

II-526 浸漬型付着生物膜内の細菌に関する基礎的研究

京都大学工学部 学生員 ○陳 光浩 正員 尾崎博明 正員 寺島 泰
 (株) 鴻池組 宮崎勇人

1.はじめに

生物膜法による有機物と窒素の同時除去機構を明らかにする上では、付着生物膜内の深さ方向の他栄養性菌、硝化菌、脱窒菌の細菌密度とそれらの菌による基質除去反応活性度の分布を把握することが重要である。回転円板付着生物膜においては、増田ら¹⁾が膜深さ方向に細菌数および上記活性度の分布を調べたが、浸漬型付着生物膜については、これらの分布を調べる研究があまり行われていない。本研究では、このような生物膜内の膜深さ方向の他栄養性菌、硝化菌、脱窒菌の細菌密度と基質除去の活性度の分布について実験的に検討を行った。

2.実験装置と実験方法

図-1に示すような浸漬型の回転円板を装着した実験装置（円板直径15cm、回転速度13rpm、容量8ℓ）に、酢酸と塩化アンモニウムを主成分とする人工下水を流入させ、生物膜の培養を行った。約二カ月後、処理水質はほぼ安定し、CODcr、NH₄-NおよびT-Nの除去率としてそれぞれ90%、90%、80%の値を得た。その時点から、生物膜

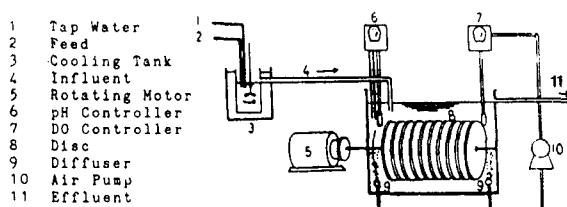


図-1 浸漬型回転円板生物膜実験装置

生物膜を支持体の一部分から採取し、そのままマイクロ

スライサー（小松電気社製）で表面から5～20μmの厚さにスライス状にカッティング(cutting)した。カッティングした膜片を表層部（表面から330μmまで）、中層部（330～660μm）と底層部（660～1067μm）の三グループに分け、それぞれのグループをホモジナイザーで7.5分間分散、均一化したのち、各グループ中の他栄養性菌、硝化菌、脱窒菌を計数した。他栄養性菌の計数については酢酸と酵母エキスを主成分とするAY培地²⁾を用いて10倍希釈平板培養法³⁾（30℃、9日間）によった。また、硝化菌と脱窒菌の計数は最確数法(MPN法)³⁾によった。なお、培養条件については、アンモニア酸化菌が30℃、30日間で、亜硝酸酸化菌が30℃、40日間であり、脱窒菌が30℃、9日間であった。

各菌の計数を行うとともに、上記の三グループから一定量の試料を採取し、各グループごとに有機物酸化、硝化および脱窒に関する回分実験を行い、それらの反応の最大比除去速度を求めた。ここでは反応活性度を最大比除去速度で表わすこととした。酸化と硝化の回分実験については、試料とともに、前者の場合では一定量の酢酸のみを、また後者の場合には一定量の塩化アンモニウムと重炭酸塩のみを加えた反応液をそれぞれDOセンサーを備えた二つの反応器（容量102mL）に封入して密閉下で行った。なお、上記の三グループから採取できる試料が少ないため、これらの実験においては反応器中のCODやNH₄-N濃度の経時変化を追跡するのではなく、DO濃度の経時変化を測定することにより、各反応中の最大比酸素消費速度を求め、それらの値に酸化、硝化に必要な酸素消費量の変換係数を乗じて有機物酸化と硝化反応の活性度をそれぞれ計算した。脱窒の回分実験については試料とともに一定量の硝酸ナトリウムと十分量の酢酸のみを加えた反応液を容量150mLの反応器に封入し、窒素ガス曝気下で反応器中のT-Nの経時変化を測定し、脱窒反応の活性度を求めた。各実験終了後、反応器中のMLSSを測定した。なお、上記の回分実験はすべて20℃の恒温室において行った。

3.結果と考察

3.1 生物膜内の細菌密度分布 図-2に生物膜内における他栄養性菌、アンモニウム酸化菌、亜硝酸酸化菌および脱窒菌の膜深さ方向の細菌密度の分布状態を示す。この図より、全膜において各菌は十分混在しており、浸漬型の付着生物膜においては膜内のあらゆる部分に有機物と窒素の同時除去反応が生じる可能性があることが明らかになった。この結果は回転円板の付着生物膜において得られたもの¹⁾と一致する。この図においては、他栄養性菌は全膜にほぼ均一に存在したが、亜硝酸酸化菌と脱窒菌は膜底層部ほど多く、一方、アンモニア酸化菌は中層部がやや少な

い。全体としては各菌とも底層部において最も多い。なお、細菌数については最適条件で培養測定したものであり、生物膜内の潜在的細菌数を示すものと言える。

3.2 生物膜内の細菌活性度 図-3に表層、中層、底層部の有機物酸化反応に消費されるDO濃度の経時変化を示す。これらの経時変化から求めた最大比酸素消費速度に0.56($\text{mgO}_2/\text{mgCOD}$)の変換係数⁴⁾を乗じて各層部の有機物酸化反応の活性度を計算した。その結果表層、中層、底層部における他栄養性菌の活性度はそれぞれ95.8, 83.0, 61.7 ($\text{mgCOD}/\text{mgSS} \cdot \text{hr}$)となり、表層部ほど高いことがわかった。図-4は各層部の硝化反応に消費されるDO濃度の経時変化を示している。上記のようにこの図より求めた最大比酸素消費速度に4.33(mgO_2/mgN)の理論値を乗じて各層部の硝化反応の活性度を計算したところ、表層、中層、底層部の順にそれぞれ3.3, 3.1, 2.4 ($\text{mgN}/\text{mgSS} \cdot \text{hr}$)であり、有機物酸化反応のそれと同様に表層部ほど高いことが明らかになった。図-4と図-5を合せると、浸漬型の付着生物膜内においては有機物酸化と硝化反応の活性度とも表層部に最も高い結果が得られた。これは膜の表層部ほど酸素が供給されやすいためと考えられる。

図-5は各層部の脱窒反応におけるT-Nの経時変化を示している。この図より求めた表層、中層、底層部の脱窒反応の活性度はそれぞれ2.5, 3.1, 3.5 ($\text{mgN}/\text{mgSS} \cdot \text{hr}$)であり、底層部ほど高くなる。なお、表層、中層、底層部の膜密度はそれぞれ45, 50, 63 mgSS/cm^2 であった。

4.まとめ

本研究では浸漬型の付着生物膜内の細菌密度と基質除去活性度の分布を調べて、次のような結果が得られた。(1)全膜においては各菌が十分混在しており、他栄養性菌はほぼ均一に存在したが、亜硝酸菌と脱窒菌は底層部ほど多く、全体として各菌とも底層部に最も多い。(2)生物膜内においては有機物酸化と硝化反応の活性度は膜表層部ほど高く、一方、脱窒反応の活性度は底層部ほど高くなる。(3)生物膜の密度は底層部ほど大きい。

最後に本研究に多大な協力を頂いた本学農学部古沢 嶽助教授、彭 友良氏に謝意を表します。

参考文献 (1) 増田ら、下水道協会誌、Vol.24, No.278, pp19-31, (1987) (2) 中村ら、第21回水質汚濁学会講演集、pp21-22, (1987) (3) 土壤微生物研究会編、土壤微生物実験法 (1979)

(4) Chen et al, 14th Inter. Conf. of IAWPRC (1988)

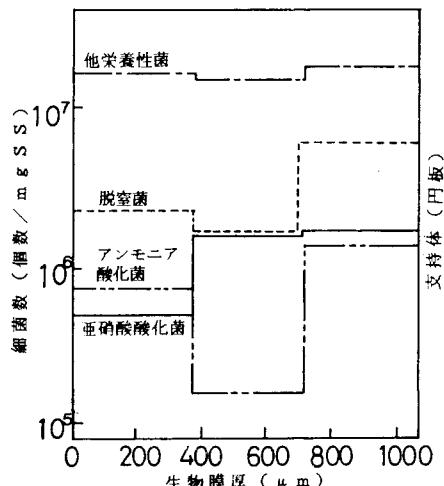


図-2 生物膜内の細菌密度分布

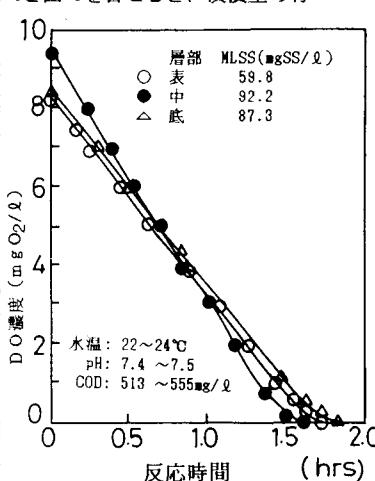


図-3 各層部の酸化回分実験

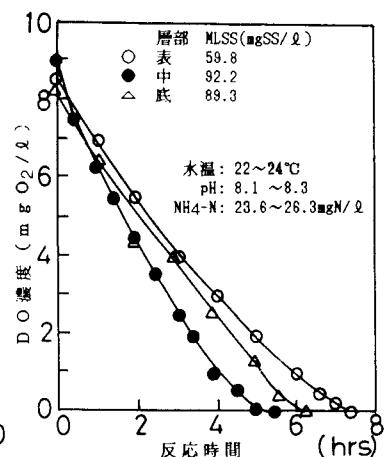


図-4 各層部の硝化回分実験

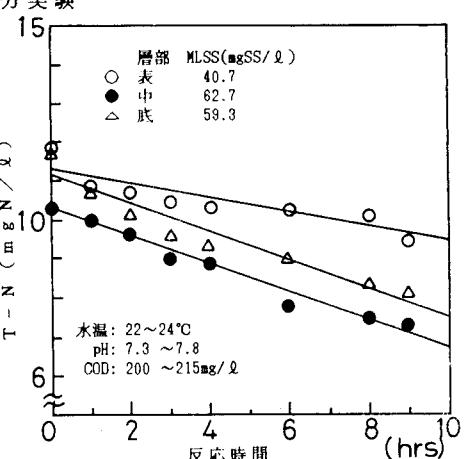


図-5 各層部の脱窒回分実験