

(16) 低温嫌気性消化の酸生成相における代謝特性と動力学

METABOLIC CHARACTERISTICS AND KINETICS DURING THE ACID PHASE OF LOW TEMPERATURE ANAEROBIC DIGESTION

田中 修三*・松尾 友矩*
Shuzo TANAKA*, Tomonori MATSUO*

ABSTRACT; The acidification of whole milk (4,500 mgCOD/l) in anaerobic digestion was investigated to obtain more information on the acid phase, including both hydrolysis and fermentation, at low temperature. Four continuously-fed digesters with hydraulic retention times (HRT) of 12, 24, 36 and 48 hours were operated at 20°C and one with HRT of 24 hours at 37°C. Based on equivalent COD, about 30 to 40% of substrates were degraded at 20°C when operated at HRTs of 12 to 48 hours and 38% at 37°C, demonstrating that a little increase of HRT could make up for the decrease of bioactivity caused by lowering temperature. Of the substrate constituents, carbohydrates were most extensively utilized (95%) and next proteins (60%), while only 30% of lipids decomposed. The change of methane content in gas phase indicated that the growth rate of H_2 -utilizing methanogenes was greatly increased between HRTs of 12 and 24 hours, although methane production was always less than 4% of substrate COD. The hydrolysis rate was described by a first order reaction as a function of biodegradable unsoluble matters remaining and not directly related to the cell concentration within its range of this experiment. Values of the kinetic parameters determined at 20°C were 0.179 hour^{-1} for the hydrolysis rate constant, $0.385\text{ g cell COD/g COD utilized}$ for the cell yield and 0.00036 hour^{-1} for the cell decay.

KEYWORDS; anaerobic digestion, low temperature, acid phase, hydrolysis, kinetics

1. はじめに

嫌気性消化における基質分解過程は酸生成相およびメタン生成相に分類でき、各相における細菌群の増殖・生理学的特性は大きく異なる。近年、相分離により各々の生物反応を最適な条件下で行わせ、消化システムの合理化を計ろうとする二相消化法が注目を集めている。

筆者らは、相分離による消化効率の改善に加えて、嫌気性消化法の欠点である槽の加温に要するエネルギーを節減すべく低温(20°C)での二相消化実験を行っている。そのうち、本実験は酸生成反応に対する滞留時間の影響に関するもので、低温下での酸生成相における代謝特性の把握と加水分解を考慮した動力学的考察を行うことを目的とする。実験は、複合基質であるミルクの分解過程を回分式および連続式反応槽により追跡検討した。

2. 酸生成相の動力学

酸生成相における生化学反応は、基質中の生分解可能な固形分の加水分解(ここでは固形分の可溶化のみを考える)と、その分解を受けたものを含む溶解分を利用する酸生成反応から成る。基質に多くの固形分を含む場合、酸生成相の律速段階は酸生成反応ではなく加水分解であることが知られており¹⁾、消化効率の改善を考えるに当って加水分解は重要な因子となる。

連続式反応槽で、基質、菌体および産物の全成分を COD 当量に換算して、各々に関する物質収支をとると以下のように表わされる。

* 東京大学工学部都市工学科 Dept. of Urban & Sanitary Engineering University of Tokyo

$$\text{基質固形分} \quad \frac{dF}{dt} = Q(F_0 - F) - V r_h \quad \dots \dots \dots (1)$$

$$\text{基質溶解分} : \quad (\frac{dS}{dt})V = Q(S_0 - S) + V r_h - V (\mu/Y) X \quad \dots \dots \dots (2)$$

$$\text{菌体} : \quad (\frac{dX}{dt})V = Q(X_0 - X) + V\mu X - V k_d X \quad \dots \dots \dots (3)$$

$$\text{産物} : \quad (\frac{dP}{dt})V = Q(P_0 - P) + V(1/Y - 1)\mu X + V k_d X \quad \dots\dots\dots(4)$$

式(1)～(4)において定常状態では左辺の微分項 = 0 となり、各式を加算すると次式を得る。

$$(F_0 - F) + (S_0 - S) + (X_0 - X) + (P_0 - P) = 0 \quad \dots\dots\dots(5)$$

ここに、 F ：生分解可能な基質固形分濃度、 S ：基質溶解分濃度、 X ：菌体濃度、 P ：代謝産物濃度、 r_h ：加水分解速度、 μ ：比増殖速度、 Y ：菌体収率、 k_d ：死滅係数、 V ：槽容積、 Q ：流入水量、 t ：時間、添字0は $t = 0$ のときの値を示す。

r_h は加水分解速度定数 [k_h] を考えることにより次のように表わされる。Fの加水分解は細胞外酵素による反応であり、その反応速度 [λ] は Michaelis-Menten 式で表わされるものとすると、

$$\lambda = \lambda_m F / (K_m + F) \quad \dots \dots \dots (6)$$

ただし、 λ_m : 最大反応速度、 K_m : Michaelis 定数。ここで、F と K_m の相対的大きさによる 2 つの反応型態に対して実験値との適合性を、 r_h が X に比例する場合とそうでない場合について検討する。X に比例する場合は k'_h を用いることとする。

$F \gg K_m$ のとき λ は0次反応で $\lambda = \lambda_m$ となり、 $k_h = \lambda_m$ とすると、

$F \ll K_m$ のとき λ は 1 次反応で $\lambda = (\lambda_m / K_m) F$ となり、 $k_h = \lambda_m / K_m$ とすると、

と表わされ、これらの式を式(1)に代入すると k_h および k'_h を求める式を得る。

λ が0次のとき

λ が 1 次のとき

また、酸生成相の動力学モデルを完成するためには菌体増殖に関する定数、たとえば μ が Monod 式で表わされる場合、最大比増殖速度 [μ_m]、飽和定数 [K_s]、および Y や k_d を決定する必要がある。しかし、後述する実験結果によれば Monod 式を適用することはできなかつたため、 Y と k_d のみを以下の式で求める。

式(3)において $X_0 = 0$ とすると、 $\mu = 1/\theta + k_d$ (15)

$$式(1), (2), (15)より \quad 1/\theta = Y \{ (\triangle F + \triangle S) / \theta X \} - k_d \quad \dots \dots \dots (16)$$

ここで、 θ ：滞留時間 [$=V/Q$]、 $\triangle F = F_0 - F$ 、 $\triangle S = S_0 - S$ である。

回分式反応槽における加水分解は、式(1)において $Q = 0$ であるか

$$\text{5, } (\frac{dF}{dt}) = -r_h \quad \dots\dots\dots(17)$$

$$F \equiv F_0 e^{-kh^t} \quad \dots \dots \dots (18)$$

k_b は次式より片対数紙にプロットすると求まる。

3. 実験方法

回分実験は 120 ml のバイアルびんを用い、50 ml の種汚泥に 10 ml の濃縮基質を投与して気相部を N₂ ガスで置換した後、20 ℃ 恒温室内の振とう器に設置した。混合液分析は適宜 1 本ずつ開栓して行った。連続実験では 20 ℃ 恒温室内に設置した図 1 のような装置で容

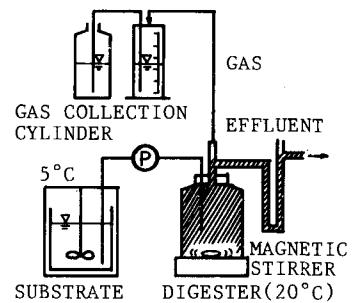


Fig. 1 Experimental apparatus
for continuous-flow
test.

積 2.2 ℥の広口びんを用い、滞留時間(HRT)を短くとることによりメタン菌のwashoutを計った。

実験用種汚泥を得るために東京都内の下谷処理場の初沈汚泥(嫌気性消化槽からの返送脱離液を含む)を最初の種汚泥として20℃恒温室内で6ヶ月間の半連続培養を行った。基質はM社製育児用粉ミルク(重量比率で炭水化物57%,たん白質13%,脂肪25%)を3g/ℓの濃度(4.5g COD/ℓ)で水道水に溶かし、6付近のpHを保てるようリシン酸緩衝剤を加えた。基質を0.45 μmのメンブランフィルターで沪過した結果、COD濃度で約51%が固体分として残った。以下、基質溶解分とは0.45 μmの沪液、固体分とは残渣をさす。

ガス成分の分析はガスクロマトグラフィー(TCD),混合液成分はガスクロマトグラフィー(FID)と液体クロマトグラフィーにより分析した。ガス生成量は図1の捕集シリンドーで読み取り、0℃, 1 atmに換算して表示した。成分別有機物の分解状況を調べるために、炭水化物をフェノール硫酸法、脂質はBligh & Dyer法による抽出後酸化法(COD_{er})にて定量、蛋白質はTCAで沈殿後Lowryらの法に従った。また、菌体量は混合液中のDNAを測定して菌体のDNA含有率から求めたActive biomassとして表示した。菌体のDNA含有率は、基質固体分がほとんど分解されていると考えられる種汚泥のVSS当たりの含有量から求めた。DNAを菌体量の指標として用いることの妥当性は多くの文献に見ることができる。^{2,3)} 汚泥中のDNA分析は、STS法にて核酸画分抽出後ジフェニルアミン法にて定量した。⁴⁾

反応物と生成物の物質収支を直接とれるように、全ての成分をCOD当量で表示した。

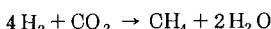
4. 実験結果と考察

回分実験と連続実験におけるガスおよび混合液成分の分析結果を各々表1と2に示す。連続実験においては運転開始後約40日で定常に達したので、その後の分析結果を示した。

4.1 代謝特性

(A) 回分実験

表1のガス生成速度および組成率から反応初期に急激なCO₂の生成が見られ、概ね48(h)まで続き、この間酸生成菌の活性が大であることがわかる。H₂は検出されなかったがCH₄が初期から生成されており、主としてこれは次式で表されるH₂経由のCH₄生成であるものと考える。



.....(R1)

図2は投与CODに対する産物のCOD転換率の変化を消化時間に関して示したもので、図3は比較のために37℃での実験結果を示したものである。図中のTOTALは言わば酸生成菌の活性を示すものであり、消化120時間では低温でも中温とほぼ

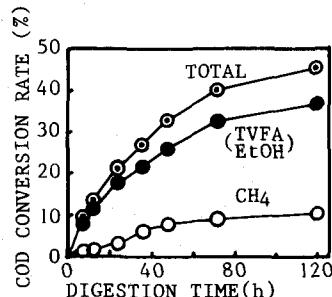


Fig. 2 Effect of digestion time on the production of metabolites. (batch at 20°C)

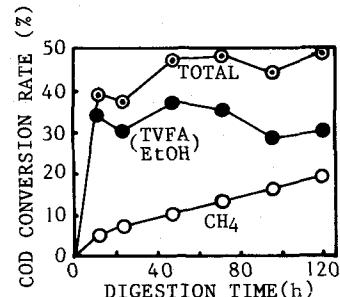


Fig. 3 Effect of digestion time on the production of metabolites. (batch at 37°C & pH 6.5)

Table 1. Batch test: data on gas production and mixed liquor

Digestion Time (h)	pH	Production Rate (ml/l.d)	Gas		Mixed Liquor (mg/l)				^a COD	Recovery (%)
			CH ₄	CO ₂	COD (mg/l)	DNA	^a Active (TVFA EtOH)	Filtrate COD		
0	7.25				4.6	203	10	2250	5285	100
4	7.20	321	20	80	30	4.6	203	155	2260	5235
8	7.05	222	20	80	40	6.8	300	355	2265	5305
12	6.85	211	21	79	60	8.8	388	570	2130	5284
24	6.55	189	26	74	145	10.4	458	880	2050	5165
36	6.60	162	34	66	235	11.4	502	1050	1890	5085
48	6.55	152	39	61	335	12.0	529	1245	1800	4975
72	6.55	113	41	59	395	10.6	467	1575	1885	4865
120	6.55	77	40	60	430	8.2	361	1760	1995	4750
										98

^aCalculated using DNA/VSS ratio (0.0227) of seed sludges.

^bRecovery of (Total COD + Gas COD) from the initial COD.

同程度の活性を示しているが、その過程は異なり、低温では温度の影響と考えられる活性化の立ち遅れが見られる。但し、揮発酸からメタン菌への転換分は無視した。

図4は個々の揮発酸とアルコ

ール生成の推移を示したものである。酢酸(HAc)、プロピオン酸(HP)、酪酸(HB)、吉草酸(HV)が主な産物

であり、消化時間が長くなるにつれて炭素数の多い揮発酸が生成された。エタノール(EtOH)は反応初期に生成されるが、その後速やかに分解されている。

菌体増殖と産物生成の関係は、図5に示されたように、消化48(h)までは増殖し続けるがそれ以後菌体量は減少しているにもかかわらず基質消費は続き、揮発酸やガスなどの産物が生成されている。これは、菌体の維持エネルギーのための基質消費による産物生成であると考えられ、言い換えれば産物生成と増殖が連動していないことになる。

以上の結果をふまえて、連続式反応槽では酸生成菌の活性が高く産物生成が増殖と連動していると思われる範囲で、4系列(HRT=12~48h)の運転を行った。

(B) 連続実験

表2に示されているようにHRT24(h)以上では生成ガスの約80%がCH₄であるが、図6からわかるようにそのCOD転換率はいずれも4%未満であり、メタン菌のwashoutすなわち相分離は十分達成されている。HRT12(h)ではH₂の生成が多く、運転開始直後は生成ガスの約70%を占めたが、定常に達してからは47%であった。また、HRTが12(h)から24(h)になるとH₂はほとんど検出されず、CH₄の生成量が急激に増加している。このCH₄は式(R1)に従ったH₂経由のものと思われ、H₂を利用するメタン菌のうち増殖速度のかなり速いものがいると考えられる。Sheaら⁵⁾は、H₂利用メタン菌の最小菌体滞留時間は37°Cで19(h)という結果を得ており

本実験の結果とも整合がとれている。

代謝産物のCOD転換率はTOTALで30~40%の範囲であった。図6の中温(37°C)での結果と比較すると回分実験でも見られたよう

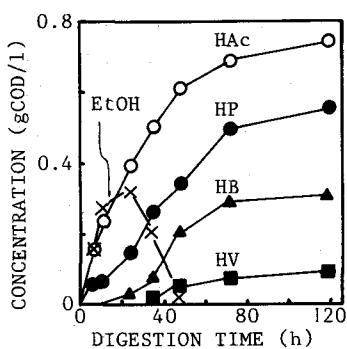


Fig. 4 Production of individual volatile acids and alcohol. (batch at 20°C)

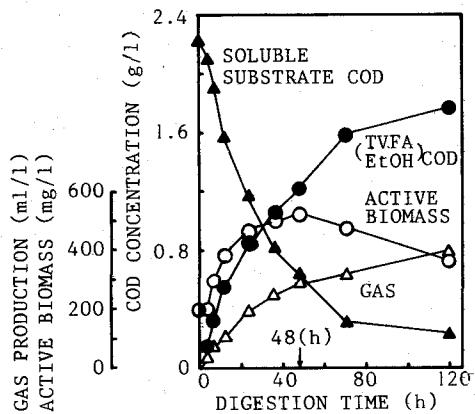


Fig. 5 Changes of soluble substrate, biomass and products as a function of digestion time. (batch at 20°C)

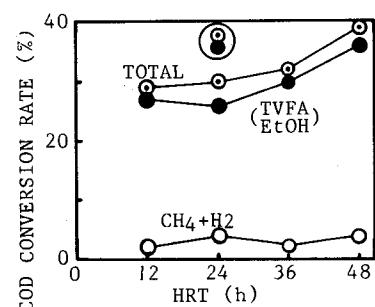


Fig. 6 Effect of HRT on the production of metabolites. (continuous-flow at 20°C)
Circled symbols are data at 37°C and pH 5.3.

Table 2. Continuous-flow test: data on gas production and mixed liquor

HRT (h)	pH	Gas			Mixed Liquor (mg/l)				^{a,b} COD Recovery (%)
		Production (ml/d)	Composition (%)	Gas COD (mg/l Infl.)	DNA Active (TVFA/ EtOH) Biomass COD	Filtrate COD	Total COD		
Inf.	7.75	-	-	-	-	-	-	4500	-
12	5.90	305	47	28	80	12.6	555	1200	4060
24	5.90	173	1	77	170	13.8	610	1165	4140
36	5.90	62	-	81	100	14.5	640	1340	4100
48	5.85	81	-	79	165	15.1	665	1600	3820

^{a,b}Same as Table 1.

^cInf.=Influent.

にやや低く、HRT 24(h)で約8%低い転換率となつてゐる。しかし、HRTを48(h)にすることにより中温のHRT 24(h)と同程度の転換率を得ることもできる。

生成された揮発酸の種類について言えば、運転開始直後はギ酸の生成も見られたが定常に達してからは検出されず、図7に示したように回分実験とほぼ同じ種類の揮発酸が検出された。熱力学的に見ると、プロピオン酸や吉草酸の分解は不利な反応であり、分解に当つてはその酸の生成・分解に伴つて生成するH₂の蓄積量が重要な制限因子になってくる。特にHRT 12(h)の場合水素生成が栄んでおり、二相消化において、これをメタン槽と気相部を含めて連結する場合、水素分圧が十分低く保たれるかどうかが消化効率に大きく影響する可能性がある。

有機物の分解をミルク中の成分別に調べた結果が表3である。炭水化分(全量が溶解しており、その内50%が乳糖)の分解は非常に速くHRT 12(h)で約95%が分解しており、蛋白質は約60%の分解を示した。一方、脂質の分解は約30%と低く、脂質分解が酸生成反応を大きく律速する可能性のあることを示している。但し、表3の分析値は菌体中のものも含んでゐるため、真の分解率はこれらの値より若干高くなるはずである。

以上が代謝に関する特性であるが、混合液の顕微鏡観察によればいずれのHRTの槽においても球菌(单球菌と双球菌)と短桿菌が多く見られた。さらに、HRT 12(h)では全く見られなかつた連鎖状球菌がHRT 24(h)以上で出現し始めた。

4.2 加水分解および増殖に関する動力学的考察

動力学的パラメータを決定するためには、基質固形分の加水分解量[△F]や基質溶解分[S]および消費量[△S]等を知る必要がある。複合基質であるミルクの場合、これらの値を直接測定することはできないが、式(5)のCOD収支から計算することができる。この結果を表4と6に示した。

(A) 連続実験

表4で求めた△Fを使って式(11)～(14)に基づき k_h を求めると、λを0次反応とした場合 k_h は一定とならず式(11), (12)は適用できない。一方、λを1次反応とした場合の結果は図8に示したように式(13), (14)いずれの場合もよく適合して

Table 3. Degradation of substrate constituents (continuous-flow)

HRT (h)	Constituents (mg/l)		
	Carbohydrate as glucose	Protein as albumin	Lipid as COD
Inf.	1680	320	2100
12	90(95)	150(53)	1410(33)
24	95(94)	150(53)	1430(32)
36	60(96)	120(63)	1520(28)
48	65(96)	115(64)	1450(31)

Numbers in paren. are the rate of degradation(%).

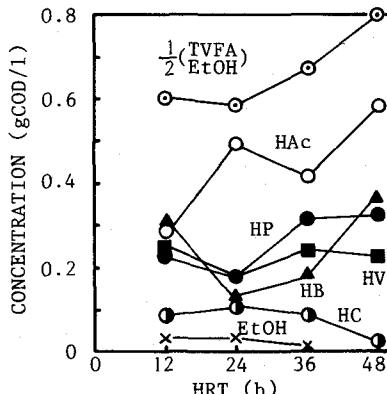


Fig. 7 Effect of HRT on the production of individual acids and ethanol. (continuous-flow at 20°C)

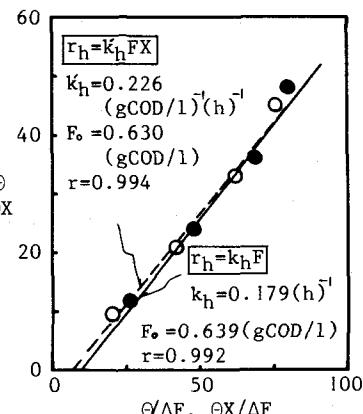


Fig. 8 Calculation of the hydrolysis rate constants [k_h, k'_h]. (continuous-flow)

Table 4. Continuous-flow test: hydrolysis and utilization of substrates

HRT (h)	Solubilized COD (mg/l)			Substrate COD (mg/l)		
	Filtrate	Gas [X]	Total	Hydrolyzed	Utilized	
	Cell		[△F]	[△F+△S]	[△S]	[S]
Inf.	2200	-	2200 (=S ₀)	-	-	2200
12	1800	80	790	2670	470	2070
24	1660	170	865	2695	495	2200
36	1720	100	910	2730	530	2350
48	1685	165	945	2795	595	2115

*Calculated using the COD conversion factor (1.42 g COD/g VSS) of cell on the basis of cell composition (C₅H₇O₂N).

†Sum of TVFA, EtOH, gas and cell COD.

いる。 $r_h = k_h F$ の場合は $F_0 = 0.639 (\text{g COD}/\ell)$, $k_h = 0.179 (\text{h})^{-1}$ であり, $r_h = k_h F X$ の場合は $F_0 = 0.630 (\text{g COD}/\ell)$, $k'_h = 0.226 (\text{g COD}/\ell)^{-1} (\text{h})^{-1}$ となった。 F_0 の値は基質の種類によって異なるが, 本実験条件下でミルクを使った基質の固形分の約 28 % が生分解可能であることになる。式(13), (14)のいずれも適合することについて, X の変化量が小さいことによるものか, あるいはそれに加えて加水分解は酵素反応であり, X に直接的には関係しないのではないかと考えられる。加水分解と菌体量の関係づけは酸槽内の細菌が同じ加水分解酵素を一様に持っているわけではないので, 容易ではないものと思われる。消化温度が異なるが参考として表 5 に式(9)で表現した場合の k_h に関して他基質との比較を示した。

次に, Y および k_d を決定するために式(16)に基づいてプロットしたのが図 9 である。回帰分析により $Y = 0.385 (\text{g cell COD}/\text{g 消費 COD})$, $k_d = 0.00036 (\text{h})^{-1}$ という結果を得た。同じく表 5 に示した他基質との比較を見ると, ミルクの Y 値は活性汚泥のものと近い値を示した。また, 式(15)より求まる μ と表 4 の S との関係を Monod 式および Contois 式に当てはめてみたが, いずれも適用されず, μ_m や K_s を求めることはできなかった。これは, 式(2)からわかるように増殖制限基質の変化に消費 ($\mu X/Y$) と補給 (r_h) が同時に進行していることが原因の一つとなっているのではないかと思われる。

(B) 回分実験

連続実験での結果を基に加水分解速度は式(9)に従うものとする。表 6 で求めた ΔF より仮に $F_0 = 405 (\text{mg COD}/\ell)$ として $F (=F_0 - \Delta F)$ の値を求め, 式(19)に従って片対数紙にプロットしたのが図 10 である。回帰分析の結果により $F_0 = 324 (\text{mg COD}/\ell)$, e を底として $k_h = 0.037 (\text{h})^{-1}$ という値となり, 回分槽で求めた k_h と連続槽での k_h に差がでてきた。

一方, 菌体増殖に関しては図 11 に基質消費と菌体量の関係を示した。図中の測点近傍の数字は消化時間であり, 測点 0 と他の各点を結んだ直線の傾きは総括菌体収率 (Y_0), 各測点を結んだ線の傾きは微分菌体収率 (Y_d) を概ね表わしている。消費 48(h)までは Y_0 はほぼ一定であるがそれ以後は急激に落ち, いわゆる死滅期に入っていることがわかる。 Y_d については, 対数増殖期と考えられる消化 4~12

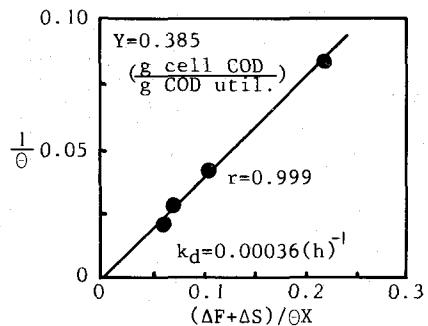


Fig. 9 Calculation of the cell yield [Y] and decay [k_d] coefficients. (continuous-flow)

Table 5. Comparison of k_h, Y and k_d

Substrate	Temp. (°C)	k _h (h ⁻¹)	Y (g cell COD/g COD util.)	k _d (h ⁻¹)
Activated Sludge ^a	37	—	0.40	0.013
Primary Sludge ^b	35	0.125	0.48	0.018
Primary Sludge ^c	35	0.65	0.60	0.06
Dog Food ^d	< 25	0.25	0.60	0.06
Milk ^a	20	0.179	0.385	0.00036

^aThis study.

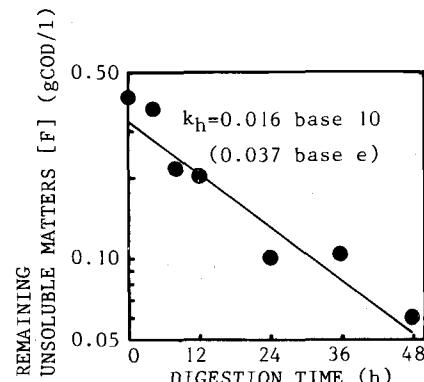


Fig. 10 Calculation of the hydrolysis rate constant [k_h]. (batch)

Table 6. Batch test:hydrolysis and utilization of substrates

Digestion Time (h)	Solubilized COD (mg/l)		Substrate COD (mg/l)		
	Filtrate	Gas [X]	*Cell Total	Hydrolyzed ^b Utilized [ΔF]	[ΔF+ΔS]
0	2250	—	290 (=S ₀)	—	—
4	2260	30	290	40	185
8	2265	40	425	190	530
12	2130	60	550	200	890
24	2050	145	650	305	1385
36	1890	235	715	300	1710
48	1800	335	750	2595	2040
72	1885	395	665	2655	405 (=F ₀)
120	1995	430	510	2645	2345

^{a,b}Same as Table 4.

^cSubtracted the initial cell COD (290 mg/l) from the sum of filtrate, gas and cell COD.

(h) の範囲で $0.369(\text{gcell COD}/\text{g 消費 COD})$ という値であり、連続槽で求めた菌体収率[Y]とほぼ同じ値を示した。

(C) 加水分解モデル

菌体の増殖速度を Monod やその他の式で近似できなかつたので酸生成モデルを完成することはできないが、加水分解については次のようにまとめられる。加水分解速度は式(9)で表わされるとすると、これを式(1)に代入することにより次式を得る。

$$F = F_0 / (1 + k_h \theta) \quad \dots \dots \dots (20)$$

ここで、先に求めた k_h を使って、連続槽については式(20)回分槽については式(18)より加水分解曲線を描くと図12のようになる。

連続槽と回分槽で用いた式および k_h の値は異なるが、消化 12(h)以後では同様な曲線を描いており、回分実験により連続槽での加水分解状況を推測することも可能であろう。また、消化初期には基質溶解分が十分にあることが予測されるので、加水分解は実際には図中の点線で示されたような曲線を描くものと思われる。

5. まとめ

本実験から得られた知見を要約すると以下のようになる。
(1) 中温 (37°C) 消化に比べて低温 (20°C) 消化では酸生成菌の活性化の立ち遅れが見られるが、滞留時間をわずかに長くとることにより同等の酸生成量を得ることができるもの。

(2) 消化時間が 48 時間以下では代謝産物の生成と菌体増殖が連動しているが、それ以上では連動しなくなる。

(3) 水素を利用するメタン生成菌のうち増殖速度のかなり速いものが存在する。

(4) ミルクに含まれる炭水化物 (50% が乳糖) の分解は非常に速いが、脂質の分解は遅く、酸生成反応を大きく律速する可能性がある。

(5) 加水分解速度は残留している生分解可能な基質固形分量に関して 1 次反応で表わされ、本実験における菌体量の変化の範囲では菌体量と直接的には関係しない。

(6) 消化時間が 12 時間以上になると、消化時間に対する加水分解曲線は回分式反応槽の場合も連続式のものとほぼ同じ曲線を描く。

(7) 本実験により得られた力学的パラメータは次のとおりである。

連続式反応槽 : 加水分解速度定数 $k_h = 0.179(\text{h})^{-1}$

菌体収率 $Y = 0.385 (\text{gcell COD}/\text{g 消費 COD})$

死滅係数 $k_d = 0.00036(\text{h})^{-1}$

回分式反応槽 : 加水分解速度定数 $k_h = 0.037(\text{h})^{-1}$ (e を底とする)

6. おわりに

冒頭でも述べたように本実験は二相消化実験の酸生成相に関するものであり、現在、嫌気性沪床を利用したメタン槽と連結した実験を消化温度 20°C と 37°C で行っている。別な機会に低温および中温での二相嫌

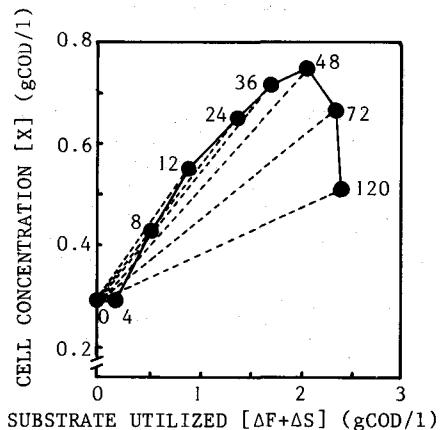


Fig. 11 Relationship between substrate utilization and cell growth. (batch)

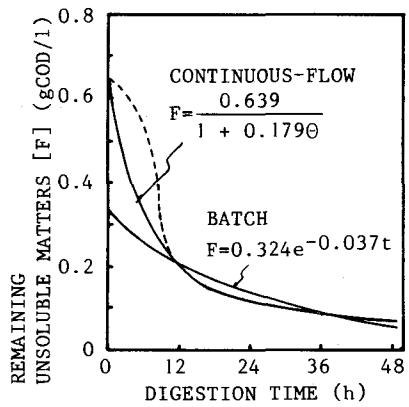


Fig. 12 Hydrolysis model during the acid phase at 20°C .

気性消化としてご報告致したい。

参考文献

- 1) Eastman,J.A., "Solubilization of Organic Carbon During the Acid Phase of Anaerobic Digestion." Ph.D Thesis, University of Washington, Seattle (1977)
- 2) Agardy,F.J. and Shepherd,W.C., "DNA-A Rational Basis for Digester Loadings." J.W.P.C.F., Vol.37, 1236 (1965)
- 3) Genetelli,E.J., "DNA and Nitrogen Relationships in Bulking Activated Sludge." J.W.P.C.F., Vol.39, Part 2, R32 (1967)
- 4) 水野, "核酸の一般的分離・定量法" 学会出版センター (1979)
- 5) Shea,T.G., et al., "Kinetics of Hydrogen Assimilation in the Methane Fermentation." Water Research, Vol.2, 833 (1968)
- 6) Ghosh,S., et al., "Anaerobic Acidogenesis of Wastewater Sludge." J.W.P.C.F., Vol.47 30 (1975)