[水環境学会誌 第16巻 第1号 29—36 1993]

<論文>

回分式活性汚泥法における脱リンを担う微生物に及ぼす 水質および運転変動の影響

林 奇 剛*   片 山 葉 子**
岡 田 光 正***   村 上 昭 彦*

The Effect of Stepwise Changes of Influent Organic Matter Concentration and Operational Mode on Population Dynamics of Bacteria for Phosphorus Removal in Sequencing Batch Reactor (SBR) Activated Sludge Processes

Chi-Kang LIN*, Youko KATAYAMA**
Mitsumasa OKADA*** and Akihiko MURAKAMI*

* Department of Chemical Engineering, Tokyo University of Agriculture and Technology, 2-24-16, Nakamachi, Koganei-shi, Tokyo 184 Japan

** Department of Environmental Science and Conservation, Tokyo University of Agriculture and Technology 3-5-8, Saiwaicho, Fuchu-shi, Tokyo 183 Japan

*** Laboratory of Environmental Chemistry, Hiroshima University, 1-4-1, Kagamiyama, Higashihiroshima-shi, Hiroshima 724 Japan

Abstract

Laboratory-scale sequencing batch reactor (SBR) activated sludge processes were operated using synthetic wastewater to investigate the effects of disturbance (e.g. from anaerobic/aerobic operation to aerobic operation or decrease in the influent etc.) on the population dynamics of bio-P-bacteria in activated sludge ecosystems.

From this research, it is clarified that Q-9 was predominant ubiquinone in activated sludge showing high phosphorus removal ability. The responses of phosphorus removal ability and quinone profile suggested that the deterioration and the slow recovery were dependent not only on the decrease in the activity of each bio-P-bacteria but on the decrease in their population, i.e. species succession of bacteria.

The isolated strain of *Pseudomonas* was identified to be a bio-P-bacteria for accumulated polyphosphates as well as the strain of *Acinetobacter* in activated sludge ecosystems. It is suggested that the isolated strains of *Acinetobacter* and *Pseudomonas*, which contained major quinone of Q-9, played an important role in phosphorus removal in activated sludge processes.

Key words: population dynamics, phosphorus removal, disturbance, quinone profile, species succession of bacteria

* 東京農工大学工学部物質生物工学科 〒184 小金井市中町2-24-16

** 東京農工大学農学部環境・資源学科 〒183 府中市幸町3-5-8

*** 広島大学工学部環境基礎学講座 〒724 東広島市鏡山1-4-1

1. はじめに

排水中のリン除去のため、生物学的脱リン法が実規模処理施設においても稼働し始めている。生物学的リン除去を担う微生物に関しては、Fuhs and Chen の報告以来、生物学的脱リン能力の高い活性汚泥中のポリリン酸蓄積菌には *Acinetobacter* 属が多く存在していることが指摘されている¹⁾。しかし、これらの活性汚泥から単離した菌群の代謝特性や分類学に関する検討より、好気性の *Acinetobacter* 属に先行して、通性嫌気性の *Aeromonas* 属が増殖することが報告された²⁾。すなわち、嫌気ゾーンでは *Aeromonas* 属はエタノールや酢酸等の発酵代謝産物を生産し、*Acinetobacter* 属はそれらを利用する、いわば片利共生関係にあり、リンの除去を担う微生物は単に *Acinetobacter* 属だけではないと指摘された。一方、中村らは、嫌気・好気式活性汚泥法から単離した菌群で、ポリリン酸蓄積能力を持ち、嫌気・好気交互に運転でのリンの放出、摂取を行ったのは *Micrococcus* 状の球菌であったと報告している³⁾。さらに、Ye et al. は *Pseudomonas aeruginosa* の保存菌株でも嫌気・好気運転した際にリンの放出、摂取があると報告した⁴⁾。これらの事実より、リンの除去を担う活性汚泥微生物群は *Acinetobacter* 属だけではないことが示唆され、また *Acinetobacter* 属のみを対象とした研究では、生物学的脱リン機構の解明が困難であると考えられる。

従って、*Acinetobacter* 属のような単一の細菌群に着目することを避け、活性汚泥中の脱リン能力を持つ微生物群集全体の特性を評価する必要があると考えた。

このような脱リン機構の解明が不十分なことも一因と考えられるが、リン除去法としての嫌気・好気活性汚泥法は、最適運転条件の設定が極めて難しいといわれている⁵⁾。特に降雨(水質組成および運転方法の変動のような外的条件の変化)時に安定したリン除去が困難であること⁶⁾が報告されている。皆川ら⁷⁾が昭和60年に霞ヶ浦浄化センターにおいて行った調査では、夏期および冬期ともに、リン除去の悪化には降雨が関係しているように見受けられた。これは雨水の流入によって流入水中の溶存酸素濃度(DO)が上昇したり、有機基質の濃度が低下するため、嫌気槽の嫌気度が低くなったことが原因の一つと推定されている。

一方、環境中の微生物群の組成を知るための方法として、従来、普通細菌を培養する用の寒天培地を用いてスクリーニングを行い、単離された細菌の分類同定を行う方法がとられてきた。しかし、一般寒天培地上では必ずしもすべての細菌がコロニーを形成するわけではない。また、分類同定作業が複雑であるという欠

点が挙げられる^{8),9)}。

近年、イソプレノイドキノン(以下単にキノンと称する)などの微生物の化学分類学上の指標^{10),11)}をバイオマーカーとして用いた細菌群集構造の解析が行われるようになった。Hiraishi¹⁰⁾は *Acinetobacter* 属がユビキノン-9(以下Q-9と略す)を有することを利用して、キノンプロファイルによるリン除去嫌気・好気活性汚泥中の本属細菌の動態と群集構造の解析を試みた。その結果として、嫌気・好気汚泥からはメナキノン含有のポリリン酸蓄積細菌が多く分離されたが、これらの細菌のメナキノン系と汚泥そのもののメナキノン組成は一致せず、リン除去が特定のポリリン酸蓄積細菌のみによるものかどうか明かかではない。

本研究では、このような脱リンにおける微生物群の特性を明らかにするため、嫌気・好気運転によって脱リン能力を示す回分式活性汚泥法により、排水の組成、運転方法の違い(RUN 1)や外乱「流入水中の有機物濃度の低下や溶存酸素濃度(DO)の上昇」に伴う外的条件の変化(RUN 2)などが脱リン能力を持つ活性汚泥中の脱リン微生物群集の集積とその維持にどの様に影響するか、キノンプロファイル法ならびに汚泥の脱リン活性により評価を試みた。

2. 実験方法

2.1 処理特性

2.1.1 実験装置

本研究に用いた回分式活性汚泥装置は、透明塩ビ製の角型反応槽(有効容量5 l)である。嫌気時間中は緩速攪拌(120r.p.m)、好気時間中はディフューザーを用いた曝気により混合した。人工排水の供給、嫌気・好気時間の制御、処理水の放流、汚泥の引き抜き等はシーケンスコントローラ(富士電機 FUJIOLOG-μP)で行った。人工排水は小型電磁弁(高砂ピンチバルブ PK3-05)の開閉によって供給し、供給時間はシーケンスコントローラで調整した¹²⁾。

2.1.2 人工排水および実験操作

本研究に用いた人工排水の栄養塩類組成を Table 1 に示す。これに有機物(TOC=320mg・l⁻¹)を加え、TOC:N:P=100:33.1:4.8とした。有機物としては、RUN 1では酢酸塩、プロピオン酸塩、酪酸塩の3つの有機酸とポリペプトンを基質とした。回分式装置に全過程好気で馴養した脱リン能力を持たない活性汚泥を初期濃度4,000mg・l⁻¹になるよう投入し、1サイクル24時間、BOD 負荷0.36kg・m⁻³・d⁻¹、20℃恒温室で運転を行った。MLSS は4,000mg・l⁻¹となるよう、汚泥の引き抜きを行った。

嫌気・好気過程では8時間嫌気状態と約15時間を好

Table 1 Composition of the synthetic wastewater

Reagent	Concentration [mg l ⁻¹]
K ₂ HPO ₄	44.25
KH ₂ PO ₄	8.50
NaHPO ₄ · 12H ₂ O	1.70
NH ₄ Cl	44.60
MgSO ₄ · 7H ₂ O	2.25
NaHCO ₃	800.00
FeCl ₃ · 6H ₂ O	0.025
(NH ₄) ₂ SO ₄	272.50

気状態で交互に運転した。嫌気・好気過程の対照として、酢酸塩とポリペプトンの基質に対しては、全過程好気状態での運転も行った。

RUN 2においては、降雨が排水に及ぼす影響として溶存酸素 (DO) の上昇および有機物濃度の低下が考えられる⁷⁾。このため、酢酸塩を基質として、上述したような嫌気・好気運転から(a)嫌気過程における溶存酸素の増加を想定して、外乱期間において全過程好気運転にする[A-(an)×]系列(b)排水濃度の低下を想定して、外乱期間において排水中の有機物濃度を1/4にする[A-(an)/4]系列を設け、外乱期間はそれぞれ2日間、10日間の2通りの場合において検討した。

実験に使用する際には、まず Table 1 の栄養塩類と炭素源 (TOC=320mg・l⁻¹) の5倍濃度に相当する人工排水濃縮原液を調整 (pH=7.0±0.2) し、その腐敗を防ぐためにオートクレーブ滅菌 (20°C, 15分間) した。これを水道水によって5倍に希釈しながら活性汚泥装置に供給した。

2.1.3 接 種

各 RUN では、K 下水処理場の返送汚泥を酢酸ナトリウムを炭素源とする人工排水で2週間、前培養した。前培養は1サイクル24時間、全好気の Fill-and-draw 方式で行った後、いずれの反応槽にも初期の MLSS 濃度が4,000mg・l⁻¹となるように投入した。

2.2 脱リン活性の測定

前報¹³⁾に述べたように、嫌気過程での活性汚泥のリン放出活性と好気過程でのリン取り込み活性はほぼ比例関係にあった。従って、8時間の嫌気条件下における活性汚泥のリン放出活性 [mg P・mg⁻¹ MLSS] を測定し、活性汚泥の脱リン活性を評価した。

2.3 分離した菌株の培養と比増殖速度 μ

回分反応の沈殿過程直前の活性汚泥混合液内の活性

汚泥微生物群を採取し、これを20°Cの恒温室内で平板培地 (人工排水の組成、濃度と同様) 7~10日間で培養した。各系列より目視で観察した色調・性状の違う約20個コロニーをそれぞれ液体培地 (人工排水と同じ組成) に接種し、これを巡回培養器 (東京理化学器械製、MBS-18) を用いて好気培養 (50r.p.m) した。吸光光度計 (東京 PHO-TOELECTRIC 社製、ANA-7A, 610 nm) により、濁度を測定して菌濃度の変化を測定した。濁度が最大値になるまで培養を続け、この増殖曲線より比増殖速度 μ を求めた。

2.4 分離した菌株のリン取り込み活性

汚泥から単離培養した細菌における好気過程でのリンの取り込み活性 [mg P・mg⁻¹ MLSS] を測定し、汚泥を構成する微生物群の脱リン能力を評価した。

好気培養を用いて微生物濃度が最大になっている試料を窒素ガス (1.5kgf・cm⁻²) により2分間置換した後、炭素源を過剰 (培地濃度 TOC=500mg・l⁻¹に添加し、8時間低速撹拌で嫌気培養を行った。その後2分間曝気して好気にし、巡回培養器で低速 (50r.p.m.) 撹拌しながら、4時間好気培養を行った。好気培養終了後のリン酸態リン濃度と培養前の培地中のリン酸態リン濃度の差と微生物濃度より、単位微生物濃度当りのリン摂取量 [mg P・mg⁻¹ MLSS] を計算し、微生物のリン取り込み活性とした。

2.5 分離した菌株の同定

活性汚泥における菌相を調べるため、ミニテック (Minitek; BBL Microbiology System) の腸内細菌用のキットを用いて、上述の活性汚泥から単離培養した細菌を同定した。

2.6 化学分析

2.6.1 活性汚泥中の微生物群のキノン分析¹¹⁾

活性汚泥から乾燥重量で0.5g以上の菌体を凍結乾燥した。凍結乾燥終了後、クロロホルム:メタノール (2:1, V/V) を加え、2時間往復振盪を行い、キノンを抽出した。抽出物を過し、ロータリーエバポレーターによって溶媒を除去した後、アセトンに溶解後再度過を行った。

次に、薄層クロマトグラフィー (Merck Kieselgel 60F₂₅₄シリカゲルプレート; TLC) に試料と標準物質をスポットし、展開した (展開液:ヘキサン・ジエチルエーテル混合液, 9:1, v/v)。TLCの上にユビキノ (以降 Q-で示す) とメナキノ (以降 MK-で示す) のは紫外線ランプのもとで検出した (検出波長: 254nm)。プレートに現われたユビキノおよびメナキノのバンドを削り取り、それぞれアセトンで溶出した。濃縮した試料を高速液体クロマトグラフィー (Shimadzu LC 3A; 25°C; 流量: 1 ml・min⁻¹; 逆相

Fig. 1 Effects of organic substances in the synthetic wastewater on phosphorus release activity and μ_p in Run 1.
 (a) μ_p in aerobic operation, (b) μ_p in anaerobic and aerobic operations, (c) phosphorus release activity in aerobic operation, (d) phosphorus release activity in anaerobic/aerobic operation
 P: Polypeptone, A: Acetate, Pr: Propionate, Bu: Butirate, an: anaerobic/aerobic operation, air: aerobic operation

型カラム: Zorbax ODS, ; 溶出液: メタノール・イソプロピルエーテル3:1, v/v) でキノン組成を分析した。また、キノンの含有量は HPLC による相対量および吸光係数を基にしてキノン濃度の絶対量を表した。

2.6.2 その他の分析

処理水の溶解性有機炭素濃度 (DOC), 揮発性脂肪酸濃度 (VFA) はそれぞれグラスファイバー沍紙 (Whatman GF/C) で沍過後, 全有機炭素分析計 (島津製作所 TOC-500型), ガスクロマトグラフィー (島津製作所 GC-7 型; PEG6000 10% TPA60-80; 150°C) で, リン酸態リン濃度はモリブデン青法で測定した¹⁴⁾。MLSS, SVI の測定は下水試験方法に従った¹⁵⁾。

3. 実験結果と考察

3.1 基質組成, 運転方式の影響 (RUN 1)

前報¹³⁾の手法で推定した脱リン微生物の比増殖速度 μ_p と各系列における脱リン活性変化を Fig. 1 に示した。ここで, 汚泥の投入時を 0 日目とした。

嫌気・好気過程系列では, 有機酸の 3 系列と比較し, ポリペプトン (P) 系列における微生物群の比増殖速度 μ_p は高いものの, 脱リン活性は低かった。これは前報¹³⁾で報告したように脱リン能力を持つ活性汚泥微生物群を集積するためには, 炭素源として有機酸がグルコー

ス+ポリペプトンより有効であるという結果と一致した。前報で報告したように汚泥の引き抜きを行わない場合の比増殖速度 ($0.028 \sim 0.040 \text{ d}^{-1}$)¹³⁾と比較すると, 本研究のように汚泥の引き抜きを行う方が比増殖速度は大きくなった。

全好気過程系列では, 脱リン活性がほとんどなく, 脱リン微生物の増殖もほとんど認められなかった。

Fig. 2 には各系列における脱リン活性と活性汚泥中に存在したキノン組成を示した。嫌気・好気運転の有機酸 3 系列の脱リン活性が有意な差がなかったため, キノン組成は酢酸系列のみを示した。脱リン活性の高い嫌気・好気過程運転の酢酸系列とポリペプトン系列には優勢なユビキノンとして Q-9 が存在し, Q-8 と Q-10 が次に多く観察された。一方, 脱リン活性の低い全過程好気運転の有機酸系列は Q-8, Q-9, Q-10 の含有量が相対的に少なく, Q-8 が優勢であった。全過程好気運転のポリペプトン系列には, 他の三系列と比較して Q-8 がより多く観察された。本研究で用いられた汚泥では, リン除去を担う微生物群に Q-9 を持つ微生物が多く含まれていることが推定される。

また, 各系列における優勢なメナキノンとして MK-7 が多く観察されたが, 基質の組成, または運転方

Fig. 2 Phosphorus release activity and contents of ubiquinones and menaquinones in the activated sludge fed with various organic substrates in Run 2. (P: Polypeptone, A: Acetate, air: aerobic operation, an: anaerobic/aerobic operation)

(a) phosphorus release activity, (b) contents of ubiquinones, (c) contents of menaquinones

法によるメナキノン組成の顕著な変化は認められなかった。

一般に、活性汚泥中にはQ-8, または, Q-10を有する微生物が多く存在し, Q-9を有する微生物が少ないと言われている¹⁰⁾。しかし, ここで得られた結果から, 本研究に用いた活性汚泥にはQ-9の分子種を持つ微生物群が優占し, しかも脱リン能力を有する汚泥を得ることができたことから, 基質組成や運転方法の違いにより, リン除去可能な活性汚泥に微生物群の構成が変化すると考えられた。

Fig. 3 には各系列における運転開始1日目(a)および運転開始から100日目(b)の汚泥から単離した細菌の比増殖速度とリンの取り込み活性の関係を示した。運転

Fig. 3 Relationship between phosphorus uptake activity and μ_p of isolated microorganisms in anaerobic/aerobic operations. in Run 1. (a) 1st day, (b) 100th day.

A: Acetate, Pr: Propionate, Bu: Butyrate, P: Polypeptone

開始1日目では, ポリペプトン系列の比増殖速度は有機酸系列より高い値を示したものの, 基質組成による脱リン活性の違いはほとんど見られなかった。一方, 100日目の脱リン活性は有機酸系列ではポリペプトン系列と比較してかなり高いものの, 比増殖速度 μ は小さくなる傾向が認められた。

この結果から, ポリペプトンと比較して有機酸は脱リン活性が高く, 低い比増殖速度 μ を持つ微生物を活性汚泥生態系内において優占とする上で有効であると考えられる。これは基質として, ポリペプトンより有機酸の方が脱リンを担う微生物群の集積に有効であると推定された¹³⁾。これは前報¹³⁾での報告したように活性汚泥微生物生態系内において, 脱リンを担う微生物の比増殖速度 μ_p が低いと推定されていることに一致した。

3.2 外乱「有機物濃度の低下および溶存酸素(DO)の上昇」に伴う環境条件の変化の影響(RUN 2)

外乱の影響においては, 嫌気・好気運転から全過程好気運転に変更する[A-(an)×]系列および排水中の有機物濃度を1/4に変更する[A-(an)/4]系列を設けた。外乱を与える期間は2日間および10日間とした。

Fig. 4 (a) Effluent phosphorus concentration and (b) phosphorus release activity as affected by the disturbances for 2 days in Run 2.

(O: from anaerobic/aerobic operation to aerobic operation

*: decrease in the influent concentration)

Fig. 5 (a) Effluent phosphorus concentration and (b) phosphorus release activity as affected by the disturbances for 10 days in Run 2.

(O: from anaerobic/aerobic operation to aerobic operation. *: decrease in the influent concentration.)

外乱期間の脱リン活性および処理水中のリン濃度の変化を Fig. 4 と Fig. 5 に示す。

Fig. 4 に示すように外乱が2日間続いても、汚泥におけるリンの放出活性は影響されず、処理水中のリン濃度は一定に保たれた。

一方、Fig. 5 に示したように外乱を10日間与えた場合、2日目までは両系列ともに脱リン活性、処理水中のリン濃度に変化が見られなかった。しかし、4日目以降汚泥のリン放出活性は急速に低下し、それに伴って処理水中のリン濃度は上昇した。11日目に外乱を除くとともに、汚泥のリン放出活性は次第に増加し、3週間後にはもとに回復した。外的条件により有機物濃度の低下や溶存酸素濃度の上昇が3日間程度続くと、微生物群の脱リン能力が低下することが示された。

Fig. 6 と Fig. 7 はそれぞれ外乱を2日間および10日間与えた場合の活性汚泥中のキノン組成を示す。上はキノン組成の相対量で、下はキノンの絶対量である。

Fig. 6 に示したように、与えた外乱が2日間続いても、キノン組成の変化は見られなかった。一方、Fig. 7 に示したように外乱の直前から外乱を与えた1日目までは汚泥の脱リン活性が高く (Fig. 5)、活性汚泥における優勢なキノンとしてはQ-9であった。それに対して、外乱中の4日目から12日目までは汚泥のリンの

放出活性が低下し (Fig. 5)、それに伴って活性汚泥におけるQ-9の含有量が減少し、優勢なキノンとしてはQ-8が変わった。外乱を除いた後(10日目以降)には、汚泥のリンの放出活性は上昇し、それと共にQ-9の含有量が増加した。

微生物の種に特有なキノン構造の違いは遺伝的に安定していると指摘されている。Hiraishi¹⁰⁾は環境条件の影響による単菌のキノン優占分子種の変動はほとんどないと報告した。有機物濃度の低下および溶存酸素の上昇といった外乱に伴う外的条件の変化により、汚泥中のキノン組成が変動したことから、微生物群集の種構成が変化したものと推定された。したがって、活性汚泥における脱リン能力の喪失または獲得する一つの因子は、微生物群集の種構成の変化を伴うものであるとは考えられる。

3.3 脱リン活性と脱リン微生物の集積

Fig. 8 は装置から単離同定を行った細菌の優占するキノン分子種とリンの取り込み活性、比増殖速度 μ との関係を示したものである。同定試験の結果により、

Fig. 6 Responses of ubiquinones contents (upper: relative contents) and phosphorus removal activity in the activated sludge to the disturbance of 2 days turbulence in Run 2.

(a) from anaerobic/aerobic operation to aerobic operation (b) decrease in the influent concentration

嫌気・好気過程運転系列の活性汚泥においては、脱リン能力を持つ微生物群として *Acinetobacter* 属だけではなく、*Pseudomonas aeruginosa* などの存在も確認された。

また、キノンの分析結果により、脱リン微生物の細胞内には、キノンとしてはQ-9が含まれることが明らかとなった。これに対して、反応槽から単離されたが脱リン能力を持たない微生物の細胞内には、優占するキノンとしてはQ-8が存在することが明らかとなった。これらは従来活性汚泥から単離同定された微生物の細胞内にキノン分析結果に一致した¹⁶⁾。これらのことから、微生物の細胞内に優占するキノン分子種としてQ-9を持つ *Acinetobacter*, *Pseudomonas aeruginosa* などのような細菌がリン除去能力をもつ活性汚泥プロセスで重要な役割をしていることを示唆された。

4. 結 論

回分式活性汚泥法を用いて、排水の組成、運転方法の違い (RUN 1) や外乱「流入水中の有機物濃度の低下や溶存酸素濃度 (DO) の上昇」に伴う外的条件の変化 (RUN 2) などが脱リン能力を持つ活性汚泥中の脱リン微生物群集の集積とその維持にどの様に影響するか、キノンプロファイル法やその脱リン活性により評価を試みた。

Hiraishi¹⁰⁾がリン除去活性汚泥における *Acinetobacter* 属の存在率は高くなく、リンの除去にお

Fig. 7 Responses of ubiquinones contents (upper: relative contents) and phosphorus removal activity in the activated sludge to the disturbance of 10 days turbulence in Run 2.

(a) from anaerobic/aerobic operation to aerobic operation (b) decrease in the influent concentration

Fig. 8 Relationship between phosphorus uptake activity and μ_p for strains isolated (identified by quinone profiles) from the sludge in Run 2

ける役割も小さいことと指摘した。しかし、本研究に用いた脱リン活性の高い有機酸系列においては、優占するキノンとしてはQ-9であるということが明らかとなったことから、外乱 (水質濃度および運転方式の変動に伴う外的条件の変化により、活性汚泥中の微生物群の脱リン能力が変わり、それに伴いキノン組成が大きく変動した。これは微生物群集の種構成が大きく変化したことによると考えられた。

嫌気・好気過程運転の活性汚泥においては脱リン能力を持つ微生物群が *Acinetobacter* 属だけではなく、*Pseudomonas aeruginosa* などの存在も確認され、菌体内のキノン分子種としてQ-9を持つ *Acinetobacter*, *Pseudomonas aeruginosa* などのような細菌がリン除

去能力をもつ活性汚泥プロセスで重要な役割をしていることが示唆された。

(原稿受付 1992年 3月23日)

(原稿受理 1992年 8月10日)

引用文献

- 1) Fuhs, G.V. and Chen, M. (1975) Microbial basis of phosphate removal in the activated sludge process for the treatment of wastewater, *Microbial Ecol.*, 2, 119-138.
- 2) Borker, R.P.G. and Stensel, H.D. (1987) Biological phosphorus removal mechanism, Design Manual-Phosphorus Removal, 15-19, U.S. EPA.
- 3) 中村和憲, 三上栄一, 鈴木智雄, 増田和成 (1988) リン蓄積細菌の分離および培養, 第22回水質汚濁学会講演集, 131-132, 東京.
- 4) Ye, Q., Ohtake, H. and Toda, K. (1988) Phosphorus removal by pure culture and mixed cultures of microorganisms, *J. Ferment. Tech.*, 66 207-212.
- 5) 安斎純雄 (1986) ハイブリッド生物処理法による窒素, リンの同時除去, 水道公論, 22(2), 37-41.
- 6) 村上孝夫, 宮入篤 (1983) 生物学的脱リン・脱窒プロセスの実施設による運転調査, 下水道協会誌, 20(230), 62-78.
- 7) 皆川忠三郎, 湯浅喜平, 高木敏夫 (1989) A_2O 法転に及ぼす降雨の影響とその対策としての初沈汚泥の利用, 下水道協会誌, 26, 301-311.
- 8) 微生物研究会懇談会編 (1975) 微生物学実験法, 講談社サイエンティフィック.
- 9) 協和発酵東京研究所編 (1986) 微生物実験マニュアル, 講談社サイエンティフィック.
- 10) Hiraishi, A., Masamune, K. and Kitamura H. (1989) Characterization of the bacteria structure in an anaerobic-aerobic activated sludge system on the basis of respiratory quinone profiles, *Applied and Environmental Microbiology*, 55(4), 897-901.
- 11) (独)日本水質汚濁研究協会, ポピュレーションダイナミックス研究委員会編, 微生物菌体キノンの分析.
- 12) 岡田光正, 須藤隆一, 寺蘭克博 (1985) 回分式活性汚泥法による窒素, リン, 及び有機物の同時除去に関する研究, 水質汚濁研究, 8, 729-736.
- 13) 岡田光正, 上野泰功, 林 奇剛, 村上昭彦 (1991) 回分式活性汚泥における脱リン特性, 水質汚濁研究, 14, 47-53.
- 14) U.S. EPA (1976) Method for Chemical Analysis of Water and Wastes, EPA-625/6-74-003a, 168-172.
- 15) 日本下水道協会 (1984) 下水試験方法.
- 16) Collin, M. and Jones, D. (1981) Distribution of isoprenoid quinone structural types in bacteria and their taxonomic implications, *Microbial.*, Rev., 316-354.