

(7) 高温UASBリアクター保持微生物のグラニューール形成過程における
構造的特性とメタン生成活性の推移

**Changes in structural characteristics and methanogenic activity of biomass
during granulation stage in a thermophilic UASB reactor.**

珠坪一晃*、原田秀樹*、曾 怡禎*、桃井清至*

Kazuaki SYUTSUBO*, Hideki HARADA*, I-Cheng Tseng*, Kiyoshi MOMONOI*

ABSTRACT; A lab-scale UASB reactor was operated over 300 days by feeding a synthetic wastewater composed of sucrose and volatile fatty acids, in order to investigate the granulation mechanism and the microbial structure of retained sludge consortium under thermophilic conditions (55°C).

As a result of establishment of well-settleable, high-activity granulated sludge, the reactor allowed ultimately a volumetric organic loading of 45 kgCOD/m³/day, corresponding to HRT of only 4.2 hours for influent strength of 8000mgCOD/ℓ with a COD removal efficiency of around 90%. The maximum sludge loading achieved was 3.7 gCOD/gVSS/day, that is 2-3 times as large as that of mesophilically grown sludge.

Methanogenic activities of the retained sludge increased finally up to 60 times for acetate, 25 times for propionate, and 3.5 times for hydrogen as large as those of the seed sludge (thermophilically digested sewage sludge). Relatively low values of the propionate-fed methanogenic activity and the viable cell number of propionate-degrading bacteria, compared to those of other trophic groups, indicate that the propionate breakdown is mostly subject to be a rate-limiting step in thermophilic methane fermentation process.

KEY WORDS; Thermophilic anaerobic treatment, UASB process, granulation, granule structure, propionate degradation

1. はじめに

UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) 法とは、付着担体等を使用せず、嫌気性微生物の持つ自己固定化(自己造粒)作用を利用して、汚泥をグラニューール状に増殖させ、その結果反応器内への微生物の高濃度保持を実現し、廃水の高濃度処理を可能にする廃水処理技術である。近年、一部の有機性産業廃水への適用が急速に展開しており、比較的易分解性の中温・中高濃度廃水処理に関しては、ほぼ成熟した技術段階に達してきたといえる¹⁾。

有機原料の蒸留、煮炊きなど加熱加工行程を含むある種の食品加工工場からは、高温(80~90℃)高濃度廃水が排出されることが知られている²⁾³⁾。通常これらの高温廃水は、他行程で排出される低温低濃度の廃水と混合され、活性汚泥法などの好気性微生物による処理を施されているが、莫大な装置設置面積、エアレーションにかかる電力消費量など多大なランニングコストが必要となる。そこで、高温廃水を小規模な装置で高効率に処理する事が出来れば、これらの問題の解決が期待出来る。すなわち、高温廃水処理には高温嫌気性処理(高温UASB法)の適応が最も望ましいと考えられる。

一般に高温嫌気性微生物は、中温嫌気性微生物と比較して数倍高い活性を持つことから、高温(50~60℃)UASB法では中温UASB法の数倍の処理能力が期待出来ることが指摘されている⁴⁾⁵⁾⁶⁾。しかし、筆者らの知る限り、現在のところ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

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

るグラニュール形成(グラニュレーション)に関する知見が著しく乏しく、リアクターの適切な運転管理手法がいまだに確立されていないためである。

そこで本研究では、高温UASBリアクターのスタートアップ期間(グラニュール形成期間)におけるリアクター処理性能と、リアクター内の高温嫌気性菌の生物学的特徴(メタン生成活性、生菌数)、形態学的特徴(SEM、蛍光顕微鏡による観察)、物理的特徴(SVI)の変化について調査、考察を行った。

2. 実験装置と方法

2. 1 UASBリアクター

Fig.1に高温UASBリアクターの概要を示した。UASBリアクターは、高さ190cm、内径10cmの耐熱塩化ビニル製で、カラムはウオータージャケットにより覆われており、ウオータージャケットに常時恒温水を循環させることにより反応器内の温度を55℃に制御した。恒温水の温度は、リアクター内部に挿入した温度センサーからの信号によって、ヒーターをオンオフさせてコントロールした。反応器は全容積12.8ℓ(反応部11.9ℓ+GSS部0.9ℓ)であり、容積負荷とHRTの算定は全容積(GSS部を含む)を基準として行った。カラム反応部には、下部より10cmおきにサンプリングポートを設けた。反応部の上部には、GSS(Gas-Solid Separator)装置が設けられており、GSS部にはスカムブレーカーを設置し、10分間隔で3分間60rpmで作動させた。反応器から生成するバイオガスは、硫化水素を含むため、鉄ベレットを充填した脱硫塔を通過させたものを湿式ガスメーターに送り、発生ガス量の測定を行った。尚、発生ガス量が、2ℓ/day以下の時は、1N-HClを含む飽和食塩水上で水上置換することにより発生ガス量の測定を行った。

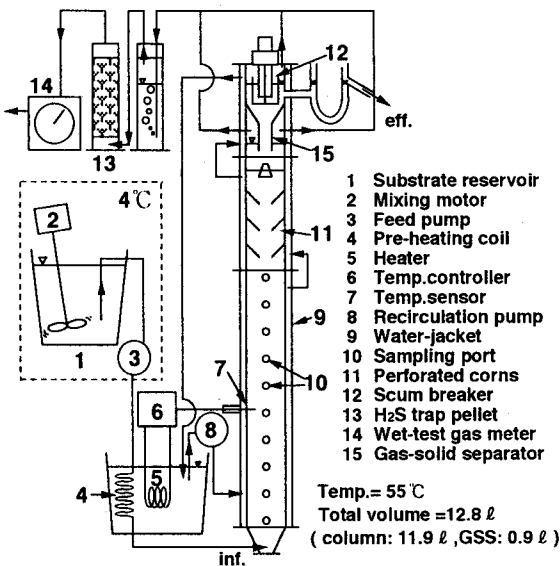


Fig.1 Schematic of thermophilic UASB reactor.

2. 2 供給廃水

連続実験には、ショ糖、酢酸、プロピオン酸、酵母エキス(COD比で4.5:2.25:2.25:1)を炭素源とする人工廃水を用いた。流入COD_{Cr}(以降CODは、COD_{Cr}を示す)濃度は、連続実験期間中2000、4000、6000、8000 mgCOD/ℓの4段階に設定した。Table1に、流入COD濃度2000mgCOD/ℓ時の人工廃水組成を示す。廃水のCOD:N:P比は、100:2.6:1.8であり、COD/SO₄²⁻比は

Table 1 Chemical composition of the feed solution.

(Unit: mg/ℓ)

Sucrose	900(as COD)	Mineral solution	
CH ₃ COONa	450(as COD)	FeSO ₄ ·7H ₂ O	7000
CH ₃ CH ₂ COOH	450(as COD)	CoCl ₂ ·6H ₂ O	170
Yeast extract	200(as COD)	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	150
Na ₂ SO ₄	120	H ₃ BO ₃	60
MgCl ₂ ·6H ₂ O	400	MnCl ₂ ·4H ₂ O	420
CaCl ₂ ·2H ₂ O	150	NiCl ₂ ·6H ₂ O	40
KCl	300	CuCl ₂ ·2H ₂ O	27
KH ₂ PO ₄	150	NaMoO ₄ ·2H ₂ O	25
NH ₄ Cl	110		
NaHCO ₃	1000		
Mineral solution	1.0ml/ℓ		

実験期間を通じて20に固定した。COD負荷の上昇は、基本的にはHRTの短縮によって行ったが、実験期間の中・後半には流入COD濃度をTable1の2、3、4倍に増加させる方法も採った。なお、流入COD濃度の増加に際しては無機栄養塩類の濃度も比例的に増加させた。人工廃水貯留タンクは、4℃恒温室に設置し、常時攪拌モーターにより攪拌を行った。流入水は、リアクター内に温度勾配が出来るのを防ぐ目的で、ステンレス製の加熱用パイプ(2m)を通し、50℃前後まで加熱したものを供給した。

2. 3 植種汚泥

リアクターへの植種は、下水処理場高温消化汚泥(消化槽温度: 53℃)を用いた。消化汚泥は、自然沈降により濃縮したものを82.9 gVSS (VSS/SS = 0.62, SVI = 133 ml/gVSS, 6.48 gVSS/ℓ-reactor)投入し、一晩静置させた後基質投入を開始した。

2. 4 メタン生成活性試験

メタン生成活性は、植種汚泥および運転開始後221日目(9 kgCOD/m³/day、1.03 gCOD/gVSS/day)、270日目(23 kgCOD/m³/day、1.46 gCOD/gVSS/day)の保持汚泥について、45、55、65℃の各温度条件下で測定した。実験には容量122 mlのセルムバイアル瓶を用い、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)を用いた。以下に記す各操作は、全て完全にO₂を除いた窒素気流下で行った。バイアルには、あらかじめ煮沸、脱酸素操作を行い、試験温度に設定した無機塩類(NH₄Cl, MgCl $\cdot$ 6H₂O, CaCl₂, FeCl₂ $\cdot$ 4H₂O)を含むリン酸緩衝液(最終濃度25mM)と、リアクター(port NO.2)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。ブチルゴム栓とアルミキャップでシールを施した後、気層部を窒素ガスでバージし、レサズリン(1mg/ℓ)、還元剤(Na₂S $\cdot$ 9H₂O, 250mg/ℓ)を加え、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、プロピオン酸+硫酸塩(600 mgSO₄²⁻/ℓ)、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。

2. 5 生菌数の測定

生菌数の測定は、植種汚泥、運転開始後100日目(1.7 kgCOD/m³/day)、275日目(23 kgCOD/m³/day)の汚泥サンプルについて、55℃で行った。供試汚泥はリアクターポートNO.2から採取し、生理食塩水(0.85% NaCl)で希釈した後ワーリングブレンダーで40秒間ホモジナイズした後、超音波(35 W、90sec、15sec/cycle: SONIFIER, BRANSON)で分散させた。メタン生成細菌数、プロピオン酸分解細菌数はMPN法(3本法)により測定した。菌数測定に用いた基質は、メタン生成細菌が酢酸(20mM)、H₂: CO₂ (80:20)、

Table 2 Medium for enumeration of hydrogenotrophic and acetotrophic methanogens and propionate-degrading bacteria.
(Unit: mg/ℓ)

Basal medium		Carbon sources		
KH ₂ PO ₄	200	for MPB		
K ₂ HPO ₄	400	Sodium acetate	20mM	
NH ₄ Cl	1000			
MgCl ₂ ·6H ₂ O	100	H ₂ /CO ₂ 80/ 20 (v/v)		
NaCl	300	for PDB		
NaHCO ₃	1000	Sodium propionate	20mM	
Yeast extract	200			
Cystein HCl	500			
Na ₂ S·9H ₂ O	250			
Resazurin(0.2%)	1.0ml			
Trace minerals				

プロピオン酸分解細菌がプロピオン酸(20mM)である(詳細な培地組成は、Table2に示した)。なお、同時に基質無添加系(無機栄養塩類、酵母エキス、供試汚泥のみを含む)についても測定を行った。メタン生成細菌、プロピオン酸分解細菌の存在の有無は、3カ月培養後のMPN試験管気相部のメタン含有率をガスクロマトグラフによって測定し、基質無添加系よりもメタン含有率の高い試験管をポジティブとした。

2. 6 顕微鏡 (SEM、蛍光顕微鏡) によるリアクター保持微生物の形態学的観察

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amil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、SEM による観察を行った (Hitachi, S-4500)。蛍光顕微鏡による観察は、リアクターのポート NO. 2 から採取した汚泥について行った。使用した顕微鏡は、落射蛍光装置 (OLYMPUS: BH2 - RFC) 付き落射蛍光顕微鏡 (OLYMPUS: BHS - RFC, BHT - RFC) であり、励起法は B 励起 (広帯域) で励起主波長は 435nm の輝線および 490nm 付近のスペクトルである。

2. 7 分析方法

COD の測定は、あらかじめ適量の硫酸を添加し、窒素ガスバージすることによって硫化物を取り除いたサンプルについて行った。COD の測定方法は、下水試験法 (1984 年度版)⁷⁾ によった。発生ガスの組成は、TCD 型検出器を備えたガスクロマトグラフ (ガスクロ工業 Model 370 Gas chromatograph, Packing material: Unibeads-C 60/80 mesh, Carrier gas: Argon) で測定した。VFA 濃度の測定は、FID 型検出器を備えたガスクロマトグラフ (島津製作所 GC-14A, Packing material:

FAL-M 60/80 mesh, Carrier gas: nitrogen)

によった。SVI の測定は、25°C 恒温室内でリアクター port NO. 2 より採取した汚泥サンプルを、SV₃₀ が 30% 以下になるように希釈して行った。尚、SVI は VSS 濃度を基準として算定した。

3. 実験結果及び考察

3. 1 リアクター処理性能

Fig. 2 にリアクターの連続処理実験結果を示した。本研究では、容積負荷および HRT の算出はリアクター全カラム容積を基準に行った。容積負荷の上昇は、Wiegant *et al.*⁸⁾ の方法に従い、COD 除去率 90% 以上、処理水中の酢酸濃度 200mg/l 以下が達成されていることを確認したうえで、HRT の短縮と基質濃度の上昇によって段階的に行った。通常の負荷の増加は、HRT の短縮によって行ったが、1.7 kgCOD/m³/day から 3.4 kgCOD/m³/day、23 kgCOD/m³/day から 45 kgCOD/m³/day への負荷上昇は、基質濃度の増加によって行った。これは容積負荷 23 kgCOD/m³/day の時点で、UASB 法としては限界に近い、約 2.4 m/h の線流速がリアクター GSS 部への入り口で生じており、汚泥のウォッシュアウトの可能性があったた

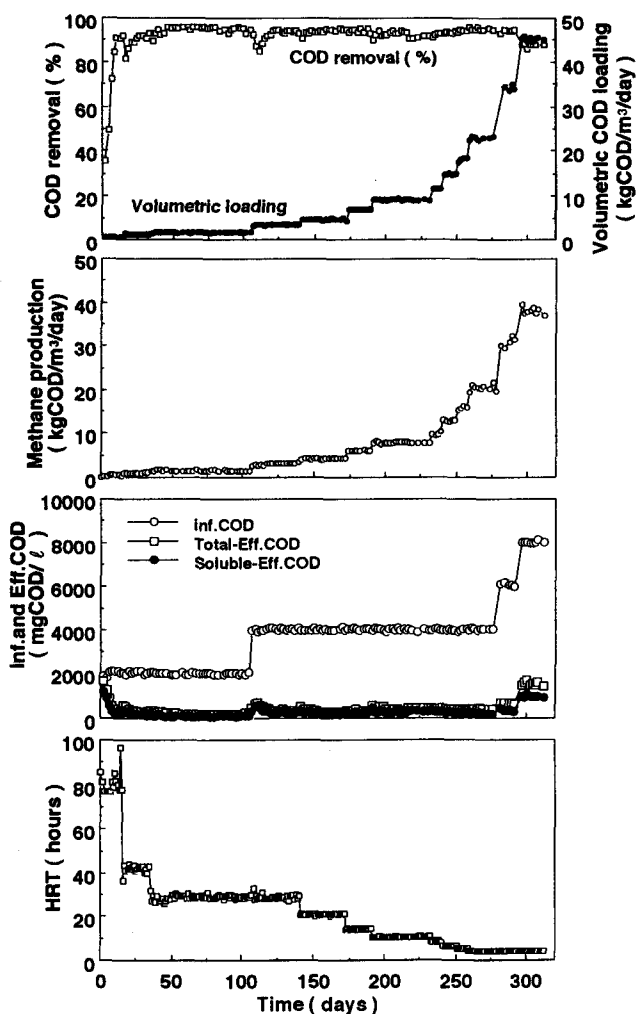


Fig. 2 Performance of thermophilic UASB reactor treating sucrose + VFA (acetate , propionate) at 55 °C.

めである。実験後期にはCOD容積負荷45 kgCOD/ m³/ day、COD汚泥負荷3.7 gCOD/gVSS/ dayを許容した。この間HRTは、85時間から最終的に4.2時間にまで短縮された。実験期間を通じて、CODの除去は良好でありCOD除去率は常に85～95%を達成した。また、メタンガスの生成も負荷の上昇に伴って増加した。容積負荷23kgCOD/m³/day時の流入CODに対するメタン生成割合は、90.6% (標準偏差±2.0%)、同流出溶解性CODは4.9% (標準偏差±0.42%)であり、残り5%程度が増殖に利用されたと考えられる。

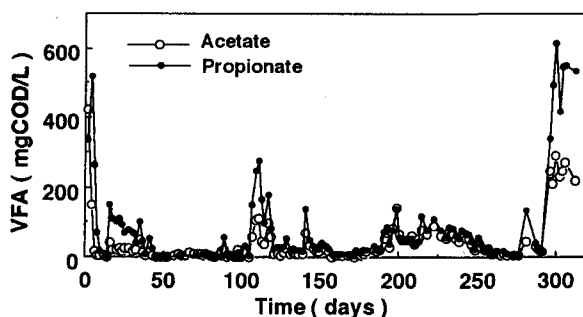


Fig.3 Changes in effluent VFA concentration.

Fig.3 に処理水のVFA濃度の経日変化を示した。一般に高温嫌気性処理では、VFA (特にプロピオン酸)の蓄積が問題になることが知られている (Rimkus *et al.*⁹⁾)。この現象は、高温UASBでの廃水処理、特に糖系廃水処理においても多く観察されている⁴⁾⁵⁾¹⁰⁾。本研究では処理水のVFA濃度は、容積負荷34 kgCOD/m³/dayまでは常時低く抑えられており酢酸、プロピオン酸ともに、約100mgCOD/ℓ以下と非常に良好な処理状況を示した。これは、供給廃水が糖+VFA (酢酸、プロピオン酸)混合系であったため、反応器内での酸生成反応がある程度抑えられたことと、供給廃水中に酢酸が含まれるため、プロピオン酸分解反応(アセトジェニック反応)に対する負荷が軽減されたことが原因と考えられる。しかし、その後容積負荷を45 kgCOD/m³/dayに上昇させたところ、酢酸で200～300mgCOD/ℓ、プロピオン酸で400～600mgCOD/ℓ程度の酸が処理水中に残存した。この時、汚泥負荷は約3.7g COD/gVSS/day (Fig.5 参照)に達しており、本実験でも高負荷運転時には、プロピオン酸の分解過程がより律速になりやすい傾向を示した。

3. 2 グラニュレーションの進行と保持汚泥量の変化

Fig.4にSVI (VSS基準値)の経日変化を示す。リアクター運転開始時(植種汚泥)のSVIは、約130ml/gVSS程度であったが、運転開始後43日目頃までは徐々に上昇し(190ml/gVSS)、汚泥の沈降性は悪化する傾向にあった。その後、運転開始後100日目頃まで汚泥の沈降性に大きな変化は見られなかったが、運転開始後211日目の時点でSVIは約20ml/gVSSにまで飛躍的に向上した。この時点では、スラッジベットのほとんどが、グラニュール状汚泥で占められていた。最終的に、さらにグラニュレーションが進行したことによって、SVIは13ml/gVSSにまで向上した(運転開始後312日目)。

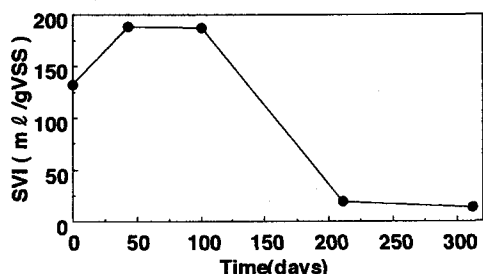


Fig.4 Behavior of SVI (based on VSS) of the retained Sludge. (port NO.2)

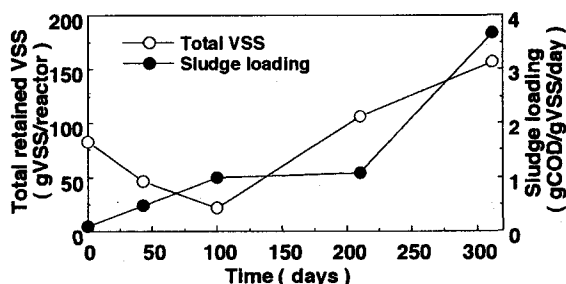


Fig.5 Changes in Total VSS and sludge loading.

Fig.5 にリアクター保持汚泥量とCOD汚泥負荷の経日変化を示した。反応器全保持汚泥量は、リアクター高さ方向の7～8箇所のサンプリングポートより汚泥を採取し、各ポートにおける汚泥濃度を求め、その数値を積分す

ることにより算出した。運転開始時から運転開始後100日目頃までは、汚泥のウォッシュアウト量が増殖量を上回り、保持汚泥量は減少を続ける。この間、保持汚泥量の減少により汚泥負荷は増加し、約1 gCOD/gVSS/dayに達した。その後、汚泥がグラニユール状に増殖し始めると、汚泥の沈降性は飛躍的に向上し、保持汚泥量は増加に転じた(運転開始後211日目)。その結果、容積負荷の上昇は行われているものの、汚泥負荷はほとんど変化せず、約1 gCOD/gVSS/dayを保っていた。運転開始後211日目以降も保持汚泥量は徐々に増加するが、その増加速度は若干遅くなっている。これは容積負荷の上昇により、上昇線流速とバイオガスの生成量が急激に高まり、その結果流出汚泥濃度が増加したことが原因と考えられる。最終的に汚泥負荷は、3.7 gCOD/gVSS/dayに達した。この値は、通常の中温UASBリアクターの約2-3倍に相当する¹¹⁾。

Fig.6(a)に、高温消化汚泥のSEM(走査型電子顕微鏡)による観察結果を示した。高温消化汚泥中には、*Methanobacterium*様の短桿菌が多く存在していた。また、小さな球菌のシストの存在も確認される。*Methanothrix*は、ショートロッドタイプのものの存在が確認されたが、その存在率は少なかった。Fig.6(b)に、運転開始後75日目の反応器保持汚泥の観察結果を示す。このときの汚泥中には、明らかに*Methanothrix*と判別できる桿菌が多く存在し、中温グラニユールでよく観察される糸状体の凝集塊を形成せず、分散状に増殖していた。*Kamagata et al.*¹²⁾は、*Methanothrix*の増殖形態にはフィラメント状に増殖し、凝集塊を形成する"Aggregating" typeと分散状に増殖する"dispersing" typeの2種類があることを報告している。またUemura and Harada¹³⁾は、高温UASBリアクターのスタートアップ実験を行い、高温条件下では*Methanothrix*は分散状に増殖し易い事を報告しており、本実験でもスタートアップ初期段階において、*Methanothrix*が分散状に増殖しているのが確認された。Fig.6(c)に運転開始後153日目のリアクターポートNO.2より採取した汚泥の観察結果を示す。まだ分散状に増殖している*Methanothrix*の存在も多く確認されるが、この頃から、細いフィラメントタイプの*Methanothrix*様の菌が出現し始め、完全に分散状に増殖していた汚泥は集塊化し、ブロックを形成し始めていることが確認された。この後、汚泥の沈降性は著しく改善され、リアクター保持汚泥量は増加に転じている。Fig.6(d)に運転開始後214日目の汚泥の観察結果を示す。この時点で、スラッジベットのほぼ全部がグラニユール状(平均粒径0.38 mm)に増殖した。グラニユールの表面は、フィラメント状の*Methanothrix*様の菌によって覆われており、ショートロッドタイプの*Methanothrix*や*Methanobacterium*様の短桿菌の存在率は極めて少ない(Fig.6(e))。Fig.6(f)にグラニユール内部の観察結果を示す。グラニユール内部には、ショートロッドタイプの*Methanothrix*、*Methanobacterium*様の短桿菌の存在が多く確認され、フィラメントタイプの*Methanothrix*の存在はほとんど確認できなかった。

F_{420} はメタン生成菌に普遍的に存在し、水素またはギ酸を酸化する際のヒドロゲナーゼ共役因子あるいはギ酸から水素を生成する際のデヒドロゲナーゼ共役因子として、電子運搬体の役割を担っている。 F_{420} は波長420nmの光を最大吸収し、その酸化型は472nmで強い蛍光を発することが知られている。一般的に*Methanobacterium*属、*Methanosarcina*属のメタン菌は補酵素 F_{420} を多く含み、蛍光顕微鏡下でほかの微生物と明らかに区別出来る強い蛍光を持っていることが確認されている¹⁴⁾。Fig.7にグラニユール断面の落射蛍光顕微鏡による観察結果を示す(Fig.7(a): 通常観察、Fig.7(b): 蛍光観察)。Fig.7より、グラニユール表面には蛍光の弱い、薄い層が存在しており、グラニユール内部には全体にわたって強い蛍光があることが確認された。SEMによる観察(Fig.6(e),(f))からも、グラニユール表面は、フィラメント状の*Methanothrix*様の菌によって覆われており、強い蛍光を発する*Methanobacterium*様の菌は、グラニユール内部に多く存在していたことが確認された。これより、高温UASBリアクター内で形成されたグラニユールは、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。高温条件下でのグラニユール形成では、フィラメント状に増殖する*Methanothrix*をいかにして増殖させるかがキーポイントであると考えられる。

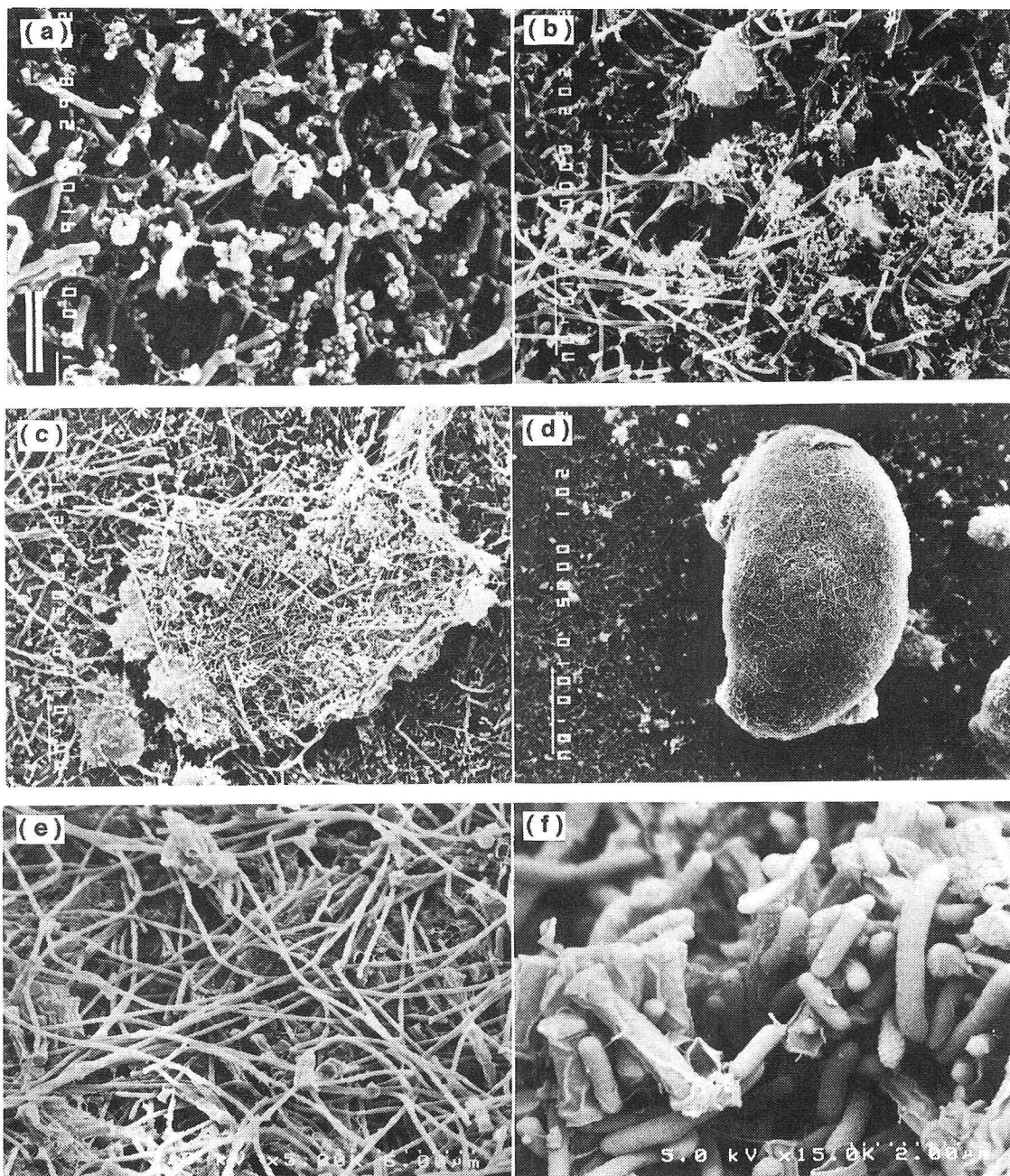


Fig.6 Scanning electron micrographs of sludge retained in the thermophilic UASB reactor.

- (a)** Thermophilically digested sewage sludge used as a seed. (bar length : $2 \mu\text{m}$)
- (b)** 75- th day , (bar length : $10 \mu\text{m}$)
- (c)** 153- rd day , (bar length : $10 \mu\text{m}$)
- (d)** Whole view of granular sludge. 214- th day , (bar length : $100 \mu\text{m}$)
- (e)** The surface of granular sludge covered with filamentous *Methanothrix* - like bacteria. (bar length : $6 \mu\text{m}$)
- (f)** Inside structure of granular sludge , (bar length : $2 \mu\text{m}$)

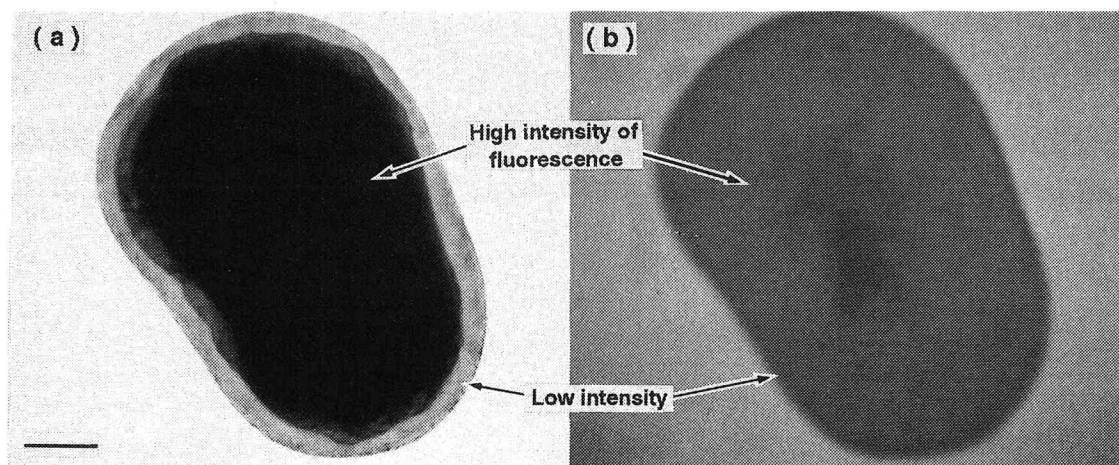


Fig.7 Optical microscopic observations of the inside of thermophilic granular sludge.
(a) phase contrast , (b) fluorescence

3. 3 メタン生成活性の温度依存性の推移と生菌数の推移

Fig.8に培養期間中の反応器保持汚泥のメタン生成活性の推移を示す。メタン生成活性は、酢酸 (Fig.8a)、 H_2 : CO_2 (Fig.8b)、プロピオン酸 (Fig.8c)、プロピオン酸+硫酸塩 (Fig.8d) の各基質を供給し、45、55、65℃の各温度条件下で測定した。

(1) 酢酸基質からのメタン生成活性 (Fig.8a)

酢酸からのメタン生成活性は、運転開始後221日目には45~55℃でピークを示しており、試験温度が上昇するに従い、活性が低下する傾向にあった。270日目には明らかに55℃で最大値活性を示すようになったが、65℃では活性の低下を招く傾向にあった。

(2) 水素基質からのメタン生成活性 (Fig.8b)

水素基質からのメタン生成活性は、221日目、270日目のサンプルともに試験温度が上昇するにつれて上昇した。これは、培養汚泥中の水素資化性の優占メタン菌種が *Methanobacterium thermoautotrophicum* であったと考えられる。*Methanobacterium thermoautotrophicum* は、高温グラニュール中でも優占菌となり易く⁽¹⁰⁾⁽¹⁴⁾、その至適温度が65~70℃と非常に高い温度域であるため、本実験でも試験温度の上昇に伴い、活性が上昇する傾向が現れたものと考えられる。

(3) プロピオン酸基質からのメタン生成活性 (Fig.8c)

プロピオン酸からのメタン生成活性は、運転開始後221日目の時点では明らかに45℃で最大値を示しており、温度の上昇に伴って活性が低下する傾向を示した。この時、55℃におけるメタン生成活性は、45℃での活性の約1/3程度であったが、270日目には45℃とほぼ同等のレベルにまで急激に増加した。以上のことから、プロピオン酸からのメタン生成活性が、完全に高温側にシフトするには、メタン生成細菌と比較して長期間の培養が必要であり、高温培養条件下 (55℃) でのスタートアップ期間では、プロピオン酸分解反応が律速となり易いことが判明した。

(4) プロピオン酸+硫酸塩基質からのメタン生成活性 (Fig.8d)

プロピオン酸+硫酸塩基質からのメタン生成活性は、硫酸塩無添加系と同様に、試験温度が上昇すると活性が低下するという傾向を示した。硫酸塩添加系は無添加系と比較して活性が低かったが、これらのバイアル液相部では硫酸塩の消費が確認された (運転開始後221、270日目) ことから、プロピオン酸分解過程で生ずる、水素に対してメタン生成細菌と硫酸塩還元細菌との競合が起こったものと推測される。Visser, A. et al.⁽¹⁵⁾ は、55℃高温UASB培養汚泥の、酢酸からのメタン生成活性に対する硫化物阻害実験を行った結果、78mgS/lの硫化物濃度で、活性が約50%低下したと報告している (pH = 7.1~7.2)。本研究の、硫酸塩添加系では、活性試験終了時までに

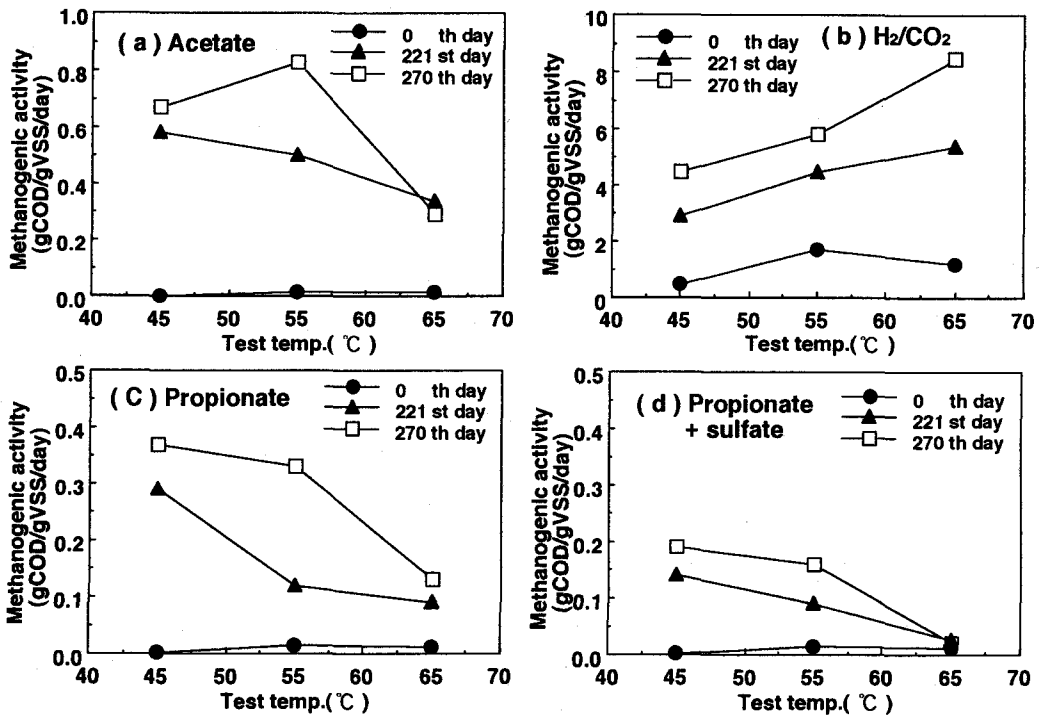


Fig. 8 Temperature dependency of methane producing activities of the retained sludge.
Test substrate : (a) acetate , (b) H₂/CO₂ , (c) propionate , (d) propionate + sulfate

約70 mgS/l (210 mgSO₄²⁻/l) の硫酸塩が除去されており、同時に酢酸がバイアル液相部に蓄積していたことから (運転開始後 221 日目、270 日目)、酢酸資化性のメタン生成細菌が、硫酸塩還元反応の結果生成された硫化物により阻害されていた可能性も示唆された。運転開始後 270 日目には、55°C におけるメタン生成活性値は、植種汚泥と比較して酢酸基質で約 60 倍、プロピオン酸基質で約 25 倍、水素基質で約 3.5 倍に増加し、特に酢酸基質からのメタン生成活性の増大が顕著であった。また、各基質条件下での 55°C におけるメタン生成活性 (270 日目) をプロピオン酸基質の活性値を基準に考えると、酢酸基質は約 2 倍、水素基質は約 18 倍大きな活性値を示しており、本研究では特に水素基質からのメタン生成活性が卓越しており、それに対して、プロピオン酸分解は明らかに律速になっている事が示された。

Fig. 9 に培養汚泥のメタン生成細菌、プロピオン酸分解細菌の生菌数の推移を示した。運転開始後 275 日目の

メタン生成細菌数は、植種汚泥の菌数と比較して酢酸、水素の両基質ともに約 3～4 オーダー増加した。メタン生成細菌数は、運転の継続と共に順調に増加したが、プロピオン酸分解細菌数は、実験期間中で約 2 オーダー

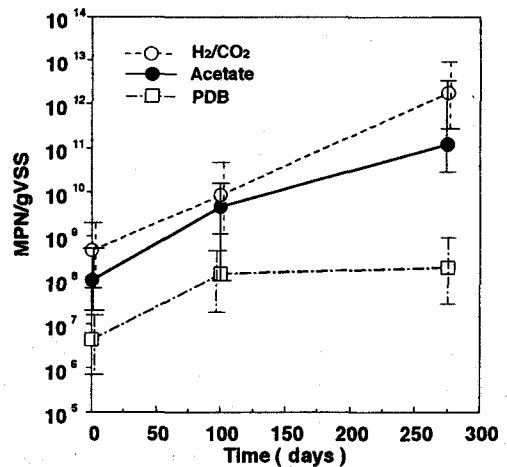


Fig.9 Changes in viable cell numbers of hydrogenotrophic and acetotrophic methanogens and propionate-degrading bacteria.
(Bars indicate 95% confidence regions)

程度しか増加せず、菌数自体も $10^8/\text{gVSS}$ 程度とメタン生成細菌よりも3～4オーダー少なかった。このことから、メタン生成細菌はすみやかに高温条件に適応できるが、フロビオン酸分解細菌は適応しにくいことが推測される。

4. 結論

本研究の結果、以下のような知見が得られた。

1. 高温UASBリアクターによる人工廃水の連続処理実験を行ったところ、運転期間約300日で、COD負荷 $45\text{ kgCOD}/\text{m}^3/\text{day}$ 、 $3.7\text{ gCOD}/\text{gVSS}/\text{day}$ を許容し、常時、COD除去率85～90%の良好な処理状況を示した。
2. リアクター培養汚泥のSEM、蛍光顕微鏡による観察結果より、実験開始当初、汚泥は分散状であり、*Methanothrix* も分散状に増殖するものが多かったが、その後フィラメント状に増殖する*Methanothrix* 様の菌が出現し始めると、汚泥はフロックを形成し、最終的に内部にショートロッドタイプの*Methanothrix* あるいは*Methanobacterium*などの短桿菌を包含し、フィラメント状の*Methanothrix* 様の菌が表面を被覆するかたちでグラニュールが形成された。
3. 運転開始後270日目には、55℃におけるメタン生成活性値は、植種汚泥と比較して酢酸基質で約60倍、フロビオン酸基質で約25倍、水素基質で約3.5倍に増加し、特に酢酸基質からのメタン生成活性の増大が顕著であった。また、各基条件下での55℃におけるメタン生成活性(270日目)は、フロビオン酸基質の活性値を基準に考えると、酢酸基質は約2倍、水素基質は約18倍大きな活性値を示した。運転開始後275日目のメタン生成細菌数は、植種汚泥の菌数と比較して酢酸、水素の両基質ともに約3～4オーダー増加したが、フロビオン酸分解細菌数は、実験期間中で約2オーダー程度しか増加せず、菌数自体も $10^8/\text{gVSS}$ 程度とメタン生成細菌よりも3～4オーダー少なかった。以上のことから、メタン生成細菌は十分に高温条件に適応できるが、フロビオン酸分解細菌は適応しにくく、フロビオン酸の分解は高温で律速となり易いことが明らかになった。

謝辞

本研究は長岡技術科学大学技術開発センタープロジェクト(プロジェクトリーダー：原田秀樹)として(株)コマツとの共同研究で行ったものである。ここに記して関係者各位に感謝いたします。

参考文献

- 1) 原田秀樹、『微生物固定化法による排水処理』(須藤隆一編)、「第7章スラッジブランケット(UASB)法」、産業用水調査会、220-280、1988。
- 2) 南清司、高温菌による高速メタン発酵の研究、環境技術、16、480-485、1987。
- 3) 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。
- 4) Wiegant, W.M. and Lettinga, G., Thermophilic anaerobic digestion of sugars in upflow anaerobic sludgeblanket reactors, Biotechnol. and Bioeng., 27, 1603-1607, 1985。
- 5) Wiegant, W.M., Claassen, J.A. and Lettinga, G., Thermophilic anaerobic digestion of high strength wastewaters, Biotechnol. and Bioeng., 27, 1374-1381, 1985。

- 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) 下水試験方法 1984 年度版、社団法人、日本下水道協会
- 8) Wiegant, W.M. and de Man, A.W.A., Granulation of biomass in thermophilic upflow anaerobic sludge blanket reactors treating acidified wastewaters, *Biotech. Bioeng.*, 28, 718-727, 1986.
- 9) Rimkus, R.R., Ryan, J.M. and Cook, E.J., Full-scale thermophilic digestion at the West-southwest sewage treatment works, Chicago, Illinois, *J. Wat. Poll. Con. Fed.*, 54, 1447-1457, 1982.
- 10) 上村繁樹、原田秀樹、高温 UASB 反応器で形成された自己造粒汚泥の構造のおよび生物学的特性、衛生工学論文集、第30巻、P.39-49、1993.
- 11) Lettinga, G. van Velsen, A.F. Hobma, S.W. *et al.*, Use of upflow sludge blanket (UASB) reactor concept for biological wastewater treatment especially for anaerobic treatment, *Biotechnol. and Bioeng.*, 22, 699-734, 1980.
- 12) Kamagata, Y. and Mikami, E., Some characteristics of two morphotypes of *Methanothrix soehngenii* from mesophilic anaerobic digesters, *J. Ferment. Bioeng.*, 70, 272-274, 1990.
- 13) Uemura, S. and Harada, H., Microbial characteristics of methanogenic sludge consortia developed in thermophilic UASB reactors, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 39, 654-660, 1993.
- 14) 古賀洋介、古細菌、財団法人、東京大学出版会、1988.
- 15) Jules B. van Lier *et al.*, Start-up of a thermophilic upflow sludge bed (UASB) reactor with mesophilic granular sludge, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 37, 130-135, 1992.
- 16) Visser, A., Nozhevnikova, A.N. and Lettinga, G., Sulphide inhibition of methanogenic activity at various pH levels at 55 °C, *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, 57, 9-13, 1993.