

平成 27年 8月 31日

豊橋技術科学大学長 殿

環境・生命工学専攻
学位審査委員会
委員長 浴 俊彦

論文審査及び最終試験の結果報告

このことについて、学位審査会を実施し、下記の結果を得ましたので報告いたします。

学位申請者	Ni Luh Gede Ratna Juliasih		学籍番号	第 129401 号
申請学位	博士 (工学)	専攻名	大学院工学研究科博士後期課程 環境・生命工学 専攻	
博士学位論文名	Analysis of Lipoquinones by On-line SFE-HPLC for Monitoring Environmental Biological Processes (環境生物学的プロセスのモニタリングに向けたオンラインSFE-HPLCを用いたリポキノンの分析)			
論文審査の期間	平成 27年 7月 23日 ~ 平成 27年 8月 31日			
公開審査会の日	平成 27年 8月 31日	最終試験の実施日	平成 27年 8月 31日	
論文審査の結果*	合格		最終試験の結果*	合格
審査委員会(学位規程第6条)				
学位申請者にかかる博士学位論文について、論文審査、公開審査会及び最終試験を行い、別紙論文内容の要旨及び審査結果の要旨のとおり確認したので、学位審査委員会に報告します。				
委員長 平石 明		印		
委員 平田 幸夫				
大門 裕之				

※論文審査の結果及び最終試験の結果は「合格」又は「不合格」の評語で記入すること。

論文内容の要旨

本論文は、環境試料中に存在する微生物群集構造を解析する手法の一つであるリポキノン分析をより迅速かつ簡便に行う手法の開発について述べられている。通常、微生物からリポキノンを抽出するには有機溶媒法を用いるが、本論文では二酸化炭素を溶媒とする超臨界流体抽出法(SFE)を用いた。既存の研究においては、SFE、試料の前処理、さらに分離分析手法である高速液体クロマトグラフィー法(HPLC)は、オフラインにてそれぞれ単独で行われてきたが、本論文では、SFE、前処理およびHPLCをオンライン結合したシステムを開発し、これを活性汚泥中のリポキノン分析に応用した。加えて、システムを簡略化し、静的および動的抽出法が活性汚泥からリポキノンの抽出に与える影響の検討が行われている。オフラインおよびオンライン、さらに簡略化したシステムにおいて、各環境試料に含まれる、リポキノンに対するSFE条件の最適化を行った。これにより、従来法である有機溶媒抽出法と比較し、開発した手法の優位性を示している。本法の適用例として、コンポスト、活性汚泥など実際の環境試料を対象として、本研究で開発した手法により微生物群集構造の解析を行うとともに、それらの試料中に存在する微生物に含まれるリポキノンをバイオマーカーとして分析することが可能であることを示している。

本論文は、6章より構成されている。第1章では、研究背景およびSFEの特徴が述べられ、それぞれの手法を用いた既往の研究情報が整理されている。第2章では、実験装置および方法が述べられている。第3章では、オフラインでのSFEおよび超高速液体クロマトグラフィー法をコンポストに適用し、コンポスト製造中におけるリポキノンプロファイルについて検討されている。第4章では、SFEおよびHPLCをインターフェースと六方バルブを用いてオンライン化し活性汚泥中のリポキノン分析におけるSFEの最適条件が検討されている。第5章では、第4章で開発したオンライン化したSFEとHPLCのシステムを簡略化し、活性汚泥からのリポキノンに対し、静的および動的抽出の効果が検討されている。第6章では、本研究の総括をし、本法の環境生物学的プロセスのモニタリングに向けた実用化への展望が述べられている。

審査結果の要旨

堆肥化や生物学的廃水処理などの微生物を利用した環境技術の適正な運転・制御を行うために、微生物群集構造を解析し、それをモニタリングすることが重要視されている。しかし、環境試料中に存在する微生物の群集構造を定量的で簡便に分析する手法が限られているため、この分野の情報はまだ十分とはいえない。そこで、定量性および再現性などが高い化学分析に基づく微生物中のリポ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手法が注目されている。微生物に含まれるリポキノンの分析は、通常、有機溶媒を用いて試料よりリポキノンの抽出、前処理、分離、解析という手順で行われる。しかし、この手法は、作業が煩雑で長い時間を要する、さらに大量の有害な有機溶媒を使用するといった課題がある。

本研究では、環境試料中におけるリポキノンについて、従来法である有機溶媒抽出法と同程度の種類と量を抽出し分析できるオンラインSFE-HPLCシステムを開発した。このシステムを用いて活性汚泥中微生物からのリポキノンを、簡便で迅速に分析できることを示した。さらに静的および動的抽出法を組み合わせることにより簡略化したシステムを開発し、実際の活性汚泥への適用が可能であることも確認された。本研究によって開発された手法では、分析作業が簡便化され、要する時間が大きく短縮され、さらに有害な有機溶媒の使用量が軽減された。本法は、容易に自動化することもできるため、日常的にリポキノンをバイオマーカーとして用いた微生物群集構造解析ができ、その応用範囲を大きく広げることができる。今後は、微生物を用いる環境技術の制御を微生物の観点から行うことも可能となり、環境技術の運転効率を高めることができると期待でき、当該分野の発展に大きく貢献するものである。これらの研究成果は、査読付き学術論文3編、査読付き国際会議論文1編として発表され、学術的に評価を受けるとともに、微生物を用いた環境技術関連分野への幅広い応用が期待される。

以上により、本論文は博士(工学)の学位論文に相当するものと判断した。