

梅酢の生物分解特性の検討

長岡工業高等専門学校 非会員 ○行方 蒼真, 非会員 木村 天哉
非会員 赤澤 真一, 会員 川上 周司

1. 背景と目的

梅干しの製造過程で大量に発生する梅酢は、高濃度の有機物に加え強酸性かつ高塩分濃度という特徴を有しており、その適正処理が課題となっている。従来の活性汚泥法を中心とした曝気処理では、微生物に対する強酸・高塩分阻害を回避するため、100 倍程度の希釈が必要とされている¹⁾。しかし、高倍率の希釈は多量の用水を必要とするだけでなく、処理設備の大型化や曝気に要するエネルギーコストの増大を招く。そこで、本研究では高い微生物保持能力を有し、省エネルギーかつ省スペースでの処理が可能な Down-flow Hanging Sponge (DHS) を用いたリアクターを導入し、梅酢の低希釈処理技術の開発を目指している。

本報では、DHS リアクターへの適用に向けた前段階として、活性汚泥を用いた梅酢の回分式生物分解試験を実施した。具体的には、梅酢の希釈倍率が COD, pH および塩分濃度の経時変化に及ぼす影響を調べ、微生物による梅酢の分解特性および低希釈条件での処理の可能性を明らかにすることを目的とした。

2. 研究方法

2.1. 供試試料および生物分解試験

供試試料として梅干し製造工程由来の梅酢、および微生物源として新潟県刈羽村の都市下水を処理する回分式活性汚泥法の汚泥を使用し、梅酢の希釈には蒸留水を用いた。生物分解特性および限界希釈倍率を評価するため、梅酢に活性汚泥を添加した原液系、4 倍希釈した梅酢に活性汚泥を添加した 4 倍希釈系、および 8 倍希釈した梅酢に活性汚泥を添加した 8 倍希釈系の計 3 系統の試験系を構築した。なお、各試験系の総液量は 200 mL とした。

各系の初期微生物濃度を均一にするため、試験開始時の最終的な MLSS が 2,500 mg/L となるように活性汚泥の添加量を調整した。具体的には、「(目標最終 MLSS 濃度×試料総量)/ 活性汚泥の初期 MLSS 濃度」の算出式を用いた。使用した活性汚泥 (MLSS 5,939 mg/L) では、200 mL の試料に対して約 84.2 mL の活性汚泥を添加し、残りを梅酢および蒸留水で所定の希釈倍率となるよう調製した。調製した試料はフラスコに入れ、25℃で 12 日間連続して攪拌した。

2.2. 分析手順

実験期間中、1 日ごとに各系から試料を採取し、COD, pH, および塩分濃度の 3 項目を 12 日間にわたり連続で測定・記録した。pH の測定には pH メーター (HORIBA 社製, D-51) を、塩分濃度の測定には、電子塩分計 (Anbachi 社製, SALT-26) を用いた。COD 測定にあたっては、測定レンジを超えないこと、また塩化物イオンによる阻害を防ぐことを目的に以下の多段希釈前処理を実施した。採取した試料を孔径 0.22μm のメンブレンフィルターでろ過し、懸濁物質を除去した。原液系は 100 倍、4 倍希釈系は 25 倍、8 倍希釈系は 20 倍の希釈倍率に調整し COD 分析用試薬 (HACH 社製, COD 試薬 HR TNT) および分光光度計 (HACH 社製, DR 3900) を用いて COD を定量分析した。

2.3. iSeq による細菌叢解析

梅酢 20 倍希釈に活性汚泥を添加し 7 日間攪拌した後、細菌叢解析用の分析サンプルを採取した。採取したサンプルは、DNeasy Power Soil Pro Kit (QIAGEN, Germany) を使用し DNA の抽出を行った。抽出 DNA に対して iSeq による細菌叢解析を行った。プライマーペアには UNIV515f-UNIV806r を用い、細菌と古細菌の 16S rRNA 遺伝子 V4 領域を標的とした PCR 増幅を行った。得られた PCR 産物は電気泳動で確認後、MinElute PCR Purification Kit (QIAGEN, Germany) を用いて精製し、iSeq 100 システムおよび iSeq 100 i1 Reagent v2 Kit (Illumina, Inc., USA) を用いて 16S rRNA 遺伝子産物の配列を決定した。取得した配列データは QIIME2 (version 2024.10) を用い、データベースには SILVA138 (silva-138-99-nb-classifier.qza, version:2022.8) を使用した。DADA2 によりノイズ除去、リードのマージ、およびキメラ削除を行った。得られたアンプリコンシーケンスバリエーション (ASV) について、SILVA (SLV), Greengenes (GG), Genome Taxonomy Database (GT) の各データベースを用いて系統分類を実施し、それぞれの分類結果を比較した。

3. 結果および考察

3.1. 供試試料および生物分解試験

各系における溶解性 COD, pH, および塩分濃度の経時変化を図 1 に示す。COD の経時変化に関して、原液系統では 12 日経過後も COD の上昇傾向および高濃度状態約 30,000~40,000 mg/L の高濃度状態が継続し、

有機物の減少は確認されなかった。一方、4倍希釈および8倍希釈系統では、実験開始から7日目付近まではCODの低下が緩やかであったものの、8～9日目にかけて急激な減少を示し、12日目には4倍希釈で約3,200 mg/L、8倍希釈で約1,400 mg/Lまで減少した。pHの経時変化に関して、原液系統では全期間を通じてpH 2.0付近の強酸性状態が継続した。これに対し、4倍希釈および8倍希釈系統では7日目までpH 2.3～2.8程度の酸性を示していたが、8日目以降に急激な上昇が認められ、11～12日目にはpH 6.7～6.8付近の中性域に達した。塩分濃度の経時変化に関して、各系統における塩分濃度は、原液系統で約10.0～11.0%、4倍希釈系統で約3.3～3.5%、8倍希釈系統で約1.7～1.8%であり、期間を通じて大きな変動はなくほぼ一定の数値であった。CODの急速な低下と同期してpHが上昇した挙動は、梅酢中に多量に含まれる主要なCOD成分である低分子有機酸が、活性汚泥中の微生物によって基質として代謝・分解されたためと考察される。微生物がこれらの有機酸をエネルギー源として消費・酸化分解することで、液中に存在する酸性原因物質が著しく減少し、外部からのアルカリ剤の添加を行わずともpHが酸性域から中性域へと自発的に回復したものと考えられた。このように、微生物の基質代謝に伴って排水の強酸性が自発的に中和される現象は、高塩分・強酸性排水の生物処理に関する既往の研究¹⁾の知見とも極めて良く一致する。一方、塩分濃度は全系統で終始ほぼ一定で推移したことから、塩分自体は微生物の消費基質ではないことが示された。しかし、原液系統で分解が進行せず希釈系統で進行したことから、高塩分は微生物の代謝活性を低下させる強い生物学的阻害要因²⁾として作用したと考えられた。また、原液系統でCODの分解が進まなかった要因には、強酸・高塩分による微生物不活性化に加え、高濃度の塩素イオンがCOD測定時の酸化反応に干渉した化学的な測定阻害の可能性も示唆された。

3.2. iSeqによる細菌叢解析の結果

梅酢20倍希釈系における細菌叢の経時的遷移を図2に示す。1日目は、*Comamonas* 属 (30.2%) を含む *Comamonadaceae* 科 (計57.7%) が過半数を優先していた。しかし、COD低下とpH上昇が進行するpH変化時には、耐酸性や有機物代謝能を有する *Mycobacterium* 属が52.6%と急増して過半数を占めた。本菌群が強酸性下での有機酸分解および自発的なpHの中性化に大きく寄与したと推察される。過半数を占めて優占していた。pHが中性域へ達した7日目では、*Bacillus* 属 (24.2%) を含む *Bacillales* 目が計72.6%と極めて高い割合を占めるに至った。耐塩性や芽胞形成能を有する *Bacillus* 属等の定着が、中性化後の高塩分環境下における処理性能の安定化に寄与したと考察される。

4. まとめ

活性汚泥による回分式生物分解試験の結果、原液系ではCOD低下が見られなかったが、4倍および8倍希釈系では約1週間の誘導期を経てCODが急減し、pHも中性域まで回復した。また、iSeq解析により、*Mycobacterium* 属による有機酸分解・中和と、その後の *Bacillus* 属等の定着という菌群推移のメカニズムが示唆された。以上より、従来と比較して大幅に低い低希釈条件での生物処理の可能性が示された。今後はDHSリアクターによる連続処理試験を行い、処理性能と運転安定性を評価する予定である。

参考文献

- 1) 高辻渉, 山際秀誠, 花本敏和, 古川憲治: 酵母による高酸度, 高塩度, 高有機性廃水である梅加工廃水処理の検討, 日本水処理生物学会誌, Vol.43, No.3, pp.151-158, 2007.

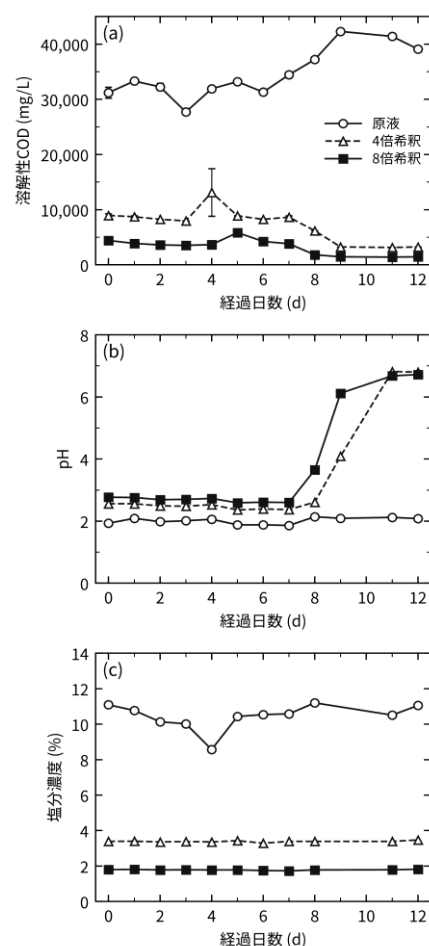


図1 各系における (a) 溶解性COD, (b) pH, (c) 塩分濃度の経時変化

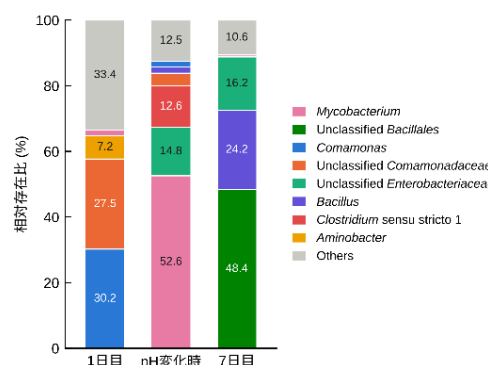


図2 梅酢20倍希釈系における細菌叢の経時変化