

東京大学工学部 学生員 ○花木 啓祐
同 正 員 松尾 友矩
同 長瀬 道彦

1. はじめに

筆者らは、種々の合成基質や活性汚泥が嫌気的に分解されてゆく過程を数年来調べてきており^{1), 2)} 複合基質であるミルクからの酸生成が場合によっては段階的に進行する(図-1)ことを報告した¹⁾。本報は、この2段階の酸生成をもたらす原因とそれに影響する因子について検討を加え、複合基質の嫌気性消化の際に起きる現象を明らかにしようとするものである。

2. 実験装置と方法

前報までと同様、バッチ実験によって基質の分解過程を調べた。装置は前報¹⁾で示した容積2Lの消化槽を用いたものの他に、合成ゴムの栓とアルミの縛金のついた容積約38mlのガラスビン(バイアル)を多数用いた。後者の場合、容器に混合液20mlを入れ、空隙を N_2-CO_2 混合ガス(7:3)で置換した後密栓しバッチ実験を開始するものとし、注射器の針を刺し込むことによりガス生成量を求め、同時にガス組成の分析を行なった。また、混合液のサンプリングは注射器を使って0.5mlずつ採取する方式と、順次バイアルを開封する方式を併用した。これらのバッチ実験には連続培養槽でミルクに馴致させた汚泥を種汚泥に使い、温度は $37 \pm 1^\circ C$ に保った。揮発酸とガス組成の分析はガスクロマトグラフィー法、汚泥中の脂質成分の定量は、遠心分離(3500rpm, 5分)を2回実施した後の汚泥部分に対してBligh-Dyer法³⁾で脂質を抽出した後 $80^\circ C$ で乾燥し秤量する方法によった。

3. 実験結果と考察

① 第2段目の酸生成をもたらす基質---前報¹⁾で、第2段目の酸生成は一旦汚泥部分に移行した基質の分解によってもたらされることを示した。図-2にミルクを基質にしたバッチ実験における汚泥中の脂質量の推移と酸生成反応の関係を示す。ミルク中の脂質成分(大部分は中性脂肪)は第1段酸生成反応の初期に汚泥部分へ移行し、それが第2段酸生成反応に対応して分解されてゆくことがわかる。この例では、投与ミルク中の脂質成分1000mg/Lにに対し約800mg/L(CODで2060mg/L相当)が汚泥部分に移行し、第2段酸生成反応ではそれに見合う2100mg/L(as COD)の酸が生成されている。これらのことから、第2段酸生成反応の主因は一旦汚泥部分に移行したミルク中の脂質成分の分解にあると考えられる。2段階の酸生成が見られたすべての例で、第2段酸生成量がミルク中の脂質量(COD当量比率で44%)にほぼ対応していることもこれを裏付けている。そして、酸生成反応が顕著に2段階になることは、脂質の分解の開始が他の成分に比べ遅れることに他ならない。

＜凡 例＞		n-酪酸濃度	無添加
実質酸生成量	●	○	×
汚泥中の脂質量	△	○	×
メタン生成量	×	○	×
n-酪酸濃度	○	○	×

図-2. 脂質成分の分解過程とn-酪酸の及ぼす効果

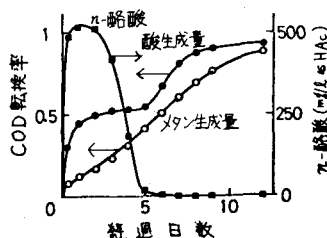
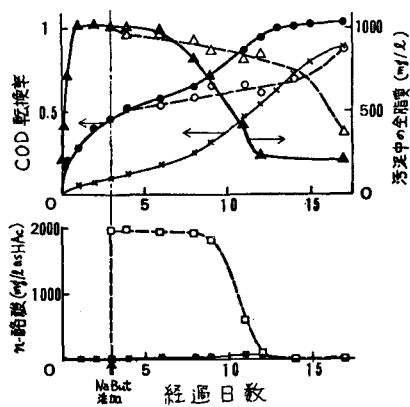


図-1. 2段階の酸生成反応



② 脂質の分解とメタン生成反応の関係---pHを5まで低下させて反応を阻害し、その後14日目にpHを中性に戻した場合のミルクの分解過程を図-3に示す。脂質の分解、すなわち第2段酸生成はメタン生成反応が停滞している間は起きず、18日目頃からメタン生成反応が再開しそれに伴ってn-酪酸濃度が低下した後になって、

初めて開始していることがわかる。また、メタン生成反応が遅滞した他のすべての場合においても、脂質の分解は起きなかった。これらのことは、メタン生成反応が進行していることが脂質の分解に対して必須の条件になっていることを示している。また、この例でみられたようなn-酪酸の特徴的な挙動は他のいくつかのバッチ実験でもみられて(図-1)おり、n-酪酸が脂質の分解を抑制していることが示唆される。

③ n-酪酸の存在が脂質の分解に及ぼす影響--- n-酪酸の存在自体が脂質の分解を抑制するかどうかを調べるため、図-2のバッチ実験において3日目の混合液をバイアルにとり、n-酪酸ナトリウム 2000 mg/l (as HAc) を添加したものとししないもの(control) の両者の脂質分解反応を調べた。この結果(図-2) は、n-酪酸の存在が脂質の分解を妨げていることを示しているが、その一方でn-酪酸の分解も3~8日目の間は何らかの原因で停止していることが明らかになった。脂質の分解が極めて遅やかだった別のバッチ実験において同様の方法でn-酪酸の及ぼす効果を調べた(図-4)。この場合脂質量の分析は行っていないが、n-酪酸 1000 mg/l, 2000 mg/l (as HAc) 添加の両者において、n-酪酸が 200 mg/l 程度に低下するまでは酸生成が抑制されていることがわかる。ここで、抑制期間中に酸生成量が負の値を示しているのは、n-酪酸から高級脂肪酸が合成されたためとも考えられる。なお、同様に酢酸(2000 mg/l)、マロヒオン酸(1500 mg/l as HAc) を添加する実験も行なったが、酸生成が顕著に抑制されるような現象は見られなかった。

④ 脂質以外の成分とメタン生成反応の関係--- 前述のように、低pHで阻害されメタン生成が停止している汚泥(阻害系と呼ぶ)は脂質を分解できないが、他の基質に対する分解能を検討した。表-1に示す6種の基質を阻害系汚泥に加え6日目までの分解量を算出し、正常な汚泥を用いて同じ操作を行なった際の分解量を対照として比較を行なった。グルコースとでんぷんは反応速度の違いはあるかもしれないが、阻害系汚泥によって完全に分解された。カゼインの分解率が極めて低い。これは汚泥に分解能がないためではなく、低pHゆえにカゼインが溶解しないためであることがその後の実験で明らかになった。ミルクの分解率の低さは脂質とたんぱくが分解していないことを反映している。これに対して、酢酸からのメタン生成やn-酪酸の分解は完全に停止しているが、H₂からのメタン生成能は保持されている(投与H₂量が少ないが)ことがわかる。

4. まとめと結論

ミルクの分解過程では脂質成分の分解が遅れる場合が多く、その結果として2段階の酸生成反応が観察されることがわかった。脂質の分解に係わる要因について、①メタン生成反応が進行していることが脂質分解反応に必須である、② 200 mg/l as HAc 程度のn-酪酸の存在が脂質の分解を抑制する、③ n-酪酸の分解(この反応はメタン生成相に属する)自体も何らかの要因で抑制を受ける、ことが明らかになった。これらのことは脂質の分解がメタン生成反応と密接な係わりを持つことを示唆しており、具体的な機構について更に検討が必要である。一方、グルコースやカゼインは通常のpH域ではメタン生成反応の進行に関係なく分解される(反応生成物や反応速度が変わることはあるかもしれないが)。従って、複合基質の嫌気性消化においては脂質の分解が律速になる可能性がある。

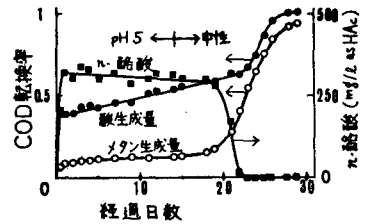


図-3. 低pHで阻害を起こした時の脂質の分解

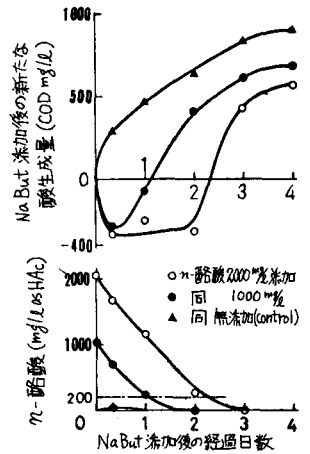


図-4. n-酪酸による酸生成の抑制

表-1. 阻害を受けた汚泥の基質分解能

基 質	投与濃度 (mg/l)	分解率(阻害系) / 分解率(正常系) (%)
グルコース	500	99 ^{c)}
でんぷん	500	95 ^{c)}
カゼイン	500	5 ^{c)}
ミルク	500	23 ^{c)}
n-酪酸 250 ^{a)}	250 ^{a)}	0
H ₂ + CO ₂	約 170 ^{b)}	100

a) as HAc, b) as COD, c) 酸生成量の比較

1) 花本 松尾, "嫌気性消化における基質分解能について", 32回年報
2) 同上, " (2) " 33回年報
3) 日本生化学会編, "生化学実験講座 脂質の化学" 東京化学同人(1974)