

土壤微生物による土壤の透水性  
変化に関する研究

関 勝寿

# 土壤微生物による土壤の透水性 変化に関する研究

東京大学大学院農学生命科学研究科  
生物・環境工学専攻環境地水学研究室

関 勝寿

# 目次

第1章 序論	1
第1節 はじめに	1
第2節 既往の研究	3
(1) 微生物活動と土の透水係数の関係	3
(2) 透水係数低下の諸要因	6
第3節 目的と構成	19
第2章 長カラム実験による透水係数低下要因の特定	20
第1節 実験の目的	20
第2節 試料	20
(1) 試料選択の理由	20
(2) 試料採取地の概要	21
(3) 試料採取方法	21
(4) 土壌断面調査および物理性測定結果	22
第3節 実験の方法	33
(1) 実験の概要	33
(2) 実験装置	33
(3) 実験条件	37
(4) 土の充填と水の浸潤	39
(5) 測定項目および測定方法	40
第4節 実験の結果と考察	45
(1) 透水係数の変化	45
(2) 試料の膨潤による透水係数の低下	69
(3) 糸状菌の増殖による透水係数の低下	71
(4) 微生物のメタン発生による透水係数の低下	82
(5) 鉄の還元化による間接的影響	94

第5節	まとめ	95
(1)	長期浸透による透水係数の低下	95
(2)	微生物細胞と代謝生成物による間隙の閉塞	95
(3)	微生物活動にともなうガス発生の影響	96
(4)	還元化による二価鉄生成の影響	96
第3章	短カラム実験による透水係数低下要因の個別評価	97
第1節	実験の目的	97
第2節	方法	98
(1)	実験の概要	98
(2)	試料	98
(3)	実験装置	105
(4)	実験条件	108
(5)	測定項目および測定方法	108
第3節	実験の結果と考察	111
(1)	透水係数の変化	111
(2)	気相率の変化	111
(3)	実験開始直後の封入空気の溶解	114
(4)	糸状菌の増殖による透水係数の低下	117
(5)	微生物のメタン発生による透水係数の低下	121
(6)	複合現象	128
第4節	まとめ	131
(1)	透水係数と気相率の変化	131
(2)	細菌と糸状菌の拮抗関係	131
(3)	糸状菌の増殖による乾燥密度の増加	132
(4)	目詰まり層の薄さ	132
(5)	微生物のメタン発生による透水係数低下	132
第4章	均一径粒子のクロッキングモデル	134
第1節	はじめに	134

第2節	理論	135
(1)	Colonial shape factor の導入	135
(2)	相似モデルの限界と非相似モデルの必要性	137
(3)	式の展開	137
第3節	既往の研究へのモデルの適用	141
(1)	バイオフィームと $\alpha$ の関係	141
(2)	バイオフィームの厚さと透水係数の関係	142
(3)	形状係数の定義の再検討	145
(4)	$\alpha$ と透水係数の関係	148
第4節	まとめ	155
(1)	まとめ	155
(2)	今後の課題	155
第5章	結論	158
第1節	結論	158
第2節	今後の課題	159
参考文献		161
謝辞		167
要旨		169

# 第1章 序論

## 第1節 はじめに

土中の細菌や放線菌、カビなどの微生物は、動植物の遺体、排泄物を腐食あるいは分解し、植物に利用可能な養分として供給する働きや、大気中の窒素を固定する働きなど、いろいろな働きがある。土の中で起きる様々な化学変化は、ほとんどが微生物が関与している。このように、土中の微生物は、生態系にとって、そしてそれはそのまま食糧生産にとっても大変重要な働きをしている。そのため、微生物の生態について、特に化学変化に果たす役割については、詳細に研究されている。

しかし、微生物が土に及ぼす作用は、化学変化だけでなく、微生物が土の間隙を閉塞し、透水係数を低下させるという、土の物理性への影響もある。

例えば、土壌の浄化機能を利用した汚水浄化方法（毛管トレンチ法など）において、土に長期的に水を流し続けることにより、土の透水性が低下し、汚水がほとんど流れなくなるという現象がある。この原因には、汚泥による物理的な目詰まりもあるが、微生物が増殖することによる透水係数の低下もまた、大きな原因である。

de Vries (1972)によれば、アメリカでは、1962年から二次処理排水を点滴灌漑によって森林や農耕地に散布する方法が実施されてきた。ところが、都市近郊では農耕地が少ないために、過剰な負荷を



与え、間隙の目詰まりによる土の水質浄化能の低下(filter failure)が起きた。

したがって、この現象を解明することにより、微生物作用による土の透水性低下が起こりにくい様になしながら、汚水を浄化する方法を確立することができる。

また、透水性を低くするために積極的にこの現象を利用することも可能である。すなわち、ため池の底や用排水路の底や側面を、コンクリートで固めるのではなく、微生物の働きを活発にして、透水係数を減少させることにより、漏水を防止することも考えられる。例えば、Preul (1968)は、畜産排水のため池が、はじめは浸透速度が非常に大きかったが、3年間で浸透速度が著しく低下したことを報告している。

このような社会的課題に対応する技術を確立するためには、土中の微生物活動による透水係数の変化をモデル化する必要がある。そのためには、微生物が増殖することにより、なぜ透水係数が減少するのか、透水係数が減少する場所では何が起きているかを正確に知らねばならない。ところが、微生物が土の透水性を変化させるメカニズムについては様々な要因があげられているが、各要因がどのような条件で、どの程度透水係数の低下を引き起こす原因となるか、十分に解明されていない。

そこで、本研究は微生物が土の透水性変化に及ぼす影響を調べ、そのメカニズムを明らかにすることを目的としている。

## 第2節 既往の研究

## (1) 微生物活動と土の透水係数の関係

まず、微生物活動と土の透水性の関係を明らかにした過去の研究を紹介する。

Allison (1947)は、土を充填したカラムに水を連続的に流すと、Fig. 1-1 のような土の透水性の時間変化が起きることを確認し、その変化を次のように説明した。Fig. 1-1 は実験データに基づいた概念的な図である。

Phase 1. まず最初に透水性が減少する。透水性の高い土ではこの変化は少ないか、あるいは全く存在しないが、透水性の低い土においては、10 日から 20 日継続する。これは、一つには乾燥していた土粒子が膨潤する事による土粒子の膨潤と分散による構造の変化、もう一つには土壌間隙水中の電解質が、浸透水と共に流れ去ることによる、電解質濃度の減少にともなう土壌コロイド粒子の分散による構造の変化によるものと考えられる。

Phase 2. 土に上から下へ水を流すと、かなりの量の空気が土壌間隙中に閉塞される。この封入空気が浸透水中に溶解され、除去されるにしたがって、透水性は次第に増加し、ほぼ全ての封入空気が除去された時に、透水性が最大になる。

Phase 3. 透水性が最大になった後は、次第に減少していく。透水性が減少する速度は、はじめはやや急激だが次第に緩慢になる。その原因として Allison は、以下の三つの原因と、これらの原因の組み合わせを考えた。



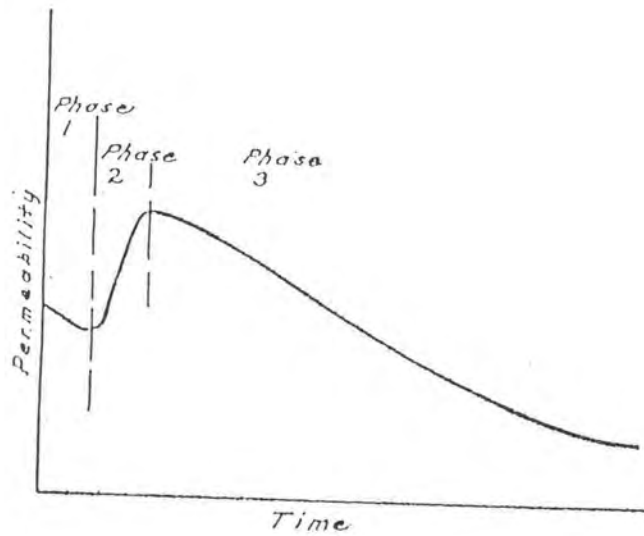


Fig. 1-1 Changes in permeability of soils during long submergence (Allison, 1947).

1. 長期間浸透させたことによって、団粒の物理構造が、徐々に劣化すること。

2. 微生物細胞と、微生物が生成する粘着物(slimes)と多糖類による土壤間隙の目詰まり (biological clogging of soil pores)。

3. 微生物が、土粒子を糊付けして団粒を作る働きをしている有機物を攻撃することによる分散。

Gupta and Swartzendruber (1962)は、室温 23℃で、石英砂中に純水を下から上に向かって飽和状態で連続的に流し続けたとき、砂の透水係数が減少し、特に水の浸入口付近では、3 オーダー近く減少することを示した。殺菌処理をした水を流した時、および室温を 1.5℃に設定して微生物活動を抑さえた時には、透水係数はほとんど下がらなかったことから、何らかの微生物活動が透水係数を下げる作用をしていることが明らかになった。さらに、試料を分解した後、寒天培地上で希釈平板法によって細菌の数を数え、細菌の数が砂 1g あたり  $4 \times 10^5$  以下の時は、透水係数の減少はほとんど見られないが、砂 1g あたり  $4 \times 10^6$  を超えると、細菌の数の増加とともに、透水係数の著しい減少が見られることを示した。

Chang et al. (1974)は、新しく作られたため池の底に土壤カラムを埋めて、透水係数の低下が起こることを示した。透水係数の低下とともに多糖類の量が増加したことから、微生物が生成した多糖類等の代謝生成物質が間隙を閉塞し、透水係数を低下させているとした。また、カラムを乾燥させることにより、透水係数が上昇し、初期の値に近づくことが分かった。

Frankenberger et al. (1979)は、Tama silty clay loam に水を連続的に流して、蒸留水を流した時よりも  $KNO_3$  またはグルコースを加え

た時の方が、さらにそれよりも両方同時に加えたときの方が透水係数の減少が著しくなることを示し、微生物活動が活発になるに従って透水係数が著しく減少することを明らかにした。

宮崎ら(1991)は、林地、水田、および畑地の土を、それぞれ深さ別にサンプリングし、長期的に殺菌水处理または富栄養水处理をした時の、各々の透水係数の時間的変化を調べ、殺菌水处理をしたときには、透水係数の変化はほとんど見られないのに対し、富栄養水处理をしたときには、透水係数が長期的に大きく低下することを示し、その原因は、主に微生物活動の直接的、間接的効果によるものであると結論づけた。

Vandevivere and Baveye (1992a)は、砂のカラムに好気性細菌の *Arthrobacter* sp. を接種したときに起こる透水係数の減少について調べ、透水係数がバイオマス密度の増加とともに、指数関数的に減少することを示した。さらに彼らは、バイオマス密度から細菌の細胞が空隙中に占める体積の割合を計算した。それによると、透水係数が10倍、100倍、1000倍低下した時の細菌の細胞が空隙に占める体積の割合は、それぞれ2.4%、4.8%、8.5%である。

以上の例で示したように、微生物活動が土の透水係数を減少させることが確認されているが、次にその機構について検討する。

## (2) 透水係数低下の諸要因

### A. 微生物細胞、代謝生成物による目詰まり

まず、微生物活動の直接的影響として、微生物が増殖することによって、微生物細胞および微生物の代謝生成物が土粒子の空隙を塞

いで、目詰まりを起こさせることによって、透水係数を下げる効果をあげることができる。この現象は、biological clogging と呼ばれることもあり、あるいは単に clogging と呼ばれることもある。中野 (1991) は、土による微生物等の懸濁粒子の捕獲を吸着と力学的作用に分け、力学的作用として、機械的ふるいわけ作用(sieving)、沈積作用(sedimentation)、運動学的作用(kinematic action)をあげた。

Gupta and Swartzendruber (1962) は、細菌の細胞が砂の間隙の 0.00031% の体積しかないときに、砂の透水係数が 3 オーダー近くも低下したことから、代謝生成物が砂の間隙を閉塞する物質として、細菌の細胞そのものよりもより重要であると推測した。細菌の細胞壁の外には、しばしば多糖類を含む物質が形成されることが知られていて、glycocalyx と呼ばれている (Costerton and Irvin, 1981, Whitfield, 1988)。多糖類の量と透水係数の間には、高い負の相関がある (多糖類が増加すると透水係数が低下する) 場合 (Avnimelech and Nevo, 1964, Chang et al. 1974) と、正の相関がある場合 (Siegrist, 1987) とがある。Vandevivere and Baveye (1992b) は、粘性物質を作り出す SLI<sup>+</sup> strain の方が、粘性物質を作り出さない SLI<sup>-</sup> strain よりも、透水係数を著しく低下させ、しかもその時の両者のバイオマス密度はほぼ等しいことから、微生物の代謝生成物質が透水係数低下に大きく寄与することを明らかにした。

土の中における細菌の細胞と glycocalyx などの代謝生成物の存在形態には、以下の 3 つがある。

一つは、土粒子の表面に細菌細胞と代謝生成物がバイオフィルムを形成する場合である。Taylor et al. (1990a, 1990b) は、実験データからバイオフィルム仮説に基づいたモデル計算をした結果、厚いところ

ろで約 0.015cm の厚さのバイオフィルムが形成されたとしたが、彼ら自身バイオフィルムの厚さを計測することは困難であることを認めている。Cunningham et al. (1991)は、砂とガラスビーズに、バイオフィルムを形成しやすい *Pseudomonas Aeruginosa* を接種してバイオフィルムを形成させ、バイオフィルムの厚さを直接観察して、バイオフィルムの厚さと透水係数の低下の関係を示した。

二つ目は、細菌がマイクロコロニーを形成する場合である。Harvey et al.(1984)は、マサチューセッツのコッド岬の帯水層を調査して、土粒子の表面に 10 個から 100 個の細菌によるマイクロコロニーが形成されていることを観察した。この研究を受けて、Moltz et al. (1986)は、土粒子表面にマイクロコロニーが形成されるという仮定のもとに、溶質の残留濃度、微生物量の変化、酸素消費の変化をモデル化した。

三つ目として、Vandevivere and Baveye (1992a)の実験によれば、細菌 *Arthrobacter* sp. はバイオフィルムを形成せず、砂の粒子表面とわずかに接触して、三次元的な広がりを持って間隙中に延びていく構造を持つことを走査型電子顕微鏡の観察によって示した。さらに彼らは、透水係数が減少する最大の原因は、水がカラムに流入する地点で、オレンジ色の沈積物の層が形成されることであるとした。また、glycocalyx のような菌体外に形成される重合体は、C/N比が 39 の時には、透水係数の低下した層にも観察されなかったが、C/N比を 77 と高くすると形成され、さらなる透水係数の低下をもたらした。C/N比が高いと、clogging が促進されることは、Avnimelech and Nevo (1964)によっても示されている。

Rittmann (1993)は、過去のカラム浸透実験を整理し、流入負荷が 0.15kg COD per 1000m<sup>3</sup> per day 以上の時には、バイオフィルム



(continuous colonization)が形成される (例えば Voice et al. 1992)が、流入負荷が  $0.04\text{kg COD per } 1000\text{m}^2 \text{ per day}$  以下の時には、バイオフィームは形成されず、マイクロコロニー (discontinuous colonization) が形成されるとした。

Vandevivere and Baveye (1995)は、Cunningham et al. (1991)と、Vandevivere and Baveye (1992b)のデータを比べて、粒子が細かいときの方が、バイオマス体積増加に対する透水係数低下の割合が著しいことを示した上で、このような粒径の違いによる clogging の程度の違いを説明できるモデルが、既存のモデルにはないことを示した。彼らは、粒径が大きいときには比表面積が小さいために、微生物が積み重なりやすくなる、すなわちバイオフィームが形成されやすくなり、このような現象は従来のバイオフィーム仮説を用いたモデルでうまく説明できるが、粒径が小さいときには、バイオフィームが形成されず、マイクロコロニーが形成されると説明した。

Jiang and Matsumoto (1995)は、Arenosol, Andosol, Fluvisol の3種類の試料に、汚水の二次処理水を一日 100ml 供給して透水係数を低下させた土の薄片試料を蛍光顕微鏡により観察し、目詰まりの物質として懸濁物質、粘土、微生物細胞、そして代謝生成物質 (多糖類) を観察した。彼らの考察によれば、浸透の初期には懸濁物質による物理的目詰まりが進行し、その後は微生物細胞と代謝生成物質による生物学的目詰まりが進行するが、両者は互いに効果を助長しあう関係にある。すなわち、代謝生成物質は嫌気的条件下で懸濁物質やコロイド物質と結合すると、分解されにくくなり、間隙中に蓄積される。その結果、厚さ 2~4mm の代謝生成物質の蓄積した層が形成されたことが観察された。

## B. 微生物が発生するガスの蓄積

次に、微生物活動の直接的効果として、微生物が発生するガスが土の間隙を閉塞し、有効間隙を小さくする効果を考えることが出来る。

気泡が透水係数に与える影響について、八幡(1960)は  $200\mu\text{m}$  級のポーラス・ストーンの約 60cc の孔げきの中にわずかに 1cc の気泡が増えたために、動水勾配一定のもとで、流量が 3 割落ちることを実験によって示した。彼はその原因を、気泡が粗大な間隙、すなわち水の通路として「生きた」孔げきに集中的に生じたためであると考えた。

Gupta and Swartzendruber (1964)は、石英砂を用いた浸透実験で、透水係数と間隙水の体積圧縮係数( $\Delta v/\Delta p$ )を測定した。その結果、 $\Delta v/\Delta p$  が初め急激に減少し、その後緩やかな減少を続けたが、Guptaらは、これは試料中の封入空気が除去されることを示しているとした。透水係数が、シュエクロースと硝酸アンモニウムを加えてから急激に減少したが、その時にも  $\Delta v/\Delta p$  が徐々に減少し続けたことから、この段階でもまだ封入空気は減少していることはあっても増加していることはないとして、彼らは微生物の発生するガスが試料中に閉塞されることによって透水係数が減少するという説を否定した。

Poulovassilis (1972)は、粘土を使って浸透実験を行い、透水係数は殺菌した試料を使ったときはあまり変化しないが、殺菌しない試料を使ったときのみ著しく減少することを示した。さらに、透水係数が減少してから、真空中で試料のガスを除去すると、透水係数が急

激に上昇してほぼもとの値に復活したことから、透水係数の減少は、微生物が発生したガスによってもたらされたとした。

すなわち、Gupta らのように石英砂を用いた実験では、ガスの発生は見られなかったが、Poulovassilis のように粘土を用いた浸透実験ではガスの発生が起きた。試料が常に飽和されている浸透実験においては、 $\text{CH}_4$ 、 $\text{N}_2$ 、 $\text{N}_2\text{O}$ 、 $\text{CO}_2$ などのガスが発生し、間隙中に閉塞される場合がある。

Swartzendruber and Gupta (1964)は、水中に溶解しているメタンが microspic iceberg を形成し、水の粘性を下げることにより、透水係数を低下させる可能性があるとした上で、その可能性を実験的に否定した。

Kristiansen (1981)は、浄化槽からの汚水を砂フィルタートレンチで浄化する際の透水係数の低下について調べ、透水係数の低下が起きた層の直下で、メタン濃度が最大となることを示した。

Sanchez et al. (1994)は、砂にメタン発生細菌 *Methanosarcina barkeri* を接種したときに透水係数が初期値の 3%または 25%に低下し、その原因はメタン菌が発生したメタンガスによる間隙の閉塞であることを示した。

実際、自然の土では還元化の進んだ土ではメタン発生細菌の呼吸によってメタンが発生し、脱窒菌が窒素を、嫌気的条件下で *Nitrosomonas* が亜酸化窒素を生成し、好気性微生物の呼吸によって炭酸ガスが発生される。Lindau et al. (1990)は、湛水された水田の地表からの  $\text{N}_2$ 、 $\text{N}_2\text{O}$  と  $\text{CH}_4$  の放出量を測定した。八木 (1991)は世界各地の水田の地表からのメタン発生量の実測値をまとめている。

Reynolds (1992)は、泥炭土を使って浸透実験を行い、透水係数の変化を測定するとともに、TDRプローブを使って体積含水率を測定し、ガス浸透サンプラーでガスを採取してガスクロマトグラフィーでメタンと二酸化炭素の濃度を測定した。その結果、長期間浸透させることにより、体積にして間隙の約45%にあたる気体が生じ、それとともに透水係数が減少することを明らかにした。特に、メタン菌が発生するメタンガスが透水係数を下げる主要な要因であることが分かった。

Wang et al. (1993)は、湛水された水田中のメタンの発生に及ぼす酸化還元電位とpHの影響を調べた。彼らの実験によれば、酸化還元電位が-150mV以上の時はメタンは発生しないが、-150mVから-160mV以下からメタンが発生し始め、以降酸化還元電位の減少とともに、指数関数的にメタンの発生が増加する。また、pHは6.9から7.1が最適で、5.75以下でも8.75以上でも、メタンはほとんど発生しない。

粕渕ら (1994)は、北海道美唄湿原泥炭土を湛水状態で3ヶ月静置することにより泥炭内に気泡を蓄積させ、その封入量と透水係数との関係を調べたところ、気泡の封入量の増加とともに透水係数が低下することを示した。

Faybishenko (1995)は、封入空気が存在する飽和土壌を疑似飽和土(quasi-saturated soil)とし、封入空気が「疑似」飽和透水係数  $K_s$  に与える影響について、高さ0.5-5m、直径0.1-0.4mの試料を用いて調べ、以下のような結果を得た。第一段階において土の透水係数は5-8倍低下し、それは可動封入空気が大きな間隙を閉塞するためである。第二段階において、可動封入空気が下方から排出され、透水係数が



徐々に上昇する。可動封入空気がなくなると、不動封入空気が浸透水中に溶解して排出され、透水係数が急激に 1-2 オーダー上昇し、「飽和」透水係数に到達する。第三段階は、微生物による透水係数の低下である。

### C. 還元による 2 価鉄生成の影響

次に、微生物活動が透水係数の減少に及ぼす間接的効果として、2 価鉄生成の影響を調べた過去の研究を紹介する。宮崎ら(1991)は、水田、畑地、林地の深さ 0-10cm, 20-30cm, 30-40cm, 50-60cm からサンプリングした試料を用いて、長期的に 1 % サッカロース水溶液による処理をした時の透水係数の減少について調べた。その結果、水田の深さ 20-30cm の試料において、最も透水係数の減少が著しかった。その理由として、水田では 20-30cm の耕盤の深さに酸化鉄が集積するため(川口、1978)、微生物活動が活発化した結果、土壤の還元化にともなう 2 価鉄の生成によって透水係数が減少したと推定した。本村(1969)は、「還元状態下における透水係数は還元の種類あるいは土壤中の 2 価鉄生成量とかなりの関係がある」ことを示し、「土壤の還元化に伴って生成する 2 価鉄が土壤コロイドに吸着されるために起こるコロイド構造の質的な変化、コロイドに吸着された 2 価鉄の吸着水、2 価鉄化合物のゲル状沈澱などのために土壤中の有効孔隙は小さくなり、透水係数は小さくなると考え」た。

McGauhey and Winneberger (1964)によれば、硫化鉄による間隙の目詰まりが透水係数低下の一因となる。



## D. 団粒構造の破壊

微生物は、団粒形成において重要な役割を果たしていることが知られている。すなわち、微生物が代謝の結果として生産した多糖類やカビなどの菌類は土の粒子と結合して、土に団粒構造をつくると言われている。Martin (1945)は、土を蒸留水で培養しても団粒は形成されないが、窒素または炭素を加えて培養すると、団粒が形成されることを示した。また、団粒が形成されたときに多糖類が生成されることを確認した。ただし、土壌多糖類は、すべてが微生物起源であるとは言い切れない(土壌微生物研究会, 1981)。

Roldan and Lax (1994)は、半乾燥地の土壌に都市廃棄物を添加したときの団粒の形成について調べ、団粒の安定性が維持され、また増加するのは、微生物の数が増えるためであり、特に、糸状菌の菌糸が増殖するためであるためであることを示した。

ところが、微生物は団粒形成において重要な役割を果たすのみならず、微生物が有機物を攻撃して、団粒を分散させる働きがあることを、Martin (1945)は指摘した。すなわち、グルコースのような低分子有機物を土壌に添加すると、活発な菌体合成と粘質多糖類の合成が生じ、急速に団粒化が進行するが、グルコースが消費されつくすと、菌体は死滅し、死菌体や合成された多糖類が分解され、団粒の耐水性は急速に失われる(西尾, 1989)。

## E. 数値解析の例

Okubo and Matsumoto (1979)は、

1. 間隙は毛管状であり、その直径はクロッキングが進行することにより均一に小さくなる

2. 間隙率の減少は、積算排水量に比例する（この仮定を言い換えると、一定量の溶液を流したときに、一定量の間隙率の減少を引き起こす、ということになる）

という仮定の下でクロッキングのモデルを提案し、以下の式を得た。

$$Q = \frac{q}{1 + kqt} \quad (1.1)$$

ここで、 $Q$  は積算フラックス、 $t$  は時間であり、 $q$  と  $k$  はそれぞれ定数で、Okubo and Matsumoto (1979) は実験データを回帰することにより求めた。

Moliz et al. (1986) は、浸潤にともなう酸素、溶質、コロニー密度の変化を、土粒子表面に円盤状のマイクロコロニーが形成されるとして計算した。

Taylor et al. (1990a, b) は、カラム実験によりバイオマス密度と透水係数低下の関係を得た後に、微生物がバイオフィームを形成するという仮定のモデルで、立方最密充填等の充填を仮定した Kozeny-Carman のモデルと、間隙径分布を考えた cut-and-random-rejoin type モデル (Mualem のモデル) を使った計算をし、バイオフィームの厚さを計算した。

Cunningham et al. (1991) は、粒径の異なるガラスビーズと石英砂における、バイオフィームの厚さと透水係数の関係を調べ、Vandevenere and Baveye (1992b) は、砂のクロッキングについて、バイオマス密度と透水係数の関係を調べた。Vandevenere et al. (1995) は、これらのデータを Fig. 1-2 のようにまとめた。横軸の biovolume ratio ( $\alpha$ ) とは、微生物の体積の間隙の体積に対する割合である。このグラフを見ると、粒径 0.1mm のガラスビーズでは、横軸に対する透水係数低下の

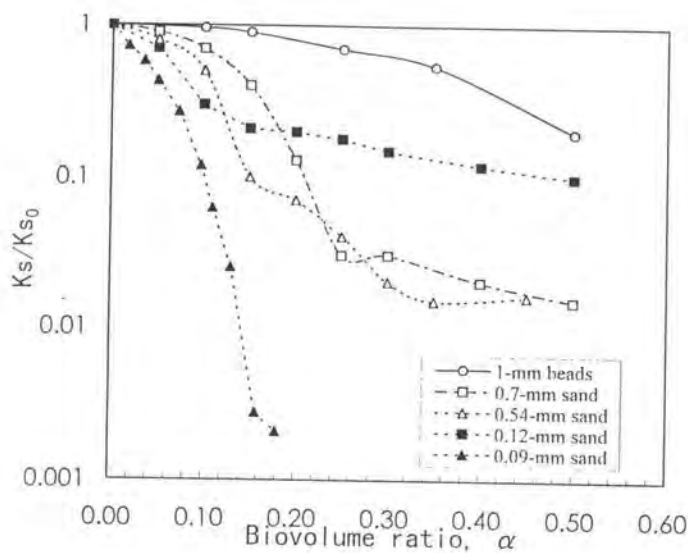


Fig. 1-2 Relationship between the saturated hydraulic conductivity ratio for *Pseudomonas aeruginosa* in 1-mm glass beads and in 0.70-, 0.54- and 0.12-mm sand (data from Cunningham et al. [1991]), and for *Arthrobacter sp.* Strain AK19 in 0.09-mm sand (data from Vandevivere and Baveye [1992]) summarized by Vandevivere et al. [1995].

割合が小さいが、粒径が小さくなるにつれてその傾きが大きくなる傾向を示し、粒径 0.09mm の砂では、 $\alpha$  の値 0.18 に対して、透水係数が 3 オーダー減少するという、非常に急激な変化を示す。

彼らは、この曲線を Kozeny-Carman の式や、前述 Taylor et al. (1990a, b) のモデルを適用することによって、回帰しようとした。ところが、これらのモデルには、土性を表すパラメータがない。したがって、粒径 0.1mm のガラスビーズのデータのみを回帰することは出来たが、このように粒径によって大きく曲線の形状が変わるデータを説明することが出来なかった。

この原因について、Vandevivere et al. は、粒径が大きい試料では、比表面積が小さいため、同等のバイオマスが蓄積されても、粒子上に微生物が積み重なる、すなわちバイオフィルムを形成する確率が高くなる。そのため、粒径 0.1mm の試料ではバイオフィルムが形成されたが、粒径 0.09mm の試料ではバイオフィルムが形成されなかったためであると説明した。

そこで、Vandevivere et al. は、Fig.1-3 の様に、間隙の形状を毛管と考えて、その一部にマイクロコロニーが出来て、マイクロコロニーの透水係数と厚さから、二層モデルを用いて土の透水係数を計算する方法を示した。

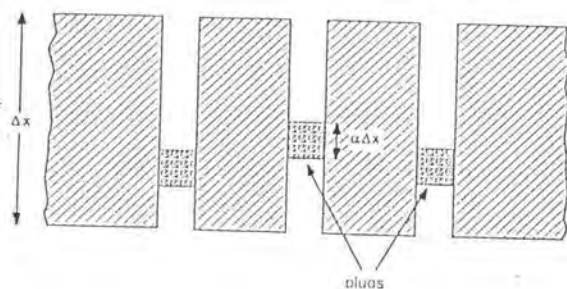


Fig. 1-3 Schematic illustration of a simple clogging model based on the formation of bacterial plugs in the lumen of uniform, cylindrical capillaries (Vandevivere et al. 1995).



## 第3節 目的と構成

本研究の目的は、微生物活動による土の透水係数低下現象を明らかにすることである。第二章と第三章は実験的な手法を用い、第四章は数学的な手法を用いている。すなわち、第二章と第三章において、それぞれ「長カラム」「短カラム」と名付けた二種類のカラムを用いて、室内カラム浸透実験を行い、その結果をもとに微生物の活動がどのようにして透水係数を低下させるかを考察する。第二章と第三章において既往の研究と比較して特に特徴的な点は、既往の研究はほとんどが細菌の増殖に注目したものであるが糸状菌の増殖による間隙の目詰まりについても測定した点、および微生物活動の影響として微生物細胞及び代謝生成物質の増殖による間隙の目詰まりと、微生物が発生するガスが気泡となって間隙を閉塞する現象を、同時に測定した点である。

一方、第四章では微生物の増殖により土壌間隙が閉塞され、透水係数が低下する機構を数学的に表現した。このモデルにおいて特徴的な点は、従来のモデルは細菌のコロニーが土粒子表面にバイオフィルムを形成するという仮定の下に構築されているが、微生物の多様な生息形態に適応させるために、微生物の生息形態を数学的に表現し、モデルの中に組み込んだ点にある。このモデルは、まだ均一形粒子のみに適用されるモデルであるため、第二章、第三章の実験結果に適用できるまでには至っていない。

## 第2章 長カラム実験による透水係数低下要因の特定

---

### 第1節 実験の目的

本章の目的は、カラム実験により微生物が透水係数を低下させる現象を確認し、その機構を明らかにすることである。そのために、栄養水と殺菌水を用いて透水係数の時間変化を長期的に調べる。第三章における実験と区別するために、本章の実験を「長カラム実験」と名付ける。そして、微生物細胞と代謝生成物質の生成による透水係数の低下を調べるために、微生物数の分布を測定し、また、間隙水中の基質濃度の深さによる変化から、微生物の活動を間接的に測定する。さらに、微生物が発生するガスが間隙を閉塞することによる透水係数低下の影響を検討するために、メタンガス発生の可能性を知るための酸化還元電位の測定などを行う。

### 第2節 試料

#### (1) 試料選択の理由

宮崎ら(1991)によれば、林地、水田、および畑の土を、それぞれ深さ別にサンプリングし、長期的に富栄養水処理をした時の、各々の透水係数の時間的変化を調べた結果、透水係数の低下が最も激しかったのは、水田の深さ 20-30cm の耕盤を含む層からサンプリング

した試料であった。この実験結果に基づき、本論文では水田の耕盤層からサンプリングした試料を用いてカラム浸透実験を行った。

## (2) 試料採取地の概要

東京都田無市の東大付属農場における水田を試料採取地とした。土壌は火山灰土壌（関東ローム、立川ローム層）である。この水田は試験農地として造成以来 20 年以上水田としての利用形態を維持している。

## (3) 試料採取方法

水田の深さ 10cm ごとにシンウォールサンプラー試料を 3 本ずつ、深さ 90cm まで合計 27 本採取し、別に 100cm<sup>3</sup> コアサンプル 2 個ずつと、袋試料 1 袋ずつを採取した。ただし、コアサンプルは深さ 40cm までは 5cm ごとに、深さ 40-90cm は 10cm ごとに採取した。また、本実験で用いる耕盤層の試料を採取した。シンウォールサンプラーは内径 4.8cm、長さ約 15cm の真鍮製であり、先端を刃形にし、透水試験の際に土とサンプラーの壁面の間に水みちが出来ないようにするため、内面に薄くグリースを塗り、サンプラー先端から約 10cm まで鉛直に圃場に挿入することで不攪乱試料を得た。ただし、土が非常に固い場所では、サンプラー先端から 5cm 程度しか挿入出来なかったものもある。試料採取後、ただちにサンプラー上下面に蓋をし、テーピングして土の乾燥を防いだ。試料採取は 1994 年 5 月 6 日に行った。当日の天候は晴天で、水田は裸地状態であった。

## (4) 土壌断面調査および物理性測定結果

### A. 土壌断面図

Fig. 2-1 に土壌断面の写真を、Fig. 2-2 に土壌断面調査図をそれぞれ示す。深さ 30cm のところに表土と心土の境界があった。ただし、過去に深耕をした時のプラウのあとが、断面スケッチに示したように、くっきりと見えた。深耕によって、表土と心土の境界が深さ 50cm に達するところもあるが、試料採取した地点における表土と心土の境界は、深さ 30cm である。

### B. 硬度の垂直分布

Fig. 2-3 に、山中式硬度計による硬度の測定値の垂直分布を示す。グラフの中の深さ 30cm における横線は、表土と心土の境界を示す。以下のグラフにおいても、同様である。深さ 15cm までは非常に柔らかく、深さ 20cm から 30cm にかけて急激に固くなり、耕盤が形成されていることが認められる。耕盤の深さは、25cm から 33cm にかけてである。深さ 50cm までは次第に硬度が減少し、深さ 60cm で再び硬度が増加している。

### C. 三相分布

コアサンプル試料から、重量法により乾燥密度と含水比を測定し、袋試料による真比重の測定結果とあわせて、深さごとの三相分布を計算した結果を、Fig. 2-4 に示す。ここで、真比重の測定は、表土の代表として深さ 10-20cm の袋試料から、耕盤の代表として本実験用の試料から、心土の代表として深さ 60-70cm の袋試料からそれぞれ真比重を 3 回測定した平均の値を用いた。真比重の値は、表土が



Fig. 2-1 土壤断面写真



深さ (cm)

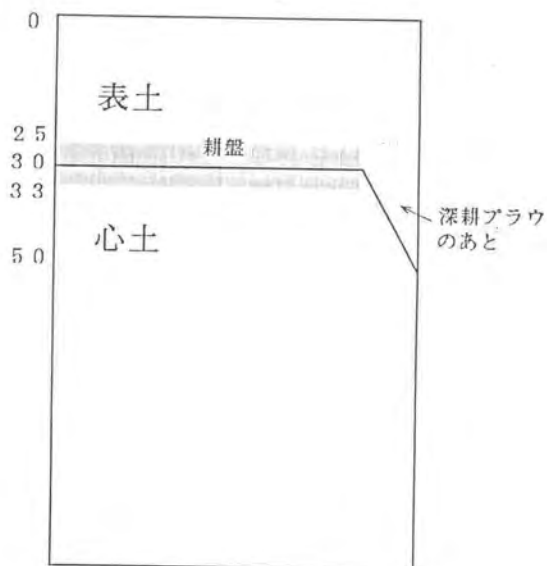


Fig. 2-2 土壌断面調査図

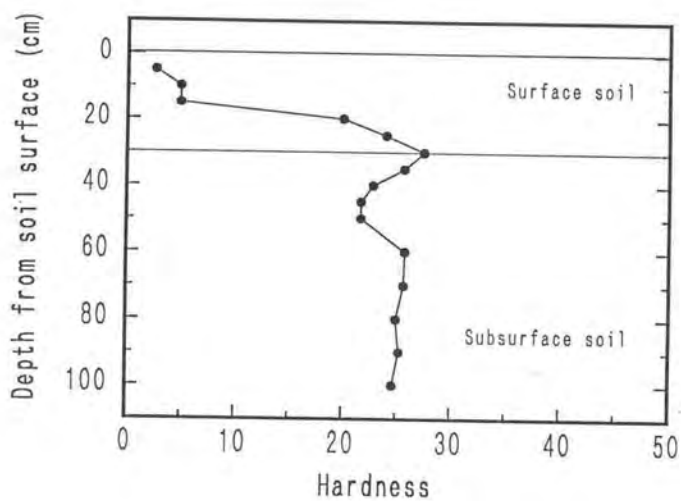


Fig. 2-3 Profile of soil hardness of paddy field, Tanashi.

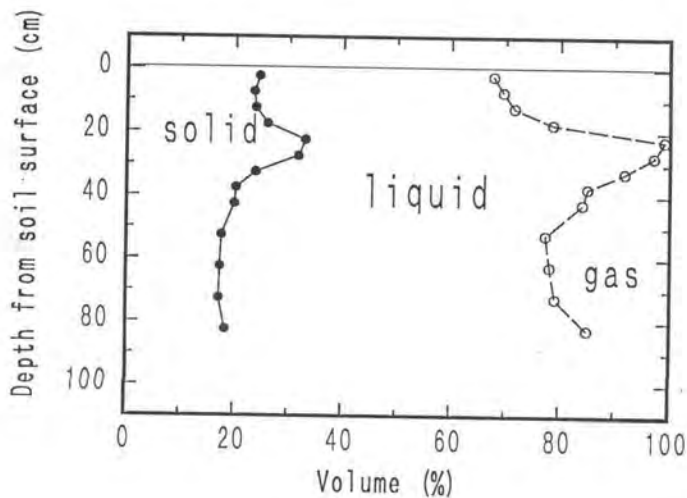


Fig. 2-4 Profile of three phase distribution of paddy field, Tanashi.

2.529、耕盤が2.538、心土が2.631である。Fig. 2-4 からわかるように、耕盤付近における固相率が大きく、気相率は極めて小さい。また、Fig. 2-5 に示した乾燥密度の垂直分布からもわかるように、耕盤付近で乾燥密度は大きくなっている。

#### D. 飽和透水係数の垂直分布

シンウォールサンプラーで飽和透水係数を測定した結果を Fig. 2-6 に示す。試料ごとのばらつきが大きく、特に耕盤層を含む20-40cmではばらつきが大きくなっている。試料中に粗大間隙があることによって透水係数が大きくなることが考えられるため、最も低い透水係数に注目すると、耕盤層における透水係数が他の層と比べて小さい。これは、乾燥密度が大きいためであると考えられる。なお、この結果は宮崎ら(1991)の測定結果と一致する。

#### E. 粒度試験

実験試料として用いたのは、深さ25-33cmの耕盤層から採取した土であるが、その試料の粒度分析の結果を Fig. 2-7 に示す。粒度試験は、0.063mm以上の粒子については水中篩別法で、0.063mm以下の粒子についてはストークスの法則による比重計法によって測定した。測定は3回行ったが、ほぼ同じ粒径加積曲線が得られたため、その平均値を示す。測定は、腐植を分解せずに行ったため、1-2mmの篩別試料に、未分解の稲わらと思われる有機物が見られた。Fig. 2-7より、粘土17%、シルト25%、砂58%のClay loamであることが分かる。

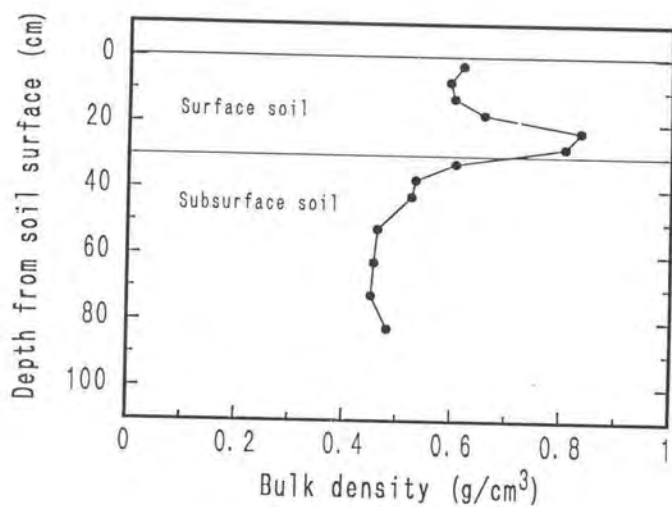


Fig. 2-5 Profile of bulk density of paddy field, Tanashi.



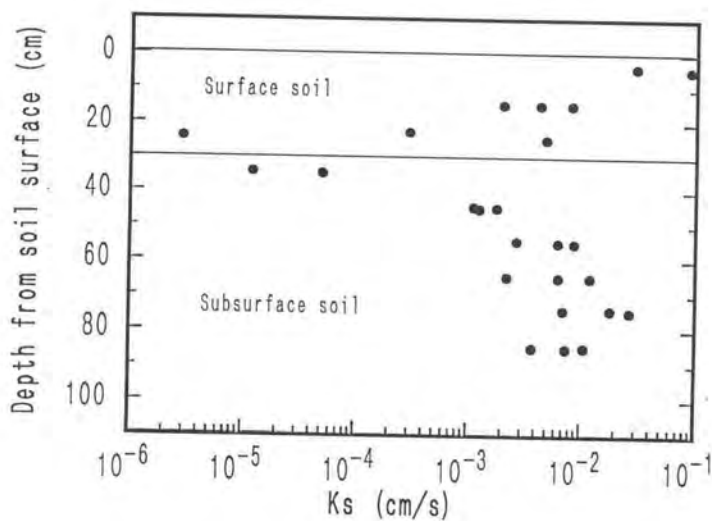


Fig. 2-6 Profile of saturated hydraulic conductivity of paddy field, Tanashi.

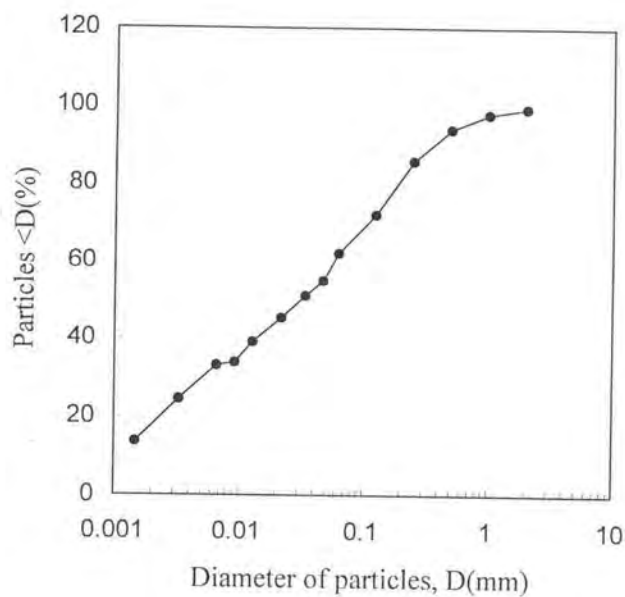


Fig. 2-7 Particle-size distribution curve of paddy field, Tanashi, sampled at the depth of 25-33 cm. Mean value of three replication is shown.

## F. 乾燥密度と透水係数の関係

カラム浸透実験にあたり、乾燥密度と透水係数の関係を明らかにしておくことは有益であると考えて、以下のような測定を行った。

直径 5cm のアクリルリングに、試料の土を所定の乾燥密度になるように充填し、一晚水につけて毛管上昇させることによって飽和させた後に、変水頭試験によって透水係数を測定した。水を飽和させる際、試料の上端を解放していたため、試料が膨潤し、設定した乾燥密度よりも実際の乾燥密度が小さくなった。そこで、透水係数測定後に試料長を測定することにより、膨潤後の乾燥密度を計算した。

乾燥密度と透水係数の関係を Fig. 2-8 に示す。乾燥密度が増加すると、透水係数が減少することがこのグラフから明らかである。

## G. 試料の調整

実験試料は、採取後直ちに 10℃の冷蔵庫の中に保存し、微生物の活動を抑えることによってなるべく試料採取時の状態を保つようにし、カラム実験で使用する時に、その都度、冷蔵庫から取り出して実験を行った。冷蔵庫内の試料は含水比 81%に保たれていた。

また、カラム実験に供試した試料は、すべて 5 月 30 日に 2mm のふるいで篩別した。そして、カラム内に充填する前に 1 時間程度風乾して、含水比を 75-80%として、充填しやすくしたものを用いた。

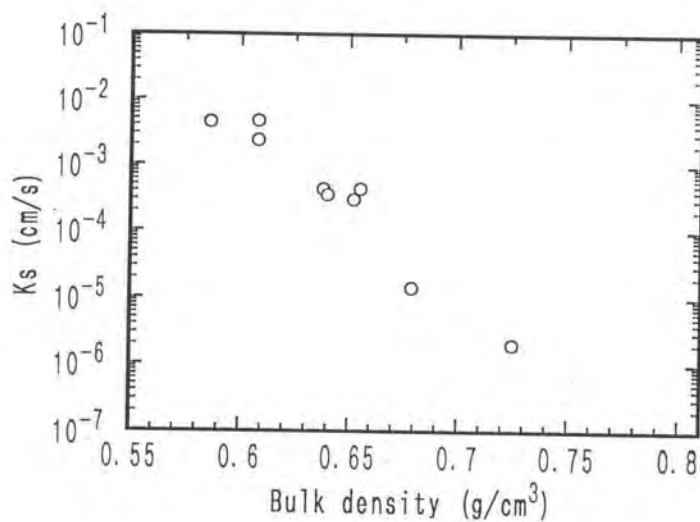


Fig. 2-8 Saturated hydraulic conductivities of paddy field soil, Tanashi, sampled at the depth of 25-33 cm and packed in a column with different bulk densities.

### 第3節 実験の方法

#### (1) 実験の概要

水田の耕盤層から採取した試料をアクリルのカラムに充填し、長期間水を浸透させた時の、カラムの層ごとの透水係数の時間的変化を測定した。栄養水（グルコース溶液）を流した時と殺菌水を流した時、すなわち微生物活動の有無によって透水係数の変化にどのような違いが見られるかを調べた。さらに、カラムの層ごとの微生物活動の状況を知るために、酸化還元電位の分布、間隙中のグルコース濃度、微生物の数などを測定した。また、栄養水を流しているカラムに途中から殺菌水を流して微生物活動をなくした時に起きる変化を調べ、微生物活動が透水係数に及ぼす影響について考察した。

#### (2) 実験装置

##### A. 実験場所

カラム実験を行った場所は、東京大学農学部旧4号館内の浸透実験室に設置されていた、恒温恒湿チャンバー内である。室温は30℃に設定し、湿度の設定はしなかった。実験を行った期間は1994年7月から1995年1月である。なお、農学部4号館は1995年に取り壊された。

##### B. 装置の概略

Fig. 2-9 に、カラム浸透実験の装置図を示す。直径7.5cm、高さ4cmのアクリルリングを3つ重ねて、高さ12cmのカラムを作り、この



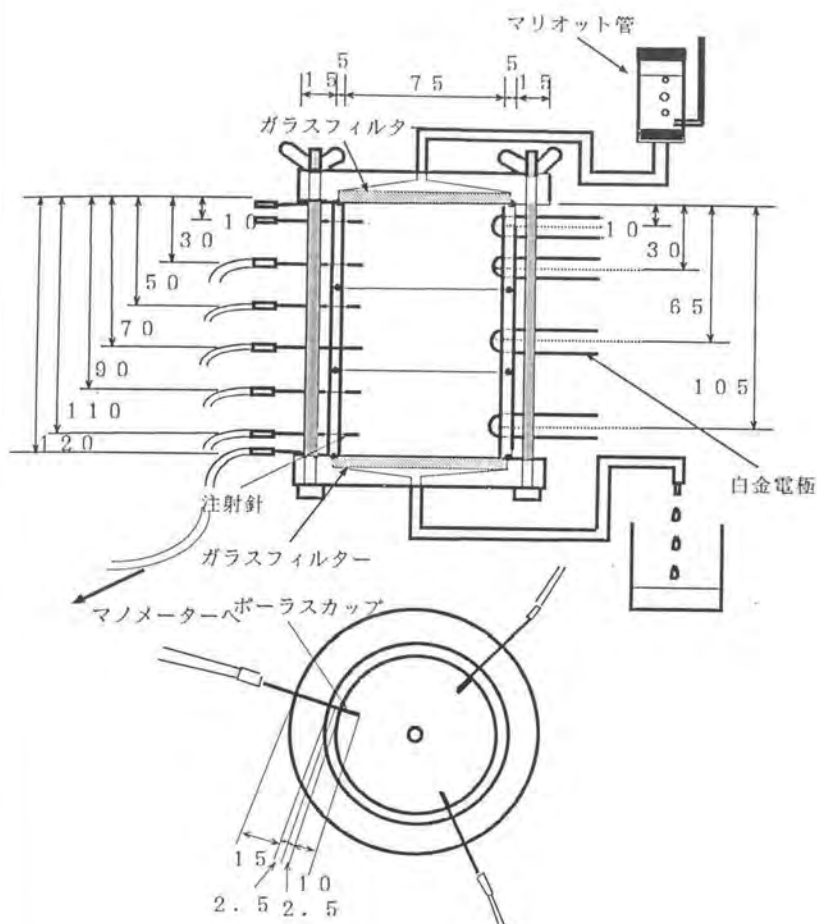


Fig. 2-9 装置図

中に試料の土をつめた。カラムの上端と下端には、ガラスフィルターをつけて、試料の流出を防いだ。使用したガラスフィルターは、G 2 または G 3 という目の粗さで、それぞれのフィルターの透水係数は、G 2 は  $10^{-3}$  cm/s のオーダー、G 3 は  $10^{-4}$  cm/s のオーダーである。このカラムに、上から下へ連続的に水を流した。その際、カラムの上下にかかる圧力は、マリOTT管と注射針を使って一定に保った。リングとリングの間にはOリングと言われるゴム製の輪を入れて、気密性を保った。試料をカラムに詰める際には、あらかじめ定めた乾燥密度になるように、リングの厚さ 1cm ごとに試料の重量を測定して充填した。アクリルのリングに円周状に傷を入れて、充填する際の目安とした。

黒のビニルで装置全体を覆い、光が入らないようにするとともに、空気中の微生物が極力入らないようにした。

### C. テンシオメータの挿入

#### i) テンシオメータとマノメータ

先端にポーラスカップをつけた注射針（テンシオメータ）を試料の各深さに挿入し、ビニルチューブで水マノメータに接続して、マノメータの水位をカセットメータで読みとることによって、間隙水圧を測定できるようにした。マノメータのチューブには、医療用アンギオチューブを使用した。その際、注射針は小さなゴム栓に挿入してから、アクリルの壁面にゴム栓ごと挿入した。このチューブは、毛管上昇をほとんど起こさない。注射針の外径は 1.5mm、ポーラスカップの外径は 2.2mm である。

## ii) 針の挿入位置

針を挿入した位置は、注射針の先端位置が、試料の最上端から下へ、0cm、1cm、3cm、5cm、7cm、9cm、11cm、12cm の位置である。一番上と一番下（深さ 0cm と 12cm）を除いたすべてのテンシオメータは、それぞれの高さに3本ずつ、上から見て均等になるように挿入した。テンシオメータは、試料の中に 1cm 入るようにした。一番上と一番下のフィルターに接触する注射針だけは、アクリル壁面に斜めの挿入口を作ることによって斜めに土中にささるようにして、その先端が所定の深さになるようにセットした。その際、ボラス・カップをつけると、針が斜めに挿入されているため圧力を測定している高さを正確に知ることができなくなるため、ボラスカップを用いずに、先端をつぶして土粒子の流入を防いだ注射針を直接挿入した。

## iii) 給排水圧力測定用マノメータの接続

また、カラムに侵入する場所およびカラムから排出する場所の圧力を測定するために、マリOTT管とカラムをつなぐチューブと、カラムと排水用の針をつなぐチューブに、それぞれマノメータを接続した。

## iv) 間隙水採取用三方コック

間隙水のグルコース濃度の測定を行うために、マノメータに接続した注射針につけた三方コックを切り替える事により、間隙水を採取できるようにした。

#### D. 酸化還元電位測定用電極の挿入

微生物活動による土壌の還元化の程度を知るため、酸化還元電位測定用の白金電極を4本挿入した。白金電極は、比較電極と一体になっているものを使用した。電極の直径は1cmで、試料中に5mmほど挿入し、カラムの壁面にアラルダイトで接着した。電極を挿入した位置は、カラムの上端から1cm、3cm、6.5cm、10.5cmである。ただし、実験によっては、3cmの位置に1本だけ挿入したものもある。

### (3) 実験条件

#### A. 流した水の種類

##### i) 殺菌水と栄養水

室温は、微生物活動を活発にして現象をはっきりと見るために、すべての実験において30℃に設定した。カラムの中に流した水は、50ppm グルコース( $C_6H_{12}O_6$ )水溶液と50ppm アジ化ナトリウム( $NaN_3$ )水溶液の2種類である。グルコース水溶液は、蒸留水をオートクレーブで殺菌してからグルコースを溶解した。アジ化ナトリウムは、強力な殺菌力を持つ。以後、50ppm グルコース水溶液を「栄養水」、50ppm アジ化ナトリウム水溶液を「殺菌水」と呼ぶことにする(ここで、殺菌水とは水が殺菌されているというだけでなく、殺菌力のある水であることを意味する)。栄養水、殺菌水ともにチャンパー内に一晚おいて、水温を30℃にしてから、カラムに供給した。

## ii) グルコース濃度設定の理由

グルコース濃度を 50ppm に設定した理由は、Vandeviere and Baveye (1992a)の実験においては、グルコース濃度が 50ppm の時にグルコースが微生物活動の制限要因になり、グルコース濃度が 100ppm の時にはグルコースではなく溶存酸素が微生物活動の制限要因になったと報告されているためである。

## B. 試料の殺菌処理について

殺菌水を流した実験においては、試料をオートクレーブ (120℃、1.2 気圧、2 時間) で殺菌してからカラム内に充填した。なお、オートクレーブの時間は通常 20 分程度とされているが、その程度の時間では土壌粒子の微小間隙内に水蒸気が充分に行き渡らない可能性があると考えて、時間を長くとした。

## C. 土の充填乾燥密度

試料を充填した乾燥密度は、耕盤の乾燥密度に近い  $0.8\text{g/cm}^3$  と、 $0.65\text{g/cm}^3$  である。試料の平均の動水勾配は乾燥密度  $0.80\text{g/cm}^3$  の実験では 10 に、乾燥密度  $0.65\text{g/cm}^3$  の実験では 1 にした。

カラム実験は全部で 4 回行った。Table 2-1 に、それぞれの実験条件をまとめる。栄養水 A は、はじめに栄養水を流し、途中 (118 日後) から殺菌水に切り変えた。



Table 2-1 長カラム実験の実験条件

実験名	乾燥密度	継続時間
殺菌水実験	0.65g/cm <sup>3</sup>	39日
栄養水実験 A	0.65g/cm <sup>3</sup>	155日
栄養水実験 B	0.65g/cm <sup>3</sup>	18日
栄養水実験 C	0.80g/cm <sup>3</sup>	162日

#### (4) 土の充填と水の浸潤

##### A. 土の充填方法

土は、目的とする乾燥密度となるようにあらかじめ重量を測定し、深さごとに充填した。カラムの高さ 1cm 分の土の体積は 44.18cm<sup>3</sup>であるため、充填すべき土の乾土重は、乾燥密度 0.65g/cm<sup>3</sup>で詰める場合には、

$$44.18 \times 0.65 = 28.72\text{g}$$

と計算できる。含水比は、充填するたびに測定し、乾燥密度と含水比から、充填すべき土の湿土重が分かる。土をオートクレーブにかけた時には、カラムの高さ 5mm 分の試料を 24 個ビーカーに分けてから、オートクレーブにかけた。オートクレーブをかけてから土の重量を計ろうとすると、土の含水比が変わっているためにうまくいかないためである。土を詰める際には、ある深さまで充填して、次の試料を入れる前に、詰め方が不連続にならないように表面にピンセットで若干の攪乱を与えた。

## B. 水の浸潤方法

土を詰め終わってから、ポーラス・カップと白金電極を挿入し、ポーラス・カップをマノメータに接続してから、下方から水を浸潤させた。水を浸潤させた方法は、最初は水位を試料の下端の高さにして、一晚毛管上昇させることによって試料全体を飽和させ、その後水位を上げて上のフィルターまで完全に飽和されてから、上から下へ水を流し始めた。水を上から下へ流し始めた時をもって実験開始時とする。ただし、栄養水Cにおいては、透水係数が小さくなくなか下から上に水が飽和しなかったため、下方から水を浸潤させている途中から上方から水を流した。したがって、気泡が試料中に残されている可能性はある。

## (5) 測定項目および測定方法

### A. フラックス

Table 2-2 に測定項目をまとめる。フラックスは、電子天秤による排水流量の測定から計算した。電子天秤は 0.001g まで読み取れるものを使用した。また、ビーカーにフィルムをかぶせて蒸発を防いだ。さらに、マリOTT管にスケールを取り付け、給水流量を測定することにより、給水流量と排水流量が一致することを確認した。

### B. 間隙水圧

カラムの深さ別透水係数を測定するために、カラムの各深さの間隙水の圧力を測定した。間隙水圧は、テンシオメータに接続した水マノメータの水位をカセットメータで読みとることによって測定し

Table 2-2 測定項目

項目	測定方法
フラックス	電子天秤による流量測定
間隙水圧	水マノメーター
グルコース濃度	ヘキシキナーゼ・グルコース-6-リン酸 脱水素酵素法
酸化還元電位	白金電極
室温	水銀温度計
乾燥密度	重量法
微生物数	希釈平板法
土粒子表面観察	走査電子顕微鏡撮影

た。カセットメータは 0.001cm の単位まで読みとった。ただし、固詰め実験に限り、カセットメータは使用せずに、マノメータを固定した板に張り付けた方眼用紙の目盛りから、1mm 単位でマノメータの水位を読みとった。その理由は、固詰め実験の際には動水勾配を 10 に設定したため、給水時と排水時のヘッド差が 120cm になり、測定に用いたカセットメータの測定範囲を超えてしまったためである。また、1mm 単位の測定で充分であると判断したためでもある。

同じ高さに 3 つのテンシオメータを挿入した場所においては、3 つのマノメータの読みの平均から、その高さの間隙水圧を計算した。

### C. 透水係数

飽和透水係数は、フラックスと間隙水圧の測定値から計算した。すなわち、ダルシー式によれば、

$$Q = -K_s \frac{\Delta H}{\Delta Z} \quad (2.1)$$

ここで、

Q : フラックス

K<sub>s</sub> : 透水係数

ΔH : 全水頭変化

ΔZ : 高さの差

なお、飽和透水係数は水温の変化にともなう水の粘性係数の違いによって変化するため、20℃の時の透水係数に換算する場合もあるが、本論文では全ての実験が 30℃の一定の温度のもとで行われているため、温度による補正は行わず、30℃における透水係数で統一した。

また、本研究では、間隙中に微生物が発生するガスが気泡として蓄積されることが示されるが、その場合の透水係数も、気相が大気と接触していないため、「飽和」透水係数としている。Sanchez et al. (1994)らは、水が土に毛管力によって保持されていない限りは「飽和」であるとして、同様の立場に立っている。

#### D. 酸化還元電位

酸化還元電位の測定は、白金電極を酸化還元電位を測定する機械に接続して、30分以上経過して値が安定してから、その値を読みとった。

#### E. グルコース濃度

また、基質濃度変化から微生物活動を間接的に測定するために、カラムの各深さでの間隙水中のグルコース濃度を測定した。間隙水を採取する際には、圧力測定のためのテンシオメータの注射針とマノメータをつなぐ場所に三方コックを接続し、三方コックを切り替える事により、注射器で間隙水を採取できるようにした。その際、最初の注射針と三方コックの体積に相当する分の溶液は廃棄した。また、測定に必要な分量の間隙水がたまるまでに、数十分から数時間かかるため、注射器を引いた状態で固定して待機した。その間、注射器内は非常に低い圧力になっているため、間隙水中の溶存ガスが気泡となって抜けていく様子が時々観察された。

グルコース濃度は、血中のグルコース濃度定量に標準的に用いられるヘキシキナーゼ・グルコース-6-リン酸脱水素酵素法で定量した。血中のグルコース定量の際には過塩素酸による除タンパクの操作が必要となるが、この実験においてはその操作を省略した。



## F. 室温

室温は、水銀温度計で測定したが、常に 29.0℃から 30.0℃に保たれていた。

以上は、浸透実験中に継続的に測定した。さらに、カラム実験終了後に、カラムを分解して、以下の測定を行った。

## G. 乾燥密度

乾燥密度は、リングの厚さの 4cm ごとに土を切断し、炉乾土の重量を測ることによって求めた。

## H. 微生物の数

微生物の量は、希釈平板法によって数えた。微生物を培養するための培地は、細菌と放線菌測定用としてエッグ・アルブミン寒天培地を、糸状菌測定用としてローズベンガル寒天培地を使用した。分散は、1800 回転/分の試験管ミキサーで 10 分間行った。

## I. 走査型電子顕微鏡撮影

また、土壌粒子の表面の、微生物の生息形態を観察するために、1mm 角の試料を白金で蒸着した後に、走査型電子顕微鏡（日立、S-4000）による土壌粒子の撮影をした。

## 第4節 実験の結果と考察

### (1) 透水係数の変化

#### A. 殺菌水を流したの透水係数変化

##### i) フラックスの変化

まず殺菌水を流したときの結果を示す。Fig. 2-10 にフラックスの変化を示す。実験開始後 8 日後までゆるやかに上昇し、その後ゆるやかに低下し、ほぼ一定の値を保っている。

##### ii) 全水頭分布

Fig. 2-11 に全水頭の垂直分布を示す。全水頭の計算にあたっては、試料の最下端の下フィルターの上面と接する位置を基準の高さ、すなわち位置水頭がゼロの高さとした。その高さは、グラフの中に  $Z=0$  として示した。図中の凡例は、実験開始からの経過時間を示す。実験開始後 1.2 日と 8.1 日においては全水頭分布に大きな変化はなく、試料中のどの層においてもほぼ一定の傾きになっている。ところが、14.1 日後には、上のフィルターの部分における全水頭の減少が非常に大きくなった。

##### iii) 透水係数の変化

ダルシー式から試料の深さ別透水係数を計算した結果を Fig. 2-12 に示す。上の層の方が透水係数が小さくなっていることが分かる。これは、充填乾燥密度が上の方が大きい、すなわち密に詰まっていることによる影響と考えられる。上のフィルターにおける透水係数

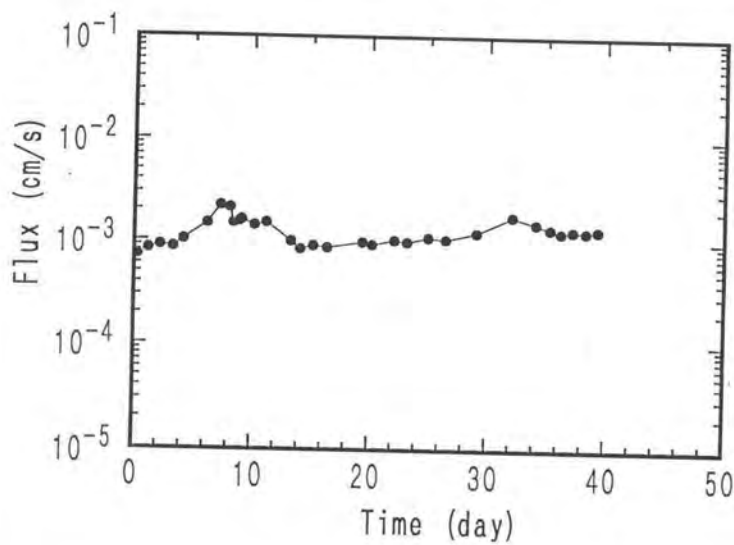


Fig. 2-10 Change in flux (Germicide).

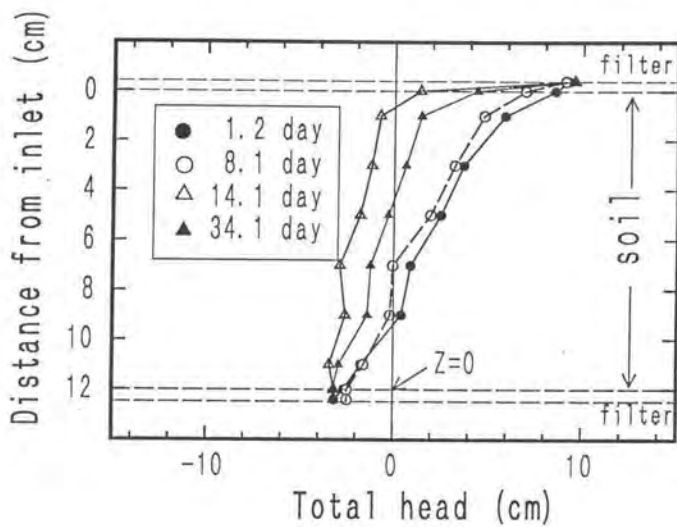


Fig. 2-11 Change in total head profile of soil column (Germicide).

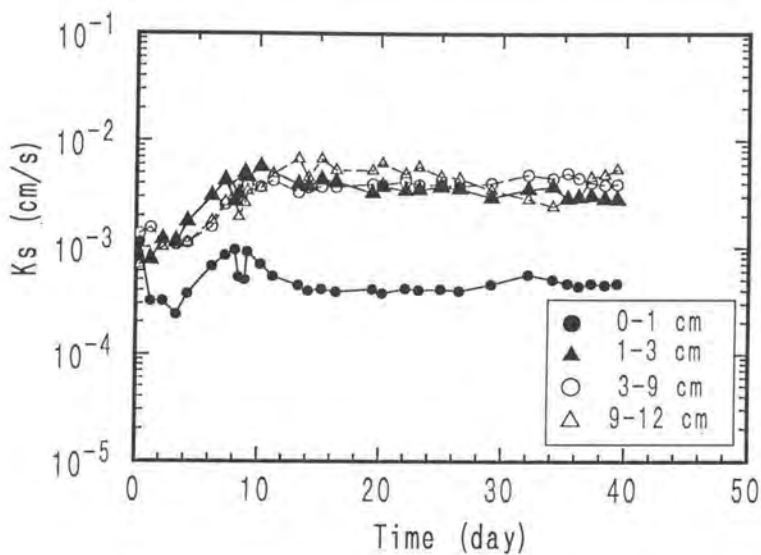


Fig. 2-12 Change in  $K_s$  of each layers (Germicide). The box in the figure shows distance from inlet.

を Fig. 2-13 に示すが、7日後までは増加して、それから14日後まで減少し、以後増加を続けている。試料をオートクレーブで殺菌し、さらに殺菌剤を流しているのだから、微生物の活動はまったくないと考えて良く、試料中およびガラスフィルターの透水係数の変化は、すべて長期間浸透させることによる物理的、化学的な変化によるものである。

試料が膨潤する事による透水係数の低下は見られなかった。これは、実験開始前に試料を一晩毛管飽和させた時点で、膨潤がかなり進行したため、実験開始後の膨潤量は非常に小さかったためと考えられる。

カラムの上端1 cmにおいて、他の層よりも透水係数が小さいのは、浸透水中の微粒子による目詰まりの影響があると考えられる。

## B. 栄養水を流した時の透水係数変化

### i) 栄養水実験Aの透水係数変化

#### フラックスの変化

はじめに栄養水実験Aの結果を示す。まず、フラックスの変化を Fig. 2-14 に示す。図中に示したように、14日後に、マリ奥特管を高くして、動水勾配を2倍に大きくした。また、118日後から殺菌水を流した。Fig. 2-14 の変化が急激なところを拡大して、実験開始後30日までのフラックスの変化を Fig. 2-15 に、殺菌水に切り替えてから120時間後までのフラックスの変化を Fig. 2-16 (横軸の単位に注意) に、それぞれ示す。フラックスは、実験開始後13日まで急



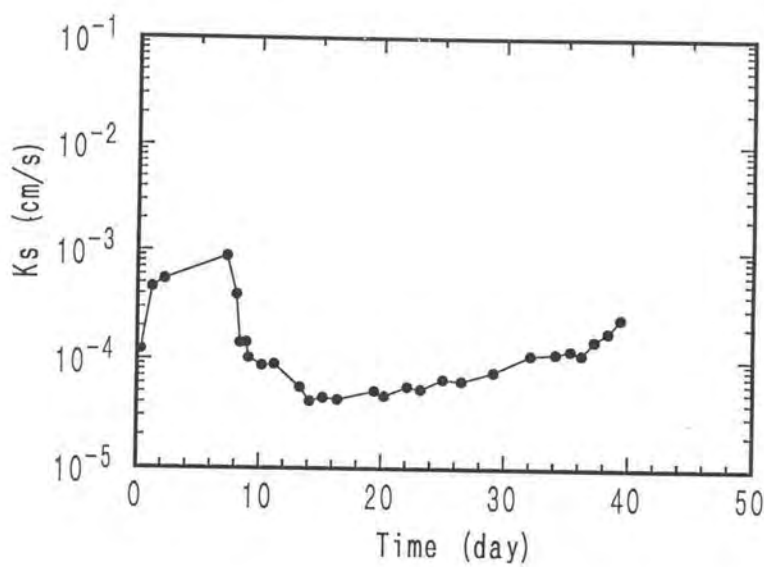


Fig. 2-13 Change in  $K_s$  of upper filter (Germicide).

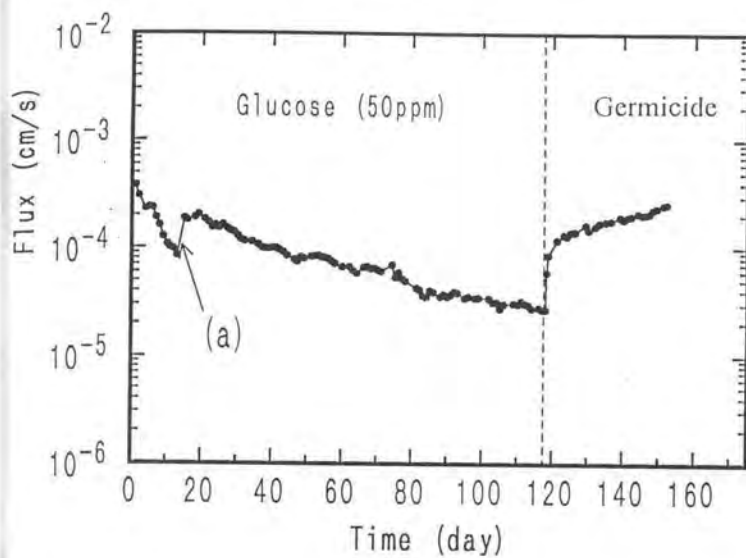


Fig. 2-14 Change in flux (Glucose A). Hydraulic gradient was doubled at 14 day (a).

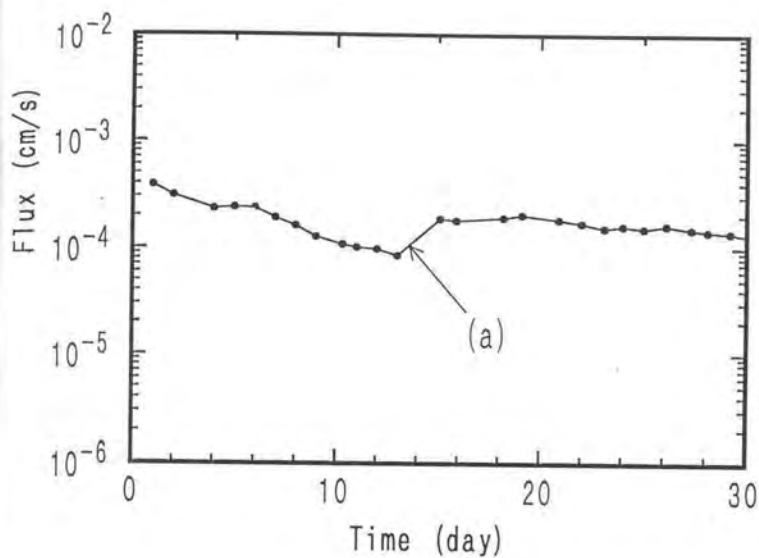


Fig. 2-15 Change in flux (Glucose A). Hydraulic gradient was doubled at 14 day (a).

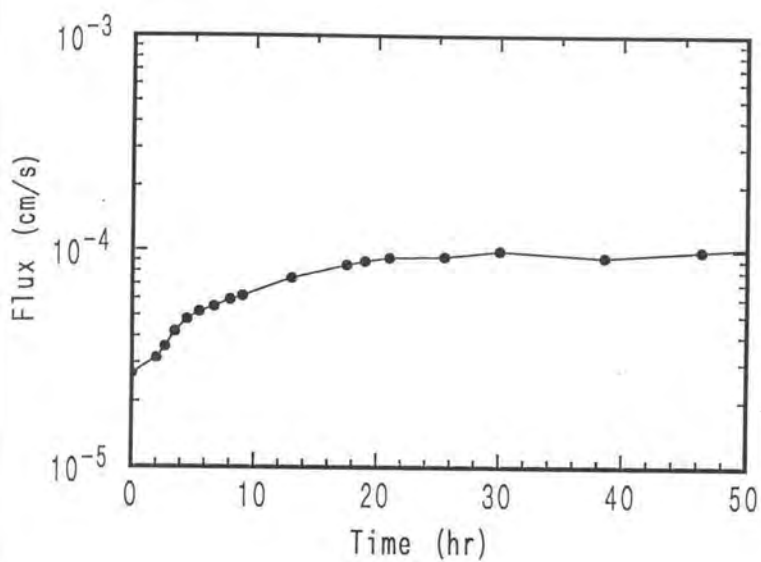


Fig. 2-16 Change in flux (Glucose A) as a function of time after changing the percolating solution to sodium azide (118 day).

激に減少し、その後 15 日まで上昇し、それから再び減少を続けた。時間と共に減少の速度はゆるやかになっている。

### 全水頭分布

まずは、殺菌水に切りかえる前の変化に注目し、全水頭分布を Fig. 2-17 に示す。1 日後と 5 日後は、深さ 9cm から 11cm のところで、グラフの傾きが小さくなっている。つまり、この層の透水係数が他の層と比べて小さい。ところが、10 日後、30 日後には、深さ 0-1cm の層でグラフの傾きが非常に小さくなり、1cm より下では、ほぼ垂直になった。実験開始後 30.3 日の全水頭分布を見ると、深さ 7cm から 9cm にかけて、下から上へ向かっての水の流れが引き起こされるべき変化が見られる。これは、ボーラス・カップを挿入した位置が、アクリルリングの外周からわずか 1cm の位置であるため、カラムの中心に主要な水みちが出来たことにより、カラムの中心部の間隙水圧よりも低い水圧が測定されたためであると考えられる。時間が経つにつれて、非常に低いマノメータの水位が測定される箇所が増加した。そのようなマノメータは、読みを平均する際に計算から除外したが、3 つとも非常に低い圧力となる箇所も出てきて、間隙水圧の測定は困難になった。

### 透水係数の変化

このような理由により、カラム下部の、全水頭分布のグラフが垂直に近い部分では、透水係数の計算は出来なくなった。そこで、透水係数の計算が可能なカラム上部の 2 つの層、つまり深さ 0-1cm と、深さ 1-3cm における透水係数の変化を Fig. 2-18 と Fig. 2-19 に示す。Fig. 2-19 は Fig. 2-18 の横軸を拡大したものである。黒丸のみあつて

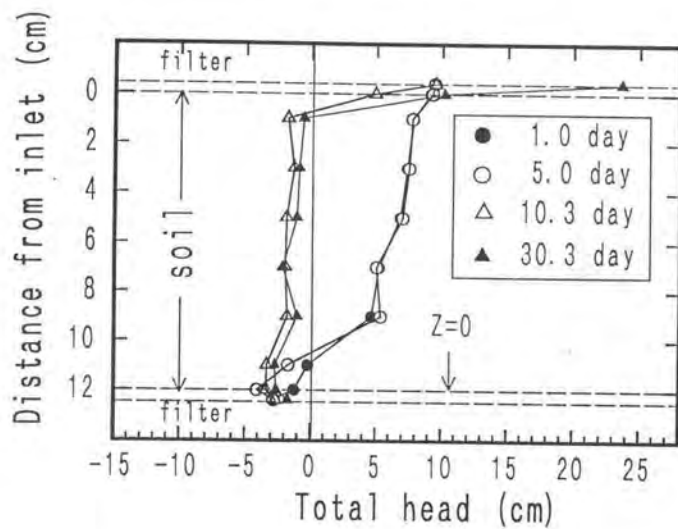


Fig. 2-17 Change in total head profile of soil column (Glucose A).



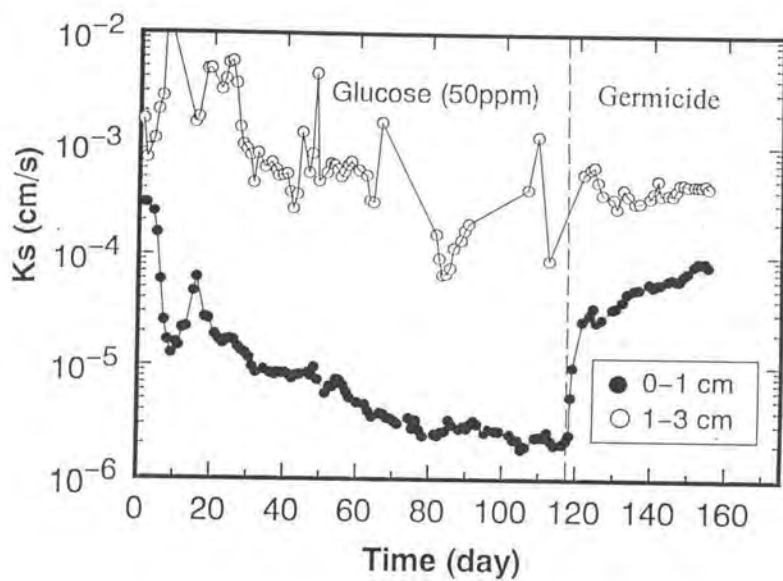


Fig. 2-18 Change in  $K_s$  of each layers (Glucose A).

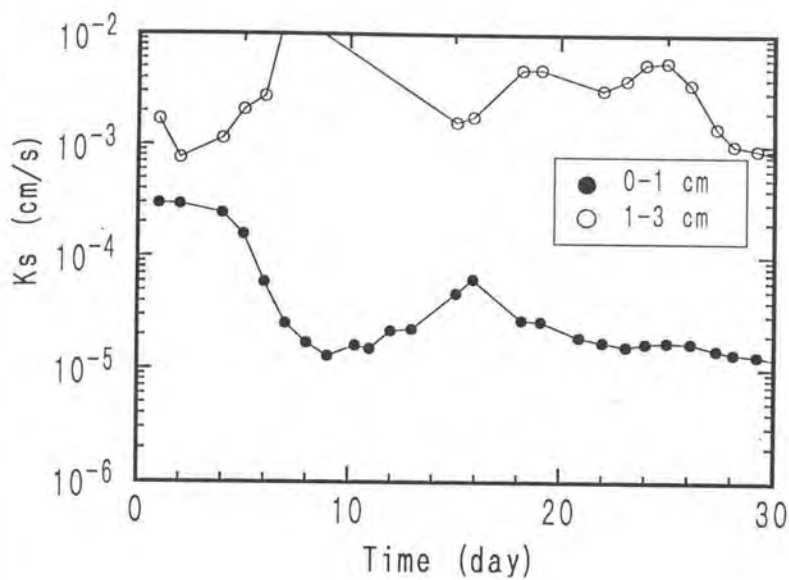


Fig. 2-19 Change in Ks of each layers (Glucose A).

白丸のない点は、上記のような全水頭分布の逆転現象により、透水係数が計算できなかった点である。

深さ 0-1cm の層においては、10 日後まで透水係数が急激に減少し、その後いったん増加し、16 日後から再び減少し、減少の程度は次第に緩やかになっている。そして、深さ 1-3cm の層においては、透水係数はやや減少しているものの、深さ 0-1cm 程ではない。このようなカラム上端における透水係数の低下は、殺菌水を流したときには見られなかったものである。したがって、試料の膨潤のような微生物の関与しない物理性の変化ではなく、微生物の何らかの作用によってカラムの上端 1cm における透水係数の低下がもたらされたことが明らかになった。

#### 殺菌水を流したことによるフラックス、間隙水圧の変化

次に、殺菌水に変えてからの変化をみる。Fig. 2-16 によれば、殺菌水に変えてから直後に急激にフラックスが上昇し、20 時間後以降は比較的緩やかに上昇している。

全水頭分布の変化は、Fig. 2-17 によれば、10 日後には上のフィルターと試料の上端から 0-1cm の層においての圧力勾配が非常に大きくなったが、Fig. 2-20 のように、殺菌水に変える直前の 118 日後には、さらにその圧力勾配が大きくなった。また、この時には大部分のマノメータが非常に低い圧力となっていた。そして、124 日後、すなわち殺菌水に変えてから 6 日後には、依然として上のフィルターと試料の最上端における圧力勾配が大きく、その下での圧力勾配がほぼ垂直になっているが、特に上のフィルターにおける圧力勾配が非常に大きくなっている。

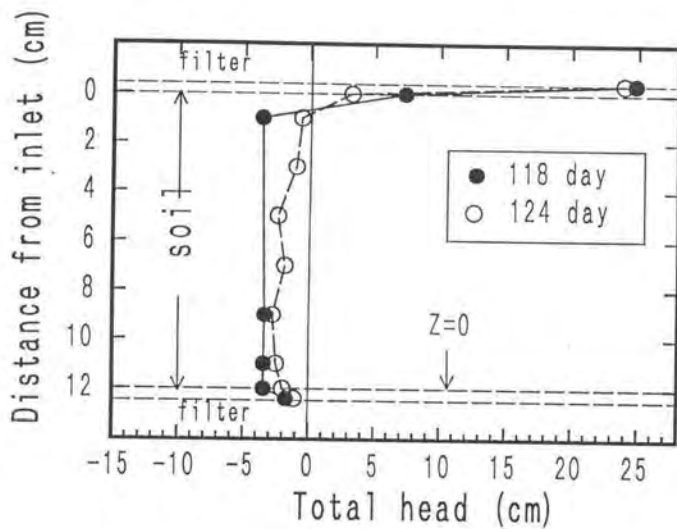


Fig. 2-20 Change in total head profile of soil column (Glucose A).

## 殺菌水を流したことによる透水係数の回復

このことをふまえて、カラム各層の透水係数の変化を見る。再び Fig. 2-18 を見ると、栄養水から殺菌水に切り替えたことにより、試料の最上端の 0-1cm の層において、透水係数が  $10^{-8}$  のオーダーから  $10^{-4}$  のオーダーへと、ほぼ 100 倍近く上昇した。それに対して、上のフィルターの透水係数は、Fig. 2-21 に示したように、やや回復（上昇）してはいるものの、試料の最上端ほどではなく、 $10^{-8}$  のオーダーである。この値は、実験開始時の値の 100 分の 1 であり、フィルターにおける透水係数の低下は、殺菌水を流してもほとんど回復しないことが分かる。すなわち、栄養水を流して微生物が活発に活動することによる透水係数の低下は、微生物活動を停止させることによってもとに戻る可逆的なメカニズムと、微生物の活動が停止しても戻らない不可逆的なメカニズムの 2 種類があり、ガラスフィルターにおいては不可逆的メカニズムが、試料の上端においては可逆的メカニズムがそれぞれ優位であるという説明が出来る。

## 上のフィルターにおける目詰まり

上のフィルターを観察すると、試料に接している部分に赤い物質が付着しているのので、この物質がフィルターを目詰まりさせて透水係数を低下させているのではないかと考えている。Vandevievere and Baveye (1992) の実験においても、水の浸入口（彼らは下から上へ水の流れしているのので、最下端）のメッシュにオレンジ色の堆積物が形成されたことを報告し、同様の現象が他の研究者によっても報告されていることを指摘している。そして、この試料の透水係数が低下した原因は、この堆積物によるものと、*Arthrobacter* sp. によるクロッキングの 2 つがあると考察した。

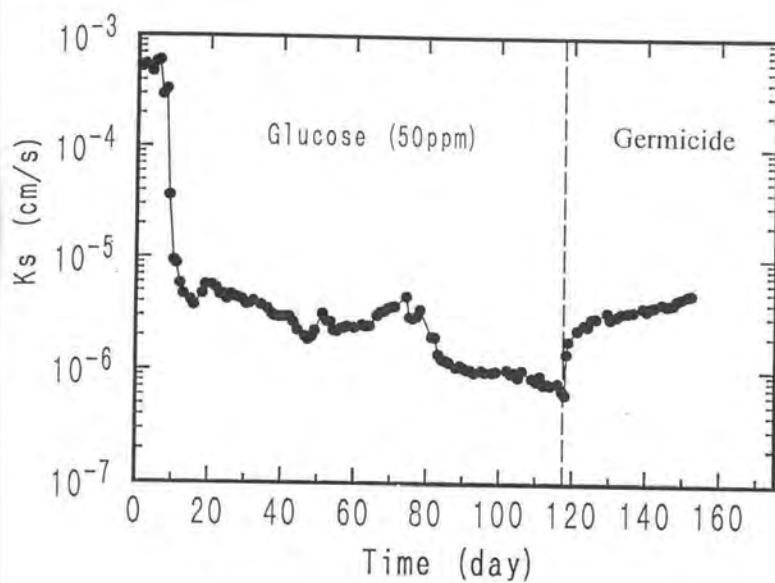


Fig. 2-21 Change in Ks of upper filter (Glucose A).



## ii) 栄養水実験Bにおける透水係数変化

次に、栄養水実験Bにおける透水係数の変化を示す。Fig. 2-22 にフラックスの変化を、Fig. 2-23 に全水頭分布を、Fig. 2-24 に試料の上端から 0-1cm, 1-3cm の 2 つの層の透水係数の変化をそれぞれ示す。透水係数の変化を見ると、栄養水実験Aと同じように、1-3cm においては、それほど変化がみられないのに対し、0-1cm の層で、著しく透水係数が低下した。しかし、栄養水実験Aに見られたような、途中で数日間透水係数が増加する現象は見られなかった。試料の上端 1cm の透水係数は、始めは急激に、そして次第に緩やかに減少を続け、カラムを解体する直前の 17.2 日後には、初期の値に対して 2 オーダー程度低下した。

## iii) 栄養水実験Cにおける透水係数変化

栄養水の最後に、栄養水実験Cの結果を示す。乾燥密度を  $0.8\text{g/cm}^3$  にして詰めると、透水係数が非常に小さくなるため、フラックスを大きくするために動水勾配を 10 と大きくして実験を行った。

Fig. 2-25 にフラックスの変化を示す。フラックスは多少の変動はあるものの、全体としてほぼ一定の値を保った。Fig. 2-26 に全水頭の垂直分布を、Fig. 2-27 に各層の透水係数の変化を示す。いずれの層も、ほぼ  $10^{-7}\text{cm/s}$  のオーダーの中で透水係数が変動している。このように、土の詰め方を非常に密にしたところ、透水係数の低下が見られなかった。

## iv) 初期の透水係数の増加について

序論で紹介した、Fig. 1-1 の Phase 2 にあたる、途中で透水係数が増加する現象は、栄養水実験A (Fig. 2-19) において、深さ 0-1cm の

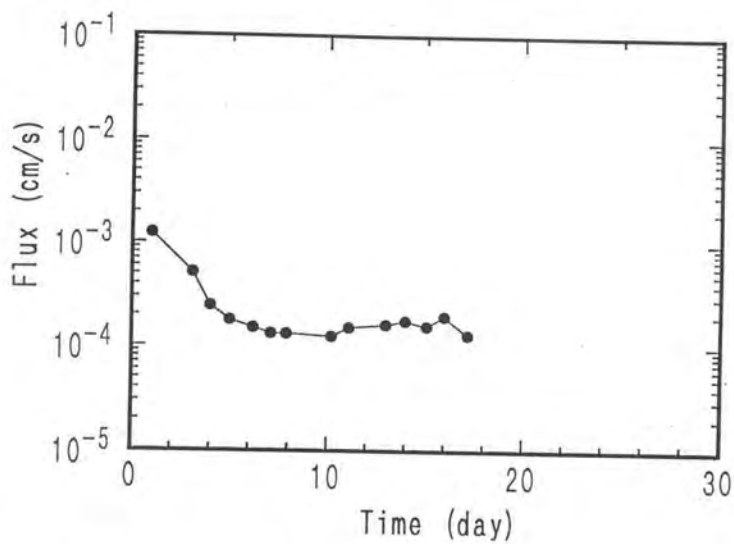


Fig. 2-22 Change in flux (Glucose B).

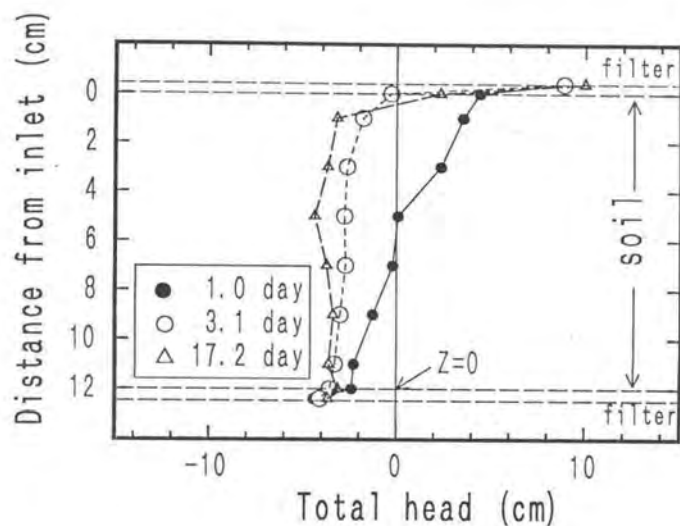


Fig. 2-23 Change in total head profile of soil column (Glucose B).

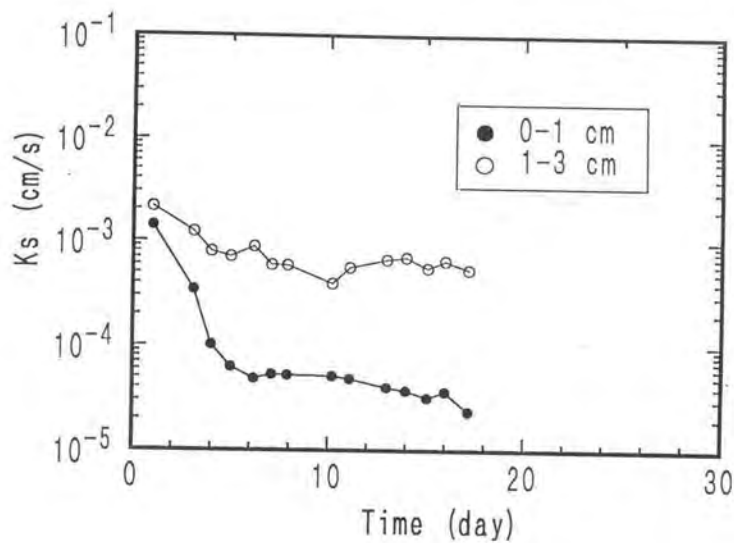


Fig. 2-24 Change in Ks of each layers (Glucose B).

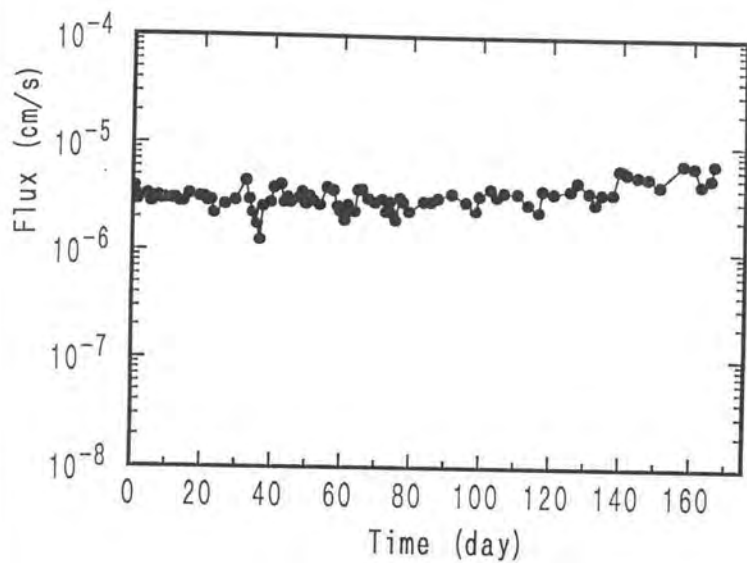


Fig. 2-25 Change in flux (Glucose C).

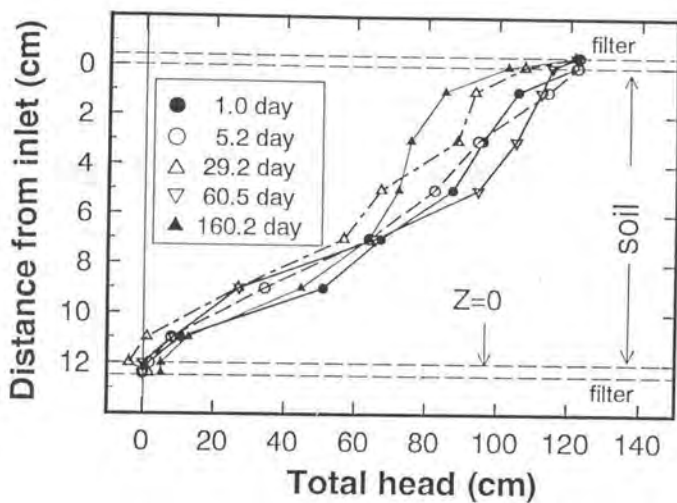


Fig. 2-26 Change in total head profile of soil column (Glucose C).



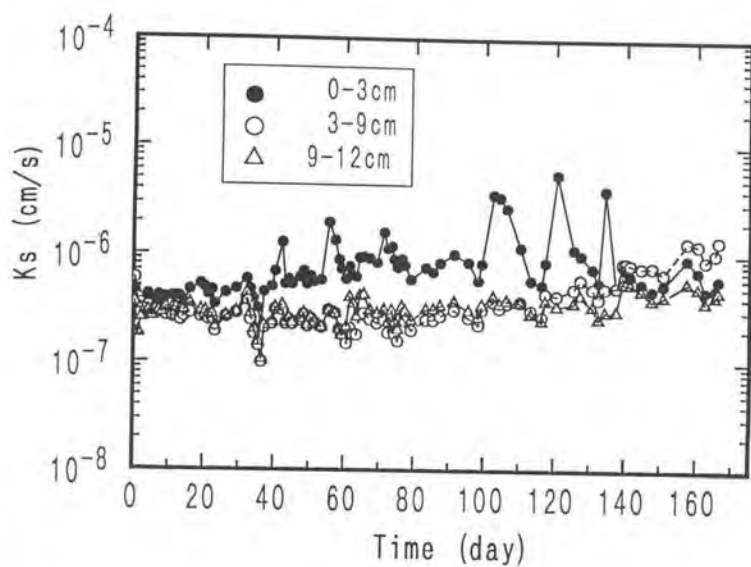


Fig. 2-27 Change in  $K_s$  of each layers (Glucose C).

層で9日から16日の間に認めれた。しかし、栄養水実験B (Fig 2-24) においてはそのような変化は見られず、透水係数は実験が終了する18日まで減少を続けた。このことから、栄養水Aにおける透水係数の増加は、14日後に給水マリOTT管の高さを上げて給水と排水のヘッド差を2倍にした操作と何らかの関係があるのではないかとと思われる。透水係数の増加が始まったのは、9日後からであり、ヘッド差を2倍にする操作が行われるよりも前ではあるが、9日後から13日後にかけての変化は比較的緩やかで、15日、16日と、透水係数が急激に大きくなった。

浸透水中の封入空気の溶解が透水係数の増加の原因であるが、ヘッド差を2倍にする操作で封入空気が圧縮された効果と、より速く溶解した効果により、透水係数の増加が加速されたと考えることができる。

## (2) 試料の膨潤による透水係数の低下

実験開始時の透水係数が、栄養水実験Aにおいては $10^{-4}\text{cm/s}$ のオーダーであったが、栄養水実験Bにおいて、 $10^{-3}\text{cm/s}$ のオーダーとなった。Fig. 2-8によると、乾燥密度 $0.65\text{g/cm}^3$ における透水係数の値は $10^{-4}\text{cm/s}$ のオーダーであり、栄養水実験Bの値はそれよりも1オーダー高い。

その理由は、試料の膨潤であると考えられる。試料充填後、下方から水を浸潤させて一晩おいたため、実験開始時、すなわち上方から水を浸潤し始めたときには、試料の膨潤は進行しつくしてしまい、膨潤による透水係数の低下はおこらないと考えられる。その根拠は、殺菌水を流した実験において、透水係数の低下が見られなかったこ

とからである。しかしここでは、その考察を更に進め、膨潤の過程を以下の2段階に分けて考える。

①試料の固相率が増加する。

②乾燥密度が平均化される。

変化①は、試料の上端と下端が閉じていなければ、乾燥密度の低下として現れる現象が、試料の体積を一定に保っているために、固相率の増加として現れる。固相率の増加は、主として粘土粒子の膨潤によりもたらせると考えるならば、粘土粒子の層間水の増加によりもたらされるものであり、固相率の増加量は極めて微小である。しかしながら、透水係数低下への影響は必ずしも少ないとは言えない。そして、この①の変化は、主として試料飽和中に進行したものと考えられる。

変化②は、土を充填した際の乾燥密度の不均一性によりもたらされるものである。変化①が終わっても、カラムを上下端から押さえつけているために、試料は膨潤しようとする力が働いている。その力によって、乾燥密度が小さい部分は圧縮される。結果として、乾燥密度が大きい部分はより乾燥密度が小さく、乾燥密度が小さい部分はより乾燥密度が大きくなり、試料の乾燥密度の局所的な不均一性がなくなる方向へと反応が進む。

試料充填時の不均一性により、乾燥密度が小さい部分ができると、その箇所の透水係数が大きくなり、水みちができる。その結果、透水係数が  $10^{-3}$  cm/s のオーダーまで大きくなった。そして、変化②によって乾燥密度が平均化されることにより水みちがなくなり、透水係数が  $10^{-4}$  cm/s のオーダーまで低下したと説明できる。

### (3) 糸状菌の増殖による透水係数の低下

#### A. グルコース濃度の垂直分布

栄養水実験Aの11日後にカラム中の各深さから採取した間隙水中のグルコース濃度の測定結果を Fig. 2-28 に示す。グルコース溶液は50ppm で作成したが、マリOTT管から採取したグルコース溶液のグルコース濃度は45ppm であった。グルコースの消費が激しいのは、深さ 0-1cm の層で、この層で、45ppm あったグルコースが、12ppm にまで減少している。この層より下では、グルコース濃度はほぼ同じで、ほとんどグルコースの消費は見られない。このことから、深さ 0-1cm で、微生物活動が最も活発に行われている事が分かる。これは、透水係数が低下した深さと一致する。カラム上端数 mm の酸化層において、微生物の呼吸が活発に行われ、グルコースが消費されていると考えることができる。

#### B. 希釈平板法による微生物数の計数

##### i) 細菌の数

Fig. 2-29 に、栄養水実験B終了後(18日後、9月13日)に、希釈平板法によって、細菌と糸状菌の数を数えた結果を示す。放線菌は見られなかった。これは、水で飽和していたからであろう。図の一番上に"at the beginning"として示したデータは、冷蔵庫から取り出した試料をビーカーの中に入れて、ビーカーにいっぱい蒸留水を入れて18時間放置してから測定したものである。

Fig. 2-29 によれば、フィルターのすぐ近くでは、細菌の数は実験開始時とほとんど変わらないのに対して、上端から2cm以上下では、

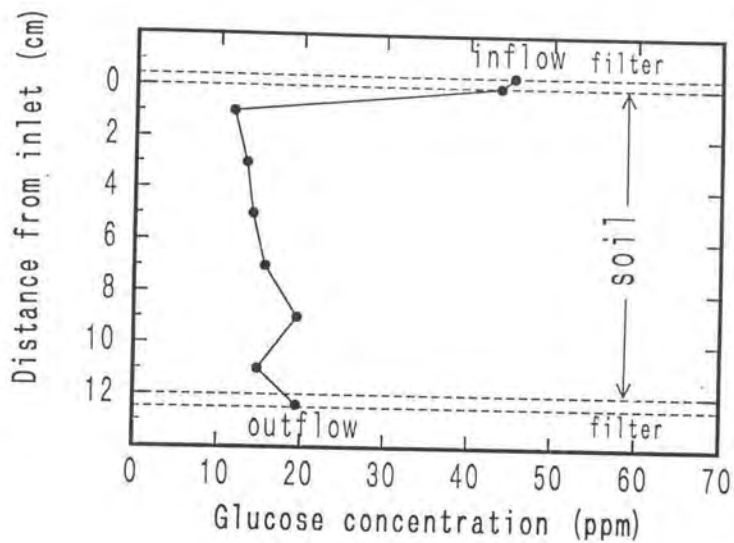


Fig. 2-28 Profile of glucose concentration in pore water at 11 day (Glucose A).

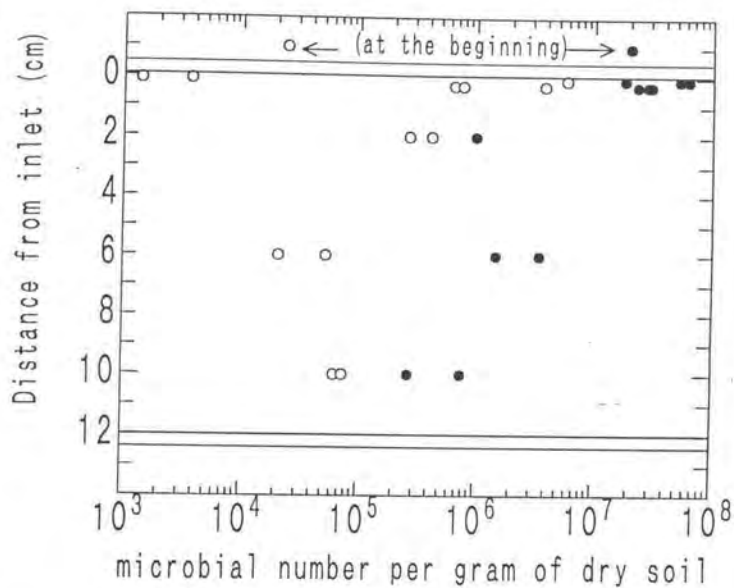


Fig. 2-29 Number of bacteria (●) and fungi (○) measured by dilute plate counting method (Glucose B).



細菌の数が1オーダーから2オーダー減少している。すなわち、透水係数の低下が起こった層では、実験開始時からほとんど同じ細菌数が保たれているが、透水係数の低下がほとんど見られなかった層では、次第に細菌が少なくなり、上の層と比べて細菌の活動がほとんどなかったことになる。冷蔵庫の中で、まったく栄養が補給されない状態で5カ月から7ヶ月保存した後に、 $10^7$ 個/g乾土のオーダーの細菌が生息しているのに、栄養水を流して18日後に細菌の数が減少したのは、一見不可解である。これは、カラムの上層で酸素が消費され、下の方では嫌気の状態になったため、好気性細菌が死滅したためであると考えられる。

## ii) 糸状菌の数

また、糸状菌の数を見ると、今度は透水係数の低下がほとんどなかった層において実験開始時から数があまり変化していないのに対し、透水係数の低下が著しく見られたカラムの上端において、実験開始時から1～2オーダー糸状菌の数が増加した。すなわち、糸状菌が増殖した場所で透水係数が下がった。ただ、フィルターのすぐ近くの糸状菌の数を見ると、2つほど、非常に少ないデータがある。この2つは、フィルターに付着していた試料を用いたものであるが、このように値が小さくなったのは、本当に糸状菌が少なかったのか、それとも実験の操作上の誤りなのかは、分からない。いずれにしても、糸状菌の増殖が透水係数の低下に寄与していると考えることが出来る。

## iii) 栄養水実験Cの微生物の分布

次に、栄養水実験C修了後にカラムを解体して細菌及び糸状菌の数を数えた結果を Fig. 2-30 に示す。細菌、糸状菌ともに、カラムのどの深さにおいても、初期の数に対してほとんど変化しなかった。糸状菌が増殖しなかった原因として、以下のような要因が考えられる。

## ①間隙構造の違い

第一の要因は、間隙構造の違いである。すなわち、乾燥密度を大きくしたことにより、大きな間隙が減り、間隙の平均的な大きさが小さくなった。したがって、カラム上端において糸状菌の増殖が起これなかった原因は、糸状菌が増殖するために十分な大きさを持つ間隙が少なかったためであると考えることが出来る。この点をはっきりさせるためには、糸状菌が増殖できるだけの大きさを持つ間隙の量を正しく評価することが必要である。

## ②フラックスの違い

栄養水実験Aにおいては、初期のフラックスは  $4 \times 10^{-4} \text{ cm/s}$  で、その後フラックスは低下したものの、118 日後のフラックスは  $3 \times 10^{-5} \text{ cm/s}$  であった。それに対し、栄養水実験Cにおいては、フラックスは  $10^{-6} \text{ cm/s}$  のオーダーの中で変動した。そのために、グルコースが供給される速度が小さく、微生物活動が抑制されたことが、カラム上端で糸状菌の増殖が見られなかった原因であると考えることが出来る。

フラックスが小さいために、グルコースが供給された総量も小さい。実験終了までの 162 日間に流れたグルコース溶液の量は 2.23 リ

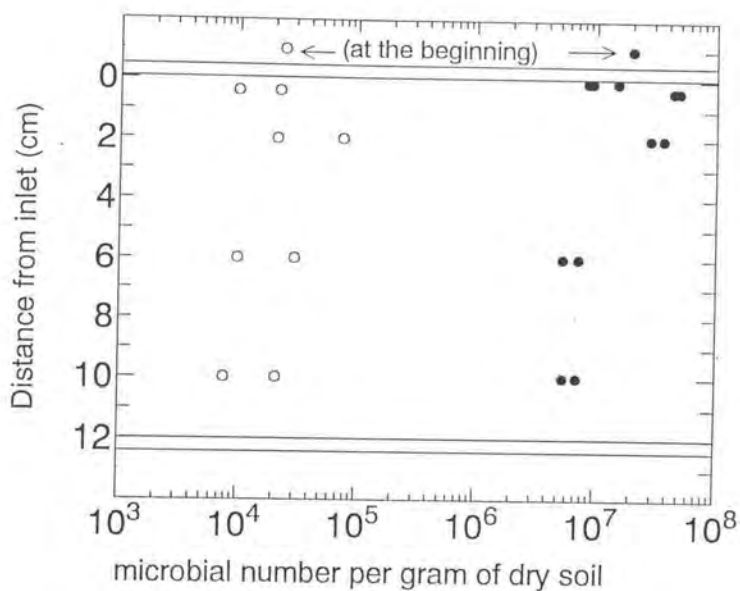


Fig. 2-30 Number of bacteria (●) and fungi (○) measured by dilute plate counting method (Glucose B).

ットルであり、グルコースの量にすると 0.112g しか供給されていない。

### C. 走査型電子顕微鏡撮影

走査型電子顕微鏡によって、カラムの一番上の部分の土壌粒子表面を撮影した写真を Fig. 2-31 に示す。表面に付着している物質が鉱物なのか微生物のコロニーなのかは、分らない。

### D. 透水係数減少の可逆性について

栄養水実験 A において、微生物の作用によって透水係数が減少したメカニズムには、殺菌水を流すことで回復した可逆的メカニズムと、回復しなかった不可逆的メカニズムがあり、試料の上端においては可逆的メカニズムが、上のフィルターにおいては不可逆的メカニズムがそれぞれ優位であることを示した。

微生物細胞と代謝生成物が間隙を閉塞するメカニズムは、不可逆的であると考えられる。すなわち、殺菌水を流して微生物が死滅しても、死菌体は間隙中に残るであろうし、まして間隙にへばりついていた代謝生成物がはがされるとは考えにくいからである。

### E. 糸状菌の増殖

栄養水実験 A において、透水係数が低下したカラムの上端の細菌と糸状菌の数を数えた結果、細菌の数は実験開始時とほとんど変わらなかったのに対し、糸状菌の数が著しく増加した。このことから、微生物の細胞が間隙を閉塞することによる間隙の閉塞、すなわち clogging 現象を起こす微生物としては、糸状菌を第一候補に挙げることが出来る。栄養水実験 C において透水係数の低下が見られなか

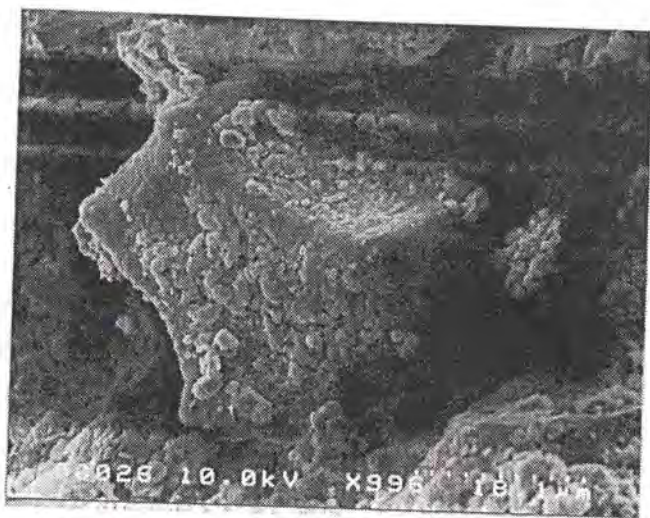


Fig. 2-31 Scanning electron micrograph is the surface of soil particle in the clogged region (Glucose B).



ったのも、糸状菌が増殖しなかったためであると説明することができる。

## F. 糸状菌の棲息形態

糸状菌は間隙中にどのように棲息し、透水係数を下げているのかを考える。比較的（糸状菌の大きさと比較して、ということである）大きな間隙では、菌糸が水の通り道を塞ぐことはないが、比較的小さな間隙では、通水断面積の減少により、通水抵抗が大きくなる。また、間隙と間隙を結ぶ水の通り道を菌糸が塞ぐ形になれば、通水抵抗は著しく増加する。

## G. 細菌、糸状菌のバイオマス

測定された個体の数は、細菌の方が糸状菌よりも多いが、一般的には、どの土壌でも糸状菌のバイオマスが細菌のそれを上まわっていると考えられている。したがって、糸状菌の数が初期の 100 倍増加したことにより、細菌よりも糸状菌のバイオマスが大きくなったと考えることができる。

しかし、希釈平板法によって測定される細菌の数は顕微鏡下で観察される細菌数の数%でしかなく、また活動状態にある糸状菌の菌糸はほとんど計数できず、静菌作用によって土壌中に蓄積している胞子の数を計数しているに過ぎないため、間隙中に占める細菌、糸状菌の体積を知るためには、バイオマスの測定をしなければならない。希釈平板法による測定によって得られた知見は、細菌の数、糸状菌の数の実験開始時に対する相対的な変化およびカラムの層による相対的な違いである。また、カラム内は全体的に嫌気的狀態にあ



るため、好気性細菌よりも、嫌気性細菌の方が数は多いと考えられる。

## H. グルコース消費にともなう炭素収支の計算

ここで、カラム内に蓄積された微生物細胞や代謝生成物の量を推定するために、炭素収支を考える。炭素がどのような化学変化を起こしても、「流入量－排出量＝カラム内の蓄積量」という関係が成り立つ。グルコースはそのほとんどが消費されるが、消費されたグルコースの炭素は、菌体あるいは代謝生成物として土壤中に蓄積されるか、あるいは二酸化炭素あるいはメタンガスとなり、気体となった分は間隙中に気泡として残るか浸透水中に溶解して流れ去る。

Fig. 3-29 に示したように、栄養水実験Aの11日経過時における間隙水中のグルコース濃度の垂直分布は、カラム流入時に50ppm程度であったものが、試料上端から1cmより下では10ppm程度となり、上端1cmの層でグルコースの大半が消費されている。そして、その後の透水係数の変化を見ても、上端1cmの層において透水係数が他の層と比べて著しく小さく、浸透水中の微生物の栄養成分（グルコース、溶存酸素）が層ごとに違うことより、グルコースが消費されていることは明白である。そこで、もしも浸透水中のグルコースがすべて微生物の増殖に使われ、あるいは代謝生成物として土壤試料中に蓄積されたとすると、その量はどの程度になるかを試算する。

## I. 炭素収支に基づく、炭素の蓄積量の計算

Fig. 2-32 は、深さ0-1cmの透水係数の変化を、積算排水量に対してプロットしたものである。8リットル流れるまでの間に急激に透水係数が低下し、それから4リットル流れるまでの間は増加し、そ

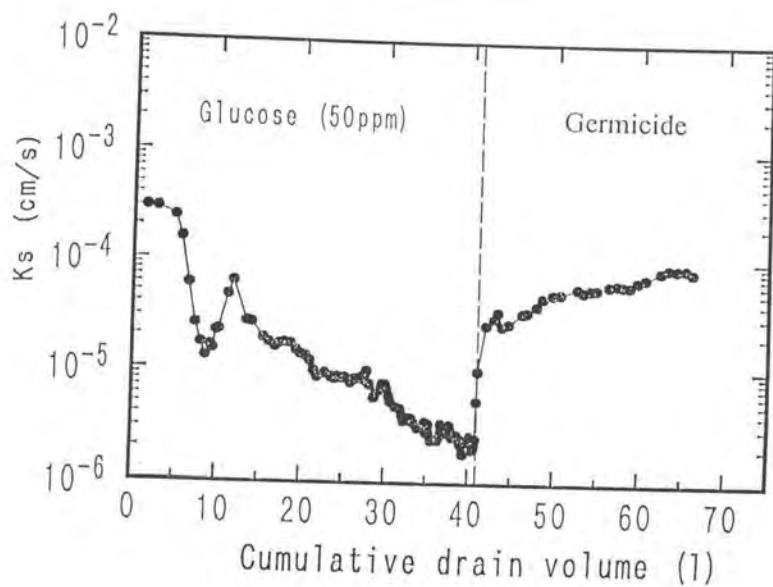


Fig. 2-32 Change in  $K_s$  of clogged layer (0-1cm) against cumulative drain volume (Glucose A).

の後は低下を続け、殺菌水に切り変える。118 日後には実験開始から 40 リットル程度の水が流れている。積算排水量にグルコース濃度をかけた量を積算グルコース流入量と呼ぶ事にすると、殺菌水に切り替えた時点での積算グルコース流入量は、40 リットルに 50ppm をかけて 2g となる。さらに、この値にグルコース中の炭素原子の重量比をかけると、積算炭素流入量と名づべき値が計算出来る。すなわち、グルコース  $C_6H_{12}O_6$  の分子量は 180、その中に炭素原子（原子量 12）が 6 個含まれているから、その割合は 0.4 となる。したがって、積算炭素流入量は 0.8g である。透水係数の低下が起きた層の厚さを 1cm と見積もると、この層には 28.7g の土が充填されている。そこに 0.8g の炭素が添加されたとすると、土の重量に対して 3% の炭素が添加されたことになる。もちろん、気体となって浸透水中に溶解するか気泡として閉塞された分もあるため、0.8g の炭素が全て土壤中に固体として蓄積されたわけではない。

そこで、以下の節では、透水係数低下の第二の要因として、微生物が発生するガスが気泡として間隙中に蓄積して間隙を目詰まりさせる効果を考える。

#### （4）微生物のメタン発生による透水係数の低下

##### A. 予想される発生ガス成分

土壌微生物が発生した気体がすべて浸透水中に溶解して流れ去れば、透水係数には影響を与えないが、溶解しきれずに気泡として残って間隙中に閉塞されると、透水係数が低下する原因となる。

ガスの発生による透水係数の低下は、殺菌水を流すことにより回復する、いわゆる可逆的のメカニズムであると考えられることができる。それは、微生物活動が活発であるときには発生される気体の量が溶解する気体の量と等量であるかあるいは前者が多いが、殺菌されたことによって気体は溶解する一方となり、透水係数が回復すると考えられるからである。

土壌中の微生物が生成する気体には、 $\text{CO}_2$ 、 $\text{N}_2$ 、 $\text{N}_2\text{O}$ 、 $\text{CH}_4$ 、 $\text{H}_2\text{S}$ などがあるが、浸透水中には炭素源しか含まれていないため、継続的に発生する気体として可能性があるのは、 $\text{CO}_2$ と $\text{CH}_4$ である。

## B. 二酸化炭素の発生

そこでまず、二酸化炭素について考える。メタン菌はきわめて酸素を嫌うため、メタンが発生する前に、好気性細菌などの呼吸により浸透水中の酸素が消費され、二酸化炭素が発生するものと考えられる。ところが、発生した二酸化炭素は、その全てが浸透水中に溶解して流れ去ってしまうため、気泡として間隙中に残って透水係数を低下させることは有り得ない。以下にそのことを計算によって示す。

1 リットルの浸透水中には、グルコースが 50mg 含まれている。このグルコースがすべて二酸化炭素になったとすると、発生する二酸化炭素の量は、

$$6 \times (50\text{mg}/180) = 0.67\text{mmol}$$

この量は、0℃、1気圧の容積に換算すると、

$$0.67\text{mmol} \times 22.4\text{cm}^3/\text{mmol} = 37\text{cm}^3$$

となる。理科年表によると、1気圧の二酸化炭素が水1リットルに溶解する時の容積を0℃、1気圧における容積に換算すると、20℃では880cm<sup>3</sup>、40℃では530cm<sup>3</sup>である。そこで、30℃の時はその平均をとって705cm<sup>3</sup>とすると、グルコースがすべて二酸化炭素になった時の水の溶解能力に対する二酸化炭素発生量の割合は、わずか5%である。したがって、発生した二酸化炭素は、その全てが浸透水に溶解して流れ去るはずである。仮に、それでも溶解しない二酸化炭素が残っていると看做しても、殺菌水を流したときに突然に二酸化炭素が溶解して流れ去るとは考えられない。

以上の考察をまとめると、浸透水中のグルコースはその一部が二酸化炭素に変化するが、水に対する溶解度が非常に大きいため、間隙中に気泡として残り透水係数を下げる役割は果たしていないと考えられる。

### C. メタンの発生

#### i) 酸化還元電位の変化

##### 殺菌水を流した場合

次に、メタン発生の可能性について考察する。まず、メタン発生には土壌が還元化されてなければならないので、酸化還元電位の測定結果から示す。殺菌水実験における、カラムの上端から3cmの深さの酸化還元電位を測定した結果をFig.2-33に示す。供給した水の酸化還元電位は、340mVと測定された。いずれの実験においても、常にほぼ300mVから400mVの値を示し、還元化は認められなかった。



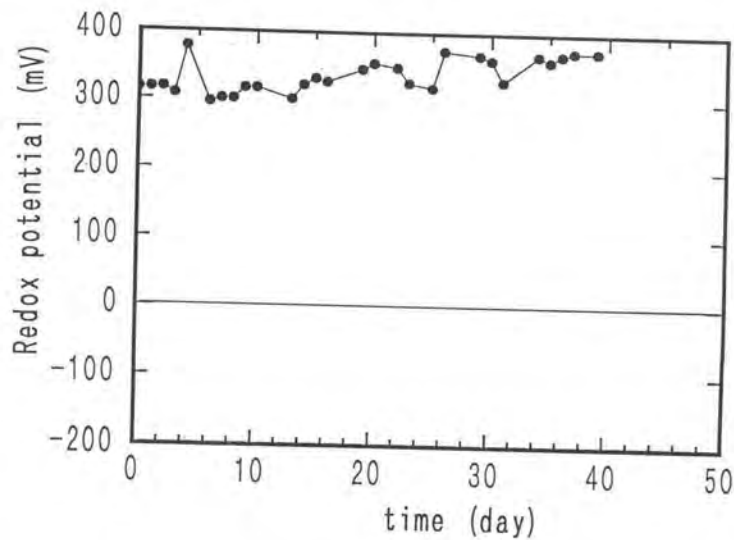


Fig. 2-33 Redox potential change of the soil column measured at the depth of 3 cm lower than inlet (Germicide).



## 栄養水を流した場合

栄養水実験Aの酸化還元電位の時間変化を Fig.2-34 に、垂直分布を Fig.2-35 にそれぞれ示す。実験開始後、どの深さにおいても次第に還元化が進んだ。深さ 1cm において、39 日後に -200mV 以下にまで還元化されたことから、酸化層が数ミリしかないことが分かる。深さ 1cm の 40 日以降のデータがないのは、酸化還元電位計の読みが -300mV から 300mV、あるいはそれ以上の値まで、非常に大きく変動し、安定しなくなってしまったためである。序論で述べたように、メタンが発生するためには、酸化還元電位が -150mV 以下に下がるのが最低必要であるとされるが、39 日後には深さ 3cm を除く全ての層で、メタンの発生が起り得る程度に還元化が進んだ。

栄養水実験Bの試料の上端から 3cm の位置に挿入した白金電極から測定された、酸化還元電位の変化を Fig.2-36 に示す。

栄養水実験Cの酸化還元電位の時間変化を Fig.2-37 に、垂直分布を Fig.2-38 にそれぞれ示す。それぞれの深さにおいて実験開始後次第に還元化が進んだ。特に、深さ 3cm と 10.5cm において、著しく還元化が進んだ。

## ii) メタン発生の化学反応

まず、好氣的呼吸により二酸化炭素が発生し、酸素がなくなって嫌氣的状態になると、嫌気発酵が進行し、二酸化炭素、蟻酸、酢酸、水素が発生する。そして、メタンは二酸化炭素、蟻酸、酢酸を炭素源とし、水素を水素源として生成される。そこで、グルコース中のすべての水素原子がメタンになると仮定すると、嫌氣的条件化でグルコースからメタンが発生する反応は、以下のようにまとめることができる。

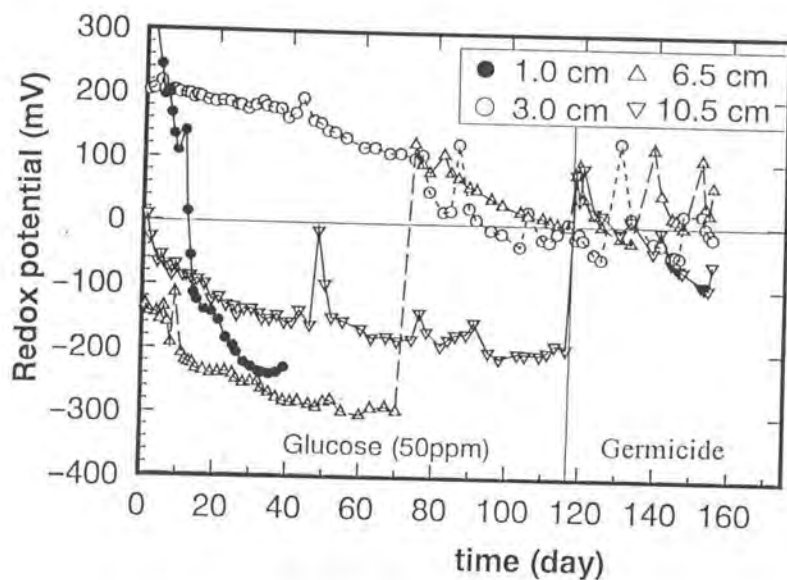


Fig. 2-34 Redox potential change of the soil column measured at four different depth (Glucose A). The box in the figure indicates the distance from inlet.

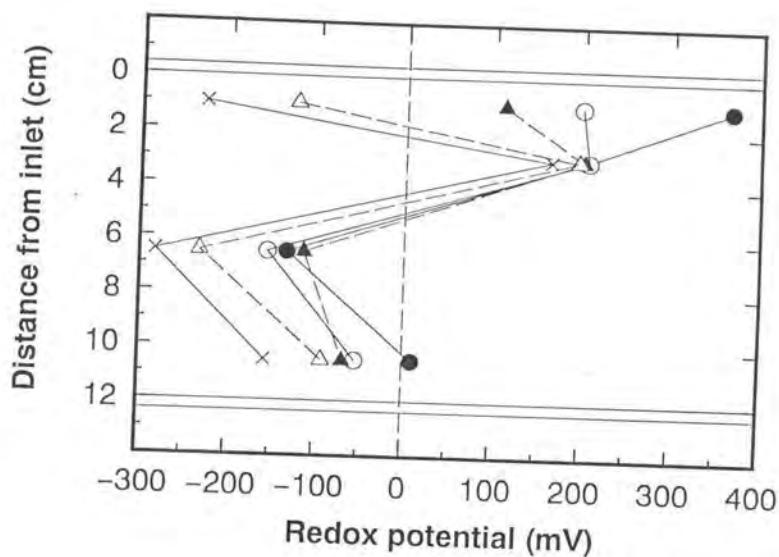


Fig. 2-35 Change in the redox potential profile of soil column at 1 day (●), 5 day (○), 9 day (▲), 15 day (△) and 39 day (×) (Glucose A).

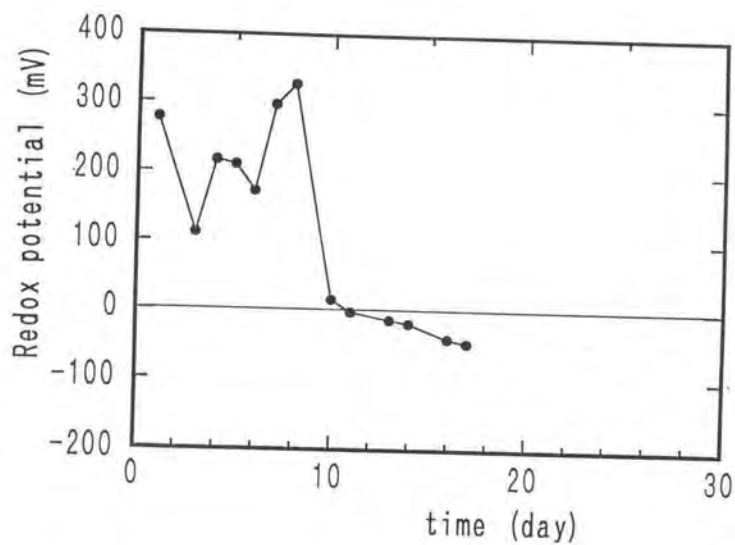


Fig. 2-36 Redox potential change of the soil column measured at depth of 3 cm lower than inlet (Glucose B).

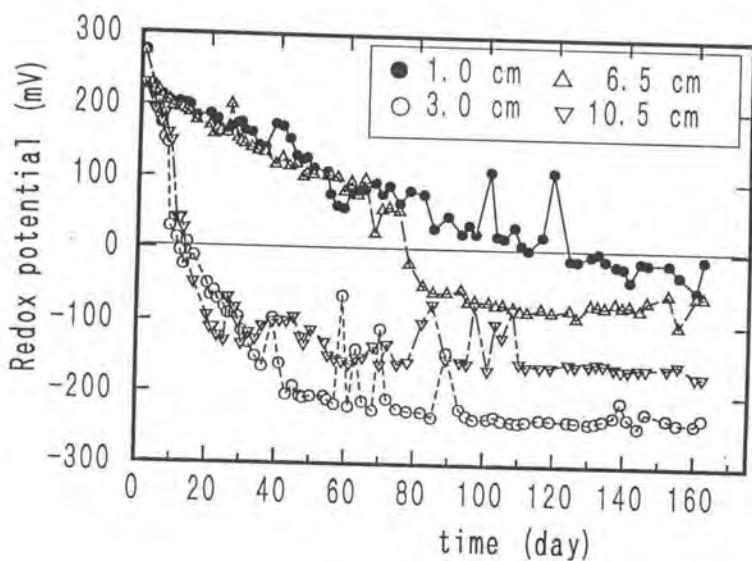


Fig. 2-37 Redox potential change of the soil column measured at four different depth (Glucose C). The box in the figure indicates the distance from inlet.

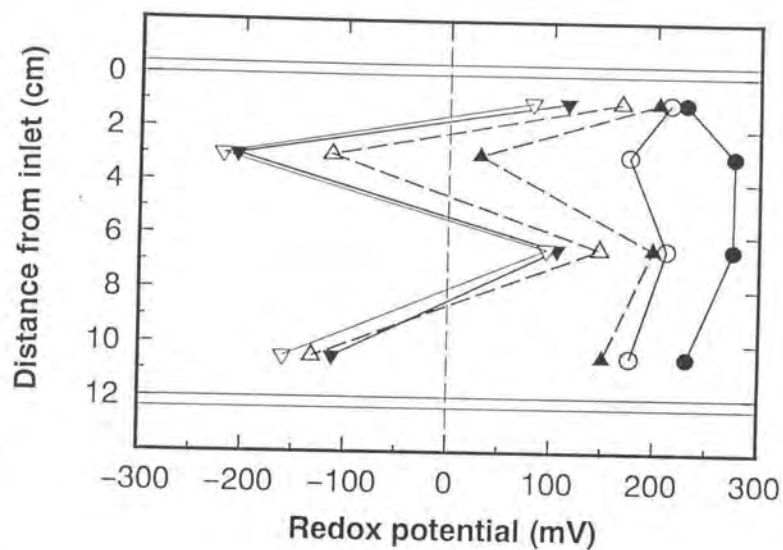
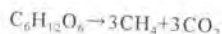


Fig. 2-38 Change in the redox potential profile of soil column at 1 day (●), 6 day (○), 9 day (▲), 30 day (△), 61 day (▼) and 160 day (▽) (Glucose C).





### iii) メタン発生速度と、水への溶解速度の比較

上述の化学反応から、グルコース 2mol から、メタン 3mol が生成されることになる。その時に発生するメタンの量は、0℃、1 気圧の容積に換算すると、

$$3/2 \times (50\text{mg} \div 180) \times 22.4\text{cm}^3/\text{mmol} = 9.3\text{cm}^3$$

となる。1 気圧のメタンが水 1 リットルに溶解する時の容積を 0℃、1 気圧における容積に換算すると、20℃では 33cm<sup>3</sup>、40℃では 24cm<sup>3</sup>であり、30℃の時はその平均の 28.5cm<sup>3</sup>とすると、メタン発生量の水の溶解能力に対する割合は、33%である。浸透水中には、メタン以外の気体も溶解しているため、発生したメタンが浸透水中に溶解し切れずに気泡となって透水係数を下げることは充分に有り得る。

### iv) 気泡となって間隙を閉塞したメタンの量の計算

次に、気泡となって間隙を閉塞したメタンの量を計算する。118 日間グルコース溶液を流したことによって間隙に閉塞されたメタンは、殺菌水を流したことによって浸透水中に溶解されたものと考えることが出来る。したがって、殺菌水を流したことにより溶解することのできるメタンの量から、それまでに集積していたメタンの量を推定することが出来る。そこで、殺菌水を流した時の溶解速度についての計算を試みる。殺菌水を流しはじめてからのフラックスの変化を、積算排水量に対してプロットすると、Fig. 2-39 のようになる。透水係数がほぼ回復するまでには、0.2 リットルほどの水が流れている。0.2 リットルの水に溶解するメタンの量は、30℃、1 気圧の体積に換算すると、

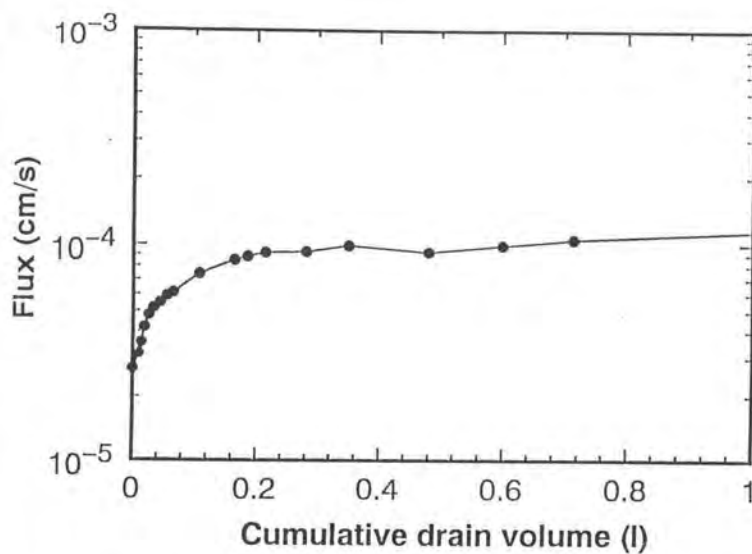


Fig. 2-39 Plot of flux against cumulative drain volume after changing to sodium azide (Glucose A).

$$0.21 \times 28.5 \text{ cm}^3 / 1 \times (303 \text{ K} / 273 \text{ K}) = 6.3 \text{ cm}^3$$

ただし、0.2 リットルの水の溶解能力に対して、実際に溶解したメタンの割合は、100%ではないため、 $6.3 \text{ cm}^3$ よりも少ない量のメタンが間隙中に残っていたと考えられる。なお、間隙水压はカラム上端では負圧になっているが、高々  $15 \text{ cm H}_2\text{O}$  であり、その時の1気圧に対する気体の膨張率は1%程度である。したがって、1気圧として計算しても誤差は許容範囲である。

さて、 $6.3 \text{ cm}^3$ のメタンが間隙中に残るためには、40 リットルの水に含まれるグルコースの内の0.5%程度がメタンガスとして間隙中に残れば良く、グルコースのうち、メタンとなる割合は低く、またメタンの大部分が水に溶解したことを考えても十分に納得できる量である。また、カラム上端1cmに均等にガスが閉塞されているとすると、上端1cmの層の間隙の体積は  $32.9 \text{ cm}^3$  であるから、その19%の体積となる。これも妥当な数値である。

### (5) 鉄の還元化による間接的影響

序論で述べたように、透水係数低下の要因の一つとして、土壤が還元化されたことによる2価鉄生成の影響を考えることができる。水田においては、耕盤付近に鉄やマンガンが集積している(本村、1969)。実際、栄養水を流した実験においては、いずれもカラムから金属が溶脱し、排水用のチューブに黒い金属が付着した。また、酸化還元電位の測定からも、試料中の鉄が還元されて2価鉄が生成していることは確実である。

しかしながら、2価鉄生成の影響は、透水係数低下の支配的要因とはなっていなかった。その理由は以下の通りである。酸化還元電

位の測定から、カラム全層において、2価鉄が生成される条件にあったことは明らかである。しかも、鉄の含有量に大きなばらつきがあるとは考えられない。したがって、2価鉄生成による透水係数の低下が起きたとするならば、その影響はカラム全体に均等にあらわれなければならない。そのため、カラム上端 1cm のみに見られた透水係数の大きな低下は、2価鉄生成によるものではなかったと考えられる。

## 第5節 まとめ

### (1) 長期浸透による透水係数の低下

水田の耕盤から採取した試料に連続的に栄養水（グルコース 50ppm）を連続的に供給すると、試料の上端 1cm 以内の層において、透水係数がはじめの 10 日間程度急激に減少し、緩やかに減少を続ける。そして、118 日間で透水係数が 2 オーダー減少する。この透水係数の変化は、浸透水中に含まれる微粒子が間隙中に補足されることによる物理的要因もあるが、主として長期間栄養水を供給することにより微生物活動が活発に行われたことによる直接的、間接的影響によるものであることが分かった。

### (2) 微生物細胞と代謝生成物による間隙の閉塞

微生物活動による直接的影響の第一は、糸状菌を中心とする微生物細胞および代謝生成物による間隙の目詰まりである。透水係数の低下を引き起こす場所において、細菌の数の変化はほとんど見られないが、糸状菌は 100 倍程度増加する。糸状菌は長い菌糸を作っ

生きるため、固体数は少なくても、間隙を塞ぐ効果は大きいと考えられる。

### (3) 微生物活動にともなうガス発生の影響

微生物活動による直接的影響の第二は、微生物活動によって発生したガス、特にメタンガスが間隙を閉塞することによるものである可能性が大きい。二酸化炭素は、発生した全ての量が浸透水中に溶解し、気泡は生じないことを示した。メタンガスが気泡として間隙中に閉塞されることを、グルコース消費にともなう炭素原子の収支の計算、メタンの発生量と溶解量に関する計算によって、説明した。非常におおまかな仮定を用いると、118日間栄養水を供給することにより、間隙の体積に対して19%に相当する量のメタンが発生すると計算される。

### (4) 還元化による2価鉄生成の影響

微生物活動による間接的影響として、微生物活動による土壌の還元化にともなう、2価鉄生成の影響を考えることが出来るが、この要因は透水係数低下の支配的要因とはなっていなかった。すなわち、本節(2)(3)で述べた2つの要因が、透水係数低下の支配的要因であった。



### 第3章 短カラム実験による透水係数 低下要因の個別評価

---

#### 第1節 実験の目的

前章において、透水係数低下の主な要因には微生物細胞および代謝生成物質による間隙の目詰まりと、微生物の発生するガスによる間隙の閉塞があることが明らかにされた。また、既往の研究でも、透水係数低下の原因の一つに着目して測定を行い、透水係数の低下と結びつけているものがほとんどである。しかし、例えば透水係数が低下した場所において、細菌が他の場所よりも多いことを示しても、菌体による目詰まりが透水係数を引き起こしたとは必ずしも言えない。第2章において、糸状菌がカラム上端で実験開始時と比べて増殖していること、しかもその場所において透水係数の著しい低下が観察されたことを示し、そのことから、「糸状菌の長い菌糸が間隙を閉塞することが、透水係数を低下させた原因である」と結論づけた。しかし、以下のような可能性を否定することはできない。カラム上端においては、グルコースがふんだんに供給されたために、糸状菌が増殖した。グルコース濃度が低下し、しかも嫌氣的条件下にあった深さ 1cm 以下の場所では、糸状菌の増殖は促進されなかった。しかし、糸状菌の増殖は直接透水係数の低下に影響を与えたのではなく、メタンガス発生による間隙の閉塞のみによって、透水係数の低下が起きた、という可能性である。



このように、透水係数の低下は主として2つの要因が組み合わさって起こる現象であるために、それぞれの要因がどの程度寄与しているかを知るためには、各要因を個別に評価できるような実験を行う必要がある。それが本章の目的である。

## 第2節 方法

### (1) 実験の概要

直径 5cm、高さ 1cm のアクリルのカラムに栄養水を浸透させたときの、飽和透水係数と気相率の変化を連続的に測定した。浸透水には、栄養水を用いたカラムと、栄養水に細菌殺菌剤と糸状菌殺菌剤をそれぞれ添加して、細菌あるいは糸状菌の増殖を抑制し、糸状菌あるいは細菌がおのおの単独で増殖したときの透水係数と気相率の変化を調べた。

### (2) 試料

#### A. 試料採取の概要

東京都田無市の東大付属農場の、第2章における長カラム実験用の試料採取場所と水田から試料を採取した。試料採取は1995年9月29日である。当日の天候は晴れであった。

## B. 試料採取方法

袋試料を深さ 45cm まで 5cm ごとに、コアサンプルを深さ 30cm までは 5cm ごとに、深さ 30-50cm は 10cm ごとに採取した。また、カラム実験用の試料は、深さ 20-23cm から採取した。

## C. 土壌断面調査および物理性測定結果

Fig.3-1 に、土壌断面調査図を示す。深さ 25cm までは作土、深さ 25-31cm までは遷移層、深さ 31cm より下は心土であった。また、作土層に当たる深さ 25cm までは、ところどころに表面から乾燥亀裂が見られた。 $\alpha$ - $\alpha'$ ジピリジルは、深さ 2cm までは反応がなかったが、深さ 2cm から 23cm までは鮮明に反応し、深さ 23cm から 35cm まではわずかに反応し、35cm 以下は反応しなかった。すなわち、深さ 2cm から 23cm に、2 価鉄が多量に含まれていた。TDDM の反応は見られなかった。すなわち、マンガンが多量に含まれていることはなかった。

Fig.3-2 に、土壌貫入計による硬度の測定結果を、Fig.3-3 に山中式硬度計による硬度の測定値の垂直分布をそれぞれ示す。耕盤が形成されている位置は、長カラム実験用試料採取時の測定では深さ 25-33cm であったが、今回の測定では、採取場所が違うために、20-30cm であった。

乾燥密度の垂直分布を Fig.3-4 に、含水比の垂直分布を Fig.3-5 にそれぞれ示す。深さ 20cm までの乾燥密度が、第2章の試料採取場所と比較してかなり大きくなっている。落水した直後は土がよく締まっているのであろう。耕盤よりも上部の土の乾燥密度が大きくな

地表からの深さ (cm)	断面 スケッチ	色	ジブリジルの 反応	TDDMの 反応
0	作土 (亀裂あり)	褐色	反応なし	↑ 反応なし ↓
2			鮮明に反応	
23				
25				
31	遷移層	赤	やや反応あり	
35	心土		反応なし	

Fig. 3-1 土壌断面調査図

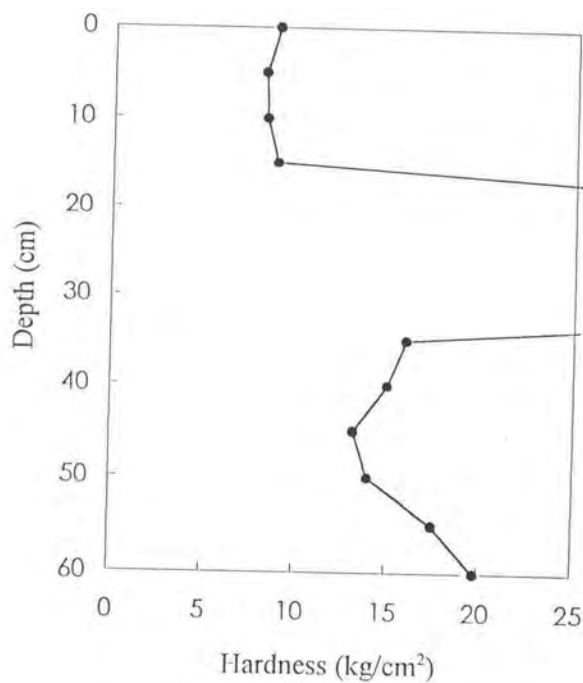


Fig. 3-2 Profile of soil hardness of paddy field, Tanashi, measured by cone-penetrometer.

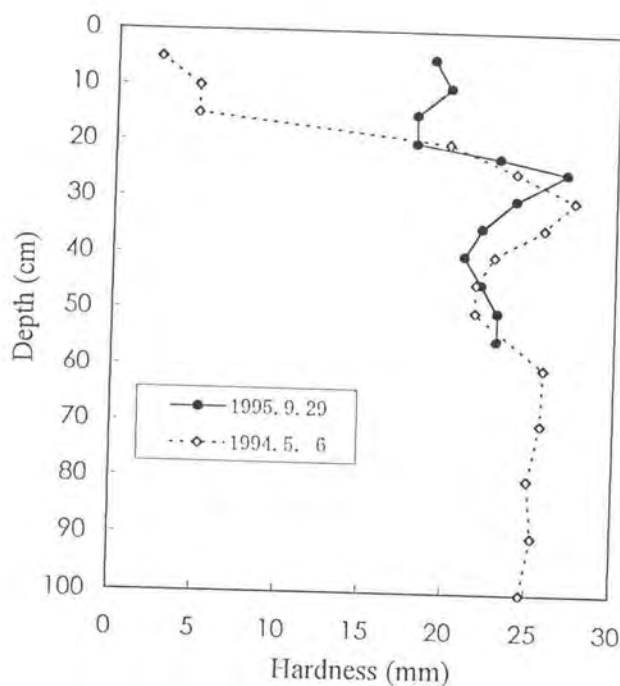


Fig. 3-3 Profile of soil hardness of paddy field, Tanashi, measured by Yamanaka tester.

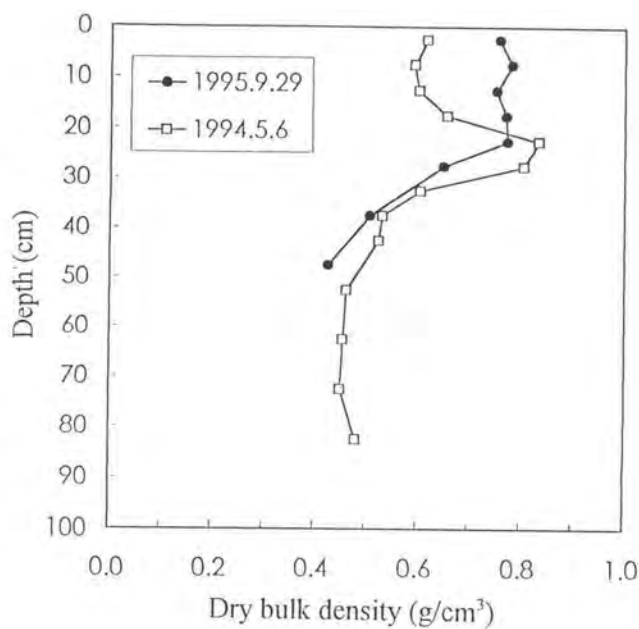


Fig. 3-4 Profile of bulk density of paddy field, Tanashi.



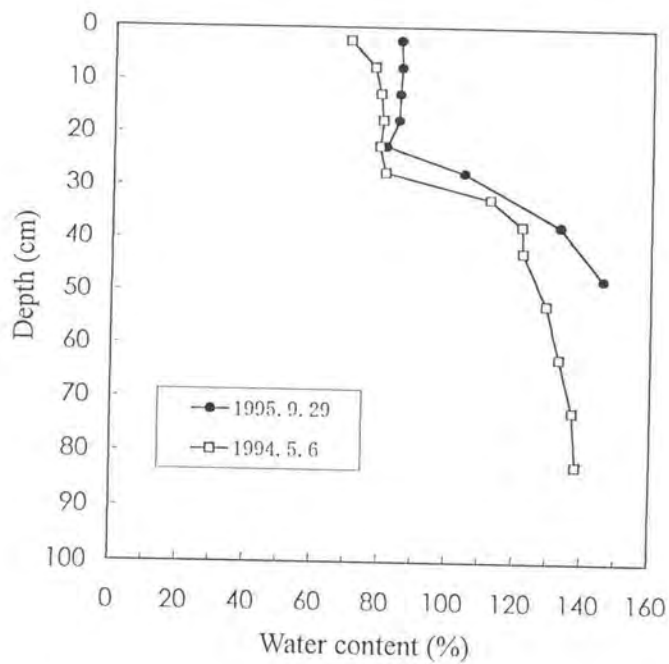


Fig. 3-5 Profile of soil water content of paddy field, Tanashi.

れば、土層の厚さが小さくなる。そのために耕盤の深さが浅くなったという説明もできる。

#### D. 土粒子密度とC-Nの測定結果

カラム実験に用いた試料（深さ 20-23cm）の、土粒子密度とC-Nの測定結果を Table 3-1 に示す。長カラム実験用の試料と比べると、土粒子密度はやや大きく、全炭素、全窒素はやや小さい。

### (3) 実験装置

カラム実験を行った場所は、東京大学農学部7号館内の地域環境工学実験室に設置されている、恒温恒湿チャンパー内である。室温は30℃に設定し、湿度の設定はしなかった。装置図を Fig.3-6 に示す。直径5cm、高さ1cmのアクリルカラムに、試料の土を充填した。カラムの上端と下端には、ガラスフィルターをつけて試料の流出を防いだ。このカラムに、上から下へ連続的に水を流した。その際、カラムの上下にかかる圧力は、マリOTT管と注射針を使って一定に保ち、給水用と排水用チューブに接続された水マノメータで給水と排水の圧力を測定できるようになっている。マリOTT管から給水用チューブと排水用チューブには、三方コックが取り付けられており、浸透中に三方コックで流れを止めてチューブを一時的に切断し、カラムを取り外してカラムの質量を測定することができるようになっている。黒のビニル布で装置全体を覆い、光が入らないようにするとともに、空気中の微生物が極力入らないようにした。

Table 3-1 Soil particle density and total carbon and nitrogen content of paddy field, Tanashi, sampled at the depth of 20-33 cm.

	Mean value	Standard deviation	Repetition
Particle density ( $\text{g/cm}^3$ )	2.640	0.012	10
Total C (%)	3.117	0.022	4
Total N (%)	0.2506	0.0045	3
C/N ratio	12.47	0.23	3

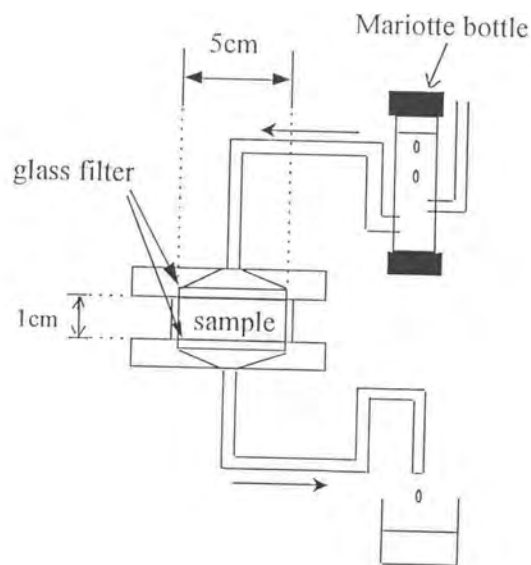


Fig. 3-6 Schematic diagram of the short column permeameter.

#### (4) 実験条件

室温は、すべての実験において長カラム実験と同じく 30℃に設定した。実験は3種類行い、それぞれカラムの中に流した水を変えている。一つ目のカラムにはグルコース 50ppm 水溶液を浸透させた。二つ目のカラムにはグルコース 50ppm 水溶液に細菌殺菌剤の chloramphenicol を添加した水溶液を用い、三つ目のカラムにはグルコース 50ppm 水溶液に糸状菌殺菌剤の cycloheximide を添加した水溶液を用いた。そこで、今後これら三つの実験を順番に殺菌剤無添加、細菌殺菌剤添加、糸状菌殺菌剤添加とそれぞれ呼んで区別することにする。これらの浸透水は、いずれもチャンバー内に一晩おいて、水温を 30℃にしてから、カラムに供給した。なお、アジ化ナトリウムを浸透させる実験は行わず、長カラム実験で行った結果と比較して考察した。これら三つの実験いずれにおいても、実験開始後 120 日後から、浸透水を 50ppm アジ化ナトリウム水溶液に切り替えた。

試料は、 $0.65\text{g}/\text{cm}^3$  で充填した。試料の平均導水勾配は 1 に設定した。

#### (5) 測定項目および測定方法

##### A. 透水係数

フラックスは、電子天秤による排水流量の測定から計算した。電子天秤は 0.001g まで読みとれるものを使用した。また、ピーカーにフィルムをかぶせて蒸発を防いだ。

給排水圧力は、給排水部に接続した水マノメータの水位を、マノメータに取り付けた方眼紙から読みとった。

フラックスと給排水圧力から、ダルシー式により飽和透水係数を測定した。長カラム実験において、上部のガラスフィルターの透水係数が、試料中の透水係数が著しく低下した位置とともに低下し、その低下の様子が似ていたことから、本研究ではガラスフィルターの透水係数が試料中の透水係数と同様に低下するものとして、試料とガラスフィルターの平均の透水係数を試料の透水係数とみなして計算した。

## B. 気相率

浸透中に、浸透を一時ストップしカラムの給水と排水のチューブを切り離して、カラムの質量を測定した。得られたカラム質量から試料を充填する前のカラムの質量を引くことによりカラム中の試料の質量が得られ、その値をカラムの試料充填体積で除することにより湿潤密度を計算することができる。乾燥密度、土粒子密度、湿潤密度から、以下の式により気相率が計算される。

$$a = 1 - \frac{\rho_d}{\rho_p} - \frac{\rho_t - \rho_d}{\rho_w} \quad (3.1)$$

ここで、

$a$  : 気相率

$\rho_d$  : 乾燥密度

$\rho_p$  : 土粒子密度

$\rho_t$  : 湿潤密度

$\rho_w$  : 水の密度

である。



ここで、気相率の測定がどの程度の精度でできるのかをあらかじめ見積もっておく。 $\Delta \rho_d$ 、 $\Delta \rho_p$ 、 $\Delta \rho_t$ をそれぞれ測定誤差とすると、測定誤差が微小であるという仮定の下で、気相率の計算結果の誤差 $\Delta a$ は、最大で

$$\Delta a = \left| \Delta \rho_d \frac{\partial a}{\partial \rho_d} \right| + \left| \Delta \rho_p \frac{\partial a}{\partial \rho_p} \right| + \left| \Delta \rho_t \frac{\partial a}{\partial \rho_t} \right| \quad (3.2)$$

である。ここで、乾燥密度  $0.65 \pm 0.005 \text{ g/cm}^3$ 、土粒子密度  $2.640 \pm 0.015 \text{ g/cm}^3$ 、湿潤密度  $1.395 \pm 0.014 \text{ g/cm}^3$ （±以下は測定誤差）として計算すると、

$$\left| \Delta \rho_d \frac{\partial a}{\partial \rho_d} \right| = \left| \Delta \rho_d \left( \frac{1}{\rho_w} - \frac{1}{\rho_p} \right) \right| = 0.0031 \quad (3.3)$$

$$\left| \Delta \rho_p \frac{\partial a}{\partial \rho_p} \right| = \left| \Delta \rho_p \times \frac{\rho_d}{\rho_p^2} \right| = 0.0014 \quad (3.4)$$

$$\left| \Delta \rho_t \frac{\partial a}{\partial \rho_t} \right| = \left| \frac{\Delta \rho_t}{\rho_w} \right| = 0.0140 \quad (3.5)$$

となる。したがって、 $\Delta a = 0.018$  となり、気相率の誤差は 1.8%程度である。これは、十分な精度であると言える。

フィルターの初期の気相率は 5.3%である。試料の気相率を知るためには、実際には、フィルターの気相率の変化も考慮しなければならない。フィルターの気相率に関しては、以下のような仮定を用いた。

1. 試料の気相率が 5.3%以上のときは、フィルターの気相率は 5.3%である。つまり、フィルターの気相率が 5.3%以上になることはない。
2. 試料の気相率が 5.3%以下のときは、試料の気相率とフィルターの気相率が等しい。

### 第3節 実験の結果と考察

#### (1) 透水係数の変化

Fig. 3-7 に、3つのカラム実験の飽和透水係数と気相率の変化を示す。また、Fig. 3-8 に、実験開始後6日後までを拡大して示す。

殺菌剤無添加実験においては、透水係数は実験開始時の  $2 \times 10^{-3}$  cm/s から、0.65 日後には  $4 \times 10^{-3}$  cm/s に上昇し、10 日後の  $2 \times 10^{-5}$  cm/s までゆっくりと低下を続けた。120 日後に浸透水をグルコース水溶液から殺菌剤のアジ化ナトリウム 50ppm 水溶液に切り替えて土中の微生物を殺したところ、透水係数は急激に上昇して 128 日後には  $5 \times 10^{-4}$  cm/s にまで達し、その後 137 日後の  $2 \times 10^{-5}$  cm/s まで低下した後、一定値を取った。

細菌殺菌剤添加実験では、120 日後までは殺菌剤無添加実験とほぼ同様の透水係数の変化を示したが、120 日後以降は殺菌剤無添加実験とは異なり、ほとんど透水係数の変化はなかった。

糸状菌殺菌剤添加実験では、実験初期の透水係数の低下は他の2つの実験よりも著しく、120 日間透水係数が低下した後の 120 日以降については、透水係数の変化はほとんどなかった。

#### (2) 気相率の変化

次に、Fig. 3-7 および Fig. 3-8 の下図の、気相率の変化についてであるが、実験開始時の気相率は殺菌剤無添加、細菌殺菌剤添加、糸状菌殺菌剤添加、それぞれの実験で 14.0%、15.0%、18.4%であった。

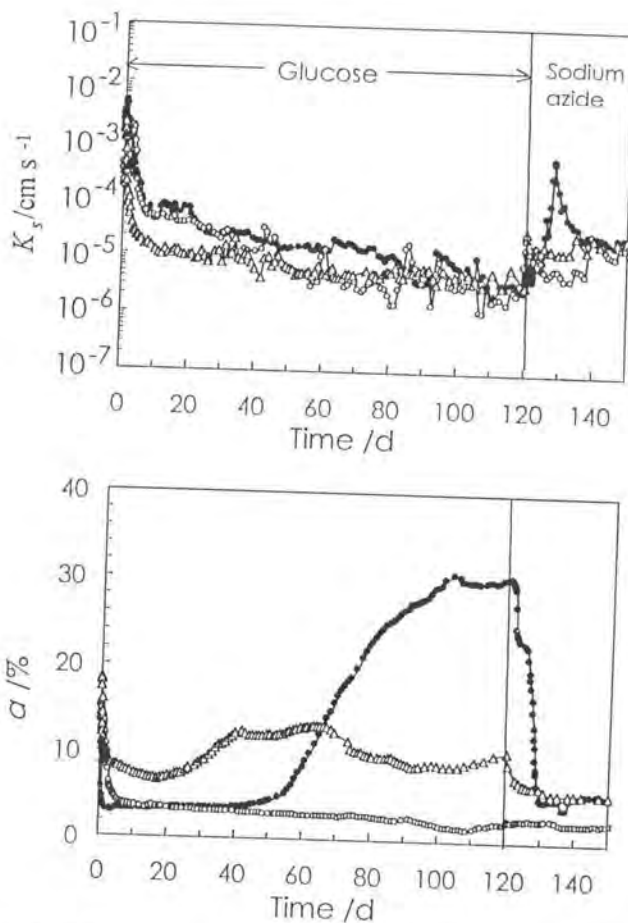


Fig. 3-7 Change in saturated hydraulic conductivity,  $K_s$  (above), and volume ratio of gas phase,  $a$  (below), of soil sample. The percolating solutions are control (●), bactericide added (○), and cycloheximide added (△). All solutions were altered from glucose to sodium azide at 120 day.

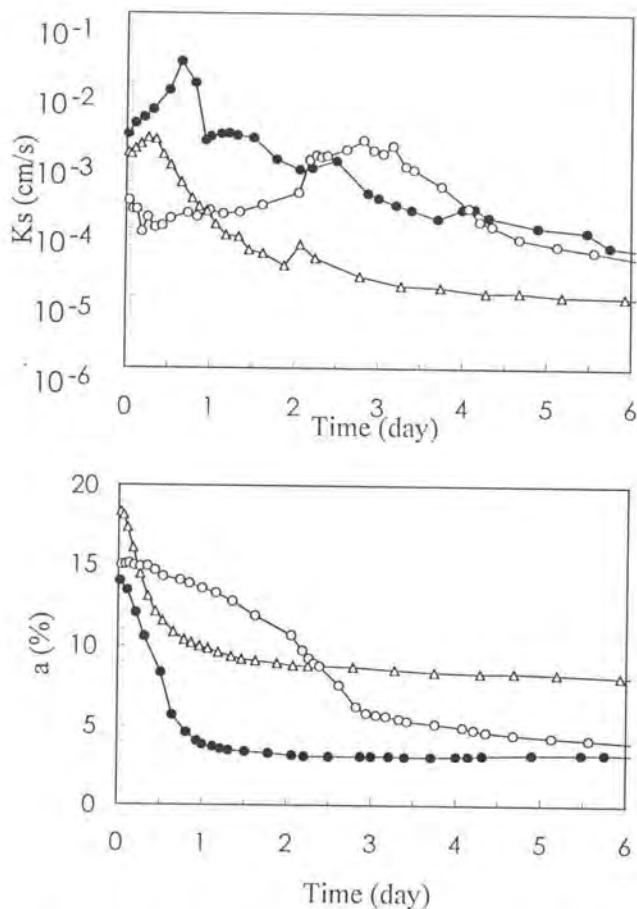


Fig. 3-8 Change in saturated hydraulic conductivity,  $K_s$  (above), and volume ratio of gas phase,  $a$  (below), of soil sample. The percolating solutions are control (●), bactericide added (○), and cycloheximide added (△).

それが、浸透開始後急激に低下した。その後は、殺菌剤無添加実験においては、40 日後の 3.6%から 103 日後の 30.6%まで気相率が上昇を続け、その後 120 日後に浸透水を切り替えるまでの間、平衡状態にあった。120 日後に浸透水を殺菌剤のアジ化ナトリウムに切り替えたところ、気相率が急激に低下した。

細菌殺菌剤を添加した実験では、120 日後まで気相率がゆっくりと低下を続け、120 日後以降はほぼ一定値であった。

糸状菌殺菌剤添加実験においては、気相率はやや上昇するものの殺菌剤無添加実験ほどではなく、10%前後の値で上昇、低下を繰り返し、120 日後以降もやや低下したがすぐに一定値に落ち着いた。

### (3) 実験開始直後の封入空気の溶解

#### A. 実験開始後 15 日間の透水係数低下要因

15 日後までの透水係数の変化は、メタン発生による気相率増加の影響はなかったと考えられる。その第一の理由は、長カラム実験において、実験開始後 15 日間は、メタンが発生するほどに酸化還元電位が下がらなかったためであり、第二の理由は、細菌殺菌剤を流してメタン発生が起こり得ない条件を作った細菌殺菌剤添加実験においても、他の実験と同様な透水係数の低下傾向が見られたためである。また、第三の理由は、気相率の測定結果によれば、封入空気の溶解による気相率の低下は見られるものの、気相率の上昇はほとんど観察されないためである。

したがって、この 15 日間の透水係数変化は、気泡発生の要因を除いた、以下の要因によって引き起こされたと考えることができる。



①試料の膨潤による透水係数の低下

②微生物細胞とその代謝生成物質による間隙の目詰まりによる透水係数の低下

③封入空気の溶解による透水係数の上昇

①については、長カラム実験において考察したとおりである。②は本研究の目的であり、後ほど詳しく考察する。ここでは、まず③についての考察をする。

## B. 封入空気の溶解速度

Fig. 3-8 では、3つのカラムそれぞれの気相率の低下速度は異なり、また、各カラムごとにも一定していない。ここで、気相率の変化を積算排水量に対してプロットすると、Fig. 3-9 のようになる。このグラフの直線部分は、一定量の浸透水に一定量の封入空気が溶解したことを示している。図中には、直線回帰式が示してあり、たとえば殺菌剤無添加実験においては、1L の浸透水中に気相率 3.20% 相当の気泡が溶解したことになる。すなわち、浸透水 1L 中に気相率 3.41% 相当の封入空気が溶解したことになる。この量は、0.943mg の空気に相当する。空気の飽和溶解度は、窒素分圧 0.8 気圧、酸素分圧 0.2 気圧として計算すると、23.7mg/l であるから、この量は妥当な数値であると言える。封入空気の溶解が早いことは、カラムが短いことと、フラックスが小さいことから説明される。すなわち、浸透水の単位体積あたりの封入空気溶解量が一定であると仮定すると、封入空気の溶解速度は、カラムの長さに反比例し、フラックスに比例するためである。第1章で示した Allison (1947) の説明の Phase 2 における封入空気の溶解、第2章の長カラム実験における栄養水実験 A の透水係数の増加は、いずれも、浸透開始後数日間の透水係数



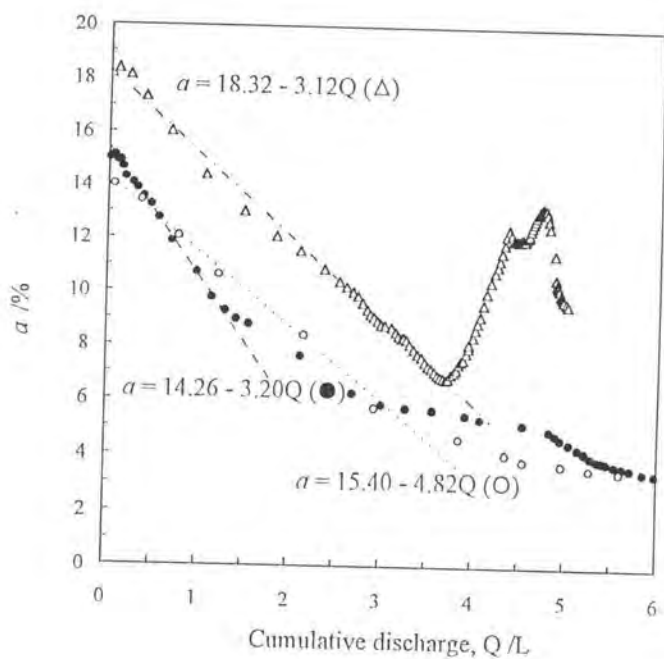


Fig. 3-9 Volume ratio of gas phase as a function of cumulative discharge. Percolating solutions are control (●), bactericide added (○), and cycloheximide added (Δ).

の低下が見られた後に見られる現象であるが、短カラム実験においては、上記の理由により実験開始後1日の間という早い時期に封入空気の溶解反応が進行した。

#### (4) 糸状菌の増殖による透水係数の低下

##### A. 細菌と糸状菌の拮抗関係

糸状菌殺菌剤を流したことによって、糸状菌の増殖が抑制された。そのために本来ならば糸状菌が自らの増殖に使うはずであった栄養源が、糸状菌の増殖に使われなくなり、細菌が増殖した。これはつまり、細菌と糸状菌には競合関係があることを意味する。殺菌剤無添加、および細菌殺菌剤添加実験で糸状菌が増殖した分と同等あるいはそれ以上のバイオマスに相当する細菌の増殖によるクロッキングが、透水係数の低下をもたらしたと説明される。

細菌は、栄養源等の制限要因がなければ、指数関数的に増殖する。このことは糸状菌についても言えることである。細菌あるいは糸状菌の指数関数的な増殖が、透水係数の指数関数的な減少をもたらしているとする、Fig. 3-8の傾き、すなわち透水係数低下速度の大小は、細菌あるいは糸状菌の増殖の係数の大小をあらわしていると見なすことができる。細菌の中には、非常に速く増殖するものがあることを考えると、糸状菌殺菌剤を流したことによって、増殖の速い細菌の種の増殖が促進されたと考えることは、妥当な推論である。

##### B. 糸状菌の増殖による乾燥密度の増加

次に、Fig. 3-7において、細菌殺菌剤添加実験の気相率が10日から120日の間、少しずつ定期的に減少を続けた原因について考える。

実験開始時における気相率の低下は、気泡の溶解であると説明できるが、100 日以上にわたって気相率が低下を続けることを、気泡の溶解のみから説明することは、やや強引な説明であるという印象を受ける。ここで、気相率の計算の仮定の一つに、浸透期間中の乾燥密度が一定であるという仮定があった。しかし、糸状菌の増殖、微生物の代謝生成物質の蓄積により、乾燥密度がわずかではあるが増加しているとも考えることもできる。すなわち、湿潤密度（カラム質量）の増加の原因は、気相率の低下、乾燥密度の上昇という2つの要因がある。

そこで、気相率の変化がないと考えたときに、乾燥密度の増加がどの程度であるかを計算し、上記の考察の妥当性を検討する。実験開始後 15 日の時点で、気相率の変化が停止したと考えると、乾燥密度の変化は以下のように計算される。

式(3.1)を  $\rho_d$  について解くと、

$$\rho_d = \frac{\rho_t - (1-a)\rho_w}{\rho_p - \rho_w} \rho_p \quad (3.6)$$

となる。この式から、乾燥密度を計算したものが Fig. 3-10 である。すなわち、15 日後から 103 日後までの間に、乾燥密度が  $0.65\text{g/cm}^3$  から  $0.73\text{g/cm}^3$  程度まで増加したことになる。この程度の乾燥密度の増加があったと考えることは、自然である。逆に言うと、この程度の乾燥密度の増加がなければ、透水係数低下を引き起こすほどのクロッキングが生じたとは考えにくい。

長カラム実験において、カラム上端 4cm の乾燥密度が下方よりもかえって小さかったことは、以上の考察の反証とも思えるが、上端 1cm の部分の乾燥密度の増加が、厚さ 4cm の平均では 4 分の 1 にな

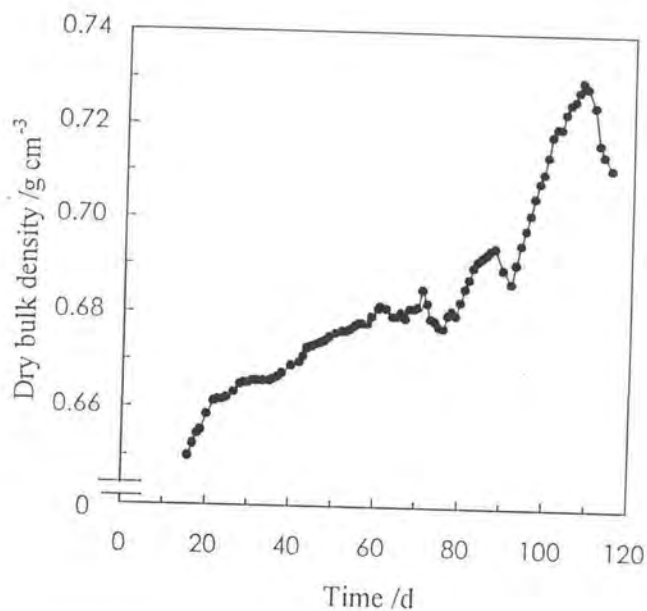


Fig. 3-10 Change in dry bulk density for bactericide added run, calculated by assuming that volume ratio of gas phase is constant after 15 day.

ってしまうことを考えると、必ずしも以上の考察が否定されるものではない。

また、浸透水中のグルコースがすべて菌体および代謝生成物質として間隙中に蓄えられたとしても、その量は  $0.08 \text{ g/cm}^3$  の乾燥密度の増加をもたらすほどではなく、微生物が浸透水中の chloramphenicol を代謝に用いたか、あるいは chloramphenicol が間隙中に蓄積した可能性もある。

以上により、湿潤密度の増加は、乾燥密度の増加と気相率減少の2つの現象の複合現象であることが明らかになった。

### C. 目詰まり層の厚さ

前項において、細菌殺菌剤においては乾燥密度が最大  $0.08 \text{ g/cm}^3$  増加したと考察したが、質量の収支を考えると、chloramphenicol を添加しなかったとき、すなわち殺菌剤無添加実験においては、質量保存の法則によりグルコースの供給量以上の乾燥密度の増加はあり得ない。

そこで、Fig 3-7 の殺菌剤無添加実験の実験開始時から 40 日後まで（すなわち、気相率がまだそれほど上昇していない時点まで）の変化を考える。この 40 日間に流れた浸透水の量 12.5L であり、この中に含まれるグルコースの量は 625mg である。このすべてが乾燥密度の増加に寄与しても、乾燥密度の増加量は  $0.032 \text{ g/cm}^3$  である。実際には、ガスとなる成分もあるので乾燥密度の増加はもっと少なく、Fig 2-8 を見る限りでは、この程度の乾燥密度の増加がなぜ 2 オーダーの透水係数の低下を引き起こしたのかという疑問が起きる。

この疑問は、以下の考察によって解消される。Jiang and Matsumoto (1995) の薄片写真によれば、目詰まりを起こす物質の層の厚さは非



常に薄く、2~4mm である。ここで仮に、本実験での乾燥密度の増加が  $0.02 \text{ g/cm}^3$  あったとして、この値は高さ 1cm のカラム全体の平均値であるから、目詰まりの起きた層の厚さが 2mm だとすれば、その層の中では乾燥密度が  $0.1 \text{ g/cm}^3$  増加したことになる。Fig.2-8 から、乾燥密度が  $0.1 \text{ g/cm}^3$  増加することにより、透水係数が 2 オーダー低下することは納得できる。すなわち、薄い層に集中的に目詰まり物質が形成されたために、著しい透水係数の低下が起きたと説明される。

乾燥密度の増加をミリメートル単位の深さごとに測定するためには、ガンマ線水分密度計（宮崎ら、1985）による測定が有効であり、その測定をすることは今後の課題である。

## （5）微生物のメタン発生による透水係数の低下

### A. 気相率の変化にともなう透水係数の変化

Fig. 3-11 に、殺菌剤無添加実験における気相率の変化にともなう透水係数の変化を示す。気相率の増加による透水係数の低下は、30 日から 120 日までの間、気相率の低下による透水係数の上昇は 120 日から 128 日までの間に見られた。

前者と後者は、気相率の変化量は 20~25% と大差ないが、透水係数の変化量は 1 オーダーと 2 オーダーという差が見られる。すなわち、気相率の変化量に対する透水係数の変化が、後者の方が大きい。このことは、グラフの傾きから明らかである。しかし、128 日から 150 日までの間に透水係数が低下し、その結果、30 日後の透水係数と気相率に近い値となった。



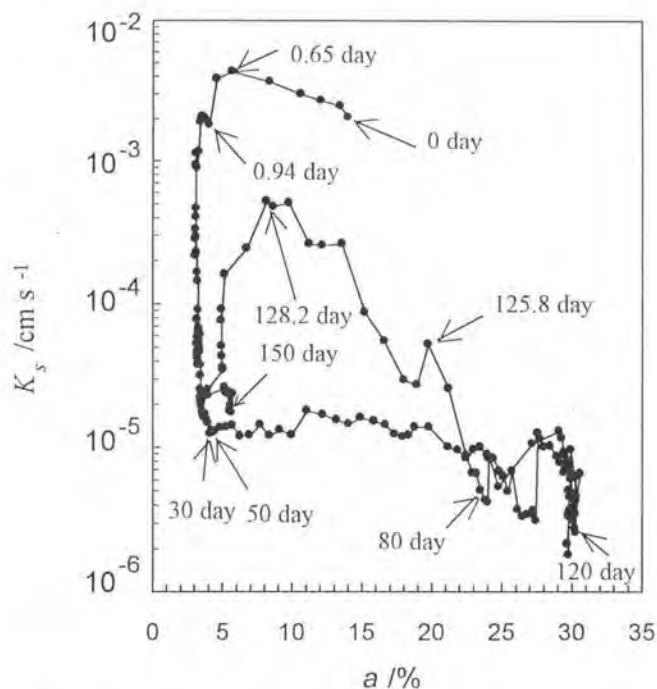


Fig. 3-11 Saturated hydraulic conductivity,  $K_s$ , plotted against volume ratio of gas phase,  $a$ , for control run.

このように、気相率の増加とともに透水係数が低下し、気相率の低下とともに透水係数が上昇したことから、気相率の増加が透水係数を低下させたことが明らかになった。前者は微生物細胞と代謝生成物質による間隙の目詰まりとの複合現象であるため、気相率増加単独の効果とすることはできないが、後者は細菌殺菌剤添加実験、糸状菌殺菌剤添加実験においてはあまり透水係数が回復しなかったことから考えて、気相率低下による効果であると考えることができる。

## B. 気泡の溶出過程

殺菌剤無添加実験において、殺菌水を流し始めてから、排水口下のチューブに大きな気泡ができた。これは、試料中の気泡が溶出されたことを示す。気相率の測定に関しては、そのチューブの位置も含めた質量変化を測定したため、試料中の気相率よりも過大に評価されている。

気泡が溶出されたことにより、チューブ内の気泡部分のヘッドロスが大きくなり、小さいヘッド差では水が流れなくなった。そのことと、1日で1g程度の流速ではアジ化ナトリウムが試料に到達するまでに時間がかかり、1 pore volume 相当の浸透水がなかなか流れないという理由から、殺菌水を流した直後にヘッド差を1.8cmから5.0cmへと大きくした。そして、水が流れることを確認しながら徐々にヘッド差を小さくした。127日後に、ヘッド差を4cmから3cmに下げたところ、しばらくして水が流れなくなった。そこで、チューブ内の気泡を観察した。

チューブが褐色にそまってしまったために、チューブ内の気泡を観察しにくくなってしまったが、溶出された気泡がチューブ内を移

動する様子をはっきりと観察することができた。当初、排水の針の内部の最高位が針の先端よりも 3cm ほど高い位置に相当するような排水先端の針の付け方をしていた。溶出された気泡がその位置に到達したときに、マリOTT官の水位とほぼ等しくなり、気泡とマリOTT管が平衡してしまった。その証拠として、それまで排水のマノメータが給水位よりも 3cm 下方にあったのが、給水位の 0.5cm 下方まで上昇した。

そこで、排水チューブの高低差を少なくするように変えたところ、水はスムーズに流れるようになり、ヘッド差を 1.8cm にしても水が流れるようになった。

### C. メタン発生速度の計算

#### i) 気相率の増加速度

Fig. 3-7 によれば、殺菌剤無添加実験において、3 日後から 50 日後までは穏やかに、その後急激に気相率が増加している。ちなみに、このグラフの気相率上昇の穏やかな部分と急激な部分をそれぞれ直線回帰すると、

$$y=3.1222+0.0133x, r=0.9650 \quad (2.5 \text{ 日から } 39 \text{ 日})$$

$$y=-38.4854+0.7871x, r=0.9988 \quad (56 \text{ 日から } 72 \text{ 日})$$

となる。59 倍の傾きの差がある。ここで、発生する気体がメタンであるとして、その発生速度の計算を試みる。

#### ii) 上限値の計算方法

浸透水は、大気と平衡状態にあったため、0.8 気圧の窒素と平衡する量の窒素が含まれていたが、酸素がすべて微生物によって消費された結果、気相には窒素だけが含まれることになる。その量は、

0.50mmol/l である。窒素とメタン以外の気体の気泡発生に及ぼす影響は無視できるものとする。気泡の圧力は1気圧とする。

まずは、メタン発生速度の上限値を計算する。その仮定として、気泡が発生してからは、浸透水と気泡の間に気液平衡が保たれながら、反応が進行するとする。気液平衡が保たれているとは、気泡中の窒素あるいはメタンガスの溶解度が、浸透水中に溶解している量と等しい、ということの意味する。そして、メタンガスの発生により浸透水中のメタンが増加して、平衡が移動し、浸透水中の窒素とメタンが、気泡中に蒸散することにより、気泡の体積が増加する。浸透水中の窒素とメタンそれぞれの、気泡中への蒸散速度は、常に一定であると仮定する。

気泡中のメタンの分圧を  $x$  とおくと、窒素分圧は  $1-x$  である。気泡の生成速度を  $\alpha$  (mmol/l) とおく。窒素とメタンの気泡中への蒸散速度は、仮定により常に一定であるから、両者の比も一定であり、両者の比が気泡中の窒素とメタンの分圧を決定する。したがって、メタンの気泡への蒸散速度は  $\alpha \cdot x$  (mmol/l)、窒素の蒸散速度は  $\alpha(1-x)$  (mmol/l) である。

溶液中の窒素濃度は、0.625 (mmol/l、以下単位省略) のうちの  $\alpha(1-x)$  が気泡中に蒸散するから、 $0.625 - \alpha(1-x)$  である。30℃、1気圧の窒素の溶解度は、0.625 である。窒素の分圧が  $1-x$  であることから、窒素ガスの溶液と気泡の間の平衡は、

$$0.625 - \alpha(1-x) = 0.625(1-x) \quad (3.7)$$

とあらわされる。メタンの発生量を  $m$  とおくと、同様に考えて、

$$m - \alpha x = 1.27x \quad (3.8)$$

とあらわされる。ここで、メタンの溶解度 1.27 を用いた。

気泡の生成速度  $\alpha$  (mmol/l) が測定されているので、上記2つの方程式から、 $x, m$  の値を求めることができる。

### iii) 下限値の計算方法

メタン発生速度の下限値には、気泡の増加量が、メタンの発生量に等しいという仮定を用いた。この仮定は、発生したメタンが浸透水中に流れ去ることはないということを意味している。そのことから、「下限値」と位置づけた。このときは、 $m$  の値は

$$m = \alpha \quad (3.9)$$

と計算される。

### iv) メタン発生速度

以上の計算方法により、メタン発生速度の上限値と下限値を計算した結果を Fig.3-12 に示す。実験開始後 40 日までは、メタンはほとんど発生しなかった。40 日以降、メタン発生速度は上昇し、それにとまって、気泡発生速度も上昇した。フラックスが小さく、また、実験開始から十分に時間が立って気泡中のメタン分圧が十分に上昇したことにより、発生したメタンが浸透水中に溶解する反応が進む。すなわち、気液平衡が成り立つ。その結果、発生したメタンのすべてが気相率上昇に寄与せず、メタン発生速度は、Fig.3-12 の下限値よりも大きな値をとる。時間が進むにつれて、より気液平衡が成り立つ方向へと反応が進み、メタン発生速度は、図中の上限値に近づくと考えられる。

Wang et. al. (1993) の水田の土を用いたインキュベーション実験によれば、メタン発生速度は、酸化還元電位が  $-150\text{mV}$  以下になると、酸化還元電位の低下とともに指数関数的に増加し、 $\text{pH}$  が 7 付近で最



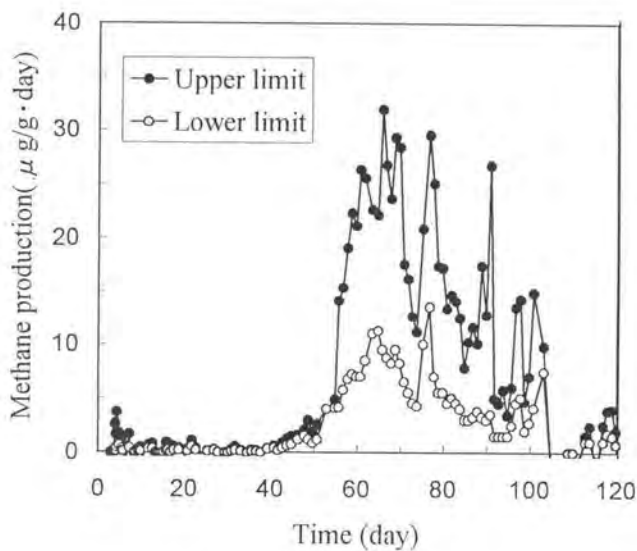


Fig. 3-12 Upper and lower limit of the amount of methane production calculated from the amount of gas production per unit volume of soil for control run.



大値を取る。その最大値は、 $20 \mu\text{g/g/day}$  程度である。この値は、本計算結果とよく一致する。

## (6) 複合現象

### A. 二つの現象の寄与の度合い

3つのカラムのいずれにおいても、浸透水を殺菌剤に切り替えたときに透水係数が初期の値にまで回復しなかったことは、死菌体及び代謝生成物質のうちに、浸透水中に流れ去らずに間隙中に残存して目詰まりを起こしていたためである。殺菌剤無添加実験において、透水係数の低下は微生物細胞と代謝生成物質による間隙の目詰まりと、気泡による間隙の目詰まりという二つの要因により起きた。

透水係数低下の第一の要因である微生物細胞と代謝生成物質による間隙の目詰まりについては、気泡の生成のなかった細菌殺菌剤添加実験においても2オーダーの透水係数の低下が見られたことから、透水係数を2オーダー低下させることができることが分かった。ここで、初期の透水係数の値は気泡によりやや低くなっていたことを考えると、気泡が溶解したことにより透水係数が最大となったときと比較して、透水係数の低下を見ると、微生物の細胞と代謝生成物質は、3オーダー近く透水係数の低下させたことになる。一方、第二の要因である微生物が発生するガスによる気泡の生成にともなう間隙の目詰まりについては、殺菌剤無添加実験において120日後から128日後までの間に、気相率が低下すると同時に透水係数が2オーダー近く上昇したことから、これもまた透水係数を2オーダー近く低下させる要因となっていたと考えることができる。

すなわち、第一の要因、第二の要因は、それぞれ単独で透水係数を3オーダー、2オーダー低下させる力のあることが分かった。この2つの要因が同時に進行した殺菌剤無添加実験において、透水係数の低下が5オーダーではなく、やはり3オーダー（この際も、透水係数の最大値と120日後の値を比較していることに注意）であったことは、両者の複合現象が単純な積として透水係数の低下にあらわれなかったことを示している。このことは、両者がどのようにして間隙を目詰まりさせて透水係数を低下させているかを考察する際の手がかりとなる。

微生物の菌体が間隙を目詰まりさせる機構は、次章で数学的モデルを構築する際に考察するように、土粒子の表面に菌体が成長することにより、間隙経が減少するというものである。この際に、透水係数に特に関係するのは、間隙のくびれのもっとも細くなっている箇所であり、これをA地点とする。一方、気泡が生成したときには、気泡と土粒子の間を水が流れることになるため、通水抵抗はその気泡と土粒子の間の隙間の大きさによって決定される。この位置をB地点とする。土粒子表面に菌体等の目詰まり物質が成長していても、気泡の大きさが小さくなるだけで、この気泡と土粒子の間の隙間の大きさはほとんど変化しないと考えられる。すなわち、両者が重なったときには、A地点とB地点を水が通ることになるため、透水係数の低下量は、A地点とB地点のうちの、より通水抵抗が大きいところに支配されることになる。言い換えると、2つの要因のうち、より透水係数を低下させる効果の大きい方が、最終的な透水係数を決定すると考えられる。すなわち、第一の要因で3オーダー、第二の要因で2オーダーの透水係数の低下をもたらすことから、前者

の効果が勝り、両者の複合現象の結果として、3 オーダーの透水係数の低下が見られたことになる。

## B. 128 日以降の透水係数の低下

殺菌剤無添加実験の 128 日後以降の透水係数の低下は、説明が困難である。微生物は 120 日から 128 日までに殺菌剤を流したことによりすでに完全に死滅してしまっているため、128 日以降は微生物数の変化はない。また、気相率もこの期間は変化していない。すなわち、この期間の透水係数の低下は今まで考察した 2 つの要因以外にあることにあり、土壌間隙の何らかの構造の変化があったと考えざるを得ない。

そこで、本研究からはまだ明白な説明を与えることができないとはいえ、以下に一つの仮説による説明を試みる。15 日後から 120 日後までの間に、微生物が発生した気泡が土粒子を押しつけて、気泡の生成した箇所の間隙空間が大きくなった。この気泡は 120 日から 128 日までの間、浸透水中に溶解した。128 日後には、それまで気泡のあった間隙は実験開始時よりも大きくなっていて、水の通り道となり、透水係数が上昇した。128 日から 137 日までの間、その間隙は縮んで初期の値にまで戻り、透水係数が再び減少した。しかしながら、以上の説明はあまり説得力のあるものとは言えない。なぜならば、気泡が土粒子を押しつけるほどの力を持っているとする仮定には、やや無理があるからである。

## 第4節 まとめ

### (1) 透水係数と気相率の変化

直径 5cm、高さ 1cm のアクリルのカラムに、関東ロームの水田耕盤相から採取した試料を充填し、グルコース 50ppm 水溶液と、グルコース 50ppm に細菌殺菌剤、糸状菌殺菌剤をそれぞれ添加した水溶液を浸透させて、透水係数と気相率の変化を測定した。いずれのカラムにおいても、試料充填時の気相率は 15%程度であったが、浸透開始後、封入空气の溶解により急激に気相率が低下し、同時に透水係数が上昇した。実験開始直後の封入空气の溶解過程では、一定量の浸透水に一定量の封入空气が溶解した。その後透水係数が低下したが、特に糸状菌殺菌剤を加えたときの低下速度が大きかった。気相率は、殺菌剤無添加の 50 日から 100 日までにおいてのみ、著しい増加が観察された。

### (2) 細菌と糸状菌の拮抗関係

細菌殺菌剤、糸状菌殺菌剤を添加した実験では、いずれも気泡による空隙の閉塞はなかったため、クロッキングによる透水係数低下のみを測定することができた。殺菌剤を添加しなかったときには細菌よりも糸状菌が優先的に増加して、糸状菌によるクロッキングが起きたが、糸状菌殺菌剤を添加したときには、糸状菌の増殖に使われるべき栄養が細菌の増殖に使われ、細菌によるクロッキングが起きたと考えられる。



### (3) 糸状菌の増殖による乾燥密度の増加

細菌殺菌剤を加えた時の気相率の低下は、湿潤密度の増加から計算されたものであるが、気泡の溶解反応が 100 日以上継続したとは考えにくい。湿潤密度増加の原因は、気相率の低下ではなく、乾燥密度の増加によると考えられる。試料体積は一定であるため、乾燥密度の増加は試料の圧縮によるものではなく、糸状菌と代謝生成物質の間隙中への蓄積によるものである。実験開始後 15 日以降の気相率が一定と仮定すると、乾燥密度は 103 日後には  $0.73\text{g/cm}^3$  まで増加した計算になる。乾燥密度  $0.08\text{g/cm}^3$  相当の固体によるクロッキングが、透水係数の低下を引き起こしたと説明される。質量の収支計算によれば、この乾燥密度の増加には chloramphenicol の代謝あるいは目詰まりが含まれていたと考えられる。

### (4) 目詰まり層の薄さ

殺菌剤無添加実験の実験開始から 40 日間のグルコースの流入量より、この期間の乾燥密度の増加は最大でも  $0.032\text{g/cm}^3$  であると計算され、この程度の乾燥密度の増加が透水係数を 2 オーダー低下させたことから、クロッキングを起こす物質はカラム内の厚さ数ミリメートルの層に集中的に蓄積すると考えることができた。

### (5) 微生物のメタン発生による透水係数低下

殺菌剤無添加実験の 50 日以降、浸透水中のグルコースが分解されたことによるメタンガスの発生によって、気相率が増加したと考えられる。気相率 30% 相当の気泡による間隙の閉塞が、透水係数低下の一因となった。気泡の増加量から、メタンの浸透水中への溶解を

考慮してメタンの発生量の上限值と下限値を計算したところ、Wang et al. (1993) の値とよく一致した。



## 第4章 均一径粒子のクロッキングモデル

### 第1節 はじめに

序論で述べたように、Vandevivere and Baveye (1992b)は、粒径の小さい試料ではバイオフィームではなくマイクロコロニーが形成されるために、既存のバイオフィームを仮定するクロッキングのモデルでは粒径の小さい試料のクロッキングをうまく説明できないとして、マイクロコロニーが形成されるときクロッキングモデルの必要性を示した上で、Fig.1-3 の様に、毛管状の間隙の一部にマイクロコロニーが形成されるモデルを提案した。しかし、彼ら自身、土の間隙が毛管のような形状をしていないのだから、このモデルはあまりいいモデルはないことを認めている。そこで本章では、このような細菌の棲息形態を考慮に入れたクロッキングの数学モデルを構築する。本章のモデルは、均一径の粒子を対象として、気泡の生成を考えないことから、すぐ第2章、第3章の結果に適用できるものではない。しかし、それでも既存のモデルを一步進めた内容となっている。このことはすなわち自然の土でおきるクロッキングがいかに複雑で数学モデルをたてるのが困難であるかを示している。

## 第2節 理論

## (1) Colonial shape factor の導入

微生物の棲息形態については第一章で述べたが、ここではマイクロコロニーからバイオフィームへの形成過程について考える。バイオフィームが形成される過程を時間的に追うと、細菌は初期の段階では可逆的に土粒子表面に付着し、さらに細胞外多糖類(Trulear and Characklis, 1982)あるいは細菌の吸着絨毛(Bulitt and Makowski, 1995)により細胞を土粒子と結合することにより不可逆的に結合する。この段階では、はじめはマイクロコロニーが形成され、バイオマスが大きくなるにつれ、細菌がマイクロコロニーまたはバイオフィームに付着することで(Costerton et al., 1978)マイクロコロニーが成長し、土粒子の表面にしめるコロニーの割合が大きくなると同時に、コロニーの厚さも大きくなる。そして、やがて土粒子表面全体を微生物が覆うようになった状態をもって、我々はそれをバイオフィームであると認識する。このコロニーの成長過程のどの瞬間をもって「マイクロコロニー」から「バイオフィーム」になったかと判定するかは、観察者の主観に左右される。このように、マイクロコロニーとバイオフィームの間には、明瞭な境界線はない。

ここで、マイクロコロニーであるとバイオフィームであるに関わらず、その最も厚い箇所の厚さを、最大コロニー厚(maximum colonial thickness)  $L_0$  と名付ける。また、厚さ  $L_0$  のフィルムで、土粒子表面を覆ったときのフィルムが占有する空間を、biofilm space と名付ける (Fig.4-1)。マイクロコロニーでは、この空間中に占めるコロニーの体積の割合が小さく、バイオフィームでは、その割合が1に近い。そこで、biofilm space 中に占

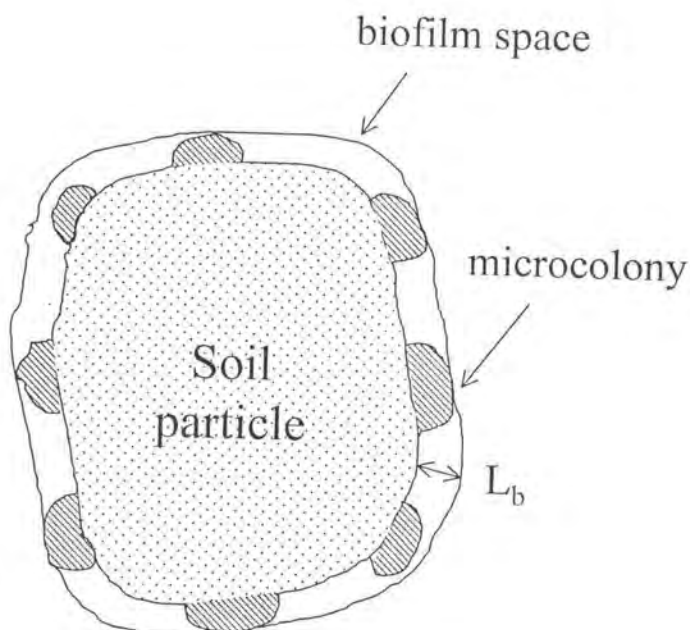


Fig. 4-1 Conceptual illustration of biofilm space around a soil particle. The thickness of the biofilm space,  $L_b$ , is the maximum thickness of microcolonies. Although microcolonies are drawn in the figure, the biofilm space is defined for any kind of colony formation, including biofilm and microcolony.

める微生物細胞の体積の割合を、colonial shape factor  $\beta$  と定義する。このように定義すると、先ほどのコロニーの成長過程は、 $L_0$  と  $\beta$  が同時に増加する過程と考えることが出来る。つまり、 $\beta$  は微生物の生息形態をあらわす物理量である。

## (2) 相似モデルの限界と非相似モデルの必要性

従来の理論のほとんどは、土粒子が立方最密充填等の一様な配列をしているとして、平均粒径、比表面積、透水係数等の関係を計算するものであった。宮崎ら(1994)は、これらの相似モデルを土の乾燥密度変化のような非相似変化に適用することの限界を指摘し、非相似多孔質体モデルを提唱した。土粒子の構造変化の非相似性は、微生物細胞によるクロッキングにおいては更に顕著なものとなる。なぜならば、土粒子の特性長を  $S$  とし、間隙の特性長を  $d$  とすると、土の乾燥密度変化を問題にするときは、 $S$  が一定であるが、クロッキングにおいては、 $S$  が増加し  $d$  が減少することによって、 $S + d$  が一定の値を保つからである。

## (3) 式の展開

土粒子の平均粒径を、粒子の特性長  $S$  とする。宮崎ら(1994)によれば、間隙の特性長  $d$  は以下の式から計算できる。

$$d = \left\{ \left( \frac{\tau}{1-e} \right)^{\frac{1}{3}} - 1 \right\} S \quad (4.1)$$

ここで、 $\tau$  は形状係数、 $e$  は間隙率である。ここで、 $\tau$  の値はクロッキングが起こる前の試料に対してのみ定義される。そのために、本モデルでは土粒子の形状係数を  $\tau$ 、コロニーの形状係数を  $\beta$  と、それぞれ別の値

を用いている。すなわち、本モデルにおいて  $\epsilon$  は、S と d の関係を表す指標である。

クロッキングが起きると、間隙の特性長 d が減少して、 $d'$  になる。このとき、最大コロニー厚  $L_b$  との間に、

$$L_b = \frac{d - d'}{2} \quad (4.2)$$

という関係がある。

このときに、pore neck においてコロニー厚が最大になるという仮定を用いているが、この仮定は DeLeo and Baveye (1997) の、砂の粒子と粒子の間の割れ目 (crevice) に細菌が成長するという走査型電子顕微鏡写真に基づく報告を根拠としている。また、理論的には以下のような説明を与えることができる。すなわち、Fig. 4-2 に示したように、pore neck の部分は他の部分より流路に垂直な平面で切ったときの間隙の断面積が小さい。したがって、その部分で流速が最大になる。流速が大きくなることによる効果は、次の二つがある。第一の効果は、せん断応力が大きくなることにより、微生物のコロニーがはがれやすくなる効果であり (Wanner and Gujer, 1986)、第二の効果は、栄養分の供給速度が大きくなることにより、微生物の増殖が促進される効果である。フラックスが大きいときには第一の効果が大きく現れるが、フラックスが小さいときは第二の効果がより大きく現れると考えられる。第二の効果は、pore neck の箇所でコロニーが形成されやすくなることを示している。

Ewing and Gupta (1994) によると、円錐状の間隙のくびれを通る水のフラックスは、導水勾配一定の下で、間隙チューブの直径の3乗に比例するとみなしてよい。したがって、 $d'$  と  $K_s/K_{s0}$  の間には以下の関係が成り立つ。



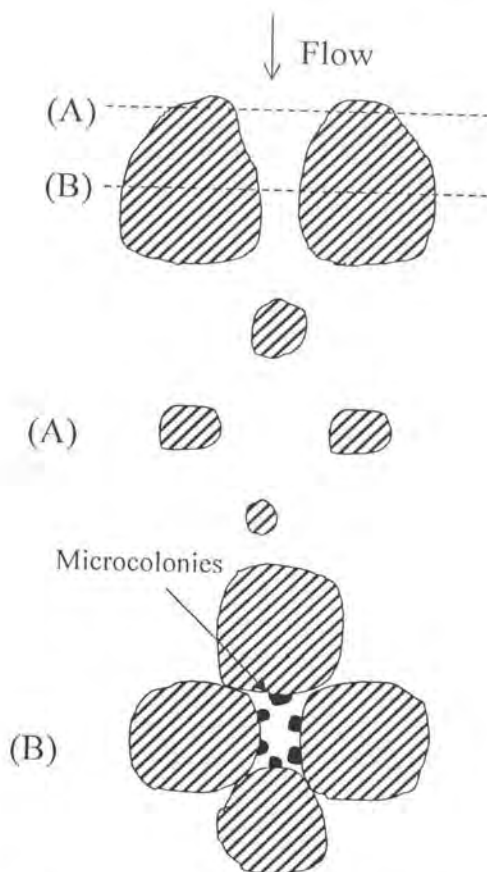


Fig. 4-2 Biological clogging of soil pores by microcolonies. The direction of the flow is shown by an arrow at the top figure. The cross sectional views of pore space normal to the direction of flow, (A) and (B) of the top figure are drawn in the lower two figures. In pore neck (B), where the cross-sectional area of the pore is smallest, characteristic length of pore phase is reduced by microcolonies.



式3、4から、次の式が得られる。

$$\frac{d'}{d} = \left( \frac{K_s}{K_{s0}} \right)^{\frac{1}{3}} \quad (4.3)$$

$$L_b = \frac{d}{2} \left[ 1 - \left( \frac{K_s}{K_{s0}} \right)^{\frac{1}{3}} \right] \quad (4.4)$$

コロニーが出来たときの土粒子の特性長  $S'$  は、

$$S' = S + 2L_b \quad (4.5)$$

とあらわされ、biofilm space の体積  $V_f$  は、

$$V_f = S'^3 - S^3 \quad (4.6)$$

と書ける。バイオマスの体積  $V_b$  の土粒子の体積  $V_s$  に対する割合は、

$$\frac{V_b}{V_s} = \frac{\beta W_f}{S^3} \quad (4.7)$$

一方、

$$\frac{V_b}{V_s} = \frac{\alpha e}{1-e} \quad (4.8)$$

が成り立つから、(4.5)-(4.8)を整理すると、次のように  $\beta$  が計算される。

$$\beta = \frac{\alpha e}{1-e} \left\{ \left( 1 + \frac{2L_b}{S} \right)^3 - 1 \right\}^{-1} \quad (4.9)$$

### 第3節 既往の研究へのモデルの適用

#### (1) バイオフィルムと $\alpha$ の関係

最初に、Cunningham et al. (1991)のデータから、バイオフィルムの厚さと $\alpha$ の関係を求める。彼らは、間隙率を「理論的間隙率」という概念を用いて導出した。その方法に従えば、biovolume ratio  $\alpha$  は、

$$\alpha = 1 - \frac{\alpha_f}{\alpha_i} = A \left\{ \left( 1 + \frac{2L_b}{S} \right)^3 - 1 \right\} \quad (4.10)$$

ここで、

$$A = \frac{\pi}{6} \left( 1 - \frac{\pi}{6} \right)^{-1} = 1.099 \quad (4.11)$$

と計算される。一方、式(4.9)で、 $\beta = 1$  とおくと、

$$\alpha = \frac{1-e}{e} \left\{ \left( 1 + \frac{2L_b}{S} \right)^3 - 1 \right\} \quad (4.12)$$

と計算される。 $e=1-\pi/6=0.476$  の時に、 $(1-e)/e=A$  となって、式(4.10)と式(4.12)が一致する。すなわち、彼らの計算方法は本モデルにおいて間隙率を0.476 (立方最密充填における間隙率)とおいたものとなっており、間隙率に依存しない本モデルの方が一般性が高い。

彼らの計算方法による $\alpha$ の値が、粒径0.12mmにおいて負の値になしたことは、バイオフィルムの厚さが実際には均等でないことを意味している。バイオフィルムの厚さが最大で $d/2$ を越えたときには、本モデルは適用できない。しかしこの点は、Kozeny-Carmanの式においても同様である。

Cunningham et al. (1991)は、プロモチモルブルー染料トレーサーを、赤外線センサーで感知することにより、間隙中の実流速を測定し、フラックスとの比から間隙率を測定した結果、バイオフィルムの厚さから計算した間隙率が、間隙率の測定値と一致した。式(4.10)と式(4.12)が合う間隙率 0.48 と、偶然にも一致することにより、本モデルで計算しても、同様の結果が得られる。バイオフィルムの中の空間には、浸透水がほとんど流れない（不動水）とすると、 $\beta=1$  としたときの $\alpha$ の値が測定されたことになる。

## (2) バイオフィルムの厚さと透水係数の関係

Cunningham et al. (1991)の実験は、バイオフィルムを形成しやすい *Pseudomonas aeruginosa* のみが理想的な条件で生育できるようにしたために、厚いバイオフィルムが形成された。以下、粒径 0.12mm の砂のデータは、このような特殊な条件になったために除外して、粒径 1mm と 0.54mm のデータに、本モデルを適用する。

式(4.1)-(4.3)をまとめると、次の式が得られる。

$$\frac{K_s}{K_{s0}} = \left[ 1 - \frac{2L_b}{S} \left\{ \left( \frac{\tau}{1-e} \right)^{\frac{1}{3}} - 1 \right\}^{-1} \right]^3 \quad (4.13)$$

この式に、バイオフィルムの厚さを代入して、透水係数を計算した結果を、Fig.4-3 に示す。バイオフィルムが最大の厚さになったときの透水係数の値を、 $\tau$  の値を変えて計算すると、Fig.4-4 のようになる。0.54mm のデータにおいては、 $\tau < 0.97$  において、1mm においては  $\tau < 0.74$  におい

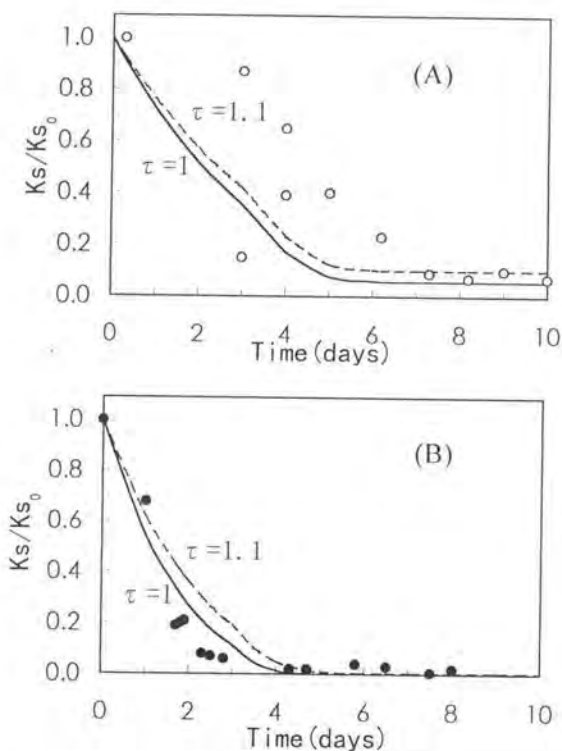


Fig. 4-3 Measured and calculated saturated hydraulic conductivities for *Pseudomonas aeruginosa* in (A) 1-mm glass beads and (B) 0.54-mm quartz sand. The calculated curves were obtained by the measured values of biofilm thickness (data from Cunningham et al. [1991]).

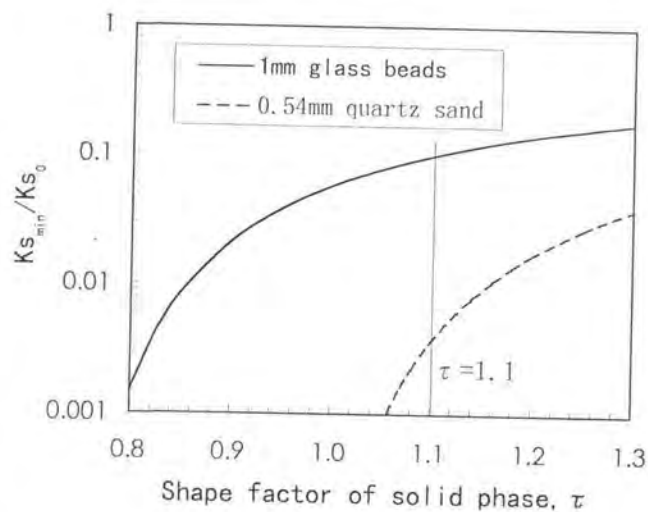


Fig. 4-4 Saturated hydraulic conductivities calculated from the maximum values of biofilm thickness, i. e., when steady state is reached. They agree well with measured values of  $K_s$  when  $\tau = 1.1$  (data from Cunningham et al. [1991]).

て、それぞれ  $2L_0 > d$  となり、本モデルの適用外になる。 $\tau=1.1$  の時に、 $Ks/Ks_0$  の最小値が、測定値と一致すると見なすことが出来る。

### (3) 形状係数の定義の再検討

宮崎ら(1994)の定義によれば  $0 < \tau \leq 1$  であるから、形状係数  $\tau > 1$  となることは納得できない。そこで、本研究においては式(2)そのものを、あらためて  $\tau$  の定義とする。すると、以下のような理由により、 $\tau > 1$  となることもあり得る。

説明のために、ここではとりあえず立方最密充填を仮定する。Fig.4-5において、粒子の特性長は  $d$  で、間隙の特性長は  $d/2$  であると考え。すると、式(4.1)より、

$$\frac{d}{2} = \left\{ \left( \frac{\tau}{1-e} \right)^{\frac{1}{3}} - 1 \right\} d \quad (4.14)$$

となり、

$$\tau = \frac{27}{8} \frac{1}{1-e} = \frac{27}{8} \times \frac{\pi}{6} \quad (4.15)$$

と計算される。一方、粒子の形状を表す形状係数を  $\tau_p$  と定義すると、

$$\tau_p = \frac{\pi}{6} \quad (4.16)$$

式(4.15),(4.16)より、

$$\tau = \frac{27}{8} \tau_p \quad (4.17)$$

となる。実際には、立方最密充填はあり得ないため、式(4.17)を一般化して、

$$\tau = \tau_p \tau_v \quad (4.18)$$



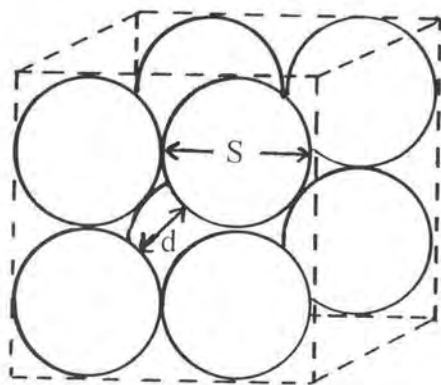


Fig. 4-5 Cubic packing of uniform diameter sphere.  
Characteristic length of solid phase is  $S$  and  
Characteristic length of pore phase is  $d$ .

と書く。このときの $\tau_p$ は、個々の粒子の形状を表す形状係数で、球では $\pi/6$ 、立方体では1である。 $\tau_s$ は、粒子の配列を表す形状係数で、立方最密充填の時は27/8となったが、実際は1に近い値となる。 $\tau_s \geq 1$ である。宮崎ら(1994)のモデルでは、 $\tau_s=1$ と仮定されていたことになる。

間隙の特性長 $d$ を、

$$d = d_p + d_s \quad (4.19)$$

と分けて、 $d_p$ は乾燥密度によって不変で、 $d_s$ は乾燥密度によって変化すると考えることによって、 $\tau_p$ と $\tau_s$ についてもっと厳密に計算をすることが可能になるであろう（先の立方最密充填では $d_p=d/2$ 、 $d_s=0$ ）。

さて、このように $\tau$ を再定義すると、 $0 < \tau_p \leq 1$ であるが、 $\tau_s > 1$ であるために、 $\tau > 1$ となり得ることが分かる。さて、粒径1mmのガラスビーズ、粒径0.54mmの石英砂共に、 $\tau$ の値が1.1であると計算されたことは、砂におけるスケーリングで $\tau=0.9 \sim 1$ の値が得られている事から考えて、妥当である。ガラスビーズは、個々の粒子が球形に近く、 $\tau_p = \pi/6$ に近い値となるが、粒径が均質化されているために、 $\tau_s=2$ 程度の大きい値となり、結果として $\tau=1.1$ となった。一方、石英砂は、 $\tau_s$ 、 $\tau_p$ ともに1に近い値であると考えられる。粒子が立方体から球形に近づくと、 $\tau_p$ は小さく、 $\tau_s$ は大きくなる。この2つの効果により $\tau$ の変化が $\tau_p$ の変化ほど大きくないと考えると面白い。

以上の計算から、Cunningham et. al. (1991)のバイオフィルムの厚さと透水係数のデータは、本モデルで説明できることが示された。

(4)  $\alpha$  と透水係数の関係A.  $\beta = 1$  としたとき

以上は、Cunningham et al. (1991)にはバイオフィルムの厚さが測定値として出ていたのでその値との比較で論じたが、以下は、 $\alpha$  と透水係数の関係について考察する。式(4.1)と(4.4)を(4.12)に代入して、

$$\begin{aligned} \frac{K_e}{K_{s0}} &= \left[ 1 - \frac{2L_b}{S} \left\{ \left( \frac{\tau}{1-e} \right)^{\frac{1}{3}} - 1 \right\}^{-1} \right]^3 \\ &= \left[ 1 - \left\{ \left( \frac{\alpha e}{1-e} + 1 \right)^{\frac{1}{3}} - 1 \right\} \left\{ \left( \frac{\tau}{1-e} \right)^{\frac{1}{3}} - 1 \right\}^{-1} \right]^3 \end{aligned} \quad (4.20)$$

この式に、 $\beta=1, \tau=1, e=0.48$  を代入して、 $\alpha$  と  $K_s/K_{s0}$  の関係を計算した結果を Fig.4-6 に示す。Fig.4-6 には、Vandevivere et al. (1995)が計算した Ives, Mualem, Kozeny-Carman の式を比較のためにのせた。ここで、 $\tau=1$  としたのは、 $\tau$  の値をあらかじめ定められた定数として扱いたいためであり、宮崎ら(1994)の値をそのまま使用した。Fig.4-6 によれば、本モデルは Mualem の式に非常に近い。 $\beta=1$  を代入することにより、クロッキングによる透水係数の低下の程度を、1mm のガラスビーズについては過大評価し、0.12mm の砂のクロッキングについては過小評価したが、その点は他の3つのモデルと変わらない。Vandevivere et al. (1995)が考察したように、粒径の小さい試料における過小評価は、細菌が粒子表面を一樣なバイオフィルムとして覆っているという仮定、すなわち本モデルでは  $\beta=1$  とした仮定がその原因である。

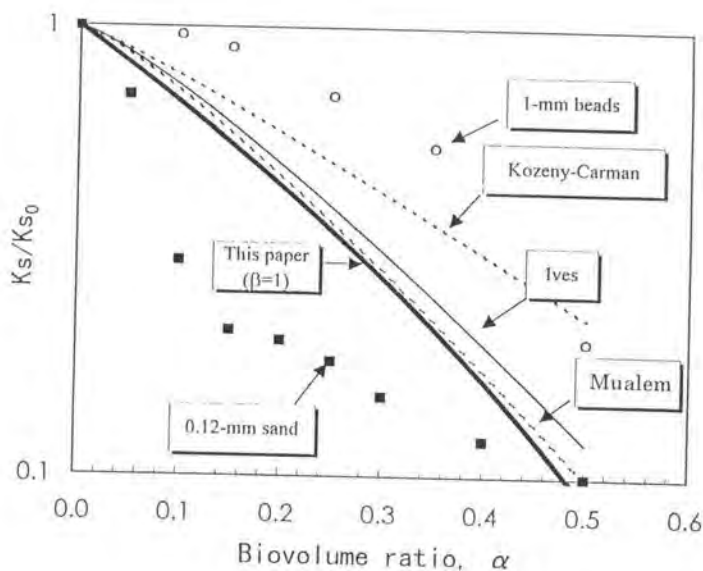


Fig. 4-6 Predictions of the mathematical models of this paper (three curves), Ives, Mualem, and Kozeny-Carman compared with experimental  $K_s/K_{s0}$  versus  $\alpha$  data of Cunningham et al. (1991). The symbols are identical to those of Fig. 1-2 (Vandevivere et al. (1995).

Table 4-1 Parameters used for calculation.

Sample	Mean particle diameter S	Porosity e	Particle density $\rho_s$ †	Bulk density $\rho_b$ §	Shape factor $\tau$ #
	mm		$\text{g cm}^{-3}$	$\text{g cm}^{-3}$	
Glass beads	1*	0.48*	2.60	1.35	1
Glass beads	0.7*	0.48*	2.60	1.35	1
Glass beads	0.54*	0.35*	2.60	1.35	1
Glass beads	0.12*	0.48*	2.60	1.35	1
Sand	0.095†	0.39†	2.65	1.62	1

\*From *Cunningham et al.* [1991]† From *Vandevivere and Baveye* [1992b]

‡ Assumed.

§ Calculated from porosity and particle density.

# From *Miyazaki* [1996]

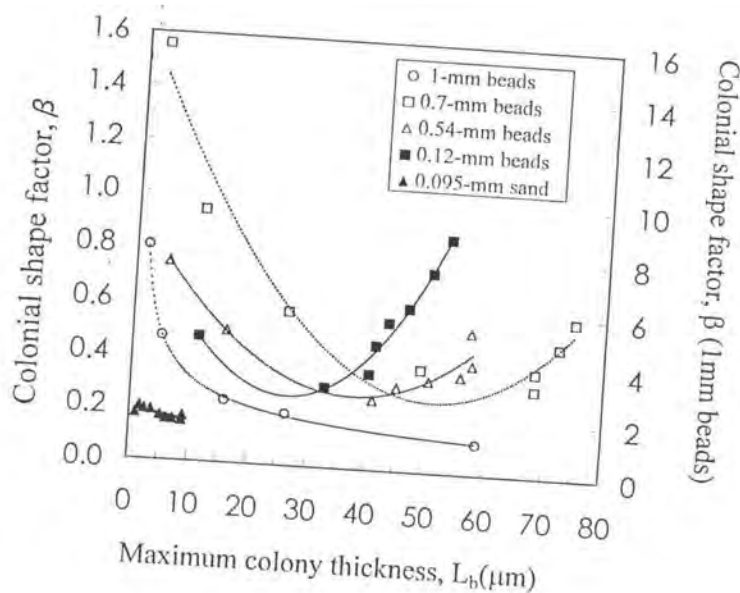


Fig. 4-7 Change in  $L_b$  and  $\beta$  with bacterial growth, calculated from biovolume ratios and saturated hydraulic conductivities of Fig. 1-2. Note that the right axis applies to 1 mm beads. Equations of fitted curves in this figure are shown in Table 4-2.



B.  $\beta$  を変数としたとき

Table 4-1 の値を式(4.1)に代入することにより  $d$  の値を計算し、その値を式(4.4), (4.9)に代入することにより、 $L_b$  と  $\beta$  の関係を計算できる。その結果を Fig.4-7 に示す。 $\beta$  の値は粒径 0.09mm の砂において特に小さい。Vandevivere and Baveye (1992b)は、走査型電子顕微鏡撮影により、コロニーが三次元的に低密度で広がりを持って形成される構造を観察している。その走査型電子顕微鏡写真によれば、 $\beta=0.2$  近くの値は納得できる値である。 $\beta$  の値は  $0 < \beta \leq 1$  と定義されるにも関わらず、 $\beta$  の値が 1 よりも大きな値となる場合がある。特に、粒径 1mm のガラスビーズを見ると、 $L_b$  のあらゆる範囲において、 $\beta$  の値が 1 よりも大きい。この理由は、残念ながら現段階では考察できない。

Fig 4-7 のデータを、それぞれの試料について回帰して得た  $L_b$  と  $\beta$  の間の関係式を Table 4-2 に示す。Table 4-2 の関係式を使えば、式(4.9)により  $L_b$  の値に対する  $\alpha$  の値を計算することができ、式(4.1), (4.4)から  $L_b$  の値に対する  $K_s/K_{s0}$  の値を計算することができる。このようにして、 $L_b$  の値を変化させたときの  $\alpha$  と  $K_s/K_{s0}$  の値をそれぞれ計算したところ、Fig.4-8 のように、すべての試料について、データをよく回帰する曲線が得られた。特に、0.09mm の砂に関する曲線は重要である。なぜならば、このような急激に減少する曲線は、既存の Ives, Mualem, Kozeny-Carman 式では説明できないが、それを説明できたからである。

Table 4-2 Fitted equations in Fig. 4-7.

Sample	Fitted equation
1mm beads	$\beta = 11.383L_b^{-0.5566}$
0.7mm beads	$\beta = 0.0004L_b^2 - 0.0377L_b + 1.3160$
0.54mm beads	$\beta = 0.0005L_b^2 - 0.0343L_b + 0.9190$
0.12mm beads	$\beta = 0.0009L_b^2 - 0.0462L_b + 0.8748$
0.09mm sand	$\beta = -0.0044L_b + 0.1945$

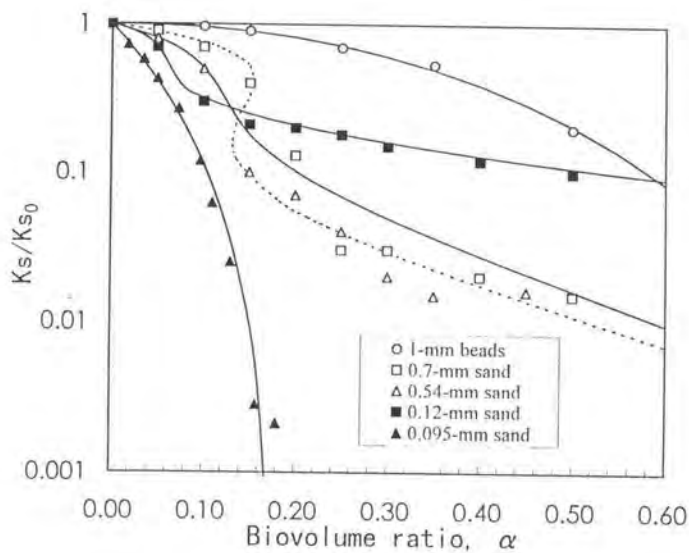


Fig. 4-8 Relationship between the saturated hydraulic conductivity ratio and the biovolume ratio as shown in Fig. 1-2 and curves calculated by our model.

## 第4節 まとめ

### (1) まとめ

均一径の粒子におけるクロッキングの数学モデルを構築した。粒径の小さい試料では、細菌がマイクロコロニーを形成するために、一定量のバイオマスの増殖に対する透水係数低下の割合が、バイオフィームが形成される試料よりも大きいことが知られている。しかしながら、既往のクロッキングのモデルは、細菌の細胞が粒子表面に一樣なバイオフィームを形成するという仮定に基づいているため、本章では不均一な微生物の棲息形態をモデルの中に取り込んだ数学モデルを提唱した。バイオマスの体積、コロニーの形、透水係数の間の関係式を導き、既往の研究に適用した。

### (2) 今後の課題

#### A. $\beta$ の値の決定

$\beta$ を変数としたときに、 $\alpha$ と透水係数の関係をよくあらわすことができたが、そのためには、 $L_b$ と $\beta$ の関係が与えられなければならない。そのためには、数多くの試料について実験を行って $\alpha$ と透水係数の関係から $L_b$ と $\beta$ の関係を求め、その法則を調べるという方法もあるが、 $\beta$ の値を実測あるいは理論的に計算できれば、より望ましい。バイオフィームの形成過程は、詳細に研究されている (Wanner and Gujer, 1986; Csikor et al., 1995)。しかし、それらは常に一樣のバイオフィームが形成されるという仮定に基づいている。すなわち、本モデルにおいて常に $\beta=1$ である

と仮定することに相当する。しかし、粒径の小さい多孔質体ではマイクロコロニーが形成されるため、そのような試料では $\beta=1$ という仮定は不適切である。そこで、それらの試料に対してはマイクロコロニーの成長を $L_0$ と $\beta$ が同時に変化する過程として、理論的にも実験的にも研究が進められる必要がある。その上、バイオフィルムの形が不均一であるという報告もある (Massol-deya et al., 1995)。 $\beta$ の値を直接測定することは、今後の課題である。DeLeo and Baveye (1997)のように、共焦点レーザー走査型電子顕微鏡によってコロニーの立体的な映像を得ることは、 $\beta$ の値を知るために有用である。

## B. 過剰のバイオマスが生成される場合

最大コロニー厚が $d/2$ よりも大きくなる場合、すなわち過剰のバイオマスが生成される場合には、本モデルでは解析できない。そのときは、バイオマスの中を水が通過するときの通水抵抗が、透水係数を決める重要な要因となり、そのようなモデルを構築することになる。

## C. 粒径分布のモデルへの取り込み

宮崎ら(1994)のモデルは、 $S$ と $d$ を定義しておいて、最終的には $S$ と $d$ を消去した式を解析に用いるところにその特徴があるが、本モデルでは、 $d$ の値そのものが重要であり、 $S$ と $d$ を消去することが出来ない。したがって、粒径が均質な試料にのみ適用可能である。今後、土壌のクロッキングをモデル化するには、粒径分布をどのようにモデルの中に組み込むかという課題が残されている。そのための一つの手法として、Ewing

and Gupta (1994)の、三次元間隙ネットワークモデルに、本モデルの概念と係数を取り入れることが考えられる。



## 第5章 結論

### 第1節 結論

水田の耕盤からサンプリングした試料に栄養水を供給すると、カラムの上端 1cm の部分において、118 日間で透水係数が 2 オーダー低下することが分かった。

透水係数が低下する原因の第一は、糸状菌が実験開始時の 100 倍ほど増殖することによる、糸状菌の細胞と多糖類等の代謝生成物質による間隙の目詰まり（クロッキング）であることが分かった。その際、細菌と糸状菌の間に拮抗関係があることが示唆された。このクロッキングは、実験初期の封入空気の溶解による透水係数の上昇を差し引いて考えると、透水係数を 3 オーダー低下させる力がある。土中に供給したグルコースの総量はわずかであるが、数ミリメートルのごく薄い層に目詰まり物質が蓄積されたため、わずかな質量の目詰まり物質が透水係数を大きく低下させたと考えられた。

透水係数が低下する原因の第二は、微生物の活動にともなうメタンガスの発生によって、間隙中に最大気相率 30% の気泡が発生するためであることが示された。また、気泡の増加量から、メタン発生量の上限值と下限値を計算した。この効果は、透水係数を 2 オーダー低下させる力があった。

第一の原因と第二の原因が複合現象としてあらわれたときに、透水係数の低下は両者の積の 5 オーダーではなく、より効果の大きい第一の原因に規定され、透水係数の低下は 3 オーダーとなった。

微生物により透水係数が低下した試料に殺菌水を流すと、気泡が間隙中に溶解するため透水係数が回復するが、死菌体や微生物による代謝生成物質が間隙中に残るために、初期の値までは回復しなかった。

均一径の粒子におけるクロッキングの数学モデルを構築した。このモデルが従来のモデルと比較して優れている点は、従来のモデルは粒子表面を細菌が一様なバイオフィルムを覆っているという仮定をしているために、粒径が大きいガラスビーズ等の試料にしか適用できなかったが、本モデルは土粒子表面の微生物の棲息形態をモデルの中に変数として取り入れたため、マイクロコロニー等の棲息形態をしているときにも、クロッキングをうまく数学的に表現できるようになった点にある。均一径粒子にのみ適用されるため、いまだ自然の土に適用することはできないが、自然の土では細菌がマイクロコロニーとして棲息することを考えると、従来のモデルよりもより汎用性が高くなったことになる。実際に、既往の研究のデータを説明することができた。

## 第2節 今後の課題

第二章において、クロッキングは表層 1cm で起きることを確認し、第三章で高さ 1cm のカラムを用いて実験することにより表層 1cm での変化に着目することができた。そして、その実験で透水係数の低下が厚さ数ミリメートルの層の目詰まり物質の蓄積によるものであると考察された。そこで、今後の課題として、透水係数の低下が起きる厚さ数ミリメートルの層を特定し、その位置の透水係数、乾燥密度、気相率の変化を測定することが重要である。透水係数の低下を起こす層は、表層より数ミリメートル下の嫌氣的な層であると考えられるため (Jiang and

Matsumoto, 1995)、高さ数ミリメートルのカラムを使ってもその測定を行うことはできない。そこで、次に行うべき実験として、たとえば以下のような実験を考えることができる。

高さ数センチメートルのカラムに栄養水を浸透させたときの、特に表層の透水係数変化を数ミリメートル単位で深さ別に測定する。そして、ガンマ線水分密時計（宮崎ら、1985）により、乾燥密度と気相率のプロファイルもミリメートル単位で測定する。浸透終了後に、カラムの断面数カ所で薄片試料を作成し、その写真を撮ることで、クロッキングの起きた位置の目詰まり物質を視覚的に確認することもできる。

現段階では、まだ現場の透水係数低下現象を十分に説明し得る数学モデルは完成されていない。今後の研究により、室内実験のデータを蓄積し、一方で理論的考察を進めて数学モデルを発展させることにより、現場での透水係数の低下をはっきりと説明できるモデルが完成されることが期待される。

## 参考文献

- Allison, L.E.: Effect of microorganisms on permeability of soil under prolonged submergence, *Soil Sci.* 63, pp.439-450 (1947)
- Avnimelech, Y. and Nevo, Z.: Biological clogging of sands, *Soil Sci.* 98, pp.222-226 (1964)
- Bulitte, E. and Makowski, L.: Structural polymorphism of bacterial adhesion pili, *Nature* 373, pp.164-167 (1995)
- Chang, A. C., Olmstead, W. R., Johanson, J. B., and Yamashita, G.: The sealing mechanism of wastewater ponds, *J. Water Poll. Cont. Fed.* 46, pp.1715-1721 (1974)
- Christiansen, J.E.: Effect of entrapped air upon the permeability of soils, *Soil Sci.* 58, pp.355-365 (1944)
- Costerton, J. W., Geesey, G. G. and Cheng, K. J.: How bacteria stick, *Scient. Am.* 238, pp.86-95 (1978)
- Costerton, J.W. and Irvin, R.T.: The Bacterial glycocalyx in nature and disease, *Ann. Rev. Microbiol.* 35, pp.299-324 (1981)
- Csikor, Zs., Miháitz, P., Czakó, L. and Holló, J.: A pressure test method monitors biofilm coated particle fluidization, *Appl. Microbiol. Biotech.* 43, pp.383-386 (1995)
- Cunningham, A. B., Characklis, W. G., Abedeen, F. and Crawford, D.: Influence of biofilm accumulation of porous media hydrodynamics, *Environ. Sci. Technol.* 25, pp.1305-1311 (1991)

- DeLeo, P. C. and Baveye, P.: Factors affecting protozoan predation of bacteria clogging laboratory aquifer microcosms, *Geomicrobiol. J.* 14, pp. 127-149 (1997)
- de Vries, J.: Soil filtration of wastewater effluent and the mechanism of pore clogging, *Water Poll. Cont. Fed. J.* 44, pp.565-573, (1972)
- Ewing, R. P. and Gupta, S. C.: Pore-scale network modeling of compaction and filtration during surface sealing, *Soil Sci. Soc. Am. J.* 58, pp.712-720 (1994)
- Faybishenko B. A.: Hydraulic behaviour of quasi-saturated soils in the presence of entrapped air: Laboratory experiments, *Water Res. Res.* 31, pp.2421-2435 (1995)
- Frankenberger, W. T. Jr., Troeh, F. R. and Dumenil, L. C.: Bacterial effects on hydraulic conductivity of soils, *Soil Sci. Soc. Am. J.* 43, pp.333-338 (1979)
- Gupta, R. P. and Swartzendruber, D.: Flow-associated reduction in the hydraulic conductivity of quartz sand, *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 26, pp. 6-10 (1962)
- Gupta, R. P. and Swartzendruber, D.: Entrapped air content and hydraulic conductivity of quartz sand during prolonged liquid flow, *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 28, pp.9-12 (1964)
- Harvey, R. W., Smith, R. L. and George, L.: Effect of organic contamination upon microbial distributions and heterotrophic uptake in a Cape Cod, Mass., aquifer, *Appl. Environ. Microbiol.* 48, pp.1197-1202 (1984)
- Jiang, Y. and Matsumoto, S.: Change in microstructure of clogged soil in soil wastewater treatment under prolonged submergence, *Soil Sci. Plant Nutr.* 41, pp.207-213 (1995)



- Kristiansen, R.: Sand-filter trenches for purification of septic tank effluent: III. The microflora, *J. Environ. Qual.* 10, pp.361-364 (1981)
- Lindau, C. W., Patrick, W. H. Jr., Delaune, R. D. and Reddy, K. R.: Rate of accumulation and emission of  $N_2$ ,  $N_2O$  and  $CH_4$  from a flooded rice soil, *Plant and Soil* 129, pp.269-276 (1990)
- Martin, J. P.: Microorganism and Soil Aggregation: I. Origin and nature of some of the aggregating substances, *Soil Sci.* 59, pp.163-174 (1945)
- Massol-deya, A. A., Whallon, J., Hickey, R. F. and Tiedje, J. M.: Channel structures in aerobic biofilms of fixed-film reactors treating contaminated groundwater, *Appl. Environ. Microbiol.* 61, pp.769-777 (1995)
- McGauhey, P. H. and J. H. Winnerberger: Study of the failure of septic tank percolation systems, *J. Water Poll. Cont. Fed.* 36, pp.593-606 (1964)
- Moltz, F. J., Widdowson, M. A. and Benefield, L. D.: Simulation of microbial growth dynamics coupled to nutrient and oxygen transport in porous media, *Water Res. Res.* 22, pp.1207-1216 (1986)
- Okubo, T. and Matsumoto, J.: Effect of infiltration rate on biological clogging and water quality changes during artificial recharge, *Water Res. Res.* 15, pp.1536-1542 (1979)
- Poulovassilis, A.: The changeability of the hydraulic conductivity of saturated soil samples, *Soil Sci.* 113, pp.81-87 (1972)
- Preul, H. C.: Contaminant in groundwater near waste stabilization ponds, *J. Water Poll. Cont. Fed.* 40, pp.659-669 (1968)
- Reynolds, W. D., Brown, D. A., Mathur, S. P. and Overend, R. P.: Effect of in-situ gas accumulation on the hydraulic conductivity of peat, *Soil Sci.* 153, pp.397-408 (1992)



- Rittmann, B. E.: The significance of biofilms in porous media, *Water Res. Res.* 29, pp.2195-2202 (1993)
- Roldan, A. F., García-Orenes, F. and Lax, A.: An incubation experiment to determine factors involving aggregation changes in an arid soil receiving uraban refuse, *Soil Biol. Biochem.* 26, pp.1699-1707 (1994)
- Sanchez de Lozada, Vandevivere, D. P., Baveye, P. and Zinder, S.: Decrease of the hydraulic conductivity of sand columns by *Methanosarcina barkeri*, *World J. Microbiol. Biotechnol.* 10, pp.325-333 (1994)
- Siegrist, R. L.: Soil clogging during subsurface wastewater infiltration as affected by effluent composition and loading rate, *J. Environ. Qual.* 16, pp.181-187. (1987)
- Swartzendruber, D., and R. Gupta: Possible role of methane in affecting the hydraulic conductivity of fine quartz sand, *Soil Sci.* 98, pp.73-77 (1964)
- Taylor, S. W. and Jaffé, P. R.: Biofilm growth and the related changes in the physical properties of a porous medium 1. Experimental investigation, *Water Res. Res.* 26, pp.2153-2159 (1990a)
- Taylor, S. W., Milly, P. C. D. and Jaffé, P. R.: Biofilm growth and the related changes in the physical properties of a porous medium 2. Permeability, *Water Res. Res.* 26, pp.2161-2169 (1990b)
- Trulear, M. G. and Characklis, W. G.: Dynamics of biofilm processes, *J. Water Poll. Cont. Fed.* 54, pp.1288-1301 (1982)
- Vandevivere, P. and Baveye, P.: Saturated hydraulic conductivity reduction caused by aerobic bacteria in sand columns, *Soil Sci. Soc. Am. J.* 56, pp.1-13 (1992a)

- Vandevivere, P. and Baveye, P.: Effect of bacterial extracellular polymers on the saturated hydraulic conductivity of sand columns, *Appl. Environ. Microbiol.* 58 pp. 1690-1698 (1992b)
- Vandevivere, P., Baveye, P., Sanchez de Lozada, D., and DeLeo, P.: Microbial clogging of saturated soils and aquifer materials: evaluation of mathematical models, *Water Res. Res.* 31 pp. 2173-2180 (1995)
- Voice, T. C., Pak, D., Zhao, X., Shi, J. and Hickey, R. I.: Biological activated carbon in fluidized bed reactors for the treatment of groundwater contaminated with volatile aromatic hydrocarbons, *Water Res. Res.* 26, pp. 1389-1401 (1992)
- Wang, Z. P., DeLaune, R. D., Masscheleyn, P. H. and Patrick, W. H. Jr.: Soil redox and pH effects on methane production in a flooded rice soil, *Soil Sci. Soc. Am. J.* 57, pp.382-385 (1993)
- Wanner, O. and Gujer, W.: A multispecies biofilm model, *Biotech. Bioeng.* 28, pp.314-328 (1986)
- Whitefield, C.: Bacterial extracellular polysaccharides, *Can. J. Microbiol.* 34, pp.415-420 (1988)
- 柏淵辰昭・宮地直道・神山和則・柳谷修自：美唄湿原の水環境の特徴と保全，*土肥誌* 65, pp. 326-333 (1994)
- 川口桂三郎（編）：水田土壌学、講談社，pp. 23-55 (1978)
- 中野政詩：土の物質移動学、東京大学出版会，pp. 79-83 (1991)
- 中野政詩・宮崎毅・塩沢昌・西村拓：土壌物理環境測定法，東京大学出版会 (1995)
- 西尾道德：土壌微生物の基礎知識、農山漁村文化協会 (1989)

- 宮崎毅・粕淵辰昭・長谷川周一：シングル、ダブルおよびデュアルガンマ線源による土壌と水の測定法，農土論集 119，pp. 29-37 (1985)
- 宮崎毅・中野政詩・塩沢昌・井本博美：土壌微生物が土の透水係数に及ぼす影響について，農土論集 155，pp. 69-76 (1991)
- 宮崎毅・西村拓：非相似多孔質体モデルを用いた土壌のスケーリング手法，農土論集 174，pp. 41-48 (1994)
- 本村悟：水田土壌中における 2 価鉄の行動とその役割について，農技研報告 B21，pp. 1-114 (1969)
- 八木一行：土壌生態系のガス代謝と地球環境 2、水田からのメタン発生、土肥誌 62，pp. 556-562 (1991)
- 八幡敏雄：研究の資料と記録 第 10 集、東京大学農学部土地改良研究室，pp. 1-32 (1960)

## 謝辞

この論文は、平成5年4月に著者が東京大学大学院に入学してから、平成9年度までの5年間、大学院生として環境地水学研究室にて行った研究の成果をまとめたものです。その間、多くの方にお世話になりました。

指導教官の中野政詩教授には、知りたいこと、測定したいことがあれば、どんなに困難に思えても何とかしてそれを実現させることが研究であることを教えられ、私の興味のおもむくまま、自由に研究をさせて戴きました。本年度で定年退官となりますが、研究者としても教育者としても大変に評判の高い中野先生の指導を受けることができ、その評判の高さが間違いのないものであったことを日常の指導を通して実感することができたことを、誇りに思っています。

宮崎毅助教授には、研究の楽しさを教えて戴きました。研究の話を見せて戴いているときの宮崎先生は、とても楽しそうです。井本博美技術官には、実験装置の作成や、実験中に困ったときには、常に相談をさせていただきました。現筑波大学の塩沢昌助教授と、現東京農工大学の西村拓講師には、貴重な助言を戴きました。高知大学農学部佐藤泰一郎助手には、論文を書く際に相談をさせて戴きました。

審査員の中村良太教授、佐藤洋平教授、山路永司助教授には、貴重なコメントを戴きました。

松本聡教授をはじめとする応用生命化学専攻の土壌学研究室の方々には、希釈平板法およびグルコース濃度測定の際にお力をお借りしました。特に、妹尾啓史助手には、希釈平板法を基本から丁寧に教えて戴きました。また、小柳津広志教授には、寒天培地上のコロニーを見ていただき

ました。博士課程を修了された江鷹さんには、同じ研究テーマを持って  
いることもあり、貴重なアドバイスを戴きました。江さんの学位論文(Jiang  
and Matsumoto, 1995)は、本研究の貴重な参考文献となりました。

元農学部附属農場、現筑波大学の坂井直樹教授には、試験用水田を快  
く使わせて戴きました。走査型電子顕微鏡撮影に際しては、植物病理学  
研究室の奥尚助手に、細かい手ほどきを戴きました。

米ニューヨーク州 Cornell 大学の Philippe Baveye 助教授には、この論  
文中にも引用している文献の別刷りを送って戴き、共同研究のお誘いも  
受けました。今後、Cornell 大学との共同研究ができれば素晴らしいと思  
います。

環境地水学研究室の大学院生、学生、卒業生の皆さんには、直接的、  
間接的に様々な支援をして戴きました。また、この論文は父と母の支え  
なしには完成しませんでした。心から感謝いたします。

1998 年 2 月

関 勝寿

関 勝寿 (<http://www.keiyo.com/seki/>)  
1970 年東京都に生まれる。1993 年東京大学  
農学部農業工学科卒業。1998 年東京大学学  
院農学生命科学研究科博士課程修了見込。ハ  
ソコン通信の大手ニフティサーブの特撰&チ  
ェスフォーラム(FSHOGI)で遊ぶ彼は、将棋と  
チェスとパソコンをこよなく愛している。本  
論文執筆時点で所有している電子メールアド  
レスを記す。

seki@keiyo.com

sekik@tka.att.ne.jp

qvd01516@niftyserve.or.jp



博士論文

「土壌微生物による土壌の透水性変化に関する研究」

1997 年 12 月 22 日 第 1 刷発行

1998 年 3 月 31 日 第 3 刷発行

著 者 関 勝寿

発行所 環境地水学研究室

〒113-8657 東京都文京区弥生 1-1-1

東京大学大学院農学生命科学研究科

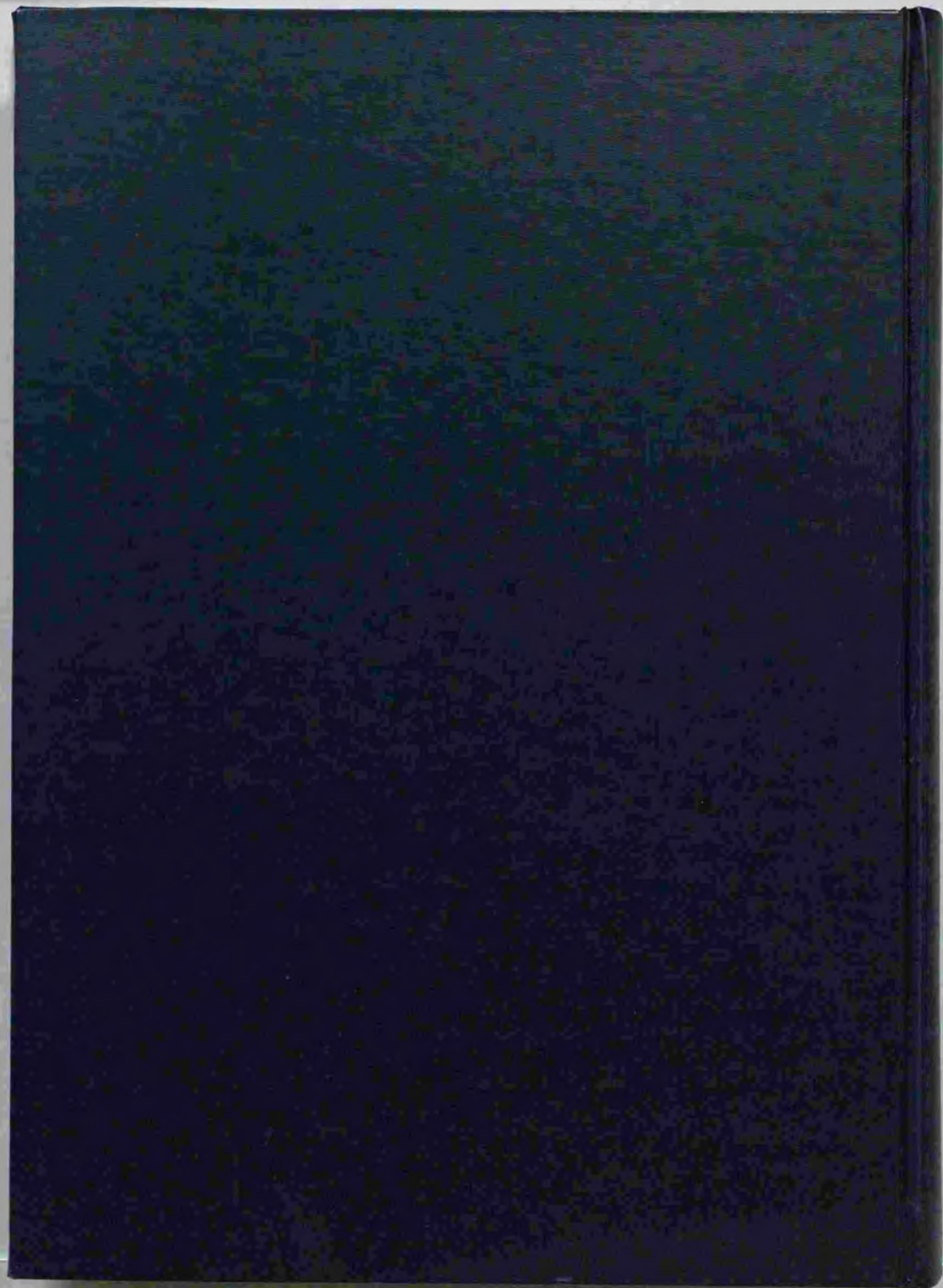
生物・環境工学専攻

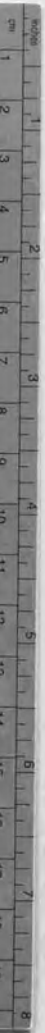
電 話 03-3812-2111 ext.5374

FAX 03-5684-0297

Printed in Japan







# Kodak Color Control Patches

© Kodak, 2007 T.M. Kodak

Blue      Cyan      Green      Yellow      Red      Magenta      White      3/Color      Black



## Kodak Gray Scale



© Kodak, 2007 T.M. Kodak

A    1    2    3    4    5    6    M    8    9    10    11    12    13    14    15    B    17    18    19

