

東北大学工学部 李 玉友
 香港大学工学部 方 漢平
 香港環境保全局 徐 浩光
 東北大学工学部 野池達也

Bacteriological Composition and Structure of Granular Sludges Treating Different Organic Acids of C₁ to C₄

Y. Y. Li*, H.H.P. Fang**, H.K. Chui*** and T. Noike*

* Department of Civil Engineering, Faculty of Engineering, Tohoku University, Japan

** Department of Civil and Structural Engineering, The University of Hong Kong, H.K.

***Environmental Protection Department, Hong Kong Government, H.K.

Key word: Anaerobic treatment, bacterial population, granule, microstructure, organic acid, UASB

1、はじめに

1980年オランダのLettinga教授の研究グループが嫌気性上向流式スラッジブランケット (UASB) プロセスを報告して以来、嫌気性ハイブリッドスラッジベッドろ床 (Guiot and van der Berg, 1984)、バフフレッドリアクター (Bachman et al, 1985)、ガスリフト型リアクター (Beetink and van der Huvel, 1987) 等の嫌気性微生物の自己造粒能力を用いた幾つかの高効率プロセスが開発された。これらのプロセスに共通する問題は如何にして反応槽内に分解活性が高く、しかも沈降特性が良好なグラニューール汚泥を早く形成させ、多く保持することが成功の鍵である。一般的にグラニューールを形成させるためのスタードアップ期間が長く、その運転操作も非常に難しいと言われている。この背景にはグラニューール汚泥の微細構造及びその形成機構に関する研究が遅れており、嫌気性微生物の自己造粒化現象はまだ科学的に十分解明されていない状況がある¹⁻⁴⁾。本研究はグラニューール汚泥の微生物生態学的構造に焦点を絞って総合的可視化技術及びメタン生成活性の測定方法を活用してC₁-C₄有機酸を分解するグラニューールの微生物生態学的構造を明らかにしようとするものである。

2、実験材料及び方法

2.1 グラニューール汚泥の培養 有効容積2.8LのUASBリアクターを5基用意し、それぞれギ酸 (C₁)、酢酸 (C₂)、プロピオン酸 (C₃)、酪酸 (C₄) および混合有機酸 (CODベースでC₂:C₃:C₄=2:1:1) の人工基質を用いて37℃で約6カ月間UASBリアクターを運転して安定状態に達したグラニューール汚泥を研究対象とした。

2.2 メタン生成活性 (SMA) の測定 各種グラニューールの基質別メタン生成活性はバイアル瓶で回分実験を行うことによって測定した。使用した基質はギ酸、酢酸、プロピオン酸、酪酸及び混合有機酸の5種類であった。実験温度は37℃であった。累積メタン生成曲線の傾きと汚泥濃度によりSMAを求めた。

2.3 可視化技術⁵⁾ グラニューールの全体像及び内部細菌相を解析するために、位相差・蛍光顕微鏡、走査型電子顕微鏡 (SEM) および透過型電子顕微鏡 (TEM) の可視化技術を用いた。操作方法は文献4と同じであった。

Table 1 Summary of the Characteristics of Various Granules

Granule	Size of granules	Settleability	Main reactions in granule (Number)
Formate	< 1 mm	Good	Methanogenesis (1)
Acetate	0.5 - 1.5 mm	Good	Methanogenesis (1)
Propionate	1 - 2 mm	Excellent	Acetogenesis + Methanogenesis (3)
Butyrate	0.5 - 2 mm	Excellent	Acetogenesis + Methanogenesis (3)
Mixed VFA	0.5 - 2 mm	Excellent	Acetogenesis + Methanogenesis (4)

3、結果及び考察

3.1 各種グラニューールの物理的特性とその反応系の構成

Table 1に各種グラニューールの物理的特性とその反応系の構成を示す。ギ酸及び酢酸を基質とした場合、反応系は簡単で、基質の分解が一つのメタン生成反応だけによって行われる。この場合、形成されたグラニューール（或いは微生物集合体）は小さく、沈降性も若干劣っている。これに対して反応系が比較的複雑なプロピオン酸、酪酸及び混合VFAを基質とした場合、形成されたグラニューールは大きくて、しかも沈降特性も優れている。これらの結果は基質、引いては反応系の微生物生態学的構造がグラニューールの形成及びその沈降特性に大きな影響を及ぼすことを示唆している。

3.2 各種グラニューールのSMA

Table 2に異なる有機酸に対する各種グラニューールのメタン生成活性を示す。ギ酸を基質として培養したグラニューールはギ酸を利用するSMAが高かったが、それ以外のVFAを利用できなかった。また、酢酸を基質として培養したグラニューールは高い酢酸分解能とわずかのギ酸分解能（SMA）を示したが、C₃以上のVFAを分解できなかった。その他の3種類のグラニューールはともに酢酸に対するSMAが高かったが、いずれも比較的多様な分解能力を有している。

Tbale 2 SMA of Different Granules Using Various Substarates

Granule	SMA degrading different organic substrates (g-CH ₄ -COD/g-VSS/day)				
	Formate	Acetate	Propionate	Butyrate	Mixed VFA
Formate	2.90	nd	nd	nd	-
Acetate	0.15	1.54	nd	nd	-
Propionate	1.17	1.02	0.49	0.58	-
Butyrate	0.96	1.51	nd	1.31	-
Mixed VFA	0.58	1.17	0.35	0.81	1.03

nd: not detectable

3.3 可視化技術による細菌相の観察

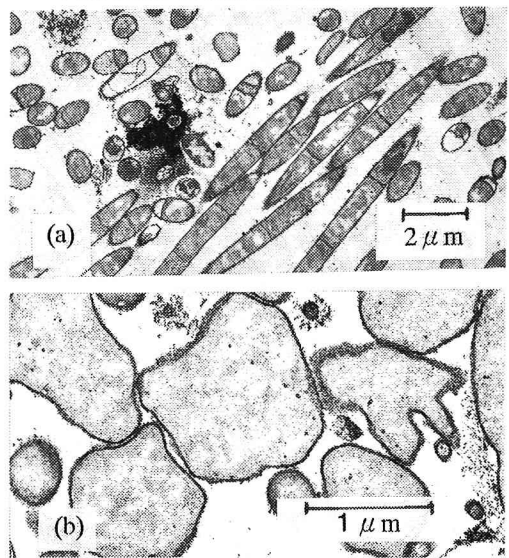


Fig. 1 Predominant Bacteria in Formate Granule

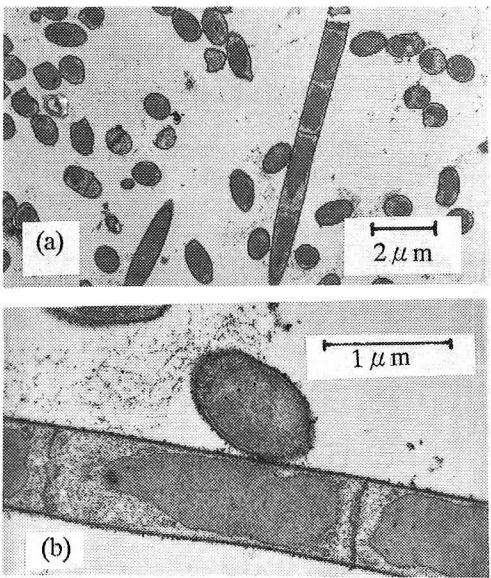


Fig.2 Predominant Bacteria in Acetate Granule

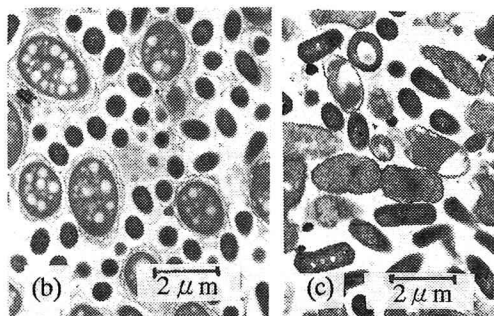
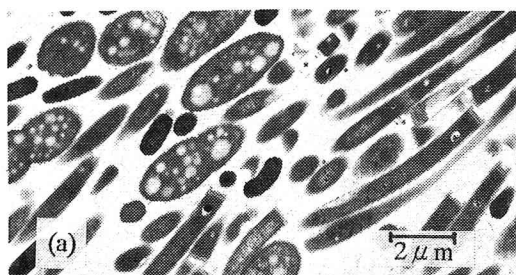


Fig.3 Syntrophic Microcolonies in Propionate Granule

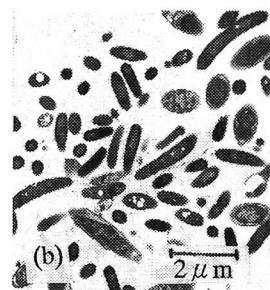
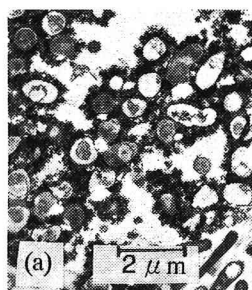


Fig.4 Bacteria in the Surface Layer of Butyrate Granule

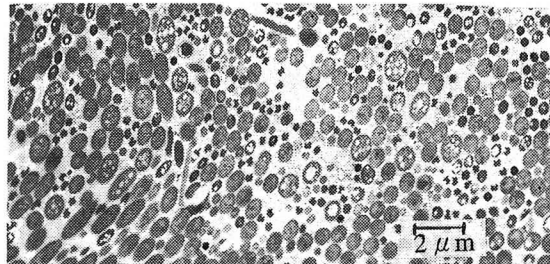


Fig. 5 Syntrophic Microcolony in Mixed VFA Granule

ギ酸を基質として培養したグラニュールはFig.1に示すように、大量な*Methanobacterium formicicum*および少量の*Methanococcus vannielii*らしい細菌によって構成されるのに対して、酢酸を基質として培養したグラニュールは*Methanosarcina*属のメタン生成菌も少量含むが、主として*Methanothrix* (Fig. 2)らしい細菌によって構成されている。プロピオン酸を基質として培養したグラニュールは*Methanothrix*の微小コロニーと数種類の共生コロニーによって構成されており、コロニーの棲み分けが見られたものの、全体として分層構造はなかった。Fig.3は3種類の典型的共生コロニーのTEM写真を示す。それらの細菌相構成及び異種間距離はそれぞれ異なる。Fig.3 (a)は*Syntrophobacter*のような共生酢酸生成菌と*Methanospirillum hungatei*のような水素酸化性メタン生成菌によって構成される共生コロニーを、Fig.3 (b)は*Syntrophobacter*のような共生酢酸生成菌と*Methanobrevibacter*のような水素酸化性メタン生成菌によって構成される共生コロニーを、Fig.3 (c)は*Methanobrevibacter*のような水素酸化性メタン生成菌とある(未知)共生酢酸生成菌によって構成される共生コロニーをそれぞれ示している。一方、酪酸を基質として培養したグラニュールは2層構造が見られ、外層ではFig.4 (a), (b)のような細菌、内側では紐状の*Methanothrix*がそれぞれ優勢であった。混合VFAで培養したグラニュールは全体として*Methanothrix*が優勢であったが、Fig.5に示すような混合型共生コロニーも多く見られた。

4、まとめ

- (1) ギ酸及び酢酸グラニュールはそれぞれ細菌構成が単純で、グラニュールのサイズが比較的小さかった。
- (2) プロピオン酸の分解には共生コロニーが大きな役割を果たしている。
- (3) C_2-C_4 のVFAを分解するグラニュールにおいて糸状の*Methanothrix*がグラニュールの形成に大きな役割を果たしている。

参考文献

1. 原田秀樹、桃井清至、石浜英司、種市尚仁(1988) 嫌気性細菌の自己造粒化機構を利用したメタン発酵リアクターの高速処理特性、衛生工学研究論文集、24、241-251。
2. Macleod, F. A., Guiot, S. R. and Costerton, J. W. (1990) Layered structure of bacterial aggregates produced in an upflow anaerobic sludge bed and filter reactor, *Applied and Environmental Microbiology*, 56(6), 1598-1607.
3. Grotenhuis, J. T. C., Smit, M., Plugge, C. M., Xu Yuansheng, van Lammeren, A. A. M., Stams, A. J. M. and Zehnder, A. J. B. (1991) Bacteriological composition and structure of granular sludge adapted to different substrates, *Applied and Environmental Microbiology*, 57(7), 1942-1949.
4. Fang, H. H. P., Chui, H. K. and Li, Y. Y. (1994) Microbial structure and activity of UASB granules treating different wastewaters. *Proceedings of the Seventh International Symposium on Anaerobic Digestion*, 80-89.
5. 李玉友、方漢平、徐浩光、野池達也(1994) 可視化技術による嫌気性グラニュールの細菌群構造の解析、第28回日本水環境学会年会講演集、656-657。