

審査の結果の要旨

氏名 牛 佳

本研究は、「**Functional characterization of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in granular activated carbon filter for advanced drinking water purification**」(高度浄水処理粒状活性炭ろ過におけるアンモニア酸化古細菌及びアンモニア酸化細菌の機能特性評価)」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、高度浄水処理プロセスにおけるオゾン・活性炭処理、アンモニア酸化微生物に関する文献の整理を行っている。

第3章では、実験試料を入手した浄水場、活性炭試料の採取方法、硝化能測定実験の手順に加えて、硝化微生物の群集解析などに用いる分子生物学的手法について記載している。

第4章では、異なる浄水場の粒状活性炭(GAC)のアンモニア態窒素除去能を評価するために、国内12か所の浄水場から、使用期間の異なる13種類の粒状活性炭を採取して、アンモニア態窒素除去能、アンモニア酸化細菌(AOB)とアンモニア酸化古細菌(AOA)の存在量の測定結果を得ている。

アンモニア態窒素除去能は、0.006～0.047 mg N/L/h/g-dryの範囲にあり、より長い使用期間の試料で除去能が高めとなる傾向があること、AOA amoA 遺伝子とAOB amoA 遺伝子の量は、試料間で大きく異なるが、ほとんどの試料でAOAの方が優占していたこと、そして、アンモニア態窒素除去能は、AOAあるいはAOB、両者の合計量、どちらか多い方のいずれにも有意な相関を示さなかったことを明らかにしている。

AOAとAOBの群集構造を解析した結果、ある特定の操作的分類単位(OTU)がAOAについてはすべての試料から共通して検出された一方で、AOBについてはGAC間での差異が大きく、すべてに共通したOTUは検出されなかったことを報告している。また、AOBが優占しているGACについては、AOBの存在量の減少と共に、冬季にアンモニア態窒素除去能が大きく減少していた一方で、冬季でもAOAの存在量は減少していないこと、両者とも季節による群集構造は安定していたことを示している。

第5章では、原水及び各処理工程水を国内12か所の浄水場から採水して、浄水工程におけるAOA及びAOBの動態を評価している。原水中では、AOAの存在量の方がAOBよりも1～2桁ほど多いこと、AOBの存在量は浄水工程を通して減少傾向であること、そしてAOAの存在量はオゾン処理で減少する場合と変化しない場合が見られたが、GAC処理水では増加していることを示している。一方、原水中のAOAの多様性は高かったが、浄水工程を経るに従って検出されるOTUは減少し、オゾン処理後には限られたOTUしか残存しないことを明らかにしている。この残存したOTUは、GACから検出される

OTU と一致していたことから、オゾン処理は GAC に定着する AOA の多様性を決定する重要な要因の一つであることを示唆している。GAC 流入水、流出水の AOA, AOB の濃度から、AOA の方が AOB よりも正味の増殖速度は速い可能性を考察している。また、東京都の 5 か所の浄水場における夏と冬の工程水を比較して、AOA 及び AOB とともに、冬季には前塩素処理の影響を受けて凝集沈殿処理水中の濃度が顕著に減少すること、GAC における AOA 及び AOB の付着量は、逆洗前後でほとんど変化していなかったこと、逆洗により系外に排出される AOA 及び AOB の量は、GAC ろ過池における現存量と比較するとわずかであることなどを明らかにしている。

第 6 章では、異なるアンモニア態窒素濃度条件下における AOA 及び AOB の増殖活性を、 ^{13}C -標識重炭酸を用いた DNA-SIP によって直接的に評価している。低濃度条件下 (0.14 mg N/L) では、培養 7 日後、14 日後、28 日後の試料において、AOA の増殖が観察された一方で、AOB は最初の 14 日間は増殖せず、28 日後に初めて増殖することを観察している。そして、高濃度条件下 (1.4 mg N/L) では、AOA と AOB の双方が 14 日後までに増殖活性を示したことから、アンモニア態窒素濃度がおおむね 0.1 mg N/L 以下である実際の浄水場においては、AOA の方が AOB よりも硝化に貢献していることを考察している。

第 7 章では、AOA 及び AOB の混合栄養増殖活性とオゾン処理水中での増殖活性について、DNA-SIP による評価を行っている。 ^{13}C -ピルビン酸を投与したところ、AOA も AOB もピルビン酸を同化することは観察されなかった一方で、従属栄養性の細菌群が ^{13}C -ピルビン酸を同化したこと、その結果としてアンモニア態窒素も同化経由で除去されたことを確認している。一方、AOB は ^{13}C -尿素を直接炭素源・エネルギー源として増殖したが、AOA は同化できなかったこと、さらに ^{12}C -尿素と ^{13}C -重炭酸を同時に投与すると、AOA が尿素由来のアンモニア態窒素を酸化すると共に、重炭酸を同化したことも示している。オゾン処理水に低濃度のアンモニア態窒素 (0.14 mg N/L) と $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ -重炭酸を投与した系において、14 日間の培養では AOA も AOB も増殖しなかったが、28 日後には AOA が増殖することも観察している。以上の結果から、AOA は低濃度のアンモニア態窒素に親和性が高く、独立栄養増殖するのに対して、AOB は尿素などの有機窒素を直接利用できることを明らかにしている。

第 8 章では、上記の研究成果から導かれた結論と今後の研究課題やその展望が述べられている。

以上の成果では、高度浄水処理で用いられている GAC ろ過の硝化機構の解明に資する成果を示している。多くの GAC 試料において、優占しているアンモニア酸化微生物は AOA であり、低濃度のアンモニア態窒素条件下では、AOA の独立栄養増殖活性が AOB よりも高いことが明らかになった。GAC ろ過のアンモニア酸化については、AOB よりも AOA が重要な役割を担っていると考えられる。本研究の成果は、実際の環境条件下での AOA の生理や活性を評価して、GAC ろ過の硝化性能を最適化する上で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。