

Mycolicibacterium sp.による臭気物質ハロゲン化アニソールの生成機構の解明 ～飲料水や温浴施設の臭いを探る～

Mechanism of the production of odorous halogenated anisoles by *Mycolicibacterium* sp.

学生氏名：大沼浩輝

指導教員 教員氏名：浦瀬太郎、後藤早希

1) 東京工科大学 大学院 バイオ・情報メディア研究科 バイオニクス専攻 水環境工学研究室

アブストラクト：塩素消毒された温浴施設から臭気物質トリクロロアニソールを生成する細菌を単離し、16S rRNA 遺伝子解析により *Mycolicibacterium* 属が高い臭気物質生産能をもつことを明らかにした。この属の単離株が塩素化フェノール類の臭気物質へ変換する速度は分子構造によって異なった。

キーワード：臭気物質、ハロゲン化アニソール、O-メチル化酵素

1. 緒言

飲料水や温浴施設の異臭味の原因物質として、これまで知られていたジェオスミンや 2-MIB に加えて、新たにハロゲン化アニソールが注目されはじめている¹⁾。特に 2,4,6-トリクロロアニソール (TCA) は 2,4,6-トリクロロフェノール (TCP) に対する細菌の解毒作用 (O-メチル化反応) によって生成されることがわかっている²⁾³⁾。本研究では塩素処理された水道水や浴槽中での臭気物質ハロゲン化アニソールの生成を防ぐため、TCA 生成能を持つ細菌を単離し、その変換酵素 (O-メチル化酵素) の特性を明らかにすることを目的とした。

2. 方法

2-1 TCA 生成能を持つ菌の単離

塩素消毒が実施されている温浴施設および河川の水試料を採取し、細菌培養用培地の R2A 寒天培地で 2 日間培養し、試料水に含まれる細菌のコロニーを形成させた。16S rRNA 遺伝子解析により、単離した細菌を同定した。その後、同定した細菌を TCP を含む寒天培地で培養し、TCA に変換させた。生成された TCA を HS-SPME-GC/MS 法 (ヘッドスペース-SPME-GC/MS 法) 分析によって測定した。

2-2 ハロゲン化フェノール類の変換率測定

2,4,6-TCP と 2,4, 2,5, 2,6-ジクロロフェノール

(DCP) を含む R2A 培地に高い TCA 生成能を示した細菌の *Mycolicibacterium* sp. CB14 を接種し、24 h 培養してハロゲン化アニソールに変換させた。その後 HS-SPME-GC/MS 法を用いて TCA と 3 種のジクロロアニソール (DCA) を測定した。あらかじめ作成しておいた TCA および DCA の検量線をもとに、それぞれの変換率を求めた。

2-3 TCP を変換するメチル化酵素遺伝子の確認

Mycolicibacterium sp. CB14 と高い相同性 (99% 以上) を示した *Mycolicibacterium phocaicum* の全ゲノム配列から推定メチル化酵素の遺伝子 (5 種) のプライマーを設計した。*Mycolicibacterium* sp. CB14 のゲノム DNA を抽出し、PCR と DNA シーケンシングによってメチル化酵素の確認を行った。

3. 結果・考察

3-1 TCA 生成能を持つ菌の単離

単離した細菌中、35 株中 15 株が TCA 生成能を有しており、*Mycobacterium* 属、*Sphingomonas* 属、*Acinetobacter* 属が確認できた。そのうち、温浴施設から採取した 11 株が *Mycolicibacterium* 属であった。そのうち、高い TCA 生産量を持ち、添加した TCP を使い切った株を *Mycolicibacterium* sp. CB14 と命名した。

