

VII-51 好気性処理における生物膜構造の、微生物活性度分布に及ぼす影響

北海道大学工学部 学○佐藤久 黒田浩史

北海道大学工学部 正 岡部聡 渡辺義公

1. はじめに

下水処理プロセスにおける炭素、窒素、リンの除去機構、及びこれらに関与する微生物については様々な研究がなされてきたものの、窒素と同程度含まれている硫黄の挙動については未知の部分が多い。これは、好気的条件下では、硫黄化合物は酸化されやすく、反応器内の物質収支のみでは硫黄の挙動を把握できないためである。そこで本研究では、好気性下水処理プロセスにおける硫黄の循環を解明するための基礎的実験として、生物膜の構造が微生物活性度分布（膜深さ方向の一次的な硫酸塩還元細菌、及び硫黄酸化細菌の活性度分布）、及び溶存酸素濃度分布に及ぼす影響を実験に基づき検討した。

2. 実験装置及び実験方法

実験装置は直径16cmの亚克力製円板10枚からなる半水没型回転円板槽である。これに札幌市創成川下水処理場の最初沈殿池流出水を流入し、生物膜が定常状態になるまで馴養した。円板回転数を13.5rpm、HRTを6時間とした。

生物膜深さ方向の硫酸塩還元活性度、及び硫黄酸化活性度を求めるため、マイクロスライサー（D.S.K.DTK-1000）を用いて生物膜を深さ方向に100 μ m程度にスライスし（図1参照）ホモジナイズした後、各層毎にバイアル瓶に注入し、硫化水素、及び硫酸塩の生成速度を測定した。

生物膜の構造を三次元的に観察するため、共焦点レーザー走査型蛍光顕微鏡（SCLM）（Carl Zeiss LSM-310）を用いた。光源としてアルゴンレーザーを、バンドパスフィルタとしてBP515-540（波長515nm-540nmを通す）を用いた。

微小DO電極（カソードタイプ、直径25 μ m）を作成した⁽¹⁾。曝気し、溶存酸素を一定に保った人工基質（溶存酸素217 μ M、pH8.1、水温20℃）を用いて生物膜を連続培養しながら測定を行った。微小電極をマイクロマニピュレーターに固定し、Z軸方向に25 μ m間隔で一次元溶存酸素濃度を測定した。さらにX軸、Y軸方向に100 μ mずつ移動し、30点にわたり同様の測定をくりかえし（図1参照）、これをもとに三次元の溶存酸素濃度分布を作成した。電流の測定にはピコアンペアメーター（PM-18U DC MICROVOLT-AMMETER）を用い、微小電極のキャリブレーションは基質内の酸素が飽和した部分と生物膜内の嫌気部分を用いて行った。

3. 実験結果と考察

生物膜の深さ方向各種微生物活性度分布を図2に示す。好気性細菌である硫黄酸化細菌（SOB）の活性は表層部が深層部より約2倍程度高い結果となった。また、絶対嫌気性細菌である硫酸塩還元菌（SRB）の活性は表層部が

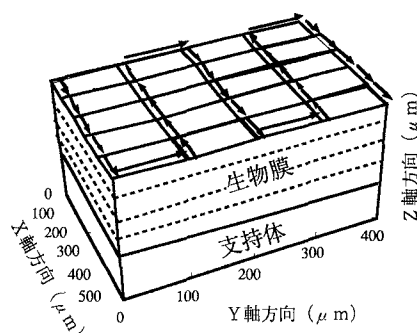


図1. マイクロスライスによる層、及び溶存酸素測定順序

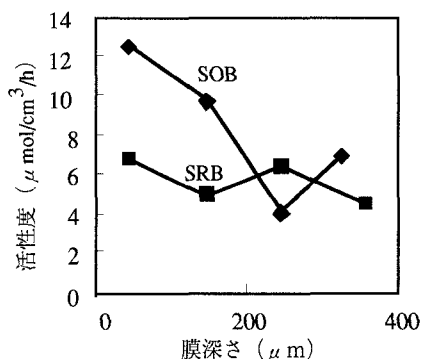


図2. SOB、SRB膜深さ方向活性度

ら底層部まで全層にみられた。2種の微生物は全層にわたり活性を持ち、生物膜中の明確な好気-嫌気界面は、マイクロスライサーによる一次的な測定では確認されなかった。

SCLMを用いて観察した生物膜断面図を図3に示す。生物膜内部のある面を基準とし、 10μ 毎に、表層に向かって観察した。白い部分が生物膜であり、内部にかなりの空隙が存在し、生物膜表面に近づくにつれて密度が小さくなり、生物膜表面に凹凸が存在する様子がわかる。

微小電極を用いて測定した三次元溶存酸素濃度分布（ $DO=0\mu M$ ）を図4. bに示す。 $DO=0\mu M$ の点を結んだ等DO面は、 $500\mu m \times 400\mu m$ の平面において、深さ方向 $200\mu m$ 以内になだらかな起伏を持った分布をなしていた。さらに、 $DO=0\mu M$ から $31\mu M$ 毎に7つの等DO面を比較したところ、 $DO=0\mu M$ の等DO面と同様にY軸方向にDOが増加する傾向がみられた。（図4. a 参照）

以上の結果からX-Z方向の生物膜断面は図5のようになると予想される。DOは生物膜表面から減少するため、好気-嫌気界面（等 $DO=0\mu M$ の面）は生物膜表面の相似形となる。生物膜内に取り込まれた硫酸塩は嫌気部分でSRBにより硫化水素に還元される。発生した硫化水素は好気部分でDO、及びSOBにより再酸化され単体硫黄や硫酸塩となる。同様に、硫化水素は金属と結合し硫化物となるが、これらの硫化物も好気部分で再酸化される。

マイクロスライス法は、微生物の活性を水平方向に平均化し、深さ方向に一次元で表現できる。しかし、一般的に生物膜は表面に凹凸が、内部には水溝や間隙が存在し、生物膜内のポピュレーションダイナミクス、及び活性度分布を一次的に表現することは困難である。そのため、微生物活性度は図2のような深さ方向に相関が表れない結果となる。

4. 結論

本研究の結論は以下のようになる。（1）生物膜の構造が不均一であるため、溶存酸素濃度、及び微生物活性度は三次元的分布となる（2）同様に、好気性生物膜内の硫黄循環も深さ方向のみ（一次元）ではなく、三次元の現象として扱うことが必要と思われる。

参考文献（1）

Revsbech, N. P., and B. B. Jorgensen. 1986. Microelectrodes: their use in microbial ecology. *Adv. Microb. Ecol.* 7: 300~302

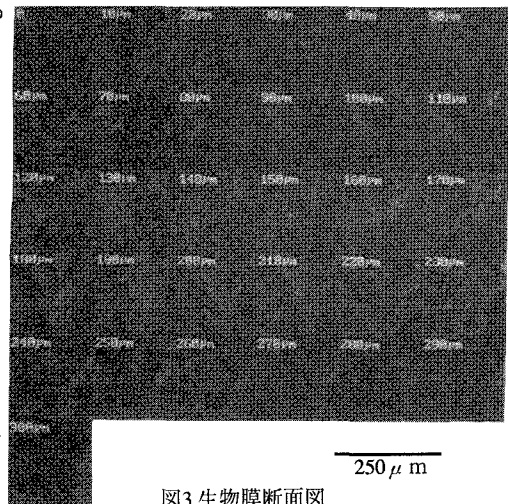


図3.生物膜断面図

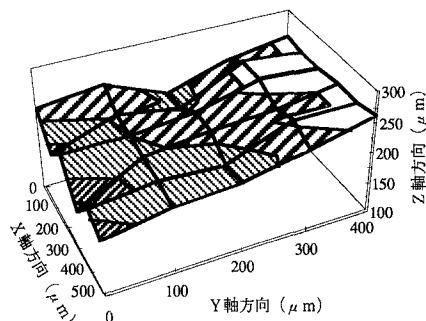


図4. a. 等DO図（ $DO=31\mu M$ ）

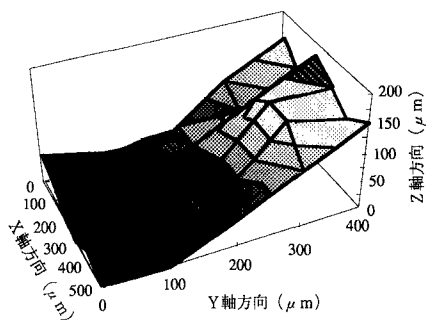


図4. b. 等DO図（ $DO=0\mu M$ ）

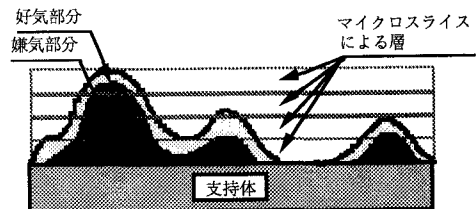


図5. 生物膜断面概念図