

河川感潮部底質での窒素・硫黄変換微生物群の構成評価

呉高専 正 山口 隆司 呉高専 正 市坪 誠
 琉球大学 ○学 吉田 治 高知高専 正 山崎 慎一
 長岡技科大 正 原田 秀樹

1. はじめに

河川の生物学的自浄作用に関する研究は従来より数多く行われてきているが、河川感潮域における微生物の生態についてはこれまであまり研究されてきていない。河川感潮域では、その上流から運ばれてくる硝酸塩等の窒素源とともに海水に含まれる硫酸塩等の硫黄源が存在し、河川や海洋とは異なる微生物生態があると予想される（図1参照）。

そこで本研究は、海水の流入が干潮時と満潮時で著しく変動する広島県黒瀬川の感潮域において、底質表層あるいは深さ方向の硝化細菌、脱窒素細菌、硫酸塩還元細菌の菌数計数および分解活性等を測定して感潮部底質の窒素・硫黄変換微生物群の生態について評価した。

2. 実験方法

感潮部底質の生態調査は、広島県黒瀬川感潮域で冬期（12月～2月）に実施した。底質試料は、干潮時に円柱状の筒（5cmφ×50cm）、またはスコップを用いて静かに採取し持ち帰り、底質中の微生物構造調査として硝化細菌、脱窒素細菌および硫酸塩還元細菌の菌数計数、生態調査として底質深さ方向の亜硝酸分解活性、亜酸化窒素濃度、硫化物濃度の測定を行った。

菌数計数：底質表層（深さ0.5～1.5cm）から採取した試料で行い、淡水性および海水性（NaCl, 20g・ℓ⁻¹含有）の培地によってアンモニア酸化細菌、亜硝酸酸化細菌、脱窒素細菌、硫酸塩還元細菌をMPN法（n=3）により計数した。底質試料はホモジナイザー、超音波で分散処理し、10倍ごとに希釈し、個々の菌にあった環境で培地の入った希釈列で培養した。培地は、アンモニア酸化細菌および亜硝酸酸化細菌は硝化細菌培養培地、脱窒素細菌はGiltayの培地、硫酸塩還元細菌はWiddelの培地とした。なお脱窒素細菌については底質深さ方向についても菌数計数を行った。

底質深さ方向の亜硝酸分解活性：バイアル実験によって行った。バイアル瓶に底質（40ml=67g-sludge）に培地60mlを投入し、有機物として酢酸・乳酸（500mgCOD・ℓ⁻¹）を混入させ、気相部をヘリウムで充填した。ロータリーシェーカーで35℃で培養し約6時間毎に亜硝酸塩濃度を分析した。バイアル実験終了（40時間）後、バイアル瓶内の亜酸化窒素濃度をECD（島津GC-8AE）によって分析した。

硫化物濃度測定方法：試料中を酸性にして発生する硫

NOB (硝化菌) $\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$
 NRB (脱窒菌) $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$
 SRB (硫酸塩還元細菌) $\text{SO}_4^{2-} \rightarrow \text{S}^{2-}$

図1 微生物による窒素・硫黄変換

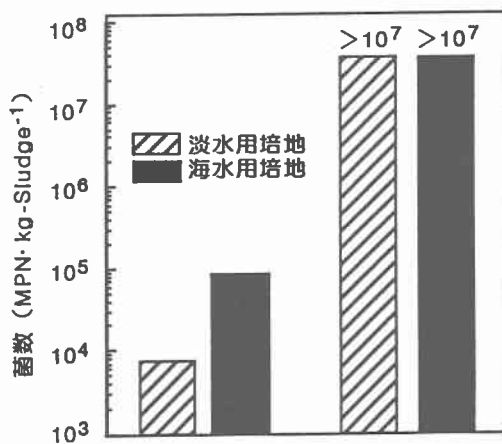


図2 海水性・淡水性硝化菌の菌数計数結果（黒瀬川感潮部底質、0.5～1.5cm）

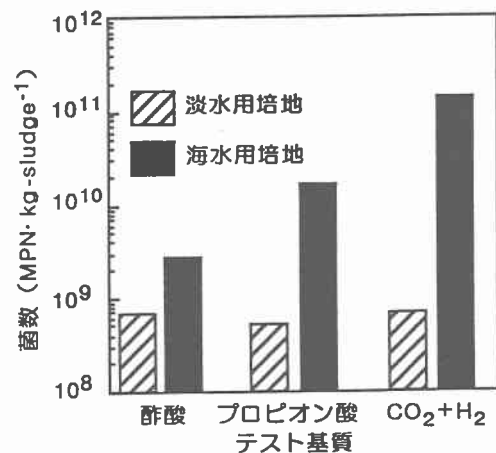


図3 海水性・淡水性硫酸塩還元細菌菌数計数結果（黒瀬川感潮部底質、0.5～1.5cm）

化水素を酢酸亜鉛溶液に吸収させ、生成した硫化亜鉛をヨウ素溶液とチオ硫酸溶液で滴定して硫化物を求めた。

3. 実験結果と考察

図2は海水性および淡水性の培地における底質中の硝化細菌の菌数計数結果を示す。亜硝酸酸化細菌数はアンモニア酸化細菌数に比べて3オーダー高い $1.07 \text{ MPN} \cdot \text{kg-slugde}^{-1}$ 以上の値が得られた。

図3に底質中の硫酸塩還元細菌の菌数計数結果を示す。硫酸塩還元細菌は、海水性の培地で菌数が高くなる傾向を示し、海水の流入が著しい感潮域では硫酸塩還元細菌の存在量が多いと判断される。またその存在量は、硫酸塩還元細菌の基質（酢酸、プロピオン酸、 H_2/CO_2 ）によって影響を受ける事も確認できる。

図4に窒素および硫黄化合物の深さ方向プロファイル評価結果を示す。(a)図より底質表層から深さ10cmまでは脱窒素細菌は $10^5 \text{ MPN} \cdot \text{kg-slugde}^{-1}$ 程度の存在が確認された。(b)図より亜硝酸分解活性は、底質表層で $5 \text{ mg NO}_2\text{-N} \cdot \text{kg-slugde}^{-1}$ に対し深さ4cmにおいて約6倍に増大したが、それより深くなるとまた減少傾向を示した。また、(c)図より亜酸化窒素濃度は、底質表層から深さ4cmまでは蓄積がみとめられたが、7cm以上では消失する現象が確認された。よって(b)図と(c)図より、亜酸化窒素分解菌は底質表層にはあまり存在しないが、深さ7cm以上になると亜硝酸分解菌に比べ存在比率が高くなる事が推測される。(d)図より、底質中の全硫化物濃度は、底質深さに従って高くなり、深さ15cm以上では $150 \text{ mg} \cdot \text{kg-slugde}^{-1}$ の硫化物を含んでいた。硫化物の底質における蓄積は硫酸塩還元細菌が行うことから、硫酸塩還元細菌は河川感潮域底質が深くなるに従って存在量は多くなると判断される。

4. 結 論

本研究により以下の知見が得られた。

- (1) 亜硝酸酸化細菌数はアンモニア酸化細菌に比べて3オーダー高い $1.07 \text{ MPN} \cdot \text{kg-slugde}^{-1}$ 以上の値が得られ、また脱窒素細菌は $10^5 \text{ MPN} \cdot \text{kg-slugde}^{-1}$ 程度の存在が確認された。
- (2) 亜酸化窒素分解菌は底質表層にはあまり存在しないが、深さ7cm以上になると亜硝酸分解菌に比べ存在比率が高くなる事が推測された。
- (3) 海水の流入が著しい感潮域では硫酸塩還元細菌の存在量は多く、また底質深さに従ってその存在量は更に多くなると判断された。

〔謝辞〕 本研究は、(社)土木学会中国支部ちゅうごく土木みらい委員会自主研究助成金を受けて一部遂行した。記して深謝致します。

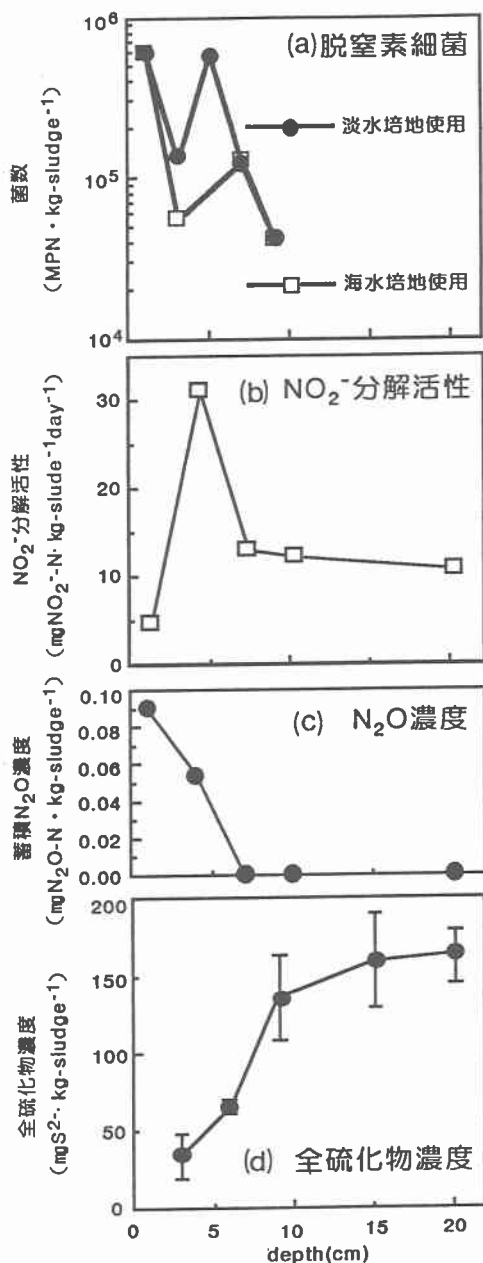


図4 窒素・硫黄化合物の深さ方向プロファイル
(a) 脱窒素細菌菌数
(b) 底質の亜硝酸分解活性
(c) 亜酸化窒素の蓄積
(b)図のバイアル実験終了時における
(d) 全硫化物濃度（溶解性、固形性）