

氏名(本籍)	おか だ ひで き 岡 田 秀 樹 (埼 玉 県)
学位の種類	博 士 (農 学)
学位記番号	博 乙 第 1895 号
学位授与年月日	平成15年1月31日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
審査研究科	生命環境科学研究科
学位論文題目	<i>Mycobacterium</i> sp. G3株におけるジベンゾチオフェン脱硫系の解析
主 査	筑波大学教授 農学博士 内 山 裕 夫
副 査	筑波大学教授 工学博士 向 高 祐 邦
副 査	筑波大学教授 農学博士 小 林 達 彦
副 査	筑波大学助教授 農学博士 中 村 顕

### 論 文 の 内 容 の 要 旨

近年の産業の発展に伴い、自動車や工業煤煙等に起因する大気汚染が問題視されるようになった。特に、社会の利便性を支えるために発達してきたトラック物流関係から排出される硫黄酸化物が注目されている。そこで、我が国では燃料油であるディーゼル油（軽油）に含まれる硫黄濃度を法的に規制する方策が布かれている。その規制値は段階的に低く設定されてきており、近い将来は更に低く規制されるものと見られている。しかしながら、従来商業運転されている水素化脱硫プロセスの延長技術では多量の水素とエネルギーが要求され、環境へ大きな負荷をもたらすことが予見されている。このような背景から、環境調和型の新たな石油脱硫技術の開発が望まれており、バイオテクノロジーを適用したバイオ脱硫（BDS）プロセスが提案されている。

本研究の目的は、BDS触媒として利用が期待されている脱硫菌 *Mycobacterium* sp. G3株の諸特性を明らかにすることにより、BDS触媒の開発に同株の適用を提案するものである。尚、軽油には多種多様な硫黄化合物が含まれており、軽油に重点をおいた脱硫研究を進めることは困難である。軽油の詳細な分析結果から、軽油には4,6-dimethyldibenzothiophene (4,6-dimethyl DBT) に代表されるアルキルDBTが著量存在することが知られている。従って、アルキルDBT等のチオフェン化合物を作製し、各種硫黄化合物のライブラリーを構築した。本研究は、このライブラリーを用いて行い、得られた結果を軽油の実験に適用した。

本研究では、*Mycobacterium* G3株の脱硫活性の発現に適した培養方法と脱硫反応条件の至適化を行い、各種モデル化合物を用いてDBTの代謝経路と脱硫スペクトルを明らかにした。この結果は、従来の脱硫菌（野生型）には報告されていない高い脱硫活性と広い脱硫スペクトル（基質取り込み能および分解能）を示した。更に、モデル化合物を用いて蓄積した実験結果を軽油の脱硫反応に適用した結果、既に高脱硫菌として育種された遺伝子組換え菌 *Rhodococcus* KA2-5-1/pRKPBP株より優れた脱硫効率が得られた。

以上の研究の過程で、基質（アルキルDBT）の分子量の増大に従い反応性が極端に低下することが観察された。従って、BDSシステムの反応性の向上を狙い、*Mycobacterium* G3株を用いた油水二相系反応における反応速度論的解析を行った。基質の疎水性に着目して解析を行った結果、分子量が大きいアルキルDBTで問題視されている反応性の低下の要因は、 $V$ 値の低下と $K_m$ 値の上昇であり、特に後者が問題であることを明らかにした。これら基質の疎水性と脱硫活性の相関から、油水二相系反応における脱硫反応の成立には基質の疎水性が深く関わっていることを明らかにした。また、溶媒が及ぼす脱硫活性への影響についても検討し、基質のみならず溶媒の疎水

性も脱硫反応に関わることを見出した。

以上の結果から、*Mycobacterium* G3株が脱硫触媒として優れた形質を有し、BDS触媒開発において*Mycobacterium* G3株が有効であることを明らかにした。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

自動車が工業煤煙等に起因する大気汚染を防止するためにディーゼル油（軽油）に含まれる硫黄濃度が規制されているが、化学的に硫黄化合物を除去するプロセスでは多量の水素とエネルギーを必要とする。本研究では代替技術としてバイオテクノロジーを適用したバイオ脱硫プロセスに着目し、その可能性について検討を加えたものであり、所期の目的を達成している。

まず、脱硫菌 *Mycobacterium* sp, G3株と軽油中の代表的硫黄化合物であるアルキルジベンゾチオフェン（アルキルDBT）を用いて、脱硫活性の発現に適した培養方法と至適脱硫反応条件を明らかにした。また、DBTの代謝経路と脱硫スペクトルを明らかにし、本菌株は従来の脱硫菌（野生型）にはない高い脱硫活性と広い基質特異性を有す事を示した。本知見は実用上極めて有利であり、注目に値する。

さらに、アルキルDBTの分子量増大に伴い分解反応が低下する現象を見出したため、分解反応の向上化を目指して油水二相系反応の反応速度論的解析を行った。この結果、高分子量アルキルDBTの反応速度低下原因には、基質の疎水性が深く関わっていることを明らかにし、また、基質のみならず溶媒の疎水性も脱硫反応速度に関わることを見出し、バイオ脱硫プロセスの特性を明らかにし得たが、以上のような反応速度低下要因をどの様にして解消するかは今後の課題であろう。

以上のように、本研究は *Mycobacterium* G3株を用いたバイオ脱硫プロセスの開発へ道を開いており、基礎・応用の面から高く評価出来る。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。