

II-515

UASB反応器培養グラニュール生物のメタン生成活性と補酵素F₄₂₀の関係

長岡技術科学大学 学 ○外村雅生

長岡技術科学大学 正 原田秀樹 正 桃井清至

1. はじめに

UASB反応器の高速処理性能は、反応器内に保持されているバイオマス現存量とバイオマスの基質除去活性に依存している。UASB反応器で形成されたグラニュール汚泥の微生物コンソーシアを構成する嫌気性細菌は、廃水性状によって大きく変化すると考えられる。そこで、UASB反応器を異なる炭素源で運転し、そこで形成されたグラニュール汚泥のメタン生成活性を種々のテスト基質を用いてバイアル実験で評価し比較検討した。また、それらのメタン生成活性と汚泥内の補酵素F₄₂₀含量との相互関係を回分実験により、その挙動も検討した。

2. 実験方法

メタン生成活性は、セラムバイアルを用いた。また、回分実験ではジャーファーマンターを使用した。嫌氣的操作は、N₂ガスを還元銅カラム装置を通して完全にO₂を除去した。

バイアルテスト基質として、ショ糖、ギ酸、プロピオン酸、酢酸、有機酸混合液、H₂+CO₂（80:20）を使用した。回分実験では、テスト基質としてギ酸→酢酸→プロピオン酸と変化させた。

使用したグラニュール汚泥は、有機酸混合液、酢酸、米でんぷん廃水、ショ糖基質のUASB反応器で長期間連続培養したものを用いた。また、対照として植種源である中温消化汚泥も供試した。無機塩、還元剤、酸化還元指示薬、キレート剤、汚泥希釈のための緩衝液を表-1に示す。回分実験では、有機酸基質培養グラニュール汚泥をホモジナイズしたものを供した。UASB反応器から採取したグラニュール汚泥は嫌氣的操作で基質洗浄を行ない、pH7.0に調整した0.1Mリン酸カリウム緩衝液で希釈を施した。所定濃度のグラニュール汚泥その他を注入し、ブチルゴム栓で密封後シリンジで基質を分注した。補酵素F₄₂₀の測定は、M. S. Suizenbaumの方法に従って行なった。

表-1 無機塩溶液、還元剤、酸化還元指示薬、緩衝液およびキレート剤

無機塩類	g/l	還元剤	g/l
CoCl ₂ ·6H ₂ O	6.0	システイン・塩酸塩	250
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	5.0	Na ₂ S·9H ₂ O	250
FeCl ₂	2.5	酸化還元指示薬	g/l
CuSO ₄ ·5H ₂ O	2.5	レザズリン	1.0
MgCl ₂ ·6H ₂ O	16.65	緩衝液	g/l
MnSO ₄ ·4H ₂ O	7.5	0.1M KH ₂ PO ₄	13.61
CaCl ₂	13.7	0.1M K ₂ HPO ₄	17.42
ZnCl ₂	1.0	キレート剤	g/l
H ₃ BO ₃	1.0	EDTA	0.5
NiCl ₂ ·6H ₂ O	1.0		
NH ₄ Cl	500.0		
AlCl ₃ ·6H ₂ O	1.0		

3. 実験結果および考察

図-1に、有機酸基質培養グラニュール汚泥のバイアル実験結果を示す。有機酸基質培養グラニュール汚泥のメタン生成活性は、ギ酸、H₂+CO₂をテスト基質とした場合、酢酸テスト基質よりもそれぞれ約3~2倍大きかった。しかしながら、ショ糖をテスト基質とした場合はほぼ酢酸テスト基質と同程度のメタン生成活性を示した。一方、プロピオン酸をテスト基質とした場合は酢酸の場合と比べて約2/3程度であった。これより、有機酸基質培養グラニュール汚泥には水素酸化性メタン生成菌が十分な割合で存在しているが、糖系基質ではプロピオン酸分解過程がメタン発酵システム全体の律速となっていると推察される。一方、酢酸基質培養グラニュール汚泥のメタン生成活性は酢酸をテスト基質とした場合 2.1 (g·CH₄/g·VSS·d)を示したが、ギ酸、H₂+CO₂をテスト基質として用いた場合は酢酸テスト基質よりも1/2.5~1/1.0程度しか示さなかつた。同様に、プロピオン酸テスト基質ではわずか1/6.0程度であった。これより、酢酸基質培養グラニュール汚泥では酢酸酸化性メタン生成菌が高度に集積されており水素酸化性メタン生成菌の存在割合の著しく小さいものとなっている。また、同様にプロピオン酸分解菌の存在も著しく小さいと推測される。また、酢酸基質培養グラニュール汚泥の電顕観察でも *Methanothrix*属のメタン生成菌が集積化されていた。

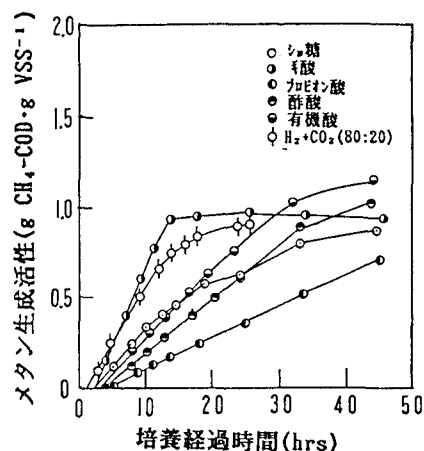


図-1 有機酸基質培養グラニュール汚泥のメタン生成活性

図-2に、テスト基質としてギ酸を用いた場合の有機酸、酢酸、シヨ糖基質培養グラニүүл汚泥のメタン生成量と水素生成量の関係を示す。有機酸基質培養およびシヨ糖基質培養グラニүүл汚泥では、テスト基質として投与したギ酸は、すみやかにほぼ全量がメタン化されているが、酢酸基質培養グラニүүл汚泥では、ギ酸解裂能力はあるが、 H_2 を利用してメタン生成する過程がより律速となり、バイアル中に蓄積をひきおこしている。

表-2にこれらのバイアル実験によるメタン生成活性の結果と供試汚泥の F_{420} 含量を示した。水素生成を伴う酢酸生成を経由する基質で培養したグラニүүл汚泥の F_{420} 含量は、中温消化汚泥のその30~100倍程度高くなっている。一方、酢酸基質培養グラニүүл汚泥では、他のグラニүүл汚泥よりもワンオーダー低い含量となっている。このことから酢酸基質培養グラニүүлコンソーシア内のギ酸、 $H_2 + CO_2$ 利用メタン生成菌の存在割合の著しく小さいことが肯ずける。図-3に有機酸基質培養グラニүүл汚泥によるメタン生成量、テスト基質除去の変化および補酵素 F_{420} 含量の挙動を示す。有機酸基質培養グラニүүл汚泥の F_{420} 含量は、当初1.0 (mg $\cdot F_{420}$ /g $\cdot VSS$) あったものが残存基質の消費に伴い、0.6 (mg $\cdot F_{420}$ /g $\cdot VSS$) 程度まで低下しその後ギ酸基質を投与しても増加しなかった。また、続いて酢酸基質、プロピオン酸基質を投与した場合も同レベルもしくは、若干低下する傾向を示した。このことから、炭素源の異なる基質で長期連続培養したグラニүүл汚泥では、それを構成するメタン生成菌群が異なってくるために F_{420} プールに変化を生じると考えられる。しかし、一方、回分実験等の比較的短いタイムスケールでは、グラニүүл汚泥に存在する微生物がピュレーションがシフトしないため、 F_{420} プールはほとんど変化しなかったものと考えられる。

4. おわりに

本実験で得られた知見を要約すると

1. 有機酸混合、米澱粉およびシヨ糖基質培養グラニүүл汚泥では、プロピオン酸分解過程がメタン発酵システムの律速因子となると考えられる。

2. 酢酸基質培養グラニүүл汚泥の酢酸テスト基質に対するメタン生成活性は、2.1 (g $\cdot CH_4$ COD/g $\cdot VSS \cdot d$)であったがギ酸、 $H_2 + CO_2$ およびプロピオン酸テスト基質では、それぞれ上記の値の1/25, 1/10および1/60程度であった。

3. 水素生成を伴う酢酸生成を経由する基質で培養したグラニүүл汚泥の補酵素 F_{420} 含量は、植種汚泥の30~100倍程度高いが、酢酸基質培養グラニүүл汚泥のそれは消化汚泥と同程度で他のグラニүүл汚泥よりワンオーダー低かった。

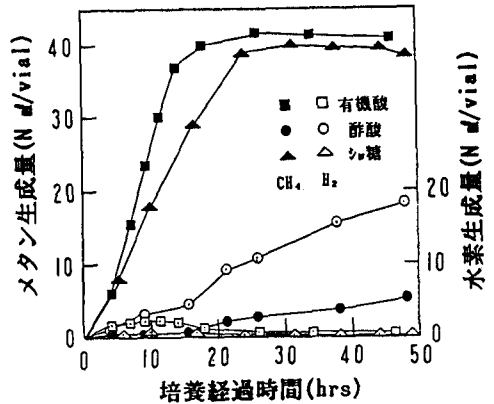


図-2 テスト基質としてギ酸を用いたメタン生成量と水素生成量の関係

表-2 メタン生成活性と補酵素 F_{420} 含有量の関係

培養基質	F_{420} 含有量 (mg F_{420} / g VSS^{-1})	各テスト基質によるメタン生成活性 (g CH_4 -COD / g $VSS^{-1} \cdot day^{-1}$)					
		シヨ糖	ギ酸	プロピオン酸	酢酸	有機酸	$H_2 + CO_2$
有機酸	0.645	0.74	2.10	0.43	0.73	0.92	1.33
酢酸	0.030	0.18	0.086	0.035	2.10	1.80	0.11
米澱粉	0.402	0.60	1.33	0.23	0.90	0.71	1.30
シヨ糖	0.206	0.50	1.30	0.16	0.62	0.60	1.37
消化汚泥	0.022	0.044	0.055	0.013	0.017	0.01	0.032

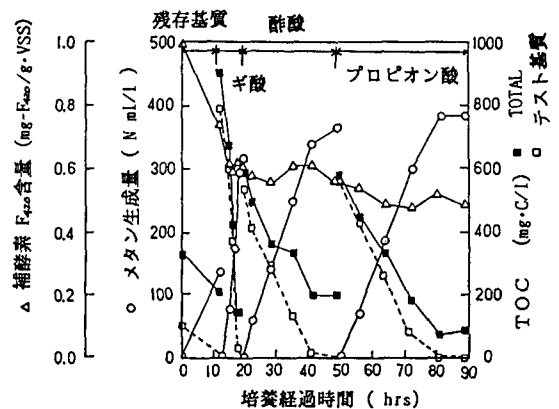


図-3 有機酸基質培養グラニүүл汚泥によるメタン生成量、テスト基質除去の変化 および補酵素 F_{420} 含量の挙動