

## 北海道の新ブランド“健康土壤”に関する研究

室蘭工業大学工学部応用化学科 助手 大平 勇一  
室蘭工業大学工学部応用化学科 教授 小幡 英二  
室蘭工業大学工学部応用化学科 教授 吉田 豊  
大北土建工業株式会社 営業部 部長 古川 克彦

# 北海道発の新ブランド“健康土壤”に関する研究

室蘭工業大学工学部応用化学科 助手 大平勇一  
室蘭工業大学工学部応用化学科 教授 小幡英二  
室蘭工業大学工学部応用化学科 教授 吉田 豊  
大北土建工業株式会社 営業部 部長 古川克彦

## I 緒言

北海道は日本の食糧基地としての役割を果たしており、農地としての土地利用が多い。北海道は冷涼な気候のため益虫の発生が少なく、少ない農薬使用量で野菜類を栽培できるメリットがある。「北海道の野菜」といえば今でも本州では「安全でおいしい野菜」の代名詞であり、信頼性が高い。だが、近年では食に関する関心の高まりとともに、日本全国において、「減農薬」栽培や「有機」栽培を行うことによって付加価値を高めた農作物が出荷されている。それらの栽培方法は広く認知された「ブランド」として定着しており、従来の生産法による商品よりも競争力を持っている。北海道においても、「減農薬栽培」や「有機栽培」が行われており、未だ競争力は健在であるがさらなる余力が残っているうちに次の一手を打っておく必要がある。競争力を持たせるには様々な方法があると考えられるが、既存のブランドと同等の意味を持つ新たなブランドの構築について検討する。

本研究では、実際に農家に協力していただき、農家が本当に要求している土壤情報について情報収集し、構築しつつある“土壤の健康度”の診断システムをよりニーズのある形に発展させること、実際に協力農家の農地の診断を行い、診断に必要な経費等の試算を行うことを目的とする。

## II 土壤健康度の診断システム概要

土壤診断と言えば、農地においては秋または春に採取した土壤中に残留している栄養成分量の測定を指す。この結果をもとにして次の栽培に必要な施肥量を決定する。一方で、既に大手ゼネコンを中心に土壤診断を行う会社を設立しており、ドミ環境株式会社（五洋建設系）では一般家庭をも視野に入れた土壤の簡易診断サービスを展開している。しかし、これらのサービスは毒性物質の有無を調べるものであり、仮に有害な物質が検出された場合は客土工事などを行うことになる。既存の土壤診断は人間で例えるならば、「日々の食生活の状況（=栄養成分）」と「体内に存在する有害物質の有無（=毒性物質）」を診断するものである（職業で言えば前者は「栄養相談を行う栄養士」、後者は「鑑識係」に相当する）。人間の場合は食生活と体内の有害物質を調べることで健康状態がおよそ推定できる。しかし、土壤については推定する方法が確立されていない。我々は、これまでに蓄積した分析技術を活用して土壤の健康状態を診断するシステムを構築しつつある。この診断システムは、土壤中に存在する成分がどのような速度で分解（流出）するのかを調べることで土壤の持つ解毒能力や自然浄化能力、いわゆる“土壤の健康度”を評価するものであり、人間の場合では病院等で行う「健康診断」に相当する。生物には自然治癒力があり、多少の

汚染があってもそれを解毒する能力がある。土壤は微生物の生息拠点であるととらえれば、土壤に生息している微生物による解毒作用が期待される。この解毒作用が十分に機能していれば健康な土壤であると言えよう。一方、解毒作用がない、もしくはほとんど機能していない土壤の場合、健康を害している状態になっていると判断できる。人間が健康を害する場合に言い換えれば、有害物質を体内に取り込んだ場合、疲労困憊の場合、偏った食事を摂った場合、などに相当する。

以下、実際に診断を行う手順を概説する。まずは土壤のサンプリングポイントを定め、土壤サンプルを採取する。このサンプルを用いて、栄養成分や有害物質の濃度を測定する。一定期間後、同じポイントから土壤を再度採取して栄養成分等の濃度を測定する。栄養成分濃度が増加していた場合は肥料等の散布によるものと考えられる（マメ科の場合は根粒菌による窒素固定もあるので栽培作物には注意を要する）が、濃度が減少していた場合は栽培作物による吸収、土壤微生物による分解、降水等による流出と考えられる。作物による吸収量を定量的に把握するには、単位面積あたりの栽培作物数、栽培作物1つあたりの栄養成分含有量、栽培面積の3つを調べることによって次式で計算できる。

$$\begin{aligned} \text{(栽培作物による吸収量)} &= (\text{単位面積あたりの栽培作物数}) \times (\text{栄養成分含有量}) \\ &\quad \times (\text{栽培面積}) \end{aligned}$$

栽培作物数は、1畝で栽培している作物数を数えるか、1畝の長さを栽培作物の植え付け間隔で割ることによって求めることができる。これを畝間隔と畝長さから求めた面積で割れば単位面積あたりの栽培作物数が算出できる。栄養成分量は土壤診断により求める。栽培面積は圃場面積を使用する。

降水等による流出量を定量的に把握するには、次式を使用する。

$$\text{(流出量)} = (\text{透水速度}) \times (\text{透水面積}) \times (\text{栄養成分の濃度変化})$$

まず透水速度に大きく影響を及ぼす降水量を把握する必要がある。この情報は実測可能ではあるが、公共交通機関やスキー場、道路管理、気象関係の事務所で把握している数値であるため提供してもらう。次に土壤へ浸透する水の速度を求める。水の浸透速度を求めるには、従来法の透水試験を適用することも可能であるが、降水の有無や耕運によって変化するため定まった特性値として使用するのは難しい。そこで、砂濾過や活性炭充填層による脱臭などで使用されるコゼニー・カルマンの式を使用する。この式は、水の粘度、粒子径、空隙率から透水速度を計算できる。水の粘度は常温で  $1 \text{ mPa} \cdot \text{s}$  程度であり、ほぼ一定値とみなすことができる。空隙率は一定体積の土壤を乾燥させた後、適量の水を入れたメスシリンダーに乾燥土壤を入れることによって増加する体積を測定することによって計算することができる。しかし、粒子径は実際に採取した土壤を分級して調べる必要がある。また、水による移動であるため、栄養成分量は深さ方向に分布があると予想される。本システムでは、0 cmから 45 cmまでを 15 cm間隔で 3 層（地表に近い順に A 層、B 層、C 層とする）に分けて採取・診断する。

土壤微生物による分解は、次式による計算が考えられる。

$$\text{(土壤微生物による分解量)} = (\text{土壤微生物の増殖量}) \times (\text{増殖収率})$$

この式における増殖収率とは、土壤微生物が増殖する際に代謝する栄養成分量である。これまで、下水処理に使用されている活性汚泥や醸造に用いる酵母などの化学的組成が調べられており、それを代用することが可能である。しかし、土壤微生物の増殖量を正しく評

価することが難しい。それは、良質な土壌（本システムでいう健康な土壌）ほど微生物が多種多様であり、土壌に生息している微生物の中で生息数が最も多い主導勢力の微生物を代表例としても、微生物同士が複雑な相互関係にある土壌の特性を示す指標には適していないように思われる。そこで、次の物質収支式から推算する方法を提案する。

$$\begin{aligned} \text{(土壌微生物による分解量)} &= (\text{土壌に存在する初期栄養成分量}) \\ &\quad - (\text{降水等による流出量}) - (\text{作物による吸収量}) \end{aligned}$$

右辺第2項、第3項は前述したように計算可能である。右辺第1項の施肥量は農家のノウハウと言うべきものであり、一般の企業で言えば最高機密事項に相当する。また、ボカシ肥などを使用している場合、詳細な栄養成分量を把握することは難しい。そのため詳しい数値を知ることは事実上不可能に近い。概ねの数値であれば、すでに各都道府県で推奨されている施肥基準値から春季の残留栄養成分量を差し引くことで推算可能である。この土壌微生物による分解量が多ければ、不意の汚染があったとしても直ちに汚染を浄化できることを意味する。すなわち、“健康な土壌”であると言える。

上述の内容は栄養成分についての概説であるが、残留農薬に対して適用すれば農薬に対する土壌の健康度を測ることができる。

## II ニーズ調査と研究圃場数

ニーズがあるシステムであれば呼びかけに呼応してくれる農家が多くなると予想される。研究の趣旨を農家に説明し、協力を要請したところ7軒の農家に協力してもらえることとなり、本システムに対するニーズ・興味が確認できた。これ以上増えると現行の体勢では対応しきれず、研究推進に支障を来す可能性があつたため、これ以上の募集は行わなかつた。農家との会談を行つた結果、力を注ぎたい圃場、もしくは土壌の状態が気になっている圃場を選定し、2圃場を研究圃場として提供してくれることとなつた。以降、計14圃場で研究を進めることとなつた。サンプリングは1圃場あたり5箇所、3深度の計15サンプルであり、14圃場の合計では210サンプルとなる。研究圃場における2004年度栽培予定作物はニンジン、たまねぎ、水稻などである。また、この時点での農家から、

- ・施肥計画の参考になるデータにして欲しい。
- ・従来の土壌診断値と融合させることができれば使い勝手が良いので工夫して欲しい。

などの要望が出された。そこで、まずはシステムに対する農家の理解を深めることを目的として無機栄養塩に的を絞ったシステム運用を試みることとした。

## III 診断方法の簡略化とその科学的根拠

土壌中の有毒物質測定は未だ1サンプル数万円から数十万円と高価であるが、農地の土壌診断は農協や肥料会社が無料もしくは数千円以内と格安で行っている。しかし、土壌採取は各農家に任せており、「1圃場から複数の土壌を採取して、良く混ぜて、良く乾燥させ、良く碎いたもの」を提出するように依頼している。これは土壌分析の結果を乾燥土壌100gあたりのmg数で表すためであるとともに、診断機関における乾燥工程、粉碎工程、分級工程を省略するためである。採取した土壌を乾燥させると熱による栄養成分の分解が

起こる可能性がある。聞き取り調査を行ったところ、「圃場の対角線を等間隔に4つに分け、線上にある中心点と他2点から土壌を採取している」、「気になっている箇所の土壌のみ」と個人差があった。また、乾燥方法についても「土壌診断に提出する土壌はビニールハウス内に新聞紙を敷き、その上に薄くならして数日間乾燥させ、塊状の土は手で砕いている」、「そのまま出している」など、必ずしも統一されていなかった。土壌を乾燥させている農家の場合についても、「乾燥させたつもりではいるが、本当はどうなのかわからない。」との意見をいただいた。そこで、相談された乾燥方法で土壌が本当に乾燥しているのかを確認するため、前述と同様の方法で土壌診断に提出するものと同じ乾燥土壌を農家協力のもとで作製し、乾燥土壌のサンプルを得た。これを100℃の乾燥器内で乾燥させたところ、土壌質量が約10%減少した。これは、乾燥サンプルと思っていたサンプルには水分が含まれていることを示している。この乾燥土壌をそのままサンプルとして用いた場合、診断値は約10%小さい値となっていることを示している。すなわち、本当の栄養塩含有量は診断値の1.1倍程度含まれており、その分施肥量を減らすことができる可能性が示された。次に乾燥処理による栄養成分の含有量変化について検討を行った。ビニールハウス内の温度であれば苦土や石灰は分解する心配が無い温度であるが、薄くならされた土壌からは水分の飛散とともにアンモニア態窒素などの揮発性栄養成分も同時に飛散してしまう。これによって診断値は本来の栄養性分量よりも少ない値となってしまう可能性が高い。診断値にあわせて施肥すると、アンモニア態窒素をはじめとする揮発性成分については過剰施肥となってしまう場合もある。また、雨等によって農地から流出する水に含まれる窒素分（硝化細菌の作用によって硝酸態窒素になっている場合が多い）が増加し、河川や地下水の汚染につながる可能性もある。そのため、従来から用いられてきている土壌分析方法とは異なるが、本システムでは水分を含んだままの土壌を分析する。このときに問題となるのが水分量である。従来法では多くの成分について乾燥土壌と抽出液を質量比率1:5で混合し、液中に抽出された成分を所定の方法で分析することが定められている。また、抽出条件が栄養成分によって異なっている。そのため、現在の方法で多くの成分について診断を行う場合、多量の土壌資料が必要になること、多くの抽出操作を行う必要があることから時間がかかる。後述するように1圃場の診断に要する時間が長くなれば、限られた時間での診断可能サンプル数が減少する。そのため、本研究では蒸留水による一括抽出のみとし、後日公定法による分析結果との比較を行い、検定することとした。また、抽出時間についても検討を行った。一般的には往復動型振とう機で土壌懸濁液を1時間から24時間かけて振とうする場合が多い。同一サンプルについて、振とう条件を変化させて抽出液に含まれる硝酸態窒素濃度をRQフレックス（メルク製）で測定した。その結果、未振とうの場合を除き、振とう機を使用した場合は振とう時間に関係なく同じ濃度となった。現場で振とう機を使用することは非現実的であるため100mL容のフタ付きプラスチック製容器に土壌と水を所定量入れ、手で振った場合についても試験した。その結果、手振り10回と手振り50回で5%有意差はなく、また、振とう機に24時間かけた場合とも5%有意差なしと判定された。このことから、土壌からの溶離速度は速いことが解った。土壌が水分を含んだままだと質量比率1:5からずれる。そこで、どの程度ずれるのかを確認した。採取してきた土壌（乾燥基準）と水の質量比率を1:1から1:10まで変化させ、懸濁液を濾紙（東洋濾紙、No.1、公称孔径6μm）で濾過して清澄液を作つ

た。ここで、質量比 1 : 10 は含水率 8.0% の湿潤土壌に相当する。これは牛糞並の含水率であり、降水中の表土を採取した場合など特殊な状況のサンプルでない限りは現実にはあまり見受けない。代表的栄養成分として、この清澄液に含まれている硝酸態窒素を RQ フレックスで測定した。その結果、土壌と水の質量比率を 1 : 5 とした場合に比べても平均値の差は 5 % 程度であった。この結果に普遍性を持たせるため統計学的処理を施した（平均値検定を行った）ところ、質量比率 1 : 1 の場合の硝酸態窒素濃度の平均値と 1 : 10 の場合で 5 % 有意差なし、すなわち「同じ値である」との判定結果が得られた。このことから湿潤土壌 1 に対して水 5 の割合で混合しても特に問題ないことがわかった。ただし、得られる診断値は「湿潤土壌 100 gあたりの mg 数」となる。これを乾燥質量基準に換算するには、これは同サンプルの乾燥質量を別途測定することで計算できる。なお、RQ フレックスによる測定結果の正確性を確認するため、同一の清澄液をイオンクロマトグラフィー（島津製作所製、公定法に準じた測定法）で分析した。その結果、RQ フレックスによる測定値と同じであったことから、測定法による違いはないことが確認された。

続いて、土壌に吸着している栄養成分量と土壌粒子の粒径分布の関係について検討した。土壌は大小様々な粒子から構成されており、単一の粒で存在するものや複数の粒子が凝集して団粒として存在しているものもある。一般に、粒子径の異なる粒子を同質量用意した場合、粒子が小さいほど単位質量当たりの表面積は大きくなる。そこで、前述の乾燥土壌サンプル（含水率 10 % のもの）を篩によって分級した。用いた篩の篩目開きは 7.5 μm から 3.66 mm までとした。分級した土壌サンプルを用いて、粒径ごとに土壌と水を質量比率 1 : 5 で混合し、硝酸態窒素濃度を RQ フレックスで測定した。その結果、粒子径の小さいサンプルほど硝酸態窒素の含有量が多くなっていることがわかった。これより、診断用土壌試料の粒径が揃っていないと診断結果に影響を及ぼすことが分かった。篩を使用するなどして土壌粒径を揃えておくことにより、診断結果のバラツキをある程度抑えることができると思われる。

上述の現象は単位質量あたりの粒子表面積の違いで説明が可能である。興味深いことに、粒子径に対する依存性は両対数グラフで直線にはならず、図に示すように傾き 0 から傾き 1 へ徐々に変化する曲線になっていた。粒径に関係なく土壌粒子の表面に付着している硝酸イオンが溶解した（団粒化した土壌粒子内部からの溶出はない）と考えると、硝酸イオン濃度は比表面積に比例する。比表面積は粒径の -1 乗に比例することから、今回の実験結果を表面に付着した硝酸イオン量だけで説明することはできない。そこで、分級区間 3.35 – 2.36 mm の土壌粒子を乳鉢で丁寧にすりつぶし、0.500 mm の篩を通過させ、この試料の硝酸イオン濃度を測定した。未粉碎で得られた試料と乳鉢で粉碎して得られた試料の結果を比較するとほぼ一致した。このことから、今回使用した試料は土壌が団粒化していたことがわかった。一方で、団粒化した土壌がイオン交換水中で崩壊し、微細化されたとする。この場合、粒子の表面からだけではなく内部からも硝酸イオンが溶出してくることと同義になるため、表面積ではなく粒子の体積が支配因子となる。以上のことから、土壌粒子から溶出する硝酸イオンは、「粒子表面に付着しているもの」、「粒子内部に取り込まれているもの」の 2 種類があると考える。前者は表面積が支配因子となり、土壌粒径を  $D[m]$  、表面付着量を  $q_A[mg/m^2]$  すると、表面に付着している硝酸イオン量  $m_A$  は、次式で表すことができる。

$$m_A = q_A(\pi D^2) \quad (1)$$

同様に、土壤粒子の硝酸イオン含有量を  $q_B$  [mg/m<sup>3</sup>] すると、土壤粒子内部に存在する硝酸イオン量  $m_B$  は次式で表すことができる。

$$m_B = q_B(\pi D^3/6) \quad (2)$$

両者の和が土壤粒子の 1 個の持つ全硝酸イオン量であるため、単位体積あたりの硝酸イオン量  $X$ [mg] は、

$$X = \{(q_A \pi D^2) + (q_B \pi D^3/6)\}/(\pi D^3/6) = 6q_A/D + q_B \quad (3)$$

となる。抽出された硝酸イオン濃度  $C$ [mg/L] は、土壤粒子 1 個当たりの硝酸イオン量  $X$ [mg]、抽出効率  $\alpha$  [-]、抽出液体積  $V$ [L] より、

$$C = X \alpha / V \quad (4)$$

で表すことができる。Eq.(4)に Eq.(3) を代入すると、硝酸イオン濃度の粒径依存性は次式となる。

$$C = (\alpha / V) \{6q_A/D + q_B\} \quad (5)$$

ここで抽出液体積  $V$  は一定であり、抽出効率  $\alpha$ 、表面付着量  $q_A$ 、土壤粒子の硝酸イオン含有量  $q_B$  を一定とみなす。団粒化構造が強固で水中でも構造が崩壊せず、実質的に土壤が单一粒子として振る舞う場合は Eq.(5) の { } 内第 1 項が支配するため粒径の -1 乗に依存する。団粒化構造が崩壊することによって土壤粒子内部の硝酸イオンが抽出され、その量が表面付着量よりも多い場合は Eq.(5) の { } 内第 2 項が支配するため粒径依存性はなくなる(粒径の 0 乗)。よって、硝酸イオン濃度は粒径の -1 乗から 0 乗に比例する。今回の実験結果は -0.5 乗であり、導出した結果と合致する。

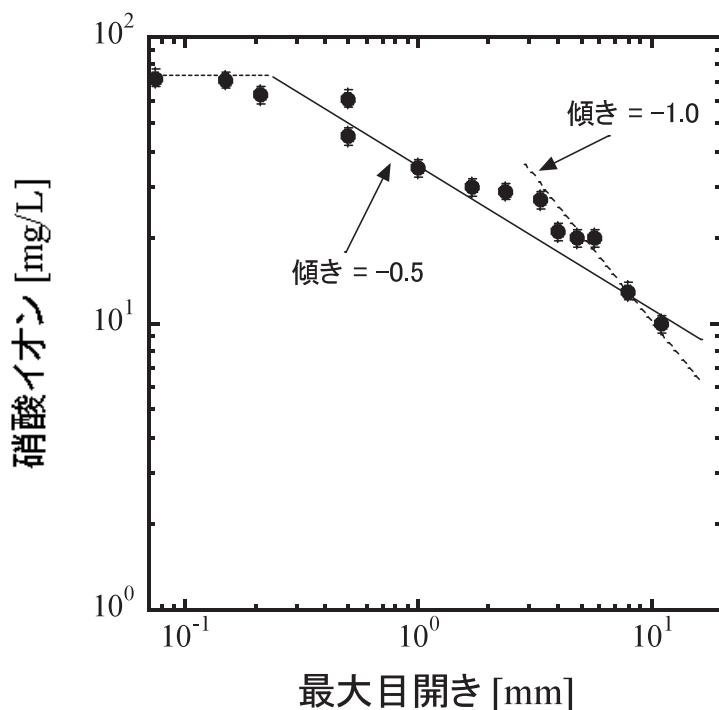


図 3-1 硝酸イオン吸着量に及ぼす土壤粒径の影響

この知見を基に図を見なおすと、土壤粒径が0.200mm以下では粒径の0乗に依存し(図中点線)、徐々に粒径の依存性が大きくなりながら、3mm以上の土壤粒子になると粒径の-1乗に依存(図中破線)しているとも読みとれる。一般的に考えれば大粒子が団粒化しており、小粒子はその構成粒子と思われるが、今回の実験結果はこの考えと全く逆の傾向を示している。これについては現在検討中であるが、土壤を構成する粒子の成分などが影響しているものと予想している。

以上のことから、傾き-1の直線で近似できる粒径の大きい範囲の粒子は、表面積で硝酸態窒素の含有量が決まっているのに対して、粒径0.200mm以下の範囲にある小粒子は、表面積ではなく体積で含有量が決まっていることを意味している。しかし、土壤の栄養成分保持は表面への吸着によってなされている。このことは、粒径0.200mm以下の小粒子は単一粒子ではなく硝酸態窒素吸着した複数の微小粒子が凝集して存在している団粒化構造となっていると考えられる。従来の団粒化試験機による結果との比較・照合が必要となるが、土壤の“団粒化度”を知るための新たな手法になりうると予想される。

#### IV 診断時に生じた問題点とその対応

まず、土壤サンプリングを行う地点を決定するための位置決めに1圃場あたり約1時間半を要した。また、各農家が研究用圃場として提供してくれた2圃場は隣接している場合がほとんどであるが、各農家の圃場が離れているため移動時間もある。そのため、14圃場全てのサンプリングを行うには最低でも3日を要した。人員は位置決めに2名、採取に3名、温度・硬度などの測定及び記録に1名、合計6名である。通常の分析機関では専属の職員を2、3名で行っているところが多い。それでも不況の折には経費節減のために縮小対象となりやすいことを考えると、6名でのサンプリングは人件費がかかりすぎている可能性がある。しかし、位置決めには2人が必要であることから、最低限の2人で対応する場合についてシミュレーションを行う。圃場にもよるが、位置決めを行うには圃場の対角線に相当する距離を測定し、それを4分割するように目印を立てる。1つの対角線上が終了したらもう一方の対角線についても同様の作業を行う。対角線1本につき約15分を要し、2本分行うと約30分が必要である。土壤採取は1箇所につき10分程度であるが、アルコール温度計を用いた土壤温度の計測には1層3分、計10分を要した。埋め戻しを行い、次のサンプリング箇所に移動するまでの合計時間は約25分であった。これを5箇所行うため、土壤採取、計測、埋め戻しに要する時間は125分となる。位置決めの時間を含めると155分となることから、1圃場約2時間30分となる。診断依頼圃場が隣接しているとしても1日あたり3~4圃場が限界である。また、秋に行ったため既に作物の収穫が終了していたが、夏季に依頼が来た場合は作物がある状態で土壤採取を行わねばならない。作物を傷つけないように注意を払いながらの位置決め、土壤採取等を行う場合はさらに時間を要する可能性があるため、

当初はRQフレックスやパックテストを用いて現場において診断を行う予定であったため、操作の簡素化を重視した診断方法を検討していた。しかし、実際に圃場から土壤を採取して土壤懸濁液を調製したところ、予想以上に微粒子成分が多く、濾紙が数分で目詰ま

りを起こしてしまい清澄液を得ることが難しかった。試みに、濾過を行なわず1時間以上静置することによって大粒子を沈降させた懸濁液を用いて診断を行った。診断結果は濁りの影響を受け、同一サンプルであるにもかかわらず1桁以上異なる結果となり信頼性が無くなつた。そこで、一旦現場での診断を保留し、土壤サンプルを持ち帰つた上で分析することとした。まず、問題となつた清澄液の確保には解決策が見つかるまでの間、遠心分離機を使用することとした。現有の遠心分離機で処理できる粒子径は約 $1\text{ }\mu\text{m}$ である。遠心分離機にかける時間を短くするため、回転速度はほぼ最大の4000 rpmとして処理時間を様々変化させて清澄液が得られるか検討した。処理時間を0、5、10、15、20分として、その上澄み液の濁度を紫外分光光度計（島津製作所製、UVmini-1240）で測定した結果、処理時間とともに濁度は減少したが、20分の処理時間でも濁度をゼロとすることはできなかつた。しかし、10分以上の処理を行えば濁度に差異が認められなかつたことから、遠心分離の条件を4000 rpm、10分と設定した。この条件で処理して得られた清澄液には堆肥由来と思われるワラくずなどが極少量浮遊していた。そこで、清澄液を濾紙（No. 1）で濾過してワラくずを除去した。また、この遠心分離操作は現有の装置を用いた場合、一回で処理できるサンプル数が4サンプルである。今回対象とした硝酸態窒素、亜硝酸態窒素、リン、カリウム、マグネシウム、カルシウム、塩化物イオン、硫酸イオン、pH、ECの項目を診断するのに必要な清澄液の量は約40 mLであるため、市販品の中では大型の遠沈管が必要となる。そのため、適合するサイズの遠心分離機を入手するには新規購入が必要である。

## V 必要経費の試算

土壤の健康度を診断するには診断に必要な機器類の購入費用、メンテナンス費用、消耗品費、人件費等がかかる。これらは診断費用に反映され、最終的な費用負担者は農家である。仮に“健康土壤”による高付加価値化ができたとしても、それによる収益分以上の支出が必要となっては普及しない。診断費用を算定するため、実際に協力農家の圃場で土壤診断を行う。診断項目1つ（もしくは1サンプル）あたりの診断経費について検討を行つた。全診断手順を書き留めてマニュアル化した。同時に必要機材・必要試薬の調査を行い、1サンプルあたりの必要経費、所要時間の算定を行つた。その結果、使用機器類及び使用物品を新規に購入する場合、最低でも約3000万円（税別）が必要になることがわかつた。さらに使用年数を15年とし、メンテナンスに要する年間費用を価格の5%と仮定すると、メンテナンスのみで年間150万円が必要となる。すなわち、機器類の購入・メンテナンス更新を考えると初年度は機器類だけで約3150万円が必要である。使用年数15年を想定した場合、機器の購入及びメンテナンスには約5250万円と試算されるため、1年当たり350万円となる。試薬等の消耗品類については、210サンプルの診断で約3万円であり、1サンプルあたりの消耗品費は約120円と試算された。これより、費用のほとんどは消耗品ではなく、機器類の購入及びメンテナンスに要する費用であることがわかつた。なお、機器類を運転するための光熱費や人件費を盛り込む必要があるが、これは体制によって大きく変動するため今回は盛り込まないこととする。

現行の体制（1日8時間）、設備では210サンプルについて12項目を診断すると96

日を要した。これは1日平均2.2サンプル、1週間あたり11サンプルに相当する（土日を除く5日を計算対象とした）。今回は土壤サンプルがそろっている状態であったため、水分測定や水抽出・遠心分離などは幾つかのサンプルを同時に進行させている。しかし、実際にはサンプルを採取した直後から診断を開始しないと土壤の状態が変化する可能性がある。水分測定に使用する乾燥機は追加サンプルがあっても対応可能であると考えられるが、500°C加熱による強熱減量成分の測定にはマッフル炉を使用している。マッフル炉は500°Cになるまでに約1時間要する。また、1回スイッチを入れたら所定の加熱時間（2時間）・放冷時間（2時間～）を経ないと扉を開けることができない（高温の状態で扉を開けると急激に炉内温度が低下し、加熱性能が低下するとともに寿命が短くなる）。そのため、機器類購入費は高くなるが、今後はマッフル炉を複数台用意するなど、何らかの対策が必要であると考えられる。

最も時間を要した診断項目はカリウム、マグネシウム、カルシウムを測定するためのイオンクロマトグラフィーであった。この診断機器は使用可能になるまでに約2時間の立ち上げ運転が、また、終了時には約30分をかける運転終了操作が必要となる。そのため、1日8時間のうち5時間30分が診断に使える時間となる。1サンプルの測定には約30分を要することから、1日あたりの最大診断可能サンプル数は11サンプルであった。210サンプルを診断するために19日を要する。また、イオンクロマトグラフィーの分離カラムを陰イオン用に交換することによって硝酸態窒素、亜硝酸態窒素、硫酸イオン、塩化物イオンを測定している。これはカリウムなどの診断より若干早いものの1サンプルあたり約20分の測定時間が必要である。1日あたりの最大診断可能数は16サンプルであり、210サンプルを診断するのに約13日を要する。さらに、分離カラムを交換した場合、装置内の残留移動相が完全に入れ替わるまで1日強を要した。このことからイオンクロマトグラフィーにより7項目、210サンプルを診断するのに要する時間は最低でも34日が必要となる。なお、今回の調査時は、イオンクロマトグラフィーによる上記診断を全て終えるまでに60日を要している。これは、診断前、診断中に濃度既知の標準溶液を分析することによって診断値の信頼性を確認していたためである。1台のイオンクロマトグラフィーによる7項目の診断は時間を要するため、今後はカリウムなどの陽イオン診断に原子吸光光度計などを使用し、時間短縮を図る必要がある。

## VI 起業を視野に入れた採算性の検討

ニーズがあるにもかかわらず、診断にかかる費用が高価では起業しても診断依頼数が確保できずに赤字になる可能性が高い。そこで、1サンプルの診断に対する採算ラインを検討する。年間の営業日数を約300日とすると、対応可能なサンプル数は656サンプルとなる。研究用には夏季サンプリングも行う予定であるが、実際に農地の診断を行うことができる時期は秋から春にかけてであり、かつ積雪前か雪解け後となる。そのため、10月頃から翌年の4月頃まで（約6ヶ月）の限られた期間で採算ラインを考える必要がある。仮に6ヶ月間で毎日診断可能数を確保できたとすると、約400サンプルとなる。これをもとにして計算を行う。

機器類の購入・メンテナンスにかかる費用は年間350万円となる。これをサンプル数

で除すと1サンプルあたり8750円となる。さらに、人件費や光熱費を考慮すると診断経費は1万円以上となることが予想される。この価格には人件費・光熱費等は含まれていない。そのため、これらを価格に上乗せせざるを得ず、最低でも1サンプル1万円となりそうである。現在は試験的に1圃場あたり15サンプルとしているが、このままでは最低でも15万円以上の費用がかかる。既存の栄養診断は1サンプルあたり無料から数千円程度であり、このままでは本システムを導入したとしても農家に相当な負担を強いることとなる。診断後の説明及び聞き取り調査を行ったところ、農家からは現状では出荷する農作物にこれを上回る価値を付加するのは難しいとの意見をいただいた。確かにこれまで行われてきている土壤の栄養診断（無料～数千円）に比べれば費用がかかりすぎている。しかし、このようなご意見をいただくことができること自体、興味を持っていただけている証拠であり、本システムに対してニーズがあることを再確認した。

## VII サンプリング数及び測定項目の削減

測定機器の購入費用やメンテナンス費用については大幅に削減することは難しいが、サンプリング数を削減することによって負担費用をへらすことは比較的容易である。だが、理由もなく削減することは理解が得られない。そこで、工業製品の品質管理に使用されている統計学的手法を使って検定し、5%有意差がなければ代表的な箇所、深さに絞ったデータで議論が可能になる。すなわち、客観的に認知されている判定方法でサンプリング数を削減することができる。

1圃場あたりのサンプリング数は5箇所3深度の計15サンプルとしていたが、果たしてこれだけのサンプルが必要なのかどうかを統計学的に検証した。まず、15サンプルのデータについて二元配置法の分散分析を行い、採取箇所及び深さ方向の分散（バラツキ）を検定した。検定は栄養成分等の測定項目12、及び土壤硬度の13項目について行った。

表7-1 研究圃場におけるリン酸の分布と分散分析結果（二元配置法）

### リン酸

	1	2	3	4	5	
A	12.0	12.0	7.0	9.2	10.2	50.40
B	5.5	5.9	2.2	1.7	4.8	20.10
C	1.4	1.1	0.5	2.1	1.8	6.90
	18.90	19.00	9.70	13.00	16.80	77.40

要因	平方和	自由度	分散	分散比	F 値
深さ	199.0	2	99.49	64.040	4.46
位置	21.8	4	5.45	3.508	3.84
残差	12.4	8	1.55	あり	なし
計	233.2	14			

その結果、採取箇所が異なっていても分散にはほとんどの項目において5%有意差はないことが明らかとなった。一方、深さ方向については全検定のうち半数以上の項目で5%有意差があると判定された。このことからサンプリング箇所は5箇所必要ではなく、多くても2、3箇所、場合によっては1箇所で良いことが分かった。ただし、深さ方向には違いがあるので現時点では3深度を1、2深度に減らすことは難しい。続いて、同データを使用して深さ方向に対する平均値検定を行った。分散分析がバラツキの検定であったことに対して、平均値検定は絶対値の検定であるため、A層、B層、C層のどこが特異なサンプルなのかが判定できる。平均値検定を行った結果、極めて興味深い結果が得られた。多くの栄養成分はB、C層に多く、A層にはあまり存在しなかつたが、リン酸は全く逆の傾向であり、A層に多くB、C層では少なかつた。これは、多くの栄養成分が降水等によって下層に流出しているが、リン酸は出しにくいことを表している。一般に「窒素・カリは基肥と追肥、リンは全量を基肥」と言われていることを裏付けるデータである。これら、5%有意差が確認された項目についての詳細な検討は今後の課題であるが、圃場の傾斜角度、給排水口の位置関係が大きく影響していることを示すデータが既に散見されることから、まずは水の流れによる影響に絞って検討を進める予定である。

表7-2 研究圃場におけるECの分布と平均値検定の結果

EC						
	1	2	3	4	5	
A	5.05	4.33	3.56	4.08	3.44	4.09
B	6.27	5.26	4.34	4.22	4.12	4.84
C	3.66	3.04	3.69	3.73	3.18	3.46
	5.0	4.2	3.9	4.0	3.6	
SA	1.68	VAB	0.6321	tAB=	1.4916	2.306
SB	3.37	VBC	0.4743	tBC=	3.1727	2.306
SC	0.42	VAC	0.2629	tAC=	1.9489	2.306
S1	3.41	V12	1.474	t12=	0.7902	2.776
S2	2.49	V23	0.709	t23=	0.5043	2.776
S3	0.35	V34	0.119	t34=	0.5204	2.776
S4	0.13	V45	0.150	t45=	1.3614	2.776
S5	0.47	V13	0.940	t13=	1.4274	2.776
	V14	0.885	t14=	1.2805	2.776	
	V15	0.971	t15=	1.7571	2.776	
	V24	0.653	t24=	0.3031	2.776	
	V25	0.739	t25=	0.8974	2.776	
	V35	0.205	t35=	0.7662	2.776	

あり なし

今後は、迅速な診断法を確立するとともに、必要最小限にサンプリング数を減らす（絞込みを行う）ことが必要である。また、本システムを普及させるには新しい診断方式を採用する、もしくは安価に診断を行う企業等へ外注に出すことなどにより、診断経費を抑える方策が不可欠である。

## VIII 農薬に対する微生物の耐性

今回は栄養成分に対する診断のみに絞ったシステム運用を試みたが、今後は農薬類に対する評価も検討する必要がある。また、協力農家の農薬への関心が高いことから早急に体制を整えるべき項目である。農薬類に対する評価を行うには採取した土壤にあえて農薬を添加し、その分解速度を測定する必要がある。しかし、過剰な農薬を添加した場合、農薬の作用によって微生物は活動が弱まり、最悪の場合は微生物が全滅する。このような状態になってしまっては微生物による分解が行われず、農薬がそのまま残留してしまう。農薬類に対する健康度を評価するには、まずどの程度の農薬まで微生物が耐えられるかを知る必要がある。そこで、土壤微生物の農薬耐性について文献調査を行った。しかし、文献に記載されているEC50（半数増殖阻害濃度）は少なく、かつ、各数値が異なる微生物に対しての数値であることが多いため、同一の微生物にたいして比較検討することが困難であった。農林水産省のホームページ(<http://www.env.go.jp/chemi/sesaku/hyo.pdf>)には藻類、ミジンコ類、魚類に対する化学物質のEC50、NOEC（無影響濃度）が掲示されていた。最も参考になるのは藻類に対する数値であるが、指定されている藻類が3種類あり、どの藻類を使用したかは区別がつかない状態であった。そこで、試験に指定されている藻類ではないがこれまでに培養実績のある藍藻 *Spirulina platensis* を使用して、農薬に対する耐性がどの程度あるのかを調べることとした。ここで藍藻 *S. platensis* について簡単に説明する。*S. platensis* は光合成によって増殖する光独立栄養微生物である。そのため栽培植物と同じメカニズムで増殖する。また、生物学的分類では、緑藻クロレラなど同じく光合成で増殖する藻類と異なり下等微生物に分類される（クロレラは高等微生物に分類される）。そのため、枯草菌などのバクテリアに近い。対象とする農薬は市販品を使用することとし、除草剤シアノン、殺虫剤、殺菌剤トップシンMなど5種を使用した。また、比較のためニクロム酸カリウム（六価クロム）を使用した。所定濃度の農薬類を添加した培養液と無添加の培養液を用意し、照度4k lux、30℃で培養を行った。スピルリナ濃度の測定には紫外分光光度計を用い、波長560nmにおける濁度を求めた。別途、JIS K0102 工業排水試験方法に従ってスピルリナの乾燥質量濃度を測定しておいた懸濁液に対して濁度を測定し、検量線を作成しておいた。その結果、農薬を説明書記載の散布濃度で培養した場合、スピルリナ濃度は時間の経過とともに減少した。散布濃度ではスピルリナの増殖が阻害されたことがわかったため、散布濃度よりも薄い農薬濃度で培養した。濃度設定は散布液濃度の10分の1、100分の1、1000分の1、10000分の1を基準とし、必要に応じてそれら以外の農薬濃度について実験を行った。その結果、スピルリナの増殖にほとんど影響を及ぼさない濃度範囲を見出した。これはNOECに相当する濃度である。また、同データからEC50を算出した。農薬類ごとにNOEC、E

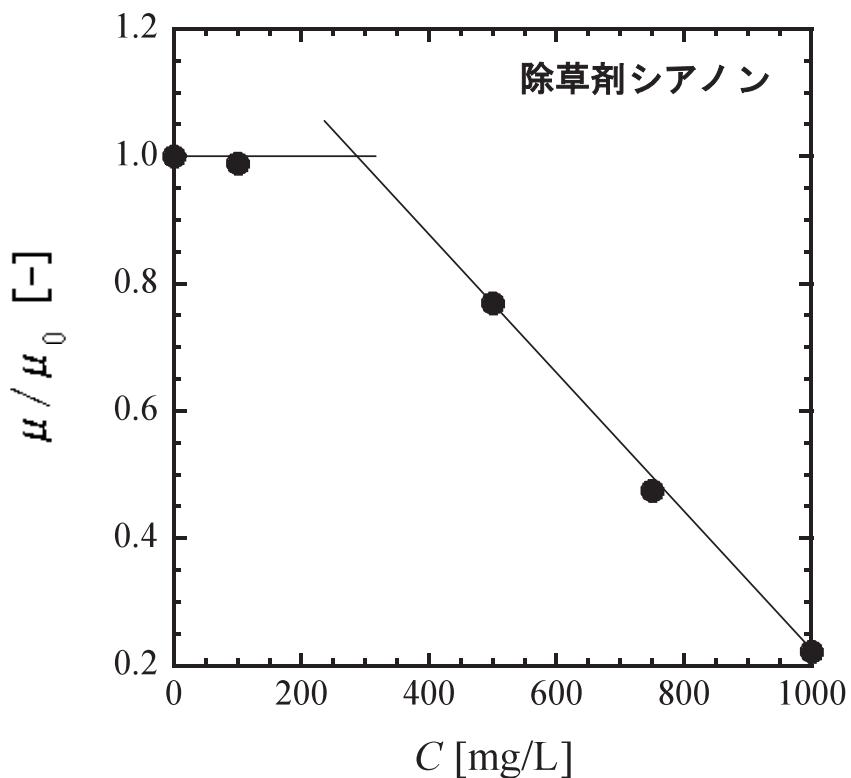


図8－1 スピルリナの増殖に及ぼす農薬濃度の影響（除草剤シアノンの場合）

C<sub>50</sub>を比較すると数値はまちまちであるが、NOECとEC<sub>50</sub>の比を計算すると、概ね0.3程度となることを見出した。農水省のデータについても同様にNOECとEC<sub>50</sub>の比を計算すると平均で0.31となり、ほぼ一致した。ただし、これは平均値であり、農水省データから計算した値は0.1から0.5程度まで分布しており、あくまでも0.3という数値は目安である。このことから実験条件を絞るための目安としては非常に優れていることがわかった。また、EC<sub>50</sub>は農薬類の種類によって若干の違いがあるものの、散布液濃度の100分の1以下であった。このことから、散布液濃度の100分の一以下で1、2点試験を行うことによってEC<sub>50</sub>を求めることができればNOECを推定できることがわかった。試みにニクロム酸カリウムを用いて検討を行った結果、EC<sub>50</sub>は1.8 mg/Lとなり、これに0.3をかけると0.54 mg/Lという数値が得られた。これがNOECに相当する濃度と試算される。これは、一般に言われている微生物の増殖阻害濃度約0.5 mg/Lとほぼ一致する。

今後は、この知見を土壤微生物に適用し、土壤微生物の農薬耐性を明らかにすることが急務である。農薬耐性が明らかになった時点で農薬分解実験を実施し、農薬類に対する土壤の浄化能力（自浄作用）を明らかにしていきたい。

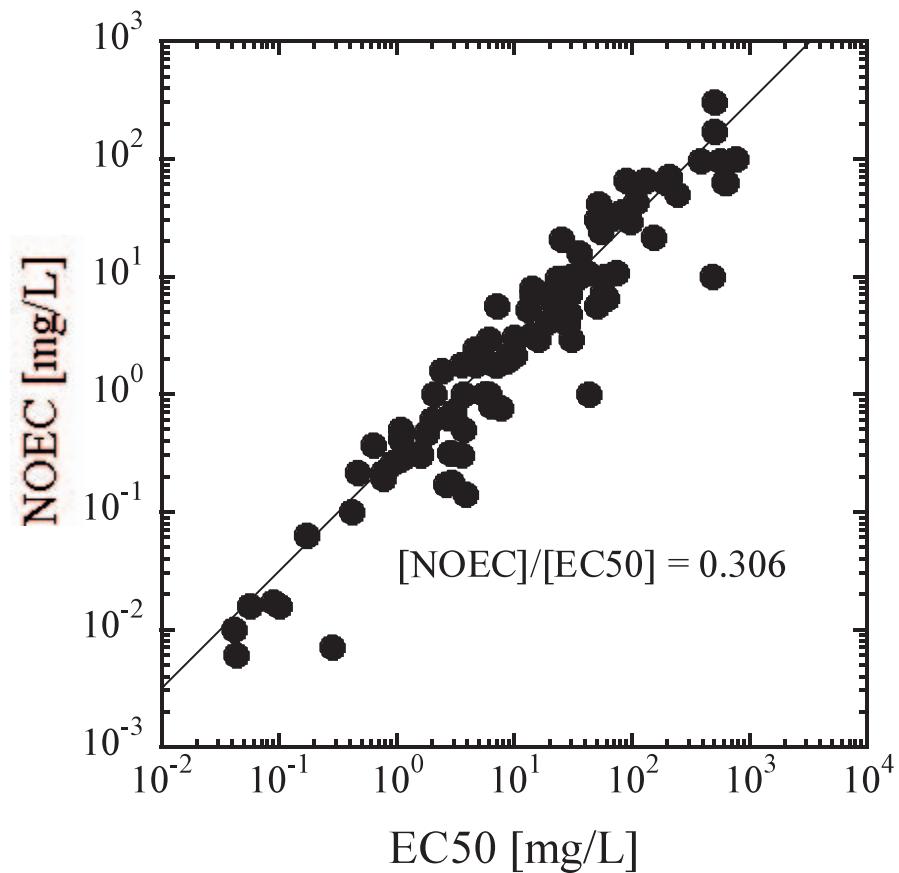


図8-2 NOECとEC50の関係（データは環境省HPよりダウンロード）

## IX 連作障害に対する検討

本研究を遂行するにあたり農家から様々な意見をいただいた。今回研究に提供していた圃場では連作を行っても支障がない、もしくは少ない作物を栽培していた。実際には他の圃場で連作のきかない作物（馬鈴薯やスイカなど）も栽培しており、その圃場は輪作を行うことで対応しているとのことであった。「本システムを改良することで連作障害が起こるか否かを判定できるような指標を作ることはできるか」という旨の相談があり、現有の設備・技術で対応できるか否かを検討した。

前章同様、試験にはスピルリナを使用した。培養瓶としてル式培養瓶を用い、培養液としてSOT培養液を用いた。光源として市販の白色蛍光灯を用い、ル式培養瓶の入射光強度は4 k luxとした。アクリル樹脂製恒温槽を用いて液温を30°Cとした。通気用ポンプには市販の観賞魚用ポンプを用い、通気による攪拌を行った。SOT培養液に含まれている金属類はICP発光分析装置(島津製作所、ICPS-500)で、陰イオンはイオンクロマトグラフィー(島津製作所)で定量した。スピルリナの回収には濾紙No.1 (ADVANTEC、

公称孔径  $6 \mu\text{m}$ )を使用した。スピルリナ懸濁液の濁度測定に紫外線吸光光度計を用い、波長  $560\text{ nm}$ における濁度と検量線からスピルリナの乾燥質量濃度に換算した。ル式培養瓶にSOT培養液  $500\text{ mL}$ を入れ、別途培養しておいたスピルリナを植種し、通気を開始した。蛍光灯を点灯させた時点を時刻  $0$ として培養を開始した。通気による蒸発分に相当する水を加えた後、懸濁液の濁度を測定し、スピルリナ濃度が  $1.0\text{ g/L}$ を超えたら一部の懸濁液を濾過し、スピルリナを回収した(次バッチ開始時のスピルリナ濃度が約  $0.5\text{ g/L}$ となるようにスピルリナを回収)。濾液は約  $2\text{ mL}$ を残し、再びル式培養瓶に戻した。残した濾液  $2\text{ mL}$ を適切な倍率で希釀し、各種栄養塩濃度を測定した。この時、濃度が低下していた物質は直ちに培養液に補給し、初発組成に戻した。

図9-1にスピルリナ濃度の経時変化を示す。スピルリナは  $0.1\text{ g/L}$ 以下の範囲では指数関数的に増殖し、 $0.3 - 0.5\text{ g/L}$ 以上になると直線的に増殖した。培養開始  $17\text{ 日}$ 後に  $1.0\text{ g/L}$ を超えた。スピルリナ濃度が  $1.6\text{ g/L}$ であったため懸濁液  $350\text{ mL}$ を濾過した。濾液を戻し、スピルリナ濃度を再測定すると  $0.48\text{ g/L}$ となっていたため培養を再開した。その後、スピルリナの増殖速度はほぼ一定となり、概ね  $10\text{ 日間隔}$ でスピルリナの回収を行った。この期間中、培養液が少しづつではあるが黄色を帶

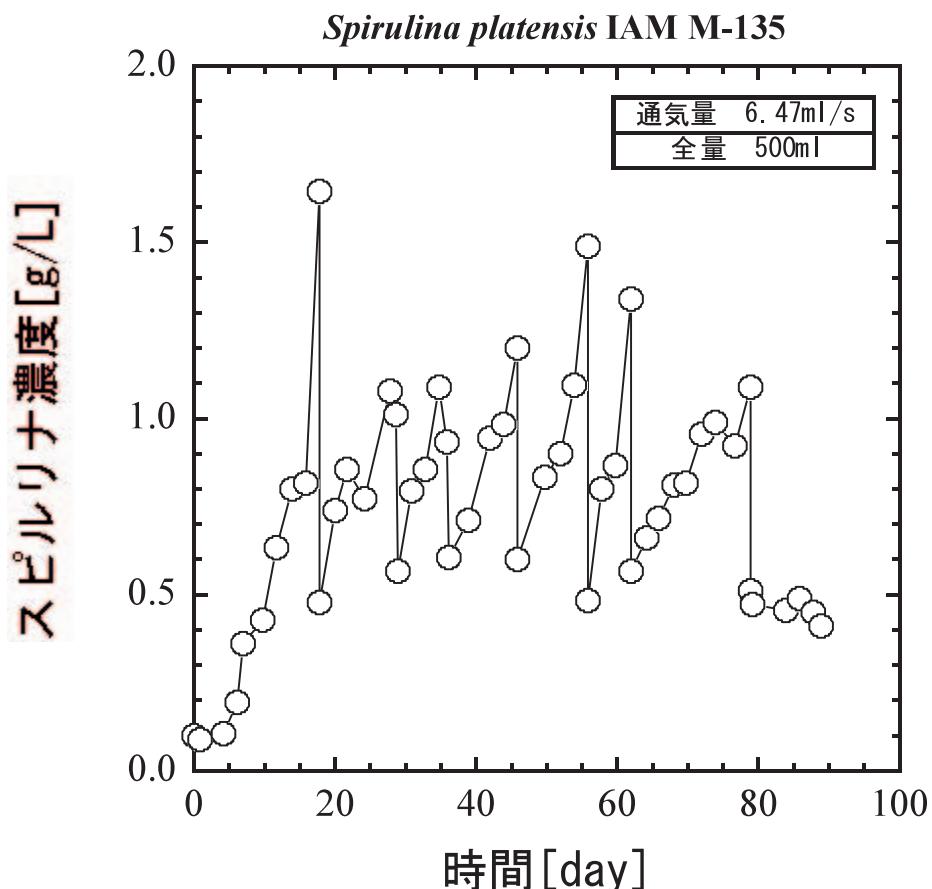


図9-1 スピルリナ濃度の経時変化

びてきた以外、培養環境に顕著な変化は見あたらなかった。しかし、60日目の回収では濾液の着色が顕著になった。その後に行った培養では増殖速度が約1/2に低下した。さらに78日目に行った回収後はほとんど増殖せず、徐々にスピルリナ濃度が減少しはじめた。これ以上の培養を行っても増殖は見込めないと判断し、培養を終了した。

図9-2に各バッチにおけるスピルリナの増殖速度を示す。増殖速度は図1で0.4 g/L以上のプロットを直線で近似し、その傾きから求めた。B4まではほぼ同じ増殖速度であったが、B5、B6では増殖速度が大きくなり、B7で減少、B8で負の値となった。ここで、図1のデータにバラツキがあり、そのデータを直線近似している。B1-B6での増殖速度はその直線の傾斜から求めた値であるため、現時点では顕著な差異はないと考えた。以降、B7、B8でスピルリナの増殖速度が低下した理由について考察する。

まず、密度抑制が考えられる。一般的に生物は限られた空間内において数が多くなると繁殖を停止する。これは、1個体あたりの占有空間を維持するためにおこる現象である。しかし、これまでの培養実績から濃度0.5-1.5 g/L程度で密度抑制は起こらないと思われる。次に考えられるのが増殖阻害物質の影響である。B7、B8の増殖速度低下は何らかの形で蓄積された増殖阻害物質の影響であると考えられる。栄養塩濃度を一定にするため、バッチごとに栄養塩の添加を行っているが、毒性物質を添加してはいない。また、その濃度の上限はSOT培養液の初発濃度であり、過剰供給による阻害はない。ところが、微生物は自身に毒性のある物質を生産することがある。その物質は主に酵素や抗生質である。現時点では、スピルリナの増殖阻害物質を特定していないが、スピルリナ自身によって生産された化合物であると予想される。また、培養液の着色が顕著になってから、増殖阻害が起き始めたことから、培養液の着色と何らかの関係があるものと予想している。

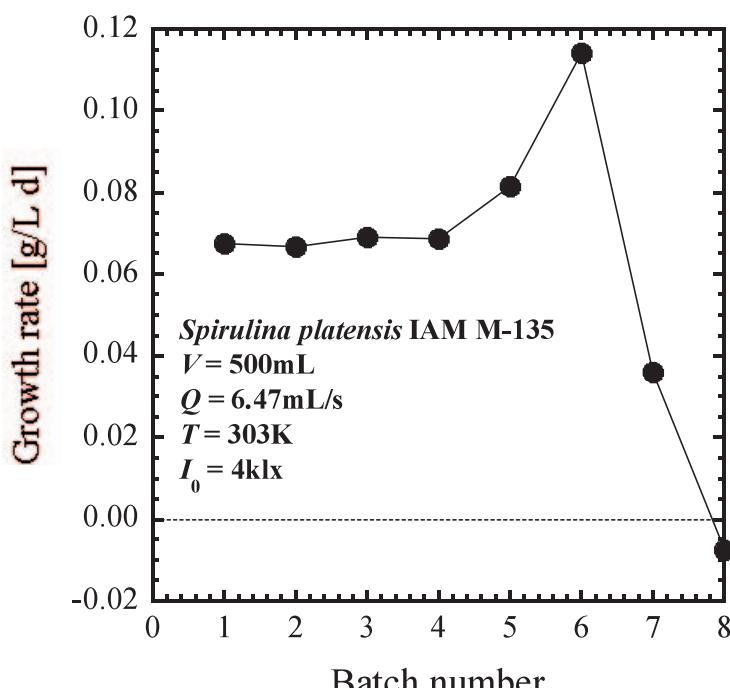


図9-2 培養液の再使用回数と増殖速度の関係

以上、スピルリナ培養で得られた知見を土壤に置き換えてみると、「偏った微生物が生産する阻害物質が土壤中に蓄積することにより土壤微生物全体の活性が低下する。これによって微生物による物質代謝にそれが生じ始めるため、農作物への栄養供給ができなくなり、農作物の生育に障害が出る」と考えられる。今回得られた知見を土壤に適用する場合、まず農作物の栽培による微生物の偏りを調べる必要がある。主導勢力となっている微生物が明らかになったら、その微生物がどのような物質を生産しているかを検討することにより連作障害のメカニズムを明らかにすることが可能になると思われる。

## X 結言

土壤の健康度を新たなブランドに育てることを目的として、実際に現場（農家）が必要としている情報を収集するとともに、ニーズ調査を行った。その結果、多くの農家が興味を示したことからニーズがあることを確認した。協力農家と会談を行い、システムの改善につながる有益な意見を多数いただくことができた。続いて、実務的な課題を見出すため、各農家から提供していただいた14の研究圃場にて診断を開始した。当初は迅速な診断を現場で行うこと目標としていたが、診断を行うにあたり土壤からの栄養成分抽出に要する前処理、特に清澄な抽出水を得るために固液分離の最適化が難しく、これを解決する方策が必要であることがわかった。また、遠心分離機によって清澄液を得たが、多数のサンプルを同時に処理することができないため、この遠心分離操作についても効率化が必要である。起業する場合を想定して必要機器類、消耗品等のリストアップ、診断手順のマニュアル化と必要試薬類の価格を調べた。その結果、1サンプルあたりの診断費用が現状では1万円以上、1圃場で15万円以上となってしまい、ニーズに応えられる状態になっていないことが分かった。特に、診断に使用する機器類の更新・メンテナンス費用が多くを占めていることから、簡便で安価な分析方法に変更する必要があることがわかった。さらに、複数の成分について同時に診断できるイオンクロマトグラフィーは予想以上に時間がかかることから、一部の分析を他の機器に変更する必要も指摘された。一方で、診断データを使用して1圃場あたりのサンプリング数を削減する基準について統計学的に検討したところ、5箇所3深度のサンプリング数を2、3箇所3深度、もしくは1箇所3深度のサンプリング数で対応できることが示された。農家から意見があった、農薬、連作障害への対応に本システムを適用するための基本的調査を行った。藍藻スピルリナを用いて農薬の耐性試験を行ったところ、EC50を測定することができればNOECを推算できることを明らかにした。また、EC50を測定するための目安として、説明書記載の通常散布濃度の100分の1以下で試験を行えばよいことがわかった。また、連作障害に対して本システムの適用をする場合に備え、藍藻スピルリナを用いたモデル実験を行い、連作障害は偏った土壤微生物群が分泌する何らかの化合物による影響であることが示された。

今後も引き続き調査、システムの改良を行い、農家に受け入れてもらいやすいシステムを構築する。また、農地以外の診断への適用についても検討を開始する予定である。