

学 位 論 文 題 名

合成及び天然高分子の微生物分解に関する研究

学位論文内容の要旨

1960-70年代に於て、プラスチックなどの合成高分子化合物の廃棄物が社会的な問題となり、世界的に合成高分子の微生物分解の研究が行われた。その結果、ポリビニルアルコール、ポリエチレングリコールなど、一部のものについては微生物によって分解されることが明らかにされた。しかし、汎用プラスチックなど多くの合成高分子については、きわめて難分解性であることが次第に明らかになってきている。また、天然ゴムの微生物分解については従来から多数の報告があるが、その多くはゴム製品の微生物による劣化防止の観点からなされたものであり、ゴム高分子の分解機構等については殆ど明らかになっていなかった。

本研究では、このような背景の中で、

1. プラスチックとして大量に使用されているポリエチレン、ポリスチレン及び合成ゴム原料であるポリブタジエン、ポリイソブレンを取り上げ、これらの合成高分子の低分子量の同族体であるオリゴマーについて、分子量数百から数千の比較的高分子量まで炭素源として利用する能力のある菌を新しく自然界から分離して、これらの物質の分子量と生分解性の関係を検討した。
2. 固体状態の天然ゴムを炭素源としてよく生育する *Nocardia* 属の放線菌を新しく分離して、この菌株によるゴム手袋の分解について研究し、さらに配合・加硫条件の明らかな一連のゴムサンプルの分解試験を行った。また、*Xanthomonas* 属の細菌の菌体外酵素によるラテックス状態の天然ゴムの分解についても研究した。

本研究によって、合成高分子のオリゴマー分解菌の場合には生分解可能な分子量の上限があり、それ以上高分子量のポリマーは分解され難いことが明らかになった。一方、天然ゴムについては、加硫状態の天然ゴムが *Nocardia* 属の放線菌菌株によって、ラテックス状態の天然ゴムは *Xanthomonas* 属の細菌菌株が細胞外に分泌する酸素添加酵素によって、それぞれゴム高分子中の二重結合が切断されることを見いだして、炭化水素型の高分子化合物の生分解に関する微生物学および高分子化学的研究の発展に寄与した。

本研究の結果を要約すると、

1. 土壌より分離した *Alcaligenes* 属の細菌No.559株は、カチオン重合及びポリスチレンの熱分解によって得られる化学構造の異なるスチレンの2量体を資化または分解する能力を持っていたが、対応する構造を持つ3量体は、いずれも菌の作用を受けなかった。No.559株によって分解されなかったアニオン重合型のスチレン2量体についても、分解活性を示す混合菌群を得ることが出来た。この場合にも3量体はやはり分解されなかったが、対応する単量体（ヘキシルベンゼン）は分解された。
2. 軟化剤としてスクワランを加えてから超音波処理を行うことによって、分子量600あるいはそれ以上の固形のパラフィンワックスが培地中によく分散されるようになり、同時に *Acinetobacter* 属の細菌No.351株による生分解性も改善された。このような方法によって平均分子量600から800の市販のポリエチレンワックスも微生物によってある程度分解、資化されるようになった。
3. *Acinetobacter* 属の細菌No.351株は分子量500以下のブタジエンオリゴマーしか分解しなかったが、*Moraxella* 属の細菌No.912株は分子量1,000以上のブタジエンオリゴマーを分解することが出来た。分子量2,000以上のオリゴマーは培地に分散させることが困難であり、分散条件によって微生物分解性に差がみられた。また、分子量10,000以上のポリマーは培地に分散させることが出来ず、ほとんど生分解もされなかった。
4. 土壌より分離した細菌No.502株は分子量約1,000の合成のイソプレンオリゴマーを炭素源として生育することが出来た。本菌株は分子量1,000以下のオリゴマーでも完全には分解できず、また分子量2,500以上のオリゴマーを分解することが出来なかった。これは、オリゴマー中に存在する分枝構造が分解に対して阻害的に働くためと推定された。
5. 土壌より新しく分離した *Nocardia* 属の放線菌No.835株は、固体状態の天然ゴム及び合成のイソプレンゴムを唯一炭素源としてよく生育したが、ブタジエンゴム、クロロプレンゴム、スチレンブタジエンゴム等の合成ゴム類には生育できなかった。ゴム手袋の分解過程の研究によって、架橋状態のゴム高分子鎖が直接微生物によって切断されることを示した。また、分解中間体として生成するイソプレンオリゴマーの化学構造を決定し、ゴム分子鎖中の二重結合の切断反応を明らかにした。
6. 硫黄と加硫促進剤の量を変えた一連の加硫天然ゴムサンプルを作成して、No.835株による分解試験を行った結果、硫黄あるいは促進剤の量が多いほど分解しにくくなる傾向を示した。また、ここで用いた一連のサンプルでは架橋密度が生分解性を支配する主要な要因であるこ

とが示された。充填剤として炭酸カルシウムを加えた場合はほとんど生分解性に影響を与えなかったが、カーボンブラックを配合したサンプルは明らかに分解しにくくなった。

7. 新しく分離した *Xanthomonas* 属の細菌No.35株は培養濾液中にゴム分解酵素を生産することが示された。粗酵素によるゴムラテックスの分解反応生成物の化学構造を決定し、ゴム分解の酵素反応を定式化することが出来た。 $^{18}\text{O}_2$ 気相中における反応生成物 ($\text{A}_L\text{P}_2\text{A}_I$) に ^{18}O の取り込みがみられたことから、ゴムの分解反応は少なくとも部分的に酸素添加酵素によるものと推定された。

以上、天然及び合成の炭化水素型のポリマー及びオリゴマーを唯一炭素源として生育する微生物を分離して、高分子化合物の微生物分解に及ぼす分子量の影響を明らかにした。合成高分子のオリゴマーの場合は、各々のオリゴマーの化学構造に対応して固有の分解微生物が分離されたが、オリゴマーの分子量もまた微生物による分解性に大きな影響を及ぼすことが示された。高分子量のポリマーが分解され難い理由としては、分解菌の基質特異性の他にも、固体状の高分子を微生物の培養液中に細かく分散させることが難しいこと、および合成高分子の多くがミクロ分枝構造を持つことなどが挙げられる。ゴム分解菌の場合には分解可能な分子量の上限はなく、架橋したゴム製品や溶剤不溶性のゲル粒子のように実際上無限大の分子量を持つと見なされるものでも分解された。これは、本研究で明らかになったようにゴム分解菌が天然ゴムの分子鎖を切断する能力を持つことによって初めて可能になったものと考えられる。結論として、高分子量のポリマーの分解菌は分子鎖の切断能力を持つことが必要であり、分子鎖中に微生物によって切断可能な結合を持つような高分子は生分解可能であることが推定された。

学位論文審査の要旨

主 査	教 授	富 田 房 男
副 査	教 授	本 間 守
副 査	教 授	飯 塚 敏 彦

本論文は和文86頁、図46、表16、引用文献128、研究史、7章、和文および英文総括からなり、ほかに参考論文9編が付されている。

プラスチックなどの合成高分子化合物の廃棄物は埋立地においてもいつまでも腐らず、焼却処

理においても高温で炉を傷めるなど、社会的な問題となっている。合成高分子の微生物分解の研究も盛んに行われているが、汎用プラスチックなど多くの合成高分子については、きわめて難分解性であることが次第に明らかになってきている。一方、天然ゴムの微生物分解については従来から多数の報告があるが、その多くはゴム製品の微生物による劣化防止の観点からなされたものであり、ゴム高分子の分解機構等については殆ど明らかになっていなかった。

本研究では、4種類の炭化水素型の合成高分子のオリゴマーを炭素源として利用する能力のある菌を新しく自然界から分離して、これらの物質の分子量と生分解性の関係を検討すると共に、天然ゴムの微生物による分解機構を研究して、合成及び天然の炭化水素型の高分子の微生物分解に及ぼす化学構造と分子量の影響を明らかにしたものである。

第二編、研究史では、合成高分子及び天然ゴムの微生物分解に関する研究史について述べられている。

第三編合成高分子オリゴマーの微生物分解、第一章では、土壌より分離したスチレンオリゴマーの分解微生物は化学構造の異なる4種類のスチレンの2量体を資化または分解する能力を持っているが、対応する構造を持つ3量体はいずれも菌の作用を受けなかったことが述べられている。

第二章では、エチレンオリゴマーの微生物分解について述べられており、市販のポリエチレンワックスの培地中への分散条件を改善することによって、生分解性も向上することを示した。

第三章では、ブタジエンオリゴマーの微生物分解について述べられており、下記の内容が含まれている。

1. *Acinetobacter* 属の細菌No.351株は分子量500以下のブタジエンオリゴマーしか分解しなかったが、*Moraxella* 属の細菌No.912株は分子量1,000以上のブタジエンオリゴマーを分解することが出来た。
2. 分子量2,000以上のオリゴマーは培地に分散させることが困難であり、分散条件によって微生物分解性に差がみられた。

第四章では、イソプレンオリゴマーの微生物分解について述べられており、下記の内容が含まれている。土壌より分離した細菌No.502株は分子量約1,000の合成イソプレンオリゴマーを炭素源として生育することが出来た。オリゴマー中に存在する分枝構造が分解に対して阻害的に働くことが推定された。

第四編天然ゴムの微生物分解 第一章では、加硫天然ゴムの微生物による分解機構について述べられており、下記の内容が含まれている。

1. 土壌より新しく分離した *Nocardia* 属の放線菌No.835株は、固体状態の天然ゴム及び合成

のイソプレングムを唯一炭素源としてよく生育したが、その他の合成ゴムには生育できなかった。

2. 分解中間体として生成するイソプレノオリゴマーの化学構造を決定し、ゴム分子鎖中の二重結合の切断反応を明らかにした。

第二章では、加硫ゴムの配合薬剤の生分解に対する効果について述べられており、下記の内容が含まれている。

1. 硫黄あるいは促進剤の量が多いほど分解し難くなる傾向を示し、架橋密度が生分解性を支配する主要な要因であることが示された。
2. 充填剤として炭酸カルシウムを加えた場合はほとんど生分解性に影響を与えなかったが、カーボンブラックを配合したサンプルは明らかに分解しにくくなった。

第三章では、ゴム分解酵素による天然ゴムラテックスの分解について述べられており、下記の内容が含まれている。

1. 新しく分離した *Xanthomonas* 属の細菌No.35株が培養濾液中に生産するゴム分解酵素によるゴムラテックスの分解生成物の化学構造を決定し、ゴム分解の酵素反応を定式化することが出来た。
2. $^{18}\text{O}_2$ 気相中における反応生成物 ($\text{A}_1\text{P}_2\text{A}_1$) に ^{18}O の取り込みがみられたことから、ゴムの分解反応は少なくとも部分的に酸素添加酵素によるものと推定された。

以上の様に、天然ゴム及び合成のオリゴマーの微生物分解について微生物学および高分子化学の両面から解析を行い、炭化水素型の高分子の生分解に及ぼす化学構造及び分子量の影響に関する研究について基礎的な貢献を果たした。

よって、審査員一同は別に行った学力確認試験の結果と併せて、本論文の提出者土井明夫は博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格があるものと認定した。