

(12) 人用抗生物質の活性汚泥への吸着特性

八十島 誠^{1*}・原田 新²・小森 行也²・鈴木 穰²

¹東和科学株式会社 (〒730-0841 広島県広島市中区舟入町6-5)

²独立行政法人土壌研究所 (〒305-8516 茨城県つくば市南原1-6)

* E-mail: yaso@mail.towakagaku.co.jp

近年、下水処理水を通して水環境に存在する医薬品が注目されはじめている。本研究では、特に人用の抗生物質（レボフロキサシン：LVFX、クラリスロマイシン：CAM、アジスロマイシン：AZM）を対象とし、下水処理場における除去メカニズムの一要因と考えられている活性汚泥への吸着に注目して、その特性を評価した。回分式吸着実験結果をFreundlichモデルで解析したところ、CAMとAZMの $1/n$ はほぼ一致し、LVFXの $1/n$ はこれらより高い値を示した。この傾向は、単成分系・3成分混合系に共通した。また、単位平衡濃度あたりのそれぞれの比吸着量の大きさはLVFX>AZM>CAMであり、この順に水相から除去されやすいと考えられた。不活化させた活性汚泥を用いた回分式吸着実験では、平衡濃度が最大で10倍程度増加し、吸着能力が低下した。この要因としては、微生物の生体内への取り込みが阻害された可能性が考えられた。

Key Words : levofloxacin, clarithromycin, azithromycin, LC/MS/MS, Freundlich model

1. はじめに

水環境に残留する医薬品は、欧米諸国をはじめとする先進諸国においてユビキタスな問題として注目が高まってきた。医薬品のうち抗生物質は、他の医薬品と同様に水生生態系への影響が懸念されるほか、生物処理に対して殺菌的に働くことで、浄化槽や下水処理そのものを妨害する可能性¹⁾などが考えられることから特に注目が高い。さらに抗生物質が環境中に残留することで、薬剤耐性菌の蔓延につながる可能性²⁾も考えられる。

これらの状況から、多くの国で水環境や下水道に存在する抗生物質についての研究報告がなされてきている。米国では、国内の100程度の河川において抗生物質や解熱鎮痛剤等の濃度を調査したところ抗生物質は最大で2 μ g/L程度が検出されたと報告^{2,3)}している。また、イタリアの河川では抗生物質が調査した全ての河川で~20ng/Lの濃度範囲で検出されたと報告⁴⁾している。一方、下水道においては、流入下水や二次処理水中から抗生物質が~1 μ g/L程度^{5,6)}検出されたと報告されている。

以前に我々は、下水処理場を模した実験プラントでの人用抗生物質の挙動調査の結果、特に生物反応槽における水相からの人用抗生物質の除去は主として活性汚泥への吸着によることを報告⁹⁾した。同様に他の研究におい

ても、下水処理場における水相からの抗生物質の除去は、活性汚泥への吸着が主たる要因であると報告^{5,9,10)}されている。これらの情報に基づくと、下水処理場における人用抗生物質の除去を考える上で、活性汚泥への吸着特性は極めて重要な情報であると考えられる。一部の医薬品については活性汚泥による除去特性が報告¹¹⁾され始めているものの、現時点では人用抗生物質の活性汚泥への吸着特性を把握した例はなく、また、生分解性に関する情報^{10,12)}も極めて少ない状況にある。

そこで本研究では、人用抗生物質に焦点を当て、吸着特性を把握することを目的とした。具体的には、体外に排泄される量が多いと試算された¹³⁾キノロン系のレボフロキサシン (LVFX)、マクロライド系のクラリスロマイシン (CAM)、アジスロマイシン (AZM) を対象に、回分式吸着実験を行い、吸着等温線を得るとともに、Freundlichモデルを用いて解析し、平衡吸着容量特性を把握した。さらに、吸着と活性汚泥を構成する微生物への取り込みの関係を実験によって把握し、吸着特性を詳細に評価することを最終目的とした。

2. 方法

(1) 分析方法と分析精度

本研究では、LVFX, CAM, AZMの3種の抗生物質（表-1）を対象とした。本研究では、試料100mLを保持粒子径1 μ mのガラス繊維ろ紙（Whatman製GF/B）でろ過したろ液を溶存態と定義し、測定した。このろ液にEDTA-2Naを1g/Lとなるように添加した。これをOasis HLB（Waters製）に全量通し、脱水後、6mLのメタノールで溶出した。溶出液は窒素気流により乾固させ、1mLの0.5%ギ酸水溶液：アセトニトリル=3：7で再溶解させて測定試料とした。なおLVFXは、再溶解液を1%ギ酸水で10倍希釈して測定試料とした。

測定は、LC/MS/MS（HPLC：Ailent製Agilent 1100，MS/MS：Applied Biosystems 製API4000）で行った。LVFXにはXDB-C18（Agilent製2.1mm ϕ ×150mm）カラム，CAM・AZMにはLUNA C8（phenomenex 製2.0mm ϕ ×150mm）カラムを用いて分離した。これらの物質は、グラジエント条件で測定した。

実際の下水（二次処理水）を用いて行った添加回収試験（n=5）の結果、本法における回収率（平均回収率 $\pm$ 標準偏差）は、それぞれ105 $\pm$ 2.8%（LVFX），110 $\pm$

7.7%（CAM），93 $\pm$ 5.4%（AZM）であった。なお二次処理水中の濃度の平均値（n=5）は、360ng/L（LVFX），306ng/L（CAM），116ng/L（AZM）であり、また、添加回収試験時の標準溶液の添加濃度はそれぞれ500ng/Lとした。また、二次処理水を測定した際のシグナル/ノイズ比（S/N比）の3倍を検出下限値，10倍を定量下限値としてそれぞれ定義すると、検出下限値・検出下限値は、それぞれ24ng/L・79ng/L（LVFX），25ng/L・82ng/L（CAM），22ng/L・73ng/L（AZM）であった。

(2) 回分式吸着実験方法

本実験は、実際の下水を使用して運転している実験用プラントの生物反応槽から採水した活性汚泥混合液（以下、AT水）を用いて行った。AT水採水日およびその前日には、降雨は観測されなかった。実験用プラントの概要は、表-2に示すとおりである。採取したAT水は、処理を加えることなく実験に用いた。なお、採取したAT水の溶存態中の対象抗生物質濃度は、表-3に示すとおりであった。

ところで、LVFXは水に溶解するが、CAM・AZMはほとんど溶解しないため、有機溶媒に溶解させた後、実験に使用する必要がある。しかし、一般に試験用リアクタ

表-1 対象抗生物質の構造と物理化学的特徴

化合物名	構造式	CAS-RN	分子量	Log K_{OW} ⁷⁾ at pH7	pKa
LVFX		100986-85-4	361.38	-0.46	5.5, 8.0
CAM		81103-11-9	747.95	0.88	8.48
AZM		83905-01-5	749.03	-1.05	8.74

一に有機溶媒を混入させることは、微量有機物質の吸着容量特性に影響を与える可能性があると考えられることから、本研究では以下のステップで有機溶媒を可能な限り除去した。即ち、アセトン (CAM)・アセトニトリル (AZM) に溶解させて調製したCAM・AZMの標準溶液を、AT水100mLを加えた時に設定濃度となるように三角フラスコに入れ、これを風乾させることで有機溶媒を除去した。AT水には難溶解性の有機物質も多く存在することから水に溶解しにくいCAMやAZMもAT水には溶解するものと思われる。また、以前の検討⁹⁾においてLVFX, CAM, AZMの活性汚泥との混合試験では、初期吸着が起こっている可能性が示唆された。このため、有機溶媒を除去した標準溶液は、AT水との混合直後はAT水の上澄み液に溶解しており、その後は活性汚泥に吸着することで多くは懸濁態として存在すると想定した。標準溶液を添加後風乾させた三角フラスコにAT水100mLを入れ、振とう攪拌 (THOMAS製AT-12R) した。振とう攪拌条件は、20℃、150rpmとし、平衡に達するまで一定時間攪拌した。

各バッチは、AT水を採取したプラントの生物反応槽のDOレベルであった3mg/L程度を維持することを目標にして間欠曝気を行った。また、DOに併せてpH、水温を定期的にモニターした。各物質の標準溶液 (STD) は、それぞれのリアクターの抗生物質濃度が、元来AT水に含まれていた抗生物質濃度プラス1μg/L、10μg/L、100μg/L、1mg/L、10mg/Lとなるように添加した。なお、対象抗生物質を1物質ずつ添加した場合 (単成分系) に加えて、より実際の下水処理場の状態に近い状態での吸着容量特性を把握するために、対象3成分を同時に先に示した濃度と同様の濃度で添加した場合 (3成分混合系) についても実験を行った。単成分系、3成分混合系

表-2 実験プラントの概要

処理水量 (m ³ /日)	HRT (時間)	SRT (日)	反応槽容量 (m ³)	MLSS (mg/L)
24	10	5.7	10	1700

表-3 実験に用いたAT水 (溶解性) 中の抗生物質濃度

		溶解性のAT水濃度 (ng/L)		
		LVFX	CAM	AZM
単成分系	Run1	828	767	243
	Run2	749	682	198
3成分混合系	Run1	828	767	243
	Run2	739	624	139
IAS系	Run1	882	705	280
	Run2	734	890	385

のどちらの実験も同一の条件で2回 (Run1, Run2) 繰り返して実験した。また、高濃度のSTDを添加した系では2. (1) に示した方法で前処理した後、検量線の範囲 (1~100μg/L) となるように適宜希釈して測定した。

また、抗生物質の平衡濃度 (C)、初期濃度 (C₀)、リアクター内の活性汚泥量 (W)、試験液量 (V) から、(1) 式に示す物質収支式を用いて、比吸着量 (q) を求めた。

$$q = \frac{V}{W} (C_0 - C) \quad \dots (1)$$

q: 比吸着量 (ng/g)

V: 試験液量 (L)

W: 活性汚泥量 (g)

C₀: 初期濃度 (ng/L)

C: 平衡濃度 (ng/L)

(3) 生物への取り込みを除外した回分式吸着実験方法

(2) に示した回分式吸着実験では、活性汚泥に吸着された量に併せて、活性汚泥に含まれる微生物の体内に取り込まれた量の総量を捉えることになると考えられる。そこで、活性汚泥を不活化させ、その汚泥 (以下IAS) を用いて回分式吸着実験を行えば微生物による生体内への取り込み等の要因を分離し、活性汚泥への吸着だけを評価することが可能になると考えた。そこでここでは、(2) の単成分系と同様の方法で活性汚泥をIASに換えて、LVFX, CAM, AZMを個別に添加して回分式吸着実験 (単成分系) を行った。

活性汚泥を不活化する方法として加熱処理、薬品処理、放射線処理などのいくつかの方法が考えられるが、本研究では、化学物質を添加することで活性汚泥を不活化させることは対象とする抗生物質の吸着容量特性を変化させる恐れがあると考え、滅菌法として広く使用されている加熱による処理を検討した。具体的には、70℃・30分 (水浴)、100℃・20分、121℃・15分 (オートクレーブ) を検討した。70℃条件では、採取したAT水を三角フラスコに入れ、先に70℃に調節しておいた水浴に30分間浸すことで処理した。100℃・121℃条件では、採取したAT水をメジューム瓶に入れ、オートクレーブにて20分 (100℃) または15分 (121℃) 処理した。熱処理後は、全ての条件において室温まで放冷した後に実験に用いた。各条件で加熱処理した後、加熱処理しなかった活性汚泥をブランクとして光学顕微鏡で観察するとともに、活性汚泥中の細菌類を幅広くモニターする目的で、下水試験方法の一般細菌試験¹⁰⁾に準拠して培養を行った。

活性汚泥中で観察される微生物としては、細菌や藻類、原生動物、ワムシなどが挙げられる。活性汚泥の不活化の指標として用いた上述の方法は、光学顕微鏡による観察で菌類や藻類の一部および原生動物や後生動物の形状

や動きから生死を判断し、さらに、一般細菌試験によって従属栄養細菌の一部の生菌数を評価したことになる。このため本手法では、顕微鏡の観察で判別できない生物やVNC (viable but nonculturable) 状態にある、つまり生きているが培養できない生物などは評価対象になっていない。従って本手法では、不活化を完全に確認することはできないものの、確認可能な生物を指標とすることで、他の生物種も含めた活性汚泥の大部分の不活化を推測できると考えた。

3. 回分式吸着実験結果

(1) 平衡到達時間の検討

まず、溶存態濃度が平衡に達する時間を把握するために、AT水に原水濃度 (LVFX: 710ng/L, CAM: 613ng/L, AZM: 169ng/L) プラス100μg/Lの濃度になるように標準溶液を添加した系 (単成分系) で添加後0.5, 1, 3, 6, 12, 18, 24時間後の溶存態の抗生物質濃度を測定した。実験方法は、2. (2) に示した方法とした。その結果、溶存態の抗生物質濃度は試験開始0.5時間後には激減しており、24時間後では十分に平衡濃度に達していることが伺えた (図-1)。このため、以降の回分式吸着実験では試験開始から24時間後の溶存態の抗生物質濃度を平衡濃度と定義し、標準溶液とAT水を混合した時から24時間後の溶存態の抗生物質濃度をモニターした。

(2) 単成分系における回分式吸着実験結果

試験期間中のDO・pH・水温は、それぞれ2.9~4.5mg/L, 6.6~7.1, 19~22℃であり、曝気・温度調節開始後はほぼ一定であった。

単成分系におけるLVFX, CAM, AZMの吸着等温線は図-2に示すとおりであった。比吸着量と平衡濃度の関係は、初期濃度に依存することなく対数近似されたことから、(2) 式に示すFreundlich式により解析した。

$$q = K \cdot C^{1/n} \quad \dots (2)$$

K : 吸着定数

$1/n$: 吸着指数

解析の結果、得られた K および $1/n$, 回帰式の相関係数(R)は、表-4に示すとおりであった。

まず、Freundlichプロットの傾きであり、活性汚泥との親和力の指標とされる $1/n$ を比較すると、CAM (0.76) とAZM (0.78) はほぼ同等の値を示したのに対して、LVFXはこれらより高い値 (1.06) を示した。従って、抗生物質の系統 (キノロン系, マクロライド系など) 別、つまり、骨格となる化学構造別に活性汚泥との親和性が決定されるものと予想される。

一方、 y 切片であり活性汚泥との親和力に被吸着質の吸着容量を加味した K の大きさは、AZM(13.05) > LVFX(5.33) > CAM(4.25)の順であった。従って、対象抗生物質の個々の吸着の強さはAZM, LVFX, CAMの順であることが示唆された。

表-4 単成分吸着系におけるFreundlich式の定数

	K		$1/n$		R	
	Run1	Run2	Run1	Run2	Run1	Run2
LVFX	5.33	6.79	1.06	1.08	0.988	0.989
CAM	4.25	4.46	0.76	0.84	0.984	0.994
AZM	13.05	16.03	0.78	0.83	0.993	0.967

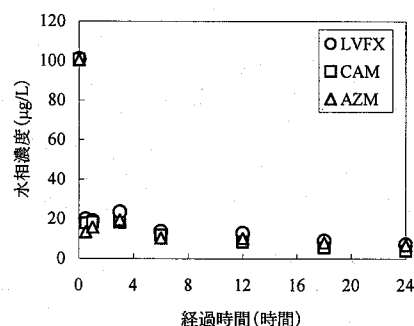


図-1 平衡濃度に達する時間の検討

*0hの濃度は添加前の実測濃度に理論添加濃度を加算したもの

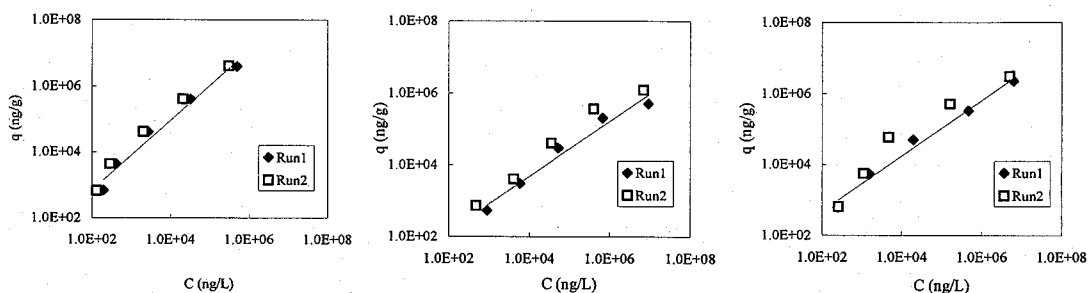


図-2 単成分系における吸着等温線 (左: LVFX, 中: CAM, 右: AZM)

注) 図中の回帰直線は、Run1のデータから作図したものである

実験を2回繰り返した場合 (Run1・Run2) の吸着等温線のプロットは、完全に一致することではなく、ばらつきが認められた。Run2の実験結果から算出した K , $1/n$ はRun1の実験結果から算出したものに比べて最大で27% (K), 11% ($1/n$) の誤差があった (表-4) が, K や $1/n$ の大きさの順位に変化はなかった。本実験における K , $1/n$ の誤差要因は明らかではないが, 活性汚泥のばらつきや実験操作・分析操作が主な原因であると考えられる。

(3) 3成分混合系における回分式吸着実験結果

試験期間中のDO・pH・水温は, それぞれ2.1~4.3mg/L, 6.8~7.3, 19~21°Cであり, 曝気・温度調節開始後はほぼ一定であった。

3成分混合系におけるLVFX, CAM, AZMの吸着等温線は図-3に示すとおりであった。また解析の結果, 得られた K および $1/n$, 回帰式の相関係数 (R) は, 表-5に示すとおりであった。

$1/n$ を比較すると, CAMとAZMは同じ値 (0.81) を示したが, LVFXはこれらより高い値 (1.25) を示した。 $1/n$ 決定の傾向, つまり系統別に活性汚泥との親和性が決定されると予想される傾向は, 単成分系の場合と同様であった。また, これらを単成分系におけるそれぞれの $1/n$ と比較すると, 3成分混合系の $1/n$ の方がやや高い傾向にあった。実際の下水処理場内では, 当然, 対象とした3物質以外にも多数の化学物質が共存しているが, $1/n$ が単成分系の場合よりも3成分混合系の方が高くなったことから, 共存物質が増えることで吸着等温線の初期濃度

依存性が強まる¹⁵⁾傾向にあることが示唆された。

一方, K の大きさは, $AZM(6.82) > CAM(2.81) > LVFX(0.61)$ の順であり, K の順位は, CAMとLVFXについて単成分系と異なった。また, 単成分系の場合と比べてその値が減少した。多成分混合系における混合物の全体的な K は, 吸着性の弱い成分が多い混合物ほど小さくなると考察¹⁵⁾されている。この考察に基づくと, LVFX, CAM, AZMの個々の吸着性が比較的弱いために3成分混合系においてはこれら3物質全体の K が小さくなり, また個々の K も小さくなったものと考えられる。

実験を2回繰り返した場合 (Run1・Run2) の吸着等温線のプロットは, 完全に一致することではなく, ばらつきが認められた。Run2の実験結果から算出した K , $1/n$ はRun1の実験結果から算出したものに比べて最大で52% (K), 10% ($1/n$) の誤差があった (表-5) が, K や $1/n$ の大きさの順位に変化はなかった。本実験における K , $1/n$ の誤差要因は明らかではないが, 活性汚泥のばらつきや実験操作・分析操作が主な原因であると考えられる。

(4) 生物への取り込みを考慮した回分式吸着実験結果

a) 不活化条件の検討結果

顕微鏡による観察の結果, 加熱した全ての条件 (70°C・30分, 100°C・20分, 121°C・15分) において, 運動する個体や繊毛の動きなどは観察されず, 細胞内の構造も変質していた (図-4)。一方, 標準寒天培養した結果, 一般細菌数は70°C, 100°Cでの処理ではブランクと比べてそれぞれ1/10, 1/100程度の減少が確認されたが, 121°Cでは全く認められなかった (表-6) ことから,オートクレーブを用いて高温高圧下で活性汚泥を処理することで, 活性汚泥中の微生物はほぼ死滅したと考えられる。従って本研究では, 121°C・15分の条件で加熱処理して不活化した活性汚泥を用いて生物への取り込みを考慮した回分式吸着実験を行った。

ところで, 高温高圧下での処理では, 生物を不活性化させる一方で, 活性汚泥微生物のタンパク質が変性した

表-5 3成分混合吸着系におけるFreundlich式の定数

	K		$1/n$		R	
	Run1	Run2	Run1	Run2	Run1	Run2
LVFX	0.61	0.93	1.25	1.25	0.978	0.992
CAM	2.81	2.14	0.81	0.86	0.993	0.953
AZM	6.82	5.01	0.81	0.89	0.991	0.988

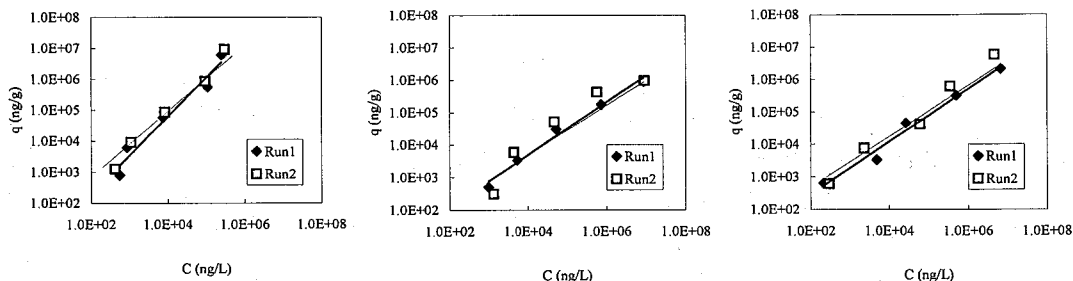


図-3 3成分混合系における吸着等温線 (左: LVFX, 中: CAM, 右: AZM)

注) 図中の直線 (太線) は3成分混合系 (Run1), 細線は単成分系 (Run1) の場合の吸着等温線の回帰式である

り、活性汚泥の表面電荷が変化するなどの現象が起こる可能性は否定できない。このため、オートクレープによって不活化した活性汚泥を用いた吸着試験を行うことで、生分解作用を排除できたとしても、先に述べたタンパク質の変性などの現象により、吸着によって水相から除去された対象物質濃度を過小あるいは過大に評価する可能性があると考えられる。従って本法では、厳密には水相からの抗生物質の除去要因である吸着と生分解を正確に

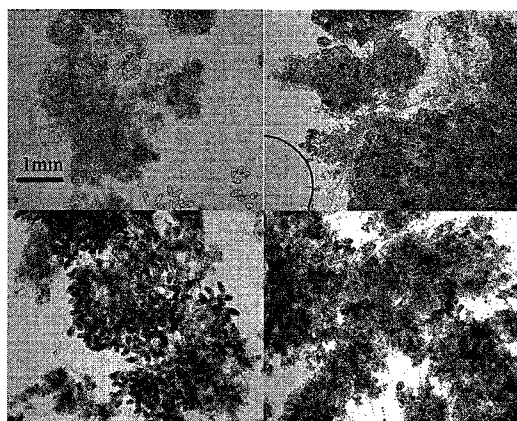


図-4 加熱処理後の活性汚泥の観察結果

*左上：未処理，右上：70℃・30分処理

左下：100℃・20分処理，右下：121℃・15分処理

表-6 標準寒天培養後の一般細菌数

試料	一般細菌数 (CFU/mL)
milliQ	0
ブランク (AT水)	5.7×10^4
70℃処理	5.3×10^3
100℃処理	2.1×10^2
121℃処理	0

* CFU: Colony Forming Units

分離することはできない。しかし、抗生物質の活性汚泥への吸着について活性汚泥微生物への取り込みを考慮した報告はないことから、タンパク質変性等に由来する誤差は含むものの、巨視的にはその挙動を把握することができると考えられる。

b) 回分式吸着実験結果

試験期間中のDO・pH・水温は、それぞれ1.9~3.8mg/L, 6.7~7.2, 19~21℃であり、曝気・温度調節開始後の変動は微少であった。

IASを用いた系におけるLVFX, CAM, AZMの吸着等温線は図-5に示すとおりであった。また解析の結果、得られた K および $1/n$, 回分式の相関係数 (R) は、表-7に示すとおりであった。

$1/n$ を比較すると、CAM (0.88) とAZM (0.92) はほぼ同様の値を示したが、LVFXはこれらより高い値 (1.02) を示した。また、これらを活性汚泥を用いた単成分系におけるそれぞれの $1/n$ と比較すると、ほぼ同程度であった。従って、不活化処理を行った場合でも、対象抗生物質と活性汚泥との親和性は維持されていることがうかがえた。このことから、熱処理によって変化する可能性のあるタンパク質では、活性汚泥と抗生物質の親和性を十分に説明できない可能性が示唆された。

一方 K は、AZM(1.53) > LVFX(0.50) > CAM(0.13)の順であり、この大小関係は単成分系と一致したが、1/10~1/30程度その値が減少した。また、3成分混合系の K と比

表-7 不活化した活性汚泥を用いた系における Freundlich式の定数

	K		$1/n$		R	
	Run1	Run2	Run1	Run2	Run1	Run2
LVFX	0.50	0.52	1.02	1.03	0.989	0.979
CAM	0.13	0.15	0.88	0.85	0.975	0.960
AZM	1.53	1.43	0.92	0.91	0.998	0.993

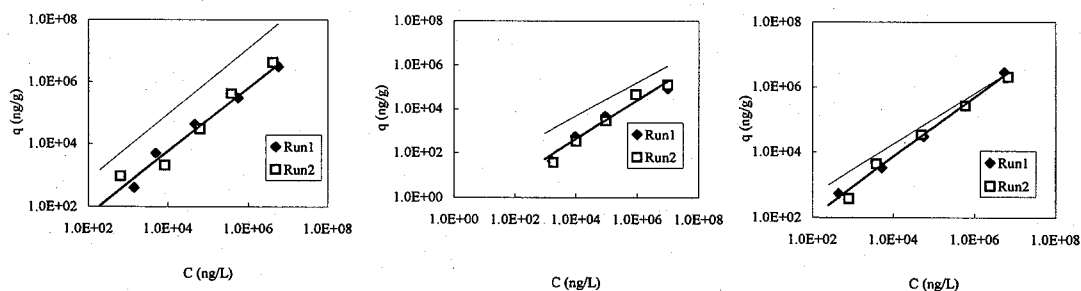


図-5 不活化した活性汚泥を用いた系における吸着等温線 (左：LVFX, 中：CAM, 右：AZM)

注) 図中の直線 (太線) はIAS系, 細線は単成分系の場合の吸着等温線の回分式である

較するとLVFXは同等、CAM、AZMはそれぞれ1/20、1/5程度であった。単成分系・3成分系とIAS系での最大の違いは、活性汚泥微生物の生存状態である。これに基づくと、IAS系におけるCAM、AZMの K の減少の要因としては、先述したとおり正確には評価できていないものの、活性汚泥微生物の体内への取り込みが阻害された結果である可能性が考えられる。つまり不活化せずに吸着試験を行った際には、“吸着”に併せて“活性汚泥微生物の体内に取り込まれた量”が評価されたために見かけの K が大きく表現され、IAS系では単に“吸着”が評価されたために K が減少した可能性が考えられる。

実験を2回繰り返した場合（Run1・Run2）の吸着等温線のプロットは、完全に一致することではなく、ばらつきが認められた。Run2の実験結果から算出した K 、 $1/n$ はRun1の実験結果から算出したものに比べて最大で15%（ K ）、3%（ $1/n$ ）の誤差があった（表-7）が、 K や $1/n$ の大きさの順位に変化はなかった。本実験における K 、 $1/n$ の誤差要因は明らかではないが、単成分系や3成分混合系の場合と同様に活性汚泥のばらつきや実験操作・分析操作が主な原因であると考えられる。

4. 人用抗生物質の活性汚泥への吸着特性

まず、活性汚泥を用いた単成分系（Run1）で算出されたFreundlich式の K と $1/n$ を（2）式に代入し、以前の調査で下水処理場のAT水から検出した濃度⁹⁾の最大値付近である $1\mu\text{g/L}$ を平衡濃度とした場合の比吸着量を求めた（図-6）。その結果、LVFX、CAM、AZMの比吸着量は、それぞれ8,200ng/g、810ng/g、2,900ng/gであった。同様に3成分混合系の場合のLVFX、CAM、AZMの比吸着量は、それぞれ3,600ng/g、760ng/g、1,800ng/gであり、比吸着量は、3成分混合系のほうが単成分系の場合よりも少なかった（図-6）。

一般に多成分混合吸着系においては、添加した物質の数に応じて吸着サイトを奪い合った結果、それぞれの物質の吸着容量は低下する¹⁷⁾。つまり、3成分混合系においては競合しながら吸着したために吸着容量が低下したと考えられる。また、比吸着量の大きさからは、LVFX、AZM、CAMの順に、活性汚泥への吸着に起因して水相から除去されやすいと考えられた。この傾向は、以前に報告⁹⁾した下水処理場を模した実験プラントの生物反応槽の溶存態と懸濁態の存在割合（LVFX；10:90、CAM；50:50、AZM；20:80）の傾向と一致した。これらのことから、本実験によって把握した平衡吸着容量特性は、実際の下水処理場における抗生物質の吸着現象を良好に再現していると考えられた。

CAMとAZMは共にマクロライド系の抗生物質でありその化学構造は極めて類似しているが、LVFXはキノロン系の抗生物質であり、CAM・AZMと比較して化学構造は大きく異なる。このことから考えると、LVFX、CAM、AZMの $1/n$ の違いの原因のひとつは、その化学構造の違いによるものであると考えられる。特にキノロン系の抗生物質は、下水処理の過程では活性汚泥への吸着によって水相から除去されているとの報告¹⁸⁾もあり、これらの指摘と本実験結果は一致した。また、LVFX、CAM、AZMともにFreundlich式で活性汚泥への吸着が説明できたことから、これらの物質は、多層構造で吸着している可能性が示唆された。

各物質の疎水性パラメータ（ K_{ow} ）と活性汚泥を用いた単成分系の実験で得られたFreundlich定数 K 、 $1/n$ を比較したところ、両者には相関は認められなかった（図-7）。したがって、LVFX、CAM、AZMは主として K_{ow} で示される疎水性以外の要因で活性汚泥に吸着している可能性が示唆された。また、CAMとAZMの $1/n$ はほぼ同等であったことをそれぞれの物質の物理化学的情報から考えると、他の研究でも指摘¹⁹⁾されているとおり、 pK_a に代表される分子存在状態などが対象抗生物質と活性汚泥の親和性に強く関与している可能性が高い。また、LVFXと同系統のキノロン系の抗生物質であるシプロフロキサシンのアルミナ表面への吸着メカニズムとして、シプロフロキサシンのカルボキシル基に含まれる酸素原子がアルミナ表面に結合している可能性²⁰⁾が示されていることから、活性汚泥への吸着メカニズムの解明にあたっては、分子の存在状態に加えて静電的要因についても複合的に考慮する必要がある。

一方、IASを用いた回分式吸着実験の平衡濃度は、活性汚泥を用いた単成分系での実験結果に比べてLVFXでは10倍程度、CAMではほぼ同等、AZMでは1~5程度増加した（図-8）。この差分については、対象抗生物質の活性汚泥微生物への取り込みが阻害されたことによる可能性がある。また、熱処理によって活性汚泥が凝縮し、有効表面積が減少したことによる可能性もある。

活性汚泥微生物に取り込まれた後の抗生物質の動態は不明であるが、シプロフロキサシンは40日間の試験で生分解性が認められなかったとの報告¹²⁾もあるため、少なくともLVFXが生分解された可能性は低い。抗生物質の薬理作用を考えると、薬効を発揮するために微生物の生体内に取り込まれやすい構造をしており、したがって、活性汚泥を用いた系では、生分解を受けないまでも微生物の体内に吸収や修飾などを受けた可能性があると考えられる。しかしながら、先述したとおり、不活性化するための加熱処理によって活性汚泥中の微生物のタンパク質が変性したり、表面の電荷が変化するなどして、活性

汚泥の性状が変化したこと由来する可能性もある。このため、例えば活性汚泥のATP含量を測定する等の方法で、活性汚泥微生物の活性度を把握する必要もある。

今後は、活性汚泥中のタンパク質の変性や、表面電荷の変化にも注目して人用抗生物質の活性汚泥への吸着特性についての理解を深めていく必要がある。また、生分解試験などを通じて、これらの抗生物質の生分解性を明らかにする必要もある。

5. まとめ

本研究では、人用抗生物質LVFX, CAM, AZMの活性汚泥への吸着特性を回分実験によって把握し、以下の知見を得た。

- (1) LVFX, CAM, AZMを1成分だけ添加して回分式吸着実験を行いFreundlichモデルによって解析したところ、CAMとAZMの吸着指数 $1/n$ はほぼ一致したがLVFXの $1/n$ はこれらに比べて高い $1/n$ を示した。また $1/n$ の決定には、抗生物質の骨格となる化学構造が関与していると予想された。
- (2) 3物質を同時に添加した系においては、 $1/n$ の大きさの傾向は単成分系と同様であったが、絶対値

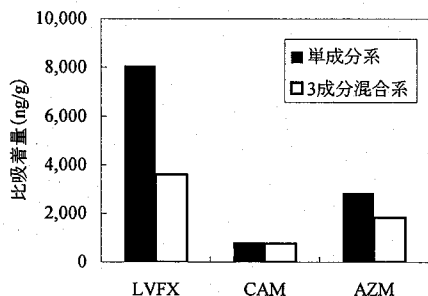
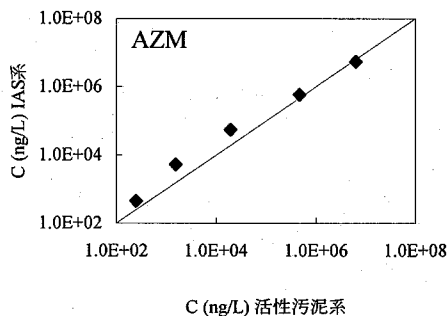
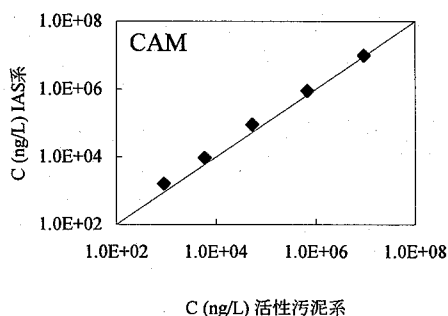
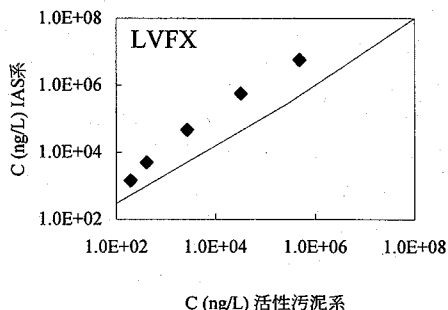


図-6 平衡濃度 $1\mu\text{g/L}$ における比吸着量

図-8 活性汚泥とIASを用いた回分式吸着試験における平衡濃度の関係

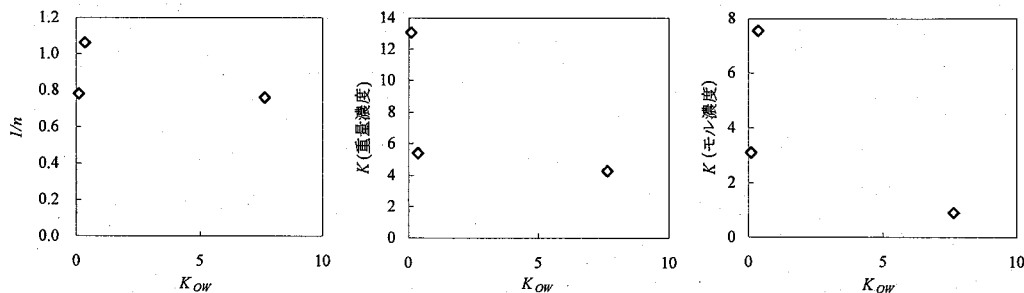


図-7 K_{OW} とFreundlich定数の関係

は上昇した。このため共存物質が増えることで吸着等温線の初期濃度依存性が強まる可能性が示唆された。また、吸着定数 K は単成分系に比べて低下しており、LVFX、CAM、AZM個々の吸着性は弱い可能性が示唆された。

- (3) 平衡濃度 $1\mu\text{g/L}$ の場合のLVFX、CAM、AZMの比吸着量は、単成分系ではそれぞれ $8,200\text{ng/g}$ 、 810ng/g 、 $2,900\text{ng/g}$ 、3成分混合系ではそれぞれ $3,600\text{ng/g}$ 、 760ng/g 、 $1,800\text{ng/g}$ であり、3成分混合系のほうが単成分系の場合よりも少なかった。
- (4) 比吸着量の大小の傾向は、これまでに把握された下水処理場でのLVFX、CAM、AZMの挙動を良好に再現していた。
- (5) 不活化した活性汚泥を用いて回分式吸着実験を行ったところ、平衡濃度は単成分系に比べて著しく増加し、吸着能力が大きく低下した。この減少の理由としては、活性汚泥微生物の体内への取り込みが阻害された可能性が考えられる。

謝辞：本研究を行うにあたりご助言賜りました岐阜大学工学部社会基盤工学科の李富生助教授に深謝いたします。

参考文献

- 1) 田中宏明：日常生活の抱える危うさ，水環境学会誌，Vol.29，No. 4，p.185，2006。
- 2) Kolpin, D. W., Furlong, E. T., Meyer, M. T., Thurman, E. M., Zaugg, S. D., Barber, L. B., Buxton, H. T.: Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000: A national reconnaissance, *Environmental Science and Technology*, Vol. 36, pp. 1202-1211, 2002.
- 3) Kolpin, D. W., Skopek, M., Meyer, M. T., Furlong, E. T. and Zaugg, S. D.: Urban contribution of pharmaceuticals and other organic wastewater contaminants to streams during differing flow conditions, *Science of the Total Environment*, Vol. 328, pp. 119-130, 2004.
- 4) Calamari, D., Zuccato, E., Castiglioni, S., Bagnati, R. and Fanelli, R.: Strategic survey of therapeutic drugs in the rivers Po and Lambro in Northern Italy, *Environmental Science and Technology*, Vol. 37, pp. 1241-1248, 2003.
- 5) Golet, E. M., Xifra, I., Siegrist, H., Alder, A. C. and Giger, W.: Environmental exposure assessment of fluoroquinolone antibacterial agents from sewage to soil, *Environmental Science and Technology*, Vol. 37, pp. 3243-3249, 2003.
- 6) Lindberg, R. H., Wennberg, P., Jhonsson, M. I., Tysklind, M. and Anderson, B. A. V.: Screening of human antibiotic substances and determination of weekly mass flow in five sewage treatment plants in Sweden, *Environmental Science and Technology*, Vol. 39, No. 10, pp. 3421-3429, 2005.
- 7) Hilton, M. and Thomas, K. V.: Determination of selected human pharmaceuticals compounds in effluent and surface water samples by high-performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, Vol. 1015, pp. 129-141, 2003.
- 8) 八十島誠，小林義和，中田典秀，小森行也，鈴木穰，田中宏明：下水処理場における人用抗生物質の挙動，環境工学研究論文集，Vol. 42，pp. 357-368，2005。
- 9) W. Giger, A. C. Alder, E. M. Golet, H. P. E. Kohler, C. S. McArdell, E. Molnar, H. Siegrist and M. J. F. Suter: Occurrence and fate of antibiotics as trace contaminants in wastewaters, sewage sludges, and surface waters, *ENVIRONMENTAL ANALYSIS*, Vol. 57, pp. 485-491, 2003.
- 10) S. Kim, P. Eichhorn, J. N. Jensen, A. S. Weber and D. A. Aga: Removal of antibiotics in wastewater: Effect of hydraulic and solid retention times on the fate of tetracycline in the activated sludge process, *Environmental Science and Technology*, Vol. 39, pp. 5816-5823, 2005.
- 11) 浦瀬太郎，田中俊至：異なる活性汚泥による女性ホルモン類・医薬品等の除去特性，環境工学研究論文集，Vol. 42，pp. 347-356，2005。
- 12) K. Kümmerer, A. A. Ahmad, V. M. Sundermann: Biodegradability of some antibiotics, elimination of the genotoxicity and affection of wastewater bacteria IIASimple test, *Chemosphere*, Vol. 40, pp. 701-710, 2000.
- 13) 八十島誠，山下尚之，中田典秀，小森行也，鈴木穰，田中宏明：下水処理水に含まれるレボフロキサシン，クラリスロマイシンの分析と藻類生長への影響，水環境学会誌，Vol. 27，pp. 707-714，2004。
- 14) 建設省都市局下水道部・厚生省生活衛生局水道環境部：下水試験方法，p.696，1997。
- 15) 湯浅晶：フミン酸の活性炭吸着等温線に関する研究，水道協会誌，Vol. 62，No. 7，pp.38-46，1993
- 16) 李富生，湯浅晶，松井佳彦：用廃水中有機物群の組成分類と活性炭吸着特性に関する研究，土木学会論文集，No.678/VII-19，pp.37-48，2001
- 17) 近藤精一，石川達雄，安部郁夫：吸着の科学，228pp.，丸善，1997。
- 18) S. Castiglioni, R. Bagnati, R. Fanelli, F. Pomati, D. Calamari and E. Zuccato: Removal of pharmaceuticals in sewage treatment plants in Italy, *Environmental Science and Technology*, Vol. 40, pp. 357-363, 2006.
- 19) T. A. Temes, N. Hermann, M. Bonerz, T. Knacker, H. Siegrist, A. Joss: A rapid method to measure the solid-water distribution coefficient (K_d) for pharmaceuticals and musk fragrances in sewage sludge, *Water Research*, Vol. 38, pp. 4075-4084, 2004.
- 20) C. Gu and K. G. Karthikeyan: Sorption of the antimicrobial ciprofloxacin to aluminum and iron hydrous oxides, *Environmental Science and Technology*, Vol. 39, pp. 9166-9173, 2005.

(2006. 5. 26 受付)

Sorption Characteristics of the Human Antibiotics to Activated Sludge

Makoto YASOJIMA¹, Arata HARADA², Koya KOMORI² and Yutaka SUZUKI²

¹Towa Kagaku Co., LTD

²Public Works Research Institute

In recent years, pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) remaining in water environment have become social problem in many advanced countries. The purpose of this research is to quantitatively evaluate the sorption characteristics of three human antibiotics (levofloxacin: LVFX, clarithromycin: CAM, azithromycin: AZM) to activated sludge. When batch sorption experimental results were analyzed with the Freundlich model, $1/n$ of CAM and AZM were almost the same level, while $1/n$ of LVFX was higher. This tendency was also observed in three component mixed system. The specific amount of sorption per unit equilibrium concentration was in the order of LVFX, AZM and CAM, and this might predict the capacity of activated sludge against these antibiotics. When inactivated sludge was used, equilibrium concentration increased by approximately 10 times at maximum compared with that for activated sludge. The reason of the increase of the concentration, might be that the microorganism of activated sludge have lost the ability of taking target antibiotics to the inside of the body.