(1999年7月2日受付・2000年4月14日受理)

炭素繊維集合体の形態と微生物固着量との関係

群馬県繊維工業試験場 佐藤 誠・山田徹郎・篠原正人・上石洋一
東海大学総合科学技術研究所 大谷杉郎
群馬工業高等専門学校 小島 昭

Relationship between the Carbon Fiber Strands Assembly and the Amount of Attached Microorganism

Makoto Sato^{*1}, *Tetsurou Yamada*^{*1}, *Masato Shinohara*^{*1},
Youichi Kamiishi^{*1}, *Sugio Otani*^{*2}, and *Akira Kojima*^{*3}

^{*1}Textile Research Institute of Gunma Prefecture, 5-46-1 Aioi-cho, Kiryu, Gunma, 376-0011, Japan

^{*2}Research Institute of Science and Technology, Tokai University, 2-28 Tomigaya, Shibuya-ku, Tokyo, 151-0063, Japan

^{*3}Gunma National College of Technology, 580 Toriha-cho, Maebashi, Gunma, 371-0845, Japan

Abstract : Relation between the form of assembly of carbon fiber strands and the amount of attached microorganism was studied by using an artificial waterway set up at the side of the pond AZAMI. A variety of rectangular sail-type carbon samples were prepared by arranging a definite number of the strands (N) in parallel to each other in width of A cm and in length of B cm. These samples were placed on a setting frame with a length of L_0 , and then immersed in the circulating water pumped up continuously from the pond during the period of each four months in winter and summer. The amount of microorganism attached and proliferated in carbon fiber entanglement network was evaluated by weight increase (W_{inc}).

It was found that W_{inc} depends on the relative length, B/L_0 and the value of N/A , namely, compactness of the strand consisting of 12,000 monofilaments. The former value was closely related to easy separation of the strand into monofilaments that gives rise to an increase in effective surface area of carbon fibers for initial attachment of microorganism, while the latter was a function of an effective volume of network in water for proliferation of microorganism. A suggestion obtained was, further, that aerobe microorganism was preferential species within the carbon fiber network perturbed by water flow which leads to an increase in the rate of exchange of water in the network and this probably be related to the high bending modulus of carbon fiber filament. A most preferable result for proliferation of microorganism was obtained at the condition of $B/L_0=1.4$ and $N/A=2.7$, and the average distance between neighboring carbon monofilaments entrapped in the aggregates of microorganism reached to about $750\mu\text{m}$ corresponding to ca. 100-folds of the diameter of carbon monofilaments.

(Received 2 July, 1999 ; Accepted 14 April, 2000)

1. 緒 言

炭素材料は生物親和性が高いことから人工心臓弁として使用されている[1,2]. 最近, 炭素繊維(CF)に活性汚泥が大量かつ迅速に固着する現象が小島らによって見出されたことから[3], CFを微生物担体として用いた水環境保全に関する研究が行われるようになった[4,5]. CFを配置した水槽に, ため池の水を汲み上げ, 循環させることによって透視度が向上し, CODやアンモニウム態窒素濃度が低下することが小島らにより報告されている[6]. 山田らはCFに活性汚泥が固着する際の初期段階を検討し, 固着物には2種類あることを報告した[7]. 白石らは海水中に配置したCFに海藻類が高度に付着する現象を確認している[8].

これらの実験に用いられたCFはすべてストランド状であったが, 試料の形態についての系統的研究は見られない. CFを微生物担体とした水環境保全技術を確立するには水環境に適応した試料の形態があると考えられる. たとえば, 流速の大きい河川水や流れの少ない沼水, 湖水などの水質浄化, 浄化槽での汚水処理, 藻場や魚礁など, 使用目的に対してそれぞれ水の動きに応じたCF試料の形態があると思われる.

本報では, 編織物の製造技術を応用して, 水中での繊維の動き易さを考慮した各種の形態が異なるCF試料を調製した. これらを, 沼水を汲み上げた水質浄化水槽内に設置し, 一定の流速の下で冬期および夏期の長期間にわたって試料に固着増殖する微生物の量を測定し, CFの形態が固着量にどのように関係するかを検討した.

2. 実験方法

2.1 CF試料の作製

12,000本のモノフィラメントからなるPAN系CFストランド(東邦レーヨン(株)HTA-12K)を用いて, 横巾AcmのCFの平織物を製織後, 横糸を織布から抜き取り縦糸だけを残すことにより平行配列したCF試料を作製した. 織物の縦方向に所定の間隔(Bcm)で, CFに代えて横糸にポリエステル糸を使い縦方向に約5cm織り込んだ後, でき上がった織物を上下端にポリエステル部分を残すように裁断した. また, 縦糸として用いるCFストランド数(N)を変化させて製織した. このようにして, 横巾(A)および長さ(B)の種々の形態が異なるCF試料や配列充填密度を異にする試料を作製した. 試料は, あらかじめアセトン中に室温, 90分間浸せしCF表面に存在するサイジング剤をほぼ完全に除去した後, 微生物固着実験に用いられた. 脱サイジングした試料は水槽中の固定枠にポリエステル部分を介してしっかりと固定された. 多量の微生物が固着

しても, また長期間の実験を通して試料からCFモノフィラメントが抜け落ちることはなかった. 実験は冬期(Wシリーズ)と夏期(Sシリーズ)に実施した. 前者では1997年12月から1998年3月まで, サンプルは各月の第3週目に行った. また後者では1998年4月から8月まで, サンプルは各月の第2週目に行った.

2.2 水質浄化水槽

Fig.1(a)に水質浄化水槽の構造と試料の設置図を示す. 水槽は(b)に示されるようなコンクリート製U字溝(幅30cm, 深さ30cm, 長さ2m)6個を長方形に接続し, 全長約12m, 容積約900Lとし, 阿左美沼(沼表面積約12万 m^2 ; 群馬県新田郡笠懸町)の沿岸に設置した. ポンプによって沼水を水槽内に汲み上げ, 送水扇で水を水路内に循環させ, オーバーフローにより排出させた. 流入量は6.25L/min, 水路内の表面流速は16cm/sec, 滞留時間は144分であった. 種々の形状の異なるCF試料は水槽内の①から②の範囲に一定の間隔で無作為に設置された. 冬期の総CF重量は434g, 夏期は202gであった.

2.3 微生物固着量の測定

試料に固着した微生物量は, 重量増加, W_{inc} によって

Fig. 1 Schematic representation of circulating waterway: (a) over view, (b) cross-sectional view.

評価された。1 ヶ月に一度試料を実験槽から引き上げ、過剰な水分を除去するため5分間静置水切り後の重量、Wを測定した。微生物固着量、 W_a は、(1)式により求めた。

$$W_a(\text{g/g}) = W_{\text{inc}}/W_0 \quad (1)$$

ここで、 $W_{\text{inc}} = W - W_0$ また、 W_0 は試料中のCF部分の重量である。W値を求めるにあたっては、あらかじめ試料重量を湿潤状態で測定し、試料の両端末にあるポリエステル部分の重量補正を行い決定した。

2.4 水質分析

水槽の流入口と流出口で水を採取し、JIS K 0102による水質分析法に準じて、透視度、アンモニウム態窒素濃度($\text{NH}_4\text{-N}$)、亜硝酸態窒素濃度($\text{NO}_2\text{-N}$)、硝酸態窒素濃度($\text{NO}_3\text{-N}$)およびリン酸態リン濃度($\text{PO}_4\text{-P}$)の測定を行った。

3. 実験結果および考察

3.1 CF試料への固着微生物種と微生物量との関係

3.1.1 冬期

Table 1に冬期実験に用いられたCF試料(1W~5W)の重量 W_0 、巾A、長さBおよび巾Aに含まれるストランド数Nを示す。浸せき期間とCF1g当たりの固着量 W_a との関係をFig. 2に、また W_{inc} との関係をFig. 3に示す。 W_a はいずれの試料に対しても浸せき時間が増加すれば増加することがわかる。そして最大固着量 $W_{\text{inc,max}}$ が2Wの試料ではCF重量の約60倍以上に達することは注目に値する。また、初期の固着速度が大きければ、冬期全期間を通じて試料への固着量が高いことがわかる。微生物の固着量は増殖と水流によるせん断はく離により決まるとされているが、以上の事実から微生物種の増殖による固着力の低下に起因するはく離の重量増加への影響は余りないように思われる。

ここで、Fig. 4(a), (b)および(c)にそれぞれ浸せき前、水中3ヶ月間浸せきおよび5分間静置水切り後の試料5W

の状態を示す。水中では、(a)に見られるCFストランドはモノフィラメントに分離分散し、それに粘着性の微生物が固着し、水流により揺らいでいる様子が観察された。水中から引き揚げられた試料(c)には、表面全体を覆うほど多量の微生物が固着していることがわかる。

微生物膜モデルによれば固体表面上に生成される生物膜は溶存酸素濃度の高い拡散層と接している好気性細菌、それに続く硝化菌、脱窒菌、嫌気性細菌のさまざまな微生物集団が存在し、溶存酸素濃度は前二者の領域内で急激に減少し、後二者では0となることが報告されている[9]。Fig. 4(b)で観察された固着微生物は、深緑色で粘性が高く、好気性微生物が優勢であった。この実験期間において固着物の性状はほとんど変化しなかった。このこ

Fig. 2 Relationship of W_a for various carbon fiber samples versus immersion period in water. Here, W_a was defined by the weight of attached microorganism per gram of carbon fiber. The sample number designed on each curve is the same as listed in Table 1.

Table 1 Characteristics of carbon fiber samples used in the period of winter.

Samples	CF weight	Width A (cm)	Length B (cm)	Number of strand					a (μm)
	W_0 (g)			N	N/A^b	$W_{\text{inc,max}}^c$			
	(g)	(cm)	(cm)	(strand)	(strand/cm)	(g)			
1W	7	23	40	30	1.3	380			550
2W	8	30	35	33	1.1	486			600
3W	8.4	23	45	30	1.3	370			520
4W	14	23	40	60	2.6	570			480
5W	17	23	45	60	2.6	780			530

^{a)}Relative length of the sample.

^{b)}Compactness of the fibers arranged in lateral direction of carbon fiber sample.

^{c)}Maximum value of weight increase during the winter.

Fig. 3 Relationships of W_{inc} for various carbon fiber samples versus immersion period in water. Here, W_{inc} was defined by weight increase in gram.

とは、CFへの微生物の固着が特異的であり、CF集合体は多量の固着物が存在しても固着物の増殖を阻害しない好気的な環境を与えていることを示唆している。

試料1W、2Wおよび3Wの間で W_0 およびN値に大きい差はないにもかかわらず、 W_a 値は $2W > 1W > 3W$ の順に減少していることがわかる (Fig. 2)。これは、試料の長さBに関係しているように思われる。試料固定棒の長さ L_0 に対して、試料の相対的長さ B/L_0 を取ると、Table 1に示されるように固着量は、この相対的長さの順に減少していることがわかる。 B/L_0 が1.6以上の場合、試料は流れに対して傾斜しCFフィラメントが個々の単繊維に近い状態にまで分離せず、相互に凝集して、繊維表面積を減少させ、初期の微生物固着が抑制される結果、 W_a 値が小さくなると思われる。試料4Wおよび5Wは配列充填密度N/Aが試料2Wの約2.4倍も大きいので両者を直接比較することはできないが、重量増加量、 W_{inc} で比較すると、興味ある問題を内在していることがわかる。Fig. 3に見られるように試料5Wおよび4Wは総固着量に対しては、むしろ他の試料に比較して大きく、5Wでは3ヶ月後780gに達している。前述したように、微生物固着はCF表面への最初の固着に影響されるが、そのみならず、その増殖速度はCF集合体の水流によるCFのもつれやかみ合いによってできる網目の形成状態にも依存すると考えられるので増殖因子は、CF1g当たりの固着効率 W_a としてよりは、むしろ W_{inc} と浸せき時間との関係に基づいて微生物固着と繊維集合体との関係を検討する方がより合理的であるように思われる。

Fig. 4 Appearances of the carbon fiber sample (5W) with and without microorganism: (a) carbon fiber sample consisting of 60 fiber strands arranged in parallel to each other, (b) the sample containing a large amount of microorganism in water for three months in winter, and (c) the sample containing attached microorganism after removing of an excess water by standing for 5 min.

3.1.2 夏期

夏期には冬期以上の固着量と微生物増殖が期待されるので、冬期の実験結果で得られた、より好ましい条件である試料の長さBを35cm ($B/L_0=1.4$)に設定し(ただし、4Sは43cm)、AおよびNを変化させたCF試料を作製して実験を行った。用いた試料の特徴をTable 2に示す。

4月から5月にかけて固着・増殖した微生物種は冬期間中に見られたものと同じく粘性的性状を維持していたが、気温の上昇と共に6月頃から種の交代がはじまり8月頃には繊維状のアオミドロなどの緑藻類が優占種にとって代わった。しかし、大体の傾向として、冬期のそれと同様初期の固着速度が高い試料は、種の交換が行われても高い固着量を維持していることがわかる。粘性のある微生物と植物性の繊維状緑藻類とを比較すると、CFは前者に対してより高い親和性をもつことが示唆される。

Fig.5に浸せき1ヶ月後の5月に取り出した炭素モノフィラメント繊維上に固着した微生物を急速凍結した状態の電子顕微鏡写真を示す。直径 $7\mu\text{m}$ (点線で指示)の繊維表面に沿って増殖した親和性の高い微生物(白く見える)を観察することができる。

Fig.6および7に W_a および W_{inc} と浸せき期間との関係を示す。試料1Sと2Sは W_0 即ち、N/A値を変化させたものである。最大固着量を示した5月の W_a 値について両者を比較すると、1Sでは約66g/g、2Sは約30g/gで、これは1Sのその約1/2に相当している。 W_{inc} で比較すれば、両者は約400gで両試料中にはほぼ同量の微生物が増殖していることになる。このことから、微生物の最初の固着はCFの有効表面積に依存するが、固着してからの増殖量は、CF集合体が水流下で形成する特別な網目空間の性状に依存することを示している。Fig.8に、試料2Sに微生物が固着増殖している水中での状態を示す。枠に固定された試料

Fig. 5 Scanning electron micrograph of carbon fibers covered with the materials in May after immersion for 1 month in the circulating waterway: the dotted lines show an approximate position of a single carbon fiber with diameter of $7\mu\text{m}$, and the bar indicates $50\mu\text{m}$.

中間部は極度に膨化し、CFが形成する網目(CF網目)に多量の微生物が固着していることがわかる。N/A値が2Sのその1/2である1S試料もほとんど同じ外観を示した。試料3Sは、A値を1Sのその2倍にし、N/A値を同じに設定した試料である。試料3Sの $W_{inc,max}$ は、1Sのその2倍が期待されるが、実測値は予測される値より大きく約2.8倍を示している。この差は、試料巾が水槽巾に近接するため、CF網目による水流の局所的停滞が起これ、微生物の固着が促進されたためと考えられる。

試料4Sは試料巾Aを3Sよりさらに増加させたものであるが、増殖量は3Sのそれに比較して激減している。この

Table 2 Characteristics of carbon fiber samples used in the period of summer.

Samples	CF weight	Width	Length	Number of strand		$N/A^{b)}$ (strand/cm)	$W_{inc,max}^{c)}$ (g)	$a^{d)}$ (μm)
	W_0 (g)	A (cm)	B (cm)	$B/L_0^{a)}$	N (strand)			
1S	7	10	35	1.4	27	2.7	475	700
2S	14	10	35	1.4	54	5.4	420	460
3S	14	20	35	1.4	54	2.7	1,100	750
4S	21	28	43	1.7	56	2.0	400	400
5S	23	35	35	1.4	72	2.1	760	540

^{a)} Relative length of the sample.

^{b)} Compactness of the fibers arranged in lateral direction of carbon fiber sample.

^{c)} Maximum value of weight increase during the summer.

^{d)} Average distance among the neighboring carbon monofilaments entrapped in the aggregates of microorganism amounting to a maximum weight increase.

Fig. 6 Relationship of W_a for various carbon fiber samples versus immersion period summer. Here, W_a was defined by the weight of attached microorganism per gram of carbon fiber. The sample number designed on each curve is the same as listed in Table 2.

Fig. 7 Relationships of W_{inc} for various carbon fiber samples versus immersion period in water. Here, W_{inc} was defined by weight increase in gram.

ことは、すでにWシリーズの結果から明らかなように長さBが43cmと水槽の深さより極端に長く ($B/L_0=1.72$) 試料中のCFストランドが水中でモノフィラメントにまで分離分散せず、固着に有効なCF表面が減少したことによると思われる。試料5Sは3Sと同じ B/L_0 値をもち試料巾を大きくかつ、 N/A 値をより小さく設計した試料である。試料3Sに相当する固着増殖量が期待されるが、 W_{inc} は3Sの

Fig. 8 Appearance of the carbon fiber sample (2S) in water, which contains a large amount of microorganism proliferated in a fiber entanglement network during the period of only a month in summer.

70%に過ぎない。このことは、CF集合体の作る網目の密度が増殖に密接に関係していることを示唆しており、 B/L_0 が一定なら網目密度は N/A によって規定されると思われる。 N/A が試料5Sのように小さ過ぎても、また試料2Sのように大き過ぎても微生物が効果的に固着し、増殖することを阻害していると推定される。

CFに固着増殖するある種の微生物は、ある振動数の超音波を出し、それが増殖の大きな因子となると報告されている[10,11]。本実験の網目空間内において、増殖能力がどの範囲までおよんでいるかを考える尺度として、最大増殖量を $W_{inc,max}$ で示したとき、微生物凝集体中で隣接する炭素モノフィラメント間の平均距離を計算しその指標とした。平均距離 a (μm) を (2) 式により計算した。ここで、試料長 B が 35cm のとき、ストランドは水中でモノフィラメントに開織され、微生物は繊維表面上に均一に固着し、増殖を繰り返した結果生成した微生物凝集体中に擬六方充填的にCFモノフィラメントが分散していると仮定し (2) 式を得た。

$$a = 10^5 \left(\frac{2}{\sqrt{3}} \frac{W_{inc}}{dn NB} \right)^{\frac{1}{2}} \cong 1000 \left(\frac{W_{inc}}{NB} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (2)$$

ここで、水中における微生物の密度 d を $1g/cm^3$ と仮定した。 n はストランド中のモノフィラメント数で 12,000 である。Table 2 に計算した結果を示す。配列充填密度、 N/A 値が 2.7 の試料3Sでは隣接するCF間距離はモノフィラメントの直径の約100倍以上にも達している。このことは、最初CF表面に固着した微生物が網目空間内で相互作用し増殖を続けることができる範囲を示唆している。試料5Sのよ

うに、N/A値が小さい場合には、形成される網目密度が小さく、繊維間距離が離れ過ぎ、相互作用効果が減少した結果 a 値は繊維直径の約80倍にとどまったと考えられる。これに対して、試料2Sでは高い密度をもつ網目が形成されると期待されるにもかかわらず a 値が異常に小さい。これは、網目密度が高過ぎるため、微生物の増殖に伴って増加する体積に繊維網目の拡がりが追従できず、微生物の自由な増殖空間が減少したことによると思われる。いずれにしてもN/Aで規定される網目密度は、微生物の増殖率を支配する因子であることは明らかである。また、CF集合体内では、冬期および気温の低い夏期では、好気性微生物が大量に増殖することが見い出されたが、これは、CFが高い曲げ弾性率を持つことに深く関係しているように思われる[12]。すなわち微生物を包蔵している網目は、水流によるゆらぎを受け屈曲しても直ちに元の位置に回復する。したがって、攝動を受ける網目内では新しい水との交換が常に行われ好気的環境が定常的に維持されているように思われる。

3.2 水質分析

冬期および夏期における、処理水の分析結果をTable 3に示す。水温は、1~3月に比較して、5月で10℃以上も急激に上昇し、微生物種の交代が始まった時期と一致することがわかる。透視度の変化も5月が最も大きく、しかも処理前よりも著しく改善されていることがわかる。5月を除いては著しい変化は見られなかった。NH₄-NおよびNO₂-N濃度は、検出限界以下であった。これは、沼の表面積が大きく、かつ水深が浅いためにNH₄-Nは、沼水中の好気性菌によってNO₃-Nまで十分に酸化されているためと思われる。NO₃-N濃度は、処理により1月から3月まで0.04から0.13mg/Lと徐々に改善された。これは嫌気雰囲気で行われる脱窒反応が進行したと思われる。しかし、改善の程度が小さいのは好気的微生物の増殖が優先しているに関係していると思われる。また夏期においてもこの傾向は変わらず、改善の程度は、冬期と

Table 3 Water quality before and after treatment.

	Winter			Summer	
	Jan.	Feb.	Mar.	May.	Aug.
Water Temp.(℃)	5.0	6.0	7.0	18	25
Transparency (d)					
Raw water	18	16	35	64	17
Effluent	18	18	38	>100	15
NO ₃ -N (mg/L) ^{a)}					
Raw water	0.69	0.73	0.73	1.02	1.42
Effluent	0.65	0.67	0.60	0.84	1.29

^{a)}NO₃-N : nitrate-nitrogen

比較して大差ないことがわかった。

4. 結 論

1. CF集合体に固着・増殖する微生物は、集合体の作る好気的環境で冬期および夏期のいずれの時期でも多量の固着量を与える。
2. 固着量はCFストランドが水流により分離分散し表面積が増加すると増加し、CFモノフィラメントのからみ合いで生じる網目の有効体積が増殖する微生物量に関係することがわかった。
3. CFを長方形に配列した帆型の形態をもつ試料では、試料の固定枠に対する相対長さおよび配列密度が固着量の関数であることがわかった。
4. 実験した最適の条件では、固着・増殖した微生物中で隣接したCFモノフィラメント間距離は約750μmと計算され、モノフィラメントの直径(7μm)の約100倍以上に達することがわかった。

謝 辞

本研究は平成9年度から3年間の委託事業である、地域コンソーシアム研究開発「CF軟組織を用いた水環境整備技術の開発」のもとに行った。本実験を行うにあたり、CF集合体を試作していただいた、桐生織物協同組合インテリア資材部会(柿文織物㈱、共立織物㈱、小林当織物㈱、佐啓産業㈱、金子織物㈱)、(有)櫻井医科器研究所および、実験場所をご提供いただいた桐生市、関東開発をはじめ関係各位に御礼申しあげます。また、論文作成にあたりご討論をいただいた、群馬県繊維工業試験場客員研究員新井幸三先生に深く感謝いたします。

文 献

1. G. M. Jenkins, *Carbon*, **15**, 355(1977).
2. 花田棹治, 浅野献一, 化学と工業, **34**, 93(1981).
3. 小島昭, 桜井義孝, 大谷杉郎, 日本学術振興会炭素材料117委員会 第243回会議, C1(1995).
4. 平成9年度地域コンソーシアム研究開発事業「地域コンソーシアム分野」CF軟組織への微生物固着現象を利用した水環境整備技術の開発(略称:炭素水環境プロジェクト)(第1年度)成果報告書, 新エネルギー・産業技術開発機構, 管理法人「群馬地方発明センター」, 工業技術院資源環境技術総合研究所
5. 平成10年度地域コンソーシアム研究開発事業「地域コンソーシアム分野」炭素繊維軟組織への微生物固着現象を利用した水環境整備技術の開発(略称:炭素水環境プロジェクト)(第2年度)成果報告書, 新エネルギー・産業技術開発機構, 管理法人「群馬地方発

- 明センター」, 工業技術院資源環境技術総合研究所
6. A. Kojima, H. Matsumoto, A. Nagashima, N. Hirano, S. Otani, *Proceeding of International Symposium on Carbon*, 1998, 354
 7. 山田徹郎, 佐藤誠, 上石洋一, 大谷杉郎, 小島昭, 織学誌, **54**, 11, 591(1998).
 8. M. Ooishi, M. Shiraishi, S. Otani, *Proceeding of International Symposium on Carbon*, 1998, 464
 9. 原田英樹ら, 用水と廃水, **39**, 701-708(1997).
 10. M. Matsuhashi, A. L. Pankrushina, K. Endoh, H. Watanabe, Y. Mano, M. Hyodo, T. Fujita, K. Kunugita, T. Kaneko, S. Otani, *J. Bacteriol.* **177**, 688-693(1995).
 11. M. Matsuhashi, K. Endoh, A. L. Pankrushina, H. Watanabe, H. Yamamura, M. Komiyama, S. Endo, M. Tobi, H. Ohshima, Y. Mano, M. Hyodo, T. Kaneko, S. Otani, *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **43**, 225-230(1995).
 12. 大谷杉郎, 奥田謙介, 松田滋, 「炭素繊維」, 近代編集社, p.231(1986).