

VII-14

嫌気性条件下での底泥からのリン溶出に関する基礎的研究

岩手大学工学部 学生員 ○八巻智彦 奈良一徳
同 上 正 員 伊藤 歩 相沢治郎 海田輝之

1.はじめに

栄養塩類を取り込み増殖する植物プランクトン、もしくはそれらの消費者が死滅し沈降することにより、底部に堆積したリン化合物の一部は嫌気性状態になると溶出し、富栄養化を促進する原因の一つになる。そのような条件下での底泥からのリンの溶出に与える嫌気性細菌の影響は、ほとんど検討されていない。本研究では嫌気条件下での鉄還元菌と硫酸還元菌の働きに着目し、底泥からのリンの溶出機構を検討した。

2.実験条件及び方法

2.1 鉄還元菌の継代培養実験

実験試料は盛岡市高松の池から採取した底泥を用いた。底泥中の鉄還元菌の存在を確認するために、表-1 に示す組成の培地（Lovley らの用いた培地の改変培地）1L を滅菌し、表-2 に示す条件で培養を行った。Run 1 では培地のみとし、Run 2 では底泥を乾燥重量で 10g、Run 3 では底泥を乾燥重量で 5g、Run 4 では Run3 の 20 日目における培養液 100mL をそれぞれ添加した。無酸素状態にするために窒素曝気を行った後、25℃の恒温室で振とう培養を行った。なお、初期 pH は全ての条件で 7 付近に調整した。

分析項目は、塩酸可溶性鉄、pH、酸化還元電位とした。各項目について経時的に測定し、試料の採取後には毎回窒素曝気を行ってから再び振とうした。

2.2 リン酸第二鉄からのリンの溶出実験

実験条件を表-3 に示す。Run 5 では上述の改変培地から乳酸ナトリウムを除き、Run 6, 8 では改変培地に実験初期に Na_2SO_4 を 1g/L 添加し、Run 7, 8 では改変培地に Run 4 の培養液を培地 2L に対し 0.2L 添加した。25℃の恒温室で振とう培養を行った。Run 9 は Run 7 の実験後半から Na_2SO_4 と、あらかじめ改変 PE 培地で硫酸還元菌を培養した培養液を添加した後、スターラを用い培養した。

分析項目は、前述に加え溶存鉄、溶存リン酸態リン（モリブデン青吸光度法）、溶存有機炭素、硫酸イオンとした。溶存鉄、溶存リン酸態リン、溶存有機炭素、硫酸イオンの分析は、試料を 5,000rpm で 10 分間遠心分離し 1μm のメンブレンフィルターでろ過したろ液について行った。

3.実験結果及び考察

図-1 に鉄還元菌の継代培養実験における塩酸可溶性第一鉄濃度の経日変化を示す。まず、Run 2 で Run 3, 4 に比べて初期濃度が高いのは、Run 2 と Run 3, 4 の底泥が異なり、Run 2 の底泥が多量に含んでいたためである。培地のみの Run 1 では、第一鉄濃度の変化はほとんどみられなかったことから、電子供与体である溶存有機物が化学的にリン酸第二鉄を還元しないことがわかる。また、Run 2 をみると、初期濃度からの大きな変化はあまりみられず、このことから滅菌した底泥ではリン酸第二鉄が化学的に還元されないことがわかる。次に、底泥を添加した Run 3 をみると実験開始から 15 日目まで緩やかな第一鉄濃度の増加がみられ、15 日目から 20 日目にかけて第一鉄濃度が約 0.36g/L から 0.96g/L に増加した。これらの結果から底泥中の鉄還元菌が第二鉄を第一鉄に還元したと考えられる。また、この培養液を再度新しい培地に添加し培養した Run 4 では、実験開始から 9 日目にかけ顕著な第一鉄濃度の増加がみられた。この結果から実験に用いた底泥中の鉄還元菌の存在が確認でき、その馴養ができることがわかった。

リン酸第二鉄からのリンの溶出実験における塩酸可溶性第一鉄濃度、溶存有機炭素濃度、硫酸イオンの経日変化を図-2~4 にそれぞれ示す。なお、溶存鉄濃度は実験期間を通じ、最大で 0.05g/L 程

表-1 培地組成

成分	濃度 (g/l)
基礎培地	
$\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COONa}$	2.3
NaHCO_3	2.5
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.1
KCl	0.1
NH_4Cl	1.5
FePO_4	5.923
酵母エキス	0.05
微量元素	
NaCl	0.1
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.005
$\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.001

表-2 2.1の実験条件

Run	微生物の植種源	底泥の滅菌
1	—	—
2	底泥	有
3	底泥	無
4	Run 3の培養液	無

表-3 2.2の実験条件

Run	乳酸ナトリウム	硫酸ナトリウム	培養液	硫酸還元菌
5	無添加	—	無添加	無添加
6	添加	実験初期に1g/L添加	添加	
7		—		
8		実験初期に1g/L添加		
9		実験後半に2.4g/L添加		実験後半に添加

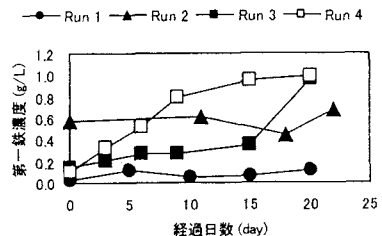


図-1 第一鉄濃度の経日変化（継代培養実験）

度であった。培地のみの Run 5 では、第一鉄濃度と溶存有機炭素濃度の変化はみられなかった。培地に硫酸イオンを添加した Run 6 では硫酸イオン濃度と第一鉄濃度の変化がみられないことから、硫酸イオンは化学的に第二鉄を還元しないことがわかる。Run 4 の培養液のみを添加した Run 7 では、21 日目から 30 日目にかけて第一鉄濃度が 1.7g/L まで急激に増加し、溶存有機炭素も 0.15g/L の減少がみられた。次に、Run 8 では 9 日目あたりから明らかに第一鉄濃度が増加し、その変化が確認されなくなる 30 日目までに 0.25g/L の溶存有機炭素が減少した。また、この間に硫酸イオン濃度が顕著に減少した。一方、第一鉄濃度の増加後の Run 7 において、硫酸還元菌と Na_2SO_4 を添加すると、33 日目から 46 日目までに 0.7g/L の溶存有機炭素が減少し、同時に硫酸イオン濃度の明らかな減少がみられ硫酸還元が生じたことがわかる。

図-5 に溶存リン酸態リン濃度の経日変化を示す。Run 5, 6 では、リン濃度は増加しなかった。30 日目に第一鉄濃度が顕著に増加した Run 7 でリン濃度は 21 日目付近から増加し、32 日目には 0.33g/L に達した。この結果から、鉄還元菌がリン酸第二鉄を還元することによって、リンが溶出したと言える。ここで、添加したリン酸第二鉄がすべて溶出した場合でのリン濃度は約 0.6g/L であり、本条件では約 6 割のリンが溶出したのが分かる。これは、リン酸第二鉄として存在するリンの一部が第二鉄の還元によって生じた第一鉄と結合して不溶性のリン酸第一鉄の形態で存在しているためと考えられる。しかしながら、硫酸還元菌の培養液と Na_2SO_4 を添加した 33 日目以後では、リン酸濃度の更なる増加が生じ、46 日目には総量と同程度のリンが溶出した。これは硫酸還元によって生じた硫化物がリン酸第一鉄と反応し硫化鉄を生成し、リンが溶出してきたものと推察できる。

一方、Run 8 では 13 日目前後からリンの溶出が確認され 30 日目には 0.48g/L のリンが溶出し、総量の約 9 割のリンの溶出が確認できた。この間、溶存有機炭素濃度と硫酸イオン濃度が減少していたことから、鉄還元菌の培養液中に硫酸還元菌が共存しており、鉄還元菌がリン酸第二鉄を還元すると同時に硫酸還元菌が硫酸イオンを還元し硫化物が生成されたことにより、リンが効率的に溶出してきたものと推察できる。この結果から、硫酸還元菌と硫酸イオンは底泥中にリン酸第二鉄として存在するリンの溶出に付加的な役割を果たしていることが分かった。

4.まとめ

嫌気条件下で、鉄還元菌が第二鉄を還元すると同時に硫酸還元菌が硫化物を生成することにより硫化鉄が生成され、その結果リン酸イオンが効率的に溶出してくることが示された。今後は以上の現象を実際の底泥のみを用いて検討する予定である。

<参考文献>

- 1) Derek R. Lovley, Elizabeth J.P. Phillips: Environ. Sci. Technol., Vol.25, 1062-1067, 1991
- 2) Derek R. Lovley, Elizabeth J.P. Phillips: Applied and Environmental Microbiology, Vol.54(6), 1472-1480, 1988
- 3) 寒川喜三郎 日色和夫編: 最新の底質分析と化学動態, 技報堂出版株式会社

● Run 5 ▲ Run 6 ■ Run 7
○ Run 8 □ Run 9

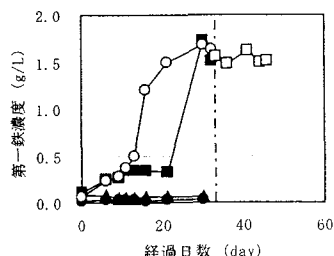


図-2 第一鉄濃度の経日変化

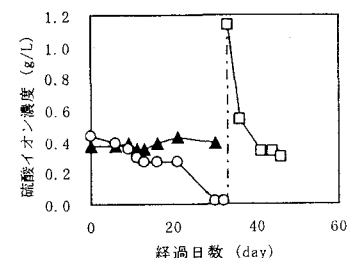
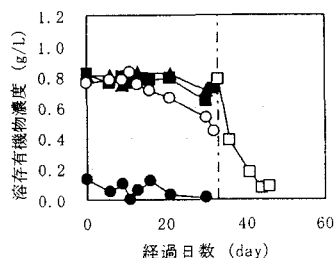


図-4 硫酸イオン濃度の経日変化

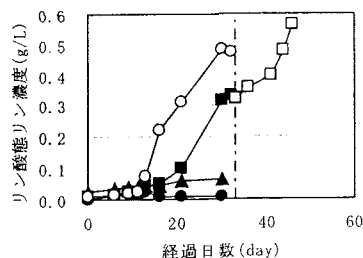


図-5 リン酸態リン濃度の経日変化