

## 超好熱菌による環境ホルモン類分解の可能性

○中宮 邦近、安原 昭夫、森田 昌敏

(独立行政法人 国立環境研究所 環境ホルモン・ダイオキシンプロジェクト)

【目的】現在微生物の増殖が確認されている温度を上回る高熱条件(130℃)で増殖する新規超好熱菌を集積し、その菌体を使い環境ホルモン分解の可能性を検討する。

【方法】環境ホルモン(ビスフェノール A、ノニルフェノール)を全量の 1%(w/v)加えた培地 2ml を加えたバイアル瓶 30ml 容に、20 時間前培養した培養液を 0.1ml 加え、ブチルゴム栓をし、アルミシールをした後に、気層を酸素で置換して、任意時間培養を行った。この時の培養温度はサンワデジタルマルチメーターを用いてモニターした。サンプル 1ml を取り、これに酢酸エチル 1ml と塩酸 1 ドロップを加え、激しく攪拌した後に遠心し、その上澄みを取り、無水硫酸ナトリウムを用いて乾燥し、培養液 5 容に対して 2 容の *N,O*-ビス(トリメチルシリル)トリフルオロアセトアミドを加え 1 時間放置し、FID を備えたガスクロマトグラフィー(HP 社製)で分析を行った。

【結果】国立環境研究所の敷地内にある林あるいは公園の土壤数十サンプルから 130℃で培養されてくる微生物を集積したところ、幾つかのロットに微生物が増殖していることを顕微鏡下で確認出来た。そこでビスフェノール A を基質として培養を行った。ビスフェノール A は 12 時間の保持でおよそ 95% が消失する事が分かった。この時、培養液中には微生物が確認された。これとブランクである菌体を接種していない培地には微生物が存在しなかったことから。この菌体はビスフェノール A を基質として増殖したものと思われた。ノニルフェノールに対してはブランクのノニルフェノールの消失速度と培養液を添加した物について、その消失速度はほぼ同等であり菌体接種した効果を見る事が出来なかった。しかしながら 12 時間培養後の培養液には微生物の増殖が確認された。このことから少なくともノニルフェノールの分解物を基質として増殖する微生物の存在が確認された。現在これらの現象について詳細に検討を行っている。

### Degradation Possibility of Endocrine Disruptors by Hyperthermophilic Bacteria

○ *Kunichika Nakamiya, Akio Yasuhara, Masatoshi Morita*

*Project Group of Endocrine disruptors and dioxins, National Institute for Environmental Studies*

From extreme environment, especially high temperature, many microorganisms have been found out and usually these strains have strong and stable enzyme activity. Furthermore these enzymes have a tendency of weak enzyme specificity. From these reasons these enzymes having microorganism have been applied on industrial uses. By the way upper-limit of temperature tolerance for already founded strain, *Pyrococcus*, is 113 degree C. But it has been said that microorganisms are able to live till 150 degree C. If we can find out new bacteria (over 113-degree C), it is expected to have some fine specificity for industrial using. In this paper, we report the accumulative cultivation of novel bacteria at 130 degree C, and it is used for the degradation of endocrine disruptors.

About 30 samples from the forest and garden of National Institute for Environmental Studies (NIES), some microbes (confirmed under light microscope) were grown at 130 degree C. these bacteria were able to re-cultivate by inoculation to fresh medium. To using bisphenol A and nonylphenol as a main carbon in culture medium, bacterial consortium, which can grow at 130 degree C was cultivated for several hours. Bacteria were grown on all these carbons (it was confirmed under light microscope observation). Especially about 95% of bisphenol A was disappeared from culture medium after 12 hours cultivation. However nonylphenol disappeared without inoculation of bacteria from culture medium. Maybe first degradation of nonylphenol was catalyzed by the oxygen on the head-space of vial. And it seemed that oxidized nonylphenol has been utilized by bacteria. Now we intimately confirm this phenomenon.