

II-502

嫌気性消化における水素消費活性に関する実験的研究

九州大学 工学部 学 久場隆広 正 古米弘明
同上 正 楠田哲也 正 張 満良

1. はじめに

従来、嫌気性消化過程における水素の役割は、極めて重要であることが指摘されてきたが、水素に関わる微生物群の役割についての実験的研究は少なく、水素利用菌体量の評価を試みることは有用と考えられる。本研究は、水素消費の基本的な特性を把握すること、嫌気性汚泥消化槽内での水素消費活性を評価する方法を検討することを目的として、人工基質で培養した汚泥を用いた実験結果より、水素消費を担うと考えられるメタン菌と硫酸還元菌の活性菌体量の推定を行なったものである。

2. 実験装置及び方法

使用した汚泥は、福岡市下水処理場の嫌気性消化槽汚泥を約1年間完全混合槽で馴致培養したものである。汚泥の種類は、酢酸(HAc)、プロピオン酸(HPr)、酪酸(n-HBu)をそれぞれ単一有機源とする基質で馴致された汚泥と、HAc, HPr, n-HBuを2:1:1で混合した混合有機酸基質（以下 Mix）で馴致した汚泥の4種である。培養基質組成を表-1に示す。培養方法は毎日のFill & Draw方式で水理学的滞留時間を13日～15日に設定した。系内のガス発生量及びpHは一定であり、汚泥状態は安定している。また、基質を投入し1日後には槽内に揮発性脂肪酸は残っておらず、投入基質はほぼメタンガスに転換され、水素ガスは基質添加初期を除き検出されない状態にあることが確認されている。

水素消費には水素利用メタン菌と硫酸還元菌が大きく関与していると思われるので、硫酸塩添加の有無による各汚泥の水素消費の違いおよび硫酸還元とメタン生成による水素消費の内訳を評価するために、ガラスバイアルを用いた反復回分実験を行なった。その実験条件を表-2に示す。回分装置としてはバイアルを用いた。汚泥を適量分取したバイアルを恒温振とう槽を用いて攪拌振とうさせた。振とう槽内は35℃に保ち、振とう数は120回/minとし十分混合された状態を保持した。バイアル内は、事前に窒素で置換しブチルゴム栓とアルミキャップで密閉した。汚泥、水素その他の添加物はシリンジを用いて注入した。測定項目は揮発性脂肪酸濃度、ガス組成、ガス体積である。

3. 実験結果及び考察

3-1 水素利用メタン菌量の推定 硫酸塩の無添加状態での各汚泥の水素消費の経時変化を図-1に示した。縦軸は初期水素濃度で無次元化して表示してある。まず、本実験での水素のメタン転換率から判断して、水素利用はメタン菌によって行われていることがわかる。各汚泥の水素消費活性は異なり、HBu培養汚泥で最も大きくついでMix, HPr培養汚泥となった。また、培養基質の分解により水素が生成されないHAc培養汚泥で最も小さい。消費活性の違いを評価するために、無次元化

表-1 培養基質組成 (mg/l)

有機源 (COD)	HAc, HPr, n-HBu, Mix (HAc:HPr:n-HBu=2:1:1)	10000 10000
無機塩類	(NH ₄) ₂ HPO ₄ KCl NH ₄ Cl MgCl ₂ ·6H ₂ O MgSO ₄ ·7H ₂ O CoCl ₂ ·6H ₂ O CaCl ₂ ·2H ₂ O NaHCO ₃ K ₂ HPO ₄	700 750 830 815 246 18 147 4000 4000 100
緩衝剤		
酵母イキ		

表-2 実験条件

実験名	水素利用メタン菌量 推定実験	硫酸還元菌量 推定実験
バイアル容積	120～125 ml	68～70 ml
培養汚泥液量	56～60 ml	31～32 ml
汚泥の培養基質	HAc, HPr, n-HBu, Mix	HAc, HPr, n-HBu, Mix
水素添加量	1atm 20 ml	1atm 10 ml
硫酸塩の添加	無	500mg/l
その他の添加物	NaHCO ₃ 500mg/l	NaHCO ₃ 500mg/l レオリン 1mg/l ジステイン 250mg/l Na ₂ S·9H ₂ O 250mg/l

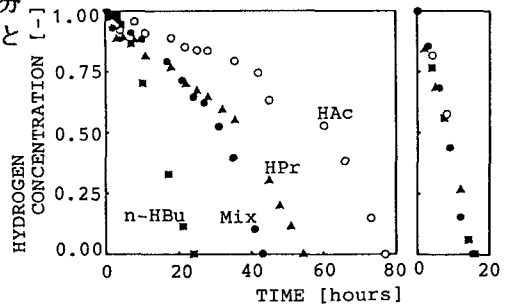


図-1 水素濃度経時変化（硫酸塩無添加）

表-3 水素利用メタン菌量の推定実験結果

汚泥の種類	初期濃度 mgCOD/L	反応時間 hour	メタン 転換率	μ_m - 1.276 1.096	菌体量 mgCOD/L	μ_m 1/hour	タンパク mg/L
HAc 培養	230 235	62.7 10.0	0.800 0.926	2.47	0.52	0.040	193
HPr 培養	240 250	37.7 9.0	0.786 1.038	1.58	1.5	0.042	129
HBu 培養	172 240	12.8 8.5	0.835 0.926	0.50	6.6	0.039	242
Mix 培養	233 258	33.0 8.5		1.53	1.6	0.046	155

備考: 1atm 0°C 1mlの水素=16,000/22,400=0.714 mgCOD

濃度が0.5に達する反応時間を表-3にまとめた。1回目と反復後の反応時間の違いは菌体増殖のためであり、増殖収率を0.05¹⁾として動力学的菌体量推定式^{2) 3)}を用いて、菌体量を算定した。この結果から、HBU培養汚泥中に最も多くの水素利用メタン菌が存在することが確認され、消費速度が最も速いことを裏づけている。また、この推定法で同時に求まる μ_m もShea et al.¹⁾が水素利用メタン菌について報告している値と非常に良く一致しており、このことから推定菌体量の妥当性が認められる。

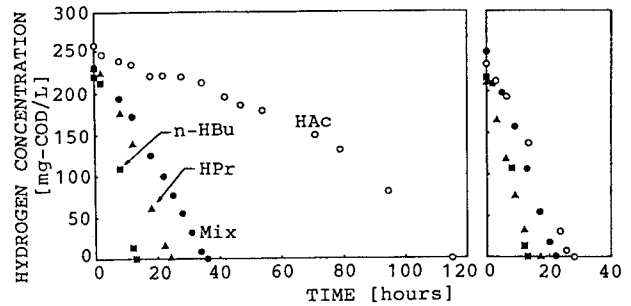


図-2 水素濃度経時変化（硫酸塩添加）

3-2 硫酸還元菌量の推定 水素とともに硫酸塩を添加した場合の各汚泥の水素消費経時変化を図-2に示す。水素濃度は液相体積当りのCODで表示してある。図-1に示した経時変化と比べ、HAc培養汚泥を除き水素消費活性は硫酸塩存在下で増大していることがわかる。メタン転換率からわかるように水素消費は硫酸還元菌とメタン菌の両者によって行われており、菌体量推定に先程の推定式を適用することはできない。そこで、1回目と反復後の初期水素消費速度およびメタン生成速度を求め、メタン生成に利用された水素量を化学量論値(体積基準 $\text{CH}_4:\text{H}_2=1:4$)としてそれぞれ硫酸還元菌とメタン菌による水素利用速度を算定した。その結果を表-4にまとめた。同じ基質濃度条件では、以下に示す基質消費速度比と菌体量比の関係は成立することより、硫酸還元菌の増殖収率を0.11⁴⁾として菌体量を求めた。

表-4 硫酸還元菌量の推定実験結果

汚泥の種類	初期濃度 mgCOD/L	水素消費速度 mgCOD/L・hr		メタン 転換率	菌体量 mgCOD/L		タンパク mg/L
		SRB	HOM		SRB	HOM	
HAc 培養	268 249	1.3 4.6	0.05 1.8	0.284 0.298	2.8	—	261
HPr 培養	245 232	4.1 8.6	2.6 6.2	0.474 0.411	9.5	1.2	219
HBU 培養	228 245	3.0 7.0	7.7 11.6	0.733 0.622	5.8	11.7	295
Mix 培養	244 267	2.4 4.7	2.0 4.4	0.483 0.598	5.0	7.8	207

SRB=硫酸還元菌, HOM=水素利用メタン菌

ここで、 R : 基質消費速度 S : 基質濃度
 X : 菌体濃度 ν_m : 最大基質消費速度
 K_s : 飽和定数 添字1,2は1回目と反復後の意

その結果、HPr培養汚泥中に最も硫酸還元菌が多く存在していることが明らかとなった。HPrを利用可能な硫酸還元菌(*Desulfohalobium*)が報告されていることを考えあわせると、培養槽内ではHPrと水素の両者を利用して硫酸還元が行なわれている可能性がある。同様に水素利用メタン菌についても解析を行なったところ、HAc培養汚泥については負の値となり推定できなかったものの、HPr、HBU培養汚泥中の水素利用メタン菌量は表-3の動力学的推定値とおおむね一致した。また、水素消費特性より求めたこれらの”活性”菌体量はタンパク濃度の数%にしか相当していないことも明らかとなった。水素消費の内訳も培養基質の違いによって異なっており、HPr培養では硫酸還元菌がHBU培養ではメタン菌が水素消費の主要な部分を占めている。また、HAc培養では水素消費活性はわずかであり、この消費活性も酵母エキス分解由来の水素利用に関わっているものと思われる。

4. おわりに

以上のことより今回示した水素添加反復回分実験は、嫌気性消化汚泥の水素消費活性を評価する上で有効であるばかりでなく、従来情報として不足していた水素利用菌量の推定も可能である。また、硫酸塩の存在の有無による水素消費の違いから判断して、培養基質の違いにより揮発性脂肪酸の分解に必要となる低水素分圧の維持に関わる嫌気性微生物群や寄与の内訳が異なることが明らかとなった。

<参考文献>

- 1) Shea T.G. et al.; Water Research, Vol.2 pp833-848,1968
- 2) Furumai H. et al.; Proc. Specialized Conf.Coastal and Estuarine Poll., pp192-201,1987
- 3) 古米ら;第22回水質汚濁学会講演集, pp1203-104,1988
- 4) Harper S.R.; Biotechnology & Bioengineering, Vol.XXVIII, pp585-602,1986