

家畜排せつ物投与農地におけるエストロゲン等有機物の挙動の検討

—主要有機物とエストロゲンの生分解性の比較

京都大学 正会員 ○藤川陽子 折立文子 櫻井伸治 福井正美 梅田幹雄

(株)コートク 庄本 奈津子 (株)CTI ウイング 原侑子

大阪産業大学 正会員 菅原正孝 濱崎竜英

1. 研究の背景と目的 わが国では、家畜排泄物の野積みによる悪臭や水域汚染の問題に対応し、家畜排泄物法が定められた。また有機農業推進法により家畜排泄物を肥料として有効利用することが推奨されている。人畜の排泄物を堆肥として利用するのは有史以来行われてきた農法である。ただし現代の家畜は昔と異なり人工的に短縮された妊娠・出産サイクルを持つため、その排泄物中の女性ホルモン（エストロゲン）濃度が高く、その環境影響に着目した研究が欧米を中心に行われつつある¹⁾。

著者らは家畜排泄物のメタン発酵消化液を水田に液肥として投与・有効利用する研究を行ってきた²⁾³⁾。ところでメタン発酵消化液等の有機肥料は化学肥料と異なり各種の有機物を高濃度に含んでいる。圃場に投与されて蓄積した有機物が、水圏のCOD増加や圃場の嫌気性環境促進による水稻倒伏を招く可能性もあることから、有機物の環境中での生物分解性を明らかにする必要がある。またこの消化液は5ppb程度のエストロゲンを含むことがわかっており²⁾、消化液とともに圃場に投与されたエストロゲンの生分解性を明らかにすることはその環境影響の評価と安全なコメ作りのために重要である。そこで今回、消化液由来の有機物並びにエストロゲンの生分解性に着目して検討を行った。

2. 実験方法 対象試料 京都府南丹市の家畜糞尿メタン発酵施設（八木バイオエコロジーセンター）の中温菌消化槽の消化液を液肥として2006年6月3日に水田に導入した。また同年8月28日に消化液を投与した水田（以下「液肥田」）の田面水・地下水、ならびに対照として化学肥料を投与した水田（以下「化肥田」）の田面水・地下水を採取した。これらの消化液および田面水・地下水を試料として以後の分析に用いた。

溶存有機物の生分解性試験 本研究では液体試料を微生物存在下で曝気し28日間以内に二酸化炭素に分解される溶解性有機物画分を生分解性、分解されない有機物画分を難分解性と便宜的に区分した。試料は孔径0.2μmのろ紙で滅菌濾過後BOD用植菌試料であるHACH社のBOD-SEEDを添加したもの（以下「標準微生物」）、孔径0.45μmのろ紙でろ過したもの（以下「自生微生物」）、の2種類を準備した。試料中のエストロゲンの生分解性を調べるため、特に液肥試料についてE1（エストロン）20ppb添加、E2（17βエストラジオール）20ppb添加、無添加の3通りずつを準備した。液肥田田面水についてはE1（エストロン）20ppb添加のみを準備した。曝気にはガス洗浄瓶を用い、28日間20℃の恒温庫内・暗所で試料を曝気した。曝気に用いる空気は硫酸酸性マンガン酸カリウム溶液・水酸化カリウム溶液・塩化カルシウム溶液・活性炭ならびに0.2μmフィルターを通して有機物蒸気・二酸化炭素・ダストを除去して用いた。設置日と3, 7, 14, 21, 28日後に試料のpH, EC, DOC（溶存有機炭素）濃度を測定した。生分解性有機炭素(BDOC)濃度は当初のDOC濃度からBDOC測定期間中にもっともDOCが減少した時のDOC濃度を差し引いて求めた値を用いた。

サイズ排除クロマトグラフィ(SEC)測定 イオン強度0.1, pH6.8の2mMリン酸緩衝液（塩化ナトリウム添加）を溶離液とし、日立化成GelpackGL-W520のサイズ排除カラムを用いて波長260nmのUVの吸光度ならびに示差屈折率を測定しSECのクロマトグラムをえた。BDOC測定前後のろ過済み試料を冷凍・真空凍結乾燥し、溶離液で1mg/mLに希釈して測定に供した。カラム検定用の分子量標準試料としてsodium polystyrene sulfonateを用いた。

エストロゲン分析 サロゲートとして17β-エストラジオール 16, 16, 17-d3 (d-E2)を50μLずつ添加し、C18樹脂(Wakosil® 25C18, 和光純薬)による固相抽出、メタノリシスによる抱合体の分解後、TMS誘導体化・アセ

キーワード： エストロゲン，有機物，生分解性，メタン発酵消化液

連絡先 〒593-0494 大阪府泉南郡熊取町朝代西 京都大学原子炉実験所 TEL 072-451-2447

トン転溶し GC-MS 測定を行った．なお内部標準物質として chrysene-d12 を使用した．

3．実験結果と考察

主要溶存有機物の生分解性 表 1 に液肥および液肥田・化肥田の水試料の BDOC 率の比較を示す．なお 28 日間の曝気中，DOC 濃度は一旦下がった後，再び上昇することが多い．そこで曝気 28 日目の DOC 濃度 / 当初 DOC 濃度を計算し参考としてあわせて表に示した．

表1 液肥および液肥田・化肥田の水試料のBDOC率等

試料名	BDOC率(%)	DOC最終濃度 / 初期濃度
液肥溶液 + 自生微生物	0.0	1.3
液肥溶液 + 標準微生物	0.8	1.1
液肥田田面水 自生微生物	21.3	1.3
液肥田田面水 標準微生物	21.1	0.9
液肥田地下水 自生微生物	20.2	1.0
液肥田地下水 標準微生物	35.1	0.8
化肥田田面水 自生微生物	29.7	3.2
化肥田田面水 標準微生物	37.1	0.7
化肥田地下水 自生微生物	14.6	1.8
化肥田地下水 標準微生物	10.7	0.1

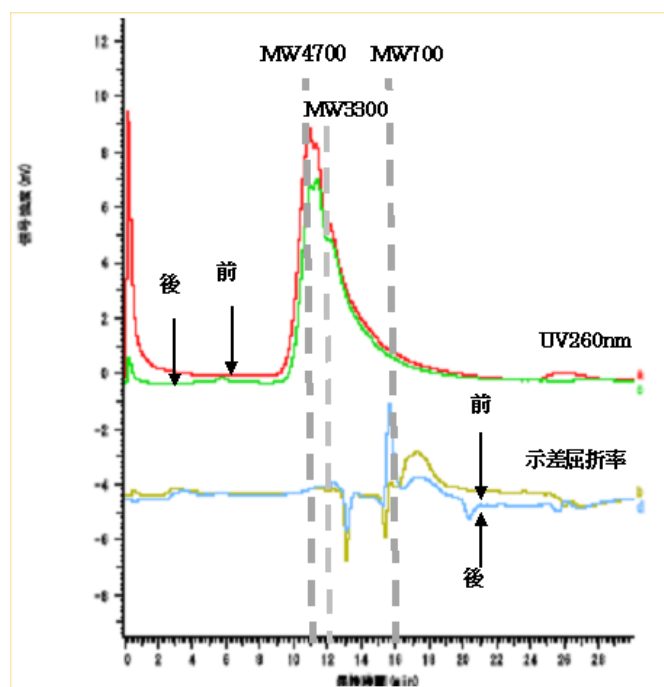


図1 湖田地下水(自生微生物)曝気前後のSECクロマトグラム

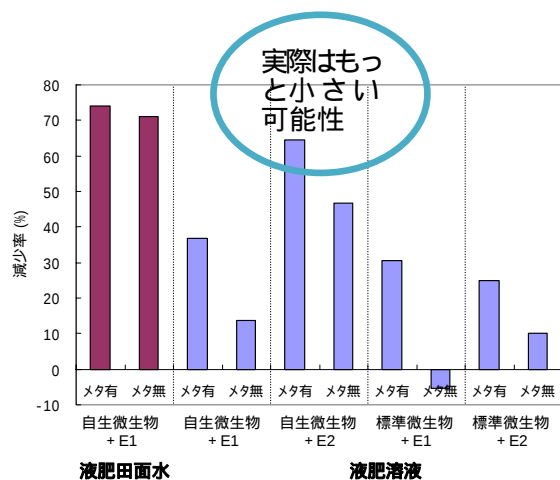


図2 エストロゲンの分解率

表から 2006 年の液肥中有機物は生分解性がほとんどない(難分解性)ことが判る．

一方，液肥田の田面水・地下水中有機物の 2 割程度は生分解性であった．また自生微生物と標準微生物による分解率には大きな差はないもの，やや自生微生物のほうが分解率が低く，また DOC 最終濃度が高くなる傾向があった．しかし，曝気後の SEC クロマトグラムでは自生微生物のほうが標準微生物より UV260nm 吸収・示差屈折率ともにやや小さくなった(図は省略)．

液肥田の地下水・自生微生物の生分解性試験前後の SEC クロマトグラムを図 1 に示す．分子量 4700 前後の UV260 吸光度が曝気・分解後に減少しているが分子量 3300 以下の UV 吸収に変化はない．示差屈折率は分子量 700 程度の成分がやや増加傾向にあった．化肥田試料についても曝気前後で同様な傾向であった．このことから，田面水・地下水中で好気性分解後に高分子量有機物の UV 吸収基の一部が変質したこと，多糖類等の合成が起きていることが推定される．

エストロゲンの生分解性 曝気試験におけるエストロゲンの分解率を図 2 に示す．添加した E2 はほとんど E1 に酸化されていたため，ここでの減少率は検出された E1 と E2 の合計を添加した濃度で除した値で示した．なお，E2 添加の液肥・自生微生物試料については，分析誤差が大きい値であったため，図示した値より低い可能性が大きい．これ以外の試料では，液肥田面水中のエストロゲン分解率が 70～80% だったのに対し，液肥ではメタノリシスをしたもの(全エストロゲン)で 30～40% 程度，しないもの(非抱合体エストロゲン)で 10% 未満で，田面水に比べて液肥ではエストロゲンの好気性分解が進みにくいことがわかった．先に述べたように 2006 年の液肥中では主要有機物の分解も進みにくく，その原因は今後の検討課題である．

参考文献 1)Hanselman et al., Environ. Sci. Technol. VOL. 37(24),5471-5478 (2003) 2) 折立他，環境衛生工学研究，20(3)，173-176(2006) 3)梅田他，環境技術 2007 年 9 月号特集