〈論 文〉

メタノール添加による UASB リアクタの短期スタートアップ

西 脇 正 人* 桐 山 光 市*

An Addition of Methanol to Wastewater Contributes to Shorten the UASB Startup Period

Masato NISHIWAKI* and Koichi KIRIYAMA*

* Ebara Co., Research & Development Dept., 2-1, Honfujisawa 4-chome, Fujisawa 251 Japan

Abstract

The research and development is concerned with shortening the UASB startup period in the case of seeding digested sewage sludge. The method is to make *Methanosarcina* nuclear of granules and to promote granulation by adding methanol to wastewater of which dominant carbon source is acetic acid.

Methanosarcina forms pellets easily and settles rapidly.

An nuclear affects the granulation more effectively than loading rate, up-flow velocity and so on. It was confirmed that granulation was progressed by the addition of methanol. When the dosage of methanol is $500\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$, the methanogenic activity of the sludge in the UASB gets 1.4 times higher than that of the sludge without methanol. This means that the addition of methanol contributes to shorten the UASB startup period.

However, were the methanol-sludge load not under $1.5\text{g}\cdot\text{methanol}\cdot(\text{g}\cdot\text{VSS})^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, acetic acid removal capacity of the sludge would regress.

Key words: UASB, startup, granulation, *Methanosarcina*, methanol

1. はじめに

排水処理における UASB 法は、汚泥がリアクタ内で自己造粒し高密度化するので、高負荷運転が可能である^{1),2)}という利点を持っているが、種汚泥として通常の消化汚泥を用いた場合、リアクタのスタートアップに3～6カ月の長期間を要するという欠点がある^{2),3)}。種汚泥として、すでに造粒化している汚泥を使用できる場合は、短期スタートアップが可能であるが、そうでない場合は、消化汚泥からでも短期間にスタートアップする技術の研究開発が必要である。

リアクタに担体を投入すると糸状性メタン生成細菌 *Methanobrevibacter* 属が担体を覆い、早く造粒化することによって比較的短期間にスタートアップが可能になる⁴⁾

と言われているが、担体容積分の不活性領域が生じ、リアクタとしての効率が悪くなる。そこで、凝集性のある生物体を人為的に増殖させ核体を形成させたものを担体として使用すると、一般の担体を使用した場合と同様に生物担体のまわりに *Methanobrevibacter* 属が増殖して造粒化が進み、スタートアップが短縮化される可能性がある。また、担体となった生物体は、排水の種類によっては、排水の処理に寄与するか、もしくは、溶菌してしまう。溶菌しても *Methanobrevibacter* 属が存在していれば、造粒物は崩壊せずに残留し、溶菌後の空間には、*Methanobrevibacter* 属が増殖して、さらに排水処理に貢献することになる。このように生物体を担体として用いれば、不活性領域をつくらずに UASB リアクタのスタートアップに要する時間を短縮化できる可能性

* (株)荏原製作所研究開発部 〒251 神奈川県藤沢市本藤沢 4-2-1

がある。

このような可能性を有する生物担体として、凝集性のあるメタン生成細菌 *Methanosarcina* 属が考えられる。*Methanosarcina* 属は、メタノールを炭素源とした場合に増殖速度が早く、例えば、*Methanosarcina mazei* の場合、メタノールを基質とすると、 $t_d=15.4\text{h}$, $\mu=0.045\text{h}^{-1}$ である⁵⁾。これに対して、*Methanothrix soehngenii* の場合、酢酸を基質として、 $t_d=9\text{d}$, $\mu=0.0032\text{h}^{-1}$ である⁶⁾。

本研究は、酢酸を主体とする排水に対して人為的にメタノールを添加することにより、*Methanosarcina* 属の核体を形成させて造粒化を促進し、UASB スタートアップの短縮化をはかるものである。

2. 実験方法

2.1 実験装置

用いたリアクタは、内径 5 cm、直胴部27.5cm、容積約560ml の UASB リアクタで、気固液分離部を持たない簡易型である。Fig. 1 に装置を示す。

2.2 実験条件

RUN-1 では、メタノール添加系の効果と、酢酸に対するより好ましいメタノールの比率の検討を目的とした。消化汚泥を種汚泥とし、酢酸負荷 $2.7\sim2.9\text{g}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ まで段階的に上昇させて対照系とメタノール添加系の造粒化状況、およびメタン生成活性について比較

Fig. 1 Schematic diagram of experimental instruments

した。また、メタノール添加系ではメタノール濃度 $500\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ と $1,000\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ のどちらが効果的か比較した。メタノール濃度については、*Methanosarcina* 属が酢酸、メタノールのモル比1.5のときに最大の増殖をしめすという報告⁷⁾がある。本実験においては、*Methanosarcina* 属以外に、*Methanothrix* 属に酢酸を資化させるために、その資化分を見込んで酢酸、メタノールを各 $380\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$, $500\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (モル比1:2.5) とした。

RUN-2 では、より経済的なメタノール供給期間の把握を目的として、メタノールの供給を停止し、酢酸のみを供給する G-2 系列とメタノールと酢酸の供給を続ける系 G-3 系列を作成して実験を行った。この二系列の種汚泥は、RUN-1 でメタノール添加していた

Table 1 Operational condition

	RUN-1			RUN-2			RUN-3		
	F-1	F-2	F-3	F-1	G-2	G-3	F-1	G-2	G-3
seed sludge (mg)	anaerobic digested sludge 10,000mg as VSS	same as F-1	same as F-1	succeeding to Run-1	*	**	succeeding to Run-2	succeeding to Run-2	succeeding to Run-2
carbon source ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$)	acetic acid; 380	HAc; 380 MeOH; 1,000	HAc; 380 MeOH; 1,000	HAc; 380	HAc; 380	HAc; 380 MeOH; 500	HAc; 380	HAc; 380	HAc; 380 MeOH; 500
acetic acid load ($\text{g}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)	increasing to 2.7~2.9	same as F-1	same as F-1	2.7~2.9	same as F-1	same as F-1	increasing to 5.1	same as F-1	increasing to 3.5
reactor temperature ($^{\circ}\text{C}$)	37	37	37	37	37	37	37	37	37
pH of influent	7.4~7.6	7.4~7.6	7.4~7.6	7.4~7.6	7.4~7.6	7.4~7.6	7.4~7.6	7.4~7.6	7.4~7.6

* one part which the gathering of the sludge in the reactor F-2 and F-3 after RUN-1 is split into

** the other part which the gathering of the all sludge in the reactor F-2 and F-3 after RUN-1 is split into

Table 2 Composition of Nutrient (except of carbon source)

NH ₄ Cl	60mg
NaOH	249mg
KH ₂ PO ₄	4,500mg
Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O	12,500mg
trace mineral solution	10m/
distilled water	990m/

Table 3 Composition of trace mineral solution

FeCl ₂ ·4H ₂ O	1,000mg
MgCl ₂ ·6H ₂ O	600mg
CaCl ₂ ·2H ₂ O	20mg
CoCl ₂ ·6H ₂ O	20mg
MnCl ₂ ·4H ₂ O	20mg
Ni(II)Cl ₂ ·6H ₂ O	20mg
KH ₂ PO ₄	2,000mg
distilled water	1,000m/

F-2, 3系列の汚泥を混合後、均等に分割したものである。負荷は、RUN-1と同じにした状態で、活性に変化が起きるかどうかが調べた。

RUN-3では、さらに負荷を上昇させた場合に、三系列がどのような挙動を示すか調べた。

各RUNの条件をTable 1に、供給基質の組成等をTable 2, 3に示す。

なお、実際には各RUNにおいて、各系列の酢酸除去率がほぼ定常に達した段階で、メタン生成活性試験に供するため、および造粒物の計数のため、リアクタ内の汚泥を取り出している。この操作は嫌気ボックス内で行っているものの、再びこの汚泥をリアクタに戻し、実験系を再開しても直ちに、リアクタ内の汚泥を取り出す以前のリアクタ性能には回復しない。低い酢酸負荷から再開し、リアクタ内の汚泥を取り出す以前の酢酸負荷にてその酢酸除去率が得られることを確認してから、再開後はじめて酢酸負荷を高くするという方法を採った。

Fig. 3, 4, 5の横軸に示される時間は、リアクタ内の汚泥を取り出す操作のためにリアクタの性能が一時的に低下した時間を割愛している。

2.3 メタン生成活性試験

UASB法は、汚泥が自己造粒し、高密度化するため、リアクタ内の汚泥沈降部単位容積あたりのメタン生成活性が高いことを特徴としており、スタートアップの評価も、これを第一義にとらえ、リアクタ中の沈降汚

Fig. 2 Time course of acetate loading rate and removal on F-1 (RUN-1 and RUN-2) **Fig. 3** Time course of acetate loading rate and removal on F-2 and G-2 (RUN-1 and RUN-2) **Fig. 4** Time course of acetate loading rate and removal on F-3 and G-3 (RUN-1 and RUN-2) **Fig. 5** Time course of acetate loading rate and removal on F-1 (RUN-3)

Table 4 Culture media

	2 A	2 F
mineral solution 1(m l)	50	50
mineral solution 2(m l)	50	50
trace mineral solution (m l)	10	10
trace vitamin solution (m l)	10	10
sodium acetate (g)	2.5	0
sodium formate (g)	0	2.5
L-cystein•HCl (g)	0.5	0.5
Na ₂ S•9H ₂ O	0.5	0.5
NaHCO ₃ (g)	5.0	5.0
distilled water (m l)	880	880

mineral solution 1

K ₂ HPO ₄	6.0g
distilled water	1,000m l

mineral solution 2

NH ₂ PO ₄	6.0g
(NH ₄) ₂ SO ₄	6.0g
NaCl	12.2g
MgSO ₄ •7H ₂ O	3.2g
CaCl•2H ₂ O	0.18g
distilled water	1,000m l

trace minerals

nitrilotriacetic acid	1,500mg
MnSO ₄ •2H ₂ O	500mg
FeSO ₄ •7H ₂ O	300mg
CoSO ₄	100mg
ZuSO ₄	100mg
CuSO ₄ •7H ₂ O	10mg
AlK(SO ₄) ₂	10mg
H ₃ BO ₄	10mg
Na ₂ MoO ₄ •2H ₂ O	10mg
distilled water	1,000m l

trace vitamins

Pyridoxin-HCl	10mg
DL-calcium pantothenate	5mg
Thiamine-HCl	5mg
Ribofravine	5mg
Nicotinic acid	5mg
P-aminobenzoic acid	5mg
Liopic acid	5mg
Biotin	2mg
Folic acid	2mg
Vitamin B12	0.1mg
distilled water	1,000m l

泥単位容積あたりのメタン生成量を算出し評価指標とした。計算法を以下に示す。

メタン生成活性＝

$$\frac{\text{一日あたり最大量発生したメタン量 (m l •d⁻¹)}}{\text{培養に用いた VSS 量 (mg)}} \times \frac{\text{リアクタ内 VSS 量 (mg)}}{\text{リアクタ内の沈降汚泥容積 (m l)}}$$

本試験では、造粒微生物である *Methanothrix* 属の酢酸資化メタン生成活性、および、嫌気性発酵で優先になる水素、炭酸ガス資化微生物のメタン生成活性に

ついて、測定した。

120m l のバイアル瓶に、次項の培地を用意し、37℃で培養してメタン生成量を測定した。

2.3.1 培 地

用いた培地は、Wolfe and Balch 改変 2 A および 2 F である。組成を Table 4 に示す。改変 2 A 培地は、酢酸を炭素源とした培地であり、汚泥中の酢酸資化性メタン生成菌の活性を調べるためのものである。改変 2 F 培地は、蟻酸を炭素源とした培地であり、汚泥中の水素、炭酸ガス資化性メタン生成菌の活性を調べる

ためのものである。水素、炭酸ガスを資化するメタン生成菌のすべてが蟻酸を資化できるため、ガス体を炭素源にした場合における操作の困難性を考慮して、蟻酸を水素、炭酸ガスの代用炭素源とした。

2.3.2 実験条件

汚泥 (VSS) に対する炭素源の負荷が、改変 2 A では $0.5\text{mg-COD}\cdot(\text{mg-VSS})^{-1}$ 、改変 2 F では $0.45\text{mg-COD}\cdot(\text{mg-VSS})^{-1}$ となるように設定した。汚泥量は、改変 2 A、改変 2 F 共に同じ量にして、上記負荷を考慮したうえで、全液量を 40ml とした。汚泥量を同量にしたために、全液量が 40ml に満たない場合は、純水を添加して調整した。

バイアル瓶に汚泥と水を入れ、 N_2 ガスで 2 分間曝気後、密栓する。気相部をガス置換装置で真空状態とした後 N_2 を封入する操作を行い、所定量の培地を注入して、バイアル瓶内を大気圧に調整後、 37°C 恒温器中で培養を行った。今回の実験で着目する微生物：*Methanothrix* 属と *Methanosarcina* 属の炭素源資化性および微生物形態⁹⁾を Table 5 に示す。

2.4 造粒物の個数

直径 0.5mm 以上のものを造粒物とみなし⁸⁾、沈降汚泥 0.1ml 中に含まれる造粒物を計数し、10 倍して沈降汚泥 1ml あたりの造粒物の個数とした。

2.5 分析方法

発生ガス組成の測定は、ガスクロマトグラフィー (TCD) によった。また酢酸、メタノールは高速液体クロマトグラフィーを用いて定量した。

3. 結果および考察

3.1 負荷および酢酸除去率

3.1.1 RUN-1

RUN-1 においては、メタノール添加が UASB スタートアップの短縮化に寄与するかどうか、また、メタノール濃度によって差異が生じるかどうかについて調べた。酢酸負荷および酢酸除去率の変化を Fig. 2, 3, 4 に示す

酢酸負荷として、 $2.7\sim 2.9\text{g}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ まで負荷を徐々に上昇させスタートアップを行った。酢酸除去率は、酢酸のみの系 (F-1) では $92\sim 100\%$ 、メタノール $500\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ 添加した系 (F-2) では $82\sim 98\%$ 、 $1,000\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$

添加した系 (F-3) では $73\sim 93\%$ であった。リアクタ流出水の pH は、F-1 系列では $7.8\sim 8.2$ 、F-2 系列では $7.3\sim 7.5$ 、F-3 系列では $7.2\sim 7.6$ であった。汚泥中の酸生成菌により、添加したメタノールからの酢酸生成が考えられ、このため F-2、F-3 両系列において、F-1 よりも酢酸除去率が低いものと推測する。

3.1.2 RUN-2

RUN-2 では、メタノール供給期間を把握するために、RUN-1 でメタノール添加を行って立ちあげていた汚泥にたいして、メタノールの供給を停止し酢酸だけを供給する G-2 系列と、濃度 $500\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ でメタノールの添加を続ける G-3 系列を作成して実験を行い、対照系として RUN-1 の F-1 系列を継続した。この G-2、3 系列に使用した汚泥は、RUN-1 においてメタノールを添加していた二系列の汚泥を均等分割したものである。なお、メタノールを添加していた期間は 5 日、メタノール資化量 66.6g であった。負荷を一定にした状態で、活性に変化が起きるかどうかを調べた。

三系列共に、酢酸負荷を $2.7\sim 2.9\text{g}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ に設定した。酢酸除去率は、F-1 系列ではほぼ 100% 、G-2 系列では $80\sim 100\%$ 、G-3 系列では $86\sim 100\%$ であった。(Fig. 2, 3, 4 参照) リアクタ流出水の pH は、F-1 系列では $7.5\sim 7.9$ 、G-2 系列では $7.8\sim 8.0$ 、G-3 系列では $7.6\sim 7.8$ であった。G-3 系列については RUN-1 と同じ理由により、また G-2 系列については、RUN-1 において酢酸資化メタン生成活性の低かった汚泥が混合されているため、F-1 系列に比べて酢酸除去率が少し劣ると考えられる。

3.1.3 RUN-3

RUN-3 では、負荷を上昇させた場合に、RUN-2 で用いた三系列がどのような挙動を示すか調べた。酢酸負荷および酢酸除去率の変化を Fig. 5, 6, 7 に示す。

F-1、G-2 系列では、酢酸負荷を $5.1\text{g}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ まで上昇させた。F-1、G-2 系列では、負荷を上昇させても $93\sim 100\%$ の酢酸除去率を得たが、G-3 系列では、 $3.5\text{g}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ の負荷をかけると、酢酸の除去率はそれまでの $86\sim 100\%$ から $45\sim 57\%$ に低下し、負荷を上昇させることができなかった。リアクタ流出水の pH は、F-1 系列では $7.6\sim 7.7$ 、G-2 系列では $7.3\sim 7.7$ 、G-3 系列では $7.1\sim 7.7$ であった。筆者らは、*Methanothrix*

Table 5 Substrate and morphology of *Methanothrix* and *Methanosarcina*

	substrate	morphology
<i>Methanothrix</i>	acetate	rods, long filaments
<i>Methanosarcina</i>	H_2/CO_2 , acetate, formate	packets
	methanol, methyl amine	

Fig. 6 Time course of acetate loading rate and removal on G-2 (RUN-3)

Fig. 7 Time course of acetate loading rate and removal on G-3 (RUN-3)

Fig. 8 MeOH loading rate VS. Acetate removal

soehngeni (DSM2139) に酢酸とメタノールを供給すると、メタノール濃度 $1,000 \sim 3,000 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ の間で、増殖阻害が起こり始めるという知見を得ている。このことから、メタノール濃度としては問題はないが、メタノール負荷が上がった為に *Methanotrix* 属に対して、増殖阻害を引き起こさせた可能性が考えられる。Fig. 8 にメタノール汚泥負荷と酢酸除去率の関係を示す。メタノール負荷約 $1.8 \text{ g} \cdot (\text{g-VSS})^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 以上で酢酸の除去率が低下する傾向にあり、メタノール負荷が酢酸除去の阻害要因である可能性が示唆された。なお、この図において、メタノール負荷が経時的に漸減しているのは、Fig. 1 に示される貯留槽に滞留している間に、メタノールが揮散してメタノール濃度が漸減するためである。

3.2 メタン生成活性

各系列のリアクタ内の汚泥 (VSS) 濃度の変化を Fig. 9 に、酢酸資化メタン生成活性の変化を Fig. 10

に、そして蟻酸資化メタン生成活性の変化を Fig. 11 に示す。

3.2.1 RUN-1

(1) 酢酸資化メタン生成活性

F-1 系列では $1.22 \text{ ml} \cdot \text{CH}_4 \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 、F-2 系列では $1.68 \text{ ml} \cdot \text{CH}_4 \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ を示し、F-1 系列に比べて F-2 系列では1.4倍の酢酸資化活性が認められた。メタノール添加を行った方が、酢酸資化活性の立ち上がりの早いことが確認できた。これに対して、F-3 系列では $0.36 \text{ ml} \cdot \text{CH}_4 \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ で、酢酸資化活性が実験開始時に比べて劣り、F-1 系列の0.3倍の活性しか持っていなかった。

(2) 蟻酸資化メタン生成活性

F-1 系列では、酢酸しか炭素源として供給していないので、当然、実験開始時の $1.74 \text{ ml} \cdot \text{CH}_4 \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ に比べて活性が低下し、 $0.92 \text{ ml} \cdot \text{CH}_4 \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ となった。F-2, 3 系列でも同様に1.33, および $1.58 \text{ ml} \cdot \text{CH}_4 \cdot$

Fig. 9 Time course of sludge concentration (VSS) in the reactor

Fig. 10 Time course of methane producing activity by degradation of acetate

Fig. 11 Time course of methane producing activity by degradation of formate

$\text{ml}^{-1}\text{d}^{-1}$ に活性が低下してきているが、F-1 系列と比べて活性の低下率が低い。この系では、メタノール資化性の *Methanosarcina* 属が増殖していると推測され、*Methanosarcina* 属が蟻酸を資化したということおよび、F-2, 3 系列のリアクタ内にメタノール→酢酸+水素⁵⁾という代謝を行う微生物が存在し、その水素をメタン菌が利用していたと考えられ、この活性の保持によって、活性の低下率が低い可能性がある。

以上より、酢酸のみを供給するよりも、さらにメタノール $500\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ を添加した方が、酢酸資化活性の立ち上がり早いことがわかった。メタノール $1,000\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 添加の場合、酢酸資化活性が低かったことから、酢酸資化性の *Methanobrevibacter* 属の優先度は低く、酢酸も資化できる *Methanosarcina* 属の存在量も、少ないと考えられる。

3.2.2 RUN-2

(1) 酢酸資化メタン生成活性

F-1 系列の活性は、徐々に高くなって $1.42\text{ml-CH}_4 \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ となり、G-2 系列とほぼ同じ活性を示すようになった。G-2 系列の活性は $1.61\text{ml-CH}_4 \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ であった。しかし G-2 系列の活性の上昇率は F-1 系列に比較して高く、RUN-1 の F-2 系列を継続していれば、F-1 系列よりかなり優位を保つことが推測できる。G-3 系列は活性が高くなり、RUN-2 の最終では F-1 系列に比べて約3.8倍に相当する $5.36\text{ml-CH}_4 \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ の活性を示した。

G-3 系列では、メタノールを $500\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ 添加しており、リアクタ内には、メタノールを代謝して酢酸を生成する微生物も存在する。酢酸の除去率は100%を示しており、リアクタ内で生成される酢酸をも代謝するほどの酢酸代謝活性を得るようになったためと考える。

(2) 蟻酸資化メタン生成活性

F-1, G-2 系列それぞれ $0.92\text{ml}\cdot\text{CH}_4\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, $1.45\text{ml}\cdot\text{CH}_4\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ からともに $0.66\text{ml}\cdot\text{CH}_4\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ に活性は低下してきており、汚泥の微生物相が酢酸を代謝する相に変化してきていることが示された。G-3 系列では、活性の上昇が見られ $3.56\text{ml}\cdot\text{CH}_4\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ に達した。これは、汚泥中に *Methanosarcina* 属が増え、蟻酸を資化したためであると考えられる。

3.2.3 RUN-3

(1) 酢酸資化メタン生成活性

F-1, G-2 系列では、同じ活性値 $2.13\text{ml}\cdot\text{CH}_4\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ を示した。F-1 系列では、RUN-2 で造粒物の個数や酢酸資化活性が G-2 系列にほぼ追いついたことから、リアクタ単位容積あたりの *Methanotrix* 属の量が同じ程度になってきていることが推測される。G-3 系列では $5.54\text{ml}\cdot\text{CH}_4\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ であった。負荷を上昇できない状態であり、RUN-2 の時に比べて活性の上昇は、僅かであった。

(2) 蟻酸資化メタン生成活性

F-1, G-2 系列では、低い活性値を維持し、各 0.79 , $1.03\text{ml}\cdot\text{CH}_4\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ であった。このことから、酢酸資化菌が優先的になってきていることが推測される。

G-3 系列では RUN-2 と比べ、酢酸資化メタン生成活性同様にほとんど変化がなく、 $3.62\text{ml}\cdot\text{CH}_4\cdot\text{m}^{-1}\cdot$

d^{-1} であった。これは、RUN-2 の時よりもメタノール負荷を上昇することができなかったためだと考えられる。

RUN-1 の55日間メタノール添加でも活性が1.4倍高かったことと合わせ、RUN-2 の結果よりメタノール添加の経済性を考えた場合、55日間のメタノール添加だけでもスタートアップ短縮化に貢献すると考えられる。この時の投入汚泥 VSS 量 $10,000\text{mg}$ に対するメタノール資化量は、 66.6g であり、スタートアップ時の汚泥に対して消費するメタノール量は $6.7\text{g}\cdot\text{メタノール}(\text{g}\cdot\text{VSS})^{-1}$ ということになる。また、経済的に余裕がある場合は、これ以上にメタノール負荷をかけた方が、汚泥の酢酸資化メタン生成活性を高める効果のあることがわかった。

3.3 粒状物の個数

造粒物の個数の変化を Fig. 12 に示す。

3.3.1 RUN-1

F-2, -3 系列で、酢酸負荷が $2.0\text{g}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 以上となる運転開始20日目ぐらいから急激に個数の増加が確認され、F-1 系列に比べて2倍以上の造粒物がリアクタ内に存在した。メタノール添加の二系列で、造粒化が促進されていることから、メタノール濃度に関係なく、酢酸主体排水にメタノールを添加すれば、造粒化速度の向上につながることが確認できた。

3.3.2 RUN-2

F-1 系列では、活性と同様に個数の増加が見られ、G-2 および G-3 系列よりも多く観察された。G-2 および G-3 系列では、造粒物の径が大きくなって計数される数が減少したために個数の上で逆転したものと考

Fig. 12 Time course of the number of the granules

えられる。

3.3.3 RUN-3

F-1, G-2 系列では、個数はほぼ同じになった。G-3 系列では、期間中常に F-1 や G-2 系列よりも個数が少なかった。F-1, G-2 系列のように負荷を高くすることができなかったことによるのか、あるいは著しく造粒物が大きいためであるかはわからない。三系列ともに、造粒物の径が大きくなってきており、RUN-1 のような急激な個数の増加は認められなかった。

各系の造粒物の大きさは、次に示すようであった。
酢酸のみの系 (F-1) 造粒物の直径 0.5mm 程度
55日間でメタノール添加を停止した系 (G-2)

〃 1 mm 程度

メタノール添加を継続した系 (G-3)

〃 2 mm 程度

3.4 造粒物の電子顕微鏡写真

3.4.1 RUN-1

UASB 内の造粒物は、本来しっかりとした球形を示すものであるが、F-1 系列では、ブロック状の汚泥が凝集したような感じであり、しっかりとした球形は示していない。F-1 系列の造粒物表面の電子顕微鏡写真

Fig. 13 Scanning electron micrograph of the floc surface in the reactor F-1 (in the experiment RUN-1)

Fig. 14 Scanning electron micrograph of the granule surface in the reactor F-2 (in the experiment RUN-1)

を Fig. 13 に示す。糸状性の *Methanothrix* 属はほとんど観察されなかった。

F-2 系列の造粒物は、F-1 系列よりもしっかりとしており造粒化が促進していた。造粒物表面を Fig. 14 に示す。表面は、球菌の *Methanosarcina* 属と、糸状菌の *Methanothrix* 属が混在しており、F-1 系列と比べると、*Methanothrix* 属の優先度は、高くなっていた。球菌が *Methanothrix* 属に対し、生物担体の役割を成していると考えられる。

F-3 系列では、F-2 系列と同様にしっかりとした造粒物を形成していた。Fig. 15 に示す表面には、*Methanothrix* 属がほとんど見られず、かわりに、メタノール資化性と思われる球菌や *Methanothrix* 属より細い糸状菌、そして短桿菌などが存在していた。このことは、酢酸資化メタン生成活性から推測できる。

以上の結果から、通常のスタートアップをするよりも、メタノール添加を行った方が、汚泥の造粒化、酢酸資化活性の向上に効果的であることがわかった。また、添加するメタノール濃度は、 $1,000\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ よりも $500\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ の方が、排水処理に必要な、*Methanothrix* 属を有効に捕捉し、増殖させる効果のあることがわかった。

Fig. 15 Scanning electron micrograph of the granule surface in the reactor F-3 (in the experiment RUN-1)

Fig. 16 Scanning electron micrograph of the granule surface in the reactor F-1 (in the experiment RUN-2)

3.4.2 RUN-2

F-1 系列を Fig. 16 に示す。酢酸資化活性の上昇からも予想されるように、RUN-1 と比較すると、表面には酢酸資化性の *Methanothrix* 属が増えてきている。

G-2 系列の表面の状態は、RUN-1 とあまり変わらない。

G-3 系列の造粒物は、蟻酸資化メタン生成活性から *Methanosarcina* 属がかなり存在していることが予想されたが、表面のほとんどが *Methanothrix* 属で占められていた。全体的には、その密度は G-2 系列よりも高いように感じられた。おそらく、*Methanosarcina* 属は造粒物の内部に存在するものと考えられる。

3.4.3 RUN-3

F-1, G-2 系列ともに、*Methanothrix* 属が優先になってきているが、3 系列において *Methanothrix* 属の密度に有意な差は見い出せない。

G-3 系列を Fig. 17 に示す。

4. ま と め

酢酸を主体とする排水にメタノールを添加することにより、微生物自身から成る核体を素早く形成させ、UASB リアクタのスタートアップを短縮化する実験を行い、以下のような知見を得た。

1) メタノールを添加することにより造粒化が促進される。メタノール添加系での造粒物の個数は、スタートアップ30日経過時で、酢酸のみを供給する系の約3倍であった。

2) 主炭素源である酢酸の濃度が $380\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ のとき、添加するメタノール濃度は、望ましくは $1,000\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ よりも $500\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ の方が、*Methanothrix* 属の増殖を抑制することなく、造粒化および活性の向上につながる。

3) メタノール $500\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ を添加すると酢酸 (380

Fig. 17 Scanning electron micrograph of the granule surface in the reactor G-3 (in the experiment RUN-3)

$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) のみを供給する場合に比較して、活性は、1.4倍高くなり、スタートアップの短縮化を図ることができる。

4) スタートアップ時の種汚泥に対して、資化しうるメタノール負荷 $6.7\text{g}\cdot\text{メタノール}\cdot(\text{g}\cdot\text{VSS})^{-1}$ を添加すれば、スタートアップの短縮化に貢献する。

5) メタノール添加を続けた方が、活性の向上につながるが、メタノール汚泥負荷として $1.5\text{g}\cdot\text{メタノール}\cdot(\text{g}\cdot\text{VSS})^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 以下に抑えなければ、酢酸除去率の低下を招く可能性がある。

謝 辞

本研究は「高性能分離膜複合メタンガス製造装置開発」の一環として、新エネルギー・産業技術総合開発機構 (NEDO) から委託を受けて実施したものである。

DSM804, 2139株を供与していただいた、広島大学工学部第3類醸酵工学教室、永井史郎教授、ダイセル化学工業(株)総合研究所生物化学教室、井上耕一氏に深く感謝いたします。

(原稿受付 1994年4月6日)

(原稿受理 1994年7月29日)

引用文献

- 1) Lettinga, G. et al. (1981) Anaerobic Treatment of Sewage and Low Strength Waste Waters, in "Proceedings of 2nd International Symposium on Anaerobic Digestion" (Ed.D.E. Hughes et al.), pp.271-291, Elsevier Biomedical Press, Amsterdam.
- 2) Hulshoff Pol, L.W., de Zeeuw, W.J., Velzeboer, C.T.M. and Lettinga, G. (1983) Granulation in UASB-reactors, (M. Henze), *Water Science and Technology*, 15, 291-304.
- 3) 原田秀樹, 桃井清至, 藤井伸夫, 帆秋利洋 (1987) 上昇流スラッジブランケット反応器 (UASB) による高速メタン発酵特性, 衛生工学研究論文集, 23, 227-238, 東京.
- 4) 依田元之, 山内英世, 北川幹夫 (1989) マイクロキャリアベッド (改良型 UASB) 法による大豆ホエーの嫌気性処理, 用水と廃水, 31, 49-54.
- 5) Liu, Y., Boone, R., Sleat, R. and Mah, R.A. (1985) *Methanosarcina mazei* LYC, a new methanogenic isolate which produces a disaggregating enzyme, *Applied and Environmental Microbiology*, 49, 608-613.
- 6) 遠藤銀朗 (1985) メタン発酵に関与する微生物の生態について—総説—(II), 荏原インフィルコ時報, 92, 1-9.
- 7) Silveira, R.G., Nishio, N. and Nagai, S. (1991) Growth characteristics and corrinoid production of *Methanosarcina barkeri* on methanol-acetate medium, *Journal of Fermentation and Bioengineering* 71, 28-34.
- 8) アクアルネッサンス編集委員会 (1991) 膜複合型嫌気方式による廃水処理技術, 72-73, アクアルネッサンス技術研究組合, 東京.