

嫌気性消化における酸生成相への アンモニア性窒素の影響

藤島繁樹¹・宮原高志²・角田俊司³・野池達也⁴

¹学生会員 工修 東北大学大学院生 工学研究科 (〒980-8579 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉06)

²正会員 工博 静岡大学助教授 工学部 (〒432-8561 静岡県浜松市城北3-5-1)

³東北大学大学院生 工学研究科 (〒980-8579 仙台市青葉区荒巻字青葉06)

⁴フェロー会員 工博 東北大学教授 大学院工学研究科 (〒980-8579 仙台市青葉区荒巻字青葉06)

嫌気性消化における炭水化物とタンパク質の分解に及ぼすアンモニアの影響を検討するため、基質にデンプンとペプトンを用い、アンモニア性窒素濃度を変化させた回分実験を行った。その結果、ペプトンの分解速度は、ほとんど影響を受けなかったが、デンプンの分解速度は、アンモニア性窒素濃度の増大とともに大きく減少した。さらに、炭水化物の代謝に及ぼすアンモニア性窒素の影響を検討するために、グルコースで培養した酸生成細菌を用いて回分実験を行ったところ、アンモニア性窒素濃度の増大に伴い、分解したグルコース当たりの酪酸生成量は減少した。一方、エタノールの生成は、アンモニア性窒素濃度の増大に伴い、増加する傾向を示した。

Key Words : anaerobic digestion, ammonia inhibition, acidogenic bacteria

1. 研究の背景

下水汚泥の嫌気性消化は、有機物の微生物分解により汚泥の減量化、安定化が可能で、メタンとしてのエネルギー回収もできる処理プロセスである。しかし、発生汚泥の少ない小規模下水処理場に嫌気性消化槽を設けることは効率的ではないため、現在稼働中の処理場には、消化プロセスを組み入れていないものが多い¹⁾。汚泥の集約処理は、このような消化施設をもたない処理場から排出される脱水汚泥(TS25%程度)を、消化施設をもつ大規模処理場に集め消化を行う処理システムである。この処理システムが適用された場合、これまで未消化のまま汚泥を処分していた処理場に加え、今後、増加が予想される小規模下水処理場からの汚泥処理にも対応できる。しかし、現在、消化の対象とされている汚泥の固形物濃度は2-3%であり、汚泥の集約処理を行う場合は、この本来の消化対象汚泥に小規模処理場からの脱水汚泥が加わるため、より高濃度で汚泥消化を行うことが必要となる。

筆者ら²⁾は、投入汚泥の固形物濃度(TS)を増大させた場合の消化に及ぼす影響を明らかにするため、脱水汚泥を基質とした連続実験を行った。その結果、投

入汚泥濃度を11.0%(TS)にあげても安定した処理性能が維持されていた。しかしながら、炭水化物の分解は、投入汚泥濃度の増大に伴い、大きく減少しており、投入汚泥濃度11.0%の条件での分解率は27%程度であった。それにより、メタンの生成効率も、10%程度減少していた。このように炭水化物の分解率が減少した原因については、様々なものが挙げられるが³⁾その一つとしてアンモニアの蓄積が考えられる³⁾。

アンモニアは、タンパク質やアミノ酸等の分解により生成される。アンモニア性窒素は、細菌の増殖に必須の栄養源であるが、過剰に存在すると、嫌気性消化プロセスに対し阻害を及ぼすことが多くの研究者により報告されている。阻害を及ぼし始めるアンモニア性窒素濃度は、実験条件により異なるが、1500-3000mg-N/Lの範囲でメタン生成活性の低下が起るとされている⁴⁾⁻⁷⁾。また、メタン生成細菌が高アンモニア濃度の条件下で、馴養され続けるとその環境に順応する事が知られている⁸⁾⁻¹¹⁾。その場合、アンモニア性窒素濃度が、先に述べたような阻害濃度に達してもメタン生成は維持される。

これまでの研究から、嫌気性消化に関与する細菌群の中では、メタン生成細菌がアンモニアによる阻害を受けやすいとされている。これは、アンモニア

の蓄積により、メタン生成が減少した場合に、酢酸やプロピオン酸等、VFAの蓄積が見られるためである^{5), 6), 9), 12)}。そのため、これまで行われてきたアンモニアによる阻害の研究は、メタン生成を対象としたものがほとんどであり、酸生成への阻害を扱った研究は少ない。

GallerlとWinter⁴⁾は、一般廃棄物の嫌気性消化を行っている反応槽から採取した汚泥を種汚泥とした回分実験でグルコースの分解に及ぼすアンモニア性窒素の影響を検討した。その結果、中温では全アンモニア性窒素濃度3.7g-N/L(遊離アンモニア濃度0.28g-N/L)で、グルコースの分解速度が阻害のない場合の50%に減少したと報告している。Krylovaら¹³⁾は、養鶏廃棄物の嫌気性消化を行う細菌群へのアンモニア性窒素の影響を検討するため、MPN法により細菌数の計数を行った。それによると、アンモニア性窒素濃度が13000 mg/Lに増大した場合、セルロース分解細菌の細菌数は1/100に減少していた。また、いずれの研究でもメタン生成へのアンモニアの影響についても検討しているが、酸生成に比べ、メタン生成の方が先にアンモニアの阻害を受けたと報告している。以上のことから、メタン生成細菌に比べ高いアンモニア濃度ではあるが、酸生成細菌もアンモニアによる阻害を受けることわかる。

このように従来のアンモニア阻害の研究では、その影響はメタン生成段階に顕著にあらわれるとされており、阻害に対し順応しなければ、VFAの蓄積により嫌気性消化全体が停止するといわれている。筆者らが行った研究²⁾では、投入汚泥濃度が11.0%(TS)の条件において、3000mg-N/L以上のアンモニア性窒素が蓄積していた。この濃度は、先に述べたメタン生成細菌が阻害を受けるとされている限界濃度を大幅に超えているが、阻害に対し順応したため、安定したメタン生成が維持されていた。これは、揮発性脂肪酸の蓄積が少なかったことから明らかである^{2), 3)}。一方、このアンモニア濃度は、炭水化物の分解が阻害を受けるとされている濃度⁴⁾にも近い値である。よって、この研究²⁾では、メタン生成細菌はアンモニアに対し順応したため、影響を受けなかったが、炭水化物資化性の酸生成細菌は、アンモニアによる阻害を受け、炭水化物の分解率が減少した可能性がある。

そこで、本研究では、投入汚泥濃度の増大にともない、炭水化物の分解率が減少した原因が、アンモニアの蓄積による酸生成細菌への阻害であることの可能性について検討した。

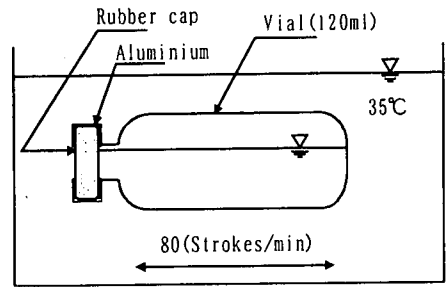


図-1 回分実験概略図

2. 実験方法

(1) デンブンおよびペプトンの分解に及ぼすアンモニア性窒素の影響

筆者らの研究²⁾によると、投入汚泥濃度の増大に伴い、炭水化物の分解率は大幅に低下していたが、タンパク質の分解率は、増加する傾向を示していた。このことから、投入汚泥濃度の増大に伴う何らかの要因により、炭水化物の分解は阻害を受け、タンパク質の分解は促進されたと考えられる。ここでは、その要因をアンモニア濃度の増大と仮定し、以下に示す回分実験により、炭水化物およびタンパク質の分解に及ぼすアンモニア性窒素の影響を検討した。

種汚泥には、TS6.0-7.0%の下水汚泥を基質とし、完全混合反応槽で馴養していたものを用いた。種汚泥の馴養は、滞留時間14日、馴養温度35±1℃の条件で行った²⁾。

基質の組成は、デンブンを5000(mg/L)、ペプトンを12000(mg/L)とし、緩衝剤としてNaHCO₃を6000(mg/L)加えた。さらに、基質を種汚泥と混ぜた際のアンモニア性窒素濃度が900, 1600, 3200, 4300, 5400(mg-N/L)の5段階になるようにそれぞれの基質にNH₄Clを加えた。最後に、pHを種汚泥と一致させるため1NNaOH, 1NHClを用いて、7.7-7.8に調整し、還元剤としてL-Cysteine·HCl·H₂Oを0.5(g/L)、Na₂S·6H₂Oを0.25(g/L)添加した。

各バイアル瓶(120mL)に種汚泥を20mL、アンモニア性窒素濃度を変えたそれぞれの基質を60mL注入し、気相部をN₂ガスで2分間換気した後、速やかにブチルゴム栓とアルミ製締金具で密栓した。その後、35℃の恒温振盪槽にセットし、80strokes/分の条件で実験を行った(図-1)。

本研究では、溶解性炭水化物と溶解性タンパク質濃度の経時変化を測定した。溶解性炭水化物濃度の測定は、バイアル瓶内の混合液を、一定時間おきに注射器で0.5mL採取し、グルコースを標準物質とした

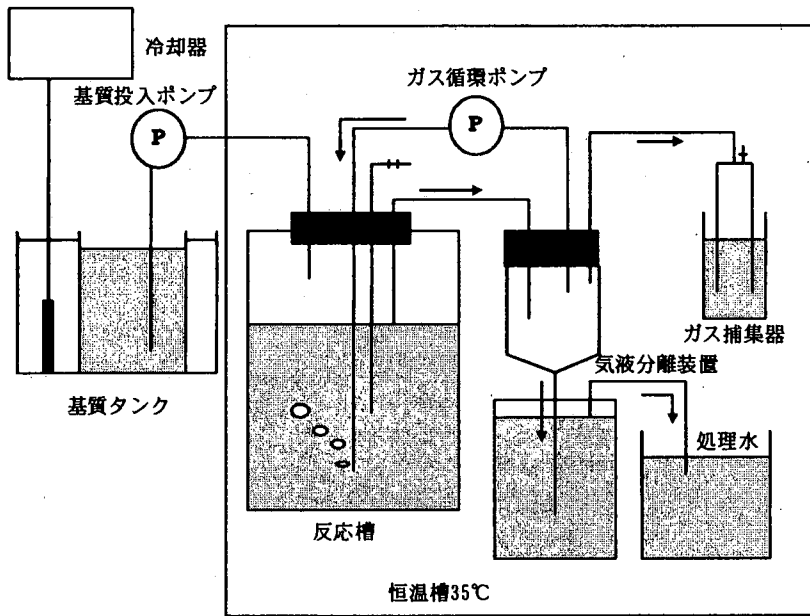


図-2 酸生成細菌培養装置概略図

フェノール-硫酸法¹⁴⁾に従い行った。溶解性タンパク質濃度は、アルブミンを標準物質としたLowry法¹⁵⁾に従い測定した。

(2) 解糖経路に及ぼすアンモニア性窒素の影響

従来の研究から、炭水化物の分解による酸生成は、アンモニア性窒素濃度による影響を受けるといことが知られているが、酸生成に及ぼすアンモニアの影響に関する研究は、酸性域に限られたものが多く^{23), 24)}、その詳細は明らかでない。そこで、本研究では、炭水化物分解の中心となる解糖経路へのアンモニアの影響を検討するため、グルコース資化性酸生成細菌を培養し、それを種汚泥として用いて、回分実験を行った。

本研究では、山形市下水道部浄化センターの汚泥消化槽より採取した中温消化汚泥を、表-1、表-2の人工基質で3ヶ月以上馴養した後に、種汚泥として用いた。種汚泥の馴養に用いた培養槽の概略図は図-2に示すとおりである。反応槽は、連続的に基質を投入し、発生したガスをポンプで循環させることによって槽内を攪拌し、増加した消化液を連続的に引き抜く完全混合型反応槽である。温度を一定に保つため、反応槽は35℃の恒温槽内に設置した。緩衝剤の添加により、反応槽内のpHを6.9-7.1に維持し、滞留時間を10時間に設定して、3ヶ月間連続運転を行い、以下に示す回分実験の種汚泥として用いた。

回分実験に用いた基質の組成は、グルコースを

表-1 種汚泥培養基質の組成

試薬	濃度 (mg/L)
Glucose	10000
NH ₄ HCO ₃	4500
K ₂ HPO ₄	250
MgCl ₂ ·6H ₂ O	100
NaHCO ₃	6000
Mineral solution	10 (mL/L)

表-2 Mineral solutionの組成

試薬	濃度 (g/L)
FeCl ₂ ·4H ₂ O	0.4
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.12
AlK(SO ₄) ₂ ·Na ₂ MoO ₄	0.01
H ₃ BO ₃ ·CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.01
NaCl	1.0
CaCl ₂ ·NiCl ₂ ·6H ₂ O	0.02
MnCl ₂ ·4H ₂ O, ZnCl ₂	0.10

5000 (mg/L)、NH₄HCO₃を2200 (mg/L)、K₂HPO₄を250 (mg/L)、MgCl₂·6H₂Oを100 (mg/L)、Mineral solutionを10 (mL/L)、NaHCO₃を6 (g/L)とした。また、基質を種汚泥と混ぜた際のアンモニア性窒素濃度が510, 2800, 3900, 5000, 5900 (mg/L)の5通りになるようにそれぞれの基質にNH₄Clを加えた。回分実験開始時のpHは、1N HClにより7.0-7.1に調整した。そ

の後の手順は、先の実験方法と同様である。

測定は一定時間おきに、液体サンプルを0.5(mL)引き抜きVFA濃度、アルコール濃度、グルコース濃度、pHについて行った。また、ガス生成量およびガス組成についても測定した。測定方法は以下の通りである。

ガス生成量は、ゴム栓にガラスシリンジを差し込みプランジャーの移動した量を測定することで求めた。発生したガス中の水素の分析は、熱伝導度検出器付ガスクロマトグラフにより行った。カラムはPorapakQが充填された2mのステンレス製のものを用いた。検出器温度は100℃、カラム温度は70℃に決定した。キャリアーガスはN₂を用いた。揮発性脂肪酸(VFA)の分析には、水素炎イオン化検出器付ガスクロマトグラフを用いた。カラムはUnisole F-200が充填されたφ3.2mm×2.1mのガラス製カラム、キャリアーガスはN₂を用い、検出器温度を200℃、インジェクション温度170℃、カラム温度を140℃として測定した。アルコールの分析には、水素炎イオン化検出器付ガスクロマトグラフを用いた。カラムはGaskuropack 54が充填された2mのガラス製カラム、キャリアーガスはヘリウムを用い、検出器温度を200℃、カラム温度を185℃として測定した。アンモニア性窒素の分析には、イオンクロマトグラフを用いた。カラムはShimpack IC-C3、キャリアーはシュウ酸(2.5mM)、カラム温度は40℃、流量は1.0(mL/min)として測定した。グルコース濃度の測定は、グルコースを標準物質としたフェノール-硫酸法¹⁴⁾に従って行った。pHの測定は、GST-5425C探針を装備したpHメーターを用いた。

3. 結果および考察

(1) デンプンおよびペプトンの分解に及ぼすアンモニア性窒素の影響

各アンモニア性窒素濃度条件における溶解性炭水化物濃度と溶解性タンパク質濃度の経時変化は、図-3、図-4に示すとおりである。本研究では、各成分の分解に及ぼすアンモニアの影響を定量的に評価するため、最大炭水化物分解速度と最大タンパク質分解速度を指標として用いた。各分解速度は、(1)式に示すGompertz式¹⁶⁾を適用することで算出した。

$$D = P \cdot \exp \left\{ -\exp \left[\frac{V_m \cdot e}{P} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad (1)$$

式の中でDは溶解性炭水化物(タンパク質)分解量(mgCOD/L)、Pは分解可能な溶解性炭水化物(タンパク

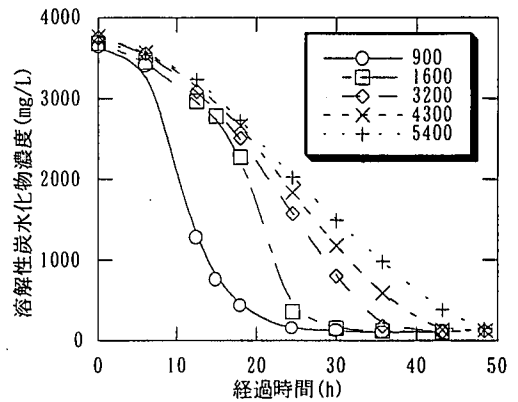


図-3 各アンモニア性窒素濃度条件における溶解性炭水化物濃度の経時変化

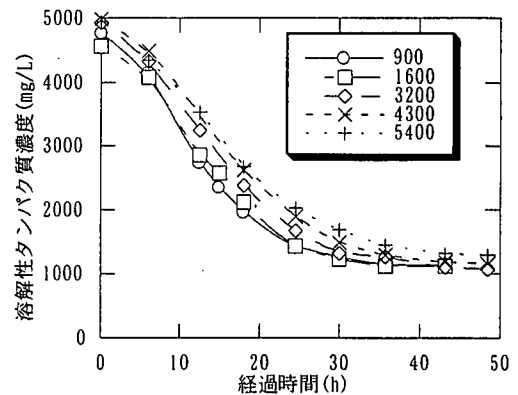


図-4 各アンモニア性窒素濃度条件における溶解性タンパク質濃度の経時変化

質)分解量(mgCOD/L)、V_mは最大炭水化物(タンパク質)分解速度(mgCOD/L/h)、λは遅滞時間(h)、tは経過時間(t)をそれぞれ表している。Gompertz式を用いた解析結果は図-5に示すとおりである。各アンモニア濃度条件での最大分解速度を、バイアル瓶中のVS濃度で除し、比炭水化物分解速度および比タンパク質分解速度とした。

図-3、図-5よりアンモニア性窒素濃度の増大に従い、炭水化物の分解速度は、大幅に減少していたことがわかる。この結果は、GallertとWinter⁹⁾が示したグルコースの分解速度に及ぼすアンモニア阻害の傾向とほぼ一致していた。しかしながら、本実験で用いた酸生成細菌の方がアンモニアによる影響を受けやすかったようである。GallertとWinter⁹⁾は、分解速度が半減するのはアンモニア性窒素濃度3700(mg-N/L)としているが、本研究では、3200mg-N/Lで分解速度がすでに1/2以下に程度に落ち込んでいた。これは、用いた種汚泥中にアンモニア性窒素が2000(mg-N/L)程度蓄積していたため、炭水化物資性酸生成細菌が、馴養中に阻害を受け、その活性を低下

させていたことが原因として考えられる。また、最大の炭水化物分解速度を示したアンモニア濃度 900 (mg-N/L) の条件は、種汚泥の馴養環境に比べ阻害因子が希釈された環境といえる。阻害物が細菌を死滅させるような毒性をもたなければ、その阻害物を取り除くことで細菌は活性を取り戻すことが知られている¹⁷⁾。つまり、本実験で用いた種汚泥中の炭水化物資化性酸生成細菌は、アンモニアの阻害により、活性を抑えられていたが、回分実験の際、アンモニアが希釈されたことで、細菌のもつ本来の炭水化物分解速度まで回復したと考えられる。また、アンモニア性窒素濃度が 3200mg-N/L 以上の条件では、炭水化物の分解速度が、最大分解速度の 33-45% 程度だったことから、これらの環境での炭水化物分解を利用した酸生成細菌の増殖は困難であると考えられる。

一方、タンパク質の分解は、図-4、図-5よりアンモニア性窒素濃度の影響をあまり受けていないことがわかる。一般的にアンモニアによる阻害機構は、遊離アンモニアが細胞内に入り、細胞内 pH が変化し、活性が低下するとされている^{18), 19)}。タンパク質資化性酸生成細菌では、タンパク質およびアミノ酸の分解に伴いアンモニアを細胞外に排出していることから、細胞内の遊離アンモニア濃度は細胞外に比べ高いことが予想される。そのため、メタン生成細菌や炭水化物資化性酸生成細菌に比べ、遊離アンモニアが細胞内に浸透しにくく、細胞内 pH の変化やそれに伴う活性の低下という影響も小さかったと考えられる。

汚泥消化槽内でタンパク質の分解に関与している細菌は主に *Clostridium* 属細菌であり、そのほとんどが炭水化物資化性も持つとされている²⁰⁾。そのため、易分解性の炭水化物や糖類が存在する場合、それらの分解が優先的に行われ、タンパク質の分解は制限を受ける^{21), 22)}。しかしながら、本実験の結果からアンモニア性窒素濃度が 3200 (mg-N/L) を越えた場合、炭水化物はタンパク質に比べ分解しにくい物質となることが明らかとなった。本研究において基質として投入した溶解性炭水化物は全て分解されたことから、阻害は、炭水化物資化性酸生成細菌を死滅させるようなものではなく、何らかの生体機能を阻害することで分解速度や増殖に影響を及ぼしていることがわかる。筆者らが行った研究³⁾では、投入汚泥濃度の増大に伴い、消化汚泥中のアンモニア性窒素濃度は増大し、炭水化物分解率が減少していた。そして、この時、タンパク質分解率は増加しており、酸生成細菌の優占種も炭水化物資化性のものからタンパク質資化性のものへと変化していた。これらのことから、高アンモニア濃度条件下において炭水化物とタンパク質の両成分を含む基質で *Clostridium* 属

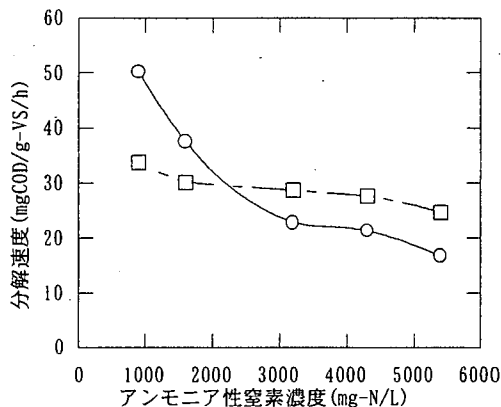


図-5 各有機物の分解速度に及ぼすアンモニア性窒素の影響

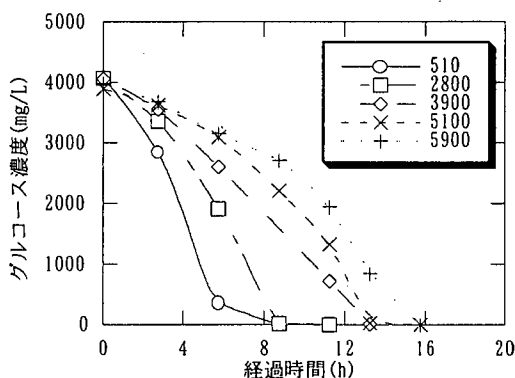


図-6 各アンモニア性窒素濃度条件におけるグルコース濃度の経時変化

細菌の連続培養を行った場合、基質中に含まれる炭水化物が易分解性であっても、タンパク質を優先的に基質として利用し、増殖していくと考えられる。

(2) 解糖経路に及ぼすアンモニア性窒素の影響

各アンモニア性窒素濃度条件におけるグルコース濃度の経時変化は、図-6に示すとおりである。先の回分実験と同様に、グルコース濃度の経時変化に Gompertz 式¹⁶⁾をあてはめることで、最大グルコース分解速度を求め、アンモニア性窒素による影響を評価した。その結果は図-7に示すとおりである。図から、グルコースの分解速度は、アンモニア性窒素濃度の増大により急激に低下するが、ある濃度以降、低下率は緩やかになっていった。このことから、高アンモニア条件においても、酸生成細菌は増殖できることがわかる。

本研究では、グルコースの分解速度が阻害を受けていない場合の 50% に低下するアンモニア性窒素濃度は約 2600 (mg-N/L) であった。一方、小木曾ら²⁴⁾は反応槽内のアンモニア性窒素濃度が 2000 (mg-N/L) を

越えても、グルコースの分解や水素生成に影響はないと報告している。このような矛盾は、小木曾ら²⁴⁾の研究でのpHが5.0-6.5であったことに起因する。メタン生成細菌に関する研究ではあるが、アンモニア阻害へのpHの影響は、遊離アンモニア濃度を増大させることに加え、pHの上昇そのものも阻害作用を強めることが知られている²⁵⁾。よって、本研究でアンモニアによる影響があらわれたのは、図-8からわかるように、pHが6.5-7.1の中性域に維持されていたためと考えられる。

図-9に、各アンモニア性窒素濃度における代謝産物の生成量を示した。プロピオン酸に関しては種汚泥中に含まれていたもののみで、グルコースの分解による増加は見られなかった。また、Longら²³⁾は、*C. acetobutylicum*のアセトンおよびブタノール生成がアンモニアの添加により促進されることを示したが、本研究では、グルコース濃度が低かったことおよびpHが6.5-7.1と高く維持されていたことにより、アセトンやブタノールの生成は見られなかった。

図-9から、アンモニア性窒素の増大に伴い、酪酸の生成は減少し、エタノールと酢酸の生成が増加する傾向を示していた。このことから、酪酸の生成量は、アンモニア性窒素濃度が増大した条件では減少し、その減少分がエタノールや酢酸の生成にまわされていたと考えられる。また、図-7と図-9より、グルコース分解速度が同程度にまで低下したアンモニア性窒素濃度(3900, 5000, 5900mg-N/L)では、各代謝産物の生成量もほぼ同量であったことから代謝産物の変化と分解速度の低下には関連があることがわかる。この現象の説明としては、酪酸生成経路がアンモニアによる阻害を受け、代用として酪酸生成と同様にNADHの処理が可能なエタノール生成の経路が採用されたためという仮説が考えられる。酸生成の経路は、アルコール生成に比べATP生産率が高い²⁶⁾ことから、アンモニアの阻害により酪酸生成からエタノール生成へ代謝経路の変化が起きていたとすると、エネルギー効率は悪化したことになる。つまり、アンモニアによる阻害によって、エタノール生成へ経路を変化したことが、グルコース分解速度の低下を引き起こした可能性がある。

このように代謝産物の生成割合が変化するという現象は、細胞外pHを変化させた場合にも見られる。Zoelmeierら²⁷⁾は、外部pHを7.9に上昇させた場合、グルコースの分解による酪酸の生成は減少し、酢酸、エタノールの生成が増加することを示した。本研究での細胞外pHは、図-8に示したように時差はあるものの、各アンモニア性窒素条件で同様

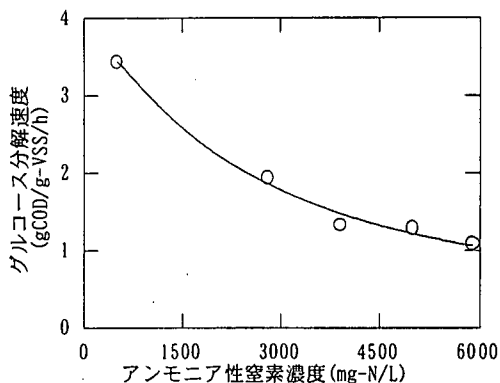


図-7 グルコースの分解速度に及ぼすアンモニア性窒素の影響

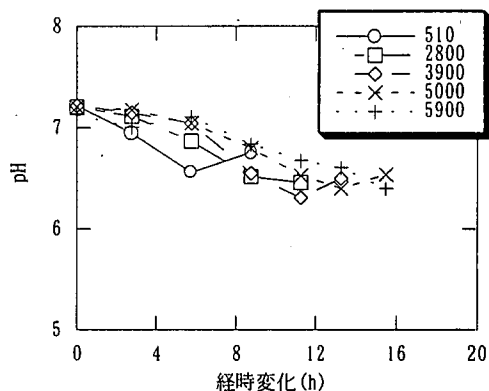


図-8 各アンモニア性窒素濃度条件におけるpHの経時変化

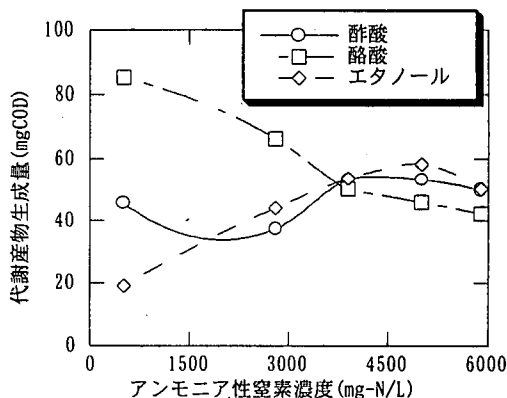


図-9 代謝産物の生成に及ぼすアンモニア性窒素の影響

に推移していたが、代謝産物の組成は異なっていたことから、代謝産物組成の違いは、アンモニア性窒素にのみ起因しているといえる。しかし、このような類似

点が見られたことから、アンモニアによる酸生成細菌への影響も、メタン生成細菌の場合¹⁸⁾と同様、細胞内pHの恒常性を壊すようなものの可能性がある。

4. 結論

本研究の結果から、炭水化物の分解はアンモニアによる阻害を受けることおよびその阻害は、代謝経路の変化を伴うものであることが明らかとなった。しかしながら、アンモニアによる炭水化物分解への阻害は、基質中の主成分がタンパク質であったり、律速段階がメタン生成段階であるような場合には、あまり観察されない。このアンモニアによる阻害の特徴が顕著に表れるのは、加水分解段階が律速段階であり、基質中の炭水化物の割合が高い場合である。また、基質中にタンパク質が同程度存在する場合、両成分を資化可能な酸生成細菌は阻害された炭水化物の分解に変わり、タンパク質を優先的に分解するようになり、アンモニアによる阻害をさらに促進する。そして、このような条件に合致するものとしては、高濃度下水汚泥や厨芥等の嫌気性消化が挙げられる。従って、このような場合、これまではメタン生成細菌へのアンモニアの阻害に対して、注意が払われていたが、メタン生成細菌が阻害に順応にした場合でも、炭水化物からの酸生成への阻害により、嫌気性消化全体の効率が低下する可能性がある。

謝辞：本研究に用いた種汚泥並びに脱水汚泥は山形市下水道部浄化センター並びに川崎市建設局より提供して頂いた。また、本研究費の一部はNKK(株)による補助を受けた。記して謝意を表する。

参考文献

- 1) 山口登：汚泥処理施設計画・設計のポイント、下水道協会誌, Vol. 33, No. 396, pp. 29-35, 1996.
- 2) 藤島繁樹, 宮原高志, 水野修, 野池達也：脱水汚泥の嫌気性消化に及ぼす固形物濃度の影響, 土木学会論文集, No. 662/VII-11, pp. 73-80, 1999.
- 3) Fujishima, S., Miyahara, T. and Noike, T. : Effect of moisture content on anaerobic digestion of dewatered sludge: ammonia inhibition to carbohydrate removal and methane production, Proceeding of II International symposium on anaerobic digestion of solid waste (II ISAD-SW) held in Barcelona,

- Vol. 1, pp. 348-355, 1999.
- 4) Gallert, C. and Winter, J. : Mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of source-sorted organic wastes: effect of ammonia on glucose degradation and methane production, *Appl Microbiol Biotechnol*, Vol. 48, pp. 405-410, 1997.
- 5) Braun, R., Huber, P. and Meyrath, J. : Ammonia toxicity in liquid piggery manure digestion, *Biotechnology Letters*, Vol. 3, No. 4, pp. 159-164, 1981.
- 6) Koster, I. K. and Lettinga, G. : The influence of ammonium-nitrogen on the specific activity of pelleted methanogenic sludge, *Agricultural Wastes*, Vol. 9, pp. 205-216, 1984.
- 7) Parkin, G. F. and Owen, W. F. : Fundamentals of anaerobic digestion of wastewater sludges, *Journal of environmental engineering*, Vol. 112, No. 5, pp. 867-920, 1986.
- 8) Van velzen, A. F. M. : Adaptation of methanogenic sludge to high ammonia-nitrogen concentrations, *Water Research*, Vol. 13, pp. 995-999, 1979.
- 9) Robbins, J. E., Gerhardt, S. A. and Kappel, T. J. : Effects of total ammonia on anaerobic digestion and an example of digester performance from cattle manure-protein mixtures, *Biological Wastes*, Vol. 27, pp. 1-14, 1989.
- 10) Koster, I. W. : Characteristics of the pH-influenced adaptation of methanogenic sludge to ammonium toxicity, *J. Chem. Tech. Biotechnol*, Vol. 36, pp. 445-455, 1986.
- 11) Koster, I. W. and Lettinga, G. : Anaerobic digestion at extreme ammonia concentrations, *Biological Wastes*, Vol. 25, pp. 51-59, 1988.
- 12) Kroeker, E. J. : Anaerobic treatment process stability, *Journal WPCF*, Vol. 51, No. 4, pp. 718-727, 1979.
- 13) Krylova, N. I., Khabiboulline, P. E., Naumova, R. P. and Nagel, M. A. : The influence of ammonium and methods for removal during the anaerobic treatment of poultry manure, *J. Chem. Tech. Biotechnol*, Vol. 70, pp. 99-105, 1997.
- 14) 福井作蔵：還元糖の定量法(第2版), 学術出版センター, pp. 50-52, 1990.
- 15) 岩永貞昭：タンパク質の科学 I (生化学実験講座1), 日本生化学会編, 東京化学同人, pp. 45, 1976.
- 16) Zwietering, M. H., Jongenburger, I., Rombouts, F. M. and van't Riet, K. : Modeling of the bacterial growth curve, *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol. 56, pp. 1875-1881, 1990.
- 17) Parkin, G. F., Speece, R. E., Yang, C. H. J. and Kocher, W. M. : Response of methane fermentation systems to industrial toxicants, *Journal WPCF*, Vol. 55, pp. 44-53, 1983.
- 18) Sprott, G. D., Shaw, K. M. and Jarrell, K. F. : Ammonia/potassium exchange in methanogenic bacteria, *The Journal of Biological Chemistry*, Vol. 259,

- No. 20, pp. 12602-12608, 1984.
- 19) Sprott, G.D. and Patel, G.B. : Ammonia toxicity in pure cultures of methanogenic bacteria, *System. Appl. Microbiol.*, Vol. 7, pp. 358-363, 1986.
 - 20) Siebert, M.L. and Toerien, D.F. : The proteolytic bacteria present in the anaerobic digestion of raw sewage sludge, *Water Research*, Vol. 3, pp. 241-250, 1969.
 - 21) Breure, A.M., Beeftink, H.H., Verkuijlen, J. and van Aniel, J.G. : Acidogenic fermentation of protein/carbohydrate mixtures by bacterial populations adapted to one of the substrates in anaerobic chemostat cultures, *Appl Microbiol Biotechnol.*, Vol. 23, pp. 245-249, 1986.
 - 22) Breure, A.M., Mooijman, K.A. and van Aniel, J.G. : Protein degradation in anaerobic digestion: influence of volatile fatty acids and carbohydrates on hydrolysis and acidogenic fermentation of gelatin, *Appl Microbiol Biotechnol.*, Vol. 24, pp. 426-431, 1986.
 - 23) Long, S., Jones, D.T. and Woods, D.R. : Initiation of solvent production, clostridial stage and endospore formation in *Clostridium acetobutylicum* P262, *Appl Microbiol Biotechnol.*, Vol. 20, pp. 256-261, 1984.
 - 24) 小木曾直行, 中村玄正, 松本順一郎, 成田大介 : グルコースの嫌気性分解に及ぼすC/N比の影響, 第29回日本水環境学会年会講演集, pp. 417, 1995.
 - 25) Hunik, J.H., Hamelers, H.V.M. and Koster, I.W. : Growth-rate inhibition of acetoclastic methanogens by ammonia and pH in poultry manure digestion, *Biological Wastes*, No. 32, pp. 285-297, 1990.
 - 26) 山中健生 : 微生物のエネルギー代謝, 学術出版センター, pp. 18-20, 1988.
 - 27) Zoetemeyer, R.J., van den Heuvel, J.C. and Cohen, A. : pH influence on acidogenic dissimilation of glucose in an anaerobic digester, *Water Res.*, Vol. 16, pp. 303-311, 1982.

(1999. 8. 23 受付)

EFFECT OF AMMONIA-NITROGEN ON ACIDOGENESIS IN ANAEROBIC DIGESTION

Shigeki FUJISHIMA, Takashi MIYAHARA, Syunji TSUNODA
and Tatsuya NOIKE

The effect of ammonia on carbohydrate and protein degradation in anaerobic digestion under mesophilic (35°C) conditions was investigated. At the first batch experiment, seed sludge was cultured with dewatered sewage sludge. The carbohydrate degradation rate significantly decreased with increasing the ammonia nitrogen concentration from 900 to 5400mg-N/L. At the second batch experiment, acidogenic bacteria from anaerobic digester fed with glucose was used as a seed sludge. Butyric acid production decreased and ethanol production increased, as the concentration of ammonia nitrogen increased.