

II-586

硫酸塩還元細菌の発酵特性とプロピオン酸分解寄与度の評価

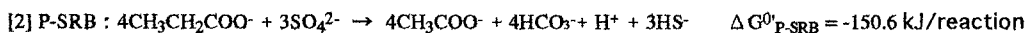
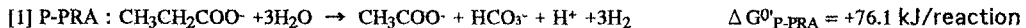
呉工業高等専門学校 ○正 山口隆司 長岡技術科学大学 正 原田秀樹

1. はじめに 硫酸塩還元細菌 (SRB) のなかには、硫酸塩の存在しない或いは低濃度の環境下でも発酵性細菌として生育するものがあることが知られている。しかしながら、実際のメタン発酵システムで発酵性細菌として潜在しているSRBが、硫酸塩を添加された場合どのような機作でどれだけの有機物分解ポテンシャルを発揮できるか定量化した知見は少ない。そこで本研究は、分解対象有機物をプロピオン酸として、まず、糖・VFA混合基質を処理するUASB反応器で培養された汚泥の水素生産性酢酸生成細菌 (PRA) とSRBのプロピオン酸分解活性を定量・比較し、プロピオン酸の分解に対するSRBの寄与を評価した。次いで、UASB反応器から単離したSRB株を用いて硫酸塩が存在しない条件下での発酵特性をバイアル実験より検討し、有機物負荷に対する硫酸塩負荷の低い環境(後述 Run1)においてもプロピオン酸酸化性SRB (P-SRB) が生息できる仕組みについて考察した。

2. 実験方法 供試汚泥の培養(Run1, Run2)は、有機物COD濃度・組成が同一(2000mgCOD/l; シュクロース:酢酸:プロピオン酸:ペプトン=45:22.5:22.5:10 as COD)の流入水を供する2基のUASB型反応器(35℃, 14.5 liter)を用いて1年以上行った。流入硫酸塩濃度は、Run1で100 mgSO₄²⁻/l, Run2で3000mgSO₄²⁻/lに設定した。

活性実験: 培養汚泥を、メタン生成活性(酢酸, 水素), プロピオン酸分解活性(硫酸塩添加・無添加系), 及び、硫酸塩還元活性(酢酸, 水素, プロピオン酸の分解過程における)の評価実験に供した。汚泥を培地(リン酸緩衝液, 無機塩, 還元剤, 酸化還元指示薬等を含む)中で嫌氣的に分散処理する。35℃恒温とし、テスト基質を添加、ガスの量と組成, 有機物濃度, 硫酸塩濃度を経時的に測定した。

プロピオン酸分解活性実験: 上記活性実験と同様に汚泥を分散して、バイアル瓶(V1, V2, V3, V4)に分注する。バイアル気相部を窒素ガスで置換後、シェーカーで振とうする(35℃, 回転半径5cm, 130rpm)。次に、バイアル内の環境を経時でCondition 1 から4へと変化させる。Condition 1 (対象バイアルV1~4): バイアル内にプロピオン酸を基質として投入する(硫酸塩無添加状態)。Condition 2 (同V2~4): バイアル中に水素を添加(110~50kPa)し、メタン生成細菌(NPB)の代謝阻害剤クロロホルム(5mg/l)を添加する。Condition 3 (同V3~4): 硫酸塩を添加し、P-SRBによるプロピオン酸分解を進行させる。Condition 4 (同V4のみ): SRBの代謝阻害剤モリブデン酸(20mM)を注入する。尚、プロピオン酸酸化性水素生産性酢酸生成細菌(P-PRA)とP-SRBの自由エネルギー変化量 $\Delta G'$ (pH7.0, 35℃)は、それぞれ、[1], [2]式に基づきバイアル試験で実測した基質, 生成物及び無機物濃度を用いて算出した。



発酵性のSRBの存在評価実験: Run1から単離したSRB¹⁾に対して、硫酸塩が存在しない環境下で乳酸を発酵基質として供し、代謝生成物を測定した(バイアル回分実験)。

3. 実験結果・考察 反応基運動において、全除去CODに対するSRBにより除去されたCODは、Run1で3%(全除去CODの90%程度はメタンに転換された), Run2で100%であった。即ち、Run1ではメタン発酵, Run2では硫酸塩還元が卓越した生態系がそれぞれ形成された。Fig.1に活性実験の結果を示す。メタン生成は、Run2においてほぼ駆逐された。プロピオン酸分解活性は、Run1で硫酸塩添加系の活性が無添加系に対して2.7倍高く、SRBがプロピオン酸分解に寄与することが分かった。Run2ではP-SRBのみがプロピオン酸の分解に寄与していた。硫酸塩還元活性は、Run2で全テスト基質について存在したが、硫酸塩負荷が低いRun1でも水素とプロピオン酸基質について認められた。活性実験の結果から、SRBがプロピオン酸の分解過程においてH₂-Scavengerとして寄与する

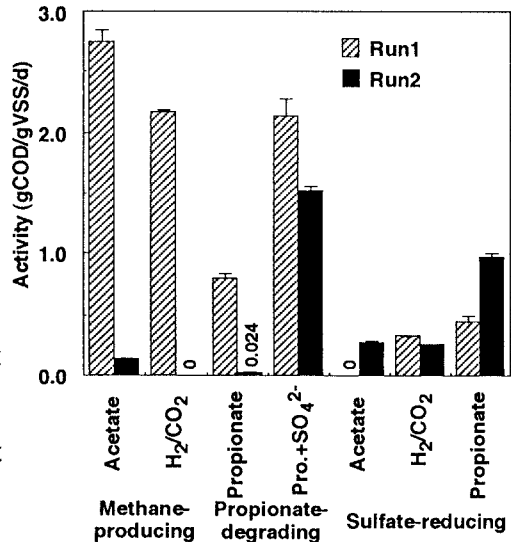


Fig.1 Methane-producing, propionate-degrading and sulfate-reducing activity of Run1 (751st day) and Run2 (558th day) sludges.

ことが分かった。また、プロピオン酸の直接分解者P-SRBとして寄与することが示唆された。

Fig.2 にRun1汚泥（反応器運転日数937日目、容積負荷Run1=15kgCOD/m³/d、COD除去率90%程度）をプロピオン酸分解活性実験に供した結果を示す。Condition1：4バイアルともプロピオン酸分解とメタン生成が進行した。V3とV4のプロピオン酸分解活性（以下、活性の単位はgCOD/gVSS.d）は、いずれも0.44であった。硫酸塩無添加であるため、この反応は、P- PRA+MPB共生系によるものと考えられる（ $\Delta G'_{PRA} < 0$ ）。Condition2：プロピオン酸分解反応が停止した。ここで、P- PRAの活動が停止したことは、P- PRAの自由エネルギー変化量が $\Delta G'_{PRA} > 0$ となったことでよく説明できる。Condition3：硫酸塩添加後、プロピオン酸分解が硫酸塩還元（ $\Delta G'_{SRB} < 0$ ）に伴って再開した。この結果より、P-SRBがRun1でプロピオン酸分解に寄与していることは明らかになった。V3、4のプロピオン酸分解活性は、それぞれ0.91、0.92であった。Condition4：モリブデン酸を注入後、硫酸塩の還元が停止したことに伴って、プロピオン酸の分解も停止した。これは、P- SRBによるプロピオン酸分解反応の進行を裏付けている。一方、Run2汚泥（反応器運転日数558日目、容積負荷Run1=2.2 kgCOD/m³.d、COD除去率90%）を供したプロピオン酸分解活性実験では、プロピオン酸の分解にP-SRBのみが寄与し、その活性は1.0であった（P-PRAとMPBの共生系の活性はゼロであった）。

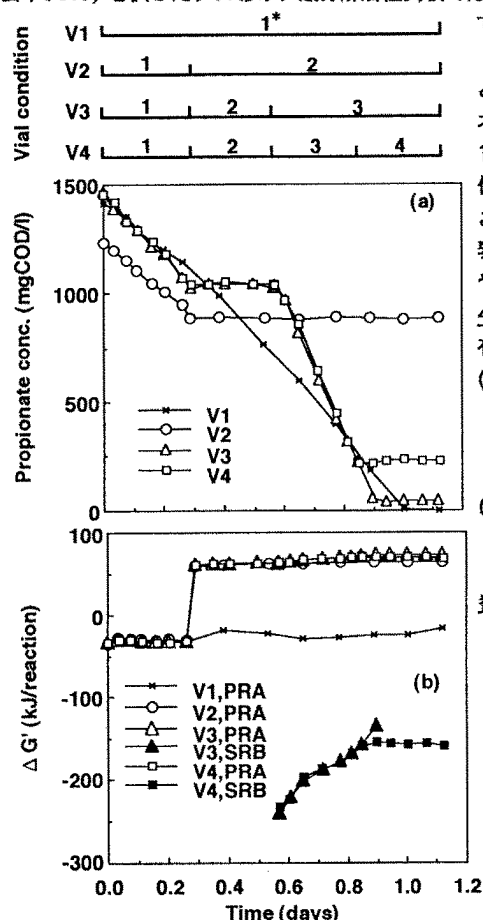


Fig.2 (a) Propionate degradation by disintegrated granular sludge grown in Run1 UASB reactor (2000 mgCOD/l, 100 mgSO₄²⁻/l). Condition 1*: propionate with N₂. Condition 2: addition of H₂ and CHCl₃. Condition 3: addition of SO₄²⁻. Condition 4: addition of MoO₄²⁻. (b) Free energy ($\Delta G'_{p-PRA}$, $\Delta G'_{SRB}$).

Fig.3に、Run1から単離したP- SRBを用い、乳酸を発酵基質として供した結果を示す。乳酸が分解され、代謝物としてプロピオン酸と酢酸が生成された。プロピオン酸と酢酸生成の終了した12.5日目に硫酸塩を添加したところ硫酸塩還元の進行に伴って、代謝生成物であるプロピオン酸が分解され、酢酸が更に蓄積した。このように、単離したSRBは、硫酸塩の供給の無い環境下では乳酸を発酵基質として生育し、硫酸塩の供給された環境下では速やかにプロピオン酸の分解者として寄与するものであった。

4. 結論 SRBが、発酵性細菌としての地位を環境内に有し、有機物の分解に寄与した。

- (1) Run1のような全COD除去に対する硫酸塩還元によるCOD除去の割合が低い条件下でもP- SRBのニッチは高かった（P- PRA+MPB共生系とP-SRBのプロピオン酸分解活性は、それぞれ、Run1で0.44対0.91、Run2で0.0対1.0であった）。
- (2) Run1から単離したプロピオン酸酸化性SRBは、硫酸塩の存在しない環境下で乳酸を発酵基質として利用し、プロピオン酸と酢酸を生成した。

参考文献1) 曾怡慎(1995)長岡技術科学大学工学研究科博士論文

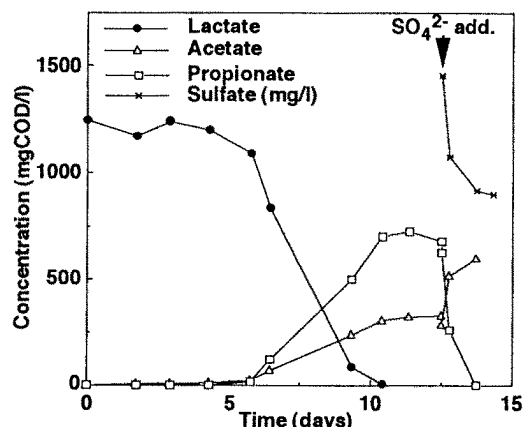


Fig.3 Fermentation of lactate to propionate and acetate by a sulfate-reducing bacterium strain isolated from Run1 UASB reactor. Sulfate was added at a time indicated by an arrow.