

環境生命工学専攻	学籍番号	015802	指導教官	平石 明
申請者氏名	大久保 陽子			

論文題目	廃水処理への応用に向けた紅色非硫黄光合成細菌の生理学的・動力学的特性評価
------	--------------------------------------

1970～1980年代を中心に、光合成細菌の一群である紅色非硫黄細菌の廃水処理への応用が検討されてきた。紅色非硫黄細菌を用いた廃水処理システムの利点として、高濃度有機性廃水は無希釈で処理できること、ばっ気を必要としないこと、有機物のほかに悪臭の原因であるアンモニアおよび硫化物を除去できることが挙げられる。しかしながら、廃水中の有機物分解を担っている紅色非硫黄細菌の微生物組成、あるいはその基質分解特性に関する知見は不十分であり、現在紅色非硫黄細菌による廃水処理プラントは稼動していない。本研究では、活性汚泥を含むさまざまな廃水処理系から分離した紅色非硫黄細菌の低級脂肪酸資化特性を評価し、その共培養系における動態解析を行うことにより、廃水中の低級脂肪酸濃度が紅色非硫黄細菌数および種構成に及ぼす影響について考察した。これまで、廃水処理への応用が検討されてきた紅色非硫黄細菌は、一部の種に限られていたうえ、個々の菌株の基質利用性に関する研究は少なかった。そこで、まず廃水処理系から分離した紅色非硫黄細菌を用いて、廃水中の主要成分である低級脂肪酸に対する資化特性について解析した。その結果、分離源の違いにかかわらず、*Rhodopseudomonas* 属細菌は *Rhodobacter* 属細菌よりも多様な低級脂肪酸を代謝利用でき、酢酸およびプロピオン酸に対する親和定数値 (K_s) が小さい、すなわち親和性が高いことが分かった。また、主に紅色非硫黄細菌から成る畜産廃水溝に形成された微生物マットの化学的パラメータおよび *pufM* 遺伝子クローンライブラリー法、キノプロファイル法による細菌群集構造解析を試みたところ、この畜産廃水に低級脂肪酸やアンモニアが高濃度に含まれていること、優占細菌は *Rhodopseudomonas* 属細菌であること、分離された紅色非硫黄細菌株は既知の基準株と生理学的・系統学的特性が異なることが見出された。次に、この微生物マットから分離した *Rhodopseudomonas* sp. TUT 3630 および *Rhodobacter* sp. TUT 3733 株を共培養し、その動態解析を行った。炭素源として酢酸のみを含む培地を連続的に注入し、約一週間ごとに酢酸濃度を 0.5～20 mM と変化させた。紅色非硫黄細菌のモニタリングには、FISH 法および DGGE 法を用いた。その結果、培地中の酢酸濃度が 5～20 mM と高いときには、低親和性の *Rhodobacter* sp. TUT 3733 株が明らかに優占化し、酢酸濃度が 1 mM 以下になると高親和性の *Rhodopseudomonas* sp. TUT 3630 株が増加する傾向が見られた。以上の結果から、紅色非硫黄細菌の廃水処理への応用を考えた場合、廃水中の低級脂肪酸濃度が重要な制御因子の一つであることが示唆された。また、酢酸濃度が 20 mM になると、*Rhodobacter* sp. TUT 3733 株によるフロックが形成され、数日のうちにリアクター壁面にバイオフィームが形成された。そこで、高機能を有するバイオフィーム形成に必要な *Rhodobacter* sp. TUT 3733 株のフロック形成能に関する解析を行った。本菌のフロックに DNase I を添加すると瞬時にフロックが壊れることから、本菌株のフロック形成には DNA が大きく関与していることが示唆された。また、本菌は対数増殖期後期から定常期にかけて、最大で約 $3 \mu\text{g ml}^{-1}$ の DNA を分泌することもわかった。今後さらに詳細なフロック形成メカニズム解析を進める必要がある。