

嫌気性消化の酸生成相におけるセルロースと  
グルコースの分解特性CHARACTERISTICS OF CELLULOSE AND GLUCOSE DECOMPOSITION  
IN ACIDOGENIC PHASE OF ANAEROBIC DIGESTION

遠 藤 銀 朗\*・野 池 達 也\*\*・松 本 順一郎\*\*\*

By Ginro ENDO, Tatsuya NOIKE and Junichiro MATSUMOTO

## 1. 緒 論

今日、人間活動によって生じる廃棄物の処理と利用は人間社会特に都市において重要な問題として提起されている。たとえば水域への汚濁負荷の増大によってもたらされた水質汚染に対処すべく、都市下水および産業廃水等の処理が高度化し、大規模化するにつれて生成される汚泥量は近年著しく増加している。下廃水汚泥や厨芥等の有機性廃棄物を不安定な状態で放置することは、化学的な変性および生物学的な分解による腐敗現象および衛生上きわめて危険な病原菌の発生等の二次的な環境汚染を引き起こすおそれが多い。したがってこれらの有機性廃棄物はすみやかに処分されなければならないが、同時に環境保全上の問題を残さないような方法によらなければならない。

上記目的のために、有機性廃棄物の処理においては最も経済的で二次汚染のおそれの少ない処理法の一つとして生物学的処理が広く用いられている。現在用いられている生物学的処理法の中で、エネルギーの回収が可能なものに嫌気性消化法が挙げられる。この処理法は近年エネルギー事情の逼迫によって、特に廃水処理施設の省エネルギーを目的として再評価されつつある。しかし、約 1 世紀にわたって本法が適用されてきたにもかかわらず、このプロセスの進行過程の特徴や、有機物分解に及ぼす諸因子の影響等については未知事項がまだ多く残されている。

嫌気性消化は多段階的な反応過程によって構成されており、その特性の違いに応じて各段階を分離して研究する試みはごく近年になって始められたものである。嫌気性消化全体の消化速度がどの段階で決定され、どのよう

な条件下で各段階の反応を最適に操作できるかに関する知見は、従来よりもさらに効率的な消化プロセスを組み立てるうえで必要と考えられる。

このような認識に基づき、本研究は従来十分に解明されていない嫌気性消化の有機物から揮発性脂肪酸を生成する過程いわゆる酸生成相を検討すべく、加水分解過程を必要とする基質の代表としてセルロース粉末を、また加水分解生成物の代表としてグルコースを用いて、これらの相を担う加水分解細菌と酸生成菌との基質代謝、増殖および発酵生産の特性を把握し比較することを目的としてなされた。

## 2. セルロースとグルコースの嫌氣的分解

下水汚泥等の有機性廃棄物中には多種類の有機物が存在するが、それらのうち高分子有機物として最も多量に存在した比較的分解しにくいものにセルロースが挙げられる。近年社会活動が高度化されるにつれて廃棄されるセルロースの量は著しく増加しており、都市ゴミ中 40~60% を、また下水汚泥中では 25~35% を占めるといわれる。木屑や紙などのセルロース性の廃棄物は、自然状態下においては容易に分解されない。このような分解の困難性は、天然セルロースが高度に結晶化しており、また微生物による分解のかなり困難なりグニンを含んでいることによる。セルロースの加水分解に関与する酵素であるセルラーゼは、カタツムリのような軟体動物や昆虫類から細菌にいたるまでの多くの生物によって分泌されるが、嫌気性消化槽内においては細菌によるセルラーゼがおもに関与している。このセルラーゼは多成分系であり、特定の基質特異性をもつ各セルラーゼによって高度に結晶化したセルロースは最終的にはグルコースにまで加水分解される<sup>1)</sup>。一般的には次のような単純化した分解経路が提案されている<sup>2)</sup>。

天然セルロース  $\xrightarrow{C_1}$  直鎖セルロース断片  $\xrightarrow{C_2}$  オリゴ糖  $\xrightarrow{C_3}$  グルコース

\* 正会員 工博 荏原インフィルコ(株)中央研究所研究員

\*\* 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

この経路におけるセルラーゼ  $C_1$  は、天然の結晶性セルロースを短いセルロース断片にまで分解することに関与し、セルラーゼ  $C_2$  はこのセルロース断片をセロピオースを含むセロオリゴ糖にまで分解することに関与し、 $C_2$  は  $\beta$ -グルコシダーゼとよばれ、二糖類を単糖類に加水分解することに関与している。

細菌によって作られるセルラーゼは、細菌細胞の外に分泌されるか細胞壁に吸着されているかあるいは細胞内にとどまっている。したがって結晶性セルロースを攻撃する細菌は、セルラーゼの分泌の仕方に応じてセルラーゼを細胞壁近傍にのみ分泌する場合にはセルロース粒子に付着して、セルラーゼを培養液中に広範囲に分泌する場合には必ずしも付着せずというように、種々の増殖形態をとるものと考えられる。

天然セルロースやでん粉の加水分解の最終生成物であるグルコースの解糖経路その他によるピルビン酸への分解と、ピルビン酸からの揮発性脂肪酸やアルコール等の発酵については生化学的な研究が多くなされているにもかかわらず、微生物反応の多様性ゆえにその全容はいまだ解明されていない。

グルコースはある種の透過酵素 (permease) によって能動的に細胞内に取り込まれた後、代謝され生体物質の合成や増殖および生物体の維持のためのエネルギーを供給するために消費される。嫌気性消化の酸生成相においては、このような代謝反応の老廃物として揮発性脂肪酸を主成分とする発酵生成物と水素や炭酸等のガス状生成物を細菌細胞外へ放出すると考えることができる。下水汚泥等の有機性廃棄物の嫌気性消化における酸生成相は、一般に多種類の細菌の混合培養のもとで進行しており、ある種の細菌の代謝産物は別種の細菌の基質として利用されることから、最終生産物はその混合微生物系の特性に応じて変化する。

### 3. 実 験

本研究は次の2つの実験に基づいてなされた。実験-1は、下水汚泥や厨芥中の典型的な高分子有機物であるセルロースの嫌気性消化の進行の特徴を調べることが目的としてなされた。また実験-2は、セルロースの加水分解の最終生産物であるグルコースからの揮発性有機酸の生成と高希釈速度下でのメタン発酵の特徴を知るためになされた。またこれらの2つの実験の結果を相互に比較検討し、セルロースとグルコースの分解特性の差異を明らかとすることを目的とした。

#### (1) 実験-1: セルロースの分解特性

##### a) 実験装置, 材料および方法

本研究において用いた実験装置は、発生ガスの循環によって反応槽内を攪拌混合し、連続的な基質の投入と連続的かつ嫌気的な反応槽混合液の引抜きを行う嫌気的ケモスタート反応槽である。本実験に用いた実験装置の概略を Fig. 1 に示す。

この反応槽は 35°C の温度条件および 25 日の生物学的固形物滞留時間 (以下 SRT と略記する) の条件のもとで約 130 日間セルロースを単一炭素源として含む合成基質に馴致させた消化汚泥によって植種した。この種汚泥は、当初仙台市の南蒲生下水処理場における嫌気性消化槽 (中温消化) より得られたものから馴致させたものである。

実験に用いた合成基質は単一炭素源およびエネルギー源としてセルロースを含み、単一窒素源として重炭酸アンモニウムを含んでいる。この合成基質の化学的組成を Table 1 に示す。セルロースとしては、東洋ろ紙製の Cellulose powder B, 200/300 mesh を用いた。またこの合成基質のグルコースとしての糖濃度は 5560 mg/l, pH 8.44 および炭素-窒素比は 5.0 である。

各セルロース消化槽の SRT は、おのおの 1.94 日, 2.87 日, 4.79 日, 6.93 日, 8.79 日および 13.3 日の 6 段階に設定された。この SRT は基質投入ポンプの流量を変化させることによって制御し、反応容積は 2 l で一定とした。基質の投入はチューブポンプによって連続的に行ったが、ポンプや流路系の詰まりを防ぐためにタイマーを併用し、1回 30 分ずつ 16 回/日 (SRT=1.94

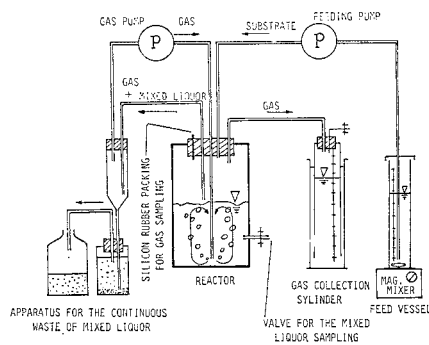


Fig. 1 Experimental continuous fermentation apparatus.

Table 1 The chemical composition of the synthetic substrate.

Item	Experimental Phase 1 (mg/l)	Experimental Phase 2 (mg/l)
Cellulose powder	5 000	—
Glucose	—	11 700
$\text{NH}_4\text{HCO}_3$	2 240	5 240
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	125	125
$\text{MgCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	100	100
$\text{MnSO}_4 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	15	15
$\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$	5	5
$\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	0.125	0.125
$\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	25	25

These components were prepared with tap water

**Table 2** The analytical method of the reactor contents and produced gas.

Item	Experiment 1	Experiment 2
Total organic acid (TOA)	Column-partition chromatographic method	
Individual volatile fatty acid	Gas-liquid chromatographic method	
Chemical oxygen demand (COD)	Dichromate reflux method	
Ammonium nitrogen	Distillation and titration method	
Glucose	—	Enzymatic method
Mixed liquor volatile suspended solid (MLVSS)	Centrifuge and decantation method	
Deoxyribonucleic acid (DNA)	—	Orgur-Keck's method
Total saccharide	Phenol-sulfic acid method	—
Gas content	Gas-solid chromatographic method	

$$\times \frac{162}{180} \dots (1)$$

**Fig. 2** から知られるように、全糖類中の溶解性糖類の割合はきわめて小さく、加水分解によって生成されるセロオリゴ糖やグルコースのような溶解性の

日および 2.87 日), 8 回/日 (SRT=4.79 日および 6.93 日) および 4 回/日 (SRT=8.79 日および 13.3 日) に分けて間欠的に投入した。

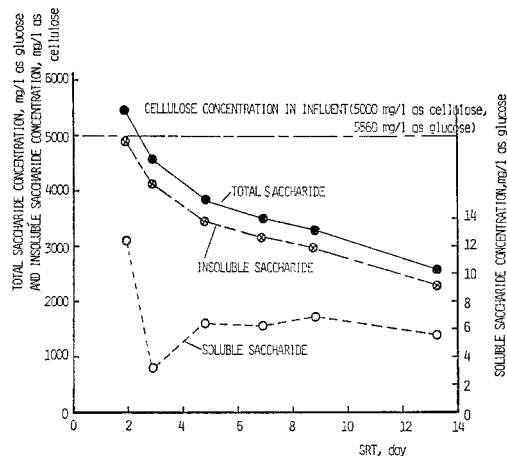
反応槽内容物は、槽内で発生するガスをガスポンプによって循環し液中に散気することによって攪拌したが、このガス循環の結果として生じる吸引作用によって混合液は連続的かつ嫌気的に装置外へ引き抜いた。これらのセルロース消化槽は 35°C に設定された恒温水槽中に浸すことによって一定温度に保たれた。

各セルロース消化槽は、定常状態に到達するのを保証するために SRT の長短に応じて 1~2 か月間連続運転された。反応槽の混合液中の各成分と発生ガスは **Table 2** に示した方法に従って 1 週間に約 2 回の頻度で定期的に分析した。

**b) 実験結果**

**Fig. 2** に、各 SRT での定常状態における糖類濃度の平均値を示した。これらのうち反応槽内の不溶性多糖類の濃度 (セルロースとして) は、162 g のセルロースが 180 g のグルコースと等価であることから次式によって算定した。

$$\begin{aligned} & \text{槽内不溶性多糖類濃度 (mg/l, セルロースとして)} \\ & = [\text{槽内全糖類濃度 (mg/l, グルコースとして)} \\ & \quad - \text{溶解性糖類濃度 (mg/l, グルコースとして)}] \end{aligned}$$

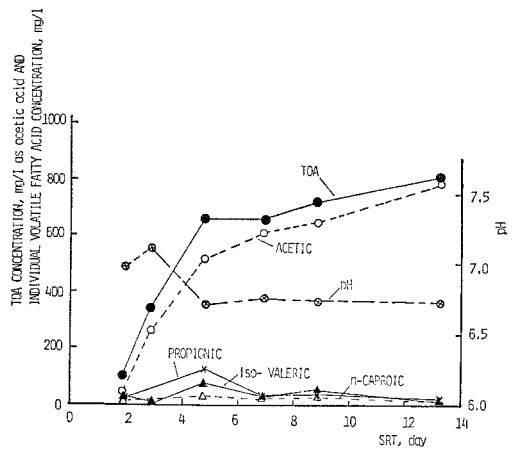


**Fig. 2** The steady state data on the concentration of the residual saccharide (Experimental phase I).

糖類はすみやかに嫌気性細菌によって摂取されて、異化代謝や菌体合成に利用されることが知られる。したがって天然セルロースのような不溶性の多糖類は、まず結晶化されたミセル構造の破壊やそれに続く高分子のセルロース鎖を加水分解しオリゴ糖を生成する過程の反応が遅いことによって、嫌気的条件下での分解の速度に制限が与えられているものと考えられる。また、ここで全糖類として測定されたものの中には細菌細胞のもつ多糖類も含まれているため、流入基質中の糖類濃度との差が直接消費されたセルロースの量とはいえない。したがって糖類の消費量とはいずれの場合もみかけ上の消費に対するものである。

SRT 1.94 日におけるみかけ上のセルロースの除去率は投入セルロースのわずか 2% 程度であるにすぎないのに対して、この除去率は SRT の増加とともに増加してゆき、SRT 13.3 日では約 54% の多糖類がみかけ上除去されたことが知られる。

**Fig. 3** に、各 SRT における定常状態での発酵された揮発性脂肪酸の濃度と pH の平均値を示した。総有機酸 (以下 TOA と略記) は SRT 4.79 日までは SRT の増加に伴って単純に増加するが、それ以上の SRT での増加は少ない。これはガス発生に関連して後述するよ



**Fig. 3** The steady state data on the concentration of volatile fatty acid and the value of pH (Experimental phase I).

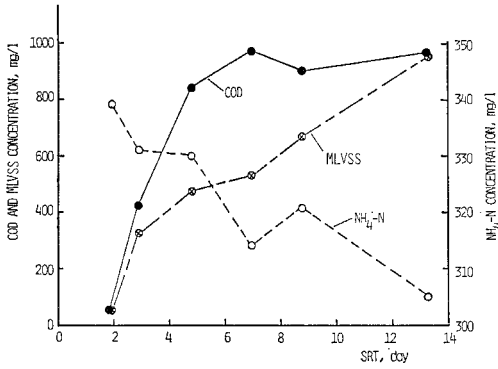


Fig. 4 The steady state data on the concentration of COD<sub>cr</sub>, NH<sub>4</sub>-N and microbiomass (Experimental phase I).

うにメタン生成菌の活性が比較的長い SRT において高まり、いったん生成された揮発性脂肪酸がメタンと炭酸ガスへと転換されてしまうことによる。

揮発性脂肪酸成分中最も多い酸は酢酸であるが、奇数炭素のプロピオン酸が比較的高濃度となる場合もみられ、また通常の汚泥消化では微量にしか存在しない iso-吉草酸が検出されている。逆に一般によく検出されるといわれる *n*-酪酸の生成は示されておらず、これらの結果よりセルロースだけの嫌気性消化においては、特別な細菌叢による特有の酸生成発酵が進行するものと考えられる。

Fig. 4 に、各 SRT における定常状態での溶解性 COD<sub>cr</sub>、アンモニア性窒素および菌体の各濃度の平均値を示した。菌体の濃度に関しては、固形物性のセルロースを基質としているために反応槽混合液中の有機性浮遊物（以下 MLVSS と略記）中から区別することが困難であることから次の COD に関する物質収支から算定した。この場合、菌体の平均的な元素組成を嫌気性消化菌に対して Speece ら<sup>3)</sup>によって報告されている C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>N と仮定して、

$$\text{菌体 COD} = \text{流入セルロース COD} - (\text{槽内セルロース COD} + \text{溶解性 COD} + \text{生成メタンガス COD}) \dots\dots\dots (2)$$

また、菌体 COD は次式からも決定される。



この化学量論式に従って 131 g の菌体量は 160 g の菌体 COD と等価であり、菌体濃度は次式から求められる。

$$\text{菌体濃度 (mg/l biomass として)} = \frac{131}{160} \times \text{菌体 COD (mg/l, O}_2 \text{ として)} \dots\dots\dots (4)$$

溶解性 COD<sub>cr</sub> の SRT の変化に対する挙動は、Fig. 3 に示した TOA の変化と類似しておりこれらの濃度間にはよい相関がみられる。さらには、溶解性の糖等の基質となるべき COD がかなり低濃度であるにもかかわらず、

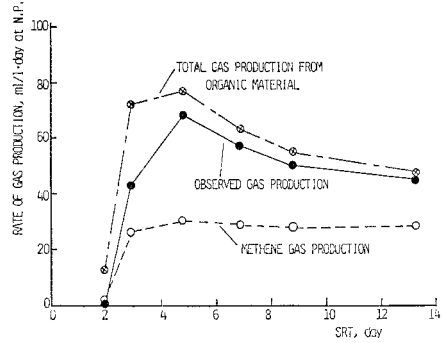


Fig. 5 The steady state data on the gas production rate (Experimental phase I).

らず、ほとんどが発酵生産物である揮発性有機酸特に酢酸へと転換されていることが知られる。

アンモニア性窒素の濃度は SRT の増加に伴って減少しており、これは菌体へ同化されたものと考えられることから、菌体濃度の SRT の増大に伴う増加と関連している。

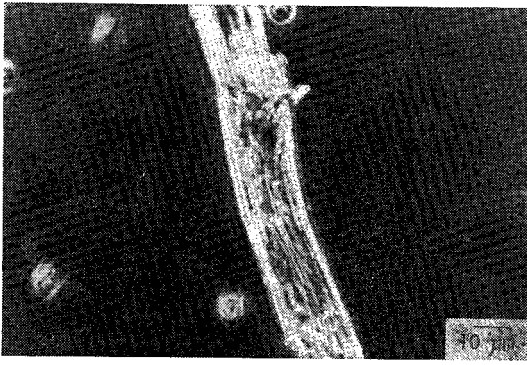
Fig. 5 に、各 SRT における定常状態でのガス発生状況を示した。図中の有機性炭素からの溶存気体を含むガスの生成量は、次のような炭素に対する物質収支から算定した。

$$\text{ガス態炭素} = \text{消費セルロース炭素} - (\text{溶解性有機炭素} + \text{菌体炭素}) \dots\dots\dots (5)$$

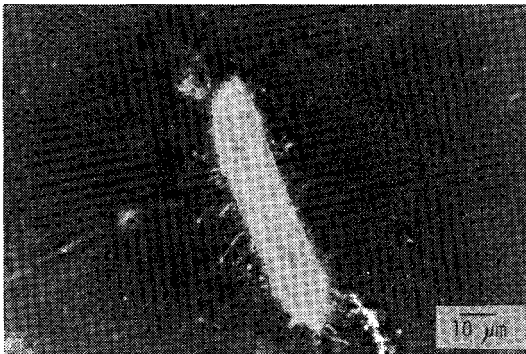
この場合菌体炭素は、菌体 COD と菌体の元素組成式<sup>3)</sup>に基づいて算定した。溶解性有機炭素については溶存するおもな COD 物質は有機物であることと、それらのうちの主成分である酢酸および溶解性糖類の両者は COD の化学量論上いずれも炭素原子 1 個が O<sub>2</sub> 分子 1 個に相当することから、ほぼすべての有機性炭素が COD<sub>cr</sub> に対してこの関係によって近似的に求められるとして溶解性 COD<sub>cr</sub> から算定した。

全ガス発生速度に対し、メタンガスの発生速度は SRT 1.94 日においては比較的小さなものであったが、SRT 2.87 日以上においては比較的高まり、特に SRT 6.93 日以上では全ガスのうちの半分以上をメタンガスが占めほぼ正常な嫌気性消化のメタン発酵と同程度のメタンの生成がみられる。この結果から比較的長い SRT におけるセルロースの消化においては、加水分解、酸生成およびメタン生成を行う菌が混在する完全な形での嫌気性消化過程が構成され、各相の分離はなされなかった。

嫌気性細菌によるセルロース粒子の攻撃形態は SRT によって明らかに異なることが顕微鏡 (×600) による観察結果より知られた。Photo 1 は、細菌の攻撃を受ける前のセルロース粒子の顕微鏡写真である。Photo



**Photo 1** The cellulose particle before attack by anaerobic bacteria ( $\times 600$ ).



**Photo 2** The attacking manner on cellulose particle of anaerobic bacteria at the SRT of 2.79 days ( $\times 600$ ).



**Photo 3** The attacking manner on cellulose particle of anaerobic bacteria at the SRT of 13.3 days ( $\times 600$ ).

2 は、SRT 2.79 日におけるセルロース分解細菌によるセルロース粒子の攻撃形態である。セルロース粒子のまわりに繊毛状に付着しているのがセルロースの加水分解細菌とみなされる。**Photo 3** は SRT 13.3 日における細菌の攻撃形態で、セルロース粒子に対する細菌の付着攻撃はみられず、細菌体は反応液中に高密度に分散している様子がみられる。以上のように、一般に SRT が

短い場合の嫌気性細菌はセルロース粒子に付着してこれを分解し、SRT が長い場合には付着することなく分解することが知られ、反応液の希釈速度 ( $=1/\text{SRT}$ ) が大きい場合には、細菌細胞壁もしくはその近傍に分泌した高濃度の分解酵素を用いる菌が優勢種となり、希釈速度が小さい場合には、分解酵素を混合液中に分散分泌することによって分解する菌が優勢種になることが考えられよう。したがって SRT や HRT (水理学的滞留時間) によってセルラーゼのような酵素の種類や分泌の仕方の変化するものと思われ、このことが固体としてのセルロースと細菌との相互関係を変化させ、基質消費や細菌の増殖等の動力学的特性に少なからず影響を与えるものと推察される。

## (2) 実験-2: グルコースの分解特性

### a) 実験装置, 材料および方法

本研究において用いた実験装置もまた **Fig. 1** に示したものと基本的には同じもので、発生ガスの循環によって反応槽内容液を混合攪拌する嫌気的ケモスタート反応槽である。

この反応槽は  $35^{\circ}\text{C}$  と 25 日の SRT の条件下で 4 か月間以上にわたって下記の合成基質に馴致させた嫌気性消化汚泥によって植種したが、この種汚泥は当初仙台市南蒲生下水処理場の中温消化槽より得たものである。

実験に用いた合成基質はグルコースを単一炭素源およびエネルギー源として含み、重炭酸アンモニウムを単一窒素源として含むもので、この合成基質の化学的組成を **Table 1** に示した。

各反応槽の SRT はおのおの 0.09 日 (2.2 h), 0.18 日 (4.4 h), 0.29 日 (7.0 h), 0.43 日 (10.3 h), 1.13 日, 1.56 日, 2.09 日および 3.01 日の 8 段階に設定した。この SRT の設定には反応容積を変化させることと、基質流入流量を変化させることの両方法を併用した。

全実験装置は  $35^{\circ}\text{C}$  に保たれた恒温チャンバーに収納することによって一定温度に加温されたが、定常状態の条件が確立されるように、これらの反応装置はおのおの SRT の条件下で 2 か月間以上運転した。反応槽の混合液と発生ガスは **Table 2** に挙げた方法によって 1 週間に約 2 回の頻度で定期的に分析した。

### b) 実験結果

**Fig. 6** に、8 つの SRT を異にする連続実験における反応槽内の残存グルコース濃度、溶解性  $\text{COD}_{\text{cr}}$  およびアンモニア性窒素濃度を各 SRT の定常状態における平均値として示した。この図より反応槽内に残存するグルコースの濃度は、0.43 日以下の SRT の減少に伴って急速に増加することが知られ、SRT 0.09 日はグルコースを基質として利用する酸生成菌の限界滞留時間に近い

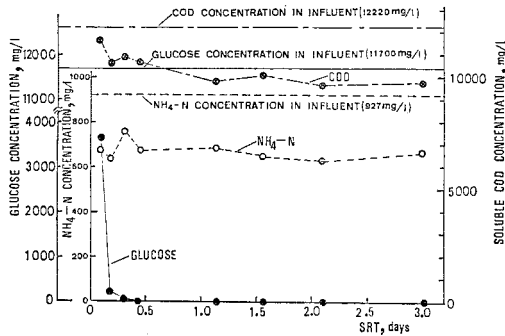


Fig. 6 The steady state data on the concentration of glucose,  $COD_{cr}$  and  $NH_4-N$  (Experimental phase II).

ものと考えられる。

嫌気性消化過程においては、溶解性の COD は他に水素受容体がない場合においてメタンガスおよび水素ガスの系外への放出と菌体への同化によって液中より除去される。一方アンモニア性窒素はほとんどが菌体への同化によって液中から除去される。本実験においては、溶解性  $COD_{cr}$  の濃度は SRT の減少に伴ってやや増加するがアンモニア性窒素の濃度の変化はほとんど示されていない。このような結果と後述の菌体濃度がかなり短い SRT においても高く維持されていることとの関連より、SRT の減少に伴って増殖や菌体維持のために必要とされるエネルギーの生成を目的として消費される COD が少なくて済むことが知られ、このことは換言すれば高希釈速度においてはそれに対応して酸生成菌の増殖がかなり効率よく行われるようになることを示している。

Fig. 7 に、TOA と各揮発性脂肪酸成分の各 SRT での平均値を示した。TOA の濃度は比較的長い SRT においてはほぼ一定であったが、0.43 日以下の SRT においては SRT の減少に伴って TOA 濃度も減少している。

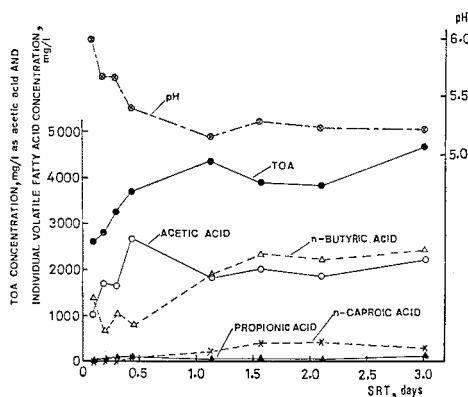


Fig. 7 The steady state data on the concentration of volatile fatty acid and the value of pH (Experimental phase II).

本実験において生成された主要な揮発性脂肪酸は偶数炭素の直鎖型脂肪酸、すなわち酢酸、*n*-酪酸および *n*-カプロン酸であり、奇数炭素や側鎖型の揮発性脂肪酸は微量であった。また酢酸およびプロピオン酸のようなより低級な揮発性脂肪酸は比較的短い SRT の場合に高濃度となり、一方 *n*-酪酸および *n*-カプロン酸のように比較的高級な酸は SRT の長い場合に濃度が増加している。このように SRT の変化に伴って揮発性脂肪酸発酵のパターンが変化することが知られるとともに、より高級な酸はグルコースの分解経路からのみ生成されるのではなく、いったん低分子化された物質からも生合成的に再合成される可能性のあることを示唆している。

Andrews ら<sup>9)</sup>はメタン生成菌によって最も容易に代謝される揮発性脂肪酸の生成を最大とするような酸発酵プロセスの設計が必要とされることを示している。また Bryant<sup>10)</sup>は、メタン生成菌はメタノール、蟻酸および酢酸を除く有機物は代謝できないことを示すとともに、これら以外の揮発性有機酸はメタン菌以外の細菌の代謝によって酢酸に転換しなければ発酵に供し得ないことを報告している。本実験においては、グルコースから酢酸の最大収率を与えた SRT は 0.43 日であった。

定常状態における平均の pH 値もまた Fig. 7 に示したが、0.43 日以下の SRT においては、TOA 濃度の減少が pH 値の上昇を招いている。このような pH の結果より、5.2 前後のかなり低い pH 域においても酸生成菌は十分な代謝活性を示していることが知られる。

Fig. 8 に各 SRT における定常状態での MLVSS とデオキシリボ核酸 (以下 DNA と略記) の各濃度の平均値を示した。MLVSS の濃度は、SRT 0.09 日においても高く維持され酸生成菌の増殖速度がかなり大きいことを示している。

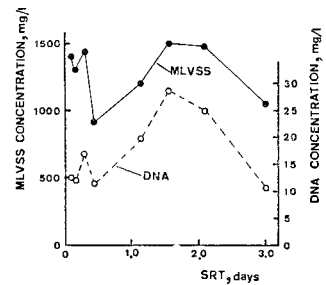


Fig. 8 The steady state data on the concentration of MLVSS and DNA (Experimental phase II).

DNA の濃度は MLVSS のそれと

よく相関した挙動を示しているが、DNA/MLVSS の比は 0.7~1.4% であり Agardy ら<sup>6)</sup>によって報告された消化中の下水汚泥のこの比の値 (約 3.0~4.4%) よりもかなり低いものである。このことは、嫌気性細菌が高い希釈速度の条件下で増殖する場合には、一般の消化槽におけるような低希釈速度 (SRT 約 15~30 日) において増殖する嫌気性細菌よりもより多くの細胞貯蔵物質の

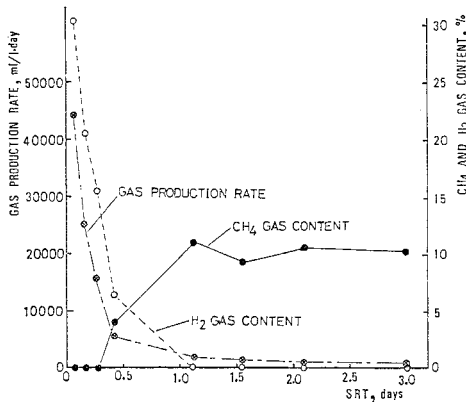


Fig. 9 The steady state data on the gas production rate and the composition of produced gas (Experimental phase II).

ような不活性成分を含有するようになるためと考えられる。

実験した 8 つの SRT におけるガス発生速度と発生ガスの組成を各 SRT での定常状態における平均値として Fig. 9 に示した。ガス発生速度は 0.43 日より短い SRT において急速に増加するが、これは基質の負荷速度と酸生成菌の代謝活性が SRT の減少、したがって希釈速度の増大に伴って大幅に増大した結果と考えられる。

メタンガスの発生によって示されるメタン生成菌の活性は 0.43 日以上 SRT においてみられ、0.43 日より短い SRT においてはメタン生成菌はウォッシュアウトされてしまうことが知られる。したがって、0.43 日付近の SRT がメタン生成菌にとっての限界滞留時間と考えられる。また発生ガス中の水素ガスの含有率は、0.43 日より短い SRT において SRT の減少に伴って増加している。この水素ガスの発生の増加は、炭酸ガスと水素をメタンへと転換する嫌気的呼吸型のメタン生成菌の活性の SRT 減少に伴う低下と関連している。このような短い SRT の条件下での酸生成菌による多量の水素ガスの発生は Cohen ら<sup>7)</sup>によっても報告されており、このような現象は酸生成菌群の一般的な性質と考えられる。

#### 4. 考 察

セルロースの嫌気的分解の特性を知る目的でなされた実験-1 の結果より、次のことが示された。反応槽混合液中に存在する糖類のうち溶解性の糖類の占める割合はきわめて微量であり、ほとんどが不溶性の糖類として残存している。このことは、セロオリゴ糖やグルコースのようなセルロースからの加水分解生成物である溶解性糖類は、酸生成菌によってすみやかに代謝されて液中より消失することを示している。また、セルロースの結晶構

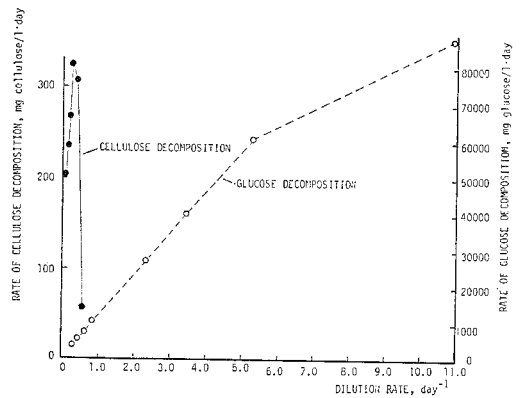


Fig. 10 The rate of substrate decomposition.

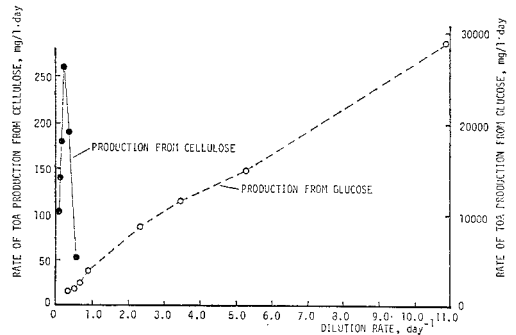


Fig. 11 The rate of TOA production from cellulose and glucose.

造の破壊とさらには長いセルロース分子鎖の加水分解の困難性がこのような不溶性糖類の分解速度を低いものに抑えているといえる。

実験-1 と実験-2 の各希釈速度における定常状態での糖消費速度の平均値を Fig. 10 に示した。実験-2 の結果より算定したグルコースの消費速度は、実験-1 におけるセルロースの消費速度よりもかなり大きいことが知られる。さらに、グルコースの消費速度は希釈速度の増大とともに直線的に増加しているのに対して、セルロースの消費速度は希釈速度が幾分上がったところで飽和状態となり、それ以上の希釈速度においては逆に消費速度は減少している。

Fig. 11 には、セルロースとグルコースからの TOA の発酵生産速度を示したが、この両者にも大きな差異が認められる。セルロースは必ずグルコースを経由して分解されるということ、グルコースからの TOA の発酵生産速度がきわめて大きいということを考慮すれば、セルロースからの TOA の発酵速度もまたセルロリテックな分解速度が小さいことによって制限されていると結論される。

実験-2 においてメタン生成の生じた限界滞留時間より推定されるメタン生成菌の最小世代時間は約 0.3~

0.5 日程度である。この最小世代時間は、Lawrence ら<sup>9)</sup>によって報告されている値(約 3 日)および Massey ら<sup>9)</sup>によって報告されている値(約 0.8~1.6 日)よりも小さいものである。しかし Lawrence らおよび Massey らはいずれも酢酸、酪酸のような揮発性脂肪酸を単一メタン発酵源として用いた実験の結果からこのような値を報告しているものであり、これらの結果は発酵方式によるメタン化反応に基づくメタン生成菌の増殖特性を示すものと考えられる。一方、Shea ら<sup>10)</sup>は炭酸による嫌氣的呼吸方式によって増殖しメタンガスを生成する水素利用メタン生成菌の最小世代時間は 13.2 時間(=0.55 日)であることを報告しており、本研究で得られた結果にほぼ一致するものである。このようなメタン生成菌の増殖の特性と、本研究の結果に示されたように 0.43 日以下の SRT における水素ガス生成の増大がメタン生成の活性低下と関連するものであることから、0.43 日付近におけるメタン生成菌の活性は、脂肪酸発酵性ではなく嫌氣的呼吸性のメタン生成菌の特性によるものであると考えられる。

セルロース分解菌は 1.94 日以下の SRT においては増殖し得ずウォッシュアウトされてしまうことが知られるが、グルコースの方は 0.09 日の SRT においても十分な分解を受けており、揮発性脂肪酸へと転換されている。これらの各細菌群に対する限界滞留時間の違いから、次のことが結論付けられる。もし固形物性のセルロースのような加水分解を受けていない高分子有機物が嫌氣性消化槽への主要な投入基質である場合には、これら有機物の可溶化反応過程が全体の消化速度に対する律速段階であり、一方もし容易に分解可能な溶解性の有機物が主要な基質である場合には、メタン生成過程が嫌氣性消化全体の律速段階であるといえる。

## 5. 結 論

本研究より引き出されたおまな結論は次のとおりである。

(1) 実験-1 の結果によれば、セルロースの中間代謝物である溶解性糖類がすみやかに消費されることから、結晶性セルロースの加水分解速度が小さいことによって分解速度に制限が与えられている。

(2) 酸生成菌の増殖のための限界滞留時間は、グルコースを基質とする場合には 0.09 日より短いセルロースを基質とする場合には 1.94 日付近であり、加水分解細菌の増殖速度がグルコースからの揮発性脂肪酸発

酵を行う酸生成菌のそれよりもかなり小さいことを示している。

(3) セルロース分解細菌の基質に対する分解攻撃の仕方は、SRT が短い場合にはセルロース粒子に対して付着してこれを分解し、比較的長い SRT においては浮遊増殖下でセルロース粒子を分解する。

(4) 加水分解細菌とメタン生成菌の限界滞留時間の比較より、固形物性のセルロースのような高分子有機物を投入基質とする場合には、加水分解過程が消化過程全体の律速段階となり、溶解性の易分解性有機物を投入基質とする場合には、メタン生成過程が嫌氣性消化の律速段階となる。

謝 辞：本研究を行うにあたり、実験研究の面でご尽力下さった東北大学工学部学生(当時)常山 哲氏に心から感謝いたします。

なお、本研究の一部は、文部省特定研究によることを付記いたします。

## 参 考 文 献

- 1) 西澤一俊：セルラーゼ，南江堂，1974。
- 2) Reece, E.T., et al. : The Biological Degradation of Soluble Cellulose Derivation and Its Relationship to the Mechanism of Cellulose Hydrolysis, *J. Bacteriol.*, Vol. 59, pp. 485~497, 1950.
- 3) Speece, R.E. and P.L. McCarty : Nutrient Requirements and Biological Solids Accumulation in Anaerobic Digestion, *Advances in Water Pollution Research*, Vol. 2, pp. 305~322, 1964.
- 4) Andrews, J.F. and E.A. Pearson : Kinetics and Characteristics of Volatile Acid Production in Anaerobic Fermentation Process, *Int. J. Air & Water Poll.*, Vol. 9, pp. 439~461, 1965.
- 5) Bryant, M.P. : The Microbiology of Anaerobic Degradation and Methanogenesis with Special Reference to Sewage, in *Microbial Energy Conversion*, Pergamon Press, pp. 107~117, 1976.
- 6) Agardy, F.J. and W.C. Shepherd : DNA-A Rational Basis for Digester Loadings, *J. WPCF*, Vol. 37, pp. 1236~1242, 1965.
- 7) Cohen, A., et al. : Anaerobic Digestion of Glucose with Separated Acid Production and Methane Formation, *Water Res.*, Vol. 13, pp. 571~580, 1979.
- 8) Lawrence, A.W. and P.L. McCarty : Kinetics of Methane Fermentation in Anaerobic Treatment, *J. WPCF*, Vol. 41, pp. R 1~R 17, 1969.
- 9) Massey, M.L. and F.G. Pohland : Phase Separation of Anaerobic Stabilization by Kinetic Controls, *J. WPCF*, Vol. 50, pp. 2204~2222, 1978.
- 10) Shea, T.G., et al. : Kinetics of Hydrogen Assimilation in the Methane Fermentation, *Water Res.*, Vol. 2, pp. 833~847, 1968.

(1981.6.12・受付)