

(42) 電極を用いた硝酸汚染地下水の原位置(In-situ)脱窒法に関する研究

An In-situ Denitrification of Nitrate-contaminated Groundwater using Electrodes

榊原 豊*, 田中恒夫*, 井原一馬*, 渡辺智秀*, 黒田正和*

Yutaka SAKAKIBARA, Tzuneo TANAKA, Kazuma IHARA, Tomohide WATANBE, Masao KURODA

ABSTRACT; Laboratory-scale experiments were carried out to investigate the feasibility of an in-situ denitrification method of nitrate-contaminated groundwater using H_2 as an external electron donor. To supply H_2 , electrodes are embedded into a sandy aquifer and electric currents are applied. Experimental results showed that satisfactory denitrification occurred over one year without any addition of inorganic nutrients such as phosphate. Furthermore, clogging problem was not observed, but about two times the stoichiometric current was needed to remove nitrate completely. These results confirm the feasibility of the present denitrification method.

KEYWORDS; Denitrification, in-situ denitrification, hydrogen, nitrate, groundwater, bioremediation.

1. はじめに

化学肥料の施用¹⁻³⁾や家畜排泄物の土壌還元^{1, 3)}, 土地利用の変化や植性変化⁴⁾など種々の原因により, 浅層地下水及び一部湧水の硝酸性窒素濃度は年々上昇傾向にある。地下水への依存率が高い欧米では以前から深刻な問題として捉えられている^{1, 3)}が, わが国や開発途上国においてもWHO等の飲料水基準(10mg-N/l以下)を超える場合が少なくなく²⁻⁵⁾, 早急な浄化技術の開発や汚染制御対策が必要とされている。

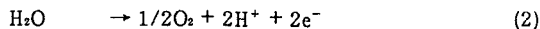
硝酸性窒素で汚染された地下水の浄化技術として, 種々の物理化学的方法^{6, 7)}及び生物学的方法⁸⁻¹¹⁾が研究されている。原位置(In-situ)浄化法もこのような浄化技術の一つとして位置付けられ^{3, 12-15)}, ヨーロッパを中心に研究が進められている。本法は硝酸汚染サイトをそのまま脱窒反応の場¹²⁾として用いることから, 建設費が低廉で, 外気温の影響が少ない等の特徴を有する¹³⁾が, 一方でサッカロース¹³⁾やアルコール^{14, 15)}等の有機物が水素供与体として用いられているため, 添加される有機物自体による二次汚染の問題や微生物増殖による土壌閉塞の問題が起こる場合がある^{13, 15)}。したがって, 本浄化法を適用する際には地下水の流れや混合状態を予め調査しておく必要性が指摘されており¹³⁾, また一部では土壌閉塞の問題を軽減するために有機物の間欠あるいは分散注入法に関する研究が行われている^{13, 14)}。

本研究は, このような硝酸汚染地下水の原位置浄化法に関して, 有機物添加に伴う二次汚染及び土壌閉塞の問題がなく, また浄化に係わる操作が極めて簡単で現場への適用性に優れた新しい浄化法の開発を目的とした。ここでは, そのための基礎的研究として, 脱窒反応の水素供与体として H_2 を用い, またその供給を土壌内に埋設した電極を通して行う浄化法の可能性と脱窒性能について, 実験室規模の砂質土壌を用いて実験的に検討した。

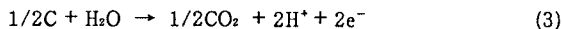
*群馬大学工学部建設工学科 (Dept. of Civil Engineering, Gunma University)

2. 浄化法の原理

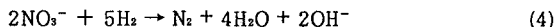
土壌帯水層内に不活性な電極を埋設し、直流電流を通電すると、水の電気分解によって陰極と陽極に、それぞれ式(1),(2)のように水素、酸素が生成される。



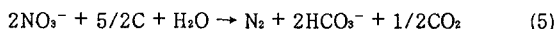
陽極に炭素材を用いると、Kinoshita¹⁶⁾によれば次式のように CO_2 が生成される。



帯水層内に棲息する通性嫌気性菌が脱窒反応の水素供与体として(1)式の H_2 を利用すると、硝酸イオンは次式に従って窒素ガスに還元（脱窒）除去されと考えられる¹⁰⁾。



炭素電極を陽極として用いた場合について、式(1),(3),(4)をまとめると、系内で進行する電極反応と生物反応の総括反応は次式のように表わすことができる。



(4)式の脱窒反応によるpH上昇は(3)式の CO_2 （さらに解離した HCO_3^- , CO_3^{2-} ）生成によって緩衝され、帯水層内のpHはほぼ中性付近で一定に維持されと考えられる¹⁷⁾。

3. 実験装置及び方法

3.1 実験装置

図1は実験装置の概略図である。矩形の密閉型容器内に標準砂（比重2.64，間隙率48%，平均粒径0.1mm）を高容積で約10ℓ充填し、水を深さ15cmまで満たし帯水層とした。帯水層の前には多孔質板を置き、層内の水の流れを均一にするようにした。供試地下水は帯水層の一方の端から供給したが、地下水流入端から2cmの位置に電極を約3cmの間隔で埋設し、さらに流下方向に4箇所（Position 1～4でそれぞれ電極から2, 7, 12, 17cmの位置）に水質分析用のサンプリング管及び発生ガス用捕集器を設けた。また、帯水層の目詰まりの有無を調べるために、地下水流入端と流出端の水位を外部から観察できるようにした。

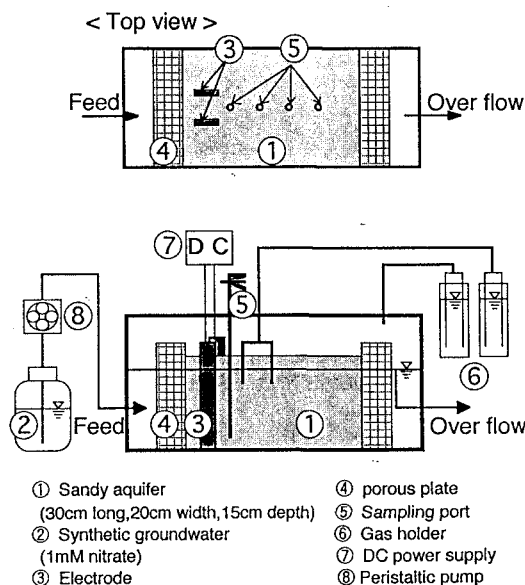


Fig. 1 Experimental apparatus.

Table 1 Experimental conditions

Run No.	electrode	current (mA)	operation (d)
A-①	carbon	4	0 - 100
A-②	carbon	8	101 - 149
A-③	carbon	16	150 - 191
A-④	carbon	32	192 - 234
A-⑤	carbon	16	235 - 277
A-⑥	carbon	8	278 - 307
A-⑦	carbon	0	308 - 330
A-⑧	carbon	8	331 - 341
B-①	carbon	0	0 - 100
B-②	stainless	8	115 - 149
B-③	stainless	16	150 - 191
B-④	titanium	8	192 - 234
B-⑤	titanium	16	235 - 277
B-⑥	titanium	32	278 - 341

なお、予め行ったトレーサー実験から帯水層内の流れはほぼ押し出し流れであることを確認した。

供試地下水は大学の水道水（井戸水）に硝酸ナトリウムと亜硫酸ナトリウムをそれぞれ1.0mM、2.0mM溶解させたものを用いた。ここで、供試地下水にはリン等の栄養塩類を添加しなかったが、水道原水中には約10 $\mu\text{g-P/l}$ の正リン酸（全リンで0.02mg/l）が含まれていた。

実験装置は電極材料として炭素材を埋設した実験系と、金属材料（一部炭素材）を埋設した実験系の2系列を作製し、炭素材として電極用黒鉛を金鋸で切ったもの（幅4cm、厚さ1cm、長さ20cm）、金属材料としてステンレス及びチタン（共に幅2cm、厚さ1mm、長さ20cm）を用いた。ここで、炭素材は黒鉛構造の層間方向が互いに向き合うように配置した。なお、各実験装置は実験室内に設置し、装置の温度制御は行わなかった。

3.2 通性嫌気性菌の接種

K市下水処理場から二次処理水上澄液を採取し、実験装置帯水層に約2週間、1.4 ℓ/d の流量で通水し通性嫌気性菌を接種した。次に、帯水層内に残留する有機物の排除を目的として、供試地下水を約2週間、同一流量で通水し、以降の実験を開始した。

3.3 実験方法

実験条件を表1にまとめて示した。実験は先ず供試地下水をペリスタルチックポンプを用いて連続的に実験装置へ供給した。次に、電極への通電を0～32mAの範囲で種々変化させ、それぞれの条件下における帯水層内の硝酸性窒素濃度、全窒素濃度、pH、ORP等进行分析、測定した。ここで、地下水の供給速度は、実験期間を通じて帯水層内の流速が0.1m/d（流量1.4 ℓ/d ）で一定になるように設定した。

金属電極を埋設した実験系のRunB-①では、接種微生物の内生脱窒量をみるために、電流値をゼロとしてRunA-①と同期間、供試地下水を連続供給した。次に、予め埋設しておいた炭素電極に8mAの電流を約2週間通電し、帯水層内の硝酸性窒素濃度が減少することを確認した。続いて、炭素電極を金属電極に取り替えて、RunB-②以降の実験を行った。なお、表1において、実験装置へ供給される硝酸イオンの全量を除去するために必要な電流値は、(1),(4)式から8mAとなる。したがって、本研究の電流値0～32mAは脱窒反応に必要な量論量の0～4倍に相当する。硝酸性窒素の分析はブルシン法により行い、また全窒素の分析はアルカリ性でペルオキシ二硫酸で分解後、紫外吸光度より測定した。

4. 実験結果

4.1 電極材と窒素除去

図2は電極材料として炭素（図中の●）及び金属（図中の■）を用いた場合について、帯水層流出端における全窒素(TN)濃度の経日変化及び装置内水温変化を示したものである。実験装置の温度制御は特に行わなかったため、前半の実験条件（RunsA-①～A-④及びRunsB-①～B-④）に比べて、後半の条件（RunsA-⑤～A-⑧及びRunsB-⑤～B-⑧）の方が水温は高く25℃以上であった。

図に示す実験期間中、流入端（図1の多孔質板の直前）と流出端における水位を観察したが、その差に変化はみられなかった。また、電極電流がゼロのRunB-①では実験初期にTN濃度が若干減少したが、それ以降では流出濃度及び帯水層内濃度は流入濃度とほぼ等しく、接種微生物による内生脱窒の効果は無視できた。

炭素電極を用いた場合では、電極への通電によって、流出TN濃度は流入濃度(14mg-N/ ℓ)より減少し（窒素除去が起こり）、また流出濃度は電流値の大小により変化した。一方、金属電極を用いた場合、流出濃度は電流値によらずほとんど減少しなかった。なお、実験に用いた水道原水中には約3～5mg-N/ ℓ の硝酸イオンが存在する場合があります、流出窒素濃度が設定濃度(14mg-N/ ℓ)より高くなる場合もあった。

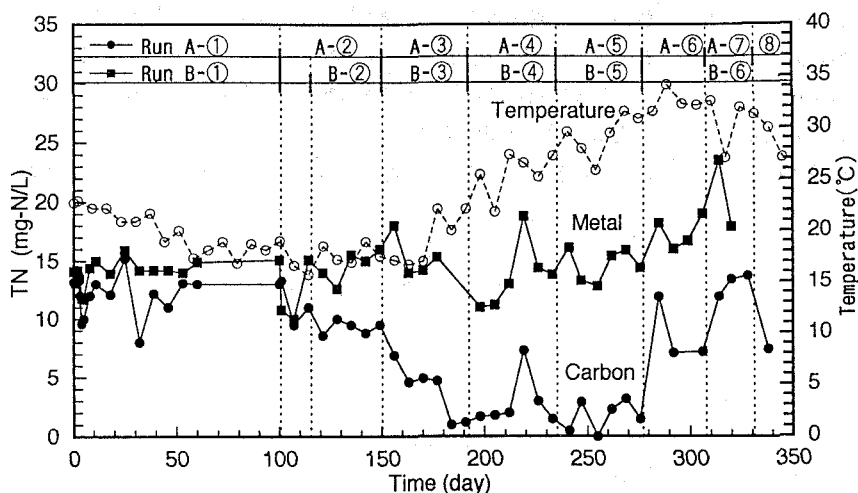


Fig. 2 Comparison of effluent total-nitrogen (TN) concentrations for carbon and metal electrodes.

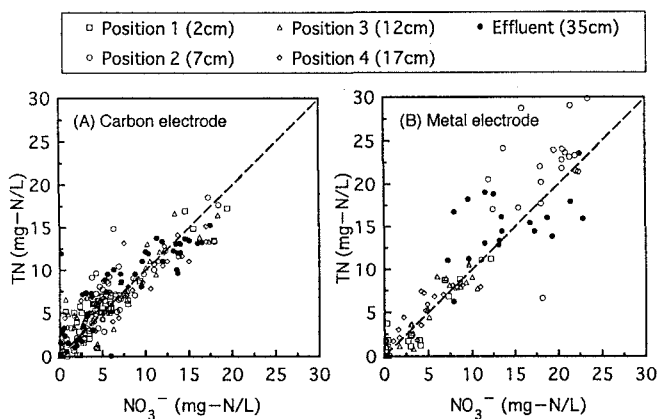


Fig. 3 Relation between nitrate and total-nitrogen (TN) concentrations at different positions.

図・3はそれぞれ(A)炭素電極及び(B)金属電極を用いた場合におけるTN濃度と硝酸性窒素濃度との関係を示したものである。データにばらつきがみられるが、両者は流出端と帯水層内の位置によらずほぼ等しかった。なお、金属電極を用いた場合には帯水層内の硝酸濃度が流入濃度よりかなり高くなる場合(20mg-N/l以上)があった。

4. 2 電流値の影響

(1) 窒素除去の流下方向分布

図4は炭素電極を用いた場合の実験結果の一例で、実験装置内及び帯水層流出端における硝酸性窒素濃度の経日変化を比較して示したものである。図からわかるように、RunA-①からRunA-④まで電流を順次増加させていくと、硝酸性窒素濃度は帯水層のはほぼ中程(Position3, 4)から流出端にかけて順次低下していった。しかしながら、量論量の4倍に相当するRunA-④の電流条件(32mA)では濃度の減少幅は小さく、また電極近傍(Positions 1及び2)では逆に電流値の増加につれ硝酸濃度が上昇した。電流を順次減少させていったRunsA-④～A-⑦では、RunA-④の結果を除き、電流値の低下につれ硝酸濃度は上昇した。通電を停止した

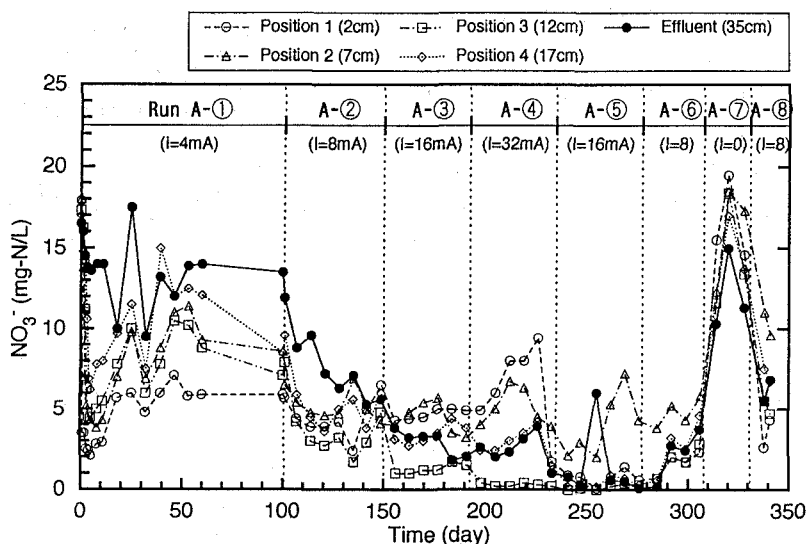


Fig. 4 Time course changes of nitrate concentration under different electric current conditions (carbon electrode).

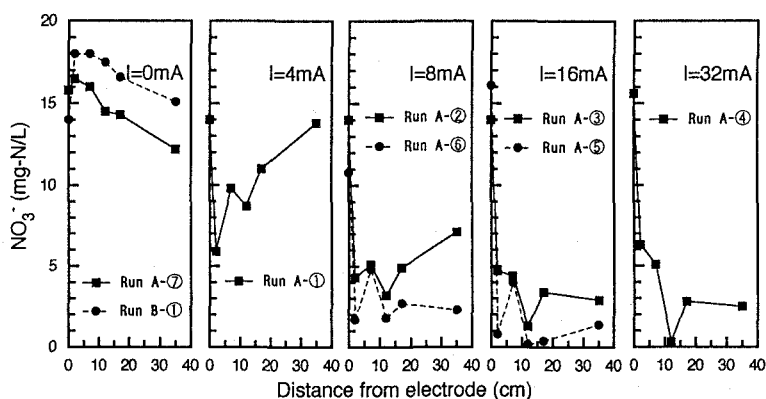


Fig. 5 Concentration profiles of nitrate at different currents.

RunA ⑦では、Run B ①の場合と同様に帯水層内の硝酸濃度はほぼ流入濃度と等しくなった。なお、Run A ④の条件では電極近傍から顕著な水素発生 (10m l/d 以上) が生じたが、その他の条件ではほとんどガス発生が見られなかった。

図5は各実験条件における硝酸性窒素濃度の平均値を求め、流下方向に対する分布を示したものである。実験期間中の水温が一定でない(図2)こともあり、同一電流条件の濃度分布が必ずしも一致しなかったが、通電条件では硝酸濃度は電極近傍(本実験条件では電極から5~10cm前後まで)で急激に減少し、その後流下方向ではほぼ一定値をとるか、あるいは若干増加する傾向にあった。

また、帯水層内及び流出端の硝酸濃度は概ね電流値の増加につれ減少するが、過剰電流の32mAの条件では電極付近を除いて16mAの結果と大略同じであった。

(2) pH, ORPと平面分布

図6は炭素電極を用いた場合のpH及びORP (Ag | AgCl | KCl (3.3M) electrode) の経日変化を帯水層内の位置別に比較して示したものである。図に示すように、電流値がゼロのRun A ⑦ではpH, ORPは帯水層内で一

定であるが、通電条件では帯水層内の位置により異なる値をとった。本研究の条件では、pHが略4～11、ORPは略-200～+200mVの範囲内にあった。pHは概ね帯水層流下方向に対していったん上昇し、一方ORPは減少し、その後流出端に向かってpHは7前後、ORPは+100～+200mVの値に近づく傾向にあった。なお、金属電極を用いた場合のORPは、炭素電極の場合に比べて0～500mV高い値であった。

図7は、Run A-⑦で通電を一旦停止した後、Run A-⑧で再度通電(8mA)を開始し、一週間後における硝酸性窒素濃度の平面分布を測定した結果である。ここで、硝酸濃度の測定は、帯水層の平面方向に図に示す26箇所の穴(直径約1cm)を装置底部まで開け、採水し行った。また、図には20mg-N/l及び10mg-N/lの等濃度線の概略を示した。

図より、硝酸イオン濃度は帯水層内の位置により異なり、陽極付近では流入濃度よりかなり高い濃度ゾーンが形成され、また電極から流下方向(図のx方向)にかけて硝酸濃度は減少するが、横断方向(y方向)では電極から離れるにつれ濃度が増加する傾向にあった。

5. 考察

帯水層内の硝酸性窒素濃度分布(図4、5)及び帯水層流出端の全窒素濃度(図2)の結果から明らかにように、炭素材を陽極として用いることによって、約1年間以上にわたって硝酸性窒素除去が可能であった。これは、陽極での酸素生成反応(式(2))が炭素材の使用によって抑制され、また陰極で生成される H_2 が脱窒反応の電子供与体として帯水層内に供給され脱窒菌に利用されたことによると考えられる。また、脱窒反応によるpH上昇は式(3)の CO_2 生成によって緩衝され、その結果、帯水層流出端では電流値によらずほぼ中性付近に維持された(図6)と考えられる。

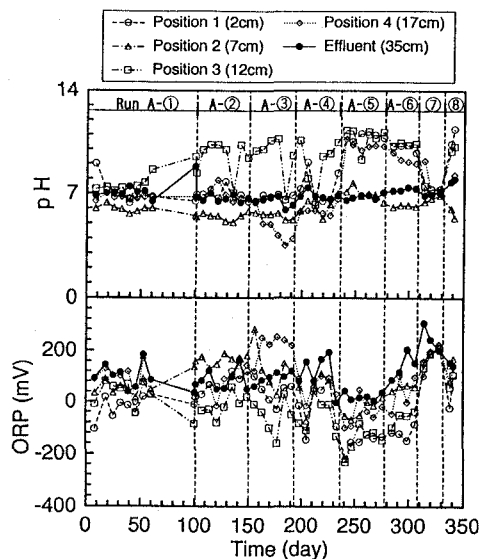


Fig. 6 Time course changes of pH and ORP (carbon electrode).

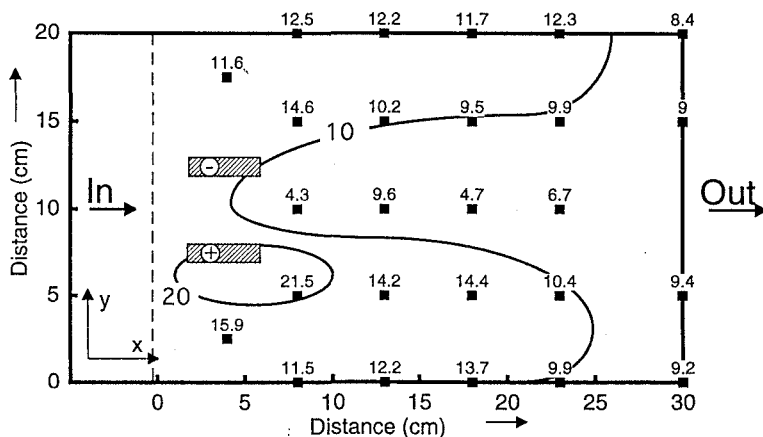


Fig. 7 Two-dimensional (planar) distribution of nitrate concentration (mg-N/L) (I=8mA, ■ : sampling positions, x : flow direction, y : perpendicular direction to x).

原位置浄化法に関するこれまでの研究では有機物溶液を井戸から帯水層へ注入する方法が取られているが¹³⁻¹⁵⁾、同時にリンなどの無機栄養塩類も添加される場合が多い^{3, 13, 15)}。栄養塩類の添加は土壌内の脱窒速度を上げるために有効である一方で、脱窒菌の増殖速度も増加させるため、結果的に微生物スライムによる帯水層の閉塞やそれに伴う偏流の原因になっていると思われる。DahabとLee¹⁵⁾は原位置浄化法を適用する際の最も重要な問題の一つに帯水層閉塞の問題を上げており、できるだけ微生物増殖を抑え、かつ脱窒反応を安定して進行させるような浄化法の開発が重要である。

著者らは先に有機物を炭素源として集積した脱窒菌を用いた回分培養実験から、水素供与体としてH₂あるいは蟻酸を用いると、硝酸からN₂ガスへの脱窒反応は速やかに進行するが微生物増殖は殆ど生じないことを報告した¹⁰⁾。本研究においても、実験期間中に帯水層前後の水位差に変化がみられず、目詰まりが観察されなかったことから、帯水層内の微生物増殖が何らかの原因で抑制されていたと考えられる。本研究でリン等の栄養塩類を実験期間中添加しなかったことも増殖抑制の一因と考えられるが、脱窒反応を行う通性嫌気性菌は分類学的にみても多種多様であり^{17, 18)}、自栄養性及び自栄養性と他栄養性を共有する場合^{18, 20)}の基質利用や増殖特性について不明な点が多い。原位置浄化法における微生物量の制御あるいは抑制は工学的に重要であり、特に地下水帯水層のように貧栄養条件下における脱窒菌のH₂利用速度、増殖特性について今後更に詳細な検討が必要である。

本研究では水素供与体としてH₂を用い、その供給を通電によって行うため、実験期間中の浄化操作は極めて簡単であった。また、帯水層内の脱窒量は概ね電流値の増減に対応して変化したことから(図2, 4)、脱窒量を電流値の調整のみによって制御することも可能と考えられる。しかしながら、本研究の浄化法を汚染現場に適用する場合には予め電極を帯水層内に設置(埋設)する必要がある、これまでの研究のように井戸等¹³⁾を利用する場合を除いて、その適用は浅層地下水の浄化に限られると思われる。

Hallberg²¹⁾は、化学肥料による窒素汚染の進行が最も懸念されている米国アイオワ州の地下水位(あるいは井戸深さ)と硝酸性窒素濃度との関係を整理し、窒素汚染は湧水及び地下水位が非常に浅い(5m 以下の)地域や石灰岩質の地域に特に顕著であることを示している。また、浅層地下水の特徴として、窒素濃度は施肥や灌漑など種々の要因に影響され季節変化する^{1, 21, 22)}が、その変動は地下水位が浅いほど(つまり、土壌表層から帯水層までの硝酸イオンの移動距離が短くなるほど)大きくなると考えられる^{21, 22)}。したがって、このように水質変動が大きく、また浅層地下水でも比較的浅い地下水や湧水を対象として考えると、本研究の浄化法は土壌閉塞や二次汚染の問題、操作及び制御性の観点から極めて有効と思われる。

種々の電流条件に対する本研究の脱窒効率 η を、(2),(4)式に基づいて次式から求め、その結果を消費電力と合わせて表2に示した。

$$\eta = \frac{Q(C_f - C_{out})}{8.64 \cdot 10^4 \cdot I / (5F)} \times 100 \quad (\%) \quad (6)$$

ここで、Qは地下水流量(ℓ/d)、C_f及びC_{out}は流入と流出硝酸イオン濃度(mM)、Iは電流(mA)、Fはファラデー定数である。

表2より、脱窒効率 η は電流条件によって大きく異なるが、過剰電流条件(Run A-④)及び窒素除去が殆ど見られなかったRun A-①の条件を除くと、ほぼ40~80%の値であった。つまり、帯水層内の全ての窒素を除去するためには量論値の大略2倍の通電が必要であった。また、電極間電圧は3~7V、消費電力は除去窒素量当りで0.04~0.3kWh/g-Nの範囲にあった。

脱窒効率は電極の埋設深さ、面積、配置等の条件に影響され変化すると考えられ、またこれらの条件は浄化に要する消費電力とも密接に関係していると考えられる。また、脱窒反応が進行する帯水層内ではpHやORP変化(図6)、電場によるイオンの泳動現象(図7)等いろいろな現象が進行している。したがって、本浄

Table 2 Performance of present in-situ denitrification method using carbon electrode

Run No.	current (mA)	$\Delta E^{*1)}$ (V)	av. effluent NO_3^- (mg N/l)	denitrification ^{*2)} efficiency η (%)	power consumption (kWh/g-N removed)
A-①	4	2.3	13.2	11	0.19
A-②	8	3.2	7.1	48	0.064
A-③	16	4.2	2.9	39	0.10
A-④	32	6.4	2.5	20	0.31
A-⑤	16	4.2	1.4	44	0.091
A-⑥	8	3.2	2.3	82	0.038
A-⑦	0	—	12.2	—	—
A-⑧	8	3.4	6.2	54	0.060
B-①	0	—	14.7	—	—

*1) Voltage between electrodes; *2) defined by Eq.(6);

化法の脱窒効率を更に向上させ、また消費電力の低下を計るためには、処理系内の移動現象や脱窒反応等に基づいた電極配置の最適化に関する検討が今後必要である。なお、本浄化法では数V程度（表2）の電源が必要であったことから、風力や灌漑用水の水力等を含めた低密度自然エネルギーの利用に関する検討も必要である。

6. まとめ

土壌帯水層内に設置した電極への通電によって、脱窒反応に必要な水素供与体を供給する新しい硝酸汚染地下水の原位置浄化法について、実験室規模の砂質帯水層を用い、リン等の無機塩類無添加の条件で検討した。その結果、以下のような知見が得られた。

1) 炭素材を電極として用いることにより、帯水層内の硝酸イオンを脱窒除去することができ、また窒素除去量は電流値の増減によって変化させることができた。なお、本実験条件下では窒素除去には量論値の大约2倍の通電が必要であった。

2) 微生物の過剰増殖による帯水層内の目詰まりは、略1年間の実験期間中みられなかった。

3) 脱窒反応は本研究条件下では主に電極近傍で起こった。帯水層内の流下方向にはpH及びORPの分布が生じたが、帯水層流出端のpHはほぼ中性、ORPは+100~200mVの値であった。

4) 脱窒操作に必要な電極間電圧は3~7V程度で、また消費エネルギーは0.04~0.3kWh/g-Nであった。

以上より、本研究の原位置浄化法は地下水等の硝酸性窒素除去に極めて有効と考えられるが、貧栄養下における脱窒菌の増殖特性や合理的な電極配置等について更に検討が必要である。

【謝 辞】本研究の一部は、文部省科学研究費（試験研究(B)07555461）の補助を受けて行った。記して謝意を表します。

参考文献

1) Follett, R.F. and Walker, D.J. : Ground water quality concerns about nitrogen, In *Nitrogen management and groundwater protection*, (Edited by Follett, R.F.), pp.1-22. Elsevier, Amsterdam, 1989.

- 2) 国包章一, 真柄泰基: 地下水の窒素汚染とその原因に関する基礎的考察, 衛生工学研究論文集, **20**, pp.121-130, 1984.
- 3) 明賀春樹: 硝酸性窒素で汚染された地下水の修復技術, 用水と廃水, **36**(8), pp.33-40, 1994.
- 4) 地下水ハンドブック編集委員会: 地下水ハンドブック, 建設産業調査会, 1979.
- 5) Wetselaar, R., Fox, J.J., Smith, M., Rum Ali, M., Moermanto, R.J., and Armad, I.: Groundwater nitrate in East Java, Indonesia, AGSO J. Australian Geology & Geophysics **14**(2/3), pp.273-277, 1993.
- 6) Kneifel, K. and Luhrs, G.: Nitrate removal by electrodialysis for brewing water, Desalination **68**, pp.203-209, 1988.
- 7) Lauch, R. P. and Guter, G. A.: Ion exchange for the removal of nitrate from well water, J. AWWA, pp.83-88, 1986.
- 8) Kurt, M., Dunn, I. J., Bourne, J. R.: Biological denitrification of drinking water using autotrophic organisms with H_2 in a fluidized-bed biofilm reactor, Biotechnol. Bioeng. **29**, pp.493-501, 1987.
- 9) スラボン・ワタナチラ, 藤田賢二: 粒状層脱窒素処理におけるろ過速度, pH及び温度の影響, 水道協会雑誌 **59**(6), pp.2-8, 1990.
- 10) Sakakibara, Y. and Kuroda, M.: Electric prompting and control of denitrification, Biotechnol. Bioeng. **42**, pp.535-537, 1993.
- 11) 黒田正和, 渡辺智秀, 梅津嘉忠: バイオエレクトロ法による硝酸汚染水の脱窒特性とその高速処理に関する研究, 水環境学会誌 **17**(10), pp.623-631, 1994.
- 12) Trudell, M. R., Gillham, R. W., and Cherry, J. A.: An in-situ study of the occurrence and rate of denitrification in a shallow unconfined sand aquifer, J. Hydrol. **83**, pp.251-268, 1986.
- 13) Mercado, A., Libhaber, M., and Soares, M. I. M.: In situ biological groundwater denitrification: Concepts and preliminary field tests, Wat. Sci. Tech. **20**(3), pp.197-209, 1988.
- 14) Janda, V., Rudovsky, J., Wanner, J., and Marha, K.: In situ denitrification of drinking water, Wat. Sci. Tech. **20**(3), pp.215-219, 1988.
- 15) Dahab, M. F. and Lee, P. Y.: Nitrate reduction by in-situ biodenitrification in ground water, Wat. Sci. Tech. **26**(7-8), pp.1493-1502, 1992.
- 16) Kinoshita, K.: Carbon, Electrochemical and physicochemical properties, John Wiley & Sons, New York, 1988.
- 17) Sakakibara, Y., Araki, K., Tanaka, T., Watanabe, T., and Kuroda, M.: Denitrification and neutralization with an electrochemical and biological reactor, Wat. Sci. Tech. **30**(6), pp.151-155, 1994.
- 18) Knowles, R.: Denitrification, Microbiol. Rev. **46**, pp.43-70, 1982.
- 19) Gamble, N.T., Betlach, M.R., Tiedje, J.M.: Numerically dominant denitrifying bacteria from world soils, Appl. Environ. Microbiol. **33**, pp.926-939, 1977.
- 20) Stouthamer, A.H.: Bioenergetics and yield with electron acceptors other than oxygen, In *Handbook of anaerobic fermentations*, (Edited by Erickson L. E. and D.Y. Fung), pp.345-420. Marcel Dekker, New York, 1988.
- 21) Hallberg, G.R.: Nitrate in ground water in the United States, In *Nitrogen management and groundwater protection*, (Edited by Follett, R.F.), pp.35-74. Elsevier, Amsterdam, 1989.
- 22) 川島博之, 津村昭人, 木方展治, 山崎慎一, 藤井国博: 水田周辺地下水中の硝酸塩濃度-変動機構の解明, 水環境学会誌 **16**(2), pp.108-113, 1993.