

多孔体内における浮遊・付着微生物の輸送特性

名古屋大学大学院工学研究科

学生会員 ○島田 和哉

名古屋大学大学院工学研究科

正会員 井上 康

名古屋大学エコトピア科学研究所

正会員 片山 新太

1. 背景と目的

土壌・地下水汚染の浄化手段として近年、微生物の汚染物質分解能力を浄化に利用するバイオレメディエーションが注目されている。この技術を確立するためには、汚染物質が存在する土壌および地下水帯の間隙に、いかに分解微生物を到達させるかという点が重要な課題である。しかし、土壌、地下水帯は非常に複雑な場であるために、現在その現象は完全に把握されていない。そこで本研究では、多孔体内における土着微生物の輸送現象に焦点を当て、流速が微生物輸送に与える影響を浮遊微生物、土粒子付着微生物の観点から定性的に明らかにすることを目的とした。

2. 実験方法

直列に連結した2本のカラムの上層に平均粒径0.28mmの川砂（庄内川、名古屋市西区）、下層に平均粒径0.68mmのガラスビーズ（以下GB）を充填し、滅菌水を上端から鉛直に飽和浸透させて微生物の輸送実験を行った（Fig.1）。川砂の粒径による組成は91.44% Sand、7.60% Silt、0.96% Clay（国際土壌学会法）であった。実験中は、流出水を砂充填カラムの間隙体積（以下PV）毎にサンプリングし、合計20PV流出するまで実験を行った。本研究では、微生物輸送に対する流速効果を調べるために、 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} cm/sの3種類のオーダーの流速で実験を行った。また、GBの微生物捕捉効果を調べるために、全ての条件に対して下層GB充填カラムを設置しない実験も行った。流出水中の微生物数計測は、エチジウムブロミド染色法を利用した直接検鏡により行い、画像解析ソフト（Aquacosmos、浜松ホトニクス）を用いてカウントした。流出水サンプルの顕微鏡画像の例（Fig.2）より、微生物は単体ではっきりとその形状を示すものと、雲状物質の周りに存在しているもの

（Fig.2、円で囲った部分）に区別される。前者は土粒子に付着せず菌体のみで流出した浮遊微生物、後者は土粒子に付着して流出した付着微生物と考えられる。本実験では、PC画像解析による全微生物数カウントに加え、付着微生物数を求めるために、画像を肉眼でカウントした。また、全微生物数から付着微生物数を引いて、浮遊微生物数を計算した。流出水中の含有土粒子重量は、流出水を105℃で炉乾燥して測定した。流出土粒子の粒度分布は流出水に3分間超音波照射することにより土粒子の凝集を分散させて、レーザー回折/散乱式粒度分布測定装置（LA-920、HORIBA）を用いて測定した。

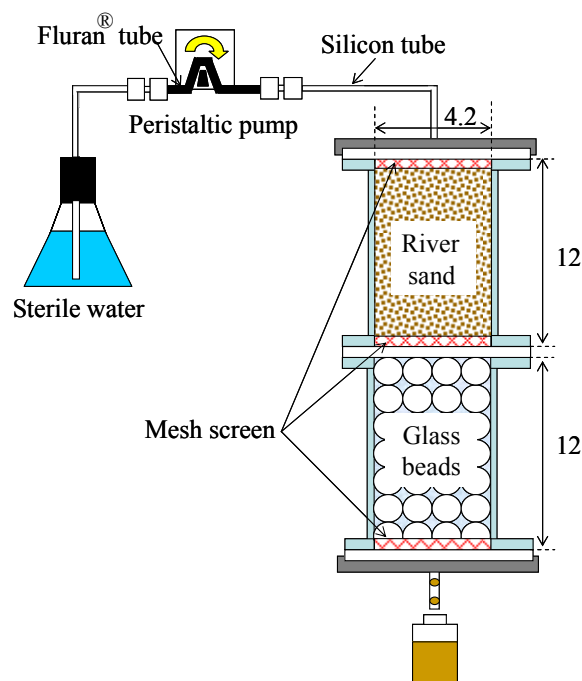


Fig.1 Scheme of the flow system (Unit : cm)

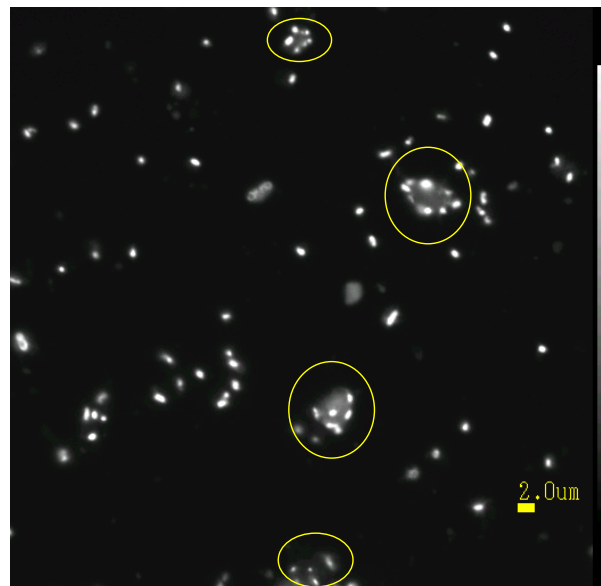


Fig.2 Free and attached bacteria in the effluent

キーワード：微生物の輸送、カラム実験、流速、浮遊・付着微生物、土粒子径

連絡先：〒464-8603 愛知県名古屋市千種区不老町 名古屋大学エコトピア科学研究所 TEL 052-789-5841

3. 結果と考察

(1) 流速が微生物輸送に与える影響

浮遊微生物の流出数は高流速の場合、 4.24×10^7 (cells/ml、以下菌数単位省略)、中流速の場合 1.67×10^7 、低流速の場合 2.66×10^7 となり高、低、中流速の順で有意に多かった。また、付着微生物の流出数は、高流速の場合 9.12×10^6 、中流速の場合 1.34×10^6 、低流速の場合 1.26×10^6 となり高流速の場合が中・低流速よりも有意に多いという結果が得られた。以上、全実験条件において流出微生物は浮遊微生物の方が付着微生物よりも多かった。

(2) GB の微生物捕捉効果

高・低流速条件では浮遊、付着微生物の流出数は共に GB 層の有無に依らず等しかった。中流速条件では浮遊、付着微生物の流出数は共に GB 層無しの方が GB 層有りの場合よりも有意に多かった。以上より、高・低流速条件においては、浮遊・付着微生物共に GB に捕捉されないのに対し、中流速条件では両微生物共に GB に捕捉され、その捕捉率は浮遊微生物で 50%、付着微生物で 24% であった。

(3) 付着微生物の流出数と流出土粒子の関係

Fig.3 は高・低流速条件において、各PVの全流出微生物数、流出付着微生物数を流出土粒子重量に対してプロットしたものである。得られたプロットに対し回帰分析を行い、その関係を調べた。その結果、高流速条件においてのみ流出水中の全微生物数、付着微生物数共に、流出土粒子重量との間に有意な線形相関が見られ、その近似直線の傾きは両者の間で近い値となった。よって、本条件では浮遊微生物の流出量は実験中終始一定であったと考えられる。また、単位流出水中の付着微生物数－土粒子重量の近似直線の傾きは、単位土粒子重量あたりの付着微生物数を表し、本条件では 6.91×10^6 cells/mg であった (Fig.3)。Fig.4 に各条件における流出土粒子の粒度分布を示す。平均粒径は高流速条件で $4.01 \mu\text{m}$ 、中流速条件で $2.33 \mu\text{m}$ 、低流速条件で $0.46 \mu\text{m}$ であった。流出水中の付着微生物数と土粒子重量の相関係数は高流速条件で 0.63 と高い値をとり、中・低流速条件では 0.03、0.01 と低い値をとったことを考慮すると、土粒子のシルト分に微生物が多く付着していると推測された。高流速条件では流体力によりシルト分が多く輸送され、その結果付着微生物が多く流出したと考えられた。

4. 結論

- 1) 浮遊・付着微生物の流出数は流速により異なったが、全条件において流出微生物は浮遊微生物が主であった。
- 2) 流出水中の付着微生物数と土粒子の関係より、土粒子のシルト分に微生物が付着していると考えられた。高流速条件では流体力によりシルト分が多く輸送され、その結果付着微生物が多く流出したと推測された。

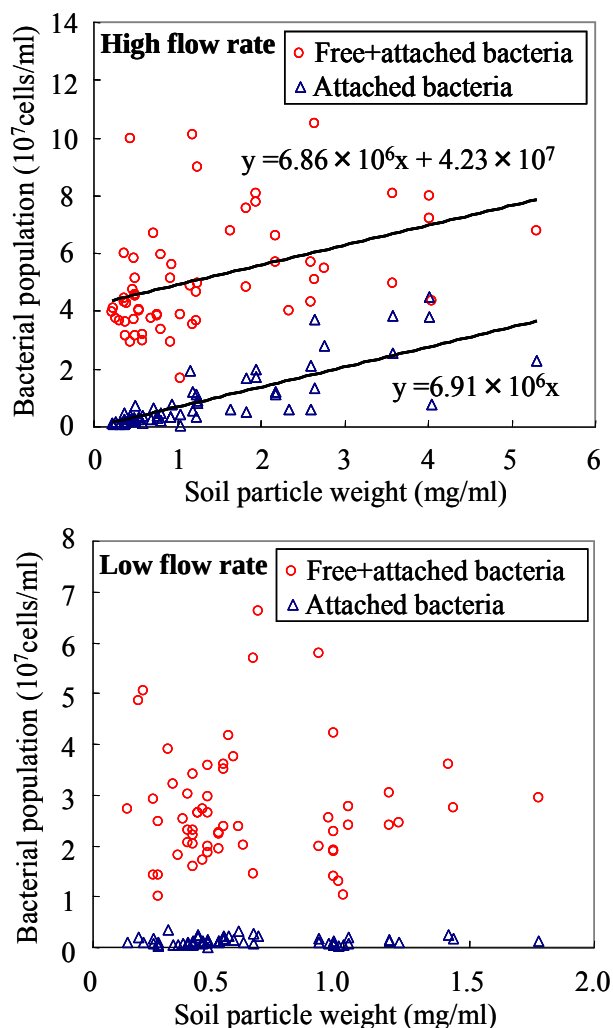


Fig.3 The relationship between bacterial population and soil particle weight in the effluent
(○ : Total bacteria, △ : Attached bacteria)

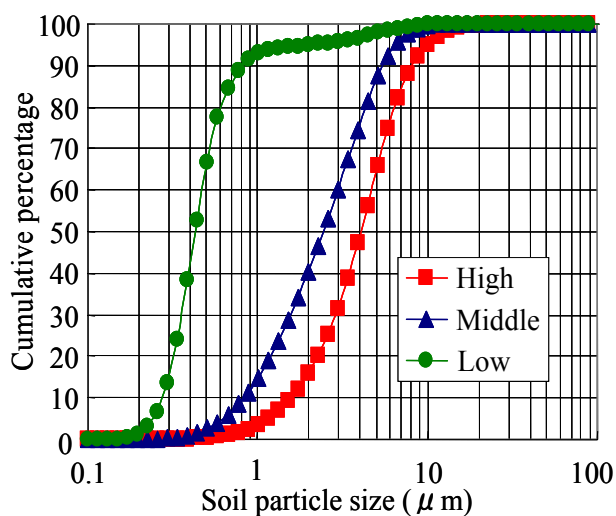


Fig.4 Soil particle size in the effluent