

Ⅱ-2 除去機構の微生物学的調査

1. 実験の目的

汚染空気中に含まれる窒素酸化物の土壌による浄化には、土壌微生物が大きく関与しているものと推察される。したがって、土壌微生物の役割を解明することは、土壌の窒素酸化物除去機能の継続性確保とその適切な土壌条件の維持・管理方法を把握するために極めて重要である。

そこで、本実験は土壌にNO₂含有汚染空気を通気し、土壌に補足されたNO₂の形態変化を追跡することにより、微生物の窒素酸化物除去機構を明らかにすることを目的とした。

2. 実験の方法

実験は、以下の方法により行った。

- ①黒ボク土壌、パーライト、腐葉土を3:1:1に混合して土壌試料とした。
- ②土壌試料をオートクレーブ殺菌（120℃、1時間）した後、蒸留水50mlに懸濁させた抗生物質（ストレプトマイシン、カナマイシン、テトラサイクリン、クロラムフェニコール、シクロヘキシミド、ナイスタシン各0.3g）を添加し殺菌土壌とした。また、対照土壌として殺菌処理を行わない土壌を供試した。
- ③アクリル製円筒（内径6.5cm、高さ10cm）を図2・1

- のように5ヶ接続したカラムを作成し、約1.2kgの殺菌、無殺菌各土壌試料を充填して実験に供した。
- ④土壌カラムの下部からNO₂1ppmを含む空気を毎分4ℓの速度で通気し、土壌のNO₂浄化能を検討した。
 - ⑤通気に伴う土壌の乾燥が顕著であったため、適時ペリスタポンプを用いて給水した。この際、無殺菌土壌試料には蒸留水を、殺菌土壌には抗生物質（ストレプトマイシン、カナマイシン、テトラサイクリン、クロラムフェニコール、シクロヘキシミド、ナイスタシン各0.3g）を含む蒸留水（2ℓ）を使用した。
 - ⑥実験1；排気口におけるNO_x濃度を経時的に測定した。
実験2；排気口におけるNO_x濃度を経時的に測定するとともに、実験終了後図2・1の1～6の各層位から土壌を採取し、NO₃⁻、NO₂⁻濃度を測定した。

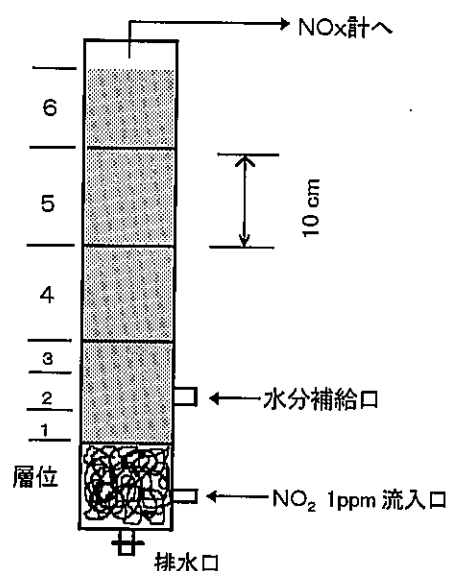


図2・1 実験装置(土壌カラム)概要

3. 実験結果

■実験1

図3・1に排気口におけるNO_x濃度の経時変化を示す。考察において述べるように、直射日光の照射や土壌の水分含量の変化に伴ない同一測定日内でも排出口におけるNO_x濃度は顕著な変動を示したため、図3・1の値として各測定日中で最低の値を採用した。なお、給水を土壌カラム下部から行ったため、3日目頃から土壌カラム上部の乾燥が著しく進行し、測定は6日目までとした。

図3・1から明らかなように、培養2日目から殺菌区、無殺菌区ともNO_x濃度の上昇が観察されたが、その上昇の程度は無殺菌区に比べ殺菌区で顕著であった。なお、両区ともNO_xの大部分はNOが占めていた。

流入口からのNO₂濃度が常時1ppmであり、各測定日のNO_x濃度をその日のNO_x濃度と仮定した場合の土壌カラムによるNO₂除去率（最大除去率）は、無殺菌区で73±1%、殺菌区で62±4%となり、土壌微生物の活動がNO₂除去に寄与していることが推察された。

■実験2

実験方法の概要は実験1と同様であるが、実験1の反省に立って給水を十分に行い、土壌乾燥の進行をできるだけ防ぐよう努めた。

図3・2で示したように、給水に努めた結果、無殺菌区における排気口からのNO_x濃度は常時300ppm以下の低い値で推移した。他方、殺菌区においてはその効果が顕著でなく経時的にNO_x濃度が上昇し、実験終了時（培養16日目）には、735±30ppmのNO_xが排気口で観測された。両区ともNO_xの大部分はNOが占めていた。

16日間のNO₂除去率（最大除去率）は、無殺菌区で86±1%、殺菌区で51±2%となり、給水を十分に土壌微生物の活動（脱窒反応）を活発にした場合、無殺菌区ではNO₂除去を向上させるのに対し、殺菌区では培養日数の長期化に伴いその除去率の低下することが明らかとなった。

表3・1に16日間培養後土壌カラム各層位中に残存するNO₃⁻-N量を示す。無殺菌区、殺菌区とも第2、3層で最低濃度、第4層で最高濃度を示し、第5、6層に向かってその濃度は減少していた。第2、3層で顕著な減少をみたのは、脱窒反応によるものと推察された。本実験において殺菌区でもこのような脱窒反応

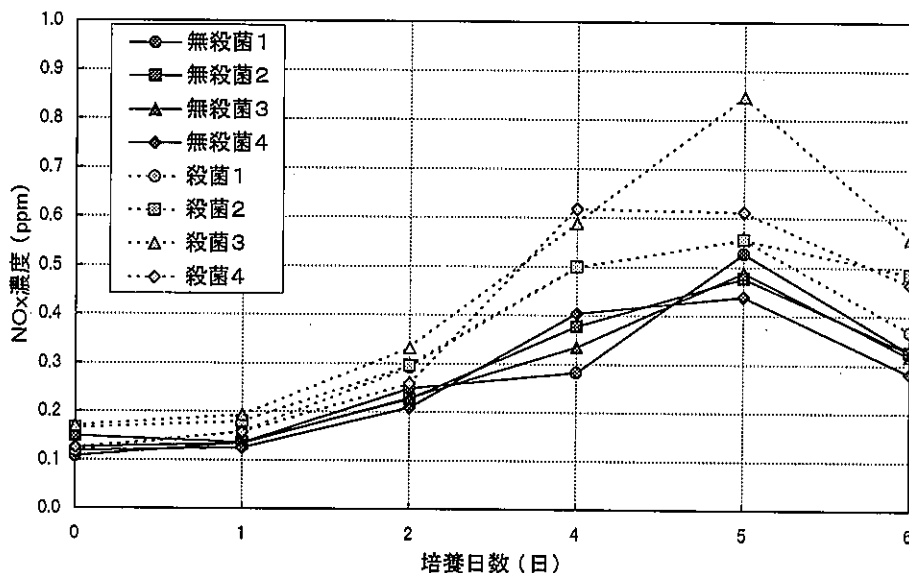


図3・1 排気口におけるNO_x濃度の経時変化(実験1)

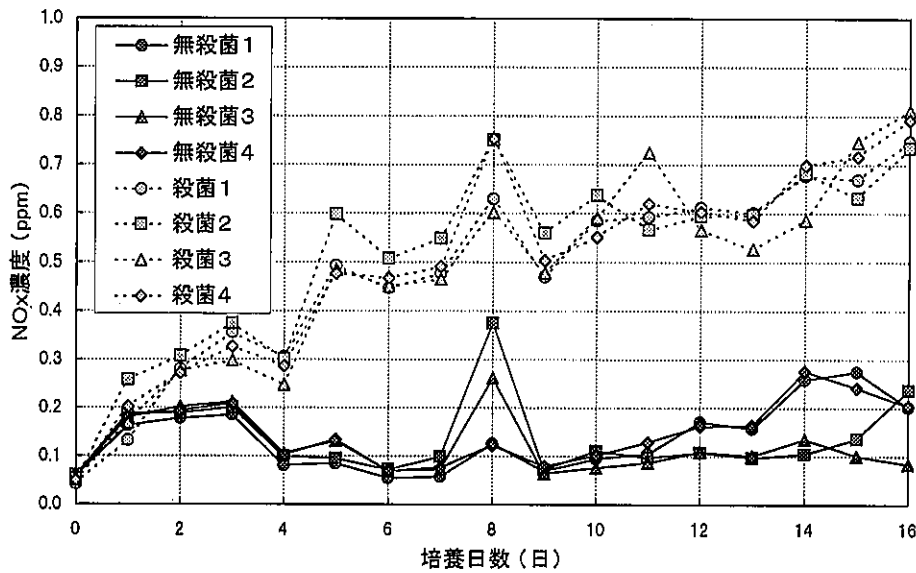


図3-2 排気口におけるNOx濃度の経時変化(実験2)

表3-1 土壌カラム各層位中の硝酸態窒素

層位	無殺菌区					殺菌区				
	カラム1	カラム2	カラム3	カラム4	平均	カラム1	カラム2	カラム3	カラム4	平均
1	23.9	12.3	17.2	14.7	17.0	4.3	4.8	8.1	8.4	6.4
2	1.1	1.9	2.0	1.2	1.5	1.9	1.5	3.2	3.0	2.4
3	1.1	1.9	3.0	1.4	1.9	2.0	2.1	6.1	5.0	3.8
4	34.6	3.8	53.2	21.4	28.2	20.4	18.1	38.6	27.3	26.1
5	15.8	15.1	14.6	35.3	20.2	18.5	19.1	20.5	17.3	18.9
6	12.0	-	13.3	12.1	12.4	11.6	15.5	18.3	14.6	15.0

(mgNO₃-N/100g 土壌)

の認められた原因は、給水過程において抗生物質を多量に含む蒸留水を供給したにもかかわらず抗生物質耐性菌（脱窒菌）の汚染を防除できなかったためと判断され、今後給水方法（または、土壌の乾燥防止）の改善を計る必要がある。したがって上述した殺菌処理に伴う除去効果の無殺菌区と殺菌区での差異は、一部の混入した微生物の存在にもかかわらず認められる現象といえる。なお、本実験においても培養後期には第5、6層は土壌の乾燥が顕著に認められ、その結果十分な嫌氣的部位の確保が困難となり、多量の硝酸蓄積をもたらしたものと判断された。

各層位中での硝酸濃度と各層位の土壌量から求めた土壌カラム中の全硝酸態窒素量は、無殺菌区で99mgN、殺菌区で92mgNと計算され、両処理区で類似した値であった。

ところで、土壌中の硝酸濃度は実験開始時の土壌中の硝酸量、培養期間中に進行した有機態窒素の無機化とそれに続く硝化作用、土壌微生物による有機化と脱窒反応、加えて通気ガス中のNO₂の土壌中での硝酸への変化の総体を示すものである。本実験では、1ppmのNO₂を含む空気を毎分4ℓの速度で通気した結果、1日当たり10.87mgのNO₂が土壌カラムを通過したものと判断され、上述したNOx除去率から推定される各土壌カラムへの通気に伴う窒素総付加量（16日間）は、無殺菌区で48.4mgN、殺菌区で28.7mgNと見積もられる。他方、供試した無殺菌土壌試料中に16日培養後99mgNの硝酸態窒素が存在していたことより、NO₂通気に伴う窒素総付加量以上の土壌窒素の形態変化が進行していたものと判断され、本実験結果から通気NO₂の硝化・脱窒による土壌浄化量を推定すること

表3・2 土壌カラム各層位の亜硝酸態窒素

層位	無殺菌区					殺菌区				
	カラム1	カラム2	カラム3	カラム4	平均	カラム1	カラム2	カラム3	カラム4	平均
1	0	0	0	0	0	0.86	1.31	0.57	0.71	0.86
2	0	0	0	0	0	1.69	2.38	1.34	1.55	1.74
3	0	0	0	0	0	0.87	1.01	0.48	0.62	0.75
4	0	0	0	0	0	0.04	0.04	0.05	0.04	0.04
5	0	0	0	0	0	0.11	0.11	0.03	0.14	0.10
6	0	-	0	0	0	0.09	0.05	0.06	0.08	0.07

(mgNO₂-N/100g 土壌)

は困難であった。今後は15NO₂等の使用が不可欠といえる。

表3・2に16日間培養後土壌カラム各層位中に存在するNO₂-N量を示す。無殺菌区では全く亜硝酸が観測されなかったのに対し、殺菌区では各層位で実測され特に第2, 3層で高い値が認められた。これらの層位で硝酸態窒素量の最低値が観察されたことから判断して(表3・1), 無殺菌区のこれらの層位では脱窒反応が活発に進行しているのに対し、殺菌区では硝酸還元反応(亜硝酸生成作用)が脱窒反応に比べて相対的に活発でその結果亜硝酸の蓄積を見たものと推察された。

て硝酸態窒素の集積をもたらすとの反省に立って、本実験では図2・1の第5層から給水を行った。また、オートクレーブ殺菌による土壌の吸着特性の変化が懸念されたので無殺菌区土壌1.2kg中1.1kgを同様に殺菌し、その後残り100gの無殺菌土壌を混合し、無殺菌区とした。

その結果を図3・3に示す。10日間のNO₂除去率(最大除去率)は無殺菌区で83±3%, 殺菌区で67±2%となり、本実験においてはさらに十分な給水を行い土壌カラムの大部分が脱窒に必要な水分条件を維持したものと判断されたにもかかわらず、無殺菌区におけるNO₂除去率は予想に反し実験2よりわずかではあるが劣ったものであった。他方、殺菌区においては除去率の改善が認められた。また、本実験においては上述したように1.1kgの土壌を同様に殺菌したにもかかわらず

■実験3

土壌下部から給水した場合、土壌上部の乾燥に伴っ

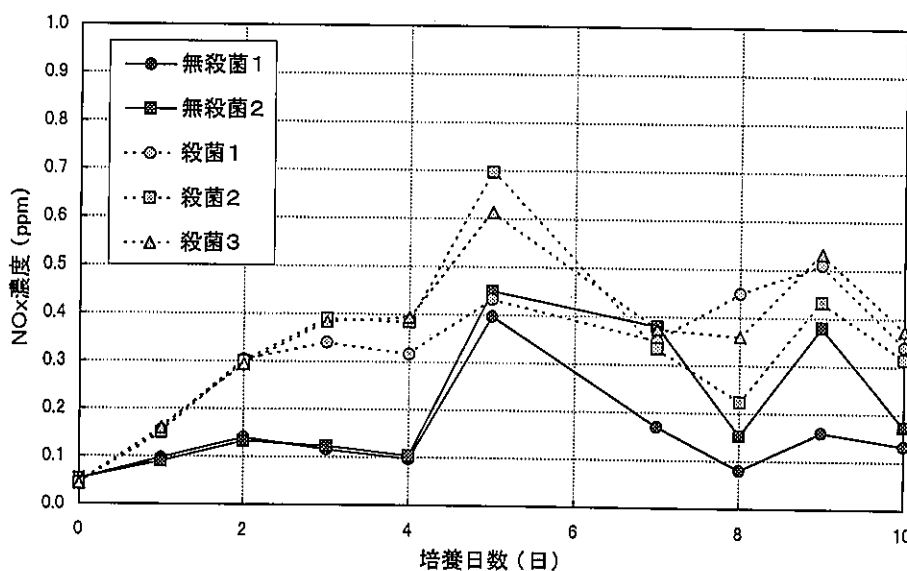


図3・3 排気口におけるNO_x濃度の経時変化(実験3)

土壌を用いた大気浄化システムの実用性に関する調査

ず、その効果が認められたことから、無殺菌区が殺菌区より除去率の高い原因が微生物活動に由来するものと結論された。

なお、排気口で観測されたNO_xガスの大半は無殺菌区、殺菌区ともにNOガスであった。

4. 考 察

以上3回の実験の結果より、土壌微生物の存在(活動)がNO₂ガスの土壌吸着を促進していることが推察された(図3・1~図3・3)。その機構は不明であるが、殺菌区における土壌吸着が経時的に低下したことから判断して、殺菌区では土壌吸着量に限界があり数日をして飽和されるのに対して、土壌微生物の活動は吸着されたNO₂ガスを代謝し常時新たな吸着部位を再生することにより、NO₂ガスの土壌吸着能を高活性に維持するのに寄与しているものと推察された。

先述したように、土壌カラムへの直射日光の照射(土壌温度の上昇)や土壌の水分含量の変化に伴ない同一測定日内でも排出口におけるNO_x濃度は顕著な変動を示した。1例を示すと、実験2の測定開始後2日目の無殺菌区では4連の最大値が390~402ppb、最小値が190~204ppb、殺菌区では最大値が443~594ppb、最小値が272~307ppbであった。したがって、

現地土壌においては十分な土壌水分の維持が極めて重要といえる。

土壌乾燥の影響は、NO₂ガスの土壌中での捕捉とその後の微生物代謝(脱窒)の両面に対して影響すると判断される。すなわち、

①NOガスがNO₂ガスに比べて土壌に補足されにくいとの知見と実験3の結果から判断して、NO₂ガスに最初に接触する土壌部位の乾燥は、NO₂ガスから多量のNOガスの生成をもたらす、その後の土壌吸着を困難にする。したがって、この部位の乾燥はNO₂除去率(捕捉率)を低下させる。

②また、土壌の乾燥は脱窒反応に必要な十分量の水分を含む土壌部位の割合を減少させ、硝酸として捕捉されたNO₂ガスのその後の脱窒反応を抑制し、硝酸の蓄積をもたらす(実験2)。

以上の結果を要約すると、

①土壌微生物の働きにより、NO₂ガスの土壌への吸着が促進されること(実験1, 2, 3)

②土壌の乾燥は、NO₂ガスの土壌への吸着量を低下させるとともに、その後の脱窒反応を抑制し、土壌への硝酸態窒素の集積を促進すること(実験2)

③この際、NO₂ガスの土壌への吸着量を促進しNOガス生成を抑制するためにはNO₂ガスに最初に接触する土壌部位を十分な水分条件に維持すること、その後の脱窒反応促進のためには土壌各部位を十分な水分条件に維持することの必要性(実験3)

等が明らかになった。