豆腐製造廃水の光合成汚泥処理過程における 紅色非イオウ細菌およびその他の微生物

Purple Nonsulfur Bacteria and Other Microorganisms in
Photosynthetic Sludge Reactors for the Purification of
Soybean Curd Wastewater

平 石 明¹⁾ (東京都立大学理学部生物学教室)
史 家 梁²⁾ (東京都立大学理学部生物学教室、
華東師範大学、上海)
北 村 博³⁾ (東京都立大学理学部生物教室)
小 林 正 泰⁴⁾ (日本微生物資源研究所)

Akira HIRAISHI¹⁾, Jia-liang SHI²⁾, Hiroshi KITAMURA³⁾, and
Masayasu KOBAYASHI⁴⁾

Department of Biology, Faculty of Science, Tokyo Metropolitan Univer-
sity¹⁻³⁾; Japan Microbial Resources Institute⁴⁾

1. Summary

Soybean curd waste-photosynthetic sludge samples from the Kobe plant and the laboratory apparatus yielded purple nonsulfur bacteria with numbers as many as 3.3×10^6 and 5.0×10^7 viable cells per mg of dry sludge, respectively. The phototrophic bacteria constituted 8 to 20% of the aerobic heterotrophic bacterial population in the waste sludge. Phototrophic sulfur bacteria and sulfate-reducing bacteria were also found in numbers of the order of 10^4 viable cells per mg of dry sludge. The predominant species of purple nonsulfur bacteria recovered were *Rhodopseudomonas sphaeroides* and denitrifying *Rhodopseudomonas* sp. that resembles the former species. Unidentified strains similar to *Rhodopseudomonas palustris* were frequently isolated as well. The occurrence of the phototrophic bacteria as major constituents of the bacterial flora of photosynthetic sludge was also demonstrated by

chemical analysis of photopigments therein.

2. ま え が き

光合成細菌を利用した廃水処理法(光合成汚泥処理法)は、活性汚泥法などでは処理不可能な高濃度の有機性廃水の浄化を目的として開発された処理法である^{10),11)}。本法の特徴・利点として—(1)高濃度の廃水(BOD5000~数万mg/ℓ)を希釈なしで処理できる、(2)よく大な敷地面積や設備コストを必要としない、(3)運転管理が比較的容易である、(4)微生物タンパク資源としての余剰汚泥の利用価値が大きい—などの事柄があげられる。このため光合成汚泥処理法は、比較的小規模の食品工場における廃水浄化を中心に用いられており、特に豆腐製造廃水の処理では好成績をあげている。

本法の基本原理は、高濃度の有機性廃水を前処理することにより可溶化し、生じた多量の低分子基質(主として有機酸)を光合成細菌に摂取させることによりBOD除去を行うというものである。いうまでもなく、この過程における光合成細菌の量的・質的変動は処理効率に大きな影響を及ぼすであろうし、またすべての処理過程が好

気〜微好気の条件下にあることから、共存する好気性従属栄養細菌の動態も少なからず重要であると考えられる。しかしながら、光合成汚泥処理に関する微生物学的側面からの研究は極めて乏しく、余剰汚泥資源の活用を図るにしても今後の研究に待つところが大きい。

本研究では、この10年来好成績をあげている豆腐製造廃水処理プラントの1つを対象として、光合成汚泥中の紅色非イオウ細菌を中心とした細菌群の定量・定性分析を行い、実験室内汚泥で得られた結果をも合わせて、光合成汚泥の微生物学的特性について論じた。

3. 実験材料および方法

3.1 実験材料

光合成汚泥および廃水試料は兵庫県神戸市内の豆腐製造廃水処理プラントより採取した。同処理場には4つの主処理槽（光合成細菌処理槽）があるが、今回は第2処理槽から汚泥を得た。これとは別に実験室内で馴養した光合成汚泥も材料として用いた。実験室内では1ℓ容ジャーファーマンター（いわしや生物科学製）を使用し、可溶化処理した豆腐製造廃水を基質として神戸プラントより採取した汚泥を500mg/ℓ濃度に接種して馴養を開始した。汚泥濃度が十分高くなるまで数日間バッチ式（24時間サイクル）で馴養した後、BOD負荷1.0kg/MLSS kg/日、MLSS2000、光強度（白熱灯照射下）2000ルクスの一定条件下で引き続き運転した。馴養開始後20日目に汚泥混液を引き抜き実験に供試した。

3.2 汚泥調整法

汚泥混液100mℓをとり、遠心分離後（1100×g、10分）滅菌生理食塩水で洗浄し、トリポリリン酸ナトリウム（10mg/ℓ）を含む同食塩水を加えて再び100mℓとした。この汚泥混液をKinematicaポリトロンで1分間ホモジナイズし、ホモジナイズ液10mℓを取り出してさらに1分間超音波処理（梅田製、20KHz、出力100w）した後、滅菌生理食塩水で10倍段階希釈し、生菌数測定用の試料とした。

3.3 生菌数の測定

好気性従属栄養細菌： 各希釈段階の試料0.1mℓを塗抹法によりPPYE寒天培地⁷⁾に接種し、25℃で10日間培養後出現したコロニーを数えた。結果はMLSS1mgあたりのcolony-forming unit (CFU) として表した。

大腸菌群： 大腸菌群および高温耐性大腸菌群は、デソキシコレート寒天平板法により、それぞれ35℃⁴⁾、43℃⁶⁾で計数した。

硫酸還元細菌： 試料1mℓを混釈法によりPostgate¹⁴⁾の寒天培地と混合し、二重皿培養法¹⁶⁾により30℃で20日間培養後生じた黒色コロニーを数えた。

紅色非イオウ細菌： MC培地を用いたMPN法により菌数を求めた。培地調整法は以下のようである。基本無機塩培地（mineral base RM2）— (NH₄)₂SO₄1.0g、KH₂PO₄1.0g、MgCl₂・6H₂O0.2g、NaCl0.2g、CaCl₂・2H₂O0.045g、微量元素溶液SL8¹¹⁾1mℓ、蒸留水1ℓ。このRM2培地にD-リノゴ酸ナトリウム1.0g/ℓおよびカザミノ酸（Difco）1.0g/ℓを炭素源として、酵母エキス（Difco）0.5g/ℓおよびビタミンB₁₂10μg/ℓを生育因子として加えた後、pH7.0に調整し、MC培地を作成した。これを20mℓ容ネジ付試験管に10mℓずつ分注し、121℃で15分オートクレーブした後、試料1mℓを接種し、余白をさらに0.1%アスコルビン酸ナトリウム（ろ過滅菌）を含む同培地で完全に満たした。白熱灯照射下（2000ルクス）30℃で10日間培養した後、赤色から黄褐色を認めた試験管を陽性として、MPNを算出した。上記MPN法その他、従属栄養細菌計数用のPPYE寒天平板上に生じた赤色コロニーも数えて紅色非イオウ細菌数を求めた。なお、PPYE寒天培地上の赤色コロニーはすべてバクテリオクロフィル（Bchl）を含むかどうかを試験し、光合成細菌であることを確かめた。

紅色イオウ細菌： Pfennig and Lippert¹²⁾の記載に従って培地を作成し、agar shake dilution法¹⁷⁾による培養の後、菌数を求めた。

3.4 紅色非イオウ細菌の分離・同定

生菌数測定に用いたPPYE寒天平板上に生じた赤色コロニーまたはMC培地（MPN試験管）に生育した培養菌体の一白金耳量を、MYC寒天培地（0.1%リノゴ酸ナトリウム、0.3%酵母エキス、0.2%カザミノ酸、1.5%寒天）上に画線培養し（光照射下、GasPak嫌気ジャー内）、純粋分離株を得た。分離株は同寒天斜面培地上に保存した。

菌株の形態および運動性はMYS培地（RM2培地+0.36%リノゴ酸ナトリウム+0.05%酵母エキス、pH7.0）で光合成培養（800ルクス、48〜96時間）したものについて位相差顕微鏡下で観察した。同時に培養液の色調を肉眼的に判定した。好気・暗条件下での生育はMYC寒天培地を用いて試験し、同培養菌体についてグラム染色およびカタラーゼ試験を実施した。ゼラチン液化および脱窒反応は前報⁹⁾のように、微好気・暗条件下で試験した。炭素源の利用性は以下のように試験した。RM2培地1ℓにビタミン溶液（チアミン塩酸塩50mg、ニコチン酸50mg、p-アミノ安息香酸30mg、ビオチン10mg、ビタミ

ンB₁₂ 5 mg、蒸留水100mℓ) 1mℓを加えたものを基本培地とし、種々の炭素源(中和物)を0.2%濃度に加え、20mℓ容ネジ付試験管内で一週間光・嫌気培養をした。生育は培地の濁りを肉眼的に観察するか東京光電ANA-7D型光電光度計による濁度測定の結果で判定した。光合成細菌の分類学的所属の決定には Trüper and Pfenning¹⁸⁾ および Eckersley and Dow³⁾ の記載を参考にした。

3.5 光合成色素成分の分析

光合成汚泥中のBchlはアセトン/メタノール(7:2、v/v)により抽出し、日立200-20型分光光度計を用いてスペクトルを測定した。Bchl_aの分子吸光係数は $\epsilon_{770}=75 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ を用いた²⁾。汚泥中のBchl_aおよびカロチノイド色素の分離・精製・同定は、それぞれ Siefert ら¹⁷⁾、平山ら⁹⁾の方法を参考にした。

4. 結果および考察

4.1 光合成汚泥の外観的性状

実験のため採取した汚泥はいずれも黄褐色をしており、外観上は通常の活性汚泥とほとんど変わらなかった。汚泥フロックの沈降性は良好で、SVI値がプラント汚泥で95、室内汚泥で75であった。顕微鏡による観察では、球桿状の細菌によって形成されたち密なフロックが多く認められ、さらには光合成細菌により構成されていると思われる大型の赤褐色フロックがところどころ存在するのが見られた(Fig. 1)。このような微小赤色コロニーの存在は特に室内汚泥で顕著であった。検鏡的にはこの他、

Fig. 1. Red-colored microcolonies in photosynthetic sludge flocs.

Sample : laboratory sludge. Scale bar = 100 μm .

有鞘糸状細菌、ラン藻、微小緑藻、原生動物などが多数混在するのが認められ、光合成汚泥フロックが雑多な微生物集団であることが判明した。このように肉眼的には活性汚泥に類似しているものの、微視的には赤色フロックの存在が認められることは光合成汚泥の一つの特徴といえよう。

4.2 生菌数

光合成汚泥中の生菌数の調査については、Table 1に示すように、プラント、実験室内汚泥ともに類似した結果が得られた。検出された好気性従属栄養細菌数は $10^7 \sim 10^8 \text{ CFU/mg MLSS}$ で、光合成汚泥といえども活性汚泥

Table 1. Numbers of viable bacteria in photosynthetic sludge reactors for purifying soybean curd wastewater

Organism	Plant sludge		Laboratory sludge	
	CFU/mg MLSS	MPN/mg MLSS	CFU/mg MLSS	MPN/mg MLSS
Aerobic heterotrophic bacteria	6.1×10^7	—	2.5×10^8	—
Purple nonsulfur bacteria	3.3×10^6 *	4.1×10^5	5.0×10^7 *	9.2×10^6
Purple sulfur bacteria	5.1×10^4	—	4.7×10^4	—
Sulfate-reducing bacteria	2.3×10^4	—	2.2×10^4	—
Total coliforms	NT**	—	$< 10^2$	—
Thermotolerant coliforms	NT	—	$< 10^2$	—

* Calculated from the number of red colonies recovered on PPYE agar plates used for enumerating aerobic heterotrophic bacteria.

** Not tested.

と同じレベル^{5,13)}の好気性細菌が存在することが判明した。紅色非イオウ細菌数は、MPN法で求めた値と好気性従属栄養細菌計数用のPPYE寒天平板上に生じた赤色コロニー数から算出した値とは多少異なったが、結果からみて $10^6 \sim 10^7$ /mgMLSS程度は存在していると思われる。今回得られた紅色非イオウ細菌数は、通常の下水活性汚泥で測定された値^{5,17)}と比較すると100~5000倍程高く、ここに光合成汚泥の特徴が顕著に現れているといえよう。実際、PPYE寒天平板上で好気性従属栄養細菌として検出されたコロニーの8~20%が紅色非イオウ細菌であったことは注目に値する。紅色イオウ細菌は 10^4 CFU/mgMLSSと比較的高い菌数で検出され、また 10^4 CFU/mgMLSSの硫酸還元細菌数が得られた。なお実験室内汚泥について衛生学的指標細菌である大腸菌

群および高温耐性大腸菌群の計数を行ったところ、いずれも検出限界値以下であった。光合成汚泥には混入した*Salmonella*や大腸菌群を急速に除去する能力があることが既に明らかとなっている（平石、未発表）。

4.3 紅色非イオウ細菌の優占種

上記のように、光合成汚泥中では実際に光合成細菌が優占しており、その主体は紅色非イオウ細菌であることが判明した。そこで、MPN法あるいは寒天平板法で分離された紅色非イオウ細菌の純粋菌株（50株）について形態、生理・生化学的性状を検査し、それらの分類学的所属を決定した。

Table 2に示すように、分離菌株は7群に分別可能であった。その中の5群は*Rhodopseudomonas palustris*

Table 2. Grouping of isolated purple nonsulfur bacteria based on their morphological, physiological, and biochemical properties*

Characteristic	Group	I (1)**	II (11)	III (1)	IV (2)	V (1)	VI (14)	VII (20)
Cell form		Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Ovoid	Ovoid
Cell size								
Width (μ m)		0.6–0.8	0.6–0.8	0.5–1.0	0.4–0.6	0.6–0.8	0.6–0.8	0.6–0.8
Length (μ m)		1.5–3.0	1.5–3.0	1.5–3.0	1.5–3.0	1.5–2.0	1.0–2.0	1.0–2.0
Cell division by budding		+	+	+	–	–	–	–
Rosette formation		+	+	–	–	–	–	–
Zigzag arrangement of cells in chains		–	–	–	–	+	–	–
Motility		+	+	–	+	+	+	+
Gram reaction		–	–	–	–	–	–	–
Color of cell suspension		R	R	YB	PYB	YB	YGB	YGB
Aerobic dark growth		+	+	+	+	+	+	+
Catalase		+	+	+	(+)	+	+	+
Gelatin liquefaction		–	–	–	+	+	–	–
Denitrification		–	–	–	–	–	–	+
Carbon source utilization								
Acetate		+	+	+	+	+	+	+
Citrate		+	–	–	+	–	–	–
Fumarate		+	–/(+)	+	+	+	+	+
Malate		+	–/(+)	+	+	+	+	+
Malonate		+	–	NT	–	+	–	+
Succinate		+	–/(+)	+	+	+	+	+
Tartrate		–	–	–	–	–	+	–
Glucose		–	–	NT	+	+	+	+

* Symbols: +, positive reaction; (+), weakly positive reaction; –, negative reaction; –/(+), first sign corresponds to most frequent result; R, red; YB, yellow brown; PYB, peach to yellow brown; YGB, yellowish green to brown; NT, not tested.

** Numbers in parentheses indicate the number of isolates tested.

(Group I)、*Rhodopseudomonas blastica* (Group III)、*Rhodopseudomonas gelatinosa* (Group IV)、*Rhodopseudomonas capsulata* (Group V)、*Rhodopseudomonas sphaeroides* (Group VI) に同定可能であったが、残りの2群 (Group II、VII) は以下の理由で *Rhodopseudomonas* 属の未同定菌種として扱った。すなわち、Group II の菌株は *R. palustris* に類似した性状を示したが、通常紅色非イオウ細菌がよく好むフマル酸、コハク酸、リンゴ酸などの有機酸を炭素源としてあまり利用できず、この点で既知菌種と大きく異なった。一方、Group VII は *R. sphaeroides* に類似した菌群であったが、脱窒活性を示すこと、マロン酸を利用するが酒石酸を資化できないことなどで典型的 *R. sphaeroides* とは区別できた。最近行った数値分類の結果では Group VII は脱窒能を有する “*R. sphaeroides* f.sp. *denitrificans*”¹⁵⁾ と異なる分類群を形成することが判明している (平石、未発表)。

光合成汚泥から最も多く検出された紅色非イオウ細菌は *R. sphaeroides* および *Rhodopseudomonas* sp. (Group VII) で、PPYE寒天平板上から分離した赤色コロニーのすべてがこの2菌種によって占められていた (Table 3)。残りの5菌種は低希釈段階 (10^{-4} 以下) の MPN試験管からのみ検出されたが、その中でも *R. palustris* に類似した Group II の分離株数が多いことが注目される。

今回調査した神戸プラントは運転開始以来10年を経過しているが、種菌 (*R. sphaeroides*) は開始当時一度投入されただけで、その後種菌槽は使われておらず、

光合成細菌の供給は返送汚泥からのみである。それにもかかわらず、*R. sphaeroides* や脱窒性 *Rhodopseudomonas* sp. (Group VII) を中心とする紅色非イオウ細菌が高い菌数 (10^6 — 10^7 CFU/mg MLSS) で保持されていたことは予想を上回る結果である。この事実は、条件さえ整えれば特別に種菌を投入しなくてもこのような廃水処理系で光合成細菌を優占させることが可能であることを示唆している。今回得られた光合成細菌の優占種がすべて通性好気性であったことは、この廃水処理過程が好気的環境下にあることを考えれば当然の結果であろう。とはいえ、これらの光合成細菌が共存する好気性従属栄養細菌にも匹敵する菌数で存在していたことは、溶存酸素、光などの物理的要因のみでは到底説明がつかない。おそらく、一定の高濃度有機性栄養基質の供給によって紅色非イオウ細菌に適した環境が形成され、この細菌群を中心とした強固な微生物生態系が構築・維持され続けてきたことが考えられる。著者らが同時に活性汚泥について行った調査では、廃水の化学的組成、特に低級脂肪酸の量が光合成細菌の分布を左右する重要な因子であることを認めている⁵⁾。

4.4 光合成汚泥中の光合成色素

既に述べたように、微生物学的調査によって光合成汚泥中には紅色非イオウ細菌が高濃度で存在することが判明し、*R. sphaeroides* や *Rhodopseudomonas* sp. (Group VII) が優占菌種として確認された。この結果を裏づけるため、さらに光合成汚泥中の Bchl *a* およびカロチノイド色素の化学的分析を行った。

Table 3. Species distribution of purple nonsulfur bacteria recovered from photosynthetic sludge with the plate count (A) and the MPN (B) procedures

Species	No. of isolates from:							
	Plant sludge				Laboratory sludge			
	(A)	(B)			(A)	(B)		
		10^{-6} *	10^{-4}	10^{-2}		10^{-6}	10^{-4}	10^{-2}
<i>Rhodopseudomonas palustris</i>	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Rhodopseudomonas</i> sp. (Group II)	0	0	3	3	0	0	2	3
<i>Rhodopseudomonas blastica</i>	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>Rhodopseudomonas gelatinosa</i>	0	0	0	1	0	0	1	0
<i>Rhodopseudomonas capsulata</i>	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Rhodopseudomonas sphaeroides</i>	7	4	0	0	3	0	0	0
<i>Rhodopseudomonas</i> sp. (Group VII)	3	1	2	0	7	5	2	0
Total	10	5	5	5	10	5	5	5

* Dilution steps of samples.

Fig. 2. Absorption spectra of acetone/methanol (7:2) extracts from plant (A) and laboratory (B) sludge samples.

Fig. 2に示すように、汚泥のアセトン/メタノール抽出物について直接スペクトル分析を行った場合でも、Bchl a に由来する770nm付近の吸収ピークが容易に検出できた。分離精製・定量分析の結果、プラント汚泥で0.052 μ g/mg MLSS、実験室内汚泥で0.42 μ g/mg MLSSのBchl a が含まれていることが判明した。これらの値は活性汚泥中に含まれるBchl a の分析値（文献17；平石、未発表）と比較すると100～2000倍程高く、紅色非イオウ細菌の生菌数で比べた場合（本文4.2参照）と同様な結果である。また今回得られたBchl a 量を紅色非イオウ細菌の生菌数当たりで算出すると $0.84 \sim 1.6 \times 10^{-3} \mu$ g/ 10^6 viable cells となり、Siefertら¹⁷が活性汚泥で得た値よりもやや低く、かつ彼らが紅色非イオウ細菌の純粋培養で得た結果により近くなっている。

実験室内汚泥からのアセトン/メタノール抽出物を薄層クロマトグラフィーにかけ、色素成分の分析を行った結果をFig. 3に示す。汚泥から抽出されたカロチノイド色素は主として3成分（No. 2、4、5）から成り、これらは*Rhodospirillum rubrum* IFO3986株および*Rhodopseudomonas sphaeroides* IFO12203株のカロチノイド成分との比較から、それぞれspheroidene,

spheroidenone, およびspirilloxanthinに同定された。この結果は、汚泥中の光合成細菌フローラが*R. sphaeroides* (spheroidene系)、脱窒性*Rhodopseudomonas* sp. (spheroidene系)、Group II (spirilloxanthin系)などの菌種によって占められていたことを裏づけている。

本研究では主として紅色非イオウ細菌について論述してきたが、光合成汚泥中には活性汚泥と同じレベルの好気性従属栄養細菌も存在しており、両菌群の役割や相互作用については注目されるところである。この方面の研究成果については、呼吸鎖キノン系による細菌フローラの解析結果をも含めて別に報告の予定である。

5. 要 約

プラントおよび実験室内の豆腐製造廃水光合成汚泥について微生物学的調査を行い、次の結果を得た。

1. 紅色非イオウ細菌が $10^6 \sim 10^7$ CFU/mg MLSSの菌数で検出され、共存する好気性従属栄養細菌全体の8～20%を占めた。
2. 同時に、紅色非イオウ細菌および硫酸還元細菌が 10^4 CFU/mg MLSSの菌数で得られた。

Fig. 3. Thin-layer chromatography of pigments extracted from laboratory sludge. Pigments in photosynthetic sludge were extracted three times with acetone/methanol (7:2, v/v). The extract was evaporated in vacuo and redissolved in small amounts of benzene for chromatographic analysis. Pigments in the extract were separated by thin-layer chromatography using Merck's silica gel G plates with the solvent system of Petroleum ether/acetone (90:10, v/v). Density of spots, > .

3. 紅色非イオウ細菌の優占菌種としては *R. sphaeroides*、脱窒性 *Rhodopseudomonas* sp. (Group VII) が認められ、また *R. palustris* 類似の未同定菌種 (Group II) が高頻度で検出された。
4. 汚泥中から高濃度の Bchl_a および spheroidene, spheroidenone, spirilloxanthin を主成分とするカロチノイド色素が検出され、上記の結果を裏づけた。

稿を終わるに当り、試料提供などの便宜を賜った神戸豆腐油揚生産協同組合理事長村上正光氏に深謝の意を表します。

引用文献

- 1) Biebl, H., and N. Pfennig: Growth yields of green sulfur bacteria in mixed cultures with sulfur and sulfate reducing bacteria. Arch. Microbiol., 117, 9-16 (1978) .
- 2) Clayton, R. K.: Toward the isolation of a photochemical reaction center in *Rhodopseudomonas sphaeroides*. Biochim. Biophys. Acta, 75, 312-323 (1963) .
- 3) Eckersley, E., and C. Dow: *Rhodopseudomonas blastica* sp. nov.: a member of the *Rhodospirillaceae*. J. Gen. Microbiol., 119, 465-473 (1980) .
- 4) Hiraishi, A., and S. Horie: Species composition and growth-temperature characteristics of coliforms in relation to their sources. J. Gen. Appl. Microbiol., 28, 139-154 (1982) .
- 5) Hiraishi, A., and H. Kitamura: Distribution of phototrophic purple nonsulfur bacteria in activated sludge systems and other aquatic environments. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 50, in press.
- 6) Hiraishi, A., K. Saheki, and S. Horie: Enumeration of thermotolerant coliforms in water using desoxycholate agar at 43°C. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 49, 1297 (1983) .
- 7) 平石明・銭谷武平：水産廃水活性汚泥の微生物に関する研究（第1報） 活性汚泥の酵素による分散と生菌数の測定：日本水処理生物誌、13 (2)、1 - 6 (1977)。
- 8) 平石明・銭谷武平：水産廃水活性汚泥の微生物に関する研究（第2報） すり身製造廃水活性汚泥の細菌相。日本水処理生物学会誌、14 (1)、33-38 (1978)。
- 9) 平山修・安東栄二・和森克真・原美奈子：光合成細菌 *Rhodopseudomonas capsulatus* の色素生成と培養条件、農化、48、97-104 (1974)。
- 10) 北村博：光合成細菌による有機性廃水処理 微生物の生態 5、微生物生態研究会編、学会出版センター、東京、1978、p.85-121。
- 11) Kobayashi, M., M. Kobayashi, and H. Nakanishi: Construction of a purification plant for polluted water using photosynthetic bacteria. J. Ferment. Technol., 49, 817-825 (1971) .
- 12) Pfennig, N., and K. D. Lippert: Über das Vitamin B₁₂-Bedurfnis phototropher Schew-

- felbakterien. Arch. Mikrobiol., 55, 245—256 (1966).
- 13) Pike, E. B., and C. R. Curds: The microbial ecology of the activated sludge process. in Microbial Aspects of Pollution (G. Sykes and E. A. Skinner ed.), Society for Applied Bacteriology Symposium, Ser. no. 1, Academic Press Inc., London, 1971, p.123—147.
 - 14) Postgate, J. R.: The Sulphate-reducing Bacteria, Cambridge University Press, Cambridge, 1979, p.24.
 - 15) Satoh, T., Y. Hoshino, and H. Kitamura: *Rhodopseudomonas sphaeroides* forma sp. *denitrificans*, a denitrifying strain as a sub-species of *Rhodopseudomonas sphaeroides*. Arch. Microbiol., 108, 265—267 (1976) .
 - 16) 関文威: 水界微生物生態研究法、共立出版、東京、1976、p.35,
 - 17) Siefert, E., R. L. Irgens, and N. Pfennig: Phototrophic purple and green bacteria in a sewage treatment plant. Appl. Environ. Microbiol., 35, 38—44 (1978) .
 - 18) Trüper, H. G., and N. Pfennig: Characterization and identification of the anoxygenic phototrophic bacteria. in The Prokaryotes (M. P. Starr, H. Stolp, H. G. Trüper, A. Balows, and H. G. Schlegel ed.), Springer-Verlag, Berlin, 1981, p. 299—312.