

# 嫌気性酸生成相における 硫酸塩還元および有機物分解特性に及ぼす COD/S 比の影響

水野修<sup>1</sup>・李玉友<sup>2</sup>・野池達也<sup>3</sup>

<sup>1</sup>正会員 工博 東北大学助手 東北大学土木工学科 (〒980-77 仙台市青葉区荒巻字青葉)

<sup>2</sup>正会員 工博 東北大学助教授 東北大学土木工学科 (〒980-77 仙台市青葉区荒巻字青葉)

<sup>3</sup>正会員 工博 東北大学教授 東北大学土木工学科 (〒980-77 仙台市青葉区荒巻字青葉)

本研究では、酸生成相における硫酸塩還元およびスクロースの分解特性に及ぼす基質COD/S比およびHRTの影響を、ケモスタット型反応槽の連続実験によって検討した。硫酸塩還元反応はHRT2hでも進行し、HRT6-10hでは高い硫酸塩除去率が得られた。基質COD/S比が低く硫酸塩還元反応が進行した状態において、遊離硫化水素による阻害は起こらないが、代謝産物(揮発性脂肪酸、乳酸、エタノール、水素)の生成割合が大きく影響されることが示された。

**Key Words :** acidogenesis, anaerobic treatment, bacterial population, COD/S ratio, metabolites, sucrose, sulfate reduction, sulfate removal

## 1. はじめに

硫酸塩含有廃水<sup>1)</sup>を嫌気性消化法によって処理する場合、硫化物の発生は大きな問題である。嫌気性条件下において、廃水中の硫酸塩は硫酸塩還元細菌<sup>2)</sup>の電子受容体として利用され、有機物質または水素を電子供与体として硫化物に還元される。嫌気性消化プロセスにおける硫酸塩還元反応の進行およびそれに伴う硫化物の生成は、メタン生成量の低下、硫化物CODの残留、処理施設の腐食および悪臭などの問題を引き起こす。糖蜜廃水やパルプ工場廃水など高濃度の硫酸塩を含有する産業廃水を嫌気性消化法によって処理する場合、処理微生物に及ぼす硫酸塩還元の悪影響を軽減するために様々な方法が検討されている。HiltonとArcher<sup>3)</sup>は、糖蜜廃水の処理に硫酸塩還元細菌の阻害剤であるモリブデン酸を添加し、硫酸塩還元反応への阻害効果を検討している。OlssonとSchleicher<sup>4)</sup>は、ガス洗浄システムを嫌気性消化槽に連結したパイロットプラントにおいて硫化水素の除去を検討している。Reisら<sup>5)</sup>は、二相嫌気性消化プロセスの酸生成相において、硫酸塩還元による糖蜜廃水中の硫酸塩除去を報告している。柴崎ら<sup>6)</sup>は、糖蜜廃液に前処理を施し、硫酸塩を低減した後に嫌

気性消化を行っている。小林ら<sup>7)</sup>は、糖蜜廃液を希釈することにより、生成する硫化物の悪影響を軽減している。

以上のように、実廃水を用いた研究が進められる一方で、嫌気的な微生物生態系における硫酸塩還元細菌と他の細菌との相互作用に関する研究も報告されている。嫌気的な物質分解は、加水分解および酸生成の進行する酸生成相、酢酸生成およびメタン生成が行われるメタン生成相から構成されている。硫酸塩還元細菌は様々な物質を電子供与体として利用することが可能であるため<sup>8)</sup>、嫌気的分解の各段階に影響を及ぼすことが予想される。

メタン生成段階では、メタンの前駆物質である酢酸および水素をめぐる硫酸塩還元細菌とメタン生成細菌の間に基質競争が起こる。Kristjanssonら<sup>9)</sup>は水素に対するメタン生成細菌および硫酸塩還元細菌の基質親和性を検討し、硫酸塩還元細菌が有利であることを報告している。Yodaら<sup>10)</sup>は、酢酸を基質とした場合の競争を検討した結果、基質親和性の差異により、酢酸が低濃度である場合は硫酸塩還元細菌が、高濃度である場合はメタン生成細菌が優占するとしている。

酢酸生成段階では、揮発性脂肪酸、乳酸およびアル

コールなど中間代謝産物の分解が行われる。Szewzyk と Pfennig<sup>11)</sup> は、エタノールをめぐる硫酸塩還元細菌と発酵細菌の競争を検討し、硫酸塩還元細菌の飽和定数が発酵細菌よりも小さく、有利であることを示した。Wu ら<sup>12)</sup> は、UASB 反応器において、硫酸塩還元細菌は水素および酢酸よりも、プロピオン酸およびエタノールの分解に関与していると報告している。Visser ら<sup>13)</sup> は、UASB 反応器を用いた実験で、硫酸塩濃度が高い場合、硫酸塩還元細菌によるプロピオン酸分解が重要であると述べている。Mizuno ら<sup>14)</sup> は、酪酸を基質とした混合培養槽において、硫酸塩還元細菌が酪酸を直接利用していることを示唆している。Uberoi と Bhattacharya<sup>15)</sup> は、プロピオン酸の分解経路に及ぼす硫酸塩還元細菌の影響を詳細に検討している。

酸生成段階において、硫酸塩還元細菌は、糖<sup>8)</sup>、アミノ酸<sup>16)</sup> および芳香族化合物<sup>17)</sup> の分解に関与していることも指摘されており、嫌氣的な微生物生態系における役割が解明されつつある。しかしながら、実際の消化槽内における硫酸塩還元細菌の役割に関しては、いくつか検討すべき課題が残されている。特に、複雑な酸生成段階における硫酸塩還元細菌の挙動および役割は、前述したような硫酸塩還元細菌の広範な基質利用能力を考慮した場合、検討しなければならない課題のひとつである。

水野ら<sup>18)</sup> は、スクロースを基質とした連続実験において、酸生成相に及ぼす硫酸塩還元の影響を検討し、ガス組成および硫化物濃度の変化から、硫酸塩還元細菌が主に水素を利用することを示唆している。本研究では、先の連続実験<sup>18)</sup> において、酸生成相における硫酸塩還元および有機物分解特性に及ぼす基質 COD/S 比の影響を明らかにすることを目的としており、スクロース分解の代謝産物組成、硫化物の影響、COD 収支および生菌数に関して検討した。

## 2. 実験材料および実験方法

### (1) 接種汚泥の馴養

種汚泥は、仙台市南蒲生下水処理場の最初沈殿池汚泥から採取した。この種汚泥をスクロース単一基質 (10000mgCOD $\cdot$ l<sup>-1</sup>, 硫酸塩 50 mgS $\cdot$ l<sup>-1</sup> 添加) で約 6 ヶ月間 (35°C) 馴養したものを接種汚泥として用いた。

### (2) 実験装置および実験方法

本研究で用いた嫌氣的ケモスタット型反応槽の概略を図-1 に示す。反応槽の容量は 1000mL、有効容

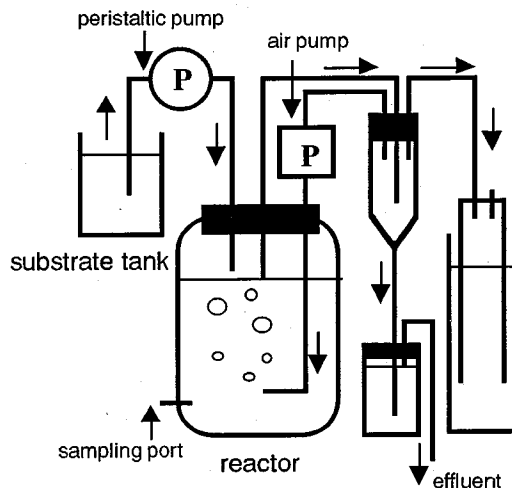


図-1 反応槽の概略図

表-1 基質組成

Composition	Concentration (mg $\cdot$ l <sup>-1</sup> )
Sucrose	10000 (as COD <sub>cr</sub> )
NH <sub>3</sub> HCO <sub>3</sub>	3770
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	125
MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	100
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	25
FeCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	180
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> ·10H <sub>2</sub> O	3500
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ·S (Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	0, 200, 400, 800
Trace element solution	1 ml $\cdot$ l <sup>-1</sup>

積は 500mL であり、内部は発生した消化ガスを循環させることによって攪拌した。基質は、約 4°C に冷却した基質タンクから蠕動ポンプを用いて連続的に反応槽内へ投入した。反応槽内容物はエアポンプで引き抜き、液相より生成したガスは酸性飽和食塩水 (2% 硫酸) による水上置換法で捕集した。以上のような嫌氣的ケモスタット型反応槽を 5 基用意して、各反応槽の水理学的滞留時間 (HRT) を 2, 4, 6, 8, 10h と変化させた。反応槽は恒温槽内に設置し、培養温度 35°C の条件で連続運転した。

表-1 に、実験で用いた基質の組成を示す。炭素源はスクロース (C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>) であり、硫酸塩 (sulfate) として硫酸ナトリウム (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) を添加した。微量元素溶液 (trace element solution) の濃度は CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O : 2.5 mg $\cdot$ l<sup>-1</sup>, MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O : 2.5 mg $\cdot$ l<sup>-1</sup>, KI : 2.5 mg $\cdot$ l<sup>-1</sup>,

表-2 硫酸塩除去率, スクロース除去率および硫化物濃度

COD/S	HRT(h)	pH	Sulfate removal(%)	Sucrose removal(%)	TS (mg S·l <sup>-1</sup> )	DS (mg S·l <sup>-1</sup> )	free-H <sub>2</sub> S (mg S·l <sup>-1</sup> )
13	2	6.4	23	59	65.4	24.4	17.8
	4	6.0	27	87	123	28.8	25.1
	6	6.3	46	99	130	55.8	43.0
	8	6.4	66	99	187	104	75.7
	10	6.4	60	99	170	136	99.0
25	2	6.3	26	71	38.6	2.2	1.7
	4	6.3	45	94	54.3	18.4	14.2
	6	6.0	65	99	93.9	31.5	27.4
	8	6.2	94	98	80.0	48.3	39.1
	10	6.2	94	99	89.4	54.8	44.3
50	2	6.4	33	72	29.4	ND	ND
	4	6.4	67	98	56.2	3.4	2.5
	6	6.4	95	99	54.4	1.4	1.0
	8	6.4	98	99	44.7	4.5	3.3
	10	6.2	92	99	44.5	4.7	3.8
3500	2	6.3	100	77	ND	ND	ND
	4	6.3	100	93	ND	ND	ND
	6	6.5	100	99	ND	ND	ND
	8	6.3	100	97	ND	ND	ND
	10	6.2	100	98	ND	ND	ND

TS: total sulfide, DS: dissolved sulfide, ND: not detectable

Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O : 0.5 mg·l<sup>-1</sup>, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> : 0.5 mg·l<sup>-1</sup>, NiCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O : 0.5 mg·l<sup>-1</sup>, ZnCl<sub>2</sub> : 0.5 mg·l<sup>-1</sup>とした。スクロース濃度は10000 mgCOD<sub>cr</sub>·l<sup>-1</sup>に固定し、硫酸塩濃度を0, 200, 400, 800 mg S·l<sup>-1</sup>のように変化させた。基質COD<sub>cr</sub>/S比(以後COD/S比と略記)は、13, 25, 50, 3500 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>の無い対照条件)となる。COD/S比は、基質中のFeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O硫黄分も含めて算出した。基質COD/S比は、硫酸塩還元の研究を進める上で重要な指標である<sup>1)</sup>。このような反応槽を約1ヶ月間連続運転し、定常状態において各項目(ガス生成速度, ガス組成, pH, MLVSS, 代謝産物濃度, 硫酸塩および硫化物濃度)を測定した。ガス生成速度, 硫酸塩濃度および代謝産物濃度が安定した状態を定常とみなした。

### (3) 分析方法

pH測定には、ガラス電極pHメーターを用いた。MLVSS濃度は下水試験方法<sup>19)</sup>により測定した。硫化物および溶存硫化物濃度はメチレンブルー吸光光度法<sup>19)</sup>により定量した。遊離硫化水素濃度は、Isaら<sup>20)</sup>の方法に従い、定常状態におけるpHの値と溶存硫化物濃度(dissolved sulfide)から算出した。消化ガス中の硫化水素濃度は、消化ガスを酢酸亜鉛溶液(20w/v%)に通気させることにより、硫化水素を硫化亜鉛(ZnS)として固定してメチレンブルー吸光光度法で定量した。スクロース濃度はフェノール硫酸法<sup>21)</sup>により定量した。硫酸イオンおよび乳酸濃度はイオンクロマトグラフ<sup>18)</sup>により定量した。揮発性脂肪酸濃度(酢酸, プロピオン酸, *i*-酪酸, *n*-酪酸)およびエタノー

ル濃度の定量には、FID-ガスクロマトグラフ<sup>18)</sup>を用いた。反応槽内のガス組成(N<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub>)は、TCD-ガスクロマトグラフ<sup>18)</sup>により測定した。また、水素濃度は、TCD-ガスクロマトグラフ<sup>18)</sup>により測定した。ガス生成速度は、酸性飽和食塩水(2%硫酸)による水上置換法により測定した。

### (4) MPN法による生菌数の測定

定常状態における各反応槽の生菌数は、MPN法(3本法)により計数した。計数した細菌は、水素資化性および乳酸資化性硫酸塩還元細菌である。

硫酸塩還元細菌の計数には上村ら<sup>22)</sup>が用いた培地を使用し、培養管の培養温度は35℃、培養期間は30日とした。乳酸資化性硫酸塩還元細菌の計数培地に添加した乳酸の濃度は、乳酸ナトリウムで3.0 g·l<sup>-1</sup>である。硫酸塩還元細菌の増殖は、培地の黒変(FeSの沈殿)の有無により判定した。

## 3. 実験結果および考察

### (1) 各COD/S比およびHRT条件における硫酸塩除去率, スクロース除去率および硫化物濃度

表-2に、各COD/S比およびHRT条件における硫酸塩除去率, スクロース除去率および硫化物濃度を示す。硫酸塩除去率および生成した硫化物濃度より、酸生成相において硫酸塩還元反応の進行することが

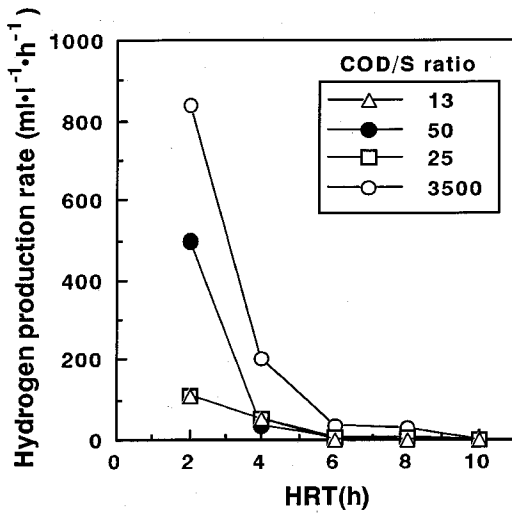


図-2 水素生成速度に及ぼすCOD/S比の影響

わかった。全運転条件を通して、pHは6.0-6.5の範囲内であり、硫酸塩還元細菌の増殖可能な条件であった。一般に酸生成相はpH5-6で運転されるが、硫酸塩還元細菌の至適pHは7.0であり、6以下および9以上では増殖が阻害される<sup>23)</sup>。このため、酸生成相における硫酸塩還元細菌の増殖を考慮した場合、pH6.0以上の環境条件が必要であると考えられる。Reisら<sup>5)</sup>は、pHが5.8になると酸生成相における硫酸塩除去率が大幅に低下することを報告している。

硫酸塩除去率は、COD/S比が13、HRT2hの条件でも23%であった。水素資化性硫酸塩還元細菌の最大比増殖速度は、*Desulfovibrio vulgaris* (Marburg)<sup>24)</sup>で $0.23\text{h}^{-1}$ と報告されているため、HRTの短い条件でも硫酸塩還元が起こる可能性がある。本研究の反応槽内は生成したガスで十分に攪拌されており、反応槽内壁における生物膜形成は見られなかったため、最大比増殖速度の大きい水素資化性硫酸塩還元細菌が生息しているものと推察される。HRT10hになると、60%の高い除去率が得られた。COD/S比が25、50の場合、HRTが8、10hであれば除去率は92-98%と高くなった。スクロース除去率は、COD/S比の低下に伴い、HRT2、4hの反応槽で7-23%の低下が見られた。HRT6-10hの場合、除去率の低下は起こらなかった。全硫化物および溶解硫化物は、それぞれ最大で $187\text{mgS}\cdot\text{l}^{-1}$ 、 $136\text{mgS}\cdot\text{l}^{-1}$ であった。遊離硫化水素は反応槽のpHから算出したが、最大で $99\text{mgS}\cdot\text{l}^{-1}$  (COD/S比:13、HRT10h、pH6.4)であった。しかし、スクロースの除去率は低下しておらず、遊離硫

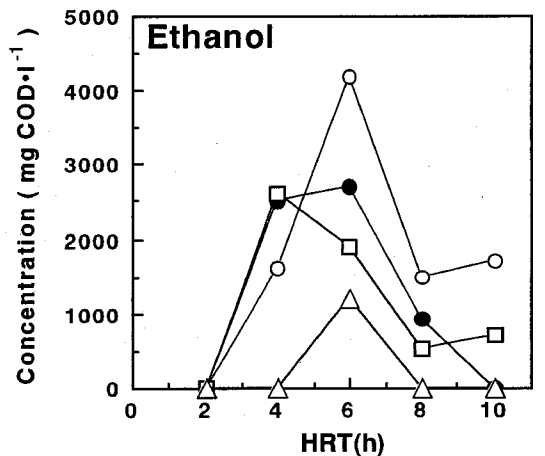
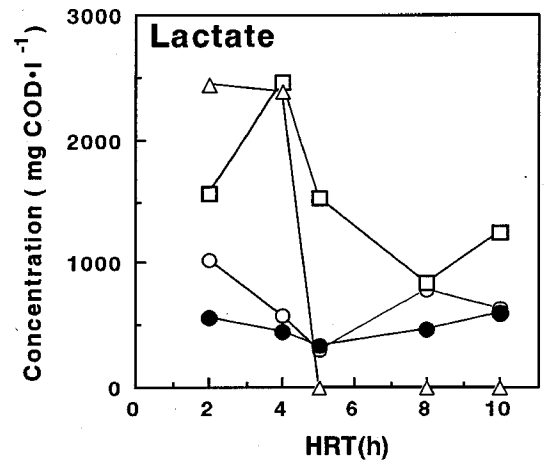
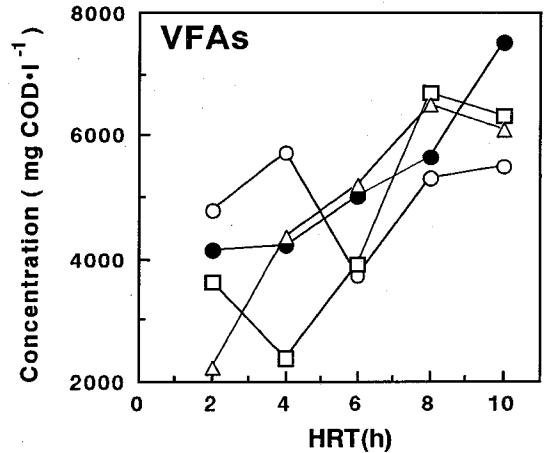


図-3 代謝産物生成に及ぼすCOD/S比およびHRTの影響

COD/S ratio —△— 13 —□— 25  
—●— 50 —○— 3500

表-3 定常状態におけるCOD収支

COD/S	HRT (h)	Effluent COD (%)											Recovery (%)	
		Sucrose	MLVSS	Sulfide	Metabolites						Biogas			
					HAc	HPr	<i>i</i> -HBu	<i>n</i> -HBu	Lactate	Ethanol	H <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> S		CH <sub>4</sub>
13	2	41	19	1.3	4.3	2.9	ND	15	24	ND	1.5	0.2	1.1	110
	4	14	20	2.4	9.7	15	ND	19	24	ND	1.5	0.9	2.3	109
	6	0.6	20	2.6	22	15	ND	15	ND	12	ND	0.5	3.0	91
	8	0.8	15	3.7	24	17	ND	24	ND	ND	ND	2.3	3.1	90
	10	0.5	15	3.4	22	18	ND	21	ND	ND	ND	1.2	3.7	95
25	2	29	14	0.8	10	10	ND	16	15	ND	1.6	*	3.2	100
	4	5.6	12	1.1	18	2.5	ND	3.4	24	26	1.4	1.2	3.5	99
	6	1.0	20	1.9	20	9.9	ND	9.3	15	19	*	1.6	4.1	102
	8	1.5	13	1.6	23	18	ND	26	8.2	5.2	*	2.1	6.7	105
	10	1.3	12	1.8	21	24	ND	18	12	7.0	*	2.3	5.2	105
50	2	28	22	0.6	15	2.1	1.4	23	5.7	ND	7.0	*	1.8	110
	4	2.3	22	1.1	22	7.3	2.7	10	4.5	25	1.0	0.8	3.0	102
	6	0.6	19	1.1	25	6.9	2.2	16	3.3	27	*	1.8	6.6	109
	8	1.2	12	0.9	26	6.6	1.8	22	4.6	9.3	*	0.4	7.7	93
	10	1.0	19	0.9	27	16	2.0	30	5.9	ND	ND	1.0	10	113
3500	2	23	18	ND	16	4.2	0.5	27	10	ND	12	ND	0.3	111
	4	6.8	13	ND	25	6.1	1.1	25	5.7	16	5.7	ND	4.6	109
	6	5.6	12	ND	24	7.1	ND	6.1	3.0	42	1.5	ND	5.2	107
	8	3.0	9.4	ND	25	11	ND	17	7.9	15	1.4	ND	9.6	99
	10	2.4	7.9	ND	25	12	ND	18	6.3	17	ND	ND	12	101

\*; less than 0.05%, ND; not detectable

化水素による酸生成阻害は起こらなかった。メタン生成細菌は遊離硫化水素の影響を受けやすく、60mgS・l<sup>-1</sup>程度で阻害を受けると報告されている<sup>25)</sup>。

## (2) スクロース分解の代謝経路に及ぼすCOD/S比およびHRTの影響

基質中のスクロースは、嫌氣的分解によって、揮発性脂肪酸、乳酸、エタノールおよび水素、二酸化炭素、メタンに転化された。揮発性脂肪酸の主成分は*n*-酪酸(187-1630mgCOD・l<sup>-1</sup>)、酢酸(406-2530mgCOD・l<sup>-1</sup>)およびプロピオン酸(136-1620mgCOD・l<sup>-1</sup>)である。*i*-酪酸は低濃度(0-121mgCOD・l<sup>-1</sup>)であり、吉草酸およびカプロン酸は検出されなかった。図-2に、水素生成速度に及ぼすCOD/S比の影響を示す。水素生成速度は、COD/S比の低下に伴い低くなったが、この現象はHRT2hの条件で顕著であった。水素は硫酸塩還元細菌の電子供与体として利用されやすいため、硫酸塩還元反応が進むに従って水素の消費量が増大して、生成速度の低下が起こると考えられる。図-3に、揮発性脂肪酸、乳酸およびエタノール濃度に及ぼすCOD/S比およびHRTの影響を示す。COD/S比が変化すると、代謝産物の濃度および組成が大幅に変化することがわかった。揮発性脂肪酸濃度の変化は、主に*n*-酪酸濃度の変動によるものである。COD/S比の低下の伴ってエタノール濃度が低下し、COD/S比が13

の場合には、HRT6hの反応槽以外ではエタノールが検出されなくなった。一方、乳酸濃度は、COD/S比の低下に伴い、HRT2, 4hの反応槽で大幅に増大して最大で2440mgCOD・l<sup>-1</sup>の高濃度で検出された。代謝産物濃度がCOD/S比によって変化するため、酸生成段階で硫酸塩還元反応が進行した場合、スクロースの代謝経路は変化すると考えられる。嫌氣的有機物質分解の酸生成段階に関与する細菌は多種多様であり、混合培養系の場合、その代謝経路はきわめて複雑である。グルコースの分解では、ヘテロ発酵(水素、酢酸、酪酸を生成)、ヘテロ乳酸発酵(乳酸、エタノールを生成)、アセトン・ブタノール発酵(アセトン、ブタノールを生成)などいくつかの代謝経路が知られている<sup>26)</sup>。また酸生成細菌の中には、*Clostridium beijerinckii*<sup>27)</sup>、*C. fallax*<sup>28)</sup> および *C. quinii*<sup>29)</sup> のように、水素分圧、pHおよび基質濃度など周囲の環境条件に応じて、酸生成からアルコール生成に代謝の変換を行う細菌も存在する。

## (3) COD収支および硫黄収支

表-3に定常状態における反応槽のCOD収支を示す。流出CODを100%として、流出CODは残留スクロース、代謝産物(酢酸、プロピオン酸、*i*-酪酸、*n*-酪酸、乳酸およびエタノール)、液相部の全硫化物、気相部の硫化水素、メタン、水素およびMLVSSからそ

表-4 硫黄収支

COD/S	HRT(h)	Effluent (%)				Recovery(%)
		Sulfate-S(%)	Total sulfide-S(%)	H <sub>2</sub> S-S(%)	Cell-S(%)	
13	2	77	8.2	1.3	4.6	91
	4	73	15	5.5	4.7	98
	6	54	16	3.9	4.7	79
	8	34	23	14	3.7	75
	10	40	21	7.5	3.7	72
25	2	74	9.7	2.6	6.8	93
	4	55	14	15	5.6	90
	6	35	23	20	9.8	88
	8	6.4	20	26	6.3	59
	10	6.5	22	2.9	2.7	63
50	2	67	15	8.6	21	102
	4	33	28	20	21	102
	6	5.3	27	45	18	95
	8	2.3	22	32	11	67
	10	7.4	22	24	18	71

それぞれの回収率を算出した。MLVSSおよび硫化水素のCOD換算係数は、それぞれ1.416mgCOD・mgMLVSS<sup>-1</sup>、2.857mgCOD・mlH<sub>2</sub>S<sup>-1</sup>とした。エタノールへの転化は、HRT4、6hの反応槽で著しく、最大で42% (COD/S比:3500, HRT6h)に達している。また、乳酸への転化はHRT2、4hの反応槽でCOD/S比が13の場合に24%に達した。エタノールおよび乳酸への転化は、主にHRT6h以下の反応槽で見られるが、その割合はCOD/S比の変化により大きく変化している。生成ガス中の水素の割合は、COD/S比の低下に伴い、大幅に低下している。特にHRT2hの反応槽では、12%から1.5%まで低下している。MLVSSの割合は、COD/S比およびHRTの変化により7.9-22%で変動しており、COD回収率に影響を及ぼしていることがわかる。

表-4に定常状態における硫黄の収支を示す。硫酸塩として流入した硫黄は、反応槽内で硫酸塩還元反応によって硫化物に還元された。硫黄は、残留硫酸塩-S、液相部の全硫化物-S、気相部に放出された硫化水素-S、菌体-Sとして回収した。菌体-S量は細胞組成式C<sub>5</sub>H<sub>7</sub>O<sub>2</sub>NP<sub>0.06</sub>S<sub>0.1</sub><sup>30)</sup>に従って算出した。HRTが6hより短い場合、回収率は79-102%だが、HRTが8、10hの場合では59-75%まで低下する。この原因としては、液相部に元素状硫黄が生成して、硫黄を十分に回収できなかったことが予想される。HRTが6-10hの場合、硫化水素として回収した硫黄が3.9-45%である。酸生成相はpHが低いため、化学平衡(H<sub>2</sub>S ⇌ HS<sup>-</sup> + H<sup>+</sup>)により遊離硫化水素濃度が高くなり、気相部に放出される硫黄分が多くなっていると考えられる。逆に、メタン生成相のpHは中性付近であるため、生成した硫化物が液相に残留しやすい。水野ら<sup>31)</sup>は、酪

酸分解からのメタン生成に及ぼすCOD/S比の影響を検討して硫黄の収支を算出した結果、全硫化物-Sおよび硫化水素-Sはそれぞれ12-25%、1-5%であったと報告している。この研究ではpHが7.2-8.1であるため、本研究に比べると硫化水素-Sの割合がかなり低くなっている。

#### (4) 生菌数

図-4に、水素資化性および乳酸資化性硫酸塩還元細菌の生菌数を示す。COD/S比が3500の場合でも、すべてのHRT条件で硫酸塩還元細菌が10<sup>5</sup>-10<sup>6</sup>MPN・ml<sup>-1</sup>の範囲で検出された。COD/S比が3500の場合における基質中の硫酸塩濃度はわずかに2.9mg S・l<sup>-1</sup>でHRTも短い条件であり、硫酸塩還元が十分に起こらないと考えられるが、硫酸塩還元細菌は生息している。ChartrainとZeikus<sup>32)</sup>は、ラクトースの嫌氣的分解において、硫酸塩が無い場合でも硫酸塩還元細菌は10<sup>8</sup>-10<sup>9</sup>MPN・ml<sup>-1</sup>という高い値で検出されたことを報告しており、この場合硫酸塩還元細菌は共生酢酸生成細菌として役割を担っていると考察している。COD/S比が低くなると、生菌数は大幅に増加して最大で10<sup>7</sup>MPN・ml<sup>-1</sup>(乳酸資化性硫酸塩還元細菌)、10<sup>8</sup>MPN・ml<sup>-1</sup>(水素資化性硫酸塩還元細菌)に達した。硫酸塩還元細菌は数種類の基質を利用できるため、乳酸資化性として検出された硫酸塩還元細菌でも、実際には電子供与体として有利な水素を利用していると考えられる。酸生成相であっても、硫酸塩を添加すると硫酸還元細菌は硫酸塩還元反応によって10<sup>-10</sup>3倍まで増加することがわかった。また、硫酸塩還元細菌は硫酸塩が無い状態でも発酵によって生息可能であり、酢酸生成細菌としての役割を担っている

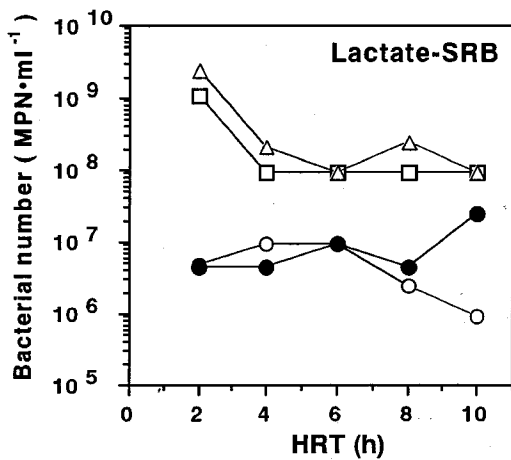
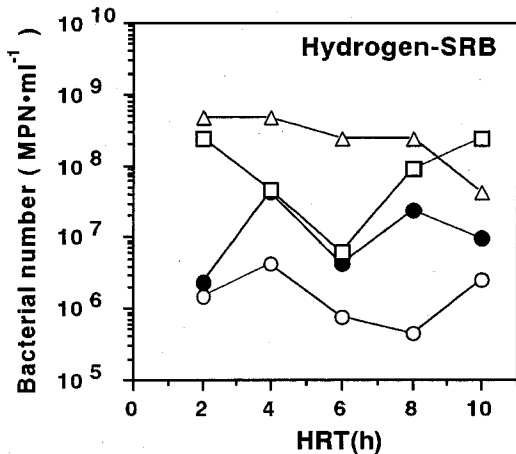


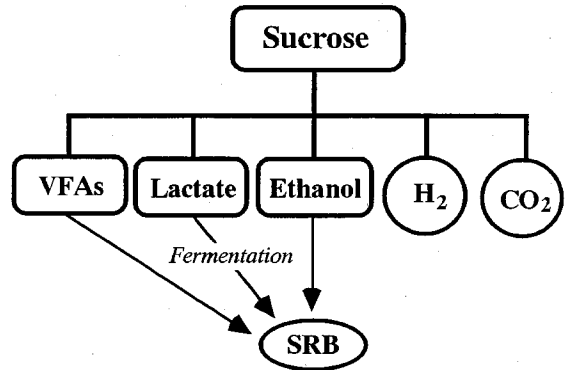
図-4 硫酸塩還元細菌の生菌数

COD/S ratio —△— 13    —□— 25  
 —●— 50    —○— 3500

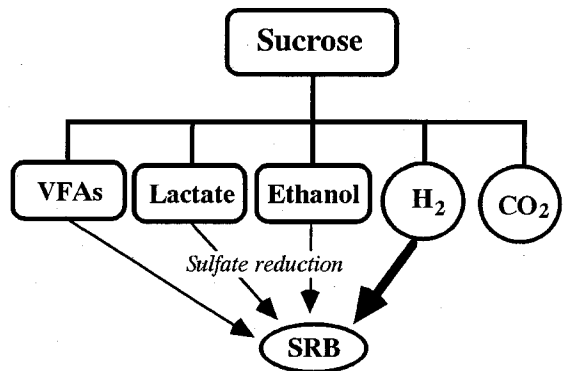
と推察される。Desulfovibrio 属が乳酸を発酵して増殖することはよく知られているが、糖も硫酸塩還元細菌によって利用される。(Desulfobacterium autotrophicum<sup>33)</sup> は malate および fumarate を、Desulfotomaculum nigrificans<sup>34)</sup> および Dtm. geothermicum<sup>35)</sup> はフルクトースを発酵によって利用するが、酸生成細菌に比較して増殖速度が遅く、基質競争は起こらないと考えられる。

#### (5) 酸生成相に及ぼす硫酸塩還元の影響

本研究では、酸生成相において硫酸塩還元反応が進行して硫化物が生成されることにより、スクロース代謝経路の変化が起こることが示された。特に、COD/S 比の変化に伴った乳酸およびエタノール濃度の変動幅が大きく、硫酸塩還元は酸生成、アルコール生成に影響を与えていることがわかった。硫酸塩還



(a) Sulfate-depleted condition COD/S: 3500



(b) Sulfate-rich condition COD/S: 13, 25, 50

図-5 酸生成相に及ぼす硫酸塩還元細菌の影響

元に伴い水素の生成速度が著しく減少しているため、硫酸塩還元反応の電子供与体として水素が利用されていると考えられる。生菌数から見た場合、COD/S比が高く硫酸塩還元がほとんど行われていない条件でも、硫酸塩還元細菌は検出され、その生息が確認された。

以上のような考察から、酸生成相に及ぼす硫酸塩還元細菌の影響を図-5に示す。COD/S比が高い場合、硫酸塩還元細菌は、代謝産物を発酵によって利用していると考えられる。この場合、「硫酸塩還元細菌」としての活動をしていないため、酸生成相に影響を及ぼしても判別ができない。COD/S比が低くなると、硫酸塩還元細菌は水素を主な電子供与体として硫酸塩還元を行い、硫化物を生成する。

#### 4. 結論

本研究から以下のような結論が得られた。

- 1) 硫酸塩還元反応はHRT2hでも進行し、HRT6-10h

では硫酸塩除去率は高く 23-66%であった。

2) 溶存硫化物濃度が  $136\text{mg S}\cdot\text{l}^{-1}$ 、遊離硫化水素濃度が  $99\text{mg S}\cdot\text{l}^{-1}$  であってもスクロースの分解は阻害を受けなかった。

3) 硫酸塩還元はスクロースの酸発酵に影響を及ぼし、代謝産物(揮発性脂肪酸, 乳酸, エタノール)の生成割合が変化した。特に, エタノールおよび水素の割合は COD/S 比の低下に伴い減少した。COD/S 比が 13-50 の条件では, 硫酸塩還元の主な電子供与体として水素が利用されていると考えられる。

4) 硫酸塩還元細菌の生菌数は COD/S 比の低下に伴い増加し, 最大で  $10^7\text{-}10^8\text{MPN}\cdot\text{ml}^{-1}$  であり, 酸生成相において硫酸塩還元細菌が増殖できることがわかった。一方, COD/S 比が高く, 硫酸塩還元がほとんど行われない状態でも硫酸塩還元細菌は  $10^4\text{-}10^6\text{MPN}\cdot\text{ml}^{-1}$  検出された。

**謝辞:** 本研究を進めるにあたり, 実験の面でご協力いただいた東北大学工学部学生 渡尚志氏(当時)に感謝します。

#### 参考文献

- 1) Collieran, E., Finnegan, S. and Lens, P.: Anaerobic treatment of sulphate-containing waste streams, *Antonie van Leeuwenhoek*, Vol.67, pp.29-46, 1995.
- 2) Odom, J. M. and River-Singleton, JR.: *The sulfate-reducing bacteria: contemporary perspectives*, Springer-Verlag, 1992.
- 3) Hilton, M. G. and Archer, D.B.: Anaerobic digestion of a sulfate-rich molasses wastewater: inhibition of hydrogen sulfide production., *Biotechnology and Bioengineering*, Vol.31, pp.885-888, 1987.
- 4) Olsson, L.-E. and Schleicher, O.: Anaerobic-aerobic treatment of black liquor from an NSSC pulp mill including a sulphur recovery plant, In: Proceedings of the 7th International Symposium on Anaerobic Digestion: Oral Papers, pp.160-169, RSA(Litho) Ltd., Goodwood, South Africa, 1994.
- 5) Reis, M. A. M., Gonçalves, L. M. D., M. J. T. and Carrondo, M. J. T.: Sulfate reduction in acidogenic phase anaerobic digestion, *Water Science and Technology*, Vol.20, pp.345-351, 1988.
- 6) 柴崎和夫, 小林茂, 足利伸行, 毛受卓: UASB 型リアクターによるパン酵母培養廃水の処理特性, 水環境学会誌, Vol.18, pp.373-381, 1995.
- 7) 小林浩志, 戸田浩之, 長野晃弘, 有川悦朗: メンブレン・バイオリアクターによる糖蜜アルコール発酵廃液の嫌気性処理, 第 27 回衛生工学研究討論会講演集, pp.43-45, 1991.
- 8) Hansen, T. A.: Carbon metabolism of sulfate-reducing bacteria, In: Odom, J. M. and River-Singleton, JR. (eds) *The Sulfate-Reducing Bacteria: Contemporary Perspectives* (pp.21-40) Springer-Verlag, 1993.
- 9) Kristjansson, J. K., Schönheit, P. and Thauer, R. K.: Different  $K_s$  values for hydrogen of methanogenic bacteria and sulfate-reducing bacteria: an explanation for the apparent inhibition of methanogenesis by sulfate, *Archives of Microbiology*, Vol.131, pp.278-282, 1982.
- 10) Yoda, M., Kitagawa, M. and Miyaji, Y.: Long term competition between sulfate-reducing and methane-producing bacteria for acetate in anaerobic biofilm, *Water Research*, Vol.21, pp.1547-1556, 1987.
- 11) Szewzyk, R. and Pfennig, N.: Competition for ethanol between sulfate-reducing bacteria and fermenting bacteria, *Archives of Microbiology*, Vol.153, pp.470-477, 1990.
- 12) Wu, W.-M., Hickey, R.F. and Zeikus, J.G.: Characterization of metabolic performance of methanogenic granules treating brewery wastewater: role of sulfate-reducing bacteria, *Applied and Environmental Microbiology*, Vol.57, pp.3438-3449, 1991.
- 13) Visser, A., Beekama, I., van den Zee, F. and G. Lettinga.: Anaerobic degradation of volatile fatty acids at different sulphate concentrations, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol.40, pp.549-556, 1993.
- 14) Mizuno, O., Li, Y. Y. and Noike, T.: Effects of sulfate concentration and sludge retention time on the interaction between methane production and sulfate reduction for butyrate., *Water Science and Technology*, Vol.30, pp.45-54, 1994.
- 15) Uberoi, V. and Bhattacharya, S. K.: Interactions among sulfate reducers, acetogens, and methanogens in anaerobic propionate systems, *Water Environment Research*, Vol.67, pp.330-339, 1995.
- 16) 徐正仁, 福井学, 漆川芳國, 森忠洋: 嫌気性汚泥におけるメタン生成の支配因子としての硫酸塩および硫化物, 水環境学会誌, Vol.16, pp.633-637, 1993.
- 17) Li, Y.Y., Lam, S. and Fang, H.H.P.: Interaction between methanogenic, sulfate-reducing and syntrophic acetogenic bacteria in the anaerobic degradation of benzoate, *Water Research*, Vol.31, (in press), 1996.
- 18) 水野修, 李玉友, 野池達也: スクロースの酸発酵に及ぼす硫酸塩還元の影響, 水環境学会誌, Vol.18, pp.894-900, 1995.
- 19) 日本下水道協会: 下水試験方法, 1974.
- 20) Isa, Z., Grusenmeyer, S. and Verstraete, W.: Sulfate reduction relative to methane production in high-rate anaerobic digestion: microbiological aspects, *Applied and Environmental Microbiology*, Vol.51, pp.580-587, 1986.
- 21) Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. and Smith, F.: Colorimetric method for determination of sugars and related substances, *Analytical Chemistry*, Vol.28, pp.350-356, 1956.
- 22) 上村繁樹, 原田秀樹, 桃井清至, 長岡英明: UASB 法による低濃度有機排水の嫌気性処理, 土木学会第 43 回年次学術講演会, pp.1068-1069, 1988.
- 23) Widdel, F.: Sulfate- and sulfur-reducing bacteria. In: Zehnder A. J. B. (ed) *Biology of anaerobic microorganisms*,



Wiley Interscience, 1988.

- 24) Nethe-Jaenchen, R. and Thauer, R. K.: Growth yields and saturation constant of *Desulfovibrio vulgaris* in chemostat culture, *Archives of Microbiology*, Vol.137, pp.236-240, 1984.
- 25) Parkin, G. F., Lynch, N. A., Kuo, W.-C., Van Keuren, E. L. and Bhattacharya, S. K.: Interaction between sulfate reducers and methanogens fed acetate and propionate, *Research Journal of Water Pollution Control Federation*, Vol.62, pp.780-788.
- 26) 上木勝司, 永井史郎編著: 嫌気性微生物学, 養賢堂, 1993.
- 27) Yan, R.-T., Zhu, C.-X., Golemboski, C. and Chen, J.-S.: Expression of solvent-forming enzymes and onset of solvent production in batch cultures of *Clostridium beijerinckii* ("*Clostridium butylicum*"), *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 54, pp.642-648, 1988.
- 28) Ueki, A., Ueki, K., Tanaka, K., Takahashi, R. and Takano, T.: End products and molar growth yield of *Clostridium fallax* isolated from an anaerobic digester, *Journal of Fermentation and Bioengineering*, Vol.72, pp.274-279, 1991.
- 29) Svensson, Bo H., Dubourguier, H.-C., Prensier, G. and Zehnder, A. J. B.: *Clostridium quinii* sp. nov., a new saccharolytic anaerobic bacterium isolated from granular sludge, *Archives of Microbiology*, Vol. 157, pp.97-103, 1992.
- 31) 水野修, 李王友, 野池達也: 酪酸の嫌気的分解に及ぼす硫酸塩濃度およびCOD/S比の影響, 水環境学会誌, Vol.16, pp.99-107, 1993.
- 30) 富沢健二, 木全隆: 嫌気性微生物を利用した新しい下水処理技術の開発調査, 日本下水道事業団技術開発部技術開発部報, pp.77-97, 1987.
- 32) Chartrain, M. and Zeikus, J. G.: Microbial ecophysiology of whey biomethanation: characterization of bacterial trophic population and prevalent species in continuous culture, *Applied and Environmental Microbiology*, Vol.51, pp.188-196, 1986.
- 33) Brysch, K., Schneider, C., Fuchs, G. and Widdel, F.: Lithoautotrophic growth of sulfate-reducing bacteria and description of *Desulfobacterium autotrophicum* gen. nov., sp. nov., *Archives of Microbiology*, Vol.148, pp.264-274, 1987.
- 34) Klemps, R., Cypionka, H., Widdel, F. and Pfennig, N.: Growth with hydrogen, and further physiological characteristics of *Desulfotomaculum* species, *Archives of Microbiology*, Vol.143, pp.203-208, 1985.
- 35) Daumas, S., Cord-Ruwisch, R. and Garcia, J. L.: *Desulfotomaculum geothermicum* sp. nov., a thermophilic, fatty acid-degrading, sulfate-reducing bacterium isolated with H<sub>2</sub> from geothermal ground water, *Antonie van Leeuwenhoek*, Vol.54, pp.465-478, 1988.

(1996.2.5 受付)

## EFFECT OF COD/S RATIO ON SULFATE REDUCTION AND THE CHARACTERISTICS OF SUCROSE DEGRADATION IN ACIDOGENIC PHASE

Osamu MIZUNO, YuYou LI and Tatsuya NOIKE

The effects of COD/S ratio and HRT on sulfate reduction and the characteristics of sucrose degradation in acidogenic phase were investigated by using continuous anaerobic chemostat reactor at 35°C. Sulfate reduction occurred in acidogenic phase even at HRT of 2h and influent sulfate was effectively removed at HRT of 6 to 10h. Sucrose degradation was not inhibited although total sulfide and free-H<sub>2</sub>S increased up to 187mg·l<sup>-1</sup>, 99mgS·l<sup>-1</sup>, respectively. The metabolites, especially H<sub>2</sub>, ethanol and lactate production in acidogenesis were significantly influenced by COD/S ratio.