



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

微生物による環境汚染物質の分解および除去に関する研究

| | |
|-------|--|
| メタデータ | 言語: jpn 出版者: 公開日: 2008-02-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 惣田, 昱夫 メールアドレス: 所属: |
| URL | http://hdl.handle.net/20.500.12099/2250 |

| | | | |
|---------|----------------------------|---------|---------|
| 氏名（本籍） | 惣田 昱夫（熊本県） | | |
| 学位の種類 | 博士（農学） | | |
| 学位記番号 | 農博乙第5号 | | |
| 学位授与年月日 | 平成8年3月14日 | | |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第2項該当 | | |
| 学位論文題目 | 微生物による環境汚染物質の分解および除去に関する研究 | | |
| 審査委員 | 主査 | 静岡大学 教授 | 小西 茂 毅 |
| | 副査 | 静岡大学 教授 | 仁王 以智夫 |
| | 副査 | 静岡大学 教授 | 田原 康 孝 |
| | 副査 | 岐阜大学 教授 | 高見澤 一 裕 |
| | 副査 | 信州大学 教授 | 入江 鎌 三 |

論文の内容の要旨

近年、地球規模での環境汚染の進行が危惧され、重要な社会問題となっている。これらの汚染物質の発生を防止することはもとより、すでに拡大し、また拡大しつつある汚染物質の分解、除去を図ることは重要である。これまで化学的、物理的方法や自然浄化法が取り入れられてきたが、今後、微生物学的手法による分解、除去技術、また修復技術の発展が自然生態保持上大いに期待される。そこで、本研究は、環境汚染物質としてまず原油に、またそれを源とする各種有機溶媒、特にトルエンに、さらに石油中に含まれ、悪臭を持つ2-n-アルキルチオフェンに着目した。また、地域的環境汚染物質として、海岸に打ち上げられた海藻処理にも注目した。一方、酸性雨等よりもたらされる土壌、湖沼等の酸性化により二次的に生じ、生物生存に阻害的に働くアルミニウムにも注目し、前記いずれに対してもそれぞれの汚染物質を分解、除去する分解菌、耐性菌等を分離し、形態学的特徴、生理生化学的性質等から同定を行い、また代謝様式についての知見を得ようとして行われたものである。

第1章では、まず原油汚染を微生物によって分解、除去するための基礎研究として、石油系炭化水素を分解する菌の検索を試み、EK-2991を分離した。そしてこの菌が形態学的特徴や生理生化学的性質から *Moraxella* sp. であると同定した。本菌が原油やケロシンのみならず比較的分子量の大きい炭化水素を分解することを示した。またトルエン等に耐性を有し、シクロヘキサンを分解することを示した。

第2章では、有機溶媒耐性菌のSH-2992を分離し、その耐性や分解能力を調べた。この菌が形態学的特徴や生理生化学的性質、GC含量から *Pseudomonas putida* であると同定した。本菌がヘキサン、キシレン、トルエン等に耐性をもつこと、特にトルエンをよく分解

しCO₂を発生させることを示した。さらにGC/MSや¹H-NMR等を用いて、トルエンの分解代謝物質を明らかにし、その代謝経路を推定した。

第3章では、海岸に多量打ち上げられ処理、処分の必要な海藻の微生物による分解、除去に関する基礎研究を行った。この研究ではカジメを材料とし、またカラム実験を採用し、分解に関与する細菌叢の変化に注目し検討した。その結果、海藻をよく分解する2種類の菌、*Vibrio alginolyticus*と*Pseudomonas chlororaphis*を分離した。またこれらの海藻の分解においては好気下では無機化し、嫌気下でアルギン酸を蓄積することを示した。さらに、窒素源の添加が海藻の分解を速めることを明らかにした。

第4章では、原油中に含まれ、悪臭をもつ2-n-アルキルチオフェンを分解する菌種を分離した。そしてその分解菌EK-9891が形態学的特徴、生理生化学的性質とGC含量から*Pseudomonas fluorescens*であると同定した。本菌が各種の2-n-アルキルチオフェンを分解し、抗生物質の修飾剤である2-n-チオフェイン酢酸を生成すること、ペプトン等の窒素源の添加が、分解効率を上げることを示した。また2-n-アルキルチオフェン類の分解経路を明らかにするため、GCやGC/MSを用いて、その分解生成物を同定し、その分解がβ-酸化により行われ、最終的に2-n-チオフェイン酢酸を生成することを明らかにした。なお、この2-n-チオフェイン酢酸の生成は廃棄過程での付加価値の高いものへの変換であり、実に有益なことである。

第5章では、酸性雨により酸性化された土壤や湖沼等でも生育できる、酸・アルミニウム耐性菌初めて分離(ST-3991)している。本菌が形態学および生理生化学的性質やGC含量およびキノン分析により*Flavobacterium* sp.であると同定した。また本菌株がpH 3.0の耐酸性(Al 100ppm存在下で)とアルミニウム耐性(pH 3.5, 2000 ppm)を持つ特徴を明らかにした。さらに、本菌株が酸性土壤条件下でイオン化するアルミニウムを吸着させるとともに、菌体内にも吸収する能力を持っていること、pHを上昇させる機能を持つことなどの新知見を得た。

このように本研究は、いわゆる環境問題を地球規模から、地域問題までとらえ、そこから五つのターゲットを設定し、環境微生物学的に取り組み、それぞれの汚染物質の分解菌を単離、それぞれの微生物の形態的特徴、生理生化学的性質等により同定し、ついで代謝物質を検索、同定し、それらの代謝経路を推定、または初めて明らかにしたものである。これらの基礎研究は、今後、これらの環境汚染物質の分解と除去に向けての応用の可能性を示唆するものであり、良き礎となると述べている。

審 査 結 果 の 要 旨

主査および副査の5名は、平成7年8月9日、静岡大学農学部において学位申請者に対し公開論文発表をさせた後、12時30分から13時30分まで学位論文審査を行なった。発表論文の要旨は別紙の通りであり、その要点は以下のごとくである。

近年、地球規模での環境汚染の進行が危惧され、重要な社会問題となっている。これらの汚染物質の発生防止はもとより、すでに拡大、また拡大しつつある汚染物質の分解、除去を図ることは重要である。そこで微生物学的手法による分解、除去を目的として本研究

がなされた。すなわち環境汚染物質としてまず原油に、またそれを源とする各種有機溶媒、特にトルエンに、さらに石油成分で、悪臭の2-n-アルキルチオフェンに着目した。また、地域的汚染物質として、海岸に打ち上げられた海藻処理にも注目した。一方、酸性雨等よりもたらされる土壌等の酸性化により二次的に生じ、生物に阻害的に働くアルミニウムにも注目し、前記いずれの汚染物質等についても分解、除去する分解菌、耐性菌等を分離し、形態学的特徴、生理生化学的性質、また代謝様式について基礎研究がなされた。

第1章では、まず原油汚染を微生物によって分解、除去するため石油系炭化水素を分解する菌の検索を試み、EK-2991を分離し、この菌が形態学的特徴や生理生化学的性質から *Moraxella* sp. であると同定した。本菌が原油やケロシンのみならず比較的分子量の大きい炭化水素を分解することを示した。

第2章では、有機溶媒耐性菌のSH-2992を分離し、その形態学的特徴や生理生化学的性質、GC含量から *Pseudomonas putida* と同定した。本菌がヘキサシレン、キシレン、トルエン等に耐性を持ち、特にトルエンをよく分解しCO₂を発生させることを示した。さらにトルエンの分解代謝物質を明らかにし、その代謝経路を推定した。

第3章では、海岸に打ち上げられ処理、処分の必要な海藻の微生物による分解、除去の基礎研究を行った。この研究ではカジメをよく分解する細菌叢の変化に注目し、2種類の菌、*Vibrio alginolyticus* と *Pseudomonas chlororaphis* を分離した。またこれらの海藻は好気下では無機化し、嫌気下ではアルギン酸を蓄積することを示した。

第4章では、原油中に含まれ、悪臭をもつ2-n-アルキルチオフェンを分解する菌種を分離(EK-9891)し、その形態学的特徴、生理生化学的性質とGC含量から *Pseudomonas fluorescens* であると同定した。本菌が各種の2-n-アルキルチオフェインを分解し、抗生物質の修飾剤である2-n-チオフェイン酢酸を生成することを示した。また2-n-アルキルチオフェン類の分解生成物を同定し、その分解がβ-酸化により行われることを明らかにした。

第5章では、酸性雨等により酸性化された土壌等で生育できる、酸・アルミニウム耐性菌を分離(ST-3991)し、これを形態や生理生化学的性質、GC含量およびキノロン分析により *Flavobacterium* sp. と同定した。また本菌がpH3.0の耐酸性(Al 100ppm存在下で)とアルミニウム耐性(pH 3.5, 2000 ppm)を持つことを明らかにした。さらに、本菌が酸性土壌条件下でアルミニウムイオンを吸着、吸収すること、pHを上昇させることを示した。

これらの貴重な基礎研究は、今後、これらの環境汚染物質の分解と除去に向けての応用の可能性を示唆するものであり、良き礎となる成果であると考えられるが、更なる基礎研究の積み上げとともに、自然生態系より多くを学びながら進めるべきと考える。

本論文の審査委員会では、学力については意見は出なかったものの、論文について主として次の4点が指摘された。すなわち、(1)表題について：表題に修復という言葉があるが、内容では1章の一部に過ぎないから、大方の内容に即した言葉に修正してはという意見であった。そこでその意見を尊重し表題を「微生物による環境汚染物質の浄化と修復に関する研究」から「微生物による環境汚染物質の分解および除去に関する研究」に修正した。(2)分析条件について：2、3の点について、もっと詳細に記すこと。データ等正確に記すこと。(3)最新のレビューを読み、考察に入れること。(4)文章の不明快さ、冗長が目につき、修正すること。そこで、これらを中心に修正論文を作成し、再度、各審査委員に送付し、修正の確認をしていただくこととした。

平成7年10月上旬、惣田昱夫氏より各審査委員に修正論文が送られた。それを受けて、平成8年1月8日、15時30分から約2時間第2回の審査委員会が開かれた。席上まず本論分が改造でなく修正であることを確認した。ついて慎重に審査した。少々の不注意な誤りの修正を確認後、審査を終了することとした。

以上、修正等で多くの時間を必要としたが、最終的に、申請者は、岐阜大学大学院連合農学研究科博士課程修了者と同等以上の十分な学力および識見を有すると認め、博士（農学）の学位を与えるに十分な資格を有するものと判定した。