

II-152

牛乳馴養グラニュール汚泥内細菌群の挙動に関する研究

長岡技術科学大学 学生員 ○瀬戸祐志 正 員 桃井清至
 アジア工科大学 正 員 原田秀樹
 三機工業（株） 正 員 加藤 薫

1. はじめに

上向流嫌気性スラッジランケット（UASB）反応器内グラニュール汚泥中の細菌群は従来、表層部は酸生成に関与する細菌群が、また、内部にはメタン生成菌群が優先すると報告されており¹⁾、また筆者らは、嫌気性汚泥はグラニュール化することにより脂質阻害が緩和されるという結果を得てきた。さらに牛乳で馴養したグラニュール汚泥は表皮が白色で内部が黒色という二重構造を形成していることが観察され、本研究では、これらの現象がグラニュール汚泥内の細菌群の住み分けによるものかどうかについて、表皮側と内部側に汚泥を分けて基質分解試験を行うことにより考察し、検討した結果を報告する。

2. 実験方法

1. 高級脂肪酸阻害に対する馴養性およびグラニューレション効果の測定。

供試汚泥として牛乳馴養UASB反応器（流入濃度3000mgCOD/l、容積負荷5KgCOD/m³dayで1年間運転）及びショ糖馴養UASB反応器（流入濃度3000mgCOD/l、容積負荷11KgCOD/m³day 1年間運転）からのグラニュール汚泥を用いた。メタン生成活性は、セラムバイアル（容量120ml、反応液量50ml）に汚泥、基質（酢酸ナトリウム）、高級脂肪酸（オレイン酸ナトリウム）、無機塩類を投与し、35±1℃で振とう培養し経時的にガス組成とガス生成量を測定することにより求めた。

2. 基質分解活性試験によるグラニュール汚泥内細菌群の住み分けに関する実験。

上記の牛乳馴養グラニュール汚泥を嫌気BOX内で表皮汚泥（白色部）と内部汚泥（黒色部）に分け分散処理したのち、VSSを1000mg/lに統一し、表-1に示す各種テスト基質を投与し、メタン生成活性、硫酸塩還元活性、酸生成活性および高級脂肪酸分解活性を測定した。

3. 表皮汚泥（白色部）と内部汚泥（黒色部）に存在する元素の組成をX線マイクロアナライザーで測定した。

3. 実験結果及び考察

図-1に4種類の供試汚泥について、オレイン酸負荷とメタン生成活性の関係を示す。グラニュール化することにより高級脂肪酸に対する阻害抵抗性が増加し、特に牛乳馴養汚泥においてその傾向が顕著であった。

表-2に各種テスト基質によるメタン生成活性、硫酸塩還元活性、酸生成活性、および高級脂肪酸分解活性の測定結果を示す。水素および酢酸からのメタン生成活性は共に、表皮汚泥の方が内部汚泥よりも高く、硫酸塩還元活性の値は内部汚泥の方が高いという結果が得られ、表皮部でメタン生成が、内部では硫酸塩還元活性が優先する現象が推察される。グルコースからの酸生成活性の値は表皮汚泥の方が内部汚泥よりも若干高かったものの、高級脂肪酸分解活性の値については、表皮汚泥側の優位性は見られなかった。

図-2にグルコースを基質として供与した時の表皮および内部汚泥の酸生成量、メタン生成量、水素生成量および揮発

表-1 基質分解試験に用いたテスト基質

メタン生成活性…H₂, 酢酸
 硫酸塩還元活性…H₂, 酢酸, アルデヒド酸
 (SとしてNa₂SO₄を任意)
 酸生成活性…グルコース
 HFA分解活性…オレイン酸ナトリウム

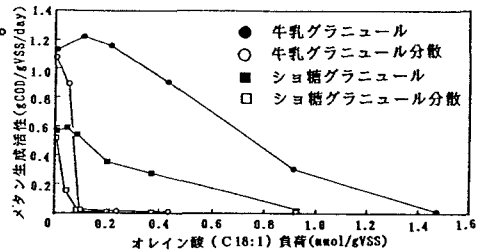


図-1 供試汚泥による阻害程度の比較

表-2 各種基質に対する活性試験結果

	メタン生成活性		硫酸塩還元活性			
	H ₂	酢酸	H ₂	酢酸	アルデヒド酸	
全体分散	1.623	0.781	0.132	0.087	0.051	
表面分散	1.429	1.015	0.140	0.083	0.032	
内部分散	0.932	0.533	0.119	0.126	0.065	
	酸生成活性		高級脂肪酸分解活性			
	グルコース		脂質負荷	オレイン酸	トリウム	
全体分散	1.347		0.27mmol/gVSS	0.022		
表面分散	1.186		0.23mmol/gVSS	0.015		
内部分散	0.951		0.28mmol/gVSS	0.023		

(単位: gCOD/gVSS/day)

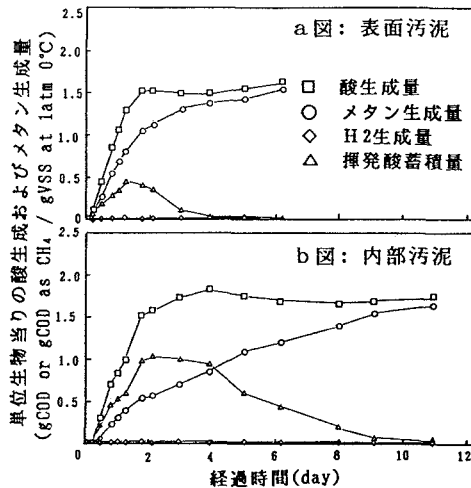


図-2 グルコース基質に対する酸生成量の経日変化

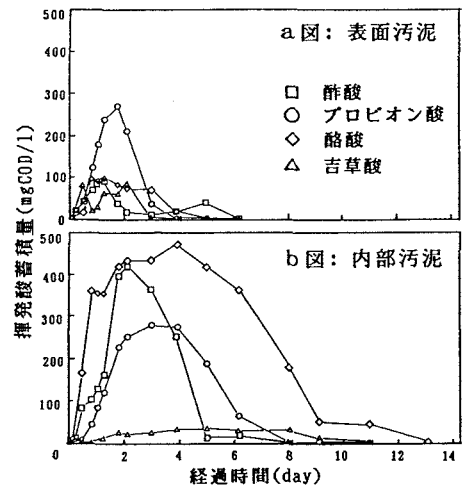


図-3 成分別揮発酸蓄積量の経日変化

酸蓄積量の経時変化を示す。a図は表皮側の結果であり、生成された揮発酸が遅滞なくメタンガスに転換されていることから、酸生成菌、Acetogenic菌およびメタン生成菌の共生が良好に成り立っていることが分かる。しかしながらb図に示すように内部では揮発酸が蓄積していることから、内部汚泥は表皮汚泥と同程度の酸生成活性を有するが、メタン生成活性については低いという結果が得られた。

図-3に図-2における蓄積揮発酸の成分別蓄積量の経時変化を示す。a図に示すように表皮汚泥側ではプロピオン酸が蓄積する傾向にあるのに対し、b図に示すように内部汚泥側ではプロピオン酸よりも酢酸および通常易分解性である酪酸が蓄積しており、表皮汚泥と内部汚泥とは、異なる基質分解特性を示した。

表-3に表皮汚泥、内部汚泥のX線マイクロアナライザー分析の結果を示す。表皮側から検出された元素はそのほとんどがC aであり、逆に内部からはF eが多く検出された。これにより、白と黒の二重構造を形成する要因はそこに存在する元素の組成に起因し、表皮側はCa-HFAの不溶塩の沈着により白色を呈し、内部ではSの存在によって硫化鉄が生成し黒色を呈していると推察される。

写真-1に牛乳馴養グラニュール汚泥の実体顕微鏡写真を示す。このようにグラニュール汚泥の粒径に関係なく黒色部は存在し、グラニュールの成長に伴い、黒色部も増大している。さらに走査型電子顕微鏡により観察した結果、表面は糸状性細菌群がネットワーク状にグラニュール表面を覆い、断面にはMethanothrix属と思われる細菌の集積体が幾所かに観察された。

4. まとめ

1. 高級脂肪酸を添加して酢酸からのメタン生成活性を求めた結果、汚泥をグラニュール化させることにより阻害抵抗性が増加し、特に牛乳馴養汚泥においてその傾向が顕著であった。
2. 牛乳馴養グラニュールにおいて表皮汚泥と内部汚泥では異なる基質分解特性を示し、細菌群の住み分けが生じているものと考えられる。
3. 牛乳馴養グラニュールの表皮と内部で色の違いが生じるのは、そこに存在する元素の組成に起因する。

〔参考文献〕

- 1) F.A.McLEODら：「Layered Structure of Bacterial Aggregates Produced in an Upflow Anaerobic Sludge Bed and Filter Reactor」Applied and Environmental Microbiology, June 1990 Vol.56, No.6

表-3 XMAによるグラニュール汚泥存在元素分析結果

観 察 面	観察倍率	存在元素
グラニュール 表面（白色部）	*3000	K, Ca
切断試料内部（黒色部）	*3000	K, Ca, Fe

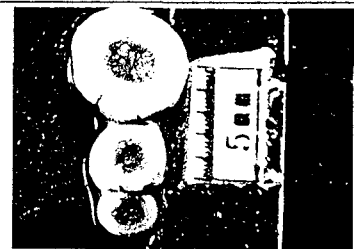


写真-1 牛乳馴養グラニュール汚泥断面の実体顕微鏡写真（バーの長さは5mm）