(46) 前段UASBと後段好気槽を組み合わせたシステムの硫黄酸化還元サイクルを利用した下水処理

Sewage treatment by sulfur redox cycle action in a system consisting of a UASB pre-reactor and a aerobic post-reactor

角野晴彦*, 山口隆司*, 谷川大輔*, 岡崎優子**, 荒木信夫***,
川上周司**, 山崎慎一***, 原田秀樹****
Haruhiko SUMINO, Takashi YAMAGUCHI, Daisuke TANIKAWA, Yuko OKAZAKI, Nobuo ARAKI,
Shuji KAWAKAMI, Shinichi YAMAZAKI, Hideki HARADA

ABSTRACT; We propose a new sewage treatment system consisting of a UASB reactor as an anaerobic pretreatment unit and an aerobic posttreatment unit. The aerobic unit is composed of a combination of a trickling filter reactor and a fluidized bed reactor, which together polish up the UASB effluent. A feasibility test was carried out by feeding raw sewage for over 250 days with a 7.18 m^3 pilot system at a municipal sewage treatment plant. Circulation of a part of the trickling filter effluent stream to the UASB as a sulfate source improved the quality of the final effluent from the system. Influent unfiltered 303 mg/L BOD decreased to 150 mg/L in UASB effluent and subsequently to 13 mg/L in the aerobic unit effluent in 12 hours in the HRT of the whole system. Vial-activity batch tests suggested that the main electron flow for BOD oxidation in the UASB sludge shifted completely from methane production to sulfate reduction after 90 days of operation. Community structure was examined by PCR and DGGE targeting 16S rDNA with band excision and sequence analysis. *Thiomonas* and *Halothiobacillus* were the predominant sulfur oxidizing bacterial species in the posttreatment sludge.

KEYWORDS; Sewage treatment, domestic sewage, anaerobic treatment, sulfate reducing bacteria, sulfur oxidizing bacteria

1 はじめに

現在，都市下水の処理は，主に活性汚泥法等の好気性処理法によって行われている。しかし，活性汚泥法は，余剰汚泥発生量が多い，装置稼動のために莫大な電力エネルギーが必要といった問題点を有する。一方，これまで主として中高濃度廃水の処理に用いられてきた嫌気性生物処理法は，余剰汚泥の発生量，消費電力エネルギーが少ないという利点を有する。特に上昇流スラッジブランケット（Upflow anaerobic sludge blanket, UASB）反応器は，その優れたパフォーマンスにより食品・ビール・醸造廃水から紙パルプ・高濃度脂質含有廃水まで適応廃水種を拡大している[1)2)]。近年では，都市下水のような低濃度廃水へのUASB反応器のフィージビリティーに関する研究が進み，既にインド，ブラジル等ではフルスケールプラントが稼動している[3)4)5)]。しかし，国内においてUASBを主体とする装置を用いて実下水の処理を行った知見は少ない況にある[6)7)]。実下水は，低濃度，水量が膨大，冬季には水温が15℃程度にまで低下するという嫌気性微生物，特にメタン

* 広島県産業科学技術研究所 (Hiroshima Prefectural Institute of Industrial Science and Technology)
** 呉工業高等専門学校 環境都市工学科 (Dept. of Civil Engineering, Kure National College of Technology)
*** 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 Technology)
**** 高知工業高等専門学校 建設システム工学科 (Dept. of Civil Engineering, Kouchi National College of Technology)
***** 長岡技術科学大学 環境システム工学系 (Dept. of Environ. Sys. Engineering, Nagaoka University of Technology)

生成古細菌にとって不適な特徴を有する。本研究では，メタン生成古細菌以外の嫌気性微生物，即ち，硫酸塩還元細菌，および硫黄サイクルのパートナーである硫黄酸化細菌の活性化に着目した新規排水処理システムを考案し，その処理特性とリアクター保持微生物の生態評価を行った。実験では，前段 UASB 反応槽，後段好気槽からなるシステム（総容積 7.18 m^3，国内最大）に，実下水を通水して処理特性を評価した。また，反応槽保持汚泥について微生物代謝活性と分子生物学的手法を用いた微生物生態解析を行い，本システムの処理機構の解明を試みた。

2 実験方法

2.1 実験装置及び運転条件

Fig. 1 に本実験で用いた排水処理システムの概要を示す。システムは，前段の UASB 型反応槽，後段の散水ろ床と流動床型接触曝気処理槽及び沈殿槽で構成し（総容積 7.18 m^3），広島県呉市広浄化センター内に設置した。システムに供給した原水は，同浄化センターのスクリーン通過後の下水を原水槽に貯留したものを用いた。処理フローは，原水を UASB に供給し，その処理水を散水ろ床および流動床で好気的処理して，沈殿槽を経て最終処理水を得る構成とした。また，循環ラインを設け，流入流量に対して循環比 2 で UASB へ返送を行った。循環水は，運転期間 1～169 日目（以降この期間を RUN1 と呼ぶ）では流動床流出部，運転期間 192～295 日目（同 RUN2）では散水ろ床流出部から採水した。RUN 移行期間 170～191 日目は装置改良のため運転を一時停止した。

設計処理水量は，全期間 12 m^3/day とし，システム全体の水理学的滞留時間（HRT）12hr で運転を行った。反応槽の温度制御はフリーとして運転を行った。植種汚泥は，UASB には食品排水を処理していた中温メタン発酵グラニュール汚泥，流動床には活性汚泥を用いた。また，散水ろ床には植種は行わなかった。

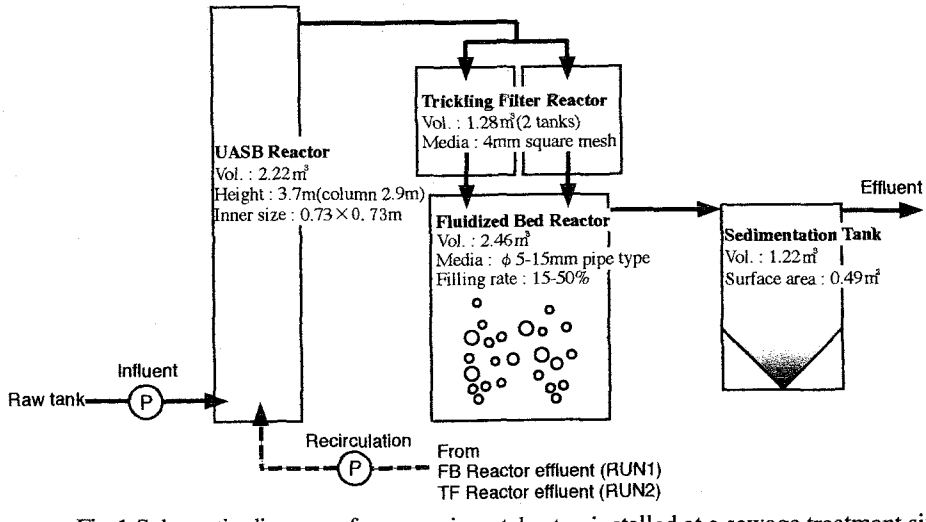


Fig.1 Schematic diagram of an experimental setup installed at a sewage treatment site.

2.2 活性試験

UASB 保持汚泥について，メタン生成活性，硫酸還元活性を評価した（何れも gCOD/gVSS/day 基準）。汚泥は UASB 高さ 110cm サンプリングポートから採取し，窒素パージを行う嫌気的条件下で分散処理し，リン酸緩衝液，微量栄養源で培地の入っている 122mL バイアル瓶に分注した。テスト基質である酢酸，水素（H_2/CO_2=80:20，1.4atm）を加え，35℃恒温ロータリーシェーカー（120rpm，回転半径 40mm）に装着して適時サンプリングを行い活性を評価した（詳細な手順は既報[8]に準じた）。硫酸還元活性の測定では，硫酸ナトリウムをバイアル内最終濃度で 200mgS/L とし，メタン生成を停止させる目的でクロロホルムを 5mg/L となるように投入した。

散水ろ床および流動床保持汚泥については，硫黄酸化活性を評価した。採取した汚泥は，前記メタン生成活性試験と同じ培地内で分散処理を行い 122mL バイアル瓶に分注した。チオ硫酸（バイアル内最終濃度 200mgS/L）を添加し，27.5℃恒温好気的条件下で培養し，適時チオ硫酸濃度を測定してチオ硫酸酸化活性（硫黄酸化活性）を求めた。何れの活性も同一条件で２本ずつ評価した。

2.3 PCR-DGGE 法

後段散水ろ床および流動床保持汚泥中の硫黄酸化細菌を対象に PCR-DGGE を行った。サンプリングした汚泥は，硫黄酸化細菌の集積培養を行った（以下，散水ろ床サンプルを RS，流動床サンプルを RD 呼ぶ）。集積培養は，40mM のチオ硫酸塩を主体とした培地（Table1）を用い，暗所 30℃の条件下で行った。集積汚泥は 3 日に 1 度植え継ぎを行った（集積培養前汚泥サンプルを RD0，RS0，培養 1 回目終了時 サンプルを RD1，RS1，同 2 回目を RD2，RS2，同 3 回を RD3，RS3 と呼ぶ）。DNA 抽出にはビーズビーダー法を適用し，フェノール・クロロホルム・エタノール沈殿を行った後，Rnase 処理で RNA を除去した。

Table2 は，PCR 条件を示す。保持微生物の 16SrDNA をターゲットとした Touch down PCR を行った。プライマーセットは EUB-341F-GC[9]，UNIV-907R を用いた。DGGE には D code system（Bio Rad 社）を使用した。6%ポリアクリルアミドゲル中の変性剤の濃度勾配を 20～70%に設定し，60℃，130V，300 分の条件下で PCR 産物の電気泳動を行った。電気泳動終了後，SYBR Green I で 15 分間染色し，紫外線蛍光下で目的のバンドを滅菌したメスを使って切り出し回収した。その後，更にバンドを細分化するため，変性剤の濃度勾配を 30～50%，50～70%に設定し，同様の方法でバンドを回収した。

回収したバンドは，オートシーケンサーマルチキャピラリーDNA 解析システム CEQ2000（BECKMAN COULTER）を用いて塩基配列の決定を行った。菌の同定には，解読した塩基配列を NCBI（http://www.ncbi.nlm.nih.gov）の BLAST を使い，既知種の中から相同性の高い菌を検索した。また，解読された塩基配列より系統解析を行なった。系統解析には，NJ 法[10]（近隣結合法）による系統樹作成のために多重アライメントソフト CLUSTAL X package，系統樹作成ソフト MEGA package を使用した。

Table1 Composition of medium for growth sulfur oxidizing bacteria.

$Na_2S_2SO_3 \cdot 5H_2O$	10g
KH_2PO_4	0.2g
K_2HPO_4	0.2g
NH_4Cl	0.1g
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.2g
Ion exchange water	1.0L

Table2 PCR condition for primer set EUB-341F-GC, UNIV-907R.

Step1 (Touch down PCR)			Step2		
95℃	5min	×1cycle	95℃	5min	
95℃	1min	×20cycle	55℃	1min	×10cycle
65-55℃	1min	(gose down 2℃	72℃	1min	
72℃	3min	evrey 2cycle)	72℃	3min	×1cycle
			4℃		∞

3 実験結果と考察

3.1 連続処理性能

本下水処理システムは，冬季（2002 年 2 月 12 日）に運転を開始し，RUN の移行期（170～191 日目）を除いて連続運転を行った。Fig.2 は，UASB に関する一日の最低，最高，平均水温の経日変化を示す。本システムは温度制御フリーで運転を行った。このため，UASB の平均水温は，冬季（運転開始時）では 11～13℃程度，夏季では 30～33℃程度となり，運転期間で約20℃の水温変動をみせた。また，運転期間中，UASB 水温の日変動（最低，最高温度の差）は5℃前後であった。

Fig.3，4 は，流入下水と最終処理水の全 BOD 及び溶解性 BOD の経日変化を示す。処理水の全 BOD 濃度は，運転開始より低下傾向を示し，運転 3 ヶ月目で 20mg/L 程度のレベルとなった。また，処理水溶解性 BOD は 1 ヶ月目には 10mg/L 程度レベルに達し，安定した処理性能を示した。しかし，運転 150 日目頃から，流動床内の浮遊汚泥の増加が見られ，この浮遊汚泥が SS 成分として UASB へ返送されることが原因と思われる UASB 汚泥のウォッシュアウトによる処理水の悪化が起こった。このため，循環水の採取場所を流動床内から散水ろ床流出部へ変更した（変更した 192 日目以降を RUN2）。この結果，処理性能は再び安定し，最終処理水では BOD 平均値が全成分で 13mg/L，溶解性で 5mg/L まで除去できた。

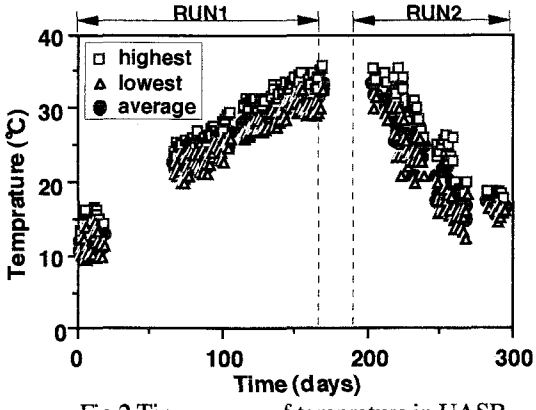


Fig.2 Time course of temprature in UASB.

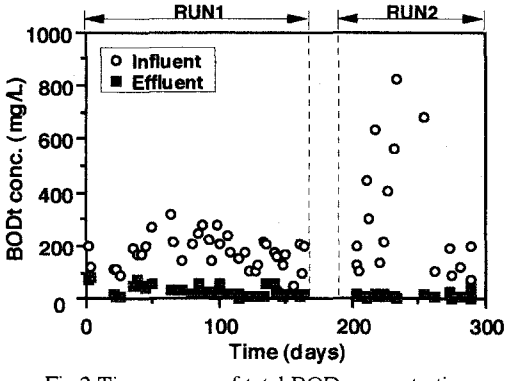


Fig.3 Time course of tatal BOD concentration.

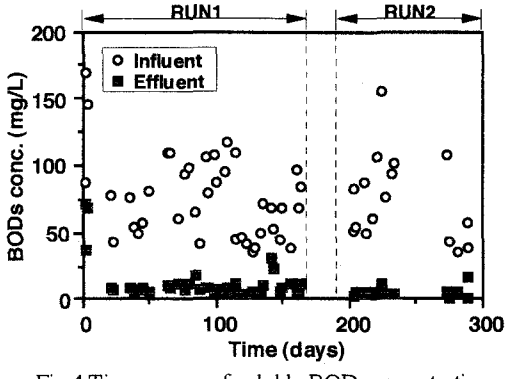


Fig.4 Time course of soluble BOD concentration.

Table3 は，RUN1，RUN2 における原水の主な組成と各反応槽における流出水質を示す。原水の平均全 BOD 濃度は，RUN1 で 178mg/L，RUN2 で 303mg/L であった。平均硫酸塩濃度は，RUN1 で 150mgS/L，RUN2 で 66mgS/L のレベルであった（全期間平均の硫酸塩/全 BOD 比は 0.50gS/gBOD）。Table3 で興味深いところは，各 RUN 共にシステム前段 UASB で硫酸塩の還元が進行し，後段散水ろ床，最終処理水（流動床後）で硫酸塩濃度の増加が見られたところである。即ち，本システムでは，前段 UASB で硫酸塩還元とそれに伴う BOD 成分の除去が進行し，後段好気槽では硫酸還元の結果生じた硫化物が硫黄酸化反応により硫酸塩にまで再生され，その硫酸塩が循環ラインによって UASB に送られて再び BOD 成分除去のドライビング・フォースとして利用されるという硫黄の酸化還元サイクルが形成されることが明らかとなった。

運転期間中，窒素除去のための硝化反応の進行は見られず，脱窒反応に伴う BOD 除去は起きなかった。また，UASB からのガス生成は運転期間を通して 1 日あたり 0.5L 未満であり，メタン生成は抑制されていた。なお，メタンガス組成は，運転 80～160 日の夏季にかけて 10～40%に達したが，270 日頃では 2%程度のレベルであった。

硫酸塩還元菌に関してはこれまで，硫酸塩が数十 mgS/L 程度と低い環境でも増殖可能で，活性汚泥中や担体円板生物膜内のような好気的空間が多く，低温の条件下でも増殖可能であることが報告されている[11)12)]。また，硫黄酸化細菌については，自然界に広く分布し，低温環境で生育可能であることが知られている[13)14)]。筆者らの研究グループでもこれまでに都市下水のような低濃度 BOD 濃度（150～300mg/L）に対して硫酸塩濃度（10～30mgS/L）が高い割合で含まれる廃水を嫌気性処理する場合，硫酸還元の有機物分解を担う役割は高くなる知見を得ている[15)]。

Table3 Summarized data of UASB, trickling filter and whole system each phase.

	RUN1				RUN2			
operation period	12 Feb.- 31 July.(1-169days)				23 Aug.- 4 Dec.(192-295days)			
designed HRT	12hr				12hr			
Items	Sewage	UASB eff.	TF eff.	Final eff.	Sewage	UASB eff.	TF eff.	Final eff.
BODt (mg/L)	178 [59]	265 [162]	210 [158]	32 [22]	303 [233]	150 [68]	138 [60]	13 [10]
BODs (mg/L)	76 [31]	82 [45]	76 [27]	13 [15]	75 [32]	52 [22]	43 [18]	5 [4]
SO_4^{2-} (mgS/L)	150 [91]	40 [36]	50 [37]	97 [97]	66 [30]	55 [24]	82 [47]	96 [84]
NH_4^+ (mgN/L)	20 [5]	28 [13]	24 [7]	23 [2]	23 [7]	26 [5]	27 [4]	25 [5]
NO_2^- (mgN/L)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
NO_3^- (mgN/L)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
SS (mg/L)	200 [74]	277 [323]	262 [291]	49 [26]	342 [245]	199 [82]	170 [144]	47 [24]
pH	7.2 [0.4]	7.2 [0.3]	7.2 [0.2]	7.3 [0.2]	7.1 [0.2]	7.0 [0.1]	7.0 [0.2]	7.1 [0.1]
ambient temp.(℃)		18.9 [6.3]				16.8 [4.9]		
UASB temp.(℃)		22.0 [6.0]				24.2 [6.1]		
BODt rem.(%)				82 [13]				92 [12]
BODs rem. (%)				84 [12]				92 [10]
SS rem. (%)				72 [16]				81 [13]

[ ] : standard deviation N.D. : not detectable

3.2 活性試験

本節では，BOD 除去者としてのメタン生成古細菌と硫酸塩還元細菌の活性の比較，及び硫黄酸化還元サイクルにおける硫酸塩還元細菌のパートナーである硫黄酸化細菌の活性について述べる。

Fig.5 は，植種汚泥と UASB 保持汚泥（運転 90 日目）のメタン生成活性と硫酸塩還元活性の結果を示す。植種汚泥は，食品排水処理中温メタン発酵グラニュール汚泥であったため，酢酸，水素基質共にメタン生成活性の方が硫酸塩還元活性よりも高い結果となった（酢酸基質で SRA/MPA=1/25，水素基質で 1/34）。一方，運転 90 日後では逆転して両基質とも硫酸塩還元活性がメタン生成活性よりも高いレベルとなった（酢酸，水素基質共に SRA/MPA=2.4 倍）。この結果から，運転経過に従い，UASB 内に硫酸塩還元細菌が増殖し，BOD 除去に寄与していたことが理解できる。下水のような低濃度有機性排水を嫌気性処理した場合，硫酸塩還元細菌が BOD 除去者として卓越してくることは従来より報告されており，そのメカニズムとしては，硫酸塩還元細菌の基質親和性がメタン生成古細菌のそれよりも高いことがあげられる [16]。特に本処理システムでは，原水の硫酸塩含有割合が 0.50gS/gBOD と高めであったことから硫酸塩還元細菌の増殖が進みやすい条件であったと考えられる。

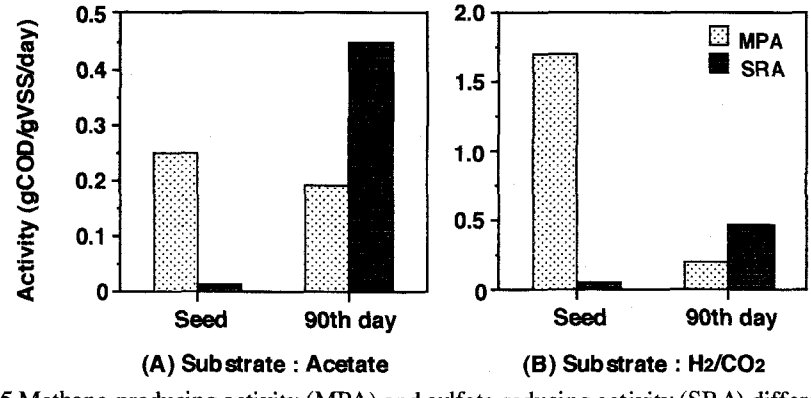


Fig.5 Methane-producing activity (MPA) and sulfate-reducing activity (SRA) different days.

Fig. 6 は，運転開始 270 日目の UASB 保持汚泥の硫酸塩還元活性，および散水ろ床・流動床の硫黄酸化活性（チオ硫酸酸化活性）の評価結果を示す。この結果，SRA は冬期のために酢酸，水素基質ともに低いレベル（0.01gS/gVSS/day，0.11gS/gVSS/day）となったが，硫黄酸化細菌の活性（SOA）レベルは高く（散水ろ床 1.37gS/gVSS/day，流動床 0.45gS/gVSS/day），硫黄酸化還元サイクルを活用して BOD 除去を行うシステムの硫酸塩還元細菌のパートナーとして充分な硫黄酸化能力を有していることが分かった。

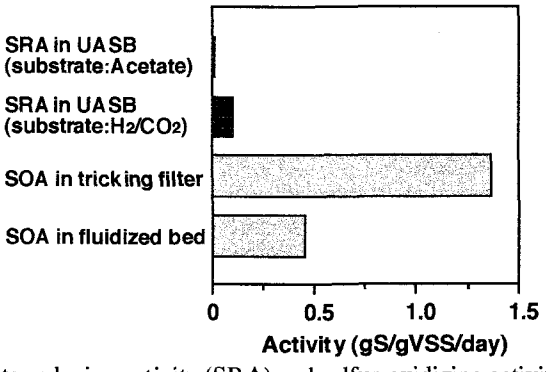


Fig.6 Sulfate-reducing activity (SRA) and sulfur-oxidizing activity (SOA) at 270th day.

3.3 UASB 高さ方向の溶解性硫黄化合物プロファイル

Fig. 7 は，運転開始 281 日目の UASB 内の硫酸塩，硫化物及び ORP の高さ方向プロファイルを示す。UASB に流入した硫酸塩は UASB 底部 55cm サンプリングポートまでに完全に還元され，それに伴い硫化物（S^{2-}）が生成された。その後，高さ 110cm サンプリングポートより上部で硫化物は酸化され，硫酸塩が流入と同レベルまで生成された。このとき UASB 反応槽の酸化還元電位（ORP）レベルは，硫酸還元が進行した 55cm サンプリングポート位置では-306mV であり，硫化物の酸化が進行した 110cm 位置より上部では-260～-215mV と高かった。この結果より，流入した硫酸塩は底部において還元され，対応する BOD 成分の分解に寄与していることが分かった。同日の溶解性 BOD プロファイルでは，高さ 110cm で SS 成分の可溶化のため 246mg/L と高いレベルとなるが，硫酸塩の還元に伴い高さ 225cm では 64mg/L まで減少した。

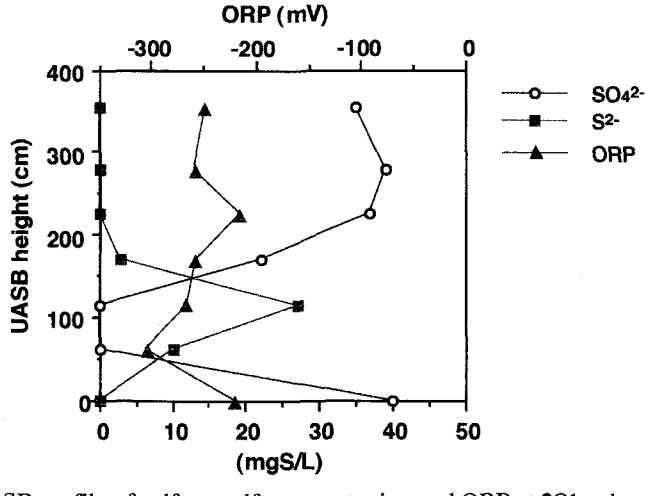


Fig.7 UASB profile of sulfate, sulfur concetration and ORP at 281st day.

また，本処理システムでは，運転経過に従って UASB 流入水と UASB 処理水中の硫酸塩濃度の差（硫酸塩還元反応による見かけの BOD 除去量）が減少したが，これは UASB における硫酸塩の再生が起きたためであり，実際は流入硫酸塩相当量の BOD 成分の分解が進行していたと思われる（Table3 を基にすると，RUN1 では，UASB 流入硫酸塩 115mg/L（循環比 2 で最終流出水中硫酸塩濃度を用いた試算流入値），流出硫酸塩 40mg/L であり，差は 75mg/L であった。これに対し RUN2 では，UASB 流入硫酸塩 77mg/L（循環比 2 でろ床流出部硫酸塩濃度を用いた試算流入値），流出硫酸塩 55mg/L であり，差は 22mg/L と減少した結果となる）。電子供与体供給律速条件下で ORP レベルが上昇し，硫酸塩還元反応が抑制される事例は，流入硫酸塩濃度 333mgS/L で乳酸基質濃度を低下させた実験で見られる [17]。この結果では，ORP-300mV レベル以下では良好な硫化物生成が進行したが，ORP-280mV レベルから硫化物生成が減少し，ORP が-160mV レベルまで上昇したところで硫化物生成がほぼ停止した。

本処理システムは，連続運転によって微生物による硫黄の還元および酸化のサイクルが形成され BOD 成分の除去が遂行するようになった。次節では，UASB 後段好気性反応槽保持汚泥を対象として硫黄サイクルを活性化するキーである硫黄酸化菌ついて解析を行った。

3.4 PCR-DGGE 法

Fig.8 は，運転 130 日目の散水ろ床，流動床保持汚泥を基にした DGGE 結果を示す。Table4 は，そのシーケンス結果である。散水ろ床サンプル（RS 系）では，*Halothiobacillus sp. WJ18*（Band C）の蛍光輝度が強く，元サンプル（RS0）からもバンドが確認できることから，硫黄酸化細菌の中で優占している菌と思われる。ここで，*Halothiobacillus sp.* は好塩菌だが，本処理システムが沿岸に位置し，また，原水には海水が若干混入することから優占菌として適当と考えられる。また，*Thiomonas Ynys1 A, B*（Band A, B）も集積培養の経過とともに蛍光輝度が増しており優勢となっていることが示唆される。なお，*Thiomonas Ynys1 A* と *Thiomonas Ynys1 B* は，シーケンス結果から塩基が 3 個違いと近い塩基配列を示し，同一株と推測できるが，明らかにバンドが区別され異なる塩基 3 個中 2 個が GC 塩基であることから，ここではあえて A, B に分けることとした。

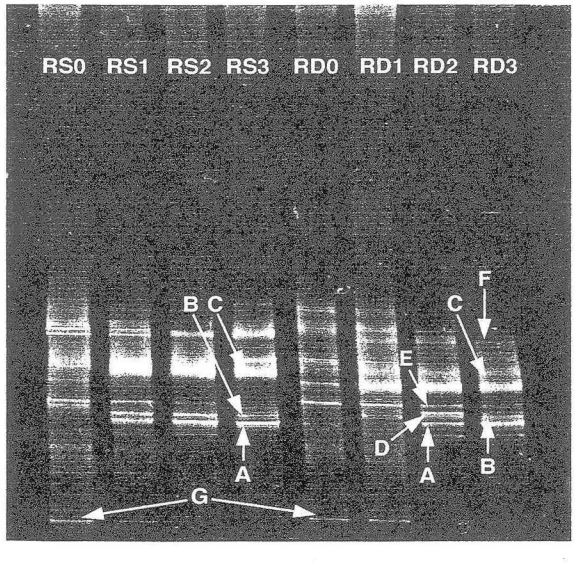
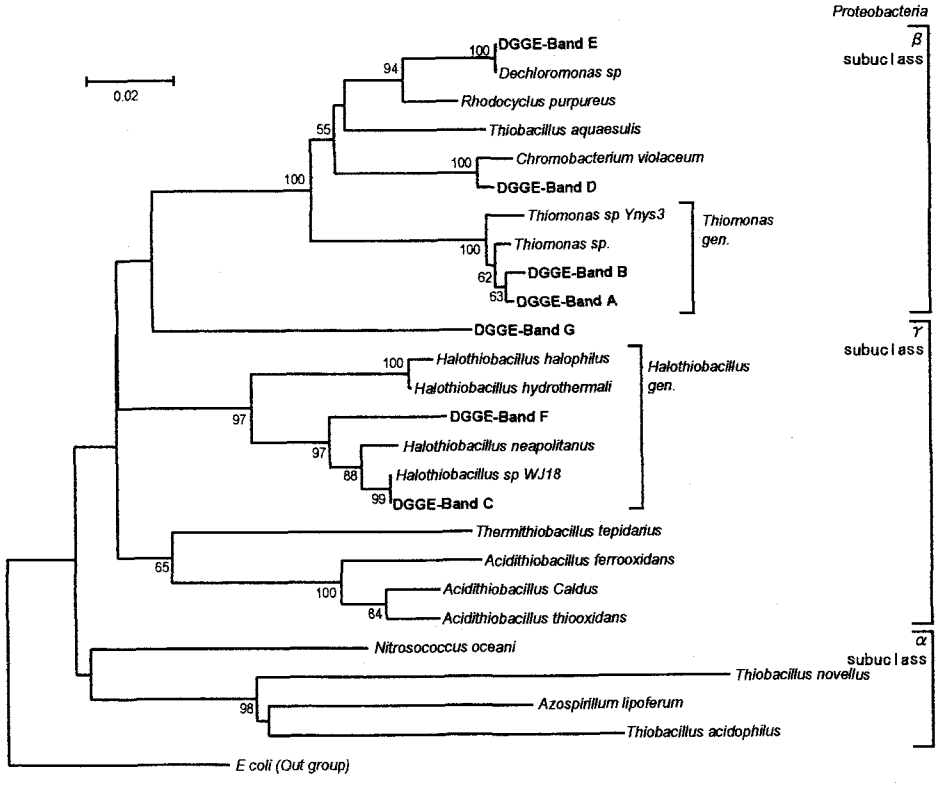


Fig.8 16SrDNA DGGE profiles of the microbial consortia in areobic reactors.

Table4 Result of sequence from sample figure8 DGGE band.

Band	Closest	Identity
A	*Thiomonas Ynys1 A*	417/421 (99%)
B	*Thiomonas Ynys1 B*	503/508 (99%)
C	*Halothiobacillus sp. WJ18*	541/541 (100%)
D	*Uncultured beta proteobacterium OS1L-24*	490/492 (99%)
E	*Uncultured beta proteobacterium CLi61*	423/423 (100%)
F	*Halothiobacillus neapolitanuns DSM581*	344/357 (96%)
G	*Uncultured beta proteobacterium PHOS-HE54*	476/477 (99%)

流動床サンプル（RD 系）では，一番蛍光が強いバンドがシーケンシングできず，今回の実験では菌を特定できなかった。しかし，散水ろ床サンプルと同じ *Thiomonas Ynys1 A, B* や *Halothiobacillus sp. WJ18* が比較的強い蛍光輝度で検出され，バンド位置から散水ろ床と同じ菌であると考えられた。それ以外では，*Halothiobacillus neapolitanus*（Band F）が検出された。*Uncultured beta proteobacterium OS1L-24*（Band D）や *Uncultured beta proteobacterium Cli61*（Band E）などが高い相同性を示し検出されたが，これらは系統解析から，それぞれ *Chromobacterium, Dechloromonas* に近縁であり（系統樹Fig. 9 参照），硫黄酸化細菌ではないことが分かった。



The tree was constructed with the neighbor-joining(N-J) method.
The scale bar represents the number of changes of nucleotides per sequence position.
The numbers at the nodes show the bootstrap values (percentage) obtained with 1,000 resamplings.
Bootstrap values below 50 are not shown in the tree.

Fig.9 Phylogenetic tree besed on 16S rDNA gene-sequence in the aerobic reactors retained sludge.

4 まとめ

1) 微生物による硫黄の酸化還元サイクル機能を活性化した処理システムよって，都市下水の処理が可能であることが明らかとなった。即ち，前段 UASB では硫酸塩還元による BOD 除去が進行し，後段好気性反応槽では硫化物からの硫酸塩再生が起こった。本システムでは，循環ラインを設けることによって再生硫酸塩をドライビング・フォースとして UASB に再供給しBOD 除去を行う処理機構が成立した。

2) RUN2 の運転条件（設計 HRT12hr，UASB の日平均水温 33～17℃）において，本システムは，流入全 BOD303mg/L，溶解性BOD75mg/L を，最終的に全BOD13mg/L，溶解性BOD5mg/Lまで処理できた（除去率はそれぞれ92%を達成）。

3) 後段好気性反応槽内保持汚泥の硫黄酸化細菌は，前段 UASB 内の硫酸塩還元細菌の活性に十分見合う硫黄酸化活性（チオ硫酸酸化活性）を有していた。PCR-DGGE 法にて硫黄酸化細菌を調査した結果，好気性の散水ろ床，流動床において好塩菌である *Halothiobacillus sp. WJ18*, *Thiomonas Ynys1 A,B*, *Halothiobacillus neapolitanus* が優占菌種として増殖していることが分かった。

謝 辞

本研究は新エネルギー産業技術総合開発機構（NEDO）の産業技術研究費事業費助成金を受けて実施致しました（課題番号01B63001d，代表研究者：山口隆司）。また，呉市下水道部には研究の場を提供して頂きました。記して関係各位に深く感謝致します。

参考文献

1) R.J. Frankin：Full-scale experiences with anaerobic treatment of industrial wastewater, Water Science and Technology, Vol.44, No.8, 1-6, 2001

2) 多川正，原田秀樹，高橋弘希，大橋晶良，関口勇地：新規の多段型 UASB 反応器による脂質・タンパク質含有廃水の高温嫌気性処理パイロットプラント実験，環境工学研究論文集，36，431-441，1999

3) Lucas Seghezzo, Grietje Zeeman, Jules B. van Lier, H. V. M. Hamelers, Gatze Lettinga：A Review; The anaerobic treatment of sewage in UASB and EGSB reactors, Bioresource Technology, 65, 175-190, 1998

4) C. Collivignarelli, G. Urbini, A. Farneti, A. Bassetti, U. Barbaresi：Anaerobic-aerobic treatment of municipal wastewaters with full-scale upflow anaerobic sludge blanket and attached biofilm reactors, Water Science and Technology, Vol.22, No.1/2, 475-482, 1990

5) 原田秀樹，上村繁樹，鈴木薫，Sunil K. Karn, Lalit K Agrawal：アフリカ・ニジェールの首都ニアメの衛生状況と世界初のUASB-DHS バイオタワー下水処理プラントに関する報告，下水道協会誌，Vol.40, No.486, 2003

6) I. Machdar, Y. Sekiguchi, H. Sumino, A. Ohashi, H. Harada：Combination of a UASB reactor and a curtain type DHS(downflow hanging sponge) reactor as a cost-effective sewage treatment system for developing countries, Water Science and Technology, Vol.42, Nos3-4, 83-88, 2000

7) 大橋晶良，角野晴彦，屋井裕幸，関口勇地，原田秀樹：エアレーション不要・余剰汚泥生成ゼロを目指した新規生活排水処理システムの開発，浄化槽研究，Vol.11, No.2, 1999, 47-56, 1999

8) 珠坪一晃，原田秀樹，鈴木宏誌，桃井清至，大橋晶良：高温 UASB リアクターによるアルコール蒸留廃水処理特性と保持微生物群の生態学的挙動，環境工学研究論文集，32，201-212，1995

9) 石井浩介，中川達功，福井学：微生物生態学への変性在濃度勾配ゲル電気泳動法の応用，Microbes and Environments, 15, 59-73, 2000

10) Saitou N. Nei M. The neighbor-joining method, A new method for reconstructing phylogenetic tree：Molecular Biology and Evolution, 4, 406-425, 1987

11) 竹内準一：硫酸塩還元細菌の生理生態，用水と廃水，Vol.31, No.4, 14-25, 1989

12) 岡部聡，伊藤司，佐藤久，渡辺義公：微好気性生物膜内における硫酸塩還元細菌の空間分布と硫黄の挙動解析，用水と

廃水, Vol.44, No.11, 5-14, 2002
13) 小泉淳一：硫黄酸化細菌の生理生態と生物工学, 用水と廃水, Vol.31, No.4, 26-34, 1989
14) P. N. L. Lens, J. G. Kuenen：The biological sulfur cycle: novel opportunities for environmental biotechnology, Water Science and Technology, Vol.44, No.8, 57-66, 2001
15) 山崎慎一, 山口隆司, 荒木信夫, 原田秀樹：UASB-接触酸化下水処理システムによる有機物と窒素の同時除去特性, 土木学会論文集, No.734/VII-27, 135-142, 2003
16) H. Harada, S. Uemura, K. Momonoi：Interaction between sulfate-reducing bacteria and methane-producing bacteria in UASB reactors fed with low strength wastes containing different levels of sulfate, Water Research, Vol.28, No.2, 355-367, 1994
17) 勝賀瀬陽一, 林浩志, 常田聡, 平田彰, 佐々木弘：硫酸還元バイオリアクターによる希薄廃水からの重金属回収, 第37回日本水環境学会年会講演集, p302, 2003