

学位論文題名

Analysis of structure and function of microbial
communities in submerged membrane bioreactor:
In relation to membrane fouling

(浸漬型メンブレンバイオリアクターにおける
膜ファウリング関連微生物群集の構造および機能解析)

学位論文内容の要旨

都市近傍における良好な水環境の保全、創出、復元にあたっては、水の効率的利用、水循環サイクルの小規模化を可能とする膜処理を基盤技術とした新たな水代謝システムの導入が有力な選択肢の一つとなる。このような状況を背景に、良好な処理水を得ることが可能である膜分離活性汚泥(MBR)法の排水処理への適用が提案されている。しかし、MBR法の膜ファウリングによる膜透過性能の低下は、安定した長期連続運転の障害となっている。一般的に、膜ファウリングを抑制するために、膜素材、膜構造、膜洗浄方法、モジュール形態と構造、前処理方法および運転方法等の最適化が行われているが、未だ、膜ファウリングの抑制を十分に行うまでには至っていないのが現状である。更に、運転方法の検討は入出力操作に基づき経験工学的に行われており、生物学的反応プロセスは依然として Black box として取り扱われている。その原因の一つとして、MBRを用いた下水処理プロセスにおいて、実際の処理を担う微生物に関する基礎的知見(微生物群集構造や機能、微生物間の相互作用等)が極めて少ないことが挙げられる。MBR槽内における膜ファウリング原因物質の生成および分解・蓄積等に関する詳細なメカニズムは明らかにされていない。さらに、膜表面に付着・増殖するバイオフィームによる膜透過性の低下に関する知見は皆無である。

そこで本研究では、膜ファウリングの抑制・低減を図り、MBRの処理性および運転性の安定化・高効率化を図ることを最終目的とし、膜ファウリング原因物質(細菌由来溶解性有機物)の分解に関与する微生物群集の同定および生理生態学的機能を、最新の分子生物学的手法(PCR-DGGE法、FISH法、16S rRNA遺伝子クローニング、MAR-FISH法)を用いることにより解析した。さらに、膜表面上のバイオフィーム形成と膜透過性の低下の関係を明らかにし、バイオフィーム構成細菌相の解析を行った。

本論文の各章の内容は以下のようにになっている。

第1章では、本研究の背景、目的および論文の構成について述べた。

第2章では、これまでの研究によって報告されたMBR法における微生物学的知見をまとめた。

第3章では、都市下水処理を目的として異なる運転条件で長期間、MBRの連続運転を行い、反応槽内の微生物群集の多様性、およびその変動と処理特性の関係を検討した。その結果、MBR反応槽内の微生物群集構造は多様性が高く、また同じ下水を処理している標準活性汚泥法の微生物群集と異なった構造をしていた。運転初期はMBRの処理性能が不安定であり反応槽内の微生物群集構造

造の変動も大きかった。MBR の処理性能が徐々に安定するにつれて、微生物群集構造の変動も小さくなることが明らかになった。しかし、MBR の処理、運転性能が安定した後でも、微生物群集構造は常にある程度変動していた。これは、流入排水の水質や外的環境要因の変動に柔軟に対応して微生物群集構造が変化しているためと推察された。

第 4 章では、都市下水を用いた MBR の長期間連続運転を行い、膜表面上のバイオフィーム形成 (バイオフィアウリング) と膜透過性低下の関係を検討した。その結果、物理洗浄効果の高い条件下でも、運転の継続にともなって膜表面上にバイオフィームが形成することが明らかになった。このバイオフィームの構成細菌相を解析した結果、バイオフィームは β -*Proteobacteria* を主要構成細菌群とする微生物群により形成されており、槽内の細菌相とは大きく異なっていた。さらに、バイオフィームの形成と膜間差圧の上昇が正の相関関係にあったことから、バイオフィーム形成が膜透過性の低下に直接関与していることが示唆された。この結果から、バイオフィーム形成の鍵となる β -*Proteobacteria* の付着・増殖を特異的に制御することができれば、バイオフィーム形成に起因する膜透過性の低下を効率的に制御することができると思われる。

第 5 章では、MBR 反応槽内で膜ファウリングの原因となる溶解性有機物の分解に関与する微生物群の同定、および膜ファウリングの進行との関連性を調査した。その結果、都市下水処理を行う MBR 反応槽内には、未分離・培養の糸状性細菌の *Chloroflexi* が 10 - 40 % 程度と高い割合で存在していることが明らかになった。この *Chloroflexi* の基質利用特性を、複合生物系における基質利用特性・活性の把握に有効な MAR-FISH 法を用いて解析した。糖、タンパク、有機酸等の ^{14}C 標識化合物を用いて MAR-FISH を行った結果、*Chloroflexi* は糖様成分、特に菌体由来高分子の分解生成有機物を優先的に資化することが明らかになった。しかし、pH 7 の条件下においては 80 % 以上の *Chloroflexi* が資化していたが、pH 4 の条件下においてはその割合が 10 % 程度に低下した。さらに MBR の連続運転において、*Chloroflexi* が高い割合で存在した時期は、反応槽内の溶解性多糖類濃度が比較的低濃度で膜間差圧の上昇は緩やかであったが、*Chloroflexi* の存在割合が低下した時期に反応槽内の溶解性多糖類濃度、および膜間差圧の急激な上昇が観察された。この結果から、*Chloroflexi* による溶解性の微生物代謝産物 (SMP) 由来有機物の分解は、膜ファウリングの抑制に大きく関与すると推察された。

第 6 章では、第 5 章を発展させ、MBR 反応槽内から採取した複合菌体、または単離菌体を [^{14}C] 標識し、死滅菌体由来有機物を利用する微生物群を MAR-FISH 法により解析した。その結果、*Chloroflexi* に属する細菌の多くは、他の細菌よりも優先的に死滅菌体由来の有機物を利用することが明らかとなった。一方で、*Proteobacteria* に属する細菌群は、これらの有機物の分解に関与する割合が低いことが示唆された。さらに、MAR-FISH 法において銀粒子数の定量を行うことにより、複合系生物内で、異なる pH および温度条件下における未分離の細菌の死滅菌体由来有機物の取り込み速度を、はじめて定量することに成功した。この定量 MAR-FISH 法の結果より、*Chloroflexi* およびその他の細菌群の死滅菌体由来有機物の取り込み速度は、糖様成分の取り込み速度の 100 分の 1 程度であることが明らかになった。第 5 章と第 6 章の結果から、MBR 反応槽内において優占的に存在する糸状性細菌の *Chloroflexi* が、糖類や細菌由来有機物を効率的に分解除去することで、安定した MBR の処理・運転性能が維持されていると考える。

第 7 章では、本研究で得られた結論を総括し、今後の研究の展望について記した。

本研究ではこれまで知見が乏しかった都市下水処理を行う MBR 反応槽内における微生物群集の構造、動態、およびその機能と膜ファウリングの進行の関連性を、長期連続実験を行うことによって検討した。この結果、 β -*Proteobacteria* を中心としたバイオフィーム形成を制御することと、

MBR 反応槽内に優占的に存在する *Chloroflexi* による溶解性多糖類や細菌由来有機物の分解除去を効率的に行うことにより、膜ファウリングの進行を抑制することができることが明らかになった。

学位論文審査の要旨

主 査 准教授 岡 部 聡
副 査 教 授 渡 辺 義 公
副 査 教 授 松 井 佳 彦

学 位 論 文 題 名

Analysis of structure and function of microbial communities in submerged membrane bioreactor: In relation to membrane fouling

(浸漬型メンブレンバイオリアクターにおける
膜ファウリング関連微生物群集の構造および機能解析)

浸漬型の膜分離活性汚泥 (Membrane Bioreactor; MBR) 法は、従来の排水処理技術と比較して、高度な処理水質が得られること、設置面積が小さいこと、余剰汚泥発生量が少ないこと等の利点を有しており、次世代型排水処理技術として注目を集めている。しかしながら、膜ファウリングによる膜透過性能の低下は、安定した長期連続運転の障害となっている。これまで、膜ファウリングを抑制するために、膜素材、膜構造、膜洗浄方法、モジュール形態と構造、前処理方法および運転方法等の最適化が検討されてきたが、未だ、膜ファウリングを十分に抑制できるまでには至っていない。その理由の一つとして、基本的に MBR の運転は入出力操作に基づき経験工学的に行われており、生物学的反応プロセスは依然として Black box として取り扱われているためである。MBR において、実際の排水処理を担う微生物に関する基礎的知見 (微生物群集構造や機能、微生物間の相互作用等) が極めて少なく、膜ファウリング原因物質の生成および分解・蓄積等に関する詳細なメカニズムは明らかにされていない。さらに、膜表面のバイオフィーム形成による膜透過性の低下に関する知見は皆無である。

本論文は、膜ファウリングの抑制および低減を図り、MBR の処理性および運転性の安定化・高効率化を図ることを最終的な目的とし、膜ファウリング原因物質 (細菌由来溶解性有機物) の蓄積・分解のメカニズムおよび関与する微生物群集の構造や機能を、最新の分子生物学的手法 (PCR-DGGE 法、FISH 法、16S rRNA 遺伝子クローニング、MAR-FISH 法) を用いることにより解析したものである。さらに、膜表面上にバイオフィームが形成することにより膜透過性が低下すること明らかにしたうえで、バイオフィーム構成細菌相を解析したものである。

本論文の構成は以下のようなものである。

第 1 章では、本研究の背景、目的および論文の構成について述べられている。

第 2 章では、MBR 法における膜ファウリングに関するこれまでの知見がまとめられている。

第 3 章では、都市下水処理を目的として異なる運転条件で長期間、MBR の連続運転を行い、反応

槽内の微生物群集の多様性、およびその変動と処理特性の関係を検討している。その結果、MBR 反応槽内の微生物群集構造は、同じ下水を処理している標準活性汚泥法の微生物群集と比較して、多様性が高く異なった群集構造をしていた。その微生物群集構造は、処理性能が安定するにともない、群集構造の変動は小さくなることを明らかにした。しかし、MBR の処理性能が安定した後でも、微生物群集構造は常にある程度変動していた。これは、流入排水の水質や外的環境要因の変動に柔軟に対応して微生物群集構造が変化しているためと推察している。

第 4 章では、都市下水を用いた MBR の長期間連続運転を行い、膜表面上のバイオフィーム形成 (バイオフィアウリング) と膜透過性低下の関係を検討している。その結果、運転の継続にともなって膜表面上にバイオフィームが形成し、膜間差圧の上昇を引き起こしていることを明らかにしている。このバイオフィームの構成細菌相を解析した結果、*β-Proteobacteria* が優占種であり、MBR 槽内の細菌相とは大きく異なっていた。これらの結果は、バイオフィーム形成の鍵となる *β-Proteobacteria* の付着・増殖を特異的に制御することができれば、バイオフィーム形成 (バイオフィアウリング) に起因する膜透過性の低下を効率的に制御することが可能であることを示唆している。

第 5 章では、糖、タンパク、有機酸等の $H^{14}OC$ 標識化合物を用いた MAR-FISH を適用することにより、MBR 反応槽内で膜ファウリングの原因となる溶解性有機物の分解に関与する微生物群の同定、および膜ファウリングの進行との関連性を調査している。その結果、都市下水処理を行う MBR 反応槽内には、未分離・培養の糸状性細菌の *Chloroflexi* が高い割合 (10 - 40%) で存在し、糖様成分、特に高分子の多糖類を優先的に資化することを明らかにした。これらの結果を統合すると、*Chloroflexi* は微生物代謝由来の溶解性有機物 (SMP) を分解し、膜ファウリングの抑制に関与している可能性が示唆された。

第 6 章では、第 5 章を発展させ、MBR 反応槽内から採取した複合菌体、または単離菌体から作成した [$H^{14}OC$] 標識の死滅菌体由来有機物を用いた MAR-FISH を行い、*Chloroflexi* が微生物代謝由来の溶解性有機物 (SMP) を分解する能力を有するか検討した。その結果、*Chloroflexi* に属する多くの細菌は、他の細菌よりも優先的に死滅菌体由来の有機物を利用することが明らかとなった。さらに、MAR-FISH 法において銀粒子数の定量を行うことにより、複合系生物内で未分離の *Chloroflexi* の死滅菌体由来有機物の取り込み速度を、はじめて定量することに成功した。以上の結果から、MBR 反応槽内において優占的に存在する糸状性細菌の *Chloroflexi* が、微生物代謝由来の溶解性有機物 (SMP) を優先的に分解除去し、MBR の膜ファウリングの抑制に寄与していることが明らかとなった。

第 7 章では、本研究で得られた結論を総括し、今後の研究課題についてまとめている。

これを要するに、著者は、膜分離活性汚泥 (Membrane Bioreactor; MBR) 反応槽内における膜ファウリング原因物質の蓄積・分解に関与する微生物群集の構造、動態、およびその機能の詳細を明らかにしたものであり、水環境工学および環境微生物工学の発展に貢献するところ大なるものがある。よって著者は、北海道大学博士 (工学) の学位を授与される資格あるものと認める。