

氏名(本籍)	原 英 里 (滋賀県)
学位の種類	博士(生物工学)
学位記番号	博甲第6517号
学位授与年月日	平成25年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	生命環境科学研究科
学位論文題目	食品残渣由来コンポストを用いた油汚染土壌浄化における有効性評価
主査	筑波大学教授 農学博士 内山裕夫
副査	筑波大学教授 博士(農学) 青柳秀紀
副査	筑波大学准教授 博士(工学) 野村暢彦
副査	筑波大学准教授 博士(学術) 中島敏明

論文の内容の要旨

油による環境汚染は、揮発性有機物による汚染と並んで世界的にも代表的な社会問題となっている。その対策の一つとして、微生物機能を用いて環境修復を行うバイオレメディエーションが期待されている。本技術の有効な実施には、汚染浄化現場での分解微生物の活性向上が必須であり、栄養塩の添加や分解微生物の導入をどのように行うかが浄化効果の決め手となる。一方、食品廃棄物の有効処理は循環型社会の構築に欠かせない問題となっており、そのコンポスト化が期待されている。しかし、コンポストの農地還元は限界状況にあるため、新たな用途が求められている。本研究では、石油による環境汚染と食品廃棄物の増大という2つの環境問題を同時に解決するため、食品残渣由来コンポストの油汚染土壌への適用を試みた。すなわち、バイオレメディエーションにおいて汚染土壌へのコンポスト添加による油の浄化効果を確認するとともに、油分解菌の挙動を定量的に把握し、食品残渣由来コンポストの有効性について評価した。

まず、バイオレメディエーションの有効性を左右する油分解菌の挙動について遺伝子レベルでモニタリングするため、主要な油分解酵素遺伝子である *alkB*、*alkM*、C12O 遺伝子、C23O 遺伝子を検出するためのPCRプライマーの設計を行った。設計したプライマーの有効性についてPCR-DGGE法、シーケンス解析および系統解析にて評価した結果、特異性は高いとはいえないが、real-time PCRで当該遺伝子の定量に支障をきたす影響はなく、油分解菌を幅広く検出可能なプライマーを設計することが出来た。

次いで、食品残渣由来コンポストに加え、栄養塩、キノコ類、微生物製剤を浄化促進剤として油汚染土壌に添加し、バイオレメディエーションを行った。その結果、各浄化促進剤による効果が確認されたが、特にコンポストによる浄化促進効果は顕著であり、難分解性画分であるレジンの分解に対しても有効であった。また、上記プライマーを用いて各油分解酵素遺伝子を定量した結果、浄化促進剤を油汚染土壌に添加することで油分解遺伝子が誘導・活性化されたことが明らかとなった。特に、コンポスト添加は他の浄化促進剤と比較して、*alkM* 保有菌株およびC23O 遺伝子保有菌株の誘導に効果的であり、この原因はコンポスト作製過程においてコンポストに含まれる有機物が代謝されることにより油分解菌が活性化されたことが考察された。

さらに、コンポストを用いたバイオレメディエーションの効率化に向け、油の難分解性画分であるレジンの

を対象とした分解菌のスクリーニングを行った。その結果、新奇レジンを分解菌である *Sinorhizobium* 属細菌の取得に成功した。*Sinorhizobium* 属細菌は根粒菌であり、ムラサキウマゴヤシと共生関係にあることから、本植物の根をコンポストの原料として使用することで、バイオレメディエーションの効率化を向上し得る事が示された。

審査の結果の要旨

土壌の油汚染と廃棄物の処理・有効利用のいずれも循環型社会の構築には避けて通れない社会問題である。本研究は、相異なる分野にある個々の問題を連携させることによって、新たな環境ビジネスを創成しようとする画期的な発想によって開始されている。その着眼点は大いに評価できる。さらに、コンポスト等の資材を用いたバイオレメディエーションを行うことによって、油分解菌の挙動を定量的に把握し、コンポストの作製原料がバイオレメディエーションの有効性を大きく左右することを明らかにした。さらに、バイオレメディエーションの効率化には、難分解性画分であるレジンの分解を促進する必要がある、この対策として、レジンを分解菌として根粒菌を単離したことを踏まえコンポスト原料にムラサキウマゴヤシの根を選択することが有効であることを提案した。

以上のように、本研究で得られた成果は、今後のバイオレメディエーションの在り方に有効な知見を与え、当浄化技術の新たな発展が期待される。

平成 25 年 1 月 23 日、学位審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（生物工学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。