

# Tris(2-chloroethyl) phosphate 分解菌の単離

環境システム工学課程 環境生物化学研究室 加納匡人  
指導教官 山田良平 解良芳夫 高橋祥司

## 1 研究の背景と目的

有機リン酸トリエステルは、その物理化学的性質からプラスチック製品の難燃化可塑剤や衣類の難燃剤等に使用されてきた。その一方で発ガン性や神経毒性、細胞毒性といった様々な毒性を持つことが明らかにされている。有機リン酸トリエステル類の自然界における生成は知られておらず、すべて人為起源と考えられ、この物質を含む廃棄物からの溶出が最も大きな環境への侵入経路と考えられている。現在では工場排水、下水処理場排水や魚介類などから検出され、環境に広く分布する事が示されている。その中でも Tris(2-chloroethyl) phosphate (TCEP) を含む含塩素有機リン酸トリエステルは毒性があり、難分解性でこれまでに微生物による分解の報告がない。そこで本研究では TCEP を分解する微生物を単離する事を目的とした。TCEP の構造を図 1-1 に示す。

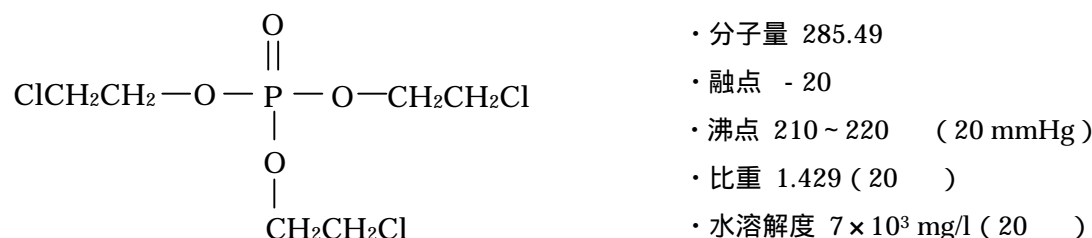


図 1-1 TCEP の構造

## 2 TCEP 分解菌のスクリーニングおよび単離

### 2-1 菌の生育に基づく試料のスクリーニング

長岡市およびその近郊の産業廃棄物、埋立処分場排水、家庭雑排水、農業廃水等の野外試料 (46 試料) を採取し TCEP を唯一のリン源とした完全合成培地 (表 2-1 参照) に接種し、試料中の菌の培養を行った。この培地で生育する菌は TCEP を分解してリン源として利用している可能性が高いと考えられるので、2 回の植え継ぎの後にも生育の観察された培養液 (13 試料) について実際の TCEP の含有濃度をガスクロマトグラフィーによって測定した。

### 2-2 TCEP 除去能に基づく試料のスクリーニング

2-1 で得られた 13 試料の TCEP の除去能を調べたところ、その全てが 4 日以内に TCEP を完全に除去した。なかでも試料 No 45-A、51 および 67 の培養液は他の試料と比較して TCEP 除去に要した日数が短かったため、この試料につき平板培地を用いて分解菌の単離を試みた。

### 2-3 分解菌の単離

試料 No 45-A、67 から 1 菌株、No 51 から 2 菌株を選抜した。これらの菌株はそれぞれコロニーの形状や色が均一であることから単離できたと考えられたので、菌株 45-A-1、67-1、51-1、51-2 と呼ぶことにした。

表 2-1 完全合成培地の組成

培地組成		Trace elements	
組成	濃度	組成	濃度
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1.0 g/l	MnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	0.143 g/l
NaCl	0.1 g/l	FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.5 g/l
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.2 g/l	ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.02 g/l
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.02 g/l	CuSO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.003 g/l
D-glucose	10.0 g/l	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.002 g/l
Trace elements	1 ml/l	Na <sub>2</sub> WO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.0023 g/l
MOPS(C <sub>7</sub> H <sub>15</sub> O <sub>4</sub> NS)	5.22 g/l	CoSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.012 g/l
TCEP	5 mg/l or 10 μmol/l		

### 3 単離菌について

図 3-1 に菌株 45-A-1 による TCEP 濃度減少と生育の変化について示す。この図から TCEP 濃度の減少と共に菌の生育が確認されたことから TCEP の分解が示唆された。他の菌株 51-1、51-2、67-1 からは TCEP 濃度の減少および菌の生育は見られなかった。また図 3-2 の顕微鏡写真から菌株 45-A-1 が桿状の菌であることが示される。

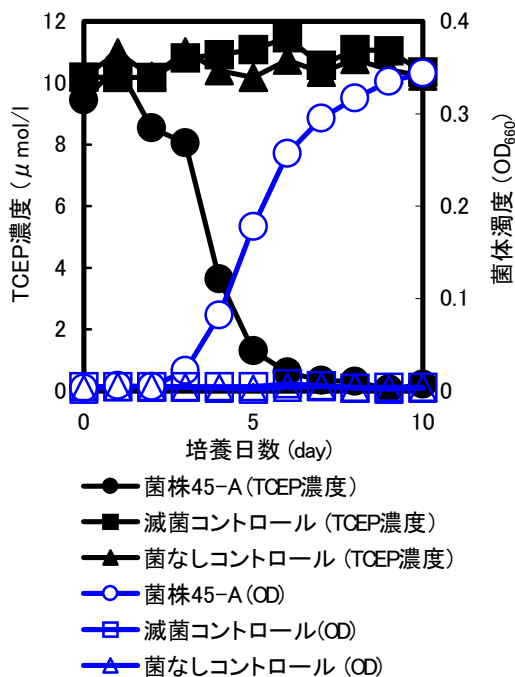


図 3-1 TCEP 濃度と生育の関係

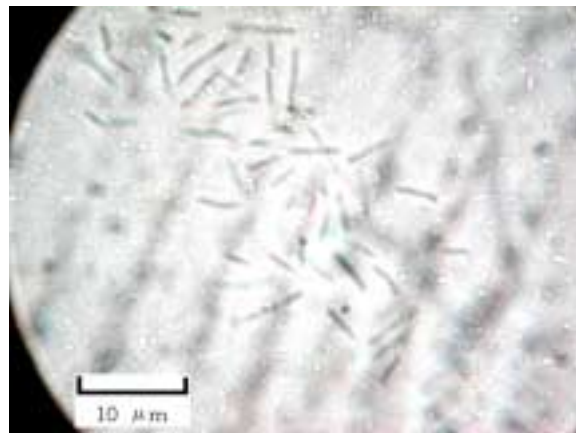


図 3-2 菌株 45-A-1 の顕微鏡写真