



Title	グルコン酸を水素供与体としたクロロエチレン類の嫌気性バイオレメディエーションに関する研究
Author(s)	藤井, 雄太
Citation	大阪大学, 2021, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/85300
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏名 (藤井雄太)

論文題名

グルコン酸を水素供与体としたクロロエチレン類の嫌気性バイオレメディエーションに関する研究

論文内容の要旨

本論文は、クロロエチレン類のバイオレメディエーションのための新たな水素供与体として、グルコン酸の有効性を明らかにすることを目的とした検討を実施し、その過程で得られた結果をもとに、水素供与体としてのグルコン酸の適用可能性を考察した一連の研究成果を取りまとめたものであり、緒論、計3章の本論、および総括ならびに結論で構成されている。

第1章では、グルコン酸のクロロエチレン類脱塩素化のための水素供与体としての有効性を検証することを目的として、グルコン酸を唯一の水素供与体として添加し、トリクロロエチレン (TCE) を脱塩素化する微生物集積系の構築を試みた。その結果、構築した集積系では、植え継ぎを繰り返してもTCEからクロロエチレン (VC) への脱塩素化ならびにVCの消失が安定して生じることが確認され、グルコン酸がTCE脱塩素化の水素供与体として利用可能であることが示された。他方、微生物叢の解析結果から、本研究で構築した集積系は、乳酸やメタノールなど、他の水素供与体を用いて形成される集積系とは異なる独特の微生物構成を有することが明らかとなった。微生物叢に占める *Dehalococcoides* 属や他の脱塩素化微生物の割合は少なかったものの、*Trichococcus* 属と *Malikia* 属が優占し、これらの微生物がグルコン酸を分解し、クロロエチレン類の脱塩素化に不可欠となる嫌気環境の形成と水素供給に大きく寄与したものと推察された。

第2章では、グルコン酸が多種多様な地下水におけるクロロエチレン類の嫌気分解及び完全脱塩素化を促進し得るかを検証することにより、その汎用性を評価した。クロロエチレン類で汚染された異なるサイトから採取した様々な微生物叢を持つ地下水を使用し、唯一の水素供与体としてグルコン酸を用いてTCEの脱塩素化試験を実施した結果、脱塩素化速度は地下水により異なったものの、使用した5種類の地下水全てにおいてクロロエチレン類の完全脱塩素化が達成された。全ての地下水で脱塩素化の進行に伴ってグルコン酸由来の溶存性有機体炭素濃度が減少し、*Dehalococcoides* 属細菌の16S rRNA遺伝子数と *vcrA* 遺伝子数が大きく増加したことから、グルコン酸の分解により発生した水素を *Dehalococcoides* が利用し、クロロエチレン類の脱塩素化が進行したことが示唆された。また、元々は脱塩素化能力が低く、TCEの完全脱塩素化に長い期間を要した地下水に対しても、グルコン酸の添加を繰り返すことにより、脱塩素化に関連する全ての遺伝子数が大きく増加し、有害な代謝物であるVCを長期蓄積することなく、完全脱塩素化を速やかに進行させることが可能となった。以上より、グルコン酸は異なる性状や微生物叢を持つ地下水に添加しても、TCEをはじめとしたクロロエチレン類の嫌気分解を促進し、完全脱塩素化を可能とする、汎用性の高い有望な水素供与体であることが示された。

第3章では、グルコン酸が実地下水汚染サイトにおいてもクロロエチレン類脱塩素化のための水素供与体として利用可能かを検証するため、TCEと *cis*-1,2-ジクロロエチレン、VCで汚染された地下水汚染サイトでグルコン酸注入による浄化実証と地下水質のモニタリングを行った。その結果、グルコン酸の注入により *Dehalococcoides* 属細菌の増殖が認められ、620日でクロロエチレン類濃度が全て基準値以下となり、浄化目標が達成された。グルコン酸の注入により地下水質 (pH、酸化還元電位、全有機体炭素濃度) に変化が見られたが、その影響は一時的なものであり、時間経過に伴い元の状態に回帰した。すなわち、グルコン酸は、パイロットスケールの浄化実証でも、クロロエチレン類脱塩素化のための水素供与体として有効であることが検証された。また、本浄化実証では他の水素供与体を使用した事例に比べて短期間で浄化を達成したことから、浄化速度や効果の持続性の面でも他の水素供与体に対して優位性を有する可能性が高いものと考えられた。

総括ならびに結論では、以上の各章における成果を整理し、グルコン酸を用いることでクロロエチレン類のバイオレメディエーションの工期を短縮し、低コスト化できる可能性が高いことから、水素供与体としての適用可能性が大きいことを結論付けるとともに、今後の課題と展望を述べた。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (藤 井 雄 太)		
	(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	教授 池 道彦
	副 査	教授 近藤 明
	副 査	准教授 井上 大介

論文審査の結果の要旨

クロロエチレン類は、各地で土壌・地下水の汚染が確認されている重要な環境汚染物質である。比較的低濃度のクロロエチレン類汚染に対する有望な浄化技術として、クロロエチレン類を嫌氣的に脱塩素化する微生物代謝を活用した嫌気性バイオレメディエーションが注目されているが、効率的な浄化のためには強い嫌気環境の形成に寄与し、脱塩素化の水素供与体として機能する有機物の投入により、脱塩素化微生物を増殖・活性化させることが不可欠である。

本論文は、クロロエチレン類の嫌気性バイオレメディエーションのための新たな水素供与体として、グルコン酸の有効性を明らかにすることを目的とした一連の検討の結果を取りまとめたものであり、緒論、計 3 章の本論、および総括ならびに結論で構成されている。

第 1 章では、グルコン酸がクロロエチレン類脱塩素化の水素供与体として利用可能であることを検証することを目的として、グルコン酸を唯一の水素供与体として用い、汚染土壌からトリクロロエチレン (TCE) を脱塩素化する微生物集積系の構築を試みている。その結果、TCE からクロロエチレン (VC) への脱塩素化ならびに VC の消失が安定して生じる集積系を構築することに成功し、グルコン酸が TCE 脱塩素化の水素供与体として利用可能であることを検証している。他方、微生物叢の解析結果から、本研究で構築した集積系は、乳酸やメタノールなど、他の水素供与体を用いて形成される集積系とは異なる独特の微生物構成を有することを明らかとしている。また、その解析結果から、微生物叢に占める *Dehalococcoides* 属や他の脱塩素化微生物の割合は少なかったものの、*Trichococcus* 属と *Malikia* 属が優占し、これらの微生物がグルコン酸を分解し、クロロエチレン類の脱塩素化に不可欠となる嫌気環境の形成と水素供給に大きく寄与したものと推察している。

第 2 章では、グルコン酸が多様な地下水におけるクロロエチレン類の嫌気分解及び完全脱塩素化を促進し得るかを検証することにより、その汎用性を評価している。唯一の水素供与体としてグルコン酸を用い、クロロエチレン類で汚染されたサイトから採取した様々な微生物叢を持つ地下水による TCE の脱塩素化試験を実施し、地下水により脱塩素化速度は異なるものの、使用した 5 種類の試料全てにおいてクロロエチレン類の完全脱塩素化が達成されることを見出している。全ての地下水で脱塩素化の進行に伴ってグルコン酸由来の溶解性有機体炭素濃度が減少し、*Dehalococcoides* 属細菌の 16S rRNA 遺伝子数と *vcrA* 遺伝子数が大きく増加することを明らかにし、グルコン酸の分解により発生した水素を *Dehalococcoides* が利用し、クロロエチレン類の脱塩素化が進行したことを示唆している。また、元々は脱塩素化能力が低く、TCE の完全脱塩素化に長い期間を要した地下水に対しても、グルコン酸の添加を繰り返すことにより、脱塩素化に関連する全ての遺伝子数が大きく増加し、有害な代謝物である VC を長期蓄積することなく、完全脱塩素化を速やかに進行させることが可能となることを明らかにしている。以上より、グルコン酸は異なる性状や微生物叢を持つ地下水に添加しても、クロロエチレン類の嫌気分解を促進し、完全脱塩素化を可能とする、汎

用性の高い有望な水素供与体であることを示している。

第 3 章では、グルコン酸が実地下水汚染サイトにおけるクロロエチレン類の嫌気性バイオレメディエーションに利用可能であることを実証するため、TCE、cis-1,2-ジクロロエチレン、VC の複合汚染が見られる地下水汚染サイトでグルコン酸注入による浄化実証を行っている。その結果から、グルコン酸の注入により *Dehalococcoides* 属細菌が増殖することを確認し、620 日でクロロエチレン類濃度が全て環境基準値以下となり、浄化目標が達成されることを明らかにしている。グルコン酸の注入により地下水質（pH、酸化還元電位、全有機体炭素濃度）は変化したものの、その影響は一時的なものであり、時間経過に伴い元の状態に回帰することを確認し、グルコン酸は、パイロットスケールの浄化実証でも、クロロエチレン類脱塩素化のための水素供与体として有効であることを明らかにしている。また、本浄化実証においては他の水素供与体を使用した事例に比べて短時間で浄化を達成したことから、グルコン酸は、浄化速度や効果の持続性の面でも他の水素供与体に対して優位性を有する可能性が高いものと考察している。

総括ならびに結論では、以上の各章における成果を整理し、グルコン酸を、クロロエチレン類の嫌気性バイオレメディエーションの工期を短縮し、低コスト化できる可能性が高いことから、有望な水素供与体であることを結論付けるとともに、今後の課題と展望を述べている。

以上のように、本論文は、研究室における一連の実験及び実汚染サイトでの検証を通じて、クロロエチレン類汚染環境の嫌気性バイオレメディエーション技術の発展に寄与する重要な知見を導出している。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。