

（株）鴻池組
長岡技術科学大学
同上

正会員 小山 孝
正会員 大橋 晶良
正会員 原田 秀樹

1.はじめに

生物膜型水処理装置の合理的な設計法や操作条件は、生物膜に関する情報、特に処理能を決定づける生物膜量の挙動に関する知見が不足しているため、現在のところ確立するまでには至っていない。

剥離や細菌の増殖によって時々刻々と変化する生物膜量の挙動を把握するには剥離機構の解明がキーポイントであり、その剥離を引き起こす流体せん断力などの外力に抵抗する生物膜付着強度の定量化は不可欠である。定量方法としては遠心力を用いた方法¹⁾などがあるが、定まった方法がないのが現状である。

本研究では昨年、直接的に生物膜引張強度を測定・評価する手法を新規に考案し、好気性生物膜の引張強度の測定を行い、その影響因子の検討などを行ってきた。本報告では更に2種類の生物膜を加え、3つの生物膜（好気性生物膜：Run1、糖系廃水脱窒生物膜：Run2、メタノール系廃水脱窒生物膜：Run3）の付着強度を測定し、生物膜の種類や培養条件の違いによってどのような違いがあるか検討した。また、生物膜密度、細胞外ポリマー含有量、生菌／死滅菌割合などの付着強度影響因子や走査型電子顕微鏡観察による生物膜の構造との関係について検討を行った。

2.生物膜の形成

生物膜の形成には、循環型矩形開水路リアクター²⁾3)を用いた。3種類の生物膜の基質条件をTable-1に示す。生物膜の支持体にはタイゴンチューブ（外径4.76mm、内径3.18mm）を2cmにカットしたものをを用い、それを6個ずつ通したステンレス棒を槽内に設置し、チューブ表面に生物膜を形成させた。

3.実験方法

Fig-1に引張強度測定装置²⁾を示した。これは、2本のチューブ表面に形成した生物膜に対して鉛直方向に引張力を加えて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、リアクターより取り出した生物膜を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にセットする。下部のチューブを固定、上部のチューブにフックをかけて載荷部に連結する。重りにガラスビーズ（直径約2mm）を用い、生物膜が破断するまで徐々にビーズを加え載荷し、そのときに用いたビーズ重量から引張強度を算出した。

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COD_{cr}を測定し、SSに換算して算出した。

細胞外ポリマー（以下ECP）量については、104℃、20minで水蒸気抽出を行い、抽出液をECPとし、そのTOC、糖、蛋白質の測定を行った。

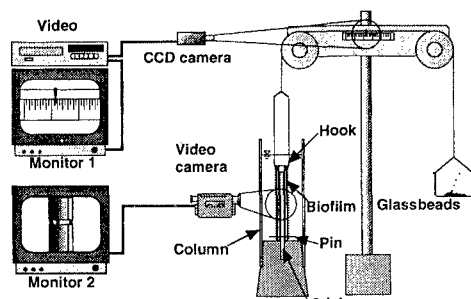


Fig-1 Tensile strength measurement system

Table-1 Composition of substrate

Composition	Concentration
Run1	
NH ₄ Cl	60mg-N/L
Glucose	30mg/L
NaHCO ₃	100mg/L
Run2	
NaNO ₃	40mg-N/L
Glucose	100mg/L
Phosphate buffer	0.01M
Run3	
NaNO ₃	200mg-N/L
Methanol	600mg/L
Phosphate buffer	0.01M
Mineral	

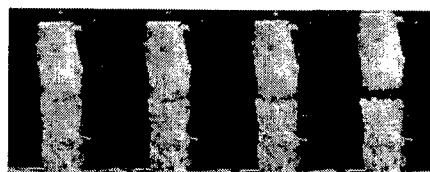


Fig-2 Detachment manner by tensile strength test.

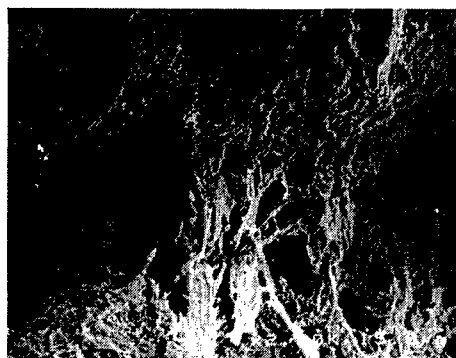


Fig-3 Scanning electron micrographs of biofilm after tensile strength test (Run3, 43th-day-old).

キーワード：引張強度、生物膜乾燥密度、細胞外ポリマー、生物膜構造、廃水処理

〒940-21 新潟県長岡市上富岡町1603-1 長岡技術科学大学 水圏環境工学研究室 Tel：0258(46)6000 (内)6313

生物膜内の細菌のLive/Dead測定にはMolecular Probes社のL-7007 LIVE/DEAD Kit及びINT法⁴⁾を用い、染色した後に蛍光顕微鏡観察して画像解析によりLive/Dead測定した。

4. 実験結果及び考察

Fig-2に引張試験の際の生物膜の破断形式を示す。生物膜に徐々に引張力を加え、生物膜がチューブ接合面で破断した時の荷重から引張強度を算出した。

Fig-3に引張試験後のRun3生物膜の断面SEM写真を示す。組織が伸びて破壊されている様子が分かる。また、Run3の生物膜は主に芽生菌で構成され、脱窒菌が生成する窒素ガスによってできたと思われる空隙が多く見られる。

Fig-4、Fig-5に生物膜厚及び生物膜乾燥密度の経日変化を示す。生物膜厚はほぼ生長とともに増大し、Run2、3の脱窒生物膜では3mm近い厚い生物膜が形成された。が、Run1の好気性生物膜は1mm以下の薄い生物膜であった。Run1の乾燥密度は20日目を除けば生長とともに増大している。Run3では18日目頃まで増加し、その後は定常的に推移している。Run2の乾燥密度はRun1、3に比べ1オーダー低い値を示し、緩やかに推移している。

Fig-6に引張強度の経日変化を示す。引張強度は各生物膜ともほぼ生長とともに増大している。Run3では29日目まで緩やかに増加し、その後急激に強度を増して36日目以降は同じような値で推移している。

Fig-7に乾燥密度と引張強度の関係を示す。Run1、Run2では両者の間に正の相関が見られるが、Run3ではその傾向は見られない。Run3の生物膜では30日目頃から生物膜内に空隙が多く見られ、これによって乾燥密度が過小評価されていることが考えられる。また、Run2の生物膜は他よりも乾燥密度が低いにもかかわらず、引張強度は同じような値を示した。これは繊維毛が繊維状に存在するRun2の構造が影響していると考えられる。

Fig-8にECP量と引張強度の関係を示す。ECPは細菌と細菌をつなぐ役割のある物質であり、付着強度とは密接に関係しているものと考えられるが、Run1で正の相関が見られるものの、Run2、3では見られずECPで引張強度を評価することはできなかった。

Run2、3において生物膜のLive/Dead測定をしたところ、引張強度との明確な影響は見られなかった。しかし、生物膜の表面より深部(支持体付近)の方が死滅菌の割合が大きかったことが分かった。

5. まとめ

生物膜は培養条件によって構成している微生物叢や構造が多様であるため、生物膜密度やECP量のような因子のみでは付着強度を評価することは困難と考えられる。しかし、本研究で得られた結果より生物膜の種類、構造を把握すれば、生長に伴う生物膜付着強度の変遷を概略的に予測・評価することが可能と考えられる。

参考文献

- 1) 大橋ら(1992): 環境工学研究論文集, 第29巻, Pp.209-220
- 2) 小山ら(1996): 土木学会第51回年次学術講演会講演集, Pp.114-115
- 3) 小山ら(1997): 第31回日本水環境学会年会講演集
- 4) Rittmann et al.: Water Sci. Tech., Vol26, No.3-4, Pp585-594 (1992)

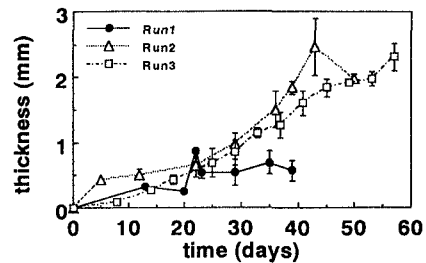


Fig-4 Changes in biofilm thickness.

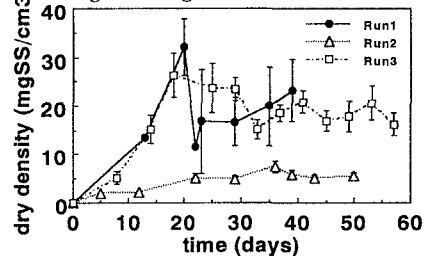


Fig-5 Changes in biofilm dry density.

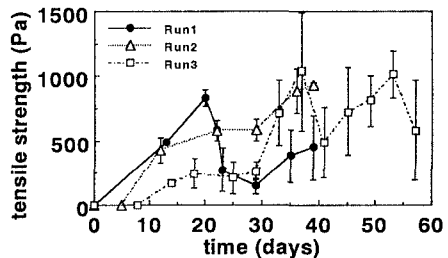


Fig-6 Changes in tensile strength.

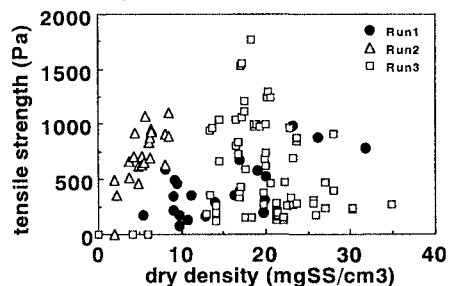


Fig-7 Relationship between dry density and tensile strength.

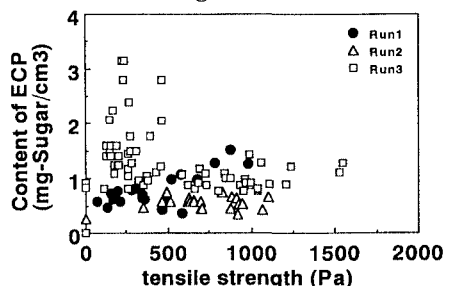


Fig-8 Relationship between tensile strength and content of extracellular polysaccharide.