

## 酵素免疫測定法による畜産排水中の 17β エストラジオール抱合体の測定

宮崎大学工学部 学生員 ○久保田 淳  
 宮崎大学大学院工学研究科 学生員 古川 隼士  
 宮崎大学農学部 非会員 浅野 陽樹 高橋 ひろみ  
 宮崎大学工学部 正 員 鈴木 祥広

### 1. はじめに

外因性内分泌攪乱物質いわゆる環境ホルモンのなかでも、天然エストロゲンである 17β エストラジオール(E2) は、人畜のし尿に普遍的に存在しており、しかも、その活性度は最も高いとされている<sup>1)</sup>。アメリカの畜産場の畜産排泄物には相当量のエストロゲンが含まれていることが報告されており<sup>2)</sup>、我が国においても畜産排泄物の発生量（尿のみで約 3,000 トン/年）は膨大であるため、畜産排泄物は、重要なエストロゲンの汚染源と成り得る可能性を有している。現在（2004 年 11 月以降）、畜産排泄物は管理施設内において管理することが義務づけられており、畜産排水は適正に処理しなければならないことになっている。

ところで、畜産排泄物は有機性廃棄物に位置づけられているが、この畜産排泄物には、バイオガスプラントや有機性肥料の原料となるバイオマス資源としての価値があることから、最近、注目が集まっている。バイオガスプラントでは、畜産排泄物を原料として嫌気性消化処理で生成するメタンによる発電が可能であるが、一方では、アンモニア性窒素や溶存・懸濁有機物を高濃度に含む消化液も発生する。この消化液の有効利用として、農作物用の液肥化が考えられるが、消化液中にはエストロゲンが残留する可能性が高い。エストロゲンを含む消化液を農地に還元する場合、地下水汚水あるいは降雨による表流水への流出汚染が危惧される。しかしながら、畜産排水における E2 抱合体に関する情報は極めて少ないのが現状である。

そこで本研究では、宮崎大学内にある畜産廃棄物利用施設であるバイオガスプラントにおいて、原水、発酵液と消化液に含まれる遊離体 E2 と E2 抱合体について、酵素免疫測定法（ELISA 法）を用いて分析した。

### 2. 調査と方法

#### 2.1 調査概要

宮崎大学内に建設されたメタン発酵処理設備（図-1）において、遊離体 E2 と E2 抱合体の測定を行った。メタン発酵処理設備の処理フローは以下の通りである；原料投入槽→固液分離機→メタン発酵槽→消化液貯留槽→加熱殺菌槽。原料投入槽に原料が投入され、固液分離によって固形物を取り除かれる。固液分離された原料は、メタン発酵槽で嫌気性消化処理された後、消化液は消化液貯留槽に貯留され、加熱殺菌される。本設備での採水ポイントは、原料投入槽（原料）、メタン発酵槽（発酵液）、および消化液貯留槽（消化液）とし、各ポイントの表層水を採取した。本調査は、2007 年 11 月に実施した。

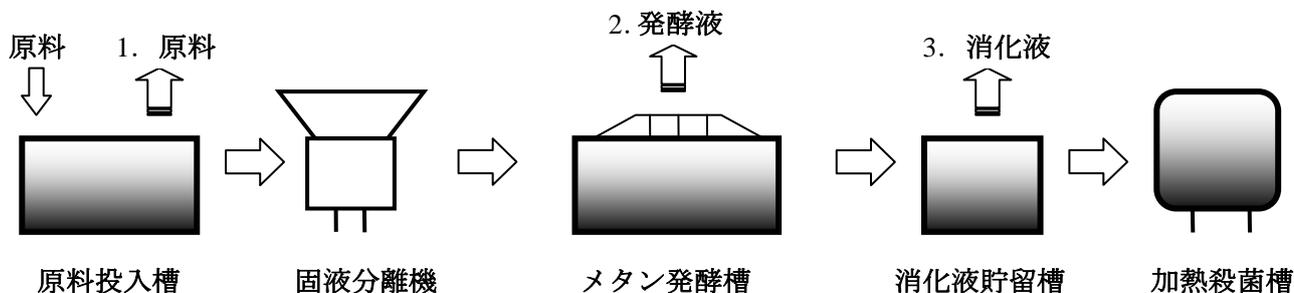


図-1 メタン発酵処理設備の処理フロー

キーワード：17β エストラジオール (E2)、畜産廃棄物、バイオガスプラント、消化液、抱合体

連絡先：〒889-2192 宮崎市学園木花台西 1-1, TEL. 0985-58-7339, FAX. 0985-58-7344

## 2.2 エストロゲンの測定法

試料は、各試料二つずつ用意し、それぞれ 500 $\mu$ L と蒸留水 100mL を混合させた。混合液はガラス繊維濾紙 (GF/C, Whatman 製) で濾過し、濾紙上の懸濁物質はメタノール 4mL で超音波抽出し、抽出液を再度濾過して濾液に加えた。濾液と抽出液の混合液は、コンディショニング済みの固相カートリッジ (J.T Baker 製) を用いて濃縮・精製した。その後、一方の試料について塩酸メタノールを用いて抱合体分解処理 (脱抱合体処理) を行い、両試料を抗原抗体反応を利用した酵素免疫定量法の分析キット (ELISA キット, 常盤化学工業製) を用いて E2 を測定した。なお、本実験での E2 の検出下限値はキットの定量下限値と希釈倍率から 0.2 $\mu$ g/L とした。

## 3. 結果と考察

図-2 に、原料、発酵液、および消化液の E2 濃度を示す。原料の E2 濃度は脱抱合体処理をした場合には、15.7 $\mu$ g/L  $\pm$  0.49 (n=3) であり、脱抱合体処理無しでは、14.1 $\mu$ g/L  $\pm$  0.79 (n=3) であった。脱抱合体処理によって約 10% 高くなった。この脱抱合体処理と未処理の差が抱合体 E2 であると考えられる。発酵プロセスでは原料の約 4% が分解され、E2 濃度は脱抱合体処理と未処理では、それぞれ 7.18 $\mu$ g/L  $\pm$  0.52 (n=3) と 6.90 $\mu$ g/L  $\pm$  1.67 (n=3) であった。発酵液にはほとんど抱合体が存在しなかった。消化処理後の消化液では E2 濃度が大幅に減少し、原料に含まれる E2 の 90% 以上が分解された。消化液の E2 濃度は脱抱合体処理と未処理では、それぞれ 1.82 $\mu$ g/L  $\pm$  0.11 (n=3) と 1.31 $\mu$ g/L  $\pm$  0.13 (n=3) であった。消化液の全 E2 の約 28% が抱合体として存在したと考えられる。

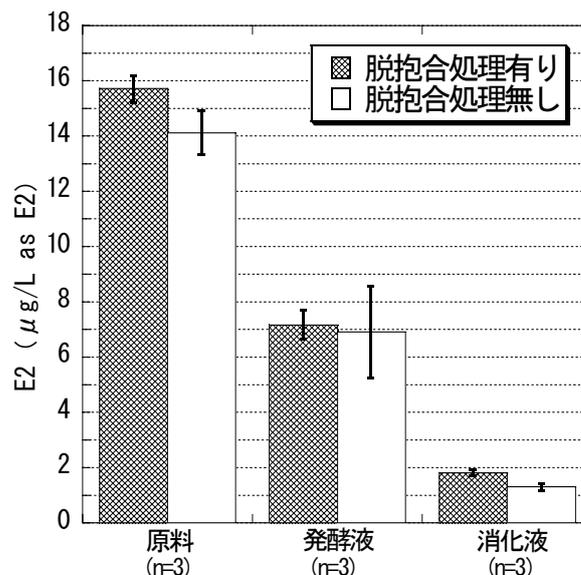


図-2 メタン発酵処理設備におけるE2濃度

## 4. まとめ

- (1) メタン発酵処理設備における原料、発酵液、および消化液の脱抱合体処理をした遊離体と抱合体を含む全 E2 濃度は、平均してそれぞれ 15.7 $\mu$ g/L, 7.18 $\mu$ g/L および 1.82 $\mu$ g/L であった。消化液中に含まれる全 E2 の約 28% が抱合体として存在する。
- (2) 原料、発酵液および消化液における脱抱合体処理の有無による E2 濃度の差は、それぞれ、1.60 $\mu$ g/L, 0.28 $\mu$ g/L および 0.51 $\mu$ g/L と算出され、本発酵プロセスでは抱合体の分解による E2 濃度の大幅な上昇は確認されなかった。
- (3) 畜産廃棄物の発酵プロセスは、E2 の除去プロセスとしても有効である。

本研究の一部は文部科学省の連携融合事業「農林畜産廃棄物利用による資源循環システムの構築」(代表・宮崎大学農学部 杉本安寛) によって行われた。関係者各位に謝意を表します。

## 参考文献

- 1) Matsui, S., Takigami, H., Matsuda, T., Taniguchi, N., Adachi, J., Kawami, H. and Shimizu, Y. (2000) Estrogen and estrogen mimics contamination in water and the role of sewage treatment, Water Sci. Technol., 42, 173-179.
- 2) Hanselman, T. A., Graeta, D. A. and Wikie, A. C. (2003) Manure-borne estrogens as potential environmental contaminants: A review, Environ. Sci. & Technol., 37, 5471-5478.