



Title	内分泌攪乱物質などの水系環境汚染物質の微細藻類による処理
Author(s)	廣岡, 孝志
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/44157">https://hdl.handle.net/11094/44157</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名	廣 岡 孝 志
博士の専攻分野の名称	博 士 (薬 学)
学 位 記 番 号	第 1 7 7 8 3 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 15 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 薬学研究科生命情報環境科学専攻
学 位 論 文 名	内分泌攪乱物質などの水系環境汚染物質の微細藻類による処理
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 宮本 和久  (副査) 教 授 田中 慶一 教 授 那須 正夫 教 授 西原 力

#### 論 文 内 容 の 要 旨

人類は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を創造し、多量に生産かつ浪費してきた。しかし、同時にこれらの物質は、製造、使用、廃棄の各段階で環境中へと放出され、その性質に応じて水、土壌、大気を汚染することとなった。これら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。

これまで排水処理には主に従属栄養微生物が用いられてきた。しかし、微生物がその増殖に利用できる有機物質濃度 (BOD) の低い排水中の有害有機物質の処理を行う場合、その処理能を維持させるために増殖基質となる物質を添加する必要がある。一方、微細藻類は光合成を行うことにより、炭素源として二酸化炭素を利用して増殖できる。よって、従属栄養微生物が処理能を維持できないような貧栄養条件下での有害有機物質の処理に威力を発揮すると考えられる。

Phenol 類は、農薬や洗剤、医薬品として、またプラスチック、ポリカーボネイト製品合成のための前駆体や有機溶剤として広く利用されている。このため、多くの場合、種々の排水として直接水系環境中に放出される。また、phenol 類は、従属栄養微生物が処理能を発揮できないような低い BOD 値を持つ排水に低濃度で含まれる場合がある。このような排水の例としては、廃棄物処分場から発生する浸出水が挙げられる。浸出水には、bisphenol A (2,2-bis(4-hydroxyphenyl)propane)、alkylphenol 類などの多くの内分泌攪乱物質が含まれており、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。そこで本研究では、微細藻類を用いた、浸出水に代表される低 BOD 排水中の phenol 類の処理システム開発に向けた検討を行った。

Chlorophenol 類やnitrophenol 類などは脱共役作用を持っており、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。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 類の中でも強い脱共役剤として知られている 2,4-dinitrophenol (DNP) への除去能を指標に、有害な phenol 類に対して除去能を持つ株の選抜を行った。その結果、7 株の緑藻と 3 株のラン藻から排水基準値より若干高い濃度である 40  $\mu$ M の nitrophenol 類と chlorophenol 類に除去能を持つ緑藻 *Chlorella fusca* var. *vacuolata* (*C. fusca*) とラン藻 *Anabaena variabilis* の選抜に成功した。また、*C. fusca* については、内分泌攪乱物質である bisphenol A (BPA) も除去できることがわかった。そこで、両株を用いて低 BOD 排水に含まれる phenol 類の処理への微細藻類の利用性について詳細な検討を行った。

まず、DNP を用いて nitrophenol 類の処理への利用性について検討した。両株について DNP 除去機構を調べた結果、*A. variabilis* が DNP を 2-amino-4-nitrophenol (ANP) に変換することを明らかにした。この ANP もまた、微生物に対して変異原性を示すことが報告されている。しかし、本株の ANP 除去能は非常に低かった。一方、ANP 除去能を持つ株について検討した結果、緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* が ANP を完全に 4-nitrocatechol に変換できることを明らかにした。そこで、この両株を組み合わせた処理システムについて検討した結果、DNP から生成された ANP を毒性の低い 4-nitrocatechol にほぼ完全に変換することができた。

次に、微細藻類を用いた排水処理で繁用されている屋外での open system を用いた排水中 BPA の処理における *C. fusca* の利用性について検討した結果、本株は、光独立栄養条件下での培養において、80  $\mu$ M までの BPA を良好に除去することができた。また、弱光下や明暗周期条件下においても BPA を良好に除去することができた。一方、BPA 除去において、エストロゲン様活性を持つ物質が生成する可能性が考えられたが、最終的に、これらの物質が培養液から除去されることがわかった。以上の結果、本株が屋外での open system を用いた内分泌攪乱物質 BPA の処理に十分利用できる可能性が示された。

最後に *C. fusca* の利用性について実用的な視点から評価するため、実際に BPA を含む排水として廃棄物処分場浸出水中に注目し、浸出水中の成分が BPA の除去に与える影響を調べた。微細藻類が増殖するためにはいくつかの無機栄養塩の供給が必要であり、特に窒素源とリン源の供給が非常に重要となる。浸出水中は高濃度のアンモニア性窒素 ( $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ) を含有するが、リン酸イオンについてはその含有濃度は非常に低いことが報告されている。そこで、これらのイオン濃度が BPA 除去に与える影響を調べた結果、培養液の pH を一定に維持することにより、高濃度の  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  を窒素源とした場合でも、高い BPA 除去能を発揮することができた。さらに、本株はリン酸イオン濃度が非常に低い条件においても BPA を除去することが可能であった。また、浸出水中には、100 種類以上の有害有機物質が含有されている。そこで、比較的高い頻度で検出されている有害有機物質として phenol、*p-tert*-butylphenol、*p*-methyl-2,6-di-*tert*-butylphenol、3,5-dimethylphenol、1-naphthol、diethylphthalate と dibutylphthalate を、浸出水中で検出された最高濃度で培養液に添加し BPA 除去に与える影響を調べた。その結果、本株はこれらの物質の存在の有無に関わらず高い BPA 除去能を示した。最後に、実際の浸出水中への利用の可能性を検討するために、モデル浸出水中を作製し、セミバッチ培養法を用いた *C. fusca* によるモデル浸出水中 BPA の処理について検討を行った。その結果、4 周期、計 21 日の間 BPA を良好に処理することができた。これらの結果から、本株が廃棄物処分場浸出水中の BPA 処理に利用できる可能性が示された。

## 論文審査の結果の要旨

種々の化成品の原料や溶剤として利用されている Phenol は、工場排水や産業廃棄物浸出水中として環境中に放出されるが、その中には内分泌攪乱物質と見なされるものも多い。微細藻類は、光独立栄養生物であるので、BOD 値が低い排水に含まれる有害有機物質の処理に適すると考えられる。

本研究は、浸出水中に含まれる bisphenol A (2,2-bis(4-hydroxyphenyl)propane) (BPA) や phthalate 類などの内分泌攪乱物質を微細藻類を用いて処理するシステムの開発を目的としており、phenol 類を対象に基礎的な検討を加えたものである。

最初に、強い脱共役剤である 2,4-dinitrophenol (DNP) の除去能を指標に、有害な phenol 類に対して除去能を持つ微細藻類株の選抜を行い、緑藻 *Chlorella fusca*、ラン藻 *Anabaena variabilis* を選抜した。次に、両株について DNP 除去機構を調べ、*A. variabilis* が DNP を 2-amino-4-nitrophenol (ANP) に変換することを明らかにし、ANP 除去能を持つ緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* と組み合わせることによって ANP を酸化分解されやすい 4-nitrocatechol に変換しうることを示した。また、BPA をはじめとする内分泌攪乱物質の処理についても検討し、*C. fusca* が、種々の条件下で BPA を良好に除去し、同時に培養液のエストロゲン様活性をも除去できることを明らかにした。

以上の成果は、内分泌攪乱物質などの有害有機物質を含む排水の処理や汚染された環境の浄化を行うシステムを開発していく上で、有益な情報を与えるものと考えられ、博士(薬学)の学位に値すると認められる。