

## 審査の結果の要旨

氏名 スーングレドソンファ スワット

本研究は、「Characterization of Bacterial Community Responsible for Assimilable Organic Carbon Removal in Biological Activated Carbon Process for Advanced Drinking Water Treatment : 高度浄水処理生物活性炭プロセスにおける同化性有機炭素除去に関与する細菌群集の解析」と題して、8つの章から論文が構成されている。

第1章では、研究の背景と目的、および論文の構成を述べている。

第2章では、同化性有機炭素(AOC)の測定法、配水システムにおける同化性有機炭素の利用に伴う細菌再増殖の課題について取りまとめるとともに、特に、浄水場における同化性有機炭素の除去特性として、オゾン処理と生物活性炭(BAC)や特定基質を利用する微生物の同定方法である Stable isotope probing (SIP) 法に関する文献の整理を行っている。

第3章では、水質化学分析、NOX株とP17株による同化性有機炭素(AOC)の測定手順、分子生物学的な手法による微生物群集構造解析やSIP法の手順やデータ解析手法を整理している。さらには、試料採取方法、試料の前処理や保存について記載されている。

第4章では、3つの高度浄水処理システムにおけるAOCの挙動を調査して、オゾン処理後の増加とBACプロセス後の低下を確認している。AOC除去率とBAC付着細菌量との関係を検討しているが、両者に相関はなく、AOC除去を担う細菌群集を解析することの重要性を指摘している。そして、Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism (T-RFLP) 解析を水道原水とBAC付着細菌に対して適用して、原水中の細菌と付着細菌の群集構造が大きく異なること、さらにはBAC運転期間が4年と長い浄水場Aと、運転期間が1年程度の浄水場B,Cとでは違いがあることをフラグメントパターンやその主成分分析などで明らかにした。

第5章では、オゾン処理後に増加するAOC成分として、酢酸、ギ酸、シュウ酸を想定して、これらのAOCモデル基質を対象にしたBACによる除去特性試験を行い、それぞれの除去速度定数を推定して、3者のなかで酢酸除去速度が高いことを定量的に示している。また、モデル基質を分解する細菌をBACに集積させるために、1mg/lと10mg/lの流入濃度条件にて連続流カラム実験を行ったところ、1mg/l条件では集積できないものの、10mg/l条件ではギ酸とシュウ酸の除去速度が増加したことから細菌の集積が確認されたことを報告している。しかしながら、BAC付着微生物のT-RFLP解析結果からは、10mg/l条件と基質無添加の対照条件でも、細菌群集に明確な違いがないことから、特定基質利用細菌を検出するために、SIP法などの手法の必要性を指摘している。

第6章では、まず、基質の二次代謝をさけるために標識基質添加後の培養時間を48時間とすることを確認した後、10mg/lの回分条件と0.5mg/lの連続流条件で、浄水場CのBACを対象にDNA-SIP

法を3つのモデル基質での培養実験を実施している。そして、塩化セシウムによる密度勾配遠心分離法で分画したBAC付着細菌のDNAに関してT-RFLP解析を行い、当該AOCモデル基質を利用している細菌特有の塩基配列フラグメントを複数見出している。そのうち、330bpのフラグメントに対応する細菌は、酢酸、ギ酸、シュウ酸すべての基質に対して集積されており、AOCの除去を担う細菌の可能性を示唆している。BAC付着細菌に関して、このような詳細な解析を実施した研究例はなく、非常に有用な成果を生み出している。

第7章では、浄水場DのBACに対しても連続流条件でDNA-SIP法を適用して、異なる浄水場で同様な細菌が集積するかを確認している。その結果、運転期間が3年と長めである浄水場Dでも330bpのフラグメントが、すべてのモデル基質に関して集積したことを示している。そして、クローン解析によりその細菌が*Hyphomicrobium*属に近縁であるが*Hyphomicrobium*純粋分離株とは異なるクラスターを形成する細菌であることを明らかにしている。この細菌の発見は、非常に貴重で新規性の高い成果である。これらの知見から、この細菌の検出プローブを作成することにより、BACにおけるAOC除去微生物の検出の可能性を示唆している。

第8章では、6章と7章にて見出した330bpのフラグメントに対応する細菌を特異的に検出するためのプライマーを数種類試験して、その選択性とハイブリダイゼーション温度の最適化を検討している。最終的に選定したプライマーセット(Hyp298f-Hyp717r)を浄水場A,B,CのBACに適用して、BAC付着細菌量に対する当該細菌の存在量は、それぞれ0.2, 2.5, 7.5%であることを報告している。AOC除去量は、TOC除去量に比較して相対的に低いことから、AOC除去を担う細菌が大きな割合を示すことはないことから、妥当な結果とも判断している。しかしながら、その細菌検出量とAOC除去性能の関係を検討したところ、両者には明確な関係が見出せないことも示している。浄水場Aでは対象細菌量が非常に低い存在割合であることも考慮すると、他のAOC除去微生物の存在や今回のAOCモデル基質が必ずしも浄水場Aでは主要なAOC成分となっていない可能性を考察している。

第9章では、上記の研究成果から導かれた結論とDNA-SIP法適用における課題、AOC除去細菌を特定するプライマー作成における今後の課題や研究展望が述べられている。

以上の成果では、高度浄水処理におけるAOCの現場調査を実施して、生物活性炭処理プロセスにおける除去を付着細菌群集との関係から調べている。特に、DNA-SIP法とT-RFLP手法から、AOC除去細菌を特定することを試みた結果、*Hyphomicrobium*属に近縁な細菌がAOCのモデル成分としての酢酸、ギ酸、シュウ酸を除去する重要な細菌であることを明らかにしている。そして、その細菌を特異的に検出するためのプライマーを作成するとともに、実浄水場のBACへの適用を行い、その存在量の評価とAOC除去性能との関係を評価している。これらの精力的な現場調査と分子生物学的な手法を駆使したAOC除去細菌の特定実験を通じて得た成果は、非常に貴重なものである。これらの成果は、AOC除去機構の解明やAOC除去を担う細菌の検出などに役立つだけでなく、従来ブラックボックスとして扱われてきたBACの細菌群集構造を明らかにすることの重要性を指摘し、非常に有用なデータや知見を提供しており、都市環境工学の学術の進展に大きく寄与するものである。

よって、本論文は博士(工学)の学位請求論文として合格と認められる。