研究成果報告書 科学研究費助成事業

今和 5 年 6 月 1 2 日現在

機関番号: 13102

研究種目: 基盤研究(A)(一般)

研究期間: 2019~2022

課題番号: 19H01163

研究課題名(和文)アンチセンス技術とバイオフィルム破壊ペプチドによる膜ファウリング制御技術の開発

研究課題名(英文)Antisense Technology and Biofilm Disrupting Peptides to Control Membrane Fouling

研究代表者

幡本 将史(Hatamoto, Masashi)

長岡技術科学大学・工学研究科・准教授

研究者番号:20524185

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 34,500,000円

研究成果の概要(和文):膜分離活性汚泥法で課題となっている膜の目詰まり現象のなかでも、特に微生物が原因であるバイオファウリングについて、その原因の解明と対処法の開発を試みた。その結果、過負荷状態では流入水由来の物質と細菌が原因であり、特にこれまで未培養である極微小細菌が原因である可能性を明らかにした。実際のバイオフィルムサンプルから、新規培養法を用いる事で膜面にバイオフィルムを形成する細菌の分離 に成功した。さらにこのバイオフィルム原因微生物に特異的に感染するファージを用いる事でバイオフィルム形成を低下させることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義 微生物が原因となって引き起こされる膜分離活性汚泥法のバイオファウリングについて、過負荷状態における原 因の一端を明らかにした。さらに、未培養微生物群に属する極微小細菌が原因の一つであり、その細菌は膜面バ イオフィルムサンプルにおいて、生育した状態で存在していることを明らかにした。また、バイオフィルム原因 微生物に特異的に感染するファージを用いる事でバイオフィルム形成を抑制出来ることを示した。本成果は、バ イオフィルムコントロールの新たな手法になり得るものであり、今後の技術開発がさらに期待される。

研究成果の概要(英文): Membrane fouling is a significant issue in activated sludge systems that use membrane separation. In this study, our objective was to identify the causes of biofouling, which is the result of microorganisms, and develop countermeasures. Our findings suggest that substances and bacteria present in the influent, particularly microorganic bacteria that have not been cultured before more contribute to biofouling when the supplement of the contribute to the contribute to biofouling when the contribute to the cont before, may contribute to biofouling when the system is overloaded. We employed a novel culture method to successfully isolate bacteria responsible for biofilm formation on membrane surfaces from actual biofilm samples. Moreover, we observed a reduction in biofilm formation by utilizing phages that specifically target and infect these microorganisms causing biofilms.

研究分野: 環境工学、土木環境システム

キーワード: 膜分離活性汚泥 ファウリング バイオフィルム 細菌 細胞外物質 MBR 下水 低温

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等に ついては、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1.研究開始当初の背景

膜分離活性汚泥法(Membrane Bio-Reactor: MBR)は、従来の標準活性汚泥法による生物処理と膜による精密ろ過または限外ろ過を組み合わせて、固液分離を行う排水処理システムの1つである。 MBR は高度な処理水質を得ることができるため世界的に普及が進んでいる。これまでの研究で、MBR は窒素やリンなどの栄養塩を効率よく除去できるだけでなく、都市下水に含有される病原菌やウイルスも除去できることが示されている。一方で、膜の目詰まりによる処理水量の低下という現象「膜ファウリング」が発生し大きな問題となっている。膜ファウリングの主な原因の一つは、微生物や微生物由来の物質が原因で引き起こされるバイオファウリングである。バイオファウリングは、膜表面に付着した微生物が形成するバイオフィルムが原因となっていることが明らかになっている。

バイオフィルムは膜表面に付着した微生物が細胞外高分子物質(Extracellular Polymer Substances: EPS)を生成する事で発生し、そこで微生物が増殖する。それが原因となり膜間差圧(Trans Membrane Pressure: TMP)が急速に増加することで発生すると考えられている。バイオフィルムの特徴を理解することは膜ファウリングを制御するうえで極めて重要であり、世界中でバイオフィルムに関する研究が盛んに行われている。これまでに純菌を使った研究やシミュレーションによるバイオフィルムの形成メカニズムの解明、実際のバイオフィルムの観察などから、バイオフィルムについての知見は蓄積されてきている。しかし、MBRで問題となるバイオフィルムは雑多な微生物で構成されており、各構成微生物の詳細な役割については未解明のままである。また、バイオフィルム発生機構についても詳細は明らかにされておらず、膜ファウリングの制御方法は未だに確立されていない。

膜ファウリング制御技術の開発は、膜ファウリングの原因となる微生物を特定し、その微生物の生理生態を明らかにすることが重要である。特に膜ファウリングの発生メカニズムにおいて、初期段階で膜面に付着しバイオフィルム形成を行う微生物(Biofilm-Forming Bacteria: BFB)は膜ファウリング形成過程において重要な役割を果たすことが報告されている(Ishizaki et al., 2016)。また、近年の研究より BFB は未培養微生物である可能性も示唆されている(Takimoto, et al., 2018)。しかし、バイオフィルム形成における未培養微生物の機能はいまだ明らかでない。また、MBR に存在する BFB の培養に成功した報告は少なく、膜ファウリングの現象解明には BFB を培養し生理的特性・実態解明をする事が必要である。そして、このような BFB 形成の鍵を握る微生物の成育を制御することで、バイオフィルム形成をコントロールできると考えた。

2.研究の目的

MBR において膜ファウリングの原因となる膜面上に形成されるバイオフィルムの発生をその原因となる微生物の増殖を制御することで防止する事を目指し、本研究では MBR 膜面で発生する膜ファウリングにおいて重要な役割を果たす細菌の分離培養を行うため次の 3 つの項目を実施した。(1)実下水を処理する MBR の運転を行いバイオフィルム発生状況及び微生物群集構造の解析を行い BFB の特定を行う、(2)膜ファウリング発生時のバイオフィルムを採取し、BFB の分離培養を行う、(3)BFB の生育制御に向けた基盤技術の開発を試みる。

3.研究の方法

(1) 実験に使用したリアクター

本研究には実水を処理するラボスケールの A/O-MBR を用いた。MBR は有効容積 6L の無酸素槽と曝気槽から構成され、平均孔径 $0.2\,\mu m$ の塩素化ポリエチレン製平膜を曝気槽に浸漬させた。都市市下水の沈殿槽越流水を無酸素槽に供給した。本実験では定流量吸引濾過方式を採用し、9 分間膜ろ過、1 分間停止というサイクルで間欠ろ過を行った。リアクターは 2 系統設置し、安定運系 (RT1)と膜ファウリングを誘発させるための負荷変動系 (RT2)を運転した。安定運転時の汚泥濃度は $12000\,m g/L$ 前後に調整し、HRT は 6 時間とした。

(2) 微生物分離培養

BFB の分離サンプルとして、MBR の膜ファウリング発生時にバイオフィルムを膜面から採取した。一般的な平板培養として、培地成分やゲル化剤、希釈倍率を組み合わせた培養条件を設定した。本研究で使用した培地は LB (Difco) R2A (和光純薬) MHB (Difco) の 3 種類、環境中の有機物濃度に近づけるため、通常濃度と 1/100 の低濃度に調整した培地(低濃度培地) を用意した。また使用するゲル化剤は寒天と Gellan gum を使用した。段階希釈後のサンプルを平板培地に塗抹し 28 で最大 4 週間培養を行った。

未培養微生物の新規分離培養手法として報告されている ichip 培養法による培養を行った。 ichip 培養は、現場環境中での培養方法であり微生物の生育条件を推測する必要がなく、また新規微生物種の培養率が既存手法よりも高いとされる (Berdy et al., 2017)。 ichip は滅菌されたプラスチック製 96 ウェルプレートの片面に防水性シリコン接着剤を薄く塗布し,親水性 PCTEシート (BMBio ST、孔径 0.03 µm)を糊着し作製した。 ichip プレートに段階希釈したバイオ

フィルムサンプルと 1.0 %寒天培地を混合・注入し 30 分以上固化させた。固化後のウェルの空隙を PBS バッファーで満たした後、PCTE シートをもう片面に貼り ichip とした(図 1)。完成した ichipは MBR 曝気槽および無酸素槽に浸漬させ、2~3 週間の現場培養を行った。

(3) 群集解析方法および未培養微生物を検出するアプタマーの開発

微生物群集構造解析を次世代シーケンシング Illumina iSeq100 (Illumina)を使用して分析を行った。得られた塩基配列データは Silva 138 データベースを用いて解析した。未培養微生物を検出する

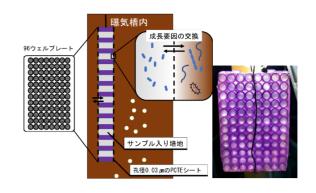


図1 ichip 培養の概略図

アプタマーは、既存の SELEX 法を応用した新規手法により取得を試みた。

(4) ファージの分離

膜閉塞発生時のバイオフィルムから分離した、バイオフィルム形成細菌に特異的に感染するファージをプラークアッセイ法により単離し、ファージがバイオフィルムの形成抑制に効果があるのかを調査した。

4. 研究成果

(1) バイオフィルム微生物の解析

AS, Inf 共に Gammaproteobacteria 網 Bacteroidia 網が優占していた。各リアクタ ーの AS では、Hydrogenophilaceae 科に属 する未培養細菌、Chitinophagales 目に属 する未培養細菌が最も優占していた。Infと 比較して両リアクターの AS では Polyangia 網と Alphaproteobacteria 網お おび Verrucomicrobiae 網の存在割合が大 きく増加していた。また、AS で未培養系統 群 (Candidate Phyla Radiation : CPR) の 1 である Parcubacteria の存在が確認され た (図3)。 RT1 の BF では、 科や Hydrogenophilaceae Chitinophagales 目に属する未培養細菌、CPR の 1 つである Bdellovibrionota 門に属する OM27_clade が優占していた。RT2 の BF では、Hydrogenophilaceae 科、Chitinophagales 目、Parcubacteria に属する未培 養細菌が優占していた。両リアクター共に CPR が膜孔に付着してコンディショニン グフィルムを形成し、その後、微生物が凝 集体を形成する事で孔詰まりや TMP 上昇 をもたらす可能性が示唆された。

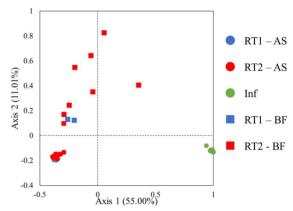


図2 各微生物群集の PCoA 分析結果

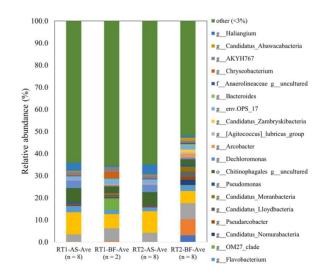


図 3 各リアクターにおける AS と BF の科または 属レベル微生物群集構造解析結果

PCoA 解析の結果より、RT2 の BF は有機物負荷が増加するほど微生物群集構造組成が AS か

ら Inf に近づいている、また RT2 は有機物負荷が増加するほど膜ファウリング発生頻度が高くなっていた。これらの結果から、RT2 では過負荷により AS による流入水由来の物質の分解が追いつかなくなったことがファウリングの主原因と考えられた。従って、RT2 では急速に BF が形成されてファウリングが発生しているのではなく、CPR 等がコンディショニングフィルムを形成した後、流入水由来の物質と細菌がそのコンディショニングフィルムに取り込まれたことでファウリングを発生させた可能性が考えられた。

CPR は極微小細菌であるとされるため、BF サンプ ルを 0.45 μm と 0.22 μm のフィルターでろ過して CPR の濃縮を試みた。その結果、ろ過前の BF は Purcubacteria に属する Nomurabacteria が 16%、 Macellibacteroides が 7%、 Dechloromonas が 4%で あり、他の細菌は1%未満の検出率であった。一方、フ ィルターを通したろ液では 40% 以上が Nomurabacteria であった。Dechloromonas は、0.45 μm のフィルターにより除去され、膜洗浄液に 8%検出 された。Macellibacteroides は 0.22 µm のフィルター により除去され、膜洗浄液に20%以上検出された。一 方、Nomurabacteria はろ液に比べ 0.45 μm と 0.22 μm のフィルター洗浄液の検出率はそれぞれ 13%と 6%と低いことから、0.22 μm より小さいと考えられ た。従って、BF はろ過することにより多様な菌がろ過 膜に捕捉され、極微小細菌が検出しやすくなると 考えられた。

そこでこれら微小細菌が生育しているのかどうか確認するため、BFサンプルを用いて HCR-FISH 法を適用した。その結果、環境サンプルである BF は蛍光物質を吸着してしまい、蛍光阻害を起こしてしまうが、サンプルをろ過することにより微小細菌の蛍光シグナルの判別が容易になることが示された。Purcubacteria の一種である OD1 のプライマー配列を用いたプローブを用いて HCR-FISH 法を適用した結果、微小で強い蛍光が確認できPurcubacteria が BF サンプルにおいて生育して存在している可能性が高いと考えられた(図5)。

(2) バイオフィルム微生物の分離培養

都実下水を処理する MBR で膜面上に形成され

たバイオフィルムから、12 パターンの培養条件で平板培養を行った。その結果、得られた菌株は11 属に分類され、そのうち 25 菌株が Pseudomonas 属、16 菌株が Stenotrophomonas 属として同定された。また、Chryseobacterium 属や Enterobacteriaceae 科のコロニーを多く確認した。分離株の解析の結果、LB や MHB 培地に比べて R2A 培地のみに現れる細菌が多く存在することが明らかとなった(図4)。この傾向は通常濃度や低濃度栄養培地でも同様に見られた。また、R2A 培地からは属レベルの解析では遺伝子配列の相同性が低い菌株が多く存在した。このことから、R2A 培地は未培養細菌の培養に適していると推察された。

ichip 培養を行ったゲルの微生物群集構造解析の結果、Pseudomonas 属やPseudarcobacter 属、Pseudorcoccus 属、Pseudarcobacter 属、Pseudorcoccus 属やPseudarcobacter 属、Pseudorcoccus 属やPseudorcoccus 属のPseudorcoccus Pseudorcoccus Pseudorcocc

培地と共に注入した MQ の水質分析を行った結果、硝酸 0.125~mg/L、亜硝酸 0.535~mg/L 程度 の濃度を示したことから、 $0.03~\mu\,\text{m}$ 孔径のシートを通して環境中から栄養素等の交換が起きた可能性が示された。

膜面から採取した BF で確認された Comamonadaceae 科や Chryseobacterium 属 Pseudarcobacter 属などが ichip 中のゲルからも確認された。また、平板培養を用いたコロニーからは確認されなかった WCHB1-32 属や Candidatus Accumulibacter 属などの未培養細菌が確認された。このことから、MBR などの水生環境で未培養細菌をターゲットとした培養において ichip プレートを使用した現場培養が十分に効果的であることが示唆された。分離して得られた 21 菌株は Pseudomonas 属、Flavobacterium 属、Enterobacteriaceae 科など 6 属に分類さ

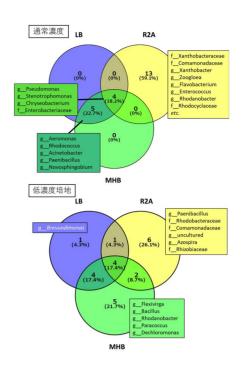


図 4 各培地条件で分離された存在 割合5%以上の代表菌株のベン図

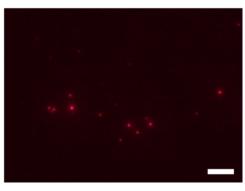


図 5 OD1-290 プローブによる検出結果 (スケールバーは 10 μm)

れた。ichip 培養から単離した菌株の半数を占めたのは Enterobacteriaceae 科に属するまたは近縁な細菌であった。これらの菌株は、本平板培養実験ではまれにしか培養できなかったことからichip 培養による順化が進んだ可能性が示された。

(3) 分離株のバイオフィルム形成能の評価とファージによるバイオフィルム形成阻害

分離株のバイオフィルム形成能をクリスタルバイオレット法により評価した結果、 $Stenotrophomonas\ maltophilia$ や $S.\ rhizophila$ など、 $Stenotrophomonas\ 属の細菌がバイオフィルム形成能が高いことが明らかになった。そのため、MBR 膜面上のバイオフィルム形成に大きく関与している可能性が示唆された。$

そこで、 $S.\ rhizophila$ に感染するファージを分離を行った。 Mn^2+ と Mg^2+ を添加した LB 液体 培地で 30 時間培養したものを宿主菌培養液とした。この宿主菌培養液 150 μ L と段階的に濃度を調整したファージ溶液 ($5.7\times10^2\sim10^4$ PFU/mL)30 μ L を 96-well プレートのウェル内で混合させた。その後、各ウェルに専用のペグを被せ 28 で 30 時間インキュベートし、バイオフィルムを形成させた。バイオフィルム形成後、クリスタルバイオレット法によりバイオフィルム形成量を測定した。図 6 に異なるファージ濃度 ($5.7\times10^2\sim5.7\times10^4$ PFU/mL)のファージ懸濁液に 30 時間暴露した後の $S.\ rhizophila$ のバイオフィルム形成量を示す。ファージを混合して

いないコントロールの吸光度を 100%とし、バイオフィルムの相対量を求めた。それぞれのファージ濃度のファージ溶液は S. rhizophila のバイオフィルム形成量を抑え、最も高いファージ濃度 (5.7×10^4 PFU/mL)においてはバイオフィルムの形成を 20.5%抑制した。しかし、低濃度のファージ溶液 (5.7×10^2 PFU/mL)を使用した場合においてはバイオフィルム形成量についてはコントロールとの違いは見られなかった。

したがって、今回の実験で採取されたファージは、濃度に応じて S. rhizophila のバイオフィルム形成量を抑え、MBR 膜面におけるバイオフィルム形成抑制に効果があることが示唆された。

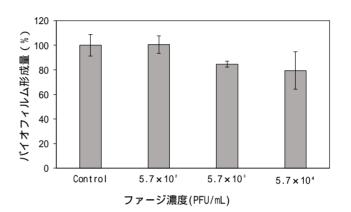


図6 異なるファージ濃度のファージ懸濁液に30時間 暴露した後のS.rhizophilaのバイオフィルム形成量

< 引用文献 >

Ishizaki, S., Fukushima, T., Ishii, S., & Okabe, S. (2016). Membrane fouling potentials and cellular properties of bacteria isolated from fouled membranes in a MBR treating municipal wastewater. Water Research, 100, 448-457.

doi:https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.05.027

Takimoto, Y., Hatamoto, M., Ishida, T., Watari, T., & Yamaguchi, T. (2018). Fouling Development in A/O-MBR under Low Organic Loading Condition and Identification of Key Bacteria for Biofilm Formations. Scientific Reports, 8(1). doi:10.1038/s41598-018-29821-9

Berdy, B., Spoering, A. L., Ling, L. L., & Epstein, S. S. (2017). *In situ* cultivation of previously uncultivable microorganisms using the ichip. Nature protocols, 12(10), 2232-2242.

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件(うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件)	
1. 著者名 Miwa Toru、Takimoto Yuya、Hatamoto Masashi、Kuratate Daiki、Watari Takahiro、Yamaguchi Takashi	4.巻 105
2.論文標題 Role of live cell colonization in the biofilm formation process in membrane bioreactors treating actual sewage under low organic loading rate conditions	5.発行年 2021年
3 . 雑誌名 Applied Microbiology and Biotechnology	6.最初と最後の頁 1721~1729
掲載論文のDOI (デジタルオプジェクト識別子) 10.1007/s00253-021-11119-y	 査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著
1.著者名 Takimoto Yuya、Hatamoto Masashi、Soga Toru、Kuratate Daiki、Watari Takahiro、Yamaguchi Takashi	4.巻 759
2.論文標題 Maintaining microbial diversity mitigates membrane fouling of an anoxic/oxic membrane bioreactor under starvation condition	5 . 発行年 2021年
3.雑誌名 Science of The Total Environment	6.最初と最後の頁 143474~143474
掲載論文のDOI(デジタルオプジェクト識別子) 10.1016/j.scitotenv.2020.143474	 査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著
1.著者名 Miwa Toru、Takimoto Yuya、Mizuta Yuki、Hatamoto Masashi、Watari Takahiro、Yamaguchi Takashi	4.巻 309
2.論文標題 An increase in sludge loading rate induces gel fouling in membrane bioreactors treating real sewage	5 . 発行年 2022年
3.雑誌名 Chemosphere	6.最初と最後の頁 136557~136557
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chemosphere.2022.136557	 査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著
1.著者名	4.巻 47
2.論文標題 膜面バイオフィルムを形成する微生物:細菌の特定から制御へ	5 . 発行年 2022年
3.雑誌名 MEMBRANE	6.最初と最後の頁 218~222
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5360/membrane.47.218	査読の有無 有
 オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著

〔学会発表〕 計19件(うち招待講演 1件 / うち国際学会 4件)
1 . 発表者名 Toru Miwa, Yuki Mizuta, Yuya Takimoto, Masashi Hatamoto, Takahiro Watari, Takashi Yamaguchi
2 . 発表標題 Gel fouling development in MBR treating real sewage under low temperature condition
3.学会等名 Membrane Desalination 2021 (MEMDES2021).(国際学会)
4 . 発表年 2021年
1 . 発表者名 長谷川貴哉、幡本将史、山口隆司、渡利高大
2 . 発表標題 膜ファウリング原因となる微小細菌の分離・培養の試み
3 . 学会等名 第 39 回土木学会関東支部新潟会研究調査発表会
4.発表年 2021年
1.発表者名 水田裕貴,三輪徹,幡本将史,渡利高大,山口隆司,滝本祐也
2.発表標題 現場培養法によるMBRパイオフィルム形成細菌の分離培養の試み
3 . 学会等名 第76回 土木学会 全国大会
4.発表年 2021年
1 . 発表者名 三輪 徹、滝本 祐也、幡本将史、渡利 高大、山口隆司
2、艾生+蛋85

高有機物負荷条件下の MBR 分離膜表面で発生するゲル状バイオフィルムの特徴解析

3 . 学会等名

4 . 発表年 2021年

第76回 土木学会 全国大会

1.発表者名 三輪徹、水田裕貴、幡本将史、渡利高大、山口隆司、滝本裕也
2.発表標題 実下水処理MBRで発生するケーキファウリングとゲルファウリングの特徴解析
3.学会等名 第56回日本水環境学会年会
4.発表年
2022年
1.発表者名 長谷川貴哉,水田裕貴,幡本将史,渡利高大,山口隆司
2、 及主播店
2.発表標題 MBRバイオフィルムに特異的に存在する細菌の分離培養の試み
3.学会等名 第56回日本水環境学会年会
4 . 発表年
2022年
1.発表者名 水田裕貴、三輪徹、幡本将史、渡利高大、山口隆司、滝
2.発表標題 現場培養によるMBRバイオフィルム形成細菌の分離培養と特性評価
200
3.学会等名 第56回日本水環境学会年会
4. 発表年
2022年
1.発表者名 幡本将史
2.発表標題
無酸素/好気MBRにおける膜ファウリング抑制法 膜ファウリングを起こしにくい活性汚泥とは
3 . 学会等名 2021年度 膜工学春季講演会・膜工学サロン(招待講演)
4.発表年 2022年

2 . 策表構題 現場信義法による関ファウリング原因微生物の分離:3表の試み 3 . 字合帝名 第38回上木字会阅東支部前満会研究調査発表会 4 . 我表年 2020年 1 . 発表者名 海本格也、音段微、校立大喜、強利高大、精本将史、山口隆司 2 . 殊表複鑑 低有機物食荷パク・場路のパイオフィルム形成過程と原生動物の役割 3 . 字合帝名 令和 2 年度土木字会全国大会 4 . 現表作 2020年 1 . 張素者名 水田稍養、橋本将史、山口障司、混利高大、海本格也、三輪 徹 2 . 聚表模型 原位置培養法を用いた場路パイオフィルム形成組織の分離培養の試み 3 . 字会帝名 第 15 回 日本水環境学会年会 4 . 乳表性 1 . 現表者名 Tran Phuong Thao、Massahi Hatanoto、Takahiro Watari、Takashi Yanaguchi 2 . 発表模型 Effects of inoculum sources on autotrophic nitrogen removal behavior in hollow fiber membrane reactors 3 . 字会帝名 7 年帝名 7 年帝名名 7 年春名名 7 年春名 7 年春名名 7 年春春名 7 日春春名 7 年春名名 7 年春名名 7 年春名名 7 年春名名 7 年春春名 7 年春名 7 年春名名 7 年春春名 7 年春春春春春春春春春春春春春春春春春春春春春春春春春春春春春春春春	1 . 発表者名 水田裕貴、滝本祐也、曾我 徹、渡利高大,幡本将史,山口隆司
現場指替法による限ファウリング原因微生物の分離培養の試み	
現場指替法による限ファウリング原因微生物の分離培養の試み	
 第38回土木学会関東支部新潟会研究調査発表会 4. 飛素年 2020年 1. 発表者名 海本祐也,曾我徹,較立大喜,渡利高大,幅本将史,山口隆司 2. 祭表標題 低有機物負荷パク-MBRのパイオフィルム形成過程と原生動物の役割 3. 学会等名 令和2年度土木学会全国大会 4. 聚表年 2020年 1. 発表者名 水田裕貴,幅本裕史,山口隆司,渡利高大,海本祐也,三輪 徹 2. 聚表標題 原位置语模法を用いたUBRパイオフィルム形成細菌の分離培養の試み 3. 学会等名 第 55 回 日本水環境学会年会 4. 死表在 7 Tran Phuong Thao, Masashi Hatamoto, Takahiro Watari, Takashi Yamaguchi 2. 発表標題 Effects of inoculum sources on autotrophic nitrogen removal behavior in hollow fiber membrane reactors 3. 学会等名 freen Technologies for Sustainable Water (GTSW) 2019 (国際学会) 4. 発表年 	
 第38回土木学会関東支部新潟会研究調査発表会 4. 飛素年 2020年 1. 発表者名 海本祐也,曾我徹,較立大喜,渡利高大,幅本将史,山口隆司 2. 祭表標題 低有機物負荷パク-MBRのパイオフィルム形成過程と原生動物の役割 3. 学会等名 令和2年度土木学会全国大会 4. 聚表年 2020年 1. 発表者名 水田裕貴,幅本裕史,山口隆司,渡利高大,湾本祐也,三輪 徹 2. 聚表標題 原位置语模法を用いたUBRパイオフィルム形成細菌の分離培養の試み 3. 学会等名 第 55 回 日本水環境学会年会 4. 死表在 7 Tran Phuong Thao, Masashi Hatamoto, Takahiro Watari, Takashi Yamaguchi 2. 発表標題 Effects of inoculum sources on autotrophic nitrogen removal behavior in hollow fiber membrane reactors 3. 学会等名 Green Technologies for Sustainable Water (GTSW) 2019 (国際学会) 4. 発表年 	
 第38回土木学会関東支部新潟会研究調査発表会 4. 飛素年 2020年 1. 発表者名 海本祐也,曾我徹,較立大喜,渡利高大,幅本将史,山口隆司 2. 祭表標題 低有機物負荷パク-MBRのパイオフィルム形成過程と原生動物の役割 3. 学会等名 令和2年度土木学会全国大会 4. 聚表年 2020年 1. 発表者名 水田裕貴,幅本裕史,山口隆司,渡利高大,海本祐也,三輪 徹 2. 聚表標題 原位置语模法を用いたUBRパイオフィルム形成細菌の分離培養の試み 3. 学会等名 第 55 回 日本水環境学会年会 4. 死表在 7 Tran Phuong Thao, Masashi Hatamoto, Takahiro Watari, Takashi Yamaguchi 2. 発表標題 Effects of inoculum sources on autotrophic nitrogen removal behavior in hollow fiber membrane reactors 3. 学会等名 freen Technologies for Sustainable Water (GTSW) 2019 (国際学会) 4. 発表年 	3 学会等 <i>名</i>
発表者名 落本祐也,曾我徹,殺立大喜,渡利高大,橋本将史,山口隆司 発表標題 低有機物負荷A/O-MBRのパイオフィルム形成過程と原生動物の役割 3. 学会等名 令和 2 年度土木学会全国大会 4. 発表者名 水田裕貴,幅本将史,山口隆司,渡利高大,海本祐也,三輪 徹 2. 発表標題 原位置培養法を用いたMBRパイオフィルム形成網節の分離培養の試み 第 55 回 日本水環境学会年会 4. 発表年 2021年 1. 発表名 7 下の Phuong Thao, Massashi Hatamoto, Takahiro Watari, Takashi Yamaguchi 2. 発表標題 Elfects of inoculum sources on autotrophic nitrogen removal behavior in hollow fiber membrane reactors 3. 学会等名 Green Technologies for Sustainable Water (GTSW) 2019 (国際学会) 4. 発表年	
一 ・ 発表者名 「海本祐也 、管我徹 、較立大喜 、渡利高大 、幅本将史 、山口隆司	
海本柘也,曾我徹,較立大喜,渡利高大,幅本将史,山口隆司 2.発表標題 低有機物負荷A/O-NBRのパイオフィルム形成過程と原生動物の役割 3.学会等名 今和2年度土木学会全国大会 4.発表年 2020年 1.発表者名 水田裕貴,幡本将史,山口隆司,渡利高大、海本柘也,三輪 徹 2.発表標題 原位重培療法を用いたMBRバイオフィルム形成細菌の分離培養の試み 3.学会等名 第 55 回 日本水環境学会年会 4.発表年 2021年 1.発表者名 Tran Phuong Thao, Masashi Hatamoto, Takahiro Watari, Takashi Yamaguchi 2.発表標題 Effects of inoculum sources on autotrophic nitrogen removal behavior in hollow fiber membrane reactors 3.学会等名 Green Technologies for Sustainable Water (GTSW) 2019 (国際学会) 4.発表年	2020年
2 . 発表標題 低有機物負荷A/O-IBRのバイオフィルム形成過程と原生動物の役割 3 . 学会等名 令和 2 年度土木学会全国大会 4 . 発表年 2020年 1 . 発表者名 水田裕貴,幅本将史、山口隆司,渡利高大、滝本祐也、三輪 徹 2 . 発表標題 原位重増費法を用いたMBRバイオフィルム形成細菌の分離培養の試み 3 . 学会等名 第 55 回 日本水環境学会年会 4 . 発表者名 Tran Phuong Thao, Masashi Hatamoto, Takahiro Watari, Takashi Yamaguchi 1 . 発表者名 Tran Phuong Thao inoculum sources on autotrophic nitrogen removal behavior in hollow fiber membrane reactors 3 . 学会等名 Green Technologies for Sustainable Water (GTSW) 2019 (国際学会) 4 . 発表年	
 低有機物負荷A/O-MBRのバイオフィルム形成過程と原生動物の役割 3. 学会等名 令和2年度土木学会全国大会 4. 発表年 2020年 1. 発表者名 水田裕貴、幅本将史、山口隆司、渡利高大、海本祐也、三輪 徹 2. 発表標題 原位置培養法を用いたMBRバイオフィルム形成細菌の分離培養の試み 3. 学会等名 第 55 回 日本水環境学会年会 4. 発表年 2021年 1. 発表者名 Tran Phuong Thao、Masashi Hatamoto、Takahiro Watari、Takashi Yamaguchi 2. 発表標題 Effects of inoculum sources on autotrophic nitrogen removal behavior in hollow fiber membrane reactors 3. 学会等名 Green Technologies for Sustainable Water (GTSW) 2019 (国際学会) 4. 発表年 	/电平性心,自找服,牧业人者,发利向人,惟平付丈,山口隆可
 低有機物負荷A/O-MBRのバイオフィルム形成過程と原生動物の役割 3. 学会等名 令和2年度土木学会全国大会 4. 発表年 2020年 1. 発表者名 水田裕貴、幅本将史、山口隆司、渡利高大、海本祐也、三輪 徹 2. 発表標題 原位置培養法を用いたMBRバイオフィルム形成細菌の分離培養の試み 3. 学会等名 第 55 回 日本水環境学会年会 4. 発表年 2021年 1. 発表者名 Tran Phuong Thao、Masashi Hatamoto、Takahiro Watari、Takashi Yamaguchi 2. 発表標題 Effects of inoculum sources on autotrophic nitrogen removal behavior in hollow fiber membrane reactors 3. 学会等名 Green Technologies for Sustainable Water (GTSW) 2019 (国際学会) 4. 発表年 	
3 . 学会等名 令和2年度士木学会全国大会 4 . 発表年 2020年 1 . 発表者名 水田裕貴、幅本将史、山口隆司、渡利高大、滝本祐也、三輪 徹 2 . 発表標題 原位賞培養法を用いたMBRバイオフィルム形成細菌の分離培養の試み 3 . 学会等名 第 55 回 日本水環境学会年会 4 . 発表年 2021年 1 . 発表者名 Tran Phuong Thao, Masashi Hatamoto, Takahiro Watari, Takashi Yamaguchi 2 . 発表標題 Effects of inoculum sources on autotrophic nitrogen removal behavior in hollow fiber membrane reactors 3 . 学会等名 Green Technologies for Sustainable Water (GTSW) 2019 (国際学会) 4 . 発表年	
令和 2 年度土木学会全国大会 4 . 発表年 2020年 1 . 発表者名 水田裕貴、幡本将史、山口隆司、渡利高大、滝本祐也、三輪 徹 2 . 発表標題 原位置培養法を用いたMBRバイオフィルム形成細菌の分離培養の試み 3 . 学会等名 第 55 回 日本水環境学会年会 4 . 発表年 2021年 1 . 発表者名 Tran Phuong Thao、Masashi Hatamoto、Takahiro Watari、Takashi Yamaguchi 2 . 発表標題 Effects of inoculum sources on autotrophic nitrogen removal behavior in hollow fiber membrane reactors 3 . 学会等名 Green Technologies for Sustainable Water (GTSW) 2019 (国際学会) 4 . 発表年	1は有機物負何A/O-MBRのバイオフイルムが成過程と原生動物の役割
令和 2 年度土木学会全国大会 4 . 発表年 2020年 1 . 発表者名 水田裕貴、幡本将史、山口隆司、渡利高大、滝本祐也、三輪 徹 2 . 発表標題 原位置培養法を用いたMBRバイオフィルム形成細菌の分離培養の試み 3 . 学会等名 第 55 回 日本水環境学会年会 4 . 発表年 2021年 1 . 発表者名 Tran Phuong Thao、Masashi Hatamoto、Takahiro Watari、Takashi Yamaguchi 2 . 発表標題 Effects of inoculum sources on autotrophic nitrogen removal behavior in hollow fiber membrane reactors 3 . 学会等名 Green Technologies for Sustainable Water (GTSW) 2019 (国際学会) 4 . 発表年	
北田裕貴、幡本将史、山口隆司、渡利高大、海本祐也、三輪 徹 北田裕貴、幡本将史、山口隆司、渡利高大、海本祐也、三輪 徹 京位置培養法を用いたMBRバイオフィルム形成細菌の分離培養の試み 京等会等名 第 55回 日本水環境学会年会 北美森年 2021年 宋表春名 Tran Phuong Thao、Masashi Hatamoto、Takahiro Watari、Takashi Yamaguchi 宋表春名 Tran Phuong Thao、Masashi Hatamoto、Takahiro Watari、Takashi Yamaguchi 宋表春名 Creen Technologies for Sustainable Water (GTSW) 2019 (国際学会) 発表年	
20.20年 1. 発表者名 水田裕貴、幡本将史、山口隆司、渡利高大、滝本祐也、三輪 徹 2. 発表標題 原位置培養法を用いたMBRパイオフィルム形成細菌の分離培養の試み 3. 学会等名 第 55 回 日本水環境学会年会 4. 発表年 2021年 1. 発表者名 Tran Phuong Thao、Masashi Hatamoto、Takahiro Watari、Takashi Yamaguchi 2. 発表標題 Effects of inoculum sources on autotrophic nitrogen removal behavior in hollow fiber membrane reactors 3. 学会等名 Green Technologies for Sustainable Water (GTSW) 2019 (国際学会) 4. 発表年	
1. 発表者名 水田裕貴, 輔本将史, 山口隆司, 渡利高大, 海本祐也, 三輪 徹 2. 発表標題 原位置培養法を用いたMBRパイオフィルム形成細菌の分離培養の試み 3. 学会等名 第 55 回 日本水環境学会年会 4. 発表年 2021年 1. 発表者名 Tran Phuong Thao, Masashi Hatamoto, Takahiro Watari, Takashi Yamaguchi 2. 発表標題 Effects of inoculum sources on autotrophic nitrogen removal behavior in hollow fiber membrane reactors 3. 学会等名 Green Technologies for Sustainable Water (GTSW) 2019 (国際学会) 4. 発表年	
水田裕貴、幡本将史、山口隆司、渡利高大、滝本祐也、三輪 徹 2 . 発表標題 原位置培養法を用いたMBRパイオフィルム形成細菌の分離培養の試み 3 . 学会等名 第 55 回 日本水環境学会年会 4 . 発表年 2021年 1 . 発表者名 Tran Phuong Thao, Masashi Hatamoto, Takahiro Watari, Takashi Yamaguchi 2 . 発表標題 Effects of inoculum sources on autotrophic nitrogen removal behavior in hollow fiber membrane reactors 3 . 学会等名 Green Technologies for Sustainable Water (GTSW) 2019 (国際学会) 4 . 発表年	
2 . 発表標題 原位置培養法を用いたMBRバイオフィルム形成細菌の分離培養の試み 3 . 学会等名 第 55 回 日本水環境学会年会 4 . 発表年 2021年 1 . 発表者名 Tran Phuong Thao, Masashi Hatamoto, Takahiro Watari, Takashi Yamaguchi 2 . 発表標題 Effects of inoculum sources on autotrophic nitrogen removal behavior in hollow fiber membrane reactors 3 . 学会等名 Green Technologies for Sustainable Water (GTSW) 2019 (国際学会) 4 . 発表年	
原位置培養法を用いたMBRバイオフィルム形成細菌の分離培養の試み 3 . 学会等名 第 55 回 日本水環境学会年会 4 . 発表年 2021年 1 . 発表者名 Tran Phuong Thao, Masashi Hatamoto, Takahiro Watari, Takashi Yamaguchi 2 . 発表標題 Effects of inoculum sources on autotrophic nitrogen removal behavior in hollow fiber membrane reactors 3 . 学会等名 Green Technologies for Sustainable Water (GTSW) 2019 (国際学会) 4 . 発表年	
原位置培養法を用いたMBRバイオフィルム形成細菌の分離培養の試み 3 . 学会等名 第 55 回 日本水環境学会年会 4 . 発表年 2021年 1 . 発表者名 Tran Phuong Thao, Masashi Hatamoto, Takahiro Watari, Takashi Yamaguchi 2 . 発表標題 Effects of inoculum sources on autotrophic nitrogen removal behavior in hollow fiber membrane reactors 3 . 学会等名 Green Technologies for Sustainable Water (GTSW) 2019 (国際学会) 4 . 発表年	
3 . 学会等名 第 55 回 日本水環境学会年会 4 . 発表年 2021年 1 . 発表者名 Tran Phuong Thao, Masashi Hatamoto, Takahiro Watari, Takashi Yamaguchi 2 . 発表標題 Effects of inoculum sources on autotrophic nitrogen removal behavior in hollow fiber membrane reactors 3 . 学会等名 Green Technologies for Sustainable Water (GTSW) 2019 (国際学会) 4 . 発表年	
第 55 回 日本水環境学会年会 4 . 発表年 2021年 1 . 発表者名 Tran Phuong Thao, Masashi Hatamoto, Takahiro Watari, Takashi Yamaguchi 2 . 発表標題 Effects of inoculum sources on autotrophic nitrogen removal behavior in hollow fiber membrane reactors 3 . 学会等名 Green Technologies for Sustainable Water (GTSW) 2019 (国際学会) 4 . 発表年	The state of the s
第 55 回 日本水環境学会年会 4 . 発表年 2021年 1 . 発表者名 Tran Phuong Thao, Masashi Hatamoto, Takahiro Watari, Takashi Yamaguchi 2 . 発表標題 Effects of inoculum sources on autotrophic nitrogen removal behavior in hollow fiber membrane reactors 3 . 学会等名 Green Technologies for Sustainable Water (GTSW) 2019 (国際学会) 4 . 発表年	
4 . 発表年 2021年 1 . 発表者名 Tran Phuong Thao, Masashi Hatamoto, Takahiro Watari, Takashi Yamaguchi 2 . 発表標題 Effects of inoculum sources on autotrophic nitrogen removal behavior in hollow fiber membrane reactors 3 . 学会等名 Green Technologies for Sustainable Water (GTSW) 2019 (国際学会) 4 . 発表年	
1 . 発表者名 Tran Phuong Thao, Masashi Hatamoto, Takahiro Watari, Takashi Yamaguchi 2 . 発表標題 Effects of inoculum sources on autotrophic nitrogen removal behavior in hollow fiber membrane reactors 3 . 学会等名 Green Technologies for Sustainable Water (GTSW) 2019 (国際学会) 4 . 発表年	
1 . 発表者名 Tran Phuong Thao, Masashi Hatamoto, Takahiro Watari, Takashi Yamaguchi 2 . 発表標題 Effects of inoculum sources on autotrophic nitrogen removal behavior in hollow fiber membrane reactors 3 . 学会等名 Green Technologies for Sustainable Water (GTSW) 2019 (国際学会) 4 . 発表年	
Tran Phuong Thao, Masashi Hatamoto, Takahiro Watari, Takashi Yamaguchi 2 . 発表標題 Effects of inoculum sources on autotrophic nitrogen removal behavior in hollow fiber membrane reactors 3 . 学会等名 Green Technologies for Sustainable Water (GTSW) 2019 (国際学会) 4 . 発表年	
Effects of inoculum sources on autotrophic nitrogen removal behavior in hollow fiber membrane reactors 3 . 学会等名 Green Technologies for Sustainable Water (GTSW) 2019 (国際学会) 4 . 発表年	
Effects of inoculum sources on autotrophic nitrogen removal behavior in hollow fiber membrane reactors 3 . 学会等名 Green Technologies for Sustainable Water (GTSW) 2019 (国際学会) 4 . 発表年	
Effects of inoculum sources on autotrophic nitrogen removal behavior in hollow fiber membrane reactors 3 . 学会等名 Green Technologies for Sustainable Water (GTSW) 2019 (国際学会) 4 . 発表年	2 ※主持時
3 . 学会等名 Green Technologies for Sustainable Water (GTSW) 2019 (国際学会) 4 . 発表年	
Green Technologies for Sustainable Water (GTSW) 2019 (国際学会) 4 . 発表年	
Green Technologies for Sustainable Water (GTSW) 2019 (国際学会) 4 . 発表年	2

1.発表者名
Yuya Takimoto, Daiki Kuratate, Masashi Hatamoto, Takahiro Watari, Takashi Yamaguchi
2.発表標題
2 . 光衣标题 Initiation and Progression of Biofilm on the submerged Membrane in A/O-MBR
3.学会等名
IWA Biofilms 2019(国際学会)
4.発表年
2019年
1.発表者名
Toru MIWA, Yuya TAKIMOTO, Masashi HATAMOTO, Takashi YAMAGUCHI
2.発表標題
Effect of Microbial Community Structure of Activated Sludge on Membrane Fouling Development in A/O-MBR
3.学会等名
Water and Environment Technology Conference 2019 (国際学会)
4 . 発表年
2019年
1. 発表者名
鞍立大喜,滝本祐也,幡本将史,牧慎也,渡利高大,山口隆司,川上周司
2.発表標題
MBRにおける低有機物負荷運転が膜槽汚泥性状および微生物叢に及ぼす影響
a. W.A.M.
3.学会等名 令和元年度土木学会全国大会
4 . 発表年 2019年
2010—
1. 発表者名
滝本 祐也, 鞍立 大喜, 三輪 徹, 幡本 将史, 山口 隆司
2.発表標題
低有機物負荷 A/O-MBR における膜ファウリング緩和に関与する微生物の推定
a. W.A.M.
3 . 学会等名 日本微生物生態学会 第33回大会
4.発表年 2019年
2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6.研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
	川上 周司	長岡工業高等専門学校・環境都市工学科・准教授	
研究分担者	(Kawakami Shuji)		
	(00610461)	(53101)	

7.科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------