

プロピオン酸を分解する硫酸還元細菌の単離とその性質

田崎 雅晴
(技術研究所)

中村 和憲
(微生物工業技術研究所)

鎌形 洋一
(微生物工業技術研究所)

三上 栄一
(微生物工業技術研究所)

§ 1. はじめに

廃水、廃棄物の嫌気処理は、活性汚泥法などの好気処理と比較してランニングコストが低く、メタンガスの回収が可能であるといった利点がある。さらに近年、UASB(上向流嫌気汚泥床)法や固定床法等の新しい嫌気処理技術が開発され、これまで問題となっていた処理速度や処理効率の点でも大幅に改善されつつある。

このように嫌気処理技術、とりわけ処理装置が進歩してきている反面、嫌気処理に直接関与している微生物に関する知見はまだ十分に得られていない。嫌気処理に重要な役割を果たしているメタン生成細菌の分離や、その微生物学的性質が明らかにされてきたのはここ数十年のことである。また、メタン生成細菌と同様に重要な役割を担っている硫酸還元菌についても、そのうちの一部の種類は古くから知られていたものの、新しい種類の細菌が分離され、その研究が進んできたのはごく最近のことである。

処理効率の向上を図るためには、嫌気処理汚泥を構成している各種細菌の特性・性質の理解がきわめて重要であり、それぞれの分解段階を担っている細菌の性質を正しく理解することによって、多くの問題に迅速に対処することが可能になると考えられる。このような状況の中で通産省は大型プロジェクト「水総合再生利用システムの研究開発(アクアルネッサンス'90)」の一環として、嫌気処理に関わる微生物そのものの研究を進めている。

本稿では、このような背景のもとで進めてきた各種嫌気性菌に関する研究のうち、有機物資化能が優れ、実際の処理システムの中でも重要な役割を担っていると考えられる硫酸還元菌の研究に関する一部を紹介したい。

§ 2. 硫酸還元菌と嫌気処理

硫酸還元菌とは電子受容体として硫酸イオン(SO_4^{2-})

を用いて基質を酸化し、エネルギーを獲得する嫌気性細菌である。自然界に広く存在する硫酸還元菌は地球上におけるS循環の大きな役割を担っている。硫酸還元菌自体の存在は長い間知られてきたが、古くから研究された細菌は*Desulfovibrio*, *Desulfotomaculum*の2属であった。しかし、ここ数十年の間に新しい硫酸還元菌が報告されつつある。もともと、硫酸還元菌は限られた基質しか利用できない細菌であると考えられてきた。また、硫化水素を生成するために嫌気処理にとって不都合な細菌として扱われてきた。しかし、各種の硫酸還元菌の発見と同時に、硫酸還元菌は有機酸をはじめアルコール類、糖類さらにはフェノールなどの芳香物質も分解できることが明らかになり、嫌気処理においても重要な位置を占めていることが知られるようになった。

また、硫酸還元菌とメタン生成細菌には両者に共通する基質がある(酢酸、水素等)が、一般に硫酸還元菌の方がそれらに対する親和性が高い。しかしながら、嫌気処理の現場においてその処理が正常に行なわれているときには還元力のほとんどがメタン生成に使われており、硫酸還元菌が消費する還元力は1割程度である¹⁾²⁾。これは、嫌気処理のように有機物濃度が高く嫌気度の高い条件では、硫酸還元菌はメタン生成細菌と競合しない基質を利用しているか、もしくは有機物からメタンまでの反応を行なう細菌がフロックをつくり、そのため硫酸還元菌の影響を受けないのではないかと考えられている³⁾。

このように、硫酸還元菌は物質を処理することにおいてメタン生成細菌との競合がないばかりでなく、上記のような難分解性の物質を分解する細菌として非常に有効なものであるといえる。したがって、この性質をうまく利用して嫌気処理に組み込むことは、いま以上の高効率化が期待できる。

現在の嫌気性処理において問題となっている物質の一つにプロピオン酸がある。プロピオン酸は嫌気処理の過程で生成する有機酸の一つであるが、メタン発酵等による嫌気処理過程中にプロピオン酸が過度に蓄積するとメ

タン生成細菌のメタン生成に阻害を与え、リアクターの処理効率が著しく低下することが知られている。実際、嫌気リアクターの運転においてプロピオン酸の蓄積が起こり、処理効率に支障をきたしている例は少なくない。しかし、これに対処するために必要なプロピオン酸分解細菌の研究報告は少ないのが現状である。Booneらが報告した *Syntrophobacter wolinii*⁴⁾ は唯一のプロピオン酸分解非硫酸還元菌であるが、この細菌は水素を消費するメタン生成細菌もしくは硫酸還元菌との共生系でないと生育できない。これは、プロピオン酸の分解反応が進むためには非常に低い水素分圧を要求するためである。一方、*S. wolinii* のような共生細菌に対し、硫酸呼吸という有利な代謝系を持つ硫酸還元菌は水素消費細菌なしに分解を進めることができる。したがって、プロピオン酸の嫌気分解においてプロピオン酸分解性硫酸還元菌は非常に有効な細菌であるといえる。プロピオン酸を分解する硫酸還元菌はこれまでに数種が報告されているが、それらの細菌はビタミン類、アミノ酸類、塩化ナトリウム等、栄養要求性があり、実際の適用には難しいものがほとんどであった。

本報告では、硫酸還元菌の実際の適用を目的として、プロピオン酸を効率よく分解し、しかも培養しやすい細菌を求め、単離に成功した硫酸還元菌MUD株について記す。

§ 3. 実験方法

3.1 汚泥源

特定の細菌を分離するとき、その分離源となる汚泥の選択は非常に重要なことである。今回は、プロピオン酸を利用する細菌を目標としているために、プロピオン酸を含む揮発性有機酸を連続処理していた中温性 UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blankets) リアクターのグラニューールを汚泥源に用いた。

3.2 培地および培養条件

分離および培養に用いた培地は、Widdel⁵⁾ らの方法に基づいて調製した。培地中には唯一の炭素源としてプロピオン酸を 10 mM、また電子受容体として硫酸イオン (Na_2SO_4) を 10 mM とするよう添加した。

各種基質利用性試験においては、プロピオン酸の代わりに pH 調製済みの基質溶液を無菌的に添加した。

培養には、20 ml 容スクリュウキャップ付きネジ口試験管を用い、培地を満し、気相を存在させなかった。ま

た、水素利用性試験にはプチルゴム栓付きの 50 ml 容血清瓶に培地 20 ml を入れ、気相を水素：炭酸ガス=8：2 で置換し、1 kgf/cm² (9.80665N) 陽圧として培養した。

補助栄養物質およびビタミン類の影響は、次の 6 系の培地を用いて検討した。

- ① Basal medium + Yeast extract (50 mg/l)
+ vitamin solution + trace elements
- ② Basal medium + Yeast extract (100 mg/l)
+ vitamin solution + trace elements
- ③ Basal medium + Bacto-peptone (100 mg/l)
+ vitamin solution + trace elements
- ④ Basal medium + vitamin solution + trace elements
- ⑤ Basal medium + trace elements
- ⑥ Basal medium (in tap water)

Basal medium 中には 10 mM NH_4Cl , 1 mM KH_2PO_4 , 1 mM MgCl_2 , 1 mM CaCl_2 , 30 mM NaHCO_3 , 1.5 mM Na_2S およびプロピオン酸 (10 mM) と硫酸ナトリウム (10 mM) を添加した。すべての系において、植え継ぎによる各種成分の持ち込みの影響をなくすために、それぞれの培養での 3 代目の培養系で測定を行なった。すべての培養は、36°C にて静置で行なった。

3.3 単離操作

植菌量 4% での馴養を十分行ない、含有可溶性物質を除去した寒天を用いて、Agar-shake 法を繰り返すことにより行なった。その際、気相は窒素：炭酸ガス=8：2 で置換した。

純度の検定は、硫酸イオン存在下および非存在下で、Yeast extract 0.1% + Bacto-peptone 0.1%、各種糖類、乳酸、水素・炭酸ガスで培養を行ない、各々の生育および検鏡により行なった。

3.4 各基質利用性試験および生理試験

各種基質の利用性試験は、基本培地に基質溶液を無菌添加した培地を用い、電子受容体として SO_4^{2-} を添加して 36°C で静置培養を行なった。2 週間後に、生育の有無および機器分析により基質の消費を測定して、その利用を検討した。

電子受容体としての各イオンの利用性は、亜硫酸、チオ硫酸、硝酸、硫黄について検討した。C 源としてプロピオン酸を用い、亜硫酸ナトリウムを 2 mM、チオ硫酸ナトリウムを 10 mM、硝酸ナトリウムを 2 mM、また硫黄については過剰量添加して、それぞれの生育を検討した。

生育温度の測定は、5~55°C での生育を濁度と基質利

用性によって行なった。その際、基質はプロピオン酸、電子受容体は硫酸イオンを用いた。

至適生育温度は、それぞれの温度での比増殖速度 (μ) より検討した。任意の時間における細菌の増加率は、その時間に存在する細菌の数に比例する。すなわち、

$$\text{細胞の増加率} = \mu \times \text{細胞数}$$

となり、この比例定数 μ が比増殖速度 (増殖速度定数) と呼ばれ、一般に生育の速度の目安となる。この式は、 N : 細胞数/ml, t : 時間を用いて表わすと、

$$dN/dT = \mu N$$

となる。普通 μ を求めるときの式は、上の式を変形した $\ln N - \ln N_0 = \mu(t - t_0)$

を用いる (N および N_0 は、それぞれ t および t_0 時間における培養の細胞数に相当する)⁶⁾。

3.5 MUD 株によるプロピオン酸の分解経過

MUD 株によるプロピオン酸の分解経過を測定する培養には、ブチル栓付き 120 ml メジウム瓶を用いた。気相を「窒素:炭酸ガス=8:2」の嫌気ガスで置換して、36°C で静置培養を行なった。滅菌シリンジを用いて、1 日 2~3 回の割合で試料採取を行なった。試料採取後、直ちに培養液の pH, 吸光度、基質および生成有機酸濃度を測定した。

3.6 機器分析

3.6.1 生育測定

試験管培養における生育は、分光光度計 (日立製作所 Model 100-10) を用い、600nm における吸光度により求めた。

生育の経時変化は、光路長 10mm のブラックセル (ガスコ工業 QUARTZ CELL M20-B-2) に試料採取し、分光光度計 (BECKMAN DU-50) を用い 600nm における吸光度により求めた。

3.6.2 有機酸の測定

アクリル酸をはじめ各種有機酸の濃度の測定は、ガスクロマトグラフを以下の条件で用いた。

Instrument	日立製作所 G-3000
Detector	FID
	Range 5×10^{-10} A/mV
Column	液相: PEG-6000 15% 担体: Flusin P 硝子 1.5mm ID \times 3m
Carrier-gas	高純度 N ₂ ガス
Flow-rate	30ml/分
H ₂	1.2kgf/cm ²
Air	0.8kgf/cm ²

Column-temp.	160°C
Injection-temp.	200°C
Detector-temp.	200°C
Sample-size	2 μ l

3.6.3 糖類の測定

グルコースをはじめ各種の糖類、および蟻酸、乳酸、ピルビン酸、クロロプロピオン酸、ヒドロキシプロピオン酸は高速液体クロマトグラフを用いて、以下の条件で測定した。

Rump	日立製作所 L-6200
RI-detector	日立製作所 L-3300
	RANGE 1×10^{-8} RIU
	セル温度 35°C
	セル容量 8 μ l
Column	マズゲル SCR-101H
Column size	7.9mm ϕ \times 30cm
Carrier	酸性水 100% (過塩素酸 1.8m/d H ₂ O 1l)
Flow-rate	1.0ml/分
Pressure	約 23.5kg/cm ²
Column-temp.	40.0°C
Sample-vol.	20 μ l

GC 含量の測定には駒形らの報告⁷⁾を基に、デオキシリボスクレオシドを HPLC を用いて定量することにより算出した。

§ 4. 結果

4.1 馴養および純化

馴養は培養系 (試験管) の濁度を測定し、生育が最高となった時点で植菌量 4% での植え継ぎを繰り返した。馴養を進めるうちに、培養液中には楕円形もしくはレモン形をした細菌が優占種となった。馴養を 5 回繰り返したときの培養では、10mM のプロピオン酸が約 1 週間で分解された。このとき、培養液中にはレモン形の細菌のみが存在していた。

馴養の進んだ培養液を、寒天希釈法の一つであるアガーシェイク法を用いて細菌の単離を行なった。アガーには約 3 日目からコロニーが出現しだし、2 週間後までに出現したコロニーはそのほとんどが茶褐色をしたレンズ状であった。ガラスマイクロチューブによりコロニーの摘出を行ない、さらに何度かその摘出したコロニーから同じ単離操作を繰り返すことにより、プロピオン酸を分解する硫酸還元菌 (MUD 株) を得た。

4.2 MUD 株の形態

単離された菌株 MUD 株 (写真-1 参照) は、各々の細胞の大きさが $1.0 \sim 1.3 \times 2.0 \sim 2.2 \mu\text{m}$ で、運動性を持つ楕円もしくはレモン形の細菌であった。細胞は単在もしくは二連であり、ときに短い連鎖状を示すこともあった。グラム染色の結果は陰性を示した。胞子の存在は顕微鏡下でも認められず、また熱処理後 (80°C 10分) の生育も認められなかったことより、本菌株は胞子形成能を持たない細菌であると考えられた。硫酸還元菌の分類の指標となる「Desulfovridin」は、Postgate test⁸⁾ および細胞からの抽出操作⁹⁾ のどちらの試験からも検出されなかった。

GC 含量は、HPLC による測定から 59.0mol% と算出された。

MUD 株の諸性質を表-1 に示す。

4.3 生育条件および基質資化性

MUD 株の生育可能な温度は $15 \sim 44^\circ\text{C}$ 、至適生育温度は 37°C であった。至適条件下 (C源がプロピオン酸、電子受容体が硫酸イオン、培養温度 37°C) での比増殖速度 (μ) は 0.05h^{-1} であった。

本菌株の生育には酵母エキスのような補助栄養物質は必要とせず、塩化ナトリウム (NaCl) の要求性も認められなかった。

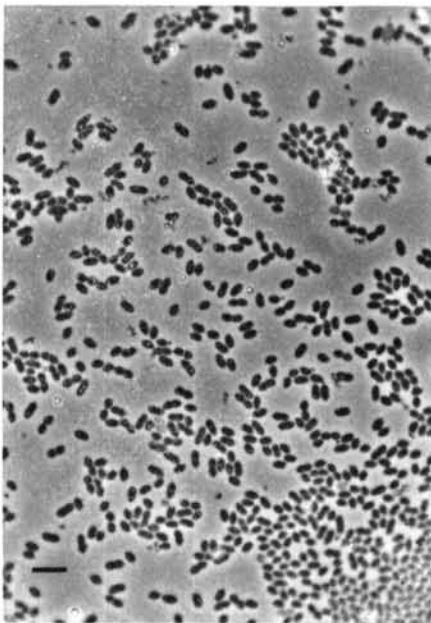


写真-1 MUD 株の位相差顕微鏡写真 (Bar は $5\mu\text{m}$)

Characteristics	
Form	short-rods
Width \times Length (μm)	$1.0 \sim 1.3 \times 2.0 \sim 2.2$
Motility	+
Gram stain	negative
Growth factor requirement	none
Temperature range of growth ($^\circ\text{C}$)	$15 \sim 44$
Temperature optimum ($^\circ\text{C}$)	37
G+C of DNA (mol%)	59
Desulfovridin presence	-
Utilization as electron acceptor	
Sulfate	+
Sulfite	-
Thiosulfate	(+)
Sulfur	-
Nitrate	-

表-1 MUD 株の諸性質

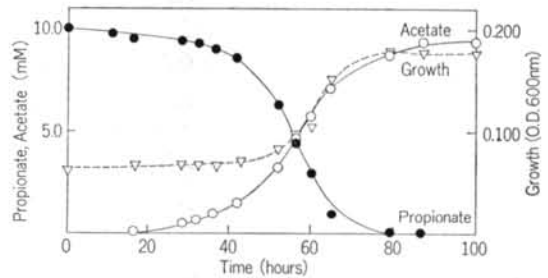


図-1 MUD 株によるプロピオン酸の分解

プロピオン酸を C 源および電子供与体としたとき、MUD 株は硫酸イオンとチオ硫酸イオンを電子受容体として利用できたが、亜硫酸イオン、硝酸イオン、そして硫酸は利用できなかった。

MUD 株によるプロピオン酸の分解経過を図-1 に示す (電子受容体は硫酸イオン)。菌体の増殖と同時にプロピオン酸の酢酸への分解が観察され、最終的に 10mM のプロピオン酸を約 3 日で完全に等量 (10mM) の酢酸へと分解した。このときの比基質消費速度は 0.1h^{-1} であった。

電子供与体としての各基質の利用性を調べた結果を表-2 に示す。MUD 株はエタノール、プロパノール、ブタノール、ペンタノール、乳酸およびピルビン酸を利用できた。また、1,2-プロパンジオールと 1,3-プロパンジオールにおいては若干の利用性が確認できた。しかし、プロピオン酸以外の有機酸は利用できなかった。酢酸を C 源として若干量培養系に添加することにより、水素・炭酸ガスまたは蟻酸をエネルギー源として生育が確認できた。

乳酸およびピルビン酸は、電子受容体がない培養系で

E-donors and C-sources	Products	E-donors and C-sources	Products
H ₂ +CO ₂ +acetate	+	Ethylene glycol	-
Formate+acetate	+	Propanol	+ Acetate
Acetate	-	1,2-Propanediol	(+) Acetate
Propionate	+ Acetate	1,3-Propanediol	(+) 3-HP*, Acetate
3-HP*	-	Butanol	+ Butyrate, Acetate
Acrylate	-	Pentanol	(+) Acetate
Butyrate	-	Hexanol	-
Crotonate	-	Pyruvate	+ Acetate
Valerate	-	Lactate	+ Acetate
Methanol	-	Pyruvate without sulfate	+ Propionate, Acetate
Ethanol	+ Acetate	Lactate without sulfate	+ Propionate, Acetate

*: 3-Hydroxypropionate

+ : good growth, (+) : slow growth, - : no visible growth

3-Chloropropionate, allyl alcohol, fumarate, succinate, glucose, fructose, maltose, sorbitol and mannitol were not utilized

表一 炭素源およびエネルギー源の利用性

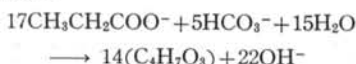
も発酵的に生育が確認され、各基質からは酢酸とプロピオン酸が生成された。

4.4 MUD 株の栄養要求性

3.2 に記した各培地①～⑥におけるMUD株の比増殖速度と増殖曲線を、表一3および図一2に示す。酵母エキスおよびポリペプトンのような補助栄養物質は、これらを含まない系④と①、②、③の比増殖速度(表一3)を比べて分かるように、MUD株の生育になんら影響を与えていなかった。また、MUD株の生育においてビタミン類は、④と⑤の比増殖速度の比較また図一2からも植え継ぎ3代までは影響を与えていなかった。さらに、培地組成の簡素化を図った Tap-water medium(⑥)でも、増殖の立ち上がりにより多少の誘導期が生ずるものの、ほとんど通常の培養と同程度の比増殖速度を得た。

§ 5. 考察

MUD株によるプロピオン酸分解の量論式を求めるための測定および計算値を表一4にまとめた。与えた基質と電子受容体としての硫酸イオンの量、消費された基質と硫酸イオン、生成された酢酸の量とそのとき生成された菌体量を測定した。また、菌体成分として使われた基質量は常法により「C₄H₇O₃」を菌体と見なし、下式から算出した。



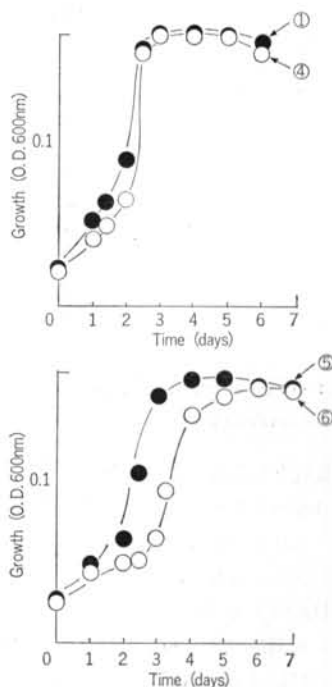
すなわち、菌体 1mg(dry weight)を生成するためには 0.0118mmol のプロピオン酸が必要となる。消費された基質量より菌体成分に使われた基質量を引いた量を酸化

Medium	Specific growth rate(h ⁻¹)
① Basal medium+Y. E. (50ppm)+Vi. sol.+T. E. S.	0.050
② Basal medium+Y. E. (100ppm)+Vi. sol.+T. E. S.	0.048
③ Basal medium+B. P. (100ppm)+Vi. sol.+T. E. S.	0.049
④ Basal medium+Vi. sol.+T. E. S.	0.049
⑤ Basal medium+T. E. S.	0.048
⑥ Basal medium(in tap water)	0.041

Y. E.: yeast extract, Vi. sol.: vitamin solution,

T. E. S.: trace elements solution, B.P.: bacto-peptone

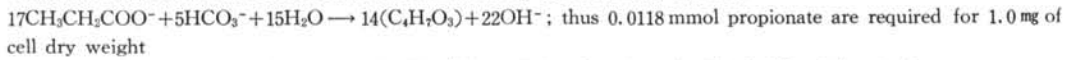
表一3 補助栄養物質およびビタミンの生育に対する影響



図一2 各培地による MUD 株の増殖曲線

Substrate given (sulfate given)	Substrate utilized (sulfate utilized)	Acetate excreted	Cell dry weight formed	Substrate consumed for cell material*	Substrate oxidized by sulfate reduction	Mol SO ₄ ²⁻ consumed per mol substrate oxidized	Growth yield g dry weight per mol substrate oxidized
(mmol/l)	(mmol/l)	(mmol/l)	(mg/l)	(mmol/l)	(mmol/l)		
5 (10)	5.0 (3.7)	4.8	25.0	0.30	4.70	0.79	5.3
10 (20)	10.0 (7.1)	9.4	48.7	0.57	9.43	0.75	5.2
20 (40)	20.0 (13.9)	19.1	92.1	1.09	18.91	0.73	4.1

*: Substrate consumed for cell material was calculated by the following equation



表—4 MUD 株のプロピオン酸分解における量論的測定結果 (基質: プロピオン酸, 電子受容体: 硫酸イオン)

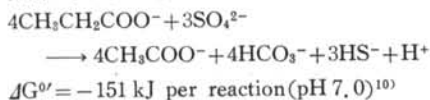
Characteristic	<i>Desulfobulbus propionicus</i> strain 1 pr 3(type strain)	Strain 2 pr 4	Strain 3 pr 10	Strain MUD
Width×Length(μm)	1.0~1.3×1.8~2.0	1.0~1.3×1.8~2.0	1.0~1.3×1.8~2.0	1.0~1.3×2.0~2.2
Motility	immotile	motile	motile	motile
Gram stain	negative	negative	negative	negative
Temperature range of growth(°C)	10~43	10~36	15~36	15~44
Temperature optimum(°C)	39	30	29	37
Desulfovridin presence	none	none	none	none
Growth factor requirement	4-AB	none	4-AB	none
Utilization as electron acceptor				
Sulfate	+	+	+	+
Sulfite	+	/	/	-
Thiosulfate	+	/	/	(+)
Sulfur	-	/	/	-
Nitrate	(+)	/	/	-
Compounds tested as electron donors				
H ₂ +CO ₂ +acetate	+	+	+	+
Formate+acetate	-	-	+	+
Acetate	-	-	-	-
Propionate	+	+	+	+
Butyrate	-	(+)	-	-
Ethanol	+	+	+	+
Propanol	+	+	+	+
Pyruvate	+	+	+	+
Lactate	+	+	+	+

4-AB: 4-aminobenzoic acid

Symbols: +: good growth, (+): slow growth, -: tested but not utilized, /: no description

表—5 *Desulfobulbus propionicus* と MUD株の性質の比較

に使われた基質と見なし, この値と消費された硫酸イオンより基質 1mmol を酸化するのに必要な硫酸イオンの量を求めた。これらの結果より, MUD 株のプロピオン酸の分解は次式に一致した。



この反応は, 今までに報告のあるプロピオン酸を酢酸

に酸化する硫酸還元菌の反応と同型である。

硫酸還元菌の基質酸化は大きく2種類に分けられる。基質を炭酸ガスまで酸化するグループと, 最終生産物に酢酸を生成するグループで, 前者を完全酸化形の硫酸還元菌, 後者を不完全酸化形の硫酸還元菌と呼ぶ。今日までに, プロピオン酸を積極的に酸化分解する中温性硫酸還元菌は5属7種知られている¹¹⁾。そのうち, 不完全酸化型のものは1属2種のみである。ひとつは Widdel ら

が単離した *Desulfobulbus propionicus*¹²⁾ であり、もう1種は Samin らが分離した *D. elongatus*¹³⁾ である。MUD 株はその形態、諸性質および GC 含量等から考えると *D. propionicus* に属する株であると推測された。

しかしながら、MUD 株と概知の *D. propionicus* には幾つかの違いがみられた(表-5)。MUD 株が growth-factor を要求しないのに対して、*D. propionicus* type strain は4-アミノ安息香酸を要求する。また、電子受容体の利用範囲は *D. propionicus* が硫酸イオン、亜硫酸イオン、チオ硫酸イオン、硝酸イオンを利用できるが、MUD 株は硫酸イオンとチオ硫酸イオンのみであった。Type-strain は蟻酸を電子供与体として利用できない。報告されている 2 pr 4 株は MUD 株と同様に growth-factor を要求しないが、その至適生育温度は 30°C と、MUD 株のそれより明らかに低い値を示した。このような結果から考えて、MUD 株は *D. propionicus* の新しいタイプの菌株であると推測された。

MUD 株は、上記のように growth-factor を要求しない。そのうえ、水道水を用いた非常に簡素な培地においても良好な生育を示した。今まで報告されているプロピオン酸分解硫酸還元菌がその生育に非常に制限された環境を要するのに比べ、本菌株は非常に扱いやすい細菌である。このような性質は現状の嫌気処理に組み込むのに適したものと見える。さらに、本菌株は不完全酸化形の硫酸還元菌であるためにプロピオン酸から酢酸を生成

するが、この酢酸はメタン生成細菌のメタン生成の基質となるため、エネルギー回収などの点からも有効な細菌であると考えられる。

§ 6. おわりに

プロピオン酸の嫌気処理リアクター中での蓄積はその処理効率を低下させ、メタン生成の阻害を引き起こす。このような酸敗状態が起きた場合には、リアクター内に蓄積した有機物の濃度を下げるために液層の交換を行ったり、負荷を下げ自然に回復するのを待っているのが現状である。このような状況に対し、効率よくプロピオン酸を分解する細菌を利用できるならば、効率の良いリアクターの性能復帰が期待できる。今回分離した MUD 株は、このような酸敗リアクターへ有効に応用できると考える。既知の細菌に比べて非常に簡単な培地で生育ができ、プロピオン酸の分解速度も速い。また、分解生産物である酢酸はメタン生成の基質であるために、エネルギー回収の面からも有利であると考えられる。このようなことより、今後は本菌株を実処理に応用するための実験を行なう予定である。

なお、本研究は通産省と NEDO による「水総合再生利用システムの研究開発」の一環として、微生物工業技術研究所との共同研究により実施したものである。

<参考文献>

- 1) Z. Isa, S. Grusenmeyer and W. Verstraete: "Sulfate Reduction Relative to Methane Production in High-rate Anaerobic Digestion; Technical Aspects" Applied & Environmental Microbiology, Vol. 51 (1986)
- 2) A. Ueki, K. Ueki and K. Matuda: "Effect of Sulfate Reduction on Methanogenesis in the Anaerobic Digestion of Animal Waste" J. of General Applied Microbiology, Vol. 34(1988) pp. 297~301
- 3) 上木厚子: "硫酸還元菌に関する最近の話題" バイオサンエンスとインダストリー Vol. 147 (1989年) pp. 136~140
- 4) D. R. Boone and M. P. Bryant: "Propionate-Degrading Bacterium, *Syntrophobacter wolinii* sp. nov. gen. nov., from Methanogenic Ecosystems" Applied & Environmental Microbiology, Vol. 40 (1980) pp. 626~632
- 5) F. Widdel and N. Pfennig: "Studies on Dissimilatory Sulfate-reducing Bacteria that Decompose Fatty Acids, I" Archives of Microbiology, Vol. 129 (1981) pp. 395~400
- 6) R. Y. Stanier, E. A. Adelberg and J. L. Ingraham: "The Microbial World" 培風館 (1982年)
- 7) J. Tamaoka and K. Komagata: "Determination of DNA Base Composition by Reversed-phase High-performance Liquid Chromatography" FEMS Microbiology Letters, Vol. 25 (1984) pp. 125~128
- 8) J. R. Postgate: "The Sulfate-Reducing Bacteria" Cambridge Univ. Pr. (1979)
- 9) Y. Seki, Y. Nagai and M. Ishimoto: "Characterization of a Dissimilatory-type Sulfate Reductase, Desulfoviridin, from *Desulfovibrio africanus* Benghazi" J. of Biochemistry, Vol. 98 (1985) pp. 1535~1543
- 10) R. K. Thauer, K. Jungermann and K. Decker: "Energy Conservation in Chemotrophic Anaerobic Bacteria" Bacteriological Review, Vol. 41 (1977) pp. 100~180

- 11) F. Widdel; "Microbiology and Ecology of Sulfate- and Sulfur-reducing Bacteria (in Biology of Anaerobic Microorganisms)" Wiley (1988)
- 12) F. Widdel and N. Pfennig: "Studies on Dissimilatory Sulfate-reducing Bacteria that Decompose Fatty Acids, II" Archives of Microbiology, Vol. 131 (1982) pp. 360~365
- 13) E. Samain, H. C. Dubourguier and G. Albagnac: "Isolation and Characterization of *Desulfobulbus Elongatus* sp. nov. from a Mesophilic Industrial Digester" System Applied Microbiology, Vol. 5 (1984) pp. 391~401