

II - 599

微小電極による嫌気性微生物集塊内のpH及びグルコース濃度勾配の測定

三機工業㈱

○正 野上和宏

長岡技術科学大学工学部

正 原田秀樹, 正 桃井清至

1. はじめに

近年、回転円盤法、接触曝気法あるいは固定床、UASB、流動床法など多様な反応器形式を用いて、微生物の自己固定化作用を利用した廃水処理法が盛んに活用されてきている。これらのプロセスでは、細胞の付着・集塊化増殖によって生物膜やグラニュールを形成させて高濃度の生物保持を達成している。生物膜やグラニュール状汚泥では細胞がきわめて密にアグリゲートしており、集塊増殖体内部では基質・生産物の拡散抵抗が増大し、浮遊増殖形態とは異なる特異的な生物学的諸特性を獲得していると考えられる。しかし、集塊化増殖体を形成することによって微生物群が実際にいかなる生態学的構造と機能を獲得しているかを把握するための有効な解析手法が現在のところ不足している。

そこで本研究では、集塊化増殖体内での *in situ* な物質代謝特性を直接的に把握するために微小電極を開発した。本報では、UASB反応器で形成されたグラニュール汚泥集塊体内での基質の消長とそれに伴うpH勾配の様相を、微小グルコース・センサーと微小pHセンサーを用いて測定した結果を報告する。

2 実験装置及び実験方法

2.1 微小pH電極：微小pH電極（Fig.1a）は先端径10 μ mに引き延ばしたガラス管先端部にイオン交換液膜を充填した。電極内部には電解質溶液を満し、Ag/AgCl wireを挿入した。また、pH電極の校正は、pHの変化に伴い生ずる起電力を測定することによって行い、各pH勾配測定の前後においてpH4.5～8.0の間で行った。pH微小電極の諸性能は、先端径約10 μ m、応答時間約2分であり、pH4～10の範囲で測定が可能であった。

2.2 微小グルコース電極：微小グルコース電極（Fig.1b）はガラス管と融合させた先端径10 μ m程度の白金線先端部に酵素膜を塗布した。これを先端径30 μ m程度に引き延ばしたガラス管先端部に充填した寒天膜中に挿入し、ガラス管内部をbuffer溶液で満たした。また、電極の校正は、参照電極との間に+0.7Vの電圧をかけ、グルコース濃度の変化に伴い生ずる電流値を電流計で測定することにより行った。グルコース微小電極の諸性能は先端径約30 μ m、応答時間約5分であり、グルコース濃度0～800 mg/ℓの範囲で測定が可能であった。

2.3 フロー・セル：実験にはFig. 2に示すような実験装置を用いた。グラニュール内のpH勾配は、フローセル内に粒径約2mmのグラニュールを設置し、pH7.8に調節した無機塩類を含むグルコース溶液（Table.1参照）を連続的に供給しながら、マイクロステージ（移動距離5 μ m）に固定した微小電極を100 μ mピッチで移動することにより測定した。

実験に用いたグラニュール汚泥は、本研究室で長期連続運転しているジュース廃水処理UASBリアクター（反応器容量175ℓ容積負荷10 kgCOD/m³/day, COD除去率約95%, 35℃）より採取し、実験条件（Table.1）の各グルコース濃度溶液に8時間以上浸漬してあらかじめ測定条件に平衡化したものを用いた。

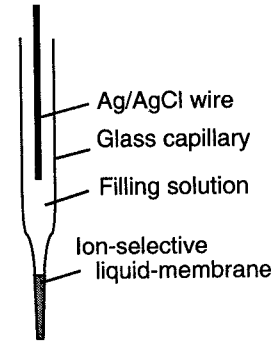


Fig.1(a) Schematic representation of the pH microelectrode.

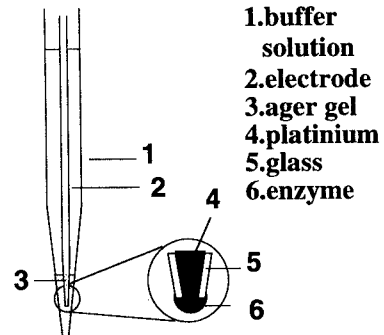


Fig. 1(b) Schematic representation of the glucose microsensor.

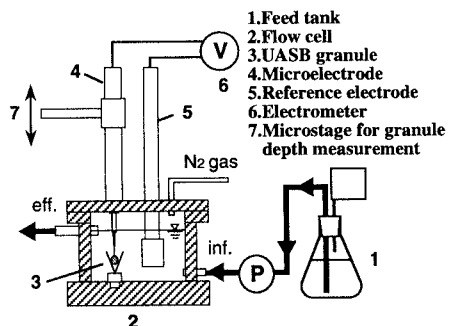


Fig.2 Experimental set-up.

3. 実験結果及び考察

Fig.3に、各バルク・グルコース濃度におけるグラニューール内pH勾配の測定結果を示す。バルク・グルコース濃度が0 mg/l のとき、グラニューール内におけるpHの変化は認められず、グラニューール中心部までpH 7.7 でほぼ一定であった。バルク・グルコース濃度50 mg/l、75 mg/l の場合は、グラニューール表面からpHが徐々に低下しそれぞれpH 7.3及び6.5 でほぼ一定となった。100 mg/l のグルコースを含む場合はグラニューール表面から500 μ m の位置までpH が低下し(pH6.1)、さらに深部ではグラニューール中心までpHが上昇した(pH6.5)。200 mg/l では800 μ mまでpHが減少し (pH5.5)、さらに深部でわずかながらpHの上昇が見られた (pH5.7)。

バルク液中にグルコースを含む場合はpHの低下が確認され、グルコース濃度の増加に伴いグラニューール内部のpHがより低下する傾向が見られたのに対し、グルコース濃度が0mg/l の場合にはpH勾配が見られなかった。このことから、グルコースからの酸生成反応によりpHの低下が引き起こされることが確認された。100 及び 200 mg/l において観察されたグラニューール中心部付近におけるpHの上昇は、メタン生成反応に伴う酸消費（アルカリ度生成）によって起こると考えられる。200 mg/l におけるpHの上昇が100 mg/l の場合に比べ小さかったのは、グルコースが消費され尽くされずにグラニューール中心部まで酸生成反応が起こり続けたこと、およびpH が5.5まで低下したことによりメタン生成反応が阻害されたためと考えられる。Fig.4に各バルク・グルコース濃度におけるグラニューール内グルコース濃度勾配の測定結果を示す。測定したすべてのグルコース濃度条件下においてグラニューールの外側200 μ m程度の位置からグルコース濃度の減少がはじまり、グラニューール内部600 μ m程度の位置までグルコース濃度が大きく減少した。

グルコース濃度勾配とpH勾配を比較すると、グルコース基質の消費に伴ってpHの低下が生じていることが確認され、ここでもグルコースからの酸生成反応によりpHの低下が引き起こされることが確認された。また、100及び 200 mg/l において観察されたグラニューール中心部付近におけるpHの上昇は、グラニューール中心部付近でグルコースが枯渇し、メタン生成反応（アルカリ度生成）のみが生じたために起こったと考えられる。

現在、グラニューール汚泥の intrinsic グルコース消費活性、酸消費活性の測定と、それに基づくグルコース勾配、pH勾配を記述するモデル構築の作業中である。

4. 結論

UASBグラニューール内においてグルコースの代謝の進行に伴うpH勾配の存在が認められ、グラニューール表面付近ではグルコースからの酸生成反応に伴うpHの低下及びグルコース濃度の減少が、中心部付近ではメタン生成反応に伴うpHの上昇が観察された。今後、生物膜等多様な微生物集塊体への適用を予定している。

Table 1 Experimental condition

substrate	temp.	bulk pH	Granule size	bulk glucose conc.	buffer strength
glucose	25°C	7.8	about 2mm	0 mg/l	0
				50 mg/l	
				75 mg/l	
				100 mg/l	
				200 mg/l	

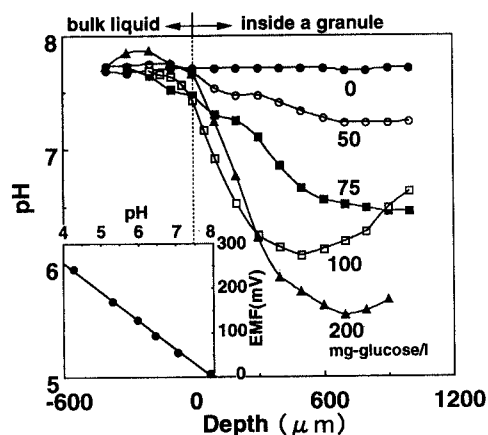


Fig.3 Measurements of pH profiles within an UASB granule .

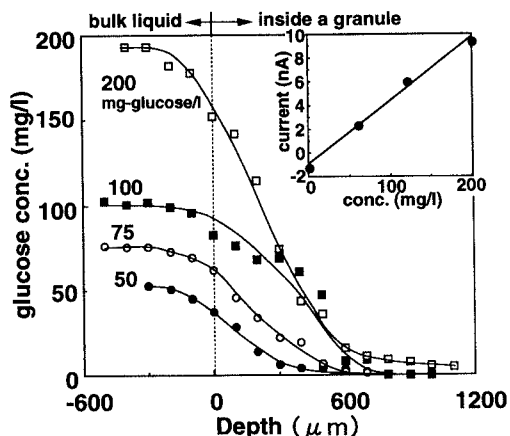


Fig.4 Measurements of glucose profiles within an UASB granule .