

# 難分解性 Tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate 分解菌のスクリーニング

環境生物化学研究室 赤津久美子

指導教官 山田良平、解良芳夫、高橋祥司

## 1. はじめに

有機リン酸トリエステル類は、プラスチック製品の難燃剤や可塑剤、機械油など幅広く利用されており、その使用量は年々増加している。有機リン酸トリエステル類が含まれている製品の埋め立て処分における、有機リン酸トリエステル類の埋め立て処分場からの浸出水が、環境中への侵入経路として大きな比率を占めると考えられている。有機リン酸トリエステル類には、発ガン性や変異原性、神経毒性などを持つものもあり、問題となっている。これまでに、塩素のない有機リン酸トリエステル類の微生物分解の報告がいくつかなされている。しかし、塩素を含む有機リン酸トリエステル類は難分解性であるとされ、微生物による分解の報告はない。含塩素有機リン酸トリエステル類の分解菌は、廃水処理などへの利用が大いに期待できる。そこで、代表的な含塩素有機リン酸トリエステル類である、Tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate (TDCPP) を分解する微生物をスクリーニングした。

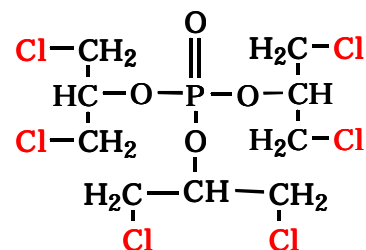


図1 Tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate (TDCPP) の構造

## 2. TDCPP 分解菌のスクリーニング

新潟県長岡市および長岡市周辺の、有機リン酸トリエステル類による汚染の可能性が考えられる下水処理場、埋め立て処分場、河川水、水田、畑などの野外から、試料（土壌、水、泥など）46 種を採取した。

これらを、TDCPP を唯一のリン源とした完全合成培地に添加し、集積培養した（30 日、好氣的条件下で振盪培養）。結果、野外採取試料 No.13、45、50 で微生物の著しい生育がみられた。

No.13 からの単離菌株では、TDCPP の減少がみられなかった。これまでの研究からも、単離菌株では TDCPP を全く減少させないか、しても減少率は数 % ~ 60 % 程度であった。このことから、単離菌株では、難分解性の TDCPP の分解は困難であると考えられた。

そこで、集積培養の際の、固形培地で菌株を単離する前の培養液で、TDCPP 分解を試みた。初期 TDCPP 濃度は 5  $\mu\text{g/ml}$  とした。TDCPP 濃度は、培養液の一部を酢酸エチルで抽出し、GC-FPD で測定した。結果、初期菌体濁度（ $\text{OD}_{660}$ ）0.005 においては、No.13、45、50 とともに、14 時間 ~ 30 時間で TDCPP が完全に消失した。（図 2）。この、集積培養の際、固形培地で菌株を単離する前の培養液をそれぞれ、No.13 D、45 D、50 D と

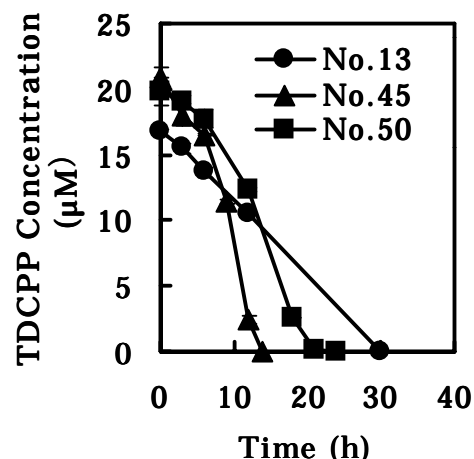


図2 No.13 D、45 D、50 D による TDCPP の消失

命名した。

### 3. 塩化物イオン濃度の測定

TDCPP の代謝経路、代謝産物がどのようなものであるのか、わかっていない。しかし、考えられる代謝経路のひとつとして、図3 が考えられる。TDCPP の消失が最も速かった No.45 D について、代謝物のひとつであると考えられる塩化物イオン濃度を測定した。塩化物イオン濃度測定には、チオシアン酸水銀法を用いた。

結果、TDCPP 濃度は、TDCPP の塩素がすべて遊離したときの濃度の半分程度しかみられなかった(図5)。このことから、TDCPP 代謝産物の大半は、含塩素有機化合物であることが考えられた。

### 5. TDCPP 消失へおよぼす無機リン酸塩の影響

培地中のリン源として、TDCPP とリン酸二水素ナトリウムを添加し、リン酸二水素ナトリウムが TDCPP 消失へおよぼす影響を調べた。

リン酸二水素ナトリウムが 200 μM のときまでは、TDCPP 消失にほとんど影響をおよぼさなかった(図4)。

一方で、塩化物イオン濃度には影響がみられた。リン酸二水素ナトリウム 200 μM のときには、TDCPP の塩素がすべて遊離したときに等しい濃度の塩化物イオンがみられた(図5)。このことから、リン酸二水素ナトリウム 200 μM のときには、TDCPP は塩素を含まない化合物にまで代謝された可能性が考えられた。

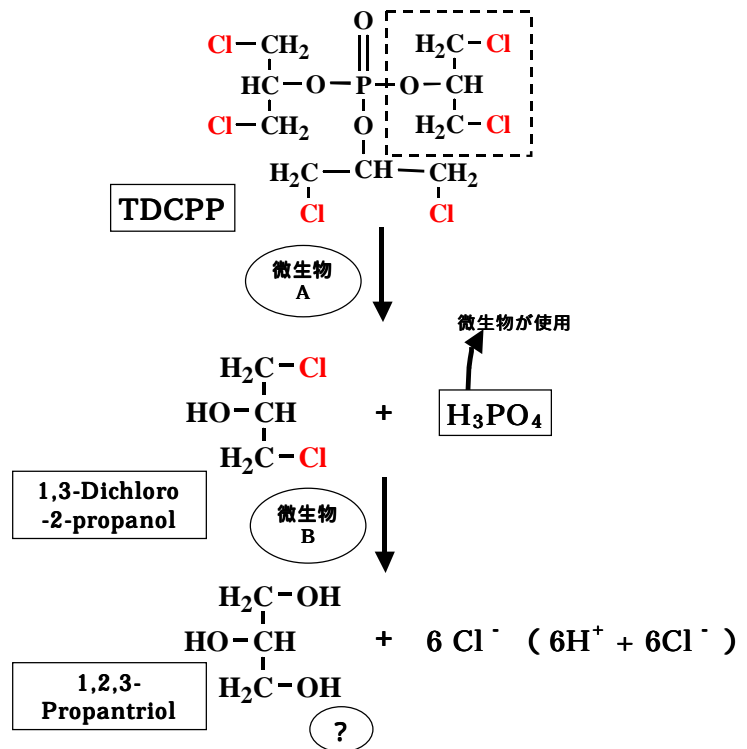


図3 予想される TDCPP 代謝経路

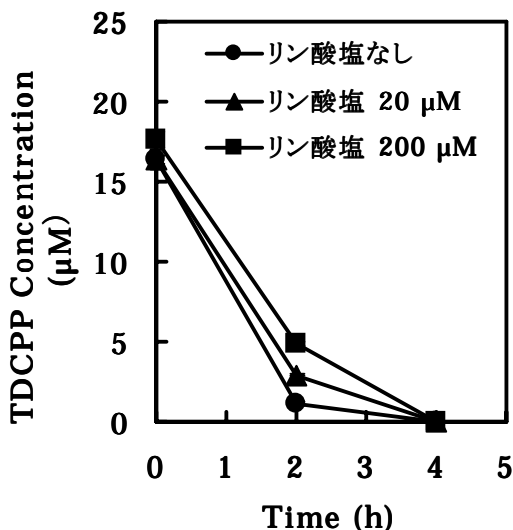


図4 TDCPP 消失へおよぼす無機リン酸塩の影響

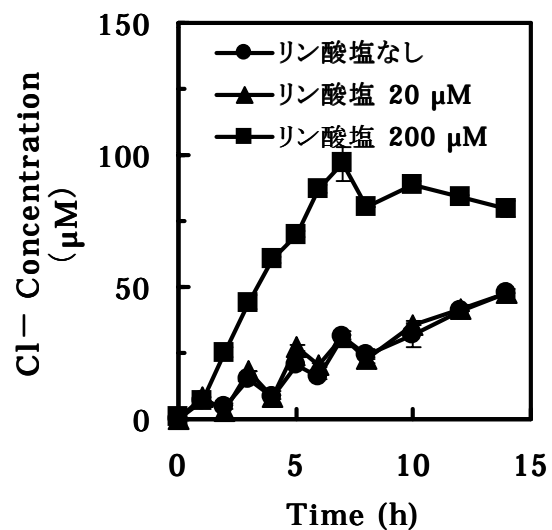


図5 塩化物イオン濃度へおよぼす無機リン酸塩の影響