

(3) 限外ろ過における膜面付着層形成に対する  
生物代謝成分の影響に関する研究

EFFECT OF SOLUBLE MICROBIAL PRODUCTS ON THE  
ADHESION LAYER FORMATION IN ULTRAFILTRATION

柳根勇\*, 桃井清至\*, 原田秀樹\*

Liu Genyong\*, Kiyoshi MOMONOI\*, Hideki HARADA\*

**ABSTRACT;** The effect of soluble microbial products(SMP) accumulated in reactor on permeate flux and formation of fouling layer was investigated. In a continuous treatment of synthetic wastewater by activated sludge process incorporated with ultrafiltration membrane, it is known that permeate flux was dropped with an increase in SMP concentration, due to an increase in fouling mass adhered onto the membrane surface. From the result of SMP influence on bacterial adhesion to various membranes and coating surfaces by SMP, it was found that bacterial number per unit area was in proportion to the SMP concentration in bulk suspension. Bacterial adhesion number is influenced by the surface tension of substrates used in adhesion experiment. Coating membranes surface with SMP caused an increase in bacterial adhesion number, as the result of an decrease in membrane surface tension. From the thermodynamic model for the adhesion of bacteria from a suspension onto the membrane, it was found that the variation in bacterial adhesion number correlated well with the thermodynamic predictions. These results indicated that SMP accumulated in reactor promotes bacterial adhesion to membrane or fouling layer surface. Influence of SMP on the permeate flux drop could be considered as the promoting effect of SMP on bacterial adhesion, as well as SMP direct adsorption to membrane surface.

**KEYWORDS;** ultrafiltration, fouling layer, soluble microbial products(SMP), bacterial adhesion, surface tension.

## 1.はじめに

限外ろ過膜を生物処理システムに組み込んだ膜分離生物処理法が排水処理、し尿処理など各分野への適用が検討され、その応用は急速に拡大してきている。今後、バイオリアクターの設計・運転方式の適正化と新たな性能を持つ分離膜の開発などによって、膜分離法の適用範囲がさらに拡大することが期待される。

一方、膜分離活性汚泥法では、ファウリングにより膜透過流束が時間的に低下するといった問題がある。そこで、近年膜透過流束の影響因子、膜面付着成分及び付着層形成機構などについて、数多く研究が行われている<sup>(1)(2)(3)(4)</sup>。これらの検討により、膜分離操作条件のほか、分離対象液の性状も膜透過性能に大きく影響を及ぼすことが明らかになった。膜分離生物処理システムにおいて膜分離対象液（バルク液）には菌体のほか、基質分解と微生物の内生呼吸（菌体溶出と死滅）の過程で生成した多糖、タンパク質などの溶解性成分も含まれている。これらの生物代謝産物（Soluble microbial products, SMPと略す）は処理時間の経過とともに、バイオリアクター内に蓄積する<sup>(5)</sup>。最近、生物反応液中の溶解性有機成分が膜透過流束の低下に大きく関与していることが報告されている<sup>(6)(7)(8)</sup>。しかし、膜透過性能の低下及びファウリングに対する溶解性有機成分の影響について、まだ十分に解明されておらず、特に、溶解性成分の内、代謝産物の影響に関する報告はほとんど見当たらない。

そこで、本研究では、膜透過流束の低下及び膜面付着層形成に対する代謝成分の影響を調べるため、以下のような項目について検討を行った。（1）膜分離活性汚泥法で人工排水を長時間連続処理した場合、反応槽内に蓄積した代

\*長岡技術科学大学工学部建設系(Department of Civil Engineering, Nagaoka University of Technology)

謝成分と膜透過性能の関係 (2) 反応槽内の代謝成分の蓄積に伴う膜面付着物量及び付着物粒径分布の変化 (3) ろ過継続時間の増加に伴う膜面付着物量及び付着物粒径分布の変化 (4) 分離膜への菌体付着実験により、代謝成分濃度、膜素材及び膜面条件と付着菌数の関係を調べ、膜面への菌体付着性に対する生物代謝成分の影響を調査した。また、界面理論に基づき膜面への菌体の付着性に関する熱力学的考察を行った。

2.実験方法  
2.1連続処理実験

代謝成分の蓄積と膜透過性能の関係を調べるため、人工排水基質を用い膜分離活性汚泥法で長時間連続処理実験を行った。図-1に、連続処理実験装置の概略を示した。実験に使用した膜モジュールは日東電工の管状限外ろ過膜（分画分子量2万、有効膜面積340cm<sup>2</sup>、材質ポリオレフィン）である。膜の透過液量は、平均操作圧力を一定とし膜面流速を変化させることにより調整した。連続実験条件を表-1に示した。混合液中の残存基質と代謝成分が区分できるように、本研究では表-2に示したフェノールを唯一の炭素源とする基質を用いた。また、代謝成分の定量については、混合液中のフェノールが1.0mg/l以下まで分解された時点での上澄み液TOCをその指標として用いた。

2.2 回分ろ過実験及び付着成分分析

連続処理期間中、一定期間おきに、別の膜モジュール（連続処理実験と同タイプの管状限外ろ過膜）を用い、反応槽内混合液の30分間回分ろ過実験を行い、混合液の膜透過性能及び付着物組成の時間的变化について調べた。回分ろ過実験の操作条件は、膜面流速1.0m/s、平均操作圧力1.50kg/cm<sup>2</sup>で（1.47×10<sup>5</sup>Pa）である。膜透過性能は、ろ過時間30分経過時の膜透過流束J<sub>30</sub>を用いて評価した。回分ろ過実験終了後、水とスポンジボールを用いて膜面洗浄を行い、洗浄液を回収した。回収した洗浄液を必要に応じてエバポレータで濃縮し、濃縮液から100mlをサンプリングし、この100mlの液に対して60秒ホモジナイズ（ヒスコトロン、ダイヤ40）と60秒の超音波処理（60s,20s/cycle, 25w）を順に行った。分散させた洗浄回収液を0.45μm,0.10μmのメンブレンフィルターの順でろ過し、その透過液のTOCを測定した。そして回収液及び各透過液のTOCから、洗浄回収液中の有機成分の粒径分布を求めた。また、洗浄回収液の蒸発残留物（TS）も同時に測定し、連続処理時間の経過に伴う付着物量の変化について調べた。一方、連続処理の121日目から、回分ろ過時間を120時間まで変化させ、ろ過時間の経過による膜面付着物組成変化を調べた。付着物の回収及びサンプル処理は30分回分ろ過実験と同様である。

2.3付着実験及び菌数測定

菌体の膜面への付着性に及ぼす生物代謝成分の影響を考察するため、分離膜への菌体付着実験を行い、代謝成分濃度、膜素材及び膜面条件と付着菌数の関係について調べた。また、膜面に代謝成分の吸着による菌体付着性の変化を調べるため、付着基材は、表-3に示した各膜のほか、反応槽内に蓄積した代謝成分をUF膜面に予め吸着させた（予備吸着）ものも用いた。付着実験では、静的条件下での付着性を調べるとともに、動的条件下（クロスフローろ過状態）での付着性について検討を行った。菌体付着実験条件を表-4に示した。クロスフローろ過実験では、分離対象液の代謝成分添加条件、膜面条件とろ過継続時間をそれぞれ変化させ、菌体付着性能の変化を調査した。代謝成分添加系と無添加系の上澄み液SMP濃度はそれぞれ198.0mgTOC/lと2.4mgTOC/lであった。付着実験に使用した菌体懸濁液のサンプル処理方法を図-2に示した。連続処理実験の反応槽から採取した活性汚泥混合液（114日目）を、遠心分離、ホモジナイズ及び超音波処理した後、5μm孔径のろ紙でろ過したものを付着実験に供した。代謝成分の予備吸着では、図-2の処理で得られた上澄み液（0.45μmを通過したもの）をUF膜を通過させることにより、上澄み液中

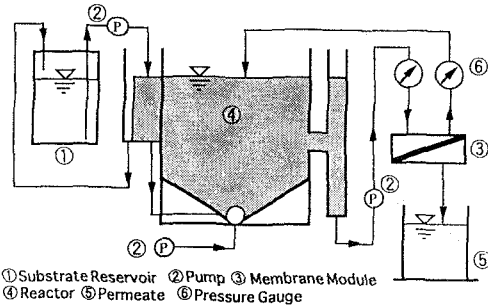


Fig.1. Schematic Diagram of Experimental Apparatus for the continuous treatment.

Table.1. Experimental condition for the continuous treatment .

|                                          |      |
|------------------------------------------|------|
| Substrate Concentration (mgTOC/l)        | 600  |
| MLVSS(mg/l)                              | 5000 |
| TOC-MLVSS Loading Rate (kgTOC/kgMLVSS/d) | 0.24 |
| HRT(hr)                                  | 12   |
| Reactor Volumn(liter)                    | 8.0  |
| Temperature(℃)                           | 30±2 |

の代謝成分を膜面にコーティングした。設定した付着時間後あるいはクロスフローろ過実験終了後に、付着基材を0.1Mリン酸緩液（PBS, pH=7.2）の中で三回洗浄し、超音波処理（90s,30s/cycle,25w）により付着菌体を膜面からはく離させた。回収した菌体懸濁液を必要に応じて所定菌数濃度に希釈し、アクリジンオレンジ染色法<sup>(9)</sup>で全菌数の測定を行った。

Table.2 Composition of Substrate

|                                        |           |
|----------------------------------------|-----------|
| C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> OH       | 780 mg/l  |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>        | 120 mg/l  |
| NH <sub>4</sub> Cl                     | 480 mg/l  |
| MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O | 150 mg/l  |
| MnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O  | 12 mg/l   |
| FeCl <sub>3</sub> · 6H <sub>2</sub> O  | 1.5 mg/l  |
| CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O  | 30 mg/l   |
| NaHCO <sub>3</sub>                     | 1000 mg/l |

2.4 接触角と表面張力

菌体の付着性と付着基材表面性質の関係について検討するため、各付着基材の接触角を測定し、付着菌数と付着基材表面張力の関係を調べた。接触角（前進角）の測定は液滴法により行った。接触角に供するサンプルには、付着実験と同様に表-3に示したUF及びMF膜のほか、反応槽内の代謝成分をUF膜面に予備吸着（コーティング）したものも用いた。代謝成分の予備吸着は付着実験と同様に、図-2の処理法で得られた上澄み液（0.45 μmを通過したもの）をUF膜を通過させることにより、上澄み液中の代謝成分を膜面にコーティングした(SMP)。また、膜面に菌体層が存在すると仮定し、その菌層での代謝成分の有無による表面性質の違いを調べるため、膜面に菌体のみを予め付着させた（予備付着）場合及び菌体と代謝成分の両方を付着させた場合の接触角をそれぞれ測定した。膜面への菌体の予備付着では、図-2の処理法で得られた洗浄菌体（5.0 μmを通過したもの）を吸引ろ過でUF、MF膜面にコーティングした(bacteria)。そして、この菌体付着層の上にさらに分離した代謝成分を吸引ろ過によりコーティングした(bacteria+SMP)。菌体と代謝成分のコーティング量はそれぞれ2×10<sup>10</sup>cells/cm<sup>2</sup>、0.10mgTOC/cm<sup>2</sup>である。また、コーティング膜面の水分を一定に保つように、次の段階のサンプル処理まで、全てのコーティング膜を寒天-グリセリン（1%寒天+10%グリセリン）表面に保存した。そして、各付着基材から、約1cm幅の膜片を切り取って両面テープでガラススライドに固定し、デシケーターで所定時間を乾燥したのち、接触角の測定を行った。滴液は0.15MNaCl溶液を使用した。また、各分散媒（0.45 μmを通過したもの）の表面張力はWilhelmy plate methodで測定した。接触角及び表面張力の測定は、すべて20±1℃において行った。

Table.3. Solid substrates used in adhesion experiment

| Membrane      | Material          | Molecular weight of cut off(MWCO) |
|---------------|-------------------|-----------------------------------|
| UF-NTU(CT-10) | Polyolefine       | 20,000                            |
| UF-NTU(CT-10) | Polysulfone       | 50,000                            |
| MF            | Nitrate cellulose | 0.10*                             |

\*pore size(μm) instead of MWCO.

Table.4. Bacterial adhesion experiment condition

| objects                           | static adhesion test | crossflow filtration                 |
|-----------------------------------|----------------------|--------------------------------------|
| solid substrates                  | UF and MF membrane   | UF membrane and conditioning surface |
| bacteria concentration (cells/ml) | 3×10 <sup>10</sup>   | 3×10 <sup>10</sup>                   |
| contact time (min.)               | 30                   | 1, 5,30,60*                          |
| suspension volume (ml)            | 25                   | 150                                  |
| incubation temperature(℃)         | 20                   | 20                                   |
| operating pressure (mmHg)         | —                    | 650                                  |
| crossflow velocity (rpm)          | —                    | 345                                  |

\*filtration time(min.)

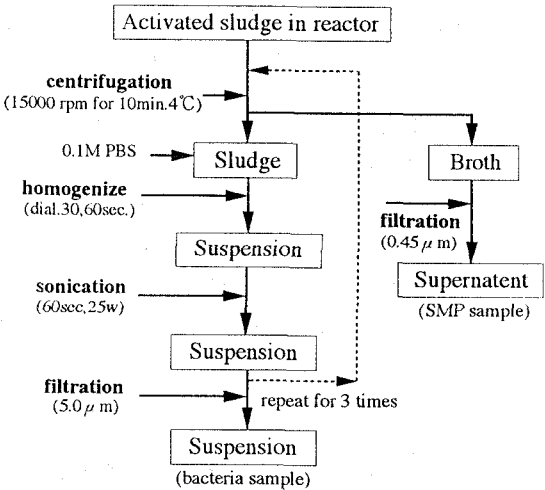


Fig.2.Sample treatment for experiments of adhesion and contact angle measurement.

滴液は0.15MNaCl溶液を使用した。また、各分散媒（0.45 μmを通過したもの）の表面張力はWilhelmy plate methodで測定した。接触角及び表面張力の測定は、すべて20±1℃において行った。

## 2.5 菌体の付着に関する熱力学的考察

界面間の静電力作用及び特殊な生化学作用などを無視し、界面理論による菌体の膜面への付着過程を考察する場合、付着現象は付着系の各界面自由エネルギーのバランスで決められる<sup>(10)</sup>。一般的には、界面間の付着は系全体の熱力学的関数（自由エネルギー）が減少方向に働く場合、付着過程が有利である。即ち、式（1）が成立する場合、菌体の膜面への付着は熱力学的には有利である。

$$\Delta F_{adh} = \gamma_{sb} - \gamma_{sl} - \gamma_{bl} < 0 \quad (1)$$

ここで、 $\Delta F_{adh}$ は付着自由エネルギー、 $\gamma_{sb}$ 、 $\gamma_{sl}$ と $\gamma_{bl}$ は膜面と菌体、膜面と液及び菌体と液間の界面張力である。従って、式（2）に示すように、付着自由エネルギーがプラスとなった場合、付着は熱力学的には不利である。

$$\Delta F_{adh} > 0 \quad (2)$$

式（1）の付着自由エネルギーはいくつかの方法で求められる<sup>(11)(12)(13)</sup>。そのうち、実験上及び計算上の利便性から、微生物の研究に最も一般的に使われているのは、状態方程式を用いる方法である<sup>(14)</sup>。液滴が固体表面で接触角 $\theta$ を保って平衡状態に達したとき、式（3）に示すYoung式が成立する。

$$\gamma_{sv} - \gamma_{sl} = \gamma_{lv} \cos \theta \quad (3)$$

ここで、 $\gamma_{sv}$ と $\gamma_{lv}$ は膜面および液体の表面張力、 $\gamma_{sl}$ は膜面と液間の界面張力、 $\theta$ は膜面における液の接触角である。（3）式中の $\gamma_{lv}$ と $\theta$ は実測可能な指標である。また、熱力学的考察より、 $\gamma_{sl}$ は $\gamma_{lv}$ と $\gamma_{sv}$ の関数として表せることが指摘されている。その後、接触角と液体表面張力の実測データから、（4）式で示される経験式が導かれた<sup>(15)</sup>。式（3）と式（4）より、 $\theta$ を $\gamma_{sv}$ と $\gamma_{lv}$ の関数として表すと、式（5）となる。

$$\gamma_{sl} = \frac{(\sqrt{\gamma_{sv}} - \sqrt{\gamma_{lv}})^2}{1 - 0.015 \sqrt{\gamma_{sv} \cdot \gamma_{lv}}} \quad (4)$$

$$\cos \theta = \frac{(0.015 \gamma_{sv} - 2.00) \cdot \sqrt{\gamma_{sv} \cdot \gamma_{lv}} + \gamma_{lv}}{\gamma_{lv} (0.015 \sqrt{\gamma_{sv} \cdot \gamma_{lv}} - 1)} \quad (5)$$

従って、式（5）を用い接触角 $\theta$ と液の表面張力 $\gamma_{lv}$ より、 $\gamma_{sv}$ を求めることが可能となる。さらに、式（4）は任意の三つの界面の自由エネルギー $\gamma_{12}$ 、 $\gamma_{13}$ と $\gamma_{23}$ の関係にも適用できるとすると、式（1）の付着自由エネルギー $\Delta F_{adh}$ を求めることができる。従って、付着系の付着自由エネルギー変化に関する考察により、菌体の膜面への付着過程が予測可能となることが示唆される。

## 3. 結果と考察

### 3.1 連続処理における代謝成分蓄積と膜透過流速変化

図-3に、連続処理における混合液中代謝成分濃度と回分ろ過実験における膜透過流速 $J_{30}$ の時間的変化を示した。図-3から、運転開始後、代謝成分は非常に速いペースで反応槽内に蓄積していくことが分かった。約60日間の短期間で、代謝成分の蓄積濃度は運転開始時の6.0から200mgTOC/lに大きく増加した。60日目以後では、一度平衡状態へ推移した蓄積濃度は、約100日目

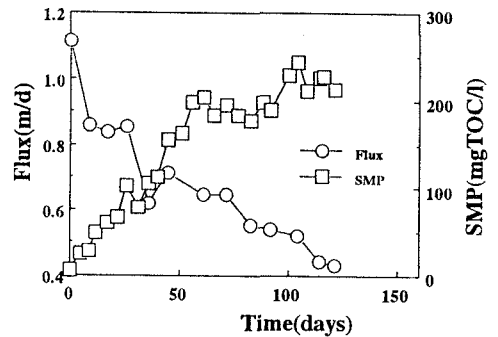


Fig.3. Permeate flux drop and SMP accumulation with an elapse of operating time.

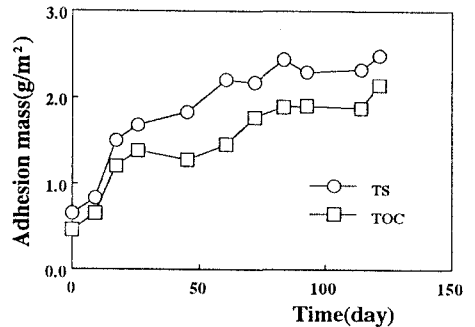


Fig.4. Variation in adhesion mass with an elapse of operating time.

あたりから再び増加した。120日の運転日数で、反応槽混合液中の代謝成分の蓄積濃度は230mgTOC/lに増加した。一方、この蓄積濃度変化に対応して、膜透過流束 $J_{30}$ は経過日数の増加とともに減少し続けた。運転開始時に1.15m/dであった $J_{30}$ は、120日目では0.42m/dに減少し、膜透過性能は時間的に大きく低下することが分かった。連続処理実験では、汚泥の引抜きにより反応槽汚泥濃度MLVSSは設定値の5000mg/lの前後に維持したことから、膜透過流束の時間的減少は混合液中の溶解性成分の蓄積、或いは活性汚泥混合液の性状の変化によるものと推定される。

膜透過性能の時間的変化と膜面付着成分の関係を調べるため、30分の回分ろ過終了後、膜面付着成分を回収し、その組成成分について分析を行った。図-4に、TSとTOCの両指標に代表される単位面積あたりの付着物量の時間的変化を示した。同じ30分ろ過時間に対する膜面付着物量は、連続処理経過日数とともに増加することが確認された。120日間の連続運転で、運転開始時と比較すると、TSとTOC量は約3～4倍に大きく増加した。また、TOCに代表される付着成分を溶解性成分と固形性成分に分けて評価すると、図-5に示したような結果が得られた。付着TOC成分を0.45 $\mu\text{m}$ 以上の固形性成分、0.45～0.10 $\mu\text{m}$ 及び0.10 $\mu\text{m}$ 以下の溶解性成分の三段階区分で示したが、いずれも運転時間の経過とともに増え続けた。溶解性成分の増加は、反応槽内に蓄積した代謝成分の上昇によるものと推察できる。一方、固形性成分については、増加原因はまだ確定できていないが、全付着量の内、固形性成分の占める比率は約6割程度であり、固形性成分あるいは菌体の膜面付着量が、膜透過性能に与える影響もかなり大きいことが推察できる。

121日目の回分ろ過実験では、ろ過継続時間を120時間まで変化させ、付着成分組成の時間的変化について検討した。その結果を図-6に示した。ろ過時間の経過とともに、固形性成分(>0.45 $\mu\text{m}$ )と溶解性成分(<0.45 $\mu\text{m}$ )の付着量はともに増加しつづけたが、固形性成分の方が付着量も増加速度も大きかった。図-7は、付着物中で両成分が占める割合の変化を示したものである。溶解性成分は図-6に示したように、量的には増えたものの比率では減少した。ろ過継続時間が1日以上になると、溶解性成分が全体の2割程度しか占めないようになった。また付着成分と同時に、分離対象液、即ち反応槽内の活性汚泥混合液(10日目、31日目、61日目、114日目)の成分分析も行ったが、活性汚泥混合液のほとんどは固形性成分で、溶解性成分(<0.45 $\mu\text{m}$ )は僅か1.8%(4回の平均値)しかなかった。しかし、30分ろ過における付着成分中(図-5)、溶解性成分の比率は約39.2%(114日目)と高かった。したがって、バルク液中の各成分は膜面に均等に付着するのではなく、代謝産物のような溶解性成分が優先的に付着し、膜面で濃縮すると考えられる。

浦瀬ら(4)は、活性汚泥懸濁液を膜分離した場合、付着層抵抗の推定から、菌体そのものより、粒径の小さいゲル状物質の全ろ過抵抗に占める割合の方が大きいと報告した。従って、ろ過抵抗の増加は単純に付着量の変化から議論できないが、代謝成分のような溶解性成分の比抵抗が大きいことから、この成分の膜面での濃縮により、ろ過抵抗は上昇することが考えられる。一方、図-7に示したような付着成分とろ過継続時間の関係から分かるように、付着成分の主体はやはり固形性成分である。実処理施設のように、長時間にわたってろ過を継続する場合、固形性成分による

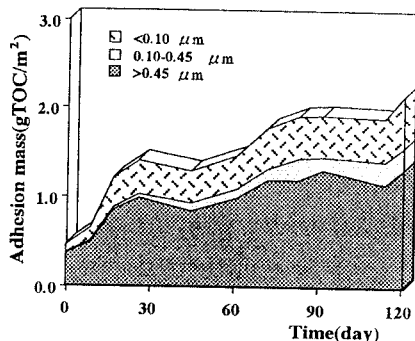


Fig.5. Variation in particles distribution of adhesion mass(TOC) with operation time.

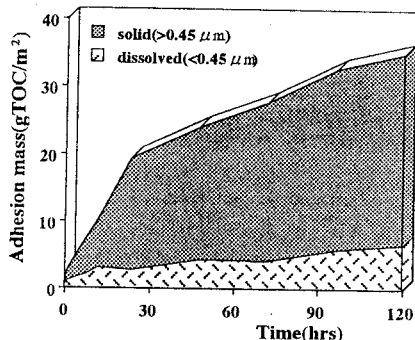


Fig.6. Variation in solid and dissolved adhesion mass with filtration time.

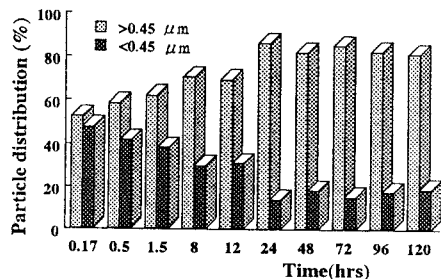


Fig.7. Percentage change in solid and dissolved adhesion mass with filtration time.

ろ過抵抗も無視できないほど大きくなることが推定できる。こうした菌体のような固形性成分の付着は代謝成分の膜面での濃縮にも影響を受けている可能性がある。

### 3.2 生物代謝成分と付着菌数

静的条件下における代謝成分濃度、膜面コーティングの有無が付着菌数に与える影響について調べた。図-8(a)に、ポリオレフィン材質のUF膜を使用して調べた結果を示す。膜面コーティング有無と関係なく、付着菌数は代謝成分濃度とほぼ比例関係にあり、代謝成分濃度の増大に伴って多くなった。また、代謝成分で膜面をコーティングすると、付着菌数は増加した。代謝成分濃度が約50mgTOC/l前後で、コーティングにより付着菌数は最大となった。代謝成分無添加の場合、コーティングによる菌数変化は小さくコーティング効果はほとんどみられなかった。また、代謝成分濃度が50mgTOC/lまでは、UF膜面とコーティング膜面での付着菌数は、ほぼ同様に増加したが、代謝成分濃度がさらに高くなると、コーティング膜面の菌数変化は次第に小さくなり、200mgTOC/lの代謝成分濃度においては、両者の付着菌数はほぼ等しかった。材質の異なるUF膜とMF膜を用いて付着菌数の変化を調べると、図-8(b)と図-8(c)に示したような結果が得られた。いずれの材質においても、代謝成分濃度増加及び膜面コーティング前後の菌数変化は、ポリオレフィンUF膜とほぼ同様な挙動を示し、菌体の付着過程に生物代謝成分は正の影響を与えることが判明した。一方、膜材質による付着菌数の違いに関しては、ポリスルホン材質のUF膜が最も多く、精密ろ過膜(MF)が比較的に少なかった。ただし、膜面コーティングにより、二種類のUF膜に対して付着菌数はほぼ同様な値となった。このことから、もとの膜材質が違って一旦コーティングされると、菌体付着性はコーティング後の膜面性質だけに依存し、膜材質と関係なくなることが分かった。従ってコーティング成分の性質は菌体の付着性に大きく影響を与え、分散媒中の代謝成分が膜面に吸着されると、膜面の菌体に対する付着性が高くなる可能性が示唆された。

図-9は、ポリオレフィン材質のUF膜を用い、代謝成分添加の有無、膜面コーティングの有無による膜面付着菌数をろ過時間を変化させて(動的条件)調べた結果である。いずれの膜面条件及び代謝成分条件においても、菌体付着量はろ過時間の経過とともに増加することが確認された。菌数変化の特徴としては、ろ過初期での増加が大きく、時間の経過とともに次第に緩やかとなった。静的条件下の付着実験で得られた結果と同様に、膜面コーティング及びバルク液に代謝成分の添加は、付着菌数の変化をもたらした。代謝成分の添加による付着菌数の増加は、ろ過初期において非常に小さいが、ろ過時間の経過とともに次第に大きくなり、逆に、膜面コーティングによる菌数変化では、ろ過時間が長

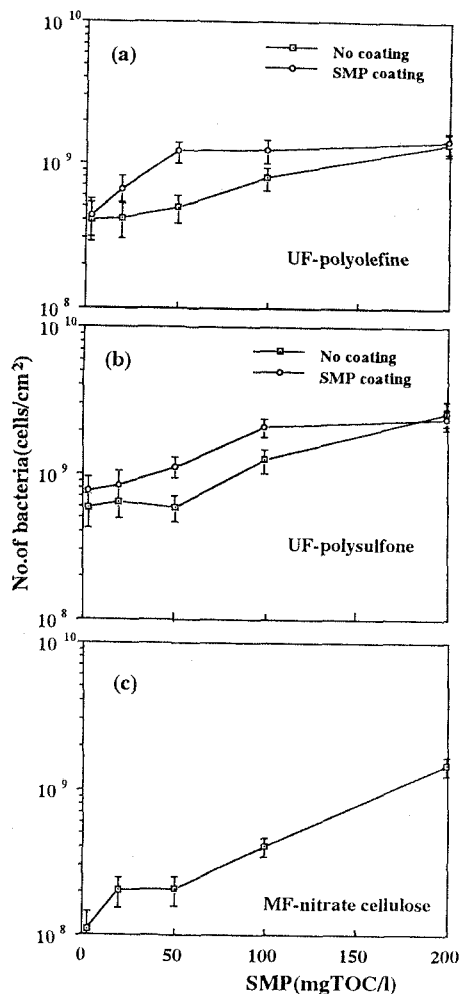


Fig.8. Relation of bacterial adhesion and SMP concentration added in the medium. (Bars indicate 95% confidence limits)

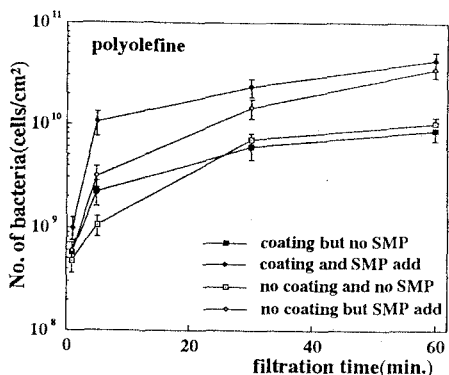


Fig.9. Variation in adhesion bacteria number with filtration time as a function of SMP and membrane surface conditions. (Bars indicate 95% confidence limits)

くなるほど小さくなり、60分のろ過時間では、コーティングによる菌数変化はほとんどなくなった。菌数曲線の変化からみると、4本の菌数曲線は最終的には2本に収斂し、代謝成分有無だけに依存する変化パターンとなった。ポリスルホン材質のUF膜を用いた結果でも同様に、ろ過初期において材質の違いによる菌数の差が若干あったが、30分以降になると菌数の違いはほとんど認められなくなり、付着菌体量の影響因子は代謝成分のみとなった。

図-10に、これ等の実験における膜透過流束の時間的変化を示した。平均透過流束は時間とともに減少し、60分間の平均透過流束は5分間の値の半分以下まで大きく低下した。代謝成分添加系では、平均透過流束が約0.3～0.4m/dと低かった。一方、膜面コーティングによる膜透過流束の差は、代謝成分添加の有無によって、大きく違ってくる。代謝成分添加系の場合、透過流束の違いはわずかであり、ろ過時間が長くなるとコーティングの影響が次第に減少する。代謝成分無添加系の場合、膜透過流束の差は、ろ過時間とあまり関係なくなり、ほぼ一定となった。恐らくこれは予備吸着によるものと推定される。

膜透過流束と付着菌数の変化を比較すると、ろ過初期を除くと、付着菌数と膜透過流束の相関性が非常に高いことが分かった。付着菌数の増加に伴い、膜透過流束は低下していく。一方、ろ過初期においては、このような相関が見られず、代謝成分の添加による付着菌数の変化はそれほど大きくなかった。これらの結果より、菌体以外の成分、例えば代謝産物のような成分がろ過初期に膜面に直接吸着し、膜透過流束を低下させるものと推定される。

### 3.3菌体付着に関する熱力学的解析

菌体の膜面への付着は非常に複雑なプロセスである。付着量を決める因子として、菌体表面、膜表面及び代謝成分のような分散媒性質などがあげられる。また、分散媒性質の変化は膜および菌体表面性質を変えることも考えられる。付着実験の結果から、菌体の付着性は付着基材表面性質と関係があることが示唆された。また、付着成分に関する組成分析から明らかになったように、付着物中には、代謝成分がバルク液側より多く含まれている。走査型電子顕微鏡による膜面付着層構造観察からも、膜面が多量のポリマーのような物質に覆われているのを確認した。多量の代謝成分が膜面あるいは菌体表面に付着すると、膜面及び菌体の表面性質が変化することが考えられる。

そこで、代謝成分や生物菌体などを膜面に予備吸着あるいは付着させ、膜面コーティングによる表面性質の変化を調べた。表-5は、三種類の膜及び各コーティング膜面に対するNaCl溶液の接触角を測定したものと、式（5）に基づき求めた各基材表面張力の測定結果を示した。本実験に使用した三種類の膜のうち、ポリスルホン材質のUF膜の接触角が最も大きく、疎水性が強いことを示した。各膜面張力は、大きい順にMF、UF-ポリオレフィン、UF-ポリスルホンの順になった。また、使用した二種類のUF膜面に代謝成分をコーティングすると、接触角の上昇あるいは表面張力の低下が生じた。コーティング前の膜材質が違ってもコーティング後の表面張力は、ほぼ同様な値となった。このことから、実際にバルク液中に存在する代謝成分が膜面に吸着すると、膜面性質は膜本来のもつ表面性質によらず、代謝成分の性質に

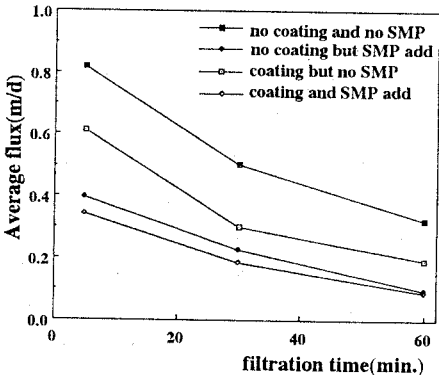


Fig.10. Variation in average permeate flux with filtration time as a function of SMP and membrane surface conditions (polyolefine).

Table-5 Contact angles with 0.15M NaCl\* at 20 °C

| Membrane             | Coating materials | Contact angle (0.15M NaCl) [ ° ] | Surface tension (erg/cm <sup>2</sup> ) |
|----------------------|-------------------|----------------------------------|----------------------------------------|
| UF-polyolefine       | —                 | 48.9±1.5                         | 52.2±1.0                               |
|                      | SMP               | 80.1±3.2                         | 34.3±1.7                               |
|                      | bacteria          | 45.2±2.2                         | 54.3±1.2                               |
|                      | bacteria+SMP      | 58.8±3.0                         | 46.6±1.6                               |
| UF-polysulfone       | —                 | 70.1±2.0                         | 40.1±1.2                               |
|                      | SMP               | 82.2±2.6                         | 33.1±1.5                               |
|                      | bacteria          | 46.9±1.6                         | 53.4±1.3                               |
|                      | bacteria +SMP     | 60.5±2.8                         | 45.6±1.5                               |
| MF-nitrate cellulose | —                 | 31.3±2.9                         | 62.0±1.5                               |
|                      | bacteria          | 56.8±1.8                         | 47.7±1.4                               |

\*surface tension  $\gamma_w=72.8$  (erg/cm<sup>2</sup>)

依存することが推察される。勿論、このような表面張力の変化から、膜面の菌体などに対する付着性も変わってくることが予想される。一方、代謝成分の代わりに、菌体をUF膜面にコーティングした場合、菌層(bacteria)表面張力は膜面および代謝成分コーティング面より高くなることが分かった。そして、菌層表面(bacteria)にさらに代謝成分をコーティングすると、コーティング後の菌層 (bacteria+SMP)は低い表面張力を示した。このような表面張力の変化から、限外ろ過において、代謝成分が膜面及び付着層に吸着すると、膜表面自由エネルギーの低下が生じることが判明した。従って、膜面付着層に代謝成分が多量に付着すると、付着層表面の性質は菌体表面性質よりも代謝成分の性質に支配されることが推察される。

図-11に代謝成分濃度と溶液表面張力の関係を示した。代謝成分濃度は希釈により調整した。希釈前の反応槽上澄み液中の代謝成分濃度198mgTOC/lに対する表面張力は約65.8erg/cm<sup>2</sup>であり、代謝成分濃度の減少に伴い液の表面張力はほぼ直線的増加した。また、付着菌数と付着基材表面張力の関係に関して調べると、図-12に示したような結果が得られた。図-12は、付着実験における付着菌数と各付着基材表面張力をプロットしたものである。付着菌数は表面張力とほぼ比例関係にあることが分かった。各分散媒表面張力において膜面への付着菌数は付着基材の表面張力の増加に伴い減少した。即ち表面張力が低いほど付着量が多くなり、菌体の表面への付着傾向が強いことが示唆された。これは、以下に示すような付着系の付着自由エネルギー変化に対する付着面、菌体と分散媒表面張力の影響に関する理論的考察結果とも一致している。図-13は、式(1)と(4)に基づき、付着自由エネルギーと膜、菌体と分散媒表面張力の関係を調べた結果である。膜面の表面張力が小さいほど、付着自由エネルギーの値が小さくなり、菌体の膜面への付着は熱力学的に有利であることを示した。このことから、膜面及び付着層に代謝成分の付着は、熱力学的にも菌体の付着を促進させることが判明した。また、菌体と分散媒表面張力と付着自由エネルギーの関係では、付着自由エネルギーの値は菌体表面張力の増加に伴って大きくなったが、分散媒表面張力の増加により逆に減少した。バルク液中の代謝成分の存在は菌体の表面張力に与える影響についてはまだ不明確であるが、仮に代謝成分が菌体表面に吸着されるとすると、菌体の膜面への付着性を高めると考えられる。同じように、菌体が細胞外ポリマーを分泌すると、付着性は高くなると推定された。

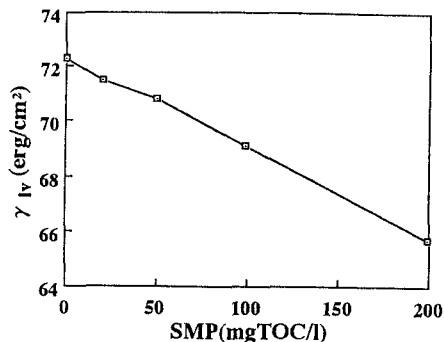


Fig.11. Relation between surface tension  $\gamma_{lv}$  and SMP concentration in solution.

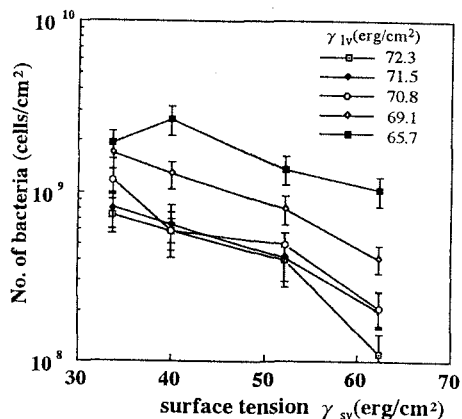


Fig.12. Relation of bacterial adhesion and surface tension  $\gamma_{sv}$ . (Bars indicate 95% confidence limits)

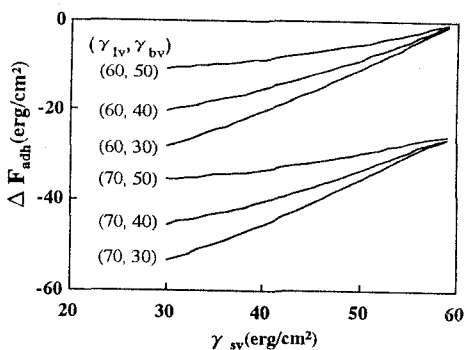


Fig.13. Free energy of adhesion  $\Delta F_{adh}$  as a function of substrate surface tension

#### 4. 結論

膜分離生物処理法において、反応槽内に蓄積する代謝成分が膜透過性能及び膜面付着層形成に与える影響を検討した結果、以下のことが分かった。

(1) 連続処理時間の経過とともに、代謝成分蓄積濃度が高くなり、膜透過性能は時間的に低下した。膜面付着成分及び組成分析から、膜透過流束の低下と対応して膜面付着量が時間的に増加することが分かった。また、付着物中に、溶解性成分の占める比率は、分離対象液よりかなり高いことから、ろ過抵抗の上昇あるいは膜透過流束の低下原因の一つは、生物代謝産物のような溶解性成分が優先的に付着し、膜面で濃縮されることと推察される。

(2) 膜面への菌体付着量は分散媒中の代謝成分濃度と比例関係にある。代謝成分濃度が高いほど、付着菌数は多い。従って、膜透過流束は菌体量の増加とともに減少する。

(3) 付着菌数は膜表面性質に大きく影響を受ける。表面張力が低いほど、付着菌数は多くなる。代謝成分を用いて膜面をコーティングすると、付着菌数の増加が確認された。

(4) 膜面、または菌体表面に代謝成分を吸着させると、表面張力は低下した。従って、付着物中の溶解性成分付着量の増加は、付着層表面張力の低下を生じさせ、付着層の菌体などに対する付着性を高くすることが考えられる。

#### 参考文献

- 1) 松本豊・戸塚好之：高温し尿発酵液のクロスフロー濾過，化学工学論文集，第16巻第2号，pp.193～203,1990.
- 2) 深川勝之ら：膜分離活性汚泥法における限外ろ過膜の目詰まり物質に関する研究，衛生工学研究論文集，Vol.28，pp.125～130，1992.
- 3) 西村和之・河村清史・伊藤雅喜・真柄泰基：膜分離プロセスにおける操作因子，液中成分の透過フラックスに及ぼす影響に関する基礎的研究，衛生工学研究論文集，Vol.28，pp.113～123，1992.
- 4) 浦瀬太郎・山本和夫：下水処理におけるクロスフロー濾過に係わる諸因子の検討，衛生工学研究論文集，Vol.27，pp.55～64，1991.
- 5) 西村和之・緒方洋子・荒野真弘・河村清史・真柄泰基：限外ろ過を利用した活性汚泥法におけるばっ気槽中溶解性有機物質の特性，第28回日本水環境学会年會講演集，pp.20～22，1994.
- 6) 柳根勇・桃井清至・原田秀樹：管状限外ろ過膜における膜透過流束に影響を及ぼす因子に関する研究，環境工学研究論文集，Vol.30，pp.303～310，1993.
- 7) 松井謙介：膜分離脱窒素処理方式のフラックス管理の実際，用水と廃水，Vol.35，pp.17-23，1993.
- 8) 中川信一・浦野紘平：微生物の膜分離特性(第2報)，第22回水質汚濁学会講演集，pp. 81～82，1988.
- 9) Arnold E. Greenberg., Lenore S. Clesceri., Andrew D. Eaton. Standard Methods for the examination of water and wastewater. 18th edition, 1992, (American public health association).
- 10) Baier, R. E. in Bitton, G. and Marshall, K. C. \*(Eds). Adsorption of micro-organism to surface. 1980, pp.59 (NEW YORK): John Wiley & Sons.
- 11) Hendrik J. Busscher, Anton H. Weerkamp, Henny C. van der Mei, Antoon W. J. van Pelt, Hans P. de Jong, and Joop Arends. Measurement of the surface free energy of bacterial cell surfaces and its relevance for adhesion. Applied and Environmental Microbiology, Vol.48, pp.980-983. 1984.
- 12) Paul C. Hiemenz. Principles of colloid and surface chemistry. pp. 339 (New York and Basel): Marcel Dekker.1986.
- 13) Darryl R. Absolom, Francis V. Lamberti, Zdenka Policova, Walter Zingg, Carel J. van OSS, and A. Wilhelm Neumann. Surface thermodynamics of bacterial adhesion. Applied and Environmental Microbiology. Vol.46, pp.90-97, 1983.
- 14) Ward, C.A., and A.W. Neumann. On the surface thermodynamics of a two-component liquid-vapor-ideal solid system. Journal of colloid and interface science, Vol.49, pp.286-290, 1974.
- 15) A.W. Neumann, R.J. Good, C.J. Hope., M. Sejpal. An equation-of-state approach to determine surface tension of low-energy solids from contact angles. Journal of colloid and interface science, Vol.49, pp.291-304, 1974.