

## 膜分離活性汚泥法における膜面堆積汚泥中の微生物群集構造解析

広島大学大学院 正会員 ○金田一 智規  
 広島大学工学部 学生会員 中川 晋爾  
 広島大学大学院 正会員 尾崎 則篤

### 1. はじめに

近年、生物反応槽に直接膜を浸漬させ、生物処理と固液分離を同時に行う膜分離活性汚泥法の下処理への適用が注目されている。膜分離活性汚泥法は、安定した固液分離が可能であるため処理水質が汚泥の沈降性に左右されないこと、微生物の高濃度保持と高活性維持により高度な有機物分解性が期待できること、余剰汚泥の削減が可能などの利点がある。しかしながら、運転の経過に伴って懸濁物質が膜面へと堆積することで膜の目詰まりを引き起こし、膜透過性能の低下による処理水量、水質の低下や運転コストの増加が問題となっており、膜目詰まり機構を解明し、制御することが重要である。

膜目詰まり機構については、既に多くの数値モデルが提案されており、その適用性が実験によって検討されている。これらの実験において、ろ過対象となっている懸濁物質は主に無生物粒子である。一方、下水懸濁液を用いた実験によると、これらのモデルでは必ずしも説明できない膜目詰まり機構を示しており、懸濁液や膜面堆積層内の微生物活動の影響が大きいと考えられる。しかしながら、これらの微生物学的な影響についてはほとんど検討されていない。

そこで本研究では、運転の経過に伴う膜の目詰まりが発生した際の反応槽内汚泥および膜面に堆積した汚泥を対象として、分子生物学的手法を用いて微生物群集構造を解析することを目的とした。

### 2. 実験方法

#### (1) 膜分離リアクター

膜ろ過実験に用いたリアクターの容積は50Lであり、孔径0.4 μmの塩化ポリエチレン製MF平膜をろ過膜として用いた。膜は一枚のみ使用し、その片面のみ(有効膜面積0.05 m<sup>2</sup>)を用いた。膜面には常に曝気しながら連続的にろ過を行った。ろ過時間は48時間、運転温度は25°Cとした。初期透過Fluxは

0.2~0.9 m/dayとした。活性汚泥は都市下水処理場から採取し、MLSS濃度を3000 mg/Lおよび9000 mg/Lに調整して用いた。ろ過実験中に微生物群集の変化を避けるために基質は一切与えず、ろ液はリアクターへと返送させた。

#### (2) 微生物群集構造解析

48時間経過後の膜面堆積汚泥と懸濁液を採取し、FISH法および16S rRNA遺伝子に基づく系統解析を行った。FISH法では門レベルのプロローブを11種類用いて各細菌を特異的に検出するとともに、全細菌を対象としたプロローブ(EUB338mix)の蛍光面積に対する割合を求め、各グループの構成比とした。系統解析では各汚泥からDNAを抽出後、全細菌を対象とした11f-1492rのプライマーセットを用いた。ろ過実験終了後の膜切片に対してもFISH法を行い、膜面への細菌の堆積状況を観察した。さらに堆積汚泥のMLSS濃度とDAPIカウントによる堆積汚泥中の細菌数から懸濁液および堆積汚泥中のMLSSあたりの細菌数を求め、比較を行った。

### 3. 結果と考察

#### (1) 膜ろ過実験

48時間のろ過実験では初期透過Fluxが0.2 m/dayでは膜間差圧の上昇が見られなかった。初期透過Fluxが0.5 m/dayでは膜間差圧の上昇が見られ、それに伴う透過Fluxの低下が見られた。このときの膜面へ堆積した汚泥量はわずかであり、微生物群集の解析に十分な堆積汚泥量が得られなかった。そこで初期透過Fluxを0.9 m/dayに設定し、ろ過実験を行った(図1)。MLSS濃度を3000 mg/Lおよび9000 mg/Lに調整してろ過を行ったところ、運転開始から20時間までは透過Fluxに違いが認められたが、48時間後にはほとんど変化がなかった。図2に示すように、懸濁液中および膜透過水中のDOC濃度を測定したところ、膜透過水よりも懸濁液中濃度のほうが高い

キーワード 膜分離活性汚泥法, FISH法, 16S rRNA 遺伝子に基づく系統解析

連絡先 〒739-8527 広島県東広島市鏡山1-4-1 広島大学大学院工学研究科 TEL 082-424-5718

結果が得られた。また、MLSS 濃度が高い方が、DOC 濃度が高い結果となった。今回の実験では外部炭素源を添加していないので、DOC 成分の増加は汚泥の自己分解によるものと考えられる。

## (2) 微生物群集構造解析

16S rRNA 遺伝子に基づく系統解析では懸濁液、膜面堆積汚泥ともに多様な細菌相を示し、門レベルの分類では *Alpha-*、*Beta-*、*Gamma-*、*Delta-proteobacteria*、*Bacteroidetes*、*Deinococcus*、*Candidate division TM6* に属するクローンが検出された。これらのグループは懸濁液と膜面堆積汚泥の両方から検出された。また 3000 mg/L、9000 mg/L とともに各グループの検出頻度はほぼ一致していた。FISH 法による解析では、図 3 に示すように、懸濁液においてはろ過実験開始直後とろ過実験終了後と比較すると *Firmicutes* 門の細菌は増加する傾向、*Chloroflexi* 門の細菌については減少する傾向が見られたものの、懸濁液と膜面堆積汚泥の間には細菌相の明確な違いは認められなかった。以上の結果から、特定の細菌が膜面へ付着し増殖することは考えにくく、また細菌の種類による膜面への堆積しやすさには大きな違いはないことが示唆された。

MLSS 重量あたりの細菌数を表 1 に示す。膜面堆積汚泥には懸濁液のおよそ 1/3 程度の細菌しか存在しなかった。MLSS 濃度による差はなかった。さらに 48 時間経過時の汚泥が付着した膜面を 30  $\mu\text{m}$  の厚さで切片化し、FISH 法により観察したところ、堆積汚泥中には細菌の存在する範囲が少なく、細菌以外のなんらかの物質が存在する範囲の方が多かった。このことから膜面堆積汚泥には細菌があまり存在しないか、あるいは活性を失っていると考えられる。これらの活性を失った細菌やその代謝産物、汚泥分解産物等が膜面には堆積しており、膜の目詰まりに影響を及ぼしていることが示唆された。

## 4. まとめ

膜面堆積汚泥中の細菌相を懸濁液と比較した結果、明確な違いは見られなかった。膜面堆積汚泥では MLSS 重量あたりの細菌数が懸濁液の 1/3 程度であった。膜面切片を観察したところ、細菌そのものよりも代謝産物や汚泥分解産物等が蓄積しており、これらが膜の目詰まりに影響を与えていることが示唆された。

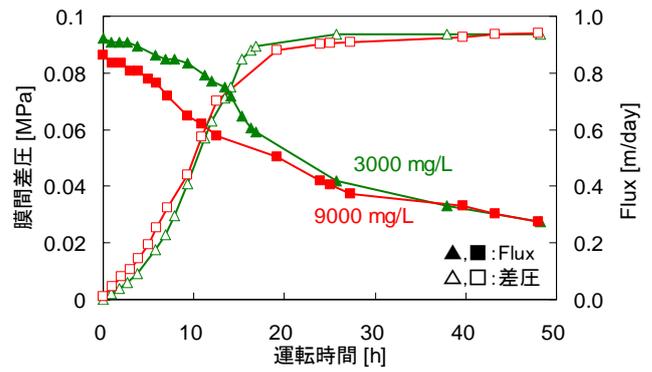


図 1 膜間差圧および透過 Flux の時間変化

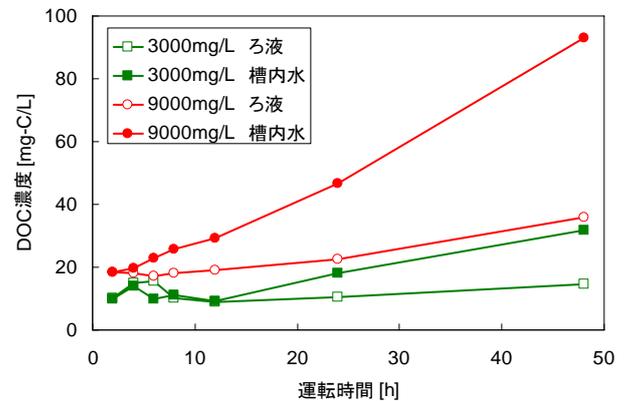


図 2 DOC 濃度の時間変化

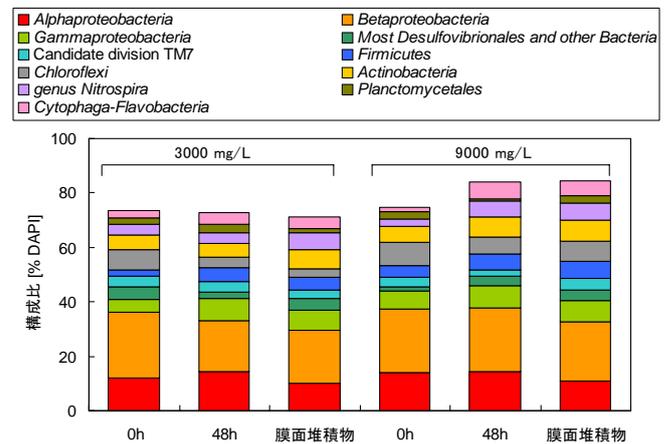


図 3 FISH 法による各細菌の構成比

表 1 懸濁液および膜面堆積汚泥の細菌数

MLSS濃度	懸濁液0h	懸濁液24h	懸濁液48h	膜面汚泥
3000 mg/L	$1.95 \times 10^6$	$2.09 \times 10^6$	$2.10 \times 10^6$	$6.59 \times 10^5$
9000 mg/L	$1.96 \times 10^6$	$2.02 \times 10^6$	$1.93 \times 10^6$	$5.68 \times 10^5$

単位: cells/mg