

アゾ化合物、4,6-ビスフェニルアゾレゾルシノール (4,6-Bis) の分解微生物の探索

米田 英伸・原田 裕之・浅野 泰久
(生物工学研究センター)

富山県内の土壌、下水処理場の活性汚泥、及び生物工学研究センター保存菌株 (TPU) よりアゾ化合物である 4,6-ビスフェニルアゾレゾルシノール (4,6-Bis) の分解微生物の探索を行った。その結果、好気条件である振とう培養、及び TPU からのスクリーニングにおいては 4,6-Bis に由来する褐色を脱色する活性を示す株は一株も得られなかったが、静置培養では脱色活性を有する微生物 8 株を得た。この内、5 株 (No.1 ~ No.5) は活性の発現に液体培地への流動パラフィンの重層や絶対嫌気条件のガスパック中での平板培養を必要としたのに対し、残りの 3 株 (No.201 ~ No.203) は活性発現にこのような厳密な嫌気性での培養を必要としなかった。また、No.201 ~ No.203 の 3 株は培地中の 4,6-Bis (0.002%) を 10 日間の静置培養により完全に脱色した。4,6-Bis が分解された培養液を HPLC により分析した結果、アゾ基の還元的開裂により生成すると予想される 4,6-ジアミノレゾルシノール (DAR) は検出されなかった。

キーワード：アゾ化合物、分解、微生物、スクリーニング

1. 緒言

分子内に R-N=N-R' (R, R'は主としてアリール基) の構造をもつアゾ化合物は色を呈するものが多く、従来よりアゾ染料として化粧品、医薬品、食品、繊維、印刷物等に用いられてきた。全世界では年間約 700,000 トンの色素が生産されているが、その内 60% 以上はアゾ色素であるとされている¹⁾。これらアゾ化合物は難分解性であることから、染色工場等から排出される廃水の処理法の一つとして微生物処理が注目を集めている^{7),8),10),20)}。一方、アゾ化合物の中には、その代謝産物である芳香族アミンが発癌性を示すものもあることから、哺乳動物の腸内細菌によるアゾ化合物の分解に関する研究も数多く行われている^{2),3),5),8),14)}。

アゾ化合物の生分解における最初のステップはアゾ基の還元的開裂による芳香族アミンの生成である。本活性を示す微生物の内、主として嫌気条件下で活性を示すものとしては *Bacillus subtilis*¹⁰⁾、染料工場の下水汚泥から単離された *Pseudomonas cepacia*¹¹⁾ や *Aeromonas hydrophila*¹²⁾、哺乳動物の腸内細菌相から単離された *Eubacterium hadrum*¹⁷⁾、*Eubacterium sp.*¹⁷⁾、*Clostridium clostridiforme*¹⁷⁾、*Butyrivibrio sp.*¹⁷⁾、*Bacteroides sp.*¹⁷⁾、*Clostridium paraputrificum*¹⁷⁾、*Clostridium nexile*¹⁷⁾、*Clostridium perfringens*¹⁷⁾、*Clostridium sp.*¹⁷⁾、*Proteus vulgaris*¹⁸⁾、*Streptococcus faecalis*¹⁹⁾等の報告がある。本反応を触媒すると考えられる酵素、アゾレダクターゼがこれらの微生物より単一に精製され、その酵素化学的諸性質に検討を加えられたという報告はないが、特に腸内細菌由来のアゾレ

ダクターゼ活性は酸素に対して感受性を示すことが明らかとなっている⁶⁾。現在のところ、嫌気条件下でのアゾ化合物の生分解は非特異的であり、様々な生体内システムがアゾ基の還元的開裂を触媒すると考えられている²²⁾。つまり、嫌気条件下においては、アゾ化合物は電子伝達系から非特異的に電子を受け取ることにより還元分解される。それゆえ、好気条件になると電子受容体として酸素と競合するためアゾ基の還元は著しく抑えられると考えられている⁵⁾。これに対し、酸素存在下の好気条件下でアゾレダクターゼ活性を示す微生物としては 2 種の *Pseudomonas sp.*^{13),24),25)}の報告があるのみである。また、これらの 2 菌株よりそれぞれアゾレダクターゼが精製され、酵素化学的諸性質に検討が加えられている。Zimmermann らは 1-(4'-carboxyphenylazo)-4-naphthol (carboxy-Orange I) あるいは 1-(4'-carboxy-phenylazo)-2-naphthol (carboxy-Orange II) を単一炭素源とした長期にわたる馴養培養¹³⁾の結果得られた 2 種の *Pseudomonas sp.* からそれぞれ Orange I アゾレダクターゼ²⁴⁾及び Orange II アゾレダクターゼ²⁵⁾を精製し、その酵素化学的諸性質を明らかにしている。両酵素は分子量がそれぞれ 21,000 と 30,000 の単量体で、電子供与体として NADPH を必要とし、共に酸素非感受性である。また、両酵素はナフタレン環のそれぞれ 4 位及び 2 位に水酸基をもつ基質に高い特異性を示し、それ以外のアゾ化合物には作用しない。

このように、嫌気条件下及び好気条件下におけるアゾ化合物の微生物分解に関する多数の報告が有るが、いずれも環境汚染物質の分解除去や生体内における発癌性

物質の代謝に関係する報告であり、微生物によるアゾ化合物の分解反応を物質生産に応用した例はない。我々は本研究において、アゾ化合物の一種である 4,6-ビスフェニルアゾレゾルシノール (4,6-Bis) を分解する微生物の探索を行った。4,6-Bis の分解によって期待される生成物としては、アゾ基の還元的開裂による 4,6-ジアミノレゾルシノール (DAR) が考えられる。DAR はテレフタル酸と重縮合させることにより、強度、弾性率、耐熱性、耐薬品性等において既存の芳香族ポリアミド繊維をはるかに凌ぐポリベンズビスオキサゾールを合成することができ、繊維産業において有用な化合物である。従来からの DAR の製法としてはレゾルシノールをアセチル化した後、ニトロ化し、還元と加水分解により得る方法、ジハロベンゼンをニトロ化する方法、あるいはトリクロロベンゼンをニトロ化する方法等があるが、い

れもニトロ化の際に生成するポリニトロ化物の耐衝撃危険性を回避するために製造工程が多工程になり、さらに異性体の生成による収率低下の問題がある。また、別の方法としてレゾルシノールとアニリンをジアゾカップリングし、4,6-Bis を得て、これを塩化スズ及び塩酸で分解して DAR にする方法や、同様に得られた 4,6-Bis を溶媒中で金属触媒の存在下に水素化分解反応させて DAR を得る方法等が挙げられるが、これらの反応は希薄溶液でのみ収率が高く、溶剤回収の点で問題を有している。そこで、本研究では 4,6-Bis から DAR への変換 (図 1) において微生物のもつアゾレダクターゼ活性の利用の可能性を検討するべく、まず、富山県内の土壌、活性汚泥、及び富山県立大学工学部生物工学研究センターの保存菌(TPU)から 4,6-Bis の分解活性を示す微生物の探索を行った。

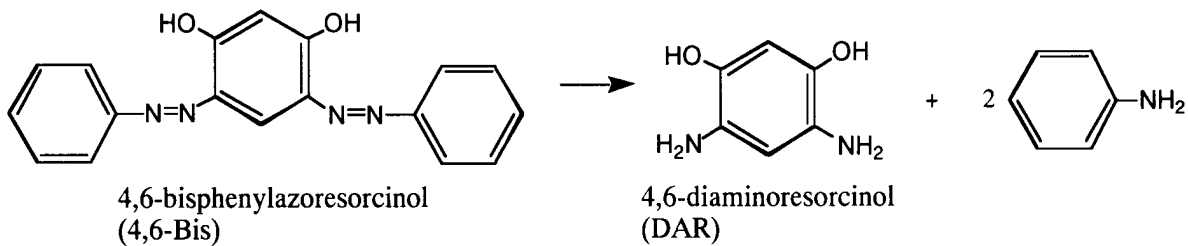


図1 4,6-ビスフェニルアゾレゾルシノール (4,6-Bis) から 4,6-ジアミノレゾルシノール (DAR) への変換

2. 実験方法

2.1 培養方法

スクリーニングのための培地として酵母エキス 1.0%、 K_2HPO_4 0.2%、NaCl 0.1%、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.02%、ビタミン溶液 1%、トレースエレメント溶液 1%を含む R 培地を用いた。ここで、ビタミン溶液はピオチン 20 μ g、パントテン酸カルシウム 4 mg、イノシトール 20 mg、チアミン塩酸塩 4 mg、ピリドキシン塩酸塩 4 mg、ニコチン酸 4 mg、*p*-アミノ安息香酸 2 mg、リボフラビン 2 mg、葉酸 0.1 mg を蒸留水 1 リットルに溶解したものであり、トレースエレメント溶液は Titriplex III 500 mg、 $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 200 mg、 $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 10 mg、 $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ 3 mg、 H_3BO_3 30 mg、 $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ 20 mg、 $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ 1 mg、 $NiCl_2 \cdot 6H_2O$ 2 mg、 $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ 3 mg を蒸留水 1 リットルに溶解したものである。この培地を 5 ml ずつ試験管 (20 ml の試験管) に分注し、これに 4,6-ビスフェニルアゾレゾルシノール (4,6-Bis) をジメチルフォルムアミド (DMF) に溶解したもの (0.5% w/v) を 20 μ l 加えた。この中に富山県内各地より採集した土壌や下水処理場の活性汚泥のサンプルを加え、30℃、300 rpm で振とう培養を行った (嫌気培養時は

静置培養し、さらに強い嫌気条件で培養する場合は培養液に流動パラフィンを重ねた)。この内、4,6-Bis の色が脱色された培養液を上記培地に寒天 1.5% を加えた平板培地に塗抹した。30℃で数日間培養した後、周囲に 4,6-Bis の分解によるクリアーゾーンを形成したコロニーを単離した。強い嫌気条件で平板培養を行う場合にはベクトンディッキンソン社製の BBL ガスバックシステム内に平板培地を入れて培養した。また、本研究室保存菌株 (約 250 株) については保存用斜面培地より直接平板培地に画線することによりスクリーニングを試みた。

2.2 分析方法

単離菌株による 4,6-Bis 分解の分析は上記培地中 30℃で静置培養した培養液を遠心分離器にかけ、得られた培養上清を HPLC にかけることにより行った。HPLC はウオーターズ社製の Seque Tag カラム (3.9 x 300 mm) を取り付け、キャリアバッファーとしてアセトニトリル/水 = 1/40 を 1 ml/min で流し、230 nm で検出した。また、液体培地中の 4,6-Bis の減少を簡便に定量するため、培養液の遠心上清を DMF で 3 倍に希釈し、日立製分光光度計 U-3210 型を用いて 480 nm の吸光度を測定した。

2.3 単離菌の諸性質の検討

2.3.1 グラム染色

肉汁寒天培地 (Meat extract 1%, Polypepton 1%, NaCl 0.5%, 寒天 1.5% pH 7.2) に菌体を植菌し、25°C で 18 時間培養した。生育した菌体を生理食塩水に懸濁し、スライドグラスに塗布して火炎固定した。クリスタルバイオレット溶液 (0.2%クリスタルバイオレットおよび 0.8%シュウ酸アンモニウムを含む 20%エタノール溶液) にて 20 秒間染色後、蒸留水にて洗浄した。ルゴール液 (0.33% I₂ および 0.67% KI を含む水溶液) にて 1 分間染色後、エタノール、蒸留水で順次洗浄した。サフラニン溶液 (0.25%のサフラニンを含む 10%エタノール溶液) にて 20 秒染色後、蒸留水にて洗浄し、乾燥させた。カバーグラスをのせ、倍率 2,000 倍の油浸レンズのついた顕微鏡にて観察し、染色を呈す菌はグラム陽性、ピンク色を呈す菌はグラム陰性とした。

2.3.2 細胞形態および運動性

2.3.1 と同様に培養し、生理食塩水に懸濁した菌液約 10 μ l をスライドグラスにのせカバーグラスにて覆い、倍率 2,000 倍の油浸レンズのついた顕微鏡にて観察した。

2.3.3 オキシダーゼテスト

日本製薬製のチトクロームオキシダーゼ紙を蒸留水で濡らし、2.3.1 と同様に培養した菌体を直接こすりつけた。1 分以内に紫色を呈したものを陽性とした。

2.3.4 カタラーゼテスト

試験管に 2.3.1 と同様に培養した菌体を取り、3% H₂O₂ (オキシドール) を適量加え、直ちに気泡が認められたものを陽性とした。

2.3.5 O-F テスト

肉汁培地および O-F 基礎培地 [Peptone 0.2%, NaCl 0.5%, K₂HPO₄ 0.3%, Bromothimol blue 0.008%, D-Glucose 1% (pH 7.1)] 5 ml に 1 サンプルあたり各 2 本植菌し、1 本はそのまま、もう 1 本は流動パラフィンを重層させ、37°C で 2 日間静置培養した。O-F 基礎培地の両培養液ともに色 (青色) の変化が確認されなければ未反応とし、流動パラフィンを重層しない培地のみ変化 (青色→黄色) が認められたら酸化とし、両培地ともに変化が認められたら発酵とした。

3. 結果と考察

3.1 振とう培養によるスクリーニング

4,6-Bis を含む液体培地に土壌あるいは活性汚泥のサンプルを加え振とう培養を行い、4,6-Bis の分解によ

る培地の脱色を観察した。しかしながら、今回の実験においては好気条件下で脱色を示すケースは確認できなかった。現在のところ、微生物による好気条件下でのアゾ色素の還元的開裂の例は *Pseudomonas* sp. K24²⁴⁾ と *Pseudomonas* sp. KF46²⁵⁾ のアゾレダクターゼによる Orange I と Orange II の分解の報告があるのみである。最初、Orange I や Orange II の資化菌の探索が試みられたが、失敗に終わっている。これらの 2 菌株はケモスタットを用いて高度に調整された選択圧下での長期間の馴養培養から得られたものであり、用いた単一炭素、窒素源は Orange I や Orange II ではなく、それらのスルホ基がカルボキシル基で置換されたカルボキシ Orange I やカルボキシ Orange II であった¹³⁾。さらに、この 2 種類のアゾレダクターゼは馴養培養の間に新たにその機能を獲得したと考えられている。今後、好気条件下での 4,6-Bis の分解菌の探索の際には、このようなスクリーニング基質の選択を含めた培養手法の検討が必要であると考えられる。

3.2 静置培養によるスクリーニング

一般的にアゾ基の還元的開裂反応には嫌気性条件が好ましいといわれている⁵⁾。今回、富山県内より集めた土壌及び活性汚泥のサンプルからの静置培養によるスクリーニングを通して、平板培地上にクリアゾーンを形成する菌 8 株 (No.1 ~ No.5 及び No.201 ~ No.203) を分離できた。単離された 8 菌株はいずれも振とう培養では培養液中の 4,6-Bis の脱色を示さなかった。この内、No.1 ~ No.5 の菌株は平板培地をガスパックに入れた絶対嫌気条件下でのみ 4,6-Bis を脱色する活性を示した。また、単離菌の液体培養においては培養液に流動パラフィンを重層して静置培養することが分解活性の発現にとって必要であった。一方、No.201 ~ No.203 の菌株はガスパックを用いずに培養した平板培養、及び液体培地に流動パラフィンを重層しない静置培養においても 4,6-Bis を脱色する活性を示した。No.201 株の 7 日間の静置培養による脱色の様子を図 2 に示す。次に、No.201 ~ No.203 の 3 菌株による 4,6-Bis 分解の経時変化を測定した (図 3)。この際、菌の生育度は培養液の OD₆₁₀ により求めた。その結果、いずれの菌株も培養 3 日目から 4,6-Bis の分解が確認され、培養 10 日後にはほぼ完全に 4,6-Bis を分解、脱色していた。また、その分解は対数増殖期において急速に進んでいることが明かとなった。さらに、培養中の pH の変化を測定したところ、No.202 と No.203 においては培養 11 日後には pH が 7 から 8.2 に上昇していた。

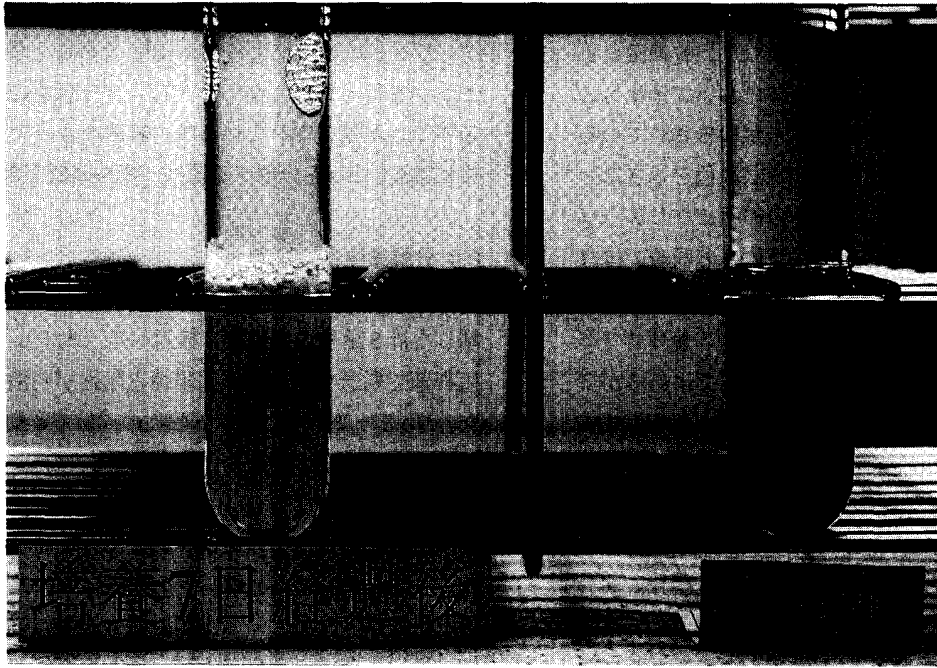


図2 No.201株による脱色

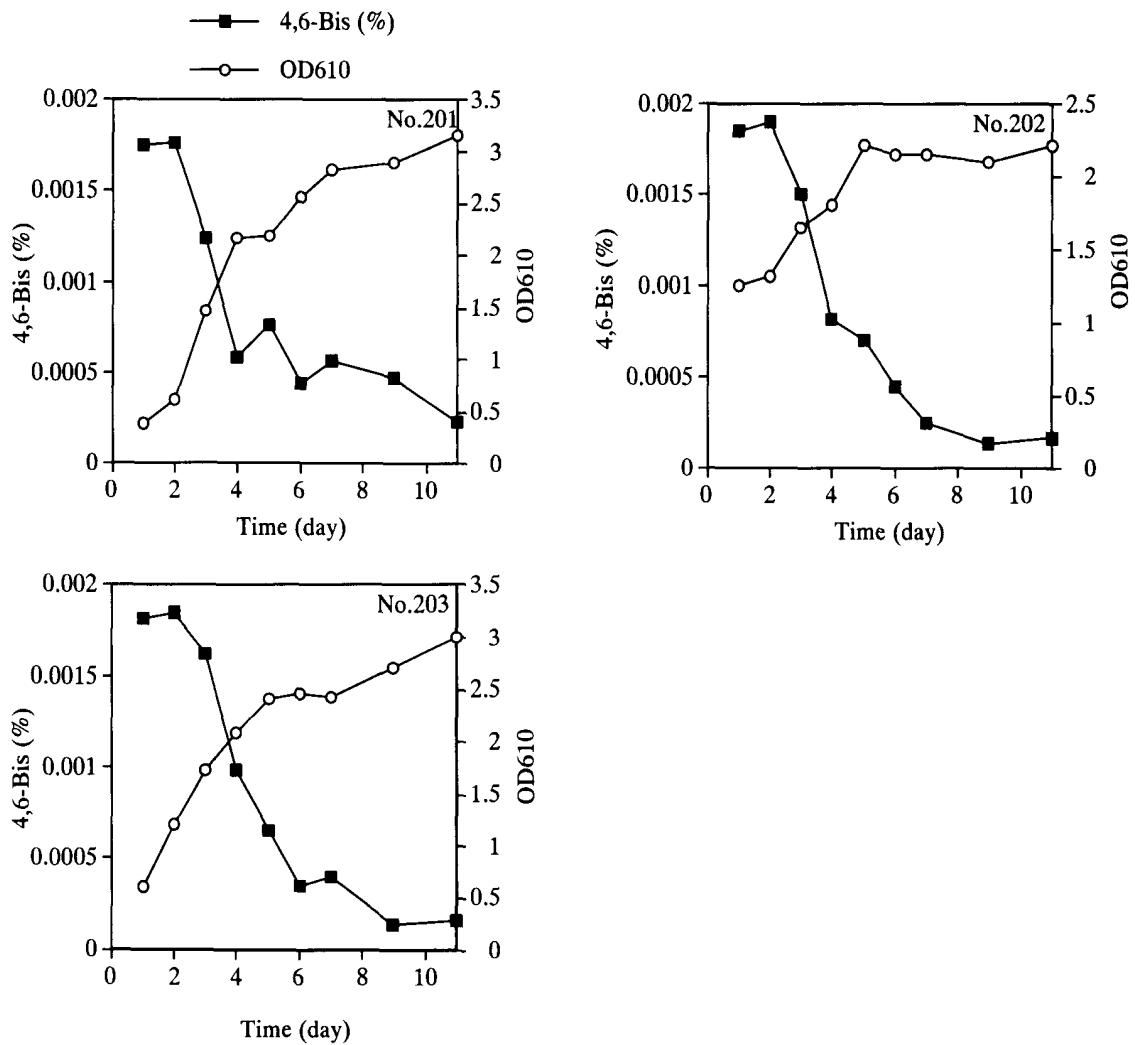


図3 分離菌株 No.201 ~ No.203 による 4,6-Bis の脱色と生育の経時変化

次いで、単離菌 8 株の培養上清を HPLC により分析した。その結果、アゾ基の還元的開裂による DAR の生成はいずれの菌においても検出されなかった。放線菌によるアゾ色素を含む産業排水の脱色処理において菌体への色素の吸着が脱色の原因であったことが報告されている²³⁾が、今回単離した菌は振とう培養時は脱色を示さないこと、そして平板培養時にコロニーの周囲にクリアゾーンを形成することからその脱色は菌体への吸着ではなくアゾ色素の分解によると考えられる。一方、白色腐朽菌の *Phanerochaete chrysosporium* はその菌体外リグニンパーオキシダーゼにより好氣的条件下ではあるがアゾ色素を分解し、キノンとヒドロペルオキシドを生成する^{4),7),16)}。また、*Pseudomonas cepacia* によるアミノアゾベンゼンの分解においてはアゾ基の還元的開裂の後、生成したアミンがアセチル化されるという報告もある¹¹⁾。したがって、今回単離した 8 菌株によって 4,6-Bis が分解された培養液中に DAR が検出されなかったことから、DAR からの分解代謝も含めて 4,6-Bis の代謝経路に関する今後の検討が必要であると考えられる。

3.3 研究室保存菌株からのスクリーニング

TPU (富山県立大学保存菌株) 中の 250 株の細菌について 0.002% の 4,6-Bis を含む平板培地上でのクリアゾーンの形成による 4,6-Bis 分解微生物のスクリーニングを行った。しかしながら、アゾ色素の分解活性を示すことが報告されている腸内細菌を含めて TPU 株の中には 4,6-Bis を分解する菌は一株も確認できなかった。

3.4 分解微生物の同定

実験方法の項に記した方法に従い、静置培養から分離した計 8 菌株の諸性質を検討した (表 1)。No.1 のみ短桿菌で残念ながらグラム陽性と陰性が判別できなかった。No.2 ~ No.4 はグラム陰性の桿菌で運動性を有していた。No.2 はカタラーゼ活性を有し、O-F テストで発酵を示す点で No.3, No.4 とは異なっていた。No.5 はグラム陽性の桿菌でオキシダーゼ活性を持っていなかった。一方、4,6-Bis 分解活性の発現に厳密な嫌気性を必要としない No.201 ~ No.203 の 3 菌株はいずれもグラム陰性の桿菌で、運動性及び、オキシダーゼ活性を示さなかった。これら 8 菌株についてはさらに詳細に諸性質を明らかにし、菌種の同定を行う必要がある。

表 1 4,6-Bis 分解微生物の諸性質

菌株No.	グラム染色	細胞形態	運動性	オキシダーゼ	カタラーゼ	O-F
1	+*	短桿菌	-	-	+	発酵
2	-	桿菌	+	+	+	発酵
3	-	桿菌	+	+	-	生育せず
4	-	桿菌	+	+	-	生育せず
5	+	桿菌	-	-	+	発酵
201	-	桿菌	-	-	+	生育せず
202	-	桿菌	-	-	+	生育せず
203	-	桿菌	-	-	+	生育せず

*: 判別不可

参考文献

1. Carliell, C.M., Barclay, S.J., Naidoo, N., Buckley, C.A., Mulholland, D.A. & Senior, E. (1995) Microbial decolourisation of a reactive azo dye under anaerobic conditions. *Water SA*, 21: 61-69.
2. Cerniglia, C.E., Freeman, J.P., Franklin, W. & Pack, L.D. (1982) Metabolism of azo dyes derived from benzidine, 3,3'-dimethylbenzidine and 3,3'-dimethoxybenzidine to potentially carcinogenic aromatic amines by intestinal bacteria. *Carcinogenesis* 3: 1255-1260.
3. Cerniglia, C.E., Freeman, J.P., Franklin, W. & Pack, L.D. (1982) Metabolism of benzidine and benzidine-congener based dyes by human, monkey and rat intestinal bacteria. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 107: 1224-1229.
4. Chivukula, M., Spadaro, J.T. & Renganathan, V. (1995) Lignin peroxidase-catalyzed oxidation of sulfonated azo dyes generates novel sulfophenyl hydroperoxides. *Biochemistry* 34: 7765-7772.
5. Chung, K.-T. & Stevens, S.E. Jr. (1993) Degradation of azo dyes by environmental microorganisms and helminths. *Environ. Toxicol.*

- Chem.* 12: 2121-2132.
6. Chung, K.-T., Stevens, S.E. Jr., & Cerniglia, C.E. (1992) The reduction of azo dyes by the intestinal microflora. *Crit. Rev. Microbiol.* 18: 175-190.
 7. Cripps, C., Bumpus, J.A. & Aust, S.D. (1990) Biodegradation of azo and heterocyclic dyes by *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* 56: 1114-1118.
 8. Hartman, C.P., Fulk, G.E. & Andrews, A.W. (1978) Azo reduction of trypan blue to a known carcinogen by a cell-free extract of a human intestinal anaerobe. *Mutant. Res.* 58: 125-132.
 9. Haug, W., Schmidt, A., Nortemann, B., Hempel, D.C., Stolz, A. & Knackmuss, H.-J. (1991) Mineralization of the sulfonated azo dye Mordant Yellow 3 by a 6-aminonaphthalene-2-sulfonate-degrading bacterial consortium. *Appl. Environ. Microbiol.* 57: 3144-3149.
 10. Horitsu, H., Takada, M., Idaka, E., Tomoyeda, M. & Ogawa, T. (1977) Degradation of *p*-aminoazobenzene by *Bacillus subtilis*. *Eur. J. Appl. Microbiol.* 4: 217-224.
 11. Idaka, E., Ogawa, T. & Horitsu, H. (1987) Reductive metabolism of aminoazobenzenes by *Pseudomonas cepacia*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 39: 100-107.
 12. Idaka, E., Ogawa, T., Horitsu, H. & Tomoyeda, M. (1978) Degradation of azo compounds by *Aeromonas hydrophila* var. 24B. *J. Soc. Dyers Colourists* 94: 91-94.
 13. Kulla, H.G. (1981) Aerobic bacterial degradation of azo dyes. In: Leisinger, T., Cook, A.M., Hutter, R., Nuesch, J. (eds) *Microbial degradation of xenobiotics and recalcitrant compounds*. Academic Press, London, pp 387-399.
 14. Manning, B.W., Cerniglia, C.E. & Federle, T.W. (1985) Metabolism of the benzidine-based azo dye direct Black 38 by human intestinal microbiota. *Appl. Environ. Microbiol.* 50: 10-15.
 15. Martins, M.A.M., Cardoso, M.H., Queiroz, M.J., Ramalho, M.T. & Campos, A.M.O. (1999) Biodegradation of azo dyes by the yeast *Candida zeylanoides* in batch aerated cultures. *Chemosphere* 38: 2455-2460.
 16. Pasti-Grigsby, M.B., Paszczynski, A., Goszczynski, S., Crawford, D.L. & Crawford, R.L. (1992) Influence of aromatic substitution patterns on azo dye degradability by *Streptomyces* spp. and *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* 58: 3605-3613.
 17. Ráfii, F., Franklin, W. & Cerniglia, C.E. (1990) Azoreductase activity of anaerobic bacteria isolated from human intestinal microflora. *Appl. Environ. Microbiol.* 56: 2146-2151.
 18. Roxon, J.J., Ryan, A.J. & Wright, S.E. (1967) Enzymatic reduction of tartrazine by *Proteus vulgaris* from rats. *Food Cosmet. Toxicol.* 5: 645.
 19. Scheline, R.R. & Nygaard, R.T. (1970) Enzymatic reduction of the azo dye, Acid yellow, by extracts of *Streptococcus faecalis* isolated from rat intestine. *Food Cosmet. Toxicol.* 8: 55-58.
 20. 正田 誠、金正準 (1996) 新しい染料分解菌 *Geotricum candidum* の特性 *Bio Industry* 13: 27-35.
 21. Tan, N.C.G., Prenafeta-Boldu, F.X., Opsteeg, J.L., Lettinga, G. & Field, J.A. (1999) Biodegradation of azo dyes in cocultures of anaerobic granular sludge with aerobic aromatic amine degrading enrichment cultures. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 51: 865-871.
 22. Walker, R. (1970) The metabolism of azo compounds: a review of the literature. *Food Cosmet. Toxicol.* 8: 659-676.
 23. Zhou, W. & Zimmermann, W. (1993) Decolorization of industrial effluents containing reactive dyes by actinomycetes. *FEMS Microbiol. Lett.* 107: 157-162.
 24. Zimmermann, T., Gasser, F., Kulla, H.G. & Leisinger, T. (1984) Comparison of two bacterial azoreductases acquired during adaptation to growth on azo dyes. *Arch. Microbiol.* 138: 37-43.
 25. Zimmermann, T., Kulla, H.G. & Leisinger, T. (1982) Properties of purified Orange II azoreductase, the enzyme initiating azo dye degradation by *Pseudomonas* KF46. *Eur. J. Biochem.* 129: 197-203.

Screening for 4,6-bisphenylazoresorcinol (4,6-Bis) degrading microorganisms

Hidenobu KOMEDA, Hiroyuki HARADA, Yasuhisa ASANO

Biotechnology Research Center

Summary

We screened for 4,6-bisphenylazoresorcinol (4,6-Bis) degrading activity among a number of microorganisms from soil and active sludge samples and found that 8 strains have the 4,6-Bis degrading activity. Of these strains, 5 strains (No.1 ~No.5) showed the 4,6-Bis degrading activity only under the strict anaerobic condition by using static liquid culture with liquid paraffin or agar plate in an anaerobic system Gaspak. On the other hand, 3 strains (No. 201 ~ No.203) could degrade 4,6-Bis in the static culture without liquid paraffin or plate culture without Gaspak. The strains (No. 201 ~ No.203) could well decolorize the culture medium containing 4,6-Bis in 10 days, however, 4,6-diaminoresorcinol, one of the possible degradation products could not be detected by HPLC analyses.

Key Words: azo compound, degradation, microorganism, screening