

# 論文審査の結果の要旨

氏名 末岡 一男

本研究は鉄鋼排水である安水処理する活性汚泥中において嫌気性条件下で硝酸を電子受容体としてフェノールを分解する細菌（嫌氣的フェノール分解細菌）の特定を試みたものである。安水とは鉄の生産において利用されるコークスを製造する過程で発生する排水である。高濃度のフェノールやアンモニアが含まれ、通常、アンモニアストリッピング法によるアンモニア除去の後、2-3 倍海水で希釈し、標準活性汚泥法によって処理される。しかし、窒素分を除去するために硝化液循環型硝化脱窒プロセスを適用することが考えられており、その際に窒素分とフェノールの除去を担う微生物が、本研究の対象とした嫌氣的フェノール分解細菌である。

本研究では嫌氣的フェノール分解細菌を特定するために、二つのアプローチがとられている。一つは **stable isotope probing (SIP)** 法である。SIP 法は分離培養せずに試料中の特定の機能を持つ微生物を特定することのできる手法であるが、特定された微生物の詳細な生理的特性を知ることはできない。そこで、また、もう一つのアプローチとして、分離培養を試みた。

本論文は全 8 章から構成されている。第 1 章では研究の背景と目的が述べられ、第 2 章では安水処理プロセスについて、および、本研究で用いられたさまざまな分析手法に関するレビューがなされている。第 3 章の「研究手法」では、本研究で用いた汚泥を得た人工安水処理活性汚泥プロセスについて述べている。また、3 章には、4 章・5 章で利用した RNA-SIP 法（安定同位体標識された有機基質中の  $^{13}\text{C}$  をとりこんだ rRNA 分子を分離し解析する方法）の詳細な説明をはじめ、各章に共通する分析手法が述べられている。

第 4 章では、嫌氣的フェノール分解細菌を特定するために RNA-SIP 法を用いて検討した。汚泥に  $^{13}\text{C}$  標識フェノールまたは非標識フェノールを与え硝酸塩存在下で嫌気培養を行い、標識された rRNA を分析した。2 回の実験を行い、一回目では *Azoarcus*、*Microbulbifer*、*Pelagiobacter*、*Pseudomonas*、*Thauera* 各属に近縁な細菌が特定され、二回目では *Marinobacter*、*Pelagiobacter* 各属に近縁な細菌が特定された。これらの内、*Azoarcus*、*Marinobacter*、*Pelagiobacter* 各属に近縁な細菌は、ほぼ間違いなく嫌氣的にフェノールを直接同化していると考えられた。

第 5 章では好氣的フェノール分解細菌を特定するために RNA-SIP 法を適用している。この検討は直接本研究の目的に合致するものではないが、嫌氣的フェノール分解細菌との比較のために行なった。2 回の実験の結果から *Marinobacterium*、*Thauera*、*Citriimonas*、*Halomonas*、*Microbispora*、*Propionibacterium*、*Rhodobacter* のそれぞれに近縁な細菌が特定された。

第 6 章は嫌氣的フェノール分解細菌を捉えるために適した平板培養条件について、基質濃度と固化剤の種類から検討した。培養は硝酸存在嫌気条件下で行ない、フェノール濃度は約 10 mg/L または約 100 mg/L、また、固化剤にはカラギーナンまたはゲランガムが良い結果を与えた。また、第 4

章で嫌氣的フェノール分解細菌として特定された細菌のうち *Azoarcus* 属近縁のものを分離することに成功した。

第7章ではさらに海水を含む培地の使用を検討した。嫌氣的フェノール分解細菌は分離することができなかったが、第5章で特定された細菌のうち *Halomonas* 属近縁のものと *Marinobacterium* 属近縁のものが分離された。

以上のように、RNA-SIP 法を用いて実際の活性汚泥中で嫌氣的フェノール分解を担っている細菌を特定することに成功するとともに、その一部を分離培養することに成功した。また、嫌氣的フェノール分解細菌だけでなく、好氣的フェノール分解細菌も特定し、その一部を分離培養することができた。これら株の生理学的特徴を調査し、安水処理プロセス内での挙動とプロセスの処理状況との関連付けを行うことが今後の課題であろう。また、これまでに嫌氣的フェノール分解細菌または好氣的フェノール分解細菌としての報告がない細菌が RNA-SIP 法によって特定され、かつ、それらの中には系統学的にも新規な細菌が含まれていることが解明された。

なお、本論文4章および5章はそれぞれ共著論文として公表されているが、論文提出者が主体となって行なったものであり、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

以上より、博士（環境学）の学位を授与できると認める。