

Ⅱ－ 7 8 嫌気性消化におけるホモ酢酸生成菌の測定について

○東北大学大学院 学 張 天成
東北大学工学部 学 浜崎 務
東北大学工学部 正 野池達也

1. はじめに

嫌気性消化プロセスにおけるホモ酢酸生成菌は、重要な4代謝グループの一つとして取りあげられる。その役割は、有機化合物や炭酸ガス等から酢酸を生成することである。したがって、ホモ酢酸生成菌はメタン菌と硫酸還元菌、あるいはAcetogenic菌の種間 H_2 の伝達と基質の利用の競合に対して、酸発酵に貢献する重要な役割を担っている。しかし、ホモ酢酸生成菌についての研究はメタン菌、acetogenic菌あるいは硫酸還元菌の研究に比べてとても少なく、この菌群に対する認識は余りはっきりしないのが現状と言える。そこで本研究においてはホモ酢酸生成菌の測定について実験、検討した。

2. 実験装置および方法

①実験装置と基質 実験装置はFig.1 に示した。基質の組成は蒸留水 1 ℓ 当たり、starchi, 10.5g; NH_4HCO_3 , 4.74g; $NaHCO_3$, 2.0g; K_2HPO_4 , 0.125g 及び無機塩⁽¹⁾ である。運転条件はSRT がそれぞれ10.2日、5.0日、2.5日、2.0日、1.0日、0.5日、0.25日、0.175日と調整した。

②ホモ酢酸生成菌の測定 ホモ酢酸生成菌の計数はMPN 法（五管法、36℃で4週間以上培養する）により、それぞれ KH_2PO_4 , 0.4g; K_2HPO_4 , 0.4g; NH_4Cl , 1.0g; $MgCl$, 1.0g; Yeast extract, 2.0g; Digester fluid, 50ml; $NaHCO_3$, 10.0g; Mmineral solution, 20ml; Vitamin solution, 20ml; 還元剤 Cysteine HCL H_2O , 0.5g; $NaS_2 \cdot 9H_2O$, 0.25g; 炭素源 H_2 (80%) + CO_2 (20%), 1.5atm, オートクレーブで滅菌した後、pHを7.0 ～7.2 に調節した。生育した試験管の本数はガス組成（ CO_2 ガスと CH_4 ガスの有無）と VFA（HAC蓄積の有無）を検討することによって決定した。嫌気性操作法は、Hungate のガス噴射法を用い、噴射ガスは350℃還元剤カラムによって還元された CO_2 ガスを用いた。

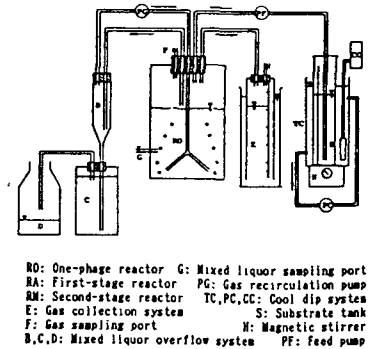


Fig. 1 Schematic of experimental apparatus.

3. 実験結果及び考察

①生育した試験管の本数のチェック H_2 と CO_2 を基質として利用できる細菌は、少なくとも3種類がある。すなわち、ホモ酢酸生成菌、 H_2 資化性メタン生成菌及び硫酸還元菌である。したがって、ホモ酢酸生成菌を測定するにおいては、 H_2 資化性メタン生成菌と硫酸還元菌の影響を考えなければならない。一方、ホモ酢酸生成菌の培地の中に微量元素を提供する為に、Yeast extract と反応槽の上澄液を加えたので、これらの基質は酸生成菌によって、分解されて、酢酸を生成する可能性がある。したがって、酢酸の生成の有無を検討するだけでなく、ガス組成の CH_4 ガスと CO_2 ガスの有無あるいはその量を検討しなければならないと思われる。本研究において、硫酸還元菌の菌数はおよそ 10^6 個/mlで、ホモ酢酸生成菌の測定に対する影響が無視できるが、もし、硫酸還元菌の菌数、 H_2 資化性メタン生成菌の菌数およびホモ酢酸生成菌の菌数が同程度である場合は、硫酸還元菌と H_2 資化性メタン生成菌との阻害剤（ Na_2MoO_4 , Chlorform）を添加する必要があると思われる。図2-1では、 CO_2 ガス（保留時間0.76～0.89の間にピークがでてくる）は減少してい

るが、CH₄ ガス（保留時間0.54にピークがでてくる）も出ているため、図2-1のみによつて、ホモ酢酸生成菌が存在するとは判断できない。図2-2の場合には、このような判断が無難であると思われる。したがって、図2と図2-3のVFA 濃度を測定することによつて、MPN を決定するわけである。

②培養時間　ホモ酢酸生成菌の世代時間は2時間から25時間であり、メタン菌より早く増殖するようであるが、図3の示すように、計数のためには、培養時間3～4週間が必要である。

③本研究においてホモ酢酸生成菌の菌数

表1に示したように、生育したホモ酢酸生成菌は10⁶～10¹⁰個/mlであるが、SRT によつて、菌数かなり違う。SRT が1日より長い場合には、滞留時間の減少に伴つてホモ酢酸生成菌の菌数は減少していく傾向が見られる。これは、この時、反応槽内のH₂ガスがほぼ0.2 %以下であるから、H₂+CO₂ 利用性のホモ酢酸生成菌は増殖しにくいと思われる。SRT が1日から0.5 日の間は、菌数は増大していく傾向が見られる。この時、反応槽内のH₂ガスが5 % (SRT=0.8日)～35% (SRT=0.175日) ほどであるから、H₂+CO₂ 利用性のホモ酢酸生成菌は増殖しやすいと思われる。SRT が0.5 日の時に、菌数は3.5×10¹⁰ Cell/mlで最大であった。SRT をさらに短くした場合は、菌数は減少していく傾向が見られる。これはホモ酢酸生成菌の Washout 現象が起つていると思われる。以上の結果より、ホモ酢酸生成菌の菌数は、SRT の変化によつて、変化した。

4. おわりに

今後、ホモ酢酸生成菌の活性と他の細菌の関係についても研究を行う予定である。

参考文献

- (1) 遠藤、野池、松本： 嫌気性消化の酸生成相におけるセルロースの分解特性、土木学会論文報告集、No.325,1982-9
- (2) 李玉友、野池： 汚泥の嫌気性消化におけるメタン菌および Acetogenic 菌の挙動、土木学会第43回年次学術講演会講演概要集 II-503、pp 1042～1043、1988

