

VII-39

微小電極を用いた生物膜内の塩素濃度の解析

八戸工業大学 学生員 ○小山田 浩之
正会員 佐藤 久

1.はじめに

生物膜の付着は、下水道施設や船底のような工業装置における腐食の促進の原因、熱交換器における熱移動の減少、水圧管路における圧力損失の増加、さらには飲料水等の水質低下の原因となっている。このため、生物膜の発生を制御することは安全性、効率性の維持のために重要である。生物膜の制御には強酸化力で消毒力のある塩素が一般に用いられている。一般に適切な塩素濃度の選定は浮遊細菌を不活化する濃度として決定されるが、生物膜内に存在する細菌は浮遊状態の細菌に比べて塩素に対する耐性が極めて高いことが知られている。これは、生物膜内の細胞外高分子の存在や生物膜内の物質輸送抵抗のせいで、塩素が細菌まで到達しないためと考えられている。従って、適切な塩素濃度は浮遊細菌のみならず生物膜を制御可能な濃度として設定されるべきである。しかしながら、現在のところ生物膜内における塩素の挙動に関しては不明な点が極めて多い。そこで本研究では、塩素微小電極を用いて生物膜内の塩素濃度を測定した。また生物膜内の酸素濃度分布から酸素消費活性を算出し、塩素処理された生物膜内における微生物の活性を調査した。

2.実験方法

本研究では八戸市A汚水処理場の第一活性汚泥層の壁面に設置したアクリル版に付着した生物膜を用いて全ての実験を行った。塩素には次亜塩素酸ナトリウム溶液を用いた。培地中の塩素濃度の測定には、残留塩素計(HI-93711型:ハンナインストルメンツ・ジャパン株式会社)を用いた。生物膜内の塩素濃度分布の測定には、カソードタイプ塩素微小電極を、酸素濃度分布の測定には、クラークタイプ溶存酸素微小電極を用いた。実験に先立ち、微小電極測定用培地を満たした容器(4L)に採取してきた生物膜を設置し実験室において1時間程度生物膜を培養した。測定用培地の組成(mg/L)は、EDTA(20)、 KNO_3 (13.6)、 MgSO_4 (1.0)、 CaCO_3 (1.0)、 Na_2HPO_4 (852)、 KH_2PO_4 (410)、および微量栄養成分とし、pHを約7に調整した。測定中は培地をスターラーで攪拌し、生物膜に約1cm/sの流速を与えた。微小電極をマイクロコンピュータ(MMスタンダードZ昇降ステージMM-60V-H1およびX・YステージMM-60X・Y-H1:中央精機株式会社)に固定し、コントローラドライバ(CAT-D:中央精機株式会社)を用いて50 μm から100 μm 間隔で生物膜内に挿入し、基質濃度分布を測定した。

3.結果と考察

図-1に微小電極を用いて測定した塩素濃度約8mg/Lの条件における1020分後の生物膜内の塩素、酸素濃度分布、および酸素濃度分布からFickの拡散方程式を用いて算出した生物膜単位体積当たりにおける酸素消費活性($R[\text{mg}/\text{cm}^3/\text{h}]$)の分布を示した。酸素は膜表面から減少し深さ約1000 μm の地点で枯渇した。塩素は膜表面から減少し深さ約500 μm の地点で枯渇した。Rは塩素が浸入した深さ約500 μm の地点まではほぼ0 $\text{mg}/\text{cm}^3/\text{h}$ であり、塩素が枯渇した500 μm 以深において深さ方向に増加し、深さ約800 μm の地点で最大となった。これらの結果より、塩素により生物膜内に存在する細菌の呼吸活性が阻害されるのは、塩素が浸入した生物膜表層の限られた領域においてのみであり、深層に存在する細菌は依然として活性を維持していることが明らかとなった。de Beer et al.¹⁾も本研究の結果と同様に、ステンレススチール上に純粋培養した厚さ200 μm の生物膜内において、塩素にさらされた領域と微生物呼吸活性が阻害された領域が一致したことを報告している。

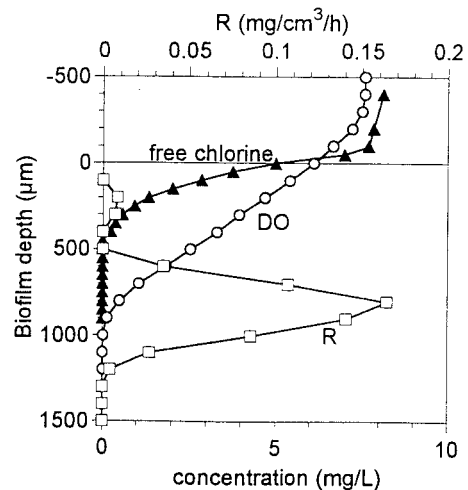


図1.生物膜内酸素濃度、塩素濃度、および酸素消費活性分布

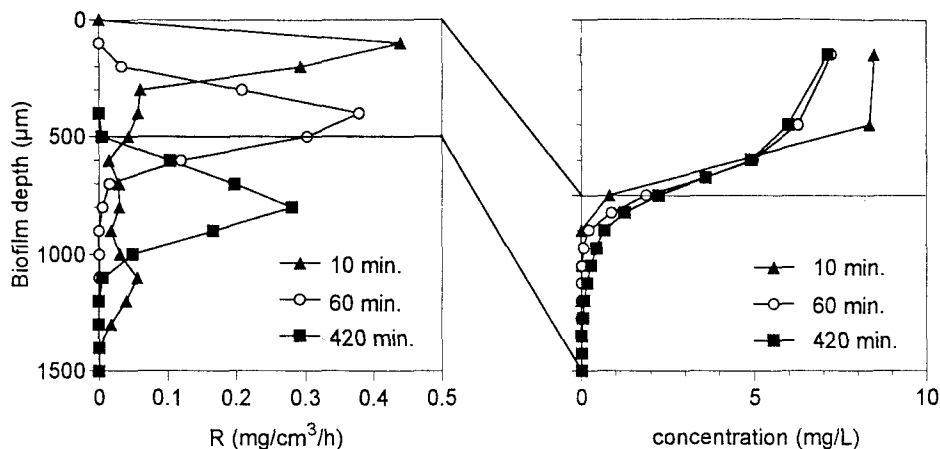


図2.生物膜内塩素濃度分布および酸素消費活性分布の経時変化

図-2に、塩素濃度が約8mg/Lの条件における塩素浸透深さとRの分布の経時変化を示した。塩素接触時間の増大とともに塩素浸入深さが約50μm、約100μm、約300μmと増大している様子がうかがえる。塩素浸入深さの増大にともない、生物膜表層の酸素消費活性が見られない領域が拡大した。塩素濃度約2mg/Lの条件下においてもこの結果と同じ結果となった。以上のことから、塩素接触時間が生物膜内の細菌を不活化するための重要な因子であることが明らかとなった。

図-3に、塩素濃度が約2mg/Lの条件と約8mg/Lの条件における塩素濃度分布を示した。生物膜表面の塩素濃度は約2mg/Lの条件では0.7mg/L、約8mg/Lの条件では5.0mg/Lと、塩素濃度が高い条件において約7倍高かった。しかしながら、塩素浸入深さは塩素濃度によらず約500μmであった。これは、本研究で解析した生物膜が下水を基質として培養された生物膜であったため、生物膜内には多種多様の細菌、細胞外高分子、有機物等が極めて高密度に存在し、水中の塩素濃度が約8mg/L存在した条件においても生物膜表層部を酸化するために全ての塩素が消費されたためと推測された。このように、実際の環境で形成される生物膜は実験室内で培養された生物膜¹⁾と比較し塩素に対する耐性が極めて高いことが明らかとなった。

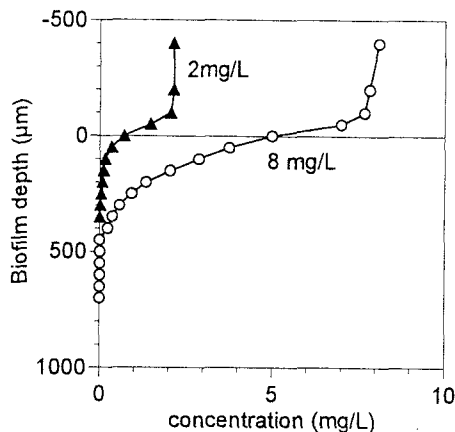


図3.生物膜内塩素濃度分布

4.まとめ

本研究では、微小電極を用いて生物膜内の塩素濃度分布、酸素濃度分布、および酸素消費活性を解析した結果以下のような知見が得られた。

- 1) 塩素により生物膜内に存在する細菌の呼吸活性が阻害されるのは、塩素が浸入した生物膜表層の限られた領域においてのみであり、深層に存在する細菌は依然として活性を維持していた。
- 2) 塩素接触時間は生物膜内の細菌を不活化するための重要な因子であった。
- 3) 実際の環境で形成される生物膜は実験室内で培養された生物膜と比較し塩素に対する耐性が極めて高かった。

<参考文献>

1) de Beer, D., Srinivasan, R. and Stewart, P. S. (1994) Direct measurement of chlorine penetration into biofilms during disinfection, *Appl. Environ. Microbiol.*, **60**(12), 4339-4344.