

豊橋技術科学大学長 殿

平成24年2月29日

審査委員長 平石 明



## 論文審査及び最終試験の結果報告書

このことについて、下記の結果を得ましたので報告いたします。

記

学位申請者	Muhammad Hanif	学籍番号	第075805号
申請学位	博士(工学)	専攻名	環境・生命 工学専攻
論文題目	Development and Application of Supercritical Fluid Technology for the Comprehensive Analysis of Microbial Lipid Biomarkers in Environmental Samples (環境試料中の包括的な脂質バイオマーカー分析のための超臨界流体技術の開発と応用)		
公開審査会の日	平成24年2月21日		
論文審査の期間	平成24年1月26日～平成24年2月28日	論文審査の結果	合格
最終試験の日	平成24年2月21日	最終試験の結果	合格

論文内容の要旨	本論文は、環境試料中に存在する微生物に含まれる四種の脂質バイオマーカーを包括的に分析する方法の開発について述べられている。呼吸鎖キノン(RQ)、リン脂質脂肪酸(PLFA)、エーテル型リン脂質(PEL)、ポリヒドロキシアルカン酸(PHA)を、抽出溶媒として二酸化炭素を用いる超臨界流体抽出(SFE)法により抽出し、その後の分析前処理および分離・定量方法などの検討がなされている。様々な環境試料に対し統計的な手法により実験条件を設定し、各脂質バイオマーカーに対するSFE条件の最適化を行った。従来法である有機溶媒抽出法と比較し、開発した方法の優位性を示している。本法の適用例として、メタン発酵消化液、活性汚泥、コンポストなど実際の環境試料を対象として、本研究で開発した手法により微生物群集構造の解析を行うとともに、それらの試料中に存在する微生物に含まれる四種の脂質バイオマーカーを包括的に分析することが可能であることを示している。
審査結果の要旨	本論文は、8章より構成されている。第1章と第2章では、研究背景およびSFE法の特徴が述べられ、それぞれの方針を用いた既往の研究情報が整理されている。第3章では、SFE法および超高速液体クロマトグラフィーを用いたRQプロファイル法について検討されている。第4章では、PLFAの分析におけるSFE法の最適条件が検討されている。第5章では、微生物中のPLFAに対してSFE法と同時に誘導体化、固相トラッピングオンライン分析を用いた方法について検討されている。第6章では、メタン発酵消化液中の細菌と古細菌の脂質バイオマーカーを用いて微生物群集構造解析を行った。第7章では、様々な試料中に存在する微生物に含まれる四種の脂質バイオマーカーの包括的な分析に対し開発した方法を適用している。第8章では、本研究の総括をし、本法の実用化への展望が述べられている。

審査結果の要旨	生物学的廃水処理、堆肥化などの微生物を利用した環境技術の適正な運転・制御を行うために、微生物群集構造の解析が重要視されている。しかし、環境試料中に存在する微生物の群集構造を定量的で簡便に分析する方法が限られているため、この分野の情報はまだ十分とはいえない。そこで、定量性および再現性などが高い化学分析に基づく微生物中の脂質をバイオマーカーとして用いる微生物群集構造解析手法が注目されている。微生物に含まれる脂質バイオマーカーは通常有機溶媒を用いて抽出され、前処理、分離、解析という手順で行われる。しかし、この方法は、作業が煩雑で長い時間を要する、さらに大量の有害な有機溶媒を使用するといった欠点がある。
審査結果の要旨	本研究では、四種の脂質バイオマーカーについて、従来法である有機溶媒抽出法と同程度の種類と量が抽出できるSFE条件を明らかにした。また、SFEを用いた本法では、四種の脂質バイオマーカーを包括的に分析できることを示した。さらに本法は、実際の環境試料への適用が可能であることも確認されている。本研究によって開発された方法では、分析作業が簡便化され、要する時間が大きく短縮され、さらに有害な有機溶媒の使用量が軽減された。本法は、容易に自動化することもできるため、脂質バイオマーカーを用いた微生物群集構造解析の応用範囲を大きく広げができる。今後は、微生物を用いる環境技術の制御を微生物の観点から行うことも可能となり、環境技術の運転効率を高めることができると期待でき、当該分野の発展に大きく貢献するものである。

以上により、本論文は博士(工学)の学位論文に相当するものと判断した。

審査委員	平石 明		木曾 祥秋		平田 幸夫	
	大門 裕之			印		印

(注) 論文審査の結果及び最終試験の結果は「合格」又は「不合格」の評語で記入すること。