

論文題目

サラダ油分解微生物の分離方法と活用に関する研究

長崎大学大学院生産科学研究科

村岡 陽

我が国では昭和 50 年に告示された建設省告示第 1597 号によって、排水中に油分を含む事業所は阻集器を必ず設置し、排水中からこれを除去することが義務付けられている。阻集器は一般的にグリーストラップと呼ばれ、レストランの厨房などに設置されている。グリーストラップ内には大量の油が滞留し、放置しておくとも悪臭や害虫の発生原因となるため、従業員は殆ど毎日、グリーストラップ内の清掃をする必要があり、大変な負担となっている。一方で自然が有する自浄作用に関する研究は古くから行われており、その作用の中心は微生物によることが知られている。化学的、物理的処理とは異なり生分解処理を原理とするバイオレメディエーション技術は汚染物質処理時に二次産物を生成せず、原理的には汚染サイトで原因物質を無機物にまで分解できる。しかし、微生物を用いた汚染物質の浄化は、汚濁が深刻化すればするほど処理に長い時間を要するという問題点がある。油分を含む排水を生分解処理する技術開発も多く行われており、油脂を特異的に分解する *Acinetobacter* や *Pseudomonas*, *Rhodococcus* などの微生物も発見されている。だが、これらの研究の多くは実際のグリーストラップ内に滞留する油脂濃度よりもはるかに低い条件で評価されており、また、油脂濃度条件を満たす試験では分解に長い時間を要するのが現状である。

そこで本研究では現場での実際の運用に耐え得るこれまで以上に高い濃度の油脂を短時間に分解処理可能な微生物の分離とその能力評価を目的とした。

第 1 章は緒言であり、本研究の背景を述べるとともに従来の研究を紹介し、本研究の目的を明確にした。

第 2 章では、試料採取の方法、および試料について述べている。採取した試料から油脂分解微生物分離に供する試料を選抜するため、試料の油脂分解能力を評価した。結果、10% を超える油脂分解率を示した試料が 60 検体中、19 検体あり、その中でも最も高い分解率 18.9% を示した試料 N-001 から油脂分解微生物を分離することとした。

第 3 章では、試料 N-001 より油脂分解微生物を分離した手順についてまとめた。一般的に油脂分解には複数の微生物が関与していることが知られており、場合によっては単離微生物よりも高い油脂分解能を示すことも報告されている。そこで単離微生物の保存と同時に、培地上に出現したコロニーを全て回収した後、油脂分解能を評価し、その微生物相を

DGGE 法により解析した。これまで寒天培地に出現したコロニーを全て回収しその能力を評価した例は無く、本方法は生物を利用した浄化システムを開発する上で必要な「培養可能微生物」を幅広く保存し、評価できる方法として有効である。また、CHG 耐性を利用した手法を試み、一般的な方法では分離不可能な微生物を獲得し、その有効性を DGGE 解析により確認した。この手法を用いて高い油脂分解能を有する Y1 株を単離できた。

第 4 章では、Y1 株が有するサラダ油分解特性についてまとめた。Y1 株を用いてサラダ油の分解処理を行うと、分解の過程でトリグリセリドが加水分解され生じる遊離脂肪酸の増加により培地の pH が低下する。この pH の低下は培養液中のリン酸イオン濃度を増加させることによって緩和することができるが、アンモニアを含むリン酸塩を増加させるとその効果は見られなくなる。通常濃度の 10 倍のリン酸イオンを加えた培地を用いた場合、Y1 株は培地容量の約 3% の油脂を 3 日間で分解することを確認した。つまり、リン酸イオン濃度を調整することで、Y1 株はリン酸濃度未調整時と比較し約 2 倍量のサラダ油を分解することが可能となった。また Y1 株は培養温度 28°C~37°C の範囲で油脂分解能力を維持し、30°C で分解活性の最大を示した。さらに pH4~8 の範囲で増殖が可能であり、pH4 以下および pH10 以上で死滅した。

油脂分解微生物を分離するための集積培養中に優占種とならない Y1 株がこのような高い油脂分解能力を発揮することは非常に興味深い結果である。また、通常集積培養では目的の微生物を分離するため、炭素源、培養温度、培養期間などを設定するが、混在する微生物の増殖速度を考慮することはまれである。本研究では油脂分解微生物の分離を目的に遅増殖性微生物分離方法を用いたが、油脂分解微生物分離以外の目的においても本方法を活用する意義は大きい。

第 5 章は結言であり、本研究の成果をまとめるとともに今後の課題を指摘した。Y1 株は高い油脂分解能力を有しているが、増殖速度が遅く液体製剤として添加するだけでは土着微生物が優勢になることが考えられる。実験室レベルで他の分離株と混合し、油脂分解能を評価したところいずれも Y1 株単独条件よりも油脂分解率が低下した。Y1 株を実際に用いる場合はこの問題を解決し、常時 Y1 株の濃度が高くなる状況を作り出す必要がある。また、本研究ではサラダ油のみを対象に油脂分解能力評価を行ったが、排水中には様々な油脂類が含まれている。これら他の油脂に対する能力も今後評価する必要がある。

Y1 株を用いたグリーストラップ浄化システムの実現には、今後更なる調査、研究が必要だが、これまで注目されていなかった遅増殖性微生物を分離し、その油脂分解能力を明らかにした点で、本研究はこれまでに無い新しい成果を得た。