

長岡技術科学大学	学生会員	小山 孝
同上	正会員	大橋 晶良
同上	正会員	原田 秀樹
同上	正会員	桃井 清至

1.はじめに

生物膜型下水処理性能に及ぼす重要な因子の一つ、生物膜量は、剥離や生物膜内の細菌の増殖などによって刻々と変化する。その生物膜量に大きな影響を及ぼす剥離は、流体剪断力などの外力によって発生し、その外力に対する抵抗力である生物膜付着強度と密接な関係があり、生物膜付着強度を定量化することは、剥離機構を明確にするために不可欠であると考えられる。付着強度の評価法としては、生物膜に遠心力を加えて強制剥離させる方法などの例はあるものの、定まった方法はなく、研究例も少ないのが現状である。

そこで本研究では、生物膜の引張強度を測定し、その引張強度と生物膜密度、細胞外ポリマー量（以下ECP量）などの影響因子との相関を検討し、生物膜付着強度の評価を行った。

2.生物膜の形成

生物膜の形成には、Fig-1(a)に示した循環型矩形開水路リアクター（1000×300×200、全容量60L、付着槽部水深15cm）を用いた。 NH_4Cl :60mg-N/L、グルコース:30mg/L、無機塩類を基質に用いて、硝化菌と他栄養好気性細菌の混合生物膜を形成させた。基質は、炭素源と窒素源に分け高濃度のものを作り、直前に水道水で希釈してフィードした。槽内はマグネットポンプを用いて循環させており、流速は約90cm/minであった。リアクター上・下流部には整流板を設置し層流状態となるようにした。リアクターは、恒温室内で25°Cに制御し、重炭酸バッファーを用いてpHを7付近に制御した。エア曝気は、循環槽部と付着槽部の直前の2カ所で行い、運転期間中のDO濃度は約8.0mg/Lで、HRTは6hrで行った。

Fig-1(b)にリアクターの断面図を示した。生物膜の支持体には、外径4.76mm、内径3.18mmのタイゴンチューブを2cmにカットしたものを用い、それをステンレス棒に6個ずつ通して図のようにテストピースユニットに10本ずつ配置し、槽内に20ユニット設置した。生物膜はチューブ表面に均質に形成させるためにステンレス棒の上端にブリーリーを付け、1rpmで回転させた。

3.実験方法

Fig-2に引張強度測定装置を示した。この装置は、2本のチューブ上に形成した生物膜に対して鉛直方向に引張力を加え強制的に2本のチューブ接合面で破断させ、接合面における生物膜の引張強度を測定するものである。まず、リアクターよりサンプルをステンレス棒ごと取り出し、表面及びチューブ接合部の生物膜を壊さないように測定台の芯棒に2つのチューブをセットする。下部のチューブは芯棒にピンで固定し、上部のチューブにフックをかけて載荷部に連結する。サンプルに引張力を与える重りにガラスビーズを用い、重りを徐々に載荷し、生

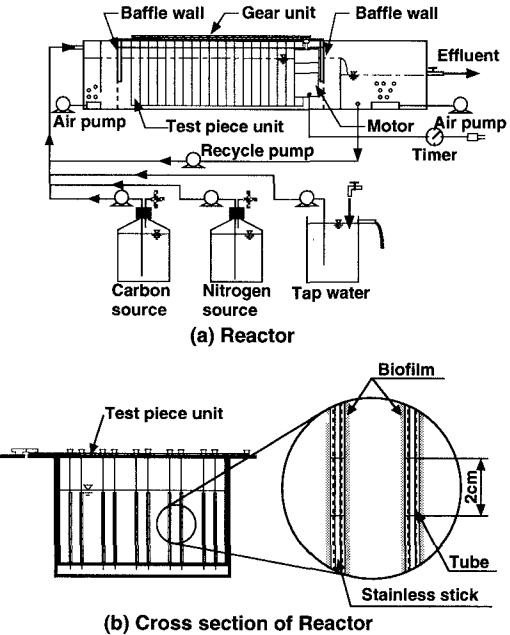


Fig-1 Schematic of Biofilm Reactor

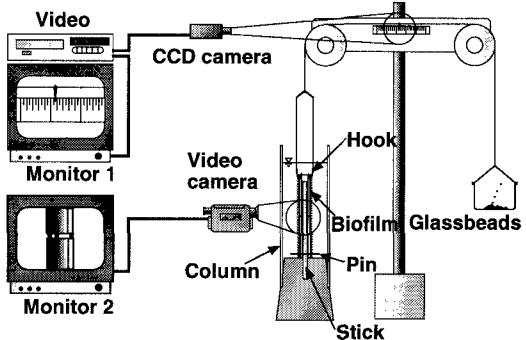


Fig-2 Tensile strength measurement system

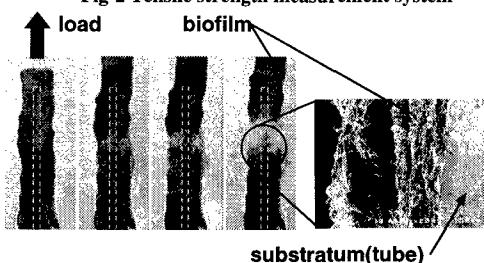


Fig-3 Detachment manner by tensile strength test & SEM of cross section

物膜が破断するまで行った。そのときに用いたビーズの重量Aを測定する。次に装置の摩擦による損失などを考慮するために、生物膜が破断した状態で同様に引張試験を行い、そのときのビーズ重量Bを測定する。AとBの差を生物膜断面積で除して引張強度とした。また測定時にCCDカメラを用いて生物膜の伸びも測定した。

生物膜厚の測定は、CCDカメラ付き光学顕微鏡を用いて生物膜を撮影し、画像解析によって算出した。生物膜密度は、生物膜を分散した後にCODcrを測定し、SSに換算して算出した。

ECP量については、104°C、20minで水蒸気抽出を行い、抽出液を細胞外ポリマーとし、そのTOC、糖、蛋白質の測定を行いECP量とした。

4. 実験結果及び考察

生物膜の培養日数は約40日で、培養開始13日目から約1週間毎に引張強度、膜厚、膜密度、ECP量の測定を行った。

Fig-3に引張試験時の生物膜の伸びる様子を示した。(a)が負荷をかけていない状態の生物膜で、徐々に引張力を載荷することによって生物膜が伸び、最終的に(d)のように破断する。また生物膜破断面をSEMで見たところ、層状に生物膜が形成され、生物膜表面の付近には間隙が見られた。

生物膜厚0.23～0.86mm、生物膜密度5.4～31.7mg SS/cm³の生物膜の引張強度は、73～980Paであった。Fig-4に生物膜密度と引張強度の関係を示した。生物膜密度が高くなるに伴い、引張強度は増加している。Fig-5に引張強度と生物膜体積当り及び乾燥重量当りのECP量の関係を示した。ECP成分の分析は、TOC、蛋白質、糖について行ったが、図中には糖のみをプロットしている。生物膜密度と同様に、生物膜体積当りECP含有量が多いほど強度が大きくなかった。しかしながら、乾燥重量当りECP量は引張強度と関係が見られない。すなわち細胞当りのECP量は一定であり、引張強度の変化に密度が大きく影響していると言える。

生物膜の伸びと応力との関係の一例をFig-6に示す。図より線形関係が見られ、生物膜は弾性体として表すことができ、直線の傾きを弾性係数として評価した。Fig-7にその弾性係数と引張強度、密度の関係を示した。弾性係数の大きい生物膜は、引張強度が大きく、生物膜密度も高いようである。

5.まとめ

本実験結果より、生物膜密度の増加によって生物膜の弾性係数が大きくなり、その結果引張強度が増加した。

今後の課題として、付着強度を測定しただけでは剥離や生物膜の形成機構の解明には不十分であり、SEMなどの視覚的な膜構造の観察や、Live/Dead測定による死滅菌の影響などを検討する必要があると考えられる。

6.参考文献

大橋ら(1992)：脱窒処理生物膜の構造と付着力の発達、環境工学研究論文集、第29巻、Pp.209-220

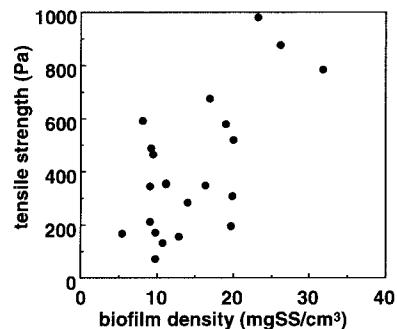


Fig-4 Relationship between biofilm density and tensile strength

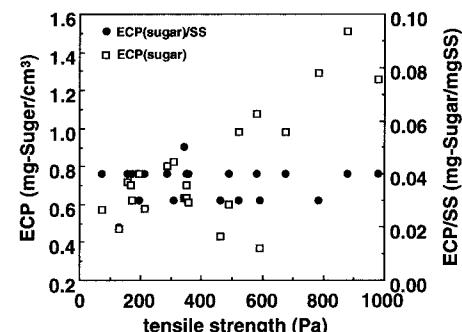


Fig-5 Relationship between tensile strength & extracellular polymer(sugar)

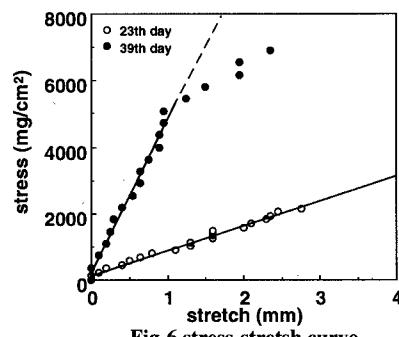


Fig-6 stress-stretch curve

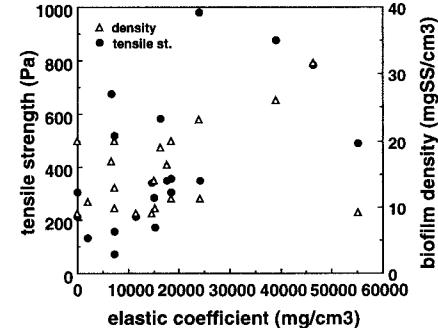


Fig-7 Relationship between tensile strength & elastic coefficient