

### PET 分解産物の蛍光定量法の開発

(神奈川工科大学) ○木村隼平 小澤美樹男 高村岳樹

Development of the fluorescence detection procedure of PET degradation products

(Kanagawa Institute of Technology) ○Shumpei Kimura, Mikio Ozawa, Takeji Takamura

Much attention has been paid to beneficial bacteria that decompose poly (ethylene terephthalate) (PET) in recent years. To rapidly evaluate new PET-degrading bacteria, it is desired to develop a rapid quantification method for PET degradation products generated in a culture solution. Terephthalic acid (TPA) produced by enzymatic degradation of PET is known to be hydroxylated by the Fenton reaction and convert to 2-hydroxyethylterephthalic acid (HOTP). However, it was found that the fluorescence intensity was not stable with this method, and some parameters had to be determined to obtain reproducible results. The fluorescence intensity derived from HOTP was found to decrease with time, and the disappearance of the fluorescence largely depended on the initial concentration of TPA and the reaction time. When the concentrations of TPA and HOTP in the system were measured by HPLC-fluorescence detection, the concentrations of TPA were confirmed to decrease with time, and that of HOTP decreased rapidly after the concentration reached its maximum after a certain period. These results indicated that the fluorescence disappearance of HOTP was due to the reaction proceeding due to the excessive hydrogen peroxide present. Since the disappearance of HOTP was suppressed by adding catalase after a certain period after adding hydrogen peroxide, it may be practical to add a hydrogen peroxide scavenger such as catalase or an OH radical scavenger.

*Keywords: PET decomposition, terephthalate detection, 2-Hydroxyethylterephthalic Acid,*

近年、poly(ethylene terephthalate)(PET)を分解する有用菌が注目されている。新規の PET 分解菌を迅速に評価する目的で、培養液中に生じる PET 分解産物の迅速な定量方法の開発が望まれる。PET の酵素的分解によって生じる terephthalic acid (TPA) は、フェントン反応により水酸化され 2-hydroxyethylterephthalic acid (HOTP) へと変化することが知られている。HOTP は蛍光性を有するため、培養液をフェントン反応で処理し、蛍光発光強度を測定することにより、系中に存在する分解された TPA の濃度を推定することが可能である。しかしながらこの方法は蛍光強度が安定せず、再現性のある結果を得るにはいくつかのパラメーターを決定する必要があることがわかった。HOTP に由来する蛍光強度は時間とともに減少し、そして、その蛍光の消失は、TPA の初期濃度、反応時間に大きく依存する事がわかった。HOTP が過酸化水素と反応し無蛍光物質となることが推定されたため、HPLC-蛍光検出により系中の TPA と HOTP の濃度を測定した所、TPA は時間経過と共に濃度が減少し、HOTP は一定時間後に濃度が極大となった後に迅速に減少することが確認できた。この事から、HOTP の蛍光消失は、過剰に存在する過酸化水素により反応が進行したことによるものであることが確かめられた。過酸化水素を添加して一定時間後にカタラーゼを添加することにより、HOTP の消失は抑えられたことから、カタラーゼなどの過酸化水素消去剤または OH ラジカルの消去剤等の添加が効果的であることがわかった。現在、詳細な検出条件を検討中である。