

嫌気性流動床における担体付着生物膜の内部構造について

九州大学工学部 学生員 ○河村幸雄
同 上 学生員 今井 剛
同 上 正 員 楠田哲也

1. はじめに

生物膜利用型廃水処理法は反応槽内に高濃度の菌体を保持できるため、効率的な廃水処理が可能となるが、その性能を発揮させるには生物膜を適切に制御することが必要である。この生物膜の制御には付着菌体の特性及び膜内での分布を把握することが必要となる。本研究では、嫌気性流動床から担体付着生物膜を採取し、表面から段階的に剥離させた菌体について基質ごとの消費活性を求めた。この結果より、膜厚方向の基質消費活性の分布を把握し、生物膜内に存在する菌体として活性菌体、死滅菌体に加えて新たに休眠菌体の存在について検討した。

2. 実験方法

本研究で用いた嫌気性流動床は、流入基質濃度1000[mg-COD/l]の混合酸（酢酸(HAc)：プロピオン酸(HPr)：n-酪酸(n-HBu)＝2：1：1) 基質を水理学的滞留時間が0.25[day]となるように連続的に投入して運転を行ない、床内温度を35±1[℃]に調整して生物膜を培養した。また、担体には粒径が0.299～0.344[mm]の人工ゼオライトを用いた。長期間にわたる運転で定常状態に達した担体付着生物膜について以下の実験を行なった。

2.1 担体付着菌体の基質消費速度の測定

剥離菌体の基質消費活性を評価するために流動床本体を用いた回分実験を行ない、流動床内の担体に付着した菌体の基質消費活性を測定した。この実験では、反応槽に初期濃度が500[mg-COD/l]となるように単一基質（HAc、HPr、n-HBu）を投入し、揮発性脂肪酸（VFA）濃度の経時変化から各基質の消費速度の測定を行なった。

2.2 剥離菌体と残留菌体の基質消費速度の測定

流動床本体から担体を採取し、空気に触れないように窒素を吹き付けながら、付着菌体をガラス棒で撈拌して剥離させた。この結果得られた剥離懸濁液を3つに分けて、これをサンプルとした。この担体について剥離操作を繰り返し、3段階に付着菌体を剥離させ、各段階のサンプルを3つ作成した。この3つのサンプルは、バイアルビンを用いて流動床本体と同様の回分実験を行なった。また剥離後の残留菌体についても同様にバイアルビンを用いて回分実験を行なった。

3. 結果及び考察

3.1 活性菌体量の推定

流動床本体とバイアルビンを用いた回分実験の結果を図-1(a)、(b)に示す。ただし、剥離菌体を用いた回分実験結果については、HAcを基質とした場合についてのみ示す（図-1(b)）。基質消費曲線の直線部の傾きから消費速度を求め、最大比増殖速度 μ_{max} と増殖収率 Y を用いて初期活性菌体量 X_a に換算した。この値では比活性を単純に比較できないため、ここでは

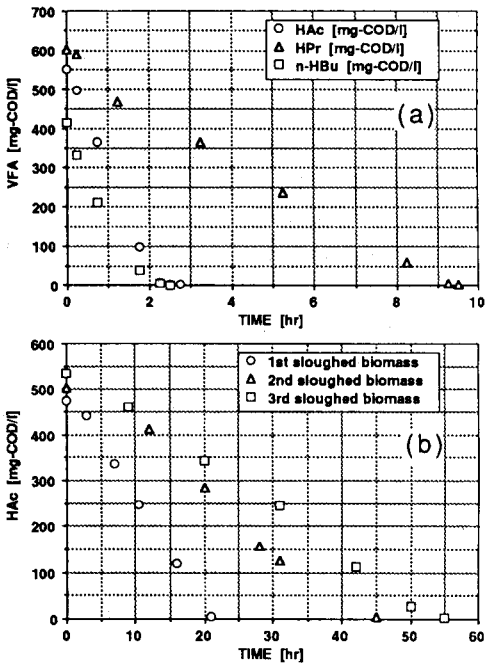


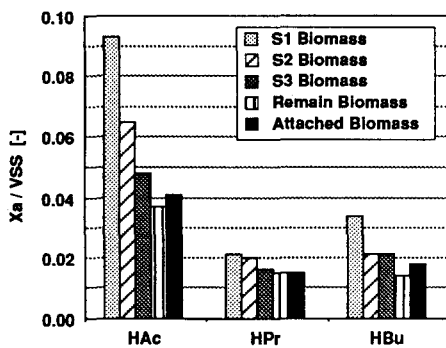
図-1 基質消費速度測定回分実験結果
(a) 流動床本体回分実験
(b) 剥離菌体部位別回分実験

表-1 剥離部位別及び付着状態での各基質消費菌の比活性

Sample Name	Substrate	X_a [mg-COD/l]	VSS [mg-COD/l]	X_a / VSS [—]
Attached biomass	HAc	1362	33065	0.041
	HPr	505		0.015
	n-HBu	600		0.018
1 st. Sloughed biomass (S1)	HAc	96	1035	0.093
	HPr	13	605	0.021
	n-HBu	21	611	0.034
2 nd. Sloughed biomass (S2)	HAc	59	912	0.065
	HPr	10	495	0.020
	n-HBu	11	526	0.021
3 rd. Sloughed biomass (S3)	HAc	34	711	0.048
	HPr	7	427	0.016
	n-HBu	10	453	0.021
Remain biomass	HAc	657	18000	0.037
	HPr	269		0.015
	n-HBu	253		0.014

VSS : Values are expressed in terms of COD using COD/VSS ratio of 1.22.
 X_a : Values are estimated based on the kinetic method.

菌体量 (VSS) 当たりの値 (X_a/VSS) を用いることにした。得られた X_a 、VSS、 X_a/VSS の値を表-1に示す。比活性を比較すると、図-2に示すように、いずれの基質も剥離の段階を追って活性は低下しており、生物膜の深部ほど活性が低下していることがわかる。これは剥離が頻繁に起こっている生物膜表層に活性菌体が多く存在していることを示している。各基質分解菌について比較すると、 X_a/VSS の大きさはHAc、HBu、n-HPr利用菌の順に小さくなっていることがわかる。HAc利用菌は剥離が進行する表層付近で特に多く存在し、HBu、n-HPr利用菌については内部での存在比率の差が小さい。HAcの投入濃度がHPr、n-HBuの2倍であり、HPr、n-HBuの分解からもHAcが生成されるため、HAc利用菌に利用される基質の量は多くなる。したがって、菌体量も多くなって基質との接触が容易な表層部に特に多く分布するようになると考えられる。投入基質濃度が同じであるHPr、n-HBu利用菌について生物膜表層部で差が生じるのは、増殖速度の差と、菌体の付着能の差が影響しているためと考えられる。また、どの基質消費菌についても活性菌体の存在割合は担体に表面に形成された付着菌体よりも剥離させた菌体の方が大きくなっていることがわかる。この結果は、生物膜内部に基質が供給されないために一時的に活動を休止している休眠菌体が存在する可能性を示している。



X_a : Values are estimated based on the Kinetic method.

図-2 剥離部位別及び付着状態での各基質消費菌の比活性の比較

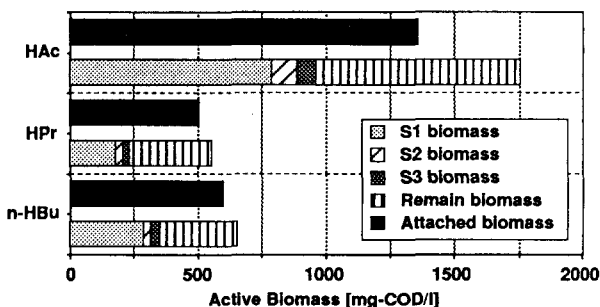


図-3 剥離部位別及び付着状態での活性菌体量の比較

3.2 膜内の付着菌体の分布特性

担体 (ゼオライト) の形状や床内の担体の空隙率に関する仮定と付着菌体量(VSS)から推定された生物膜の平均膜厚は約170[μm]であった。またそれぞれ剥離させた生物膜厚の推定値は表層から順に約40、10、10[μm]であった。剥離させた菌体の活性菌体量の総和と担体表面に形成された付着菌体の活性菌体量を比較したものが図-3である。この図から、どの基質消費菌についても剥離された菌体の活性菌体量の総和は担体表面に形成された付着菌体の活性菌体量よりも多くなっていることがわかる。これは、3.1でも述べたように活性菌体と死滅菌体の他に、生物膜内部で非活性な状態でも、基質の供給とともに活性を取り戻す休眠菌体の存在を示唆しているものと考えられる。剥離菌体の活性菌体量の総和と担体表面に形成された付着菌体の活性菌体量の比はHAc利用菌が約1.3倍、HPr、n-HBu利用菌が約1.1倍となっており、担体表面に形成された生物膜の活性菌体の1~2割にあたる量の休眠菌体が生物膜内に存在していると考えられる。今回剥離させた菌体量の合計は全付着菌体量の約1/3程度であるため確認できなかったが、さらに深層部の生物膜中においては休眠菌体の存在割合がより高くなる可能性もあり、生物膜内の全休眠菌体量も増加する可能性がある。

4. おわりに

本研究では、剥離させた菌体の基質消費活性を測定することによって生物膜を構成する菌体の中で、処理に直接関係する活性菌体の分布状況を把握し、剥離された菌体の活性菌体量の総和と付着菌体の活性菌体量との比較から、生物膜内において活性菌体や死滅菌体以外の休眠菌体の存在を検討した。今回は、付着菌体を3段階に剥離させて実験を行なったが、付着菌体を薄く剥離させることによって膜厚方向の菌体の分布状況を詳細に求めることは可能である。また、本研究の結果その存在が示唆された休眠菌体は、今後さらにその分布状況や特性を求めることが必要であると考えられる。また、モデルシミュレーションにおいても休眠菌体の概念を導入することにより、モデルでの処理水質の予測の精度向上も期待できる。なお、付着菌体の剥離処理法は、表面からより多段的な剥離が可能な手法を考える必要があり、これは今後の課題である。また、活性菌体量はあくまでも推定値であるため、実際の生菌数との比較を行なうためには染色等を用いた生菌数の把握も必要であると考えられる。

[参考文献] 1) 久場ら、水質汚濁研究、13, 121-125, 1990.

2) Kuba, T., et al. Water Research, 24, 1365-1372, 1990.

3) Lawrence A. W., and P. L. McCarty. Journal of WPCF, 41, R1-R7, 1969.