

VII-194 河川マイクロコズムによるビスフェノールA(BPA)の生分解機構

大阪大学 工学部 学生会員 陳 昌淑
豊田中央研究所 徳弘 健郎
大阪大学 工学部 正会員 池 道彦
大阪大学 工学部 正会員 藤田 正憲

1. 緒言

主にプラスチックの硬化剤として大量生産されているビスフェノールA（BPA）は、潜在的に重要な環境汚染物質であると考えられているため、自然界での生分解性を知ることが重要な課題となっているが、これまでのところ十分な知見が得られているとはいえない。特に、どのようなタイプのBPA分解菌が存在しているのか、またそのBPA分解特性はいかなるものか等の疑問は、自然環境中におけるBPA分解の機構を理解する上で解明されなければならない問題である。本研究では、TOC阪大法を用いて、河川マイクロコズムによるBPAの生分解性を調べ、また、河川からBPA分解菌を分離してその分解機構を検討した。

2. 実験材料及び方法

近畿地域7つの河川15地点から採取した河川マイクロコズムを用いてリバーダイアウェイ法の一法であるTOC阪大法¹⁾による河川マイクロコズムのBPAの生分解実験を行った。河川マイクロコズムは500mlの河川水を滅菌したメンブレインフィルター（ポアサイズ、0.22 μ m）で無菌的にろ過し10倍に濃縮した。70ml容のれじつ試験管に45mlの人工河川水、濃縮した河川マイクロコズム5mlを入れてから、培養液の最終TOC濃度が20mg/lになるようにBPA溶液(1ml)を添加して振盪培養した。経時的に培養液の上澄みをサンプリングして遠心分離(15,000 x g, 10min)し、TOC及びHPLC(高速液体クロマトグラフィ)(BPA)分析を行った。

BPA分解菌の集積・分離及び分解実験には、BPAM (K_2HPO_4 1.0g、 $(NH_4)_2SO_4$ 1.0g、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2g、 $FeCl_3$ 0.01g、 $NaCl$ 0.05g、 $CaCl_2$ 0.05g、BPA : 20 mg/l、または100 mg/l、及び脱イオン水II (pH=7.2)) 培地を用いた。栄養培地としてCGY (カシトン 5g、グリセリン 5g、酵母エキス 1g、及び脱イオン水II (pH=7.2)) 培地、またはCGY培地にBPAを添加したCGYB培地を用いた。生菌数は低濃度有機物培地²⁾(0.05培地)を用いた。

3. 実験結果及び考察

3.1 TOC阪大法を用いた河川マイクロコズムによるBPA生分解性の評価

全地点で合計36回の実験を行った。このうち34回(全体の94.44%)の実験ではBPAの分解(TOCの除去)が確認された。しかし、分解が確認された中で、TOCがブランク (2.03 ± 0.27 mg/l) 以下のレベルまで完全に除去された(即ち、BPAが完全分解された)のは7回(全体の19.44%)であり、TOCが完全に除去されず残存するケースが27回(全体の75.00%)を占めた。この結果より、自然環境中ではBPA分解菌が広く分布していることが確認された。しかし、TOCの完全な除去が行われない場合が多いことから、多くの河川では、BPAの分解産物として難分解性の中間代謝物が蓄積することが示唆された。

3.2 河川マイクロコズムによるBPAの生分解機構

3.1でのTOCが完全に除去できなかった原因を解明するために、安威川の宮島大橋及び上高浜橋の河川マイクロコズムを用いてTOC阪大法によるBPA分解実験を行った。それぞれの実験0日目と28日目のHPLCチャートをFig. 1に示す。両方ともBPAのピークは消失しているが、TOCが完全に除去されなかった宮島大橋(A)では、HPLCで検出できる中間代謝物 (R.T. = 1.5min, R.T. = 2.1min) が残存することが確認された。一方、TOCが完全に除去された上

高浜橋(B)でも、BPA分解の過程でこの2つの中間代謝物が検出されたが、徐々に分解され最終的には完全に除去された。ここで、TOCが完全に除去されなかった全てのサンプルを用いてHPLC分析を行った結果、同様にR.T. = 1.5min, R.T. = 2.1minの中間代謝物が残存することが確認され、これらの中間代謝物は分解実験をさらに継続しても消失しなかった。以上の結果より、TOC残存の原因は2種の中間代謝物の蓄積であることが明らかとなった。

ここで、中間代謝物が完全に除去された地点もあることから、BPAが完全分解される場合には、(1)BPAの分解能を持っている微生物によりBPAが初期分解を受け、中間代謝物を分解する別の微生物により中間代謝物が完全分解される、もしくは、(2)BPAは極めて特殊な単一の微生物によって分解されることが考えられた。

3.3 河川からのBPA分解菌の分離及びそのBPA分解機構

BPAの完全分解が単一菌によるものかどうかを明らかにするために、河川水を用いて集積培養を行い、BPA分解菌を8株分離した。各菌株の分類学的同定のためにグラム染色性、オキシダーゼ、カタラーゼ活性を調べた結果をTable 1に示す。この結果から各菌株の色または形態は多少違うが、類似な菌であると考えられた。

Table 1. 河川から分離したBPA分解菌の生理学的性質及びBPA分解能

菌株	採取地点	グラム染色性	オキシダーゼ	カタラーゼ	BPA分解結果	
					20 mg/l	100 mg/l
3-11	茨木川 春日橋	-	+	+	+	-
3-14	茨木川 春日橋	-	+	+	+	-
4-1	安威川西河原橋	-	+	+	+	-
4-23	安威川西河原橋	-	+	+	+	+
5-1	袖崎川吹田大橋	-	+	+	+	-
7-1	平野川 OBP橋	-	+	+	+	-
8-1	淀川 都島橋	-	+	+	+	-
8-11	淀川 都島橋	-	+	+	+	-

また、HPLC分析により、全ての菌が河川マイクロコズムを用いた実験結果と同様にR.T. = 1.5minと2.1minの中間代謝物を残すことを確認した。これより、3.2の(1)に示したように、1次的にBPAの分解能を持っている微生物によりBPAが初期分解を受け、2次的にその中間代謝物を分解する別の微生物により中間代謝物が分解されることが考えられた。

4. 結論

TOC阪大法を用いてBPAの生分解性を調べた結果、自然環境中ではBPAの分解菌が広く存在し、BPAは比較的容易に生分解を受けるものの、難分解性の中間代謝物を残しやすいことが明らかとなった。また、この代謝物はここで分離した8株全てのBPA分解菌によって分解されず、培地中に蓄積したことから、環境保全上この除去が重要な課題となることが示唆された。

参考文献

- 1) Nasu, M., Song, S., Yamaguchi, N., Shimizu, A., and Kondo, M. : 1993. Effect of chemical compounds on microbial population in frish water. *Fersenius Enviromental Bulletin*. **2**, 7-12.
- 2) 芳倉 太郎, 小田 国男, 飯田 才一. : 1981. 低濃度有機物培地による河川水中の従属栄養細菌の計数. *Bulletin of the Japanese Society of Fisheries*. **47**(2), 183-189.

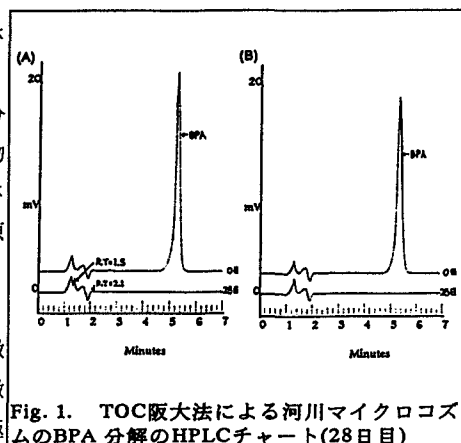


Fig. 1. TOC阪大法による河川マイクロコズムのBPA分解のHPLCチャート(28日目)