

VII-55

生物膜の形成・生長に伴う付着力の推移と影響因子

長岡技術科学大学 正員 大橋晶良・原田秀樹・桃井清至 学生員 島村慎

1. はじめに

生物学的排水処理装置において各種の生物膜法が適用され稼働しているが、生物膜が如何に形成され、その生長の挙動の推移については、不明のまま運転しているのが現状である。このため、生物膜の生態学的構造やポピュレーションダイナミックスを解明するために世界的な研究グループが取り組んでいるが、その進展は停滞しているのが実状であろう。著者らは、生物膜の付着形成および剥離機構解明に欠かせない生物膜の付着力を評価するために、測定方法を提案すると共に、生物膜内の付着力分布を評価してきた。しかし、生物膜付着力の定義・評価方法は不十分であった。そこで本研究は、新たな付着力測定法を提案し、生物膜の形成と付着力との関係について調べた。

2. 実験装置及び方法

2.1 反応器

生物膜形成に用いた矩形開水路型反応器（長さ100cm、幅20cm、深さ30cm）をFig. 1に示す。297枚の透明の硬質塩化ビニール板（5cm×5cm×0.6cm）を付着支持体として反応器内に垂直にして浸水させてある。各支持板は、垂直方向に3mmの2つの穴が開けてあり、開水路底面に固定しているステンレス棒に突き刺すようにして支えられている。図に示しているように、反応器は流れ方向に沿って、3つのポジション（Site A, B, C）に分かれている。Site A, B, Cは、それぞれ支持板の設置数を変えることで、流速が異なっている。流入側のSite Aでは、支持板を流速方向に対し5行5列、深さ方向に3段の計75枚、中央のSite Bでは5行7列3段の計105枚、流出側のSite Cでは3行13列3段の計117枚が配置されている。流出水は流量20L/minでリサイクルさせてあり、基質流量は50ml/minに制御されているため、Site A, B, Cでの流体せん断力は、Manning式より、それぞれ0.019Pa, 0.023Pa, 0.049Paであった。

基質はメタノール1200 mg TOC/l、硝酸ナトリウム1000 mg NO₃-N/lの人工基質であり、脱窒菌からなる生物膜を形成培養した。pHは0.01Mのphosphate bufferで流入水を7している。

2.2 付着力評価のための剥離試験

生物膜の付着力は、支持板に形成した生物膜を衝撃により強制的に剥離させ、剥離前後の生物膜物性と衝撃力より評価するため、生物膜剥離試験にFig. 2の装置を用いた。リアクターから取り出した支持板は、装置のステンレス棒に通し、重力によりバネにつながれた下部の板に衝突することで、生物膜は剥がれる。生物膜の衝撃力は次のようになる。

支持板が落下するときの運動方程式は次式で表される。

$$m a = m g - C_d \frac{\rho v^2 A_p}{2} \quad (1)$$

ここに、 m は支持板の質量、 a は支持板の加速度、 g は重力加速度(980 cm/sec²)、 ρ は空気密度 (1.293 mg/cm³)、 v は落下速度、 A_p は支持板の断面積、 C_d は抵抗係数(1.3)である。支持板が衝突した後の運動方程式は同様に、

$$(m + m_w) a = (m + m_w) g - c_d \rho A_p v^2 / 2 - 2 (F_0 + k x) \quad (2)$$

となる。ここに、 k はバネ定数、 F_0 はバネの初期引張り力、 x はバネの伸び、 m_w はバネにつながれている衝突板の質量である。上式の微分方程式を解くと衝突時の最大加速度が算出できる。従って、バネ定数の異なるバネを用いると衝撃力を変化させることができ、各支持板に対して、衝撃力を段階的に上げた数回の衝撃試験を行った。

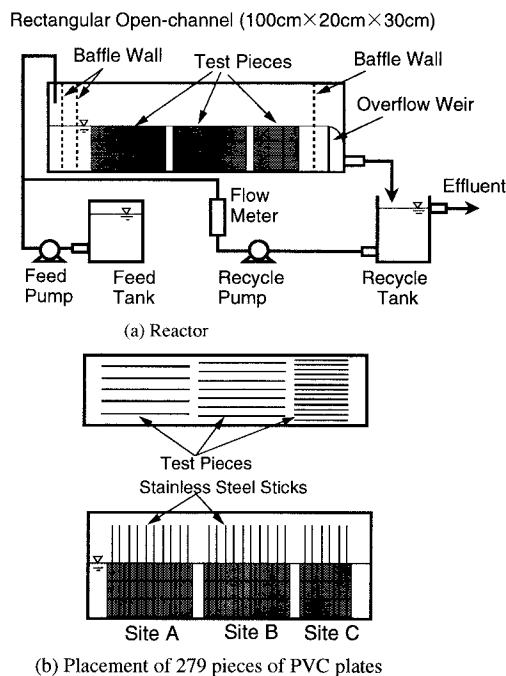


Fig.1 Rectangular open-channel reactor with effluent recycle used for formation of denitrifying biofilms to be provided for the detachment tests.

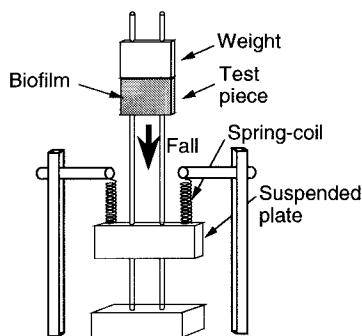


Fig.2 Schematic diagram of the collision device for biofilm detachment.

2. 3 測定項目および方法

生物膜厚測定は、デジタルゲージ付顕微鏡を用いて生物膜表面と支持板表面とのピント距離から求める方法で、衝撃を作用させる前後に、支持板当り格子状に121地点行った。生物膜の体積は膜厚測定値から有理Bezier曲面補間での数値積分より算出した。

透明の支持板裏面から生物膜付着状況の写真を撮影し、その画像解析から生物膜と支持板との間に形成されるCavity（後述）の面積を測定した。

3. 付着強度の算出方法

Fig. 3に示すように、衝突最大加速度が a_1 の時には生物膜の一部が断面b-bで剥離したが、 a_1 よりも小さな衝突最大加速度 a_0 のときには剥離が起こらなかったとすると、運動方程式より次式が導ける。

$$\frac{m_d \cdot a_0}{A} \leq f_s \leq \frac{m_d \cdot a_1}{A} \quad (3)$$

ここに、 f_s はせん断付着力、 A は破断面の面積、 m_d は剥離生物膜質量である。本試験では正確なせん断付着力を求めることはできないが、式(3)のような範囲の幅をもった値として算出することができる。

4. 実験結果および考察

矩形開水路リアクター内に活性汚泥を植種して99日間の運転を行った。経過約30日ころから生物膜の形成が目視観察できるように生長したので、51日目から生物膜を定期的に取り出してせん断付着力を測定した。

Fig. 4に各Siteでの生物膜/支持板表面のせん断付着力の経日変化を示す。せん断付着力は式(3)から得られるため、図中においてある範囲をもった矢印で表している。生物膜形成初期においては、最大の衝撃力を与えても生物膜が支持板から剥離しなかったため上端の矢印を示すことができなかった。せん断付着力は、各Siteとも数百Pa以上あったものが急に付着力を失い、100～200Pa程度にまで低下している。急激な低落地は、Site C, B, Aの順（流体せん断力の大きい順）に早い。

Fig. 5に経過99日目の生物膜の付着状態を示す。生物膜/支持板表面の界面には大きなCavityが観察された。このCavityは経過60日目ころから形成され始め、次第に増大していった。Cavityの面積の経日変化をFig. 6に示している。Cavityの面積が約15%に達するころ、急激なせん断付着力の低落地とが非常によく一致している。すなわち、生物膜の付着力は、生物膜の形成・生長過程において急激に低下するが、この原因としてCavityの形成が重要な因子であると推察される。

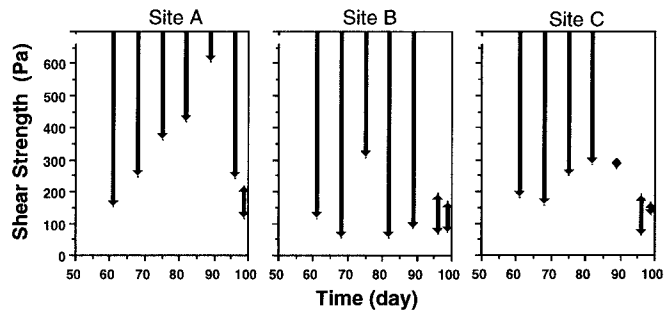
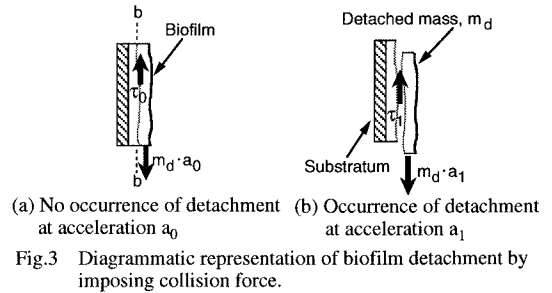


Fig.4 Biofilm adhesion strength at the biofilm/substratum interface for the sites A, B, and C. Note that the adhesion strength was only able to determine as a range.

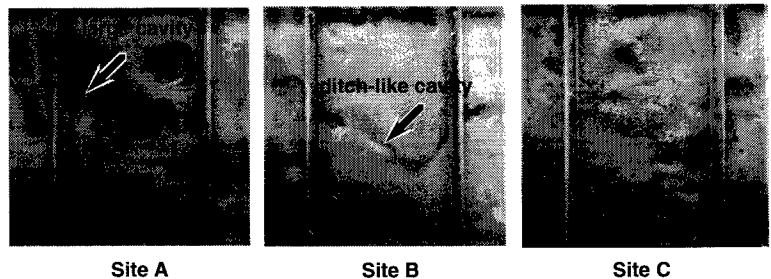


Fig.5 The photographs of substratum surfaces (25 cm²) formed the biofilm on 99th days at the sites A, B, and C.

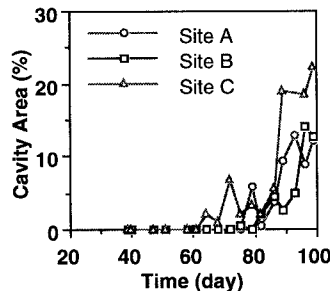


Fig.6 The time change in cavity-area per substratum area formed at the biofilm/substratum interface.