

VII-201

嫌気性グラニューール汚泥内のpH、グルコース、硫化物プロファイルの測定

高知工業高等専門学校 正会員 山崎慎一
 呉工業高等専門学校 正会員 山口隆司
 長岡技術科学大学 正会員 原田秀樹

1. はじめに

近年、産業廃水等の生物学的処理では、微生物の自己固定化作用を利用した処理法が盛んに実用化されてきており、なかでもUASB法では、嫌気性グラニューール汚泥が処理の高効率化に重要な役割を果たしている。しかしこの嫌気性グラニューール汚泥内部の生態学的構造と機能については、これまで有効な解析手法がなかったためにあまり明らかにされてきていない。そこで本研究は、嫌気性グラニューール汚泥の生物学的構造の解明を目的として先端径数十 μm のpH、グルコースおよび硫化物の微小電極を開発し、汚泥内部の濃度プロファイルを測定した。

2. 実験方法

2-1. 微小電極の作成方法および原理

pH微小電極には100 μl のガラス管を使用する。マイクロピペットテンションで先端径10 μm に引き伸ばし切断後、先端部をシラン処理しイオン交換液膜溶液を充填する。ガラス管内部に電解質溶液を満たしAg/AgCl線を挿入し作成する。参照電極との電位差を測定することでpH（水素イオン濃度）を測定する。

グルコース微小電極は内部電極と外部ガラス管で構成される。内部電極は、まず0.1mmPt線を10 μl ガラス管に入れピペットテンションによって融合し切断する。Pt線先端部にグルコースオキシダーゼを塗布し、グルタルアルデヒド溶液で固定し作成する。外部ガラス管は管径3mmのガラス管を使用し、先端径数10 μm になるように引き伸ばし切断する。先端に寒天ゲルを充填し電解質溶液を注入し、内部電極を挿入して作成する。電極先端ではグルコースオキシダーゼ反応($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + \text{O}_2 \rightarrow \text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_6 + \text{H}_2\text{O}_2$)とPt表面での反応($\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}^+ + \text{O}_2 + 2\text{e}^-$)が生じ、この時に発生する電流を測定することでグルコース濃度を測定する。

硫化物微小電極は10 μl のガラス管を使用し、0.1mmPt線を挿入しピペットテンションで融合し切断する。Pt線先端をKCN飽和溶液でエッチング後、AgおよびAg₂Sをコーティングして作成する。電極表面で $2\text{Ag} + \text{S}^{2-} \rightarrow \text{Ag}_2\text{S} + 2\text{e}^-$ の反応で生じる電位差を測定することで硫化物濃度を測定する。

2-2. グラニューール汚泥内プロファイルの測定方法

Fig.1にグルコースプロファイル測定装置を示す。フローセルはアクリル製で有効液容量60ml（5cm $\times$ 4cm $\times$ 3cmH）のものをを使用した。培地は連続的にN₂ガスバージを行い嫌気状態とし、ホットプレートスターラーで25℃に維持させた。プロファイルの測定は、マイクロステージに微小電極を取り付け100 μm ピッチでグラニューール汚泥の中心に向かって移動させ、各位置での電位差（pHおよび硫化物微小電極の場合）、電流値（グルコース微小電極の場合）を測定

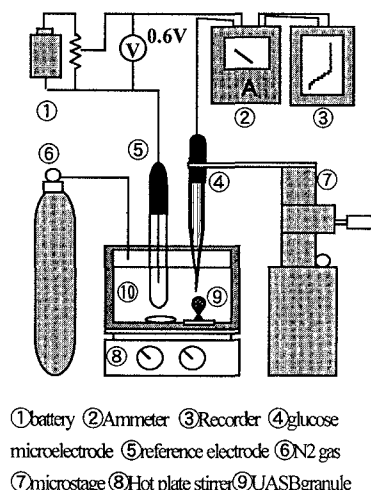


Fig. 1 Measuring circuit for glucose microprofile

Key words : 嫌気性グラニューール汚泥、pH微小電極、グルコース微小電極、硫化物微小電極

〒783 高知県南国市物部乙200-1 TEL0888-64-5671 FAX0888-64-5581

〒737 広島県呉市阿賀南2-2-11 TEL0823-73-8475 FAX0823-73-8485

〒940-21 新潟県長岡市上富岡町1603-1 TEL0258-46-6000 FAX0258-47-0019

した。本実験で使用したグラニユール汚泥は、UASBリアクターで長期間牛乳基質で馴化した直径3mm程度のものを使用した。培地は、基質の他に NH_4Cl 、 MgCl_2 、 CaCl_2 等の微量金属塩とリン酸緩衝液（培地濃度で1mM）を添加した。

3. 実験結果及び考察

3-1. 微小電極の性能

Fig.2にpH微小電極の検量線を示す。電位差の傾きは63～67mVを示し電極の相異性は小さいことが判明した。この電位差の傾きは理論値59.2mV（25℃）と比較すると若干高い値であるが相関性は極めて高く、電位差からpHの定量は可能であるといえる。Fig.3にグルコース微小電極の検量線を示す。電極間で電流値の傾きに相異がみられた。この原因として外部ガラス管先端の寒天膜の厚さあるいは内部電極先端のグルコースオキシダーゼ付着量の相違によるものが考えられた。しかしグルコース濃度と電流値の間には相関関係が得られ、電流値からグルコース濃度の定量は可能であるといえる。Fig.4に硫化物微小電極の検量線を示す。電位差の傾きは31～40mVを示し、電極間で若干の相異がみられたが、相関性は高く電位差から S^{2-} の定量は可能といえる。

3-2. グラニユール汚泥内グルコースプロファイル

Fig.5に培地グルコース濃度100、300、500mg/lにおけるグラニユール汚泥内のpHおよびグルコースのプロファイル測定結果を示す。各グルコース濃度は、グラニユール汚泥表面から次第に中心部に向けて減少傾向を示し、pHもグルコース濃度の減少に応じて低下した。これはグラニユール汚泥微生物の酸生成反応によって有機酸が汚泥内部で蓄積したためと考えられる。また培地グルコース濃度が高い程、汚泥内部のpH低下は著しく、培地グルコース濃度300mg/l以上では汚泥中心部でグルコースの残存が認められる。従って、培地グルコース濃度が高いとグラニユール汚泥内で有機酸蓄積による著しいpH低下を生じ、その結果グルコース分解が進まなくなることを確認した。

4. まとめ

- 1) 本研究で開発したpH、グルコースおよび硫化物微小電極は、pH4～9、グルコース0～500mg/l、 pS^{2-} 2～12の範囲で高い相関性を確認できた。
- 2) グラニユール汚泥内のpHおよびグルコースのプロファイルを測定した結果、グルコース濃度は汚泥表面から次第に中心部に向けて減少を示し、また培地グルコース濃度が高いとグラニユール汚泥内で有機酸蓄積による著しいpH低下を生じ、グルコース分解が進まなくなることを確認した。

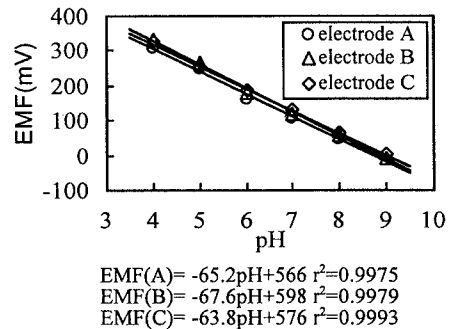


Fig.2 Calibration curve for pH microelectrodes.

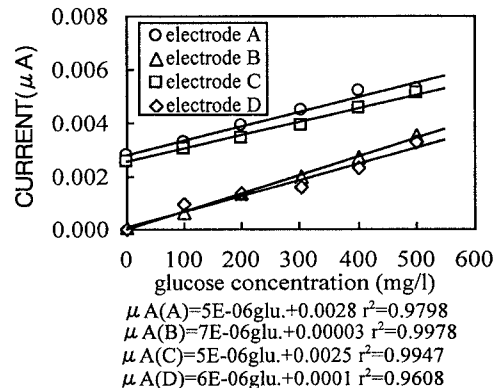


Fig.3 Calibration curve for glucose microelectrodes.

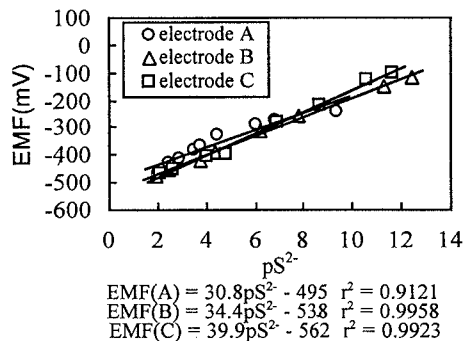


Fig.4 Calibration curve for S^{2-} microelectrodes.

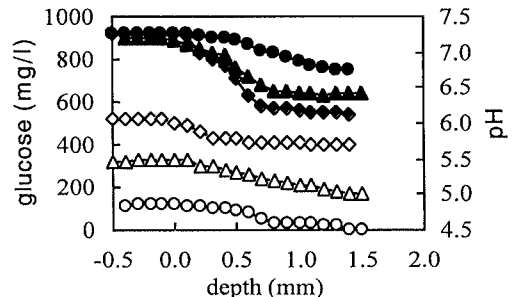


Fig.5 Measurements of glucose and pH profiles within an UASB granule for the case of glucose 100mg/l (○●), 300mg/l (△▲) and 500mg/l (◇◆).