

(8) 多段型 UASB リアクターによる焼酎蒸留粕廃液の超高速メタン発酵処理
—スタートアップ期間及び再スタートアップ期間のプロセス挙動—

**A super high rate thermophilic anaerobic treatment of *Shochu* distillery wastewater
by a thermophilic multi-staged UASB reactor**

クーンヴィライ パイラヤ*, 多川正**, 関口勇地***, 大橋晶良*, 原田秀樹*
Pairaya KUCIVILIZE*, Tadashi TAGAWA**, Yuji SEKIGUCHI***,
Akiyoshi OHASHI*, Hideki HARADA*

ABSTRACT ; Process performance of thermophilic multi-staged UASB reactor was investigated by feeding a *Shochu* stillage wastewater. The reactor was seeded with mesophilic sewage digested sludge, and operated at 55°C over 900 days. Granulation successfully accomplished within the first three months. As a result, the reactor steadily allowed a super high rate COD loading rate of $100 \text{ kg COD} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$, which is equivalent to the influent strength of $10,000 \text{ mg COD} \cdot \text{l}^{-1}$ at a HRT of only 2.4 h, keeping COD removal of above 90%. Microbial consortia analysis of the retained sludge by 16S rRNA approach revealed that drastic microbial composition shift from mesophilic methanogens to thermophilic methanogens during 300 days operation under thermophilic conditions: Predominance of *Methanosaeta concilii* and *Methanospirillum hungatei* in the initial stage (mesophilically grown sludge) was thoroughly replaced by *Methanosaeta thermophila* and *Methanothermobacter thermautotrophicus*.

KEYWORDS ; Anaerobic Wastewater Treatment, Thermophilic UASB process, Methane fermentation, Alcohol distillery wastewater

1 はじめに

現在、九州地域で排出される焼酎蒸留粕（産業廃棄物）は年間 48 万トンにのぼり、このうち約 40%が海洋投棄で処分されている。しかし、改正されたロンドン条約（正式名：廃棄物およびその他の物質の投棄による海洋汚染防止条約）により、今後は焼酎蒸留粕廃液の海洋投棄は全面禁止の方向へ進むものと思われる^{1), 2)}。そこで、海洋投棄に替わる経済的にフィーズビブルで環境低負荷型の処理技術を開発する必要に迫られている³⁾。

本研究では、数年来われわれの研究グループが開発を行ってきた、優れた汚泥保持能力と生成バイオガスによる上昇線流速の低減機能、リアクター内水素分圧低減効果等の特徴をもった多段型-高温（55°C）UASB リアクター^{4), 5), 6), 7)}に、甘藷（サツマイモ）焼酎蒸留粕廃液を適用した長期連続実験を行ってその処理特性を把握した。また、甘藷焼酎蒸留粕廃液は典型的な季節稼働型廃水なので、4 ヶ月間のプロセス休止期間の

* 長岡技術科学大学 環境システム工学系 (Dept. of Environ. Systems Engineering, Nagaoka University of Technology)

** 神鋼パントック株式会社 環境装置事業部 (Shinko Pantec Co., Ltd., Environmental Systems Division)

*** 産業技術総合研究所 生物遺伝子資源研究部門 (Res. Inst. of Bio. Resources, Nat. Inst. of Advance Sci. and Techn.)

あとの再スタートアップ運転期間のプロセス挙動も把握した。さらに、スタートアップ時の植種汚泥として下水消化汚泥（中温 35℃）を使用したのも、保持汚泥微生物コンソーシアの菌叢遷移の様相を 16S rRNA アプローチ手法によって解析した。

2 実験方法

2.1 多段型 UASB リアクター

Fig.1 に 本実験で用いた多段型 UASB リアクターの概要を示す。リアクター容量は 8 ℓ（液浸総容積）であり、容積負荷と液滞留時間（HRT）の算定はこの数値を基準として行った。リアクター内温度はリアクター外部に設置したウォータージャケットにより 55℃ に制御した。

2.2 供給基質

本研究に用いた甘藷焼酎蒸留粕廃液はデカンター式遠心分離機（遠心力 3,000 G）により遠心分離を行った分離液である。この廃液の組成を Table.1 に示した。リアクターへの供給時には水道水で希釈を行い、流入 COD を 3,000 から 14,000 mg COD・ℓ⁻¹ の範囲に調整した。その際、無機塩類、微量元素および重炭酸ナトリウムを、既報⁹⁾に準じて添加した。

2.3 植種汚泥

リアクターへの植種汚泥として、都市下水処理場の中温（35℃）消化槽より採取した消化汚泥を 7 ℓ 投入した。スタートアップ時の投入量は 11.0 g VSS・ℓ⁻¹、VSS/SS は 0.36、SVI は 231 ml・g VSS⁻¹ であった。

2.4 メタン生成活性試験

温度依存性メタン生成活性試験は、植種汚泥（0 日目：中温消化汚泥）、75 日目（10 kg COD・ℓ⁻¹・d⁻¹）および 335 日目（100 kg COD・ℓ⁻¹・d⁻¹）における保持汚泥（リアクター高さ 14 cm より採取）について、25 - 75℃ の範囲で 6 - 7 点の温度条件下で測定した。再スタートアップ実験における保持汚泥のメタン生成活性の測定は、リアクター停止直後およびリアクター再スタートアップ直前におけるリアクター高さ方向 14 cm よりの保持汚泥について、55℃ 温度条件下で測定した。試験基質には水素（H₂:CO₂ = 80:20、1.4 atm）、酢酸、プロピオン酸を用いた。詳細な手順は既報⁹⁾に準じた。

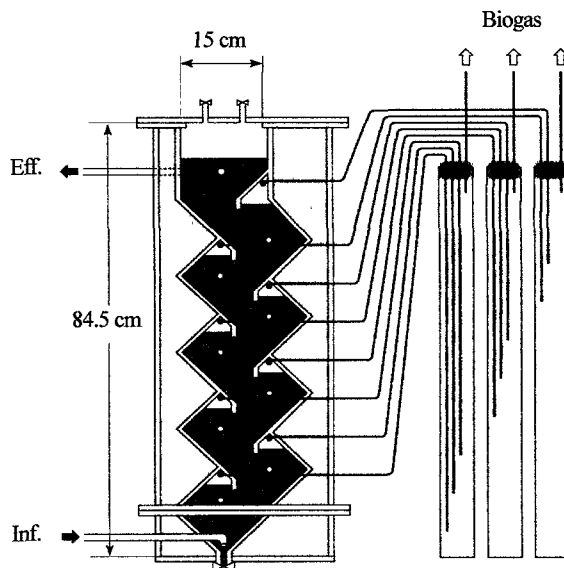


Fig.1 Schematic diagram of multi-staged UASB reactor

Table1 Representative characteristics of sweet potato *Shochu* stillage wastewater

Parameter	Concentration
pH	4.2 -
COD _{Cr} total	44,000 mg・ℓ ⁻¹
BOD ₅ total	28,000 mg・ℓ ⁻¹
SS	790 mg・ℓ ⁻¹
VSS	736 mg・ℓ ⁻¹
Ethanol	8,000 mg COD・ℓ ⁻¹
Carbohydrate	4,210 mg COD・ℓ ⁻¹

2.5 分子生物学的手法（PCR、クローニング、RFLP）による解析

保持汚泥微生物叢の解析は、植種汚泥および運転開始後 335 日目の保持汚泥について行った。ビーズビーダー法により全 DNA を抽出し、古細菌（主にメタン生成細菌）に特異的なプライマーセットを用いて古細菌由来の 16S rDNA を増幅した後、増幅断片のクローニングを行い、RFLP 解析により断片をパターン化し、両汚泥について最も高頻度に検出されたクローンについて、その塩基配列を決定した。詳細な方法は既報¹⁰⁾に準じた。

3 実験結果および考察

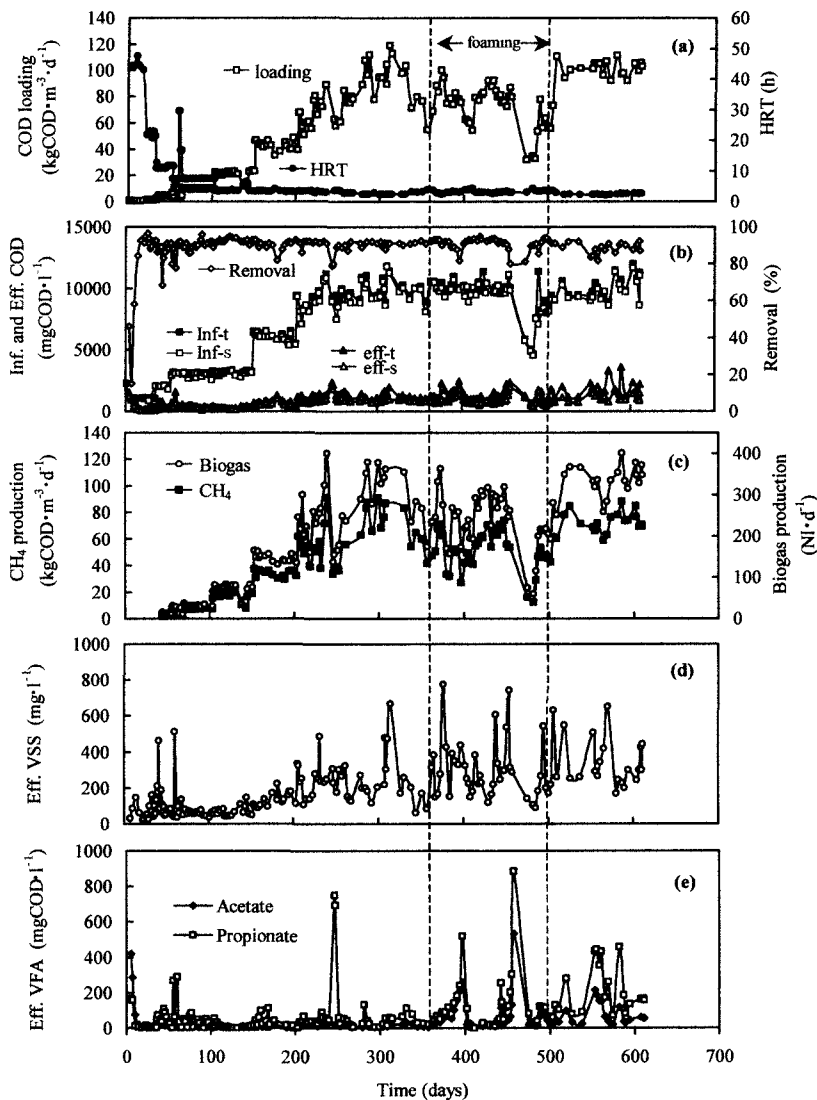


Fig.2 Process performance of a multi-staged UASB reactor during the first start up period

3.1 スタートアップ時における処理特性

Fig.2 にスタートアップから約 600 日間の処理特性を示す。容積負荷の上昇は、処理水中の COD 除去率および処理水中の VFA 濃度が安定な値を確認しながら、HRT の短縮および廃液濃度の増加によりステップワイズに行った。運転開始後 278 日目まで容積負荷 $100 \text{ kg COD} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ 、HRT 2.4 hr、供給基質濃度(inf) $10,000 \text{ mg COD} \cdot \text{l}^{-1}$ の超高負荷運転を許容した。容積負荷 $100 \text{ kg COD} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ を達成した後、58 日間安定的な処理を行った。COD 除去率は 91% 程度に保たれ、処理水中の VFA は酢酸で $20 \text{ mg COD} \cdot \text{l}^{-1}$ 、プロピオン酸で $50 \text{ mg COD} \cdot \text{l}^{-1}$ 程度を示し、非常に良好な運転が行われた。

その後、337 日～361 日の期間は、原水供給不足のため COD 容積負荷を低減して運転した。また、362 日～504 日目の期間は、原水が発泡性の蒸留粕廃液に変わったため（異なる焼酎製造工場から）、スカム発生に

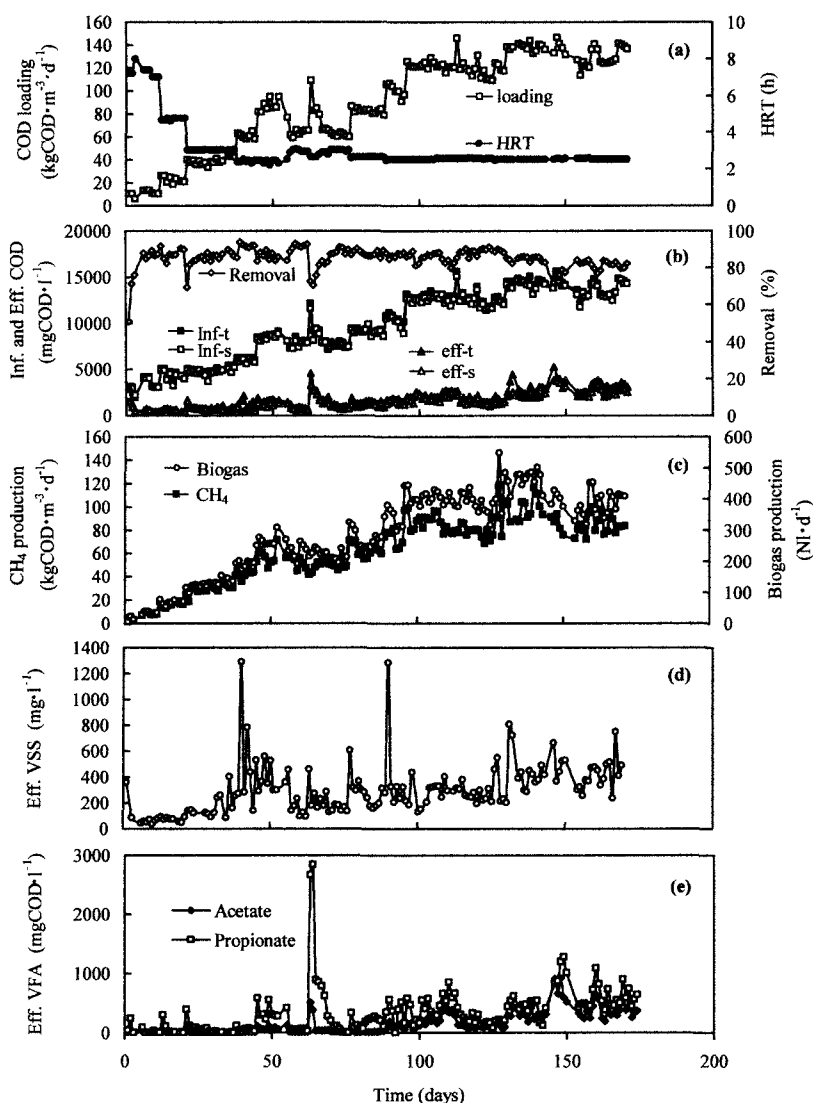


Fig.3 Process performance of a multi-staged UASB reactor during the re-start up period

伴うグラニューール汚泥の流出現象によって所定より低い COD 容積負荷で運転した。505 日目からは再び発泡性のない原液を供給しはじめ、510 日目には負荷 $100 \text{ kg COD} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ に戻った。その後 612 日目までの約 100 日間 $100 \text{ kg COD} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ で運転した。その間、550 日目～597 日目は、リアクター温度管理の不備によって一時的に処理水中プロピオン酸濃度が $70 - 400 \text{ mg COD} \cdot \text{l}^{-1}$ で変動する不安定期間があった。また、運転開始から 612 日間の期間の、除去された COD 量に対するメタンガス (COD 換算値) 回収率は、88%であった。

3.2 再スタートアップ期間における処理特性

612 日間の連続運転を行ったあと、リアクターは基質供給せずに 35°C で約 4 ヶ月間運転停止し、再スタートアップ実験を行った。Fig.3 に再スタートアップ期間の処理特性を示す。

リアクター運転停止後、保持汚泥の性状把握の目的で相当量の汚泥を引き抜いたため、保持汚泥量はリアクター停止前の $1/6$ になった (リアクター停止前汚泥量: $280 \text{ g VSS/reactor}$ 、再スタートアップ時汚泥量 49 g VSS/reactor)。再開時の保持汚泥量が少なかったのにも拘わらず、89 日目で容積負荷 $100 \text{ kg COD} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ に達し、すみやかなプロセス負荷の回復が可能であった。

その後、本リアクターの最大許容負荷を探索するために徐々に増加させ、96 日目には容積負荷 $120 \text{ kg COD} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ に達した。負荷 $120 \text{ kg COD} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ での約 1 ヶ月間の安定処理を行う間、COD 除去率は 89%程度、処理水中の VSS 濃度は $200 - 300 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 、VFA のうち、そのほとんどを占めるプロピオン酸と酢酸はそれぞれ $80 - 200 \text{ mg COD} \cdot \text{l}^{-1}$ 、 $60 - 150 \text{ mg COD} \cdot \text{l}^{-1}$ を示した。その後 (130 日目に) さらに、容積負荷を $140 \text{ kg COD} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ に増加したところ、COD 除去率が $85 - 80\%$ 程度に低下し、プロピオン酸も $500 - 1000 \text{ mg COD} \cdot \text{l}^{-1}$ 程度にまで増加した。したがって、本プロセスの最大許容負荷は $110 - 120 \text{ kg COD} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ 程度であると云える。この処理性能は、これまでに発表された内外の報文を整理して実験装置サイズ、実験期間等のデータの信頼性・再現性を考慮すると、これまでで史上最速の生物学的処理装置と云える。最大許容負荷時でのバイオガス生成量は 450 NI/d (リアクター容積の 56 倍/日) であり、超高速のバイオマスエネルギー変換装置ともいえる。

3.3 高温グラニューール汚泥の形成過程における保持汚泥の変化

本研究は多段型 UASB リアクターにおいて、中温消化汚泥を植種汚泥とした高温グラニューール汚泥の形成をはじめて行った研究である。Fig.4 にリアクター高さ 14 cm からの保持汚泥の SVI と平均粒径の変化を示した。植種した消化汚泥の沈降性は SVI が $271 \text{ ml} \cdot \text{g VSS}^{-1}$ と悪く、汚泥の粒径計測が不可能であったが、運転開始から約 3 ヶ月後グラニューール汚泥 (90 日目: 平均粒径 0.8 mm) の形成が確認され、最終的に沈降性の優れた (SVI = $25 - 30 \text{ ml} \cdot \text{g VSS}^{-1}$ 、平均粒径 0.9 mm 程度) 高温グラニューール汚泥が形成された。

Fig.5 にはスタートアップ時におけるリアクター高さ方向の汚泥濃度プロファイルの変化を示した。また、Fig.6 にはリアクター内汚泥量と COD-汚泥容積負荷の変化を示した。運転開始時のリアクターの高さ方向における汚泥濃度は $12,000 - 15,000 \text{ mg VSS} \cdot \text{l}^{-1}$ であったが、高温グラニューール汚泥の形成によりベッド部の汚泥濃度が徐々に増加し、 $40,000 - 45,000 \text{ mg VSS} \cdot \text{l}^{-1}$ 程度まで上昇した。超高速負荷 $100 \text{ kg COD} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ では (309 日目及び 589 日目) にはリアクター一体積 1 l 当りの汚泥濃度は $30,000 \text{ mg VSS} \cdot \text{l}^{-1}$

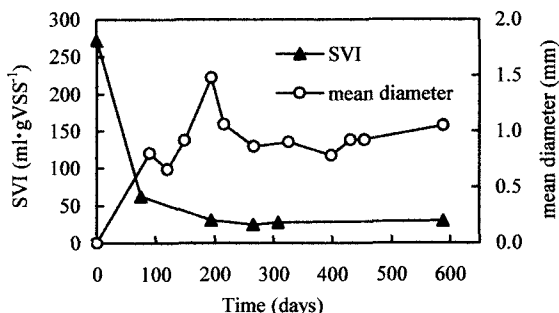


Fig.4 Change of SVI and mean diameter of retained sludge at reactor height 14 cm

程度であり、COD - 汚泥負荷は $2.5 - 2.9 \text{ g COD} \cdot \text{g VSS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ となった。

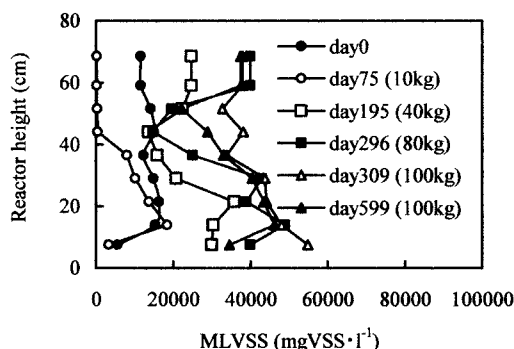


Fig.5 Profile of sludge concentration along the reactor height

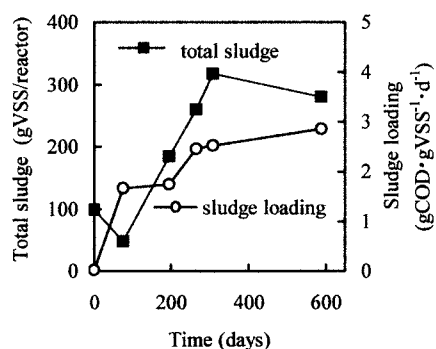


Fig.6 Change of total sludge and COD sludge loading

3.4 保持汚泥の中温菌から高温菌へのポピュレーションシフト

Fig.7 に植種汚泥 (中温消化汚泥)、および 75 日目と 335 日目の保持汚泥 (リアクター高さ 14cm) のメタン生成活性の温度依存性を示した。培養日数の経過にしたがって各試験基質でのメタン生成活性の最適値が中温側から高温側にシフトしていく様相が観察された。335 日目の保持汚泥では、 H_2/CO_2 基質メタン生成活性の最適値は 65°C で、植種汚泥の最大活性値 (35°C) の 102 倍にも及んだ。同様に、酢酸基質メタン生成活性の最適値は 65°C で、植種汚泥の最大活性値 (30°C) の 43 倍に増加した。一方、プロピオン酸基質からのメタン生成活性の最適値は $50 - 55^\circ\text{C}$ の範囲にあり、植種汚泥の最大活性値 (40°C) の 9 倍の値にとどまった。これらの結果より、高温性のプロピオン酸分解細菌 (共生細菌) は水素資化性・酢酸資化性メタン生成古細菌と比べて非常に増殖が遅く¹⁰⁾、既報⁸⁾、⁹⁾、¹²⁾ 同様にプロピオン酸の分解ステップが有機物の嫌気性分解反応全体の律速段階となることが明らかとなった。

また、本研究では植種汚泥および 335 日目保持汚泥の微生物叢を種レベルで解明するために、古細菌のクローン解析を行った。古細菌由来の 16S rDNA のクローンライブラリーを作成し、それぞれランダムに 30 クローンを選択し、制限酵素 *Hae*

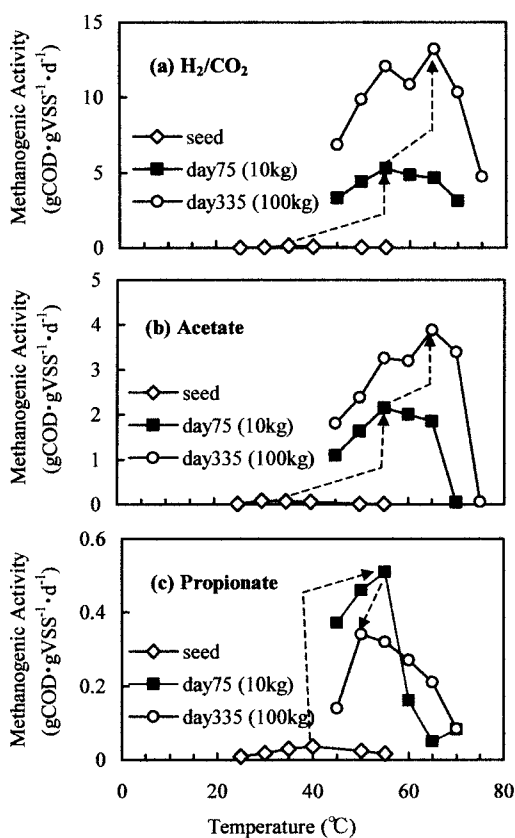


Fig.7 Change of temperature dependency of retained sludge at reactor height 14cm

III 及び Hha I を用いてパターン化した結果、植種汚泥は 5 種、335 日目保持汚泥は 7 種の RFLP パターンが確認された (Fig.8)。各パターンを代表するクローンについて塩基配列を解析した結果を Table2 にまとめた。植種汚泥で高頻度に検出されたクローンは、中温の酢酸資化性メタン生成古細菌である *Methanosaeta concillii* (23/29clone) 及び中温の水素・ギ酸資化性メタン生成古細菌である *Methanospirillum hungatei* (5/29clone) であった。一方、運転開始後 335 日目の保持汚泥は、高温の酢酸資化性メタン生成古細菌である *Methanosaeta thermophila* (17/25clone) 及び高温の水素資化性メタン生成古細菌である *Methanothermobacter thermautotrophicus* (8/25clone) に近縁なクローンが検出された。これより、上記のメタン生成活性の温度依存性の高温側へのシフトの様相を、汚泥内部のメタン生成古細菌の菌叢の遷移から明らかにした。

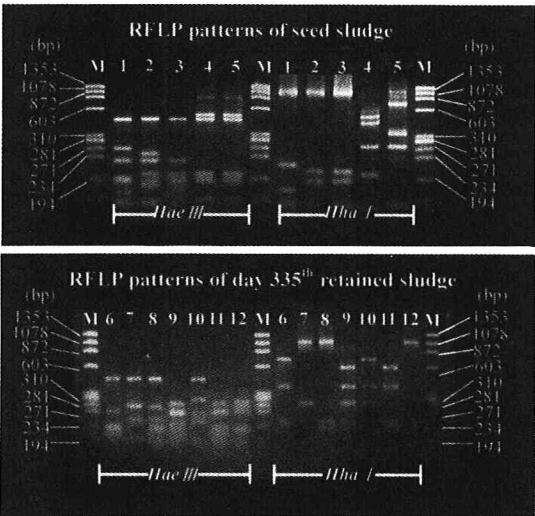


Fig.8 RFLP (Restriction fragment length polymorphism analysis) for *Archaea* 16S rDNA clones removed from retained sludge

Table 2 The homologous analysis of detected clones

Test sludge	Clone no.	Frequency	Most homologous microorganism	Homology (%)
seed sludge (Mesophilically grown digested sludge)	1	1/29	<i>Methanosaeta concillii</i>	95
	2	1/29	<i>Methanosaeta concillii</i>	98
	3	21/29	<i>Methanosaeta concillii</i>	98
	4	5/29	<i>Methanospirillum hungatei</i>	97
	5	1/29	<i>Uncultured archaeon clone AS08-3</i>	96
day 335 th retained sludge	6	1/25	<i>Methanosaeta thermophila</i>	93
	7	1/25	<i>Methanothermobacter thermautotrophicus</i>	95
	8	15/25	<i>Methanosaeta thermophila</i>	93
	9	5/25	<i>Methanothermobacter thermautotrophicus</i>	98
	10	1/25	<i>Methanothermobacter thermautotrophicus</i>	97
	11	1/25	<i>Methanothermobacter thermautotrophicus</i>	97
	12	1/25	<i>Methanosaeta thermophila</i>	93

3.5 プロセスのシャットダウン期間（飢餓期間）におけるメタン生成活性の推移

Fig.9 にリアクター内保持汚泥の 55°C におけるメタン生成活性の推移を示した。連続運転期間最終日 612 日目（プロセスのシャットダウン直前）と、その 4 ヶ月後（35°C で飢餓状態）の保持汚泥の H₂/CO₂、酢酸、及びプロピオン酸基質におけるメタン生成活性の比較をすると、H₂/CO₂ 基質においては約 1/3、酢酸基質においては約 1/2 に活性が低下していた（H₂/CO₂ 基質：7.03 対 2.07 g COD・g VSS⁻¹・d⁻¹、酢酸基質：2.08 対 0.90 g COD・g VSS⁻¹・d⁻¹）。しかし、プロピオン酸基質においては、4 ヶ月間飢餓放置後の活性はほとんど消失していた（0.53 対 0.0071 g COD・g VSS⁻¹・d⁻¹）。再スタートアップ時ではこれらのメタン生成活性値とリアクター内の汚泥量から再スタートアップ時での COD 容積負荷の決定を行った。35°C で 4 ヶ月間の飢餓保存し

た後、それぞれの基質からの活性がもとの活性の 50%以下に低下したが、容積負荷 $10 \text{ kg COD} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ から再スタートアップした結果では約 4 日間で COD 除去率が 90%近くまで回復し、短時間で超高負荷に上昇可能であった (Fig.3 参照)。

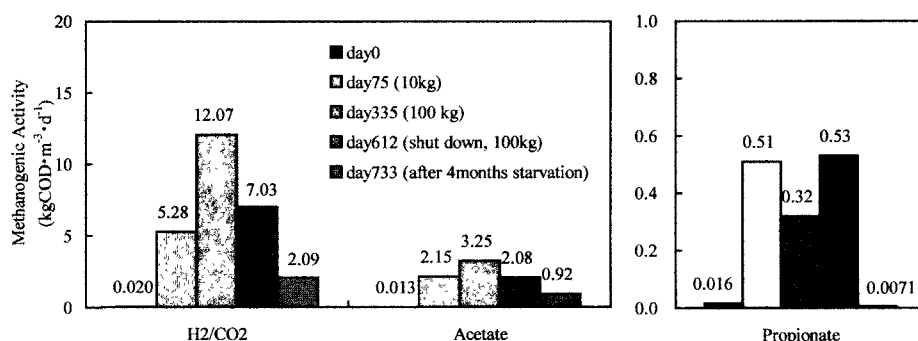


Fig.9 Change of methanogenic activities at 55°C of retained sludge at reactor height 14 cm

4 結論

- 1) 多段型 UASB リアクターによる甘藷焼酎蒸留粕廃液の高温メタン発酵処理特性を長期連続実験で検討した。中温消化汚泥を植種源として用いて、スタートアップ後 3 ヶ月間で高温グラニュールの形成が確認され、最終的には最大許容負荷 $100 - 120 \text{ kg COD} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ の安定した超高速の処理性能を達成した。
- 2) 中温消化汚泥から高温グラニュール汚泥へポピュレーションシフトに伴うメタン生成活性の推移を追跡した。H₂/CO₂ 基質、酢酸基質、プロピオン酸基質では、それぞれ $12.07, 3.25, 0.32 \text{ g COD} \cdot \text{g VSS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ まで増大した。これらの値は、植種汚泥 (中温消化汚泥) の最大メタン生成活性の 102 倍 (H₂/CO₂ 基質)、42 倍 (酢酸基質)、9 倍 (プロピオン酸基質) に相当した。また、高温グラニュール汚泥では、酢酸利用性の *Methanosaeta thermophila* および氷素利用性の *Methanothermobacter thermautotrophicus* のメタン生成古細菌が優占していることが、クロン解析から明らかになった。
- 3) 甘藷焼酎蒸留粕廃液は季節稼働型廃水であるので、高温グラニュール汚泥のプロセス運転休止期間における飢餓保存の影響を検討した。4 ヶ月間 35°C で飢餓停止し、リアクター停止直前の 1/6 の汚泥保持量で運転再開した結果、約 3 ヶ月間でふたたび容積負荷 $100 \text{ kg COD} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ に到達し、良好な再スタートアップが可能であった。

以上の結果より、多段型 UASB リアクターは優れた汚泥保持能力と、生成バイオガスによる上昇線流速の低減機能、リアクター内水素分圧低減効果等により、甘藷焼酎蒸留粕廃液をきわめて高速で嫌気性処理が可能であることを実証した。

謝辞

本研究は NEDO エネルギー・環境国際共同研究事業 (平成 13 年度、代替-#1 51101583) によって援助を受けた。ここに記して感謝申し上げます。

The first author was supported by a scholarship award from the College Women's Association of Japan in academic year 2001 - 2002.

参考文献

- 1) 小幡孝之：甘藷焼酎蒸留粕の生物的处理方法の開発、*J. Brew. Soc. Japan*, 89(5)、349-354、1994
- 2) 松本肇：焼酎蒸留残渣の最新处理技術について、産業機械、68-70、1998 年 11 月号
- 3) 山内正仁、増田純雄、木原正人、平田登基男、米山兼次郎、前野祐二、松藤康司：焼酎蒸留粕を用いた資源循環型製品の開発に関する研究、環境工学研究論文集、38、111-122、2001
- 4) 原田秀樹、大橋晶良：高温条件下での嫌気性グラニュールの形成—“夢の超高速”嫌気性废水处理プロセスの実現化—、水環境学会誌、21(10)、1998
- 5) 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废水处理装置の実現化、環境工学研究論文集、34、327-336、1997
- 6) 多川正、大橋晶良、原田秀樹：新規の多段型高温 UASB リアクターによる高濃度脂質含有废水の嫌気性处理特性、環境工学研究論文集、35、51-60、1998
- 7) 多川正、原田秀樹、高橋弘希、大橋晶良、関口勇地：新規の多段型 UASB 反応器による脂質・タンパク質含有废水の高温嫌気性处理パイロットプラント実験、環境工学研究論文集、36、431-441、1999
- 8) 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废水处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
- 9) 珠坪一晃、原田秀樹、曾怡禎：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、環境工学研究論文集、31、57-67、1994
- 10) 多川正、関口勇地、荒木信夫、大橋晶良、原田秀樹：UASB 废水处理プロセスでの嫌気性微生物群集の分子生物学的手法による動態解析、環境工学研究論文集、38、151-161、2001
- 11) Imachi H., Sekiguchi Y., Kamagata Y., Ohashi A., Harada H. : Cultivation and in situ detection of thermophilic bacterium capable of oxidizing propionate in syntrophic association with hydrogenotrophic methanogens in a thermophilic methanogenic granular sludge, *Appl. Environ. Microbiol.*, **66**(8), 3608-3615, 2000
- 12) Harada H., Uemura S., Chen A-C., Jayadevan J. : Anaerobic treatment of a recalcitrant distillery wastewater by a thermophilic UASB reactor, *Bioresource Technology*, **55**, 215-221, 1996