The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	海水中におけるビスフェノールAおよびビスフェノールFの生分解ポテンシャルの評価
Author(s)	井上, 大介; 野本, 直樹; 清, 和成 他
Citation	日本水処理生物学会誌. 2010, 46(3), p. 137-144
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/3466
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

[日本水処理生物学会誌　第46巻　第3号　137-144　2010]

海水中におけるビスフェノールAおよびビスフェノールFの生分解ポテンシャルの評価

Evaluation of Biodegradation Potential of Bisphenol A and Bisphenol F in Seawater

井上大介、野本直樹、清　和成、惣田　訓、池　道彦

大阪大学大学院工学研究科環境・エネルギー工学専攻／〒565-0871 大阪府吹田市山田丘2-1

DAISUKE INOUE, NAOKI NOMOTO, KAZUNARI SEI, SATOSHI SODA, and MICHIHIKO IKE
Division of Sustainable Energy and Environmental Engineering, Osaka University
/2-1 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871, Japan

Abstract

To evaluate the biodegradation potential of bisphenol A (BPA) and bisphenol F (BPF) in the seawater environment, biodegradation tests of these compounds were performed using seawater microbes obtained from various parts of Japan. BPA was biodegraded in 7 out of 11 seawater samples, and BPF was biodegraded in 4 out of 5 seawater samples, suggesting that biodegradation potentials of BPA and BPF distribute widely in the seawater environment. Multiple metabolites appeared during the biodegradation of BPA and BPF, and some of them seemed to be different from those detected in the biodegradation by previously reported BPA- and BPF-degrading bacteria. Thus, biodegradation pathways of BPA and BPF by seawater microbes may include novel ones that are distinct from already-known pathways. Although 30 bacterial strains were isolated from enrichment cultures constructed from seawater samples with BPA biodegradation potential, none exhibited BPA-degrading ability. Similarly, only 2 of 19 strains isolated from enrichment cultures from seawater samples with BPF biodegradation potential showed BPF-degrading ability. Thus, most of BPA- and BPF-degrading microbes in seawater may require certain nutrients or symbiotic relationship with other microbes for their growth on BPA and BPF, respectively. However, 2 BPF-degrading isolates included both gram-positive and gram-negative bacteria, suggesting the presence of taxonomically-diverse BPF-degrading bacteria in the seawater environment.

Key words: biodegradation, bisphenol A, bisphenol F, seawater

1. はじめに

ビスフェノールA (BPA) は、ポリカーボネート樹脂やエポキシ樹脂の原料、缶詰のラッカーコーティング剤など幅広い用途で古くから使用されている工業的に重要な化学物質である。また、BPAと類似の構造を有するビスフェノールF (BPF) などのビスフェノール類 (BPs) も、BPAと同様に、ポリカーボネート樹脂やエポキシ樹脂の原料などの用途で工業的に使用されている。このように使用が広がってきた結果、湖沼[1]や河川[1,2]、海域[3]の表層水や底泥において、BPAやBPFによる汚染が確認されてきている。BPsは急性毒性[4]や内分泌攪乱性[4-8]を有していることから、水環境汚染に伴う生態系への悪影響が懸念される。このため、BPsの水環境中における挙動を詳細に把握し、汚染に伴って生じ得るリスクを適正に評価することが必要とされている。

化学物質の環境挙動は、移送・拡散などの物理学的プロセス、加水分解などの化学的プロセス、および微生物

分解を中心とした生物学的プロセスに依存して決まるが、これらの内、微生物による生分解は、BPsの水環境中における挙動に重大な影響を及ぼすものと考えられる。水環境の入り口となる河川表層水におけるBPsの生分解については、BPAを中心として、多数の報告があり[9-15]、その挙動はある程度明らかになってきている。一方、最終的な受け皿であり、出口ともいえる海域における生分解については、BPAについても報告例が少ない[12,16-18]。また、YingとKookana[16]、Sakaiら[17]およびDanzlら[18]の研究では、好気条件下において海水中の微生物によるBPA分解が生じることが示唆されているが、KangとKondo[12]は、海水中におけるBPA分解が微生物による直接的な分解ではなく、藻類等により生じた活性酸素種による化学的分解である可能性を指摘しており、見解が一致していない。BPA以外のBPsについては、我々が大阪湾の海水を用いてBPA、BPFおよびビスフェノールSの生分解性を評価したのが唯一の報告であり[18]、海洋環境中における生分解挙動に関する知見が殆ど得られていないのが現状である。これらのことから、海洋環境におけるBPsの生分解挙動について更なる検討が必要であるといえる。

本研究では、BPAおよびBPFを対象物質に選定し、海水中におけるこれらBPsの生分解ポテンシャルを明らかにすることを目的として、日本各地より採取した海水試料中の微生物を用いた生分解試験を実施した。BPFは、BPAと類似の化学構造を有しているが、その微生物分解メカニズムがBPAの分解メカニズムとは全く異なることが知られていることから[14,19]、対象物質として選定した。生分解が確認された試料に関しては、分解菌の集積・分離を試み、その特性についても検討した。

2. 実験材料および方法

2. 1 化学物質

BPA、4-ヒドロキシアセトフェノン（4-HAP）、ヒドロキノン（HQ）、ベンゾキノン（BQ）および4-ヒドロキシ安息香酸（4-HBA）はキシダ化学、BPFおよび4,4'-ジヒドロキシベンゾフェノン（DHBP）は東京化成工業、4-ヒドロキシベンズアルデヒド（4-HBAL）は和光純薬工業より購入した。BPAとBPFは生分解試験、その他の化学物質は高速液体クロマトグラフィー（HPLC）分析による中間代謝物の推定に用いた。

2. 2 使用培地

海水試料中の従属栄養細菌の計測には、人工海水（アクアマリンA（八洲薬品製）36.5 g/l、アクアマリンB（八洲薬品製）25 ml/l、NH_4Cl 15.06 mg/l、KH_2PO_4 1.734 mg/l、pH 7.2～7.5）を用いて調製した1/10 CGY培地（1/10 CGY海水培地）[18]を用いた。海水試料を用いた生分解試験、分解菌の集積・分離、および分解特性の評価には、人工海水に単一炭素源としてBPAあるいはBPFを添加した培地（それぞれBPA海水培地、BPF海水培地）を用いた。平板培地には、寒天を1.8%（w/v）となるように添加した。

2. 3 海水試料

本研究では、Fig. 1に示すように国内11ヶ所（茨城県、東京都、神奈川県、三重県、京都府、大阪府、兵庫県（2ヶ所）、香川県、宮崎県、沖縄県）の表層部分（水深30-50 cm程度）より採取した海水試料を使用した。試料採取は2008年7月～9月初旬に実施した。各試料は、共洗した2l容ポリ容器に採取した後、氷冷下で実験室まで運搬し、生分解試験に供するまで4℃で保存した。各試料の性状をTable 1に整理している。水温、pHおよび電気伝導度は水質チェッカーU-10（堀場製作所製）、溶存有

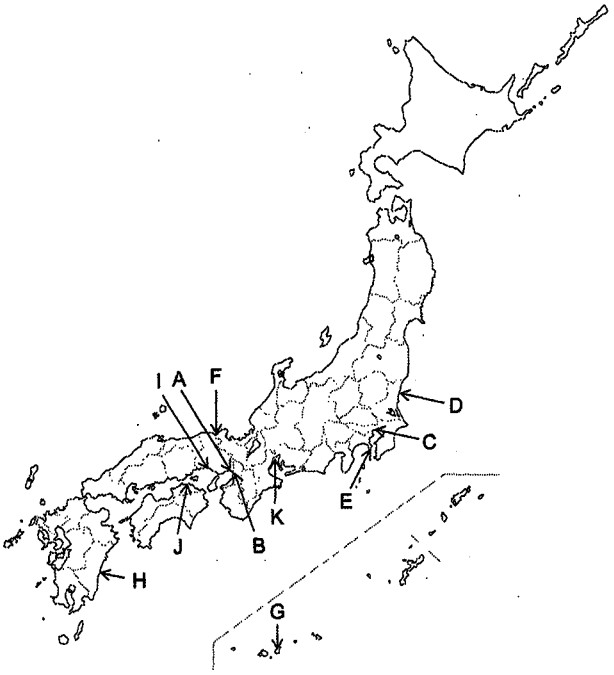

Fig. 1 Location of seawater sampling stations. A, Amagasaki City, Hyogo; B, Suminoe Ward, Osaka; C, Minato Ward, Tokyo; D, Tokai Village, Ibaraki; E, Miura City, Kanagawa; F, Kyotango City, Kyoto; G, Ishigaki City, Okinawa; H, Shintomi Town, Miyazaki; I, Himeji City, Hyogo; J, Takamatsu City, Kagawa; K, Yokkaichi City, Mie.

Table 1 Characteristics of seawater samples used in this study

Sample	Sampling place	Sampling date	Temp (℃)	pH	Conductivity (mS/cm)	DOC (mg/l)	T-N (mg-N/l)	Heterotrophic bacteria (CFU/ml)
A	Amagasaki City, Hyogo	July 4, 2008	24	7.8	27	3.8	2.0	3.9×10^3
B	Suminoe Ward, Osaka	July 4, 2008	24	7.8	38	1.0	1.7	1.2×10^4
C	Minato Ward, Tokyo	July 21, 2008	24	7.3	28	4.3	2.6	1.3×10^3
D	Tokai Village, Ibaraki	July 22, 2008	20	7.6	37	3.7	2.9	1.3×10^4
E	Miura City, Kanagawa	July 23, 2008	22	7.9	40	5.0	1.3	3.9×10^4
F	Kyotango City, Kyoto	July 26, 2008	23	7.8	52	4.8	0.7	1.0×10^3
G	Ishigaki City, Okinawa	July 27, 2008	32	7.7	33	6.0	1.7	2.4×10^3
H	Shintomi Town, Miyazaki	August 14, 2008	28	9.1	17	1.1	2.3	1.1×10^4
I	Himeji City, Hyogo	August 25, 2008	28	7.9	38	7.0	1.2	3.6×10^4
J	Takamatsu City, Kagawa	August 26, 2008	27	8.1	58	4.9	0.9	5.2×10^4
K	Yokkaichi City, Mie	September 2, 2008	29	8.1	37	4.2	1.8	5.0×10^5

機性炭素（DOC）は全有機性炭素分析計TOC-5000A（島津製作所製）を用いて測定した。全窒素（T-N）は、下水試験方法[20]に準じて測定した。海水中の従属栄養細菌数の計測には1/10 CGY海水培地を用い、28℃、7日間の培養後にコロニー数を計数した。

2．4 海水試料を用いた生分解試験

海水試料中の微生物を用いたBPAおよびBPFの生分解試験は、既報の方法[18]に一部修正を加えた、以下の方法により実施した。海水試料を孔径10 μmのメンブレンフィルター（Millipore製）で濾過して夾雑物を除去した後、濾液500 mlをさらに孔径0.2 μmのメンブレンフィルター（Millipore製）で濾過して試料中の微生物をフィルター上に捕捉した。このフィルターを20 mg/lのBPAあるいはBPFを含む50 mlのBPA海水培地あるいはBPF海水培地に入れ、超音波処理（130 W、10分）によって微生物を分散させた後、全量を70 ml容ネジ口試験管に移し、暗所、28℃、120 rpmで回転振盪することにより分解試験を行った。また、微生物を添加しないコントロール系も作製し、分解試験に供した。YingとKookanaの研究[16]では、海水中におけるBPA分解に35日間に及ぶ長期間のラグ期が認められているが、本研究では海水微生物を10倍濃縮して用いているため、既往研究よりも速やかに分解が進行するものと予想される。そこで、生分解試験は20日間で実施することとした。試験期間中は、経時的にサンプリングを行い、HPLCによるBPAあるいはBPFの濃度測定および代謝物の分析に供し、20日間の試験期間中に明確な生分解が確認された試料が生分解ポテンシャルを有すると判定した。

2．5 分解菌の集積、分離および特徴づけ

生分解試験においてBPsの生分解が確認された試料から、分解菌の集積・分離を試みた。BPAおよびBPFが消失した培養液の一部を新たなBPA海水培地（BPA：20 mg/l）およびBPF海水培地（BPF：20 mg/l）にそれぞれ移し、BPsが消失するまで培養を行った後、同組成の新たな培地に植え継いだ。この継代操作を1～3回繰り返し、集積培養系を構築した。また、集積培養系の一部は、BPAあるいはBPFを50 mg/lの濃度で添加した培地にも植え継いだ。得られた集積培養液をBPA海水平板培地あるいはBPF海水平板培地（BPs：20 mg/lあるいは50 mg/l）に塗抹し、28℃で培養した。各培地に生育したコロニーの中から、形状および色相の異なるコロニーを取得し、純化した。

分離菌株の基本的な生理特性の評価は、CowanとSteelの方法[21]に準じて一次鑑別レベルで実施した。得られた結果に基づき、分離菌株を属レベルで分類した。

また、分離した各菌株のBPA、BPF分解能を確認した。分離菌株を濁度（OD_{600}）が0.07～0.4となるように、30 ml容バイアル瓶に分注した15 mlのBPA海水培地あるいはBPF海水培地に植種し、実験系を作製した。また、オートクレーブ滅菌した菌液を分注したコントロール系も作製した。実験系およびコントロール系は、それぞれ2連で作製し、回転振盪培養（28℃、120 rpm）により分解試験を実施した。試験期間中は、適宜サンプリングを行い、HPLCによる供試BPsの濃度測定に供した。

2．6 HPLC分析

HPLC分析はShimadzu LC-10Avpシステム（島津製作所製）を用いて行った。カラムにはShimpack VP-ODSカラム（250 mm × 4.6 mmφ、粒子径5 μm；島津製作所製）、溶離液には50%アセトニトリルを用い、溶離液の流速は1.0 ml/分に設定した。検出器にはUV/VIS検出器を用い、検出波長は280 nmとした。

3. 実験結果および考察

3．1 BPA生分解ポテンシャル

採取した全11種類の海水試料中の微生物を植種源としてBPA生分解試験を行い、海水中のBPA生分解ポテンシャルを評価した。コントロール系においてはBPA濃度の有意な減少は認められなかったが（データ不掲載）、生分解試験に供した11試料中7試料（64%）においてBPA濃度の減少が観察された（Fig. 2）。KangとKondo[12]は海水中におけるBPA分解が藻類等によって生成する活性酸素種による化学的反応によるものであると推察しているが、本研究では事前に試料を濾過し、藻類等の比較的大きなサイズの懸濁物質は除去しており、また、分解試験を遮光条件で実施しているため、藻類の寄与は無視できることから、7試料におけるBPA減少は試料中のBPA分解菌の作用に依存したものであるいえる。以上のことから、海洋環境中にはある程度普遍的にBPA生分解ポテンシャルが存在していることが明らかになった。

全試料のBPA生分解試験の結果をTable 2に整理している。BPAの生分解が確認された7試料では、明確な分解が観察されるまでに2～13日間のラグ期が観察され、その後2～6日間でBPA濃度は検出下限値（0.40 mg/l）以下まで減少した。オーストラリア・アデレード沿岸域より採取した海水を用いてBPAの生分解について検討したYingとKookanaの研究[16]では、明確な分解開始までに35日のラグ期が存在し、90%以上の分解に50日以上を要したと報告されている。一方、本研究で生分解が確認された7試料においては、これに比べて非常に速やかにBPA分解が生じたが、本研究では海水試料中の微生物を10倍に濃縮して生分解試験に使用したため、ラグ期が短時間となったと考えられた。また、本研究で用いた人工海水にはBPA分解菌の増殖やBPA分解に必要な成分が十分に含まれ、ラグ期および分解期の短縮に寄与した可能性もある。これらのことを踏まえると、YingとKookanaの報告例[16]のように、実際の海水中におけるBPA分解にはかなり長時間を要するものと考えられる。

生分解が確認された全ての試料において、BPAの減少に伴い、中間代謝物に由来する複数のピークが検出された。一例として、試料AにおけるHPLCクロマトグラムの経時変化をFig. 3に示している。7試料の内、試料Aおよび試料Iでは出現した中間代謝物のピークも消失したが、残りの5試料では試験終了時にも幾つかのピークが残存した（Table 2）。河川水中の微生物によるBPA分解においては、完全な無機化は稀であり、多くの場合に代謝物が蓄積することが報告されているが[13]、海水中で

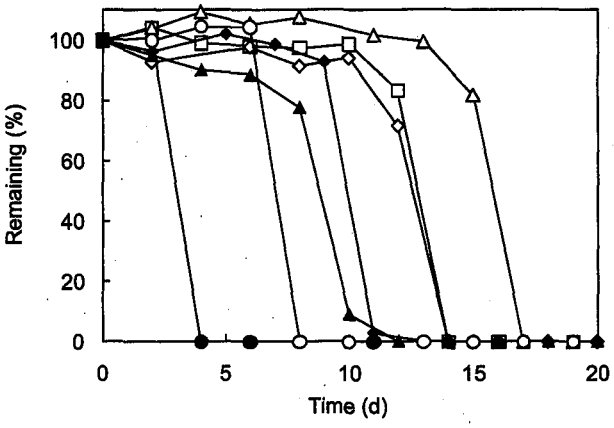

Fig. 2 Time courses of BPA biodegradation by seawater microbes in sample A (closed circle), B (open triangle), C (closed diamond), D (open square), G (open circle), I (closed triangle) and K (open diamond).

Table 2 Summary of BPA biodegradation tests using various seawater samples

Sample	Biodegradability[a]	Lag period (d)	Degradation period[b] (d)
A	++	2	2
B	+	13	4
C	+	9	4
D	+	10	4
E	−	−	−
F	−	−	−
G	+	6	2
H	−	−	−
I	++	6	6
J	−	−	−
K	+	10	4

[a] ++, BPA and their metabolites were disappeared within test period; +, BPA were disappeared, but metabolites remained; −, BPA were not degraded.
[b] Period from initiation to completion of the primary degradation of BPA.

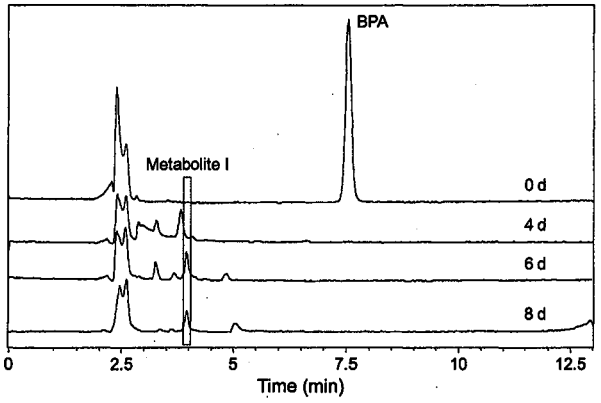

Fig. 3 Typical example of the change of HPLC chromatograms during BPA biodegradation by seawater microbes. Results of sample A collected from Amagasaki City, Hyogo are shown.

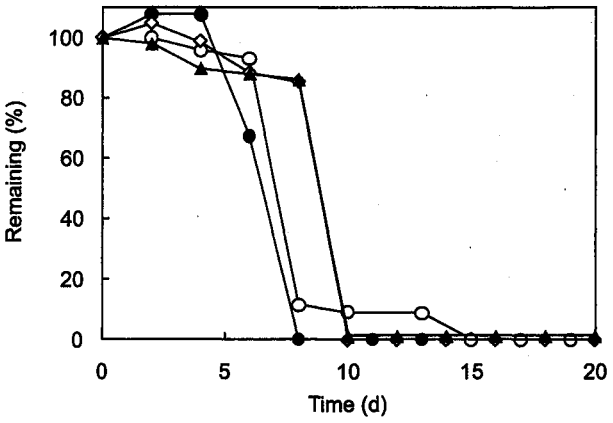

Fig. 4 Time courses of BPF biodegradation by seawater microbes in sample A (closed circle), G (open circle), I (closed triangle) and K (open diamond).

も同様に、BPAの生分解によって難分解性の代謝物が生成し、それらが長期間残存する可能性の高いことが示唆された。また、海水中の微生物によるBPA分解経路を推定するため、本研究で検出されたピークと、Spivackら[22]により明らかにされたBPA代謝経路に含まれている中間代謝物の内、入手可能な物質のHPLC分析における保持時間の比較を試みた。その結果、保持時間3.8～4.1分のピーク（Fig. 3中の代謝物ピークI）が4-HBALあるいは4-HAPであると推定された。また、Fig. 3の例では検出されていないが、2つの試料については保持時間3.0-3.1分に4-HBAと推定されるピークも検出された。これまでに純粋分離された多様な分解菌によるBPA分解がSpivackら[22]によって明らかにされた経路で進行することが知られており、海水から純粋分離された唯一のBPA分解菌である*Sphingomonas* sp. BP-7も同一の経路でBPAを分解することが報告されている[17]。質量分析による各代謝物の構造同定は行っていないが、本研究で用いた海水試料中の微生物によるBPA分解も同様の経路で行われたと考えられたが、未知の代謝物も多く検出されたことから（Fig. 3）、海洋環境中には未知のBPA分解経路が存在している可能性もある。

3．2 BPF生分解ポテンシャル

試料A、B、G、I、Kの5試料中の微生物を植種源としてBPF生分解試験を行い、海水中のBPF生分解ポテンシャルを評価した。コントロール系ではBPF濃度の有意な減少は認められなかった（データ不掲載）。一方、海水微生物を植種した試験系においては、試料Bを除く4試料（80%）においてBPF濃度の減少が観察された（Fig. 4）。

Table 3 Summary of BPF biodegradation tests using various seawater samples

Sample	Biodegradability[a]	Lag period (d)	Degradation period[b] (d)
A	++	4	4
B	−	−	−
G	++	6	9
I	++	8	2
K	++	8	2

[a] ++, BPF and their metabolites were disappeared within test period; −, BPF were not degraded.
[b] Period from initiation to completion of the primary degradation of BPA.

このことから、BPF生分解ポテンシャルは海洋環境中に広く存在していることが示唆された。また、河川水を用いた既往研究でも、24試料中22試料（92%）においてBPF分解が確認されていることから[13]、BPF生分解ポテンシャルは、淡水・海水に関係なく、水環境中にかなり普遍的に存在しているものと考えられる。

生分解が確認された4試料では、4～8日間のラグ期の後に分解が開始し、その後2～9日間でBPF濃度が検出下限値（0.28 mg/*l*）以下まで減少した（Fig. 4、Table 3）。大阪湾の海水微生物を用いた我々の既往研究[18]と比較すると、ラグ期、分解期ともに本研究の方が短かった。海水試料中の微生物数も既往研究[18]に比べて本研究の海水試料で多かったことから、微生物数の違いがラグ期、分解期の長さに影響したものと考えられた。また、生分解過程では幾つかの中間代謝物のピークが検出されたが、いずれも最終的には検出されなくなった（Table 3）。このことから、海水中の微生物によるBPF分解で生成する中

間代謝物は残留せずに速やかに分解され、完全分解に至ることが示唆された。河川水中の微生物によるBPF分解においても、生分解が観察された22試料中21試料において無機化が確認されていることから[13]、BPFは水環境中で無機化されやすい物質であるといえる。

BPFの微生物分解ではDHBPやHQ、BQ、4-HBAなどが生成することが既往研究において明らかにされている[14]。これらの化学物質と本研究で検出されたピークのHPLC分析における保持時間の比較から、HQおよびBQと推定されるピークの存在が明らかになった（データ不掲載）。このことから、本研究で用いた海水試料中の微生物によるBPF分解も既報[14]と同様の経路で分解されたものと考えられた。しかし、DHBPやHQ、BQ、4-HBAとは異なるピークも検出されたことから（データ不掲載）、既報[14]とは異なる未知の生分解経路が存在している可能性も考えられた。

3．3 BPA、BPF分解菌の集積、分離および特徴づけ

海水中のBPA分解菌およびBPF分解菌を分離するため、生分解試験において分解が確認された試料（BPA：7試料、BPF：4試料）から、分解菌の集積を試みた。生分解試験後の各試料の一部を20 mg/lのBPAあるいはBPFを添加した新たな培地に植え継ぎ、数回継代して集積を行った後、集積培養系の一部を50 mg/lのBPAあるいはBPFを含む培地に植え継いだ。BPs 20 mg/lの集積培養系では、多くの試料で高い分解能を有する集積培養系が構築されたが、BPsの濃度を50 mg/lに高めると、ラグ期が長期に亘ることが観察され、高濃度のBPsが分解菌に対して阻害的に働くことが示唆された。そこで、BPs濃度20 mg/lおよび50 mg/lの集積培養系をBPA海水平板培地あるいはBPF海水平板培地に塗抹し、分解菌の分離を試みた。その結果、形状および色相の異なる49種の菌株（BPA集積培養系から30株、BPF集積培養系から19株）が得られた。

BPA集積培養系から分離した30菌株のBPA分解能を確認した結果、いずれの菌株も18日間の試験期間中に有意なBPA分解を示さなかった（データ不掲載）。海水からBPA分解菌を分離しているSakaiら[17]は、集積培養系から分離された4菌株の内3株がBPA分解菌ではなく、1株のみ（*Sphingomonas* sp. BP-7）がBPA分解菌であったと報告している。さらに、*Sphingomonas* sp. BP-7も、最小培地中ではBPAを分解できず、BPA分解にはペプトン等の添加が必要であり、非BPA分解菌の3株が*Sphingomonas* sp. BP-7によるBPA分解に必要となる栄養成分を供給していた可能性があると報告している[17]。これらのことから、本研究で分離した30菌株も、(1)何らかの栄養要求性を有するBPA分解菌、あるいは(2)BPA分解菌と共生している非BPA分解菌であった可能性が高いと考えられた。

他方、BPF集積培養系から分離した19菌株のBPF分解能を確認した結果、海水試料A由来の集積培養系から分離されたAF20-5株およびAF20-6株の2菌株において明確なBPF分解が確認され、BPF分解菌であることが明らかになった（Fig. 5）。残りの17菌株は、試験期間中に明確なBPF分解を示さなかったことから、上述したBPAでの例と同様に、栄養要求性を有するBPF分解菌、あるいはBPF分解菌と共生する非BPF分解菌であると考えられた。BPF分解能が確認された2菌株の生理特性を調べたところ、AF20-5株は、オキシダーゼ活性が陰性、カタラーゼ活性が陽性であり、運動性をもつグラム陰性の桿菌であった。一方、AF20-6株は、オキシダーゼ活性が陰性、

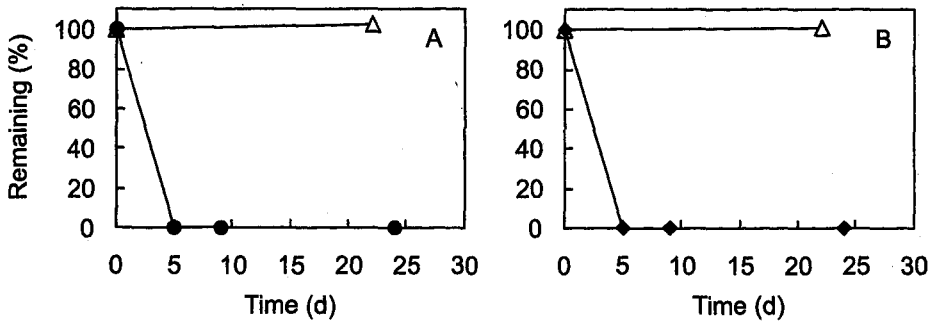

Fig. 5 Time courses of BPF biodegradation by strains AF20-5 (A) and AF20-6 (B) isolated from the enrichment culture constructed from seawater sample A. Symbol: closed circle, strain AF20-5; closed diamond, strain AF20-6; open triangle, sterile control.

カタラーゼ活性が陽性で、運動性をもつグラム陽性の桿菌であり、一次鑑別レベルで*Bacillus*属の細菌であると推定された。これまでに分離されたBPF分解菌は*Sphingobium*属と*Novosphingobium*属に限られており[14,19]、グラム陽性菌によるBPF分解は初の報告例である。また、分離された2菌株がグラム陽性菌とグラム陰性菌であったことから、海洋環境中には分類学的に多様なBPF分解菌が存在しているものと考えられた。

4. まとめ

本研究で得られた結果から、海洋環境中には、BPAおよびBPFの生分解ポテンシャルが比較的広範囲に分布していることが明らかになった。また、海水微生物によるBPA、BPFの分解は主に既報と同様の経路で行われると推察されたが、未知の代謝物の生成も確認されたため、これまでの報告とは異なる分解経路が存在する可能性も考えられた。このため、本研究では分離できなかったBPA分解菌を新たに取得し、本研究で分離したBPF分解菌とともに、BPs分解能力や影響因子、代謝経路等について詳細に検討し、海洋環境中における両BPsの運命を推定するための知見を集積していくことが重要である。特に、BPAでは代謝物が長期間残存することが確認されたことから、代謝物の蓄積によって生じ得る二次的リスクを明らかにするためにも、海水微生物によるBPA分解の全容解明が重要である。

引用文献

1) Fromme, H., Küchler, T., Otto, T., Pilz, K., Müller, J., and Wenzel, A.: Occurrence of phthalates and bisphenol A and F in the environment. Water Res. 36 (6), 1429-1438 (2002)
2) Stachel, B., Ehrhorn, U., Heemken, O.-P., Lepom, P., Reincke, H., Sawal, G., and Theobald, N.: Xenoestrogens in the River Elbe and its tributaries. Environ. Pollut. 124 (3), 497-507 (2003)
3) 常政典貴、山岡雄一郎、宮野高光、片岡真喜夫、橋本和久、上野博昭、久保田明利：広島市域におけるビスフェノールFによる汚染状況について、広島市衛生研究所年報、25、61-65 (2006)
4) Chen, M. Y., Ike, M., and Fujita, M.: Acute toxicity, mutagenicity, and estrogenicity of bisphenol-A and other bisphenols. Environ. Toxicol. 17 (1), 80-86 (2002)
5) Hashimoto, Y., Moriguchi, Y., Oshima, H., Kawaguchi, M., Miyazaki, K., and Nakamura, M.: Measurement of estrogenic activity of chemicals for the development of new dental polymers. Toxicol. in Vitro 15 (4-5), 421-425 (2001)
6) Yamasaki, K., Takeyoshi, M., Yakabe, Y., Sawaki, M., Imatanaka, N., and Takatsuki, M.: Comparison of reporter gene assay and immature rat uterotrophic assay of twenty-three chemicals. Toxicology 170 (1-2), 21-30 (2002)
7) Yamasaki, K., Takeyoshi, M., Sawaki, M., Imatanaka, N., Shinoda, K., and Takatsuki, M.: Immature rat uterotrophic assay of 18 chemicals and Hershberger assay of 30 chemicals. Toxicology 183 (1-3), 93-115 (2003)
8) Kitamura, S., Suzuki, T., Sanoh, S., Kohta, R., Jinno, N., Sugihara, K., Yoshihara, S., Fujimoto, N., Watanabe, H., and Ohta, S.: Comparative study of the endocrine-disrupting activity of bisphenol A and 19 related compounds. Toxicol. Sci. 84 (2), 249-259 (2005)
9) Klečka, G. M., Gonsior, S. J., West, R. J., Goodwin, P. A., and Markham, D. A.: Biodegradation of bisphenol A in aquatic environments: river die-away. Environ. Toxicol. Chem. 20 (12), 2725-2735 (2001)
10) Kang, J.-H. and Kondo, F.: Bisphenol A degradation by bacteria isolated from river water. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 43 (3), 265-269 (2002)
11) Kang, J.-H. and Kondo, F.: Effects of bacterial counts and temperature on the biodegradation of bisphenol A in river water. Chemosphere 49 (5), 493-498 (2002)
12) Kang, J.-H. and Kondo, F.: Bisphenol A degradation in seawater is different from that in river water. Chemosphere 60 (9), 1288-1292 (2005)
13) Ike, M., Chen, M. Y., Danzl, E., Sei, K., and Fujita, M.: Biodegradation of a variety of bisphenols under aerobic and anaerobic conditions. Water Sci. Technol. 53 (6), 153-159 (2006)
14) Inoue, D., Hara, S., Kashihara, M., Murai, Y., Danzl, E., Sei, K., Tsunoi, S., Fujita, M., and Ike, M.: Degradation of bis (4-hydroxyphenyl)methane (bisphenol F) by *Sphingobium yanoikuyae* strain FM-2 isolated from river water. Appl. Environ. Microbiol. 74 (2), 352-358 (2008)
15) Sarmah, A. K. and Northcott, G. L.: Laboratory degradation studies of four endocrine disruptors in two environmental media. Environ. Toxicol. Chem. 27 (4), 819-827 (2008)
16) Ying, G. G. and Kookana, R. S.: Degradation of five selected endocrine-disrupting chemicals in seawater and marine sediment. Environ. Sci. Technol. 37 (7), 1256-1260 (2003)
17) Sakai, K., Yamanaka, H., Moriyoshi, K., Ohmoto, T., and Ohe, T.: Biodegradation of bisphenol A and related compounds by *Sphingomonas* sp. strain BP-7 isolated from seawater. Biosci. Biotechnol. Biochem. 71 (1), 51-57 (2007)
18) Danzl, E., Sei, K., Soda, S., Ike, M., and Fujita, M.:

Biodegradation of bisphenol A, bisphenol F and bisphenol S in seawater. Int. J. Environ. Res. Public Health 6 (4), 1472-1484 (2009)

19) Toyama, T., Sato, Y., Inoue, D., Sei, K., Chang, Y.-C., Kikuchi, S., and Ike, M.: Biodegradation of bisphenol A and bisphenol F in the rhizosphere sediment of *Phragmites australis*. J. Biosci. Bioeng. 108 (2), 147-150 (2009)

20) 社団法人日本下水道協会：下水試験方法（上巻）(1997)

21) Cowan, S. T. and Steel, K. J.: Manual for identification of medical bacteria, 2nd ed. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom (1974)

22) Spivack, J., Leib, T. K., and Lobos, J. H.: Novel pathway for bacterial metabolism of bisphenol A. J. Biol. Chem. 269 (10), 7323-7329 (1994)

（受付 2010. 6 .11）
（受理 2010. 7 .19）