

## II-191 嫌気性消化におけるギ酸添加効果

大成建設(株) ○新村泰子(正員) 友沢孝(正員)金子誠二(正員)

## 1.はじめに

筆者らは、嫌気性発酵槽内の水素分圧を低く保つ目的で水素資化性メタン菌の役割について検討を行っている。前報<sup>1)</sup>では、メタン発酵リアクターにギ酸を添加するとプロピオン酸の分解が進み、ガス発生量が増えることを報告した。添加したギ酸は水素資化性メタン菌の活性向上に寄与しているものと考えられるが、この実験は、連続式リアクター内を用いた結果であり、混合培養系でのギ酸利用については不明な点が多い。そこで本研究では、バッチテストによって、ギ酸、酢酸、グルコース各基質を用いて、水素資化性メタン菌活性としてのF420、ATP、有機酸濃度の推移から、嫌気性消化での反応過程について検討した。

## 2.実験方法

供試菌体は下水処理場より採取した消化汚泥を常法に従って前処理し、125mlバイアルビンを用いたバッチテストにより行った。それぞれの基質の条件を表-1に示した。グローブボックス内で37°Cにて静置培養した。培養基質は適宜添加して、経時的にサンプリングを行い、補酵素F420<sup>2)</sup>、ATP<sup>3)</sup>、有機酸の測定を行った。また、菌体数は、サンプリングした菌培養液をギ酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、グルコースをそれぞれ単一炭素としたAgar plateにそれぞれ10 $\mu$ l塗抹し、3日間37°Cにて嫌氣的に培養し、そのコロニー数をカウントした。

表-1 実験条件 (単位mg/l)

| NO.          | 1            | 2            | 3            | 4            | 5             | 6             |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|---------------|---------------|
| 菌体           | 40           | 40           | 40           | 40           | 40            | 40            |
| 基質<br>(炭素源*) | 50<br>(ギ酸Na) | 50<br>(ギ酸Na) | 50<br>(酢酸Na) | 50<br>(酢酸Na) | 50<br>(グルコース) | 50<br>(グルコース) |
| リン酸buffer    | 10           | 10           | 10           | 10           | 10            | 10            |

\*as TOC 800mg/l

図-1に、ギ酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、グルコースの3種類の培養基質における補酵素F420の経時変化について示した。培養期間15日目までは、3種類の培養基質におけるF420濃度に差は見られなかったが、その後、ギ酸基質におけるF420濃度は、他の2種類の培養基質に比べて非常に高くなった。

次に、上記単一炭素源を基質としたAgar plateに各培養液を塗抹し、そのコロニー数の経時変化を測定した。各培養基質において、菌体数はほとんど変化なく、各基質間での差異は認められなかった。図-2には、ギ酸基質での結果を示した。コロニー数は、ほぼ一定の数を示した。一方、前述したように、ギ酸基質におけるF420濃度が非常に高くなったことから、ギ酸基質は、水素資化性メタン菌の菌体あたりのF420の酵素量を増加させる効果があると考えられる。

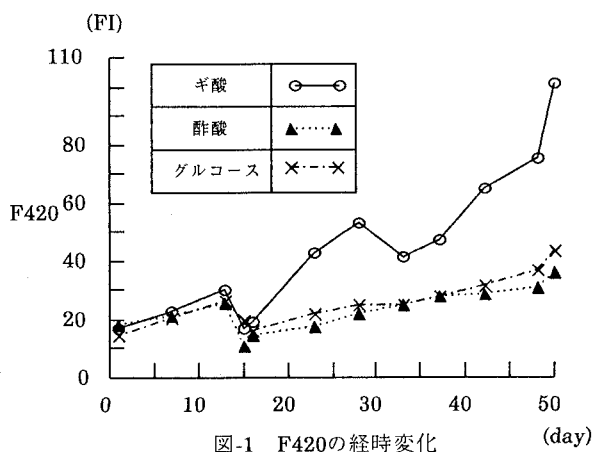
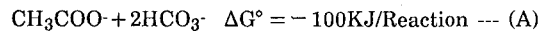
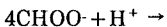


図-1 F420の経時変化

図-3に、3種類の培養基質におけるATPの経時変化について示した。ATP濃度は、3種類の培養基質とも培養開始直後に上昇した。その後、酢酸基質、グルコース基質におけるATP濃度は、変動はみられるものの、ほぼ一定になっているのに対し、ギ酸基質におけるATP濃度は減少した。このことより、ギ酸基質培養においては、前年度の報告のようにATPを間接的に細菌数とみなすことは困難である。その理由として、ギ酸培養の場合、ATPではなく他のエネルギー獲得の系も利用していることが考えられる。

図-4に、ギ酸基質で培養した場合の有機酸の経時変化について示した。ギ酸基質消費を補うために、適宜ギ酸を添加したところ、その直後に酢酸の生成が確認された。また、プロピオン酸の蓄積はおこらず、メタン発酵は効率よく行われた。

このギ酸代謝を詳しく説明するために、図-5には、スタート時から13日目までの有機酸の経時変化を示した。ギ酸約90ミリmolの消費にともない酢酸約20ミリmolが生成された。理論式(A)より、モル比、ギ酸:酢酸=4:1でギ酸から酢酸が生成されることより、この反応にはホモ酢酸生成菌が関与していると考えられる。



以上の結果から、嫌気性発酵槽にギ酸基質を添加することで、水素資化性メタン菌の活性に関与するF420濃度が増加すること、ホモ酢酸生成菌の代謝活性を増加させて、酢酸を生成することが確認された。したがって、嫌気性発酵槽にギ酸基質を添加することは、水素資化性メタン菌とホモ酢酸生成菌の活性を高め、その相乗効果により嫌気性発酵槽の処理効率を上昇させると考えられる。

本研究は、建設省土木研究所汚泥研究室との共同研究の一環として実施したものであることを追記する。

#### 4.参考文献

- 1) 新村泰子 友沢 孝 嫌気性消化における水素資化性メタン菌の活性維持効果 土木学会第45回年次学術講演会講演概要集.
- 2) J.Dolfing et al. *Applied and Env. Microbiology*, 49(45)1142-1145(1985).
- 3) 外山立人 松本隆任 田口裕一 ATP Bioluminescence(luciferase Assay)を用いた細菌増殖率の評価 北海道医学雑誌 60(1)125-133, 1985

