

肥料被覆材の土壌中における分解性^{*1}

坪内正之^{*2}・山本一夫^{*3}・山田憲照^{*4}・丸本卓哉^{*5}

キーワード 被覆肥料, アルキッド系樹脂, 生分解, ポリエチレン系樹脂, 土壌酵素

1. はじめに

近年, 地球規模での環境問題に対する関心が高まりつつあり, 農業分野においても環境保全機能を有する資材が注目されている。化学肥料中の窒素はその大部分が作物に対して速効性で, 約 40% が吸収利用されるが残りの約 60% は土壌中に残留したり, 流亡して河川や湖沼, 海へと流出し, 環境を汚染する原因の一つともなっている。従来, 作物への肥効を高める目的で, いくつかの緩効性肥料が開発されている¹⁾。肥料に緩効性を持たせる方法としては化学的手段で, 難溶性または難分解性の物質に変化させる方法や, 肥料粒の大粒化や硬度を上げることによって, 難溶性の材料とマトリックス化したり, 樹脂等で被覆する方法が行われている。特に近年, 肥効制御調節機能に優れた肥料として被覆肥料が注目されている²⁾。この肥料は, 作物の生育に合わせて必要な養分量を適時供給できるために, 土壌以外の系への余剰養分の流出を減少させることができ, 環境に対しても優しい肥料であることから高い関心が寄せられている。著者らも, 緩効性被覆肥料の開発を行い, 有効な被覆資材を用いた被覆肥料を製造し, その肥効を試験してきた³⁾。

しかしながら, 被覆肥料が毎年施用された場合, 肥料成分が溶出したものの被覆材の圃場での残留性が問題となる。現在, この様な被覆肥料は主に水田などに施用されているが, 実際に投入される被覆材の量は年間 10 a 当たり約 3 kg (被覆肥料中の被覆材の量的割合を平均 15 wt% として算出) となり, 少なからず環境へ影響を及ぼすことが予期される。

そこで, 被覆材の残留性についての基礎的知見を得る

ために, 緩効性肥料の被覆材として用いられている熱硬化性のアルキッド系樹脂被覆と熱可塑性のポリエチレン系樹脂被覆の土壌中における分解試験を行った。

2. 実験方法

1) 供試土壌

室内恒温試験には, 山口, 島根から採取した 3 種類 (中粗粒黄色土, 粗粒黒ボク土, マサ) の土壌を湿潤のまま 2 mm のふるいを通し実験に供試した。屋外圃場試験は, 山口県宇部市の水田圃場 (中粗粒グライ土) で行った。

pH は常法によりガラス電極で測定した。全炭素はチューリン法により, 全窒素はセミ・ミクロケルダール法に従って測定した⁴⁾。供試土壌の理化学性および微生物性を第 1 表に示した。

2) 供試被覆材

分解性を調べるために供試した被覆材を以下に示す。被覆の調製は, 各樹脂で被覆された肥料内の肥料成分を水中で完全に溶出させた後十分に水洗して, 破碎等の処理をせずそのままの形状 (球状) で供試した。

熱硬化性樹脂: アルキッド系樹脂被覆

熱可塑性樹脂: ポリエチレン系樹脂被覆

3) 室内恒温試験

(1) 二酸化炭素発生量の測定

市販されている二酸化炭素 (炭酸ガス) 定量装置⁴⁾を用いて被覆の分解性を調べた。試料瓶に被覆 1 g, 土壌 20 g を混合したものを入れ, 各土壌水分を最大容水量の 60% に調製した後, 25°C で静置した。同様に被覆を添加していない区 (土壌のみ) をブランクとして設け, 生じた炭酸ガス量を経時的に測定して被覆添加区からブランクを差し引き炭素量を求め, 被覆分解率を算出した。

(2) 酵素活性測定

① ボックスの作製

YOUSSEF ら⁵⁾は作物根圏の養分動態を調査する目的でビニールメッシュを用いたリゾボックスを作製しているが, ここでは樹脂被覆からの距離によってその分解酵素活性に差が生じるかどうかを確認する目的で, 第 1 図に示すような類似のボックスを作製した。コの字型の

*1 本報告の一部は, 1992 年度日本土壌肥料学会新潟大会で発表した。

*2 セントラル硝子(株)化学研究所(宇部) (755 宇部市大字沖宇部 5253)

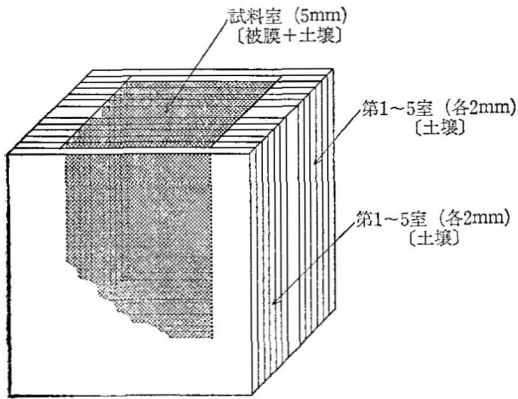
*3 (株)セントラルサービス (755-02 宇部市大字東岐波 4646-1)

*4 セントラル硝子(株)宇部工場 (755 宇部市大字沖宇部 5253)

*5 山口大学農学部 (753 山口市吉田 1677-1)

1994 年 9 月 30 日 受理

日本土壌肥料学雑誌 第 66 巻 第 3 号 p. 247~252(1995)



第 1 図 酵素活性測定用ボックス模式図

15 cm 四方の塩化ビニール板の片面に目開き 0.1 mm のステンレス製金網を貼り、土壌（中粗粒黄色土）を充填した。また、中央の試料室にアルキッド系樹脂被膜 2 g、土壌 5 g を混合したものを入れ、25°C、湿度 60% で 2 週間静置し以下の酵素活性測定に供した。

② カルボキシルエステラーゼの測定法

アルキッド系樹脂被膜は天然植物油由来の長鎖脂肪酸を主成分としており、この脂肪酸エステルのエステル結合を加水分解する酵素カルボキシルエステラーゼをターゲットとして活性を測定した。本測定方法は早野の β -グリコンダーゼ活性の測定方法に従った⁹⁾。上記エステラーゼ活性を測定する際、用いた基質は *p*-ニトロフェニルステアレートで、第 2 図で示した反応により生じた *p*-ニトロフェノールを比色定量して酵素活性を求めた。

反応溶液組成を第 2 図に示した。

リゾボックスの各層から取り出した土壌 0.5 g を試験管に取り、静菌剤としてトルエンを 0.1 mL 加えて 10

分間放置した。そこに蒸留水 1.5 mL と酢酸緩衝液 (pH 5.6) 1.5 mL を加えた後、基質として 100 mM *p*-ニトロフェニルステアレートトルエン溶液 0.1 mL を添加し、ホモキサーでよく攪拌した。この反応溶液を 30°C の恒温振とう器で 3 時間インキュベートした後、酵素反応を止めるためエタノール 8 mL を加えて再度ホモキサーで攪拌し、濾過後のエタノール抽出液 5 mL を試験管に取り、100 mM トリス緩衝液を 2 mL 加えて発色させた。これを分光光度計にかけ 400 nm における吸光度を測定した。

対照として、土壌を加えない区と、基質無添加区を同様に測定した。検量線は *p*-ニトロフェノールの量を算出し酵素活性とした。

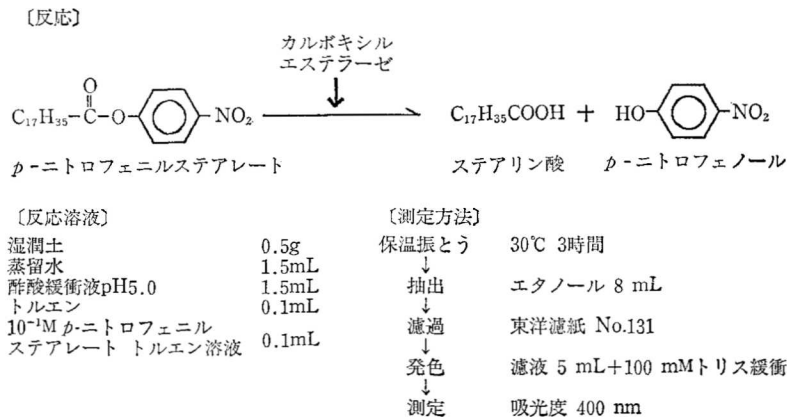
(3) 微生物数測定

被膜 1 g、土壌（中粗粒黄色土）20 g を混合したものをポリエチレン瓶に入れ、25°C、湿度 60% の恒温器内に静置した。培養期間中は適時通気し、好氣的条件にした。経時的に、被膜と土壌をそれぞれ分取し、土壌については生土 1 g 中の菌数を、また被膜については、一度滅菌水中で 100 rpm、10 分間振とうして土壌を落とした後、再度滅菌水に入れ被膜表面上の菌数をそれぞれ求めた。なお、コントロール区として被膜を加えず土壌のみの区を設けた。菌数は常法に従い希釈平板法で行い、細菌は YPA 培地⁷⁾、糸状菌は PDA 培地⁷⁾を用いた。

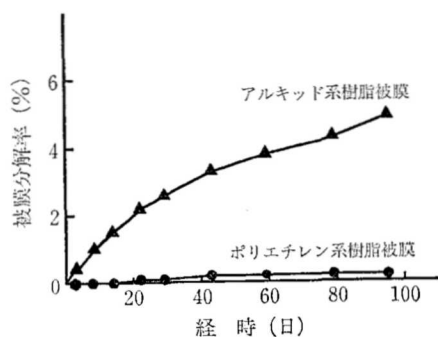
4) 屋外圃場試験

(1) 電顕解析

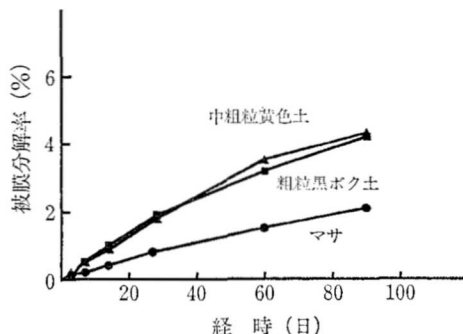
被膜 1 g、土壌（中粗粒グライ土）20 g をネットに入れ、水田圃場に埋設後一定期間経過した後に取り出し、水洗して被膜表面を電子顕微鏡（日本電子製；JSM-T200 型）で観察した。



第 2 図 カルボキシルエステラーゼの測定法



第3図 被膜の土壌中における分解率の経時変化*
* 土壌は中粗粒黄色土を使用した。



第4図 各土壌中におけるアルキッド系樹脂被膜の分解率の経時変化

3. 試験結果

1) 屋内恒温試験

(1) 二酸化炭素定量

アルキッド系、およびポリエチレン系樹脂被膜の土壌中における分解性を調べた結果を第3図に示した。アルキッド系樹脂被膜はポリエチレン系樹脂被膜に比べて明らかに分解性が高く、3カ月経過後の分解率は前者4.5%に対して、後者は0.5%以下であった。次に、分解性が認められたアルキッド系樹脂被膜を用いて3種類の異なった土壌中での分解性を調べた結果、第4図に示すようにいずれの土壌においても分解は認められたが、特に腐植含量が高く微生物数も多い土壌(第1表)においては、微生物数が少ないマサに比べてより分解性が高まる傾向が認められた。

(2) 酵素活性試験

第5図に、アルキッド系樹脂被膜添加2週間後の土壌中でのカルボキシエステラーゼ活性を示した。横軸に被膜からの距離、縦軸には酵素活性を示しており、被膜からの距離が0mm、すなわちボックス中央の試料室中の酵素活性は高く、被膜から距離が離れるにつれて酵素活性が低下する傾向が認められ、土壌酵素により分解を受けることが示された。

(3) 微生物数測定

アルキッド系樹脂被膜添加による微生物数の推移を、

生土1g中および被膜(1g)表面上について調べた結果、細菌に関しては、被膜の添加の有無による差は認められなかったのに対して、糸状菌では、第6図に示すように被膜添加の有無による有意差が認められた。土壌1g中の糸状菌数はコントロール(被膜無添加区)において $10^4 \sim 10^5$ 個のレベルで推移したのに対して、アルキッド系樹脂被膜添加区は $10^6 \sim 10^7$ 個と約10倍高く、一方ポリエチレン系樹脂被膜添加区は $10^4 \sim 10^5$ 個で、コントロール区と差が認められなかった。また、両被膜表面上の糸状菌数については、前者が $10^5 \sim 10^6$ 個 g^{-1} であるのに対して後者は $10^3 \sim 10^4$ 個 g^{-1} と低く、アルキッド系樹脂被膜添加区の方がポリエチレン系樹脂被膜添加区に比べて約100倍高いことがわかった。

2) 屋外圃場試験

(1) 電顕解析

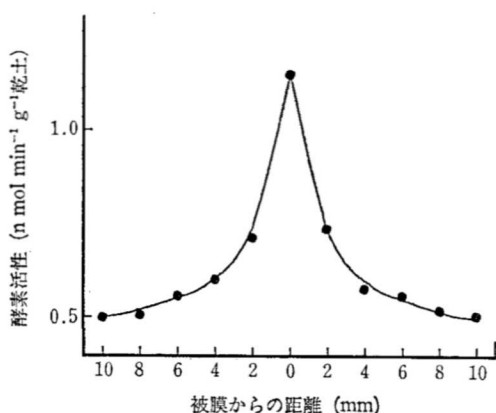
アルキッド系樹脂被膜は写真1に示したように、その表面は滑らかであるが、埋設2、5カ月と経過する毎に表面は粗くなっていき、電子顕微鏡による観察からも分解される様子が確認できた。一方、ポリエチレン系樹脂被膜は5カ月経過後もあまり分解が進んでいない様子がうかがわれた。

4. 考 察

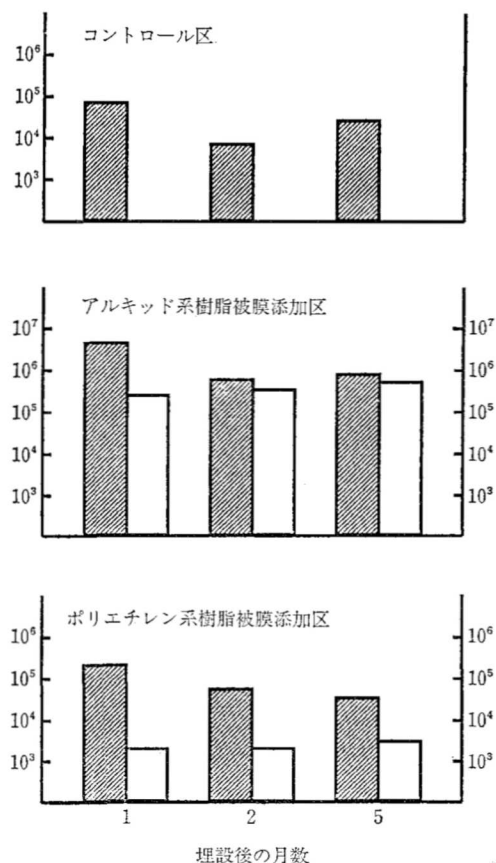
緩効性肥料の被覆材として用いられているアルキッド系樹脂被膜およびポリエチレン系樹脂被膜の土壌中での

第1表 供試土壌の特性

採取地	土壌の種類	pH (H_2O)	T-C		C/N	土壌微生物数 (g^{-1})	
			(g kg^{-1})			細菌 ($\times 10^6$)	糸状菌 ($\times 10^5$)
山口	中粗粒黄色土	4.9	11.3	1.5	7.5	60	40
島根	粗粒黒ボク土	7.2	63.2	3.9	16.2	90	90
山口	マサ	6.2	0.1	0.1	—	7	3
山口	中粗粒グライ土	6.4	19.2	2.3	8.3	80	30



第 5 図 土壤中の樹脂被膜周辺のカルボキシルエステラーゼ活性



第 6 図 樹脂被膜添加による糸状菌数の推移

▨ : 生土 1g 中の糸状菌数,
□ : 樹脂被膜 1g 表面上の糸状菌数.

分解性を比較検討した結果、アルキッド系樹脂被膜の方が明らかに分解性が高かった。アルキッド系樹脂被膜の分解性は腐植含量が高く微生物数も多い土壌ほど高いと

いう傾向が得られ、被膜の分解には土壌微生物が関与していることが推察された。この推察を確かめるため、アルキッド樹脂被膜の分解に伴う土壌中の微生物数の測定および酵素活性の測定を行った。両樹脂被膜添加区の細菌数は、コントロール区と差が認められなかったが、被膜付近の糸状菌数はコントロール区より高く、アルキッド系樹脂被膜添加区の方がポリエチレン系樹脂被膜添加区より 10 倍高かった。さらに両被膜表面上の糸状菌数を比較するとアルキッド系樹脂被膜の方が約 100 倍高かった。このことから、アルキッド系樹脂被膜は主に糸状菌により分解されると思われる。さらに、アルキッド系樹脂被膜の分解に関与すると考えられるカルボキシルエステラーゼの活性測定を行ったところ、被膜からの距離が近いほどその活性が高いことから、本酵素が初期の分解に関与しているものと思われた。本酵素と糸状菌の関係については、どのような種類の糸状菌が分解に関与しているのか、単離、同定して今後解明する必要がある。

以上のことから、アルキッド系樹脂被膜の土壌中での分解過程を推測すると、被膜中の脂肪酸エステル結合部位が主に糸状菌の生成するカルボキシルエステラーゼにより分解され、その結果生じた被膜表面上のわずかな隙間に微生物が侵入、増殖して徐々に分解が進行するものと推察された。なお、屋外圃場試験は、今回水田状態で実施したが、被膜の分解が畑状態同様本当に糸状菌によるものかどうかは今後検討する必要がある。本試験の結果より総合考察すると、天然植物油を含有するアルキッド系樹脂被膜の土壌中での分解は 1 年で約 10% に達すると推測され、長期連用しても、環境上問題ないことが示唆された。

ポリエチレン系樹脂被膜の分解性はアルキッド系に比べて著しく遅いことが明らかで、かなり長期間にわたって土壌中に残留することが予想される。その際の環境上の影響については今後の検討課題である。

5. 要 約

近年、緩効性肥料として開発されているアルキッド系およびポリエチレン系樹脂被膜肥料が運用された場合、肥料成分が溶出した後の被覆材の残留性が問題となる。そこで、この被覆材の土壌中での分解性について検討を行った。得られた結果は次のとおりである。

1) アルキッド系樹脂被膜の分解率はポリエチレン系樹脂被膜に比べて高く、3 ヶ月経過後、前者は 4.5% に対して後者は 0.5% 以下であった。また、腐植含量の高い土壌での分解速度が高いことから、被覆材の分解は土壌中の微生物活性に依存することが示唆された。

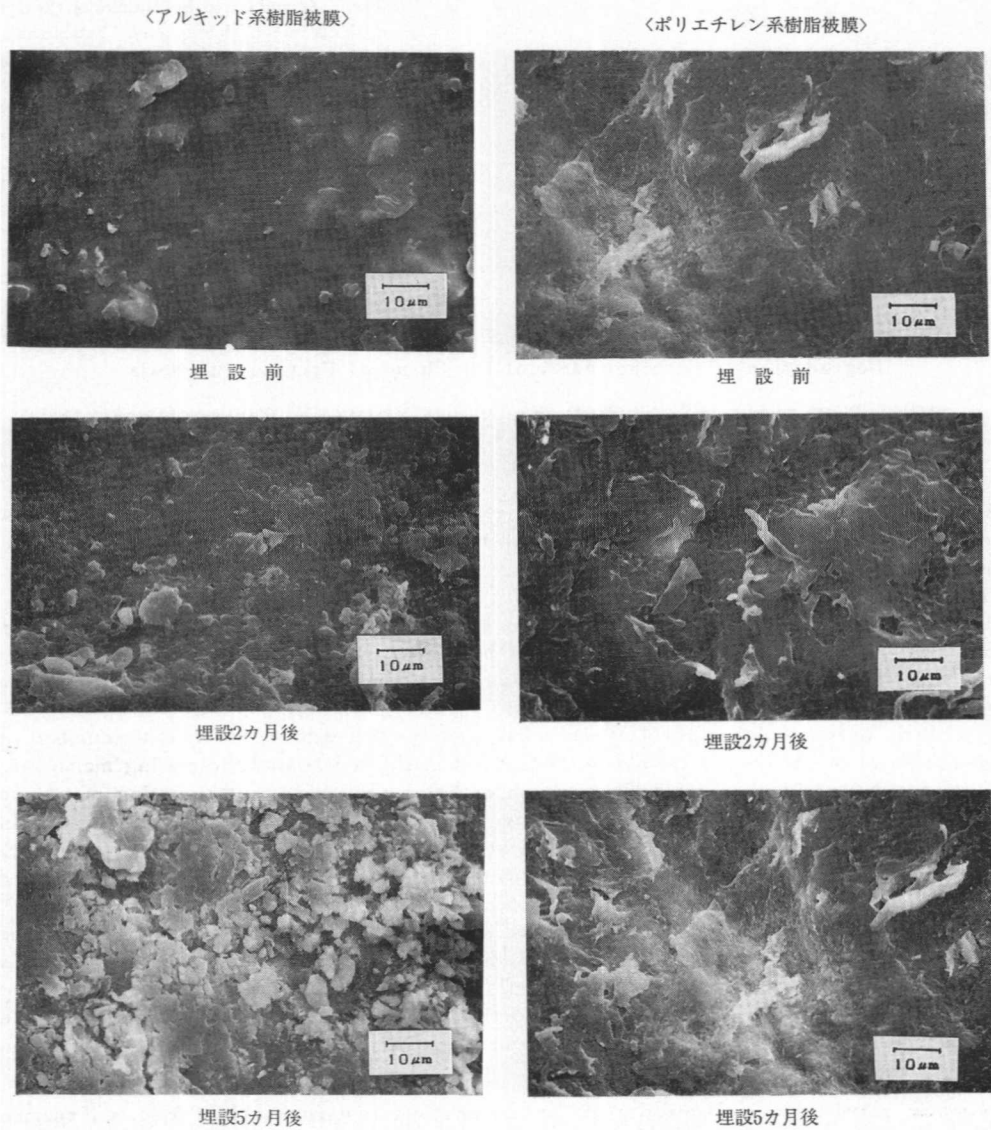


写真1 水田埋設後の被膜表面の経時変化

2) 被膜表面および被膜付近の土壌の微生物数を測定した結果、細菌数は両被膜で差が見られなかったが、糸状菌数はアルキッド系樹脂被膜の方がポリエチレン系樹脂被膜より被膜表面で約100倍、被膜付近の土壌で約10倍高かった。さらに酵素活性測定用の試作ボックスを用いて、アルキッド系樹脂被膜の分解に関与する土壌酵素活性を測定した結果、被膜に近いほど高い酵素活性が認められた。

3) 屋外圃場条件下で、埋設した樹脂被膜を経時的に取り出し、電子顕微鏡で観察した結果、アルキッド系樹

脂被膜はポリエチレン系樹脂被膜に比べて明らかに被膜表面で分解の進行が観察された。

以上、屋内および屋外での試験結果から、アルキッド系樹脂被膜はポリエチレン系樹脂被膜より速やかに土壌中において微生物により分解されることは明らかで、生分解性という意味からは肥料の被覆資材として優れている。

謝辞 本研究を行うに当たり、懇切なる御助言をいただいた農業環境技術研究所環境資源部土壌管理科土壌有機物研究室長早野恒一博士に感謝の意を表します。

文 献

- 1) 尾和尚人: 緩効性窒素肥料の特性と環境保全的評価, 肥料, 26(51), 29 (1988)
- 2) 栗原 淳: 環境に優しい被覆肥料, 同上, 30(63), 67 (1992)
- 3) 矢沢文雄: 被覆肥料セラコートの開発と肥効, 同上, 28 (56), 73 (1991)
- 4) 土壤標準分析・測定法委員会編: 土壤標準分析・測定法, p.94~101, 293~301, 博友社, 東京 (1986)
- 5) YOUSSEF, R. A. and CHINO, M.: Studies on the behavior of nutrients in the rhizosphere. Establishment of new rhizobox system to study nutrient status in the rhizosphere. *J. Plant Nutr.*, 10, 1185~1195 (1987)
- 6) HAYANO, K.: A Method for the Determination of β -Glucosidase Activity in Soil. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 19, 103 (1973)
- 7) 山里一英・宇田川俊一・児玉 徹・森地 敏編: 微生物の分離法, p.31~54, R & D プランニング, 東京(1986)

Degradation of Coating Material for Chemical Fertilizer in Soils

Masayuki TSUBOUCHI, Kazuo YAMAMOTO*, Noriaki YAMADA and Takuya MARUMOTO**

(Central Glass Co., Ltd., *Central Service Co., Ltd., **Fac. Agric. Yamaguchi Univ.)

Coating resin chemical fertilizer using alkyd resin and polyethylene resin is added into soils, and it is a problem that these resins remain in the soils. Therefore, we investigated the degradation of these resins in the soils.

The results obtained were as follows.

1) The degradation ratio of alkyd resin was higher than polyethylene resin. Three month later, the former was 4.5% and the latter was below 0.5%. The result that the degradation ratio of alkyd resin was higher in soil with a high humus content suggested that the degradation of the coating material is microbiological.

2) There were no differences between alkyd and polyethylene resins in the number of microorganisms on the coating membrane surface and in the soil around the coating membrane, but the number of fungi in the former was about 100 times higher in the coating membrane and was about 10 times higher in the soil around the coating membrane than in the latter. In addition, using the trial box for the measurement of enzymatic activity, soil enzymatic activity concerned with the degradation of alkyd resin membrane was measured, and the results showed that the activity of the soil enzymes was high nearer the membrane.

3) Under field conditions, we took the buried membrane out of soils and observed its surface by electron microscopy. It was observed that the surface of the alkyd resin membrane was consequently degraded than the surface of polyethylene resin.

These results definitely show that the alkyd resin membrane was degraded faster than the polyethylene resin membrane by the microorganisms in soils, and it thus appears to be a good material for use in coated fertilizer.

Key words alkyd resin, biological degradation, coating fertilizer, polyethylene resin, soil enzyme

(Jpn. J. Soil Sci. Plant Nutr., 66, 247-252, 1995)