都市下水処理 MBR における流入微生物と活性汚泥微生物の菌叢比較

長岡技術科学大学　（非）○樋口ひなた（正）渡利高大（正）山口隆司（正）幡本将史

1. はじめに

膜分離活性汚泥法 (Membrane Bioreactor, MBR) は活性汚泥法の一種であり，リアクター内に膜モジュールを配置し，膜ろ過によって固液分離を行う技術である．MBR は従来の活性汚泥法と比較して，リアクター内に高濃度の微生物を維持できるため設備の小型化が可能である[1]．しかし，MBR の課題の一つに膜ファウリングの発生がある．これにより，膜の洗浄が必要となり運用コストが高くなるというデメリットが生じる．そのため，多くの研究者が膜ファウリングの抑制に焦点を当てて研究を進めている．膜ファウリングを抑制するためには，未だ明らかとなっていない膜ファウリングの形成要因や関与微生物の特定が必要である．我々の研究グループは，MBR が有する汚泥滞留時間が長いという特徴から，系内に流入してくる微生物がリアクターに留まり活性汚泥に影響を与える可能性がある点に着目した．そこで本研究では流入微生物の活性汚泥に対する影響を調査するために，都市下水を処理する MBR を運転し，流入微生物と好気槽内の活性汚泥微生物の菌叢比較を行った．

2. 実験方法

2.1 リアクター運転条件

本研究では，各有効容積が 50 L の原水槽，22 L の無酸素槽，22 L の好気槽を有するリアクターを長岡中央浄化センターに設置した．実験系統は2系統用意し，それぞれ A 系，B 系とした．実下水を流入原水とし，C-PVC 平膜を好気槽に浸漬させ，9 分間膜透過，1 分間停止のサイクルで間欠ろ過を行った．水理学的滞留時間 (HRT) は 7 時間，好気槽の汚泥濃度 (MLSS) は 11000–12000 mg/L に設定した．槽内を低温 (約 10°C) に保つため，原水槽と循環ポンプそれぞれに冷却器を設置した．運転開始から 86 日目までを phase 1，95 日目以降を phase 2 とし，Phase 2 では原水槽の水温を 5°Cとした．

水質モニタリングのため，A 系，B 系それぞれの膜ろ過水と流入水を採取した．また，微生物群集構造解析を行うためにそれぞれの好気槽から活性汚泥を採取した．

2.2 16S rRNA 遺伝子に基づいた微生物群集構造解析

A 系，B 系から採取した活性汚泥と流入水のそれぞれに対して微生物群集構造解析を行った．DNA 抽出は DNeasy PowerSoil Pro Kit (QIAGEN) を用いて行った．PCR による標的遺伝子の増幅は Univ.515F-806R のプライマーペアを用いて行った．電気泳動によって標的遺伝子の増幅を確認した後，QIAquick Gel Extraction Kit (QIAGEN) によって精製した．その後，iSeq 100 (Illumina) により塩基配列を取得し，QIIME2 により解析した．

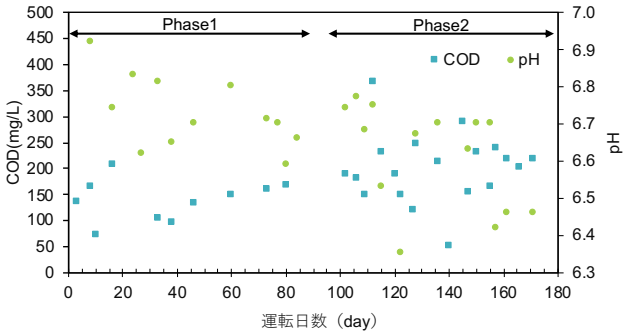

図 1 流入水の水質

表 1 リアクター運転性能

		CODcr	BOD	TN
Phase1	流入水	159±51	76±33	20±5.5
	A系膜ろ過水	22±7.3	2.2±0.5	5.7±1.9
	B系膜ろ過水	23±7.6	2.3±0.7	6.0±1.6
Phase2	流入水	196±63	83±50	25±4.8
	A系膜ろ過水	18±5.2	1.7±0.9	6.8±1.4
	B系膜ろ過水	19±9.2	1.7±0.6	7.3±1.5

＊単位は全てmg/L

3. 結果および考察

3.1 運転性能

各 phase における流入水と膜ろ過水の水質を表 1 に示す．CODcr 除去率は phase 1 において，A 系で 85.9 %，B 系で 85.8 %，phase 2 において，A 系で 90.9 %，B 系で 90.3 %であった．BOD 除去率については，phase 1 において，A 系で 97.1 %，B 系で 97.0 %，phase 2 において，A 系 B 系ともに 98.0 %であった．そのため，CODcr，BOD ともに，全運転期間を通じて良好な有機物除去性能を示した．また，NH_4^+-N，NO_2^--N，NO_3^--N の濃度の合計を TN として TN 除去率を算出した結果，phase 1 において，A 系で 72.1 %，B 系で 70.6 %，phase 2 において，A 系で 72.9 %，B 系で 71.1 %であった．このことから，低温条件においても脱窒反応が行われていることが示された．

3.2 菌叢解析

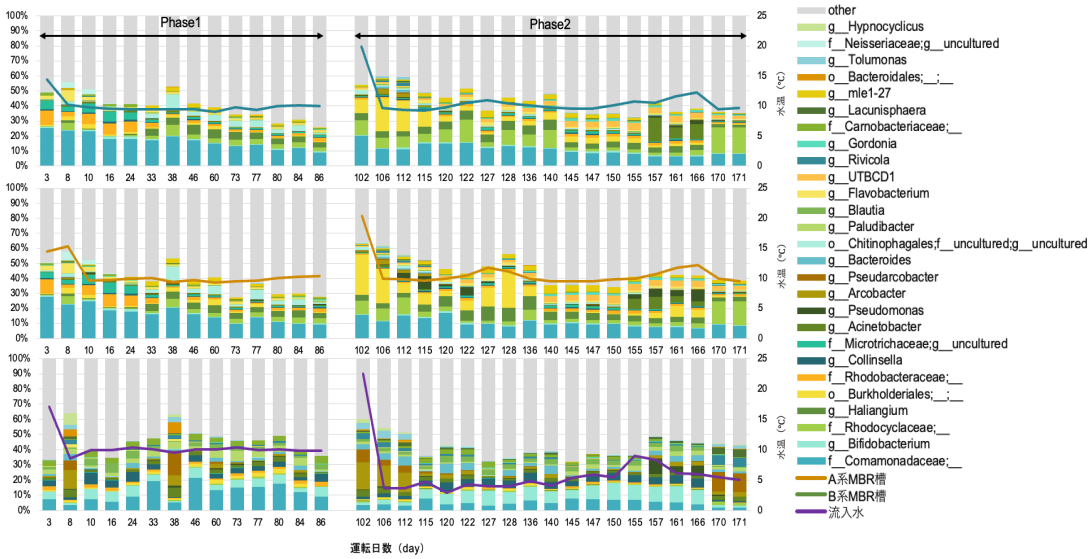

図 2 属レベルでの菌叢解析．上から, A 系活性汚泥, B 系活性汚泥，流入微生物の菌叢解析と各槽の水温を示す．存在割合が 5%未満の微生物については other とした．

図 2 に流入微生物, A 系活性汚泥, B 系活性汚泥のそれぞれで 5%以上検出された微生物について，属レベルの存在割合と，それぞれの槽内の水温を示す. A, B 系活性汚泥については，概ね類似した組成と存在割合を示した．一方，流入微生物と活性汚泥の微生物組成は大きく異なっていた.流入下水の温度と pH が低下した 170, 171 日目の流入微生物中では *Pseudarcobacter* が増加し，活性汚泥中でも *Rhodocyclaceae* 科が増加するなど，流入下水中と活性汚泥内の微生物の存在割合が変化している様子が見られた．また，槽内の水温, COD, pH といった環境要因の変化がほとんどない 38 日目にも流入微生物中の *Pseudarcobacter* が増加した際に，活性汚泥中で *Chitinophagales* 目が増加する様子が見られた．このように，環境要因に関わらず，流入微生物の優占種が変化した際に，活性汚泥中の微生物の優占種も同様に変化していることから，流入微生物が活性汚泥の組成に影響を与えていることが示唆された．

3.3 β 多様性解析

それぞれのサンプルに対して bray curtis 指数を用いた PCoA プロットを図 3 に示す．活性汚泥同士の類似性は高く, 2 連で運転したリアクターの微生物群集構造はほぼ同じであることが確認できた．一方，流入微生物との類似性は低いことが示唆された．また，活性汚泥の菌種については phase による違いが見られた．

4. まとめと今後の展望

流入微生物と活性汚泥では，微生物の組成に類似性が見られなかった．これは，MBR 内には独自の活性汚泥微生物が維持されていることを示している．しかし，流入微生物群集の組成が大きく変動した場合には，活性汚泥の菌叢に影響を与えていると考えられる解析結果が得られた．今後は，ネットワーク解析や微生物量のマスバランス計算など詳細な解析をおこなうことで，流入微生物の中のどの微生物が活性汚泥に大きな影響を与えているかを調査する．また, RNA 解析によって活性のある微生物の菌叢解析を行うことで, DNA 解析との比較をおこない，流入水中の生きている微生物がどの程度活性汚泥に影響を与えているかを調査する．

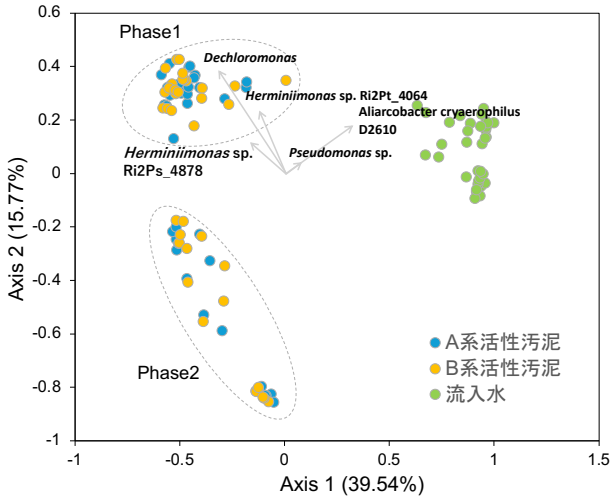

図 3 bray curtis 指数を用いた PCoA プロット

謝辞

本実験では長岡中央浄化センターに実験場所を提供していただきました．ここに感謝の意を表します．

参考文献

(1) Xiao *et al.*, Bioresource Technology, 271: 473-481. 2019.