

嫌気性消化の酸生成相における律速段階について

東北大学 正員 野池達也

同 学生員 ○遠藤銀朗

同 学生員 矢口淳一

1. はじめに 近年嫌気性消化の各相が各々分離され独立して研究されるにつれ、各相に参与する嫌気性細菌群の特性に関するより詳細な知見が報告されつつある。特にメタン生成菌の増殖や代謝の活性は酸生成菌のそれよりもかなり小さいことが多くの研究者によって示され、メタン生成相が嫌気性消化過程の律速段階であると考えられている。嫌気性消化の酸生成相は投入有機物の加水分解反応と揮発性脂肪酸発酵を行う過程であり、この相においても律速段階が存在するものと考えられる。この相の律速段階は不溶性の高分子有機物の分解の際に重要とみなされる。本研究は下水汚泥の典型的な不溶性有機物としてセルロース粉末を用いて酸生成反応の速度決定機構と加水分解反応の動力学的特性を知るためになされた。

2. 実験材料、装置および方法。 槽汚泥：都市下水汚泥の嫌気性消化槽より採取した消化汚泥を下記の合成基質に4ヶ月間以上馴致させたものを用いた。投入基質：粉末状紙(200×300×3mm)を単一有機炭素源、重炭酸アンモニウムを単一窒素源とし無機栄養塩類を添加した最小培地組成のもので、この基質の糖濃度はグルコースとして5550 mg/l, pHは8.44, C/N比は5.0である。この合成基質の化学的組成を表-1に示した。実験装置：基質の連続的投入とガス循環による混合液の連続的引き抜きの可能な嫌気的ケモスタット反応槽を用いた。この装置の概略を図-1に示した。実験方法：固形物滞留時間(SRT)を流入流量と反応容積によって1.94〜13.3日に変化させ、各分析項目の定常状態が得られるまで各SRTで1〜2ヶ月間連続実験を行った。基質ポンプのつまりを防ぐためタイマーを併用し間欠的に基質投入がなされた。反応槽は35℃に保たれた恒温水槽中で加温した。

3. 実験結果および考察。 各SRTにおける定常状態での残存糖濃度に関する結果を平均値として図-2に示した。全糖類のうち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糖類は速やかに細菌に摂取されて、異化や同化の代謝に利用されると考えられる。したがって天然セルロースのような不溶性の多糖類は、結晶化し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て還元糖と生成する過程の反応速度が小さいことによって、嫌気的条件下での分解に制限を与えられるものと考えられる。SRT 1.94日におけるセルロースの分解率は約2%程度であるのに対して、SRTの増加とともに分解率も増加しSRT 13.3日には約54%の多糖類が除去された。図-3に、各SRTの実験において発酵された揮発性脂肪酸の濃度とpHの定常状態における平均値を示した。総有機酸(TOA)はSRT 4.79日まではSRTの増加に伴って単調に増加するが、それ以上のSRTでの増加は少ない。成分中最も多い酸は酢酸であるが通常の汚泥消化では微量にしか存在しない酸が見られる一方、一般によく検出される脂肪酸である酪酸の生成は示さ

表-1. 合成基質の化学的組成

成 分	濃 度 (mg/l)
セルロース	5000
NH_4HCO_3	2240
K_2HPO_4	125
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	100
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	15
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	5
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.125
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	25

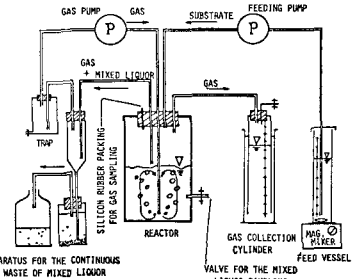


図-1. 実験装置概略図

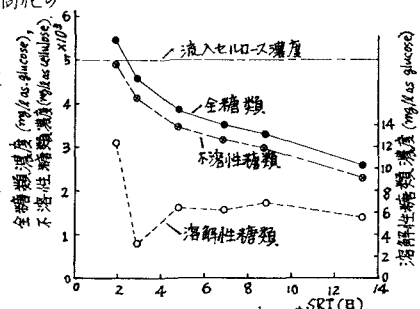


図-2. 各SRTにおける残存糖類濃度

れず、特別な細菌叢が関与しているものと考えられる。図-4に、定常状態でのガス発生状況を示した。全ガス発生速度に対してメタンガス発生速度は β RT 1.94日では小さか

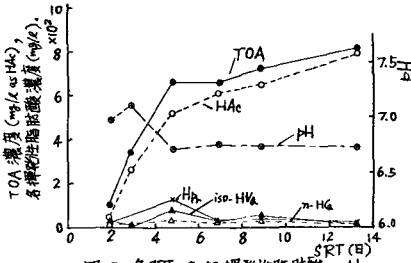


図-3. 各SRTにおける揮発性脂肪酸とpH

ったが、2.87日以上では比較的高く、6.93日以上では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見られた。図-5に、各 β RTにおけるセルロース分解速度と比分解速度を示した。比分解速度は単位菌体当りのセルロース分解速度である。セルロースの分解速度は β RT 4.79日において最大であるが、比分解速度は β RTの減少につれて増加した。図-6に、各 β RTにおけるTOA生成速度と比TOA生成速度を示した。真の生成に対するものは、メタン生成菌によるTOAの消費を考慮して求めたものである。比生成速度は β RTの減少につれて増加したが、生成速度の最大値は β RTが4.79日において得られ、セルロースの分解速度が最大となる β RTと一致した。顕微鏡観察によれば、セルロース粒子に対する細菌の攻撃形態は β RTによって異なり、一般に β RT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、 β RTが長い場合には付着することなしに攻撃することが知られた。したがって β RTによってセルラーゼの種類や分泌の方法が変化し、このことがセルロースの分解やそれに関与する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考えられる。

酵素セルラーゼを用いた研究では、セルロース濃度と加水分解速度との関係はMichaelis-Menten式に従うことが報告されているが、嫌気性細菌による分解に関する本研究において得られた結果はMichaelis-Menten式には適合せず、単位菌体濃度あたりの基質濃度を分解の制限因子とするCoytoisのモデルと同形の次式に最もよく適合した： $V = \frac{V_{max} \cdot (S/X)}{K_{SL} + (S/X)} \dots (1)$ [V , V_{max} 比セルロース分解速度と最大比分解速度, S ; 基質濃度, X ; 菌体濃度]。またTOAの比生成速度に関しては同じく次式が適合でた： $\lambda_T = \frac{\lambda_{Tmax} \cdot (S/X)}{K_{ST} + (S/X)} \dots (2)$ [λ_T , λ_{Tmax} 比TOA生成速度と最大比生成速度], これらの両式のLineweaver-Burk型のプロットを各々図-7と8に示した。 β RTが比較的に長い場合はメタン菌の活性と細菌の攻撃形態の変化が見られたため回帰分析から除外した。これらの回帰直線より $V_{max}=1.11/\text{日}$, $\lambda_{Tmax}=0.94/\text{日}$ が得られ、これらの値はグルコースと基質とする場合の各々 $1/60$ と $1/20$ と小さいことが知られた。(参考文献) 松本, 野地, 遠藤, 林学会報 (1979)

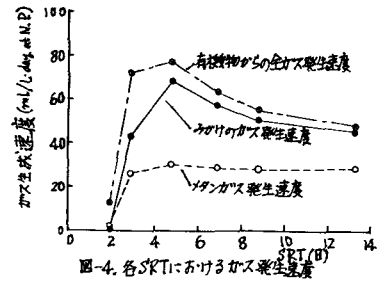


図-4. 各SRTにおけるガス発生速度

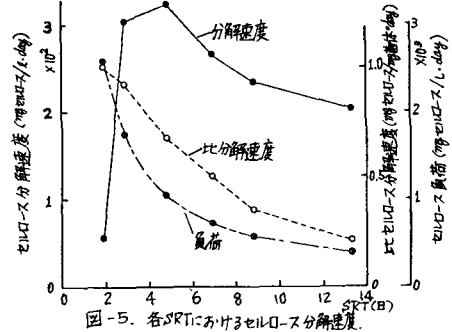


図-5. 各SRTにおけるセルロース分解速度

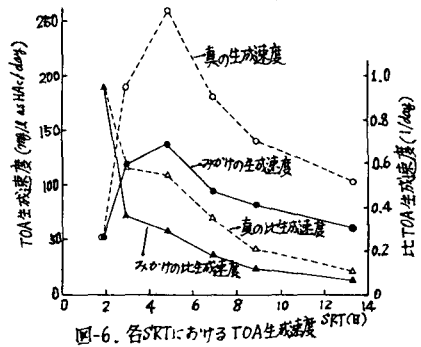


図-6. 各SRTにおけるTOA生成速度

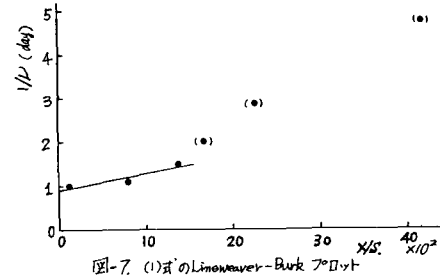


図-7. (1)式のLineweaver-Burkプロット

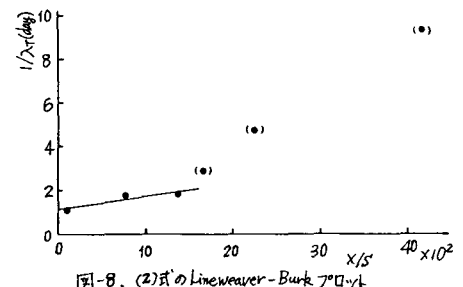


図-8. (2)式のLineweaver-Burkプロット