

様式3

神戸大学バイオシグナル総合研究センター共同利用研究報告書

令和元年 5 月 6 日

神戸大学バイオシグナル総合研究センター長 殿

所属機関・部局名 公立鳥取環境大学 環境学部
 職 名 准教授
 研究代表者名 山本 敦史

下記のとおり平成30年度の共同利用研究成果を報告します。

記

(課題番号:291003)

1. 共同利用研究 課題名	難分解性有機フッ素化合物の微生物分解			
2. 共同利用研究 目的	環境汚染を引き起こしている難分解性の有機フッ素化合物の浄化を目指して、これを分解する微生物を取得する。			
3. 共同利用研究 期間	平成 30 年 4 月 1 日 ～ 平成 31 年 3 月 31 日			
4. 共同利用研究組織				
氏 名	所属部局等	職名等	役 割 分 担	
(研究代表者) 山本 敦史	公立鳥取環境大学	准教授	代謝物の探索	
(分担研究者)				
5. センター内受入研究者	研究部門・ 分野名	シグナル分子応答研究 部門・環境物質応答研 究分野	氏 名	乾 秀之

※ 次の6～9の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6～9の項目全体では1頁に収めて下さい。

(課題番号:291003)

6. 共同利用研究計画

1) 有機フッ素化合物分解微生物を用いた生分解実験(担当:神戸大・乾)

残留性有機汚染物質であるペルフルオロオクタンスルホン酸 (PFOS)、ペルフルオロオクタン酸 (PFOA) について 1 ppm としたものを三種の微生物を用いて処理する。グルコース 0.2% とし、1 週間培養し PFOA/PFOS の濃度の減少を確認する。微生物は兵庫県内の複数の河川から採取した底質 *Stenotrophomonas* (ST), *Ochrobactrum* (OC), *Klebsiella variicola* (KV) を用いる。

2) PFOS・PFOA 代謝産物の探索(担当:鳥取環境大・山本)

高速液体クロマトグラフ質量分析計(LC/MS/MS)には四重極飛行時間型ハイブリッドタンデム質量分析計を用いる。LC/MS/MS により、PFOA 同族体濃度を定量するとともに、ノンターゲット分析によって網羅的にイオンを検出する。ノンターゲット分析は分析対象に関する情報が事前にないため、クロマトグラフィーやイオン化の条件を物質に合わせて事前に最適化することができない。そのため、オクタデシル基で修飾された固定相を持つ一般的な逆相クロマトグラフィー条件に加えて、ジヒドロキシプロピル基等の親水性の官能基で修飾された固定相を持つ親水性相互作用を利用したクロマトグラフィー条件を検討する。代謝産物と考えられるイオンをコントロール試料のデータを比較することにより抽出し、代謝産物関連イオンの断片化を行う。断片化して得られたイオンの精密質量及び特徴的な断片化反応の解析や MassBank 等の高分解能マススペクトルデータベースを利用することにより PFOA 代謝産物の構造を決定する。

7. 共同利用研究の成果

PFOS/PFOA を添加し微生物を用いた試料では PFOS/PFOA のシグナル強度の減少が見られ、PFOS/PFOA の分解が示唆された。ノンターゲット分析では m/z 314.9806 等のようにフッ素原子が分子内に含まれると推定される整数質量から負にずれた m/z 値を持ついくつかのイオンが見られた一方で、それらのイオンには PFOS/PFOA の有無、微生物の種類に関連が見られず、分解によって得られた代謝物とは考えられなかった。その他、代謝物を探索したところ KV を用いた試料からのみ m/z 702.5058, 716.5236, 478.2928, 464.2773, 452.2277 等のアルキル鎖間隔が推定されるイオンが見られた。これらのイオンのフラグメンテーションを解析すると m/z 214.049, 196.038 といった共通のイオンが見られ、 $C_5H_{13}NO_6P$, $C_5H_{11}NO_5P$ がそれらの分子式と考えられた。対する中性ロスがアシル基と考えられたことから、これらのイオンはアシルグリセロホスホエタノールアミンのリソ体とジアシル体であると推定された。PFOS/PFOA、および PFOS/PFOA を添加しないグルコースのみのもものからも検出されていたものの、PFOS を添加した試料から最も高強度で検出されていた。KV が PFOS を炭素源として利用できている結果を示している可能性がある。

PFOS/PFOA 長期汚染底質から採取した微生物を用いた PFOS/PFOA の代謝試験を共同研究として行って来ているが、別途で新規の含フッ素代謝物の可能性のある物質を検出しており、これらについてまとめた論文が掲載された。

8. 共同利用研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本センターの担当教員の氏名の記載、又はこの共同利用研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。)

A. Yamamoto, Non-target analysis with high-resolution mass spectrometry for environmental samples, Seminar and Workshop: Environmental Protection, Prevention, Monitoring and Remediation, Belgrade Univ. Serbia, 19 Nov 2018.

V.P. Beškoski, A. Yamamoto, T. Nakano, K. Yamamoto, C. Matsumura, M. Motegi, L. Beškoski, H. Inui, Defluorination of perfluoroalkyl acids is followed by production of monofluorinated fatty acids. *Sci Total Environ*, 636, 355-359, 2018.

9. 共同利用研究に関連した受賞、博士学位論文の取得、大型研究プロジェクトや競争的資金の獲得等がありましたらご記入ください。