

微小電極を用いた生物膜内の溶存酸素輸送機構の解析

八戸工業大学 正 佐藤 久

北海道大学大学院 正 岡部 聡 フェロー 渡辺義公

1. はじめに

生物膜内で生ずる生物学的基質除去反応は、微生物の動力学的特性と生物膜内および生物膜近傍における基質輸送により決定される。既往の一次元生物膜モデルでは生物膜内の微生物分布を均一として扱ってきたが、近年 FISH 法によりこれらの分布が極めて不均一であることが明らかにされるようになった。さらに、共焦点レーザー走査型顕微鏡を用いた生物膜の観察から、生物膜表面の形状は凹凸に富んでおり、生物膜内部には多数の間隙が存在する等、物理的構造の不均一性も明らかにされている。生物膜表面の凹凸や生物膜内の間隙の存在は水流の乱れを誘発する、または基質輸送抵抗を減ずることにより、基質輸送機構に影響を及ぼすと推測される。従って、生物膜内の基質輸送機構も空間的に不均一であると推測されるものの、これに関して実験的に検討した研究は少なく未知の部分が多い。そこで本研究では、微小電極を用いて生物膜内の溶存酸素(O₂)濃度を測定し、膜面流速が生物膜への O₂ 輸送機構に及ぼす影響と、生物膜内の O₂ 濃度分布の不均一性を実験的に検討した。

2. 実験装置と実験方法

生物膜は札幌市創成川下水処理場最初沈殿地流出水を用いて半水没型回転円板装置で馴養した。円板回転速度は 14r.p.m.、反応槽容積は 1,400mL、生物膜付着面積は 2,830cm² である。生物膜は予め円板に挿入したスライドごと形状を崩さぬよう採取した。採取した生物膜を容積約 150mL のフローセル内に固定し、連続的に微小電極測定用培地(組成(μM); CH₃COONa(300)、NH₄Cl(300)、Na₂HPO₄(570)、MgCl₂·6H₂O(84)、CaCl₂(200)、EDTA(270)、pH=7)を流入させた。膜面流速は流量から算出した。生物膜内の O₂ 濃度は本研究室で製作したクラークタイプ O₂ 微小電極を用いて測定した。微小電極の先端径は約 5μm、90%応答時間は 2~3s であった。測定した生物膜深さ方向の O₂ 濃度分布から、Fick の拡散第一方程式を用いて生物膜単位面積当たりの O₂ 消費速度を求めた。

3. 実験結果と考察

3.1 生物膜内の O₂ 濃度分布に及ぼす膜面流速の影響

Figure.1 に膜面流速が約 4cm/s、約 11 cm/s および約 15 cm/s の場合の生物膜内 O₂ 濃度分布を示した。値は異なる 3 地点における各膜深さの O₂ 濃度を平均したものである。これらの結果から、各膜面流速における濃度拡散層厚さ(Z)、膜表面 O₂ 濃度(Cs)、生物膜単位面積当たりの O₂ 消費速度(J)、O₂ 浸透深さ(La)を求め、Table.1 に示した。膜面流速を約 4cm/s から約 15 cm/s に増大させた結果、濃度拡散層厚さは

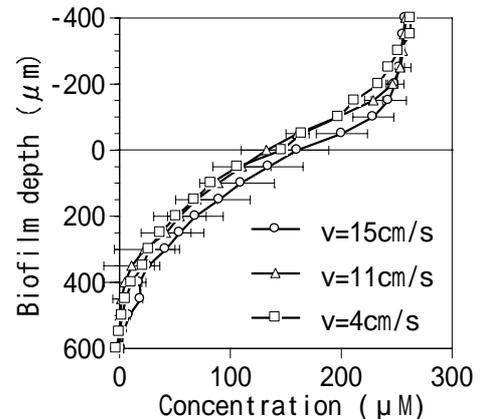


Figure.1 The average O₂ concentration profiles in a biofilm at various flow velocities.

Table.1 A summary of Z, Cs, J and La at various flow velocities.

Average flow velocity (cm/s)	Z (μm)	Cs (μM)	J (μmol/cm ² /h)	La (μm)
4	250(± 40)	140(± 20)	0.40(± 0.17)	450(± 100)
11	200(± 20)	130(± 30)	0.49(± 0.06)	500(± 50)
15	130(± 50)	160(± 20)	0.58(± 0.24)	530(± 130)

キーワード 生物膜 基質輸送 不均一性 表面流速 微小電極

連絡先 青森県八戸市妙字大開 88-1 八戸工業大学 佐藤 久 Tel.0178-25-8067

約 250 μm から約 130 μm に減少し、濃度拡散層の O_2 輸送抵抗が軽減された結果、膜表面 O_2 濃度は約 140 μM から約 160 μM に増大した。生物膜表面への O_2 輸送が促進されたのに伴い、 O_2 消費速度は約 0.40 $\mu\text{mol}/\text{cm}^2/\text{h}$ から約 1.5 倍の約 0.58 $\mu\text{mol}/\text{cm}^2/\text{h}$ に増大した。これに対し、膜面流速の増大に伴う O_2 浸透深さの増大は顕著ではなかったことから、生物膜内における O_2 輸送は促進されなかったことが伺える。De Beer and Stoodley¹⁾は膜面流速の増大に伴い生物膜内における O_2 輸送が促進され、 O_2 が間隙を介して生物膜深層にも輸送されたことを報告しているが、本研究で解析した生物膜は膜表面付近の間隙率が低かったために、生物膜深層への O_2 の輸送が促進されなかったと考えられる。

3.2 生物膜鉛直断面における O_2 濃度分布

生物膜内の O_2 濃度分布の不均一性を検討するため、1mm または 2mm の範囲内において 200 μm 間隔で生物膜深さ方向の O_2 濃度分布を測定し、生物膜鉛直断面における等 O_2 濃度曲線を作成した。Figure.2 に生物膜内の等 O_2 濃度曲線を示した。各 O_2 濃度曲線が膜表面の形状に添って分布していることから、生物膜内の O_2 濃度が不均一に分布していることが明らかとなった。

このことは、膜表面が支持体と平行に、平坦である場合と比較し、実際に O_2 を取り込むことが可能な有効面積が大きく、生物膜への O_2 輸送量が増大することを示している。生物膜内の各測定地点における著しい O_2 浸透深さの差異は検出されなかったことから、生物膜内の間隙を介する O_2 輸送は顕著ではなかったと考えられる。

Figure.3 には異なる生物膜内における等 O_2 濃度曲線を示した。測定点 A から測定点 C の領域では O_2 浸透深さは約 150 μm から約 300 μm であったのに対し、測定点 D から測定点 F の領域では O_2 浸透深さは約 400 μm から約 500 μm であった。この理由として、測定点 D から測定点 F の領域には O_2 を輸送可能な間隙が存在していたことが考えられる。また、測定点 A から測定点 C の領域では特に微生物の活性が高かったことも理由の一つに挙げられる。この結果は微生物活性の不均一性を示しており、このような部分は今後生物膜の成長に伴い顕著に増殖し、生物膜は物理的にも生物学的にも一層不均一な構造を形成すると推測される。

4. まとめ

膜面流速の増大に伴い膜表面への O_2 輸送は促進されたが、都市下水生物膜は膜表面付近の間隙率が低かったために、生物膜内の O_2 輸送はさほど促進されなかった。都市下水生物膜内の O_2 濃度は不均一に分布していた。これは、生物膜の表面形状、間隙率分布、さらには微生物活性分布の不均一性に依存すると推測された。今後は微小電極測定地点の間隙率や微生物の菌体密度を検討する必要があると考えられる。

[参考文献] 1) de Beer, D. and Stoodley, P. (1995) *Wat. Sci. Tech.* **32(8)**, 11-18.

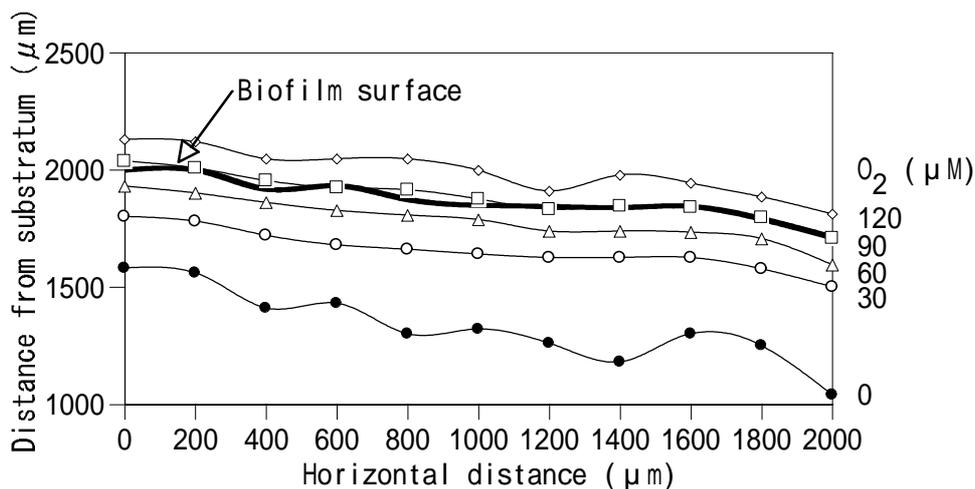


Figure.2 Oxygen contour plots in a cross section of a wastewater biofilm.

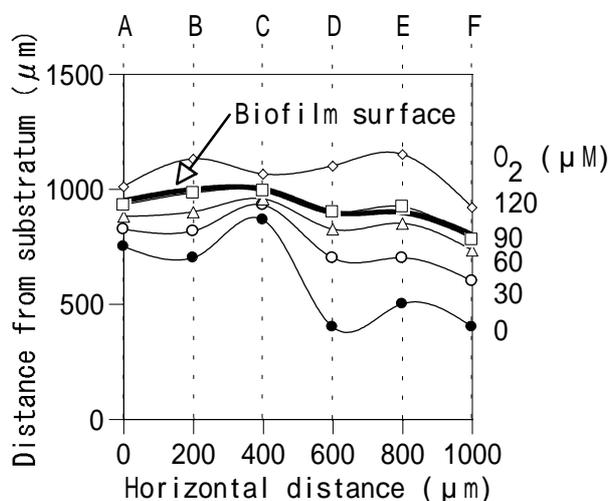


Figure.3 Oxygen contour plots in a cross section of a wastewater biofilm.