

嫌気性消化のメタン生成相に及ぼす滞留時間と 投入基質濃度の影響

EFFECT OF RETENTION TIME AND FEED SUBSTRATE CONCENTRATION
ON METHANOGENESIS IN ANAEROBIC DIGESTION

張 祖 恩*・野 池 達 也**・松 本 順 一 郎***

By Jun-En CHANG, Tatsuya NOIKE and Junichiro MATSUMOTO

1. 序 論

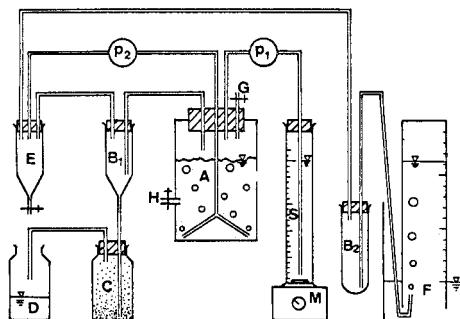
嫌気性消化法は、下水汚泥、し尿および高濃度有機性廃水等の安定化のために有用な生物学的処理法であるが、その浄化機構および機能については、汚水処理の分野で最も未知の点の多いプロセスの一つである。本法は、高分子有機物を加水分解し、さらに揮発性脂肪酸を生成する酸生成相と揮発性脂肪酸をメタンガスおよび二酸化炭素にまで転換し最終的な安定化を行うメタン生成相の2段階の過程より構成されている。これらの2相において関与する嫌気性細菌の増殖および生理学的特性には著しい相違があることが認められており、メタン生成相の担い手であるメタン生成菌は、基質代謝能力、増殖活性ならびに環境条件への順応性の面で酸生成菌よりもるために、メタン生成菌による揮発性脂肪酸の分解過程が嫌気性消化の律速段階であると考えられている^{1)~3)}。したがって、嫌気性消化法の潜在的能力を明らかにし、プロセスの機能向上を図るために、メタン生成相の最適操作条件に関する基礎的な検討が必要とされる。

本研究は、メタン生成相におけるメタン生成菌の増殖と基質消費の特性に及ぼす菌体滞留時間および投入基質濃度の影響について、菌体滞留時間と投入基質濃度をおのおの独立の実験パラメーターとして変化させた連続実験により検討したものである。

2. 実験装置、材料および方法

(1) 実験装置

実験装置は Fig. 1 に示すような嫌気的ケモスタット



A : Reactor
 B₁, C, D : Mixed liquor overflow system
 E, B₂, F : Gas collection system
 G : Gas sampling port
 H : Mixed liquor sampling port
 M : Magnetic stirrer
 P₁ : Feed pump
 P₂ : Gas recirculation pump
 S : Feed cylinder

Fig. 1 Experimental apparatus.

型反応槽を用いた。反応槽本体は、全容積 3.5 l の塩化ビニル製円筒型容器 3 台、全容積 8 l の容器 1 台を用い、それぞれ滞留時間と基質投入速度によって反応容積を設定した。基質の投入はマイクロチューブポンプを用い連続的にを行い、消化ガスをエアーポンプで循環させることにより槽内の完全混合を行い、また吸引力により反応容積を一定にするように混合液の連続的引抜きを行った。発生したガスの捕集は水上置換法により行った。

(2) 投入基質

嫌気性消化において酢酸はメタンの主要な炭素先駆物質で、生成された全メタンのおよそ 70% を占めている^{1), 4), 5)}。したがって、酢酸 (HAc) をメタン生成菌の単一炭素源とする合成基質を用いた。投入基質の無機栄養塩は、Speece ら⁶⁾の実験例を参考にして添加した。基質の無機栄養塩の組成を Table 1 に示した。

* 学生会員 工修 東北大学大学院工学研究科博士課程学生

** 正会員 工博 東北大学助教授 工学部土木工学科

*** 正会員 工博 東北大学教授 工学部土木工学科

Table 1 Composition of inorganic nutrients in feed solution.

Component	Concentration (mg/L)
$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	700
$\text{MgCO}_3 \cdot 7 \text{ H}_2\text{O}$	250
NH_4Cl	850
KCl	750
$\text{MgCl}_2 \cdot 6 \text{ H}_2\text{O}$	810
$\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{ H}_2\text{O}$	420
$\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{ H}_2\text{O}$	18
NaHCO_3	6 720

(3) 種 汚 泥

仙台市南蒲生下水処理場の下水汚泥消化槽より採取した消化汚泥に、酢酸濃度 20 000 mg/l の基質を 1 日 1 回の fill and draw 方式により半連続投入し、滞留時間 20 日、消化温度 $35 \pm 1^\circ\text{C}$ の馴養条件のもとで、Fig. 1 の装置を用い 6 か月以上馴養した。

(4) 実験方法

実験装置は $35 \pm 1^\circ\text{C}$ に保たれた恒温器内に設置した。実験はまず始めに反応槽に種汚泥を嫌気的条件下で植種して開始し、基質の連続的投入を続けた後、各反応槽の基質投入速度をしだいに変化させた。平均菌体滞留時間 (SRT) は 4.5 日、6.5 日、9.6 日および 13.7 日の 4 系列を設定し、各系について投入基質の酢酸濃度 (S_0) を 10 000 mg/l から 75 000 mg/l まで順次変化させた。培養系がケモスタット型の反応槽であるため、連続定常状態では希釈率 (D) は、SRT の逆数に等しい。すなわち、 $D = 1/SRT$ 。なお、定常状態に達したかを判断する指標として、系中の有機性浮遊物 (MLVSS) 濃度、残存酢酸 (HAc) 濃度およびガス生成速度を用いた。投入基質の濃度を変えた後、定常状態を再び確立するために、通常これらの反応槽はおののおのの投入基質濃度において、SRT の 4~6 倍の期間操作された。

(5) 分析方法

ガス組成 (CH_4 , CO_2 , N_2) はガスクロマトグラフ法により分析し、混合液中に含まれる全無機性炭素 (TIC) は TOC 分析器 (OIC Model 0524 B-HR) により測定した。メタン生成量は水上置換法により捕集したガス量とガス組成をもとに算出した。酢酸濃度は “Standard Methods” のカラムクロマトグラフ法³⁾により、アンモニア性窒素濃度はインドフェノール法⁴⁾によりそれぞれ測定した。その他の分析は下水試験方法によった。重炭酸アルカリ度は次式により算出した⁵⁾。

よこで

BA: 重炭酸アルカリ度, mgCaCO₃/l.

TA : 全アルカリ度 (pH 4.0 まで), mg CaCO₃/l,
HAc : 酢酸濃度, mg/l.

式(1)中、0.83は酢酸と炭酸カルシウムの換算係数であり0.85はpH4.0まで滴定する際85%の酢酸塩が酸の形に転換する割合である。

また、混合液中の優占メタン生成菌の観察は位相差顕微鏡(600倍)により行った。

3. 実験結果および考察

実験条件および期間を Table 2 に示した。SRT は 4.4 日から 14.1 日の範囲で、基質負荷速度は 0.76 から 14.96 g/l-day の範囲で実験を行った。各 Run においては、SRT の 2.5~3 倍の期間を経過した後良好な定常状態に達した。以下に示すデータはいずれも定常期間での平均値である。

(1) 定常状態での反応槽の特性

投入基質の pH は酢酸濃度に応じて 3.6~4.7 の値を示したが、メタン生成菌の基質代謝作用および重炭酸塩-炭酸塩系の緩衝作用によって、混合液の pH は 7.1~7.3 の中性域に保持された。この場合、重炭酸アルカリ度は 2510~4220 mg CaCO₃/l の範囲に維持された。また、アンモニア性窒素は混合液中では 150 mg/l 以上の濃度が常に維持された。これは、アンモニア性窒素が制

Table 2 Experimental conditions and operational periods

Run No.	Acetic acid concentration (mg/l)	SRT (day)	D (day ⁻¹)	Substrate loading rate (g/l-day)	Operational period (day)
1	10 000	13.2	0.076	0.76	>100
2	10 000	9.3	0.108	1.08	>100
3	10 000	6.1	0.164	1.65	>100
4	10 000	4.4	0.229	2.29	>100
5	20 000	13.9	0.072	1.44	57
6	20 000	9.7	0.103	2.06	41
7	20 000	6.6	0.152	3.04	35
8	20 000	4.6	0.217	4.31	25
9	30 000	14.1	0.071	2.14	57
10	30 000	9.6	0.104	3.13	41
11	30 000	6.5	0.154	4.59	37
12	30 000	4.6	0.217	6.47	29
13	40 000	13.8	0.073	2.89	54
14	40 000	9.9	0.101	4.04	46
15	40 000	6.7	0.149	5.98	40
16	40 000	4.6	0.217	8.72	31
16'	40 000	4.6	0.217	8.78	24
17	50 000	13.5	0.074	3.70	54
18	50 000	9.7	0.103	5.15	41
19	50 000	6.4	0.156	7.81	43
20	50 000	4.5	0.222	11.23	31
21	75 000	13.5	0.074	5.57	53
22	75 000	9.5	0.105	7.89	41
23	65 000	6.3	0.195	10.28	38
24	65 000	4.4	0.227	14.96	>25

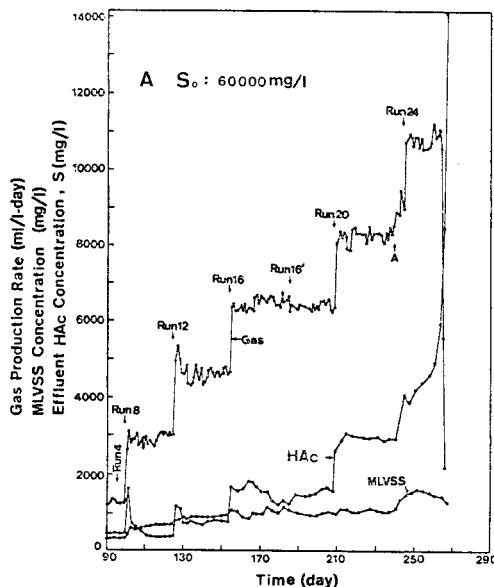


Fig. 2 The course of gas production rate, MLVSS and effluent HAc concentrations at SRT of 4.5 days and at feed acetic acid concentrations ranging from 10 000 to 65 000 mg/l.

限基質になつていいないことを示している。

Fig. 2 に、SRT が 4.5 日の反応槽における各投入基質濃度に対するガス生成速度、MLVSS 濃度および残存酢酸濃度 (S) の経日変化を示した。図中の A は Run 20 から Run 24 に酢酸濃度を増大させる際に、中間的な酢酸濃度 60 000 mg/l が数日間投入されたことを示している。投入基質濃度を変えたときには反応容積当たりのガス生成速度が基質負荷速度の増大に伴って急激に増大することが示されている。また Run 4 から Run 20においては、負荷速度の急激な増大によって残存酢酸濃度も一時的に増大したが、メタン生成菌の菌体量に相応する MLVSS の増大とメタン生成菌の活性の増大のために、それぞれの基質負荷速度に対して残存酢酸濃度が定常状態に達した。

Fig. 3 (a)~(d) に、それぞれ SRT が 13.7 日、9.6 日、6.5 日および 4.5 日の反応槽における MLVSS 濃度と基質負荷速度、残存酢酸濃度と基質負荷速度の関係を示した。これによれば、同一 SRT の系においては、MLVSS 濃度と残存酢酸濃度が基質負荷速度の増大に伴って増大することが知られる。しかし、SRT が長く基質負荷速度が低い場合、基質負荷速度の増大により残存酢酸濃度の定常値の変動がみられる。とりわけ、**Fig. 3 (a)** に示したように SRT 13.7 日の系では、残存酢酸濃度の変動が顕著なことが知られる。

Fig. 4 に、投入酢酸濃度 (S_0) が 10 000 から 50 000 mg/l における MLVSS 濃度と希釈率、残存酢酸濃度と

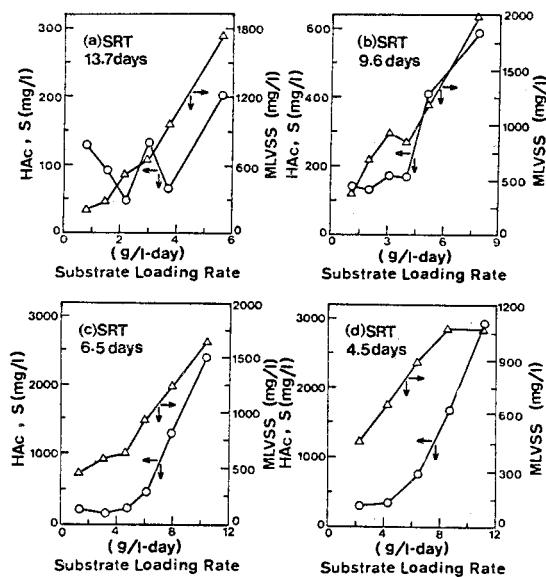


Fig. 3 The relationships among substrate loading rate, MLVSS and effluent concentrations at different SRT.

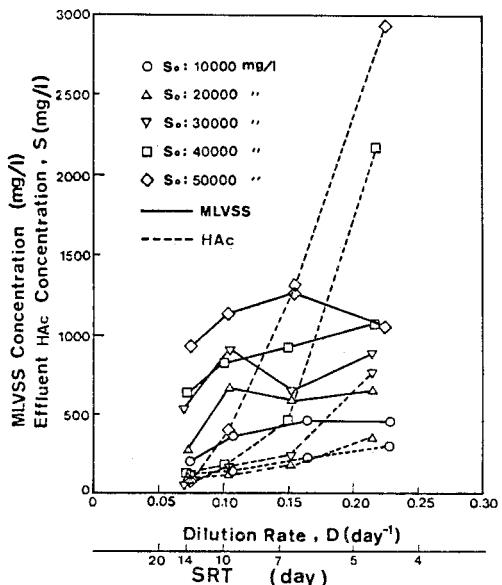


Fig. 4 The relationships among dilution rate, MLVSS and effluent HAc concentrations at different feed acetic acid concentrations.

希釈率の関係を示した。菌体滞留時間 (SRT) の逆数である希釀率 (D) の増加に伴って残存酢酸濃度 (S) は増大し、また S 対 D の比は基質濃度の増大に伴って増大し、MLVSS 濃度は同一希釀率の場合、投入基質濃度の増大に伴って増大することが示されている。なお、同一投入基質濃度の場合、希釀率 0.104 day^{-1} 以上の系では希釀率の増大により MLVSS 濃度がわずかに変動す

るか、あるいはほぼ一定に保たれているが、希釈率 0.073 day^{-1} の系では 0.104 day^{-1} 以上の系よりも低い値を与える傾向が示されている。

一般に、ケモスタット培養系における液中の基質濃度 (S) および菌体濃度 (X) を次式で示すことができる¹⁰⁾.

$$S = \frac{K_s(D+K_d)}{Y_{G\max} - (D+K_d)} \dots \dots \dots (2)$$

ここで、

Y_G : 菌体の真の増殖収率, mg/mg,

K_d ：菌体の自己分解係数, 1/day,

ν_{\max} : 最大比基質消費速度, mg/mg-day,

K_s : 基質飽和定數, mg/l.

式(2)および式(3)は、系内に残存する基質濃度 S は、投入基質濃度 S_0 の変化には関係せず、希釈率が一定であれば一定となり、また、系内の菌体濃度 X は、投入基質濃度の増大に伴って増大することを示している。しかし、Fig. 3 および Fig. 4 に示したように、同一希釈率の系では、残存酢酸濃度は基質負荷速度または投入基質濃度の増大に伴って増大しており、残存酢酸濃度および MLVSS 濃度に対して、式(2)および式(3)が適用されないことが知られる。

式(2)および(3)中の v_{max} および K_s は, Michaelis-Menten型の速度式中のパラメーターで一定であり, また, Y_C および K_d も一定であるとされている. しかし, ケモスタット培養系において, 希釀率および投入基質濃度などの培養条件の変化により, 菌体の代謝活性が変化し菌相が遷移するため, これらの動力学パラメータを一定と仮定することは必ずしも妥当ではないと考えられる. これらの動力学パラメーターの希釀率および投入基質濃度への依存性については, (5) および (6) で検討する.

(2) メタン生成相の許容基質負荷速度

許容基質負荷速度はプロセスが過負荷になる直前まで定常運転され得る基質負荷速度と定義される。メタン生成相の許容基質負荷速度を決定するため、基質負荷速度をプロセスが過負荷になり、定常状態が得られなくなるまで段階的に増大させた。

Run 24 を除いて、基質除去率は 94.1% から 99.9% であり、SRT と基質負荷速度の違いにより多少の変化があったが、安定かつ良好な基質分解機能を示している。SRT 4.5 日の反応槽において、基質負荷速度を 11.23 g/l-day に増大させた場合 (Run 20) においても、定常状態が得られた。しかし、前述のように、通常基質負荷速度を増大させた場合、残存酢酸濃度が一時的に増大し、その後引き続いて減少するのであるが、Run 24

において、基質負荷速度を 14.96 g/l-day に増大させると、Fig. 2 に示したように残存酢酸濃度が連続的に増大し、消化プロセスに機能低下が生じた。

嫌気性消化プロセスの機能低下のおもな原因として、水理学的滞留時間の減少による菌体の洗流、有機物過負荷および毒性物質の阻害等があげられる^{11)~13)}。Fig. 2 の Run 24において、残存酢酸濃度が 4 000 mg/l 以上になってから MLVSS 濃度の減少がみられ、さらに残存酢酸濃度が 6 000 mg/l 以上になり pH が 6.5 以下に低下したとき、ガス生成速度は急激に減少した。機能低下したプロセスを回復させるため、基質負荷速度の減少、負荷の一時停止および NaHCO₃ を一時的に添加することによって槽内 pH を調整したり、さらに投入基質中の NaHCO₃ 濃度を機能低下前の 1.5 倍にして槽内アルカリ度を増大させるなどの操作を行ったにもかかわらず、いったん基質の投入を連続的に再開すると再びガス発生が停止した。このようなプロセスの機能低下は酢酸の過負荷によるものと看えられる。

以上の結果より、混合液中の残存酢酸濃度が4 000 mg/lに達すると、メタン生成菌の増殖および基質消費の活性が阻害され、また、酢酸の蓄積とpHの低下が生じるとともにメタン生成速度が急激に減少し、さらに6 000 mg/l以上に達すると、メタン生成反応はほとんど停止することが知られる。

したがって、メタン生成相の許容基質負荷速度は 11.23~14.96 g/L·day の範囲内にあることが知られる。

(3) 優占メタン生成菌の遷移

メタン生成菌はその形態によって、*Methanobacterium*（桿菌）、*Methanococcus*（球菌）、*Methanosarcina*（八連球菌）および*Methanospirillum*（らせん菌）の4つの属に分類される¹⁴⁾。連続培養系での定常運転では環境条件を一定に保つことによってその環境に適合した菌種が優占的に増殖する。嫌気性消化プロセスにおいてはSRTの制御による酸生成相とメタン生成相の動力学的分離が報告されている^{3), 15)}。

本実験においては、各反応槽に存在するメタン生成菌について、顕微鏡観察による形態学的判断によれば、SRT の異なる反応槽では優占菌相の遷移が示された。Fig. 5 の写真に示すように、SRT 9.6 日以上の系では長さが異なった *Methanobacterium* (写真-a) が優占菌種であり、SRT 6.5 日以下の系では *Methanosarcina* (写真-c) が優占菌種であった。また、SRT 6.5 日～9.6 日の系では *Methanobacterium* と *Methanosarcina* が混在していることが観察された (写真-b)。さらに、優占菌相の遷移に伴って混合液の色相も異なり、SRT の長い系では薄かっ色、SRT の短い系では黒色であること

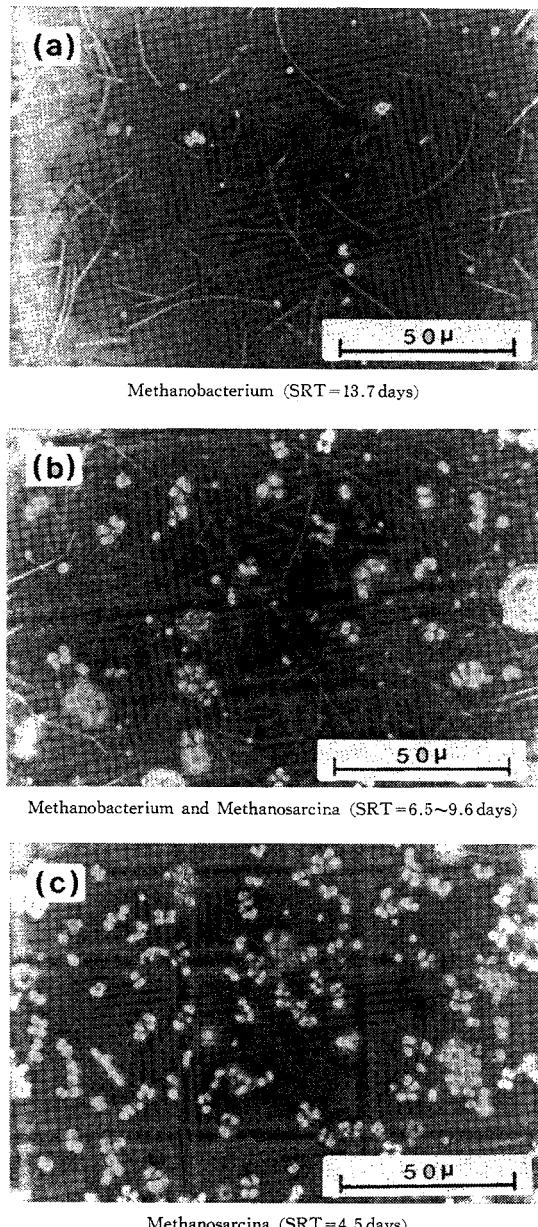
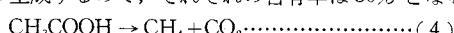


Fig. 5 Phase contrast photomicrographs of predominant methanogenic bacteria ($\times 600$) at different SRT.

が観察された。

(4) メタン生成

生成されるガスのメタン含有率は、理論上では次式に示すように酢酸 1 モルからはメタンと二酸化炭素が 1 モルずつ生成するので、それぞれの含有率は 50% となる。



しかし、本実験では 50~70% のメタン含有率が測定された。これは、式(5)に示すように基質作成の段階で

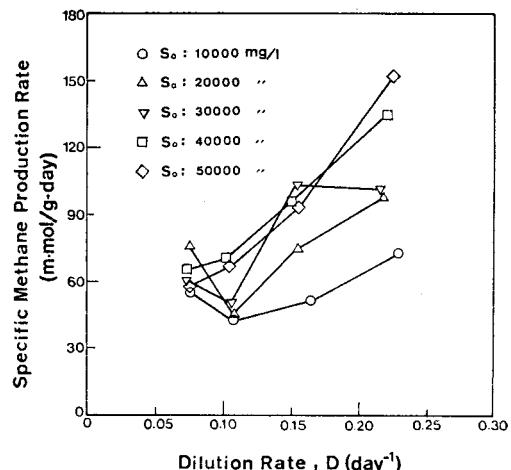
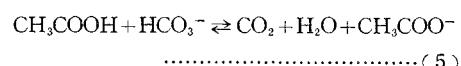


Fig. 6 The effect of dilution rate on specific methane production rate.

加えた酢酸と重炭酸塩とのイオン平衡の関係から、余剰の二酸化炭素が投入基質から気相へと消失し、



$$pH = pK_1 + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]} \quad \dots \dots \dots \quad (6)$$

ここで、

K_1 : 炭酸の第一次解離定数

[H₂CO₃]：混合液中の二酸化炭素の濃度≡K_b·P_{CO₂}

$$\left\{ \begin{array}{l} K_h : \text{ヘンリー定数} \\ P_{\text{CO}_2} : \text{気相中の二酸化炭素の分圧} \end{array} \right.$$

一方、槽内においては、メタン生成菌の基質代謝作用により液中酢酸濃度が低下し pH が上昇するため、式(5)のイオン平衡の移動ならびに式(6)による重炭酸塩-炭酸塩系の緩衝作用が生じ、気相の二酸化炭素が溶液中に溶解し気相の二酸化炭素の含有率が減少するためであると考えられる。

Fig. 6 に、比メタン生成速度に及ぼす希釀率と投入基質濃度の影響を示した。ここにメタン生成量は標準状態 (0°C, 1 atm) および水蒸気含有量に対して修正され、比メタン生成速度は単位反応容積のメタン生成量を MLVSS 濃度と SRT で除した値として計算された。この図によれば、希釀率 0.104 day^{-1} より高い系では比メタン生成速度は投入基質濃度と希釀率の増大とともに増大することが知られる。しかし、希釀率が 0.073 day^{-1} の系では 0.104 day^{-1} の系よりも高い比メタン生成速度が示されている。これは、低希釀率における MLVSS 濃度の減少によるものと考えられる。

Fig. 7 に、比メタン生成速度と比基質消費速度 (ν) の関係を示した。比基質消費速度は消費された基質濃度 (=投入基質濃度 - 残在基質濃度) を MLVSS 濃度と

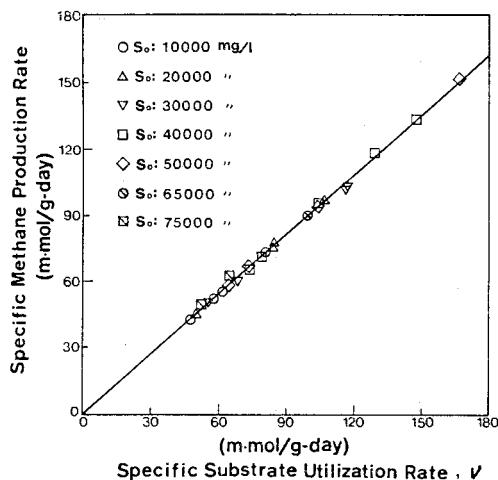


Fig. 7 The relationship between specific substrate utilization rate and specific methane production rate.

Table 3 Net growth yields of methanogenic bacteria at different dilution rates.

SRT (day)	Dilution rate (day ⁻¹)	Net growth yield $Y_{X/S}$ (mg VSS/mg HAc)
13.7	0.073	0.018
9.6	0.104	0.029
6.5	0.155	0.029
4.5	0.220	0.031

SRT で除した値である。これより、メタン生成菌の働きにより酢酸のメタンへの転換割合は基質負荷速度と希釈率に依存せず、回帰直線の傾きより消費された酢酸 1 モル当たり 0.902 モルのメタンが生成されることが知られる。

(5) 増殖定数の決定

各反応槽における見掛けの増殖収率 ($Y_{X/S}$) の平均値を Table 3 に示した。見掛けの増殖収率は生成された MLVSS の量を消費された酢酸の量で除して得られる。これらの値は、希釈率が 0.073 day⁻¹ の系を除いてほぼ一定と見なせる。低希釈率の系における収率の減少は、維持エネルギーの必要性が増大し、そのため MLVSS 濃度が減少したためと思われる。

Fig. 8 に、各投入基質濃度の系における比基質消費速度と希釈率の関係を示した。各投入基質濃度において、酢酸からメタン生成菌体を生成する割合、真の増殖収率 (Y_G) と自己分解係数 (K_d) が希釈率に依存せず一定であると仮定すると、メタン生成菌に対する次式の物質収支式に従って、 Y_G と K_d が決定できる^{10), 16)}。

$$\nu = \frac{1}{Y_G} D + \frac{K_d}{Y_G} \quad \dots \dots \dots (7)$$

式 (7) について最小二乗法により求めた回帰直線の

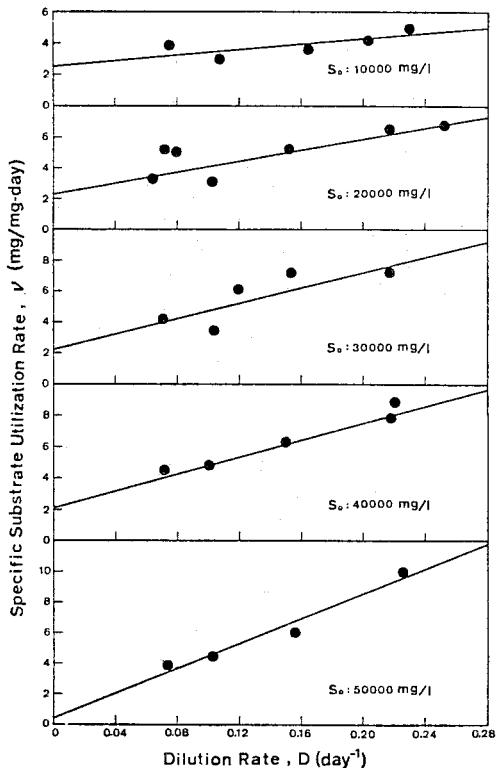


Fig. 8 Determination of growth constants, Y_G and K_d according to equation (7).

Table 4 Growth constants of methanogenic bacteria at different feed acetic acid concentrations.

S_0 (mg/l)	Y_G (mg/mg)	K_d (day ⁻¹)	m (day ⁻¹)
10 000	0.115	0.283	2.47
20 000	0.056	0.128	2.30
30 000	0.040	0.090	2.25
40 000	0.037	0.077	2.08
50 000	0.025	0.010	0.40

傾きと切片から、各投入基質濃度の系におけるメタン生成菌の Y_G と K_d が Table 4 に示すように決定された。これによれば、メタン生成菌の真の増殖収率 Y_G は、投入基質濃度の増大とともに減少している。すなわち、投入基質濃度の増大に伴って、単位菌体量の合成に必要な基質量が増大することが知られる。また、自己分解係数 K_d も、投入基質濃度の増大に伴って減少している。一方、維持係数 ($m = K_d/Y_G$) は、投入基質濃度の増大に伴って減少する傾向を示しているが、投入基質濃度 50 000 mg/l の系を除いて、ほぼ一定であることが知られる。

(6) 動力学的定数の決定

メタン生成菌の比基質消費速度 (ν) と制限基質濃度

(S , 残存酢酸濃度) との関係は次の Michaelis-Menten 型の速度式によって表わされる¹⁶⁾.

式(8)を逆数変形して $S/\nu \sim S$ プロットの形になると、式(9)になる¹⁷⁾。

$$\frac{S}{\nu} = \frac{K_s}{\nu_{\max}} + \frac{1}{\nu_{\max}} S \quad \dots \dots \dots (9)$$

比基質消費速度と残存酢酸濃度のデータを用い、式(9)より v_{max} と K_s を決定することができる。

本実験においては、SRT の変化に対応して優占メタン生成菌相の遷移が示され、また、Fig. 8 に示したように比基質消費速度が希釈率の増大に伴って増大することから、動力学的定数、 ν_{max} と K_s は一定の値を保持せずに、優占菌相の遷移に伴って変化するものと思われる。各優占菌相に対して、Fig. 9 の回帰直線の傾きと切片から決定された ν_{max} と K_s の値を Table 5 に示した。これより、SRT の短い系で優占となった Methanoscincina はより大きな ν_{max} と K_s を示し、一方 SRT

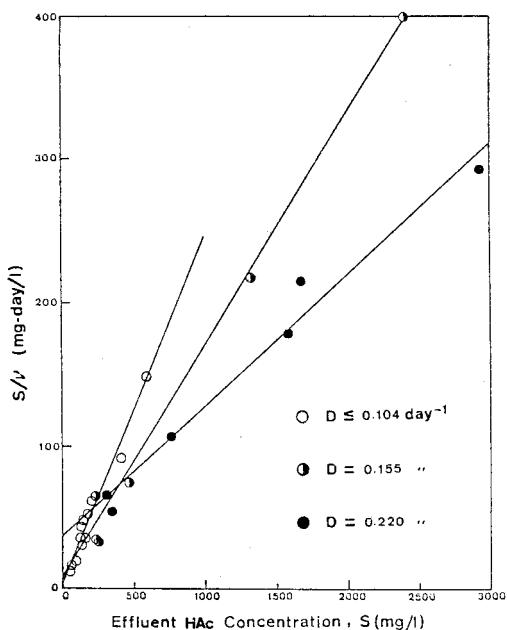


Fig. 9 Determination of kinetic constants. v_{\max} and K_s at different dilution rates according to equation (9).

Table 5 Kinetic constants at different dilution rates.

SRT (day)	Dilution rate (day ⁻¹)	γ_{\max} (mg/mg-day)	K_s (mg/l)	SRT _{min} (day)	γ_{\min} (day)
≥9.6	≤0.104	4.12	14	8.4	5.8
6.5	0.155	6.15	40	5.6	3.9
4.5	0.220	10.91	395	3.0	2.1

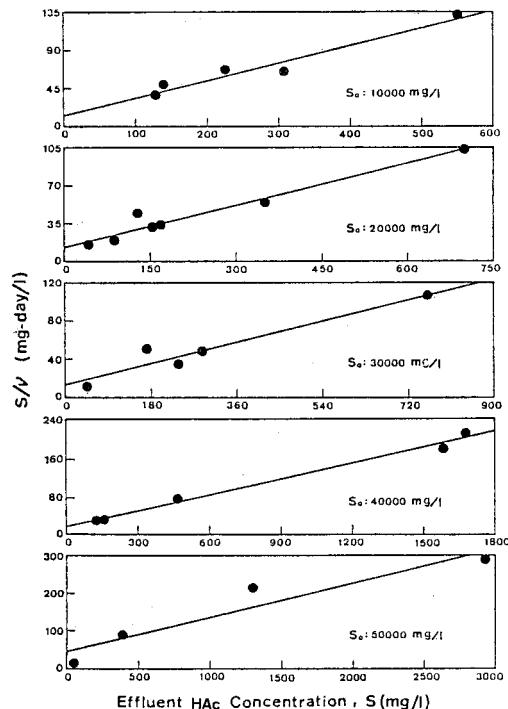


Fig. 10 Determination of kinetic constants, v_{\max} and K_s at different feed acetic acid concentrations according to equation (9).

Table 6 Kinetic constants at different feed acetic acid concentrations.

S_0 (mg/l)	ν_{\max} (mg/mg-day)	K_s (mg/l)	SRT _{min} (day)	q_{\min} (day)
10 000	4.72	53	3.85	2.67
20 000	7.62	90	3.35	2.32
30 000	8.02	101	4.33	3.00
40 000	8.22	157	4.40	3.05
50 000	10.91	508	3.81	2.63

の長い系で優占となった *Methanobacterium* はより小さな ν_{max} と K_s を示している。したがって、*Methaanosarcina* の基質消費活性は *Methanobacterium* より優れていることが知られる。

Fig. 10 に、各投入基質濃度の系における比基質負荷速度および残存酢酸濃度の $S/v \sim S$ プロットを示した。各投入基質濃度の系に対して、図の回帰直線の傾きと切片から決定された v_{max} と K_s の値を **Table 6** に示した。これより、メタン生成菌の代謝特性値である v_{max} および K_s は、(5) で決定された Y_G および K_d についてと同様に投入基質濃度に依存し、投入基質濃度の増大とともに増大することが知られる。

Lawrence と McCarty¹⁸⁾は、優占菌相の変動が ν_{\max} と K_s の変化を引き起こす可能性があると述べているが、本実験の結果によれば、これは希釈率の変化により

生じる優占菌相の遷移および投入基質濃度の変化によるメタン生成菌の代謝活性の変化に起因していることが知られる。なお、このような動力学パラメーターの希釈率および投入基質濃度への依存性については、活性汚泥に関する研究成果からも提示されている^{16), 19)~23)}。

前述のように、水理学的過負荷はプロセスの機能低下の1原因であるので、連続培養系において、必要なSRTが保たれない場合には、菌体が反応槽内から洗流されプロセスの機能が停止する。この臨界SRT(SRT_{min})とメタン生成菌量が2倍になるのに要する最小世代時間(q_{min})は次の式から算出される^{10), 16), 18), 24)}。

$$SRT_{min} = \frac{1}{\mu_{max,n}} \dots \dots \dots (12)$$

$$g_{\min} = \frac{l_n 2}{\mu_{\max,n}} = \frac{0.693}{\mu_{\max,n}} \quad \dots \dots \dots (13)$$

Table 5 に示した SRT_{min} および g_{\min} の値は、各希釈率の系について、**Table 3** の $Y_{x/s}$ と **Table 5** の ν_{\max} を用いて式 (10), (12), (13) から求め、また、**Table 6** に示した SRT_{min} および g_{\min} の値は、**Table 4** の Y_C と K_d および **Table 6** の ν_{\max} を用いて、式 (11)～(13) から求めたものである。**Table 5** の結果から知られるように、SRT_{min} と g_{\min} の値は希釈率の増大に対して減少を示しており、高希釈率で優占となった Methanosaerina の g_{\min} は、低希釈率で優占となった Methanobacterium より短いことが知られる。一方、**Table 6** によれば、SRT_{min} および g_{\min} の値は投入基質濃度の変化に対しては、明確な依存性を示していない。したがって、連続培養系のメタン生成相において、希釈率（または SRT）は優占菌種の遷移を決定するパラメーターとして有用である。また、Methanosaerina および Methanobacterium が優占菌種となるのは、それぞれ SRT 3.0 日～5.6 日および SRT 5.6 日以上の場合であることが知られる。なお、決定されたメタン生成菌の SRT_{min} 3.0 日は、Lawrence¹⁸⁾ らの報告による 3.1 日とよく一致している。

Fig. 11 および **Fig. 12** に、それぞれ各希釈率および各投入基質濃度の系に対する ν と S についての実験値と、式(9)に従って決定された理論値との比較を示した。 **Fig. 11 (a)** に示すように、低希釈率の系では前述のように残存酢酸濃度の定常値が変動しているため、実験値は理論曲線の付近にばらついているが、その他の系では実験値は理論曲線によく従っていることが示されている。したがって、決定された ν_{max} と K_s の値はメタン生成相の性能を予知するパラメーターとして使うことができる。

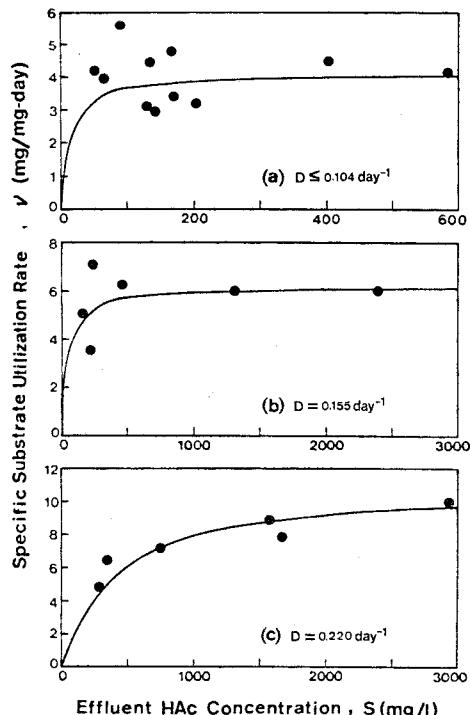


Fig. 11 Comparison of observed results with calculated ones at different dilution rates according to equation (9).

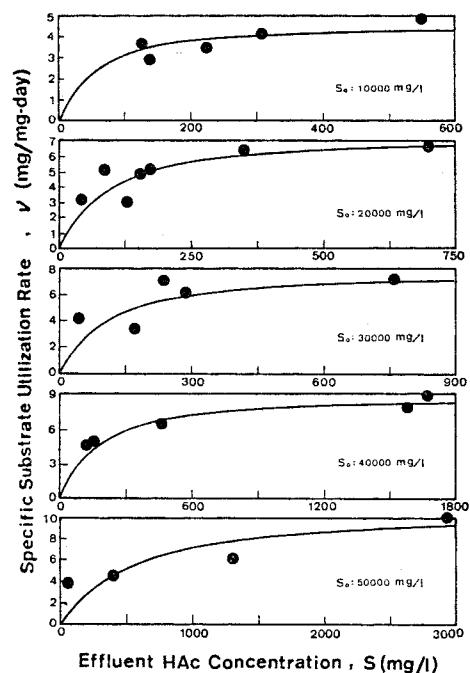


Fig. 12 Comparison of observed results with calculated ones at different feed acetic acid concentrations according to equation (9).

本実験において、SRT 4.5 日の系 (Run 20) では基質負荷速度 11.23 g/l-day であり、このときの比基質負荷速度 10.65 mg/mg-day は決定された ν_{max} 10.91 mg/mg-day にほぼ等しいことから推察して、(2) で述べたメタン生成相の許容基質負荷速度の範囲 11.23 ~ 14.96 g/l/day において、11.23 の値に近い範囲に実際の許容基質負荷速度が存在すると考えられる。このような高い基質負荷速度の条件下においても、基質除去率は 94.1% にも達している結果から、適切な環境および操作条件が維持されるならば、嫌気性消化のメタン生成相においては、安定かつ効率の高い浄化機能が発揮されると考えられる。また、SRT 6.5 日以上の系ではかなり小さな基質飽和定数 K_s が得られ、これはメタン生成菌による酢酸の代謝に対して、より短い SRT (または高い比基質消費速度) の条件下で操作しても、消化効率をさほどに悪化する可能性がないことを意味している。さらに、短い SRT の系で優占菌種となった Methanosaerina の基質消費活性が長い SRT で優占となった Methanobacterium より優れているという本実験の結果より、SRT を制御することによって、より高い比基質消費速度でメタン生成相を操作することが可能となる。メタン生成相に対するこのようなプロセスの操作は、全容積の実質的な縮小を可能にし、また、プロセス制御の最適化にも有益であると考えられる。

(7) 炭素と COD の物質収支

Table 7 に、各系において投入された基質の炭素がメタン、二酸化炭素、菌体に転換した割合と炭素物質の回収率を示した。表中の菌体炭素は、MLVSS の値を文献⁶⁾により報告されている嫌気性菌の菌体組成式 ($C_5H_9O_3N$)に基づいて換算した値であり、また残存基質炭素は、残存酢酸 (60 g/mol) を炭素 (12 g/mol) に換算した値である。炭素物質の回収率は 90% 以上であることが示されている。Table 7 に基づく計算によれば、消費された酢酸の炭素の菌体への転換割合は平均 3.1% であり、酸生成菌の菌体への転換割合 (20~40%)^{3), 15), 25), 26)} と比較して、メタン生成菌の増殖速度が酸生成菌より遅いことが知られる。またメタンへの転換割合は 44% 程度であり、二酸化炭素 (= 気相の二酸化炭素 + 液中の TIC) への転換割合もほぼ同程度である。これは式 (2) に示されたように酢酸より生成された理論的なメタンと二酸化炭素の比が 1 対 1 になることと一致するものである。

また、Table 8 より COD の物質収支について平均回収率は 92.1% であり、回収された COD の 94.9% がメタン、3% がメタン生成菌の菌体になり、2.1% が混合液中に残存することが知られる。

Table 7 Carbon mass-balance of Run 1 to Run 20.

Run No.	Influent carbon (%)	Effluent carbon (%)				Recovery (%)	
		CH ₄	CO ₂	TIC	VSS*		
1	100	43.5	18.3	24.4	2.3	1.3	89.8
2	100	43.7	17.3	24.8	4.3	1.4	91.5
3	100	43.3	18.6	24.3	5.3	2.3	93.8
4	100	43.0	18.4	23.8	5.2	3.1	93.5
5	100	43.3	31.8	12.7	1.6	0.5	90.9
6	100	44.2	31.7	12.7	3.9	0.6	93.1
7	100	43.1	31.4	12.4	3.4	0.9	91.2
8	100	44.2	32.8	11.9	3.8	1.7	94.4
9	100	43.3	38.0	8.6	2.0	0.2	92.1
10	100	44.2	39.0	8.1	3.5	0.6	95.4
11	100	42.2	38.8	8.1	2.4	0.8	92.3
12	100	41.4	37.6	7.5	3.4	2.5	92.4
13	100	43.7	38.1	6.1	1.9	0.3	90.0
14	100	44.1	39.0	5.9	2.4	0.4	91.8
15	100	44.8	39.9	5.7	2.7	2.7	94.3
16	100	43.8	39.9	5.0	3.1	3.1	96.0
17	100	44.0	40.0	4.3	2.2	0.1	90.6
18	100	44.4	40.7	4.0	2.7	0.8	92.6
19	100	44.6	40.3	4.8	2.9	2.6	95.2
20	100	42.8	39.5	3.4	2.4	5.9	94.0

* VSS carbon = 0.458 × VSS ($C_5H_9O_3N$)⁶⁾

** HAc carbon = 0.4 × Effluent HAc (CH_3COOH)

Table 8 COD mass-balance of Run 1 to 20.

Run No.	Influent COD (%)	Effluent COD (%)			Recovery (%)
		CH ₄	VSS	HAc	
1	100	87.3	1.6	2.0	90.9
2	100	87.4	2.9	2.0	92.3
3	100	86.7	3.6	2.4	92.7
4	100	86.1	3.4	3.2	92.7
5	100	88.6	1.4	0.8	90.8
6	100	87.5	3.3	1.0	91.9
7	100	86.4	3.2	1.1	90.7
8	100	88.7	3.4	2.0	94.1
9	100	86.8	2.0	0.6	89.4
10	100	88.7	3.3	1.0	93.0
11	100	85.6	2.5	1.3	89.4
12	100	83.0	3.2	2.7	89.0
13	100	87.3	2.0	0.7	90.0
14	100	88.2	2.7	0.9	91.7
15	100	89.5	2.8	1.6	93.9
16	100	87.6	3.0	3.6	94.1
17	100	88.0	2.2	0.4	90.7
18	100	88.9	2.8	1.2	92.9
19	100	89.1	3.0	3.0	95.1
20	100	85.6	2.8	6.1	94.5

4. 総括および結論

嫌気性消化の律速段階であるメタン生成相に及ぼす菌体滞留時間 (SRT) および投入基質濃度の影響を、ケモスタット反応槽を用い、酢酸を制限基質として 35°C で検討した。得られた知見は次のように要約される。

(1) メタン生成相の許容基質負荷速度は 11.23 g/l-day の付近に存在する。

(2) 比メタン生成速度は、希釈率 (SRT の逆数) が

増大するほど増大する。また、比メタン生成速度は、比基質消費速度の増大に比例して増大する。消費された酢酸1モル当たり0.902モルのメタンが生成され、この転換割合は希釈率および基質負荷速度には依存しない。

(3) メタン生成菌の真の増殖収率 Y_C および自己分解係数 K_d は投入基質濃度の増大に対して減少する。

(4) メタン生成相の動力学パラメーター最大比基質消費速度 ν_{max} および基質飽和定数 K_s は希釈率および投入基質濃度の増大に対して増大する。

(5) 連続培養系のメタン生成相では、SRT を選択することにより、より大きな ν_{max} と K_s をもった Methanosaerina が SRT の短い系で優占菌種となり、一方より小さい ν_{max} と K_s をもった Methanobacterium が SRT の長い系で優占菌種となつた。Methanosaerina の基質消費活性は Methanobacterium より優れている。

謝 辞：本研究を行うにあたり、実験の面でご尽力下さった東北大学大学院生（当時）小松 明君、高尾治海君ならびに東北大学工学部学生（当時）石川徳春君に心から感謝いたします。

また、本研究の一部は昭和54年度文部省科学研究費総合研究(A)によることを付記いたします。

参考文献

- 1) McCarty, P.L. : Anaerobic Waste Treatment Fundamentals, Public Works, Vol. 9, pp. 107~112, 1964.
- 2) Andrews, J.F., R.D. Cole and E.A. Pearson : Kinetics and Characteristics of Multistage Methane Fermentations, SERL Report, Univ. of California, 64~11, Dec., 1964.
- 3) Ghosh, S., J.R. Conrad and D.L. Klass : Anaerobic Acidogenesis of Wastewater Sludge, Jour. WPCF, Vol. 47, No. 1, pp. 30~45, 1975.
- 4) Jeris, J.S. and P.L. McCarty : The Biochemistry of Methane Fermentation Using C¹⁴ Tracers, Jour. WPCF, Vol. 37, No. 2, pp. 178~192, 1965.
- 5) Smith, P.H. and R.A. Mah : Kinetics of Acetate Metabolism During Sludge Digestion, Appl. Microbiol., Vol. 14, No. 3, pp. 368~371, 1966.
- 6) Speece, R.E. and P.L. McCarty : Nutrient Requirements and Biological Solids Accumulation in Anaerobic Digestion, Advances in Water Pollut. Research, Vol. 2, pp. 305~322, 1964.
- 7) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 14th ed. pp. 527~529, Amer. Pub. Health Assn., New York, 1975.
- 8) Scheiner, D. : Determination of Ammonia and Kjeldahl Nitrogen by Indophenol Method, Water Research, Vol. 10, No. 1, pp. 31~36, 1976.
- 9) McCarty, P.L. : Anaerobic Waste Treatment Fundamentals, Public Works, Vol. 10, pp. 123~126, 1964.
- 10) Metcalf & Eddy, Inc. : Wastewater Engineering, pp. 373~421, McGraw Hill, New York, 1972.
- 11) Andrews, J.F. : Control Strategies for the Anaerobic Digestion Process Part I, Water and Sewage Works, Vol. 122, No. 3, pp. 62~65, 1975.
- 12) Andrews, J.F. : Control Strategies for the Anaerobic Digestion Process-Part II, Water and Sewage Works, Vol. 122, No. 4, pp. 74~77, 1975.
- 13) Graef, S.P. : Stability and Control of Anaerobic Digestion, Jour. WPCF, Vol. 46, No. 4, pp. 666~683, 1974.
- 14) R.Y. スタニエラ共著(高橋甫ら訳)：微生物学(下), 培風館, pp. 334~343, 1980.
- 15) Massey, M.L. and F.G. Pohland : Phase Separation of Anaerobic Stabilization by Kinetic Controls, Jour. WPCF, Vol. 50, No. 9, pp. 2204~2222, 1978.
- 16) Ghosh, S. and F.G. Pohland : Kinetics of Assimilation of Multiple Substrates in Dispersed Growth Systems, Water Research, Vol. 6, pp. 99~115, 1972.
- 17) Kirsch, E.J. and R.M. Sykes : Anaerobic Digestion in Biological Waste Treatment, Prog. Ind. Microbiol., Vol. 9, pp. 155~237, 1971.
- 18) Lawrence, A.W. and P.L. McCarty : Kinetics of Methane Fermentation in Anaerobic Treatment, Jour. WPCF, Vol. 41, No. 2, pp. R 1~R 17, 1969.
- 19) Gaudy, A.F. Jr., M. Ramanathan and B.S. Rao : Kinetic Behavior of Heterogeneous Population in Completely Mixed Reactors, Biotech. & Bioengi., Vol. 6, pp. 378~411, 1967.
- 20) Gaudy, A.F. Jr. and M. Ramanathan : Effects of High Substrate Concentration and cell Feedback on Kinetic Behavior of Heterogeneous Populations in Completely Mixed Systems, Biotech. & Bioengi., Vol. 11, pp. 207~237, 1969.
- 21) Chiu, S.Y., L.T. Fan, I.C. Kao and L.E. Erickson : Kinetic Behavior of Mixed Population of Activated Sludge, Biotech. & Bioengi., Vol. 14, pp. 179~199, 1972.
- 22) Ghosh, S., F.G. Pohland and W.E. Gates : Phasic Utilization of Substrate by Aerobic Culture, Jour. WPCF, Vol. 44, pp. 376~400, 1972.
- 23) 原田秀樹：活性汚泥の微生物活性に及ぼす汚泥滞留時間の影響に関する研究, 東北大学位論文, 1980.
- 24) Pretorius, W.A. : Anaerobic Digestion-III. Kinetics of Anaerobic Fermentation, Water Research, Vol. 3, pp. 545~558, 1969.
- 25) Ghosh, S. and F.G. Pohland : Kinetics of Substrate Assimilation and Product Formation in Anaerobic Digestion, Jour. WPCF, Vol. 46, No. 4, pp. 748~759, 1974.
- 26) 遠藤銀朗：嫌気性消化の酸生成相に関する研究, 東北大学位論文, 1980.

(1981.2.14・受付)