

(21) 高温UASBリアクターによるアルコール蒸留廃水
処理特性と保持微生物群の生態学的挙動

**Thermophilic treatment of an alcohol distillery wastewater by UASB reactor
inoculated with mesophilically-grown granular sludge**

珠坪一晃、原田秀樹、鈴木宏誌、桃井清至、大橋晶良

Kazuaki SYUTSUBO*, Hideki HARADA*, Hiroshi SUZUKI**, Kiyoshi MOMONOI*, Akiyoshi OHASHI*

ABSTRACT; In order to investigate the performance of thermophilic UASB reactor and the behavior of methanogenic activities of the retained sludge, a laboratory-scale UASB reactor was operated at 55°C over 8 months by feeding with an alcohol distillery wastewater. The reactor was inoculated with granular sludge grown on a carbohydrate (fruit juice) wastewater under a mesophilic condition (35°C).

The maximum COD loading achieved was 30 kgCOD/m³/d, corresponding to a HRT of 7.2 h for influent strength of 9000mgCOD/ℓ, with a COD removal efficiency of around 85%. During a period of COD loading of 30 kgCOD/m³/d, propionate and acetate accumulated in the effluent up to about 300-600mgCOD/ℓ and 100 mgCOD/ℓ, respectively. Although the settleability of the retained sludge deteriorated from the initial SVI (based on VSS) of 25mℓ/gVSS to 52 during the first 80 days, its value gradually improved finally to 21 due to a significant proliferation of thermophilic methanogens.

Thermophilic cultivation caused a drastic shift in temperature dependence of methanogenic activities of the retained sludge. On the day 202, acetate- and hydrogen-utilizing methanogenic activities exhibited their optimum values at 65°C, while that of propionate-fed methanogenic activity occurred at 55°C. Comparing in methanogenic activities at 55°C between the retained sludge and the seed sludge, acetate-fed activity increased finally by 4.4 times, propionate-fed activity by 4.6 times, and hydrogen-fed activity by 3.5 times. Fairly lower value of propionate-fed methanogenic activity, i.e., only 1/5 of acetate-fed activity and furthermore only 1/23 of hydrogen-fed activity, suggested that the propionate degradation is subject to be a rate-limiting step in thermophilic condition.

KEY WORDS ; Thermophilic anaerobic treatment, Alcohol distillery wastewater, UASB process, granulation,

Methanogenic activity, Temperature dependency

1. はじめに

近年UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) 法による嫌気性廃水処理は、欧米諸国のみならず、わが国においても広く普及を重ねている。現在のところ、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⁾。しかしながら、UASB法の多くは中温度域(30~40°C)の廃水処理に対するものであり、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、高温温度域におけ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。

既報²⁾では、供給廃水として合成基質(2000~8000mgCOD/ℓ: 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、植種汚泥として高温消化下水汚泥を用いた高温UASBリアクターのスタートアップ実験結果について報告した。最終的に約300日の運転期間で容積負荷45 kgCOD/m³/d (COD除去率85~95%)を達成し、高温グラニュール汚泥の形成に成功した。しかしながら、運転期間初期において、汚泥の沈降性

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

** 森永エンジニアリング(株) (Morinaga Engineering co., Ltd.)

が著しく悪化し、リアクターからのウオッシュアウトが生じたため、適切な負荷条件を与えることが難しく、グラニュールの形成に200日以上を要した。

そこで本研究では、高温UASBプロセスの適用可能性をより詳細に検討するため、①供給廃水としてアルコール蒸留実廃水を用い、②スタートアップの短縮化を図るために種汚泥として沈降性に優れた中温グラニュール汚泥を用いて、高温UASBのスタートアップ実験を行った。

本研究では、以下の項目に関する検討に重点を置いた：①スタートアップ期間におけるCOD除去特性、メタン発酵特性の把握、②スタートアップ期間における汚泥ウオッシュ・アウト量と保持汚泥量の把握およびグラニュールの物理的性状（SVI、平均粒径）の推移、③中温培養グラニュールから高温培養グラニュールへの菌叢構造の動態をメタン生成活性の温度依存性推移から把握、④SEM、蛍光顕微鏡による高温培養グラニュールの形態学的キャラクタリゼーション。

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、カラムの周りに装備したウォ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。恒温水の温度制御は、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ることにより行った。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部にはスクムブレイカーを設置し、10分間隔で3分間60rpmで作動させた。反応器からの生成バイオガスは、硫化水素を含むため、鉄ペ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。

2. 2 供給廃水

連続実験には、アルコール蒸留廃水原液（COD_{cr}=420 000mg/ℓ）を水道水で希釈し、SS成分を沈降分離した上澄み液をCOD_{cr}3 000mg/ℓに調整し、無機栄養塩類

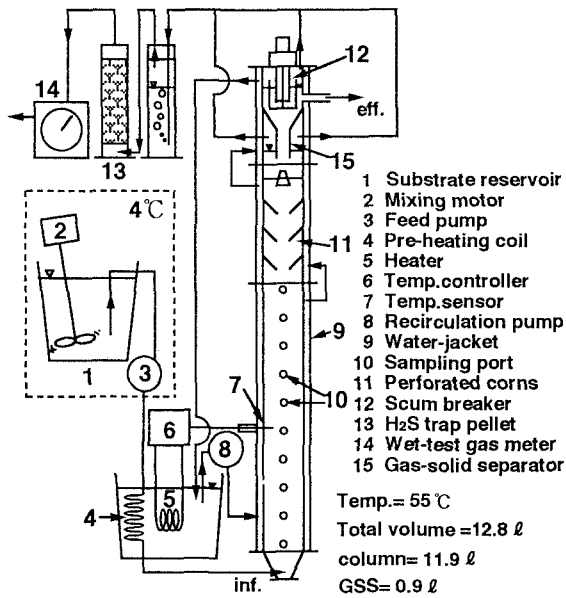


Fig.1 Experimental setup of the thermophilic UASB reactor.

Table 1 Chemical composition of the feed solution.

(Unit : mg/ℓ)

Alcohol distillery waste water	3000 (as COD)	Mineral solution	
MgCl ₂ ·6H ₂ O	40	FeSO ₄ ·7H ₂ O	7000
CaCl ₂ ·2H ₂ O	100	CoCl ₂ ·2H ₂ O	170
KCl	30	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	150
KH ₂ PO ₄	100	H ₃ BO ₃	60
NH ₄ Cl	110	MnCl ₂ ·4H ₂ O	420
NaHCO ₃	3000	NiCl ₂ ·6H ₂ O	40
Mineral solution	1.0 ml/ℓ	CuCl ₂ ·2H ₂ O	27
		Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	25

を添加したものを用いた。流入COD_{Cr}(以降CODは、COD_{Cr}を示す)濃度は、連続実験期間中3 000、6 000、9 000mgCOD/ℓの3段階に設定した。Table 1に流入COD濃度3 000mg/ℓ時の供給廃水組成を示した。なお、無機栄養塩類の添加濃度は全実験期間を通じて一定とした。無機栄養塩類添加時の廃水のCOD:N:P比は、100:2.78:2.26であり、COD/SO₄²⁻比は約120であった(流入COD3 000mg/ℓ時)。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2、3倍に増加させる方法も採った。廃水貯留タンクは、廃水の変質(酸敗化)を防ぐために4℃恒温室内に設置し、常時緩速攪拌を行った。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、ステンレス製のコイル(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、フルーツ・ジュース廃水処理UASBリアクター(運転温度:35℃、流入基質濃度:4000mgCOD/ℓ、COD容積負荷:8.5 kgCOD/m³/d、COD除去率:95%)より採取した中温グラニュール汚泥を用いた。中温グラニュール汚泥を246gVSS(VSS/SS=0.92、SVI=25 mL/gVSS、19.2 gVSS/ℓ-reactor)反応器内に投入し、数時間静置させた後に55℃で廃水の供給を開始した。

2. 4 メタン生成活性試験

メタン生成活性は、植種汚泥、運転開始後57日目(4 kgCOD/m³/d)、135日目(22 kgCOD/m³/d)、202日目(30 kgCOD/m³/d)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。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, MgCl₂·6H₂O, CaCl₂, FeCl₂·4H₂O)を含むリン酸緩衝液(バイアル内最終濃度25mM)とリアクター(port NO.3、高さ24cm)から採取したグラニュール汚泥(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、気相部を窒素ガスでパージし、レサズリン(バイアル内最終濃度1mg/ℓ)、還元剤(Na₂S·9H₂O、バイアル内最終濃度250mg/ℓ)を加えた。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、12～15時間(水素基質については、5～8時間)の試験時間中にバイアル内の気相部に蓄積するメタン量を、経時的に5～7点測定する事により活性を求めた。なお、バイアル液相部の初発COD濃度は2000mgCOD/ℓとした。

2. 5 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、サンプリング後100mMカコジル酸バッファーで洗浄を行った。続いて2.5%グルタルアルデヒドで固定した後、エタノールシリーズで脱水し、酢酸イソアミル溶液で置換した。必要によって試料(グラニュール)の切断を行った後、臨界点乾燥および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.3(高さ24cm)から採取したグラニュール汚泥を、窒素気流下でステンレスナイフにより厚さ約0.2mm程度に均一にスライスしたものについて行った。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. 6 分析方法

CODの測定は、あらかじめ硫化物除去のために適量の硫酸を添加し、窒素ガスパージを施したサンプルについて行った。CODの測定方法は、下水試験方法(1984年度版)³⁾によった。発生バイオガスの組成は、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 60/80mesh、Carrier gas: nitrogen) によった。

SVIの測定は、25℃恒温室内でリアクターポートNO.3 (高さ24cm) より採取した汚泥サンプルを、 SV_{30} が30%以下になるように希釈して行った。なお、SVIはVSS濃度を基準として算定し($ml/gVSS$)、以降SVI'と表す。保持汚泥の粒径の測定は、グラニューールをペトリ皿上に広げたものを実体顕微鏡により写真撮影し、その写真を画像解析することによって行った。また、保持汚泥の平均粒径は、300個以上のグラニューール粒径を個数基準で平均することによって求めた。

3. 実験結果及び考察

3. 1 アルコール蒸留廃水処理状況

Fig.2にアルコール蒸留廃水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はリアクター全カラム容積(12.8ℓ)を基準算定した。容積負荷の上昇は、処理水中の酢酸濃度200mgCOD/ℓ以下、COD除去率80%以上が安定的に達成されていることを確認したうえで、HRTの短縮と廃水濃度の上昇によって段階的に行った。負荷の上昇は、運転開始時から11 kgCOD/m³/d時まででは、HRTの短縮によって行ったが、15 kgCOD/m³/dから22 kgCOD/m³/d、22 kgCOD/m³/dから30 kgCOD/m³/dへの負荷上昇は、供給廃水濃度の増加によって行った。

COD容積負荷は、1 kgCOD/m³/dから段階的に上昇させ、運転開始後173日目には30 kgCOD/m³/dに達した。この時のCOD汚泥負荷は、約0.8 gCOD/gVSS/dであった。この間HRTは、約64時間から4.8時間(容積負荷15 kgCOD/m³/d時)にまで短縮された。容積負荷15 kgCOD/m³/d時には、流入廃水と発生バイオガスによる上昇線流速は、カラム部で0.86m/h、GSS部への入り口部では5.4m/hに達しており、保持汚泥のウォッシュ・アウト量を低減する目的で、それ以降はHRTを7.2時間にまで延長させ、流入廃水濃度の増加により負荷の上昇

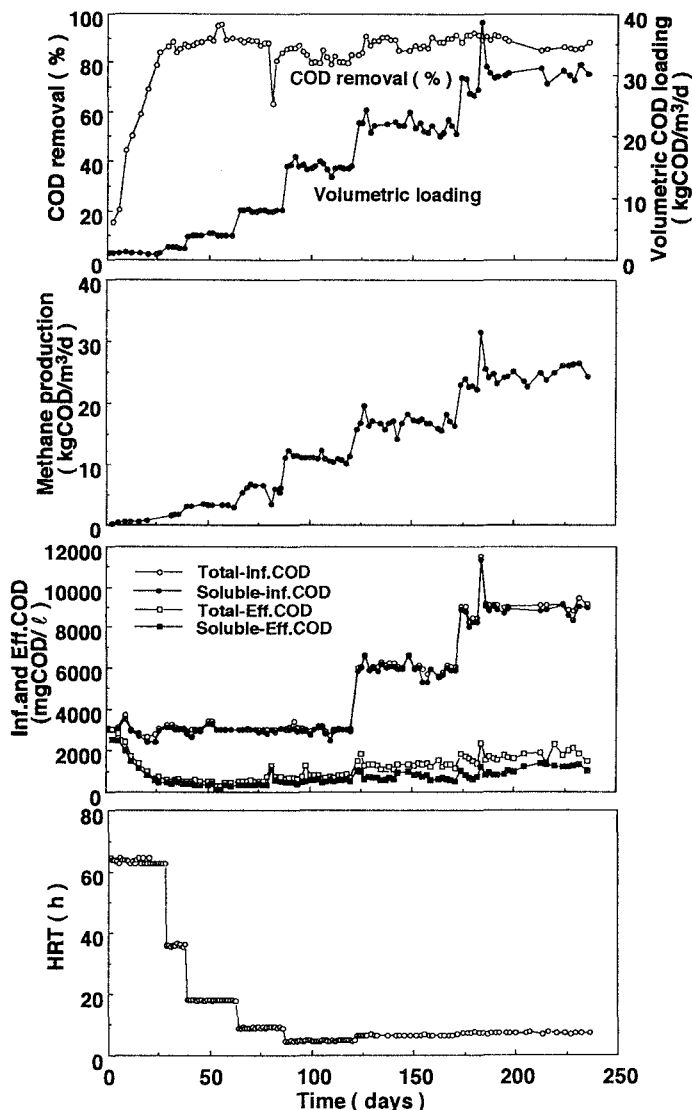


Fig.2 Process performance of thermophilic UASB reactor treating alcohol distillery waste water at 55°C.

Volumetric loading rate and HRT are based on the total reactor volume including GSS.

を行った。COD除去率は、運転開始後から徐々に上昇し約1ヶ月で85%に達した。その後は容積負荷の上昇によっても除去率は極端に低下することなく、常時80~90%と良好な処理性能を示した。しかしながら、アルコール蒸留廃水中の色度成分が難分解性であるため、流入COD濃度3 000 mgCOD/ℓに対して300~400mgCOD/ℓ程度の溶解性CODがどうしても残存するという傾向を示した。

また、実験期間を通じて良好なメタンガ

スの生成が行われ、負荷の上昇に伴って増加する傾向を示した。容積負荷30kgCOD/m³/d時の流入CODに対するメタン生成割合は、81.7% (標準偏差±3.7%)、同流出溶解性CODは10.3% (標準偏差±1.8%)であり、残り8%程度が増殖に利用されたと考えられる。流出COD濃度は、実験期間を通じて低いレベルで維持されたが、容積負荷22 kgCOD/m³/d以降、流出全COD濃度 (流出VSSを含む) と流出溶解性成分COD濃度の差が大きくなる傾向を示した。これは、負荷上昇に伴う発生バイオガスの増大により、保持汚泥のウォッシュ・アウトが生じたためである。Fig.3に流出VFA濃度の経日変化を示した。流出VFA濃度は、COD除去と同様に運転の継続に伴って徐々に低下し、運転開始後約1カ月で酢酸、プロピオン酸ともに50mgCOD/ℓ前後で安定した。容積負荷15 kgCOD/m³/day時までは、負荷の上昇によってもVFAが蓄積することなく、酢酸、プロピオン酸ともに100mgCOD/ℓ前後で安定した処理が行われた (ただし運転80日目付近の突発的なプロピオン酸蓄積は、温度コントロールユニットのトラブルによるものである)。しかしながら、容積負荷22kgCOD/m³/d以降は徐々にVFAの蓄積が確認され始め、容積負荷30kgCOD/m³/d時には、酢酸で約100mgCOD/ℓ、プロピオン酸で300~600mgCOD/ℓ程度の酸が蓄積した。一般に高温嫌気性消化では、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.*⁴⁾)。この現象は、高温UASB法による廃水処理においても観察されており²⁾⁵⁾⁶⁾⁷⁾、本実験系においても高負荷運転時にはプロピオン酸の分解が律速になりやすいことが確認された。

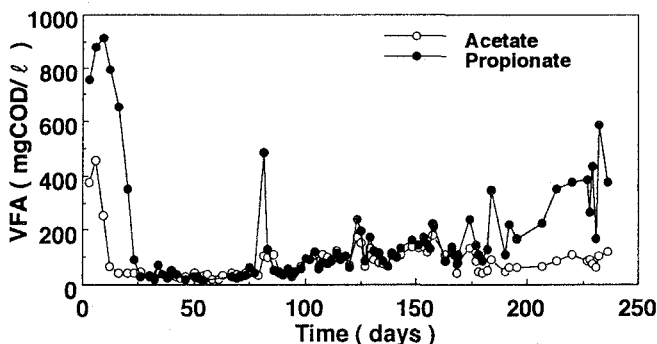


Fig. 3 Changes in effluent VFA concentration.

3. 2 グラニュレーションの進行とその影響因子

Fig.4に上昇線流速の経日変化を、Fig.5に流出VSS濃度の経日変化を示した。上昇線流速は、反応器カラム部 (ID=10cm) における流入廃水による値 (液線速度)、生成バイオガスによる値 (ガス線速度) および両方の和 (全線速度) を示した。また、Fig.5中にCOD除去率を85%、増殖収率 (Y_g) を0.08 gCOD-Cell・gCOD-removed⁻¹と仮定した時の各廃水濃度条件下における許容流出VSS濃度 (増殖菌体が反応器内に保持可能な流出VSSの上限値) の変化を示した。上昇線流速は生成バイオガスによるものが大部分を占めており、負荷の上昇に伴って段階的に増加した。流出VSS濃度は、運転開始直後は200~600mgVSS/ℓであり、激しい汚泥の流出が生じたが、運転開始後16日目以降では50mgVSS/ℓ前後に落ちついた。容積負荷15kgCOD/m³/d時 (運転開始後86日目) までは、負荷の上昇直後に流出VSSの増加が観察されるが、その後は30~100mgVSS/ℓ前後で安定し、許容流出濃度以下での運転が可能であった。容積負荷15kgCOD/m³/d時

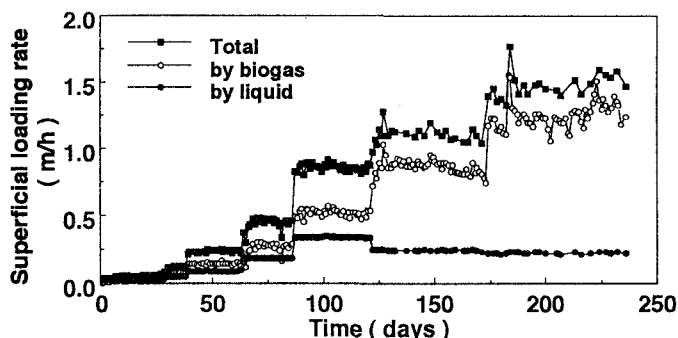


Fig.4 Changes in superficial loading rate.

の全上昇流速は約0.86m/hであり、
 そのうち生成バイオガスによるものは約60%程度であった。容積負荷 22 kgCOD/m³/d以降、負荷の上昇に伴う生成バイオガスによる上昇流速の増大により、処理水の流出VSS濃度は300~600mgVSS/ℓにまで増加し、許容流出VSS濃度をしばしば上回ることがあった。その後、容積負荷 30kgCOD/m³/d 時には、沈降性に優れた良好な高温グラニュール汚泥の形成が進行したことにより (Fig.6参照)、流出VSS濃度は200~400mgVSS/ℓ程

度にまで低下した。その結果、容積負荷 30kgCOD/m³/d におけるリアクターの安定的な運転 (反応器内への汚泥保持) が可能であった。この時の全上昇流速は約1.46m/hに達しており、そのうち生成バイオガスによる線流速は1.24m/hと全線流速の約85%を占めていた (容積負荷30kgCOD/m³/d 時)。流入廃水と生成バイオガスによる攪拌作用は、沈降性に優れた汚泥の反応器内への選択的保持、グラニュール形成に非常に重要なファクターであると考えられているが⁵⁾⁹⁾、その一方で高負荷運転による過大なガス生成は、保持汚泥の激しい流出を招くことが明らかになった。

Fig.6にSVI' (VSS基準値) と保持汚泥の平均粒径の経日変化を示す。SVI'及び平均粒径は、リアクターポートNO.3 (高さ24cm) から採取した汚泥について測定した。植種汚泥のSVI'は、25 ml/gVSS程度であったが、運転開始後77日目頃までは徐々に上昇し (52ml/gVSS)、汚泥の沈降性は悪化する傾向にあった。その後、汚泥の沈降性は徐々に向上し、最終的に非常に沈降性の優れた (SVI'=21ml/gVSS、224日目) 高温グラニュール汚泥が形成された。保持汚泥の平均粒径は、植種時には約1.16mmであったが、培養温度の変化によって保持汚泥の崩壊が生じたことにより、運転開始後105日目頃までは徐々に減少 (0.96mm)する傾向にあった。運転開始後105日目以降は、保持汚泥への高温嫌気性菌の集積が活発に行われたことにより、汚泥粒径は増加に転じ最終的に約1.16mm (224日目) に達した。以上のように植種された中温グラニュール汚泥は、高温UASBリアクターのスタートアップ初期において、温度環境の変化により一部が崩壊し粒径の減少や沈降性の悪化を招くが、運転開始後約100日目以降は、保持汚泥への高温嫌気性菌の集積が急速に展開することにより、沈降性に優れた高温グラニュールが形成されることが明らかになっ

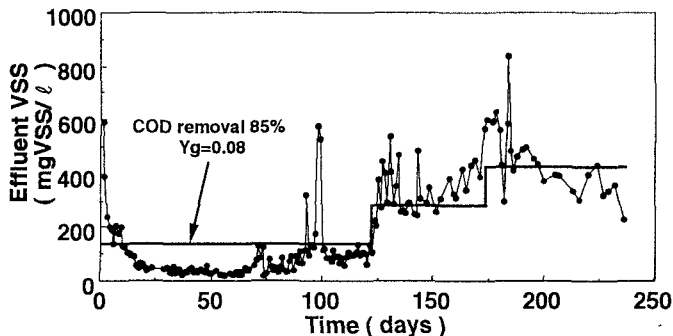


Fig.5 Changes in effluent VSS concentration.

The solid line represents the critical level of VSS washout, calculated with assumptions of COD removal=85% and $Y_g=0.08 \text{ gCOD} \cdot \text{Cell} \cdot \text{gCOD-removed}^{-1}$

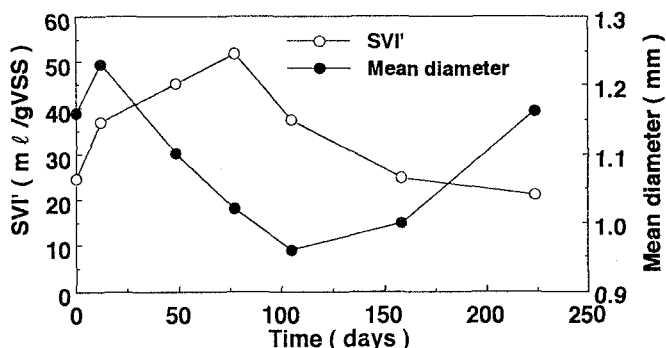


Fig.6 Changes in SVI' (based on VSS) and mean diameter of the retained sludge (port NO.3 = 24cm).

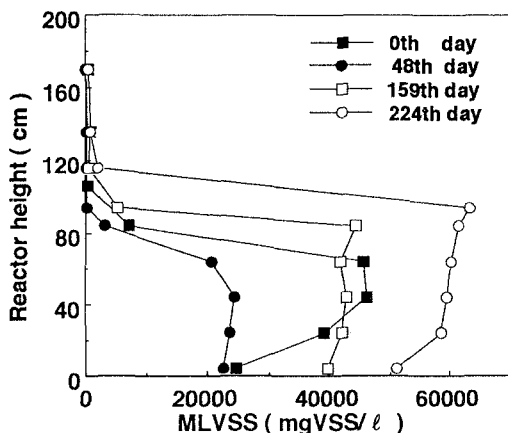


Fig.7 Profiles of MLVSS concentration.

た。Fig.7に反応器高さ方向の保持汚泥濃度プロファイルの経日変化を示した。反応器高さ方向の保持汚泥濃度は、スタートアップ直後から汚泥の崩壊が起こり沈降性が悪化したことと、良好なCOD除去能発現までに約1ヶ月を要したことにより、汚泥のウォッシュ・アウト量が増殖量を上回り、運転開始後48日目には一時的に約23 000mgVSS/ℓにまで低下した。その後、順調に負荷の上昇が行えたこと、沈降性に優れた高温グラニューール汚泥が形成されたことなどにより、保持汚泥濃度は運転の継続に伴って徐々に増加し、最終的に約60 000 mgVSS/ℓに達した(224日目)。

3. 3 反応器保持微生物の中温菌から高温菌へのポピュレーションシフト

Fig.8に連続運転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.8(a))、 H_2 : CO_2 (Fig.8(b))、プロピオン酸(Fig.8(c))の各基質を供給し、25℃から75℃の範囲で5～6点の温度条件下で測定した。また活性値の測定は、全ての測定点においてduplicateで行っており、図中に標準偏差を示した(ほとんどの点において標準偏差が小さく、シンボルに隠れて見えなくなっている)。

(1) 酢酸基質からのメタン生成活性(Fig.8(a))

酢酸からのメタン生成活性は、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。植種汚泥は、37～45℃の中温度域で最大活性を示したのに対し、運転開始後57日目では反応器運転温度の55℃に活性のピークがシフトし、活性値も運転開始時とほぼ同じにまで回復した。その後135日目では60℃に、202日目の測定ではそれまでほとんど活性のなかった65℃にピークがシフトした。また、最大活性値も運転の継続に伴って徐々に増加し、202日目の65℃では1.54gCOD/gVSS/dにまで達した。これは、植種汚泥の最大活性(45℃)の約2.6倍に相当する。上村、原田⁷⁾⁸⁾やLier J. B. van¹⁰⁾の実験においても、高温UASリアクター培養汚泥の酢酸からのメタン生成活性(酢酸消費活性)は65℃で最大値を示している。高温酢酸資化性メタン生成細菌の最適温度は、*Methanosarcina*が50～58℃の範囲にあるのに対して*Methanoxthrix*はそれよりも若干高い55～65℃であることが報告されている¹¹⁾¹²⁾。つまり本研究では、実験前期には

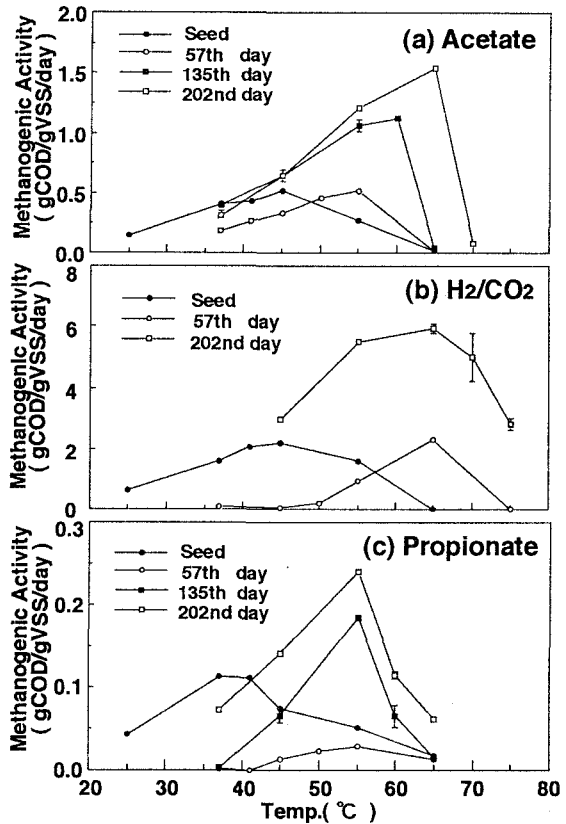


Fig.8 Temperature dependency of methanogenic activities of the retained sludge at different cultivation days. Vial-test substrate: (a) acetate, (b) H_2/CO_2 , (c) propionate. Each vial-test was conducted in duplicate. Bars show standard deviation, and data-points with no appearance of bar signify the magnitudes of SD are negligibly small.

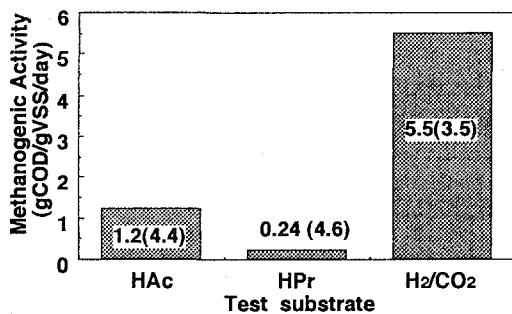


Fig.9 Methanogenic activity at 55°C on 202nd day. Figures in brackets indicate increment magnification compared with the seed sludge at 55°C. Comparison of methanogenic activity of the 202-day sludge at 55°C between different vial-test substrates (HAc: acetate, HPr: propionate, H_2/CO_2 : hydrogen)

Methanothrix と *Methanosarcina* の両酢酸資化性メタン生成細菌の活性が維持されうる55℃付近で最大活性を示し、その後 *Methanothrix* の保持汚泥への集積が優先的に行われたことから、活性の増加を伴いつつ、次第にピークが高温側（65℃）へとシフトしたものと推測される。

(2) 水素基質からのメタン生成活性 (Fig.8(b))

水素基質からのメタン生成活性は、運転開始時には40～45℃にピークが存在したが、運転開始後57日目の時点で既に65℃へとシフトが完了しており、活性値も2.3gCOD/gVSS/dと植種汚泥を上回る活性値を示した。その後、運転の継続に伴い最大活性値は増加し、202日目の時点で5.9gCOD/gVSS/d（65℃）に達した。一般に高温性の代表的水素資化性メタン生成細菌である、*Methanobacterium thermoautotrophicum* は、その至適温度が65～70℃と非常に高いことが報告されている¹³⁾。また、*thermoautotrophicum* は高温グラニュール中でも優占菌となり易く⁸⁾¹⁰⁾、既報²⁾においても、水素からのメタン生成活性は試験温度の上昇に伴って増加し、65℃で最大値を示した。以上の結果より、本実験系でも*thermoautotrophicum* が優勢メタン菌種（水素資化性）となったため、65℃付近で最大活性値を示す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.8(c))

プロピオン酸からのメタン生成活性は、植種汚泥では37～41℃付近で最大値を示したが、運転開始後57日目の時点で55℃にピークがシフトし、それ以降、至適温度は変化しなかった。運転開始後57日目の最大活性値（55℃）は、植種時の約1/4にまで低下した。その後、運転の継続に伴って活性値は徐々に増加し、最終的に0.24gCOD/gVSS/d（55℃）に達した。酢酸、水素基質では約2ヶ月の培養期間で最大活性値は、植種汚泥とほぼ同程度にまで上昇したのに対し、プロピオン酸基質では活性値が1/4（57日目）程度にまで低下したことから、プロピオン酸分解細菌（Acetogenic 菌）が高温度条件に適応するには、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。

Fig.9 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。各基質条件下での55℃におけるメタン生成活性（202日目）は、プロピオン酸基質の活性値を基準に考えると、酢酸基質では約5倍、水素基質では約23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。また、最終的な55℃における活性増加率は、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。

3. 4 保持汚泥の構造的変化

Fig.10 に植種に用いたジュース廃水処理中温グラニュール汚泥 (Fig.10A(1)～10A(3))、及び最終的に形成された高温グラニュール汚泥 (Fig.10B(1)～10B(3)) のSEMによる観察結果を示した。(1)にはグラニュール断面の全体像を、(2)にはグラニュールの表面構造を、(3)にはグラニュール中心部付近の観察結果を示した。Fig.10A(1)に植種に用いた中温グラニュールの断面の観察結果を示す。表面近傍では菌体の集積により、非常に高密度な構造を獲得していることが確認できる。中温グラニュール表面では、球菌や短桿菌が優占菌種となっており、存在率は少ないが *Methanothrix* 様の桿菌の存在も確認出来た (Fig.10A(2))。Fig.10A(3)に中温グラニュール汚泥の中心部付近の観察結果を示した。この部分では、短桿菌や球菌などが優占菌種となっており、菌の周辺には綿状のポリマー様の物質の存在も確認できる。Fig.10B(1)に高温グラニュール汚泥断面の全体像、Fig.10B(2)に高温グラニュールの表面構造の観察結果を示す。高温グラニュール表面近傍では、中温グラニュール表面 (Fig.10A(2)) で観察された短桿菌、球菌、*Methanothrix* が混在する層の上に、ロングフィラメント状のほぼ *Methanothrix* のみからなる層が新たに形成されていることが確認できる。高温グラニュール汚泥表面で観察された糸状増殖の *Methanothrix* の層は、運転開始後100日目以降から徐々に形成されてきており、保持汚泥の平均粒径も運転開始後100日目以降に増加に転じている (Fig.6 参照)。Fig.10B(3)には、高温グラニュール汚泥中

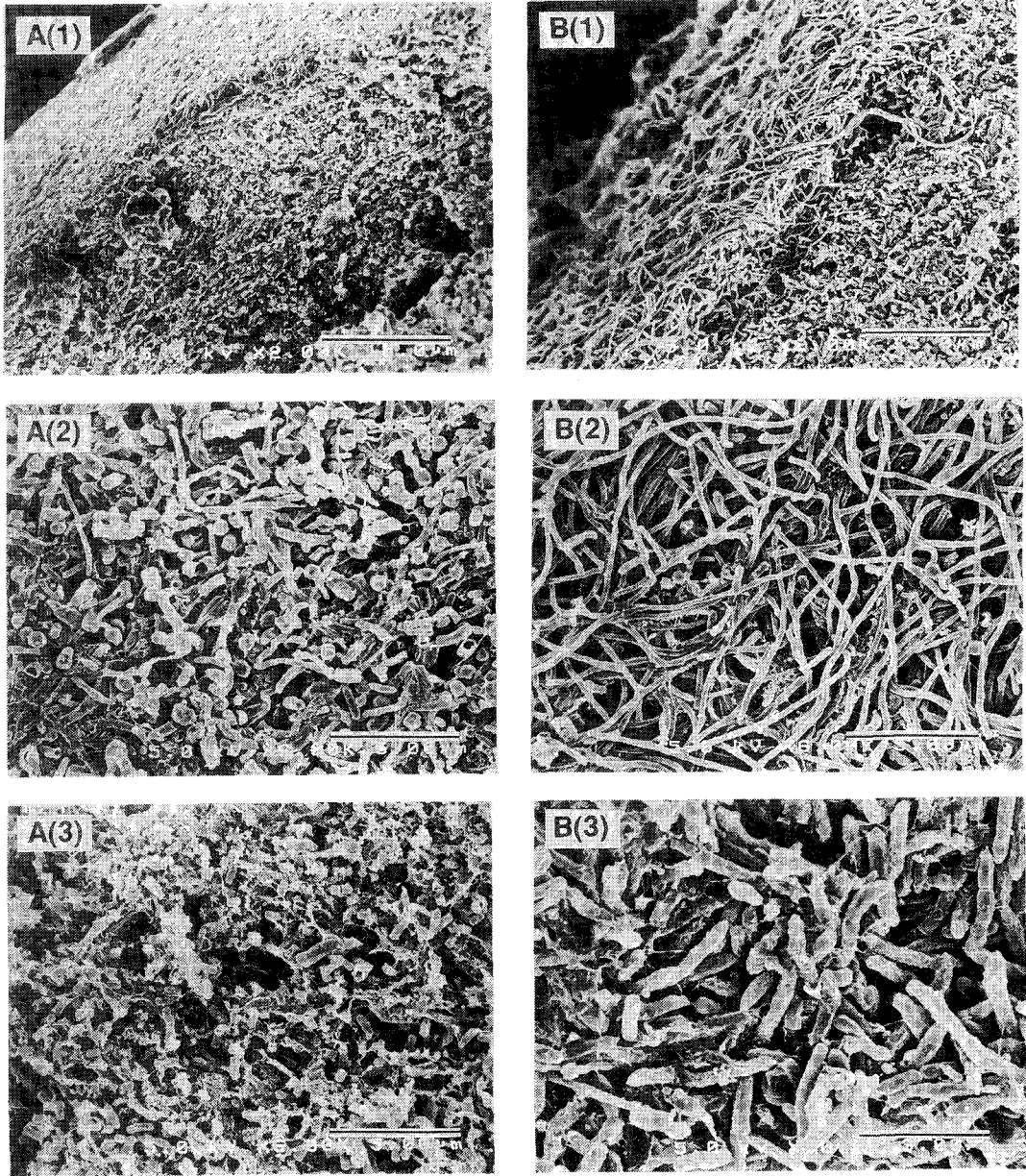


Fig.10 Scanning electron micrographs of the granular sludge.

A : The seed granular sludge grown under a mesophilic condition (35 °C) on a carbohydrate (fruit juice) wastewater.

B : Thermophilically-grown granular sludge developed in the UASB reactor treating alcohol distillery waste.

- (1) : Cross sectional view of the granular sludge (bar length : 15 μ m) ,
- (2) : The outer surface structure of granular sludge (bar length : 5 μ m) ,
- (3) : Interior (middle part) structure of granular sludge, (bar length :A=5 μ m :B= 3 μ m) .

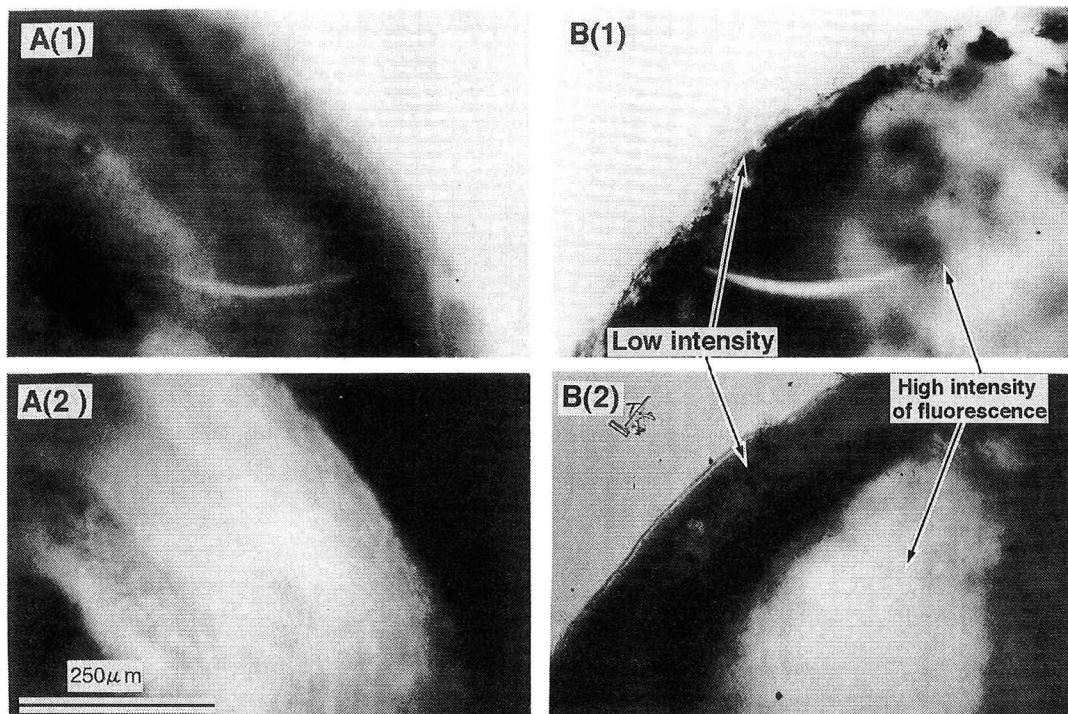


Fig.11 Optical microscopic observations of the exterior part of granular sludge.

A : The seed granular sludge (mesophilically-grown).

B : Thermophilically-grown granular sludge (after 230 days).

Each upper-lower pair illustrates an identical field under (1) phase contrast , and (2) fluorescence.

心部分の観察結果を示す。この部分は、ほとんど全部が水素資化性メタン生成細菌である*Methanobacterium*様の短桿菌によって占められており、グラニュール内部においても中温菌から高温菌へのポピュレーションシフトが行われたことが明らかになった。以上の観察結果より植種された中温グラニュール汚泥は、温度環境の変化によりその一部は崩壊し粒径の減少を招くが（Fig.6 参照）、高温菌増殖のための担体の役割を果たし、グラニュール表面及び内部において高温菌が集積することによって、沈降性に優れた良好な高温グラニュール汚泥が形成されることが明らかになった。

Fig.11 に植種に用いた中温グラニュール汚泥（Fig.11A）及び高温グラニュール汚泥（Fig.11B）の断面の落射蛍光顕微鏡による観察結果を示す（(1)：通常観察、(2)：蛍光観察）。中温グラニュール汚泥では全体にわたって蛍光が存在しており、外側が最も明るく中心部に行くに従って徐々に蛍光が弱まる傾向を示した（Fig.11A(2)）。また、グラニュール中心部においてはほとんど蛍光が存在しなかった。一般的に*Methanobacterium* 属、*Methanosarcina* 属のメタン菌は補酵素 F_{420} を多く含み、蛍光顕微鏡下では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⁾。 F_{420} はメタン生成細菌に普遍的に存在し、水素または脂肪酸を酸化する際のヒドロゲナーゼ共役因子あるいは脂肪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。また 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¹⁵⁾。このことより、グラニュールの中心部での低い蛍光強度は、基質の供給が律速となっており、*Methanobacterium* 等の菌の活性および存在率が著しく低かったためと推測される。高温グラニュール汚泥では、グラニュール表面には蛍光の弱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確認された（Fig.11B(2)）。SEMによる観察（Fig.10B(2),(3)）からも、グラニュール表面は、フィラ

メント状増殖の*Methanothrix*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ている。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。既報²⁾における人
工廃水（ショ糖、酢酸、プロピオン酸）を用いた高温UASBリアクターのスタートアップ実験においても、本
研究と同様な二重構造の高温グラニユーल汚泥が形成することによって、高負荷条件下（45kgCOD/m³/d）での運
転が可能であった。高温UASBのスタートアップでは、フィラメント状に増殖する*Methanothrix*をいかにして
増殖させ、沈降性に優れるグラニユールを形成させるかがキーポイントであると考えられる。

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リアクターによるアルコール蒸留廃水の連続処理実験を行ったところ、運転期間約180日で、
COD負荷 30 kgCOD/m³/d を許容し、常時、COD除去率80～90%の良好な処理状況を示した。しかしなが
ら、アルコール蒸留廃水中の色度成分が難分解性であるため、流入COD濃度3000mgCOD/ℓに対して300～
400mgCOD/ℓ程度の溶解性CODがどうしても残存した。流入廃水と生成バイオガスによる上昇線流速は、
沈降性に優れた汚泥の反応器内への選択的保持、グラニユール形成に重要なファクターであるが、その一方
高負荷運転による過大なガス生成は、保持汚泥のウォッシュ・アウト（プロセスの破綻）を招きうることが
分かった。
2. 植種された中温グラニユール汚泥は、温度環境の変化によりその一部は崩壊し粒径の減少を招くが、高温
菌増殖のための担体の役割を果たし、グラニユール表面及び内部において中温菌から高温菌へのポピュレー
ションシフトが生じることによって、沈降性に優れた良好な高温グラニユール汚泥が形成されることが明ら
かになった。既報²⁾では、高温消化汚泥を種汚泥として高温UASBのスタートアップを行いグラニユー
ルの形成までに200日以上を要しているのに対し、本実験系では、良好な高温グラニユールの形成に要した時間
は100日程度と約半分に短縮され、中温グラニユール汚泥の高温UASBへの植種の有効性が示された。
3. 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（メタン生成細菌）では65℃、プロピオン酸基質（Acetogenic菌）では55℃とそれぞれのトロフィッ
クグループで異なる傾向を示した。運転開始後202日目には、55℃におけるメタン生成活性値は、植種汚泥
と比較して全ての基質において3.5～4.5倍増加し、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ことが明らかになった。また、各基質条件下での55℃におけるメタン生成活性（202日目
）は、プロピオン酸基質の活性値を基準に考えると、酢酸基質では約5倍、水素基質では約23倍大きな活性値
を示しており、本実験系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。

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(UAB)法」、産業用水調査会、220-280、1988.
- 2) 珠坪一晃、原田秀樹、曾怡禎、桃井清至、高温UASBリアクター保持汚泥のグラニュ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、衛生工学研究論文集、第31巻、P.57-67、1994.
- 3) 下水試験方法 1984 年度版、社団法人、日本下水道協会
- 4) Rimkus, R.R., Ryan, J.M. and Cook, E.J., Full-scale thermophilic digestion at the West-south west sewage treatment works, Chicago, Illinois, J. Wat. Poll. Con. Fed., 54, 1447-1457, 1982.
- 5) Wiegant, W.M. and Lettinga, G., Thermophilic anaerobic digestion of sugars in upflow anaerobic sludge blanket reactors, Biotechnol. and Bioeng., 27, 1603-1607, 1985.
- 6) Wiegant, W.M., Claassen, J. A. and Lettinga, G., Thermophilic anaerobic digestion of high strength wastewaters, Biotechnol. and Bioeng., 27, 1374-1381, 1985.
- 7) Uemura, S., Harada, H., Inorganic composition and microbial characteristics of methanogenic granular sludge grown in thermophilic upflow anaerobic sludge blanket reactor, Appl. Microbiol. Biotechnol., 43, 358-364, 1995.
- 8) Uemura, S., Harada, H., Microbial characteristics of methanogenic sludge consortia developed in thermophilic UASB reactors, Appl. Microbiol. Biotechnol., 39, 654-660, 1993.
- 9) Hulshoff Pol, L.W., de Zeeuw, W. J., Velzeboer, C. T. M. and Lettinga, G., Granulation in UASB-Reactors, Wat. Sci. Tech., 15, 291-304, 1983.
- 10) Lier, J. B. van et al., Start-up of a thermophilic upflow sludge bed (UASB) reactor with mesophilic granular sludge, Appl. Microbiol. Biotechnol., 37, 130-135, 1992.
- 11) Zinder, S. H., Anguish, T., Cardwell, C., Effects of temperature on methanogenesis in a thermophilic (58°C) anaerobic digester, Appl. Environ. Microbiol., 47, 808-813, 1984.
- 12) Zinder, S. H., Cardwell, S. C., Anguish, T., Lee, M. and Koch, M., Methanogenesis in a thermophilic anaerobic digester: *Methanotherix* sp. as an important acetoclastic methanogen, Appl. Environ. Microbiol., 47, 796-807, 1984.
- 13) Balch W. E. et al., Methanogens: reevaluation of a unique biological group, Microbiol. Rev., 43, 260-296, 1979.
- 14) 古賀洋介、古細菌、財団法人 東京大学出版会、1988.
- 15) Eirich, L.D., Vogels, G.D., Wolfe, R.S., Proposed structure for coenzyme F420 from *Methanobacterium*, Biochemistry, 17, 4583-4593, 1978.