

平成14年8月28日

環境生命工学専攻	学籍番号	999012
申請者氏名	Shams Tabrez Khan	

指導教官氏名	平石 明
--------	------

論文題目	Ecological and kinetic studies of solid-phase denitrification using biodegradable plastics for nitrogen removal from wastewater (廃水中の窒素除去のための生分解性プラスチックを用いた固相脱窒の生態学的、動力学的研究)
------	---

(要旨 1,200字程度)

水処理や廃水処理技術における大きな課題として富栄養化の原因になる硝酸塩等の栄養塩除去がある。生物処理による窒素除去では、硝酸還元に必要な電子供与体としての有機物が不足しがちであり、除去効率の低下がしばしば問題となる。この問題を解決する方法として、水に不溶の固形生分解性ポリマーを電子供与体として利用する生物学的固相脱窒法が考えられているが、その処理能力やプロセスに関わる微生物の実体と特性についてはほとんど明らかにされていない。本研究では、生分解性プラスチックを利用する新しい固相脱窒法の開発を目的として、本プロセスに関わる微生物の生態学的、動力学的特性を明らかにした。

本研究ではまず、電子供与体としての適性を判断するために、6種類の生分解性プラスチックをそれぞれ活性汚泥リアクターに投入し、脱窒条件下における分解性を試験した。その結果、ポリ-β-ヒドロキシ酪酸 (PHB) 単独、あるいはそれとポリ-β-ヒドロキシ吉草酸 (PHV) の共重合体 (PHBV) から成る生分解性プラスチックが最も分解性が高く、電子供与体として優れていることを明らかにした。次に、活性汚泥中における PHBV 分解性脱窒細菌の分布状態を調べ、これらの下水活性汚泥中に普遍的に分布していることを確認し、またこれらの汚泥から分離された 23 株の PHBV 分解性脱窒細菌のほとんどがβ-プロテオバクテリアに属するものの、この系統群の既知菌種のいずれにも該当しない新規の細菌であることを明らかにした。この中で特に速い脱窒速度を示す一群に対して新属新種名 *Diaphorobacter nitroreducens* を提唱した。従来、PHBV 分解性脱窒細菌の実態についてはほとんど報告がなく、命名を伴う詳細な系統分類を行ったのは本研究が初めてである。*Diaphorobacter nitroreducens* NA10B 株を用いて回分培養および連続培養時における PHBV 分解および窒素除去の動力学的特性を解析し、PHBV/NO₃⁻消費比や菌体収率などにおいて、生化学反応式に基づく予測値とほぼ一致することを確認した。さらに、活性汚泥に PHBV を唯一の炭素・エネルギー源として投与し、脱窒条件下で馴養した場合、脱窒速度は徐々に上昇し、約6週間で 20 mg NO₃⁻-N g⁻¹ h⁻¹ の高い硝酸除去速度に達することを認めた。この馴養脱窒系の細菌群集構造の解析に FISH 法やリボソーム RNA 遺伝子クローンライブラリー法などの分子技法を適用し、特にコマモナス科のβ-プロテオバクテリアが優占していることを明らかにし、分離菌株の系統解析結果を裏づけた。さらに、この脱窒系の細菌群集の脱窒に関わる酵素群をコードする *nirK*, *nirS*, および *nosZ* 遺伝子の解析も併せて行い、やはりβ-プロテオバクテリアが機能的にも主要な役割を担っていることを証明した。

このように本研究は、系統分類学、生態学、分子生物学、生物工学的観点からの多面的アプローチの成果によって、生分解性プラスチックを利用した固相脱窒プロセスの生物学的原理の確立に大きく寄与する基礎情報を付与するものである。また、この成果は特定の生分解性プラスチック分解性脱窒細菌を利用した新しい固相窒素除去法の開発に道を開くものであり、環境保全分野に大きく寄与すると期待される。