

脱窒処理生物膜における細胞外ポリマーの分画と膜形成

呉工業高等専門学校 正 員 ○大橋 晶良
 長岡技術科学大学 正 員 原田 秀樹
 長岡技術科学大学 正 員 桃井 清至
 建設省中国地方建設局 荒井 剛

1. はじめに

生物膜法を適用した排水処理装置を良好に管理・運転するには、処理水質に影響を及ぼす生物膜量の把握が不可欠である。しかし、生物膜は支持体に付着増殖する一方、生物膜表面や支持体から剥がれ落ちてしまい、処理装置内の生物膜量は刻々と変化する。このため生物膜量の予測については処理水質の予測は、現在のところ非常に困難となっている。この解決法として生物膜の付着・剥離機構の解明が必要であるが、これに関する研究は数少ない。生物膜の形成に細菌が分泌する細胞外ポリマーが重要であるという指摘があり、本研究は脱窒処理生物膜の生長に伴う細胞外ポリマーのゲルクロマトグラフィによる分画と糖質成分の推移を実験的に調べ、生物膜形成への細胞外ポリマーの役割について検討した。

2. 実験方法

供試生物膜は、図-1に示してある実験装置の塩化ビニルチューブ（内径10mm）に基質を連続に流下させ、チューブ内壁に付着増殖した脱窒生物膜である。各チューブの長さは1mで12本設置してある。基質は水素受容体として硝酸ナトリウム、水素供与体としてメタノールを用い、基質タンク内の濃度をそれぞれ500mg-N/l、1500mg/lとし、若干の無機塩類を添加し、基質タンクからの流量は25ml/minである。チューブ内の流量は、循環タンクからのもの合わせて250 ml/minとした。pHはリン酸緩衝液で7に、水温は25℃に制御した。循環タンク内には0.105 mmのフルイを水深設置し、生物膜から剥離する生物を捕獲できるようにしている。運転は都市下水処理場の活性汚泥を植種して開始した。67日目からは基質を停止して水のみを流し71日目まで行った。

3. 測定および分析方法

チューブに付着増殖した生物膜は、不定期ではあるがチューブ1本ずつ装置から取り出し、生物膜量と細胞外ポリマーの分析を行った。生物膜厚さ、密度は、生物膜が形成される前と後のチューブの質量およびチューブ内を水で満たしたときの全質量、計4状態のチューブの質量を測定して算出した。質量を測定した後に生物膜をチューブから全てはぎ取り、図-2に示す手順で細胞外ポリマー（ECP）の抽出と分析を行った。採取された生物は、水蒸気抽出され遠心分離した上澄液をECPとして回収し、糖質測定した。さらにエタノール沈殿させて、7.5%のトリクロロ酢酸（TCA）水溶液で除蛋白した。TCAはエーテル抽出して除去し、除蛋白されたECPをセファデックスG-200を用いてゲルクロマトグラフィ分析した。1分画を7mlとし、50本の採集を行った。糖質の測定は、全糖（アンスロン法およびフェノール硫酸法）、ウロン酸（カルバゾール法）、アミノ糖（Elson-Morgan法）について行った。剥離生物は、フルイ0.105 mmに残留したものについてECPの分析を行った。フルイ通過した剥離生物量は、循環タンク内の生物濃度（SS）の測定から逆算して求めた。

4. 実験結果および考察

4-1 生物膜の生長と剥離 生物膜厚さと乾燥密度の経日変化

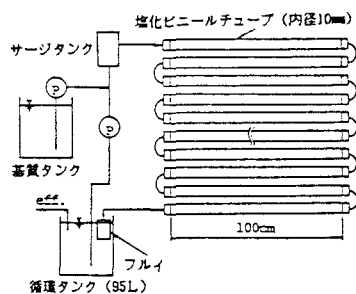


図-1 実験装置概略図

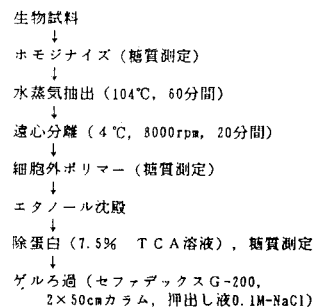


図-2 細胞外ポリマー抽出・分析操作

を図-3に示す。膜厚は経過43日目ころまで増加し約2mmぐらいまでに達し、60日目ころまではほぼ維持するが、その後は大きな剝離により急激に減少している。生物膜乾燥乾密度は、経過と共に着実に増加していき高密度化されている。剝離生物量は図-4に見られるように経過と共に多くなっている。ただし、経過40日目ころまではフルイを通過する剝離生物の方がフルイ残留量よりも多いが、しかしその後はフルイ残留量の方が多くなり、粒径の大きなものが剝離するようである。一方、基質が停止されている71日目の剝離生物は量的には多いが、小さな粒径のものが大部分を占めている。図-5には生物膜の有機性物質(VS)に対する蛋白質含有量の経日変化を示す。全生物について変動が見られるが、図-3の膜厚の挙動と対称の形となっている。このことは蛋白質含有量の減少と剝離とに何らかの関係があるものと推察される。

4-2 細胞外ポリマーの糖質成分 生物膜の糖質含有量の経日変化を図-6に示す。全生物、細胞外ポリマーともに糖質含有量は生長に伴って減少している。ただし、除蛋白した細胞外ポリマーはほとんど変化がみられない。このことは、糖質の減少した成分がTCAで除蛋白した操作時に一緒に除去された糖蛋白質であることを示唆している。ウロン酸についても図-6の糖質と同様の挙動を示した。一方、図-7に示すアミノ酸含有量は経過と共に増加する傾向が見られる。生物膜の細胞外ポリマーは、生長に伴って量・成分とも一定ではなく変化することが分かる。

4-3 ゲルクロマトグラフィ分画 ゲルクロマトグラフィ分析結果の一例(44日目の生物膜)を図-8に示す。除蛋白した細胞外ポリマーの糖質は、図にみられるように2つの分画に分離されたが、経過日数の異なる生物膜や剝離生物についても同様に2分画され、これらの分画結果に差異はみられなかった。また、2つの分画ピーク成分の凝集活性を調べるために、カオリンと分画成分の混合溶液(カオリン濃度 800mg/l)の濁度試験(30分間の濁度減少率)を行ったが、凝集性は認められなかった。このことは、TCAで除去された細胞外ポリマー成分の重要性を示唆していると考えられる。

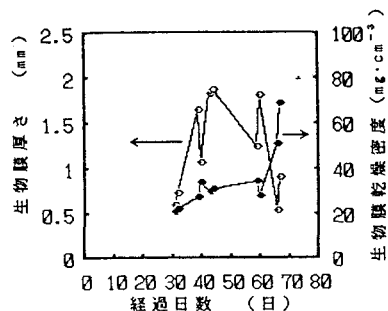


図-3 生物膜厚さと乾燥密度の経日変化

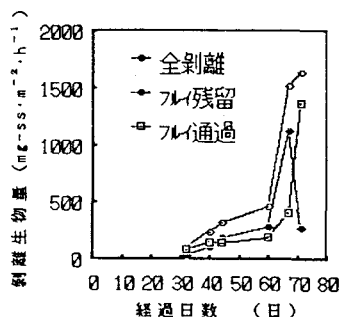


図-4 剝離生物量の経日変化

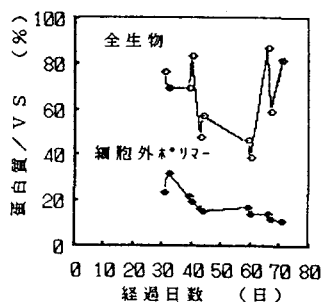


図-5 生物膜の蛋白質含有量の経日変化

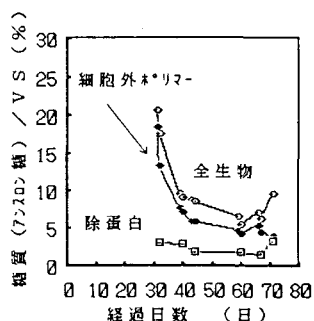


図-6 生物膜の糖質含有量の経日変化

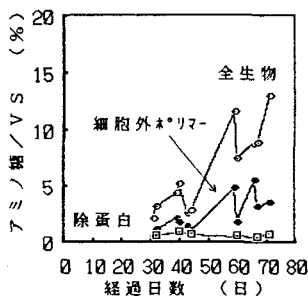


図-7 生物膜のアミノ糖含有量の経日変化

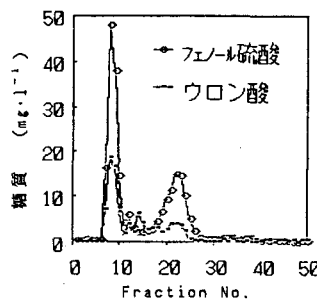


図-8 ゲルろ過による細胞外糖質の分画(生物膜, 44日目)