

平成 26 年度

修士論文

湛水土壤表面近傍の酸化還元過程の微視的観察

Microscopic observation of oxidation and reduction
processes near surface of ponding soil

三重大学大学院生物資源学研究科
資源循環学専攻 物質循環学講座
土壤圏循環学教育研究分野

513M102 竹内 萌実

第1章 はじめに	----- 1
第2章 土の酸化と還元	----- 4
2.1 好氣的な土における有機物分解と呼吸	
2.2 嫌氣的な土における有機物分解と呼吸	
2.3 酸化と還元	
2.4 酸化還元電位 (Redox potential, Eh)	
2.5 土中の酸化還元電位 Eh と物質の形態変化	
2.6 湛水土中の酸化還元電位 Eh の経時変化	
2.7 表面酸化層	
2.8 脱窒反応	
第3章 試料の調整と実験器具	----- 18
3.1 試料	
3.2 粉砕機	
3.3 センサ	
3.3.1 Eh センサ	
3.3.2 DO センサ	
3.3.3 pH センサ	
3.3.4 4 極センサ	
3.4 Unisense マイクロセンサ	
3.5 DR6000	
3.5.1 DR6000 の測定原理	
3.5.2 吸光度の測定原理	
第4章 Eh と DO の空間分布の検証	----- 32
4.1 試料	
4.2 実験方法	

4.3 結果	
4.4 考察	
第5章 異なる有機物を添加した場合の土中の Eh 変化	----- 38
5.1 試料	
5.2 実験方法	
5.3 結果	
5.4 考察	
第6章 グルコース添加土の酸化還元過程に浸透フラックスや浸透水中の NO_3^- 濃度の 違いが及ぼす影響	----- 46
6.1 試料	
6.2 実験方法	
6.3 結果	
6.4 考察	
第7章 稲わら添加土の酸化還元過程に浸透フラックスや浸透水中の NO_3^- 濃度の 違いが及ぼす影響	----- 78
7.1 試料	
7.2 実験方法	
7.3 結果	
7.4 考察	
第8章 考察	----- 110
第9章 おわりに	----- 114
参考文献	----- 116
謝辞	----- 118
付録	----- 120

第1章 はじめに

水田や湿地のように高い頻度で湛水にさらされる環境では、土中の酸化還元反応が窒素や炭素の形態変化を支配している。特に窒素については、土に投入された有機物が地表面にある表面酸化層で微生物による無機化と硝化を受け、アンモニウムイオンから硝酸イオン(NO_3^-)へと態を変える。この NO_3^- が水の浸透により下層の還元層に流下すると、多くは脱窒され窒素ガスとなり大気に放出されるが、一部は灌漑や強雨により地下水へと流下し地下水汚染を引き起こす。また、脱窒過程で発生する亜酸化窒素ガス(N_2O)は地球温暖化に寄与する温室効果ガスとして知られており、気候変動に関する政府間パネル(IPCC)第5次評価報告書では、農地における N_2O 発生の削減を掲げている。そこで、土中の窒素や炭素の挙動を把握し、環境に優しく持続可能な農業に向けた取り組みを行う必要があり、そのためには表面酸化層と還元層からなる土の酸化還元状態を理解することが重要である。

土中での還元反応は主に微生物の働きにより進行する(山口, 2011)。好気性微生物は有機物を分解する際に電子受容体として酸素(O_2)を消費し ATP を生成する。土を湛水すると O_2 の供給が絶たれ、土は嫌気状態へと変化する。このような環境の変化により、微生物の活動も好気性から嫌気性へと変化する。嫌気性微生物は O_2 のかわりに NO_3^- や Mn^{4+} 、 Fe^{3+} を電子受容体として利用し有機物を分解する(Brady and Weil, 1996)。このように、電子受容体が次々に切り替わっていくことで土の還元が進行していく。一方、酸化反応は微生物が関与せず化学的に進行する場合が多く、湛水土の乾燥過程において、わずかな大気の侵入が土中の酸化還元状態の変化に大きな影響を与える(武藤ら, 2013)。このように、土の酸化還元反応は湛水や断水などの水管理条件や、土に含まれる有機物の量や質などの微生物活動に作用する要因が関与した複雑な現象である(長谷部ら, 1986)。そのため、水の流れとともに O_2 や有機物、 NO_3^- 、等の基質の動きと酸化還元状態の詳細な関係を評価する必要がある。

土の酸化還元状態の指標として酸化還元電位(Redox potential, Eh)がある。この Eh

をもとに、これまで多くの観測やモデル実験で土中の酸化還元反応が議論されてきた。室内実験において、バッチ試験のように水の流れを伴わない実験系では、Engler et al. (1976)は閉鎖型のフラスコ内で、湛水土中の NO_3^- 濃度の時間変化を Eh、DO とともに観察し、湛水からの O_2 の拡散が土中の酸化還元状態と脱窒に及ぼす影響を検討した。また、高井ら(1973)は湛水土中の表層部から内部にかけて各層の Eh と窒素三態の濃度を測定し、酸化還元状態の変動と窒素の形態変化の相互関係を明らかにした。一方、糟谷(2008)は湛水カラム浸透実験を行い、異なる浸透速度与えた場合で NO_3^- の脱窒量を見積もった結果、 NO_3^- の脱窒量が浸透速度に依存する事を明らかにした。一方現場実験では、長谷部ら(1986)は小型ライシメータを用いて土壌表層(0~2 mm)と作土内部(5 cm 深)の Eh を測定し、酸化層と還元層の分化の様子を、水管理条件(浸透、間断灌漑、中干し)の違いにより観察した。これらの研究により、水の流れと土中の酸化還元状態や窒素動態の関係については理解が進んできた。こうした酸化還元や窒素動態は、表面酸化層での反応が重要と知られている。しかし、土壌表面近傍は浸透にともなう O_2 や NO_3^- などの流下の影響を直にうけるため酸化還元状態が激しく変化し、また空間変動も大きい。そのため、測定技術上の制限により実際に土壌表面近傍の酸化状態を調べた例はほとんどない。そこで、竹内ら(2013)は、空間分解能 500 μm の Eh、DO マイクロセンサを用いて純水の浸透にともなう土壌表面近傍の酸化還元状態の変化を微視的に観察した。その結果、表面酸化層の分化過程を実測し、その厚さや発達速度が浸透速度に依存する事を明らかにした。しかし、現場のように湛水土中へ NO_3^- が流下する場合、酸化層と脱窒層の分化がいつどこで起こるのか明らかでない。他にも、表面酸化層や脱窒層の分化と発達に、有機物の種類(分解性や易動性)や NO_3^- 濃度、浸透フラックスの違いが及ぼす影響を条件ごとに評価した例はない。そこで本研究では、湛水土壌表面近傍の Eh や DO の微視的観察のもと、浸透フラックスや基質が土中の酸化還元過程やその分布にどのような影響を及ぼすのかを明らかにする事を目的とした。そこで、2章では土中で起こる酸化還元反応のメカニズムや酸化還元電位の実測例を、

3 章では実内実験で用いた試料や測定機器とその詳細を示す。4 章では、湛水土中の還元過程における Eh や DO の空間分布を観察するためバッチ試験を行った。5 章では、土に添加する有機物の違いが土の還元する速度や程度にどのような影響を及ぼすのかを検証するため、バッチ試験を行った。そして 6、7 章は、一次元カラム実験により、土に易動性のグルコースと不動性の稲わらを添加した場合で土表面近傍の酸化還元過程と酸化、脱窒層の分化と発達にどのような違いが生じるのか明らかにする事を目的とし、6 章では土にグルコースを添加した場合の結果を考察した。8 章は 6、7 章の結果をまとめ考察した。

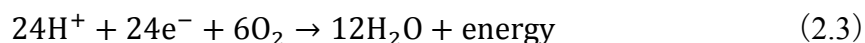
第2章 土の酸化と還元

2.1 好氣的な土における有機物分解と呼吸

土中の微生物は呼吸により O_2 を取り込み、代謝により有機物を酸化してエネルギーを得る。この時、 O_2 は有機物を酸化する時の電子受容体として働く。



式2.1はグルコースの分解の全体反応を表わしている。この反応は、図2.1のように解糖系、クエン酸回路、電子伝達系の3つの過程に分けることができ、それぞれを半反応で表すと



解糖系は O_2 を必要としない嫌氣的な反応である。グルコースは分解され2分子のピルビン酸、4分子の H^+ と e^- が生成される(図2.1上)。ピルビン酸は酵素の働きにより脱炭素され、アセチル CoA と4分子の H^+ と e^- 、2分子の CO_2 が生成される(図2.1上)。アセチル CoA はクエン酸回路を一巡し(図2.1中)、 CO_2 にまで分解される(式2.2)。クエン酸回路では8分子 H^+ と e^- が生成され、解糖系と合わせて全体で24分子の H^+ と e^- が生成されたことになる。これらの H^+ と e^- は電子伝達系(図2.1下)で O_2 と反応し、 H_2O と多量の ATP が生成される(式2.3)。 H^+ と e^- のほか、各反応過程で生成された還元型補酵素(NADH や $FADH_2$)の還元により得られる ATP も含め、グルコース1分子の酸化により32分子の ATP が生成される。このうち、解糖系で生じる ATP は7分子であり、多くの ATP はクエン酸回路で生成される。

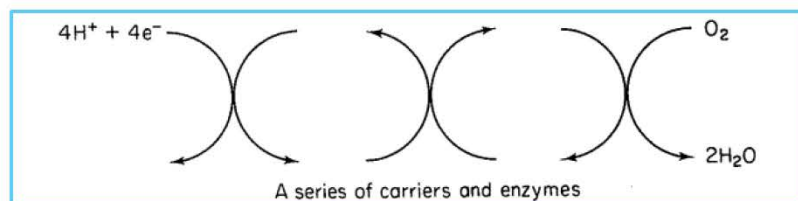
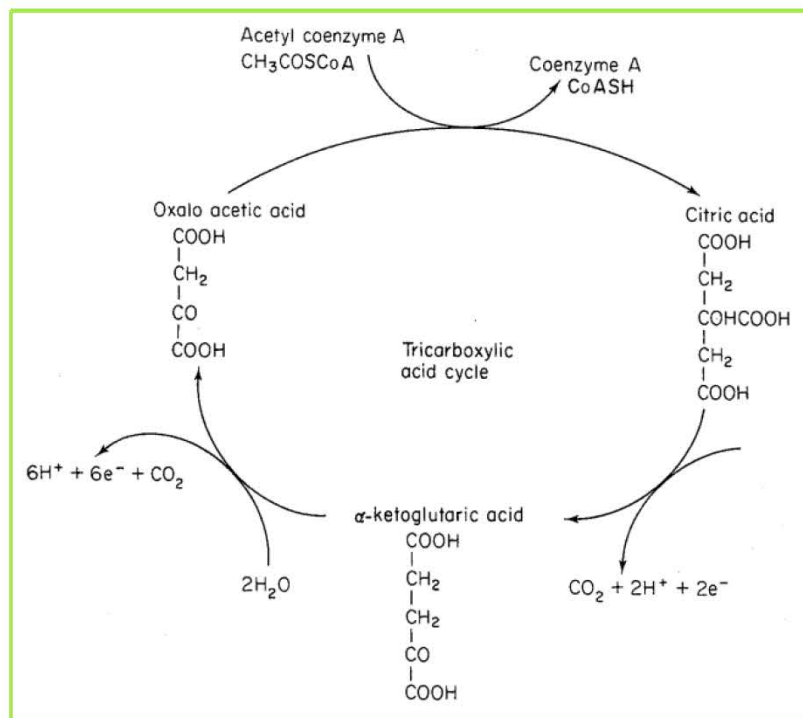
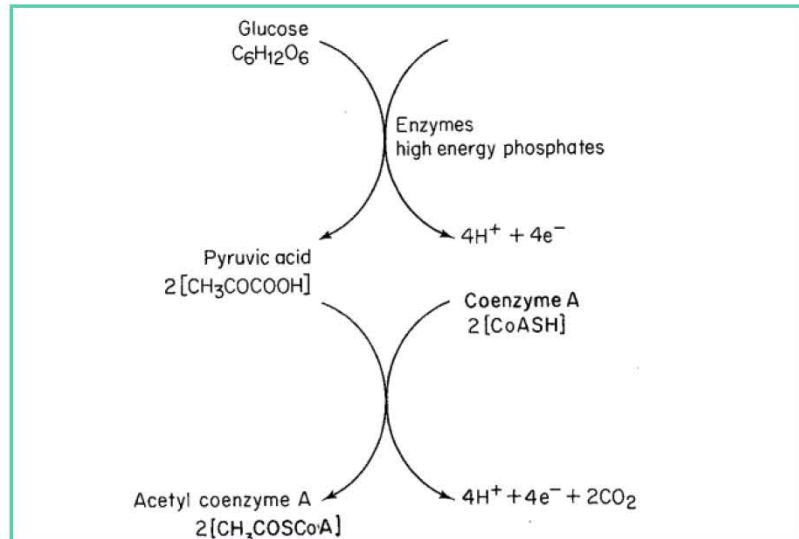


図 2.1 解糖系(上)、クエン酸回路(中)、電子伝達系(下)での反応過程
(D.J. Greenland and M.H.B. Hayes, 1981 より引用)

好気的な土において、呼吸速度は様々な要因により制限されるが、大きな要因として以下の事があげられる。

1.土中の有機物量

(セルロースやリグニンなど難分解性のものではなく、比較的分解しやすいもの。)

2.土中の温度や水分量

(微生物活動に適した条件であること。微生物種により異なる。)

3.気相中の O_2 濃度

畑地のような好気的な土では、気相中の O_2 濃度が低くなるまで呼吸速度は一定である。しかし、土壌表面が湛水すると、事実上大気からの O_2 の供給は絶たれる。そして、植物による光合成がない場合では、土中への O_2 の供給は湛水からの O_2 の拡散に依存する。水中におけるガスの拡散は気相中のガス拡散より約 10^4 倍遅い(Rowell, 1981)。そのため、 O_2 の拡散速度より微生物呼吸による O_2 の消費速度のほうが速く、土中の O_2 濃度は減少し続ける。やがて土中は好気から嫌気状態へと変化し、還元が進行する。

2.2 嫌気的な土における有機物分解と呼吸

土中が嫌気状態になると、好気性細菌の生育は制限され、死滅または休眠状態になる。一方で、嫌気性細菌の活性が高まり、嫌気呼吸が行われる。嫌気呼吸においても、好機呼吸と同様にグルコースをピルビン酸に分解する解糖系は働く。しかし、 O_2 の代わりに電子受容体を NO_3^- 、 Mn^{4+} 、 Fe^{3+} 、 SO_4^{2-} 、 CO_3^{2-} のような土中に存在する無機イオンを酸化しやすいものから利用し有機物を分解する (Engler, 1976)。図 2.2 に NO_3^- を用いた嫌気呼吸の一例を示す。

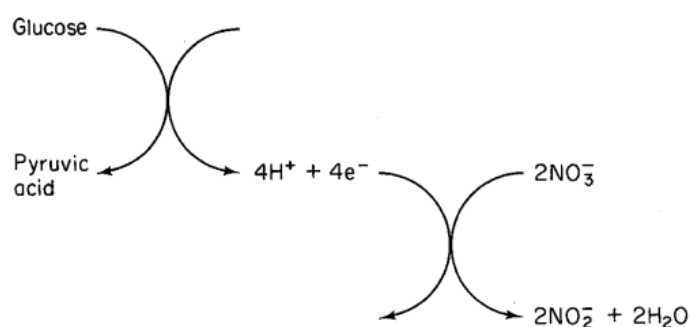
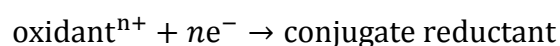


図 2.2 グルコースの酸化と NO_3^- の還元
(D.J. Greenland and M.H.B. Hayes, 1981 より引用)

2.3 酸化と還元

式 2.2、2.3 で示した半反応では酸化と還元が起きている。例えば、グルコースは H^+ と e^- を失い酸化し、逆に酸素は H^+ と e^- を受け取り還元する。このように、 H^+ と e^- を失い自らは酸化する物質を還元剤 (reductant) といい、その逆を酸化剤 (oxidant) という。酸化と還元は同時に行われている。



2.4 酸化還元電位 (Redox potential, Eh)

これまで示したように、酸化還元反応では e^- が物質間を移動する。この移動を起こそうとする力が、その物質系の電位としてあらわれる。それゆえ、無酸素状態の下である酸化還元系に不反応電極である白金電極を挿入し参照電極と対にして回路をつなぐと、電位差が生じる。この電位差は起電力 E という。起電力 E を1気圧、pH 0 の場合の水素電極 ($P_{H_2}=1$ 気圧、pH=0) を基準とした電位差であらわしたものが酸化還元電位 Eh である。酸化還元反応を(式 2.4)で考える。



n 個の e^- が酸化剤 (Oxidant) に移動する。この反応の Gibbs エネルギー変化は

$$\Delta G = \Delta G^0 + RT \ln K \quad \dots (2.5)$$

(平衡定数 K は $K = \frac{(\text{Oxidant})}{(\text{Reductant})} (H^+)^m$)

ΔG^0 は標準 Gibbs エネルギー変化であり、次のように表される。

$$\Delta G^0 = n\Delta E^0 F \quad \dots (2.6)$$

式 2.5、2.6 より

$$EF = nE^0 F + RT \ln K$$
$$\therefore E = E^0 + \frac{RT}{nF} \ln K \quad \dots (2.7)$$

式 2.7 の E を Eh で表すと式 2.8 が得られる。

$$\text{Eh} = E^0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{(\text{Ox})}{(\text{Red})} (\text{H}^+)^m \quad \dots (2.8)$$

ここで E^0 は標準酸化還元電位、 F はファラデー定数 (96487 J/V・mol)、 R は気体定数 (8.31470 J/K・mol)、 T は絶対温度 (273.15 + 25 K) である。これより、式 2.8 は

$$\begin{aligned} \text{Eh} &= E^0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{(\text{Ox})}{(\text{Red})} + \frac{RT}{nF} \ln (\text{H}^+)^m \\ &= E^0 + \frac{0.025 \times 2.303}{n} \log \frac{(\text{Ox})}{(\text{Red})} + (0.025 \times 2.303) \times \frac{m}{n} \log (\text{H}^+) \\ &= E^0 + \frac{0.059}{n} \log \frac{(\text{Ox})}{(\text{Red})} - 0.059 \frac{m}{n} \text{pH} \\ &= E^0 + \frac{0.059}{n} \log \frac{(\text{Ox})}{(\text{Red})} - 0.413 \frac{m}{n} \quad (\text{pH } 7 \text{ の場合}) \end{aligned}$$

pH 7 の時の E^0 を E^7 とすると

$$\begin{aligned} E^7 &= E^0 - 0.413 \frac{m}{n} \\ \therefore \text{Eh} &= E^7 + \frac{0.059}{n} \log \frac{(\text{Ox})}{(\text{Red})} \quad \dots (2.9) \end{aligned}$$

2.5 土中の酸化還元電位 Eh と物質の形態変化

すべての酸化還元反応において、 e^- と H^+ は同時に移動している。前節の式 2.9 の導出過程にもあるように、Eh は pH の項を含んでおり、故に pH によって Eh も異なる。そのため、土中の酸化還元状態は基本的に酸化還元電位 Eh と pH で考えられる。そこで、Eh や pH を測定することで、土中の窒素や炭素などの化学形態を推測することが出来る。図 2.3 に物質の形態変化と、Eh-pH の関係を示す。

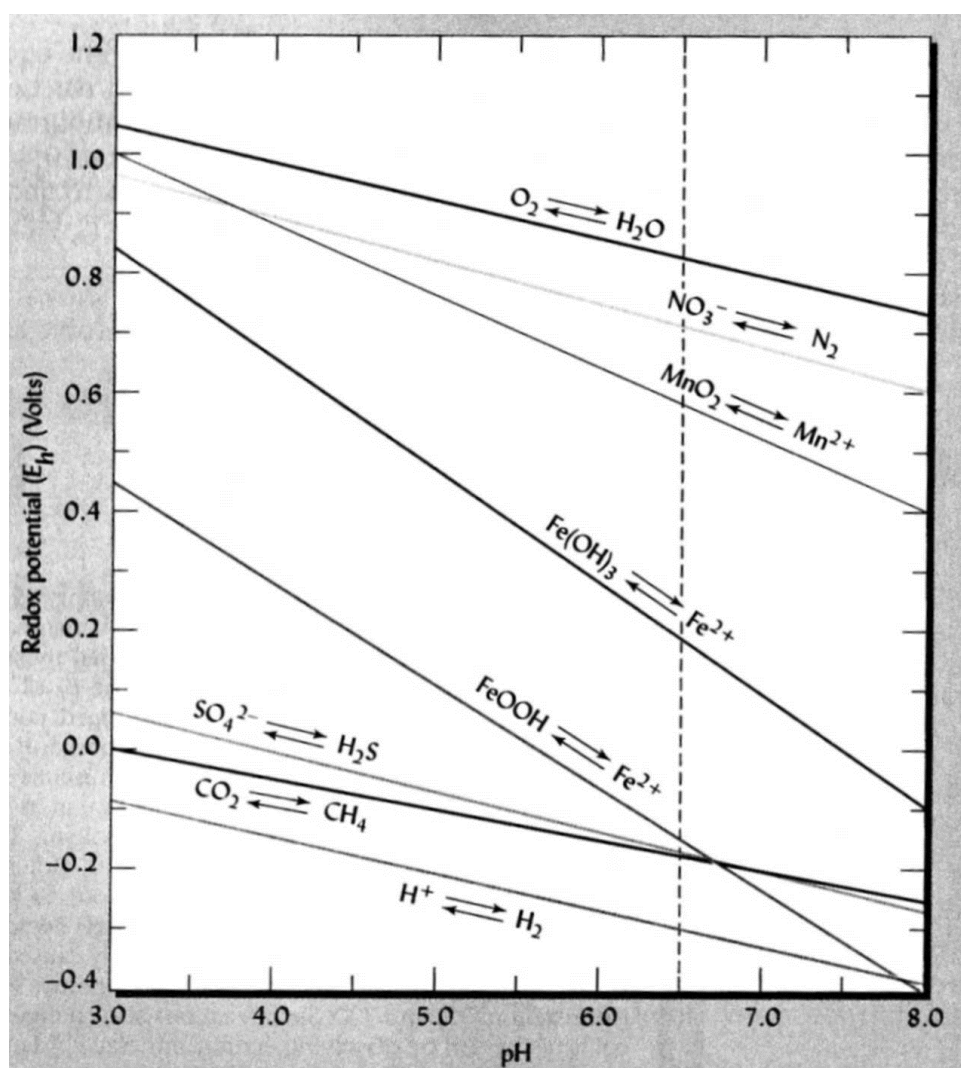


図 2.3 元素の形態変化と Eh-pH 関係 (Brady and Weil, 1996)

物質の態は図中の実線より左側では還元態になり、右側では酸化態をとる。例えば、pH 6.5 の時で考えると、 NO_3^- は Eh がおよそ 700 mV 以下で還元態の N_2 に変化する。この図を見ると、 O_2 から NO_3^- 、 Mn^{4+} へと電子受容体が切り替わるのと同時に、Eh が低下する様子がわかる。しかし、実際に還元反応を担うのは微生物であるため、反応速度や物質を還元する際の電位は、土中の基質や温度に強く依存する(山口, 2012)。故に、実際に測定する Eh は図 2.3 で示した理論値と異なり、380~320 mV 低くなると言われる(Brady and Weil, 1996)。Sposito(1981)は、pH 7 において、酸化的な土は $\text{Eh} > 412$ mV、還元的な土は $\text{Eh} < 120$ mV と示した。また、Patrick et al.(1992)は pH 6.5 土中の各元素の酸化還元反応と Eh の実測値を示した(表 2.1)。

表 2.1 実測による各元素の形態変化と Eh の関係

<i>Element</i>	<i>Oxidized form</i>	<i>Charge on oxidized element</i>	<i>Reduced form</i>	<i>Charge on reduced element</i>	<i>E_h at which change of form occurs, V</i>
Oxygen	O_2	0	H_2O	-2	0.38 to 0.32
Nitrogen	NO_3^-	+5	N_2	0	0.28 to 0.22
Manganese	Mn^{4+}	+4	Mn^{2+}	+2	0.22 to 0.18
Iron	Fe^{3+}	+3	Fe^{2+}	+2	0.11 to 0.08
Sulfur	SO_4^{2-}	+6	H_2S	-2	-0.14 to -0.17
Carbon	CO_2	+4	CH_4	-4	-0.20 to -0.28

2.6 湛水土中の酸化還元電位の経時変化

好気的な状態の土を湛水した後の一般的な土中の Eh、pH、溶存酸素量 DO の経時変化を図 2.4 に示す。湛水初期には、好気性微生物が液相中の O_2 を電子受容体として利用し、易分解性有機物を分解する (Jenkinson and Franzmeimer, 2006)。この際、 e^- と H^+ が放出され土の Eh と pH は下がる。やがて、DO がほとんど消費され、土中が嫌氣的になると、土中細菌の呼吸は好気から嫌気呼吸に代わる。この時、土中に NO_3^- が十分に存在すると O_2 の代わりに NO_3^- が電子受容体として利用されるため、Eh はおよそ 300 mV 付近で停滞する。この NO_3^- の還元反応を脱窒と呼ぶ。 NO_3^- を使い切ると、Eh は約 -300 mV まで低下する。また、グルコースのような易分解性炭素が分解されると、Eh は H_2-H^+ 系の電位である $Eh_7=-420$ mV を示す (山根、佐藤, 1968)。Eh が低下しきると e^- と H^+ が反応し、 H_2 ガスが発生する (山根、佐藤, 1968)。すると、Eh と pH が徐々に上昇し、 Mn^{4+} や Fe^{3+} の還元へと移る。また、初期還元が終わると、有機物分解で生じる H^+ と Fe^{3+} の還元で消費する H^+ が釣り合い、pH は一定値で安定する (松中, 2003)。

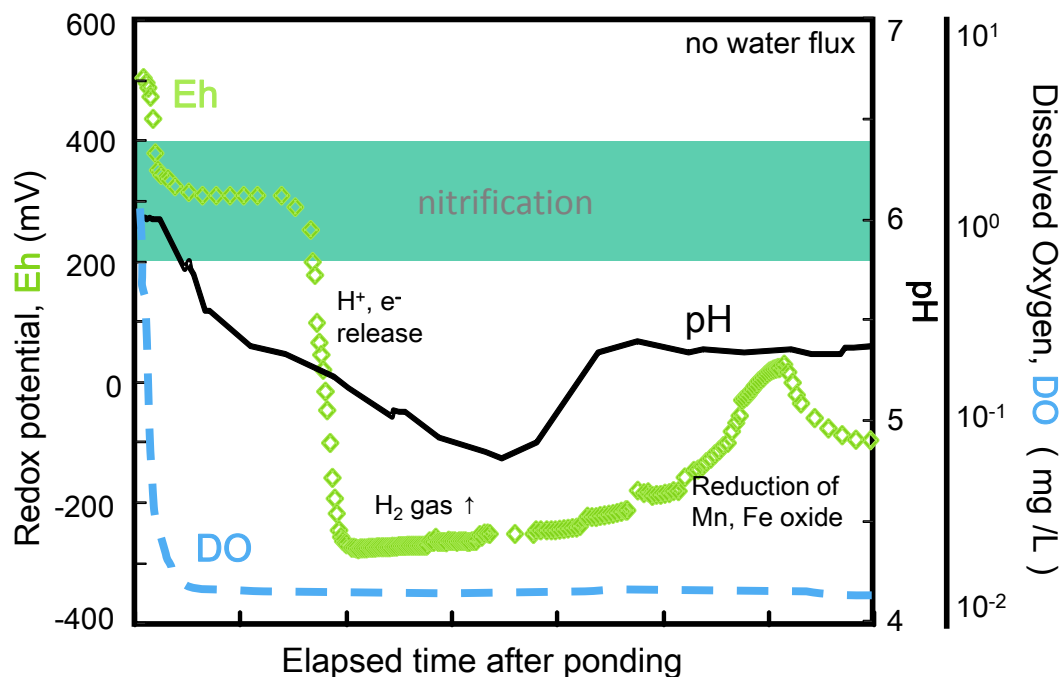


図 2.4 Eh、pH、DO の経時変化

2.7 表面酸化層

これまで、微生物の働きによる湛水土の還元過程を説明してきた。しかし、土壤表面近傍は対照的に酸化するというのは水田の酸化還元状態としてよく知られている話である。湛水当初、水田土の最表層は還元状態におかれている。しかし、土中の有機物が微生物に分解されて減少していくと、微生物の分解活動が衰え、 O_2 の消費量が減少する。その結果、浸透水中にわずかに溶け込んでいる大気中の O_2 や、湛水中に生息する藻類から発生する O_2 が微生物に消費されず、土壤表面近傍を酸化する。このようにして酸化した表層は表面酸化層と呼ばれている(松中, 2003)。

この表面酸化層の存在はよく知られているものの、還元土からの分化過程や実際の厚さなど、詳細な実態はわかっていなかった。これは、数 mm 程と言われる表面酸化層の詳細を調べる事は、従来のセンサの精度では不可能であったからである。近年、空間分解能 500~10 μm で Eh や DO を測定できるマイクロセンサが開発された。そこで竹内ら(2013)はこのマイクロセンサを用いて土壤表面と下層の還元の進行の違いや表面酸化層の形成に、浸透速度が与える影響を明らかにすることを目的に一次元カラム実験を行った。

図 2.5 に土壤カラムに純水を浸透した時の 0.2 cm、2.5 cm 深の Eh の経時変化を示す(竹内ら, 2013)。純水浸透開始から 3 日目、2.5 cm 深の Eh は還元が進行していくのに対し、0.2 cm 深の Eh は DO とともに上昇した。浸透開始から 10 日目、0.2 cm 深の Eh は 400 mV 以上に、DO は 2 mg/L 以上になり酸化した。図 2.7 より土壤表面近傍の Eh、DO 分布をみると、浸透開始時(0 d)は Eh、DO ともに低く、全層で還元が進行している。その後浸透を開始すると、時間と共に地表付近の Eh、DO が上昇した。そして、浸透から 11 日目には Eh>400 mV、DO>2 mg/L の酸化的な層が 0.6 cm 形成された。還元土に水が浸透すると O_2 の供給により有機物の分解が進行する。やがて有機物が減少すると、微生物活動が低下し、 O_2 の消費量が減少する。すると消費量よりも供給量がまさり、DO が上昇する。そして DO の上昇により Eh も上昇し、表面近傍は酸化になる。また、酸

化層の形成する速さや厚さは、流速や残存する有機物量によって異なると考えられる。

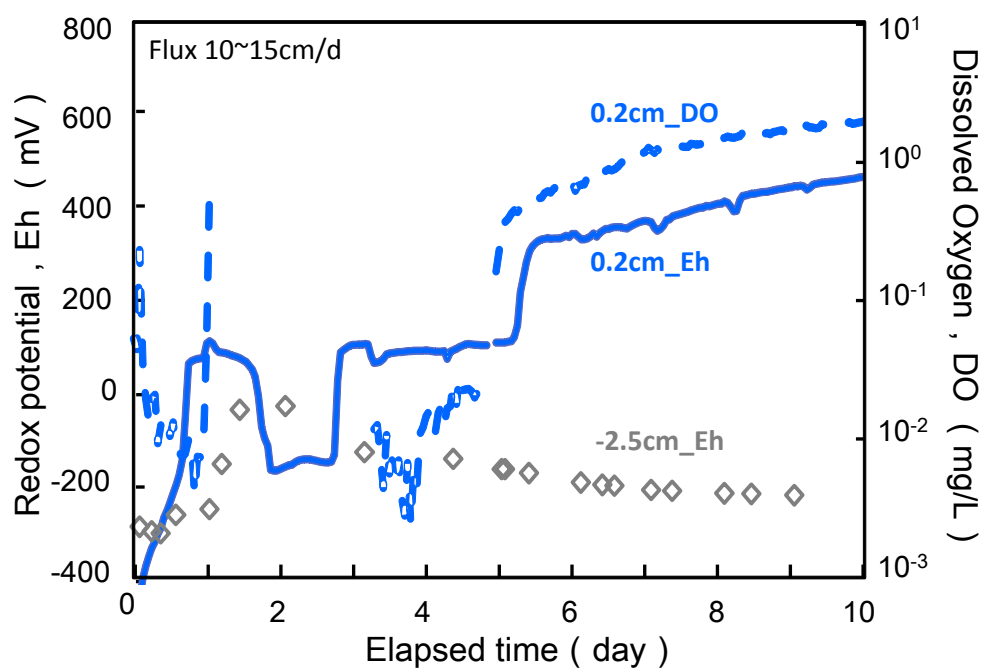


図 2.5 流れがある条件下での 0.2、2.5 cm 深の Eh、DO の経時変化。フラックス 10～15 cm/d で純水を浸透。(Takeuchi et al., 2013)

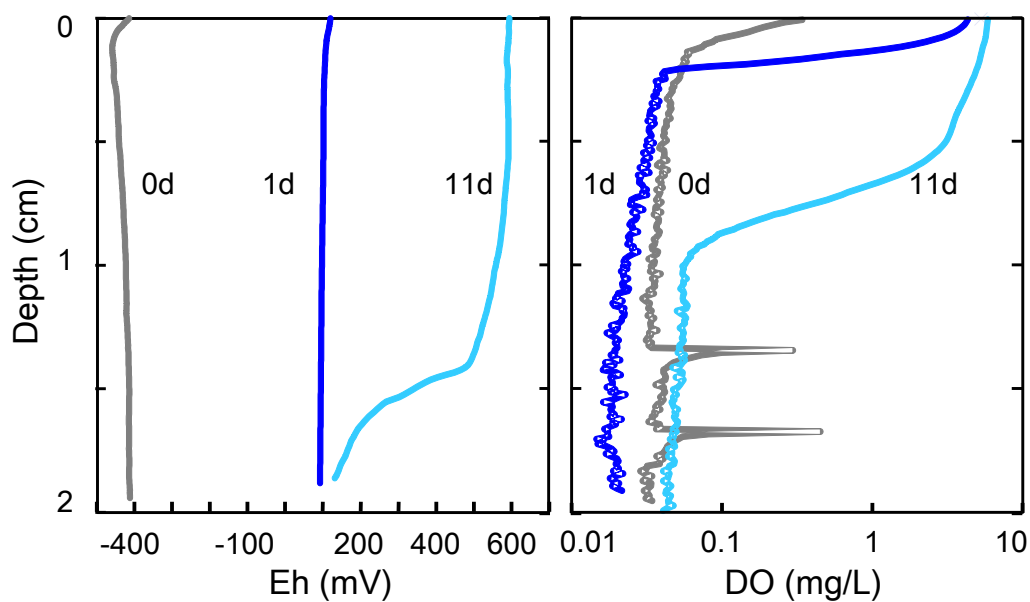
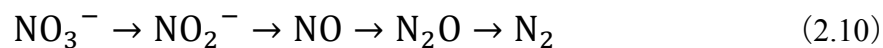


図 2.6 純水浸透開始(0 d)から 1、11 日後の Eh、DO 分布。0 cm は地表面を示す。

2.8 脱窒反応

脱窒反応では、 NO_3^- が以下のように態を変える。



土壌・水圏には様々な酸化還元状態が存在し、酸化的環境で生成した NO_3^- が還元環境に移流・拡散すると脱窒によって消失する。 NO_3^- の還元・消失の過程では、中間産物である亜硝酸(NO_2^-)や N_2O が生成、集積する場合がある(糟谷, 2012)。Patrick and Mahapatra(1968)は NO_3^- を添加した土を湛水し、土中の窒素の化学形態がどのように変化するかを示した(図 2.7)。

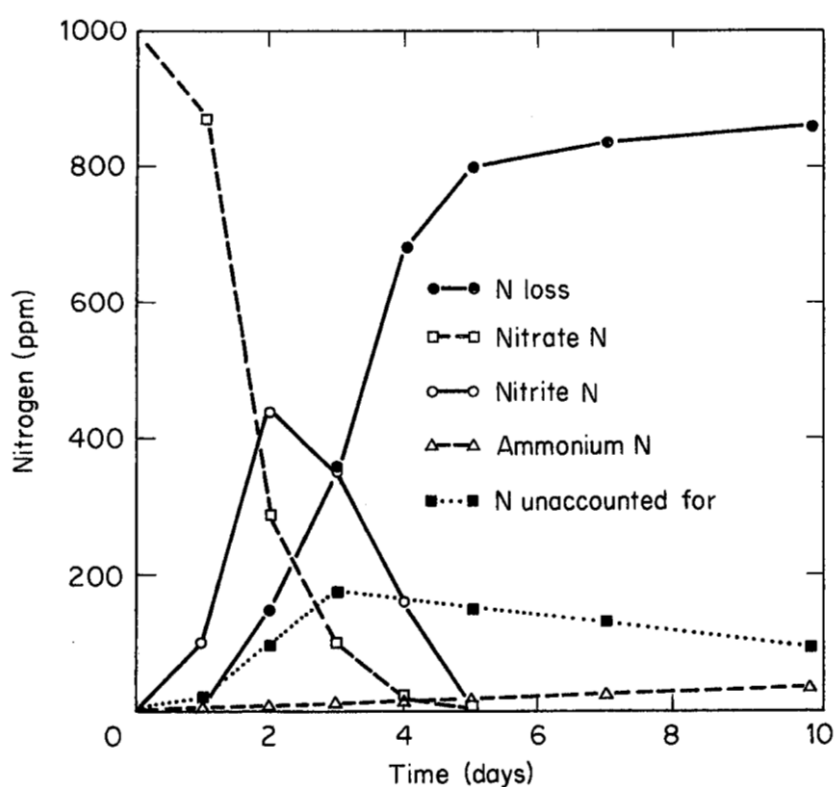
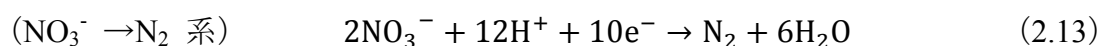
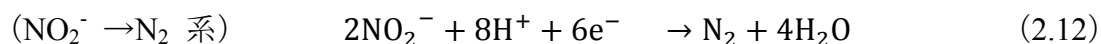
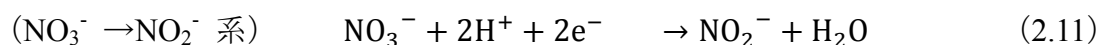


図 2.7 湛水土中の窒素の形態変化の様子 (Patrick and Mahapatra, 1968)

このような脱窒反応を半反応で表すと以下ようになる。



好気状態の土中では NO_3^- は安定的に存在するため、2.13 の反応は右に進まない。湛水などにより土が嫌気状態になると ($\text{Eh} < 350 \text{ mV}$)、 NO_3^- は非常に不安定になり、やがて N_2 に還元される。また、 NO_2^- は状態が非常に不安定なため、 NO_3^- が NO_2^- に態を変えると直ぐに N_2 へと変化する。また、 NO_3^- の還元は嫌気状態でしか起こらないが、 NO_2^- は状態が不安定であるがゆえ、好気状態であっても土中に存在する還元剤の働きにより還元する (Skerman, 1958)。

Redman and Patrick (1965) は湛水土に異なる濃度の NO_3^- を浸透し、各濃度の Eh の経時変化の詳細を示した (図 2.8)。 NO_3^- の脱窒により Eh は -200 mV から 100 mV 程度まで上昇し、 NO_3^- 濃度が低い順に Eh は再び低下した。しかし、一般的に言われている脱窒の電位 300 mV には到達しなかった。また、池田ら (2012) は還元土を充填したカラムに異なる濃度の NO_3^- 溶液を浸透させたところ、 NO_3^- 濃度や深さ毎に Eh の上昇幅が異なる事を明らかにした (図 2.9)。このように脱窒の際の Eh の値が実験毎に異なる原因として、土の不均一性や土中に還元剤が存在していたことによると考えられるが、詳細はわかっていない (Rowell, 1981)。また、反応に関わる微生物の活動に必要なエネルギー源が土中に十分ないと反応はおこらない (山根, 1982)。2.4 節でも述べたように、理論値と実測値の間にはしばしば差が生じる。

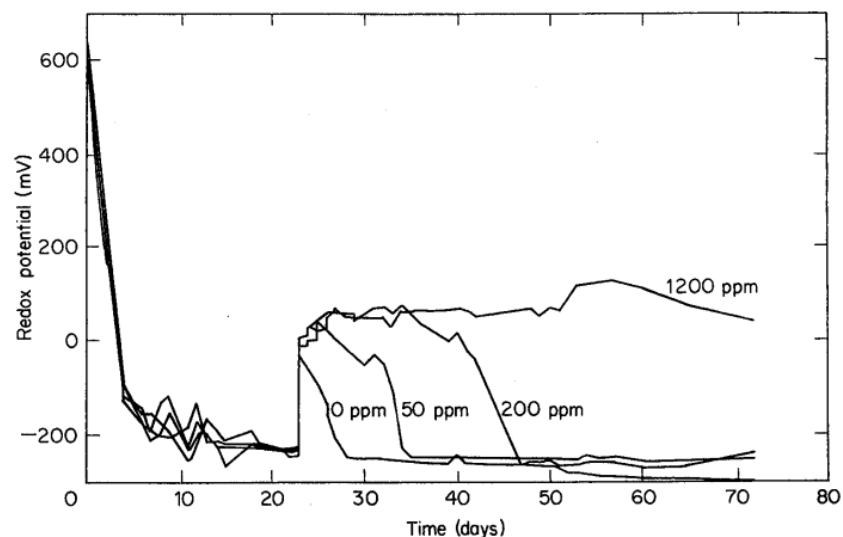


図 2.8 湛水土中への NO_3^- 浸透が Eh に及ぼす影響 (Redman and Patrick, 1965)

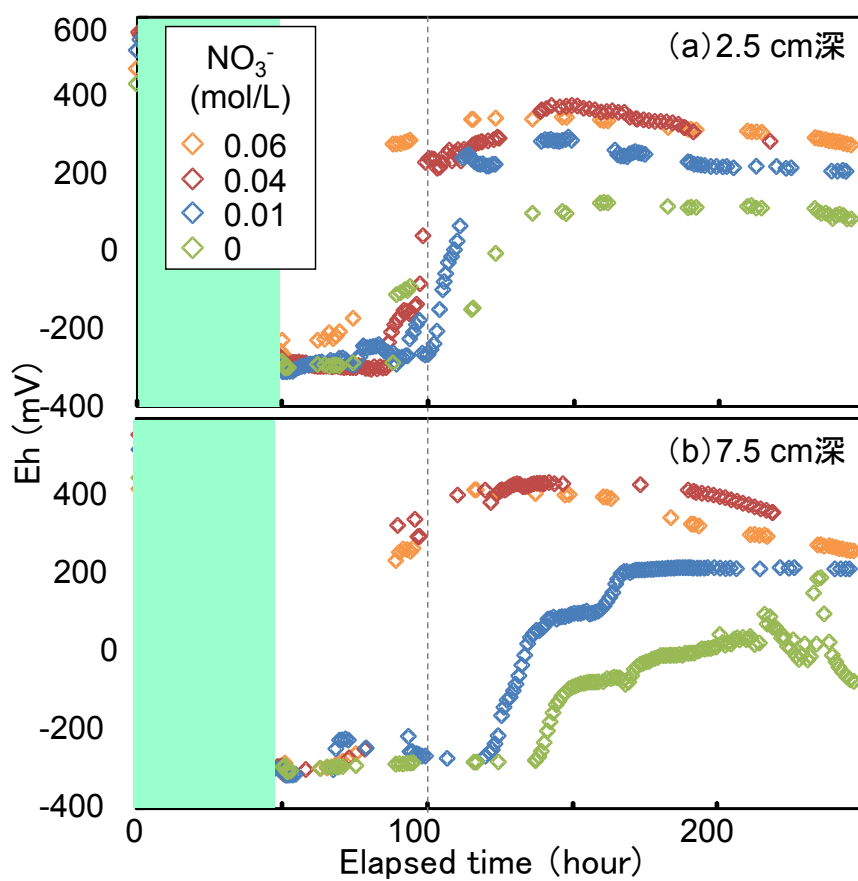


図 2.9 湛水土中への NO_3^- 浸透が Eh に及ぼす影響 (Ikeda et al., 2012)
還元土をカラムに充填し静置した後、50 時間から NO_3^- の浸透を開始した。

第3章 試料の調整と実験器具

第3章では、実験に用いた試料と測定機器について説明する。

3.1 試料

実験に使用した試料と添加基質

三重大学附属農場水田表土

豊浦砂

稲わら(コシヒカリ)

グルコース

三重大学附属農場の水田表土は、採取した生土を風乾させた後 2 mm フルイを通過したものを用了。



図 3.1.1 三重大学附属農場の水田土の採取場所★と採取時の様子

3.2 粉碎機

試料に加える稲わら(コシヒカリ)の処理方法を以下に示す。収穫後、1年間野外で風乾させた状態の稲わらを使用した。この稲わらを5 cm 長にはさみで切断し(図 3.2.1 (a))、60 °Cで48時間炉乾した。この稲わらを粉碎机(ウイレー型粉碎机、吉田製作所)で粉碎し(図 3.2.1 (b))、1 mm メッシュ通過分を採取した(図 3.2.1 (c))。ウイレー型粉碎机の使用法は付録に詳細を示した。

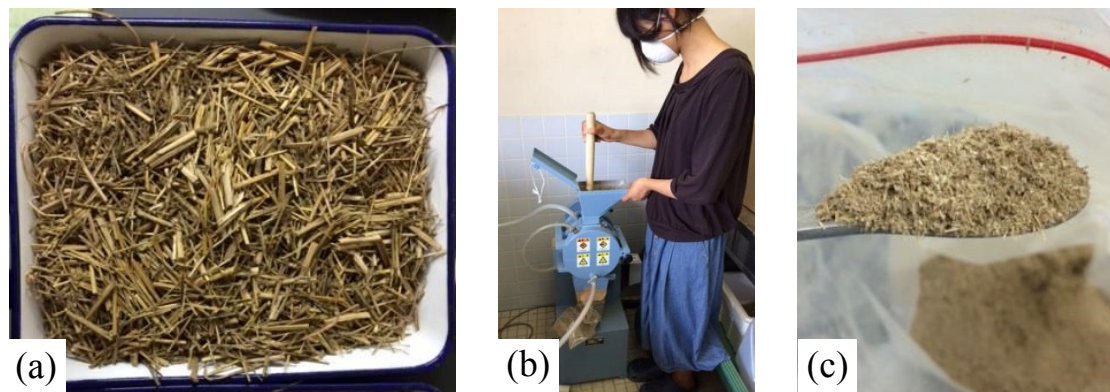


図 3.2.1 (a)風乾稲わら (b)粉碎の様子 (c)粉碎稲わら

3.3 センサ

実験で使用したセンサの特徴や校正、カラムへの設置方法などを順に示す。

3.3.1 Eh センサ

酸化還元電位の測定には、2 種類の酸化還元電位センサ(以下 Eh センサ)を使用した。

1 つは、藤原製作所のポータブル Eh 計(PRN-41 型)である(図 3.3.1)。参照電極と白金電極からなり、ケーブルをポータブル pH / 硝酸 / Eh 計に接続し測定する。藤原の Eh センサの特徴は、電極を土に直接挿して測定できる点である。測定値は様々な要因で変化するが、次の 3 点を注意する。

- ① 金電極はきれいにし十分還元しておく
- ② 白金電極の表面積は十分に大きい
- ③ 電極と土壌の接触時間は十分大きい(山根ら, 1982)。

また、白金電極を使用する前には必ず濾紙で白金の表面を軽く磨くこと。白金に酸化被膜があると正しく測定できないため、この被膜を除去する必要がある。ただし、先端の白金は折れやすいので注意が必要である。ポータブル pH / 硝酸 / Eh 計の詳しい使用法はマニュアル(土壌用 pH/ 硝酸/ Eh 計 PRN-41型用 Eh 電極セット 取扱説明書)を参考に。



ポータブル pH / 硝酸 / Eh 計

↑ 白金電極 参照電極 ↓

図 3.3.1 藤原製作所の Eh センサ
上からポータブル Eh 計、白金電極、参照電極

参照電極(東亜ディーケーケー株式会社, 4400 型)

- 内部電極 : 塩化銀電極
- 内部液 : 飽和塩化カリウム(無補給)
- 電極電位 : 約 200 mV (25 °C)、対標準水素電極電位
- 使用温度 : 0~50 °C
- 外形寸法 : 電極部 $\phi 12 \times 130$ mm
リード線 65 cm リード線ホーンチップ端子付き
- 重量 : 約 40 g
- 保管 : 先端部を蒸留水に浸し保管

白金電極(藤原、EP-201 型)

- 白金部寸法 : $\phi 0.5$ 、 $L = 15 \pm 3$ mm
- 支持管材質 : 内管 ガラス管 / 外管 アクリルパイプ
- プラグ材質 : ニッケル 局部金
- 内部導線 : 銀
- 使用温度 : 10~40 °C
- 外形寸法 : $\phi 10$ 、 $L = 235 \pm 5$ mm
- 重量 : 約 20 g
- 空間分解能 : $\phi 1$ cm

2 つめの Eh センサは、Unisense 社の Redox microelectrode である(図 3.2.2)。参照電極と白金電極からなる。このセンサの特徴は土に直接挿せるのはもちろん、他にも高い空間分解能、数百ミリ秒～十数秒の速い応答性などがある。また、空間分解能やセンサ先端の外径、ニードル加工など、タイプを必要に応じて選ぶことが出来る。本実験では、参照電極、白金電極ともにニードルタイプを使用した。



図 3.3.2 Redox microelectrode (Unisense)
上から Redox sensor (RD-N)、Reference sensor (REF-N)

参照電極(REF-N)

内部電極 : 塩化銀電極
内部液 : 塩化カリウム
使用温度 : -10~60 °C
外形寸法 : 全長 19 cm、ケーブル線 130 cm
先端寸法 : 直径 1.1 mm
空間分解能 : $\phi 500 \mu\text{m}$
重量 : 約 46 g
保管 : 先端を蒸留水で綺麗にし、1M KCl に浸して保管

Redox 電極(RD-N)

使用温度 : -10~60 °C
内部導線 : 銀
外形寸法 : 全長 20 cm、ケーブル線 150 cm
先端寸法 : 直径 1.1 mm
空間分解能 : $\phi 500 \mu\text{m}$
重量 : 約 37 g
保管 : 先端を蒸留水で綺麗にし、水を拭きとり保管

3.2.2 DO センサ

溶存酸素量 DO の測定には、Unisense 社の DO センサ (OX-N ニードル式) を使用した (図 3.3.3)。特徴は同社の Redox センサと同じである。



図 3.3.3 O₂ microsensor (Unisense、OX-N)

O₂ microsensor (OX-N)

- 使用温度 : -10~60 °C
- 外形寸法 : 全長 20 cm (ニードル部: 8 cm)、ケーブル線 200 cm
- 先端寸法 : 直径 1.1 mm
- 空間分解能 : $\phi 500 \mu\text{m}$
- 重量 : 約 39 g
- 保管 : 先端を蒸留水で綺麗にし、水を拭きとり保管

3.3.3 pH センサ

pH の測定には、Eh センサと同様に 2 種類のセンサを使用した。

1 つは、藤原製作所の土壌用 pH 電極 (EL6550-EM 型) である (図 3.3.4)。pH 測定用のガラス電極をポータブル pH / 硝酸 / Eh 計に接続し測定をする。先端部がガラスとなっているため、石など硬いものに強く当てないように気をつけて使用する。また、電極を土壌中に入れたまま長時間放置すると、電極の寿命が短くなるおそれがあるため、測定する際に土壌に挿す。



図 3.3.4 藤原の pH センサ

pH 電極 (EL6550-EM 型)

測定原理	: ガラス電極法
測定範囲	: pH 1~14
保管	: 先端部を蒸留水に浸し保管

2 つめは Unisense 社の pH センサ (OX-N ニードル式) である (図 3.2.3)。参照電極とガラス電極で測定する。参照電極は Redox センサと同じものを使用する。同社の Redox センサと同じ特徴を持つ。



図 3.3.5 pH electrode (Unisense、pH-N)

参照電極

Redox と同様

pH 電極 (pH-N)

使用温度 : -10~60℃
外形寸法 : 全長 20cm (ニードル部:5cm)、ケーブル線 200cm
測定範囲 : pH 2~10
先端寸法 : 直径 1.1mm
空間分解能 : $\phi 500 \mu\text{m}$
重量 : 約 46g
保管 : 先端を蒸留水で綺麗にし、蒸留水に浸して保管

3.3.4 4 極センサ

本実験では、土中の溶液濃度測定に 4 極センサを使用した。

作製した 4 極センサは、外径 1.25 mm の 4 本のステンレス棒の電極を、内径 5、あるいは 7.5 cm のアクリル製カラムの側面に平行に挿入したものである(図 3.3.4)。外側の 2 本が電流供給電極で、内側の 2 本が電圧測定電極である。

測定原理

外側の電流供給電極を流れる電流 I と内側の電圧測定電極間の電位差 V_2 の比 (I/V_2) を測定すると、この比は媒体の比抵抗に反比例し、電気伝導度に比例する。内側の電圧測定電極には電流がほとんど流れないため、電流電極周囲の接触抵抗などの局所的な抵抗の影響を避けることができる。電流供給電極を流れる電流 I は、回路内に既知の値の抵抗 R を入れて、その両端の電位差 V を測定することによって、 $I = V_1/R$ の関係から求まる。つまり、参照抵抗 R にかかる電圧 V_1 と電圧測定電極の電圧 V_2 の比 (V_1/V_2) が媒体の電気伝導度に比例する(井上、塩沢, 1994)。4 極センサと測定回路を以下の図 3.3.5 に示す。



図 3.3.4 作成した 4 極センサ

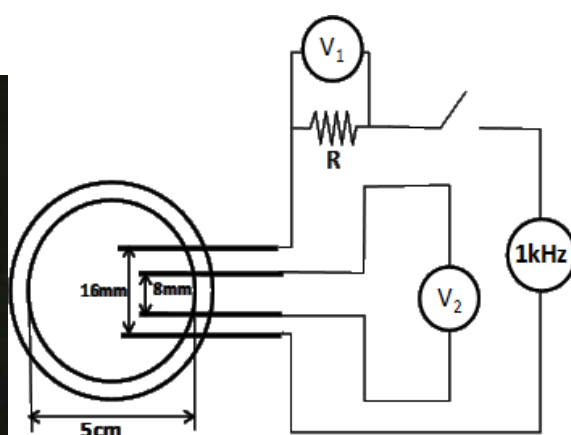


図 3.3.5 4 極センサと測定回路の概要

3.4 Unisense マイクロセンサ

Unisense のマイクロセンサは同社の Microsensor Multimeter (図 3.4.1) に接続して測定を行う。



図 3.4.1 Unisense Microsensor Multimeter.

<Microsensor Multimeter>

- ・ 4 つの極をもち、左側 2 極は電流測定用センサ (O_2 、 NO 、 H_2 、 H_2S 、 N_2O 等)、右側 2 極は電位差測定センサ (pH、Redox) に対応する。
- ・ Windows PC へ USB 接続が可能。PC に付属のソフトウェア Sensor Trace Basic をダウンロードし、校正や測定したデータの収集を行う。

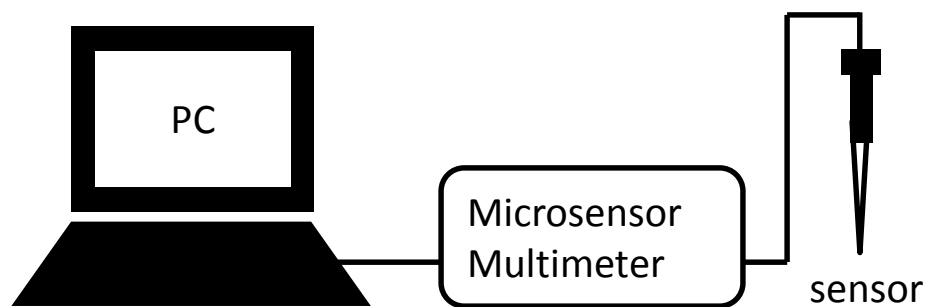


図 3.4.2 Unisense マイクロセンサの使用概念図

センサの校正法は付録に示した。

3.5 DR6000

土中に存在する無機態窒素の測定には土壌からの抽出液を用いた。抽出液の無機態窒素濃度を、HACH 社製の吸光光度計 DR6000 (図 3.5.1) により測定した。専用の 10 mL セル内で抽出液中の無機態窒素と試薬が反応すると、その反応により液色が変わる。変化した色が濃いほど液中の無機態窒素濃度は高く、また色が濃いほどその補色光の吸光度は大きい。DR6000 は、抽出液にその補色光を当て吸光度を測定し、抽出液の無機態窒素濃度を算出する。



図 3.5.1 吸光光度計 DR6000

3.5.1 DR6000 測定原理

色のついた物は、その色の補色光(図 3.5.2)を吸収している結果として人間の目にはその色に見えている。例えばりんごは、赤色の補色光である青緑の光を吸収している。

物の色が濃いほどその補色光は吸収されるため、補色光の吸光度は高い。この性質を利用し、セル内の溶液に補色光を当て吸光度を測定することで、溶液の色の濃さを測定できる。例えば硝酸態窒素の測定では、セル内溶液は試薬との反応により琥珀色(赤)になるため、その補色である青緑の光を吸収する。そのため吸光度の測定には、青緑の光である 500 nm の波長を使用する。

ところで DR6000 での測定において、土壌からの抽出液の色は、加えた専用試薬と反応した物質が多いほど濃くなる。そのため溶液濃度が高ければ、溶液の色は濃く吸光度も高い。このように溶液濃度と補色光の吸光度には相関があり、DR6000 はこの相関を利用して溶液濃度を計算している。

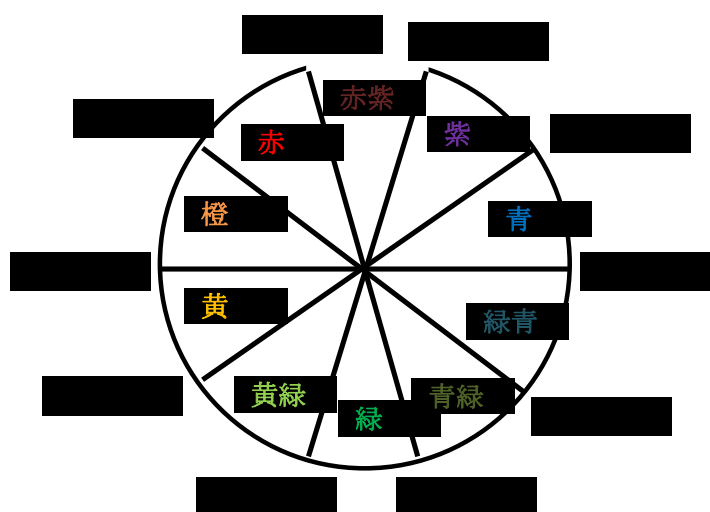


図 3.5.2 カラーサークル(1976. J.Griffis 考案)

3.5.2 吸光度の測定原理

DR6000 では、溶液の入ったセルに補色光を当てその透過度 $T(\%)$ を測定している。透過度は、セルを通過した光の割合である(式 3.1)。吸光度 A は 3.2 で表されるため、透過度を測定することによって吸光度を算出している。

$$\text{透過度 } T(\%) = \frac{I}{I_0} \times 100 \quad \cdots (3.1)$$

$$\text{吸光度 } A = -\log \frac{I}{I_0} \quad \cdots (3.2)$$

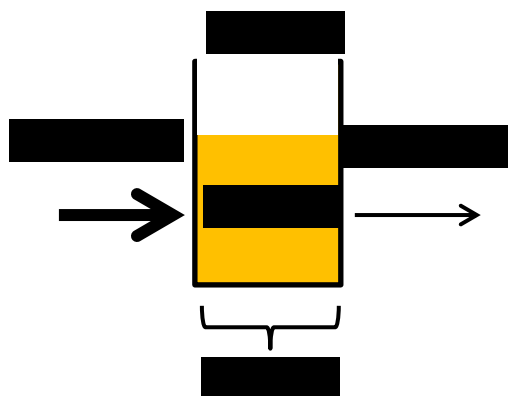


図 3.5.3 DR6000 内部模式図

補色光は溶液を通過する際に吸収されるため、浸透光 I は入射光 I_0 より小さくなる(図 3.5.3)。通過する溶液の色が濃いほど光が吸収されるため、吸光度は大きくなる。溶液の色が濃くなるのは、加えた専用試薬と反応した物質が多い場合である。すなわち溶液濃度が高いほど、吸光度は大きくなる(Ota and Sakai, 2004)。

吸光度と溶液濃度との関係は、ランベルト-ベールの法則により表すことができる(式 3.3)。

$$\text{吸光度 } A = \epsilon LC \quad (3.3)$$

L は光が通過する距離、 C は溶液の濃度である(図 3.5.3)。 ϵ は比例定数である。この法則は、吸光度が、距離 L と溶液濃度 C との間に1次比例の関係をもつことを示している。DR6000 では、この関係を用いて吸光度から溶液濃度を算出している。

DR6000 を用いた無機態窒素濃度の測定方法や濃度換算法は付録に示した。

第4章 Eh と DO の空間分布の検証

土中の酸化還元状態を測定するにあたり、測定場所が異なると Eh や DO がどの程ばらつくのかを理解しておく事は重要である。

そこで、第4章では、風乾土を水分飽和した後の還元過程において、土中の Eh や DO がどの程度均一に分布しているかを明らかにする事を目的とする。そこで、室内ポット実験により各時間の湛水土壌表面近傍の Eh と DO の経時変化と空間分布を調べた。

4.1 試料

実験に使用した試料と添加基質

三重大学附属農場の水田表土(2013 年 5 月採取)

グルコース(乾土あたり 5 mg)

4.2 実験方法

三重大学附属農場の水田表土を風乾させ、2 mm フレイを通過したものを試料とした。この風乾試料を 1/5000 a のワグネルポットに 7 cm 高まで、乾燥密度 1.2 g/cm^3 で均等に詰めた。下端より水位を 1 cm/h で上昇し、試料を飽和した。実験概要を図 4.1 に示す。24 h 後、給水点をポットの上端(図 4.2 の☆)に替え、マリOTT管を用いて湛水を 5 cm 深に維持した。用いた水の Eh は 280 mV、DO は 6.5 mg/L だった。空間分解能 500 μm の DO および 2 本の Eh センサを、図 4.2 の D および①と③の 0.2 cm 深に設置した。また、任意の時間に DO は図 4.2 の D で、Eh は①～⑧でセンサを地表から 10 $\mu\text{m/s}$ で土中へ挿し込み、表面から 2.5 cm 深の深さ分布を 100 μm 間隔で測定した。実験は 25°C の恒温室で行った。

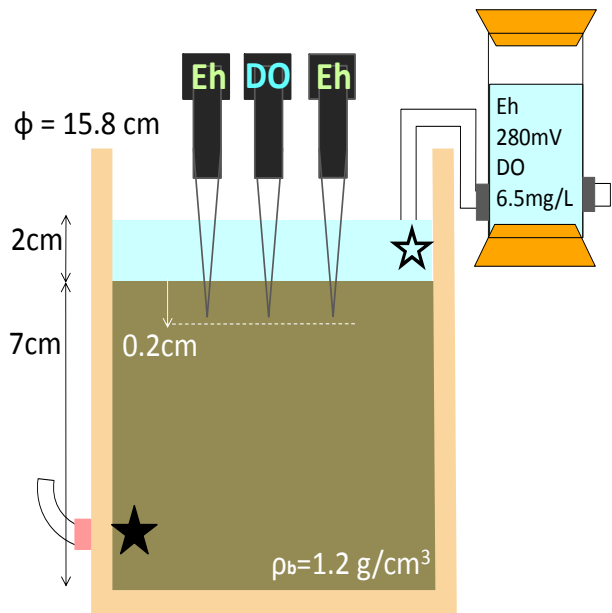
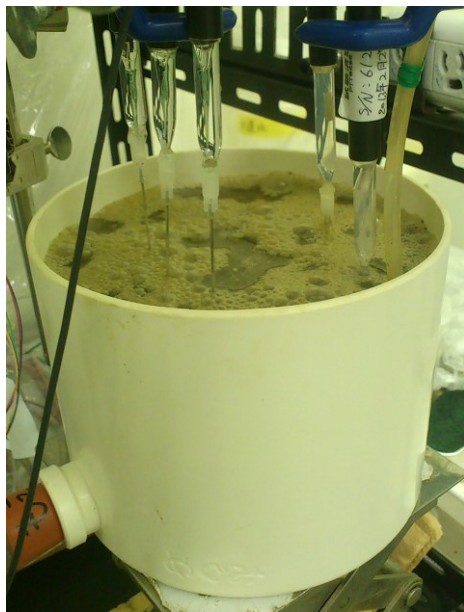
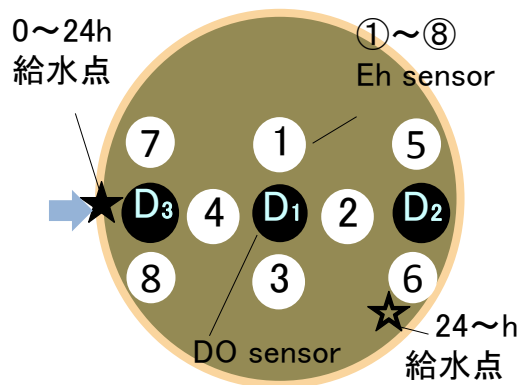


図 4.1 実験概要



測定場所

	Eh	DO
経時変化	①, ③	D1
深さ分布		
24h ...	① ~ ④	D1
36h ...	① ~ ④	D1
48h ...	① ~ ⑧	D1~D3

図 4.2 実験装置を上から見た時の Eh と DO の測定箇所

①～⑧は Eh の、D1～D2 は DO の測定場所を示す。

4.3 結果

図 4.3 に 0.2 cm 深における①と③の Eh と DO の経時変化を示す。下端から地表面まで水位が到達すると(7 h)、いずれの Eh も上昇したが、上昇幅が異なった。飽和後しばらく経つと(16 h)、DO が急激に低下し、その数時間後に Eh が低下し還元が進行した。その後いずれの Eh もよく一致し、ポット内の Eh の違いは見られなくなった。

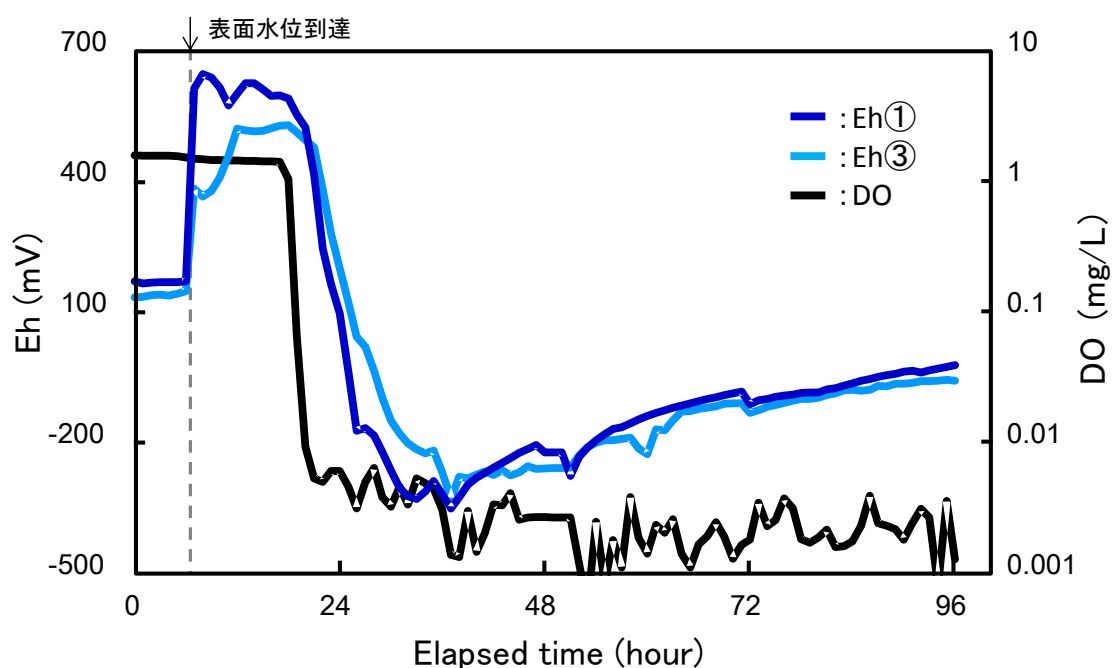


図 4.3 給水開始からの 0.2 cm 深の Eh と DO の経時変化

ここで 24、36、48 h 後の Eh と DO の深さ分布を調べた(図 4.4)。24 h では、DO は概ね一致したが、Eh はいずれも 400 mV 前後で Eh の最低値やその深さが測定箇所毎に異なった。特に④の 0.5 cm 深が最も還元した。36 h になると、表面数 mm 以下の DO が 0.01 mg/L 以下になった。Eh は数～10 mm 深で -100 mV まで低下した。いずれの Eh 深さ分布の傾向は概ね等しかったが、最も還元した②と還元の遅い①では Eh に 100 mV の差があった。48 h が経過すると、DO と Eh は表面でも低下し、それぞれの深さ分布に測定箇所の違いが見られなくなった。また、図 4.4 の下方に 48 h の Eh 分布をポット中心(①～④)と縁(⑤～⑧)に分けて示す。ポット中心では、地表面から 1.5 cm 深まで

Eh = -200 mV 以下と低く、1.5 cm 以深では深くなるにつれ徐々に上昇した。一方、ポット縁では地表面の Eh が最も高く、深くなるにつれ低下し、0.5 cm 以深ではそれぞれ Eh < -200 mV で停滞した。

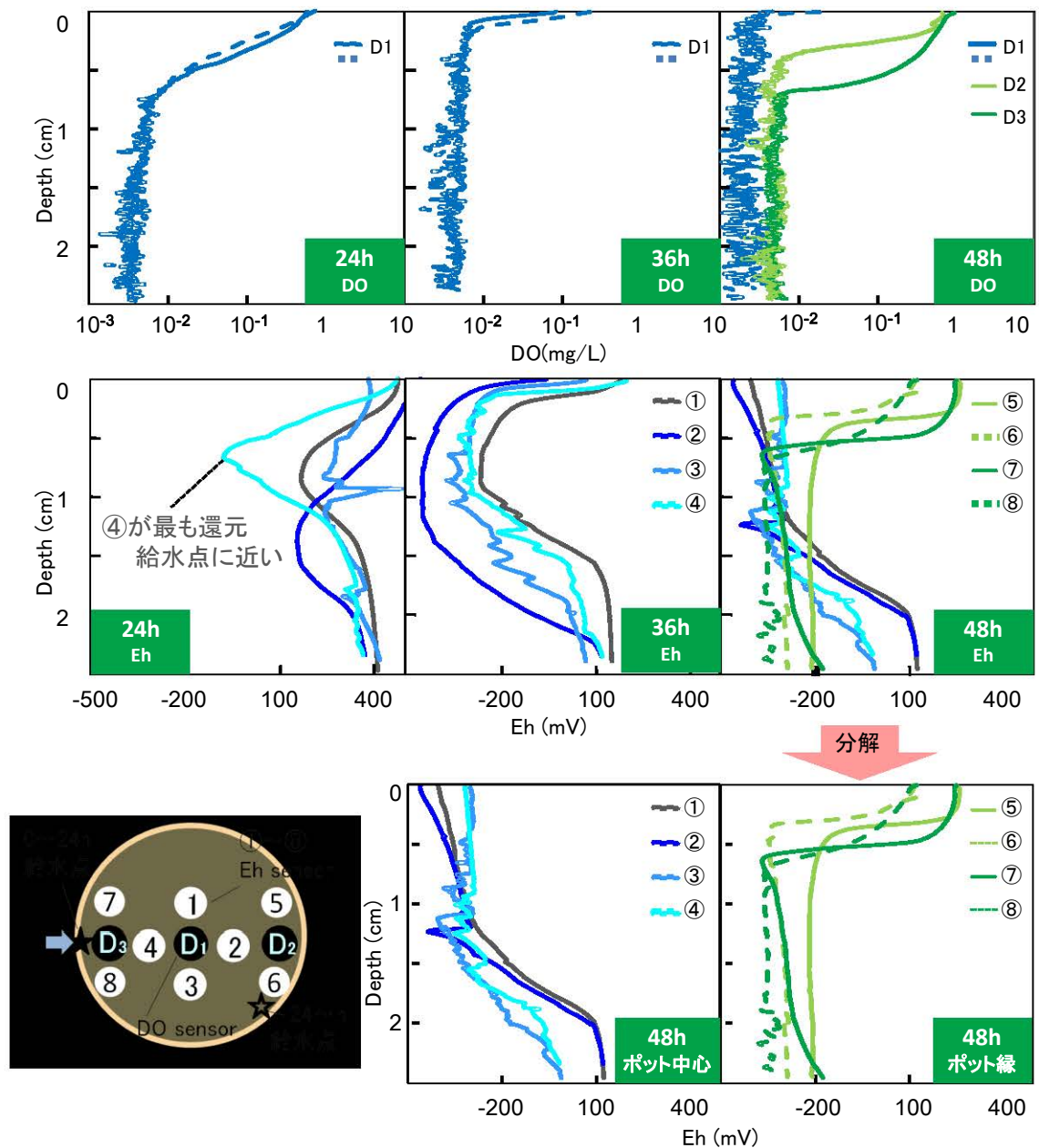


図 4.4 給水開始から 24、36、48 h 後の各時間の DO と Eh の深さ分布

4.4 考察

24 h の Eh が測定箇所毎に異なったのは、ポットへの給水の影響が主要因と考えられる。④は給水点に近く、他点より先に土が飽和した。そのため、好気性細菌の活動が速く進行したと考えられる。好気性細菌により DO が消費され土壌が還元すると、微生物活動が落ち着き Eh の変化が遅くなる。すると、微生物活動が遅れていた他点の Eh が④の Eh に近づく。このため、時間経過により測定箇所毎の Eh の違いが減少したと考えられる。また、48 h の Eh 分布がポットの中心と縁で傾向が異なったのは、湛水中の対流によると考えられる。湛水中で対流が生じると、ポットの縁に O_2 が多く供給される。そのため、ポット中心より縁のほうが土壌表面近傍の Eh が高くなったと考えられる。

以上より、好気呼吸や硝酸の還元など飽和初期の土中の Eh 変化を対象とする実験では飽和にかかる時間や給水点と測定点との位置関係に留意が必要といえる。一方、水分飽和後の還元土を対象とする実験では、乾燥密度や基質の添加を均等に行えば、Eh の深さ分布の空間分布をあまり考慮する必要がないといえる。また、数回分布をとる場合はポットの縁と中心のように極端に測定箇所を変えず、ある一カ所の付近で測定を行うとよい。

第 5 章 異なる炭素源を添加した場合の土中の Eh 変化

微生物活動の炭素源として易分解性のグルコースを用いて一次元のカラム浸透実験を行うと、グルコースが土中水に溶けて水の流れと共に流れてしまい、継続的に土中へ炭素を供給できない。表面酸化層は浸透水による酸素の供給と土中の微生物の呼吸による酸素の消費のバランスによって形成されるため、浸透水によって流れず、かつ炭素を継続的に供給できる有機物が望まれる。そこで考えられる候補に稲わらがあるが、稲わらは C/N 比が高く微生物による分解に時間がかかるため土の還元時間に時間がかかると予想された。

そこで第 5 章では、土に添加する有機物の違いが土の還元速度や還元度合いに及ぼす影響を検証する事を目的とする。。

5.1 試料

実験に使用した試料と添加基質を以下に示す。土に添加する有機物に稲わらとグルコースの他、グルコースと硝酸カリウムで C/N 比を調節した基質も用いた。

三重大学附属農場水田土

稲わら(コシヒカリ)

グルコース(以下 G と示す)

硝酸カリウム

5.2 実験方法

三重大学附属農場の水田より採取した土を風乾させ、2 mm フルイを通過したものを試料とした。この風乾試料の固相重で 100 g 分を測りとり、各基質を添加し、均等になるようによく混ぜた。作成した試料は、風乾土のみの無添加、風乾土に稲わらを添加した稲、稲わらと G を添加した稲 G、G のみを添加した G、添加する基質の C/N 比を 2.4 に調節した C/N2.4 の 5 種類を用意した。それぞれ添加した基質の詳細を表 5.1 に示す。

表 5.1 各試料に添加した基質の詳細

	無添加	稲	稲 G	G	C/N 2.4
稲 (g)	—	1	1	—	—
グルコース (g)	—	—	0.5	0.5	0.5
硝酸カリウム (g)	—	—	—	—	0.072

(稲わら: 1%/g 乾土、グルコース: mg/g 乾土)

※試料 G および C/N 2.4 については、Ikeda (2012) 卒業論文のデータを引用した

これらの基質を混ぜた試料をビーカにそれぞれ詰め、蒸留水で飽和させた。この時、試料をビーカに少し詰め、蒸留水を加えて飽和させ、その上に再び試料を少し詰め、蒸留水で飽和させるという一連の動作を繰り返し行い、飽和土を作成した。試料を詰め切ったら試料上端に数 cm の湛水を設け、藤原の白金電極を鉛直方向に挿し固定させ、任意の時間に Eh を測定した。なお、一連の操作は 25℃ に設定した室内で行った。また実験開始時と実験後に土中水の pH と NO_3^- 、 NO_2^- と、湛水の EC を測定した。pH の測定には藤原の pH 計を、 NO_3^- 、 NO_2^- には HACH の DR6000 を、EC には HORIBA の EC 計を用いた。

5.3 実験結果

各試料の Eh の経時変化を図 5.2 に、各時間の試料の様子を図 5.3 に示す。また、図 5.3 に実験中に撮影した全写真を示す。

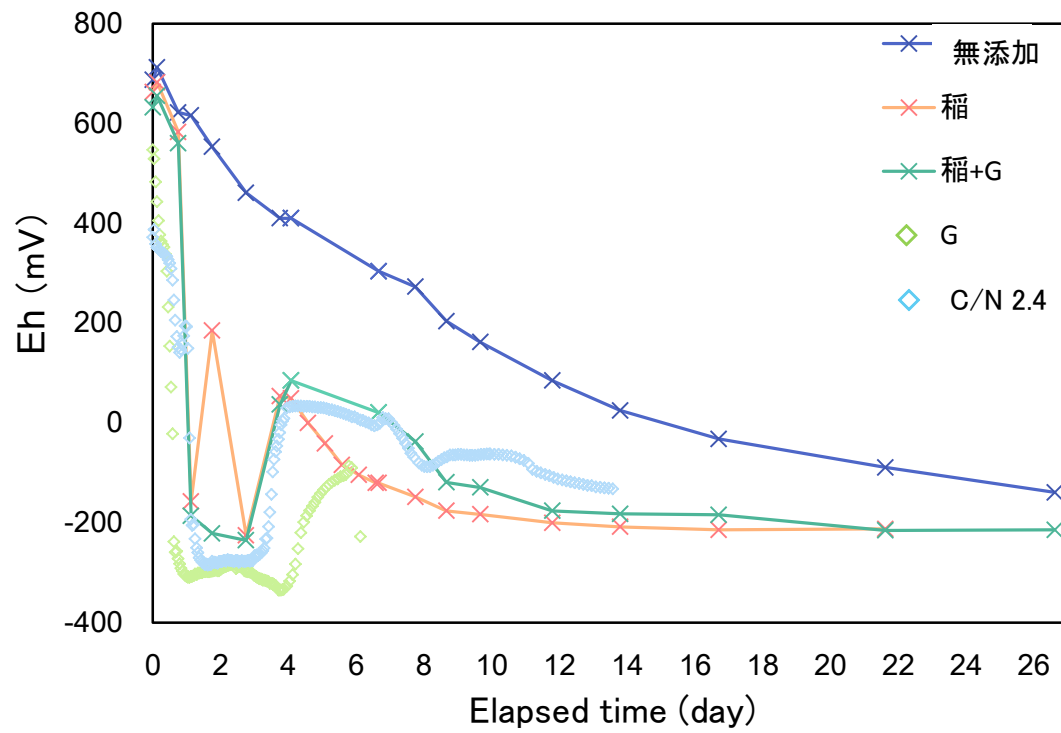


図 5.2 各試料の Eh の経時変化

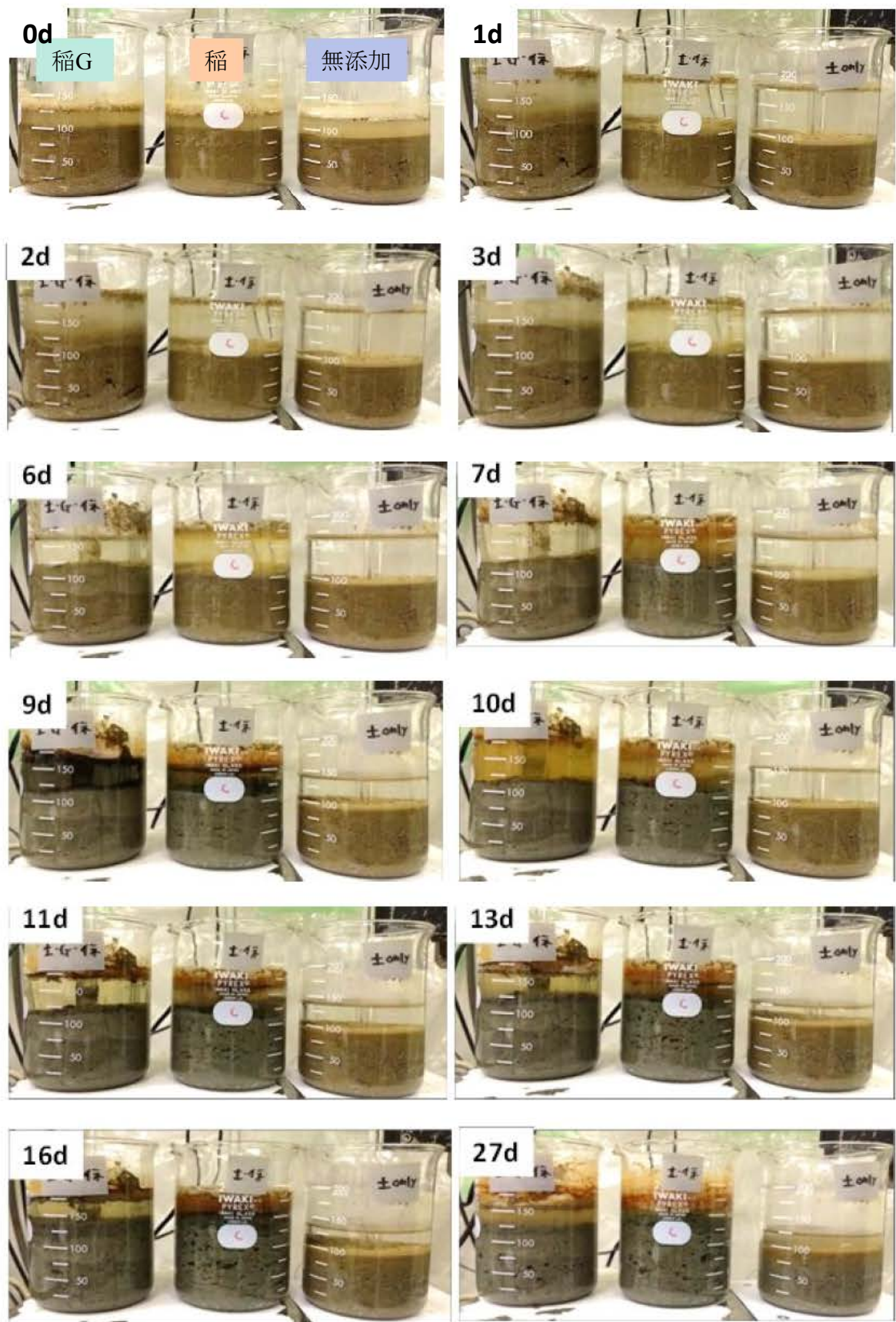


図 5.3 各試料の土色、体積変化の様子

図 5.4 に各試料の実験開始と終了時の pH、EC、 NO_3^- 、 NO_2^- 濃度の測定結果を示す。なお、

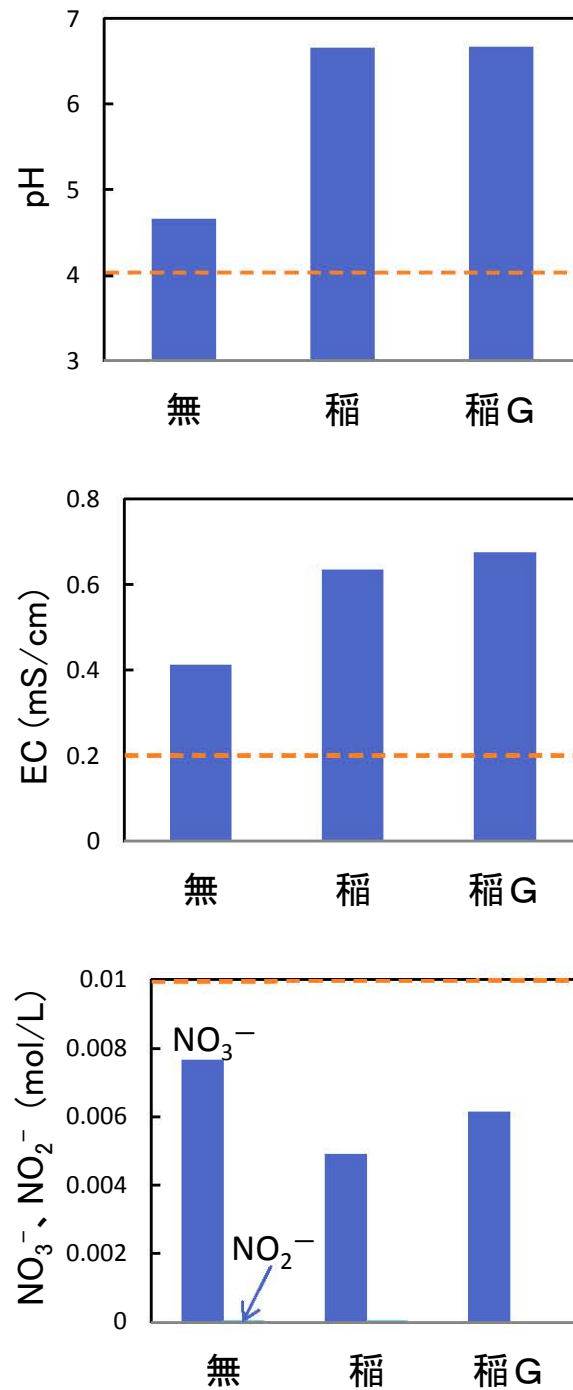


図 5.4 各試料の実験終了時の (a)pH (b)EC (c) NO_3^- 、 NO_2^- 濃度
図中のオレンジ色の破線は実験開始時の初期値を示す。

図 5.2 より、無添加と基質を添加した場合では、還元の進行速度に大きな差が見られたが、基質を添加した試料間での還元速度の違いは見られなかった。基質を添加した試料(稲、稲 G、G、C/N 2.4)では、実験開始から 2 日で Eh が急低下し、その後約 Eh = -200 mV で安定した後、約 0 mV まで上昇し再び低下し、やがて約 -200 mV で安定した。一方で、無添加でも Eh は時間とともに低下するが、基質を添加した試料よりもその進行は遅かった。

また図 5.3 より、3.7 日目に稲 G の体積が 1.5 倍に膨れ上がり、試料のいたる深さに気泡が発生していた。また、稲 G からは強烈な還元臭がした。一方、稲と無添加では稲 G のような体積膨張も還元臭もなかった。6.6 日目では、稲 G の体積が元に戻り、3.7 日に見られた気泡もほとんど見られなくなった。また、稲では土中にわずかに気泡が見られたが、還元臭はなかった。土色は、稲 G、稲ともに 0 日と比べて灰色っぽく変化した。一方、無添加に変化は見られなかった。実験終了時の 26.6 日では、稲 G の体積に大きな変化はなかったが、再び土中に気泡が見られた。稲の体積はやや膨れ上がり、また土中の気泡も 6.6 日より大きくなった。無添加は体積や臭いに変化は無かったが、地表付近が灰色に変化した。

図 5.4(a) より、実験開始時の土中水の pH は 4.06 であった。実験終了時では全試料において実験開始時よりも pH が高くなり、特に稲、稲 G の上昇が無添加よりも高く、pH 6.65 になった。同様に、EC も全試料において実験開始時よりも高くなり、無添加よりも基質を添加した試料の方が大きく上昇した。NO₃⁻濃度は全試料において実験開始時より低くなり、また、無添加より基質添加のほうが大きく減少した。NO₂⁻濃度はいずれの試料もほとんど検出されなかった。

5.4 考察

無添加と基質添加とで Eh の変化速度に違いが見られたのは、基質中の炭素が影響していると考えられる。土に炭素が供給されると、土中の微生物活動が活発になり還元進行が速くなる。また、基質添加で見られた Eh の一連の変化はそれぞれ、易分解性炭素の分解による H^+ と e^- の放出、 H_2 の発生、マンガン、鉄等の還元に対応する。無添加では、Eh の低下速度が遅いため、易分解性炭素の分解までしか実験期間内に観察できなかったが、やがて H_2 の発生等、各段階へ進行すると考えられる。

稲わらを添加した試料がグルコースを添加した場合と同様に還元が進行したのは、稲わら中に易分解性の部分があり、その部分が微生物によって分解されたためと考えられる。

3.7 日目で稲 G の体積が 1.5 倍に膨れ上がったのは、同じ時間の稲 G の Eh が約 -300 mV であることや強烈な還元臭がしたことから易分解性炭素の分解で発生したメタンガスによると考えられる。しかし、同じ時刻の稲も Eh が約 -300 mV であるが、目立った気泡や還元臭も観察されなかった。おそらく、稲 G の体積増加はグルコース分解のより発生したガスが原因だろう。

6.6 日目で稲 G の体積が元に戻ったのは、ガスの発生が落ち着き、そのガスが大気中に放出されたからと考えられる。ガスの発生が落ち着いたのは、土中のグルコースを微生物が消費しつくしたか、あるいは、土中に残存する酸素が微生物の呼吸で消費され貧酸素状態になると微生物活性が下がり、グルコースの分解量が激減したためと考えられる。また稲の土中に気泡が発生していたものの還元臭がなかったことより、稲ではメタンではない他のガス (CO_2 や N_2 など) が発生していると思われるが、定かではないため詳しく知るにはガスを採取して同定する必要がある。

26.6 日目でいずれの試料も灰色に変色したのは、土中の鉄イオンの還元による。土の還元にともない、三価鉄が二価鉄へと還元される。一般的に酸化鉄の還元時の Eh は約 110 ~ 8 mV と言われ、いずれの試料も 26.6 日の Eh は -100 mV 以下なので、その時に

はすでに鉄の還元が進行していたのだろう。また、湛水中の酸素が土中に拡散し土壌表面近傍がわずかに酸化する。そのため、無添加の表土付近は灰色に変化しなかったと考えられる。

実験終了時の pH が上昇したのは、酸化鉄の還元にもなう H^+ の消費による。土壌の還元がすすむと、土壌の pH は湛水前の値にかかわらずおよそ 6.7~7.0 付近に落ち着くように変化する。有機物の分解によって発生した二酸化炭素が水に溶けることにより、土中水の pH が低下する。一方で、土の還元が進行すると土中の三価鉄が二価鉄に変化する。その際、三価鉄は土中の H^+ を取り込むため土中水の pH は上昇する。この両者の働きが釣り合う pH がおよそ pH 6.7~7.0 である(松中, 2003)。

以上より、土に添加する試料が稲でもグルコースでも、土の還元速度や還元度合いは同じである事がわかった。

第 6 章 グルコース添加土の酸化還元過程に浸透フラックスや

浸透水中の NO_3^- 濃度の違いが及ぼす影響

5 章において、水の流れがない条件では土に添加した有機物によらず還元速度や還元度合いが同じことが示された。しかし、実際の水田のように水の流れがある場合、易動性有機物は浸透水により流亡すると予想される。また、還元土中へ NO_3^- 溶液浸透した場合、脱窒が起こるが土中のいつどこで起こるか明らかではない。そこで 6 章では、浸透フラックスや浸透水の NO_3^- 濃度の違いが土表面近傍の酸化還元過程と酸化、脱窒層の分化と発達に及ぼす影響明らかにする事を目的に、易動性有機物としてグルコースを土に添加し一次元カラム浸透実験を行った。

6.1 試料

実験に使用した試料と添加基質

三重大学附属農場の水田表土	75 %
豊浦砂	25 %
グルコース	1 g 乾土あたり 5 mg

6.2 実験方法

試料を上記の割合でとり、均等になるように混ぜあわせた。この風乾試料を内径 7.7 cm のアクリル円筒カラムに乾燥密度 1.4 g/cm^3 で均一に詰めた(図 6.1)。試料上端には還元にとまなう土の膨れ上がりを防止するため、穴あきの薄いアクリル板をのせた。カラム下端をマリOTT管に繋ぎ、3 時間に 3 cm ずつ水位を上げ、試料を毛管飽和させた(15 cm カラムなら 12 時間)。飽和開始 1 日後、マリOTT管を用いて試料上端に一定湛水を設け浸透を開始した。また、ドリッポイントの位置を調節し、下端圧力 $h_{\text{下}}$ を調節した。試料表面から 0.2 cm 深に Unisense の Eh、DO のマイクロセンサを鉛直方向に設置した。また、1.5 と 7.5 cm 深に Eh 測定用の白金電極とテンシオメータを、0.5、1.5、3.5、7.5 cm 深に四極センサをカラム側面からそれぞれ設置した。浸透速度はマリOTT管の重量変化より求めた。浸透前の浸透水の Eh は 280 mV、DO は 6.5 mg/L だった。また、任意の時間にマイクロセンサを地表から $10 \mu\text{m/s}$ で土中へ挿し込み、0~4 cm 深までの Eh、DO 分布を $100 \mu\text{m}$ 間隔で測定した。マイクロセンサ降下に用いた装置の使用法は第 3 章を参考。表 6.1 に実験条件の詳細を記す。

6.3 結果

本章では 7 つの実験について記述するが、実験毎に条件が異なるため、実験ごとにその結果について考察した。実験中に行った操作を各実験の積算浸透量と浸透フラックスの経時変化の図中に記載した。また、実験中に測定した土中水圧 h や電気伝導度 ECa、透水係数 K の結果については付録に載せた。以後、各深さの Eh と DO は $Eh_{0.2}$ 、 $DO_{0.2}$ 、 $Eh_{1.5}$ 、 $Eh_{2.5}$ 、 $Eh_{7.5}$ とする。

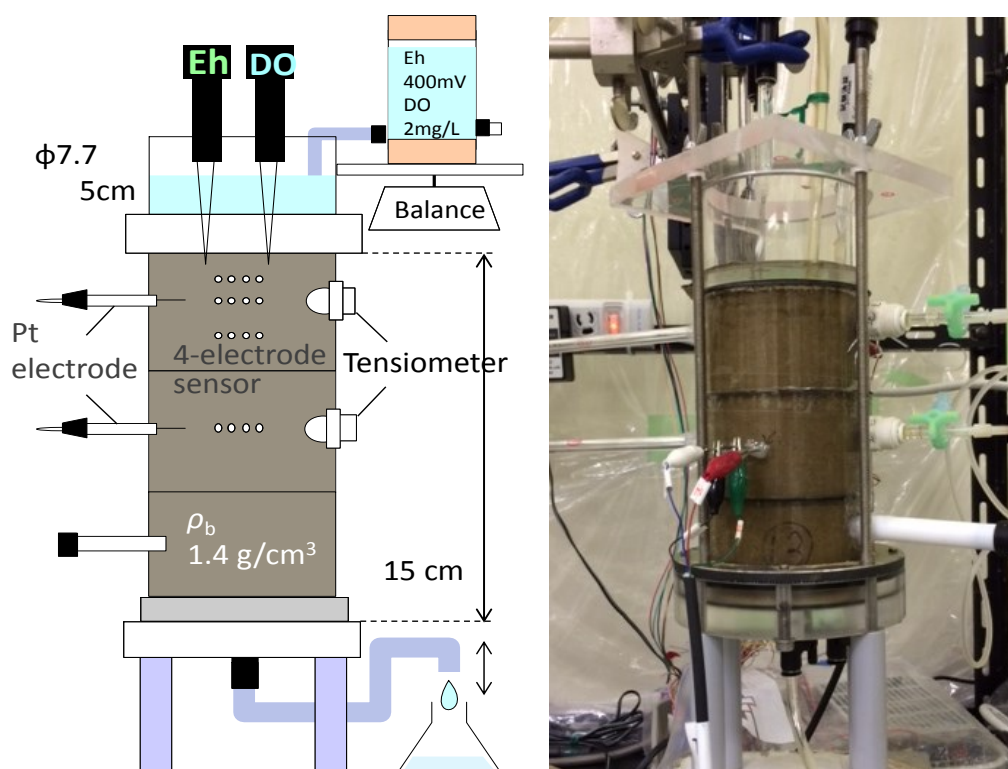


図 6.1 実験の概要図と実際の様子

表 6.1 実験条件の詳細

実験名	カラム (cm)	試料	浸透液 (mol/L)	境界圧力 (cm)	備考
8/19	15	水田土 50% 豊浦砂 50% G: 5 mg/g 乾土	純水	$h_{上} = 1.5$ $h_{下} = -2.6$	
11/5	15	水田土 75% 豊浦砂 25%	G: 5 g/1L-水 純水	$h_{上} = 2$ $h_{下} = -1$	12日から純水浸透
11/29	15	水田土 75% 豊浦砂 25% G: 5 mg/g 乾土	純水 G: 5 g/1L-水 0.05 M NO_3^-	$h_{上} = 1.5$ $h_{下} = 0.5$	純水浸透→G浸透 →浸透停止→ NO_3^- 浸透
12/10	15	同上	G: 5 g/1L-水 G + 0.05 M NO_3^-	$h_{上} = 1.5$ $h_{下} = 5$	G浸透→浸透停止→G + NO_3^- 浸透 →浸透停止
2/4	15	同上	0.005 M NO_3^-	$h_{上} = 0.75$ $h_{下} = 10$	5日以後浸透フラックス調節
2/19	15	同上	0.01 M NO_3^-	$h_{上} = 0.5$ $h_{下} = 10$	5日以後浸透フラックス調節
3/3	15	同上	0.038 M NO_3^-	$h_{上} = 0.75$ $h_{下} = 1.5$	

6.3.1 8/19

図 6.2 浸透開始後の積算浸透量を浸透フラックス、各深さの Eh、DO の経時変化を示す。風乾試料を湛水すると、0~2 cm 深の Eh は 400 mV 以下で、DO は 3 mg/L だった(図 6.3)。Eh_{2.5}、Eh_{7.5} は -100 mV で、下層のほうが Eh は低く還元していた(図 6.2)。約 40 cm/d で浸透を開始すると、0.2 cm 深は Eh>400 mV、DO>4 mg/L になり酸化的かつ好氣的になった(図 6.2)。Eh_{2.5}、Eh_{7.5} も浸透開始から時間と共に上昇し、浸透開始から 1 日で Eh_{2.5}、Eh_{7.5} も 400 mV まで上昇し土は酸化した。浸透開始から 2.5 日に給水を停止した(湛水は維持せず)。その 1 時間後に DO_{0.2} が急落し、次いで Eh_{0.2} も急落した(2.54 d)。Eh_{0.2} の変化に遅れて Eh_{2.5} も低下したが、Eh_{7.5} は給水停止による影響は見られなかった。再び浸透を開始すると(3 d)、その 3 時間後に Eh_{0.2} に次いで DO_{0.2} が急上昇した(3.13 d)。その後、0.2 cm 深は Eh>600 mV、DO>6 mg/L で停滞した。浸透開始から 4.37 日目に、再びマリアット管からの給水を止めると、その 3 時間後に DO_{0.2} に次いで Eh_{0.2} が低下したが、やがて Eh_{0.2}>400 mV、DO_{0.2}>2 mg/L となり土が酸化した(5.12d)。

浸潤開始から 1 日以内で全深さの Eh が 400 mV 以上になったのは、O₂ が下層まで流下したことによる(図 6.2)。浸透により土中に流下した O₂ は土壌表面近傍の微生物呼吸により直ちに消費される。O₂ を電子受容体として呼吸を行う時、土中の Eh は 400 mV 以上になる。ここで、微生物の呼吸速度以上の流速で浸透すると、O₂ の消費よりも浸透による O₂ の供給が勝り、土壌表面近傍で消費されなかった O₂ が下層まで浸透する。この過剰になった O₂ が土中の DO を上昇させる。そのため、Eh_{0.2} が先行して上昇し、次いで DO_{0.2} が上昇したと考えられる。給水が絶たれると土中の DO は微生物呼吸に消費され DO は低下する。DO_{0.2} の低下により土が嫌氣的となり、やがて土は還元する。浸透を再開すると(3d)、O₂ の流下により 0.2 cm 深は再び酸化する。再び浸透を止めると、O₂ 供給の減少で土は還元するが、蒸発により湛水が無くなると土中へ大気が侵入し、土が

酸化したと考えられる。

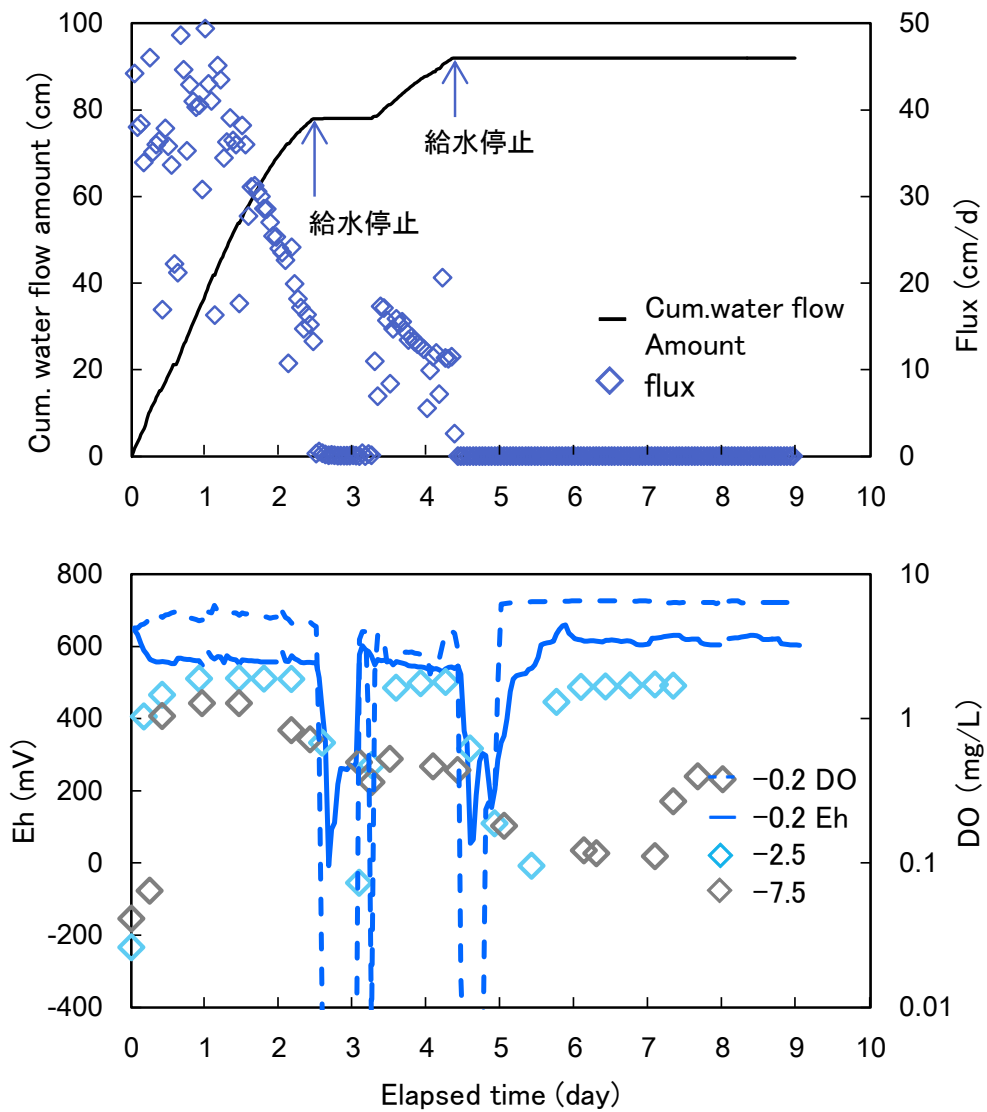


図 6.2 8/19 の積算浸透量と浸透フラックス、各深さの Eh、DO の経時変化
純水浸透開始(0d)後、2.5 日に給水を停止、3 日に浸透を開始し、再び 4.37 日に給水を停止した。

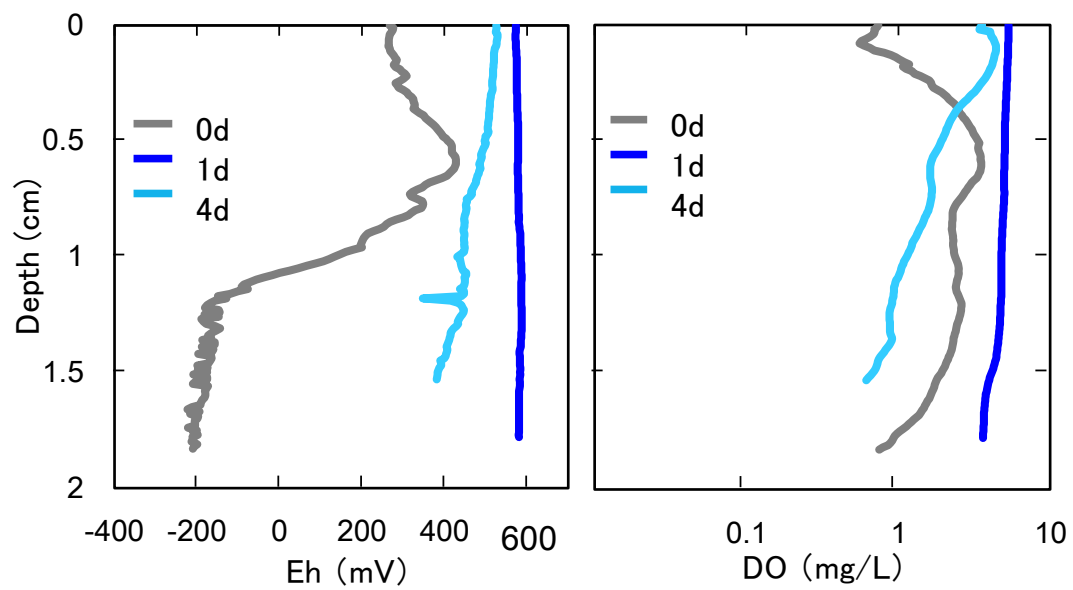


図 6.3 8/19 の Eh、DO の深さ分布
0 cm は地表面を示す。

6.3.2 11/5

この実験では、土中の微生物が炭素飢餓にならないよう、浸透水にグルコースを加える事で(以下グルコース溶液)断続的に土に炭素を供給した。そして、純水を浸透させた場合と比べ土中の酸化還元状態がどう変化するか観察した。

浸透開始前の 0.2 cm 深は $Eh_{0.2} > 400$ mV、 $DO_{0.2} > 2$ mg/L と酸化的で好氣的だった(湛水あり)。 $Eh_{2.5}$ 、 $Eh_{7.5}$ も 400 mV だった。土壌表面近傍(0~4 cm 深)の Eh 分布は、地表数 mm が 300 mV であったのを除き、全層で 400 mV だった。DO 分布は 0.5 cm 深まで 2 mg/L と好氣的で、下層になるにつれて減少した。

グルコース溶液の浸透を開始すると時間とともに浸透フラックスが低下し、浸透開始から 1 日目で 1 cm/d 以下になった(図 6.4)。浸透開始から 1 日以内に 0.2、2.5、7.5 cm 深の Eh と $DO_{0.2}$ は急落し、0~7.5 cm 深は $Eh < 0$ mV と還元した。その後、0.2 cm 深では $Eh < -200$ mV 以下と強還元状態になりそのまま Eh は停滞した。一方、7.5 cm 深は 200 mV まで緩やかに上昇した。浸透開始から 12 日目、浸透水を純水に変えると、0.2 cm 深の Eh、DO が上昇し始めた。今回の実験は今までと比べ土からのガス発生が多く見られたので動画を撮影した(テラステーション>share>研究室ゼミ>2013>movie)。

8/19 と与えた境界条件がほとんど同じにもかかわらず浸透フラックスが低くなったのは、土中微生物がグルコースを分解する際に発生する H_2 や CO_2 などのガスが浸透の妨げとなったためと考えられる(図 6.4)。浸透水で供給されるグルコースの多くは表面近傍の微生物により消費されてしまうため、下層には十分に流下しない。それゆえ、7.5 cm 深はグルコースによる強還元は起こらず、 Fe^{3+} や Mn^{4+} など金属の還元が起こったと考えられる。グルコース溶液の浸透を止め純水を浸透し続けると、土中に残存するグルコースが洗い流されて微生物活性が低下する。それにともない、 O_2 の消費量が減少し、消費されずに余った O_2 により土が酸化する。そのため、15 日目に $Eh_{0.2}$ 、 $DO_{0.2}$ が上昇したと考えられる。

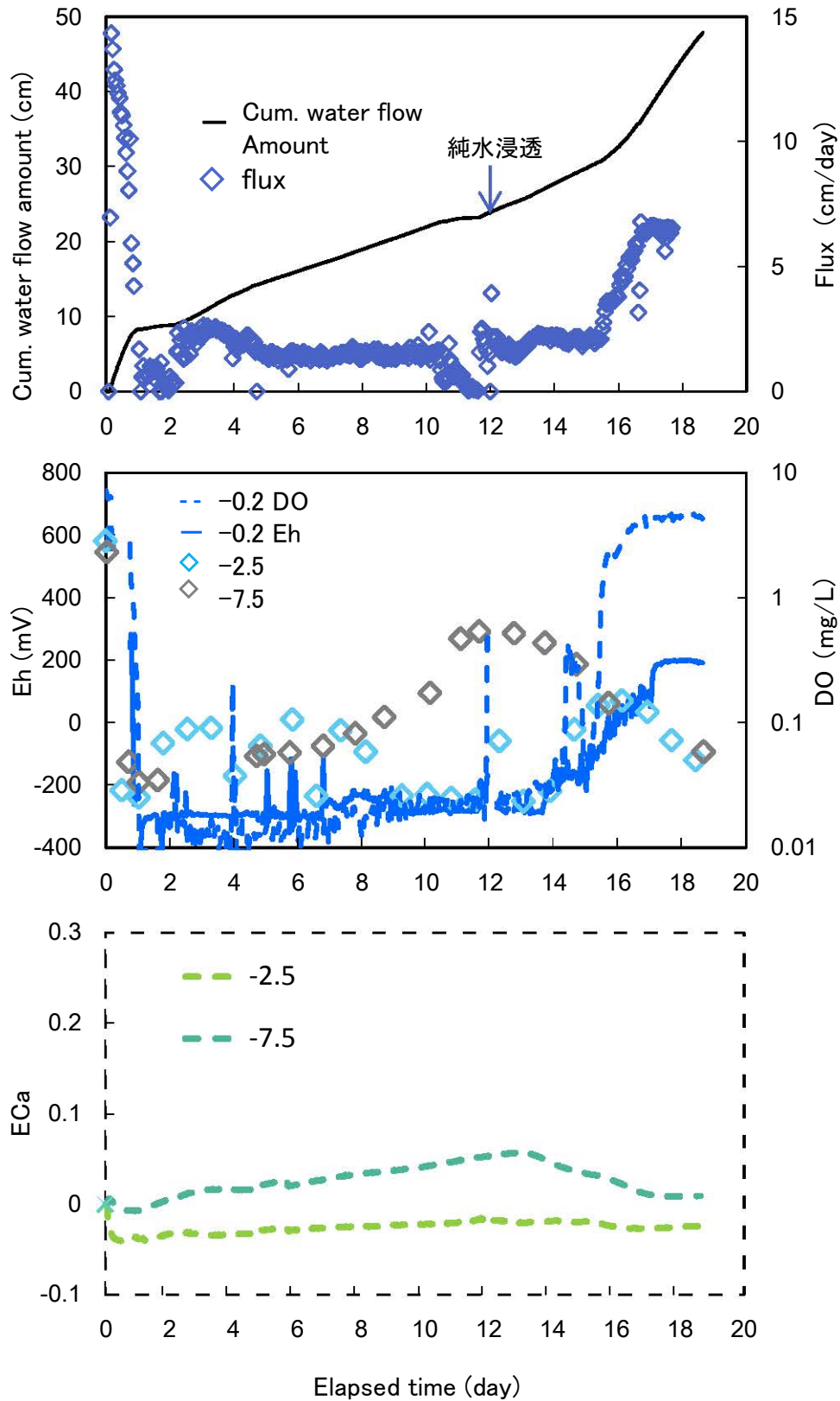


図 6.4 11/5 の積算浸透量と浸透フラックス、各深さの Eh、DO、ECa の経時変化
グルコース溶液浸透開始(0d)後、12 日に浸透水を純水に切り替えた。

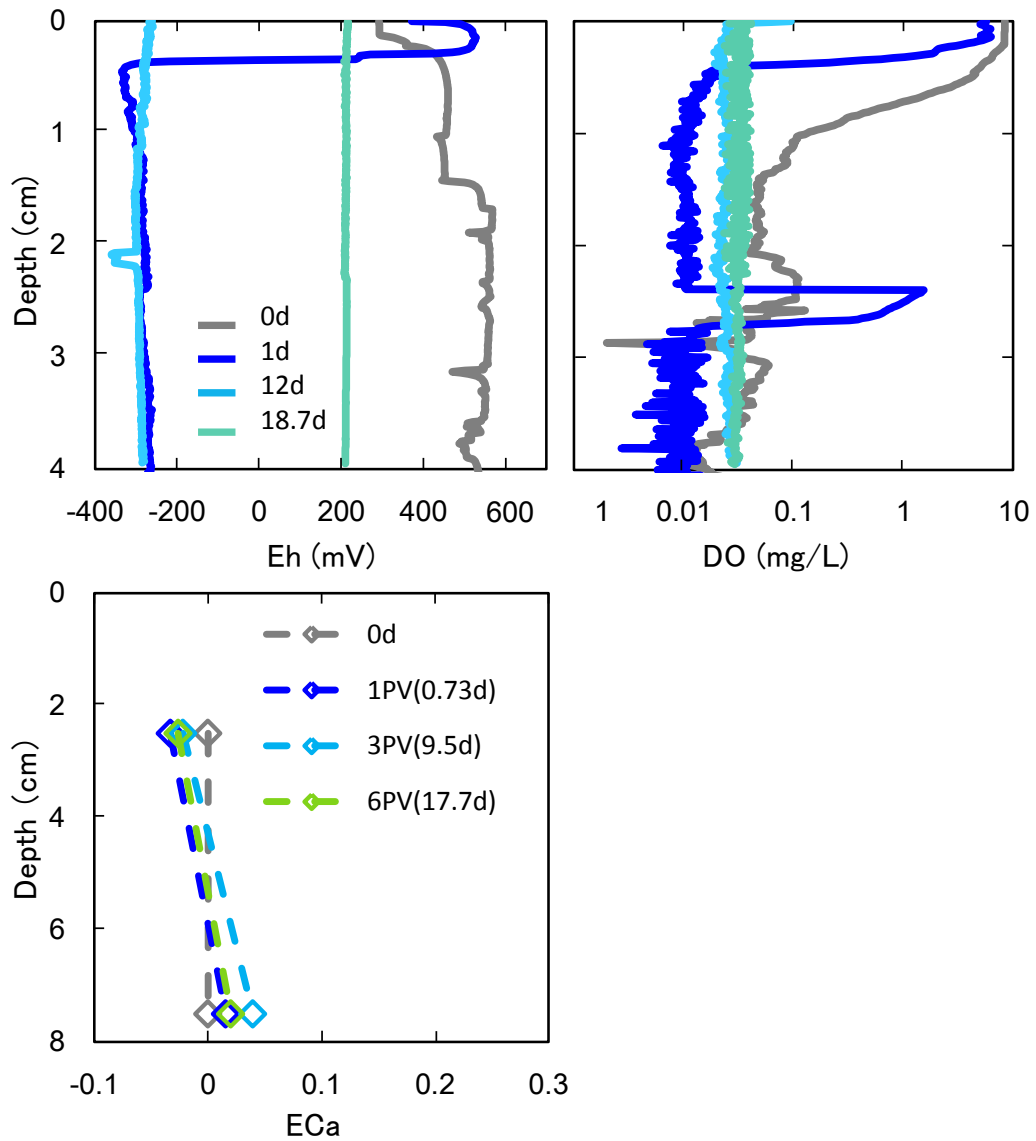


図 6.5 11/5 の Eh、DO、ECa の深さ分布
0 cm は地表面を示す。

6.3.3 11/29

この実験では、浸透水を純水→グルコース溶液→ NO_3^- 溶液と順に切り替え、流下する基質の違いが土中の酸化還元状態がどう変化するかを観察した。

11/5 と同様に 50 cm/d で純水を浸透すると、0.2 cm 深は $\text{Eh} > 400 \text{ mV}$ 、 $\text{DO} > 5 \text{ mg/L}$ と酸化になった(図 6.6)。浸透開始から 1.34 日目、純水に代わりグルコース溶液を浸透したが、11/5 実験のような Eh と DO の急激な低下は見られなかった。2 日目に浸透を停止すると(湛水は維持)、直ちに $\text{Eh}_{0.2}$ 、 $\text{DO}_{0.2}$ は低下し 0.2 cm 深は $\text{Eh} < -300 \text{ mV}$ 、 $\text{DO} < 0.1 \text{ mg/L}$ となり土が還元した。 $\text{Eh}_{2.5}$ も 2 日目までは $\text{Eh} > 400 \text{ mV}$ と酸化していたが、浸透の停止により $\text{Eh} < -300 \text{ mV}$ まで低下した。純水浸透開始から 3 日目より NO_3^- の浸透を開始した。すると、 $\text{ECa}_{2.5}$ が急上昇し、その数時間後に $\text{ECa}_{7.5}$ も上昇した(図 6.6)。その 1 日後に遅れて $\text{Eh}_{0.2}$ が上昇し始め、その数時間後に $\text{DO}_{0.2}$ と $\text{Eh}_{2.5}$ も上昇した。また、 $\text{Eh}_{0.2}$ は 200 mV に到達してしばらく停滞した後、再上昇した。最終的に、実験終了時の 0.2 cm 深は $\text{Eh} > 400 \text{ mV}$ 、 $\text{DO} > 3 \text{ mg/L}$ 、 $\text{Eh}_{2.5}$ は 300~400 mV、 $\text{Eh}_{7.5}$ は -200 mV 以下と各深さで Eh が大きく異なった。実験終了時の表面近傍の Eh 分布は、0~0.6 cm 深に $\text{Eh} > 400 \text{ mV}$ の酸化的な層が、0.6~4 cm 深に約 $\text{Eh} = 300 \text{ mV}$ の脱窒層が、 DO 分布では 0~0.2 cm 深に好氣的な層が形成した(図 6.7)。

グルコース溶液を流したにもかかわらず $\text{Eh}_{0.2}$ 、 $\text{DO}_{0.2}$ が低下しなかったのは、浸透フラックスが 50 cm/d と高いからだろう(図 6.6)。グルコースや O_2 の流下する速度が微生物の消費速度よりも早いいため還元の進行が抑制されたと考えられる。浸透を止めると、微生物はグルコースと O_2 を十分に取り込めるようになり還元が進行する。このように、土中にグルコース溶液を浸透する場合でも浸透フラックスが微生物の消費速度よりも速いと土は還元しない。 NO_3^- 浸透後、 $\text{Eh}_{0.2}$ が 100 mV でしばらく停滞した後に DO と共に上昇したのはそれぞれ脱窒と O_2 による酸化と考えられる。 NO_3^- 溶液が還元土に浸透すると、浸透水中の O_2 は地表付近の微生物の呼吸により消費されるため下層へは O_2 が十分に供給されない。下層の微生物は O_2 の代わりに NO_3^- を還元して呼吸を行うた

め脱窒が起こる。浸透を続けると、下層に O_2 が流下し始め DO が増加する。やがて DO がある一定値を超えると O_2 により Eh が上昇し土が酸化する。このようにして土壌表面から浸透水中の O_2 、 NO_3^- が順に還元され、Eh 分布に Eh>400 mV の酸化層、Eh=300 mV の脱窒層が形成されたと考えられる(図 6.7)。

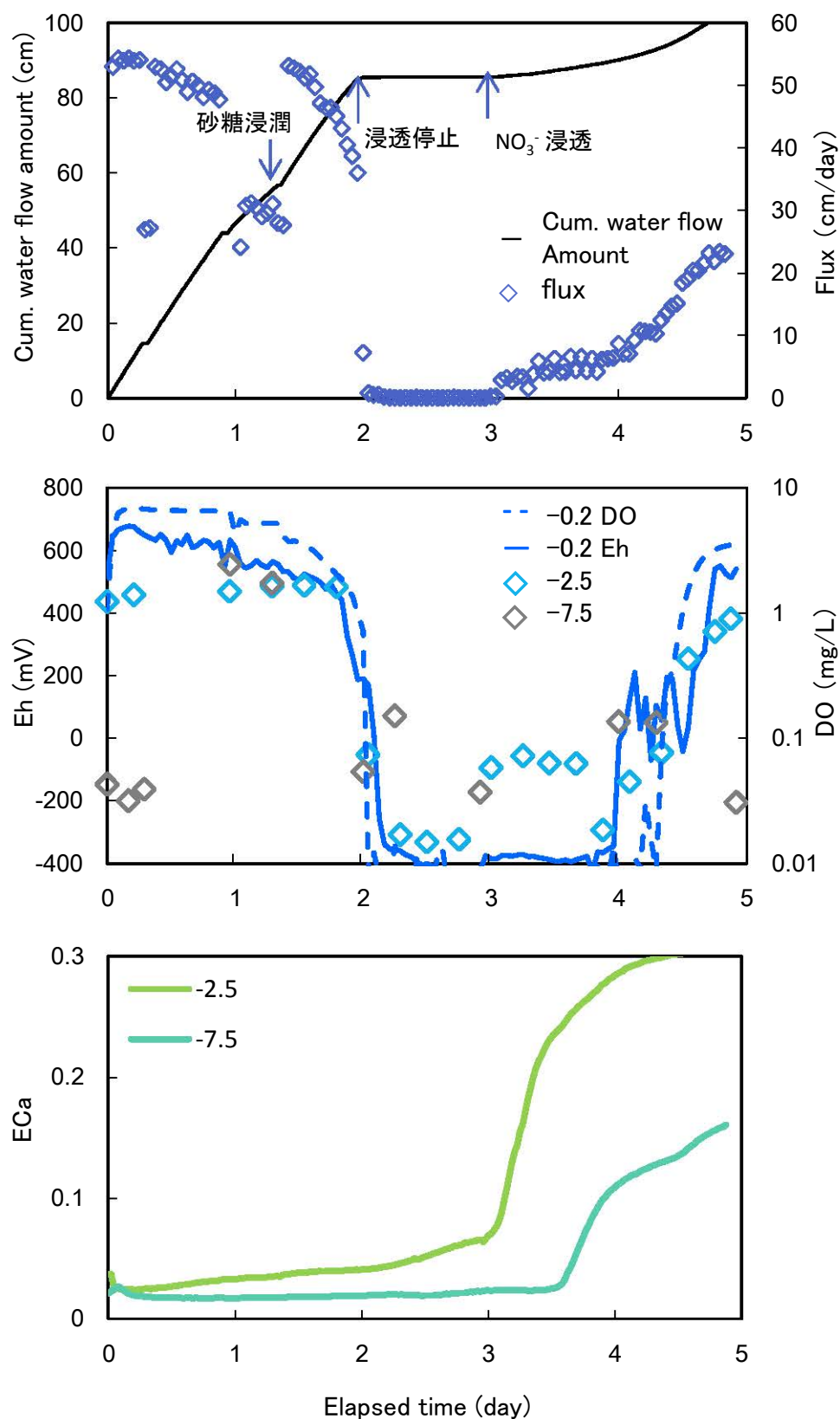


図 6.6 11/29 の積算浸透量と浸透フラックス、各深さの Eh、DO、ECa の経時変化
 浸透開始(0d)から 1.34 日目、純水に代わりグルコース溶液を浸透した。2 日目に浸透
 を停止し、3 日目から NO₃⁻ 溶液を浸透した。

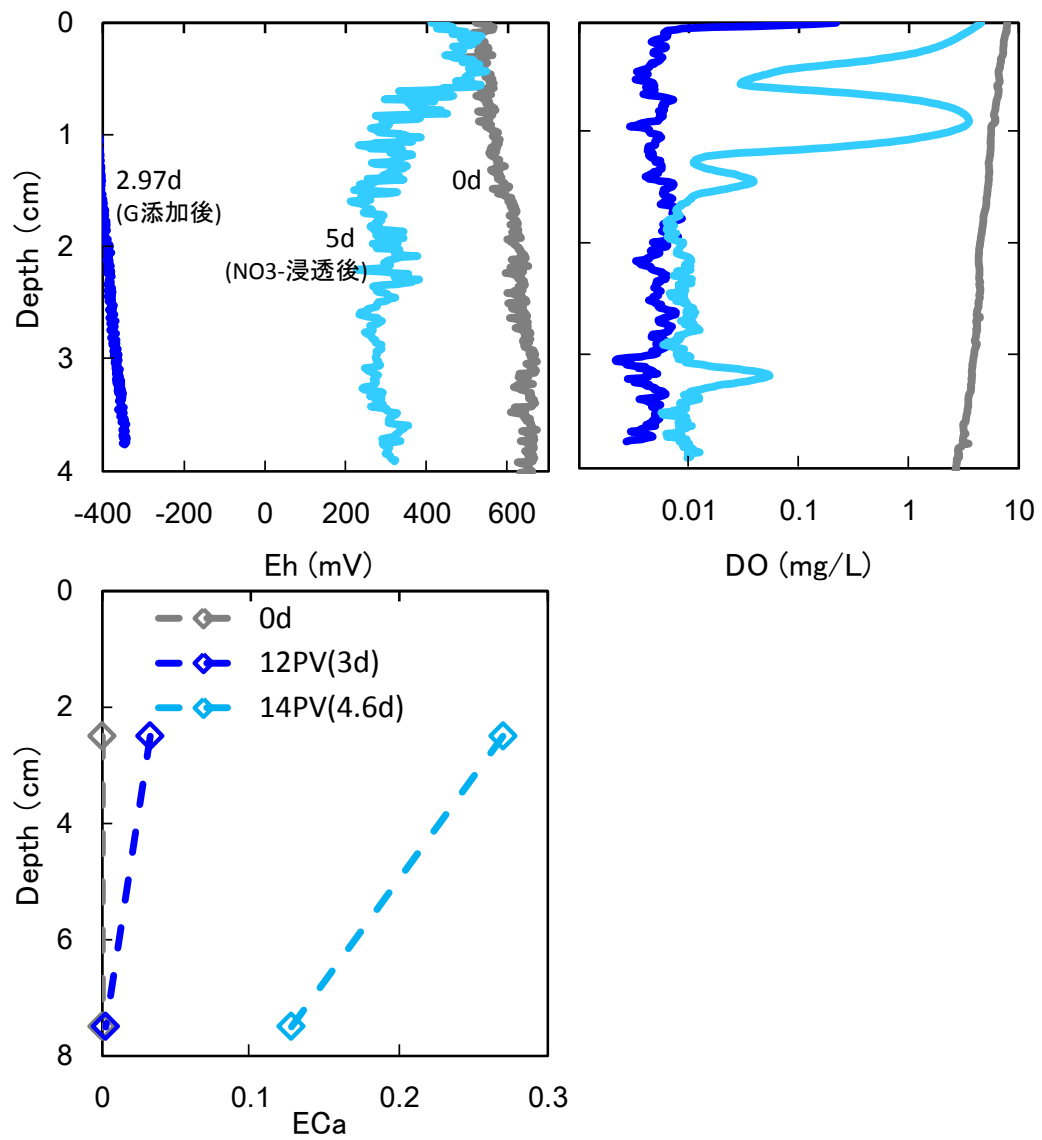


図 6.7 11/29 の Eh、DO、ECa の深さ分布
0 cm は地表面を示す。

6.3.4 12/10

この実験では、浸透水をグルコース溶液→ NO_3^- 溶液と切り替え、流下する基質の違いが土中の酸化還元状態がどう変化するかを観察した。

11/5と同様にグルコース溶液を浸透し実験を開始すると $\text{Eh}_{0.2}$ 、 $\text{DO}_{0.2}$ が急落した(図 6.8)。浸透開始から数時間後に浸透を止めると(湛水維持)、 $\text{Eh}_{0.2} < -200 \text{ mV}$ 、 $\text{DO}_{0.2} < 0.1 \text{ mg/L}$ になり、0.2 cm 深が還元した(図 6.8)。浸透開始から1日目、0.05 M NO_3^- 溶液を浸透すると $\text{Eh}_{0.2}$ 、 $\text{DO}_{0.2}$ は上昇した。この時、0~4 cm 深の Eh 、 DO 分布は全層で $\text{Eh} < -200 \text{ mV}$ 、 $\text{DO} < 0.1 \text{ mg/L}$ と土壌表面近傍が還元した(図 6.9)。そして3.12日になると、0~2.2 cm に $\text{Eh} > 400 \text{ mV}$ の酸化的な層が形成された。グルコース溶液の浸透開始から4日目、0.2 cm 深は $\text{Eh}_{0.2} > 400 \text{ mV}$ 、 $\text{DO}_{0.2} > 7 \text{ mg/L}$ となり酸化した。その後 $\text{Eh}_{2.5}$ 、 $\text{Eh}_{7.5}$ も地表から浅い順に上昇し、浸透開始から8日目に $\text{Eh}_{7.5}$ が 400 mV に達した。9日目に浸透を止めると $\text{DO}_{0.2}$ は急落し、10日目には 1 mg/L 以下になった。この時、 EC/EC_0 は浸透停止と共に急激に減少した。 $\text{Eh}_{0.2}$ 、 $\text{Eh}_{2.5}$ は浸透停止後ゆっくりと減少し 300~400 mV で停滞した。実験終了時(16d)、0~4 cm 深の DO は全層で 0.01 mg/L だったが、 Eh は 0.2 cm 深までがやや高く、それ以深は全層で $\text{Eh} = 180 \text{ mV}$ だった(図 6.9)。

NO_3^- 溶液浸透後(1d~)の 0.2、2.5、7.5 cm 深の Eh の上昇は速い浸透フラックスによる O_2 流下と考えられる。地表から O_2 が供給されるため、7.5 cm 深の Eh の上昇は地表付近の Eh に遅れて上昇する。浸透停止すると(9d)、土中に供給された O_2 は微生物呼吸により消費される。そして、 DO が低下し土中が嫌気状態になると脱窒が起こる。そのため、9日以後の $\text{Eh}_{0.2}$ 、 $\text{Eh}_{2.5}$ は急激に低下せず、 Eh は 300~400 mV で停滞したと考えられる。なお、実験は 16 日間行ったが、そのまま実験を継続すれば土中の NO_3^- の減少により脱窒の活性が低下し、やがて Eh は低下すると予想される。

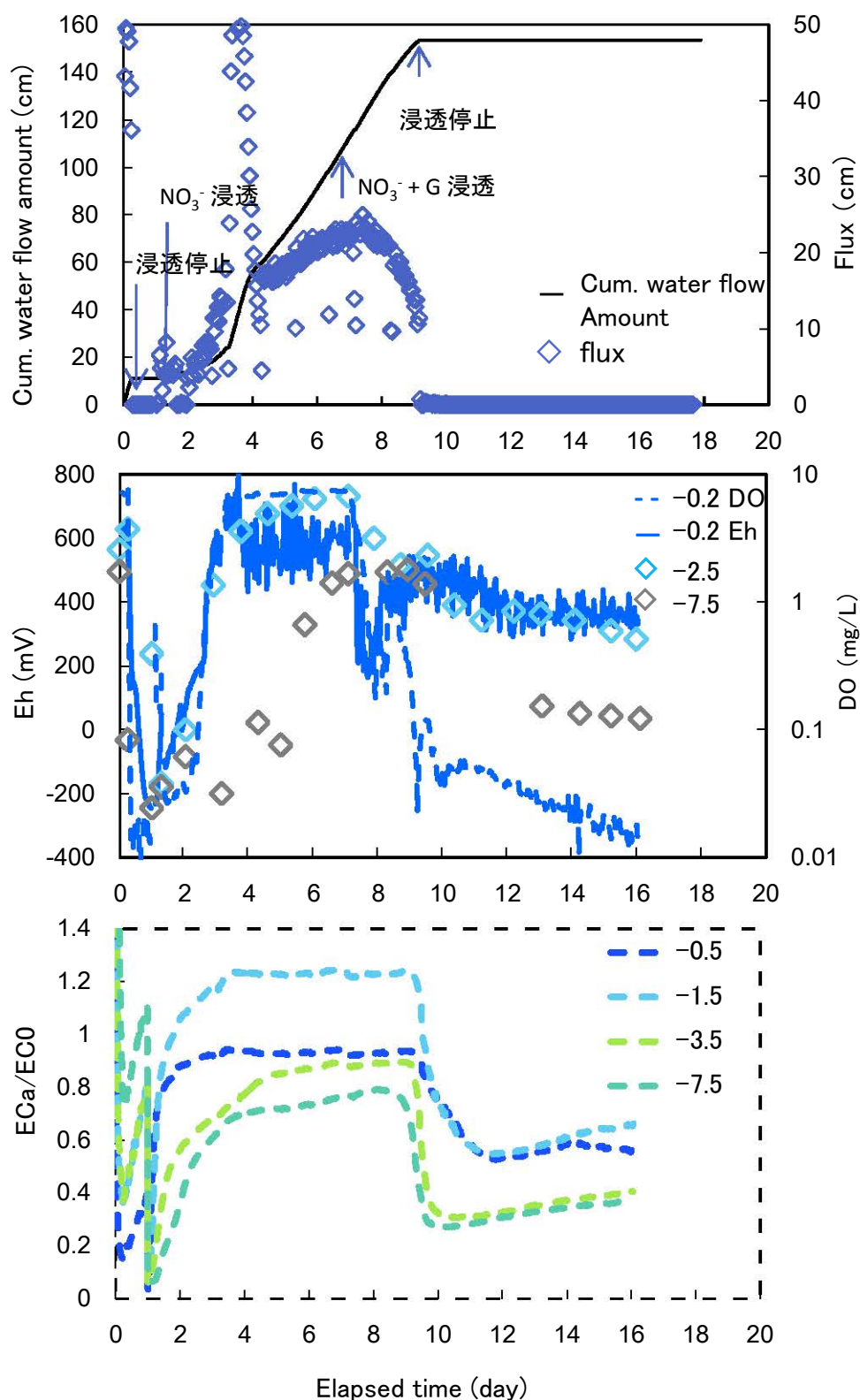


図 6.8 12/10 の積算浸透量と浸透フラックス、各深さの Eh、DO、ECa/EC₀ の経時変化
 ECa/EC₀ は各測定値 ECa を、浸透水の EC₀ で割った相対溶液濃度を表す。浸透開始
 (0d) から数時間後浸透を停止し、1 日目より NO₃⁻ 溶液を浸透した。7 日目より NO₃⁻ に
 グルコースを加えた溶液の浸透開始し、10 日目に浸透を停止した。

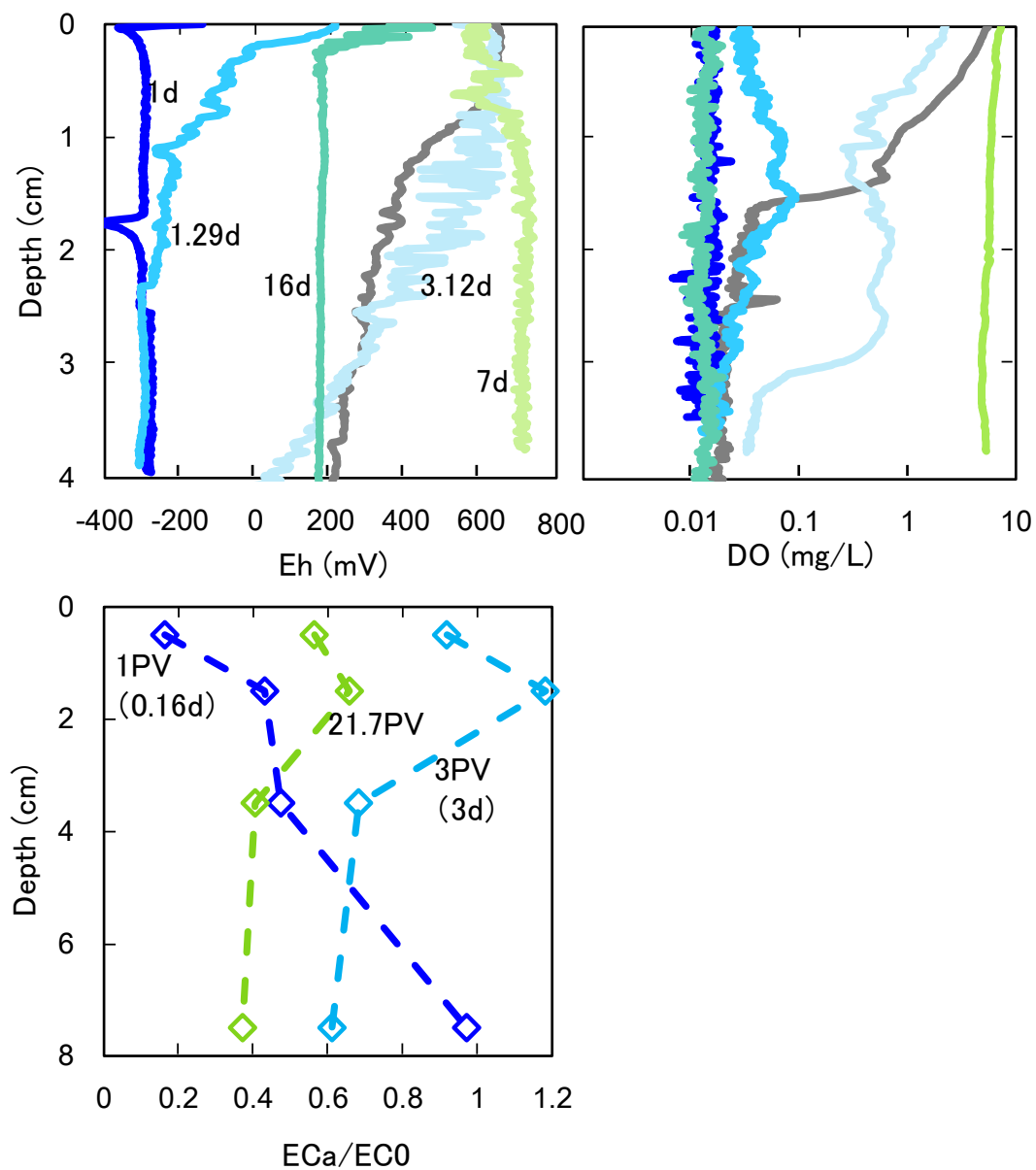


図 6.9 12/10 の Eh、DO、ECa/EC₀ の深さ分布

0 cm は地表面を示す。1.29d は NO₃⁻浸透後、7d は NO₃⁻とグルコース浸透前に測定を行った。

6.3.5 2/4

この実験では還元土への NO_3^- 溶液の浸透により、いつどこに酸化層と脱窒層が分化されるのかを観察することを目的とした。

浸透開始前、0.2 cm 深は $\text{Eh} < -200 \text{ mV}$ 、 $\text{DO} < 0.1 \text{ mg/L}$ と還元が進行していた(図 6.10)。 $\text{Eh}_{2.5}$ と $\text{Eh}_{7.5}$ は 300 mV 以下だった。0~4 cm 深の Eh 、 DO 分布が $\text{Eh} < 200 \text{ mV}$ 、 $\text{DO} < 1 \text{ mg/L}$ となった状態で浸透を開始した。

15 cm/d で NO_3^- 溶液を浸透すると、0.2、1.5 cm 深と浅い順に Eh が上昇し(図 6.10)、1 日が経過すると $\text{Eh} > 400 \text{ mV}$ の酸化層が 0.5 cm 形成された(図 6.11)。そして、その下に約 300 mV の脱窒領域で Eh が停滞し、酸化層の真下に脱窒層が形成していた。さらにその下に還元層もみられた。浸透開始から 2 日目、2.5 cm 深は $\text{Eh} > 400 \text{ mV}$ となり酸化した。 NO_3^- 溶液浸透により $\text{Eh}_{7.5}$ も上昇したが、0.2、1.5 cm 深とは異なり、4 日が経過しても $\text{Eh} > 400 \text{ mV}$ にならず、脱窒の電位の $\text{Eh} = 300 \text{ mV}$ で停滞した(図 6.11)。 NO_3^- 溶液浸透開始から 4 日目、地表付近に形成した酸化、脱窒層が下方に伸長し、酸化層は表面から 2.3 cm、その下に脱窒層が 5.2 cm 形成された。また表面近傍の DO も上昇し、 $\text{DO} > 2 \text{ mg/L}$ の好気層が約 2 cm 形成された。また、浸透開始前の ECa/EC_0 分布は全層でおよそ 0.5~0.6 で、浸透を継続すると全層で 0.8 以上まで上昇した(図 6.10)。しかし、 Eh 分布で見られた脱窒層に対応する ECa/EC_0 の減少は見られなかった。

NO_3^- 溶液を流すと、還元土中に O_2 が供給され土壌表面近傍に酸化層が形成されるが、この流入水中の O_2 は、表面近傍の微生物の呼吸により消費されるため下層には十分に供給されない。しかし、 NO_3^- が流れこむため脱窒が起こり、酸化層の下に脱窒層が形成される。そして脱窒によって NO_3^- が消費されると、下層には O_2 も NO_3^- も流れず、還元が進行する。このようにして土壌表面から流入水中の O_2 、 NO_3^- が順に還元され、酸化、脱窒、還元層ができたと考えられる。また、脱窒が生じると NO_3^- が N_2 ガスに変化するため、土中の ECa/EC_0 は減少すると考えられる。しかし、 Eh 分布より脱窒層が形成

されたと判断される深さの ECa/EC_0 には顕著な減少は見られなかった。これは脱窒が NO_2^- で留まったためと思われるが詳細は不明である。

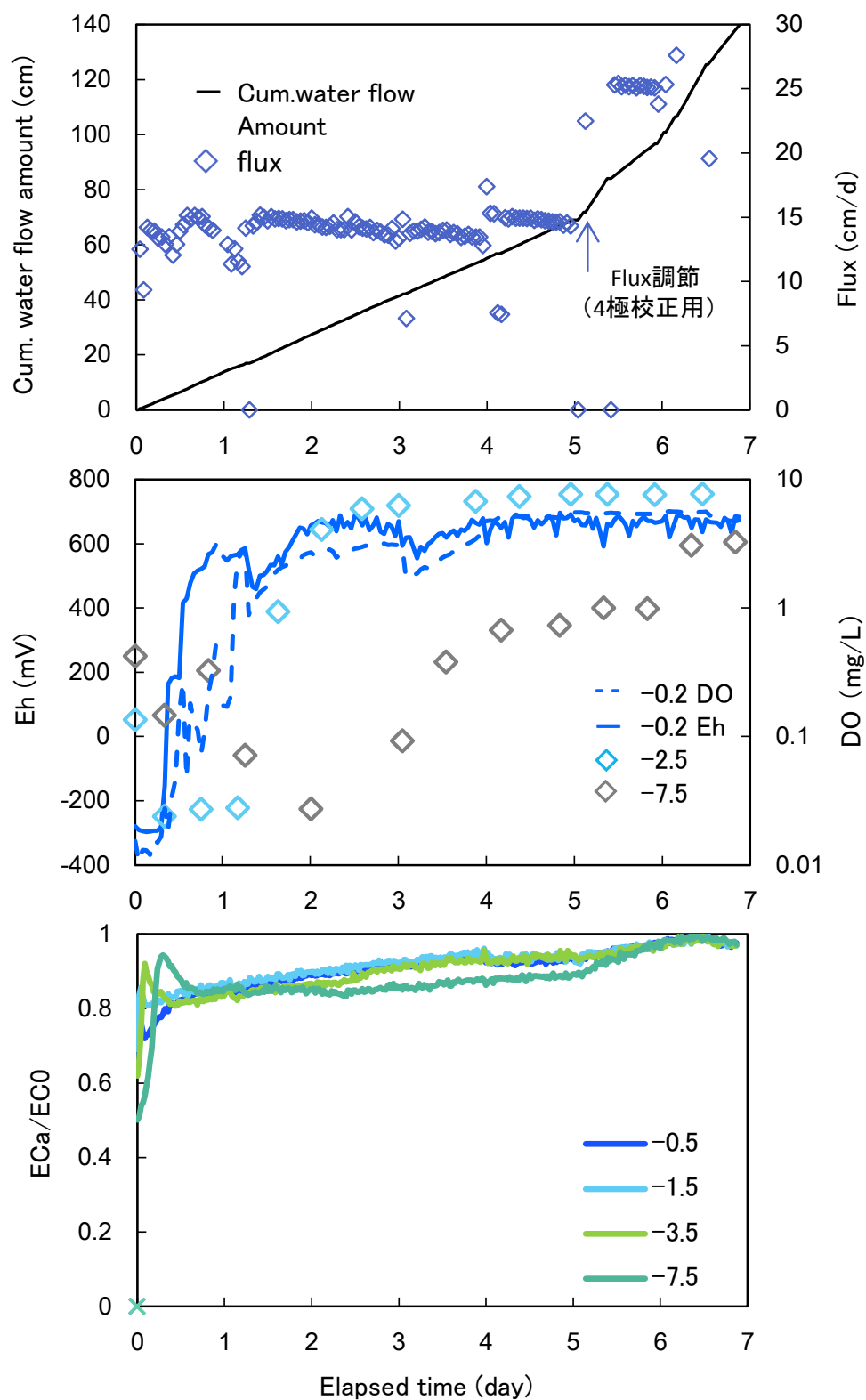


図 6.10 2/4 の積算浸透量と浸透フラックス、各深さの Eh、DO、ECa/EC₀ の経時変化
浸透開始(0d)から5日目に浸透フラックス調節のため下端の吸引圧を下げた。

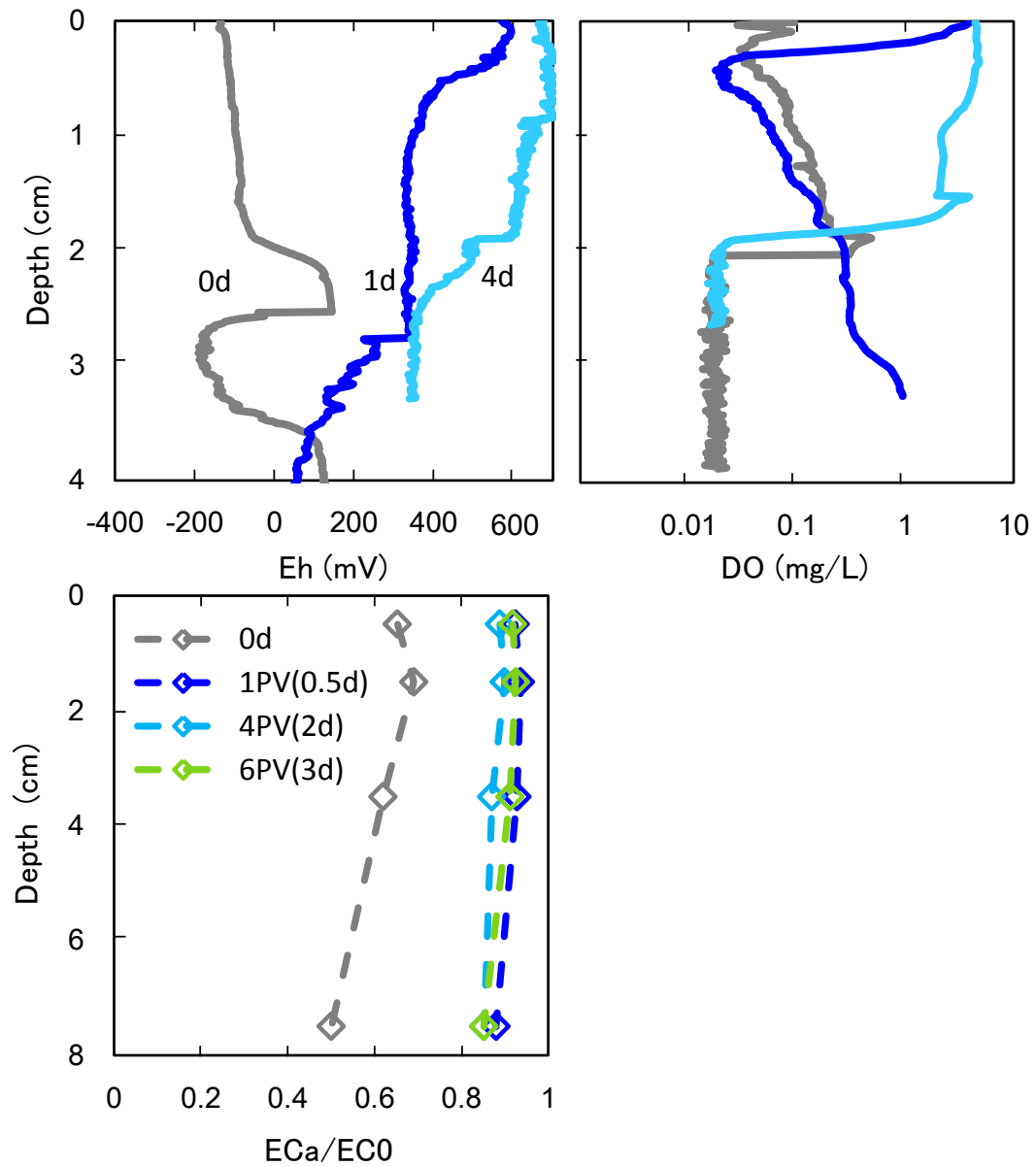


図 6.11 2/4 の Eh、DO、ECa/EC₀ の深さ分布
0 cm は地表面を示す。

6.3.6 2/19

この実験では 2/4 に行った実験とは異なる濃度の NO_3^- 溶液を浸透し、酸化、脱窒層の分化にどのような違いが生じるかを明らかにすることを目的とした。

浸透開始前、0.2 cm 深は $\text{Eh} < 0 \text{ mV}$ 、 $\text{DO} < 0.1 \text{ mg/L}$ と還元状態だった。 $\text{Eh}_{1.5}$ は -200 mV で、 $\text{Eh}_{7.5}$ は 400 mV だった (図 6.13)。

5 cm/d で 0.01 M NO_2^- 溶液を浸透すると、0.2 cm 深は $\text{Eh} > 200 \text{ mV}$ 、 $\text{DO} > 1 \text{ mg/L}$ まで上昇したが、浸透フラックスの低下とともに $\text{DO}_{0.2}$ 、 $\text{Eh}_{0.2}$ の順に低下した (図 6.12)。各深さの ECa/EC_0 は 0.5、1.5、3.5、7.5 cm 深と浅い順に上昇し、浸透開始から 1 日目になると $0.4 \sim 0.3$ で停滞した。この時の 0~4 cm 深の Eh 、 DO 分布は、0.5 cm 以深では $\text{Eh} < 0 \text{ mV}$ 、 $\text{DO} < 1 \text{ mg/L}$ だったが、地表付近は $\text{Eh} = \text{約 } 200 \text{ mV}$ 、 $\text{DO} > 0.1 \text{ mg/L}$ と下層と比べて比較的酸化していた (図 6.13)。浸透開始から 2 日目、0.2 cm 深は $\text{DO} < 0.1 \text{ mg/L}$ 、 $\text{Eh} = -200 \text{ mV}$ となり還元が進行した。また、表面近傍の Eh 、 DO 分布は、1 日目より全層で Eh 、 DO がやや低下した。浸透開始から 5 日目、ドリップポイントを下げ浸透フラックスを $10 \sim 15 \text{ cm/d}$ まで上昇させると、 $\text{DO}_{0.2}$ は 6 mg/L まで急上昇し、 $\text{Eh}_{0.2}$ も 400 mV に達した。また、各深さの ECa/EC_0 も浸透フラックスの上昇にともない一度上昇したが、数時間後には低下し再び各値で停滞した。浸透から 6 日目、0~1.7 cm に $\text{Eh} > 400 \text{ mV}$ の酸化的な層が、そしてその下に $\text{Eh} = \text{約 } 300 \text{ mV}$ の脱窒層が形成された (図 6.13)。DO 分布からも 0~3 cm 深に $\text{DO} > 2 \text{ mg/L}$ の好氣的な層が形成された。 ECa/EC_0 分布では実験開始時は全層で 0.1 だったが、1PV 浸透すると全層が 0.2 まで上昇した。その後はほとんど変化せず、2/4 実験同様 Eh 分布で見られた脱窒層に対応する ECa/EC_0 の減少は見られなかった。

初期、境界条件が同じにもかかわらず浸透フラックスが異なる事は今までの実験でも見られた。明確な理由はわからないが、初期還元の不安定さによると思われる。酸化から還元に向かうような初期の還元期では土の酸化還元状態が劇的に変化するた

め微生物反応は不安定になる。それにより還元にともなうガスの発生が実験毎に異なり浸透フラックスに違いが見られたと考えられる。2/4 実験と浸透フラックスが異なってしまったため、 NO_3^- 濃度の違いによる酸化還元分布への効果を比較する事が出来なかった。浸透フラックスを揃えるには、実験毎に様子を伺いながらドリップポイントの位置を調節する必要がある。

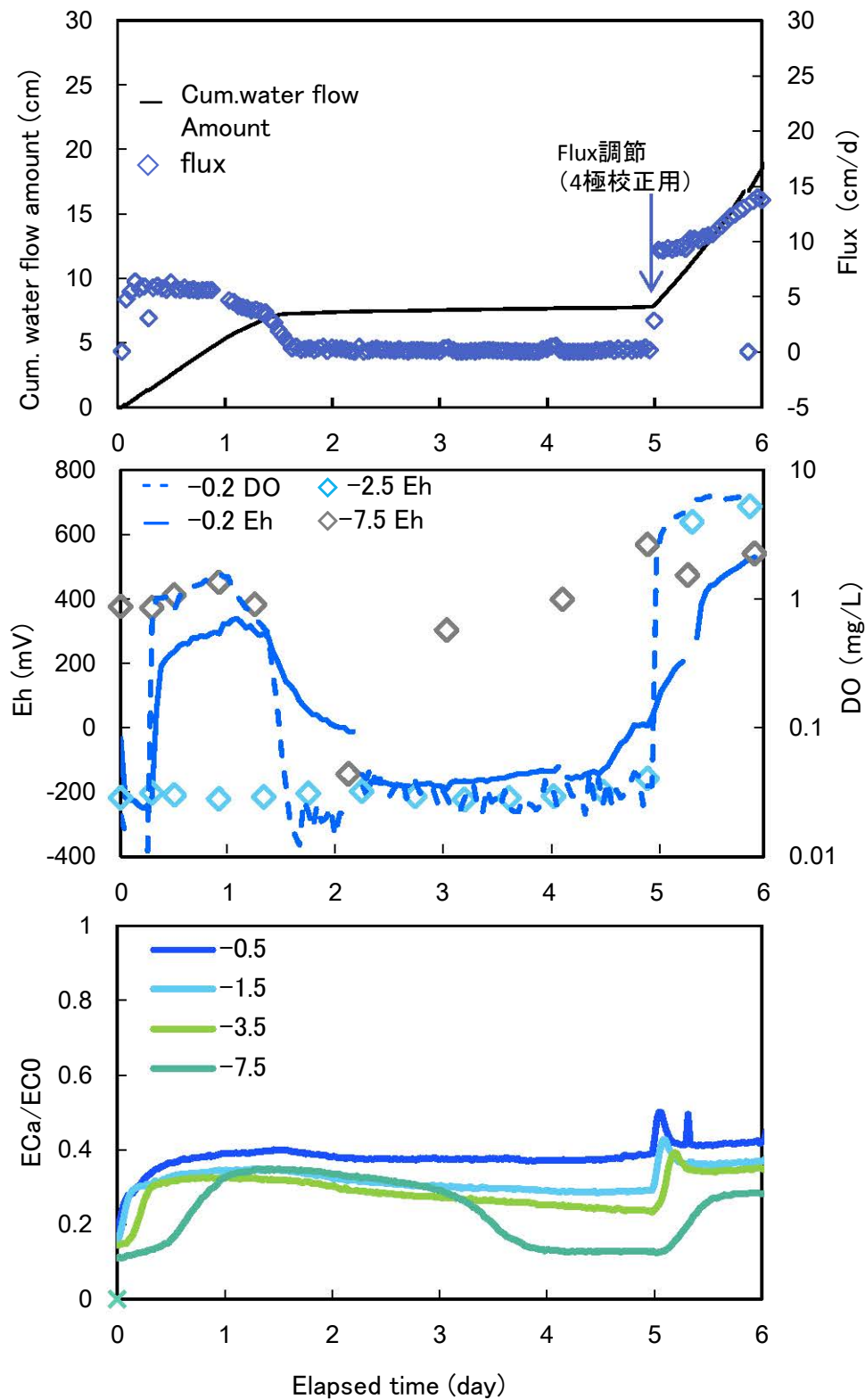


図 6.12 2/19 の積算浸透量と浸透フラックス、各深さの Eh、DO、ECa/EC₀ の経時変化

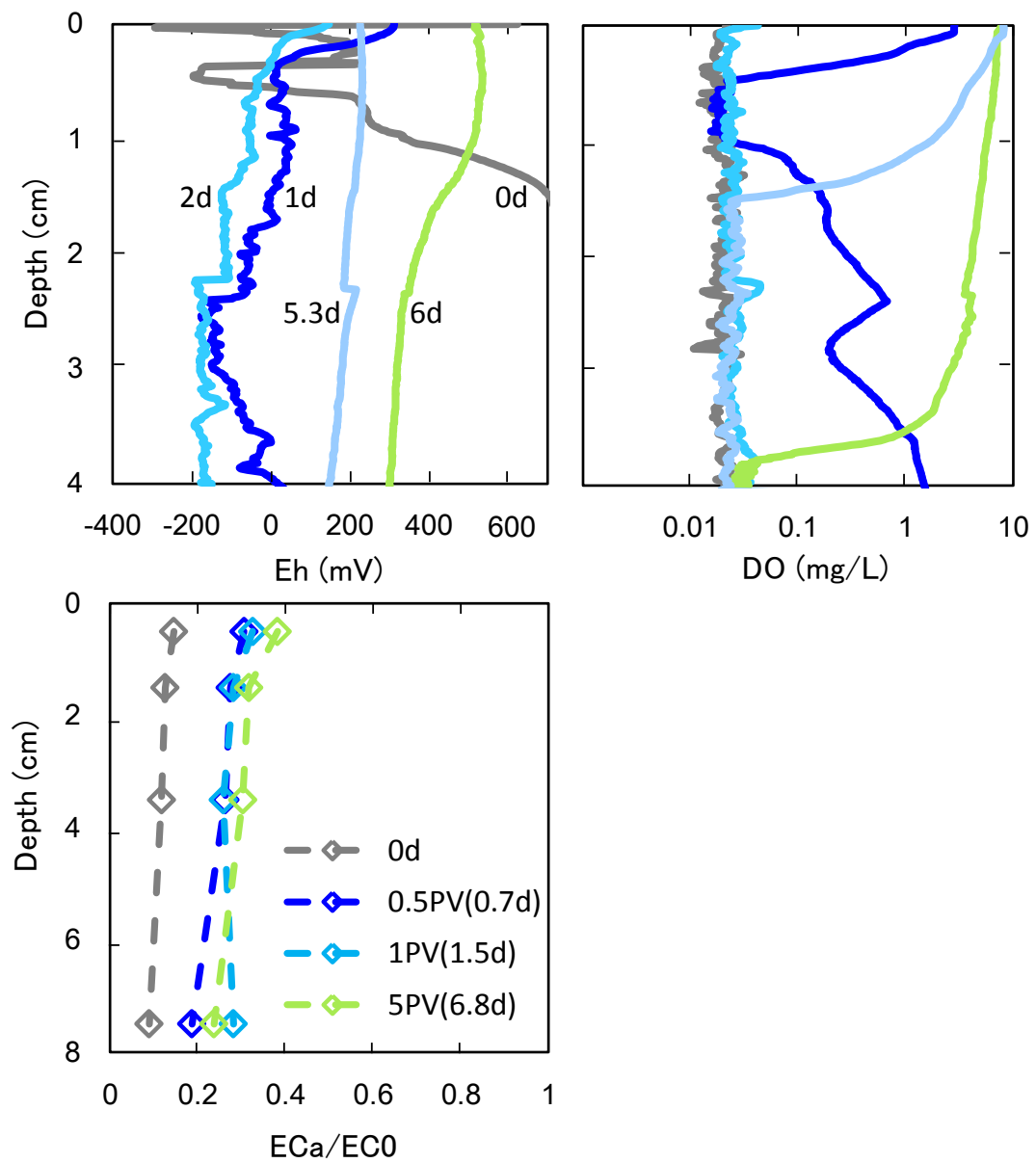


図 6.13 2/19 の Eh、DO、ECa/EC₀ の深さ分布
0 cm は地表面を示す。

6.3.7 3/3

2/19 実験同様、異なる濃度の NO_3^- 溶液を浸透し、各深さの土中の酸化還元状態の変化にどのような違いがあるのかを観察した。

浸透開始前の 0.2 cm 深は $\text{Eh} < -100 \text{ mV}$ 、 $\text{DO} < 0.1 \text{ mg/L}$ と還元が進行していた(図 6.14)。 $\text{Eh}_{1.5}$ は -0 mV で、 $\text{Eh}_{7.5}$ は 300 mV だった。0~4 cm 深は $\text{Eh} < 0 \text{ mV}$ で、 $\text{DO} < 0.1 \text{ mg/L}$ と還元状態になったところで 0.038 M NO_3^- 溶液の浸透を開始した。

浸透開始から 0.5 日後、0.2 cm 深の Eh 、 DO は急上昇し、1 日で $\text{Eh} > 400 \text{ mV}$ 、 $\text{DO} > 1 \text{ mg/L}$ になった。 $\text{Eh}_{1.5}$ は $\text{Eh}_{0.2}$ と同様に上昇したが、 $\text{Eh}_{7.5}$ は $\text{Eh}_{0.2}$ 、 $\text{Eh}_{1.5}$ とは異なり、実験開始時は $\text{Eh} = 300 \text{ mV}$ で、その後 -200 mV まで低下した。図 6.15 より、 Eh 分布では浸透開始から 1 日目で 0~3 cm 深が Eh 約 200 mV で停滞し、下層ほど低下した。2 日目に DO が、3 日目に Eh が急落したが、その後いずれも緩やかに上昇した。2 日目の地表近傍では、4 cm 深まで $\text{Eh} > 400 \text{ mV}$ の酸化層が形成された(図 6.15)。一方で、1 日目の DO 分布では 0~0.8 cm に $\text{DO} > 2 \text{ mg/L}$ の好氣的な層が見られたが、2 日目になると全層で減少し、好気層は見られなくなった。実験終了時にはいずれの深さも $\text{Eh} > 600 \text{ mV}$ と酸化し、 $\text{DO}_{0.2}$ も 5 mg/L と土が好氣的になった。7 日目になると Eh 、 DO 分布いずれも更に上昇し、酸化した。また、 ECa/EC_0 分布では、実験開始時から 1PV 浸透すると全層が 0.8 まで上昇し、 4PV になると 1 に達した。

2 日目に $\text{DO}_{0.2}$ が急落した原因はわからない(図 6.14)。同時に測定している $\text{Eh}_{0.2}$ は 600 mV 以上の O_2 による酸化の電位を示しているため、 DO が正確に測定されていない可能性が高い。2 日目のプロファイル測定後に $\text{DO}_{0.2}$ が変化したため、 DO センサを固定し直した時にセンサの測定部先端に土粒子か何かが付着したのかもしれない。3 日目の Eh の急落の原因もわからない。そして、今回も 2/4 と浸透フラックスが異なるため酸化、脱窒層の発達を厳密に比較できなかった。

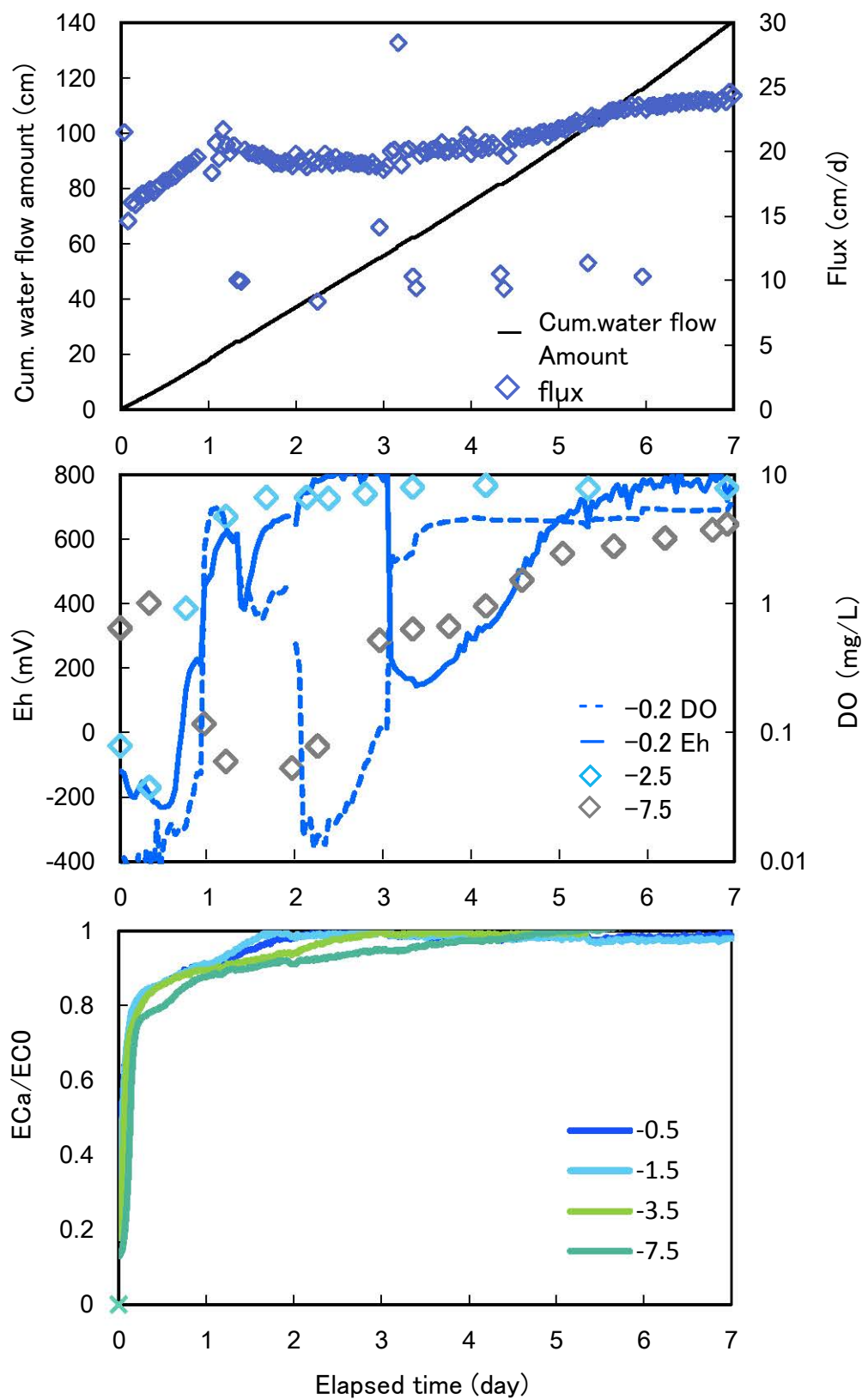


図 6.14 3/3 の積算浸透量と浸透フラックス、各深さの Eh、DO、ECa/EC0 の経時変化

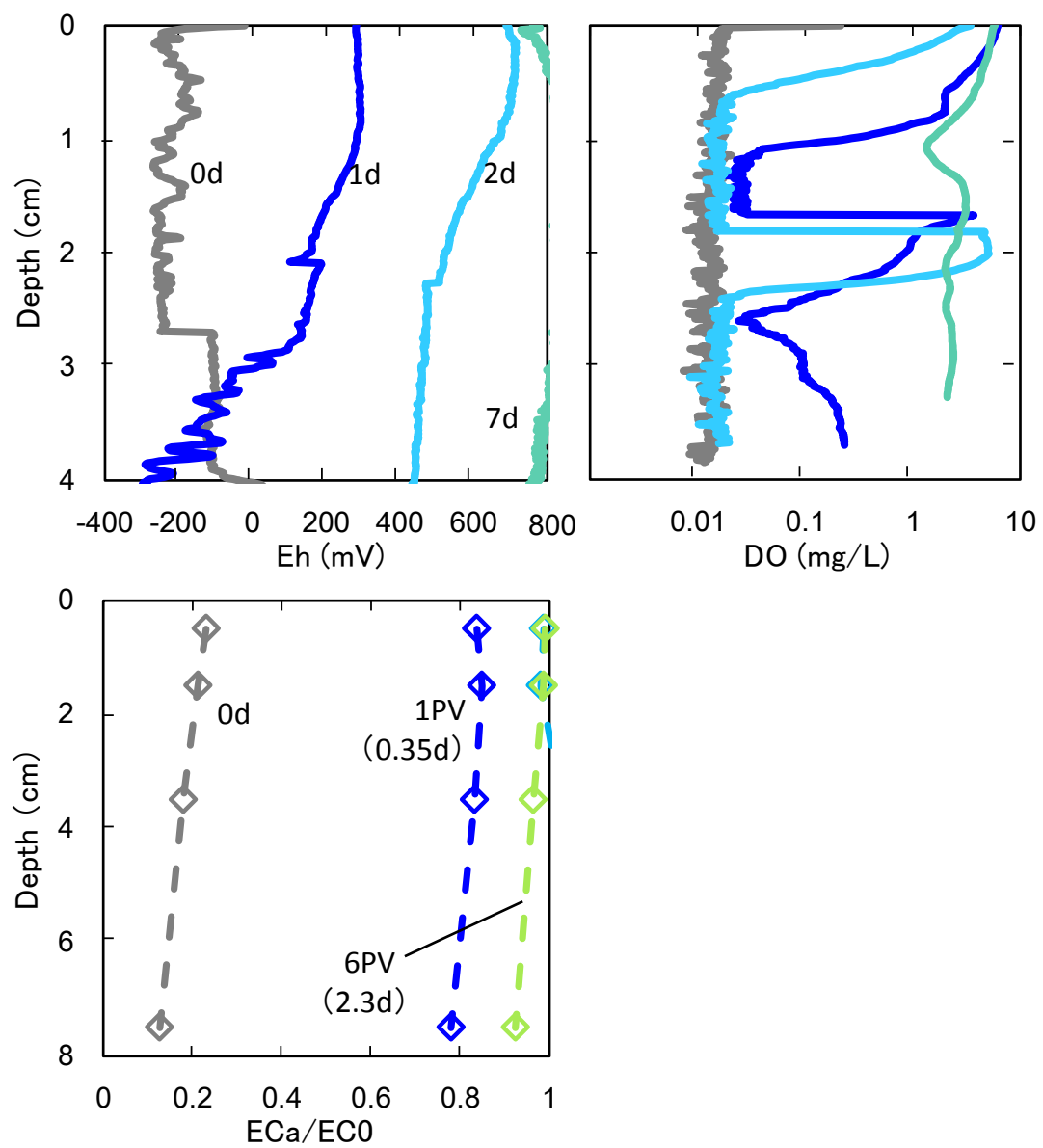


図 6.15 3/3 の Eh、DO、ECa/EC₀ の深さ分布
0 cm は地表面を示す。

6.4 6章の結果まとめ

これまでの実験について①純水を浸透した場合②グルコース溶液を浸透した場合③ NO_3^- 溶液を浸透した場合で結果まとめる。

① 純水を浸透した場合

純水を 40 cm/d で浸透すると、浸透開始から数時間で地表から 7.5 cm 深まで $\text{Eh} > 400$ mV と土が酸化した(図 6.2)。また、0~2 cm 深が $\text{DO} > 2$ mg/L となり土が好氣的になった(図 6.3)。このように、浸透フラックスが速い場合では、純水の浸透により表面酸化層が形成された。

② グルコース溶液を浸透した場合

①と同様にグルコース溶液を 50 cm/d で浸透すると、0~7.5 cm 深までの土は $\text{Eh} > 400$ mV と酸化的に、 $\text{DO}_{0.2}$ も 2 mg/L 以上と好氣的になったグルコースが湛水土に流下すると土壌表面近傍が強還元するが(図 6.5)、浸透フラックスが速い場合では還元せず酸化した(図 6.6)。

③ NO_3^- 溶液を浸透した場合

①と同様に NO_3^- 溶液を 15cm/d で浸透すると、0.2、1.5 cm 深と浅い順に Eh が上昇し(図 6.10)、1 日が経過すると $\text{Eh} > 400$ mV の酸化層が 0.5 cm 形成された(図 6.11)。そして、その下に約 300 mV の脱窒領域で Eh が停滞し、酸化層の真下に脱窒層が形成していた。さらにその下に還元層もみられた。

第7章 稲わら添加土の酸化還元過程に浸透フラックスや浸透水中の NO_3^- 濃度の違いが及ぼす影響

6章では易分解、易動性の有機物としてグルコースを土に添加し、浸透フラックスや浸透水中の NO_3^- 濃度の違いで酸化還元過程を観察した。次に7章では、難分解、不動性の有機物として稲わらを土に添加し、6章と同様に浸透フラックスや浸透水中の NO_3^- 濃度の違いが土壌表面近傍の酸化還元過程にどのような影響を及ぼすのかを観察することを目的とし、一次元カラム浸透実験を行った。

7.1 試料

実験に使用した試料と添加基質

三重大学附属農場の水田表土	75 %
豊浦砂	25 %
稲わら	乾土 1 g あたり 1 %

7.2 実験方法

7章の実験では、土を飽和させ数週間インキュベーションした後にカラムへ詰めた。試料を上記の割合で測りとり、均等になるように混ぜあわせた。純水を加えて試料を飽和させ、2週間以上 25°C の恒温槽で静置し試料をインキュベーションし還元させた。図 7.1 に実験装置の概要を示す。土を詰める前にカラムに白金電極と参照電極をシーラントで固定した。また、光による微生物活動の影響を制御するため黒塗カラムを用いた。乾燥密度が 1.4 g/cm^3 になるようにカラムを一段ずつ組立て、試料を丁寧に詰めた。試料上端に穴あきのアクリルの蓋をのせて湛水を設けた。カラムへの移植によって酸化した試料を再び還元させるため、充填後 2 日間カラムを静置してから浸透を開始した。マリ

オート管で試料上端に湛水を設け浸透を開始した。試料表面から 0.2 cm 深に Unisense の Eh、DO のマイクロセンサを鉛直方向に設置した。また、1.5 と 7.5 cm 深に Eh 測定用の白金電極とテンシオメータを、0.5、1.5、3.5、7.5 cm 深に四極センサをカラム側面からそれぞれ設置した。浸透速度はマリオート管の重量変化より求めた。また、試料下端の圧力を調節し浸透速度を一定に保った。浸透前の浸透水の Eh は 280 mV、DO は 6.5 mg/L だった。また、任意の時間にマイクロセンサを地表から 10 $\mu\text{m/s}$ で土中へ挿し込み、0～4 cm 深までの Eh、DO、pH 分布を 100 μm 間隔で測定した。マイクロセンサの降下に用いた装置の使用法は第 3 章を参考に。実験終了時に試料を切り分け、0.5、1、1.5、2、3、7.5 cm 深の生土を約 1 g 採取し遠沈管に入れ 50 ml の蒸留水を加えて 1 時間振盪した。浸透終了後、遠沈管を 30 分静置して土を沈殿させ、ホールピペットで上澄み液を 25 ml 採取した。DR6000 による測定では 1 サンプルの測定に 10 ml が必要になる。今回の実験では、 NO_3^- 、 NO_2^- の測定を行うため、ある 1 か所の深さの土中水溶液濃度を測定するのに最低でも 20 ml が必要となる。そこで作業中のロスを考慮し 25 ml を採取する事にした。この抽出液をフィルターでろ過し、DR6000 により各深さの NO_3^- 、 NO_2^- 濃度の測定を行った。また、1 日おきに排液の NO_3^- 、 NO_2^- 濃度の測定も行った。表 7.1 に実験条件の詳細を記す。

表 7.1 実験条件の詳細

実験名	カラム (cm)	浸透液 (mol/L)	境界圧力 (cm)	備考
8/4	15	純水	$h_{\text{上}} = 2$ $h_{\text{下}} = -200$	浸透フラックス 0.5 cm/d
9/1	15	0.038 M NO_3^-	$h_{\text{上}} = 1$ $h_{\text{下}} = -100$	浸透フラックス 0.5 cm/d
9/29	15	0.038 M NO_3^-	$h_{\text{上}} = 1.5$ $h_{\text{下}} = -200$	浸透フラックス 1.25 cm/d
11/18	15	0.038 M NO_3^-	$h_{\text{上}} = 1$ $h_{\text{下}} = -15$	浸透フラックス 4 cm/d 5～10 cm 深は豊浦砂を充填 参照電極寒天被膜

浸透溶液には純水と 0.03 M に調整した硝酸カリウム溶液を用いた。この 0.03 M の KNO_3 溶液中の NO_3^- を DR6000 で測定した所 0.038 M だった。そのため以下では 0.038 M の NO_3^- を浸透したことにする。

また、参照電極と白金電極をカラムの同じ深さに設置すると、参照電極とその近くにある白金電極 (7.5 cm 深) の周辺の土が酸化するようになった (図 7.2)。以下に結果で示すが、7.5 cm 深で測定した Eh が異常に高くなることが何度か観察された。なお、1.5 cm の白金電極の周囲や、参照電極と白金電極を異なる深さに設置した場合ではこのような土の酸化は見られなかった。理由は定かではないが、白金電極と参照電極を近くに設置するとその周囲が酸化してしまうようだ。この不本意な酸化を防ぎ 7.5 cm 深の Eh 測定を正確に行うために、11/18 実験からは参照電極の周囲を寒天で覆い実験を行うことにした。

寒天被膜の作り方

参照電極のプラスチックキャップに小さな穴をあける。このプラスチックキャップに純水 1L に対し 4 g の寒天粉をまぜたものを詰め、そのキャップに参照電極を入れる (図 7.3) この参照電極を今までの要領でカラムに固定した。

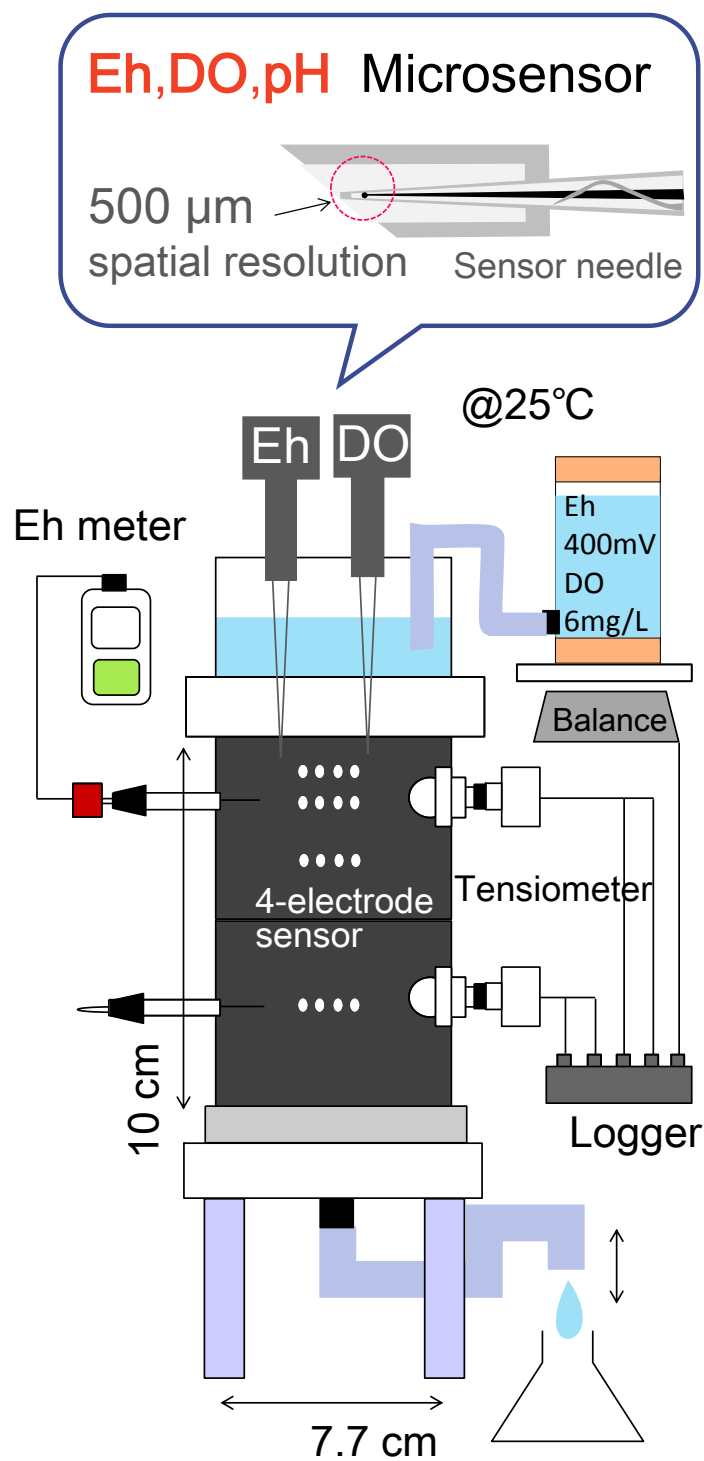


図 7.1 実験の概念図



図 7.2 酸化した様子
左は実験中、右は実験終了後カラム解体時に撮影した(9/29 実験)。

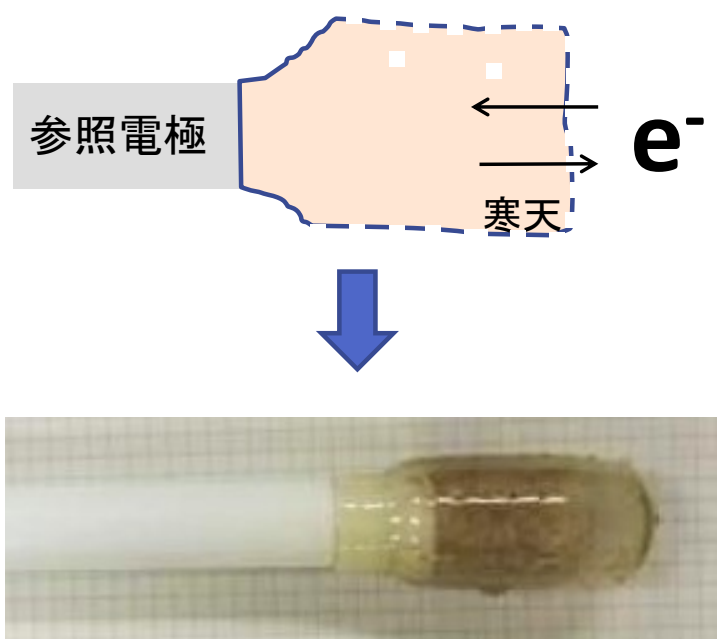


図 7.3 参照電極を寒天で覆った様子

7.3 結果

7.3.1 8/4

土を 25°C で 2 週間以上インキュベーションすると、DO_{0.2} は 0.1 mg/L 以下と土は嫌氣的になった(図 7.4)。この時、Eh_{1.5}、Eh_{7.5} は -100 mV 以下で、Eh_{0.2} は 0 mV だった。土壌表面近傍の Eh、DO 分布が Eh < 0 mV、DO < 0.1 mg/L と、還元的になった状態で浸透を開始した(図 7.5)。

0.5 cm/d で純水を浸透すると、Eh_{0.2} は 10 日が経過しても浸透開始前と変わらず、0 mV で停滞した(図 7.4)。Eh_{1.5}、Eh_{7.5} は -100 mV から徐々に低下し、-200 mV で停滞した。また、Eh 分布は、地表から 2 cm 深までの Eh が 0 ~ 100 mV に上昇したが、土は酸化的にはならなかった(図 7.5)。また、DO 分布は浸透を開始してもほとんど変化しなかった。pH 分布は、浸透を開始すると全層の pH が上昇した。実験終了時に NO₃⁻ と NO₂⁻ の濃度分布を測定すると、NO₃⁻ は全層 (0 ~ 7.5 cm 深) で 0.01 M、NO₂⁻ は 0.001 M とほとんど存在しなかった(図 7.5)。他の実験で今回用いた試料に既存する NO₃⁻ を測定したところ 0.01 M だった。NO₃⁻ 溶液を浸透しなくてももともと土には NO₃⁻ が 0.01 M あることがわかった。

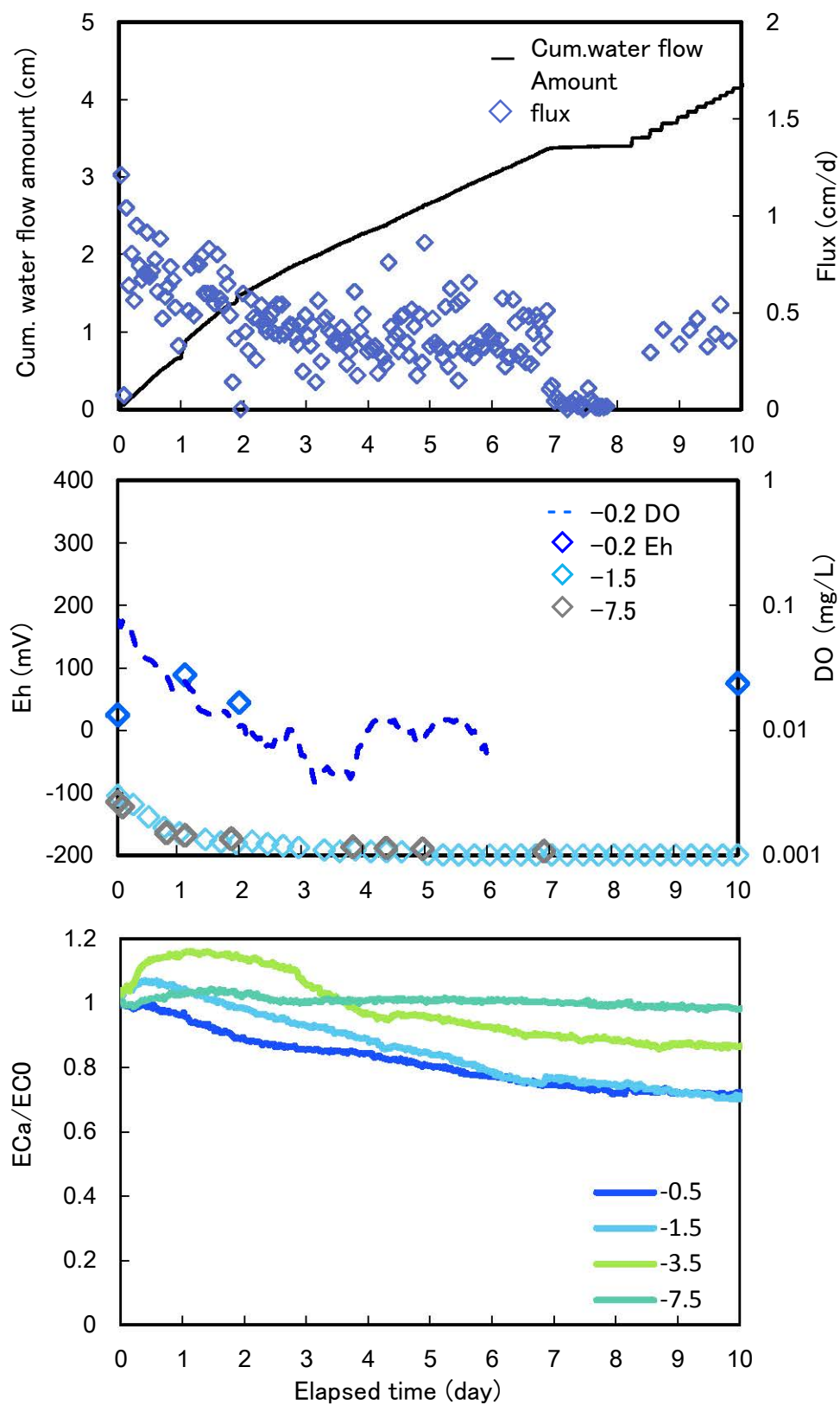


図 7.4 8/4 の積算浸透量と浸透フラックス、各深さの Eh、DO、ECa/EC₀ の経時変化

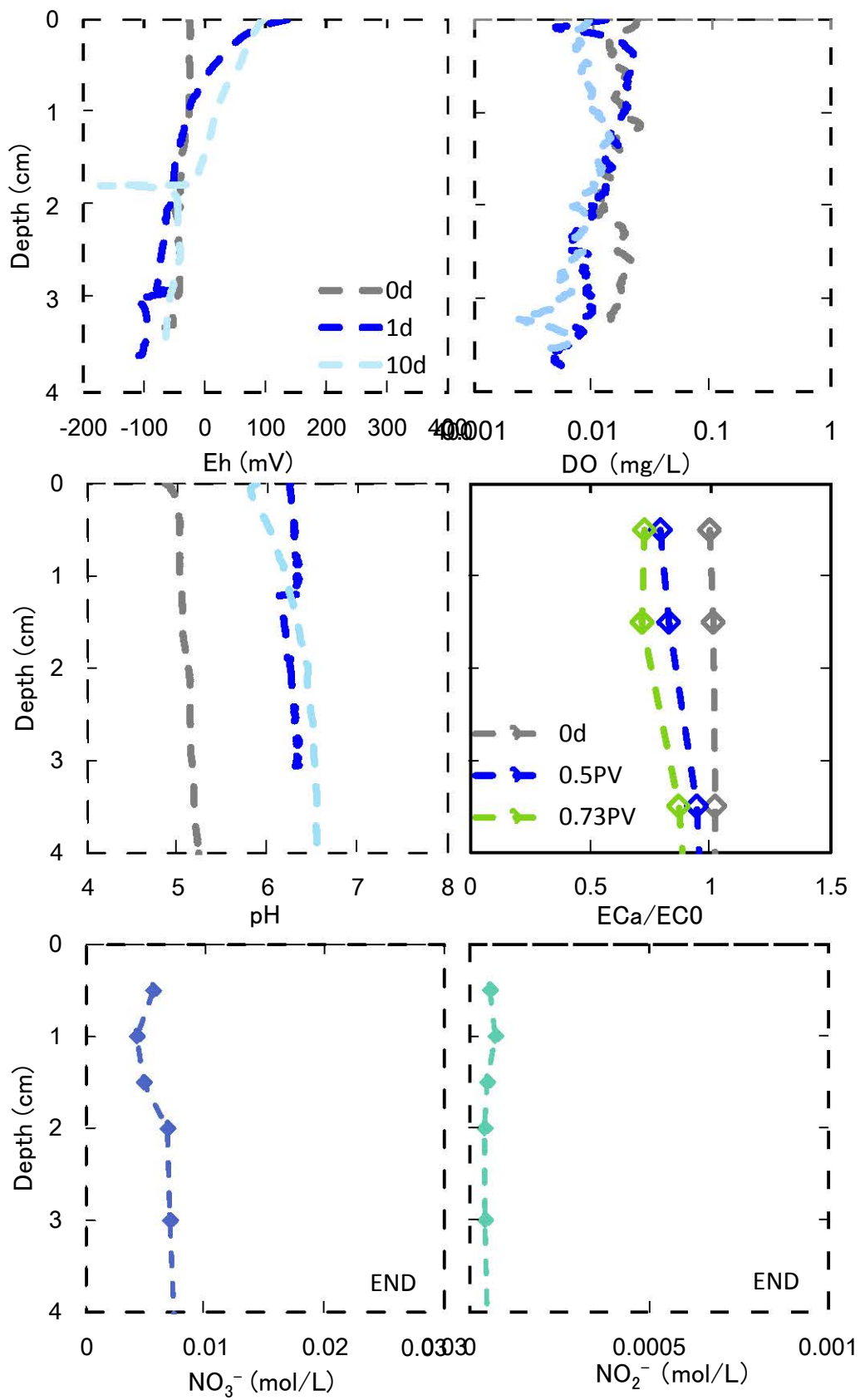


図 7.5 8/4 の Eh、DO の深さ分布と実験終了時の NO₃⁻と NO₂⁻の内部分布
0 cm は地表面を示す。

7.3.2 9/1

8/4と同様に、0.038 M の KNO_3 溶液を 0.5 cm/d で浸透すると(実験の途中で浸透フラックスが低下したため、一時的にドリップポイントを下げた浸透を促した)、 $\text{Eh}_{0.2}$ は浸透開始から 1 日目に一旦 150 mV まで上昇したが、その後低下して 0 mV で停滞した(図 7.6)。 NO_3^- を浸透すると $\text{Eh}_{1.5}$ は緩やかに上昇し、10 日目には $\text{Eh}_{0.2}$ と等しくなった。また、 $\text{DO}_{0.2}$ は浸透を開始しても 0.01 mg/L で停滞した。また、0~4 cm 深の Eh、DO 分布は時間が経過しても初期(0d)からあまり変化はみられなかった(図 7.7)。 ECa/EC_0 分布は表面近傍の EC がやや上昇し 0.5 PV で 0.6 に達した後に低下した。実験終了時、0~7.5 cm 深の NO_3^- 濃度は全層で 0.01 M と NO_3^- を浸透したにも関わらず低くなった。また、 NO_2^- 濃度はほとんど 0 に近いが地表付近だけ下層と比べ高くなった。排水の EC は 1 PV 浸透した後大きく上昇した(図 7.8)。 NO_3^- 濃度も 1 PV 後大きく上昇し 0.02 M に達したが、 NO_2^- 濃度は非常に低かった。

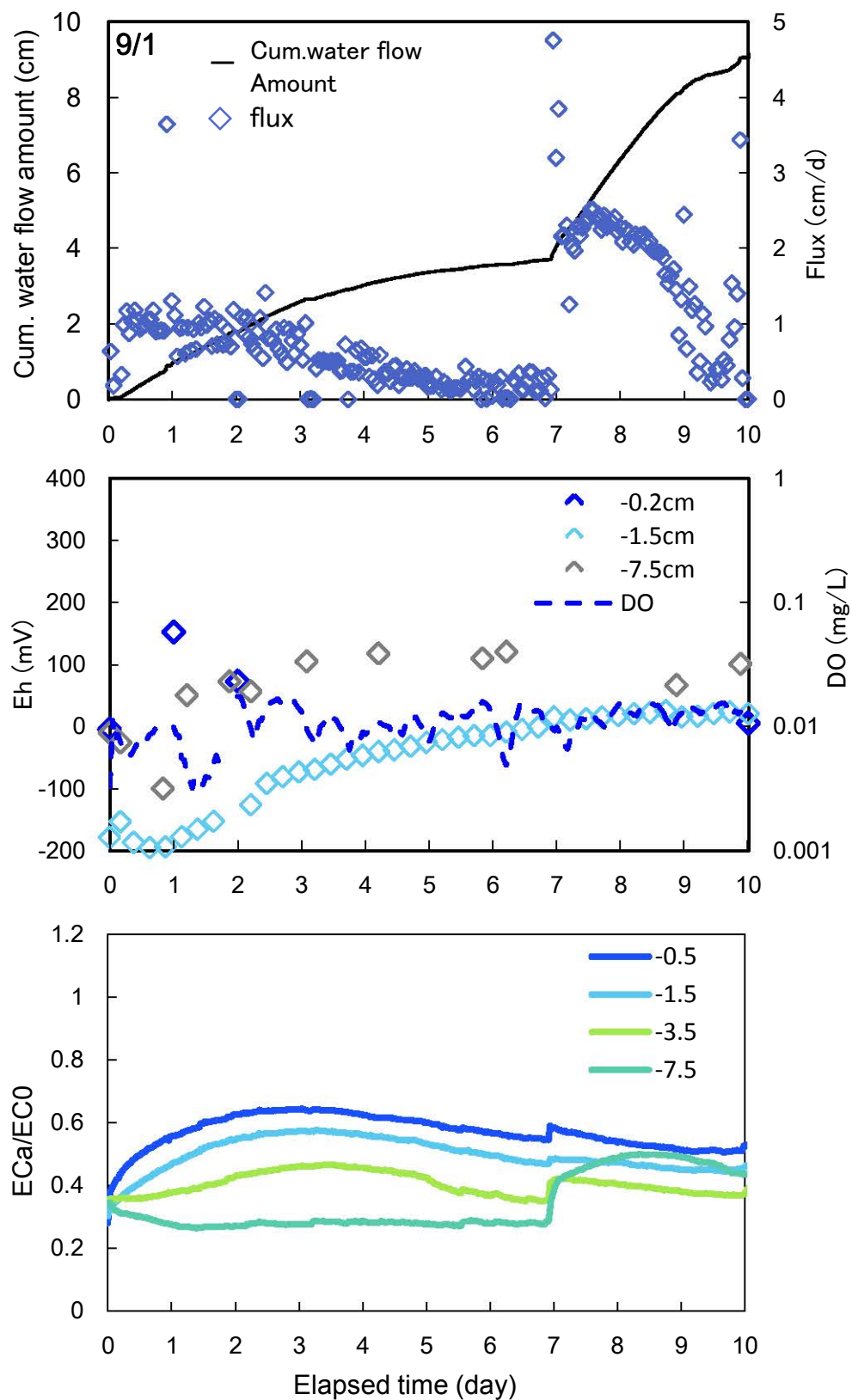


図 7.6 9/1 の積算浸透量と浸透フラックス、各深さの Eh、DO、ECa/EC0 の経時変化

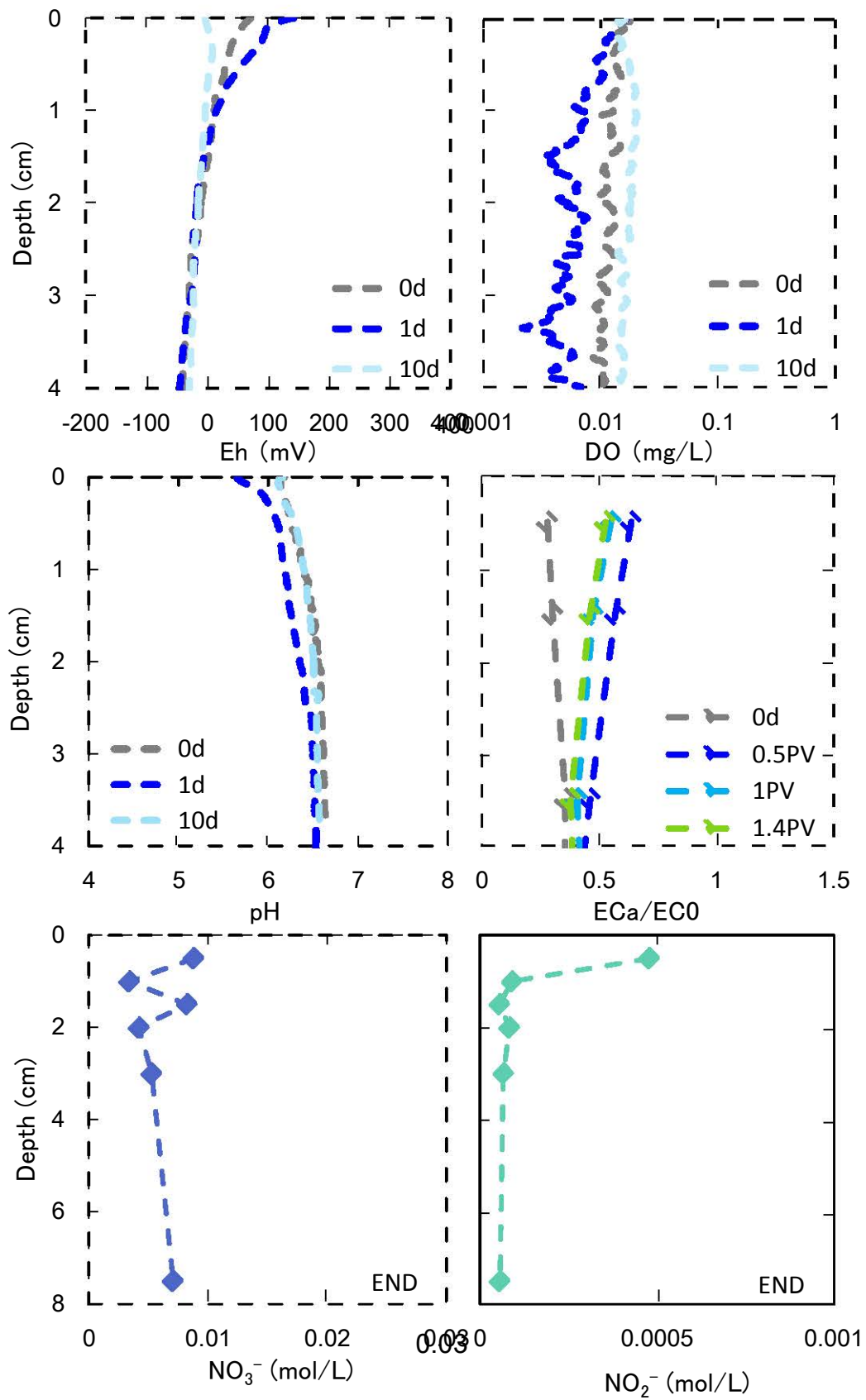


図 7.7 9/1 の Eh、DO の深さ分布と実験終了時の NO_3^- と NO_2^- の内部分布
0 cm は地表面を示す。

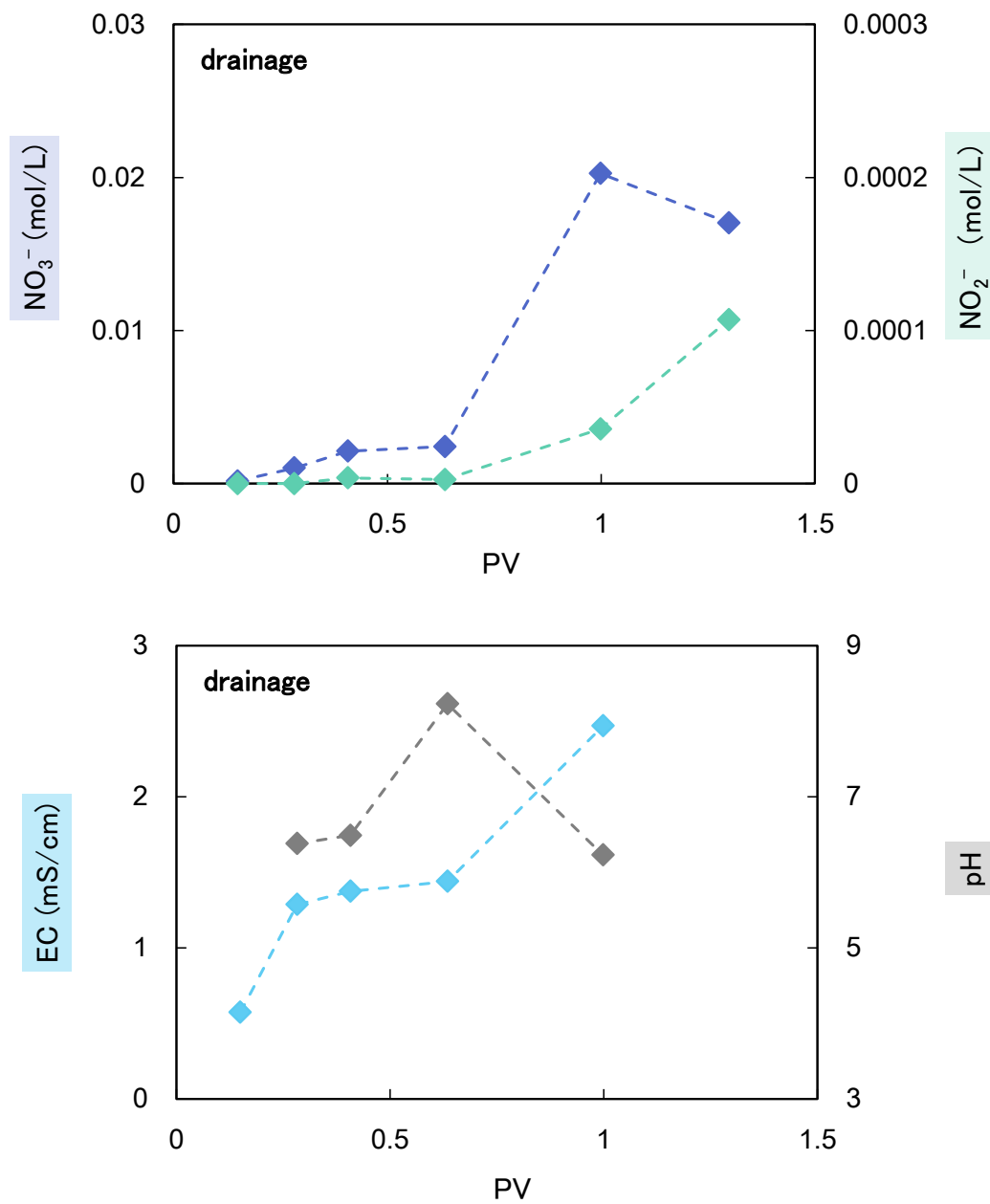


図 7.8 9/1 の排水の NO_3^- と NO_2^- 濃度と EC、pH の経時変化
0.5、1PV はそれぞれ 4.5、8d に相当する。

7.3.3 9/29

土を 25°C で 2 週間以上インキュベーションすると、0.2 cm 深は $\text{DO} < 0.1 \text{ mg/L}$ で、 $\text{Eh} < 200 \text{ mV}$ で、 $\text{Eh}_{-1.5}$ と $\text{Eh}_{-7.5}$ は -100 mV だった(図 7.9)。そして、土壌表面近傍(0 ~ 4 cm 深)の Eh 、 DO 分布が $\text{Eh} < 200 \text{ mV}$ 、 $\text{DO} < 0.1 \text{ mg/L}$ と、還元的になった状態で浸透を開始した(図 7.10)。

0.038 M の KNO_3 溶液を 1.25 cm/d 浸透すると、 $\text{Eh}_{-0.2}$ 、 $\text{Eh}_{-1.5}$ は徐々に上昇し、10 日目にはそれぞれ $\text{Eh} > 300 \text{ mV}$ 、 $\text{Eh} > 0 \text{ mV}$ になった(図 7.9)。 $\text{Eh}_{-7.5}$ は浸透開始から 1 日以内に $\text{Eh} > 400 \text{ mV}$ になり、10 日目には $\text{Eh} > 700 \text{ mV}$ と異様に高い値になった。 $\text{DO}_{-0.2}$ は浸透を開始すると低下し、10 日目には $\text{DO} < 0.01 \text{ mg/L}$ になった。また、 Eh 分布では 0 ~ 1 cm 深の Eh が上昇し、10 日目になると $\text{Eh} > 300 \text{ mV}$ の脱窒層が 0.5 cm 形成された(図 7.10)。 DO 分布では 10 日目にごく地表で DO がやや上昇したが、下層にはほとんど DO は無かった。また、 ECa/EC_0 分布では 0.5 cm 深 ECa/EC_0 は 1 以上と非常に高く、そして 1.5 cm 深にかけて低下した(図 7.10)。実験終了時の土中の NO_3^- 濃度は 0.5、1.5 cm 深が非常に高く浸透水中の NO_3^- 濃度よりも高くなったが、1.5 cm 以深は低かった。 NO_2^- 濃度も下層と比べ 0.5、1.5 cm 深が高かった(図 7.10)。排水の EC は時間と共に増加し、一方、 pH は時間と共に低下し、 $\text{pH} < 4$ になった(図 7.11)。また、排水中の NO_3^- 濃度は 1 PV 浸透後に急上昇し、2 PV 浸透すると浸透溶液中の NO_3^- 濃度と等しくなった。また、実験終了時にカラムを解体すると、7.5 cm 深に設置した白金電極と参照電極周囲の土が酸化していた(図 7.2 右図)。

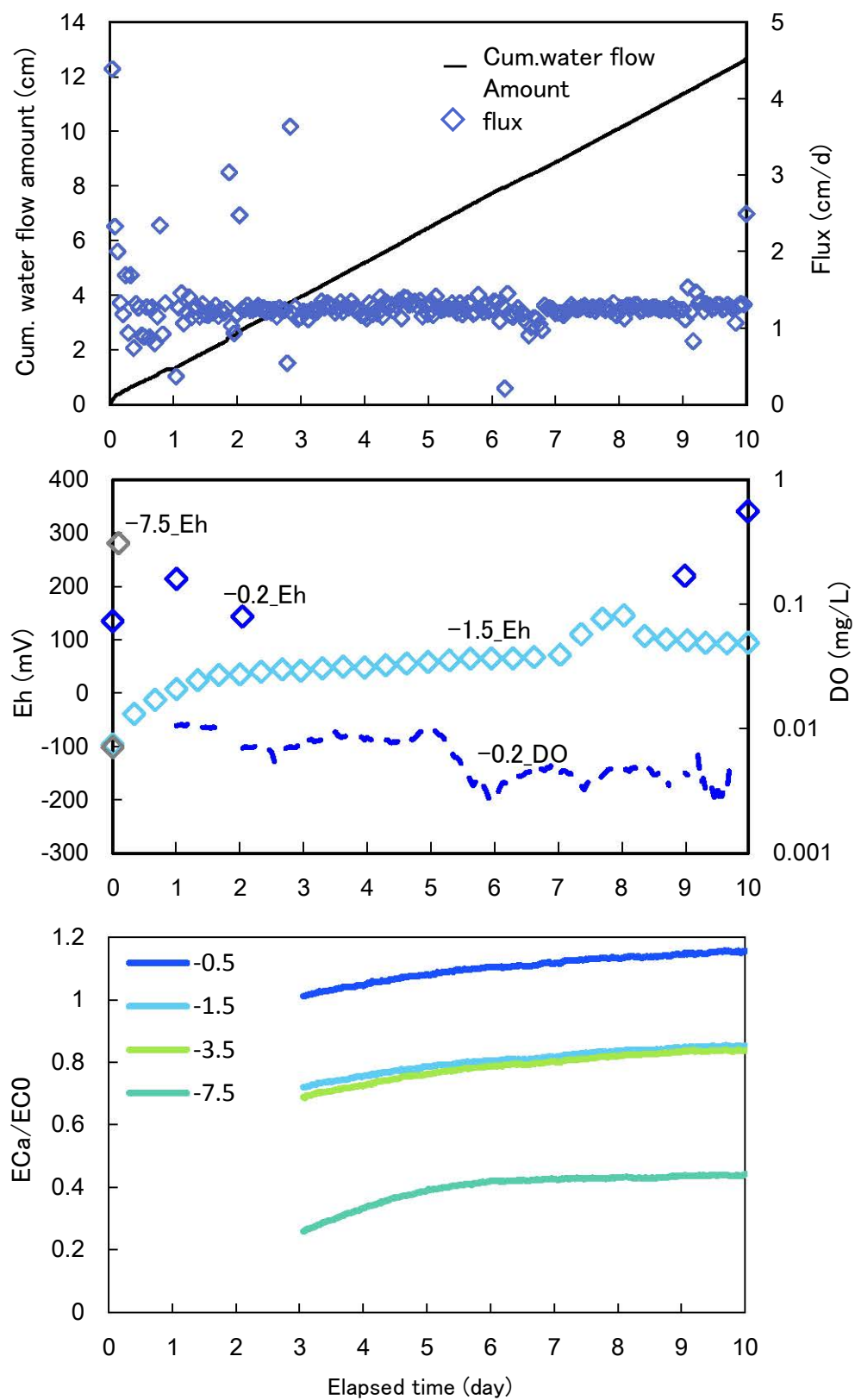


図 7.9 9/29 の積算浸透量と浸透フラックス、各深さの Eh、DO、ECa/EC0 の経時変化

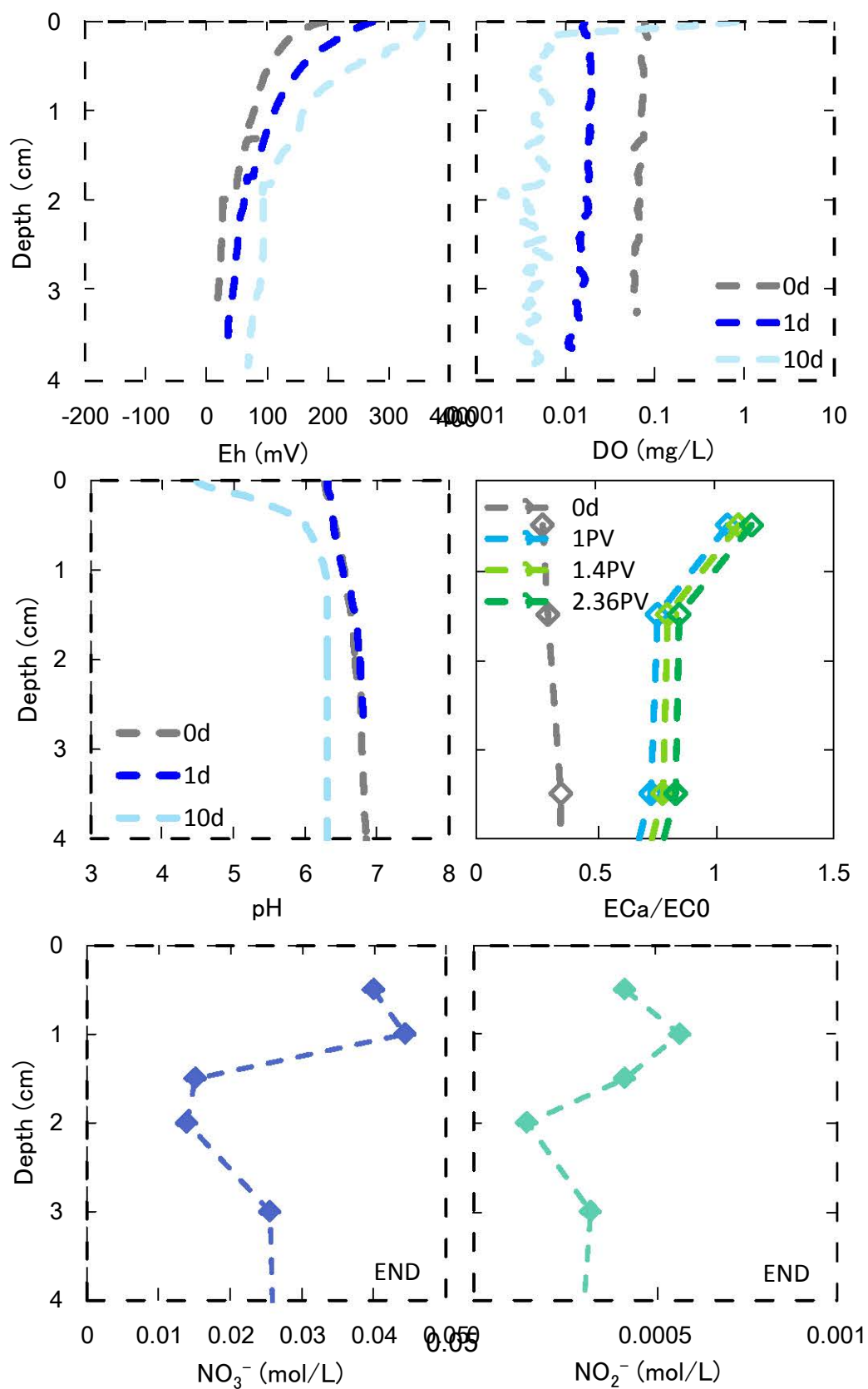


図 7.10 9/29 の Eh、DO の深さ分布と実験終了時の NO_3^- と NO_2^- の内部分布
0 cm は地表面を示す。

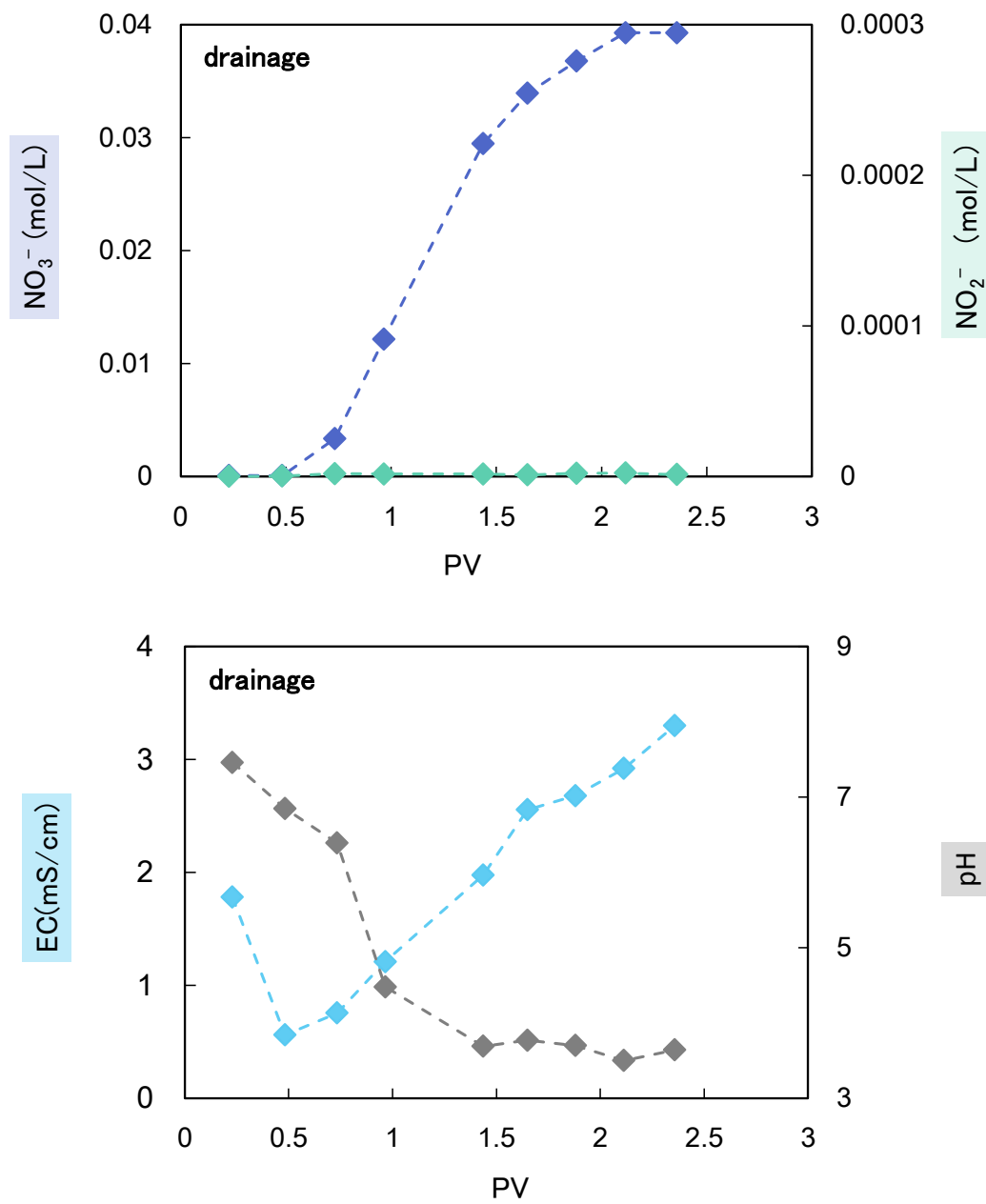


図 7.11 9/29 の排水の各測定値
1、2PV はそれぞれ 4.1、8.5 d に相当する。

7.3.4 11/18

この実験では寒天の被覆を施した参照電極を用いた(図 7.3)。浸透開始前の 0.2 cm 深は $E_h=200$ mV、 $DO<0.1$ mg/L だった(図 7.12)。このとき、 $E_{h-1.5}$ と $E_{h-7.5}$ は-100 mV で、0.2 cm 深より還元していた。土壌表面近傍の E_h 、 DO 分布が $E_h<300$ mV、 $DO<0.1$ mg/L となった状態で浸透を開始した(図 7.13)。

0.038M の KNO_3 溶液を 4 cm/d で浸透すると、 $E_{h-0.2}$ は 200 mV から徐々に上昇し、浸透開始から 10 日で 400 mV に達した。 $E_{h-7.5}$ は浸透を開始とともに上昇し、2 日目になると $E_{h-0.2}$ と等しくなり、以後 0.2 cm 深と同様に推移した。 $E_{h-1.5}$ は NO_3^- 溶液を浸透しても $E_{h-7.5}$ のような急激な上昇は見られず、ゆっくりと上昇し続け、10 日目に 0 mV になった。浸透開始から 10 日目、0~4 cm 深の E_h は全体的に上昇し、特に 0~0.6 cm 深に $E_h>300$ mV の脱窒層が 0.6 cm 形成された(図 7.13)。 DO 分布は浸透を継続しても E_h 分布のような上昇は見られず、10 日目になっても 0~4 cm 深は 0.1 mg/L と嫌氣的だった。実験終了時の土中の NO_3^- 濃度分布は 0~7.5 cm 深で浸透液の NO_3^- 濃度の 0.038 M に近くなり、特に 1.5 cm 深が高くなった(図 7.13)。また、 NO_2^- 濃度分布ではいずれの深さも 0.002 M と低い、 NO_3^- 濃度同様 1.5 cm 深の値が他の深さよりも相対的に高かった。排水中の NO_3^- 濃度は 1 PV 浸透後に急上昇し、2 PV 浸透すると浸透溶液中の NO_3^- 濃度と等しくなった(図 7.14)。

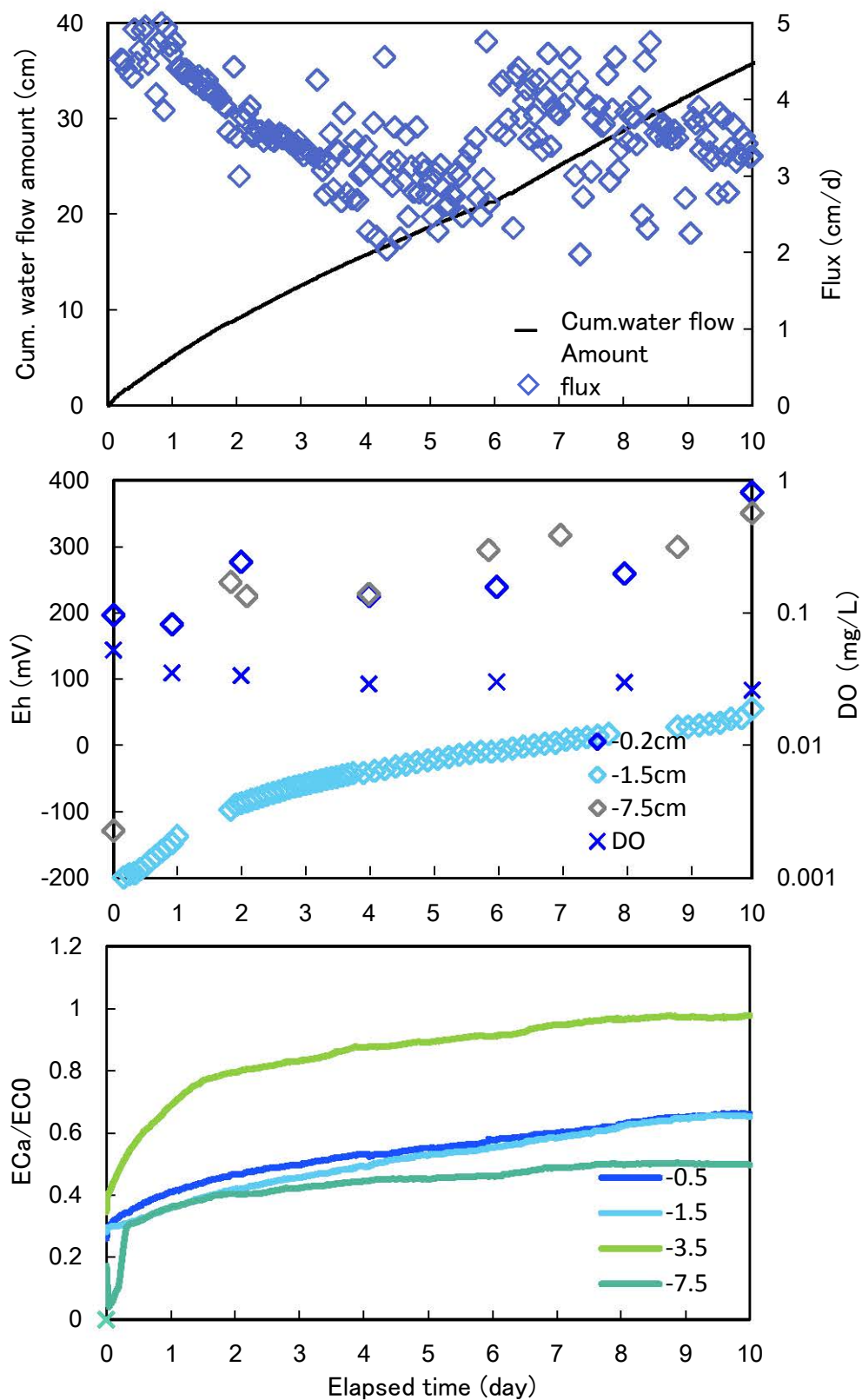


図 7.12 11/18 の積算浸透量と浸透フラックス、各深さの Eh、DO、ECa/EC₀ の経時変化

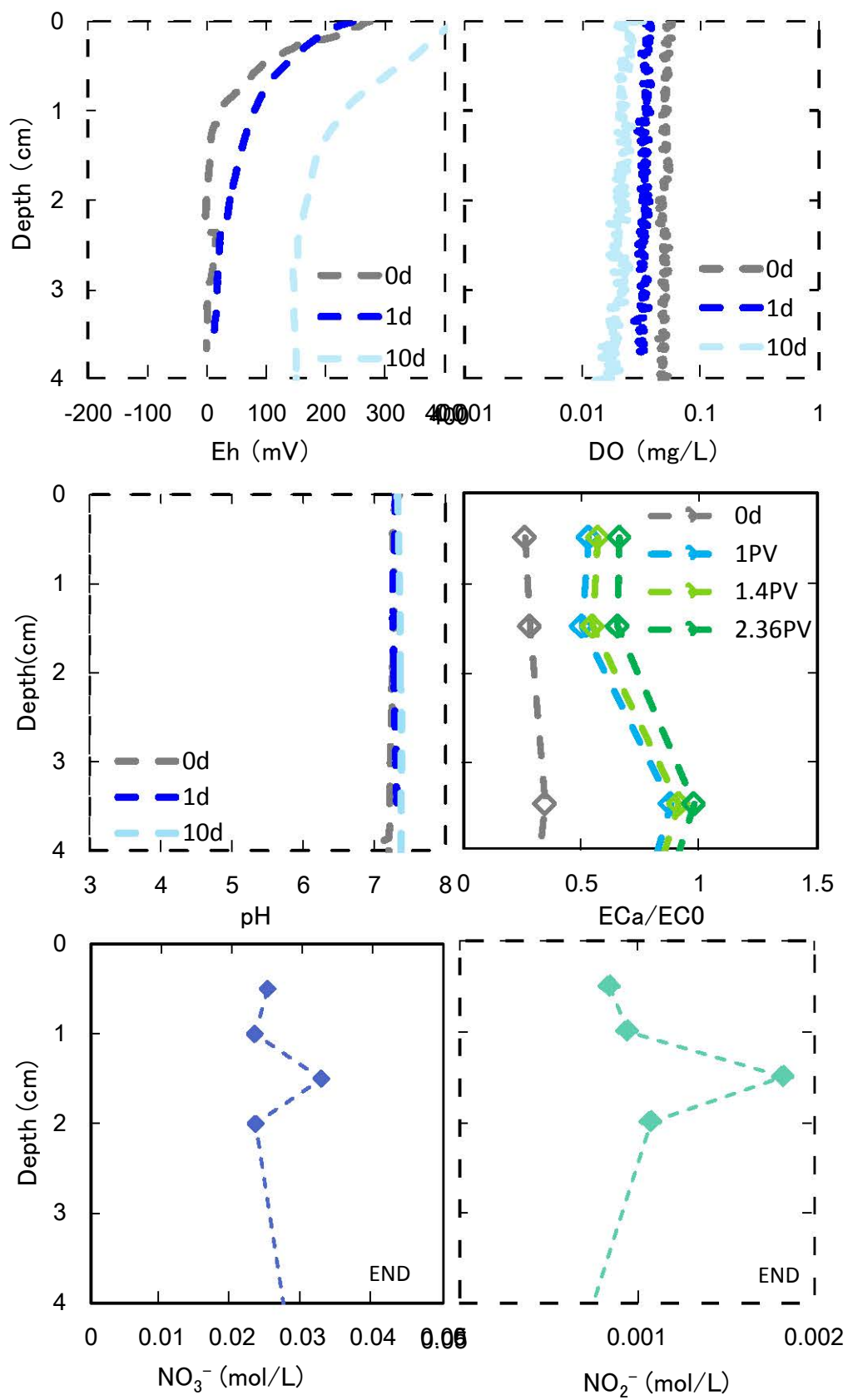


図 7.13 11/18 の Eh、DO の深さ分布と実験終了時の NO₃⁻と NO₂⁻の内部分布
0 cm は地表面を示す。

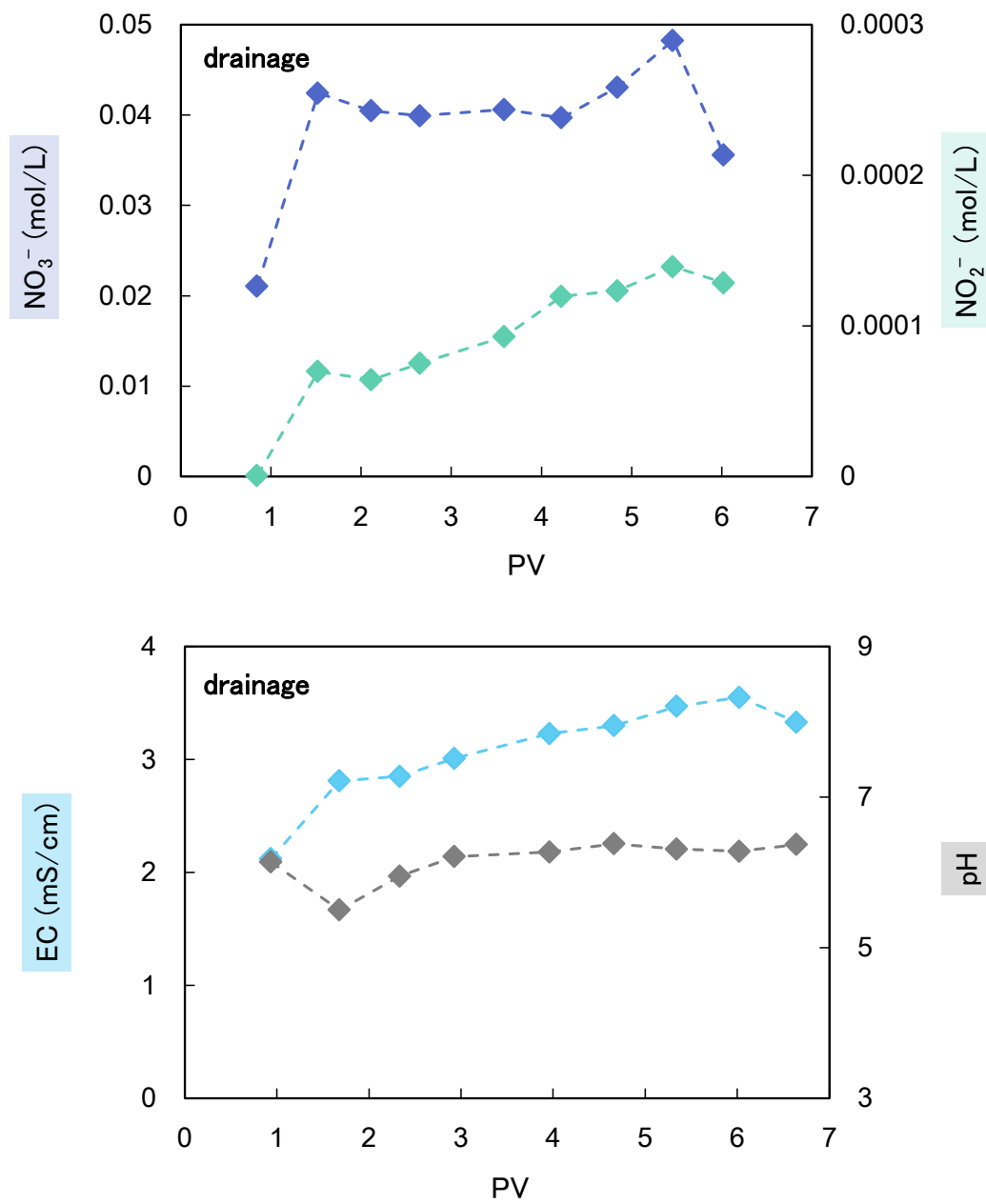


図 7.14 11/18 の排水の各測定値
1、4、6PV はそれぞれ 1.2、6.6、10d を示す

7.3.5 浸透フラックスや NO_3^- 濃度の違いによる結果の比較

8/4 と 9/1 の $\text{DO}_{0.2}$ は初期値に違いはあるものの、浸透フラックス 0.5 cm/d で浸透した場合、溶液中の NO_3^- 濃度によらず、浸透開始から数日で $\text{DO}_{0.2}$ はほとんど無くなった(図 7.15)。一方、9/1、9/29、11/18 の $\text{DO}_{0.2}$ を比較すると、浸透フラックスが最も早い 11/18 は他の実験と異なり DO が少し高くなったが、好氣的($\text{DO} > 2 \text{ mg/L}$)にはならなかった(図 7.15)。

8/4 の各層の Eh の経時変化を見ると(図 7.15)、浸透開始後、 $\text{Eh}_{1.5}$ 、 $_{-7.5}$ は -100 mV から徐々に低下し -200 mV で一定になったが、 $\text{Eh}_{0.2}$ は下層よりも高く、 0 mV 付近で一定になった。8/4 と 9/1 の Eh を比較すると(図 7.15)、 $\text{Eh}_{1.5}$ 、 $_{-7.5}$ は NO_3^- 溶液を浸透した 9/1 のほうが高く、10 日目にはいずれの深さも $0 \sim 100 \text{ mV}$ になった。次に浸透フラックスの違いで各深さの Eh を比較すると、9/29 では、いずれの深さの Eh も 9/1 と比べ高くなった(図 7.15、9/29 の $\text{Eh}_{7.5}$ は 7.5 cm 深に設置した参照電極と白金電極の周囲が酸化していたので $\text{Eh}_{7.5}$ の結果は除外した)。特に $\text{Eh}_{0.2}$ は 10 日目に脱窒の電位の 300 mV まで上昇した。9/29 より更に浸透フラックスが速くなると(11/18)、 $\text{Eh}_{7.5}$ は実験初期の段階で 200 mV まで上昇し $\text{Eh}_{0.2}$ に近似したが、 $\text{Eh}_{0.2}$ は 9/29 の $\text{Eh}_{0.2}$ とあまり違いが見られなかった(図 7.15)。

表面近傍の酸化還元状態について詳しく観察するため、図 7.16、7.17 より各時間の Eh や EC 等の深さ分布を比較する。8/4 の浸透開始前(0 d)の Eh 分布は $0 \sim 4 \text{ cm}$ 深まで Eh が 0 mV 以下で還元していた(図 7.16)。純水を浸透すると、地表付近の Eh がやや上昇した。 DO 分布は浸透開始前後でほとんど違いは無く、全層($0 \sim 4 \text{ cm}$ 深)でおよそ 0.01 mg/L だった。9/1 は NO_3^- 溶液を浸透したにもかかわらず、8/4 の Eh 、 DO 分布にほとんど違いは見られなかった(図 7.16)。ここで 9/1 の EC 分布を見ると、 NO_3^- 溶液の浸透により地表付近の EC が時間と共に上昇したが、表面に最も近い 0.5 cm 深でも 0.6 までしか上昇しなかった。また、実験終了時の土中水の NO_3^- 、 NO_2^- 濃度分布をみ

ると、9/1 は NO_3^- 溶液を浸透したにもかかわらず NO_3^- はほとんどなく、0.5 cm 深の NO_2^- がやや高くなった。

9/1 と 9/29、11/18 を比較すると(図 7.16、7.17)、浸透フラックスが速くなるにつれて地表付近の Eh が上昇し、浸透開始から 10 日で、9/29 は $\text{Eh} > 300 \text{ mV}$ の脱窒層が 0.5 cm、11/18 は脱窒層が 0.6 cm 形成した(図 7.17)。DO 分布は 9/1 と 9/29 ではあまり変化は見られないが、11/18 は他の実験よりも全層で DO が高くなった。このように Eh、DO 分布ともに浸透フラックスが速いと、地表付近が酸化的、好氣的になる事がわかった。ここで 9/29 の実験終了時の土中水の NO_3^- 、 NO_2^- 濃度分布をみると(図 7.17)、いずれも濃度も 0.5、1 cm 深が高かく、下層に向けて減少した。この NO_3^- 、 NO_2^- 濃度が高い深では Eh や EC も高くなっていた。さらに浸透フラックスを速くすると(11/18)、下層の NO_3^- 、 NO_2^- 濃度も高くなり、 NO_3^- が下層まで十分に浸透し脱窒が起きていた事がわかった。0.2 cm 深に注目すると、 NO_3^- 濃度は高いが浸透水の濃度よりも低下しているため、の NO_3^- が十分に流下し脱窒が起こっていると思われるが、その時の Eh 分布を見ると(図 7.17、11/18)、0.2 cm 深は地表付近とは異なり Eh が脱窒の電位に十分に反応していなかった。

図 7.18 より、各実験の排水中の NO_3^- 、 NO_2^- 濃度の経時変化を見ると、いずれの実験でも 1 PV 経過したところで NO_3^- 、 NO_2^- 濃度が上昇し、2 PV 経過で 9/29、11/28 の NO_3^- 濃度は浸透水の NO_3^- 濃度と等しくなった。また、浸透フラックスが速いほど排水中の NO_2^- は高くなった。

7.4 考察

8/4 や 9/1、9/29 のように遅い浸透フラックスで浸透すると、溶液中の O_2 の流下速度よりも土壌表面近傍の微生物の消費速度が速く、下層に十分に O_2 は供給されない。そのため浸透を継続しても $DO_{0.2}$ は上昇せず、 O_2 が流下しない下層は還元が進行する(図 7.15、8/4)。いずれの実験でも $Eh_{0.2}$ が下層の Eh と比べて高い傾向にあるのは、0.2 cm は表面に近いため、湛水中の O_2 の拡散や流下してきた僅かな O_2 に反応して Eh が上昇したと考えられる。

また、9/1 の下層の Eh が同じ浸透フラックスで浸透した 8/4 の 1.5、7.5 cm 深の Eh よりも高くなったのは NO_3^- の脱窒によると考えられる(図 7.15、9/1)。ここで、実験終了時の NO_3^- 分布を見ると(図 7.16、9/1)、 NO_3^- は 0.5 cm 以深にはほとんどなかった。浸透フラックスが遅いと多くの NO_3^- は土中に流下すると直ぐに N_2 まで還元されるが、わずかに残った NO_3^- が下層へ浸透し脱窒され。しかし、小量なため脱窒菌の活性は低くなる。そのため、9/1 の下層(1.5、7.5 cm 深)の Eh は 8/4 よりも上昇するものの、脱窒の起こる電位の 300 mV まで十分に上昇しなかったと考えられる(図 7.15)。また、浸透フラックスを速くすると(9/29)、0.2 cm 深には充分な NO_3^- が流下することで脱窒菌の活性が上がり、 $Eh_{0.2}$ は 300 mV 付近まで上昇する。そして Eh 分布も表面近傍の Eh が下層よりも高くなる。また、下層の脱窒活性が低い理由として、脱窒や有機物分解など上層で起きた反応の副産物が浸透と共に下層へ流れ、それが脱窒菌の生育を阻害したと考えるが、詳細は不明である。

11/18 の $Eh_{0.2}$ は、9/29 の浸透フラックスで既に脱窒菌活性が高いレベルまで NO_3^- が流下しているため、浸透フラックスを速くしても 9/29 の $Eh_{0.2}$ と変わらない(図 7.15)。しかし、9/29 よりも下層まで NO_3^- が充分に流下するため、全層で脱窒が起こり $Eh_{7.5}$ も脱窒の電位まで十分に上昇する。そして、11/18 よりも更に浸透フラックスを上げると、地表面化で消費しきれなかった O_2 が下層へ流下し、やがて $Eh_{0.2} > 400$ mV になると予想される。11/18 の $Eh_{1.5}$ が他の実験の $Eh_{1.5}$ よりも低いのは、白金電極を設置した位置が、脱窒菌

や有機物のなどの空間的なバラつきなどにより、脱窒菌の活性が低い箇所だったのかもしれない。このような事を避けるためにも、基質の混ぜ方やインキュベーション試料の充填の仕方など、実験準備を可能な限り丁寧に行うことはとても重要であると言える。

いずれの実験の Eh 分布も、地表付近の Eh は上昇するものの、下層には脱窒による Eh 上昇が見られなかった(図 7.16、7.17)。しかし、1 PV 後、浸透溶液と近い濃度の NO_3^- が下端から排水されており、 NO_2^- も時間とともに増加した。これはそれぞれ、脱窒速度が NO_3^- の流下速度より遅く流れ去った NO_3^- と、脱窒により生じた NO_2^- であると考えられる。脱窒のような微生物反応は土中の基質や温度、pH など様々な要因に依存する。 NO_3^- の流下により脱窒は起きているが、何らかの要因により脱窒菌の活性が低くなり、Eh の上昇が鈍かったのではと考えられる。そのため、これまで脱窒の起こる電位を 300 ~ 400 mV とし Eh 分布から脱窒層の厚さを判断してきたが、脱窒の電位を 300 ~ 400 mV と限定してしまうのは不適切だろう。

9/29 の Eh_{7.5} が参照電極により異常に酸化した影響は、排水中の NO_2^- 濃度が極めて低い事に表れている(図 7.18)。7.5 cm より上層で脱窒された NO_3^- が 7.5 cm で再び NO_3^- にまで酸化されたと考えられる。また、9/29 の実験終了時の NO_3^- 分布では、地表面付近の濃度が流入水の濃度より濃くなった。地表面付近は下層と比べ比較的 O_2 が供給されるため、硝化菌が O_2 を消費して有機物分解によって生じた NH_4^+ を硝化する。それにより地表面付近の NO_3^- は増加するが、やがて下部の還元層へと流下し脱窒されるため NO_3^- は下層で減少したとかがえられる。しかし、より浸透フラックスの速い 11/18 では土中の DO が 9/29 よりも高いにもかかわらず、地表面下での NO_3^- が見られなかった事から強く断言はできない。

脱窒により $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{N}_2$ と土中水のイオン濃度が減少するので、脱窒層の領域で EC が減少すると予想していた。9/1 は地表面化でほとんどの NO_3^- が脱窒されていたので、ECa/EC₀ 分布は脱窒によるイオン濃度の減少をよく表している(図 7.16)。9/29 の ECa/EC₀ 分布も Eh、 NO_3^- 分布の結果をよく反映している(図 7.17)。しかし、11/18 の

ECa/EC₀ 分布は、NO₃⁻ 分布の結果を反映していなかった。土中の有機物分解の際に H⁺ や HCO₃⁻、NH₄⁺ など様々なイオンが発生するため、EC の変化を NO₃⁻ と単純に解釈するのは不適切だろう。また、EC₀ 検時の試料の炭素源はグルコースであるのに対し、本実験では稲わらを用いた。また、土中に添加してからの経過時間(グルコースは風乾土に添加後一日で飽和→浸透開始。稲わらは風乾試料に添加後 2 週間インキュベーション→浸透開始)も異なるため土中の有機物分解にともない生成されるイオンの量は EC₀ 検量時と本実験で異なると考えられる。そのため、EC₀ の再校正は必須であろう。また、他にも DR6000 の結果で今後検討が必要なことがある。

- ・ 0.03 M に調整した硝酸カリウム溶液の NO₃⁻ 濃度を DR6000 で測定すると 0.038 M を示した。
- ・ 排水中の NO₃⁻ 濃度とカラム下端付近の土中の NO₃⁻ 濃度が一致せず、排水中の方が遥かに高い濃度を示した。

振盪時間や操作過程でのロス、使用するビーカー等の汚れ、測定値の換算法など、いくつか原因が考えられるため、必要であればこれらを見直すべきかもしれない。

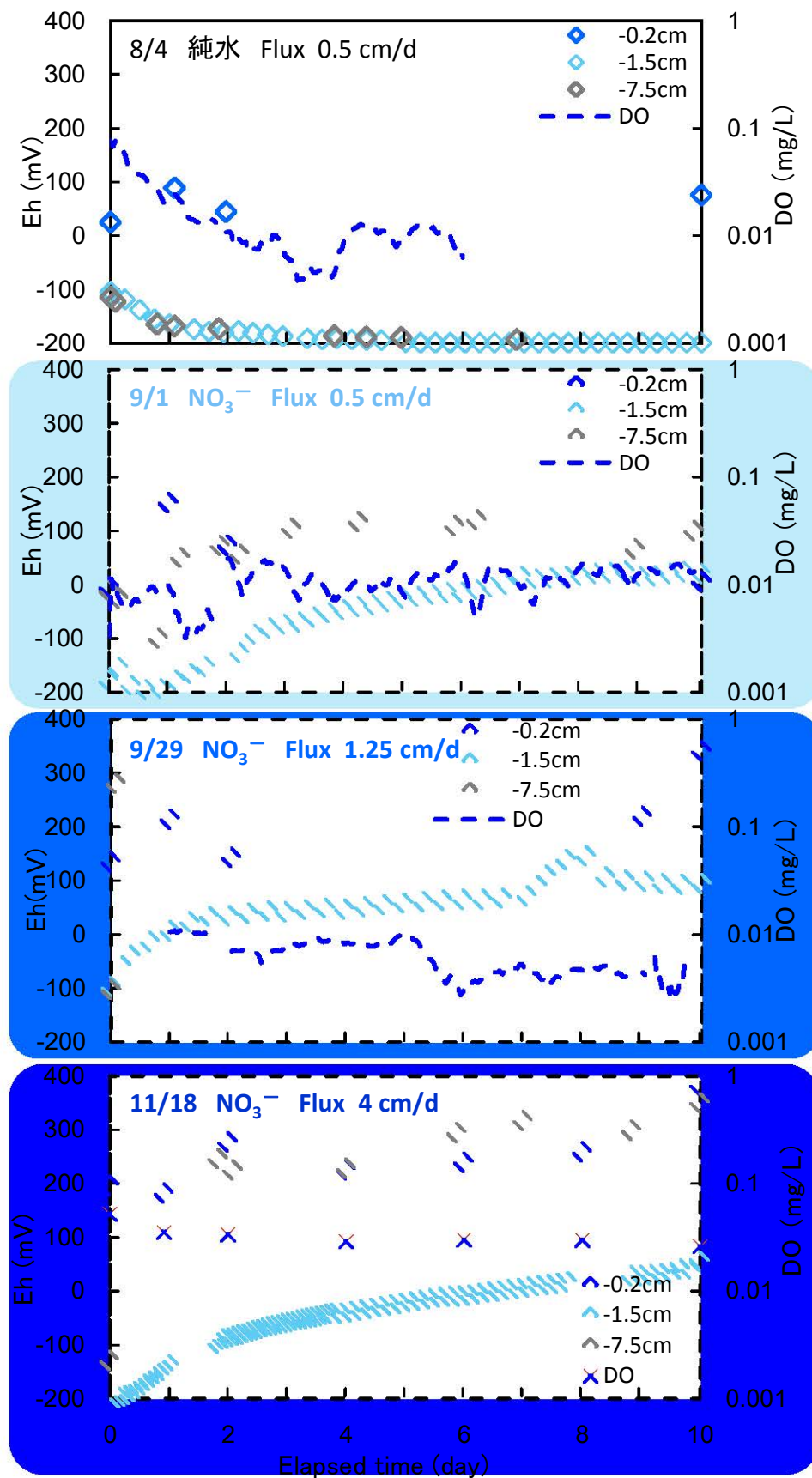


図 7.15 すべての実験の各深さの Eh と DO の経時変化

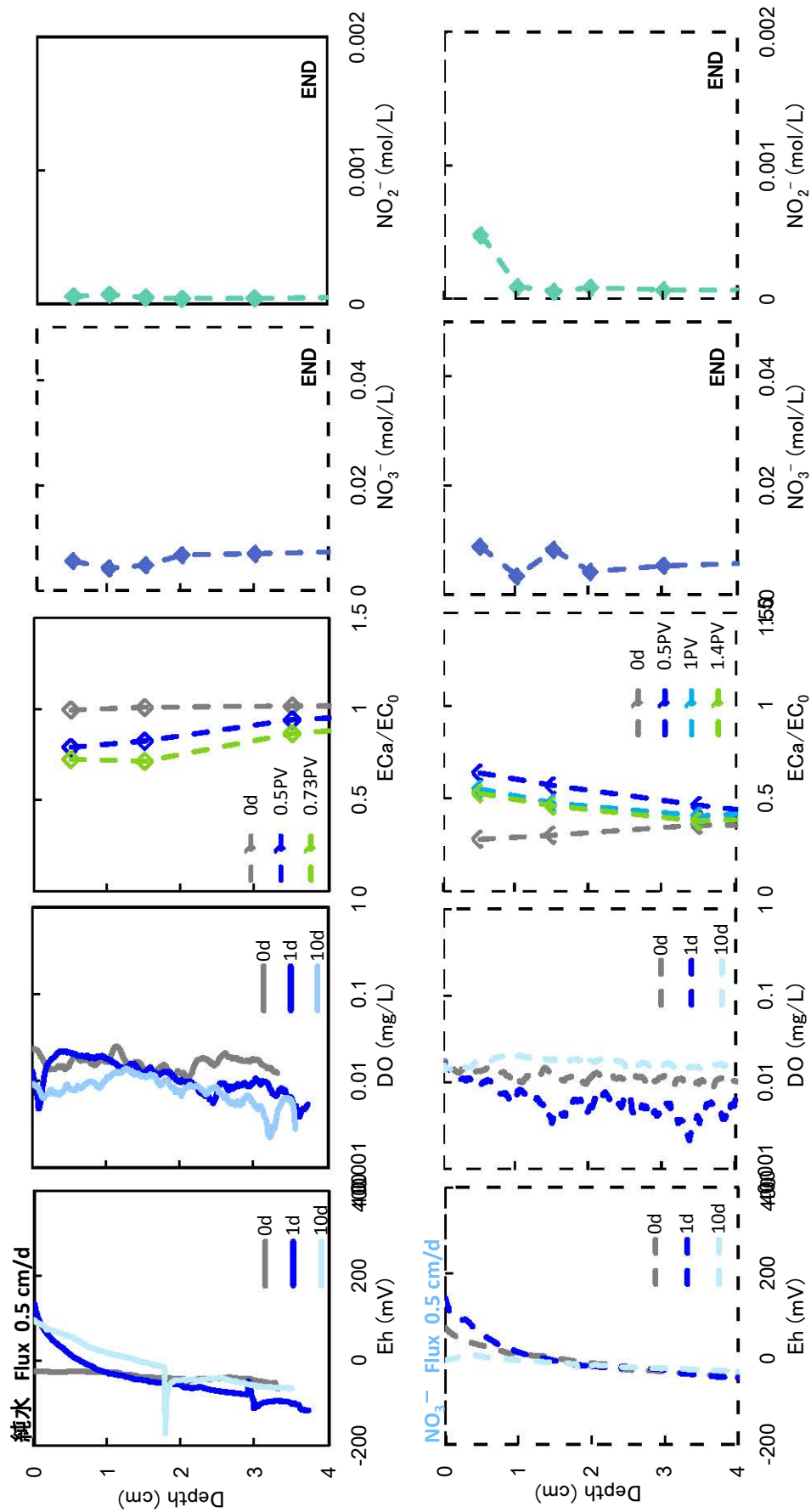


図7.16 8/4 (純水 flux 0.5 cm/d) と9/1 (NO_3^- flux 0.5 cm/d) の土中分布の変化

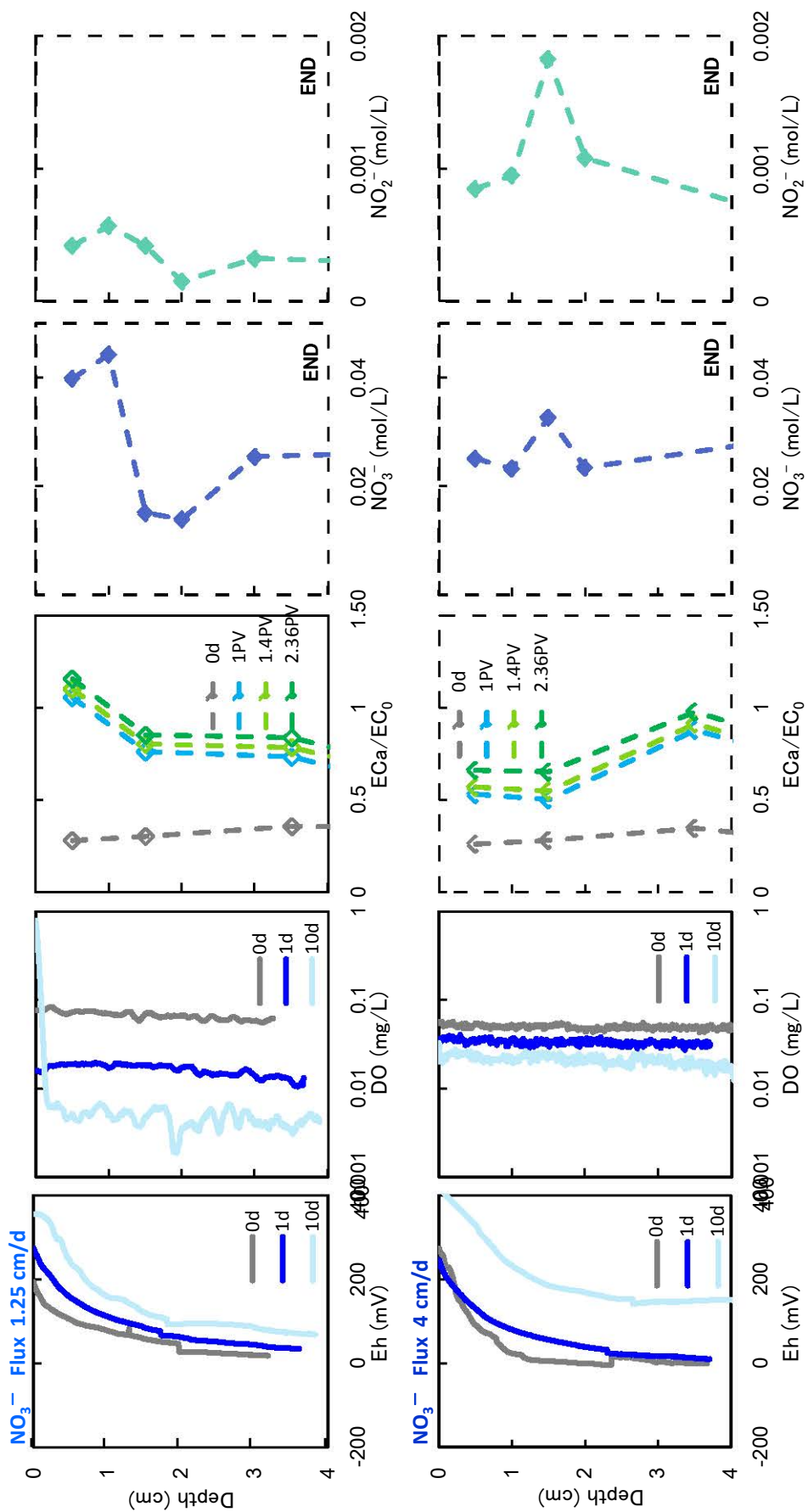


図7.17 9/29 (NO_3^- flux 1.25 cm/d)と11/18 (NO_3^- flux 4 cm/d)の土中分布の変化

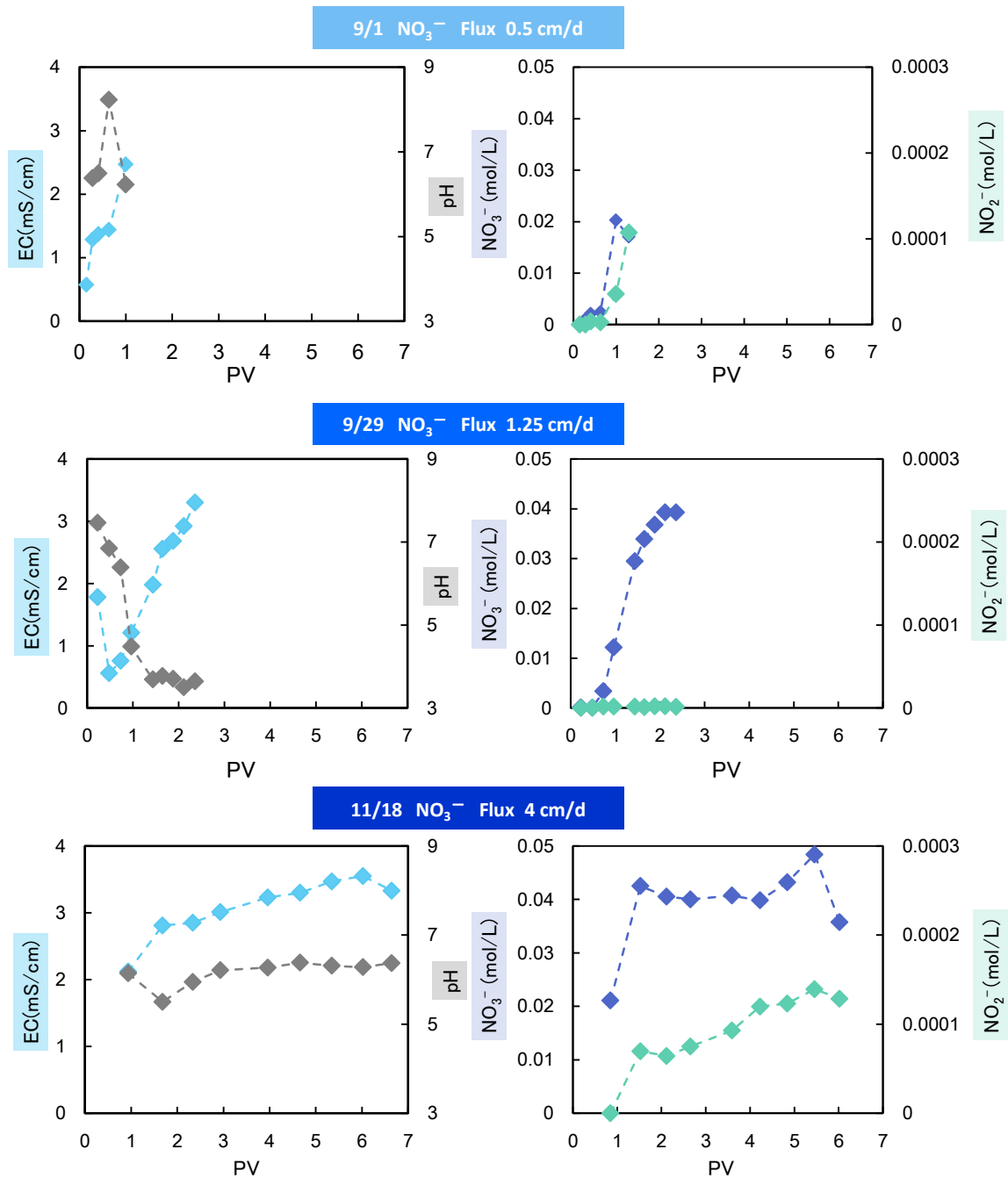


図 7.18 異なる浸透フラックスや浸透水中の NO_3^- 溶液を浸透した場合の排液の NO_3^- や NO_2^- 濃度、EC、pH の経時変化の比較

第 8 章 酸化層と脱窒層の発達に土に添加した有機物や

浸透フラックス、浸透水中の NO_3^- 濃度の違いが及ぼす影響

6、7 章で酸化層、脱窒層が浸透フラックスに応じて分化、発達する事が明らかとなった。次に、土に添加した有機物(グルコース / 稲わら)や浸透水中の NO_3^- 濃度の違いが層の分化と発達に及ぼす影響を評価した。そこで、これまで時間ごとに層の分化発達を観察してきたが、浸透速度の影響をなくすため、時間ではなく土への水の浸透量で比較する。まず、Eh 400 mV 以上になる深さと 100 mV 以上になる深さを、それぞれ酸化前線と脱窒前線と定義し、各深さの Eh の経時変化やプロファイルの測定結果を基に水が浸透した深さに対して酸化と脱窒前線がどの深さまで進んだかを評価する(図 8.1)。また、浸透量は 10 cm で定義した Pore Volume, PV (間隙中の水の体積)で表す。つまり、1 PV は 10 cm 厚の土中の間隙水が 1 回全て入れ替わった事に相当する。

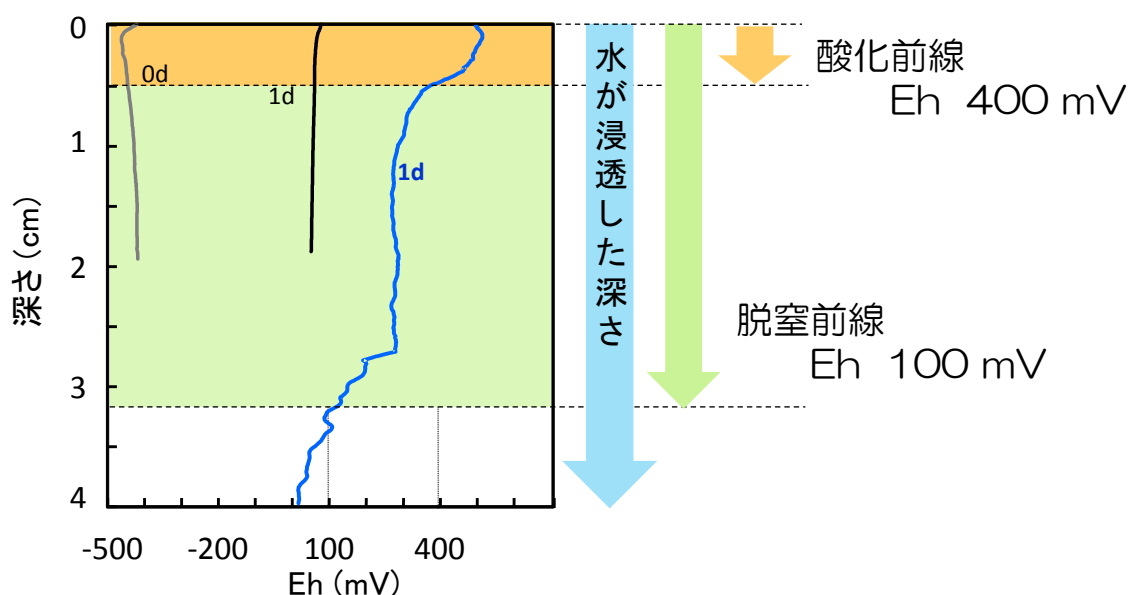


図 8.1 水の浸透量に対する酸化、脱窒前線が発達した深さ
土が酸化する Eh の前線を 400 mV、脱窒を 100 mV とそれぞれ定義した。

8.1 酸化、脱窒層の発達に NO_3^- 濃度が及ぼす影響

図 8.2 に異なる濃度の NO_3^- 溶液を浸透した時の酸化前線の発達を土に添加した有機物ごとに示す。グルコースを添加した場合では、いずれの濃度も発達速度が同じで、酸化層の発達速度に NO_3^- 濃度の影響は見られなかった。また、稲わらを添加した場合には酸化層はわずかしかな形成しなかった。

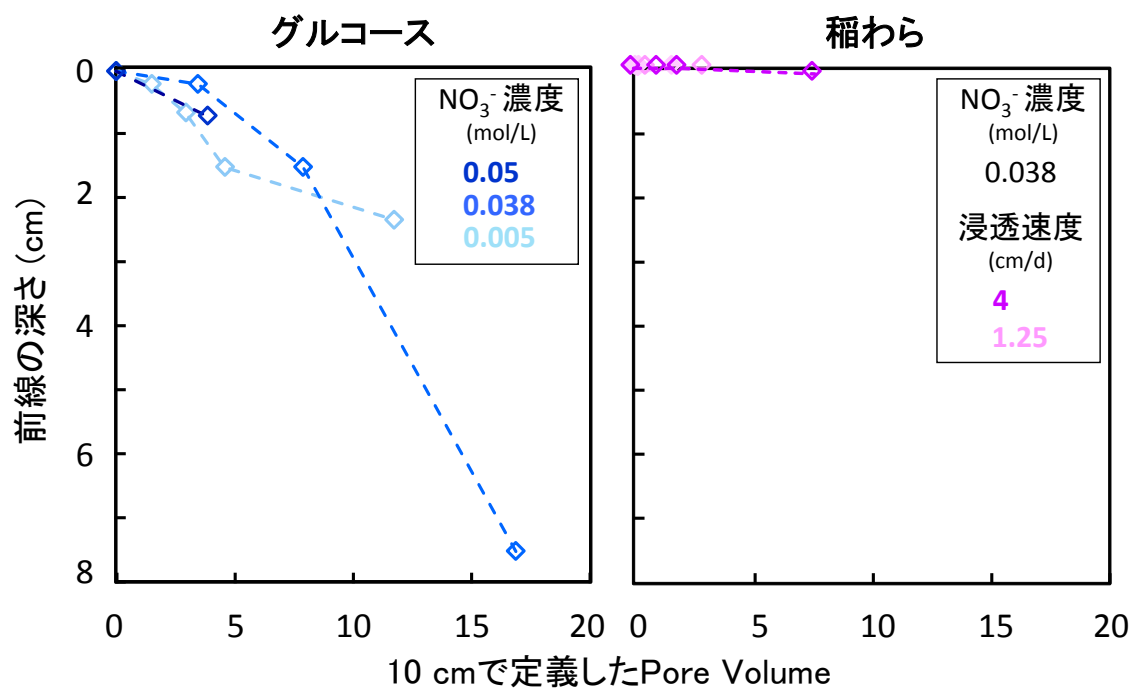


図 8.2 酸化層の発達に NO_3^- 濃度が及ぼす影響

左が土にグルコースを添加した場合、右が稲わらを添加した場合で、図中の直線の傾きは発達速度を表す。

図 8.3 に異なる濃度の NO_3^- 溶液を浸透した時の脱室前線の発達を土に添加した有機物ごとに示す。グルコースを添加した場合では、 NO_3^- 濃度が高いほうが (0.05 M) 脱室層が発達した。稲わらでは、浸透水の NO_3^- 濃度が同じで、浸透速度が速いと脱室前線は深くまで進む (4 cm/d)。しかし、いずれも直線の傾きが同じで、浸透量で比較すると脱室層の発達に浸透速度の差は見られなかった。

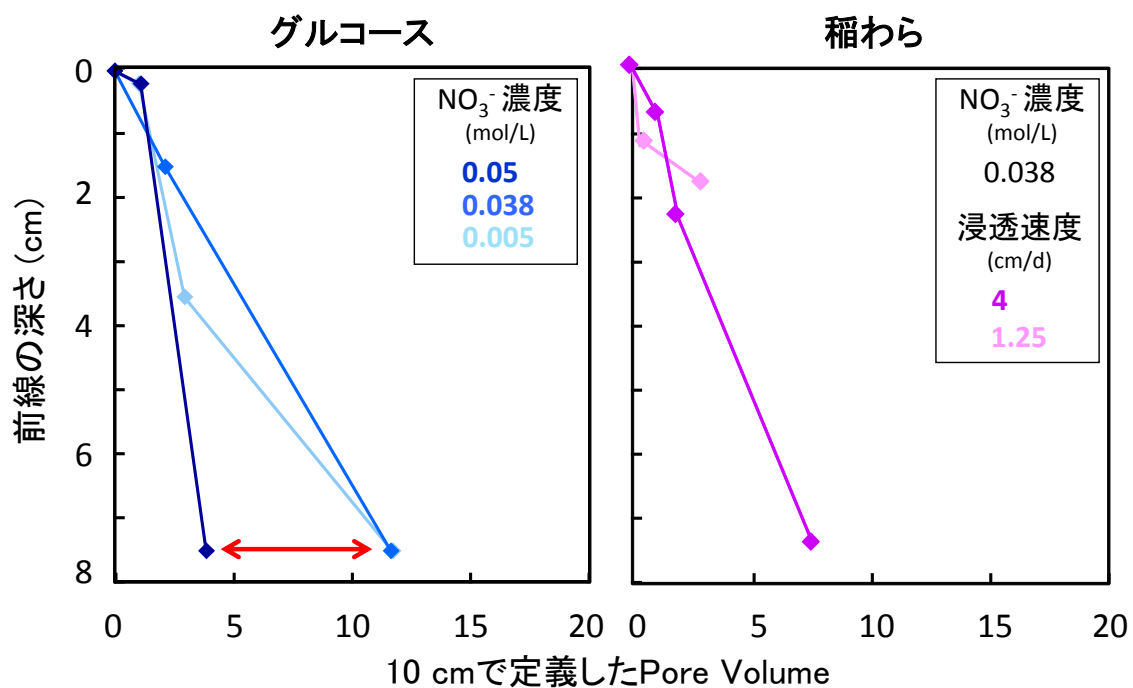


図 8.3 脱室層の発達に NO_3^- 濃度が及ぼす影響

左が土にグルコースを添加した場合、右が稲わらを添加した場合で、図中の直線の傾きは発達速度を表す。

8.2 酸化、脱窒層の発達に有機物の種類が及ぼす影響

8.1 のグルコースと稲わらの結果より、 NO_3^- 濃度が同じ 0.038 M に注目して酸化、脱窒層の発達を有機物の種類の違いで比較する。

酸化層の発達速度はグルコースと稲わらでそれぞれ 0.5 cm/PV、数 mm/PV であり、酸化層はグルコースを添加したほうが発達した。脱窒層の発達速度はグルコースと稲わらでそれぞれ 0.65 cm/PV、1 cm/PV であり、脱窒層は稲わらを添加したほうが発達した。

グルコースを添加した場合で酸化層が発達したのは、グルコースが浸透による流亡や微生物による消費で減少したことと、浸透水による O_2 の流下で発達したと考えられる。また、稲わらはグルコースとは異なり難分解性で土中に留まるため、微生物の呼吸で O_2 が消費され続け酸化層は発達しない。一方、稲わらはグルコースとは異なり、土中でゆっくりと分解されるため脱窒菌の活性が維持され、脱窒層が発達したと考えられる。

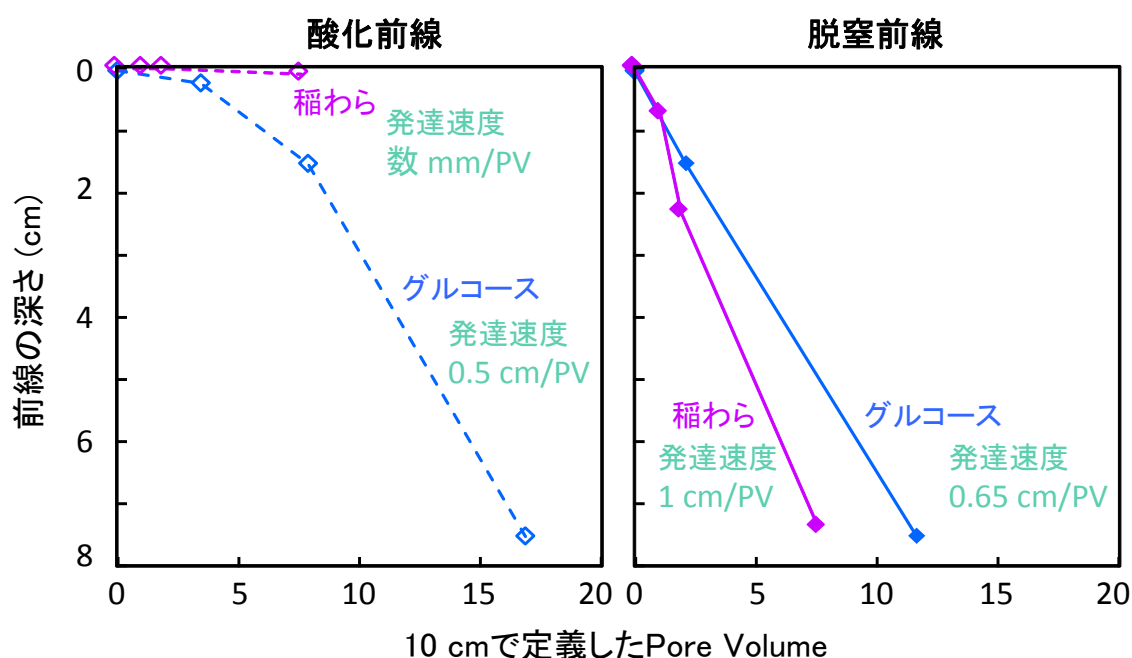


図 8.4 酸化、脱窒層の発達に有機物の種類が及ぼす影響

左が酸化前線、右が脱窒前線の発達を示す。グルコース、稲わらともに 0.038 M の NO_3^- 溶液を浸透した場合の結果で比較した。

第9章 おわりに

湛水状態にある水田土の酸化還元電位(Eh)やその深さ分布に浸透速度や基質が及ぼす影響を調べることを目的に、一次元カラム浸透実験を行った。そして、土壌表面近傍の Eh や DO を微視的に観察した。その結果、本研究では湛水土壌表面近傍の酸化、脱窒層の分化過程の実測に成功した。浸透にともなう O_2 と NO_3^- の流下によって、土壌表面に $Eh > 400$ mV の酸化層が、その下に Eh 100~400 mV の脱窒層が形成した。また酸化層の下方には $DO = 0$ mg/L の嫌氣的な土壌が広がっていたが、脱窒層の下方には NO_3^- が十分に存在していた。また、本研究では酸化、脱窒層の発達について(1)浸透フラックス、(2)土に添加する有機物の種類、(3)浸透水の NO_3^- 濃度の違いでそれぞれの影響を評価した。

・ 酸化層 ($Eh > 400$ mV)

酸化層は地表面に残存する有機物量と浸透により流下する O_2 量に応じて発達した。有機物が十分にあると、流下する O_2 は土中の微生物呼吸で直ちに消費され酸化層は形成しない。微生物の分解による消費や浸透による流亡で土中の有機物が減少すると微生物活動が低下し、 O_2 消費量よりも浸透による O_2 の供給量が勝り酸化層が形成される。また、 $DO = 2$ mg/L の好気層とは厚さが一致せず、酸化層のほうが厚くなった。

(1) 浸透フラックスの影響

浸透フラックスが速いと(40 cm/d)、下層まで発達する。

(2) 土に添加する有機物の種類の影響

稲わら(難分解、不動性)より、グルコース(易分解、易動性)のほうが発達した。発達速度はグルコースと稲わらでそれぞれ 0.5 cm/PV と数 mm/PV だった。

(3) 浸透水の NO_3^- 濃度の影響

浸透量比較すると、発達速度に NO_3^- 濃度の影響は見られなかった。

- ・ 脱窒層 (Eh 100~400 mV)

NO_3^- の流下に応じて発達した。

(1) 浸透フラックスの影響

浸透フラックスが速いと()下層まで発達した。

(2) 土に添加する有機物の種類の影響

グルコースより稲わらのほうが発達した。発達速度はグルコースと稲わらでそれぞれ 0.65 cm/PV と 1 cm/PV だった。

(3) 浸透水の NO_3^- 濃度の影響

NO_3^- 濃度が高いほど発達速度は速くなった。グルコース添加土において、0.05、0.038 M の NO_3^- 溶液を浸透した場合で発達速度はそれぞれ 1.6 cm/PV と 0.65 cm/PV だった。

また、酸化層、脱窒層ともに浸透速度が速いと下層まで発達するが、浸透量で比較すると浸透速度の影響は見られなかった。

本研究の成果は、湛水土表面近傍における酸化、脱窒、還元層の分化を微視的に実測したことである。そして、この酸化、脱窒層の形成と発達に及ぼす浸透フラックスや土に添加する有機物の種類、浸透水中の NO_3^- 濃度の影響を明らかにした。また、還元土に NO_3^- が浸透していても、脱窒による Eh の変化が見られない場合があることも明らかとなった。このような土中の酸化還元過程を知ることは土中の窒素や炭素の挙動を理解するうえで重要であり、地球環境に優しい持続可能な農業技術の開発のための基礎的知見となりえるだろう。

参考文献

1. Brady, Nyle C. and Weil, Ray R. (1996) : Soil aeration and temperature, The Nature and Properties of SOILS, Pearson Education : 270-280.
2. Engler, R.M., E.A. Antie. and W.H. Patrick Jr. (1976) : Effect of dissolved oxygen on redox potential and nitrate removal in flooded swamp and marsh soils. J. Environ. Qual., 5 : 230-235
3. Forster, P., Ramaswamy, V., Artaxo, P., Bernsten, T., Betts, R., Fahey, D.W., Haywood, J., Lean, J., Lowe, D.C., Myhre, G., Nganga, J., Prinn, R., Raga, G., Schulz, M. and Van Dorland, R. (2007) : Changes in atmospheric constituents and in radiative forcing, In: Solomon, S., Qin, D., Manning, M., Chen, Z., Marquis, M., Averyt, K.B., Tignor, M. and Miller, H.L. (Eds.), Climate Change 2007 : The Physical Science Basis, Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, Cambridge University Press, p.141.
4. 長谷部亮, 関谷信一郎, 飯村康二 (1986) : 水管理条件が酸化層・還元層の分化発達に及ぼす影響, 日本土壌肥科学雑誌, 57(6) : 544-550
5. 池田悠希子 (2012) : 水の流れのある土中の酸化還元電位に窒素や炭素が与える影響, 三重大大学生物資源学部資源循環学科卒業論文
6. 井上光弘, 塩沢晶 (1994) : 4 極法による土壌カラム内の電気伝導度測定とその応用, 土壌の物理性, 70 : 23-28
7. Jenkinson, B. J., and D. P. Franzmeier. (2006) : Development and evaluation of ironcoated tubes that indicate reduction in soils, Soil Sci. Soc. Amer. J. 70 : 183-191
8. 糟谷真宏 (2008) : 硝酸イオンの流入する水田土壌カラムにおける脱窒, 亜酸化窒素の生成とメタン生成抑制, 日本土壌肥科学雑誌, 79 : 376-379
9. 糟谷真宏 (2012) : 酸化還元研究の新展開—土壌の酸化還元がもたらす現象を追う—4. 農業生態系における脱窒の評価と活用—地下水と水田における硝酸イオンと—酸化二窒素, メタンの動態—, 日本土壌肥科学雑誌, 83(5) : 606-612
10. 松中照夫 (2003) : 土壌学の基礎, 農山漁村文化協会, 251-266
11. 武藤由子, 加藤希枝, 渡辺晋生 (2013) : 蒸発過程にある土中の酸化還元電位の変化, 農業農村工学会論文集, 284, : 23-29
12. 太田清久, 酒井忠雄 (2004) : 役に立つ化学シリーズ 4 分析化学, 朝倉書店 : 53-54
13. Patrick, W. H. and Mahapatra, I. C. (1968) : Transformation and availability to rice of nitrogen and phosphorus in waterlogged soils, Adv. Agron., 20 : 323-58
14. Patrick, W. H., Jr., and A. Jugsujinda. (1992) : Sequential reduction and oxidation of inorganic nitrogen, manganese and iron in flooded soil, Soil Sci. Soc. Amer. J. 56 : 1071-1073
15. Redman, F. H. and Patrick, W. H. (1965) : Effect of submergence on several

- biological and chemical soil properties, Bulletin No. 592, Agricultural Experiment station, Louisiana State University, Baton Rouge, Louisiana.
16. Rowell, D.L. (1981) : Oxidation and reduction. D.J. Greenland and M.H.B. Hayes (Eds), The chemistry of Soil Processes, John Wiley and Sons Ltd: 401-461
 17. Skerman, V. B. D., Carey, B. J., and MacRae, I. C. (1958) : The influence of oxygen on the reduction of nitrite by washed suspensions of adapted cells of *Achromobacter liquefaciens*, Can. J. Microbiol., 4: 243-56
 18. Sposit
 19. 高井康男, 上原洋一 (1973) : 水田土壌作土表層部における硝化脱窒過程に関する研究 (第一報), 日本土壌肥科学雑誌, 44 (12) : 463-470
 20. 竹内萌実 (2013) : 湛水土壌の還元過程と表面酸化層の形成, 三重大大学生物資源学部資源循環学科卒業論文
 21. 山口紀子, 高橋智紀 (2011) : 酸化還元研究の新展開—土壌の酸化還元がもたらす現象を追う—はじめに, 日本土壌肥科学雑誌, 82 (4) : 321-322.
 22. 山根一郎, 佐藤和夫 (1968) : たん水土壌の Eh 測定法に関する二三の問題, 日本土壌肥科学雑誌, 39: 535-542

謝辞

本論文は平成 21 年 4 月に資源循環学科土壌圏循環学研究室に所属してから、平成 25 年 3 月に卒業するまでの間に、私が行った研究成果をまとめたものである。その間、多くの方々にご指導やご支援頂いたので、ここに感謝を表したい。

取出先生には直接研究の指導を受けていないが、マラソンや研究室のゼミなどで大変お世話になった。物事に対する真直ぐな姿勢やぶれない信念、とびぬけた価値観に、時に翻弄され時に救われ、そしていつも感化されてきた。特に先生とマラソンやスイミングに熱中した時間は、私の大学生活において一番時間をついやしたことかもしれない。気持ちよく津の景色を他楽しみながら走った時もあったが、自分の不甲斐なさをぶつけるように走った時もあった。困難に立ち向かった時、走る事で気持ちを新たにし、目の前の課題に挑戦する事ができたと感じている。坂井勝先生には実験操作やゼミ発表等で何度もお世話になった。理解が遅いうえ、理解が出来ないと前に進めない自分に対し、坂井先生はいつもゆっくりと丁寧に質問に答えて頂いた。また、先生の的確で理解しやすい助言は自分自身の解釈を深めるだけでなく、自分が相手に物事を伝える時の参考にもなった。研究の他にも、様々な野外調査に同行させて頂き、貴重な体験をすることができた。渡辺先生には学部生から修士までの 3 年間、研究の指導をして頂いた。この 3 年間の研究生活はまさに先生との二人三脚だった。研究を進めると、次から次へと課題が出てくるうえ、ひとつ解決したと思えばまた新たに課題が浮上した。その度、原因と解決策を二人で模索し、何度も実験を繰り返してきた。何度も実験に失敗し、結果の解釈に頭を悩ませ、心が折れる事も多々あった。その度に渡辺先生に叱咤激励され、再び立ち上がることができた。そのおかげで、国内外の学会では自信を持って発表する事ができた。また、たゆまぬ努力の結晶が、この修士論文である。

研究の成果以上に、ひとつの研究に対し精一杯自分の力を発揮できたと言える事が、一番の研究成果だと感じている。そのように頑張れたのは 3 名の先生のほか、研究室先輩方や同輩、後輩、お世話になった近隣の研究室の方々の支えがあったからである。また、本研究では三重大学附属農場の水田土を試料として使わせて頂いき、農場の職員の方々に大変お世話になった。

最後に、いつも自分のわがままを受け止め、応援してくれた両親に心から感謝の意を表する。

付録

<ウイレ型粉砕機の使用手法>

稲試料は生物循環機能学研究室が所有するウイレ型粉砕機(図 1)を借りて粉砕した。以下に一連の手順を示す。

- ・ 粉砕機の正面の扉(図 2)を開けて汚れがないか確かめる。汚れていれば綺麗にする。
- ・ メッシュをセットし(0.5、1、2 mm)粉砕機の横にある水道の蛇口をひねり冷却水を流す。粉砕機稼働中は冷却水を流し続ける。
- ・ 粉砕された試料を受け取るため、粉砕機の下の受け口に袋を固定する。粉砕試料が勢いよく出てくるので、ビニールテープ等で袋の口をしっかりと閉じる。
- ・ ゴーグルやマスクを装着し、準備が整ったら粉砕機の上の蓋を開け、少量の試料を入れ共洗いをしてから本作業を行う。共洗いで粉砕された試料は捨てる。
- ・ 図 2 のように木の棒を使い、試料を少しずつ落とす。粉砕にかける試料が無くなった状態で粉砕機稼働中に上の蓋を開けると、粉が大量に舞うので注意が必要である。
- ・ 粉砕が終わったら粉砕機内をきれいに掃除し、冷却水を止める。

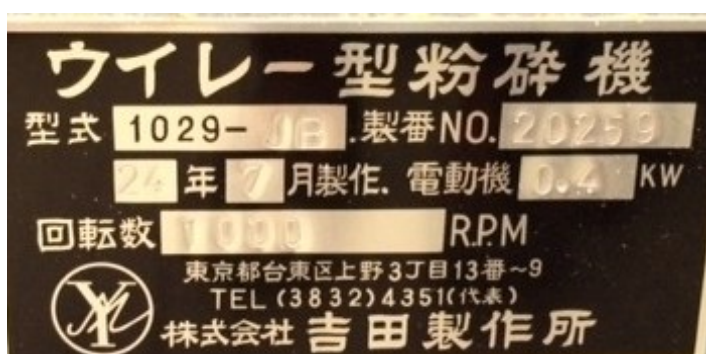


図 1 粉砕機の詳細



図 2 作業の様子

<Sensor Trace Basic の起動>

- ・ 付属の CD よりプログラムをインストールする。インストールし終わったら、Senser Trace Basic を開き、データを保存する場所とファイル名を決定したら New experiment を選択して OK をクリックする(図 3)。

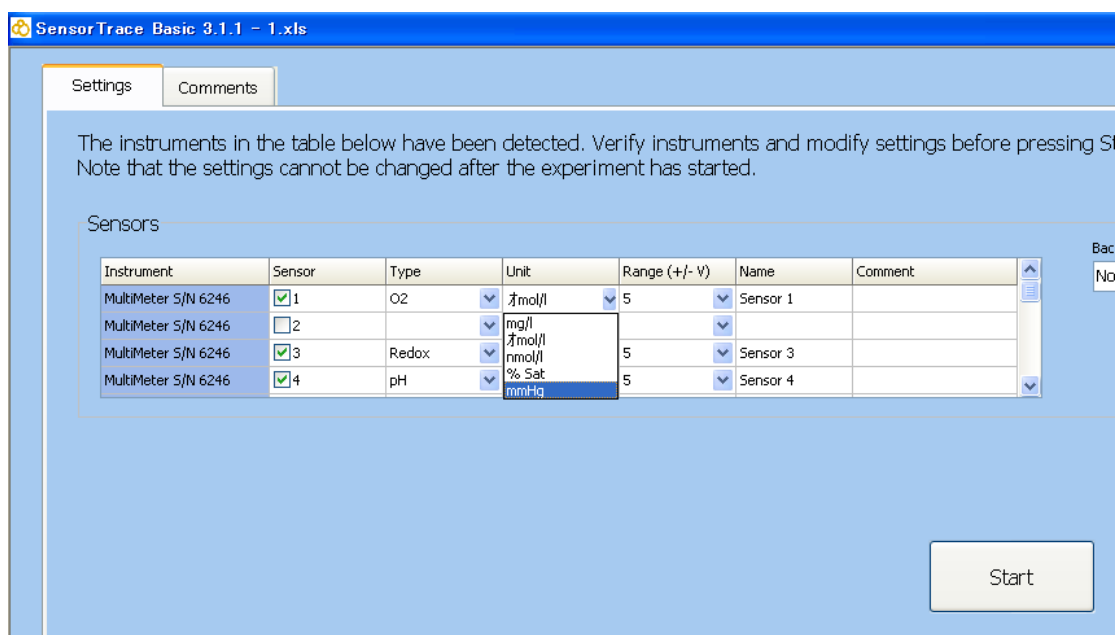


図 3 Sensor Trace Basic の Setting 画面

Type : 接続しているセンサを選択する。

Unit : 測定値の単位を決めることができる。(mol/L、mg/L など)

- ・ Type にマルチメータの 4 極に接続しているセンサをそれぞれ選択する。
- ・ Unit でそれぞれの単位を選択する。
- ・ 全ての設定を終えたら、Start をクリックしセンサの校正を始める。

- ・ Sensor Trace Basic を起動する時、以前行われていたプロジェクトが終了されていないと、New experiment が開始できない。その場合は、コンピュータ>OS>Program Files>Unisense>Sensor Trace Basic 中にある、更新日時が最も新しい logfile の名前を変える (図 4)。

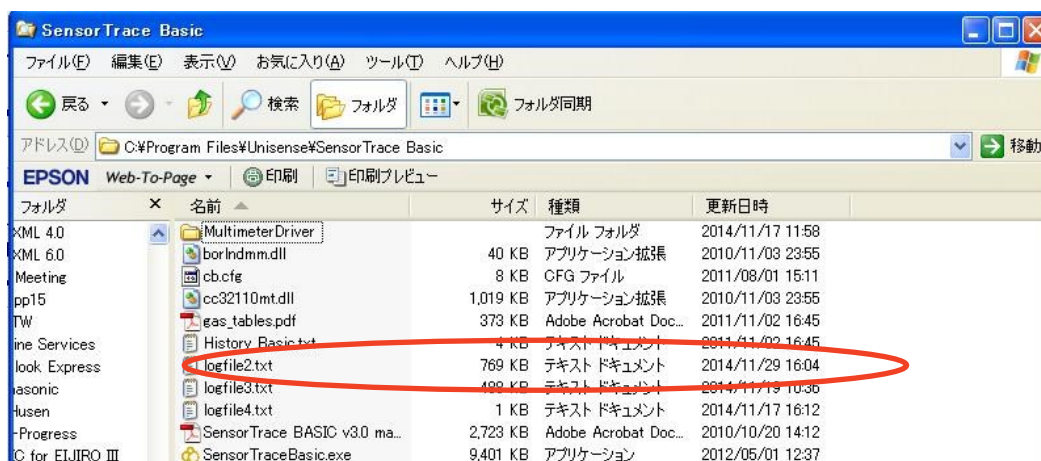


図 4 Sensor Trace Basic 中 logfile の名前変更

例 : log life1 → logfile1a

<DO センサの校正>

- ・ DO センサは数日使用していないとセンサ内に O_2 が入ってしまい測定の妨げとなる。そのため、あらかじめ校正を行う前に(推奨 2 時間前) 電源を入れた Multimeter に DO センサを接続する。こうする事で電極内の O_2 は除去される。
- ・ DO センサは $DO = 0$ と飽和の 2 点で校正を行う。
- ・ 飽和 DO を測定する。DO 校正用のカップに 7 割程度まで蒸留水を入れ、5 分間バブリングし O_2 飽和水をつくる(図 5)。
- ・ 校正用カップの大きい穴に DO センサを、小さい穴に温度計を挿入する。



図 5 飽和 DO 測定の様子

- ・ 飽和 DO は、温度と塩濃度によって Sensor Trace Basic 内で計算される。図 6 中の赤丸で印してある“ O_2 ボタン”をクリックする。
- ・ 出てきたウインドの“Temperature”に温度計で測定した水温を入力する。“Salinity”は塩濃度なので、蒸留水を用いる場合は 0 と入力し OK をクリックすると、“Concentration”に計算された飽和 DO が表示される。

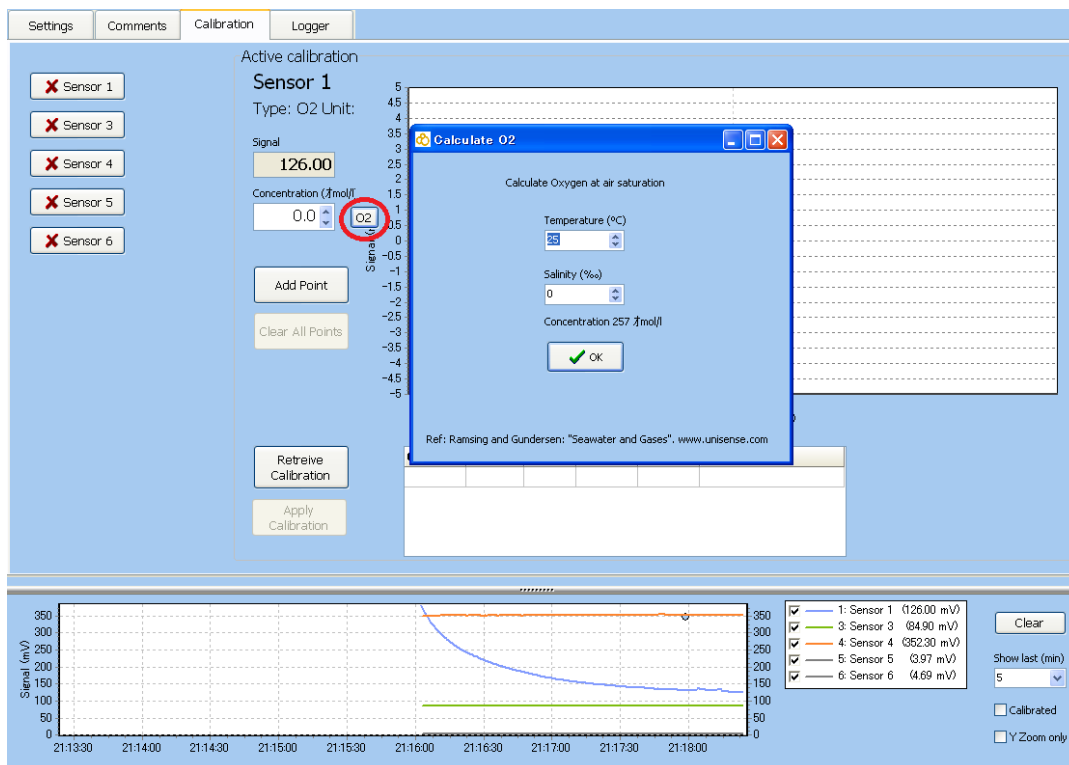


図 6 Sensor Trace Basic Calibration DO センサ校正画面

- ・ 図 6 の下のグラフに測定値 (signal) の経時変化が表示される。グラフ上で右にドラッグすると、その部分が拡大される。戻したい場合は、左にドラッグする。
- ・ 校正中のデータは自動保存されない。この図を保存したい場合は、グラフ上で右クリックし形式を選択してデータを保存する。
- ・ signal が安定したら“Add Point”をクリックする。
- ・ 次に $\text{DO} = 0$ の校正を行う。無酸素水の作成には 2 通りの方法がある。
 - ① 飽和時と同様に流量 0.5 L/min の窒素ガスで蒸留水をバブリングする。
 - ② 0.1M NaOH 溶液 100 ml に対して、 2 g のアスコルビン酸ナトリウムを溶かす。
 本実験では②の方法で行った。
- ・ 無酸素水に DO センサを浸し、飽和時と同様に signal が安定するまで待つ。
- ・ signal 安定したら、“Concentration”に 0 と入力し、“Add Point”をクリックする。
- ・ 校正値を修正したい場合は、図 3.4.5 の右上のグラフ上の修正したい校正点を右クリックし、“Delete point”を選択する。

- 校正をする際、確認する点が二つある。
 - ① 無酸素水の測定値が 20mV を下回っている。
 - ② 無酸素水の signal が飽和時の signal の 1/10 以下になる。
 この 2 点を満たしていれば、“Apply Calibration”をクリックする(図 7)。
- うまく校正が出来ない時は、センサ先端の汚れを落とすなどし、再度校正を行う。
- 実際に実験を進めると、実験の signal より無酸素水の signal が低くなる時があり、校正値が負になることがよくある。そのため、本実験では無酸素水の校正は行わず、実験中に測定した最も低い値を $DO = 0$ とし、自分で校正式を作成した。

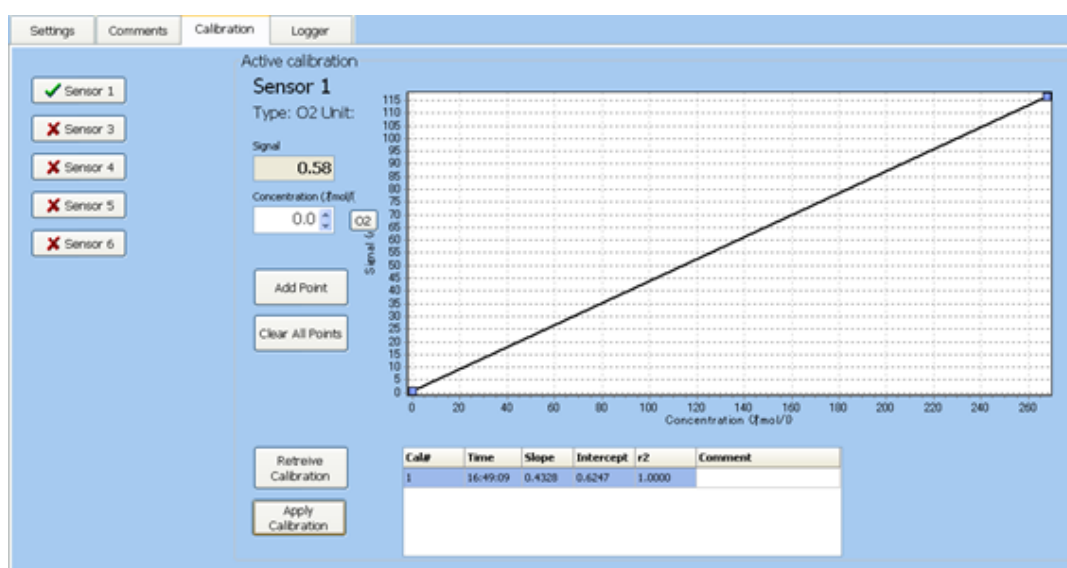


図 7 Sensor Trace Basic Calibration DO センサ校正完了

＜pH センサの校正＞

pH センサの校正は、pH 4、7 の二点校正で行う(図 8)。

- ・ ”Value”に”4”と入力し、pH 4 標準液から校正を始める。
- ・ 参照電極と参照電極に接続した pH センサを標準液に浸し、signal が安定したら“Add point”をクリックする。
- ・ 同様に pH 7 標準液で校正を行う。
- ・ それぞれの pH 標準液の signal の差が 50~70 mV あれば校正が正しく行われているので、“Apply Calibration”をクリックする。

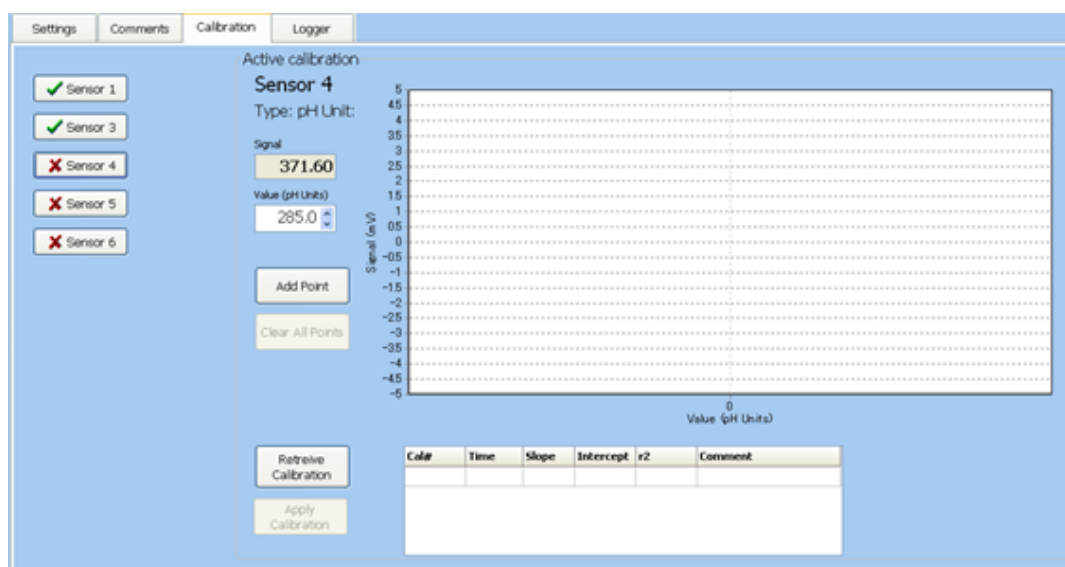


図 8 Sensor Trace Basic Calibration pH センサ校正画面

<Redox センサ校正>

Redox センサの校正は、pH 4、7 の二点校正で行う。

- 各 pH 緩衝液 100 ml に対して、キンヒドロソ(CAS 番号:106-34-3)を 1 g ずつ添加する。
緩衝液の Eh は温度に依存し、それぞれの値が定められている。

表 3.1 各標準液の Eh(mV)

Temperature(°C)	pH 4 buffer	pH 7 buffer
20	470	295
25	462	285
30	454	275

unisense マニュアルより

- pH4 標準液から校正を行う。“Value”に表 3.1 の値を入力する。
- 参照電極と参照電極に接続した pH センサを標準液に浸し、signal が安定したら“Add point”をクリックする。
- 同様に pH 7 標準液で校正を行う。
- 二つの signal の差が 170~185 mV であれば校正が正しく行われているので、“Apply Calibration”をクリックする(図 9)。

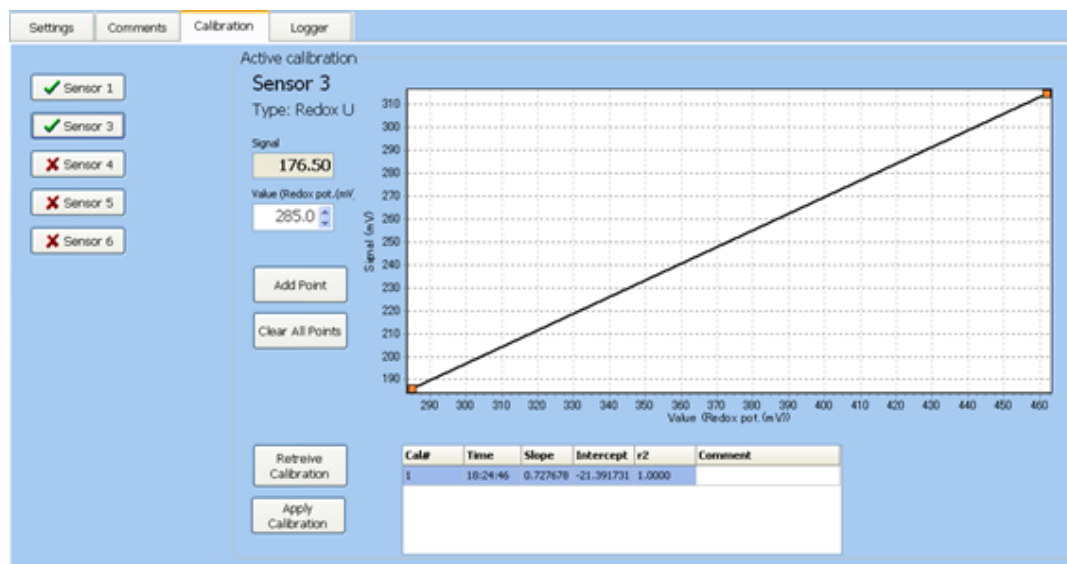


図 9 Sensor Trace Basic Calibration Redox センサ校正完了

<Unisense マイクロセンサによる測定とデータの保存>

校正を終えたら測定を開始する(図 10)。

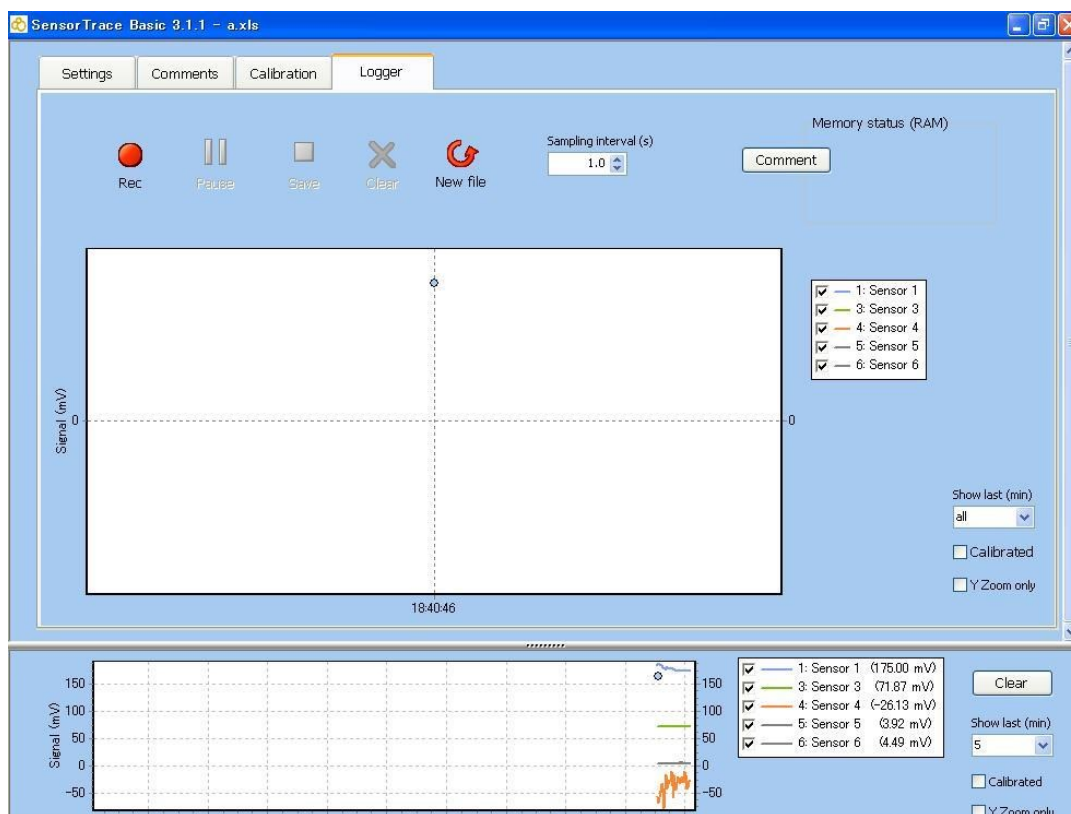


図 10 Sensor Trace Basic Logger 測定画面

- Rec : 測定値の記録
- || Pause : 記録の一時停止
- Save : 記録の保存。Excel シートに保存される(保存する時は Pause してから)
- × Clear : 記録の削除

- ・ Recをクリックすると測定値が記録される。測定間隔は図 3.4.8 の上部にある“Sampling interval(s)”で設定することが出来る。
- ・ “Comment”をクリックすると、「Eh 測定開始」等のある時間に対するコメントをデータと共に記録できる。
- ・ 上下のグラフには測定値の経時変化が表示される。グラフ右側のボックスのチェックをはずすと、必要のない測定値 (Sensor5、6:Multimeterのバックグラウンドの何かを測っている。無視してよい。)を非表示にすることが出来る。

- ・ グラフ上で右にドラッグすると、その部分が拡大される。左にドラッグすると元に戻る。
また、図 10 の右側にある“Calibrated”をチェックすると、グラフ上に表示される値が測定値から校正値に変換される。

<補足>

センサの校正が完了しなくても、測定値の保存はできる。その場合は、保存した Excel シートで自ら校正式を作成し測定値から校正値へと変換する。

<マイクロセンサの自動降下>

本研究では、Unisense マイクロセンサを用いて土中プロファイルを測定した。その際、センサの自動降下装置のモーター制御を PC-9801 RX で行った(図 11)。



図 11 PC-9801 RX

- ・ ディスプレー右下のディスプレイ用の電源スイッチと、本体右下の電源スイッチを入れ PC を起動させる。
- ・ PC が起動したら、図 12 のように“**n88basic /e:gpi**”と入力し、Enter キーを押す。

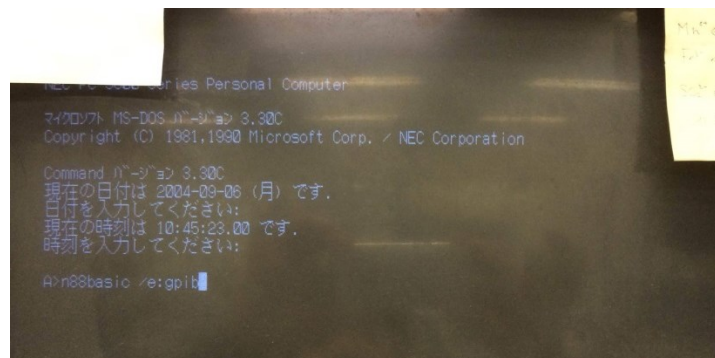


図 12 PC 起動時

- ・ “files”と入力すると、様々なプログラムが表示される(図 13)。本実験に用いたプログラムは“moe”なので、“load “moe” ”と打つ。
- ・ OK と表示されたら“run”と入力し、プログラムを起動する。

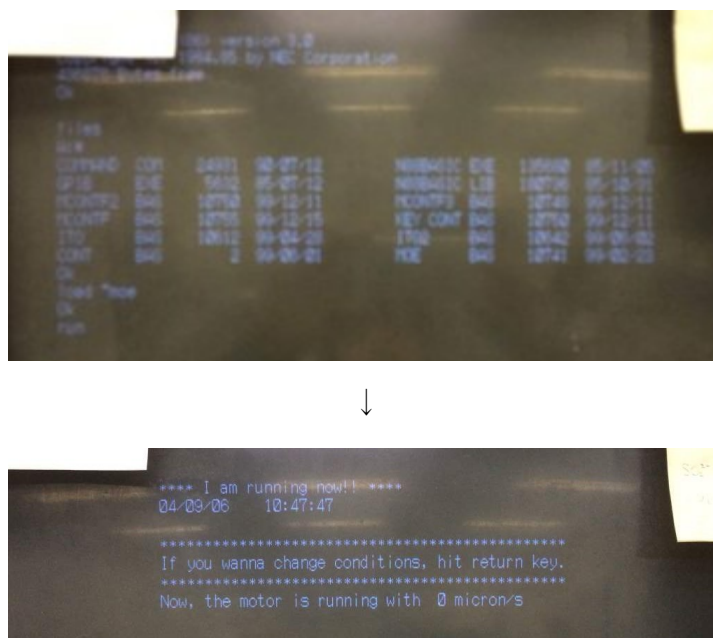


図 13 moe の起動

- ・ moe を起動し、enter キーを押すと図 14 の画面が表示される。各動作は以下の通りである。
 - センサの上昇 —“1”
 - センサの降下 —“2”
- ・ 土中プロファイルを測定する場合は“2”を選択し、次いで速度を入力する。本論の実験は全て 10 micron/sec で動かした。

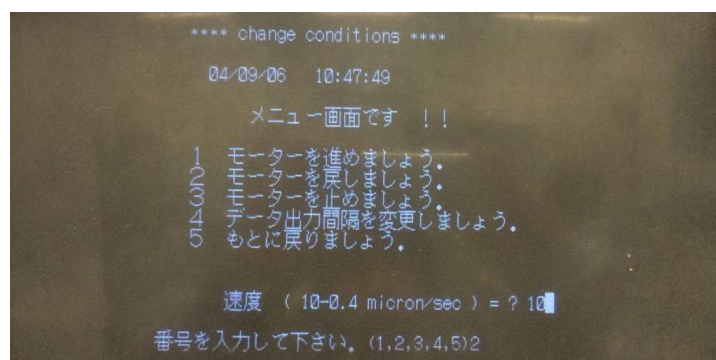


図 14 モーターの操作

- ・ プロファイルの測定を終えたら”3”と入力し enter キーを押す。
- ・ すべての測定を終えたら、キーボード左上の STOP キーを押しプログラムを終了する。
Break と表示されたら“system”と入力し、A>と表示されるのを確認してから PC の電源を切る。

<補足>

- ・ 10 micron/sec でモーターを動かすと約 40 分で降下限界に到達するが、停止操作をしない限りモーターは動き続ける。そのため、40 分以上モーターを動かし続けると故障の原因となるので限界に達するまでに停止することに注意する。

＜土中の無機態窒素の抽出方法＞

DR6000 で NO_3^- 、 NO_2^- 濃度を測定するにあたり、土中から NO_3^- 、 NO_2^- の抽出を行う。以下にその手順を示す。

- ・ 100 mL 容のプラスチック容器に土を 1 g 採取する。その際、採取した土の湿潤重量と、付近の土の含水比を測定し、濃度換算に用いる。
- ・ 土を入れた容器に純水 50 mL を加え、震盪機で 1 時間震盪する。
- ・ 震盪後 15 分間は容器を立てて静置し、抽出しやすいよう土粒子を沈殿させる。
- ・ 注射器に上澄み液を取り孔径 0.45 μm のろ紙でろ過する。ろ紙にはアドバンテック社製の直径 25 mm のメンブレンフィルターを、フィルターをセットするろ過装置には、専用のプラスチックホルダー PP25 を使用する(図 15)。
- ・ フィルターを取り出す際には先の丸いピンセットを用い、フィルターに傷をつけない様注意する。ホルダーに注射器を装着し、ろ過を行う(図 16)。
- ・ フィルターは試料ごとに替え、注射器とホルダーは試料ごとに洗浄し、キムタオルで水分を取り除き使用する。
- ・ 抽出液を 20mL 取り、亜硝酸と硝酸の測定に 10mL ずつ使用する。
- ・



図 15 ろ過用ホルダーPP25



図 16 ろ過の様子

<濃度換算>

DR6000 での測定値は、土壌抽出液の濃度 [mg/L] である。これを土中水濃度 [mmol/L] にするため、次のように換算する。

$$\begin{aligned} \text{抽出液に含まれる窒素量} &= \frac{\text{抽出液 濃度} \times \text{抽出液量}}{\text{窒素 物質質量}} \\ A [\text{mmol}] &= \frac{[\text{mg/L}] \times [\text{L}]}{14 [\text{mg/mmol}]} \\ \\ \text{土中水濃度} &= \frac{A [\text{mmol}]}{\text{採取した土中水量 [L]}} \\ [\text{mmol/L}] & \end{aligned}$$

抽出液量や土中水量については、採土重量とその含水比によって求める。

$$\begin{aligned} \text{土中水量 [mL]} &= \frac{\text{含水比 } w \times \text{採土重量 [g]}}{1 + \text{含水比 } w} \\ \\ \text{抽出液量 [mL]} &= \text{土に加えた水量 [mL]} + \text{土中水量 [mL]} \end{aligned}$$

＜土壌抽出液の無機態窒素濃度の測定方法・原理＞

- ・ DR6000 は、短期間使用しない場合スリープモードにしておく。スリープモードから立ち上げた際は1分ほど、自動で光源や電圧のテストなどの自己診断が行われる。自己診断が終了すれば使用可能となる。
- ・ 本実験で用いたセルは角形 10mL セル(図 17)である。セルは 2 つ 1 組となっており、同じ番号が記してある。本実験では 3 組のセルを用い、測定する 3 種類の無機態窒素ごとにセルの組を固定して使用した。



図 17 角形 10 mL セル 1 組

<NO₂⁻の測定>

測定法：ジアゾ化法

測定範囲：0.002～0.300 mg/L－NO₂-N

使用試薬：亜硝酸塩試薬（TOADKK コード:HACH0596）

測定原理：NO₂⁻は試薬中のスルファニル酸と反応し、ジアゾニウム塩という中間生成物を形成する。これが同じく試薬中のクロモトロプ酸と反応し、ピンク色の錯体を生成する。吸光度の測定には、507 nm(緑)の波長を用いる。

測定方法：

- ・ DR6000 の内蔵プログラムで、ジアゾ化法を選択する。
- ・ 10 ml セルに土壌抽出液 10 mL を入れ、DR6000 のセルホルダに挿入する。
- ・ DR6000 の画面上の「ゼロ」を押し、亜硝酸と試薬の反応前における吸光度を測定する。これで試薬ブランクの吸光度が測定される。画面には「0.000 mg/L NO₂-N」と表示される。
- ・ セルに亜硝酸塩試薬を加え、専用の栓をし、振って溶解させる(図 18)。
- ・ 20 分間の静置後、セルをセルホルダ(図 19)に挿入し、画面上の「測定」を押し、その吸光度を測定する。その吸光度と試料ブランクの吸光度から、抽出液の NO₂⁻濃度が計算され、画面上に計算値が出力される。



図 18 試薬溶解時の振り方(例)



図 19 セルホルダ

<NO₃⁻の測定>

測定法：カドミウム還元法

測定範囲：中濃度 0.1～10.0 mg/L-NO₃-N、高濃度 0.3～30.0 mg/L-NO₃-N

使用試薬：硝酸塩試薬（TOADKK コード:HACH0586）

測定原理：試薬であるカドミウム金属は、抽出液中の硝酸塩を亜硝酸塩に還元する。

NO₂⁻は酸媒体の中で、試薬中のスルファニル酸と反応し、ジアゾニウム塩という中間生成物を形成する。これが同じく試薬中のゲンチシン酸と反応し、琥珀色の溶液となる。吸光度の測定には、中濃度の測定であれば 400 nm(紫)、高濃度の測定であれば 500 nm(青緑)の波長を用いる。

測定方法：

- ・ DR6000 の内蔵プログラムで、カドミウム還元法を選択する。
- ・ 10 mL セルに土壌抽出液 10 mL を入れ、DR6000 のセルホルダに挿入する。DR6000 の画面上の「ゼロ」を押し、NO₃⁻と試薬の反応前における吸光度を測定し試薬ブランクの吸光度を測定する。画面には 0.0 mg/L NO₃-N と表示される。
- ・ セルに硝酸塩試薬を加えて専用の栓をし、1 分 30 秒間上下に勢いよく振盪する(図 20)。



図 20 浸透時の振り方

- ・ 5 分間の静置後、セルをセルホルダに挿入し、画面上の「測定」を押し、その吸光度を測定する。その際、中濃度範囲の測定であれば静置後 2 分以内に、高濃度範囲の測定であれば 7 分以内に測定を行う。この吸光度と試料ブランクの吸光度から、抽出液の NO_3^- 濃度が計算され、画面上に計算値が出力される。
- ・ 測定された濃度は、 NO_3^- と NO_2^- を合わせた濃度となっている。そのため測定濃度から NO_2^- 濃度を引き、 NO_3^- 濃度を求める。

＜NO₃⁻測定方法の調整＞

前項の NO₃⁻の測定 測定方法の工程にて、「セルに硝酸塩試薬を加え、1 分 30 秒間上下に勢いよく振盪する」と記した。HACH 社発行の測定手引き書によると、1 分間と記載され、さらにこの振盪時間を適宜調整する必要があることが記載されていた。振盪時間は、土壌抽出液と試薬との化学反応に影響するためである。そのため、硝酸態窒素 100 mg/L 標準液を用いて濃度既知の溶液を作り、その濃度を精度よく測定できるように振盪時間の調整を行った。調整は高濃度範囲、中濃度範囲それぞれについて実施した。その結果、高濃度範囲では 1 分 30 秒間、中濃度範囲では 1 分間の振盪時間で測定することとした。

また、振盪時間の他に次のことを検証した。同手引き書によると、試薬を加えて振盪し 5 分反応させた後、測定までの時間に制約があったことから、5 分反応後の静置によってどの程度の測定誤差が生じるのかを検証した。これについては高濃度範囲について実施した。

<浸透時間の調整>

測定範囲：高濃度範囲 (0.3～30.0 mg/L – NO₃-N)

試験日：2014.5.15、16

試薬：硝酸態窒素 100 mg/L 標準液

目的：高濃度範囲の測定において、異なる震盪時間で測定を行い、正しい濃度が測定できる震盪時間を求める。

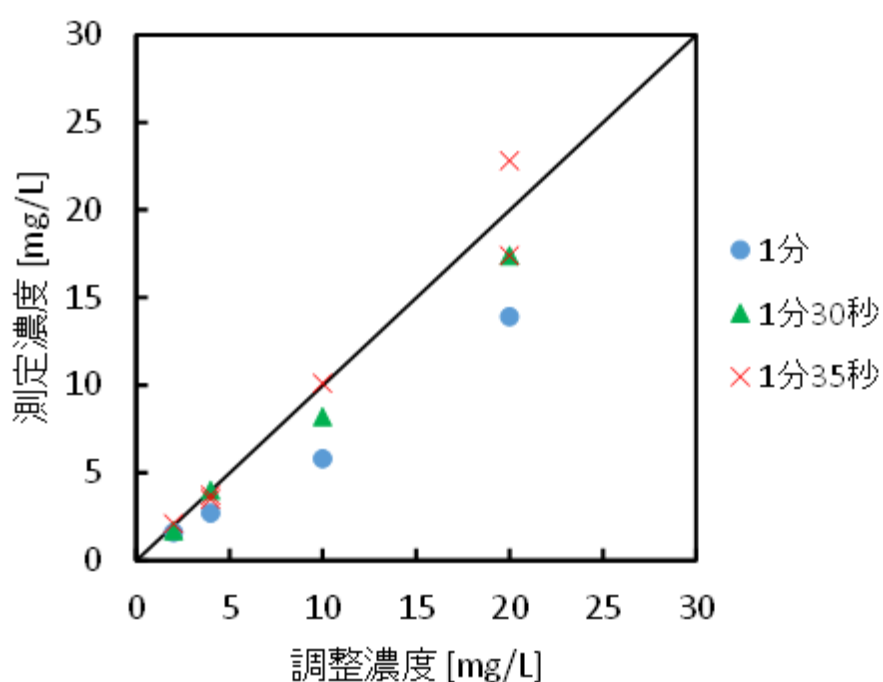


図 21 高濃度範囲の振盪時間の調整

図 21 に、3 つの震盪時間で濃度測定をした結果を示した。横軸を、標準液により調整した既知の濃度、縦軸を測定値とした。1 分間の震盪では、調整濃度に比べ計測値が下回った。振盪時間を増やすにつれ、計測値は調整濃度に近づいた。1 分 35 秒の震盪では高濃度の 20 mg/L で誤差が大きくなったため、高濃度範囲の測定に用いる振盪時間には 1 分 30 秒を採用した。

測定範囲：中濃度範囲 (0.1～10.0 mg/L – NO₃-N)

試験日：2014.6.11

試薬：硝酸態窒素 100mg/L 標準液

目的：中濃度範囲の測定において、異なる震盪時間で測定を行い、正しい濃度が測定できる震盪時間を求める。

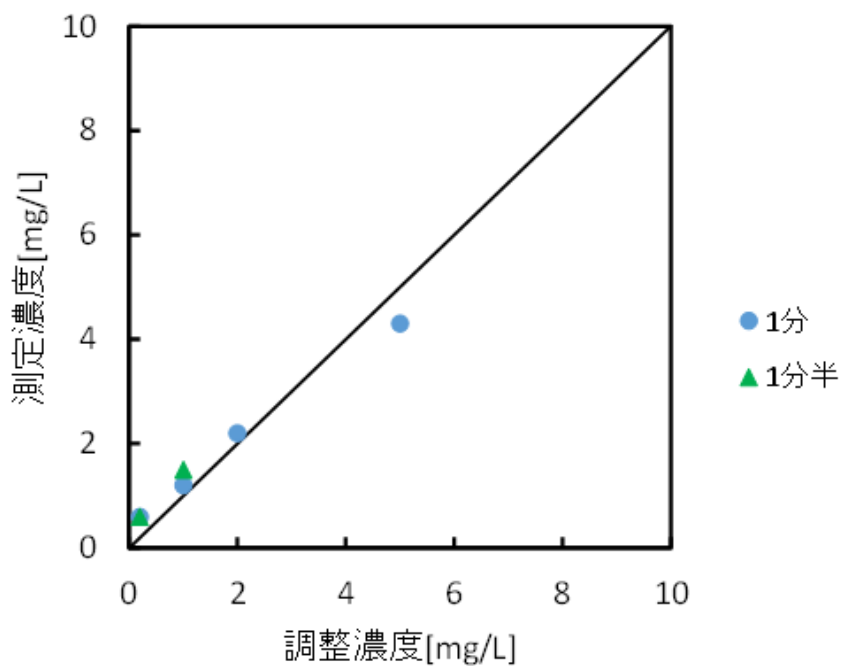


図 22 中濃度範囲の振盪時間の調節

図 22 に、2 つの震盪時間で濃度測定をした結果を示した。1 分の震盪時間において、測定濃度は調整濃度に近い値を示した。このため、中濃度範囲の測定に用いる震盪時間には、1 分を採用した。

<5 分反応後の静置による測定誤差>

試験日 : 2014.5.14、16

測定範囲 : 高濃度範囲 (0.3~30.0 mg/L – NO₃-N)

用いた試薬 : 硝酸態窒素 100mg/L 標準液 (2014、2011)

目的 : 試薬を加えて震盪し 5 分反応させた後、測定まである時間静置することにより、どの程度の測定誤差が生じるのかを検証する。

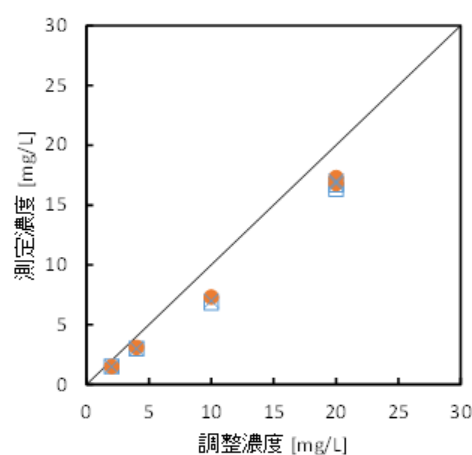


図 23 浸透時間 1 分

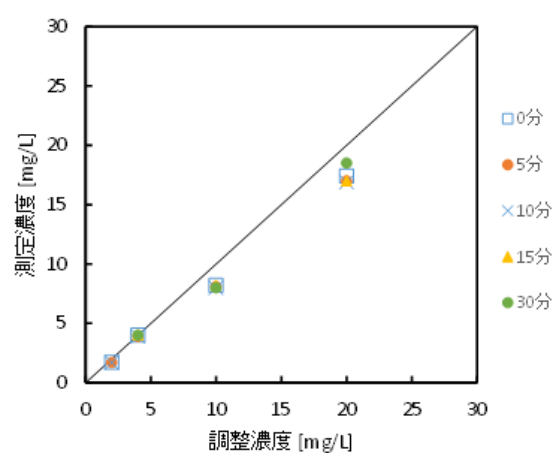


図 24 浸透時間 1 分 30 秒

図 23 に震盪時間 1 分での結果を、図 24 に震盪時間 1 分 30 秒での結果を示した。震盪し 5 分間反応させた後、0、5、10、15、30 分静置し、測定を行った。震盪時間 1 分と 1 分 30 秒の両方において、静置による測定誤差はほとんど見られなかった。そのため、従来通り 5 分間静置後すぐに測定することとした。

<6章の実験結果>

(8/19)

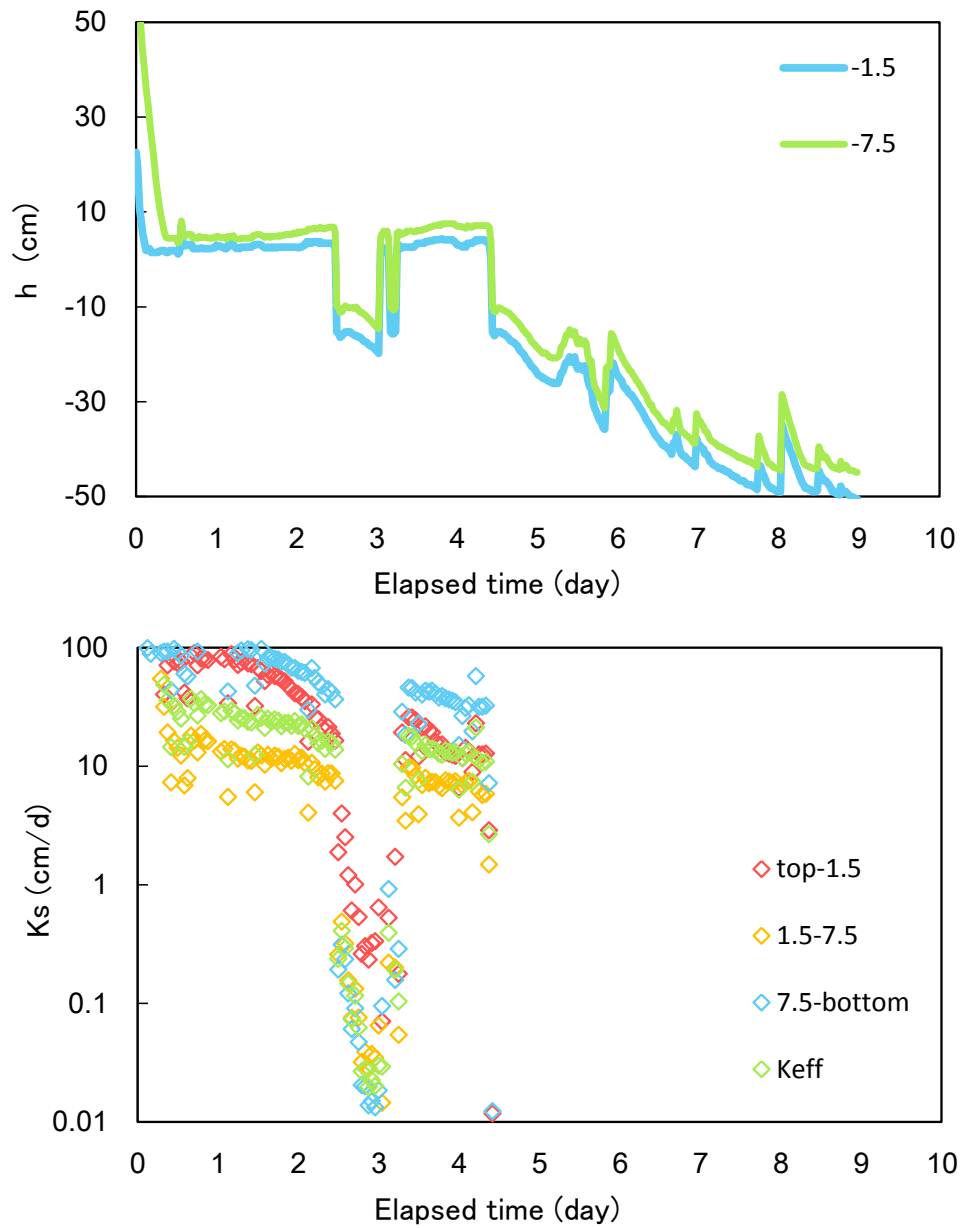


図 25 浸透開始(0d)後の各深さの土中水圧力 h と透水係数の経時変化
2.5、4.5 日の h の低下は給水停止による。

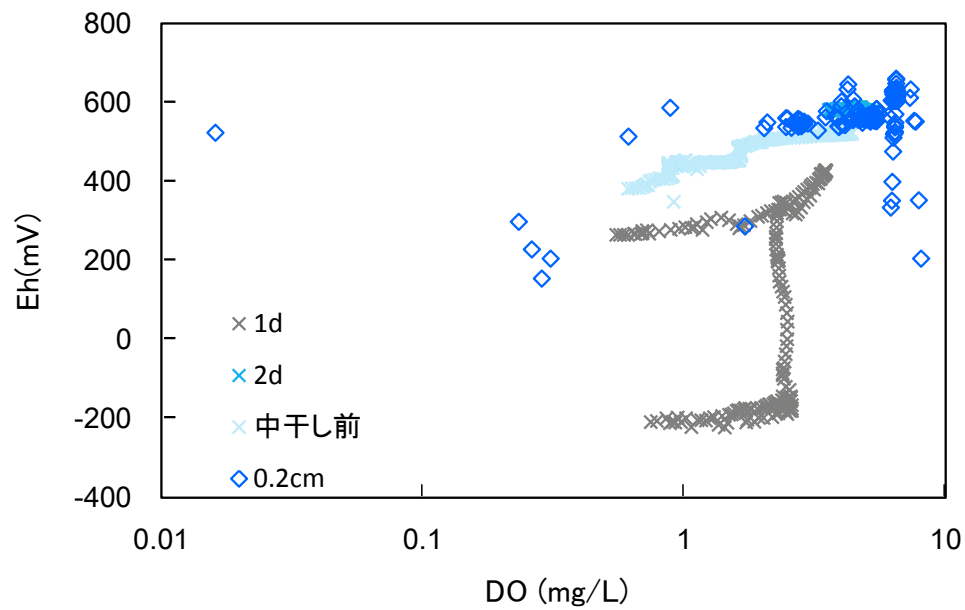


図 26 Eh-DO 関係

それぞれ 0.2 cm 深の Eh と DO の経時変化や、任意の時間に測定したプロファイルの結果を示している。

(11/5)

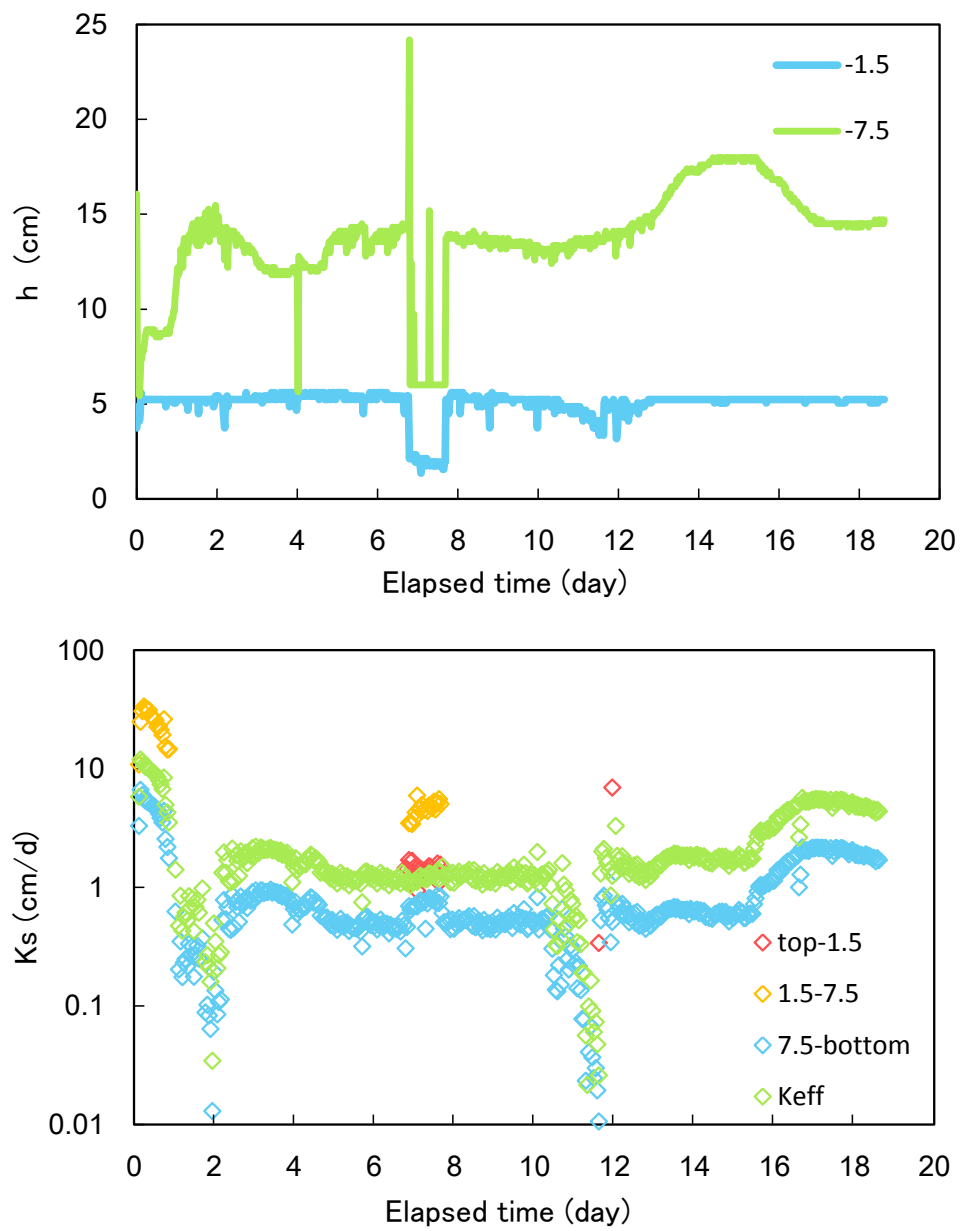


図 27 浸透開始(0d)後の各深さの土中水圧 h と透水係数の経時変化
0～12 日はグルコース溶液を、12～19 日は純水を浸透した。

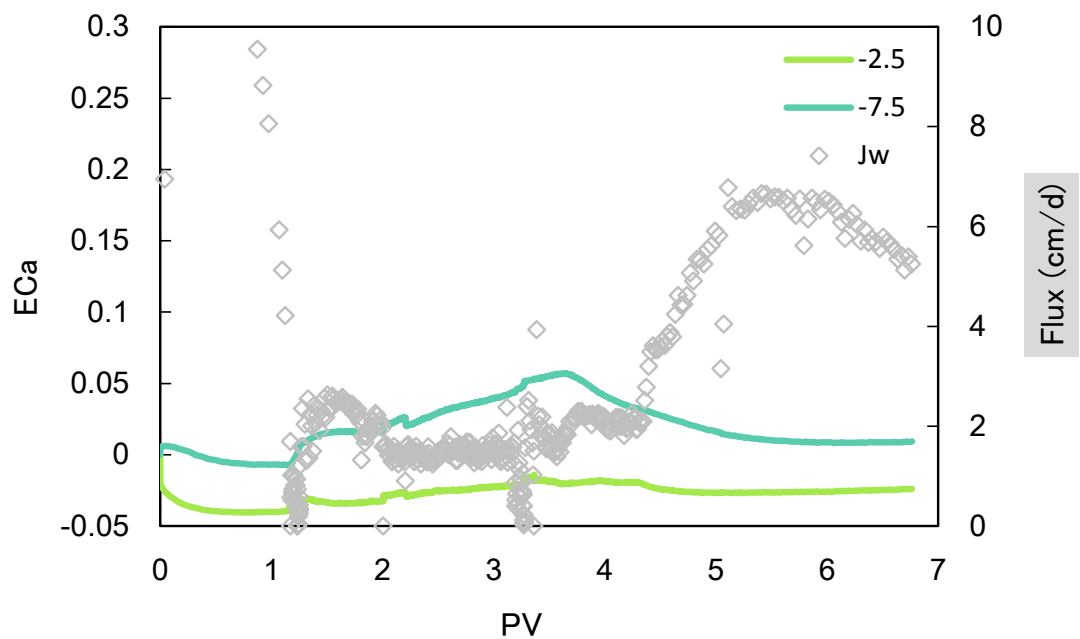


図 28 ECa(実線)と浸透フラックス(◇)の経時変化。純水の浸透を開始した 12 日は PV 3.36 に相当する。

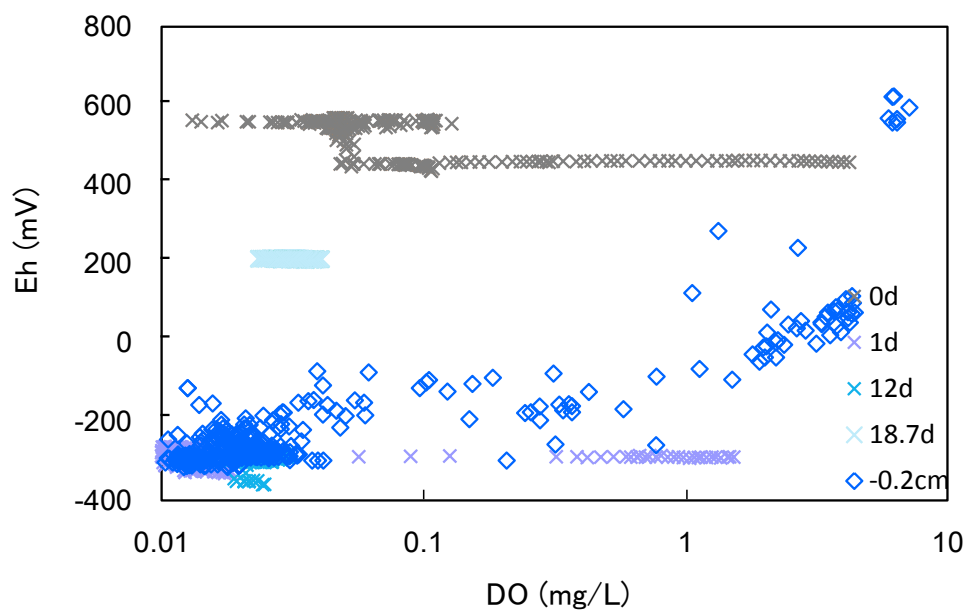


図 29 Eh-DO 関係

それぞれ 0.2 cm 深の Eh と DO の経時変化や、任意の時間に測定したプロファイルの結果を示している。12 日は純水浸透前に測定したプロファイルの結果を示す。

(11/29)

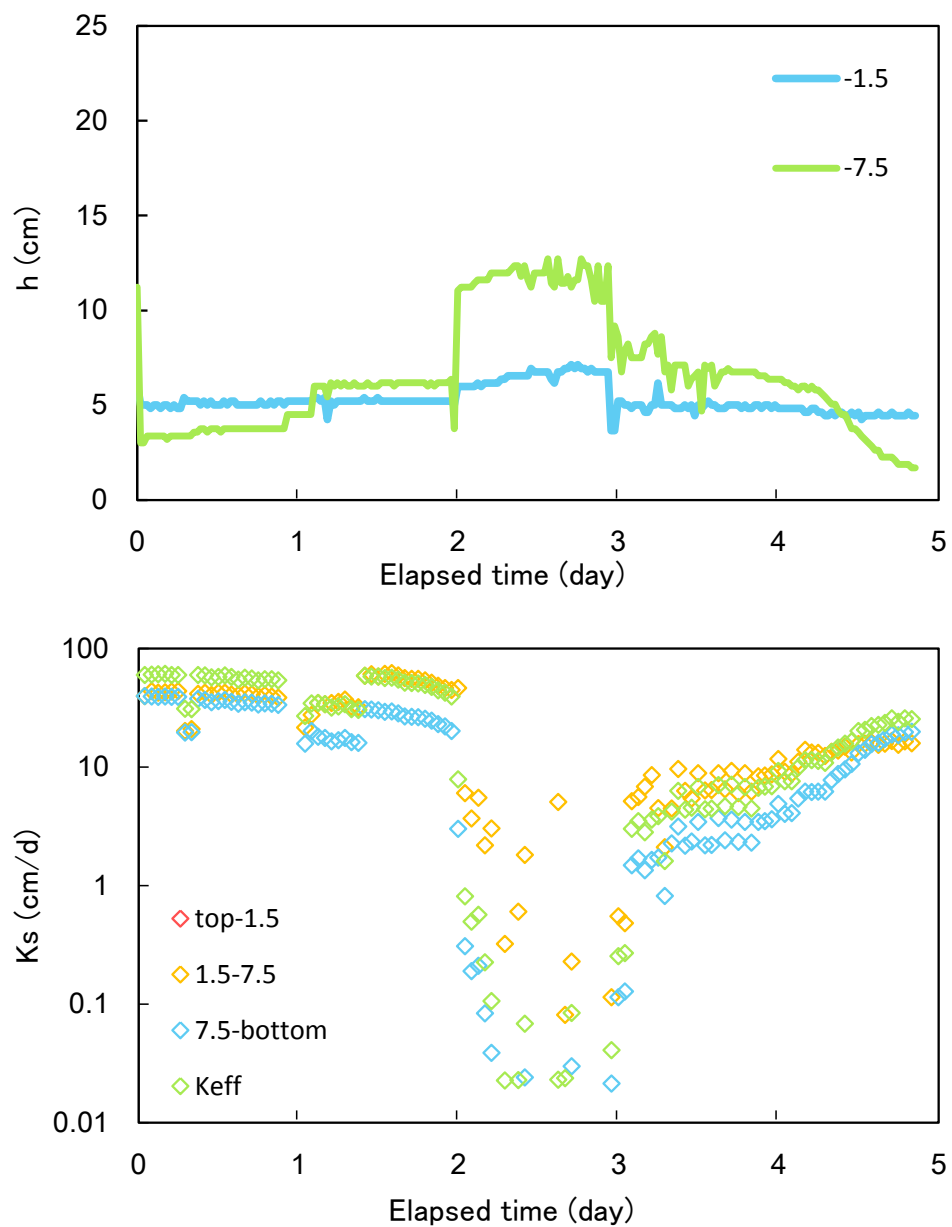


図 30 浸透開始(0d)後の各深さの土中水圧力 h と透水係数の経時変化
0～1.34 日は純水を、1.34～2 日はグルコース溶液を、2～3 日は浸透を停止し、3 日～は NO_3^- 溶液を浸透した。

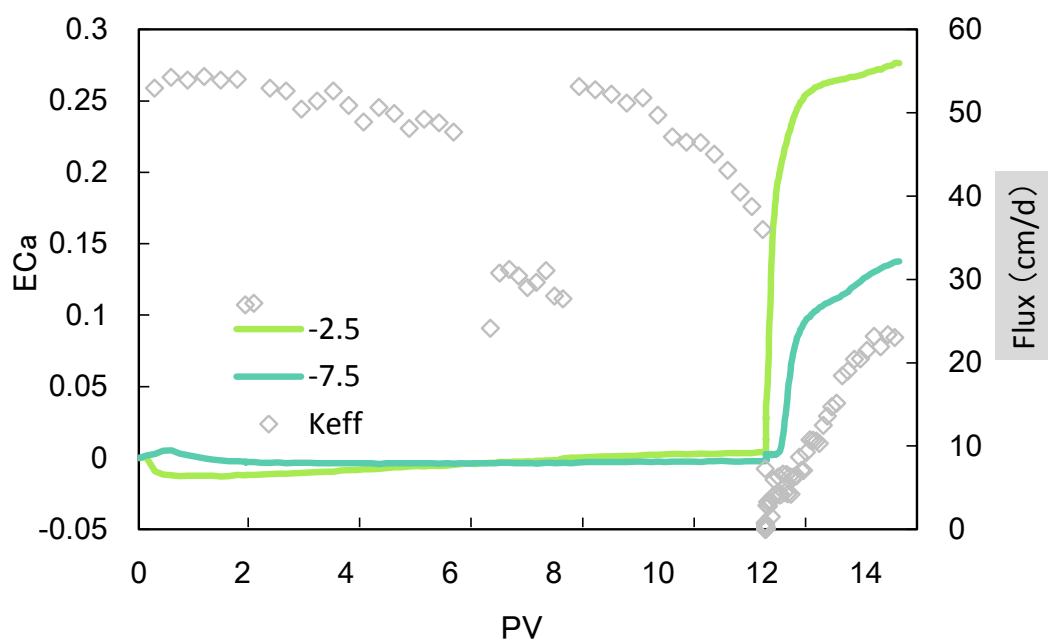


図 31 ECa(実線)と浸透フラックス(◇)の経時変化。グルコース溶液の浸透開始 8PV、浸透停止は 12PV、 NO_3^- 溶液浸透開始は 12PV に相当する。

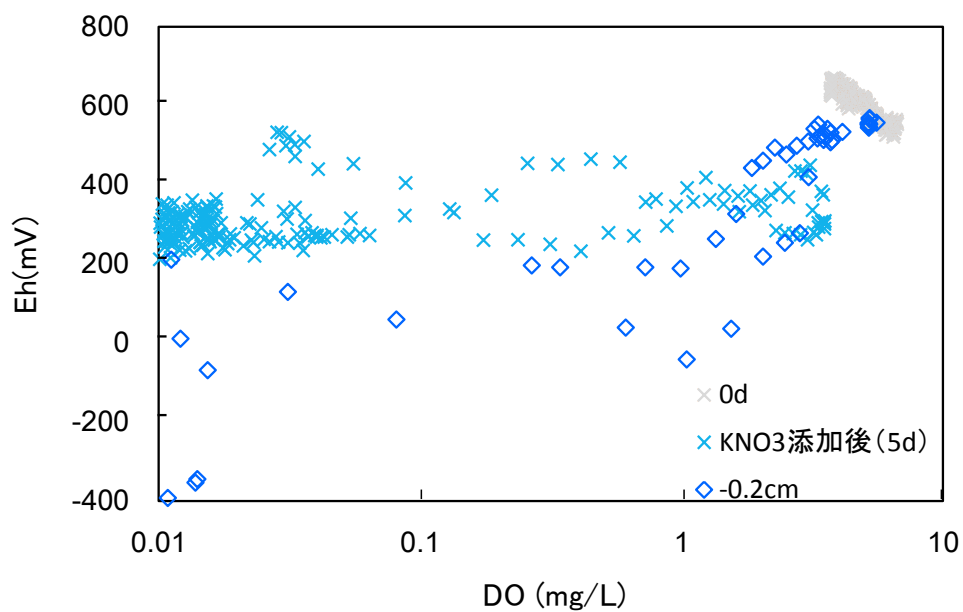


図 32 Eh-DO 関係

それぞれ 0.2 cm 深の Eh と DO の経時変化や、任意の時間に測定したプロファイルの結果を示している。

(12/10)

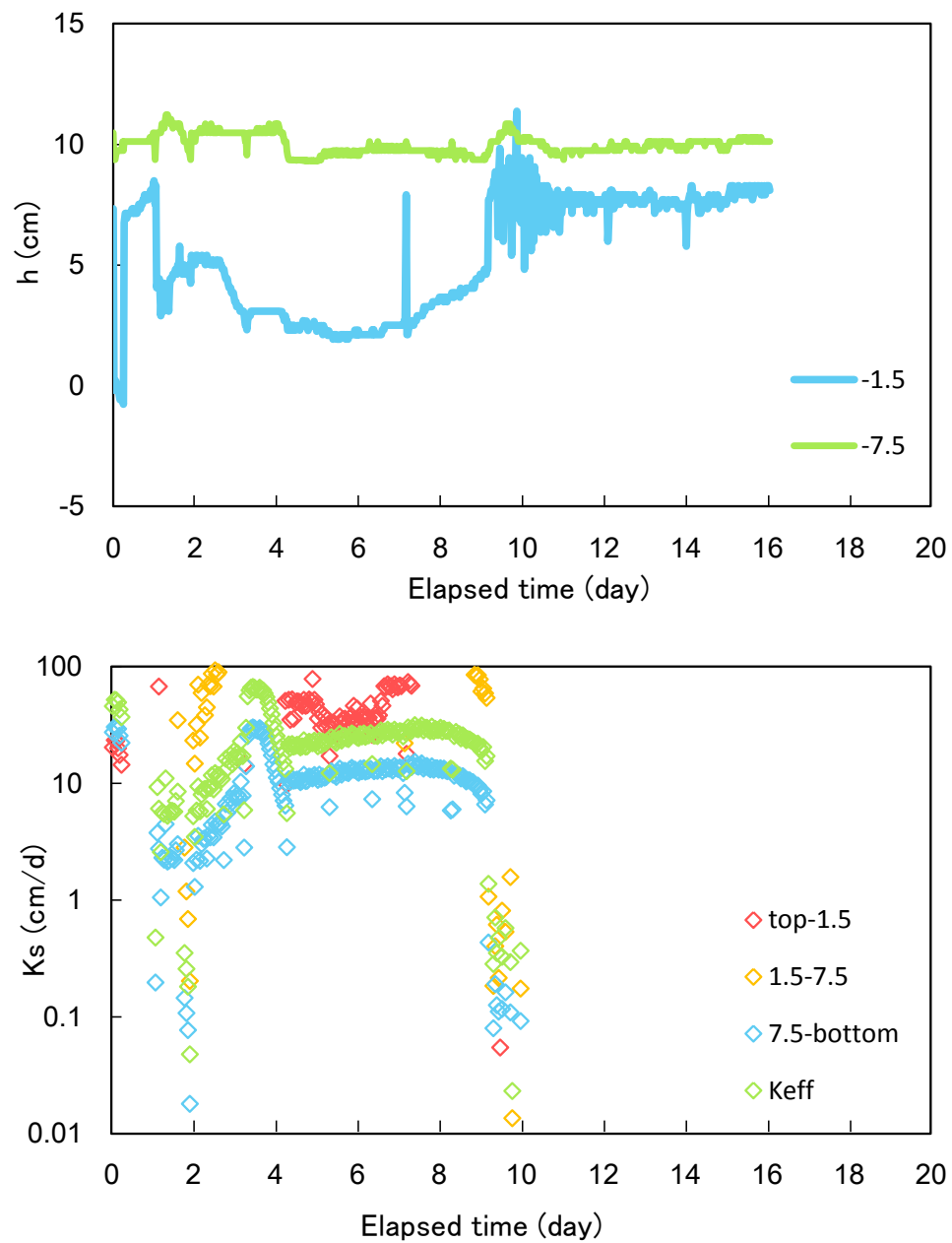


図 33 浸透開始(0d)後の各深さの土中水圧 h と透水係数の経時変化
0 日より純水の浸透を開始し、数時間後に停止した。1～7 日は NO_3^- 溶液を、7～9 日は NO_3^- にグルコースを加えた溶液を浸透した。

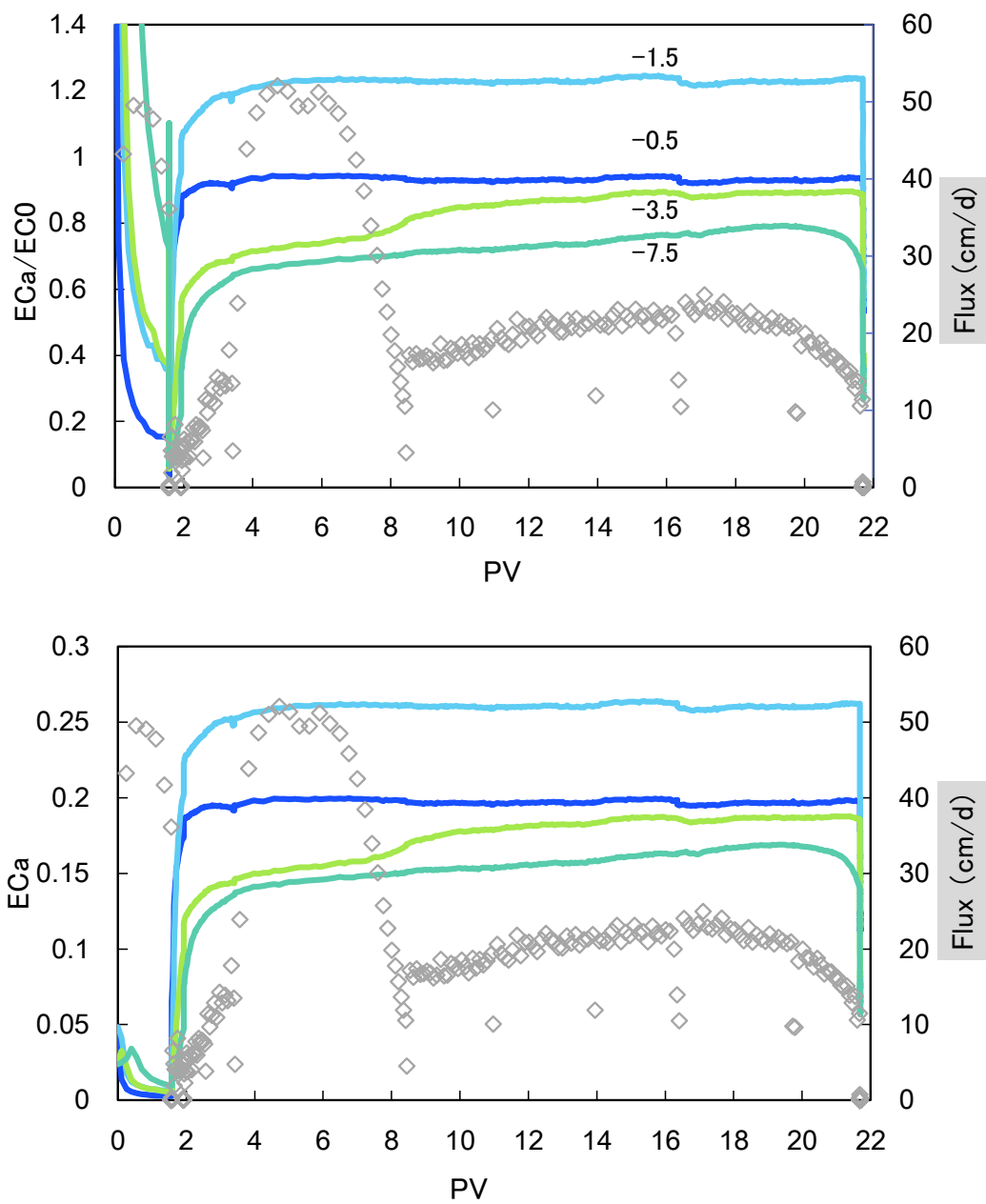


図 34 ECa/EC_0 (実線) と浸透フラックス (\diamond) の経時変化
 浸透停止、 NO_3^- 浸透開始、 $NO_3^- +$ グルコース浸透、浸透停止はそれぞれ PV=1.57、
 1.57、16.35、21.68 にあたる。1.57 日の EC の上昇は NO_3^- 溶液の浸透による。

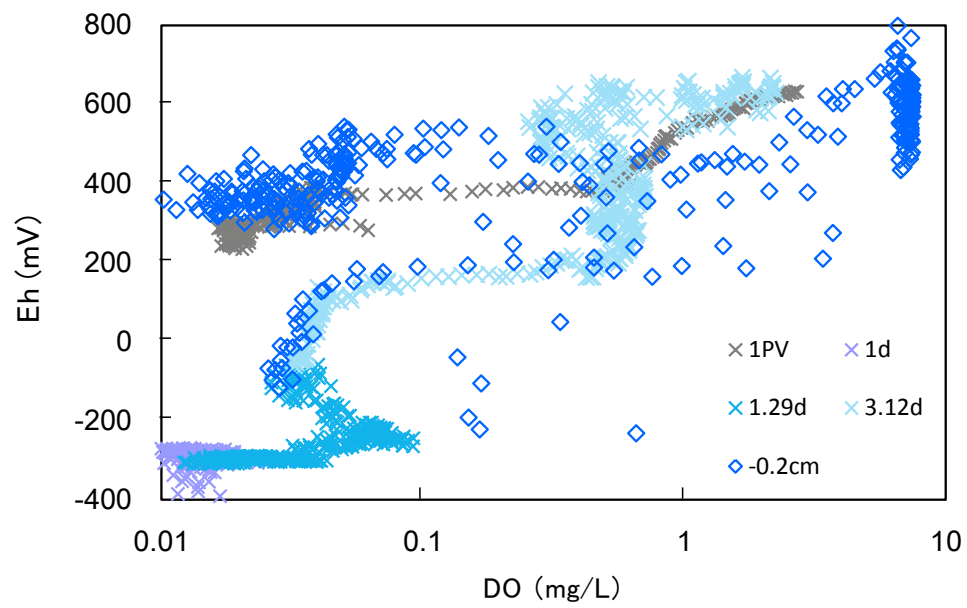


図 35 Eh-DO 関係

それぞれ 0.2 cm 深の Eh と DO の経時変化や、任意の時間に測定したプロファイルの結果を示している。

(2/4)

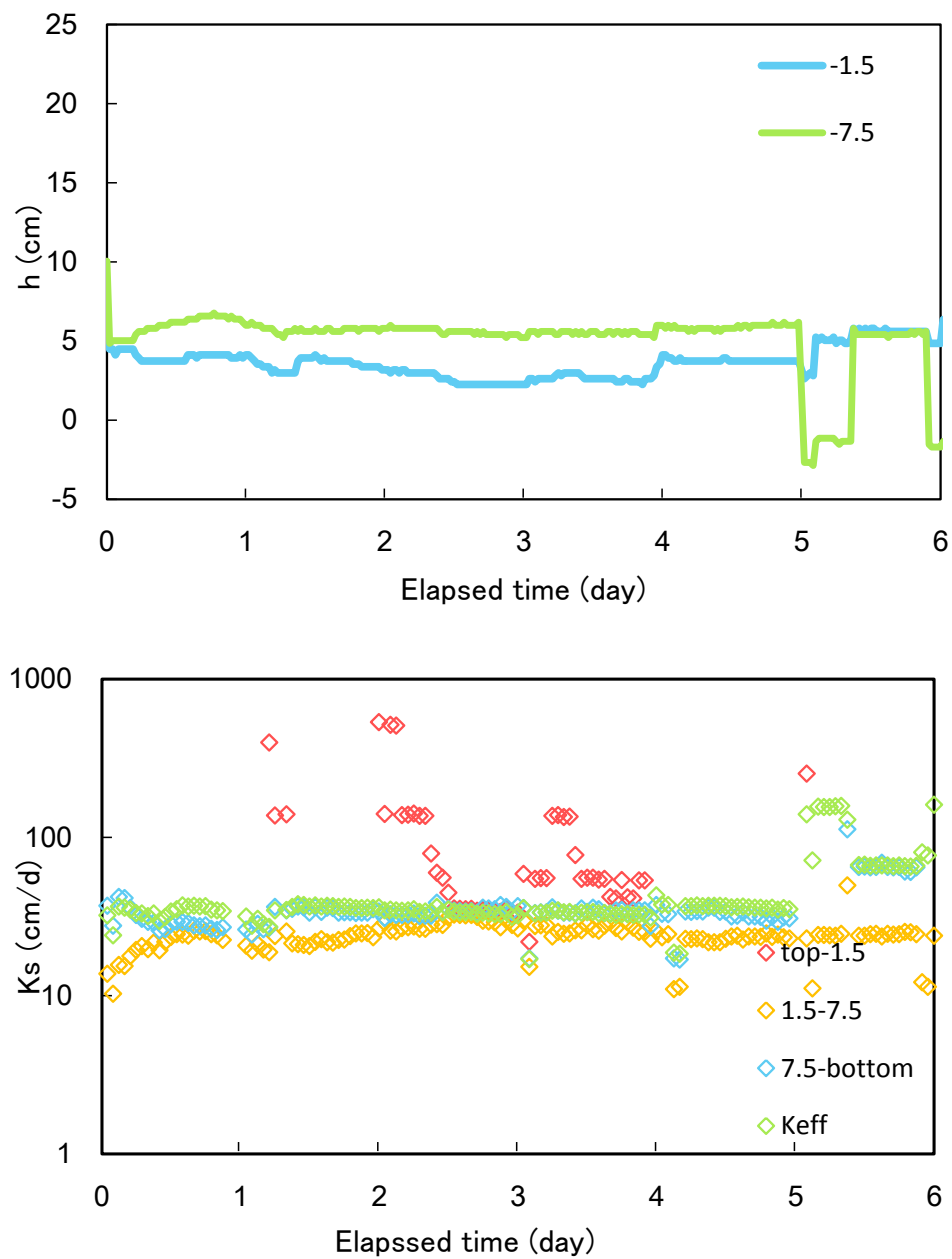


図 36 浸透開始(0d)後の各深さの土中水圧力 h と透水係数の経時変化
5 日に $h_{7.5}$ が低下したのは、浸透フラックスを調節するためドリップポイントを下げたことによる。

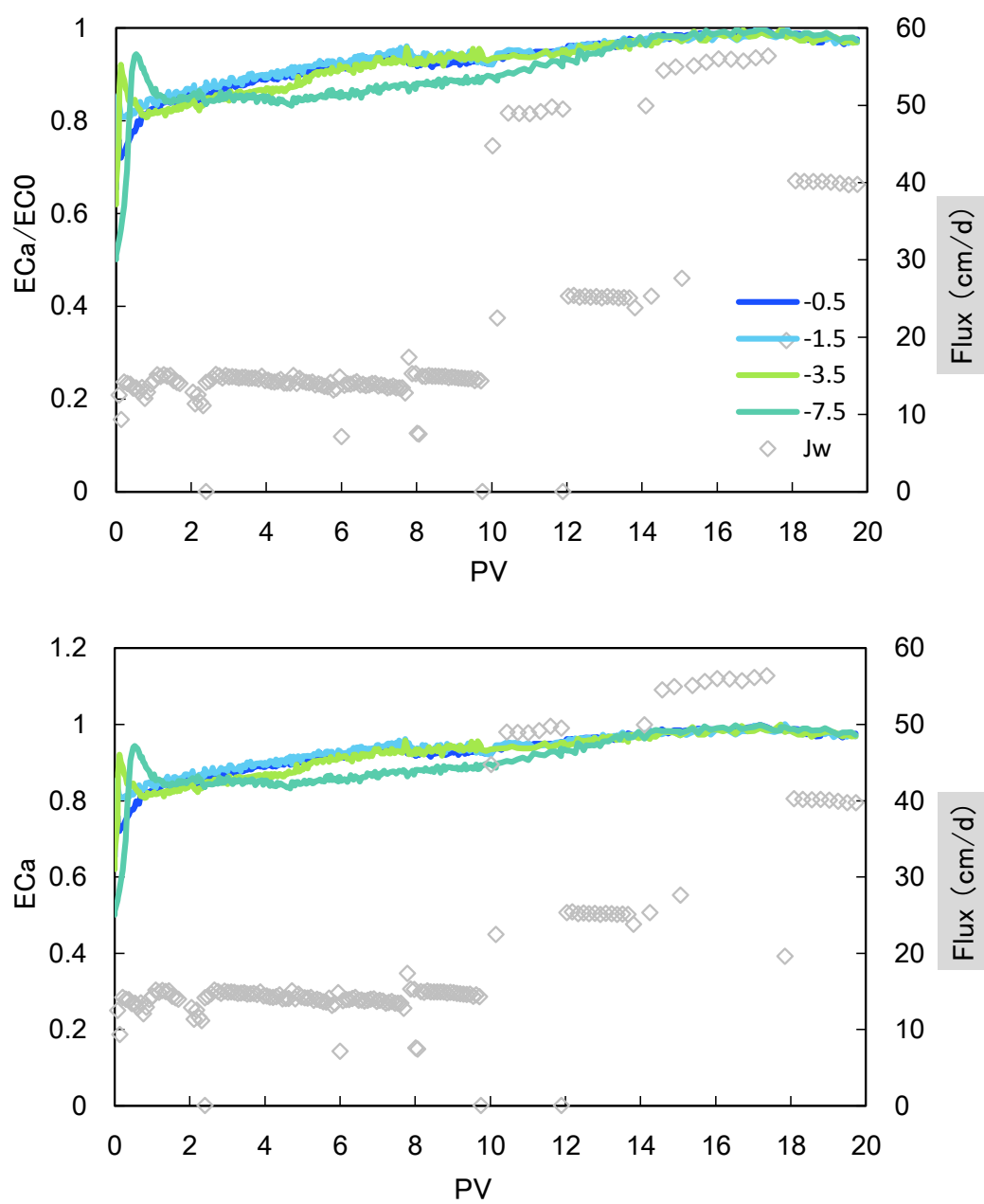


図 37 ECa/EC_0 (実線)と浸透フラックス(\diamond)の経時変化。

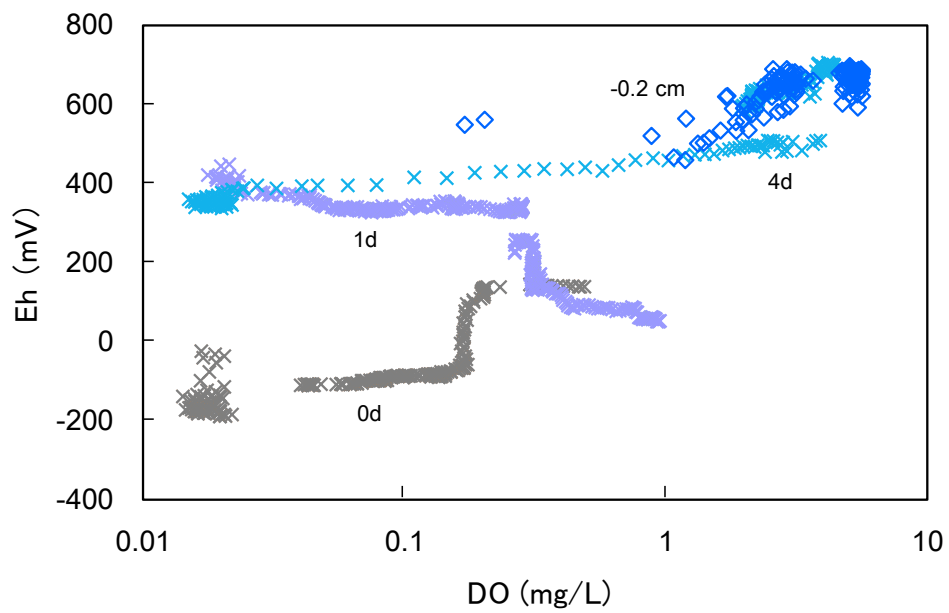


図 38 Eh-DO 関係

それぞれ 0.2 cm 深の Eh と DO の経時変化や、任意の時間に測定したプロファイルの結果を示している。

(2/19)

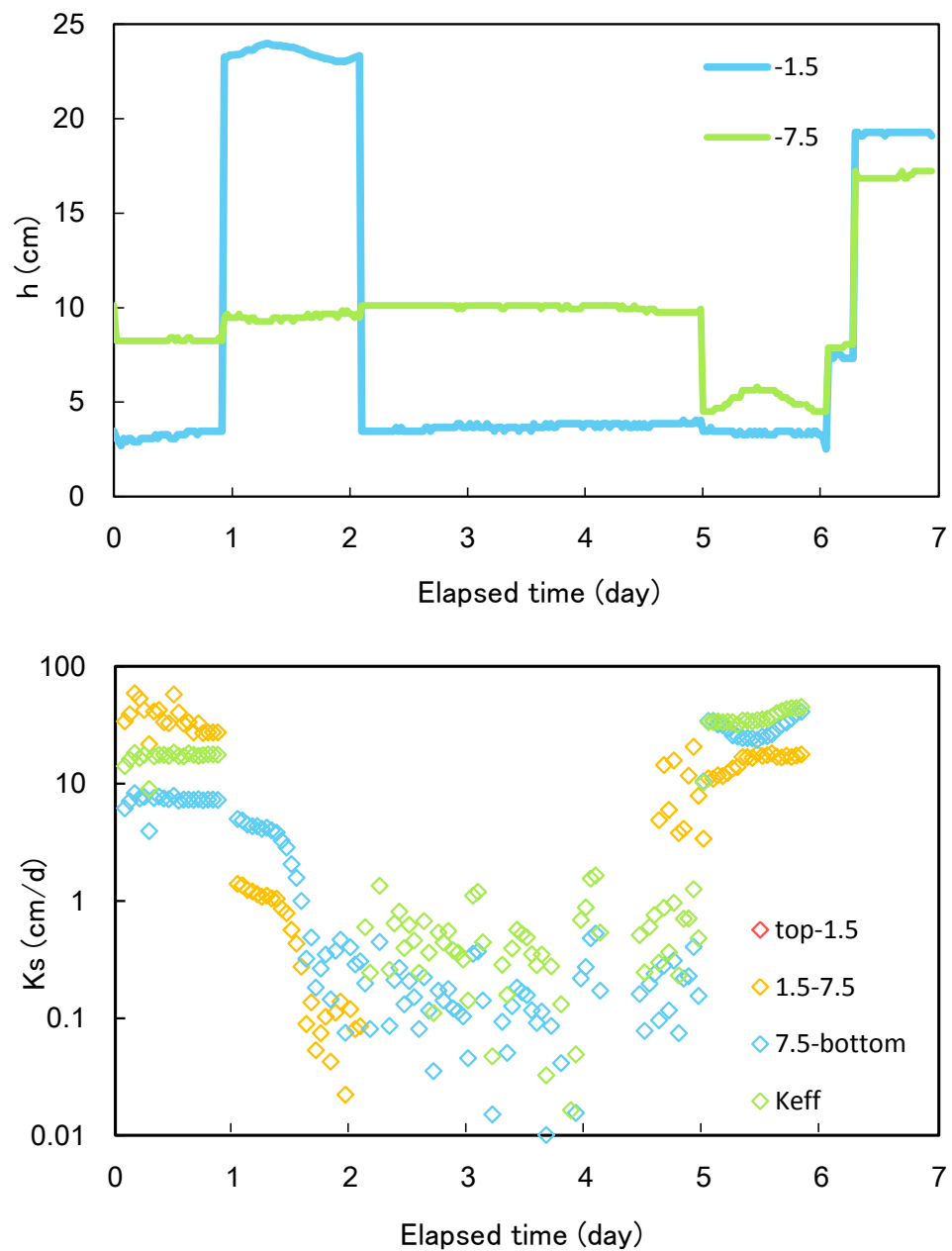


図 39 浸透開始(0d)後の各深さの土中水圧 h と透水係数の経時変化
5 日に $h_{7.5}$ が低下したのは、浸透フラックスを調節するためドリップポイントを下げたことによる。

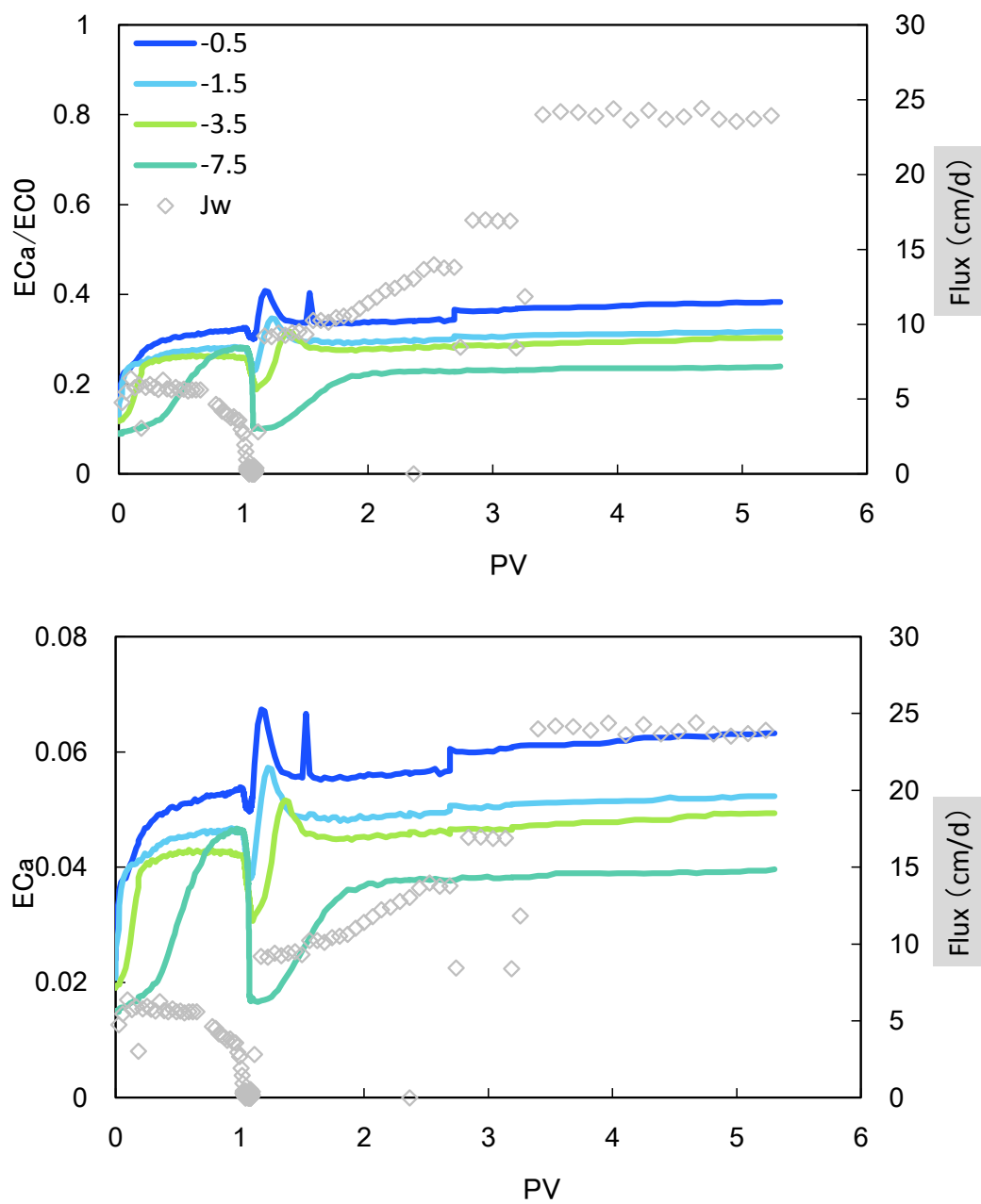


図 40 ECa/EC_0 (実線) と浸透フラックス (\diamond) の経時変化

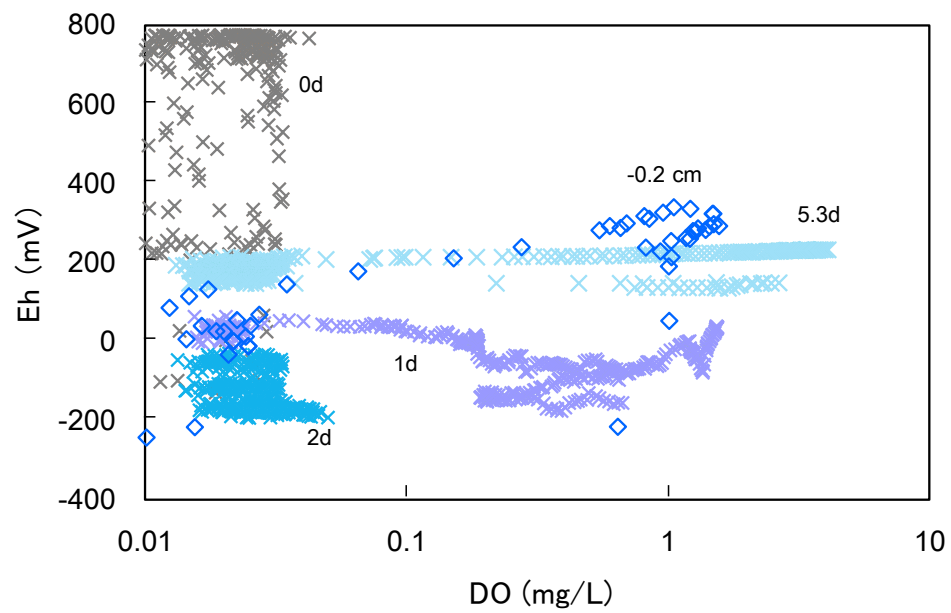


図 41 Eh-DO 関係

それぞれ 0.2 cm 深の Eh と DO の経時変化や、任意の時間に測定したプロファイルの結果を示している。

(3/3)

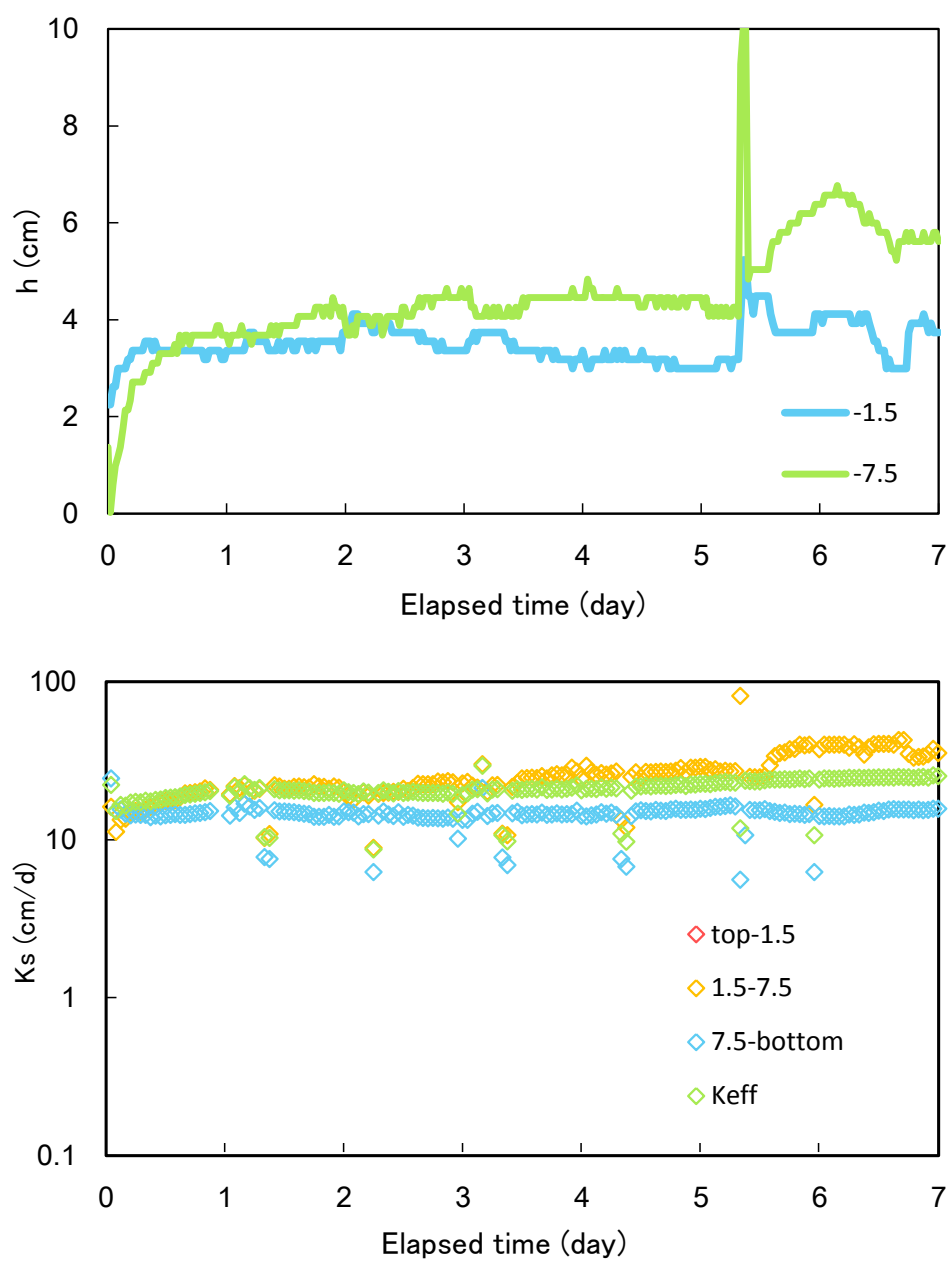


図 42 浸透開始(0d)後の各深さの土中水圧 h と透水係数の経時変化

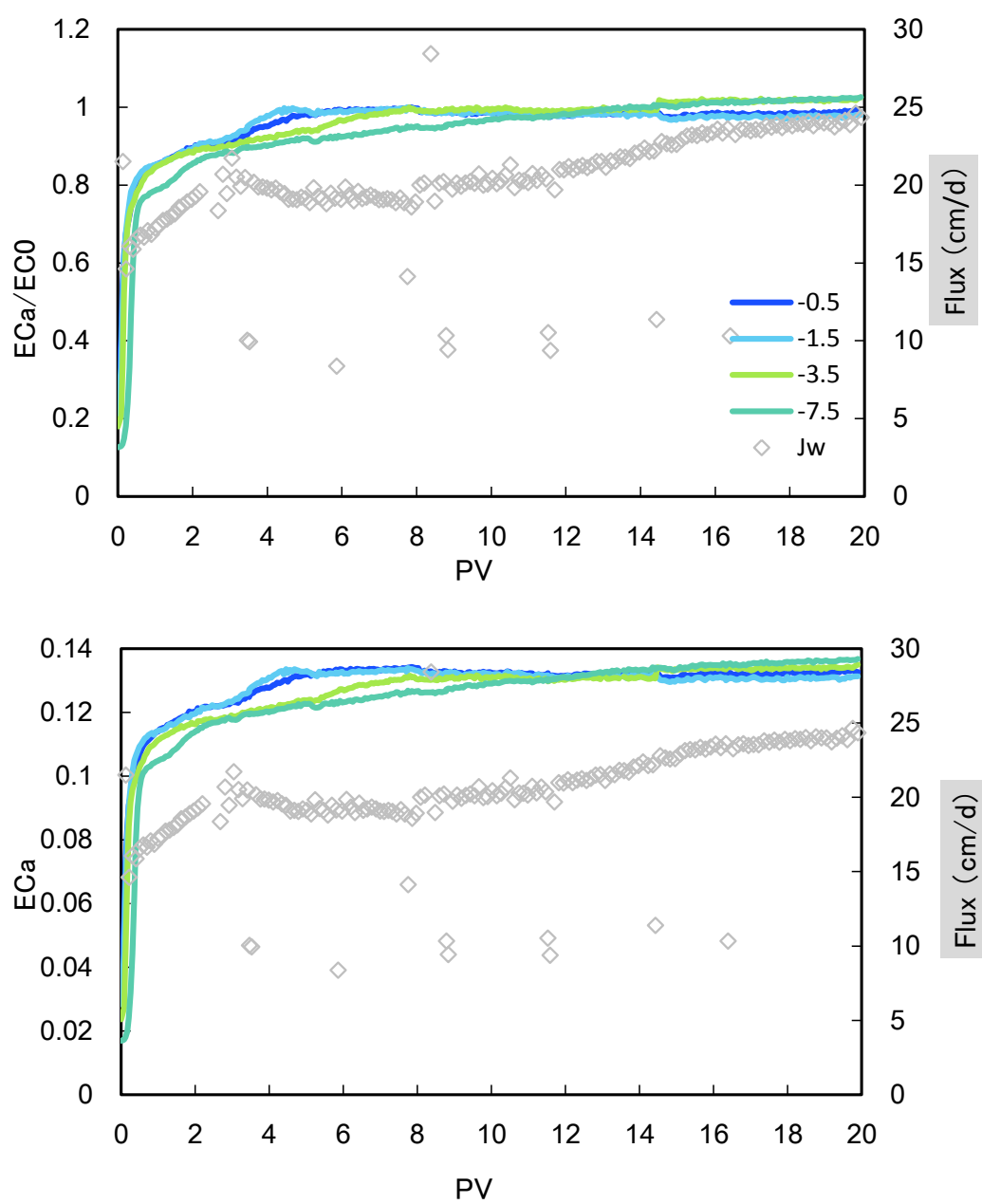


図 43 ECa/EC_0 (実線)と浸透フラックス(\diamond)の経時変化

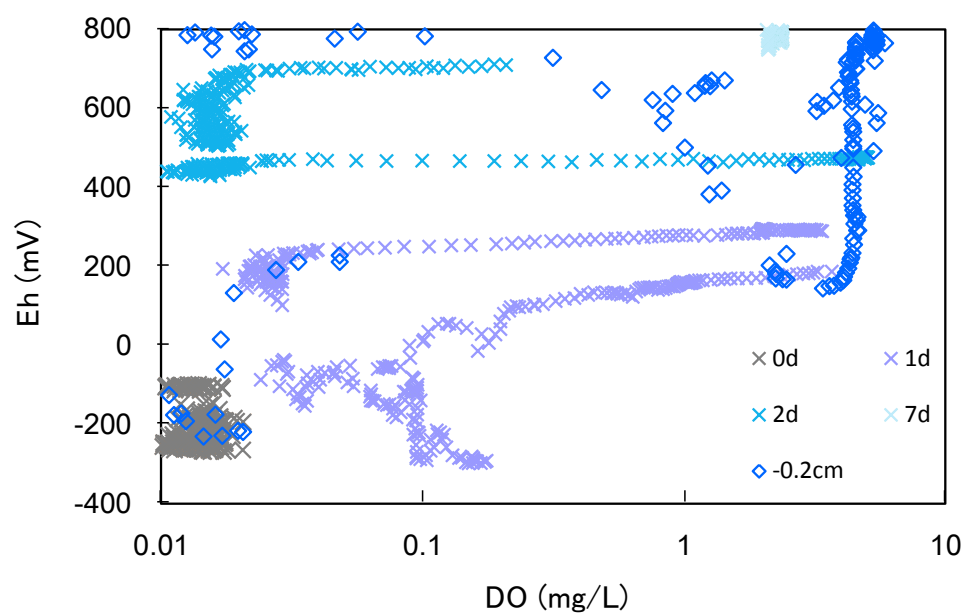


図 44 Eh-DO 関係

それぞれ 0.2 cm 深の Eh と DO の経時変化や、任意の時間に測定したプロファイルの結果を示している。

<7 章の実験結果>

(8/4)

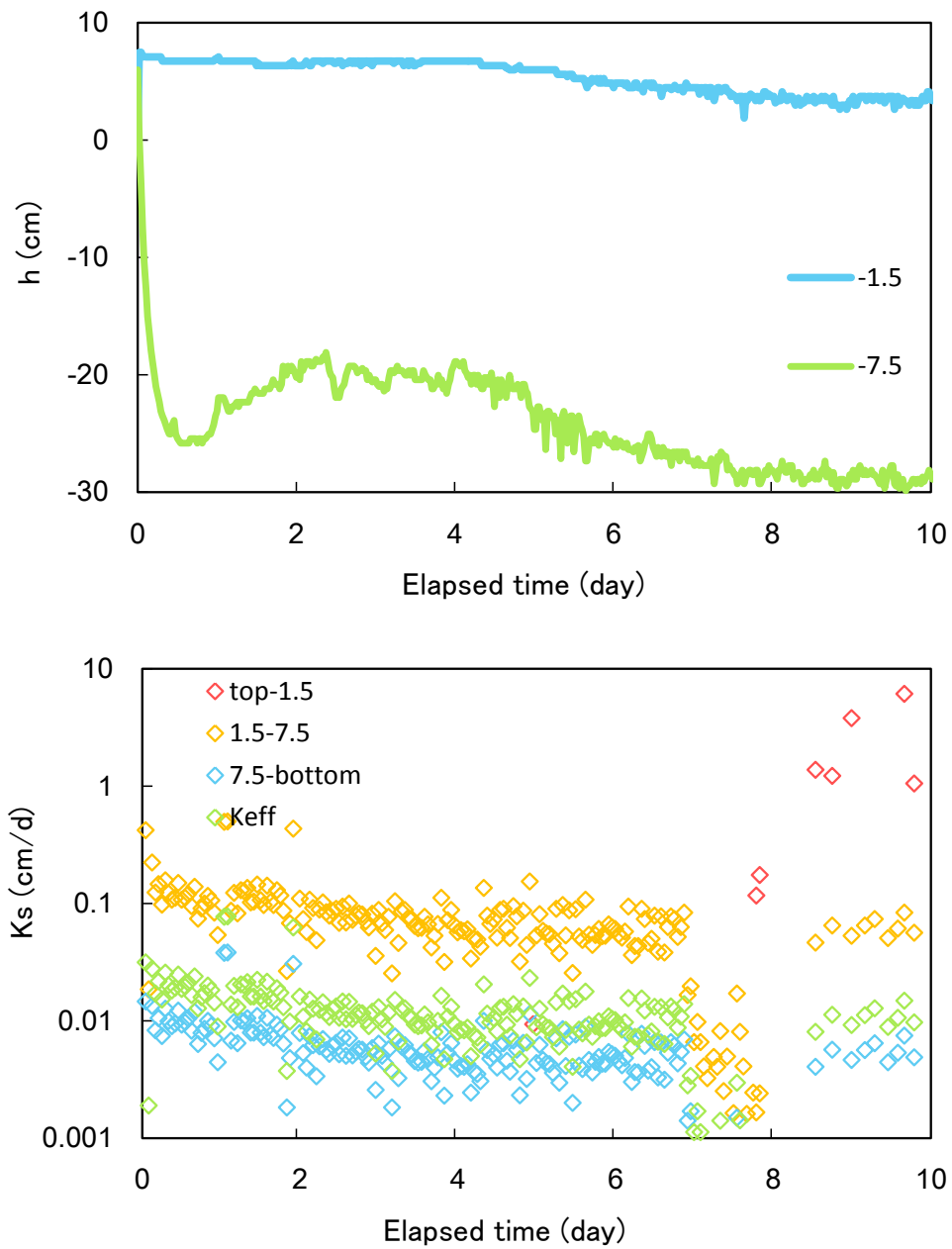


図 45 浸透開始(0d)後の各深さの土中水圧 h と透水係数の経時変化

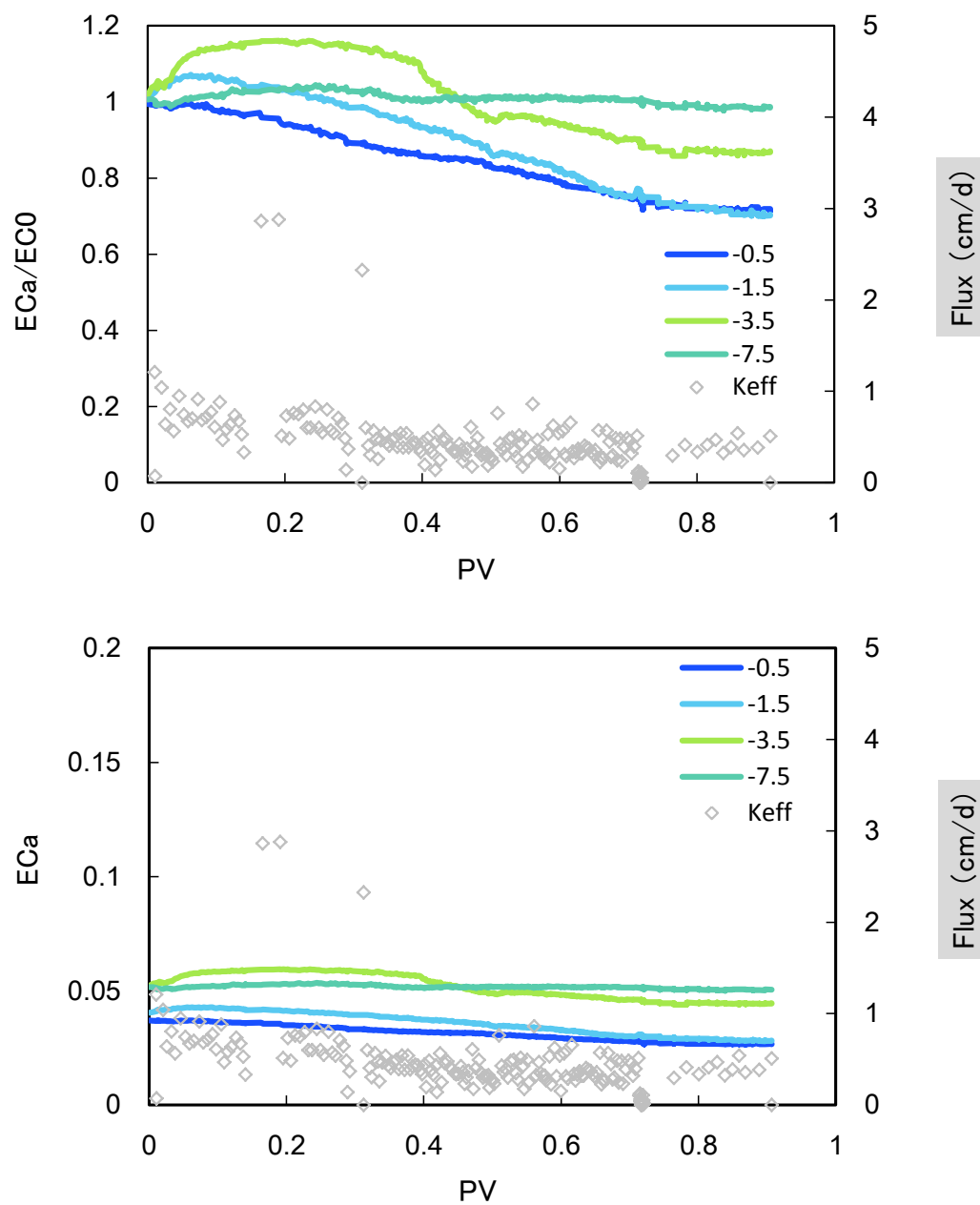


図 46 ECa/EC_0 (実線)と浸透フラックス(\diamond)の経時変化

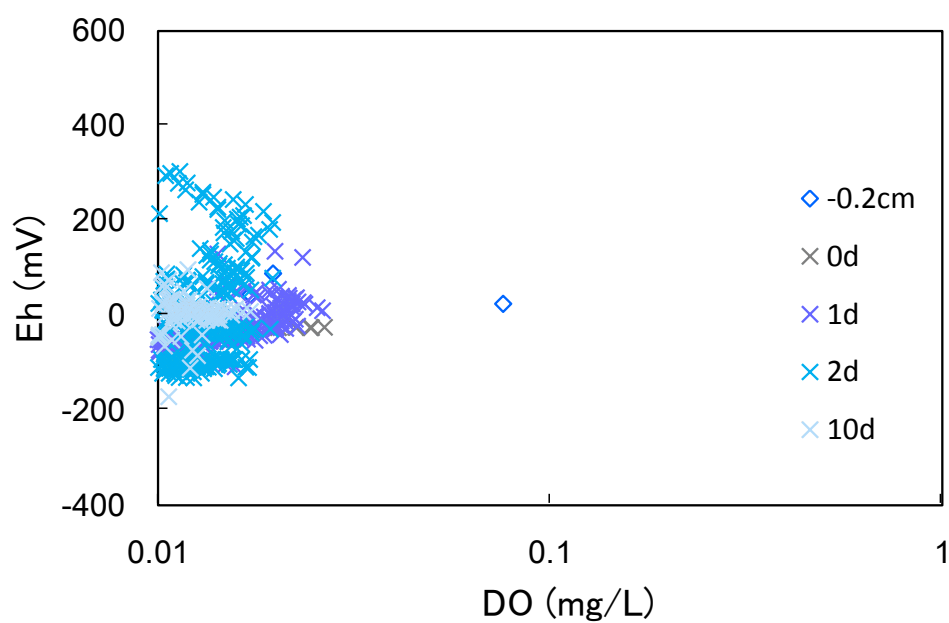


図 47 Eh-DO 関係

それぞれ 0.2 cm 深の Eh と DO の経時変化や、任意の時間に測定したプロファイルの結果を示している

(9/1)

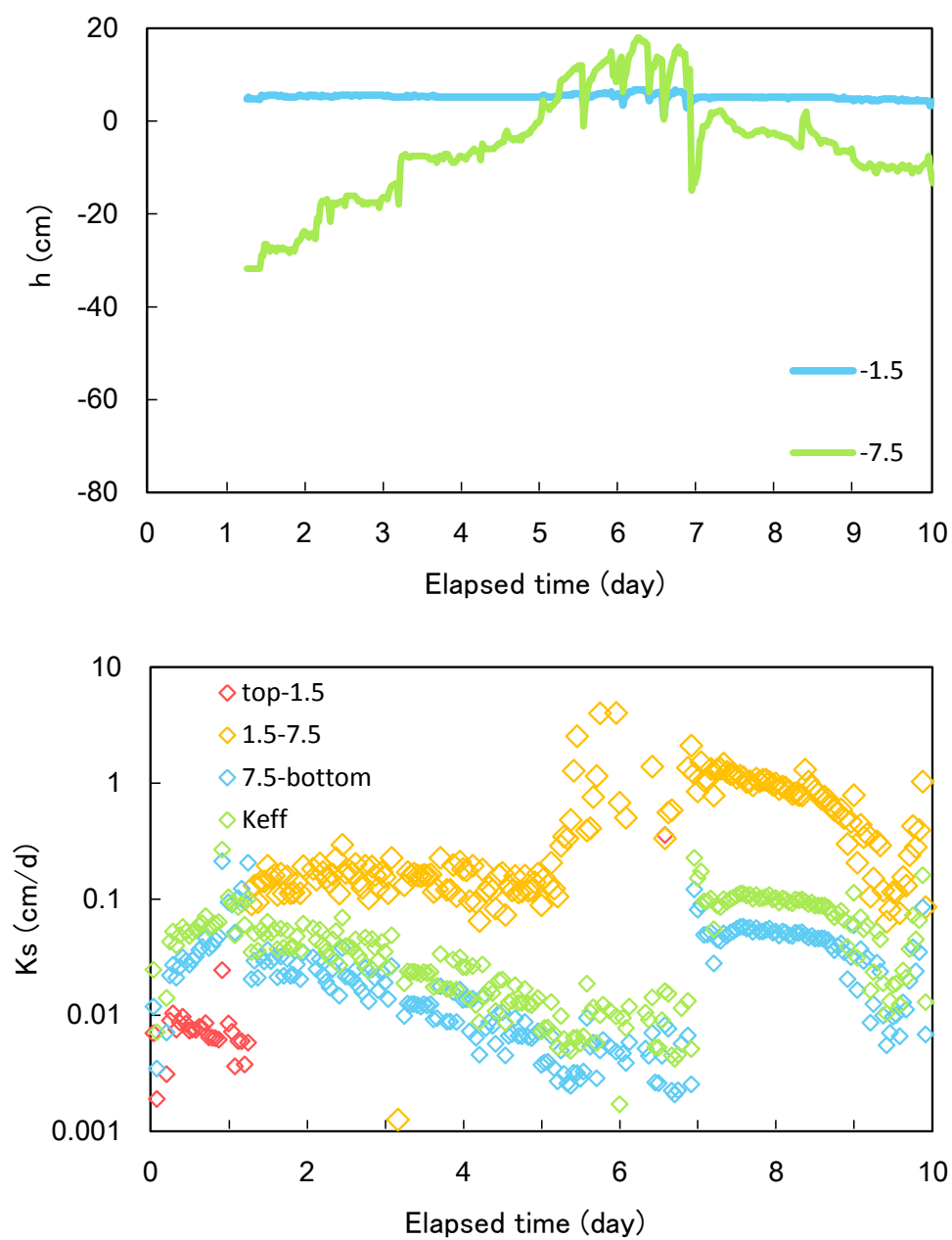


図 48 浸透開始(0d)後の各深さの土中水圧力 h と透水係数の経時変化

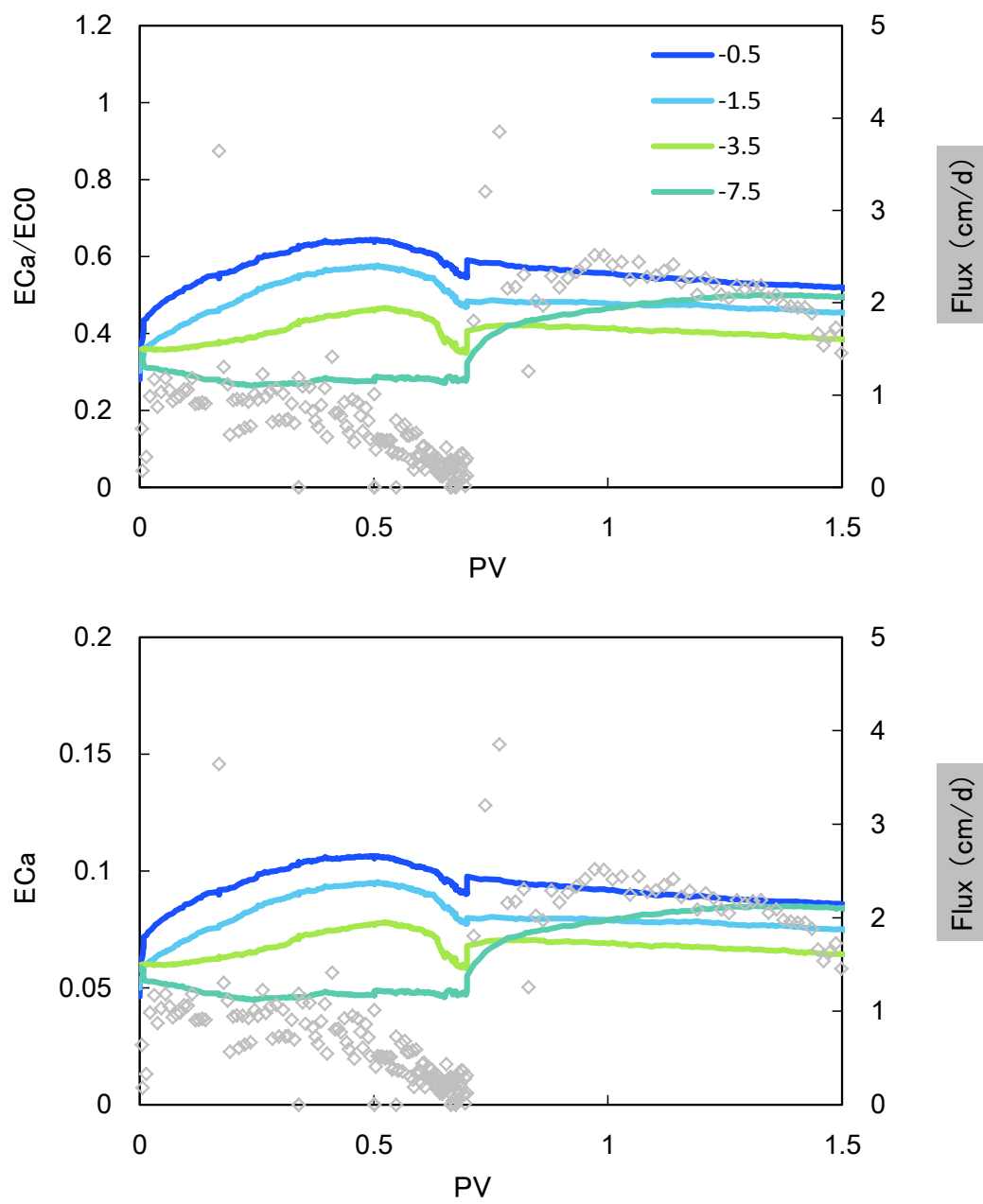


図 49 ECa/EC_0 (実線)と浸透フラックス(\diamond)の経時変化

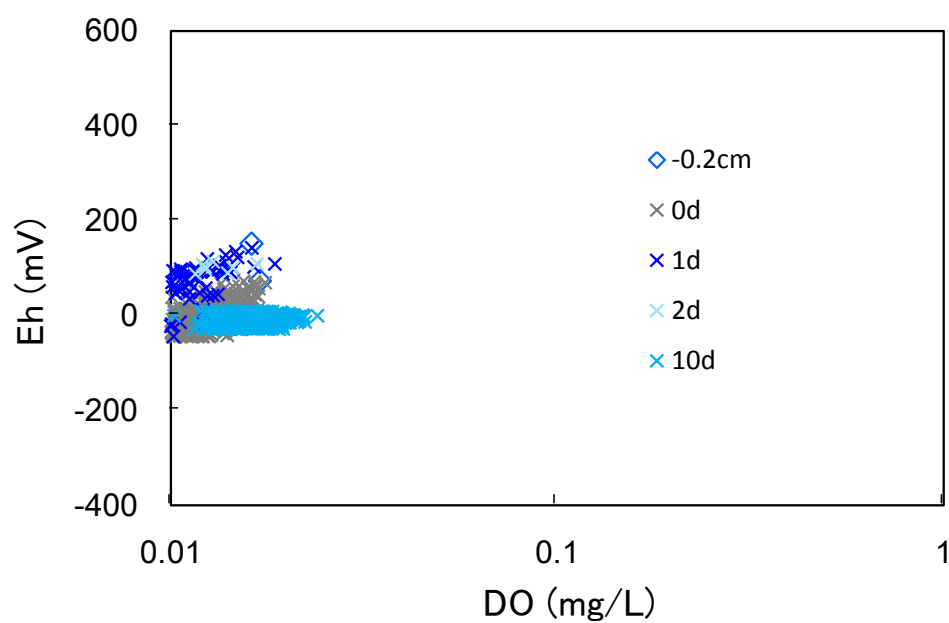


図 50 Eh-DO 関係

それぞれ 0.2 cm 深の Eh と DO の経時変化や、任意の時間に測定したプロファイルの結果を示している。

(9/29)

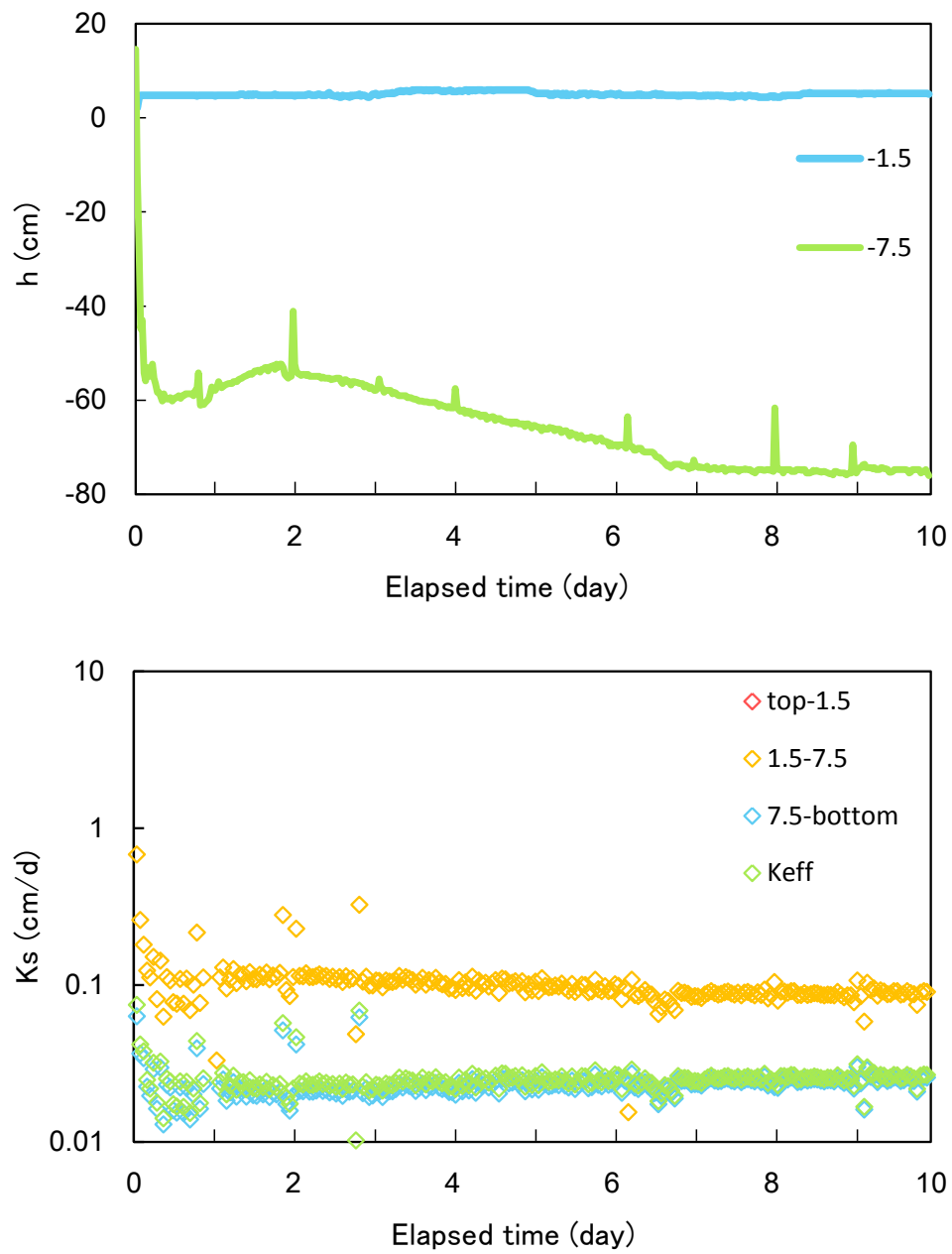


図 51 浸透開始(0d)後の各深さの土中水圧 h と透水係数の経時変化

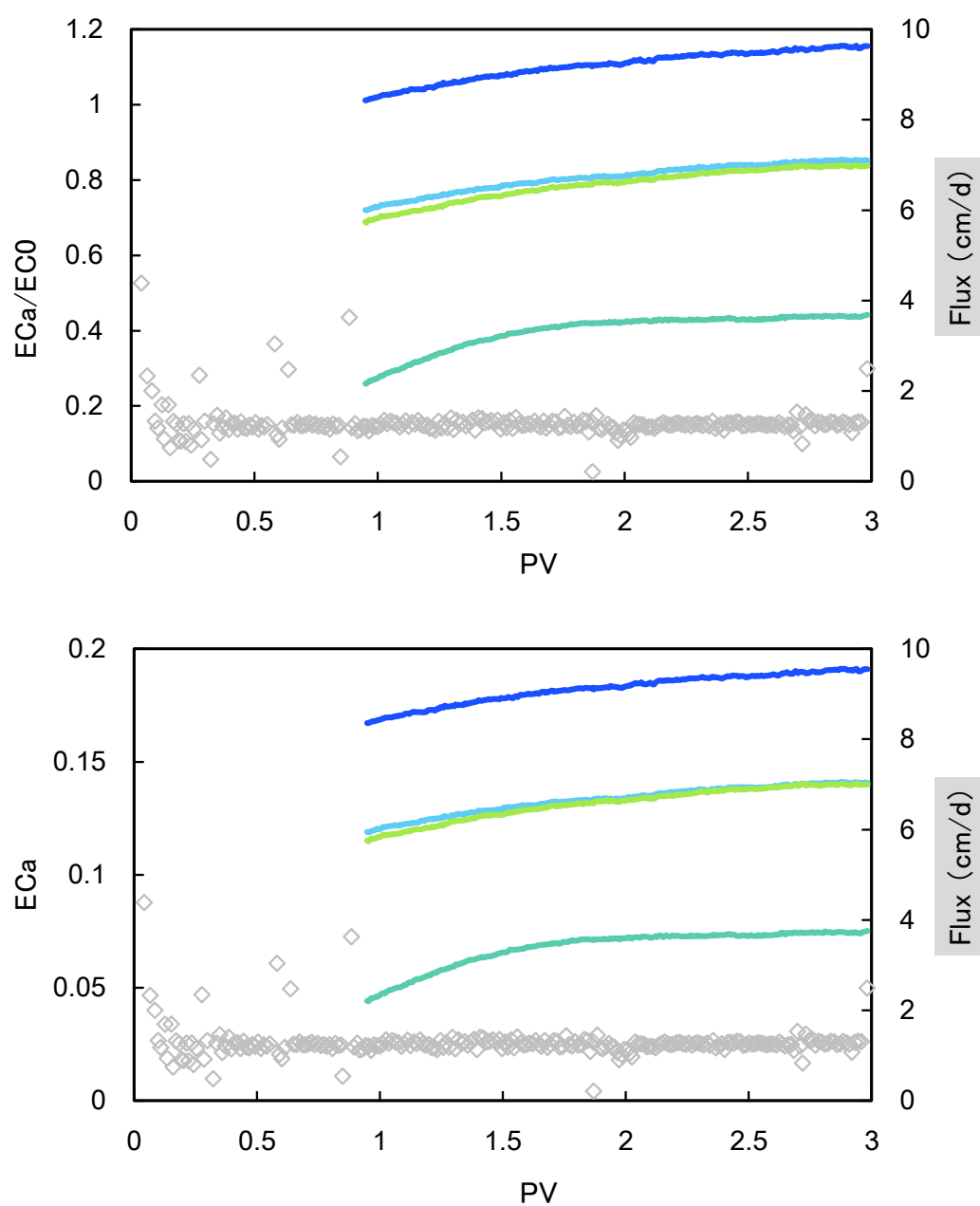


図 52 ECa/EC_0 (実線)と浸透フラックス(\diamond)の経時変化
0～1 日のデータ欠損はセンサの不慮による。

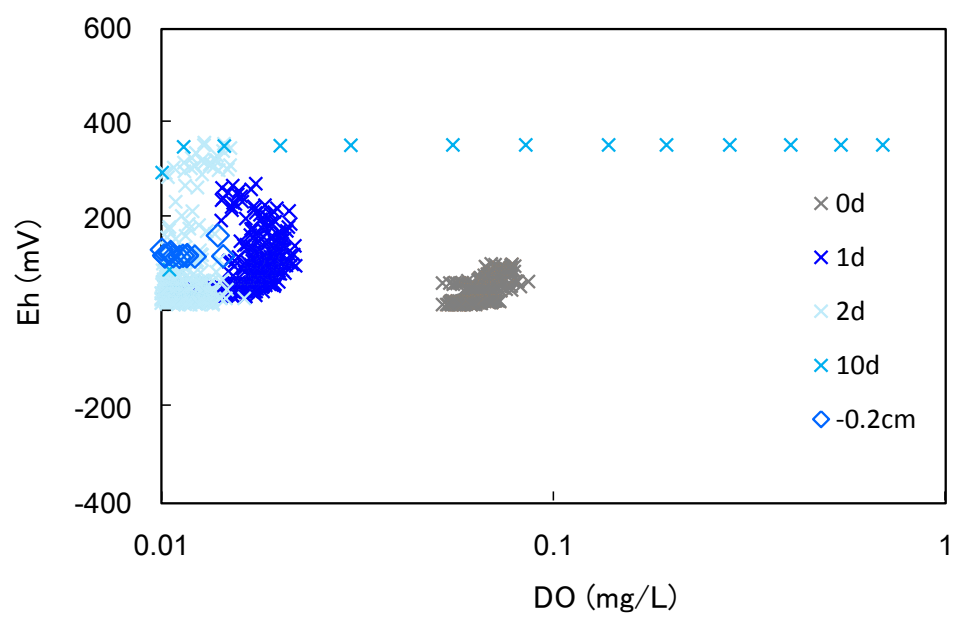


図 53 Eh-DO 関係

それぞれ 0.2 cm 深の Eh と DO の経時変化や、任意の時間に測定したプロファイルの結果を示している。

(11/18)

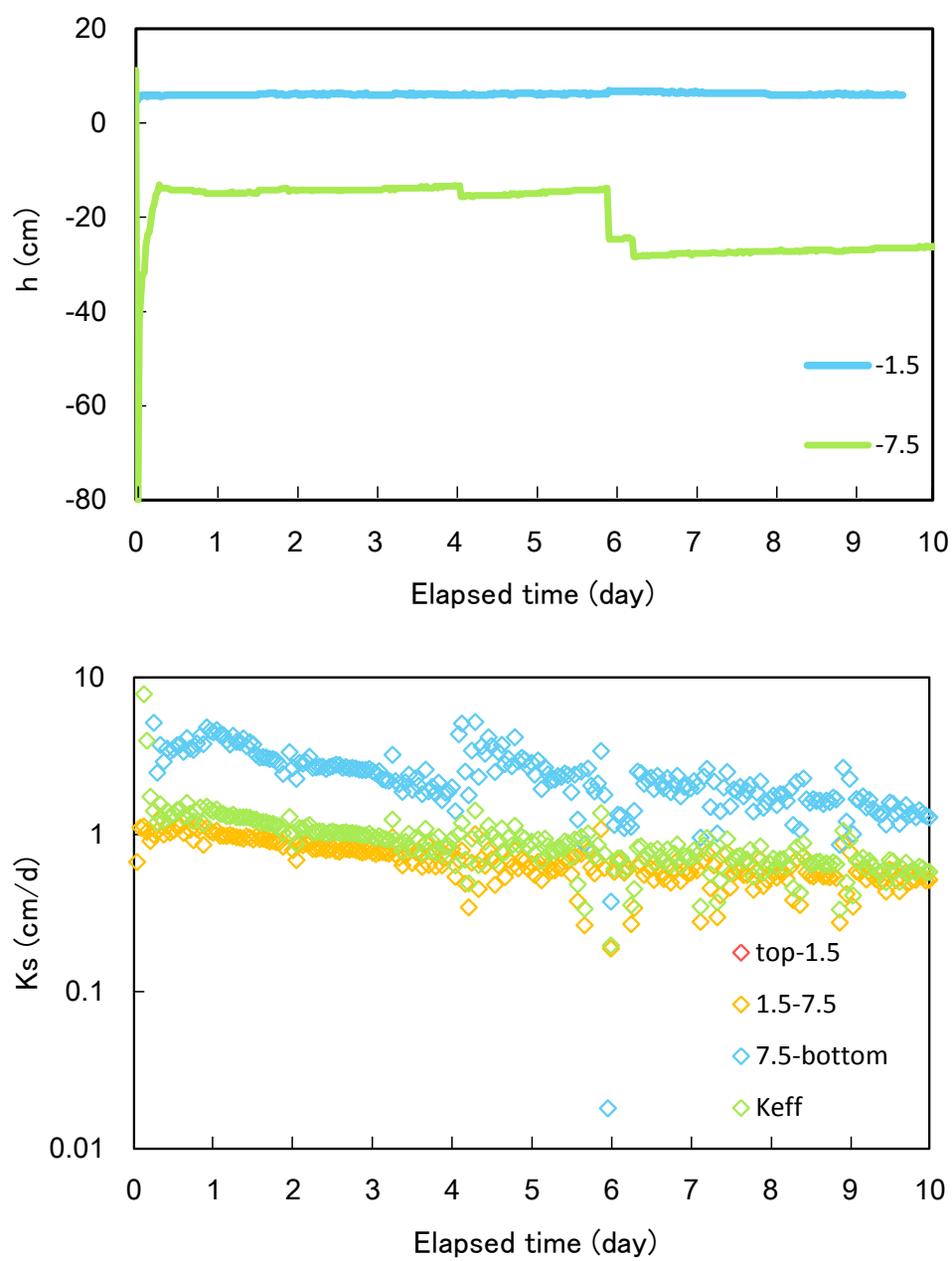


図 54 浸透開始(0d)後の各深さの土中水圧力 h と透水係数の経時変化

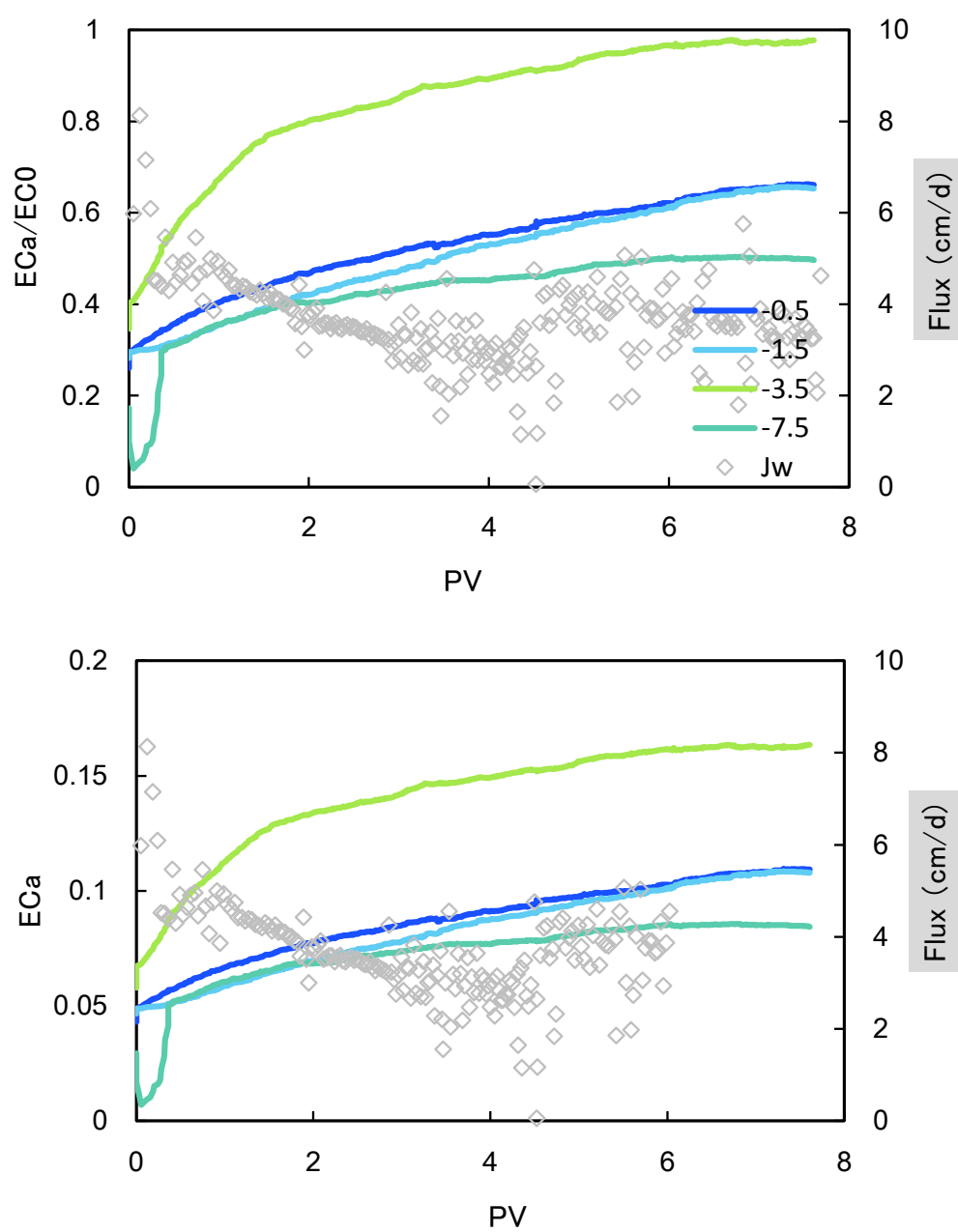


図 55 ECa/EC_0 (実線)と浸透フラックス(\diamond)の経時変化

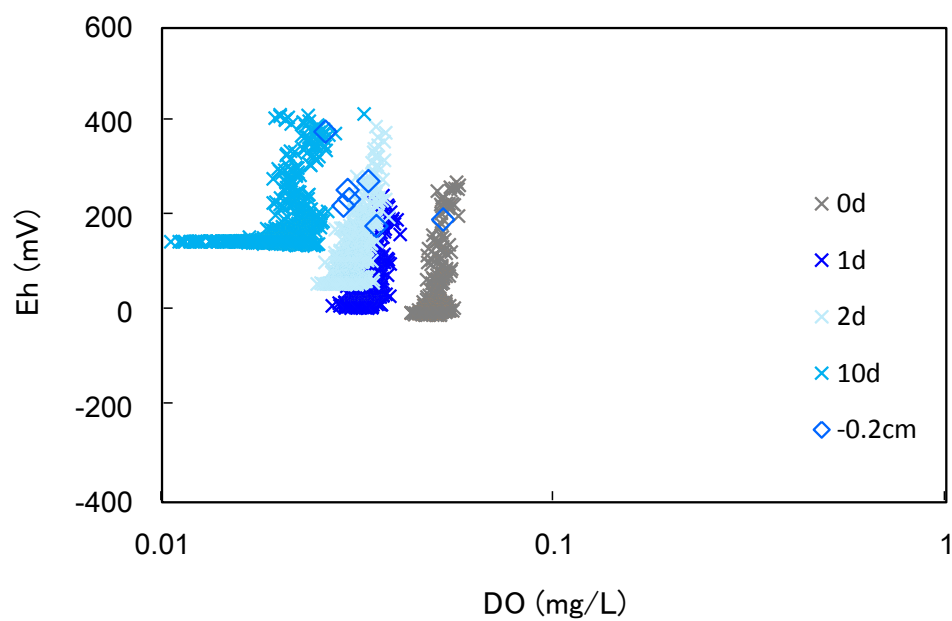


図 56 Eh-DO 関係

それぞれ 0.2 cm 深の Eh と DO の経時変化や、任意の時間に測定したプロファイルの結果を示している。

CR1000 のプログラム

'CR1000 Series Datalogger

'CR1000 program to measure four-needle EC sensor and A&D scale

'date:2011/7/25

'program author:Masaru Sakai

'modified by moe

'Wiring of CR1000 and AM416

' CR1000 -- AM16/32 (2x32)

' C1 ----- RES

' C2 ----- CLK

' 12V ----- 12V

' G ----- GND

' 1H ----- COM H2

' 1L ----- COM L2

' VX1(EX1)---- COM H1

' 2H ----- COM L1

' |

' R (resistance)

' |

' 2L ---|

' AG ---|

'Wiring of CR1000 and A&D scale

'CR1000 -- A&D

'C7(Tx) ----- #2(RXD)

'C8(Rx) ----- #3(TXD)

'G ----- #7(SG)

'PipelineMode

'Declare Public Variables

Public Press(2)

'4-needle EC sensors:

```

Public PTemp, batt_volt
Public V1_V2(5),g(5) 'Output of four-needle EC sensors
Public RefTemp 'Reference temperature
Public i

```

```

'scale commands
Public Weightstring As String * 50, Wgram As String * 20
Public Weight
Public StringtoSend As String * 20
Const CRLF=CHR(13) + CHR(10)

```

```

'Subroutine for scale measurement
Sub ScaleMass
    StringtoSend = "Q"+CRLF
    SerialOut (Com4,StringtoSend,"",0,100)
    SerialIn (Weightstring,Com4,100,13,100)
    Wgram=Mid (Weightstring,5,11) 'A&D scale
    Weight=Wgram
EndSub

```

```

'Define Data Tables
DataTable (Test,1,-1)
    DataInterval (0,30,Min,10)
    Sample (1,PTemp,IEEE4)
    Minimum (1,batt_volt,IEEE4,0,False)
    Sample (1,Weight,IEEE4)
    Sample (2,Press(),IEEE4,)
    Sample (1,RefTemp,IEEE4,)
    Sample (5,g(),IEEE4,)
EndTable

```

```

'Main Program
BeginProg

```

```

SerialOpen (Com4,9600,10,100,10000)
Scan (10,Sec,0,0)
    PanelTemp (PTemp,_60Hz)
        Battery (batt_volt)
'Measurement of A&D Scale
    Call ScaleMass

'Measurement of pressure transducer
    VoltSe (Press(1),1,mV5000,6,1,0,_60Hz,-0.2759,276.65)
    VoltSe (Press(2),1,mV5000,7,1,0,_60Hz,-0.2846,275.15)

'Measurements of four-needle EC sensor by AM416
'
    TCDiff (RefTemp,1,AutoRange,8,TypeT,PTemp,True ,0,_60Hz,1.0,0)
    TCSe (RefTemp,1,mV2_5,15,TypeT,PTemp,1,0,_60Hz,1.0,0)
    PortSet (1,1)
    For i=1 To 5
        PulsePort (2,30000)
        BrHalf4W (V1_V2(i),1,mV2500,mV2500,1,Vx1,1,2500,True ,True ,0,_60Hz,1,0)
        Delay (0,1000,mSec)
        g(i)=V1_V2(i)/(1+0.0199*(RefTemp-25))
    Next i
    PortSet (1,0)

'Call Output Tables
    CallTable Test
    NextScan

EndProg

```