

1. はじめに

嫌気性流動床法やUASB法に代表される付着生物膜型廃水処理において、生物膜内の活性菌体量、死滅菌体量、細胞外ポリマー等の濃度分布を把握することは、その処理水質を予測する際に重要である。この生物膜内の菌体量分布に大きな影響を与える要因の一つが生物膜の剥離強度である。そこで本研究では、まず嫌気性流動床において定常状態に達している生物膜の剥離強度を把握することを目的として、生物膜の剥離装置を製作し、様々な剥離強度における剥離量を実測した。この実験結果から本流動床における生物膜の限界剥離強度を推定した。次に、この剥離装置を用いて段階的に生物膜を剥離させ、各剥離段階ごとに基質別消費活性を測定し、生物膜内における活性菌の膜厚方向分布について検討を加えた。

2. 生物膜の剥離強度の推定

図-1に今回新規に作成した生物膜搅拌剥離装置の概要を示す。剥離装置は内寸が6cm×6cm×6cmの立方体で、装置内に設けた十文字形の搅拌翼により搅拌を行なう。この剥離装置は直径の異なるブリーを組み合わせることで、搅拌翼の回転数を変更できるようにになっている。また、剥離装置の下にトルク測定装置を設置し、任意の回転数に対するトルクを測定できるようにしてある。剥離装置内に水を満たした状態で、様々な回転数に対するトルクを実測し、回転数とトルクの関係を示したものが図-2である。この図からトルクは回転数の2乗に比例することがわかる。

この剥離装置の回転数を変化させ、搅拌継続時間と生物膜の剥離量の関係を調べるために、以下の実験を行なった。対象とした生物膜は約3カ月間負荷 $4\text{kg-COD}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{day}^{-1}$ で連続運転を行ない、膜厚がほぼ定常状態に達しているものを用いた。まず、剥離装置内に生物膜付着担体を静かに沈降させ、空気が入らないように密封した後、所定の回転数で搅拌翼を回転させた。ある一定時間ごとにサンプリングを行ない、SS、VSS、VSS中に含まれるタンパク質濃度を測定した。これらの一連の操作を回転数を変化させて合計6回行なった。図-3は、各回転数ごとの剥離率（初期付着生物膜に対する剥離生物膜の割合）と搅拌継続時間の関係を示したものである。この図から回転数が高い、つまり搅拌強度が大きいほど最終剥離量が多いことがわかる。また、搅拌強度が大きいほど初期剥離量が大きく、剥離量が定常状態に達する時間も短いことが実験的に確認された。図-4は剥離率とVSS/SSおよびVSS中に含まれるタンパク質濃度(Pro./VSS)の関係を示したものである。剥離が表面から順序よく生じたと仮定すると、図からVSSのSSに対する割合は、生物膜表層付近が最も高く、逆に内層になるほど低くなり、生物膜内部において無機化が進行していることが予測される。また、タンパク質濃度がVSSに占める割合は、VSSのSSに対する割合と同様に生物膜表面付近が最も高く、内層になるほど

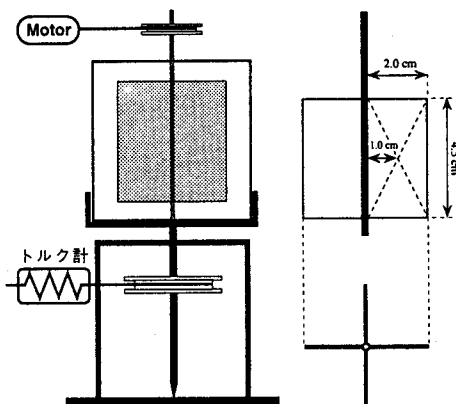


図-1 搅拌方式による生物膜剥離装置およびその搅拌翼の模式図

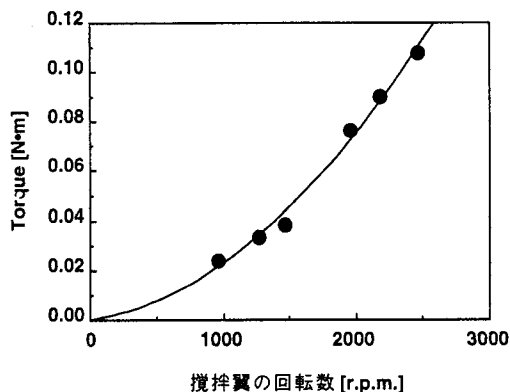


図-2 搅拌翼の回転数と装置に作用するトルクの関係

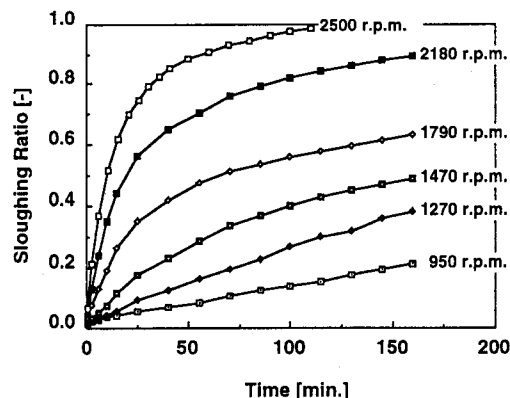


図-3 生物膜の剥離率と搅拌継続時間の関係

ど低くなるが、生物膜の中層部においてその割合がやや高くなっている。これは底層部においては死滅菌体や細胞外ポリマーに代表される不活性な固形有機物の分解が進み無機化が進行しているが、中層部においては固形有機物の蓄積が分解にまさっているために生じたものと考えられる。図-5は攪拌翼の回転数と剥離率の関係を示したものである。図から攪拌継続時間が長いほど剥離率が高くなるが、剥離が生じはじめる限界回転数の予測値はほぼ一致しており、その限界回転数は約550r.p.m.と読み取れる。よって図-2の回転数と装置に作用するトルクの関係から、限界剥離強度は約40N・m²であると推定された。

3. 生物膜内における基質消費活性分布

3.1 担体付着生物膜の基質消費速度の測定

担体に付着した状態での生物膜全体の基質消費活性の測定することを目的に流動床本体を用いて回分実験を行なった。この実験では、反応槽に初期濃度が1000mg-COD・l⁻¹となるように単一基質（HAc、HPr、n-HBu）をそれぞれ投入し、揮発性脂肪酸（VFA）濃度の経時変化を測定し、この結果から各基質の消費速度を求めた。

3.2 剥離生物膜と残留生物膜の基質消費速度の測定

生物膜の部位別基質消費活性を求めるために、段階的に剥離させた生物膜のそれぞれの基質消費活性を測定した。前記の剥離装置を用いて6段階に剥離させた生物膜について、それぞれバイアル回分実験により基質消費活性を測定した。剥離させた懸濁液の採取および配分にはシリンジを用い、すべての操作を窒素ガスで置換したグローブボックス内で行ない、嫌気状態を維持した。剥離装置の運転条件および剥離結果を表-1に示す。この結果から、生物膜全体の9割以上が剥離していることが分かる。6段階に剥離させた生物膜のサンプルを振とう培養器にかけ、ほぼ完全に分散状態にした後、回分実験を行なった。また、剥離操作後の担体付着残留生物膜についても同様にバイアルを用いて回分実験を行なった。なお、バイアルを用いた回分実験手法は、久場らの方法¹⁾に準じた。

3.3 活性菌体量の推定

流動床本体とバイアルを用いた回分実験の結果の一例を図-6(a)、(b)に示す。ただし、剥離生物膜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-6(b)）。基質消費曲線の接線部の傾きから消費速度を求め、最大比増殖速度をそれぞれHAc：0.26、HPr：0.19、n-HBu：0.60day⁻¹²⁾、増殖収率をすべて0.05mg-COD_{cell}・mg-COD⁻¹³⁾として、初期活性菌体量X_aに換算した。比活性を比較するために、ここでは菌体量（VSS）あたりの値（X_a/VSS）を比活性の指標として用いた。比活性を比較すると、図-7に示すようにいずれの基質消費活性も剥離の段階を追って低下しており、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おり、図-4の結果とも一致する。各基質分解菌について比較すると、X_a/VSSの大きさはHAc、HPr、n-HBu分解菌の順に小さくなっているこ

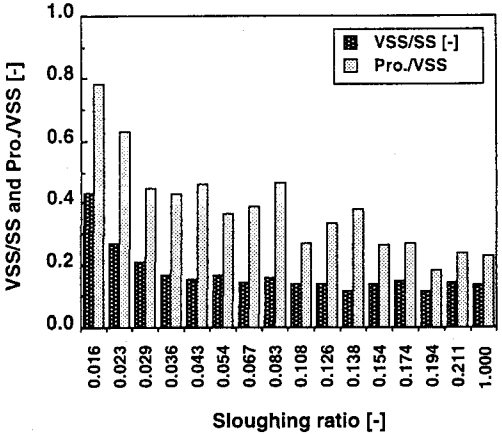


図-4 生物膜の剥離率とVSS/SSおよびPro./VSSの関係

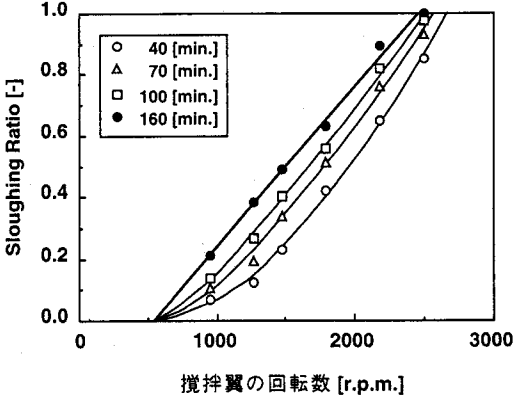


図-5 攪拌翼の回転数と生物膜の剥離率の関係

表-1 剥離装置の運転条件および剥離結果

運転時間 (min)	累積運転時間 (min)	懸濁液量 (ml)	SS (mg・l ⁻¹)	剥離したSS量 (mg)	VSS、剥離したVSS量 (mg・l ⁻¹)	累積VSS量 (mg)	剥離した割合 (%)	剥離した割合 (累積)
第1回剥離(S1)	1	170	8160	1387.2	1940.0	329.8	329.8	5.8%
第2回剥離(S2)	2	3	172	23420	4028.2	3700.0	636.4	966.2
第3回剥離(S3)	2	5	182	20720	3771.0	3880.0	706.2	1672.4
第4回剥離(S4)	8	13	192	46400	8908.8	6620.0	1271.0	2943.4
第5回剥離(S5)	22	35	203	48920	9930.8	7360.0	1494.1	4437.5
第6回剥離(S6)	55	90	210	31600	6636.0	4180.0	877.8	5315.3

但し、回転速度は2200r.p.m.である。

とがわかる。HAc資化性メタン菌は剥離が生じやすい表層付近で特に多く存在している。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資化性メタン菌に利用される基質の量は多くなる。したがって、菌体量も多くなり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。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付着した状態での生物膜よりも剥離させた生物膜の方が大きくなっていることがわかる。この結果は、生物膜内部において菌相互の競合等が原因となり一時的に活動を休止している生物学的な休眠状態菌が存在するという著者らの仮説を支持するものと考えられる。

3.4 生物膜内における各基質分解菌の分布特性

流動床内の担体付着VSS、担体付着生物膜の沈降体積および担体の質量から求められる担体表面積を用いて、生物膜の平均膜厚は約 $120\mu\text{m}$ と推定された。ただし、担体の形状を球と仮定し、沈降時の空隙率を0.4としている。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5, 10, 10, 20, 30, $30\mu\text{m}$ であった。剥離させた生物膜および残留生物膜内の活性菌体量の総和と担体付着生物膜内の活性菌体量を比較したものが図-8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生物膜および残留生物膜内の活性菌体量の総和は担体付着生物膜内の活性菌体量よりも多いことがわかる。この結果も生物膜内に休眠状態菌が存在するという仮説を支持するものと考えられる。剥離生物膜および残留生物膜内の活性菌体量の総和と担体付着生物膜内の活性菌体量を比較すると、HAc資化性メタン菌が約1.4倍、HPr、n-HBu分解菌がそれぞれ約1.3、1.2倍となっており、担体付着生物膜内の活性菌の2~3割にあたる量の休眠状態菌が生物膜内に存在していると予測される。

4. おわりに

本研究では、嫌気性流動床における生物膜の剥離強度を推定するために、新規に作成した剥離装置を用いて様々な剥離強度における剥離量を測定した。この実験結果から限界剥離強度は約 $40\text{N}\cdot\text{m}^{-2}$ であると推定された。次に、この剥離装置を用いて生物膜内の部位別基質消費活性を測定し活性菌体量の膜方向分布について検討した結果、活性菌は表層付近に多く存在し、内層には休眠状態菌が活性菌の2~3割近く存在すると推定された。

【参考文献】 1) 久場ら(1990)水質汚濁研究、13、pp.121-125.

2) 古米ら(1990)環境工学研究論文集、26、pp.9-18.

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

4) 今井ら(1993)環境工学研究論文集、30、pp.209-217.

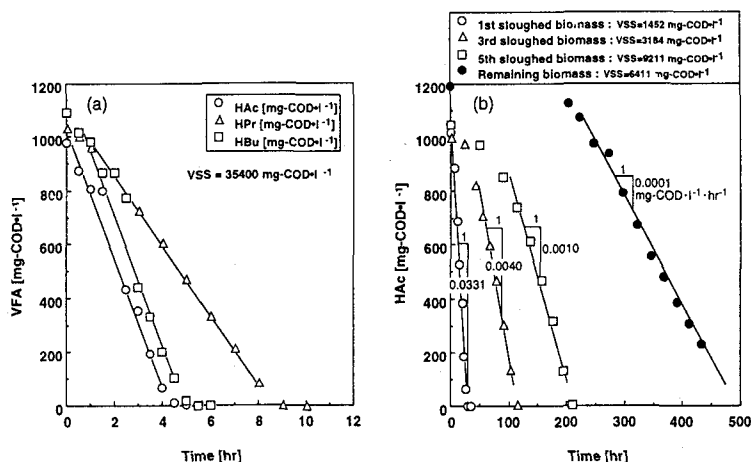


図-6 各回分実験結果による最大基質消費速度の推定

(a)付着生物膜、(b)剥離および残留生物膜

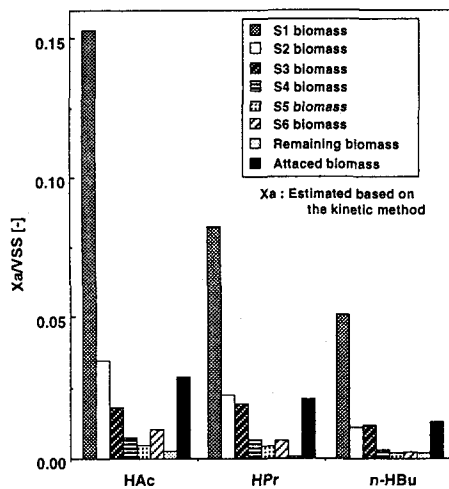


図-7 付着、剥離および残留生物膜の比活性の比較

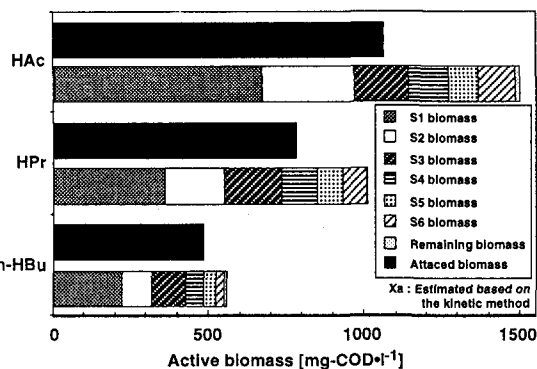


図-8 活性菌の総量の比較