

北海道大学大学院○佐藤 久, 岡部 聡, 伊藤 司, 渡辺義公
厚生省 松田尚之

1 はじめに

下水処理プロセスで用いられる好気性生物膜はDO侵入深さがわずかに数100 μ m程度であるために深層は嫌気化し、好気条件下においても硫酸塩還元反応が起こることが知られている。硫酸塩還元反応は有機物除去、発生した硫化水素(H_2S)の酸化によるDO消費等により好気性生物膜の基質除去効率に影響を与えるものと推測される。しかしながら、発生した H_2S は生物膜内で再酸化され生物膜外ではほとんど検出されないため、反応器内の硫黄化合物の物質収支のみから好気性生物膜内の硫酸塩還元活性を知ることは困難である。そこで本研究では、微小電極を用いて測定した生物膜内の H_2S 濃度プロファイルから求めた *In Situ* の硫酸塩還元活性度、potentialの硫酸塩還元活性度及びSRB菌体密度分布から好気性生物膜内の硫酸塩還元反応について考察する。また、生物膜内のDO消費活性度及び還元性硫黄化合物(FeS , FeS_2 及び S^0)濃度分布から H_2S の酸化経路についても考察する。

2 実験装置と実験方法

本研究では、札幌市創成川下水処理場に設置したベンチスケールの半水没型RBC(反応槽容積:1400mL, 円板回転速度:13r.p.m.)を用いて生物膜を馴養した。生物膜の形状を変化させずに生物膜を採取するため、あらかじめ円板の一部を取り外せるように加工した。流入基質には札幌市創成川下水処理場の最初沈殿池流出水を用いた。

2.1 生物膜内基質濃度プロファイルの測定

反応器の処理水質が定常となった後に生物膜を採取し、基質(表.1)を流速2cm/sec.で循環したフローセル内に固定し

表.1 基質濃度プロファイル測定用人工基質

成分	濃度
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	1mmol/L
Sodium acetate	0.83mmol/L
Sodium lactate	0.83mmol/L
NH_4Cl	1.4mmol/L
$NaHCO_3$	7.1mmol/L
K_2HPO_4	0.4mmol/L
$NaCl$	1.2mmol/L

生物膜内基質濃度プロファイルを測定した。基質濃度プロファイルの測定には本研究室で制作したDO, H_2S , pH微小電極を用いた。DO及び H_2S 微小電極の制作はRevsbech and Jorgensen¹⁾, pH微小電極の制作はde Beer and van den Heuvel²⁾方法に準じた。

2.2 Potentialの硫酸塩還元活性度及びSRB菌体密度分布の測定

Potentialの硫酸塩還元活性度はバッチ試験により求めた。採取した生物膜をMicroslicerTMを用いて支持体と水平に5層にスライスし、ホモジナイズした後、あらかじめ培地を入れ N_2 脱気した後に密閉したバイアル瓶(100ml)に植種した。培地には有機炭素として酢酸ナトリウムとプロピオン酸ナトリウム(それぞれ500mg-C/L)を添加したPostgate medium Bを用いた。バイアルを25℃の暗所で振とう培養し、生成した H_2S を一定濃度に達するまで定期的に測定し、初期の直線的な濃度変化から硫酸塩還元活性度を求めた。

SRB菌体密度分布はMPN法により求めた。同様の基質をハンゲイトタイプ試験管に満たし N_2 脱気した後、スライスした生物膜を植種し、21日後に硫化鉄が蓄積し黒く変色した試

験管をカウントした。

3.3 還元性硫黄化合物(AVS, CRS及びS⁰)の測定

酢酸亜鉛で処理した生物膜をMicroslicerTMによりスライスし、エタノール抽出した後に遠心分離にかけ、上澄水中のS⁰濃度を測定した。S⁰の定量にはHPLC(254nm)を用いた。続いて、遠心分離後の沈殿物内のacid-volatile sulfides(AVS: FeS及びH₂S)及びchromium reducible sulfide(CRS: FeS₂)濃度をFossing and Jorgensenの方法³⁾に準じて定量した。H₂S濃度はメチレンブルー法により定量した。

3 結果と考察

3.1 生物膜内の硫酸塩還元及びH₂S酸化反応

図.1に生物膜内SRB菌体密度分布とpotentialの硫酸塩還元活性度を示す。膜厚は500 μ m程度であった。SRBは生物膜全体に分布し、菌体密度は0 μ m~100 μ mの領域で 3.5×10^5 MPN/cm³、300 μ m~350 μ mの領域で 1.9×10^4 MPN/cm³と表層ほど高い傾向を示した。それに対し、potentialの硫酸塩還元活性は300 μ m~350 μ mの領域で29 μ mol/cm³/hと最も高く、膜深さ方向に増加する傾向が見られたものの、350 μ m~470 μ mの領域では再び減少した。これらのことから、硫酸塩還元活性度はSRB菌体密度だけでなく、他の要因にも依存することがわかった。

次に、図.2に微小電極を用いて測定した生物膜深さ方向のDO、H₂S及びpH濃度profileと、計算により求めた硫酸塩還元、H₂S酸化及びDO消費活性度(R)を示す。膜厚は1200 μ m程度であった。バルク水中に約100 μ mol/L存在したDOは表面から500 μ mの地点で枯渇し、好気性生物膜の深層は嫌気化することが確認された。硫酸塩還元反応は膜表面から650 μ m以深の嫌気領域のみで起こり、In Situの硫酸塩還元活性(R(SO₄²⁻)=16.4 μ mol/cm³/h)は中層において高く、potentialの硫酸塩還元活性と一致する結果を得た。表層ではSRBがより高密度に分布するにもかかわらず硫酸塩還元活性は低いのは、図.2からわかるように表層に侵入したDOによりSRBの活性が阻害されたためと考えられる。

図.2において、硫酸塩還元反応により発生したH₂Sは膜表面に近づくにつれて減少し、膜表面から400 μ mの地点で枯渇し、バルク水中では検出されなかった。400 μ m~600 μ mの微好気領域ではDOとH₂S濃度がともに減少していることから、H₂SはDOにより酸化され減少したものと考えられる。H₂S酸化活性度は16.3 μ mol/cm³/hであった。以上のことから、生物膜内の硫酸塩還元及び硫化物酸化反応は好気-嫌気境界面付

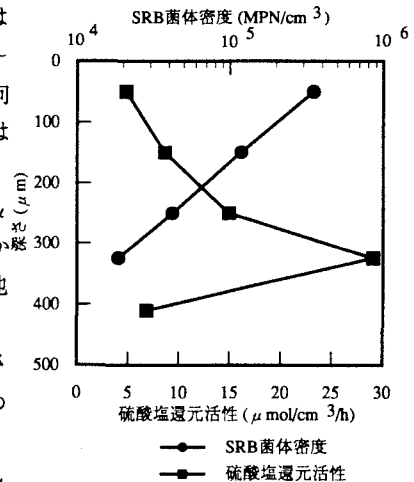


図.1 生物膜内SRB菌体密度分布
及びpotentialの硫酸塩還元活性

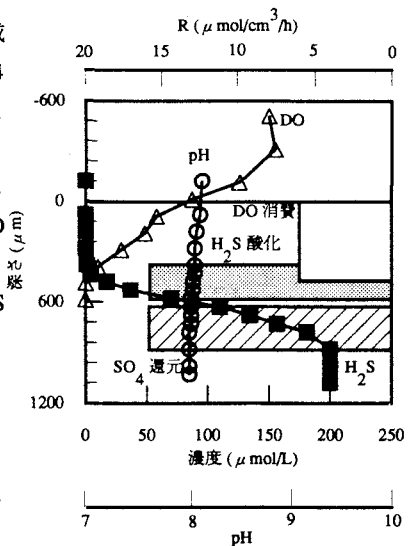


図.2 生物膜内DO、H₂S、pH濃度プロファイル

近に限られた反応であることが明らかになった。また、化学量論によれば1molの H_2S を SO_4^{2-} に酸化するには2molのDOが必要であり(式.1), 図.2においては H_2S のフラックスは $0.33 \mu mol/cm^2/h$ であることから、 $0.66 \mu mol/cm^2/h$ のDOが要求されるはずである。しかし、図.2においてDOのフラックスは $0.26 \mu mol/cm^2/h$ であり、発生した全ての H_2S を SO_4^{2-} に酸化するにはDOが不足し、式.1以外の H_2S 酸化経路が存在することが推測された。



3.2 生物膜内の還元性硫黄化合物分布

図.3に生物膜深さ方向のAVS(すなわち FeS)、CRS(すなわち FeS_2)及び S^0 分布を示す。 FeS 、 FeS_2 及び S^0 のうち、 S^0 は最も高濃度に生物膜内に蓄積していた。 S^0 の蓄積は発生した H_2S が式.1のみならず式.2の酸化経路によって酸化されることを示唆している。また、 S^0 は図.2に示した H_2S 酸化領域付近の $100 \mu m \sim 400 \mu m$ の領域に多く蓄積しており、このことから硫化物酸化反応は好気-嫌気境界面付近に限られた反応であることがうかがえる。

次に、 FeS 濃度は $250 \mu m$ 付近で最も高く($40 \mu mol/cm^3$)、濃度分布に顕著なピークが見られた。 S^0 濃度分布と同様に FeS 濃度のピークもまた H_2S 酸化領域付近に見られ、生物膜内に存在する鉄が発生した H_2S の酸化に関与していることが明らかになった。一方、 FeS_2 濃度は S^0 及び FeS 濃度に比べて低く、生物膜内の硫黄循環にあまり関与していなかった。

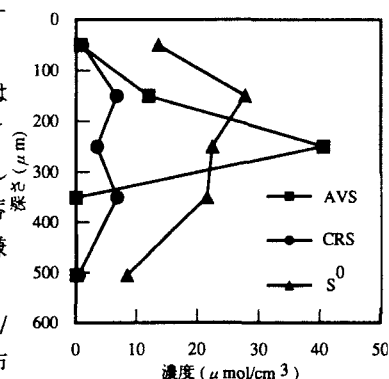


図.3 生物膜内還元性硫黄化合物濃度分布



4 結論

本研究では混合培養系好気性生物膜内の硫酸塩還元及び硫化物酸化反応を検討し、その結果以下のことを明らかにした。

1. SRB菌体密度は表層で最も高かったのに対し、potential及びIn Situの硫酸塩還元活性は好気-嫌気境界付近の嫌気領域で高かった。

2. 硫酸塩還元反応により発生した H_2S は好気-嫌気境界付近の微好気領域において酸化された。 H_2S の酸化にはDOのみならず生物膜内に存在する鉄が関与していた。

参考文献

- 1) Revsbech, N.P. and Jorgensen, B.B. (1986) Microelectrodes: Their use in microbial ecology, *Adv. Microb. Ecol.*, 9, 293-352.
- 2) de Beer, D. and van den Heuvel, J.C. (1988) Gradients in immobilized biological systems, *Anal. Chim. Acta*, 213, 259-265
- 3) Fossing, H. and Jorgensen, B.B. (1992) Measurement of bacterial sulfate reduction in sediments: evaluation of a single-step chromium reduction method, *Biogeochem.*, 8, 205-222.