

(19) 嫌気性消化における酢酸からのメタン生成プロセスでのオレイン酸の挙動

EFFECT OF OLEATE ON METHANE PRODUCTION FROM ACETATE IN ANAEROBIC DIGESTION

○石川徳春\*・花木啓祐\*・松本順一郎\*

Tokuharu ISHIKAWA\*; Keisuke HANAKI\*; Junichiro MATSUMOTO\*

ABSTRACT; The effect of oleate on methane production from acetate in anaerobic digestion was examined both in a batch experiment and in continuous culture experiments. These experiments were carried out at 35°C using a synthetic substrate containing 20000 mg/l of acetate as a sole carbon source and with the various concentrations of sodium oleate solution. The change of methane content in gas phase and the residual volatile fatty acids (VFA) indicated that the methane production from acetate was inhibited moderately by the oleate shock loading of 5 mg/l and completely by that of 10 mg/l in the batch experiment. The continuous culture experiments at SRT of 7.4 and 21.6 days suggested that the acetate utilizing methanogenic bacteria could be acclimated to the toxicity of oleate and were not inhibited until the oleate concentration reached about 60 to 70 mg/l. The inhibitory phenomena caused by oleate in methane production from acetate were recognized as a rapid decrease of gas production rate and a rapid increase of residual VFA. At that time it was also observed that the most part of oleate added to the digester was accumulated in sludge (precipitating fraction of mixed liquor after centrifugation in 3000 rpm for 15 min) which contained cells of methanogenic bacteria. The addition of  $\text{Ca}^{2+}$  ion to the digester which had been just inhibited by oleate was not effective to relieve the inhibition, although it is usually effective to prevent oleate from inhibiting if it is made before the inhibition occurs. On the other hand, oleate of less than 60 mg/l seemed to have some stimulating effect on the microbial growth and the efficiency of VFA removal or VFA conversion into methane in methanogenesis. It was also shown that oleate could be decomposed to some extent in the digester where methanogenic bacteria were acclimated to oleate.

KEYWORDS; anaerobic digestion, methane production, oleate, inhibition, stimulation.

1. はじめに

近年下水道の普及・広域化に伴って、下水処理施設で大量に発生する汚泥の処分が下水処理における大きな問題の一つとなっている。嫌気性消化法は、下水汚泥やし尿などの高濃度の有機物を無機化・安定化でき、結果として汚泥量の減少や汚泥脱水性の向上などをもたらし、更にその過程で処理に要するエネルギーの一部をまかなえる量のメタンガスを発生させるという利点を有しているため、汚泥処理の有力な一方法として注目されている。本法は、Fig. 1に示されるように、大きく分けて2つの段階から構成されている。即ち、糖類・脂質・蛋白質などの高次の有機物をより低次の有機物や脂肪酸へ、更には水素と酢酸にまで加水分解する“非メタン生成相（酸生成相）”と、そこでの最終生産物である水素や酢酸からメタンを生成する“メタン生成相”である。このうち後者は、水中からの有機物の除去という本法における最も重要な役割を担っていることと、相を構成しているメタン生成菌が絶対嫌気性であり、各種の環境因子に対する感受性が高く、更に増殖速度なども遅いことなどから、プロセス全体の律速段階となっている。更に2通りのメタン生成経路を比較してみると、通常の嫌気性消化においては発生するメタンの約70%が酢酸経由であり、酢酸利用メタン生成菌の増殖<sup>②</sup>や基質（酢酸）の取込み<sup>③</sup>も水素利用菌のそれらに比べて遅いことなどから、酢酸からのメタン生成プロセスが本法の“真の”律速段階であるとも考えられる。一方一般的の下水汚

\* 東北大学工学部土木工学科 Department of Civil Engineering, Tohoku University

泥中には対 V.S. で約 27~30% の脂質が含まれていると言  
われているが、それが如水分解されて生じる高級脂肪酸  
(LFA) によって嫌気性消化が阻害されるという報告  
がなされている。<sup>4)~6)</sup> 更に、LFA は熱力学上水素分圧の低  
い環境 (= メタン生成相) において、<sup>8)</sup> 水素生成アセトジ  
ェニック菌により水素付加や  $\beta$ -酸化などを経て水素と酢  
酸にまで分解されると考えられているが、この時同時に  
酢酸経由のメタン生成を特に阻害することが報告されて  
いる。<sup>10)</sup> このように、脂質という下水汚泥中の主成分の一  
つによって嫌気性消化プロセスの律速段階とも言える酢  
酸からのメタン生成が阻害されるということは、本プロ  
セスの操作や効率化の上で重要な問題となってくるもの  
と考えられる。しかしながら通常の嫌気性プロセスは連  
続的に操作されているため、毒性に対して細菌群が馴致  
したり、又重金属による阻害の場合などとは異なり阻害  
作用を有する LFA 自体が分解され、そのために毒性が  
緩和されることなどの効果が期待できることから、回分  
実験で得られたショックロードに対する応答とは異なっ  
た挙動を示すことが充分に予想される。そこで本研究では、酢酸からのメタン生成プロセスにおける LFA の挙  
動について、特に阻害作用に重点を置いて、連続実験と  
回分実験により検討を行なった。

## 2. 実験方法

### 2.1 投入基質および使用高級脂肪酸 実験に使用した基質は

Table 1 に示されるような酢酸を单一炭素源とした合成基質で  
ある。この時無機塩類の組成は、本実験と同様に酢酸からのメタ  
ン生成について実験を行なった張らの値を参考にして決定した。<sup>11)</sup>  
ただしマグネシウム塩についてはカルシウム塩と同様、それが L  
FA と結合して不溶性や難溶性の金属セッケンを形成し、そのた  
めに LFA の毒性が緩和されることが報告されているため、添加  
はしなかった。一方 LFA としては、下水汚泥中の脂質組成を考  
慮して、通常最も多く含まれているオレイン酸を用いることに決  
定し、実験の便宜上ナトリウム塩の形 (セッケン) で水溶液とし  
て使用した。(注: 本実験で使用した和光純薬工業製化学用オレ  
イン酸ナトリウムには、秤量値の 50% しかオレイン酸が含まれておらず、水分の他に 25% のパルミチン酸が  
含まれていた。)

2.2 種汚泥 実験に用いた種汚泥は、仙台市南蒲生下水処理場の汚泥消化槽より採取した消化汚泥を 5  
年以上張らの基質で培養したものを、Table 1 に示した基質で半年以上培養し続けたものである。培養は菌  
体滞留時間 (SRT) 約 20 日の fill and draw 方式によって半連続的に行なわれ、温度は 35 ± 1 °C に保た  
れていた。

2.3 実験装置、手順および分析方法 (A) 回分実験 Fig. 2 のようなシリコンゴムキャップとアルミ  
製締め金のついた全容量約 70 ml のガラス容器 (バイアル) を消化槽として使用した。始めに内部の気相を炭

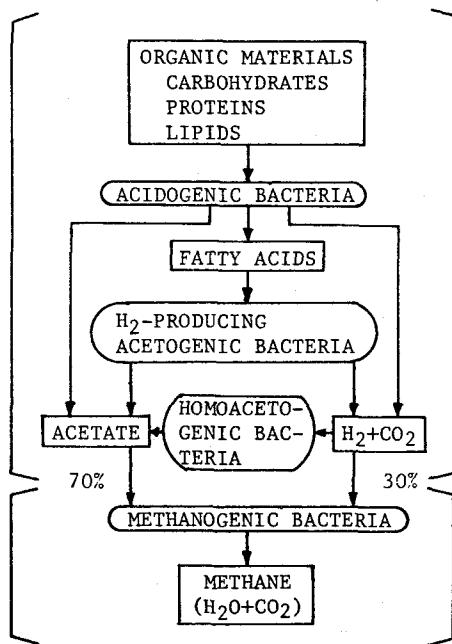


Fig. 1 Scheme of Anaerobic Digestion.  
(Upper process is "a non-methanogenic stage" and lower one is "a methanogenic stage".)

Table 1 Chemical Composition of Synthetic Substrate\*

COMPONENT	CONCENTRATION (mg/l)
CH <sub>3</sub> COOH	20000
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	700
NH <sub>4</sub> Cl	850
KCl	596
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	174
FeCl <sub>3</sub> · 6H <sub>2</sub> O	420
CuCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	18
NaHCO <sub>3</sub>	6720

\* All components were dissolved in tap water.

酸ガスで置換し、種汚泥35mlをシリンジを用いて嫌気的に接種し、種汚泥中に残存している酢酸を消費し尽させるために約48時間放置後、酢酸基質とオレイン酸ナトリウム水溶液(S.O.)をそれぞれ1mlずつシリンジを用いて注入し実験を開始した。この時酢酸基質は投入後の濃度が1000mg/lとなるよう調整したものを用いた。種汚泥接種後から実験終了時まで各バイアルは35±1°Cに設定された振とう培養水槽中に設置され、振とう幅3.5cm、毎分約120往復の条件で絶えず攪拌されていた。実験開始後所定の時刻にガスクロマトグラフでバイアル内のガス組成を分析し、メタン含有率の変化をメタン生成の指標として用いることによって、阻害発現の有無や阻害の経時変化について観察した。実験開始から48時間後に実験を終了させ、その時点での槽内揮発性脂肪酸(VFA)濃度(注:本実験では酢酸濃度と等しいと考えられる)をカラムクロマトグラフ法によって分析し、酢酸の除去率を算出した。<sup>14)</sup>

(B) 連続実験 実験にはFig. 3に示されるような、反応容積約2lの塩ビ製消化槽を中心としたケモスタット型の嫌気的連続培養装置を用いた。ここでエアポンプで消化ガスを循環させることによって、消化槽の完全攪拌と余剰汚泥の引抜きを行なった。基質およびS.O.は、投入前に両者を混合すると低pHによりオレイン酸が難溶性の遊離の形に変化するため、それを防ぐために各々設定濃度の2倍のものを等量ずつ別々にローラーポンプを用いて投入した。投入濃度は酢酸基質については20000mg/lと一定に設定し、S.O.の方のみを段階的に上げていった。温度は消化槽を恒温水槽

中に設置することにより35±1°Cに保った。菌体滞留時間(SRT)は約7日、20日の2系列設定した。実験は種汚泥接種後、対照実験であるオレイン酸無添加の場合の定常値をとり、次いであるS.O.濃度で定常状態となるまで培養を続け、その後S.O.濃度を段階的に上昇させ、これを阻害が現われるまで繰り返した。分析については、ガス組成はガスクロマトグラフ法で、メタン生成速度は飽和食塩水を用いた水上置換により計測されたガス生成速度とガス組成から計算で、酢酸濃度はカラムクロマトグラフ法<sup>14)</sup>で、オレイン酸濃度はBligh-Dyer法による抽出後ガスクロマトグラフ法<sup>15)</sup>で、それぞれ行なった。菌体量については、通常はMLVSSで表わすことが多いが、オレイン酸やセルロースのように菌体に付着したりして汚泥部へ移行する有機物が共存する場合には適当ではなく、そのため本実験では有機性窒素の値を菌体指標として用いた。この有機性窒素の値は、汚泥部分をケルダール分解した後インドフェノール法によって測定した。ちなみに予備実験によって9.4g-MLVSS/g-有機性窒素asNという比が求められたが、これはTable 2に示されるように過去の報告例と比較しても妥当な値であることがわかる。よって必要な場合にはこの9.4という値を換算係数として用いてMLVSS表示を行なった。

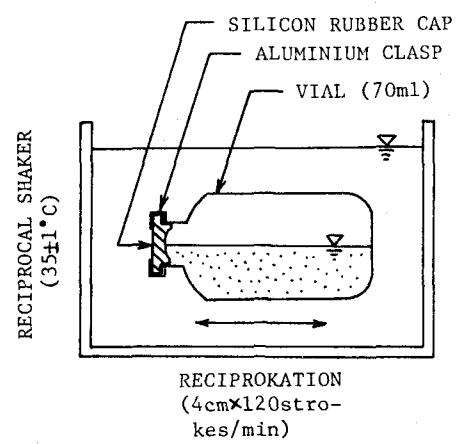


Fig.2 Batch Experiment Apparatus.

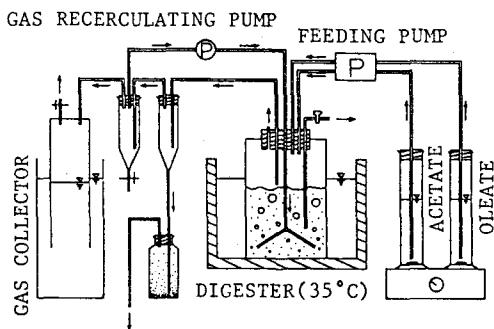


Fig.3 Experimental Apparatus.

Table 2 Ratio of MLVSS to Organic Nitrogen(Org.N.).

REFERENCE No.	PRELIMINARY EXPERIMENT	17)	18)	19)	20)	21)
$\frac{\text{g-MLVSS}}{\text{g-ORG.N}}$	9.4	9.4	11.4	11.4	10	14.3

### 3 実験結果および考察

#### 3.1 オレイン酸の阻害作用

(A) 回分実験 オレイン酸の初期濃度をそれぞれ 0 (対照: No. 0)、0.63 (No. 1)、1.25 (No. 2)、2.5 (No. 3)、5 (No. 4)、10 (No. 5)、20 (No. 6)  $\text{mg/l}$  に設定して実験を行なった。Fig. 4 は、実験開始後のメタン含有率の経時変化を示したものである。酢酸からはメタンと炭酸ガスとが夫々等量ずつ生成するため、当初は炭酸ガスのみであるガス組成がメタンの生成に対応して変化してゆくことから、気相中のメタン含有率の増加をメタン生成の指標として用いた。なお図の値は、実験開始後のメタン含有率の値から実験開始直前における値を差し引いた、いわば新たなメタン含有率の増加分を示したものである。それ故酢酸投入に伴う低 pH により炭酸ガスが気相へと放出され、見かけ上値が負となることもある。Fig. 5 は、実験終了時の各バイアルの槽内 VFA 濃度 (および除去率) を示したものである。酢酸からのメタン生成が良好に行なわれた場合、メタン含有率の増加と槽内 VFA 濃度の減少が観察されることが予想され、実際に対照実験 (No. 0) の結果はその正しさを裏づけている。一方オレイン酸を添加した系について見てみると No. 3 までは良好なメタン生成が行なわれ、No. 4 では中程度の阻害が観察され、No. 5 以上ではほぼ完全に阻害が生じていたことが両図よりわかる。この結果から、酢酸からのメタン生成は 5  $\text{mg/l}$  程度のオレイン酸の衝撃負荷によって、又は用いた種汚泥の菌体量 ( $8.2 \text{ mg/l as N}$ ) より  $6.5 \text{ mg/g-VSS}$  のオレイン酸の比負荷によって阻害されるものと結論づけられる。但しこの実験からは、オレイン酸による阻害が上澄部、汚泥部、混合液中のオレイン酸濃度のいずれに依存しているかは明らかにされなかった。

(B) 連続実験 Fig. 6 は、菌体滞留時間 (SRT) = 7.4 日の系における投入 S.O. 濃度、槽内オレイン酸濃度、槽内 VFA 濃度、ガス発生速度および有機性窒素の値の阻害が生じる際の経日変化を示したものである。阻害はまずガス発生速度の急激な低下として現われ、同時に槽内 VFA 濃度の急激な上昇が観察された。この時通常は 0.02 度程しか変動しない pH 値が大きく低下し ( $7.31 \rightarrow 7.14$ )、そのような pH の低下とメタン生成の減少による炭酸ガス含有率の増加が見られた (データは示していない)。槽内オレイン酸濃度を測定してみると、汚泥部、上澄部ともに急激に濃度が上昇していることが示され、特に汚泥部でその傾向が著しいことが観察された。以上のことより、槽内オレイン酸濃度が上昇して阻害が生じてしまう

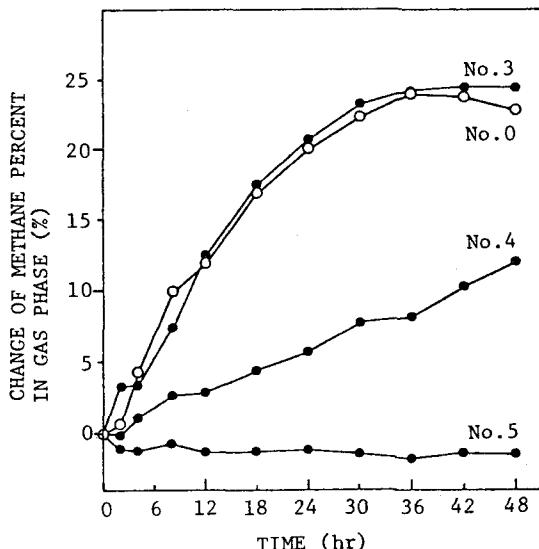


Fig. 4 Inhibitory Effect of Oleate on Methane Production from Acetate Represented by Change of Methane Percent in Gas Phase.

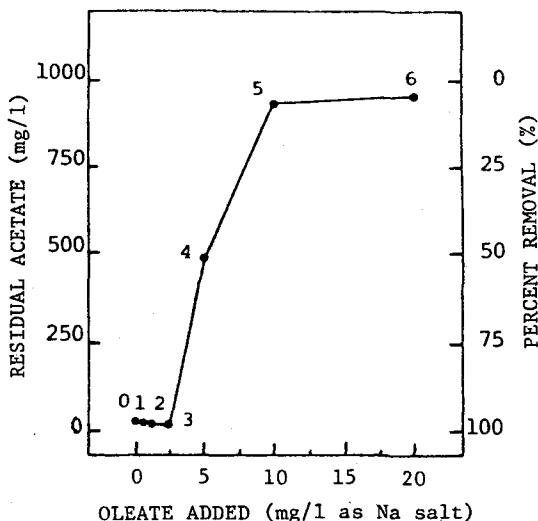


Fig. 5 Inhibitory Effect of Oleate on Acetate Removal.

と、酢酸からのメタン生成は急激に低下し、それ以前に得られていたような定常状態には達しないことが示される。Fig. 7は、SRT = 21.6日の系のFig. 6と同様の経日変化図である。この系は、一旦定常値が得られた後停電によって実験装置の機能が止まってしまい1日後実験を停電前と同じ条件で再開したところ阻害が生じてしまったというものである。そのため阻害の直接の原因については言及することができないが、しかし現象論的には、Fig. 6で得られたものと同様の阻害現象を見い出すことができる。そしてまた阻害が生じる以前には定常状態に達するが

一度阻害が起つてしまうと系の機能は完全に停止してしまうことがわかる。このような阻害のパターンは、同じ酢酸からのメタン生成において酢酸の高負荷<sup>11)</sup>や低pH<sup>22)</sup>によってもたらされる阻害の場合にも見うけられるものである。これは、酢酸からのメタン生成のプロセスの機能が何らかの原因によって一度低下してしまうと、“酢酸の蓄積→pHの低下→酢酸の蓄積→……”というような“正のフィードバック的”な仕組みによって、一挙に阻害されてしまうために生じる現象であると考えられる。それ故に、このプロセスを良好に維持するためには、機能低下が観察された場合直ちに対策を講ず

ることが必要であると結論づけられる。このことは低pHによる阻害が生じた際に、速やかにpHを最適範囲である中性域に調整することによって阻害から回復させることができたという例からも支持される。一方LFAの混合物を用いたメタン生成の場合、予めCa<sup>2+</sup>などを添加しLFAを不溶化することによって阻害を未然に防ぐことができるが、阻害が生じてから4時間後にCa<sup>2+</sup>を添加しても阻害からの回復は速やかには生じず、これはLFAと菌体との結合が強いためか、あるいは細菌を死に至らしめたためであると報告されている。<sup>8)</sup>本実験においても、SRT = 21.6日の系に阻害が生じた後にCa<sup>2+</sup>を添加してみたが、Fig. 8に示されるように阻害からは回復しなかった。これらのことから、LFAによる阻害が一度生じてしまうと、阻害防

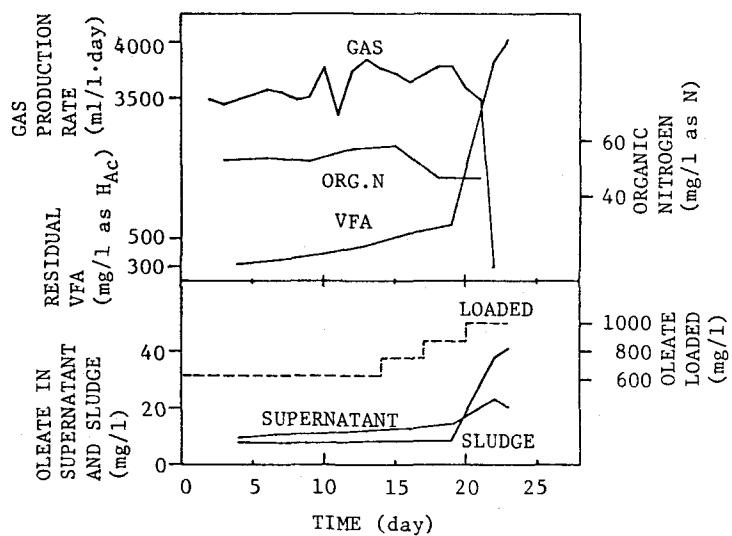


Fig. 6 Inhibitory Phenomena Caused by Oleate at SRT=7.4 days.

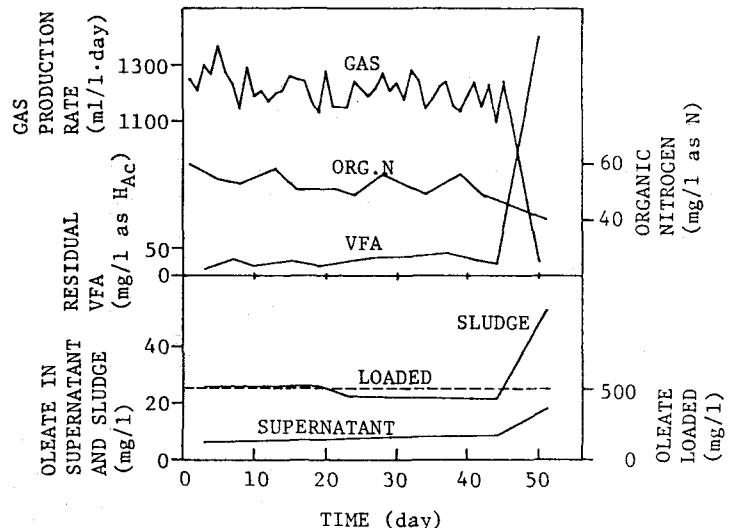


Fig. 7 Inhibitory Phenomena Caused by Oleate at SRT=21.6 days.

止に有効な  $\text{Ca}^{2+}$  の添加などによっては機能は回復し難いことが予想される。このようなことは、LFA が界面活性剤として細菌の細胞膜に作用し、膜を不可逆的に変化させるという報告や、LFA を細胞膜から除去しても阻害が少なからず残っていることと何らかの関連があるものと思われる。次に阻害の原因について考察してみると、Fig.6 及び Fig.7 に示されているように、VFA 濃度は阻害発現時にはそれ自体が阻害をもたらす濃度よりも低い値となっており、また pH についてはデータは示していないが、阻害発現前後ともメタン生成菌の至適 pH 域内にあったことから VFA 濃度や pH の変化は本実験における阻害発現の原因ではなく、阻害の結果もたらされた現象であると考えられる。一方オレイン酸については、阻害発現の際に高い値を示しており、更に SRT = 7.4 日の系において上澄中のオレイン酸濃度

がかなり高い場合でも阻害は現われず（データは示していない）、Fig.6 のように阻害が現われたときにはオレイン酸は汚泥部に蓄積されていたことなどから、汚泥部のオレイン酸が阻害に最も関与していることが示唆されるものと思われる。このことは LFA が細胞膜から上澄中に移行す

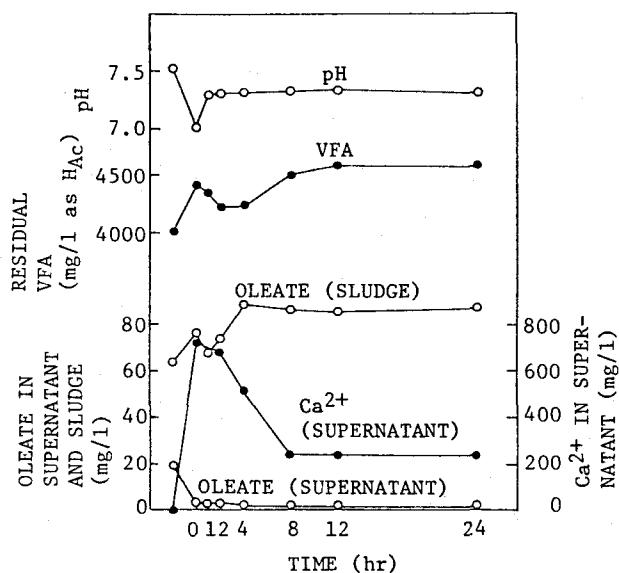


Fig.8 Effect of  $\text{Ca}^{2+}$  Addition to The Digester Inhibited by Oleate.

Table 3 Inhibitory Concentration of Oleate.

	INHIBITORY CONCENTRATION OF OLEATE					
	MIXED LIQUOR BASIS (mg/l)			CELL BASIS (mg/g-VSS)		
	in SUPER- NATANT*	in SLUDGE*	TOTAL	in SUPER- NATANT*	in SLUDGE*	TOTAL
SRT = 7.4 days	23	38	61	46	76	122
SRT = 21.6 days	19	53	72	38	107	145
BATCH EXPERIMENT	5 (TOTAL)			6.5 (TOTAL)		

\* After centrifugation in 3000 rpm for 15 min.

ることによって阻害が軽減されたという報告もあることから、妥当なものであると思われる。次にオレイン酸の阻害発現濃度について見てみると、Table 3 に示されるような値がそれぞれ得られた。これらの連続実験で得られた値を回分実験で得られた値と比較してみると、混合液当たりのオレイン酸濃度の場合も、単位菌体量当たりのオレイン酸濃度の場合も、ともにメタン生成菌のオレイン酸に対する馴致の効果があったことが示される。以上の結果より、連続プロセスにおいては、回分操作の際には阻害を及ぼすような濃度の LFA の負荷に対して、細菌自体の毒性に対する著しい馴致作用が期待でき、それらによって処理機能を正常に維持することができると結論づけられる。

### 3.2 低濃度オレイン酸の挙動

(A) 促進作用 Fig.9 は、SRT = 7.4 日の系の投入 S-O 濃度、槽内 VFA 濃度、ガス発生速度および有機性窒素の値についての全経日変化を示したものである。図より、阻害を生じさせないような投入オ

レイン酸濃度の範囲 ( $400\text{mg/l}$  以下) では、オレイン酸の添加によって槽内 VFA 濃度の低下と有機性窒素の増加がもたらされたことが観察される。Fig.10 は、上記の系のオレイン酸負荷速度に対する VFA の除去率および菌体収率について示したものである。ここで VFA の除去率はメタン生成相の処理能力を表わすものであり、菌体収率はメタン生成菌の増殖活性を表わすものと考えることができる。図より、メタン生成相の能力や菌の増殖活性が、阻害をもたらさない程度のオレイン酸の添加によって僅ながら高められていることがわかる。Fig.11 は、比酢酸負荷速度に対する比メタン生成速度を

オレイン酸添加の有無に分けて示し

たものである。酢酸からメタンへの転換率は理想的には  $1.0 \text{ mol-CH}_4/\text{mol-CH}_3\text{COOH}$  であるが、本実験の場合、図の回帰直線の傾きより、オレイン酸無添加では 0.920、オレイン酸添加では 0.958 という値がそれぞれ得られた。両者の値を比較することにより、一般的にオレイン酸の添加によってメタン生成菌の酢酸の転換効率が高められたと言うことができる。以上のように、ある濃度以上において毒性を示す物質が、それ以下の低濃度域において様々な促進効果をもたらすという現象は、嫌気性消化においても各種の金属イオン<sup>7)</sup>、重金属イオン<sup>10)</sup>などについて報告されている。これらの場合、各イオンが細菌の代謝能に対して何らかの触媒作用を発揮するためではないかと推察される。一方本実験のような LFA の場合には、培地に添加された LFA

が細菌の細胞膜に取り込まれることにより膜の<sup>13) 26)~30)</sup> 流動性が変化し、そのために代謝が活性化したりすることや、酢酸を単一炭素源とする場合に比べて脂質の生合成に要するエネルギーを節約して増殖できることなどの理由によって、低濃度域で促進効果を示すものと考えることができる。以上のような LFA による細胞膜の変化を仮定すると、高濃度の場合には細胞膜の変化が過度に生じ不可逆的に機能が破壊され阻害が生じると考えることができ、阻害と促進という相反する現象を統一的に説明することができるものと思われる。しかしこのことは本実験では明らかにされなかった。

(B) オレイン酸の分解 Fig.11 に示されている酢酸からメタンへの転換率を算出する際に、単に生データからそれを計算すると、値が 1.0 を超えてしまうものがあることがわかった。このことは、阻害剤と

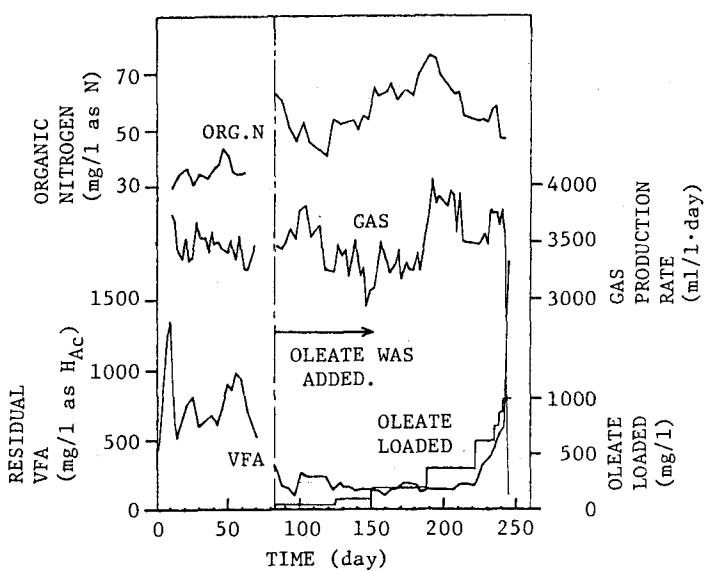


Fig. 9 Time Course of Parameters at SRT=7.4 days.

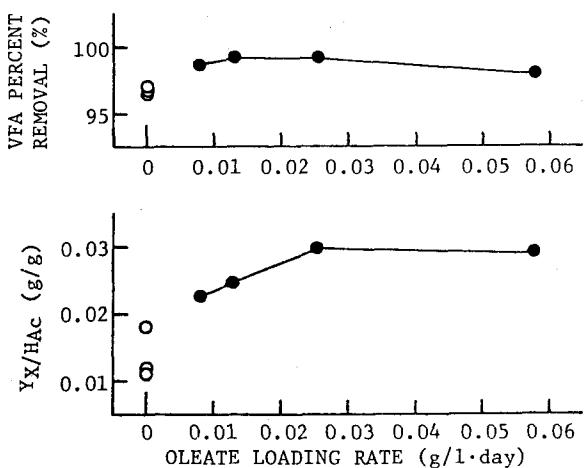


Fig. 10 Effect of Oleate Addition on VFA Removal Efficiency and Net Growth Yield at SRT=7.4 days.

して添加したオレイン酸が実際にはメタン生成の基質として一部利用されていたことを示唆するものである。LFAの分解は既に述べたように水素生成アセトジエニック菌によってメタン生成相内でなされる反応であることから、今回の実験においてもオレイン酸の分解が起こったことは充分に考えられることである。そこでオレイン酸を添加した系で消費されたと考えられるオレイン酸およびパルミチン酸（不純物として含有していた）から生成すると予想されるメタン量をFig. 12の反応式より計算し、その値を実測値から差し引いてみると、1.0を超えるものはなくなり、オレイン酸無添加の場合と同程度の値になったことから、上記予想が妥当なものであることがわかる。

なおこののようなオレイン酸の分解も、連続プロセスにおける阻害の緩和作用の一つであると言ふことができる。

一方オレイン酸が分解されると、その分解経路が問題となってくる。一般的には不飽和脂肪酸は水素付加により飽和脂肪酸へと変えられ、その後 $\beta$ -酸化によって分解されると考えられているが、オレイン酸やリノール酸の分解中間体は必ずしもその飽和型のステアリン酸ではないことが報告されており、本実験でもステアリン酸は検出されなかった。

#### 4. 総括および結論

嫌気性消化の律速段階とも言える酢酸からのメタン生成プロセスにおけるオレイン酸の挙動について、回分実験と連続実験により得られた結果を比較・検討することによって、以下の知見が得られた。  
(1) 酢酸からのメタン生成は、回分操作の場合  $5 \text{ mg/l}$  のオレイン酸の衝撃負荷によって阻害された。一方連続プロセスでは  $60 \sim 70 \text{ mg/l}$  のオレイン酸によって阻害が生じ、一度阻害が始まると系の機能は急激に低下した。連続プロセスではオレイン酸に対する馴致の効果が顕著に見られた。  
(2) 阻害をもたらさない程度のオレイン酸の添加によって、メタン生成相の機能やメタン生成菌の増殖活性が僅ながら高められた。この時同時に、阻害の緩和作用の一つであるオレイン酸の分解も行なわれた。

謝辞：本研究を行なうにあたり、実験の面でいろいろと御尽力下さった東北大学工学部学生（当時）石井宏和君、渡辺孝夫君に心から感謝いたします。

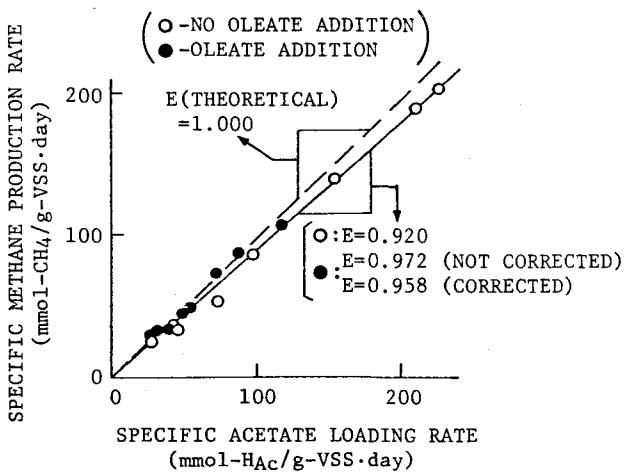


Fig. 11 Efficiency of Conversion of Acetate Loaded into Methane ;  $= E (\text{mol-CH}_4/\text{mol-HAc})$ .

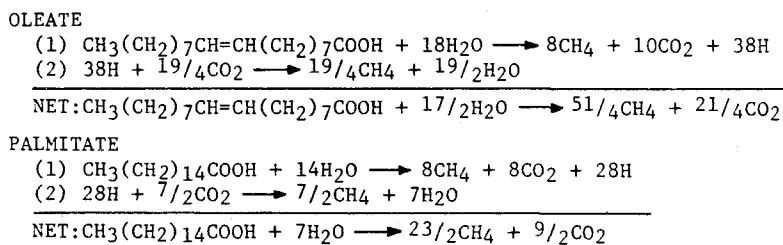


Fig. 12 Stoichiometric Schema of Degradation of Oleate and Palmitate.

## 参考文献

- 1) Jeris,J.S. et al., J.WPCF, 37, 178 (1965)
- 2) Mah,R.A. et al., Ann.Rev.Microbiol., 31, 309 (1977)
- 3) Zeikus,J.G., In First Int.Symp.on Anaerobic Digestion (Cardiff Univ.), Applied Science Publishers, pp.61-89 (1979)
- 4) Heukelekian,H. et al., Sew.Ind.Waste, 30, 1108 (1958)
- 5) Chynoweth,D.P. et al., Adv.Chem.Series, 105, 41 (1971)
- 6) Novak,J.T. et al., J.WPCF, 42, 1932 (1970)
- 7) McCarty,P.L., Pub.Works, 95, 11, 91 (1964)
- 8) 花木他, 下水道協会誌, 18, 207, 30 (1981)
- 9) Bryant,M.P., J.Animal Sci., 48, 193 (1979)
- 10) 花木他, 下水道協会誌, 17, 196, 40 (1980)
- 11) 張 他, 土木学会論文報告集, 320, 67 (1982)
- 12) Galbraith,H. et al., J.Appl.Bacteriol., 34, 803 (1971)
- 13) Demeyer,D.I. et al., Biochim.Biophys.Acta, 137, 484 (1967)
- 14) "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (14th ed.)" Amer.Pub.Health Assn., New York, 527 (1975)
- 15) 日本生化学会編 "生化学実験講座3, 脂質の化学" 東京化学同人 (1974)
- 16) Scheiner,D., Wat.Res., 10, 31 (1976)
- 17) Speece,R.E. et al., Adv.in Wat.Poll.Res., 2, 305 (1964)
- 18) McCarty,P.L. et al., Tech.Rep.No.25, Stanford, California (1963)
- 19) Lawrence,A.W., Ph.D.Thesis, Stanford Univ. (1967)
- 20) Van der Meer,R.R., Dr.Sc.Thesis, Delft Univ. (1979)
- 21) McCarty,P.L. et al., J.WPCF, 33, 223 (1961)
- 22) 張祖恩, 東北大学学位論文 (1982)
- 23) Nieman,C., Bacteriol.Rev., 18, 147 (1954)
- 24) Henderson,C., J.Agric.Sci.Camb., 81, 107 (1973)
- 25) Czerkawski,J.W. et al., British J.Nutrition, 20, 495 (1966)
- 26) 野沢義則編, "原生動物細胞" 講談社 (1981)
- 27) 大西俊一, "生体膜の動的構造" 東大出版会 (1980)
- 28) フィネアン, J.B.他, "生体膜と細胞活動" 培風館 (1977)
- 29) Butcher,G.W. et al., J.Gen.Microbiol., 94, 290 (1976)
- 30) Sheu,C.W. et al., J.Bacteriol., 111, 516 (1972)
- 31) Weng,C. et al., Wat.Res., 10, 9 (1976)
- 32) Lai,J.S. et al., J.Gen.Appl.Microbiol., 23, 137 (1976)