

II-595

高温UASBリアクターによるアルコール蒸留廃水処理
(その2) メタン生成活性の温度依存性と形態学的構造長岡技術科学大
森永エンジニアリング○正 原田秀樹、学 珠坪一晃、正 桃井清至
正 鈴木宏誌

1. はじめに

一般に高温嫌気性菌は、中温菌と比較して数倍高い活性を持つことから、高温UASB法においても高い処理能力が期待できる。しかしながら、国内外を通じて高温UASBのフルスケールプラントは存在していない。これは、高温領域におけるグラニュレーションに関する知見が著しく乏しいためである。そこで本研究では、アルコール蒸留廃水処理高温UASBリアクターの、スタートアップ期間における保持汚泥の生物学的特徴の変化を、メタン生成活性の温度依存性の推移、SEM、蛍光顕微鏡による形態学的観察によって明らかにした。

2. 実験装置及び方法

アルコール蒸留廃水の連続処理実験には、全容積12.8ℓのUASB反応器を用い、反応器内の温度は55℃に制御した。運転諸条件については、本報(その1)において示したので、ここでは省略する。

メタン生成活性は、植種汚泥、運転開始後57日目(4 kgCOD・m⁻³・d⁻¹)、135日目(22 kgCOD・m⁻³・d⁻¹)、202日目(30 kgCOD・m⁻³・d⁻¹)のサンプルについて25℃から75℃の範囲で5～6点の温度条件下で測定した。バイアルの振とうにはロータリーシェーカー(130rpm, 振とう半径5cm)を用い、各温度につき2本ずつ実験を行った。バイアルには、あらかじめ脱酸素操作を行い、試験温度に設定した無機栄養塩類を含むリン酸緩衝液(最終濃度25mM)と、リアクター(port NO.3: 高さ24cm)から採取した培養汚泥(ホモジナイズ処理したもの)を投入した。その後30～40分程度シェーカー内で振とうし、バイアル内の温度が安定したところで酢酸、プロピオン酸、水素(H₂:CO₂ = 80:20, 1.4atm)の各基質を供給し、経時的に生成したメタン量を測定する事によって活性を求めた。バイアル液相部の初発COD濃度は2000mgCOD/ℓとした。

走査型電子顕微鏡(SEM)観察のための試料は、2.5%グルタルアルデヒドで固定した後、エタノールで脱水し、酢酸イソアミル溶液で置換したものを臨界点乾燥に供した。その後、Pt-Pdによる蒸着を施し、加速電圧5KV条件下で観察を行った。落射蛍光顕微鏡による観察は、嫌気的条件下で厚さ0.1～0.2mm程度にスライスしたグラニュール汚泥について行った。

3. 実験結果及び考察

Fig.1 に培養期間中の各基質条件下におけるメタン生成活性の温度依存性の推移を示した。メタン生成活性の至適温度は、酢酸、プロピオン酸、水素の全ての基質条件下において、反応器の運転継続に伴い徐々に高温側にシフトする傾向にあった。運転開始後202日目における最終的な至適温度は、酢酸、水素基質(メタン生成菌)では65℃、プロピオン酸基質(Acetogenic 菌)では55℃とそれぞれの基質条件によって異なる傾向を示した。

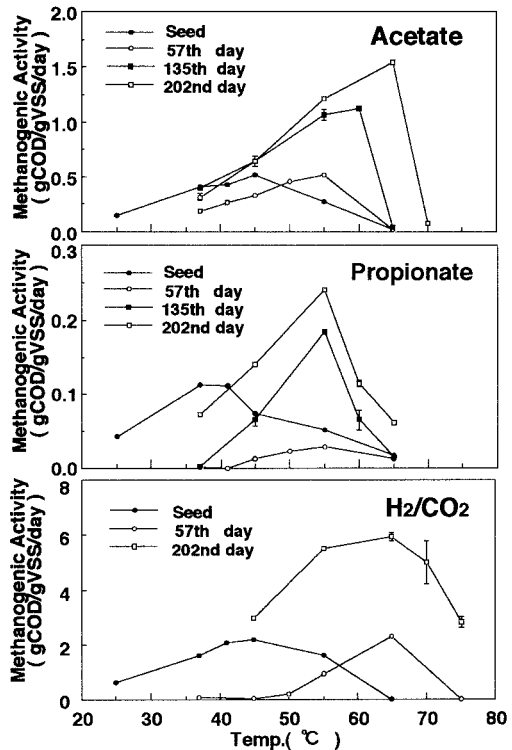


Fig.1 Temperature dependency of methanogenic activities of the retained sludge.
(Bars indicate standard deviation n = 2)

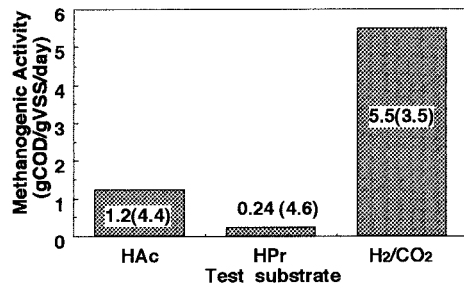


Fig.2 Methanogenic activity at 55°C on 202nd day.
Figures in bracket indicate increment magnification compared with the seed sludge.

Fig.2 に運転開始後202日目の55℃温度条件下における各基質からのメタン生成活性値の比較を示した。また、図中()内に示した数値は、植種汚泥からの活性増加倍率である。本実験系では水素からのメタン生成活性が約 $5.5 \text{ gCOD} \cdot \text{gVSS}^{-1} \cdot \text{day}^{-1}$ と飛躍的に大きく、それとは対照的にプロピオン酸基質からのメタン生成活性は約 $0.24 \text{ gCOD} \cdot \text{gVSS}^{-1} \cdot \text{day}^{-1}$ （水素からのメタン生成活性の約1/23）と小さいものであった。また、最終的な（運転開始後202日目）活性増加倍率は、全ての基質において3.5～4.5倍であり、リアクターの運転継続により保持汚泥中への高温菌の集積が良好になされたと考えられる。

Fig.3(a)～(c)に高温グラニュール汚泥断面のSEMによる観察結果を示した。高温グラニュール汚泥では、植種汚泥表面で観察された球菌と桿菌の層の上に糸状増殖の*Methanothrix*の層（Fig.3(b)）が形成されていることが確認できた。また、グラニュール中心部においても球菌や短桿菌から（植種汚泥）、*Methanobacterium*様の桿菌（Fig.3(c)）へと優占菌種のシフトが確認された。これらの観察結果から、中温から高温への温度条件の変化により、中温グラニュールの構造は一部破壊されるが、反応器の運転継続によりその表面および内部では中温菌から高温菌へのシフトが進行することが明らかになった。

Fig.4に、蛍光顕微鏡によるグラニュール断面の観察結果を示した。グラニュール表面には蛍光の弱い、薄い層が存在しており、グラニュール内部には全体にわたって強い蛍光があることが観察された。SEMによる観察からも、グラニュール表面は、フィラメント状の*Methanothrix*によって覆われており、強い蛍光を発する補酵素F 420を含む*Methanobacterium*様の菌は、グラニュール内部に多く存在していたことが確認されており、高温UASBリアクター内で形成されたグラニュールは、表面近傍と内部では、かなり菌叢の異なる二重構造をしていることが明らかになった。

4. まとめ

(1) 運転開始後202日目(容積負荷 $30 \text{ kgCOD} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$)の55℃における活性値は、植種汚泥と比較して酢酸、プロピオン酸、水素の各基質ともに約3.5～4.5倍に増加し、リアクターの運転継続に伴い保持汚泥中への高温菌の集積が確認された。また、本実験系では水素からのメタン生成活性が $5.5 \text{ gCOD} \cdot \text{gVSS}^{-1} \cdot \text{day}^{-1}$ （202日目、55℃）と飛躍的に大きく、それとは対照的にプロピオン酸基質からのメタン生成活性は $0.24 \text{ gCOD} \cdot \text{gVSS}^{-1} \cdot \text{day}^{-1}$ と小さいものであった。(2) 高温UASBリアクター保持汚泥のSEM、蛍光顕微鏡による観察結果より、植種された中温グラニュール汚泥の一部は自己消化、崩壊するが、反応器の運転継続に伴いグラニュール表面及び内部で菌叢のシフトが行われ、最終的に表面をフィラメント状増殖の*Methanothrix*が被覆し、内部に*Methanobacterium*などの短桿菌を包含するかたちで高温グラニュール汚泥が形成された。

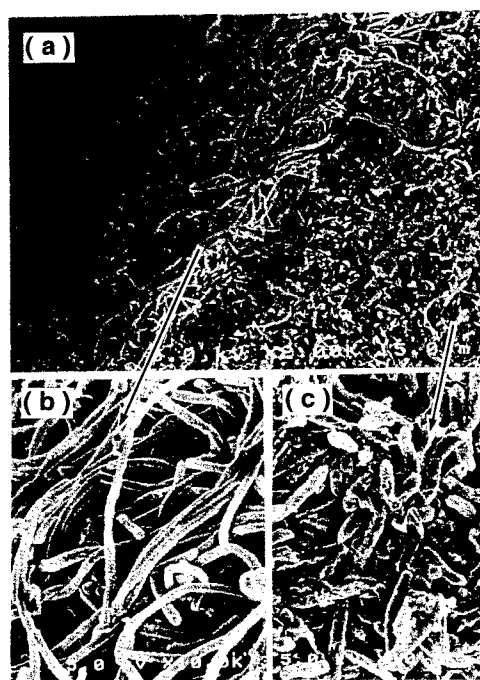


Fig.3 Scanning electron micrographs of thermophilic granular sludge.

- (a) Cross-section view of thermophilic granular sludge. ($\times 2000$)
- (b) The surface of granular sludge covered with filamentous *Methanothrix*-like bacteria ($\times 10000$)
- (c) Inside structure of granular sludge ($\times 10000$)

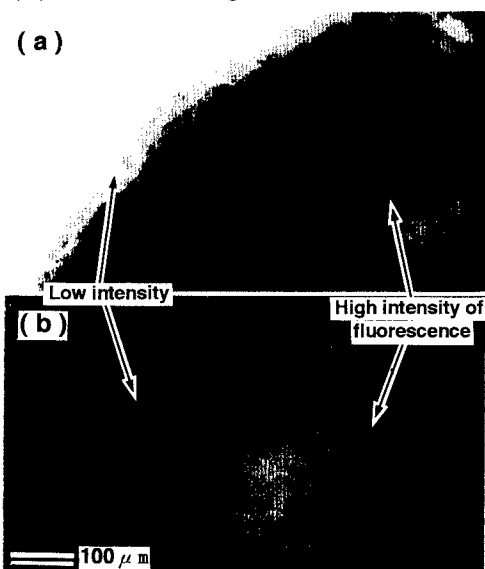


Fig.4 The optical microscopic observations of the inside of thermophilic granular sludge.

- (a) phase contrast, (b) fluorescence