

Title	ポリビニルアルコール分解細菌並びに分解酵素の環境保全応用に関する基礎的研究
Author(s)	川越, 保徳
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/40954">https://hdl.handle.net/11094/40954</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	川越保徳
博士の専攻分野の名称	博士 (工学)
学位記番号	第 13382 号
学位授与年月日	平成 9 年 8 月 4 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文名	ポリビニルアルコール分解細菌並びに分解酵素の環境保全応用に関する基礎的研究
論文審査委員	(主査) 教授 藤田 正憲 教授 吉田 敏臣 教授 塩谷 捨明

## 論文内容の要旨

本論文は、経糸糊剤、乳化剤など多方面に使用され、排水あるいは環境中に排出・拡散されると対策の困難な物質の一つであるポリビニルアルコール (PVA) をとり上げ、本物質の分解細菌及び分解酵素の排水処理並びに環境修復への応用を目的として行った基礎的な研究の成果をまとめたものであり、緒論、本論 3 編、総括並びに結論からなっている。

緒論では、PVA の用途とその処理法の現状に関する既往の研究ならびに本研究の背景及び目的と研究の意義について述べている。

第 1 編では、PVA 分解細菌の単離とその性質を明らかにしている。第 1 章では PVA に馴養された活性汚泥から新規の PVA 分解細菌を単離して *Pseudomonas vesicularis* var. *povalolyticus* PH と同定・命名し、栄養要求性等の諸性質を明らかにしている。第 2 章では、温度、pH、炭素源及び無機塩類等の生育環境因子の PH 株の生育と PVA 分解活性に及ぼす影響を調べ、最適生育環境条件に関する知見を明らかにしている。

第 2 編では、PVA 分解に関与する酵素の分離・精製を行い、その諸性質を明らかにするとともに、PH 株による PVA の分解機構を明らかにしている。第 1 章では、PVA の酸化を触媒する PVA 酸化酵素を培養液より精製してその諸性質を調べ、本酵素が広い基質特異性を示す 2 級アルコール酸化酵素であることを明らかにしている。第 2 章では酸化された PVA の加水分解を触媒する加水分解酵素を培養液より精製し、その諸性質を明らかにしている。第 3 章では、2 種の PVA 分解関与酵素の作用機作を調べ、PVA の分解機構を明らかにしている。

第 3 編では、PVA 分解細菌及び PVA 分解酵素の水処理及び環境修復技術への応用の可能性を明らかにしている。第 1 章では、PH 株の培養液及び菌体からの酵素の効率的回収法を明らかにしている。即ち、PH 株の増殖と PVA 分解酵素生産及びその菌体内外での分布を明らかにするとともに、浸透圧処理を利用して PVA 分解酵素が菌体内より効率的に回収できることを明らかにしている。第 2 章では、PH 株を活性炭に結合固定化し、これを用いた PVA 含有排水の処理を行い、通常の活性汚泥法に比較して菌体が活性炭内に高密度で安定に保持され、その結果高い PVA 分解活性を持続することを示し、菌体固定化法による PVA 処理の有用性を明らかにしている。第 3 章では、PH 株及びそ

の粗酵素液を用いて PVA 含有プラスチックフィルムの分解促進を行い、プラスチックの分解・減容化方法に対する有用微生物及び酵素利用の可能性を明らかにしている。

総括並びに結論では、以上の成果をとりまとめるとともに有用微生物及び酵素の環境保全への応用に関する将来展望を述べている。

## 論文審査の結果の要旨

年間20万トン生産され、経糸糊剤、乳化剤など多方面に使用されているポリビニルアルコール (PVA) は、難分解性物質の一つであり、環境中に拡散されると極めて自然浄化を受けにくいため、発生源での強力な対策が望まれる物質の代表例である。

本論文では新規な PVA 分解細菌を自然界より分離し、細菌及びこれが生産する分解酵素に関する微生物学的及び生化学的な研究を行うとともに、これを排水処理及び環境修復へ応用するための基礎的研究を行ったものである。

- (1) PVA 馴養活性汚泥から PVA 分解細菌を純粋分離し、*Pseudomonas vesiculohris* var. *povalolyticus* PH と同定・命名している。また、本株は、ビタミン B<sub>1</sub> 及びイソロイシン、フェニルアラニン、システインの3種類のアミノ酸共存下で PVA を単一炭素源として生育できることを明らかにしている。
- (2) PH 株の生育及び PVA の分解における至適 pH は7.0~7.5であり、生育至適温度は30~35°C、PVA の分解に関しては35~37.5°Cの範囲であることを明らかにしている。また、PH 株は PVA 以外の炭素源でも増殖因子を添加することで生育し、また PVA 分解酵素は構成的に生産されることを明らかにしている。さらに本株はマグネシウム及びカルシウムで増殖が促進されることを明らかにしている。
- (3) PVA 分解に関与する酵素のうち、まず PVA の酸化を触媒する PVA 酸化酵素 (PVAO) の精製を行い、その諸性質を調べている。その結果 PVAO は新規の2級アルコール酸化酵素で、分子量は約85,000、等電点は pI 5.7 でサブユニットを持たない単一蛋白質で等モル量の鉄原子を含む金属含有酵素であることを明らかにしている。
- (4) 次に、酸化(ケト)型 PVA の2量体モデル化合物である 2,4-ペンタンジオンを用い、これを加水分解する 2,4-ペンタンジオンヒドロラーゼ (2,4-PDH) の精製を行い、これが酸化型 PVA を加水分解することを明らかにしている。2,4-PDH の分子量は約75,000、等電点は pI 8.7でサブユニットを持たない単一蛋白質であることを明らかにすると共に、塩素や臭素を含む塩類により活性阻害を受けることを明らかにしている。
- (5) PVAO 及び 2,4-PDH を用いて PVA 分解機構を調べ、PVAO による酸化とそれに伴う主鎖の切断及び 2,4-PDH による酸化型 PVA の加水分解の2経路から成ることを明らかにしている。
- (6) PH 株からの PVA 分解酵素の効率的な回収方法として、蔗糖や NaCl を用いた浸透圧処理法が有効であることを明らかにしている。
- (7) PVA 分解細菌を活性炭に結合固定化し、効率的な排水処理が可能であることを明らかにしている。次いで、PVA を含有する生分解性プラスチックであるマタービーへ PH 株及び PVA 分解酵素を適用し、活性汚泥を用いた場合に比べてフィルムの重量低下速度が早く、且つ形が崩壊することを示し、マタービーの分解促進に対する PVA 分解細菌及び分解酵素の有用性を明らかにしている。

以上のように本論文では、PVA 分解細菌及び分解酵素に関する基礎的知見を明らかにするとともに、その環境保全への応用に関する知見を示し、有用微生物及び有用酵素を用いた環境修復に関する一つのモデルを提示したものであり、環境工学、及び環境保全工学の発展に寄与するところが大きい。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。