

平成 30 年 6 月 15 日現在

機関番号：32615

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K21372

研究課題名(和文)水田土壌からの亜硝酸ガス発生メカニズムの解明

研究課題名(英文)Understanding the mechanism of gaseous nitrous acid emissions from rice paddy soils

研究代表者

峰島 知芳(Minejima, Chika)

国際基督教大学・教養学部・准教授

研究者番号：20550198

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：亜硝酸ガス(HONO)は、大気の大気自浄能力を担うヒドロキシルラジカル(OH)に変化する物質である。しかし、その発生源は未解明である。新たな発生源として土壌に着目し、HONO発生量とメカニズムを調べた。水田土壌と、下水処理場で使用される活性汚泥を対象に選んだ。水田土壌は、施肥と水管理の為に、土壌中の硝化・脱窒のプロセスがユニークである。活性汚泥は、硝化菌・脱窒菌の塊である。結果、水田からのHONO発生は、大気の大気自浄能力に無視できない影響を与えることがわかった。活性汚泥からもHONO発生が確認され、HONO発生の主な経路は生物学的なプロセスであった。

研究成果の概要(英文)：Gaseous nitrous acid, HONO, changes chemically into hydroxyl radical, OH, which is a cleanser of the atmosphere. Despite its importance, its source is not fully understood. I focused on soil, especially rice paddy soils and activated sludge widely used at waste treatment plants as new HONO sources. Fertilizer is applied and water level is managed in the rice paddy, thus nitrification/denitrification processes are unique. Activated sludge is aggregate of nitrifying/denitrifying bacteria. As a result, the amount of HONO emitted by rice paddy soil has non-negligible influence on the atmosphere's cleansing ability. Significant amount of HONO emission was confirmed from activated sludge and the main emission process was found out to be biological.

研究分野：大気化学

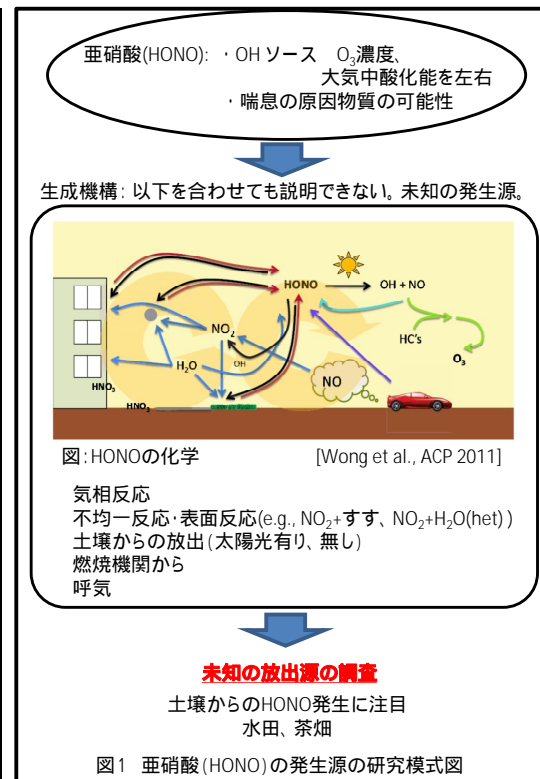
キーワード：硝化 大気 HONO 活性汚泥 水田 亜硝酸 ナイトレイト 窒素酸化物

1. 研究開始当初の背景

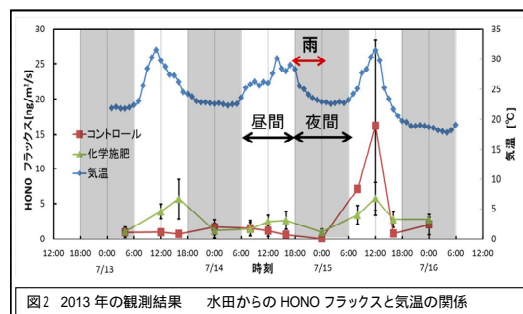
大気中の HONO は OH の主要な発生源の一つである。OH は、大気中における酸化剤であると同時に、人体に有害な光化学オキシダントの主成分であるオゾン (O₃) 濃度を左右する非常に重要な物質である。その為、その大気中の化学反応を論じる際には、濃度を正確に知る必要がある。しかし、反応性が非常に高い為に、濃度計測が非常に難しい物質である。そこで、濃度を推測する第二の方法として、その生成源、消失源を正確に知る方法がある。OH の早朝における主な生成源は多くの場合 HONO である。さらに、最近の研究では、日中でも大気中の OH 生成に対する高い寄与率が報告されている (Ren *et al.*, 2006)。HONO に注目するもう一つの理由として、HONO は喘息を引き起こす可能性が高いとの指摘がある (大山ら, 2012)。**それにも関わらず、HONO の発生源の全容は未解明であり、大気中の HONO 濃度を説明する為には、新たな発生源が必要とされている** (Zhang *et al.*, 2010)。特に、日中には光解離により分解して低濃度になると考えられてきたが、日中でも高濃度が観測された事例が報告され、新たな発生源の存在が示唆されている。

その一つの可能性として土壌がある。Su らは、土壌中からの HONO 発生量が大气中の HONO の missing source である可能性があるとしてモデル計算で示した (Su *et al.*, Science 2011)。亜硝酸イオン (NO₂⁻) は、土壌中で次のような平衡にある。NO₂⁻ + H⁺ ⇌ HNO₂ (liq.) この HNO₂ (liq.) がヘンリーの法則に則って気体の HNO₂ (gas) として蒸発したものが HONO である。この平衡は、温度が高くなると、HNO₂ (liq.) 側に傾く為、日中の HONO の十分な発生源となり得るというものである。

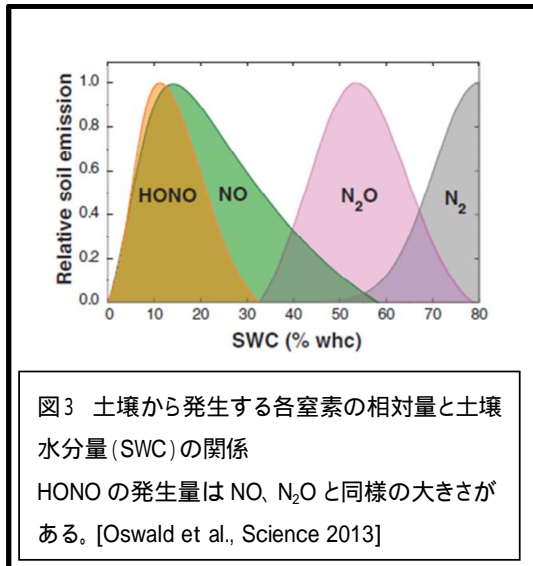
そこで、申請者は 2012 年度に、水田に於ける HONO の計測を開始した。水田で観測を行った理由は、肥料施肥により、多量の窒素が含まれていること、灌水時には、窒素はア



ンモニア態窒素で存在するが、水田の中干し時に酸素が供給され、一気に NH₄⁺ から NO₂⁻ へ形を変え、HONO として放出されると考えたからである。また、日本には水田が多く、排水等の水管理に伴い、ある時期特有に HONO が多量に生成する可能性があると考えられるからである。**2013 年度の観測では、水田の中干し時期に於ける HONO の発生を確認すると同時に、発生量が気温と相関があることが確かめられた。**結果は、大気化学討論会で発表した (図 2)。**そこで、これからは水田土壌からの HONO の発生メカニズムを明らかにすることを目的としたい。**2013 年 9 月に、水田土壌等ではアンモニア酸化細菌が HONO を直接排出している例が報告がなされた (Oswald *et al.*, Science 2013)。Oswald らはその中



で、HONO の発生量は、土壌からの NO, N₂O, N₂ の発生と同様の量であり、発生は土壌中の水分量に依存していると報告した (図 3)。土壌中からの HONO の発生は、大気中の HONO 濃度に影響を与え、大気中の光化学オキシダントの量を左右するだけでなく、土壌の窒素循環のこれまでの常識を覆す可能性が出てきた。



2. 研究の目的

申請者は、**水田土壌に於ける HONO 発生メカニズムを解明する。**水田土壌からの HONO 発生が化学平衡によるものか、微生物由来のものなのか、主な過程を明らかにする。また、水田の中干しは、土壌水分が刻々と減少する系である。そこで、**中干しの際に放出される窒素の化学形態の変化 (N₂O, NO, HONO) の時間経過を観測で明らかにする。**また、**HONO が発生しやすい条件 (温度、pH、土壌水分量、窒素含有量) を明らかにする。**

水田土壌は、東アジアに広く存在する。**水田が広がる地域の OH 生成メカニズム、つまり光化学オキシダント発生要因に関して解明され、より効率のよい抑制対策につながる**ことが期待される。また、これまで理解されていた土壌中の窒素循環について一石を投じ、これまで解明されてこなかった水田土壌中窒素の物質収支を説明する大きな一助と

なる。

3. 研究の方法

(1) 水田土壌を用いたポット試験

水田土壌を採取し、ポットを設置し、HONO の発生量を確認した。アンモニア態窒素の量が HONO の発生量に正の影響を与えると考えた為、窒素施肥量を変化させた。

(2) 活性汚泥を用いたポット試験

(i) 菌叢の塊である活性汚泥を用い、条件をコントロールしやすい室内に於けるポット試験を行い、HONO が発生しやすい条件を探った。これは、土壌よりも活性汚泥のほうが HONO を発生させるメカニズムが化学的なプロセスによるものか、生物的なメカニズムによるものか、明らかにしやすいと考えた為である。(ii) そのため、活性汚泥の上澄みを滅菌し、HONO 発生量を調べた。(iii) 次に、生物的なプロセス中、硝化最近による HONO 発生量と脱窒細菌による HONO 発生量の比較を行った。硝化最近の好む好気条件、脱窒最近の好む嫌気条件と、条件を変化させた場合の HONO 発生量の変化を調べた。(iv) 次に、好気条件のみで活性汚泥を馴養し、HONO 発生量を調べた。

(v) 汚泥の馴養条件を変更し、窒素負荷の大きい条件から、炭素分の大きい条件へと変更し、HONO の発生量を計測した。炭素分の濃度が、硝化菌、脱窒菌の活性に与える影響について比較した。

(vi) pH の違いによる HONO 発生量の違いを計測した。

(vii) HONO 発生メカニズムを明らかにするために、より高時間分解能の HONO 測定装置、air-dragged aqua-membrane-type denuder (ADAMD) を開発した。

4. 研究成果

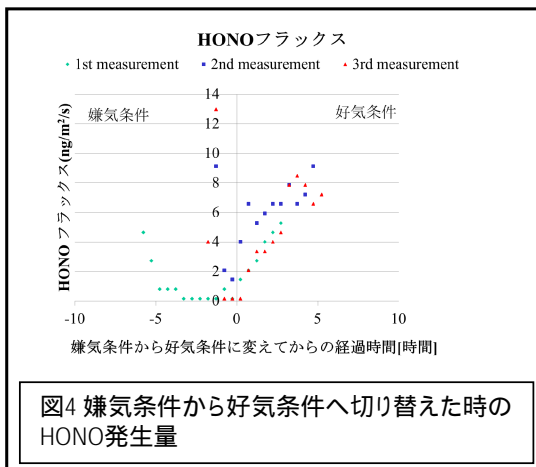
(1) 水田土壌を用いたポット試験

HONO が最大 25ng/m²/s 発生した。実際の水

田から発生した HONO フラックスとはほぼ同量であった。施肥量を増量した結果、HONO 発生量が増加すると予想したが、予想した効果は得られなかった。施肥増量による pH の変化等、バクテリアの活性を変化させる要因となったことが考えられる。

(2) 活性汚泥を用いたポット試験

(i) 最大 $654 \text{ ng/m}^2/\text{s}$ の HONO フラックスを観測した。水田と比べて、10 倍以上の量だった。(ii) 滅菌した条件での HONO 発生量は、無滅菌状態の 1.6 % で、HONO 発生がほとんど生物的な過程によることがわかった。(iii) 好気条件と嫌気条件に於ける HONO 発生量を比較すると、好気条件での平均は、 $456 \text{ ng/m}^2/\text{s}$ であり、嫌気条件での平均は、 $102 \text{ ng/m}^2/\text{s}$ であった。好気条件のほうが、嫌気条件の 4 倍の HONO 発生量があった。



(iv) しかし、好気条件のみを継続して活性汚泥を馴養した場合、HONO 発生は見られなかった。

(v) 炭素分の濃度による HONO 発生量への影響は、現時点では見られなかった。

(vi) HONO 発生量の多い pH は、7.1 から 7.6 であった。これは、 NH_4^+ イオンを NO_2^- イオンに硝化する細菌 *Nitrosomonas* と、 NO_2^- を NO_3^- に硝化する最近 *Nitrobacter* の活性が最大になる pH と一致している。

(vii) ADAMD を作成し、30 分毎の HONO 発

生量測定が可能となった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 2 件)

- Masayuki Ohyama, Ichiro Horie, Yoichiro Isohama, Kenichi Azuma, Shuichi Adachi, Chika Minejima and Norimichi Takenaka, Effects of nitrous acid exposure on baseline, pulmonary resistance and Muc5ac in rats, *Inhalation Toxicology*, <https://doi.org/10.1080/08958378.2018.1476628>, 2018.
- 大山正幸, 東賢一, 峰島知芳, 安達修一, 竹中規訓: "亜硝酸ガスのモルモット暴露による特異的気道抵抗への影響", 建築物環境衛生管理全国大会抄録集, 43, 90-91, 2016.

[学会発表](計 17 件)

- 15th IGAC Science Conference, 2018, 2018/9/25-29, Measurements of Gaseous Nitrous Acid Emission from Activated Sludge in a Wastewater Treatment Plant, Chika Minejima, Moe Tejima, Tomoyuki Miyashita, Shohei Riya, Norimichi Takenaka, Akihiko Terada, Masaaki Hosomi, Masayuki Ohyama, Keiichi Sato.
- 日本地球惑星科学連合 2018 年大会, 2018/5/20-26, 幕張, GC/MS and IC Analysis of Nicotine Reaction with HONO, ~As the first step of examining the effect of surfactant on carcinogen formation~, Chika Minejima, Kena Hiromoto, Kazutoshi Sugita, Masayuki Ohyama, Akihiko Terada, Masaaki Hosomi, Keiichi Sato.
- 日本地球惑星科学連合 2018 年大会 Japan Geoscience Union Meeting 2018,

- 2018/5/20-26, 幕張, Measurements of Gaseous Nitrous Acid Emission from Activated Sludge in a Wastewater Treatment Plant, **Chika Minejima**, Moe Tejima, Tomoyuki Miyashita, Norimichi Takenaka, Akihiko Terada, Masaaki Hosomi, Masayuki Ohyama, Keiichi Sato.
4. 日本薬学会第138回年会, 2018/3/26-28, 金沢, 二酸化窒素と喘息発作の関係における亜硝酸の役割 (Role of nitrous acid in relationship between nitrogen dioxide and asthma attack), 大山正幸, 中島孝江, **峰島知芳**, 東賢一, 板野泰之, 竹中規訓.
 5. Japan ICU Foundation Undergraduate Research day, 2018/2/24, Tokyo, GC/MS and IC Analysis of nicotine reacting with HONO ~As the first step of examining the effect of surfactant on carcinogen formation~, Kena Hiromoto, **Chika Minejima**, Kazutoshi Sugita, Masayuki Ohyama, Akihiko Terada, Masaaki Hosomi, Keiichi Sato.
 6. Japan ICU Foundation Undergraduate Research day, 2018/2/24, Tokyo, The Measurements of Gaseous Nitrous Acid(HONO) Emission from Bacteria Living in a Wastewater Treatment Plant, Moe Tejima, **Chika Minejima**, Tomoyuki Miyashita, Norimichi Takenaka, Akihiko Terada, Masaaki Hosomi, Masayuki Ohyama, Keiichi Sato.
 7. 第58回大気環境学会年会, 2017/9/6-8, 亜硝酸曝露実験動物の肺気腫様変化の直線切片定量法による比較, 大山正幸, 安達修一, 東賢一, 堀江一郎, 磯濱洋一郎, **峰島知芳**, 竹中規訓.
 8. 第58回大気環境学会年会, 2017/9/6-8, 排水処理施設に生息する細菌由来の亜硝酸ガス発生量測定, 手嶋萌映¹⁾, 宮下智之, **峰島知芳**, 竹中規訓, 寺田昭彦, 細見正明, 大山正幸, 佐藤啓市.
 9. Fifteenth Japanese-American Frontiers of Science Symposium 2016/12/2-4, Irvine, California, Where is HONO from?, **Chika Minejima**.
 10. 第57回大気環境学会年会, 2016/9/7-9, 札幌, モルモット特異的気道抵抗に対する亜硝酸曝露の影響 (2), 大山正幸, 東賢一, 安達修一, **峰島知芳**, 竹中規訓.
 11. 第57回大気環境学会年会, 2016/9/7-9, 札幌, ラット呼吸機能に対する亜硝酸曝露の影響, 大山正幸, 東賢一, 安達修一, **峰島知芳**, 磯濱洋一郎, 竹中規訓.
 12. 日本地球惑星科学連合 2016 年大会 国際セッション Japan Geoscience Union Meeting 2016 International Symposium Program, 2016/5/22-26, Makuhari, Japan, Measurements of Gaseous Nitrous Acid (HONO) Emission from Activated Sludge and Denitrifying Bacteria, **Chika Minejima**, Tomoyuki Miyashita.
 13. 第89回日本薬学会年会 2016/3/9-11, パシフィコ横浜 会議センター, Effects of Nitrous Acid Exposure on Specific Airway Resistance of Guinea Pigs (邦題: モルモット特異的気道抵抗に対する亜硝酸曝露の影響), Masayuki Ohyama, Kenichi Azuma, **Chika Minejima**, Shuichi Adachi, Norimichi Takenaka.
 14. The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2015 (The Pacifichem 2015 meeting) 2015/12/15-20, Hawaii, Measurements of nitrous acid (HONO) direct emission from rice paddy soil and its contribution to atmospheric HONO,

Chika Minejima, Ray Nakane, Kojiro Shimada, Shohei Riya, Keiichi Sato, Masayuki Ohyama, Akihiko Terada, Masaaki Hosomi.

15. The 13th international conference on the Atmospheric Sciences and Application to Air Quality
2015/11/11-13, Kobe, Measurements of Nitrous Acid (HONO) Direct Emission From Rice Paddy Soil in 2013 and 2014 and Its Contribution to Atmospheric HONO Concentration, **Chika Minejima**, Ray Nakane, Kojiro Shimada, Shohei Riya, Keiichi Sato, Masayuki Ohyama, Akihiko Terada, Masaaki Hosomi.
16. 第56回大気環境学会年会 2015/9/15-17, 東京, モルモット特異的気道抵抗に対する亜硝酸曝露の影響, ○大山正幸, 東賢一, **峰島知芳**, 安達修一, 竹中規訓.
17. 日本薬学会第136回年会 2015/3/26-29, 横浜, モルモット曝露実験における特異的気道抵抗と亜硝酸との関係, ○大山正幸, 東賢一, **峰島知芳**, 安達修一, 竹中規訓.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<https://researchers.icu.ac.jp/icuhp/KgApp?kyoinId=ydddgbomggy>

<http://subsites.icu.ac.jp/people/atmosphere/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

峰島 知芳 (MINEJIMA, Chika)

国際基督教大学・教養学部・自然科学デパートメント・准教授

研究者番号：20550198