

環境・生命工学専攻	学籍番号	039401
申請者氏名	Irvan	

指導教員氏名	大門 裕之 藤江 幸一
--------	----------------

論文要旨(博士)

論文題目	超臨界二酸化炭素を用いた環境資料中キノンの抽出
------	-------------------------

(要旨 1,200字程度)

キノンプロファイル法とは、個々の分類群に対応して、通常一種類菌体中に存在しているイソプレノイドキノン等をバイオマーカーとして用いて、微生物群集を構成する微生物種と微生物量を解析するための手法である。菌体キノンはユビキノン類とメナキノン類の二つに大別され、前者は好気性条件下に後者は嫌気性条件下に多く存在する。近年、キノンプロファイル法は微生物の同定に用いられるだけでなく、菌体キノンをバイオマーカーとして用いる微生物群集構造解析に有用であることが証明されている。

微生物に含まれる菌体キノンは通常、有機溶媒を用いて抽出され、分析、解析という手順で行われる。しかしこの方法は、作業が煩雑で時間がかかる、有害な有機溶媒を使用するといった欠点がある。

近年、脱有機溶媒の社会的要請を受け、有機溶媒抽出の代替法として開発された超臨界流体技術の研究が、土壌汚染修復などの分野において盛んに行なわれている。その中でも超臨界二酸化炭素を抽出溶媒に用いた抽出法が、有機溶媒を用いた抽出法の代替法として研究が進められている。

そこで本研究ではまず、有機溶媒の代替として期待されている超臨界流体抽出（以下SFEと省略）法を用いて、本学の活性汚泥からキノンを抽出することを試みた。

その結果、超臨界二酸化炭素のみでもキノンを抽出することはできたが、従来法と比較してキノン量はかなり低く添加剤の検討が必要であった。そこでメタノール、アセトン、エタノールとクロロホルムなどの極性溶媒を添加剤として使用し、キノン抽出量を向上させることに成功した。なかでも、メタノールを添加剤として使用したとき、キノン抽出量が最も多くなった。

次に、超臨界二酸化炭素抽出を用いて菌体キノンを活性汚泥から抽出する最適化を行なった。最適条件を得るため、抽出パラメータ（抽出圧力、抽出温度、抽出時間、添加剤濃度）を調整した。乾燥活性汚泥から菌体キノンの抽出のscCO<sub>2</sub>抽出の最適化条件は、25MPa、55°C、15分抽出、10%（v/v）メタノール濃度であった。

続いて、基質の異なるさまざまな種類の活性汚泥に適用することを試みた。試料には本学の活性汚泥だけでなく、一般下水の中島廃水処理場、食品加工系廃水の平松食品株式会社、機械系廃水のアイシン・エイ・ダブリュ株式会社から提供してもらった活性汚泥を用いて、SFE法を用いたキノンプロファイル法を確認した。その結果、キノン抽出量は有機溶媒抽出と同等か、わずかに低くなった。また、2つの方法の間で得られる結果の違いを、多様性指標と非類似度を用いて推定した。多様性指標は、scCO<sub>2</sub>抽出法で11.99、有機溶媒法で11.95とほぼ同じであった。

最後に、環境サンプルとして堆肥及び土壌から菌体キノンを抽出することを試みた。この実験結果は、SFE法が有機溶媒を削減でき、迅速かつ簡便な方法であることを証明した。

本研究は、超臨界CO<sub>2</sub>抽出を用いてキノンプロファイルの微生物群集構造解析を行なうことが可能であることを示した。