

回転円板付着生物膜の生物活性に関する研究

宮崎大学工学部 学生員 〇後藤雅子 学生員 川崎慎一郎
 宮崎大学工学部 正員 増田純雄 正員 石黒政儀

1. はじめに 固定生物膜法における付着生物膜内には、多種多様な細菌が混在し、膜内の酸素・窒素・有機物等の存在条件によって、単一膜内で硝化・有機物酸化・脱窒(硝化脱窒)同時反応が生じる。この硝化脱窒同時反応に関与する細菌の生理・代謝機構を解明することは、生物学的な下水処理を効率的に行う上で重要である。本文では、実廃水(都市下水)と人工下水による付着生物膜の細菌活性実験を行い、硝化に及ぼす有機物濃度の影響と生物膜厚さ方向の細菌活性、および生物膜の電子顕微鏡写真による結果に考察を加えて報告する。

2. 実験装置および実験方法 実験装置は、図-1に示すような実水容量2.65ℓの槽と直径16cmのアクリル製円板10枚からなり、実廃水・人工下水用の2台を設置した。円板は図に示すように、付着生物膜採取時に一部分(10×60mm)ごと抜き取れるように加工してある。電子顕微鏡用の付着生物膜試料作製は、支持体ごと抜き取った生物膜をそのまま、グルタルアルデヒドで固定し、臨界点乾燥後、エポキシ樹脂で包埋した。その膜断面と固定だけ行った試料を、走査型電子顕微鏡(Scanning Electron Microscope; S.E.M.)と透過型電子顕微鏡(Transmission Electron Microscope; T.E.M.)とで写真撮影した。生物活性の実験は、実廃水による付着生物膜を支持体の一部分ごと採取し、マイクロスライサーで環状方向にCutting(3層に分割)を行い、ホモジナイザーで均一化し、回分実験を行った。原水は実廃水をメンブランフィルター(0.45μm)でろ過したものを用い、窒素酸素が充分ある条件で、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 DOC 除去速度を測定した。終了後、 C/N ($\text{CH}_3\text{OH}/\text{NO}_3\text{-N}$)濃度比=4となるように $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 CH_3OH を添加し、嫌気状態で脱窒活性を調べた。硝化菌培養のため人工下水を供給し、硝化菌が充分付着生育した生物膜をホモジナイザーで均一化し、細菌測定および回分実験を行い、硝化活性に及ぼす有機物濃度の影響を調べた。なお実廃水による付着生物膜はスフエロティルス部を除去し、膜状部分を使用した。

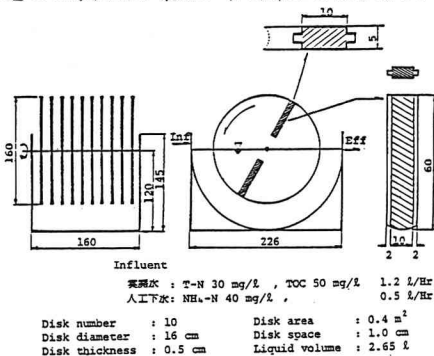
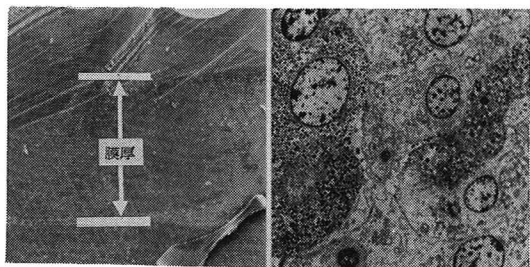


図-1 実験装置

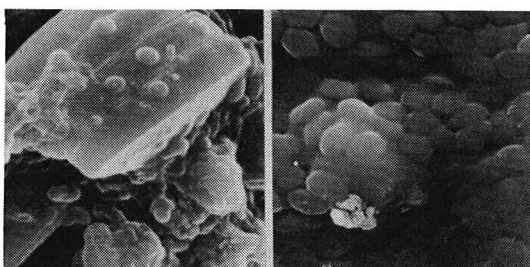


X 32 200 μm

写真-1 生物膜断面の SEM 写真

X 950 10 μm

写真-2 生物膜断面の TEM 写真



X 2900 2 μm

写真-3 生物膜表面の SEM 写真

X 4200 2 μm

写真-4 生物膜底面の SEM 写真

3. 結果と考察3-1. 電子顕微鏡による付着生物膜の観察

生物膜表面には凹凸があり、Cuttingはこの凸部にマイクロスライサーの刃が最初に接触した点を表面とした。この凹凸部は400μm程度で、膜厚は約750μmである。写真-1に生物膜断面のS.E.M.写真を示す。この写真から、膜厚は700μmとなり、マイクロスライサーによる膜厚測定値とほぼ一致し、固定・乾燥・包埋による試料収縮はほとんどないことが判明した。写真-2に任意断面のT.E.M.写真を示す。生物膜内に原生動物が多数存在し、その一部は細胞膜内に0.5μm程度の球菌を多数捕食しているのが観

察された。また別の断面には $1 \times 2 \mu\text{m}$ 程度の桿菌が多数見られた。写真-3.4に人工下水による付着生物膜の表面および底面のS.E.M.写真を示す。 $0.5 \sim 1.0 \mu\text{m}$ 程度の球菌・桿菌の存在が確認され、その菌数は底面の方が多く、表面には原生動物・藻類も確認された。付着生物膜のCuttingにより求めた概略的な密度は、スフェロテイルス部 ($1000 \mu\text{m}$) 25 mg/cm^2 , 表層部 ($400 \mu\text{m}$) 38 mg/cm^2 , 中層部 ($200 \mu\text{m}$) 79 mg/cm^2 , および底層部 ($150 \mu\text{m}$) 77 mg/cm^2 となり、底層部と密度が高いことが判明した。

3.2. 付着生物膜内の細菌活性 図-2.3に実流水による付着生物膜内の各層における $\text{NH}_4\text{-N}$, TOC濃度と反応時間の関係を示す。本文では、 $\text{NH}_4\text{-N}$, TOC, および $\text{NO}_3\text{-N}$ の生物膜単位体積当りの除去速度と活性度と定義し、除去速度を菌体量(HLSS)で除したものを比活性度と定義する。表層・中層・底層部における硝化・有機物酸化の比活性度の実験値を平均すると、それぞれ、 $0.28, 0.20, 0.24 \text{ day}^{-1}$, $0.70, 0.60, 0.46 \text{ day}^{-1}$ である。また、脱窒の比活性度は、 $0.20, 0.19, 0.22 \text{ day}^{-1}$ であった。硝化・脱窒の比活性度は各層ともほぼ一定であり、有機物酸化の比活性度は表層部ほど高い。以上の比活性度より生物膜内の表層・中層・底層部の有機物酸化活性度は、それぞれ $0.311, 0.267, 0.203 \text{ g/m}^2 \cdot \text{s}$, 硝化活性度は、 $0.125, 0.089, 0.103 \text{ g/m}^2 \cdot \text{s}$, 脱窒活性度は、 $0.089, 0.086, 0.097 \text{ g/m}^2 \cdot \text{s}$ となる。

この活性度と実験値(液本体の $\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{NO}_3\text{-N}$, TOC 濃度)を用いてシミュレーションを行った結果、脱窒Fluxは $0.066 \text{ g/m}^2 \cdot \text{h}$ となった。実験した脱窒Fluxは $0.038 \text{ g/m}^2 \cdot \text{h}$ で、シミュレーション値の方が大きい。このことは、シミュレーションの場合にはTOCの全部が分解されるとしているが、実際には有機物の分解に難易があるためと考えられる。図-4に人工下水による付着生物膜の比硝化活性度と有機物濃度の関係を示す。この生物膜の菌濃度は、他栄養性細菌 1.8×10^6 , 通性嫌気性細菌 2.1×10^5 , アンモニア酸化細菌 9.2×10^5 , 亜硝酸酸化細菌 7.1×10^2 , 脱窒細菌 1.5×10^3 個/mgである。○印は人工下水で6か月以上馴致した生物膜を用いた場合であり、C/N濃度比(以下C/N)0.2以下では、比硝化活性度は有機物濃度に依存せず一定(0.51 day^{-1})であり、C/N=0.2~0.5では有機物濃度の増加に伴い比活性度は減少し、更にC/N=0.5以上では一定(0.28 day^{-1})となる。▲印は有機源として CH_3OH を添加しC/N=0.5の人工下水で約1か月間馴致した生物膜の場合である。C/N=0.25までは、 CH_3OH 無添加の場合と同じ比活性度を示すが、C/N=0.25以上では高く(0.41 day^{-1})なっている。このことは有機物による馴養の有無によって生物膜の比硝化活性度が変化することを示し、馴養のない場合には有機物濃度の影響が大きいことが判る。

4. おわりに

付着生物膜内の細菌活性の測定と膜の電子顕微鏡観察によって次の様な結果が得られた。
1). 生物膜の密度は、表層部で約 40 mg/cm^2 , 中・底層部で約 80 mg/cm^2 であり、S.E.M.写真からも底層の方が菌数が多い事が観察された。
2). 生物膜内の深さ方向の硝化・有機物酸化・脱窒活性を定量化することができた。
3). 硝化活性は有機物濃度の影響を受け、有機物濃度が高いと活性度は低くなる。今後、T.E.M.用試料作製の改善、生菌数の測定方法などを検討し、膜深さ方向の菌密度分布の研究を進展させていきたい。またシミュレーションモデルについても更に検討を行う予定である。最後に、本研究に御協力いただいた関係各位に謝意を表します。

参考文献

- 1) 遠山 雄 植物肥料のための超微切片法 協会出版センター 1983.8
- 2) 野村 隆三, 杉田 浩一, 増田 敏雄, 渡辺 嘉弘 硝化・脱窒反応時間による硝化下水処理に関する研究 西部支那学会講演集 PP.189, 1985.2
- 3) 増田 敏雄, 渡辺 嘉弘, 野村 隆三 固相内反応における硝化・脱窒・有機物酸化の同時反応のシミュレーション 水処理学会誌 Vol. 33 No. 262 PP.35, 43, 1986.3

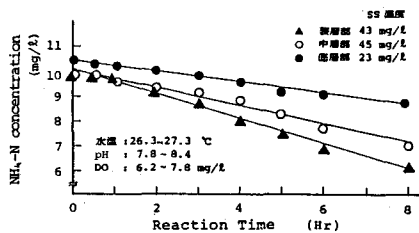


図-2 $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度と反応時間の関係

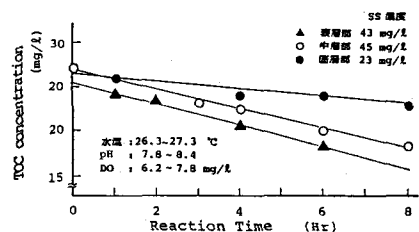


図-3 TOC 濃度と反応時間の関係

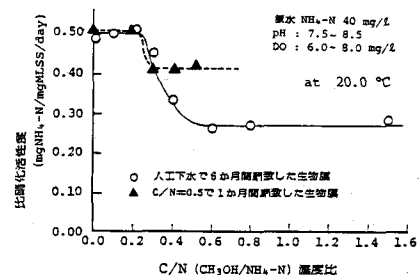


図-4 比硝化活性度とC/N濃度比の関係