

京都大学	博士（工学）	氏名	木村 建貴
論文題目	微生物由来のシデロホアによる土壤中セシウムの除染に関する基礎的研究		
<p>（論文内容の要旨）</p> <p>本論文は、天然のキレート剤であるシデロホアが粘土鉱物に捕捉された放射性セシウムの溶出挙動に与える影響に関して、環境中に生息するシデロホア生産微生物を単離し、シデロホアと粘土鉱物の溶出試験やシデロホア生産微生物の培養試験を通じて、基礎的知見を獲得し、セシウム溶出メカニズムや微生物活動との相互作用について検討したものであって、9章からなっている。</p> <p>第1章は序論であり、シデロホアが粘土鉱物に吸着したセシウムの溶出挙動に影響を与える現象に関する未解明点と実環境に応用する上での問題点を示すと共に、次の2つの研究目的を設定することで、本研究の位置づけを明らかにしている。1) 微生物由来のシデロホアが粘土鉱物に吸着したセシウムの溶出挙動に与える影響に関する基礎的知見を取得し、メカニズム解明を試みること。2) 土壌-植物間におけるシデロホア生産微生物種、シデロホア生産微生物が粘土鉱物に与える影響および植物由来有機酸との相互作用を把握すること。</p> <p>第2章は、本研究で使用するシデロホア生産微生物の単離と生産されたシデロホアが先行研究と同様、粘土鉱物に吸着したセシウムの溶出挙動に影響を及ぼすことを示している。自生するクローバー根から400株の微生物を単離し、3株のシデロホア生産能力の高い微生物を選定した。微生物を培養後の培養液や生産されたシデロホア溶液を用いて、セシウム添加した粘土鉱物の振とう試験を行ったところ、溶出率は最大で66.9%（バーミキュライト）、47.0%（黒雲母）であり、先行研究と同様の効果を持つことがわかった。</p> <p>第3章は、第1章で設定した1つ目の目的について、粘土鉱物の種類の観点から行った検討の成果をまとめている。7種類の粘土鉱物とそのうち1つに人工的に風化処理を施した粘土鉱物、それぞれにセシウムを吸着させ、シデロホア溶液を用いた振とう試験を行った。その結果、粘土鉱物の膨潤性やセシウムの吸着能力によって、シデロホアがセシウム溶出挙動に与える影響が異なることを示した。また、シデロホアの存在により、セシウム溶出率は最大で12.3倍となった。</p> <p>第4章は、第1章で設定した1つ目の目的について、セシウム濃度の観点から行った検討の成果をまとめている。極低濃度のセシウム濃度との比較を行うため、放射性セシウムを添加した黒雲母試料をシデロホア溶液の振とう試験に供した。セシウム濃度が高い場合と比較して、シデロホアによるセシウム溶出率の増加率は2分の1になったものの、極低濃度のセシウム濃度であってもシデロホア存在下ではセシウム溶出率は2倍に増加し、溶出挙動に影響を与えることを示した。</p> <p>第5章は、第1章で設定した1つ目の目的であるメカニズムの解明についての成果をまとめている。第3章と第4章で行った振とう試験において、粘土鉱物の主要構成元素である鉄、アルミニウム、マグネシウム、ケイ素に着目して、これらの元素の溶</p>			

出挙動を測定した。また、セシウムと競合するアンモニウムイオンを添加することで、シデロホアが粘土鉱物に吸着したセシウムの溶出現象に与える影響の推察を行った。これらの実験結果から、以下のメカニズムを推察した。(1)まず黒雲母の層構造中に存在する鉄やアルミニウムなどの元素がシデロホアとキレート形成し、脱離する。(2)これらの元素が欠陥したことにより、構造に歪みが生じ、層構造が部分的に崩壊する。(3)フレイドエッジサイトやエッジ部分などの層間距離が開き、セシウムイオンの選択性が下がってゆき、やがて競合イオンとイオン交換し、セシウムが液相中に溶出する。

第6章では、第1章で設定した2つ目の目的について、シデロホア生産微生物種の検討に関する成果をまとめている。2つの土壌試料（JAEA土壌、川俣町土壌）から456株ずつ、合計912株の微生物を単離し、シデロホア生産能力の高い微生物として15株（JAEA）および2株（川俣町）を選定した。また、これらの土壌で栽培したクローバー根から211株（JAEA）、140株（川俣町）の微生物を分離し、シデロホア生産能力を有する8株（JAEA）、20株（川俣町）を分離した。これらの微生物は遺伝子解析により分類し、比較したところ、*Pseudomonas* 属と *Bacillus* 属は土壌試料および栽培根の両方において確認され、根域および根中でシデロホアを生産する可能性が指摘された。

第7章では、第1章で設定した2つ目の目的について、シデロホア生産微生物が粘土鉱物に与える影響に関する成果をまとめている。最小培地に粘土鉱物を添加し、シデロホア生産微生物を培養したところ、微生物の活動による粘土鉱物の構成元素の溶出と、溶出した元素の微生物の吸収利用の可能性が指摘された。特にイライトにおける鉄の溶解速度は $10\text{--}11.1\text{mol/m}^2\cdot\text{s}$ と大きかった。HPLCとICP-OESを組み合わせ分析したところ、液相中にはシデロホアが存在し、それらは鉄と結合していた。このことより、シデロホア生産微生物はシデロホアを生産し、粘土鉱物から鉄を溶出させていることがわかった。

第8章では、第1章で設定した2つ目の目的について、植物由来有機酸との相互作用に関する成果をまとめている。クローバーの生産する有機酸が乳酸であることを明らかにし、炭素源を乳酸とする培地に粘土鉱物を添加し、シデロホア生産微生物を培養した。乳酸の存在によってシデロホア生産微生物による黒雲母の溶解が促進されることがわかった。また、黒雲母に吸着したセシウムの一部は培地に溶解し、溶解したセシウムの多くは微生物や生成したバイオフィルム中に吸収されたとことが指摘された。

第9章は結論であり、本論文で得られた成果について要約し、今後の課題を示している。

氏名	木村 建貴
----	-------

(論文審査の結果の要旨)

本論文は、天然のキレート剤であるシデロホアを生産する微生物を単離培養し、シデロホアが粘土鉱物に捕捉された放射性セシウムの溶出挙動に与える影響について検討したものである。得られた主な成果は以下のとおりである。

- 1) 植物根から分離した 400 株の微生物からシデロホア生産能力の高い微生物を 3 株選定した。生産されたシデロホア溶液を用いた粘土鉱物の振とう溶出試験から、単離した微生物の生産するシデロホアが、粘土鉱物に吸着したセシウムの溶出を促進することを示した。
- 2) 7 種類の粘土鉱物とその内の一つに人工的風化処理を施した粘土鉱物、それぞれにセシウムを吸着させ、シデロホア溶液を用いた振とう溶出試験を行い、粘土鉱物種によって、シデロホアがセシウム溶出挙動に与える影響が異なることを示した。また、トレーサーレベルのセシウム濃度であっても、シデロホア存在下ではセシウム溶出率は 2 倍に増加することを示した。
- 3) 土壌中の微生物種と栽培した植物根中の微生物種の比較から、*Pseudomonas* 属と *Bacillus* 属は、根域および根中でシデロホアを生産する可能性を示した。また、シデロホア生産微生物は、シデロホアを生産し、粘土鉱物から鉄を溶出させていることを、HPLC と ICP-OES を組み合わせた分析により実験的に示した。加えて、植物由来有機酸（乳酸）の存在によってシデロホア生産微生物による黒雲母の溶解が促進され、これに伴い溶出したセシウムの多くは微生物や生成したバイオフィルム中に吸収された可能性を示した。

以上の結果は、シデロホア生産微生物の活動により粘土鉱物に吸着したセシウムの環境動態が影響を受けることを示すものであり、放射性セシウムの環境動態モデル確立、さらには土壌中放射性セシウムの除染に大きく貢献するものであって、学術上、実際上寄与するところが少なくない。よって、本論文は博士（工学）の学位論文として価値あるものと認める。また、令和 3 年 1 月 28 日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行って、申請者が博士後期課程学位取得基準を満たしていることを確認し、合格と認めた。なお、本論文は、京都大学学位規程第 14 条第 2 項に該当するものと判断し、公表に際しては、令和 4 年 3 月 22 日までの間、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。