

論文審査結果の要旨

氏名 押木 守

活性汚泥法による下 wastewater 処理の過程で、除去される有機物の一部が活性汚泥中の微生物によって一時貯蔵されることが知られるようになってきた。有機物が一時貯蔵される現象は下水処理の基本メカニズムの一つとして重要であり、工学的にも利用価値のある現象だと思われるが、関連する知見がきわめて限られている。本研究は、活性汚泥中に有機物が一時貯蔵される現象について基礎的な検討を行ったものであり、特に、ポリヒドロキシアルカン酸 (PHA) とよばれる貯蔵物質に着目している。そして、i) 下水処理の過程で PHA の一時貯蔵を介して除去される有機物の割合、ii) PHA 蓄積を促す活性汚泥プロセスの運転方法、iii) PHA を蓄積する細菌群の系統遺伝学的な位置付けについて検討を行なっている。

博士論文の構成とその概要は以下の通りである。

第一章および第二章では、活性汚泥による PHA 蓄積に関して既存の研究および課題を整理し、本研究の位置付けを示している。

第三章では計 14 種の実下水処理場又は実験室規模の実下水処理プロセスについて調査を行なっている。全ての下水処理プロセスではないが、有機物除去の過程で PHA が生成されることを明らかにした。また、一部のプロセスでは流入する有機物の半分以上が PHA として蓄積されていた。第三章を通じて、有機物除去過程において PHA の生成が重要な位置を占めることを確認した。

第四章では、有機物として酢酸を間欠的または連続的に投与する実験室リアクター (間欠投与型および連続投与型) を運転し、馴致された活性汚泥に酢酸を投与した回分培養を実施した。2 節では、酢酸摂取への PHA 蓄積の寄与について考察し、有機物除去機構としての寄与を調べた。反応過程で必要とされた ATP の供給に消費された酢酸等を考慮して、計算を行なったところ、投与した酢酸の 7 割 (間欠投与型) または 4 割 (連続投与型) が PHA 蓄積を介して摂取されたことがわかった。また、3 節では、放射性標識された酢酸を摂取した細胞を microautoradiography 法により特定し、かつ、その細胞の PHA 蓄積の有無を蛍光染色法で確認することで、酢酸を資化する PHA 蓄積細菌とそれ以外の酢酸資化微生物を見分けることに成功した。また、それぞれの酢酸摂取速度を大まかに見積り、PHA 蓄積性の酢酸資化 PHA 蓄積細菌の方が他の酢酸資化微生物よりも酢酸摂取速度が大きいことを明らかにした。さらに、4 節では、活性汚泥中に有機性一時貯蔵物質が生成されることを利用し、省エネルギー型の新たな活性汚泥プロセスを提案した。

第五章では、PHA 蓄積に関与した微生物群について、系統遺伝学的な分類を試みた。

1 節では、標準活性汚泥法で稼働する 8カ所の実下水処理場から活性汚泥試料を採取し、PHA 蓄積細菌が全菌に占める割合を、核酸染色剤 (DAPI) と PHA の蛍光染色剤 (Nile blue A) による二重染色法で調査した。この際に、PHA 蓄積細菌に加えて、Nile blue A で検出されるが DAPI で検出されない” Nile blue A 陽性粒子” を観察した。PHA 蓄積細菌および Nile blue A 陽性粒子は全菌に対してそれぞれ 11~15%、6%~18%を占めた。さらに、蛍光遺伝子プローブ法 (FISH 法) と Nile blue A 染色法を用いることで PHA 蓄積細菌の種構成を門レベルで解析し、そのほとんどが α -*proteobacteria* または β -*proteobacteria* に属することを明らかにした。

2 節では、PHA 蓄積細菌の種構成をより詳細に解明した。その結果、*Accumulibacter*、*Comamonas*、*Zoogloea*、といった既知の微生物群の他、既知の細菌群からは離れた 7つの細菌群を PHA 蓄積細菌として同定した。また、PHA 蓄積細菌の種構成が、属・種レベルで異なる様々な細菌から構成されることを明らかにした。

3 節では、Nile blue A 陽性粒子を同定するための検討を行なった。密度勾配遠心分離法を適用した結果、Nile blue A 陽性粒子は PHA と同程度の浮遊密度を持つことが明らかとなった。さらに、Nile blue A 陽性粒子の周囲に細胞様の構造が存在しないことが、電子顕微鏡観察で確認された。これらの結果から、Nile blue A 陽性粒子が細胞外 PHA 顆粒である可能性が示唆された。

以上のように、本研究では活性汚泥による有機物除去過程で見られる PHA 蓄積について、工学的および科学的にさまざまな角度から検討を行っており、きわめて有用な知見をもたらしている。

なお、本論文 3 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実施した研究内容であり、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。