

VII-58

微生物集塊の形態の定量化

——微生物膜表面の凹凸及び活性汚泥フロックの形態——

函館高専 正 員 大久保 孝 樹
 函館高専 正 員 芦 立 徳 厚
 東北大学 正 員 野 池 達 也

1. はじめに : 水環境に存在する多くのバクテリアは集塊を形成していることが知られている。これらの微生物集塊は、自然水系、処理施設等で、フロック、生物膜、グラニュールと呼ばれる形態をとって存在している。本研究では、この微生物集塊の形態に着目し、微生物集塊の挙動と形態との関係を明らかにすることを目的としている。今回は、以前から著者らが行っていた好酸性鉄酸化バクテリアによって形成された微生物膜表面の凹凸のスペクトル、rms、線長比¹⁾以外の定量的指標としてフラクタル次元を取り上げた。また、このフラクタル次元によって、フロック等の形態も定量化できることを示している。本実験では、フロック径(代表径)の分布については、フラクタル次元の適用は無理であったが、ほぼ対数正規分布に適合していることがわかった。

なお、フラクタル次元の生物膜内部のマイクロポアの形態及び分布への適用はW.M.Zahid¹⁾らによって、すでに行われている。

2. 実験方法

(1) 好酸性鉄酸化バクテリアによって形成された微生物膜

〈連続実験〉反応槽容積4ℓのCSTR(Run3, Run2, Run1)を3つ用い、 Fe^{2+} 濃度700mg/lの基質を同一流量(約0.96-1.0ℓ/hr)で流入させ、さらに同一環境条件下(水温20℃、酸素供給等)で実験を行った。初めの5日間は回分状態で反応槽壁面に鉄沈殿物と鉄酸化バクテリアを付着させ、その後基質を連続的に投入し週3回分析した。各系列は7日目(Run3)、20日目(Run2)、54日目(Run1)に終了させ、これらの反応槽を用いた回分実験の後、微生物膜を採取し凹凸の計測を行った。

(2)

〈半連続実験〉某下水処理施設から採取した活性汚泥を人工下水(衛生工学実験指導書、プロセス編(土木学会)参照)で約4ヶ月間20℃で馴養し、そのフロック形態を測定した。また、2ℓビーカーによる回分実験と分散菌(ホモジナイザーでフロックを分散)による回分実験を行い、そのTOC消費速度を測定した。

3. 微生物膜表面の凹凸の計測、フロック形態の計測

(1) 微生物膜表面の凹凸の測定(写真測量)

微生物膜表面の凹凸を写真測量で実体視するため、接写カメラでオーバーラップ率60%程度となるように試料を正確に移動させ、1つの試料について2枚の写真(ポジフィルム)を空气中で撮った(Fig.1)。このポジフィルムをアダム図化機に装着し、実体視して写真測量を行った。データは、200~300個の非等間隔のデータで、主に凹凸の変換点を測定点とした。

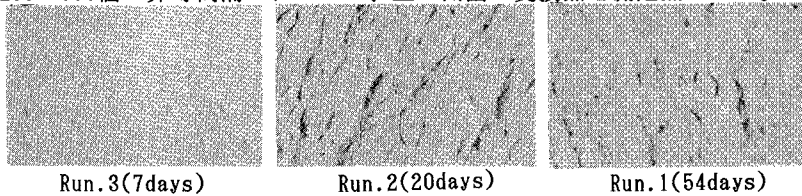


Fig.1 Microphotographs of biofilm surface

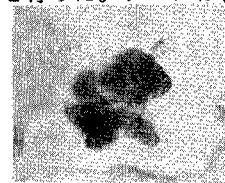


Fig.2 Photograph of activated sludge floc

(2) 活性汚泥フロックの形態の計測

半連続実験で得られた活性汚泥フロックをベトリざら上でagar(寒天)で固定し、顕微鏡下で268個のフロックの写真をランダムに撮った(Fig.2)。この写真をフォトショップ(簡易の画像処理ソフト)で処理し(Fig.3)、高精度のプランメーターで周長、面積を計測するとともに、Feret径、についても測定した。

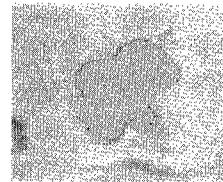
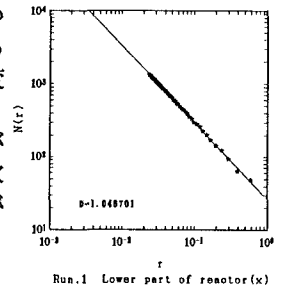


Fig.3 After picture treatment

4. 実験結果及び考察

(1) 微生物膜表面の凹凸のフラクタル次元

ここでのフラクタル次元とは、フラクタルなものを特徴的な長さを持つ複数個の図形や線分で近似させたとき、その特徴的な長さ r を変化させることに伴った個数 $N(r)$ の変化より求められる次元である。ここで r を変化させ $N(r) \propto r^{-D}$ を満たすとき D 次元であるという。ここでは、コンピュータの計算に適した、平面を辺が r の長さの正方形に分割し曲線が含まれている個数をカウントさせるBox counting法によってフラクタル次元を求めた。(Fig.4)に、Box counting法によって $N(r) \propto r^{-D}$ の関係が求められた結果の1例を示す。各Runの上層、中層、下層におけるフラクタル次元を(Table.1)に示す。膜表面のフラクタルは、凹凸の大きさによってあまり変化せず1.024~1.082の範囲にあった。このことは、小さな凹凸の生物膜と大きな凹凸の生物膜の形態がほぼ相似であることを示している。当然、フラクタルの定義から同じ生物膜の凹凸においても、その形態は自己相似的であることを示している。



Run.1 Lower part of reactor(x)

Fig.4 fractal dimension

Table.1 Fractal dimension of roughness of biofilm surface(x-direction)

	Run.3	Run.2	Run.1
Upper part	1.083	1.059	1.043
Middle part	1.037	1.061	1.048
lower part	1.053	1.031	1.047

(2) 活性汚泥フロックの形態のフラクタル次元

ここでは、フラクタルが非整数次元の測度を持つことを利用して次元を定義する。いま、フロックの投影面積を S 、フロックの投影周長を X とすると、フロックの面積は明らかに2次元測度をもつ量なので、 $S^{1/2} \propto X^{1/D}$ によってフロックの周の境界のフラクタル次元 D を求めることができる。

$$S^{1/2} = A \cdot X^{1/D}$$

$$\log X = \frac{D}{2} \log S - D \cdot \log A$$

より、上式の勾配を2倍することによってフラクタル次元 D を求めることができる。(Fig.5)は、フロックの投影面積と投影周長の関係を示したもので、ほぼ直線上に分布している。直線の勾配は0.566であるので、フラクタル次元 D は1.132となる。フラクタル次元が1より大きいことは、正方形や円などのような滑らかな部分をもった形態と違ったやや複雑な境界をもった自己相似的な形態を示しているものと言える。

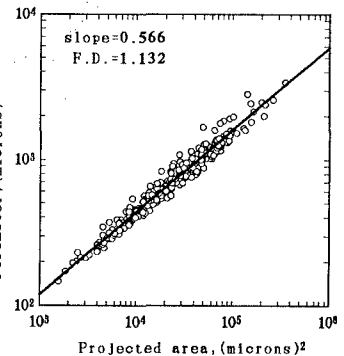


Fig.5 Relationship between perimeter and projected area of floc

(3) フロック径（代表径）の分布

月面のクレタの直径分布がフラクタルであることが知られており、分布よりフラクタル次元を求めることができる。このことを、活性汚泥のフロックに応用しフラクタル次元を求めようとしたが、(Fig.6)に示すように、フロック径（代表径）はフラクタル性を示さなかった。(Fig.7)は、測定した投影面積によって求めた投影面積相当径の分布である。この分布が、対数正規分布にしたがっていることを示した図が(Fig.8)である。このグラフは、横軸に理論的に計算される分布確率、縦軸にデータから計算される分布確率(California plot)をとったものであり、グラフの勾配が1に近くなるときよい適合を表わしている。他の代表径（投影周長相当径、Feret径）についても同様の結果が得られた。

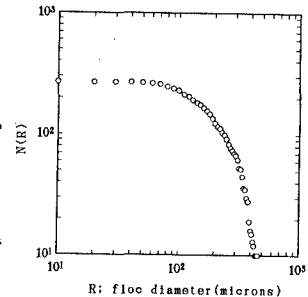


Fig.6 Relationship between floc diameter and N(R)

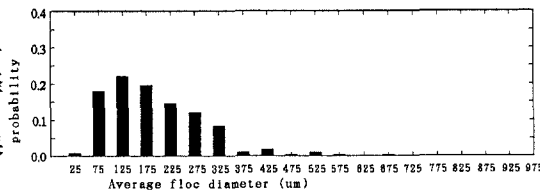


Fig.7 Distribution of floc diameter (投影面積相当径)

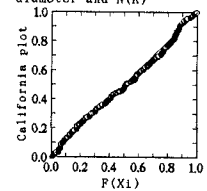


Fig.8 Goodness test of fit of floc diameter data to log normal distribution

(謝辞)

ここで発表したものは、函館高専第30期生、高橋育子、小村高裕、両君の卒業論文の一部である。ここに、実験等に努力を惜しまなかった両君に謝意を表す。

(文献)

- 1)大久保、芦立、野池：第50回土木学会年講p1360-1361 (1995)
- 2)W.M.Zahid and J.J.Ganczarczyk：Wat.Sci.& Tech. Vol.29 No.10-11 p271-279 (1994)