

バイオオーギュメンテーションのための室内カラム実験に基づく微生物の増殖と移動特性

岐阜大学 青木 健・佐藤 健・高見澤一裕・橋本 洋平

1. はじめに

地下水汚染に対する浄化技術として、汚染土壌や地下水中に生息する微生物の汚染物質分解能力を利用して環境修復を行うバイオレメディエーションが注目されている。この技術は低コストで低濃度汚染に対して浄化効果が高く、エネルギー消費が少ないという点で注目を集めている。バイオレメディエーション(特にバイオオーギュメンテーション、微生物添加による汚染分解、以下B.A.)の効果的实施には、微生物ならびに栄養塩の土中での動態評価が重要であり、その解明が求められている。微生物の地下環境での移動は、その運動性の有無、あるいは運動能力の大きさにも依存すると予測されるが、大きくは増殖による濃度増大を伴う拡散と地下水の移流によるものとされている¹⁾。本研究は、バイオレメディエーション技術の向上に資する基礎データの蓄積、ならびに流れ場における微生物動態を明らかにすることを目的とした。ここでは、PCEならびにTCEによる汚染地下水を対象としたB.A.を想定し、これらの分解能力を持つ嫌気性微生物 *Clostridium bifermentans* DPH-1 株(以下、DPH-1 株)を用い、微生物の増殖の有無が移動特性に与える影響について検討した。

2. 材料と方法

2.1 微生物の性質と菌体量の定量

偏性嫌気性菌である DPH-1 株の培養には MY 培地を使用し、30℃ で静地培養を行った。この菌は PCE から TCE を経て cis-DCE まで分解する能力を持っている。また、化学走性および自走性を有しないため、自力による微生物の移動や分布などを考慮する必要がない。

DPH-1 株は、培養開始 7 時間にて定常期に入ることが確認されている。本実験では、微生物の増殖が与える影響を考察するために、増殖期にある微生物と定常期にある微生物に区別した。微生物の増殖が最も行われている培養開始 4 時間の微生物を用いた実験を増殖期とし、微生物が増殖期を迎えた後に微生物の成長が定常状態に入った培養開始 16 時間の微生物を用いた実験を定常期とした。

菌体量の定量には分光光度計を設置し 595 nm の波長条件で測定を行い、Bradford 法を用いたタンパク質を定量した。

2.2 DPH-1 株を用いた定流量カラム実験

カラム実験装置を図-1 に示す。ガラスカラムにセラミックビーズ(以下、CB)、ガラスビーズ(以下、GB)を充填し充填層を作成し、蒸留水を流入しガラスカラム内に飽和定常流を作成し流れの定常を確認した後、DPH-1 株培養液(以下、原液)に切り替え、カラム上端からの採液を行った。蒸留水による洗い出し過程の微生物動態を確認するため菌液採液後、再び蒸留水に切り替え、洗い出しの過程で採液を行った。原液および採液の菌体定量を行い、流入菌体濃度 C_0 、採液菌体濃度 C の経時的变化ならびに微生物の回収率から微生物の移動特性を検討した。

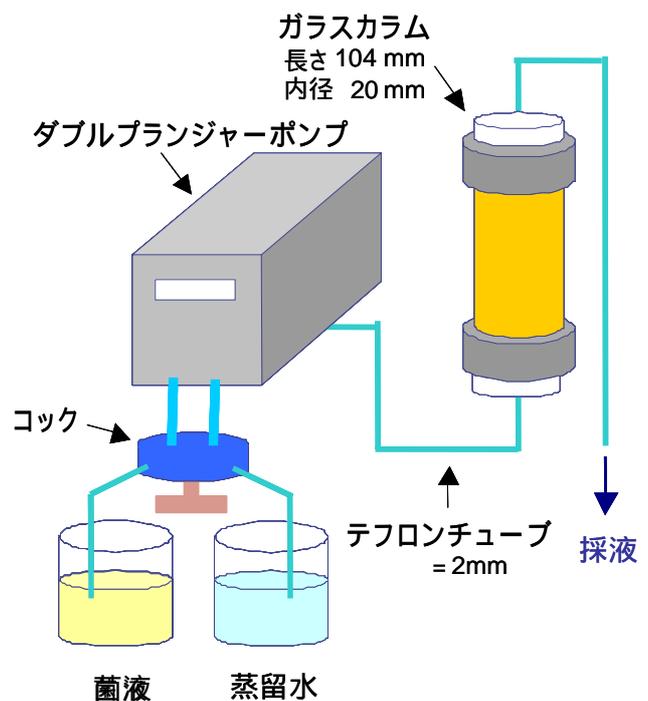


図-1 実験装置概略図

3. 結果と考察

微生物の増殖による影響を考察するため、CB、GBの流量が等しい流出破過曲線を図-2(a),(b)、実験条件を表-1に示した。CB、GBともに、流出破過曲線の定常域での相対濃度（流入菌体濃度に対する採液菌体濃度の比）が定常期に比べ増殖期のほうが高い数値を示した。これより、カラム内で微生物の増殖が行われたと考えられる。GBは表面に凸凹がなく、粗間隙も微生物に対して十分に大きいためほとんど堆積しない。この試料で増殖現象が測定されたことから、微生物は試料に堆積せず移流状態でも増殖されることがわかった。また、CBはGBに比べて定常域で高い相対濃度が測定された。CBは細間隙の孔が微生物の大きさ（約1.8 ~ 3.1 μm）より小さいため、間隙中に微生物が抑留されたと考えられる。微生物の抑留には流れ場における吸着・堆積現象が考えられる。粒子と地下水中の各種溶質（微生物も含む）の間に働く力には、中性分子と帯電していない表面間の分子間力と、イオンと帯電した表面間のCoulomb力がある。DPH-1株は通常条件（pH 7.2）では、表面のカルボキシル基、リン酸基などが解離して負に帯電している。また、今回実験に用いたCB、GB共に負に帯電している。電気的に見ると、微生物も試料も負に帯電しておりCoulomb力による吸着は発生しないと考えられる。つまり、流れ場においては吸着の影響はほとんどなく、微生物の抑留は堆積現象に支配されていると推察できる。しかし、セラミックビーズは表面に無数の孔が開いているため、細間隙からの分子間力により一度は吸着されるが、原液ならびに蒸留水により再び脱離され流れ始める可逆的な物理吸着を引き起こす場合がある²⁾。この結果、CBは移流状態での増殖に加え、分子間力の影響により細間隙に堆積した微生物が増殖したのち脱離したため、GBより高い相対濃度を示したと考えられる。

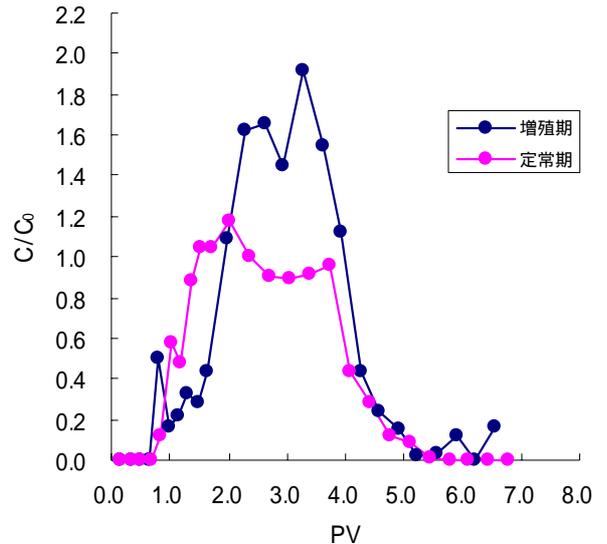


図-2(a) 増殖期間中による影響 (CB)

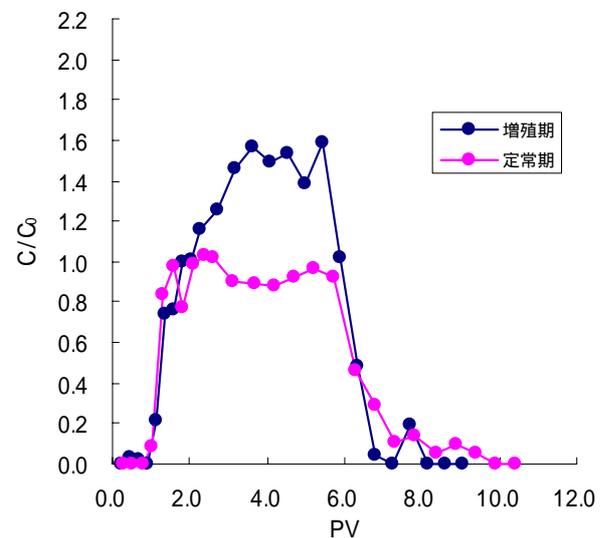


図-2(b) 増殖期間中による影響 (GB)

表-1 実験条件

試料	流量 ml / min	増殖期の流入菌体量	定常期の流入菌体量
		mg protein / L	mg protein / L
CB	1.0	9.8	24.5
GB	1.0	12.2	33.6

4. まとめ

増殖期間中の微生物は土中に注入された後、移流中ならびに間隙中に堆積されると増殖すると考えられ、増殖現象は微生物の移動特性に変化を及ぼすことがわかった。

参考文献

- 1) 須藤孝一, 下村大輔, 井上千弘・千田 俊 多孔質体内における微生物の移動と増殖との関係 第11回 地下水・土壌汚染とその防止対策に関する研究集会 pp142 - pp146
- 2) 藤原俊明 室内実験にもとづく微生物の移動特性とモデル化に関する研究 岐阜大学工学部工学研究科修士論文, 2006