

(72) 生物付着坦体充填と汚泥の植種による農耕土壌からの窒素流出抑制効果

Control of Nitrogen Leaching from Agricultural Soil Columns using Microorganisms
Supporting Medium and Inoculation of Activated Sludge.

高野典礼*・池本良子*

Morihiro TAKANO, Ryoko YAMAMOTO-IKEMOTO

ABSTRACT; Control of nitrogen leaching from the agricultural field is examined using the soil columns in the intermittent rainfall conditions. Nitrification and denitrification occurred in the soil columns. Inoculation of activated sludge in the lower part of soil columns was not effective to control of nitrogen leaching. When supporting medium made up of foamed polypropylene was packed and activated sludge was inoculated in the lower layer of soil columns, the concentration of nitrogen significantly decreased. The activities of sulfur denitrification and sulfate reduction in the soil over the supported medium layer increased. Sulfur oxidation-reduction cycle played an important role in the control of nitrogen leaching.

KEYWORDS; agricultural soil, nitrogen leaching, microorganisms supporting medium, sulfur denitrification, sulfate reduction

1. 結論

近年地下水の硝酸汚染が進行しており、平成 14 年度の環境省による地下水質測定結果では、4207 の調査地点うち、5.9%にあたる 247 地点で環境基準を超過していたことが報告されている¹⁾。そのうち 81 検体は汚染判明時に飲用に供していたものであった。一方、閉鎖性水域の富栄養化問題が顕在化して久しいが、その水質改善がなかなか進まない現状であり、平成 14 年度の全窒素の環境基準超過率は 73.2%であった。これらの原因となる窒素の排出源は様々であるが、農耕地由来の窒素の負荷が高いことが指摘されており、環境省および農林水産省では環境保全型農業を推進し、施肥対策を進めているところである。

地下水の硝酸汚染対策として、地下水を汲み上げて電気透析装置や生物処理で窒素除去を行う方法²⁾が提案されているが、本方法は、処理水を直接利用する場合には有効であるが、地下水の浄化対策としてはコスト面の問題がある。一方、地下水に浄化壁を設けて浄化する方法³⁾が提案されているが、広範囲の浄化対策としては有効性が低い。

以上のことから、農耕地に投入された過剰な施肥中の窒素を土壌から流出する前に窒素ガスに転換し、地下水や公共用水域への流出を抑制することが最も有効な方法であると考えられる。窒素流出抑制方法として、土壌の底部に有機物を添加する方法が提案されているが、この方法では、地下水や公共用水域の有機汚染を招くことが懸念される。筆者らは、土壌カラムを用いた連続条件および間欠条件の長期降雨実験を行い、畑地土壌中では硫酸塩還元と硫黄脱窒による硫黄の酸化還元が窒素流出抑制に寄与していることを報告した⁴⁾。⁵⁾土壌の作物栽培層より下部で硫黄サイクルを活性化させることが窒素流出抑制に効果があると考えられ

*金沢大学大学院自然科学研究科(Graduate School of Natural Science & Technology, Kanazawa University)

る。そのためには生物付着担体の投入と微生物の植種が有効であると推定される。

本研究では、土壌下部に植種源として微生物多様性の高い活性汚泥を、生物付着担体として生物処理に用いられる発泡ポリプロピレンを投入した場合の窒素流出抑制効果について、土壌カラムを用いて検討した。

2. 実験装置および実験方法

2.1 実験に用いた畑地土壌

実験には、金沢市田上町の畑地土壌を用いた。本畑地は、金沢市角間地内の赤土を客土し、10年間有機農法にて主に葉菜類・根菜類を中心に栽培を行ってきたものである。収穫後の畑地の表層から10~40cmの土壌を採取し、実験室に持ち帰り混合した後、含水率を40%に調整して用いた。土壌の交換性塩基含有量をTable 1に示す。カルシウムなどの交換性塩基が十分含まれた土壌であった。

Table 1 Cation exchange capacity of initial soil.

	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Na ⁺	K ⁺
Soil	43.4	0.22	0.59	0.62
Fertilizer	48.6	1.67	1.17	6.67

(mg/g-soil)

2.2 土壌カラム

実験には、Fig. 1に示すような内径14 cm、長さ100 cmのアクリル樹脂性円筒カラムを4本用いた。カラム底部には中心部に集水口が設置されており、底部から10 cmは、土壌の流出を防ぐため砂利を充填した。カラム1はブランクとして、砂利層の上部に畑地土壌を80 cm充填した。カラム2は上層から60~70 cmの位置の土壌に、微生物植種源として活性汚泥を乾燥重量として10 g混合した。カラム3は同様の位置に径0.5~1.0 cmの発泡ポリプロピレン担体と活性汚泥10 gを充填した。カラム4は活性汚泥から発泡ポリプロピレン担体に付着させて集積した硫酸還元細菌群を担体とともに充填した。さらに、すべてのカラムの表層10 cmに肥料として堆肥21 gを混合した。用いた堆肥は、松任市農業有機物供給センターで製造された牛糞と籾殻の堆肥であり、表示成分は、水分53 %、窒素1.5 %、リン酸2.1 %、カリウム1.4 %である。

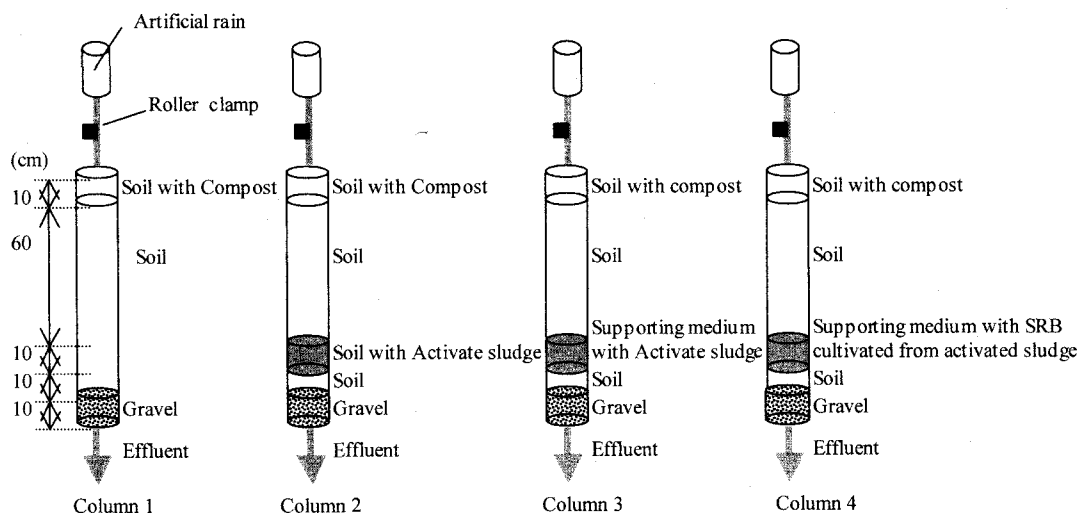


Fig. 1 Experimental set up.

2.3 降雨実験

降雨実験に用いた人工雨の組成を Table 2 に示す。酸性雨測定のための標準酸性雨の組成⁶⁾を基礎とし、わが国で測定されている降雨中の硝酸塩濃度⁷⁾を参考に硝酸塩濃度を設定した。それぞれの土壌カラム上部からチューブとローラーランプで人工雨を滴下した。降雨条件は 5 mm/hr で週 2 回 6 時間滴下するものとした。

Table 2 Composition of artificial rain.

NaCl	KNO ₃	CaSO ₄	Mg(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	(NH ₄) ₂ SO ₄	HCl	HNO ₃	pH
5.0 mg/l	10.0 mg/l	5.0 mg/l	30.0 mg/l	5.0 mg/l	3.2 mg/l	1.1 mg/l	4.1

カラム底部から流出する流出水を 1 週間分貯留し、流出水量および pH、伝導度、無機炭素 (TOC 計) を測定した後、0.2 μm のメンブレンフィルターろ液について、塩化物、硫酸塩、硝酸塩、亜硝酸塩 (イオンクロマトグラフ) および、カルシウム、マグネシウム (原子吸光分析装置) の測定を行った。カラム 2 は降雨開始 40 週後から、目詰まりのため流出しなくなったため、実験を中止した。カラム 1 および 4 は 75 週間、カラム 3 は 66 週間降雨実験を継続した。

2.4 土壌微生物活性

降雨開始から 66 週間後にカラム 3、75 週間後にカラム 1 の降雨を中止し、カラム内の土壌を表層から 15 cm 毎に 60 cm までとりだして、D1 ~ D4 層とした。さらに下水汚泥を混合または担体を充填した表層から 60~70 cm の層を D5 層、その下の土壌層を D6 層として取り出した。それぞれの土壌 40 g を用いて、Table 3 に示す 4 種類の条件で微生物活性試験を行った。活性試験(a)では、プラスチックシャーレに土 40 g をひろげて、基質 (80 mM 硫酸アンモニウム溶液 10 ml) を全体にいきわたるように滴下して、30 °C のインキュベータ内に静置した。24 時間毎にインキュベータからシャーレを取り出して、水 200 ml で土壌水を抽出して分析を行った。活性試験(b)、(c)、(d)では、50 ml の遠沈管に土 40 g を詰め、それぞれの基質を添加した後、管内の空気を窒素で置換して 30 °C で静置し、24 時間毎に水質分析を行った。

Table 3 Experimental conditions of batch experiment.

Experimental No.	(a)	(b)	(c)	(d)
Experimental vessel	Laboratory Dish	CentrifugationTube	CentrifugationTube	CentrifugationTube
Conditions	Semi-aerobic	Anoxic (Purged with N ₂ gas)	Anoxic (Purged with N ₂ gas)	Anaerobic (Purged with N ₂ gas)
Substrate	80mM (NH ₄) ₂ SO ₄ Solution 10ml	80mM KNO ₃ Solution 5ml, 80mM Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ ·2H ₂ O	80mM KNO ₃ Solution 5ml, 80mM Na ₂ S ₂ O ₃ ·5H ₂ O+NaHCO ₃	80mM K ₂ SO ₄ Solution 5ml, 80mM NaC ₃ H ₃ O ₃
Obtained activity	Nitrification, Sulfate Reduction	Heterotrophic Denitrification	Sulfur Denitrification	Sulfate Reduction

3. 実験結果と考察

3.1 土壌カラム流出水の経日変化

Fig. 2 に出水中のイオン濃度から求めた理論電導度と実測電導度の関係を示した。本実験では、流出水中

のマグネシウムおよびカリウム濃度がカルシウム濃度と比較してきわめて低かったことから、カルシウム濃度のみを測定したが、両者はほぼ一致しており、本実験で測定したイオンがほとんどを占めていることが示された。

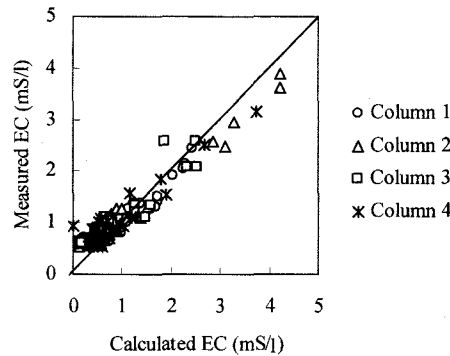


Fig. 2 Relationship between calculated electron conductivity(EC) and measured electron conductivity(EC).

Fig. 3～Fig. 7に流出水のpH、カルシウムイオン、無機炭素、硝酸塩および硫酸塩濃度の経日変化を示した。人工雨のpHが4.1と低いにも関わらず、流出水のpHはいずれのカラムでも7～8を維持しており、実験に用いた土壌は十分な酸緩衝能を有していた。降雨直後からカルシウムが流出していたため、カルシウムが降雨中の酸と交換されて流出したと考えられる。無機炭素濃度はコントロールカラム1ではほとんど変化がないのに対し、カラム2,3,4では初期(1～6)および夏季(7～17週)に高い値を示した。また、カラム3では2年目の夏季(56～68週)にも高い値を示した。これは、植種源として添加した汚泥が一部有機炭素源として働き、その無機化が進行したためと考えられる。硝酸塩濃度は降雨開始直後に施肥や土壌中の硝酸塩の流出により急激に上昇した後低下し始めたが、その後気温の上昇とともに増大した。2年目も同時期にコントロールのカラム1の硝酸塩濃度が幾分上昇したことから、温度の上昇により硝化が進行したのと考えられる。カラム間を比較すると、降雨実験30週目まではコントロールのカラム1の硝酸塩濃度が最も高く、カラム2,3,4の順に低くなっている。カラム3は無機炭素濃度の増大した2年目の夏季(56～68週)にも硝酸塩が低い値を示しており、脱窒が促進されたものと考えられる。硫酸塩濃度も硝酸塩と同様の挙動を示した。以上のことから、汚泥と担体の添加により、脱窒が促進されたことが示唆される。

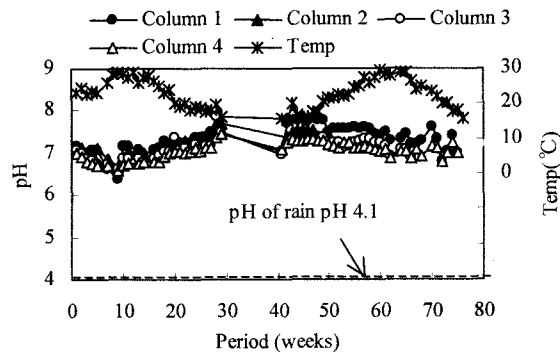


Fig. 3 Course of pH in effluent water from the soil columns.

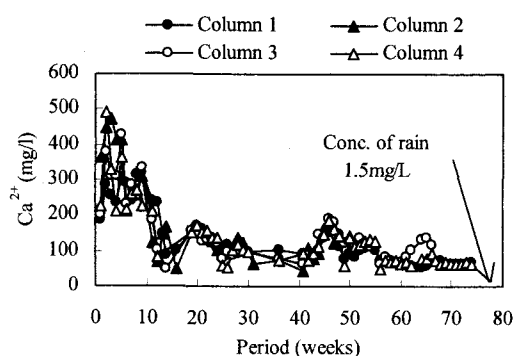


Fig. 4 Course of Ca^{2+} concentrations in effluent water from the soil columns.

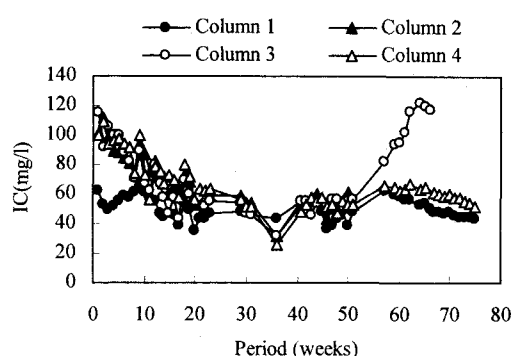


Fig. 5 Course of inorganic carbon (IC) concentration in effluent water from the soil columns.

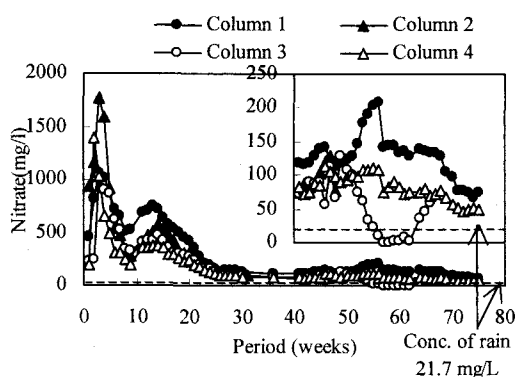


Fig. 6 Course of nitrate concentrations in effluent water from the soil columns.

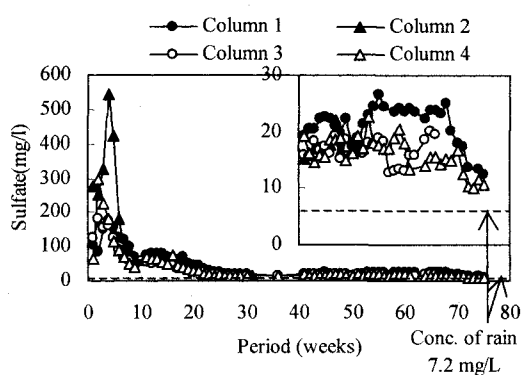


Fig. 7 Course of sulfate concentrations in effluent water from the soil columns.

Table 4 は、50 週までと 66 週までに流出した窒素量を比較したものである。カラム 2 の 50 週目までの窒素流出量はカラム 1 とほとんど変わらなかったことから、活性汚泥を添加しても流出抑制効果は低いと考えられる。一方、カラム 3 および 4 は汚泥を添加したことによりカラム 1 よりも初期の窒素量が多いにもかかわらず、66 週間の窒素流出量で 30 % も少なくなっている。しかし、活性汚泥を植種したカラム 3 と活性汚泥から集積した硫酸塩還元微生物群を植種したカラム 4 では、流出量に差が認められなかった。以上のことから、担体の充填が窒素流出に有効に働いたものと判断できる。

Table 4 Total nitrogen leaching during 50 and 66 weeks-rain fall experiment.

	Week	Input					Output
		Soil	Compost	Sludge	Rain	Total	Effluent
Column 1	50	5.0	0.32		0.30	5.61	1.17
	66				0.39	5.71	1.35
Column 2	50	5.0	0.32	1.2	0.30	6.83	1.15
	66				0.39	6.13	0.93
Column 3	50	4.2	0.32	1.2	0.30	6.03	0.89
	66				0.39	6.13	0.93
Column 4	50	4.2	0.32	1.2	0.30	6.03	0.81
	66				0.39	6.13	0.93

(gN)

Table 5 は無機炭素と硫酸塩の流出量を比較したものである。汚泥や集積細菌を添加したために、カラム 2, 3, 4 の無機炭素の流出量はカラム 1 よりも多くなっている。カラム 3 と 4 を比較すると、カラム 3 の方が後期に無機炭素の流出が多かった。一方、カラム 3 の硫酸塩の流出量がその他のカラムに比べて少なかった。以上のことから、集積した硫酸塩還元細菌を添加したカラム 4 よりも活性汚泥を添加したカラム 3 の方が硫酸塩還元が活発に進行したものと考えられる。

Table 5 Total leaching of Inorganic Carbon and sulfate .

Week	IC (gC)		Sulfate (gS)	
	50	66	50	66
Column 1	0.81	1.07	0.27	0.31
Column 2	1.10	-	0.40	-
Column 3	1.11	1.66	0.24	0.28
Column 4	1.18	1.57	0.28	0.32

3.2 土壌微生物活性

Fig. 8 にカラム 3 の D3 層の微生物活性試験の結果を典型例として示した。微好気条件で硫酸アンモニウムを添加した活性試験(a)では、アンモニアが急速に減少し、2 日目から硝酸塩と亜硝酸塩の蓄積が認められたことから、土壌内で硝化と脱窒の両者が進行していたと考えられる。アンモニア性窒素の初期の減少速度から硝化活性を求めた。また、硫酸塩が初期に減少し、硫化物が検出されたことから、この減少初速度を微好気条件の硫酸塩還元速度として求めた。活性試験(b)では、硝酸塩と有機炭素が減少し、無機炭素が増加していることから、他栄養性脱窒が優先的に起っていることが分かる。亜硝酸の蓄積が認められたことから硝酸性窒素と亜硝酸性窒素の和の減少速度から他栄養性脱窒活性を求めた。活性試験(c)では、38 mg/l の硝酸塩の減少と 83 mg/l のチオ硫酸塩の減少に伴い、160 mg/l の硫酸塩の増加が認められることから、硫黄脱窒が量論的に起っていることがわかる。硫黄脱窒には 1~2 日の遅延が認められる場合が多かったことから、1 日目以降の硝酸性窒素+亜硝酸性窒素の減少速度から硫黄脱窒活性を求めた。活性試験(d)では、有機炭素の減少と無機炭素の増加が見られるものの、硫酸塩の減少が殆ど認められなかった。本条件は水田土壌の硫酸塩還元活性の測定に用いられている方法であるが、本条件では畑地土壌中の硫酸塩還元活性を求めることができないものと判断し、微好気条件で求められた硫酸塩還元速度を硫酸塩還元活性とした。

同様な実験をカラムに充填した土壌と同じ畑から採取した土壌および、カラム 1 およびカラム 3 の D1 層から D6 層すべてについて行い、微生物活性を求めた結果を Table 6 に示した。初期土壌では、他栄養性脱窒活性が高く、硫黄脱窒活性は他栄養性脱窒活性の 1/3 程度であった。一方、畑地土壌は微好気的な条件であるにもかかわらず、高い硫酸塩還元活性が認められた。有機物が存在しない無酸素条件の回分実験では硫酸塩が増加しなかったため、実験に用いた土壌内には硫黄脱窒に利用できる還元型硫黄含有量が極めて少なかったと推察された。従って、硫酸塩還元が硫黄脱窒への硫黄供給源となっていたと考えられる。降雨実験終了後はカラム 1,3 共にカラム縦方向で活性の変化が認められた。硝化活性については両カラムに大きな差は認められなかった。一方、他栄養性脱窒活性は、カラム 3 がカラム 1 の 1~2 倍の値を示した。硫黄脱窒活性は各層でカラム 1 とカラム 3 に大きな差が認められ、硫酸塩還元活性もカラム 1 よりもカラム 3 でやや高い値を示した。前述したように、土壌中に活性汚泥のみを添加しても流出抑制効果が認められなかったこと、初期土壌中に硫黄脱窒活性と硫酸塩還元活性が認められたことから、微生物付着担体の添加により土壌内に存在した硫酸塩還元細菌の活性が増大し、その結果上層部に還元型硫黄が供給されることで、硫黄脱窒活性が上昇したものと推定される。さらに、活性汚泥は硫酸塩還元細菌や脱窒細菌の有機炭素源として働いたことも、活性が増大した一因と考えられる。

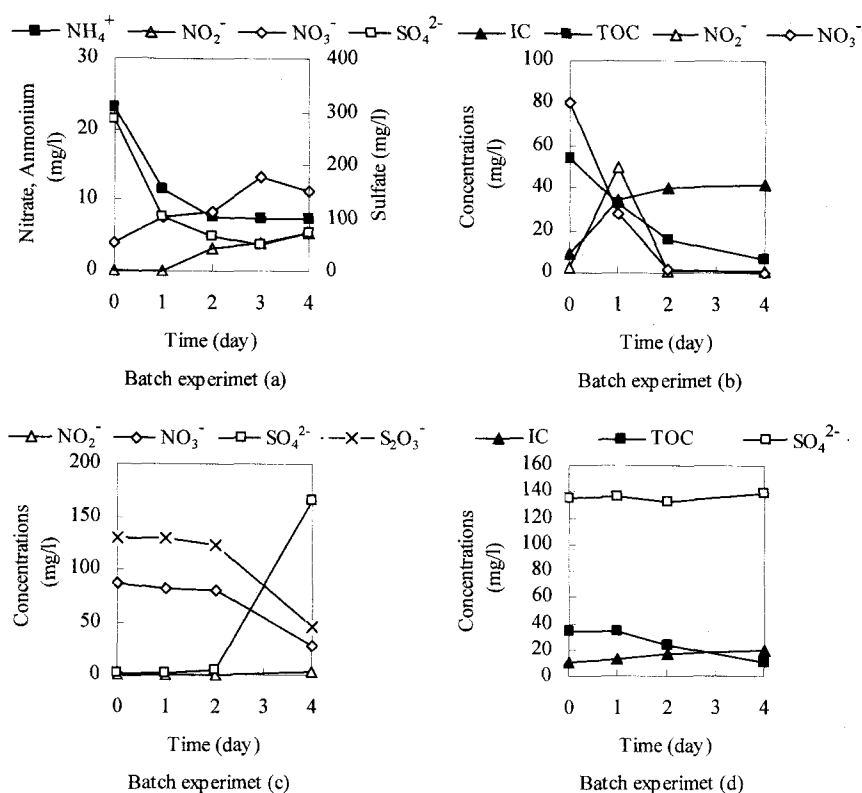


Fig. 8 Results of batch experiments using the soil in D3 layer of column 3.

Table 6 Denitrification, sulfate reduction and nitrification rates in each layer of the column.

Column 1	Heterotrophic Denitrification Rate (mgN/g-soil.day)	Sulfur Denitrification Rate (mgN/g-soil.day)	Sulfate Reduction Rate (mgS/g-soil.day)	Nitrification Rate (mgN/g-soil.day)
Initial	0.030	0.012	0.10	0.007
D1	0.040	0.007	0.21	0.045
D2	0.035	0.006	0.19	0.041
D3	0.029	0.000	0.18	0.045
D4	0.029	0.006	0.20	0.051
D5	0.033	0.011	0.18	0.053
D6	0.038	0.009	0.19	0.048

Column 3	Heterotrophic Denitrification Rate (mgN/g-soil.day)	Sulfur Denitrification Rate (mgN/g-soil.day)	Sulfate Reduction Rate (mgS/g-soil.day)	Nitrification Rate (mgN/g-soil.day)
Initial	0.030	0.012	0.10	0.007
D1	0.043	0.000	0.28	0.045
D2	0.050	0.046	0.29	0.055
D3	0.068	0.030	0.28	0.062
D4	0.074	0.023	0.24	0.047
D5	0.079	0.033	0.13	0.048
D6	0.084	0.035	0.25	0.052

4. 結論

土壌カラムを用いて、畑地土壌の作物栽培層下部に生物付着担体を充填し微生物の植種を行うことによる窒素抑制効果を検討した。その結果、以下のことが示された。

- 1) 生物付着担体の充填は、畑地土壌からの窒素流出抑制に効果を示した。
- 2) 植種源としての活性汚泥や硫酸塩還元細菌の添加には大きな効果は認められなかった。
- 3) 生物付着担体の充填により、土壌の硫酸塩還元活性と硫黄脱窒活性の向上が認められた。硫黄サイクルの活発化が窒素流出抑制に寄与していたと推定された。

以上のことから、作物成育層よりも下層に微生物付着担体を充填して脱窒層を設ける方式が、窒素流出抑制に有効であることが示された。本研究では微生物付着担体として水処理用のプラスチック性の担体を利用したが、これは畑地に投与した場合、長期にわたって効果が持続することが期待できる。一方、より自然界になじみやすい炭などを添加する方法も有効であると考えられる。本研究では、植種源として下水汚泥を用いたが、微生物は土壌中には十分に存在することから特殊な場合を除いて植種の必要はないことが示された。活性汚泥の添加は有機炭素源として働いた可能性があるが、下水汚泥は病原微生物や重金属の蓄積などを考慮する必要があり、そのまま利用するには問題がある。有機性の肥料を用いた場合には必ずしも必要はないと考えられるが、化学肥料を中心とした施肥を行っている多くの農場の場合には、有機炭素源として何らかの有機物を添加することもあるであろう。

ここで提案した方式は、畑地を 60 cm 程度掘り下げて生物付着担体を充填することが必要となってくるため、コスト面から一農家の負担でおこなうことは困難であるが、地下水汚染等が深刻な地域での集中した対策としては十分可能な方法であると考えられる。

[謝辞]

本研究の一部は財団法人日本生命財団環境問題研究助成の補助を受けてまとめました。実験にご協力いただいた金沢大学卒業生の中川純子君、永井正人君に感謝致します。

[参考文献]

- 1) 環境省環境管理局水環境部、「平成 14 年度地下水質測定結果」、2003
- 2) 馬場義樹他、「電気透析装置と生物脱窒装置による硝酸性窒素汚染地下水のオンサイト浄化」、水環境学会誌、Vol.26, pp. 361-367, 2003
- 3) 副島敬道他、「透過性地下水浄化壁工法による硝酸性窒素汚染地下水の原位置浄化実証実験」、日本地下水学会講演要旨集、78-81、2002
- 4) 池本良子、谷欣也、小森友明、高野典礼、「酸性雨降雨条件下での有機農耕土壌からの酸及び窒素流出特性」、環境工学研究論文集、Vol. 73, 397-401, 2000
- 5) Morihiro Takano, Ryoko Yamamoto-Ikemoto and Kinya Tani, Nitrogen leaching and denitrification activity of agricultural soil columns fertilized with compost in intermittent rainfall conditions. *Proceedings of 1st Asian Pacific Regional Conference of IWA*. 289, 2003
- 6) 押尾敏夫、佐々木淳、「模擬酸性雨試料の pH 測定結果」、環境技術、Vol.22, No.10, 587-589, 1993
- 7) 玉置元則、「酸性雨調査における pH 測定の目的」、環境技術、Vol. 22, No. 10, 566-571, 1993