

## II-531

## 生物膜型メタン発酵槽における揮発性脂肪酸除去機構（第2報）

## —— 水素による酢酸分解の促進作用 ——

北海道大学 正 井上 雄三 学 土居 健太郎 正 神山 桂一

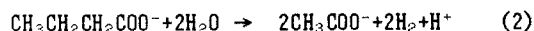
1. はじめに 前報<sup>1)</sup>で、水素あるいはORPが酢酸分解活性に著しく影響を及ぼしていることを明らかにした。そこで本報告では固定生物膜メタン発酵槽を用い、酢酸、プロピオン酸、n-酪酸、及びこれらの混合基質の回分実験を行い、水素の酢酸分解に対する影響を明らかにするとともに、水素濃度と酸化還元電位（ORP）との関連を検討した。

## 2. 実験装置と実験方法

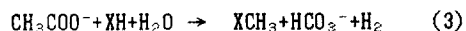
実験装置の概略を図1に示す。M2反応槽は容積16.7ℓ、循環流量40ℓ/min、M5反応槽は容積5.0ℓ、循環流量20ℓ/minである。実験条件は表1に示す。接種汚泥は二相嫌気性消化処理装置のメタン発酵槽の沈澱汚泥を用いた。槽内温度は35.0℃にコントロールしたが、pHはコントロールしなかった。

## 3. 実験結果と考察

3. 1 水素による酢酸分解促進効果 表2は酢酸単独基質の最大除去速度に対する混合基質回分実験の全酢酸除去速度（プロピオン酸、n-酪酸の分解による酢酸生成を含めた除去速度）を示したものである。反応槽M2のプロピオン酸混合では1.30倍、n-酪酸混合では1.82倍になっている。反応槽M5ではプロピオン酸混合で1.42倍、n-酪酸混合で2.24倍になっている。プロピオン酸、n-酪酸混合により酢酸分解が促進されていることがわかる。これは、プロピオン酸、n-酪酸がacetogenic菌により次式のように分解される際に生成される水素によるものと考えられる。



酢酸のメタンへの分解は未だ不明な点はあるが、最終的には補酵素M [XH]が関与しており概略次式のように示される。



これらの式から酢酸の分解速度を求めると

以下になる。式(3)の平衡定数は

$$K = \frac{[\text{XCH}_3][\text{HCO}_3^-][\text{H}_2]}{[\text{CH}_3\text{COO}^-][\text{XH}]} \quad (5)$$

となるので、メタン生成速度は

$$d\text{CH}_4/dt = k[\text{XCH}_3][\text{H}_2] \quad (6)$$

$$\text{保存式より } [\text{XH}]_0 = [\text{XCH}_3] + [\text{XH}] \quad (7)$$

$$\text{式(5)(6)(7)より } d\text{CH}_4/dt = \{k \cdot K[\text{XH}]_0[\text{CH}_3\text{COO}^-]\} / \{[\text{HCO}_3^-] + k[\text{CH}_3\text{COO}^-]/[\text{H}_2]\} \quad (8) \quad (\text{単位: mg/l/h})$$

(8)式は溶存水素濃度が増加するとメタン生成速度、即ち酢酸分解速度が飽和曲線的に大きくなることを示

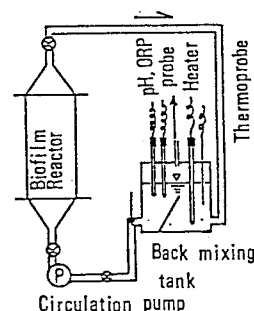


図1 実験装置

表1 飼養条件

|                                 | M-5  | M-2  |
|---------------------------------|------|------|
| HAc                             | 2530 | 2000 |
| HPr                             | 670  | 2000 |
| n-HBu                           | 1000 | 2000 |
| NH <sub>4</sub> Cl              | 460  | 287  |
| N <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> | 100  | 110  |
| 酵母エキス                           | 1    | 1    |
| 微量元素                            | 0.2  | 0.2  |
| 塩溶液                             | 3    | 3    |

注) 単位はmg/l。但し、酵母エキス・微量元素・塩溶液はml/l。

表2 酢酸単独基質最大除去速度に対する

混合基質における全酢酸除去速度の比

|    | HAc        | HPr   | HBu   | l-HAc | l-IIAc/IIAc | H <sub>2</sub> (Pa) |
|----|------------|-------|-------|-------|-------------|---------------------|
| M2 | HAc        | 182.6 |       |       |             | 0.32                |
|    | HPr        |       | 102.9 | 122.1 | 0.67        |                     |
|    | HBu        |       |       | 130.0 | 218.4       | 1.20                |
|    | IIAc + HPr |       | 118.8 |       | 236.6       | 1.30                |
|    | IIAc + HBu |       |       | 144.0 | 331.2       | 1.82                |
| M5 | HAc        | 37.8  |       |       |             | 0.50                |
|    | HPr        |       | 31.6  | 28.1  | 0.74        |                     |
|    | HBu        |       |       | 34.9  | 45.3        | 1.20                |
|    | IIAc + HPr |       | 28.7  |       | 54.0        | 1.43                |
|    | IIAc + HBu |       |       | 40.7  | 84.6        | 2.24                |

している。これらの式の展開は、(1)(2)式が厳密には正しくないで、正確さを欠く恐れがあるが、水素濃度がメタン生成速度に影響を与えることにはかわりない。

3・2生物膜の構造 基質1 mol当りの水素発生量を考えるとプロピオン酸からはn-酪酸の1.5 倍の水素が発生すると考えられるが、実際にはn-酪酸分解時の方が生物膜外に放出される水素量は多い。このことは、生物膜の構造を走査電顕によって調べた結果、合理的な説明が可能となった。図3、4はそれぞれ電顕写真の結果得られたプロピオン酸およびn-酪酸によって形成された生物膜のモデルである。プロピオン酸分解菌と水素資化メタン生成菌が、酢酸資化メタン菌 *Methanothrix* のマットの所々に共生し、コロニーを形成している。一方、n-酪酸単独培養生物膜では、n-酪酸分解菌が、

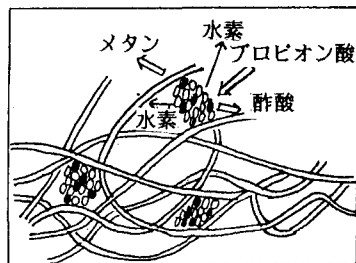


図 2 プロピオン酸基質 生物膜

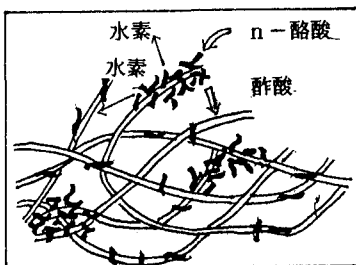


図 3 n-酪酸基質 生物膜

*Methanothrix* の糸状体を芯として包み込むように付着し、コロニーを形成している。混合基質培養生物膜では、上記両生物膜の丁度中間的な構造をとっていた。従って、混合基質で馴養された生物膜では、コロニー内で分解され生成された水素は水素資化メタン菌によって消費されるので、コロニーの外に放出される水素は非常に少なくなる。一方、共生コロニーを形成しないn-酪酸分解菌は生成された水素を集中的に消費することがないので、生物膜の外に放出される量は多くなる。これは換言すれば、プロピオン酸分解時の生物膜内の溶存水素はn-酪酸分解時よりも低くなることを示したものである。発生ガス中の水素濃度の違いは同一基質でも馴養基質の組成が異なるM2、M5リアクターでも起きている。これはプロピオン酸・n-酪酸の割合が多くなると、それだけ水素資化メタン菌が多くなり、膜内の水素濃度を低下させるためと思われる。このようにして生物膜の水素濃度が変化した結果、酢酸の分解活性に違いがでるものと思われる。

### 3.3 溶存水素と酸化還元電位との関係

溶存水素濃度はHungate ら<sup>2)</sup>の方法によって測定したが、簡単に測定することは困難である。また、このようにして得られた水素濃度とガス中の水素濃度平衡になっていないことも明らかになった。 $H_2 \rightleftharpoons 2H^+ + 2e^-$ という酸化還元反応の平衡が移動する。この反応のORPを考えると  $E_h = E_0 + \{RT/2F\} \ln [H^+]^2/[H_2]$  となる。 $E_h$ 値を実測値に置き換え、pHと溶存水素濃度の式にすると  $E = -6.12 \cdot 10^{-2} pH - 3.06 \cdot 10^{-2} \log [H_2]$  となる。ORPとpHを測定すれば液本体・生物膜内の溶存水素濃度の変化を知ることができるとと思われる。図4は反応槽M2での酢酸+n-酪酸混合基質回分実験でのORPと溶存水素濃度との関係を示したものである。 $H_2$ 、 $H^+$ だけでORPをほぼ記述できることがわかる。

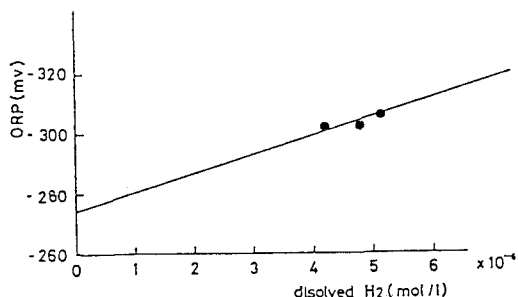


図 6 ORPと溶解水素濃度との関係

参考文献 1)井上・神山:第41回土木学会年講(II) p.847(1986)

2)R.E.Hungate et al.:J.Bacteriol pp389-397 Vol.102 No.2 (1970)