

(35) 嫌気化した茨戸湖底泥の硫黄循環を中心とした生物化学的現状把握

Biological and Chemical Characterization of Anaerobic Sediments
of A Eutrophic Lake Barato

岡部 聡*、井野場 誠治**、乗松 直生子*、渡辺 義公*

Satoshi OKABE*, Seizi INOBA**, Naoko NORIMATSU*, Yoshimasa WATANABE*

ABSTRACT: Chemical and biological characterization of anaerobic sediments of a eutrophic brackish lake Barato, Sapporo were performed with emphases on sulfur cycle in the sediment. Vertical distributions of sulfide compounds (FeS , FeS_2 and S^0) were measured and related to sediment oxygen demand (SOD). The SOD was divided into biological and chemical components by using specific inhibitors. The chemical SOD was further separated by ferrous, sulfide and manganous demands. The experimental results indicated that SOD ranged $0.3\text{--}1.4 \text{ mgO}_2/\text{cm}^3$ and the major component was ferrous demand accounting for 29-75% (avg.=55.4%). The content of sulfide compounds accounted for 1-2 % of total dry weight of the sediment, which was responsible for about 40-50 % of total SOD. Sulfate reduction and methane production in the sediment were limited by fatty acid (i.e., acetate) production. The addition of molybdate and chloroform to inhibit sulfate reduction and methanogenesis, respectively, gave a quantitative measure of fatty acid utilization rates by sulfate reduction and methane production. The experimental results revealed that acetate, propionate and n-butyrate accounted for approximately 60%, 25%, and 10%, respectively, of the electron donors of the sulfate reducing bacteria in this sediment. Acetate accounted for 40-60% of the electron donor of methane producing bacteria. These experimental results imply that the oxidation of sulfide, generated by microbial sulfate reduction is a key process in the biogeochemistry of brackish sediments. The detail information on the sediment of lake Barato will be useful for development of a new means to improve the overlaying water quality.

Keywords: eutrophication, brackish lake sediments, sediment oxygen demand (SOD), sulfide compounds, sulfate reduction, methanogenesis

1. はじめに

富栄養化した湖沼の水質改善には、外部からの汚濁流入負荷の削減とともに内部負荷削減が重要な課題である。現在一般的に行われている内部負荷削減対策の1つとして浚渫があるが、①比較的高いコスト、②浚渫土の処分、③底泥の巻き上げによる汚濁物質の放出等多くの解決すべき問題を抱えている。このため浚渫に代わる新たな改善対策が強く求められている。富栄養化した湖沼では底泥が嫌気化し、①リン等の栄養塩類の溶出が助長される、②底泥内での懸濁性有機物の分解が遅れ有機物の供給源となる、③硫酸塩還元反応により H_2S が生成し酸素消費量が増大する等、水環境に与える悪影響が大きいことは周知のとおりである。また嫌気化した底泥内の有機物の最終分解には、硫酸塩還元細菌(SRB)とメタン生成細菌(MPB)が重要な役割を担っており、両者は、その主要な基質である酢酸と H_2 をめぐって競合関係にあることがわかっている。このように湖沼の水質と底泥内の複雑で高度な微生物生態系は密接に関係しており、化学的及び生物学的な側面からの底質分析が重要となる。

このような嫌気的水環境の浚渫以外の改善方法として、底泥の酸化処理を基本とする湖水の直接、間接曝気法が有効であると考えられている¹⁾。しかしながら、一般的に直上水水質に関するデータは比較的入手しやすいのに対し、底質に関しては十分な情報が得られていないのが現状である。底泥の改善方法の確立及びその効果を評価するためには、底泥の基本的な特性の把握、特に河川や湖沼の溶存酸素濃度を決定する重要な要因である底泥の酸素要求量(SOD)の把握が必要不可欠である。

そこで本研究では、札幌市近郊に位置する茨戸湖を対象に嫌気化した底質改善のための基礎的研究として、その底質の鉛直方向の生物化学的分析を行ない、底泥酸素要求量(SOD)との関係を検討した。底泥酸素要求量は生物学的酸素要求量(好気性微生物による)及び化学的酸素要求量(硫黄化合物、マンガン、鉄による)に区別した。そして、その結果、酸素消費を助長する物質であった硫黄化合物の挙動を中心に底泥の現状把握を行った。また、

* 北海道大学工学部衛生工学科 (Dept. of Sanitary Eng., Hokkaido Univ.) 〒060 札幌市北区北13条西8

** (財)電力中央研究所 環境科学部 陸域環境グループ、〒270-11 千葉県我孫子市我孫子1646

底質改善策の一例として多孔管散気方式による底泥直上水の直接エアレーションを実施し、その底質改善効果についても若干の検討を試みた。

2. 研究方法

2.1 茨戸湖の概要

茨戸湖は札幌市近郊、石狩湾沿岸部に位置し、昭和6年に石狩湾から切り離されてできた全長約20km、面積4.4km²の三日月湖である(図1)。湖内は狭い水路で連結された上、中、下部湖盆に分かれており、各湖盆間での水の交換は少ない。茨戸湖には伏古川、創成川を通じて札幌市内の下水処理場からの放流水が下部湖盆の東端に流入している。また下部湖盆には湖岸の茨戸下水処理場からの放流水が直接流入しており、下部及び中部湖盆では富栄養化による水質の悪化が認められている。干満の差は20~30cmと小さいものの、下層に侵入した塩水が停滞しやすいことと水温差が生じること(上下差最大4℃程度)から、特に夏季には湖水は成層化し、下層は完全に嫌気化している。このため6月下旬から9月にかけて、藍藻類が大量に繁殖し水面がアオコで覆われるという現象が確認されている²⁾。下部湖盆は汽水性を呈しており、最大100mg/L程度の硫酸イオンが存在している。また茨戸湖の周辺では上部湖盆を中心に泥炭地が発達し、ここからの浸出水のため湖水は茶褐色を呈している。

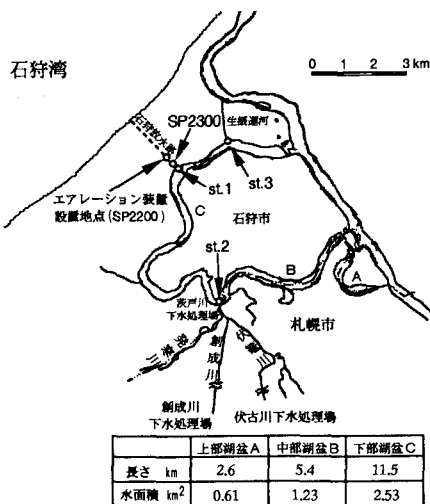


図1 茨戸湖および調査地点の概要

2.2 石狩放水路ならびにエアレーション装置概要

エアレーション実験³⁾は石狩放水路内で行った。石狩放水路は茨戸湖北部に位置する全長2400m、幅50m、平均水深5m程の放水路である。完成後14年が経過したが、放水路水門は過去6度しか開かれていないために平常時は水は停滞しており、富栄養化している。曝気装置として、放水路の横断方向に直線状の装置1本と、河川中央部に外形4,000×4,000mmの正形状の装置1体を設置し、圧縮空気を多孔管に送ることでエアレーションを行った。エアレーション期間は7月末から9月初めとし、エアレーション量は1800~3500L/分とした。

2.3 採泥地点及び方法

採泥は図1に示すように、石狩放水路入り口付近(St.1)(水深5m、流路幅270m)、伏古川、発寒川、創成川が茨戸湖に合流している地点(St.2)(水深1.5m、流路幅90m)、生振運河入り口付近(St.3)(水深7m、流路幅260m)で行った。また、SP2200は石狩放水路内の海側から2200mの地点(上記エアレーション地点)に、SP2300はエアレーション地点から100m茨戸湖側に設けた。採泥は1995年6月から11月にかけて3回、内径50mmの透明アクリル製コアサンプラーを用いて行い、ダイバーまたは船上から未攪乱サンプルを採取した。

2.4 分析方法

化学分析

pH、ORP、CH₄、硫化物イオン(H₂S、HS⁻、S²⁻)については、サンプルを実験室に持ち帰った後直ちに分析を行った。微生物学的な試験およびSOD試験には、採泥後2℃で保存したサンプルを用いた。その他の測定項目については、-30℃で凍結保存したサンプルを用いた。

底泥からのCH₄の回収は、Ruddらの方法⁴⁾に従って行ない、測定にはガスクロマトグラフ(FID検出器、ポラパックQカラム3m、キャリアガス:He、カラム温度:60℃、検出温度60℃)を用いた。底泥間隙水は遠心分離(15,000rpm 5min)して得られた上澄水を、直ちに0.45μmメンブレンフィルターでろ過することで得た。間隙水中硫化物イオン濃度は得られた間隙水を直ちに1%ZnAC溶液で固定後、メチレンブルー法⁵⁾により定量した。FeS、FeS₂はFossing and Jorgensenらの⁶⁾ single-step distillation法を参考にし、FeSは6NHClで、FeS₂は1MCr²⁺と12NHClを用いてH₂Sに変換し、1%ZnAC溶液を用いて回収した。回収したH₂Sはメチレンブルー法により定量した。S⁰の定量はNielsenらの⁷⁾方法を参考にし、エタノールで24時間振とう抽出した後、HPLC(カラム:Particle5 ODS-3、移動相:メタノール、検出波長:220nm)を用いて定量した。SOD試験

は Wang の方法⁹⁾に従って行った。試験は、まずリン酸緩衝溶液を加えた蒸留水をエアストーンで 30 分以上曝気し、ふ卵ビン(200ml)に加えた。次に、底泥をシリンジで 1ml 注入し、攪拌 1 分後の DO 濃度(初期 DO)を測定した後ガラス栓をして攪拌を続けた。1 時間後に再び DO 濃度(1 時間後 DO)を測定し、初期 DO 濃度との差から酸素要求量を求めた。SOD の内訳を分析するために、微生物活性阻害剤にはフェノール、硫化物酸化阻害剤として 1M ZnAC をそれぞれ 2ml, 1ml 添加し、同様に酸素要給量を求め、無添加の時の値との差をそれぞれ、微生物由来、硫化物由来の酸素要求量とした。活性鉄による酸素要求量は $0.05\text{N}(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ を 1, 2, 3ml 添加した時の酸素要求量をグラフにプロットし、直線回帰した時の Y 切片の値 (Fe^{2+} 無添加)とした。試験は各条件について 3 回ずつ室温で行い、平均値を求めた。 SO_4^{2-} の定量にはイオンクロマトグラフ (DIONEX DX-100, カラム: IonPac AS12A) を用いた。各種有機酸濃度はイオンクロマトグラフ (DIONEX DX-100, カラム: IonPac ICE-AS1) を用いて測定した。その他の測定項目については水の分析⁹⁾を参考にした。

各種微生物活性試験

a. 硫酸塩還元細菌(SRB), メタン生成細菌(MPB), 硫黄脱窒細菌 (SDB) 活性試験

SRB 消費速度、MPB 生成速度: 鉛直方向に任意の層に切断した各層より底泥 100g を 1 L の三角フラスコに入れ、直上水を用いて 5 倍に希釈した。その後、気相を N_2 ガスで置換し、暗所、30°C で振とう培養し、 SO_4^{2-} の減少速度及び SO_4^{2-} 枯渇後の CH_4 の生成速度を測定した。

SDB 活性試験: 予めブチル栓付きの 120mL バイアル瓶に 5 分間加熱沸騰させた Talar 培地¹⁰⁾を 100mL 加え気相を N_2 で置換した後、オートクレーブ (120°C, 15min.) した。採取したコアサンプル (11/27) をできるだけ汚染されないように鉛直方向に任意の層に切断し、各層の底泥 10g を 90mL の滅菌済みの脱気したリン酸緩衝液を用いて希釈し、滅菌済みのディスポーザブルシリンジを用いてこの希釈した底泥 1mL をバイアル瓶に注入した。硫化物イオン濃度が約 35mg-S/L となるように $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ を添加した後、暗所、30°C で振とう培養した。定期的にマイクロシリンジを用いてサンプル (100~200 μL) を採取し、直ちに 1% の ZnAC で固定して、メチレンブルー法により硫化物イオン濃度の減少を測定した。

b. 底泥内での硫酸塩還元、メタン生成に利用された基質の内訳

試料を鉛直方向に任意の層に切断し、各層の底泥 100g を 1L の三角フラスコに入れ、直上水を用いて 5 倍に希釈した。その後、気相を N_2 ガスで置換し、暗所、30°C で振とう培養した。SRB、MPB の活性が確認された後、SRB の特異的阻害剤として MoO_4^{2-} (最終濃度が 20mM になるように添加)¹¹⁾を、また MPB の特異的阻害剤として(最終濃度が 10 μM となるように添加)¹¹⁾を用い、Control (無添加)、+ MoO_4^{2-} 、+ CHCl_3 、+ $\text{MoO}_4^{2-} \cdot \text{CHCl}_3$ の系を作成した。それぞれの系において、阻害剤添加前後のメタン、 SO_4^{2-} 、各種有機酸濃度の経時変化を測定した。

c. 酢酸をめぐる硫酸塩還元細菌とメタン生成細菌の競合

(b) と同様に (この時には 500mL の三角フラスコに底泥 50g を植種した) 培養し、 SO_4^{2-} が枯渇した後 (約 1 週間程) 酢酸 (フラスコ内濃度として 80mg/L) と SO_4^{2-} (同 1250 μM) を添加して Control (無添加)、+ 酢酸、+ SO_4^{2-} 、+ 酢酸 $\cdot \text{SO}_4^{2-}$ の 4 つの系を作成した。酢酸及び SO_4^{2-} 添加前後の気相中のメタン濃度、液相中の SO_4^{2-} 濃度及び有機酸濃度の経時変化を測定した。

3. 結果・考察

3.1 底泥の性状について

各サンプリング地点の表層水水質を表 1 に、底質特性を表 2 に示す。St.1 の水深は 5m 程で、80~90cm 程度のヘドロ層が形成されていた。11/27 に採取した底泥は、表層 10cm 程度において砂の堆積が認められたが、これは石狩放水路で行われていた浚渫により巻き上げられた底泥が再蓄積したものと思われる。6/15 のサンプルでは底泥のごく表層部においても $\text{ORP} = -300\text{mV}$ を示した。St.2 の水深は 1.5m と浅く、ヘドロ層は少なくとも 50cm 程度存在した。この試料は底泥表面から 0~30cm の層では黒褐色を呈しており、30~50cm の層では砂の混じった黒褐色を呈していた。間隙水中の DOC、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度は他の地点に比べ高く、下水処理場からの放流水の影響を強く受けていることがわかる。一方、石狩川との接点である生振運河入り口に設けた St.3 の水深は 7m と他の地点よりも深く、底質は強熱減量で 0.06、 ORP も -10~-90mV であったことから底泥の嫌気化は St.1、St.2 に比べて軽度といえる。

表 1 各測定地点の表層水水質 (単位は pH を除き mg/L)

採水地点	採水日	pH	TOC	DOC	NO ₂ -N	NO ₃ -N	NH ₄ -N	SO ₄ -S	HS-S
St.1	11/27	7.02	7.7	5.9	0.3	3.6	1.0	14.8	ND*
St.2	11/27	7.01	12.9	10.9	0.4	2.8	5.3	10.8	ND*
St.3	11/27	6.92	4.4	4.4	0.3	0.9	0.5	12.1	ND*

* ND: not determined

表 2 各地点における底泥の性状

	St.1 (11/27)	St.2 (11/27)	St.3 (11/27)
色相	黒色	黒褐色	黄土色
性状	砂混じりのヘドロ状(0~10cm) ヘドロ状(10cm~)	ヘドロ状	粘土
含水率 (%)	72~76	48~68	43
強熱減量 (%)	10	9~10	6
pH	6.9 (0~2cm) 7.2~7.4 (2~40cm)	6.8~6.9	7.1~7.2
ORP (mV)	-100~-170 (0~20cm) -210~-260 (20~50cm)	-110 ~ -150	-10 ~ -80
DOC (mg/L)*	56~80 (0~30cm) 121 (30~50cm)	160~180 (0~10cm) 60~124 (10~50cm)	105 (0~5cm) 80~90 (5~35cm)
NH ₄ -N(mg/L)*	0.8~7	24 (0~2cm) 30~52 (2~50cm)	0.7~1.4
NO ₃ -N(mg/L)*	<0.1	<0.1	<0.1

* 間隙水中濃度

3.2 底泥酸素要求量 (SOD) 試験

11/27 に採取したサンプルの SOD 試験結果を図 2 に示す。本試験法による SOD の値は、底泥 1cm³ が 1 時間に消費する最大の酸素量をバッチ試験により求めたものである。図 2 に示されるように St.1 では Fe²⁺ と硫黄化合物由来の酸素要求量がそれぞれ全体のほぼ 50% を占めている。St.2 では Fe²⁺ 由来の酸素要求量が全体の約 71% を占め、硫黄化合物由来は約 24% であった。図 3 に示すように St.2 では硫黄化合物の濃度が St.1 に比べて全体的に低いため、硫黄化合物由来の SOD が小さかったと思われる。また両層において微生物由来の酸素要求量が全体の約 5% 程度検出された。図 3 に示すように底泥内の硫黄化合物濃度が深さ方向に増加するため、硫黄化合物由来の SOD が St.1、St.2 とともに 5~10cm 層の試料の方が 0~5cm 層の試料よりも高い。一方、ヘドロの堆積がなく粘土質の St.3 での SOD は、0.3mgO₂/cm³ 程度 (硫黄化合物由来は約 18%) と、St.1、St.2 と比較すると約 1/3~1/2 程度であり、深さによる大きな差はみられなかった。したがって、本試験結果から、江戸湖底泥の酸素要求量の約 29~75%(平均 55.4%) は Fe²⁺ 由来であり、硫酸塩還元反応の度合により硫黄化合物が底泥酸素要求量を嵩上げしていると考えられる。また全ての試料において好気性微生物による酸素要求量は 10% 未満であることから底泥の嫌気化がうかがえる。

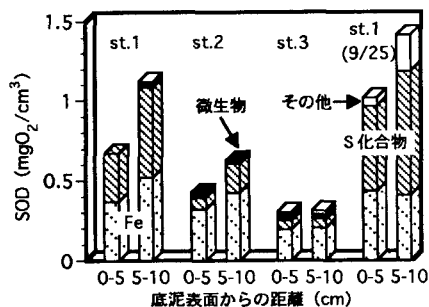
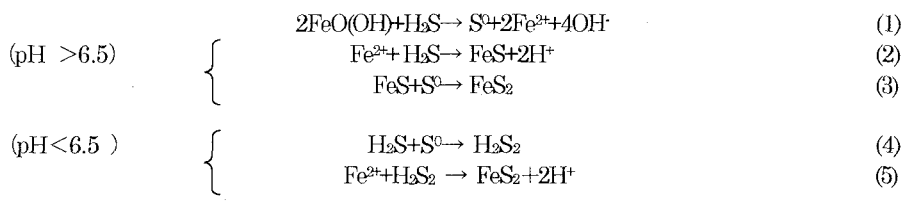


図 2 底泥酸素要求量の内訳

3.3 硫黄化合物濃度分布

硫酸塩還元反応によって生成された硫化水素 (H_2S) は以下に示す化学量論式¹²⁾に従って底泥中の Fe^{2+} 、 $\text{FeO}(\text{OH})$ 等により、 FeS 、 FeS_2 、 S^0 に酸化されるため、直上水、間隙水中ではほとんど検出されない。底泥内での硫黄化合物の存在形態を検討するため底泥深さ方向の FeS 、 FeS_2 、 S^0 分布を測定した (図3)。底泥が嫌気状態であるため S^0 の蓄積は少なく硫黄化合物は主に FeS_2 、 FeS の形態で存在していた。St. 1 では St.2、St.3 と比較すると各濃度が深層部で非常に高く、図2に示す硫黄化合物由来の酸素要求量が深層部で高いという結果と一致する。また St.1 でのみ濃度分布が $\text{FeS} > \text{FeS}_2$ となる傾向が認められた。この理由として FeS_2 の生成経路は次の2つが考えられる¹³⁾。



底泥中の pH は 6.8~7.6 だったことから、本反応は主に前者(1-3)によるものと思われる。低温かつ中性の条件下では、(2)の反応速度は秒または分のオーダーであるにもかかわらず(3)の反応速度は日または年のオーダーであることが知られている¹³⁾。St. 1 は他の地点と異なり、数年に一度浚渫が入るため、比較的新しい底泥が堆積している地点である。したがって、St. 1 では FeS_2 への反応が進んでいないために $\text{FeS} > \text{FeS}_2$ となったと考えられる。本研究で求められた硫黄化合物の含有率は底泥乾燥重量の 1~2% 程度であり、文献値¹³⁾ (淡水湖の場合=0.03~0.51%, 汽水湖の場合=0.11~1.42%) と比較すると、この値は代表的な汽水湖の値であるといえる。

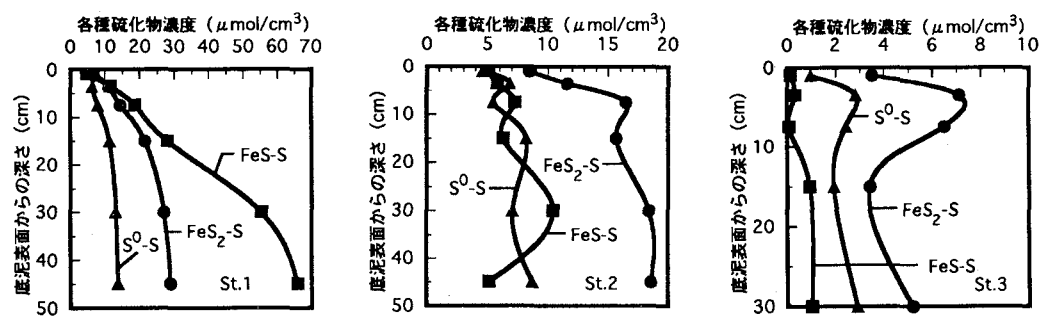


図3 底泥深さ方向の FeS 、 FeS_2 、 S^0 濃度分布

3.4 間隙水中 H_2S 、 SO_4^{2-} 、メタン濃度分布と SRB、MPB の活性度分布

図4に各地点における間隙水中の H_2S -S、 SO_4^{2-} 、 CH_4 濃度分布を示す。各地点の表層水 SO_4^{2-} -S 濃度は表1に示すように 10.8 ~ 14.8 mg/L (338~463 μM) であった。しかし St.1 の表層部では 1000 μM (32mg/L) 以上の SO_4^{2-} -S が存在し、50cm 付近まで浸透していた。この理由として、浚渫により底泥の巻き上げが生じ、底泥内の H_2S や FeS 、 FeS_2 が SO_4^{2-} まで酸化され蓄積したと考えられるが、詳細は明らかでない。 SO_4^{2-} の底泥内への侵入深さは SRB の活性に依存し各地点で異なっている。St.2 では表層約 10cm で SO_4^{2-} は枯渇していた。St.3 ではほとんど SRB 活性が認められなかったため SO_4^{2-} の濃度勾配は比較的緩やかで 50cm 以深まで浸透している。 H_2S -S 濃度のピークは St.2 では表層 0~2cm に存在したが、St.3 では表層での ORP が比較的高かったため (-10~-80mV)、表層から 10cm 以深から H_2S -S 濃度は増加しはじめ 30cm 付近でピークとなった。 CH_4 濃度は SO_4^{2-} が枯渇する直前から増加し始める傾向にあり、これは SRB に比べ MPB は基質 (H_2 または酢酸) 親和性が小さいために、 SO_4^{2-} 存在下における酢酸及び H_2 をめぐる両者の競合では硫酸塩還元が優勢になっていることを示唆

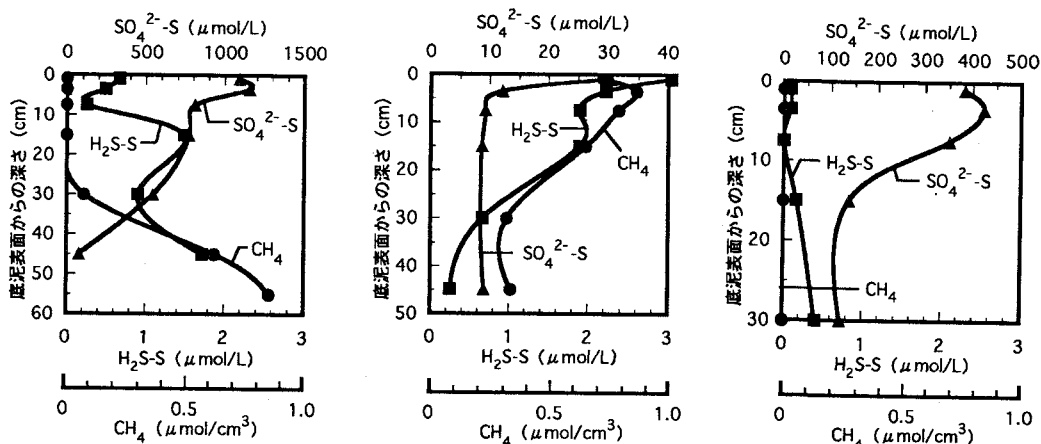


図 4 底泥深さ方向の $\text{SO}_4^{2-}\text{-S}$, $\text{H}_2\text{S-S}$, CH_4 濃度分布

している^{14,15)}。St.2 では $\text{SO}_4^{2-}\text{-S}$ 濃度が低く ($30 \mu\text{M}$ (0.96 mg/L) 以下)、処理場からの放流水の混入により高濃度で有機物が存在し(間隙水中の DOC 濃度は、他の地点で 100 mg/L だったのに対し、St.2 では $0\sim 10 \text{ cm}$ の深さで $160\sim 180 \text{ mg/L}$ であった)、冬でも比較的水温が高いため、 SO_4^{2-} 存在下でもメタン生成が確認された。St.3 では SO_4^{2-} が深部まで存在するため CH_4 はいずれの層でも検出されなかった。

次に SRB, MPB の活性度分布を図 5 に示す。底泥を 2 層 ($0\sim 15$, $15\sim 30 \text{ cm}$) に分け、直上水で希釈して回分試験を行い、 SO_4^{2-} 消費速度と SO_4^{2-} が枯渇した後のメタン生成速度を測定した (図 5)。全ての実験においてバイアル瓶内の有機酸及び H_2 の蓄積は認められなかった。したがって、硫酸塩還元、メタン生成は底泥内の酸生成に律速されているといえる。各調査地点において $0\sim 15 \text{ cm}$ における両活性は $15\sim 30 \text{ cm}$ における値の約 2~3 倍となっていた。これは底泥間隙水中の硫化水素、メタンの濃度分布がともに表層約 10 cm 以内にピークを持つことと一致し、酸生成の活発な上層で両活性が高いと考えられる。特に St.2 では処理場からの放流水の混入により、SRB, MPB の活性は他の地点より高かったと考えられる。St.1 において (11/27) のサンプルの SRB, MPB の活性が 9/25 のサンプルに比べて著しく低下している原因は、水温の低下に加えて、湖水の循環及び浚渫に伴う底泥の再堆積による ORP の上昇等の影響が大きいと思われる。

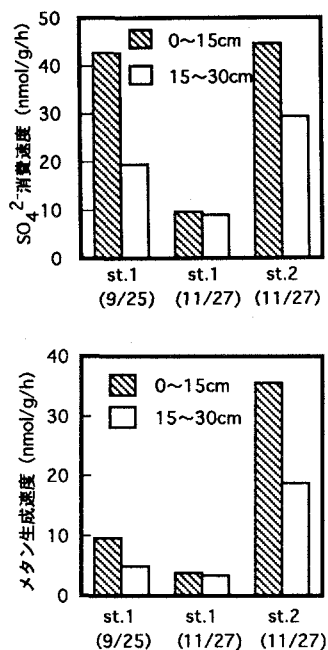


図 5 底泥内の SO_4^{2-} 消費速度及び CH_4 生成速度分布

硫黄脱窒細菌活性 直上水中には $\text{NO}_3\text{-N}$ が $2.5\sim 4.0 \text{ mg/L}$ 程度存在しており (表 1)、底泥内では硫酸塩還元によって H_2S が生成され、その分布は図 4 に示すようになっている。また湖水は常に懸濁しており光は底泥表面まで届かない。このような条件下において底泥表層では硫黄脱窒細菌による H_2S の酸化が進行しているのではないかと考え、硫黄脱窒細菌活性試験を St.1 と St.2 のサンプルについて行い、その結果を図 6 に示す。両地点の底泥表層部 ($0\sim 5 \text{ cm}$) において硫黄脱窒細菌活性はともに最大値 ($0.76, 1.16 \mu\text{mol/g/h}$) を示し、 10 cm 以深では活性は急激に低下した。これにより無酸素状態の底泥内において、硫化水素は S^0 または SO_4^{2-} まで生物学的に再酸化される、いわゆる“硫黄の循環”の存在が示唆された。しかし、測定された硫黄脱窒速度は潜在的な活性であり、有機物を用いた脱窒反応との競合関係、および硫化水素の鉄化合物等による化学的な酸化と複雑に関連していると考えられるので、今後更に検討する必要がある。

3.5 基質利用速度の内訳

これら SO_4^{2-} 消費及び CH_4 生成にどのような有機物（電子供与体）がどのような割合で関与しているのか、その内訳を検討した。検討するにあたって、嫌気的条件下における有機物分解経路を図 7 に示すように簡略化し、SRB、MPB に特異的な阻害剤を用いて有機物の分解経路を特定して、各種有機物の蓄積速度を測定することにより基質の利用特性を推定した。測定結果の一例として 11/27 に採取した St.2 の底泥における酢酸の蓄積を図 8 に示す。活性阻害剤は 100 時間後に添加した。また同時にバイアル瓶内の SO_4^{2-} 濃度が 50mg/L になるように Na_2SO_4 を添加した。このグラフにおける酢酸濃度は底泥湿重量あたりのモル数として表わし、グラフの傾きから以下のように酢酸の蓄積速度を算出した。

① (Control の酢酸蓄積速度)=(SRB による生成速度)+(SRB 以外に

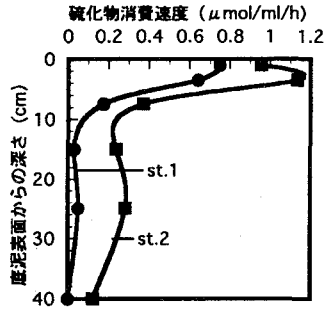


図 6 底泥深さ方向の硫黄脱窒細菌の活性度分布

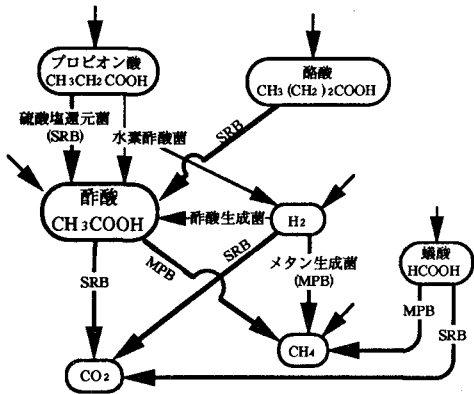


図 7 簡略化した嫌気条件下における有機物分解経路

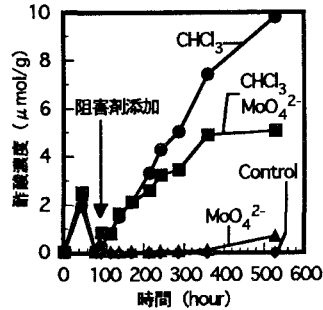


図 8 St.2 における酢酸濃度の経時変化

よる生成速度)-(SRB による消費速度)-(MPB による消費速度)、② (CHCl_3 を添加したときの酢酸蓄積速度)=(SRB による生成速度)+(SRB 以外による生成速度)-(SRB による消費速度)、③ (MoO_4^{2-} を添加したときの酢酸蓄積速度)=(SRB 以外による生成速度)-(MPB による消費速度)、④ ($\text{MoO}_4^{2-} \cdot \text{CHCl}_3$ を添加したときの酢酸蓄積速度)=(SRB 以外による生成速度)

$\text{MoO}_4^{2-} \cdot \text{CHCl}_3$ を添加した系では、酢酸以外に蟻酸、プロピオン酸、n-酪酸の蓄積が認められ（いずれの系でも H_2 の蓄積は認められなかった）、酢酸同様にグラフの傾きより蓄積速度を求めた。各系ごとの有機物の蓄積を比較し、化学量論係数を考慮に入れ SRB、MPB による各種有機物の利用内訳を推定した（図 9）。グラフから SO_4^{2-} の消費に使われた全電子供与体の約 60%が酢酸、25%がプロピオン酸、10%が n-酪酸であり、0～15cm と 15～30cm ではこの比率に差は見られなかった。 CH_4 生成において約 40～60%が酢酸由来であり、蟻酸由来はほんの数%程度であった。また、その他の占める割合が高くなっているが、これは主に H_2 由来であると推測される。

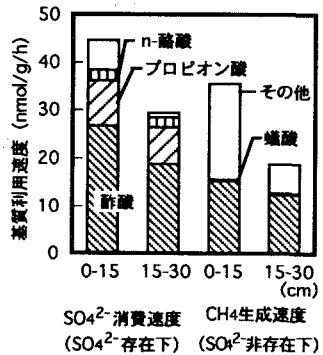


図 9 St.2 における SO_4^{2-} 消費速度、 CH_4 生成速度に占める電子供与体内訳

3.6 酢酸、SO₄²⁻のSRB, MPB に対する影響

上記の実験結果より、SRB と MPB の活性は酸生成過程によって律速されており、通常 SO₄²⁻存在下では主に SRB が酢酸を消費していることが明らかとなった。次に酸生成過程が律速しない時、つまり酢酸が過剰に存在する状態における両者の競合関係を詳細に検討するため、St.1 で採取した底泥に酢酸のみ、SO₄²⁻のみ、酢酸と SO₄²⁻を添加して活性試験を行った。SO₄²⁻が枯渇するまで（7 日間）培養した後、酢酸、SO₄²⁻を添加し、各系において SO₄²⁻消費速度、メタン生成速度を測定した（表 3）。各系における酢酸及び SO₄²⁻添加前の SO₄²⁻消費速度の平均は 11.1nmol/g/h だった。Control における SO₄²⁻枯渇後のメタン生成速度(11.5nmol/g/h)は、底泥で生成される有機酸由来のメタン生成速度である。また、酢酸添加系でのメタン生成速度（32.7nmol/g/h）と Control のメタン生成速度（11.5nmol/g/h）との差である 21.2 nmol/g/h が過剰に添加した酢酸を利用したメタン生成である。この系における酢酸消費速度は 23.3 nmol/g/h であったので、SO₄²⁻非存在下では酢酸が過剰に存在すれば酢酸の 90% は MPB によって利用されたといえる。酢酸・SO₄²⁻添加系でも同様に 12.4 nmol/g/h が過剰に添加した酢酸を利用したメタン生成速度であると考えられる。この時の SO₄²⁻消費速度から SO₄²⁻添加系における消費速度を引いた値が過剰に添加した酢酸の分解に伴う SO₄²⁻消費速度である。したがって、SO₄²⁻存在下で酢酸が過剰に存在するときは、酢酸の 55%が SRB によって、また 32%が MPB によって利用されたことになる。

表 3 酢酸、SO₄²⁻添加の SO₄²⁻消費、CH₄ 生成速度に与える影響

(nmol/g/h)		Control	酢酸	SO ₄ ²⁻	酢酸・SO ₄ ²⁻
SO ₄ ²⁻ 消費速度	基質添加前	9.83	12.1	11.2	11.3
	〃 後	—	—	15.0	36.5
メタン生成速度	基質添加前	—	—	—	—
	〃 後	11.5	32.7	—	23.9
酢酸消費速度	基質添加前	—	—	—	—
	〃 後	—	23.3	—	39.1

3.7 直接曝気による底質改善効果

石狩放水路（SP2200 地点）において底層水の直接曝気を行った。SP2200, SP2300 とも下層に形成された無酸素水層が破壊され、底泥表層付近まで DO の回復が確認された³⁾。また BOD、COD、及び栄養塩等の濃度の減少も確認された³⁾。実験前後の底質変化を表 4 に示す。

表 4 直接曝気前後における SP2200 及び SP2300 地点における底質の変化

	SP2200		SP2300	
	6/15 (エアレーション前)	9/25 (エアレーション後)	6/15 (エアレーション前)	9/25 (エアレーション後)
色相	褐色 (0～3cm) 黒色 (3～32cm)	茶褐色 (0～3.5cm) 黒色 (3.5～24cm)	黒色 (0～29cm)	黒色 (0～31cm)
性状	ヘドロ状	ヘドロ状	ヘドロ状	ヘドロ状
含水率(%)	78～83%	80～83%	76～85%	81～86%
強熱減量(%)	11～12	10～12	8～10	11～12
pH	7.1～7.4	6.7～7.0	7.2～7.5	7.4
ORP(mV)	－170 (0～3cm) －260～－390 (3～5cm)	－170 ～ －230	－430 ～ －460	－220 ～ －230
DOC(mg/L)*	100～115 (0～6cm) 37～70 (6～32cm)	63～78 (0～5cm) 27～44 (5～24cm)	97～106 (0～6cm) 63～82 (6～29cm)	108～122 (0～5cm) 43～83 (5～31cm)
NH ₄ -N(mg/L)*	8.8 (0～3cm) 11.0～14.1(3～20cm)	6.5～7.3 (0～6cm) 6.8～13.2 (6～25cm)	10.5～14.1	6.5～9.8 (0～10cm) 21.3～23.6(10～31cm)
NO ₃ -N(mg/L)*	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1

* 間隙水中の濃度

SP2200 地点では、エアレーションを行うことによって底泥表層部における FeS-S 濃度が低下し(図 10)、色相が茶褐色に変化していた。また、曝気前後における底泥内の硫黄化合物(FeS , FeS_2 , S^0)の濃度分布の変化を測定した(図 10) 結果、曝気後明らかに両地点の底泥表層部の FeS , FeS_2 は酸化され減少し、その一部は S^0 として蓄積した。間隙水中の $\text{H}_2\text{S-S}$ 濃度は SP2300 地点の表層部で $1.6 \sim 2.1 \mu\text{mol/L}$ であったのに対し、SP2200 地点で全層にわたって $1 \mu\text{mol/L}$ 以下であったことから、曝気により硫酸塩還元が抑制されたと考えられる。次に底泥酸素要求量を測定すると、SP2200 の表層(0~5cm)で約2ヶ月間の曝気を行うことにより全 SOD に占める硫黄化合物由来の割合が47%から30%に減少し、代わって好気性微生物による酸素要求量が全体の約14%を占めるようになった(図 11)。しかし、5~10cm 層においては顕著な曝気効果は確認されなかった。また、曝気地点から100m離れたSP2300では0~5cm 層においても、曝気効果は全く確認されなかった。このように曝気地点(SP2200)では0~5cm 層のみで曝気効果は見られたが、SP2300 では底泥への酸素の供給はエアレーションによって生じる循環流と潮位差による往復流に依存するため、SP2200 に比べると酸素供給効率が悪く、底泥の改善効果は小さかったと考えられる。

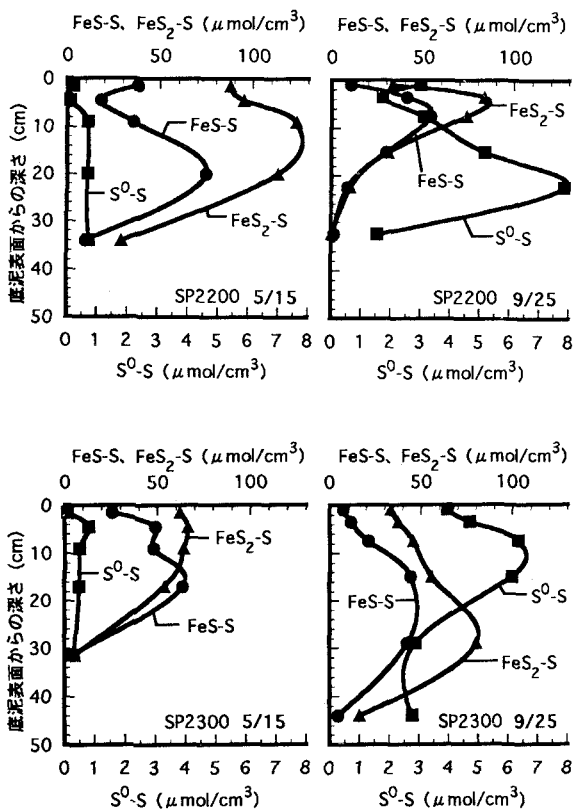


図 10 曝気前後における底泥深さ方向の FeS , FeS_2 , S^0 濃度分布の変化

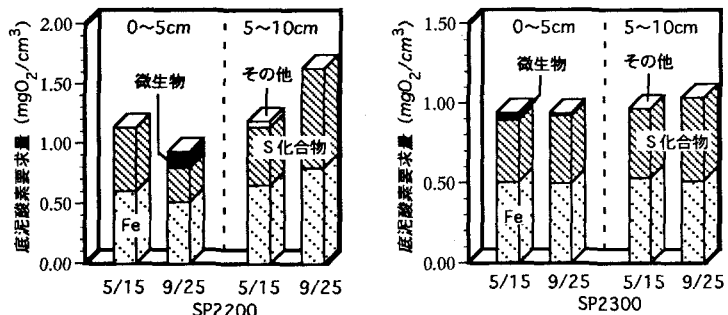


図 11 曝気前後における底泥酸素要求量の内訳の変化

4. 結 論

富栄養化し嫌気化した茨戸湖底泥の生物化学的特性を分析した結果、以下のような結論を得た。

- (1) 全底泥酸素要求量は $0.3 \sim 1.4 \text{ mgO}_2/\text{cm}^3$ (有機物含有量が増加するほど高い酸素要求量を示した) であり、その中で鉄由来の酸素要求量が約 29~75% を占めていた。
- (2) 底泥中には乾燥重量比として 1~2% 程度の硫黄化合物 (FeS , FeS_2 , S^0) が含まれており、これらによる底泥酸素要求量は全体の約 45~50% を占めていた。
- (3) 各調査地点の底泥内において、有機酸生成が硫酸塩還元及びメタン生成反応を律速しており、両者が競合している電子供与体は主に酢酸であった。硫酸塩還元における有機酸利用の内訳は、酢酸由来が全体の 60% 以上を占めており、次いでプロピオン酸が約 25%、*n*-酪酸が約 10% を占めていた。また、メタン生成の 40~60% は酢酸由来であった。両活性は、いずれの調査地点においても酸生成が活発な底泥表層部で 2~3 倍高い値を示した。
- (4) 底泥直上水を曝気すると、曝気地点の底泥表層部において硫黄化合物による酸素要求量が減少し、代わって好気性微生物による酸素要求量の占める割合が増加した。しかし、曝気による底質改善効果は、曝気地点から限られた範囲内でのみ確認された。

謝 辞

本実験で、底泥の採取にあたり北海道開発局、株式会社技術研究所、株式会社福田水文センターのご協力を頂いたことを付記し、感謝致します。

【参考文献】

- 1) Soltero R. A., Sexton L. M., Ashley K. I. and McKee K. O. (1994) Partial and full lift hypolimnetic aeration of Medical lake, WA to improve water quality. *Wat. Res.*, 28:2297-2308.
- 2) 橘 治国、吉田 邦伸、井上 隆信 (1996) 都市近郊湖沼 (茨戸湖) における栄養塩の形態と藻類増殖、水環境学会誌、Vol. 19、No.2, 132-139.
- 3) 下田 明、堀田 哲夫、込山 美光 (1996) 停滞性感潮域におけるエアレーション効果実験、第 51 回土木学会年次学術講演会講演概要集 第 7 部、発表予定
- 4) Rudd J. W., Hamilton R. D. and Campbell N. E. R. (1974) Measurement of microbial oxidation of methane in lake water, *Limnol. Oceanogr.*, 19: 519-524.
- 5) Cline J. D. (1969) Spectrophotometric determination of hydrogen sulfide in natural waters, *Limnol. Oceanogr.*, 14: 454-458.
- 6) Fossing H. and Jorgensen B. B. (1989) Measurement of bacterial sulfate reduction in sediments: evaluation of a single step chromium reduction method, *Biogeochemistry*, 8: 205-222.
- 7) Nielsen P. H., Lee W., Lewandowski Z., Morison M. and Characklis W. G. (1993) Corrosion of mild steel in an alternating oxic and anoxic biofilm system, *Biofouling*, 7: 267-287.
- 8) Wang W. (1980) Fraction of sediment oxygen demand, *Wat. Res.*, 14: 603-612.
- 9) 日本分析化学会北海道支部編、水の分析、第 3 版、化学同人 (1989).
- 10) 新編 土壌微生物実験法、土壌微生物研究会、養賢堂 (1992).
- 11) Sorensen J., Christensen D. and Jorgensen B. B. (1981) Volatile fatty acids and hydrogen as substrates for sulfate-reducing bacteria in anaerobic marine sediment, *Appl. Environ. Microbiol.*, 42: 5-11.
- 12) Jorgensen B. B. (1983) The microbial sulphur cycle, Pp.91-124, In: W. E. Krumbein (ed.), *Microbial geochemistry*. Blackwell Scientific, Oxford.
- 13) Terashima S., Yonetani H., Matsumoto E. and Inouchi Y. (1983) Sulfur and carbon contents in recent sediments and their relation to sedimentary environments. *Bulletin of the Geological Survey of Japan*, 34 (7): 361-382.
- 14) Kristjansson J. K., Schonheit P. and Thauer R. K. (1982) Different K_s values for hydrogen of methanogenic bacteria and sulfate reducing bacteria: an explanation for the apparent inhibition of methanogenesis by sulfate. *Arch Microbiol.*, 131: 278-282.
- 15) Schonheit P., Kristjansson J. K. and Thauer R. K. (1982) Kinetic mechanism for the ability of sulfate reducers to out-compete methanogens for acetate. *Arch Microbiol.*, 132: 285-288.