

## 河川に沈漬させた多孔質粒状物に付着する微生物菌叢の変化と水質に与える効果

岸本 憲明<sup>1</sup>・越智 祐介<sup>1</sup>・平尾 壽啓<sup>2</sup>・玉井 元治<sup>2</sup>・藤田 藤樹夫<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>近畿大学農学部応用生命化学科・<sup>2</sup>近畿大学大学院総合理工学研究科)

### Changes of Microbial Flora Adhered to the Porous Particles Soaked in the River and Improvement Effect of Their Water Quality

Noriaki KISHIMOTO<sup>1</sup>, Yusuke OCHI<sup>1</sup>, Toshihiro HIRAO<sup>2</sup>, Motoharu TAMAI<sup>2</sup>, Tokio FUJITA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Department of Applied Biological Chemistry, Faculty of Agriculture, Kinki University,*

<sup>2</sup>*Graduate school of Kinki University, School of Science and Engineering*

#### Synopsis

A number of bacteria ( $10^{10}$  cells/g) and yeast ( $10^9$  cells/g) were detected from three kinds of porous particle such as pumice, charcoal, glass cullet which were soaked in the river for 12 h. The microbial numbers detected at 12 h were the almost same as the numbers after soaked for 16 days (The Okawa River) and for 200 days (The Second Neyagawa River). The microbial numbers detected from the porous particles are about 10 to 100 times that of crushed stone. The different microbial numbers among porous particles and crushed stones were depended on the surface area of the particle. The porous particle had a larger surface area than that of crushed stone. The DNA band patterns extracted from the pumice and charcoal soaked in the river were the almost same, whereas the band patterns from glass cullet and the crushed stone were changed with the lapse of time. The pumice and charcoal contained a number of continuous bubbles in their particle. The microbes in the river were sucked up to the internal air-gap with water by the capillary phenomenon and adhered to the wall in the internal air-gap and developed. On the other hand, the glass cullet contained a number of independent bubbles and the crushed stone had no air-gap in the particle. Therefore, the microbes were only adhered on the surface of the glass cullet and the crushed stone and developed. The dominant species grown in the internal air-gap of the particle might be stable during the test period, while the dominant microbes grown on the surface of the particle might be changed readily by the stream of the river and the physical bombardment. Five clean-water units with floating body which were packed with pumice, charcoal, and glass cullet were connected in series and floated on the Okawa River. The river water was passed through the clean-water units for 54 days. The turbidity, total nitrogen concentration and chemical oxygen demand (COD) of the effluent water from the units were decreased at 52, 40 and 62%, respectively.

## 緒 言

地球は、水の惑星と呼ばれ、約14億 $\text{km}^3$ の水が地球上に存在する。しかし、その97～98%は海水で、真水である地下水と地表水は、全水量の0.72%と0.016%にすぎない。しかも、利用しやすい地表水のほとんどは湖沼水で、湖沼水の43%が塩水である<sup>1,2)</sup>。

真水は、陸上生物が生命を維持するのに必須の物質であるが、利用可能な淡水の量は、地下水と地表水を合わせて、約0.1億 $\text{km}^3$ にすぎない<sup>1,2)</sup>。つまり、ヒトを含む陸上生物は、地球上の全水量のごく限られた量の水しか利用することができない。この限られた真水を、いかに有効に利用するかが課題となる。

ヒトの生産活動が活発になり、生活レベルが向上してくると、ヒトは多量の真水を消費し排出するようになる。そして、我々の出した排水が、貴重な淡水資源である河川や湖沼、地下水を汚染、汚濁してきた。とくに、富栄養化に伴う水質汚濁は、1955年代の高度成長期以降、悪化の一途をたどってきた<sup>3)</sup>。

政府は1967年に公害対策基本法を、1971年には水質汚濁防止法を施行して、産業排水に厳しい水質規制をかけた。その結果、産業排水による水質汚濁は、著しく改善されたが、下水道未整備地域から排出される、生活排水などの小規模排水による河川の水質汚濁が、課題として残されている。1965年以降、毎年約1.5億 $\text{m}^3$ の割合で生活用水の需要が増加している<sup>4)</sup>。この要求に応えるためには、生活排水の処理方法を確立して、河川や湖沼の水質を維持することが急務である。

自然界では、河川や湖沼の水際に生育した水生植物が、水質浄化に大きな役割を果たしている。植物の根がフィルターの役割を果たして、有機物を除去し、河川水から窒素やリンなどの無機栄養塩を同化吸収している<sup>5)</sup>。また、根圏には微生物や水生小動物が集まって、生態系を形成している。この生態系に魚類などが加われば、水圏内で食物連鎖が形成されて、一層の水質浄化が期待できる<sup>6)</sup>。このように、水圏の生物相が多様になれば、

生物共生型の河川を確立することができる。

ところが、高度成長期に河川の堤防をコンクリートで築く三面張り工法が導入され、多くの護岸工事が、この工法で行われた。この方法は、治水や利水機能を優先した工法で、治水や利水面では高い効果が得られたが、生物の多様性に必要な水際域の環境と生態系を破壊したために、自然浄化能力が低下して、水質が悪化してしまった<sup>7)</sup>。

最近、水際域の環境を保全するために、ポーラスコンクリートが開発され、多くの用途に施工されている。多孔質粒状物を充填したポーラスコンクリートで舗装した道路は、降雨時にも舗装道路の表面に水がたまず、夏期には多孔質部分に蓄えた水が気化して、都市部の気温上昇を防ぐなど、生態系にやさしい素材として活用されている。しかも、ポーラスコンクリートに使用されている多孔質粒状物には、廃棄ガラスを溶融して、多孔質粒状物（ガラスカレット）に成型したものや、軽石や木炭屑が使用されており、資源の有効活用にもなる。

本研究では、3種類の多孔質粒状物（軽石と木炭、ガラスカレット）とコントロール（碎石）を、大阪府内の2カ所の河川に沈漬し、沈漬物に付着する微生物の数を経時的に追跡した。また、付着した微生物の種類の变化も分子生態学的手法を用いて調べた。

その結果、多孔質粒状物を河川に沈漬してから12h以内に、 $10^9 \sim 10^{10}$  cells/gの細菌と $10^8 \sim 10^9$  cells/gの酵母が検出された。この数は、コントロールの碎石に付着した細菌と酵母の数の10～100倍であったことから、河川に浮遊している微生物は、極めて短時間で多孔質粒状物に付着できることを明らかにした。

また、供試した3種類の多孔質粒状物間には、付着菌数に有意差が認められなかったが、優勢種の経時的な変動には、違いが認められた。軽石や木炭に付着した菌叢の優勢種は安定していたが、ガラスカレットに付着した優勢種はやや不安定で、碎石の優勢種が最も不安定であった。

さらに、発泡スチロールの浮体部分と3種類の多孔質粒状物を入れた網状体部で構成された水質

浄化ユニットを作成し、大川に設置した。ユニットはビニールシートで覆って、池の水と遮断し、直列に5基連結して各ユニット間をホースでつないだ。流水ポンプを用いて、一方の端から池の水を流入させ、5基のユニットを通過させて、他端から流出させた。流入水と流出水の水質を54日間測定したところ、濁度、全窒素、CODの除去率は、それぞれ52、40、62%で優れた水質改善効果を得ることができた。

## 実験方法

### 1. 材料

本実験で使用した4種類の粒状物を表1と図1にまとめた。碎石以外の粒状物は多孔性で、碎石よりも表面積が非常に大きかった。

### 2. サンプリング地点と試験期間

網状のカゴに4種類の供試試料を別々に詰めて、大阪第二寝屋川と楠根川の合流地（第二寝屋川と略称、東大阪市）と、毛馬・桜ノ宮公園内の旧野木池（大川と略称、大阪市）に沈めた。第二寝屋川には、2005年6月6日から12月9日まで試料を沈め、実験開始3週間までは1週間ごとに、3週目以降は1ヶ月ごとにサンプリングした。また、大川には2005年9月26日に供試試料を沈め、実験開

始3日間は12時間ごとに、3日目以降は6日と16日目にサンプリングして総菌数を求めた。

### 3. 多孔質粒状物に付着した総菌数の測定

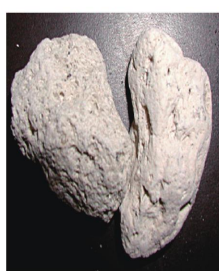
3種類の多孔質試料は、BEAD-BEATER (Biospec, Co. Ltd.) に入れて、10秒間3回処理して破碎した。破碎物は200メッシュの篩にかけ、200メッシュ以下の破碎物0.1gに滅菌リン酸生理食塩水 (pH 7.0) を5ml加えた。また碎石は、10g程度の大きさのものに滅菌リン酸生理食塩水を10ml加えた。いずれの試料もよく懸濁した後、超音波処理 (50 kHz, 3 min ON, 2 min OFF) を3回行って、試料に付着している菌を遊離させた。得られた懸濁液を滅菌ろ紙 (Toyo Roshi No.1, Toyo Roshi Kaisha, Ltd) でろ過し、適当な数になるように希釈してから、トーマ血球計算盤 (Fujirika Co., Ltd.) を用いて、バクテリアと酵母の総菌数を数えた。

### 4. 多孔質粒状物からDNAの抽出

200メッシュの篩に通した破碎物0.3gを秤量し、Ultra Clean Soil DNA Isolation kit (GEヘルスケア バイオサイエンス株式会社) を用いてDNAを抽出した。碎石は、10gの大きさを越えるものを選出し、超音波処理を行って付着菌を遊離させた。得られた菌懸濁液1mlにUltra Clean Soil DNA Isolation kitを加えてDNAを抽出した。

表1. 供試粒状物の種類と粒径、比重、吸水率

粒 状 物	製 造 元	粒径 (mm)	比重	吸水率
5号碎石	高 槻 産	13.0 ~ 20.0	2.60	0.50
軽 石	大江化学(株)	9.5 ~ 19.0	1.14	49.3
木 炭	奈良炭化工業(株)	10.0 ~ 20.0	1.12	52.4
ガラスカレット	(株)トヨシステムプラント	10.0 ~ 20.0	1.15	36.2



軽石



ガラスカレット



木炭



碎石

図1. 供試粒状物の外観

表2 PCR primer set for DGGE

GC-341F	5'-GC clamp*-CCTACGGGAGGCAGCAG-3'
534R	5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3'
* CGCCCGCCGCGCCCGCGCCCGTCCCGCCGCCCCCGCCCG	

DNA抽出液の260 nmにおける吸光度を測定し、DNA濃度を求めた。

## 5. PCR法による16S rDNAの増幅

抽出したDNAを鋳型としてPCR法により、16S rDNAのV3領域(*E. coli* No. 341-536)にあたる200 bpの塩基配列を増幅した。プライマーは、GCクランプ付きのGC-341Fと534R(表2)を使用した<sup>8)</sup>。

PCRチューブに10×Gold Taq buffer (Applied Biosystems) 5μl, dNTP (dA, dC, dG, dT, 各2.0mM) mixture (Applied Biosystems) 5μl、25 mM MgCl<sub>2</sub> (Applied Biosystems) 6μl、PCR primer: Forward GC-341F (10 pmol/μl) 1μl, Reverse 534R (10 pmol/μl) 1μl (シグマジェノシス)、サンプルXμl (50 ng)、SPW Yμl (X + Y = 32μl)、AmpliTaq Gold (5U/μl, Applied Biosystems) 0.2μl入れ、計50μlとしたものをPCR反応液とした。PCR反応にはMyCycler Thermal Cycler (Bio-Rad Lab. Inc.) 用い、Pre-run (95℃, 10 min)を行った後、熱変性 (93℃, 60 sec)、アニーリング (48℃, 70 sec)、伸長反応 (72℃, 70 sec) を25サイクル行ってからPost-run (72℃, 5 min)を行った。

PCRにより目的の配列が増幅されたことを確認するために、アガロースゲル電気泳動を行った。ゲルは15.0 g/lとなるようにアガロース (Agarose S, 和光純薬株式会社) を0.5×TAE (50×Tris-Acetic Acid-EDTA buffer, Bio-Rad Lab. Inc.) 緩衝液に溶解して作成し、同緩衝液中で泳動した。マーカーには100 bp DNA Ladder (TAKARA) を用いた。エチジウムブロマイド (和光純薬工業株式会社) でDNAを染色し、紫外線 (310 nm) を照射して染色されたDNAが発する励起光をKodak Gel Logic 200 Imaging System (Kodak) とKODAK GL Filter (エチジウムブロマイド用、

Kodak) で増幅断片とマーカーを比較確認した。

## 6. DGGE解析

DGGE解析にはDcode system (Bio-Rad Lab. Inc.) を使用した。変性剤濃度勾配は、7.0 M 尿素 (Bio-Rad Lab. Inc.) と40% (v/v) ホルムアミド (Bio-Rad Lab. Inc.) を変性剤100% (v/v) としたとき、電気泳動方向に20から50% (v/v) となるように調整した。ゲルはアクリルアミド (Bio-Rad Lab. Inc.) 濃度が、電気泳動方向に6から9% (v/v) に勾配させたポリアクリルアミドゲルを用いた<sup>8,9)</sup>。泳動条件は電圧200V、泳動時間6 h、泳動温度61℃とし、泳動緩衝液には0.5×TAE緩衝液を用いた。泳動終了後、ゲルをSyber Gold (TAKARA) で30 min染色し、紫外線 (310 nm) を照射して励起光をKodak Gel Logic 200 Imaging SystemとKODAK GL Filter (SYBR Green/SYBR Gold用) を用いて撮影した。

## 7. 多孔質粒状物を充填した水質浄化システムを通過させた河川水の水質浄化

多孔質粒状物を充填した浮体構造の水質浄化ユニットを5台作成し、大川に池の護岸と並行になるように、5台を直列に接続して設置した。浄化ユニットは、発泡スチロール製の浮体部分 (500×500×2100 mm) と、粒状物を入れる網状体部 (790×1000×2000 mm) で構成されている。網状の下層にはガラスカレットを、中層には木炭を充填し、水面域には保水性マットを敷いた。マットの上部には軽石を敷き詰めて、毛細管現象による水の吸い上げを可能とした。軽石層にはシュロガヤツリ、マリーゴールド、ペゴニアなど塩や水の吸収能力よい植物を植え付け、植物育床として、景観に配慮した。

5台目の浄化ユニットに流量10 l/minの流水ポンプを設置して、1日に1ユニットが通水する水



量を一定に保った。また、各浄化ユニットは、ビニールシートで覆って池の水と完全に遮断し、ユニット間はホースでつないで、各水路内に均一に通水するようにした。そして、直列に連結した5台の浄化ユニットに流入する河川水の水質と、流出する河川水の水質を測定し、除去率を求めた。浄化ユニットには太陽電池を取りつけて、ポンプの電源を確保した<sup>10)</sup>。

採取した試料水の水質は、多項目水質分析計（HACK社製、DR/2500、分光光度法）を用いて全窒素（過硫酸塩分解法）、全リン（PhosVer3 過硫酸分解法）、COD（化学的酸素要求量、重クロム酸カリウム法）と濁度（TR-30、笠原理科工業）を測定した。採水と水質調査は、浄化ユニット設置後12時間ごとに10日間連続で行い、それ以降は2～3日間隔で54日間行った<sup>10)</sup>。

## 実験結果および考察

### 1. 供試多孔質粒状物の特性

碎石の比重2.60に比べて、供試した3種類の粒状物の比重は1.12～1.15で、非常に軽い素材であった。また、吸水率も木炭と軽石が最も大きく（49～52）、次いでガラスカレット（36）で、碎石の吸水率はわずか0.5であった（表1）。これらの結果は、木炭や軽石、ガラスカレットには、表面や内部に微少な空隙が多数形成されているため、比重が小さく、吸水率が高かったことを示している。

ガラスカレットの吸水率が、木炭や軽石よりも小さかったのは、形成された空隙の形状の違いによると考えられる。木炭や軽石は、連続気泡型で内部まで連続した空隙が形成されているのに対して、ガラスカレットは独立気泡型で空隙が形成されている。外側から内部まで空隙が部分的に連続してつながっている木炭や軽石は、より多くの水を吸水できる。一方、微小な気泡の多くが独立して存在するガラスカレットでは、空隙内部まで水が吸水されなかったため、吸水率に差が出たと考えている。

### 2. 第二寝屋川に沈漬した試料に付着した微生物の総菌数の経時変化

3種類の多孔質粒状物に付着した細菌と酵母の総菌数は、調査期間中 $10^9 \sim 10^{10}$ と $10^8 \sim 10^9$  cells/gで、粒状物の種類と経時変化に大きな変動は認められなかった（図2, 3）。細菌に比べると、酵母の菌数は1/10程度しか検出されなかった。

沈漬7日後には、すでに細菌で $10^9$ 、酵母で $10^8$  cells/gの菌数が検出されたことから、粒状物沈漬後、短時間のうちに、微生物が試料に付着したと考えられる。一方、碎石に付着した細菌と酵母の数は $10^8 \sim 10^9$ と $10^6 \sim 10^8$  cells/gで、多孔質粒状物に比べると、1/10～1/100程度であった。これは、内部や表面に多数の空隙を有する多孔質粒状物と空隙の少ない碎石では、菌が付着できる表面積の大きさに差があり、この違いが菌数に反映したと

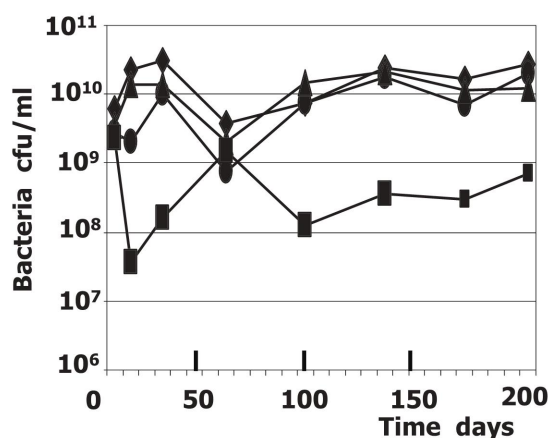


図2. 第二寝屋川に浸漬した粒状物に付着した細菌の総菌数の経時変化  
◆, 軽石; ●, 木炭; ▲, ガラスカレット; ■, 碎石

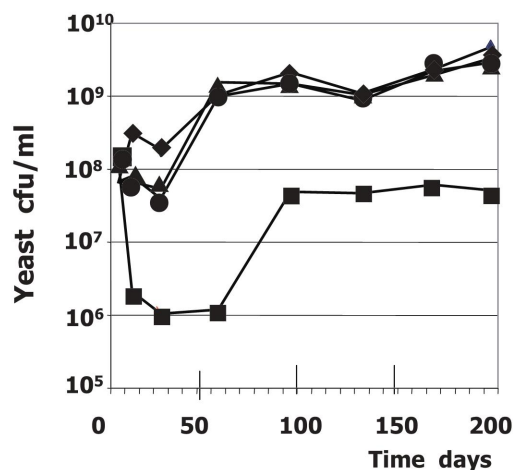


図3. 第二寝屋川に浸漬した粒状物に付着した酵母の総菌数の経時変化  
◆, 軽石; ●, 木炭; ▲, ガラスカレット; ■, 碎石

考えられる。

### 3. 大川に沈漬した試料に付着した微生物の総菌数の経時変化

第2寝屋川に沈漬した粒状物には、沈漬後7日目に、微生物が付着していた。そこで、同じ試料を大川に沈め、今度は12時間ごとに3日間総菌数を測定した。

その結果、12時間後には、すでに $10^{10}$  cells/gの細菌と $10^9$  cells/gの酵母が検出され、それ以降、総菌数に大きな変動は認められなかった(図4、5)。多孔質粒状物に比べると数は少なかったが、碎石にも $10^8$  cells/gの細菌が検出された。これらの結果から、河川に棲息している微生物は、12時間以内という極めて短時間で河川に沈漬した試料に付着できることを明らかにすることができた。

沈漬12時間後と7日後に多孔質粒状物から検出された細菌や酵母の総菌数が、ほぼ同じであったことから、河川に棲息している微生物は、沈漬試料の表面に速やかに付着することができると考えられる。

このように速やかに固形物に付着できる微生物として、菌体周辺に粘質物(粘着物質)を生産するフィルム形成菌が考えられる。河川のような流れのある環境に棲息している微生物は、菌体表面に粘着物を生産して、固形物に付着して菌体を固定し増殖していると考えられる。そうしないと、微

生物は海へ流されてしまう。フィルム非形成菌も、粘着物質生産菌が固形物表面に形成したフィルムに付着して、増殖していると考えられる。

また、極めて短時間に多孔質粒状物から多数の菌が検出されたもう一つの理由として、毛細管現象が考えられる。空隙の多い多孔質粒状物を水につけると、表1に示したように、毛細管現象で水をよく吸い上げた。このとき、水中に浮遊している微生物も一緒に空隙内部まで吸い上げられ、空隙表面に付着すると推測している。毛細管現象による水の吸い上げは瞬時であることから、多孔質粒状物を河川に沈漬すると、河川に浮遊している微生物は、水とともに瞬時に空隙内部に吸い上げられ、菌の生産する粘質物で空隙表面に付着し、増殖すると考えられる。多孔質粒状物には内部まで空隙があり、採石よりも表面積が大きいので、多数の菌が検出されたと考えられる。

### 4. 大川に沈漬した試料に付着した微生物の菌叢解析

大川に沈漬した試料に付着した微生物の総菌数は、12時間後から16日目まで大きな変動が認められなかった(図4、5)。しかし、総菌数に変動がなくても、菌の種類は変動していた可能性が考えられる。たとえば、空隙内部の表面に付着した微生物が増殖すると、空隙内部の溶存酸素が消費される。空隙内部の水は、河川水と置き換わりにくい

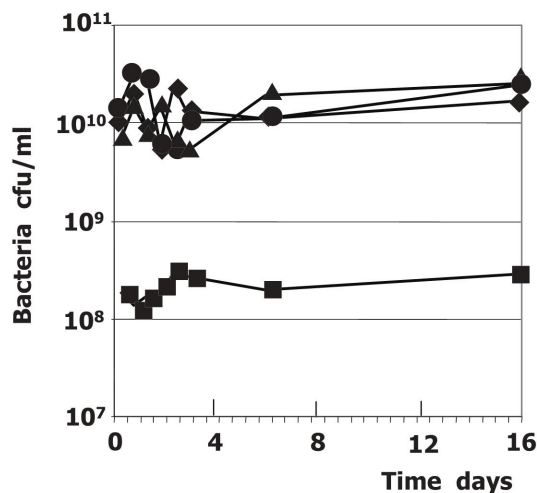


図4. 大川桜ノ宮に浸漬した粒状物に付着した細菌の総菌数の経時変化  
◆, 軽石; ●, 木炭; ▲, ガラスカレット; ■, 碎石

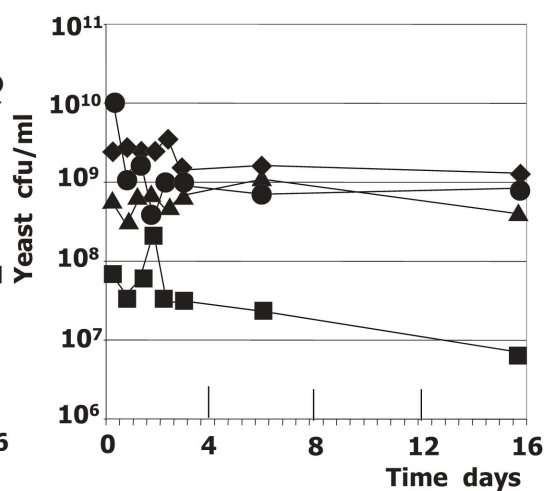


図5. 大川桜ノ宮に浸漬した粒状物に付着した酵母の総菌数の経時変化  
◆, 軽石; ●, 木炭; ▲, ガラスカレット; ■, 碎石

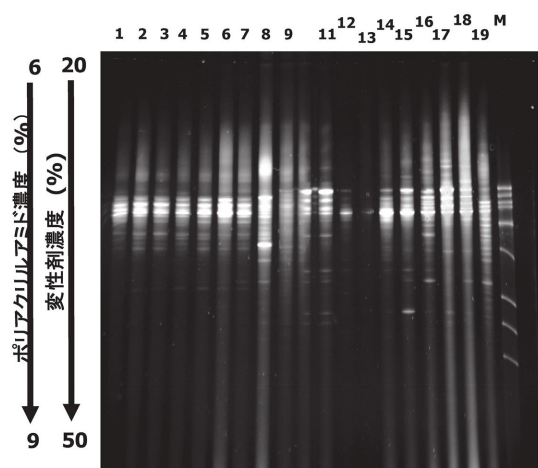


図6. 大川に浸漬した軽石と木炭から抽出した16S rDNAのDGGE解析

Lane 1～8, 軽石；11～18, 木炭；9, 19, 多孔質粒状物を充填した製品；M, 分子量マーカー；Lane1, 11, 0.5日後；5, 15, 2.5日後；6, 16, 3日後；7, 17, 6日後；8, 9, 18, 19, 15.5日後。

ので、河川水から供給される酸素の量は極めて乏しい。したがって、多孔質粒状物内部に微生物が増殖し始めると、嫌気的環境になると推測される。そうすると、好気性微生物から通性嫌気性や偏性嫌気性微生物に、菌の種類が変化していく可能性が高い。

そこで、沈漬した試料から直接DNAを抽出し、16S rDNAのV3領域をPCR法で増幅し、DGGE解析した。軽石と木炭では、安定したDNAバンドパターンが得られた。つまり、最初の3日間はほぼ同じパターンが得られたが、6、16日後のパターンは、3日目までのパターンと少し異なっていた（図6, Lanes 7-9, 17-19）。これは6、16日後の優勢種が変化したことを示唆している。

一方、ガラスカレットのDNAバンドパターンは、軽石や木炭に比べると安定性を欠き、バンドパターンに変動が認められた。軽石や木炭では安定していた3日目までのパターンも、ガラスカレットではパターンが変動し、6日と16日後には最初と異なったパターンを示していた（図7, Lanes 7-9, 17-19）。碎石のDNAバンドパターンは、前出の3種類の粒状物から得られたパターンよりも、さらに不安定であった（図7）。

内部に空隙がない碎石では、菌叢は碎石の表面にしか付着することができない。表面に付着した菌叢は、川の流れや衝撃によってはがれやすく、

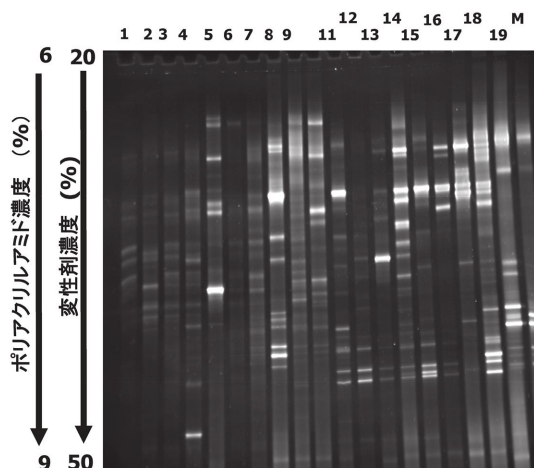


図7. 大川に浸漬したガラスカレットと碎石から抽出した16S rDNAのDGGE解析

Lane 1～8, ガラスカレット；11～18, 碎石；9, 19, 多孔質粒状物を充填した製品；Lane1, 11, 0.5日後（Sep. 26, 05）；2, 12, 1日後（Sep.27）；3, 13, 1.5日後；4, 14, 2日後；5, 15, 2.5日後；6, 16, 3日後；7, 17, 6日後；8, 9, 18, 19, 15.5日後。

はがれた部分には新たな菌叢が形成される。したがって、碎石に付着した菌叢は、不安定と考えられる。また、多くの空隙が独立した気泡で構成されたガラスカレットには、粒状物表面と表層にある細孔にのみ菌叢が形成される。碎石に比べると、ガラスカレットでは細孔にも菌叢が形成されるので、菌叢が安定するが、粒状物内部まで連続的に空隙が形成された木炭や軽石に比べると、菌叢の安定性が劣っていたと考えられる。

調査した菌叢の優勢種と、その生理・生化学的性状を明らかにできれば、粒状物の物理化学的な状態の変化も推測することが可能で、今後の研究が待たれる。

## 5. 多孔質粒状物を充填した水質浄化システムを通過させた河川水の水質浄化

流出水の濁度は、流入水の48%に低下し、水質浄化ユニットを通過させると水の透明度が大きく上昇した（図8）。また、流入水には1.5～2.0 mg/lと高濃度の窒素が含まれていたが、流出水の平均濃度は1 mg/lに低下していた。流入水の全窒素濃度は、「環境庁告示第59号、生活環境の保全に関する環境基準b. 湖沼の項目の利用目的の適応性」に照らし合わせると、指定類型を超える高い値であったが、流出水の濃度は、利用目的の適応性に合致し、類型Vに分類された。流入水と流出水の

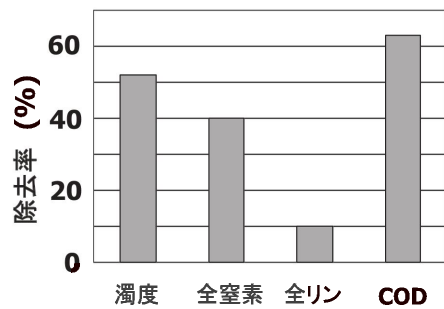


図8. 水質浄化ユニットを通過させた河川水の水質

全窒素濃度から算出した浄化ユニットの全窒素除去率は40%で、流出水的全窒素濃度を環境基準内に改善することができた(図8)。

流出水の全リン濃度は、流入水の10%しか低下しなかった(図8)。全リンの除去率が低かった原因に、浄化システムの植栽部に混入していた肥料(マグアンプK、N:P:K:M/6:40:6:15、HypoNex製)が、浄化システムを通過する水に溶出していた可能性が考えられる。添加された肥料の正確な重量は不明であるが、肥料中のリン含量が極めて高いことから、肥料から溶出したリンが、浄化システムの全リン除去率を低下させたと推測している。

流出水のCODは、流入水の48%に低下していた(除去率62%、図8)。流出水のCOD値は、「環境庁告示第59号、生活環境の保全に関する環境基準b. 湖沼の項目の利用目的の適応性」に当てはめると、類型Cに分類され、大きく改善された。

今回得られた水質改善効果は、水質浄化システム内に充填した多孔質粒状物に付着した微生物が、河川水中の窒素やリンを資化し、有機物を分解することによって達成することができたと考えている。今回作製した水質浄化ユニットは、木炭屑や軽石、ガラスカレットなど有効活用されていない資源を用いた安価な浄化ユニットである。対象とする湖沼に浮かべ、太陽電池で得られた電力を用いて、湖沼水をユニット内に連続的に流すことによって、水質浄化が期待できるだけでなく、多孔質粒状物に棲息した微生物を食べる水中小動物や魚も棲息してくると、湖沼内で食物連鎖が回復し、生物による安定した水質浄化システムが復活すると期待できる。

## 要 約

3種類の多孔質粒状物(軽石、木炭、ガラスカレット)を河川に沈漬すると、12時間後には $10^{10}$  cells/gの細菌と $10^9$  cells/gの酵母が検出された。調査期間16日(大川)と約200日(第二寝屋川)内で、微生物数に大きな変動は認められなかった。内部に多数の空隙をもつ多孔質粒状物に付着した微生物の数は、碎石より10~100倍多かった。

軽石と木炭に付着した微生物の種類をPCR-DGGE法で経時的に解析したところ、安定したDNAバンドパターンが得られたのに対して、ガラスカレットではバンドパターンがやや不安定となり、碎石のパターンが最も不安定であった。これはそれぞれの試料に付着した優勢種の変動を示しており、連続気泡型で内部まで空隙の多い木炭や軽石の優勢種は安定していたのに対して、独立気泡型で空隙が連結していないガラスカレットは、表面と表層の細孔にしか菌叢が形成されないので、優勢種が変わりやすかったと考えられる。さらに、碎石は表面にしか菌が付着できないので、菌叢がはがれやすく、優勢種が変動しやすいと考えられる。多孔質粒状物を充填した5基の浮体型水質浄化ユニットを直列に連結して大川に浮かべて、河川水を54日間通過させたところ、濁度、全窒素、COD値に40~62%の改善効果が認められた。

## 参考文献

- 1) 西田佐織他：植物による水質浄化実験、金沢大学理工学部附属植物園年報20、p19-30、(1997)。
- 2) 松尾友矩：水環境工学、オーム社、p2~9、(1999)。
- 3) 農業水利研究会編：農業用水と水質、日本の農業用水、地球社、p127~165、(1980)。
- 4) 稲森悠平他：河川および水路における水質浄化技術、第26回日本水環境学会セミナー「水環境修復のためのエコテクノロジー」講演資料集、p55~71、(1995)。
- 5) 玉井信行他：河川生態環境評価法、東京大学



- 出版会、p2 ～ 39, (2000).
- 6) 中村融子他：シュロガヤツリによる池の水の水質浄化と水生昆虫の定着、水環境学会誌、22 (12), 1010-1015 (1999).
  - 7) 佐賀県造園建設業協会：水辺環境改善の技術開発と緑化活動 水生植物による水質浄化と修景化への取り組み 公園緑地 63 (2), 82 ～ 85 (2002).
  - 8) 石井浩介、中川達功、福井学：微生物生態学への変性剤濃度勾配ゲル電気泳動法の応用. *Microbes and Environments*. 15 (1), 59-73 (2000).
  - 9) Pedro, M. S., Haruta, S., Hazaka, M., Shimada, R., Yoshida, C., Hiura, K., Ishii, M., and Igarashi, Y.. Denaturing gradient gel electrophoresis analyses of microbial community from field-scale composter. *J. Biosci. Bioeng.* 91, 159-165 (2001).
  - 10) 平尾壽啓：近畿大学大学院総合理工学研究科 平成17年度修士論文 (2005).