

酸性河川における鉄酸化バクテリアの鉄酸化作用に関する研究

東北大学 学生員 大久保孝樹
東北大学 正会員 野池 達也
東北大学 学生員 沢口 明

1. はじめに; 鉄酸化バクテリアは、主に硫化鉄を含有する鉱山地域に生息し、その排水中の第一鉄を第二鉄に酸化することによって増殖のエネルギーを得ている。北上川の二次交川である赤川では、処理場が建設される以前、河床に付着した鉄酸化バクテリアによって鉄酸化作用が行なわれていたことが調査によって報告されていた。本研究では、このような酸性河川中の鉄酸化バクテリアによる鉄酸化作用の機構を解明し、また、河川中で浮遊菌と付着菌の二種の存在形態を有する鉄酸化バクテリアの挙動およびその相互関係を把握することを目的としている。その一部として、今回の連続実験では、滞留時間による鉄酸化バクテリアの挙動に対する影響について検討を行なった。また、付着菌が粘質物を担体としその中に存在することが知られており、粘質物中の酸素の拡散抵抗により鉄酸化反応が遅速される可能性が考えられるため、その予備的なものとして浮遊菌を用いた回分実験によって鉄酸化バクテリアのDO依存性について検討を行なった。

2. 実験装置および方法; 連続実験および回分実験装置は(図-1)(図-2)に示す通りである。鉄酸化バクテリアは赤川より採取したもので、9K培地30℃での通気培養を数日間相入れ継いだものを使用している。

①連続実験では、鉄酸化バクテリアを壁面に付着させるため数日間回分状態を続けて鉄沈着物に付着させた後(表-1)に示す基質を連続投入した。滞留時間を約4~25 hrの間で変化させ、水温25℃、流入基質濃度500 mg/lのもので実験を行なった。②回分実験では、9K培地25℃で馴致した鉄酸化バクテリアを遠心分離器で収穫したものを利用した。初期基質濃度は、140 mg-Fe²⁺/l ~ 1900 mg-Fe²⁺/l の範囲で設定し、栄養塩類を除いたものを利用した。

3. 実験結果および考察; ①連続実験:(図-3)に滞留時間(θ)と槽内第一鉄濃度(S)の関係を示す。θとSは、θ=23.3 hrの点を除くと直線関係にあり基質に関し0次反応であると仮定した場合の式 $S = S_0 - k_0 \cdot \theta$ の関係式によって表現することが可能である。直線回帰によりS₀およびk₀を求めた結果S=438 mg/l、k₀=23.5 mg/l・hrとなった。実験の各Runにおいて流入基質が430~470の間でランダムな値をとっているため、

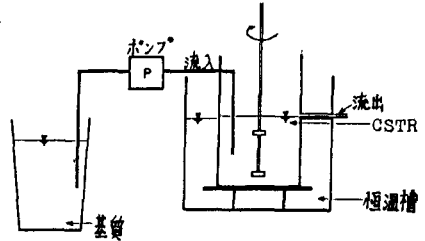


図-1 連続実験装置の概略

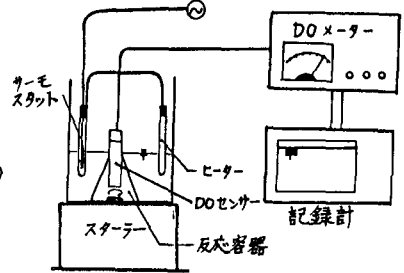


図-2 回分実験装置の概略

表-1 基質組成(1l中)

成分	量
FeSO ₄ ·7H ₂ O	2.5 g (Fe ²⁺ =500mg/l)
(NH ₄) ₂ SO ₄	166.67 mg
MgSO ₄ ·7H ₂ O	27.67 mg
KCl	5.56 mg
K ₂ HPO ₄	27.76 mg
Ca(NO ₃) ₂	0.556 mg
10N H ₂ SO ₄	1 ml

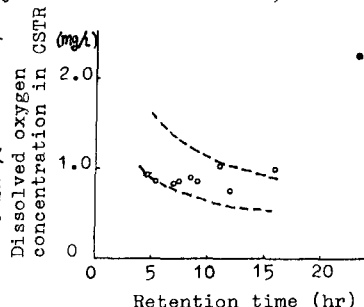


図-4 槽内溶解酸素濃度と滞留時間の関係

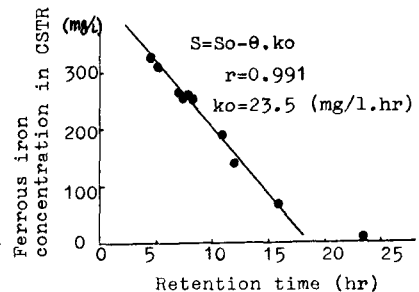


図-3 槽内第一鉄濃度と滞留時間の関係

S_0 を固定せずに個々の k_0 を計算した結果、 $k_0=26.0 \text{ mg/l}\cdot\text{hr}$ となったが、前者とほぼ一致する値が得られている。(図-4)は、滞留時間と槽内DOの関係を示したもので、図中の破線は、 $k_0=25.0 \text{ mg/l}\cdot\text{hr}$ 、流入DOの変化巾2.5～5.4 mg/l の値と(図-5)の関係式を用い計算した曲線である。ほぼ破線の中に実が入り0次反応が成立していることが示されている。一般に生物膜の基質消費速度は1～1/2次の反応に従うことが知られており、この実験で0次反応に従ったかは不明であり、今後DOを制御した実験を行い考察する必要性があると思われる。(図-5)は比基質消費速度と比酸素消費速度の関係を示したもので、酸素収支より得られた式の直線回帰により、 $\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$ の重量比を表わす a と内性呼吸を表現する項 b を求めた結果それぞれ、 $0.1343 (\text{mg-O}_2/\text{mg-Fe}^{2+})$ 、 $6.18 \times 10^{-13} (\text{mg/cell}\cdot\text{hr})$ の結果が得られた。 a の値は化学量論的に求められた比0.14とほぼ一致する値である。(図-6)は、 $\mu = XF/A$ の式を用い計算した増殖速度と槽内基質濃度の関係を示したものである。2回に分け実験を行なったものであるが、この関係については再現性がなく定量的な把握は困難である。しかし、定性的な傾向として基質濃度が減少するに伴い増殖速度も減少していることが示されている。(図-7)は、比基質消費速度と比増殖速度の関係を示したものである。この結果も再現性に乏しいが、増殖収率($\text{cells}/\text{mg-Fe}^{2+}$)が $10^6 \sim 10^7$ のオーダーに存在することが示されている。

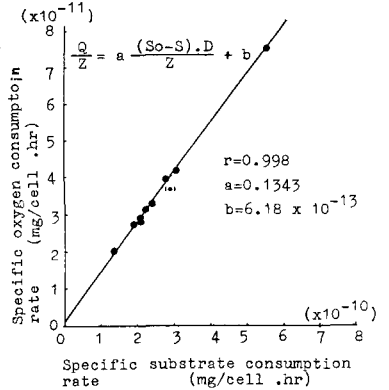


図-5 比基質消費速度と比酸素消費速度の関係

② 回分実験の結果を(図-9)～(図-10)に示す。(図-9)は、ホフステープロットによって得られた動力学定数を用いM-M式の形で表現したものである。基質飽和定数 $K_{m\text{Fe}}$ は、 $0.023 \sim 0.99 (\text{mg/l})$ の範囲にあり、平均すると 0.053 mg/l となり、 O_2 に対する親和性が非常に高いことが示された。また、消費速度が双曲線的に変化する点として定義される臨界濃度酸素濃度を大ざっぱな目安として求めると $0.25 \sim 0.5 \text{ mg/l}$ の範囲に存在することが図より読み取れる。(図-9)は、(図-8)の最大比呼吸速度と平均酸素濃度を用いS-Sプロットをしたものである。このプロットより基質に関するM-M式を求めることができ、(図-10)の式が得られた。ここで得られた K_m は、 $31.7 \sim 525 \text{ mg/l}$ の範囲にあると言われている中で高い値に属しており、 Fe^{2+} の拮抗阻害 x_{Fe} の影響が考えられる。 $\mu_{\text{maxO}_2} = 3.114 \times 10^{-10} \text{ mg/cell}\cdot\text{hr}$ を量論比0.14によって基質消費速度に換算すると $21.8 \times 10^{-10} \text{ mg/cell}\cdot\text{hr}$ が得られ、海田氏の $36.0 \times 10^{-10} \text{ mg/cell}\cdot\text{hr}$ の値とオーダー的に一致している。2基質反応の単純なモデルを使うと、

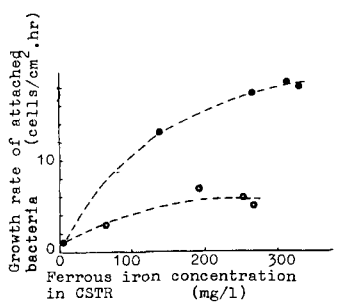


図-6 槽内鉄濃度と単位面積当りの増殖速度の関係

$$\mu_{\text{O}_2} = \frac{21.8 \times 10^{-10} \cdot S}{564 + S} \cdot \frac{\{DO\}}{0.053 + \{DO\}}$$

の関係式が得られる。(参考文献: S. OHGAKI et al Water Research Vol 12 p243, to 249)

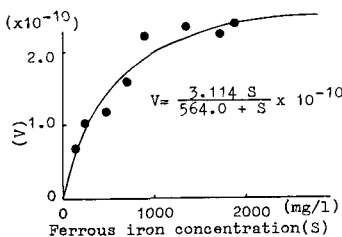


図-10 基質濃度(Fe^{2+})に対するM-M式

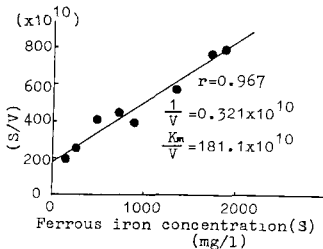


図-9 (図-8)の各基質濃度に対する μ_{maxO_2} を用いたホフステープロット

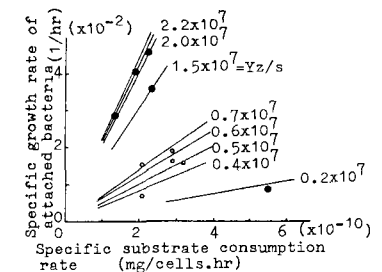


図-7 比基質消費速度と比増殖速度の関係

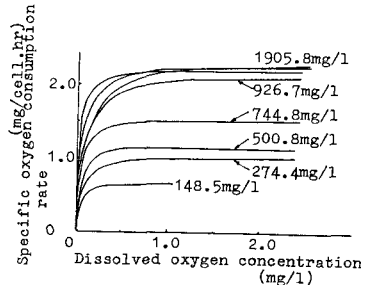


図-8 回分実験により得られたM-M式