

Research Report from the National Institute for Environmental Studies, Japan, No.94, 1986.

国立公害研究所研究報告 第94号

汚泥の土壌還元とその環境影響に関する研究

Studies on the Environmental Effects of the Application of Sewage Sludge to Soil

昭和58～59年度 特別研究総合報告・第2分冊(報文2)

Final Report in 1983-1984, Part 2 (Research Papers 2)

合 田 健 編

Edited by Takeshi GODA

環 境 庁 国 立 公 害 研 究 所

THE NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES

序

汚泥の土壌還元とその環境影響に関する研究は、昭和 56～59 年度の 4 年にわたって行われ、ここに総括報告をすることになった。全体で 30 編の報文から成っており、都合でこれを 2 分冊とした。

本研究の前半、昭和 56/57 年分の中間報告は、当時の土壌環境研究室長藤井國博を中心とし、研究報告第 68 号として 9 編の報文と研究概要とで構成されている。今回の 2 分冊は、主として後継の高松武次郎室長、久保井徹主任研究員らがそのとりまとめに尽力した。

汚泥施用というインパクトにより、N, P, C といった栄養元素が土壌、植物、地下水あるいは大気中に種々の速度で移行し、蓄積され、同時にそれらの形態変化及び土壌の物理性（例えば乾燥度）や化学性、微生物相が大きく変化する。加えて K, Na, Mg, Ca 等の必須元素も、蓄積部位あるいは鉛直分布の変化が起こる。普通肥料に比し下水汚泥に少ない K が、どのように制限元素的に働くか、あるいは、リグニン、粗タンパク、脂質、セルロース、ヘミセルロース、各種糖類などの土壌中、植物中含有量がどう変化するか、更にまた、Hg, Cd, Cu, Pb, Zn, Ni, As といった、何らかの阻害性を有する重金属・元素類がどのような挙動を示すか等について、この報告で一応の答が出せたのではないかと思う。

加えて、本特研の先行特研である「有機廃棄物等の土壌生態系に及ぼす影響(略称)」(昭和 53～55 年度)の際には明らかにし得なかった、栄養元素や必須元素の物質収支について、特に今特研の後半は意欲的に取り組んだ。それがここに明らかにし得たことは、環境科学としての土壌研究が大きく一歩前進したことになると考える。加えて、例えば石灰凝集汚泥の場合、施用頻度と施用量、つまりどの程度の連用でどういう障害が発現するか、最適施用率の考え方について、大型ライゾメーター、は場での研究により明らかにすることができた。

昭和 61 年 3 月

国立公害研究所 水質土壌環境部

部 長 合 田 健

(プロジェクト責任者)

目 次

第2分冊

14. 石灰凝集生活廃水汚泥中の Mn, Zn, Cu の形態 1
山口武則・藤井國博・麻生末雄
15. 汚泥施用土壌における窒素の溶脱 11
藤井國博・山口武則
16. 畑地土壌における汚泥成分の地下浸透と植物による吸収 21
広木幹也・久保井 徹
17. 土壌から発生するガスの測定法 33
久保井 徹
18. 下水汚泥施用土壌からのガス発生 I. 火山灰畑土壌 49
久保井 徹・陽 捷行・藤井國博・福士定雄
19. 下水汚泥施用土壌からのガス発生 II. 水田土壌 63
久保井 徹・広木幹也
20. 汚泥施用土壌から発生する N_2O : その発生要因・発生量・環境影響 79
久保井 徹
21. 畑地における水分と物質の移動特性に関する研究
(I) 観測結果と検討 93
村岡浩爾・平田健正・岩田 敏
22. 畑地における水分と物質の移動特性に関する研究
(II) 水収支・物質収支の数値シミュレーション 105
平田健正・村岡浩爾・岩田 敏
23. ライシメーター浸透水中の無機成分濃度の経時変化
—各種土壌における化学肥料と下水汚泥の比較— 119
袴田共之・藤井國博
24. ライシメーター試験による水と溶存イオンの流出機構の解析
—土壌間差と汚泥・化学肥料施与の比較— 127
波多野隆介・袴田共之・藤井國博
25. 汚泥施用土壌におけるリンの垂直分布 145
藤井國博・山口武則

26.	汚泥連用土壌における土壌層位別 Mn, Zn, Cu の形態	151
	山口武則・麻生末雄・藤井國博	
27.	汚泥の水田土壌還元による陸水環境に及ぼす影響	161
	矢木修身・稲森悠平・広木幹也・大久保紀男・須藤隆一	
28.	<i>Microcystis</i> 属ラン藻の増殖に及ぼす細菌と有機物の影響	177
	矢木修身・熊谷光彦・高村義親・須藤隆一	
29.	<i>Microcystis aeruginosa</i> 無菌クローン株の増殖に対する栄養因子の検討	193
	高村義親・渋谷慶一・矢木修身・須藤隆一	
30.	<i>Microcystis aeruginosa</i> 無菌クローン株の生産する寒天様被膜(スライム) に関する研究	209
	高村義親・仲川道夫・矢木修身・須藤隆一	

CONTENTS

Part 2

14. Forms of Mn, Zn and Cu in Limed Domestic Sewage Sludge 1
T. YAMAGUCHI, K. FUJII and S. ASO
15. Eluviation of Nitrogen from Soils Treated with Domestic Sewage Sludge 11
K. FUJII and T. YAMAGUCHI
16. Leaching and Plant Uptake of Sewage Sludge Elements in Upland Soil 21
M. HIROKI and T. KUBOI
17. Measurement of Gas Flux from the Soil Surface 33
T. KUBOI
18. Gas Flux from Soil Treated with Sewage Sludge I.
Volcanic Ash Upland Soil 49
T. KUBOI, K. MINAMI, K. FUJII and S. FUKUSHII
19. Gas Flux from Soil Treated with Sewage Sludge II. Submerged Soil 63
T. KUBOI and M. HIROKI
20. Effect of Sewage Sludge Application on N₂O Emission from Soil :
A Review 79
T. KUBOI
21. Study on Characterization of Water and Mass Movement in Field (I)
Observed Result and Its Discussion 93
K. MURAOKA, T. HIRATA and S. IWATA
22. Study on Characterization of Water and Mass Movement in Field (II)
Numerical Simulation of Water and Mass Budget 105
T. HIRATA, K. MURAOKA and S. IWATA
23. Time Series of Element Concentration in Percolating Water of Lysimeter
—Comparison of the Effects of Sewage Sludge and Chemical Fertilizers
in the Four Soil Types— 119
T. HAKAMATA and K. FUJII

24.	Studies on the Mechanism of Drainage and Dissolved Ions Leaching from Lysimeters —Comparison of Four Soil Types Treated with Sewage Sludge and Chemical Fertilizers	127
	R. HATANO, T. HAKAMATA and K. FUJII	
25.	Vertical Distribution of Total Phosphorus Concentration in Soils Treated with Domestic Sewage Sludge	145
	K. FUJII and T. YAMAGUCHI	
26.	Forms of Mn, Zn, Cu in Each Layer of Soils Continuously Treated with Sewage Sludge	151
	T. YAMAGUCHI, T. OZEKI, S. ASO and K. FUJII	
27.	Effects of Paddy Fields Application of Sewage Sludge on the Aquatic Environment	161
	O. YAGI, Y. INAMORI, M. HIROKI, N. OKUBO and R. SUDO	
28.	Effects of Bacteria and Organic Materials on the Growth of Cyanobacteria, <i>Microcystis aeruginosa</i>	177
	O. YAGI, M. KUMAGAI, Y. TAKAMURA and R. SUDO	
29.	Studies on the Growth Factor of an Axenic Clone of the Cyanobacterium <i>Microcystis aeruginosa</i> K-3A	193
	Y. TAKAMURA, K. SHIBUKAWA, O. YAGI and R. SUDO	
30.	Studies on the Slime Polysaccharide Produced by an Axenic Clone of the Cyanobacterium <i>Microcystis aeruginosa</i> K-3A	209
	Y. TAKAMURA, M. NAKAGAWA, O. YAGI and R. SUDO	

(第1分冊) 目 次

I. 研究の概要	1
II. 報 文	
1. 汚泥連用が土壌の物理的性質に及ぼす影響	25
大坪国順・村岡浩爾	
2. 下水汚泥の施用が表層土壌の水分環境と通気性に及ぼす影響	33
広木幹也・久保井 徹	
3. 汚泥の連用が土壌の三相分布に及ぼす影響	45
山口武則	
4. 汚泥の連用が土壌 pH に与える影響	53
藤井國博・服部浩之・山口武則	
5. 下水汚泥の施用が水田土壌の理化学性, 微生物数及び水稻の生育に及ぼす影響	61
広木幹也・藤井國博	
6. 汚泥施用土壌における土壌微生物数の変化	81
藤井國博	
7. 汚泥の連用が土壌微生物フロラに与える影響	93
藤井國博・服部浩之・広木幹也	
8. 低温条件における下水汚泥の地下浸透と土壌の理化学性, 微生物性に及ぼす影響	101
隅田裕明・藤井國博・松坂泰明	
9. 汚泥成分の環境中での挙動について 畑土壌における汚泥成分の地下浸透と土壌微生物フロラの変化	115
隅田裕明・藤井國博・松坂泰明	
10. 下水汚泥の施用がナスのネコブセンチュウ害に及ぼす影響	135
広木幹也・久保井 徹・藤井國博	
11. 石灰汚泥の多量連用によるコマツナの生育と成分組成の変化	149
久保井 徹・広木幹也	
12. 汚泥の有機物組成及び土壌中の微生物活性と汚泥の分解性	169
服部浩之・向井 哲	
13. 汚泥中のリンの形態と土壌中における形態変化	181
服部浩之	

(Part 1) CONTENTS

I. Outline of Performed Researches	1
II. Articles	
1. Affection of Continuous Application of Limed Sludge on Physical Soil Properties	25
K. OTSUBO and K. MURAOKA	
2. Effect of Sewage Sludge Treatment on the Moisture Condition and Air Permeability of Surface Soil	33
M. HIROKI and T. KUBOI	
3. Effect of Continuous Application of Sewage Sludge on the Three-Phase Distribution of Soils	45
T. YAMAGUCHI	
4. Effect of Successive Application of Sewage Sludge on Soil pH	53
K. FUJII, H. HATTORI and T. YAMAGUCHI	
5. Effect of sewage sludge application on Chemical Properties, Microbial Numbers and rice plant growth in flooding soil	61
M. HIROKI and K. FUJII	
6. Changes in Microbial Population in Soils Amended with Domestic Sewage Sludge	81
K. FUJII	
7. Effect of Successive Applications of Sewage Sludge to Soils on Microflora	93
K. FUJII, H. HATTORI and M. HIROKI	
8. Effect of Sewage Sludge Components on Chemical and Microbiological Properties of Soils and Compositions of Soil Water under low Temperature	101
H. SUMIDA, K. FUJII and Y. MATSUZAKA	
9. Behaviours of Sewage Sludge Components in Soil Environment Effect of Sewage Sludge Components on Chemical and Microbiological Properties of Soil and Composition of Soil Water	115
H. SUMIDA, K. FUJII and Y. MATSUZAKA	
10. Effect of Sewage Sludge Application on Eggplant Root-Knot Nematode Disease	135
M. HIROKI, T. KUBOI and K. FUJII	
11. Changes in the Yield and Elemental Composition of Rape Grown on Soil Repeatedly Treated with Sewage Sludge	149
T. KUBOI and M. HIROKI	
12. Decomposition of Sewage Sludges in Relation to Their Organic Matter Composition and Soil Microbial Activities	169
H. HATTORI and S. MUKAI	
13. Forms of Phosphorus in Sewage Sludges and Their Transformations in Soils	181
H. HATTORI	

石灰凝集生活廃水汚泥中の Mn, Zn, Cu の形態*

Forms of Mn, Zn and Cu in Limed Domestic Sewage Sludge*

山口武則¹・藤井國博^{2,3}・麻生末雄⁴

Takenori YAMAGUCHI¹, Kunihiro FUJII^{2,3} and Suelo ASO⁴

要 旨

石灰凝集生活廃水汚泥中のMn, Zn及びCuの形態並びに本汚泥を6回連用(2.5t/10a, 年2回, 夏作及び冬作前)した淡色黒ボク土壌中のMn, Zn及びCuの形態を調査した。その結果, 石灰凝集生活廃水汚泥中の重金属は, Mn及びZnは1%EDTA, 0.1N塩酸, 1N酢酸アンモニウム可溶部に, Cuは1%EDTA, 0.2Mピロリン酸ナトリウム, 1N酢酸アンモニウム, 水, 0.1N塩酸可溶部にそれぞれ存在した。汚泥連用土壌中では, Znは1%EDTA, 0.2Mピロリン酸ナトリウム, 0.1N塩酸可溶部に, Mnは1%EDTA, 0.1N塩酸, 0.2Mピロリン酸ナトリウム可溶部に存在した。また, Cuは0.1N塩酸, 1%EDTA, 0.2Mピロリン酸ナトリウム可溶部にそれぞれ存在することが明らかになった。

Abstract

Forms of Mn, Zn and Cu in limed domestic sewage sludge and in light colored andisol to which the sewage sludge was continuously applied six times (2.5tons/10a, twice a year ; before sowing spring wheat and before sowing winter wheat) were determined.

The results showed that : I) in limed domestic sewage sludge Mn and Zn existed in 1% EDTA, 0.1N hydrochloric acid, 1N ammonium acetatesoluble parts and the Cu in 1% EDTA, 0.2M sodium pyrophosphate, 1N ammonium acetate, water, and 0.1M hydrochloric acid soluble parts ; II) in the soils to which sewage sludge was

* 本報告の内容は, 昭和58年度日本土壌肥料学会京都大会において発表した。

1. 国立公害研究所 技術部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Engineering Division, the National Institute of Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
2. 国立公害研究所 水質土壌環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Water and Soil Environment Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
3. 現在: 農業環境技術研究所 環境資源部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町観音台3-1-1
Present Address: Department of Natural Resources, National Institute of Agro-Environmental Sciences, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
4. 昭和58~59年度 国立公害研究所客員研究員(東京農業大学 〒156 東京都世田谷区桜丘1丁目1番1号)
Visiting Fellow of the National Institute for Environmental Studies. Present Address: Tokyo University of Agriculture, Sakuragaoka-1, Setagaya-ku, Tokyo 156, Japan.

continuously applied Zn and Mn existed in 1% EDTA, 0.2 M sodium pyrophosphate, and 1 N hydrochloric acid-soluble parts and in 1% EDTA, 0.1 N hydrochloric acid, and 0.2 M sodium pyrophosphate soluble parts, respectively, while Cu existed in 0.1 N hydrochloric acid, 1% EDTA, and 0.2 M sodium pyrophosphate-soluble parts.

Key words : Sewage sludge, Heavy metal, Mn, Zn, Cu

1 はじめに

生活廃水、工場廃水など汚水中の生物処理過程では、汚水中の各種の物質が分解されると同時に微生物が増殖して、いわゆる余剰汚泥が発生する¹⁾。この汚泥には、汚水中に存在する重金属や難分解性の有機化合物が吸着したり、微生物により濃縮されている²⁾。これらの汚泥のうち、工場廃水が多量に混入している汚泥中には Mn, Cu, Cr, As などがいずれも高濃度に含有されている³⁾。また、生活廃水系の汚泥中にも多種の重金属が含まれている³⁾。

汚泥中の重金属の形態を知ることは、汚泥を土壤に施用した場合の重金属の蓄積・挙動や農作物に及ぼす影響を検討するうえで重要である。

本報告は、著者らがこれまで一連の研究に供試している石灰凝集生活廃水汚泥中の Mn, Zn 及び Cu の形態を調べ、さらに本汚泥が連用された屋外ライシメーター試験地の土壤(淡色黒ボク土壤)について Mn, Zn 及び Cu の形態を調査したものである。

2 実験方法

2.1 供試汚泥

供試汚泥は、住宅団地の下水終末処理場(茨城県取手市郊外)で純生活廃水を活性汚泥法で処理し、消石灰及び塩化第二鉄を脱水助剤として添加後、加圧脱水処理して得られたものである。その性質と主要成分含有量は表 1 に示したとおりである。本報告では昭和 57 年 6 月に上記の処理場で採取した汚泥を分析試料とした。なお、この汚泥の分析試料は脱水ケーキ(以下、脱水ケーキ試料)及び脱水ケーキを天日乾燥して粉碎した試料(以下、粉碎試料)を供試した。

2.2 土壤分析試料

土壤分析試料は当研究所の屋外ライシメーター(有底枠)の汚泥連用試験地の淡色黒ボク土壤である。

その試験設計は表 2 に示したとおりである。すなわち、淡色黒ボク土壤が 2 基の有底枠に充てんされ、一方に化学肥料が、他方に汚泥が施用された。化学肥料の施用量は、化成肥料(8-8-5) 1.5 kg(105 kg/10 a)、熔成リン肥 2 kg(140 kg/10 a)、苦土石灰 2 kg(140 kg/10 a)であり、汚泥の施用量は、水分 70%換算で 36.1 kg(2.5 t/10 a)であった。

汚泥は、脱水ケーキを天日乾燥後有姿のまま年 2 回、夏作前と冬作前に施用した。

表 1 供試汚泥の理化学的性質

Table 1 Properties of sewage sludge used in the experiment

	Sludge			Sludge	
	1979	1980		1979	1980
pH (H ₂ O)	10.1	10.1	T-Ti (%)	0.11	0.02
pH(KCl)	10.0	-	T-Mn (%)	0.07	0.08
T-C (%)	27.3	21.2	T-Zn ($\mu\text{g/g}$)	1390	530
T-N (%)	3.7	2.7	T-Cu ($\mu\text{g/g}$)	262	151
NH ₄ -N ($\mu\text{g/g}$)	1660	4.9	T-Cr ($\mu\text{g/g}$)	88	-
NO ₂ -N ($\mu\text{g/g}$)	7.7	1.1	T-Ni ($\mu\text{g/g}$)	37	ND
NO ₃ -N ($\mu\text{g/g}$)	32.4	2.3	T-Pd ($\mu\text{g/g}$)	88	44
T-P ₂ O ₅ (mg/g)	19.7	1.1	T-As ($\mu\text{g/g}$)	-	-
T-K (%)	0.3	0.9	T-Cd ($\mu\text{g/g}$)	2	-
T-Ca (%)	15.3	21.3	C/N	7.38	7.85
T-Fe (%)	6.5	5.0	T-Mg (mg/g)	7.95	

表 2 処理区とその内容

Table 2 Treatments and their contents in experiment

	1979		1980		1981		1982
	Summer	Winter	Summer	Winter	Summer	Winter	Summer
Cropping sequence	Eggplant	Wheat	Bareground		Bareground		Sorghum
Application*	+	+	+	+	+	+	-

Compound fertilizer ; lt/ha (8-8-5)

Ground dolomitic lime stone ; lt/ha

Fused phosphate ; 0.6/ha

Domestic sewage sludge ; 25t/ha as 70% water content

* Application of chemical fertilizer or sewage sludge ;

Before summer-and winter-cropping

昭和54年度は、夏作ナス(千両2号)、冬作コムギ(農林61号)をそれぞれ栽培した。昭和55年度夏作より昭和57年度夏作前まで植物を栽培せず裸地として年2回の汚泥連用試験を行った。このような経過をたどった汚泥連用試験地の土壌(汚泥施用6回)を採取した。土壌の採取は昭和57年6月8日に、図1に示した位置より表土を採取した。採取した土壌は、風乾後、2mmのフルイでふるい分けして土壌分析試料とした。

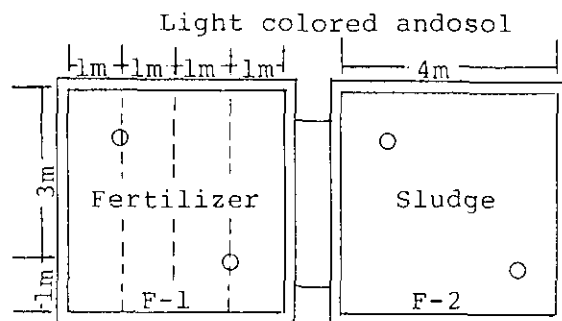


図 1 土壌採取位置
Fig. 1 Sampling site of soil in Lysimeter
○ ; measurement site

2.3 分析方法

2.3.1 汚泥中の全 Mn, 全 Zn 及び全 Cu の分析

試料 1 g を硝酸・過塩素酸で湿式分解し⁴⁾, ろ別後 100 ml に定容して原子吸光分析に供した。

2.3.2 汚泥中の重金属の形態分析

汚泥中の重金属の形態分析は Stover らの提唱した逐次抽出法⁵⁾並びに土壌中の可溶性重金属の測定法として一般化されている水, 0.1 N 塩酸, 1 N 酢酸アンモニウムなどによる抽出法⁶⁻¹⁰⁾を本汚泥試料に適用して検討した。

すなわち, Stover らの逐次抽出法によってそれぞれの重金属を硝酸カリウム(KNO_3), フッ化カリウム(KF), ピロリン酸ナトリウム($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$), EDTA 及び硝酸(HNO_3)を用いて置換態, 吸着態, 有機結合態, 炭酸塩及び硫酸塩(硫化物及びその他の沈殿物)の順に分離した。抽出試薬, 振とう抽出時間及び溶液と試料の比は次のとおりである。1 MKNO₃は 16 時間, 50 : 1 ; 0.5 M KF (pH 6.5)は 16 時間, 80 : 1 ; 0.1 M Na₄P₂O₇は 16 時間, 80 : 1 ; 0.1 M EDTA (pH 6.5)は 8 時間(2回抽出), 80 : 1 及び 0.1 M HNO₃は 16 時間, 50 : 1。なお, 各抽出ごとに遠心分離 (10,000×g, 10 分間), 上澄液を分析試料として原子吸光分析に供した。

これらの操作は, 脱水ケーキ及び粉碎試料について行った。なお, 脱水ケーキ試料の場合は, 脱水ケーキを手で細かくちぎり均一化を図って 5 連で分析した。また粉碎試料は 3 連で分析した。

他方, 土壌中の可溶性重金属の測定として用いられている各種抽出液(水, 0.1 N 塩酸, 0.2 M ピロリン酸ナトリウム, 1% EDTA 及び 1 N 酢酸アンモニウム (pH 7.0))を用いて, 汚泥の粉碎試料を個別抽出した。抽出試薬の比及び抽出時間はすべて 50 : 1 (通常の土壌分析に用いられる溶液・試料比では本汚泥の場合ほとんど抽出されない結果が得られたのでその比を 50 : 1 とした), 8 時間とした。これらの抽出液は抽出後, ろ過定容して, ろ液を原子吸光分析に供した。なお, 0.1 N

塩酸については、塩酸濃度と重金属の抽出の関係を調べるため、本粉碎試料 10 g に対して 0.1, 0.25, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3 N の塩酸各 25 ml を加え、1 時間振とう抽出後、ろ液を原子吸光分析に供した。

2.3.3 汚泥連用土壌の重金属の形態分析

上記と同じ土壌中の可溶性重金属の測定として用いられている水、0.1 N 塩酸、0.2 M ピロリン酸ナトリウム、1%EDTA 及び 1 N 酢酸アンモニウム(pH 7.0)を用いて、汚泥連用土壌試料を個別抽出した。すなわち、汚泥連用土壌試料各 1 g にそれぞれの抽出液 50 ml を加え 5 時間の抽出を行った。すべての抽出液は、抽出後、ろ過定容してろ液を原子吸光分析に供した。

3 結果及び考察

本供試汚泥中の Mn, Zn 及び Cu 含量を表 3 に示した。

本汚泥中の Mn は 610 ppm, Zn は 510 ppm 及び Cu は 160 ppm であり、表 1 に示した昭和 54 年及び昭和 55 年度に採取した汚泥より低い値を示し、汚泥の採取年度による変動が認められた。矢崎¹¹⁾は、汚泥の採取時期による重金属の変動について、家庭廃水の多い汚泥では、Mn, Zn の季節変動が大きく、この原因は、Mn, Zn は食物・水に起因する結果と報告している。

表 3 供試汚泥中の全 Mn, 全 Zn 及び全 Cu 含量

Table 3 Total Mn, total Zn and total Cu of sewage sludge used in experiment

T-Mn ($\mu\text{g/g}$)	610
T-Zn ($\mu\text{g/g}$)	510
T-Cu ($\mu\text{g/g}$)	160

本供試汚泥は純生活家庭廃水系の汚泥であり、昭和 57 年は 6 月に採取したものである。表 1 に示した汚泥は昭和 54 年 5 月に、昭和 55 年は 10 月に採取したものである。採取年度による Mn, Zn 及び Cu の変動は、矢崎が示したように季節変動によるものと考えられる。

このように採取年度による変動は認められたが、本汚泥中の重金属含量は工場廃水及び都市廃水汚泥¹¹⁾に比較して低い汚泥である。

図 2 に Stover らの逐次抽出法による本汚泥中の重金属の形態について示した。

本汚泥の粉碎試料では、Mn は EDTA \gg Na₄P₂O₇ > KF \approx HNO₃ > KNO₃, Zn は EDTA \gg Na₄P₂O₇ > HNO₃ > KF > KNO₃ 及び Cu は KNO₃ \approx EDTA > KF > Na₄P₂O₇ > HNO₃ を示した。すなわち、Mn は炭酸塩 \gg 有機結合態 > 硫酸塩 > 吸着態 > 置換態, Zn は炭酸塩 > 有機結合態 > 硫酸塩 > 吸着態 > 置換態, Cu は置換態 \approx 炭酸塩 > 吸着態 > 有機結合態 > 硫酸塩を示し、Zn 及び Cu

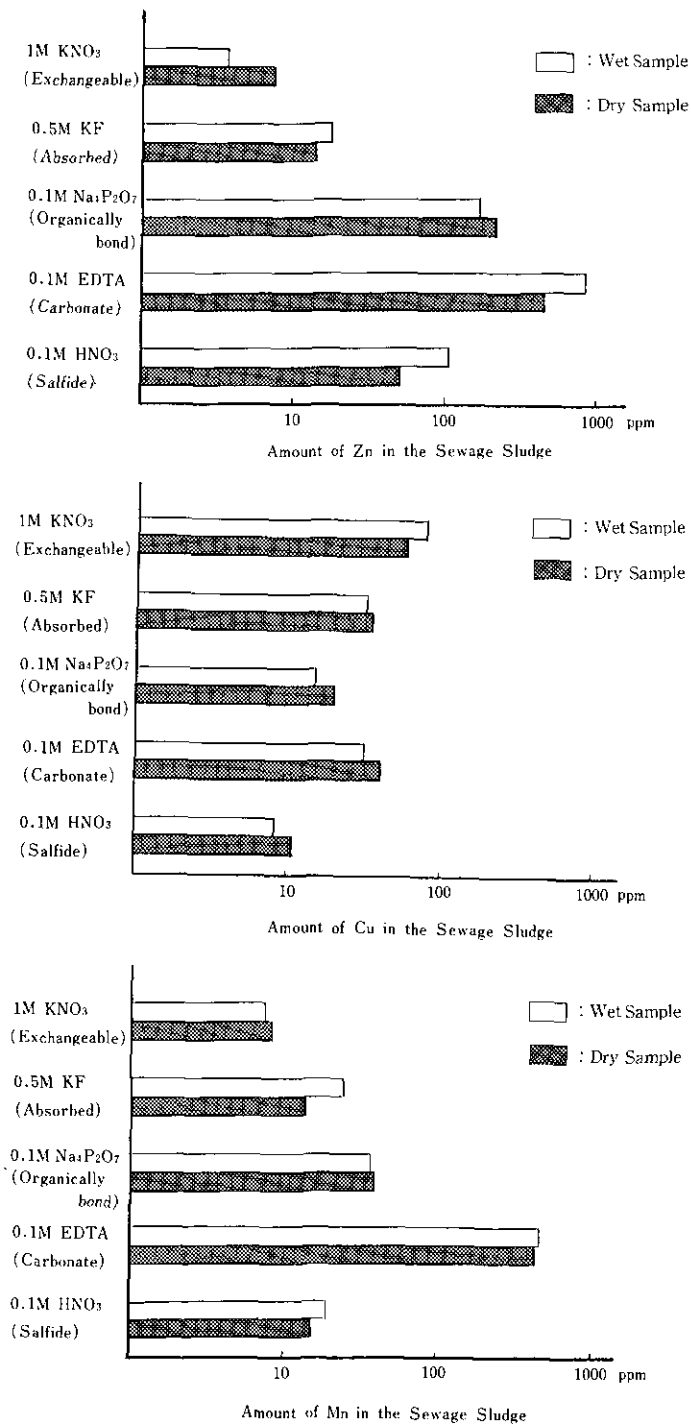


図 2 ストバーの逐次抽出法による汚泥中の重金属の形態
 Fig. 2 Metals extracted by Stover Procedure

については、鎌田ら¹²⁾の石灰汚泥についての報告とよく一致する結果が得られた。これらの傾向は脱水ケーキ試料についても同様に認められた(以後の実験では碎粉試料を用いて実験を行った)。

他方、汚泥を土壌に施用した場合の土壌中での形態を考え合わせ、直接的に土壌や農作物に影響を及ぼすと考えられる汚泥中の水可溶性重金属と可溶性重金属の測定法として一般化されている水、0.1 N 塩酸 1 N 酢酸アンモニウム、1%EDTA、0.2 M リン酸ナトリウムなどによる抽出法を本汚泥に適用して検討した。その結果は、図 3 に示したとおりである。

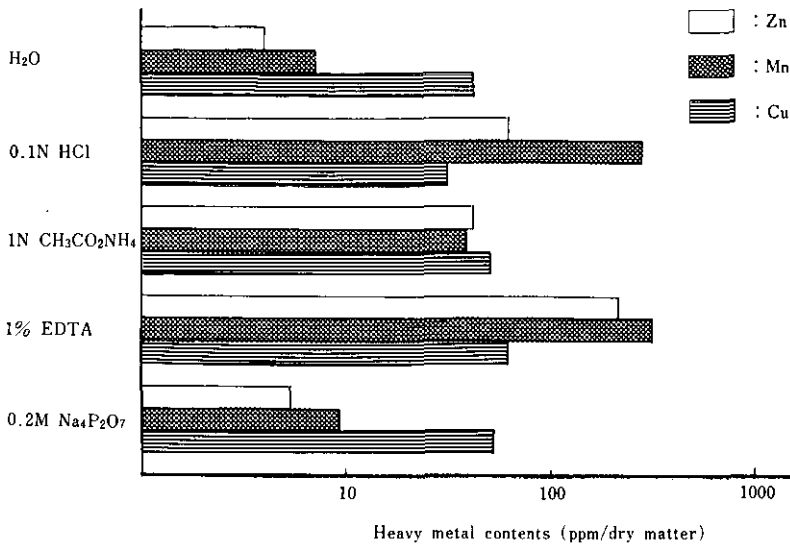


図 3 汚泥中の重金属の形態
Fig. 3 Forms of metals in sewage sludge

すなわち、Mn 及び Zn は 1%EDTA > 0.1 N 塩酸 > 1 N 酢酸アンモニウム > 0.2 M ピロリン酸ナトリウム > 水を示し、また、Cu は 1%EDTA > 0.2 M ピロリン酸ナトリウム ≒ 1 N 酢酸アンモニウム > 水 > 0.1 N 塩酸を示した。すなわち、Mn 及び Zn は 1%EDTA、0.1 N 塩酸、1 N 酢酸アンモニウム可溶の形態、Cu は 1%EDTA、0.2 M ピロリン酸ナトリウム、1 N 酢酸アンモニウム、水、0.1 N 塩酸可溶部がそれぞれ本汚泥中の支配的な形態であるものと考えられる。

なお、本汚泥中には表 1 に示したように、多量の消石灰が含まれているので抽出前後で pH が変化し、特に、水及び塩酸抽出液は pH が高くなり、両抽出液による重金属の抽出効果は低くなる。この関係について図 4 に Zn の例を示した。

塩酸濃度の増加に伴って Zn 含量が増加する。このことは渡辺らも指摘しているが¹³⁾、本供試汚泥のように消石灰が多量に含まれている汚泥については、特に、0.1 N 塩酸抽出画分の取り扱いは今後さらに検討する必要がある。

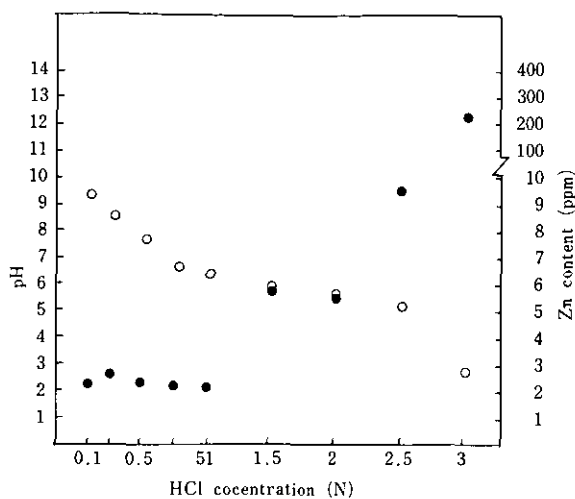


図 4 pH と Zn 含量の関係
 Fig. 4 Relation between pH and amounts of Zn
 ○ ; pH ● ; Zn

図 5 は汚泥連用土壌(淡色黒ボク土)における Mn, Zn 及び Cu の形態を示したものである。
 汚泥を連用した淡色黒ボク土壌中の重金属は、Zn は 1%EDTA > 0.2 M リン酸ナトリウム > 0.1 N 塩酸 >> 水 ≒ 1 N 酢酸アンモニウム、Mn は 1%EDTA > 0.1 N 塩酸 > 0.2 M ピロリン酸ナトリウム

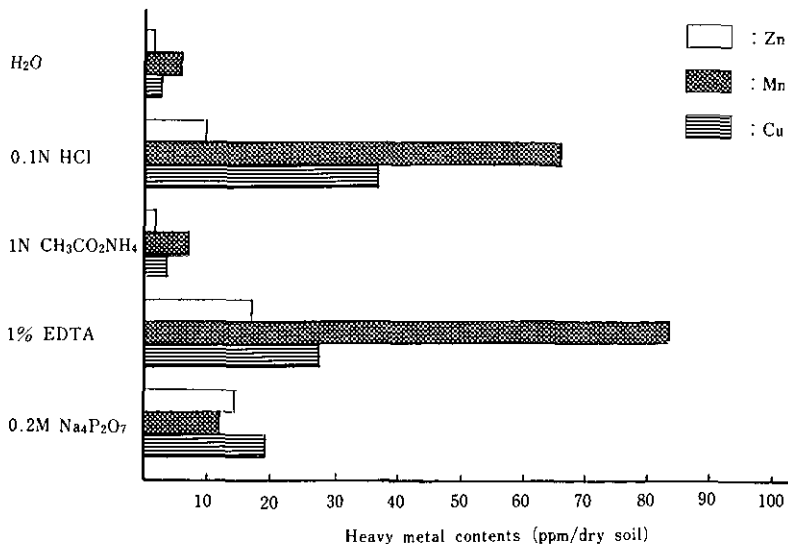


図 5 汚泥施用淡色黒ボク土における重金属の形態
 Fig. 5 Forms of metals in soil amended with sewage sludge

ム>1 N 酢酸アンモニウム>水を示した。また、Cu は 0.1 N 塩酸>1%EDTA>0.2 M ピロリン酸ナトリウム ≫ 1 N 酢酸アンモニウム>水を示した。すなわち、汚泥連用土壌中の Zn は 1% EDTA, 0.2 M ピロリン酸ナトリウム, 0.1 N 塩酸可溶部が、Mn は 1%EDTA, 0.1 N 塩酸, 0.2 M ピロリン酸ナトリウム可溶部がそれぞれ支配的な形態と考えられる。また、Cu は 0.1 N 塩酸, 1%EDTA, 0.2 M ピロリン酸ナトリウム可溶部がそれぞれ土壌中の支配的な存在形態と考えられた。しかし、これらの形態は、農作物によって吸収されやすいことは推測されるが、農作物による形態別重金属の吸収については今後さらに検討する必要がある。

以上に示したように、石灰凝集生活廃水汚泥中の重金属は、Mn 及び Zn は、大部分が 1% EDTA, 0.1 N 塩酸, 1 N 酢酸アンモニウム可溶部、Cu は 1%EDTA, 0.2 M ピロリン酸ナトリウム, 1 N 酢酸アンモニウム, 水, 0.1 N 塩酸可溶部にそれぞれ存在し、汚泥連用土壌中では、Zn は 1%EDTA, 0.2 M ピロリン酸ナトリウム, 0.1 N 塩酸, Mn は 1%EDTA, 0.1 N 塩酸, 0.2 M ピロリン酸ナトリウム可溶部、Cu は 0.1 N 塩酸, 1%EDTA, 0.2 M ピロリン酸ナトリウム可溶部にそれぞれ存在することが明らかになった。

引用文献

- 1) 栗林宗人(1979)：下水汚泥の現状。日本土壌肥科学会編、下水汚泥—リサイクルのために—、博友社、p.9, p.15.
- 2) 栗原 淳(1979)：有害成分の規制。日本土壌肥科学会編、下水汚泥—リサイクルのために—、博友社、p.91.
- 3) 田井慎吾・岡田光正・須藤隆一(1980)：生活汚泥中の重金属の由来について。国立公害研究所研究報告、第 14 号、203-211.
- 4) 日向 進(1981)：山梨県勝沼地方におけるブドウ園土壌の蓄積銅の実態調査について。日本土壌肥科学雑誌、52, 347-355.
- 5) Stover, R. C., L. E. Sommers and D. J. Sil Tviera (1976)：Evaluation of metals in wastewater sludge. J. WPCF., 48, 2165-2175.
- 6) 長井武雄・古賀英明(1974)：黄化症の発生状況と土壌の銅集積量調査。島根大報、27, 34-48.
- 7) 石沢 修(1971)：土壌および作物体中の重金属の分析法。農林水産技術会議事務局、9-18.
- 8) Cheng, K. L. and R. H. Bray (1953)：Two specific methods of determining copper in soil and in plant material. Anal. Chem., 25, 655-659.
- 9) 白鳥孝治・鈴木 武・三好 洋(1972)：塩成千拓田内の亜鉛欠乏症発生田における土壌中亜鉛の形態と動向。日本土壌肥科学雑誌、43, 291-296.
- 10) 農林省農林水産技術会議事務局監修、土壌養分測定法委員会編(1980)：土壌養分分析法。養賢堂、333-374.
- 11) 矢崎仁也(1979)：下水汚泥の重金属。日本土壌肥科学会(編)、下水汚泥—リサイクルのために—、博友社、73.
- 12) 鎌田賢一・南 松雄(1981)：下水汚泥中の重金属の形態。日本土壌肥科学雑誌、52, 385-391.
- 13) 渡辺和彦(1974)：土壌分析における抽出溶液量対土壌量比と元素抽出量間の規則性(第 1 報)。日本土壌肥科学雑誌、45, 453-458.

汚泥施用土壌における窒素の溶脱*

Eluviation of Nitrogen from Soils Treated with Domestic Sewage Sludge*

藤井國博^{1,2}・山口武則³

Kunihiro FUJII^{1,2} and Takenori YAMAGUCHI³

要 旨

生活廃水汚泥を施用した4土壌(淡色黒ボク土, 灰色低地土(沖積土), 黒ボク土及び川砂)における窒素の溶脱を自然条件下のライシメーター(4×4×1.2m)を用いて裸地状態で追跡した。使用した汚泥は, 消石灰と塩化第二鉄を脱水助剤とする生活廃水処理場の脱水汚泥であり, 全窒素含有量は2.7%であった。汚泥の乾物施用量は7.5t/ha/回であった。

表層土(0-5cm)における硝酸態窒素は, それぞれの土壌で異なった変化を示したが, 4土壌とも土壌中の硝酸態窒素は降雨により減少した。黒ボク土, 灰色低地土及び川砂区では降雨によって表層土の硝酸態窒素が減少した後に浸透水中の濃度が上昇した。浸透水中の硝酸態窒素濃度から求めた各土壌における窒素の溶脱率は, 淡色黒ボク土 39, 黒ボク土 61, 灰色低地土 46, 川砂 47%であった。

Abstract

Studies were conducted using soil and percolated water samples collected from sludge-treated soils in lysimeters (4×4×1.2m) under natural conditions. Soils used were light-colored andosol, gray lowland soil, humic andosol and river sand (substitute for sand-dune regosol). Dehydrated sludge, produced in a domestic sewage treatment plant and dehydrated with lime and ferric chloride, was applied to soils at an application rate of 7.5t/ha/application. Total nitrogen content of the sludge was 2.7%. Nitrate-nitrogen in surface soil (0-5cm) showed different changing patterns in each type of soil, but nitrate-N in all surface soils was decreased by heavy precipitation.

* 本報告の内容は, 昭和58年度日本土壌肥料学会京都大会において発表した。

1. 国立公害研究所 水質土壌環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Water and Soil Environment Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
2. 現在: 農業環境技術研究所 環境資源部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町観音台3-1-1
Present Address: Department of Natural Resources, the National Institute of Agro-Environmental Sciences, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
3. 国立公害研究所 技術部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Engineering Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

After decrease of nitrate in the surface soil of humic andosol, gray lowland soil and river sand, nitrate concentration in percolated water from these soils was increased. Nitrogen eluviation ratios in light-colored andosol, gray lowland soil, humic andosol and river sand were 39, 46, 61 and 47%, respectively.

Key words : Nitrate-nitrogen, Eluviation of nitrogen, Percolated water, Dehydrated sludge

1 はじめに

汚泥に含有される窒素のような有機態窒素は、土壌中において無機化され、アンモニウム態窒素を経て硝酸態窒素に変換されることは広く知られている。国立公害研究所においては自然条件下における汚泥中窒素の形態変化とその消長を消石灰と塩化第二鉄を脱水助剤とする生活廃水汚泥を短期間連用した土壌において追跡している^{1,2)}。服部ら¹⁾は、汚泥施用後植物を栽培せず裸地とした屋外ライシメーター(有底枠)における汚泥連用2年目の追跡実験から土壌中のアンモニウム態窒素は汚泥施用後に多く以後減少する、これに続いて、硝酸態窒素が蓄積するが、その消長は降雨によって影響され増減を繰り返すことを見だし報告している。この2年目に続いて連用3年目の昭和56年度には表層土における硝酸態窒素の消長の追跡と同時に有底枠の底部から排出される浸透水についても硝酸態窒素濃度が計測された。ここでは表層土における硝酸態窒素の消長と浸透水中における濃度の変化並びに各有底枠について求めた窒素の収支について報告する。なお、浸透水中の硝酸態窒素濃度と浸透水量及び降水量は本特別研究の中間報告書において報告した³⁻⁵⁾。

2 実験方法

実験は、川砂、淡色黒ボク土、灰色低地土及び黒ボク土が充てんされ、消石灰と塩化第二鉄を脱水助剤とする生活廃水汚泥が連用された有底枠を用いて行われた。実験内容は、汚泥の成分組成など詳細については既に報告^{1,6)}されているのでそちらを参照されたい。

硝酸態窒素($\text{NO}_3\text{-N}$)分析用の土壌試料は、各有底枠内9箇所、深さ0-5 cmから採取した。採取した土壌試料は9箇所分を一括して2 mmのふるいを通して調製した。調製方法は前報に述べたとおりであった。調製後の試料の硝酸態窒素は常法⁷⁾にしたがって抽出したのちスルフェニルアミド-エチレンジアミン比色法を応用した自動分析法⁸⁾によって計測した。測定に用いた自動分析装置はテクニコン社製オートアナライザーAAII型であった。

各有底枠底部からでた浸透水は、転倒マス雨量計に導かれ、浸透水量が計測された。浸透水試料は、転倒マス雨量計の排水水を採取した。浸透水中の硝酸態窒素も土壌中の硝酸態窒素と同様に分析した。有底枠が設置された国立公害研究所本構内実験ほ場における降雨量、各有底枠の浸透水量及び浸透水中の硝酸態窒素濃度の計測データは、本特別研究の中間報告書に資料として報

告した³⁻⁵⁾。

3 結果と考察

各有底枠の表層土と浸透水中の硝酸態窒素($\text{NO}_3\text{-N}$)濃度の変化を図1~4に示した。

3.1 表層土における硝酸態窒素の消長

5回目の汚泥施用後(56年夏季)における淡色黒ボク土表層土(0-5 cm)の $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度は、汚泥施用2週目から8週目まで増加を続けたが、その後の大雨(72 mm/d)によってほとんど消失し、その後の顕著な増加は認められなかった。同区の冬季(6回目の汚泥施用後)における $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度は夏季ほど高濃度とはならないが、増減を繰り返した。この減少は夏季と同様に、降雨が関係しており、降雨後土壌中の濃度は減少した。化学肥料区における $\text{NO}_3\text{-N}$ の濃度は、汚泥区より高いが、その変動パターンは汚泥区と同様であった(図1)。

黒ボク土における $\text{NO}_3\text{-N}$ (図2)は、その濃度が淡色黒ボク土より高濃度となるものの夏季、冬季ともに淡色黒ボク土とはほぼ同様の変動パターンを示した。化学肥料区も汚泥区と同様のパターンを示した。

灰色低地土の冬季における変動パターンは、前二黒ボク土とはほぼ同様であった。夏季において8月上旬まで上昇し、その後の降雨によって減少することは同一であったが、9月以降再び上昇した。しかし、10月下旬の降雨によって完全に消失した。冬季における化学肥料区の変動は汚泥区と同一であったが、夏季ではやや異なった変動を示した。しかし、降雨によって減少することは変わらなかった。この土壌における特徴は、夏季、汚泥区の濃度が化学肥料区濃度より高くなることであった(図3)。

以上の3土壌では4月上旬に濃度上昇が認められるが、その後の計測がなされていないので、その後における変動は不明である。しかし、後述するように浸透水中濃度が上昇していることから降雨によって減少するものと推測される。

川砂汚泥区における変動(図4)は、前述の3土壌と異なった変動パターンを示した。すなわち、夏季においては、8月上旬まで増加を続け、その後の降雨によって減少したのは同一であったが、減少の程度が低く9月下旬まで徐々に減少した。冬季においては、1月下旬をピークとする緩やかな増減を示し、他の土壌において認められた明確な増減が認められなかった。もう一つの特徴は、汚泥区の濃度が化学肥料区より高いことであった。

以上のように汚泥区における年間を通じての $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度は、それぞれの土壌で特徴的な変動を示したが、いずれの土壌においてもその消長に降雨が関連していることが明らかにされた。このことは、汚泥の分解によって生成し、土壌中に蓄積した $\text{NO}_3\text{-N}$ が降雨によって下層土に移動(溶脱)したことを示唆している。この実験は、試験地の都合で裸地とせざるをえなかった(隣接地に野球場が設けられ、球の飛び込みによる植物被害が予想されたためであるが、57年度以降の植物

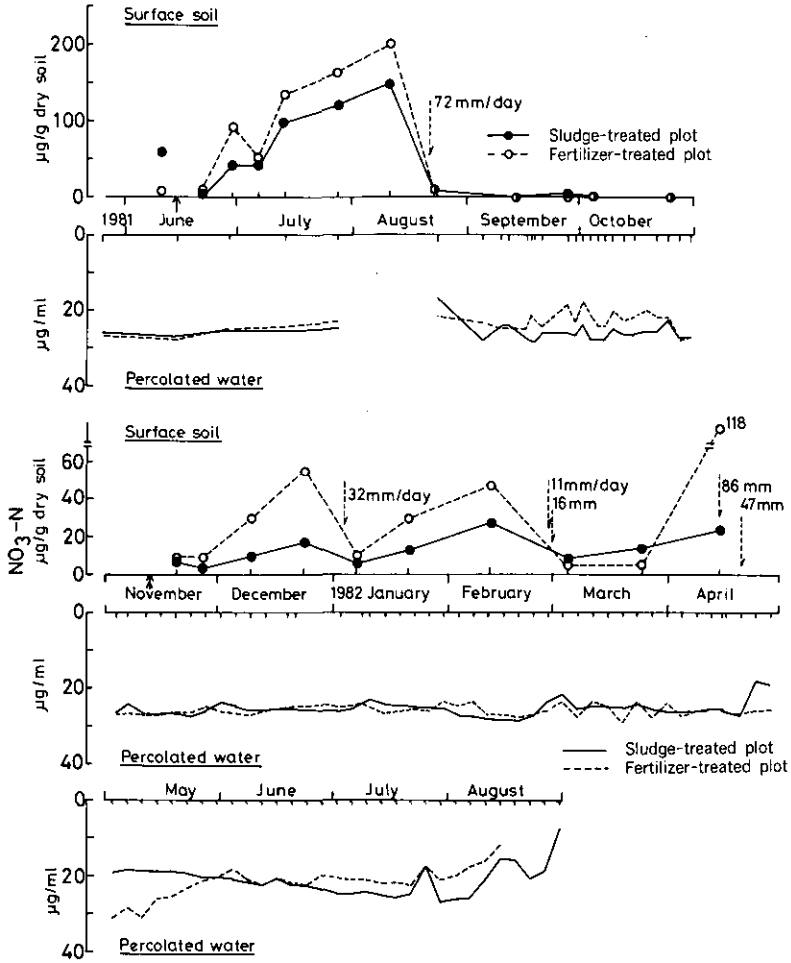


図 1 表層土及び浸透水中の硝酸態窒素濃度の変化—淡色黒ボク土—
 Fig. 1 Changes in nitrate-nitrogen concentrations in surface soil and percolated water—Light-colored Andsol—
 ↑ : 5th application of sludge or chemical fertilizers
 † : 6th application of sludge or chemical fertilizers
 ↓ : Precipitation

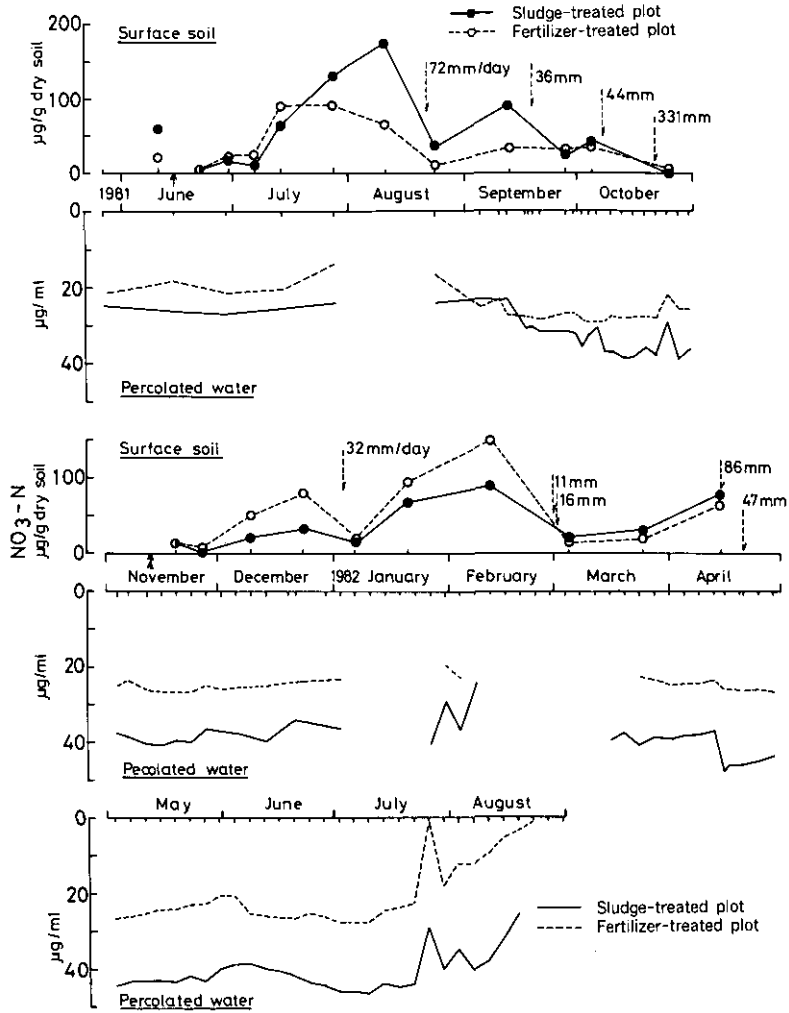


図 2 表層土及び浸透水中の硝酸態窒素濃度の変化—灰色低地土—
 Fig. 2 Changes in nitrate-nitrogen concentrations in surface soil and percolated water—Gray Lowland soil—

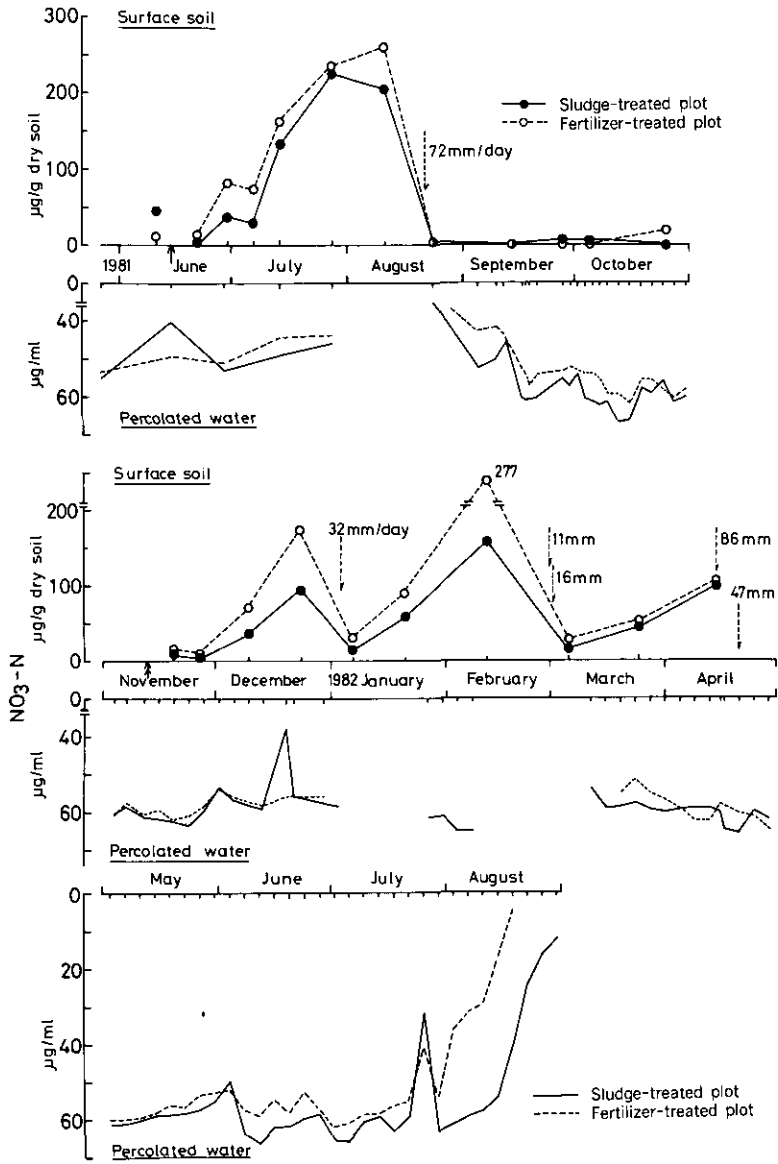


図 3 表層土及び浸透水中の硝酸態窒素濃度の変化—黒ボク土—
 Fig. 3 Changes in nitrate-nitrogen concentrations in surface soil and percolated water—Humic Andsol—

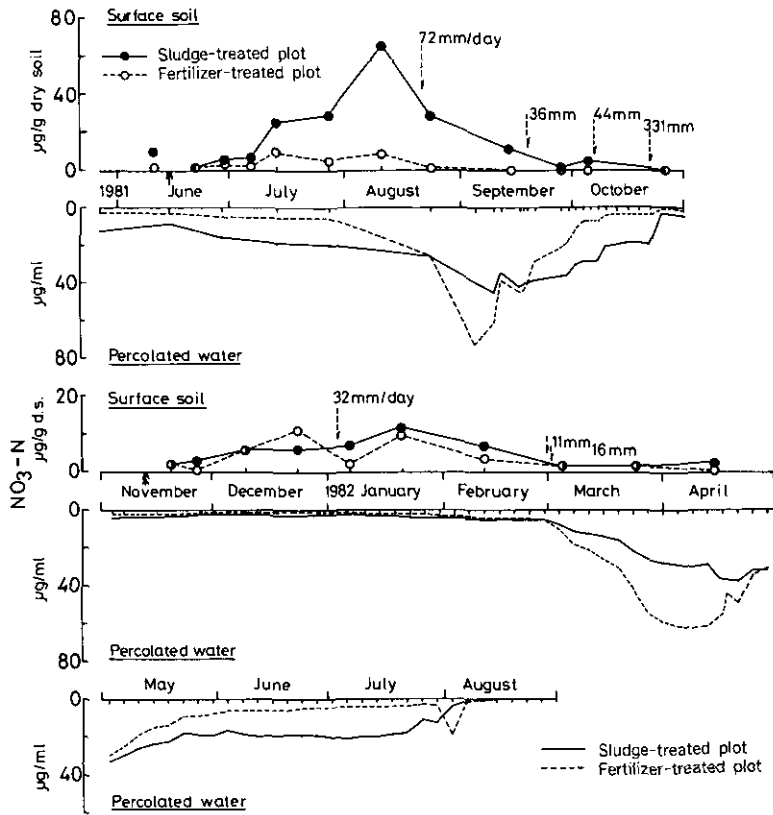


図 4 表層土及び浸透水中の硝酸態窒素濃度の変化—川砂—
 Fig. 4 Changes in nitrate-nitrogen concentrations in surface soil and percolated water—River sand—

栽培中には実際に被害が発生した)。したがって、植物が栽培された場合における土壌中 $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度は低下するものと考えられるが、汚泥の施用量が栽培植物の要求量以上であった場合や土壌中における $\text{NO}_3\text{-N}$ の生成・蓄積と植物による吸収とが一致しなかった場合には溶脱が起こり得るものと考えられる。また、通常、土壌は、 NO_3^- のような陰イオンの吸着能を持たないことから降雨によって地下水に到達する可能性は否定できない。

3.2 浸透水中における硝酸態窒素濃度の変動

ここで用いた有底枠の浸透水中における各主成分濃度の分析値は、本特別研究の中間報告書(国立公害研究所研究報告, 第 68 号)に資料として報告した⁴⁾。また、ここで報告する $\text{NO}_3\text{-N}$ を含め

て本報告書の中で成分濃度の変化などについて検討が加えられ報告されている。ここでは表層土における消長と合わせて浸透水中における $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度の変化を検討した。

図4に示したように、川砂区の浸透水中の $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度の変動は、表層土の濃度変化及び降雨との関係が最も明確に反映していた。すなわち、夏季、汚泥区の浸透水中濃度は、汚泥施用後から徐々に上昇し、表層土壌中濃度が降雨によって低下した8月下旬から9月上旬にかけて急激に上昇した。その後徐々に減少し、10月下旬には汚泥施用時以下の濃度にまで低下した。冬季のそれは3月上旬から上昇を始め、4月中旬に最高濃度に達したのち8月上旬まで徐々に減少し、8月中旬には極めて低濃度となった。化学肥料区は両季とも最大濃度に達する時期が汚泥区よりやや早いもののほぼ同様の変化を示した。

淡色黒ボク土(図1)では8月下旬から9月上旬にかけて濃度の上昇が認められる以外は顕著な変化はなく、翌年の8月には低下し、9月には極めて低濃度となった。これに対して、黒ボク土及び灰色低地上では川砂区と同様に8月下旬から9月上旬と翌年の3、4月からの濃度の上昇が認められた。

以上のように土壌に蓄積された $\text{NO}_3\text{-N}$ は、降雨によって溶脱され、120 cmの土層(各有底枠中の土壌の厚さは、120 cmであった)を通して浸透水中に検出されることが明らかにされた。特に、夏季に認められたように土壌中濃度が上昇した時期に大雨が降ると短時日の間に浸透することが明らかにされた。また、晩秋に汚泥を施用した場合は翌年の夏まで溶脱が継続することも認められた。すなわち、年2回の汚泥施用では前回の残存 $\text{NO}_3\text{-N}$ が合計された形で浸透するものと考えられる。

3.3 窒素の収支

各有底枠における窒素(N)収支を求めると表1のとおりとなる。窒素の溶脱量は、各計測時の $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度に浸透水量を掛けた値を全測定時の総浸透水量で割った値(重み付き平均濃度)に濃度が上昇し始めた56年9月から溶脱が終了した57年8月までの総浸透水量を掛けて求めた。降雨による窒素の負荷量は同期間の総雨量に58年に実測した降雨中の無機態窒素濃度(重み付き平均濃度)を掛けて求めた(56年—58年8月までは降雨中の無機態窒素濃度を計測していない)。

表1に示したように、各土壌における汚泥中窒素の溶脱率は39—61%であり、淡色黒ボク土が最も低く、黒ボク土で最大となった。これらの値は植物を栽培しない裸地において得られたものであり、植物による吸収がないので汚泥中窒素の無機化率の目安となりうる(実際には脱窒や高pH土壌からの NH_3 の揮散、土壌残留も考慮に入れる必要があるので目安とした)。これまでの研究で得られた昭和54年度の栽培植物(ナス及び小麦)による窒素の吸収量は、川砂区 58, 淡色黒ボク土 138, 灰色低地土 123, 黒ボク土 194 gN/ライシメーターであった。56年度も同一植物を栽培し、窒素吸収量も同一であったと仮定して植物による吸収量を考慮した溶脱率を計算すると、川砂区 34, 淡色黒ボク土 30, 灰色低地土 30, 黒ボク土 25%となる。ここで用いた植物に

表 1 汚泥施用土壌からの窒素の溶脱

Table 1 Eluviation ratios of nitrogen from soils amended with domestic sewage sludge

Nitrogen load by precipitation was calculated from total volumes of precipitation during Sept., 1981 to Aug., 1982 and average concentration of inorganic-nitrogen in precipitation during 1982 (Jan. to Dec.).

Plot	Soil	Nitrogen Load		C. Average Concentration in Percolated Water	D. Total Volume of Percolated Water	E. Percolated Nitrogen E=C×D	Nitrogen Elviation Ratio(%) $\frac{E-B}{A} \times 100$
		A. Material	B. Precipitation				
Sludge	Sand	584	17	20.81mgH/l	13,874 l	289	47
	Light-colored Andsol			23.06 "	10,612	245	39
	Gray Lowland Soil			37.12 "	7,682	285	46
	Humic Andsol			52.43 "	7,108	373	61
Chemical Fertilizers	Sand	240	17	10.31 "	14,341	148	55
	Light-colored Andosol			21.28 "	10,471	223	86
	Gray Lowland Soil			23.24 "	5,973	139	51
	Humic Andosol			54.45 "	5,222	284	111

(Ng/Lysimeter)

よる吸収量は地上部のみの値であり、植物栽培条件下における溶脱を正確に評価するには根に含まれる窒素量を把握する必要がある。しかし、前述の溶脱率に見合う量の窒素が植物の根の中に捕捉されているとは考えられない。したがって、乾物として7.5 t/ha/回の汚泥施用量は良好な植物の生育を支えるうえで必要な施用量(未発表)であることから汚泥のみの施用により植物生産を確保しようとするれば施用した汚泥中窒素の一部の溶脱は避けられないものと推察される。

謝 辞

土壌及び浸透水試料の採取は、(株)川上農場 永高貞治、中村てる子両氏にお願いした。浸透水及び降雨の成分分析の一部は土壌環境研究室 久保井徹博士にお願いした。これらのご協力に対して深謝の意を表する。

引 用 文 献

- 1) 服部浩之・藤井國博・久保井 徹・広木幹也(1983)：下水汚泥施用各種土壌における無機態窒素の経時変化。国立公害研究所研究報告，第 47 号，37-44.
- 2) 服部浩之・藤井國博・久保井 徹・広木幹也・小林峰雄・矢崎仁也・大羽 裕(1983)：下水汚泥施用淡色黒ボク畑土壌における無機態窒素の経時変化。国立公害研究所研究報告，第 47 号，45-62.
- 3) 藤井國博・広木幹也・山口武則・松坂泰明(1984)：屋外ライシメーター浸透水試料の成分分析結果。国立公害研究所研究報告，第 68 号，169-197.
- 4) 藤井國博・山口武則(1984)：屋外ライシメーターの浸透水量。国立公害研究所研究報告，第 68 号，133-168.
- 5) 山口武則・藤井國博(1984)：降水量。国立公害研究所研究報告，第 68 号，129-132.
- 6) 藤井國博(1986)：汚泥施用土壌における土壌微生物数の変化。国立公害研究所研究報告，第 93 号，81-91.
- 7) 深山政治・井田 明・草野 秀・徳永美治・森 哲郎・赤塚 恵(1970)：無機態窒素。肥沃度測定のための土壌養分分析法。養賢堂，184-200.
- 8) 藤井國博・服部浩之・広木幹也・久保井 徹(1983)：下水汚泥施用土壌の微生物フロラに関する研究(IV)，下水汚泥施用砂丘地及び火山灰土壌における微生物数。国立公害研究所研究報告，第 46 号，57-75.

畑地土壌における汚泥成分の地下浸透と植物による吸収

Leaching and Plant Uptake of Sewage Sludge Elements in Upland Soil

広木幹也¹・久保井 徹¹

Mikiya HIROKI¹ and Toru KUBOI¹

要 旨

淡色黒ボク土を充てんした大型ライシメーターに石灰凝集下水汚泥(100 t/ha)を半年ごとに7回連用し、土壌水及び浸透水の成分を経時的に分析した。この結果及び植物(コマツナ、年6回栽培)の収量と成分含量とから汚泥施用土壌における物質収支を求め、以下の結果を得た。

1. 汚泥の施用に伴い、表層土壌では土壌水中の濃度が周期的に変動したが、下層土では濃度は徐々に上昇した後、平衡状態に達するようにみえた。

2. Cl, NO₃-N, Na, Mg, Caの見掛けの浸透速度は64~75 cm/yで元素間の差はあまりなかった。この速度は土壌水の平均浸透速度(165~230 cm/y)よりもかなり遅かった。Kは、実験期間中は55 cm以下の層位には浸透しなかった。

3. 下層において土壌水が達した平衡濃度と年間の浸透水量とから、各ライシメーターに汚泥を連用したときの各元素の浸透量を求めた。各元素の浸透量と植物による吸収量を求め、汚泥施用に伴う負荷量と比較すると、Kは植物による吸収量が施用量を上回っていた。Naの浸透量は、植栽区、裸地区とも汚泥による施用量を上回った。N, Cl, Mg, Caの植物による吸収率は低く、N, Clの浸透率は高く、また、Mg, Caは比較的残留率が高かった。各元素とも、植栽区の残留率は裸地区の残留率より高かった。これらの結果から、100 t/ha/yという施用量は、植物の生育と吸収量に対して明らかに過剰であるとみなした。

Abstract

Limed sewage sludge was repeatedly incorporated 7 times (3.5years) into a light-colored andosol at a rate of 50tons/ha/each application. During the course of this lysimeter experiment, samples of soil solution from various depths, and leached water were periodically analysed for elemental concentrations. Based on these data, yield and elemental concentrations of *Brassica rapa* L. (Komatsuna) which was cultured 6 times/year, and the loading of elements with in the sludge, with a budget of N, Cl, K, Na, Ca, and Mg were estimated.

Remarkable characteristics relating to solute movements were : 1) Although elemental concentrations in the solution samples from the surface 30cm fluctuated with

1. 国立公害研究所 水質土壌環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Water and Soil Environment Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi,
Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

the application practice used, the solution concentrations at a lower depth (>105cm) gradually increased to reach steady-state levels. 2) Apparent leaching velocities of Cl, NO₃-N, Na, Mg, and Ca were similar among the elements and estimated to be 64-75cm/year, whereas the velocity of K was markedly lower than that of the other elements.

The annual amount of each element leached to the subsurface layer could therefore be estimated by its steady-state level and the leached volume of water.

The budget indicates that :

- 1) Plants absorb more K from the soil than that in the loading amount.
- 2) The leached amount of Na further exceeds the loading amount.
- 3) Among the other elements, N and Cl are relatively mobile while Mg and Ca are not.

Key words : Sewage sludge, Lysimeter, Soil water, Leaching, Plant uptake

1 はじめに

農耕地へ施用された下水汚泥は土壌中で分解された後、その成分の一部は植物によって吸収利用され、他の一部は、大気中へ揮散、あるいは地下へ浸透し、残りは表層土壌中に留まる。それゆえ、下水汚泥の土壌還元は水環境及び大気への成分の拡散による周辺環境の再汚染の可能性を伴う。これらの問題をあらかじめ予測し、汚泥の適切な施用により周辺環境への影響を最小限にいくとめるには、汚泥中成分の土壌及びそれを取り巻く環境における挙動を明らかにしてゆかなければならない。

著者らは先に、大型ライシメーターによる実験を行い、石灰凝集下水汚泥を畑地に施用した時の土壌水濃度の変化を調べてきた¹⁾。その結果、汚泥の施用により、土壌水中の硝酸態窒素、塩素、カルシウムなどの濃度が著しく増加すること、土壌水中の濃度変化の影響が下層に及ぶには、表層に汚泥を施用した後かなりの時間を要することなどが明らかになった。しかし、汚泥施用に伴う各元素の土壌環境中での挙動を明らかにするためには、施用された汚泥中の元素の地下への浸透量及び植物による吸収量などを、量的に明らかにしてゆく必要がある。本報告では、先の大型ライシメーター実験を継続して汚泥を連用し、土壌中での各元素の挙動を量的に明らかにする。

2 実験方法

2.1 実験装置・供試土壌・供試汚泥

実験には、直径1.7 m、深さ2.3 mの円筒形の屋内地温制御ライシメーター²⁾4基を用いた。ライシメーター地上部の自然光温室は気温及び湿度が制御されている。ライシメーター地下部には、30 cm から 205 cm まで 25 cm おきの8層位に磁製のポーラスカップが側方より挿入され、これを通して土壌水が採取可能である。

土壌は、茨城県筑波郡より採取した淡色黒ボク畑土壌の作土及び心土を、それぞれ0-40 cm、

40-230 cm 層に充てんした。汚泥は、取手市郊外の住宅団地の廃水処理場より産出された脱水ケーキを風乾後、粉碎して供試した。土壌及び汚泥の理化学性を表 1, 2 に示した。これらの詳細は、広木ら¹⁾のとおりである。

表 1 供試土壌の性質

Table 1 Chemical properties of soils used in the experiment

	pH(H ₂ O)	pH(KCl)	T-C%	T-N%	CEC	exchangeable			
						-K	-Na	-Mg	-Ca
Surface	6.2	5.5	1.24	0.25	0.199 ^{a)}	0.86 ^{b)}	0.018 ^{b)}	0.11 ^{b)}	1.06 ^{b)}
Subsoil	6.2	5.5			0.171	0.37	0.021	0.061	

a) me/g dry soil

b) mg/g dry soil

表 2 供試汚泥の成分組成

Table 2 Chemical composition of sludge used in the experiment
(% dry matter)

T-C	T-N	T-K	T-Na	T-Mg	T-Ca	T-P	T-Cl
27.3	3.7	0.091	0.066	0.81	9.06	8.6	0.59

2.2 試験設計, 試験日程, 実験条件

用いた4基のライシメーターのうち2基(Lys 1, 3)を汚泥施用区, 2基(Lys 2, 4)を対照区とした。汚泥は半年ごとに50 t/ha 相当量を表層10 cmの土壌に均一に混合施用した。1979年9月に1回目の施用を行ったのち、1983年3月までの42か月間に7回汚泥を施用した。汚泥施用時に対照区においては耕起のみを行い、汚泥及び化学肥料の施用は行わなかった。1回目の汚泥施用の後は各区とも裸地で経過させたが、2回目の汚泥施用(1980年5月)以降は、汚泥施用区及び対照区のライシメーターのうち各1基ずつ(Lys 2, 3)を植栽区としてコマツナを栽培した。1回の汚泥施用に対し、コマツナは45日ずつ3回栽培をした。他の2基(Lys 1, 4)は実験期間を通して裸地として経過させた。実験期間中、気温を昼間25°C-夜間20°C、湿度を60%、下層土の地温を18°Cに設定し、週1回30.8 mm相当の蒸留水をじょうろで散水した。ライシメーター底部は開放し、浸透水量を記録した。

2.3 試料採取方法、測定法

30, 55, 80, 105, 130, 155, 180, 205 cm 層から土壌水を約 2 週間おきに採取した。土壌水と、ライシメーター底部(230 cm)からの浸透水について、硝酸態窒素($\text{NO}_3\text{-N}$)、塩素(Cl)、カリウム(K)、ナトリウム(Na)、マグネシウム(Mg)、カルシウム(Ca)濃度を既報¹⁾に従って測定した。

コマツナの収量及び成分含量は久保井ら³⁾のとおりである。

その他、試験方法の詳細は広木ら¹⁾のとおりである。

3 結果及び考察

3.1 各ライシメーターの浸透水量

各ライシメーターの年間浸透水量は、汚泥施用裸地区(Lys 1)で 920 mm/y(かん水量の 57%)、汚泥施用植栽区(Lys 3)では 656 mm/y(同 41%)、無施用裸地区(Lys 4)では 660 mm/y(同 41%)、無施用植栽区(Lys 2)では 378 mm/y(同 24%)であり、ライシメーター間で差があった。また、裸地区及び汚泥無施用の植栽区では、浸透水量は夏季に冬季より若干少ないものの年間を通じてほぼ一定であった。しかし、汚泥施用植栽区では浸透水量は周期的に変動し、コマツナ生育後期には浸透水が得られない場合もあった。

温室内では、日射量、空調機による風向きなどがライシメーターの位置によって異なり、地表面からの蒸発量に影響を及ぼす。ライシメーター脇に水を入れたビーカーを置いたとき、ビーカーからの水分の蒸発量は、Lys 2 が最も大きく、Lys 1 と Lys 3 は同程度で、Lys 4 が最も小さかった²⁾。汚泥無施用の植栽区(Lys 2)において特に浸透水量が他のライシメーターより少ないのは、Lys 2 が蒸発しやすい位置にあるためである。一方、汚泥施用裸地区(Lys 1)は無施用裸地区(Lys 4)より蒸発しやすい位置にあるにもかかわらず、浸透水量は無施用裸地区より多かった。これは、汚泥の施用により表層土の物理性が変化し、土壌表面からの蒸発量が抑えられたためである⁴⁾。

3.2 土壌水及び浸透水の各成分濃度

図 1~6 に汚泥施用区の土壌水及び浸透水中の各成分濃度の経時変化を階級値で示した。

Cl は、裸地、植栽両区とも 30 cm 層では汚泥施用後数週間間に 200 ppm 以上に達した後、短期間に再び 20 ppm 以下に減少するという変動を繰り返した(図 1)。このことは、汚泥中の Cl は短期間に下層へ溶脱されることを示す。下層では濃度の変動は表層に比較して緩やかで、特に 105 cm 以下の各層では濃度が徐々に増加した後、植栽の有無にかかわらず 40~60 ppm の範囲で一定になった。

$\text{NO}_3\text{-N}$ は、30 cm 層では汚泥施用後数週後に濃度が高くなったが、Cl の場合より、ピークに達した後の濃度の減少は緩やかであった(図 2)。また連用を繰り返すにつれて濃度が上昇する傾向にあった。これは、有機窒素の無機化と硝化が緩やかに進むため、汚泥に含まれる N の一部が表層土中に累積してゆくためである。130 cm 以下の層においては、Cl と同様徐々に濃度が増加した

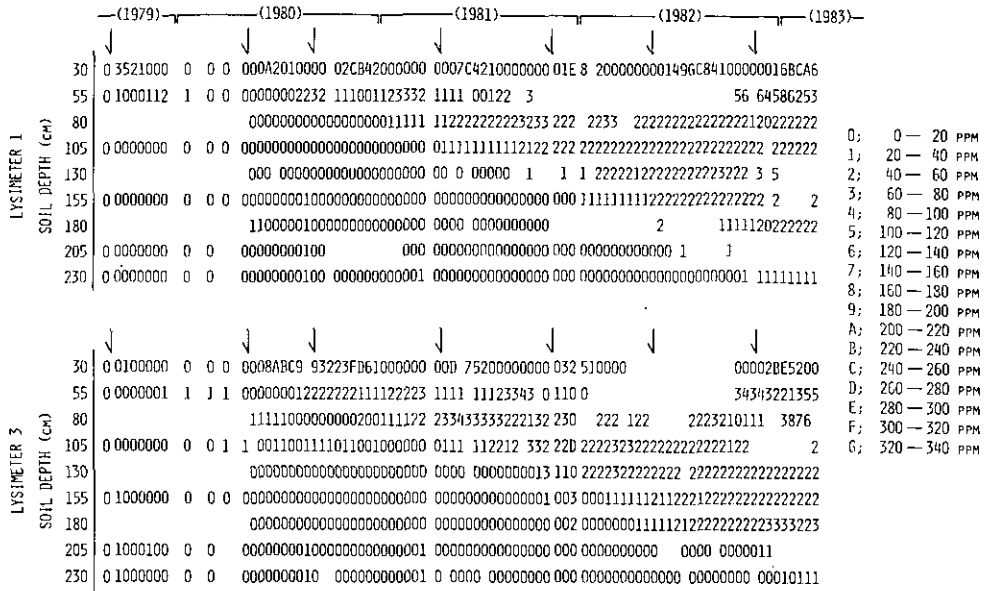


図 1 汚泥施用ライシメーターにおける土壤水及び浸透水中の塩素濃度の経時変化

Fig. 1 Changes in Cl concentration in soil water as functions of soil depth and time

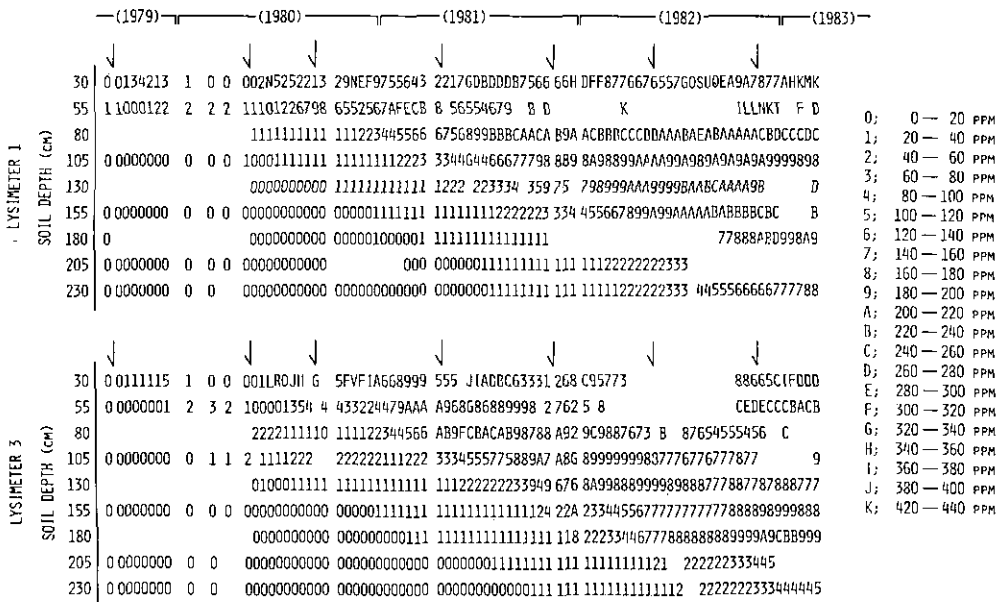


図 2 汚泥施用ライシメーターにおける土壤水及び浸透水中の硝酸態窒素濃度の経時変化

Fig. 2 Changes in NO₃-N concentration in soil water as functions of soil depth and time

後、一定の濃度で平衡に達した。しかし、その濃度は裸地区(180-240 ppm)と植栽区(140-180 ppm)では異なっていた。

Mg と Ca(図 3, 4)の濃度変化は硝酸態 N と似ていた。130 cm 層においては裸地区でそれぞれ 28~36, 160~200 ppm, 植栽区ではそれぞれ 24~28, 120~180 ppm で平衡に達した。

試験開始前の K 濃度は 30 cm 層(7 ppm)において 55 cm 以下の下層土(2 ppm 以下)より明らかに高かった(図 5)。これは、40 cm までの表層土と、40 cm 以下の下層土との間で土壌中の置換態 K の含量が大きく異なっていたこと(表 1)を反映したものである。試験開始後は裸地区表層においては汚泥の施用のたびに K 濃度は周期的に変動した。しかし、下層では濃度の変化はほとんど認められず、55 cm 層の K 濃度が 5 ppm に達するのに試験開始から 37 か月を要した。植栽区の 30 cm 層では時間の経過に伴い濃度が減少した。これらの結果は、K は土壌中を下層へ浸透しにくいこと、また、植栽区では汚泥による投入量以上の K が植物によって収奪されることを示す。

試験開始後 16 か月たつ頃から、80 cm 以下の層において Na 濃度は徐々に増加し始め、最高 30 ppm に達した後再び減少した(図 6)。しかし、このような濃度変化は 55 cm より上の層では認められなかった。このことから、80 cm 層における Na 濃度の増加が、表層からの Na の浸透によるものみでなく、元来この層位に含まれていた Na が土壌水に溶出してきたことによるものであると考える。また、130 cm 以下の層の土壌水濃度は、裸地区では 24~28 ppm, 植栽区では 20~24

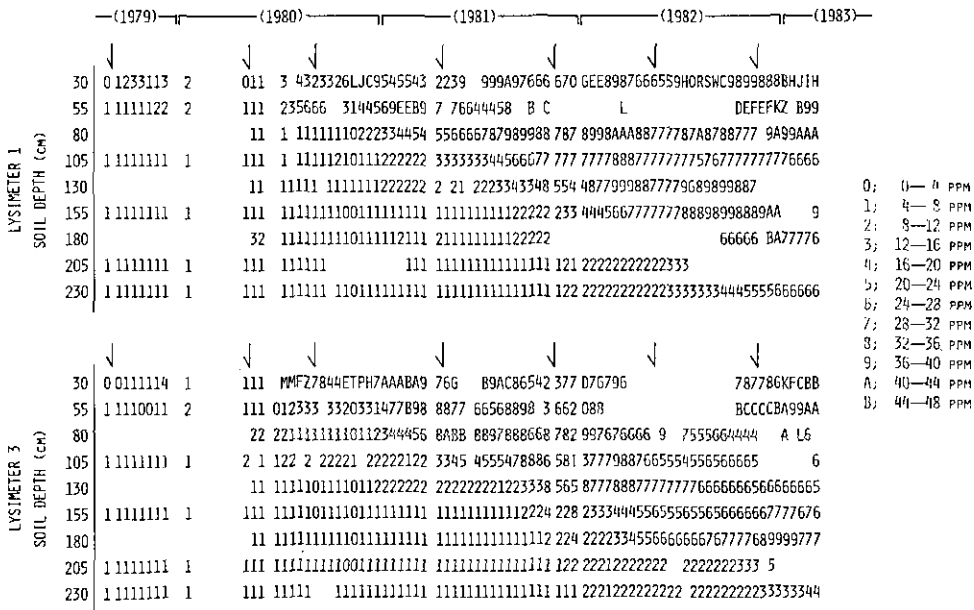


図 3 汚泥施用ライシメーターにおける土壌水及び浸透水中のマグネシウム濃度の経時変化

Fig. 3 Changes in Mg concentration in soil water as functions of soil depth and time

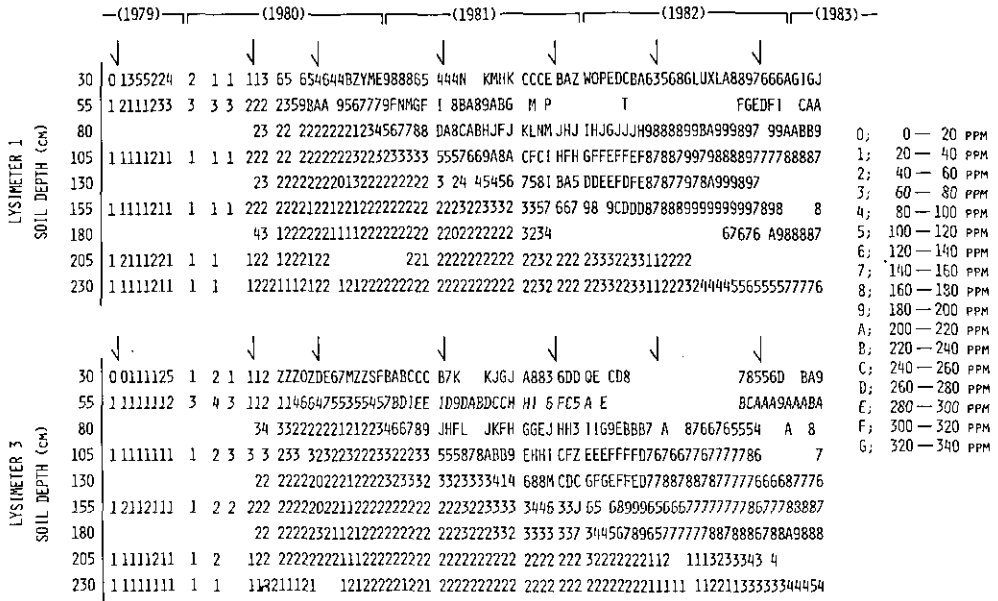


図 4 汚泥施用ライシメーターにおける土壌水及び浸透水中のカルシウム濃度の経時変化

Fig. 4 Changes in Ca concentration in soil water as functions of soil depth and time

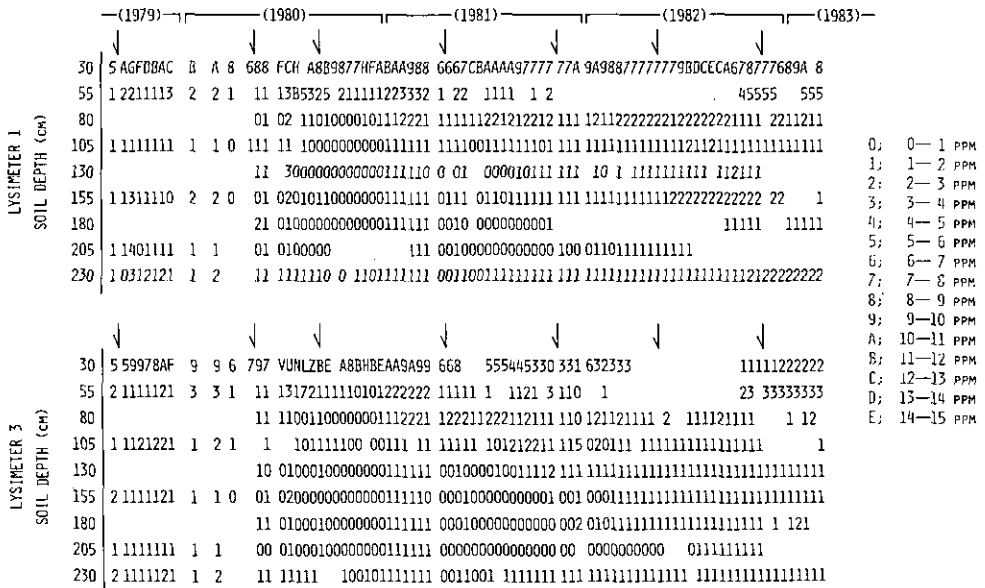


図 5 汚泥施用ライシメーターにおける土壌水及び浸透水中のカリウム濃度の経時変化

Fig. 5 Changes in K concentration in soil water as functions of soil depth and time

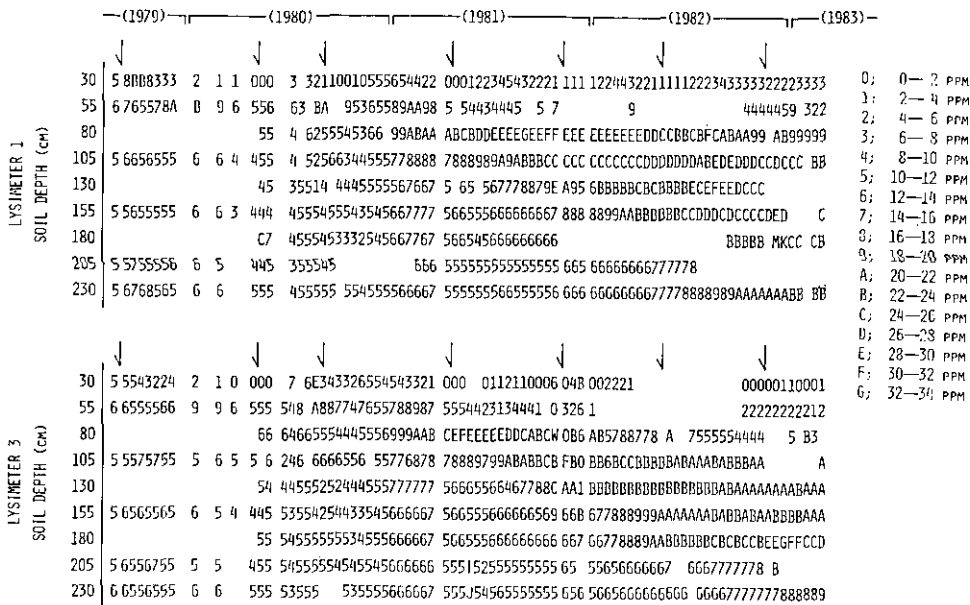


図 6 汚泥施用ライシメーターにおける土壌水及び浸透水中のナトリウム濃度の経時変化

Fig. 6 Changes in Na concentration in soil water as functions of soil depth and time

ppm で平衡に達した。

3.3 浸透速度

前項で見たとおり、汚泥の連用を続けると、土壌下層の元素の濃度は次第に増加し、時間経過に伴ってより深層でも元素濃度が増加するようになる。そのときの土層の深さと、濃度が上昇するのに要した時間とから、その元素の見掛けの浸透速度を求めることができる。Cl の場合、図 1 において階級値が 1(下層で平衡に達したときの階級値(2)の 1/2)以上になる時期を指標とすると、植栽区で約 66 cm/y、裸地区では約 71 cm/y と推定される。同様に、硝酸態 N の場合は平衡に達したときの階級値の 1/2(植栽区 4~裸地区 5)を指標として約 67~74 cm/y、Mg、Ca はそれぞれ階級値 3~4、4~5 を指標として、それぞれ約 64~71、67~72 cm/y であった。Na は、実験開始時の濃度が下層においても高いため、実験開始時の階級値(5)と、平衡濃度に達した時点での階級値の中間値 8~9 を指標とすると、67~75 cm/y であった。このように、裸地区の方が植栽区より浸透速度は大きい傾向にあったが、各元素とも、裸地区では 71~75 cm/y、植栽区では 64~67 cm/y であり、浸透速度の元素間の差は小さかった。このように、各元素の土壌粒子との親和性は異なるにもかかわらず、見掛けの移動速度に元素間であまり差が無かった理由は、1) カチオンとアニオンが互いにイオン対として移動すること、及び、2) イオン間の交換吸着により、土壌水中

のある種のイオン濃度の増加に伴い他種のイオンが土壌水中に解離してくる、の2点が大きいであろう。例えば、土壌水中のCa濃度の増大に伴い、土壌に吸着していたNaがCaと交換して、土壌水中に溶出してくるため、土壌水中のNaの濃度はCaの濃度に伴って変化する。それゆえ、NaとCaの土壌中の真の移動速度が異なっても、土壌水中の濃度変化による、みかけの移動速度は、互いに近い値となるであろう。

土壌水の移動速度は、土壌の平均液相率を40%と仮定すると、裸地区では230 cm/y、植栽区では165 cm/yと推定される。この値と比較すると、どの元素の移動速度も非常に遅いといえる。Clは土壌中の移動性が比較的高いとされる元素であるが、土壌水の移動速度の1/2~1/3であった。これは、供試した火山灰土壌がClイオンをかなり吸着することが理由の一つであるとともに、土壌構造内にこれらの物質が保持されることも理由の一つと考えられる。すなわち、この実験では、かん水直後には一時に多量の水分が粗大な孔げきを下方へ流れるため、粗孔げき中の水は周囲の微細な孔げき中の土壌水と十分な交換を行わずに(雨水が物質を溶かし込まぬままに)流下するのに対し、降雨後の乾燥過程では、土壌水が微細な孔げきを毛管上昇する過程で周囲の物質を取り込みながら動くためと考えられる。

3.4 植物による吸収量と地下への浸透量

汚泥の連用を続けたとき、土壌水中の各元素の濃度は、表層では施用のたびに周期的に変動するが、下層では変動は小さく、緩やかに濃度が上昇した後、ある濃度範囲に収束する傾向にある。この浸透水中濃度と年間の浸透水量から、長期に汚泥の連用を続けたときの各元素の浸透量を推定した(表3)。また、汚泥施用による各元素の投入量及びコマツナによる各元素の吸収量も合わせて表3に示した。

植栽区(Lys 3)でのコマツナによるKの吸収量は、汚泥による施用量より大きかった(2.2倍)。これは、汚泥中のK含量が低いため、汚泥のみの施用では、植物によるKの吸収量をまかなえないことを示す。また、裸地区(Lys 1)、植栽区(Lys 3)ともNaの浸透量は汚泥による施用量より大きかった(2~3.4倍)。これは、汚泥中に多量に含まれるCaなどのカチオン類によって土壌に吸着していたNaが置換溶出していくことを示すと考える。K、Na以外の元素の植物による吸収率は低く(施用量の11%以下)、100 t/ha/yという施用量は、植物の生育、吸収量からみると明らかに過剰な施用量といえる。K、Na以外では、N、Clは比較的浸透率が高く(施用量の36~98%)、Mg、Caは浸透率が低かった(12~34%)。

表 3 各元素の施用量, 浸透量及び植物による吸収量
 Table 3 Amounts of elements, applied in sludge application, leached to the subsurface layer and absorbed by plants from the soil to which sewage sludge had been applied

	NO ₃ -N	Cl	K	Na	Mg	Ca
Loading amount of sludge application (kg/ha/y)	3700	590	91	66	810	9060
LYSIMETER 1;						
Concentration in soil water (ppm)	210	50	1.5	26	32	180
Leached amount (kg/ha/y)	2470	589	18	306	377	2120
LYSIMETER 3;						
Concentration in soil water (ppm)	160	50	1.5	22	26	150
Leached amount (kg/ha/y)	1340	420	12.5	185	219	1260
Plant uptake (kg/ha/y)	406	27.3	198	43.3	41.6	397

4 結論及び問題点

今回の実験結果は、汚泥成分の土壌中での浸透及び地下水への負荷についていくつかの点を示唆している。一つは各元素の移動速度は非常に遅いことである。そのため、施用の影響が地下水系に及ぶのに数年から数十年を要する。このことはまた、施用を中止した後に、施用以前の状態への回復にも同様の年数を要することを示す。もう一つは、汚泥を多量に連用したとき、植物による吸収利用率は低く、成分の多くが表層土に残留もしくは地下へ浸透してゆくことである。これらのことは汚泥の農地還元を考えていく場合に、土壌及び地下水系への影響についても十分考慮する必要があることを示している。しかし、今回の実験では野外ほ場において実際になされている施用量に比較して多量の汚泥が施用されており、また、屋内制御環境下における実験結果が必ずしもすべて屋外自然環境においても当てはまるわけではない。そのため、本実験結果から直接、汚泥の適正な施用量等を求めることは適当ではない。今後は、汚泥を連用された野外ほ場において、さらに検証していくことが必要である。野外ほ場において、土壌成分の浸透や、地下水系への流出量を評価する方法は種々試みられているが、本研究において行ったように、土壌水中の成分濃度と水収支から地下水等への負荷を評価することは野外においても可能であり、今後さらに種々の場面に適用し得る方法であると考ええる。

謝 辞

実験を行うに当たって日本大学農獣医学部 鷲沢清司、豊田敏治の両氏に御協力頂いた。記して深く感謝致します。

引用文献

- 1) 広木幹也・久保井 徹・鷲沢清司・豊田敏治・服部浩之・藤井國博・松坂泰明(1983)：下水汚泥施用土壌における物質の移動に関する研究—下水汚泥成分の地下浸透—。国立公害研究所研究報告，第 47 号，107-118.
- 2) 久保井 徹・藤井國博・広木幹也・服部浩之・松坂泰明・吉田富男(1983)：環境制御ライシメーターの概略と運転上の留意点。国立公害研究所研究報告，第 47 号，211-227.
- 3) 久保井 徹・広木幹也(1986)：石灰汚泥の多量連用によるコマツナの生育と成分組成の変化。国立公害研究所研究報告，第 93 号，149-167.
- 4) 広木幹也・久保井 徹(1986)：下水汚泥の施用が表層土壌の水分環境と通気性に及ぼす影響。国立公害研究所研究報告，第 93 号，33-34.

土壌から発生するガスの測定法

Measurement of Gas Flux from the Soil Surface

久保井 徹¹

Toru KUBOI¹

要 旨

土壌から発生、もしくは土壌が吸収するアンモニア(NH₃)、亜酸化窒素(N₂O)、二酸化炭素(CO₂)及び酸素(O₂)の量を測定するために装置(チャンパー)を組み立て、また分析法を検討した。NH₃は土面に設置したチャンパー内の空気を一定時間硫酸で捕集し、またN₂O、CO₂とO₂は経時的に採取した。採取試料中のNH₄-Nはインドフェノール自動比色法で、他の成分はガスクロマトグラフィーで分析した。後者の場合、試料中のO₂(及びH₂とCH₄)が熱伝導度検出器(TCD)を通過した後に、その後の分離成分(CO₂とN₂O)が電子捕獲検出器(ECD)に導入できるように回路を組んだ。その結果、短時間でH₂、O₂、CO₂、N₂Oの同時分析が可能になった。これらのシステムを用いて下水汚泥を施用した畑及び水田土壌におけるガスの出入りを測定した結果、汚泥の施用は土壌におけるNH₃、CO₂、N₂Oの発生とO₂の吸収を増大させること、及び水田に湛水後、田面水がCO₂を吸収することが明らかになった。

Abstract

Simple and reliable systems were established for measuring NH₃, N₂O, CO₂ and O₂ flux from upland and submerged soils. Flux of N₂O, CO₂ and O₂ was calculated from the changing concentration of each molecule in air samples periodically collected from a chamber installed over the soil surface. For N₂O and CO₂ analyses, 5 ml of the air sample was injected into a gas chromatograph (GC) linearly equipped with a thermal conductivity detector (TCD; for CO₂) and an electron capture detector (ECD; for N₂O). The carrier gas was N₂. Methane and H₂ could be simultaneously analysed by TCD when a detectable amount of the gases was present in the sample. Oxygen, N₂ and H₂ (if present) concentrations of the sample were measured using another TCD-GC system with Ar as the carrier gas. Ammonia volatilized from the soil was trapped in 0.1M H₂SO₄ solution, and analysed by the automatic indo-phenol method. For upland conditions, the air in the chamber was passed through the acid solution for 20min at a rate of 25l/min. For submerged conditions, the acid solution was placed in the chamber and left for 24h.

-
1. 国立公害研究所 水質土壌環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Water and Soil Environment Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

Some cases of gas flux from sludge incorporated soils were presented in the text.

Key words : Soil gas, NH_3 , N_2O , CO_2 , Flux, Emission, Volatilization, Analysis, Measurement, Sewage sludge

1 はじめに

土壌は O_2 , H_2O をはじめ、種々の炭素化合物 [CO_2 , CO , CH_4 , C_2 , H_2 , 揮発性の有機酸類], 窒素化合物 [N_2 , NO , NO_2 , N_2O , NH_3 , 各種のアミン類], 含硫化合物 [H_2S , SO_2 , COS , $(\text{CH}_3)_2\text{S}$, CS_2 , $(\text{CH}_3)_2\text{S}_2$], H_2 など多数のガス成分を発生、もしくは吸収する¹⁾。

これらのガスの発生と吸収の質と量は土壌の種類や土壌の受ける物理的(例えば湛水, 耕うん), 化学的(例えば施肥, 有機物の施用)営力によって変化する。そのため, 発生するガスの質と量を把握することが土壌中の物質交換や収支を厳密に求めるために必要であり, また地球規模の環境問題²⁻⁴⁾に対する土壌の寄与も明らかになるであろう。これらの観点から各種ガス成分の発生(吸収)量を正確に測定する技術が望まれている。

土壌からのガス発生を *in situ* に測定する方法には大別して1) チャンバー法, 2) 微気象法, 3) 土壌中ガス濃度から推定する方法の3種がある。この中では2)法が最も自然の状態を測りうるが, 周囲にガス発生源と障害物がない条件のもとで, かつ測定対象面積が少なくとも半径10 m以上ないと行えない⁵⁾。3)法はガス拡散係数や土壌水分, 温度が正確に測られている場合にのみ推定可能である(例えば⁶⁾)。数値計算に仮定を多く用いるため一般的な方法とは言えない。また1)法(例えば⁷⁾)は最も多用される方法であるが, その構造や設置方法によっては多くの誤差を生じる可能性がある。発生したガスは何らかの吸収剤に捕集, 濃縮した後分析する場合と, 気体のまま直接分析に供する方法がある。それぞれの方法には一長一短があり, どの方法を選択するかは目的とするガスの種類, 土壌条件及び研究室設備等によって決定されるべき問題である。

ここでは, 下水汚泥の施用土壌における NH_3 , N_2O , CO_2 , O_2 , CH_4 の発生と吸収を現場で測定するために著者が検討し, 用いているチャンバー法について, その構造, 精度, 実測例や問題点などについて述べる。

2 材料と方法

2.1 フラックス測定装置

畑地用には底面積 0.468 m^2 のフタつきアクリル樹脂製の枠を製作し, これを NH_3 , N_2O , CO_2 と O_2 の発生や吸収を測定するために使用した(図1)。枠の高さは30 cmあるが, そのうち27.5 cm前後は土中に埋設した。その結果, 地上部の有効容積は 11.7 l 前後になる。フタと枠本体との接触面にはシリコン製テープを張ってあるので, 両者をクランプで締めつけることにより系内を密閉できる。フタには対角線上の両端と中央に穴を明け, 両端部には2方ロックを, また中央部に

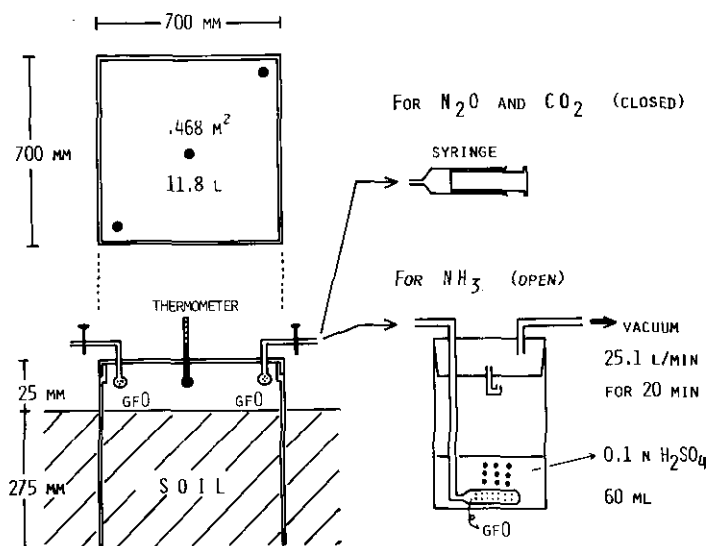


図 1 土壌からのガスフラックス測定装置
Fig. 1 Diagrammatic view of a chamber for measurement of gas flux

は温度計を挿入した。2方コックのフタ側には系内外のはこりの流通を妨げるため、ガラスフィルター球(GF-O)を接続した。

水田からの CH_4 、 CO_2 、 N_2O 発生(吸収)の測定用には 2 l のガラス製吸引鍾を用いた。これを容積が 1500 ml となるよう、水田土壌の株間に挿入した。底面積は 122.7 cm^2 である。吸引鍾上部には測定時のみゴム栓をし、通常は開放しておいた。また側面の吸引穴にはガスクロマトグラフのインジェクター用シリコン栓を取りつけ、ここから注射針によってガスを採取できるようにした。水田からの NH_3 発生(吸収)の測定には底を抜いた広口ビンを使用し、フタから捕集液を入れる皿をさげた。この容器の底面積は 132.7 cm^2 である。

2.2 ガス分析の方法

2.2.1 アンモニア

畑地の場合：2.1 項の測定装置(チャンバー)のフタに付属の 2 方コックを、両方とも開いておく。この状態でフタを閉じ、直ちに真空ポンプを作動させて一定時間(通常は 20 分間)運転を続ける(図 1)。この場合の流量は 25.1 l/min であったので、チャンバー内の空気は内容積が 11.7 l の場合、20 分間に 42.9 回置換することになる。別途チャンバーのフタのみを塩ビ板もしくは床の上に置き、同じ操作を行って対照とした。チャンバーの空気流入口に捕集ビンを取り付ければブランク測定は不必要であるが、予備実験の結果、系内が陰圧になることがわかったため、この方法は採用しなかった。捕集液中の NH_3 はインドフェノール法を用いた自動比色分析⁸⁾によって測定した。

土壌からの NH₃-N 発生量, Q_{NH_3} (gN/ha/d)は次式によって計算した。

$$Q_{\text{NH}_3} = \frac{k \cdot \Delta C \cdot V}{t \cdot A} \quad (1)$$

ここに ΔC : ブランクを差し引いた捕集液中の NH₃-N 濃度(mg/l)

V : 捕集液量(l)

t : 捕集時間(h)

A : チャンバーの底面積(m²)

k : mg/m²/h

の発生量を g/ha/d に換算するための係数, すなわち 240 である。

水田からの NH₃発生は, 測定装置の捕集皿に 0.1 M H₂SO₄を 5 ml 入れてからフタを閉じ, 通常 24 h, 発生する NH₃を吸収させた。蒸発による液量の損失を蒸留水で補充後, 上記と同様に自動比色分析に供した。なお毎回, 同時間, 底付きの広口ビン中の NH₃を吸収させて, これを実測値から差し引いた。この場合の NH₃-N 発生量も(1)式によって計算した。

2.2.2 亜酸化窒素, 二酸化炭素, 酸素

これらのガスの発生(もしくは吸収)量は, チャンバーにフタをした後一定時間ごとに内部の空気を採取し, 目的ガス濃度の時間変化から計算した。

畑地用チャンバーの場合: 一定時間ごとにチャンバー付属の 2方コックの一方に注射筒を接続し, 50~100 ml ずつ内部の空気を採取した。

水田の場合: シリコン栓に注射針を差し込み, ガスタイトシリンジで約 5.2 ml ずつ採取した。

採取したガスのうち 5.0 ml を直ちにガスクロマトグラフ(島津 GC7AG)に注入して分析した。CO₂と O₂は熱伝導度検出器(TCD)により, また N₂O は電子捕獲検出器(ECD)によって検出した。各ガス成分の量はピーク面積値(島津クロマトバック 4 B を使用)を基準とした絶対検量線法によって計算した。ガスクロマトグラフ分析の詳細は 3.2 項で述べる。

あるガス G の土壌からの発生量 Q_G (g/ha/d)は次式によって求めた。

$$Q_G = k \cdot \frac{\Delta C_G}{\Delta t} \cdot V \cdot \frac{273}{K} \cdot \frac{1}{22.4 \times 10^3} \cdot W_G \cdot \frac{1}{A}$$

すなわち,

$$Q_G = 0.0122 k \frac{(\Delta C_G / \Delta t) \cdot V \cdot W_G}{K \cdot A} \quad (2)$$

ここに $\Delta C_G / \Delta t$: 1 分間当たりのガス G の濃度(cm³/m³)の変化

V : チャンバーの容積(m³)

W_0 : ガス G の分子量, またはその分子中の目的元素の原子量(g)

K : チャンバー内の絶対温度

A : チャンバーの底面積(m^2)

k : g/ha/d への変換係数, すなわち 1.44×10^7

である。

(2)式において Q_0 が負の場合は, 土壌が大気からガスを吸収していることを示す。また(2)式にはガス採取に伴うチャンバー内の圧力変化にかかわる係数が含まれていない。しかし, 1回の採取量は畑, 水田用のいずれも全容積の 0.33~0.67% にすぎず, 通常は 2~3 回しか採取しないので, 実質的に無視してさしつかえない。

3 結果と考察

3.1 アンモニア発生量の測定法の検討

チャンバー法においても微気象法においても, 大気中の NH_3 は通常酸性溶液に捕集される。しかし, 研究者によって使用する酸の種類と濃度は異なる。種類は硫酸, リン酸, ホウ酸に限定されるが, 濃度は例えば硫酸の場合, $0.01 M^8) \sim 1 M^9)$ と幅がある。これらの選択は捕集方法(連続通気法か静置法か)と分析法(蒸留-滴定法, 直接滴定法, 直接比色法, 蒸留-比色法, 直接イオン電極法)によってある程度狭められる。

本稿では高感度のインドフェノール法(直接比色法)を採用したので, 妨害の大きいホウ酸は使えない。硫酸とリン酸も高濃度では発色が阻害される。しかし, 畑地用チャンバーのように連続通気法を採用する場合には, 捕集効率からみて高濃度の液が多量にあることが望ましい。そこで捕集効率を落とさずに, できるかぎり硫酸の濃度と液量を減らすために予備実験を行った。

図 2 にそのための実験装置を示した。操作は以下のとおりである。1) 三つの捕集ビン T1~T3 (300 ml 容のスチロール棒ビン) に酸溶液を加えて装置を連結する。2) NH_3 発生器 B 上部から既知濃度の硫安液 1 ml を加える。3) 同所から 2 M NaOH 1 ml を注入する。4) 直ちに容器 A と B を連結し, 真空ポンプを作動させる(約 36 ml/min)。5) 一定時間(10 分)経過後, ポンプを停止する。

ビン B 内は酸で洗い, 中和後に定容して, またビン T1~T3 内の液はそのまま分析に供した。硫酸濃度, 窒素添加量及び捕集液量を変えて実験した結果を表 1 に示した。回収率(添加量に対する総残存量の比率)は 61~101% であり, 全般に未回収の部分が多かった。しかし, 捕集された NH_3 量は T1 に比べて T2 と T3 では極端に少ないので, 系外へ流出した NH_3 量は無視してもさしつかえないだろう。それゆえ, 回収率の低さは未捕集分によるものよりも, ビン中の残存量が高塩濃度のために低めに定量されたこと, 及び 0.5 M 硫酸の場合にも酸の影響で測定値が低く出たことなどによるものであろう。

そこで T1/(T1+T2+T3) 比を真の値に近い回収率とみなして計算すると 96~100% になった。

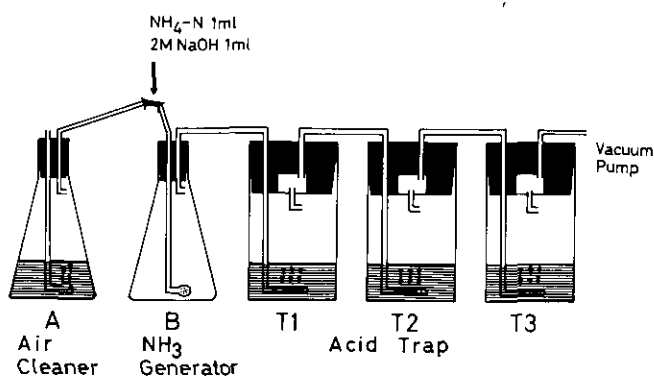


図 2 アンモニア捕集装置

Fig. 2 Apparatus for determination of NH_3 trapping efficiency

Ammonia in ambient air is removed by the bottle A (100ml of 1M H_2SO_4). An aliquot amount of $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ solution followed by 1ml of 2M NaOH, is injected into the bottle B. The generated NH_3 is successively trapped in the bottles T1~T3.

表 1 アンモニア捕集条件の検討

Table 1 Effect of concentration and volume of acid solution on NH_3 trapping efficiency

Exp. No.	H_2SO_4 * conc.	Vol.* ml	Applied to B	Recoverd						Recovery %	T1/T×100 %
				B	T1	T2	T3	Total T	Total T+B		
				$\text{NH}_4\text{-N}$ (μg)							
1	0.1	50	70	4.5	50.7	0.63	0.36	51.7	56.2	80.2	98.0
2	0.2	50	70	5.8	57.2	1.78	0.33	59.3	65.1	93.0	96.4
3	0.5	50	70	3.6	38.9	ND	ND	38.9	42.5	60.7	100.0
4	0.1	60	70	5.1	58.1	0.29	0.29	58.7	63.8	91.1	99.0
5	0.1	70	70	6.1	43.7	ND	ND	43.7	49.8	71.1	100.0
6	0.1	60	35	2.1	28.6	0.60	ND	29.2	31.3	89.4	97.9
7	0.1	60	14	1.8	12.1	0.18	ND	12.3	14.1	100.7	98.5
8	0.1	60	7	1.4	4.54	0.07	ND	4.61	6.0	85.7	98.4

For B, T1, T2, T3 and T, see Fig. 2.

* ; concentration or volume of H_2SO_4 solution in the traps T1-T3.

このことは、いずれの実験においても NH₃ 捕集ビンが 1 個で十分であること、また流入する NH₃ 量に比例してビン中に NH₃ が捕集されていることを示している。酸濃度は低い方が分析時の安定性を保てることから 0.1 M が適当である。液量は少ないほど測定感度を高められることから 50 ml でよいことになるが、ビン中のガラスフィルター (CF-O) を完全に水浸させるために 60 ml を採用した。なお 1 M の硫酸でガラス繊維を湿らせ、これに NH₃ を通すことも試みたが、系外へ逃げる分が多かったので採用しなかった。

次に、大気を直接捕集ビンに導入して、ポンプ吸引時間(量)と捕集された NH₃-N 量との関係を調べた(図 3)。両者の関係がほぼ直線であったことから、この方法で大気中の NH₃ を測定できると考える。なお、このときの実験室内の NH₃-N 濃度は 5.4 μg/m³ と計算された。

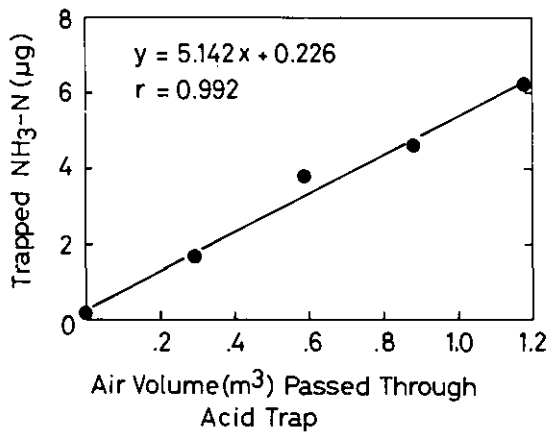


図 3 捕集ビンを通過した空気量と捕集された NH₃-N 量の関係

Fig. 3 Relationship between air volume passed through the acid trap and trapped amount of NH₃-N

3.2 亜酸化窒素、二酸化炭素、酸素及びメタンの定量

これらのガスはガスクロマトグラフィーによって測定した。

3.2.1 冷却管捕集による亜酸化窒素の定量

N₂O の定量に用いられるガスクロマトグラフ検出器には TCD, ECD, USD(超音波検出器など)がある¹⁰⁾。TCD は汎用性があるが感度が低いため、大気レベルの N₂O を測定するには多量の空気を濃縮する必要がある。USD は感度、直線性、再現性の点で最も適しているが、多量に存在する分子種(例えば O₂, N₂)の影響を受けやすく、また国内では一般的ではない。一方、ECD は感度

の点では最も優れているが高い濃度での直線性が保てず、また O_2 の妨害を強く受けるため、 N_2O の定量性に問題があった。本節では、冷却管で O_2 を除去するとともに N_2O を濃縮し、これを ECD で定量する方法について検討した。

図4のような N_2O の定量回路を組み立て、以下の手順に従って定量した。1) 注射筒を試料導入管に差し込み、約 50 ml を注入して計量管内を試料ガスで置換する。この際、試料は過塩素酸マグネシウム ($MgClO_4$) とソーダアスベストのカラムを通過するので水分と CO_2 の大部分が除去される。

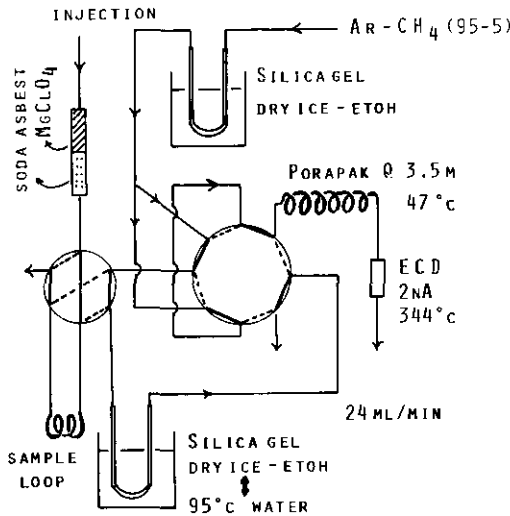


図 4 ECD による N_2O の定量回路

Fig. 4 Flow diagram for gas-chromatographic determination of N_2O

2) 約 10 秒間放置して計量管を大気圧と平衡させた後、6 方コックを切り替えてキャリアーガス流路を計量管に接続する。試料はキャリアーガス (Ar 95, CH_4 5) とともに濃縮管に送り込まれる。シリカゲルを充てんした濃縮管 (0.3 m) は、あらかじめドライアイス-エタノールで冷却しておく。濃縮管では H_2O , CO_2 , N_2O など高沸点のガスは捕集されるが、 O_2 , N_2 , CH_4 , Ar などはそのまま通過し、系外へ流れ去る。なお N_2O の沸点は $-88.5^\circ C$ であり、ドライアイス-エタノール ($-72^\circ C$) より低い、低温のシリカゲルに吸着されるので濃縮管に留まる。メタノールを使えば、 $-94^\circ C$ であるので確実であるが、毒性を考えて採用しなかった。

3) 約 70 秒後、8 方コックを切り替える。濃縮管を湯浴 ($95^\circ C$) に移すと、脱着された N_2O は $47^\circ C$ のもとでポラバック Q (3.5 m) カラムを通過し、ECD (2 nA, $344^\circ C$) で検出される。なお分離、検出時のキャリアーガス流量は 24 ml/min であった。

この方法で得られた典型的なクロマトグラムと検量線を図 5 に示す。 N_2O ピークの前後に見ら

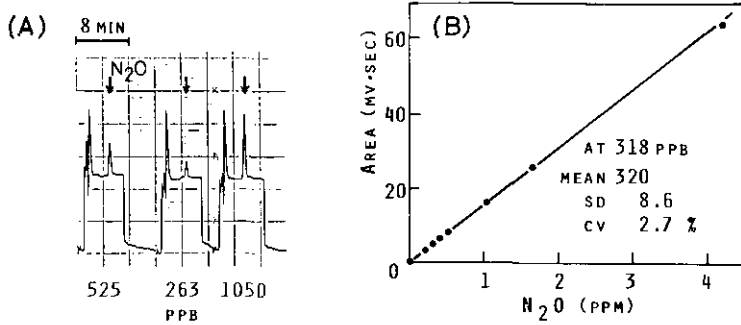


図 5 N₂O のクロマトグラム (A) と検量線 (B)
 Fig. 5 Typical chromatogram for N₂O analysis by ECD-GC (A) and its calibration (B)

れる急激な変化は流路の切り替えと昇温・冷却に伴う圧力変化によるものである。N₂O 濃度 4 ppm までは直線性が保たれていた。またポンベ中の圧縮空気を用いて繰り返し分析した結果の再現性は、320±8.6 ppb(v/v)であった。なお農業技術研究所化学部土壌立地第2研究室(現農業環境技術研究所土壌生化学研究室)で、同じ試料をUSDで分析¹¹⁾していただいた結果は318 ppbであった。これらのことから、本システムによれば±2.7%の精度で大気中のN₂Oを迅速に定量できることが判明した。

3.2.2 亜酸化窒素、二酸化炭素、メタン、水素の同時定量法

前項の方法は濃縮による操作の煩雑性と、多分子種の同時分析ができない点で問題があった。そこで濃縮を行わず、分離されたガス成分をTCDとECDで連続して測れるよう、回路を改造した。同時定量のための回路を図6に示す。前項ではRusmussenら¹²⁾の推奨に従ってAr-CH₄をキャリアーガスとしたが、ここではTCD電流値の制限とCH₄をも測定するためとの理由から、N₂を用いた。カラムとECDの条件は前項と同じである。

操作は以下のとおりである。

- 1) 計量管にガス試料を導入する。この際、MgClO₄で水分を除去した。
- 2) コック A を切り替えて計量管にキャリアーガスを流し、試料成分をカラムで分離させる。
- 3) TCD のクロマトグラムで AIR ピーク(もしくはその後の CH₄ピーク)が出たあと、コック B を切り替える。この操作によって、以後の分離成分(CO₂と N₂O)が ECD をも通過するようになるとともに、妨害の大きい O₂は除去される。このシステムによる分析所要時間は約7分であった。

図7AはTCDによる混合ガスの分離パターンを示す。この場合にはコックBは切り替えていない。水田土壌から発生するガス成分をTCDとECDで同時に測定した例を、それぞれ図7BとCに示した。図7BとCのそれぞれ左側の分析例が対照土壌、右側が石灰系下水汚泥の施用土壌

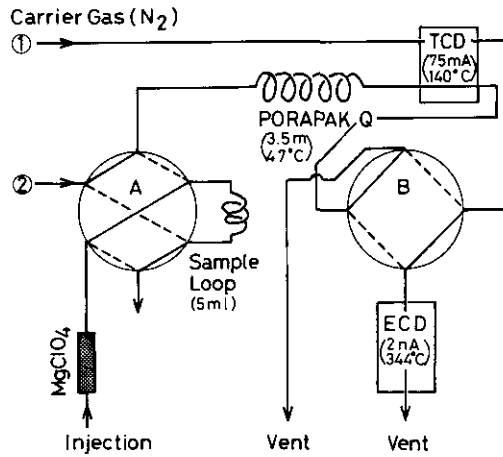


図 6 H₂, CH₄, CO₂, N₂O の同時分析回路

Fig. 6 Flow diagram of gas-chromatographic system for simultaneous analysis of H₂, CH₄, CO₂ and N₂O

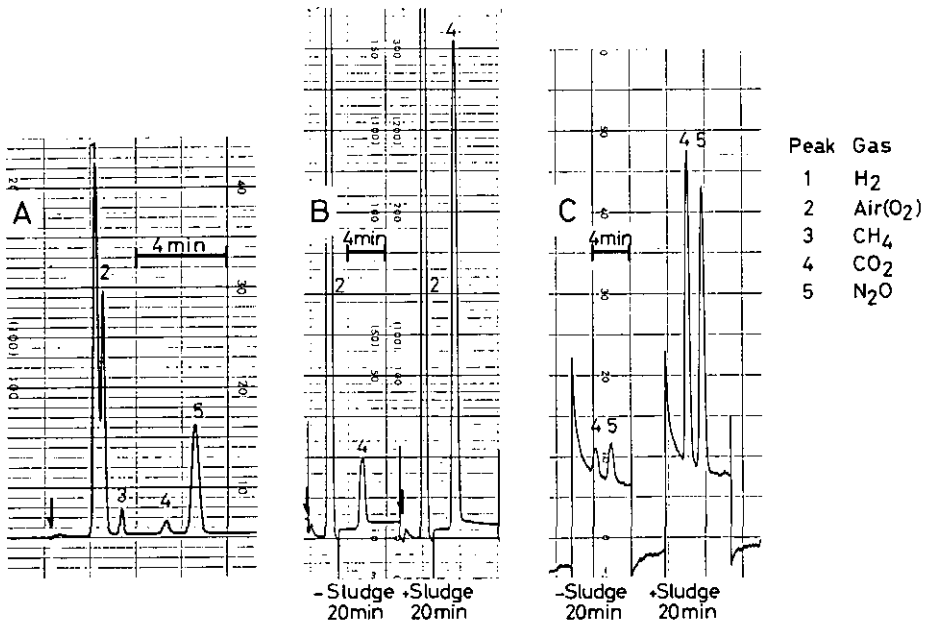


図 7 H₂, Air (O₂), CH₄, CO₂, N₂O のクロマトグラム

Fig. 7 Typical chromatograms of standard gas mixture (A, TCD) and air sampled from chambers (B, TCD ; C, ECD)

である。またスパイクは流路切り替えの際、生じたものである。

測定精度は正確に求めているが、検量線(図8)からみて十分ガス発生量の測定に耐えるものと思う。CO₂とN₂Oそれぞれの検量線についての相関係数は0.988と0.997であった。なおキャリアーガスがN₂であるため、AIRピークには主としてO₂とArが含まれる。Arはこのピークに負の寄与をするが、Ar濃度が一定と仮定すればO₂の定量性もあるとみなせるだろう。

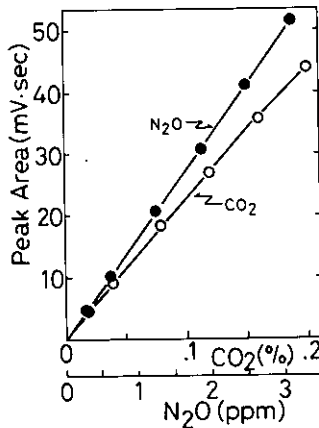


図 8 N₂O(ECD)とCO₂(TCD)の同時分析における検量線

Fig. 8 Typical calibration of TCD-GC (for CO₂) and ECD-GC (for N₂O) by a system shown in Fig. 6

3.2.3 酸素、窒素、水素、メタンの同時分離定量法

ArとO₂を分離するには低温のカラム(モレキュラーシーブ, MS5A)を用いる必要がある。この場合、保持時間の長いCH₄をも短時間で分離するには昇温分析を必要とする。ここではキャリアーガスをArとしてO₂のみを測定する回路を組み立てた。ArキャリアーとすることによってHeキャリアーでは定量できないH₂も定量が可能になる。

測定条件は：注入口温度, 60°C；カラム, MS5A, 1.5 m, 55°C；TCD, 50 mA, 60°C；流量 35 ml/minである。標準混合ガスの分離例を図9に示す。

3.3 実測例

3.3.1 アンモニア

図10は、火山灰(淡色黒ボク)畑土壌と沖積水田土壌に石灰系下水汚泥を施用したときの実測例である。畑の場合は50 t/haの割りで過去6回の施用歴があり、土壌pHは8.3前後であった。これに対し、水田土壌の場合にはこれまで施用歴がなく(pH 5.5)、ここに5.0 t/haの施用を行った。

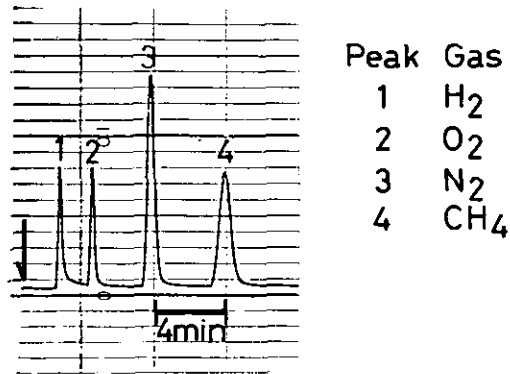


図 9 MS5A カラム(キャリアーガス Ar)による H₂, O₂, N₂, CH₄の分離例

Fig. 9 Typical chromatogram of standard gas mixture

Hydrogen, O₂, N₂ and CH₄ are separated by a Molecular sieve 5A column and detected by TCD. Carrier gas is Ar.

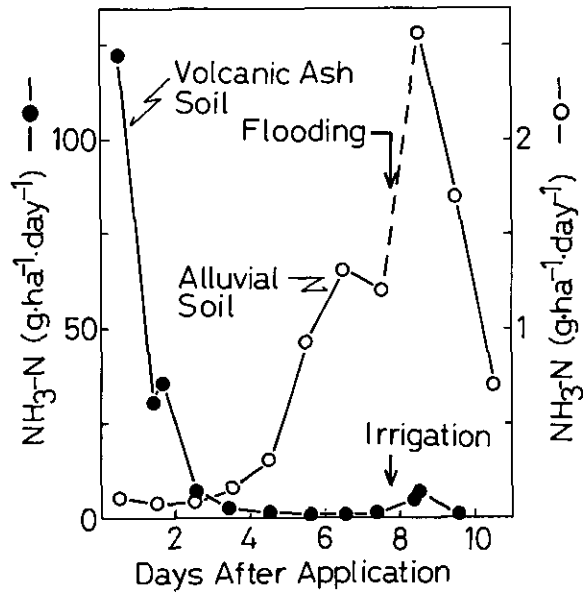


図 10 石灰下水汚泥を施用した火山灰土壤(淡色黒ボク土)及び沖積土壤(灰色低地土)からの NH₃揮散量の経時変化

Fig. 10 Changes in NH₃ flux from a volcanic-ash soil and an alluvial soil as affected by incorporation of limed sewage sludge

両土壌における NH_3 発生 の 時期 と 量 の 相違 は、測定法の違いだけでなく、施用歴や量、及び土壌種の違いを反映しているようである。これらの詳細は別報^{13,14)}に述べる。

3.3.2 亜酸化窒素、二酸化炭素、酸素

チャンパー内のガス濃度の経時変化を図 11 に示す。図中の黒丸は畑土壌に 8 回目の汚泥施用(50 t/ha)を行ったときのデータであり、また白丸は水田土壌(同汚泥 5 t/ha を施用)を湛水したのち、田面水が CO_2 を吸収した例である。

下水汚泥の施用後、土壌の O_2 吸収能、 CO_2 と N_2O の発生能のいずれもが増大したことは、これらのガスの発生と吸収が土壌微生物の活動によるものであることを示唆している。なお、 CH_4 の発生は、水田土壌から一時期わずかにみられたが¹⁴⁾、検出下限近くで定量性がなかった。また H_2 の発生は検知できなかった。

3.4 今後の課題

3.4.1 チャンパー法の問題点

土壌面に底なしの容器をかぶせ、発生してくるガスの量を経時的に追跡するのが一般的なチャンパー法である。

この方法で得られる値の信頼性は次の諸点によって決定されよう。

- 1) チャンパーの設置場所がその土壌の代表的な地点であること。
- 2) チャンパーの気密性。
- 3) チャンパー内の温度が外気温と大きく異なること。
- 4) チャンパー内のガス濃度が測定中に極端に変化しないこと。
- 5) 分析精度。

第一の点については、チャンパーの面積をできるかぎり広くすることで解決できる。植栽されている土壌では植物を含めて全体を覆うか、株間に小型のものを設置して繰り返しを多くする必要があるだろう。2) に関しては、本法(畑地用)では枠を地下に埋設しているので問題はない。野外での持ち運びを考慮するときには、陽と富士¹¹⁾や Matthias ら⁷⁾が用いているようにウレタンのスカートをはかせるなどの措置が必要であろうし、またあまり大面積のものは実用に適しない。本実験は温室内で行ったため、3) に関しては野外の場合ほど問題がないが、断熱材で装置を覆う⁷⁾方がよいだろう。4) はチャンパー法にとって避けがたい問題である。 N_2O や CH_4 など、発生量が少なく、高感度分析が要求される分子種の場合には、チャンパー容積/面積比を小さくし、かつ長時間濃度変化を追跡した方が測定しやすい。しかし、土壌から大気へのガスの発生速度は両者間の分圧差によって決まるので、測定中にチャンパー内の濃度が大きく変化するのは好ましくない。これは例えば図 11 A で顕著である。このような場合には、ごく短時間で測定をうちきるか、理論的に値を補正する必要があるだろう。

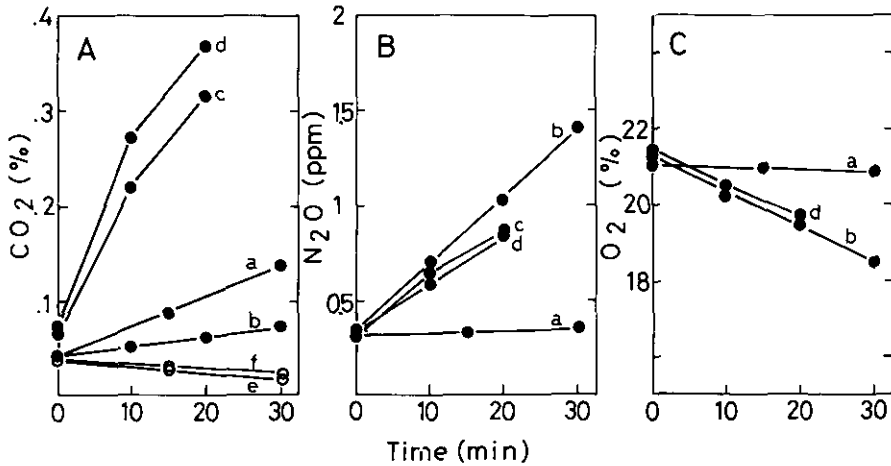


図 11 チャンバー内の CO₂(A), N₂O(B), O₂(C) 濃度の経時変化
 Fig. 11 Changes in CO₂(A), N₂O(B), and O₂(C) concentrations in air within a chamber
 Curves a~d are observed on a volcanic-ash soil, and e and f are observed at an alluvial soil. Both soils are applied with limed-sewage sludge.

このほかの問題点としては、風と結露の点が挙げられる。自然条件下では、風などの物理的要因によって土壌と大気の間には圧力こう配が生じるので、土壌からのガス発生に影響を与える。Hoffら¹⁵⁾は、ブタ糞尿からの NH₃発生量を通気チャンバー法によって測定し、無風下では回収率が102%であったのに対して、2.9 m/sの風のもとでは48%に低下することを示した。このことは、閉鎖チャンバー法よりも自然条件に近い通気チャンバー法ですら発生量を低目に見積もる可能性があることを示している。

さらに、水溶性の CO₂や NH₃等のガスはチャンバー内壁に結露した水滴に吸収される。McGarityと Rajaratnam¹⁶⁾は閉鎖チャンバー法において、全揮散 NH₃の1/3が水滴に捕そくされたと述べている。結露を防ぐため、チャンバーを電熱線で暖める方法¹⁶⁾もある。しかし、この問題は土面をチャンバーで覆った後で、できるだけ短時間で測定をやめるか、通気法を採用することで回避できよう。

3.4.2 分析上の問題点

分析においては精度(感度と再現性を含む)、簡便性、迅速性及び特異性が重要である。この観点から本稿の分析システムをみると、以下の点が指摘できる。

NH₃: 土壌から発生する NH₃は前述のように捕集液(剤)中に濃縮し、これを測定するのが一般的である。分析感度、手間と迅速性の点では、捕集液中の NH₄-Nを直接インドフェノール法で

比色分析するほうが、蒸留後滴定するより優れている。しかし、この比色法はアミンやイミンにも反応性がある。Hutchinsonら⁹⁾はフィードロットからアミンが発生することを示したが、そのN量は $\text{NH}_3\text{-N}$ 量の1%以下であった。それゆえ、下水汚泥からの NH_3 発生を比色法で求めても実質上問題はないであろう。また0.1 M 硫酸はインドフェノールの発色をわずかに阻害するため、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 標準液も同じ酸で調製する必要があった。なお、試薬中の酒石酸緩衝液のpHを常法より0.1程度高めた方が安定して測れる。

ガスクロマトグラフィー：本法による大気及び土壌中ガス成分の分析と問題点に関しては、福士と陽¹⁷⁾による総説があるので、ここでは著者らの分析に伴って生じた問題点と、従来法より改善された点について主に述べる。

ECDによる N_2O の分析は採気ビン中の全量を濃縮して測定する場合¹⁸⁾と、少量の試料を直接導入して測定する場合¹²⁾がある。前者は精度は高いものの測定に時間を要し、操作も複雑である。一方、後者は O_2 がECDに流入するため、 N_2O が肩ピークになって精度が悪い。

著者らの方法(3.2.2項)の眼目は、TCDで O_2 の溶出を確認した後、 N_2O をECDに導入することにある。そのためTCDによって H_2 、 O_2 (半定量)、 CH_4 、 CO_2 が測定でき、同時にECDによって CO_2 と N_2O の測定が短時間に行える。本システムは流路の切り換えを手動で行っているが、タイマー付電磁弁を用いることによって自動化も可能である。しかし、 N_2O の場合、大気を5 ml 注入して±2%程度の誤差を生じることは避けがたかったため、今後は注入量を増やすことも考慮してよいだろう。

またこの分析法は静置チャンパー法には適しているが、連続通気を行った場合にはなんらかの濃縮系を要する。GuthrieとDuxbury¹⁹⁾は活性化したMS5Aカラムに連続通気して N_2O を捕集したあと、このカラムをガスクロマトグラフに接続し、昇温させることによって N_2O を脱着分離した。本システムにこの方式を組み入れることによって N_2O と CO_2 の高精度分析が可能になるかもしれない。 CH_4 の土壌からの発生量はごくわずかであったので、このガスを測定するときには、TCDの代わりにFID(水素炎イオン化検出器)を組み入れることも考えられる。

謝 辞

農業環境技術研究所土壌生化学研究室の福士定雄室長と陽 捷行主任研究官、及び当研究所土壌環境研究室の広木幹也研究員には多くの御助言と御助力をいただいた。ここに深く感謝する。

引用文献

- 1) 陽 捷行(1981) : 土壌の役割—有毒ガス浄化機能. 土壌の物理性, **44**, 62.
- 2) Pratt, P. F. *et al.* (Council for Agricultural Science and Technology, U.S.A.) (1977) : Effect of increased nitrogen fixation on stratospheric ozone. *Clim. Change*, **1**, 109-135.
- 3) Donner, L. and V. Ramanathan (1980) : Methane and nitrous oxide : Their effects on the terrestrial climate. *J. Atmos. Sci.*, **37**, 119-124.
- 4) Keeling, C. D., R. B. Bacastow, A. E. Bainbridge, C. A. Ekdahl, Jr., P. R. Guenther and L. S. Waterman (1976) : Atmospheric carbon dioxide variations at Mauna Loa Observatory, Hawaii. *Tellus*, **28**, 538-551.
- 5) Hutchinson, G. L., A. R. Mosier and C. E. Andre (1982) : Ammonia and amine emissions from a large cattle feedlot. *J. Environ. Qual.*, **11**, 288-293.
- 6) Campbell, J. A. and L. Frascarelli (1981) : Measurement of CO₂ evolved from organic soil at different depths *in situ*. *Can. J. Soil. Sci.*, **61**, 137-144.
- 7) Matthias, A. D., A. M. Blackmer and J. M. Bremner (1980) : A simple chamber technique for field measurement of emissions of nitrous oxide from soils. *J. Environ. Qual.*, **9**, 251-256.
- 8) Technicon Instruments Corp. (1973) : Ammonia in water and seawater. Technicon Industrial Method No. 154-71W, Technicon Instruments Corp., New York.
- 9) Ryan, J. A. and D. R. Keeney (1975) : Ammonia volatilization from surface-applied wastewater sludge. *J. Water Poll. Cont. Feder.*, **47**, 386-393.
- 10) 陽 捷行(1982) : 耕地からの窒素揮散—とくに N₂O フラックスについて—。昭和 56 年度農水省土肥総検会議重点課題資料, 1-5.
- 11) 陽 捷行・福士定雄(1982) : 土壌から発生する N₂O のフラックスの測定法. 日本土壌肥科学雑誌, **53**, 525-529.
- 12) Rusmussen, R. A., J. Krasnec and D. Pierotti (1976) : N₂O analysis in the atmosphere via electron capture-gas chromatography. *Geophys. Res. Lett.*, **3**, 615-618.
- 13) 久保井 徹・陽 捷行・藤井国博・福士定雄(1986) : 下水汚泥施用土壌からのガス発生 : I . 火山灰畑土壌. 国立公害研究所研究報告, 第 94 号, 49-62.
- 14) 久保井 徹・広木幹也(1986) : 下水汚泥施用土壌からのガス発生 : II . 水田土壌. 国立公害研究所研究報告, 第 94 号, 63-78.
- 15) Hoff, J. D., D. W. Nelson and A. L. Sutton (1981) : Ammonia volatilization from liquid swine manure applied to cropland. *J. Environ. Qual.*, **10**, 90-95.
- 16) McGarity, J. W. and J. A. Rajaratnam (1973) : Apparatus for the measurement of losses of nitrogen as gas from the field and simulated field environments. *Soil Biol. Biochem.*, **5**, 121-131.
- 17) 福士定雄・陽 捷行(1980) : 土壌分析—ガス成分—. *ぶんせき*, 1980-12, 60-65.
- 18) 陽 捷行・福士定雄(1983) : ECD 付ガスクロマトグラフによる N₂O の微量定量法. 日本土壌肥科学雑誌, **54**, 427-428.
- 19) Guthrie, T. F. and J. M. Duxbury (1978) : Nitrogen mineralization and denitrification in organic soils. *Soil Sci. Soc. Amer. J.*, **42**, 908-912.

下水汚泥施用土壌からのガス発生

I. 火山灰畑土壌

Gas Flux from Soil Treated with Sewage Sludge

I. Volcanic Ash Upland Soil

久保井 徹¹・陽 捷行²・藤井國博^{1,3}・福士定雄²

Toru KUBOI¹, Katsuyuki MINAMI², Kunihiro FUJII^{1,3}
and Sadao FUKUSHI²

要 旨

石灰汚泥(生活廃水系)を多量(50 t/ha)かつ長期間連用した淡色黒ボク土を対象に、アンモニア(NH₃)、亜酸化窒素(N₂O)、二酸化炭素(CO₂)の発生と酸素(O₂)の吸収を調べた。この土壌は地上部の湿度、降水量、及び地温が制御されたライクメーターに充てんされている。ガスの発生または吸収の測定は石灰汚泥施用5回目(N₂O)、7回目(NH₃, N₂O, CO₂)、及び8回目(NH₃, N₂O, CO₂, O₂)の連用時に行い、次の結果を得た。

- 1) NH₃：施用後2週間の総発生量は120~180 gN/ha程度であった。発生量は施用直後に極端に高かった。
- 2) N₂O：施用2週間後までに発生したN₂O量は120~360 gN/haだった。汚泥施用後の約10日間は発生量が高く、以後次第に減少した。
- 3) CO₂：施用後の発生パターンはN₂Oの場合と似ていた。施用2週間後までに160~220 kgC/ha程度発生した。これは施用された汚泥中の炭素量の1.5~1.7%に相当した。
- 4) O₂：施用当日及び翌日には、400 kgO/ha/d以上のO₂が大気から土壌に吸収された。

-
1. 国立公害研究所 水質土壌環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Water and Soil Environment Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
 2. 昭和58, 59年度 国立公害研究所客員研究員(農業環境技術研究所 環境資源部) 〒305 茨城県筑波郡谷田部町観音台3-1-1
Visiting Fellow of the National Institute for Environmental Studies. Present Address: Department of Natural Resources, the National Institute of Agro-Environmental Sciences, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
 3. 現在: 農業環境技術研究所 環境資源部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町観音台3-1-1
Present Address: Department of Natural Resources, the National Institute of Agro-Environmental Sciences, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

Abstract

Limed sewage sludge was applied (50 dry metric tons/ha) 8 times to a light-colored Andosol. Fluxes of NH_3 , N_2O , CO_2 , and O_2 from the soil were measured at the 5th, 7th, and 8th application regimes under a lysimeter experiment. Emissions of NH_3 , N_2O and CO_2 over a 2 week period application amounted to 120~180gN, 120~360gN, and 160~220kgC/ha, respectively.

Key words : Sewage sludge, Volcanic-ash soil, Lysimeter, NH_3 , N_2O , CO_2 , O_2 , Flux, Emission

1 はじめに

近年、大気中の二酸化炭素(CO_2)¹⁾と亜酸化窒素(N_2O)²⁾の濃度は増加の一途をたどっている。これらのガスは赤外線を吸収するため、その濃度の増加によって大気の上昇させる働き(いわゆる「温室効果」)がある。また N_2O 発生量の増大は成層圏のオゾン(O_3)層を破壊し、ひいては地表への紫外線到達量の増加をもたらすため、すべての生物に障害を与える可能性がある。一方、アンモニア(NH_3)は対流圏で硝酸(NO_3)に変化するため、酸性雨の一因になりうる。これらのガスの発生源の一つに土壌がある。特に農耕地における化学肥料の施用により発生する N_2O が大気中の濃度を増加させる可能性があるため、その検討が行われている^{3,4)}。そこで、畑土壌に下水汚泥を施用した場合についても、これらのガスがどのような条件でどれだけ発生し、大気環境にどの程度の影響を与えるかを調べておく必要がある。

下水汚泥を土壌に施用した場合に発生するガスのうち、 CO_2 については汚泥の分解度を評価する目的で多数の研究が行われている(例えば⁵⁾)。しかし、これらの研究の多くは室内のビン培養実験によるものであり、自然(もしくはこれに近い)条件で発生量をとらえたデータはほとんどない。 N_2O と NH_3 についても同様のことが言えるが研究例はさらに少ない。

汚泥の施用に伴うガス成分の揮散量や大気環境への影響を評価するためには1) 各種ガスの発生量とそのときの土壌の化学的状態とを同時に測定し、相互の関係をみる; 2) 汚泥の施用回数と、ガス発生量及びその経時変化との関係を明らかにする; 3) 土壌水分や温度が各種ガスの発生量に与える影響を明らかにする、などが必要である。

本報告ではこれらの問題点をふまえて、下水汚泥の施用に伴うガス発生を環境制御下の大型ライシメーターを用いて追跡した結果を述べ、ガス発生面から下水汚泥の畑地施用を評価する。なお、ガス発生に関する主要なデータは別の機会に公表する。

2 実験方法

2.1 試験設計と環境条件

淡色黒ボク土を充填した畑地用環境制御ライシメーター⁶⁾4基を使用した。そのうちの2基には、

消石灰と塩化第二鉄を脱水助剤として用いている生活廃水系の下水処理場の未消化汚泥を表層 10 cm の土壌に繰り返して施用した(乾物 50 t/ha/半年)。他の 2 基は下水汚泥も化学肥料も施用しない対照区とした。施用区と対照区のそれぞれ 1 基にはコマツナを年間 6 回栽培している。ラインメーターが設置されている温室内の条件は昼 25°C、夜 20°C、湿度 60%、地温 18°C である。また、降雨 31 mm 相当のかん水を週 1 回行っている。用いた土壌と汚泥の性質、試験設計等の詳細は既報⁷⁾を参照されたい。

2.2 土壌分析

表層土壌(0~5cm, 5~10cm, 10~15cm, 15~20cm)の $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、T-C、T-N 含量と pH(H_2O)は既報⁷⁾に従って分析した。

2.3 土壌中のガス濃度及び土壌表面からのガス発生速度の測定

地表面からのガスの発生速度は 5 回目(昭和 56 年 11 月~57 年 3 月; N_2O)、7 回目(57 年 11 月~58 年 2 月; NH_3 、 N_2O 、 CO_2)、及び 8 回目(58 年 6 月~7 月; NH_3 、 N_2O 、 CO_2 、 O_2)の汚泥施用後に測定した。なお 7 回目の施用時には 10、30、55、80、105 及び 130 cm の層位から気体試料(土壌空気)を採取し、 CO_2 と N_2O の分析に供した。ガス試料の採取法は既報⁸⁾のとおりである。

CO_2 、 N_2O 及び O_2 の発生または吸収速度は、土面を覆ったチャンバー内の各ガス成分の濃度の変化を分析すること(チャンバー法)により求めた。 CO_2 と O_2 は熱伝導度検出器付きのガスクロマトグラフで分離定量し、 N_2O は 5 回目施用時には超音波検出器付きのガスクロマトグラフ⁹⁾で、7 及び 8 回目の施用時には電子捕獲検出器付きのガスクロマトグラフ¹⁰⁾で分離定量した。 NH_3 の発生速度は、上記チャンバー内の空気を一定時間(通常 10 分間)吸引しつつ、これを 0.1 N H_2SO_4 液に通過させた後、液中の $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 量を比色定量することによって求めた¹⁰⁾。

3 結果

3.1 5 回目施用時の測定結果

汚泥施用及び無施用の裸地区から発生する N_2O の量と表層(0~5 cm)の土壌中の含水率、pH、及びアンモニア態窒素($\text{NH}_4^+\text{-N}$)、亜硝酸態窒素($\text{NO}_2^-\text{-N}$)、硝酸態窒素($\text{NO}_3^-\text{-N}$)含量との関係性を調べた。なおこの場合、汚泥施用後の最初の 1 週間は毎日かん水(降雨 4.4 mm 相当量)し、それ以後は他の場合と同じく、降雨 31 mm 相当量を週 1 回かん水した。

3.1.1 N_2O 発生量の変化

汚泥施用区における発生量は施用後 5 日目(施用日を 1 日目とする。以下同じ)まで増大し続けたが、7 日目には減少した。汚泥施用区における N_2O 発生量の変動の特徴は、施用後の 7 日間程度が高く以後減衰すること、及びかん水に伴う土壌水分の上昇によって増大することの 2 点であっ

た。

対照区の N_2O 発生量は非常に低く、平均値は -0.78 (標準偏差 1.84) gN/ha だった。

3.1.2 土壌の化学的性質の変化

含水率(図 1 A)：両処理区の土壌とも、汚泥施用後の最初の 1 週間(毎日かん水)は徐々に湿潤度を増し、その後週 1 回のかん水に変えてからは湿潤と乾燥を繰り返した。汚泥区の方が全般に含水率が高く、かつ乾湿の変化幅も大きかった。なお pF 1.8 に相当する含水率は汚泥区及び対照区でそれぞれ 44% と 42% であり、pF 2.7 に相当する値はそれぞれ 37% と 35% である。

pH(H_2O)(図 1 A)：同一処理区内ではほぼ一定であり、平均値は汚泥区で $8.34(\pm 0.09)$ 、対照区で $6.71(\pm 0.12)$ だった。

NH_4^+-N ：汚泥区では、施用直後(1 日目)から 2 日目にかけて $384\sim 374\ \mu g/g$ と非常に高く、以後減少して 8 日目には $3.6\ \mu g/g$ にまでなった。その後、17 日目(かん水翌日)に $9.2\ \mu g/g$ に増加

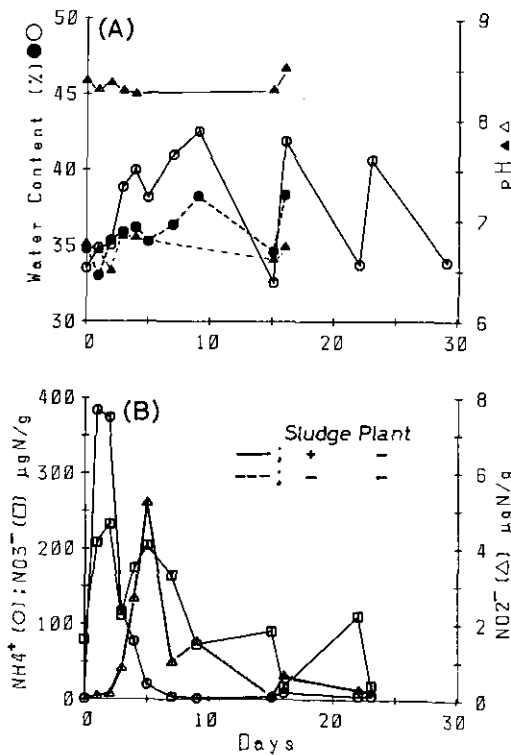


図 1 表層土壌中の水分(A)と無機態窒素含量(B)の変化(汚泥連用 5 回目)
 Fig. 1 Changes in moisture content (A) and NH_4^+ , NO_2^- and NO_3^- concentrations (B) of soil after the 5th application of sewage sludge
 The moisture content is based on wet soil.

したが、それ以外は2~5 $\mu\text{g/g}$ の範囲であった(図1B)。対照区の $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量は汚泥区に比べて著しく低く(0.36 \pm 0.17 $\mu\text{g/g}$)、特異的な変動はなかった。

$\text{NO}_2^-\text{-N}$ ：汚泥区では、施用5日目に5.2 $\mu\text{g/g}$ の最高値となり、以後減少した。7日目から9日目、及び15日目から16日目にかけては、かん水後に含量が増加した(図1B)。対照区の $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 含量は汚泥区に比べて非常に低かった(0.019 \pm 0.022 $\mu\text{g/g}$)。

$\text{NO}_3^-\text{-N}$ ：汚泥区では施用後6日間の含量が非常に高かった(平均182.3 $\mu\text{g/g}$)。以後はかん水のたびごとに急激に低下し、次のかん水までの乾燥過程の間に再び増加するパターンを繰り返した(図1B)。対照区の $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量は3.5 \pm 4.0 $\mu\text{g/g}$ だった。

3.1.3 N_2O 発生量と土壌分析値との対応

汚泥施用区における N_2O 発生量と $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 含量との間のみ、有意な相関が認められた。しかし、 N_2O 発生量と $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 含量との比はかなり変化したので、相関係数はそれほど大きくなかった($r=0.742^*$, $n=10$)(*、**、***はそれぞれ0.1、1、5%水準で有意であることを示す。以後同じ)。 N_2O 発生量と土壌水分との相関係数は比較的大きかった(0.509, $n=10$)が10%水準以上で有意にはならなかった。

3.2 7回目施用時の測定結果

汚泥を施用した裸地区と植栽区について土壌から発生する NH_3 、 N_2O 、 CO_2 と土壌分析値(0~20 cm, 4層位)及び土壌空気中の CO_2 、 N_2O 濃度(10, 30, 55, 80, 105, 130 cm)を測定した。

3.2.1 ガス発生量の変化

(1) 長期的変化

NH_3 ：施用直後には93~123 gN/ha/d発生したが、以後急激に減少した。

N_2O ：施用直後から翌日にかけて最も多く(18~20 gN/ha/d)なり、以後変動を繰り返しながら減少した。

CO_2 ：両区とも施用の翌日に発生量が最大(69~75 KgC/ha/d)になり、以後減少した。

(2) 週間変動と日周変動

裸地区では施用後の4週間、ほぼ連日測定を行っている。また本試験では週1回(火曜日)同一量(31 mm)のかん水を行っており、かつ環境条件がこの期間変わっていないので、データを各曜日ごとに比較できる。各曜日ごとのデータをみると、 NH_3 の発生は、各週ともかん水翌日(水曜日)に高まり、以後はほとんど変動なく低いレベルで推移していた。 N_2O と CO_2 の発生もかん水翌日に高まっており、この点は NH_3 の場合と同じである。しかし NH_3 と異なっているのは、その週内に第2の発生ピークが見られる点であった。

施用翌日と2日後には夜間にもガス発生を測定している(図2)。 NH_3 、 N_2O 、 CO_2 のいずれも、

気温が 25°C から 20°C に低下する夜間には発生量が低下していた。昼夜の差は特に NH₃ で大きく、以下 CO₂, N₂O の順であった。

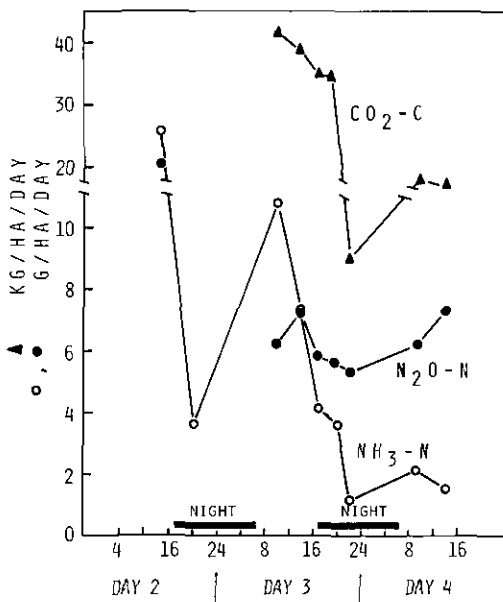


図 2 ガス発生量の日変化
Fig. 2 Diurnal changes in NH₃, N₂O and CO₂ flux

3.2.2 土壌空気中のガス濃度の変化

各処理区の各層位から採取した土壌空気中の濃度の平均値から判断した。

N₂O : 全層位とも、汚泥施用区の方が無施用区より高い。層位間では、80~105 cm 層における濃度が高かった。

CO₂ : 全般的な傾向は 3 回目施用時のもの⁸⁾と同じだった。N₂O の場合と異なっているのは無施用区でも下層(80 cm 以深)における濃度とその上の層の濃度より著しく高いことである。

3.2.3 ガス発生量と土壌空気中のガス濃度の関係

N₂O : 地表面からの発生量は、10 cm 及び 30 cm 層中の濃度と相関が高かった(それぞれ $r = 0.751^{***}$, $n = 30$; 0.661^{**} , $n = 21$)が、55 cm 層以下の層における N₂O 濃度との有意な相関は認められなかった。

CO₂ : 地表面からのフラックスと 10 cm 及び 30 cm 層中の濃度との相関係数はそれぞれ 0.939^{***} ($n = 31$)及び 0.738^{***} ($n = 21$)であった。しかし、55 cm 以下の層における CO₂濃度とは相関が認

められなかった。

3.2.4 土壌分析結果

表層 0~5 cm 層では汚泥を施用した裸地区と植栽区の双方について、また 5~20 cm 層では裸地施用区のみについて土壌分析を行った。両処理区の層位ごとの平均値を表 1 に示す。なお測定点数は少ないが裸地及び植栽をした汚泥無施用(対照)区の平均値も参考までに示す。また図 3 と 4 には、汚泥区における各分析値の経時変化を示す。

表 1 汚泥施用区及び対照区の土壌の諸性質

Table 1 Summary of soil moisture and some chemical properties of the soil at various depths under the lysimeter experience

Lysimeter No.	1				3	4	2
Sludge	+				+	-	-
Rape	-				+	-	+
Depth (cm)	0-5	5-10	10-15	15-20	0-5	0-5	0-5
WATER CONTENT(%)	35.84 (37)	40.57 (15)	40.16 (15)	38.97 (15)	34.28 (24)	34.51 (5)	33.58 (5)
pH(H ₂ O)	8.29 (11)	8.33 (7)	8.05 (7)	7.04 (7)	8.39 (9)	6.51 (5)	6.46 (5)
T-C(%)	7.49 (29)	7.40 (13)	4.65 (15)	3.22 (13)	7.73 (22)	2.99 (4)	2.95 (4)
T-N(%)	0.842(29)	0.795(13)	0.472(15)	0.286(13)	0.889(22)	0.243(4)	0.232(4)
NH ₄ -N(ug/g)	8.47 (37)	2.63 (15)	1.14 (15)	0.79 (15)	11.29 (24)	0.670(5)	0.588(5)
NO ₂ -N(ug/g)	0.740(37)	0.797(15)	0.052(15)	0.046(15)	0.572(24)	0.038(5)	0.060(5)
NO ₃ -N(ug/g)	55.3 (37)	94.3 (15)	149.1 (15)	151.6 (15)	55.4 (24)	1.216(5)	0.948(5)

The values are averaged from the data of the 7th trial.

Figures in parenthesis indicate the number of samples.

含水率：1週間の周期で、かん水による湿潤とその後の乾燥過程を繰り返した。全般に植栽区の土壌の方が乾いていた(図 3)が、これは土壌の物理性が裸地区と大きく異なるためではなく、むしろ温室内の風速分布が不均一であること⁷⁾やコマツナによる吸水のためであろう。5 cm ごとの土層を比べると下層ほど湿っており(表 1)、かつ乾湿の差も小さくなっていた。

土壌 pH：同じ処理区の同一層位内では土壌 pH の変化は少なかった(どの処理区、層位とも ±0.1 程度)。0~5 cm 層で処理区間差を見ると汚泥を施用した 2 区が 8.3 前後、対照の 2 区が 6.5 前後であり、石灰汚泥を連用した影響が明白に現れている。汚泥施用層である 0~10 cm 層に比べ、15~20 cm 層では平均 7.0 と明らかに低くなっていた(表 1)。

全炭素と全窒素：汚泥区表層部では対照区表層部に比べて T-C で 2.5 倍以上、また T-N で 3.5 倍以上含量が高く、また汚泥区では裸地区より植栽区の方が T-C、T-N とともに含量が多かった。汚

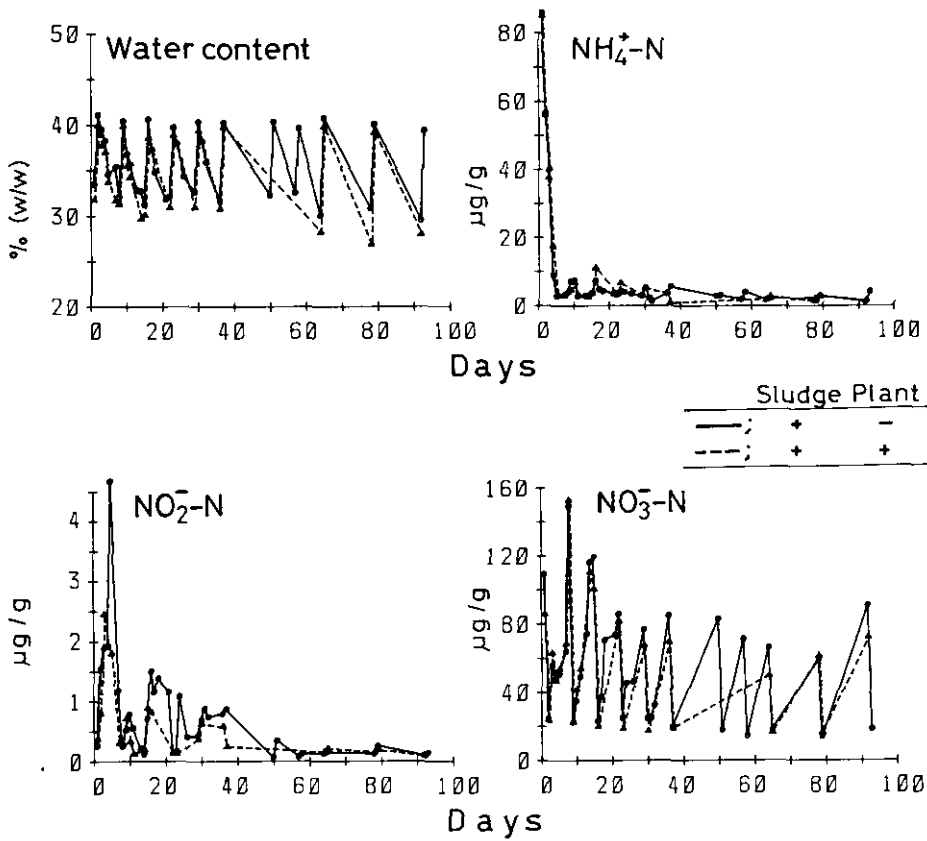


図 3 汚泥施用区の表層土壌 (0~5 cm) 中の含水率と無機態窒素含量の変化
 Fig. 3 Changes in moisture and inorganic nitrogen contents in the surface soil (0~5 cm) after the 7th application of sewage sludge

泥施用層(0~10 cm)はその下の層(10~20 cm)より T-C, T-N 含量は2倍近く多かった(表1)。

測定値の変動は汚泥施用層で大きく(T-C, $\pm 0.6\%$; T-N, $\pm 0.1\%$), その下層(15~20 cm, それぞれ $\pm 0.3\%$ と $\pm 0.04\%$)や対照区(T-C, $\pm 0.07\%$; T-N, $\pm 0.01\%$)では小さかった。施用層における変動は, 汚泥の土層内分布と分解の不均一性が原因だろう。裸地施用区の5~10 cm 層では, T-C, T-N 含量が施用後の時間経過とともに減少していた(時間との相関係数はそれぞれ -0.655^* , -0.813^{***})だが, 0~5 cm 層では時間経過に伴う明確な変化は認められなかった。

$\text{NH}_4^+\text{-N}$: 測定期間中の平均値でみると, 汚泥区表層(0~5 cm)部では対照区表層部の12~19倍も高い。施用層内でも, 5~10 cm 層では0~5 cm 層の1/3以下, 10~20 cm 層では1/8以下になっていた(表1)。施用区の表層(0~5 cm)土壌では, 裸地区, 植栽区とも施用直後に最も高く(85~86 $\mu\text{g/g}$ 乾土), その後急速に減少して5日目以降はほとんどのデータが10 $\mu\text{g/g}$ 以下になった。またかん水後に含量が増加する傾向が認められた(図3)。この傾向は5~20 cm の各層では必

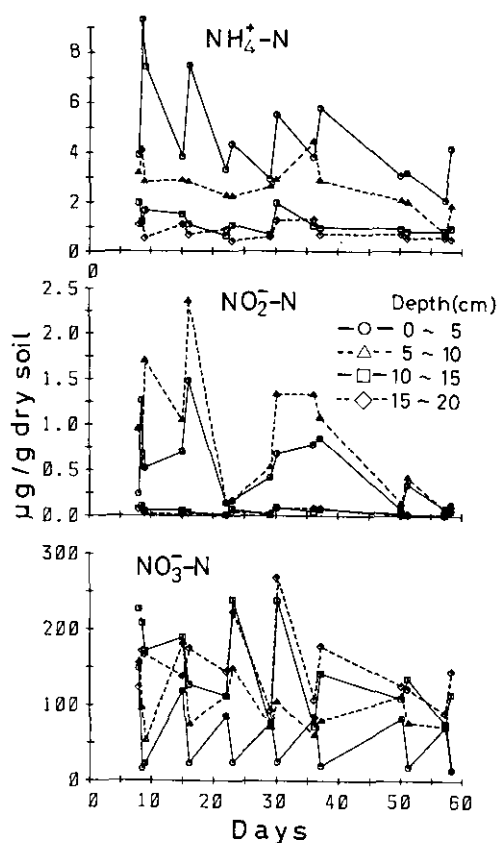


図 4 表層 20 cm までの各層位における無機態窒素含量の変化
汚泥施用 7 回目, 裸地施用区

Fig. 4 Changes in NH_4^+ , NO_2^- and NO_3^- contents in 0~5, 5~10, 10~15, and 15~20cm layer of the soil after the 7th application of sewage sludge

ずしも明確ではなかった(図 4)。

$\text{NO}_2^-\text{-N}$: 0~5 cm 層の平均値は汚泥区が対照区の 9~19 倍であった(表 1)。汚泥施用区の 0~5 cm 層における含有量の最高値は裸地区 4.6 $\mu\text{g/g}$ (5 日目), 植栽区 2.4 $\mu\text{g/g}$ (3 日目)であり, 以後消長を繰り返しながら減少した。かん水に伴う増加傾向は認められたが, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ の場合ほど明確ではなかった(図 3)。また $\text{NH}_4^+\text{-N}$ の場合と異なる点は, 5~10 cm 層でも 0~5 cm 層と似たパターンで変動していたことであり, また含量自体も常に 5~10 cm 層の方が高いことであった(図 4)。10~20 cm 層では含量, 変動幅とも小さくなっており, その平均値は 0~5 cm 層のその 1/10 以下にすぎなかった。

$\text{NO}_3^-\text{-N}$: 0~5 cm 層における平均含量は, 汚泥区では 55 $\mu\text{g/g}$ 前後であるのに対して, 対照区では 1 $\mu\text{g/g}$ 前後にすぎなかった(表 1)。裸地汚泥区における層位別の分布をみると, 20 cm まで

の間は下層ほど濃度が高いことがわかる。汚泥施用区の0~5 cm層では、かん水による含量の低下と次のかん水までの間の含量増加が明らかだった(図3)。一方、5~10 cm層では1, 2, 7, 8週目は0~5 cm層と同じ傾向になったのに対し、3, 4, 5週目はかん水後に濃度が増加していた。10~15 cm層, 15~20 cm層と下層ほど変化の逆転は顕著だった(図4)。これは NO_3^- の下層浸透を明白に示している。

3.2.5 ガス発生量と土壌分析値との関係

土壌分析値(0~5 cm層)と各ガス発生量との関係からは、裸地区と植栽区との間に基本的な相違が認められなかった。両区のデータをプールして算出した相関係数について、5%水準以上で有意になったものの組み合わせは次のとおりである： $\text{N}_2\text{O} \sim \text{NH}_4^+$ ； $\text{N}_2\text{O} \sim \text{NO}_2^-$ ； $\text{N}_2\text{O} \sim$ 含水率； $\text{NH}_3 \sim \text{NH}_4^+$ ； $\text{CO}_2 \sim$ 含水率； $\text{CO}_2 \sim \text{NH}_4^+$ ； $\text{CO}_2 \sim \text{NO}_2^-$ 。

3.3 8回目施用時の測定結果

裸地の汚泥施用区から発生する NH_3 、 N_2O 、 CO_2 、及びこの土壌に吸収される O_2 の量を測定した。この場合、土壌分析は行わなかった。

3.3.1 ガス発生(吸収)量の変化

NH_3 ：前回の場合と同じく、施用直後に最大(約50 gN/ha/d)になり、以後は急速に減少するとともに、かん水翌日の発生量が前日のそれに比べて高い傾向にあった。

N_2O ：施用当日(かん水直後)、4日目、及び8日目(かん水直後)に高まり、それ以後は漸減した。汚泥を施用した週のうちに2回ピークを持つ点は前回と同じであった。最大発生量(約40 gN/ha/d)は施用4日目に記録された。

CO_2 ： N_2O の発生パターンと類似していたが、かん水直後よりも翌日の発生量の方が高かった。 N_2O と同じく、施用4日目に最も多く発生(約40 kgC/ha/d)した。

O_2 ：測定した全期間を通じ、汚泥施用土壌は大気から酸素を吸収していた(平均148 kgO/ha/d)。吸収量は施用直後に最大(462 kgO/ha/d)であり、以後減少した。

3.3.2 ガス発生量相互間の関係

各ガス発生量間の相関係数のうち、5%水準以上の有意性が認められた組み合わせは、 $\text{N}_2\text{O} \sim \text{CO}_2$ 、 $\text{N}_2\text{O} \sim \text{O}_2$ 及び $\text{NH}_3 \sim \text{O}_2$ の三つであった。

4 考察

4.1 ガス発生のパターン

石灰汚泥を火山灰畑土壌に連用した場面で発生する NH_3 、 N_2O 、 CO_2 の特徴は次のとおりであ

る。

I. 発生量は汚泥施用直後に高く、次第に減少する：NH₃はN₂OとCO₂に比べて施用直後の発生量が特に高く、数日のうちに急減する。

II. かん水後に発生量が増大する：N₂OとCO₂の場合には、かん水後から次のかん水までの1週間に2回発生ピークがあり、第2の発生ピークが出現する時期が週の経過に伴って早まってくる。

III. 夜間の発生量は日中よりも低い。

このような特徴は、従来の知見と一致する部分(I, III)と汚泥(未熟有機物)施用に特徴的と思われる部分(II)とがある。後者の場合、発生するガスの基質が汚泥の分解に伴って供給されることを念頭にいれる必要がある。

4.1.1 土壌から発生するアンモニア

土壌からのNH₃発生は一般に土壌pHが高いほど多い。また土壌中のアンモニウム塩のアニオン(SO₄²⁻など)がCa²⁺と不溶性の塩を作りやすい場合にはNH₄⁺は容易にNH₃となりうる¹¹⁾。

施用区の土壌pHは8以上になっており、また供試汚泥中には9%(対乾物)のCaと0.16%の置換性NH₄⁺-Nが含まれているので、今回の実験では多量のNH₃が発生しやすい条件にあったと言える。おそらく風乾した汚泥中で安定であったアンモニウム塩は、土壌に施用され、湿ることによってイオン化し、再度の乾燥過程でNH₃として揮散したものであろう。

一般には降雨や多湿はNH₃の発生を抑制し^{12,13)}、今回のようにかん水後に発生量が増大する現象は知られていない。しかし発生量が増加しはじめるのはかん水から数時間目以降であり、最大になるのは1日後であることから、かん水が物理的に発生量を増加させたとは考えにくい。おそらく、汚泥中の有機態窒素の分解(アンモニア化成)が湿潤で促進され、生じたNH₄⁺がNH₃として揮散したものであろう。

またNH₃の発生は、当然ながら土壌中のNH₄⁺-N量に依存するはずである。NH₃発生量と表層土壌中のNH₄⁺-N含量との相関が非常に高かったこと(3.2.5項)はこれを裏付ける。表層0~5cm層中に存在するNH₄⁺-N量(1ha当たり)を測定日ごとに計算し、その日の発生量と比べると、この実験では土壌中の存在量の約1/1000が毎日大気へ揮散していたことになる。

NH₃の発生量が日周変動をすることについては多くの報告例があり、主として気温に依存して発生量に変化することがわかっている¹²⁾。今回の場合にも環境条件を昼25°C、夜20°Cに設定してあるため、変動の原因は気温と考えられる。

4.1.2 土壌から発生する亜酸化窒素

汚泥施用区では裸地区に比べて80~105cm層のN₂O濃度が著しく高いので、土壌下層においてもN₂Oは生成していると考えられる。しかし、発生パターンと土壌中ガス濃度の変動からみて、大気へ揮散するN₂Oの主な発生源は汚泥施用層であろう。施用区の土壌下層は、土壌水分吸引圧

が 30~80 cm H₂O(pF 1.5~1.9), 土壌溶液中の NO₃⁻-N が 180~260 mg/l, 土壌溶液中の有機炭素が 25~185 mg/l であり(広木ら, 未発表), 脱窒に適した条件であるので, 下層で生成する N₂O は脱窒過程によるものである。汚泥施用層(0~10 cm)においても, かん水後は一時的に高水分状態になるので, 脱窒が起こりうる条件にある。しかし, N₂O は硝酸化成の副産物としても生成することがわかっており¹⁴⁾, また湿潤に伴う N₂O の発生は CS₂(硝化抑制剤)で阻害され, アジ化物(NO₃⁻還元を抑制)では影響されない例もある¹⁵⁾。そのため, かん水翌日に多量に発生する N₂O は, 脱窒と硝化の両過程で生成している可能性もある。かん水後数日を経て現れる第 2 の発生ピークは, 土壌が乾燥過程にあり, またこの期間に硝化が進むことから, 硝化過程で生成している可能性が高い。いずれにせよ第 2 の N₂O 発生ピークが施用後の週の経過に伴って早まる現象は, N₂O が生物的作用により生成していることを示唆する。この点は CO₂ も同じである。

4.1.3 土壌から発生する二酸化炭素

CO₂ の発生パターンは, N₂O のそれと非常に似通っていた。しかし, 汚泥施用区の土壌下層における CO₂ 濃度は対照区の場合と大差がない(この点は N₂O と異なる)ので, 土壌下層で CO₂ が生成したとしても, 地表面フラックスへの影響は小さいものとする。汚泥施用層における微生物数と CO₂ フラックスはその変化のパターンがよく一致している(未発表)ので, この層位における有機物の分解で CO₂ が生成し, 大気へ揮散したと考えるのが妥当である。

4.1.4 土壌が吸収する酸素

下水をかけ流した場合, 乾燥時に多量の O₂ が土壌に吸収される¹⁶⁾。今回の実験では, 常に畑状態で経過しているので, 土壌が吸収した O₂ は土壌微生物の呼吸によって消費されたものであろう。O₂ の吸収は施用直後に非常に多かったが, これは表層土壌中の O₂ 濃度の変化からも裏付けられる⁸⁾。

4.2 積算発生量

NH₃ : 7 回目施用時における発生量は, 施用後の 2 週間で 180 gN/ha 前後であり, 8 回目施用時には 120 gN/ha 程度であった。全発生量の大半は施用当日に発生しているので, 両者の差は施用直後の発生量の違いを反映していることになる。

N₂O : 5 回目連用時が 7, 8 回目の場合よりはるかに高くなっており, 施用後の 2 週間で 360 gN/ha に達している。N₂ として発生する窒素の量が N₂O の 10 倍あるとしても, 大気へ揮散する窒素の総量(N₂-N+N₂O-N+NH₃-N)は施用全窒素の 0.5% を超えることはないだろう。

CO₂ : CO₂ の発生総量は, NH₃ や N₂O の揮散量に比べれば著しく多い。しかし施用した全炭素量(13,900 kg/ha)に対する 2 週間の発生率は 1.5(7 回目・裸地区), 1.7(7 回目・植栽区), 及び 1.7(8 回目・裸地区)% しかなかった。初回施用時には 15.4%(4 週間積算値)と予測されている(未発表)ことからみると非常に低い。

4.3 ガス発生と環境影響

下水汚泥を土壌にすきこんだ場合には、表面に散布した場合に比べて NH_3 発生が著しく抑えられる¹⁷⁾。今回得られた NH_3 発生量は、フィードロットから発生する NH_3 量の報告値 33.6 kgN/ha/d からみれば極端に少なく、化学肥料を施用した土壌からの発生量についての多くの文献値と比べても少ないので、環境上問題になることはないだろう。

化学肥料施用土壌からの N_2O 発生量 (gN/ha) については、 $34\sim 298$ (25 日間)¹⁸⁾、 2500 (120 日間)¹⁹⁾、 $620\sim 1140$ (42 日間)²⁰⁾ などの値が報告されており、火山灰畑土壌に石灰汚泥を施用した今回の値が特に高いとは言えない。汚泥施用土壌からの N_2O 発生量については 3040 (42 日間)²⁰⁾、 1600 (205 日間)²¹⁾ などの値も得られている。これらを含めて考えれば、下水汚泥の土壌施用は化学肥料の施肥とはほぼ同等の N_2O 発生をもたらすと考えられる。化学肥料が、大気中 N_2O 濃度の増加にどれだけ寄与しているかについてはいまだ不明の点が多いので、汚泥施用が大気環境にもたらす影響も現在の時点では論じられない。しかし、問題が提起されている以上、少しでも N_2O 発生を抑える努力はすべきである。これらの点については別報²²⁾を参照されたい。

汚泥を施用した場合には、無機肥料を施用した場合に比べて著しく多量の CO_2 が土壌から発生する。本実験で栽培しているコマツナの炭素固定量は平均 350 kgC/ha/45 d であるので、この土壌は 7, 8 回目連用時には CO_2 の Sink となっているし、初回施用時には Source になっている。すべての農耕地に汚泥を施用しない限り、 CO_2 については、汚泥施用が環境上重大な問題になるとは思えない。

謝 辞

当研究所土壌環境研究室の広木幹也氏には、論文のとりまとめに当たり、御助言を賜わった。記して感謝する。

引 用 文 献

- 1) Keeling, C. D., R. B. Bacastow, A. E. Bainbridge, C. A. Ekdahl, Jr., P. R. Guenther and L. S. Waterman (1976): Atmospheric carbon dioxide variations at Mauna Loa observatory, Hawaii. *Tellus*, **28**, 538-551.
- 2) Weiss, R. F. (1981): The temporal and spatial distribution of tropospheric nitrous oxide. *J. Geophys. Res.*, **86**, 7185-7195.
- 3) Pratt, P. F., *et al.* (Council for Agricultural Science and Technology, U.S.A.) (1977): Effect of increased nitrogen fixation on stratospheric ozone. *Clim. Change*, **1**, 109-135.
- 4) Crutzen, P. J. (1974): Estimates of possible variations in total ozone due to natural causes and human activities. *AMBIO*, **3**, 201-210.

- 5) Douglas, L. A. (1980) : Chemical and microbiological impact of sewage sludge on soil systems. National Technical Information Service, Springfield, PB81-121451, 61p.
- 6) 久保井 徹・藤井國博・広木幹也・服部浩之・松坂泰明・吉田富男(1983) : 環境制御ラインメーターの概略と運転上の留意点. 国立公害研究所研究報告, 第 47 号, 211-227.
- 7) 服部浩之・鷺沢清司・久保井 徹・藤井國博・松坂泰明・大羽 裕(1983) : 下水汚泥施用土壌の理化学性. 国立公害研究所研究報告, 第 47 号, 13-26.
- 8) 久保井 徹・広木幹也・藤井國博(1984) : 下水汚泥の施用が土壌空気の組成に与える影響. 国立公害研究所研究報告, 第 68 号, 67-81.
- 9) 陽 捷行・福土定雄(1982) : 土壌から発生する N_2O のフラックスの測定法. 日本土壌肥科学雑誌, 53, 525-529.
- 10) 久保井 徹(1986) : 土壌から発生するガスの測定法. 国立公害研究所研究報告, 第 94 号, 33-48.
- 11) Fenn, L. B. and D. E. Kissel (1973) : Ammonia volatilization from surface applications of ammonium compounds on calcareous soils. I. general theory. Soil Sci. Soc. Amer. Proc., 37, 855-859.
- 12) Beauchamp, E. G., G. E. Kidd and G. Thurtell (1978) : Ammonia volatilization from sewage sludge applied in the field. J. Environ. Qual., 7, 141-146.
- 13) Hutchinson, G. L., A. R. Mosier and C. E. Andre (1982) : Ammonia and amine emissions from a large cattle feedlot. J. Environ. Qual., 11, 288-293.
- 14) Bremner, J. M. and A. M. Blackmer (1981) : Terrestrial nitrification as a source of atmospheric nitrous oxide. In: Denitrification, Nitrification, and Atmospheric Nitrous Oxide. Delwiche, C. C. (ed.), John Wiley and Sons, New York, Chichester, Brisbane, Toronto, 151-170.
- 15) Freney, J. R., O. T. Denmead and J. R. Simpson (1979) : Nitrous oxide emission from soils at low moisture contents. Soil Biol. Biochem., 11, 167-173.
- 16) Lance, L. C., F. D. Whisler and H. Bouwer (1973) : Oxygen utilization in soils flooded with sewage water. J. Environ. Qual., 2, 345-350.
- 17) Sommers, L. E., C. F. Parker and G. J. Meyers (1981) : Volatilization, plant uptake and mineralization of nitrogen in soils treated with sewage sludge. National Technical Information Service Technical report, No. 133, PB81-173940, 64p.
- 18) Breitenbeck, G. A., A. M. Blackmer and J. M. Bremner (1980) : Effects of different nitrogen fertilizers on emission of nitrous oxide from soil. Geophys. Res. Lett., 7, 85-88.
- 19) Mosier, A. R. and G. L. Hutchinson (1981) : Nitrous oxide emissions from cropped fields. J. Environ. Qual., 10, 169-173.
- 20) Mosier, A. R., G. L. Hutchinson, B. R. Sabey and J. Baxter (1982) : Nitrous oxide emissions from barley plots treated with ammonium nitrate or sewage sludge. J. Environ. Qual., 11, 78-81.
- 21) Goodroad, L. L., D. R. Keeney and L. A. Peterson (1984) : Nitrous oxide emissions from agricultural soils in Wisconsin. J. Environ. Qual., 13, 557-561.
- 22) 久保井 徹(1986) : 下水汚泥施用土壌から発生する N_2O : その発生要因・発生量・環境影響. 国立公害研究所研究報告, 第 94 号, 79-92.

下水汚泥施用土壌からのガス発生

II. 水田土壌

Gas Flux from Soil Treated with Sewage Sludge

II. Submerged Soil

久保井 徹¹・広木幹也¹

Toru KUBOI¹ and Mikiya HIROKI¹

要 旨

大気の温湿度及び地温を制御したライシメーター(径1.7m, 土層2.0m)4基に沖積水田土壌を充てんし, うち3基に下水汚泥を施用した。用いた下水汚泥は石灰を凝集剤とする未消化汚泥(石灰汚泥), 高分子凝集剤を用いた未消化汚泥(高分子汚泥)と嫌気消化した汚泥(消化汚泥)の3種であり, いずれも生活廃水系である。それぞれの汚泥を窒素として163kg/ha施用した後, 1週間目に湛水し, 以後約5か月間水稲を栽培した。この間, NH₃, N₂O, 及びCO₂のフラックスを測定した。

湛水前の発生量: 3種のガスとも汚泥施用区における発生量は無施用区のそれよりはるかに多く, 汚泥施用区のうちでは石灰汚泥区における発生量が最大であった。同区では施用後の1週間にCO₂, 948kgC/ha; N₂O, 489gN/ha; NH₃, 3.5gN/haの発生がみられた。

湛水後の発生量: NH₃の発生は湛水後徐々に減少し, 落水後に再び増加した。全般に汚泥施用区の方が対照区より発生量が多かった。N₂Oの発生は, 湛水によって著しく減少し, 時に大気から田面水へ移行することすらあった。消化汚泥区では1時期多量に発生した。湛水後1か月間の発生量は対照区12, 石灰汚泥区9, 高分子汚泥区55, 消化汚泥区141gN/haであり, 湛水前と傾向が逆であった。CO₂の発生も湛水後は抑制され, 高分子汚泥区以外では田面水が大気からCO₂を吸収していた。施用後1か月間の発生量は対照区, -34; 石灰汚泥区, -30; 高分子汚泥区73; 消化汚泥区-16kgC/haであった。

以上の結果から, 汚泥を水田土壌に施用した場合, 発生するガスのほとんど大半は, 湛水前の短期間に大気へ放出されることが判明した。

Abstract

Flux of NH₃, N₂O, and CO₂ was measured for a paddy soil treated with sewage sludge. The soil was filled with 4 lysimeters (each with a diameter of 1.7m and a depth of 2.0m) in which environmental conditions were controlled. Three types of domestic sewage sludge were used; Limed and undigested (L), polymer-flocculated and

1. 国立公害研究所 水質土壌環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Water and Soil Environment Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

undigested (P), and polymer-flocculated and anaerobically digested (D) types. Each type of sludge was incorporated into the 10cm surface layer of the soil at a rate of 163 kgN/ha. One lysimeter was left as an untreated control. One week after the application, the soil was submerged and rice seedlings were transplanted.

Before flooding, all of the 3 gases were emitted in greater amounts from the sludge applied plots (especially from the L-plot) than from the control. Cumulated fluxes of CO₂, N₂O, and NH₃ from the L-plot over a one week period were 948kgC, 489gN, and 3.5gN, respectively, on a hectare basis. After flooding, fluxes of CO₂ and N₂O showed a steep decrease whereas NH₃ flux did not. Except for the case of the P-plot, absorption of atmospheric CO₂ by flooded water was observed during the first one month of flooding. Atmospheric N₂O was also absorbed in some cases.

Key words : NH₃, N₂O, CO₂, Flux, Emission, Sewage sludge, Paddy soil, Submerged condition

1 はじめに

水田は畑地に比べて各種のガスの発生能及び取り込み能はるかに大きい。空中窒素の固定能は年間 30~40 kgN/ha と推定されている¹⁾し、逆に脱窒量は 1 作期に 75 kgN/ha にも及ぶ場合²⁾がある。また湛水下で有機物が分解することによって土壌の還元は促進され、分解産物として CH₄、CO₂、H₂、H₂S などのガスを発生し、水稻の生育に影響を与えることがある。これらの現象は、水田から気泡がしばしば発生したり、また未熟有機物の施用によって「田がわく」ことなどから古来認められていた。したがってアジア、特に日本においてガス発生メカニズムは精力的に研究されてきたが、その最終目的は水田の肥沃度を維持し、水稻の収量を高めることにあった。

近年の大気観測によれば、CO₂³⁾と N₂O⁴⁾の濃度は増加の途をたどっており、これらのガスによる「温室効果」⁵⁾、及び N₂O による成層圏オゾン層の破壊等をもたらす地球規模の環境影響⁶⁾が憂慮されている。CH₄についても「温室効果」の点から注目すべきであるとの警告がなされている⁷⁾。これらのガスはいずれも水田が一つの発生源であるにもかかわらず、これまで大気組成に与える水田の寄与を評価するための研究はほとんど行われていなかった。

下水汚泥の水田に対する施用は、ほとんどなされていない。その理由は、「田がわく」現象に象徴されるように、易分解性の汚泥成分が急速に分解するため、汚泥の施用量、施用時期等の設計が難しい点にあった。しかし、資源の有効利用の立場からも、汚泥処分の確保の点からも、水田に汚泥が施用される例は今後増加しているものと思われる。このような背景と情勢の中で、水田への下水汚泥の施用が諸環境に与える影響を解明する必要が高まっている。

本報告では、各種の下水汚泥の水田への施用によるガスの発生と吸収を、環境制御下のライシメーター実験によって追跡する。その結果から、汚泥の水田施用が大気環境にインパクトを与え得るのか、あるいは大気を浄化する方向に作用するのかについて論ずる。

なお、ガス発生に関する主要なデータは別途公表することとし、本報告では概要の記述にとどまる。

2 材料と方法

2.1 実験条件

ライシメーター：本研究所，土壌環境実験棟の自然光温室に設置されている水田用のライシメーター4基⁸⁾を使用した。各ライシメーターの直径は1.7 m，有効土層は2.0 mである。

供試土壌：茨城県筑波郡筑波町の水田から採取した沖積土壌を，現場の層位順にライシメーターに充てんした。表土の土性はSiLである。なお本試験に先だてて，水稲の均一栽培試験を行い，生育のライシメーター間差を調査するとともに，地力の均一化を図った⁸⁾。

供試汚泥：3種類の下水汚泥を用いた。

I．茨城県取手市の住宅団地下水処理場で産生した脱水ケーキで，石灰と塩化第2鉄を凝集剤として用いている。以後，本汚泥を石灰汚泥と称する。

II．茨城県日立市の下水処理場産。高分子凝集剤を添加して沈殿後，これを脱水した汚泥である。以後，これを高分子汚泥と称する。

III．千葉県松戸市内の下水処理場産。高分子凝集剤で凝集沈殿させた汚泥を嫌氣的に消化発酵させたもので，以後これを消化汚泥と呼ぶ。

これらの汚泥は風乾後，粉碎して表土10 cmに対して混合施用した。用いた汚泥と土壌の全炭素，全窒素及びpHを表1に示した。土壌と汚泥の理化学性の詳細は別報⁹⁾に記した。

表 1 供試した土壌と汚泥の性質

Table 1 Selected properties of soil and sewage sludge used in this experiment

	Total-C %	Total-N %	C/N	pH
Soil	1.03	0.09	11.3	5.5
Sludge-L	28.6	3.56	8.0	11.9
Sludge-P	44.2	5.62	7.9	6.0
Sludge-D	32.2	4.51	7.2	6.3

Sludge-L, -P, -Dはそれぞれ石灰，高分子，高分子未消化汚泥を示す。
Sludges-L, -P and -D refer to limed (undigested), polymer (undigested),
and polymer (anaerobically digested) types of sewage sludge, respectively.

試験設計及び環境条件：4基のライシメーターを東側から対照(無施用)区、石灰汚泥区、高分子汚泥区及び消化汚泥区として配分し、4区1連制で試験を実施した。各汚泥区は全窒素として162.5 kg/haの施用量にそろえた。そのため、石灰、高分子及び消化汚泥区における乾物施用量はそれぞれ5.0、3.0及び3.7 t/haとなり、また炭素としての施用量は、1431、1326及び1193 kg/haになった。

試験は昭和58年5月から59年1月まで行った。その間の作業日程は以下のとおりである。5月16日：荒起こし及び汚泥施用。この際、無施用区も荒起こしを行った。その後毎日かん水を行ったため、土壌水分は過湿状態になった。5月23日：10 cm程度湛水し、代かきを行った。5月25日：水稻(日本晴)稚苗を移植した。5月25日：同日以後、藻類の増殖を抑制するため、田面に暗幕を設置。6月27日～10月26日：自動かん水装置を作動させて水深を5 cmに保った。10月27日：落水を開始。11月4日：収穫及び収量調査。この時点ではほぼ落水状態になった。12月初旬：荒起こし。全期間を通じて地温は18°Cに制御したが、表層部では多少これより高いと推定される。田面水温は20～21°Cであった。気温は8月30日～10月6日まで昼夜とも25°Cとした他は、昼25°C、夜間20°Cにした。湿度は全期間60%に保った。

これらの実験条件の詳細は別報⁹⁾に示した。

2.2 ガス発生の測定法

概略のみを記す。詳しくは測定に関する別報¹⁰⁾を参照されたい。

2.2.1 試料の採取法

(1) NH₃の発生量：底を抜いた広口ポリビンに枠と脚を付け、これを土壤に挿入した(内容積1.2 l、底面積132.7 cm²)。ビンの内ブタには径5 cmのシャールをつりさげ、これに0.1 M H₂SO₄を5 ml注入し、直ちに内ブタをかぶせた。一定時間経過した後(通常24時間)、捕集液中のNH₄-Nを定量した。なお、底付きのポリビン内のNH₃も同時期、同時間、捕集させてブランクとした。

(2) CO₂、N₂O、CH₄のフラックスもしくは吸収量：土壤(畑状態もしくは湛水状態)に2 l容のガラス製吸引鐘(底面積122.7 cm²)を埋設し、地上部の内容積が正確に1000 mlとなるようにした。ビン上面の穴にフタをした後、一定時間ごと(通常0、15及び30分)に内部の空気をガスタイトンリンジで採取して分析に供した。

(3) 田面から発生するガスの捕集法：底面積70.9 cm²のガラスロートを、ライシメーター当たり3箇所、田面に設置した。ロートの管部にはゴム管を接続させ、内部を田面水で満たした後、ピンチコックで密閉した。一定時間(通常2～3日)経過後、内部にたまったガスを注射筒で採取し、容量を測った後(通常は3本の合計量)分析に供した。

なお(1)、(2)をチャンバー法、(3)をロート法と呼ぶ。

2.2.2 ガスの分析法

捕集液中の $\text{NH}_4\text{-N}$ は比色法¹⁰⁾で、また、 H_2 、 CH_4 、 CO_2 及び N_2O は熱伝導度検出器 (TCD) と電子捕獲検出器 (ECD) を直列につないだガスクロマトグラフシステムで同時分析した¹⁰⁾。 H_2 、 CH_4 、 CO_2 は TCD で、また CO_2 と N_2O は ECD で測定される。 H_2 、 O_2 、 N_2 はモレキュラーシーブ 5 A カラム (2 m) で分離し、TCD で検出した¹⁰⁾。

2.3 重炭酸イオン

HCO_3^- 濃度は、pH 4.50 に達せしめるに要した 0.01 M H_2SO_4 のミリ当量数 (1 l 当たり)¹¹⁾を自動滴定装置 (メトラー社メモタイトレーター) によって測定した。pH 8.2 以上の試料の場合、得られた値 (meq/l) は CO_3^{2-} を含むが、ごく一部の試料で pH 8.2~8.3 になっただけであり、実質上問題はないと考える。

3 結果

3.1 畑状態におけるガス発生量の変化

荒起こし及び下水汚泥を施用後の 1 週間は畑状態を経過させたため、以後の湛水期における変化は次項で述べる。この期間の NH_3 、 N_2O 及び CO_2 発生量は日周変動 (昼高く、夜低い) する¹²⁾ため、 N_2O 及び CO_2 のすべての測定は午前 11 時~午後 2 時の間に行った。

また著者らはこれまでに火山灰畑土壌に石灰汚泥を連用し、 NH_3 、 N_2O 及び CO_2 の発生量の変化を調べてきた¹²⁾。これらの実験条件は、今回の湛水前の条件と試験規模や温度湿度条件が同じであり、また同じ石灰汚泥を使用している共通点がある。その反面、施用回数 (火山灰土壌 4~8 回; 沖積土壌 1 回)、施用量 (火山灰土壌、毎回 50 t/ha; 沖積土壌、3~5 t/ha) や、かん水条件 (前者、週 1 回 31 mm; 後者、毎日 4.4~8.8 mm) の点で相違がある。以下の記述では、適宜火山灰畑土壌における結果と比較していく。

3.1.1 アンモニア

汚泥区における発生量は 3 日目で降増加を続けた。6 日目の発生量は石灰汚泥区 > 消化汚泥区 > 高分子汚泥区 > 無施用区であり、1.3~0.04 gN/ha/d であった。

火山灰畑土壌の場合には施用直後に発生量が最大であったこと¹²⁾と比べると、ここに示したパターンは全く異なっており、また最大発生量も 1/100 以下にすぎなかった。

3.1.2 亜酸化窒素

汚泥施用の翌日から施用区では発生量が増加し始めた。最大発生量は高分子汚泥区 > 石灰汚泥区 > 消化汚泥区 > 無施用区の順に 936~9.3 gN/ha/d であった。

このような変動の様相は火山灰畑土壌でも認められている¹²⁾。しかし最大発生量は今回の方

がはるかに高く、石灰汚泥区では6倍以上になっていた。

3.1.3 二酸化炭素

CO₂の発生パターンはN₂Oの場合と類似しており、施用後1週間内に2回ピークを形成した。ただし、CO₂の場合には、試験開始（汚泥施用）直後から施用区の発生量が無施用区のそれより明らかに高かった。また最大発生量は、石灰汚泥区>高分子汚泥区>消化汚泥区>無施用区（311~10 kgC/ha/d）であった。発生ピークが2回認められる点は火山灰畑土壌の場合と同じであったが、最大発生量は今回の方が多かった。

3.1.4 各種のガス発生量相互の関係

各処理区及び全データに対する各ガス発生量間の相関係数でみると、N₂OとCO₂の発生量は相互に関連が深く、消化汚泥区を除いて有意な正の相関を示した。これに対してNH₃とCO₂との相関は全処理区のデータに対してこそ有意だったが、各処理区内では消化汚泥区の場合を除いて無相関であった。NH₃の発生機構はCO₂及びN₂Oのそれとは機構が異なると考えられている¹³⁾が、この結果もそれを支持する。

3.2 湛水後のガス発生量の変化

試験開始後7日目に代かきを行い、以後は収穫直前までの約5か月間、湛水状態で実験を行った。ガス発生量はチャンバー法とロート法の2とおりで測定した。チャンバー法では落水後も測定を継続した。

3.2.1 チャンバー法による測定結果

前項に続いてNH₃、N₂O及びCO₂の測定を行った。CH₄とH₂も測定対象としたが、CH₄は一時期検出されたものの定量限界以下であり、またH₂は検出されなかった。

(1) NH₃：代かき直後の発生量は、湛水直前に比べて石灰汚泥区と無施用区では増加したが、消化汚泥区と高分子汚泥区では逆に減少していた。その後20日の間に石灰汚泥区と無施用区では発生量が次第に減少し、それぞれ0.1及び0.02 gN/ha/d程度の値に落ちついた。しかし高分子汚泥区では徐々に増加し、また消化汚泥区では一度減少後、再び増加して、いずれも湛水10日後に最大になった。これらの汚泥区でも、湛水20日目頃には石灰汚泥区と同様に、およそ0.1 gN/ha/dの値に収束した。

湛水1か月目以降は測定間隔が開いているため、変動の詳細は不明であるが、特に顕著な変化は湛水30~37日目にかけての時期と、落水後の再耕うん後に発生量が増加した点であった。また湛水40~49日目の間に田面が大気中のNH₃を吸収する例が認められた。

(2) N₂O：NH₃の場合と異なり、湛水によってN₂Oの発生量は急減した。湛水1日後から7

日後までは、消化汚泥区を除いて田面水が大気から N_2O を吸収する傾向にあった。その後は 37 日目頃まで全区とも正の発生量を示すことが多くなり、特に灌水 12 日目の消化汚泥区では 32.8 gN/ha/d と多量に発生した。この多量発生は後述のロート内ガス成分の分析値とも傾向が一致していた。灌水 44 日目以降、落水期までは逆に消化汚泥区で負の発生量を示した。

落水後は、その直前に比べて発生量が増加する傾向にあった。落水後 4 回の測定値の平均は無処理区、及び石灰、高分子、消化汚泥の各区でそれぞれ $1.44, 6.96, 4.12, 2.36 \text{ gN/ha/d}$ であった。

(3) $CO_2 : N_2O$ の場合と同じく、灌水によって発生量は急減した。無処理区、石灰汚泥区、高分子汚泥区及び消化汚泥区における、灌水後 30 日間の平均値はそれぞれ $-1.06, -0.90, 2.28$ 及び -0.21 kgC/ha/d であり、また灌水 1 か月目以後、落水直前までの平均値は $3.88, 7.85, 8.09, 8.07 \text{ kgC/ha/d}$ であった。このように、灌水後 1 か月間は高分子汚泥区を除いて、田面水が大気中の CO_2 を吸収する側に働いていることが特徴的だった。落水・再耕うんした後は発生量が急増した。

田面水中の HCO_3^- 濃度は全期間を通じて石灰汚泥区が最も高く、以下高分子汚泥区、消化汚泥区、無施用区の順であった(図 1)。田面水の pH もこの順に高かった。石灰汚泥区では灌水後 17 日の間、徐々に濃度が上昇し続け、いったん急増した後に低下し始めた。高分子汚泥区では灌水後 1 か月の間上昇を続け、43 日目で降減少した。消化汚泥区では灌水後一時期増加したがその後減少し、37 日目以降再び増加した。後期の増加は無施用区でも認められた。

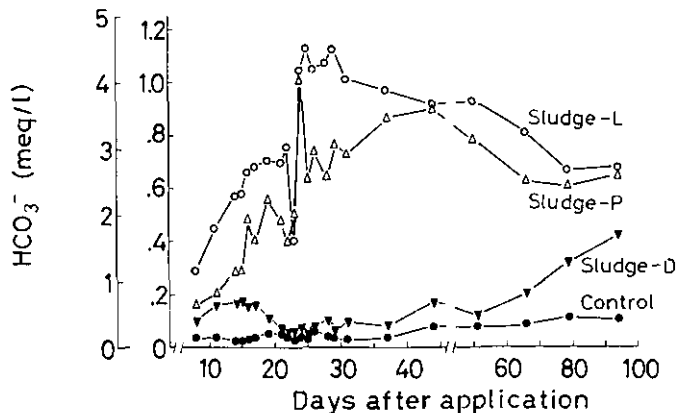


図 1 田面水中の重炭酸イオン濃度の変化

Fig. 1 Sludge type effect on HCO_3^- concentration of flooded water

The axes of ordinates with full scales of 5 and 1.2 refer to \circ , and the other symbols (Δ , ∇ , \bullet), respectively

CO₂の発生量と溶存HCO₃⁻濃度との相関係数($n=16$)は無施用区, 石灰汚泥区, 高分子汚泥区及び消化汚泥区でそれぞれ0.560*, 0.288, 0.243, 0.730**(*と**はそれぞれ5%及び1%水準で有意)であった。

(4) ガス発生量相互の関係: 湛水後1か月間, その後の2か月間, 及びこれらの通算期間についてガス発生量相互の関係を検討した(表2)。湛水期間中のガス発生は相互にほとんど関連がなく, わずかに消化汚泥区でNH₃とN₂Oの発生量間, 及び石灰汚泥区のN₂OとCO₂の発生量間とに5%水準で有意性が認められたに過ぎなかった。

表 2 湛水後1か月間, その後2か月間及び通算期間におけるガス発生量相互の相関係数

Table 2 Correlations between NH₃, N₂O and CO₂ flux from an alluvial soil applied with sewage sludge during submerged condition

Pairs of gas molecule	Duration	Whole data	Treatments			
			Control	Sludge-L	Sludge-P	Sludge-D
NH ₃ -N ₂ O	May 24-June 22	n 48	12	12	12	12
	(Days 8-37)	r -0.003	-0.051	-0.482	-0.107	0.439
	June 29-Aug. 18	n 20	5	5	5	5
	(Days 44-94)	r -0.077	0.345	-0.167	-0.132	0.628
NH ₃ -CO ₂	May 24-Aug. 18	n 68	17	17	17	17
	(Days 8-94)	r -0.006	0.011	-0.369	-0.151	0.512*
	May 24-June 22	n 48	12	12	12	12
	(Days 8-37)	r 0.061	0.316	0.134	0.019	0.285
CO ₂ -N ₂ O	June 29-Aug. 18	n 20	5	5	5	5
	(Days 44-94)	r 0.099	-0.471	-0.257	0.343	-0.465
	May 24-Aug. 18	n 68	17	17	17	17
	(Days 8-94)	r -0.018	0.046	-0.024	-0.021	-0.126
CO ₂ -N ₂ O	May 24-June 22	n 48	12	12	12	12
	(Days 8-37)	r 0.095	0.356	0.297	0.127	0.008
	June 29-Aug. 18	n 20	5	5	5	5
	(Days 44-94)	r 0.341	-0.730	0.634	0.675	-0.268
CO ₂ -N ₂ O	May 24-Aug. 18	n 68	17	17	17	17
	(Days 8-94)	r 0.142	0.290	0.530*	0.326	-0.137

* refers to significant at the 5% level.

3.2.2 ロート法による測定結果

ガス発生量の変化を, 田面に設置したロート内にたまった気体の成分濃度と容積とから計算した(図2)。当然ながらこの方法では負の発生量が測定できない。また3本のロートの気体は合一して分析したが, 気体容積にロート間のバラツキが大きかったことと, 容積が正確に測定できなかったことから, 計算値の誤差は大きいものと思われる。

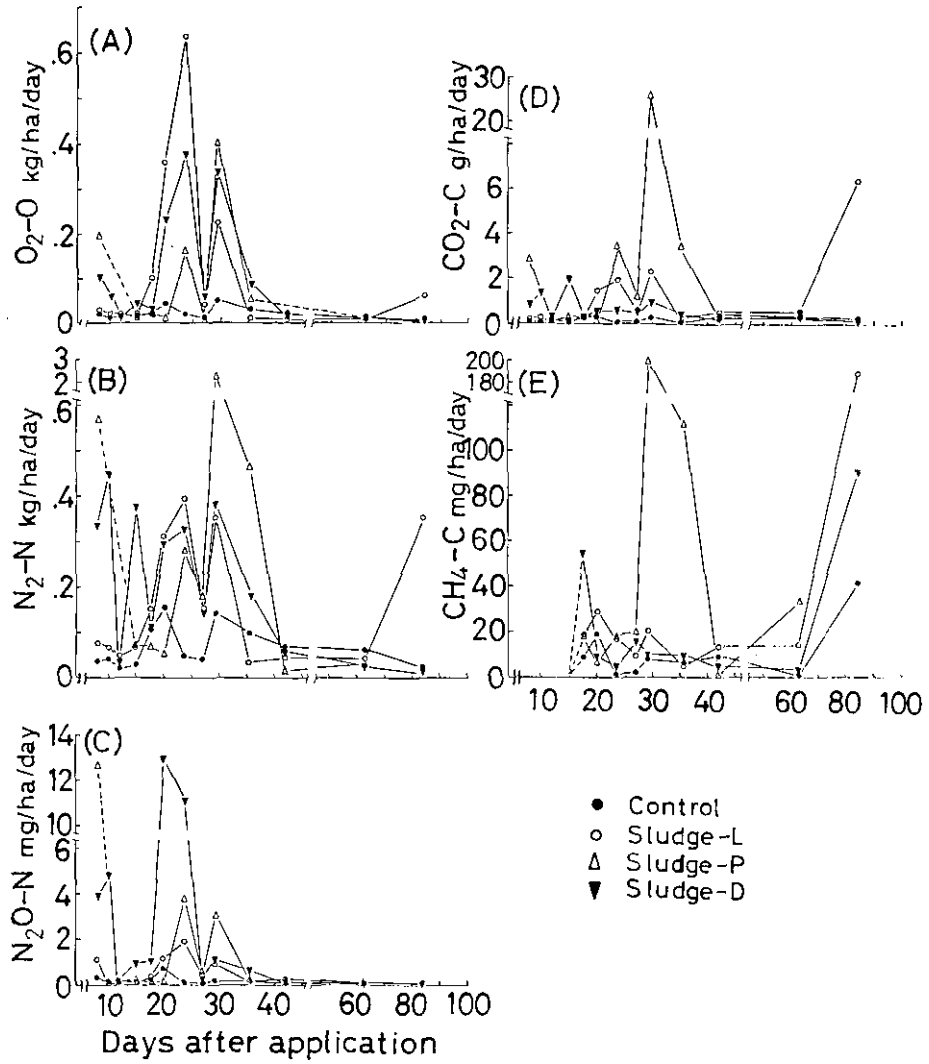


図 2 湛水後のガスフラックの変化——ロート法による試算——

Fig. 2 Changes in flux of O₂(A), N₂(B), N₂O(C), CO₂(D), and CH₄(E) under submerged condition

The values of flux are estimated from volume and concentration of the gases which are trapped in 3 glass funnels.

(1) O_2 (図 2 A) : 全処理区とも湛水 17 日目頃と 23 日目頃に発生ピークを迎えた。いずれのピークにおいても、汚泥を施用した 3 処理区の発生量は無処理区のそれより多かった。しかし第 1 のピーク時には石灰汚泥区が最大で、以下消化汚泥区、高分子汚泥区の順であったのに対し、第 2 のピーク時にはその順位が逆転していた。なお、捕集された気体中の O_2 濃度もこれらの時期には高く、石灰汚泥区の第 1 のピークにおける濃度は 57%(v/v) に達した。

(2) N_2 (図 2 B) : 湛水後 10 日前後の間、消化汚泥区では不規則に変動したが、石灰汚泥区と無施用区では低レベルであった。10 日目以降のパターンは O_2 の場合と非常に以通っており、17 日目頃と 23 日目頃に発生ピークがあった。

(3) N_2O (図 2 C) : 湛水後数日の間、高分子及び消化汚泥区の発生量が非常に高かったが、6 日後には他の処理区と同じくほとんどゼロになった。消化汚泥区では 9 日目頃から増大し、17 日目頃に最大に達した。他の区でもほぼ同時にピークに至った。汚泥を施用した 3 処理区では湛水 23 日目頃にも発生ピークがあった。これら二つのピーク時期は N_2 の場合と一致していたが、発生量は N_2 の 10^{-6} 以下に過ぎなかった。湛水 10 日目から 30 日目頃までの発生パターンはチャンパー法によるフラックスのパターンとおおむね一致しており、特に消化汚泥区では明確であった。しかし量的にはチャンパー法の方がはるかに高かった。

(4) CO_2 (図 2 D) : 無施用区では、最大でも 0.3 kgC/ha/d を超えることがなく、汚泥区に比べて低かった。石灰汚泥区では湛水 10 日目頃から 23 日目頃にかけて発生量が増大し、一度減少した後 67 日目頃に再び増加した。高分子汚泥区では、湛水直後、17 及び 23 日目頃に発生量が多かった。消化汚泥区における発生量は他の汚泥区の場合に比べて少なかった。これらの傾向には、チャンパー法によるパターンと類似点はあるものの、必ずしも一致していなかった。

(5) CH_4 (図 2 E) : CH_4 は湛水 10 日目以降になってから検出された。最大発生量は無施用区、石灰汚泥区及び消化汚泥区で湛水 75 日目頃に、また高分子汚泥区では 23 日目頃に記録された。石灰汚泥区の 75 日目頃における発生ガス中濃度は 1.4% に達した。

なお H_2 は湛水 22 日目後に検出されたが、微量のため定量できなかった。

(6) 各ガス成分の発生量相互の関係 : 4 処理区をあわせた全データについてみると、5% 水準以上で有意になった組み合わせは O_2-CH_4 、 N_2O-CO_2 、 N_2O-CH_4 の 3 組に過ぎなかった。

3.3 水田土壌と大気とのガス収支

試験開始後の 37 日間について、 NH_3-N 、 N_2O-N 、 CO_2-C の日発生量(チャンパー法)を積算した。積算に当たり、測定していない日の発生量は前後の平均値とした。また、試験開始時や代かき時のように同一日内に条件が変化した場合は、測定された条件にある時間数(例えば試験開始時なら午前 11 時~午後 12 時の 13 時間)に換算した。37 日目以降は測定間隔が開いているので有効な積算ができないと考え、検討しなかった。

(1) NH_3 : 畑状態で経過したはじめの 7 日間の発生量は石灰汚泥区、高分子汚泥区及び消化

汚泥区でそれぞれ無施用区の 7.7, 3.0 及び 5.5 倍になった。湛水後 1 か月間の発生量で比べてもこの傾向は変わらず、それぞれ 8.2, 4.8 及び 5.5 倍であった。施用後 37 日間の積算値の全施用窒素に対する割合は 0.1% 以下に過ぎなかった。

(2) N_2O : 畑状態における発生量は石灰汚泥区、高分子汚泥区及び消化汚泥区でそれぞれ無施用区の 17.7, 12.1, 7.5 倍であった。石灰汚泥区の発生量が他よりも多い点は NH_3 の場合と同じであったが、N としての発生量は N_2O 態の方がはるかに多く、石灰汚泥区のこの期間における発生量は施用窒素の 0.3% に達した。

(3) CO_2 : 畑状態における 7 日間の発生量は火山灰土壌の場合¹²⁾ と比べて著しく多く、石灰、高分子及び消化の各汚泥区それぞれについて施用した全炭素量の 66.2, 27.5 及び 26.5% に達した。この値は無施用区の発生量のそれぞれ 20.8, 8.0 及び 6.9 倍に相当する。湛水後に積算値が低下しているケースでは、田面が大気から CO_2 を吸収していることを示している。無施用区では湛水後に畑状態時の発生量の 74.1% を再吸収したことになる。湛水後の CO_2 吸収量は必ずしも田面水、もしくは土壌の pH とは関係がなかった。

4 考察

下水汚泥の土壌還元の対象地として、水田はその面積からも作物の重要性からも注目されている。しかし、大規模の実施がためらわれているのは、水稻を正常に生育させるための施用時期、施用量、汚泥種等の条件を決定することが困難なためである。

水田からのガス発生(もしくは吸収)量を測定することは、正常な水稻生育をもたらすための施用法を確立する目安になるだけでなく、環境問題の面からも重要である。下水汚泥を施用した水田が大気を汚染しうるのか、逆に浄化し得るのかについてはほとんど研究がなされていないからである。これらの点を中心として、今回の実験結果から、考察を加えていく。

4.1 湛水前のガス発生

水田土壌への有機物の施用は、湛水下での急激な分解による水稻への悪影響を避けるため、湛水前に行うのが一般的である。本実験では、この理由から、湛水 1 週間前に下水汚泥を施用している。畑状態における施用は、当然、一般畑地への施用と共通する点を持っている。そこで、本試験における各処理区間の比較とともに、火山灰畑土壌への石灰汚泥の施用の結果¹²⁾ と本試験の石灰汚泥区の結果とも比較して考える。

4.1.1 アンモニア

土壌中の NH_4^+ は有機性窒素の分解(アンモニア化成作用)によって供給され、土壌の陽イオン交換基に保持される。一方、硝化細菌による酸化と各種微生物による同化や、 NH_3 として揮散することによって失われる。 NH_3 の揮散自体は非生物的反応と言われている。 NH_4^+ イオンの対イオ

ンとなりうるアニオンが他の化合物と不溶性化合物を作ったり¹⁴⁾、また多量に存在し、かつ土壌 pH が高い場合には土壌中における溶解度が低下してガス化するからである。しかし、下水汚泥施用土壌の場合にはこれらの要因が複雑であるので、NH₃発生量の経時変化も絶対量も土壌、汚泥種、施用量などの違いによって変化する。

本試験の汚泥施用区において、NH₃の発生量は施用3日後から増加を始めた。いずれの処理区でも、施用7日目の土壌中のNH₄-N含量は施用直後の値の2~3倍に増加している⁹⁾。また火山灰土壌においては土壌中NH₄-N量とNH₃揮散量の間に関係が認められている¹²⁾。これらのことから、同一区内ではNH₃発生量が土壌中のNH₄-N含量と対応していることがわかる。しかし、窒素としての施用量が各汚泥区で等しいにもかかわらず、5日目以降の発生量は石灰汚泥区で最も多く、以下消化汚泥区、高分子汚泥区の順であり、むしろ土壌 pH に依存していた(1週目における土壌中のNH₄-N量は消化汚泥区が最も高い⁹⁾)。施用1週目の土壌 pH は石灰汚泥区が最も高く(7.6)⁹⁾、また発生量の非常に多い火山灰土壌(最高122 gN/ha/d、土壌中NH₄-N 85 mg/kg 乾土)の pH は8.4前後だった¹²⁾からである。

本試験におけるNH₃揮散総量は非常に少なく、施用した全窒素の0.1%以下にすぎなかったので施用Nの損失の面からも環境影響の面からも特に問題にはならないと考えるが、上述のように発生量と発生パターンは土壌や汚泥の条件によって変化する点には留意しておく必要があるだろう。

4.1.2 亜酸化窒素と二酸化炭素

土壌からのCO₂の発生は、そのほとんどすべてが微生物呼吸によるものと考えられている。一方、N₂Oの発生には非生物的(物理化学的)な現象と生物的な現象の両面があり¹³⁾、また生物的な発生は無機態窒素の還元(NO₃⁻→NO₂⁻→N₂O→N₂)による脱窒で起こるとされてきたが、最近では酸化的過程(SH₄⁺→N₂O)も畑状態では起こり得ることが明らかになっている^{15,16)}。

CO₂とN₂Oが汚泥施用後の1週間に2回発生ピークを迎える現象は、本試験の3汚泥区のいずれにおいても、また火山灰畑土壌¹²⁾においても認められており、畑状態での汚泥施用に共通した現象といえよう。火山灰土壌における解析は、少なくとも第2の発生ピークには生物的な現象が関わっていることを示唆している。第1のN₂O発生ピークについては必ずしも生物的な現象とは断言できないが、施用して1~3日後にピークを迎える点、及びCO₂とN₂Oが同時期に発生ピークに達する点からみて、生物的作用の結果である可能性が高い。

CO₂とN₂Oの7日間の積算発生量は石灰汚泥区>高分子汚泥区>消化汚泥区であり、石灰汚泥区の発生量が多い点はNH₃の場合と同じである。石灰汚泥区の炭素分解率は施用全窒素の60%以上にも達しており、他の汚泥区でも25%以上になっている。この値は火山灰土壌における分解率(及び量)や各種汚泥の分解性試験結果¹⁷⁾に比べて異常に高い。ガス発生量が高い日中に測定した値を日発生量に換算したことも一因であるが、全炭素量から計算した炭素の分解率も石灰汚泥区

では40%程度である⁹⁾ため、本実験条件では実際に多量の炭素が分解されていたとみるのが妥当である。本試験の沖積土壌では水分が過湿状態で推移しているのも、これが高分解率になった一因かもしれない。 N_2O-N の施用全窒素に対する発生率は石灰汚泥区で0.3%、他の汚泥区でも0.1%以上に達していた。高水分状態では $N_2O-N/(N_2+N_2O)-N$ が大きくなること¹⁸⁾も多量の発生に寄与しているだろう。

4.1.3 湛水前の汚泥施用の意味

本試験のごくわずかのデータから、あえて湛水前の汚泥施用の意義を考えるなら、施肥効率と環境影響の面から以下のことが指摘できよう。すなわち代かき前の早すぎる時期に汚泥を施用すると、汚泥種によってはNの施肥効率を落とすことになると同時に、大面積に実施されれば多量の N_2O が大気に放出されて環境上好ましくない点である。ただし、多量に施用した場合には、1週間程度の放置では水稻の初期生育が抑制され¹⁹⁾、跡地土壌にはガス発生によるとみられる大きい孔げきが多数みられたので、環境問題を考えなければ長期間放置した方が望ましい。

4.2 湛水後のガス発生と吸収

4.2.1 ロート捕集法の問題点

この方法によって採取されたガス成分のうち、 CO_2 と N_2O についてはチャンパー法との比較が可能である。ロート法の分析値を発生量に換算した値とチャンパー法によるデータとの相関は、 CO_2 については各処理とも無相関、 N_2O については消化汚泥区でのみ正の相関(5%水準)を示した。この傾向はロート内のガス濃度自体とチャンパー法の値とを比べた場合でも同様だった。さらに、いずれのガスでもロート法による発生量はチャンパー法のそれに比べてはるかに低くなっていた。チャンパー法による CO_2 発生量(吸収量)と田面水に溶存している炭酸量の含量を土壌からの発生量とみなし、これとロート法の値を比較しても相関は得られなかった。

このようにロート法では土壌(田面)と大気とのかわりをとらえられなかった理由には以下の諸点が挙げられよう。1) 採取ガス量にばらつきが多かった。2) ロート内にたまったガスは大気と隔離されているので、内部の気体と田面水とのガス平衡は、大気と田面水との平衡状態と全く異なっている。3) ロート法の特性上、負のフラックス(ガス吸収)が測定できない。4) ロートからの気体採取時に土壌面が多少かく乱されることがあるため、土壌内のガスが気泡となって回収され得る。5) ロートのゴム管密閉部の気密性が悪く、大気が流入する可能性がある。

これらの可能性のうち、4)はむしろ発生量を多く見積もらせることになり、また5)は O_2 と N_2 の組成が大気とかなり異なることから主因ではないであろう。それゆえ、主な原因は1)~3)と考えられる。

このような問題点はみられるものの、ロート法によるデータは次のことを示唆している。1) 捕獲された気体には O_2 が必ず含まれ、時には50%以上に達していたことから、藻類の寄与が予測さ

れる。2) 汚泥施用区では CH_4 が発生し、その時期は土壤の酸化還元電位(Eh)が急激に低下した湛水後1~2週目(消化汚泥区、約350 mV)、3週目(高分子汚泥区、40 mV)及び11~12週目(石灰汚泥区0 mV；消化汚泥区130 mV；無施用区、300 mV)と一致しており、 CH_4 の発生がEhと関係している。3) $\text{N}_2/\text{N}_2\text{O}$ 比は平均1370であり、脱窒成分のうち N_2O はそのほとんどが N_2 にまで還元されている。次項以下ではチャンパー法による NH_3 、 N_2O 及び CO_2 の発生について考察する。

4.2.2 アンモニア

湛水状態での NH_3 揮散は特に亜熱帯から熱帯地域にかけて大きく、中には施肥窒素の20%が失われる例も報告されている²⁰⁾。ただし、このような例は田面に肥料を直接散布した場合に限られ、土壤に混入させた場合にはそれほど問題にはなっていない²⁰⁾。

本試験の結果でも湛水後の NH_3 揮散量は、畑状態のときより全般に減少しており、負の発生(吸収)を示すことすらあった。土壤中の $\text{NH}_4\text{-N}$ 含量は、湛水4週目頃までは高く、その後に還元(Fe^{2+} の生成)が進むにつれて低下していたので、この点は発生量の低下と一致している。また湛水中の NH_3 発生は田面水や土壤のpHには依存せず、アルカリ性の石灰汚泥区でもごく初期を除いて他の区と同等か、もしくは低かった点は注目される。

4.2.3 亜酸化窒素

湛水後の発生量は極く一部を除いて非常に低く、田面が大気から N_2O を吸収する場面が多く見られた。本試験における N_2O の発生量の測定誤差は $\pm 0.4 \text{ gN/ha/d}$ 程度であるので、各測定点単独では誤差の範囲内である。しかし、同一処理区で連続して負の値をとる湛水初期の場合には意味を持っていると考える。化学肥料を施用した水田でも、 N_2O 発生は非常に低く、時に田面がsinkになる場合がある^{21,22)}。土壤が N_2O のsinkとなり得ることは数例報告されている^{23,24)}が、いずれも高濃度の N_2O 条件での実験である。最近、福士ら²⁵⁾は大気レベルの N_2O を土壤(畑、水田)が吸収することを認めており、また火山灰土壤¹²⁾の場合にも汚泥無施用区では負の数値を得ている。

湛水12日目に多量の N_2O 発生をみている消化汚泥区では、このときのEhが脱窒条件にあり(約200 mV)、かつ急激な変化をしていることと一致している。しかし、脱窒函数、硝酸還元函数、硝酸含量とは対応していなかった。また湛水後の N_2O の積算発生量が、湛水前の傾向と対照的に消化汚泥区>高分子汚泥区>石灰汚泥区であったことは、この順にEhが高いことと一致しており、脱窒に好適なEh条件に関する従来の知見²⁾と一致している。このように、汚泥を施用した水田土壤は条件によって N_2O のsinkともsourceともなり得ることが判明した。

4.2.4 二酸化炭素

高分子汚泥区以外では湛水後の6週間、ほとんど常に負の発生量をし、明らかに田面水が大気中の CO_2 を吸収していた。吸収量が 5.8 kgC/ha/d の場合、チャンパー内の CO_2 濃度は測定開始後

30分で360 ppmから100 ppmにまで低下していた。それゆえ大気と田面とのCO₂平衡を考慮すれば、実際の吸収量は更に大きいと考えられる。田面水のpHやHCO₃⁻濃度が必ずしも吸収量と関係がなかった理由は、田面水中の無機炭素量が、大気との交換・土壌からのCO₂発生・藻類の光合成・水稲根による炭酸吸収などの複雑な要因に支配されているからであろう。湛水前期に田面水がCO₂を吸収し、後期には放出する現象は水稲の生育と関連が見られた。これは、水稲根が開花期までの間、多量の炭酸を吸収すること²⁶⁾と一致している。

4.3 ガス発生の面から見た汚泥の施用

水稲1作期当たりのガス発生量は3.3項に述べたとおり正確には求められない。しかし湛水後期の数回の測定値を考慮に入れて汚泥区の発生量を推定すると：NH₃、20~40 gN/ha；N₂O、400~500 gN/ha；CO₂、400~1000 kgC/haになる。NH₃の場合には少量であるので問題はない。耕地からのN₂Oの平均発生量を年間1000 gN/ha⁶⁾とすると、今回の値はほぼ同等であり、少なくとも化学肥料を施用した耕地より下水汚泥を施用した水田が環境上問題が大きいとは言えないだろう。

水稲の収量とC含量⁹⁾から水稲中のC量を求めると、2400~2700 kgC/haになる。これを水稲の炭酸固定量とみるならば、土壌及び田面から発生したCO₂-C量よりもはるかに多くなり、水田生態系は汚泥を施用した場合でも大気CO₂のsinkであるとみなされる。

以上の推定はあくまで今回の実験に限ったものであるので、一般化するためには施用時期・施用量・汚泥種・土壌種・湛水期間などの諸条件を変えて検討する必要があるだろう。

謝 辞

日本大学農獣医学部 隅田裕明氏には土性を鑑定していただいた。記して感謝する。

引 用 文 献

- 1) 松口龍彦(1978)：水田の窒素固定作用。水田土壌学，川口桂三郎(編)，講談社，244-256。
- 2) 蘭 道正(1978)：水田における脱窒作用。水田土壌学，川口桂三郎(編)，講談社，256-263。
- 3) Keeling, C. D., R. B. Bacastow, A. E. Bainbridge, C. A. Ekdahl, Jr., P. R. Guenther and L. S. Waterman (1976) : Atmospheric carbon dioxide variations at Mauna Loa observatory, Hawaii. *Tellus*, 28, 538-551.
- 4) Weiss, R. F. (1981) : The temporal and spatial distribution of tropospheric nitrous oxide. *J. Geophys. Res.*, 86, 7185-7195.
- 5) Wang, W. C., Y. L. Yung, A. A. Lacis, T. Mo and J. E. Hansen (1976) : Greenhouse effects due to man-made perturbations of trace gases. *Science*, 194, 685-690.
- 6) Pratt, P. F., *et al.* (Council for Agricultural Science Technology, U.S.A.)(1977) : Effects of

- increased nitrogen fixation on stratospheric ozone. *Clim. Change*, **1**, 109-135.
- 7) Donner, L. and V. Ramanathan (1980) : Methane and nitrous oxide : Their effects on terrestrial climate. *J. Atmos. Sci.*, **37**, 119-124.
 - 8) 広木幹也・藤井國博(1984) : 屋内ラインメーターにおける水稲の均一栽培. 国立公害研究所研究報告, 第 68 号, 117-128.
 - 9) 広木幹也・藤井國博(1986) : 下水汚泥の施用が水田土壌の理化学性, 微生物数及び水稲の生育に及ぼす影響. 国立公害研究所研究報告, 第 93 号, 61-80.
 - 10) 久保井 徹(1986) : 土壌から発生するガスの測定法. 国立公害研究所研究報告, 第 94 号, 33-48.
 - 11) Bower, C. A. and L. W. Wilcox (1965) : Soluble salts. *In* : C. A. Black (chief in editor), *Methods of Soil Analysis (Part 2)*. American Society of Agronomy, Inc., Pub., Maddison, 923-951.
 - 12) 久保井 徹・陽 捷行・藤井國博・福士定雄(1986) : 下水汚泥施用土壌からのガス発生 I. 火山灰畑土壌. 国立公害研究所研究報告, 第 94 号, 49-62.
 - 13) 陽 捷行(1984) : 土壌と大気間のガス交換, 土壌の物理性, **50**, 88-93.
 - 14) Fenn, L. B., and D. E. Kissel (1973) : Ammonia volatilization from surface applications of ammonium compounds on calcareous soils ; 1. general theory. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, **37**, 855-859.
 - 15) Freney, J. R., O. T. Denmead and J. R. Simpson (1979) : Nitrous oxide emission from soils at low moisture contents. *Soil Biol. Biochem.*, **11**, 167-173.
 - 16) Bremner, J. M. and A. M. Blackmer (1978) : Nitrous oxide : Emission from soils during nitrification of fertilizer nitrogen. *Science*, **199**, 295-296.
 - 17) 服部浩之・山口浩一・久保井 徹・藤井國博・矢崎仁也(1983) : 土壌中における各種汚泥の分解と分解に及ぼす高分子凝集剤の影響. 国立公害研究所研究報告, 第 47 号, 1-11.
 - 18) Aulakh, M. S., D. A. Rennie and E. A. Paul (1984) : Gaseous nitrogen losses from soils under zero-till as compared with conventional-till management systems. *J. Environ. Qual.*, **13**, 130-136.
 - 19) 広木幹也・藤井國博(1984) : 下水汚泥施用土壌における水稲の生育及び植物体成分. 国立公害研究所研究報告, 第 68 号, 17-29.
 - 20) Mikkelsen, D. S., S. K. De Datta and W. N. Obcemea (1978) : Ammonia volatilization losses from flooded rice soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **42**, 725-730.
 - 21) Denmead, O. T., J. R. Freney and J. R. Simpson (1979) : Nitrous oxide emission during denitrification in a flooded field. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **43**, 716-718.
 - 22) Terry, R. E., R. L. Tate III and J. M. Duxbury (1981) : The effect of flooding on nitrous oxide emissions from an organic soil. *Soil Sci.*, **132**, 228-232.
 - 23) Freney, J. R., O. T. Denmead, J. R. Simpson (1978) : Soil as a source or sink for atmospheric nitrous oxide. *Nature*, **273**, 530-532.
 - 24) Blackmer, A. M. and J. M. Bremner (1976) : Potential of soil as a sink for atmospheric nitrous oxide. *Geophys. Res. Lett.*, **3**, 739-742.
 - 25) 福士定雄・陽 捷行・遠藤宗男(1983) : 大気 N₂O の sink としての農耕地土壌の役割. 農業技術研究所昭和 57 年度研究成果, 78-89.
 - 26) 和田秀徳・横山 正・高井康雄(1983) : 水稲根圏から地上部・大気への CO₂ の移行. 日本土壌肥科学雑誌, **54**, 217-222.

汚泥施用土壌から発生する N_2O : その発生要因・発生量・環境影響

Effect of Sewage Sludge Application on N_2O Emission from Soil : A Review

久保井 徹¹

Toru KUBOI¹

要 旨

化学肥料の使用量の増加によって土壌からの N_2O 発生が増加し、成層圏のオゾン層が破壊されるとの懸念がある。しかし、汚泥施用土壌からの発生については研究例が少ない。そこで、汚泥施用土壌から発生する N_2O について従来の知見を整理し、この面での汚泥還元影響を考察した。注目すべき現象には：1) 過湿条件では通常の畑状態より発生量が多いが、湛水は発生量を低下させる；2) 石灰を凝集剤とする汚泥からの発生量は高分子を凝集剤とする汚泥からのそれより多い；3) 連用に伴って発生量は減少する傾向にある；4) 施用後の1週間～10日間の発生量が特に多く、その後は減少するが、長時間(少なくとも半年間)、ある程度の発生を持続する、などである。また、総発生量は必ずしも化学肥料施用の場合より多くはないので、汚泥の土壌施用を N_2O 発生面で規制する必要は現時点ではないだろう。これらの結果は、乏しいデータから得られており、さらに研究を続ける必要がある。

Abstract

The amount of emitted N_2O , and factors affecting the N_2O flux from agricultural land treated with sewage sludge were reviewed. Sludge incorporation stimulated the surface flux of N_2O . Characteristic phenomena were : 1) Application of sewage sludge into humid soil markedly stimulated N_2O flux as compared to the normal upland condition, whereas flooding depressed the flux ; 2) a soil treated with limed-sludge emitted a greater amount of N_2O than soil treated with other types of sludge ; 3) the amount of emitted N_2O appeared to decrease with the frequency of application ; and 4) N_2O flux was higher within the first 7~10 days of application, although remarkable flux (1~3 gN/ha/d) continued for at least 6 months. Since the amount of N_2O evolved from the sludge-amended soil appears to be similar to that evolved from chemically fertilized soil, land application of sewage sludge would not be critical for environmental protection with regard to N_2O .

1. 国立公害研究所 水質土壌環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川 16 番 2
Water and Soil Environment Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

Key words : Sewage sludge, Land application, Soil, N_2O , Nitrous oxide, Flux, Emission, Environmental protection

1 はじめに

下水汚泥の施用によって土壌に持ち込まれた有機態窒素は、通常アンモニア態窒素に分解された後、亜硝酸、硝酸へと酸化される。無機態窒素の一部は微生物に取り込まれて再有機化するが、他は地下への浸透、植物による吸収、及び大気へ揮散することによって系外へ出る(図1)。このような窒素の流れのうち、ガスとして揮散する部分については研究が遅れている。土壌から発生する窒素成分には N_2 , N_2O , NH_3 , NO , NO_2 , アミン類などが知られている¹⁾。 N_2 を徐くこれらのガスは、多量に発生した場合、何らかの環境問題を引き起こす。また、これらのガスの発生量は、下水汚泥等の窒素源を土壌に投入した場合、増加する。

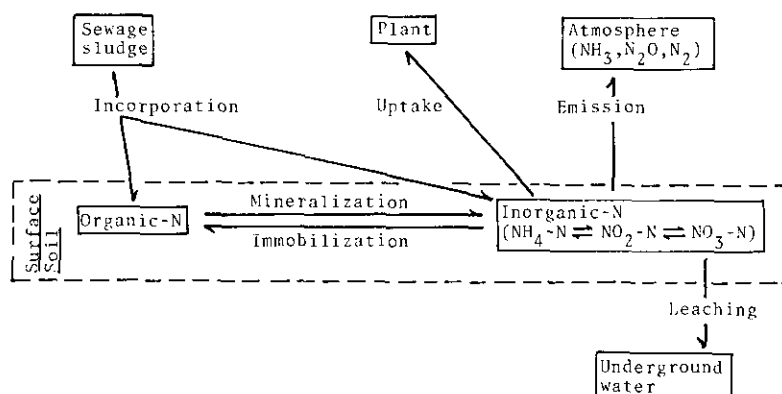


図 1 汚泥の土壌施用によって持ち込まれた窒素のゆくえ
Fig. 1 Fate of sludge-borne nitrogen in soil

本特別研究では、汚泥施用土壌中の CO_2 , O_2 , N_2 濃度^{2,3)}、汚泥施用土壌から発生する(もしくは施用土壌が吸収する) NH_3 , CO_2 , N_2O , O_2 ⁴⁻⁶⁾ について調べてきた。しかし、各種のガスのうち、特に N_2O については、1) 環境問題としての重要性、2) 発生源としての土壌の重要性、3) 情報量の少なさの点から、改めて検討する必要があると思う。

本報告では、汚泥施用土壌から発生する N_2O について、発生に影響を与える要因・発生量・環境問題への寄与・対策等について、既存の文献から得られる情報をも含めて検討する。

2 なぜN₂Oか？

ガス状窒素化合物の環境問題といえば、一般にはNOやNO₂(NO_x)の問題としてとらえられている。しかし、NO_xの発生源としては、自動車や産業活動の方が土壌よりはるかに多いと考えられている⁷⁾。さらに、汚染が都市域及びその周辺に集中し、局所的な高濃度が特に問題にされているため、現段階では発生源としての土壌を重視する必要はないだろう(ただし、草地からのNO発生量は年換算1 kgN/ha、NO₂発生量はその2~8%という報告⁸⁾もある)。

これに対してN₂Oはかなり安定な物質であり、対流圏ではほとんど分解されないが、成層圏では光化学反応でNOに酸化され、さらにオゾン(O₃)と反応してNO₂を生成する。地上における発生量の増加が成層圏O₃を減少させ、地上への紫外線到達量を増加させる(可能性がある)ことに、N₂Oの環境問題がある⁹⁾。Crutzen⁹⁾の予測によれば、N₂O生成量が20%増加することによってO₃量は4%減少する。また「温室効果」への寄与も指摘されている¹⁰⁾。

N₂Oの全発生量に対する土壌(+施肥)の寄与率は未確定だが、HahnとJunge¹¹⁾の 'likely value'によれば、21%であり(ちなみに直接的人間活動による発生への寄与は2%)、またMcElroyら¹²⁾によれば陸地が主要な発生源である。

大気中のN₂O濃度は近年増加を続け、1980年には300 ppb(モル分率)を超えている¹³⁾。工業的に固定された窒素(肥料)の生産量は戦後加速度的に増加しており、今後も増加がみこまれること¹⁴⁾から、これが現在及び将来のN₂O濃度の増加とそれに伴うO₃層の破壊につながるとの観点で研究がなされている¹³⁻¹⁶⁾(ただしWeiss¹³⁾は否定的)。

一方、資源の有効利用の観点から、下水汚泥の土壌還元率も高まっており(昭和55年現在、国内の産生量238万m³の15%¹⁷⁾)、Nとしての総施用量も化肥料の場合より一般に多いことから、下水汚泥施用土壌からのN₂O発生も把握しておく必要がある。しかしながら、私たちのデータを除いて研究例は非常に少ない。表1は文献検索の1例であるが、土壌から発生するN₂O[Keywords: soil⁺, sludge⁺, N₂O, nitrous oxide, flux⁺, emi(ssion), evol(ution), volatil(ization)]に関する研究は2件^{18,19)}しかない。NH₃、CO₂と比べて極端に情報が少ないことがわかる。

NH₃についても酸性雨との関連等で環境問題はあるが、情報量が多く、総説(Beauchamp²⁰⁾)やプロジェクト研究の成果²¹⁾が出ていることから、今回はとりあげない。

表 1 土壌から発生するガスに関する論文数
Table 1 Number of papers concerning to gas flux from soil

	N ₂ O	NH ₃	CO ₂
General	115	296	519
Sewage sludge	2	15	12

(1972~1984 : CAB-Abstracts)

3 N₂O 発生の機構

成書^{20,22)}に詳述されており、陽²³⁾も既存の情報を整理して示しているので簡単に触れる。

N₂O は脱窒(還元的)や硝化(酸化的)のような生物的過程と化学的脱窒とによって土壌から発生する。脱窒ではN₂O よりも N₂の方が主成分であり、硝化過程ではほとんど N₂O のみがガスとして発生する。これに対して化学的脱窒ではN₂, N₂O のほかに NO や NO₂ も発生するといわれている。硝化過程における N₂O の発生は、Yoshida と Alexander²⁴⁾ が硝化菌の培養系で発見した。しかし、畑土壌からの発生がこの過程でも起こっていることが証明されたのはつい最近^{25,26)}である。そのため詳細なメカニズムにはいまだ不明の点が多い。

汚泥施用土壌からの N₂O 発生を考える場合には、このような機構に加えて、N₂O の直接的前駆体(NO₂⁻か、その代謝上の周辺にある化合物)が汚泥から常に供給されることを念頭におく必要がある。

4 N₂O 発生に影響を与える要因

汚泥施用土壌からの N₂O 発生は、その機構の複雑さもあり、さまざまな要因によって支配される。しかし、前述のように情報が限られており、また化学肥料施用土壌でも発生機構は汚泥の場合と本質的に違わないと考えられるため、化学肥料(試薬を含む)施用の場面で得られたデータを多く参照する。汚泥施用によって得られたデータはその旨、明記する。

4.1 温度

気温(地温)が高いと発生量は急激に増加する。これは硝化過程(Bremner と Blackmer²²⁾(図2)にも脱窒過程にも当てはまる。脱窒の至適温度は60~67°C と非常に高いが、7°C でも進行する(Fillery²⁰⁾。低温ではN₂よりもN₂Oの方が脱窒産物としては多い²⁷⁾。

野外におけるN₂Oの発生速度は日周変動(昼高く、夜低い)を示し、地温変化が主因とみなされている²⁸⁾。しかし、早朝に高いデータ²⁹⁾もある。N₂Oフラックスの日周変動は汚泥施用土壌でも認められている⁵⁾。

4.2 光

紫外線除去フィルムの設置によってN₂O発生は促進されるデータがある³⁰⁾が、光の影響についてはほとんど調べられていない。

4.3 風

N₂Oをはじめ、CO₂やO₂などの比較的反応性に乏しいガスのガス交換定数は、風速の2乗にほぼ比例する²⁰⁾。

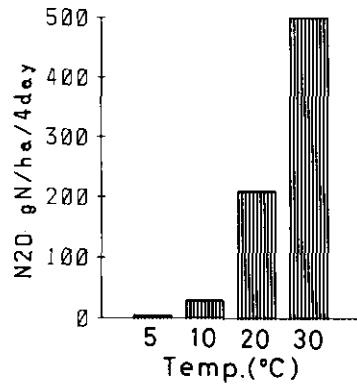


図 2 N₂O 発生量の温度依存性

Fig. 2 Effect of soil temperature on N₂O emission from ammonium-treated soil under well-aerated condition

Ammonium sulfate was added at a rate of 200 μg/g soil. (Data from Bremner and Blackmer²²⁾)

4.4 土壌 pH

脱窒活性は弱アルカリ性で高く、酸性側で低下することがあるが、これは有機物の溶解性に関連するとみなされている(Fillery²⁰⁾)。また、pH は全脱窒量には影響しないが、酸性になるほど N₂O の発生量が増える(Fillery²⁰⁾) (図 3 A)。硝化過程における N₂O の発生は弱アルカリ性で多い³¹⁾

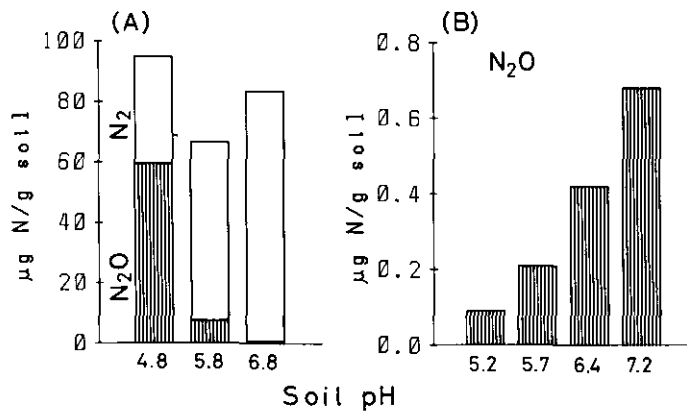


図 3 嫌気条件下における N₂O と N₂ の発生量 (A) と好気条件下で発生する N₂O 量 (B) に対する土壌 pH の影響

Fig. 3 Effect of soil pH on (A) N₂O and N₂ production under anaerobic condition, and (B) N₂O production under well-aerated condition

(A) : Data from Fillery²⁰⁾ (NO₃⁻ = 115~125 μg/g soil ; determined at day 16)

(B) : Data from Minami and Fukushi³¹⁾ (NH₄-N 0.3 mg/g, 12 days)

(図3B)。汚泥の場合には、pHの影響を調べた例はない。しかし、後述するように、石灰汚泥(pH 10)を施用すると、他の汚泥施用の場合に比べて N_2O 発生量は非常に多い⁶⁾。

4.5 土壌水分と降雨

N_2O は好氣的(硝化)・嫌氣的(脱窒)のいずれの場合にも生成するため、広い水分域で発生する。土壌に窒素源として NO_3^- を添加した場合には、最大容水量(水飽和)にならないと N_2O はほとんど発生しないが、 NH_4^+ を添加した場合にはかなり乾燥状態でも発生し、かつ湿るほど量が多くなる(BremnerとBlackmer²²⁾26)。脱窒が起こる条件下では、土壌水分が高いほど N_2O/N_2 比は小さくなる³²⁾。

野外では、降雨やかん水に伴って N_2O 発生量が増加する例が多い^{33,34)}。汚泥を施用した畑土壌でも、 N_2O 発生量は降雨後に増加する^{5,16)}が、増加率は硝安施用の場合よりはるかに大きく¹⁸⁾、またかん水翌日の発生のほかに、乾燥過程でもう1度発生ピークがみられる⁵⁾(図4)。第2のピークは汚泥施用後の週の経過に伴って早まるので、土壌微生物の活性に関連していることを示唆する。なお、寒冷地に汚泥を施用した場合、凍結土壌の融解の際、 N_2O 発生が増大する¹⁹⁾。

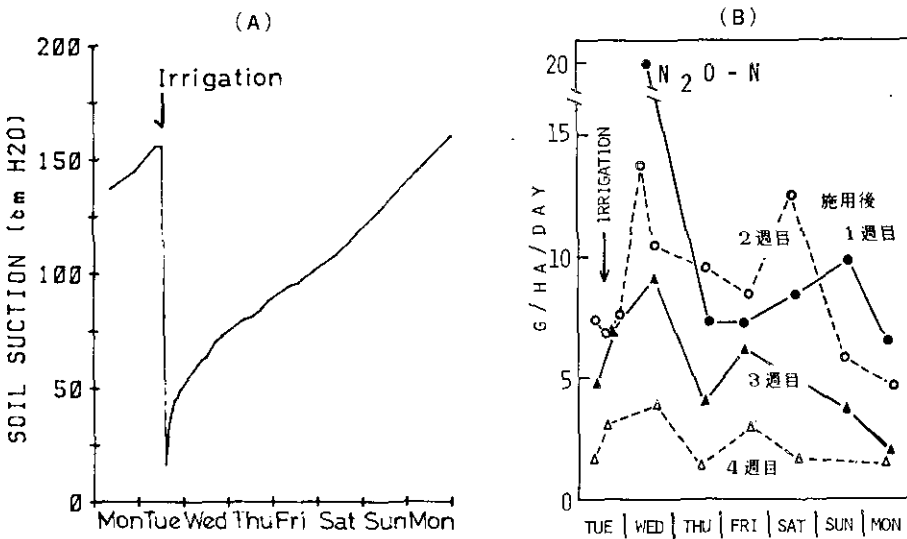


図4 かん水に伴う土壌水分と N_2O 発生速度の変化(石灰汚泥連用畑土壌⁵⁾)
 Fig. 4 Changes in (A) soil water suction and (B) N_2O flux from sludge-amended soil, as related to irrigation
 Data from Kuboi *et al.*⁵⁾

これには水分以外の要因(温度、有機物の分解等)も影響しているだろう。土壌水分が N_2O 発生に与える影響は、土壌中の O_2 濃度、水溶性有機炭素量、無機態窒素の質と量、微生物活性(数)など、多数の要因がからんでいることは言うまでもない。

4.6 湛水

水田など、湛水条件下でN₂Oの発生を測定した例は非常に少ない^{6,35-37})。そのいずれ(汚泥施用水田⁶⁾を含む)においてもN₂O発生量は非常に低く(高くとも1.5 gN/ha/d³⁵⁾、しばしば水面が大気からN₂Oを吸収する^{6,36,37}) (図5)。しかし、消化汚泥を施用した場合には一時期多量に発生することがある⁶⁾。

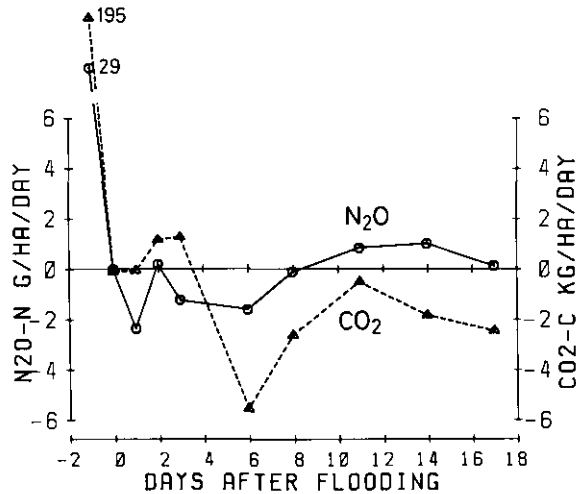


図 5 汚泥施用水田のガス吸収

Fig. 5 Changes in N₂O and CO₂ flux under submerged condition

Data from Kuboi and Hiroki⁶⁾. Limed sewage sludge was applied 7 days before flooding.

4.7 有機物・無機態窒素

有機炭素量は脱窒量³⁸⁾のみならず、畑状態におけるN₂O発生量(BremnerとBlackmer²²⁾)と非常に高い相関($r > 0.95$)をもつ。汚泥施用土壌でも、N₂OとCO₂の発生速度の変化はかなりよく対応しており^{5,6)}、N₂O発生は有機物の分解と関連が深いことを示している。また各種マニユア(牛ふん等)や植物残さを土壌に施用した場合、N₂Oの発生量はC/N比が低いほど多く、有機物の種類には依存しない(BremnerとBlackmer²²⁾)。畑状態ではN₂O発生量は土壌中の還元態窒素(NH₄⁺, 尿素)量が多いほど多く、NO₃⁻濃度には依存しない³⁹⁾。脱窒はある程度NO₃⁻が土壌中ないと進行しないが、高濃度(500 ppm以上)では低下し、その場合の脱窒産物はN₂Oが非常に多い⁴⁰⁾ (図6)。汚泥施用(畑)土壌におけるN₂Oの発生速度は、表土中のNH₄-NとNO₂-N含量と有意な相関がみられている⁵⁾。

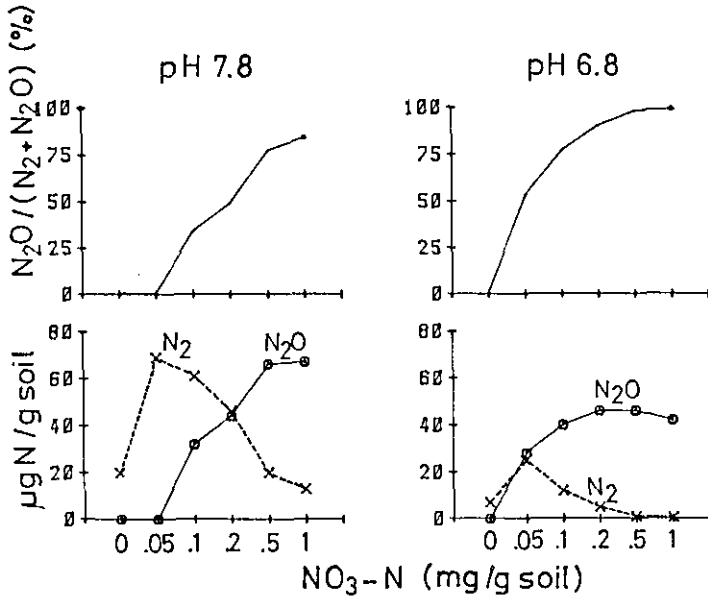


図 6 脱窒産物の硝酸濃度による変化

Fig. 6 Effect of nitrate concentration on composition of denitrified products under anaerobic condition

Data from Blackmer and Bremner⁴⁰⁾.

4.8 土層の深さ

野外やライシメーターの土壌では、土層の厚みがある点で室内実験と異なっている。土壌表面から揮散する N_2O が土層のどこから発生しているか正確に知ることは困難である。一般に土壌中の N_2O 濃度は下層ほど高く^{5,41)}、土壌下層でも N_2O が発生していることを示している。しかし、汚泥施用土壌⁵⁾でも化学肥料施用土壌³⁴⁾でも、地表からの N_2O 発生速度は表層土壌中の N_2O 濃度と相関が高く、下層における濃度はそれほど変化しない。 N_2O 発生は施用や施肥にすぐ応答するので、農耕地における N_2O の主発生源は表層土壌だろう。しかし、Goodroad と Keeney⁴¹⁾ は豪雨後に発生源が下層に移ると考えている。

5 汚泥施用が N_2O 発生に与える影響

4項で述べた各種の要因は相互に関連しあっており、また下水汚泥はその成分、性状とも複雑であるので、汚泥の種類や施用量が N_2O 発生に与える影響を一般化するのは困難である。類推をまじえ、少ないデータからまとめると、次のことがいえる。

5.1 汚泥種

汚泥種の違いが N_2O 発生に与える影響は、主に易分解性有機物の量、C/N 比、pH 等の相違に

よと思われる。3種類の汚泥を沖積土壌に施用（163 kgN/ha）した実験⁶⁾では、全窒素量が少なくC/N比が高い石灰汚泥区からの N_2O 発生量が非常に多い。石灰汚泥のpHは12もあるので、この場合、pHが大きく影響している。また消化汚泥区からの発生量は低かったが、この汚泥には易分解性有機物が生汚泥より少ないためであろう。

5.2 施用方法

汚泥の施用法の違いが N_2O の発生に与える影響は明らかにされていない。しかし NH_3 発生の場合²⁾から類推すれば、汚泥を堆積したり、液状汚泥を散布した場合には、土壌にすぎ込んだ場合より発生量が高まる可能性がある。

室内実験⁴²⁾によれば、汚泥施用土壌からの N_2O 発生は嫌気状態で促進される。また我々の実験でも汚泥の施用による N_2O の発生は多湿状態⁶⁾の方が完全な畑状態⁵⁾よりはるかに多いので、施用方法の影響について今検討する必要がある。

5.3 施用後の発生パターン

一般に N_2O 発生は窒素源を施用することによって促進され、次第に減衰する。最大発生速度は施用後1日～2週間の間に記録されることが多い^{5,6,39,43,44)}(図7)が、前項で述べたとおり、気温や降雨等の要因で変動する。

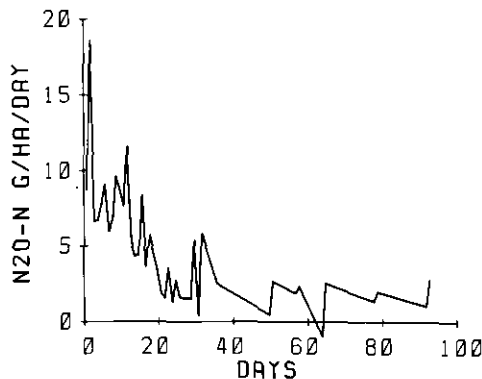


図 7 汚泥施用後の N_2O 発生速度の変化(火山灰畑土壌)

Fig. 7 Changes in N_2O flux from a volcanic-ash soil after the application of limed sewage sludge⁵⁾

Guenzi ら⁴⁵⁾は、牛ふん施用直後の脱窒産物には N_2 より N_2O の方が多くことを ^{15}N トレーサーを用いて示している。Keemey ら²⁷⁾も同様の結果を得ている。

汚泥施用土壌からの N_2O 発生の特徴は、発生が長期にわたって持続することである。火山灰畑土壌に施用した場合、施用後半年たっても1～3 gN/ha/dの発生速度を保持している⁵⁾。

5.4 施用量・連用回数

Mosier ら¹⁸⁾は、嫌気硝化汚泥をほ場に施用し、2回目連用時に N_2O の発生を調べている。16.7 t/ha(287 kgN/ha)区からの発生量(平均 7 gN/ha/d)に比べ、その5倍量施用区からの発生量は4倍弱であった。Goodroad ら¹⁹⁾も下水汚泥を2年連用し(22 t/ha=440 kgN/ha)し、両年にわたって N_2O 発生を調べている。日平均発生量は初年度 1.6、2年目 7.8 gN/ha であり、連用により発生量が増加している。しかし、他の処理区でも初年度の発生量は2年目のそれと比べてかなり低いので、はっきりしたことはいえない。一方、石灰汚泥を火山灰畑土壌に連用(50 t/ha=1850 kgN/ha)した土壌について、5、7、8回目の連用時に N_2O 発生を調べた結果⁵⁾をみると、5回目の発生量が7、8回目のそれよりはるかに高くなっている。この実験では、 CO_2 発生量は連用に伴って減少し、各種微生物数も減少している⁴⁶⁾ので、 N_2O 発生量も連用によって低下している可能性がある。

6 汚泥施用土壌からの N_2O 発生量

汚泥施用による N_2O 発生環境影響を論ずるためには、施用後の一定期間内に発生した N_2O の総量を、化学肥料やふん尿などを施用した場合と比較する必要がある。土壌からの N_2O 発生はさまざまな要因によって変化する(4項)ので、同一条件下で汚泥を含む各種の窒素源を施用した実験でないとは比較は困難である。しかし、そのような完備した実験はない。

表2には、いくつかの文献値をまとめてある。表中で発生量単位は g/ha に統一してあるが、原報では必ずしも同じではないことを断わっておく。測定期間や窒素としての施用量がまちまちであり、直接比較することは困難だが、糞尿や植物残さは汚泥よりも N_2O 発生量が多いことがうかがえる。水田土壌に汚泥を施用した場合(湛水前)の値が高いのは、発生量の特により高い施用直後の値であることを考慮する必要がある(かなり多量に発生していることは確かだが)。このデータを除けば、施用窒素 1 kg・ha・d 当たりの N_2O 発生量は化学肥料の方が汚泥より高い。しかし、汚泥に含まれる窒素のすべてが有効なわけではないので、汚泥と化学肥料の施用による N_2O 発生量の違いは、むしろ施用量を考慮しない方が現実的である。この観点から施用後1か月間の N_2O 発生量を見積もると、化学肥料では 40~1400 gN/ha、下水汚泥では 150~2000 gN/ha 程度になる。この値は施用後の時間経過に伴う発生の減衰を考慮しているが、信頼性が高いとはいえない。しかし、化学肥料と汚泥とで発生量に極端な違いがあるとは思えない。

7 環境上の問題点と対策

窒素源の土壌施用による N_2O の発生が大気環境の悪化に大きく寄与しているか否か、現時点では諸説があり、結論されていない。環境問題を論ずるには、まずデータを蓄積しなければならないし、海洋を含めた正確な N_2O 収支がとられなければならない。しかし、問題が指摘されている以上、 N_2O 発生を減らす努力はすべきと考える。

表 2 各種窒素源の施用土壌における N₂O の発生量Table 2 Amount of N₂O emitted from soil to which various nitrogen sources had been applied

N-Source	Application rate (kgN/ha)	Soil condition	Days	N ₂ O-N		Reference No.
				(g/ha)	(mg/ha/d/ kgN applied)	
NH ₃	200	Upland	120	2500	104	34
Calcium nitrate	0	Upland	25	21	—	39
	125			35	11	
	250			34	5	
Urea	125			90	29	
	250			236	38	
Ammonium sulfate	125			131	42	
	250			291	48	
Ammonium nitrate	0	Upland	42	280	—	18
	56			620	264	
	112			790	167	
	224			1140	121	
Sewage sludge	287 (×2)*			800	66	
	1436 (×2)			3040	56	
Sewage sludge	440 (×1)	Upland	153	200	3	19
	440 (×2)			205	1600	
Manure	33**		257	6100	—	
Straw	4**		249	2200	—	
Alfalfa	4**		263	3200	—	
Rye	?**		263	1600	—	
Sewage sludge (limed)	0	Upland	30	-23	—	5
	1850 (×5)			498	9	
	1850 (×7)			170	3	
	1850 (×8)			155	3	
Sewage sludge (limed) (polymer) (digested)	0	Upland	8	28	—	6
	163			490	376	
	163			340	261	
	163			210	161	
Sewage sludge (limed) (polymer) (digested)	0	Flooded	30	12	—	6
	163			9	2	
	163			55	11	
	163			141	29	

* : Repetition of application

** : tons fresh matter/ha ; 80~410kg of N as ammonium nitrate was also applied.

廃棄物としての下水汚泥は、必然的に環境中へ放出され、消化処理・埋立・焼却・土壌還元の内いずれの場合でも N_2O を放出しうる。工業的に固定された窒素を利用する化学肥料とは、この点で根本的に違う。それゆえ、土壌への施用量を減らすことは本質的な解決にはならず、むしろ施用後の発生をいかに少なくするかを考えるべきであろう。

汚泥の施用によって発生する N_2O を最小限に留めるためには、1) 植被を行い、土壌中の窒素を有効に吸収させる、2) 土壌 pH は中性から弱酸性に保つ、3) 土壌表面に散布しない、4) 水田の浄化機能を積極的に利用する、5) 硝化抑制剤の使用等により、急激な N_2O 発生を抑える、などの対策が考えられよう。ただし、これらは N_2O に限っての話であり、4) や 5) などは別の面から検討する必要があるであろう。また、汚泥の土壌処理に当たり、硝酸の流亡を限ぐために脱窒を促す場合には、土壌下層で脱窒させること、及び硝酸濃度を低く抑えることにより N_2O/N_2 比を低下させることなどが有効だろう。

繰り返し、さらに多くの研究が必要であることを強調する。

引用文献

- 1) 陽 捷行(1981): 土壌の役割—有害ガス浄化機能. 土壌の物理性, **44**, 62.
- 2) 久保井 徹・広木幹也・藤井國博(1984): 下水汚泥の施用が土壌空気組成に与える影響. 国立公害研究所研究報告, **68**, 67-81.
- 3) 久保井 徹・広木幹也・服部浩之・藤井國博(1984): 下水汚泥施用土壌における土壌空気組成と土壌微生物数との関係. 国立公害研究所研究報告, 第 68 号, 83-91.
- 4) Kuboi, T., M. Hiroki and H. Hattori: The relation of soil gas composition to numbers of soil-microbes in a light-colored Andosol applied with sewage sludge. (submitted)
- 5) 久保井 徹・陽 捷行・藤井國博・福士定雄(1986): 下水汚泥施用土壌からのガス発生 I. 火山灰畑土壌. 国立公害研究所研究報告, 第 94 号, 49-62.
- 6) 久保井 徹・広木幹也(1986): 下水汚泥施用土壌からのガス発生 II. 水田土壌. 国立公害研究所研究報告, 第 94 号, 63-78.
- 7) Sanhueza, E. (1982): The role of atmosphere in nitrogen cycling. *Plant Soil*, **67**, 61-71.
- 8) Galbally, I. E. and C. R. Roy (1978): Loss of fixed nitrogen from soils by nitric oxide exhalation. *Nature*, **275**, 734-735.
- 9) Crutzen, P. J. (1974): Estimates of possible variations in total ozone due to natural causes and human activities. *AMBIO*, **3**, 201-210.
- 10) Wang, W. C., Y. L. Yung, A. A. Lacis, T. Mo and J. E. Hansen (1976): Greenhouse effects due to man-made perturbations of trace gases. *Science*, **194**, 685-690.
- 11) Hahn, J. and C. Junge (1977): Atmospheric nitrous oxide: A critical review. *Z. Naturforsch.*, **32 a**, 190-214.
- 12) McElroy, M. B., J. W. Elkins, S. C. Wofsy and Y. L. Yung (1976): Sources and sinks for atmospheric N_2O . *Rev. Geophys. Space Phys.*, **14**, 143-150.
- 13) Weiss, R. F. (1981): The temporal and spatial distribution of tropospheric nitrous oxide. *J.*

- Geophys. Res., **86**, 7185-7195.
- 14) Pratt, P. F., *et al.* (Council for Agricultural Science and Technology, U.S.A.)(1977) : Effect of increased nitrogen fixation on stratospheric ozone. *Clim. Change*, **1**, 109-135.
 - 15) Crutzen, P. J. and D. H. Ehhalt (1977) : Effects of nitrogen fertilizers and combustion on the stratospheric ozone layer. *AMBIO*, **6**, 112-117.
 - 16) Liu, S. C., R. J. Cicerone, T. M. Donahue and W. L. Chameides (1977) : Sources and sinks of atmospheric N₂O and the possible ozone reduction due to industrial fixed nitrogen fertilizers. *Tellus*, **29**, 251-263.
 - 17) 建設省都市局下水道部(監修)(1984) : 下水道施設設計指針と解説-1984年版-. 日本下水道協会.
 - 18) Mosier, A. R., G. L. Hutchinson, B. R. Sabey and J. Baxter (1982) : Nitrous oxide emissions from barley plots treated with ammonium nitrate or sewage sludge. *J. Environ. Qual.*, **11**, 78-81.
 - 19) Goodroad, L. L., D. R. Keeney and L. A. Peterson (1984) : Nitrous oxide emissions from agricultural soils in Wisconsin. *J. Environ. Qual.*, **13**, 557-561.
 - 20) Freney, J. R. and J. R. Simpson (*eds.*)(1983) : Gaseous loss of nitrogen from plant-soil systems., Martinus Nijhoff/Dr W. Junk Pub., The Hague, Boston, Lancaster, 317p.
 - 21) Sommers, L. E., C. F. Parker and G. J. Meyers (1981) : Volatilization, plant uptake and mineralization of nitrogen in soils treated with sewage sludge. U. S. Dept. Commerce, National Technical Information Service, PB81-173940, 64p.
 - 22) Delwiche, C. C. (*ed.*)(1981) : Denitrification, Nitrification, and Atmospheric Nitrous Oxide. John Wiley and Sons, New York, Cheichester, Brisbane, Toronto, 286p.
 - 23) 陽 捷行(1984) : 土壌と大気間のガス交換. 土壌の物理性, **50**, 88-93.
 - 24) Yoshida, T. and M. Alexander (1970) : Nitrous oxide formation by *Nitrosomonas europaea* and heterotrophic microorganisms. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, **34**, 880-882.
 - 25) Bremner, J. M. and A. M. Blackmer (1978) : Nitrous oxide : Emission from soils during nitrification of fertilizer nitrogen. *Science*, **199**, 295-296.
 - 26) Freney, J. R., O. T. Denmead and J. R. Simpson (1979) : Nitrous oxide emission from soils at low moisture contents. *Soil Biol. Biochem.*, **11**, 167-173.
 - 27) Keeney, D. R., I. R. Fillery and G. P. Marx (1979) : Effect of temperature on the gaseous nitrogen products of denitrification in a silt loam soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **43**, 1124-1128.
 - 28) Denmead, O. T., J. R. Freney and J. R. Simpson (1979) : Studies of nitrous oxide emission from a grass sward. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **43**, 726-728.
 - 29) Matthias, A. D., A. M. Blackmer and J. M. Bremner (1979) : Diurnal variability in the concentration of nitrous oxide in surface air. *Geophys. Res. Lett.*, **6**, 441-443.
 - 30) 遠藤宗男(1983) : 近紫外線除去フィルムが土壌中の窒素の形態変化に及ぼす影響. 農業技術研究所昭和57年度依頼研究員報告書, 1-14.
 - 31) Minami, K. and S. Fukushi (1983) : Effects of phosphate and calcium carbonate application on emission of N₂O from soils under aerobic conditions. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **29**, 517-524.
 - 32) Aulakh, M. S., D. A. Rennie and E. A. Paul (1984) : Gaseous nitrogen losses from soils under zero-till as compared with conventional-till management systems. *J. Environ. Qual.*, **13**, 130-136.
 - 33) Hutchinson, G. L. and A. R. Mosier (1979) : Nitrous oxide emissions from an irrigated cornfield. *Science*, **205**, 1125-1127.
 - 34) Mosier, A. R. and G. L. Hutchinson (1981) : Nitrous oxide emissions from cropped fields. *J. Environ. Qual.*, **10**, 169-173.
 - 35) Denmead, O. T., J. R. Freney and J. R. Simpson (1979) : Nitrous oxide emission during denitrifi-

- cation in a flooded field. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **43**, 716-718.
- 36) Terry, R. E., R. L. Tate III and J. M. Duxbury (1981) : The effect of flooding on nitrous oxide emissions from an organic soil. *Soil Sci.*, **132**, 228-232.
- 37) Minami, K. and S. Fukushi (1984) : Methods for measuring N_2O flux from water surface and N_2O dissolved in water from agricultural land. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **30**, 495-502.
- 38) Burford, J. R. and J. M. Bremner (1975) : Relationships between the denitrification capacities of soils and total, water-soluble and readily decomposable soil organic matter. *Soil Biol. Biochem.*, **7**, 389-394.
- 39) Breitenbeck, G. A., A. M. Blackmer and J. M. Bremner (1980) : Effects of different nitrogen fertilizers on emission of nitrous oxide from soil. *Geophys. Res. Lett.*, **7**, 85-88.
- 40) Blackmer, A. M. and J. M. Bremner (1978) : Inhibitory effect of nitrate on reduction of N_2O to N_2 by soil microorganisms. *Soil Biol. Biochem.*, **10**, 187-191.
- 41) Goodroad, L. L. and D. R. Keeney (1985) : Site of nitrous oxide production in field soils. *Bio. Fert. Soils*, **1**, 3-7.
- 42) Chaussod, R. (1982) : Side effects of sewage sludges : Possible enhancement of denitrification. *In : The Influence of Sewage Sludge Application on Physical and Biological Properties of Soils.*, Catroux, G., P. L'Hermite and E. Suess (eds.), D. Reidel Pub. Co., Dordrecht, Netherlands, 196-205.
- 43) Ryden, J. C. and L. J. Lund (1980) : Nitrous oxide evolution from irrigated land. *J. Environ. Qual.*, **9**, 387-393.
- 44) Conrad, R. and W. Seiler (1980) : Field measurements of the loss of fertilizer nitrogen into the atmosphere as nitrous oxide. *Atmos. Environ.*, **14**, 555-558.
- 45) Guenzi, W. D., W. E. Beard, F. S. Watanabe, S. R. Olsen and L. K. Porter (1978) : Nitrification and denitrification in cattle manure-amended soil. *J. Environ. Qual.*, **7**, 196-202.
- 46) 広木幹也・藤井國博・服部浩之・久保井 徹・豊田敏治・松坂泰明・和田秀徳(1983) : 下水汚泥用土壌の微生物フロラに関する研究(1) 石灰凝集下水汚泥の多量連用が淡色黒ボク土の微生物数に与える影響. 国立公害研究所研究報告, 第46号, 1-16.

畑地における水分と物質の移動特性に関する研究

(I) 観測結果と検討

Study on Characterization of Water and Mass Movement in Field

(I) Observed Result and Its Discussion

村岡浩爾¹・平田健正¹・岩田 敏¹

Kohji MURAOKA¹, Tatemasa HIRATA¹ and Satoshi IWATA¹

要 旨

畑地施用された肥料成分の地下浸透と環境影響評価を目標に、長野県諏訪郡原村にあるモデル畑地で1982年3月から1983年4月にかけて地下水の水位と水質を観測した。本報告は試験地の概要と観測結果をまとめたものであり、得られた結果は以下のとおりである。

1. 観測井掘削時に得られた地質柱状図と現場透水試験から、地下水流動層厚を推定した。これによると、試験地上流端で12m、下流端で5mとなり、その間漸減していると考えられる。

2. 肥料成分の地下浸透の影響は、浅層地下水に含まれるNO₃-N濃度の変化に見ることができる。すなわち、畑地に入るとNO₃-N濃度は急激に増加し、最大92mg/l、年間変動幅も30mg/lと大きい。

3. 水質の鉛直分布について、深さとともに濃度減少するのはInorg-N, Cl, SO₄, Ca, Mgであり、増加するのはPO₄-PとSiO₂である。NaとKには目立った変化は認められない。特にInorg-Nは難透水層上面付近で急激に減少し、この結果からも試験地内浅層地下水の流動層厚が確認できる。

Abstract

Groundwater quality and groundwater level were examined at about thirty shallow wells in experimental upland field through April 1982 to March 1983. Experimental basin located in Hara-mura, Nagano Prefecture is 926.5 m long and 114.2 m wide, and has an area of 10.6 ha. This paper describes outline of the experimental basin and observed results.

Based on vertical profile and permeability testing in the field, aquifer depth is estimated to be 12 m at the upper end and 5 m at the lower end in the experimental basin, and seems to decrease gradually along the streamwise direction. Vertical profile of NO₃-N concentration in aquifer is approximately uniform, while NO₃-N

1. 国立公害研究所 水質土壌環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Water and Soil Environment Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

concentration diminishes rapidly near the upper surface of aquiclude. This result shows that groundwater in the experimental basin flows with the uniform concentration of $\text{NO}_3\text{-N}$ in the vertical direction.

$\text{NO}_3\text{-N}$ concentration in shallow groundwater is 5.5 mg/l in the upper region about 2km away from the experimental basin. However, it starts to increase in the field, and the maximum value in the experimental field is up to 92mg/l as illustrated in Fig. 5. We can see the affection of fertilizer application on groundwater environment in this $\text{NO}_3\text{-N}$ behavior.

Key words : Upland field, Fertilizer, Infiltration, Groundwater, Groundwater pollution, Nitrogen

1 研究目的と意義

下水汚泥には肥料成分と有機物が含まれ、その利用法として農地施用が考えられている。農地には現状でも多量の肥料が供給されており、その一部が流出してもかなりの量となり、陸水水質に及ぼす影響は大きい。水田については過度の肥料に由来する汚濁型水田がある一方、浄化型水田のあることも報告されている¹⁾。これに対し、畑地では土壌の透水性が良く、多量の施肥に原因する硝酸態窒素の汚濁負荷源となりやすいことが指摘されている²⁾。

従来、農地からの肥料成分の流出について、ライシメーターを用いた鉛直浸透系の実験はしばしば行われているが、多くは肥料の有効利用や生産力の維持・増進に主眼が置かれている。そして施用された肥料の農地からの流出とその環境影響を水収支・物質収支の両面から検討された研究例は少ない³⁾。中でも畑地では、降雨やかんがい水はいったん地中に浸透し、地下水として排水されるため集水域が判然とせず、その評価を難しくしている⁴⁾。そこで、畑地施用された肥料の地下浸透と環境影響評価を目標に、高原野菜の代表的産地でもある長野県諏訪郡原村にある畑地を対象として、栄養塩及び陽イオン物質を中心に1982年4月から1983年3月まで現地調査を行った。さらに観測資料を基に地下水流動系をモデル化し、畑地内の水収支と物質収支を計算した。本報告ではモデル畑地の概要と観測結果について述べ、水収支と物質収支については第2報⁵⁾に譲る。

2 モデル畑地の水文・地質特性

2.1 モデル畑地の概要

調査対象地は南八ヶ岳山麓のほぼ中央部、茅野市街から南東約7.5 kmに位置し、標高はおおよそ1000 mから1050 mの範囲にある。畑地面積は10.6 ha(長さ926.9 m, 平均幅114.2 m)で長方形に近く、傾斜角は2.8度である。モデル畑地の概略を図1に示す。

この畑地内にかんがい用水に使われた約20本(深さ3~6 m)の既存の井戸群があり、図中畑地中心線に沿った10本の井戸を●印で示している。畑地にはセルリー、レタス、ハウレン草な

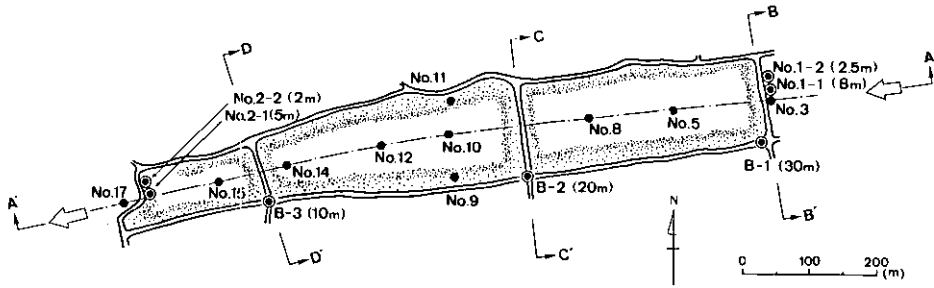


図 1 試験地の概要と観測井群

Fig. 1 Outline of experimental basin and well sites

どの高原野菜と花き類が多く栽培されているが、現在、かん水はすべて八ヶ岳山麓に掘削された深井戸から供給されている。既存井は使用されていないが、水の交換が良いので浅層地下水の水質調査には好適である。

これらの井戸群に加え、畑地の水理地質や地下水水質の鉛直構造を調べる目的で、当研究所で新たに7本の観測井(図中⊙印)を建設した。すなわち、モデル畑地上流端に深さ8mと2.5m(No. 1-1と1-2)、下流端に5mと2m(No. 2-1と2-2)及び畑地長手方向に沿った30m, 20m, 10m(B-1, 2, 3)の観測井である。なお本観測井では所定の位置にストレーナを設け、このストレーナの上面と下面をペントナイトとガラスビーズの混合物で綿密にシーリングを行い、正確に所定位置の地下水が採取できるよう工夫されている。これらの井戸群で地下水の水位と水質調査を行った。

2.2 水文気象

表1は諏訪測候所で観測された月平均気温と月降水量を1979年から1982年までの4年間にわたって平均した結果である⁶⁾。年降水量は1447mmであり、全国平均値に比べ200mm程度少ない。調査期間(1982年4月から1983年3月)中の総雨量は1532mmであり、多雨であった。また例年調査地では12月中旬から3月下旬までは降雪に覆われている。

表 1 月平均気温と月雨量(諏訪測候所⁶⁾, 1979年から1982年)Table 1 Mean temperature and total rainfall in month (Suwa⁶⁾, 1979-1982)

Month	Jan.	Feb.	Mar.	Apr.	May	Jun.	Jul.	Aug.	Sep.	Oct.	Nov.	Dec.	Mean value
Rainfall (mm)	35.8	41	83.5	126.5	107.0	143.5	274.4	201.9	194.4	98.2	121.3	19.8	1447 (mm/y)
Temperature (°C)	-2.0	-1.3	3.1	8.7	14.6	19.0	21.4	22.3	18.1	12.2	6.9	1.3	10.4

2.3 観測井ボーリングと地質

調査地に分布する地質は既存の地質図や現地踏査から見て、南八ヶ岳火山群の安山岩、泥流堆積物と火山碎屑岩類の2次堆積物及び砂礫層から構成されていると考えられる。これらの地質構造をより詳細に調べるため、観測井掘削時に得られたボーリング資料と表層付近の地質状況を補足するため実施した20点のハンドオーガボーリング資料から、試験地の地質縦(断面A-A'),横(断面B-B')断面図を描くと図2となる。先述したように、山麓斜面を構成する地層は八ヶ岳噴出物の安山岩質凝灰角礫岩(T_b)を基岩とし、その上部を礫層(gr₁, gr₂)や火山灰質粘土層(tf₂)・砂質火山灰層(tf₁)が覆っている。また表層付近は厚さ0.5~1.0mの風成ロームとなっており、この土壌は表層多腐植質黒ボク土に分類される。

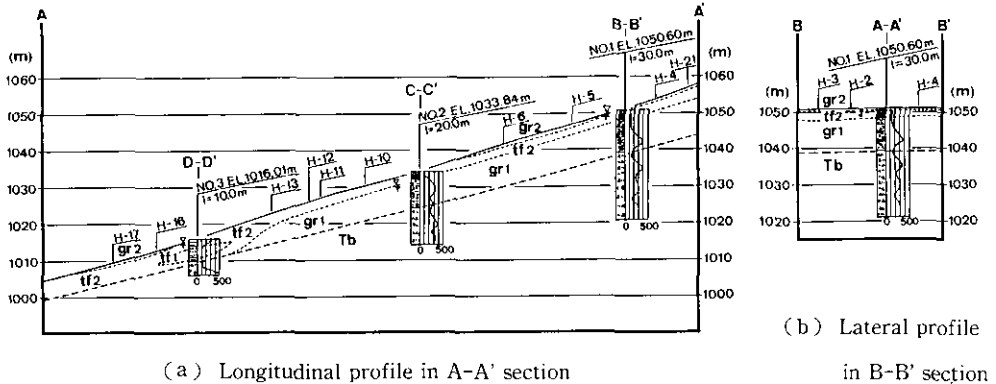


図 2 試験地の地質縦・横断面図

Fig. 2 Geological profile in longitudinal and lateral direction in experimental basin

基岩は試験地最上流端のB-B'断面で地表面下11.7m, C-C'で9.7m, D-D'断面で6.4mに現れる。この地質特性から見る限り、基岩は難透水層を構成し、浅層地下水は主にこの基岩上の帯水層を流動していると考えられる。断面B-B'の地質横断面図は地形図と地質踏査から推定された結果であるが、地質はほぼ平行に分布しており、地下水は比較的単純なパターンで畑地長手方向に沿って流動していると予想される。

2.4 現場透水試験

地下水流動は一般にダルシー則⁷⁾で記述されるが、この時透水係数は計算結果を左右する最も重要なパラメータとなる。重要なパラメータであると同時に、同じ地質構造であっても1オーダー程度の変動は常に見られる不確定な値でもある。本研究では地下水流動をより精度良く見積もるため、現場透水試験を行い、透水係数を求めた。

透水試験は注入法によった。すなわち、観測井孔内に注水し、注水後の地下水位の経時変化を

記録する。各計測時の水位と初期水位との差の対数を取り、その時間変化量から透水係数を求めた。結果は図3に整理されている。

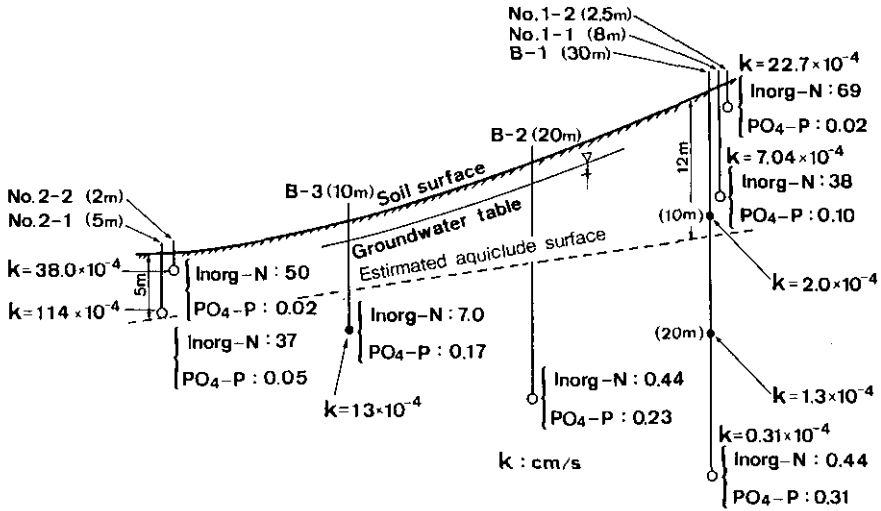


図 3 透水係数と推定地下水層

Fig. 3 Permeability and estimation of permeable layer

まず基岩より上方にある透水係数 k (cm/s) を見ると、試験地上流端 (No. 1-1 と 1-2) では $7.04 \times 10^{-4} \sim 22.7 \times 10^{-4}$ 、下流端 (No. 2-1 と 2-2) では $38.0 \times 10^{-4} \sim 114 \times 10^{-4}$ の範囲にある。これに対し、基岩中に位置する B-1 20 m と 30 m 深、及び B-3 10 m 深では k は $1.3 \times 10^{-4} \sim 0.31 \times 10^{-4}$ となり、基岩上方の値に比べ 1~2 オーダ小さい。これらの結果から、基岩上面を難透水層上面と見なし、同図に推定難透水面が描かれている。この根拠は後述する Inorg-N の鉛直分布特性からも裏付けられる。

同図から、浅層地下水の層厚は試験地上流端で 12 m、下流端で 5 m となり、その間漸減していると見られる。一方地下水層内の透水係数は流程方向に増加していると予想される。

3 地下水の水位変動

畑地内浅層地下水の水位と水質調査は月 1 度の頻度で行い、これらの定期調査資料は全て長野県農業総合試験場の観測結果⁹⁾を用いている。図 4 は調査期間中の日雨量とモデル畑地中央部に沿った地下水位の変動を描いている。降雨資料は長野県農業総合試験場原村試験地の観測値である。同図より、畑地中央部の No. 10 と下流端 No. 17 の資料に水位変化はほとんど認められない。この内 No. 17 の場合は、図 3 にあるとおりこの付近の透水係数は大きく、地下水も速く流れるため水位変化が小さくなったと考えられる。一方 No. 10 については、周囲の井戸で変動が観測され

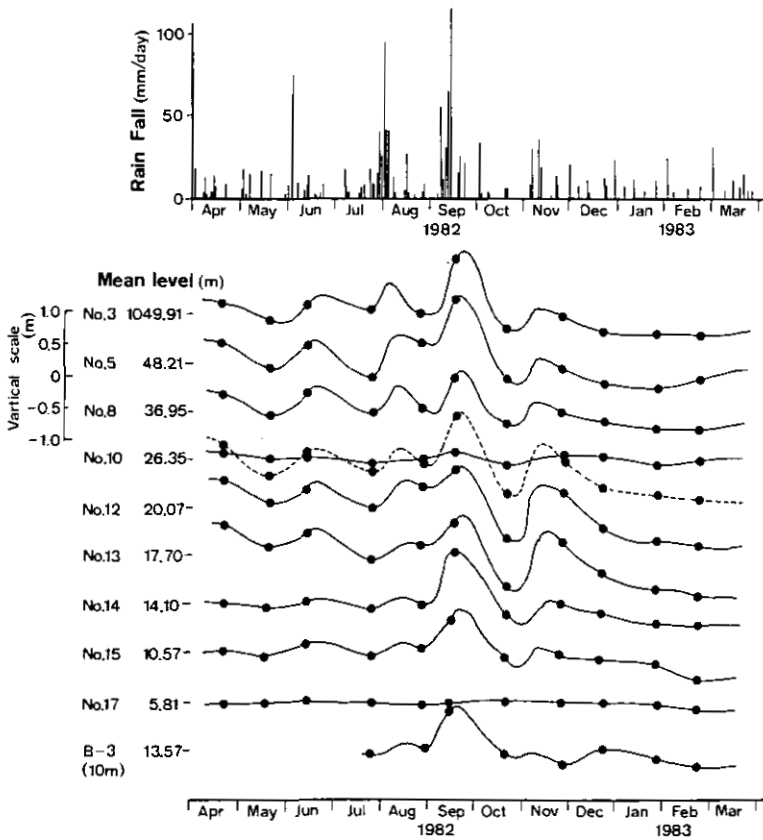


図 4 日雨量と地下水位変動（長野県資料⁸⁾）

Fig. 4 Relationship between daily rainfall and variation of groundwater level from Nagano Pre.⁸⁾

ているため、何が異物が投げ込まれ、目詰まりによって正常に水位が応答しなくなった結果と思われる。そこで No. 10 周辺の 4 本の井戸 (No. 8, 9, 11, 12) の平均値を No. 10 の水位変動と見なし、図中に点線で描いている。概して、地下水位は降雨に対してある時間遅れを持ちながら、ほぼ同一位相で変動していることが分かる。また年間最大変動幅は No. 9 で 1.63 m、最小は No. 17 で 0.13 m であった。

4 水質特性

4.1 水質分析

月 1 回の定期調査では、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 T-N 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 、 T-P 、 Cl 、 Ca 、 Mg 、 Na 、 K 、 pH 、電気伝導度、 COD の 13 項目を分析対象とした。定期調査に加え、当研究所でも独自に 1982 年 3 月、11 月、1983 年 5 月、7 月、11 月の計 5 回地下水位と水質調査を行っている。このときの

水質分析は $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 、 Cl 、 SiO_2 、 SO_4 、 Ca 、 Mg 、 Na 、 K の11項目である。

4.2 水平方向の水質分布

畑地に供給された肥料によって、どの程度地下水の水質が変化するか、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度について調べて見よう。図5はモデル畑地の更に上流側も含め、1年間の $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度の最大値と最小値をプロットしている。当研究所で観測された5回の結果もほぼこれらの変動内におさまっている。図中、畑地外 No.1 の $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度が最も低く、最大7 mg/l、年間変動も3 mg/l と小さい。一方、畑地に入ると $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度は急激に高まり、モデル畑地内の最大濃度は No. 10 の92 mg/l となっており、年間変動も最大30 mg/l と大きい。

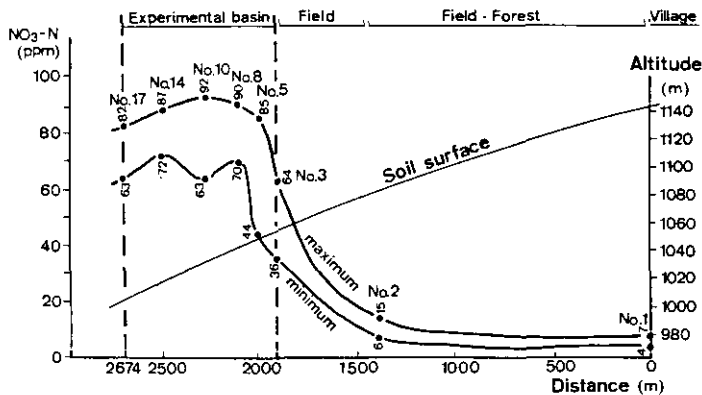


図 5 $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度の空間的变化(長野県資料⁹⁾, 1982年4月から1983年3月)

Fig. 5 Spatial variation of $\text{NO}_3\text{-N}$ concentration from Nagano Pre⁹⁾. April 1982 - March 1983

次に、試験地内6地点の $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度の季節変化を図6に示す。図中、1982年11月に当研究所で行った深叢寺井戸水(試験地から東方0.6 km)と原村水道水(同1.5 km)の値も比較のため載せている。同図から試験地上流端に位置する No. 3 の濃度が最も低い。しかし、季節によって流程方向に必ずしも濃度が高まるとは限らない。地下水流動系で物質拡散があり、地下水流量の変化で濃度が変わることもあるからである。

$\text{NO}_3\text{-N}$ も含めて、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ と Cl 濃度の試験地内流程方向変化を図7(a)に、金属元素を図7(b)に示す。いずれも各地点の年平均値をプロットしている。同図から、 $\text{NO}_3\text{-N}$ と Cl 濃度は流程方向に増加しているようである。 $\text{NH}_4\text{-N}$ にはほとんど変化はなく、 $\text{PO}_4\text{-P}$ は濃度自体は低い、変動幅は大きく明確な傾向は認め難い。また金属元素については、 Ca 、 Mg 、 Na は流程方向に増加傾向があり、 K には明確な傾向は見られない。

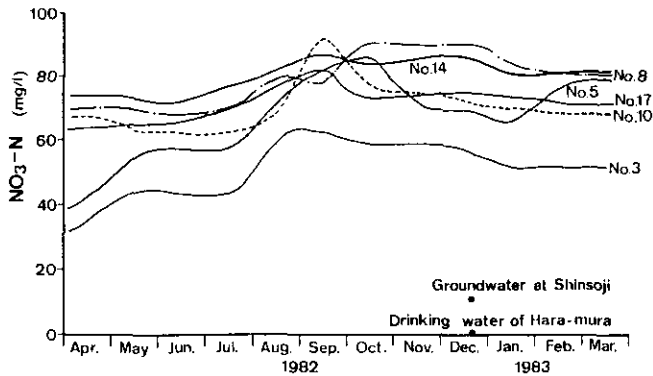


図 6 試験地内の $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度の季節変化 (長野県資料⁸⁾)
 Fig. 6 Seasonal variation of $\text{NO}_3\text{-N}$ concentration in experimental basin from Nagano Pre.⁸⁾

ここで試験地内全測点の年平均値は $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度で 0.011 mg/l , $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度で 71.7 mg/l である。また当研究所観測値から $\text{NO}_2\text{-N}$ 濃度は 0.007 mg/l であることから, Inorg-N の大部分は $\text{NO}_3\text{-N}$ で占められることになる。

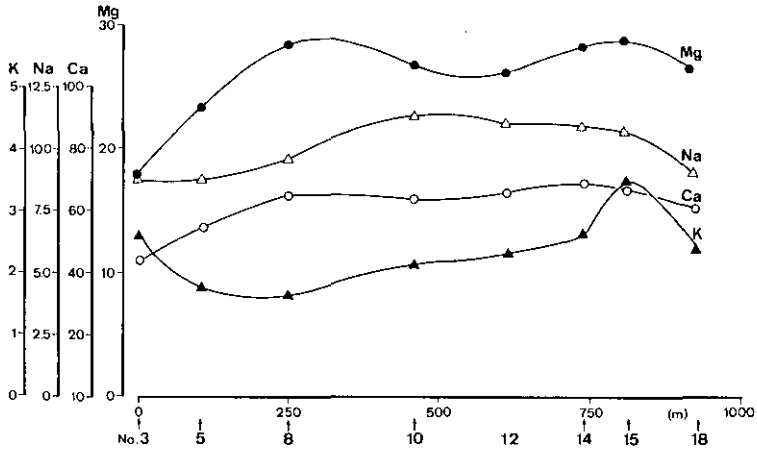
4.3 鉛直方向の水質分布

図 8 は地下水水質の鉛直方向変化を示している。試料は当研究所の建設した 7 本の観測井から採取し, 1982 年 3 月から 1983 年 11 月にかけて実施した 5 回の観測値の平均値である。同図から, 深さ方向に濃度減少が見られるものに Inorg-N , Cl , SO_4 , Ca , Mg がある。特に, Inorg-N は難透水層上面付近で急激に減少している。これは難透水層より上方と下方における地下水流動の違いを反映したものと考えられ, Inorg-N の鉛直分布特性からも図 3 にある浅層地下水の流動層厚が確認できる。これに対し, 深さ方向に増加するものは, $\text{PO}_4\text{-P}$ と SiO_2 であり, Na と K には目立った変化は認められない。

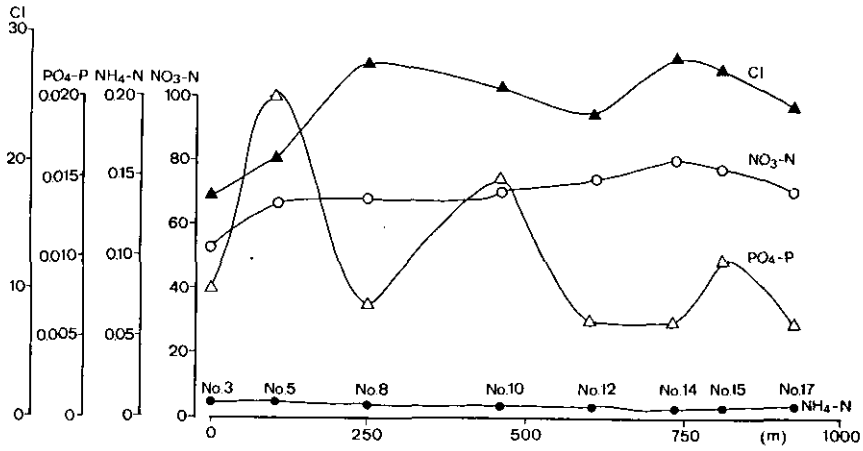
これらの観測と並行して, 浅層地下水内の鉛直方向水質変化も 1983 年 11 月に既存の井戸で調べた。対象井戸は No. 3 と No. 17 (いずれも水深 3 m 程度) であり, 上, 中, 下層から試水を採取した。結果は $\text{NO}_3\text{-N}$ について言えば前者で $64.1, 61.6, 62.0 \text{ mg/l}$, 後者で $70.0, 62.3, 74.6 \text{ mg/l}$ であり, 他の水質も含めて著しい差異のないことを確認している。

4.4 観測結果の考察

畑地施用された肥料成分の地下浸透の影響は, 畑地内浅層地下水に含まれる $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度の変化に顕著に現れている。すなわち, 畑地に入ると $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度は急激に増加し, 最大 92 mg/l にもなる。また試験地内で $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度の季節変化や流程方向変化も得られているが, これらの濃度値



(a) Nutrient matters and Cl concentration



(b) Metals

図 7 水質の流程方向変化 (長野県資料⁸⁾, 1982年4月から1983年3月)
 Fig. 7 Streamwise variation of groundwater quality from Nagano Pre⁸⁾, April 1982 - March 1983

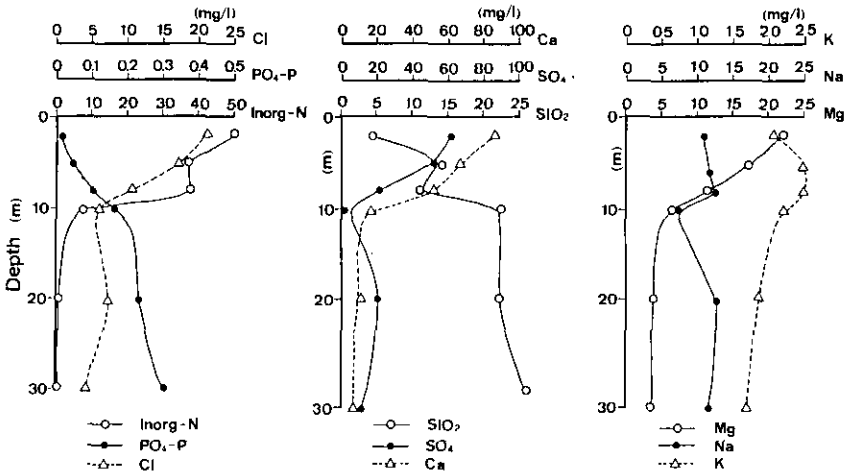


図 8 水質の鉛直分布
 Fig. 8 Vertical profile of groundwater quality

から直ちに肥料成分の地下浸透や環境影響を評価することはできない。あくまでも水収支と物質収支に基づき、肥料成分の地下浸透量や流出量を明らかにする必要がある。これについては第2報で述べる。

一方、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度の鉛直分布を見ると、難透水層の上方と下方で値が大きく異なっている。これは試験地内浅層地下水は主に難透水層上方の帯水層を流動している証拠である。また既存井内には $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度の鉛直分布に大差なく、したがって流程方向のある断面内では鉛直方向にはほぼ一様濃度で流動していると考えられる。

謝 辞

この調査研究は、環境庁の土壤環境保全基礎調査検討会の作業の一環として選ばれた当該畑地を長野県農業総合試験場が調査するに当たって、調査をより充実させるため本特別研究のプロジェクトに合わせて観測施設の補充を行い、長野県の作業と並行して調査を行った結果に基づいている。したがって水位観測等いくつかの基本資料の一部は長野県の測定値を採用していることを断わり、この便宜を計って頂いた長野県農業総合試験場の関係者に謝意を表する次第である。

引用文献

- 1) 高村義親・田淵俊雄(1977)：水田肥料の流出と陸水の富栄養化。日本河川水質年鑑，日本河川協会編，山海堂，861-871.
- 2) 田淵俊雄(1978)：霞ヶ浦の水質汚濁(II)．一流入負荷と汚濁源．水利科学，22(5)，49-63.
- 3) 高村義親・鈴木誠治・古賀康夫・田淵俊雄(1983)：湛水土壤ライシメーターにおける硝酸態窒素および塩素イオンの動向と収支について．日本土壤肥料学会誌，54(1)，37-44.
- 4) 小川吉雄(1980)：畑地からの窒素の流出に関する水文学的考察．土壤の物理性，41，68-79.
- 5) 平田健正・村岡浩爾・岩田 敏(1986)：畑地における水分と物質の移動特性に関する研究(II)．水収支・物質収支のシミュレーション．国立公害研究所研究報告，第94号，105-117.
- 6) 気象庁(1979-1982)：気象月報.
- 7) 例えば昭和60年度版水理公式集(1980)．土木学会編，技報堂，145-147.
- 8) 長野県資料(1983)：環境庁土壤環境保全基礎調査検討会資料(内部資料)．

畑地における水分と物質の移動特性に関する研究
(II) 水収支・物質収支の数値シミュレーション

Study on Characterization of Water and Mass Movement in Field
(II) Numerical Simulation of Water and Mass Budget

平田健正¹・村岡浩爾¹・岩田 敏¹

Tatemasa HIRATA¹, Kohji MURAOKA¹ and Satoshi IWATA¹

要 旨

畑地施用された肥料成分の地下浸透量を現地資料から検討した研究例は少ない。ラインメーターを用いた鉛直浸透系での実験はあっても、現地で水分と物質の鉛直挙動を逐次追跡することは極めて困難である。そして現地で得られる最も確かな資料は地下水位と水質であり、これらの観測値が反映されるよう地下水流動系をモデル化した。このモデルを長野県諏訪郡原村にあるモデル畑地に適用し、水収支と物質収支を求めた。対象期間は1982年4月から1983年3月までの1年間であり、計算は旬単位で行った。

本モデルでは鉛直浸透系における水分と物質の挙動をブラックボックスとしており、地表面に到達した降雨やかんがい水を直接扱うことなく鉛直浸透量を評価できる点に特徴がある。その結果、いくつかのModelのうち、ある幅を持つものの、Model 4によると年間354 mmの水分が鉛直浸透することになる。またPとKの浸透量は少ないものの、N成分の浸透量は279 kg/ha/yにもなる。この値は施肥量のほぼ1/2に相当し、面源負荷の一つとして、今後畑地にも注目する必要があることを示唆している。

Abstract

Affection of fertilizer application on groundwater environment is discussed on the basis of the numerical simulation of water and mass budget. In order to determine water and mass budget in the experimental field previously described in Part I, groundwater flow system was modeled, and calculation was carried out every ten days through April 1982 to March 1983. Vertical behavior of water and mass in the soil was treated as the black-box, and we can estimate their total amounts of infiltration without consideration of precipitation and irrigation water.

Several models based on the observed permeability in the experimental field were provided for numerical analysis, and Model 4 among them can offer most reasonable estimation to water budget as shown in Table 2. Total amount of 354 mm water per

1. 国立公害研究所 水質土壌環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Water and Soil Environment Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

a year is estimated from Model 4 to infiltrate into the groundwater body. To say about total-P and K, 0.16 kg/ha/y and 9.8 kg/ha/y go out from the field; which are only 0.1 and 3.3% of whole fertilizer loading in the field respectively. However, total amount of $\text{NO}_3\text{-N}$ infiltration is up to 279 kg/ha/y, which is approximately equivalent to half amount of whole fertilizer loading. Nitrogen outgo due to fertilizer application to the field is thought to be one of the important nonpoint sources.

Key words : Upland field, Fertilizer, Numerical simulation, Groundwater, Groundwater pollution, Water budget, Mass budget

1 はじめに

畑地には多量の肥料が供給されており、その地下浸透の影響は、第1報¹⁾で述べたようにモデル畑地内における $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度の急激な増加に反映されている。しかし、これらの濃度値をもって直ちに畑地活動の影響で地域の地下水環境が悪化したと考えるのは早計である。図1に示すように、地下帯水層から下流の土壤層を経て、河道に流出することが一般にあるからである。一方、流出してきた表流水の濃度値の過少さから、施用された肥料成分の鉛直浸透量を軽視することにも問題がある。地下水流動系で物質拡散があり、また地下水流量の増加に伴い、濃度が減少することもあるからである。あくまでも、地域の水収支と物質収支を求め、肥料の鉛直浸透量を評価する必要がある。

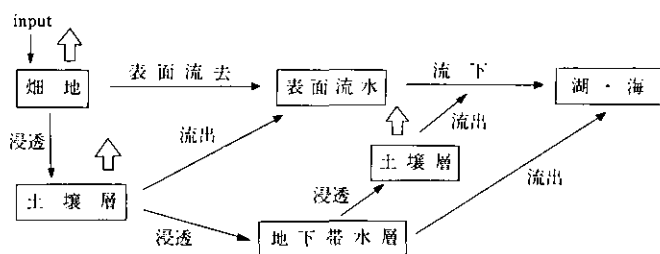


図 1 地下帯水層を経る物質移動の模式図

Fig. 1 Schematics of material movement through underground aquifer

ところで、時間の経過に伴い水分と物質は土壤中に浸透し、複雑な変換過程を経て最終的に地下水に至る。その結果として、現地地で得られる最も確度の高い資料は、地下水位と水質である。本研究ではこれらの現地観測資料を尊重し、地下水流動系をモデル化した。本モデルでは、鉛直浸透系での水分と物質の挙動をブラック・ボックスとしているが、地域地下水の流出量と貯留量の差分として、トータルな鉛直浸透量を評価することができる。このモデルを長野県諏訪郡原村にあるモデル畑地に適用し、畑地施用された肥料成分の地下浸透量を求め、肥料成分の流出による環境影響評価を行った。

2 数値モデル

2.1 水収支モデル

水分と物質の流れ図を図2に示す。この内地下水流動系をモデル化し、間接的に地下浸透量を評価する点に本モデルの特徴がある。第1報で述べた地質縦・横断面図や地形図から判断して、原村試験地は地下水理現象について比較的単純な流れ構造を持つと言える。そこで、

- (1) 試験地のの上流から下流に向う一方向流れとする、
- (2) 地下水は帯水層断面内を鉛直方向に一樣な流速で流下する、

が仮定できる1次元流れと見なすことにする。

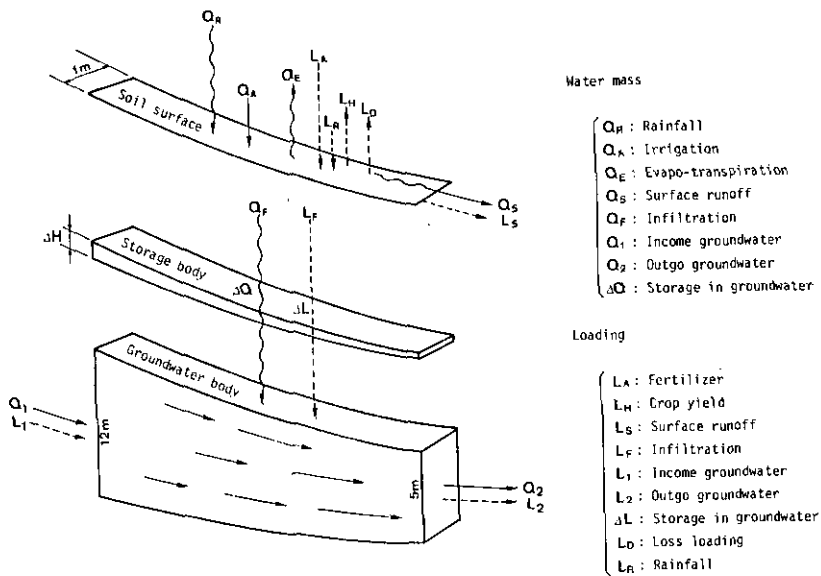


図2 水収支と物質収支の構成要素

Fig. 2 Fundamental elements of water and material budget

地下水流動は、一般にダルシー則²⁾で記述されるが、図3にある座標系を用いると、地下水流速 u は

$$u = -k \frac{dh}{dx} \quad (1)$$

連続方程式は

$$\frac{\partial h}{\partial t} + \frac{\partial}{\partial x}(u \cdot H) = q \quad (2)$$

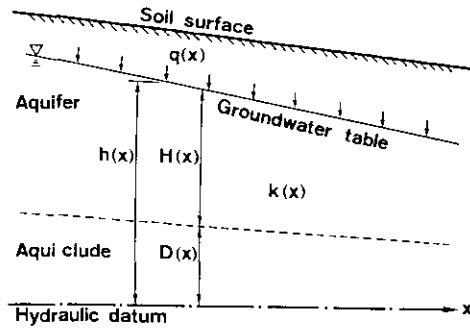


図 3 地下水流れの座標系
Fig. 3 Coordinate system in groundwater flow

となる。ここに、 k ：透水係数、 h ：基準面から測定した地下水面までの距離、 H ：帯水層厚さ、 q ：鉛直浸透量、 x, t ：位置と時間、である。ある微小区間 Δx を考えると、(2)式左辺第1項は地下水位の時間変化量を、第2項は Δx 間の地下水流量の変化量を意味し、これらの和が鉛直浸透量 q と釣り合っていることになる。今、試験地を流れ方向 (x 方向) に n 区間に分割し、 m 番目の区間諸量に添字 m を付すことにする。(2)式を差分化し、1区間 Δx 内で積分すれば、

$$q_m \cdot \Delta x = k_{m-1} \cdot H_{m-1} \cdot i_{m-1} - k_{m+1} \cdot H_{m+1} \cdot i_{m+1} + \left(\frac{dh}{dt} \right)_m \cdot \Delta x \quad (3)$$

となる。ここに、 $i = dh/dx$ の水面こう配である。このように、地下水位の時間変化から貯留量 $(dh/dt)_m \cdot \Delta x$ を考慮することにより、(3)式から鉛直浸透量 $q_m \cdot \Delta x$ を求めることができる。試験地全域については(3)式の1～ n までの和を取ることで

$$\sum_1^n q_m \cdot \Delta x = k_1 \cdot H_1 \cdot i_1 - k_n \cdot H_n \cdot i_n + \sum_1^n \left(\frac{dh}{dt} \right)_m \cdot \Delta x \quad (4)$$

となる。上流端からの流入量を $Q_1 (= -k_1 H_1 i_1)$ 、下流端からの流出量を $Q_2 (= -k_n H_n i_n)$ 、全貯留量を $\Delta Q (= \sum_1^n (dh/dt)_m \cdot \Delta x)$ 、全鉛直浸透量を $Q_F (= \sum_1^n q_m \cdot \Delta x)$ とすれば

$$Q_F = Q_2 - Q_1 + \Delta Q \quad (5)$$

となる。

2.2 物質収支モデル

物質収支については、対象とする物質濃度を C 、全浸透負荷量を L_F とすれば、(4)式から

$$L_F = C_1 \cdot k_1 \cdot H_1 \cdot i_1 - C_n \cdot k_n \cdot H_n \cdot i_n + \sum_1^n C_m \left(\frac{dh}{dt} \right)_m \cdot \Delta x \quad (6)$$

で与えられる。水収支と同様、上流端からの流入負荷量を L_1 、下流端からの流出負荷量を L_2 、全貯留負荷量を ΔL とすれば、(6)式は

$$L_F = L_2 - L_1 + \Delta L \quad (7)$$

となる。

2.3 水理諸量の決定

原村試験地は図4にあるとおり長さ926.9m、平均幅114.2m、面積10.6haである。この試験地で水収支と物質収支を計算するため、試験地を流程方向に50m間隔で19分割し、計算は毎単位で行った。

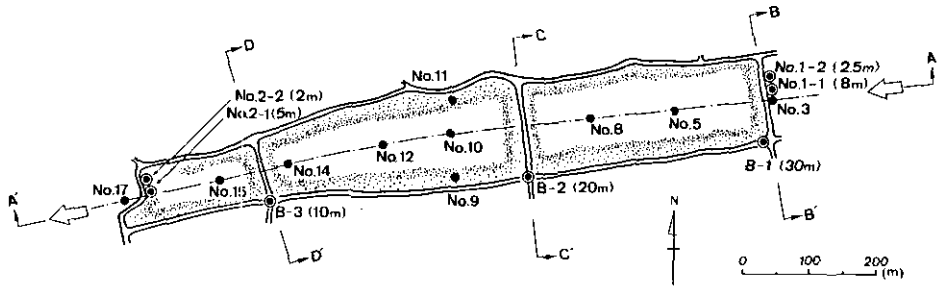


図4 試験地の概要と観測井群

Fig. 4 Outline of experimental basin and well sites

水収支を(4)式から計算するためには、各分割断面と各時間ステップごとに帯水層厚と透水係数を与える必要がある。水位は月1回の観測であり、また各断面ごとに水位資料が得られるとは限らない。そこで、地下水位については次のように標準化した。

図5は試験地中央部に沿った9地点の年間平均水位(1982年4月から1983年3月)と各地点の水位の標準偏差 $\sigma(x)$ を示している。 $\sigma(x)$ については観測井No. 13まではほぼ一定であり、それ以降直線的に減少している。また第1報で述べたように、水位はどの地点でもほぼ同一位相で変動している(第1報図4参照)。そこで、各計測時におけるこれらすべて平均した水位変動 $\xi(t)$ を求めると図6となる。 $\xi(t)$ の標準偏差 σ_0 と図5にある各地点の標準偏差 $\sigma(x)$ との比 $\beta(x) (= \sigma(x)/\sigma_0)$ を用いて、任意地点、任意時刻の地下水位 $h(x, t)$ を

$$h(x, t) = \bar{h}(x) + \beta(x) \cdot \xi(t) \quad (8)$$

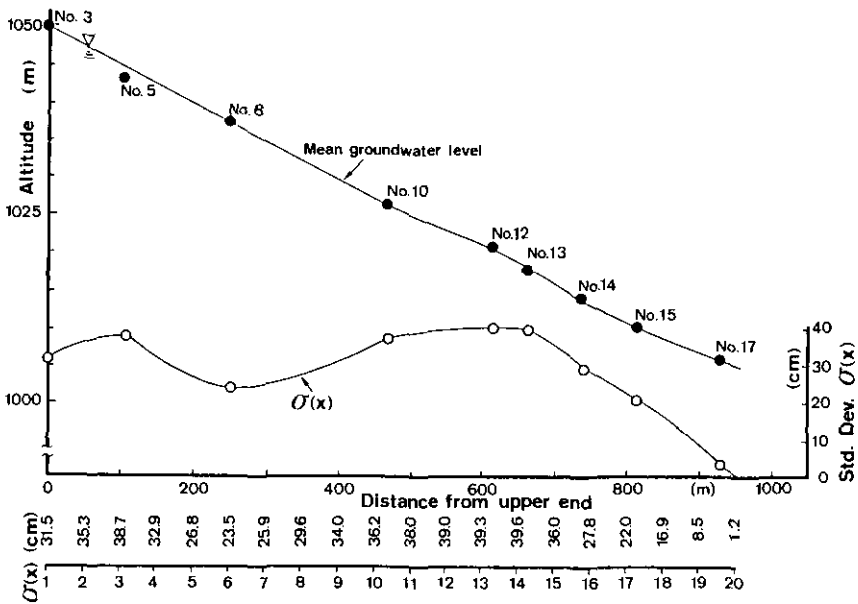


図 5 平均地下水位と標準偏差の流程方向変化
 Fig. 5 Streamwise variation of mean groundwater level and its standard deviation

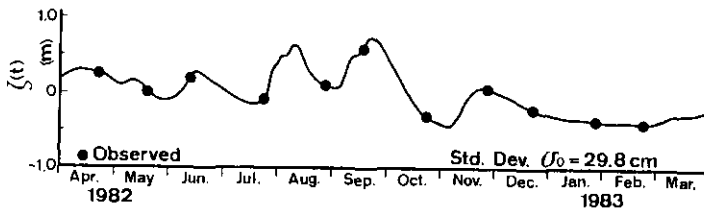


図 6 観測水位を平均して得られた標準水位変動
 Fig. 6 Normalized pattern of groundwater level variation averaged through all well sites

のようにモデル化した。また帯水層厚 $H(x, t)$ は

$$H(x, t) = \bar{h}(x) - D(x) \tag{9}$$

で与えられる。 $\bar{h}(x)$ は各地点の年平均水位、 $D(x)$ は基準面から難透水層上面までの距離であり、いずれも既知である。

次に、透水係数は地下水流動を支配する最も重要なパラメーターであるとともに、不確実な値でもある。ここでは現場透水試験の結果(第1報図3)を尊重し、表1にあるような組み合わせを考えた。表1には各モデルの上流端と下流端の値を載せており、その間の透水係数は図7のとおり

表 1 数値シミュレーションに用いられた上・下流端の透水係数

Table 1 Permeabilities at upper and lower end used in numerical simulation

	Permeability at upper end (cm/s)	Permeability at lower end (cm/s)
Model 1	1.5×10^{-3} (Observed mean value at upper end)	7.6×10^{-3} (Observed mean value at lower end)
Model 2	2.3×10^{-3} (Maximum value at upper end)	11.4×10^{-3} (Maximum value at lower end)
Model 4	0.7×10^{-3} (Minimum value at upper end)	3.8×10^{-3} (Minimum value at lower end)

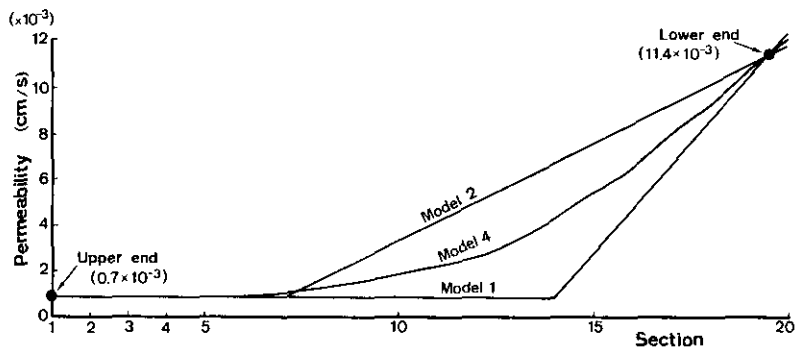


図 7 数値シミュレーションに用いられた透水係数の流程方向変化

Fig. 7 Streamwise variation of permeability used in numerical simulation.

Values at upper and lower end are based on Model 4.

りである。すなわち、Model 1では図5にある水位の標準偏差 $\sigma(x)$ のパターンを参考に、断面14までの値を一定に、それ以降直線的に増加する。Model 2では断面7まで一定に、それ以降直線的に増加する。Model 4では上流端と下流端の値を滑らかな曲線で結んでいる。

3 シミュレーション結果

3.1 水収支

地下水水位と透水係数は(8)式及びModel 1, 2, 4として与えられている。これらの資料からダルシー則を用いて地下水流入量 Q_1 と流出量 Q_2 が計算され、また地下水水位の時間変化量を考慮すれば貯留量 ΔQ が求まる。そして鉛直浸透量 Q_F を(5)式から評価し、試験地の水収支を計算すれば表2となる。ここで、 ΔQ の計算には土壌空げき率を1/3とし、期間中水位が下がったとき、正の値をとる。計算の時間ステップを旬とし、1982年4月から1983年3月までの1年間を対象とした。表2よりModel 1の場合、浸透量 Q_F はわずかながら負となり、実現象にそぐわない。またModel 2でも Q_F は28 mmと小さく、浸透量から見ればModel 4の354 mmが妥当のように思われる。地

表 2 年間水収支量
Table 2 Annual water budget

	$(Q_2 - Q_1)$ (mm/y)	ΔQ (mm/y)	Q_F (mm/y)
Model 1	111	129	-18
Model 2	158	129	28
Model 4	483	129	354

質構造や土地利用形態で浸透量は異なるが、台地では一般に1~2 mm/d と言われている⁹⁾。この結果からすると、Model 4 の354 mm はその下限に近いようである。

ここで、本モデルが実現象を正しく再現しているかどうか、地下水流速と流量から調べて見よう。図8は上流端 No. 1 から下流端 No. 20 までの代表地点で、Model 4 によって計算された地下水流速の季節変化である。帯水層厚が流程方向に薄くなり、また透水係数が増加することを反映し、流速も増大している。さらに下流端 No. 20 では他の地点と比較して変動が大きく、これは降雨に対する応答が敏感になっている結果と思われる。図9はこれらに対応する地下水流量を単位幅当たり年平均値で示しているが、流程方向に降雨及びかんがい用水量の付加を反映して流量の増加が見られる。以上の結果は、実現象に照らして矛盾しない。

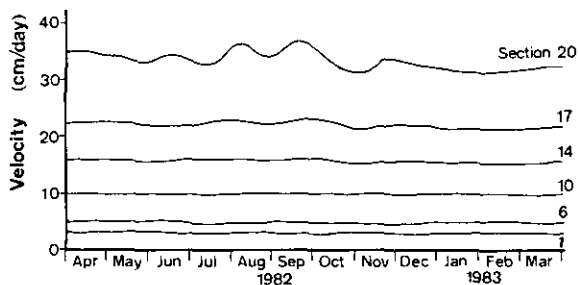


図 8 Model 4 で得られた地下水流速の季節変化
Fig. 8 Seasonal variation of groundwater velocity calculated by Model 4

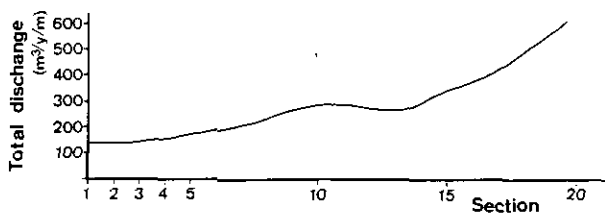


図 9 Model 4 で得られた年間地下水流量の流程方向変化
Fig. 9 Streamwise variation of annual total amount of groundwater discharge calculated by Model 4

3.2 物質収支

物質収支は(6)式から計算されるが、地下水流入濃度 C_1 と流出濃度 C_2 を与える必要がある。 C_1 については図4中のNo.3とNo.5の平均値、 C_2 にはNo.15とNo.17の平均値を用いた。また貯留濃度 ((6)式中右辺第3項の C_m) には全観測点の平均値を採用した。

$\text{NO}_3\text{-N}$ 収支を表3に整理している。Model 1 について、浸透水量 Q_F は負の値をとるが、浸透負荷量では正となっている。そして、水収支結果を反映して Model 1, 2, 4 の順に浸透負荷量は増加する。Model 4 の浸透負荷量 279 kg/ha/y はかなり大きいようにも思われるが、畑地には多量の肥料が供給されている。畑地の栽培作物は多様であり、施肥量にもばらつきが大きい。原村試験地でも、セルリー、キャベツ、レタス、ハクサイ等様々であるが、これらの施肥量の平均値を表4に示す。窒素肥料はかなり多く、Model 4 によるとほぼその半量が鉛直浸透している結果となる。

表 3 年間 $\text{NO}_3\text{-N}$ 収支量
Table 3 Annual $\text{NO}_3\text{-N}$ budget

	$(L_2 - L_1)$ (kg/ha/y)	ΔL (kg/ha/y)	L_F (kg/ha/y)
Model 1	149	79	70
Model 2	195	79	116
Model 4	358	79	279

表 4 試験地の年間施肥量 (長野県資料⁴⁾)
Table 4 Total amount of fertilizer applied to experimental basin from Nagano Pre.⁴⁾

	Chemical fertilizer (kg/ha)	Organic fertilizer (kg/ha)	Total (kg/ha)
N	357.8	149.7	507.5
P	127.4	31.2	158.6
K	212.9	82.1	295.0

次に、水収支も含め $\text{NO}_3\text{-N}$ 収支の季節変化を図10に示す。通常鉛直浸透による水量と負荷量は常に下方向 (図では正の方向) に現れると考えられるが、6月、11月、12月には上方向に移動した形をとっている。この結果は一見矛盾するようにも感じられるが、土壌中の水分や物質は時として上方向にも生じること、また期間中 (1か月間) の水量と負荷量の貯留が地下水位の変動によって正負の応答を示していることとある関係をもっている。すなわち、貯留が正のとき浸透量が負となって地下水への浸透がなく、不飽和土壌中に水分と物質が停滞する傾向を示している。

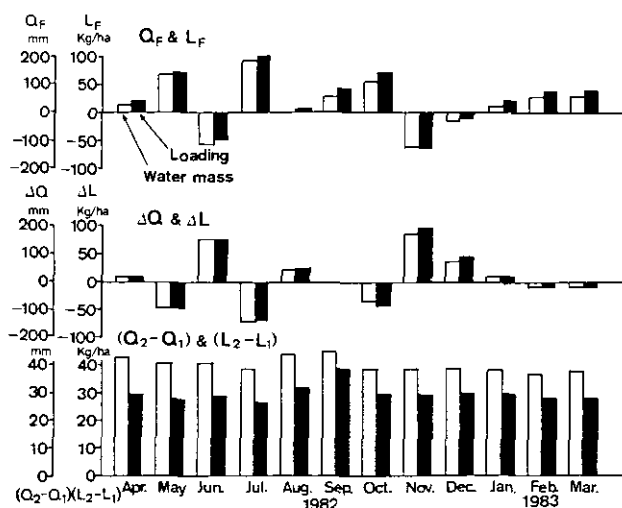


図 10 Model 4 の場合の水収支と NO₃-N 収支の季節変化
 Fig. 10 Seasonal variation of water and NO₃-N budget in Model 4

表 5 Model 4 で得られた T-P と K の収支量
 Table 5 T-P and K budget calculated by Model 4

	(L_2-L_1) (kg/ha/y)	ΔL (kg/ha/y)	L_F (kg/ha/y)
T-P	0.182	0.019	0.160
K	15.33	5.57	9.76

T-P と K についても Model 4 から収支を計算し、表 5 に示す。鉛直浸透量は T-P で 0.16 kg/ha/y, K で 9.8 kg/ha/y となっており、それぞれ施肥量の 0.1, 3.3% を占めるにすぎない。

以上の収支結果の中で、Model 4 によるシミュレーションが最も良く現象を表していると考えられるが、この結果にも推定誤差が含まれていると見なければならぬ。本モデルでは鉛直浸透系をブラックボックスとして扱っており、数値シミュレーションで直接触れていない諸量から、収支結果を確かめることも必要である。これは図 2 に掲げている降水量 Q_R , かんがい用水 Q_A , 蒸発散量 Q_E , 収穫量 L_H , 損失量 L_D 等を検討することである。

4 収支結果と検討

4.1 水収支

試験地への流入水は、降雨とかんがい水であり、流出は地下浸透、蒸発散、作物体の持ち出し、降雨時の表面流去からなる。

まず流入水量について、対象とした1982年4月から1983年3月までの総雨量は1532 mmであった。また試験地のかんがいは、すべて八ヶ岳山麓に掘削した深井戸によっているが、電力使用量から試験地への供給量を推定すると1482 mm/yとなる。ただし、この値には漏水量も含まれ、電力の有効利用率を考慮するとかなり少なくなると考えられる。そこで、畑地かんがいの単位用水量⁵⁾を参考に、4、5月と9、10月に3 mm/d、6~8月に5 mm/dとすると826 mm/yとなる。この値を採用すれば、全流入量は2358 mm/yと計算される。

一方、流出量の中で地下浸透量は数値シミュレーションで得られており、Model 4では354 mm/yである。蒸発散量は4、5月と10、11月で3 mm/d、6~9月で5 mm/d、それ以外で2 mm/dとすると⁶⁾1156 mm/yとなる。一般に年平均の蒸発散量は2~3 mm/dとされているが、ここで推定した値は上限値を60 mm程度上回っている。しかし、かんがいの実施されている畑地であることを考えれば、あり得る値と思われる。また作物体による持ち出し量⁷⁾は収穫量から推定すると0.6 mm/yとなり、他の流出成分と比較して無視し得る程度に小さい。これらの合計量は、1510 mm/yであり、流入量2358 mm/yとの差848 mm/yが降雨時の流出量と推定誤差となる。降雨時の表面流去水は、土地利用形態、先行降雨の有無や降雨強度と密接に関連し、一概に論じ得ない。さらに水収支の計算に用いた地下水位記録は月1回の観測であり、降雨後2~3日で終了する直接流出まで捉えきれていないと思われる。特に原村試験地では地表面下10 m付近に難透水層が現れ、中間流出成分も多いと予想される。畑地占有率の大きい川原や立花の観測資料³⁾によると、総雨量40~100 mmの降雨に対し、中間流出も含めた直接流出量として総雨量の10~50%の値が得られている。平均的に30%と見れば、原村試験地の直接流出量は460 mm/yとなる。これにしてもなお400 mm/y程度が不明水量として残ることになる。

ここで得られた水収支結果は、地下水流動モデルの中で想定した透水係数に大きく依存している。よく知られているように、透水係数は地下水の流動現象を支配する最も重要なパラメータである一方、同一の地質構造ではあっても1オーダー程度の変動は常に見られる不確実な値でもある。一例としてModel 4で用いた上・下流端の透水係数を2倍に設定すると差し引き流出量($Q_2 - Q_1$)は2倍966 mm/yとなり、その増分483 mm/yが地下浸透量に加算される。この値は先述した不明水量400 mm/yにはほぼ見合っている。このように水収支結果を合わせるため、任意に透水係数を設定することは極く容易なことであるが、それでは透水係数の持つ意味を軽視することになる。加えて、蒸発散量や表面流去水といった推定困難なものも含まれている。ここで求めた水収支は現地掘削した7本の観測井で現場法によって得られた透水係数に基づいており、浸透水量に推定誤差を含むものの、信頼性をもつと判断される。

4.2 物質収支

N収支について考える。試験地で降雨の水質分析は行っていないが、1977年から得られている当研究所の資料⁸⁾によるとInorg-N($\text{NO}_2 + \text{NO}_3 + \text{NH}_4$)の年平均濃度は0.9 mg/l程度であり、こ

の結果を用いると降雨による負荷量は 13.8 kg/ha/y となる。かんがい水の濃度は 1983 年 5 月と 7 月の 2 回の観測から Inorg-N で 0.54 mg/l 、かんがい水量を先述の 826 mm/y と考えると、負荷量は 4.5 kg/ha/y と計算される。N 成分の場合、窒素固定も加わるが、土壤微生物と共生窒素固定菌とは著しく異なる。後者は主に豆類の共生根粒菌に原因し、固定量として 350 kg/ha/y の報告⁹⁾もあるが、試験地では豆類は栽培されておらず、この影響は考えられない。前者の場合、Delwiche⁹⁾によると大きく見積もっても $5\sim 6 \text{ kg/ha/y}$ とされている。窒素固定量を 6 kg/ha/y と見ても、施肥以外の窒素流入量は 24.3 kg/ha/y であり、この値は施肥量 507.5 kg/ha/y の 5% を占めるにすぎず、原村試験地の窒素流入負荷量はほぼ施肥量で代表できると考えて良い。

一方流出負荷量の内、浸透負荷量は Model 4 から 279 kg/ha/y 、作物体持出し量⁷⁾は 14.5 kg/ha/y であり、残り 238.3 kg/ha/y が降雨時の流出、土壤残存量、脱窒等に依存することになる。脱窒量は土壤水分量、pH、温度等の影響を受け、あいまいな値であるが、Freney・Simpson¹⁰⁾のまとめた結果によると、ほぼ肥料の 0.5~15.7% の範囲にあり、これらの平均値は 5.4% である。これより脱窒量は 27.4 kg/ha/y となり、 210 kg/ha/y が降雨時の流出量と土壤残存量となる。

先述したように、水収支自体ある幅をもっており、窒素固定や脱窒といった定量の難しいものもある。また畑地では栽培作物が多様であり、施肥量にもばらつきが大きい。既存の資料でも、施肥量と土壤浸透量の間に関係を見いだすまでには至っていない。ここで得られた浸透量 279 kg/ha/y は施肥量の 55% を占め、既存の観測結果¹¹⁾と比べて大きいようにも思われる。ただ下水汚泥を運用した大型ライシメーターの実験¹²⁾では、供給量の約 40% が鉛直浸透する結果も得られている。

次に、P と K の浸透量はそれぞれ施肥量の 0.1、3.3% と小さい。P と K については土壤吸着が大きく、特に P では分析精度もあって、収支の細目にわたって検討することは難しい。ちなみに、降雨による流入負荷量は P で $0.03 \text{ mg/l}^9)$ 、K で $0.2 \text{ mg/l}^{13)}$ とすると、それぞれ 0.5 、 3.1 kg/ha/y 、かんがいによる負荷量は当研究所の観測値 P で 0.26 mg/l 、K で 1.6 mg/l を用いると 2.1 、 13.2 kg/ha/y となる。合計 P で 2.6 kg/ha/y 、K で 13.2 kg/ha/y であり、N 成分と同様、流入負荷量の大部分は施肥量で占められる。一方流出負荷量の内、作物体による持出しは P で 2.4 kg/ha/y 、K で 22.4 kg/ha/y であった。

謝 辞

数値シミュレーションの対象とした長野県原村畑地は、環境庁土壤環境保全基礎調査検討会の事業の一環として選ばれた試験地である。収支計算に際し、水位観測等いくつかの基本資料は長野県の測定値を用いており、この便宜を計って頂いた長野県農業総合試験場の関係者に謝意を表します。

引用文献

- 1) 村岡浩爾・平田健正・岩田 敏(1986)：畑地における水分と物質の移動特性に関する研究(I)。現地調査の結果と検討。国立公害研究所研究報告，第94号，93-103.
- 2) 土木学会編(1985)：昭和60年度版水理公式集，145-147.
- 3) 金子 良著(1973)：農業水文学，水文学講座12，共立出版，77-159.
- 4) 長野県資料(1983)：環境庁土壌保全基礎調査検討会資料.
- 5) 国土庁水資源局監修(1979)：水資源便覧，創造書房，54.
- 6) 金子 良著(1973)：農業水文学，水文学講座12，共立出版，10-15.
- 7) 科学技術庁資源調査会編(1982)：四訂日本食品標準成分表，大蔵省印刷局，196-223.
- 8) 安部喜也(1984)：霞ヶ浦流域における大気中からの栄養塩の降水量及びその経年変動について，国立公害研究所研究報告，第50号，1-10.
- 9) 堤 利夫著(1973)：陸上植物群落の物質生産Ib.-森林の物質循環-，共立出版生態学講座5-b，27-28.
- 10) Freney, J. R. and J. R. Simpson (1983) : Gaseous loss of nitrogen from plant-soil systems. Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers, 120-124.
- 11) 国松孝男・中田 均(1979)：地域農業生態系における栄養元素の動態と水域へのインパクト，「環境科学」研究報告集，B 8-12-1, 71-95.
- 12) 広木幹也・久保井 徹(1986)：畑地土壌における汚泥成分の地下浸透と植物による吸収，国立公害研究所研究報告，第94号，21-31.
- 13) 丸山明雄・岩坪五郎・堤 利夫(1965)：森林内外の降水中の養分量について(第1報)，京都大学演習林報，36, 25-39.

ライシメーター浸透水中の無機成分濃度の経時変化
— 各種土壌における化学肥料と下水汚泥の比較* —

Time Series of Element Concentration in Percolating Water of Lysimeter
— Comparison of the Effects of Sewage Sludge
and Chemical Fertilizers in the Four Soil Types* —

袴田共之¹・藤井國博^{1,2}

Tomoyuki HAKAMATA¹ and Kunihiro FUJII^{1,2}

要 旨

下水汚泥又は化学肥料を連用した4種の土壌(川砂, 淡色黒ボク土, 黒ボク土, 灰色低地土)の浸透水について元素濃度等の経時変化の特徴を検討した。元素濃度を変数とし経時的に得られた濃度等をサンプルとした主成分分析の結果を, 因子負荷量の大きい元素等の符号及び寄与率に注目して検討した。比較のために有効な元素等を抽出する基準としては, 因子負荷量が大きい上に両区間で極めて異なるものか, 又は類似する場合には寄与率が高い上に因子負荷量が大きい場合であることが指摘できた。汚泥区と化学肥料区の比較を行い, 汚泥施用に伴う各種土壌中における元素等の動態を検討する際の指標として, 各区ごとに求めた第1主成分のほか, 各土壌ごとに数種類の元素等が有効であった(表3)。

Abstract

In this study attempts were made to compare the time series of element concentration in the percolating water of a lysimeter in studies on the effects of chemical fertilizers and sewage sludge on several soil types. A lysimeter experiment was conducted with 8 treatments (4 soil types [river sand, Gray Lowland soil, Light-colored Andosol and Humic Andosol] × 2 kinds of materials [sewage sludge, and chemical fertilizers]). Data on the concentration of Cl, NH₄-N, NO₂-N, NO₃-N, PO₄, K, Na, Ca and Mg, and pH in percolating water were obtained for each of the 8 treatments in 102 determinations over a period of two years. The data were statistically analyzed using a computer program, CDA (Conversational Data Analysis

* 本論文の概要は, 昭和59年度日本土壌肥料学会関東支部大会(1984年10月, 甲府)において発表した。

1. 国立公害研究所 水質土壌環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Water and Soil Environment Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
2. 現在: 農業環境技術研究所 環境資源部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町観音台3-1-1
Present Address: Department of Natural Resources, National Institute of Agro-Environmental Sciences, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

Program), which condensed the factors to fewer characteristics by principal component analysis. The results obtained were as follows: The elements which were useful for comparing the effects of sewage sludge and chemical fertilizers were selected by using such principles as large absolute values of factor loading (the correlation of principal component score and the original element concentration) and large difference in them between the two materials, or if small differences were noted, a high contribution and large absolute values of factor loading. It was shown that not only the changes of the first principal component scores but also changes in the concentration of some elements enabled a comparison to be made of the effect of the sludge and chemical fertilizers in every soil type.

Key words : Sewage sludge, Lysimeter, Element concentration of percolating water, Principal component analysis

1 はじめに

下水汚泥(以下、汚泥と略す)を土壤に多量に還元した場合の影響について、より定量的な解析と予測が要求されている。例えば、地下浸透水中の各種元素濃度を種々の土壤について予測できれば、地下水、河川、湖沼等の環境管理に有益な情報を提供することができる。前報¹⁾では、このような課題に関し、ライシメーター実験における浸透水の測定結果から、土壤ごとに、汚泥施用の影響が現れ易い元素等を明らかにする目的でデータ解析を行い、統計的解析結果を中心に報告した。本報では、前報と同一の目的に添って、実際の浸透水中の濃度の経時変化を跡付けて、前報の検討結果を補強するとともに、汚泥区の濃度変化の特徴を化学肥料区との比較において具体的に明らかにする。

2 実験方法

実験の内容は既に報告されているが²⁻⁶⁾、概要は以下のとおりである。

8基のコンクリート製ライシメーター(4m×4m×1.2m深)を用い、4種類の土壤を二つずつのライシメーターに充てんし、それぞれに下水汚泥又は化学肥料を施用した。供試汚泥は消石灰と塩化第二鉄を脱水助剤とする生活廃水汚泥(風乾物)であり、年2回(春、秋)7.5t/ha相当量を3年間施用し、3年目(1981年)及び4年目(1982年;無施用)に、ライシメーター底部からの排水を経時的に102回採水し、9種類の元素濃度及びpH(元素濃度等又は元素等と記す)を測定した。なお、栽植は行わず、生じた植物は極力抜き取った。

得られたデータ⁹⁾は異常値の除去と対数変換を、それが必要と認められた場合に実施した後、多変量解析法の主成分分析法¹⁰⁾により、各土壤×各資材の8組ごとに、元素濃度等を変数とし経時的に得られた濃度等をサンプルとして解析を行った。

3 結果

前報¹⁾に示した主成分分析の結果を表1及び表2に再録した。前報では、この結果から、各土壌ごとに、汚泥施用の影響を考察する際に注目すべき指標を選び出した。しかし、汚泥区と化学肥料区の比較のためには、主成分スコアの他に個々の元素等の中から両区で経時変化パターンが異なるものを選び出す必要がある。

そこで、土壌ごとに汚泥区と化学肥料区の経時変化パターンの異同を各主成分スコアと元素等につき検討した結果は次のとおりであった。

表 1 主成分分析の結果：川砂及び灰色低地土における化学肥料区と汚泥区の因子負荷量*による比較

Table 1 Results of principal components analysis : Comparison between effect of chemical fertilizers and sewage sludge by factor loading* in river sand and Gray Lowland soil

Principal components	River sand						Gray Lowland soil							
	1		2		3		1		2		3		4	
	Eigen value	5.9	5.6	1.6	1.6	1.1	1.4	3.9	3.2	2.7	2.2	1.0	1.5	0.9
Materials**	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S
Cl	.78	.82	-.51	-.49	.10	-.16	.77	.20	.01	.77	.15	-.22	-.18	.15
pH	-.44	-.41	-.35	-.54	.74	.61	-.72	-.52	-.39	.47	.37	.40	.10	.28
NH ₄	.04	-.09	.70	.46	.47	.72	-.82	-.09	-.05	-.22	.25	.60	-.28	.70
NO ₂	.80	.62	-.01	.48	-.26	-.39	-.14	.29	.58	.01	.67	.70	-.29	-.27
NO ₃	.97	.95	-.10	-.09	-.04	-.13	.84	-.74	.35	.41	.02	-.30	-.09	-.03
PO ₄	-.54	-.62	.72	.66	-.17	-.09	.42	.62	-.03	.29	.47	-.37	.76	.51
K	.87	.82	.33	.33	.17	.33	-.11	.95	.93	.01	-.15	-.04	.14	.01
Na	.83	.87	.09	-.02	.39	.33	-.69	.24	.60	.67	.02	.40	.07	-.30
Ca	.94	.90	.24	.24	.05	.24	-.07	.92	.94	.22	-.13	.07	.11	-.03
Mg	.95	.90	.12	-.05	-.14	-.03	.84	-.23	.07	.80	.27	.07	-.27	-.02

* : Factor loading ≥ 0.7 ; : 0.5~0.69

** C : Chemical fertilizers, S : Sewage sludge

3.1 主成分スコアによる比較 (図1)

川砂：第1主成分スコアは可動性成分を現わすと考えられるが、このパターンは基本的にはS字を寝かせた形であり、汚泥又は化学肥料の施用により上昇する傾向にある。両区を比較すると13回目以降、化学肥料区が汚泥区より高い値を示した。

灰色低地土：第1主成分スコアは化学肥料区ではCl, NO₃, MgとNH₄, Na, pHとの差を表し、汚泥区ではK, CaとNO₃との差を表しているが、経時変化パターンは両区で著しく異なり、

表 2 主成分分析の結果：淡色黒ボク土及び黒ボク土における化学肥料区と汚泥区の因子負荷量*による比較

Table 2 Results of principal components analysis : Comparison between effect of chemical fertilizers and sewage sludge by factor loading* in Light-colored Andosol and Humic Andosol

Principal components Eigen value Materials**	Light-colored Andosol								Humic Andosol							
	1		2		3		4		1		2		3		4	
	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S
Cl	.11	.17	.88	.70	-.18	-.01	-.20	-.52	-.60	.04	.66	-.12	-.11	-.53	.12	.71
pH	.60	.65	-.57	-.55	-.10	.22	-.23	.17	-.03	.06	.90	.75	.19	.03	-.27	.48
NH ₄	.68	.61	-.48	-.49	-.12	-.04	.09	-.33	.12	-.53	.87	.62	-.12	.37	-.17	.18
NO ₂	.08	.51	-.07	.51	.72	-.16	-.49	.57	.33	.75	.24	.49	.58	-.08	.43	.10
NO ₃	.14	.49	-.11	.56	-.60	.29	-.55	.30	-.68	.19	.23	-.55	.08	.37	.48	.53
PO ₄	.49	.57	-.14	-.44	-.41	.05	.61	-.09	.37	-.26	.20	.31	.74	.77	.21	.06
K	.79	.81	.44	.29	.33	-.31	-.00	-.09	.89	.87	-.03	.02	-.21	.37	.33	-.05
Na	.24	.70	-.47	-.33	.15	.32	-.39	.05	.60	.74	.54	.33	-.51	-.47	.04	-.10
Ca	.81	.84	.37	.24	.29	-.29	.17	-.18	.94	.87	.05	.05	-.16	.38	.17	-.09
Mg	.29	.09	.39	.46	-.52	.80	-.44	-.23	-.43	.34	.05	-.58	-.43	.29	.66	.22

* : Factor loading ≥ 0.7 ; : 0.5~0.69

** C : Chemical fertilizers, S : Sewage sludge

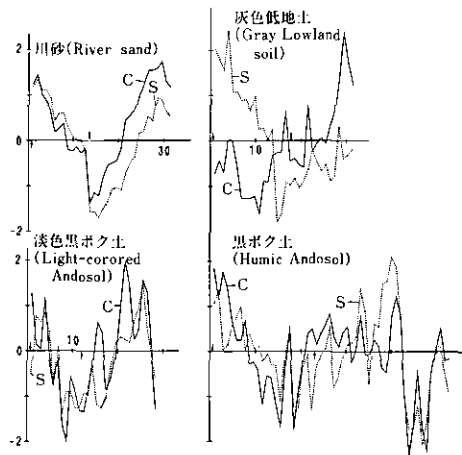


図 1 各土壤における化学肥料区と汚泥区の第1主成分スコア(縦軸)による比較、横軸は欠測値等を除いたサンプリング順番号

Fig. 1 Comparison between effect of chemical fertilizers and sewage sludge by the first principal component scores (ordinate) in each soil

Abscissa show serial sampling numbers without missing data. Arrows show application time of the materials. C : Chemical fertilizers, S : Sewage sludge.

汚泥区は最初の採水から13回目まで正の高い値を示したが、それ以外ではほとんど低い値であった。

淡色黒ボク土：第1主成分スコアで両区を比較すると全体の経時変化パターンは類似していた。

黒ボク土：化学肥料区の主成分スコアは、上下の変動が汚泥区に比べ大きかった。

3.2 元素濃度等による比較

川砂：まず、全般に汚泥区と化学肥料区とは類似したパターンを示した。しかし、詳細に比較するとほとんどの元素濃度 (Cl, NO₂, NO₃, PO₄, K, Na, Ca, Mg) にパターンの違いが認められた。例えば、NO₃ (図2) は施用直後及び第2回施用後の春にかなり急激に濃度が上昇するが、その後の低下の速さが汚泥区では緩慢である。

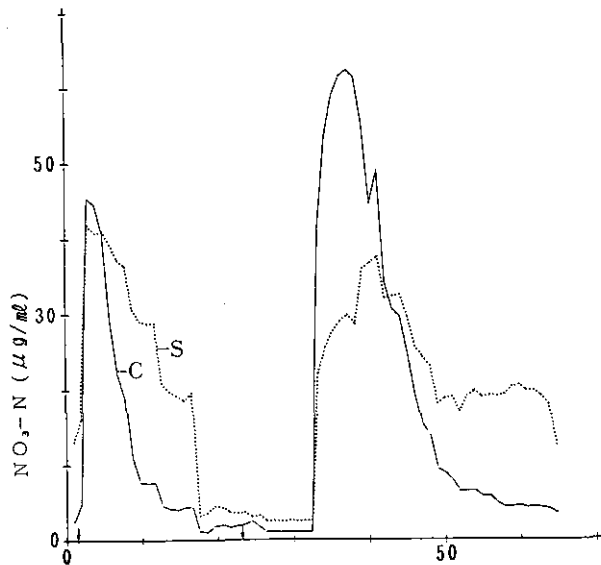


図 2 川砂における化学肥料区と汚泥区の浸透水 NO₃濃度による比較

Fig. 2 Comparison between effect of chemical fertilizers and sewage sludge by NO₃ concentration in percolating water of lysimeter in river sand
Arrows show application time of the materials. C : Chemical fertilizers, S : Sewage sludge.

灰色低地土…多くの元素等 (Cl, pH, NH₄, NO₃, K, Na, Ca, Mg) で両区間の相違が認められ、当該土壌では汚泥の影響と化学肥料の影響が著しく異なることを示している。例えば、NO₃ (図3) は、化学肥料区では上下しつつ大勢として横這いであるのに対し汚泥区は漸増傾向を示し、両区間の相違は明りょうである。

淡色黒ボク土：汚泥区と化学肥料区との因子負荷量は、川砂ほどではないがよく類似している。

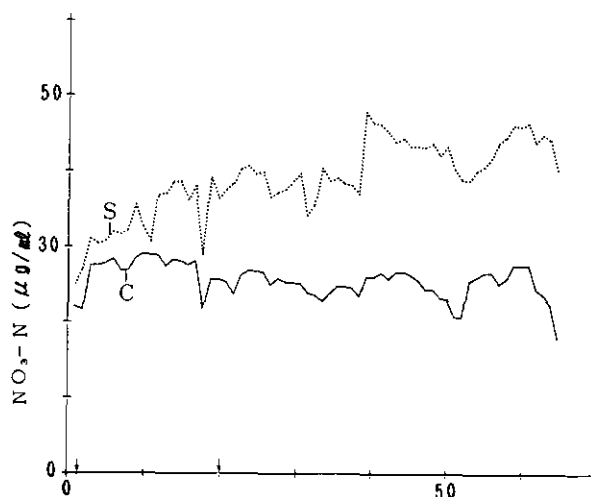


図 3 灰色低地土における化学肥料区と汚泥区の浸透水 NO_3 濃度による比較
 Fig. 3 Comparison between effect of chemical fertilizers and sewage sludge by NO_3 concentration in percolating water of lysimeter in Gray Lowland soil
 Arrows show application time of the materials. C : Chemical fertilizers, S : Sewage sludge.

それを反映して個々の元素による比較においても、例えば、化学肥料区の第3主成分に特異的である Mg をとった場合、顕著な違いはうかがわれなかった。当該土壌で両区間にパターンの違いが認められた元素は NO_2 、 NO_3 、Na であった。しかし、Na の場合(図4)、施用直後(2回目はやや遅れるが)の汚泥区での上昇を除いては両区の変化のカーブは平行している。これは、Na 施用量の違いが反映したためと考えられる。

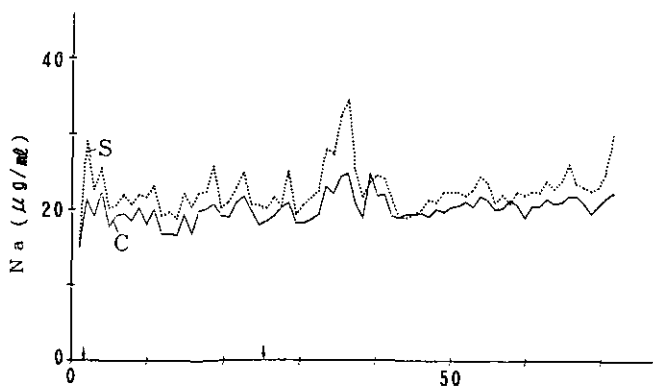


図 4 淡色黒ボク土における化学肥料区と汚泥区の浸透水 Na 濃度による比較
 Fig. 4 Comparison between effect of chemical fertilizers and sewage sludge by Na concentration in percolating water of lysimeter in Light-colored Andosol
 Arrows show application time of the materials. C : Chemical fertilizers, S : Sewage sludge.

黒ボク土：淡色黒ボク土と同様に、汚泥区と化学肥料区の全体の経時変化パターンは類似していた。当該土壌で違いが認められた元素は NH_4 、 NO_2 、 NO_3 であったが、その違いは大きいものではなかった。

これらの結果を一覧表にして表 3 に示した。

表 3 各土壌における化学肥料区と汚泥区の比較に有効な元素
Table 3 The useful elements to compare the effect of chemical fertilizers and sewage sludge

The useful elements	
River sand	Cl, NO_2 , NO_3 , PO_4 , K, Na, Ca, Mg
Gray Lowland soil	Cl pH, NH_4 , NO_3 , K, Na, Ca, Mg
Light-colored Andosol	Cl, NO_2 , NO_3 , Na
Humic Andosol	NH_4 , NO_2 , NO_3

4 考 察

以上のように、汚泥区と化学肥料区の比較のための指標として、各区ごとに求めた第 1 主成分が有効であるほか、土壌ごとにいくつかの元素濃度等が有効である。

主成分分析法は、データを要約して総合特性値すなわち指標を求める手法の 1 種である¹⁰⁾ので、そのスコアが各土壌や各区の特徴を表すのに有効であることは、既に前報⁷⁾で触れた。同時に、総合特性値であることは、比較のための有効な情報を含んでいることを期待させる。そこで、その主成分スコアが表現している内容、つまり因子負荷量に注目すると、比較に有効な元素は、因子負荷量大きい上に両区間で異なるものか、又は類似する場合には固有値（寄与率）が高い上に因子負荷量大きいものであることが指摘できる。前者の典型例は灰色低地土の NO_3 である。後者に関して、因子負荷量が大きく類似している場合には、第 1 主成分の寄与率が高い川砂では多くの元素で比較が有効であったが、寄与率の低い淡色黒ボク土の Ca や黒ボク土の K, Ca その他に見られるように比較は有効でなかった。すなわち、主成分分析の結果を、因子負荷量の大きい元素等が表 1 において表れる場所とその符号そして寄与率に注目して検討することにより、汚泥の影響を強く表す元素の探索が容易となる。

ある物質等が環境に加えられた後、元素濃度を経時的にモニタリングすることはよく行われる。濃度を解析の対象にする場合の他にも、絶対量が求め難い場合もあるので、このような主成分分析の利用場面は多いと考えられる。ところで、このような検討により、各土壌ごとに各施用資材に特徴的な元素が明らかとなったわけであるが、これは、どのようなメカニズムによりそれら元素が下層まで浸透するか、又はしないかを解明する有力な情報である。今後、これらの情報を手がかりとして汚泥施用に伴う各種の物質の動態を解明する研究が前進するものと期待される。

引用文献

- 1) 袴田共之・藤井國博 (1984) : ラインメーター浸透水の分析値についての統計的解析 — 各種土壌における化学肥料と下水汚泥の比較 —. 国立公害研究所研究報告, 第 68 号, 105-116.
- 2) 服部浩之・藤井國博・久保井 徹・広木幹也 (1983) : 下水汚泥施用各種土壌における無機態窒素の経時変化. 国立公害研究所研究報告, 第 47 号, 37-44.
- 3) 広木幹也・藤井國博・服部浩之・久保井 徹 (1983) : 下水汚泥施用土壌の微生物フロラに関する研究 (III), 土壌の違いと微生物性の差異. 国立公害研究所研究報告, 第 47 号, 37-44.
- 4) 藤井國博・久保井 徹・服部浩之 (1980) : 有機廃棄物施用土壌に関する研究 (II), 微生物フロラおよび土壌酵素活性. 国立公害研究所研究報告, 第 14 号, 185-202.
- 5) 藤井國博 (1983) : 有機廃棄物, 合成有機化合物, 重金属等の土壌生態系に及ぼす影響と浄化に関する研究. 国立公害研究所研究報告, 第 45 号, 113 p.
- 6) 久保井 徹・藤井國博 (1980) : ほ場および有底枠ほ場の均一栽培試験成績. 国立公害研究所研究報告, 第 14 号, 213-232.
- 7) 山口武則・久保井 徹・服部浩之・広木幹也・藤井國博 (1983) : 下水汚泥の土壌施用が土壌の三相分布に及ぼす影響. 国立公害研究所研究報告, 第 46 号, 125-132.
- 8) 山口武則・久保井 徹・服部浩之・広木幹也・藤井國博 (1983) : 各種土壌における下水汚泥の施用が植物の生育及び体内成分に及ぼす影響, 有底枠試験. 国立公害研究所研究報告, 第 46 号, 175-188.
- 9) 藤井國博・広木幹也・山口武則・松坂泰明 (1984) : 屋外ラインメーター浸透水試料の成分分析結果. 国立公害研究所研究報告, 第 68 号, 169-197.
- 10) 奥野忠一・久米 均・芳賀敏郎・吉澤 正 (1981) : 多変量解析法, 改訂版. 日科技連, 430 p.

ライシメーター試験による水と溶存イオンの流出機構の解析

— 土壌間差と汚泥・化学肥料施与の比較 —

Studies on the Mechanism of Drainage and Dissolved Ions

Leaching from Lysimeters

— Comparison of Four Soil Types Treated with Sewage Sludge and Chemical Fertilizers —

波多野隆介¹・袴田共之²・藤井國博^{2,3}

Ryusuke HATANO¹, Tomoyuki HAKAMATA² and Kunihiro FUJII^{2,3}

要 旨

野外に設けた8基のライシメーター〔4×4×1.2 m³, 4土壌(川砂(RS), 淡色黒ボク土(LA), 灰色低地土(GL), 腐植質黒ボク土(HA))×2施肥処理(化学肥料(F区), 下水汚泥(S区))〕を用いて1.2 m流出水の流出機構及びNO₃-N, Kの溶脱を調査した。得られた結果は以下のとおりである。

1) 流出パターンは土壌間差が大きく, RS>LA>HA>GLの順に流出水量は多い。水収支から考えて流出抑制の主要因は蒸発と貯留と思われるが, GL, HAでは乾燥期に流出を起こさない雨量が多量にみられ連続した降雨期の単位降雨当たり流出水量も少ない。

2) 降雨のみから流出水量変化を予想するためのタンクモデルを提案した。モデルは浸透・貯留・再分配・蒸発に対して適当な容量と流出孔を与えたタンクを数個組み合わせたものであり, 試行錯誤法によって速度係数を決定した。予想値は降雨の多い期間には実測値と比較的よく一致したが細かい点での不一致も多く, 土壌を完全にブラックボックス化するには限度があると思われた。

3) NO₃-Nの溶脱量は高濃度に維持されたHA, 流出水量の多いRSで多かった。汚泥施与によっていずれの土壌も濃度上昇を示し溶脱量は増加したが, RSでは化学肥料施与によりみられた濃度のピークが低下し早い溶脱を緩和する可能性が示唆された。

1. 昭和58~60年度 国立公害研究所客員研究員(北海道大学農学部 〒060 札幌市北区北9条西9丁目)
Visiting Fellow of the National Institute for Environmental Studies. Present Address: Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo 060, Japan.
2. 国立公害研究所 水質土壌環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Water and Soil Environment Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
3. 現在: 農業環境技術研究所 環境資源部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町観音台3-1-1
Present Address: Department of Natural Resources, National Institute of Agro-Environmental Sciences, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

4) K は RS で汚泥施与区の方が化学肥料施与区より低濃度となり溶脱は抑制されたが、他の3土壌では全く差はみられなかった。

Abstract

We studied the mechanism of drainage and leaching of $\text{NO}_3\text{-N}$ and K in 8 lysimeters ($4 \times 4 \times 1.2 \text{ m}^3$, 4 soil types [River sand (RS), Light-colored Andosol (LA), Gray Lowland soil (GL) and Humic Andosol (HA)] with the application of two kinds of materials [sewage sludge and chemical fertilizers]) during the period from August to December 1981, under natural rainfall conditions.

The results obtained are summarized as follows :

1) The drainage was in the following order ; $\text{RS} > \text{LA} > \text{HA} > \text{GL}$. In GL and HA, in the drying season, generally no drainage was observed even in the case of high precipitation, and the drainage per unit precipitation was reduced. No distinct difference in the two fertilization treatments was observed.

2) We used the tank model to estimate the daily change of drainage according to precipitation without the consideration of other factors. The model consisted of several tanks with suitable height and rate coefficients of discharge holes for infiltration, storage, redistribution in soil and evaporation. These height and rate coefficients were settled by trial-and-error method. The calculated values fitted relatively to the measured ones during the continuous rainfall season, although some gaps between calculated values and measured ones were observed. There are still unsolved problems in dealing with the soil as a black box.

3) In HA, the greatest amount of $\text{NO}_3\text{-N}$ was leached by means of the highest concentration in the drainage, while in RS there was a large drainage effect due to the highest leaching rate. The effect of the application of sewage sludge on the amount of leaching was larger than that of chemical fertilizers in all soils. However, the peak of concentration occurred in RS treated with chemical fertilizers but the peak decreased in height with sewage sludge treatment. Application of sewage sludge may therefore have the possibility of reducing the leaching rate of $\text{NO}_3\text{-N}$.

4) The leaching of K was reduced in RS treated with sewage sludge by means of lower concentration than that in applied chemical fertilizers. However no difference between the two treatments of fertilization was observed at all, in the other three soils.

Key words : Tank model, Hydrology

1 はじめに

施肥成分の溶脱量を知り、予測を行うことは施肥効率の面からも、水圏汚濁の面からも重要な問題である。そのためにはまず地下水系への流出水量を知り、そこに含まれる成分濃度を知らなければならぬ。土壌をめぐる水収支は降水量(P)、流出水量(D)、蒸発量(E)、土壌中の貯留量(S)によって

$$P = D + E + (S_n - S_{n-1}) \quad (1)$$

のように表せる。ただし n は時間の増加を示す。Black ら¹⁾ は、土壌の水収支につき、土壌をブラックボックスとして D, E の予想を P のみから行うために(1)式を用いている。彼らはフローティングライシメーターによって D と E を測定し、 E には時間の増加のみを対応させた、

$$E = C \cdot t^{1/2} \quad (2)$$

のモデルを、 D には

$$dD/dt = a \cdot \exp \{b \cdot (S - e)\} \quad (3)$$

のモデルを当てはめることによって、 D, E の予想を行っている。

これらの予想値は実測値と極めてよく一致しており、ライシメーター上端からの流入、蒸発と下端からの流出及びライシメーター内の貯留量を適確に予想できる手法があることがわかる。

このようにライシメーターを使った研究の長所として、①土壌をブラックボックスとしているが、水収支を適確に把握できること、②流出水量の予測モデルが得られ、効率的なかんがいシステムが組めること、③さらに流出水成分濃度がわかれば、施肥効率、水圏汚染への対策も講じることができること等があげられる。一方ではライシメーター試験は土壌が乱されていること、立地条件、特に地下水位の問題が無視されており、得られた結果はあくまでもライシメーター実験の枠を出ることはできない。そのために現地調査による補足が必要である。

本報告では、野外に設けた裸地状態の8基のライシメーター(4土壌×2施肥処理)を用いた流出水と溶存イオン濃度の測定結果をもとに流出機構の解析と施肥成分の溶脱について検討した結果について述べる。

2 ライシメーター試験区の概要

解析の対象としたデータは国立公害研究所の野外に設けられた底面積 $4 \times 4 \text{ m}^2$ 、深さ 1.2 m のライシメーター底部から1981年8月～12月に採取された流出水量³⁾・流出水中 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 K 濃度⁴⁾ 及び降水量²⁾ である。このライシメーターは裸地状態で用いられ、川砂(RS)、淡色黒ボク土(LA)、灰色低地土(GL)、腐植質黒ボク土(HA)が充てんされ、それぞれ化学肥料(F:化成肥料(8-5-5)105 kg/10 a、苦土石灰 100 kg/10 a、溶リン 60 kg/10 a)、下水汚泥(S:7.5 t/ha)の2施肥区が設けられ、1979年以降連用試験が行われている⁵⁾。表1に4土壌の理化学性を示した。これらの特徴については服部ら⁶⁾、山口ら⁷⁾ によって詳細に報告されている。

なお $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 K の溶脱量を計算する際、これらの濃度が隔日で得られていたため、スプライン補間⁸⁾ によって日変化を予測して用いた。

表 1 供試土壌の理化学性
Table 1 Physicochemical properties of soils used in lysimeters

Soil	Texture	pH (H ₂ O)	CEC meq/100g	Total C %	Total N %	Bulk density g/cm ³	Porosity %
RS	S	7.4	3.0	0.25	0.02	1.56	41.8
LA	SiL	6.3	20.3	1.68	0.15	0.68	74.0
GL	LiC	6.9	13.8	0.60	0.06	1.20	54.6
HA	L	6.5	28.7	5.45	0.37	0.63	74.7

3 結果及び考察

3.1 降雨-流出水の関係からみた土壌の保水機能

解析に用いた1981年8月~12月の降雨パターンはまずそれ以前の7月が総降水量62.7mmと少なく2週間にわたる無降雨日があり、8月中旬から10月にかけて降雨が多くなるが11月から12月には再び少なくなるというものであった(図1)。したがって8月初旬には土壌はかなり乾燥していたと思われる。この期間について積算降水量(Pr)と積算流出水量(D)の関係をみたものが図2である。総流出水量はRS>LA>HA≒GLの順に458, 300, 222, 222mm(2施肥区平均)であり、RSではF区で、他の3土壌ではS区で多かった。このような土壌間差は次に示す二つの要因によって特徴づけられている。すなわち乾燥時の8月には初期損失雨量(流出を起こさない雨量)がみられ、これを $D \geq 5$ mmとなる Pr を表2の回帰式から求めると、RS<LA<HA<GLの順に15, 67, 180, 218mm(2施肥区平均)となり、HA・GLでは乾燥期には大きな流出抑制が起こることがわかる。さらに以後の連続した降雨時の直線で近似できる期間ではその傾きは単位降水

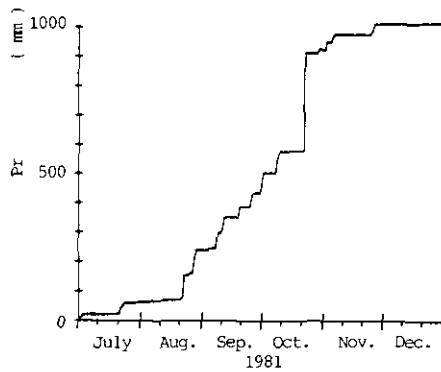


図 1 観測期間中の積算降水量
Fig. 1 Cumulative precipitation in the period from July to December 1981

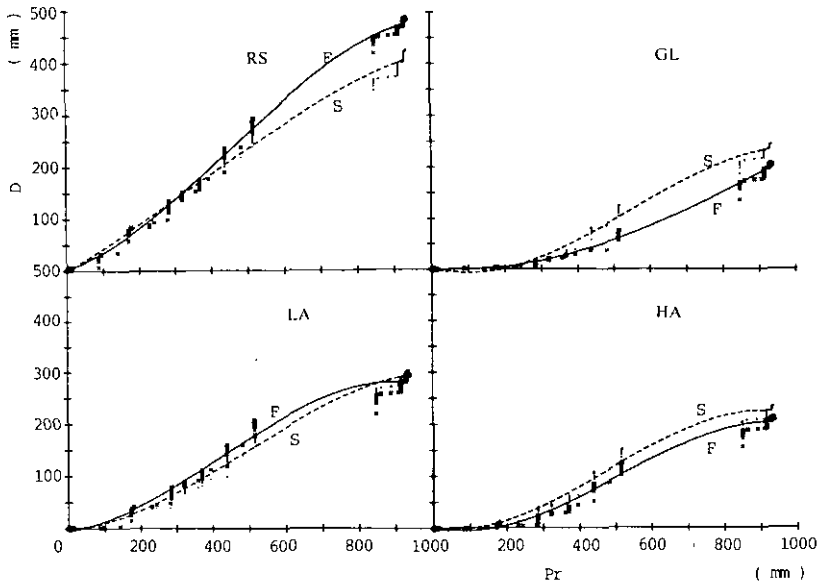


図 2 積算降水量(Pr)と積算流出水量(D)の関係

Fig. 2 Relationships between cumulative precipitation (Pr) and cumulative drainage (D)

RS : River sand, LA : Light-colored Andosol, GL : Gray Lowland soil, HA : Humic Andosol

表 2 積算降水量(Pr)と積算流出水量(D)の関係の回帰式

Table 2 Regression between cumulative precipitation(Pr ; mm) and cumulative drainage(D ; mm)

Soil	Treatment	Regression equations	Correlation coefficient
RS	F	$D = 1.768 + .236Pr^{**} + 9.114 \times 10^{-4}Pr^{2**} - 6.625 \times 10^{-7}Pr^{3**}$.999**
RS	S	$D = -1.422 + .405Pr^{**} + 2.591 \times 10^{-4}Pr^{2**} - 2.401 \times 10^{-7}Pr^{3**}$.997**
LA	F	$D = -4.002 + .094Pr^{**} + 8.519 \times 10^{-4}Pr^{2**} - 6.706 \times 10^{-7}Pr^{3**}$.992**
LA	S	$D = -1.995 + .046Pr^{*} + 7.827 \times 10^{-4}Pr^{2**} - 5.288 \times 10^{-7}Pr^{3**}$.997**
GL	F	$D = .173 - .052Pr^{**} + 3.794 \times 10^{-4}Pr^{2**} - 1.051 \times 10^{-7}Pr^{3**}$.998**
GL	S	$D = 1.501 - .200Pr^{**} + 1.103 \times 10^{-3}Pr^{2**} - 6.695 \times 10^{-7}Pr^{3**}$.995**
HA	F	$D = .735 - .167Pr^{**} + 1.065 \times 10^{-3}Pr^{2**} - 7.007 \times 10^{-7}Pr^{3**}$.994**
HA	S	$D = -.651 - .113Pr^{**} + 1.083 \times 10^{-3}Pr^{2**} - 7.545 \times 10^{-7}Pr^{3**}$.993**

RS : River sand, LA : Light-colored Andosol, GL : Gray Lowland soil, HA : Humic Andosol.
F : Chemical fertilizers, S : Sewage sludge.

** : Significant at 1% level, * : Significant at 5% level.

量当たりの流出水量(流出率と呼ぶ)と考えられ、これはRS>LA>HA≒GLの順に0.56, 0.42, 0.36, 0.36であり、やはりHA, GLの流出抑制がうかがえる。

このような流出の抑制には土壌の保水能と蒸発能がかかっていると思われる。供試土の孔げき率はHA, LAで74%以上と著しく大きいものに対して、GLでは55%, RSでは40%と小さい(表1)。毛管孔げきの分布を考慮しても一般的に火山性土は低張力毛管孔げき量が多いから、HA, LAの保水能はGL, RSに比べて高いと考えられる。すなわちRSでHA, LAより流出が大きかった理由にはこの孔げき量の差がまずあげられる。しかしGLで初期損失雨量が多く総流出水量が少なかった理由、またLAとHAの差についてはこれだけでは説明できない。

図3は別に行った各土壌のF区ライシメーター内5, 40, 100 cmの水分吸引圧(pF)の日変化調査の結果である。最初比較的乾燥状態にあったが、この結果は以下のような特徴的な土壌間差を示していた。

すなわちGLでは降雨は表層のpFを著しく低下させ湛水に近い状態になるが深さ100 cmのpFを変化させるには至らず、以後の乾燥期には表層の水は蒸発によって失われかつ各深さのpF差も小さくなり下層まで蒸発の影響が及びやすい。LA, HAではよく似た動態を示すがHAでよりGLに近い傾向を示していた。一方RSでは他の3土壌と様相を異にしており、降雨時、乾燥期の変化は小さく、深さによる差も少なく、常時低pFに保たれ砂マルチの効果⁹⁾が発揮されたと考えられる。

以上の結果は供試土の蒸発能がGL>HA>LA>>RSであることを示しており、これは土性の細粒なもの順序でもある。そして特に初期損失雨量はこの蒸発機能によっておこされたものと推察される。したがって土壌が水を失う機構は異なっているのであり、砂質土壌は流去によって、粘質土壌では蒸発によってその貯留量を減らすことになると思われる。

また2施肥区間の差は大きくはないがSSと他の3土壌ではその関係は逆になっていた。しかしそれを説明できる特徴的な要因は見当たらず、本ライシメーター内の作土の3相分布、容積重に対する汚泥施与効果も認められない⁷⁾。したがってここで得られた差は誤差として取り扱わざるを得ない。

3.2 流出水量の予測モデル

はじめに述べたようにライシメーター底部からの流出速度は貯留量との間に(3)式のような指数関係を示すことが確かめられている。ただし(3)式の適用は蒸発量も計測されていて(1)式の水収支が正確に計算できる場合に限定されている。今、解析の対象にしようとしているデータは降雨と流出水量の二つであり、(1)式中のブラックボックスは $E + (S_n - S_{n-1})$ に増え、(3)式を適用する意味がない。

ここで降雨直後の流出水量の日変化を片対数グラフにプロットしてみると図4のようになり、明らかに二つの指数関数の合成形として表せる。すなわち流出水量 D は降雨後日数 t との関係で

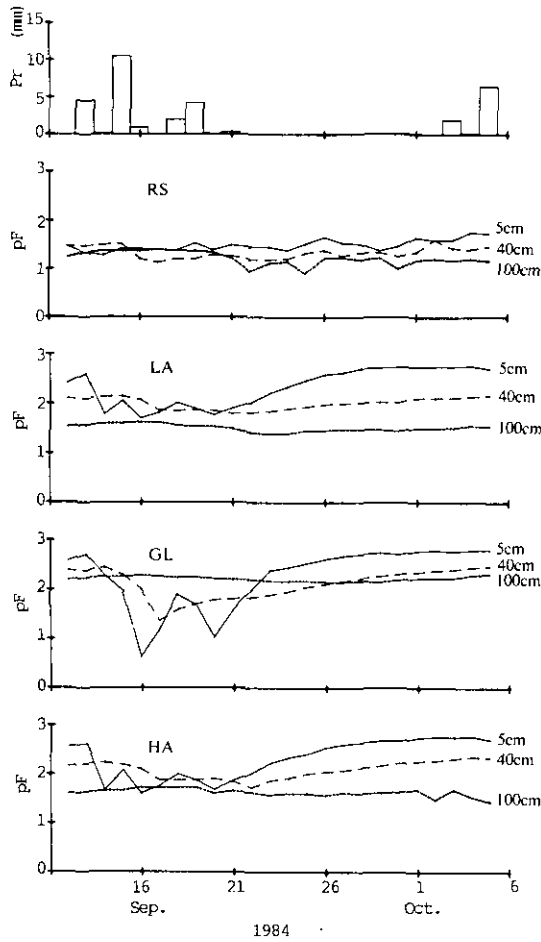


図 3 降雨(P_r)と土壌水分吸引圧(pF)の日変化

Fig. 3 Daily change of precipitation (P_r) and soil water suction (pF) during the period from 12 September to 6 October 1984

RS : River sand, LA : Light-colored Andosol, GL : Gray Lowland soil, HA : Humic Andosol.

$$D = D_1 + D_2 \quad (4.1)$$

$$D_1 = \alpha_1 e^{-n_1 t} \quad (4.2)$$

$$D_2 = \alpha_2 e^{-n_2 t} \quad (4.3)$$

と表せる。(4.2),(4.3)式は河川流出解析の手法である貯留型タンクモデル¹⁰⁾と同じであり、これは基本的にタンクの中の貯留量を X とし初期貯留量を X_0 として流出孔の速度係数を r とすれば

$$-dX/dt = D, \quad D = r \cdot X, \quad X_0 = \alpha/r \quad (5)$$

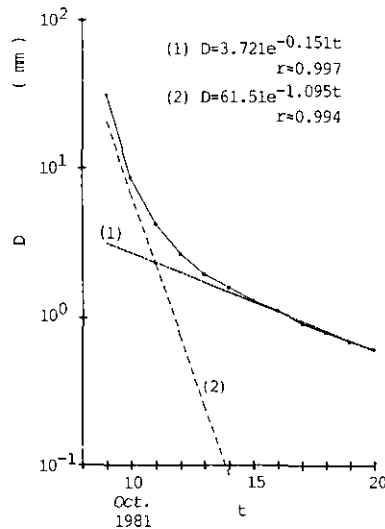


図 4 降雨後の流出水量の日変化

Fig. 4 Daily change of drainage(D) after heavy rainfall in river sand during the period from 9 to 20 October 1981

により示されるものである。したがって(4.2), (4.3)式は二つのタンクが並列に配置されていることを示している。

図4のような解析は流出形態をみるには適しているが、予測を行うためには降水量、降雨間隔と流出水量の関係について関数化する必要がある。先述したように土壌はその保水能のためにある程度の降雨は保持し流出を起こさないこともある。これらを考慮に入れて今回提案したタンクモデルは図5のようなものである。構造は1段目に降雨タンクを持ち、2~6段目が土壌中での動態を考えたものである。それぞれのタンク底部の流出孔は浸入、浸潤、流出を現す。タンク側面の流出孔は蒸発、貯留、再分配に相当し、タンク内の水位が横流出孔の位置を越えたときから流出が始まる。ただしこれは逆流はしない不可逆的なものである。

これらの係数、定数は合計19個あるが、連立方程式をたてて解く性質のものではないために係数・定数の決定方法は試行錯誤法である。ただし計算値を大幅に変化させる係数・定数がある。例えば水収支項から考えれば土壌タンクへの降雨の配分量を調節すればよいし、降雨からピーク流出の遅れは再配分定数(H 1, H 2, H 3)によって調節することができる。また乾燥時期の初期損失雨量は貯留タンク定数(HS 1, HS 2, HS 3)によって調節できる。これらの作業にはマイクロコンピュータで十分に対応でき、数10回の試算を繰り返すことによってほぼ満足できる結果が得られた。表3, 4はF区各流出を記述するタンクモデルの特性値をまとめたものである。この結果からは ①流出率の大きかったRSでは降雨タンクから土壌タンクへの速度係数が他より大きく与えられ、②初期損失雨量が少なかったRS, LAでは貯留タンクに関する速度係数(RS 1, RS 2,

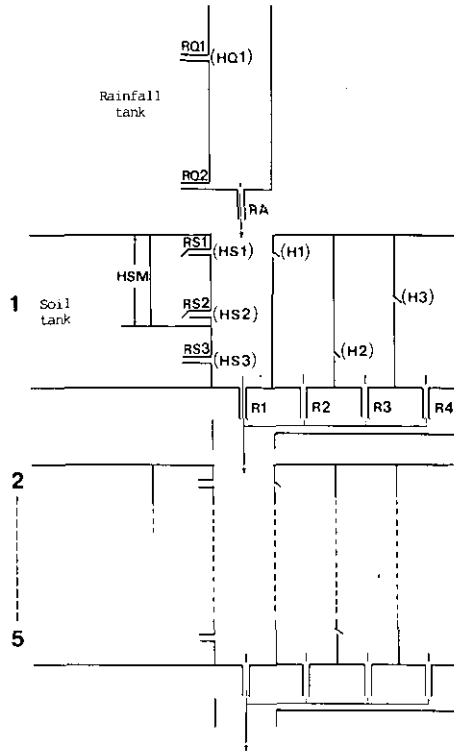


図 5 タンクモデル
Fig. 5 Tank-model

表 3 降雨タンクのパラメータ値
Table 3 Characteristic parameter values of rainfall tank
in tank model shown in Fig. 5

Soil	RQ1	RQ2	HQ1 (mm)	RA
RS	0.6	0.6	125	0.4
LA	0.75	0.5	125	0.22
GL	0.5	0.5	188	0.22
HA	0.5	0.5	188	0.22

RS : River sand, LA : Light-colored Andosol,
GL : Gray Lowland soil, HA : Humic Andosol.

表 4 土壌タンクのパラメータ値

Table 4 Characteristic parameter values of soil tank in tank model shown in figure 5

Soil	R1	R2	R3	R4	H1 H2 H3			RS1	RS2	RS3(j)	PRS	HS1 HS2 HS3 HSM			
					(mm)							(mm)			
RS	.035	.35	.75	1.0	11.5	3.8	8.8	0	0	.6	.3	0	0	5.0	0
LA	.005	.27	.60	.88	11.5	1.9	4.0	0	0	.5	.01	0	0	5.0	0
GL	.01	.29	.67	1.0	11.3	2.8	5.3	0	.15	.5	.01	0	4.4	3.8	14.4
HA	.005	.42	.69	.97	12.1	3.0	4.5	.095	.006	.5	.01	11.4	5.0	3.8	10.8

RS : River sand, LA : Light-colored Andosol, GL : Gray Lowland soil, HA : Humic Andosol.
 RS3(j) is calculated by $RS3(j-1) \times PRS$ from $j=2$ to 5.

RS 3)が小さく与えられ、③流出ピークの鋭いものほど、流出速度係数(R 1, R 2, R 3, R 4)のうち R 3, R 4 が大きく与えられていること等が示されていた。

以上のように得られたタンクモデルによる計算値と実測値の比較を図 6~9 に示した。いずれの土壌もピークの位置、減衰状態等比較的よく一致しているが、降雨の少ないときに起こる流出水量の急減、あるいは GL でみられた降雨初期の高いピークには対応できない場合があった。これらにはまた別のタンクを考える必要があるが、これ以上ブラックボックスの中身を類推するには少々疑問も感じられる。この手法は本質的に大局をとらえるものとして用いるべきものであろう。また降雨と流出ピークの性質から考えて、これ以上の解析を試みるにはさらに細かい time scale の観測が必要であると思われる。

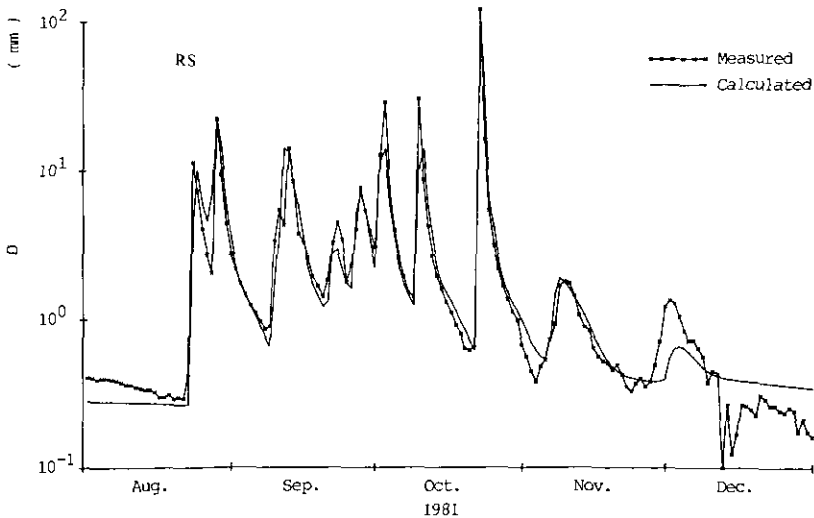


図 6 流出水量の実測値と計算値の比較(川砂)

Fig. 6 Comparison between measured and calculated drainage from tank-model in River sand

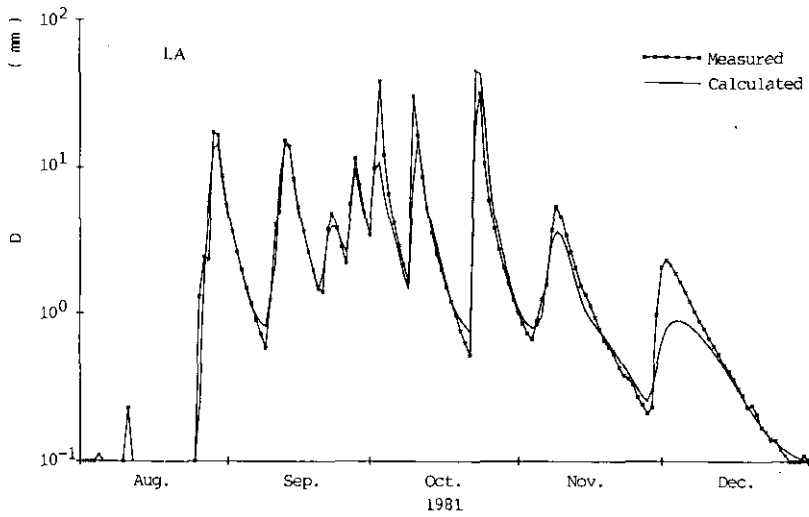


図 7 流出水量の実測値と計算値の比較(淡色黒ボク土)

Fig. 7 Comparison between measured and calculated drainage from tank-model in Light-colored Andosol

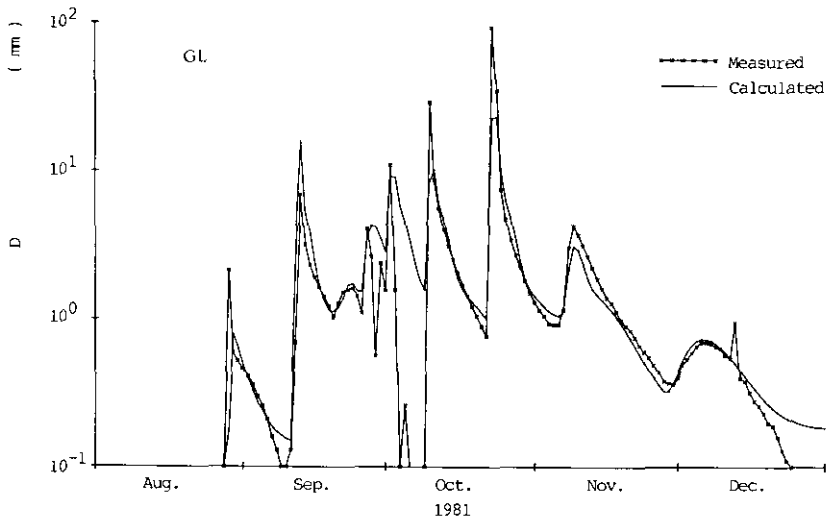


図 8 流出水量の実測値と計算値の比較(灰色低地土)

Fig. 8 Comparison between measured and calculated drainage from tank-model in Gray Lowland soil

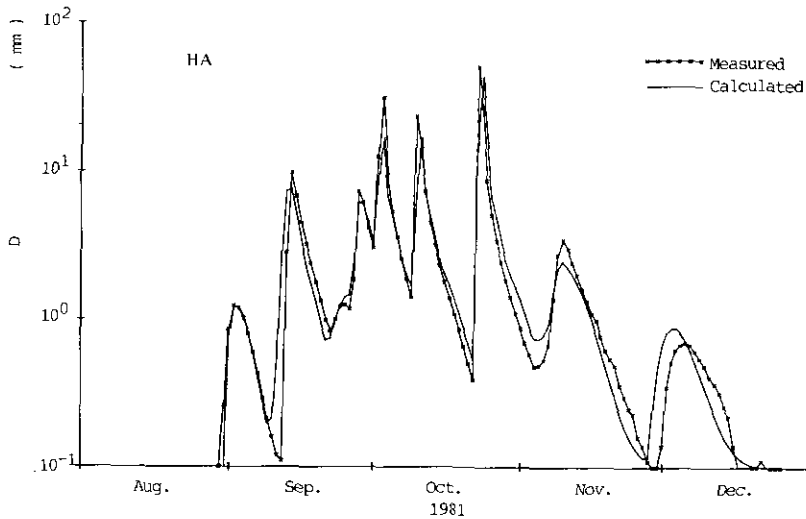


図 9 流出水量の実測値と計算値の比較(腐植質黒ボク土)

Fig. 9 Comparison between measured and calculated drainage from tank-model in Humic Andosol

3.3 施肥成分の溶脱特性

3.3.1 硝酸態窒素

観察期間の $\text{NO}_3\text{-N}$ の総溶脱量は $\text{HA} > \text{RS} > \text{GL} \approx \text{LA}$ でありいずれも S 区の方が多(表 5)。その溶脱パターンをみると(図 10), HA, GL, LA では流出水 $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度が全期間ほぼ一定に保たれ(図 11), 積算溶脱量は積算流出水量とほぼ直線関係にあったのに対して, RS では特に F 区で流出初期に大きな濃度ピークが現れた後急速に濃度低下を起こし(図 11), S 区より早い時期に大きな溶脱が起こり以後頭打ちとなっていた(図 10)。図 10 の関係(表 6)から一定量の $\text{NO}_3\text{-N}$ を溶脱する(ここでは 0.5 mg/cm^2 とした。この量は F 区施肥量の 60% に相当する。)に要する積算流出水量を求めたところ $\text{HA} < \text{RS} < \text{LA} < \text{GL}$ となり, RS では S 区で, 他の 3 土壌では F 区でこの量は多い(表 5)。さらに積算降水量-積算流出水量の関係(表 2)から相当する積算降水量を換算すると $\text{RS} < \text{HA} < \text{LA} \leq \text{GL}$ となり, RS では 9 月中~下旬に HA でも 10 月初旬に, LA, GL では 10 月 22 日の 331 mm の集中豪雨で溶脱されることになった。したがって $\text{NO}_3\text{-N}$ の溶脱は RS では流出水量が多いことによって, HA では濃度が高く維持されることによって, 早く大きくおこり, 逆に GL では流出水が少なく抑えられることによって, LA では低濃度に維持されることによって少なくなるものと理解される。

また $\text{NO}_3\text{-N}$ の溶脱に対する汚泥の施与効果は RS と他の土壌では異なっており, RS では F 区にみられた濃度のピークが S 区では小さくなるためにわずかではあるが初期の溶脱は緩和される。しかし窒素施与量の多い S 区(全窒素換算で S 区 2.78 mgN/cm^2 に対して F 区 0.84 mgN/cm^2)で

表 5 観察期間の NO₃-N 総溶脱量及び 0.5 mgN/cm² を溶脱するのに要した流出水量, 降水量

Table 5 Total amount of leached NO₃-N during analyzed period (from Aug. to Dec. 1981) and amount of precipitation and drainage leaching 0.5mgNO₃-N/cm²

Soil	Treatment	Total leached NO ₃ -N (mg/cm ²)	for leaching 0.5mgNO ₃ -N/cm ² Drainage (mm)	Precipitation (mm)
RS	F	.822	133	294
RS	S	1.041	153	333
LA	F	.661	226	631
LA	S	.758	202	622
GL	F	.545	186	905
GL	S	.858	143	623
HA	F	1.171	92	490
HA	S	1.350	89	425

RS : River sand, LA : Light-colored Andosol, GL : Gray Lowland soil, HA : Humic Andosol.

F : Chemical fertilizers, S : Sewage sludge.

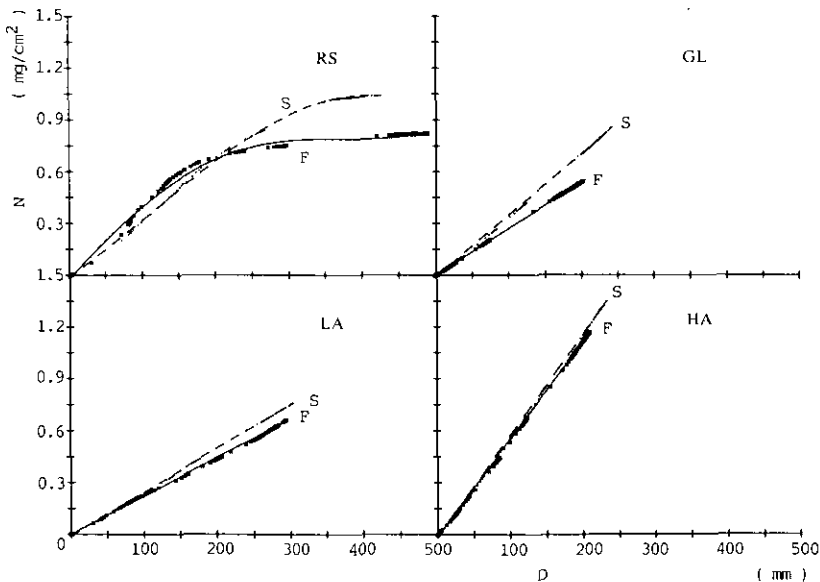


図 10 積算流出水量(D)と積算 NO₃-N 溶脱量(N)の関係

Fig.10 Relationships between cumulative drainage (D) and amount of leached NO₃-N (N)

RS : River sand, LA : Light-colored Andosol, GL : Gray Lowland soil, HA : Humic Andosol.

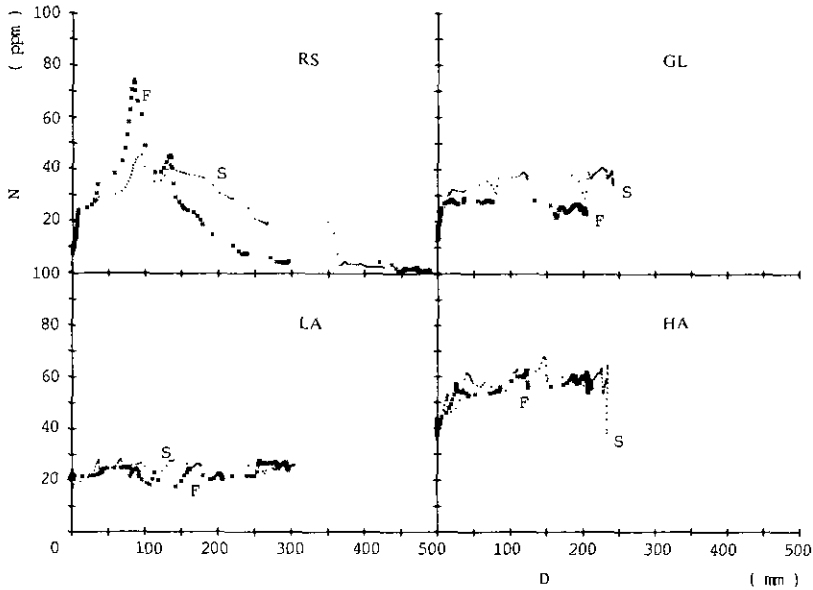


図 11 積算流出水量(D)と NO₃-N 濃度(N)の関係

Fig. 11 Relationships between cumulative drainage (D) and concentration of NO₃-N (N) in drainage

RS : River sand, LA : Light-colored Andosol, GL : Gray Lowland soil, HA : Humic Andosol.

表 6 積算流出水量 (D) と積算 NO₃-N 溶脱量 (N) の関係の回帰式

Table 6 Regression between cumulative drainage (D ; mm) and cumulative leached NO₃-N (N ; ×10³mg/cm²)

Soil	Treatment	Regression equations	Correlation coefficient
RS	F	$N = -25.78^{**} + 4.607D^{**} - 1.982 \times 10^{-3}D^2 - 2.562 \times 10^{-5}D^{3**} + 3.633 \times 10^{-8}D^{4**}$.998**
RS	S	$N = -9.898^{**} + 2.915D^{**} + 5.035 \times 10^{-3}D^{2**} - 1.440 \times 10^{-5}D^{3**}$.999**
LA	F	$N = .488 + 2.212D^{**}$	1.000**
LA	S	$N = -6.940^{**} + 2.514D^{**}$	1.000**
GL	F	$N = -.491 + 2.704D^{**}$	1.000**
GL	S	$N = -8.447^{**} + 3.566D^{**}$	1.000**
HA	F	$N = -10.02^{**} + 5.587D^{**}$	1.000**
HA	S	$N = -15.00^{**} + 5.834D^{**}$	1.000**

RS : River sand, LA : Light-colored Andosol, GL : Gray Lowland soil, HA : Humic Andosol.

F : Chemical fertilizers, S : Sewage sludge.

** : Significant at 1% level, * : Significant at 5% level.

は以後も濃度が高く維持されることになり、他の3土壌同様総溶脱量はF区より多くなる。

このような不活性な砂質土のNO₃-N濃度変化をみると汚泥の有機物としての効果がかがえる。すなわち有機物の無機態窒素のプールとしての source-sink 効果である。土壌有機物に乏しいRSでは溶脱過程の全般にわたって汚泥は主として source として働き、その濃度変化は時期的な放出速度を反映していると考えられる。一方他の3土壌では土壌有機物の働きが強く現れRSでみられたようなNO₃-Nの濃度変化は土壌有機物と土壌溶液の間のやりとりの過程でマスクされてしまう。結果的に土壌有機物含量の多いHAでNO₃-N濃度は最も高く推移し、施肥区間差は小さい。次いで有機物含量が多かったのはLAであるが、NO₃-N濃度はGLより低く推移していた。このことは淡色黒ボク土でよく観察されるアニオン吸着能によるものと思われる¹¹⁾。このように濃度は低く抑えられてはいたが、施肥区間差はHA同様小さく、土壌有機物含量がLAより少ないGLで大きな施肥区間差がみられた。

以上のように有機物がNO₃-N濃度の調節を行っていることは明らかであり、この source-sink 機能をさらに具体的なものにする必要がある。

3.3.2 カリウム

観察期間の総溶脱量はRS>HA>LA≒GLでありRSではF区が他の3土壌ではS区が多い(表7)。その溶脱パターンはいずれも積算流出水が多くなるにつれて濃度低下が起るために(図13)溶脱量が抑制されてきていた(図12)。さらにRSを除いて他の3土壌の2施肥区間の溶脱パター

表 7 観測期間のK総溶脱量及び0.15mgK/cm²を溶脱するのに要した流出水量、降水量

Table 7 Total leached K during analyzed period (from Aug. to Dec. in 1981) and amount of precipitation and drainage leaching 0.15mgK/cm²

Soil	Treatment	Total leached K (mg/cm ²)	for leaching 0.15mgK/cm ²	
			Drainage	Precipitation (mm)
RS	F	.402	123	278
RS	S	.305	152	331
LA	F	.181	234	654
LA	S	.185	226	683
GL	F	.162	184	900
GL	S	.188	182	728
HA	F	.209	135	607
HA	S	.223	135	540

RS : River sand, LA : Light-colored Andosol, GL : Gray Lowland soil, HA : Humic Andosol.

F : Chemical fertilizers, S : Sewage sludge.

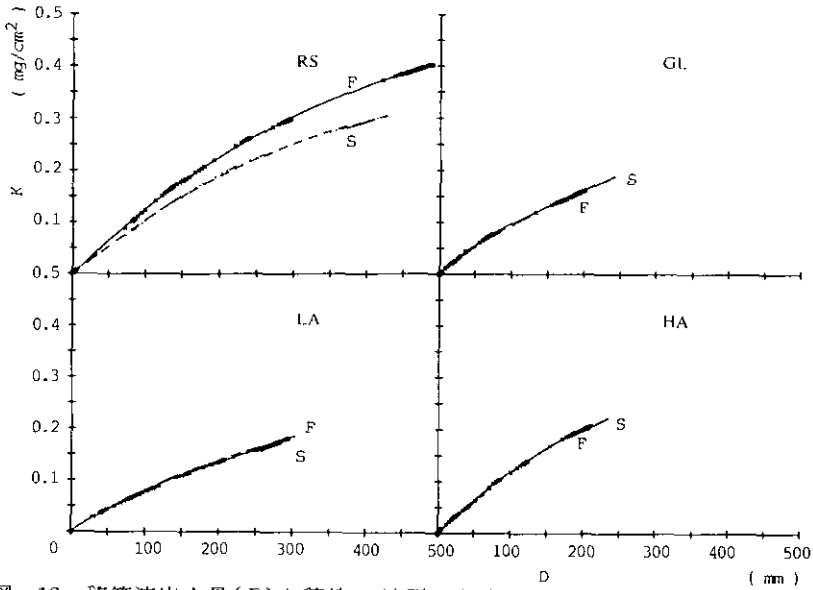


図 12 積算流出水量(D)と積算 K 溶脱量(K)の関係
 Fig. 12 Relationships between cumulative drainage (D) and amount of leached K (K)
 RS : River sand, LA : Light-colored Andosol, GL : Gray Lowland soil, HA : Humic Andosol.

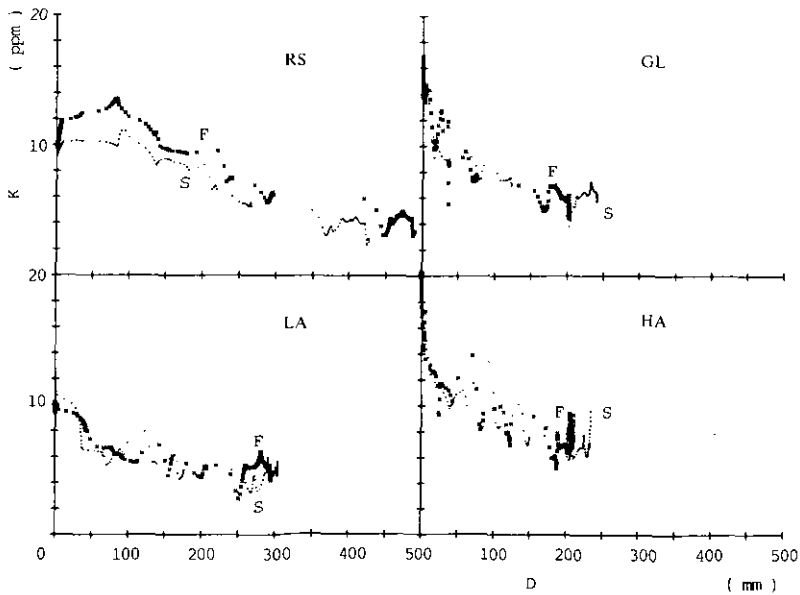


図 13 積算流出水量(D)と K 濃度(K)の関係
 Fig. 13 Relationships between cumulative drainage (D) and concentration of K (K) in drainage
 RS : River sand, LA : Light-colored Andosol, GL : Gray Lowland soil, HA : Humic Andosol.

ンには全く差がなく 2 施肥区間の総溶脱量の差は総流出水量の差によるものであったのに対して RS では明らかに S 区で低く抑えられている(図 12)。ただし $\text{NO}_3\text{-N}$ のように 2 施肥区間の濃度変化パターンに大きな差がみられたわけではなく、また 2 施肥区間の施肥量も F 区が 0.44 mgK/cm^2 、S 区が 0.23 mgK/cm^2 と異なっているために汚泥の施与効果を論じるにはもう少し細かい実験が必要である。

土壌間差については次のような特徴がみられる。すなわち図 12 の関係から(表 8)から一定量の K を溶脱する(ここでは F 区施肥量の 34%に相当する 0.15 mgK/cm^2 とした)に要する積算流出水量を求めたところ $\text{RS} < \text{HA} < \text{GL} < \text{LA}$ となり、相当する降水量に換算すると $\text{RS} < \text{HA} < \text{LA} < \text{GL}$ であった(表 7)。この結果は $\text{NO}_3\text{-N}$ の場合とほぼ同じであったが、周知のとおり K は NH_4 と同様結晶性粘土鉱物との親和性が高い¹²⁾にもかかわらず GL の流出水に対する溶脱抵抗が LA より弱くなっている。ライシメーター当たりの CEC は GL で 19.9 meq/cm^2 、LA で 16.6 meq/cm^2 であり、施肥量はわずか 0.011 meq/cm^2 であるから吸着特性による差が強く出ることが多いこと¹²⁾を考えると、これを逆転する機作が溶脱過程に含まれていたと考えざるを得ない。今後の課題である。

表 8 積算流出水量(D)と積算 K 溶脱量(K)の関係の回帰式
Table 8 Regression between cumulative drainage(D ; mm) and cumulative leached K(K ; $\times 10^3 \text{ mg/cm}^2$)

Soil	Treatment	Regression equations	Correlation coefficient
RS	F	$K = -2.686^{**} + 1.421D^{**} - 1.512 \times 10^{-3}D^{2**} + 6.046 \times 10^{-7}D^{3**}$	1.000**
RS	S	$K = -2.094^{**} + 1.171D^{**} - 1.103 \times 10^{-3}D^{2**} + 8.146 \times 10^{-8}D^3$	1.000**
LA	F	$K = .243 + .967D^{**} - 2.108 \times 10^{-3}D^{2**} + 3.056 \times 10^{-6}D^{3**}$	1.000**
LA	S	$K = .793^{**} + .939D^{**} - 1.636 \times 10^{-3}D^{2**} + 1.777 \times 10^{-6}D^{3**}$	1.000**
GL	F	$K = .175^{**} + 1.343D^{**} - 4.717 \times 10^{-3}D^{2**} + 1.003 \times 10^{-5}D^{3**}$	1.000**
GL	S	$K = .469^{**} + 1.172D^{**} - 2.761 \times 10^{-3}D^{2**} + 4.675 \times 10^{-6}D^{3**}$	1.000**
HA	F	$K = .143 + 1.356D^{**} - 1.827 \times 10^{-3}D^{2**} + 4.223 \times 10^{-7}D^3$	1.000**
HA	S	$K = .455^* + 1.289D^{**} - 1.116 \times 10^{-3}D^{2**} - 1.460 \times 10^{-6}D^{3**}$	1.000**

RS : River sand, LA : Light-colored Andosol, GL : Gray Lowland soil, HA : Humic Andosol.

F : Chemical fertilizers, S : Sewage sludge.

** : Significant at 1% level, * : Significant at 5% level.

謝 辞

本論文のとりまとめに当たり貴重な御助言を頂いた北海道大学農学部土壌学講座の岡島秀夫教授、並びに佐久間敏雄助教授には心から謝意を表します。また、供試土壌の土性の判定をして頂いた日本大学農獣医学部隅田裕明講師に感謝致します。

引用文献

- 1) Black, T. A., W. R. Gardner and G. W. Thurtell (1969) : The prediction of evaporation, drainage and soil water storage for a bare soil. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, **33**, 655-660.
- 2) 山口武則・藤井國博(1984) : 降水量. 国立公害研究所研究報告, 第 68 号, 129-132.
- 3) 藤井國博・山口武則(1984) : 屋外ライシメーターの浸透水量. 国立公害研究所研究報告, 第 68 号, 133-168.
- 4) 藤井國博・広木幹也・山口武則・松坂泰明(1984) : 屋外ライシメーター浸透水試料の成分分析結果. 国立公害研究所研究報告, 第 68 号, 169-197.
- 5) 藤井國博(1983) : 有機廃棄物, 合成有機物, 重金属等の土壤生態系に及ぼす影響と浄化に関する研究. 国立公害研究所研究報告, 第 45 号, 113 p.
- 6) 服部浩之・藤井國博・久保井 徹・広木幹也(1983) : 下水汚泥施用各種土壤における無機態窒素の経時変化. 国立公害研究所研究報告, 第 47 号, 37-44.
- 7) 山口武則・久保井 徹・服部浩之・広木幹也・藤井國博(1983) : 下水汚泥の土壤施用が土壤の三相分布に及ぼす影響. 国立公害研究所研究報告, 第 46 号, 125-132.
- 8) 谷山一郎(1983) : 補間法, 土壤肥料試験研究のための統計計算用 BASIC プログラム. 農技研化学部資料, 第 1 号, 112-132.
- 9) 飯塚文男・佐久間敏雄・岡島秀夫(1982) : 土壤面蒸発による水分損失. *日本土壤肥料学雑誌*, **53**, 442-448.
- 10) 菅原正巳(1972) : 流出解析法, 水文学講座 7, 共立出版, 東京, 257 p.
- 11) 岡島秀夫(1981) : 土地利用と土壤溶液のイオン組成, 土壤の吸着現象—基礎と応用—. 博友社, 東京, 85-123.
- 12) 和田光史(1981) : 土壤粘土によるイオンの交換・吸着反応, 土壤の吸着現象—基礎と応用—. 博友社, 東京, 5-51.

汚泥施用土壌におけるリンの垂直分布

Vertical Distribution of Total Phosphorus Concentration in Soils Treated with Domestic Sewage Sludge

藤井國博^{1,2}・山口武則³

Kunihiro FUJII^{1,2} and Takenori YAMAGUCHI³

要 旨

消石灰と塩化第二鉄を脱水助剤とする生活廃水処理場の脱水汚泥を合計 45 t/ha 施用した淡色黒ボク土、灰色低地土(沖積土)、黒ボク土及び川砂における全リンの垂直分布を最終の汚泥施用後 2 年目に調査した。淡色黒ボク土、黒ボク土及び川砂区における地表下 15-20 cm の下層土の全リン含有量は、それ以下の層(20 cm)の層における含有量より高かった。この結果は、汚泥中のリンが表層土から下層土に移動することを示唆している。

Abstract

Studies were conducted using soil samples collected at two years after the final sludge application from sludge-treated light-colored andosol, gray lowland soil, humic andosol and river sand. Applied sludge, dehydrated with lime and ferric chloride, was produced in a domestic sewage treatment plant and its total accumulative loading rates were 45 dry metric tons/ha. Total phosphorus contents of subsoils of light-colored andosol, humic andosol and river sand (15-20 cm) were higher than those of soil layers below 20 cm. Those results suggested that phosphorus in the sludge was transported from the surface soil to the subsoil.

Key words : Total phosphorus, Vertical distribution, Surface soil, Subsoil, Domestic sewage treatment plant

-
1. 国立公害研究所 水質土壌環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川 16 番 2
Water and Soil Environment Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
 2. 現在：農業環境技術研究所 環境資源部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町観音台 3-1-1
Present Address : Department of Natural Resources, National Institute of Agro-Environmental Sciences, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
 3. 国立公害研究所 技術部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川 16 番 2
Engineering Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

1 はじめに

土壌はリンの吸着能力をもっており、土壌に添加されたリンは土壌に吸着保持され、植物に吸収されにくい形態となることが広く知られている。なかでも、火山灰に由来する土壌の吸着力は強く植物を正常に生育させるためには多量のリン酸肥料の施用が必要である。このように、リンは土壌に吸着されるために下層土や地下水に移動しないものとみなされている。汚泥に含有されるリンも同様と考えられていたが、最近、群馬県農業試験場は、し尿処理場の消化汚泥を施用した淡色黒ボク土においてリンが下層土へ移動することを報告¹⁾し、汚泥中リン酸の移動が注目されるようになった。この点を解明するために前報²⁾において報告した国立公害研究所の屋外ライシメーター(有底枠)の未消化石灰汚泥連用土壌を深さ別に採取し、含有されるリンを計測して石灰汚泥中のリンの下層土への移動を追跡した。本報告はその結果に関するものである。

2 実験方法

有底枠に充てんされた土壌、施用された汚泥、試験区の内容、試験の経過、土壌試料の採取時期、位置、深さ、試料の調製法などは前報²⁾において報告したとおりである。前報において土壌 pH の計測のために調製した土壌試料を風乾した後、常法³⁾に従って全リン(T-P)を測定した。同時に参考としてリン酸吸収係数も常法⁴⁾に従って測定した。測定は日立製作所製分光光度計 Model 100-20 型を用いた。なお、有底枠へ充てんされた土壌の全リン含有量とリン酸吸収係数を表 1 に示した。測定した土壌は第 6 層(30-40 cm 層)までであった。表 2 に汚泥施用区及び化学肥料施用区の土壌の深さ別 T-P 濃度を示した。各層の T-P は 3 箇所 の 平均 値 である。また、土壌のリン酸吸収係数を表 3 に示した。

表 1 供試土壌の全リン含有量及びリン酸吸収係数

Table 1 Total phosphorus concentration and phosphate absorption coefficient of soils used

Plot	T-P mg/kg dry soil			
	Sand	Light-colored Andosol	Gray Lowland Soil	Humic Andosol
Fertilizers	232	584	357	1896
Sewage Sludge	222	579	365	1892
Plot	PAC* (Absorbed P ₂ O ₅ mg/100 g dry soil)			
	Sand	Light-colored Andosol	Gray Lowland Soil	Humic Andosol
Fertilizers	100	2160	830	1880
Sewage Sludge	90	2220	810	1880

*: Phosphate Absorption Coefficient

表 2 汚泥及び化学肥料施用土壌における全リン濃度の垂直分布

Table 2 Vertical distribution of total phosphorus in soil treated with sewage sludge or chemical fertilizers

(T-P mg/kg dry soil)				
Depth (cm)	Sludge Treated Plot			
	Sand	Light-colored Andosol	Gray Lowland Soil	Humic Andosol
0-5	538	1078	591	2312
5-10	487	1096	599	2283
10-15	457	1075	535	2224
15-20	384	988	399	2015
20-30	277	851	377	1942
30-40	262	819	393	1898
α level	0.01	0.01	0.01	0.01
LSD (0.05)	54	65	24	88
Depth (cm)	Fertilizer Treated Plot			
	Sand	Light-colored Andosol	Gray Lowland Soil	Humic Andosol
0-5	695	1797	996	3207
5-10	766	1851	991	3182
10-15	633	1777	786	2721
15-20	431	1293	423	2220
20-30	355	850	390	2075
30-40	313	845	422	2133
α level	0.01	0.01	0.01	0.01
LSD (0.05)	94	169	91	117

3 結果及び考察

表 2 に示した汚泥施用区における T-P 濃度の深さ別分布から次のことが明らかにされた。すなわち、川砂区では汚泥混合層 (0-15 cm 層) に続く第 4 層 (15-20 cm 層) における T-P 濃度は、第 3 層 (10-15 cm 層) より明らかに低い、第 5 層 (20-30 cm 層) 及び第 6 層 (30-40 cm 層) より明らかに高い。淡色黒ボク土でも同様である。灰色低地土では汚泥施用層内で明らかな濃度の差があり、第 3 層 (10-15 cm 層) が 1, 2 層より明らかに低く、かつ、第 3 層は第 4 層より明らかに高い。しかし、第 4 層から 6 層までの 3 層間には有意差が認められない。黒ボク土では汚泥施用 3 層間、4 と 5 層間及び 5 と 6 層間には有意差が認められないが、4 と 6 層間には有意差が認められる。

表 3 汚泥及び化学肥料施用土壌におけるリン酸吸収係数の垂直分布
 Table 3 Vertical distribution of phosphate absorption coefficient in soils treated with sewage sludge or chemical fertilizers

(Absorbed P₂O₅ mg/100 g dry soil)

Depth (cm)	Sludge Treated Plot			
	Sand	Light-colored Andosol	Gray Lowland Soil	Humic Andosol
0-5	260	2090	1040	1910
5-10	250	2160	1060	1900
10-15	250	2180	990	1900
15-20	190	2210	910	1890
20-30	120	2250	870	1860
30-40	130	2270	880	1860
α level	0.01	0.01	0.01	0.01
LSD (0.05)	40	180	50	30
Depth (cm)	Fertilizer Treated Plot			
	Sand	Light-colored Andosol	Gray Lowland Soil	Humic Andosol
0-5	160	2040	860	1790
5-10	140	2060	920	1800
10-15	140	2060	850	1760
15-20	120	2190	880	1840
20-30	100	2210	870	1840
30-40	110	2220	810	1860
α level	0.01	0.01	0.05	—
LSD (0.05)	30	50	50	80

これらの結果は、川砂、淡色黒ボク土及び黒ボク土では汚泥混合層以下の下層土の全リン濃度が上昇していることを示している。換言すれば、汚泥中に含まれるリンが下層土に移動したことを示している。群馬県農業試験場における調査⁷⁾はリン(酸)含有量の極めて高いし尿消化汚泥(T-P₂O₅ 10.6%)が施用された淡色黒ボク土で行われたが、ここで示したように群馬県農試より低リンの石灰汚泥施用土壌においても汚泥中のリンが下層土に移動することが明らかにされた。群馬県農試における調査では全リンとしてではなく可給態(植物に吸収される形態)として計測されている。

このリンの下層土への移動は、川砂及び淡色黒ボク土では汚泥施用区特有の現象ではなく化学肥料施用区でも第4層(肥料混合層に続く層)に移動していることが認められた(表2)。

表3には参考としてリン酸吸収係数を示した。汚泥区では、川砂、灰色低地土及び黒ボク土において汚泥混合層の吸収係数が20 cm以下の下層土より高くなっている。淡色黒ボク土では逆に下層土の吸収係数が汚泥混合層より高い傾向にあった。なお、川砂及び淡色黒ボク土においては汚泥施用による影響が第4層に及んでいることが示されている。化学肥料施用区の川砂及び灰色低地土では下層土より肥料混合層の吸収係数が高く、両黒ボク土では逆に低い傾向にあった。このように、汚泥の施用は土壌のリン吸着能をも変化させることが明らかにされた。川砂及び灰色低地土におけるリン酸吸収係数の上昇は、汚泥に多量に含有され、施用によって土壌中に持ち込まれたカルシウムと鉄によるものであろう。

謝 辞

本実験における土壌試料の採取は、(株)川上農場の一条美喜雄、永高貞治、鈴木義男、鈴木圭策氏にお願いした。また、土壌試料の調製と分析に当たっては中村てる子、田村明子氏のご協力をいただいた。これらの皆様に深謝の意を表します。

引 用 文 献

- 1) 海老原武久・山田 要・松村 蔚(1984)：汚泥の農業利用に関する研究(第9報)、汚泥連用による土壌中一般成分および重金属の移動。日本土壌肥料学会講演要旨集、第30集、p.287
- 2) 藤井國博・服部浩之・山口武則(1986)：汚泥の連用が土壌 pH に与える影響。国立公害研究所研究報告、第93号、53-60。
- 3) 関谷宏三(1970)：12. リン酸、肥沃度測定のための土壌養分分析法、養賢堂、225-257。
- 4) 農林水産省農蚕園芸局農産課(1979)：21. リン酸吸収係数。土壌環境基礎調査における土壌、水質及び作物体分析法、81-84。

汚泥連用土壌における土壌層位別 Mn, Zn, Cu の形態

Forms of Mn, Zn, Cu in Each Layer of Soils Continuously Treated with Sewage Sludge

山口武則¹, 麻生末雄², 藤井国博^{3,4}

Takenori YAMAGUCHI¹, Suelo ASO² and Kunihiro FUJII^{3,4}
and Kunihiro FUJII^{3,4}

要 旨

石灰凝集生活廃水汚泥を3年間連用(汚泥2.5t/10a, 年2回), その後, 2年間無施用で経過した4種類の土壌(砂質土, 淡色黒ボク土, 沖積土及び黒ボク土)について, 土壌層位別(0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-25, 25-30 cmの6層位)にMn, Zn及びCuの分布を調べ, さらに土壌中の可溶性重金属の測定法として一般化されている抽出法により, これらの形態を検討した。その結果, 汚泥連用土壌における全Mn, 全Zn及び全Cuは, 汚泥並びに化学肥料区のいずれも淡色黒ボク土>沖積土>黒ボク土>>砂質土を示し, 汚泥区のZnは淡色黒ボク土及び黒ボク土で, また, Cuは黒ボク土で高く, いずれも化学肥料区を上回った。全Znは, 汚泥施用層の下層第4層位まで高く, 汚泥施用層からの全Znの移動が認められた。各土壌におけるMn, Zn及びCuは, 大部分が1%EDTA, 0.1N塩酸及び0.2Mピロリン酸ナトリウム可溶態として存在し, 特に, 汚泥連用土壌におけるZnは, 1%EDTA, 0.1N塩酸及び0.2Mピロリン酸ナトリウム可溶の形態として存在し, 全Znより, さらに下層に移動することが明らかになった。

Abstract

Distribution of Mn, Zn and Cu in six soil layers (0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-25 and

* 本報告の内容は, 昭和59年度日本土壌肥科学会仙台大会において発表した。

1. 国立公害研究所 技術部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Engineering Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
2. 昭和59年度 国立公害研究所客員研究員(東京農業大学 〒156 東京都世田谷区桜丘1丁目1番1号)
Visiting Fellow of the National Institute for Environmental Studies. Present Address: Tokyo University of Agriculture, Sakuragaoka-1, Setagaya-ku, Tokyo 156, Japan.
3. 国立公害研究所 水質土壌環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Water and Soil Environment Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
4. 現在: 農業環境技術研究所 環境資源部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町観音台3-1-1
Present Address: Department of Natural Resources, the National Institute of Agro-Environmental Sciences, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

25-30cm) of four kinds of soils (sandy soil, light-colored andosol, alluvial soil, and humic andosol), to which limed domestic sewage sludge and chemical fertilizer had been continuously applied over three years and then untreated for two years, was determined and their forms were examined by means of a generalized method of extracting soluble metals from soils, with the following results.

Total contents of Mn, Zn and Cu decreased in the following order : light-colored andosol > alluvial soil > humic andosol >> sandy soil, both in sludge-treated soils and in chemical fertilizer-treated soils.

Zn content in the sludge-treated soils were high in light colored and humic andosols and Cu content was high in humic andosol, either being higher than those in the chemical fertilizer-treated soils.

Total Zn content was high through out the four soil layers under the sludge-treated layer, indicating translocation of Zn from the sludge-treated layer.

Most of Mn, Zn and Cu in all soils existed as 1% EDTA, 0.1 N hydrochloric acid, and 0.2 M sodium pyrophosphate soluble forms, and especially, Zn in the sludge-treated soils existed as 1% EDTA, 0.1 N hydrochloric acid, and 0.2 M sodium pyrophosphate soluble forms, indicating further translocation as compared to total Zn.

Key words : Sewage sludge, Heavy metals, Mn, Zn, Cu

1 はじめに

著者らは、前報¹⁾において、石灰凝集生活廃水汚泥中の Mn, Zn 及び Cu の形態について、Mn 及び Zn は、大部分が 1% EDTA 可溶部並びに 0.1 N 塩酸可溶部として、また、Cu は 1% EDTA 可溶部並びに 0.2 M ピロリン酸ナトリウム可溶部として存在することを報告した。

本報告は、前報¹⁾に続き、著者らが一連の研究に供試している石灰凝集生活廃水汚泥を 4 種類の土壤が充てんされた屋外ライシメーター(有底枠)に 3 年間連用し、その後、2 年間無施用で経過した土壤について、土壤層別別に Mn, Zn 及び Cu の分布を調査し、これらの重金属の下層への移動状況を検討した。さらに、前報¹⁾と同様に、土壤中の可溶性重金属の測定として一般化されている抽出法により、これらの形態別の分布状況を調査した成果に関するものである。

2 実験方法

試験設計、栽培計画、供試土壤及び汚泥等の実験条件は、前報¹⁾で報告したとおりである。なお、昭和 57 年度は両有底枠ともに汚泥または化学肥料を施用せず、夏作はソルガム、冬作はハウレンソウを栽培した。

このような経過をたどった各有底枠の土壤を採取した。図 1 は土壤の採取位置を示し、各有底枠において 2 箇所を昭和 58 年 6 月 29 日に実施した。

土壤採取層位は、0~5, 5~10, 10~15, 15~20, 20~25, 25~30 cm の 6 層から採取した。なお、汚泥及び化学肥料の混合層は 0~15 cm の 3 層である。

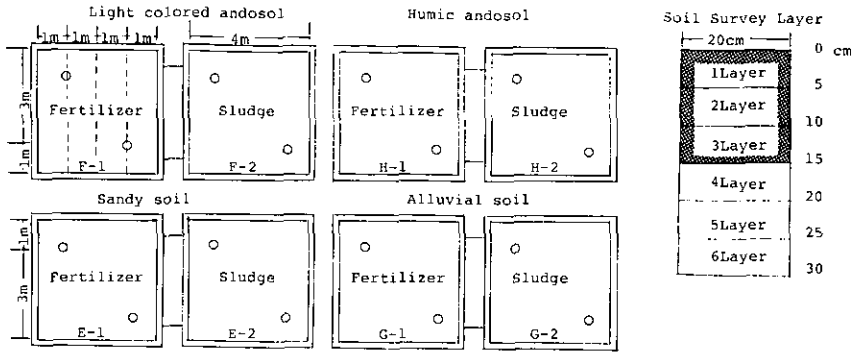


図 1 土壌採取位置

Fig. 1 Sampling site

■ ; Application of sewage sludge

○ ; Sampling site

採取した土壌は、風乾後、2 mm のフルイでふるい分けして分析試料とした。

各土壌分析試料は、硝酸・過塩素酸で湿式分解し²⁾、ろ過定容して、ろ液を原子吸光分析に供し、全 Mn, 全 Zn 及び全 Cu を測定した。

他方、土壌中の可溶性重金属の測定として用いられている水、0.1 N 塩酸、0.2 M ピロリン酸ナトリウム、1%EDTA 及び 1 N 酢酸アンモニウム(pH 7.0)を用いて、土壌層位別の重金属の形態分析を行った。すなわち、土壌試料各 10 g にそれぞれの抽出液 50 ml を加え 1 時間の振とう抽出を行い、抽出液は抽出後、ろ別してろ液を原子吸光分析に供し、Mn, Zn 及び Cu の分析を行った。

3 結果及び考察

表 1 は 4 種類の土壌における土壌層位別の全 Mn, 全 Zn 及び全 Cu の分布を示したものである。

全 Mn, 全 Zn 及び全 Cu は、表 1 に示したように、汚泥及び化学肥料区のいずれも淡色黒ボク土、沖積土、黒ボク土、砂質土の順に低く、土壌の種類による全 Mn, 全 Zn 及び全 Cu の相違が認められた。なお、汚泥施用区的全 Zn は、砂質土、淡色黒ボク土、沖積土及び黒ボク土で、また、全 Cu は、砂質土及び黒ボク土でそれぞれ高く、化学肥料区を上回ることが認められた。

図 2 は、各土壌の層位別全 Zn の分布を示したものである。全 Zn は汚泥混合層である第 1 層から第 3 層(0~15 cm)で高く、汚泥が施用されていない第 5 層及び第 6 層(20~30 cm)で低いことが認められた。第 4 層(15~20 cm)は汚泥混合層の次層(15~20 cm)であるが、この層の全 Zn は、それ以下(20 cm 以下)より明らかに高水準値を示した。これと同様の傾向が砂質土及び黒ボク土における土壌層位別の全 Cu についても認められた(表 1)。

本有底枠では、汚泥混合時の耕うんは 0~15 cm, すなわち、第 1 層から第 3 層までしか耕うんされておらず、第 1 層から第 3 層における全 Zn 及び全 Cu の増加は、汚泥施用に伴う Zn 及び Cu

表 1 土壌層位別の全 Mn, 全 Zn 及び全 Cu の分布
Table 1 Distribution of Mn, Zn and Cu at six soil layer

Soils	Treatment	Depth cm	Total content ($\mu\text{g/g}$ dry soil)		
			Mn	Zn	Cu
Sandy soil	Fertilizer	0-5	248.9	34.4	10.1
		5-10	262.3	48.6	10.1
		10-15	228.6	34.4	10.6
		15-20	214.3	30.3	9.6
		20-25	266.7	34.4	9.2
		25-30	246.4	33.2	9.4
	Sludge	0-5	238.4	60.7	12.9
		5-10	238.4	55.6	13.1
		10-15	229.3	50.5	13.1
		15-20	209.0	39.4	9.8
		20-25	216.2	28.1	9.5
		25-30	223.1	29.3	10.2
Light colored andosol	Fertilizer	0-5	1618.2	119.9	91.4
		5-10	1587.6	123.4	92.3
		10-15	1652.9	123.6	94.0
		15-20	1622.5	119.0	95.1
		20-25	1685.6	126.5	94.5
		25-30	1632.4	116.2	95.8
	Sludge	0-5	1568.2	140.7	92.0
		5-10	1596.5	146.3	92.8
		10-15	1648.2	149.6	93.5
		15-20	1663.6	134.6	91.4
		20-25	1623.8	124.7	92.2
		25-30	1659.7	119.8	92.3
Alluvial soil	Fertilizer	0-5	1501.4	107.1	57.9
		5-10	1489.4	103.9	57.4
		10-15	1383.2	94.6	58.2
		15-20	1335.4	90.7	58.8
		20-25	1438.3	94.9	57.9
		25-30	1354.4	93.9	53.7
	Sludge	0-5	1341.6	110.0	56.4
		5-10	1388.3	119.2	56.2
		10-15	1364.7	117.0	56.2
		15-20	1296.1	105.8	49.6
		20-25	1384.8	91.6	54.3
		25-30	1247.4	91.5	54.3
Humic andosol	Fertilizer	0-5	1029.0	59.1	44.6
		5-10	1033.1	63.8	51.7
		10-15	1023.2	72.6	43.9
		15-20	1025.1	71.5	50.5
		20-25	1040.1	58.7	49.9
		25-30	1019.8	59.7	39.0
	Sludge	0-5	1013.4	109.8	54.9
		5-10	984.6	102.8	55.5
		10-15	1012.3	109.3	55.0
		15-20	1023.6	86.8	53.5
		20-25	1914.8	96.8	46.4
		25-30	986.8	75.5	41.8

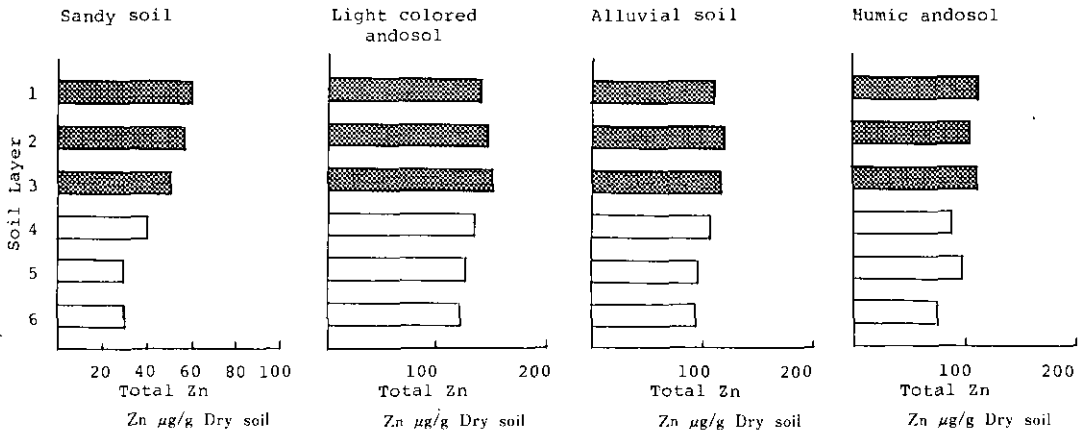


図 2 汚泥連用土壌中における土壌層位別の全 Zn 含量

Fig. 2 Total contents of Zn at six soil layers of the soils to which sewage sludge was continuously applied

■ : Application of sewage sludge

の蓄積によるものと考えられる。また、汚泥施用層の次層である第 4 層の全 Zn 及び全 Cu の増加は、上層からの移動³⁾によるものと考えられる。

表 2 は、各土壌中における Mn, Zn 及び Cu の形態を抽出法により検討した結果を示したものである。

4 種類の土壌における Mn, Zn 及び Cu は、砂質土では 0.1 N 塩酸可溶部 > 1% EDTA 可溶部 > 0.2 M ピロリン酸ナトリウム可溶部を示した。淡色黒ボク土では、Mn は 1% EDTA 可溶部 > 0.1 N 塩酸可溶部 > 0.2 M ピロリン酸ナトリウム可溶部を示した。また、Zn 及び Cu は 1% EDTA > 0.2 M ピロリン酸ナトリウム > 0.1 N 塩酸可溶部を示した。沖積土では、Mn 及び Cu は 1% EDTA 可溶部 > 0.1 N 塩酸可溶部 > 0.2 M ピロリン酸ナトリウムを示した。Zn は 1% EDTA 可溶部 > 0.2 M ピロリン酸ナトリウム > 0.1 N 塩酸可溶部を示した。黒ボク土では、Mn 及び Cu は 0.2 M ピロリン酸ナトリウム可溶部 > 1% EDTA 可溶部 > 0.1 N 塩酸可溶部を示した。Zn は 1% EDTA 可溶部 > 0.2 M ピロリン酸ナトリウム可溶部を示した。これらのうち、汚泥施用区で高い値を示したのは、砂質土では Mn, Zn 及び Cu の 0.1 N 塩酸可溶部、1% EDTA 可溶部及び 0.2 M ピロリン酸ナトリウム可溶部であった。淡色黒ボク土では Zn の 1% EDTA 及び 0.2 M ピロリン酸ナトリウム可溶部、沖積土では、Zn の 1% EDTA、0.1 N 塩酸及び 0.2 M ピロリン酸ナトリウム可溶部である。黒ボク土では、Mn, Zn 及び Cu の 1% EDTA、0.2 M ピロリン酸ナトリウム及び 0.1 N 塩酸可溶部である。なお、これら 4 種類の土壌における Mn, Zn 及び Cu の水及び 1 N 酢酸アンモニウム可溶部は、汚泥及び化学肥料施用区ともに極めて低い値を示した。

図 3 は、4 種類の土壌における Zn の 1% EDTA、0.1 N 塩酸及び 0.2 M ピロリン酸ナトリウム

表 2 各土壌中における土壌層位別 Mn, Zn 及び Cu の形態
 Table 2 Forms of Mn, Zn and Cu at each soil layer of four kinds of soils

Soils	Treatment	Extractant Depth (cm)	Extractable metals ($\mu\text{g/g}$ dry matter)					
			H ₂ O			0.1 N HCl		
			Mn	Zn	Cu	Mn	Zn	Cu
Sandy soil	Fertilizer	0-5	0.96	0.26	Trace	33.14	6.15	2.30
		5-10	1.88	0.49	Trace	29.18	5.85	2.31
		10-15	1.82	0.46	Trace	25.03	5.13	2.33
		15-20	2.02	0.52	Trace	22.11	4.45	2.35
		20-25	2.07	0.53	Trace	19.22	3.89	2.27
		25-30	1.85	0.25	Trace	17.87	4.09	3.01
	Sludge	0-5	0.89	0.48	Trace	37.20	19.42	6.06
		5-10	0.89	0.23	Trace	38.79	19.85	6.37
		10-15	1.77	0.23	Trace	33.08	18.18	5.51
		15-20	1.77	0.45	Trace	30.87	14.72	4.60
		20-25	1.95	0.45	Trace	18.97	5.56	2.78
		25-30	2.07	0.53	Trace	20.69	4.67	2.73
Light colored andosol	Fertilizer	0-5	2.02	0.58	Trace	32.99	3.09	0.58
		5-10	2.04	0.27	Trace	33.27	2.69	0.47
		10-15	1.03	0.27	Trace	30.89	3.01	0.61
		15-20	1.03	0.27	Trace	22.11	3.63	0.86
		20-25	1.03	0.57	Trace	22.86	2.91	0.71
		25-30	1.03	0.59	Trace	25.53	2.36	0.59
	Sludge	0-5	0.99	0.54	Trace	41.74	3.34	0.46
		5-10	1.02	0.52	Trace	37.74	3.23	0.35
		10-15	1.02	0.26	Trace	38.69	3.46	0.47
		15-20	2.05	0.52	Trace	32.73	2.62	0.41
		20-25	2.05	0.59	Trace	30.91	2.16	0.47
		25-30	2.05	0.53	Trace	28.17	2.00	0.59
Alluvial soil	Fertilizer	0-5	0.91	0.24	Trace	80.54	5.00	4.64
		5-10	1.90	0.26	Trace	81.13	4.52	4.75
		10-15	2.24	0.26	Trace	77.47	4.67	5.45
		15-20	2.24	0.47	Trace	71.25	4.47	7.38
		20-25	3.31	0.60	0.29	65.66	4.74	7.85
		25-30	3.31	0.86	1.04	67.07	4.01	7.82
	Sludge	0-5	0.91	0.47	Trace	97.02	11.74	6.08
		5-10	0.91	0.24	Trace	93.61	12.50	6.16
		10-15	0.91	0.47	Trace	93.71	12.57	5.79
		15-20	1.66	0.47	Trace	93.40	10.82	7.53
		20-25	1.66	0.42	0.52	83.62	6.29	7.53
		25-30	1.97	0.73	0.78	72.64	5.52	8.02
Humic andosol	Fertilizer	0-5	0.96	0.25	Trace	46.84	3.77	0.22
		5-10	0.96	0.28	Trace	43.75	3.67	0.25
		10-15	1.31	0.28	Trace	40.41	3.61	0.33
		15-20	2.09	0.25	Trace	36.64	3.80	0.39
		20-25	1.05	0.50	Trace	36.35	4.10	0.50
		25-30	1.06	0.25	Trace	43.54	3.90	0.50
	Sludge	0-5	0.96	0.25	Trace	49.97	8.45	0.28
		5-10	0.96	0.25	Trace	47.42	8.50	0.22
		10-15	1.29	0.30	Trace	42.68	7.56	0.28
		15-20	1.18	0.25	Trace	63.54	6.44	0.33
		20-25	1.12	0.25	Trace	48.21	6.72	0.44
		25-30	1.12	0.25	Trace	43.10	5.61	0.44

表 2 つづき
Table 2 continued

Extractable metals ($\mu\text{g/g}$ dry matter)								
1 N NH_4AC			1% EDTA-2 Na			0.2 M $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$		
Mn	Zn	Cu	Mn	Zn	Cu	Mn	Zn	Cu
1.95	0.36	Trace	24.28	3.29	1.50	2.10	1.11	0.69
1.77	0.44	Trace	21.97	2.89	1.75	2.08	0.96	0.79
1.85	0.35	Trace	29.13	3.92	1.57	2.55	1.01	0.86
1.82	0.30	Trace	22.06	3.14	1.57	2.58	0.91	0.91
1.82	0.53	Trace	31.40	2.45	1.57	2.05	0.86	0.66
1.85	0.43	Trace	22.75	2.00	1.64	2.00	0.94	0.74
2.17	1.16	Trace	33.76	17.53	4.67	2.85	9.27	3.21
2.12	1.24	Trace	32.12	17.68	4.80	3.36	9.70	2.73
2.20	1.69	Trace	31.31	17.10	4.72	3.16	7.86	2.75
2.43	1.34	Trace	24.51	11.29	3.51	3.41	5.96	1.90
1.82	0.53	Trace	23.87	3.56	2.25	1.96	1.85	1.31
1.72	0.40	Trace	23.24	2.80	2.15	1.65	1.04	0.96
2.25	0.46	Trace	77.57	9.20	19.63	11.22	5.01	14.46
2.16	0.35	Trace	79.88	9.50	19.48	7.93	4.87	16.53
2.19	0.32	Trace	80.06	11.10	18.94	8.32	4.99	12.20
2.08	0.54	Trace	92.08	6.55	15.88	6.91	5.76	18.96
2.28	0.51	Trace	97.47	5.37	15.08	11.28	6.67	18.54
2.46	0.41	Trace	91.51	5.45	14.81	8.61	6.19	23.09
2.74	0.40	Trace	36.95	17.24	17.05	9.04	9.21	17.12
2.51	0.43	Trace	57.97	18.44	18.10	9.19	9.51	14.41
2.50	0.38	Trace	60.99	16.89	17.76	9.15	9.58	15.93
2.62	0.38	Trace	68.54	11.14	17.68	9.77	8.72	14.54
3.10	0.41	Trace	80.03	6.85	14.67	15.30	7.25	18.75
3.20	0.41	Trace	84.94	5.25	13.34	14.81	6.21	19.29
3.26	0.16	Trace	202.9	4.55	7.52	95.14	1.64	5.31
2.75	0.16	Trace	203.0	4.49	7.30	93.19	1.35	5.41
2.73	0.19	Trace	226.8	4.36	7.68	62.97	1.51	7.17
2.40	0.21	Trace	251.1	2.05	8.49	49.53	0.86	6.16
2.66	0.21	Trace	257.8	1.56	8.24	44.16	1.07	7.21
2.45	0.19	Trace	266.1	1.64	7.86	48.99	1.10	6.07
2.60	0.29	Trace	175.2	17.06	12.05	91.33	4.96	4.39
2.45	0.34	Trace	182.1	18.40	12.39	79.43	6.63	4.53
2.37	0.42	Trace	196.6	18.90	12.95	84.61	6.91	5.19
2.50	0.49	Trace	243.7	14.43	11.99	78.27	4.16	5.17
2.05	0.24	Trace	305.0	4.62	10.54	36.19	1.66	5.32
2.16	0.21	Trace	233.8	4.82	15.84	42.67	1.28	7.47
2.51	0.27	Trace	144.6	8.33	13.25	167.3	5.06	18.55
2.44	0.30	Trace	71.03	10.75	16.06	186.5	4.98	15.55
2.39	0.28	Trace	76.27	10.00	16.00	174.0	4.75	18.95
2.42	0.31	Trace	92.31	8.23	16.02	154.5	4.34	19.93
2.83	0.36	Trace	89.35	6.82	16.62	157.3	4.26	20.14
2.82	0.39	Trace	89.73	6.13	16.99	148.2	4.44	20.79
1.86	0.58	Trace	150.4	21.23	16.67	182.3	16.97	23.47
2.30	0.66	Trace	125.5	25.13	17.01	184.3	16.34	28.49
2.30	0.41	Trace	138.3	25.28	16.61	184.7	16.52	23.29
2.52	0.47	Trace	119.1	21.74	17.04	193.3	13.36	19.81
2.69	1.13	Trace	89.62	13.41	16.41	188.2	9.22	26.87
2.96	0.39	Trace	98.63	9.83	16.15	197.2	8.85	26.36

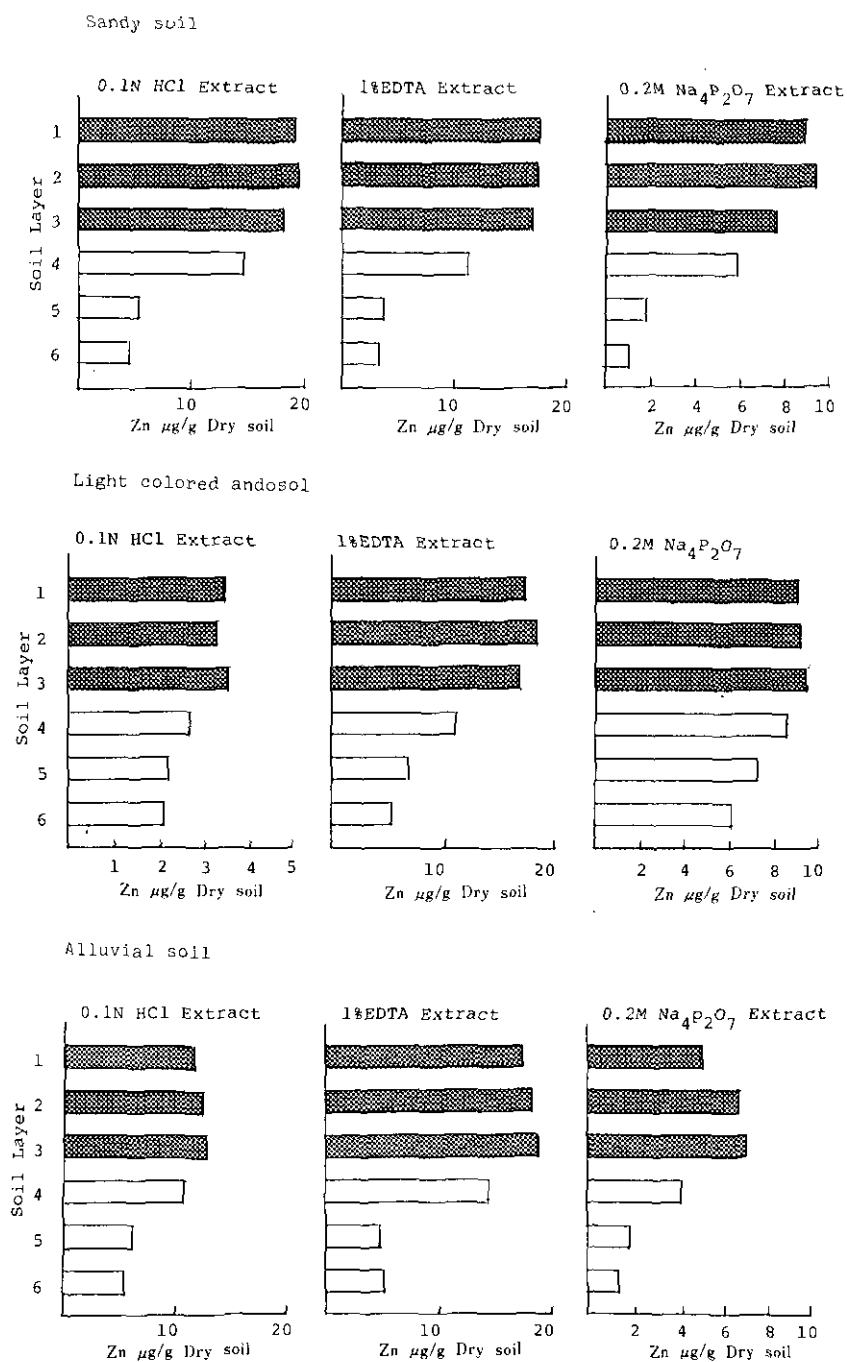


図 3 各土壌中における土壌層位別 Zn の形態
 Fig. 3 Forms of Zn at each soil layer of four kinds of soils
 ■ : Application of sewage sludge

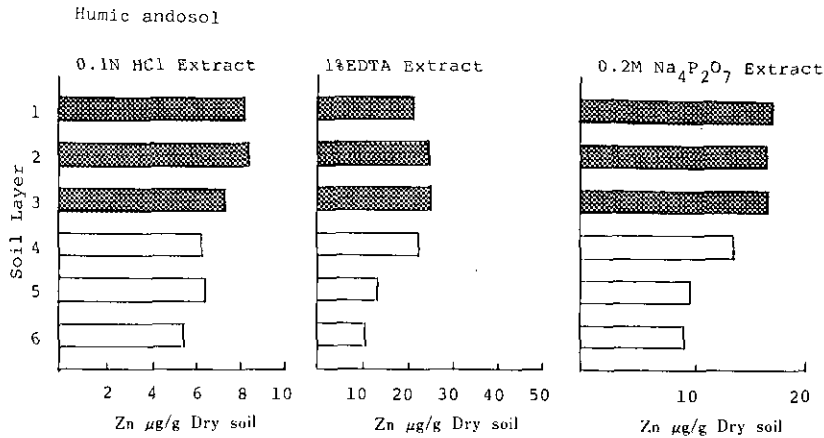


図 3 つづき
Fig. 3 continued

可溶部について土壌層位別の分布を示したものである。図3に示したように、これらの形態は、汚泥混合層である第1層から第3層(0~15 cm)で高く、汚泥の施用されていない第6層(25~30 cm)で低い値を示し、第4層及び第5層(15~25 cm)が、第6層(25~30 cm)より高い値を示した。このことから、これらの形態は全Znより、さらに下層に移動しやすい形態であると考えられる。

以上に示したように、汚泥連用土壌における全Mn、全Zn及び全Cuは、汚泥及び化学肥料区のいずれも淡色黒ボク土、沖積土、黒ボク土、砂質土の順に低く、土壌の種類によって異なることが明らかになった。さらに、汚泥施用区における全Znは4種類の土壌で、また、全Cuは砂質土及び黒ボク土でそれぞれ高く、化学肥料区を上回ることが認められた。一方、全Znは、汚泥を連用した4種類の土壌において、汚泥施用層の下層第4層位まで高く、汚泥混合層からのZnの移動が認められた。この傾向は砂質土及び黒ボク土における層位別の全Cuについても認められた。

各土壌中のMn、Zn及びCuは、大部分が1%EDTA、0.1N塩酸及び0.2Mピロリン酸ナトリウム可溶部として存在し、特に、汚泥連用土壌におけるZnは1%EDTA、0.1N塩酸及び0.2Mピロリン酸ナトリウム可溶の形態として存在することが明らかになった。

引用文献

- 1) 山口武則・藤井國博・麻生末雄(1986)：石灰凝集生活排水汚泥中のMn, Zn, Cuの形態。国立公害研究所研究報告, 第94号, 1-9.
- 2) 日向 進(1981)：山梨県勝沼地方におけるブドウ園土壌の蓄積銅の実態について。日本土壌肥科学雑誌, 52, 347-355.
- 3) 渡辺 実・板川秀雄・矢崎仁也・松坂泰明(1984)：下水汚泥等有機性廃棄物の施用に伴う重金属元素の土壌集積と移動。日本土壌肥科学会講演要旨集, 第30集, 286.

汚泥の水田土壌還元による陸水環境に及ぼす影響
Effects of Paddy Field Application of Sewage Sludge
on the Aquatic Environment

矢木修身¹・稲森悠平¹・広木幹也¹
大久保紀男²・須藤隆一¹

Osami YAGI¹, Yuhei INAMORI¹, Mikiya HIROKI¹
Norio OKUBO² and Ryuichi SUDO¹

要 旨

水田用の大型ライシメーターを用いて、下水汚泥を水田土壌に還元した場合の陸水環境特に窒素、リンの陸水への負荷並びに藻類増殖に及ぼす影響について検討を加えた。3種の下水汚泥の施用区と対照としての無施用区の4基のライシメーターを用い、田面水及び浸透水の水質分析並びに藻類培養試験を行い以下のことを明らかにした。

汚泥を水田土壌に還元した場合、田面水中の窒素濃度は施用直後で高くなり、最大 $\text{NH}_4\text{-N}$ 2.45 mg/l, $\text{NO}_{2+3}\text{-N}$ 8.93 mg/l を示した。リンは最大で 0.054 mg/l であった。また AGP の最大値は *Microcystis*, *Selenastrum* でそれぞれ 9.4 mg/l, 7.0 mg/l でいずれも施用後2か月以内のものであった。施用後2か月間は汚泥からの栄養物質が田面水に混入することが予想された。一方、浸透水は施用汚泥の影響をほとんど受けないものと考えられた。

全国の湖沼で水の華を形成し大きな問題となっている *Microcystis* 並びに培養標準種である *Selenastrum capricornutum* を用いて田面水と浸透水の制限栄養物質について検討を加えた。田面水及び土壌浸透水は *Selenastrum* にとってリン制限になっていた。また *Microcystis* の場合、田面水及び浸透水に窒素、リンを添加しても増殖が認められずキレート物質である EDTA を同時に添加すると増殖が認められることから、田面水及び土壌浸透水は *Microcystis* にとって増殖しにくい水質となっていることが判明した。

Abstract

Effects of sewage sludge treatment of paddy fields on the aquatic environment were investigated using lysimeters in a greenhouse. Three kinds of sludge were applied to paddy fields. Nutrient concentrations and Algal Growth Potential (AGP)

1. 国立公害研究所 水質土壌環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Water and Soil Environmental Division, the National Institute for Environmental Studies. Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
2. 昭和57~60年度 国立公害研究所共同研究員 (東邦大学理学部 〒274 船橋市三山2-2-1)
Research Collaborator of the National Institute for Environmental Studies. Present Address: Toho University, Faculty of Science, Miyama, Funabashi, Chiba 274, Japan.

of surface water and leachate were measured.

Nitrogen and phosphorus concentrations in the surface water increased by sludge treatment for 2 months. Maximum $\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N} + \text{NO}_3\text{-N}$, and $\text{PO}_4\text{-P}$ concentrations were 2.45 mg/l, 8.93 mg/l and 0.054 mg/l respectively. However, after 2 months of treatment, the nitrogen and phosphate concentrations reduced to the same levels as that of no-treatment. AGP values of *Microcystis flos-aquae* and *Selenastrum capricornutum* for surface water were 9.4 mg/l and 7.0 mg/l, respectively. Therefore, it is important to pay careful attention to the management of the surface water level of paddy field for 2 months owing sludge amendment.

The concentrations of nitrogen and phosphorus and AGP values of leachate were both very low and these values were the same as for those for non-treated leachate. It seemed that the sludge treatment had no effects to the water quality of the leachate.

The limiting nutrient of the leachate was phosphorus for *S. capricornutum*. However, No growth stimulation of *M. flos-aquae* was observed upon addition of phosphorus to the leachate. Additions of phosphorus and EDTA to the leachate were very effective for the growth of *M. flos-aquae*.

Key words : Sludge, *Microcystis*, AGP, Leachate

1 はじめに

近年、下水道の普及に伴い、全国各地の下水処理現場で大量の余剰汚泥が発生しており、その量は昭和58年には232万tにも達し、その処理処分法が大きな問題となっている。この汚泥処分法として焼却、あるいは、埋立や緑農地還元さらにコンポスト化が用いられてきた。汚泥は多量の窒素とリンと有機物を含んでいるため、有機物肥料として緑農地へ還元することが大いに期待されている。しかしながら多量の汚泥を土壌還元した場合、汚泥成分の表層水及び地下水を汚染させることが懸念されており、この点についてはこれまでにあまり研究がなされていない。著者らは、畑地に汚泥を還元した場合の浸透水への影響について既に報告したが²⁾、今回は水田用の大型ライシメーターを用いて下水汚泥を水田土壌に還元した場合の陸水環境に及ぼす影響について検討を加えた。特に田面水はそのまま河川や湖沼に流入する恐れがあり、そのため田面水並びに浸透水の両者の水質並びにAGP(Algal Growth Potential, 藻類生産の潜在能力)を測定することにより、田面水及び浸透水の富栄養化への影響を中心に検討を加えた。

2 実験方法

2.1 ライシメーター

実験に用いた4基の水田用ライシメーターは図1、図2に示すとおり内径1.7m、直胴部2.3mの円筒型で容積が約5m³あり水田をシミュレートしたものである。土壌の充てんは図2に示すように、ライシメーターの底部に磁性のボールミルと石英砂を敷きつめ、その上に土層が196mになるように茨城県筑波郡筑波町より採取した水田の下層土(沖積土壌)を圧密沈降させて充てんし

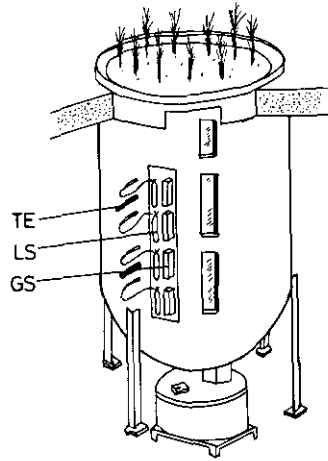


図 1 ラインメーター外観図

Fig. 1 Outline of lysimeter

TE ; Thermometer, LS : Liquid sampler, GS ; Gas sampler

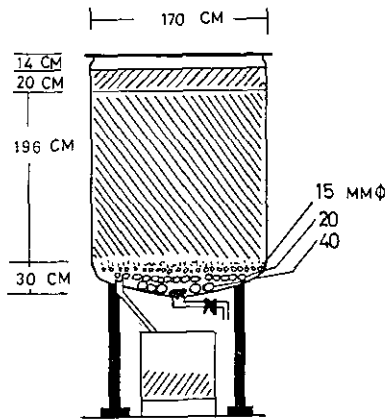


図 2 ラインメーターの構造

Fig. 2 Structure of lysimeter

た。充てんには22か月間を要したが、沈降が停止したのちに作土を14 cm 充てんした。4基いづれも自然光の当たる室内に設置されており、室内は20~25°C、湿度60%、地温は18°Cに制御されている。

2.2 供試汚泥

使用した汚泥を表 1 に示すが、No. 2 のライシメーターには T 市下水処理場の汚泥を消石灰及び塩化第 2 鉄を加えて凝集，脱水後乾燥させたもの，No. 3 のライシメーターには N 市下水処理場の汚泥を高分子凝集剤により凝集，脱水後乾燥させたもの，No. 4 のライシメーターには M 市下水処理場の汚泥を高分子凝集剤で凝集させた後，嫌気性消化した汚泥を用いた。No. 1 のライシメーターは汚泥無施用対照区とした。汚泥の施用量は，窒素の量として 160 kg-N/ha になるよう，No. 2, No. 3, No. 4 のライシメーターに 5 t, 3 t, 3.7 t/ha をそれぞれ施用した。汚泥は表層 10 cm の土壌と混合して施用した。

表 1 下水汚泥の種類
Table 1 Characteristics of sewage sludge

	Lysimeter			
	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4
Location of sewage plant	With out sludge amendment	T city	N city	M city
Coagulants for sludge		Ca(OH) ₂ , FeCl ₃	Polymer	Polymer
Sludge treatment		Raw sludge	Raw sludge	Digested sludge
Amendment amount		5 t/ha (160kg-N/ha)	3 t/ha (160kg-N/ha)	3.7 t/ha (160kg-N/ha)

2.3 ライシメーターの運転及び採水期間

ライシメーターの運転及び採水期間を表 2 に示すが 5 月 16 日に土壌表層 10 cm に汚泥を混ぜた

表 2 田面水と浸透水の採水日
Table 2 Sampling time of surface water and leachate

1983. 5.16	Sewage sludge amendment
5.23	Mixing of surface soil
5.24	Sampling of surface water (1 week)
5.25	Rice was planted
7.11	Sampling of surface water and leachate (8 week)
8.22	Sampling of surface water and leachate (14 week)
10. 3	Sampling of surface water and leachate (20 week)
10.28	Stop irrigation of surface water
11.14	Rice was harvested

後 10 cm の水をはり、その 1 週間後に代かきを行い、翌日採水しこれを施用 1 週間後の田面水とした。さらにこの翌日田植えを行ったのち、7 月 11 日(8 週間後)、8 月 22 日(14 週間後)、10 月 3 日(20 週間後)に田面水及び浸透水の採水を行った。浸透水は土壌表面より 35 cm のところより採取した。また、この間田面水の水位を 2 cm に保ち、減少した分については蒸留水を補給した。なお 10 月 28 日に水入れを停止し 11 月 14 日に稲刈りを行った。

2.4 水質分析の方法³⁾

田面水及び浸透水については、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_{2+3}\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ の測定を行った。 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_{2+3}\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ はいずれもテクニコン製オートアナライザーを用いて以下の方法で分析した³⁾。すなわち、 $\text{NH}_4\text{-N}$ はインドフェノール法を用いる自動分析法、 $\text{NO}_2\text{-N}$ はスルファニルアミドと反応させ生成したジアゾ化合物を測定する自動分析法、 $\text{NO}_3\text{-N}$ はヒドラジンで NO_2 に還元後、 $\text{NO}_2\text{-N}$ と同様の分析法により測定した。

2.5 AGP 及び制限栄養物質の測定方法⁴⁾

AGP 試験は国立公害研究所法に従った⁴⁾。前処理としてワットマン GF/C フィルターで試水を無菌的にろ過し、このろ液 100 ml を 300 ml 用三角フラスコに無菌的に 100 ml ずつ分注し、これに供試藻類を接種し AGP 試験を行った。制限栄養物質の検討には、無菌的に調製したろ液に各種の栄養塩類を添加した後、藻類を接種した。添加試験においては、無添加をコントロールとし、リン添加、窒素添加、リンと窒素添加、リンと窒素と EDTA 添加を行った。リンは P として 0.1 mg/l となるように K_2HPO_4 水溶液を、また窒素は N として 1 mg/l となるように NaNO_3 水溶液を、EDTA は $\text{Na}_2 \cdot \text{EDTA} \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ を 1 mg/l 添加した。

供試藻類として各国の AGP 試験の標準種となっている緑藻類の *Selenastrum capricornutum* 及び霞ヶ浦で水の華を形成する *Microcystis flos-aquae* を用いた。*Selenastrum* は 25°C、4,000 lx、90 rpm で振とう条件下で、*Microcystis* は 30°C、2,000 lx、1 日 1 回手でかくはんする静置条件下で培養を行った。増殖量はコルターカウンター-ZF-II 型を用いて平均藻体容積と藻体数を測定し、算出された全藻体容量により乾燥重量を算出した。

3 結果及び考察

3.1 田面水の水質

田面水の $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_{2+3}\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ に関する水質分析結果を表 3 に示した。 $\text{NH}_4\text{-N}$ の場合、汚泥施用直後の田面水は無施用で 0.14 mg/l、石灰・鉄処理で 0.20 mg/l、高分子処理で 0.38 mg/l と汚泥施用によりそれほど変化しないが、消化汚泥の場合 2.45 と著しく高い値を示した。しかし 8 週間になるといずれの場合も 0.09 mg/l 以下と大変低い値を示し、14 週間後には 0.03 mg/l 以下と著しく低い値となった。

表 3 田面水の水質
Table 3 Water quality of surface water

	NH ₄ -N				NO ₂₊₃ -N				PO ₄ -P			
	Weeks				Weeks				Weeks			
	1	8	14	20	1	8	14	20	1	8	14	20
Without amendment	0.14	0.03	0.01	0.02	0.90	0.01	0.01	0.02	0.008	0.006	0.000	0.000
Raw sludge (Ca(OH) ₂ , FeCl ₃)	0.20	0.09	0.00	0.03	0.71	0.39	0.05	0.03	0.012	0.026	0.005	0.000
Raw sludge (polymer)	0.38	0.03	0.00	0.03	0.31	0.31	0.04	0.03	0.025	0.025	0.000	0.000
Digested sludge	2.45	0.06	0.01	0.02	8.93	0.36	0.04	0.02	0.032	0.054	0.014	0.000

(mg/l)

NO₂₊₃-N の場合は、施用直後では、無施用でも 0.9 mg/l と石灰・鉄、高分子処理よりも高い値を示したが、消化汚泥は 8.9 mg/l と著しく高い値を示した。8 週後は無施用では 0.01 mg/l と著しく低い値に対し、汚泥施用では 0.30~0.40 mg/l 程度と 1 週後よりは減少する傾向が認められた。しかし 14 週後になると、汚泥施用系は最大でも 0.05 mg/l とかなり低い値となった。

リンの場合は、汚泥施用直後で 0.01~0.03 mg/l 程度で無施用の 0.08 より高い値を示した。8 週後は、直後とほぼ同様の値を示したが 14 週後ではかなり低い値を示し、20 週後にはいずれの場合も検出限界 (0.001 mg/l) 以下であった。

一般に窒素に関しては、窒素濃度が 0.3 mg/l 以上となると、水域が富栄養化することが知られており、この値を考慮すると、汚泥施用後約 2 か月間はこの値を超えることがあるが、2 か月後はほとんど富栄養化には影響を与えないといえよう。

一方、リンの場合は富栄養化の目安として 0.02 mg/l 濃度が用いられているが、汚泥の施用した系では約 2 か月後の田面水でもこの値を超えている場合も存在したが約 3 か月後は非常に低い値となりほとんど富栄養化には影響を与えないものと考えられた。

また田面水の水質で、NO₂₊₃-N に関し無添加にもかかわらず、1 週後が 0.90 とやや高い値を示した。これは 1 日前に代かきを行ったためにその影響がでたものと考えられる。

3.2 浸透水の水質

浸透水の NH₄-N、NO₂₊₃-N、PO₄-P に関する水質分析結果を表 4 に示した。NH₄-N は、汚泥を施用しても 0.04 mg/l 以下と著しく低く無施用とほぼ同じ値であることまた NO₂₊₃-N も汚泥を施用しても 0.05 mg/l 以下と無施用に近い値を示した。一方 PO₄-P に関してはすべての場合で検出されず汚泥を施用しても土壌を 35 cm 通過すればリンは完全に除去されるものと考えられた。

表 4 浸透水の水質
Table 4 Water quality of leachate

	NH ₄ -N			NO ₂₊₃ -N			PO ₄ -P		
	Weeks			Weeks			Weeks		
	1	8	14	1	8	14	1	8	14
Without amendment	0.00	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.000	0.000	0.000
Raw sludge (Ca(OH) ₂ , FeCl ₃)	0.01	0.04	0.03	0.04	0.02	0.02	0.000	0.000	0.000
Raw sludge (polymer)	0.01	0.02	0.01	0.03	0.02	0.02	0.000	0.000	0.000
Digested sludge	0.02	0.03	0.03	0.05	0.04	0.04	0.000	0.000	0.000

(mg/l)

以上のことより浸透水中の窒素、リン濃度は非常に低く汚泥施用による富栄養化への影響はほとんどないものといえよう。

3.3 田面水の AGP

田面水の AGP の測定結果を表 5 に示した。 *S. capricornutum* の場合 1 mg/l を超えるものは、石灰・鉄処理の 8 週後の 2.7 mg/l、高分子処理の 1 週、8 週後の 7.0 mg/l、1.9 mg/l、消化汚泥の 8 週後の 6.9 mg/l であり 14 週後はいずれの場合も 1 mg/l 以下を示した。一般に試水の AGP が 1 mg/l 以下の場合、大変きれいな水ということがいえるが、14 週後の田面水は AGP 的にも大変きれいな水といえよう。

表 5 田面水の AGP
Table 5 AGP of surface water

	<i>S. capricornutum</i>				<i>M. flos-aquae</i>			
	Weeks				Weeks			
	1	8	14	20	1	8	14	20
Without amendment	0.5	0.2	0.1	1.0	0.2	0.3	0.0	0.1
Raw sludge (Ca(OH) ₂ , FeCl ₃)	0.5	2.7	0.3	0.3	0.3	4.2	0.2	0.1
Raw sludge (polymer)	7.0	1.9	0.1	0.6	0.0	0.5	0.0	0.0
Digested sludge	0.3	6.9	0.4	0.7	0.1	9.4	0.1	0.0

(mg/l)

一方、*M. flos-aquae* の場合は 8 週後の石灰・鉄処理及び消化汚泥で 4.2 mg/l, 9.4 mg/l と高い値を示したが、14 週後には 0.2 mg/l 以下といずれの場合も著しく低い値となった。

AGP 試験においては、*S. capricornutum* の高いときには *M. flos-aquae* も高い値を示す傾向が認められたが、高分子汚泥の施用 1 週後は、*S. capricornutum* では著しく高い値を示し、*M. flos-aquae* では 0.0 mg/l で全く増殖が認められなかったが、この原因については不明である。また AGP で汚泥添加直後より添加 8 週後の方が高い AGP を示すことが多いがこの原因についても不明である。

3.4 浸透水の AGP

浸透水の AGP の測定結果を表 6 に示した。*S. capricornutum* 及び *M. flos-aquae* いずれの場合も汚泥を施用しても AGP は 1 mg/l 以下であり、浸透水の AGP は著しく低いことが判明した。これは浸透水中のリンが検出限界以下と著しく低いいため浸透水中で藻類が増殖できないものと考えられる。

表 6 浸透水の AGP
Table 6 AGP of leachate

	<i>S. capricornutum</i>			<i>M. flos-aquae</i>		
	Weeks			Weeks		
	8	14	20	8	14	20
Without amendment	0.4	0.2	0.8	0.7	0.3	0.1
Raw sludge (Ca(OH) ₂ , FeCl ₃)	0.7	0.4	0.7	0.0	0.0	0.2
Raw Sludge (polymer)	0.6	0.1	0.6	0.2	0.0	0.0
Digested sludge	0.1	0.3	0.5	0.0	0.0	0.0

(mg/l)

3.5 田面水の制限栄養物質

田面水の藻類増殖に関する制限栄養物質を明らかにするため、田面水に窒素、リン、EDTA を添加し藻類の最大増殖量を調べた。その結果を図 3～図 6 に示した。

図 3 に無施用の田面水に栄養塩を添加した場合の結果を示したが、田面水に *S. capricornutum* を接種した場合、窒素を添加しても、藻類の最大増殖量は無添加の場合と同様にほとんど増殖が認められないが、リン添加により施用 1 週間後では 86 mg/l と著しく高い増殖量が得られた。また 8 及び 20 週後でも 6 mg/l 程度と無添加よりは高い値を示した。このことは 1, 8 及び 20 週後

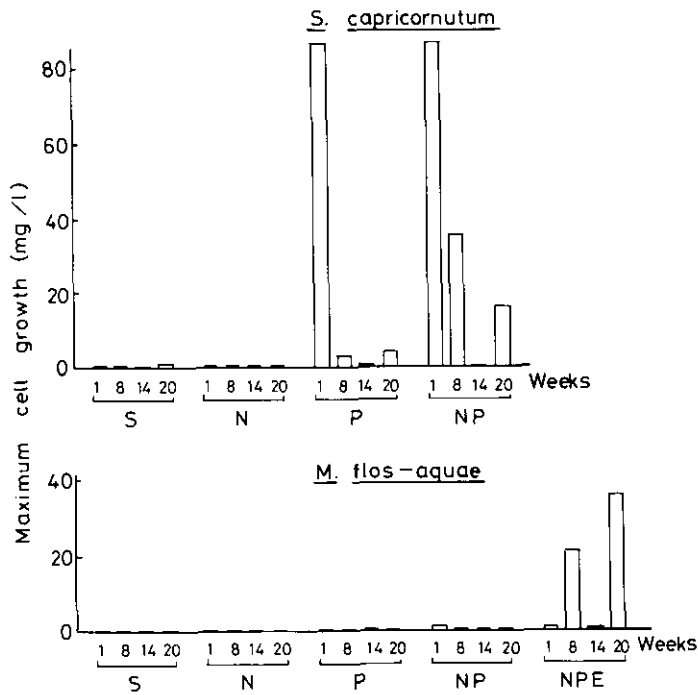


図 3 田面水の AGP と制限栄養物質（汚泥無施用）

Fig. 3 AGP and limiting nutrients of surface water (Without amendment)

S ; control, N ; $\text{NO}_3\text{-N}$ 1mg add, P ; $\text{PO}_4\text{-P}$ 0.1mg add, NP ; N and P add. EDTA ; $2\text{Na} \cdot \text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1mg add.

の田面水はリンが制限栄養物質であることがわかる。また、窒素とリン同時添加で、1、8及び20週後では藻類の増殖量はそれぞれ84 mg/l、35 mg/l、16 mg/lであり、8及び20週後でリン添加のみよりかなり高い値を示した。このことは8及び20週後では窒素がリンに次ぐ制限栄養物質であることがわかる。

一方 *M. flos-aquae* の場合、窒素、リンを単独添加しても増殖量の増大は認められず、窒素、リン、EDTAを同時に添加したときに8及び20週後で初めて増殖量の増大が認められた。このことから *M. flos-aquae* は田面水中では窒素、リン添加だけでは増殖しにくく、EDTAの存在により増殖しやすくなるものと考えられた。

図4に石灰、鉄処理をした汚泥を施用した田面水の栄養塩添加試験結果を示したが、*S. capricornutum* では8週後は窒素添加で増殖量が増大することから窒素が制限になっていること、また1、14及び20週後はリン添加で増大することからリンが制限になっていると考えられた。一方、*M. flos-aquae* では1及び8週後でリン制限であり14及び20週後は窒素、リンだけでは増殖が認められずEDTAの添加により初めて増殖が認められた。

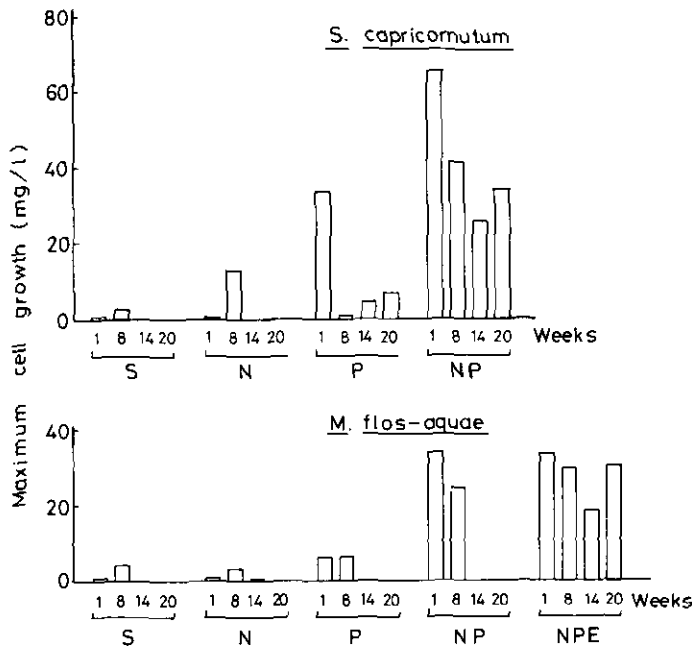


図 4 田面水の AGP と制限栄養物質 (Ca(OH)₂, FeCl₃処理汚泥)
 Fig. 4 AGP and limiting nutrients of surface water (Ca(OH)₂, FeCl₃ sludge)
 S ; control, N ; NO₃-N 1mg add, P ; PO₄-P 0.1mg add, NP ; N and P add.
 EDTA ; 2Na · EDTA · 2H₂O 1mg add.

図 5 は高分子処理した汚泥を施用した田面水の場合であるが、*S. capricornutum* にとって、8 及び 14 週後はリン制限であった。一方 *M. flos-aquae* では 8 週後に窒素及びリン添加で 20 週後はリン添加でまた 1 及び 14 週後は窒素、リン及び EDTA 添加で増殖量の増大が認められた。

図 6 は消化汚泥の田面水の場合であるが、*S. capricornutum* では 1, 8 週後はリン制限を示すが、20 週後は窒素とリンが同時に制限となっていた。*M. flos-aquae* の場合は、8 週後以後は、窒素、リン、EDTA を同時に添加しても増殖はほとんど認められなかった。

田面水の制限栄養物質を表 7 にまとめた。*S. capricornutum* の場合には、制限物質がほとんどの場合リンであった。これは田面水の水質分析結果からも明らかのように、窒素に比べリンの濃度が低く、水質分析の結果と藻類増養試験の結果と良く一致していた。しかし *M. flos-aquae* の場合はリン、リンと窒素、リンと窒素と EDTA が制限になっている場合があり、増殖制限物質が単に窒素かリンではなく、EDTA 様物質が制限になっている場合も存在することが推定された。また ? で示したものは、窒素とリンと EDTA を同時に添加しても藻類の増殖が認められなかったことを示しており、*M. flos-aquae* の場合より多く認められた。

また汚泥を施用した系としない系での制限栄養物質についてはほとんど差は認められなかった。

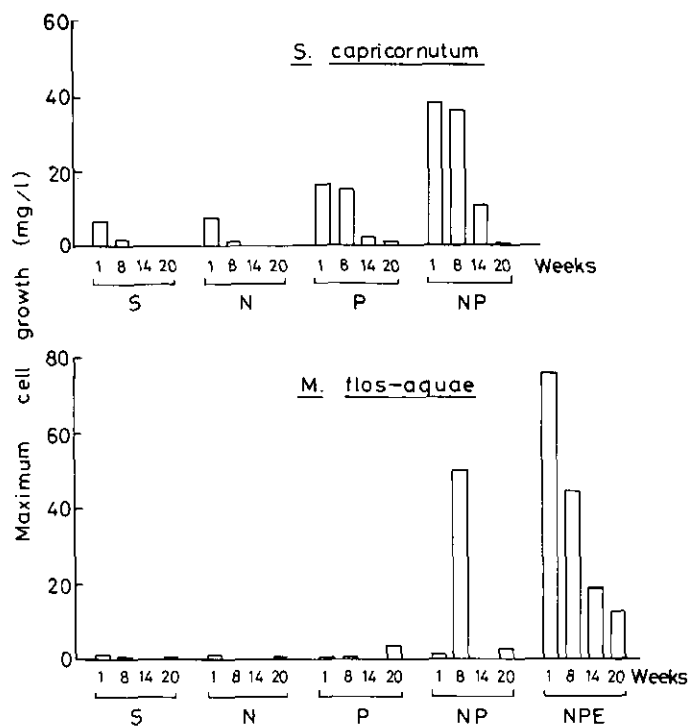


図 5 田面水の AGP と制限栄養物質 (高分子処理汚泥)

Fig. 5 AGP and limiting nutrients of surface water (polymer sludge)

S ; control, N ; NO₃-N 1mg add, P ; PO₄-P 0.1mg add, NP ; N and P add.
EDTA ; 2Na · EDTA · 2H₂O 1mg add.

表 7 田面水の制限物質

Table 7 Limiting nutrients of surface water

	<i>S. capricornutum</i>				<i>M. flos-aquae</i>			
	Weeks				Weeks			
	1	8	14	20	1	8	14	20
Without amendmet	P	P	?	P	?	NPE	?	NPE
Raw sludge (Ca(OH) ₂ , FeCl ₃)	P	N	P	P	P	P	NPE	NPE
Raw Sludge (polymer)	P	P	P	?	NPE	NP	NPE	P
Digested sludge	P	P	?	NP	?	NP	?	?

N : Nitrogen, P : Phosphorus, E : EDTA, ? : Unknown

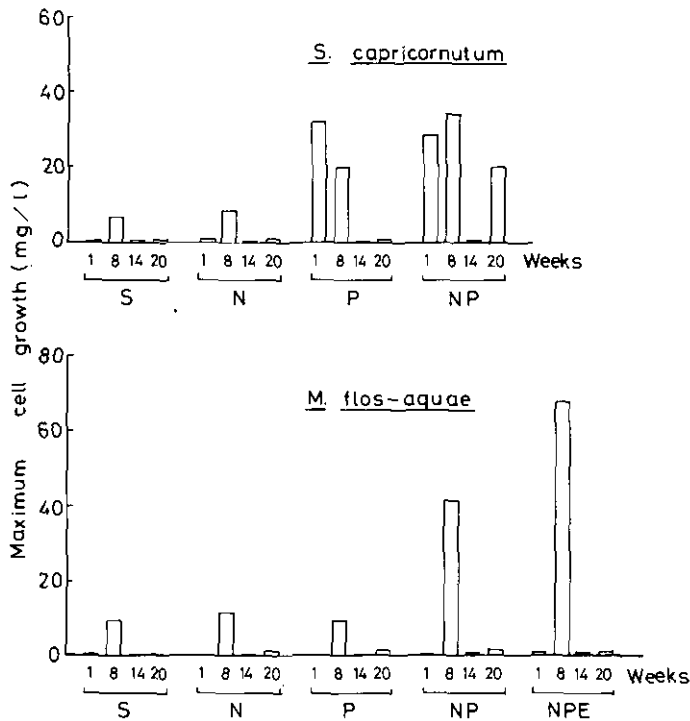


図 6 田面水の AGP と制限栄養物質 (消化汚泥)
 Fig. 6 AGP and limiting nutrients of surface water (digested sludge)
 S ; control, N ; NO₃-N 1mg add, P ; PO₄-P 0.1mg add, NP ; N and P add.
 EDTA ; 2Na · EDTA · 2H₂O 1mg add.

3.6 浸透水の制限栄養物質

図 7~図 10 に浸透水の制限栄養物質を調べた結果を示した。図 7 は汚泥と施用しない対照の系であるが、*S. capricornutum* の場合リンあるいはリンと窒素が同時に制限になっていた。*M. flos-aquae* の場合は、窒素とリンと EDTA の 3 者が増殖に必要と考えられた。

図 8 は石灰・鉄処理した汚泥の場合であるが、*S. capricornutum* ではリンがいずれも制限になっており、*M. flos-aquae* では 20 週後でリン添加で増殖量が増大した以外は窒素、リン、EDTA 同時添加で増殖が認められた。

図 9 は、高分子凝集剤処理汚泥、図 10 は消化汚泥の場合であるが、いずれも *S. capricornutum* ではほとんどの場合リン制限であり、*M. flos-aquae* では窒素、リン、EDTA を増殖に必要とした。

浸透水の制限栄養物質を表 8 にまとめたが、浸透水の制限栄養物質は *S. capricornutum* の場合、ほとんどリンであった。これは浸透水の水質分析の結果浸透水中にはリンがほとんど含まれてい

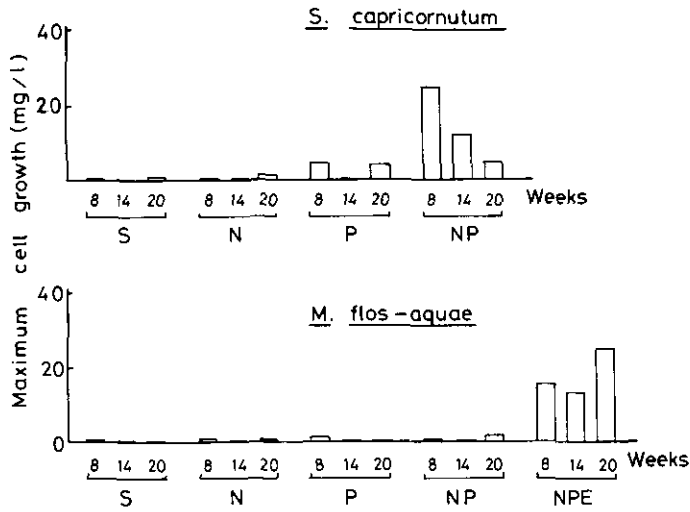


図 7 浸透水の AGP と制限栄養物質 (汚泥無施用)
 Fig. 7 AGP and limiting nutrients of leachate (without amendment)
 S ; control, N ; NO₃-N 1mg add, P ; PO₄-P 0.1mg add, NP ; N and P add,
 EDTA ; 2Na · EDTA · 2H₂O 1mg add.

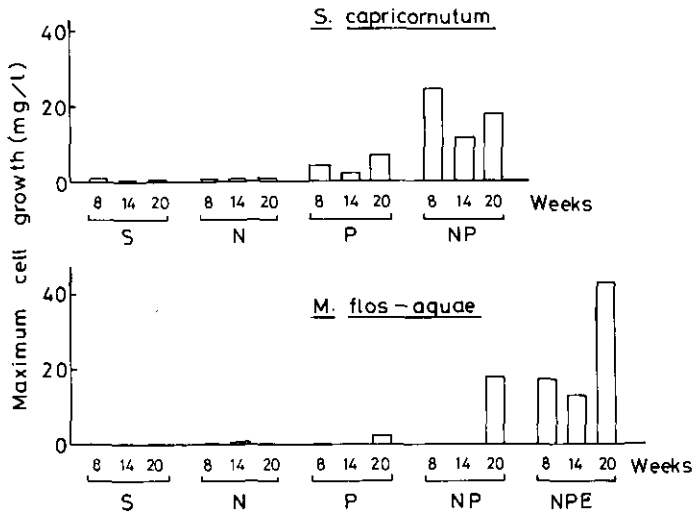


図 8 浸透水の AGP と制限栄養物質 (Ca(OH)₂, FeCl₃処理汚泥)
 Fig. 8 AGP and limiting nutrients of leachate (Ca(OH)₂, FeCl₃ sludge)
 S ; control, N ; NO₃-N 1mg add, P ; PO₄-P 0.1mg add, NP ; N and P add,
 EDTA ; 2Na · EDTA · 2H₂O 1mg add.

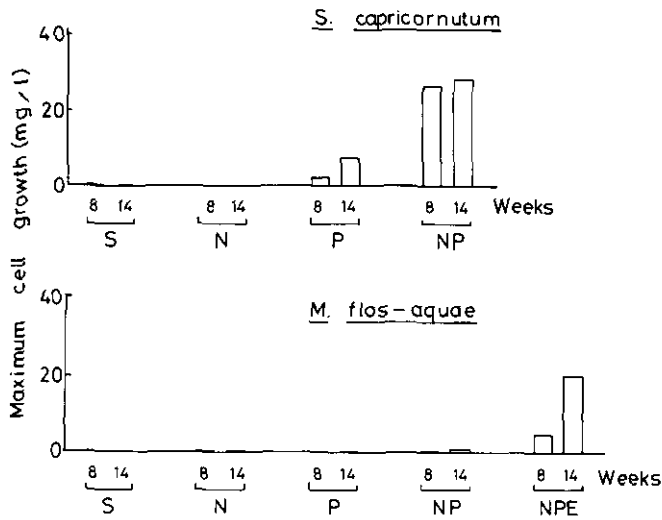


図 9 浸透水の AGP と制限栄養物質 (高分子処理汚泥)
 Fig. 9 AGP and limiting nutrients of leachate (polymer sludge)
 S ; control, N ; NO₃-N 1mg add, P ; PO₄-P 0.1mg add, NP ; N and P add, EDTA ; 2Na · EDTA · 2H₂O 1mg add.

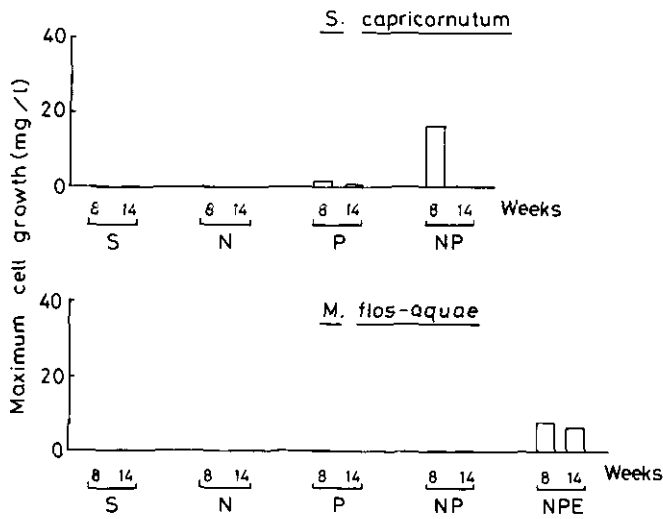


図 10 浸透水の AGP と制限栄養物質 (消化汚泥)
 Fig. 10 AGP and limiting nutrients of leachate (digested sludge)
 S ; control, N ; NO₃-N 1mg add, P ; PO₄-P 0.1mg add, NP ; N and P add, EDTA ; 2Na · EDTA · 2H₂O 1mg add.

表 8 浸透水の制限物質
Table 8 Limiting nutrients of leachate

	<i>S. capricornutum</i>			<i>M. flos-aquae</i>		
	Weeks			Weeks		
	8	14	20	8	14	20
Without amendment	P	NP	P	NPE	NPE	NPE
Raw sludge (Ca(OH) ₂ , FeCl ₃)	P	P	P	NPE	NPE	P
Raw sludge (polymer)	P	P	—	NPE	NPE	—
Digested sludge	P	?	—	NPE	NPE	—

N : Nitrogen, P : Phosphorus, E : EDTA, ? : Unknown

ない結果と良く一致した。また *M. flos-aquae* の場合はほとんどの場合、リン及び窒素を同時に添加しても増殖が認められず、EDTA の添加により増殖量の増大が認められた。浸透水は *M. flos-aquae* にとって増殖しにくい水であるといえよう。この理由については現在のところ不明である⁶⁾。

一方、汚泥を施用した場合としない場合で、浸透水の藻類増殖の制限栄養物質の相違はほとんどないものといえよう。

4 まとめ

1. 水田に汚泥を還元する場合には、1~2 か月間は汚泥からの栄養物質が田面水に混入することが予想された。
2. 汚泥の還元は水田の浸透水に対してはほとんど影響を及ぼさないものと考えられた。
3. 浸透水に窒素とリン添加しても *Microcystis* は良好な増殖を示さず、EDTA の添加により良好な増殖が認められた。

引用文献

- 1) 水道産業新聞社(1985)：下水道年鑑，234 p.
- 2) 稲森悠平・矢木修身・須藤隆一(1984)：土壌浸透水の藻類生産の潜在能力，用水と廃水，26, 50-57.
- 3) 日本下水道協会(1984)：下水試験方法.
- 4) 国立公害研究所(1981)：藻類の培養試験法による AGP の測定，国立公害研究所研究報告，第 26 号，53 p.
- 5) 国立公害研究所(1984)：汚泥の土壌還元とその影響に関する研究，国立公害研究所研究報告，第 68 号，197 p.

Microcystis 属ラン藻の増殖に及ぼす細菌と有機物の影響

Effects of Bacteria and Organic Materials on the Growth of Cyanobacteria, *Microcystis aeruginosa*

矢木修身¹・熊谷光彦²・高村義親³・須藤隆一¹

Osami YAGI¹, Mitsuhiko KUMAGAI², Yoshichika TAKAMURA³
and Ryuichi SUDO¹

要 旨

Microcystis は土壌浸透水中で増殖しにくく、EDTA の存在により増殖が良好となることから、*Microcystis* の増殖促進効果をより正確に把握するため、*Microcystis* の増殖に及ぼす細菌と有機物の影響について検討を加えた。

細菌としては、*Microcystis* に付着している細菌を用い、また有機物としては肉エキス、ペプトンを含む nutrient broth を用いた。*Microcystis* の増殖は、20 mg/l (TOC として 7.5 mg/l) 以上の nutrient broth の存在によりその増殖は阻害された。しかしながらこの阻害は、*Microcystis* に付着している細菌を共存させると、逆に *Microcystis* の増殖が促進された。*Microcystis* に付着している細菌 20 株のうち 10 株が有機物存在下で *Microcystis* の増殖を促進する作用を有していた。有機物の存在は *Microcystis* の増殖に大きく関与しているものと考えられた。

Abstract

Effects of bacteria and organic materials on the growth of *Microcystis aeruginosa* were investigated. Bacteria-free *M. aeruginosa* K-3A isolated from Lake Kasumigaura and bacteria isolated from *M. aeruginosa* floc were used throughout this experiment. Nutrient broth containing meat extracts and peptone was used as the organic material.

Microcystis growth was stimulated by additions of both nutrient broth and the isolated bacterium, but inhibited by the addition of more than 20 mg/l of nutrient broth

1. 国立公害研究所 水質土壌環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川 16 番 2
Water and Soil Environmental Division, the National Institute for Environmental Studies. Yatabemachi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.
2. 昭和 57~59 年度 国立公害研究所共同研究員 (茨城大学農学部 〒300-03 茨城県稲敷郡阿見町)
Research Collaborator of the National Institute for Environmental Studies. Present Address: Faculty of Agriculture, Ibaraki University, Ami Inashiki-gun, Ibaraki 300-03, Japan.
3. 昭和 56~60 年度 国立公害研究所客員研究員 (茨城大学農学部 〒300-03 茨城県稲敷郡阿見町)
Visiting Fellow of the National Institute for Environmental Studies. Present Address: Faculty of Agriculture, Ibaraki University, Ami, Inashiki-gun, Ibaraki 300-03, Japan.

only. Ten strains of 20 isolated bacteria stimulated the growth of *Microcystis*. It seemed that the presence of small amount of organic material stimulated the growth of *Microcystis* in the aquatic environment.

Key words : *Microcystis*, Bacteria, Interaction

1 はじめに

全国各地の富栄養化した湖沼では、夏から秋にかけ、*Microcystis* 属によるアオコ(水の華)が大発生し、様々な弊害が生じている。従来、藻類の異常増殖は主に水中のリンまたは窒素の濃度に大きく関係していると考えられてきたが、この他にもビタミン類¹⁾やキレート物質²⁾、湖の底泥抽出物³⁾などの有機物が藻類の増殖に大きな影響を及ぼすことも確認されている。

したがって、汚泥を水田に還元した場合、その有機物の藻類への影響を十分把握しておく必要があると思われる。また一方では、藻類の異常増殖に細菌が関与しているという報告もいくつかなされるようになった⁴⁻⁶⁾。しかしながら、*Microcystis* に関しては、*Anabaena* や *Aphanizomenon* などのような糸状のラン藻類に比べて、細菌との共生関係については、ほとんど研究がなされていない。これは *Microcystis* の培養の難しさによるものと考えられる。

ここでは、*Microcystis* の増殖に及ぼす有機物並びに細菌の影響を明らかにすべく、細菌の共存しない無菌の *Microcystis* と *Microcystis* の群体に共存する細菌を用い、有機物の *Microcystis* の増殖に及ぼす役割について検討を加えた。

2 実験方法

2.1 アオコに付着する細菌の分離方法

アオコに付着する細菌の分離方法を図1に示す。霞ヶ浦においてアオコが大量に発生しているときの湖水(1983年10月4日採取)約30 ml を滅菌済みのスクルーキャップ式50 ml 試験管に採取した。次に、試水中のアオコの浮上群体の一つを綿栓付き滅菌キャピラリーピペットで、10 ml の滅菌水を含んだ試験管に移し入れた。これをよく振り混ぜた後、再度この群体を新しい滅菌ピペットを用いて新たな10 ml の滅菌水に移し、前回と同様に振り混ぜた。この一連の滅菌水による洗浄操作を7回繰り返した後、最後に50 W、30秒間の超音波処理を行ってアオコの群体を破壊した。超音波処理により、群体から遊離した細菌は、1/10濃度の普通寒天平板培地(肉エキス0.5 g/l、ペプトン1.0 g/l、塩化ナトリウム0.5 g/l、寒天1.5%)で、15日間、20°Cで培養した。生育してきた細菌をアオコ付着菌として実験に供した。

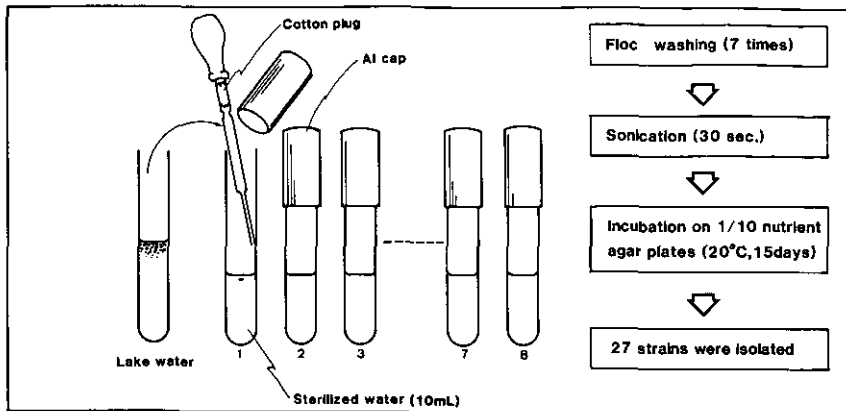


図 1 *Microcystis* 付着従属栄養細菌の分離法

Fig. 1 Isolation procedure of heterotrophic bacteria associated with *Microcystis*

2.2 *Microcystis aeruginosa* K-3 A の増殖促進細菌のスクリーニング方法

1) 供試藻類

本実験に用いた *M. aeruginosa* K-3 A は、著者ら⁷⁾が霞ヶ浦の水の華（アオコ）からピペット洗浄法によって得た無菌クローン株である。

2) 培地

本実験では、表 1 に示した組成の MP, MF, MB の 3 種類の培地を用いた。MP 培地は、クエン酸第二鉄を含有しており、*M. aeruginosa* K-3 A の保存培養及び前培養に使用した。MF 培地は、塩化第二鉄を含む、完全無機培地である。MB 培地は、MF 培地に Nutrient Broth を 40 mg/l（肉エキス 10 mg/l、ペプトン 20 mg/l、塩化ナトリウム 10 mg/l）添加した培地である。*M. aeruginosa* K-3 A と細菌との二者培養は、MF 培地と MB 培地を用いて行った。なお、これらの培地は、オートクレーブ滅菌（121°C、15 分）後、培養に用いた。

3) 培養方法

① *M. aeruginosa* K-3 A の前培養

M. aeruginosa K-3 A の保存培養藻体に 50 W、約 20 秒間の超音波処理を無菌的に行って群体を破壊し、その 1 ml を 100 ml の MP 培地を入れた 200 ml 三角フラスコに接種した。培養は、30°C、2,000 lx 連続照射（白色蛍光灯）、静置条件下で行った。

② 細菌の前培養

綿栓付試験管に 400 mg/l の Nutrient Broth 10 ml を添加し、保存培養スラントから細菌を接種して 30°C で 2 日間、振とう培養を行った。

表 1 MP, MF 及び MB 培地の組成
Table 1 Chemical compositions of MP, MF and MB media

	MP*1	MF	MB
NaNO ₃	100 mg	100 mg	100 mg
MgSO ₄ ·7H ₂ O	75 mg	75 mg	75 mg
CaCl ₂ ·2H ₂ O	40 mg	40 mg	40 mg
Na ₂ CO ₃	20 mg	20 mg	20 mg
K ₂ HPO ₄ *2	10 mg	10 mg	10 mg
Fe Citrate	0.6 mg*3	—	—
FeCl ₂ ·6H ₂ O	—	0.5 mg*3	0.5 mg*3
Nutrient broth	—	—	40 mg*4
Deionized water	1 l	1 l	1 l

*1 Preculture medium of *M. aeruginosa* K-3A

*2 Added after autoclaving

*3 0.1mg Fe

*4 15mg TOC

③ 二者培養

M. aeruginosa K-3 A の前培養藻体は、100 ml の培地を入れた 200 ml の三角フラスコに、接種濃度が 1 mg/l になるように接種した。細菌は、接種濃度が OD (660 nm) で 8×10^{-2} になるように接種した。なお同時に、細菌を接種せず、*M. aeruginosa* K-3 A のみ接種した対照系を設けた。培養は、30°C、2,000 lx 連続照射（白色蛍光灯）、静置条件下で行った。

2.3 *M. aeruginosa* K-3 A の増殖量（藻体濃度）の測定方法

M. aeruginosa K-3 A の藻体増殖量の測定には、コールターカウンター（Coulter Counter Model ZBI）を用いた。50 W、20 秒間の超音波処理で群体を破壊した後、細胞数及び平均細胞容積を 1 サンプルにつき 3 回ずつ測定し、その平均値を、あらかじめ作成しておいた検量線により、藻体の乾燥重量 mg/l を求めた。

2.4 細菌数の測定方法

細菌増殖量の測定は、寒天平板法で行った。普通寒天培地（肉エキス 5 g/l、ペプトン 10 g/l、塩化ナトリウム 5 g/l、寒天 1.5%）を用い、30°C、7 日間培養の後、生育したコロニーを計数した。

2.5 単離細菌の細菌学的同定方法

細菌学的同定は、Bergey's manual（第 8 版）に準じて行った。

2.6 *M. aeruginosa* K-3 A の群体サイズの測定方法

M. aeruginosa K-3 A の群体サイズは、メッシュサイズの異なるプランクトンネットを張ったろ過網に、培養液 100 ml を順番に通過させ、その前後の藻体濃度の差を測定することによって、その分布を求めた。なお本実験に用いたプランクトンネットのメッシュサイズは、それぞれ 576, 276, 148, 58, 30 μm (NGG 34, NGG 60, NXX 9, NXX 25, N-No. S 380, 離合社) である。

2.7 浮上・沈下率の測定方法

M. aeruginosa K-3 A の浮上藻体と沈下藻体は、培養液 5 ml を 6,000×G, 15 分間遠心分離し、上澄液中に浮遊している藻体の濃度をコールターカウンターで測定し、全藻体濃度に対する浮上・沈下藻体それぞれの割合をパーセントで示した。

3 実験結果

3.1 *M. aeruginosa* K-3 A の増殖を促進する細菌の分離

霞ヶ浦の水の華（アオコ）の群体から、20 株のアオコ付着細菌が分離されたので、これらについて *M. aeruginosa* K-3 A の増殖を促進する細菌のスクリーニングを行った。

20 株の細菌の *M. aeruginosa* K-3 A に対する増殖促進効果の有無は、細菌を接種しない *M.*

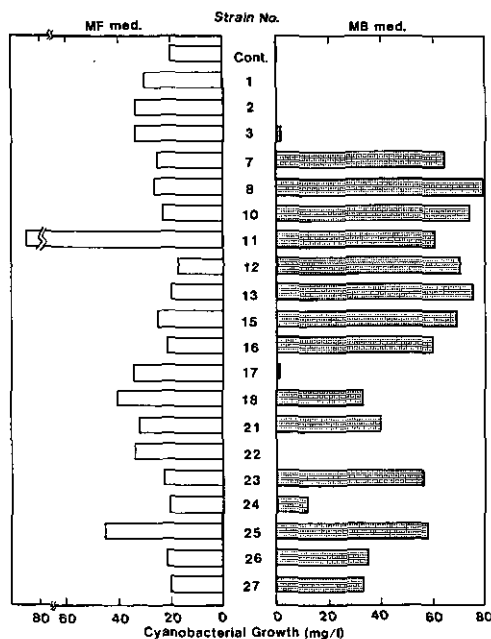


図 2 分離菌の *M. aeruginosa* K-3A の増殖に及ぼす影響

Fig. 2 Effect of isolated bacteria on the growth of *M. aeruginosa* K-3A (6 day's culture)

aeruginosa K-3 A 単独の培養系との比較により判定した。*M. aeruginosa* K-3 A の比増殖速度 (μ) と培養 6 日目の増殖量をそれぞれ、表 2 と図 2 に示した。

表 2 *M. aeruginosa* K-3A の比増殖速度に及ぼす細菌の影響
Table 2 Effect of bacteria on the specific growth rate of *M. aeruginosa* K-3A

Strain Number	Specific growth rate μ (d ⁻¹)	
	MF medium	MB medium
No. 1	0.47	—
No. 2	0.48	—
No. 3	0.48	—
No. 7	0.50	0.75
No. 8	0.55	0.80
No. 10	0.50	0.94
No. 11	0.70	0.68
No. 12	0.49	0.78
No. 13	0.53	0.86
No. 15	0.38	0.70
No. 16	0.51	0.62
No. 17	0.71	—
No. 18	0.46	0.45
No. 21	0.48	0.48
No. 22	0.49	—
No. 23	0.35	0.56
No. 24	0.42	0.27
No. 25	0.37	0.63
No. 26	0.58	0.65
No. 27	0.45	0.53
Axenic culture	0.40	—

MF 培地では、対照の *M. aeruginosa* K-3 A の 1.5 倍以上の比増殖速度を示した細菌は No. 11 と No. 17 の 2 株であった。No. 11 は、*M. aeruginosa* K-3 A の増殖量を 3 倍以上に増加させた。MF 培地では、促進を示した細菌は多くなかったが、いずれの細菌を接種した場合にも *M. aeruginosa* K-3 A の増殖に対する阻害は認められなかった。

これに対して、40 mg/l の Nutrient Broth を含む MB 培地では、20 株のうち 10 株の細菌に比増殖速度では 2 倍前後、培養 6 日目の増殖量で 2.7~4.0 倍の促進効果が認められた。しかし No. 1, No. 2, No. 3, No. 17 及び No. 22 を接種した系では、*M. aeruginosa* K-3 A の増殖が認めら

れなかった。

分離したアオコ付着細菌の多くは、普通寒天培地における生育が不良であったが、No. 7 株は最も良好かつ安定した生育を示した。したがってこの No. 7 株を増殖促進菌の代表株として選び、以後の実験に用いることにした。

3.2 増殖促進菌 No. 7 株の細菌学的同定

M. aeruginosa K-3 A の増殖に対する促進効果が認められた No. 7 株の細菌学的性質を表 3 に示した。増殖促進効果の認められた No. 7 株は、グラム陰性、非運動性の桿菌（約 $1.0 \times 2.0 \mu\text{m}$ ）で、光学顕微鏡（1,500 倍）下では、しばしば 2～数個の細胞が鎖状に連なっているのが観察された。また No. 7 株は菌体色素を生産しなかった。グルコース、フラクトース、マンノース、アラビノース、ガラクトース、キシロース及びグルコン酸を用いて行った OF 試験では、いずれの糖に対する資化性も認められなかった。

以上の結果から、*M. aeruginosa* K-3 A の増殖に促進効果を示した No. 7 株を *Moraxella nonliquefaciens* と同定した。

表 3 分離細菌 No. 7 株の菌学的性質
Table 3 Morphological studies on the isolated bacterium No. 7

Gram staining	Negative
Shape of cells	Short rod
Size (μm)	1.0×2.0
Pigment	Not product
Motility	Non motile
Catalase	Positive
Oxidase	Positive
O-F test	Negative
Indole	Negative
H ₂ S	Negative
Nutrient agar	Growth
Blood agar	Growth
Aerobicity	Aerobic
Penicillin	Sensitive
Carbohydrates	Not assimilate
Nitrate reduction	Reduce
Acetate	Not assimilate
Chocolate agar	Hemolysis
Phenylalanine deaminase	Negative

Strain No. 7 was identified as *Moraxella nonliquefaciens*

3.3 二者培養

1) *M. aeruginosa* K-3A と *M. nonliquefaciens* No.7 の増殖

二者培養における *M. aeruginosa* K-3A と *M. nonliquefaciens* No.7 の増殖曲線を図3に示した。

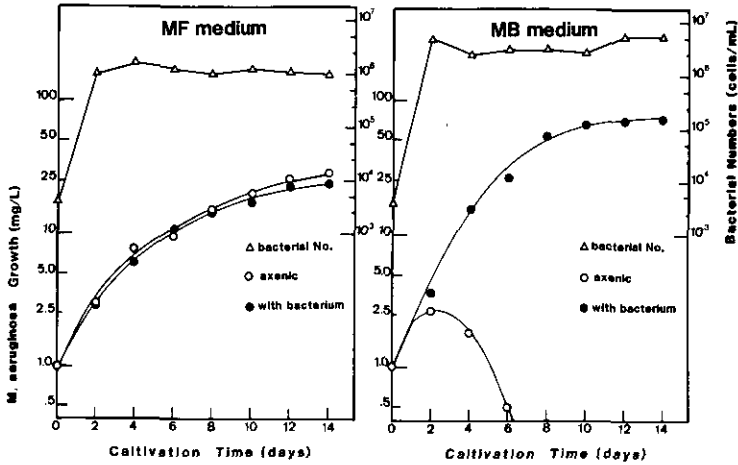


図 3 分離細菌 No.7 株の *M. aeruginosa* K-3A の増殖促進効果
Fig. 3 Stimulation of the growth of *M. aeruginosa* K-3A by the isolate bacterium No. 7

MB 培地においては、*M. nonliquefaciens* No.7 を接種した場合、対照の約 3 倍の 85.5 mg/l にまで達し、著しい増殖促進効果が認められた。しかし *M. nonliquefaciens* No.7 を接種しない場合では、*M. aeruginosa* K-3A の増殖が認められなかった。一方、MF 培地での *M. aeruginosa* K-3A の増殖は、*M. nonliquefaciens* No.7 の接種の有無にはほとんど影響を受けず、*M. aeruginosa* K-3A の最大増殖量は細菌を接種しない場合で 29.1 mg/l、接種した場合は 23.8 mg/l で、両者の間に著しい差は認められなかった。*M. nonliquefaciens* No.7 は、培養 2 日目には最大増殖量に達し、MF 培地でも MB 培地でもほぼ同じ傾向が認められた。

2) Nutrient Broth 濃度の影響

MB 培地に含まれる Nutrient Broth の濃度を 5~160 mg/l に変化させ、*M. aeruginosa* K-3A の増殖に及ぼす Nutrient Broth 濃度の影響を検討した。図4に培養 12 日目の *M. aeruginosa* K-3A の増殖量を示した。*M. nonliquefaciens* No.7 を接種した場合、Nutrient Broth の濃度が高くなるに従って *M. aeruginosa* K-3A に対する促進効果も大きくなる傾向が認められた。Nutrient Broth の濃度が 80 mg/l の場合には、最も高い増殖促進効果が認められたが、160 mg/l の場合で

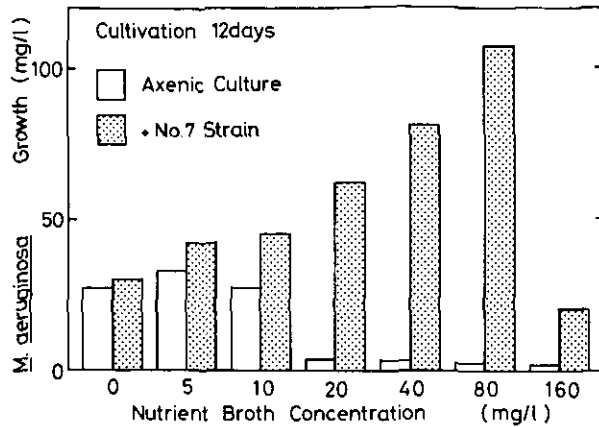


図 4 *M. aeruginosa* K-3A の増殖に及ぼす肉エキス培地と分離細菌 No. 7 株の影響

Fig. 4 Growth stimulation of *M. aeruginosa* K-3A by nutrient broth and the bacterium No. 7

は、増殖促進が認められなかった。これに対して、*M. nonliquefaciens* No. 7 を接種しない場合では、Nutrient Broth の濃度が 20 mg/l 以上では、*M. aeruginosa* K-3A の増殖がほとんど認められなかった。

3) *M. nonliquefaciens* No. 7 接種量の影響

M. nonliquefaciens No. 7 の接種量が、*M. aeruginosa* K-3A の増殖に及ぼす影響について検討した結果を図 5 に示した。MB 培地において、*M. nonliquefaciens* No. 7 の接種量を 3 段階 (0.4×10^4 、 2.0×10^4 、 4.0×10^4 cells/ml) に変化させたところ、*M. aeruginosa* K-3A はいずれの場合にも良好な生育を示したが、接種量を 10 倍にしても、増殖促進に大きな差が認められなかった。また、*M. nonliquefaciens* No. 7 の増殖も接種濃度の違いによる著しい差は認められず、いずれの場合でも培養 2 日目にはほぼ最大に達し、その後はあまり変化を示さなかった。

4) *M. nonliquefaciens* No. 7 接種時期の影響

M. nonliquefaciens No. 7 の接種時期が、*M. aeruginosa* K-3A の増殖に及ぼす影響について検討した結果を図 6 に示した。*M. nonliquefaciens* No. 7 の接種を、培養開始時、培養 4 日目及び 8 日目に、Nutrient Broth の添加と同時に行った。培養開始時に細菌の接種を行った場合では、*M. aeruginosa* K-3A の増殖は、2~4 日目に促進され始め、培養 8 日目にはほぼ最大増殖量に達した。培養 4 日目及び 8 日目に細菌の接種を行った場合でも、*M. aeruginosa* K-3A の増殖は、細菌の接種後 2~4 日目に促進され始め、他の場合とほぼ同程度の最大増殖量に達した。一方、*M. non-*

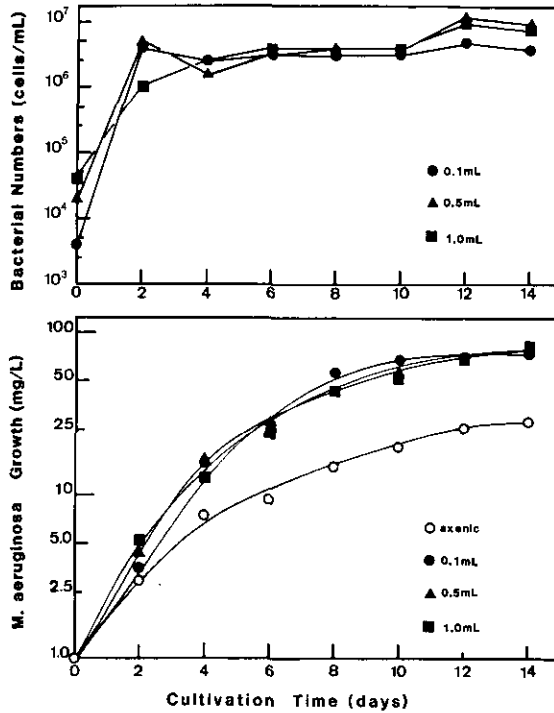


図 5 *M. aeruginosa* K-3A の増殖に及ぼす No.7 株の細菌数の影響
 Fig. 5 Effect of inoculum size of the bacterium No. 7 on the growth of *M. aeruginosa* K-3A

liquefaciens No. 7 の増殖は、接種時期にかかわらず、接種後約 2 日目に最大に達し、その後はあまり変化を示さなかった。

5) *M. aeruginosa* K-3 A の群体サイズに及ぼす *M. nonliquefaciens* No. 7 の影響

M. nonliquefaciens No. 7 が、*M. aeruginosa* K-3 A の群体の大きさに与える影響を検討した結果を図 7 に示した。促進効果の認められた MB 培地では、培養 4 日目から 8 日目にかけて、75~80% が $150 \mu\text{m}$ 以上の比較的大きな群体を形成していた。これに対して促進効果の認められなかった MF 培地では、 $150 \mu\text{m}$ 以上の群体は、培養期間を通じてほとんど形成されなかった。*M. aeruginosa* K-3 A が、*M. nonliquefaciens* No. 7 によって、増殖促進を受けるときには、大きな群体を形成することがわかった。

6) *M. aeruginosa* K-3 A の浮上・沈下に及ぼす *M. nonliquefaciens* No. 7 の影響

二者培養における *M. aeruginosa* K-3 A の浮上細胞と沈下細胞の割合の変化を図 8 に示した。促進効果の認められた MB 培地では、培養期間を通じて全体の 75~80% が浮上細胞であった。こ

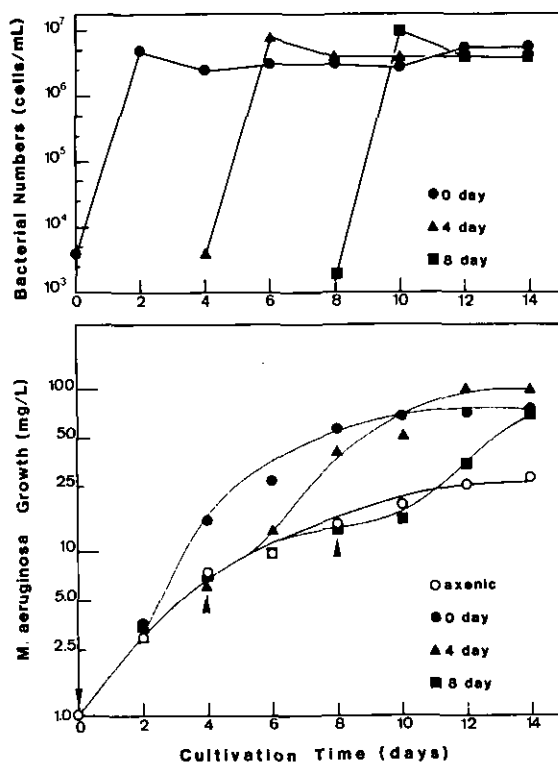


図 6 *M. aeruginosa* K-3A の増殖に及ぼす No. 7 株の接種時期の影響
 Fig. 6 Stimulation of the growth of *M. aeruginosa* K-3A by the bacterium No. 7 inoculated at different period

れに対して促進効果の認められなかった MF 培養地においては、*M. nonliquefaciens* No. 7 の接種の有無にかかわらず沈下細胞が多く、培養 8 日目以降では 90% 以上が沈下細胞であった。*M. aeruginosa* K-3A が、*M. nonliquefaciens* No. 7 によって、増殖促進を受けるときには、浮上細胞の割合が著しく増加することがわかった。

7) *M. aeruginosa* K-3A の増殖における *M. nonliquefaciens* No. 7 の着生

二者培養における *M. nonliquefaciens* No. 7 の存在状態を定量的に把握するために、*M. nonliquefaciens* No. 7 を Free-living bacteria と Associated bacteria とに分けて計数することを試みた。培養液を孔径 30 μm のプランクトンネットに通過させ、そのろ液中の細菌を Free-living bacteria として計数した。表 4 に示すように、培養 8 日目に、促進効果が認められた MB 培地においては約 80% の細菌が、促進効果が認められなかった MF 培地においては約 50% の細菌が、*M. aeruginosa* K-3A の 30 μm 以上の大きさの群体に着生していた。しかし 12 日目以降ではすべての細菌が Free-living bacteria として計数された。

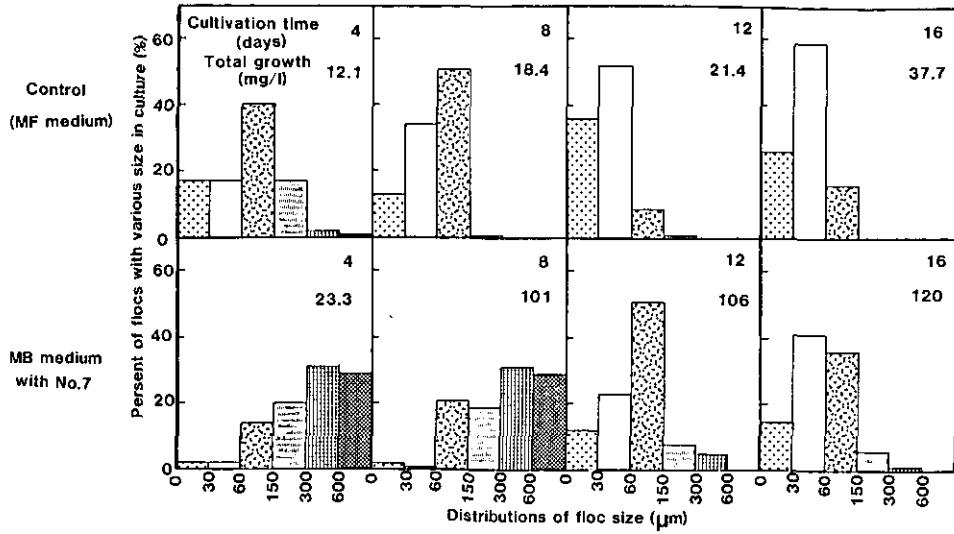


図 7 *M. aeruginosa* K-3A の群体形成に及ぼす *M. nonliquefacience* No. 7 の影響

Fig. 7 Effect of *M. nonliquefacience* No. 7 on the floc formation of *M. aeruginosa* K-3A

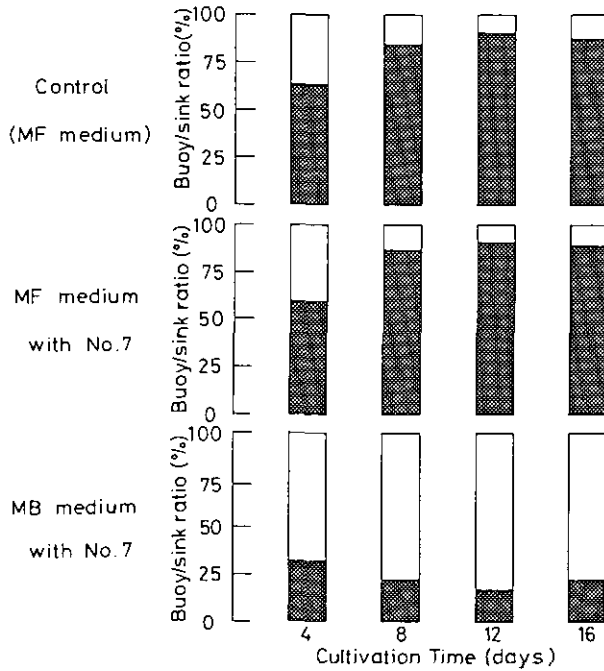


図 8 *M. aeruginosa* K-3A の浮上力に及ぼす *M. nonliquefacience* No. 7 の影響

Fig. 8 Effect of *M. nonliquefacience* No. 7 on the buoyancy of *M. aeruginosa* K-3A

表 4 *M. aeruginosa* 付着性細菌の全菌数に対する割合
Table 4 Ratio of associated bacteria with *M. aeruginosa* to total bacteria

Media		Cultivation Time (day)			
		4	8	12	16
MF	Total (No./ml)	187×10 ⁴	114×10 ⁴	76.3×10 ⁴	308×10 ⁴
	Associate (%)	51.6	48.6	0	0
MB	Total (No./ml)	139×10 ⁴	313×10 ⁴	266×10 ⁴	446×10 ⁴
	Associate (%)	32.0	79.1	0	0

4 考察

霞ヶ浦アオコから、*M. aeruginosa* の増殖を促進する細菌として、*Moraxella nonliquefaciens* が分離同定された。*Achromobacter*, *Aerobacter*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Vibrio* などのグラム陰性菌が、これまでにラン藻から分離されている⁵⁾。Caldwell ら⁸⁾ は、水の華の優占種になっていた *Anabaena flos-aquae* の寒天様被膜中に着生していた細菌を分離し、その細菌を *Zoogloea* sp. と同定した。また、Gallucci ら⁹⁾ は、*Anabaena* sp. の水の華から *Pseudomonas aeruginosa* を、萩原ら⁷⁾ は霞ヶ浦より分離された *M. aeruginosa* 単藻培養株から *Flavobacterium* sp. をそれぞれ分離同定した。しかしこれらの細菌は、いずれもラン藻に対する増殖促進効果の確認はされていない。したがって、ラン藻の増殖を促進する細菌が分離同定されたのは今回の *M. nonliquefaciens* が最初と思われる。

Moraxella 属細菌は、水中に比較的良好にみられる付着細菌の代表的なもののひとつである¹⁰⁾。これらの細菌がフィールドにおいて藻類の増殖を促進する環境要因を藻類に供給する、あるいは藻類の増殖に不利な要因を除去する役割を果たしている可能性は十分に考えられる。著者らが行った栄養要求性についての若干の試験によれば、増殖促進菌 *M. nonliquefaciens* No.7 はビタミン B1 とビタミン B12 要求性で、グルコース、グリコール酸、オキサロ酢酸は利用できないが、L-リンゴ酸、フマル酸及び酢酸は利用できることがわかった。*M. aeruginosa* K-3 A が有機酸を生産せず、多量の糖類を放出すること¹¹⁾ から、フィールドにおけるアオコ発生時に、アオコの生産した糖類を有機酸に変える細菌が介在している可能性が推測された。

M. aeruginosa K-3 A は、濃度 20 mg/l 以上の Nutrient Broth を含む培地中で著しい阻害を受けた。ラン藻類の増殖阻害因子については、重金属¹²⁾ 以外には報告例が少ない。高村¹³⁾ は、カザミノ酸など有機栄養性のアミノ酸類や単糖類によって *M. aeruginosa* K-3 A の生育が阻害をされることを報告しているが、これらは *M. aeruginosa* が光合成独立栄養細菌であることから *M. aeruginosa* の光合成経路やアミノ酸合成経路が、ネガティブ・フィードバック阻害を受けるためと考え

られる。しかしこのような *M. aeruginosa* K-3 A に阻害的な成育条件下においても、細菌 *M. nonliquefaciens* No. 7 が接種されると、Nutrient Broth による増殖阻害は解除され、逆に増殖が著しく促進された。これは阻害物質の消費、有機物の無機化¹⁴⁾、Kuentzel¹⁵⁾ や Lange^{16,17)} が提示した CO₂ の供給、生育にふさわしい酸素分圧の供給、あるいはサイドロフォア¹⁸⁾ のような増殖刺激物質の生産など、*M. aeruginosa* の増殖に有利な環境因子が、細菌によってもたらされたためと考えられる。しかし、これらの要因のうちどれが、*M. aeruginosa* の増殖に対して、大きな影響を及ぼしているのかを明らかにすることは、今後の重要な課題である。

本実験では、*M. aeruginosa* K-3 A が *M. nonliquefaciens* No. 7 によって増殖促進を受けるときには、大きな群体を形成し、浮上細胞の割合を増大させることがわかった。自然界において、ラン藻類が大きな群体を形成することについては、動物プランクトンや魚などの補食者の口器サイズを上回ることによって、補食者から逃れる重要な機構である¹⁹⁾ とされる一方、群体内部の細胞に、光や CO₂、栄養塩類が到達するのを妨げ、結果的には阻害に働いている²⁰⁾ とも考えられている。また、浮上・沈下についても、水面にマット状に形成されたスカムは、浮上・沈下のコントロールが不能になり死滅期にある藻細胞であるとされる一方、下層の植物プランクトンに達する光を遮り、大気中から供給される CO₂ の利用性を有利にしているという意見もある。今回の実験結果からすぐに、上記の問題に結論を与えることはできないが、大きな群体を形成することと浮上細胞の割合が増加することは、*M. aeruginosa* K-3 A の良好な増殖状態を表しているので、*M. nonliquefaciens* No. 7 が *M. aeruginosa* K-3 A の増殖に有利な環境条件をつくりだしていると考えられる。

二者培養における *M. nonliquefaciens* No. 7 の存在状態を調べた実験において *M. aeruginosa* K-3 A の増殖が対数期にあるときには、*M. aeruginosa* K-3 A の群体に着生している細菌数が比較的多いことが示された。Caldwell ら⁸⁾ は、*Anabaena flos-aquae* を優占種とした水の華の発生時には湖水中の細菌数は 7.4×10^6 cells/ml であったが、*Anabaena* の粘質鞘中の細菌を電子顕微鏡により計数したところ、 2.6×10^{11} cells/ml という極めて高い値であったことを報告している。異種生物が共生関係にある場合には、個体間の距離が近ければ近いほど、それぞれの生産物の授受に好都合であると考えられる。*M. aeruginosa* とその群体に着生する細菌との間に存在する微視的生態系における物理・化学的環境条件の授受や、細菌の着生がスライム形成に与える影響を解明することは、今後の重要な課題といえよう。

5 要 約

1) 霞ヶ浦に発生したアオコより、*M. aeruginosa* K-3 A の増殖を促進する細菌を 10 株分離し、そのうち最も代表的な 1 株について分類学的検討を行ったところ、本菌は *Moraxella nonliquefaciens* と同定された。

2) 20 mg/l 以上の Nutrient Broth の存在下で、*M. aeruginosa* K-3 A は、著しい増殖阻害を

受け、ほとんど増殖しないことがわかった。

3) *M. nonliquefaciens* No. 7 株は, Nutrient Broth を含まない無機培地中では, *M. aeruginosa* K-3 A の増殖にほとんど影響を与えないが, 20~80 mg/l の Nutrient Broth が存在すると, *M. aeruginosa* K-3 A の比増殖速度 (μ) を約 1.5 倍に, 最大増殖量を 3~5 倍に促進させた。しかし Nutrient Broth の濃度が 10 mg/l 以下, あるいは 160 mg/l では, 増殖促進効果は認められなかった。

4) *M. aeruginosa* K-3 A が, *M. nonliquefaciens* No. 7 株との共存下において増殖促進を受けるときには, 大きな群体を形成し, 浮上細胞の割合を著しく増大させることがわかった。

5) 二者培養において, *M. aeruginosa* K-3 A の増殖が対数期にあるとき, *M. aeruginosa* K-3 A の 30 μ m 以上の群体に着生している *M. nonliquefaciens* No. 7 の細菌数が多いことが示された。

引用文献

- 1) Provasoli, L. and A. F. Carlucci. (1974) : Vitamins and growth regulations. In : Algal Physiology and Biochemistry : Stewart, W.D.P. (ed.) Blackwell Scientific Pub., Oxford, 741-787.
- 2) Lange, W (1974) : Chelating agents and blue-green algae. Can. J. Microbiol., 20, 1311-1320.
- 3) 日野修次・安藤和夫(1983) : 茨戸湖底泥抽出物による藻類収量増大効果について. Jpn. J. Limnol., 44 (2), 116-122.
- 4) 栗山光央・小野寺知幸・白樫高史・柿井一男(1928) : *Chlorella* sp. の増殖特性, 特に *Bacillus megaterium* との共生による増殖. 水質汚濁研究, 5, 349-356.
- 5) Paerl, H. W. (1982) : Interactions with Bacteria : The Biology of Cyanobacteria. Carr, N. G. & B. A. Whitton (ed.), Blackwell Scientific Pub., Oxford, 441-161.
- 6) Paerl, H. W. (1976) : Specific associations of the blue-green algae *Anabaena* and *Aphanizomenon* with bacteria in freshwater blooms, J. Phycol., 12, 431-435.
- 7) 萩原富司・矢木修身・高村義親・須藤隆一(1984) : 霞ヶ浦に発生する *Microcystis aeruginosa* の純粋分離 : Isolation of bugre-free *Microcystis aeruginosa* from Lake Kasumigaura. 水質汚濁研究, 7, 437-442.
- 8) Caldwell, D. E. and S. J. Caldwell (1978) : A *Zoogloea* sp. associated with blooms of *Anabaena flos-aquae*. Can. J. Microbiol., 24, 922-931.
- 9) Gallucci, K. K. and H. W. Paerl (1983) : *Pseudomonas aeruginosa* chemotaxis associated with blooms of N-fixing blue-green algae (Cyanobacteria). Appl. Environ. Microbiol., 45 (1), 557-562.
- 10) 門田 元・多賀信夫(1985) : 海洋微生物研究法, 学会出版センター, 23-31.
- 11) 仲川道夫(1985) : *Microcystis aeruginosa* 無菌株の生産する糖質に関する研究—粘質多糖(Slime), 貯蔵性多糖および藻体外可溶性多糖について—. 茨城大学大学院農学研究科. 修士論文.
- 12) Whitton, B. A. and H. A. Shehata (1982) : Influence of cobalt, nickel, copper and cadmium on the blue-green algae *anacystis nidulans*. Environ. Pollut. (Series A), 27, 275-281.
- 13) 高村義親・渋川慶一(1984) : *Microcystis aeruginosa* (Cyanobacteria) 無菌株の増殖促進因子について—ビタミン B 12 の特異的促進効果—. 日本農芸化学会, 昭和 59 年度大会講演要旨集, p.563.

- 14) DePinto, J. V. and F. H. Verhoff (1977) : Nutrient regeneration from aerobic decomposition of green algae. *Environ. Sci. Technol.*, **11**(4), 371-377.
- 15) Kuentzel, L. E. (1969) : Bacteria, carbon dioxide and algae blooms. *J. Wat. Pollut. Control Fed.*, **41**, 1737-1747.
- 16) Lange, W. (1967) : Effect of carbohydrates on the symbiotic growth of planctonic blue-green algae with bacteria. *Nature*, **215**, 1277-1278.
- 17) Lange, W. (1971) : Enhancement of algal growth in cyanophyta-bacteria system by carbonaceous compounds. *Can. J. Microbiol.*, **17**, 303-314.
- 18) Murphy, T. P., D. R. S. Lean and C. Nalewajko (1976) : Blue-green algae ; their excretion of iron-selective chelators enables them to dominate other algae. *Science*, **192**, 900-902.
- 19) 桜井善雄(1979) : 湖沼における細菌と藻類の定量関係 : 微生物の生態②—相互作用をめぐって—。学会出版センター, 35-51.
- 20) 矢木修身・萩原富司・高村義親・須藤隆一(1984) : 霞ヶ浦から分離した *Microcystis* の無菌株と単藻株の増殖特性. *水質汚濁研究*, **7**(8), 469-503.

Microcystis aeruginosa 無菌クローン株の増殖に
対する栄養因子の検討

**Studies on the Growth Factor of an Axenic Clone
of the Cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* K-3A**

高村義親¹・渋川慶一²・矢木修身³・須藤隆一³

Yoshichika TAKAMURA¹, Keiichi SHIBUKAWA², Osami YAGI³
and Ryuichi SUDO³

要 旨

Microcystis 属ラン藻を優占種とする水の華(アオコ)の発生機構を解明するためには、他種生物との相互作用のない純粋培養系で本藻そのものの増殖特性を知ることがまず第一に必要である。

著者らは、*M. aeruginosa* の無菌クローン株(萩原ら, 1984)を用いて、窒素・リン以外の栄養因子で本藻の増殖を促進する物質を検索し、最近までに下記の新しい知見がえられた。

鉄は本藻の増殖に不可欠な微量必須元素で、他の金属によって代替はできなかった。鉄の形態として、硫酸第一鉄が最も良く、次いでクエン酸鉄が良好な増殖を示した。しかし、EDTA 鉄では増殖せず、塩化第二鉄は良好な増殖を与えなかった。硫酸第一鉄を用いた場合、EDTA の添加は効果がなく、むしろ添加によって増殖が阻害された。

本藻の増殖に及ぼすビタミン B 群の添加効果を検討したところ、B₁₂が 100 µg/l の濃度で増殖を促進することが見いだされた。他のビタミンには促進効果が認められなかった。B₁₂の添加により本藻の増殖は 4~5 倍促進された。B₁₂の増殖促進効果は硫酸コバルトにより代替できるが完全ではなかった。

更に、本藻の増殖に対する単糖類、有機酸、アミノ酸、核酸塩基、含窒素有機栄養物の添加効果を詳細に検討したが、いずれも増殖を促進せず、むしろ阻害的であった。特に、アミノ酸、含窒素有機栄養物などの有機物の中には、かなり低い濃度(10~40 mg/l)で増殖を強く阻害するものが多く認められた。

1. 昭和 56~60 年度 国立公害研究所客員研究員 (茨城大学農学部 〒300-03 茨城県稲敷郡阿見町)
Visiting Fellow of the National Institute for Environmental Studies. Present Address : Faculty of Agriculture, Ibaraki University, Ami, Inashiki-gun, Ibaraki 300-03, Japan.
2. 昭和 60 年度 国立公害研究所共同研究員 (茨城大学農学部 〒300-03 茨城県稲敷郡阿見町)
Research Collaborator of the National Institute for Environmental Studies. Present Address : Faculty of Agriculture, Ibaraki University, Ami, Inashiki-gun, Ibaraki 300-03, Japan.
3. 国立公害研究所 水質土壌環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川 16 番 2
Water and Soil Environment Division, the National Institute for Environmental Studies. Yatabemachi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

Abstract

In order to reveal the growth characteristics of the cyanobacterium *Microcystis*, a dominant genus of the water bloom in eutrophic lakes, a survey of nutritional factors to promoting or to inhibiting the growth of an axenic clone of *M. aeruginosa* K-3 A was carried out.

A number of agents such as metals, B-group vitamins, amino acids, purine and pyrimidine bases, organic nutrients, monosaccharides and organic acids were tested for the effects on the growth of the alga. Among the agents tested, iron and vitamin B₁₂ were found to be effective factors in promoting the proliferation of the alga.

Iron was essentially required for the growth and FeSO₄ was the most available form out of the iron compounds tested. Vitamin B₁₂ increased by 3-5 fold the maximum growth at the concentration of 100 µg/l. The promotive effect of B₁₂ was able to be replaced by cobaltous sulfate. EDTA, a chelating agent which is usually supplied to the culture medium to advance the incorporation of metals, was unnecessary and rather inhibitory.

Most of organic compounds such as casamino acid, peptone, amino acids and monosaccharides were inhibitory for the growth. Especially several amino acids remarkably suppressed the algal growth at the low concentration of less than 10mg/l.

Key words : *Microcystis*, Growth, Cyanobacterium, Inhibition

1 緒言

Microcystis 属ラン藻を優占種とする水の華(アオコ)の発生機構を解明し、その制御方法を確立するためには、本ラン藻の増殖生理を明らかにする必要がある。そのためには、無菌クローン株を分離し、他種生物との相互作用のない条件下で本藻の増殖特性を明らかにすることが重要である。

さきに、著者らは霞ヶ浦のアオコから *M. aeruginosa* の単藻株を分離し¹⁾、さらにキャピラリーピペット洗滌法を用いて無菌クローン株を分離することに成功した²⁾。無菌クローン株(以下、無菌株)は細菌の付着する単藻株に比べて増殖が悪く、同一培養条件でも実験ごとに比増殖速度、最大増殖量が変動し、安定した増殖を示さなくなった^{3,4)}。この理由の一つとして、細菌との共生的関係がなくなったため、本藻が単独で増殖するのに必要な栄養的因子が培地中に欠乏したことが考えられる。

淡水性及び海洋性の多くの藻類が、ビタミン B₁₂(以下 B₁₂)、サイアミン、ビオチンなどのビタミン類^{5,6)}、鉄、マンガン、カルシウムなどの金属類^{5,7)}、プリン、ピリミジンなどの核酸塩基類^{5,8)}を、必須的または補助的に要求することが知られている。また、金属と錯体を形成する、EDTA や腐植物質が増殖刺激物質となることが、*Microcystis* を含めた各種の藻類で報告されている⁹⁻¹¹⁾。これらの、無機的並びに有機的栄養要因に対する増殖応答は、藻類の種はもちろん、クローンによっても異なることが報告されている^{12,13)}。

著者らは、*M. aeruginosa* 無菌株の増殖を促進する栄養的因子を究明し、同時に安定した培養条件を確立する目的で、金属類、B群ビタミン類、含窒素有機栄養物質、アミノ酸、単糖類、有機酸類など各種の無機並びに有機化合物の増殖に及ぼす影響を検討した。

2 実験方法

(1) 供試ラン藻

本実験には霞ヶ浦のアオコから分離した *Microcystis aeruginosa* の無菌クローン株(K-3A 株)を用いた。K-3A 株は酸性多糖からなる寒天様被膜に覆われた群体を形成し、培地の表面に浮上して増殖する特徴をもっている。対照に用いた単藻株(K-3 株)は継代培養を続ける間に群体形成能を失い、培地全体に懸濁した状態で増殖する。

(2) 培地及び培養方法

基本培地としては矢木ら¹⁾の M-11 培地を用いた。M-11 培地の組成は表 1 に示すとおりである。培養には 200 ml 容三角フラスコを用い、これに培地 100 ml を分注し、120°C、15 分間、加圧殺菌を行った。クエン酸第二鉄は別殺菌を行い、接種時に無菌的に培地と混合した。種培養には本培養と同様に M-11 培地を用い、本培養の接種量は 1% とした。培養は 30 °C、2,000 lx の白色蛍光灯連続照射下で静置培養を行った。フラスコは一日一回緩やかにかくはんし、ガラス壁に藻体が付着しないようにした。

表 1 *Microcystis aeruginosa* K-3A の培地組成
Table 1 Composition of the culture medium for *Microcystis aeruginosa* K-3A

Components	Concentration*
NaNO ₃	100 mg
K ₂ HPO ₄	10
MgSO ₄ · 7 H ₂ O	75
CaCl ₂ · 2 H ₂ O	40
Na ₂ CO ₃	20
Fe-citrate	6
Na ₂ EDTA · 2 H ₂ O	1

* per liter of deionized water, pH 8.

(3) 増殖量の測定

*M. aeruginosa*の無菌株並びに単藻株の増殖量は培養液のクロロフィル a (chl. a)及び濁度(O.D.)の両方を指標として測定した。なお、実験は二連で行い、平均値で示した。

(i) クロロフィル a の測定¹⁴⁾: 培養液 30 ml をワットマン GF/C でろ過し、得られた藻体はろ紙ごと細くきざみ、10~15 ml の冷アセトンを加えて、乳鉢またはガラス製ホモゲナイザーで摩砕した。摩砕液はフタ付遠心管に移し、冷暗所に一時間放置した後、15,000 r.p.m., 15 分間、冷却遠心を行った。上澄液の 630, 645, 663, 750 nm 各波長における吸光度を測定し、次式により chl. a 量を求めた。chl. a ($\mu\text{g}/\text{l}$) = $(11.64 \times E_{663} - 2.16 \times E_{645} + 0.1 \times E_{630}) \times$ 抽出液量(ml)。なお、上式各波長の O. D. 値は 750 nm の O. D. を差し引いた値である。

(ii) 比濁法: K-3A 株は培養液表面に群体をつくって浮上しているため直接 O. D. を測定することができない。そこで、超音波処理によって群体を破壊し、懸濁状態にしてから O. D. を測定した。すなわち、培養液 30 ml を 100 ml 容ビーカーに入れ、50 W, 20 秒間、超音波処理を行って得られた藻体細胞懸濁液の 660 nm における O. D. を測定した。

K-3A では chl. a と O. D. の間には図 1 に示すように高い相関($r=0.913$)がある。測定法も簡単であるので両者を増殖の指標として便宜的に用いることができる。しかし、増殖の後期には、細胞当たりの chl. a 含量が低下し白色化が起こるので、両者の相関は低くなることが認められている。

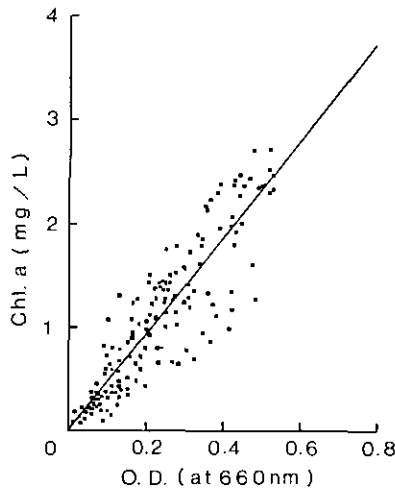


図 1 クロロフィル a とO.D.の相関

Fig. 1 The relationship between chlorophyll a concentration and optical density of the cultured medium of *Microcystis aeruginosa* K-3A (axenic strain)

3 結果

(1) *M. aeruginosa* 無菌株と単藻株の増殖

無菌株(K-3A)と単藻株(K-3)の M-11 培地における増殖曲線を図 2 に示した。単藻株は接種後直ちに増殖が始まり、培養 10 日目で最大増殖量(chl. *a* 1500 $\mu\text{g/L}$)に達した。一方、無菌株では増殖の立ち上りが遅く、最大増殖量(chl. *a* 500 $\mu\text{g/L}$)に達するまでに単藻株の 2 倍の培養日数が経過した。また、無菌株の最大増殖量は単藻株のおよそ 1/5 の低さであった。無菌株では最大増殖に達すると、浮上した藻体が沈降しはじめ、この頃から chl. *a* が減少し、自己分解が起こった。培養 30 日目には培養液は完全に白色になり、O. D. も減少した。無菌株では chl. *a* と O. D. のピークが一致するが、単藻株では chl. *a* が減少しはじめてからも、O. D. は増大し、培養 25 日目に最大値を示した。これは混在する従属栄養細菌が、本藻の増殖の後で、優勢になり O. D. を増大させたためである。以下の無菌株を用いた増殖試験では、最もおう盛な増殖をしている培養 15 日目の増殖量を目安にした。

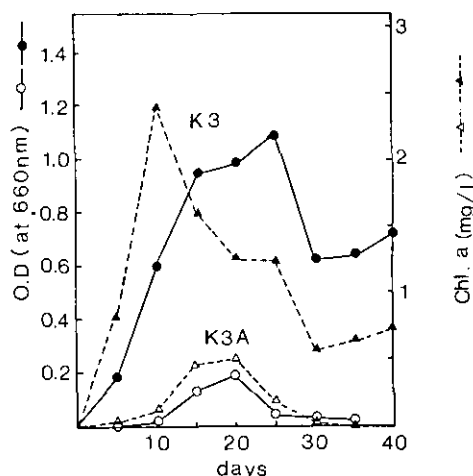


図 2 *M. aeruginosa* K-3A (無菌株) と K-3 (単藻株) の増殖曲線 (M-11 培地)

Fig. 2 Growth curves of *M. aeruginosa* K-3A and *M. aeruginosa* K-3 (monoalgal strain) in M-11 medium

(2) 鉄イオン及びキレート剤

M-11 培地にはクエン酸第二鉄が Fe として 1 mg/l の濃度で含まれている。クエン酸第二鉄を除いた培地に、ろ過滅菌した各種の金属の硫酸塩を金属元素として 1 mg/l の濃度で添加し、増殖に及ぼす影響を検討した結果が表 2 である。鉄を添加しない培地でも対照(クエン酸鉄 M-11 培地)の約 1/20 の増殖が認められたが、これは、接種時の持ち込みによる増殖と考えられる。硫酸鉄(II)が最も良好な増殖を示し、クエン酸第二鉄の 2~3 倍の増殖があった。Ni, Co, Zn, Cu の添加で

表 2 各種金属の *M. aeruginosa* K-3A の増殖に及ぼす影響
 Table 2 Effect of Metals on the growth of *Microcystis aeruginosa* K-3A

Metals	Growth	
	O. D.	Chl. <i>a</i> (ppb)
None*	0.007	14
Fe-citrate	0.139	356
FeSO ₄	0.280	1248
NiSO ₄	0.002	0
CoSO ₄	0.002	0
CuSO ₄	0.002	0
ZnSO ₄	0.002	0
MnSO ₄	0.015	40

Metals were added to M-11 medium at the concentration of 1 mg per liter as metal element. Growth was measured after 15 days cultivation.

は全く増殖が示されなかった。無添加培地でわずかな増殖がみられた。これらの金属は Fe の代替とならないばかりか、本藻の増殖に対して阻害的であることを示している。Mn が対照の約 1/10 の増殖を示しているが、Mn が Fe の効果を部分的に代替しているのか、あるいは、接種時に持ち込まれた鉄の利用率を高めているのかははっきりしない。いずれにしても、本藻の増殖に Fe が必須的要求されることは明らかである。

図 3 は鉄の形態とキレート剤の関係を検討した結果である。各種の鉄化合物はいずれも無菌ろ過して培地に加えた。鉄化合物は、FeSO₄ > クエン酸第二鉄 > Fe₂(SO₄)₃ > EDTA・Fe の順序で増殖を促進した。これらの鉄化合物は、EDTA を含まない培地の方が良好な生育を示した。EDTA を含む培地に EDTA・Fe、あるいは FeCl₃ を加えた場合の増殖はわずかであった。EDTA と微量金属の関係は複雑であり、今後さらに詳細に検討する必要があるが、少なくとも、これらの結果は、本藻の増殖に EDTA が基本的に必要でないと思われる。

(3) ビタミン B₁₂ とコバルトによる促進

M-11 培地に各種の B 群ビタミン類を 100 μg/l の濃度で単独に添加し、増殖に及ぼす影響を検討した結果を図 4 に示した。ビオチン、サイアミン、リボフラビン、ピリドキサル、ナイアシン、パントテン酸、p-アミノ安息香酸、葉酸はいずれも増殖に影響を与えなかったが、シアノコバラミン (B₁₂) には顕著な促進効果のあることが見いだされた。B₁₂ の濃度について検討した結果が図 5 である。B₁₂ は 100 μg/l の濃度で最も良い増殖を示し、この場合、対照の 3 倍の増殖が認められた。B₁₂ の濃度が、他の B₁₂ 要求性藻類について知られている要求量に比べて 1,000 倍以上も多いことから B₁₂ に含まれるコバルトに着目し、CoSO₄ の影響を検討した。CoSO₄ は B₁₂ の添加量

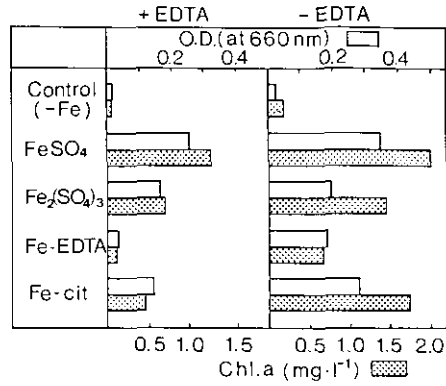


図 3 鉄の形態と EDTA の増殖に及ぼす影響

Fig. 3 Effect of several iron compounds on the growth of *M. aeruginosa* K-3A with or without EDTA

Iron compounds were added at the concentration of 1mg/l as iron element to Fe-citrate omitted medium. O. D. and chlorophyll *a* concentration were measured with cultured broth after 15 days of cultivation.

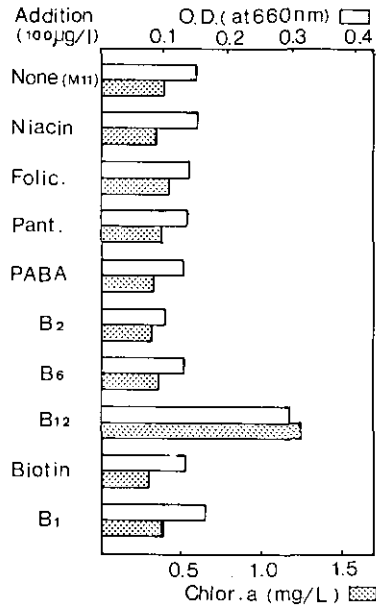


図 4 B群ビタミン類の増殖に及ぼす影響

Fig. 4 Promotion of the growth of *M. aeruginosa* K-3A by the addition of vitamin B₁₂

と Co 量として等しくなるように添加した。図 5 に示すように B₁₂ 100 μg/l に相当する CoSO₄ · 7 H₂O 21 μg/l の濃度で B₁₂ に匹敵する増殖の促進が認められた。また、B₁₂ と同様に濃度に対応した増殖量の増加が CoSO₄ の場合も認められた。このことは、B₁₂ の増殖促進効果は CoSO₄ が代替できることを示している。B₁₂ 100 μg/l を添加した培地（以下 B-12 培地）における増殖曲線を M

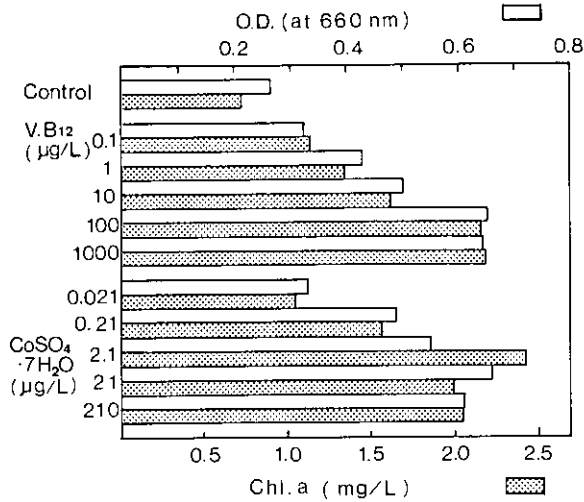


図 5 ビタミン B₁₂ 及び硫酸コバルトの増殖に及ぼす影響

Fig. 5 Effect of various concentrations of vitamin B₁₂ and cobaltous sulfate on the growth of *M. aeruginosa* K-3A

The concentrations of cobaltous sulfate corresponded with the concentrations of vitamin B₁₂ as cobalt element.

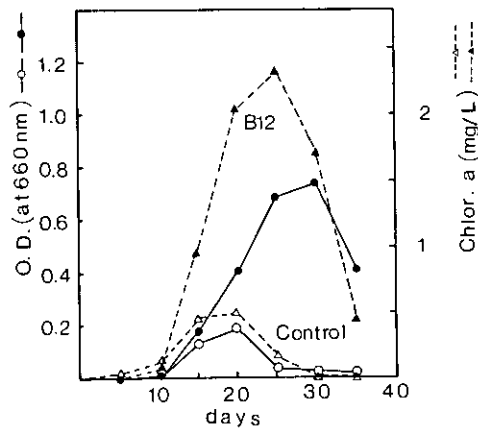


図 6 B-12 添加培地における *M. aeruginosa* K-3A の増殖曲線

Fig. 6 Growth curve of *M. aeruginosa* K-3A in the medium supplied with vitamin B₁₂ (B-12 medium)

-11 培地におけるそれと比較して図 6 に示した。B-12 培地では chl. *a* で 25 日目、O. D. では 30 日目に最大増殖量に達し、この場合それぞれは対照の 4.6 倍及び 4 倍の値を示した。B₁₂ は図 7 に示すように、比増殖速度に影響を与えず最大増殖量を増加させた。すなわち、増殖量を chl. *a* で測定すると、M-11 培地と B-12 培地の比増殖速度 μ は 0.46 で差がなかったが、15 日目の最大増殖量は前者が 1,490 $\mu\text{g/l}$ であるのに対し後者は 430 $\mu\text{g/l}$ あり、B₁₂ の添加により 3.5 倍になった。B₁₂ の添加により単藻株に匹敵する最大増殖量が得られるが、増殖の立ち上りまでに要する日数は短縮されなかった。

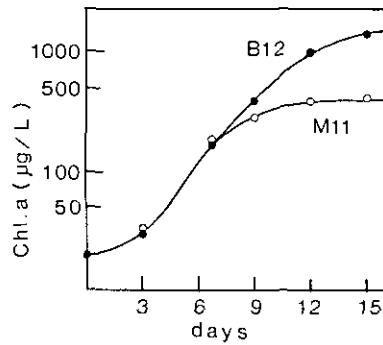


図 7 B-12 培地と M-11 培地における *M. aeruginosa* K-3A の増殖曲線の比較

Fig. 7 Maximum growth and specific growth rate of *M. aeruginosa* K-3A in M-11 and B-12 media

(4) アミノ酸及び有機栄養源による阻害

B₁₂ による増殖の促進が認められたので次に肉エキス、ペプトン、カザミノ酸などの有機栄養源を 10~20 mg/l の濃度で添加して増殖に及ぼす影響を検討した。いずれも、無菌株の増殖に対しては阻害的で特にカザミノ酸による阻害は著しかった(図 8)。カザミノ酸はカゼインの水解物でアミノ酸を主成分としているので、次に 20 種類のアミノ酸を 10 mg/l の濃度で M-11 培地に添加し増殖に及ぼす影響を検討した。図 9 に示すようにアミノ酸の多くは本藻の増殖に対して阻害的で、促進的効果を示すものは全くなかった。アミノ酸の中では、特に L-フェニルアラニン、L-スレオニン、L-リシン、L-システイン、L-バリン、L-ヒスチジン、L-チロシンが増殖を強く阻害した。フェニルアラニンは 1 mg/l の低い濃度でも本藻の増殖を阻害した。一方、湖水⁴⁾中に相対的に多く存在する L-グリシン、L-セリン、L-グルタミン酸、L-アスパラギン酸などは本藻の増殖にほとんど影響を与えなかった。

(5) 単糖類及び有機酸類による阻害

M. aeruginosa は細胞内にグルカンを貯留し、培養後期には培地中にグルカンとグルコースを蓄

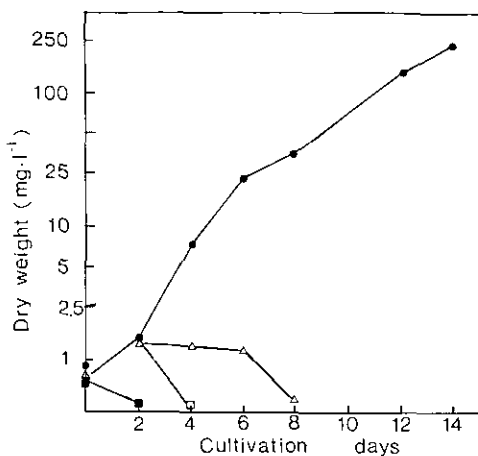


図 8 有機栄養源による増殖の阻害

Fig. 8 Inhibition of the growth of *M. aeruginosa* by organic nutrients
 Casamino acid (■), meat extract (□) and peptone (△) were added to M-11 medium at the concentration of 10mg/l. Growth was expressed in mg dry cell weight per liter. Control (●).

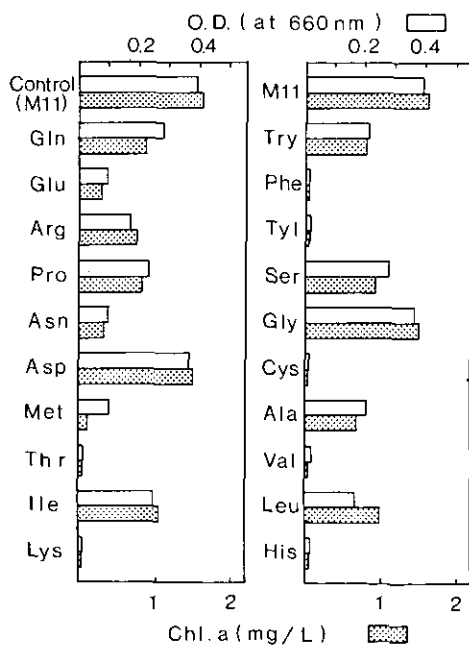


図 9 各種アミノ酸の増殖に及ぼす影響

Fig. 9 Effect of amino acids on the growth of *M. aeruginosa* K-3A
 Amino acids were added to M-11 medium at the concentration of 10mg/l. Other conditions are described in the legend to Fig. 3.

積（あるいは放出）することが見いだされている¹⁵⁾。また、群体の外周はガラクトロン酸を含む酸性多糖からなるゲル状のスライム層で覆われている^{15,16)}。そこで、本藻の生産するこれら多糖を構成する単糖類を 100 mg/l 及び 200 mg/l の濃度で培地中に添加し、増殖に及ぼす影響を検討した（図 10）。スライムの主要な構成糖であるラムノース、フコース、マンノースでは影響がなかったが、キシロース、アラビノースでは阻害が認められた。グルコース、ガラクトースは 100 mg/l の濃度では阻害的でなかったが、200 mg/l では増殖を阻害した。グルコースについて濃度の影響を検討したところ、グルコースが 100 mg/l（Cとして 40 mg/l）を越えると本藻の増殖は抑制され、500 mg/l（Cとして 200 mg/l）では全く生育が認められなかった（図 11）。

図 12 は各種の有機酸を 400~800 mg/l の濃度で M-11 培地に添加し、増殖に及ぼす影響を検討した結果である。グリコール酸 400 mg/l の場合を除いてコハク酸、リンゴ酸、フアール酸、クエン酸及びガラクトン酸はいずれの濃度でも増殖に阻害的であった。特にスライムの中に多量に存在するガラクトン酸は 400 mg/l の濃度でも強く増殖を阻害した。また、クエン酸が比較的強く増殖を抑制したが、このことは M-11 培地に入っているクエン酸第二鉄が、硫酸鉄(II)よりも増殖には不利であることと関連して注目される。

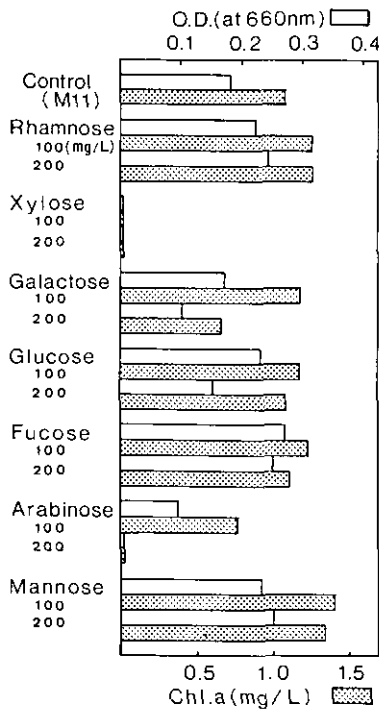


図 10 各種単糖類の増殖に及ぼす影響

Fig.10 Effect of several monosaccharides on the growth of *M. aeruginosa* K-3A

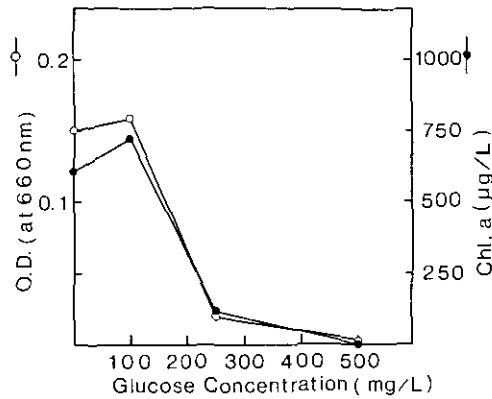


図 11 グルコースによる増殖の阻害

Fig.11 Effect of various concentrations of glucose on the growth of *M. aeruginosa* K-3A

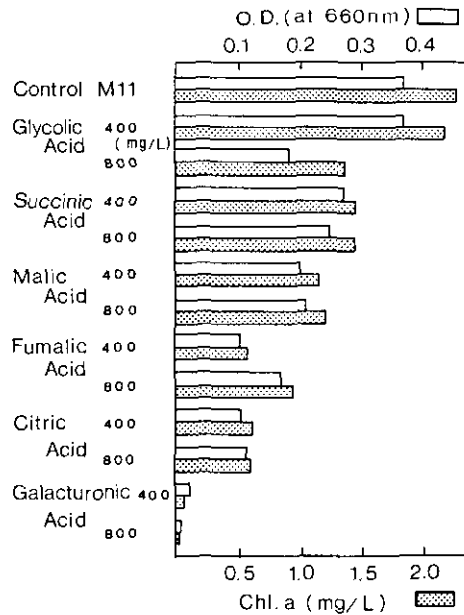


図 12 各種有機酸の増殖に及ぼす影響

Fig.12 Effect of several organic acids on the growth of *M. aeruginosa* K-3A

(6) 塩化ナトリウムによる増殖の阻害

Microcystis 属ラン藻の増殖が塩化ナトリウムによって抑制されることがかなり以前より知られている。M-11 培地に NaCl を各種の濃度で添加し増殖に及ぼす影響をみた結果が図 13 である。NaCl を Cl⁻として 800 mg/l 以上の濃度で添加した培地では本藻の増殖は著しく抑制され、対照

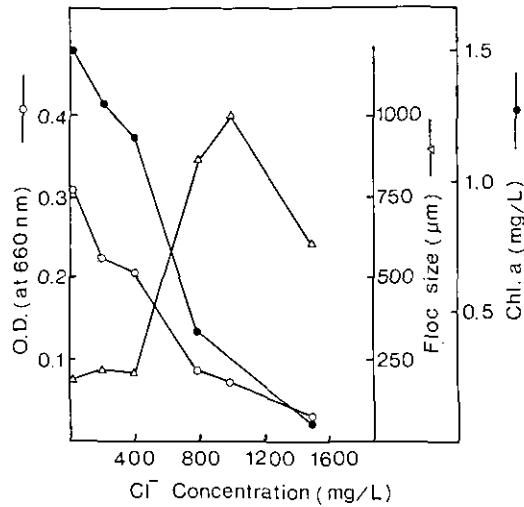


図 13 塩素イオンによる増殖の阻害

Fig.13 Effect of concentrations of chloride ions on the growth of *M. aeruginosa* K-3A

の 1/4 以下の増殖しか示さなかった。しかし、1500 mg/l の濃度でもわずかな増殖が認められた。NaCl で興味深いことは、増殖が抑制される 800 mg/l 以上の濃度で本藻の群体のサイズが大きくなることである。すなわち、本藻は通常用いる M-11 培地では群体の平均的なサイズは 180 μm であったが、Cl⁻として 1000 mg/l の濃度で NaCl を含む培地では、その 5 倍以上の大きさとなり平均 1000 μm を示した。NaCl の添加により群体のサイズが大きくなることは、スライム層の凝集性が Na⁺によって高められたためと考えられる。比較的細胞壁の弱い本藻は大きな群体を作り、その外周を水の包摂力の大きいスライムで覆うことにより、高張的外部環境による細胞内浸透圧の変化を防いでいると推定される。

4 考 察

金属類、B 群ビタミン類、キレート類、アミノ酸、有機栄養源類、単糖類、有機酸類など多くの無機並びに有機化合物を通常的に用いられている M-11 培地に添加して増殖に及ぼす影響を調べたが、鉄、B₁₂、Co を除いていずれも促進効果が認められなかった。むしろ、多くのものが増殖に対して阻害的であった。

鉄が本藻の増殖に不可欠に必要とされることは、既に矢木³⁾が報告した結果と同じであるが、従来用いられてきたクエン酸鉄より硫酸鉄(II)の方が本藻の増殖に数倍有利なことが示された。Fe₂(SO₄)₃及び FeCl₃などの 3 価の鉄化合物を加えた培地の増殖がいずれも劣ることから、本藻の増殖には Fe²⁺が有利であることを示している。また、2 価及び 3 価の鉄化合物は EDTA の存在しない培地の方が、むしろ良好な増殖を示すので、本藻の増殖にキレート剤は必要ないように思わ

れる。群体の外周を包むスライム層が鉄を特異的に吸着しやすいこと¹³⁾と関係があるかもしれない。しかし、EDTAが阻害的なことや、鉄を含まない培地でNi, Zn, Co, Cuが阻害的でMnが促進的であることは本藻の増殖に対する金属類の影響が複雑であることを示している。

ビタミン B₁₂が本藻の増殖を促進する唯一の刺激物質として見いだされた。B₁₂は本藻の増殖に補助的（アクセサリー）に要求されるもので不可欠な栄養因子ではない。また、B₁₂の効果がCoでほぼ代替できることから、本藻はB₁₂の生合成系を有しているものと思う。M-11培地にはB₁₂の有機骨格に導入されるCoが少ないため細胞内のB₁₂の必量レベルが低く、最大増殖量が制限されていると推定される。B₁₂を添加した培地（B-12培地）での本藻の増殖は、培養の初期はM-11培地と変わらない。しかし、M-11培地での増殖が定常期に入る時期からB₁₂の促進効果は顕著に現れてくる。

B-12培地では最大増殖量が増大するとともに、藻体が緑色を呈している期間も長くなることから、B₁₂ chl. aの生合成になんらかの影響を与えていると推定される。B₁₂のバイオアッセイに用いられるE. coliでもCoがB₁₂の効果を部分的に代替できるという報告がなされている。

本藻の増殖が鉄、Coなどの無機物質によって促進されるのに対して、B₁₂を除いて試験した有機化合物がすべてが増殖を促進せず、逆に多くのものが阻害的であった。なかでも、アミノ酸やカザミノ酸、肉エキス、ペプトンなど従属栄養細菌の優れた栄養源となるものが特に強い阻害効果を示した。アミノ酸は、強い阻害を与えるアミノ酸と増殖に影響を与えないアミノ酸の2グループに分けられた。霞ヶ浦湖水中に最も多く存在するグリシン、L-セリン、L-グルタミン酸、及びL-アスパラギン酸が後者のグループに属することは興味深い。L-フェニルアラニン、L-トレオニン、L-リシン、L-バリンが強い阻害を示すこと理由は明らかでない。また、本藻が各種の多糖を生産しながら、多くの単糖類やTCAサイクルの有機酸によって阻害されることも注目される。藻類の培養によく使われるグリセロリン酸をK₂HPO₄の代わりに用いた培地の増殖も対照に比べて良くなかった。これらの結果は、*M. aeruginosa*が無機的栄養環境を好み、本藻による有機物生合成系は光合成系にせよアミノ酸合成系にせよ、細胞外の有機物によって強いネガティブ・フィドバック、コントロールを受けるものと思われる。このことは、独立栄養原核生物としての本藻の大きな特徴といえよう。

B₁₂あるいはCoの添加により、無菌株では単藻株にはほぼ匹敵する最大増殖量が得られたが、依然として単藻株の方が増殖が早く、培養が容易である。単藻株におけるB₁₂以外の物質を仲介とする細菌との相互関係について、更に詳しく検討していくことが重要と思われる。

5 要約

1) *M. aeruginosa*の無菌クローン株を用いて、基本培地（M-11培地）に、金属類、B群ビタミン類、アミノ酸類、有機栄養源類、単糖類及び有機酸類を単独に添加し、増殖に及ぼす影響を検討した。

- 2) 鉄は本藻の増殖に必須であり、鉄の形態としては硫酸鉄 (II) が最も良い増殖量を与えた。
- 3) EDTA は増殖には必要でなく、むしろ阻害的であった。
- 4) B 群ビタミンの中でビタミン B₁₂ が唯一の増殖促進物質として見いだされた。B₁₂ は 100 µg/l の濃度で本藻の最大増殖量を 3~5 倍に増大させたが、比増殖速度には影響を与えなかった。B₁₂ の効果は CoSO₄ で代替できた。
- 5) アミノ酸類、肉エキスなどの有機栄養源類、単糖類、有機酸類はいずれも増殖促進効果を示さず、むしろ多くのものが増殖に阻害的であった。特に、アミノ酸の一部は試験した有機物質の中で最も強い阻害効果を示した。
- 6) 塩化ナトリウムは Cl⁻ として 800 mg/l 以上の濃度で増殖を著しく阻害したが、1500 mg/l の濃度でもわずかな増殖が認められた。塩化ナトリウムの濃度を高くすると、群体の大きさが数倍に大きくなることが認められた。

引用文献

- 1) 矢木修身・岡田光正・須藤隆一(1979)：水の華および赤潮生物の培養について。国立公害研究所研究報告，第6号，223-229.
- 2) 萩原富司・矢木修身・高村義親・須藤隆一(1984)：霞ヶ浦に発生する *Microcystis aeruginosa* の純粋分離。水質汚濁研究，7, 437-442.
- 3) 矢木修身・萩原富司・高村義親・須藤隆一(1984)：霞ヶ浦から分離した *Microcystis* の無菌株と単藻株の増殖特性。水質汚濁研究，7, 496-503.
- 4) 高村義親(1984)：富栄養湖における有機物負荷の特性と *Microcystis aeruginosa* の関係。微生物の生態，12, 171-192.
- 5) 岩崎英雄(1980)：赤潮の発生機構—赤潮生物の栄養要求性—。赤潮—発生機構と対策，日本水産学会編，11-37(恒星社原生閣)。
- 6) 畑 幸彦(1984)：永瀬ダムにおける淡水赤潮の発生機構に関する研究。高知県委託研究報告書，133.
- 7) 渡辺仁治・清水 晃・石井正恵・坪田智子(1983)：*Peridinium bipes f-occulatum* (Lemm.) Lef. による淡水赤潮の発生機構に関する考察。国立公害研究所研究資料，第24号，29-48.
- 8) 日野修次・安藤和夫(1983)：茨戸湖底泥抽出物による藍藻の収量増大効果。Jap. J. Limnol., 44, 116-122.
- 9) Armstreng, J. E. and C. V. Baallen (1979) : Iron transport in microalgal : the isolation and biological activity of hydroxamate siderophore from the blue-green alga *Agmenellum quadruplicatum*. J. Gen. Microbiol., 111, 253-262.
- 10) 松永勝彦・根岸正美・五十嵐康二(1982)：天然水中の重金属の溶存形。水処理技術，23(6), 533-540.
- 11) 稲垣典子・矢木修身・大久保紀男・須藤隆一・高村義親(1985)：*Microcystis* 属藍藻の増殖促進物質について。日本農芸化学会昭和60年度大会講演要旨集，104.
- 12) Hargraves, P. E. and R. L. Guillard (1974) : Structural and physiological observations on some small marine diatoms. Phycologia., 13, 163-172.
- 13) Lewin, J. C. and R. A. Lewin (1960) : Auxotrophy in marine littoral diatoms. Can. J. Microbiol.,

6, 127-34.

- 14) 西条八束(1975): クロロフィル *a* の測定法. Jpn. J. Limnol., **36**, 103-109.
- 15) 仲川道夫・高村義親・矢木修身(1985): *Microcystis aeruginosa* (Cyanobacteria) 無菌株の生産する粘質多糖(スライム), 藻体内および藻体外可溶性糖について. 日本農芸化学会昭和 60 年度大会の講演要旨集, 642.
- 16) 渋川慶一・白井 誠・高村義親・矢木修身(1985): *Microcystis aeruginosa* の増殖に伴う微細構造の変化. 日本農芸化学会昭和 60 年度大会講演要旨集, 249.
- 17) 雨宮由美子・中山大樹(1984): 藍藻 *Microcystis* より単離した粘質物質の化学的性質と金属類に対する吸着特性. Jpn. J. Limnol., **45**, 187-193.

Microcystis aeruginosa 無菌クローン株の生産する
寒天様被膜(スライム)に関する研究

**Studies on the Slime Polysaccharide Produced by an Axenic Clone
of the Cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* K-3A**

高村義親¹・仲川道夫²・矢木修身³・須藤隆一³

Yoshichika TAKAMURA¹, Michio NAKAGAWA², Osami YAGI¹
and Ryuichi SUDO³

要 旨

霞ヶ浦における水質汚濁の主導的過程は、*Microcystis* 属ラン藻が湖内で生産する有機物の増加にある。*Microcystis* 属ラン藻が、藻体内及び藻体外にどのような有機物を生産するかということはほとんどわかっていない。

著者らは、*Microcystis aeruginosa* K-3 A(無菌株)の純粋培養細胞から、群体の周囲を覆う寒天様被膜(slime)、細胞内貯留多糖、細胞外分泌(放出)多糖の3種類の糖質の分離分画を行い、その化学的性質を明らかにした。

slimeは細胞壁を破壊しない温和な物理的方法とCa⁺⁺で凝集するゲル化特性を組み合わせた独自の方法で分離・精製した。slimeは藻体(乾物重)の7.2%に相当し、ウロン酸を含む酸性多糖であることが認められた。ガスクロマトグラフィーによる分析で、slimeは、ラムノース>キシロース>ガラクトース>グルコース>フコース>アラビノース>マンノースの7種類の中性糖とガラクトン酸から構成されるヘテロポリマーであることが明らかにされた。slimeは冷水、熱水に不溶で多価金属を添加すると凝固する性質があり、nativeな状態では水を包摂して藻体湿重の35%を占めていることが見いだされた。

一方、細胞内に貯留される水溶性糖質と細胞外(培地中)に蓄積する水溶性糖質はいずれもグルコースポリマーが主成分であり、slimeの糖組成とは顕著に異なることが見いだされた。slimeは水の包摂、群体形成、カチオンの吸着等に関与し、グルコースポリマーは光合成産物の貯留形態として、それぞれ重役な生理的役割を有すると考察した。

1. 昭和56~60年度 国立公害研究所客員研究員(茨城大学農学部 〒300-03 茨城県稲敷郡阿見町)
Visiting Fellow of the National Institute for Environmental Studies. Present Address: Faculty of Agriculture, Ibaraki University, Ami, Inashiki-gun, Ibaraki 300-03, Japan.
2. 昭和60年度 国立公害研究所共同研究員(茨城大学農学部 〒300-03 茨城県稲敷郡阿見町)
Research Collaborator of the National Institute for Environmental Studies. Present Address: Faculty of Agriculture, Ibaraki University, Ami, Inashiki-gun, Ibaraki 300-03, Japan.
3. 国立公害研究所 水質土壌環境部 〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2
Water and Soil Environment Division, the National Institute for Environmental Studies, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan.

Abstract

A slime material was isolated from axenic cells of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* K-3A, grown in a synthetic culture medium. To isolate the slime material without other contaminants from the sub-cellular fraction, a new isolation procedure, a mild mechanical separation followed by coagulation with calcium chloride, was employed.

The slime material was isolated at a yield of 7.2% (w/w) in dry weight and 34.5% in fresh weight from whole algal cells. The native slime contained a much amount of water for forming a gel zone surrounding the algal cells.

The partially purified slime material contained 51.4% (w/w) carbohydrate and 12.6% protein. Chemical analyses showed that the carbohydrate was a complex polysaccharide containing galacturonic acid, rhamnose and xylose as the major carbohydrates in addition to the sugars, fucose, arabinose, mannose, galactose and glucose.

The slime material was not soluble in cold or hot water but soluble in 1 N NaOH. It showed a peculiar characteristic of coagulation upon addition of multivalent metal cations or in response to acid pH.

In the contrast, the extracellular and intracellular carbohydrates extracted from the culture medium and from algal cells devoid of the slime were mainly composed of glucose. The extracellular polysaccharide was derived by autolysis from water soluble intracellular polysaccharide of the same composition.

The slime, intracellular and extracellular polysaccharides comprised about 8.1%, 10.3% and 46.8% of the total carbohydrate produced by this alga, respectively.

Key words : *Microcystis*, Slime, Carbohydrate, Polysaccharide

1 緒言

アオコの原因生物である *Microcystis* 属ラン藻の形態学的特徴の一つは細胞群体の外周を覆う寒天様被膜にある。寒天様被膜はラン藻をはじめとする淡水藻類の分類上の指標に使われているが^{1,2)}, その化学的性質や生理学的性質については十分に分かっていない。寒天様被膜についての研究は、本藻の有機物生産並びにその水質に及ぼす影響を知る上からも重要である。寒天様被膜は cell envelop を構成する一部であるが³⁾, その呼び方は, sheath, slime, capsule, mucilage, gelatinous matrix など研究者により異なり一定していない。Drews ら³⁾は “a structured layer” を sheath, “undefined, unstructured zone” を slime と定義し, 両者を区別している。*M. aeruginosa* の生産する寒天様被膜は群体の外周を不定形の zone として覆い, 規則性のある構造が認められないのでスライムと呼ぶことにする。

ラン藻のスライムまたは sheath に関する研究は *Anabaena*⁴⁻⁶⁾, *Nostoc*⁷⁾, *Chlorogloeopsis*⁸⁾ についてかなりよく行われているが, *Microcystis* についてはほとんど研究されていない。特に無菌クローン株を用いた研究は今までにない。最近, 雨宮ら⁹⁾は諏訪湖のアオコから「粘質鞘」を分離し, その化学的性質について報告している。湖沼に発生するアオコには species の異なる数種の *Micro-*

cystis 属ラン藻が混在している。また、当然のことながら、他種藻類や従属栄養細菌群も混在している。したがって、「粘質鞘」は成分的に均一でなく、その起源となる生物種を特定できない。また、*Anabaena cylindrica*⁹⁾ や *Anabaena flos-aquae*¹⁰⁾ の培養藻体から得られたスライムについては同一種を用いているが、研究者によって異なる分析結果が報告されている。その原因の一つは、スライムの分離方法として確立されたものがなく、研究者によって異なる方法がとられているためと思われる。さらに、今までの研究ではスライムの形態学的特徴を確認しながら分離したものはない。また、いずれの分離方法も細胞の破壊を伴うドラスティックな方法がとられているので、細胞質成分、細胞破壊物などが混入している可能性があった。

著者らは、細胞破壊を伴わない温和な物理的方法を用い、形態学的特徴を確認しながらスライムを分離する方法を確立した。また、スライムが脱イオン水に分散し、多価金属を加えるとゲル化することが見いだされたので、この特性をスライムの分離に当たって応用し、比較的純度の高いスライムを分離できるようになった。このことは、細胞内可溶性糖質並びに細胞外に蓄積する可溶性糖質をスライムと区別して分離することも可能にした。本報告では、このようにして得られた、*M. aeruginosa* 無菌クローン株の生産するスライムの化学的性質を中心に述べ、あわせて、細胞内可溶性糖質及び細胞外可溶性糖質と比較した結果について記述する。

2 実験方法

2.1 供試藻株及び培養方法

- (i) 供試藻株：*Microcystis aeruginosa* K-3A 無菌クローン株を用いた。
- (ii) 培養方法：前報¹¹⁾ で述べた M-11 培地にビタミン B₁₂ を 100 µg/l の濃度に加えた B-12 培地で培養を行った。培養は 30°C、2,000 lx(白色蛍光灯連続照射)の条件で静置培養を行った。

2.2 スライムの分離並びに精製(図1)

B-12 培地 4 l を用いて 50 日間培養を行い遠心分離で藻体を集めた。藻体は遠心用チューブの中で脱イオン水に懸濁させ、これを、試験管ミキサー(オートマチックラボミキサーHM-10)を用いて 2 分間かくはんした。15,000 r.p.m. 15 分遠心分離を行うとスライムの一部が断片状になって上澄液中に分散した。沈殿した藻体は再び脱イオン水に懸濁して、試験ミキサーを用いた同様のかくはん操作を繰り返した。一回ごとにロットリングインクを用いたネガティブ染色で上澄液中のスライムの形態と分散量を確認した。5~6 回の操作で群体周囲のスライムはほとんど除かれ、“除スライム藻体” が沈殿となって回収された。

得られたスライム分散液に塩化カルシウム(CaCl₂)を 100 mg/l の濃度に加え、15,000 r.p.m. 15 分遠心分離を行うと断片状に分散していたスライムは凝集し、透明なゲル状沈殿として回収された。

粗スライムは脱イオン水に再び懸濁し、試験管ミキサーでかくはんして分散させ、これに CaCl₂

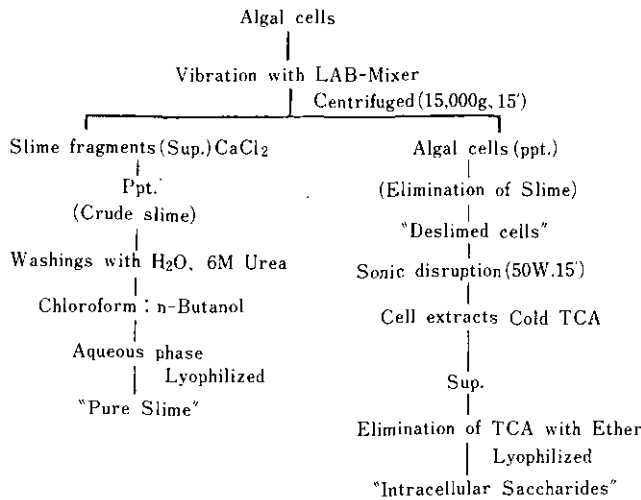


図 1 *Microcystis aeruginosa* K-3A のスライム及び藻体内可溶性糖質の単離精製法

Fig. 1 Isolation procedures of slime and intracellular saccharides from *Microcystis aeruginosa* K-3A

を加えて沈殿させた。この操作を7回繰り返して、水溶性夾雑物を除去した。

粗スライム中にはタンパク質が含まれていたので、6 M 尿素による洗浄し、更にフェノール抽出法¹¹⁾、及びクロロホルム、*n*-ブタノールを用いた sevag 法¹²⁾ で除タンパクを行った。この段階で得られたスライムを脱イオン水で透析後、凍結乾燥を行い、部分精製スライムとして実験に供した。

2.3 細胞内貯蔵性糖質及び細胞外可溶性糖質の分離¹³⁾

B-12 培地 2 l を用いて 26 日間培養を行い、遠心分離で藻体を集めた。藻体細胞を新鮮な B-12 培地で洗浄し、前項で述べた方法でスライムを除去した。“除スライム藻体”を 30 ml の脱イオン水に懸濁し、50 W, 15 分の条件で超音波破壊を行った。次に、15,000 r.p.m. 15 分遠心分離を行い、得られた上澄液にトリクロル酢酸(TCA)を 10% の終濃度になるように加えた。遠心分離で沈殿を除き、上澄液中に含まれる TCA はエチルエーテルで除去した。水層の pH が中性になるまでエーテル抽出を繰り返す(7 回)、最後に凍結乾燥を行い、これを細胞内可溶性糖質として実験に供した。

藻体外可溶性糖質は培養の後期に培地中に蓄積(放出)してくるので、B-12 培地 2 l を用い 41 日間培養を行った。遠心分離(15,000 r.p.m. 15 分)で藻体を除き、得られた培地の上澄液をロータリエバポレーターで約 1/10 量になるまで濃縮した。濃縮の段階で不溶物が析出したので遠心分離を行って除去した。上澄液を凍結乾燥し、藻体外可溶性糖質として実験に供した。

2.4 中性糖の分析

(i) 加水分解：部分精製スライム 2~8 mg をナス型フラスコにとり、72%硫酸 2 ml を加えて室温に1時間放置した。脱イオン水で1.8 N になるように稀釈した。還流冷却器を付けて、110°C、6時間、加水分解を行った。放冷後、炭酸バリウムの粉末を発泡しなくなるまで加えて中和し、遠心分離で不溶性残渣を除いた。上澄液はワットマン GF/C でろ過し、ろ液を減圧で蒸発乾固した。

(ii) アルジトールアセテート誘導体の調製法：日下部の方法¹⁴⁾に準じて行った。加水分解後の試料に NaBH₄ 溶液(40 mg/3 ml)を加え、室温に1時間放置してアルジトールに還元した。Dowex 50(H⁺型)を pH 4~5 になるまで加え、過剰の NaBH₄ を分解した。GF/C でろ過し、蒸発乾固した。これに、メタノール 5 ml を加え、蒸発乾固を3回繰り返す、ホウ酸をメチルエステルにして留法した。次に、無水酢酸：ピリジン混液(1:1, v/v) 2 ml を加え、30°C で一夜インキュベーションを行いアセチル化を行った。蒸発乾固して得られた残渣にジクロロメタン 2 ml を加えて溶解し、GC 分析に供した。

(iii) アルジトール TMS 誘導体の調製法：加水分解試料をアルジトールアセテート誘導体を調製する場合と同様に処理し糖アルコールに還元した。ピリジン：ヘキサメチルジシラザン(HMDS)：トリメチルクロシラン(TMCS)の混合液(10:2:1, v/v)を糖濃度が 20~100 µg/0.1 ml になるように加え、30分間激しくかくはん TMS 化した。試験管(13×105 mm)に移し、遠心分離によって不溶物を除き、上澄液を GC 分析に供した。

(iv) ガスクロマトグラフィの分析条件：日立 163 型ガスクロマトグラフィ装置を用いて分析した。アルジトールアセテート誘導体の分析条件は次のとおりである。検出器：FID、カラム：ガラスカラム(3 mm×1.5 m)、充てん剤：3%ECNSS-M(担体, chromosorb W, AW)、気化室温度：250°C、カラム温度：150~180°C 昇温(1°C/min)または 180°C 定温。アルジトール TMS 誘導体の分析には 3%ECNSS-M 及び OV-17(担体, UNIPORT HP)を用い、気化室温度 200°C、カラム温度 130~160°C 昇温(3°C/min)または 140°C 定温で行った。

2.5 ウロン酸の分析

スライムの加水分解は Jeffery らの方法¹⁵⁾を一部改変して行った。部分精製スライム 5 mg を加水分解用ガラス管に入れ、Dowex 50(H⁺型)200 mg と 0.05 N H₂SO₄ 2 ml を加え、封管後 100°C で 24 時間、加水分解を行った。加水分解試料は Dowex 50(H⁺型)2 ml を詰めたカラムを 2 回通過させた。通過液とカラムの洗液を合わせて、これに BaCO₃ を加えて中和し、遠心分離を行った。上澄液は更に GF/C でろ過し、ろ液は減圧濃縮を行った。ろ液に NaBH₄ 50 mg を加え室温に1時間放置してから Dowex 50(H⁺型)を加えて pH 4~5 にし、還元剤を分解した。メタノールを加えて蒸発乾固を数回繰り返す、最後に残渣を濃塩酸に溶解し、ウロン酸をアルドノラクトンに変換した。ロータリーエバポレーターで塩酸を除き、ピリジン：HMDS：TMDS(10:1:1, v/v)混液 2 ml を加え 20 分間振とうし TMS 化した。GC 分析条件は中性糖のアルジトール TMS 誘導体

の場合と同じである。

2.6 スライムに含まれるタンパク質のアミノ酸分析

部分精製スライム 12 mg に 6 N 塩酸 1.5 ml を加えて封管し、100°C 24 時間、加水分解を行った。アミノ酸組成は自動アミノ酸分析計(協和精密)で分析した。

2.7 金属の分析法

スライム 5.0 mg を硝酸(1+2)と 60%過塩素酸を加えて灰化した。ホットプレート上で過剰の酸を蒸発させ、放冷後 1 N 塩酸に溶かして定容にした。ナトリウム、カリウムは炎光分析法で、カルシウム、マグネシウム、鉄は原子吸光分析法で分析した。

2.8 化学分析法

- (i) 糖質：フェノール硫酸法¹⁶⁾で測定した。
- (ii) タンパク質：Lowry 法で測定した。
- (iii) 全リン：Allen の湿式灰化法で灰化し、モリブデン酸ブルー法で測定した。
- (iv) 硫酸根：Terho ら¹⁷⁾の sodium rhodizonate 試薬を用いる方法で測定した。
- (v) ヘキソーサミン：Strominger らの方法¹⁸⁾によって測定した。
- (vi) ウロン酸：硫酸カルバゾール法¹⁹⁾で測定した。

3 結果

3.1 *M. aeruginosa* K-3A の生産するスライムの形態学的特徴とカルシウムイオンによるゲル化

M. aeruginosa K-3A の生産するスライムをロットリングインクでネガティブ染色した写真を図 2 に示した。群体の外周をインク粒子が侵入しない不定形のスライムが厚く覆っているのが認められる。カバーガラスで圧平してあるので水平面に広がり、一部は水の中にちぎれて分散しつつある。図 3 は群体の超薄切片を透過型電子顕微鏡で観察した写真である。数個から十数個の細胞が電子的密度の低い透明な層に疎に浮遊し、その外側をスライムが袋状に覆って小群体を形成している。スライムの内側はスムーズで明りょうな境界を持ち、外側は不定形で比較的電子密度が高く粒子状のものが集まってゾーンを形成しているように見える。図 4 は試験管ミキサーでバイブレーションを行って得られたスライム断片の分散液をロットリングインク法で観察した写真である。分散液中には藻体細胞は混入していない。また、細胞破壊物のような異物の混入もなく、ほぼ均一なスライム分散液とみなされる。

脱イオン水中に分散したスライムは通常の冷凍遠心(18,000 r.p.m. 20 分)では沈下しないが、塩化カルシウム(CaCl₂)を添加すると、スライム断片が凝集し、容易に遠心分離で回収できることが

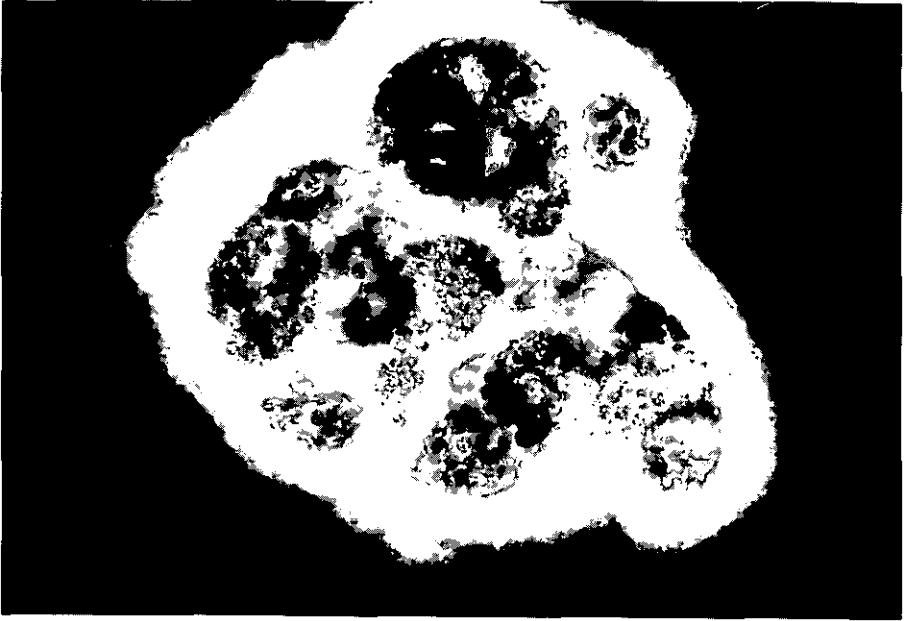


図 2 *M. aeruginosa* K-3A のスライム層 (ロットリングインクによるネガティブ染色：インク粒子の浸入しない白色ゾーンがスライム)

Fig. 2 Microscopic observation of the slime layer of *M. aeruginosa* K-3A

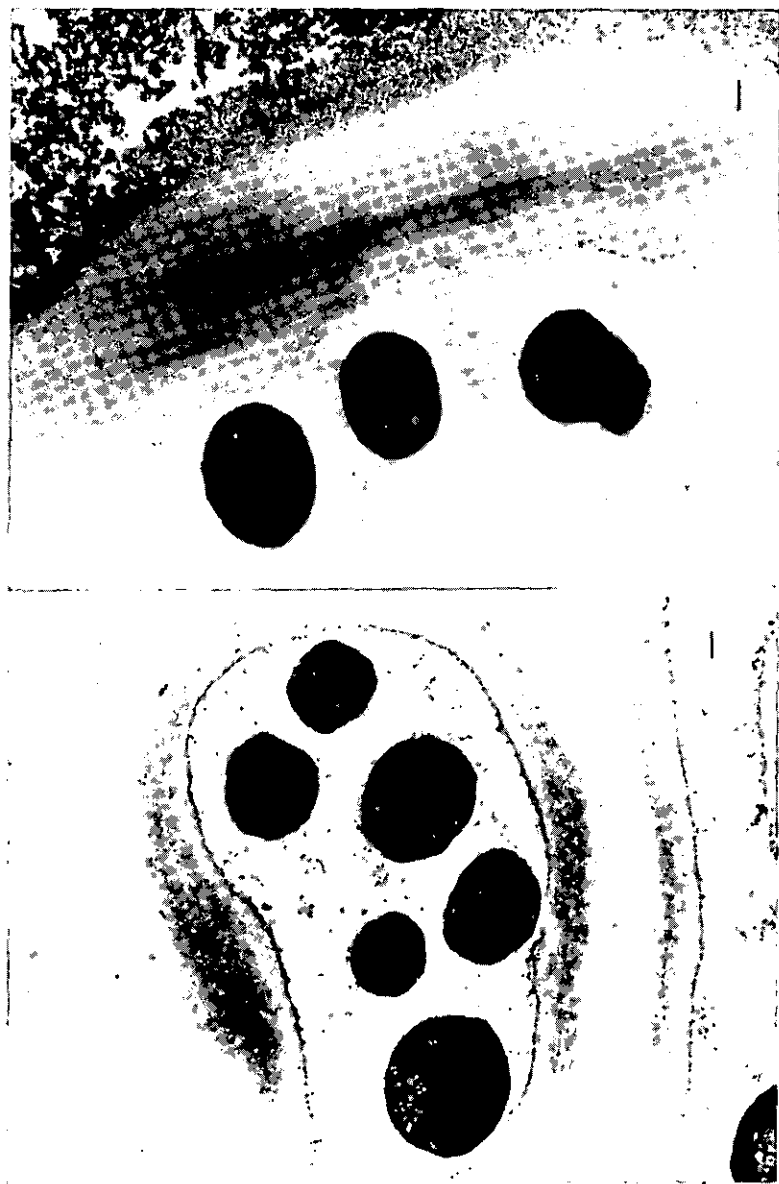


図 3 *M. aeruginosa* K-3A の群体とスライム層の電子顕微鏡写真
Fig. 3 Electron microscopic observation of ultrathin sections of the flock and slime layer of *M. aeruginosa* K-3A

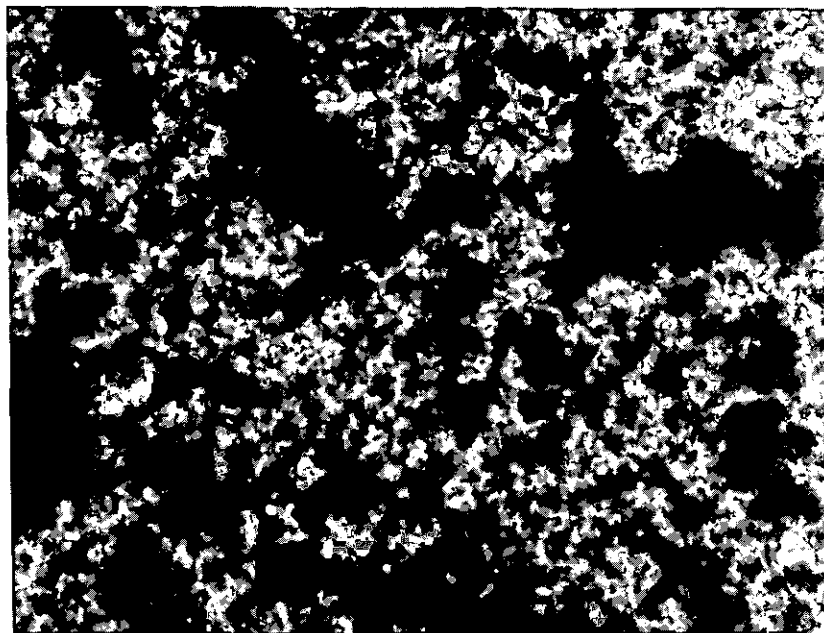


図 4 *M. aeruginosa* K-3A の群体からはく離したスライムのフラグメント
Fig. 4 Slime fragments dispersed in deionized water

見いだされた。図5はスライム分散液に種々の濃度になるようにCaCl₂を加え、遠心分離(15,000 r.p.m. 15分)を行い上澄液中の糖質濃度を測定した結果である。CaCl₂が40 mg/lを越えると上澄液中の糖は急激に減少し、遠心分離により沈殿したことが示された。CaCl₂が100 mg/lではほぼ100%に近い糖質が沈殿し、上澄液中にはスライムの断片は全く観察されなくなった。CaCl₂で沈殿したスライムは無色透明のゲル状を呈し、凍結乾燥をすると白色の乾燥寒天棒に似た物質が得られた。スライムが比較的温和な物理的方法で脱イオン水中に分散し、CaCl₂の添加によってゲル化して沈殿する特性を利用しスライムの分離並びに精製を行った(実験方法参照)。

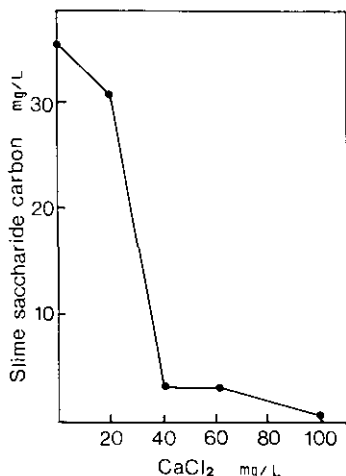


図5 カルシウムイオンによるスライムの凝集

Fig. 5 Coagulation of slime by the addition of calcium chloride

To the dispersed solution of slime fragments, calcium chloride was added at the concentrations as shown in the figure. After removal of coagulated slime by centrifugation at 15,000 r.p.m. for 15 min, the residual slime saccharide in the supernatant was measured.

3.2 スライムの生産量と化学的性質

表1に *M. aeruginosa* の全藻体から、前述の方法でスライムを分離したときの収率を湿重(生鮮重)及び乾重で示した。4 lの培養液(50日間培養)より乾重で1.53 gの藻体を得られ、これより0.11 gの粗スライムが分離された。乾重では全藻体の7.2%がスライムであった。一方、湿重では、23.7 gの藻体から8.3 gのスライムが分離されたことになり、遠心分離で集めた生鮮藻体の34%がスライムであった。このことは、スライムが乾物重では7.2%であるが、nativeな状態では多量の水を包摂し(含水率98.7%)生鮮藻体重量の約1/3強を占めていることを意味している。粗スライムを脱イオン水、6 M 尿素液で洗浄し、最終的にSevagの方法で除タンパクを行って得られた部分精製スライム標品の化学的組成を表2に示した。

表 1 *Microcystis aeruginosa* K-3A の培養藻体から単離したスライムの収率
Table 1 Yield of the crude slime isolated from *Microcystis aeruginosa* K-3A

	Wet weight	Dry weight
Whole cells	23.7 g	1.53 g
Cude slime	8.3 g	0.11 g
Residual cells	15.4 g	1.42 g
Yield of slime	34.5 %	7.2 %

The alga was cultivated in 4 liters of B-12 medium for 50 days at 30°C with constant irradiance of 2,000 lx.

表 2 部分精製スライムの化学的性質
Table 2 Chemical composition of the partially purified slime of *Microcystis aeruginosa* K-3A

Composition	Contents(%)
Carbohydrate	51.4
(Uronic acid)	(13.8)
Protein	12.6
Lipids	(not detect)
Nucleic acids	(0.28)
Hexosamine	not detect
Sulfate	not detect
Metals	6.4
Water	(4.3)
others	25.0

スライムはウロン酸を含む糖質が51.4%で過半を占め、タンパク質12.6%、金属(メタルとして)が6.4%含まれていた。ウロン酸は全糖質の26.8%に相当したことから、スライムが酸性多糖を主成分とすることは明らかである。タンパク質は各種の除タンパク法によっても除去できず、またプロナーゼを用いた酵素処理でも完全に除けないことから、タンパク質はスライムに固く結合し、スライム分子の内部に埋め込まれていると推定できる。タンパク質がスライムの本質的構成分子であるかどうかは更に検討が必要である。スライムには脂質や核酸はほとんど含有されていないが、微量の有機リンが検出された。これが、核酸、リン脂質、リンタンパク質のいずれに由来するか分からないが、量的には極めてわずかであった。スライム中にはリボ多糖もヘキソアミンも検出されなかったので、スライム標品には藻体細胞の外膜は混入していないと思われる。このことは、同時に、試験管ミキサーを用いたスライムの分離過程で細胞破壊がほとんど起こらなかったことを意味している。

3.3 スライムの糖組成

スライムの主成分が酸性多糖であることが見いだされたので、どのような中性糖から多糖が構成されているかガスクロマトグラフィーで分析した。図6にはスライムの加水分解物のアルジトールアセテート誘導体のガスクロマトグラムを示した。スライムの多糖の構成糖としてラムノース(Rha)、フコース(Fuc)、アラビノース(Ara)、キシロース(Xyl)、マンノース(Man)、ガラクトース(Gal)及びグルコース(Glc)の7種の中性糖が同定された。その中でも Rha と Xyl が他の糖に比べて高いピークを示した。アルジトールアセテート誘導体の GC では Fuc と Rha の分離が悪いが、他の糖の分離はよかった。図7はアルジトール TMS 誘導体のガスクロマトグラムを示した。アルジトール TMS 誘導体の GC では Rha と Fuc の分離は良かったが、他の糖のピークはオーバーラップし、分離は悪かった。構成糖の定量に当たっては、主にアルジトールアセテート誘導体の GC 分析によったが、Rha と Fuc の存在比はアルジトール TMS 誘導体の GC 分析で求めた。

図8にはウロン酸の TMS 誘導体のガスクロマトグラムを示した。スライム中のウロン酸はガラクトuron酸の位置と一致した。スライム加水分解物に市販のガラクトuron酸を加えて TMS 誘導体

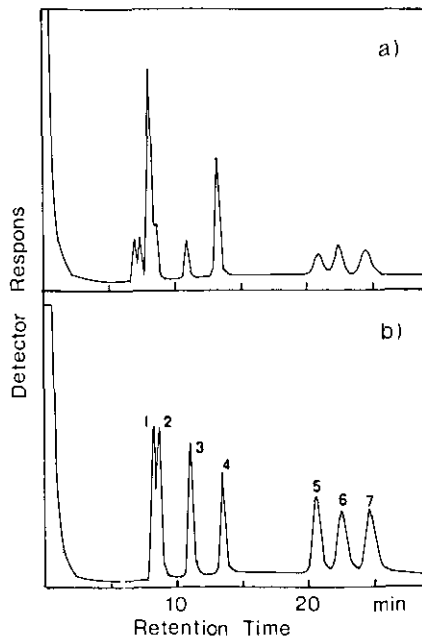


図 6 スライム多糖のアルジトール・アセテート誘導体のガスクロマトグラム
 Fig. 6 Gas chromatograms of alditol acetate derivatives of neutral sugars in the partially purified slime isolated from *M. aeruginosa* K-3A
 a) Slime saccharide.
 b) Standard saccharides : 1 ; rhamnose, 2 ; fucose, 3 ; arabinose, 4 ; xylose, 5 ; mannose, 6 ; galactose, 7 ; glucose.

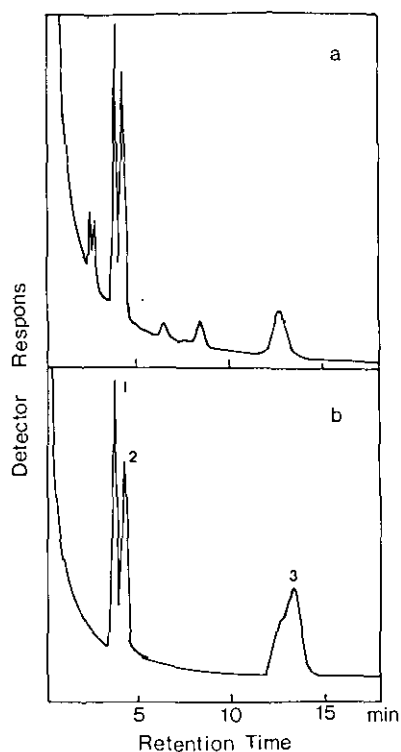


図 7 スライム多糖のアルジトール TMS 誘導体のガスクロマトグラム
Fig. 7 Gas chromatograms of alditol-TMS derivatives of neutral sugars in the partially purified slime isolated from *M. aeruginosa* K-3A
a) Slime saccharide.
b) Standard saccharides : 1 ; rhamnose, 2 ; fucose, 3 ; arabinose, xylose, mannose, galactose and glucose (overlaped).

の混合分析をしたところ、ガラクトツロン酸の位置に1個のピークが大きく現れた。この結果からスライム中のウロン酸はガラクトツロン酸のみでグルクロン酸は含まれていないことが示された。

表3にスライムを構成する中性糖及びガラクトツロン酸の定量結果をモル比で示した。中性糖としては Rha と Xyl がほぼ同程度に多く、他の糖の3倍も多く含まれていた。この結果はスライムがガラクトツロン酸：ラムノース：キシロース：ガラクトース：グルコース：フコース：アラビノース：マンノースを2：2：2：1：1：1：1の割合で含む repeating unit としたポリマーである可能性を示している。

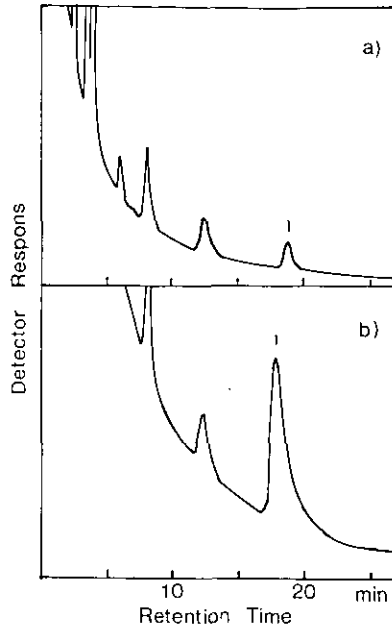


図 8 スライムのウロン酸の TMS 誘導体のガスクロマトグラム

Fig. 8 Gas chromatograms of TMS-derivatives of uronic acid in the partially purified slime isolated from *M. aeruginosa* K-3A

a) Slime saccharide.

b) Slime saccharide plus authentic galacturonic acid.

Peak 1 was identified with galacturonic acid.

表 3 スライムの糖組成

Table 3 Sugar compositions of the partially purified slime of *M. aeruginosa* K-3A

Sugars	Percent of residue	Percent of weight
Rhamnose	24.2 %	24.4 %
Fucose	6.0	6.0
Arabinose	5.8	5.4
Xylose	21.6	20.0
Mannose	4.5	5.0
Galactose	7.4	7.7
Glucose	6.9	7.6
Galacturonic acid	23.5	28.1

3.4 藻体外可溶性糖質及び藻体内可溶性糖質の構成糖分析

M. aeruginosa K-3A は培養の後期に培地中にかなり著量の可溶性糖質を蓄積する。今回の実験では 83.3 mg/l の糖(グルコース換算)が培地中に蓄積した。アルジトールアセテート誘導体による GC 分析は、加水分解前(図 9, b)と加水分解後(図 9, a)の 2 サンプルについて行った。加水分解前のサンプル中には、多くはないが、グルコースのモノマーが検出された。加水分解試料の GC クロマトグラフィーではグルコースのピークが最も大きなピークとして検出され、その外にラムノース、フコース、アラビノース、キシロース、マンノースの小さなピークが認められた。この結果は、藻体外可溶性糖の主成分がグルコースのポリマーであることを示している。そのポリマーの分解産物と思われるグルコースが唯一の単糖類として認められたことは注目される。加水分解によって、スライムの精成中性糖と同じ単糖類がわずかではあるが、検出されたことは、藻体外可溶性糖の中にはスライムの分解物が可溶化して、混入した可能性を示唆している。

図 10 に藻体内可溶性糖質のガスクロマトグラムを示した。加水分解前の試料(図 10 b)にはグルコースとマンノース及び少量のアラビノースがアルジトールアセテート誘導体として検出され

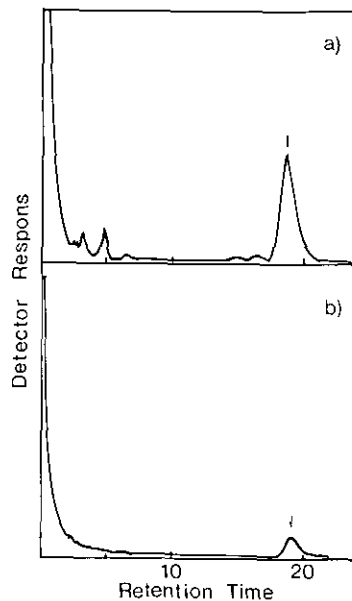


図 9 藻体外可溶性糖質のアルジトール・アセテート誘導体のガスクロマトグラム
Fig. 9 Gas chromatograms of alditol acetate derivatives of extracellular soluble saccharide

a) After hydrolysis.

b) Before hydrolysis.

Peak 1 was identified as galcose.

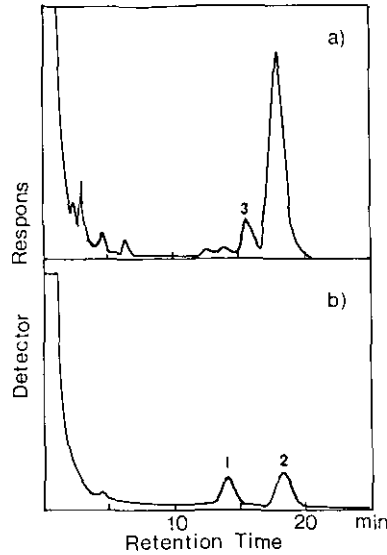


図 10 藻体内可溶性糖質のアリトール・アセテート誘導体のガスクロマトグラム

Fig. 10 Gas chromatograms of alditol acetate derivatives of the intracellular soluble saccharide

a) After hydrolysis.

b) Before hydrolysis.

Peak 1; mannose. 2; glucose. 3; galactose.

た。加水分解試料のガスクロマトグラム (図 10 a) では藻体外可溶性糖質の場合と似て、グルコースのピークの増大が認められた。マンノースとアラビノースのピークは加水分解を行ったあとでも、大きなピークにならなかった。この結果は、藻体内可溶性糖質の主要な成分が、藻体外可溶性糖質と同様にグルコースのポリマーであることを示している。しかし、加水分解前の試料にマンノースがグルコースとともに含まれていたのは藻体外可溶性糖質とは異なる点である。

表 4 に藻体外可溶性糖質及び藻体内可溶性糖質の中性糖組成をスライムと比較して示した。藻体外可溶性糖の 81.9% はグルコースであった。グルコースは 91.5% がポリマー、8.5% がモノマーとして含まれていた。藻体内可溶性糖質の 73.7% がグルコース、13.1% がガラクトースであった。グルコースは 99.7% がポリマーで 1.3% がモノマーであった。ガラクトースは加水分解試料にのみ検出され、モノマーとして含まれていなかった。藻体内に比較的多くガラクトースが含まれていたことは、スライムのガラクトン酸の生成機作と関連して注目される。藻体外及び藻体内可溶性糖質は、グルコースを主たる構成成分とする点で共通しているが、その他の糖類の組成はかなり異なっている。また、それらはスライムの糖組成も反映していない。すなわち、スライムに特に多いラムノース、キシロースは両者の糖ではむしろ少ない比率でしか含まれていなかった。

表 4 スライム, 藻体外可溶性糖質及び藻体内可溶性糖質の中性糖組成の比較
 Table 4 Sugar compositions of the partially purified slime, the extracellular and intracellular soluble saccharides produced by *M. aeruginosa* K-3A

Sugars	Sugar compositions (weight%)		
	Slime	E.W.S*	I.W.S.**
Rhamnose	31.8	1.9	4.1
Fucose	7.9	0.8	1.7
Arabinone	7.0	5.8	1.9
Xylose	26.1	1.8	2.7
Mannose	6.5	2.0	2.9
Galactose	10.7	5.7	13.1
Glucose	10.0	81.9	73.7

* Extracellular Water-soluble saccharide

** Intracellular Water-soluble saccharide

しかし、いずれにしても、スライムの糖質が藻体内及び藻体外可溶性多糖に比べて、極めてユニークな化学的組成をもっていることは明らかである。

3.5 スライムに含まれるタンパク質のアミノ酸組成

スライム中に含まれているタンパク質のアミノ酸組成を表5に示した。アスパラギン酸(13.5%)、アラニン(10.92%)、スレオニン(10.26%)及びグリシン(10.05%)が特徴的に多く含まれていた。スライム中のタンパク質のアミノ酸組成は藻体タンパク質あるいは本藻が培養液中に蓄積あるいは放出するタンパク質のアミノ酸組成とはかなり相違があることが認められた。すなわち、これらにはグルタミン酸(12.33%)、アスパラギン(12.01%)、アラニン(10.98%)が含まれており、メチオニン、アルギニン、チロシンの含有量はスライムの2~5倍も多く含まれている。スライム中のタンパク質がスライムに特有なタンパク質であることを示している。

3.6 スライムの金属含有量

スライム中に含まれる金属元素の分析結果を表6に示した。カルシウムが最も多く含まれていたが、これはスライムをゲル化させるために加えたCaCl₂に由来すると考えられる。カルシウムに次いでナトリウムが多く含まれていたが、Naは培地中に最も多く含まれているためであろう。本藻の増殖に必須な鉄が、スライムに比較的多く含まれていたことは注目される。培地中に与えた鉄の29.4%がスライム中に含まれていた。また、スライム中にはわずかであるがリンが含まれていた。リンの89%はオルソリン酸態リンであった。なお、B₁₂に由来するCoは濃度が低く、不検出であった。

表 5 スライムに含まれているタンパク質のアミノ酸組成と、藻体内及び藻体外可溶性タンパク質のアミノ酸組成の比較

Table 5 Amino acid compositions of the slime protein, the intracellular and extracellular soluble proteins of *M. aeruginosa* K-3A

Amino acids.	Slime protein	Intracellular protein	Extracellular protein
Aspartic acid	13.35*	12.01*	14.96*
Threonine	10.26	6.57	5.82
Serine	8.60	6.57	6.34
Glutamic acid	8.42	12.33	14.18
Glycine	10.05	8.67	8.77
Alanine	10.92	10.28	9.96
Valine	7.41	6.52	5.95
Methionine	0.38	1.94	1.81
Isoleucine	4.99	5.05	5.44
Leucine	8.58	8.17	7.79
Tyrosine	1.74	3.44	2.17
Phenylalanine	4.55	3.81	2.97
Lysine	3.23	4.44	3.57
Histidine	0.63	0.97	0.57
Arginine	1.71	4.36	4.21
Proline	5.20	4.86	5.77

* Per cent of residue.

表 6 部分精製スライム中の金属並びにリンの含有量

Table 6 Metals and phosphorus contents in the partially purified slime of *M. aeruginosa* K-3A

Metals	Contents	Recovery* per cent
Ca	21.3 mg/g	5.4 %
Na	14.1	1.2
Fe	10.7	29.4
K	9.4	5.8
Mg	6.6	2.5
P	2.3	3.7

* Recovery from the metals and phosphorus initially contained in the medium.

3.7 スライムの溶解性とゲル化特性

凍結乾燥した部分精製スライム 3 mg を試験管に入れ、各種溶媒を 3 ml ずつ加え、試験管ミキサーでよくかくはんし、48 時間静置後の溶解性について検討した (表 7)。スライムの溶解性はロットリングインクによる顕微鏡観察と、CaCl₂ を添加し、遠心分離後の上澄液中の糖質濃度を分析することによってチェックした。スライムは、冷水及び熱水に不溶であった。0.1 M の水酸化ナトリウム (NaOH) でスライムの一部が、1.0 M ですべてのスライムが可溶化した。このサンプルを脱イオン水で 24 時間透析してから CaCl₂ を加えたが、ゲル状沈殿は生成しなかった。6 M 尿素はスライムを微細な均一のフラグメントに分散させたが可溶化はしなかった。難溶性タンパク質を可溶化させるのに用いられる SDS やトリトン X-100 などの界面活性剤は、白い濁りを与え、ペクチン質の抽出に用いられるヘキサメタリン酸 (SHMP) では逆に凝集が起きてしまった。

表 7 部分精製スライムの各種溶媒に対する溶解性
Table 7 Solubility of the partially purified slime in various solvents

Solvents	Solubility
Cold water	Insoluble
Hot water	Insoluble
0.1 M NaOH	Soluble
1 M NaOH	Soluble
6 M Urea	Insoluble, finely dispersed
6 M + 10% 2-ME	Insoluble, finely dispersed
1% SDS	Turbid
2% Triton X-100	Turbid
2% SHMP	Coagulated
10% TCA	Coagulated

スライム分散液が CaCl₂ の添加によって凝集する性質が見いだされたので、Ca 以外の金属によってもゲル化が起こるかどうかが検討した。スライム分散液に各種金属塩を 100 mg/l とるように加え、よく振とうしてから遠心分離 (15,000 r.p.m. 15 分) を行い、上澄中の糖濃度を定量した。表 8 は沈殿したスライムを添加した金属塩 1 mM 当たりの糖質量で示した。3 価の硫酸アルミニウムが最も強い凝集作用を示した。次に塩化鉄 (III) が強い作用を示した。Ca⁺⁺ は Cu⁺⁺、Mg⁺⁺ などと比べると弱い。Co⁺⁺、Mn⁺⁺ より強い凝集作用があった。1 価の Na は弱い凝集作用しか示さなかった。これらの結果は、スライムが多く 3 価、2 価の金属塩と金属架橋を作り、ゲル化することを示している。

図 11 は pH によるスライムのゲル化を検討した結果である。pH 4 以下に下ると急速にゲル化し、pH 1 ではスライムの 60% 以上が凝集沈殿した。この結果は表 7 に示した TCA、SHMP によりス

表 8 各種金属イオンのスライム凝集作用

Table 8 Effect of various metal ions on the coagulation of slime

Metals (1 mM)	Slime coagulated
NaCl	13 mg
CaCl ₂	85
Ca(OH) ₂	40
MgCl ₂	105
MnCl ₂	55
CuSO ₄	124
CoCl ₂	109
FeCl ₃	178
Al ₂ (SO ₄) ₃	231

Metal ions were added to the dispersed solution of slime and the coagulated slime were precipitated by centrifugation at 15,000 r.p.m. for 15 min.

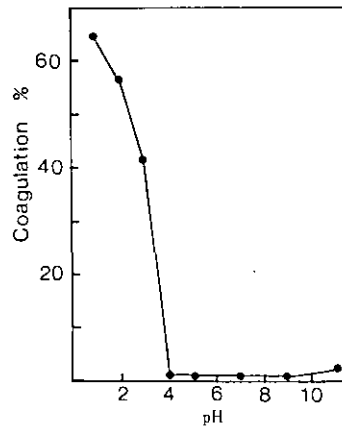


図 11 スライムの pH 凝集性

Fig. 11 Effect of pH on the coagulation of slime

ライムが凝集したと矛盾しない。pHが4以下では、ガラクトツロン酸のカルボキシル基の解離が抑えられ、ゲル化が進むと考えられる。

4 考察

Microcystis aeruginosa のスライムの主要成分がガラクトツロン酸と7種の中性糖からなる酸性多糖であることが明らかにされた。酸性多糖はヘキソース3種類(Man, Gal, Glc), ペントース2

種類(Arb, Xyl), メチルペントース 2 種類(Rha, Fuc)とガラクトロン酸から構成されていた。

今までに報告されている各種ラン藻などの粘質多糖の糖組成を表 9 に示した。今回著者らによって得られた *M. aeruginosa* 無菌株のスライムは構成糖の種類が最も多かった。また, *Anabaena*, *Nostoc Palmella*²⁰⁾, *Chlorogloeopsis* のウロン酸はグルクロン酸であるが, *M. aeruginosa* K-3A はガラクトロン酸であった。雨宮²¹⁾ が諏訪湖の水の華から得た「粘質鞘」がウロン酸である点は著者らの結果と一致している。ラン藻類の中で *Microcystis* 属だけがガラクトロン酸を持っている

表 9 藻類及び各種生物の粘質多糖の糖組成

Table 9 Sugar compositions of slime materials isolated from various organisms

Organisms	Sugars									Literature	
	Rha	Fuc	Arb	Xyl	Rib	Man	Gal	Glc	Gal acid		Glc acid
<i>Microcystis aeruginosa</i> K3A(Axenic)	●	○	○	●		○	○	○	●		Takamura
<i>Microcystis</i> sp.	●	○		●		○	○	●	●		Amemiya
<i>M. marginata</i>				mucopolysaccharide and pectates							Kessel
<i>Anabaena cylindrica</i>	○		○	●			○	●		●	Bishop
<i>A. cylindrica</i>				○		●	○	●			Dunn
<i>A. cylindrica</i> spore & heterocyst				○		○	○	●			Cardemil
<i>A. flos-aquae</i> * (phenol phase)						●	○	○			Wang
<i>A. flos-aquae</i> (water phase)						○		●			
<i>A. flos-aquae</i>				●	○			●		○	Moore
<i>Nostoc</i> sp.	○		○	○		●	○	●		●	Mehta
<i>Palmella mucosa</i>		●	○					●		○	Tischer
<i>Chlorogloeopsis</i> (water phase)* (Triton X-100)			○	○		○	○	●		●	Schrader
<i>Pseudomonas</i> sp.	○					○	○	●	○		Tago
Activated sludge	○	○	○	○		○	●	●	○		Kakii
Azuki Beans	○	○	○	○		○	○	○			Matuura
Kidney Beans	○	○	○	○		○	○	○	●		Matuura
Junsai	○	○	○	○		○	●			○	
Okura	○		○				●		○		

* Phenol-water extraction

Rha : Rhamnose, Fuc : Fucose, Arb : Arbinose, Xyl : Xylose, Rib : Ribose, Man : Mannose, Gal : Galactose, Glc : Glucose, Gal acid : Galacturonic acid, Glc acid : Glucuronic acid.

● : major sugars, ○ : minor sugars

ことは注目される。アズキ²²⁾やインゲン豆²³⁾から抽出されたペクチン質や活性汚泥²⁴⁾の粘質多糖が、*Microcystis*のスライムと同種類の中性糖を含み、ウロン酸としてもガラクトuron酸を含んでいることは興味深い。

スライムが2価、3価の金属及びpH 4以下の酸性側でゲル化するのは、ガラクトuron酸に帰因すると考えられる。すなわち、ガラクトuron酸のカルボキシル基を介した金属架橋と水素結合によってゲル化すると考えられる。1 N NaOHによってスライムが可溶化し、透析後再び金属塩を添加してもゲル化しなくなったことは、ガラクトuron酸部位で β -脱離反応が起こり糖鎖が切断されたことを示している。また、6 M 尿素でスライムが細かなフラグメントに分散することは水素結合の関与を示している。

ラン藻の藻体外、藻体内可溶性糖とスライムを単離、分析し比較した報告はあるが、Mhtaらの*Nostoc* sp.の例を除いて、いずれの報告もこれら3種類の多糖の組成は大きな差異がないと結論している。しかし*M. aeruginosa* K-3Aでは藻体内、藻体外の多糖はいずれもグルカンが主要な構成成分でスライムとは著しく異なった糖組成を示している(表 10, 11)。藻体内可溶性糖はガラクトuron酸の前駆体と思われるガラクトースがグルコースに次いで多く存在し、藻体外可溶性糖とも若干の相異が認められた。これらの結果から、*M. aeruginosa*の生産する糖質はスライムの酸性多糖と細胞内貯蔵性のグルカンの二種類に大別できる。半田²⁵⁾は*Microcystis*属ラン藻が α -1, 4及び α -1, 6結合をもつ α -グルカンを貯蔵性多糖としてもっていると報告している。本藻の超薄切片の電顕写真でもグリコーゲン顆粒が観察され²⁶⁾また、本藻が比較的強いアミラーゼ活性を有する²⁶⁾ことも、上述の結果を支持している。

藻体外可溶性多糖は本藻が自己分解した結果、細胞内貯蔵性グルカンが培地中に放出されたものであろう。自己分解であることは、表5のアミノ酸分析の結果からもいえる。すなわち、全藻体から抽出したタンパク質と、培養後期に培地中に蓄積してくるタンパク質のアミノ酸組成はほぼ一致しており自己分解に由来することを裏付けている。

結論的にいえば、*M. aeruginosa*は生理的役割の異なる2種類の糖、スライム多糖と貯蔵性グルカンを生産している。スライム多糖はゲル化特性、水の包摂力、金属その他栄養元素の吸着(濃縮)、外的作用(細菌、酵素など)に対するバリアーなどの外部環境に対する各種の役割をもちつつ群体形成の軸となっている。一方、グルカンは光合成産物の貯留、エネルギー代謝、アミノ酸、核酸などの生合成系に利用され、藻体の増殖に不可欠な細胞内基質の役割をもっている。*M. aeruginosa* K-3Aの生産するスライム糖質、藻体内可溶性糖質及び藻体外可溶性糖質は、全糖質のおよそ8%、10%及び47%に相当することが示された。

表 10 藻類の藻体外可溶性糖質の糖組成

Table 10 Sugar compositions of extracellular soluble saccharides isolated from various algae

Organisms	Sugars										Literature
	Rha	Fuc	Arb	Xyl	Rib	Man	Gal	Glc	Gal acid	Glc acid	
<i>Microcystis aeruginosa</i> K3A(Axenic)	○	○	○	○		○	○	●	○		Takamura
<i>Anabaena cylindrica</i>	○		○	●			○	●		●	Bishop
<i>A. flos-aquae</i>				●	○			●		○	Moore
<i>A. flos-aquae</i>				○	○			●	●	●	Wang
<i>Nostoc</i> sp.				○				○		●	Mehta
<i>Nostoc</i> sp.		○	○					○	○		Moore
<i>Palmella mucosa</i>		●	○					●		○	Tischer
<i>Anacystis nidulans</i>						○	○	●			Sanqar
<i>Chlorella ellipsoidea</i>		○	○					○		○	Moore
<i>C. vulgaris</i>	○			○				○	○		Moore
<i>Chlorella</i> sp.	○	○						○	○		Moore
<i>Oocystis</i> sp.		○	○				○		○		Moore
<i>Chlamidomonas</i> sp.		○	○					○			Moore

Rha : Rhamnose, Fuc : Fucose, Arb : Arabinose, Rib : Ribose, Man : Mannose, Gal : Galactose, Glc : Glucose, Gal acid : Galacturonic acid, Glc acid : Glucuronic acid.

● : major sugars, ○ : minor sugars

5 まとめ

Microcystis 属ラン藻の主要な形態学的特徴である藻体群体の外周を覆う寒天様被膜(スライム)の新しい単離方法を確立した。すなわち、細胞破壊の起こらない温和な物理的方法と、カルシウムイオン添加によってゲル化する特性を利用して、*M. aeruginosa* 無菌クローン株の培養藻体から、形態学特徴を保持した、純度の高いスライムを単離した。

スライムは、乾燥重量で藻体の7.2%に相当し、ウロン酸を含む酸性多糖であることが認められた。GC分析によって、スライムは、ラムノース>キシロース>ガラクトース>グルコース>フコース>アラビノース>マンノースの7種類の中性糖とガラクトロン酸からなるヘテロポリマーであった。中性糖4残基につき1残基のガラクトロン酸を含んでいた。スライムは冷水、熱水に不溶で二価、三価の金属、またはpH4以下の酸性でゲル化する性質が認められた。スライムはnativeな状態では、多量の水を包摂し、藻体湿重量の35%を占めていた。

表 11 藻類の藻体内可溶性糖質の糖組成

Table 11 Sugar compositions of intracellular soluble saccharides isolated from several algae

Organisms	Sugars									Literature	
	Rha	Fuc	Arb	Xyl	Rib	Man	Gal	Glc	Gal acid		Glc acid
<i>Microcystis aeruginosa</i> K3A (Axenic)	○	○	○	○		○	○	●			Takamura
<i>M. aeruginosa</i>								●			Handa
<i>Anabaena cylindrica</i>	○		○	●			○	●		●	Bishop
<i>A. flos-aquae</i>				●	○			●		○	Moore
<i>Palmella mucosa</i>		●	○					●		○	Tischer
<i>Nostoc</i> sp.	○	○		○		●	○	●		●	Mehta

Rha : Rhamnose, Fuc : Fucose, Arb : Arabinose, Rib : Ribose, Man : Mannose, Gal : Galactose, Glc : Glucose, Gal acid : Galacturonic acid, Glc acid : Glucuronic acid.

● : major sugars, ○ : minor sugars

一方、細胞から抽出された可溶性糖質と藻体外（培地中）に蓄積される可溶性糖質は、いずれもグルコースのポリマーが主成分であり、スライムの糖組成とは著しく異なっていた。藻体内および藻体外の可溶性糖質はグルコース以外の糖組成が若干の相異があるが、基本的には同一とみなされた。すなわち、藻体外可溶性糖質は、培養後期に、自己分解が起こり藻体内可溶性糖質が培地中に放出されたためと認められた。*M. aeruginosa* 無菌株の生産する糖質は群体外周のスライム糖質と、藻体細胞内貯蔵性のグルカンの二つに大別できた。

スライム糖質、藻体内可溶性糖質及び藻体外可溶性糖質は本藻の生産する全糖質のおよそ 8%、10%及び 47%に相当することが示された。

引用文献

- 1) 水野寿彦 (1976) : 日本淡水プランクトン図鑑 (保育社)
- 2) Stanier, R. Kunisawa, Mandel, M. and Cohen-Bazire (1971) : purification and Properties of unicellular blue-green algae (Order *Chroococcales*). *Bacteriol. Rev.*, **35**, 171-205.
- 3) Rews, G. and J. Weckesser (1982) : Function, structure and composition of cell walls and external layers. *In* : the Biology of Cyanobacteria, Carr, N. G. and Whitton, B. A (ed.), Blackwell Scientific Publication.
- 4) Dunn, J. H. and C. P. Wolk (1970) : Composition of the cellular envelopes of *Anabaena Cylindrica*. *J. Bacteriol.*, **103**, 153-158.
- 5) Wang, A. W. and A. Hill (1977) : Chemical analysis of phenol-water-extractable materials from *Anabaena flos-aquae*. *J. Bacteriol.*, **130**, 558-560.

- 6) Bishop, C. T., G. A. Adams and E. O. Hughes (1954) : A polysaccharide from the blue-green algae, *Anabaena cylindrica*. Can. J. Chem., **32**, 999-1004.
- 7) Mehta, V. B. and B. S. Vaidya (1978) : Cellular and extracellular polysaccharides of blue-green algae, *Nostoc*. J. Experimental Botany, **29**, 1423-1430.
- 8) Schrader, M., G. Drews J. R. Golecki and J. Weckesser (1982) : Isolation and characterization of sheath from the cyanobacterium *Chlorogloeopsis* PCC 6912. J. Gen. Microbiol., **128**, 267-272.
- 9) 雨宮由美子・中山大樹(1984) : 藍藻 *Microcystis* より単離した糖質輸物質の化学的性質と金属類に対する吸着特性. 陸水学雑誌, **45**, 187-193.
- 10) Moore, B. G. and R. G. Tischer (1965) : Biosynthesis of extracellular polysaccharides by the blue-green alga *Anabaena flos-aquae*. Can. J. Microbiol., **11**, 877-885.
- 11) 萩原富司・矢木修身・高村義親・須藤隆一(1984) : 霞ヶ浦に発生する *Microcystis aeruginosa* の純粋分離. 水質汚濁研究, **7**, 437-442.
- 12) 駒形和男編(1982) : 微生物の化学分類実験法. 41 p. (学会出版センター).
- 13) 日本生化学会編(1976) : 生化学実験講座 **4**, 糖質の化学(上). 東京化学同人, p.64.
- 14) 日下部功・神山由・安井恒男(1977) : ガスクロマトグラフィーによる単糖類の alditol acetates の分別定量における methyl-B-D-glucoside の適合. 日本農芸化学会誌, **51**, 167-169.
- 15) Jeffrey, P. L., K. G. Rienits (1967) : An improved method for the isolation of hexuronic acid from chondroitin sulphate preparations. Biochim. Biophys. Acta., **141**, 179-181.
- 16) 日本生化学会編(1971) : 生化学実験講座 **4**, 糖質の化学(下). 東京化学同人, 370.
- 17) Terho, T. T., K. Hartiala (1971) : Method for determination of the sulfate content of glyco-saminoglycans. Anal. Biochem., **41**, 471-476.
- 18) Strominger (1969) : 蛋白質・核酸・酵素, **14**, 1014-1015.
- 19) 日本生化学会編(1976) : 生化学実験講座 **4**, 糖質の化学(下). 東京化学同人, 375-376.
- 20) Tischer, R. G., and B. G. Moore (1964) : An extracellular polysaccharide produced by *Palmella mucosa* Kütz. Archiv. für Mikrobiologie, **49**, 158-166.
- 21) 雨宮由美子・中山大樹(1984) : *Microcystis* の粘質鞘の糖およびアミノ酸組成. 日本農芸化学会昭和 59 年度大会講演要旨集, p.50.
- 22) 塩田芳之・松浦康・畑田千歳(1982) : アズキ子葉のペクチン性多糖. 日本食品工業学会誌, **29**, 712-719.
- 23) 松浦康(1983) : インゲンマメペクチン性多糖の化学構造について(I). 日本農芸化学会誌, **57**, 851-855.
- 24) 相田浩・多胡義孝(1980) : 活性汚泥フロックの形成機構. 生物による環境浄化. 有馬啓・田村学造(編), 東京大学出版会, 18-34.
- 25) 半田暢彦(1982) : 微細藻類の多糖の構造と代謝. 月刊海洋科学, **14** (1), 21-25.
- 26) 渡川慶一・白井誠・高村義親・矢木修身(1985) : *Microcystis aeruginosa* の増殖に伴う微細構造の変化. 日本農芸化学会昭和 60 年度大会講演要旨, p.249.

国立公害研究所特別研究成果報告

- 第 1 号 陸水域の富栄養化に関する総合研究 — 霞ヶ浦を対象域として — 昭和 51 年度. (1977)
第 2 号 陸上植物による大気汚染環境の評価と改善に関する基礎的研究 — 昭和 51/52 年度 研究報告. (1978)
(改 称)

国立公害研究所研究報告

- ※ 第 3 号 A comparative study of adults and immature stages of nine Japanese species of the genus *Chironomus* (Diptera, Chironomidae). (1978)
(日本産ユスリカ科 *Chironomus* 属 9 種の成虫, サナギ, 幼虫の形態の比較)
- 第 4 号 スモッグチャンバーによる炭化水素-窒素酸化物系光化学反応の研究 — 昭和 52 年度 中間報告. (1978)
- 第 5 号 芳香族炭化水素-窒素酸化物系の光酸化反応機構と光酸化二次生成物の培養細胞に及ぼす影響に関する研究 — 昭和 51, 52 年度 研究報告. (1978)
- 第 6 号 陸水域の富栄養化に関する総合研究(II) — 霞ヶ浦を中心として. — 昭和 53 年度. (1979)
- ※ 第 7 号 A morphological study of adults and immature stages of 20 Japanese species of the family Chironomidae (Diptera). (1979)
(日本産ユスリカ科 20 種の成虫, サナギ, 幼虫の形態学的研究)
- ※ 第 8 号 大気汚染物質の単一および複合汚染の生体に対する影響に関する実験的研究 — 昭和 52, 53 年度 研究報告. (1979)
- 第 9 号 スモッグチャンバーによる炭化水素-窒素酸化物系光化学反応の研究 — 昭和 53 年度 中間報告. (1979)
- 第 10 号 陸上植物による大気汚染環境の評価と改善に関する基礎的研究 — 昭和 51~53 年度 特別研究報告. (1979)
- ※ 第 11 号 Studies on the effects of air pollutants on plants and mechanisms of phytotoxicity. (1980)
(大気汚染物質の植物影響およびその植物毒性の機構に関する研究)
- 第 12 号 Multielement analysis studies by flame and inductively coupled plasma spectroscopy utilizing computer-controlled instrumentation. (1980)
(コンピュータ制御装置を利用したフレイムおよび誘導結合プラズマ分光法による多元素同時分析)
- 第 13 号 Studies on chironomid midges of the Tama River. (1980)
Part 1. The distribution of chironomid species in a tributary in relation to the degree of pollution with sewage water.
Part 2. Description of 20 species of Chironominae recovered from a tributary.
(多摩川に発生するユスリカの研究
— 第 1 報 その一支流に見出されたユスリカ各種の分布と下水による汚染度との関係 —
— 第 2 報 その一支流に見出された Chironominae 亜科の 20 種について —)
- 第 14 号 有機廃棄物, 合成有機化合物, 重金属等の土壤生態系に及ぼす影響と浄化に関する研究 — 昭和 53, 54 年度 特別研究報告. (1980)
※ 第 15 号 大気汚染物質の単一および複合汚染の生体に対する影響に関する実験的研究 — 昭和 54 年度 特別研究報告. (1980)
第 16 号 計測車レーザーレーダーによる大気汚染遠隔計測. (1980)

- ※ 第 17 号 流体の運動および輸送過程に及ぼす浮力効果 — 臨海地域の気象特性と大気拡散現象の研究 — 昭和 53, 54 年度 特別研究報告. (1980)
- 第 18 号 Preparation, analysis and certification of PEPPERBUSH standard reference material. (1980)
(環境標準試料「リョウブ」の調製, 分析および保証値)
- ※ 第 19 号 陸水域の富栄養化に関する総合研究 (III) — 霞ヶ浦 (西浦) の湖流 — 昭和 53, 54 年度. (1981)
- 第 20 号 陸水域の富栄養化に関する総合研究 (IV) — 霞ヶ浦流域の地形, 気象水文特性およびその湖水環境に及ぼす影響 — 昭和 53, 54 年度. (1981)
- 第 21 号 陸水域の富栄養化に関する総合研究 (V) — 霞ヶ浦流入河川の流出負荷量変化とその評価 — 昭和 53, 54 年度. (1981)
- 第 22 号 陸水域の富栄養化に関する総合研究 (VI) — 霞ヶ浦の生態系の構造と生物現存量 — 昭和 53, 54 年度. (1981)
- 第 23 号 陸水域の富栄養化に関する総合研究 (VII) — 湖沼の富栄養化状態指標に関する基礎的研究 — 昭和 53, 54 年度. (1981)
- 第 24 号 陸水域の富栄養化に関する総合研究 (VIII) — 富栄養化が湖利用に及ぼす影響の定量化に関する研究 — 昭和 53, 54 年度. (1981)
- 第 25 号 陸水域の富栄養化に関する総合研究 (IX) — *Microcystis* (藍藻類) の増殖特性 — 昭和 53, 54 年度. (1981)
- 第 26 号 陸水域の富栄養化に関する総合研究 (X) — 藻類培養試験法による AGP の測定 — 昭和 53, 54 年度. (1981)
- 第 27 号 陸水域の富栄養化に関する総合研究 (XI) — 研究総括 — 昭和 53, 54 年度. (1981)
- 第 28 号 複合大気汚染の植物影響に関する研究 — 昭和 54, 55 年度 特別研究報告. (1981)
- 第 29 号 Studies on chironomid midges of the Tama River. (1981)
Part 3. Species of the subfamily Orthoclaadiinae recorded at the summer survey and their distribution in relation to the pollution with sewage waters.
Part 4. Chironomidae recorded at a winter survey.
(多摩川に発生するユスリカ類の研究
— 第 3 報 夏期の調査で見出されたエリユスリカ亜科 Orthoclaadiinae 各種の記載と、その分布の下水汚染度との関係について —
— 第 4 報 南浅川の冬期の調査で見出された各種の分布と記載 —)
- ※ 第 30 号 海域における富栄養化と赤潮の発生機構に関する基礎的研究 — 昭和 54, 55 年度 特別研究報告. (1982)
- 第 31 号 大気汚染物質の単一および複合汚染の生体に対する影響に関する実験的研究 — 昭和 55 年度 特別研究報告. (1981)
- 第 32 号 スモッグチャンバーによる炭化水素-窒素酸化物系光化学反応の研究 — 環境大気中における光化学二次汚染物質生成機構の研究 (フィールド研究 1) — 昭和 54 年度 特別研究中間報告. (1982)
- 第 33 号 臨海地域の気象特性と大気拡散現象の研究 — 大気運動と大気拡散過程のシミュレーション — 昭和 55 年度 特別研究報告. (1982)
- 第 34 号 環境汚染の遠隔計測・評価手法の開発に関する研究 — 昭和 55 年度 特別研究報告. (1982)
- 第 35 号 環境面よりみた地域交通体系の評価に関する総合解析研究. (1982)
- 第 36 号 環境試料による汚染の長期モニタリング手法に関する研究 — 昭和 55, 56 年度 特別研究報告. (1982)
- 第 37 号 環境施策のシステム分析支援技術の開発に関する研究. (1982)

- 第 38 号 Preparation, analysis and certification of POND SEDIMENT certified reference material. (1982)
(環境標準試料「池底質」の調製, 分析及び保証値)
- 第 39 号 環境汚染の遠隔計測・評価手法の開発に関する研究 — 昭和 56 年度 特別研究報告. (1982)
- 第 40 号 大気汚染物質の単一及び複合汚染の生体に対する影響に関する実験的研究 — 昭和 56 年度 特別研究報告. (1983)
- ※ 第 41 号 土壌環境の計測と評価に関する統計学的研究. (1983)
- ※ 第 42 号 底泥の物性及び流送特性に関する実験的研究. (1983)
- ※ 第 43 号 Studies on chironomid midges of the Tama River. (1983)
Part 5. An observation on the distribution of Chironominae along the main stream in June with description of 15 new species.
Part 6. Description of species of the subfamily Orthocladiinae recovered from the main stream in the June survey.
Part 7. Additional species collected in winter from the main stream.
(多摩川に発生するユスリカ類の研究
— 第 5 報 本流に発生するユスリカ類の分布に関する 6 月の調査成績とユスリカ亜科に属する 15 新種等の記録 —
— 第 6 報 多摩本流より 6 月に採集されたエリユスリカ亜科の各種について —
— 第 7 報 多摩本流より 3 月に採集されたユスリカ科の各種について —)
- 第 44 号 スモッグチャンパーによる炭化水素-窒素酸化物系光化学反応の研究 — 環境大気における光化学二次汚染物質生成機構の研究 (フィールド研究 2) — 昭和 54 年度 特別研究中間報告. (1983)
- 第 45 号 有機廃棄物, 合成有機化合物, 重金属等の土壌生態系に及ぼす影響と浄化に関する研究 — 昭和 53/55 年度 特別研究総合報告. (1983)
- 第 46 号 有機廃棄物, 合成有機化合物, 重金属等の土壌生態系に及ぼす影響と浄化に関する研究 — 昭和 54/55 年度 特別研究報告 第 1 分冊. (1983)
- 第 47 号 有機廃棄物, 合成有機化合物, 重金属等の土壌生態系に及ぼす影響と浄化に関する研究 — 昭和 54/55 年度 特別研究報告 第 2 分冊. (1983)
- ※ 第 48 号 水質観測点の適正配置に関するシステム解析. (1983)
- 第 49 号 環境汚染の遠隔計測・評価手法の開発に関する研究 — 昭和 57 年度 特別研究報告. (1984)
- ※ 第 50 号 陸水域の富栄養化防止に関する総合研究 (I) — 霞ヶ浦の流入負荷量の算定と評価 — 昭和 55~57 年度 特別研究報告. (1984)
- 第 51 号 陸水域の富栄養化防止に関する総合研究 (II) — 霞ヶ浦の物質循環とそれを支配する因子 — 昭和 55~57 年度 特別研究報告. (1984)
- 第 52 号 陸水域の富栄養化防止に関する総合研究 (III) — 霞ヶ浦高浜入における隔離水界を利用した富栄養化防止手法の研究 — 昭和 55~57 年度 特別研究報告. (1984)
- 第 53 号 陸水域の富栄養化防止に関する総合研究 (IV) — 霞ヶ浦の魚類及び甲かく類現存量の季節変化と富栄養化 — 昭和 55~57 年度 特別研究報告. (1984)
- 第 54 号 陸水域の富栄養化防止に関する総合研究 (V) — 霞ヶ浦の富栄養化現象のモデル化 — 昭和 55~57 年度 特別研究報告. (1984)
- 第 55 号 陸水域の富栄養化防止に関する総合研究 (VI) — 富栄養化防止対策 — 昭和 55~57 年度 特別研究報告. (1984)
- 第 56 号 陸水域の富栄養化防止に関する総合研究 (VII) — 湯ノ湖における富栄養化とその防止対策 — 昭和 55~57 年度 特別研究報告. (1984)
- 第 57 号 陸水域の富栄養化防止に関する総合研究 (VIII) — 総括報告 — 昭和 55~57 年度 特別研究

- 報告. (1984)
- 第 58 号 環境試料による汚染の長期的モニタリング手法に関する研究 — 昭和 55~57 年度 特別研究総合報告. (1984)
- 第 59 号 炭化水素-窒素酸化物-硫黄酸化物系光化学反応の研究 — 光化学スモッグチャンバーによるオゾン生成機構の研究 — 大気中における有機化合物の光酸化反応機構の研究 — 昭和 55~57 年度 特別研究報告 (第 1 分冊). (1984)
- 第 60 号 炭化水素-窒素酸化物-硫黄酸化物系光化学反応の研究 — 光化学エアロゾル生成機構の研究 — 昭和 55~57 年度 特別研究報告 (第 2 分冊). (1984)
- 第 61 号 炭化水素-窒素酸化物-硫黄酸化物系光化学反応の研究 — 環境大気中における光化学二次汚染物質生成機構の研究 (フィールド研究 1) — 昭和 55~57 年度 特別研究報告 (第 3 分冊). (1984)
- 第 62 号 有害汚染物質による水界生態系のかく乱と回復過程に関する研究 — 昭和 56~58 年度 特別研究中間報告. (1984)
- ※ 第 63 号 海域における富栄養化と赤潮の発生機構に関する基礎的研究 — 昭和 56 年度 特別研究報告. (1984)
- 第 64 号 複合大気汚染の植物影響に関する研究 — 昭和 54~56 年度 特別研究総合報告. (1984)
- 第 65 号 Studies on effects of air pollutant mixtures on plants — Part I. (1984)
(複合大気汚染の植物に及ぼす影響 — 第 1 分冊)
- ※ 第 66 号 Studies on effects of air pollutant mixtures on plants — Part 2. (1984)
(複合大気汚染の植物に及ぼす影響 — 第 2 分冊)
- 第 67 号 環境中の有害物質による人の慢性影響に関する基礎的研究 — 昭和 54~56 年度 特別研究総合報告. (1984)
- ※ 第 68 号 汚泥の土壌還元とその環境影響に関する研究 — 昭和 56~57 年度 特別研究総合報告. (1984)
- 第 69 号 中禅寺湖の富栄養化現象に関する基礎的研究. (1984)
- 第 70 号 Studies on chironomid midges in lakes of the Nikko National Park (1984)
Part I. Ecological studies on chironomids in lakes of the Nikko National Park.
Part II. Taxonomical and morphological studies on the chironomid species collected from lakes in the Nikko National Park.
(日光国立公園の湖沼のユスリカに関する研究
— 第 1 部 日光国立公園の湖のユスリカの生態学的研究 —
— 第 2 部 日光国立公園の湖沼に生息するユスリカ類の分類学的, 形態学的研究 —)
- ※ 第 71 号 リモートセンシングによる残雪及び雪田植生の分布解析. (1984)
- 第 72 号 炭化水素-窒素酸化物-硫黄酸化物系光化学反応の研究-環境大気中における光化学二次汚染物質生成機構の研究 (フィールド研究 2) — 昭和 55~57 年度 特別研究報告 (第 4 分冊). (1985)
- 第 73 号 炭化水素-窒素酸化物-硫黄酸化物系光化学反応の研究 — 昭和 55~57 年度 特別研究総合報告. (1985)
- ※ 第 74 号 都市域及びその周辺の自然環境に係る環境指標の開発に関する研究. 環境指標 — その考え方と作成方法 — 昭和 59 年度 特別研究報告. (1984)
- 第 75 号 Limnological and environmental studies of elements in the sediment of Lake Biwa. (1985)
(琵琶湖底泥中の元素に関する陸水学及び環境化学的研究)
- 第 76 号 Study on the behavior of monoterpenes in the atmosphere. (1985)
(大気中モノテルペンの挙動に関する研究)

- 第 77 号 環境汚染の遠隔計測・評価手法の開発に関する研究 — 昭和 58 年度 特別研究報告. (1985)
- 第 78 号 生活環境保全に果たす生活者の役割の解明. (1985)
- 第 79 号 Studies on the method for long term environmental monitoring — Research report in 1980-1982. (1985)
(環境汚染による汚染の長期的モニタリング手法に関する研究)
- 第 80 号 海域における赤潮発生モデル化に関する研究 — 昭和 57/58 年度 特別研究報告. (1985)
- 第 81 号 環境影響評価制度の政策効果に関する研究 — 地方公共団体の制度運用を中心として. (1985)
- 第 82 号 植物の大気環境浄化機能に関する研究 — 昭和 57~58 年度 特別研究報告. (1985)
- 第 83 号 Studies on chironomid midges of some lakes in Japan. (1985)
(日本の湖沼のユスリカの研究)
- 第 84 号 重金属環境汚染による健康影響評価手法の開発に関する研究 — 昭和 57~59 年度 特別研究総合報告. (1985)
- 第 85 号 Studies on the rate constants of free radical reactions and related spectroscopic and thermochemical parameters. (1985)
(フリーラジカルの反応速度と分光学的及び熱力学的パラメーターに関する研究)
- 第 86 号 GC/MS スペクトルの検索システムに関する研究. (1986)
- 第 87 号 光化学二次汚染物質の分析とその細胞毒性に関する研究 — 昭和 53~58 年度総合報告. (1986)
- 第 88 号 都市域及びその周辺の自然環境等に係る環境指標の開発に関する研究 II. 環境指標 — 応用例とシステム. (1986)
- 第 89 号 Measuring the water quality of Lake Kasumigaura by LANDSAT remote sensing. (1986)
(LANDSAT リモートセンシングによる霞ヶ浦の水質計測)
- 第 90 号 ナショナルトラスト運動にみる自然保護にむけての住民意識と行動 — 知床国立公園内 100 平方メートル運動と天神崎市民地主運動への参加者の分析を中心として. (1986)
- 第 91 号 Economic analysis of man's utilization of environmental resources in aquatic environments and national park regions. (1986)
(人間による環境資源利用の経済分析 — 水環境と国立公園地域を対象として)
- 第 92 号 アオコの増殖及び分解に関する研究. (1986)
- 第 93 号 汚泥の土壤環元とその環境影響に関する研究 (I) — 昭和 58~59 年度 特別研究総合報告 第 1 分冊. (1986)
- 第 94 号 汚泥の土壤環元とその環境影響に関する研究 (II) — 昭和 58~59 年度 特別研究総合報告 第 2 分冊. (1986)

※ 残部なし

Report of Special Research Project the National Institute for Environmental Studies

- No. 1* Man activity and aquatic environment — with special references to Lake Kasumigaura — Progress report in 1976. (1977)
- No. 2* Studies on evaluation and amelioration of air pollution by plants — Progress report in 1976-1977. (1978)

[Starting with Report No. 3, the new title for NIES Reports was changed to:]

Research Report from the National Institute for Environmental Studies

- ※ No. 3 A comparative study of adults and immature stages of nine Japanese species of the genus *Chironomus* (Diptera, Chironomidae). (1978)
- No. 4* Smog chamber studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides system — Progress report in 1977. (1978)
- No. 5* Studies on the photooxidation products of the alkylbenzene-nitrogen oxides system, and on their effects on Cultured Cells — Research report in 1976-1977. (1978)
- No. 6* Man activity and aquatic environment — with special references to Lake Kasumigaura — Progress report in 1977-1978. (1979)
- ※ No. 7 A morphological study of adults and immature stages of 20 Japanese species of the family Chironomidae (Diptera). (1979)
- ※ No. 8* Studies on the biological effects of single and combined exposure of air pollutants — Research report in 1977-1978. (1979)
- No. 9* Smog chamber studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides system — Progress report in 1978. (1979)
- No.10* Studies on evaluation and amelioration of air pollution by plants — Progress report in 1976-1978. (1979)
- ※ No.11 Studies on the effects of air pollutants on plants and mechanisms of phytotoxicity. (1980)
- No.12 Multielement analysis studies by flame and inductively coupled plasma spectroscopy utilizing computer-controlled instrumentation. (1980)
- No.13 Studies on chironomid midges of the Tama River. (1980)
- Part 1. The distribution of chironomid species in a tributary in relation to the degree of pollution with sewage water.
- Part 2. Description of 20 species of Chironominae recovered from a tributary.
- No.14* Studies on the effects of organic wastes on the soil ecosystem — Progress report in 1978-1979. (1980)
- ※ No.15* Studies on the biological effects of single and combined exposure of air pollutants — Research report in 1977-1978. (1980)
- No.16* Remote measurement of air pollution by a mobile laser radar. (1980)
- ※ No.17* Influence of buoyancy on fluid motions and transport processes — Meteorological characteristics and atmospheric diffusion phenomena in the coastal region — Progress report in 1978-1979. (1980)
- No.18 Preparation, analysis, and certification of PEPPERBUSH standard reference material. (1980)
- ※ No.19* Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas — Lake current of Kasumigaura (Nishiura) — 1978-1979. (1981)

- No.20* Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas — Geomorphological and hydrometeorological characteristics of Kasumigaura watershed as related to the lake environment — 1978-1979. (1981)
- No.21* Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas — Variation of pollutant load by influent rivers to Lake Kasumigaura — 1978-1979. (1981)
- No.22* Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas — Structure of ecosystem and standing crops in Lake Kasumigaura — 1978-1979. (1981)
- No.23* Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas — Applicability of trophic state indices for lakes — 1978-1979. (1981)
- No.24* Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas — Quantitative analysis of eutrophication effects on main utilization of lake water resources — 1978-1979. (1981)
- No.25* Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas — Growth characteristics of Blue-Green Algae, *Myrocystis* — 1978-1979. (1981)
- No.26* Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas — Determination of argal growth potential by algal assay procedure — 1978-1979. (1981)
- No.27* Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas — Summary of researches — 1978-1979. (1981)
- No.28* Studies on effects of air pollutant mixtures on plants — Progress report in 1979-1980. (1981)
- No.29 Studies on chironomid midges of the Tama River. (1981)
 Part 3. Species on the subfamily Orthoclaadiinae recorded at the summer survey and their distribution in relation to the pollution with sewage waters.
 Part 4. Chironomidae recorded at a winter survey.
- ※ No.30* Eutrophication and red tides in the coastal marine environment — Progress report in 1979-1980. (1982)
- No.31* Studies on the biological effects of single and combined exposure of air pollutants — Research report in 1980. (1981)
- No.32* Smog chamber studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides system — Progress report in 1979 — Research on the photochemical secondary pollutants formation mechanism in the environmental atmosphere. (Part 1). (1982)
- No.33* Meteorological characteristics and atmospheric diffusion phenomena in the coastal region — Simulation of atmospheric motions and diffusion processes — Progress report in 1980. (1982)
- No.34* The development and evaluation of remote measurement methods for environmental pollution — Research report in 1980. (1982)
- No.35* Comprehensive evaluation of environmental impacts of road and traffic. (1982)
- No.36* Studies on the method for long term environmental monitoring — Progress report in 1980-1981. (1982)
- No.37* Study on supporting technology for systems analysis of environmental policy — The evaluation laboratory of Man-Environment Systems. (1982)
- No.38 Preparation, analysis and certification of POND SEDIMENT certified reference material. (1982)
- No.39* The development and evaluation of remote measurement methods for environmental pollution — Research report in 1981. (1983)

- No.40* Studies on the biological effects of single and combined exposure of air pollutants – Research report in 1981. (1983)
- ※ No.41* Statistical studies on methods of measurement and evaluation of chemical condition of soil – with special reference to heavy metals –. (1983)
- ※ No.42* Experimental studies on the physical properties of mud and the characteristics of mud transportation. (1983)
- ※ No.43 Studies on chironomid midges of the Tama River. (1983)
 Part 5. An observation on the distribution of Chironominae along the main stream in June, with description of 15 new species.
 Part 6. Description of species of the subfamily Orthoclaudiinae recovered from the main stream in the June survey.
 Part 7. Additional species collected in winter from the main stream.
- No.44* Smog chamber studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides system – Progress report in 1979 – Research on the photochemical secondary pollutants formation mechanism in the environmental atmosphere (Part 2). (1983)
- No.45* Studies on the effect of organic wastes on the soil ecosystem – Outlines of special research project – 1978-1980. (1983)
- No.46* Studies on the effect of organic wastes on the soil ecosystem – Research report in 1979-1980, Part 1. (1983)
- No.47* Studies on the effect of organic wastes on the soil ecosystem – Research report in 1979-1980, Part 2. (1983)
- ※ No.48* Study on optimal allocation of water quality monitoring points. (1983)
- No.49* The development and evaluation of remote measurement method for environmental pollution – Research report in 1982. (1984)
- ※ No.50* Comprehensive studies on the eutrophication control of freshwaters – Estimation of input loading in Lake Kasumigaura – 1980-1982. (1984)
- No.51* Comprehensive studies on the eutrophication control of freshwaters – The function of the ecosystem and significance of sediment in nutrient cycle in Lake Kasumigaura – 1980-1982. (1984)
- No.52* Comprehensive studies on the eutrophication control of freshwaters – Enclosure experiments for restoration of highly eutrophic shallow Lake Kasumigaura – 1980-1982. (1984)
- No.53* Comprehensive studies on the eutrophication control of freshwaters – Seasonal changes of the biomass of fishes and crustacia in Lake Kasumigaura – 1980-1982. (1984)
- No.54* Comprehensive studies on the eutrophication control of freshwaters – Modeling the eutrophication of Lake Kasumigaura – 1980-1982. (1984)
- No.55* Comprehensive studies on the eutrophication control of freshwaters – Measures for eutrophication control – 1980-1982. (1984)
- No.56* Comprehensive studies on the eutrophication control of freshwaters – Eutrophication in Lake Yunoko – 1980-1982. (1984)
- No.57* Comprehensive studies on the eutrophication control of freshwaters – Summary of researches – 1980-1982. (1984)
- No.58* Studies on the method for long term environmental monitoring – Outlines of special research project in 1980-1982. (1984)

- No.59* Studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides-sulfur oxides system – Photochemical ozone formation studied by the evacuable smog chamber – Atmospheric photooxidation mechanisms of selected organic compounds – Research report in 1980-1982. (1984)
- No.60* Studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides-sulfur oxides system – Formation mechanisms of photochemical aerosol – Research report in 1980-1982. (1984)
- No.61* Studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides-sulfur oxides system – Research on the photochemical secondary pollutants formation mechanism in the environmental atmosphere. – Research report in 1980-1982. (1984)
- No.62* Effects of toxic substances on aquatic ecosystems – Progress report in 1980-1983. (1984)
- ※ No.63* Eutrophication and red tides in the coastal marine environment – Progress report in 1981. (1984)
- No.64* Studies on effects of air pollutant mixtures on plants – Final report in 1979-1981. (1984)
- No.65 Studies on effects of air pollutant mixtures on plants – Part 1. (1984)
- ※ No.66 Studies on effects of air pollutant mixtures on plants – Part 2. (1984)
- No.67* Studies on unfavourable effects on human body regarding to several toxic materials in the environment, using epidemiological and analytical techniques – Project research report in 1979-1981. (1984)
- ※ No.68* Studies on the environmental effects of the application of sewage sludge to soil – Research report in 1981-1983. (1984)
- No.69* Fundamental studies on the eutrophication of Lake Chuzenji – Basic research report. (1984)
- No.70 Studies on chironomid midges in lakes of the Nikko National Park – Part I. Ecological studies on chironomids in lakes of the Nikko National Park. – Part II. Taxonomical and morphological studies on the chironomid species collected from lakes in the Nikko National Park. (1984)
- ※ No.71* Analysis on distributions of remnant snowpack and snow patch vegetation by remote sensing. (1984)
- No.72* Studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen-oxides sulfur oxides-system – Research on the photochemical secondary pollutants formation mechanism in the environmental atmosphere – Research report in 1980-1982. (1985)
- No.73* Studies on photochemical reactions of hydrocarbon-nitrogen oxides-sulfur oxides-system – Final report in 1980-1982. (1985)
- No.74* A comprehensive study on the development of indices system for urban and suburban environmental quality. Environmental indices-basic notion formation – Research report in 1984. (1984)
- No.75 Limnological and environmental studies of elements in the sediment of Lake Biwa. (1985)
- No.76 Study on the behavior of monoterpenes in the atmosphere. (1985)
- No.77* The development and evaluation of remote measurement methods for environmental pollution. (1985)
- No.78* Study on citizens' role in conserving the living environment. (1985)
- No.79 Studies on the method for long term environmental monitoring – Research report 1980-1982. (1985)
- No.80* Modeling of red tide blooms in the coastal sea – Research report 1982-1983. (1985)

- No.81* A study on effects of implementing environmental impact assessment procedure — With particular reference to implementation by local governments. (1985)
- No.82* Studies on the role of vegetation as a sink of air pollutants — Research report in 1982-1983. (1985)
- No.83 Studies on chironomid midges of some lakes in Japan. (1985)
- No.84* A comprehensive study on the development of assessment techniques for health effects due to environmental heavy metal exposure — Final report in 1982-1984. (1985)
- No.85 Studies on the rate constants of free radical reactions and related spectroscopic and thermochemical parameters. (1985)
- No.86* A novel retrieval system for identifications of unknown mass spectra. (1986)
- No.87* Analysis of the photochemical secondary pollutants and their toxicity on cultured cells — Research report in 1978-1983. (1986)
- No.88* A comprehensive study on the development of indices system for urban and suburban environmental quality II — Environmental indices — Applications and systems. (1986)
- No.89* Measuring the water quality of Lake Kasumigaura by LANDSAT remote sensing. (1986)
- No.90* *National trust movement in Japanese nature conservation — Trustworthy or illusion?* (1986)
- No.91 Economic analysis of man's utilization of environmental resources in aquatic environments and national park regions. (1986)
- No.92* Studies on the growth and decomposition of water-bloom of *Microcystis*. (1986)
- No.93* Studies on the environmental effects of the application of sewage sludge to soil (I) — Research report in 1983-1984, Part 1 (Research Papers 1). (1986)
- No.94* Studies on the environmental effects of the application of sewage sludge to soil (II) — Research report in 1983-1984, Part 2 (Research Papers 2). (1986)

* in Japanese

※ out of stock

〔昭和60年11月28日受領〕

RESEARCH REPORT FROM
THE NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES, JAPAN

No. 94

国立公害研究所研究報告 第94号
(R-94-'86)

昭和61年3月29日発行

発行 環境庁 国立公害研究所

〒305 茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2

印刷 日青工業株式会社
東京都港区西新橋2-5-10

Published by the National Institute for Environmental Studies
Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan
March 1986