

女性ホルモン物質(E2)の生物分解特性に関する基礎的検討

岐阜大学工学部土木工学科
岐阜大学工学部土木工学科
岐阜大学流域圏科学研究センター
岐阜大学工学院工学研究科
岐阜県環境管理技術センター

学生員 ○小原 彩
正 員 李 富生
正 員 湯浅 晶
茅原田一
堀尾明宏

1. はじめに

内分泌攪乱物質は正常なホルモン作用に影響を与えるため、環境汚染問題の一つとして注目を集めている。特に、人間や動物から排出される 17β-エストラジオール(E2)は極低濃度でも生体に影響を及ぼす恐れがあるので、自然水系や下水の放流水における挙動と下水処理工程における生物分解特性についての調査・研究が緊急に求められている。内外の文献を数多く調査した結果、これまでは E2 の下水の放流水中における濃度調査はなされているが、下水処理システムの核心である生物分解工程における E2 の分解性に関しては、単離・純培養した菌株を用いた検討にとどまっており、実際の活性汚泥を用いた基礎的検討は殆どない。そこで本研究では、実際の下水処理施設から採取した活性汚泥を用いて、MLVSS と E2 の初期濃度、並びに水温を変化させた条件下における回分式生物分解試験を行い、E2 の濃度と分解速度の動きから活性汚泥による生物分解特性を検討した。

2. 実験方法

好気性微生物群を含有する活性汚泥として、農業集落排水処理施設の曝気槽から採取した混合溶液(MLVSS 約 1800mg/L)を用いた。E2 は市販の標準物質(和光純薬社製)をメタノールにて溶かしたもの(100μg/mL)とした。滅菌済みの反応器(200mL の三角フラスコ)に MLVSS の濃度を調整したのちの活性汚泥混合溶液(150mL)を採り、振盪培養器またはスターラーを用いて攪拌しながら所定量の E2 溶液を加えて分解試験を開始させた。反応器から経時的に採取した混合溶液を、採水後直ちに遠心分離器にかけ、その上澄み液を 0.45μm のメンブランフィルター(PTEF 材質)でろ過した。そのろ液を E2 の定量分析に供した。E2 の定量は LC-MS(HP1100MSD)にて行った (Column: Zorbax Eclipse XDB-C8, 4.6 φ×150mm; Eluent: MeOH/H₂O=70:30; Mode: Negative (SIM); Fragmentor: 120V)。予備実験より、E2 の定量下限値は 0.1ppb であることを確認した。

表1 実験条件

	水温 (°C)	MLVSS (mg/L)			E2の初期濃度(μg/L)		
実験1	20	1750			10	30	50
		875			10	30	50
実験2	5	1750	875	435	30		
	20	1750	875	435			
	35	1750	875	435			

分解試験は実験 1 と実験 2 からなっており、その条件を表 1 に示す。混合液中における TOC, TN, TP などの基質の濃度を一定にするため、希釈の際には蒸留水の代わりに元の混合液を遠心分離した上澄み液を用いた。また、混合溶液中の SS による E2 の付着の有無を確認するため、実験 1 の条件と同様に、オートクレーブにより滅菌済みの混合溶液を用いた実験を行った。

3. 結果と考察

生物分解による E2 濃度の経時変化を実験 1(MLVSS=1750mg/L)の結果を例にして図 1 に示す。時間の増加に伴って E2 濃度が低下し、その低下は 0.5 時間までの方で速やかであった。また、E2 濃度がほぼ定量下限値以下になった 1.5 時間までの分解過程においては、E2 の初期濃度が低い場合に比べると高い場合の方が残留濃度が高くなっている。次いで、一定の温度下における MLVSS 濃度の影響をみると、図 2 のように微生物群の量的な影響を受けて、MLVSS が低い条件の方が分解が緩やかであった。また低水温の場合に比べると高水温の場合の方が MLVSS の濃度の影響度合が小さくなっている。図 3 は混合液を 2 倍希釈した場合における水温の影響を示している。水温 20℃と 35℃の場合に比べて水温 5℃の場合の方が E2 の残留濃度が高く、また水温 20℃と 35℃の両条件では E2 の残留濃度に大差は認められなかった。

LC-MS によるマスキロマトグラムを図 4 に示す。混合溶液を滅菌することにより、保持時間の後半で干渉物質の溶出は確認されたが、分解 1.5 時間と 7.5 時間後における E2 の波形は E2 の標準液のものと殆ど同じであるため、SS による E2 の付着は大変小さく、図 1～図 3 にみられた E2 の低下は生物分解によるものと判断される。

未希釈の混合溶液を用いた場合における分解 1.5 時間での E2 の除去性と E2 を添加していない場合における他

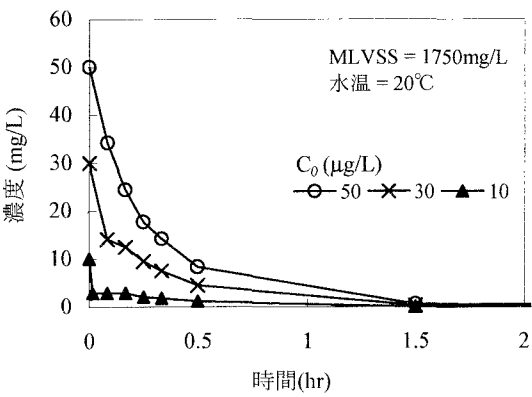


図1 E2の残留濃度に及ぼす初期濃度の影響

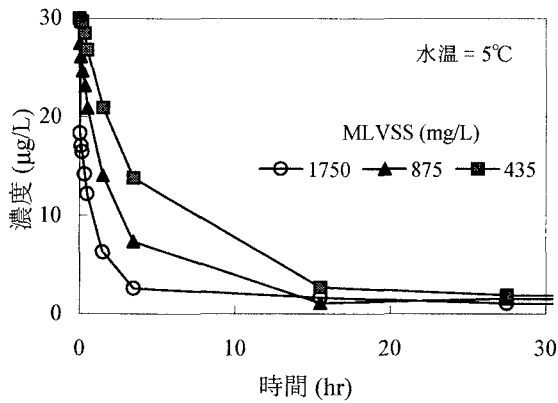


図2 E2の残留濃度に及ぼすMLVSS濃度の影響

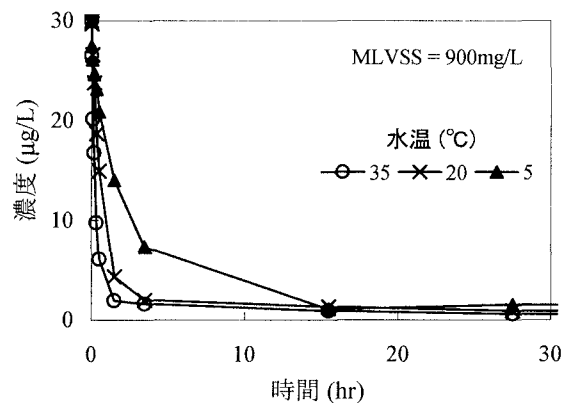


図3 E2の残留濃度に及ぼす水温の影響

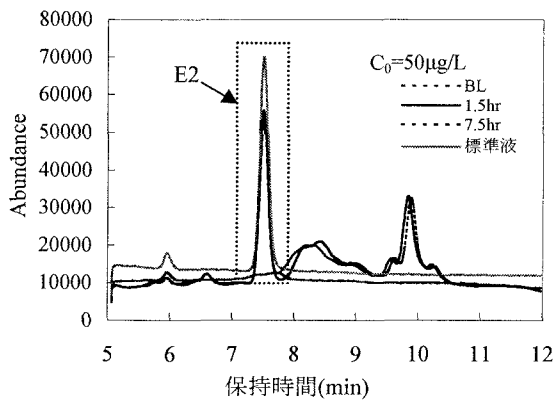


図4 LC-MSによるE2のマスキロマトグラム

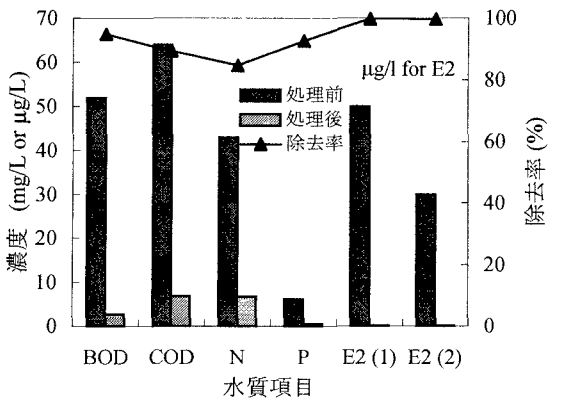


図5 E2と他の基質の除去性

の基質の除去性を比較すると、図5のように、基質の初期濃度の違いはあったものの、E2は下水中の分解可能なバックグラウンド有機物(BOD)と同程度もしくはそれ以上に分解されることが今回の結果から分かる。

E2の分解速度を比較検討するため、1次反応式(式1)によりデータ解析を行った。しかしながら、分解の初期に比べると特に後半の方では式1による近似は出来なく、分解速度が残量濃度に依存していることが確認された。そこで、式1を式2のように差分化し、分解時間ごとにおける分解速度係数を求めた。

$$\frac{dC}{dt} = -kC \quad (1)$$

$$k_i = -\frac{[C(t_{i+1}) - C(t_i)](t_{i+1} - t_i)}{[C(t_{i+1}) + C(t_i)]/2} \quad (2)$$

ここで、 C はE2濃度、 t は分解時間、 k は分解速度係数

図2に対応したE2の分解速度係数の動きを図6に、また図3に対応した動きを図7に示す。図6により、 k の値はE2の残留濃度とMLVSS濃度の低下によって小さくなっている。また、図7により、水温の低い場合に比べると水温の高い方が、 k が大きく分解速度が速いことが示された。

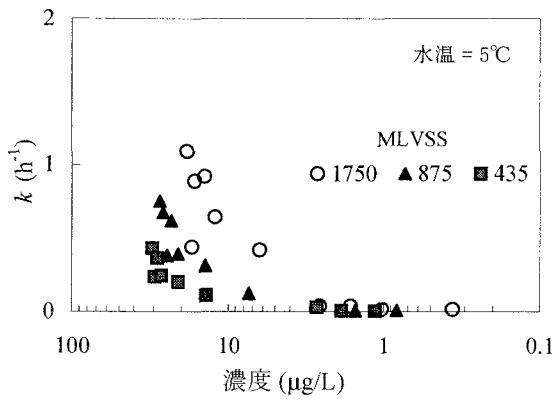


図6 E2の分解速度に及ぼすMLVSS濃度の影響

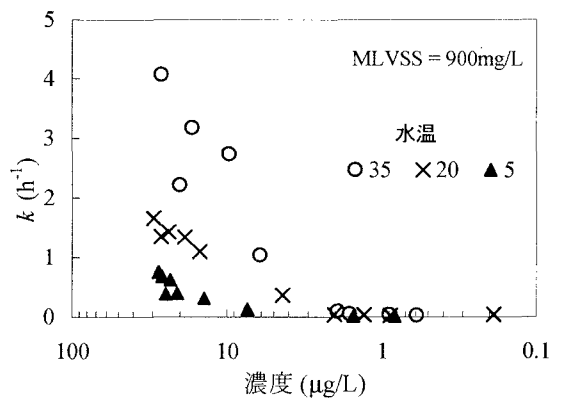


図7 E2の分解速度に及ぼす水温の影響

4. まとめ

実際の下水処理施設からの活性汚泥を用いたE2の生物分解試験を行い、その経時変化特性と分解速度係数の動きから同女性ホルモン物質は微生物により分解されやすいことが確認された。

【参考文献】 Johnson A. C., et al., *Environ. Sci. & Technol.*, 35(24), 4697-4703, 2001.