

気相酸素分圧制御下における生物膜内の細菌分布に関する研究

宮崎大学工学部 学 平田貴紅子 吉永 謙二
正 増田 純雄 岡部 聡 渡辺 義公

1. はじめに

既往の研究より大気圧状態で、C/N比を変化させた時の回転円板(RBC)付着生物膜内には各種細菌が混在し、生物膜表面の増殖部分にも各種の細菌が一様に分布していることを報告¹⁾した。一般的に、付着生物膜表層部分は均一でなく、凹凸部分あるいはSphaerotilusなどの糸状性の生物膜層となる。この生物膜表層部分の各種細菌分布は気相酸素分圧制御による硝化・脱窒同時反応では重要となる。

本研究では、C/N比を固定し、気相酸素分圧を制御した場合の硝化・脱窒同時反応の実験結果と気相酸素分圧制御後の付着生物膜内の細菌密度分布について考察を加えて報告する。

2. 実験方法

実験装置は、図-1に示すような諸元で、アクリル製円板で構成されている。流向は中心軸と直角方向、円板回転速度は、14rpmとした。円板は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。生物膜を付着生育させるために、最初沈殿池流出水を用い約10日間回分状態で馴養し、人工下水(水道水にNH₄-N、無機炭素、酢酸ナトリウム、微量元素を添加)に全量の1/5に相当する都市下水を加え、大気圧状態で約1か月間の馴養を行った。それ以降は人工下水のみで培養し、生物膜が十分に生育した時点で、装置槽内の酸素分圧を0.10、0.05atmに変化させて実験を行った。気相酸素分圧の制御は吉永ら¹⁾の方法に従った。採取した生物膜はマイクロスライサー(D.S.K Microslicer Model DTK-100)を用い、表面から深さ方向に20~100μmの厚さにCuttingした。膜厚に応じて3~6グループに分け、各グループを遠心分離(4000rpm, 40min)後、分離液をホモジナイザー(POLYTRON 20000rpm 1min)で均一化し、全菌数²⁾、他栄養細菌、硝化細菌、脱窒菌の各種細菌数の測定を行った³⁾。水質の三態窒素は下水道試験法及びイオンクロマトグラフ法により行い、TOCは有機炭素測定装置(SHIMADU TOC-5000)で測定した。

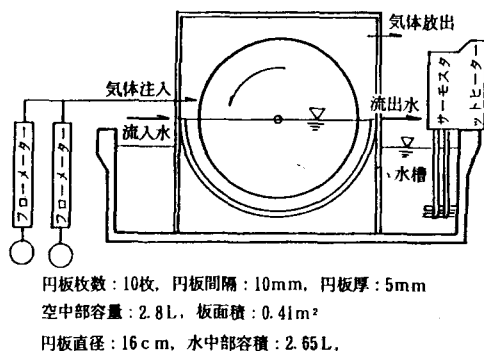


図-1 回転円板実験装置及び諸元

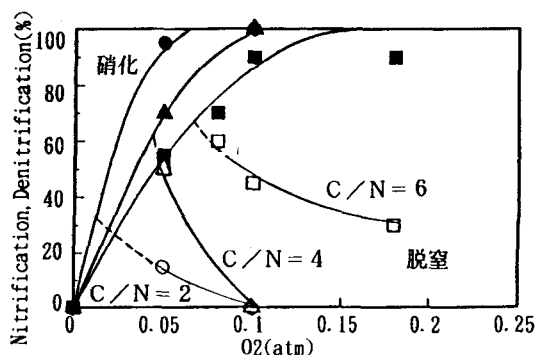


図-2 気相酸素分圧と硝化・脱窒率の関係

3. 実験結果と考察

図-3は、C/N=2, 0.10atmの条件下での硝化・脱窒率の変化を示した図である。硝化率(■)は60%近傍で落ち着き脱窒率(△)は、45%近傍で落ち着いた。図-2にC/N=2, 4, 6の時の各気相酸素分圧制御時の硝化・脱窒率をプロットした。これらは、先に報告⁴⁾した硝化・脱窒率と気相酸素分圧の関係のグラフに類似するが、各C/N比の脱窒率のピークがこれらより低分圧側に現れる。この原因は本研究では回転速度14rpmで運転したの

に対し7rpmで運転していることから、回転速度が大きい程、膜内へのDO侵入が増加する⁴⁾ため、脱窒反応が阻害されると考えられる。図-4は、都市下水を含む人工下水 (C/N=2) で気相酸素分圧0.20atmでの細菌密度分布を示す。この時の硝化、脱窒率は100%、0%で、付着生物膜は全体的に黒っぽく、糸状性層は見られず、かん菌や球菌が多く観察された。各細菌密度は膜深さ方向に増加の傾向が見られる。図-5は、図-4の生物膜を人工下水 (C/N=2)、気相酸素分圧0.10atmの下で約1ヶ月間培養した後の細菌密度分布を示す。硝化、脱窒率は100%、0%で、円板支持体から220~320 μ m層で採取された菌には糸状性細菌が多く見られた。図-6は、図-5の生物膜を更に人工下水 (C/N=2)、気相酸素分圧0.05atmで2週間培養した後の細菌密度分布を示す。硝化、脱窒率は90%、30%で、図-5の時より膜全体で脱窒菌がかなり増加している。付着生物膜の表面部 (520~1050 μ m) は白っぽくて水に揺らぐ柔らかい生物膜層 (Floppy Biofilm)が形成された。この層では、糸状性細菌は観察されず、図-5と同様に円板支持体から220~320 μ m層で、糸状性細菌が多く見られた。この実験結果より図-5、6に見られた糸状性細菌は図-4の表面部に存在していた糸状性細菌であると考えられる。また糸状性細菌層より深部の各種細菌密度は時間の経過に伴い増加しているが、表層部の細菌密度はあまり変化が見られない。以上のことを考慮すると環境条件の変化に敏感である表層部が逸早く環境に順応して新しい表層部を形成すると推測される。細菌相の変化は表層部から起こり、膜深部の菌相の変化は表層部と比較してかなり遅れて生じると考えられる。従って、生物膜内には増殖速度の違いにも関わらず各種細菌が存在できる。

4. おわりに

本研究では、以下のような結論が得られた。(1)回転速度が速くなると、各C/N比の脱窒率のピークが低圧側に現れる、(2)酸素分圧が低下すると生物膜底部の脱窒菌密度が増加した、(3)環境条件に対応した各種細菌が表層部において増殖し生物膜を形成する。今後の課題として、実験結果をもとに生物膜形成モデルについて研究を行う必要がある。

参考文献 1) 吉永ら：生物膜内の細菌特性と硝化・脱窒同時反応西部支部研究発表会概要集P p. 350-351. (1993).

2) J.E.Hobbie et al.:Use of Nuclepore Filters for Counting Bacteria by Fluorescence Microscopy, Vol. 33, Pp. 291-302.

3) 土壌微生物実験法、土壌微生物研究会編、養賢堂発行、1975. 4) 増田、渡辺、石黒、楠田：回転円板法による硝化・

脱窒同時反応に関する研究、下水道協会誌. Vol. 27, No. 316, Pp. 34-43.

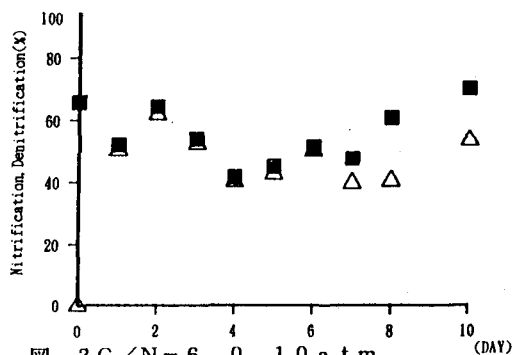


図-3 C/N=6、0.10atm 条件下における硝化・脱窒率の変化

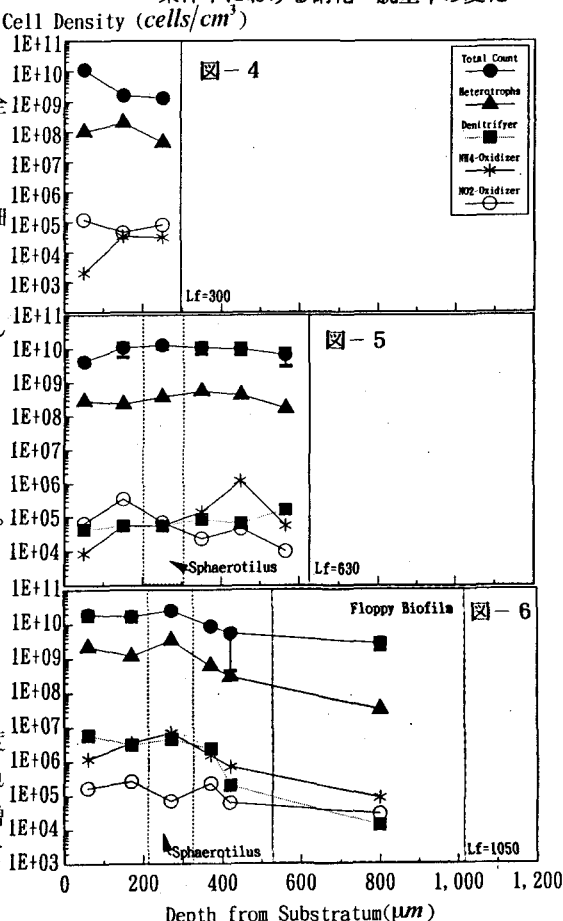


図-4, 5, 6 生物膜内の細菌密度分布