



Title	微小電極を用いた河川底泥内の光合成および酸素消費速度の解析
Author(s)	佐藤, 久; 中村, 吉志
Description	第9回衛生工学シンポジウム (平成13年11月1日 (木) -2日 (金) 北海道大学学術交流会館) . 2 環境保全 . 2-1
Citation	衛生工学シンポジウム論文集, 9, 83-87
Issue Date	2001-11-01
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/7149">https://hdl.handle.net/2115/7149</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	9-2-1_p83-87.pdf



## 2-1 微小電極を用いた河川底泥内の光合成および酸素消費速度の解析

佐藤 久、中村 吉志 (八戸工業大学)

### 1. はじめに

河川に流入する汚濁物質には、生活や産業活動に伴って人為的に発生するものと山林や地下水から流出するものがあるが、都市域を流れる河川では下・廃水処理水や未処理の生活排水が河川への主な汚濁負荷となっている。また、都市域を流れる河川では河川の自浄能をこえて汚濁物質が排出される場合があり、このような河川では河口の感潮域にまで汚濁物質が到達する<sup>1)</sup>。水質汚濁が進行した河川感潮域では、海水に含まれる硫酸塩( $\text{SO}_4^{2-}$ )が底泥内で還元され、生物にとって有害である硫化水素( $\text{H}_2\text{S}$ )が発生すると考えられる。河川の自浄能を保ち、 $\text{H}_2\text{S}$ の発生を抑制するためには、ある一定以上の酸素( $\text{O}_2$ )が水中に存在することが必要となる。

$\text{O}_2$ は大気からの移動や河川内での光合成によって増大する。光合成は河川の有光層直下に存在する底泥の表層においても生ずる<sup>2)</sup>。例えば、液本体中の酸素( $\text{O}_2$ )濃度が約 $200\mu\text{M}$ であった底泥の深さ約 $1,000\mu\text{m}$ の地点において、光合成により生成された $\text{O}_2$ 濃度が $800\mu\text{M}$ に達したことが報告されている<sup>3)</sup>。底泥内の $\text{O}_2$ 濃度の増大は好気性従属栄養生物による有機物の無機化( $\text{O}_2$ 呼吸)や、底泥内で生産されたアンモニア( $\text{NH}_4^+$ )、亜硝酸( $\text{NO}_2^-$ )、硫化水素( $\text{H}_2\text{S}$ )、メタン( $\text{CH}_4$ )等の還元性物質の再酸化を促進する。後者の反応は底泥から水中への栄養塩の溶出の抑制に重要な役割を果たしている。また、一次生産と呼ばれる光合成による有機物の生産は、水中から底泥表面に沈降した有機物と同様

に、多様な代謝機能をもつ底泥表層の生物群集の活性に多大な影響を及ぼす。さらに、光合成により無機態炭素および無機態窒素が有機態炭素および有機態窒素に変換されることは、光合成が炭素循環や窒素循環に関与していることを示している。以上のように河川底泥表層での物質代謝は、河川内生態系全体の物質循環において重要な役割を果たしている<sup>4)</sup>。

以上の背景から、河川底泥内で生ずる光合成活性を測定する研究が行われてきた<sup>2, 3, 5-8)</sup>。これらの報告では、主に微小電極を用いて底泥内の $\text{O}_2$ 濃度分布を測定し、 $\text{O}_2$ 生成速度を算出することにより、光合成活性を求めている。 $\text{O}_2$ 微小電極は感応部が僅か数 $\mu\text{m}$ のセンサーであり、測定に先立ち底泥の前処理を必要としない、空間分解能が高い(数 $10\mu\text{m}$ )、時間分解能が高い(数s)、底泥の構造を攪乱する可能性が少ない、等の理由から、底泥内および底泥近傍の $\text{O}_2$ 濃度分布を測定する方法として現在最も信用できる方法である<sup>4)</sup>。

そこで本研究では、青森県八戸市内を流れる新井田川の河川底泥内の $\text{O}_2$ 濃度分布を測定した。 $\text{O}_2$ 濃度分布の測定には $\text{O}_2$ 微小電極を用いた。測定した $\text{O}_2$ 濃度分布から光合成活性を検討し、さらに、河川水質、照射光強度、照射時間が底泥内の $\text{O}_2$ 濃度分布に及ぼす影響を検討した。測定地点は、新井田川流域に存在する是川污水处理場の処理水放水口付近、および河口から $1,500\text{m}$ 上流の感潮域とした。

## 2. 実験装置および実験方法

### 2.1 河川水質の測定

2001年4月から8月の間に河川水水質を測定した。測定地点は青森県八戸市内を流れる新井田川に架かる風張橋から約70m上流(point1)、および河口付近に架かる柳橋から約100m上流(point2)とした。point1の約30m上流には是川汚水処理場の処理水放水口が存在する。すなわち、point1は生活排水処理水が流入する地点に、point2は感潮域に相当する。水質測定項目は $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{NO}_2^-$ 、硝酸( $\text{NO}_3^-$ )、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、BOD、COD、 $\text{O}_2$ 、pH、水温とした。 $\text{NH}_4^+$ はインドフェノール青吸光光度法<sup>9)</sup>により、 $\text{NO}_2^-$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、および $\text{SO}_4^{2-}$ は陰イオン分析用カラム(Shim-pack IC-A1: Shimadzu)を装備したイオンクロマトグラム(HIC-6A: Shimadzu)により、 $\text{O}_2$ はDOメーターにより、pHおよび水温はpHメーターにより、それぞれ測定した。

### 2.2 微小電極を用いた河川底泥内 $\text{O}_2$ 濃度分布の測定

底泥の採取は容積50mlのプラスチック製シリンジ(直径3cm)を長さ約5cmに切断し筒状にした、底泥サンプラーを用いて行った。底泥の形状を崩さぬように底泥サンプラーを底泥に約4cm挿入し、上部および下部を密閉することで底泥を採取した。底泥採取後、底泥採取地点の河川水を併せて採取した。これらを直ちに実験室に持ち帰り、河川水を満たしたフローセル(容積; 約800mL)内に、底泥表面がフローセルの底面と同じ高さになるように底泥サンプラーを固定した。エアポンプとパスツールピペットを用いて水面に空気を吹き付け、約2cm/sの流速を与えた。フローセルは幅6cm高さ3cmのドーナツ型の水路であり、河川水はよどみなく循環した。フローセル内で底泥を約30分間馴養した後、本研究室においてを製

作した $\text{O}_2$ 微小電極<sup>10)</sup>を用いて河川底泥内の $\text{O}_2$ 濃度分布を測定した。微小電極はマイクロマニピュレーター(MMスタンダードZ昇降ステージMM-60V-H1およびX・YステージMM-60X・Y-H1: 中央精機株式会社)に固定し、コントローラドライバ(CAT-D: 中央精機株式会社)により制御した<sup>11)</sup>。全ての測定は河川水の水温を $25 \pm 1^\circ\text{C}$ に保ち行った。

照射光強度が河川底泥内の $\text{O}_2$ 濃度分布に及ぼす影響を解析するため、ハロゲンランプを用いて底泥に光を照射した。照射から約30分後、上記と同様の方法で微小電極による測定を開始した。測定終了後照射光強度を変更し、約30分経過した後に次の測定を行った。照射光強度の指標として光合成光量子束密度[ $\mu\text{mol photons /m}^2/\text{s}$ ]を光量子計(BQM型: 藤原製作所)を用いて測定した。

さらに、以下の方法により光の照射時間が河川底泥内の $\text{O}_2$ 濃度分布に及ぼす影響を経時的に解析した。 $\text{O}_2$ 微小電極を底泥表面よりも200 $\mu\text{m}$ 上の地点に固定した。暗条件で底泥を培養し、 $\text{O}_2$ 濃度が一定になった後、約1,900 $\mu\text{mol photons /m}^2/\text{s}$ の光を照射した。光照射開始を経過時間の基準(すなわち0s)とした。以降、10s毎に $\text{O}_2$ 濃度を測定した。光照射開始から440s後、底泥を再び暗条件下で培養し、測定を継続した。測定は720sまで行った。測定終了後、微小電極を底泥表面、深さ200 $\mu\text{m}$ 、500 $\mu\text{m}$ 、1,000 $\mu\text{m}$ の各地点に固定し、同様の測定を行った。測定前後における $\text{O}_2$ 微小電極の検出電流値のドリフトは3%以内であった。

## 3. 結果と考察

### 3.1 河川底泥内の $\text{O}_2$ 濃度分布

Fig. 1にpoint1およびpoint2の $\text{O}_2$ 濃度

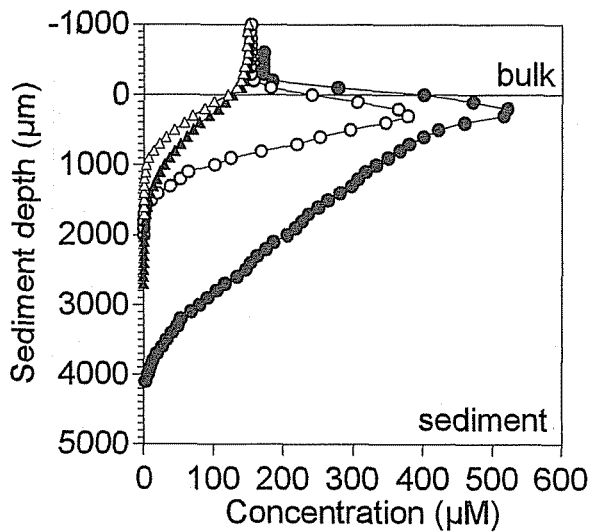


Fig. 1. Steady state concentration profiles of  $O_2$  in the sediment from point 1 in darkness ( $\blacktriangle$ ) and in the light ( $\bullet$ ), and in the sediment from point 2 in darkness ( $\triangle$ ) and in the light ( $\circ$ ). Incident irradiance was  $1,900 \mu\text{mol photons}/\text{m}^2/\text{s}$ .

分布を示した。明条件下(約 $1,900 \mu\text{mol photons}/\text{m}^2/\text{s}$ )において、point1およびpoint2共に、 $O_2$ 濃度は表面から約 $200 \mu\text{m}$ 上の地点から急激に増大し、深さ $200 \mu\text{m}$ の地点で最大となり、これ以後では減少し、point1の底泥内では深さ約 $4,200 \mu\text{m}$ の地点で、point2の底泥内では深さ約 $1,900 \mu\text{m}$ の地点で枯渇した。最大 $O_2$ 濃度はpoint1では約 $520 \mu\text{M}$ 、point2では約 $380 \mu\text{M}$ であり、point1においてより高かった。このことから、point1の底泥はpoint2の底泥に比べ光合成活性が高かったことがわかった。また、暗条件下においては、液本体中に約 $150 \mu\text{M}$ 存在した $O_2$ は底泥表面において約 $120 \mu\text{M}$ に減少し、point1の底泥内では深さ約 $2,500 \mu\text{m}$ の地点で、point2の底泥内では深さ約 $1,400 \mu\text{m}$ の地点で枯渇した。底泥内に $O_2$ 濃度の増大は見られなかった。このように、 $O_2$ はpoint2の底泥に比べpoint1の底泥においてより深く浸入した。このことから、point2の底泥はpoint1の底泥に比べ $O_2$ 消

費活性が高かったことがわかった。

以上のような底泥採取地点における $O_2$ 消費活性の差異を検討するため、河川水水質(平均濃度 $\pm$ 標準偏差)の差異を検討した。有機物濃度の指標として測定したBODおよびCODは、point1では $4.3 \pm 1.2 \text{mg/L}$ および $9.3 \pm 5.9 \text{mg/L}$ 、point2では $4.9 \pm 2.5 \text{mg/L}$ および $19.0 \pm 9.0 \text{mg/L}$ であった。両pointで著しい差が見られたのはCODで、その平均濃度はpoint2がpoint1の約2倍であった。このことから、point2ではpoint1に比べ河川水中からの有機物供給量が多かったため、底泥の $O_2$ 消費活性が高かったと考えられる。また、 $SO_4^{2-}$ 濃度は、point1では $6.7 \pm 1.9 \text{mg-S/L}$ 、point2では $153 \pm 121 \text{mg-S/L}$ であった。両地点共に底泥内には嫌気領域が検出されたことから、内部では $H_2S$ が発生していたと考えられる。point2でより底泥の $O_2$ 消費活性が高かった理由として、 $SO_4^{2-}$ 濃度がより高かったpoint2ではより多くの $H_2S$ が発生したことも考えられる。窒素化合物の指標として測定した $NH_4^+$ 、 $NO_2^-$ 、および $NO_3^-$ 濃度は、point1では $1.1 \pm 0.4 \text{mg-N/L}$ 、 $0.2 \pm 0.1 \text{mg-N/L}$ 、および $2.7 \pm 0.5 \text{mg-N/L}$ 、point2では $0.5 \pm 0.5 \text{mg-N/L}$ 、 $0.01 \pm 0.04 \text{mg-N/L}$ 、および $1.5 \pm 0.8 \text{mg-N/L}$ であった。このように、無機窒素化合物の濃度には顕著な差は見られなかった。また、 $O_2$ 、水温、およびpHは、point1では $9.0 \pm 0.1 \text{mg/L}$ 、 $18.5 \pm 0.3^\circ\text{C}$ 、および $7.4 \pm 0.5$ 、point2では $5.8 \pm 1.0 \text{mg/L}$ 、 $17.7 \pm 2.8^\circ\text{C}$ 、および $6.9 \pm 0.5$ 、であった。

### 3.2 照射光強度が河川底泥内の $O_2$ 濃度分布に及ぼす影響

次に、point1の底泥を用いて照射光強度が河川底泥内の $O_2$ 濃度分布に及ぼす影響を検討した。Fig. 2に照射光が約10、約1,000、約1,400、および約 $1,900 \mu\text{mol photons}/\text{m}^2/\text{s}$ の条件における河川底泥内の $O_2$ 濃度分布を示した。

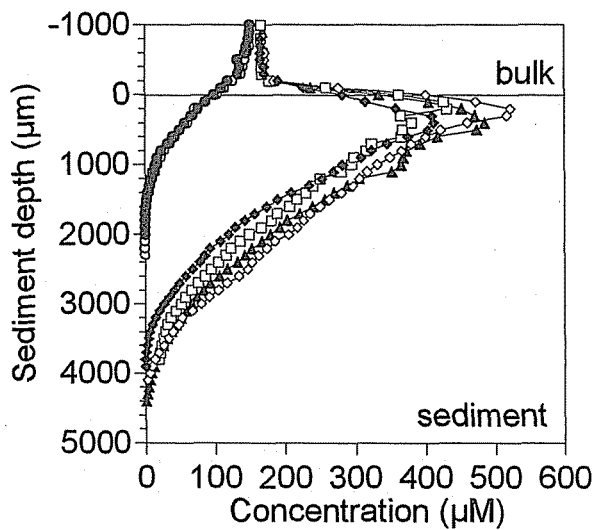


Fig. 2. Steady state concentration profiles of  $O_2$  in the sediment from point 1 at different incident irradiance intensity, 1,000 ( $\triangle$ ), 1,400 ( $\blacksquare$ ), 1,900 ( $\diamond$ ,  $\blacklozenge$ )  $\mu\text{mol photons /m}^2/\text{s}$ , respectively. Microprofiles were also determined in darkness before ( $\circ$ ) and after ( $\bullet$ ) light incubation.

$O_2$ 濃度は全ての条件において400 $\mu\text{m}$  ~ 200 $\mu\text{m}$ の地点で最大となった。最大 $O_2$ 濃度は照射光が約1,000 $\mu\text{mol photons /m}^2/\text{s}$ の時480 $\mu\text{M}$ 、約1,400 $\mu\text{mol photons /m}^2/\text{s}$ の時430 $\mu\text{M}$ 、約1,900 $\mu\text{mol photons /m}^2/\text{s}$ の時520 $\mu\text{M}$ および410 $\mu\text{M}$ であり、照射光強度と最大 $O_2$ 濃度との間には明確な関連は見られなかった。明条件下において $O_2$ 濃度分布を測定した後、再び暗条件下において $O_2$ 濃度分布の測定を行った。この $O_2$ 濃度分布が光を照射する以前の $O_2$ 濃度分布と類似していたことから、明条件下における $O_2$ 濃度の増大が光の照射によるものであることがわかった。暗条件下では液本体から底泥に $O_2$ が輸送されたのに対し、明条件下においては底泥から液本体に $O_2$ が輸送された。このことから、明条件下においては河川底泥が河川水中の $O_2$ 濃度の増大に寄与していることがわかった。

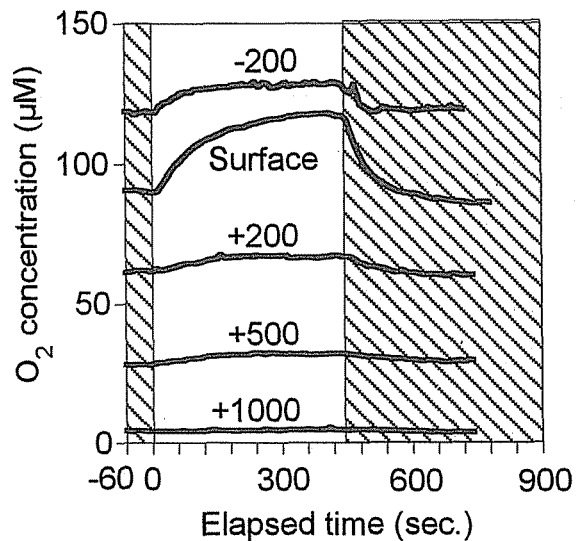


Fig. 3. Time course of change in  $O_2$  concentration at different depth in the sediment from point 2. Lines indicate the measured  $O_2$  concentration at the following depths in the sediment: -200  $\mu\text{m}$ , surface (i.e., 0  $\mu\text{m}$ ), +200  $\mu\text{m}$ , +500  $\mu\text{m}$ , and +1,000  $\mu\text{m}$ . After darkness for 30 minutes, light was switched on at time zero. Incident irradiance was 1,900  $\mu\text{mol photons /m}^2/\text{s}$ . The hatched areas indicate a period of dark incubation.

### 3.2 照射時間が河川底泥内の $O_2$ 濃度分布に及ぼす影響

照射時間が河川底泥内の $O_2$ 濃度に及ぼす影響を検討するため、暗条件下で培養した河川底泥に約1,900 $\mu\text{mol photons /m}^2/\text{s}$ の光を照射し、その後の底泥内の $O_2$ 濃度を測定した。Fig. 3に表面よりも200 $\mu\text{m}$ 上の地点、表面、深さ200 $\mu\text{m}$ 、500 $\mu\text{m}$ 、1,000 $\mu\text{m}$ の地点における、光照射後の $O_2$ 濃度の変動を示した。斜線部は底泥が暗条件下で培養された期間を示している。光照射開始(0s)以前の暗条件下においてはいずれの地点においても $O_2$ 濃度は変動しなかった。光照射後、最も $O_2$ 濃度が増大したのは底泥表面においてであった。表面の $O_2$ 濃度は光照射後瞬時に増大し始め、340s後には最大値に到達し、その後は

一定となった。表面よりも200 $\mu\text{m}$ 上の地点では表面よりも濃度変動が少なかったため、僅か100s後には最大値に達した。深さ200 $\mu\text{m}$ 、500 $\mu\text{m}$ 、1,000 $\mu\text{m}$ の地点では $\text{O}_2$ 濃度の顕著な変動は見られなかった。光照射から440s後、再び暗条件下で底泥を培養した。底泥表面に着目すると、明条件と同様に暗条件においても光照射停止後 $\text{O}_2$ 濃度は瞬時に減少し始め、光照射から680s後(光照射停止から240s後)には $\text{O}_2$ 濃度は一定となった。以上の結果から、底泥内の $\text{O}_2$ 濃度は数分のオーダーで光照射の影響を受けていることがわかった。

#### 4. 結論

本研究では、 $\text{O}_2$ 微小電極を用いて河川底泥内の $\text{O}_2$ 濃度分布を測定し、河川水質、照射光強度、照射時間が $\text{O}_2$ 濃度分布に及ぼす影響を検討した。その結果、以下の結論を得た。

- 1) 河川底泥に光を照射した結果、底泥内の $\text{O}_2$ 濃度が増大した。河川水質の異なる2地点から採取された底泥では、光合成活性および $\text{O}_2$ 消費活性が異なった。 $\text{O}_2$ 消費活性は有機物濃度が高い地点においてより高かった。
- 2) 照射光強度と底泥内最大 $\text{O}_2$ 濃度との間には明確な関連は見られなかった。
- 3) 底泥内の $\text{O}_2$ 濃度は数分のオーダーで光照射の影響を受けた。

#### 5. 参考文献

- 1) 宗宮 功 編 (1990) 自然の浄化機構、技報堂出版。
- 2) Jorgensen, B. B. and Boudreau, B. P. (2001) Diagenesis and sediment-water exchange. In *The benthic boundary layer* (Edited by Boudreau, B. P. and Jorgensen, B. B.), pp. 211-244. Oxford University Press, New

York.

- 3) Lassen, C., Ploug, H. and Jorgensen, B. B. (1992) Microalgal photosynthesis and spectral scalar irradiance in coastal marine sediments of Limfjorden, Denmark, *Limnol. Oceanogr.*, **37**(4), 760-772.
- 4) 小池 勲夫 編 (2000) 海底境界層における窒素循環の解析手法とその実際、社団法人産業環境管理協会。
- 5) Ramsing, N. B., Ferris, M. J. and Ward, D. M. (2000) Highly ordered vertical structure of *Synechococcus* populations within the one-millimeter-thick photic zone of a hot spring cyanobacterial mat, *Appl. Environ. Microbiol.*, **66**(3), 1038-1049.
- 6) Jorgensen, B. B., Revsbech, N. P. and Cohen, Y. (1983) Photosynthesis and structure of benthic microbial mats: Microelectrode and SEM studies of four cyanobacterial communities, *Limnol. Oceanogr.*, **28**(6), 1075-1093.
- 7) Lassen, C., Ploug, H., Kuhl, M., Jorgensen, B. B. and Revsbech, N. P. (1994) Oxygenic photosynthesis and light distribution in marine microbial mats. In *NATO ASI Series, Vol. G 35, Microbial Mats* (Edited by Stal, L. J. and Caumette, P.), pp. 305-310. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- 8) Lorenzen, J., Larsen, L. H., Kjaer, T. and Revsbech, N. P. (1998) Biosensor determination of the microscale distribution of nitrate, nitrate assimilation, nitrification, and denitrification in a diatom-inhabited freshwater sediment, *Appl. Environ. Microbiol.*, **64**(9), 3264-3269.
- 9) 日本分析化学会北海道支部編 (1998) 環境の化学分析、三共出版株式会社。
- 10) Revsbech, N. P. (1989) An oxygen microelectrode with a guard cathode, *Limnol. Oceanogr.*, **34**(2), 474-478.
- 11) 佐藤 久、中村 吉志、小野 英樹 微小電極を用いた活性汚泥内の酸素消費機構の解析、水環境学会誌、投稿中。