

# メタノール含有排水を処理するメタン発酵処理法(UASB及びAnDHS)の処理性能と保持汚泥の評価

岐阜工業高等専門学校 ○和田桂児(学)、柳島謙太、間山聡一郎、角野晴彦(正)  
 東北大学大学院 原田秀樹(正)、国立環境研究所 珠坪一晃(正)、広島大学大学院 大橋晶良(正)

## 1. はじめに

我が国で、メタン発酵処理の適用が進んでいない排水種として、紙パルプ製造工程で発生する黒液の蒸留液がある<sup>1)</sup>。この排水のCOD主成分はメタノールである。メタノールをメタン発酵処理の代表的な方法であるUASB(Upflow Anaerobic Sludge Blanket)リアクター(以降UASB)によって処理すると、メタノールを直接資化するメタン生成古細菌が優占的かつ単一的に増殖し、UASBのプロセス成功の鍵であるグラニューールが崩壊する可能性がある。

本研究では、UASBおよびグラニューール化が困難な排水向けのメタン発酵処理法であるAnDHS(Anaerobic Down-flow Hanging Sponge)リアクター(以降AnDHS)によるメタノールの連続処理を行い、処理特性と保持汚泥を評価した。

## 2. 実験方法

### (1) 連続処理

UASBは、高さ120 cm、断面φ8 cmの円柱形のカラム(6.0 L)とGSS(Gas Solid Separator, 2.0 L)、で構成され、水容積は8.0 Lである。UASBのHRT算出には、水容積を用いた。GSSでは、羽状のスカムブレイカーを常時作動させた。

AnDHSは、高さ159 cm、断面13×13 cmの四角柱体のカラムに円柱形のろ材を充填した嫌気性散水ろ床である。ろ材は、φ3 cm×H3 cmのネットリングにスポンジを詰めたものを使用し、カラム内に計418個(スポンジの間隙容積8.0 L)充填した。AnDHSのHRT算出には、スポンジの間隙容積を用いた。AnDHSの処理水流出部と生成ガス排出部に水封槽を設置し、カラム内の嫌気状態を保った。

流入水は、人工排水とし、有機物はメタノールのみで2000 mgCOD/L、その他に無機塩類とpH緩衝剤を加えた。流入水は週2回の頻度で作成し、交換した。

処理温度は、両リアクターともに30℃とした。両リアクターの連続運転は380日を超えている。

### (2) メタン・酸生成活性

試験汚泥は、植種汚泥、UASBの運転63、282日目(以降U63、U282)とAnDHSの運転276日目(以降A276)のものとした。

試験方法は、122 mLバイアルを用いたヘッドスペース法

とした。試験基質は、メタノール、酢酸、水素を用いた。メタノール基質、酢酸基質は共にバイアル液相部で2000 mgCOD/Lとした。水素基質はH<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>を80/20とし、バイアル気相部で1.4気圧とした。試験温度は35℃とした。

各分解経路の活性を調査するため、メタン生成経路を阻害するクロロホルム(培地内で10 mg/L)と、酸生成経路を阻害するバンコマイシン(培地内で0.25 g/L)を添加する系を設けた。

### (3) PCR-DGGE法による菌叢解析

試験汚泥は、植種汚泥、UASBの運転63、88、282日目(以降U63、U88、U282)とAnDHSの運転88、197、276日目(A88、A197、A276)のものとした。DNA抽出は、ビーズビーダー法を採用した。抽出したDNAは、古細菌に特異的なプライマーであるPARCH340F-GC、PARCH519Rを用いてTouch down PCRを行い、DNAを増幅した。電気泳動の条件は、温度60℃、電圧200V、泳動時間3.5 h、変成剤濃度35-55%とした。

DGGEによって確認された主要なバンドは、切り出した後、シーケンス解析した。シーケンス解析によって得られた塩基配列はNCBIのBLASTを使い、近縁種の同定を行った。

## 3. 実験結果と考察

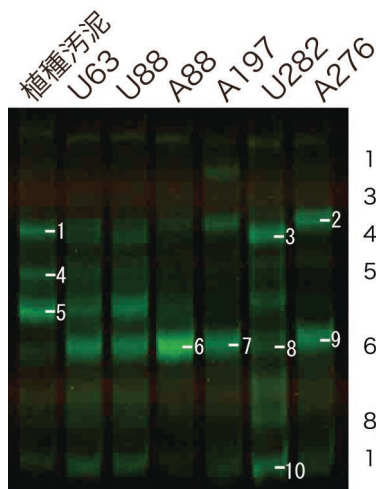
### (1) 連続処理

UASBの設定COD容積負荷は、運転0-382日目で5 kgCOD/m<sup>3</sup>/dとした。運転11日目で以降処理が安定し、運転11-382日目の全COD除去率の平均値は96%となり、良好な処理であった。メタン回収率は90%を推移し、除去されたCODはメタンとして回収された。

AnDHSの設定COD容積負荷は、5 kgCOD/m<sup>3</sup>/dで運転を開始し、運転11日目で以降処理が安定した。その後、AnDHSの設定COD容積負荷は、運転11-123日で5 kgCOD/m<sup>3</sup>/d、運転124-197日目で7.5 kgCOD/m<sup>3</sup>/d、運転198-382日目で10 kgCOD/m<sup>3</sup>/dとした。ここでの各設定COD容積負荷における全COD除去率の平均値は、97%、96%、92%となった。設定COD容積負荷10 kgCOD/m<sup>3</sup>/dにおける全COD除去率が低い値となった理由は、運転325-345日目における汚泥流出によるものである。メタン回収率は80%を推移し、除去されたCODはメタンとして回収された。

表1 メタン生成活性と酸生成活性

試験汚泥(リアクター汚泥)	植種汚泥	U63	U282	A276
酢酸(プロピオン酸)生成活性(gCOD/gVSS/d)				
メタノール基質 + クロロホルム			0.005 (0.002)	0.160 (0.075)
水素基質 + クロロホルム			0.006 (0.009)	0.121 (0.125)
メタン生成活性(gCOD/gVSS/d)				
酢酸基質	0.409	0.116	0.464	0.509
メタノール基質	0.055	0.209	0.347	1.592
メタノール基質 + バンコマイシン	0.038	0.156	0.377	1.388



- 1&2. *Uncultured Methanobacterium sp. clone KR-L10-A06*, EU812212, 150/151 (99%)  
 3. *Uncultured Methanosarcinaceae clone D8Ar30R17*, AM778282, 146/150 (97%)  
 4. *Uncultured Methanobacterium sp. clone: SMS-sludge-11*, AB479402, 146/151 (96%)  
 5. *Methanobacterium sp.*, AB368917, 149/151 (98%)  
*Methanobacterium aarhusense*, AY386124, 147/151 (97%)  
 6&7&9. *Methanomethylovorans hollandica DMS1*, NR\_028174, 149/151 (98%)  
*Methanomethylovorans hollandica*, AF120163, 149/151 (98%)  
 8. *Methanosaeta concilii Opfikon*, NR\_028242, 150/151 (99%)  
 10. *Uncultured Methanosarcinales*, CU917434, 150/151 (99%)

図1 DGGEによる古細菌の菌叢解析結果

## (2) メタン・酸生成活性

表1に植種汚泥、U63、U282およびA276のメタン・酸生成活性を示す。

U282のメタノール基質のメタン生成活性は、0.347 gCOD/gVSS/dとなった。この値は、植種汚泥と比較して6.3倍となった。メタノールにバンコマイシンを添加した系では、0.377 gCOD/gVSS/dとなった。メタノールにバンコマイシンを添加した系の活性は、メタノールを直接メタンに分解する活性を示す。よって、UASBにおけるメタノールの分解は、酢酸、水素を経由せず、直接メタンとなる経路が主であるといえる。

酢酸基質のメタン生成活性は、植種汚泥で0.409 gCOD/gVSS/d、U63で0.116 gCOD/gVSS/d、U282で0.464 gCOD/gVSS/dとなり、U63で一度減少し、再び増加した。U282におけるメタノール基質にクロロホルム・水素基質にクロロホルムを添加した系の酢酸生成活性は、0.005・0.006 gCOD/gVSS/d、プロピオン酸生成活性は0.002・0.009 gCOD/gVSS/dとなった。酢酸生成活性と比較して、酢酸基質のメタン生成活性が高い原因は次節で考察する。

A276のメタノール基質のメタン生成活性は、1.592 gCOD/gVSS/dとなり、植種汚泥と比較して29倍となった。メタノールにバンコマイシンを添加した系では、1.388 gCOD/gVSS/dとなった。よって、AnDHSにおけるメタノールの分解は、UASBと同様に、酢酸、水素を経由せず、直接メタンとなる経路が主であるといえる。

A276の酢酸基質のメタン生成活性は、0.509 gCOD/gVSS/dとなり、植種汚泥と比較して1.2倍になった。

水素基質にクロロホルムを添加した系の酢酸生成活性、すなわち水素と二酸化炭素からの酢酸生成活性は0.121 gCOD/gVSS/d (プロピオン酸生成活性0.125 gCOD/gVSS/d)であった。メタノール基質にクロロホルムを添加した系の酢酸生成活性、すなわちメタノールからの酢酸生成活性、加えて水素と二酸化炭素からの酢酸生成活性は0.160 gCOD/gVSS/d (プロピオン酸生成活性0.075 gCOD/gVSS/d)であった。また、A276の水素基質のみのメタン生成活性も1.009 gCOD/gVSS/d認められた(データ不提示)。酸生成活

性試験において、プロピオン酸生成活性が認められた理由は、汚泥の自己消化あるいは基質タンク中で増殖した微生物(CODとして)の流入・分解が寄与していると考えられる。これらの酸生成活性が、酢酸基質のメタン生成活性を保つ一因であると考えられる。

## (3) PCR-DGGE法による菌叢解析

図1に植種汚泥、U63、U88、U282、A88、A197およびA276における古細菌の菌叢解析結果を示す。

U282では、バンド3、10が優占的に存在した。これらのバンドは*Methanosarcina*に近縁の種であった。*Methanosarcina*はメタノール、酢酸などを資化し、メタンを生成する古細菌である。前述のU282におけるメタノール基質と酢酸基質メタン生成活性は、バンド3、10の古細菌によって引き出されたと考えられる。バンド8は*Methanosaeta*に近縁の種であった。運転409日目のUASBではグラニューールが保持されており、この古細菌がグラニューールの維持に寄与していると考えられる。

A88、A197、A276においてバンド6、7、9が優占的に存在した。相同性の調査の結果、これらのバンドは*Methanomethylovorans hollandica*に近縁の種であった。*Methanomethylovorans hollandica*はメタノールなどを資化し、メタンを生成する古細菌である。これらのバンドは植種汚泥で検出されず、各運転日におけるAnDHS保持汚泥のなかで比較的輝度が高い。よって、AnDHSでは、これらのバンドの古細菌が、メタノールを直接メタンに分解していると考えられる。この分解経路がAnDHSにおいて主であるとの考察は、メタン生成活性の結果とも合致する。

## 参考文献

- 1) 濱田 薫、紙パルプ産業におけるメタン発酵排水処理技術の利用、環境管理、Vol. 44, pp. 12-19, 2008

## 謝辞

本研究の一部は、(独) 科学技術振興機構 地域イノベーション創出総合支援事業「シーズ発掘試験」、独立行政法人新エネルギー・産業総合開発機構(NEDO)「産業技術研究助成事業費助成金」(研究代表者: 珠坪一晃、課題番号: 03B68004c)、(財) 小川科学技術財団の助成を受けて実施しました。記して関係各位に感謝します。