

(33) 膜分離活性汚泥の細胞内外成分分析および種々の 活性汚泥との比較

Analysis of Intra- and Extra-cellular Materials of Membrane
Separation Activated Sludge and Comparison with Various Kinds of Activated Sludge

久保利晃*, Begum Shaila LUXMY*, 中島典之*, 山本和夫**
Toshiaki KUBO*, Begum Shaila LUXMY*, Fumiyuki NAKAJIMA*, Kazuo YAMAMOTO**

ABSTRACT; The objective of this study was to investigate intra- and extra-cellular materials of membrane separation activated sludge (MSAS). From the result, we discussed on the relationship between extra-cellular materials and floc size of MSAS and compared five different kinds of activated sludge process: a conventional process, a sequential batch process, an A₂O process and two MSAS processes with and without wasting excess sludge. The MSAS process without wasting excess sludge treated real sewage for 9 months. It was found out that most of the microbial flocs in MSAS were smaller than 45 μ m, and that smaller flocs in MSAS had more extra-cellular materials per MLSS than larger flocs. From the result of comparison among five different kinds of activated sludge, although there was little difference of the amount of intra-cellular materials, MSAS without wasting excess sludge had the least extra-cellular materials.

KEY WORDS; membrane separation activated sludge (MSAS), intra- and extra-cellular materials, floc size

1. はじめに

近年、膜分離活性汚泥法はコンパクトでかつ高度処理を容易に達成できる方法として注目され、様々な廃水処理に適用されてきている。膜分離活性汚泥法では、従来の重力沈殿ではウォッシュアウトされるような分散している細菌やフロック径の小さいものもウォッシュアウトされずに槽内に維持されることが大きな特徴となっている。実際に膜分離活性汚泥法のフロック径分布は小さい方に偏っているといわれている (Zhang *et al.*, 1997)。しかし、フロック径が小さいということが活性汚泥そのものの特徴にどのように影響しているかについては必ずしも明らかにされていない。

また、従来の研究において細胞外ポリマーに着目した研究はなされており膜の目詰まりと関連した研究がなされている (Nagaoka *et al.*, 1998; 柳ら, 1997; 西村ら, 1997; 中村ら, 1996; 村上ら, 1994)。しかし、膜分離活性汚泥そのものの特徴が完全に明らかになっているわけではない。したがって、今後膜分離活性汚泥の管理や制御を通して発生汚泥量のコントロールや目詰まりのコントロールをしていくためには膜分離活性汚泥の特徴を明らかにしていく必要がある。

本研究ではフロック径別の細胞外成分に注目して膜分離活性汚泥の化学成分分析を行い、実下水を用いた実験を行うことでより実際の場に近い状況でのその特徴について調べた。また、同じ実下水を用いた他処理の活性汚泥の細胞内外成分を分析しそれらとの比較を通して、膜分離活性汚泥の特徴を明らかにすることを目的として実験を試みた。

* 東京大学大学院工学系研究科都市工学専攻 (Dept. of Urban Engineering, The Univ. of Tokyo.)

** 東京大学環境安全研究センター (Env. Sci. Center, The Univ. of Tokyo.)

表1 膜分離バイオリアクター(MSAS①)の仕様

容積(L)	150
膜仕様	ステラポアーL UMF424SLI (三菱レーヨン)
膜モジュール有効面積(m ²)	4.0
膜素材	ポリエチレン多孔質中空 糸膜
公称孔径(μm)	0.1
Flux(m/day)	0.15
間欠ろ過の運転時間	1分吸引、5分休み

表2 実験棟への流入下水水質

TOC(mgC/L)*	73.4
DOC(mgC/L)*	35.8
D-COD(mgO/L)*	103
T-P(mgP/L)*	5.67
PO4-P(mgP/L)*	3.22
NH4-N(mgN/L)**	17.2
NO2-N(mgN/L)**	-
NO3-N(mgN/L)**	0.59
SS(mg/L)**	93

* '98/12/22~2/10 までの間午後2時に採水した試料の分析結果の平均を示す。

** '99/4/15~4/30 までの間午後3時に採水した試料の分析結果の平均を示す。

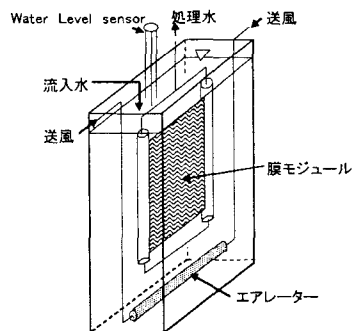


図1 MSAS①リアクターの設備概略図

2. 実験装置と方法

2.1 膜分離活性汚泥リアクター

東京都内のA下水処理場内の実験棟において、膜分離活性汚泥リアクター(MSAS①)を運転した。

流入水として実下水を利用し、HRT1.5日で運転した。MSAS①リアクターの運転状況および、設備概略図をそれぞれ表1、図1に示す。表2には実験棟へ流入する下水の水質を示す。

MSAS①リアクターは1998年5月より運転しており、今回の試料採取まで約9ヶ月間、サンプリング以外の汚泥引き抜きは行っていない。また、1998年12月まではMLSSは約6000mg/L前後で推移していたが、1999年1月から徐々に増加し、2月には約8000mg/Lになっていた。

2.2 細胞内外成分分析

細胞内外成分分析はこれまで種々の方法が試みられており、細胞外成分に関しては以下に述べるような水蒸気抽出法、CER(Cation Exchange Resin)法などにより抽出されている。本研究では細胞外成分の抽出方法として主に水蒸気抽出法を用いたのだが、最近の研究ではCER法も多く用いられるようになってきており(Nielsen *et al.*,1995; Frolund *et al.*,1996)、3.1節ではCER法による分析も試みた。

(1)細胞外成分の定義

以下の水蒸気抽出法およびCER法により得られた溶液中の各成分を細胞外成分と定義する。ただし、本実験においてCER法は3.1節において用いた。その他の細胞外成分に関してはすべて水蒸気抽出法により得られたものである。

(2)水蒸気抽出法(池本ら,1992)

活性汚泥混合液50mLを2回遠心分離(3000G、10分)にかけ上澄みを捨てた後、沈殿物に純水40mL程度を加え混合する。オートクレーブ処理(105℃、30分)を行った後、再び遠心分離(3000G、10分の後、14000G、10分)にかけ、上澄み液を採取し成分分析を行う。

(3) CER法 (Frolund *et al.*, 1996)

陽イオン交換樹脂 (CER) を用いて細胞外成分を抽出する方法である。陽イオン交換樹脂により 2 価の陽イオンは 1 価の陽イオンに置換され、そのため細胞外ポリマーの構造がゆるみ細胞外ポリマーが溶液中に溶出するという原理を利用したものである。CER としては DOWEX (Fluka 44445) を用いた。活性汚泥を遠心分離 (3000G、10 分) につけ上澄みを捨てた後、緩衝液 (2 mM Na₃PO₄, 4 mM NaH₂PO₄, 9 mM NaCl, 1 mM KCl, pH 7.0) を加える。活性汚泥をビーカーに移し、あらかじめ緩衝液で洗浄しておいた CER を適量加え一定時間攪拌する。その後、遠心分離 (3000G、10 分) により CER と活性汚泥を取り除く。再び遠心分離 (14000G、10 分) につけ、上澄み液を採取し成分分析を行う。CER 法においては、添加する CER 量、攪拌強度、攪拌時間により抽出される成分量も変化する。本実験では CER 量 100g/gVS、攪拌強度 280rpm、攪拌時間 1.5hr の条件で抽出した。

(4) 細胞内成分の定義

汚泥内全体成分から細胞外成分を差し引いたものを、細胞内成分と定義する。

(5) 汚泥内全体成分の定義および分離方法 (環境微生物工学研究法, 1993. の方法を参考にした)

活性汚泥 20mL を 2 回遠心分離につけ、沈殿物に硫酸 (4+1) を 5mL 加え、5 分間放置する。次に超音波破碎処理を行った後、80mL に希釈する。その時点で、全糖測定用に 2mL 採取する。中和後 100mL に希釈し、蛋白測定用に 0.15mL 採取し測定を行う。これらを汚泥内全体に含まれる成分と定義する。

(6) 成分分析方法

蛋白は Lowry 法 (牛血清アルブミン換算)、全糖は Anthron 法 (グルコース換算) により分析測定し、TOC は TOC500 (島津製作所) により測定した。また、MLSS は遠心分離法 (下水試験方法, 1997) により測定した。

2.3 フロック径別の細胞外成分分画方法

膜分離活性汚泥 (MSAS①) を吸引ろ過によりいくつかのフロック径ごとに分画した。以下にその方法を示す。3.2、3.3 節ではこの方法を用いて得られた結果を元に議論する。

(1) 106 μ m、75 μ m、45 μ m、32 μ m、20 μ m、10 μ m の 6 段階で膜分離活性汚泥 25mL をろ過する。(図2)

①. 活性汚泥 25mL を孔径 106 μ m のステンレス製網でろ過したろ液。(=106 μ m 以下の成分)

ろ過したろ液。(=106 μ m 以下の成分)

②. ①を孔径 75 μ m のステンレス製網でろ過したろ液。(=75 μ m 以下の成分)

(=75 μ m 以下の成分)

③. ②を孔径 45 μ m のステンレス製網でろ過したろ液。(=45 μ m 以下の成分)

(=45 μ m 以下の成分)

④. 5 倍希釈した活性汚泥 25mL を、孔径 106 μ m、75 μ m、45 μ m、32 μ m のステンレス製網で順にろ過して得られたろ液。(=32 μ m 以下の成分)

⑤. ④を 20 μ m のステンレス製網でろ過したろ液。(=20 μ m 以下の成分)

(=20 μ m 以下の成分)

⑥. ⑤を 10 μ m のメンブレンフィルター (MILLIPORE, ポリカーボネイト製メンブレン) でろ過したろ液。(=10 μ m 以下の成分)

(=10 μ m 以下の成分)

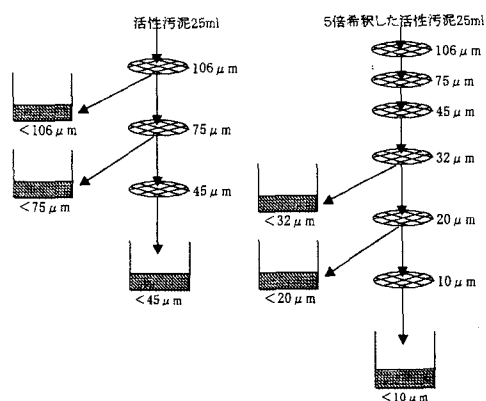


図2 ろ過の方法

(2) ①～⑥までの各段階毎のろ液中の MLSS を測定する一方で、2.2 節に記した方法で細胞外成分を測定した。また上記の①～⑥とは別に、ろ過をしていない膜分離活性汚泥の MLSS 及び細胞外成分も測定した。以上の測定結果より、フロック径別の成分を算出した。(例えば 75 μ m～106 μ m のフロック成分は、①～②として算出した。)

表3 リアクターの運転状況

	MSAS①	MSAS②	A ₂ O法	回分式処理	下水処理場
曝気方式	1cycle 3hr 曝気 1.5hr	1時間酸素曝気 1時間窒素曝気	連続	1cycle 6hr 曝気 3hr	連続
膜の有無	有	有	無	無	無
主たる除去対象	C	C,N	C,N,P	C,N,P	C
SRT(d)	約 5 年 ^{注)}	20	12	8	9.9
HRT(hr)	36	12	10	20	8.6
F/M 比 (kg D-COD /kgMLSS・d)	0.009	0.086	0.146	0.123	0.239
MLSS(mg/L)	6000～8000	2400	1800	1000	1200
汚泥の引き抜き	サンプリング のみ	有	有	有	有

注) MSAS①ではサンプリング以外には汚泥を引き抜いていない。そこで、'99 年 1 月における総サンプリング量を計算し、その値から SRT を計算した。したがって、約 5 年という値はあくまで計算上の値である。

表4 膜分離活性汚泥法(MSAS①)の細胞外成分組成

成分	水蒸気抽出法		CER 法	
	濃度	濃度/MLVSS	濃度	濃度/MLVSS
蛋白	283 (mg/L)	0.064 (mg/mgVSS)	143 (mg/L)	0.028 (mg/mgVSS)
全糖	70.2 (mg/L)	0.016 (mg/mgVSS)	19.5 (mg/L)	0.004 (mg/mgVSS)
TOC	219 (mg/L)	0.049 (mg/mgVSS)	108 (mg/L)	0.024 (mg/mgVSS)

2. 4 粒度分布計によるフロック径解析

MSAS①を遠心式自動粒度分布測定装置(堀場 CAPA-300)により解析した。実験条件として、フロックの密度は 1.03kg/L とし(Zhang *et al.*, 1997)、粒度の比率は体積換算で計算した。3. 2節ではこの方法により得られた結果について議論する。

2. 5 処理方式の比較

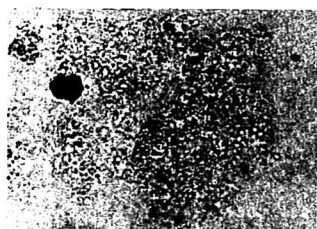
下水処理場内にある実験棟には、汚泥を引き抜かない膜分離活性汚泥法(MSAS①)以外にも、汚泥引き抜き型膜分離活性汚泥法、A₂O 法、回分式処理法により運転しているリアクターがある。これら4種類のリアクターと下水処理場(標準活性汚泥法)の運転状況を表3に示す。表3に示した 5 種類のプロセスはすべて同じ実下水を用いている。3.4 節、3.5 節では処理法の異なるこれら 5 種類の活性汚泥の細胞内外成分を比較する。

3. 実験結果および考察

3. 1 抽出された細胞外成分の成分組成

汚泥を引き抜かない膜分離活性汚泥法から採取した活性汚泥(MSAS①)について、水蒸気抽出法と CER 法により抽出された成分の測定結果を表 4 に示す。表 4 に示した測定値は、水蒸気抽出法について 3 回測定を行った結果の平均値を、CER 法については 1 回測定を行った結果を示したものである。

表 4 より、水蒸気抽出法の方が CER 法より、全糖、蛋白、TOC ともにより多くの成分が抽出されている。原因として水蒸気抽出により細胞内の成分も一部抽出されている可能性が考えられる。図 3 に水蒸気抽出前と水蒸気抽出後



MSAS①(水蒸気抽出前) × 100



MSAS①(水蒸気抽出後) × 100

図3 水蒸気抽出前後における膜分離活性汚泥(MSAS①)の観察

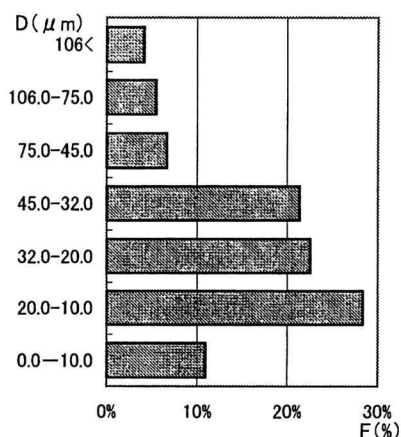


図4 MSAS①をろ過して分画することで得られたMLSSのフロック径別分布

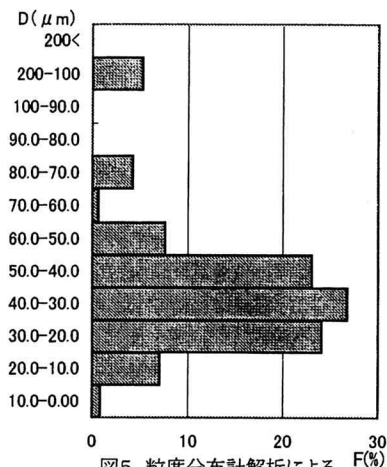


図5 粒度分布計解析によるMSAS①のフロック径分布

の活性汚泥(MSAS①)を光学顕微鏡で観察した結果を示したのだが、フロックを観察したところ水蒸気抽出後のフロックはある程度ばらばらになっていたものの細胞内成分が抽出されているかどうかまでは判断できなかった。一方で、CER 法は抽出時間が長く攪拌強度が強いほど抽出成分量も増加するので、今回の 1.5hr という抽出時間や 280rpm という攪拌強度が不十分だったため細胞外成分を十分に抽出できなかった可能性も考えられる。

抽出成分の成分組成に注目すると、水蒸気抽出法、CER 法の両方の結果において、蛋白が全糖よりも多いことがわかる。蛋白の方が全糖よりも多いという結果は、CER 法により下水処理場活性汚泥などを分析した他の研究結果(Nielsen *et al.*,1995; Frolund *et al.*,1996; Bura *et al.*,1998)と同様の結果となっていた。したがって、細胞外成分のポリマーにおいて蛋白は無視できない成分であると言える。

3. 2 SS 成分のフロック径別分布

汚泥を引き抜かない膜分離活性汚泥(MSAS①)を図 2 に示した方法により分画することで得られた MLSS のフロック径別分布を図 4 に示す。MLSS についてはフロック径 45 μm 以下のフロックが全体の 83.5%を占めていた。

次に、同じ膜分離活性汚泥を粒度分布計で解析することにより得られたフロック径分布を図 5 に示す。解析結果によるとフロック径の平均は 36.7 μm であった。図 5 より 10 μm ~ 60 μm の間に大部分のフロックが集中していることがわかる。一方で、100 μm ~ 200 μm の大きさのフロックも 5.3%存在していた。

ろ過による活性汚泥の分画では、ろ過に用いた孔径より小さいフロックが目詰まりにより捕捉されることがあるため、

ブロック径の大きい区分を過大評価している可能性がある。しかし、本実験において図4と図5を比較した限りではそうした影響は大きくないといえる。

また、図4と図5の比較より、図4の方が図5よりもブロック径20 μ m以下の占める割合が大きくなっている。Zhangら(1997)によれば、希釈をすると膜分離活性汚泥のブロックは分散し、見かけのブロック径は小さくなるということであった。図2より32 μ m以下の成分については5倍希釈をしたことによりブロックが分散してしまった可能性があり、図4と図5のブロック径20 μ m以下の違いにはそうしたことが原因の1つにあると考えられる。

3.3 ブロック径別にみた MLSS および細胞外成分量

汚泥を引き抜かない膜分離活性汚泥(MSAS①)を図2に示した方法で分画することにより得られた MLSS および細胞外成分量のブロック径別分布を図6に示す。図6は、それぞれの成分について全体量をと1としたときの、各ブロック径別成分量の全体に占める割合を示したものである。また、図6では、図2に示した抽出実験を1回行い、成分分析をそれぞれの成分について2回ずつ行って得られた値の平均値を用いている。

75 μ m以上のブロックについては、全糖/MLSSの値がほぼ0となっていたのだが、これには75 μ m以上の全糖成分が少ないことと、それによる実験方法の定量限界によるためと考えられる。

各成分について、0 μ m~10 μ m、0 μ m~20 μ m というように全体に占める割合の累積比率に注目すると、各細胞外成分量の累積比率がMLSSの累積比率よりも高くなっていることが図6より見て取れる。また、各細胞外成分量の累積比率とMLSSの累積比率との差を見ていくと、ブロック径0 μ m~20 μ mの累積比率の差が最も大きくなっている。このことから、MLSS に対する各細胞外成分量の比率は、ブロック径の小さいものほど大きいと言える。つまり、ブロック径の小さいブロックの方が大きいブロックよりも MLSS 当たりの細胞外成分量が相対的に多くなると言える。

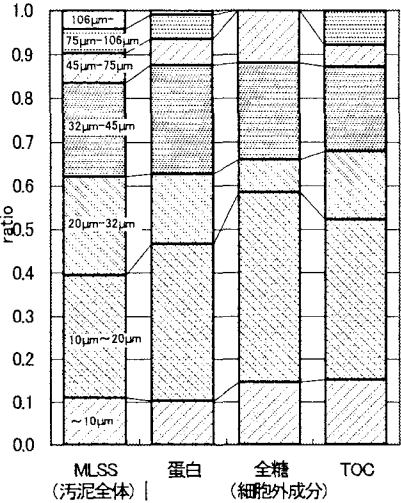


図6 ブロック径別にみたMLSSおよび細胞外成分量

3.4 各種活性汚泥の細胞内成分量の比較

表3に示した、処理法式の異なる5つの活性汚泥を対象にし、その細胞内外成分を測定した。

図7は各種活性汚泥の細胞内成分を示したものである。図7では、抽出実験を1回、成分分析を2回行って得られた値の平均値を用いている。これを見ると下水処理場活性汚泥の蛋白/MLVSSの値が他に比べ高くなっているが、そのほかの4つの活性汚泥に関して差は見られない。全糖/MLVSSについてはMSAS①が他の活性汚泥に比べやや高くはなっているものの、差はないと言えるだろう。これらのことから、蛋白と全糖について、MSAS①の細胞内成分は他の処理法の活性汚泥と大きな違いはないといえる。

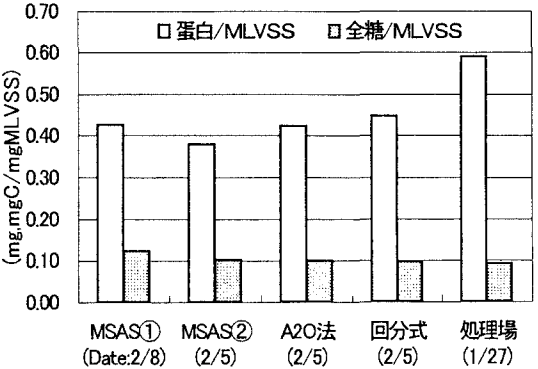


図7 各種活性汚泥の細胞内成分量の比較

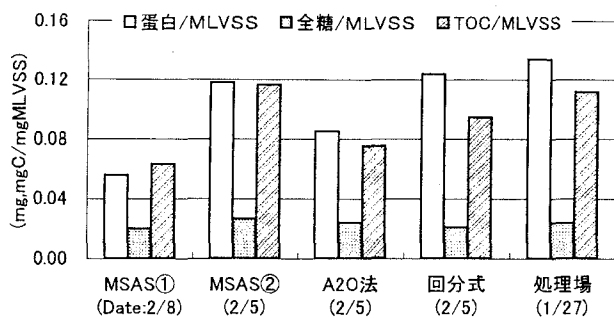


図8 各種活性汚泥の細胞外成分量の比較

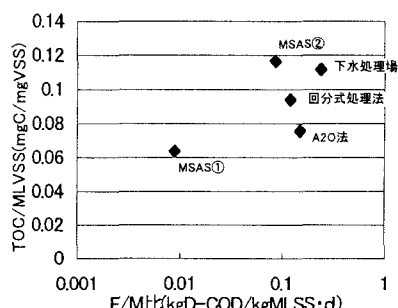


図9 TOC/MLVSSとF/M比の関係

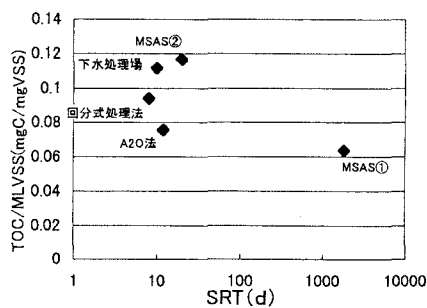


図10 TOC/MLVSSとSRTの関係

3. 5 各種活性汚泥の細胞外成分量の比較

図8は、各種活性汚泥の細胞外成分量を示したものである。図8では、抽出実験を2回行い、抽出した試料1つにつき成分分析を2回ずつ行って得られた値の平均値を用いている。この図より、蛋白/MLVSS、全糖/MLVSS、TOC/MLVSSについてMSAS①における値が最も小さくなっている。膜分離活性汚泥のブロックは構造が粗で分散されやすくなっていることが指摘されているが(Zhang ら、1997)、この実験結果で得られたように汚泥を引き抜かない膜分離活性汚泥法でブロックの構造が粗になるのは細胞外成分量が少ないということがその一因であると考えられる。しかし、汚泥引き抜き型膜分離活性汚泥(MSAS②)では細胞外成分量がTOC/MLVSSについては最も高い値となっており、必ずしも膜分離活性汚泥の細胞外成分が一般的に少ないというわけではない。

細胞外成分中のTOC/MLVSSとF/M比の関係を図9に、細胞外成分中のTOC/MLVSSとSRTとの関係を図10に示した。図9、図10より、F/M比とTOC/MLVSSまたはSRTとTOC/MLVSSの関係は必ずしも高い相関を持っているとはいえないが、F/M比が高くなるとTOC/MLVSSが高くなり、SRTが長くなるとTOC/MLVSSが低くなる傾向が認められる。ただ、図9、図10において相関が弱いのは、細胞外成分量の違いが処理方式そのものの違いに起因するところが大きいためであると考えられる。MSAS①とMSAS②を比較するとF/M比が小さくSRTが長いほどTOC/MLVSSすなわち細胞外成分量が少なくなっている傾向は確かに認められる。

以上の図6、図8～図10の結果より、ブロックが小さく、SRTが短く、F/M比が高いプロセスにおいては細胞外成分量は多くなる可能性を指摘できる。微生物の細胞外高分子代謝物質が増加すると膜のファウリングが促進されるという報告は数多くなされていることから、今後膜のファウリング対策としてF/M比やSRT等といった運転条件を詳細に検討していく必要がある。

4. 結論

本研究では、実下水を用いて9ヶ月間汚泥引き抜きなしで運転している膜分離活性汚泥の細胞内外成分分析を通して、ブロック径および処理方式による違いについて調べた。それにより得られた結果を以下にまとめる。

- (1) 汚泥引き抜きなしで運転している膜分離活性汚泥のブロックは、ろ過をして分画分析することにより、大部分が45 μm 以下であることがわかった。
- (2) 汚泥引き抜きなしで運転している膜分離活性汚泥において、ブロック径の小さいブロックの方が大きいブロックよりもMLSS当たりの細胞外成分量が相対的に多いということがわかった。
- (3) 同じ実下水を用いて運転している、汚泥を引き抜かない膜分離活性汚泥法、汚泥引き抜き型膜分離活性汚泥法、 A_2O 法、回分式処理法のリアクターおよび下水処理場(標準活性汚泥法)から採取した5種類の活性汚泥の細胞内外成分を比較した。その結果、細胞内成分に関しては違いは見られなかったが、細胞外成分の蛋白/MLVSS、全糖/MLVSS、TOC/MLVSSの値は汚泥を引き抜かない膜分離活性汚泥法が最も小さかった。しかし、汚泥引き抜き型膜分離活性汚泥法では、逆にTOC/MLVSSの値は5つの活性汚泥の中で最も高い値となっていた。
- (4) ブロックが小さく、SRTが短く、F/M比が高いプロセスでは細胞外成分量は多くなる可能性が指摘された。

参考文献

- ・ Bura R., M.Cheung, B.Liao, J.Finlayson, B.C.Lee, I.G.Droppo, G.G.Leppard, S.N.Liss: Composition of extracellular polymeric substances in the activated sludge floc matrix. Wat.Sci.Tech. Vol.37, No.4-5, pp.325-333, 1998
- ・ 土木学会衛生工学委員会:環境微生物工学研究法. pp31~34、技報堂出版、1993
- ・ Frolund B., R.Palmgren, K.Keiding, P.H.Nielsen: Extraction of extracellular polymers from activated sludge using a cation exchange resin. Wat.Res. Vol.30, No8, pp.1749-1758, 1996
- ・ 柳根勇、桃井清至、小松俊哉:膜分離活性汚泥法における膜透過性能に対する生物代謝成分の影響、水環境学会誌、第20巻、第7号、pp.473-480、1997
- ・ 村上嘉一郎、Tri Widjaja、向井徹雄、岡田光正、河野哲郎:膜分離活性汚泥法における微生物代謝産物の目詰まりに及ぼす影響。日本水環境学会年会講演集、第28回、pp.22-23、1994
- ・ Nagaoka.H, S.Yamanishi, A.Miya: Modeling of biofouling by extracellular polymers in a membrane separation activated sludge system. Wat.Sci.Tech. Vol.38, No4-5, pp.497-504, 1998
- ・ 中村恭士、清野修、菊岡保人、上田達己、端憲二:浸漬型膜分離活性汚泥法における反応槽内の粘度変化について。日本水環境学会年会講演集、第30回、p34、1996
- ・ Nielsen.P.H, A.Jahn: Extraction of extracellular polymeric substances (EPS) from biofilms using a cation exchange resin. Wat.Sci.Tech. Vol.32, No.8, pp.157-164, 1995
- ・ 日本下水道協会:下水試験方法上巻. p269、1997
- ・ 西村和之、河村清史、眞柄泰基:限外ろ過を用いた活性汚泥プロセスにおける溶解性有機物質の挙動。水環境学会誌、第20巻、第12号、pp.845-852、1997
- ・ Zhang B., K.Yamamoto, S.Ohgaki, N.Kamiko: Floc size distribution and bacterial activities in membrane separation activated sludge processes for small-scale wastewater treatment/reclamation. Wat.Sci.Tech. Vol.35, No.6, pp.37-44, 1997