

東北大学工学部 正 ○花木 啓祐
 東京大学工学部 学 長 瀬 道彦
 同 正 松尾 友矩

1. はじめに

筆者らは嫌気性消化の場合における種々の基質の分解過程について研究してきており^{1)~3)}, 炭水化物, たんぱく質, 脂質から構成されるミルクの分解過程で脂質の分解が遅れることを示した³⁾。本報では特に脂質の分解について調べ, そこでみられた阻害とそれに対する対策について報告したい。

2. 実験方法

(1) 基質……中性脂肪を含む基質としてM社製ミルク(炭水化物57%, たんぱく質13%, 脂質25%)を, 高級脂肪酸としてオレイン酸ナトリウム(以下オレイン酸とよぶ)と種々の高級脂肪酸のナトリウム塩の混合物(混合脂肪酸とよぶ)の両者を用いた。酢酸と n -酪酸はそのナトリウム塩を用いた。

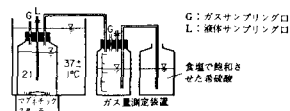


図-1. バッチ実験装置

(2) 実験装置と実験手順……ミルクを連続投与して培養を行い残存基質の分解を終了させた汚泥を種汚泥として, 図-1に示す装置あるいは容積約38mlの密栓バイアルを用い37°Cでバッチ実験を実施した。

(3) 分析方法……ガス量測定装置によりガス生成量を読み取ると共にガス組成をガスフロマトグラフィーで分析し, これをもとにメタン生成量を算出した。これと, ガスフロマトグラフィーによって測定した揮発酸の濃度から酸生成量を算出した⁴⁾。遠心分離(3500rpm, 5分)の上すみ中の脂質はエチルエーテルで, また汚泥部分のそれはBligh-Dyer法によってそれぞれ酸性条件下で抽出した。脂質抽出液中の高級脂肪酸はガスフロマトグラフィーによる定量を, 中性脂肪は薄層クロマトグラフィーによる半定量を実施した。また, 汚泥部分の抽出液の全量をあらかじめ秤量した三角フラスコに移し, 溶媒を蒸発させた後80±5°Cで乾燥し秤量することによって汚泥中の全脂質を定量した。ATPは, boiling tris法によって採取直後の混合液から抽出しATPフォトメータで定量した。

3. 実験結果と考察

(1) 中性脂肪の加水分解……中性脂肪が高級脂肪酸に加水分解される過程を明らかにするため, ミルク4000mg/lを投与し脂質成分の推移を調べた結果を図-2に示す。ミルクとして投与された中性脂肪は, 当初上すみ中に存在するが0.75日までに減少し, これに対応して汚泥中の高級脂肪酸が増加しておりこの時期に加水分解が起きたことがわかる。このように, ミルク中の中性脂肪は速やかに加水分解され, 生成した高級脂肪酸は汚泥部分に移ったが, その後の分解に時間がかかることが明らかになった。

(2) 高級脂肪酸による阻害……混合脂肪酸を単独で, あるいは酢酸, n -酪酸, グルコースと共に濃度を段階的に変えて投与したバイアル実験の結果を図-3に示す。混合脂肪酸自身の分解状況は単独投与時の酸生成量(図a)に示される。混合脂肪酸の投与濃度が高まるに従って反応の遅滞が長くなる現象がみられた。また, 酢酸を同時投与した場合(図b)にも混合脂肪酸の投与濃度の増加と共に酢酸経由のメタン生成反応の遅滞が長くなった。さらに,

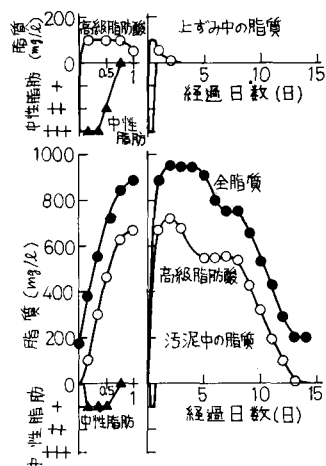


図-2. 中性脂肪の分解過程

n -酪酸を同時投与した場合(図c)にも n -酪酸の分解が同様の阻害を受けることが示された。これに対し, グルコースを同時投与した場合(図d)にはグルコースの分解に相当する量の酸生成が速やかに起き, グルコースの

分解は混合脂肪酸の阻害を受けないことが示された。この他、 H_2 經由のメタン生成反応は混合脂肪酸の投与によってその反応速度が低下するものの完全に停止するには至らないことがわかった。

オレイン酸を投与した場合混合脂肪酸に比べ弱いものの同様の阻害がみられ、一般に高級脂肪酸がこれらの反応を阻害すると考えられる。

図-4に混合脂肪酸1000 mg/lを投与した際のATP等の推移を示した。混合脂肪酸は水溶性の塩として投与されたにもかかわらず、汚泥中の全脂質の推移からわかるように反応初期に汚泥部分へ脂質成分が移った。そしてこれに対応してATPが激減した。反応の遅滞は10日間続き

その後徐々に混合脂肪酸の分解が進行したがATPの水準は回復しなかった。ここでみられたATPの激減は微生物が毒性を受けたことを示している。これらのことから、高級脂肪酸による阻害はそれ水汚泥に吸着されて毒性を及ぼすために起きると考えられる。

(3) 毒性の緩和策……高級脂肪酸の毒性を緩和するため、 Ca^{2+} あるいは Mg^{2+} を添加して高級脂肪酸を不溶化することを試みた。図-5はオレイン酸1000 mg/lと酢酸2000 mg/lを投与し、その際あらかじめ $CaCl_2$ あるいは $MgCl_2$ を沈殿生成に必要な量の5~12倍添加した実験の結果で、これらの塩の添加によって阻害がほぼ完全に防止され、形成した不溶性の高級脂肪酸塩自体の分解も進行した。ただし、 Mg^{2+} は Ca^{2+} に比べ毒性を緩和する力が弱いことが別の実験から明らかになっている。ところで、 Ca^{2+} や Mg^{2+} は高級脂肪酸と汚泥の接触前あるいは接触直後に添加しなければ効果が小さいことが、混合脂肪酸を基質とし $CaCl_2$ の添加時期を変えた実験(図-6)からわかっている。

4. おわりに

今回の結果から、脂質成分は嫌気性消化における種々の重要な反応を阻害することが明らかになった。したがって下水汚泥を構成する有機成分のうち特に脂質の挙動に注意を払う必要があり、実際的な面からの検討も今後必要であろう。〈参考文献〉1) 花木, 松尾: 土木学会第32回年講。2) 同: 同第33回年講。3) 花木, 長瀬, 松尾: 同第34回年講。4) 花木, 松尾: 下水協誌, Vol.17, No.189 (1980)。

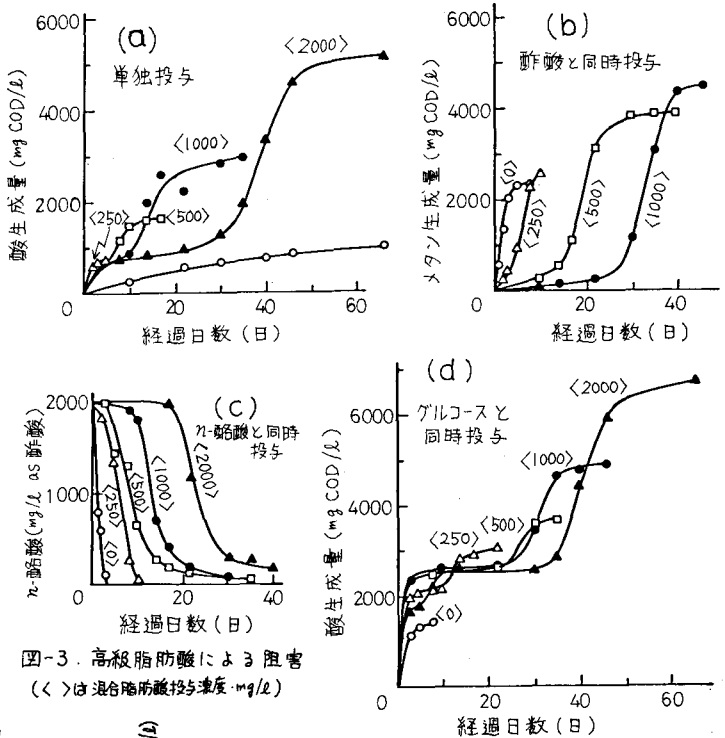


図-3. 高級脂肪酸による阻害
(<>は混合脂肪酸投与濃度・mg/l)

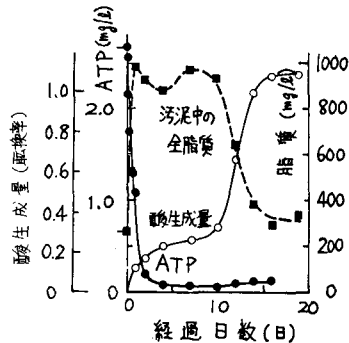


図-4. 阻害時のATPの推移

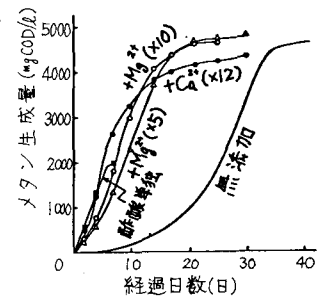


図-5. Ca^{2+} , Mg^{2+} 添加の効果

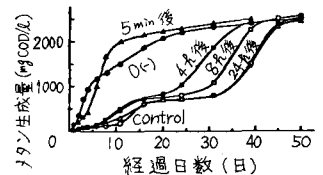


図-6. Ca^{2+} の添加時期の効果