

(48) プロピオン酸の嫌氣的分解過程における硫酸塩還元細菌の
生態学的位置づけの定量的評価

**Ecological Significance of Sulfate-Reducing Bacteria in Anaerobic
Degradation of Propionate**

山口隆司¹, 原田秀樹², 荒木信夫³, 山崎慎一⁴, 曾 怡禎⁵
**Takashi YAMAGUCHI¹, Hideki HARADA², Nobuo ARAKI³,
Shinichi YAMAZAKI⁴, and I-Cheng TSENG⁵**

ABSTRACT ; The ecological role of sulfate-reducing bacteria (SRB) in anaerobic degradation of propionate was investigated using two UASB reactors operated in parallel under different feed conditions. Both UASB reactors received the identical organic source with a sugar-VFA mixture of 2000 mgCOD·l⁻¹, but different levels of sulfate: the first one fed with 33 mgSO₄²⁻·S⁻¹ (sulfate poor, referred to as R1), and other one fed with 1000 mgSO₄²⁻·S⁻¹ (sulfate rich, R2). Microbial activities in terms of methane production, propionate degradation and sulfate reduction were assessed using sludge samples harvested from the respective reactors after over two years operation. Contributions of syntrophic proton-reducing acetogenic bacteria (PRB) and of SRB in propionate oxidation into acetate were separately quantified by conducting specific vial-bottle tests, in which cultivation conditions were subsequently altered according to the thermodynamic concept.

Methanogenesis predominantly occurred in R1 reactor, and sulfate reducers contributed only 3 % of the total COD removal. On the other hand, COD reduction in R2 reactor was performed solely by sulfidogenesis, as a consequence of complete inhibition of methanogenesis by high level sulfide. The major contributor of propionate oxidation in R1 sludge consortium was a symbiosis between PRB and hydrogenotrophic methanogens, while in R2 sludge consortium SRB were the sole contributor. In spite of much less sulfate load some extent of propionate-oxidizing SRB proliferated in R1 sludge consortium. In the presence of sulfate propionate-oxidizing SRB exerted an oxidizing-potential of 0.84 fold as large as by the symbiosis of PRB and MPB. This finding suggests that propionate-oxidizing SRB mostly grew as fermentative bacteria under such low sulfate level as in R1 reactor.

KEY WORDS ; anaerobic digestion, fermentation, propionate, sulfate-reducing bacteria, symbiosis

1 はじめに

嫌気性廃水処理プロセスにおいてプロピオン酸は、重要な分解対象有機物である。嫌気的環境下においてプロピオン酸は、水素、酢酸を介して最終的にメタンと二酸化炭素にまで分解される。従来、プロピオン酸分解は、水素生産性酢酸生成菌 (hydrogen-producing proton reducing acetogenic bacteria, PRB) とメタン生成細菌 (methane-producing bacteria, MPB) の共生系によって遂行されることが知られている¹⁾。一方、近年、硫酸塩還元細菌 (sulfate-reducing bacteria, SRB) の生態学的役割の重要性を再認識する研究が行われている²⁻⁶⁾。プロピオン酸分解過程における SRB の寄与としては、プロピオン酸を直接分解すること、あるいは水素、酢酸と

¹ 呉工業高等専門学校 環境都市工学科 (Dept. of Civil Engineering, Kure National College of Tech.)

² 長岡技術科学大学 環境システム系 (Dept. of Environmental Systems Engineering, Nagaoka Univ. of Tech.)

³ 長岡工業高等専門学校 環境都市工学科 (Dept. of Civil Engineering, Nagaoka National College of Tech.)

⁴ 高知工業高等専門学校 建設システム工学科 (Dept. of Civil Engineering, Kochi National College of Tech.)

⁵ 国立成功大学 生物系 (台湾) (Dept. of Biology, National Cheng Kung University, Taiwan)

いう中間生成物を分解することによって、プロピオン酸分解の進行を間接的に促すことなどがある。しかしながら、これら SRB がプロピオン酸分解過程でどのように寄与しているか定量的な知見は少ない。

そこで、本研究では、プロピオン酸の嫌氣的分解過程における SRB の生態学的役割について評価を行った。実験では、UASB 反応器に硫酸塩含有の糖・VFA 混合基質を供給して培養した汚泥を用いて、以下の点について検討した：(1) 低硫酸塩負荷のメタン発酵槽内での SRB の増殖特性、(2) プロピオン酸分解に対する SRB と PRB の寄与度の定量評価。

2 実験方法

2.1 実験装置・反応器運転条件

供試汚泥の培養には、2 基の UASB 反応器を用いた。全反応器容積は 14.5 l であり、容積負荷、水理学的滞留時間 (HRT) は全反応器容積基準とした。反応器は 35 °C 恒温室に設置した。2 基の反応器の相違点は流入硫酸塩負荷にあり、流入硫酸塩濃度を $33 \text{ mgSO}_4^{2-}\cdot\text{S}\cdot\text{l}^{-1}$ (sulfate poor, 以下 R 1 と称す) と、 $1000 \text{ mgSO}_4^{2-}\cdot\text{S}\cdot\text{l}^{-1}$ (sulfate rich, 以下 R 2 と称す) とした。硫酸塩は、R1 では Na_2SO_4 を使い、R2 では質量基準で $\text{Na}_2\text{SO}_4:\text{K}_2\text{SO}_4:(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 = 1500:1500:1600$ とした。尚、後記 Table 1 (3) 式で、酢酸 1mole ($64 \text{ gCOD}\cdot\text{mole}^{-1}$) の分解が、硫酸塩 1mole ($32 \text{ gSO}_4^{2-}\cdot\text{S}\cdot\text{mole}^{-1}$) を利用する量論に従えば、R 2 の硫酸塩濃度 $1000 \text{ mgSO}_4^{2-}\cdot\text{S}\cdot\text{l}^{-1}$ は、流入 COD $2000 \text{ mgCOD}\cdot\text{l}^{-1}$ を完全分解する量に相当する。炭素源は、2 基の反応器とも COD 濃度・組成が同一のものを供給した ($2000 \text{ mgCOD}\cdot\text{l}^{-1}$; 運転 236 日まで: シュクロース: ペプトン = 90:10 as COD; 運転 237 日以降: 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)。R 1, R 2 の供給基質は、上記の硫酸塩と炭素源の他に、以下の微量元素を添加して構成した ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$): NH_4Cl , 500; $\text{MgCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 400; KCl , 300; KH_2PO_4 , 200; $\text{CaCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 150; $\text{MnCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.50; $\text{CoCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0.17; ZnCl_2 , 0.07; H_3BO_3 , 0.06 $\text{NiCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0.04; $\text{CuCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.027; $\text{Na}_2\text{MoO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.025。

R 2 (sulfate rich) には、硫酸塩還元反応の結果生じる硫化物が保持汚泥活性を低下させることを軽減するために、流出液を不活性ガスで曝気脱硫し、脱硫液を反応器へ返送する脱硫装置を装着した。脱硫液の反応器への返送比は、基質流入流量に対して 2 とした。

種汚泥には、長岡市下水処理場の中温消化汚泥を自然沈降濃縮したもの ($14 \text{ gVSS}\cdot\text{l}^{-1}$, VSS/SS 比 = 0.5) を反応器当たり約 10 l 用いた。

COD 容積負荷は、COD 除去率約 80 % 以上を保つようにしながら HRT を短縮させることにより上昇させた。実験期間中、pH 制御は $1000 \sim 2000 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ の NaHCO_3 の添加操作で行った。

2.2 活性試験

培養汚泥に対して、メタン生成活性 (Methane-producing activity, MPA)、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 (Sulfate-reducing activity, SRA) を評価した。活性は、何れも COD 換算として、 $\text{gCOD}\cdot\text{gVSS}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ の基準で評価した。培養汚泥を培地 (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°C 恒温とし、テスト基質である酢酸, 水素, プロピオン酸を添加, 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 (詳細は: 山口らの方法⁵⁾)。また, 添加硫酸塩濃度は, 微生物群の分解能を考慮して適宜 $100 \sim 300 \text{ mgSO}_4^{2-}\cdot\text{S}\cdot\text{l}^{-1}$ vial liquid とした。MPB の代謝阻害剤としてクロロホルムを添加するときは $5 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ vial liq. となるように注入した。PRB の代謝阻害剤として水素を充填するときは $110 \sim 50 \text{ kPa}$ の分圧を保った。

2.3 プロピオン酸酸化試験

嫌氣的条件下で培養汚泥を洗浄後，培地（活性試験と同じ組成）中で分散して，4本の試験バイアル瓶（全容積122 ml，液相部 50 ml，気相部 72 ml）に分注する。ここで，4本のバイアル瓶をV 1，V 2，V 3，V 4と称す。バイアル気相部を窒素ガスで置換後，シェーカーに取り付けて振とうする（35℃，回転半径 5 cm，130 rpm）。次に，バイアル内の環境を経時で条件1から4へと変化させる。条件1（対象試験バイアルV 1～4）：バイアル内に 200 gCOD・l⁻¹ のプロピオン酸溶液を基質として 0.25～0.4 ml 投入する（硫酸塩無添加状態）。条件2（同V 2～4）：バイアル中に水素を添加（110～50 kPa）し，MPB の代謝阻害剤クロロホルム溶液（1 g・l⁻¹）を 0.4 ml 添加する。条件3（同V 3～4）：333 mgSO₄²⁻-S・l⁻¹ の硫酸塩溶液を 0.5 ml 添加し，SRB によるプロピオン酸分解を進行させる。条件4（同V 4 のみ）：SRB の代謝阻害剤モリブデン酸を 20 mM となるように注入する。

尚，プロピオン酸資化性 PRB とプロピオン酸資化性 SRB の自由エネルギー変化量 ΔG'（pH 7.0，35℃）は，それぞれ，Table 1（3.3 節参照）中の(7)，(8)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。

2.4 分析方法

分析方法は以下の通り：ガス組成（ガスクロマトグラフ，TCD，Unibeads-C，60/80，Col. Temp. 145℃，Carrier press 1.60 kgf・cm⁻² Ar），揮発性脂肪酸（ガスクロマトグラフ，FID，Thermon 3000，5%，60/80，Col. Temp. 130℃，Carrier press 0.75 kgf・cm⁻² N₂），硫酸塩（イオンクロマトグラフ，CDD，Shimpack-A1，Col. Temp. 40℃，Movil phase: Potassium hydrogen phthalate 2.5 mM）。その他の分析法は，下水試験方法⁷⁾ によった。

3 結果と考察

3.1 反応器運転結果

反応器の運転は，2年以上行った。Fig. 1 に R 1（COD 容積負荷 25.5 kgCOD・m⁻³・d⁻¹ 期間）と R 2（COD 容積負荷 1.94 kgCOD・m⁻³・d⁻¹ 期間）の運転における COD と硫黄の収支を示す。COD 収支は以下の項目について

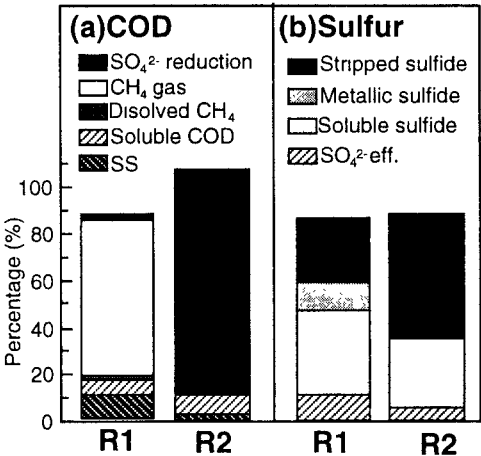


Fig.1 Mass Balances on (a) COD and (b) sulfur for R1 reactor (sulfate-poor) at a loading 26 kgCOD・m⁻³・d⁻¹, and for R2 reactor (sulfate-rich) at 2.0 kgCOD・m⁻³・d⁻¹.

て評価した：硫酸塩還元による除去COD量，メタンガス，溶解性メタン，溶解性COD，固形性COD。硫黄収支は，以下の項目について評価した：硫化水素ガス，沈殿性硫化物，溶解性硫化物，流出硫酸塩。反応器運転において，全除去CODに対するSRBにより除去されたCODは，R1で3%，R2で100%であった。即ち，R1ではメタン発酵（回収メタンは，全回収CODの75%を占めた），R2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。運転630日以降，反応器は，COD容積負荷を，R1では15 kgCOD・m⁻³・d⁻¹，R2では2.0 kgCOD・m⁻³・d⁻¹に設定して，COD除去率80-90%を保持しつつ運転した。

3.2 活性試験

Fig. 2は，メタン生成活性，プロピオン酸分解活性，硫酸塩還元活性をR1（751日目），R2（861日目）について評価した結果を示す。メタン生成は，R1では酢酸・水素基質ともに良好であったが，R2ではほぼ停止した。プロピオン酸分解活性は，R1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。R2ではPRBよりもプロピオン酸資化性SRBが卓越してプロピオン酸の分解に寄与していた。また，PRBによるプロピオン酸分解活性は，水素除去者（H₂-Scavenger）として*Methanobacterium* sp.をバイアル中に添加してもゼロであった。硫酸塩還元活性は，R2では全テスト基質について存在したが，特にプロピオン酸分解過程で利用される硫酸塩還元活性が，酢酸・水素基質の4倍程度と高かった。硫酸塩負荷が低いR1でも硫酸塩還元活性は，水素についてはR2と同程度，プロピオン酸についてもR2の1/2程度の活性を有していた。活性実験の結果から，硫酸塩が存在した場合，硫酸塩還元菌がH₂-Scavengerとしてプロピオン酸分解に寄与することが分かった。また，プロピオン酸の直接分解者として寄与する事が示唆された。そこで本研究では，SRBのプロピオン酸直接分解能を，以下のプロピオン酸化活性試験により評価した。

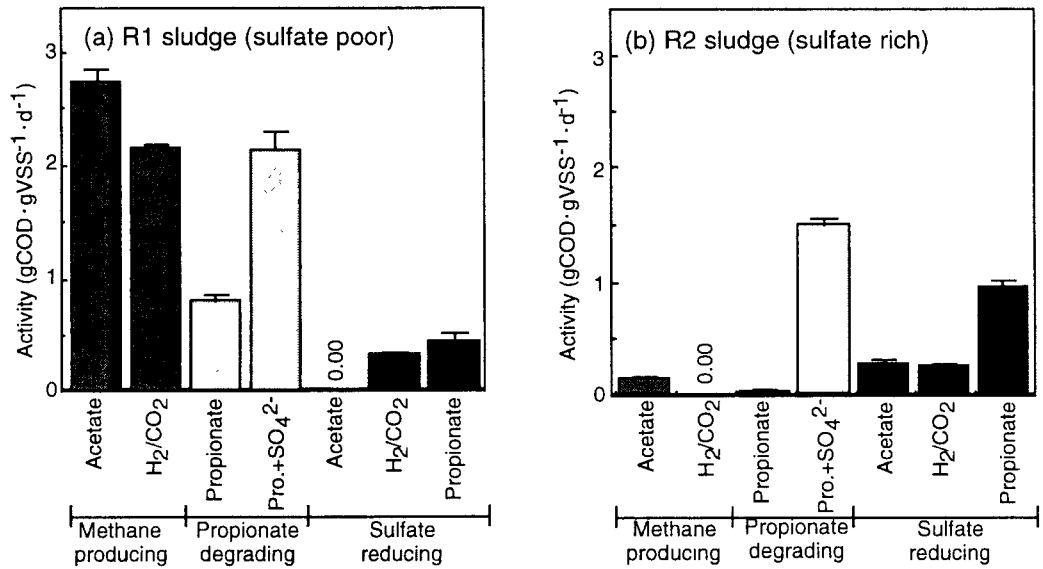


Fig.2 Microbial activities of (a) R1 sludge (sulfate-poor) and (b) R2 sludge (sulfate-rich) in terms of methane production, propionate degradation and sulfate reduction. R1 sludge and R2 sludge were taken out from the reactors on day 751 (at a loading 15 kgCOD・m⁻³・d⁻¹), and on day 861 (at 2.0 kgCOD・m⁻³・d⁻¹), respectively.

3.3 プロピオン酸酸化試験

プロピオン酸酸化試験では、プロピオン酸資化性 SRB と、PRB と MPB の共生系によるプロピオン酸酸化能を定量した。Table 1 は、水素、酢酸、プロピオン酸の代謝の反応量論式とその標準自由エネルギー変化量 ΔG^0 を示す。(5) 式で、プロピオン酸は、PRB により、酢酸、水素に分解されるが、この反応は、標準状態において ΔG^0 値が正であるために反応が進行しない。しかしながら、実際の環境下では、水素資化性 SRB あるいは水素資化性 MPB が、水素を直ちに除去する共生系によりプロピオン酸分解は進行する。一方、プロピオン酸資化性 SRB の反応 (6 式) は、水素分圧の影響を受けないため、独立でプロピオン酸が分解される。

Fig. 3 に R 1 汚泥 (運転日数 937 日目) をプロピオン酸酸化活性試験、試験バイアル V 4 に供した結果を示す。バイアル条件 1 ~ 4 でのプロピオン酸分解反応の進行は以下の通りであった。条件 1 (バイアル気相部が窒素の環境下で、プロピオン酸を投入) : プロピオン酸分解とメタン生成が進行した (Fig.3-a, b)。硫酸塩無添加であるため、この反応は、PRB と MPB の共生による酸化といえる (Fig.3-e; $\Delta G'_{P-PRB} < 0$)。条件 2 (バイアル中に 110 kPa の水素を充填し、クロロホルムを添加) : プロピオン酸分解反応が停止した。ここで、PRB の活動が停止したことは、PRB の自由エネルギー値が $\Delta G'_{P-PRB} > 0$ となったことからよく説明できる。条件 3 (硫酸塩を添加) : 硫酸塩添加後、プロピオン酸分解が硫酸塩還元に伴って再開した (Fig.3-d,e; $\Delta G'_{P-SRB} < 0$)。また、酢酸が代謝物として蓄積した (Fig.3-c)。この結果より、硫酸塩負荷の低い R 1 において SRB がプロピオン酸酸化に寄与していることがわかった。条件 4 (モリブデン酸を注入) : モリブデン酸を注入後、硫酸塩の還元が停止したことに対応して、プロピオン酸の分解も停止した。これは、プロピオン酸分解が SRB により遂行されたことを裏付けている。本酸化試験のように SRB と PRB とによる分解反応の進行をバイアル環境の自由エネルギー変化量で説明した実験は、これまでエタノール⁸⁾、酪酸⁹⁻¹⁰⁾、パルミチン酸⁵⁾、等にもみられる。それらの実験でも $\Delta G'$ 値と実験での反応進行性とは一致している。

Fig.4-a に、R 1 汚泥 (運転日数 937 日目) をプロピオン酸酸化活性試験、試験バイアル V 1 ~ 4 に供した結果を示す。バイアル条件 1 ~ 4 でのプロピオン酸分解反応の進行は以下の通りであった。条件 1 : 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。V 3 と V 4 のプロピオン酸分解活性 ($gCOD \cdot gVSS^{-1} \cdot d^{-1}$) は、V 3 と V 4 共に 0.44 (PRB と MPB の共生による酸化) であった。条件 2 : プロピオン酸分解反応が停止した。

Table 1 Free energy change values for sulfate reduction, methane production, and propionate degradation.

Reaction	ΔG^0 (kJ·reaction ⁻¹)
<i>Hydrogen-consuming</i>	
(1) H-SRB 4 H ₂ + SO ₄ ²⁻ + H ⁺ → HS ⁻ + 4 H ₂ O	- 152.2 ²⁾
(2) H-MPB 4 H ₂ + HCO ₃ ⁻ + H ⁺ → CH ₄ + 3 H ₂ O	- 135.6 ¹⁾
<i>Acetate-consuming</i>	
(3) A-SRB CH ₃ COO ⁻ + SO ₄ ²⁻ → HS ⁻ + 2 HCO ₃ ⁻	- 47.6 ²⁾
(4) A-MPB CH ₃ COO ⁻ + H ₂ O → CH ₄ + HCO ₃ ⁻	- 31.0 ¹⁾
<i>Propionate-consuming</i>	
(5) P-PRB CH ₃ CH ₂ COO ⁻ + 3 H ₂ O → CH ₃ COO ⁻ + HCO ₃ ⁻ + H ⁺ + 3 H ₂	+76.1 ¹⁾
(6) P-SRB 4 CH ₃ CH ₂ COO ⁻ + 3 SO ₄ ²⁻ → 4 CH ₃ COO ⁻ + 4 HCO ₃ ⁻ + 3 HS ⁻ + H ⁺	-150.6

$\Delta G'$ values (pH 7.0) were calculated for reactions (5) and (6) by Eqs.(7) and (8), respectively.

(7) $\Delta G'_{P-PRB}$ (kJ·reaction⁻¹) = + 76.1 + 5.89 log { [CH₃COO⁻][HCO₃⁻][P_{H₂]³ / [CH₃CH₂COO⁻] }}

(8) $\Delta G'_{P-SRB}$ (kJ·reaction⁻¹) = - 150.6 + 5.89 log { [CH₃COO⁻]⁴[HCO₃⁻]⁴[HS⁻]³ / ([CH₃CH₂COO⁻][SO₄²⁻]³) }

条件3：プロピオン酸分解が硫酸塩還元に伴って再開した。V 3, 4 のプロピオン酸分解活性は、それぞれ 0.91, 0.92 (プロピオン酸資化性 SRB による) であった。また、バイアル V 3 では、0.84 日で添加した硫酸塩が完全に消費されたことによりプロピオン酸分解が停止した。条件4：モリブデン酸を注入後、プロピオン酸の分解も停止した。

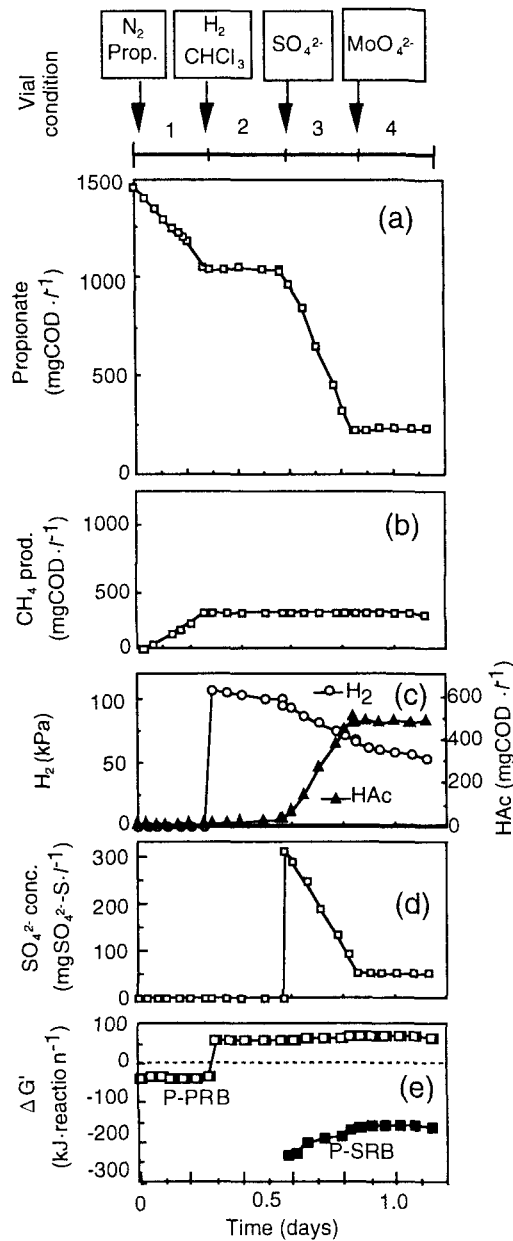


Fig.3 Propionate oxidation test in a vial V4 using R1 sludge (sulfate-poor) sampled from the reactor on day 937 (at a loading $15 \text{ kgCOD} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$). Cultivation conditions of the vial V4 were altered in sequence as follows: condition 1; propionate with N_2 , condition 2; addition of H_2 and CHCl_3 , condition 3; addition of SO_4^{2-} , and condition 4; addition of MoO_4^{2-} .

Fig.4-b に、R 2 汚泥（運転日数 861 日目）をプロピオン酸酸化活性試験に供した結果を示す。R 2 汚泥では、条件 1 における PRB と MPB の共生によるプロピオン酸分解活性はゼロであった。プロピオン酸の分解には SRB のみが寄与し、その活性は条件 3 で 1.0 であった。

以上、プロピオン酸酸化活性試験より、低硫酸塩負荷の R 1 でもプロピオン酸資化性 SRB が増殖することが明らかとなった。

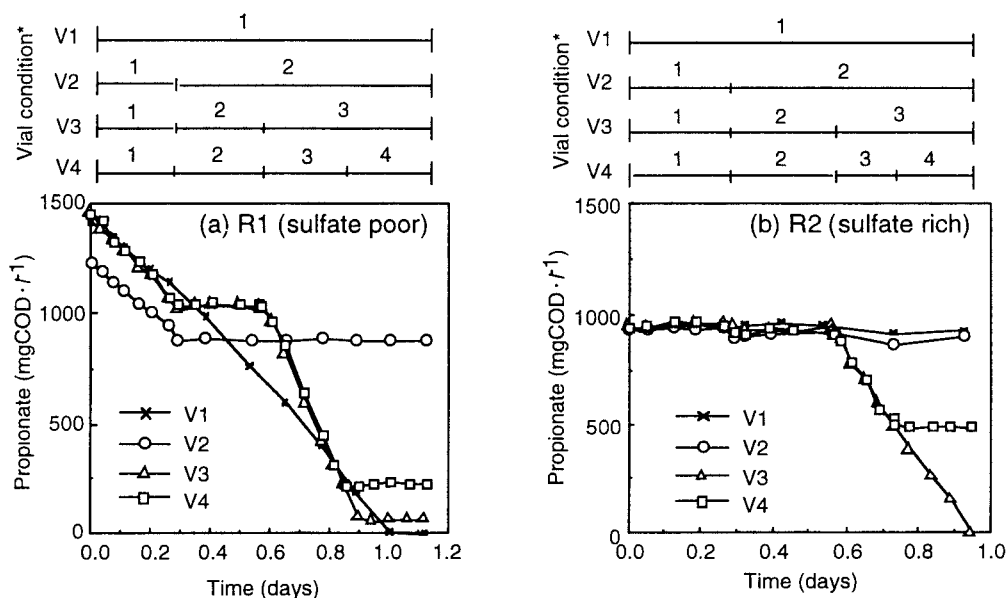


Fig.4 Propionate oxidation test (a)using R1 sludge (sulfate-poor, sampled on day 937 at a loading $15 \text{ kgCOD} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$), and (b)using R2 sludge (sulfate-rich, on day 861 at $2.0 \text{ kgCOD} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$).

*Vial conditions 1 through 4 were same as denoted in Fig.3.

3.4 プロピオン酸酸化活性比較

Fig. 5 は、4 種の菌叢によるプロピオン酸酸化活性を評価した結果を示す。プロピオン酸酸化活性は、パイアルの気相・液相条件を操作して、プロピオン酸酸化に寄与し得る微生物を制限して評価した。この結果、R 1 (sulfate poor) では、プロピオン酸資化性 SRB による酸化活性に対して、PRB と MPB 共生系が 1.2 倍、PRB と SRB 共生系が 1.9 倍、PRB と MPB 及び SRB 共生系が 3.2 倍のプロピオン酸酸化活性を有した。一方、R 2 では PRB でなく、プロピオン酸資化性 SRB が増殖していたことが分かる。

R 1 のように低硫酸塩負荷で SRB がプロピオン酸分解に寄与した理由としては、SRB が発酵によって増殖したことが考えられる。これまで不完全酸化のプロピオン酸資化性 SRB としては、*Desulfohalobium propionics*, *Desulfohalobium enlogate* などが報告されている¹¹⁾。Tasaki ら³⁾ は、*Desulfohalobium propionics* strain MUD が硫酸塩の存在しない環境下でアルコールやアルデヒドを炭素源として増殖できることを報告している。Fig. 2 の活性試験において酢酸資化性硫酸塩還元活性がゼロであったことと、プロピオン酸酸化活性試験の Fig.3-c で、プロピオン酸の分解に伴って酢酸が蓄積したことから、本実験 R 1 で増殖した SRB としては、不完全酸化のプロピオン酸資化性 SRB と考えられる。また、これまでにプロピオン酸を主要炭素源として硫酸塩供給制限環境下で嫌気性流動床¹¹⁾ やケモスタット¹²⁾ を運転した反応槽における SRB の基質利用特性を評価した結果では、プロ

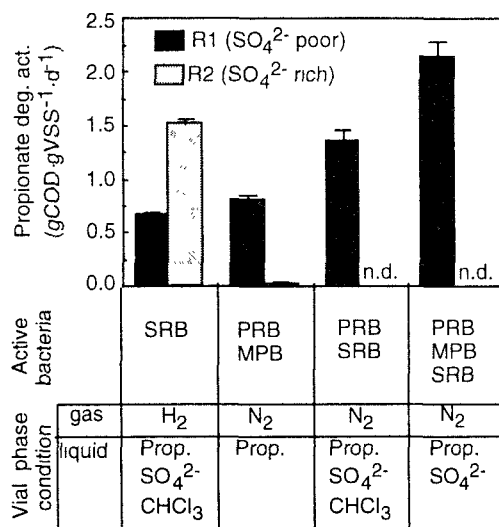


Fig.5 Propionate degrading activity of R1 sludge (sulfate-poor) and R2 sludge (sulfate- rich) under four different vial conditions. n.d: not determined.

ピオン酸資化性SRBの増殖はあまりみられなかった。このことから、硫酸塩供給制限下においてプロピオン酸資化性SRBが増殖するためには、SRBが発酵基質として利用しやすいピルビン酸、乳酸、エタノールなどを中間代謝物として生成する本実験で供給したシュクロースのような炭素源が要ると考えられる。

本研究ではプロピオン酸資化性SRBの生態特性に注目したが、硫酸塩低負荷の生育環境でもSRBが高い割合で菌数計数される報告⁶⁾や、電子供与体としての硫黄源が存在しない環境下でもピルビン酸やフマル酸を利用してSRBが生育できるという報告^{4, 13)}が成されていることから、硫酸塩供給律速の環境下におけるSRBの発酵性細菌としての役割は重要といえる。

4 まとめ

本研究の結果、以下の知見が得られた。

- (1) R 1 (sulfate poor ; 流入基質 ; 2000 mgCOD·l⁻¹, 33 mgSO₄²⁻-S·l⁻¹) では、メタン発酵が卓越し、全除去CODに対する硫酸塩還元による除去CODの割合は3%と低かった。しかし、水素資化性SRBとプロピオン酸資化性SRBは増殖した。
- (2) R 1のプロピオン酸酸化活性 (gCOD·gVSS⁻¹·d⁻¹) は、プロピオン酸資化性SRB、水素生産性酢酸生成細菌とMPB共生系で、それぞれ、0.67, 0.79であり、増殖したSRBのニッチェは高かった。
- (3) プロピオン酸資化性SRBは、R 1のような低硫酸塩負荷の環境下では発酵的に生育し、有機物分解に寄与していることが分かった。R 1で増殖したSRBとしては、発酵により生育可能な不完全酸化のプロピオン酸資化性SRBと考えられた。
- (4) R 2 (sulfate rich ; 流入基質 ; 2000 mgCOD·l⁻¹, 1000 mgSO₄²⁻-S·l⁻¹) ではプロピオン酸酸化は、プロピオン酸資化性SRBによってのみ行われた。また、酢酸と水素の分解者としてもSRBは卓越した。
- (5) プロピオン酸分解活性の増大には硫酸塩の添加が有効でと考えられた。即ち、プロピオン酸分解活性は、硫酸塩無添加・添加の環境下においてそれぞれ、R 1で0.79と2.3 (2.9倍)、R 2で0.0と1.5であった。

参考文献

- (1) Thauer, R.K., K. Jungermann, and K. Decker (1977) Energy conservation in chemotrophic anaerobic bacteria, *Bacteriological Reviews*, 41, 100-180.
- (2) Widdel, F. (1988) Microbiology and ecology of sulfate- and sulfur- reducing bacteria, in *Biology of Anaerobic Microorganisms* (ed. Zehnder, A.J.B.) , Wiley Interscience, 469-584.
- (3) Tasaki, M., Y. Kamagata, K. Nakamura, and E. Mikami (1992) Propionate Formation from Alcohols or Aldehydes by *Desulfobulbus propionics* in the Absence of Sulfate, *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 73, 329-331.
- (4) Nakamoto, M., A. Ueki, and K. Ueki (1996) Physiological Properties of a Sulfate-Reducing Bacterium Isolated from Municipal Sewage Sludge and its Possible Role as a Syntrophic Acidogen in the Ecosystem, *Journal of General and Applied Microbiology*, 42, 109-120.
- (5) 山口隆司, 原田秀樹, 桃井清至, 曾 怡禎 (1995) 高級脂肪酸の嫌氣的分解過程における硫酸塩還元菌の生態学的役割, *水環境学会誌*, 18, 499-510.
- (6) Yamaguchi, T., H. Harada, and I-Cheng Tseng (1997) Competitive Exclusion of Methane-Producing Bacteria by Sulfate-Reducing Bacteria in Anaerobic Degradation of Long-Chain Fatty Acids, *Proceedings of International Conference of Anaerobic Digestion*, 2, 362-370
- (7) 社団法人日本下水道協会, 下水試験方法 1984 年版.
- (8) Thiele, J.H. and J.G. Zeikus (1988) Control of interspecies electron flow during anaerobic digestion: Significance of formate transfer versus hydrogen transfer during syntrophic methanogenesis in flocs, *Applied and Environmental Microbiology*, 54, 20-29.
- (9) Dwyer, D.F., E. Weeg-Aerssens, D.R. Shelton, and J.M. Tiedje (1988) Bioenergetic conditions of butyrate metabolism by a syntrophic anaerobic bacterium in coculture with hydrogen-oxidizing methanogenic and sulfidogenic bacteria, *Applied and Environmental Microbiology*, 54, 1354-1359.
- (10) Bae, J. and P.L. McCarty (1993) Inhibition of Butyrate Oxidation by Formate during Methanogenesis, *Applied and Environmental Microbiology*, 59, 628-630.
- (11) 松井三郎, 丸山智裕, 黒石敬史 (1991) プロピオン酸の嫌氣的分解過程における硫酸塩還元菌の関与形態について, *衛生工学研究論文集*, 27, 97-106.
- (12) Uberoi, V. and S.K. Bhattacharya (1995) Interactions among Sulfate Reducers, Acetogens, and Methanogens in Anaerobic Propionate Systems, *Water Environment Research*, 67, 330-339.
- (13) Widdel, F. and F. Bak (1991) Gram-negative mesophilic sulfate-reducing bacteria, in *The Prokaryotes* 1991 4th ed., 3352-3392.