

(36) 生物膜の剥離抵抗因子・付着と引張強度の新規試験機による評価

Evaluation of Detachment-resistant Strength of Biofilm
by a Novel Tensile Test Device

大橋 晶良*、小山 孝**、原田 秀樹*

Akiyoshi OHASHI*, Takashi KOYAMA**, Hideki HARADA*

ABSTRACT ; Biofilm mechanical strength could be categorized into two different concepts, tensile strength and adhesion strength. The former and the latter can be defined, respectively, as biofilm internal force that is resistant to erosion and as that resistant to sloughing at biofilm/substratum interface, when external force is imposed. In this study a novel methodology is proposed to evaluate separately these two different biofilm strengths by using a tensile test device. Test biofilms consisting of denitrifiers were formed on the outer surfaces of tygon-made tubes (diameter 4.76 mm, connected with each other by 2 cm length) submerged in a rectangular open-channel reactor.

The results demonstrated that biofilm tensile strength consistently increased up to about 1000 Pa as biofilm formation proceeded, accompanied with variations in biofilm thickness from 0.4 to 2.9 mm and in biofilm dry density from 2.0 to 8.5 mg SS/cm³ for a period of 50 days reactor operation. Whereas biofilm adhesion strength drastically dropped to below 50 Pa as the biofilm became aged. The live-cell ratio of the biofilm determined by INT method decreased to about 40% with biofilm maturation. This suggests that dead-cell is likely responsible for lessening the adhesion strength. For tensile test, biofilm body is assumed to behave as an elastic material. Elastic index of the biofilm was considerably related to the tensile strength and to the density. However, the behavior of extracellular biopolymer content (ECP) was not dependent on the tensile strength. SEM observations also suggested that rather than the biofilm physiological properties such as ECP content, the biofilm structural properties such as elastic index are more determinative factors for the tensile strength.

KEYWORDS : Adhesion strength; attached biofilm reactor; biofilm density; denitrifying biofilm; detachment; elastic index; erosion; extracellular biopolymer; sloughing; tensile strength.

1. はじめに

生物膜は、微生物群が固体表面に付着して増殖しながらアグリゲート体を形成したものである。水処理の分野では、古くから生物膜を利用したリアクター形式が積極的に用いられてきた。また生物膜は水処理のみならず、様々な場で我々の生活に関与し影響を及ぼしている。例えば、歯プラークの形成、水界のバイオフィンターフェイス、熱交換器のバイオフィリング・腐食など、水処理生物膜とは対称的に好まれない生物膜の抑制にも関心が寄せられている。一方、水処理分野においては、従来の有機性排水処理に止まらず、栄養塩類の除去・省エネルギー運転・コンパクト化設計・維持管理コストの低減など生物処理への要求が厳しく、生物膜法による高度・効率化の必要性に迫られている¹⁾。

このような背景から、これまでのアプローチに加え、新規の手法を用いて生物膜に関する情報の集積がなされつつある。最近、分子生物学的手法を用いて、生物膜の微生物生態を明らかにしようという研究がその一つであり、1995年にオランダで開催されたBiofilm Workshop²⁾の頃から注目されだした。我が国においても、16S rRNAをターゲットとしたFISH法を岡部らは³⁾回転円板生物膜に適用しており、またUASBグラニュールの生態解析⁴⁾にも試みられている。その他のツールとして微小電極が挙げられる。微小電極は非常に薄い生物膜中での*in situ*

* 長岡技術科学大学工学部 (Department of Environmental Systems Engineering, Nagaoka University of Technology)

** (株) 鴻池組 (Kounoikegumi Co. Ltd.)

な栄養塩・有機物濃度を直接に測定することが可能であり、UASBグラニューール、硝化・脱窒生物膜、都市下水処理回転円板生物膜に適用して、生物膜の物質代謝特性、生態学的基質除去特性や微生物活性状態が調べられている⁵⁾。

生物膜法による水処理装置の大きな特長は高濃度の微生物を保持できることである。このため、水処理装置の合理的な設計や操作・管理を行う上で、生物膜量の挙動に関する知見は必要不可欠である。しかしながら、これらの情報は極めて不足している。しかも、何故、如何なる機構で微生物は付着し、アグレゲーションするのだろうか？ またアグレゲーションすることによって、如何なる微生物生態学的な構造と機能を獲得しているのだろうか？ これらの鍵を握る基礎的な知見に関する研究は非常に数少ない。

生物膜量は生物膜の剥離と細菌の増殖によって時々刻々と変動するため、その把握には生長・剥離機構の解明がキーポイントであり、剥離を引き起こす流体せん断力などの外力に抵抗する生物膜付着力の定量化は不可欠であると考えられる。しかし、付着力の定まった評価方法はないのが現状である。そこで著者らは、これまで平板上に形成させた生物膜に対し付着面鉛直方向に遠心力を加えて生物膜を強制的に剥がして、そのときの向心加速度から付着力を求めたり⁶⁾、平板付着生物膜を支持体ごと衝突させて慣性力による強制剥離から生物膜付着力を評価した⁷⁾。ただし、得られた付着力は定まった値ではなく、ある範囲内に存在するという幅を持った値であるため、生物膜の物性と付着力との関係を明瞭に把握するまでには至らなかった。なお、付着力と一口にいつても、その考え方によって二通りに大別される。一つは生物膜と付着支持体との間の付着力、二つ目は生物膜自体、すなわち細菌や細胞外ポリマーなどで構成される生物膜の細菌同士の付着力である。また、生物膜の剥離形態には、生物膜の一部が局所的に剥離する erosion や生物膜全体が支持体から剥がれるような大規模な剥離 (sloughing) など様々である。生物膜の付着強度は剥離を引き起こす外力に対する抵抗力と定義されるが、どのような剥離を考えるかによって付着強度の意味合いは異なる。

本研究では、生物膜内の微生物同士の付着力を表す生物膜自身の引張強度あるいは支持体面と生物膜との付着強度を直接的に測定する新規の手法を考案して、脱窒処理生物膜に適用し、生物膜の発達に伴って変遷する生物膜密度、細胞外ポリマー含有量、生菌/死滅菌割合などの付着影響因子や走査型電子顕微鏡観察から把握できる生物膜構造と引張および付着強度との関連について検討を行った。

2. 実験

2.1 生物膜形成の装置および方法

生物膜の形成には、Fig 1に示すような循環型矩形開水路リアクター（長さ1000×幅300×高さ200mm）を用いた。本リアクターは、処理性能については全く念頭には入れておらず、生物膜の引張強度および付着強度を測定するために特別に作成したものであり、生物膜形成槽部（水深：15cm、容量31.5L）と循環槽部（水深：10cm、容量：7.5L）に分かれている。生物膜形成槽部にチューブ支持体が設置されており、チューブの周りに脱窒生物膜を形成させた。槽内はマグネットポンプを用いて循環され、槽内の線流速は約90cm/minとなり、リアクターの上流・下流部に整水板を設置して層流状態を保つようにしてある。

Fig.1-(b)にリアクターの断面図を示す。生物膜の支持体には、外径4.76mm、内径3.18mmのタイゴンチューブを2cmにカットしたものを用いた。ステンレス棒（直径2mm、長さ20cm）に支持体としてのチューブを6個ずつ通したものの8本をアクリル製のテストピースユニットにセットし、槽内に当ユニット20個を浸水・設置させてある。従って、リアクター槽内には計160本のステンレス棒が設置され、合計960個のチューブピース表面に生物膜が形成される。槽内は一方向に流速があるので、均一な生物膜を形成させるためにステンレス棒の上端にブリーを取り付け、モーターによって1rpmで回転させた。リアクターは恒温室内に設置して25℃に制御した。

脱窒生物膜は人工基質で連続的に馴養した。基質は炭素源と窒素源+無機塩類とに分けて、それぞれ高濃度のストックを作り、流入直前で水道水で希釈してフィードし、水理学的滞留時間は2時間とした。基質には水素受容体に硝酸ナトリウム、水素供与体にグルコースを用い、流入濃度はそれぞれ40mgN/L、100mg/Lである。また、無機塩類と一緒にリン酸バッファー（0.01M）を添加し、pHを7.0付近に調整した。運転は活性汚泥を少量植

種してスタートした。なお、循環槽部において窒素曝気を行い、循環水の溶存酸素濃度をゼロ付近に制御した。

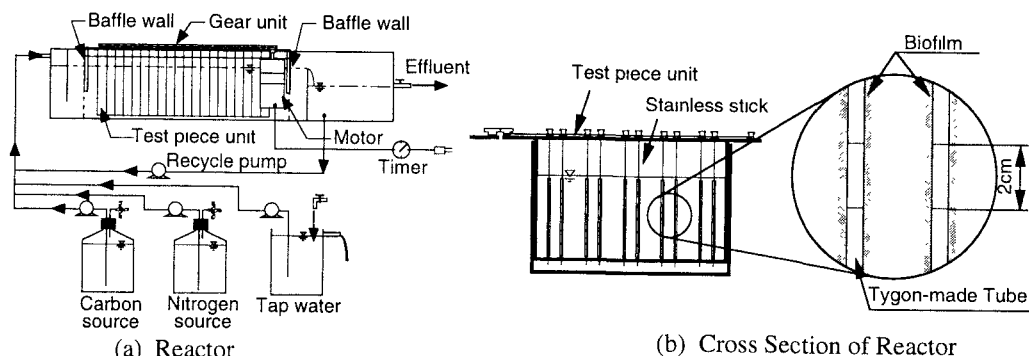


Fig. 1 Rectangular open-channel reactor used for formation of biofilms to be provided for the tensile tests.

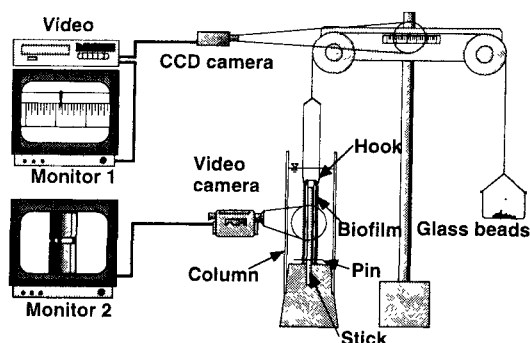


Fig.2 Schematic diagram of tensile test system for measurement of biofilm strength.

2.2 生物膜引張試験と強度の算定

矩形開水路リアクター内のチューブ表面に形成した生物膜を週2度、定期的に取り出して、Fig.2に示す生物膜引張装置を用いた生物膜の強度試験に供した。この装置は、2個のチューブ上に形成した生物膜に対して鉛直方向に引張力を加えて、強制的に2個のチューブをその接合面で破断させ、接合面における生物膜の引張強度を測定するものである。

まず、リアクター内テストピースユニットより6連のチューブが突き刺さったステンレス棒ごとに取り出す。これを生物膜が壊れないようにしてチューブ2個ずつに3分割し、装置測定台の芯棒にチューブ2個をセットする。2個のチューブは表面を生物膜で覆われているため、この時点ではくっ付いた状態にある。下部のチューブは芯棒にピンで固定し、上部のチューブにフックをかけて、2個の滑車を通して載荷部に連結する。重りにガラスビーズ（直径約2mm、重量13～14mg/粒）を用い、ビーズを規則的（10秒間に1～6粒、個数は生物膜厚さに応じて変化）に載荷してチューブサンプルに引張力を与えると、生物膜は2個のチューブ接合面で破断する。載荷時間は10数分程度で、載荷速度を1/2～3倍変化させても破断荷重への影響は顕著に見られなかった。引張装置には2台のCCDカメラが設置しており、1台は生物膜の破断状況をビデオモニターし、もう1台は滑車支持板に

取り付けられている目盛りを撮影してチューブ接合面での伸び量を測定するものである。載荷時間と伸び量の結果の一例をFig. 3に示す。規則的にビーズを載荷すると伸び量も大きくなり、最終的に伸びが急激に増大して生物膜の破断に至る。

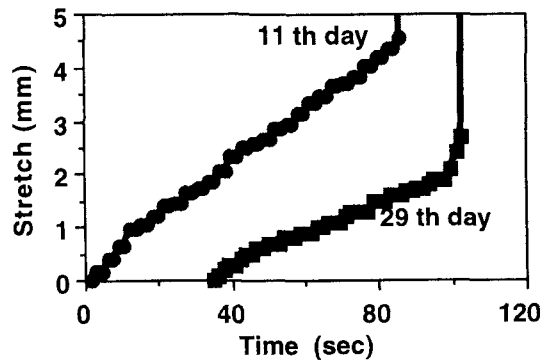


Fig. 3 Time courses of biofilm stretch during the tensile test on 11th and 29th days.

ただし、生物膜引張試験の際の生物膜破壊様式はFig 4に示すように二通りある。一つ(a)は、上述したようにチューブ接合面で生物膜が伸びて、その部位が破断する。もう一方(b)は、生物膜引張強度よりも生物膜と支持体との付着力の方が弱いために、生物膜が破断する前にチューブ支持体が生物膜からすっぽ抜けて破壊する様式である。従って、本引張試験では破壊様式に応じた次の2通りの生物膜強度が評価できる。

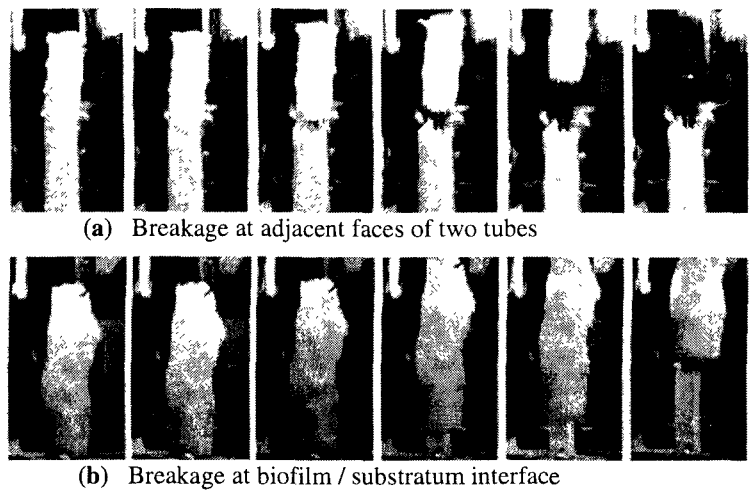


Fig. 4 Two types of behavior of biofilm breakage on tensile test. Biofilm tensile strength and adhesion strength are estimated from breakage (a) and (b), respectively.

(1) 生物膜引張強度

チューブ接合面で生物膜が破断した場合、生物膜内の微生物同士の付着力を表す生物膜自身の引張強度が破断時の引張ビーズ荷重(*m*)より算出できる。ただし、試験スタート時のビーズ受け皿荷重バランスや初期摩擦抵抗

荷重を考慮する必要があり、ブランク試験として、生物膜が破断した状態で再度同様の引張試験を行い、この時の破断に要するビーズ荷重(m_0)を測定した。従って、生物膜引張強度(F_t)は引張荷重を生物膜断面積で除した値として定義され、次式より得られる。

$$F_t = \frac{(m - m_0)g}{A_b} = \frac{(m - m_0)g}{(\delta^2 + d \cdot \delta)\pi}$$

ここに、 A_b ：生物膜断面積、 g ：重力加速度、 d ：チューブ外径（4.76mm）、生物膜厚： δ である。

(2) 生物膜支持体付着強度

生物膜の破断前にチューブ支持体が生物膜からすっぽ抜ける場合には、チューブ支持体との付着強度(F_s)が引張荷重をチューブ付着面積(A_{sub})で除した値として次式より評価することができる。

$$F_s = \frac{(m - m_0)g}{A_{sub}} = \frac{(m - m_0)g}{\pi \cdot d \cdot l}$$

ここに、 l ：チューブ長（40mm）である。なお、生物膜引張強度と同様にブランク試験を行って摩擦抵抗荷重(m_0)を求めた。

2.3 生物膜量の測定

生物膜厚の把握は、生物膜引張強度や乾燥密度を算定する上で不可欠であり、マイクロスコープを用いて生物膜付チューブ画像をコンピューターに取り込んで全直径を測定し、チューブのみの直径を差し引いて、生物膜厚を評価した。付着生物膜量は、引張試験の終わったサンプルから生物膜を剥離・分散・懸濁化し、COD α 量を測定して、COD α とSS関係の検量線から乾燥重量に換算した。生物膜乾燥密度は、この乾燥重量を生物膜厚から算出される生物膜体積で除して求めた。

2.4 付着力に影響する因子の測定

生物膜と支持体との付着や細胞同士の付着に細胞外ポリマーが重要な役割を果たしていると、これまで考えられており⁸⁾、上述の引張試験後の生物膜懸濁液の細胞外ポリマー量を測定した。細胞外ポリマーは、水蒸気抽出法（104℃、20minのオートクレーブ、15000rpm、15min、4℃の遠心分離）⁹⁾で抽出し、ポリマーの糖・蛋白質・TOC含有量で評価した。糖はフェノール・硫酸法、蛋白質はLowry法を用いた。また、生物膜内細胞周囲の細胞外ポリマーの状況を視覚的に観察するために、生物膜懸濁液をスライドガラス上に固定し、酸性糖に特異的に結合する1.0%アルシンブルーによる染色¹⁰⁾と細胞を染色する0.01%アクリジンオレンジで2重染色を施して、顕微鏡での観察を試みた。

生物膜内死滅細菌の付着力への影響を検討するために、生物膜懸濁液の生菌・死滅菌割合を二通りの方法で求めた。一つは簡便なキット（Molecular Probes社のLIVE/DEAD BacLight™ Viability Kit, L-7007）を用い、もう一つはINT法^{3,11)}を脱窒細菌に適用変法したもので、両方法とも蛍光顕微鏡観察下での全菌数に対する生菌個数の比で評価した。

3. 実験結果および考察

3.1 生物膜量の挙動

生物膜の引張強度あるいは付着強度を測定するためにチューブ外周に形成させた脱窒生物膜の厚さおよび乾燥密度の経日変化をFig 5に示している。生物膜サンプルは、定期的にリアクターのランダムな部位2～3箇所から採取しており、膜厚・密度共にバラツキはあるが、培養日数の経過に伴い徐々に増加した。運転開始3日目で生

物膜の形成が見られ、43日目には膜厚2.5mmに達しており、これは炭素源にメタノールを用いて平板上に形成させた脱窒生物膜⁷⁾と同等の生長速度である。一方、生物膜乾燥密度は36日目に7.4mgSS/cm³に達した後、多少減少してプラトー状態になったが、この値はメタノール基質脱窒生物膜密度(数十mgSS/cm³)^{6, 7)}に比較して1オーダー近くも低いものである。生物膜表面に作用する液流速が大きいと強固な膜が形成されやすいという報告¹²⁾はあるけれども、基質の違いによる菌叢構造の方が密度への影響は大きい結果となっている。

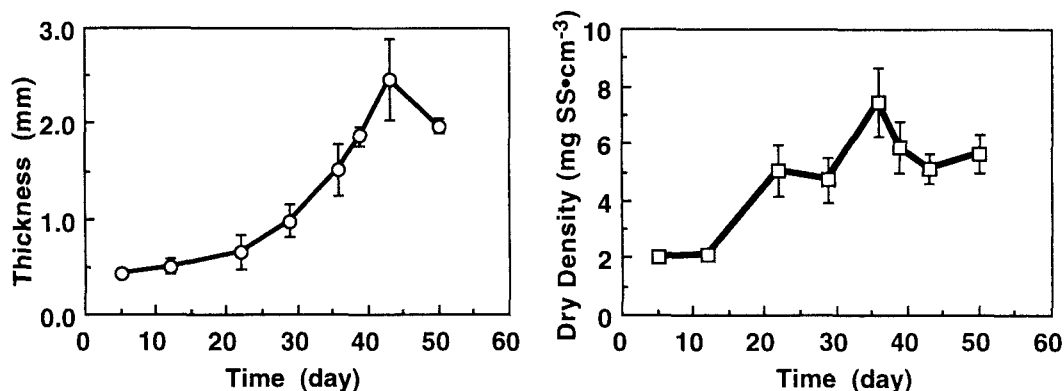


Fig. 5 Changes in thickness and dry density of the denitrifying biofilm formed on the tube.

3.2 生物膜引張強度および付着強度の変遷

本研究で提案した生物膜引張試験にはFig. 4に示したように二通りの破壊様式があり、実験方法で述べたようにチューブ接合面で生物膜が伸びて破断する場合は生物膜引張強度が評価され、チューブ支持体が生物膜からすっぽ抜ける破壊様式ではチューブ支持体との付着強度が求められる。その2回あるいは3回の繰り返し測定における経日変化をFig. 6に示しており、●印は引張強度、□印は付着強度を表している。なお、引張強度が分かる時には、付着強度を測定することはできないが、チューブ接合面で生物膜が破断する寸前におけるチューブ表面と生物膜との間に作用するせん断応力を計算することはでき、付着強度の真値は不明でもこの時のせん断応力以上の強度を有していることは分かる。なぜならば、チューブが生物膜からすっぽ抜ける前に生物膜が破断しているためである。同様に、付着強度が求められる場合も引張強度の下限値を計算することはできる。図中に記載されている矢印の箇所がこれらに該当し、矢印以上の強度であることを示している。従って、図から経過39日目までの引張試験では生物膜破断し、その後の引張試験ではすっぽ抜け破壊したことが読み取れる。

Fig 6より、生物膜の生長と共に引張強度も増加することが分かる。39日目以降の挙動は定かではなものの、Fig. 5に示した培養に伴う密度の増大と引張強度の挙動はよく符合している。引張強度の値は、測定例がほとんど見当たらず、生物膜表面付近は深部よりも小さくて数十Paであったという報告⁶⁾があるにすぎない。本研究で得られた値は数百Paでそれより1オーダーも高いが、生物膜の深度方向に引張強度分布が存在するならば、膜の平均値として算出された本測定値は妥当であると言える。

生物膜密度が安定したころの39日目以降は、すっぽ抜け破壊したので付着強度が得られている。この時の付着強度は、すっぽ抜け破壊する数日前の付着強度より低下したことは明らかである。なぜならば、矢印のデータが下限値を意味しているためである。すなわち、生物膜と支持体間の付着強度が何らかの原因で低下して50Pa以下になったことが分かる。Ohashiら⁷⁾は、生物膜が成熟すると生物膜と支持体(PVC板)の間に空洞が形成されて、急激に付着強度が下がると推察しており、その付着強度は100Pa程度と試算している。本実験では、空洞形成があったかどうか把握できなかったが、生物膜が成熟して付着強度が低下する現象と、その値もオーダー的には既報と一致している。

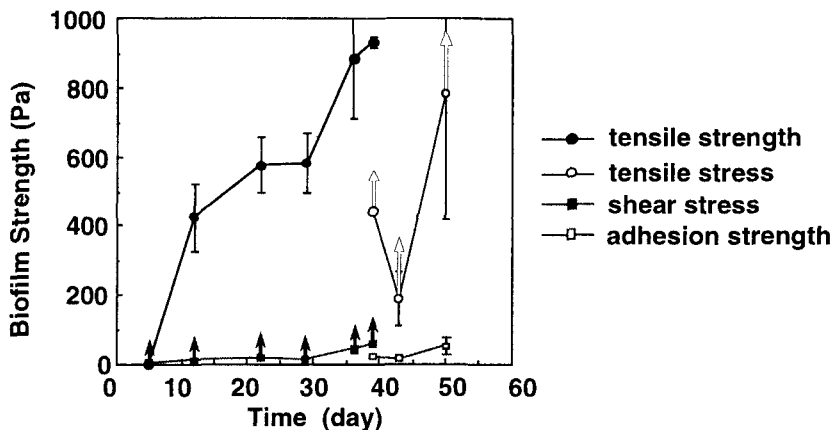


Fig. 6 Changes in biofilm strength of tensile:● and adhesion:□, estimated by the tensile test device.

すっぽ抜け破壊しなかった39日目以前の付着強度が正確に得られていないため明瞭には言えないが、生物膜の引張強度の方が付着強度よりも全般的に大きそうである。しかしながら、生物膜形成初期では引張強度が非常に小さく、このためerosionのような剥離が起りやすいと推測される。一方、成熟した生物膜は上述のように付着強度が低下しているためにsloughingのような大規模な剥離が発生し易くなると考えられる。剥離生物膜をサイズ別に調べたOhashiら¹³⁾の実験でも、生物膜形成初期はサイズの小さな剥離生物膜が卓越し、生物膜が生長した後にsloughing様の剥離を観察しており、引張強度と付着強度の変遷が生物膜剥離と密接に関係していると推察される。

3.3 生物膜の引張・付着強度に及ぼす影響因子

(1) 細胞外ポリマー

細胞外ポリマー含有量の経日変化（図示せず）では、バラツキが大きく生物膜の生長に伴う明瞭な推移の傾向は見られなかった。また、アルシンプルーによる細胞外ポリマー染色の観察でも、細菌の周囲が糖ポリマーで覆われているのは分かるものの、細菌当りの糖ポリマーの量が変化しているかを判断できるまでには至らなかった。従って、Fig.7に細胞外ポリマー含有量と生物膜引張強度との関係を示したが、糖・蛋白質・TOC全てとも明瞭な関係があるとは言えない。細胞外ポリマーは細菌と細菌の付着を担う物質であり、引張強度や付着強度と密接に関与していると考えられているが、生物膜の生長と共に引張強度が増加した挙動（Fig.6）とを鑑みると、細胞外ポリマーは主要な引張強度に及ぼす因子でないと推測される。あるいは、細胞外ポリマーの抽出に水蒸気法を用いたが、これが適切とは言えず、抽出に問題があるのかもしれない。

(2) 生菌・死滅菌の割合

生物膜内の死滅菌割合が大きいと、引張強度や付着強度は小さくなるように感じられるが、これに関する知見は見あたらず、二つの方法：市販キットとINT法で生菌・死滅菌の割合を測定した。Fig.8は二種類の方法で求めた生物膜内全菌数に対する生菌数の割合の経日変化を示したものである。キットとINT法で求めた値に大きな差が見られるが、これは二つの方法における生菌・死滅菌の定義が異なることによるものである。すなわち、使用したキットは細胞壁が壊れているかどうかで生菌・死滅を判別するものであり、一方INT法は代謝活性の有無により判定するものである。生物膜生菌割合は、膜形成初期の10日目にキット法で88%、INT法で64%あったが、

生物膜が生長すると、それぞれ約70%、40%まで低下した。引張強度や付着強度の推移 (Fig. 6) と照らし合わせると、引張強度と生菌割合は挙動が一致しておらず、この関係は薄そうである。他方、付着強度とINT生菌割合はすっぽ抜け現象の発生と生菌割合の減少した時期が多少符合しており、何らかの関係がありそうに思われる。また、生物膜を表層と深部とに非常にラフではあるが分けて、生菌・死滅菌割合を測定したところ、支持体付近の膜深部の方が死滅菌割合は高く、死滅菌の増加が付着強度の低下に影響を及ぼしている可能性が示唆された。

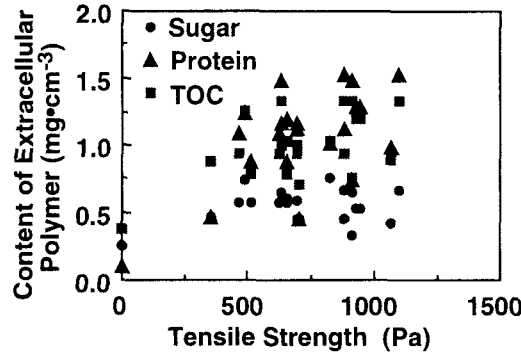


Fig. 7 Relationship between tensile strength and content of extracellular polymer.

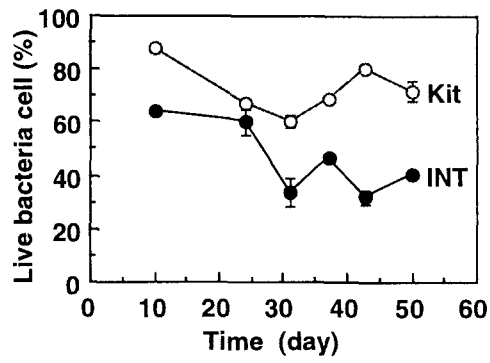


Fig. 8 Changes in percentage of live bacteria cell determined by INT method and LIVE/DEAD kit.

(3) 生物膜の弾性

生物膜は粘弾性体あるいは粘弾塑性体としての性質を有していると考えられ、Fig 3に示したように引張試験において生物膜の伸び量は、初期バランスの影響もあるが、ある荷重を過ぎた後に载荷に伴って線形的に増大し、ある限界点 (引張強度あるいは付着力) を境にして急に破壊に至っている。従って、引張試験後半の引張応力と伸び量の関係はほぼ直線であり (図示せず)、生物膜物性の一面を弾性体として扱うことが可能で、この傾きは弾性係数的な意味をもっている。以後この係数を生物膜の弾性指数と称する。このような物性から生物膜をアプローチする研究が見あたらないため、その弾性指数の値を求めても既往の生物膜研究成果と比較・検討することができない。しかし、弾性指数と引張強度の関係 (Fig 9) には弱いながらも正の相関が見られた。このことは、引張強度の強い生物膜は流体せん断力などの剥離を誘因する外力に対して変形し難いことを示唆している。

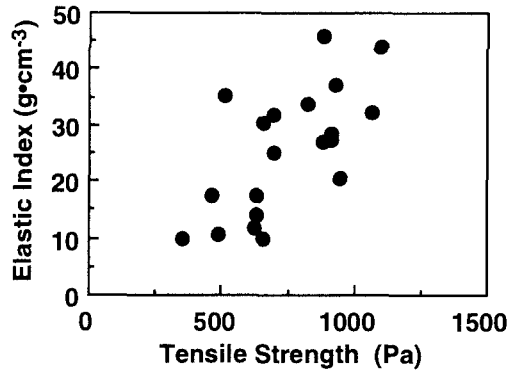


Fig. 9 Relationship between elastic index and tensile strength of the biofilms.

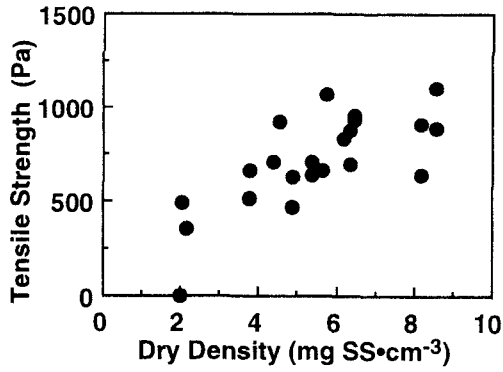


Fig. 10 Relationship between tensile strength and dry density of the biofilms.

(4) 生物膜の構造と密度

では、なぜ生物膜の弾性指数は変化して、引張強度に影響を及ぼすのであろうか。細菌同士の付着に關与する細胞外ポリマーと弾性指数の關係（図示せず）を調べたが、因果關係はないように思われた。しかし、生物膜乾燥密度と弾性指数の兩者の間には緩やかな正の相関（図示せず）が見られた。従って、Fig.10に示すように生物膜密度と引張強度には、強いとは言えないが正の關係が伺える。一方、本研究に用いたグルコースと硝酸性窒素の基質で形成させた脱窒生物膜を走査型電子顕微鏡で観察すると、Fig.11に見られるように、生物膜は疎な桿菌に纖毛あるいは細い糸状細菌のような不明なものが纖維状に絡んで膜が構成されている。このような膜構造だと、細胞外ポリマーのような付着因子物質の影響よりも纖維状物質の方が弾性指数や引張強度と密接に關係するであろうと推察される。このため、生物膜密度が増加すれば、纖維状物質が密集して引張強度の増強を促すことが容易に理解できる。

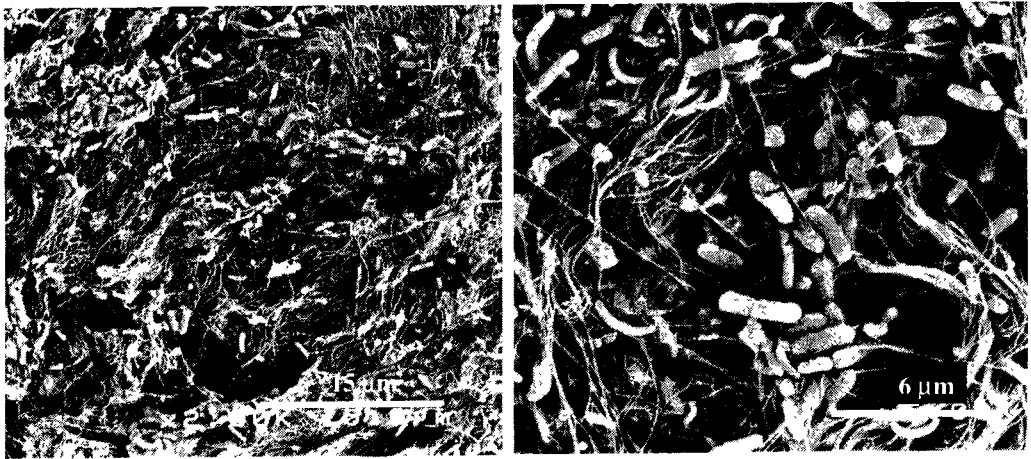


Fig. 11 Scanning electron micrographs of denitrifying biofilm on the 40th day.

4. 結 論

- (1) 新規の生物膜引張試験装置を用いて、生物膜内の微生物同士の付着力を表す生物膜引張強度あるいは支持体面と生物膜との付着強度を評価することができた。
- (2) 膜厚0.4～2.9mm、乾燥密度2.0～8.5mgSS/cm³のグルコースと硝酸ナトリウムの基質で形成した脱窒生物膜の引張強度は生長に伴って増大し、経過50日目には約1000Paに達した。
- (3) 一方、支持体面との付着強度は生物膜が成熟すると急激に低下して50Pa以下となり、引張強度に比べて1オーダー程度も低い値であった。
- (4) 生物膜内の生菌割合は生長と共に減少する傾向があり、INT法による測定では約40%まで低下した。付着強度低下の原因は、この生菌割合の減少すなわち死滅菌割合の増加と関連があることが推察された。しかし、引張強度と生菌割合の關係は小さい。
- (5) 生物膜は粘弾性体のような物性の一面をもち、引張試験結果から弾性係数的な指標を評価することができた。この弾性指数と引張強度には弱い正の相関が見られた。
- (6) 細胞外ポリマーは細菌同士の付着に關与する物質であるため、引張強度と密接な關係にあると考えられたが、実験ではその因果關係は小さく、むしろ生物膜内の構造が引張強度に及ぼす重要な要因であることが明らかになった。従って、膜密度の増大が弾性指数そして引張強度の増強に帰結した。

参考文献

- 1) 稲森悠平、林紀男、国安克彦：生物膜による処理の高度・効率化と開発動向、用水と廃水、Vol. 39 No. 8、p.655-665、1997.
- 2) Biofilm Structure, Growth and Dynamics Need for new concepts, Internatioal IAWQ Conference Workshop, The Netherlands, 1995
- 3) 岡部聡、境一澄、渡辺義公：テトラゾリウム塩還元法を応用した硝化細菌の検出方法の検討、水環境学会誌、21, p.88-97、1998
- 4) 珠坪一晃、関口勇地、大橋晶良、原田秀樹、荒木信夫：16SrRNA標的モレキュラー・プローブのIn Situ Hybridizationによる嫌気性汚泥微生物叢の生態学的構造解析、環境工学研究論文集、Vol.34、p.51-60、1997
- 5) 原田秀樹、大橋晶良、珠坪一晃、菊池香枝、山崎慎一：微小電極を用いた生物膜中の栄養塩・有機物濃度測定手法の開発、用水と廃水、Vol. 39 No. 8、p 701-708、1997.
- 6) Ohashi A. and Harada H. : Adhesion Strength of Biofilm Developed in an Attached-Growth Reactor", Water Science and Technology, Vol.29, No.10-11, p281-288, 1993
- 7) Ohashi A. and Harada H. :A novel Concept for evaluation of biofilm adhesion strength by applying tensile force and shear force, Water Science and Technology, 34, No 5-6, p 201-211, 1996
- 8) 佐藤孝彦ほか：好気性微生物の自己凝集メカニズム、水質汚濁研究、第13巻、第5号、p 268-292、1990
- 9) Morgan J.M., Forster C.F. and Evison L. : A comparative study of the nature of biopolymers extracted from anaerobic and activated sludge, Water Res., Vol. 24, No.6, p.743-750, 1990
- 10) 山田和順：ムコ多糖の組織細胞科学的研究法、蛋白質・核酸・酵素、Vol.17、p 775-790、1972
- 11) Rittmann, B.E., Trinet, F., Amar, D. and Chang, H.T. ; Measurement of the activity of a biofilm: Effects of surface loading and detachment on a three-phase, liquid-fluidized-bed reactor, Water Sci Technol., Vol.26, No.3-4, p.585-594, 1992
- 12) Characklis W.G. : Fouling biofilm development : a process analysis, Biotechnol. and Bioeng., Vol.23, p.1923-1960, 1981
- 13) Ohashi A. and Harada H. : Characterization of Detachment Mode of Biofilm Developed in an Attached-Growth Reactor, Water Science and Technology, Vol.30, No.11, p.35-45 , 1994