

(23) 嫌気性細菌の自己造粒化機構を利用したメタン発酵

リアクターの高速処理特性

HIGH RATE TREATMENT OF WASTEWATERS WITH
SELF-IMMOBILIZED METHANE FERMENTATION REACTOR

原田秀樹*, 桃井清至*

石浜英司*, 種市尚仁**

H.HARADA*, K.MOMONOI*

A.ISHIHAMA*, N.TANEICHI**

ABSTRACT; Two continuous flow experiments were conducted using self-immobilized methanogenic cells reactors, i.e., upflow anaerobic sludge blanket reactors to investigate its process performance. The first experiments were made at 25°C both with a mixture of starch and sucrose as a substrate at a influent COD of 3,000 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (refer to as Run 1) and with molasses at a influent COD of 6,000 and 2,200 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (Run 2). Maximum allowable loading rates were evaluated to be 25 $\text{kgCOD}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{day}^{-1}$ (corresponding to HRT of 2.9 hrs) for Run 1, and to be 14 and 20 $\text{kgCOD}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{day}^{-1}$ for a influent COD of 6,000 and 2,200 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$, respectively, for Run 2. The second experiments were made at 35°C both using a mixture of volatile fatty acids at a influent COD of 5,000 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (Run 3) and acetate at a influent COD of 3,000 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (Run 4), resulting that maximum loading rates were achieved at 70 (corresponding to HRT of 1.7 hrs) for Run 3 and at 25 $\text{kgCOD}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{day}^{-1}$ (HRT of 2.9 hrs) for Run 4, respectively.

Comparison of microbial activity between granular sludges cultivated in Runs 1 to 4 indicated that methanogenic activity, ATP pool and F_{420} content were varied in the range of 0.3-1.7 $\text{kgCH}_4\text{-COD}\cdot\text{kgVSS}^{-1}\cdot\text{day}^{-1}$, 0.046-0.355 $\text{mg}\cdot\text{gVSS}^{-1}$ and 0.032-0.39 $\text{mg}\cdot\text{gVSS}^{-1}$, respectively, which were 4-20 times, 1.1-87 times and 2-26 times greater than those of the original inocula of digested sewage sludge. Morphological observation of granular sludges by scanning and transmission electron microscopes revealed that both filamentous growth of *methanothrix* genus methanogens and excretion of extracellular biopolymer by acidogens take significant roles in granule formation.

KEYWORDS; Wastewater treatment, Anaerobic treatment, Upflow anaerobic sludge blanket reactor (UASB), Methane fermentation, Granular sludge.

1. はじめに

近年、エアレーションコストが不要で、さらにエネルギー回収、余剰汚泥の低減が可能な嫌気性廃水処理法が再び注目されつつある。従来は、有機物濃度 5000 mg-COD/l 程度以下の中・低濃度廃水に対してはメタン生成菌の増殖速度が遅く、増殖収率も低いため汚泥のウォッシュアウトが起こることから、嫌気性処理法の実用化は困難視されていた。しかし、最近、固定床、流動床、スラッジブランケット法や高分子ゲル包括固定法、UF膜分離方式等によって反応器内に高濃度の生物を保持し、高容積負荷を許容しようとする高速メタン発酵用リアクターが開発されてきている。これらの新プロセスの基本概念は、嫌気性菌を担体表面に付着させたり、充填材間隙に捕捉させたり、包括固定化するなど何らかの方法により、いかに高活性の菌体を高濃度に反応器内に固定化保持するかという点にある。

これらの反応器形式のうちでも上昇流嫌気性スラッジブランケット (Upflow Anaerobic Sludge

* 長岡技術科学大学建設系 Dept. of Civil Eng., Technological Univ. of Nagaoka

** (株) 日水コン Nihon Suido Consultants Co., Ltd.

Blanket-UASB) 反応器は付着担体を用いないで原廃水の上昇流環境下で沈降性の優れたグラニュール状増殖汚泥を形成させて高濃度の生物を保持しようとするユニークなメタン発酵リアクター方式である。UASB 反応器は、欧米諸国ではおもに食品産業廃水の嫌気性処理技術としてすぐれた処理性能を示し、高い評価を受けている¹⁾。

既報²⁾では、多孔板多段槽型 UASB アクターによってその高速処理特性に及ばず温度依存性とスタートアップ期間におけるグラニュール形成現象について検討した。本報では、炭水化物(スターチ+シュクロース混合基質および廃糖蜜基質)、有機酸(有機酸混合基質および酢酸基質)模擬廃水を用いて、UASB リアクターの高速処理特性を検討した。また、連続実験で培養形成されたグラニュール状汚泥の沈降性、微生物活性等についてもあわせて検討した。

2. 実験方法および条件

2.1 実験装置

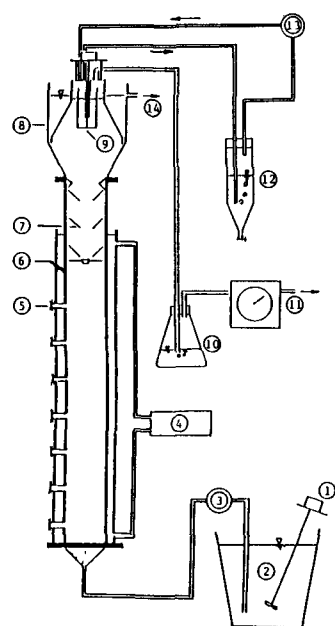
連続培養実験は、第 1 実験系-糖系基質 (Run 1: スターチ+シュクロース基質, Run 2: 廃糖蜜基質)、第 2 実験系-有機酸基質 (Run 3: 有機酸混合基質, Run 4: 酢酸基質) の 4 系列行った。

実験装置の基本概要を Fig. 1 に示す。反応器は、内径 10 cm のアクリル製カラムで、第 1 実験系(糖系基質 Run 1, Run 2) は反応器塔長 2 m, 第 2 実験系(有機酸基質 Run 3, Run 4) は反応器塔長 1 m のものを用いた。反応器頂部にはガス・固・液分離装置 (GSS 装置) を備えており、反応器容量は第 1 実験系が 21.7 ℓ (反応槽部 15.8 ℓ, GSS 装置部 5.86 ℓ)、第 2 実験系が 13.7 ℓ (反応槽部 7.85 ℓ, GSS 装置部 5.86 ℓ) である。反応器上部には生成ガス付着浮上汚泥粒子からのガス分離効率を促進させる目的で、多孔板コーン (6 mm, 開孔率 16.3 %, 傾斜角 45 度) が 3 枚配置されている。GSS 装置内スクムブレイカーは、15 分間に 10 秒間 60 rpm で稼働させた。第 1 実験系は 25 °C 恒温室内で、また、第 2 実験系はウォータージャケットで覆い 35 °C に制御した。

2.2 基質組成

連続実験に用いた基質組成を Table 1 に示す。第 1 実験系 Run 1 は、スターチ:シュクロース = 1,400 mg-COD/ℓ : 1,400 mg-COD/ℓ にペプトン 200 mg-COD/ℓ を添加し、流入 COD 濃度 3000 mg-COD/ℓ とした。Run 2 は、甘藷廃糖蜜 5800 mg-COD/ℓ (Run 2-1) もしくは 2,000 mg-COD/ℓ (Run 2-2) にペプトン 200 mg-COD/ℓ を添加した。Run 1, 2 の流入 pH は 6.5 ~ 7.0 であった。

Run 3 は、酢酸・プロピオン酸・酪酸・乳酸を主体に酵母エキスを添加し、流入 COD 濃度 5,000 mg-COD/ℓ に設定した。流入 pH は 1 N NaOH で 6.0 ~ 6.5 に調整した。また、Run 4 は、酢酸 2,900 mg-COD/ℓ に酵母エキス 100 mg-COD/ℓ 添加し、流入 pH は 1 N HCl で 6.0 ~ 6.5 に調整した。いずれの実験系も Table 1 に示す組成の基本無機塩類を添加した。なお、第 1 実験系は炭水化物主体の産業廃水を、第 2 実験系ではそれらの廃水が調整槽、酸生成槽等で揮発性有機酸化された廃水を受け入れる 2 相分離メタン生成 UASB リアクターを想定したものである。



1.stirrer; 2.substrate reservoir; 3.feeding pump; 4.coolants circulator; 5.sampling port; 6.reactior; 7.perforated corn; 8.gas-solids separator; 9.scum breaker; 10.gas trap; 11.wet gas meter; 12.scum trap; 13.gas recirculating pump; 14.effluent;

Fig.1 Schematics of experimental apparatus.

Table 1. Substrate composition.

	Run 1		Run 2		Run 3		Run 4	
A	Starch	1,400	Molasses	5,800	Sodium acetate	1,300	Sodium acetate	2,900
	Sucrose	1,400		2,000	Propionic acid	1,000	Yeast extract	100
	Peptone	200	Peptone	200	n-butyric acid	1,000		
					Lactic acid	1,500		
					Yeast extract	200		
B	KH ₂ PO ₄	125		125		36		36
	(NH ₄) ₂ HPO ₄	700		700		200		200
	NH ₄ Cl	-		-		350		350
	NaHCO ₃	2,000		2,000		-		-
C	Basal inorganic elements; CoCl ₂ ·6H ₂ O 1.2, NaMoO ₄ ·2H ₂ O 1.0, FeCl ₂ 5.0,				CuSO ₄ ·5H ₂ O 5.0, MgCl ₂ ·6H ₂ O 33.3, MnSO ₄ ·4H ₂ O 15.0,			
	CaCl ₂ 27.4,							

A: (mg COD/L), B: (mg/L), C: (mg/L)

COD : N : P = 100 : 5.2 : 5.7 (Run 1), 100 : 2.8 : 2.7 (Run 2),
100 : 3.0 : 1.0 (Run 3), 100 : 5.0 : 1.6 (Run 4)

2.3 供試汚泥

Run1 では、スターチ+シュクロース系合成基質で形成されたグラニュール汚泥を反応器に10ℓ投入し、容積負荷 2.8 ~ 11.4 kg-COD/m³・day でステップワイズで増加させながら67日間馴養後実験を開始した。

Run2 では、都市下水処理場中温消化汚泥5ℓと前記スターチ+シュクロース合成基質形成グラニュール汚泥を長期間(4ヶ月)飢餓状態に放置したもの5ℓを混合して反応器内に投入し、容積負荷 3.0 kg-COD/m³・day で30日間馴養後実験を開始した。

Run3 では、前報²⁾の合成基質(酢酸+乳酸)で培養形成させたグラニュール汚泥を約2ヶ月間 2 ~ 5 kg-COD/m³・day で低負荷馴養運転した後実験に供した。

Run4 では、都市下水処理場中温消化汚泥(VSS/SS比68.2%)を1mmメッシュスクリーン通過後、自然沈降によって16,100 mg-MLSS/ℓ(SVI 998ml/g)に濃縮したものを7ℓ植種した。

2.4 分析方法

揮発性脂肪酸(VFA)組成、ガス組成はそれぞれFID(PEG6000 10% on シマライトTPA, 3mm×2m ガラスカラム, N₂ キャリヤーガス 55 ml/min) TCD(モレキュラーシーブ5A+ボラパックQ, 3mm×2m, Ar キャリヤーガス 50 ml/min) ガスクロマトグラフィーで測定した。汚泥内炭素・窒素含量はCNコーダーで測定した。

汚泥グラニュールの粒径は実体顕微鏡写真から、長径(a)、短径(b)を測定し、 $d = \{(a^2 + b^2)/2\}^{\frac{1}{2}}$ より求めた。測定標本数は100以上とした。

走査電顕用試料は、2%グルタルアルデヒド(0.1Mカコジル酸緩衝液中)で3時間(4℃)固定後、1%オスミウム酸(0.1Mカコジル酸緩衝液中)で1時間(4℃)固定した。その後試料は、エタノールシリーズで脱水し、臨界点乾燥後、金蒸着して作製した。³⁾

透過電顕用試料は、0.5%グルタルアルデヒドで1時間(4℃)前固定した後、5%グルタルアルデヒドで2時間(4℃)固定後、0.05%ルテニウムレッドを含むカコジル酸緩衝液で洗浄し、2%オスミウム酸で2時間(4℃)後固定した。さらに、エタノールシリーズでの脱水過程で、0.05%ルテニウムレッド(25%, 50%エタノール中)、3%酢酸ウラン(75%エタノール中)、3%酢酸鉛(100%エタノール中)によってブロック電子染色をした後、酸化プロピレンで置換し Spurr 法⁴⁾に従ってエポキシ樹脂包埋した。その後試料はマイクロトームで切片作製し、クエン酸鉛と酢酸ウランで二重染色した。

2.5 微生物活性測定法

(A) ATP プール

微生物細胞内のATPプールはPattersonの方法⁵⁾に従い、0.025 M トリス-HCl 緩衝液(pH 7.75) 中菌体

浮遊液を100℃沸騰水浴中で10分間抽出し、ATP フォトメーター（アミンコ蛍光光度計反応チャンバー付J-4-7441型）で測定した。

(B) 補酵素F₄₂₀プール

メタン生成菌内の補酵素F₄₂₀プールはSwitzenbaumの方法⁶⁾に従い、1N KOHで菌体浮遊液を100℃沸騰水浴中で10分間加熱抽出し、4℃ 12,000g遠沈上澄液を3% KMnO₄、さらに3% H₂O₂で酸化処理後イソプロパノールで希釈し、蛍光光度計（420 nmEx, 470 nmEm1）で測定した。

(C) メタン生成比活性測定

反応器より採取した汚泥は、窒素ガスでパージしながら0.2Mリン酸緩衝液（pH7.0）で洗浄再懸濁し、120 ml セランバイアルに最終濃度2,500～3,000 mg-MLSS/ℓとなるように調整した。メタン生成活性測定用基質としてはシュクロースおよび酢酸（最終濃度2,500 mg-COD/ℓ）を用い、反応液量50 ml（還元剤Na₂S 50mg/ℓ，酸化還元指示薬レサズリン1mg/ℓおよびTable 1に示した標準無機塩組成を含む）として、pH7.0で35℃で振とう培養した。経時的に生成ガス組成と生成ガス量（水銀マンオメーター）からメタン生成量を測定した。

3. 結果と考察

3.1 第1実験系（糖系基質）- Runs 1, 2

Fig. 2にRun 1（スターチ+シュクロース基質）実験における容積負荷，ガス生成量，メタン生成量，流出COD_{total}，COD_{fil}，流出VFAの経時変化を示す。

実験は、有機物負荷10.2 kg-COD/m³・day（HRT 7.1hrs）からスタートし、COD除去率80%以上を達成しながらステップワイズでHRTを短縮し有機物負荷を増加させていった。容積負荷34.2 kg-COD/m³・day（HRT 2.1hrs）に到達した81日目以降は過負荷に伴う発泡現象によってGSS装置内のガス回収管がスカム・浮上汚泥によって閉塞し、一時データ取得が中断した。Fig.1に示すような生成ガスの間欠循環システムの導入による閉塞防止策と、基質タンクへの消泡剤添加により110日目よりデータ取得を再開した。中断期間中は、同一容積負荷（34.2 kg-COD/m³・day）で運転は継続された。112日～129日の負荷増大に伴って（最終負荷45.6 kg-COD/m³・day）流出COD_{total}は1,000～2,000mg/ℓ，流出COD_{ss}は300～800mg/ℓ，流出VFAは600～800mg/ℓと処理性能は急激に悪化してきた。流出水VFA組成もプロピオン酸が250～360mg/ℓと酢酸と同程度もしくはそれ以上蓄積してきている。

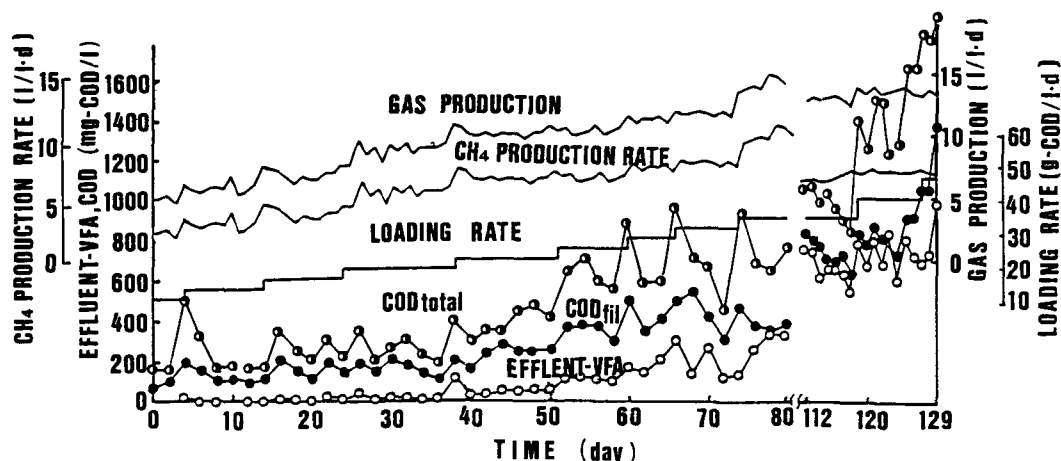


Fig.2 Time course of gas production, methane production, COD_{total}, COD_{fil}, and VFA-COD in the effluent for Experimental Run1.

Fig. 3 に容積負荷とCOD除去率の関係を示す。容積負荷 $30 \text{ kg-COD/m}^3 \cdot \text{day}$ 程度を境にしデータが不連続となり、それ以上の負荷では除去率が急激に悪化するの、81日～111日の高負荷運転による固形性基質（スターチ粒子）のグラニュール内への蓄積によるものである。すなわち、スターチ粒子の可溶化・低分子化反応が律速となり、グラニュール内のメタン菌のすみか（habitat）を奪うことになり、メタン生成活性の低下・VFAの蓄積をもたらしている。このような未分解固形性基質のベット内への蓄積による処理性能の悪化は同様の基質組成で低温処理時（負荷 $6 \text{ kg-COD/m}^3 \cdot \text{day}$, 19°C 以下 既報(1)）にも顕著に認められた。

Fig. 4 に負荷 $11.5 \text{ kg-COD/m}^3 \cdot \text{day}$ （スタート後1日目）負荷 $23 \text{ kg-COD/m}^3 \cdot \text{day}$ （52日目）、負荷 $34 \text{ kg-COD/m}^3 \cdot \text{day}$ （80日目）におけるMLSS、VSS/SS比、 COD_{fil} 、total-VFAの反応器軸方向濃度分布を示す。ベッド部には $40,000 \sim 50,000 \text{ mg-MLSS/l}$ の汚泥濃度が存在するが、高負荷時（負荷 23, $34 \text{ kg-COD/m}^3 \cdot \text{day}$ ）では汚泥VSS/SS比も90%以上に増加し、前述の固形性基質の蓄積現象を裏付けている。低負荷条件下では、ベッド内で有機酸化、メタン化も速やかに進行しているが、高負荷条件下では、流出水中にも酢酸・プロピオン酸がほぼ同程度（ 60 mg/l ）残存している。これらの結果より、スターチ+シュクロース混合基質の 25°C 処理条件下では、安定した処理性能を維持するのは容積負荷 $25 \text{ kg-COD/m}^3 \cdot \text{day}$ 程度が限界であると思われる。この負荷範囲での（生成メタン/除去COD）比は $0.31 \text{ N l-CH}_4/\text{g-COD}$ であり、エネルギーバランスの理論的量論比は $0.35 \text{ N l-CH}_4/\text{g-COD}$ であることから、除去CODの残り11%程度が菌体増殖に用いられたものと考えられる。

Fig. 5 にRun2の廃糖蜜基質系連続実験における容積負荷とCOD除去率の結果を示す。流入COD濃度 $6,000 \text{ mg/l}$ の連続実験は、負荷 $2.8 \text{ kg-COD/m}^3 \cdot \text{day}$ （HRT 51hrs）からHRTを減少させながら70日間継続した。容積負荷 $14.2 \text{ kg-COD/m}^3 \cdot \text{day}$ （47日目）まではCOD除去率80%以上を達成しているが、それ以上の負荷（ $20 \text{ kg-COD/m}^3 \cdot \text{day}$, HRT 17.1hrs）ではCOD除去率は著しく悪化し、50%まで低下した。そこで、流入COD濃度を $2,200 \text{ mg/l}$ に設定し、さらに負荷 $5.7 \sim 28.5 \text{ kg-COD/m}^3 \cdot \text{day}$ までの範囲

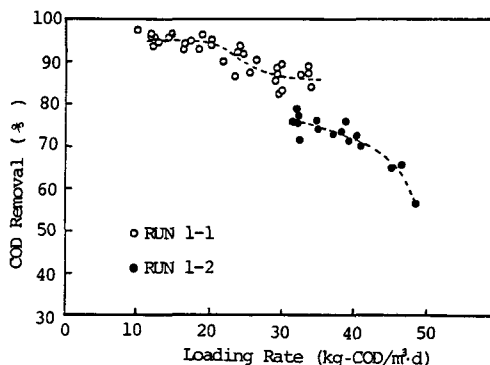


Fig.3 Relation between COD loading rate and COD removal efficiency for Exp. Run 1.

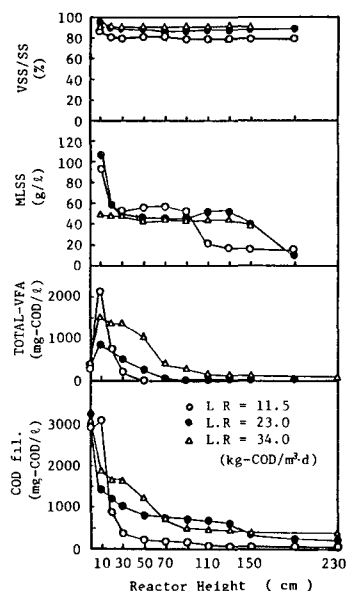


Fig.4 Profiles of COD_{fil} , total-VFA, MLSS and VSS/SS ratio along reactor height at loading rates of 11.5, 23 and $34 \text{ kg-COD/m}^3 \cdot \text{day}$ for Exp. Run 1.

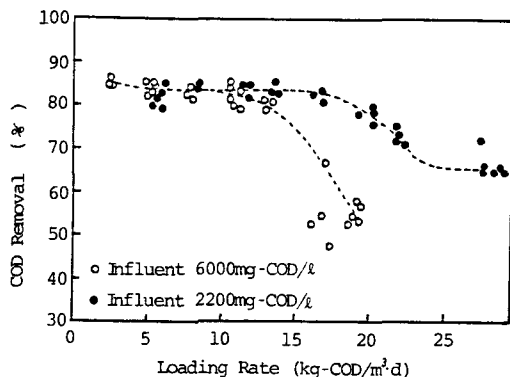


Fig.5 Relation between COD loading rate and COD removal efficiency for Exp. Run 2.

で同様に72日間の連続実験を行った。この場合、負荷 $20 \text{ kg-COD/m}^2 \cdot \text{day}$ (HRT 2.6hrs) 以下ではCOD除去率は80%以上を維持しており、高濃度廃水系(流入COD濃度 6000 mg/l)より高負荷運転を許容することができた。このことは、おもに低濃度基質フィードUASBリアクターの方がベッド内での生成有機酸の蓄積によるpH低下効果を軽減できる理由によるものとおもわれる。

Fig. 6に廃糖蜜基質の流入COD $2,200 \text{ mg/l}$ の場合の負荷 $11.5 \text{ kg-COD/m}^2 \cdot \text{day}$ (32日目)と $22.8 \text{ kg-COD/m}^2 \cdot \text{day}$ (62日目)の反応器軸方向の汚泥濃度と基質分解特性分布状況を示す。負荷 $11.5 \text{ kg-COD/m}^2 \cdot \text{day}$ では反応器低部から90cm層まで汚泥濃度約 $50,000 \text{ mg-MLSS/l}$ ではばり様なベッドを形成しているのに対し、負荷 $22.8 \text{ kg-COD/m}^2 \cdot \text{day}$ では活発に生成されたガスがベッド内に抑留され(生成ガスのベッド内抱え込みホールドアップ効果)、反応器低部では $20,000 \sim 30,000 \text{ mg-MLSS/l}$ と低くなっている。また、それぞれ90cm, 110cm層付近にベッドとブランケットの界面が存在していることが判る。負荷 $11.5 \text{ kg-COD/m}^2 \cdot \text{day}$ 時では溶解性物質はベッド部90cm層までで80%以上分解除去され、VFAもほぼ消滅している。一方、負荷 $22.8 \text{ kg-COD/m}^2 \cdot \text{day}$ 時では汚泥濃度の小さいベッド50cm層まででは溶解性物質・VFAともほとんど除去されておらず、50~110cm層にかけて消費されている。また、この負荷では、処理性能の低下に伴ってベッド部内では酢酸を上回るプロピオン酸の蓄積傾向が認められた。

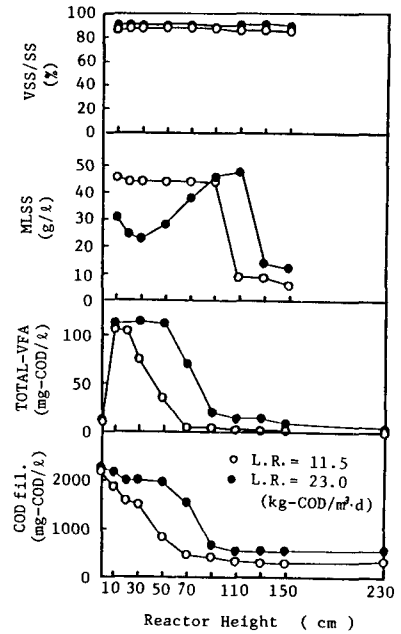


Fig. 6 Profiles of COD_{fil}, total-VFA, MLSS and VSS/SS ratio along reactor height at loading rates of 11.5 and 23 $\text{kg-COD} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{day}^{-1}$ for Exp. Run 2.

3.2 第2実験系(有機酸基質) - Runs 3, 4

Fig. 7にRun 3(有機酸混合系基質)の連続実験における容積負荷とCOD除去率の結果を示す。実験は150日間行われ、最終的には容積負荷 $70 \text{ kg-COD/m}^2 \cdot \text{day}$ (流入COD $5,000 \text{ mg/l}$, HRT 1.7hrs)でCOD除去率80%程度の驚異的な処理性能を長期間安定して発揮した。この場合のメタン生成速度は、 $19 \text{ l CH}_4/\text{l Reactor} \cdot \text{day}$ にまで達成した。

Fig. 8, 9に容積負荷 $70 \text{ kg-COD/m}^2 \cdot \text{day}$ 時(150日目)の反応器軸方向汚泥・基質濃度分布と有機酸濃度分布をそれぞれ示す。反応器カラム内の生物濃度はMLSSで $45,000 \sim 55,000 \text{ mg/l}$, MLVSSで $40,000 \sim 45,000 \text{ mg/l}$ 保持されていた。反応器のサンプル口は底部より60cmの高さまでしか設置していないため、それ以上のリアクター部位の汚泥濃度は測定できなかったが、カラム上部までグラニューール汚泥が存在していた。CODの濃度低下は反応器45cm層まではあまり見られず、それ以上で急激に除去されている。一方、VFAの軸方向濃度分布では酪酸より高分子の有機酸の低分子化が55cm層までで行われており、この層でのメタン生成はあまり

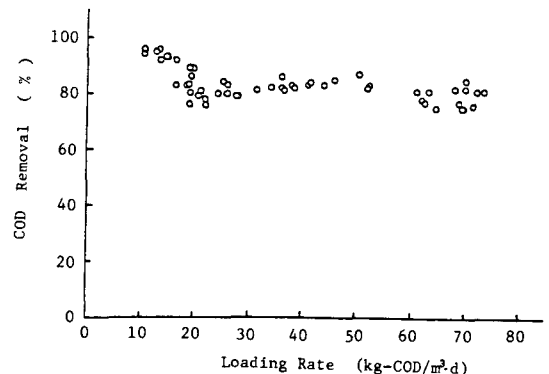


Fig. 7 Relation between COD loading rate and COD removal efficiency for Exp. Run 3.

活発ではない。また、VFA 濃度分布においては低部からカプロン酸, n-, i-吉草酸のようにカーボン数の多い順に蓄積ピークを持っていることが観察される。流出CODの80~90%程度は酢酸とプロピオン酸で占められていた。

Fig. 10 にCOD除去速度とメタン生成速度の関係を示す。図の傾きからメタン生成収率は $0.32 \text{ N } \ell\text{-CH}_4/\text{g-COD 除去}$ と評価された。すなわち、有機酸混合基質では除去CODの8~9%が菌体合成に用いられたと考えられる。

Fig. 11 に酢酸基質実験における容積負荷とCOD除去率の結果を示す。容積負荷 $25 \text{ kg-COD}/\text{m}^3 \cdot \text{day}$ (流入COD $3,000 \text{ mg}/\ell$, HRT 2.9 hrs) で除去率80%以上の高速処理特性を同様に示している。この場合のメタン生成収率は、 $0.33 \text{ N } \ell\text{-CH}_4/\text{g-COD 除去}$ と評価され、VFA基質よりも若干高い値となった。すなわち、除去CODの5%程度が菌体合成に利用されたと考えられる。

3.3 グラニュールの物理性状、微生物活性の比較検討

このように、UASB法の高速処理性能はいかに高活性で、高濃度の菌体を反応器に保持しうるか、すなわち、嫌気性細菌群のグラニュール増殖・自己固定化機能に依っている。そこで、3.1, 3.2の連続実験系で培養形成したグラニュール汚泥の物理性状(粒径分布, SVI)と微生物活性(メタン生成比活性, ATP プール, F_{420} 含量)を合わせて比較検討した。

Fig. 12 に前述連続実験系において種々の基質で培養したグラニュール汚泥の粒径分布を示す。また、平均粒径とSVIもあわせてFig. 12 中の表に示した。Fig. 12中のシュクロース基質培養形成グラニュール汚泥は参考のため記載した。

種汚泥である消化下水汚泥のSVIは $100 \text{ ml}/\text{g}$ であったものが、UASB 反応器内でのグラニュール状増殖によって平均粒径は $0.5 \sim 2.5 \text{ mm}$ 程度にまで成長し、その結果、SVIは $17 \sim 34 \text{ ml}/\text{g}$ にまで改善され、

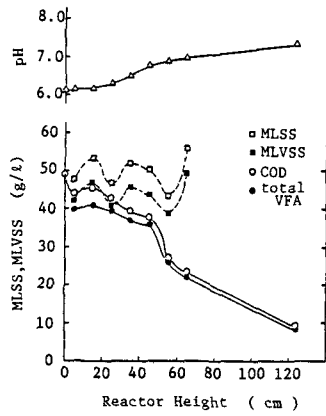


Fig. 8 Profiles of MLSS, MLVSS, COD_{fill} and total VFA along reactor height at loading rate of $70 \text{ kg-COD}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{d}^{-1}$ for Exp. Run 3.

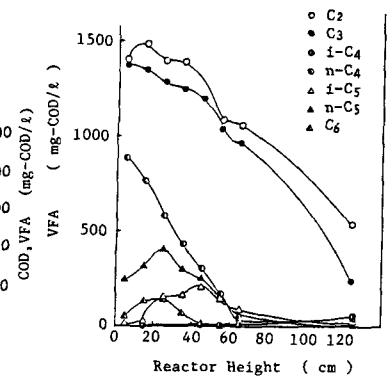


Fig. 9 Profiles of VFA components along reactor height at the same time in Fig. 8.

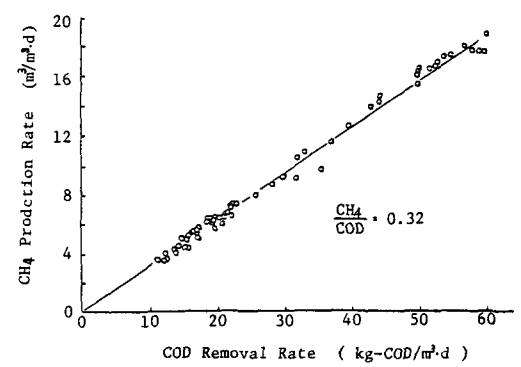


Fig. 10 Relation between COD removal rate and methane production rate for Exp. Run 3.

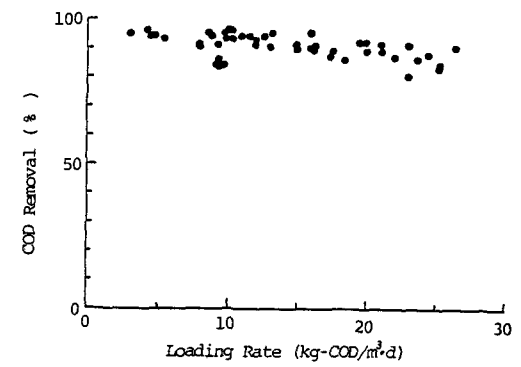


Fig. 11 Relation between COD loading rate and COD removal efficiency for Exp. Run 4.

極めて優れた沈降性を示し、高濃度の生物維持が可能になる。酢酸基質、有機酸混合基質で培養形成されたグラニューール汚泥は、スターチ+シュクロース混合基質、廃糖蜜基質等の炭水化物系廃水で形成されたグラニューール汚泥と比較して粒径自体は小さいにもかかわらず、グラニューール粒子間隙が密であるため、沈降性指標であるSVIはより優れている傾向を示している。

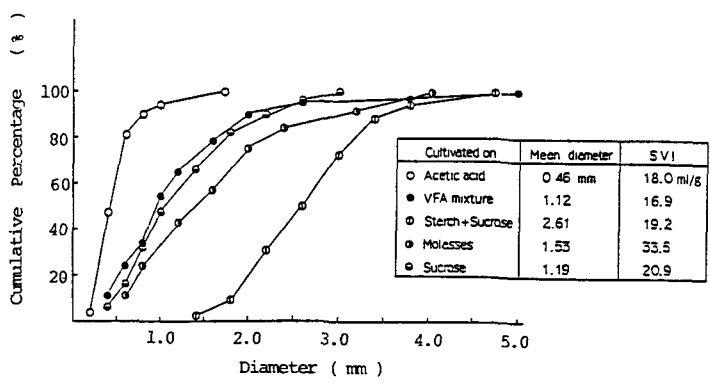


Fig.12 Diameters distribution and SVI of granular sludges cultivated on various substrates.

Table 2 にバイアル実験より評価したグラニューール汚泥のメタン生成比活性の比較を示す。バイアルテスト基質として酢酸とシュクロースを用いた。Table 2は実験に供したグラニューール汚泥の培養条件としての容積負荷とHRTも記載した。

植種汚泥である下水消化汚泥のメタン生成比活性が0.09 kg-COD/kg-VSS・day(酢酸基質),0.07kg-COD/kg-VSS・day(シュクロース基質)であるのに対し、酢酸培養グラニューール汚泥のそれは1.30 kg-COD/kg-VSS・day(酢酸基質)14 倍程度、また、VFA 基質培養グラニューール汚泥のそれは1.7 kg-COD/kg-VSS・day(酢酸基質)19 倍と著しく増加している。しかしながら、これらの有機酸培養グラニューール汚泥のシュクロース基質に対するメタン生成活性は0.3 kg-COD/kg-VSS・day, 0.33 kg-COD/kg-VSS・day と、消化下水汚泥と比較してそれぞれ4 倍、4.7 倍とそれほど著しくは増加していない。すなわち、酢酸培養、有機酸混合培養グラニューール汚泥では、酢酸資化性メタン菌の集積化が進んでいるのに対して、シュクロースから酢酸生成までを担う酸生成菌群の集積効果は小さいことが判る。一方、スターチ+シュクロース混合基質、廃糖蜜基質培養グラニューール汚泥の対酢酸、対シュクロースメタン生成活性にはそれほどの差異は認められない。

このように、UASB 反応器内の汚泥のグラニューール化は、単に、汚泥の沈降性改善による生物量保持量の増加のみならず、メタン生成菌の高密度の集積化によるメタン生成活性の増加をももたらしている。

Table 3 に、グラニューール汚泥のF₄₂₀ プール、ATPプールの比較を示す。酢酸培養グラニューール汚泥のF₄₂₀含量、ATPプールが、消化下水汚泥のそれぞれ僅か2 倍、10 倍しか増加していないのに対し、VFA 培養グラニューール汚泥ではそれぞれ25 倍、50 倍も増加している。同様に、糖系基質培養グラニューール汚泥ではそれぞれ5～9 倍、38～86 倍にも増加している。F₄₂₀はメタン菌に特有の補酵素で水素からの電子の中心的キャリアーとして作用し、嫌気性バイオマスのポテンシャルメタン生成活性の評価指標として活用とする研究がある。しかし、メタン菌のF₄₂₀ 含量はエネルギー獲得形式と密接に関連しており、水素あるいは蟻酸利用メタン菌のF₄₂₀ 含量は酢酸資化性メタン菌のそれよりもワンオーダー以上高いことが報告されている。酢酸培養グラニューールでは、水素資化性メタン菌がほとんど存在しないのに対し、VFA 培養グラニューール、糖系基質培養グラニューールではかなり存在していることが推察される。

一方、ATP 含量は微生物生態系のバイオマス現存量もしくはその活性度の把握指標としてよ

Table 2 Methanogenic activity of granular sludges.

Granular sludge cultivated on	Methanogenic activity*		Loading rate (kgCOD/m ³ ・d)	HRT (hr)
	A	B		
acetate	1.30	0.30	17	4.2
VFA mixture	1.70	0.33	26	4.6
starch & sucrose	0.77	0.75	17	4.2
molasses	1.10	0.68	13	4.2
sucrose	0.38	0.33	6	12.0
digested sewage sludge	0.09	0.07	-	-

*: (kgCH₄-COD/kgVSS・d), **: A:acetate, B:sucrose as a test substrate

く用いられるが、嫌気性汚泥の
 ような加水分解菌・酸生成菌・
 メタン菌等の増殖速度、代謝活
 性に大きな隔たりのあるグルー
 プが共存するような生態系では、
 ATP含量の意味するものが必ず
 しも明確ではない。しかし、オ
 ーバーオールなバイオマスの増
 殖活性（比増殖速度もしくは菌
 体合成のターンオーバー速度）
 を間接的に表示しうるとすれば、

Table 3 Comparison of ATP pool and F_{420} content
 of granular sludges.

Granular sludge cultivated on	ATP pool (mg/gVSS)	F_{420} content (mg/gVSS)	Loading rate (KgCOD/m ³ ·d)	HRT (hr)
acetate	0.046	0.032	17	4.2
VFA mixture	0.098	0.192	35	3.4
VFA mixture	0.206	0.388	70	1.7
starch & sucrose	0.155	0.132	11	6.5
molasses	0.355	0.079	17	3.1
sucrose	0.277	0.107	9	8.0
digested sewage sludge	0.0041	0.015	-	-

酢酸資化性メタン菌が高度に集積されたグラニュール汚泥よりもVFA基質培養グラニュール、糖系基質培養グラニュールのATP含量が大きいことも肯ける。

Photos. 1, 2に、それぞれスターチ+シュクロース混合基質、酢酸基質培養グラニュール汚泥の走査電顕、透過電顕写真を示す。

スターチ+シュクロース系グラニュールでは、グラニュール表面近傍は桿菌状の酸生成菌群が活発に細胞外ポリマーを分泌しながら細胞同士の付着因子として作用していることが観察される。また、この細胞外ポリマーは、細胞表面全体に高密度にコーティングしているタイプのものと、ややルーズな繊維状構造のタイプのものがある。細胞外ポリマーは、通常のクエン酸鉛と酢酸ウランの電子染色では造影されず、ルテニウムレッドで染色されることから酸性多糖を含む化学組成をしていることが推察される。また、グラニュール内部はPhoto. 1（c）で見られるように、酢酸資化性メタン菌である *Methanotrix* 属（細胞両端が平らなセプトラムを有する）の糸状増殖体によって構成されている。すなわち、グラニュールの外側に棲息する酸生成菌が内側のメタン菌に酢酸を供給する合理的な棲み分け現象が形成されている。さらに、酸生成菌の生成する細胞外ポリマーはグラニュールの物理的強度を増大するのに役立っているものと思われる。

一方、酢酸培養グラニュールは、グラニュール表面（Photo. 2（b））もグラニュール内部（Photo. 2(c））も *Methanotrix* 属メタン菌のあたかも単一培養のように、高密度に集積化しているのが観察される。この菌はルテニウムレッドで染色される細胞外ポリマーを分泌しない故、必ずしもグラニュール形成に細胞外ポリマーの生成は必須条件ではないと思われる。また、*Methanotrix* 属メタン菌の糸状増殖がグラニュール形成に大きく関与していることもPhotos. 1, 2 から推察される。

4. まとめ

- 本研究で得られた知見は以下のようにまとめられる。
- (1) スターチ+シュクロース混合基質（流入COD3,000mg/ℓ，25℃）では、容積負荷25kg-COD/m³·day（HRT 2.9hrs）まではCOD除去率85％以上の高速安定処理性能を示したが、それ以上の容積負荷では固形性基質（スターチ粒子）のベッド内蓄積によって処理プロセスは破綻する。
 - (2) 廃糖蜜基質を用いた実験系（25℃）においては、流入COD6,000mg/ℓでは容積負荷14kg-COD/m³·day（HRT 1.03hrs）まで、また、流入COD2,200mg/ℓでは20kg-COD/m³·day（HRT 2.6hrs），COD除去率80％以上の安定処理を達成した。
 - (3) VFA混合基質（流入COD5,000mg/ℓ，35℃）では、容積負荷70kg-COD/m³·day（HRT 1.7hrs）でCOD除去率80％，また、酢酸基質（流入COD3,000mg/ℓ，35℃）では、負荷25kg-COD/m³·day（HRT 2.9hrs）でCOD除去率80％以上の高速処理性能を達成した。

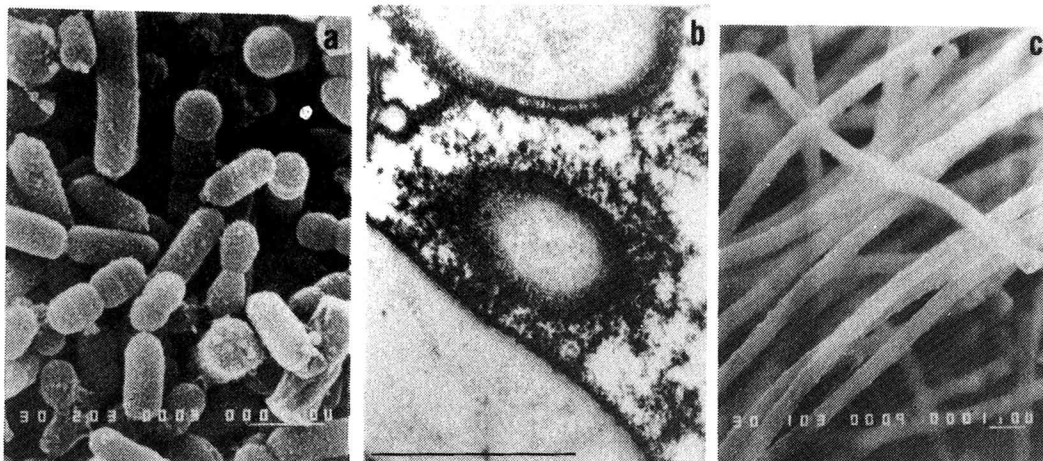


Photo.1 Electron micrographs of granular sludge cultivated on a mixture of starch and sucrose (Exp. Run 1).
(a), surface of granular sludge by SEM ($\times 20,000$, bar: $1\mu\text{m}$);
(b), thin section of granular sludge surface by TEM ($\times 50,000$, bar: $1\mu\text{m}$);
(c), inner part of granular sludge by SEM ($\times 10,000$, bar: $1\mu\text{m}$).

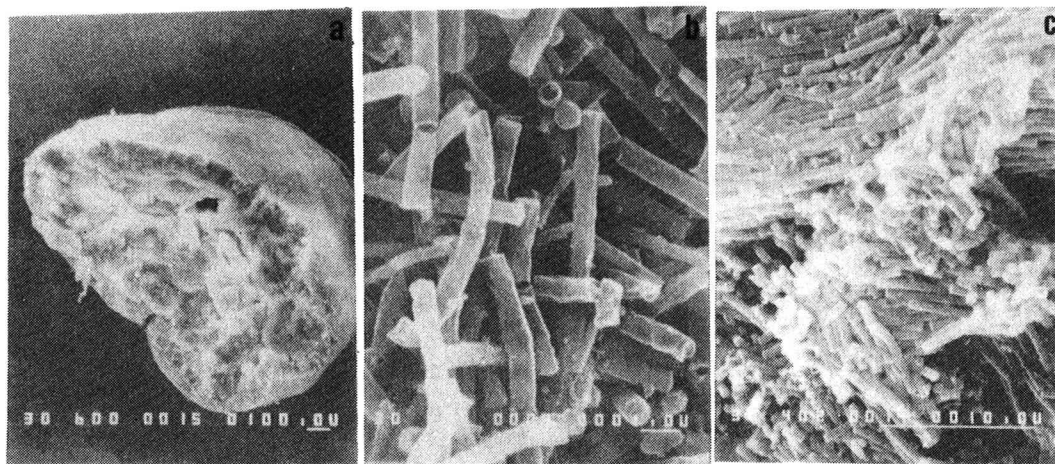


Photo.2 Scanning electron micrographs of granular sludge cultivated on acetate (Exp. Run 4).
(a), whole view of granular sludge ($\times 60$, bar: $100\mu\text{m}$), (b), surface of granular sludge ($\times 10,000$, bar: $1\mu\text{m}$), (c), inner part of granular sludge ($\times 4,000$, bar: $10\mu\text{m}$).

- (4) 除去COD当たりのメタン生成収率は、糖系基質で0.31、VFA基質で0.32、酢酸基質で0.33 $\text{N l-CH}_4/\text{g-COD}$ 除去と評価された。
- (5) 有機酸基質形成グラニュールは、糖系基質形成グラニュールと比較して平均粒径、SVIとも小さい傾向を示した。
- (6) グラニュール形成に伴って、植種汚泥である下水消化汚泥と比較してメタン生成比活性は5～20倍増加する。また、培養基質によってグラニュール微生物コンソーシアの構成細菌叢も変化する。
- (7) 酢酸培養グラニュールの F_{420} 含量、ATPプールは、VFA混合液培養グラニュールと比べて1/5程度と小さい値を示した。
- (8) 糖系基質形成グラニュールは、グラニュール表面近傍に棲息する酸生成菌が細胞外ポリマーを分泌しながら、細胞同士の付着作用に重要な役割を担っている。また、*Methanotrix* 属メタン菌の糸状増殖形態もグラニューレージョンに大きく作用している。

なお、本研究は文部省科研費（試験研究(I)，60－61年度）によって補助を受けたことを記して感謝の意を表す。

参考文献

1. Lettinga, G. "Anaerobic Wastewater Treatment Based on Biomass Retention with Emphasis on the UASB-Process" *Proc 4th Int'l Symp. on Anaerobic Digestion*, 279, 1985
2. 原田秀樹, 桃井清至, 藤井伸夫, 帆秋利洋
"上昇流スラッジブランケット反応器(UASB)による高速メタン発酵特性" 衛生工学研究論文集, vol. 23, p227, 1987
3. 鈴木, 永谷訳 "医学, 生物学のための走査電子顕微鏡入門" 丸善 1979
4. Spurr, A. R. "A Low Viscosity Epoxy Resin Embedding Medium for Electron Microscopy"
J. Ultrastruct. Res., 26, 31, 1969
5. Patterson, J. W., Patrick, L., Brezonic, L. and Putnam, H. D., "Measurement and Significance of Adenosine Triphosphate in Activated Sludge" *Environ. Sci & Tech.*, vol 4 No. 7, 569, 1970
6. Pause, S. M. & Switzenbaum, M. S. "An Investigation of the Use of Fluorescence to Monitor Activity in Anaerobic Treatment System"
The Bioenergy Council, 74-83-3, 1983