

低温環境下における都市下水処理 MBR の微生物群集構造

長岡技術科学大学大学院 ○ (非) 寺田修一郎
(正) 幡本将史 (正) 渡利高広 (正) 山口隆司

1. はじめに

膜分離活性汚泥法 (Membrane bioreactor : MBR) は、敷設面積が小さいことや、高品質な処理水が得られる等の利点があり、従来の活性汚泥法に代わる技術として導入が進められている。しかし、長期的な運転に伴う膜表面のバイオフィーム形成 (膜ファウリング) が MBR の主要な課題とされている¹⁾。膜ファウリングの主要因は、汚泥中の可溶性微生物代謝物 (Soluble microbial products : SMP) や細胞外高分子物質 (Extracellular polymeric substances : EPS) の蓄積である²⁾。特に低水温下では SMP や EPS 濃度が上昇する傾向があり、既往研究では、膜ファウリングは低温下で頻発することを報告している^{2) 3)}。しかし、低温下で MBR 中のどの微生物が実際に EPS や SMP の生産に関与しているかは未だ明らかにされていない。そこで本研究では、実験規模の MBR を低温で運転し、槽内の微生物を DNA および RNA により解析し、EPS・SMP 生産に関与する活性の高い微生物を調査した。

2. 実験方法

2.1 運転条件

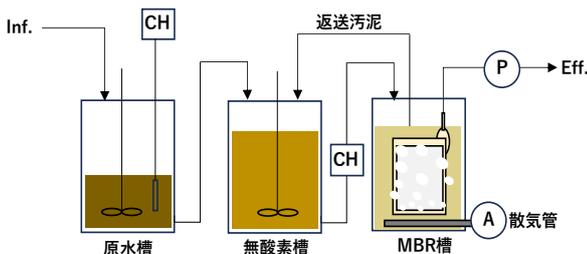


図-1 リアクター概略図

図-1 にリアクターの概要図を示す。有効容積がそれぞれ 50 L, 22 L, 22 L の原水槽、無酸素槽、MBR 槽を長岡中央浄化センターに設置した。植種汚泥には長岡中央浄化センターから採取した活性汚泥を用いた。実下水を流入原水とし、平均孔径 0.2 μm の C-PVC 膜を MBR 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。水理的滞留時間 (HRT) は 7 時間 (膜透過流量 0.50 m/d)、MBR 槽の汚泥濃度 (MLSS) は 11000~12000 mg/L に設定した。膜ろ過圧力 (Transmembrane Pressure : TMP) が 20 kPa に達した時点で、膜ファウリング発生とみなした。槽内は冷却機で約 10°C に保った。

2.2 分析項目

流入下水及び活性汚泥の水温、TMP、DO は適宜オンサイトで測定した。流入下水、膜ろ過水を採取し、化学的酸素要求量 (COD_{cr}) は HACH 社製試薬、

アンモニア態窒素 (NH₄⁺-N)、亜硝酸態窒素 (NO₂⁻-N)、硝酸態窒素 (NO₃⁻-N) はオートアナライザー (QuAAtro39, BLTEC) を用いて測定した。BOD、MLSS は下水試験方法に従い測定した。微生物群集構造解析については、流入下水および MBR 槽から採取した汚泥サンプルに対し、16S rRNA 遺伝子および 16S rRNA を対象として行った。DNA 抽出は DNeasy PowerSoil Pro Kit (QIAGEN) を、RNA 抽出は RNeasy PowerMicrobiome Kit (QIAGEN) を用いた。cDNA 合成は、PrimeScript™ IV 1st strand cDNA Synthesis Mix (Takara) を用いた。PCR による増幅は Univ.515F-806R のプライマーセットを用いた。PCR 増幅産物は DNeasy Plant Maxi Kit (QIAGEN) を用いて精製した。その後、iSeq100 (イルミナ社) により塩基配列を取得し、Qiime2 により解析した。

3. 実験結果・考察

3.1 運転性能

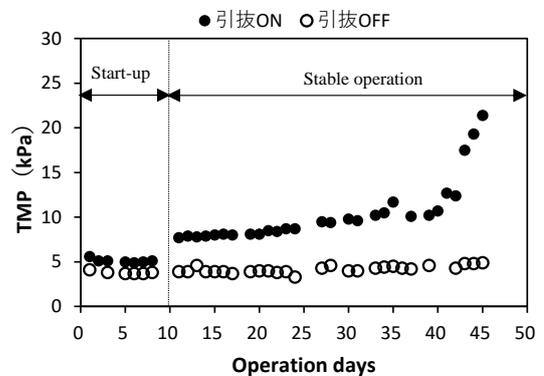


図-2 TMP の経時変化

BOD 濃度は、原水および膜ろ過水でそれぞれ 143 ± 73 mg/L, 2 ± 1 mg/L であり、除去率は 98.6 %であった。COD_{cr} 濃度は、原水および膜ろ過水でそれぞれ 225 ± 67 mg/L, 32 ± 5 mg/L であり、除去率は 85.8 %であった。原水の BOD および COD_{cr} に濃度変動が見られたが、全運転期間を通じて良好な有機物除去性能を示した。NH₄⁺-N 濃度は原水で 22 ± 7 mg/L、膜ろ過水では検出されなかった。NH₄⁺-N の除去率は 100 %であり、低温下においても良好な硝化性能を示した。原水および膜ろ過水において、NH₄⁺-N、NO₂⁻-N、NO₃⁻-N の濃度の合計を TN として比較した結果、原水は 22 ± 7 mg/L、膜ろ過水は 6 ± 2 mg/L であった。このことから無酸素槽で脱窒反応が行われていることが示され、脱窒率は 77.3 %であった。

図-2 に TMP の経時変化を示す。TMP は連続運転に伴い徐々に上昇し、運転開始 41 日目前後から急激に上昇した。45 日目には 20 kPa に達し、膜ファウリ

ング発生が確認された。

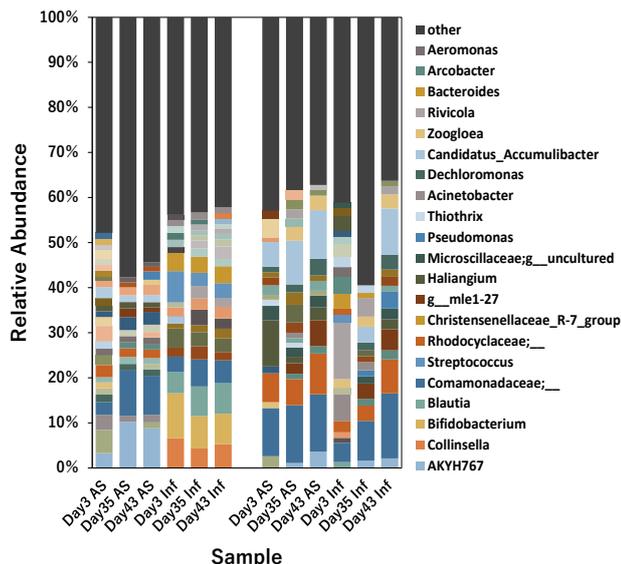


図-3 16S rRNA 遺伝子 (左), 16S rRNA (右) に基づく, 流入水・汚泥の微生物群集構造

3.2 微生物群集構造と微生物代謝活性

図-3 に, 活性汚泥と流入原水の 16S rRNA 遺伝子 (DNA) および 16S rRNA (RNA) 配列に基づく, 属レベルの 1%以上存在する微生物群集解析の結果を示す。活性汚泥の DNA 解析では, *AKYH767* (3~10%), *Comamonadaceae* 科の特定の属 (3~10%), *Rhodocyclaceae* 科の特定の属 (2%~3%) が MBR 槽内で比較的多く存在した。一方, これらの微生物は RNA 解析では, *Comamonadaceae* 科の特定の属が 11%~13%, *Rhodocyclaceae* 科の特定の属が 6%~9%程度と, DNA 解析での存在割合よりも高い値を示した。RNA/DNA の存在割合の比を評価したところ, *Comamonadaceae* 科の特定の属は 0.9~2.3, *Rhodocyclaceae* 科の特定の属は 1.4~3.7 であり, MBR 槽内において高い代謝活性を有していることを示唆した。

このほか, RNA/DNA 比が大きい微生物として, *Candidatus_Accumulibacter* (11.8~66.6), *Haliangium* (0.7~5.1) および *Microscillaceae* 科の特定の属 (1.8~3.7) が挙げられ, 高い代謝活性を有することが示唆された。一方, DNA 解析で豊富に存在していた *AKYH767* は, RNA 解析では 1%~4%と低い存在割合を示し, 代謝活性が低いことが示唆された。

3.3 膜ファウリング・バイオフィーム生成への関与

微生物群集構造解析で検出された微生物の中で, バイオフィーム生成に関与することが報告されている微生物として, *Zoogloea* が挙げられる。本研究において, *Zoogloea* は流入原水および活性汚泥の RNA 解析で多く検出された。既往研究によれば, *Zoogloea* は他の微生物と比較して強力な EPS を分泌し, 大規模な集団を形成し定着することでバイオフィ

ィルムを形成することが報告されている⁴⁾。本研究では, *Zoogloea* は Day 3 では検出されなかったものの, Day 35 および Day 43 で約 3%を占めており, リアクター運転継続に伴う流入原水の供給が MBR 槽内の活性汚泥中での増殖を促進したことが示唆された。各日の RNA/DNA 比は, Day 35 が 9.6, Day 43 が 17.1 と高い代謝活性を示し, *Zoogloea* がバイオフィーム生成に関与したことが示唆された。

既往研究において, *Thiothrix* が AO/MBR において膜ファウリングの初期段階に優占し, EPS を分泌する可能性があることが示されている⁵⁾。本研究においても, *Thiothrix* は活性汚泥の RNA 解析で Day3 および Day35 で多く検出された。存在割合は Day3 で 1.4%, Day35 で 1.0%と, 時間経過に伴い減少し, Day43 では 1%未満となった。膜ファウリング初期段階で *Thiothrix* が検出された結果は, 既往研究と一致しており, 膜ファウリングの初期段階においてバイオフィーム生成に関与したことが示唆された。

4. まとめ

本研究では, 低温環境下で MBR の連続運転を行い, 運転性能および微生物群集構造を調査した。その結果, 低温下でも良好な有機物除去と硝化性能が示され, また無酸素槽での脱窒も確認された。TMP は運転開始後 41 日目に急上昇し, 45 日目に膜ファウリングが発生した。16S rRNA 遺伝子と rRNA 配列に基づく解析により, *Candidatus_Accumulibacter* や *Comamonadaceae* 科, *Rhodocyclaceae* 科の特定の微生物が高い代謝活性を示し, バイオフィームや膜ファウリングに関与していることが示唆された。一方, *AKYH767* など代謝活性が低い微生物も検出された。また, *Zoogloea* と *Thiothrix* は代謝活性が高く, 膜ファウリングに関与していることが示唆された。今後は, これらの結果をもとに微生物の活動をさらに詳しく調査し, 常温環境下の MBR との比較を行う予定である。

参考文献

- 1) Meng et al. Water Res. Vol 114. Pages 151-180 (2017)
- 2) Ma et al. Bioresour. Technol. Vol 133. Pages 462-468 (2013)
- 3) Arévalo et al. Biochem Eng J. Vol 88. Pages 42-49 (2014)
- 4) Zhu et al. Bioresour. Technol. Vol 180. Pages 345-351 (2015)
- 5) Wen et al. Bioresour. Technol. Vol 154. Pages 87-93(2014)

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。