<論 文>

酪酸の嫌氣的分解に及ぼす硫酸塩濃度および COD/S 比の影響

水 野 修* 李 玉 友** 野 池 達 也*

Effects of Sulfate Concentration and COD/S Ratio on the Anaerobic Degradation of Butyric Acid

Osamu MIZUNO*, Yu-You LI** and Tatsuya NOIKE*

* Dept. of Civil Engineering, Faculty of Engineering, Tohoku University, Aoba, Sendai 980 Japan

** Dept. of Civil and Structural Engineering, University of Hong Kong, Pokulam Road, Hong Kong

Abstract

Effects of sulfate concentration and COD/S ratio on the methane production and sulfate reduction in the anaerobic degradation of butyric acid were investigated by using an anaerobic chemostat-type reactor at 35°C. The sulfate concentration and COD/S ratio were changed in the ranges of 68 to 1667 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ and 1.5 to 148, respectively. In order to study the competition between the methane producing bacteria (MPB) and sulfate-reducing bacteria (SRB), the COD mass balance, electron flow, sulfur balance and trophic-groups bacterial populations under the different conditions were analyzed quantitatively.

The competition between MPB and SRB was evidently influenced by COD/S ratio. When COD/S ratio was 6.0 or more, the methane production was the main reaction. On the other hand, 67% of the total electron flow was utilized by SRB when COD/S ratio was 1.5. The path way of butyrate degradation and the microflora in the reactor were also affected by COD/S ratio. The numbers of acetate-consuming and H_2 -consuming MPB decreased from 10^6 to 10^4 $\text{MPN} \cdot \text{ml}^{-1}$ and 10^6 to 10^1 $\text{MPN} \cdot \text{ml}^{-1}$, respectively, as COD/S ratio decreased from 148 to 1.5. In the reactor in which a small amount of sulfate was added to the substrate, the numbers of butyrate-consuming and acetate-consuming SRB were enumerated as high as 10^7 to 10^8 $\text{MPN} \cdot \text{ml}^{-1}$. It is suggested that in sulfate-depleted environment, the butyrate-consuming SRB play an important role in producing H_2 and acetate from butyrate, as well as the acetogenic bacteria.

Key words: butyrate, sulfate-reducing bacteria, methane producing bacteria, competition, electron flow

1. はじめに

嫌氣的な有機物質分解過程では、メタン・二酸化炭素の外に硫化水素の発生することが知られている。硫化水素は、嫌氣性細菌の一種である硫酸塩還元細菌^{1)~5)}が廃水中の有機物質を電子供与体、硫酸塩を電子受容体として硫酸塩還元を行うことにより発生す

る。近年、硫酸塩還元細菌が嫌氣性消化槽に多く存在し、有機物の分解に関与していることが報告されている^{6)~10)}。硫酸塩還元細菌の増殖は、嫌氣性消化に次のような利点をもたらす。

①硫酸塩還元に伴う硫化物の生成により、消化槽内の酸化還元電位が低く維持され、また、生成した硫化物はメタン生成細菌の菌体硫黄源として利用され

* 東北大学工学部土木工学科 〒980 仙台市青葉区荒巻字青葉

** 香港大学土木及結構工程系 香港薄扶林道

る¹¹⁾ため、メタン生成細菌の増殖に有利な環境をつくり出す。

- ②酢酸生成細菌として有機物質の分解に関与し、メタン生成細菌は生成した酢酸を利用する。
- ③生成する S^{2-} は重金属と反応し、メタン発酵に有害な重金属を沈殿・除去する。
- ④硫酸塩還元細菌は、嫌気性消化の中間代謝物や芳香族化合物などを基質として利用し、有機物の分解・除去に役立つ。

一方、次のような問題も引き起こす。

- ①有機基質をめぐるメタン生成細菌と競合¹²⁾し、メタン生成機能を低下させる。
- ②硫化物は悪臭や透明度の低下など流出水の水质を悪化させる。
- ③硫化水素の生成は、設備の腐食¹³⁾など維持管理の問題をもたらす。
- ④硫化水素が大量に発生する場合、メタン生成に阻害作用を及ぼす。

従って、嫌気性処理における硫化水素の発生は、メタンを回収するという嫌気性処理の利点を考慮した場合、決して無視できない問題である。特に産業廃水の中には、パルプ工業廃水¹⁴⁾、醸造廃水、アミノ酸製造廃水、クエン酸工場廃水¹⁴⁾などのように比較的高濃度の硫酸塩を含有するものもあるので、嫌気性消化プロセスにおける硫酸塩還元細菌の挙動を正しく把握しておく必要がある。硫酸塩還元細菌は嫌気性消化における酸生成 (acidogenesis)、酢酸生成 (acetogenesis)、およびメタン生成 (methanogenesis) の各段階に関与する可能性が近年の微生物学的研究によって示唆されている。しかし、嫌気性消化における硫酸塩還元細菌の挙動に関する従来の研究は、そのほとんどがメタン生成細菌との基質競合に集中しており、水素と酢酸をめぐるメタン生成細菌と硫酸塩還元細菌の競合関係は反応熱力学や基質利用動力学などの視点から詳しく研究されているのに対して、その他の基質を用いた研究は比較的少ない。とくに嫌気性消化の重要な中間代謝物である酪酸の嫌氣的分解に及ぼす硫酸塩濃度の影響に関する定量的研究はほとんど行われていないのが現状である。

本研究では、嫌気性処理における中間代謝物のひとつである酪酸を基質として、 COD_{cr}/S 比を変化させた連続実験を行い、メタン生成と硫酸塩還元との競合関係を、物質収支、電子流れおよび細菌叢のデータより定量的に把握するとともに、硫酸塩濃度がメタン発酵に及ぼす影響について検討を行ったものである。

2. 実験方法

2.1 種汚泥

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、酪酸単一基質で馴養したものを用いた。馴養には嫌気性ケモスタット型反応槽を用い、培養温度 $35^{\circ}C$ 、汚泥滞留時間20日の条件で3ヵ月以上培養した。

2.2 実験装置および基質組成

Fig. 1 に、実験に用いたアクリル製の嫌気性ケモスタット型消化槽の概略を示す。反応槽の有効容積は $2,000\text{ml}$ 、内部は発生した消化ガスにより攪拌を行っている。基質は、約 $4^{\circ}C$ に冷却した基質タンクからポンプを用いて半連続的に反応槽内へ投入している。内容物はポンプで引き抜き、消化ガスは酸性飽和食塩水による水上置換で収集した。反応槽は培養温度 $35^{\circ}C$ 、汚泥滞留時間 (SRT) 20日の条件で運転した。

Table 1 に基質の組成を示す。反応槽は Run 1~Run 6まで6本用意し、各基質の酪酸濃度 (COD_{cr} 換算)、 $SO_4^{2-}-S$ 濃度および COD_{cr}/S 比 (以後、 COD_{cr} は COD と略記する) を Table 2 のように変化させた。Run 1~Run 4では、酪酸濃度を $10,000\text{mg}-COD \cdot l^{-1}$ と一定にして $SO_4^{2-}-S$ 濃度を変化させた。また、Run 4~Run 6では、 $SO_4^{2-}-S$ 濃度を $1,667\text{mg} \cdot l^{-1}$ に固定し、酪酸濃度を変化させた。 COD/S 比は1.5, 3, 6, 15, 30および148に設定した。

Fig. 1 Continuous experimental apparatus

Table 1 Composition of substrate for experiments

Composition	Concentration (mg/l)
CH ₃ (CH ₂) ₂ COOH	*
(NH ₄) ₂ HPO ₄	700
NH ₄ Cl	850
KCl	750
MgCl ₂ ·6H ₂ O	810
Na ₂ SO ₄	*
FeCl ₂ ·4H ₂ O	420
NaHCO ₃	*
CoCl ₂ ·6H ₂ O	2.5
MnCl ₂ ·4H ₂ O	2.5
KI	2.5
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.5
H ₂ BO ₃	0.5
NiCl ₂ ·6H ₂ O	0.5
ZnCl ₂	0.5

*: see Table 2

Table 2 Experimental conditions

	Butyric acid (mg-COD/l)	Sulfate-S (mg/l)	COD/S ratio	NaHCO ₃ (mg/l)
Run 1	10000	68	148	2000
Run 2	10000	333	30	1000
Run 3	10000	667	15	1000
Run 4	10000	1667	6	0
Run 5	5000	1667	3	0
Run 6	2500	1667	1.5	0

2.3 分析方法

pH 測定にはガラス電極 pH メーターを用いた。MLSS, MLVSS, COD_{cr} および SO₄²⁻ は下水試験方

法¹⁵⁾により測定した。また、硫化物および溶存硫化物は下水試験方法(ヨウ素滴定法)¹⁵⁾により測定した。遊離硫化水素は Isa ら¹⁶⁾の計算方法により pH 値から算出した。揮発性脂肪酸の定量には、FID-ガスクロマトグラフ(Shimazu GC-8A, ガラスカラム, 充填剤 Green-sorb T KOCL-FM, ヘリウムキャリアガス 1.6kg·cm⁻²)を用いた。ガス組成の測定には、TCD-ガスクロマトグラフ(Shimazu GC-8A, ステンレスバックドカラム, 活性炭充填, ヘリウムキャリアガス 0.75kg·cm⁻²)を用いた。硫化水素は、酢酸亜鉛溶液(20w/v%)により硫化亜鉛(ZnS)として固定し、下水試験方法(ヨウ素滴定法)¹⁵⁾により定量した。細菌叢の観察には、位相差顕微鏡(Olympus, オリンパス生物顕微鏡, model BHC)を用いた。

2.4 メタン生成細菌および硫酸塩還元細菌の細菌数測定

各反応槽の細菌数は、MPN 法(5 本法)により計数した。硫酸塩還元細菌の培地は上村ら⁶⁾のものを、メタン生成細菌の培地は李¹⁷⁾のものをを用いた。培地の組成を Table 3 に示す。培養温度は 35°C, 培養期間は硫酸塩還元細菌, メタン生成細菌ともに 30 日とした。硫酸塩還元細菌の判定は、培地の黒変により行った。また、メタン生成細菌の判定は、気相部におけるメタンの検出(CH₄: 0.5%)で行った。

3. 実験結果および考察

3.1 定常状態における各測定項目の平均値

Table 4 に、各反応槽の定常状態における pH, 揮発性脂肪酸(VFA), 全硫化物-S および SO₄²⁻-S 濃度を示した。揮発性脂肪酸は、Run 5 で酢酸の蓄積が若干見られたほかは、各反応槽において大量の蓄積は見られなかった。全硫化物-S は、Run 4 で 373mg·l⁻¹であったが、揮発性脂肪酸は蓄積しておらず、硫化物による阻害はなかったと言える。SO₄²⁻-S は、Run 1, Run 2 において検出されなかった。Run 4~Run 6 では、COD 濃度が変化しているにもかかわらず、SO₄²⁻-S 濃度はほぼ同じような値になっており、流入した SO₄²⁻-S の約 49%しか利用されていない。SO₄²⁻-S 濃度が高くなった場合、すべての SO₄²⁻-S が硫酸塩還元消費されるわけではないことがわかった。

3.2 メタン生成速度および全硫化物-S 生成速度に及ぼす硫酸塩濃度の影響

Fig. 2 には、基質 COD が 10,000mg·l⁻¹ (Run 1~Run 4) の場合のメタン生成速度、全硫化物-S 生成速度に及ぼす硫酸塩濃度の影響を示した。基質中の硫酸塩濃度が増大するに伴い、全硫化物-S 生成速度が増大している。反面、メタン生成速度は 150(ml CH₄·l⁻¹·

Table 3 Composition of media for sulfate-reducing bacteria and methane producing bacteria

Sulfate-reducing bacteria		Methane producing bacteria	
Composition	Concentration (mg/l)	Composition	Concentration (mg/l)
CH ₃ (CH ₂) ₂ COONa	3000*	CH ₃ COONa	3000*
CH ₃ COONa	3000**	H ₂ (80%) + CO ₂ (20%)**	-
H ₂ (80%) + CO ₂ (20%)*	-	KH ₂ PO ₄	400
Yeast Extract	1000	K ₂ HPO ₄	400
Na ₂ SO ₄	1000	NH ₄ Cl	1000
K ₂ HPO ₄	500	MgCl ₂ ·6H ₂ O	210
MgSO ₄ ·7H ₂ O	2000	NaHCO ₃	6000
CaCl ₂ ·2H ₂ O	100	Mineral solution	10 ml/l
NH ₄ Cl	1000	Vitamin solution	10 ml/l
Na ₂ SO ₃	500	Yeast Extract	200
FeSO ₄ ·7H ₂ O	500	Digester fluid	50 ml/l
NaHCO ₃	6000	Na ₂ S·9H ₂ O	250
Sodium Thioglycollate	100	Cystein·HCl·H ₂ O	500
L(+)-Ascorbic acid	100		
Biotin	0.01		
p-Aminobenzoic Acid	0.05		
Resazurin	2.0		

*: Butyrate consuming sulfate-reducing bacteria
 **: Acetate consuming sulfate-reducing bacteria
 ***: Hydrogen consuming sulfate-reducing bacteria

*: Acetate consuming methane producing bacteria
 **: Hydrogen consuming methane producing bacteria

Table 4 Steady state data

	Run 1	Run 2	Run 3	Run 4	Run 5	Run 6
pH	7.2	7.3	7.5	7.5	7.6	8.1
VFA (mg/l) HAc	41.0	52.4	-	70.2	372.2	-
i-HBu	-	-	53.3	-	-	-
n-HBu	-	-	25.7	58.8	49.6	39.2
Total sulfide-S (mg/l)	8	47	173	373	231	343
SO ₄ ²⁻ -S (mg/l)	-	-	20	830	823	823

-: not detected

d⁻¹) から127 (ml CH₄·l⁻¹·d⁻¹) まで低下し、硫酸塩還元細菌が基質を利用した結果、メタン生成速度が減少していると考えられる。

3.3 金属硫化物、溶存硫化物および遊離硫化水素の濃度

Table 5 には、Run 1～Run 6における硫化物の組成を示した。硫化物は金属硫化物(主に FeS)、溶存硫化物(Dissolved sulfide=H₂S_{aq}+HS⁻+S²⁻)から成る。遊離硫化水素(H₂S_{aq})の生成量は、pH 値によって大きく影響を受ける。Run 2では、溶存硫化物濃度は3 mg·l⁻¹であるが、Run 4では162mg·l⁻¹と高くなって

いる。

3.4 消化ガス中のメタンおよび硫化水素の割合

Fig. 3 には、Run 1～Run 6における消化ガス中のメタンおよび硫化水素の割合を示した。COD/S 比が1.5の場合に、メタンの割合は23%まで低下した。逆に硫化水素は4%まで上昇している。Run 6ではpHが他の反応槽に比べ8.1と高く、H₂S生成量はpHに影響されるため、消化ガス中の硫化水素の割合が4%程度になっているものと思われる。

Fig. 2 Effect of $\text{SO}_4^{2-}\text{-S}$ concentration on the methane production rate and total sulfide-S production rate

Fig. 3 Effect of COD/S ratio on the gas composition of CH_4 and H_2S in the steady-state digestors

3.5 メタン生成細菌と硫酸塩還元細菌の間の電子流れに及ぼす COD/S 比の影響

メタン生成反応および硫酸塩還元反応はいずれも酸化還元反応であるので、電子流れを計算することにより、基質をめぐる両反応の競合を評価することができる。Isa ら¹⁴⁾の方法を用いて各 COD/S 比条件における

Fig. 4 Effect of COD/S ratio on the electron flow of sulfate-reducing bacteria and methane producing bacteria.

Fig. 4 Effect of COD/S ratio on the electron flow of sulfate-reducing bacteria and methane producing bacteria

メタン生成細菌および硫酸塩還元細菌の電子流れを算出し、その結果を Fig. 4 に示した。COD/S 比が148の場合、メタン生成が主反応であることがわかる。COD/S 比が低下するに従い、硫酸塩還元細菌の利用する割合が少しずつ増加し、COD/S 比が6の場合では18%となっているが、依然としてメタン生成が主反応となっている。しかし、COD/S 比が3になると、硫酸塩還元細菌の利用する割合が39%と急激に増大し、さらに1.5では67%となり、メタン生成細菌よりも硫酸塩還元細菌の方が有利な状態になっていることがわかる。Isa ら¹⁴⁾は、酢酸・エタノールを基質とした嫌気性汚床を用い、COD/S 比を10に設定して実験を行った結果、硫酸塩還元細菌が利用する電子流れは10~20%程度であり、メタン生成細菌との強い競合は起こらなかったと報告している。本研究によれば、酪酸から生成した酢酸と水素をめぐる硫酸塩還元細菌とメタン生成細菌の競合は COD/S 比により左右されており、COD/S 比が6以上の場合、メタン生成が主反応であるのに対して、COD/S 比が1.5以下では硫酸塩還元が主反応であ

Table 5 Concentration of metallic sulfide, dissolved sulfide and free hydrogen sulfide

	Run 1	Run 2	Run 3	Run 4	Run 5	Run 6
Metallic sulfide-S (mg/l)	*	44	83	211	117	179
Dissolved sulfide (mg/l)	*	3	90	162	114	163
Free H_2S (mg/l)	*	1	17	27	18	8

*: not dated

Fig. 5 COD mass balance

ることがわかった。

3.6 COD 物質収支

流入 COD を100%として、流出 COD は菌体量 (VSS)、最終生成物(CH₄, H₂S, Sulfide), および揮発性脂肪酸 (VFA) からそれぞれの回収率を算出した。Fig. 5 に COD 物質収支を示した。Run 1, Run 2では、流入 COD の86%ほどがメタンガスに変換されている。Run 3～Run 6では硫酸塩還元の影響が現れており COD/S 比が小さくなるに従ってメタンガスの占める割合が減少していることがわかる。Run 4, Run 5において、メタン生成反応が硫酸塩還元反応を上回っているため、COD/S 比が3 以上の場合、メタン生成反応が依然として主反応であると言える。また、Run 4～Run 6では COD 回収率の低下が見られた。その原因としては、測定した総硫化物および硫化水素のみでは、硫酸塩還元の影響を十分に把握できなかったことが考えられる。実際には、減少した SO₄²⁻-S がすべて硫酸塩還元を利用されたと仮定して計算したところ、Table 6 に示したように100%強の回収率が得られたことから、このデータは未回収の硫黄が回収率低下の原因である

Fig. 6 Phase-contrast photomicrograph of microorganisms observed in the steady-state digestors. The bar represents 50μm (a) Run 1, Mt : *Methanothrix* sp. like bacteria (b) Run 4, Mt : *Methanothrix* sp. like bacteria (c) Run 6

ことを示唆している。

3.7 硫黄収支および元素状硫黄 (S°) の生成

Table 6 に硫黄の収支を示した。SO₄²⁻-S として流入した硫黄は、流出水中の SO₄²⁻-S, TS (Total sulfide) -S, H₂S-S, 菌体-S を測定することにより回収した。

Table 6 Sulfur balance

Run No.	COD/S	Influent	Effluent				Recovery	S° in effluent *
			Sulfate-S	TS-S	H ₂ S-S	Bacteria-S		
1	148	100	-	12.2	0.9	19.3	32.4	57.6
2	30	100	-	14.2	0.6	5.0	19.8	80.2
3	15	100	3.0	25.9	5.2	2.3	36.4	63.6
4	6	100	49.8	22.4	2.9	0.9	76.0	24.0
5	3	100	49.4	13.8	1.6	0.7	65.5	34.5
6	1.5	100	49.4	20.5	1.3	0.7	71.9	28.1

* : These data were calculated by sulfur balance.

Table 7 Bacterial populations in the steady-state digestors and electron flow between sulfate-reducing bacteria and methane producing bacteria

		Run 1	Run 2	Run 3	Run 4	Run 5	Run 6
Electron flow (%)	SRB	1	7	13	18	38	67
	MPB	99	93	87	82	62	33
Bacterial population (MPN/ml)	HBu SRB	2.1×10^7	3.7×10^8	1.1×10^8	5.9×10^7	7.0×10^7	2.4×10^7
	HAc SRB	1.8×10^7	1.3×10^8	1.1×10^8	7.2×10^7	5.9×10^7	5.5×10^6
	HAc MPB	4.8×10^6	1.4×10^6	1.3×10^6	3.1×10^6	1.4×10^4	2.6×10^4
	H ₂ SRB	5.0×10^2	1.1×10^4	4.0×10^4	3.2×10^4	9.0×10^2	3.5×10^4
	H ₂ MPB	7.9×10^5	4.6×10^6	3.3×10^3	4.9×10^2	nd	2.0×10

HBu SRB : Butyrate consuming sulfate-reducing bacteria

HAc SRB : Acetate consuming sulfate-reducing bacteria

HAc MPB : Acetate consuming methane producing bacteria

 H₂ SRB : Hydrogen consuming sulfate-reducing bacteria

 H₂ MPB : Hydrogen consuming methane producing bacteria

菌体-S は、細胞の化学組成 $C_5H_7O_2NP_{0.06}S_{0.1}$ ¹⁸⁾より算出した。Run 1, Run 2において SO_4^{2-} -S はすべて消費され、流出水中には検出されなかった。 SO_4^{2-} -S は硫酸塩還元だけでなく、菌体-S としての同化も行われる。このため、 SO_4^{2-} -S 濃度の低い Run 1, Run 2では、菌体-S の割合が高くなっている。Isa ら¹⁶⁾は、菌体の硫黄を考慮しなくとも、71~100%という高い硫黄回収率を得たと報告している。しかし、本研究の各反応槽において、硫黄の回収率は76%以下にとどまっており、消費された SO_4^{2-} -S の一部分は硫化水素、硫化物以外の物質に転換されていることが伺える。本研究の各反応槽において、斜方硫黄と思われる結晶が多く観察されたので、 SO_4^{2-} -S の一部分は元素状硫黄になっていることが考えられる。元素状硫黄(S⁰)の生成については、Anderson and Jorgensen¹⁹⁾が近海の底泥において還元された SO_4^{2-} -S の 3~49%は元素状硫黄になることを報告している。

3.8 細菌叢に及ぼす COD/S 比の影響

Fig. 6 に、Run 1, Run 4, Run 6の位相差顕微鏡写真を示す。各反応槽の細菌叢は、COD/S 比によって変化していることがわかった。メタン生成が主反応である Run 1では、*Methanothrix* sp.と思われる長い桿菌が多数見られた。COD/S 比の低下に伴い、長い桿菌は減少し、Run 6ではほとんど見られなくなった。Run 6では短い桿菌が大半であった。Table 7 に、MPN 法によって計数したメタン生成細菌、硫酸塩還元細菌の細菌数および電子流れを示す。硫酸塩濃度の低い Run 1, Run 2において、酢酸資化性メタン生成細菌は、 10^6 MPN・

m^{-1} という値になっている。水素資化性メタン生成細菌は、Run 1では 10^5 MPN・ m^{-1} だが、Run 4では 10^2 MPN・ m^{-1} と低い値になっている。酪酸資化性硫酸塩還元細菌および酢酸資化性硫酸塩還元細菌は、硫酸塩濃度の低い Run 1, Run 2でも、 $10^7 \sim 10^8$ MPN・ m^{-1} という高い値で計数された。Run 6よりも Run 2, Run 3の計数値が高いのは COD 濃度のためである。しかし、Run 5, Run 6では、Run 4に比較して硫酸塩濃度が一定で COD 濃度が低いにも関わらず、酪酸資化性硫酸塩還元細菌および酢酸資化性硫酸塩還元細菌には、メタン生成細菌のような計数値の低下が見られない。このことから、Run 5, Run 6では硫酸塩還元細菌が有利な状態にあることがわかる。水素資化性硫酸塩還元細菌は、すべての反応槽において低い値にとどまっており、最大でも 10^4 MPN・ m^{-1} という値であった。水素資化性メタン生成細菌に比べて、水素資化性硫酸塩還元細菌は、酪酸分解において大きな役割を果たしているとは言えない。

3.9 COD/S 比による酪酸の代謝経路の変化

メタン生成細菌と硫酸塩還元細菌の間の電子流れ、COD 物質収支、細菌数の分布および位相差顕微鏡観察から、酪酸の代謝経路は、以下のように COD/S 比によって大きく影響を受けていることが推察された。COD/S 比が高い場合、硫酸塩濃度が低いために、硫酸塩還元細菌による基質の競合はほとんど起こらない。このとき酪酸は、Fig. 7に示すように、まず水素生成性酢酸生成細菌により酢酸と水素に分解され、続いて酢酸と水素はメタン生成細菌に利用され、メタンが生成

Fig. 7 The microbial food chain responsible for methane production of butyrate. (A) Condition of high COD/S ratio (B) Condition of low COD/S ratio

される。一方、COD/S比が低い場合、SO₄²⁻が十分存在するので、酪酸分解段階では酪酸資化性硫酸塩還元細菌と他の酪酸資化性細菌の間に競合が起こり、Table 8に示したように熱力学的に硫酸塩還元反応が有利なため、酪酸は酪酸資化性硫酸塩還元細菌に利用され、酢酸のみを生成する。生成された酢酸をめぐるメタン生成細菌と硫酸塩還元細菌が競合する。硫酸塩濃度が高いため、生成された酢酸のほとんどは硫酸塩還元細菌に利用される。結果として、メタンよりも硫化物が大量に生成する。その代謝経路をまとめるとFig. 7になる。

3.10 硫酸塩還元細菌の役割

電子流れ、COD物質収支および細菌叢のデータによれば、COD/S比が1.5と小さい場合、SO₄²⁻が十分に存在するため、基質をめぐるメタン生成と硫酸塩還元の競合は、硫酸塩還元細菌がメタン生成細菌に勝ち、結果として反応槽内において硫酸塩還元細菌が優勢になり、硫酸塩還元が主反応となった。これは前節に考察したように、熱力学的に硫酸塩還元反応が有利なためである。一方、Run 1のように硫酸塩還元に必要な電子受容体SO₄²⁻が少ない場合、基質のほとんどはメタンに転換される。しかし、硫酸塩還元反応がほとんど行われていない反応槽においても、酪酸資化性硫酸塩還元細菌、酢酸資化性硫酸塩還元細菌がそれぞれ10⁷ MPN・m^l⁻¹という高い値で検出されている。このとき、酪酸資化性硫酸塩還元細菌は硫酸塩の還元に参加するのではなく、むしろ acetogenic bacteriaの一員として酪酸の分解に関与しているものと考えられる。

Table 8 Equations and free energy changes for reactions

Substrate	Bacteria	Equation	Free energy change (kJ/reaction)	No.
Butyrate	HPAB	$Bu^- + 2H_2O \rightarrow 2Ac^- + 2H_2 + H^+$	+48.1	(1)
	SRB	$2Bu^- + SO_4^{2-} \rightarrow 4Ac^- + HS^- + H^+$	-55.7	(2)
Acetate	MPB	$Ac^- + H_2O \rightarrow CH_4 + HCO_3^-$	-28.0	(3)
	SRB	$Ac^- + SO_4^{2-} \rightarrow 2HCO_3^- + HS^-$	-47.6	(4)
Hydrogen	MPB	$4H_2 + CO_2 \rightarrow CH_4 + 2H_2O$	-135.6	(5)
	SRB	$4H_2 + SO_4^{2-} + H^+ \rightarrow HS^- + 4H_2O$	-151.9	(6)

HPAB : Hydrogen producing acetogenic bacteria
SRB : Sulfate-reducing bacteria
MPB : Methane producing bacteria
Bu⁻ : CH₃(CH₂)₂COO⁻
Ac⁻ : CH₃COO⁻

Bryant ら²⁰⁾は、*Desulfovibrio* sp. は硫酸塩がなく、水素資化性メタン生成細菌が存在する条件において、培地中の乳酸とエタノールを利用して水素と酢酸を生成すると報告している。また、Chartrain and Zeikus⁷⁾は硫酸塩濃度の低いケモスタット型反応槽において乳酸資化性およびエタノール資化性硫酸塩還元細菌を $10^8 \sim 10^9$ MPN・ml⁻¹ と高い値で計数しており、それらは水素生成性酢酸生成細菌であると述べている。

4. 結 論

本研究より以下のような結論が得られた。

1) COD 濃度が一定の条件において、 SO_4^{2-} -S 濃度の増大に伴いメタン生成量が減少するのに対して、硫化物・硫化水素の生成量が増大した。これは基質をめぐるメタン生成細菌と硫酸塩還元細菌の競合によるものである。

2) COD/S 比が 6 以上の場合、メタン生成が主反応であるのに対して、COD/S 比が 1.5 以下の条件では硫酸塩還元が主反応になった。

3) 酪酸の嫌氣的分解経路は、COD/S 比によって変化することが推察された。 SO_4^{2-} がほとんど存在しない場合、酪酸は、水素生成性酢酸生成反応、水素からメタンを生成する反応、酢酸からメタンを生成する反応によってメタンまで分解される。しかし、 SO_4^{2-} が非常に高濃度 (COD/S < 1.5) の場合、酪酸は、酢酸を生成する硫酸塩還元反応、酢酸をめぐるメタン生成と硫酸塩還元との競合反応によって硫化水素とメタンを生成する。

(原稿受付 1992年 6月16日)

(原稿受理 1992年 9月 7日)

参 考 文 献

- 1) Postgate, J.R. (1984) The sulfate-reducing bacteria 2nd ed, Cambridge University Press, Cambridge.
- 2) Widdel, F. (1988) Sulfate- and sulfur-reducing bacteria (Zehnder A.J.B. ed.), Biology of anaerobic microorganisms, Wiley Interscience.
- 3) 松井三郎, 立脇征弘 (1989) 硫酸塩還元菌, 環境技術, 18, 229-244.
- 4) 竹内準一 (1989) 硫酸塩還元細菌の生理生態, 用水と廃水, 31, 294-305.
- 5) 石本真 (1984) 硫酸還元細菌, URBAN KUBOTA, 23, 20-25.
- 6) 上村繁樹, 原田秀樹, 桃井清至, 長岡英明 (1988) 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, 1068-1069.
- 7) Chartrain, M. and Zeikus, J.G. (1986) Microbial ecology of whey biomethanation: characterization of bacterial trophic population and prevalent species in continuous culture., *Appl. Environ. Microbiol.*, 51, 188-196.
- 8) Ney, U., Macario, A.J.L., Cunway de Macario, E., Aivasidis, A., Schoberth, S.M. and Sahm, F. (1990) Quantitative microbiological analysis of bacterial community shifts in a high-rate anaerobic bioreactor treating sulfite evaporator condensate., *Appl. Environ. Microbiol.*, 56, 2389-2398.
- 9) Qatibi, A.I., Bories, A. and Garcia, J.L. (1990) Effect of sulfate on lactate and C_2 -, C_3 - volatile fatty acid anaerobic degradation by a mixed microbial culture., *Antonie van Leeuwenhoek*, 48, 337-352.
- 10) Wu, W.M., Hickey, R.F., and Zeikus, J.G. (1991) Characterization of metabolic performance of methanogenic granules treating brewery wastewater: role of sulfate-reducing bacteria., *Appl. Environ. Microbiol.*, 57, 3438-3449.
- 11) 上木厚子, 上木勝司, 五井隆芳, 小島敏宏, 原田浩明 (1990) 畜産廃水の嫌氣的貯留槽発酵液における硫酸塩還元細菌の分布, 用水と廃水, 32, 136-144.
- 12) Parkin, G.F., Lynch, N.A., Kuo, W.C., Van Keren, E.L. and Bhattacharya, S.K. (1990) Interaction between sulfate reducers and methanogens fed acetate and propionate., *Research J. WPCF.*, 62, 780-788.
- 13) 森忠洋, 小泉淳一 (1988) 排水処理におけるイオウ関連細菌制御の重要性, 水処理技術, 29, 719-725.
- 14) Isa, Z., Grusenmeyer, S. and Verstraete, W. (1986) Sulfate reduction relative to methane production in high-rate anaerobic digestion: microbiological aspects., *Appl. Environ. Microbiol.*, 51, 580-587.
- 15) 日本下水道協会 (1974) 下水試験方法.
- 16) Isa, Z., Grusenmeyer, S. and Verstraete, W. (1986) Sulfate reduction relative to methane production in high-rate anaerobic digestion: technical aspects., *Appl. Environ. Microbiol.*, 51, 572-579.
- 17) 李玉友 (1989) 嫌気性消化における下水汚泥の分解機構に関する研究, 東北大学博士学位論文.
- 18) 富沢健二, 木全隆 (1987) 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, 77-97.
- 19) Anderson, S.T. and Jorgensen, B.B. (1989) Sulfate reduction and the formation of ^{35}S -labeled FeS , FeS_2 and S^0 in coastal marine sediments., *Limnol. Oceanogr.*, 34, 793-806.
- 20) Bryant, M.P., Campbell, L.L., Reddy, C.A. and Crabill, M. R. (1977) Growth of *Desulfovibrio* in lactate or ethanol media low in sulfate in association with H_2 -utilizing methanogenic bacteria., *Appl. Environ. Microbiol.*, 33, 1162-1169.