Osaka University Knowledge Archive

| | |
|---|---|
| Title | 新規o-キシレン分解菌の単離と揮発性芳香族炭化水素汚染土壌浄化への活用 |
| Author(s) | 瀧, 寛則 |
| Citation | 大阪大学, 2006, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/46863 |
| 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">大阪大学の博士論文について</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 | 瀧（たき）　寛（ひろ）　則（のり） |
| 博士の専攻分野の名称 | 博　士（工　学） |
| 学　位　記　番　号 | 第　２０３８１　号 |
| 学位授与年月日 | 平成 18 年３月 24 日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第４条第１項該当<br>工学研究科環境工学専攻 |
| 学　位　論　文　名 | **新規 *o*-キシレン分解菌の単離と揮発性芳香族炭化水素汚染土壌浄化への活用** |
| 論　文　審　査　委　員 | （主査）<br>教　授　池　　道彦<br>（副査）<br>教　授　水野　　稔　　教　授　清水　　浩　　助教授　下田　吉之 |


## 論　文　内　容　の　要　旨

BTEX に代表される揮発性芳香族炭化水素により汚染された土壌を安価に浄化・修復する手法の一つとして、分解微生物を利用するバイオレメディエーション法の適用が検討されているが、この場合、*o*-キシレンの分解が律速になる可能性が指摘されている。本研究は、バイオレメディエーションにおいて有効に活用できる新規の *o*-キシレン分解菌を単離し、そのバイオオーグメンテーションにより、排ガス処理を含めた汚染土壌浄化を効率的に達成する方法および条件を確立することを目的として行った一連の実験的検討の成果をとりまとめたものであり、緒論、５章からなる本論、および総括並びに結論から構成されている。

緒論では、本研究の背景を述べ、その目的を明示した。

第１章では、複数の土壌を用いて BTEX の生分解特性を調べ、これら各成分は容易に生分解されるものの、*o*-キシレンの分解は他の成分に比べて著しく遅いことを示し、効率的な BTEX 汚染土壌の浄化を達成するうえで *o*-キシレンの分解を促進することが重要であることを確認した。

第２章では、*o*-キシレン汚染土壌の浄化過程において PCR-DGGE 法により微生物相の変遷をモニタリングし、浄化が進むにつれて優占化し、*o*-キシレン浄化の主力を担っていたと考えられる新規の分解菌を単離した。ここで得られた分解菌は全て *Rhodococcus opacus* に分類され、本菌種が土壌における *o*-キシレン分解において重要な役割を果たしているものと考えられた。

第３章では、分離株の一つである *R. opacus* TKN14 株について、*o*-キシレン分解に関与する一連の遺伝子をクローニングして特徴付け、分解酵素が比較的広い基質特異性を示すことを明らかにした。

第４章では、*R. opacus* TKN14 株を植種するバイオオーグメンテーションによって *o*-キシレン汚染土壌の浄化効率を向上し得ることを実証するとともに、分解菌の挙動に影響を与え、浄化性能を左右する要因について検討した。分解菌を導入しないバイオスティミュレーション法では土着性の *o*-キシレン分解菌が有意な増殖を始めるまでに長時間のラグが認められたのに対し、バイオオーグメンテーション法では植種した TKN14 株が速やかに増殖し、*o*-キシレンの浄化に要する時間が著しく短縮されることを確認した。また、分解菌の植種量を増加させ、予め分解酵素の誘導を行っておくことによって、*o*-キシレンの浄化はさらに効率化されることを明らかにした。

第５章では、土壌浄化の実施に伴って排出される排ガス中の揮発性芳香族炭化水素の微生物浄化法に *o*-キシレン分

解菌を活用する試みを行った。バブルカラムを用いたBTEX含有ガスの浄化において、*R. opacus* TKN14株と土壌懸濁液を植種源とすることによって、排ガス処理に有効な微生物相をカラム内に迅速に構築することが可能であり、処理のスタートアップ期間を短縮できることを明らかにした。

総括および結論では、本研究で単離した新規*o*-キシレン分解菌*R. opacus* TKN14株を用いることで、排ガス処理を含めた*o*-キシレン汚染土壌浄化法の構築が可能であると結論するとともに、ここで確立した揮発性芳香族炭化水素浄化技術の今後の展望について述べた。

## 論文審査の結果の要旨

石油系炭化水素は、世界で最も主要な環境汚染物質のカテゴリーの1つであり、中でもベンゼン、トルエン、エチルベンゼン、キシレン（BTEX）に代表される揮発性芳香族炭化水素は、高い毒性を有していることから、早急な浄化対策が必要とされている。BTEXによる汚染環境の浄化には、バイオレメディエーションの適用が有効であるといわれているが、その浄化過程では*o*-キシレンの分解が律速となる可能性が指摘されていることから、分解菌を外部から導入するバイオオーグメンテーションの適用が必要であると考えられている。本論文は、*o*-キシレン分解菌のバイオオーグメンテーションによって、排ガス処理を含めたBTEX汚染土壌の浄化を効率的に達成する方法、および条件を確立することを目的として行った一連の研究成果をとりまとめたものであり、その成果を要約すると以下のようになる。

(1)複数の土壌を用いてBTEXの生分解特性を調べ、*o*-キシレンの分解が他の成分に比べて著しく遅いことを示し、効率的なBTEX汚染土壌の浄化を達成する上で*o*-キシレンの分解を促進することが重要であることを確認している。

(2)*o*-キシレン汚染土壌の浄化過程においてPCR-DGGE法により微生物相の変遷をモニタリングし、浄化が進むにつれて優占化し、*o*-キシレン浄化の主力を担うと考えられた新規の分解菌を単離し、これらが*Rhodococcus opacus*種であることを明らかにしている。

(3)分解菌の1つである*R. opacus* TKN14株について、*o*-キシレン分解に関与する一連の遺伝子をクローニングして特徴付け、分解酵素が比較的広い基質特異性を示すことを明らかにしている。

(4)*R. opacus* TKN14株を植種するバイオオーグメンテーションによって、*o*-キシレン汚染土壌の浄化に要する時間が著しく短縮されることを確認し、これが分解菌の速やかな増殖によることを明らかにしている。また、分解菌の植種量を増加させ、予め分解酵素の誘導を行っておくことによって、*o*-キシレンの浄化がさらに効率化されることを明らかにしている。

(5)バブルカラムを用いたBTEX含有ガスの浄化において、*R. opacus* TKN14株と土壌懸濁液を植種源とすることによって、土壌浄化に伴って排出される排ガスの処理に有効な微生物相をカラム内に迅速に構築し、処理のスタートアップ期間を短縮できることを明らかにしている。

以上のように、本論文は環境工学、特にバイオオーグメンテーションによる汚染土壌浄化技術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。