

氏 名 パリーク サンディーブ **Pareek Sandeep**
 学位(専攻分野) 博 士 (工 学)
 学 位 記 番 号 工 博 第 1884 号
 学位授与の日付 平成 12 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 環 境 地 球 工 学 専 攻
 学位論文題目 **DEGRADATION OF LIGNOCELLULOSE UNDER ANAEROBIC CONDITIONS: THE EFFECT OF SULFATE REDUCING BACTERIA**
 (リグノセルロースの嫌氣的分解における硫酸塩還元菌の役割)

論文調査委員 (主 査) 教 授 松 井 三 郎 教 授 森 澤 眞 輔 教 授 津 野 洋

論 文 内 容 の 要 旨

本論文では、廃棄物埋立地におけるメタンガス発生が持続的ではあるものの希薄になり、その回収が技術的、経済的に困難になる後期段階において、嫌気性微生物による硫酸塩還元反応を活用し、層内からのメタン発生を制御して温暖化効果の抑止を狙いとするものである。また、同じ硫酸塩還元条件下でリグノセルロースを始めとする難分解性有機物の分解挙動を調査し、埋立物の効果的減容化に向けた科学的知見を得ようとしており、本論文の中心をなしている。本論文は8章より構成されている。

第1章は序論であり、本論文について概観し、研究の目的、意義付けを明らかにしている。

第2章では、既報の関連論文のレビューを踏まえながら研究背景について示している。メタン生成菌(MPB)、硫酸塩還元菌(SRB)、セルロース、リグニン、およびセルロース分解酵素に関する文献調査結果を網羅している。

第3章では、硫酸塩還元とメタン生成条件のそれぞれに維持された模擬埋立反応実験槽を用いてメタン発生抑制程度の差異を比較し、考察を行っている。累積メタン量は硫酸塩還元反応槽で効果的に抑制され、CO₂排出もメタン生成槽に比べて低減した。この現象について数理モデルを導入し、模擬埋立層からのガス排出量について記述を試みたところ、実験値とよく一致しモデルの有効性を実証した。

第4章では、難分解性有機物としてリグノセルロースの嫌氣的分解特性をその含有率(0-23%)やその質的相違(Avicelセルロース、ろ紙、オフィス用紙、新聞紙)に着目しながら評価している。調査した4種のリグノセルロース全てについて分解産物であるTOC成分(揮発性有機酸)流出とガス発生が認められ、その割合はメタン生成条件下よりも硫酸塩還元下の方が高く、分解速度は硫酸塩還元条件下でより優れていることを明らかにした。

第5章では、リグノセルロース分解過程におけるホロセルロースの初期分解速度の比較を硫酸塩還元とメタン生成との両条件で行っている。ホロセルロースの初期分解速度は、ホロセルロースの加水分解産物である糖の微生物体内への取り込みをトルエン添加によって阻害することで、推定することが可能である。グルコースやキシロースといった生成還元糖の培養液中の蓄積量はメタン生成条件よりも硫酸塩還元条件の方が高い。糖生成カーブの積分の結果から、例えば新聞紙セルロースの加水分解速度定数値は、硫酸塩還元条件の方がメタン生成条件より5倍も高くなった。SRBはセルロースの加水分解に重要で直接的な役割を果たすことが、アンスラキノンやモリブデンによりSRBの活性を阻害した後、グルコースの蓄積パターンの変化を追跡することでも明らかにした。しかし、SRBはヘミセルロースの加水分解には直接関与していないと推定された。

第6章では、リグニンの解重合産物であるフェノール酸の、硫酸塩還元とメタン生成の両条件における生成割合について実験的に比較している。硫酸塩還元条件では新聞紙のようなリグノセルロースに含まれるリグニンは比較的緩い速度で、しかし環境中では意義ある速度で分解されることを明らかにした。この分解事象は、フェノール酸の定量によっても裏付けら

れた。芳香環をもつフェノール酸はメタン生成状態では3種しか同定されなかったのに対し、硫酸塩還元状態では8種が確認された。硫酸塩還元状態では、検出されるフェノール酸の化合物数は経時的に増加し、リグニンの嫌氣的解重合、分解が示唆された。分解過程についてより知見を得るために、リグニンのモノマー間主要結合である β -O-4結合を有するリグニンモデル2量体を化学合成し、その分解について調べた。合成されたモデル物質は、硫酸塩還元下3週間の培養で完全に分解されたのに対し、メタン生成下では、完全分解までに33日を要し、かつ他の炭素源の添加を必要とした。

第7章では、硫酸塩還元状態の培養菌液からのセルロース分解酵素の精製とキャラクタリゼーションについての成果をまとめている。セルロース加水分解に関与する一連の酵素群が全て細胞外に遊離して培養液中に存在していることを突き止め、中でもendo- β -1, 4-glucosaseについては4種類が単離、精製された。この酵素は11-13 KDaの範囲の分子量を有し、好熱細菌 *C. thermocellum* のendo- β -1, 4-glucosase (45-200 KDa) と比較して極めて小さなサイズであることが判明した。

第8章は、研究で得られた知見をまとめ、今後の研究展開に言及することによって終論としている。

論文審査の結果の要旨

本論文は、廃棄物埋立地において積極的に硫酸塩還元微生物反応を活用することで、メタンガスと二酸化炭素の発生を抑制し、同時に難分解性有機物であるリグノセルロースの分解促進を図ることを目的としている。得られた研究成果は以下のように要約される。

1. 埋立地を模して設計された嫌氣的硫酸塩還元およびメタン生成カラムを用いた比較実験では、硫酸塩還元カラムでメタン排出量を顕著に減少させることを発見している。加えて、二酸化炭素ガス排出量もメタン生成条件時よりも低く抑えることができ、浸出水に溶解した形で回収することが可能であるという結果を得ている。廃棄物処分地からの温暖化ガス発生抑止の方策を考慮する際に本研究は有用な知見を提供している。

2. リグノセルロースの分解について、分解産物であるTOC成分(揮発性有機酸等)や発生ガスの分析から、硫酸塩還元状態における分解速度はメタン生成状態のそれに比べて速く、新聞紙セルロースの場合、その比は5倍にも上り、硫酸塩還元菌の分解能の高さを実証している。

3. 硫酸塩還元菌はセルロース加水分解においても重要で直接的な機能を果たすことを見出している。酵素学的アプローチを行ったところ、硫酸塩還元菌の産生するセルロース分解酵素は他の嫌気性菌のもつそれと比べて低分子で特異的な性質を持つことを明らかにしている。

4. 嫌気条件では極めて難分解とされるリグニンが、硫酸塩還元状態で解重合を受け、芳香族フェノール化合物まで分解されることを確かめている。リグノセルロースの分解を硫酸塩還元条件で迅速に進行させることは、埋立地の安定化を加速させ、埋立後の土地利用を進める上で意義深いことと考えられる。

以上、本論文にまとめられた廃棄物埋立地における新しい温暖化ガス対策と安定化促進に関する研究成果は、学術上、実際に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12年1月14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。