

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：32661

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23710018

研究課題名(和文) 湿原における脱窒および亜酸化窒素生成に電子供与体が与える影響

研究課題名(英文) The influence of electron donor on denitrification and nitrous oxide production in wetland ecosystem

研究代表者

千賀 有希子 (SENGA, Yukiko)

東邦大学・理学部・講師

研究者番号：30434210

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円、(間接経費) 1,050,000円

研究成果の概要(和文)：霞ヶ浦の堆積物を用いて脱窒活性と溶存有機物(DOM)の関係を検討した。DOMの分子量が脱窒に与える影響をみるために、分子量の異なる有機物化合物を脱窒活性へ添加した。その結果、脱窒が必ずしもDOMの分子量に支配されないことが解った。さらに、DOMの平均結合エンタルピーが脱窒に与える影響を検討するために、分子量はほぼ同じ(約100)だが平均結合エンタルピーの異なる有機物化合物を脱窒活性へ添加した。その結果、平均結合エンタルピーと脱窒活性に相関はなかった。脱窒とDOMの相互関係を明らかにするためには、さらなる検討が必要であると考えられた。

研究成果の概要(英文)：The influences of dissolved organic matter (DOM) on denitrifying activity were researched with the sediment of Lake Kasumigaura. To examine the molecular weight of DOM on denitrification, the additions of organic compounds with different molecular weight to denitrifying activity were carried out. As a result, denitrification would not necessarily depend on the molecular weight of DOM. Moreover, to examine the mean bond enthalpy of DOM on denitrification, the organic compounds with different mean bond enthalpy but almost similar molecular weight (ca. 100) were added to denitrifying activity. As a result, denitrifying activity and the mean bond enthalpy of DOM did not have the correlation. Future studies are necessary to clarify the interaction of denitrification and DOM.

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：環境学・環境動態解析

キーワード：脱窒 溶存有機物(DOM) 水域

### 1. 研究開始当初の背景

近年、湿原において人為由来の硝酸 ( $\text{NO}_3^-$ ) の負荷量が増加しており富栄養化や酸性化が深刻化しつつある。脱窒は湿原の  $\text{NO}_3^-$  消失を担う重要な過程であるのに加えて温暖化ガスである亜酸化窒素 ( $\text{N}_2\text{O}$ ) を生成するため、その把握が喫緊の課題となっている。これまで湿原の脱窒および  $\text{N}_2\text{O}$  生成に関して多くの報告があるが、未だにそれらの正確な見積もりには至っていない。その原因の1つとして、脱窒の電子供与体である溶存有機物 (DOM) の質とその量がほとんど考慮されていないことが挙げられる。そこで本研究では、湿地における脱窒および  $\text{N}_2\text{O}$  生成に DOM の質とその量が与える影響を解明し、脱窒と  $\text{N}_2\text{O}$  生成に関する新たなモデル構築を目的とする。

### 2. 研究の目的

水域の富栄養化を引き起こす栄養塩の1つである硝酸は、微生物によって大気へ除去される過程が存在する。嫌気条件下で硝酸が亜硝酸と亜酸化窒素を経由して窒素ガスへと還元する脱窒過程である ( $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$ )。この過程は、硝酸を最終的に無毒化し、大気中へ放出する重要な窒素浄化過程であるため、富栄養化した湖沼にとって脱窒のレベルは重要である。

水域の脱窒を支配する環境因子として、これまで  $\text{NO}_3^-$  濃度、溶存酸素 (DO) 濃度、水温などが考慮されてきた。また、脱窒細菌は従属栄養生物であるため、DOM も重要と考えられている。しかしながら、一般的に DOM の量が多い程脱窒にとって有利であると言われているが、DOM の質の影響についてははっきりと解明されておらず、脱窒と DOM には未だ不明な部分が多い。DOM の質が脱窒に与える影響が明らかになれば、水域における脱窒のレベルが把握しやすくなるとともに、窒素動態の予測がより可能になると考えられる。

本研究では、脱窒と DOM の関係を明らかにするために、富栄養湖として有名な霞ヶ浦の堆積物を用いて、まず霞ヶ浦における脱窒活性の変化と底層水および堆積物の有機物量との比較、検討を行った。また、様々な有機物の添加培養実験を行い、DOM の分子量と平均結合エンタルピーが脱窒に与える影響を考察した。

当初の計画では、釧路湿原を研究対象地としていたが申請者の所属が変わるなどしたため、釧路湿原に頻繁に行けなくなり、主な研究対象地を霞ヶ浦とした。

### 3. 研究の方法

霞ヶ浦3地点の堆積物および底層水は1回行った。脱窒活性はアセチレン阻害法で測定した。底層水の溶存有機炭素 (DOC) 濃度は TOC 計で測定した。堆積物の有機物量として 450 の強熱減量を測定した。

DOM の量の影響をみるために、グルコース (Glu) の添加培養実験を行った。Glu を 0, 0.8, 8, 80  $\text{gC L}^{-1}$  となるように (添加した  $\text{NO}_3^-$  が脱窒し得る 100, 1000, 10000 倍の炭素量) 脱窒活性へ添加し、0, 5, 8, 12 時間後に生成される  $\text{N}_2\text{O}$  量を時間を追って測定した。

DOM の質の影響をみるために、実験においては分子量の異なる有機物として Glu, フェノール (Phe), N-アセチル-L-チロシン (Tyr), 硫酸キニーネ二水和物 (Qui), フタル酸水素カリウム (Pht) を、実験では分子量はほぼ同じ (約 100) だが平均結合エンタルピーの異なる有機物であるベンジルアルコール (Ben), カテコール (Cat), 2,3-ジメチルピラジン (Pyr), L-プロリン (Pro), L-セリン (Ser), マロン酸 (Mal) をそれぞれ 0, 0.8, 8  $\text{gC L}^{-1}$  となるように脱窒活性へ添加し、脱窒活性を見積もった。

### 4. 研究成果

#### 脱窒活性と現場有機物との関係

脱窒活性と DOC 濃度および強熱減量の間には相関はなかった。強熱減量は全体を通して 50~80% であり、霞ヶ浦の堆積物中には有機物が豊富に存在していた。従って、 $\text{NO}_3^-$  を脱窒するのに十分な有機物が存在するため、脱窒活性と DOC 濃度および強熱減量は相関がなかったと考えられた。

#### DOM の量の影響

Glu 溶液の濃度を変えて培養を行い、蓄積する  $\text{N}_2\text{O}$  の増加を見たところ、培養 12 時間後の  $\text{N}_2\text{O}$  生成量は 8  $\text{gC L}^{-1}$  の Glu 添加で最大になった (図 1)。0.8 と 80  $\text{gC L}^{-1}$  は同程度で、0  $\text{gC L}^{-1}$  (コントロール) が最も低かった。Glu 添加の最大濃度 80  $\text{gC L}^{-1}$  において  $\text{N}_2\text{O}$  生成量が最大になると予測されたが、80  $\text{gC L}^{-1}$  の Glu の添加より 8  $\text{gC L}^{-1}$  添加の  $\text{N}_2\text{O}$  生成量の方が高かった。これは過剰な Glu に対して脱窒細菌が阻害されたためと考えられた。有機物の添加にともなって脱窒は促進されず、高濃度下では阻害されることが示された。

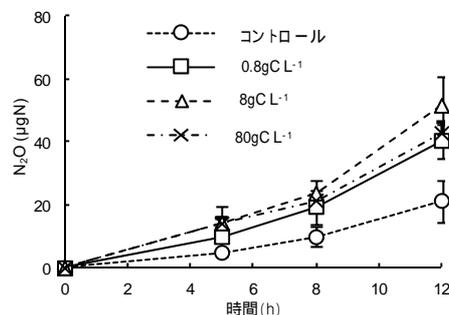


図 1. Glu 添加による  $\text{N}_2\text{O}$  生成量の時間変化

## DOMの質の影響 実験

分子量の異なる有機物を脱窒活性に添加し、コントロールの脱窒活性と比較した(図2). 0.8, 8 gC L<sup>-1</sup> Gluの添加は脱窒を増加させることが分かった. 0.8 gC L<sup>-1</sup> Tyrの添加もまた脱窒を促進させた. Pheの添加は著しく脱窒を抑制した. Pheは微生物活動を阻害する作用を持つため, 脱窒も阻害されたと考えられた. QuiとPhtの添加は脱窒に影響しなかった. 添加した有機物のなかでも高分子であるQuiとPhtは脱窒細菌に分解されにくく, 脱窒を抑制すると予測したが, これらの有機物は脱窒に影響しなかった.

これらの結果より, DOMの質として分子量が脱窒に影響するのではなく, 結合の形態が脱窒を支配すると推察された. 従って, 結合の形態を示す指標として平均結合エンタルピーを考慮し, 結合エンタルピーが小さいDOMほど脱窒細菌が利用しやすく脱窒活性を促進させるという仮説を立てた. 次の実験では分子量が約100で平均結合エンタルピーが異なる有機物を6つ選択し, 添加実験を行った.

## DOMの質の影響 実験

8 gC L<sup>-1</sup> Ben, 0.8, 8 gC L<sup>-1</sup> Cat, 0.8, 8 gC L<sup>-1</sup> Malの添加の脱窒はコントロールより低かった(図3). 8 gC L<sup>-1</sup> Pro, Serの添加は脱窒を増加させた. Benの平均の結合エンタルピーは7128 kJ mol<sup>-1</sup>, Catは6332 kJ mol<sup>-1</sup>, Pyrは6864 kJ mol<sup>-1</sup>, Proは6393 kJ mol<sup>-1</sup>, Serは4920 kJ mol<sup>-1</sup>, Malは4582 kJ mol<sup>-1</sup>であった. 結合エンタルピーと脱窒活性に予測していたような相関はなかった.

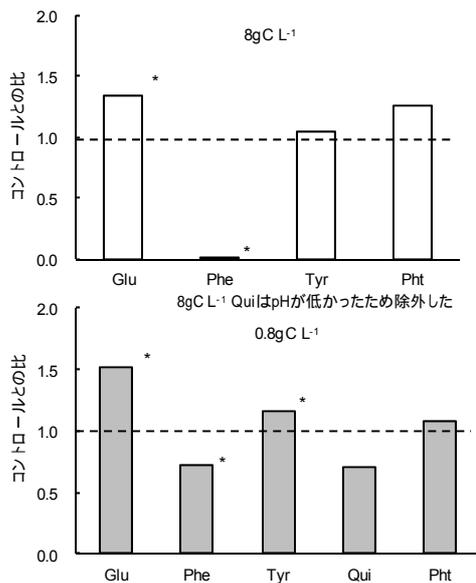


図2. 有機物添加による脱窒活性の変化

\* : 有意差有り

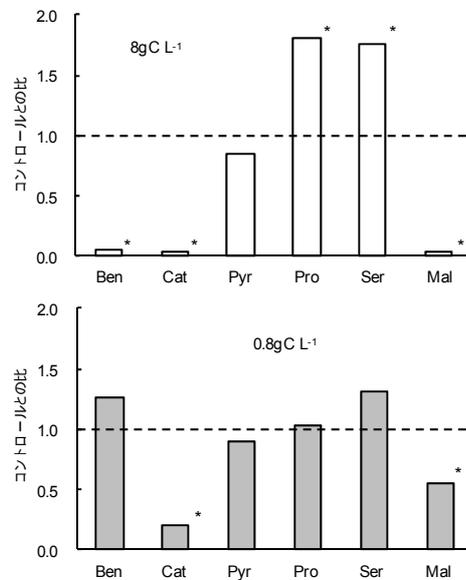


図3. 有機物添加による脱窒活性の変化

\* : 有意差有り

以上の結果より, DOMの質が脱窒に与える影響を分子量および平均結合エンタルピーで説明することは出来なかった. 脱窒に対するDOMの質の影響を明らかにするには, 脱窒細菌が有機物のどこの結合を切断するか, その結合1つ1つの結合エンタルピーおよびその有機物の生理活性を含めたさらなる検討が必要であると考えられた.

## 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 3件)

- 1) 菅原庄吾, 坂本達也, 鮎川和泰, 木元克則, 千賀有希子, 奥村稔, 清家泰 (2012) 有明海北東部タイラギ漁場における海底堆積物中溶存硫化物の経月変化, 日本陸水学雑誌, 73: 23-30, 査読有
- 2) 千賀有希子, 照井滋晴, 野原精一, 広木幹也, 渡辺泰徳 (2011) 釧路湿原内の腐植栄養湖赤沼における水質と植物プランクトンの季節変化, 地球環境研究, 13: 59-66, 査読有
- 3) Senga Y, Hiroki M, Nakamura Y, Watarai Y, Watanabe Y, Nohara S (2011) Vertical profiles of DIN, DOC and microbial activities in the peat soil in Kushiro Mire, northeastern Japan. *Limnology* 12: 17-23, 査読有

〔学会発表〕(計 5件)

- 1) 千賀有希子, 広木幹也, 照井滋晴, 野原精一 (2014年3月17日): 釧路湿原における土壌表層と深層の微生物機能の比較. 日本生態学会第61回大会(広島).

- 2) 大沢雄一郎, 宮内龍太郎, 千賀有希子 (2013年3月6日): 水域の脱窒を支配する環境因子—干潟と淡水湖の比較—. 日本生態学会第60回大会(静岡).
- 3) 宮内龍太郎, 大沢雄一郎, 野原精一, 広木幹也, 千賀有希子(2013年3月6日): 霞ヶ浦における脱窒に対する溶存有機物の影響. 日本生態学会第60回大会(静岡).
- 4) 千賀有希子, 大沢雄一郎, 照井滋晴, 対馬孝治, 白木洋平, 広木幹也, 野原精一 (2012年9月17日): 釧路湿原における土壌間隙水の水質特性. 日本陸水学会第77回大会(名古屋).
- 5) 千賀有希子, 渡辺泰徳, 清家泰 (2011年9月23日): 高溶存酸素環境下が硝化に与える影響. 日本陸水学会第76回大会(松江).

〔図書〕(計 1件)

- 1) 平山直紀, 千賀有希子 (2013): これからの環境分析化学入門, 第10章. 化学平衡, p. 134-157, 講談社サイエンティフィク.

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

取得状況(計 0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年月日:  
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等  
無し.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

千賀 有希子 (SENGA, Yukiko)  
東邦大学・理学部・講師  
研究者番号: 30434210

### (2) 研究分担者

無し.

( )

研究者番号:

(3) 連携研究者  
無し.

( )

研究者番号: