

(50) 土壌中の硫黄脱窒過程における硝酸態窒素除去及び亜酸化窒素生成の評価

Evaluation of Nitrate-N Removal And Nitrous Oxide Production during Sulfur Denitrification in Soil

長谷川 聖*、花木 啓祐*、松尾 友矩*

Kiyo HASEGAWA, Keisuke HANAKI, Tomonori MATSUO

Abstract ; To demonstrate the efficiency of sulfur as denitrification electron donor, the column and the batch experiments were carried out. Nitrate-nitrogen was sufficiently removed by the soil column packed with elemental sulfur. When denitrification proceeded insufficiently, the high concentration of N_2O was detected. On the other hand, when denitrification proceeded sufficiently, N_2O formation was kept low. The batch experiments indicated that high water content and $CaCO_3$ addition for pH adjustment are effective methods to proceed denitrification sufficiently and decrease N_2O emission. In the case of adding each electron donor (S^0 , FeS, glucose, or cellulose), produced N_2O was more readily reduced than the case of soil alone. When inorganic sulfur was used as electron donor, the maximum concentration of produced N_2O in the gas phase was very low (about 50 ppm), which was 2 order lower than the concentration in the case that organic compounds were used as electron donor. This indicated the possibility to suppress N_2O emission by adding sulfur into the soil and proceeding sulfur denitrification.

Keywords ; nitrous oxide, nitrate-nitrogen, sulfur denitrification, agricultural soil-water system

1. はじめに

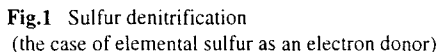
亜酸化窒素 (N_2O) は、温室効果ガスのひとつであり、対流圏寿命が120年と長く、二酸化炭素の280倍もの温室効果能を有することから注目される¹⁾。 N_2O は、燃焼により化学的にも生成されるが^{2)~4)}、主要な生成源は生物学的な硝化⁵⁾および脱窒反応⁶⁾である。硝化において、 N_2O は副生成物として生成され、その後好気条件下においては分解されることはないが、脱窒においては中間生成物として生成されるため、反応の進行に伴い、 N_2 にまで分解され得る。近年、地下水の硝酸態窒素汚染^{7)~10)}等、人間活動に起因した自然環境中への窒素負荷の増大に伴い、自然土壌水系から発生する N_2O の増大が懸念される^{11), 12)}。そこで、自然の土壌水系が有する脱窒能により、効率的に硝酸態窒素を除去しつつも、その過程で発生する N_2O をより低く抑えることが重要といえる。

脱窒能の促進には、有機物等、電子供与体の添加が有効と考えられる。しかし、長谷川ら¹³⁾の実農地土壌水系における調査結果より、有機物量が高い場合に脱窒能が促進される一方、 N_2O 発生割合も高くなる傾向が見られた。よって、本研究においては、脱窒の電子供与体として、無機硫黄をオンサイトで土壌に投与し、緩速な脱窒を進めることにより N_2O 発生割合を減らし得る可能性の評価を試みた。

硫黄脱窒は、有機物を電子供与体及び炭素源として用いる従属栄養的脱窒に対し、無機物である硫黄を電子供与体として用いる脱窒である。現時点では、炭素源に CO_2 を使用する無機独立栄養の細菌が主に硫黄脱窒を行なうことが知られている^{13), 14)} (Table 1)。これらの細菌は通常好気条件下では、酸素を電子受容体として還元型硫黄 (S^{2-} , S^0 , $S_2O_3^{2-}$) を酸化するのに対し、無酸素条件下においては、酸素の代わりに硝酸塩を電子受容体として用いることができる (Fig.1)。硫黄脱窒による硝酸態窒素除去例としては、汚染水を導入し、オフサイトで処理を行なうものが多い^{15), 16)}。これに対しZhangら¹⁷⁾は、pond システムによるin situでの硝酸態窒素除去の評価を行なった。また、矢部ら¹⁸⁾は硫黄と石灰岩で粒状整形したものを畑地排水路に投入し、硝酸態窒素除去を試みている。これらの処理は、手間の省略及びコスト安の点から見て有効と考えられる。但し実地施行にあたっては、処理能力及び影響条件に関する十分な検討が必要といえる。しかし、現段階においてオンサイトでの硫黄脱窒処

*東京大学大学院工学系研究科都市工学専攻、東京都文京区本郷7-3-1、〒113-8656

<i>Thiobacillus denitrificans</i>	obligately autotrophic colorless sulfur bacteria
<i>Thiomicrospira denitrificans</i>	obligately autotrophic colorless sulfur bacteria
<i>Thiosphaera pantotropha</i>	facultatively autotrophic colorless sulfur bacteria
<i>Beggiatoa</i>	filamentous bacteria



2. 実験方法

2.2 土壌カラム試験

Table 2 Soil conditions

	paddy field	farm
NO ³⁻ (mgN/g dry soil)	0.037	0.084
NO ²⁻ (mgN/g dry soil)	0.000	0.000
SO ⁴ ²⁻ (mgS/g dry soil)	0.055	0.061
TOC (mgC/g dry soil)	0.448	0.031
solid phase (weight %)	98.0	94.8
water content (weight %)	2.0	5.2
solid phase (volume %)	40.1	35.4
water content (volume %)	2.2	5.0
pore space (volume %)	57.7	59.6

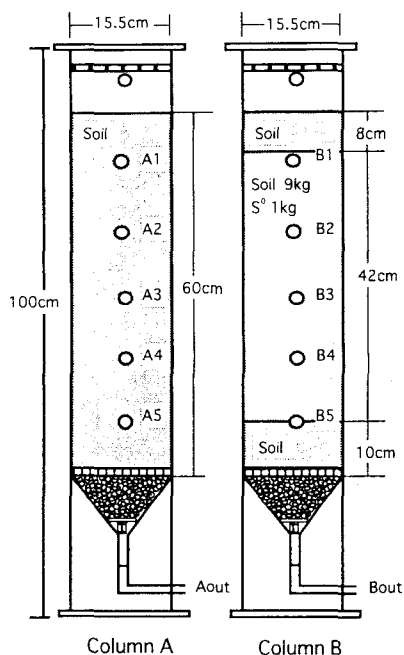


Fig.2 Soil columns
(A: control B: S addition)

GC	GC-8AIE (Shimadzu)
column	glass column (2.6mm x 3.0mm) Polapak-Q (80/100 mesh)
carrier gas	N ₂ (30mL/min)
temperature	detector : 340°C column : 70°C

から、47日以降は開放系とした。流入基質に有機物は加えず、KNO₃のみとした。基質NO₃⁻濃度は1000mgN/Lであり、混合槽にて水道水により希釈され、約30mgN/Lとなった後、各土壌カラムに一定流量（90mL/h）で流入させた。カラム上部は、下部同様メッシュ板を設け、流入水ができる限り均一にカラム上部に流入する構造とした。

サンプルは流入水、各深の土壌間隙水、流出水を経過時間ごとに採取し、溶存態N₂O、NO₃⁻、及びSO₄²⁻の測定を行なった。溶存態N₂Oの測定にはHeadspace法を適用し、50mlバイアル瓶に一定量のサンプル(20～40mL)と微生物を不活化させるためのヒピテン(住友製薬製、グルコン酸クロルヘキシジン5%含有)一定量(1～3ml)を入れ、ブチルゴムセプタムとアルミシールで密閉する。恒温室(20℃)にて約1時間静置した後、気相部を電子捕獲検出器(ECD)付きガスクロマトグラフ(GC-8AIE, Shimadzu社)にて検出した。濃度の定量は、同条件にて作成した標準列のクロマトグラムエリアとの比較により行なった。サンプル量と同量の超純水、ヒピテンを入れ、密閉したバイアル瓶に、標準N₂Oガス一定量を注入した後、恒温室(20℃)で約1時間静置し、気相部をECD付きGCにて検出した。サンプルにおいて、あるピーク面積が得られた場合、標準列において同ピーク面積を得られる時の標準N₂O注入量が、サンプル中に溶けていた全N₂O量であったとし、サンプルの溶存N₂O濃度は、この標準ガス注入量をサンプル量で割った値により求められる。GCの分析条件はTable 3 に示した。また、カラム気相部N₂O濃度は、上蓋セプタムよりガスタイトシリンジにて気体1mLを採取し、同条件のGC-ECDにて検出した。NO₃⁻及びSO₄²⁻は0.45μmにて濾過した後、CIA クォンタ4000(Waters社)により分析した。pH、ORPに関してもこの濾過水を用い、測定を行なった。

2.3 含水率影響試験

カラム実験ではカラムへの流入速度を一定としたため、土壌含水率はほぼ一定に保たれた（実験終了時、カラムBにおいて重量含水率26.0～29.7%）。しかし、実土壌においては降雨・灌漑等による含水率変化が予想されるため、硫黄埋め込み状態で各含水率設定条件下での評価を実施した。土壌には水田土壌を用いた。土壌と粉末状元素硫黄を重量比9：1の割合で混合したものを、50mLバイアル瓶に15gずつ分取する。土壌量ごとの投与総NO₃⁻-N量が同じになるよう、KNO₃濃度をTable 4に示した通り変化させ、KNO₃溶液投与量により、3段階の含水率を設定した。最大含水率条件（c）における土壌は完全湛水状態であり。条件aは、土壌がややしめった状態となっていた。各条件における実測含水率は初期KNO₃投与後に測定した。バイアル瓶は測定回数分用意し、それぞれ、KNO₃投入後気相を窒素ガス置換し、密栓。一定時間後、気相N₂Oをガスタイトシリンジで採取し、GC-ECDにて測定。開栓後、超純水25mLを加え、スターラーにて攪拌しながら、40Wで10分間超音波分散。0.45μm孔径で濾過した後、各水質項目の測定を行なった。土壌中残存有機物による脱窒により、初期投入NO₃⁻が使われ切ったため、実験開始8日後、バイアル瓶を一旦開栓し、2000mgN/L KNO₃溶液0.5mLをそれぞれ加えた後、気相を再度窒素ガス置換し、密栓。同様に各項目の測定を行なった。

2.4 pH影響試験

硫黄脱窒においては、反応の進行に伴い、H⁺が形成されることから、pHの低下が起こる（Fig.1 参照）。よってpH調整剤としてCaCO₃の添加、もしくは硫黄と共にペレット状・粒状にしての使用がよく行なわれる¹⁵⁾¹⁸⁾。そこで、元素硫黄と共に、CaCO₃を埋め込むことによる硝酸態窒素除去及びN₂O発生の評価を行なった。土壌には水田土壌を用いた。土壌と粉末状元素硫黄、粉末状CaCO₃をTable5 に示した重量比となるよう混合し、50mLバイアル瓶に15gずつ分取する。バイアル瓶は測定回数分用意し、それぞれ、100mgN/L KNO₃ 10mL 投入後気相を窒素ガス置換し、密栓。各項目の測定は2.2と同様の方法をとった。

Table 4 Water content settings

	water content	KNO ₃
a	17.6 (weight %)	100 mgN/L : 2.5 mL
b	27.5 (weight %)	50 mgN/L : 5.0 mL
c	41.6 (weight %)	25 mgN/L : 10 mL

Table 5 CaCO₃ mixing settings

		weight ratio
a	soil : S	9 : 1
b	soil : S : CaCO ₃	8 : 1 : 1
c	soil : S : CaCO ₃	8.5 : 1 : 0.5

2.5 電子供与体試験

電子供与体としての硫黄の有効性を明らかにするため、無機物もしくは有機物を電子供与体とした場合の比較評価を行なった。土壌には、水田土壌及び畑地土壌の2種を用いた。電子供与体に、 S^0 、FeS、glucose、celluloseの4種を設定し、電子供与体及び $CaCO_3$ はいずれも粉末状のものを用いた（Table 6）。土壌：電子供与体： $CaCO_3$ を重量比8.5：1：0.5の割合で混合し、測定回数分用意した50mLバイアル瓶に15gずつ分取する。100mgN/L KNO_3 溶液10mLを加え、気相を窒素ガス置換した後、密閉。各項目測定は2.2と同様の方法をとった。

Table 6 Electron donor

	electron donor	$CaCO_3$
a	S	+
b	FeS	+
c	glucose	+
d	cellulose	+
e	none	+
f	none	none

3. 土壌カラム試験

3.1 実験結果

5日後・32日後・81日後におけるカラム土壌間隙水中の溶存態 N_2O 、 NO_3^- 及び SO_4^{2-} 濃度の垂直プロファイルを図3に示した。カラムAにおいては、深さ方向における NO_3^- 及び SO_4^{2-} の濃度変化が殆どみられないのに対し、カラムBにおいては、深くなるに従い、 NO_3^- が減少し、 SO_4^{2-} が増加していることから、カラムBにおける硫黄脱窒が確認された。特に32日後のカラムB底部では NO_3^- 濃度が0.0mgN/Lとなっており、脱窒が完全に進行していることがわかる。 N_2O 濃度は、両カラムとも5日後が最も高く、深さが深くなるに従い N_2O 濃度の上昇が見られた。特にカラムBでは、5日後以降では深くなるに従い、 N_2O 濃度が減少した。

約40日を経た頃より、カラムB上部で大部分の NO_3^- が消費され、カラム底部が嫌氣的となり、硫酸還元による硫化物の生成により黒色化した。よってこれ以降、カラム上部を開放して運転した。81日後の結果では、脱窒は進行しているものの、47日後の時点で見られたような深さ方向に沿った、急速な NO_3^- 還元は見られないようになり、特にカラム上部において N_2O 蓄積が見られるようになった。

Fig.4には実験期間中のpHの経時変化を示した。カラムAにおいては実験期間中のpHは6.0前後で推移した。これに対し、カラムBでは、硫黄脱窒の進行に伴いpHが低下し、80日以降のカラム上部では3.5前後の低い値となっていた。実験開始後40日間はカラムBのいずれの深さにおいてもpHの急激な減少が見られるが、それ以降の期間

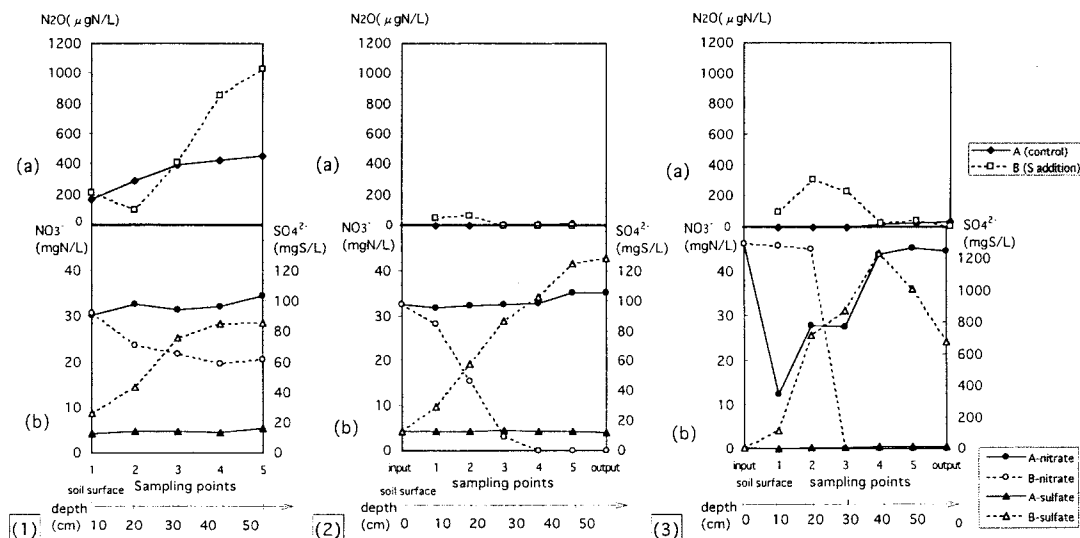


Fig. 3 Profiles of ((a) N_2O , (b) NO_3^- ・ SO_4^{2-}) after (1) 5days, (2) 32days, and (3) 81days

は、カラム底部ではむしろpH上昇が見受けられた。また、Fig. 5に90日後におけるカラム各深さにおけるORPを示した。カラム底部は開放系としたため、No. 5でのORP値が若干高くなっているものの、カラムBにおいてNo.1~4で深さに沿ったORPの低下が見受けられる。

3.2 土壌カラム実験考察

硫黄埋込を行わない系では、 NO_3^- の還元は殆ど起こらなかったのに対し、硫黄を埋め込んだ系では、硫黄脱窒の進行が確認され、十分な NO_3^- 還元が見られた。通水初期の時点では、脱窒反応が主に起こったと考えられるカラム底部において、不十分な脱窒から、高濃度の N_2O が蓄積した。脱窒反応が完全に進行し始めると、いずれの深さにおいても N_2O 値の低下が見受けられたが、特にカラム底部ほど N_2O 濃度が低くなっており、硫黄脱窒により NO_3^- 及び N_2O 除去の両者が可能となった。しかし、脱窒反応が急速に進むに伴い、特に硫黄を埋め込んだ底部において、硫酸還元が起こり、硫化物が生成された。40日以降の底部のpH上昇はこの硫酸還元の結果と考えられる。それまで完全密閉としていたカラム上部を開放とした47日以降の結果では、主にカラム上部で、還元状態が不完全となったこと、硫黄脱窒の進行に伴いpHが低下したこと等の要因により、 NO_3^- 還元及び N_2O 還元を阻害する結果がもたらされたのではないかと考えられる。

カラム上部密閉期間のうち、実験開始3日-5日後、及び14日-32日後の両期間におけるカラムBからの NO_3^- 除去量及び土壌表面からの N_2O フラックスをFig. 6に示した。 NO_3^- 除去量は、対象期間中の平均流入濃度と平均流出濃度の差に、流量(90mL/h)を乗じて求めた。 N_2O フラックスは、対象期間中のカラムB気相部の N_2O 濃度の増加速度に気相体積を乗じて求めた。また同図中には実地調査を行なった際の水田からの平均 N_2O フラックス($1.6\mu\text{gN}/\text{m}^2/\text{min}$)¹²⁾を本カラム断面積(188.6 cm^2)に適用した場合のフラックス値を矢印(←)にて示した。

実験期間の進行に伴い、脱窒量の増加及び N_2O フラックスの減少が見て取れる。実地調査結果とカラム実験結果を単純比較することは不可能であるが、硫黄埋め込みによる脱窒を進めた場合、特に脱窒の十分に進行した14-32日後における N_2O フラックスは、実地調査の結果に比べ、非常に小さく抑えられた。よって、土壌中への硫黄埋め込みによる脱窒能の促進、及び N_2O 削減効果が期待できると考えられた。

4. 含水率試験

4.1 実験結果

各設定含水率における NO_3^- 、 NO_2^- 及び SO_4^{2-} の経時変化をFig. 7に示した。実験初期8日間においては、いずれの条件下においても、 NO_3^- が減少している一方で SO_4^{2-} の増加が殆ど見られない。 KNO_3 を再添加した後、高含水率(b・c)においては NO_3^- の減少と同時に SO_4^{2-} の増加が見受けられ、硫黄脱窒の進行が確認できる。これに対し、低含水率(a)においては実験期間を通じて NO_3^- の減少に伴う SO_4^{2-} の増加は顕著ではなく、硫黄脱窒の進

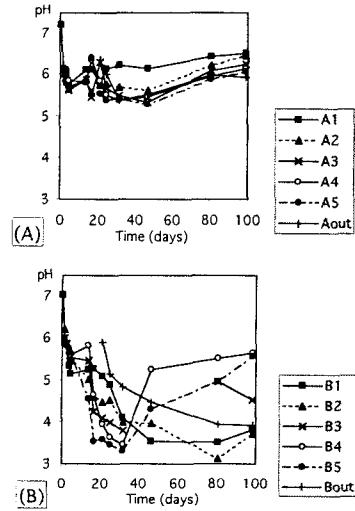


Fig. 4 Temporal change of pH
(A) column A (B) column B)

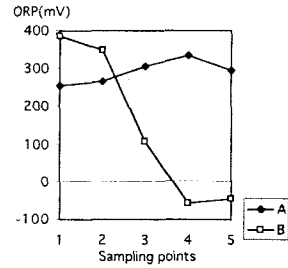


Fig. 5 ORP profile after 99days

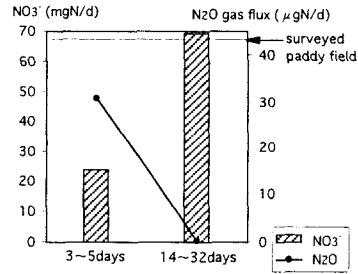


Fig. 6 Removed NO_3^- -N and N_2O flux in the column B
(← represents the average flux in the surveyed paddy field)

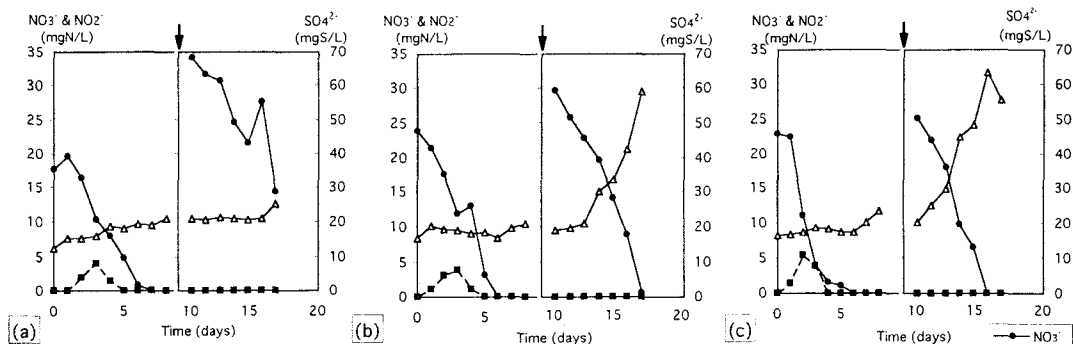


Fig. 7 Temporal change of NO_3^- , NO_2^- , and SO_4^{2-} ((a) 17.6% (b) 27.5% (c) 41.6%) ↓: KNO_3 addition

行は見られない。

各設定含水率における N_2O の経時変化をFig. 8に示した。特に脱窒初期において、高濃度の N_2O が蓄積した。含水率が低い場合に気相 N_2O 濃度が高くなっており、さらに発生した N_2O が還元されるのに長い時間を要した。8日以降、(b)では、9日後に139.0ppmの N_2O が検出されたものの、それ以降速やかに減少した。(c)においても N_2O は0.2~13.7ppmと非常に低く抑えられた。これに対し、条件(a)では依然高濃度の N_2O が検出された。

4.2 含水率試験考察

Fig. 9に各設定条件における NO_3^- 還元速度(左軸)と還元された NO_3^- に対する酸化された硫黄の割合(右軸、以下S/N)を示した。低含水率(a)においては、実験期間を通して硫黄脱窒がほとんど起こっていないと考えられ、S/Nが8日後前後で0.5→0.6と殆ど変わっていないことからそのことが推察される。一方、含水率が高くなるほど、脱窒速度も大きくなり、特に8日以降のS/N値が急激に増加している。硫黄脱窒におけるS/N値の理論値は1.9(電子供与体として元素硫黄を用いた場合)であり、8日後以降、最も設定含水率の高い(c)においては特にS/N値が1.7と高くなっており、硫黄脱窒が主に行なわれていたと考えられる。

N_2O は実験期間を通じて、高含水率(c)において最も低く抑えられた。8日以前の NO_3^- 還元速度に対する N_2O 生成速度の割合を求めると、(a) 0.76、(b) 0.78 なのに対し、(c)は0.14と N_2O 生成割合が特に低くなっていた。また、8日後以降においては、条件(b・c)において N_2O 発生が殆ど見られず、低く抑えられたのに対し、条件(a)での N_2O は依然高くなっていた。8日後前後での N_2O 発生割合の違いは、時間経過に伴う微生物活性の増加、及び脱窒における電子供与体の有機物から硫黄への移行が関係したと考えられる。

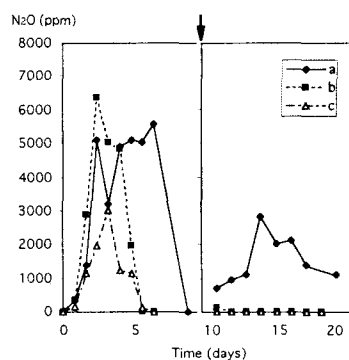


Fig. 8 Temporal change of N_2O ((a) 17.6% (b) 27.5% (c) 41.6%) ↓: KNO_3 addition

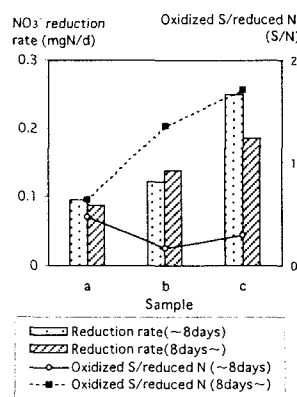


Fig. 9 NO_3^- reduction rate and oxidized S ratio to reduced N during the water content experiment

5 pH試験

5.1 実験結果

Fig. 10に実験期間中pHの経時変化を示した。CaCO₃を添加した場合(b・c)には、実験期間を通じてpHが7.5～8の脱窒に適した値に保たれたのに対し、無添加の場合(a)には、一般的耕作土壌と等しく、初期土壌pHが5.5と低く、実験開始後8日後まではpHが上昇していき、8日以降は若干のpH減少が見受けられた。

Fig. 11に各条件におけるNO₃⁻、NO₂⁻及びSO₄²⁻の経時変化を示した。CaCO₃を添加した場合(b・c)には、初期3日間はNO₃⁻の減少に伴うSO₄²⁻の増加は見られないが、3日以降は急速にSO₄²⁻が形成されている。一方、CaCO₃無添加の場合(a)には、実験開始後8日目まではSO₄²⁻の増加は見られず、8日を過ぎてからSO₄²⁻の増加が見られた。

実験期間中の気相N₂O濃度の経時変化を**Fig. 12**に示した。実験開始後3日間で急速なN₂Oの蓄積が見られる。CaCO₃を添加した場合(b・c)には、生成N₂Oが低く、気相最大N₂O濃度が60ppm近くに抑えられ、さらに生成されたN₂Oは速やかに還元される。CaCO₃添加量の違いによるN₂O生成量に対する影響は殆ど見られない。これに対し、CaCO₃無添加の場合(a)においては、気相最大N₂O濃度が6500ppmにも達し、CaCO₃を添加した場合(b・c)に比べ2オーダー近く高くなっていた。また一旦生成されたN₂Oが再度還元されるまでに要する時間が、CaCO₃を添加した場合(b・c)に比べ、3倍近く長くなった。

5.2 pH試験考察

CaCO₃を添加した場合(b・c)には、実験開始後3日後までは土壌残存有機物を用いた従属栄養的脱窒が主となり、3日以降は急速に硫黄脱窒が進行したと考えられる。一方、CaCO₃無添加の場合(a)には、8日以降硫黄脱窒が進行したと考えられ、8日までのpH上昇及びそれ以降のpH低下からも、従属栄養的脱窒から硫黄脱窒への移行が確認できる。

Fig. 13に各設定条件におけるNO₃⁻還元速度(左軸)及びNO₃⁻還元速度に

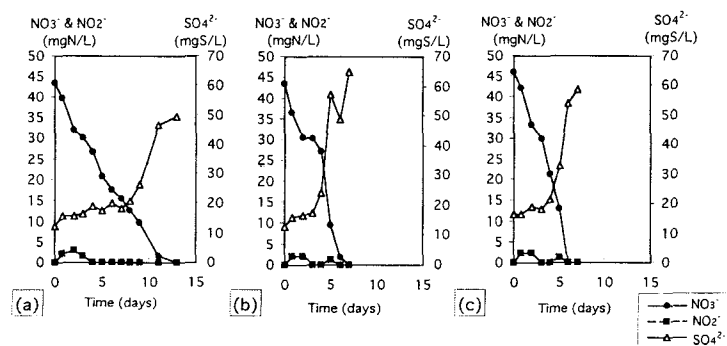


Fig. 11 Temporal change of NO₃⁻, NO₂⁻, and SO₄²⁻
((a) no (b) 5% (c) 10% CaCO₃)

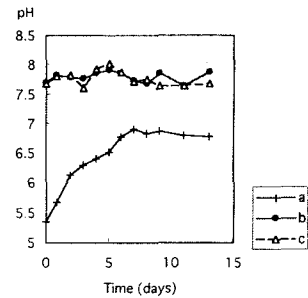


Fig. 10 Temporal change of pH
((a) no (b) 5% (c) 10% CaCO₃)
(Shaded area is optimal pH range for denitrification)

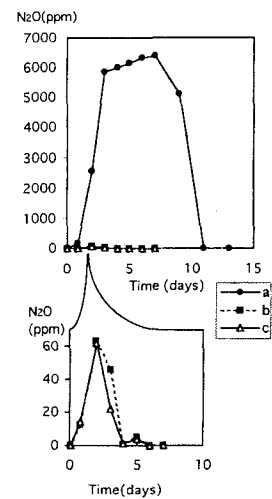


Fig. 12 Temporal change of N₂O
((a) no (b) 5% (c) 10% CaCO₃)

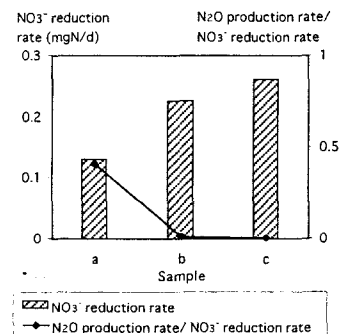


Fig. 13 NO₃⁻ reduction rate and ratio of N₂O production rate to NO₃⁻ reduction rate during the pH experiment

対する N_2O 生成速度の割合(右軸)を示した。 CaCO_3 添加による還元速度の増加が見受けられる。 N_2O に関しても CaCO_3 添加による N_2O 低下が大きくなっていた。しかし CaCO_3 添加割合の違いによる影響は殆ど見受けられなかった。実験期間中、(b)・(c)両者においてpHがほぼ同域に保たれたことから、pHが脱窒最適域に保たれることで、十分な NO_3^- 還元及び、 N_2O 低下が可能と考えられた。

6. 電子供与体試験

6.1 実験結果

Fig.14、15に水田及び畑地土壌での、各電子供与体下における、実験期間中の NO_3^- 、 NO_2^- 及び SO_4^{2-} の経時変化を示した。無機硫黄を添加した場合(a・b)ではいずれの土壌でも実験開始後数日間は、顕著な SO_4^{2-} の増加が見受けられないが、それ以降 SO_4^{2-} が急激に増加し、硫黄脱窒の進行が確認できる。有機物を添加した場合(c・d)には、急速に NO_3^- が還元される一方一時的に多量の NO_2^- が蓄積した。

気相 N_2O 濃度の経時変化をFig.16に示した。系(c)～(f)においては、実験開始後2～3日で気相 N_2O 濃度が6000ppm近くに達し、非常に高濃度の N_2O が確認された。これに対し、無機硫黄を添加した場合(a・b)では、気相最大 N_2O 濃度が60ppm近くに抑えられた。電子供与体を添加した場合(a～d)では、発生した N_2O が5日以内に完全に還元され、また、 CaCO_3 を添加した場合(e)においても7日後には気相 N_2O が0となった。これに対し、無処理の場合(f)においては、一旦発生した N_2O が再度還元されるまで長期間を要し、実験開始後15日で気相 N_2O が0となった。

6.2 電子供与体試験考察

Fig. 17に電子供与体試験における NO_3^- 還元速度(左軸)及び NO_3^- 還元速度に対する N_2O 生成速度の割合(右軸)を示した。水田土壌において(Fig. 17(1))は、無添加の(f)に対し、pH調整剤として CaCO_3 を埋め込むのみ(e)で、

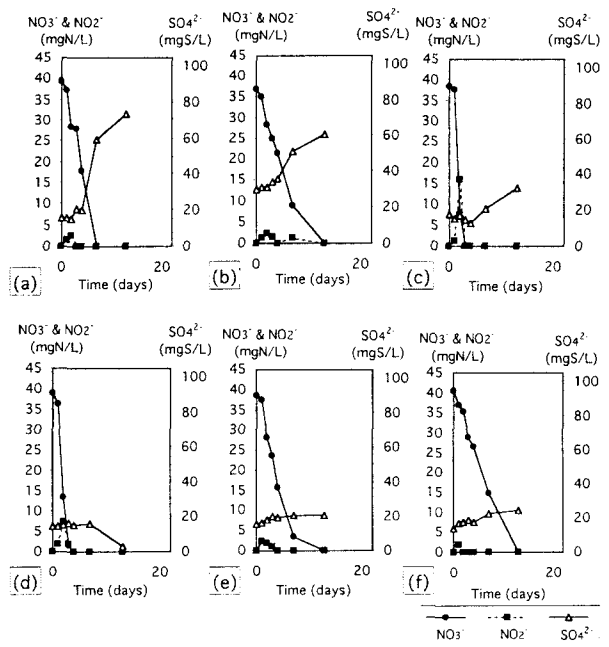


Fig. 14 Temporal change of NO_3^- , NO_2^- , and SO_4^{2-} in the paddy field soil

(a) S^0 (b) FeS (c) glucose (d) cellulose (e) CaCO_3 (f) none)

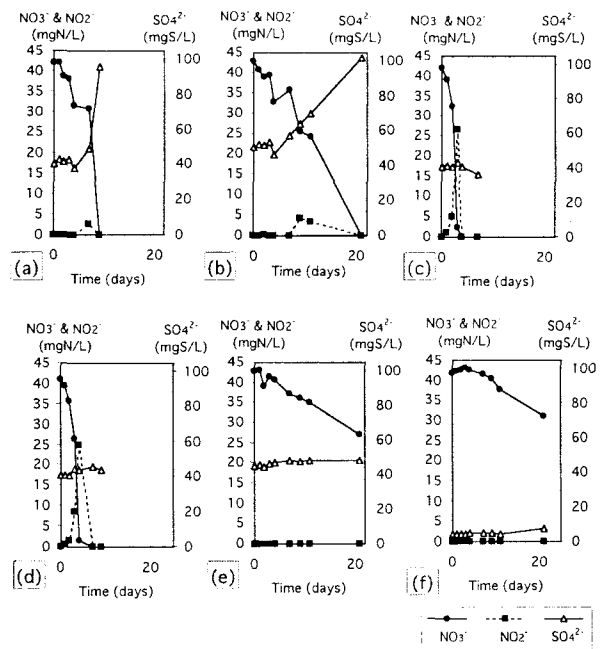


Fig. 15 Temporal change of NO_3^- , NO_2^- , and SO_4^{2-} in the farm soil

(a) S^0 (b) FeS (c) glucose (d) cellulose (e) CaCO_3 (f) none)

NO_3^- 還元速度が1.7倍に増加した。また、有機物を電子供与体として添加した系では、電子供与体無添加の(e)に比べ、速度が2.7(c)、2.1(d)倍に増加した。一方、元素硫黄を添加した系(a)では、電子供与体無添加の(e)に比べ、1.1倍、FeSを添加した系(b)では0.8倍と、速度は殆ど変化しないかもしくは減少した。

畑地土壌において(Fig. 17(2))は、 CaCO_3 を添加するのみ(e)の効果は、 NO_3^- 還元速度が、無添加の(f)に比べ、1.3倍と大きくないが、有機物を電子供与体とした場合では、(e)に比べ、速度が16.3(c)、9.3(d)倍と大きく増加した。また無機物を電子供与体とした場合においても、(e)に比べ、速度が5.4(a)、2.7(b)倍となった。畑地土壌では、土壌の初期溶解有機物量が水田土壌(0.45mgC/dry soil)に比べ、0.031mgC/dry soilと低かった(Table 2)ことから、元土壌(f)の持つ脱窒能が低く、電子供与体が脱窒の制限因子となったため、電子供与体添加による脱窒速度増加影響が大きくなったものと考えられる。

硫黄と共に CaCO_3 を添加したpH試験の結果においても、pH調整による脱窒の促進及び N_2O の低減効果が見られたが、本実験において、土壌に CaCO_3 を添加するのみ(e)でも、脱窒能の促進及び N_2O 低減が十分に可能であることが示された。また、 CaCO_3 に加え、さらに電子供与体を添加することにより、効果がさらに促進される結果が得られた。

Fig. 17に示した硝酸態窒素の還元速度に対する N_2O 生成速度の割合では、いずれの土壌においても電子供与体添加による N_2O 発生割合の低下が見受けられる。特に水田土壌においては、 N_2O の発生割合が、電子供与体に無機物(元素硫黄・FeS)を用いた場合に、有機物を電子供与体とした場合より低く抑えられた。 NO_3^- と SO_4^{2-} の経時変化を見る限り、 N_2O 発生期間中 SO_4^{2-} の増加は顕著ではなく、硫黄脱窒よりもむしろ土壌残存有機物を用いた従属栄養的脱窒が優先していたものと考えられる。しかし、硫黄脱窒が共存することで、発生 N_2O が小さく抑えられるのではないかと考えられた。畑地土壌においては、無添加の場合(f)における N_2O 発生割合が水田土壌ほど大きくなってはいないが、実験期間中、(f)においては低速ながらも N_2O が還元されることなく発生し続けており、割合としての値は小さくなってはいるものの、好ましい状況とはいえず、電子供与体の添加による N_2O 還元の促進及び N_2O 発生割合の低減が重要といえる。

Fig. 17 NO_3^- reduction rate and ratio of N_2O production rate to NO_3^- reduction rate during the electron donor experiment

(1) paddy field soil (2) farm soil)

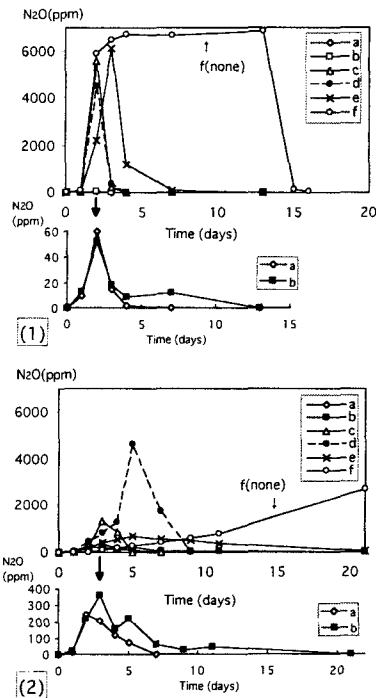
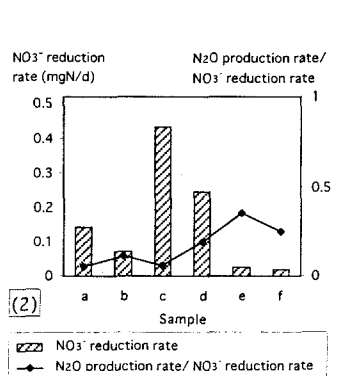
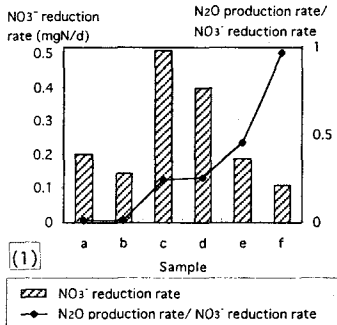


Fig. 16 Temporal change of N_2O
(a) S^0 (b) FeS (c) glucose (d) cellulose
(e) CaCO_3 (f) none, (1) paddy field (2) farm)



7 考察及び結論

7.1 硝酸態窒素還元速度

Fig.18に各実験における土壌1gあたりの NO_3^- 還元速度を示した。カラム実験においては、実験開始後14-32日の結果を、含水率試験は実験開始後8日後までの結果、電子供与体試験は水田土壌の結果を示した。

カラム実験においては、無添加 (A) の場合には硝酸態窒素の還元速度が殆ど0に近い。これに対し、硫黄を埋め込むことにより、還元速度の増加が見受けられる。バッチ実験の結果から、より効率的に硝酸態窒素除去を行なうには、高い含水率、 CaCO_3 の添加、電子供与体の添加が有効と考えられた。硝酸態窒素の還元速度の観点のみからは、電子供与体として有機物を添加した場合に還元速度が最も高められる結果となった。

7.2 N_2O 発生割合

Fig.19に各バッチ実験における硝酸態窒素の還元速度に対する N_2O 生成速度の割合を示した。元素硫黄のみの添加で低含水率の場合(Water content (a)・(b))及び、高含水率下無添加の場合(Electron donor (f))において N_2O の発生割合が高くなった。いずれも高含水率下で、 CaCO_3 のみを添加した場合(Electron donor (e))、元素硫黄のみを添加した場合(Water content (c)・pH (a))、及び CaCO_3 と有機電子供与体を添加した場合(Electron donor (c)・(d))においては、前述の条件に比べ、幾分かの N_2O の削減効果が見受けられた。これらに対し、高含水率下 CaCO_3 と無機硫黄を添加した場合(pH (b)・(c)、Electron donor (a)・(b))においては N_2O の発生割合が非常に小さく抑えられた。

7.3 結論

カラム実験の結果より、土壌中に元素硫黄を埋め込むのみで十分な硝酸態窒素除去が可能であり、また脱窒の進行に伴い、発生する N_2O も小さく抑えられる結果が得られた。実農地水系の調査¹²⁾において、高い硝酸態窒素濃度の湧水が流入することで、特に間断湛水期の水田は N_2O の発生源ともなっている結果が得られている。今回の硫黄埋め込みカラムからの N_2O 発生は、実調査の平均値より低く抑えられたことから、低地水田を硝酸態窒素除去の場として運用する場合に、硫黄添加による N_2O 抑制が可能と考えられた。但し、脱窒の進行に伴い、還元状態が進み、硫酸還元による硫化物の生成が見られた。また、pH低下及び還元状態の不完全化により N_2O が蓄積した。含水率の違いによる硫黄脱窒の進行及び N_2O 生成状況の変化が見られたことから、実地施用にあたっては導入水量の適切な管理により、無酸素状態及び還元状態のコントロールが必要といえる。

CaCO_3 の硫黄との同時投与により、硫黄脱窒によるpH低下の問題は解決でき、また、脱窒の促進及び N_2O の低減にも CaCO_3 添加は効果的であることが示された。各電子供与体物質の添加は、脱窒能の促進及び N_2O の低減に効果的であるが、特に高含水率下、 CaCO_3 と共に無機硫黄を電子供与体として投与し、硫黄脱窒を進めることで、有機物を唯一の電子供与体とする場合より、発生する N_2O 量が低く抑えられる結果が得られた。

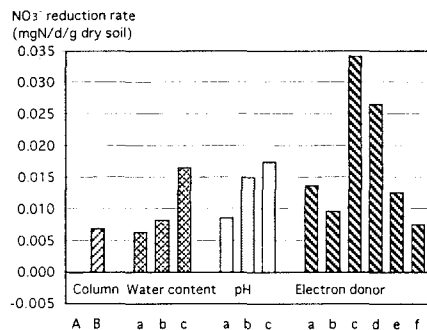


Fig. 18 NO_3^- reduction rate of each experiment

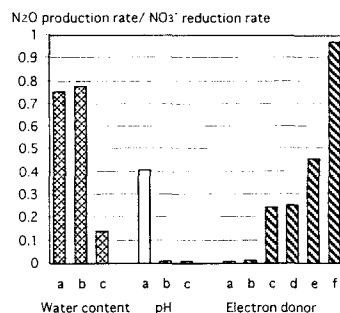


Fig. 19 Ratio of N_2O production rate to NO_3^- reduction rate of each batch experiment

Table 7 Settings of each batch experiment

experiment		water content (weight %)	added compounds
Water content	a	17.6	S
	b	27.5	S
	c	41.6	S
pH	a	40.0	S
	b	40.0	S+ CaCO_3
	c	40.0	S+ CaCO_3
Electron donor	a	40.2	S+ CaCO_3
	b	40.2	FeS+ CaCO_3
	c	40.2	glucose+ CaCO_3
	d	40.2	cellulose+ CaCO_3
	e	40.2	CaCO_3
	f	40.2	none

謝辞

本研究を行なうにあたっては、使用土壌の採取にあたり、埼玉県農業試験場日高伸氏には多大なるご協力をいただきましたこと、ここに厚く御礼申し上げます。なお、本研究は文部省科学研究費基盤研究B「亜酸化窒素生成の小さいオンサイト硫黄脱窒による農地から水系への窒素負荷の軽減」の補助により行なわれた。

引用文献

- 1) IPCC (1996) Climate Change 1995: The Science of Climate Change. Contribution of Working Group I to the Second Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, J.T.Houghton, L.G.Meira Filho, B.A.Callander, N.Harris, A.Kattenberg and K.Maskell (eds.), Cambridge Univ. Press. Cambridge and New York (in press), pp. 572.
- 2) 鈴木善三 (1992) 燃烧に伴う亜酸化窒素の排出とその生成機構—第5回亜酸化窒素に関する国際ワークショップにおける発表の紹介—, 資源と環境, **1**(4), 11-23.
- 3) 平木隆年・玉置元則 (1991) 亜酸化窒素排出量調査の動向, 公害, **26**(3), 23-32.
- 4) Moritomi, H. (1994) N₂O emission from industrial facilities, K.Minami, A.Mosier and R.Sass (eds.), CH₄ and N₂O, 161-179.
- 5) Prosser, J.I. (1989) Autotrophic Nitrification in Bacteria, *Adv. Microbial Physiol.*, **30**, 125-181.
- 6) Knowles, R. (1982) Denitrification, *Microbiol.Rev.*, 43-70.
- 7) Hiscock, K.M., J.W. Lloyd and D.N. Lerner (1991) Review of Natural and Artificial Denitrification of Groundwater, *Wat. Res.*, **25**(9), 1099-1111.
- 8) 鶴巻道二 (1993) 硝酸態窒素による浅層地下水の汚染, 船山富晴・掘裕策編, 地下水汚染・土壌汚染の現況と浄化対策, 研修社・工業技術会, 98-113.
- 9) 山本洋司・朴光来・中西康博・加藤茂・熊澤喜久雄 (1995) 宮古島の地下水中の硝酸態窒素濃度と $\delta^{15}\text{N}$ 値, 土肥誌, **66**(1), 18-26.
- 10) Singh, B., Y.Singh, and G.S.Sekhon (1995) Fertilizer-N use efficiency and nitrate pollution of groundwater in developing countries, *J. Contami. Hydro.*, **20**, 167-184.
- 11) Kawashima, H., M.J.Bazin, and J.M.Lynch (1996) Global N₂O balance and nitrogen fertilizer, *Ecological Model.*, **87**, 51-57.
- 12) 長谷川聖・花木啓祐・松尾友矩・日高伸 (1998) 高濃度硝酸態窒素流入のある水田および小河川における亜酸化窒素の生成と分解, 水環境学会誌, **21**(10), 676-682.
- 13) Kuenen, J. G., L.A. Robertson, and O.H. Tuovinen (1991) The Genera *Thiobacillus*, *Thiomicrospira*, and *Thiosphaera*, A. Balows, H. G. Truper, M. Dworkin, W. Harder and K. H. Schleifer (eds.), *The Prokaryotes Second Edition*, 2638-2657.
- 14) Kuenen, J. G. (1989) Section 20 Aerobic Chemolithotrophic Bacteria and Associated Organisms: B Colorless Sulfur Bacteria, J. T. Staley, M. P. Bryant, N. Pfennig and J. G. Holt (eds.), *Bergey's manual of systematic bacteriology volume 3*, 1834-1871.
- 15) Koenig, A. and L.H. Liu (1997) Autotrophic denitrification of nitrified landfill leachate by *Thiobacillus denitrificans*, Proc. 8th International Conf. on Anaerobic Digestion, **1**, 299-306.
- 16) Hashimoto, S., K. Furukawa, and M. Shioyama (1987) Autotrophic denitrification using elemental sulfur, *J. Ferment. Technol.*, **65**(6), 683-692.

引用文献 続 き

- 17) Zhang, T.C. and J. M. Flere (1998) Sulfur-based autotrophic denitrification pond systems for in-situ remediation of nitrate-contaminated surface water, *Wat. Sci. Tech.*, **38**(1), 15-22.
- 18) 矢部琢磨、西村岳史、増島博、谷田貝敦 (1999) 硫黄造粒物を用いた農地排水の脱窒処理, 第33回日本水環境学会年会講演集, 256.