

令和 2 年 9 月 5 日現在

機関番号：12605

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15H04467

研究課題名(和文) 富栄養化精密予測に向けた土壌コロイド粒子に存在するリンの化学形態と生物利用の関連

研究課題名(英文) Chemical speciation and availability of phosphorus in soil colloids for the prediction of eutrophication

研究代表者

橋本 洋平 (Hashimoto, Yohey)

東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・准教授

研究者番号：80436899

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：リンは、水域の富栄養化と藻類増殖に関わる重要な元素のひとつである。湖沼や港湾へのリンの供給は、農地などの陸域から土壌粒子に付着した形で流入する。これまで、リンの長距離輸送には、土壌のコロイド粒子(1nm～1μm)が重要な役割を果たしていることが指摘されてきた。本研究では、土壌のコロイド粒子に着目し、含まれているリンの濃度や化学形態を詳細に明らかにすることによって、水系の富栄養化につながる知見を得ることを目的とした。本研究によって、土壌のコロイド粒子にはリンが蓄積していること、ならびに主にフェリハイドライトなどの鉄鉱物に保持されていることが確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

土壌のコロイド粒子中の鉄は、フェリハイドライトやゲーサイトのような(水)酸化鉄鉱物が主体である(60～70%)ことが明らかになった。一方、バルク土壌においては、イライトのような層状ケイ酸塩鉱物に含まれる鉄が主体であった。この結果は、コロイド粒子には、(水)酸化鉄鉱物が選択的に含まれることを示しており、土壌からリンを吸着した(水)酸化鉄鉱物がコロイドに含まれる形で、水田土壌から河川へ流出する可能性を示唆している。

研究成果の概要(英文)：Phosphorus is one of the important elements involved in eutrophication of water bodies and algae growth. Phosphorus is supplied to lakes and marshes from land such as farmlands in the form of adhering to soil particles. It has been pointed out that soil colloidal particles (1 nm to 1 μm) play an important role in long-range transport of phosphorus. In this study, we focused on the colloidal particles of soils and clarified the concentration and chemical form of phosphorus contained in the soils to obtain the knowledge that leads to the eutrophication of water system. This study confirmed that phosphorus was accumulated in the colloidal particles of soils and that it was mainly retained by iron minerals such as ferrihydrite.

研究分野：環境化学

キーワード：コロイド リン 土壌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

リンは、水域の富栄養化と藻類増殖に関わる重要な元素のひとつである。長年にわたり多くの水系の全リンは基準値を超過している事例も多く、湖沼においては窒素の4倍以上の1393箇所が水濁法のリン規制対象となっている(環境省白書2012)。陸域のリンは、その97%(17Mt/年)が粒子状リン(懸濁態)として流域に輸送される(Paytan2007)。

コロイド粒子は、国際標準規格であるIUPACによって、約1 μm ~1nmと定義されている。コロイド粒子は、その粒径や表面積に起因する元素等の吸着量の大きさから、栄養元素および有害元素の輸送に寄与していることや、コロイド溶液としての性質から、移動性が高いことが報告されてきた。一般的な土壌分析の操作では、0.45 μm のフィルター径によって粒子状物質と溶存態物質を分画している。このような操作ではコロイド粒子を分画することができないため、コロイド画分を溶存態とは異なる画分と位置付けて、正しく評価していく必要がある。粒子状リンと溶存態リンは0.45 μm 孔径のメンブレンを用いたろ過によって操作的に区分される。しかし、この方法ではリンの長距離輸送に重要なコロイド粒子(1nm~1 μm)を考慮できないという問題点がある。

コロイド粒子は、(1)リンの吸着性が高く、土壌中のリンの50%以上が存在していること(Hens2001)(2)藻類の増殖に必要なリンの供給源となっていること(Moorlegghem2013)という特徴に鑑みると、リンの輸送と供給に密接に関わっているコロイド粒子に着目した研究の必然性が浮き彫りになってくる。さらに、リンに関する現行の環境基準値は、濃度指標の「全リン」で一元的に評価しており、溶解性・生物利用性を本質的に決定する「化学形態」の重要性が看過されている。コロイド粒子中のリンが具体的にどのような化学形態のリンで構成されているのかが分かれば、水系におけるリンの生物利用性の精密評価、ひいては富栄養化の予測において有益な情報を提供することにつながると考えられる。

2. 研究の目的

畑地や水田土壌中のコロイド粒子を分画し、そこに存在するリンの濃度や化学形態を明らかにすることを目的とした。土壌1 μm 以下のコロイド粒子の特性を解析(コロイド粒径分布、リン濃度、鉱物の組成など)、逐次抽出法とXAFS法によるコロイド粒子のリンの化学形態の同定を中心に解明した。

3. 研究の方法

1) 堆肥と土壌に含まれるコロイド粒子とリン

水に分散する土壌由来のコロイド粒子の評価法のひとつとして、水分散性コロイド(Water-dispersible-colloids、WDC)がある。本研究においては、環境試料中の約1 μm ~1nmのコロイド粒子を評価するために、水分散性コロイドをコロイド粒子として分画し、実験に供試した。

豚ふん堆肥、豚ふんを長期間連用した畑地土壌、ならびに灰色低地土および褐色低地土に分類される複数の水田土壌から、水分散性コロイドを分画した。風乾した土壌にイオン交換水を添加・振とうして懸濁液とし、1 μm 孔径のメンブレンフィルターでろ過して、粒径1 μm 以下の粒子を含むろ液(水抽出画分)を得た。得られたろ液から超遠心分離機を用いて、粒径0.02-1 μm のコロイド粒子を分離し(コロイド画分)、上澄み液(<0.02 μm)を溶存態画分とした。ろ液(<1 μm)をテフロンビーカーに分取し、蒸発乾固させてコロイド粒子を定量した。ろ液(<1 μm)と上澄み液(<0.02 μm)のPを始めとする各種元素濃度を測定し、その濃度差からコロイド画分(0.02-1 μm)の元素濃度を算出した。分離したコロイド粒子を凍結乾燥して、X線吸収微細構造(XAFS)分光法に供試し、コロイド粒子に含まれるリンおよび鉄の化学形態をバルク土壌とともに特定した。土壌の分散液をろ過・超遠心操作によって、コロイド粒子を抽出し、動的光散乱装置を用いて、コロイドの平均粒径分布を測定した。

2) 水酸化鉄に保持されたリンの生物利用

実験に用いた藍藻は、独立行政法人国立環境研究所微生物系統保存施設より購入した無菌培養株 *Synechococcus* sp. の NIES-945 を使用した。培養方法については、同施設の HP 内の記載を参考にした。また無菌にすべき操作は、バイオクリーンベンチおよびオートクレーブを用いて行った。本研究中の全ての培養は、器内温度を 150C に調整したインキュベーター内で、照度 1500 lux、明暗周期が 10 時間対 14 時間の光条件下で行った。

P 飢餓状態で培養後の藍藻 *Synechococcus* sp. を用い、Cornell and Schwertmann (2000) の方法で合成した酸化鉄鉱物 (ferrihydrite) に P を吸着した微粒子を P の供給源とし、この添加量を変えた実験処理を設定した (+FhP 区、+1/2FhP 区)。これ以外には、溶存態 P のみ添加した区 (+P 区) および P 無添加区の合計 4 処理区を設定した。培養開始後、定期的に培養液を採取し、藍藻の増殖量評価のためにクロロフィル a 濃度を測定した。クロロフィル a に関しては、培養

液を 0.45 μm ガラス繊維フィルターでろ過後、エタノール抽出液を蛍光分析にて求めた。溶液中の溶存態 P および Fe 濃度、pH および Eh を測定した。

4. 研究成果

1) 堆肥と土壤に含まれるコロイド粒子とリン

< 豚ふん堆肥 >

豚ふん堆肥に含まれる P の全濃度は 173 g kg⁻¹ であった。全 P の 97% が無機態リン (Pi) であり、それらのうち塩酸、炭酸水素ナトリウム、水、水酸化ナトリウムによって抽出されるリンの割合は、HCl (55%) > NaHCO₃ (25%) > H₂O (17%) > NaOH (3%) の順に高い値を示した。豚ふん堆肥から分画した WDC のうち、約 80% が粒径 0.02-1 μm の範囲に存在していた。堆肥に含まれている WDC は、2.7 ± 0.3 g kg⁻¹ で、リン濃度は 140 g kg⁻¹ WDC であることが分かった。WDC 画分に含まれる粒子のうち、検出された粒子径の範囲は 21-6400 nm であった。豚ふんを施用した土壤の WDC 画分の粒径分布は、<20 nm が 0%、20-1000 nm が 79.6-88.4%、1000-6500 nm が 11.5-20.4% であった。

< 畑地、水田土壤 >

土壤から得られたコロイド粒子について、リン濃度を分析したところ、豚ふん堆肥の連用によって、土壤の WDC 画分に含まれる P の濃度が増加した。XAFS 用いて、リンの化学形態を定性した。その結果、WDC に蓄積した P の大部分は Fe (水) 酸化物に吸着した形態であり、堆肥の施用量が増加することで Ca 結合態の P の割合がわずかに増加する傾向がみられた。逐次抽出法の結果によって、豚ふん堆肥の連用によって、土壤の P が Al/Fe (水) 酸化物に吸着していたことも確認された。

土壤から分画したコロイド粒子中の主要な元素は、ケイ素、アルミニウム、鉄、炭素、硫黄などであった。この得られたコロイド粒子の質量とバルク土壤の各成分(非晶質鉄濃度、非晶質アルミニウム濃度、炭素含有率、粘土含有率)に関して、その一次回帰直線の相関係数はそれぞれ、非晶質鉄濃度(r=0.0485)、非晶質アルミニウム濃度(0.493)、炭素含有率(0.576)、粘土含有率(0.191)であった。コロイド粒子の質量との明確な正の相関がみられたのは、炭素含有率および非晶質アルミニウム濃度であった。土壤中の非晶質アルミニウムおよび炭素含有量が多いと、単位土壤質量当たりに含まれるコロイドの質量は多くなることが示唆された。

土壤中のコロイド粒子の P 濃度は、それぞれ、土壤 C(1360 mg kg⁻¹ colloids、以下単位同)、土壤 F(0)、土壤 G(2150)、土壤 O(2320)、土壤 T(750)、土壤 V(520) であった。土壤 F を除き、コロイド粒子中の P は、バルク土壤の可給態リン酸濃度より 2 ~ 20 倍程度高い値を示した。水田土壤から河川へのコロイド粒子の流出に伴い、高濃度の P が流域へ流出することが示唆された。

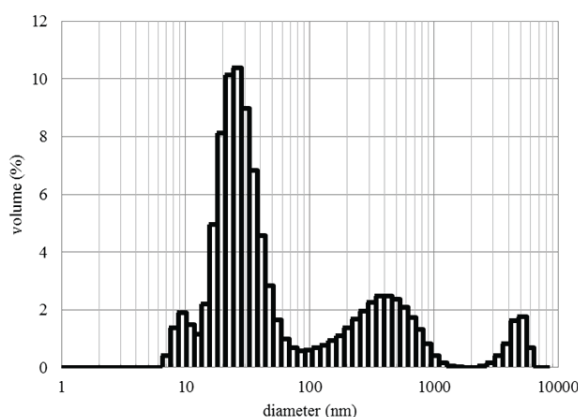


図 1 豚ふん堆肥から分画したコロイド粒子の粒径分布。概ね 20-1000nm の範囲に分布しており、50 あるいは 500nm 辺りの粒径分布が多い

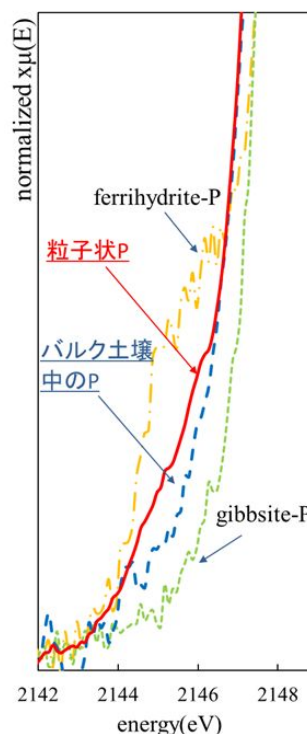
土壤のコロイド粒子中のリン濃度は、コロイド粒子中の鉄濃度と正の相関がみられたことから、コロイド粒子中の P は鉄と高い親和性を有することが明らかになった。土壤 G のコロイド粒子中の P は、鉄の鉱物に吸着して存在している割合が大きいことが示唆された。バルク土壤に関しても同様の結果が得られ、土壤 G に関しては、コロイド粒子とバルク間で P の形態に差

異はみられなかった。しかし、土壌 0 については、コロイド粒子とバルク土壌において、P の形態に違いがみられた。コロイド粒子中の P は、土壌 G と同様に、鉄の鉱物に吸着した割合が大きかったが、バルク土壌中の P は、アルミニウム鉱物に吸着して存在している割合が大きかった。コロイド粒子中には、バルク土壌と異なる形態で P が存在する場合があり、鉄の鉱物に吸着して存在する P が主体的であった。

土壌 G および 0 のコロイド粒子中の鉄は、フェリハイドライトやゲーサイトのような(水)酸化鉄鉱物が主体である(60~70%)ことが XAFS 法によって明らかになった。一方、バルク土壌においては、イライトのような層状ケイ酸塩鉱物に含まれる鉄が主体であった。この結果は、コロイド粒子には、(水)酸化鉄鉱物が選択的に含まれることを示しており、土壌から P を吸着した(水)酸化鉄鉱物がコロイドに含まれる形で、水田土壌から河川へ流出する可能性を示唆している。

図2 土壌と土壌から分画した WDC に含まれるリンならびにフェリハイドライトとギブサイトに吸着したリンの K 吸収端 P XANES スペクトル (土壌 0 のデータ)

リンが鉄に吸着すると、エネルギー領域の 2145eV 付近の X 線吸収 (ピーク) が高まることを利用して、リンが鉄あるいはアルミニウムに保持されているかを判別する。バルク土壌よりも粒子状 P (WDC) にピークがみられることから WDC に含まれるリンは鉄に保持されていることが示唆された



3) 水酸化鉄に保持されたリンの生物利用

本研究では、フェリハイドライトに吸着したリン (ferrihydrite-P) をリン源とした培地で近年ろ過障害の原因となっている *Synechococcus* sp. を培養し、ferrihydrite-P が藍藻の生育に及ぼす影響を明らかにすることを目的として研究を実施した。P 飢餓状態で培養後の藍藻 *Synechococcus* sp. に対して、ferrihydrite-P 濃度を変えて添加した 2 処理区 (+FhP 区、+1/2FhP 区)、溶存態 P のみ添加した区 (+P 区) および P 無添加区 (-P 区) の計 4 処理区を藻類培養区として設定した。培養期間中の最大増殖量 (クロロフィル a 濃度) は、+P 区 > +1/2FhP 区 > -P 区 > +FhP 区の順に高値を示した。この結果は、ferrihydrite に吸着した P (ferrihydrite-P) が藻類の増殖にほとんど利用されないことを示している。それに加え、ferrihydrite-P は培地中の藻類や栄養塩と吸着することで藻類の増殖速度および藻類の増殖量を低下させていると考えられた。

藍藻の培養前半において、培養液中のクロロフィル a 濃度は、時間の経過とともに +P 区で明らかに増加する傾向が見られた。それ以外の処理区 (-P 区、+FhP 区、+1/2FhP 区) においてもクロロフィル a 濃度が増加する傾向は確認されたが、+P 区以外の処理区における培養期間中の藍藻の最大増殖量は、+P 区の半分以下の値であった。特に、酸化鉄鉱物に吸着した P を添加した FhP 区のクロロフィル a 濃度に関しては、実験期間を通じて最も低く推移し、その最大増殖量は、+P 区の 1/4 以下の値を示した。この結果は、ferrihydrite 吸着態 P の生物利用性の低さを表している。水質環境の還元化や pH の変動、溶存イオンの変化によって、この結果は変動することが考えられるため、条件を変えた実験によって総合的に検討することが必要であり、今後の課題といえる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yamamoto, K. and Y. Hashimoto.	4. 巻 46
2. 論文標題 Chemical Species of Phosphorus and Zinc in Water-Dispersible Colloids from Swine Manure Compost.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of environmental quality	6. 最初と最後の頁 461-465
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi:10.2134/jeq2016.11.0433	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 安達遥・橋本洋平
2. 発表標題 鉄水酸化物(ferrihydrite)に吸着したリンがSynechococcus sp.の生育に及ぼす影響
3. 学会等名 環境化学討論会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 安達遥・橋本洋平・伊藤大輔
2. 発表標題 水田土壌の水分散性コロイドに含まれるリンの化学状態
3. 学会等名 日本土壌肥料学会仙台大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 安達遥・橋本洋平・伊藤大輔
2. 発表標題 水田土壌由来の水分散性コロイドの元素組成と鉄およびリンの化学形態
3. 学会等名 土壌物理学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 山本航介・橋本洋平・佐藤恵利華・福永亜矢子・豊田剛己
2. 発表標題 豚ふん堆肥連用土壌およびコロイド粒子に蓄積したリン・銅・亜鉛の化学形態
3. 学会等名 日本土壌肥料学会佐賀大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 山本航介, 橋本洋平
2. 発表標題 豚ふん堆肥の水分散性コロイドに含まれるリン・銅・亜鉛の環境影響
3. 学会等名 環境化学討論会
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 橋本洋平・高本慧・小林和樹
2. 発表標題 黒ボク土のリン・酸化物鉱物・腐植の三重複合体の存在
3. 学会等名 土壌肥料学会
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 山本航介・橋本洋平・佐藤恵利華・福永亜矢子・豊田剛己
2. 発表標題 豚ふん堆肥連用圃場におけるリン・銅・亜鉛の蓄積形態と経年変化
3. 学会等名 土壌肥料学会
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 小林和樹, 橋本洋平, 木庭啓介
2. 発表標題 化学肥料および堆肥を21年間連用した黒ボク土壌中のリンと炭素の蓄積および化学形態
3. 学会等名 土壤肥料学会
4. 発表年 2015年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	豊田 剛己 (Toyota Koki) (30262893)	東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・教授 (12605)	
研究分担者	山口 紀子 (Yamaguchi Noriko) (80345090)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・農業環境変動研究センター・上級研究員 (82111)	