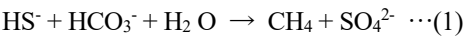


無機炭素と硫化物を用いた嫌氣的硫黄酸化反応に関する評価

長岡技術科学大学大学院 学生会員 ○中久保敬悟 正会員 幡本将史 渡利高大 山口隆司

1. はじめに

低濃度有機性排水を処理する Up-flow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) リアクターにおいて、リアクター下部で硫酸塩の還元により発生した硫化物がリアクター上部で再び硫酸塩へ酸化される嫌氣的硫黄酸化反応が確認された¹⁾。本反応は、酸素、硝酸、亜硝酸などの電子受容体や光が存在しない環境下で起こることから新規の反応であると考えられる。既往の研究から、有機の炭素源として乳酸塩や糖蜜、硫黄源として硫酸塩を供給することにより本反応を再現してきた¹⁾。また、嫌氣的硫黄酸化反応は、流入水の温度が 6～17℃の低温、pH が 7～8 の中性、ORP が -200～-300 mV の嫌気条件下において発生することが報告されており¹⁾、リアクター内の炭素と硫黄の動態から、本反応は式 (1) に従い進行すると考えている²⁾。



これまでに本反応の進行は、リアクターにおける連続通水試験により確認されてきた。本研究では、バッチ試験においても嫌氣的硫黄酸化反応が発現するか評価を行うため、重炭酸塩と硫化物を添加してバッチ試験を行った。

2. 試験方法

2.1. 植種汚泥

図 1 に植種汚泥を採取した UASB リアクターを示す。リアクターは、総容積：13.7 L のものを使用した。模擬廃水として、(1) 糖蜜、(2) 硫酸ナトリウム + リン酸緩衝液を使用した。模擬廃水は濃縮液ストックを作製後、流入地点において COD が 200 mg/L、硫酸塩濃度が 1.5 mM となるように水道水で希釈してリアクター下部から供給した。pH はリン酸緩衝液を使用することにより 7.5 程度に調製した。また、水温はウォータージャケットにより 10～12℃に制御し、水理学的滞留時間 (Hydraulic Retention Time: HRT) は 8 時間に設定して運転した。バッチ試験に使用する植種汚泥は、嫌氣的硫黄酸化反進行時に UASB リアクターにて採取したものを使用した。汚泥の採取場所は、嫌氣的硫黄酸化反応が確認されたリアクター高さ 0.1～0.3 m の 3 地点とした。また、使用する汚泥対し、16S rRNA 遺伝子を対象とした微生物群集構造

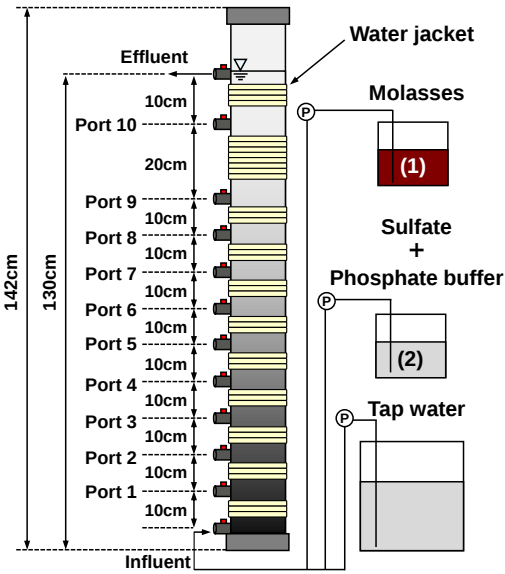


図 1. 植種汚泥を採取した UASB リアクター

表 2. 培地の組成

物質名	添加量
NH ₄ Cl	0.56 (g/L)
K ₂ HPO ₄	1.05 (g/L)
NaH ₂ PO ₄ ・2H ₂ O	0.21 (g/L)
MgCl ₂ ・6H ₂ O	0.21 (g/L)
CaCl ₂ ・2H ₂ O	0.15 (g/L)
Resazurin sol.	1.05 (mL/L)
Vitamin sol.	2.10 (mL/L)
Trace elements sol.	1.05 (mL/L)
Se/W sol.	1.05 (mL/L)

解析を行った。DNA 抽出は Fast DNA Spin Kit for Soil (MP Biomedicals) を用いて行った。PCR 増幅には 515F/806R のプライマーセットを用いた。PCR 増幅産物は QIAquick PCR Purification Kit (QIAGEN) を用いて精製し、その後、iSeq 100 により塩基配列を決定した。得られた 16S rRNA 遺伝子データは、QIIME 2 ソフトウェアにより解析を行った。

2.2. 使用した培地

表 1 に本実験に使用した培地の組成を示す。培地は Widdel 培地の組成を参考に、リン酸緩衝液で pH が中性となるように調製した。

キーワード 嫌気性処理, UASBリアクター, 嫌氣的硫黄酸化, バッチ試験
連絡先 〒940-2188 新潟県長岡市上富岡町1603-1 TEL 0258-46-6000

2.3. バッチ試験条件

バッチ試験には容積 720 mL のバイアル瓶を使用した。内容物は培地を 475 mL、汚泥を 25 mL の全量 500 mL とした。バイアル瓶内に培地と汚泥を入れたのち、30 分以上の窒素パージを行い密封した。また、対照区用のバイアルは、密封後オートクレーブをすることで滅菌処理を行った。その後、重炭酸塩、硫化物の終濃度が 1.0 mM となるように添加したのち、水温を 10°C に保ったウォーターバス内に設置して暗室条件で振盪を行った。

2.4. 分析方法

サンプリングは、気相部のサンプリングしたのち、窒素ガスを注入しながら液相部のサンプリングを行った。硫酸塩、重炭酸塩濃度の測定は、キャピラリー電気泳動装置 (Agilent 7100, Agilent technology) を用いて行った。溶存硫化物濃度については下水試験方法のヨウ素滴定法に準じて測定した。溶存メタンは、ガスクロマトグラフィー-TCD (GC-8A, 島津製作所) を用いて測定した。

3. 試験結果と考察

図 2 に植種汚泥に対し 16S rRNA 遺伝子を対象として微生物群集構造解析を行った結果を示す。結果より硫黄の代謝にかかわる硫酸還元細菌の *Desulfobulbus* 属が 2% 程度存在し、メタン生成にかかわる古細菌の *Methanosaeta* 属が 7% 程度存在していた。

図 3 に嫌氣的硫黄酸化反応が進行する UASB リアクターから採取した微生物汚泥を用い、硫化物と重炭酸塩をバイアル瓶に投与したバッチ試験における各濃度の経時変化を示す。硫化物は試験区において 3.5 h で 0.34 mM、対照区において 3 h で 0.18 mM 消費された。このことから硫化物消費速度は、試験区 (化学反応 + 生物反応) で 0.10 mM/h、対照区 (化学反応のみ) で 0.06 mM/h となり、生物反応のみでは 0.04 mM/h の速度で消費されることが分かった。硫酸塩は試験区において 0.26 mM 生成されたが、対照区で検出限界値以下であった。このことから硫酸塩は 0.07 mM/h の速度で生成されることが分かった。以上の硫黄成分の動態から嫌氣的硫黄酸化反応が起きていることが示唆された。重炭酸塩は試験区において 3.5 h で 0.32 mM、対照区において 3 h で 0.04 mM 消費された。このことから重炭酸塩消費速度は、試験区 (化学反応 + 生物反応) で 0.09 mM/h、対照区 (化学反応のみ) で 0.01 mM/h となり、生物反応のみでは 0.08 mM/h の速度で消費されることが分かった。メタンは試験区で 0.33 mM 生成されたが、対照区では検出限界値以下であった。このこ

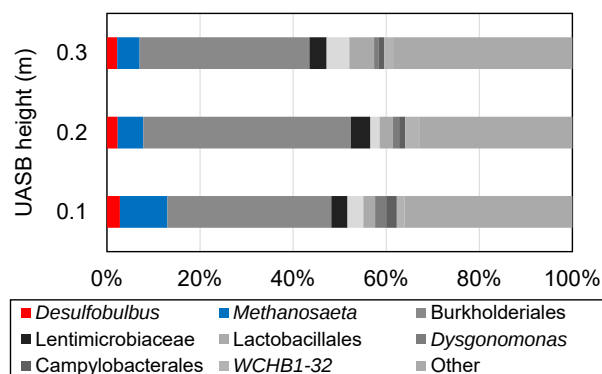


図 2. 植種汚泥の微生物群集構造解析結果

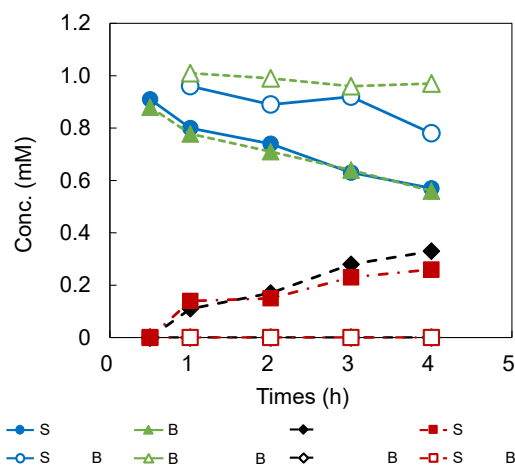


図 3. 嫌氣的硫黄酸化反応が進行する UASB リアクターから採取した微生物汚泥を用い、硫化物と重炭酸塩をバイアル瓶に投与したバッチ試験における各濃度の経時変化。

とからメタンは 0.08 mM/h の速度で生成されることが分かった。重炭酸塩消費速度とメタン生成速度が等しいことから、嫌氣的硫黄酸化反応により重炭酸塩からメタンが生成されていることが示唆された。

4. おわりに

本研究ではバッチ試験により無機の炭素源として重炭酸塩、硫黄源として硫化物を添加した際の嫌氣的硫黄酸化反応の発現に関する評価を行った。その結果、硫黄成分と炭素成分の動態から、嫌氣的硫黄酸化反応が進行することが確認された。また、植種汚泥中から硫黄代謝に関わる硫酸塩還元細菌の *Desulfobulbus* 属とメタン生成に関わるメタン生成古細菌の *Methanosaeta* 属が検出されたことから、これらの微生物が反応に関与しているのではないかと考えられる。

参考文献：

- 1) 大槻ら,第 48 回日本水環境学会年會講演要旨 p.504, 2014.
- 2) 幡本ら,日本微生物生態学誌, 29(2):p.76-77, 2014.