

氏 名	吳 楓
学位(専攻分野)	博 士 (工 学)
学 位 記 番 号	工 博 第 1810 号
学位授与の日付	平成 11 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	工 学 研 究 科 衛 生 工 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	アゾ染料の微生物分解に関する研究

(主査)

論文調査委員 教授 寺 島 泰 教授 松 井 三 郎 教授 津 野 洋

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、難分解性の合成染料を含む排水の処理の効率化と高度化とを目標として、アゾ染料をとりあげ、混合微生物系あるいは白色腐朽菌による生物学的分解・脱色の機能と機構、並びに白色腐朽菌固定化法による回分処理の可能性を検討したもので、7章から構成されている。

第1章は序論で、既往の研究成果を考察し、本研究の目的と構成を示している。

第2章では、馴養汚泥や活性汚泥など、混合微生物系による4種のアゾ染料 (Reactive Red 22, Sunset Yellow FCF, Acid orange 6, Evans Blue) の脱色について、反応の環境条件や共存易分解性有機物の影響と関与する微生物の特性とを検討している。その結果、混合微生物系においてはアゾ染料は共役代謝によって脱色されることを確認し、この共役代謝においては、グルコース等の主要炭素源の代謝がアゾ染料の還元に必要な還元状態を生み出す役割を果たしていること、また混合微生物系反応の酸化還元電位が低いほど脱色速度が増大することなどを明らかにしている。

第3章では、含アゾ染料排水処理への白色腐朽菌の適用を目的として、*Phanerochaete chrysosporium* (以下P. *chrysosporium*) の増殖特性とアゾ染料の分解特性とについて検討している。その結果、P. *chrysosporium*の増殖の最適温度は30℃付近に、また最適pHは4付近にあること、さらに同菌の増殖にはチアミンが必須因子として関与していることなどを明らかにしている。また同菌はアゾ染料脱色の能力を持ち、脱色率は染料構造によって異なるものの、馴養汚泥系に比べて大きいことを明らかにしている。

第4章では、P. *chrysosporium*によるアゾ染料の脱色とリグニン分解酵素の発現との関係及びリグニン分解酵素発現のための培養条件について検討している。その結果、同菌はリグニンペルオキシダーゼ (LiP)、マンガンペルオキシダーゼ (MnP) を分泌するが、LiPは培地中の炭素源が消費された後に発現し、MnPは炭素源または窒素源が消費された後に発現すること、その後のLiPの発現にはベラトリルアルコールの存在が大きく関与していること、また菌体の内生呼吸の持続はアンモニア性窒素の生成による培地pHの上昇を招くが、適量の炭素源を供給することにより、pH上昇を抑制し、酵素活性を維持することができることなどを明らかにしている。さらに、同菌によるアゾ染料の脱色は、MnPのみ発現する窒素制限条件下よりも、LiPとMnPとが発現する炭素制限条件下において顕著であることを明らかにしている。

第5章では、まずリグニン分解酵素によるアゾ染料の脱色反応について検討している。すなわち、LiPとMnPとを含む粗酵素液はアゾ染料を脱色し、粗酵素濃度が高いほど脱色が促進されることを確認し、単位酵素当たりの脱色量として0.075mg/Uの値を得ている。また、P. *chrysosporium*によるアゾ染料 (Reactive Red 22) の脱色反応生成物を分析し、4-methoxy phenyl sulgnyl ethyl sulfiteを同定して、その分解経路を推定している。

第6章では、P. *chrysosporium*をポリウレタンフォームに付着・支持させた固定床式の回分処理装置により、炭素源、無機塩類、チアミンなどの存在条件下でアゾ染料の脱色処理を行い、この装置においてリグニン分解酵素が発現し、効率的な脱色反応が進行することを確認している。また、炭素源を一定の間隔で添加することにより、pH上昇の抑制、したがって

酵素活性維持期間の延長が可能であることを実証している。さらに、処理対象の染料がリグニン分解酵素の発現を阻害する場合には、酵素発現の後に染料と接触させることにより、脱色反応を進めうることを指摘している。

第7章は結論であり、本研究で得られた成果を要約している。

論文審査の結果の要旨

本論文は、着色排水処理法の効率化や開発の基礎として、アゾ染料を対象に、混合微生物系あるいは白色腐朽菌による生物分解の基礎的特性を検討し、同菌による回分処理を試みたものであり、得られた主要な成果は以下のとおりである。

1. アゾ染料は、馴養汚泥や活性汚泥など混合微生物反応系においては共役代謝によって脱色され、この共役代謝においては、グルコースなどの主要炭素源の代謝がアゾ染料の還元に必要な還元状態を生み出す役割を果たしていること、また酸化還元電位の低下と共に脱色速度が増大することなどを明らかにした。

2. 白色腐朽菌*P.chrysosporium*は、好気条件下でアゾ染料を脱色し、脱色反応は同菌が分泌するリグニン分解酵素（LiP, MnP）によるものであることを示した。またアゾ染料Reactive Red 22の脱色反応生成物について、アゾ結合の開裂によって生成した4-methoxy phenyl sulfinyl ethyl sulfiteを同定した。

3. *P.chrysosporium*の増殖特性、LiP及びMuPの発現と活性の維持に影響する主要な培養条件などを明らかにすると共に、LiPは炭素源が消費された後に、MnPは炭素源あるいは窒素源のいずれかが消費された後に発現することを示した。

4. *P.chrysosporium*を支持体に付着増殖させた生物固定型回分処理装置において、リグニン分解酵素の発現と効率的な脱色反応の維持が可能であることを示した。

以上要するに、本論文は、着色排水に含まれる難分解性のアゾ染料について、混合微生物系あるいは白色腐朽菌による代謝や、同菌のリグニン分解酵素の作用などの基礎的な特性を明らかにし、処理法の開発や効率化の基礎を与えたもので、学術上、實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、平成11年2月22日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。