

(6) 新規の多段型高温UASBリアクターによる
高濃度脂質含有廃水の嫌気性処理特性

Thermophilic Anaerobic Treatment of a Lipid-rich Wastewater
by a Novel Multi-staged UASB Reactor

多川 正*、大橋晶良*、原田秀樹*

Tadashi TAGAWA, Akiyoshi OHASHI and Hideki HARADA

ABSTRACT; A novel multi-staged UASB (upflow anaerobic sludge blanket) reactor, which was originally developed by our research group, was applied to thermophilic treatment of a lipid-rich wastewater (dairy-milk). The reactor successfully reached a high COD loading of 35 kgCOD/m³/d after 190 days operation, giving over 90% COD removal at a HRT of only 3.4 h for the influent 5000 mgCOD/L, of which 50 % is derived from lipid. This loading rate corresponds to two to three times as large as the maximum allowable loading rate of mesophilic conventional-type UASB reactor receiving the identical wastewater (our previous result).

A severe deterioration of methane production occurred due to adsorption of LFA (long-chain fatty acids) to bacterial cell surfaces at the lower portion of sludge bed when the reactor temperature incidently dropped from 55°C to 45°C for a period of merely 12 hours. In order to clarify the mechanism of inhibitory effect of LFA adsorption, a separate vial-bottle activity test was conducted by using mesophilically-grown and thermophilically-grown granular sludge. Absorption of LFA caused more vital inhibition on the thermophilic sludge rather than the mesophilic sludge, due to cell lysis. Thermophilic acetate-utilizing methanogens were far more susceptible to LFA inhibition, compared with thermophilic hydrogen-utilizing methanogens.

KEYWORDS; Anaerobic wastewater treatment, Thermophilic UASB process, Lipid-rich wastewater, LFA inhibition, multi-staged UASB

1. はじめに

UASB（上昇流嫌気性スラッジブランケット）型反応器は、高濃度の生物保持によって高い処理能力が発揮できるため、嫌気性廃水処理技術の中核として種々の産業廃水処理に適用されてきている。これまでに建造されたフルスケールUASBプラントは、中温度域（33～38℃）もしくは無加温で運転されており、高温（55～65℃）廃水の処理に適用された例は極めて少ない¹⁾。高温培養の嫌気性微生物叢は、中温性の嫌気性微生物叢と比較して数倍高い微生物活性を持つことから、良好なグラニュー汚泥が形成されれば有機性廃水のより高速処理特性をひきだすことができる。このような観点から、われわれの研究グループは、生物保持能力に優れた新規の多段型UASB反応器を開発して、アルコール蒸留実廃水の高温（55℃）嫌気性処理に適用して、有機物容積負荷100kgCOD/m³/dを許容する超高速処理を達成した²⁾。

本研究では、この高温多段型UASBプロセスの適用廃水種の拡大を目的として、高濃度脂質含有廃水に適用して、スタート・アップ処理特性を検討した。高濃度に脂質を含有する廃水は、脂質の加水分解の際に生成される高級脂肪酸（Long-chain fatty acids: LFA）がメタン生成細菌を含む種々の細菌に阻害作用を及ぼすため、嫌気性処理プロセスの不得手とする廃水種である³⁾⁴⁾。一方、高級脂肪酸の水に対する溶解度は温度上昇に伴って大きくなることから、脂質含有廃水処理は高温メタン発酵プロセスの利点をより有効に活かせる廃水種の一つでもある。しかしながら、高温嫌気性微生物叢に対する高級脂肪酸の阻害作用に関する知見はほとんど見当たらない。そこで本研究では、高温UASBプロセスの脂質含有廃水処理特性の把握とともに、さらにバイアル活性試験によって高温性および中温性UASB嫌気性汚泥に及ぼす高級脂肪酸の阻害効果の差異を定量的に評価した。

*長岡技術科学大学 環境システム工学系

(Department of Environmental Systems Engineering, Nagaoka University of Technology)

2. 実験方法

2.1 UASBリアクター

Fig.1に本実験に用いた反応器の概要図を示した。反応器は高さ136.8cm、内径30×10cm（最大断面）の矩形である。反応器高さ方向には、15cm間隔で6つのGSS（Gas-Solid Separator）が設けられている。反応器は全容積25L（液相部）であり、容積負荷とHRTの算定はこの25Lを基準として行った。反応器内の温度は、ウオータージャケットにより55℃に制御した。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して湿式ガスメータに送り、発生ガス量の測定を行った。

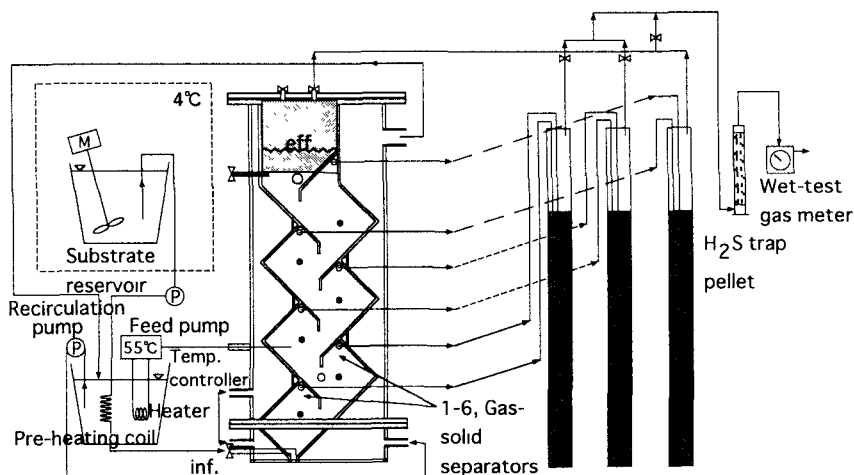


Fig.1 Experimental setup of a thermophilic multi-staged Upflow anaerobic sludge bed reactor.

2.2 供給廃水

連続実験には、牛乳原液（COD_{Cr}=200,000mgCOD/L、COD構成比=脂質：タンパク質：炭水化物 5：2：3）を水道水で希釈し、3000mgCOD/Lに調整したものを用いた。無機栄養塩類は牛乳中に豊富に含まれることから添加しなかった（Table 1）。また、流入COD_{Cr}濃度は、連続実験期間中3000、4000、5000mgCOD/Lの3段階に設定した。Table 1に牛乳の成分組成を示す。牛乳中の脂肪酸はオレイン酸（C_{18:1}）32%、パルミチン酸（C₁₆）26%、ミリスチン酸（C₁₄）10%、ステアリン酸（C₁₈）13%で、全体の80%を占めている⁵⁾。

基質貯留タンクは、基質の酸敗化を防ぐために4℃の恒温室内（反応器の隣室）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（3m）を通し、50℃前後まで上昇させてから反応器に供給した。

2.3 植種汚泥

リアクターへの植種は、3種類の異なる起源のグラニュール汚泥のコンポジットを用いた。既報⁶⁾の高温（55℃）UASB実験保持汚泥、中温（36℃）牛乳培養グラニュール汚泥、および中温（36℃）フルーツジュース培養グラニュール汚泥の3種混合汚泥（混合比（乾燥重量ベース）：高温人工廃水：中温牛乳：ジュース=10：3：7）を、758gVSS（30.32gVSS/L、VSS/SS=0.87、SVI=42.6mL/gVSS）反応器に投入し、数時間静置させた後に55℃で廃水の供給を開始した。Table 2に各植種汚泥の培養条件を示した。

Table 1 Composition of Milk wastewater used for substrate.

Component	Percentage based on weight (%)	Percentage based on COD (%)		Mineral (mg/L)	
	a	a	b	(Milk stock solution)	
Carbohydrate	4.5	27.4	25.4	Na	580
Protein	3	19.8	16.9	K	1380
Lipid	3.2	52.8	57.5	Ca	1250
Ash	0.7			Mg	120
Moisture	88.6			P	960

a.Data shown by manufacturer b:Calculated from analytical data

Table 2 Cultivation conditions of seed granular sludge.

Temp. (°C)	Sludge type	Wastewater	COD loading rate (kgCOD/m ³ /d)	COD removal (%)	CH ₄ recovery (%)
55	granule	Sucrose+VFAs	23	97	90
36	granule	fruit juice	3	80	80
36	granule	diluted milk	3	80	80

2.4 メタン生成活性試験

メタン生成活性は、植種汚泥(0日目)、44日目(4kgCOD/m³/d)、57日目(3kgCOD/m³/d)、153日目(20kgCOD/m³/d)、212日目(35kgCOD/m³/d)のポート2（高さ30cm）における保持汚泥について、55℃温度条件下で測定した。バイアル（122mℓ）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本ずつ測定を行った。試験基質には、酢酸、パルミチン酸、水素（H₂:CO₂=80:20、1.4atm）の各基質を用い、詳細な手順は既報⁶⁾に準じた。またパルミチン酸基質については初発COD濃度1000mgCOD/L、汚泥濃度は3000mgVSS/Lに設定して試験を行った。

2.5 高級脂肪酸阻害実験

一般に高温嫌気性微生物叢は、阻害性物質に対して中温嫌気性微生物叢よりもより鋭敏に応答することが経験的に知られている⁷⁾⁸⁾。そこで同一基質で培養している高温性および中温性UASBグラニュール汚泥を用いて、高級脂肪酸の阻害効果の差異をバイアル実験で評価した。供試汚泥として、シュクロース+VFA（酢酸、プロピオン酸）混合基質の同一組成人工廃水で3年以上の連続培養している高温（55℃、容積負荷23kgCOD/m³/d、COD除去率95％）、中温（35℃、容積負荷7.8kgCOD/m³/d、COD除去率97％）グラニュール汚泥について分散処理を行ったものを用いた。パルミチン酸塩と汚泥を所定の濃度比で設定し、高級脂肪酸塩の酢酸資化性メタン生成活性、水素資化性メタン生成活性への阻害効果を検討した。バイアル内の初発酢酸濃度は2000mgCOD/L、汚泥濃度は2000mgVSS/Lに統一し、試験温度は各汚泥の培養温度（55℃、35℃）で行った。また高級脂肪酸の菌体への吸着作用⁹⁾¹⁰⁾による菌体可溶化量の評価はパルミチン酸塩を所定の濃度添加して2日間振とうを行い、バイアル液相部に溶出してくる全窒素量を測定することによって行った。活性値、菌体可溶化量はパルミチン酸無添加のブランク試験値を基準とする相対値として表示した。また菌体可溶化試験は55℃条件で行った。

2.6 分析方法

生成バイオガスの組成は、TCD型検出器ガスクロマトグラフ（Packing material: Unibeads-C60/80mesh、Col.Temp. 145℃、Carrier gas:Argon）で測定した。VFA濃度の測定は、FID型検出器ガスクロマトグラフ（Packing material:FAL-M 60/80mesh、Col.Temp.125℃、Carrier gas:Nitrogen）によった。高級脂肪酸は、汚泥に対して吸着性があるため¹¹⁾、ヘキサン-イソプロパノール（5:3,v/v）を用いて汚泥混合液から抽出し、FID型ガスクロマトグラフ（Packing material:Advance-DS 80/100mesh、Col.Temp.215℃、Carrier gas:Nitrogen）に供した。その他の分析項目（CODcr、SVI、保持汚泥粒径、蛍光-電子顕微鏡観察）は既報の方法に準じた⁶⁾。

3. 実験結果および考察

3.1 リアクター廃水処理特性

Fig.2に多段型高温UASBリアクターによる脂質含有廃水の連続処理実験結果を示した。容積負荷の上昇は、HRTの短縮と基質濃度の上昇により行った。容積負荷は $3\text{kgCOD}/\text{m}^3/\text{d}$ からスタートし、徐々に上昇させ、最終的に $35\text{kgCOD}/\text{m}^3/\text{d}$ まで上昇させることが可能であり、その間HRTは24時間から3.4時間にまで短縮された。

運転開始後28日目(図中に破線で示す)に温度センサーの故障により、リアクター内温度が12時間の間、約 10°C 前後(55°C から 45°C に)低下した。その際、高温UASBプロセスは高級脂肪酸の阻害効果に対して鋭敏な応答を示し、VFAの顕著な蓄積(Fig.3)が観察され、COD除去率も70%台まで低下した(Fig.2-a)。そのため負荷を下げて運転し、VFAの挙動に注意しながら徐々に負荷を上昇させて回復をはかった。運転100日前後で負荷は $10\text{kgCOD}/\text{m}^3/\text{d}$ に到達し、その後は安定した処理性能を示し、最終的に容積負荷 $35\text{kgCOD}/\text{m}^3/\text{d}$ を許容し、90%前後の良好なCOD除去が行われていた。除去されたCODのメタン転換率は $35\text{kgCOD}/\text{m}^3/\text{d}$ の高負荷条件下においても90%前後であった。われわれ研究グループの、同様の基質を用いた中温(36°C)従来型UASB反応器による連続処理実験では、容積負荷 $10\text{kgCOD}/\text{m}^3/\text{d}$ 、HRT7.2時間、メタン転換率60%を許容するにとどまった¹²⁾。それゆえ、多段型高温UASBリアクターを用いた本実験系では、中温UASBプロセスの3倍以上の容積負荷($35\text{kgCOD}/\text{m}^3/\text{d}$)を許容することが可能であった。

Fig.3に処理水中のVFA濃度の経日変化を示した。処理水中のVFA濃度は、温度トラブルにより処理性能が低下した際から蓄積が観察さ

れ、運転再開直後では、処理水中に酢酸が $300\text{mgCOD}/\text{L}$ 程度と高濃度に蓄積しており、温度低下によるプロセスダウンは酢酸資化性メタン菌が阻害を強く受けていることが推察された。酢酸資化性メタン菌は、水素資化性メタン菌や酸生成菌に比べて高級脂肪酸による阻害を受けやすく(リアクター下部では約 $800\text{mgCOD}/\text{L}$ の高級脂肪酸の蓄積が確認された)酢酸の蓄積は酢酸資化性メタン菌の活性低下によるものだと考えられる(Fig.11)。その後処理水中の酢酸濃度は低下するが、負荷の上昇に伴い増加し、 $35\text{kgCOD}/\text{m}^3/\text{d}$ 時では $300\text{--}400\text{mgCOD}/\text{L}$ 程度が処理水中に残存していた。高温嫌気性処理プロセスでは、プロピオン酸の蓄積現象について多く報告されているが¹³⁾¹⁴⁾¹⁵⁾、本実験系においては、容積負荷 $35\text{kgCOD}/\text{m}^3/\text{d}$ 時でもプロピオン酸の蓄積はほとんど観察されなかった($10\text{--}20\text{mgCOD}/\text{L}$ 程度)。これは多段型リアクターの特徴である系内の水素分圧の低減効果と、牛乳基質における脂質の加水分解により生成される高級脂肪酸の多くは炭素数偶数の脂肪酸であり、これらは β 酸化経路により最終的に酢酸に転換されるため¹⁶⁾、他の糖系基質と比較してプロピオン酸が生成されにくい基質であると考えられる。

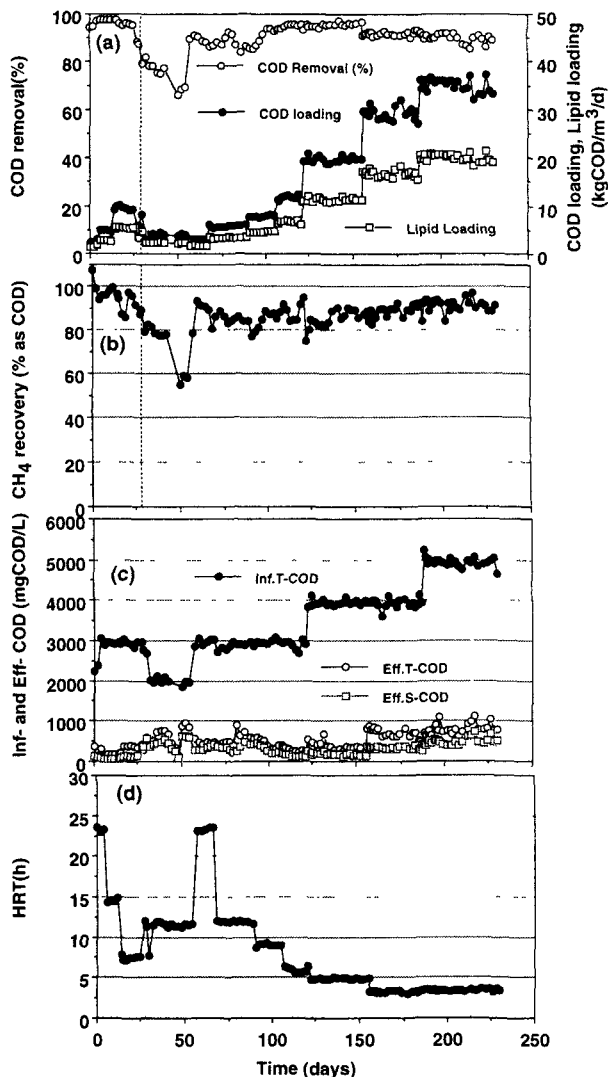


Fig.2 Process performance of thermophilic (55°C) multi-staged UASB reactor receiving a diluted dairy-milk wastewater.

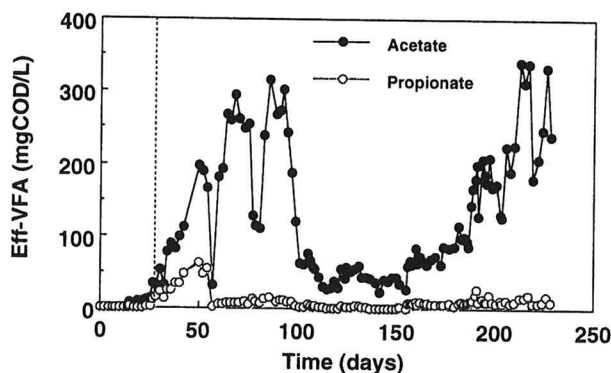


Fig.3 Changes in Effluent VFA concentration.

3.2 グラニューレーションの進行と保持汚泥性状

Fig.4に流出SS、VSS濃度の経日変化を示した。流出VSS濃度は、容積負荷 $30\text{kgCOD}/\text{m}^3/\text{d}$ 時までは $100\text{mgVSS}/\text{L}$ 程度で推移している。容積負荷 $30\text{kgCOD}/\text{m}^3/\text{d}$ 以上では、流出VSS濃度は $200\text{--}300\text{mg}/\text{L}$ 程度に上昇した。この時点から、リアクター内部に高級脂肪酸の蓄積が見られ、若干の浮上グラニュールと、未分解の高級脂肪酸の微細な塊が処理水中に観察されるようになった。Fig.5に負荷 $35\text{kgCOD}/\text{m}^3/\text{d}$ 時における、リアクター上部に観察された浮上グラニュール汚泥を、また、Table 3に保持汚泥、浮上汚泥および脂質状の塊の物理的性状を示した。この結果より、浮上汚泥は保持汚泥よりも平均粒径、高級脂肪酸の吸着量が多

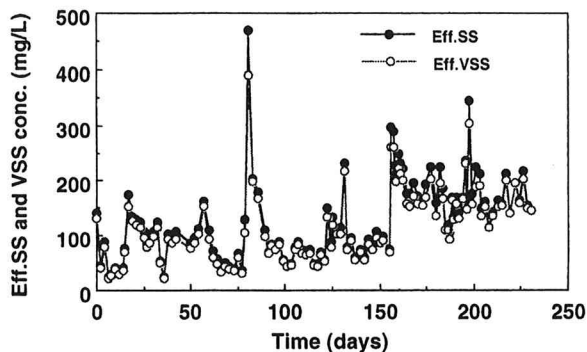


Fig.4 Changes in Effluent SS and VSS conc.

く、Fig.5(b)に示したように生成ガスを放出することができずに浮上したものと考えられた。また処理水中の微細な塊は未分解の高級脂肪酸がカルシウム塩を形成し浮上したものと考えられる。従来型のUASB反応器による脂質含有廃水処理では、高負荷時に未分解の高級脂肪酸が汚泥に吸着して浮上し、GSSの閉塞やウオッシュアウトによる保持汚泥量の減少によるプロセス破綻がしばしば報告されている¹⁷⁾¹⁸⁾。本実験で用いた多段型UASB反応器はGSSを複数個設置していることにより、反応器上部まで汚泥が浮上する前に反応器下部のGSS気相部に浮上グラニュール汚泥が保持され、汚泥量の減少を抑制できたと考えられる (Fig.8)。

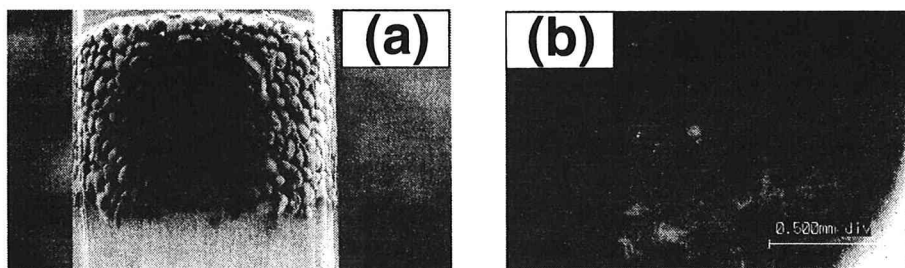


Fig.5 Photographs of (a) floating of granules in thermophilic milk-fed UASB reactor. (COD loading: $35\text{kgCOD}/\text{m}^3/\text{d}$), and (b) entrapped gas within a granule.

Table 3 Physico-chemical characteristics of retained sludge, floating sludge and fat-like material.

	mean diameter (mm)	LFA content (mgCOD/gVSS)	LFA composition ratio (%)	Nitrogen content (mgN/gVSS)
retained sludge (port 2)	1.2	6.4	C ₁₆ 56 C ₁₈ 44	134.3
floating sludge	1.5	13.3	C ₁₆ 64 C ₁₈ 36	153.5
fat-like material	-	1193.3	C ₁₂ 0.4, C ₁₄ 8.4, C ₁₆ 50.7 C ₁₈ 30.2, C _{18:1} 10.4	335.0

Fig.6にSVIと保持汚泥の平均粒径の経日変化を、Fig.7に本実験で形成されたグラニュール汚泥の実体顕微鏡観察、断面の落射蛍光顕微鏡観察、グラニュール表面の走査電顕観察（植種汚泥、保持汚泥）を示した。反応器保持汚泥のSVIは最終的には22.6ml/gVSSに達しており、実験期間を通じて十分な沈降性が維持された。保持汚泥の平均粒径（個数基準）は実験期間を通じて約1.3mm程度の良好なグラニュール汚泥が維持された。本実験で形成されたグラニュールは、流入硫酸塩が低いこととグラニュール内部でpH勾配が存在することから、表層部が灰白色を、グラニュール内層部は黒色（硫化鉄の生成）を呈す

る、二重構造を有していた。蛍光顕微鏡観察結果より、グラニュール表層部は強い蛍光を有していた。*Methanobacterium*属、*Methanosarcina*属のメタン菌は補酵素F420を多く含み、蛍光顕微鏡下で存在量の定性的把握が可能である。これよりグラニュール表層部においては、高級脂肪酸の分解を司るβ酸化-水素生成菌と水素除去を行う水素資化性メタン菌の*Methanobacterium*属、*Methanosarcina*属が共生しているためと考えられた。グラニュール表面には、植種汚泥には観察されなかった高温培養汚泥に特徴的な糸状に増殖した菌¹³⁾¹⁹⁾によりグラニュールを覆いつくされており、高温グラニュールの形態維持に関与しているものと思われる。

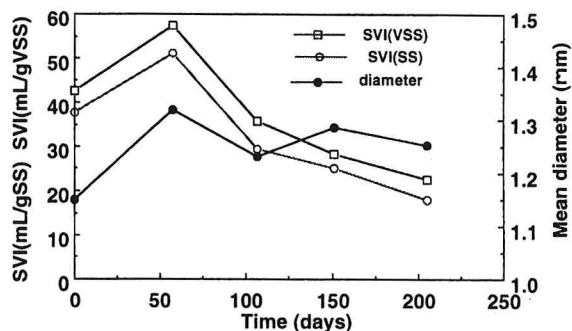


Fig.6 Changes in SVI (on SS-basis and VSS-basis) and mean diameter of the retained sludge.(port No.2,30cm height from the bottom.)

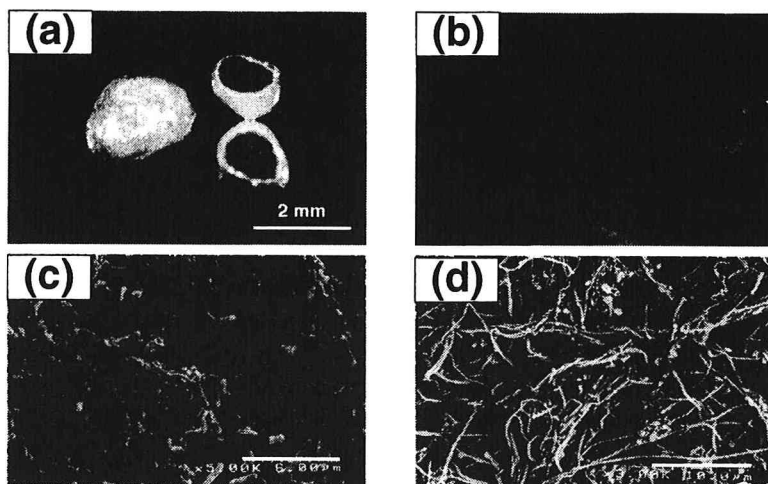


Fig.7 Photographs of the retained granular sludge (COD load:35kgCOD/m³/d).

- (a) Cross sectional view of the retained granular sludge.
- (b) Optical microscope observations of the retained granular sludge.
- SEM observations of the outer surface structure of granular sludge.
- (c) seed granular sludge(bar length:6 μm)
- (d) Thermophilically-grown granular sludge developed in the UASB reactor treating dairy-milk wastewater(bar length:10 μm)

3.3 多段型反応器における高さ方向の汚泥、基質分解挙動

Fig.8に、反応器高さ方向の汚泥濃度プロファイルの経日変化を、Fig.9にはFig.8のプロファイルより評価した反応器保持汚泥量とCOD-汚泥負荷の経日変化を示した。運転開始時のスラッジベッド部の汚泥濃度は30000-35000mgVSS/Lであったが、温度制御のトラブルにより処理性能が悪化した際に、酸敗化したリアクター下部の汚泥の引き抜きを行ったため、57日目からの運転再開時の汚泥濃度は15000mgVSS/Lまで減少した。その後負荷の上昇に伴い沈降性の優れた高温グラニュールが形成されたため、容積負荷35kgCOD/m³/d許容時においても40000-50000mgVSS/L程度まで上昇し、十分な汚泥濃度を確保することが可能であった。COD汚泥負荷は負荷の上昇に伴って徐々に増加し、容積負荷35kgCOD/m³/d許容時で1.4gCOD/gVSS/dまで上昇した。この値は糖系基質の場合と比較すると1/2以下であり（3.4gCOD/gVSS/d）、脂質含有廃水の高温UASBプロセスの限界許容負荷は30~40kgCOD/m³/dにあることを示唆している。

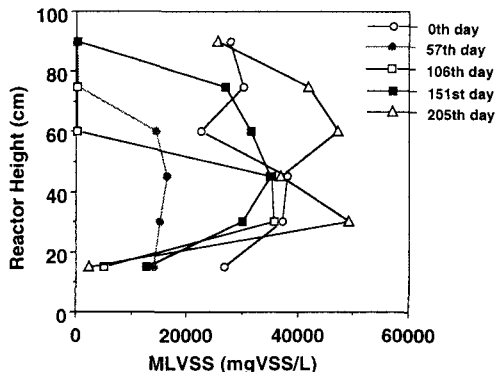


Fig.8 profiles of sludge retainment along reactor height.

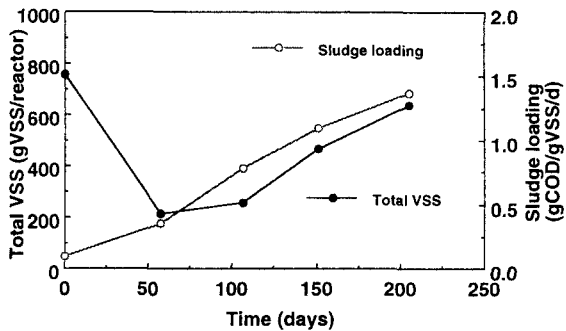


Fig.9 Changes in total sludge quantity and COD-sludge loading.

Fig.10-1に容積負荷35kgCOD/m³/d時における反応器高さ方向のVFA濃度プロファイルを、Fig.10-2にはLFA濃度プロファイルを示した。生成されたVFAは主に酢酸、プロピオン酸であり、プロピオン酸は反応器ポート5（高さ75cm）までにほぼ除去されている。この時の系内の水素分圧は反応器下部（ポート1-2）が0.23%と最も高く、中間部（ポート3-4）0.038%、上部（ポート5-6）0.043%であり、多段化による水素分圧の低減によりプロピオン酸の分解が促進されたと考えられる。一方、酢酸はベッド下部で高濃度に存在し、ポート5の高さにおいても200mgCOD/L程度残存している。これは、負荷上昇に伴い、酢酸資化性メタン菌で優占菌種の *Methanosaeta* 属（SEM観察結果より同定）が高級脂肪酸の蓄積（Fig.10-2）により阻害を受け、活性が低下（Fig.11）したものと考えられる。また、LFAプロファイルでは、ベッド下部において主にパルミチン酸（C₁₆）、ステアリン酸（C₁₈）が300-400mgCOD/Lと高濃度に存在している。中温嫌気性処理における脂質含有廃水処理においてパルミチン酸は最も蓄積されやすいLFA種であることが報告されているが¹²、高温条件下においてもパルミチン酸が最も蓄積しやすいことが判明した。

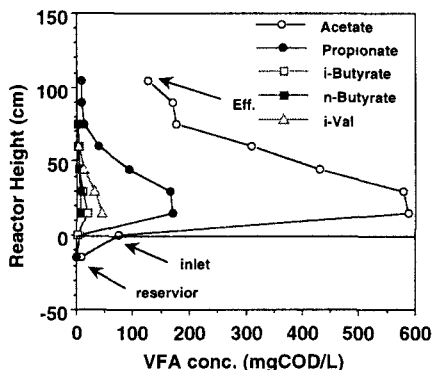


Fig.10-1 Profiles of VFA along reactor height. (205th day, 35kgCOD/m³/d)

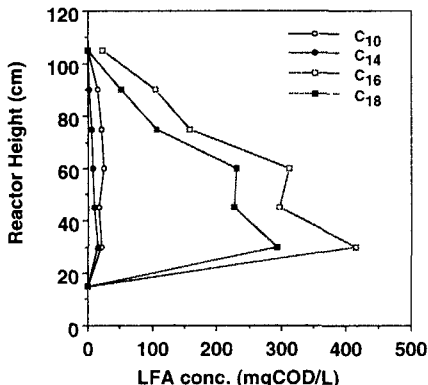


Fig.10-2 Profiles of LFA along reactor height. (205th day, 35kgCOD/m³/d)

3.4 保持汚泥のメタン生成活性

Fig.11に反応器保持汚泥の各基質におけるメタン生成活性の推移を示した。植種汚泥は、酢酸基質0.91 gCOD/gVSS/d、 H_2/CO_2 基質4.06gCOD/gVSS/dと高い活性を保持していたが、パルミチン酸基質からのメタン生成活性は0.02gCOD/gVSS/dと中温汚泥以下（中温汚泥：0.027gCOD/gVSS/d）の活性値であった¹²⁾。

運転開始後44日目（プロセスが破綻していた時期）における酢酸供与メタン生成活性値は0.028gCOD/gVSS/dにまで低下したのに対して、 H_2/CO_2 基質からのメタン生成活性値は4.92gCOD/gVSS/dと高い活性を保持していた。このことから高級脂肪酸の吸着阻害は水素資化性メタン生成菌よりも酢酸資化性メタン生成菌に強く作用することが判明した。

運転開始後212日目（容積負荷35kgCOD/m³/d）のメタン生成活性値は、酢酸基質：0.58gCOD/gVSS/d（活性増加率1.3倍、対57日汚泥）、パルミチン酸基質：0.21gCOD/gVSS/d（11.6倍）、 H_2/CO_2 基質：5.62gCOD/gVSS/d（1.7倍）であり高い活性を持つ高温グラニュールが形成された。特に、パルミチン酸からのメタン生成活性は、中温汚泥の7倍と高い¹²⁾。この高いメタン生成活性のため、加水分解により生じた高級脂肪酸は、高温嫌気性細菌群に阻害を及ぼすことなくすみやかに分解、メタン化されることにより、中温プロセスの3倍以上の高負荷運転が可能であった。

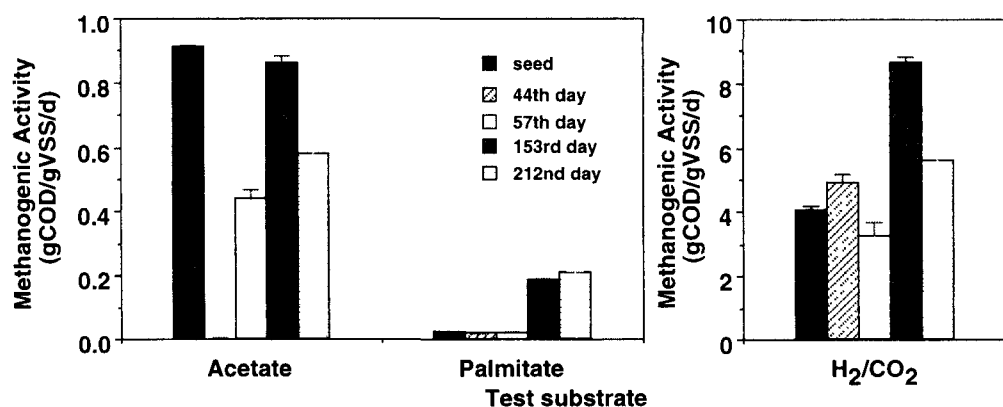


Fig.11 Changes in methanogenic activities of the retained sludge. Each vial test was conducted at 55°C

3.5 高温培養グラニュールの高級脂肪酸阻害特性

Fig.12にバッチ実験による同一基質培養の高温（55℃）、中温（35℃）培養グラニュールにおいて各パルミチン酸負荷における相対的活性保持率を示した。高級脂肪酸の添加していないブランク系の活性値は、高温汚泥（酢酸：2.2gCOD/gVSS/d、水素：6.4gCOD/gVSS/d）、中温汚泥（酢酸：0.67gCOD/gVSS/d、水素：2.9gCOD/gVSS/d）であった。また両グラニュールにおいて酢酸資化性メタン菌は*Methanosaeta*属が優占しており、その全菌に対する存在率（FISH法による）は高温汚泥が約30%、中温汚泥が約40%であった²⁰⁾。

水素資化性メタン菌に対する阻害性は、高温培養グラニュール、中温培養グラニュールともに高級脂肪酸負荷1.0mmol/gVSSまでは認められなかった。一方、酢酸資化性メタン菌に対する阻害は、高級脂肪酸負荷0.4mmol/gVSSで中温グラニュールは80%の活性を保持していたのに対し、高温培養グラニュールは完全に失活した。これより、高温培養および中温培養グラニュールとも、高級脂肪酸の阻害性は水素資化性メタン菌よりも酢酸資化性メタン菌の方が顕著であることが判明した。花木ら³⁾は中温（37℃）嫌気性消化における高級脂肪酸の阻害の特性について、酢酸からのメタン生成反応は阻害により停止するが、水素からのメタン生成反応は停止までは至らないと報告しており、本実験結果と一致している。また、両グラニュールにおいて酢酸資化性メタン菌は*Methanosaeta*属が優占種であることがFISH法より確認されており、高温性*Methanosaeta*属菌は中温性*Methanosaeta*属の菌よりもはるかに高級脂肪酸阻害に鋭敏であると云える。この原因として、同じ属の高温と中温菌の細胞膜構造は異なっており²¹⁾、高級脂肪酸の界面活性能による吸着作用と細胞溶解（可溶化）作用に差異を生じたものと考えられる。

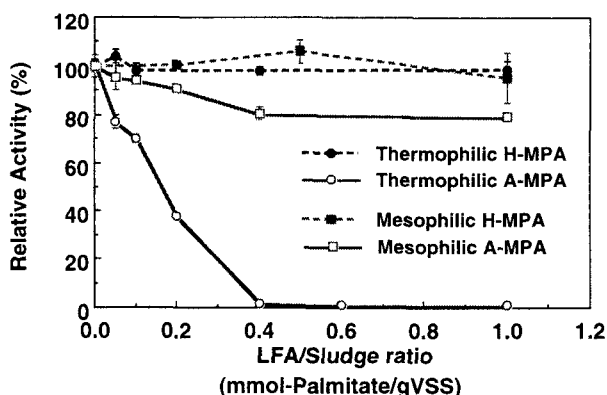


Fig.12 Inhibitory effect of LFA (palmitate) on methanogenic activity of thermophilically- and mesophilically-grown granular sludge. H-MPA and A-MPA designate hydrogen-fed and acetate-fed methane producing activities, respectively.

55℃温度条件下での各パルミチン酸負荷における菌体可溶化率（各パルミチン酸添加系全窒素量/ブランク全窒素量）をFig.13に示した。この結果より高温性微生物群は高級脂肪酸負荷が増加するに従って可溶化率が増加するが、中温性微生物群は可溶化率は高温培養汚泥と比較すると可溶化率は小さい。以上の結果から、高温性微生物の方が中温性微生物よりも高級脂肪酸による菌体の可溶化が進行しやすく、さらに中温酢酸資化性メタン菌 (*Methanosaeta*)よりも高温性の酢酸資化性メタン菌の方がより顕著に阻害を受けることが明らかとなった。

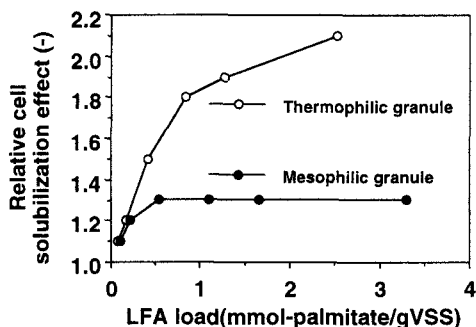


Fig.13 Effect of LFA addition on cell solubilization (lysis).

4. 結論

本研究の結果、以下のことが明らかになった。

1. 多段型高温UASB反応器を用いて高濃度脂質含有廃水の連続処理実験を行った結果、COD容積負荷は35kgCOD/m³/dの高負荷運転を許容し、COD除去率90%前後、メタン転換率90%前後の高い処理水質を得られた。これは、中温培養従来型UASBプロセスの許容負荷の3～4倍に相当する。
2. GSSを多段に配置した構造により、従来型のUASB反応器と比較して脂質含有廃水で多く観察される浮上グラニュール汚泥を反応器内に拘留保持できることにより、汚泥の流出を抑え、反応器容積基準で40000-50000mgVSS/Lの高濃度の汚泥を保持できたことにより、廃水の高速処理が可能であった。供試脂質含有廃水に対する高温グラニュール汚泥の最大許容汚泥負荷は1.4gCOD/gVSS/d程度であり、糖系基質に対する値(3.4gCOD/gVSS/d)の1/2以下であった。
3. 高温UASBプロセスは、中温UASBプロセスと比較して、スタートアップ初期の不安定期には、高級脂肪酸の吸着阻害によるプロセス破綻の危険性が大きい。これは、高温性酢酸資化性メタン生成菌の優占種である *Methanosaeta*が、中温性 *Methanosaeta* 属よりも高級脂肪酸阻害に鋭敏であるためである。

参考文献

- 1) 上村繁樹,原田秀樹:上昇流嫌気性汚泥床 (UASB) 法による高温・高濃度排水処理に関する研究現況,用水と廃水,37,801-808,1995
- 2) 原田秀樹, 珠坪一晃, 大橋晶良, 関口勇地, 多川 正:新規の多段型高温UASBリアクターによる超高速廃水処理装置の実現化 ― アルコール蒸留廃水の高速処理特性と高濃度生物保持能の評価 ―,環境工学研究論文集,34,327-336,1997
- 3) Hanaki, K., T. Matsuo, and M. Nagase: Mechanism of inhibition caused by long-chain fatty acids in anaerobic digestion process, *Biotechnol. Bioengineering*, 23, 1591-1610, 1981
- 4) Sam-Soon, P., R. E. Loewenthal, Wentzel, M. C. And Marais, G. V. R.: A long-chain fatty acid, oleate, as sole substrate in upflow anaerobic sludge bed (UASB) reactor systems, *Water SA*, 17, 31-36, 1991
- 5) National Academy of science: National Research Council. Publication, No. 254, 1953
- 6) 珠坪一晃, 原田秀樹, 鈴木宏誌, 桃井清至, 大橋晶良: 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, 環境工学研究論文集, 32, 201-212, 1995
- 7) Disley, R. S., Forster, C. F.: Inhibition of gas production by thermophilic anaerobic sludges: The effect of organic compounds, *Environ. Technol.*, 13, 1153-1159, 1992
- 8) Macleod, C., Forster, C. F.: Heavy metal inhibition of gas production by thermophilic anaerobic sludges, *Microbios.*, 54, 31, 1988
- 9) Galbraith, H. And Miller, T. B.: Effect of metal cations and pH on the antibacterial activity and uptake of long chain fatty acids, *J. Appl. Bact.*, 36, 635-646, 1973
- 10) Galbraith, H. And Miller, T. B.: Physicochemical effects of long chain fatty acids on bacterial cells and their protoplasts, *J. Appl. Bact.*, 36, 647-658, 1973
- 11) 山口隆司, 原田秀樹, 桃井清至, 曹怡禎: 高級脂肪酸の嫌氣的分解過程における硫酸塩還元菌の生態学的役割, 水環境学会誌, 18, 6, 499-510, 1995
- 12) 亀井昌敏, 桃井清至, 原田秀樹, 滝沢 智, 津恵直美: 上昇流嫌気性スラッジベッド反応器による脂質含有廃水の嫌気性処理, 水処理技術, 30, 12, 709-717, 1989
- 13) Uemura, S. and H. Harada: Microbial characteristics of methanogenic sludge consortia developed in thermophilic UASB reactor, *Applied Microbiology & Biotechnology*, 39, 654-660, 1993
- 14) Uemura, S. and H. Harada: Inorganic composition and microbial characteristics of methanogenic granular sludge grown in a thermophilic upflow anaerobic sludge blanket reactor, *Applied Microbiology & Biotechnology*, 43, 358-364, 1995
- 15) van Lier, J. B., K. C. F. Grolle, et al.: Start-up of a thermophilic upflow anaerobic sludge bed (UASB) reactor with mesophilic granular sludge, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 37, 130-135, 1992
- 16) Weng, C. and J. S. Jeris: Biochemical mechanisms in the methane fermentation of glutamic and oleic acids, *Wat. Res.*, 10, 9-18, 1976
- 17) Rinzema, A., A. Alphenaar, et al.: The effect of lauric acid shock loads on the biological and physical performance of granular sludge in UASB reactors digesting acetate, *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, 46, 257-266, 1989
- 18) Hwu, C. S., J. B. Vanlier, et al.: Physicochemical and biological performance of expanded granular sludge bed reactors treating long-chain fatty acids, *Process Biochemistry*, 33, 75-81, 1998
- 19) 関口勇地, 大橋晶良, 珠坪一晃, 荒木信夫, 原田秀樹: 嫌気性グラニュール汚泥からのrRNA遺伝子のクローニングから推定された未知な細菌群の検出と、その空間分布 ―rRNAから見た中温・高温グラニュール内の微生物群衆構造比較―, 環境工学研究論文集, 35, 1998
- 20) 珠坪一晃, 関口勇地, 原田秀樹, 大橋晶良, 多川 正, 大関弘和, 荒木信夫: 16SrRNA標的モレキュラー・プローブのIn-situ Hybridizationによる嫌気性汚泥微生物叢の生態学的構造解析, 環境工学研究論文集, 34, 51-60, 1997
- 21) Hwu, C. S. and G. Lettinga: Acute toxicity of oleate to acetate-utilizing methanogens in mesophilic and thermophilic anaerobic sludges, *Enzyme & Microbial Technology*, 21, 297-301, 1997