

内分泌かく乱化学物質の生物分解と環境浄化への応用

—光独立栄養微生物の利用—

Biodegradation of Endocrine Disrupting Chemicals and Its Application for Bioremediation —Utilization of Photoautotrophic Microorganisms—

廣岡 孝志*, 永瀬 裕康
TAKASHI HIROOKA and HIROYASU NAGASE

大阪大学大学院・薬学研究科・生命情報環境科学専攻・微生物制御学分野 〒565-0871 大阪府吹田市山田丘1-6

* TEL: 06-6879-8237 FAX: 06-6879-8239

* E-mail: hirooka@phs.osaka-u.ac.jp

*Environmental Bioengineering Laboratory, Graduate School of Pharmaceutical Sciences,
Osaka University, 1-6 Ymadaoka, Suita, Osaka 565-0871, Japan*

キーワード: 微細藻類, 内分泌かく乱化学物質, bisphenol A, バイオレメディエーション, 浸出水
Key words: microalgae, endocrine disrupting chemical, bisphenol A, bioremediation, landfill leachate

(原稿受付 2003年6月18日/原稿受付 2003年8月12日)

1. はじめに

産業の発展とともに生活や産業活動に必要な様々な有機物質が創造され、多量に生産かつ消費され、最終的に環境中へと放出されてきた。これらの物質の中には毒性が強く、難分解性で長期間環境中に残存するものも数多く含まれており、人体に有害であるだけでなく生態系にも大きな影響を及ぼすことが懸念されている。

1996年に, Colborn らがその著書“*Our Stolen Future* (奪われし未来)”により, 有機物質の中にはヒトや動物の内分泌系をかく乱する作用を有しているものがあり, ヒトの健康だけでなく生態系にも悪影響を与える恐れがあることを世界に警告した¹⁾。これを機に, 世界各国でこの内分泌かく乱化学物質に対する研究・調査が行われた。日本においても1998年に「環境ホルモン戦略計画 SPEED'98」が発表され, 環境庁により内分泌かく乱作用を有する疑いがある約67種類の有機物質が示された。その中の主なものの構造を図1に示す。これらの中にはプラスチック可塑剤として使われている *phthalate ester* 類, ポリカーボネイト製品の原料である *bisphenol A* (BPA), 非イオン性界面活性剤の分解生成物である *nonylphenol* (NP) や *p-tert-octylphenol* などの *alkylphenol* 類など我々が日常生活に用いている物質も含まれている。平成11年度に旧環境庁が行った内分泌かく乱化学物質の環境実態調査では, *phthalate ester* 類や BPA, NP などが河川や湖沼の水や底質から高い頻度で検出されている¹¹⁾。また, *dioxin* 類などの非意図的生成物質も環境中で検出されている¹²⁾。これら内分泌かく乱化学物質は, 魚類で観察されるオスのメス化, 貝類におけるインボセックスなどの

原因物質として考えられており, 我々ヒトの健康に対する悪影響も懸念されている。従って, このような影響を低減するための対策が必要であり, 内分泌かく乱化学物質による環境汚染に対する効果的な処理技術の開発・導入は, 他の環境汚染対策と同様に非常に重要な課題である。近年, 有害有機物質の処理において注目されている微生物を用いた環境浄化技術, いわゆる *bioremediation* 技術を内分泌かく乱化学物質の処理に利用することが検討されている。そこで本総説では, 現在, 環境汚染が問題となっている NP, BPA, *phthalate ester* 類, *dioxin* 類などに対する従属栄養微生物の分解機構や環境浄化への応用の可能性について最近の研究を紹介し, さらに光独立栄養微生物である微細藻類を用いた内分泌かく乱化学物質の処理に関する我々の研究について述べる。

2. 従属栄養微生物による内分泌かく乱化学物質の分解

内分泌かく乱化学物質による環境汚染と, その生態系やヒトへの危険性が世界的に認識されて以来, 多くの研究者により, これら内分泌かく乱化学物質に対して分解・資化能を持つ微生物が単離され, その分解能や分解機構について研究が行われてきた。そこで, まずバクテリアなどの従属栄養微生物による内分泌かく乱化学物質の分解について紹介する。

2.1. Nonylphenol

環境中において検出される NP は, 非イオン性界面活性剤である *nonylphenol ethoxylate* が, 環境中や排水処理施設で図2に示すような微生物分解を受けることによ

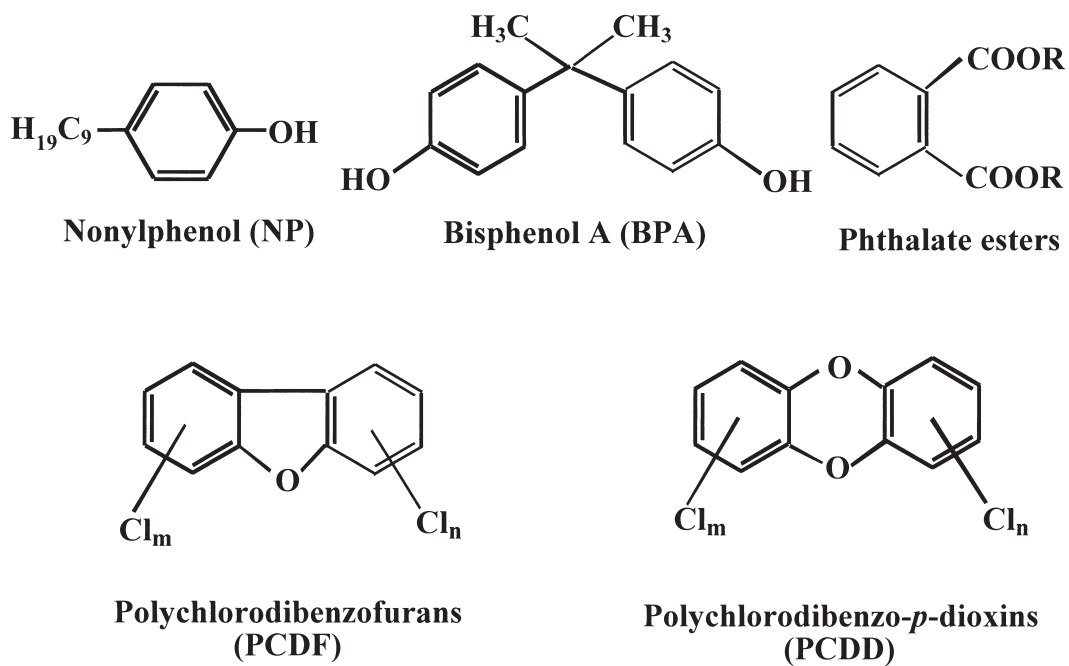


図1. Nonylphenol, bisphenol A, phthalate ester 類, polychlorodibenzofuran 類と dibenzo-*p*-dioxin 類の化学構造。

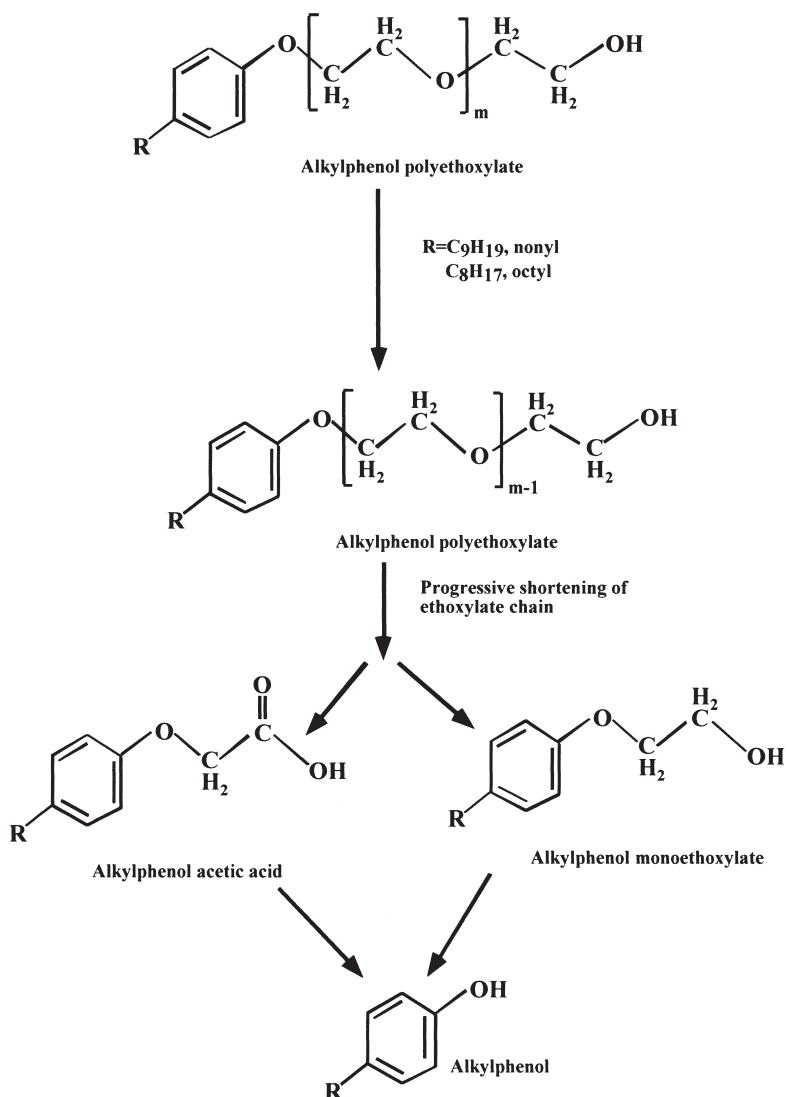


図2. Alkylphenol polyethoxylate からの alkylphenol の生成機構⁹⁾。

り生成される物質であることが知られている⁵⁾。NP は、その親化合物である *nonylphenol ethoxylate* に比べて、非常に生物分解を受けにくく、特に嫌気条件下ではほとんど分解されない⁴²⁾。最近の研究で NP に対して分解能を持つ微生物株がいくつか報告されている。Fujii らは、東京都内の下水処理施設の排水中から、NP を炭素源として増殖できるグラム陰性細菌S株の単離に成功した⁴⁾。この株は、生理学的、生化学的そして遺伝子的な解析から *Sphingomonas* 属であることが分かっており、NP を芳香環の開裂により分解すると推測されている。一方、NP が持つ *alkyl* 側鎖は、直鎖状のものから分岐状のものまで存在する。一般に、分岐状の *alkyl* 基は、生物分解を受けにくいことが知られている。Tanghe らは、分岐状の *nonyl* 基を持つ NP に対し分解能を持つ *Sphingomonas* sp. TTNP3 株を見出し、芳香環を開裂することにより、NP を分解することを明らかにしている³⁴⁾。また、低温地域での汚染浄化を目指し、10°C で最も良い増殖を示し、14°C で NP を分解できる *Pseudomonas* sp. も発見されており、この株による NP の分解も芳香環の開裂反応により進むと推測されている²⁹⁾。

2.2. Bisphenol A

BPA は、ポリカーボネイトやエポキシ樹脂の合成原材料や紙のコーティング剤など、多くの工業製品の合成材料として幅広く利用されている物質である³¹⁾。一方、BPA 分解微生物に関しては多くの報告がある。Lobos と Spivak は、プラスチック工場内の排水処理施設の活性汚泥から、BPA を炭素源として利用できるグラム陰性細菌株 MV1 を単離し、その BPA 分解機構について研究を行った。その結果、MV1 株は、BPA を 4-hydroxybenzoic acid と 4-hydroxyacetophenone に分解した後に、同化もしくは二酸化炭素に無機化する経路と、BPA を 2,2-bis(4-hydroxyphenyl)-1-propanol に酸化した後、dead-end product として 2,3-bis(4-hydroxyphenyl)-1,2-propanediol を生成する2つの分解経路を持つことが明らかになっている(図3)^{17,29)}。最近、白色腐朽菌など腐敗した木材を分解する担子菌類の *bioremediation* への利用が注目されている。これらの菌は、自然界における

難分解性有機物質である *lignin* を細胞外に分泌した分解酵素群により分解することができる。この *lignin* 分解酵素である *manganese peroxidase*, *laccase*, *lignin peroxidase* による BPA の分解が報告されている。Hirano らは、*Pleurotus ostreatus* が生成する *manganese peroxidase* により、BPA が *phenol*, 4-isopropenylphenol, 4-isopropylphenol や *hexestrol* などに分解されることを報告している⁷⁾。Tsutsumi らは、*Phanerochaete chrysosporium* や *Trametes versicolor* から得られた *manganese peroxidase* や *laccase* を用いた酸化により、BPA が主に *oligomer* に重合されて培養液から除去され、それに伴い培養液中のエストロゲン様活性も消失することを報告している⁴⁰⁾。

2.3. Phthalate ester 類

Phthalate ester 類は、プラスチック製品の可塑剤として工業的に非常に幅広く利用されている物質群である。これらの物質の微生物分解は、図4に示すように嫌気と好気の両条件において起こる³⁰⁾。phthalate ester 類の分解は、まずエステル部分の加水分解による *monoester* 体と *alcohol* の生成から始まり、この *monoester* 体は *phthalic acid* にまで分解される。その後、好気条件では *protocatechuate* を経由し *succinate* あるいは *pyruvate* に分解され、資化される。一方、嫌気条件では、*monoester* 体から生成された *phthalic acid* は *benzoyl-CoA* を介した経路により分解される。

2.4. Dioxin 類

Polychlorodibenzo-*p*-dioxin (PCDD) 類と polychlorodibenzofuran (PCDF) 類は、*dioxin* 類と呼ばれる化合物であり、廃棄物の焼却過程、塩素系殺虫剤や除草剤の製造過程において副産物として発生する。*Dioxin* 類の分解については、バクテリアを用いた好気条件下での分解、嫌気条件下での還元的脱塩素反応、白色腐朽菌による分解が研究されている。好気的な *dioxin* 類の分解では、他の芳香族化合物に対する酸化機構と異なる特殊な酸化反応が関与している。この酸化反応では、*angular dioxygenase* により *dibenzo-p-dioxin* (DD) や *dibenzofuran* (DF) 分子内において酸素分子に結合している炭素とそれに

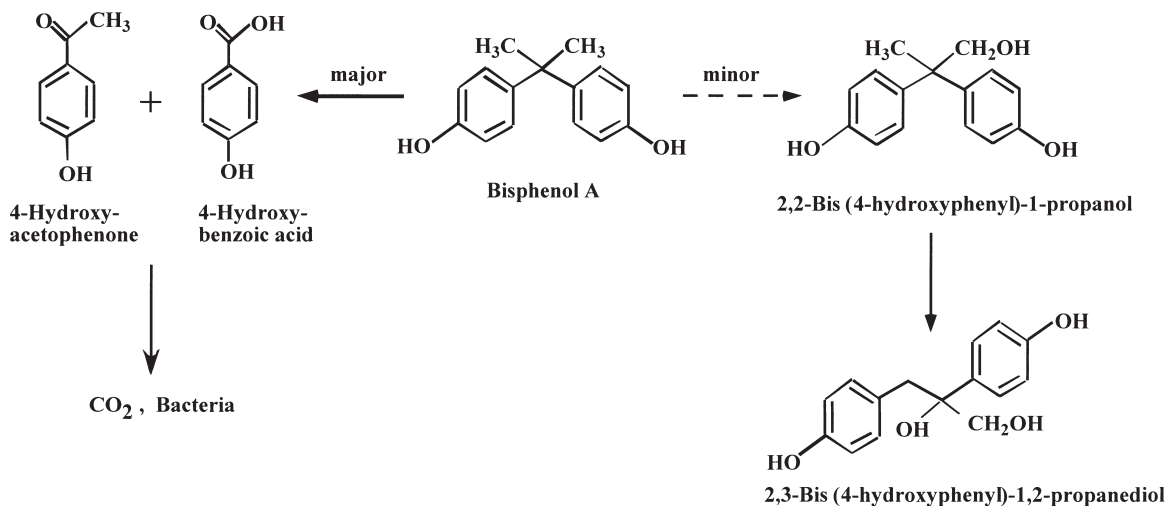


図3. MV1 株の bisphenol A 分解機構^{17,29)}。

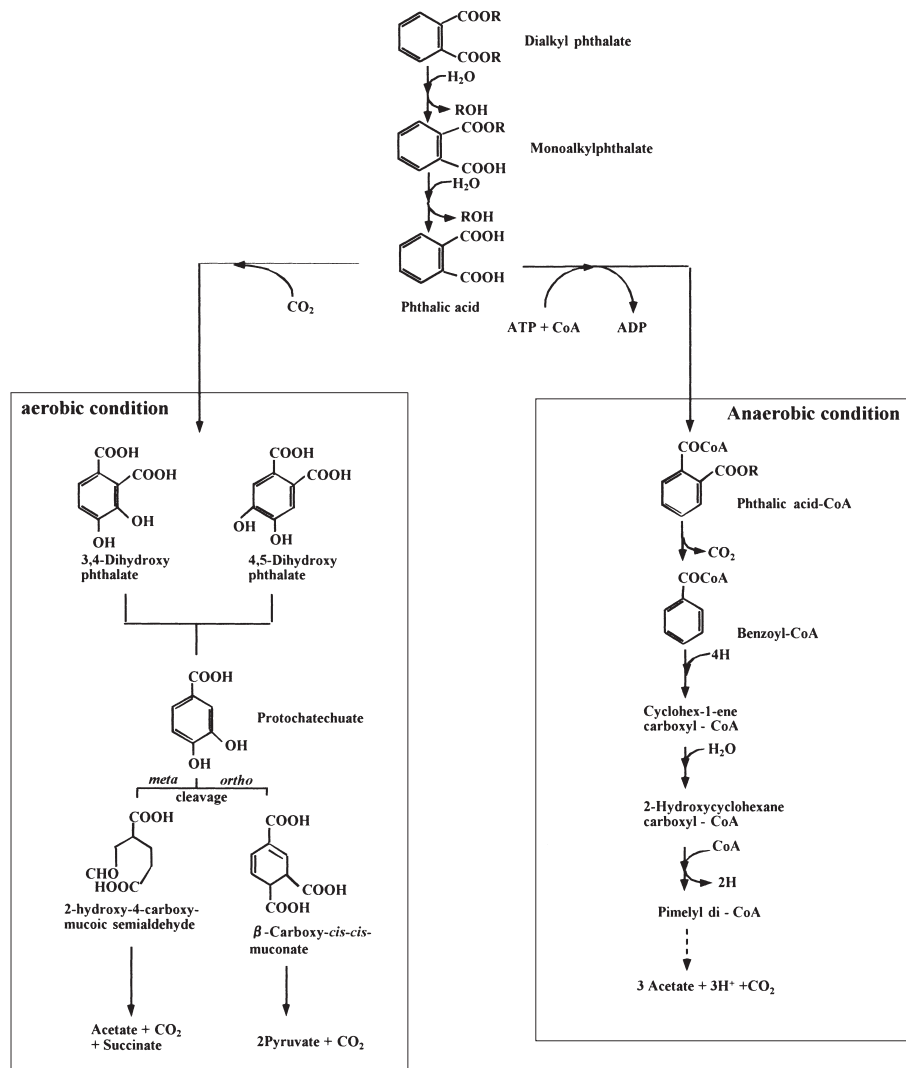


図4. バクテリアによる phthalate ester 類の分解³⁰⁾.

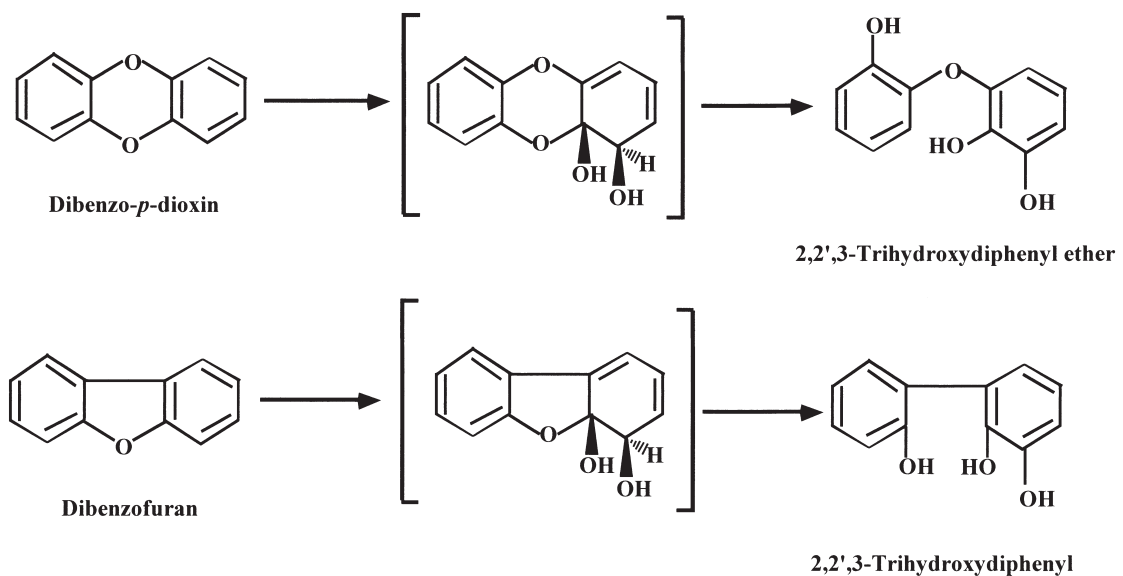


図5. Angular dioxygenase による dibenzo-*p*-dioxin と dibenzofuran の酸化²⁰⁾.

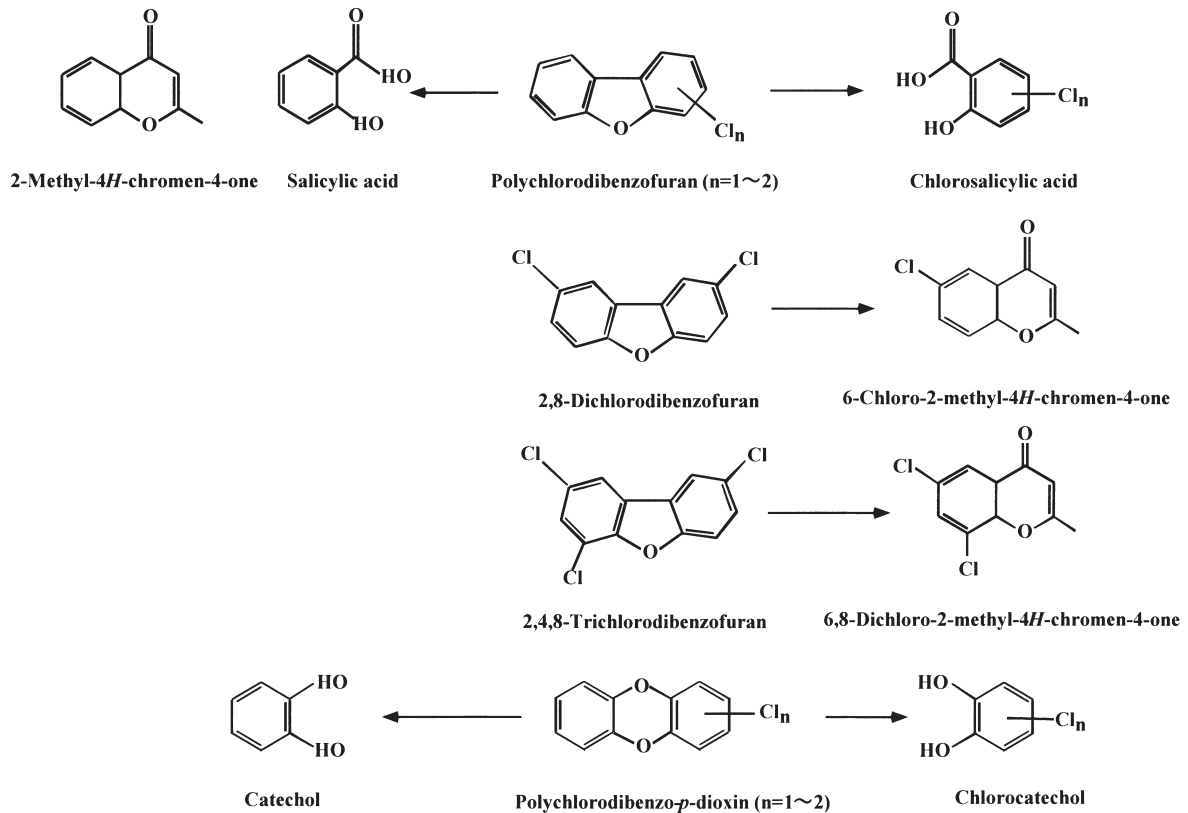


図6. *Shingomonas* sp. RW1 による chlorodibenzofuran と chlorodibenzo-*p*-dioxin の分解^{13,43)}。

隣接した芳香環中の炭素の両方が酸化される(図5)²⁰⁾。DD と DF の資化性細菌である *Sphingomonas* sp. RW1 株は, PCDD および PCDF のうちモノ, ジ置換体を catechol と salicylic acid との共酸化により, chlorocatechol, chlorosalicylic acid にそれぞれ分解することが報告されている(図6)⁴³⁾。また, 本株は 2,8-dichlorodibenzofuran や 2,4,8-trichlorodibenzofuran を 6-chloro-2-methyl-4H-chromen-4-one や 6,8-dichloro-2-methyl-4H-chromen-4-one に酸化的に分解することも報告されている(図6)^{13,43)}。Biphenyl 資化性細菌である *Burkholderia* JB1 株は biphenyl 存在下, 共酸化により 2-chlorodibenzo-*p*-dioxin と 2-chlorodibenzofuran をそれぞれ 4-chlorocatechol と 5-chlorosalicylic acid に分解する²²⁾。好気性微生物が持つ angular dioxygenase は, 主に PCDD や PCDF に対し塩素置換されていない芳香環部分の酸化を行うと推測されている。従って, 分子内の塩素置換基の増加に伴い, この酸化反応は進行しにくくなると考えられる。事実, Schreiner らは, 塩素置換基の数と位置が異なる210種類の PCDD/PCDF に対する *Sphingomonas* sp., *Alcaligenes eutrophus* と *Pseudomonas* sp. の分解能を調べ, これらの菌は塩素置換基数が1~4のものまでは分解できるが, 5以上では分解できないことを報告している²⁴⁾。

一方, 嫌気条件下では PCDD/PCDF は, 還元的な脱塩素作用を受けて塩素置換基数が減少する。Ballerstedt らは, 河川の底泥中の微生物群の脱塩素作用による 1,2,3,4-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin の 2-chlorodibenzo-*p*-dioxin への変換を報告している¹⁾。しかし, 嫌気条件下での反応では, 脱塩素の順番によっては 2,3,7,8-tetrachlo-

rodibenzo-*p*-dioxin/tetrachlorodibenzofuran の様に, より高い毒性を持つ物質が発生する可能性が懸念されている。

NP や BPA と同様に PCDD/PCDF に関しても白色腐朽菌が細胞外に分泌する lignin 分解酵素群による分解が報告されている。Valli らは, *Phanerochaete chrysosporium* による 2,7-dichlorodibenzo-*p*-dioxin の分解に lignin 分解酵素系が関与しているとし, 図7に示した分解経路を提唱している⁴¹⁾。Takada らは, *Phanerochaete sordida* YK-624 を用いて最も高い毒性を示す 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin/tetrachlorodibenzofuran を含め, 塩素置換基の多い dioxin 類が白色腐朽菌により分解できることを報告しており, 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin と octachlorodibenzo-*p*-dioxin の分解生成物として 4,5-dichlorocatechol と tetrachlorocatechol が検出されている³³⁾。

2.5. 従属栄養微生物を用いた環境浄化

Bioremediation とは, 微生物が持つ多様な物質代謝・資化機能を利用して有害物質を分解もしくは無毒化する技術の総称である。有害物質の浄化において物理・化学的な処理方法は強力な有害物質浄化法ではあるが, 汚染土壌等を回収する必要があるため非常にコストがかかる。このことから低濃度かつ広範囲に拡散した汚染の浄化にはあまり適していない。そこで, bioremediation 技術, 特に汚染環境の浄化を非破壊的に原位置で行う方法である in situ bioremediation の適用が注目されている。In situ bioremediation に関する研究は, タンカー座礁などによる原油汚染の浄化や, 爆薬原料である trini-

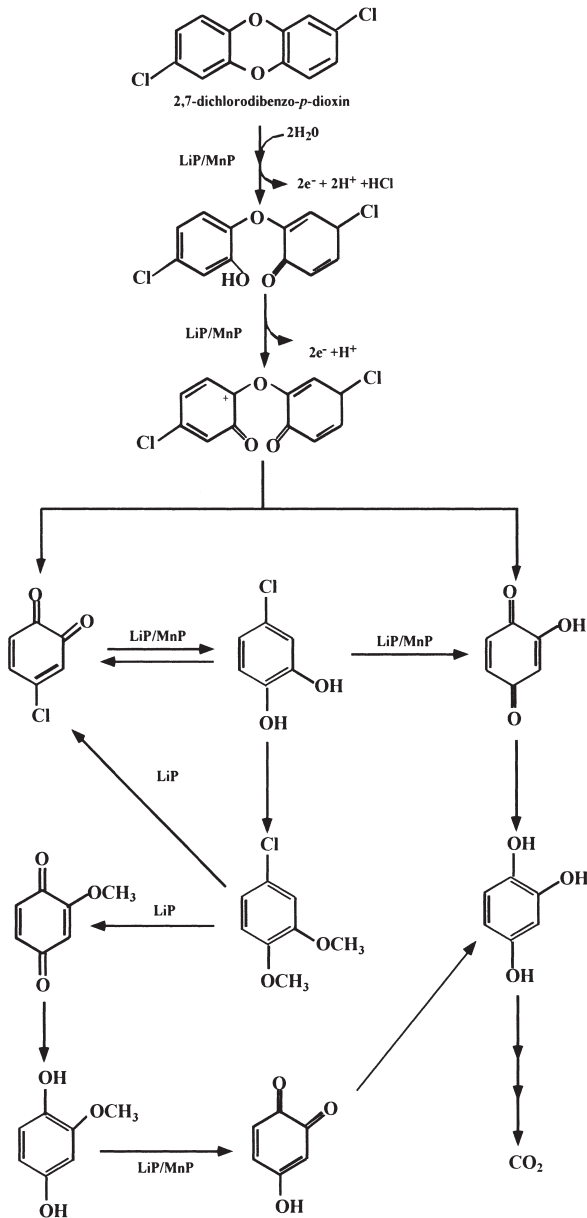


図7. 白色腐朽菌 *Phanerochaete chrysosporium* による 2,7-dichlorodibenzo-*p*-dioxin の分解⁴¹⁾。

LiP: Lignin peroxidase, MnP: Manganese peroxidase

trotoluene による汚染土壌の浄化, trichloroethane による地下水汚染の浄化などにおいて行われてきた。一方, 内分泌かく乱化学物質による汚染サイトの in situ bioremediation に関する研究としては, Hadkness らによるハドソン川底泥中の PCB の分解処理を行った biostimulation の報告例がある⁹⁾。この例では底泥中に酸素, 無機塩類, PCB 分解菌に対する増殖基質として biphenyl を注入し PCB の分解試験が行われ, 73日間で平均濃度 39.4 mg/kg 底泥の PCB の37~55%を分解できたことが報告されている。先に紹介したように, 環境中には内分泌かく乱化学物質に対して分解もしくは資化能をもつ微生物が多く存在している。従って, 汚染環境中に分解菌の増殖に必要な無機塩類, エネルギー源となる有機物質, 分解酵素の誘導基質などを供給し, 分解菌が持つ浄化能力を十分に発揮させる方法は内分泌かく乱化学物質による

環境汚染に対する効果的な浄化法であると考えられる。一方, dioxin 類など生物分解を非常に受けにくい物質を浄化する際, 汚染環境中に生息する分解菌を利用する方法で十分な浄化が行うことができない場合がある。このような条件下では, 外部からより強力な分解菌を導入し汚染浄化を行う方法 (bioaugmentation) が有効であると考えられる。

3. 微細藻類による内分泌かく乱化学物質の分解

環境中に放出された内分泌かく乱化学物質を浄化することは必要であるが, 排水や埋め立てられた廃棄物を介した環境中への内分泌かく乱化学物質の放出を抑制する技術の開発も必要である。水系環境中への内分泌かく乱化学物質の主要な排出源として都市下水や工業排水処理施設からの放流水や廃棄物処分場で発生する浸出水などが考えられている^{9,26,44-46)}。従属栄養微生物は, 微生物がその増殖に利用できる有機物質の濃度すなわち BOD の高い排水中の内分泌かく乱化学物質の処理に利用できる。しかし, BOD の低い排水中の内分泌かく乱化学物質の処理に用いる場合, 分解能を維持するために必要なバイオマスレベルを保つため, 増殖基質となる物質を添加する必要がある。このことから, 従属栄養微生物を排水中の低濃度の内分泌かく乱化学物質の処理に利用する場合, 増殖基質の添加など処理システム運用のために要するコストが高くなる (図8)。このためより安価で安定に排水中の低濃度の内分泌かく乱化学物質の処理を行うことができる技術の開発が望まれている。

一方, 微細藻類は光独立栄養微生物であり, 太陽光と二酸化炭素を利用して光合成を行うことにより増殖することができ, 低 BOD 条件下においても処理に必要な量のバイオマスを形成し維持することが可能である。このことから, 微細藻類は, 貧栄養条件下における排水中の有害有機物質の処理に威力を発揮すると考えられる (図8)。

微細藻類は高い窒素・リンの取り込み能を持つため, これまで食品系排水などに含まれるこれら無機物の処理に積極的に利用されてきた²¹⁾。また, 微細藻類は, 重金属類に対する高い吸着能も有しており, この機能を利用した排水中の重金属類の除去についても良く研究されている^{9,19)}。一方, 微細藻類は脂溶性の高い有機物質を細胞内に蓄積することが知られており, このような能力を利用した PCB や DDT などの除去も研究されている^{26,32)}。また, 微細藻類による有害有機物質の分解に関しても, 多環芳香族化合物や農薬に対していくつかの報告がある²⁵⁾。内分泌かく乱化学物質の分解に関しては, DDT^{23,18)}, γ -hexachlorocyclohexane (lindane)^{14,15)}, pentachlorophenol³⁶⁾, dibenzo-*p*-dioxin と dibenzofuran³⁷⁾, tributyltin³⁸⁾ の分解が報告されている。ここでは, 我々がやっている代表的な内分泌かく乱化学物質である BPA の微細藻類による処理に関する研究を紹介する。

3.1. Bisphenol A 分解微細藻類の探索

我々は, はじめに微細藻類による水系環境における代表的な有害有機物質である phenol 類の処理技術を開発することを目的に研究を開始した。有害な phenol 類

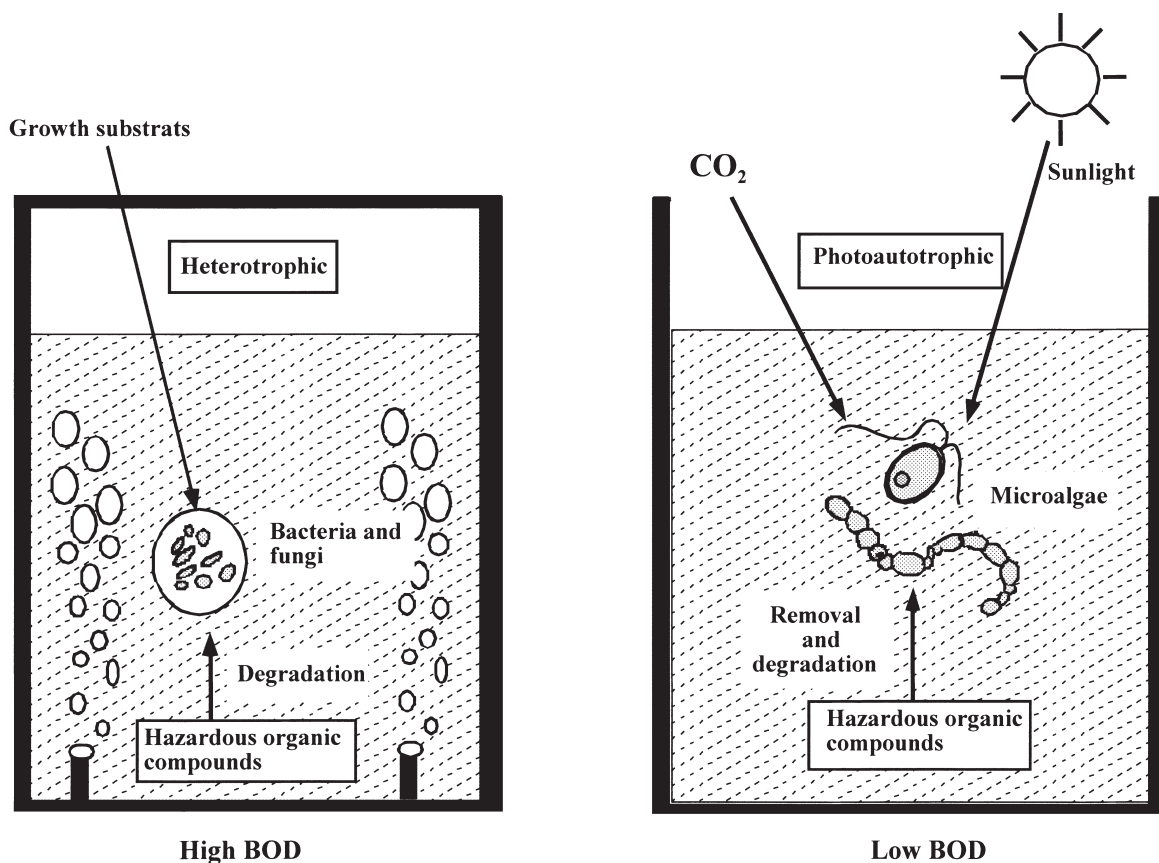


図 8. 排水処理における従属栄養微生物と微細藻類の利用。

は脱共役作用を持つものが多く、生物の呼吸鎖の電子伝達を阻害するだけでなく、光合成生物の光電子伝達系も阻害する^{2,27,35}。従って、これらの phenol 類を処理するためには、この毒性に対して耐性を持ちかつ高い除去能を持つ株が必要である。そこで、phenol 類の中でも除草剤や色素の原材料として使用されており¹⁶、強い脱共役剤としても知られている³⁵、2,4-dinitrophenol (DNP) に対

する除去能を指標に、有害な phenol 類に対して高い除去能を有する株の選抜を行い、緑藻 *Chlorella fusca* var. *vacuolata* とラン藻 *Anabaena variabilis* を得た。DNP 以外の有害 phenol 類に対するこの2種の微細藻類株の除去能を調べた結果、*C. fusca* が内分泌かく乱化学物質である BPA や2,4-dichlorophenol に対して除去能を持つことを明らかにした^{8,39}。図9は *C. fusca* と *A. variabilis* に

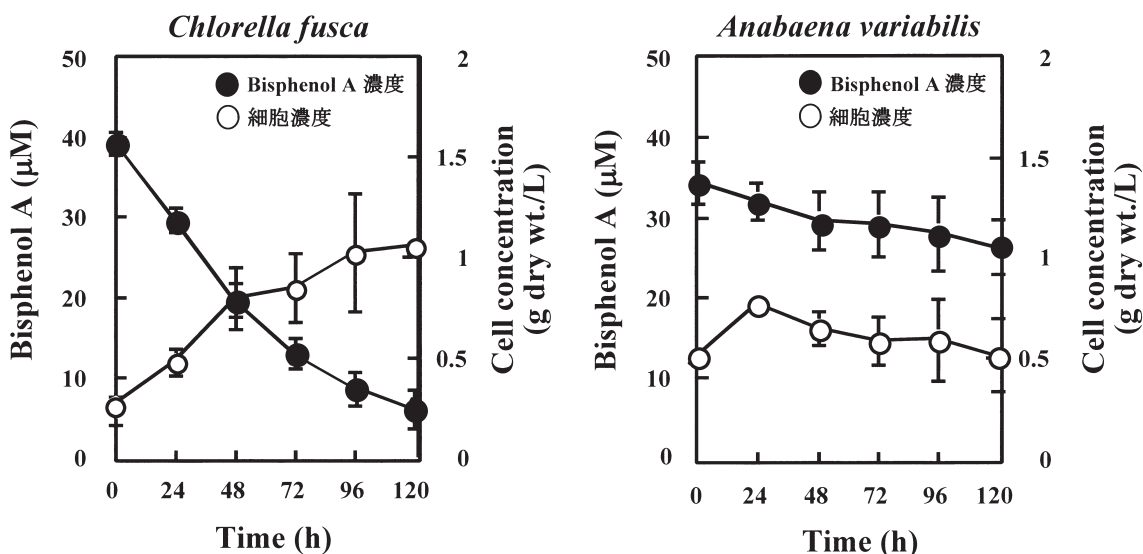


図 9. 連続明条件下での緑藻 *Chlorella fusca* とらん藻 *Anabaena variabilis* による bisphenol A の除去。

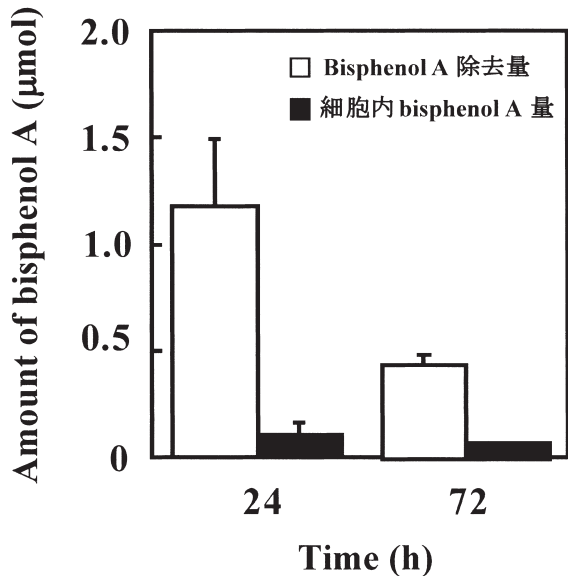


図10. 緑藻 *Chlorella fusca* による bisphenol A の培地からの除去量と細胞内量の比較。

よる BPA 除去を示している。*A. variabilis* の場合は、BPA により増殖が抑制され、BPA はあまり除去されなかったが、*C. fusca* では良好に除去することができた。微細藻類による BPA の除去に関してはこれが初めての報告である。次に連続明条件下において BPA 除去を行った場合の細胞内 BPA 量を調べた。この結果、24時間と72時間培養を行った細胞から検出された BPA 量は、それぞれ培養液から除去された BPA 量より低かった (図10)。このことから *C. fusca* は細胞内に取り込まれた BPA を分解もしくは酸化などにより他の物質に変換することでその除去を行っていると考えられる。一方、内分泌かく乱化学物質の生分解において、その分解生成物が親物質よりも高い内分泌かく乱作用を持つ場合があるため、培養液中からエストロゲン様活性が消失しているか否か確認することは重要である。そこで、次に *C. fusca* による BPA 除去を行った場合の培養液中エストロゲン様活性の変化を yeast two-hybrid assay により調べた。その結果、培養液中のエストロゲン様活性は、BPA

の減少に伴い低下し培養120時間で完全に消失した (図11)。以上の結果から、*C. fusca* は、微細藻類による内分泌かく乱化学物質 BPA の処理において非常に有用な株であるといえる。

3.2. 微細藻類による廃棄物処分場浸出水中の内分泌かく乱化学物質の処理

廃棄物処分場浸出水は処分場内に雨水や地下水が侵入することにより発生する排水であり、この浸出水を介した有害有機物質による周辺環境の汚染が懸念されている。一般に浸出水の組成は、処分された廃棄物の種類やその廃棄物処分場の使用期間により大きく変動する。処分場の使用期間の経過に伴い難分解性有機物質が浸出水中の炭素源の多くを占めるようになる。また、浸出水中に含まれる有害有機物質に関しては、特に廃プラスチックや焼却灰を含む廃棄物処分場から排出される浸出水中に多くの内分泌かく乱化学物質が含まれていることが報告されている。その中でも特に BPA の含有濃度が高く、1.3 μg/L から17 mg/L の範囲で検出されている。このことから、浸出水中は BPA の水系環境への主要な排出源の1つとして注目されている⁴⁵⁻⁴⁷⁾。

一方、浸出水中は従属栄養微生物の分解能を維持するために必要な濃度の BOD 成分を含んでいない場合が多い。しかし、微細藻類は光合成を行うことにより有害有機物質の処理に必要なエネルギーを得ることができるため、浸出水中の内分泌かく乱化学物質の処理に適しているといえる。そこで、我々は、緑藻 *C. fusca* による浸出水中 BPA の処理について検討した。

まず、BPA を高濃度で含有する浸出水中の発生条件について検討した。BPA は種々の工業製品の原料や添加剤、特にプラスチック製品や食品、飲料用の缶の内部コーティングなどに多く使われている。そのため、これらの不燃性廃棄物を多く含む最終処分場からの浸出水中には、高い濃度の BPA が検出されている⁴⁸⁾。また、山田らは日本の7つの最終処分場から浸出水中を採取し含有される有害有機物質の種類と濃度を調べ、BPA が埋め立て開始より約10年から20年経過した管理型の処分場由来の浸出水中に高い濃度で含まれることを報告している⁴⁹⁾。この時期においては、浸出水中の BOD の大部分を占める処分場

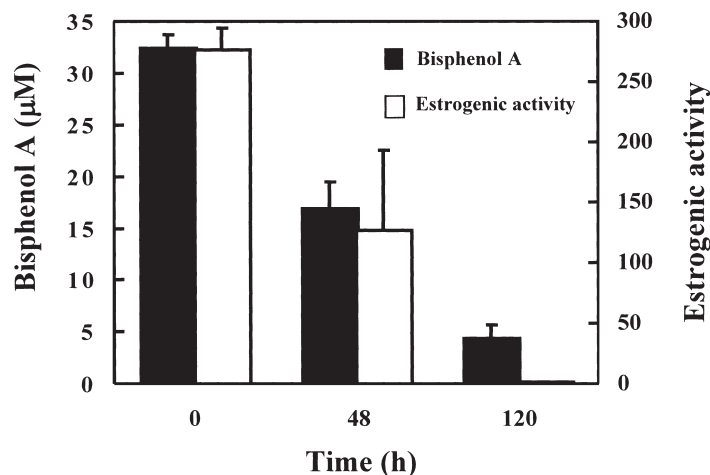


図11. 緑藻 *Chlorella fusca* による bisphenol A の除去と培養液中のエストロゲン様活性の減少。

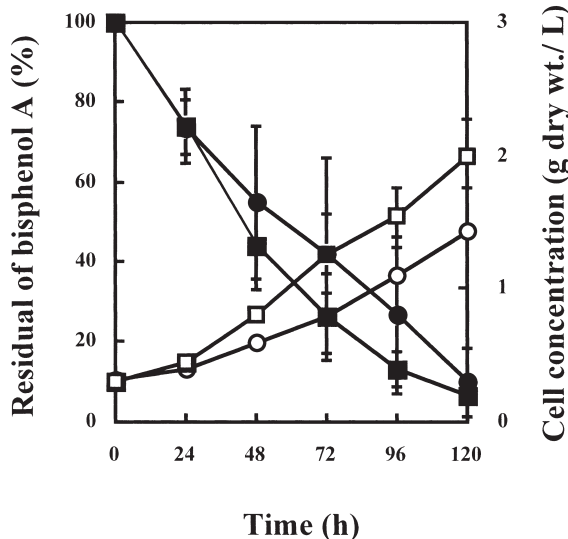


図12. バッチ培養におけるモデル浸出水からの bisphenol A の除去。
 ●; モデル浸出水中の bisphenol A 残存率 (%)
 ■; 緑藻用培養液中の bisphenol A 残存率 (%)
 ○; モデル浸出水中の細胞量 (g dry wt./L)
 □; 緑藻用培養液中の細胞量 (g dry wt./L)

内の揮発性有機酸などの易分解性有機物はメタン発酵により急激に減少し、浸出水中の BOD 値は低下する。そこで、著者らはいくつかの文献を参考に^{46,47)}、この時期の浸出水の平均的な無機塩組成を考え、モデル浸出水を作製した。また、このモデル浸出水には BPA 以外の内分泌かく乱化学物質として、*p-tert-butylphenol*, *p-methyl-2,6-di-tert-butylphenol*, *3,5-dimethylphenol*, *1-naphthol*, *diethylphthalate* および *dibutylphthalate* を添加した。

まず、バッチ培養におけるモデル浸出水中からの BPA の除去を調べた。その結果、本株は通常の緑藻用の培養液を用いた時と同様に高い BPA 除去能を示した(図12)。また、微細藻類の屋外での培養には、連続やセミバッチ培養法がよく用いられる。*Chlorella* の大量培養においては、他の菌によるコンタミを防ぐために後者の方法が用いられている。そこで、セミバッチ培養を用いたモデル浸出水中の BPA 長期間処理について検討した結果、4 周期の間 BPA を良好に処理することができた。本研究はモデル浸出水を用いて微細藻類が廃棄物処分場浸出水中の内分泌かく乱化学物質の処理に利用できる可能性を初めて示したものであり、今後の実用化へ向けた展開が期待される。

4. おわりに

微生物による内分泌かく乱化学物質分解技術の開発はまだ始まったばかりであり、バクテリアや白色腐朽菌などについて分解機構など基礎的研究が進められているが、環境中に拡散した内分泌かく乱化学物質を *bioremediation* により浄化するためにはさらなる研究が必要である。一方、バイオリアクターを用いる活性汚泥法では、環境中から単離されている分解微生物を活性汚泥に添加し培養条件を整えることにより、排水中の内分泌かく乱化学物質を効果的に処理することができると考えら

れる。

内分泌かく乱化学物質に対して分解能を有している微細藻類は光独立栄養微生物であり、浸出水など従属栄養微生物では処理が難しかった BOD 濃度の低い排水の処理に大いに利用できると考えられる。しかし、微細藻類による内分泌かく乱化学物質の処理に関する研究は、バクテリアなどに比べて非常に少なく、その分解機構などに関してさらなる研究が必要である。また、活性汚泥法と同様に、微細藻類は古くから排水中の窒素やリンの処理に用いられており、その大量培養技術は確立しているといえる。東南アジアは高温多湿であり微細藻類の培養に適している。一方、現在、これらの地域では浸出水など内分泌かく乱化学物質を含む排水が十分に処理されずに環境中に放出され、問題となっている。従って、微細藻類による排水処理技術は、このような地域において、窒素やリンだけでなく内分泌かく乱化学物質を含めた排水の高度処理に大いに利用できると考えられる。

従属栄養微生物と微細藻類の内分泌かく乱化学物質分解機構とその環境浄化への応用について解説してきた。今後、これらの物質による環境汚染の悪化を防止するために、*bioremediation* 技術の急速な発展が期待される。

謝 辞

本総説をまとめるにあたり多大なるご助言をいただきました。大阪大学大学院薬学研究科宮本和久教授、平田收正助教授に深く感謝致します。

文 献

- 1) Ballersted, H., A. Kraus, and U. Lechner. 1997. Reductive dechlorination of 1,2,3,4-tertachlorodibenzo-*p*-dioxin and its products by anaerobic mixed culture from Saale river sediment. *Environ. Sci. Technol.* 31: 1749-1753.
- 2) Barr, R., and F. L. Crane. 1997. Chloroplast electron transport inhibitors, pp. 95-112. In M. Pessaraki (ed.), *Handbook of photosynthesis*. Marcel Dekker, Inc. New York. U.S.A.
- 3) Colborn, T., D. Dumanoski, and J.P. Myers. 1996. *Our stolen future*. Dutton, New York, U.S.A.
- 4) Fujii, K., N. Urano, H. Ushio, M. Satomi, H. Iida, N. Ushio-sata, and S. Kimura. 2000. Profile of nonylphenol-degrading microflora and its potential for bioremedial applications. *J. Biochem.* 128: 909-916.
- 5) Guang-Guo, Y., B. Williams, and R. Kookana. 2002. Environmental fate of alkylphenols and alkylphenol ethoxylates — a review. *Environ. Internat.* 28: 215-2265.
- 6) Harkness, M.R., J.B. Mcdermott, D.A. Abramowicz, J.J. Salvo, W.P. Flanagan, M.L. Stephens, F.J. Mondello, R.J. May, J.H. Lobos, K.M. Carroll, M.J. Brennan, A.A. Bracco, K.M. Fish, G.L. Warner, P.R. Wilson, D.K. Dietrich, D.T. Lin, C.B. Morgan, and W.L. Gately. 1993. In situ stimulation of aerobic PCB biodegradation in Hudson river sediments. *Science* 259: 503-507.
- 7) Hirano, T., Y. Honda, T. Watanabe, and M. Kuwahara. 2000. Degradation of bisphenol A by the lignin-degrading enzyme, manganese peroxidase, produced by the white-rot basidiomycete. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 64: 1958-1962.
- 8) Hirooka, T., Y. Akiyama, N. Tsuji, T. Nakamura, H. Nagase, K. Hirata, and K. Miyamoto. 2003. Removal of hazardous phenols by microalgae under photoautotrophic conditions. *J. Biosci. Bioeng.* 95: 200-203.
- 9) Inthorn, D., H. Nagase, Y. Isaji, K. Hirata, and K. Miyamoto. 1996. Removal of cadmium from aqueous solution by the

- filamentous cyanobacterium *Tolypothrix tenuis*. J. Ferment. Bioeng. 82: 580–584.
- 10) Johnson, A.C., and J.P. Sumpter. 2001. Removal of endocrine-disrupting chemicals in activated sludge treatment works. Environ. Sci. Technol. 35: 4697–4703.
 - 11) 環境庁水質保全局水質保管課. 2000. 平成11年度水環境中の内分泌かく乱化学物質 (いわゆる環境ホルモン) 実態調査結果.
 - 12) 環境省. 2002. 平成13年度ダイオキシン類に係る環境調査結果.
 - 13) Keim, T., W. Francke, S. Schmidt, and P. Fortnagel. 1999. Catabolism of 2,7-dichloro- and 2,4,8-trichlorodibenzofuran by *Sphingomonas* sp. strain RW1. J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 23: 359–363.
 - 14) Kuritz, T., and C.P. Wolk. 1995. Use of filamentous cyanobacteria for biodegradation of organic pollutants. Appl. Environ. Microbiol. 61: 234–238.
 - 15) Kuritz, T., L.V. Bocanera, and N.S. Rivera. 1997. Dechlorination of lindane by the cyanobacterium *Anabaena* sp. strain PCC7120 depends on the function of the *nir* operon. J. Bacteriol. 179: 3368–3370.
 - 16) Lie, Y.S., Y. You, and E.T., Lein. 1999. Oxidation of 2,4-dinitrophenol by hydrogen peroxide in the presence of basic oxygen furnace slag. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 37: 427–433.
 - 17) Lobos, J.H., T.K. Leib, and T.-M. Su. 1992. Biodegradation of bisphenol A and other bisphenols by a gram-negative aerobic bacterium. Appl. Environ. Microbiol. 58: 1823–1831.
 - 18) Megharaj, M., D. Kantachote, I. Singleton, and R. Naidu. 2000. Effects of long-term contamination of DDT on soil microflora with special reference to soil alga and algal transformation of DDT. Environ. Poll. 109: 35–42.
 - 19) Nagase, H., D. Inthorn, Y. Isaji, A. Oda, K. Hirata, and K. Miyamoto. 1997. Selective cadmium removal from hard water using NaOH-treated cells of the cyanobacterium *Tolypothrix tenuis*. J. Ferment. Bioeng. 84: 151–154.
 - 20) Nojiri, H., and T. Omori. 2002. Molecular bases of aerobic bacterial degradation of dioxins: involvement of angular dioxygenation. Biosci. Biotechnol. Biochem. 66: 2001–2016.
 - 21) Oswald, W.J. 1988. Micro-algae and wastewater treatment, pp. 305–328. In M.A. Borowitzka and L.J. Borowitzka (ed.), Micro-algal biotechnology. Cambridge University Press, New York, U.S.A.
 - 22) Parsons, J.R., J.A. de Bruijine, and A.R. Weiland. 1998. Biodegradation pathway of 2-chlorodibenzo-*p*-dioxin and 2-chlorodibenzofuran in the biphenyl-utilising strain JB1. Chemosphere 37: 1915–1922.
 - 23) Rice, C.P., and H.C. Sikka. 1973. Uptake and metabolism of DDT by six species of marine algae. J. Agr. Food Chem. 21: 148–152.
 - 24) Schreiner, G., T. Wiedmann, H. Schimmel, and K. Ballschmiter. 1997. Influence of the substitution pattern on the microbial degradation of mono- to tetrachlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans. Chemosphere 34: 1315–1331.
 - 25) Semple, K.T., R.B. Cain, and S. Schmidt. 1999. Biodegradation of aromatic compounds by microalgae. FEMS Microbiol. Lett. 170: 291–300.
 - 26) Sheahan, D.A., G.C. Brighty, M. Daniel, S.J. Kirby, M.R. Hurst, J. Kennedy, S. Morris, E.J. Routledge, J.P. Sumpter, and M.J. Waldock. 2002. Estrogenic activity measured in a sewage treatment works treating industrial inputs containing high concentrations of alkylphenolic compounds — a case study. Environ. Toxicol. Chem. 21: 507–514.
 - 27) Shigeoka, T., Y. Sato, Y. Takeda, K. Yoshida, and F. Yamauchi. 1988. Acute toxicity of chlorophenols to green algae, *Selenastrum capricornutum* and *Chlorella vulgaris*, and quantitative structure-activity relationships. Environ. Toxicol. Chem. 7: 847–854.
 - 28) Soares, A., B. Guieysse, O. Delgado, and B. Mattiasson. 2003. Aerobic biodegradation of nonylphenol by cold-adapted bacteria. Biotechnol. Lett. 25: 731–738.
 - 29) Spivack, J., T.K. Leib, and J.H. Lobos. 1994. Novel pathway for bacterial metabolism of bisphenol A. J. Biol. Chem. 269: 7323–7329.
 - 30) Staples, C.A., D.R. Peterson, T.F. Parkerton, and W.J. Adams. 1997. The environmental fate of phthalate esters: a literature review. Chemosphere 35: 667–749.
 - 31) Staples, C.A., P.B. Dorn, G.M. Klecka, S.T. O’Block, and L.R. Harris. 1998. A review of the environmental fate, effects, and exposures of bisphenol A. Chemosphere 36: 2149–2173.
 - 32) Swackhamer, D.L., and R.S. Skoglund. 1993. Bioaccumulation of PCBs by algae: kinetics versus equilibrium. Environ. Toxicol. Chem. 12: 831–838.
 - 33) Takada, S., M. Nakamura, T. Matsueda, R. Kondo, and K. Sakai. 1996. Degradation of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and polychlorinated dibenzofurans by the white rot fungus *Phanerochaete sordida* YK-624. Appl. Environ. Microbiol. 62: 4323–4328.
 - 34) Tanghe, T., W. Dhooge, and W. Verstraete. 1999. Isolation of a bacterial strain able to degrade branched nonylphenol. Appl. Environ. Microbiol. 65: 746–751.
 - 35) Terada, T. 1990. Uncouplers of oxidative phosphorylation. Environ. Health Perspect. 87: 213–218.
 - 36) Tikoo, V., A.H. Scragg, and S.W. Shales. 1997. Degradation of pentachlorophenol by microalgae. J. Chem. Tech. Biotechnol. 68: 425–431.
 - 37) Todd, S.J., R.B. Cain, and S. Schmidt. 2002. Biotransformation of naphthalene and diaryl ethers by green microalgae. Biodegradation 13: 229–238.
 - 38) Tsang, C.K., P.S. Lau, N.F.Y. Tam, and Y.S. Wong. 1999. Biodegradation capacity of tributyltin by two *Chlorella* species. Environ. Poll. 105: 289–297.
 - 39) Tsuji, N., T. Hirooka, H. Nagase, K. Hirata, and K. Miyamoto. 2003. Photosynthesis-dependent removal of 2,4-dichlorophenol by *Chlorella fusca* var. *vacuolata*. Biotechnol. Lett. 25: 241–244.
 - 40) Tsutsumi, Y., T. Haneda, and T. Nishida. 2001. Removal of estrogenic activities of bisphenol A and nonylphenol by oxidative enzymes from lignin-degrading basidiomycetes. Chemosphere 42: 271–276.
 - 41) Valli, K., H. Wariishi, and M.H. Gold. 1992. Degradation of 2,7-dichlorodibenzo-*p*-dioxin by the lignin-degrading basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. J. Bacteriol. 174: 2131–2137.
 - 42) Walter, G., P.H. Brunner, and C. Schaffner. 1984. 4-Nonylphenol in sewage sludge: accumulation of toxic metabolites from nonionic surfactants. Science 225: 623–625.
 - 43) Wilkers, H., R.-M. Wittich, K.N. Timmis, P. Fortnagel, and W. Francke. 1996. Degradation of chlorinated dibenzofurans and dibenzo-*p*-dioxins by *Shingomonas* sp. strain RW1. Appl. Environ. Microbiol. 62: 367–371.
 - 44) Yamada, K., T. Uruse, T. Matsuo, and N. Suzuki. 1999. Constituents of organic pollutants in leachates from different type of landfill sites and their fate in the treatment processes. J. Japan Soc. Water Environ. 22: 40–45.
 - 45) Yamamoto, T., A. Yasuhara, H. Shiraishi, and O. Nakasugi. 2001. Bisphenol A in hazardous waste landfill leachates. Chemosphere 42: 415–418.
 - 46) Yasuhara, A., H. Shiraishi, M. Nishikawa, T. Yamamoto, T. Uehiro, O. Nakasugi, T. Okumura, K. Kenmotsu, H. Fukui, M. Nagase, Y. Ono, Y. Kawagoshi, K. Baba, and Y. Noma. 1997. Determination of organic components in leachates from hazardous waste disposal sites in Japan by gas chromatography-mass spectrometry. J. Chromatogr. A 774: 321–332.
 - 47) Yasuhara, A., H. Shiraishi, M. Nishikawa, T. Yamamoto, and O. Nakasugi. 1999. Organic components in leachates from hazardous waste disposal sites. Waste Manage. Res. 17: 186–197.