

嫌気性消化のメタン生成相に及ぼす pH の影響

EFFECT OF pH ON METHANOGENESIS IN ANAEROBIC DIGESTION

張 祖 恩*・野 池 達 也**・松 本 順 一 郎***

By Jui-En CHANG, Tatsuya NOIKE and Junichiro MATSUMOTO

1. はじめに

嫌気性消化法は、酸生成菌とメタン生成菌の 2 種の異なる嫌気性細菌群による生物化学反応より構成されているが、その浄化機構については、まだ未知の点が多い。また本法は、廃棄物の処理によりエネルギーを回収し利用しようとするための唯一の生物学的処理法ともいえ、その効率向上および安定した運転の制御は重要な課題とされている。特に、酸生成菌とメタン生成菌の基質消費のバランスが失われる場合、揮発性脂肪酸の蓄積とそれに伴う pH の低下によって酸敗現象が生じ、プロセスの機能が低下する。この酸敗現象には混合液の pH、アルカリ度および揮発性脂肪酸濃度などの因子が複雑に関連している。

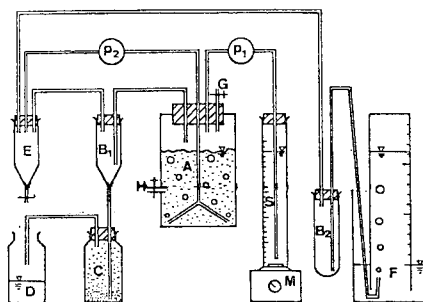
近年、嫌気性消化法の効率向上の試みとして、嫌気性消化過程を構成する酸生成相およびメタン生成相を分離して、それぞれを担う細菌群に対して生理学的特性および増殖特性のうえから最適条件下で操作を行う二相消化法についての検討が行われている^{1)~3)}。二相消化法の酸生成相に関して遠藤ら⁴⁾は、酸生成菌は比較的低 pH に対して耐性を有しており、pH 4.5 以上において十分な増殖および揮発性脂肪酸発酵の能力を発揮し得ると報告している。一方、メタン生成菌は pH の変動に対して鋭敏で、増殖に最適の pH は 6.4~7.2 の中性域と考えられており、6.0 以下または 8.0 以上の pH では急速に活性が低下する^{5)~7)}。しかし、pH の変化によるメタン生成菌の基質消費、メタン生成、増殖および pH 耐性に関する研究はまだほとんど行われていない。嫌気性消化プロセスの機能低下を回避し、メタン発酵の効率向上を目指すためには、槽内の pH が最適値の範囲外に

ある場合のメタン生成菌の挙動、酸敗現象の機構および動力学定数などに関する検討が必要とされる。

本研究は、以下の認識に基づき、平均菌体滞留時間を 4.5 日~13.5 日の範囲で 4 系列を設定し、濃塩酸または 10 N-NaOH 溶液を用いて槽内の pH を数段階に変化させた連続実験により、メタン生成相に及ぼす pH の影響について検討したものである。

2. 実験装置、材料および方法

実験装置は、Fig. 1 に示すように基質投入、混合液の引き抜きおよび発生ガスの循環による搅拌を連続的に行う嫌気的ケモスタット型反応槽である。実験に用いた基質は、酢酸を単一有機炭素源とする合成基質で、酢酸の濃度は 20 000 mg/l である。この合成基質の無機栄養塩の組成を Table 1 に示す。なお、酢酸は好気的な条件下では生物学的に分解されやすいので、シリンダー内で



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 Schematic of experimental apparatus.

* 正会員 工博 国立成功大学副教授 環境工学系
** 正会員 工博 建設省土木研究所 三次処理研究室長
*** 正会員 工博 東北大学教授 工学部土木工学科

Table 1
Composition of inorganic
nutrient in feed solution.

Component	Concentration (mg/l)
(NH ₄) ₂ HPO ₄	700
MgSO ₄ ·7H ₂ O	250
NH ₄ Cl	850
KCl	750
MgCl ₂ ·6H ₂ O	810
FeCl ₃ ·6H ₂ O	420
CoCl ₂ ·6H ₂ O	18
NaHCO ₃	6720

の基質の変化による影響を避けるため、実験に用いた基質は毎日酢酸の原液を用いて作成した。

実験装置は 35±1°C に保たれた恒温器内に設置した。反応槽には、35°C の温度および 20 日の滞留時間の条件下で、前述の合成基質に 6 か月以上馴致させ

た酢酸資化メタン生成菌を嫌氣的条件下で植種した。なお、この種汚泥は当初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ものである。各反応槽の反応容積は 2.0~2.3 l であり、菌体滞留時間 (SRT) は投入流量と反応容積によって、4.5 日、6.5 日、9.5 日、および 13.5 日の 4 系列とし、また目標とする混合液内の pH を 5.5, 6.0, 7.2, 7.9 および 8.4 の 5 段階に設定した。各反応槽が中性 pH 域において定常状態に達した後、設定された pH まで徐々に変化させ、メタン生成菌をそれらの pH に馴化させながら連続実験を行った。各反応槽の pH を設定値に保持するために、濃塩酸または 10 N-NaOH 溶液を投入基質に添加した。濃塩酸または 10 N-NaOH の添加量は、混合液 pH を参考に設定 pH に近づけるように調整した。

定常状態を確立するために、各系において滞留時間の 4 倍以上の期間実験を継続した。なお、定常状態に達したかどうかを判断する指標として、系内の揮発性浮遊固形物 (MLVSS) 濃度、揮発性脂肪酸 (VFA, 以下揮発酸として表示する) およびガス生成速度を用いた。分析方法としては、ガス組成 (N₂, CH₄, CO₂) はガスクロマトグラフ法により分析し、混合液内に含まれる全無機性炭素 (TIC) は TOC 分析器 (OIC Model 0524B-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。揮発性脂肪酸濃度は "Standard Methods"⁹⁾ のカラムクロマトグラフ法により測定し、その他の分析は下水試験方法によった。また、混合液内の優占メタン生成菌種の観察は位相差顕微鏡 (600 倍) を用いて行った。

3. 実験結果および考察

定常状態における各反応槽の pH 値および MLVSS/MLSS 比を Table 2 に示す。なお、pH 6.0 以下の系では実験期間の中途において酸敗現象が生じたため、定常値を得ることができなかった。以下にメタン生成相に及ぼす pH の影響、酸敗現象の機構および動力学定数について検討する。

Table 2 Steady-state pH and MLVSS/MLSS ratio.

SRT day	D day ⁻¹	pH				pH			
		6.0	7.2	7.9	8.4	6.0	7.2	7.9	8.4
13.70	0.073	6.07	7.26	7.87	8.41	0.78	0.71	0.44	0.45
9.35	0.107	6.01	7.21	7.93	8.41	0.68	0.64	0.62	0.46
6.49	0.154	5.99	7.16	7.94	8.42	0.87	0.70	0.60	0.37
4.55	0.220	5.93	7.12	7.83	8.36	0.88	0.69	0.52	0.51
Average		6.00	7.19	7.89	8.40	0.80	0.69	0.55	0.45

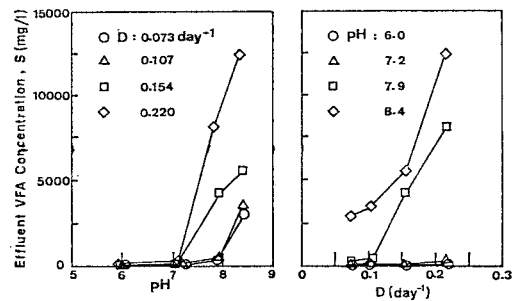


Fig. 2 Effect of pH and dilution rate on effluent VFA concentration.

(1) メタン生成相に及ぼす pH の影響

Fig. 2 に、各設定 pH および希釈率 ($D=1/\text{SRT}$) における残存揮発酸濃度の変化を示した。pH 6.0 と 7.2 の系では、実験した希釈率の範囲において、投入揮発酸濃度に対し残存揮発酸濃度 (S , 槽内基質濃度) が低く、除去率はほぼ 100% となり、良好かつ安定な基質除去機能を示している。一方、pH 7.9 と 8.4 の系では、残存揮発酸濃度が希釈率の増大に伴って急激に増加する。特に pH 8.4, 希釈率 0.220 day⁻¹ の系においては、残存揮発酸濃度が 12480 mg/l as acetic acid となり、除去率は約 40% にしか達しなかった。従来の研究^{9), 10)}によれば、メタン生成菌の代謝機能は、pH 6.5 以下では著しく低下することが報告されているが、本研究では pH 6.0 に制御した系において、pH 7.2 の系よりもむしろ低い残存揮発酸濃度を示し、安定した基質除去機能を示した。

Fig. 3 に、各設定 pH および希釈率における MLVSS 濃度の変化を示した。MLVSS 濃度は各設定希釈率に

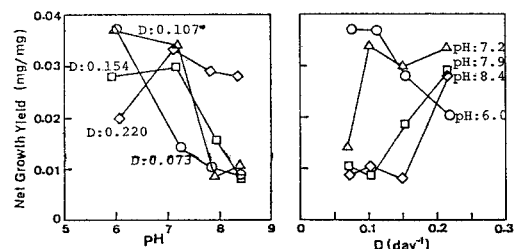


Fig. 3 Effect of pH and dilution rate on MLVSS concentration.

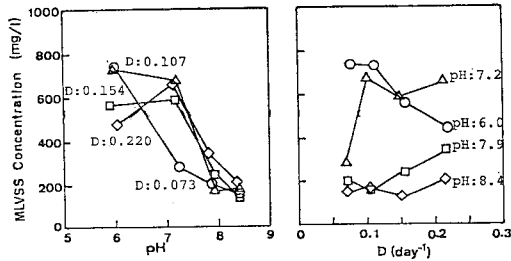


Fig. 4 Effect of pH and dilution rate on net growth yield.

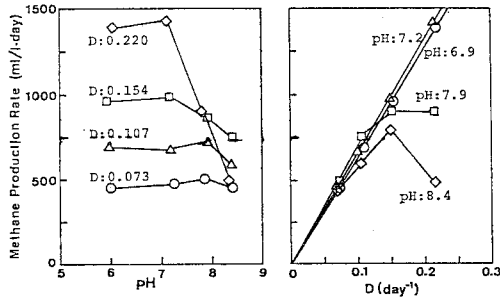


Fig. 5 Effect of pH and dilution rate on methane production rate.

において pH の上昇に伴って減少する傾向を示し、また各設定 pH において希釈率の増大に伴って増大する傾向を示している。しかし、pH 6.0 の系では、希釈率が 0.107 day⁻¹ の場合に MLVSS は最大値となり、希釈率の増大に伴って減少する。なお、MLVSS/MLSS の比については、Table 2 に示したように、各希釈率においてその値は pH の増大に伴い減少することが知られる。また、Fig. 4 に、各設定 pH および希釈率における見掛けの増殖率の変化を示した。見掛けの増殖率は生成した MLVSS の量を消費された酢酸の量で除して得たものである。希釈率が 0.220 day⁻¹ の場合は、pH 6.0~7.2 の間では pH の増大に対して見掛けの増殖率は増大の傾向を示すが、希釈率が 0.154 day⁻¹ 以下の場合には、pH 6.0~8.4 の間では pH の増大に対して見掛けの増殖率は減少することが知られる。

Fig. 5 に、各設定 pH および希釈率におけるメタン生成相の機能の指標であるメタン生成速度（単位反応容積当たりのメタン生成速度）の変化を示した。ここにメタン生成量は標準状態（0°C, latm）に換算し水蒸気含有量を修正したものである。pH 6.0 と 7.2 の系では、メタン生成速度は希釈率の増大に伴って増大するが、pH 7.9 と 8.4 の系では、希釈率の増大に対してメタン生成速度が急激に減少した。前述のように、pH 6.5 以下の場合メタン生成が阻害されると報告されているが、本実験では pH 6.0 の系においても pH 7.2 の系とほとんど変わらないメタン生成速度を示し、阻害現象はみら

Table 3 Steady-state concentration of sodium ion in each reactor

SRT day	D day ⁻¹	pH			
		6.0	7.2	7.9	8.4
13.70	0.073	1840	1840	5126	7429
9.35	0.107	1840	1840	5437	7455
6.49	0.154	1840	1840	6291	7584
4.55	0.220	1840	1840	7584	7895

れなかった。これは後述するように、メタン生成菌種の遷移に関係があると思われる。

pH 7.9 と 8.4 の系では、メタン生成相における基質除去、菌体増殖およびメタン生成の機能の低下が示されている。これらの pH の系では、pH 調整のために NaOH を添加している。定常状態における各系の槽内 Na⁺ 濃度を Table 3 に示す。McCarty¹¹⁾ は 3500~5500 mg/l の Na⁺ は、メタン生成をさほどに阻害しないが、8000 mg/l 以上ではメタン生成を明らかに阻害すると述べている。また、McCarty ら¹²⁾ は Na⁺ 濃度が 6500 mg/l となっても、pH を中性域に維持すればメタン生成はさほどの影響を受けないが、pH が 8.0 に近づくとメタン生成速度は低下すると報告している。したがっ

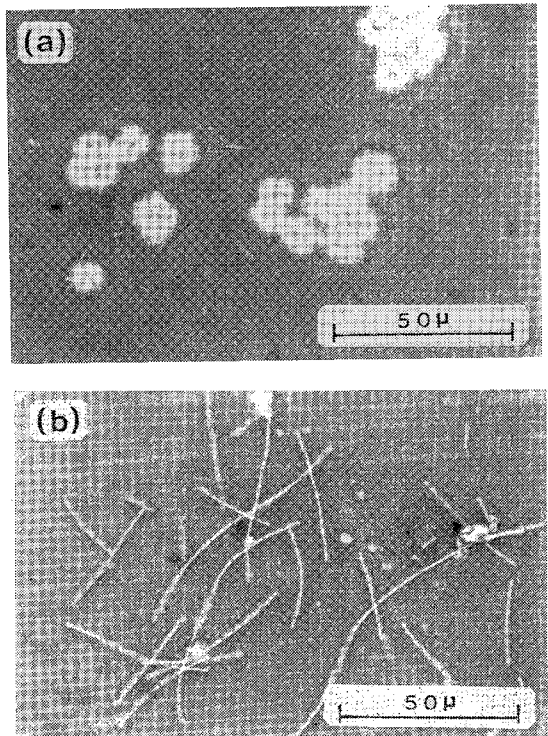


Fig. 6 Phase contrast photomicrographs of predominant methanogenic bacteria (×600) at different pH and dilution rates. (a) Methanosarcina (b) Methanobacterium.

Table 4 Predominant methanogenic bacteria in reactors at different pH and dilution rates.

SRT day	D day ⁻¹	pH			
		6.0	7.2	7.9	8.4
≥9.35	≤0.107	Methano- sarcina	Methano- bacterium	Methano- bacterium	Methano- bacterium
≤6.49	≥0.154	Methano- sarcina	Methano- sarcina	Methano- bacterium	Methano- bacterium

て、本実験において、pH 7.9 と 8.4 の系における基質除去率、MLVSS 濃度およびメタン生成速度の低下は、高濃度の Na⁺ の影響よりも主として高 pH による阻害に起因するものと考えられる。

Table 4 および **Fig. 6** に、各設定 pH および希釈率における優占メタン生成菌の位相差顕微鏡 (600 倍) による形態学的観察結果を示した。メタン生成菌は形態学上、桿菌、球菌および連鎖菌に¹³⁾、また、分類学上では、Methanobacterium, Methanosarcina, Methanococcus に分けられる。以下においては、連鎖菌は Methanosarcina, 桿菌は Methanobacterium とよぶことにする。本実験においては、pH および希釈率の異なった反応槽では **Table 4** に示したように、Methanosarcina および Methanobacterium の 2 種の菌種によって優占菌種の遷移が示された。すなわち、**Fig. 6** に示したように Methanosarcina (写真 (a)) と Methanobacterium (写真 (b)) がそれぞれ低 pH 域と高 pH 域において優占メタン生成菌種となった。また pH 7.2 の系では高希釈率域で Methanosarcina が、低希釈率域では Methanobacterium が優占菌種となった。原因として、Methanobacterium が高 pH に対し、また、Methanosarcina が低 pH に対し、それぞれ耐性を有し一定の連続培養条件下において選択的に生き残るためと考えられる。

Fig. 7 に、各設定 pH および希釈率における比基質消費速度 (ν , 単位菌体当たりの基質消費速度) の変化を示した。pH 6.0 と 7.2 の系では、比基質消費速度が希釈率の増大に伴って増大し、0.220 day⁻¹ の希釈率

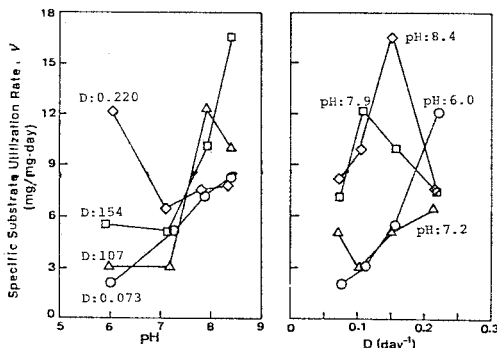


Fig. 7 Effect of pH and dilution rate on specific substrate utilization rate.

で最大となった。一方、pH 7.9 と 8.4 の系では、それぞれ 0.107 と 0.154 day⁻¹ の希釈率で最大となった。また、0.073~0.154 day⁻¹ の低希釈率の系では、比基質消費速度は pH の上昇に伴って増大するが、希釈率 0.220 day⁻¹ の系では低 pH 域に比較すると、高 pH 域では比基質消費速度の低下が認められた。

各 pH において、比基質消費速度 ν と希釈率 D が式 (1) に従って線形性を満足するならば、その回帰直線の傾きと切片から、メタン生成菌の真の増殖収率 (Y_G) と自己分解係数 (K_d) が決定できる¹⁴⁾。

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

しかし、**Fig. 7** に示されるように、各 pH での $\nu \sim D$ の関係は線形性を満足しない。これは、培養系の pH および希釈率の違いによって優占菌種が遷移し、各菌種の基質消費および増殖特性、pH 耐性が異なっていることに起因すると考えられる。

Fig. 8 に、比メタン生成速度 (単位菌体当たりのメタン生成速度) と比基質消費速度の関係を示した。これによれば、消費された酢酸からメタンへの転換割合は、pH と希釈率に依存せず一定である。すなわち、消費された酢酸 1 モル当たり 0.93 モルのメタンガスが生成される。したがって、各設定 pH および希釈率における比メタン生成速度の変化は、比基質消費速度の変化と同じ傾向をもつことが知られる。

Fig. 7 および **Fig. 8** に示された結果より、メタン生成菌は希釈率 0.220 day⁻¹ の場合の pH 6.0 と希釈率 0.154 day⁻¹ の場合の pH 8.4 の 2 系列において、高い比メタン生成および比基質消費速度を示すことが知られる。また低 pH および高 pH の系において、メタン生成菌の増殖が最適に行われるためには適正な希釈率に設定されることが必要であり、その場合において、酸性およびアルカリ性の良好といえない環境条件下にも十分な活性が維持されることが図より理解される。したがって、

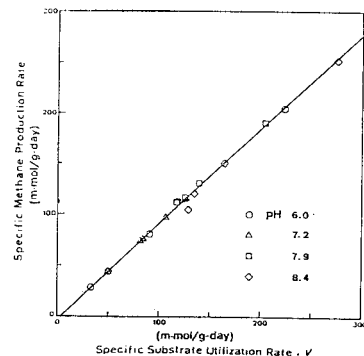


Fig. 8 Relationship between specific substrate utilization rate and specific methane production rate.

メタン生成相においては工学的にメタン生成菌の濃度を増大させることによって、低 pH 域 (Methanosarcina 優占相) および高 pH 域 (Methanobacterium 優占相) においても、基質消費速度またはメタン生成速度を高めることは可能であると考えられる。

(2) 酸敗現象の機構

嫌気性消化において、急激な温度変化、嫌気的環境条件の破壊、毒性物質の流入、pH の変動、有機物の過負荷などの要因によってメタン生成菌の活性が阻害された場合に、酸生成段階とメタン生成段階の均衡が失われ、揮発性脂肪酸濃度が増大し pH が低下し、いわゆる酸敗現象が起こることが知られている。本実験の場合、槽内 pH を 6.0 から 5.8 以下に低下させると、この現象が生じ、揮発酸濃度が急激に増大し定常状態が得られなかった。またこれに伴いメタン生成もほとんど停止した。一方、pH 8.4 の系における阻害の場合には、メタン生成が行われ定常状態も得られている。これらのことから、低 pH 域における阻害は高 pH 域におけるそれと機構が異なっていることが知られる。

揮発性脂肪酸によるメタン発酵の阻害機構に関しては、次のような3通りの見解が報告されている。

- ① メタン生成菌は、高濃度 (2000 mg/l as acetic acid 以上) の残存揮発酸によって阻害される^{15),16)}。
- ② メタン生成菌は、系内の H⁺ イオン ([H⁺] > 10^{-6.5} mol/l, pH < 6.5) によって阻害される^{9),10)}。
- ③ メタン生成菌は、系内の遊離揮発酸 (10 mg/l as acetic acid 以上) によって阻害される¹⁷⁾。なお、遊離揮発酸濃度は次式のように、揮発酸濃度と pH の関数である¹⁸⁾。

$$pH = pK_a - \log \frac{[S^-]}{[HS]} \dots\dots\dots(2)$$

ここで、 $pK_a = -\log K_a$
 $[S^-]$ = 電離している揮発酸濃度 (mg/l)
 $[HS]$ = 遊離揮発酸濃度 (mg/l)
 K_a = 揮発酸の解離定数、酢酸の場合
 $K_a = 1.81 \times 10^{-5}$ (35°C)

本実験では、高 pH 域において系の基質分解機能が低下したが、残存揮発酸濃度が 12000 mg/l を越えても定常運転することができ、また pH 6.0 に制御した系でも良好かつ安定な基質分解機能を示し pH 7.2 の系よりもむしろ高い基質除去率を示した。これらのことから、揮発酸の蓄積あるいは低 pH のいずれか一方のみが酸敗現象の原因と考えられる。

Fig. 9 は、著者らが従来行ってきた連続実験結果に基づき、メタン生成相の残存揮発酸濃度、遊離揮発酸濃度および pH の関係を示したものである。図中で、●印

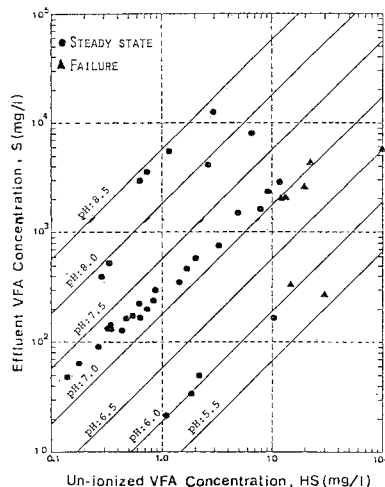


Fig. 9 Relationship among effluent VFA, un-ionized VFA and pH in the steady state and failure of methanogenic process.

は定常運転に達することのできた系における実験値であり、▲印は酸敗現象が生じる際の実験値を示している。実験された範囲において、槽内の残存揮発酸濃度および pH にかかわらず、遊離揮発酸濃度が 12 mg/l as acetic acid 以下に維持されれば、定常運転することができることを示している。また、系内の残存揮発酸濃度が低くても、遊離揮発酸濃度が 12 mg/l 以上に蓄積すれば、プロセスが明らかに機能障害に向かうことが知られる。

嫌気性消化を順調に行うためには全アルカリ度として少なくとも 2500 mg/l as CaCO₃ の値が必要とされ¹⁹⁾、また、揮発酸濃度と全アルカリ度との均衡が重要であるといわれている²⁰⁾。Bargman ら²¹⁾によれば、残存揮発酸濃度/アルカリ度の比が 0.8 以上になると、消化槽は重大な機能障害を引き起こす状態になり、いかなる場合でもこの比は 0.3~0.4 以下に制御する必要があると報告されている。本実験の場合、pH 7.2 以上の系においては、中性緩衝能である重炭酸塩アルカリ度 (全アルカリ度から揮発酸塩によるアルカリ度を差し引いた値) は 2500 mg/l as CaCO₃ 以上十分に高く維持されていた。また、pH 6.0 の系においては、重炭酸塩アルカリ度は 250~350 mg/l にしか保たれなかったが、残存揮発酸濃度/アルカリ度の比は 0.08~0.58 の範囲に抑えられ、良好な定常状態が得られた。一方、槽内 pH が 6.0 より低下して酸敗現象が起きた場合、重炭酸塩緩衝能がほとんど失われるため、残存揮発酸濃度/アルカリ度の比はきわめて大きくなった。この場合には、pH の低下に伴い残存揮発酸のうち遊離型の比率が高まることによって阻害が起きたものと考えられる。

以上の結果に基づき、嫌気性消化槽における残存揮発

酸によるメタン発酵の阻害では、槽内の pH と残存揮発酸濃度によって決まる遊離揮発酸濃度が決定的な要因になっていると考えられる。また、残存揮発酸濃度/アルカリ度の比は嫌気性消化の管理指標として有効であるといえよう。したがって、嫌気性消化を順調に行わせるためには、従来測定されてきた pH, アルカリ度および残存揮発酸濃度をそれぞれ別個に評価するのではなく、それらの相互の関係を考慮したプロセスの制御が肝要となる。

(3) Electron 数の物質収支

培養系の定常状態における electron 数の物質収支を考えると、その関係式は次のようである。

$$[\text{投入基質の electron 数}] = [\text{残存基質の electron 数}] + [\text{メタンに転換された electron 数}] + [\text{菌体に転換された electron 数}]$$

すなわち、

$$AS_0Q = ASQ + BQ_{CH_4}V + CXQ \dots\dots\dots (3)$$

ここで、A: 1.067 mg O₂/mg 酢酸

S₀: 投入基質の酢酸濃度 (mg/l)

Q: 基質投入速度 (l/day)

S: 残存酢酸濃度 (mg/l)

B: 64 mg O₂/m·mole CH₄

Q_{CH₄}: メタン生成速度 (m·mole CH₄/l-day)

V: 反応容積 (l)

C: 菌体組成式を C₅H₈O₃N²² とすれば、C = 1.22 mg O₂/mg VSS

X: 菌体濃度 (mg/l)

式 (3) を変形すると、式 (4) になる。

$$AS_0 = AS + BQ_{CH_4}/D + CX \dots\dots\dots (4)$$

ここで、D: 希釈率 (day⁻¹), D = Q/V

したがって、投入された electron 数の回収率 (O/I) は、式 (5) から算出される。

$$O/I = (AS + BQ_{CH_4}/D + CX)/AS_0 \dots\dots\dots (5)$$

Table 5 に、本実験において、各系の定常状態における O/I 値を示した。Table 5 によれば、O/I の値は平均 0.92(0.86~0.98) mg O₂/mg O₂ であった。これは、本実験がケモスタット反応槽により定常的に行われたことを示している。

(4) 動力学定数の決定

完全混合連続培養系において、菌体の比基質消費速度 (ν) と制限基質濃度 (S) との関係は次の Monod 型の式によって表わされる²³⁾。

$$\nu = \frac{\nu_{\max}S}{K_s + S} \dots\dots\dots (6)$$

ここで、ν_{max} = 最大比基質消費速度 (mg/mg-day)

K_s = 基質飽和定数 (mg/l)

Table 5 Input-output balance of number of electron.

pH	Effluent VFA(S) mgHAc/l	MLVSS (X) mg/l	Q-CH ₄ (0°C, latm) m.mol/l-day	O/I mg O ₂ /mg O ₂
Dilution rate 0.073 day ⁻¹				
6.0	50	739	20.08	0.871
7.2	91	280	21.25	0.895
7.9	396	203	22.63	0.955
8.4	2999	152	19.87	0.976
Dilution rate 0.107 day ⁻¹				
6.0	22	730	31.03	0.913
7.2	129	675	30.04	0.887
7.9	533	168	32.10	0.937
8.4	3559	175	26.16	0.921
Dilution rate 0.154 day ⁻¹				
6.0	35	562	42.59	0.863
7.2	169	588	43.71	0.893
7.9	4217	246	38.26	0.970
8.4	5537	132	33.35	0.934
Dilution rate 0.220 day ⁻¹				
6.0	199	440	61.65	0.876
7.2	351	658	63.71	0.924
7.9	8109	345	40.22	0.974
8.4	12480	210	21.88	0.934

Monod 型の速度式は ν と S の関係を表現するためによく用いられている。嫌気性消化において、メタン生成が停止した場合、通常槽内に高濃度の揮発酸が蓄積し pH が低下する現象が生じる。また、揮発酸のような基質は低濃度では菌体の基質分解およびメタン生成の機能を制限し、高濃度では阻害すると指摘されている¹⁴⁾。メタン生成菌の基質代謝活性に対する pH の影響は遊離揮発酸濃度と重大な関係があるため、式 (6) の制限基質濃度は pH の影響を組み入れて、次式のように修正される。

$$\nu = \frac{\nu_{\max}[\text{HS}]}{[\text{HS}] + K_s} \dots\dots\dots (7)$$

ここで、[HS] = 遊離揮発酸濃度 (mg/l)

また、K_s は遊離揮発酸濃度として表わされている。なお、各 pH での遊離揮発酸濃度は式 (2) から算出される。メタン生成菌の代謝特性が Monod 型の速度式に従うと仮定すると、式 (7) を次のように変形して、

$$\frac{[\text{HS}]}{\nu} = \frac{K_s}{\nu_{\max}} + \frac{1}{\nu_{\max}}[\text{HS}] \dots\dots\dots (8)$$

メタン生成菌の最大比基質消費速度 ν_{max} および基質飽和定数 K_s を、[HS]/ν 対 [HS] プロットの回帰直線によって求めることができる。

著者ら²⁴⁾は、完全混合連続培養系としての嫌気性消化のメタン生成相では希釈率の変化に対して、メタン生成菌相が遷移し 動力学的パラメーター ν_{max}, K_s が変化することを報告している。Table 4 に示したように、本実験でも培養系の pH の変化によって桿菌と球菌がそれぞれ高 pH 域と低 pH 域において優占メタン生成菌種となったことが観察された。したがって、桿菌およ

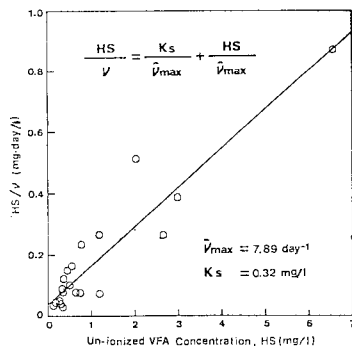


Fig. 10 Determination of v_{max} and K_s from HS/v vs HS plot according to equation (8) for Methanobacterium predominated.

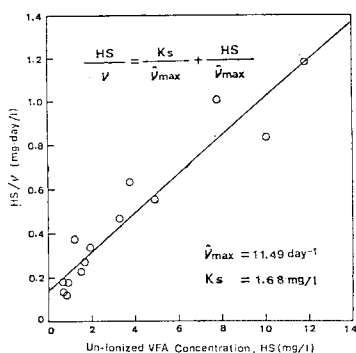


Fig. 11 Determination of v_{max} and K_s from HS/v vs HS plot according to equation (8) for Methanosarcina predominated.

び連鎖菌のそれぞれに対して、 v_{max} および K_s を個別に評価することが適切であると思われる。Table 4 に示した優占メタン生成菌の観察結果に従い、Fig. 10 と Fig. 11 の回帰直線の傾きと切片から決定された Methanobacterium 優占種および Methanosarcina 優占種の v_{max} と K_s をそれぞれ図中に示した。これにより、低 pH 域で優占菌種となった Methanosarcina は高 pH 域で優占となった Methanobacterium より大きな v_{max} をもつことが示されている。Methanosarcina の基質分解機能は Methanobacterium よりすぐれていることが知られる。なお、得られた K_s の値は、遊離揮発酸濃度として表わされているため、各 pH 値における全揮発酸濃度としての基質飽和定数 K_s' は、次式によって算出される¹⁸⁾。

$$K_s' = \frac{K_a}{[H^+]} K_s \dots\dots\dots(9)$$

Fig. 12 と Fig. 13 は、それぞれ Methanobacterium 優占種と Methanosarcina 優占種の系での実験データと式 (8) に従って求めた理論値との比較を示したものであ

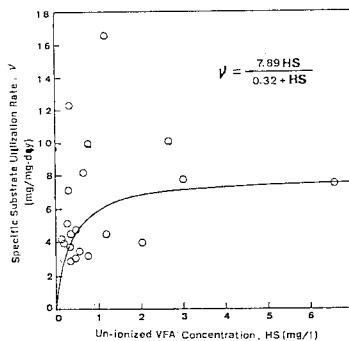


Fig. 12 Comparison of observed and calculated results for Methanobacterium which predominated according to equation (6).

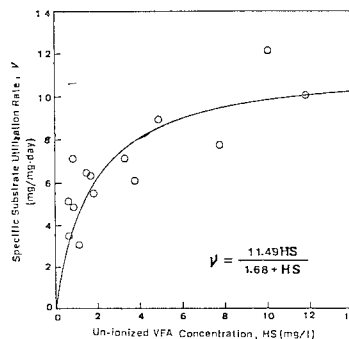


Fig. 13 Comparison of observed and calculated results for Methanosarcina which predominated according to equation (6).

る。Methanobacterium が優占となった高 pH 域の系では、実験データは理論曲線からかなりのばらつきがみられる。これは高 pH 域においてメタン生成菌の維持エネルギー要求の度合いが高まり、増殖率が低く MLVSS 濃度が低下し、代謝活性を示す比基質消費速度を正確に把握することが難しい。一方、Methanosarcina が優占となった低 pH 域の系では理論曲線にほぼ一致していることが知られる。

4. 総括および結論

嫌気性消化のメタン生成相に及ぼす pH の影響、酸敗現象の機構および動力学定数について、嫌気的ケモスタット反応槽を用い、酢酸を基質として 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) メタン生成相の基質除去、菌体増殖およびメタン生成の機能は pH 7.9 と 8.4 の系では阻害されたが、pH 6.0 の系では pH 7.2 の系とほとんど変わらない機能を示し、阻害現象はみられなかった。
- (2) 完全混合連続培養系のメタン生成相においては、希釈率および pH の制御により、優占メタン生成

菌種の遷移が観察された。Methanobacterium が高 pH に対し、Methanosarcina が低 pH に対し、それぞれ耐性が強いことを示した。

(3) 嫌気性消化槽における揮発性脂肪酸によるメタン発酵の阻害では、遊離揮発性脂肪酸濃度が決定的な要因になっており、メタン発酵を順調に行うためには、槽内の pH, アルカリ度および全揮発性脂肪酸濃度の均衡を考慮して、遊離揮発性脂肪酸濃度を 12 mg/l as acetic acid 以下に制御することが肝要である。

(4) Methanosarcina の基質分解機能は Methanobacterium よりすぐれていることを示した。したがって、高希釈率、低 pH 域に強い耐性をもつ Methanosarcina を用いたメタン発酵プロセスの開発の可能性が示された。

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)阿部吉郎君に心から感謝致します。

なお、本研究の一部は昭和 55 年度文部省科学研究費総合研究(A)によることを付記致します。

参 考 文 献

- 1) Massey, M.L. and F.G. Pohland: Phase Separation of Anaerobic Stabilization by Kinetic Controls, Jour. WPCF, Vol. 50, pp. 2204~2222, 1978.
- 2) Cohen, A., R.J. Zoetmeyer, A. Van Deursen and J.G. Van Andel: Anaerobic Digestion of Glucose with Separated Acid Production and Methane Formation, Water Research, Vol. 13, pp. 571~580, 1979.
- 3) 昆 正浩: 下水汚泥の 2 相式嫌気性消化法の検討(第 2 報), 日本下水道協会, 第 18 回下水道研究発表会講演集, pp. 625~627, 1981.
- 4) 遠藤銀朗: 嫌気性消化の酸生成相に関する研究, 東北大学学位論文, 1980.
- 5) Heukelekian, H.: Basic Principles of Sludge Digestion, In "Biological Treatment of Sewage and Industrial Wastes", B.J. McCabe and W.W. Eckenfelder, jr. (Eds), pp. 25~43, Reinhold, New York, 1957.
- 6) Clark, R.H. and R.E. Speece: The pH Tolerance of Anaerobic Digestion, 5th Intl. Conf. Water Pollu. Res., San Francisco, II 27/1-14, 1970.
- 7) Zehnder, A.J.B.: Ecology of Methane Formation, In "Water Pollution Microbiology" Vol. 2, ed. by R. Mitchel. John Wiley and Sons, pp. 349~376, 1978.
- 8) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 14 th ed. pp. 527~529, Amer. Pub. Health Assn., New York, 1975.
- 9) Radhakrishnan, I.S.B. De and B. Nath: Evaluation of the Loading Parameters for Anaerobic Digestion of Cane Molasses Distillery Wastes, Jour. WPCF, Vol. 41, pp. R 431~R 440, 1969.
- 10) Dague, R.R., R.L. Hopkins and R.W. Tonn: Digestion Fundamentals Applied to Digester Recovery-Two Case Studies, Jour. WPCF, Vol. 42, pp. 1666~1675, 1970.
- 11) McCarty, P.L.: Anaerobic Waste Treatment Fundamentals, Part Three, Toxic Materials and Their Control, Public Works, pp. 91~94, Nov. 1964.
- 12) McCarty, P.L. and R.E. McKinney: Salt Toxicity in Anaerobic Digestion, Jour. WPCF, Vol. 33, No. 4, pp. 399~415, 1961.
- 13) Barker, H.A.: Bacterial Fermentation, pp. 1~27, John Wiley and Sons, Inc., New York, N.Y., 1956.
- 14) Metcalf & Eddy, Inc.: Wastewater Engineering, pp. 373~421, McGraw Hill, New York, 1972.
- 15) Buswell, A.M.: Important Considerations in Sludge Digestion, Part II-Microbiology and Theory of Anaerobic Digestion, Sew. Works Jour., Vol. 19, p. 28, 1947.
- 16) Schlenz, H.E.: Important Considerations in Sludge Digestion, Part I-Practical Aspects, Sew. Works Jour. Vol. 19, p. 19, 1947.
- 17) Andrews, J.F.: Dynamic Model of the Anaerobic Digestion Process, Jour. San. Eng. Div. Proc. ASCE, 95 (SA 1), pp. 95~116, 1969.
- 18) Barrow, G.M. 著, 野田春彦訳: 生命科学のための物理化学, 東京化学同人, pp. 109~149, 1975.
- 19) Kotzé, J.P., P.G. Thiel and W.H.J. Hattingh: Anaerobic Digestion II, The Characterization and Control of Anaerobic Digestion, Water Research, Vol. 3, pp. 385~416, 1969.
- 20) Mueller, L.E., E. Hindin, J.W. Lunsford and G.H. Dunstan: Some Characteristics of Anaerobic Sludge Digestion, Sew. and Ind. Wastes, Vol. 31, pp. 669~677, 1959.
- 21) Bargman, R.D., et al.: Anaerobic Sludge Digestion-MOP 16, Jour. WPCF, Vol. 38, pp. 1683~1702, 1966.
- 22) 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.
- 23) Lawrence, A.W. and P.L. McCarty: Kinetics of Methane Fermentation in Anaerobic Treatment, Jour. WPCF, Vol. 41, pp. R 1~R 17, 1969.
- 24) 張 祖恩・野池達也・松本順一郎: 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, 土木学会論文報告集, 第 320 号, 1982 年 4 月.

(1981.7.28・受付)