

審査の結果の要旨

論文提出者氏名 朴 錦花

本論文は「浸漬型膜分離活性汚泥法における膜表面付着微生物の群集解析及び増殖特性」と題し、実際の都市下水を用い、これまで殆ど調べられてこなかった浸漬膜表面に選択的に付着する微生物に焦点を当て、特に細菌の群集解析や単離した細菌の増殖特性等を明らかにしたユニークな研究である。

第1章は「序論」である。研究の背景、下水処理としての膜分離技術の抱える課題、それを受けた研究の必要性、目的と位置づけ、及び論文構成等を述べている。

第2章は「既往の研究」である。膜分離活性汚泥法 (MBR, Membrane Bioreactor) の歴史、膜ファウリングの既往研究の成果、細菌群集解析手法についての基礎的知見をまとめている。

第3章は「実験装置及び方法」である。実下水処理場敷地内に設置した実験装置の概要や分析手法等についてまとめている。

第4章は「有機物低容積負荷運転条件での MBR における膜表面付着微生物群集解析」である。有機物低容積負荷、低 MLSS 濃度の条件で2ヶ月余り MBR を運転し、以下のような結果及び結論を得ている。同一反応槽から同時にサンプリングした膜サンプルと浮遊系汚泥サンプルの DGGE バンドパターンの比較から、膜表面付着微生物は浮遊系汚泥とまったく異なる群集構造を持っていた。クローニング結果で γ -*Proteobacteria* に属するクローンが全体の 50% 以上であり、特に *Xanthomonas* 類に属するクローンが γ -*Proteobacteria* に属するクローンの半分程度(運転初期の膜サンプルでは 62.5%, 47 日目の膜サンプルでは 41.7%) を占めたことから、 γ -*Proteobacteria* , その中でも特に *Xanthomonas* 類に属する細菌類が優占種として膜表面に特異的にしかも長期間に渡って存在することが分かった。このようなバイオポリマーを産生する *Xanthomonas* 類と近縁する細菌が膜表面に特異的に存在することから、こういう細菌類の膜表面への付着と増殖はバイオポリマーつまり細胞外高分子物質(EPS)と関連性が高いことが推定された。また、運転時間が経つことにつれて、膜表面付着微生物の多様性は高くなることも異なる時期にサンプリングした膜サンプルの比較から分かった。また、EPS とフロックサイズ分布の結果から、低容積負荷、低 MLSS 条件で EPS 中のたんぱく質は運転時間と共に上昇する傾向をみせた。一方、汚泥フロックサイズは MLSS が上昇することにつれ低下する傾向を見せた。

第5章は「有機物高容積負荷運転条件での MBR における膜表面付着微生物群集解析」である。有機物高容積負荷運転条件で MBR を2ヶ月あまり運転し、以下のような結果及び結論を得ている。膜ファウリングの進行程度を膜間差圧でモニタリングした結果、サンプル用膜モジュールは一ヶ月余り経つと 16~40kPa の間で急激に上昇した。こういう TMP の挙動と SEM の画像解析結果から、

MBRにおいて膜ファウリングは主に、ある時点から急激に進行するケーキ層によるものと推定された。高容積負荷運転条件でも膜表面付着微生物の群集は浮遊系汚泥と全く異なる構造を持った。膜と浮遊系汚泥の微生物群集構造の相違性は運転初期からすでに始まり、膜表面微生物群集も膜ファウリングの進行により変化した。これは、微生物が初期段階で何らかのきっかけにより選択的に膜表面に付着し、その後膜表面に形成された生物膜における溶存酸素、栄養物質などの濃度分布の影響を受け変化するものだと考えられる。膜表面ケーキ層は浮遊系汚泥の膜表面への付着、蓄積によるものであるためその微生物群集も浮遊系汚泥と類似し、ケーキ層にだけ有意に存在する微生物は認められなかった。膜ファウリングが深刻でないとき膜表面には β -*Proteobacteria*と γ -*Proteobacteria*が同時に優占群集として増殖したが、膜ファウリングが進行することにより γ -*Proteobacteria*だけが優占群集として存在した。また運転時間とともに膜表面に段々強く生き残る γ -*Proteobacteria*群集が急激な膜ファウリングと何らかの関わりをもっていると推定される。また、データベース上高い相同性の近縁種を検索できないクローンが多かったことから、膜表面に付着する細菌はほぼ未同定の細菌種である可能性が高いと推定される。

第6章は「膜表面から単離した微生物の増殖特性」である。膜表面付着微生物の膜表面への付着原因を解明する目的で行われた単離菌の増殖特性の実験から以下のような結果及び結論を得ている。汚泥からの単離菌24個のうち20個、膜からの単離菌17個のうち11個が*Proteobacteria*に属した。膜からの単離菌のほとんどが汚泥からの単離菌より寒天培地での増殖速度が遅かった。膜表面から単離した細菌と浮遊系汚泥から単離した細菌の増殖パターン相違性から、膜表面付着細菌は環境に適応するのがなかなか難しく、しかし一旦増殖し始めると相当の速度で増殖する特徴を持っていることが分かった。また膜から単離したほとんどの細菌の疎水性は浮遊系からの単離菌のそれより高かった。また膜からの単離菌はEPSを大量に生産する細菌類でもあった。これらの因子が膜面への付着性を支配していると考えられる。さらに、EPS中の成分は90%以上がたんぱく質であり、膜表面付着細菌のこういう特性は膜ファウリングに何らかの影響を及ぼすと推定される。

第7章は「結論」である。

以上要するに、本論文は分子生物学的手法を用いて、これまで調べられてこなかった浸漬膜表面に付着する細菌群集の特徴を明らかにしたものであり、本研究で得られた16S rRNA全塩基配列を元に膜表面付着優占群集をターゲットとするプローブを設計することにより、FISH法でこれらの優占群集の膜表面での分布や膜ファウリングの進行に伴う変化を明らかにし、膜表面付着微生物の膜ファウリングへの影響を解明するための第1歩を踏み出すための貴重な基礎情報を与える独創的研究であると高く評価できる。また、本研究で得られた知見は、都市環境工学の学術の発展に大きく貢献するものである。

よって本論文は、博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。