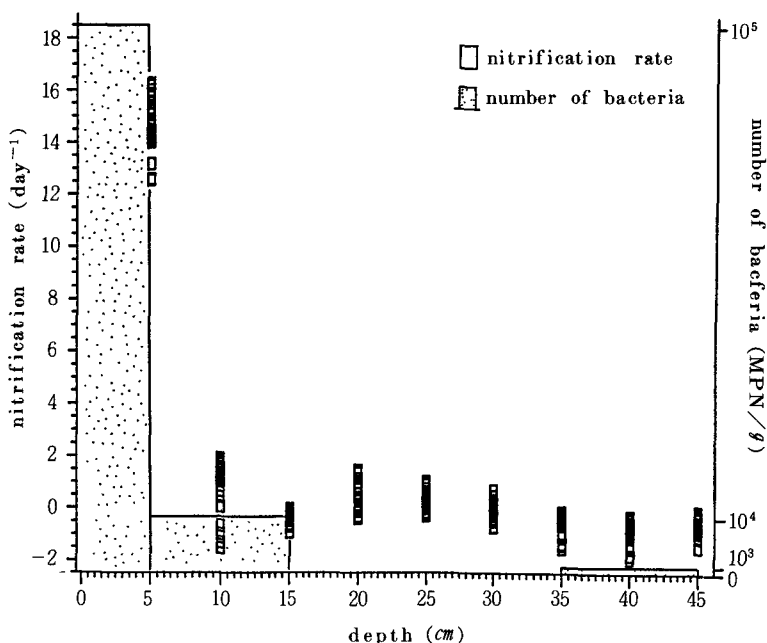


Fig. 5 Distribution of nitrification rate and ammonia-oxidizing bacteria (Ni-3).

硝化速度は 15 cm 以下の深さではほぼ 0 となっており、マイナスの値がみられるのは $\text{NO}_3\text{-N}$ の実測値の変動により前のポイントと比べて相対的に $\text{NO}_3\text{-N}$ の値が小さくなる場合である。

硝化速度を $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度との相関は Fig. 6 に示すように、深さ 5 cm では直線関係となっているが、各ポイントは時間の経過を表わしているため、単純な 1 次反応とは考えられないであろう。15 cm 以下の深さでは、Fig. 5 にも示したように硝化速度は 0 の付近に分布している。

5 ま と め

土壌内 N 変換過程のモデル化にあたって、アプリオリに反応速度式を仮定するのではなく、実測濃度分布をもとに、反応移流分散方程式の逆問題として、反応項の形（距離・時間・基質濃度の関数）を同定すべきであるとの立場から、その第 1 歩として、カラム実験実測データを用いて土壌内硝化速度の時空分布を求めてみた。

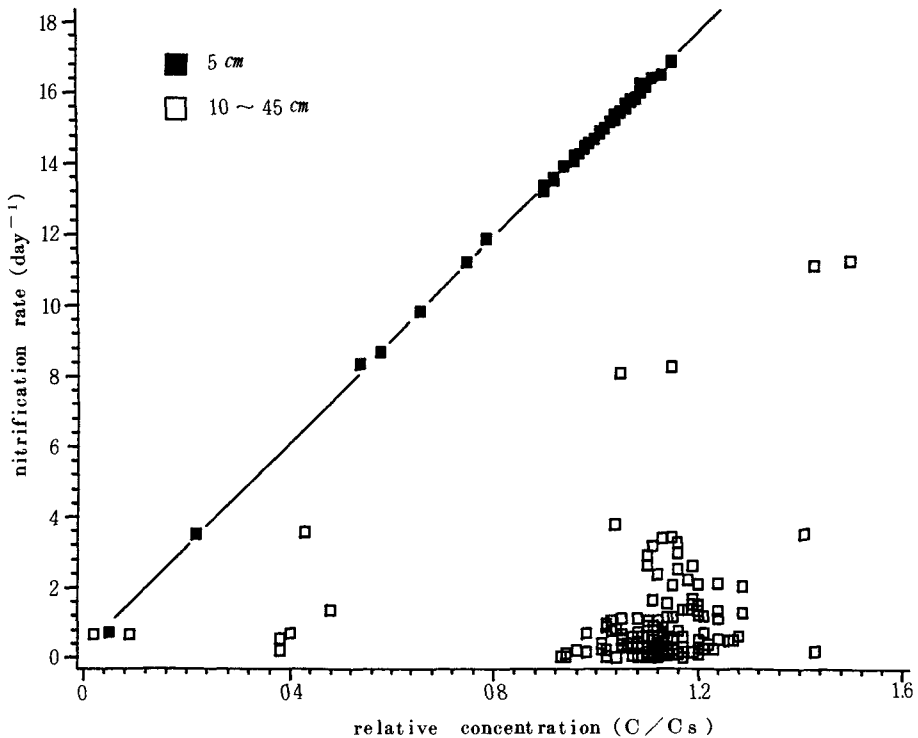


Fig.6 Relation between nitrification rate
and $\text{NO}_3\text{-N}$ concentration ($\text{Ni}-2$).

えられた分布は、鉛直方向には基質濃度・硝化菌分布と同様に指数函数的減少を示し、時間的には過渡応答的に増加の後、定常状態に達した。硝化速度の濃度依存は線型となった。

本研究では硝化が5～10 cmで迅速に進んでいるため詳細な解析ができなかった。今後、さらに実測データを蓄積して、微生物密度・増殖速度なども加味した反応項の函数形を明らかにしたい。

最後に本研究の実験を行うにあたり、多大な協力をいただいた大村昭彦君（広島市）、長江 力君（日本道路）に謝意を表します。

参 考 文 献

- 1) Starr, J. L. et al., "Nitrogen Transformations During Continuous Leaching", Soil Sci. Soc. Amer. Proc., Vol. 38, pp. 283~289 (1974)
- 2) Kanwar, R. S. et al., "Nitrate Movement with Zero-order Denitrification in a Soil Profile", Soil Sci. Soc. Amer. J., Vol. 44, pp. 898~902 (1980)
- 3) 山口・寺西, "飽和流における土壌カラム内脱窒素", 下水道協会誌, Vol. 22, pp. 55~59 (1985)
- 4) 山口他, 土木学会第39回年次学術講演会講演概要集, pp. 779~780 (1984)
- 5) 山口・寺西, "下水の土壌処理における脱窒過程", 下水道協会誌, Vol. 20, pp. 28~35 (1983)
- 6) 土質工学会編 "土質試験法" (1979)
- 7) 土壌養分測定法委員会編 "土壌養分分析法", 養賢堂 (1970)
- 8) 土壌微生物研究会編 "土壌微生物実験法" (1975)