

II - 591

高温メタン発酵プロセスにおける酢酸酸化、水素生成経路のメタン生成反応の評価

長岡技術科学大学 ○学 珠坪一晃、正 原田秀樹、正 桃井清至

1. はじめに

嫌気性消化における有機物の分解は、最終的にその約70%が酢酸からのメタン生成反応により遂行されている。基本的な酢酸からのメタン生成メカニズムをTable 1 に示した。メカニズム I は、酢酸からのメタン生成反応であり酢酸のメチル基はメタンへ、カルボキシル基は炭酸へと転換される。この反応の標準自由エネルギーはマイナスであり、メカニズム I は独立で進行することが出来る。メカニズム II は、酢酸酸化反応 (a) および水素からのメタン生成反応 (b) の2つのステップから構成される。酢酸酸化反応 (a) は吸エルゴン反応であり、それ自体で進行することは出来ないが、水素からのメタン生成反応 (b) との共役により進行することが出来る。この一種の異種間水素伝達は、ある程度以上の水素分圧によって阻害を受ける。Fig. 1 に酢酸酸化反応 (1)、水素からのメタン生成反応(2)、酢酸からのメタン生成反応(3)=(1)+(2)の自由エネルギーに及ぼす、水素分圧と温度の影響のシュミレーション結果 (pH=7.0, Acetate conc.=500mg/l, P-CO₂=405 Pa, P-CH₄=3.55×10⁴ Pa) を示した。これより、酢酸酸化反応(1)と水素からのメタン生成反応(2)が進行し得る臨界水素分圧は、25℃では約30Paであるのに対し、65℃では139Paであり、温度の上昇に伴って徐々に増加する傾向にある。つまり、酢酸酸化を伴う酢酸からのメタン生成反応は、高温条件下において臨界水素分圧の点からみて有利である。しかし、高温メタン発酵系における、全酢酸消費（酢酸からのメタン生成）に対する酢酸酸化反応の寄与率についての調査は行われていない。そこで本研究では、バイアル実験（ΔG⁰コントロール酢酸分解実験）により高温UASBリアクター培養汚泥の酢酸消費に対する酢酸酸化反応の寄与率を定量した。

2. 実験方法

供試汚泥は、本研究室において長期間連続運転している人工廃水（COD 4000mg/l：シュクロース、酢酸、プロピオン酸）処理高温UASBリアクター（55℃、容積負荷 23kgCOD・m⁻³・d⁻¹、COD除去率約95%）より採取したグラニュール汚泥を用いた。

Table 1 ΔG⁰ (standard condition) for methanogenesis either from acetate splitting or from a symbiosis between acetate oxidizer and hydrogenotrophic methanogen

	ΔG ⁰ (kJ/ reaction)
Mechanism I: Acetate "splitting"	
CH ₃ COO ⁻ + H ₂ O ⇌ CH ₄ + HCO ₃ ⁻	- 31.0
Mechanism II: Acetate oxidation	
(a) CH ₃ COO ⁻ + 4H ₂ O ⇌ 2HCO ₃ ⁻ + 4H ₂ + H ⁺ + 104.6	
(b) 4H ₂ + HCO ₃ ⁻ + H ⁺ ⇌ CH ₄ + 3H ₂ O	- 135.6
Sum (a) and (b)	
CH ₃ COO ⁻ + H ₂ O ⇌ CH ₄ + HCO ₃ ⁻	- 31.0

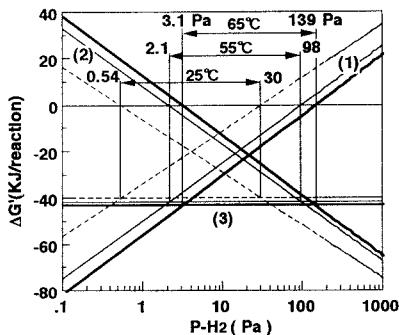


Fig.1 Free energy changes with regard to (1) Acetate-oxidation; (2) Hydrogen-oxidation (3) Acetoclastic methane production as a function of Hydrogen partial pressure at 25,55,65℃. ΔG⁰ were calculated for pH 7.0, 500mg/l acetate, 405Pa CO₂, and 3.55×10⁴Pa CH₄.

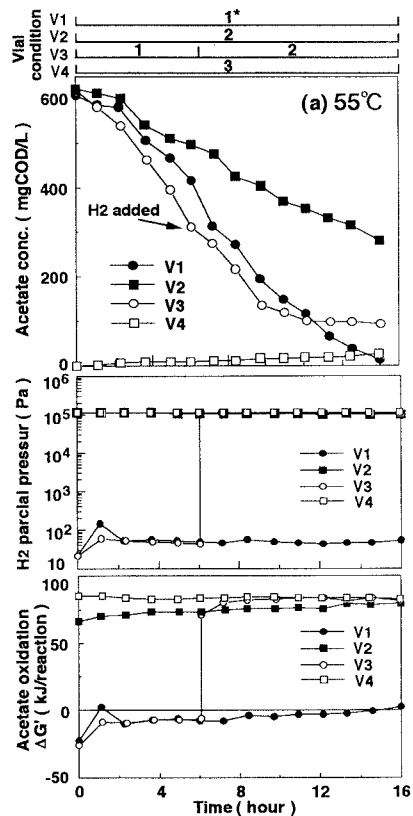


Fig. 2(a) Acetate degradation and Free energy for Acetate oxidation reaction at 55℃ by disintegrated granular sludge grown in thermophilic UASB reactor Vial Condition 1*: Acetate with N₂ (ΔG⁰-), Condition 2: Acetate with H₂ (ΔG⁰+), Condition 3: Acetate with H₂ and CHCl₃

バイアル実験：酢酸分解実験は、環境条件の異なる V1からV4の4本のバイアルにおける酢酸濃度の変化を、55℃および65℃温度条件下において調査することにより行った。以下に、各バイアルの設定環境条件を示す。
V1(低水素分圧系)：必要に応じ、実験中にバイアル気層部を窒素ガスでフラッシングし、水素分圧を低く抑え、Table 1 のメカニズム I および II の同時進行を行う(Vial Condition 1)。V2(高水素分圧系)：実験開始時に気層部を水素ガスで置換(101~107 KPa)し、メカニズム II の進行を停止させる(Condition 2)。V3(水素分圧変化系)：実験中盤において低水素分圧系から高水素分圧系への移行を行う(Condition 1から2への移行)。V4(高水素分圧、CHCl₃添加系)：実験開始時に気層部を水素ガスで置換、同時にCHCl₃を添加し(10mg/l)メタン生成反応を阻害させ、ホモ酢酸生成量の評価を行う(Condition 3)。

実験には容量720 mlのセルムバイアル瓶を用い、バイアルの振とうはロータリーシェーカー(130rpm)で行った。嫌気的条件下でグラニューロを分散、希釈後、試験温度に設定した培地(リン酸緩衝液、無機塩、酸化還元指示薬等を含む)の入ったバイアル(V1~V4)に分注し(最終濃度1000mgVSS/l)、気層部を窒素ガスで置換後シェーカー内で40~60分温度が安定するまで振とうを行う。その後、各バイアルごとに環境条件の調整(Vial Condition 1~3)を行い、酢酸(初発濃度600mgCOD/l)を供給して実験を開始した。

3. 実験結果及び考察

Fig. 2(a)に、55℃におけるバイアル実験結果(酢酸濃度、気層部水素分圧、酢酸酸化反応の $\Delta G'$ の変化)を示した。V1(55)では、実験開始時から酢酸の消費が良好に行われ、約15時間で完全消費された。この時の酢酸消費活性は、 $1.0 \text{ gCOD} \cdot \text{gVSS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ であった。V2(55)では酢酸消費速度がV1(55)よりも明らかに遅く、実験終了時には、約280mgCOD/lの酢酸が残存した。V3(55)では運転開始後、約6時間 Vial Condition 1を保ち、その後Condition 2への移行を行った。Condition 1の間、 $\Delta G'$ はマイナスに保たれ(水素分圧50Pa前後)、酢酸消費も良好に行われた。Condition 2へ移行後、約3時間のタイムラグがあったものの、酢酸の消費速度が低下する傾向を示した。V4(55)におけるホモ酢酸生成量は、約16時間で24mgCOD/l程度と微量であった。Fig. 2(b)に、65℃におけるバイアル実験結果を示した。V1(65)では酢酸の消費が良好に進行し、約8.5時間で完全消費された。この時の酢酸消費活性は、 $1.7 \text{ gCOD} \cdot \text{gVSS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ であり、55℃の約1.7倍であった。V2(65)では、実験開始時からV1(65)よりも酢酸消費速度は低かったが、完全に速度が低下するまでに約4時間のタイムラグが存在した。実験終了時には440mgCOD/lと投入CODの70%もの酢酸が残存し、55℃よりも明らかに酢酸消費速度の低下が観察された。V3(65)では運転開始後、約4時間Condition 1を保ち、Condition 2へ移行した。Condition 1の間、 $\Delta G'$ はマイナスに保たれ、酢酸消費も良好に行われた。Condition 2へ移行直後から酢酸の消費速度は低下する傾向を示し、最終的な酢酸消費速度はほぼV2(65)と同程度になった。V4(65)での、ホモ酢酸生成活性は約 $0.07 \text{ gCOD} \cdot \text{gVSS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ と55℃の約2倍であるが、V2(65)での酢酸消費速度の減少には、影響のないレベルであった。以上の実験結果より、バイアル内の水素分圧を高く保った系(V2,V3)では、V1よりも明らかに酢酸消費速度が低下しており、高温度条件下において酢酸酸化による酢酸消費反応が進行していることが示唆された。

Fig. 3にV1とV2の酢酸消費活性の差から求めた酢酸酸化による酢酸消費活性、および酢酸酸化性メタン生成菌による酢酸消費活性(V2)の全酢酸消費活性に占める割合とその活性値を示した(なお、V2ではV4と同等のホモ酢酸生成があると仮定した)。Fig. 3より、全酢酸消費活性値は65℃の方が55℃よりも約1.7倍高いが、それは主に酢酸酸化反応による酢酸消費活性が55℃の約3倍に増加したためであることがわかる。また、高温度条件下においては酢酸酸化反応が全酢酸消費に占める割合は55℃で約42%、65℃で約74%と非常に大きく、温度の上昇とともに酢酸酸化反応が進行し易くなることが明らかになった。*V2、V3において水素ガス注入後、酢酸消費速度が低下するまでにタイムラグがあることから、*Methanosarcina*が水素存在下では酢酸よりも水素を選択的に資化する事により酢酸消費速度が低下し、酢酸酸化反応を過大に評価した可能性があり、今後検討を行っていく予定である。

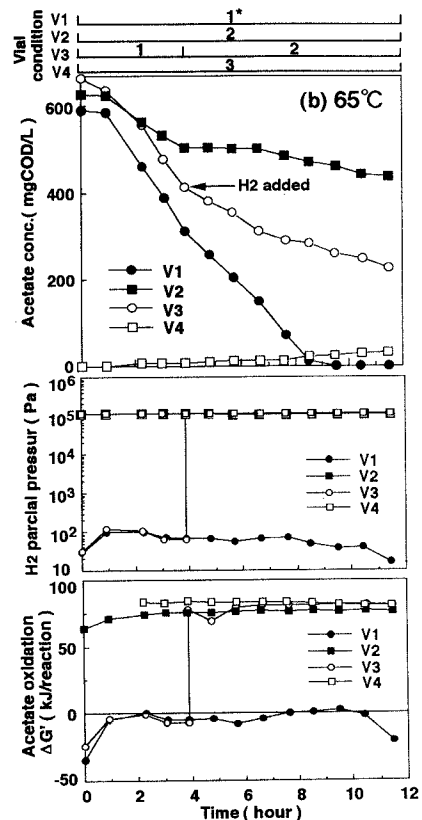


Fig. 2(b) Acetate degradation and Free energy for Acetate oxidation reaction at 65℃ by disintegrated granular sludge grown in thermophilic UASB reactor Vial Condition 1*: Acetate with N₂ ($\Delta G'^{-}$), Condition 2: Acetate with H₂ ($\Delta G'^{+}$), Condition 3: Acetate with H₂ and CHCl₃

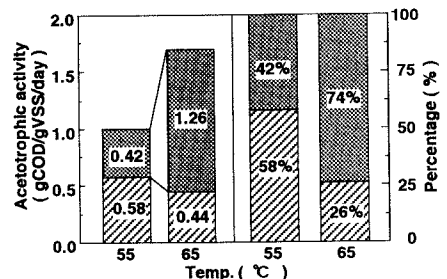


Fig.3 Temperature response of Acetate activity and Percentages of Electron flow
▨ Aetate utilizing MPB ■ Acetate Oxidizer □ Homolactic acid production