

長岡技術科学大学	学	○ 打川	清孝
長岡技術科学大学	学	浅野	英之
長岡技術科学大学	正	原田	秀樹
長岡技術科学大学	正	桃井	清至

1. はじめに

近年、用・廃水の生物学的処理においても、省資源・省エネルギーの社会的要請にあわせて維持管理が容易で、コスト・パフォーマンスが高く、高濃度生物維持が可能な回転円板法、流動層法等の生物膜法が注目されている。しかし、付着増殖型反応器の処理性能は、生物膜の付着増殖現象やせん断力による剥離・脱落現象等によって大きく支配されているが、それらの機構を定量的に把握することが合理的な設計・操作方法の確立に不可欠である。

そこで本研究は、流動層型生物反応器を脱窒素プロセスに適用し、生物膜粒子の付着・剥離機構に及ぼす細胞外ポリマーと Ca^{++} 、 Mg^{++} 等2価イオンとの相互的役割を解明するために、キレート剤であるEGTA、EDTA溶液を添加した生物膜粒子の振とう剥離回分実験を行なった。

2. 実験方法

回分実験は、三角フラスコに脱窒素細菌より構成される生物膜粒子とEGTA、EDTA溶液（最終濃度1mM, 5mM）を入れ、温度 25℃、PH=7で振とうさせた。この試料についてCa, Mg, 糖, 蛋白質濃度の分析を行なった。なお、用いた生物膜粒子は、流動層型生物反応器で培養されたものであり、窒素源として NaNO_3 、有機炭素源として CH_3OH を用い、さらに無機塩類とリン酸緩衝液を添加した。担体は、粒状活性炭を用い線速は27.5cm/sとした。

表-1 生物膜の無機分組成

	(mg/g-ss)
Ca	5.67
Mg	2.12
Fe	1.09
Zn	2.83
Mn	0.0
K	2.96
Na	1.16
P	13.5

3. 実験結果と考察

振とう剥離回分実験に使用した生物膜の無機分組成を表-1に示す。

Ca, Mg, P 含量はそれぞれ 5.67, 2.12, 13.5 (mg/g-ss) 程度であり、使用生物膜の平均膜厚は $\delta=1.53\text{mm}$, ($\sigma=0.62$)であった。

図1に振とう実験における濁度の経時変化を示す。48時間振とう後では、EDTA 5mM > EDTA 1mM > EGTA 5mM > EGTA 1mMの順で剥離生物量が増加していることがわかる。それぞれブランク値の3.8, 2.7, 2.4, 1.6倍程度であった。なお、EDTA, EGTA添加振とう実験の剥離生物膜フラグメントは、比較的大きく沈降性であるのに対し、ブランク試験では剥離生物は分散性で白濁しているのが観察された。

同様に、図2にカルシウムの経時変化を示す。EDTA, EGTAの抽出効果の差異はあまり明瞭でなく、振とう48時間後では、初期生物膜含有Ca量の80~90%が水溶性に移行した。それに対しブランク試験では、30%が可溶化しているのみである。

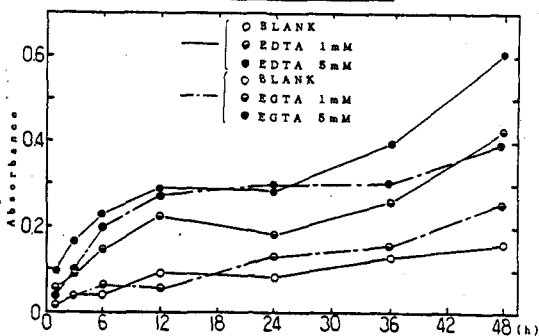


図1 濁度の経時変化

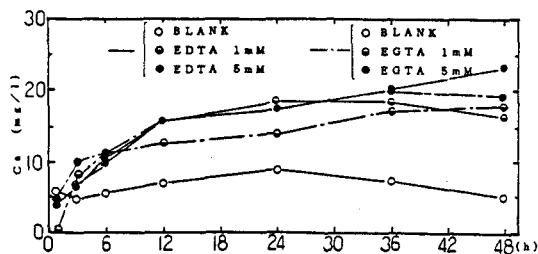


図2 カルシウムの経時変化

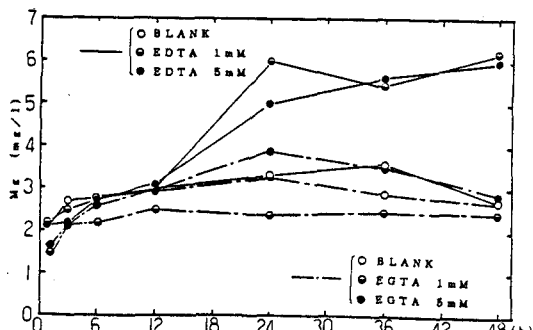


図3 マグネシウムの経時変化

図3にマグネシウムの経時変化を示す。可溶化したMg量は、EGTA添加実験ではブランク試験とほぼ同程度で有意の差がみられなかった。一方EDTA添加実験では1mM, 5mMとも48時間後でブランク試験のほぼ2倍量に達している。このことは、表-3に示すようにEDTA, EGTAのCa, Mgに対するキレート化合物の相対的安定度の差異から説明される。すなわち、EDTAはEGTAよりもMgに対して大きなキレート効果をもつのにに対し、EGTAはMg共存下でもCaに特異的に作用するためによるものと考えられる。

図4に糖の経時変化を示す。EDTAの抽出効果は顕著であり、1mM, 5mMでそれぞれブランク値の14.2, 21.4倍程度である。

図5に蛋白質の経時変化を示す。糖と同様の傾向を示しており、EDTAの抽出効果は大きく、EGTAはそれほど顕著でない。EDTA 1mM, 5mMでそれぞれブランク値の4.3, 7.0倍程度である。

以上の図から観察される現象を総合すると、EDTA溶液は生物膜からCa, Mgイオンを抽出して安定な水溶性キレート化合物を形成し、一方EGTA溶液は、Caイオンを特異的に抽出する効果がある。生物膜を形成するAggregation 要因物質である細胞外ポリマーは Ca^{++} , Mg^{++} 等の2価のイオンによる架橋構造をなしており、 Ca^{++} , Mg^{++} のキレート剤抽出によって、細胞外ポリマー由来の糖、蛋白質が可溶化し生物膜の剥離・崩壊現象が促進させられるものと考えられる。

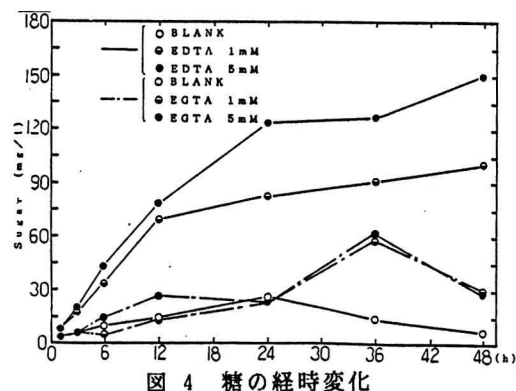


図4 糖の経時変化

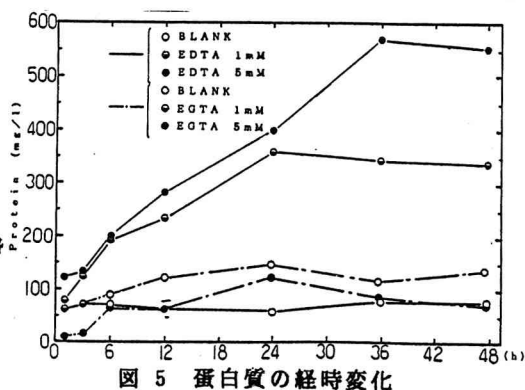
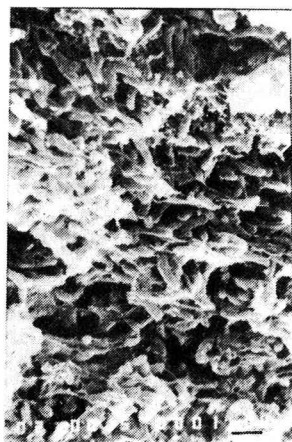
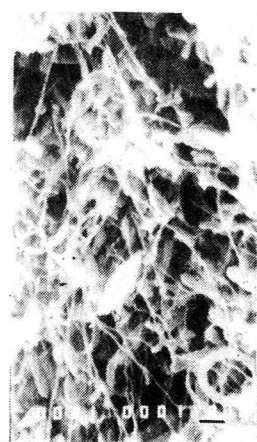


図5 蛋白質の経時変化

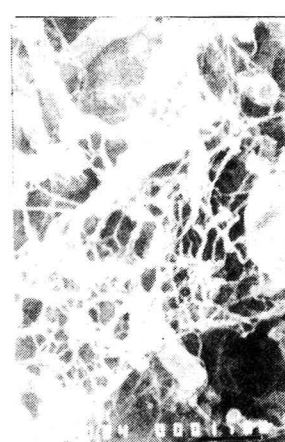
形態学的観察としてブランクとEGTA, EDTAに、24時間振とうしたもののペレット表面の走査電子顕微鏡写真をそれぞれ写真-1 (a), (b), (c)に示す。EDTAの写真では細胞外ポリマーが抽出されており、その細胞外ポリマー様物質の骨格のネットワークのみが残存している。また生物膜内の細胞密度も小さくなっている。



(a) 6000倍 (ブランク)



(b) 7200倍 (EGTA 処理)



(c) 15000倍 (EDTA 処理)

写真-1 走査電子顕微鏡写真 (barの長さは1μ)

4. おわりに

流動層型生物膜反応器より採取した生物膜粒子を用いての回分実験より次のような結果が得られた。

- (1) 生物膜の糖、蛋白質を含んだ細胞外ポリマーは、 Ca^{++} , Mg^{++} 等の2価イオンによる架橋構造をなしており、キレート剤を用いて Ca^{++} , Mg^{++} を抽出したことにより、生物膜の剥離現象が認められた。
- (2) 走査電子顕微鏡写真よりEDTAを添加した生物膜粒子においては、細胞外ポリマーが抽出されている様子が認められた。なお、EGTAを添加した生物膜粒子では、余り抽出効果が認められなかった。