

高アンモニア濃度条件下での嫌気性消化における酸生成細菌の有機物資化特性

藤島繁樹¹・宮原高志²・小野寺寿治³・野池達也⁴

¹正会員 工博 栗田工業(株) 技術開発センター(〒243-0124 神奈川県厚木市森の里若宮7-1)

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仙台市役所 下水道部(〒983-0001 宮城県仙台市宮城野区港3-8-20)

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 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉06)

高アンモニア濃度条件下での酸生成段階における有機物分解特性を連続実験により検討した。その結果、アンモニア性窒素濃度を2000mg-N/L付近に設定した場合、炭水化物除去率は滞留時間が4.1hでも91%と高い除去率を維持していたが、4000mg-N/L付近に設定した場合、除去率は滞留時間の減少とともに、低下していく、滞留時間6.0hで47%となっていた。一方、タンパク質の除去率はアンモニア性窒素濃度条件によらず、滞留時間の減少に対し、ほぼ同様に推移していた。また、高アンモニア濃度条件で基質中のタンパク質濃度が高い場合も炭水化物分解が制限されていた。以上のことから、高アンモニア濃度条件では、酸生成細菌による有機物の資化性が様々な因子により変化することが明らかとなった。

Key Words : anaerobic digestion, ammonia inhibition, acidogenic bacteria, hydraulic retention time

1. 研究背景

下水汚泥処理プロセスの一つである嫌気性消化法は、有機物の微生物分解により下水汚泥の減量化、安定化が可能で、得られた消化ガスを消化槽の加温用熱源や焼却炉の補助燃料、さらに消化ガス発電により多様なエネルギー源として利用できる^①という特徴を持っている。そのため、循環型社会の確立が求められている現在においては、より多くの汚泥から有用なエネルギー回収を行うことが望ましいと考えられる。しかしながら、発生汚泥量が少ない小規模下水処理場に嫌気性消化槽を設置することは、コストや用地の面から非効率的なものとなるため、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く^②、効率的な汚泥消化の方法が求められている。その方法の一つとして高濃度汚泥消化があるが、消化槽内にアンモニアが多量に蓄積し、消化反応が阻害される^③ため、現在、処理場で嫌気性消化されている下水汚泥の固形物濃度は2-5%程度にとどまっている。

従来の研究から、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ため、高濃度汚泥の消化を行う場

合、これまで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。しかしながら、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^④ことが報告されており、また、高アンモニア濃度の条件下で、馴養され続け、その環境に順応した場合、メタン生成は維持される^{⑤-⑨}ことから、酸生成細菌への阻害が嫌気性消化全体の効率を低下させる可能性が推測される。

筆者ら^⑩は、固形物濃度11%の汚泥消化を行い、3100mg-N/L(pH8.1)という高アンモニア濃度条件下においても、VFAの蓄積が少なく、安定したメタン生成が可能であることを示した。しかしながら、この研究では炭水化物の分解が、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。それに伴い、汚泥からメタンへの変換効率も、10%程度減少していた。そして、この原因としては、炭水化物分解に関与する酸生成細菌の解糖経路へのアンモニアによる阻害が挙げられた^⑪。したがって、高アンモニア濃度条件では、最も阻害の影響を受けやすいメタン生成細菌がその環境に順応しても、炭水化物分解へ影響を及ぼし、処理効率を低下させる恐れがある。

しかしながら、これまでのアンモニアによる嫌気性消化への阻害に関する研究はメタン生成への影響を検討したものがほとんどで、酸生成への影響を扱ったものは少なく、その詳細は明らかでない。そこで筆者らは、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連続実験を行った¹³⁾。その結果、タンパク質分解への生成物阻害に比べ、炭水化物分解の方が、アンモニアによる阻害を強く受けすることが明らかとなった。この研究で、炭水化物分解が強く阻害されたのはアンモニア性窒素濃度が6000mg-N/L以上であったが、菌体合成の減少、エタノール生成の増大といった阻害を示す現象は3900mg-N/Lから起こっていた。このように阻害の兆候と炭水化物分解率の低下が起こるアンモニア濃度に差があるのは、滞留時間を14.4hと比較的長く設定したことによる起因する。ZhangとNoike¹³⁾は、滞留時間8.4hでもデンプン10500mg/Lは完全に分解されると報告している。つまり、この研究では、酸生成細菌への阻害自体はアンモニア性窒素濃度3900mg-N/L付近で開始されるが、滞留時間が14.4hだったため、阻害を受けた状態でも基質として投入されたデンプンを完全に分解できたと考えられる。しかしながら、基質として投入する炭水化物が、デンプンに比べ分解速度が遅かつたり、設定する滞留時間が短い場合には、有機物分解へ影響を与えるアンモニア性窒素濃度も小さくなることが予想される。また、先の実験から高アンモニア濃度条件下で酸生成細菌の連続培養を行った場合、元々タンパク質を優先的に利用している細菌や炭水化物からタンパク質へと資化性を遷移できるものが優占種となることも明らかとなった¹²⁾。資化性の変化は、基質中の炭水化物、タンパク質濃度の影響を強く受けるため、阻害の影響も基質の成分により異なることが考えられる。

本研究では、酸生成細菌へ阻害を及ぼさないアンモニア性窒素濃度と阻害を及ぼす濃度の両条件で、滞留時間を変化させることによる影響の比較、および、阻害を及ぼす高アンモニア濃度条件下において炭水化物分解に及ぼすタンパク質濃度の影響について明らかにすることで、嫌気性汚泥消化におけるアンモニア性窒素による阻害への対応方法を提案するものである。

2. 実験方法

(1) 実験装置および操作方法

本研究で用いた反応槽は、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。有効容積は1.5Lで、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。種汚泥には、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用い、デンプンとペプトンを基質とした連続培養をHRT14.4hで4ヶ月間行い、以下に示す条件で連続運転を行った。

a) 高アンモニア濃度条件下での有機物分解特性に及ぼす滞留時間の影響

酸生成が阻害されるアンモニア性窒素濃度条件下における滞留時間減少の有機物分解への影響を検討するため、以下の連続実験を行った。2基の反応槽内のアンモニア性窒素濃度を酸生成が阻害を受けない2000-2300mg-N/L(遊離アンモニア性窒素濃度20-22mg/L)および阻害を受ける4200-4400mg-N/L(遊離アンモニア性窒素濃度33-46mg/L)の範囲にNH₄Clの添加量(0-2500mg/Lおよび7000-10000mg/L)を変化させて調整した¹²⁾。滞留時間はそれぞれの濃度条件で4.1h, 6.0h, 14.4hおよび5.9h, 9.0h, 12.2h, 14.4hに変化させ、各段階とも2週間以上の連続運転を行った。本研究に用いた基質の組成は表-1に示すとおりである。基質中のデンプンとペプトンは完全に溶解させて用いた。基質の変質を防ぐため、基質タンクは3℃の冷水中に設置し、基質の作成は2日おきに行った。

b) 高アンモニア濃度条件での炭水化物分解に及ぼすタンパク質濃度の影響

高アンモニア濃度条件下での炭水化物の分解に及ぼすタンパク質濃度の影響について検討するため、基質中のペプトン濃度を変化させ、連続培養を行った。初めに、炭水化物のみを基質として運転を行い(Run2-1)、次にNH₄Clを添加することで、反応槽内のアンモニア性窒素濃度を4100(mg-N/L)に増大させ(Run2-2)、その後、このアンモニア性窒素濃度を維持した状態で基質に加えるペプトン濃度を10000, 15000, 20000, 25000, 30000, 40000mg/L(Run2-3～2-8)の6段階に変化させ、その影響を検討した。反応槽内のアンモニア性窒素濃度はNH₄Clの添加量(0-15000mg/L)を変化させることで4000-4200mg-N/L(遊離アンモニア性窒素濃度28-38mg-N/L)に維持した。ペプトンとNH₄Cl濃度を除く基質組成は表-1に示すとおりで、滞留時間は14.4hに固定して培養を行った。

(2) 分析項目及び方法

本実験における分析項目及び方法は以下の通りである。各条件で1週間以上運転し、定常状態に達した後、7日間以上にわたって3回から5回、以下の分析を行った。本実験における定常状態は、7日以上、炭水化物濃度(soluble), タンパク質濃度(total, soluble)の変

化が±5%以内を維持できた状態とした。

ガス生成量は、ガス捕集器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濃度の分析は、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°C、カラム温度は70°Cに設定した。キャリアーガスはN₂を用いた。二酸化炭素濃度の分析には、カラムに活性炭が充填された1.5mのステンレス製のもの、キャリアーガスにヘリウムを用いた。他の条件は水素濃度の分析と同様である。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°C、インジェクション温度190°C、カラム温度を140°C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°C、カラム温度を180°C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、キャリアーはシウ酸(2.5mM)、カラム温度は40°C、流量は1.0(mL/min)として測定した。溶解性炭水化物濃度の測定は、グルコースを標準物質としたフェノール-硫酸法¹⁴⁾に従い行った。溶解性および全タンパク質濃度は、アルブミンを標準物質としたLowry法¹⁵⁾に従い測定した。菌体濃度は、細菌乾燥重量に占めるタンパク質の割合が60%とし¹⁶⁾、全タンパク質濃度から溶解性タンパク質濃度を引いたものに1.67を乗してVSSに換算したものを用いた。pHの測定は、GST-5425C探針を装備したpHメーターを用いた。乳酸の測定には、シグマ乳酸測定キットを用いた。溶解性炭水化物、溶解性タンパク質、アンモニア性窒素、揮発性脂肪酸、アルコール、乳酸の分析には、反応槽の内容液を15000rpmで3分間遠心分離し、上澄み液を0.45μmのフィルターでろ過したものを用いた。

細菌の計数は、MPN(Most Probable Number)法に従い行った。嫌気的操作には、Hungateのガス噴射法¹⁷⁾を行い、噴射ガスには350°C還元銅カラムで脱酸素したN₂/CO₂(80/20)ガスを使用した。試料には、各実験条件で、14日以上連続培養したものを用い、デンプン(炭水化物)資化性酸生成細菌とペプトン(タンパク質)資化性酸生成細菌の2種類について計数を行った。各細菌群の計数に用いた培地、希釀水の組成および実験手順は先の実験¹²⁾と同様である。酸生成細菌の有無は培地の白濁によって判定し、各細菌のMPNは5-5-5法の最確数表¹⁸⁾より算出された。

表-1 基質の組成

試薬	濃度(mg/L)
デンプン	10000
ペプトン	20000
NH ₄ HCO ₃	4500
K ₂ HPO ₄	250
MgCl ₂ ·6H ₂ O	100
NaHCO ₃	10000
Mineral solution*	10mL

Mineral solution*(g/L): FeCl₂·4H₂O: 0.4, CoCl₂·6H₂O: 0.12, AlK(SO₄)₂: 0.01, Na₂MoO₄: 0.01, H₃BO₃: 0.01, CuSO₄·5H₂O: 0.01, NaCl: 1.0, CaCl₂: 0.02, NiCl₂·6H₂O: 0.02, MnCl₂·4H₂O: 0.1, ZnCl₂: 0.1

3. 結果および考察

(1) 高アンモニア濃度条件下での有機物分解に及ぼす滞留時間の影響

炭水化物分解への阻害に及ぼす滞留時間の影響は図-1に示すとおりである。この図から炭水化物分解に及ぼすアンモニア性窒素の阻害は滞留時間の短縮とともににより顕著になっていることがわかる。滞留時間が14.4hの場合、アンモニア性窒素濃度条件によらず炭水化物除去率は99%と、投入したデンプンをほとんど分解していた。しかしながら、アンモニア性窒素濃度を4000mg-N/L付近に設定した場合、この炭水化物除去率は滞留時間の短縮とともに、低下していく。滞留時間6.0hでの除去率は47%となっていた。一方、アンモニア性窒素濃度を2000mg-N/L付近に設定した場合、炭水化物除去率は、滞留時間が短縮されてもあまり影響を受けず、滞留時間が4.1hでも91%と高い除去率を維持していた。また、滞留時間6.0hの条件では、アンモニア性窒素濃度が2000mg-N/Lの場合で炭水化物の除去率が94%であったものが、4200mg-N/Lでは47%へと半減していることがわかる。このことから、滞留時間6.0hで炭水化物の除去率が半減するアンモニア性窒素濃度が4200mg-N/L付近にあることがわかる。先の連続実験¹²⁾で、滞留時間を14.4hに設定した場合、炭水化物除去率が半減したアンモニア性窒素濃度6750mg-N/Lだったことから、滞留時間を短く設定することで、より低い濃度において除去率が低下することが明らかとなった。また、表-2からアンモニア性窒素濃度が4200mg-N/L、滞留時間が6hの場合には、14.4hの場合ほどエタノールが蓄積していないことから、滞留時間が短い場合、炭水化物資化性酸生成細菌への阻害の影響は、直ちに、炭水化物除去率の低下にあらわれると考えられる。

表-2 炭水化物分解へのアンモニアの阻害に及ぼす滞留時間の影響

滞留時間(h)	正常			阻害			6.0
	14.4	6.0	4.1	14.4	12.2	9.0	
溶解性炭水化物(mg/L)	70	590	830	80	610	2700	5000
溶解性タンパク質(mg/L)	2600	4500	6200	3300	3400	4000	5100
菌体量(mg/L)	3800	3400	2800	4000	4200	3100	2500
酢酸(mg/L)	5900	5400	4100	5900	6100	5300	3500
プロピオン酸(mg/L)	1000	540	320	1100	1200	810	420
iso-酪酸(mg/L)	670	320	80	620	610	200	220
n-酪酸(mg/L)	2700	2000	2400	1600	2200	1700	1100
iso-吉草酸(mg/L)	1600	730	270	920	1200	680	600
n-吉草酸(mg/L)	170	-	-	30	-	-	-
iso-カプロン酸(mg/L)	-	350	70	780	250	240	240
n-カプロン酸(mg/L)	380	-	-	-	-	-	-
エタノール(mg/L)	210	910	610	1200	850	900	600
乳酸(mg/L)	-	-	-	-	-	-	-
アンモニア性窒素(mg-N/L)	2300	2000	2000	4200	4400	4200	4200
pH(-)	6.93	6.96	6.95	6.85	6.85	6.94	7.00

タンパク質分解への阻害に及ぼす滞留時間の影響は図-2に示すとおりである。タンパク質の除去率はアンモニア性窒素濃度条件によらず、滞留時間の短縮に対し、ほぼ同様に推移していた。炭水化物の場合と同じように、滞留時間6.0hでのタンパク質の除去率を比較してみると、アンモニア性窒素濃度2000mg-N/Lでは55%だったが、4200mg-N/Lでも49%の除去率を維持していたことから、アンモニア性窒素濃度2000-4200mg-N/Lの範囲内では、タンパク質資化性細菌への阻害は炭水化物の場合と比較して小さいといえる。

Somiyaら¹⁹⁾はデンプンとペプトンの加水分解速度を回分実験から求め、前者の分解速度の方が約4倍大きいことを示している。本研究でも、アンモニア濃度が低い条件では、滞留時間が4.1hでも炭水化物分解は91%と高い値を維持していたことから、デンプンの分解速度の方がペプトンに比べ大きいことがわかる。しかしながら、反応槽内のアンモニア性窒素濃度が4000mg-N/L付近になると炭水化物の除去率は、滞留時間の減少に比例して大幅に低下していた。また、図-1と図-2の滞留時間に対する有機物除去率減少の比較から、アンモニア濃度が高く、滞留時間の短い場合、デンプン分解速度が、ペプトン分解速度と同程度にまで低下することが明らかとなった。

メタン生成細菌への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²⁰⁾。この機構は酸生成細菌に対する揮発性脂肪酸(VFA)の生成物阻害の機構に似ている。VFAによる生成物阻害は、解離していないVFAが細胞内に入り、細胞内pHを低下させ、VFAの生成を減少させるというものである²¹⁾。本研究では、タンパク質分解はそれほど影響を受けていなかったことから、アンモニアによる生成物阻害が起こるには、

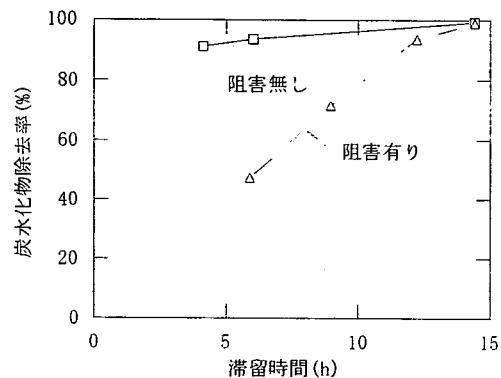


図-1 炭水化物分解に及ぼす滞留時間の影響

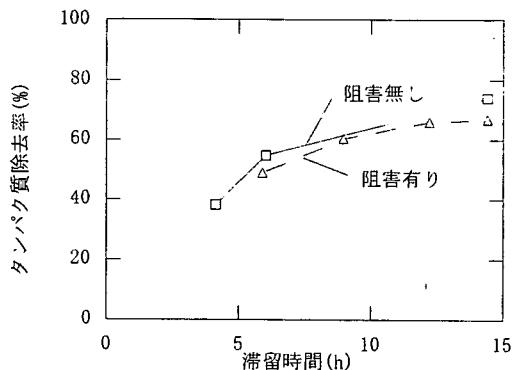


図-2 タンパク質分解に及ぼす滞留時間の影響

メタン生成や炭水化物分解への阻害に比べ、さらに高いアンモニア濃度が必要であることがわかる。また、本研究で、タンパク質分解へのアンモニア濃度の影響が小さかったことやタンパク質からの酸生成の最適pHが炭水化物からの場合に比べ高いことから²²⁾、遊離アンモニアの浸透により、細胞内pHが上昇しても、

表-3 炭水化物分解へのアンモニアの阻害に及ぼすタンパク質濃度の影響

分析項目	Run						
	2-2	2-3	2-4	2-5	2-6	2-7	2-8
基質ペプトン(mg/L)	-	10000	15000	20000	25000	30000	40000
基質デンプン濃度(mg/L)	10000	10000	10000	10000	10000	10000	10000
溶解性炭水化物(mg/L)	3000	110	80	80	160	1200	1600
溶解性タンパク質(mg/L)	-	1200	2000	3300	5400	7600	9650
菌体量(mg/L)	890	3000	3400	4000	3700	3500	4500
酢酸(mg/L)	1400	5500	6000	5900	5300	5900	6800
プロピオン酸(mg/L)	200	900	1400	1100	1600	1300	1500
iso-酪酸(mg/L)	-	430	560	620	560	500	540
n-酪酸(mg/L)	1100	2700	2200	1600	2100	2700	3100
iso-吉草酸(mg/L)	-	720	920	920	1100	1200	1500
n-吉草酸(mg/L)	50	100	170	30	-	-	-
iso-カプロン酸(mg/L)	-	-	360	780	580	420	280
n-カプロン酸(mg/L)	190	-	-	-	-	-	-
エタノール(mg/L)	360	150	250	1200	1100	543	910
乳酸(mg/L)	320	-	-	-	-	-	-
アンモニア性窒素(mg-N/L)	4100	4100	4200	4200	4100	4000	4000
pH(-)	6.92	6.76	6.78	6.83	6.80	6.88	6.89
炭水化物除去率(%)	68	99	99	99	98	87	82
タンパク質除去率(%)	-	76	74	67	58	49	56

炭水化物分解に比べタンパク質分解に関する酵素や生体機能が維持され易い可能性がある。

(2) 高アンモニア濃度条件での炭水化物分解に及ぼすタンパク質濃度の影響

表-3および図-3から、反応槽内のアンモニア性窒素濃度を4000mg-N/L付近に維持し、基質中にペプトンを加えたRun2-3, 2-4では、炭水化物の分解は回復し、エタノールの蓄積も見られなかった。矢口²⁵は、セルロースに、同量のペプトンを添加することでセルロース分解の限界滞留時間は短縮されると報告している。このように、炭水化物のみを単独で消化する場合に比べ、ペプトンやyeast extractのような有機窒素源を加えた方が、基質の分解や増殖は促進されることが一般的に知られている。これは、炭水化物以外にペプトンや酵母エキス等が含まれる複合培地では、炭水化物を異化代謝のみに利用できるためである²⁶。本研究においても、図-4に示した菌体収率が、Run2-3, 2-4ではRun2-2に比べ増加していることから、添加したペプトンが異化代謝以外に菌体合成にも利用されていたことがわかる。つまり、有機窒素源の添加による炭水化物分解への促進効果がアンモニアによる阻害を緩和させたと考えられる。また、他の理由としては、阻害の影響を受けにくいタンパク質資化性の酸生成細菌が、エネルギー源としてデンプンも用いたことで炭水化物の分解が回復した可能性もある。

基質中のタンパク質濃度が10000mg/L(ペプトン濃度20000mg/L)のRun2-5では、アンモニアによる阻害

を示すエタノール生成が見られ、デンプン資化性酸生成細菌の細菌数も減少する傾向を示していた。また、さらにタンパク質濃度を上げたRun2-7では、炭水化物の除去率が減少はじめ、Run2-8で除去率は82%になっていた。また、HRT14.4hでは、アンモニア性窒素濃度が4000mg-N/Lを越えると、酸生成細菌への阻害は起こるが、基質として投入したデンプンはほとんど分解されていた¹²ことから、基質中のタンパク質濃度の増大が炭水化物分解を制限したと考えられる。一方、タンパク質の分解は、Run2-8で回復していた。この傾向は、図-5に示した細菌数の計数結果とも一致しており、Run2-8での細菌数は、炭水化物資化性、タンパク質資化性とも同程度だった。筆者らの研究¹²では、アンモニア性窒素濃度が8000mg-N/Lで、炭水化物分解が強く阻害された条件においても、炭水化物資化性酸生成細菌が優占種だったことから、基質中のタンパク質濃度の増大により、消化槽内で菌相に変化が起きていたことがわかる。

汚泥消化の酸生成段階に関与する *Clostridium* 属細菌の多くは、炭水化物とタンパク質の両方を資化できることが知られている²⁷。そのため、基質中に分解速度の大きい炭水化物や糖類とタンパク質が存在する場合、両者の濃度差によらず炭水化物や糖の分解が優先的に行われ、タンパク質からの酸生成は制限を受けている^{28, 29}。本研究で用いた炭水化物のデンプンも、ペプトンに比べ分解速度の大きい物質とされている¹⁹ことから、細菌群が正常に働き、デンプンは滞留時間14.4hで完全に分解される。しかしながら、4000mg-

N/Lの高アンモニア濃度条件下で酸生成細菌の連続培養を行った場合、分解速度が大きい炭水化物でも、阻害によりその速度は低下し、タンパク質が過剰に存在する条件下では、優先的にタンパク質を利用し、炭水化物分解が抑制されたと考えられる。

4. 結論

炭水化物の分解が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これまでの研究から明らかとなっている^{5), 11), 12)}。しかしながら、筆者ら³⁾の研究のように、炭水化物分解へのアンモニアの阻害によって嫌気性消化全体の効率が低下したという報告は少ないことから、このような影響があらわれるのは限られた条件下であり、また、その影響の大きさもそれぞれの実験条件により異なると考えられる。本研究の結果から、滞留時間を炭水化物の加水分解速度に対して、長く設定しておけば、アンモニアの蓄積により酸生成細菌が阻害を受けても、ある程度の濃度までは酸生成が減少し、エタノール生成が増大するだけで、炭水化物分解は維持されることが明らかとなった。しかしながら、脱水汚泥を用いた筆者ら³⁾の研究では、含まれる炭水化物がデンプンに比べ難分解性物質である混合汚泥に対し、滞留時間を14日と比較的短く³⁰⁾設定したことから、投入汚泥濃度を11%にした場合に消化槽内のアンモニア性窒素濃度増大による炭水化物分解への阻害が強く現れてしまった。また、汚泥消化の酸生成段階に関与する細菌の多くは、炭水化物とタンパク質の両方を資化できるため、高アンモニア濃度条件下では、酸生成細菌の一部の種はタンパク質を優先的に基質として利用し増殖するが¹²⁾、本研究の結果から、高アンモニア濃度における炭水化物資化性の制限は、タンパク質濃度の影響も受けたため、混合汚泥のようなタンパク質を多く含む基質の嫌気性消化の場合に顕著になると考えられた。

アンモニアによる阻害を回避する方法としては二相消化を採用し、酸生成相で炭水化物の分解を優先的にを行い、タンパク質の分解をメタン生成相で行うという方法が考えられる。通常の二相嫌気性消化の酸生成相では、炭水化物だけでなくタンパク質の分解も行われる³¹⁾。これは、酸生成相の優占種である *Clostridium* 属細菌が炭水化物とタンパク質の両方を資化できるためである。どちらが優先的に分解されるかは、両者の割合や分解性、滞留時間、pH等に依存するが、一般的には炭水化物の割合が多くなると、*Clostridium* 属細

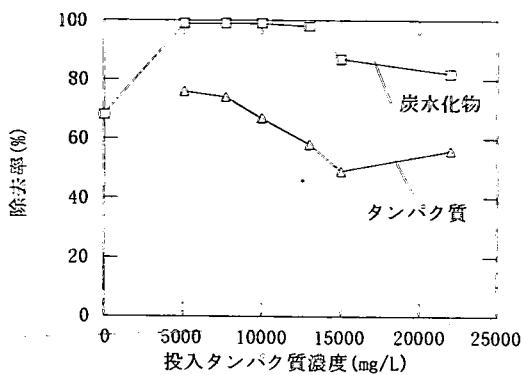


図-3 有機物分解に及ぼす投入タンパク質濃度の影響

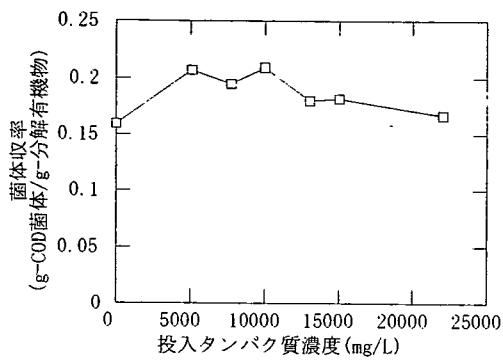


図-4 高アンモニア濃度での菌体収率に及ぼす投入タンパク質濃度の影響

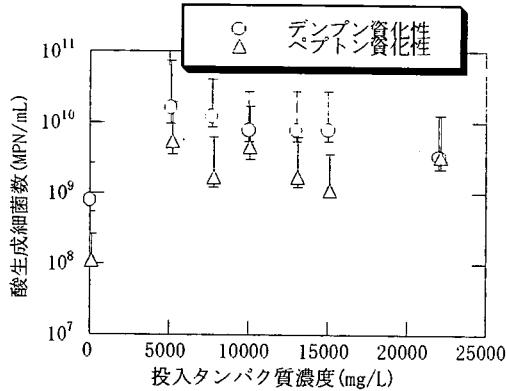


図-5 高アンモニア濃度での細菌数に及ぼす投入タンパク質濃度の影響

菌は、炭水化物をエネルギー源とし、優先的に分解し、タンパク質を酵素や菌体合成に用いられるため余り減少しないことが知られている。そこで、高濃度汚泥消化の場合、まず、紙類や生ゴミ等を添加することで基質中の炭水化物濃度を増大させる。そして、酸生成相の運転条件を炭水化物が分解しやすいものにし、一相

目でアンモニアの蓄積やpHの上昇が起こる前に炭水化合物を分解できれば、アンモニアによる阻害は回避することができると考えられる。

謝辞:本研究に用いた種汚泥は山形市下水道部浄化センター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。

参考文献

- 1) 渡部春樹:下水汚泥の発生量と処理・利用・処分の現状、汚泥処理・再資源化技術とシステム、(株)ディー・アイ・シー、pp.14-18,1994.
- 2) 山口登:汚泥処理施設設計画・設計のポイント、下水道協会誌、Vol. 33, No. 396, pp. 29-35, 1996.
- 3) 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.
- 4) 尾崎正明、久保忠雄、山下洋正:中小都市における広域的な汚泥処理システムの開発に関する調査、平成8年度下水道関係調査研究年次報告書集、pp. 229-234, 1997.
- 5) 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.
- 6) Van Velsen, A. F. M. : Adaptation of methanogenic sludge to high ammonia-nitrogen concentrations, *Water Research*, Vol. 13, pp. 995-999, 1979.
- 7) Robbins, J. E., Gerhardt, S. A. and Kappel, T. J. : Effects of total ammonia on anaerobic digestion and an example of digestor performance from cattle manure-protein mixtures, *Biological Wastes*, Vol. 27, pp. 1-14, 1989.
- 8) 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.
- 9) Koster, I. W. and Lettinga, G. : Anaerobic digestion at extreme ammonia concentrations, *Biological Wastes*, Vol. 25, pp. 51-59, 1988.
- 10) 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, *Water Sci. Tech.*, 4, pp. 119-127, 2000.
- 11) 藤島繁樹、宮原高志、角田俊司、野池達也: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、土木学会論文集、No. 650/VII-15, pp. 33-40, 2000.
- 12) 藤島繁樹、宮原高志、宍戸喜彦、野池達也:嫌気性消化における酸生成細菌群の増殖特性に及ぼすアンモニア性窒素の影響、土木学会論文集、No. 671/VII-18, pp. 71-78, 2000.
- 13) Zhang, T. C. and Noike, T. : Comparision of one-phase and two-phase anaerobic digestion processes in characteristics of substrate degradation and bacterial levels, *Wat. Sci. Tech.*, 23, pp. 1157-1166, 1991.
- 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) 村尾澤夫、荒井基夫:応用微生物学、pp. 137, 培風館, 1993.
- 17) 日本生化学会:微生物実験法、新生化学実験講座17、東京化学同人、pp. 123, 1992.
- 18) 日本下水道協会:下水試験方法、pp. 404 - 407, 1984.
- 19) Somiya, I., Ono, Y. and Uesaka, T. : Research on organic acid fermentation of high molecular organics with short hydraulic retention time, *Wat. Sci. Tech.*, 27, pp. 205-212, 1993.
- 20) Sprott, G. D. and Patel, G. B. : Ammonia toxicity in pure cultures of methanogenic bacteria, *System. Appl. Microbiol.*, Vol. 7, pp. 358-363, 1986.
- 21) Jounes, D. T. and Woods, D. R. : Acetone-butanol fermentation revisited. *microbiological reviews*, 50, pp. 484-524, 1986.
- 22) Breure, A. M. and van Andel, J. G. : Hydrolysis and acidogenic fermentation of a protein, gelatin, in an anaerobic continuous culture, *Appl Microbiol Biotechnol*, 20, pp. 40-45, 1984.
- 23) 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.
- 24) Gottschal, J. C. and Morris, J. G. : Non-production of acetone and butanol by *Clostridium acetobutylicum* during glucose- and ammonia- limitation in continuous culture, *Biotechnology Letters*, Vol. 3, No. 9, 1981.
- 25) 矢口淳一:嫌気性消化におけるセルロース分解に関する研究、東北大学博士論文、1985.
- 26) 合葉修一、永井史郎:生物化学工学-反応速度論-, 科学技術社, 1975.
- 27) 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.
- 28) Breure, A. M., Beeftink, H. H., Verkuijlen, J. and van Andel, J. G. : Acidogenic fermentation of protein/carbohydrate mixtures by bacterial populations adapted to one of the substrates in anaerobic chemostat cultures, *Appl Microbiol Biotechnol*, 23, pp. 245-249, 1986.
- 29) Breure, A. M., Mooijman, K. A. and van Andel, J. G. : Protein degradation in anaerobic digestion: influence of

- volatile fatty acids and carbohydrates on hydrolysis and acidogenic fermentation of gelatin, *Appl Microbiol Biotechnol*, 24, pp. 426-431, 1986.
- 30) Kiyohara, Y., Miyahara, T., Mizuno, O., Noike, T. and Ono, K.: Comparison of thermophilic and mesophilic anaerobic digestion processes in characteristics of substrate degradation and bacterial activities, WEF/EWPCA/CIWEM SPECIALITY CONFERENCES CAMBRIDGE, 1998.
- 31) Eastman, J. A. and Ferguson, J. F.: Solubilization of particulate organic carbon during the acid phase of anaerobic digestion, *Journal WPCF*, Vol. 53, No. 3, pp. 352-366, 1981.

(2002. 2. 6受付)

THE CHARACTERISTICS OF ORGANIC MATTER CONSUMPTION BY ACIDOGENIC BACTERIA ON ANAEROBIC DIGESTION AT HIGH AMMONIA CONCENTRATION

Shigeki FUJISHIMA, Takashi MIYAHARA, Toshiharu ONODERA
and Tatsuya NOIKE

The characteristics of organic matter degradation under high ammonia concentration was investigated by continuous experiments. The carbohydrate removal rate significantly decreased as HRT decreased at the ammonia nitrogen concentration of near 4000mg-N/L. On the other hand, protein removal rate decreased in almost same proportion as HRT decreased, regardless of ammonia nitrogen concentration. Furthermore it seemed that increase in protein concentration of substrate restricted carbohydrate degradation at high ammonia concentration. In conclusion, it was appeared that preference of organic matter utilization were affected by condition at high ammonia concentration.