

(5) 高温 UASB (上昇流嫌気性スラッジブランケット) 反応器で形成された
自己造粒汚泥の構造的および生物学的特性

MICROBIAL AND STRUCTURAL CHARACTERISTICS OF GRANULAR SLUDGE
DEVELOPED IN A THERMOPHILIC UASB REACTOR

上村繁樹* 原田秀樹**

Shigeki UEMURA*, Hideki HARADA**

ABSTRACT; A thermophilic UASB reactor was operated for a period of more than six month by feeding a synthetic wastewater composed of sucrose. Well-settleable granulated sludge with a diameter of 2-3 mm developed successfully after 100 days operation from a start-up. Characterization of thermophilic granules was made with respect to morphological structure and methanogenic activity. The granule showed a double-layered structure. The exterior layer was composed of a sponge-like material, while crystalline precipitates existed in abundance inside the granule (referred to as the core). A major component of the precipitates formed in the core was confirmed to be calcium carbonate, in the form of not only aragonite but also calcite. The presence of calcium-bound phosphorus in the core was three times as large as that in the exterior layer. Methanogenic activities from acetate and hydrogen increased with increasing vial-test temperature from 55 °C to 65 °C: 1.43 to 2.36 and 0.85 to 1.11 kgCH₄-COD · kgVSS⁻¹ · d⁻¹, respectively, for acetate and hydrogen. On the other hand, methanogenic activity from propionate remained unchanged in that temperature range (0.1-0.12 kgCH₄-COD · kgVSS⁻¹ · d⁻¹). The methanogenic activity from propionate was considerably lower than that from acetate or hydrogen, indicating that the propionate degradation is a rate-limiting step in the thermophilic condition. The acetate utilization rate of the granules was significantly inhibited by the presence of hydrogen. This indicates that a large extent of acetate conversion to methane was performed by a syntrophic association between acetate-oxidizers and hydrogenotrophic methanogens.

KEY WORDS; Thermophilic anaerobic digestion, granular sludge, calcium precipitation, propionate degradation, acetate oxidation.

1. はじめに

UASB (上昇流嫌気性スラッジブランケット) 法は、付着担体を用いず、嫌気性細菌の自己造粒化 (グラニュレーション) 機能を利用することにより、反応器内に高濃度の微生物量を保持することを可能とした高速メタン発酵処理技術である。近年本法は、主に食品加工工場等から排出される、比較的分解しやすい中高濃度有機性廃水処理方法として広く普及を重ねてきた。現在のところ適応される廃水の種類はある程度限られているが、その非常に優れた処理性能のゆえに高い評価を受け、技術的に成熟した段階に達しているといえる¹⁾。今後、UASB法の普及をさらに広めていくためには、本法の根本的な成立条件である嫌気性細菌の自己造粒化現象をより明確に把握しつつ、適応廃水種の拡大をはかることが必要である。

一方ある種の工場では、有機原料の蒸留、湯煮など、熱を加えて加工する工程を含んでおり、それらの工程から排出される廃水は、一般に80-90℃と高温で、かつBODで数千から数十万ppmと、非常に高濃度であることが知られている。通常このような高温廃水の汚濁負荷量は、全汚濁負荷量に対して40%-90%と非常に大きい²⁻³⁾。

* コマツ 研究本部 (Research Division, KOMATSU)

** 長岡技術科学大学 建設系 (Department of Civil Engineering, Nagaoka University of Technology)

現在、高温廃水は、他の工程の廃水と混合、希釈され、活性汚泥法等の好気性処理を施されている。しかしながら、好気性活性汚泥法にかかる莫大な設置面積と曝気電力をはじめとする運転費を考えれば、高温廃水を分別して効率良く処理を行い、処理水を他の廃水と混合した後好気性処理を施すことにより、好気性処理装置の負荷を低減し、ひいてはプロセス全体の規模の縮小、および運転費の節減が期待できる。

本来、UASB法はこのような高温高濃度廃水の嫌気性処理に適用されて然るべき方法であると考えられる。通常高温嫌気性菌は、中温嫌気性菌に比べて高い活性を保持していることから、高温嫌気性処理（50-60℃）は中温嫌気性処理（30-40℃）に比べて数倍の処理能力が期待できる。例えば Wiegant 等の高温UASB法に関する一連の研究⁴⁻⁶⁾によれば、COD負荷で $100\text{kgCOD} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ 程度という格段の処理能力を保持することが可能であるという。しかしながら、筆者等の知る限り、現在のところ高温UASB法のフルスケールプラントは存在しない。これは中温処理に比べて、高温処理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く、従って適切な運転方法の確立が未だになされていないためである。すなわち、先に述べたごとく、UASB法の汎用性の拡大のための技術課題の一つとして、高温廃水への適応、ならびに高温域でのグラニュレーション機構の解明があげられる。既報⁷⁾では、酢酸、および酢酸としょ糖の混合基質で培養した高温グラニュールにおいて、高温嫌気性処理で特有と思われる酢酸酸化細菌の役割、高温嫌気性菌のグラニュレーションに関与する酸生成菌の特徴などを報告した。本報ではしょ糖を供与した高温UASB法におけるグラニュールの生成に関し、その無機化合物の挙動と、グラニュール内の高温嫌気性細菌群の生態学的特性について得られた知見を報告する。

2. 実験装置と方法

2.1 UASBリアクター

Fig.1に実験に用いたUASBリアクターの概略図を示す。リアクターの反応部は高さ100cm、内径10cm、有効容量7.85ℓのポリプロピレン製カラムを用いた。カラムの周りに装備したウォータージャケットに高温水を循環させることにより、反応器内部の温度を55℃に調整した。ガス-固-液分離を促進させるため、反応器の頭部にはガス-ソリッドセパレーターを、またカラム上部には多孔板コーンを設置した。さらに反応器の頭部で発生ガスをエア-ブローワーで循環させ、ガス相と液相の界面を適度に搅拌した。なお、実験開始後80日目より処理水の循環を行い、反応器内部の上昇線速を約 $1.4\text{m} \cdot \text{h}^{-1}$ に調整し、ベッド内の基質の短絡を防いだ。植種汚泥には $9.1\text{gVSS} \cdot \text{ℓ}^{-1}$ の中温消化汚泥を反応器当り6ℓ投入した。

2.2 培養基質

Table1に連続実験に用いた基質の実験初期の濃度を示す。実験初期は炭素源としてしょ糖を $2600\text{mgCOD} \cdot \text{ℓ}^{-1}$ （TOC換算で約 $1000\text{mg} \cdot \text{ℓ}^{-1}$ ）に調整して供給し、その後、段階的に $4200\text{mg} \cdot \text{ℓ}^{-1}$ まで増加させた。また、同時にHRTを42時間から3.2時間まで短縮させることにより負荷を上昇させた。なお、基質の濃縮に際しては、栄養塩をはじめ他の物質も、しょ糖の濃度に合わせて増加させた。

2.3 X線解析（XMA）

グラニュール断面の元素分布を調べるために、表面X線解析を行った。サンプルの前処理としてグラニュールを数回超純水で洗浄した後、5%のグルタルアルデヒド

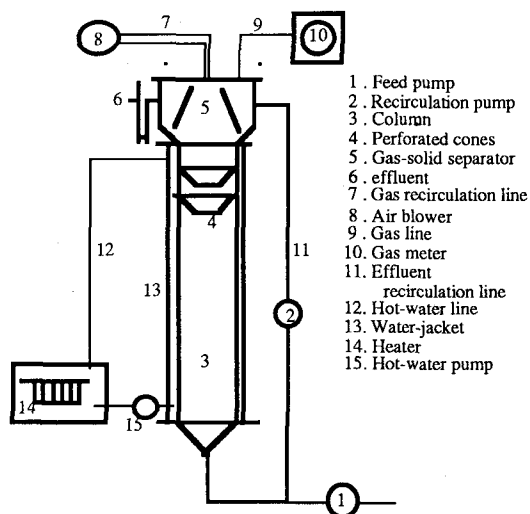


Fig. 1 Schematic diagram of UASB reactor

ドで一晩固定した。オスミウム酸またはリン酸緩衝液等はグラニールの元素分布に影響をおよぼすと

Table 1 Chemical composition of the influent

(in mg · ℓ⁻¹)

考えられたので使用しなかった。一般にXMAにより元素の表面分布を解析する場合、可能な限り円滑な表面を得る必要がある。本研究では40℃に設定したフリーザー中に内設されたミクロトーム (Cryostat, Bright instruments company) により、グラニールを凍結後、徐々に中央方向に切断していき、円滑な割断面を得る方法を採用した。別途、アルコール凍結割断法²⁴⁾も合わせて検討したが、上記の方法により、最も信頼性のある解析が行える程度の円滑な断面が得ることができた。サンプルを解凍後、50-100%のエタノールで脱水、臨界点乾燥を施した後、カーボン

Sucrose	2600(COD)	Mineral solution	
Yeast extract	90(COD)	H3BO4	30
NaHCO3	2450	FeCl2 · 4H2O	1200
NH4Cl	100	ZnCl2	30
NaH2PO4	22	MnCl2 · 4H2O	300
MgCl2 · 6H2O	5.3	CuCl2 · 2H2O	20
KCl	15	(NH4)6MoO · 4H2O	60
CaCl2	236	NiCl2 · 6H2O	300
		EDTA	340
Mineral solution	1mℓ/ℓ	HCl	1mℓ/ℓ

で蒸着した。分析は日立 S-800走査型電子顕微鏡、およびホリバEMA X-200、X線マイクロアナライザーを使用した。

2.4 ICP (Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometry)

サンプルに供したグラニールは、数回超純水で洗浄した後、三角フラスコ内でマグネチックスターにより約1時間攪拌し、グラニールの外層と内部の沈着物（以後核と称する）を充分に剥離させ、デカンテーションを繰り返し分離した。分離した外層、核、および全形のグラニールはそれぞれ硝酸-過塩素酸法⁸⁾により湿式分解した後、誘導結合プラズマ (ICP) 分光計 (ICP S-1000II、島津製作所) により無機元素の定量を行った。

2.5 メタン生成活性試験 (バイアル試験)

水素 (H₂:CO₂, 80:20v/v)、および酢酸を用いたメタン生成活性の測定は、既報⁷⁾の通り、120mℓのバイアルビンを用いて行った。プロピオン酸を供したメタン生成活性試験は、初期バイアル内プロピオン酸濃度を3000mgCOD · ℓ⁻¹に調整して行った。それぞれのメタン生成活性の測定は、55℃、60℃、65℃に設定した3台の恒温水槽を用いて同時に行い、その温度依存性を検討した。

2.6 水素による酢酸分解の阻害試験

グラニール、酢酸、栄養塩および還元剤等を、酢酸利用メタン生成活性試験と同様に調節したバイアル内のヘッドスペースに、還元銅を通した水素ガス (100%) を満たして培養し、経時的に酢酸、メタンおよび水素の濃度を測定して、酢酸の分解におよぼす水素の影響を調べた。別途、ヘッドスペースをアルゴンで満たしたバイアルを培養し、コントロールとした。試験温度は55℃と65℃とし、少なくともそれぞれの試験を2系列平行して行い、再現性を確認した。

2.7 分析方法

TOC、メタンガス、水素の定量、および走査型電子顕微鏡 (SEM) 観察については既報⁷⁾に準じた。低級脂肪酸 (VFA) 濃度はガスクロマトグラフィー (島津製作所、GC-14A、使用カラム、FALM-25% 80/100 mesh 担体 Chromosorb) を用いて検出した。カルシウム型リンの定量は関谷の方法 (土壌養分分析法⁹⁾) に基づいて行った。また、グラニールの結晶物の定性分析は、X線解析装置 (JDX-8200、日本電子) を用いた。

3. 結果と考察

3.1 連続実験

反応器の容積負荷は、供給基質のTOC濃度を $1000\text{mg} \cdot \ell^{-1}$ から $4200\text{mg} \cdot \ell^{-1}$ まで増加させながら、同時にHRTを46時間から3.2時間に短縮して上昇した。またWiegant等⁵⁾によって示された、高温UASB反応器のスタートアップ方法のガイドラインに従い、処理水の酢酸が $200\text{mgCOD} \cdot \ell^{-1}$ を下まわった時点において負荷の増加を行った。さらに運転80日目より処理水の循環を行った。この際、反応器内部の上昇線速は約 $1.3\text{m} \cdot \text{h}^{-1}$ であった。Fig. 2 にスタートアップ時(160日間)の連続実験の結果を示す。運転80日目までは容積負荷は約 $5\text{-}6\text{kgTOC} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ と低迷していたが、80日以降は負荷の上昇が加速され、それに伴いメタン生成量の増加も観察された。これは処理水の循環の効果により、汚泥と基質の接触が改善されたものと思われる。最終的に運転日数160日で、メタン生成量は約 $180\text{N}\ell \cdot \text{d}^{-1}$ 、容積負荷で $32\text{kgTOC} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ (COD容積負荷で $85\text{kgCOD} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$)を記録した。TOC除去率は30日目以降はおおむね80%程度を維持したが、基質濃度を濃縮することにより負荷の上昇を行ったため、処理水中の残存TOCは $600\text{mg} \cdot \ell^{-1}$ 程度まで増加した。

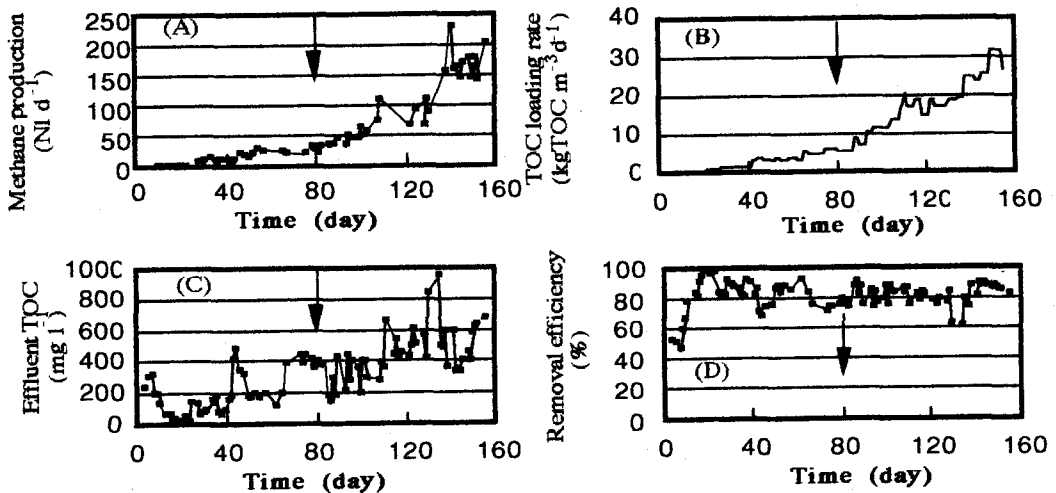


Fig. 2 Performance of UASB reactor treating sucrose at 55°C : A, time course of methane production; B, TOC loading rate; C, effluent TOC concentration; D, removal efficiency. Recirculation of the effluent was provided on and after the 80th day (arrows).

Fig.3に処理水中の酢酸およびプロピオン酸の経日変化を示す。酢酸は、やはり運転後80日目あたりから $100\text{mg} \cdot \text{C} \cdot \ell^{-1}$ からほとんど検出されないまでに減少したが、プロピオン酸は最高 $300\text{-}400\text{mg} \cdot \text{C} \cdot \ell^{-1}$ 程度残存した。すなわち、処理水中の残存TOCの多くはプロピオン酸で占められており、他の報告⁴⁾⁶⁾にもあるように、高温メタン発酵系ではプロピオン酸の分解が律速であることが本研究でも確認された。なお、酢酸とプロピオン酸以外にも*i*-酪酸が比較的多く検出されたが(0 から $20\text{mg} \cdot \ell^{-1}$ 程度)、図中には掲載しなかった。

連続実験は、その後、容積負荷を $21.5 \pm 1.2\text{kgTOC} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ に調整して2年以上継続して行ったが、平均除去率 $94.5 \pm 1.7\%$ という安定した処理能力を保持することが可能であった。

3.2 グラニュールの形態学的特徴と元素分布特性

運転開始後40-60日の間に、直径約 1mm 程度の黒色を呈したグラニュール前駆体が出現しだし、100日目あたりから反応器内のスラッジベッドはほぼ完全にグラニュール状の汚泥(直径 $2\text{-}3\text{mm}$)で占められるようになった。得られたグラニュールは、全て薄い灰色のスポンジ状の外層と、濃い黒色を呈した砂状結晶物から成る核により構成される二重構造を示していた。

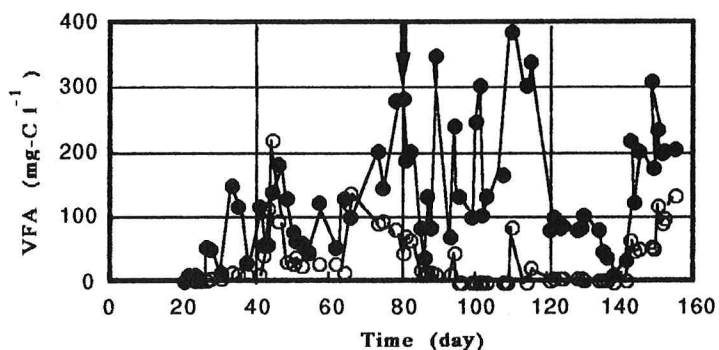


Fig. 3 Time course of effluent VFA (in carbon concentration). Recirculation of the effluent was provided on and after the 80th day (arrow). Symbols:○, acetate; ●, propionate.

Fig.4にグラニューールの断面におけるSEM写真と、カルシウム (Ca)、リン (P) のグラニューール断面上の分布状況を示す。Fig.4 (A) および (B) を比較すると明かなように、グラニューールの核を構成している部分とグラニューールの断面上のCaの分布が非常に良く一致していることが判る。さらに、ちょうどCaの中心部において、その濃度が薄くなっている部分と、Pの集積している部分が一致していることも観察された (Fig.4 (B, C))。XMAにおいて存在が確認された他の元素 (Fe、S、Al、Si、K、Na、Cu等) については、明確な分布はみられなかった (結果は省略)。

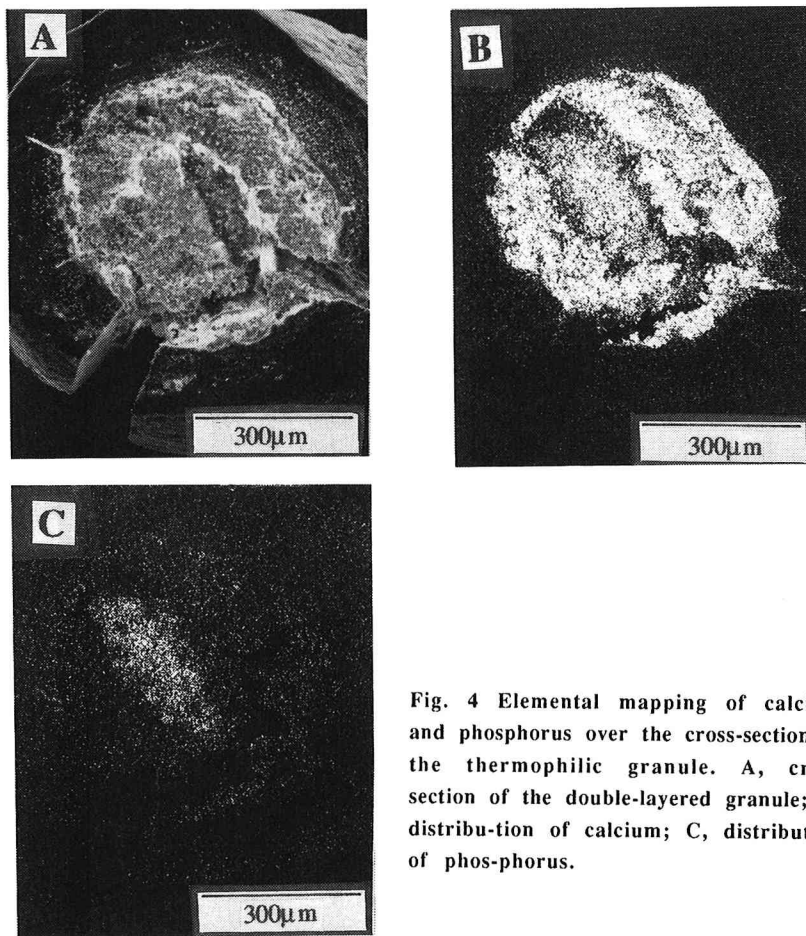


Fig. 4 Elemental mapping of calcium and phosphorus over the cross-section of the thermophilic granule. A, cross section of the double-layered granule; B, distribution of calcium; C, distribution of phosphorus.

次に、グラニユールをマグネチックスターで破碎後、核と外層を分離して、核のみを取りだし、その結晶構造を定性的に把握するため、X線解析による分析を行った。さらに、核、外層およびグラニユール全体の含有元素をICPを用いて分析した。グラニユールの核は最大200 μ m程度の大きさまで成長しており、X線解析の結果、核を構成する結晶の基本構造は炭酸カルシウムであり、CalciteおよびAragoniteの二つの構造型が混在していることが判明した。ICPによる含有元素の分析結果をTable 2 に示す。なお、表中に記載された元素以外にも12種類の元素(K、Na、Mg、Mn、Ni等)が検出されたが、トータルグラニユール当りで0.0006~0.3g/100gVSSと微量であり、また本報では、主にCaとPの分布とグラニユールの外層と核の色の違いの原因に焦点を置いたため省略した。試験したグラニユールの濃度は、SS当り93.2g $\cdot$ ℓ⁻¹、VSS当り55.6g $\cdot$ ℓ⁻¹(VSS/SS比で0.60)であり、グラニユールの核、外層およびトータルで、最も多く検出されたのはCaとPであった。核のSS当りのCaとPはそれぞれ34%と2.2%であり、Fig. 4 の結果と合わせて考えると核の主要構成元素は主にCaとPであることが判明した。また核のカルシウム型リン(Ca-P)は1.8%であり、検出された核のPの約8割を占めていた。原田等¹⁰⁾、Grotenhuis等¹¹⁾も我々の結果と同様にグラニユール内での結晶物の沈澱を観察しており、それぞれその結晶構造をCaHPO₄·2H₂O、Ca₅OH(PO₄)₃と報告している。本研究ではX線回折による明確なリン酸カルシウムのピークはみられなかったが、XMA、およびICPの結果より、グラニユール中に存在するPの多くがリン酸カルシウムの形態をとっていることが推測された。以上の結果を総合すると、グラニユールの核の中央部にリン酸カルシウムが、またその周りに炭酸カルシウムが存在し、核を包み込むようにバクテリアの層が発達しているものと考えられる。このような、カルシウムの結晶がグラニユールの中央に蓄積する現象はAlibhai¹²⁾等も報告している。一般に脱窒の生物膜やグラニユールでは、その内部ほど、生成される重炭酸の影響のため、液相に比べてpHが上昇する傾向にあり^{13) 14)}、そのために、例えばリン酸カルシウムの晶析が脱窒生物膜の内部方向において助長されるという現象も報じられている¹³⁾。本研究における連続実験期間中の流出水のpHは、7.8-8.2程度であったが、グラニユールの内部方向ではさらにpHが上昇している可能性がある。すなわち、本研究で得られたグラニユールの内部においても、酢酸からのメタン発酵に伴う重炭酸の生成により、pHが上昇する傾向にあり、さらにカルシウムも実験初期から最大負荷時において85から360mg $\cdot$ ℓ⁻¹と高濃度であったため、グラニユールの中心部におけるカルシウム沈澱物(リン酸カルシウム、炭酸カルシウム)の蓄積が増長したものと思われる。グラニユールの内部(核)が黒色を示していたのは、FeSの生成¹⁵⁾のためと思われるが、核と外層ではFeとSの明確な分布は見られなかった。

Table 2 Mineral composition of the thermophilic granules

Elements	g/100g-SS		
	Core	Exterior layer	Total granules
Ca	34	7.9	14
P	2.2	1.0	1.4
Ca-P	1.8	0.61	0.93
S	0.31	0.62	0.55
Fe	0.25	0.091	0.11
Ash	94.5	26.4	40.3

Ca-P; calcium-bound phosphorus.

3.2 SEM観察

Fig.5にグラニュール内部のSEM観察の結果を示す。グラニュールの中心部（核の内部）において *Methanothrix* と思われる細菌と微量ながらロッド状の菌によって形成された集落が、カルシウムの結晶物（矢印）に囲まれて存在していた（Fig.5(A)）。また核の周辺部分では、核の内部よりもより高密度に集積された *Methanothrix* 様の細菌が、2~3個の細胞を連ねて分散状に増殖している模様が観察された（Fig.5(B)）。Kamagata and Mikami²⁵⁾は、通常、中温、高温を問わず、*Methanothrix*は、その増殖形態において、菌糸が非常に伸長し相互に絡み合って束状に凝集するタイプ（凝集性 *Methanothrix*）と、菌糸があまり長くならず均一に分散するタイプ（分散性 *Methanothrix*）に区別されることを報告している。我々は前報⁷⁾においても、分散性の *Methanothrix*が、酢酸としよ糖で形成された高温グラニュール中で優先していることを観察しており、高温条件下では分散性の *Methanothrix*が優先しやすいと考えられる。また、全ての顕微鏡観察の結果、*Methanosarcina*様の細菌は全く観察されなかった。

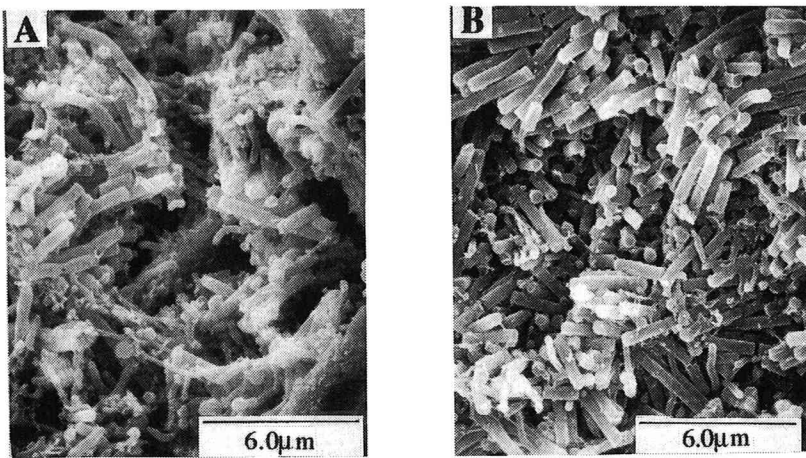


Fig. 5 Scanning electron micrographs of the thermophilic granule: A, colonies consisting of *Methanothrix* and rods in the core; B, dense colonies of *Methanothrix* around the core.

3.3 メタン生成活性

Table 3 に本研究で得られたグラニュールの酢酸、プロピオン酸、水素からのメタン生成活性を示す。表中には比較対照として糖系の人工廃水で形成された中温グラニュールのメタン生成活性（文献値）も合わせて表記した。酢酸からのメタン生成活性（A-MA）は試験温度を55℃から65℃に上昇させるに連れ、1.43から2.36kgCOD-CH₄・kgVSS⁻¹・d⁻¹と増加する傾向を示し、既報⁷⁾の結果と一致した。一般に、高温メタン発酵系では、酢酸を水素と二酸化炭素に分解する酢酸酸化菌と、水素酸化性メタン菌との共生系が存在することが知られている¹⁹⁾。酢酸の酸化と水素からのメタン生成の共役反応は、熱力学的に、温度が高くなるほど、より高い水素分圧を許容し、進行しやすくなる⁷⁾。従って、我々の得た高温グラニュール中にも、酢酸酸化菌と水素酸化性メタン菌との共生系が存在し、そのため、A-MAが上記のような傾向を示したものと推測される。また水素からのメタン生成活性（H-MA）もA-MAと同様な温度依存性を示した。一般に高温性の代表的な水素酸化性メタン菌である *Methanobacterium thermoautotrophicum*は、高温グラニュール中でも優先種となりやすく¹⁷⁾、また、その最適温度が65-70℃と高いためと思われる。なおH-MAの試験はグラニュールを粉碎せず原型のまま行ったため（粒径2-3mm）、拡散律速の影響により過小評価している恐れがある。プロピオン酸からのメタン生成活性（P-MA）は、60℃で若干高いものの試験温度にあまり影響を受けず、0.1-0.12kgCOD-CH₄・kgVSS⁻¹・d⁻¹とA-MA、H-MAに比べて著しく低い値であった。ここでP-MAを、プロピオン酸の分解の際に生成される酢酸と水素からのメタン生成活性の総和であると仮定すると、P-MAと、A-MAとH-MAの和を比較することにより、プロピオン酸の分解の律速をより明確に表現することができる。Table 3 には、比較対称のために、糖質系の廃水を用いて形成さ

れた中温グラニューールのメタン生成活性の値（文献値）と、それぞれのグラニューールの P-MA / (A-MA + H-MA) を合わせて表記した。高温グラニューールの P-MA / (A-MA + H-MA) は、各温度で 0.029 から 0.044 の範囲であったが、中温グラニューールの場合は 0.08 から 0.25 と 2 倍から一桁高い値であり、高温グラニューールのほうが、同じ糖質系の廃水で培養されたにも関わらず、よりプロピオン酸の分解が律速であることが判明した。

Table 3 Methanogenic activities of granules cultivated on sugar-containing waste

Growth substrate	Operation temp.(℃)	Test temp.(℃)	Methanogenic activity (kgCH ₄ -COD · gVSS ⁻¹ · d ⁻¹)			P-MA A-MA+H-MA	References
			A-MA	P-MA	H-MA		
Sucrose	55	55	1.43 (0.002)	0.10 (0.003)	0.85 (0.01)	0.044	This study
	55	60	1.81 (0.02)	0.12 (0.002)	0.98 (0.03)	0.043	
	55	65	2.36 (0.10)	0.10 (0.001)	1.11 (0.06)	0.029	
Sucrose	30	35	0.62	0.16	1.37	0.080	Harada <i>et al.</i> ¹⁶⁾
Sugar waste		30	0.92	0.42	0.92	0.23	Dolfing & Bloemen ²²⁾
Sugar waste		30	0.38	0.26	0.78	0.22	Dolfing & Mulder ²³⁾
Starch & sucrose	25	35	1.23	0.51	0.84	0.25	Kaiya ¹⁸⁾

Figures in parentheses represent standard deviation of duplicate activity determinations.

3.4 酢酸の分解におよぼす水素の影響

既報⁷⁾で報告したように、酢酸の酸化反応は吸エルゴン反応であり、それ自体では反応は進まないが、水素利用メタン生成反応と共役することにより、結果的に酢酸からのメタン生成反応と同様の反応が成立する。すなわち、酢酸酸化菌と水素資化性メタン菌との間で、一種の異種間水素伝達が行われるが、この反応は熱力学的に、ある程度以上の水素分圧によって阻害を受ける。本研究で得られた高温グラニューールの、酢酸分解に対する水素の阻害効果を、グラニューールを含むバイアルのヘッドスペースに水素を満たし、その酢酸の分解を調べることで検討した (Fig. 6)。ヘッドスペースにアルゴンを満たした 55℃ 実験系のコントロール (Fig. 6(A)) では、初期の酢酸 (3000mgCOD · ℓ⁻¹) は、ほぼ 6 時間で消費されたが、水素を添加した系 (H₂, 100%; ヘッドスペース, 72ml) では、8 時間で酢酸の約半分が消費された程度であり、水素の阻害効果が確認できた (Fig. 6(B))。なお、添加した水素も経時的に減少しているが、これは酢酸からのメタン生成に伴って発生した炭酸ガスとともに、水素利用メタン菌によりメタンに転換されたものである。65℃での実験系も同様の傾向を示したが、酢酸はコントロール系で約 4 時間、水素添加系で約 6 時間で消費され、55℃での実験系に比べて反応速度が速かった (Fig. 6(C, D))。一般に、酢酸資化性メタン生成菌のうち、*Methanosarcina* 属は、水素気下で、酢酸からのメタン生成が阻害されることが知られているが²⁰⁾、本研究で得たグラニューールの SEM 観察では、*Methanosarcina* 様の細菌は一切見られず、*Methanothrix* 様の細菌が多く存在していた。*Methanothrix* 属による酢酸の分解は、水素による阻害を一切受けないことから²¹⁾、本研究の高温グラニューールによる酢酸分解に対する水素の阻害効果は、主に、酢酸酸化菌 (酢酸酸化反応) に対するものであると推測される。このように、本研究で得た高温グラニューールにおける酢酸の分解は、高温の *Methanothrix* (Fig. 5) と、酢酸酸化菌と水素資化性メタン菌の共生系の両者が担っていることが確認された。

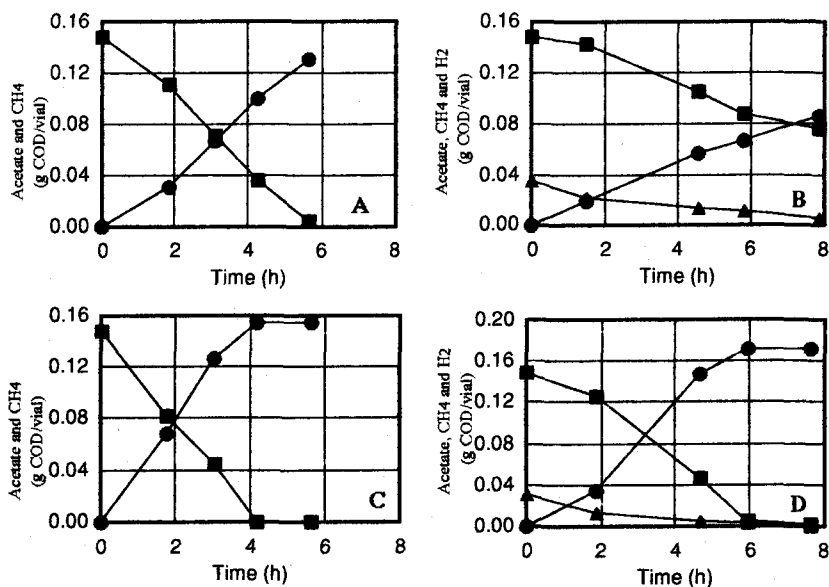


Fig. 6 Inhibitory effect of hydrogen on acetate-utilization of the thermophilic granules. A: under argon atmosphere (control) at 55°C; B: under hydrogen atmosphere at 55°C; C: under argon atmosphere (control) at 65°C; D: under hydrogen atmosphere at 65°C. symbols: ■, acetate; ●, methane; ▲, hydrogen.

結論

- (1) ショ糖を主成分とする人工廃水を用いて高温UASB法の処理性能を検討したところ、TOC容積負荷で $32\text{kgTOC} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ (COD容積負荷で $80\text{kgCOD} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ 以上)、除去率80%程度という高負荷運転が可能であった。
- (2) 本研究で得られたグラニュールは、全て白色を呈したスポンジ状の外層と黒色の核によって構成された二重構造を示していた。核の構成物質は炭酸カルシウム、リン酸カルシウムを主体とした結晶物であった。
- (3) 高温グラニュールのプロピオン酸分解能力は著しく低く、中温グラニュールと比較して、プロピオン酸の分解が、より遅速であることが判明した。
- (4) 本研究で得た高温グラニュールにおける酢酸の分解は、水素気下で著しく阻害された。このことから、本高温グラニュールの酢酸からのメタン発酵は、酢酸酸化菌と水素資化性メタン菌の共生系と、酢酸を直接資化する酢酸資化性メタン生成菌の両者が担っているものと推測された。

謝辞

本研究を遂行するに当たり、常に献身的に実験に協力してくれた、コマツ研究本部試験課の江川圭司君に深く感謝の意を表し、謝辞と致します。

参考文献

- 1) 原田秀樹；UASB式嫌気性排水処理法、水質汚濁研究、10、661-665、1987.
- 2) 川瀬光雄；多孔性セラミックを充てんした嫌気性処理装置の高濃度食品プロセス廃水処理への適用、醗酵工学、64、218-220、1986.
- 3) 南清司；高温菌による高速メタン醗酵の研究、環境技術、16、480-485、1987.
- 4) Wiegant, W.M. and Lettinga, G., Thermophilic anaerobic digestion of sugars in upflow anaerobic sludge blanket reactor, *Biotech. Bioeng.*, **27**, 1603-1607, 1985.
- 5) Wiegant, W.M. and de Man, A.W.A., Granulation of biomass in thermophilic upflow anaerobic sludge blanket reactor treating acidified wastewater, *Biotech. Bioeng.*, **28**, 718-727, 1986.
- 6) Wiegant, W.M., Hennik, M. and Lettinga, G., Separation of the propionate degradation to improve the efficiency of thermophilic anaerobic treatment of acidified wastewaters, *Wat. Res.*, **20**, 517-524, 1986.
- 7) 上村繁樹、原田秀樹；高温UASBリアクターにおける生物間相互作用とグラニュレーションにおよぼす温度の影響、環境工学研究論文集、29、201-212、1992.
- 8) 日本下水道協会；下水試験法、1984.
- 9) 土壤養分測定法委員会；土壤養分分析法、養賢堂出版、1970.
- 10) 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）における高速メタン発酵特性、衛生工学研究論文集、23、227-238、1987.
- 11) Grotenhuis, J.T.C., Kissel, J.C., Plugge, C.M., Stams, A.J.M. and Zehnder, A.J.B., Role of substrate concentration in particle size distribution of methanogenic granular sludge in UASB reactors, *Wat. Res.*, **25**, 21-27, 1991.
- 12) Alibhai, K.R.K. and Forster, C.F., Physicochemical and biological characteristics of sludges produced in anaerobic sludge blanket reactors, *Enzyme Microb. Technol.*, **8**, 601-606, 1986.
- 13) Arvin, E. and Kristensen, G.H., Precipitation of calcium phosphate and pH-effects in denitrifying biofilms, *Wat. Sci. Tech.*, **14**, 1505-1508, 1982.
- 14) De Beer, D., Huisman, J.W., van den Heuvel, J. and Ottengraf, S.P.P., The effect of pH profiles in methanogenic aggregates on the kinetics of acetate conversion, *Wat. Res.*, **26**, 1329-1336, 1992.
- 15) Kosaric, N., Blaszczyk, R., Orphan, L. and Valladares, J., The characteristics of granules from upflow anaerobic sludge blanket reactors, *Wat. Res.*, **24**, 1473-1477, 1990.
- 16) Harada, H., Endo, G., Tohya, Y. and Momono, K., High rate performance and its related characteristics of granulated sludge in UASB reactor treating various wastewaters, *Proc. 5th Int. Symp. on Anaerobic Digestion*, Bologna, Italy, 22-26 May, 1988, Monduzzi Editore S.P.A., 1011-1020, 1988.
- 17) Lier, J.B. van, Grolle, K.C.F., Stams, A.J.M., Conway de Macario, E. and Lettinga G., Start-up of thermophilic upflow anaerobic sludge bed (UASB) reactor with mesophilic granular sludge, *Appl. Microbiol. Biotech.*, **37**, 130-135, 1992.
- 18) 貝谷吉英、嫌気性生物処理におけるメタン生成菌と硫酸還元菌の共生・競合作用の解析、長岡技術大学大学院 工学研究科 修士論文、1990.
- 19) Zinder, S.H. and Koch, M., Non-aceticlastic methanogenesis from acetate: acetate oxidation by a thermophilic syntrophic coculture, *Arch. Microbiol.*, **138**, 263-272, 1984.
- 20) Hutten, T.J., Bongaerts, H.C.M., van der Drift, C. and Vogels, G.D., Acetate, methanol and carbon dioxide as substrates for growth of *Methanosarcina barkeri*, *Antonie van Leeuwenhoek*, **46**, 601-610, 1980.
- 21) Kamagata, Y. and Mikami, E., Isolation and characterization of a novel thermophilic *Methanosaeta* strain, *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **41**, 191-196, 1991.
- 22) Dolfing, J. and Bloemen, W.G.B., Activity measurements as a tool to characterize microbial composition of methanogenic environments, *J. Microbiol. Meth.*, **4**, 1-12, 1985.

- 2 3) Dolfing, J. and Mulder, J.W., Comparison of methane production rate and coenzyme F420 content of methanogenic consortia in anaerobic granular sludge, *Appl. Environ. Microbiol.*, **49**, 1142-1145, 1985.
- 2 4) 鈴木昭男；電子顕微鏡生物試料作成技術の改良とその応用、電子顕微鏡、15、130-138, 1981.
- 2 5) Kamagata, Y. and Mikami, E., Some characteristics of two morphotypes *Methanothrix soehngenii* from mesophilic anaerobic digesters, *J. Ferment. Biotech.*, **70**, 272-274.