

嫌気性消化のメタン生成相における混合基質の利用特性

CHARACTERISTICS OF MIXED SUBSTRATE UTILIZATION IN
METHANOGENIC PHASE OF ANAEROBIC DIGESTION

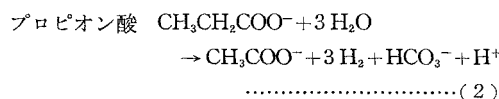
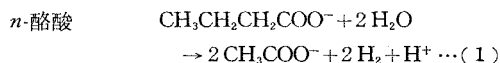
張 祖 恩*・野 池 達 也**・松 本 順 一 郎***

By Jun-En CHANG, Tatsuya NOIKE and Junichiro MATSUMOTO

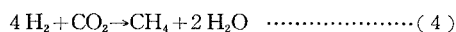
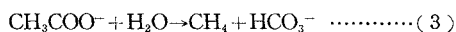
1. はじめに

嫌気性消化法は①高分子有機物の加水分解, ②揮発性脂肪酸, H_2 などの中間体の生成および③メタン生成の3段階の反応過程により構成されている。一般に①, ②を合わせて酸生成相, ③をメタン生成相と称しており, 有機物の安定化はメタン生成相において完成される。メタン生成相に関与する細菌群は酸生成相の細菌群に比較して, 増殖速度が小さく環境条件への適応性が低い。メタン生成相は嫌気性消化の律速段階とされている。

メタン生成相においては酸生成相での中間生成物のうち, 酢酸, ギ酸および H_2 は直接メタン生成菌によって利用される。これに対し, それ以外の脂肪酸などは acetogenic 菌 (H_2 を生成しながら酢酸を生成する細菌群) とよばれる細菌群の働きによって酢酸と H_2 に分解される^{1), 2)}。acetogenic 菌による酪酸とプロピオン酸の分解反応は次のように示される。



また, 式(1), (2)の反応で生成した酢酸と H_2 がメタン生成菌により次のようにメタンに転換される。



なお, H_2 の生成を伴う(1)と(2)の反応は系内の H_2 が蓄積すると停止するので, acetogenic 菌による分解反応が進行するためには, H_2 を利用するメタン生成菌が

共存しなければならない。すなわち, メタン生成菌は acetogenic 菌にとって必要な低 H_2 分圧 (10^{-3} atm 以下³⁾) を保持し, 一方, acetogenic 菌はメタン生成菌の基質を供給する役割を担っている。したがって, これらの細菌群間の相互作用は嫌気性消化プロセスの機能および安定性を保持するために重要である。嫌気性消化プロセスを効率的に進行させるためには, 特に律速段階であるメタン生成段階の反応特性を詳細に把握し, 最適に制御できる条件を知ることが必要である。

しかし, 従来嫌気性消化のメタン生成相に関する研究は, 基質としておもに酢酸を用いて行われてきており, acetogenic 菌およびメタン生成菌の基質代謝における相互作用に関する研究はほとんどなされていない。本研究は揮発性脂肪酸からメタンを生成する反応の特性を究明するために, 酢酸, プロピオン酸および n -酪酸をそれぞれ単一基質として用いた場合, およびこれら3種類の揮発性脂肪酸を混合して用いた場合のメタン生成相における基質代謝特性について回分実験および連続実験を行い, 混合基質の利用特性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

(1) 基 質

合成基質の主成分として, 嫌気性消化の酸生成段階での主要な発酵生成物である酢酸, プロピオン酸および n -酪酸をそれぞれ単独に用い, またはこれら3種類の揮発性脂肪酸を混合して用いた。合成基質の無機栄養塩組成は Table 1 に示すとおりである。

(2) 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, プロピオン酸および n -酪酸それぞれを主成分とする合成基質を1日1回の fill and draw

* 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 nutrients 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

方式により半連続的に投入し、滞留時間 20 日、温度 35 ± 1°C、投入揮発性脂肪酸濃度を酢酸として 20 000 mg/l の条件のもとで 6 か月以上馴致した。これらを以下に示す回分および連続実験に用いる種汚泥とした。

(3) 実験装置および方法

a) 回分実験: Fig. 1 に示すように、容積 1.05 l の塩化ビニル製円筒型容器を用い、マグネチックスターラーによる連続撹拌の条件下で回分実験を行った。実験装置は 35 ± 1°C に保持した恒温器内に設置した。

種汚泥の導入に先立ち、反応槽内の空気を混合ガス (N₂65%, CO₂35%) によって置換した後、種汚泥を嫌気的条件下で回分反応槽に充填し、スターラーで撹拌しながら設定量の基質を投入し全反応容積を 500~600 ml にした。基質の投入を行ってから 5 分後に混合液を引き抜き、このときの混合液の性状を初期条件とした。その後槽内の残存基質濃度を適当な間隔で測定し、残存基質がなくなった時点で回分実験を終了した。初期条件は

Table 2 Experimental conditions in the batch experiments.

Run No.	Seed sludge	Substrate composition (% in COD basis)	Initial condition		
			S ₀ (mg COD/l)	MLVSS (mg/l)	pH
1	Acetate acclimated	HAc+HPr (71%, 29%)	2400	440	6.70
2	Acetate acclimated	HAc+n.HBu (67%, 33%)	2300	440	6.73
3	Acetate acclimated	HAc	2400	530	6.62
4	Propionate acclimated	HPr	2900	960	6.83
5	n. Butyrate acclimated	n. HBu	3500	1040	6.85
6	Acetate acclimated	HAc+HPr+n.HBu (25%, 34%, 41%)	2800	530	6.73
7	Propionate acclimated	HAc+HPr+n.HBu (25%, 34%, 41%)	2700	960	6.74
8	n. Butyrate acclimated	HAc+HPr+n.HBu (25%, 34%, 41%)	2700	1040	6.77

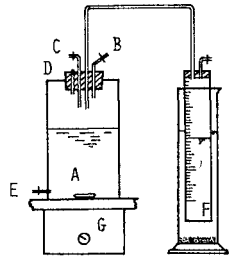


Fig. 1
Experimental apparatus for the batch experiment.

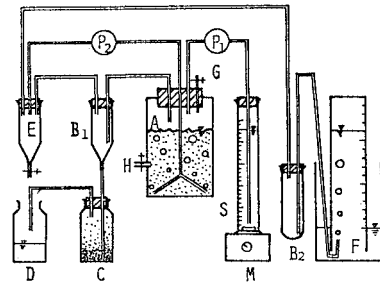


Fig. 2
Experimental apparatus for the continuous experiment.

Table 2 に示すとおりである。

b) 連続実験: 連続実験装置は Fig. 2 に示すように、基質投入、混合液の引抜きおよび発生したガスの循環による撹拌を連続的に行うケモスタット型嫌気的反応槽である。反応槽本体は全容積 3.5 l の塩化ビニル製円筒型容器を用い、基質の連続的投入およびガスの循環による撹拌はそれぞれマイクロチューブポンプおよびエアポンプを用いて行った。発生したガスの捕集は飽和食塩水を用いた水上置換法により行った。実験装置は 35 ± 1°C に保たれた恒温器内に設置した。

実験はまず初めに反応槽内に空気を前述の混合ガスによって置換し、槽内に種汚泥を嫌気的条件下で植種して開始した。植種後、約 2 週間基質を断続的に投入し、その後基質の連続的投入を続け揮発性脂肪酸の分解に関与する細菌群を増殖させながら反応容積 (2.2~2.4 l) および基質投入速度に基づいて、菌体滞留時間 (SRT) を 3.5 日~14 日の範囲で 4 系列に設定した。投入基質は、単一基質の場合、Table 3 に示すように酢酸、プロピオン酸および n-酪酸をそれぞれ用い、混合基質投入の場合、Table 4 に示すようにこれら 3 種類の揮発性脂肪酸の混合基質を用いた。単一基質および混合基質の投入基質濃度 (S₀) は酢酸としていずれも 10 000 mg/l である。また、混合基質の組成は Table 4 に示すとおり Case A, Case B, Case C の 3 通りに変化させた。すなわち、Case A, Case B および Case C では酢酸、プロピオン酸および n-酪酸をそれぞれ主成分とした。なお、混合基質の実験における種汚泥は、酢酸、プロピオン酸および n-酪酸それぞれに馴致させた汚泥を、基質の揮発性脂肪酸組成に応じて混合したものを用いた。

Table 3 Experimental conditions, effluent VFA concentration and VFA removal efficiency in the experiments using simple substrates.

Run No.	SRT (day)	Dilution rate (day ⁻¹)	Substrate	Feed VFA concentration		MLVSS (mg/l)	Effluent VFA (mg COD/l)				Removal efficiency (%)
				(mg/l as HAc)	(mg COD/l)		HAc	HPr	HBu	HVa	
SA 1	13.2	0.076	HAc	10 000	10 600	201	138	---	---	---	98.7
SA 2	9.3	0.108	HAc	10 000	10 600	368	149	---	---	---	98.6
SA 3	6.1	0.164	HAc	10 000	10 600	462	240	---	---	---	97.7
SA 4	4.9	0.204	HAc	10 000	10 600	463	586	---	---	---	94.5
SA 5	4.4	0.229	HAc	10 000	10 600	457	328	---	---	---	97.0
SP 1	12.7	0.079	HPr	10 000	18 600	390	17	5	---	---	99.9
SP 2	8.0	0.125	HPr	10 000	18 600	450	30	11	---	---	99.7
SP 3	6.4	0.156	HPr	10 000	18 600	496	97	88	10	2	98.9
SP 4	5.4	0.185	HPr	10 000	18 600	550	135	207	20	14	97.9
SB 1	12.7	0.079	n. HBu	10 000	26 600	494	48	4	---	---	99.8
SB 2	9.4	0.106	n. HBu	10 000	26 600	592	72	3	---	---	99.7
SB 3	7.8	0.128	n. HBu	10 000	26 600	584	62	11	---	---	99.7
SB 4	6.5	0.155	n. HBu	10 000	26 600	502	1 190	41	299	10	94.2

Table 4 Experimental conditions, effluent VFA concentration and VFA removal efficiency in the experiments using mixed substrates.

Case	Run No.	SRT (day)	Dilution rate (day ⁻¹)	Substrate composition (% in COD basis)	Feed VFA concentration		Effluent VFA (mg COD/l)				Removal efficiency (%)
					(mg/l as HAc)	(mg COD/l)	HAc	HPr	HBu	HVa	
A	1	9.1	0.110	HAc (53.9%)	10 000	13 900	27	11	---	---	98.6
	2	6.3	0.158	HAc + (26.9%)	10 000	13 900	48	42	---	---	98.4
	3	4.5	0.220	HPr +	10 000	13 900	269	271	16	---	95.3
	4	3.5	0.286	n. HBu (19.2%)	10 000	13 900	281	200	27	4	95.8
B	5	9.4	0.107	HAc (34.5%)	10 000	15 500	40	34	6	---	99.1
	6	6.4	0.156	HAc + (48.3%)	10 000	15 500	70	43	5	---	98.1
	7	4.5	0.223	HPr +	10 000	15 500	195	287	16	8	96.2
	8	3.6	0.281	n. HBu (17.2%)	10 000	15 500	442	451	47	22	93.5
C	9	9.2	0.109	HAc (31.2%)	10 000	17 000	27	17	---	---	98.9
	10	6.3	0.160	HAc + (21.9%)	10 000	17 000	67	41	3	---	98.6
	11	4.5	0.221	HPr +	10 000	17 000	322	235	55	6	96.2
	12	3.5	0.283	n. HBu (46.9%)	10 000	17 000	463	287	71	15	94.8

反応槽がケモスタット型連続培養系であるため、定常状態では、希釈率 (D) は SRT の逆数に等しい。すなわち $D=1/SRT$ 。また、系内の有機性浮遊物 (MLVSS) 濃度、残存揮発性脂肪酸 (VFA) 濃度およびガス生成速度が一定値に達し定常状態が得られるまで、各系において SRT の 4 倍以上の期間連続実験を継続した。以下に示す連続実験のデータはいずれも定常期間における平均値である。

(4) 分析方法

ガス組成はガスクロマトグラフ (TCD) により N_2 , CH_4 , CO_2 および H_2 を検出、定量した。充填剤およびキャリヤガスとして、 N_2 , CH_4 および CO_2 の分析には活性炭およびヘリウムを、 H_2 の分析にはモレキュラーシーブ 13 X および N_2 を用いた。メタン発生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、標準状態 ($0^\circ C$, 1 atm) に換算し水蒸気含有量を補正して算出した。全揮発性脂肪酸濃度は Standard Methods³⁾ の

カラムクロマトグラフ法によって測定したが、酢酸 (C_2) からカプロン酸 (C_6) までの各揮発性脂肪酸濃度をガスクロマトグラフ (FID) により定量した。その他の分析は下水試験方法⁴⁾ によった。なお、メタンおよび各揮発性脂肪酸の COD 換算係数は Table 5 に示す理論値を用いて算出した。さらに、混合液中の優占菌種の形態学

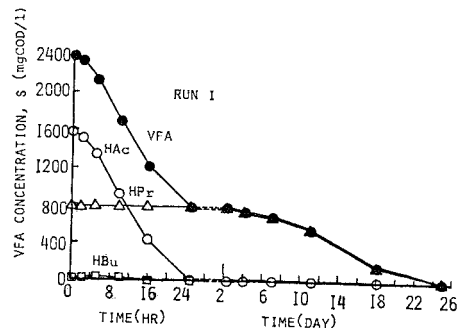


Fig. 3 The course of volatile fatty acids concentration in the batch experiment (Run 1),

Table 5 COD conversion factors.

Item	M.W.	g COD/mole	Conversion factor
Methane (CH ₄)	16	64	4.0 g COD/g CH ₄
Acetate (HAc)	60	64	1.07 g COD/g VFA
Propionate (HPr)	74	112	1.51 g COD/g VFA
Butyrate (<i>n</i> -HBu)	88	160	1.82 g COD/g VFA
Valerate (HV _a)	102	208	2.04 g COD/g VFA
Caproate (HC _a)	116	256	2.21 g COD/g VFA

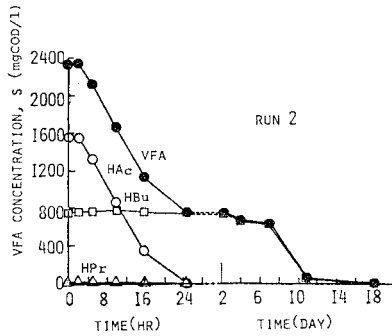


Fig. 4 The course of volatile fatty acids concentration in the batch experiment (Run 2).

的観察は位相差顕微鏡を用いて行った。

3. 実験結果および考察

(1) 回分実験における基質消費状況

残存 VFA 濃度の経時変化を Fig. 3~7 に示した。以下、酢酸、プロピオン酸および *n*-酪酸馴致汚泥（以下にそれぞれ酢酸、プロピオン酸および *n*-酪酸汚泥と略記する）の基質利用特性を述べる。

Fig. 3 および Fig. 4 に、それぞれ Run 1 および Run 2 における酢酸汚泥による揮発性脂肪酸の消費状況を示した。酢酸汚泥による酢酸の消費は基質中にプロピオン酸または *n*-酪酸を混在させても、混合液中の残存酢酸濃度が 24 時間までに急速に減少し、酢酸消費速度は Run 1 および Run 2 においてほとんど等しいことが知られる。しかし、プロピオン酸または *n*-酪酸は酢酸汚泥には利用されず、2 日間ではほとんど初期濃度のまま残り、完全に消費されるにはプロピオン酸については約 20 日間、*n*-酪酸については約 10 日間を要した。

Fig. 5(A), 6(A) および 7(A) に、それぞれ Run 3, Run 4 および Run 5 における酢酸汚泥、プロピオン酸汚泥および *n*-酪酸汚泥による酢酸、プロピオン酸および *n*-酪酸の消費状況を示した。これらの図によれば、酢酸は酢酸汚泥によって急速に消費され、Run 1 および Run 2 の経時変化と同じように 24 時間までにほぼ完全に消費された。一方、プロピオン酸および *n*-酪酸

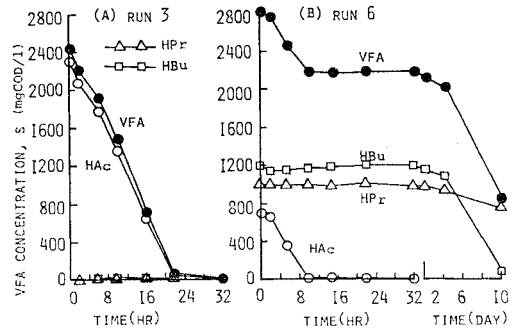


Fig. 5 The course of volatile fatty acids concentration in the batch experiment (Run 3 and Run 6).

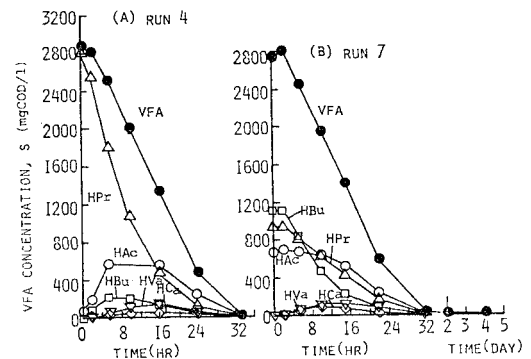


Fig. 6 The course of volatile fatty acids concentration in the batch experiment (Run 4 and Run 7).

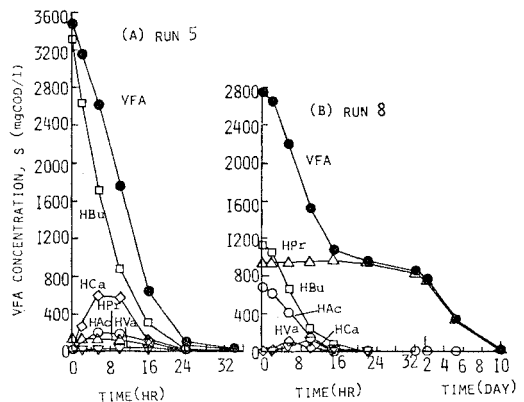


Fig. 7 The course of volatile fatty acids concentration in the batch experiment (Run 5 and Run 8).

は、それぞれプロピオン酸汚泥および *n*-酪酸汚泥によって、中間生成物である低分子の酢酸と合成生成物である吉草酸 (*i*-HV_a および *n*-HV_a) およびカプロン酸 (HPr → *i*-HC_a, *n*-HBu → *n*-HC_a) に転換されながら 32 時間までほぼ完全に消費された。

Fig. 5(B), 6(B) および 7(B) に、それぞれ Run 6,

Run 7 および Run 8 における酢酸汚泥、プロピオン酸汚泥および *n*-酪酸汚泥による混合基質の消費状況を示した。Run 6, Run 7 および Run 8 はそれぞれ Run 3, Run 4 および Run 5 を終了した後、酢酸、プロピオン酸および *n*-酪酸の3種類の揮発性脂肪酸を混合した基質を用いて行ったものである。Fig. 5(B) に示されるように、酢酸汚泥は Run 1 および Run 2 の結果と同様、酢酸のみを利用し、混合基質中のプロピオン酸と *n*-酪酸は2日までほとんど消費されなかった。Fig. 6(B) に示されるように、プロピオン酸汚泥はプロピオン酸やその中間生成物である酢酸を利用するだけでなく、合成生成物である酪酸 (Fig. 6(A) 参照) をプロピオン酸の消費よりもすみやかに利用できる。一方、Fig. 7(B) に示されるように、*n*-酪酸汚泥は、酪酸やその中間生成物である酢酸をすみやかに利用できるが、プロピオン酸の消費速度は非常に遅いことが知られる。

(2) 連続実験における残存 VFA 濃度および組成

Table 3 および Table 4 に示したように、単一基質および混合基質を用いた連続実験において、基質除去率はいずれも高く、93% 以上であったが、投入基質種類を変化させることによって異なる基質消費の経日変化が示された。

Fig. 8 に、単一基質による Run SP3 における残存 VFA 濃度および組成の経日変化を示した。プロピオン酸汚泥を反応槽に植種し約2週間断続的に基質を投入した後、連続的投入を開始したところ、プロピオン酸の一時的な蓄積現象がみられた。これは連続投入開始後の基質負荷速度が増大したことに起因していると考えられる。しかし、系内の細菌群が新しい基質負荷速度に馴致された後、残存プロピオン酸濃度が低下しプロセスが定常状態に達した。なお、プロピオン酸が高濃度に残存しているときには、合成生成物、特に吉草酸が高濃度に生成されたが、定常状態においては、残存 VFA の組成は主としてプロピオン酸および酢酸であった。

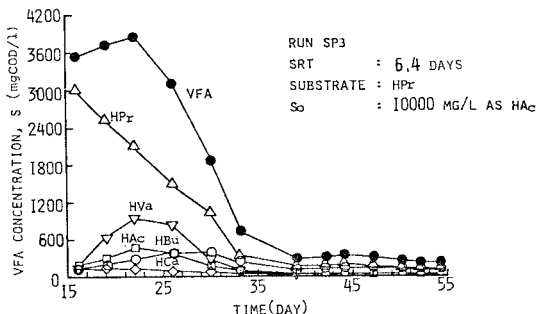


Fig. 8 The course of volatile fatty acids concentration in the continuous experiment (Run SP3, substrate : HPr).

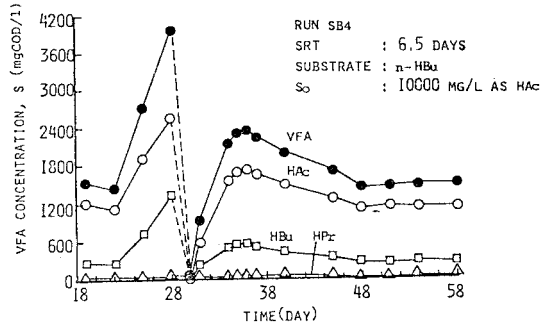


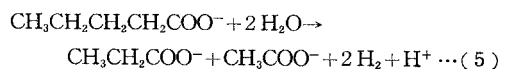
Fig. 9 The course of volatile fatty acids concentration in the continuous experiment (Run SB4, substrate : *n*-HBu).

Fig. 9 に、単一基質による Run SB4 における残存 VFA 濃度および組成の経日変化を示した。*n*-酪酸を単一基質とした場合、プロピオン酸の場合と同様に、実験初期における残存 VFA の一時的な蓄積現象がみられた。なお、28日から約2日間一時的に連続的投入を中止した。しかし定常状態において、残存 VFA の組成は、プロピオン酸を基質とした場合と違っておもに酢酸であった。また、酢酸の蓄積現象は、*n*-酪酸汚泥による *n*-酪酸から酢酸への転換速度が酢酸からメタンへの転換速度より大きいためであると考えられる。

一方、酢酸を単一基質とした場合と、酢酸、プロピオン酸および *n*-酪酸を混合して投入した場合においては、残存 VFA の一時的な蓄積現象がみられなかった。なお、Table 4 に示されるように、残存 VFA の組成は混合基質の組成を変化させても、酢酸およびプロピオン酸が主であった。

(3) 優占菌相について

メタン生成菌は、その形態によって桿菌 (Methanobacterium), 球菌 (Methanococcus), 八連球菌 (Methanosarcina), およびらせん菌 (Methanospirillum) の4種類の属に分類される。著者らは、完全混合連続培養のメタン生成相において、SRT の異なった反応槽では酢酸を利用するメタン生成菌の菌相が遷移することを見出している¹⁾。acetogenic 菌については、実際に単離されているのは今のところ2, 3の例に過ぎない。最近, acetogenic 菌と思われる菌種が H₂ を利用するメタン生成菌との混合培養から単離された²⁾。この細菌は、偶数炭素の VFA (たとえば、酪酸、カプロン酸など) を式 (1) のように酢酸と H₂ にβ-酸化し、また、奇数炭素の VFA (たとえば、吉草酸) を次式のように酢酸、プロピオン酸および H₂ に転換すると考えられる。



これに対し、本実験においては、プロピオン酸汚泥は偶数炭素の酪酸とカプロン酸および奇数炭素のプロピオン酸と吉草酸ともすみやかに利用できるが、*n*-酪酸汚泥は奇数炭素のプロピオン酸がほとんど利用できなかった。このことから、プロピオン酸汚泥中の acetogenic 菌は *n*-酪酸汚泥中のそれと異なる菌種であると考えられる。また、プロピオン酸汚泥 および *n*-酪酸汚泥中に存在する菌種の位相差顕微鏡 (1500 倍) による形態学的観察からも、それぞれ汚泥中の優占 acetogenic 菌種が異なることが示された。すなわち、プロピオン酸汚泥中には写真-1(a) に示すように、わん曲状の運動性の強い、長さ約 2 μm の短桿菌が優占的に存在し、一方、*n*-酪酸汚泥中では写真-1(b) に示すように、長さ約 5 ~ 10 μm の桿菌が優占菌種であった。しかし、プロピオン酸および *n*-酪酸をそれぞれ単一基質とした連続実験においては、酢酸を利用するメタン生成菌にみられたような菌相の SRT の変化による遷移現象はみられなかった。また、酢酸、プロピオン酸および *n*-酪酸を混合して用いた連続実験においても菌相の遷移現象がなくおもに写真-1(a) および (b) に示した菌種が混在していることが観察された。

(4) メタン生成について

消費された揮発性脂肪酸からメタンへの転換割合 ($Y_{CH_4/VFA}$) は、次の式に示すように理論上 1 g COD の VFA から 1 g COD のメタンが生成される。

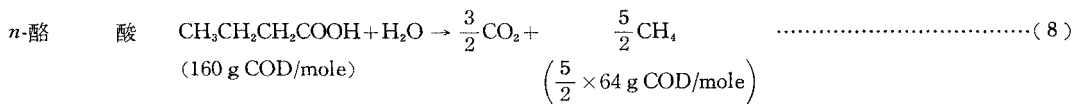
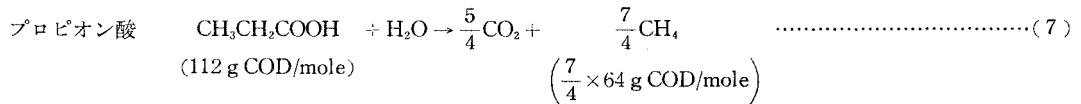
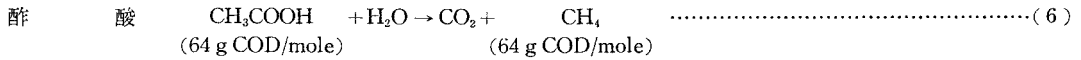
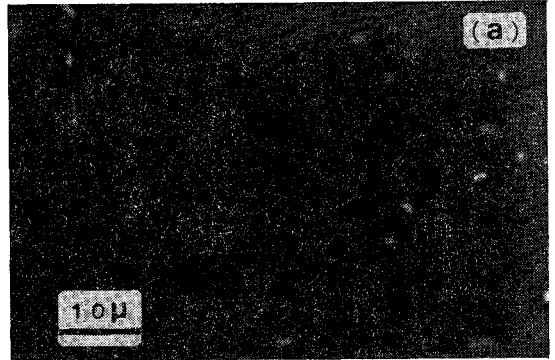


Fig. 10(A) および Fig. 10(B) に、それぞれ単一基質および混合基質の系における比メタン生成速度と比基質消費速度 (ν) の関係を示した。図に示されるように比メタン生成速度は比基質消費速度の増大に伴って増大している。また、各系の回帰直線の傾きより、消費された VFA からメタンへの転換割合がそれぞれ図中に示すように求められた。これらの値は前述の理論的な転換割合 1 g CH_4 -COD/g VFA-COD とよく一致している。

(5) 動力学的解析について

完全混合連続培養系では、制限基質 (S) の菌体の比基質消費速度の関係は、次の Michaelis-Menten 型の式が適用される。



(a) Propionate acclimated sludge



(b) *n*-Butyrate acclimated sludge

Photo 1 Phase contrast photomicrographs of predominant bacteria ($\times 1500$).

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

ここで、 ν_{max} : 最大比基質消費速度 (mg COD/mg VSS-day)
 K_s : 基質飽和定数、 $\nu = \frac{1}{2} \nu_{max}$ となるときの基質濃度 (mg COD/l)

また、比基質消費速度と希釈率の関係は、次の式で表わせる。

$$\nu = \frac{1}{Y_G} D + \frac{K_d}{Y_G} \dots\dots\dots (10)$$

ここで、 Y_G : 菌体の真の増殖収率 (mg VSS/mg COD)

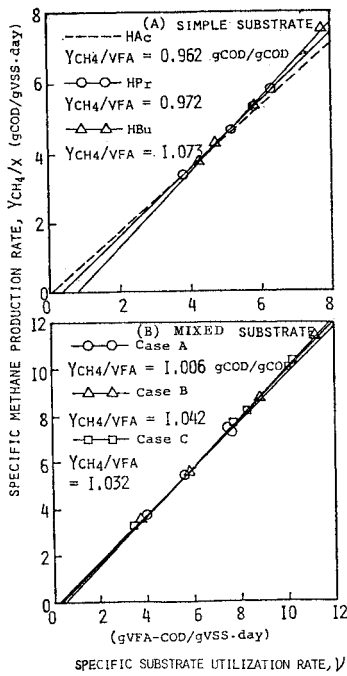


Fig. 10

Relationships between specific methane production rate and specific substrate utilization rate in the experiments using simple and mixed substrates.

K_d : 菌体の自己分解係数 (1/day)

嫌気性消化のメタン生成プロセスの動力学的特性値として、増殖係数 Y_G と K_d は実験データの $\nu \sim D$ のプロットより式 (10) を用いて容易に決定でき、一方、 ν_{max} と K_s は式 (9) を次のように変形して、実験データの $S/\nu \sim S$ プロットより決定できる。

$$\frac{S}{\nu} = \frac{K_s}{\nu_{max}} + \frac{1}{\nu_{max}} S \dots (11)$$

Fig. 11 および Fig. 12 に、それぞれ単一基質および混合基質の系における比基質消費速度 ν と希釈率 D の関係を示した。ここで、比基質消費速度は、消費された基質濃度 (= 投入基質 COD 濃度 - 残存基質 COD 濃度) を MLVSS と SRT の積で除した値である。これらの図によれば、比基質消費速度は希釈率の増大に伴って増大することが知られる。式 (7) を用いて、図の回帰直線の傾きと切片から決定された各系の真の増殖収率 Y_G および自己分解係数 K_d を Table 6 に示した。Table 6 によれば、 Y_G と K_d は、単一基質投入の場合酢酸で増大となり、プロピオン酸、 n -酪酸の順に減少する。また、混合基質投入の場合も酢酸を主成分とした

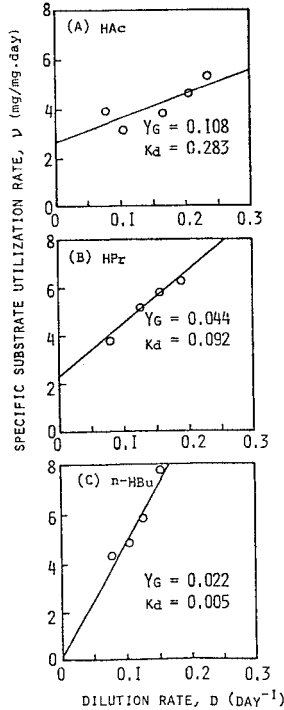


Fig. 11

Relationships between specific substrate utilization rate and dilution rate in the experiments using simple substrates.

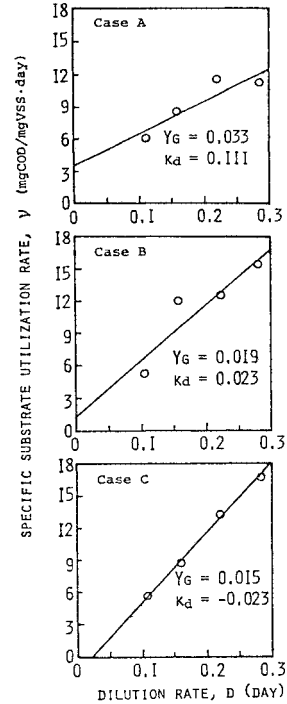


Fig. 12

Relationships between specific substrate utilization rate and dilution rate in the experiments using mixed substrates.

Table 6 Kinetic constants obtained by the experiments using simple and mixed substrates.

Substrate (VFA)	ν_{max} (day ⁻¹)	K_s (mg COD/l)	Y_G (mg VSS/mg COD)	K_d (day ⁻¹)	SRT _{min} (day)	θ_{min} (day)
HAc	5.03	57	0.108	0.283	3.85	2.67
HPr	6.46	15	0.043	0.092	5.38	3.73
n -HBU	7.96	42	0.022	0.005	5.88	4.07
Case A	12.32	46	0.033	0.111	3.38	2.34
Case B	17.45	132	0.019	0.023	3.24	2.25
Case C	17.96	122	0.015	-0.023	3.42	2.37

Case A で最大となり、プロピオン酸および n -酪酸をそれぞれ主成分とする Case B, Case C の順に減少することが知られる。なお、Case C での K_d 値は負となり、これは理論上あり得ず、また従来の研究結果とは一致しない。これについての原因は明白ではないが、Shea⁶⁾による H_2 からのメタン生成に関する連続実験においても負の K_d 値が得られており、彼らは、基質濃度の変化に対し菌体量を代表させた VSS 中における生菌割合が変化しただけとしている。

Fig. 13 および Fig. 14 に、それぞれ単一基質および混合基質の系における比基質消費速度 ν と残存 VFA 濃度 S に関する $S/\nu \sim S$ のプロットを示した。これらの図の回帰直線から決定された各系の最大比基質消費速

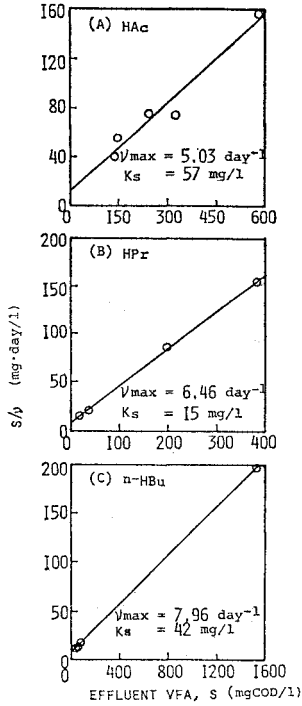


Fig. 13

Plots of s/v vs. s according to Equation (11) in the experiments using simple substrates.

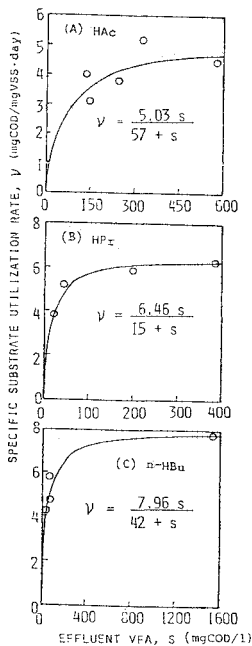


Fig. 15

Comparison of the experimental results with calculated results in the experiments using simple substrates.

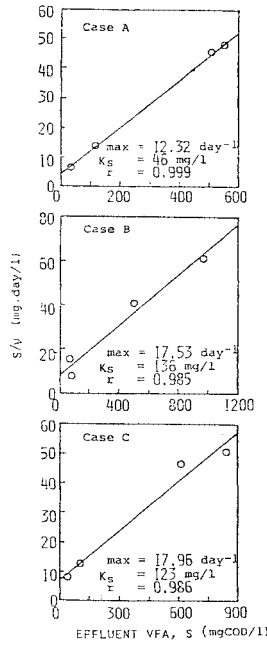


Fig. 14

Plots of s/v vs. s according to Equation (11) in the experiments using mixed substrates.

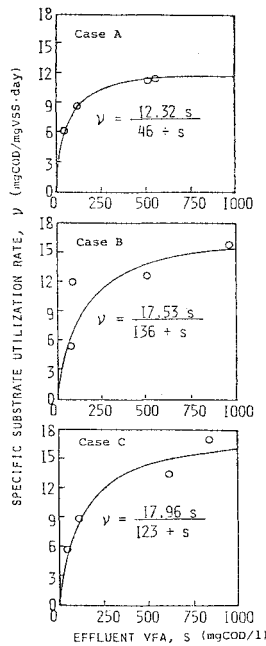


Fig. 16

Comparison of the experimental results with calculated results in the experiments using mixed substrates.

度 ν_{max} および基質飽和定数 K_s を Table 6 に示した。これによれば、 ν_{max} は、単一基質投入においては、 n -酪酸の場合に最大となり、プロピオン酸、酢酸の順に減少する。また、混合基質投入においても、 n -酪酸を主成分とする場合に最大となり、プロピオン酸、酢酸をそれぞれ主成分とする場合の順に減少することが知られる。なお、上記の解析によって決定された Michaelis-Menten 型の速度式と実験値との比較を Fig. 15 および Fig. 16 に示した。

完全混合連続培養系の反応槽から菌体が洗流されないために必要とする菌体滞留時間を最小菌体滞留時間とよび、次の式から算出できる¹⁾。

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

$$\mu_{max} = Y_G \cdot \nu_{max} - K_d \dots \dots \dots (13)$$

ここで、 SRT_{min} : 最小菌体滞留時間 (day)

μ_{max} : 見かけの最大比増殖速度 (mg/mg-day)

また、菌体量が2倍になるのに要する最小世代時間は、次式から得られる。

$$g_{min} = \frac{\ln 2}{\mu_{max}} = \frac{0.693}{\mu_{max}} \dots \dots \dots (14)$$

ここで、 g_{min} : 最小世代時間 (day)

Table 6 における SRT_{min} および g_{min} は、 μ_{max} , Y_G および K_d を用いて、式 (12), (13) および (14) から算出した。ただし、混合基質投入における Case C で得られた負の K_d を無視して算出した。これによれば、混合基質投入の系において、基質組成を変化させても、 SRT_{min} の値がさほど変わらないが、単一基質の場合、酢酸の系よりむしろプロピオン酸および酪酸の系における SRT_{min} が長いことが示されている。このことから、acetogenic 菌によるプロピオン酸および n -酪酸の酢酸への転換に必要な SRT が、プロピオン酸および n -酪酸の炭素数の増大とともに増大していることが知られる。さらに、単一基質および混合基質投入における動力学特性値を比較すると、混合基質で得られた ν_{max} は単一基質での値より2倍以上大きいことが知られる。また、 SRT_{min} は単一基質投入の場合、特にプロピオン酸および n -酪酸については、混合基質投入の場合よりもむしろ長いことが知られる。

(6) 反応の律速段階

前述のように、プロピオン酸および n -酪酸はまず acetogenic 菌によって酢酸と H_2 に分解された後、これらの生成物はメタン生成菌によって

メタンと二酸化炭素にまで転換される。

プロピオン酸および *n*-酪酸の分解に伴い H_2 が生成されるが、本研究において、回分実験および連続実験の生成ガス組成の分析より H_2 は検出されなかった。これは H_2 を利用するメタン生成菌が活発に働いていることを示している。しかし、酢酸からメタンへの転換に関しては、*n*-酪酸を単一基質として投入した場合あるいは *n*-酪酸を主成分とする混合基質を投入した場合の双方において、SRT を減少させても、*n*-酪酸はさほど蓄積せず主として酢酸が蓄積した。一方、プロピオン酸の場合には、SRT を減少させると、酢酸だけでなくプロピオン酸自体も蓄積した。また、Table 6 によれば、酢酸に対する最大比基質消費速度 ν_{max} は、*n*-酪酸およびプロピオン酸のそれより小さいことが示された。

以上のことから、*n*-酪酸の分解においては *n*-酪酸を酢酸と H_2 に分解する acetogenic 菌の反応が律速段階になることはなく、酢酸からメタンへの転換反応が律速段階になると考えられる。これに対し、プロピオン酸の分解においてはプロピオン酸を酢酸と H_2 に分解する acetogenic 菌の反応速度もプロピオン酸からメタンへの分解速度に影響を与えるものと考えられる。

4. 総括および結論

本研究で得られた知見は次のように要約される。

(1) 最大比基質消費速度は、単一基質を用いた場合、*n*-酪酸>プロピオン酸>酢酸の順序であり、また、これら揮発性脂肪酸をそれぞれ主成分とする混合基質を用いた場合においても同様な傾向を示す。

(2) 菌体の真の増殖収率は、単一基質を用いた場合、酢酸>プロピオン酸>*n*-酪酸の順序であり、またこれら揮発性脂肪酸をそれぞれ主成分とする混合基質を

用いた場合においても同様な結果を示す。

(3) *n*-酪酸からメタンへの分解においては、*n*-酪酸を酢酸と H_2 に分解する acetogenic 菌の反応が律速段階になることはなく、酢酸を利用するメタン生成菌の反応が律速段階になる。一方、プロピオン酸からメタンへの分解においては、プロピオン酸を酢酸と H_2 に分解する acetogenic 菌の反応速度が全反応速度に影響を与える。

(4) 酢酸、プロピオン酸および *n*-酪酸からメタンへの転換割合は、それぞれの揮発性脂肪酸を単一あるいは混合基質として投入することにかかわらず、理論値 $1 \text{ g CH}_4\text{-COD/g VFA-COD}$ とよく一致する。

参考文献

- 1) Bryant, M.P.: Microbial Methane Production—Theoretical Aspects, J. Animal Science, Vol. 48, pp. 193~201, 1979.
- 2) McInerney, M.J., M.P. Bryant and D.A. Stafford: Metabolic Stages and Energetics of Microbial Anaerobic Digestion, In First International Symposium on Anaerobic Digestion (Cardiff University), Applied Science Publishers, pp. 91~98, 1979.
- 3) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 14th ed. pp. 527~529, Amer. Pub. Health Assn., New York, 1975.
- 4) 下水試験方法, 日本下水道協会編, 1974.
- 5) 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, No. 320, 1982-4.
- 6) Shea, T.G., W.A. Pretorius, R.D. Cole and E.A. Pearson: Kinetics of Hydrogen Assimilation in the Methane Fermentation, Water Research, Vol. 2, pp. 833~848, 1968.
- 7) Lawrence, A.W. and P.L. McCarty: Kinetics of Methane Fermentation in Anaerobic Treatment, Jour. WPCF, Vol. 41, pp. R 1~R 17, 1969.

(1982.5.18・受付)