

(42) 尿中の微量有害物質の 電気化学的除去に関する研究

小野 大樹¹・林 雅樹¹・榎原 豊^{1*}

¹早稲田大学大学院創造理工学研究科 (〒169-8555 東京都新宿区大久保3-4-1)

* E-mail : sakaki@waseda.jp

生尿中および人工尿中の17 β エストラジオール (E2) およびテトラサイクリン (TC) を対象として、電解酸化処理の可能性および処理性能について検討した。粒状のPt/Ti電極およびグラッシーカーボン電極を充填した三次元多重電解槽を用いて、生尿および人工尿の回分処理実験を行った。その結果、尿中に最も高濃度で含まれる尿素には影響されることなく、E2, TCを電解処理できることが分かった。しかしながら、尿中に若干量存在する尿酸の酸化反応がE2, TCに比べてより低電位 (0.4V ~ 0.5V付近) で生じるため、処理速度は通電量の他に尿酸の存在量にも大きく影響された。尚、電解処理の消費電力は1 ~ 50Wh/m³で、またPt/Ti電極及びグラッシーカーボン電極共にほぼ同様の処理性能であった。

Key Words : Electrolytic process, 17 β -estradiol, Tetracycline, Artificial urine, Uric acid, 3-D electrolytic cell

1. はじめに

現在、排水分離をコンセプトとし、し尿および雑排水を分離し、処理利用するサニテーションシステムが提唱されている¹⁾。これは、現用の下水道システムにより集水した排水に含まれる栄養塩類の大半が、総排水量の1%にも満たない量の尿由来であることに基づいたもので、このサニテーションシステムの一環として、栄養塩類・有機物の農業利用や雑排水の再利用が試みられているが、循環型社会の構築にあたって、物質循環系の微量有害物質の蓄積やそれに伴うヒト、生態系等への影響が懸念されている。その中でも使用制限による管理が難しい、人畜由来の女性ホルモンおよび医薬品は特に重要であると考えられる。これらの微量有害物質は体内で代謝された後、主として尿を経由して排泄されるものが多く、尿中濃度はmg/lオーダーとなっており²⁾、現用の下水処理場ではこれらの物質は十分に処理されずに放流されているため³⁾、環境水中では希釈され $\mu\text{g/l}$ またはそれ以下のオーダーで存在している^{4,5)}。

今回試験に用いた17 β エストラジオールは、人畜由来の女性ホルモンであるが、都市下水や畜産排水中に含まれていることが知られており、環境中に高頻度で検出される内分泌かく乱物質としてはその代

表的なものである。また、医薬品は生理活性を持つ物質が多く医療や畜産あるいは生活の場等において大量に使用されている。従来、医薬品類が使用された後の環境動態については、注意が払われていなかったが、近年、水環境中や下水中での医薬品類の存在実態が報告されるようになってきたことから、水環境中への排出経路、水生生物や人間への影響、あるいは、薬剤耐性菌出現への影響に関心が寄せられるようになってきている。

女性ホルモンや医薬品類問題に関しては、科学的に未解明な部分が多く難解な問題ではあるが、リスクをより低減するために処理技術の開発を進める必要がある。現在、このような微量有害物質の処理法として、生物学的処理法⁶⁾、化学的処理法⁷⁾、電気化学的処理法^{8,9,10)}などが有効であることが知られているが、その多くは産業排水、都市下水を対象とした排水または人工排水に対する処理報告で、尿そのものに対する処理の報告例は極めて少ない。しかし、多様な発生源から成る排水より、単一発生源からの処理の方が効率的な除去が可能であると考えられ、尿に対する微量有害物質の直接処理は有効であると考えられる。

電気化学的処理法は、有機汚染物質の除去を行ううえで生物学的処理法や化学的処理法に比べ、過酸

化水素、二酸化塩素、オゾン等の酸化剤を必要としないため、副反応が制限され、環境に対する影響が少なく、また、生物学的処理とは違い、毒性の高い物質により阻害を受けないといった利点がある^{9, 10)}。

本研究では、女性ホルモンの中でも最も内分泌攪乱性の高い17βエストラジオール (E2) および各国の公共水域で検出されている抗生物質で、人体病理学には勿論のこと、動物用医薬品や動物の成長促進のための飼料添加物等、幅広い分野で使用されているテトラサイクリン (TC) を対象に、生尿中および人工尿中での電解酸化処理の可能性および回分処理性能を検討した。

2. 実験装置および方法

(1) 電気化学的分析測定装置および電解装置

a) サイクリックボルタンメトリー (CV) 測定およびディファレンシャルパルスボルタンメトリー (DPV) 測定

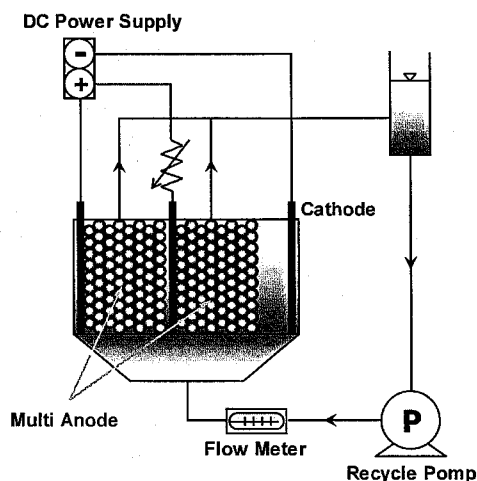
ボルタンメトリー測定には、電気化学測定システムHZ-5000 (北斗電工(株)製)を使用した。20ml ビーカーに測定液を入れ、作用電極は直径3.0mmのプラチナ (Pt) ディスク状電極 (BAS(株)製)またはグラッシーカーボン (GC) ディスク状電極 (BAS(株)製)、カウンター電極にはPtワイヤー電極 (BAS(株)製)、参照電極にはAg/AgCl電極 (BAS(株)製)を使用した。作用電極は、1μダイヤモンド研磨液 (BAS(株)製)で研磨後、蒸留水中で1min超音波洗浄し、電極表面に付着したダイヤモンド微粒子を除き、その後、電極表面を純水で洗浄して使用した。

b) 回分式電解処理実験

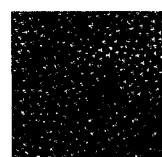
回分式電解処理実験装置の概略図を図-1に示す。電解槽の作用電極 (陽極) は、幅55mm、奥行き30mm、深さ60mmの2槽の多重電極槽になっており、直径3mm、高さ5mmの円柱形のPt/Ti粒状電極または直径1mmの球形のGC粒状電極を充填し、Pt/Tiメッシュ電極と接触させたものである。カウンター電極 (陰極) には粒径1~2mmのガラスビーズを充填した陰極槽に陽極と同様のPt/Tiメッシュ電極を挿入したものを用いた。また、対象物質の吸着を避けるために、反応槽にはステンレス (SUS 304)、チューブ、ポンプ、流量計などにはフッ素樹脂、ガラス、テフロンを用いた。

(2) 対象物質

標準物質として、17β-estradiol (和光純薬(株)製) およびTetracycline hydrochloride (和光純薬(株)製) を

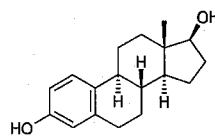


Pt/Ti 粒状電極

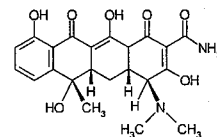


GC 粒状電極

図-1 回分式電解処理実験装置概略図



(a) Mw: 272.39



(b) Mw: 444.43

図-2 化学構造: (a) 17β-estradiol, (b) Tetracycline

表-1 人工尿の組成 pH 6.5 (pH は HCl および NaOH で調整した)

Compounds	Concentration (g/l)
Urea	16.00
Creatinine	1.10
Uric acid	0.63
Citric acid	0.54
Na ₂ SO ₄	4.31
KCl	3.43
NaH ₂ PO ₄	2.73
NaCl	2.32
NH ₄ Cl	1.06
MgCl ₂	0.45

表-2 回分式電解処理の実験条件

Run No.	Experimental solution	Initial Conc. (mg/l)		Working electrode	Recycling rate (ml/min)	Current (mA)	Initial pH
		E2	TC				
1	0.1M Phosphate buffer solution (PB)	2.0	2.0	Pt, GC	500	1	6.5
2	Raw urine solution (RU)	2.0	2.0	Pt, GC	500	1	6.3
3	Artificial urine solution (AU)	2.0	2.0	Pt, GC	500	0, 0.1, 1	6.5
4	Artificial urine solution without Urea	2.0	2.0	Pt, GC	500	1	6.5
5	Artificial urine solution without Uric acid	2.0	2.0	Pt, GC	500	1	6.5

使用した。E2およびTCの化学構造は図-2に示すとおりである。その他の試薬類は、すべて和光純薬(株)製のものを用いた。

(3) 分析測定条件

a) E2, TCおよび各人工尿成分のCV測定

E2, TCおよび表-1に示す各人工尿成分^{11, 12)}を電解液(0.1Mリン酸緩衝液/アセトニトリル(7:3, v/v) pH 6.5)に各々1.0mM添加し、走査速度10mV/s、走査範囲0 - 1.0VでCV測定を行い、E2, TCおよび各人工尿成分に対する印加電位および電極電流を測定した。電極電流が測定された場合、電極上で何らかの電極反応が進行していることを示す。

b) E2, TCおよび各人工尿成分のDPV測定

E2, TCおよび各人工尿成分を電解液(0.1Mリン酸緩衝液/アセトニトリル(7:3, v/v) pH 6.5)に各々1.0mM添加し、走査範囲0 - 1.0V、パルス高さ50mV、パルス幅20ms、パルス周期50msでDPV測定を行い、E2, TCおよび各人工尿成分に対する印加電位および電極電流を測定した。CV測定同様、電極電流が測定された場合、電極上で何らかの電極反応が進行していることを示す。

c) 回分式電解処理実験

尿中には女性ホルモンや抗生物質がmg/lオーダーで含まれていることから、本研究ではE2およびTCを各々2mg/l添加して48時間、回分処理実験を行った。回分処理実験条件を表-2に示す。リン酸緩衝液は、0.1M Na₂HPO₄・12H₂Oおよび0.1M NaH₂PO₄から作成した。また、生尿は24時間以内に採取したものを使用し、人工尿は表-1に示すとおり調整した。

d) 機器分析

E2は、外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル¹³⁾を参考に、サンプル10mlをSep-pak Plus C18 EV Cartridge (Waters(株)製)を用いて固相抽出を行い、酢酸エチル/メタノール(5:1, v/v) 5mlで溶出した。次に、40℃恒温槽内で窒素乾固した後、酢酸エチル1mlに再溶解したものを抽出液とした。さらに、抽出液にBSTFA 100μl添加し、80℃で1時間温めTMS化した後、GC/MS (島津製 QP5050A)

で分析した。TCは、サンプルを孔径0.5μm PTFEろ紙を使つてろ過した後、HPLC (島津製 Prominence) で分析した。カラムは、SunFire™ C18 3.5μm, 2.1mm×150mm (Waters(株)製)を用い、移動相は10mMシュウ酸/アセトニトリル(9:1, v/v) 溶液を用いて流量0.1ml/minで行った。

3. 結果および考察

(1) 電気化学的測定結果

a) E2およびTCのサイクリックボルタモグラム

図-3は、走査速度10mV/s、走査範囲0 - 1.0Vで5サイクルCV測定をして得られた、E2およびTCのサイクリックボルタモグラムである。ブランク溶液(0.1Mリン酸緩衝液/アセトニトリル(7:3, v/v) pH 6.5)と比較すると、両物質とも、電位走査の1サイクル目では0.6 ~ 0.8V付近に穏やかな酸化ピーク電流が確認できた。このことから、E2とTC共に電解酸化処理が可能であると推測される。E2はPt電極およびGC電極で2サイクル目以降、酸化ピーク電流は段階的に減少した。このような現象は、E2が酸化されてできた物質が、Pt電極またはGC電極表面に電解重合膜として生成することにより、電極表面上での電子の授受が阻害されて反応が進行しなくなったことによると考えられる^{9, 10, 14, 15)}。これに対して、TCはPt電極およびGC電極共に2サイクル目以降も酸化ピーク電流は減少しなかったことから、E2とTCでは異なる電極反応が起きているものと考えられる。

b) 共存成分のサイクリックボルタモグラム

図-4は、走査速度10mV/s、走査範囲0 - 1.0Vで1サイクルCV測定をして得られた、尿素、アンモニア、尿酸のサイクリックボルタモグラムである。ブランク溶液と比較すると、尿中共存成分の中で最も高濃度の尿素(表-1)は、0 - 1.0Vの範囲では酸化ピークは現れなかった。また、アンモニアも本実験条件では酸化ピークは表れなかった。しかしながら、表-1の共存有機物の中で唯一、尿酸が酸化反応を示

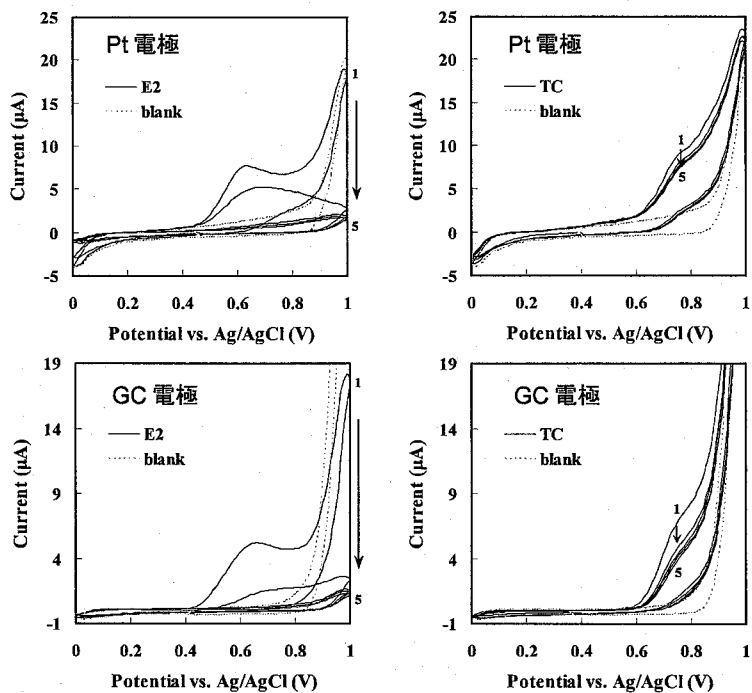


図-3 1.0mM E2, TC のサイクリックボルタモグラム (図中の数字は走査回数) .

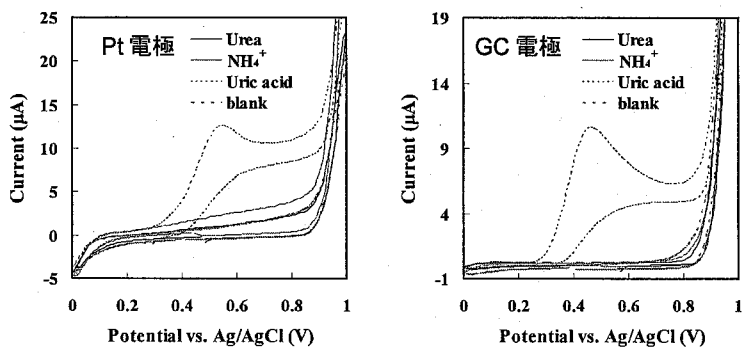


図-4 1.0mM 尿素, アンモニア, 尿酸のサイクリックボルタモグラム.

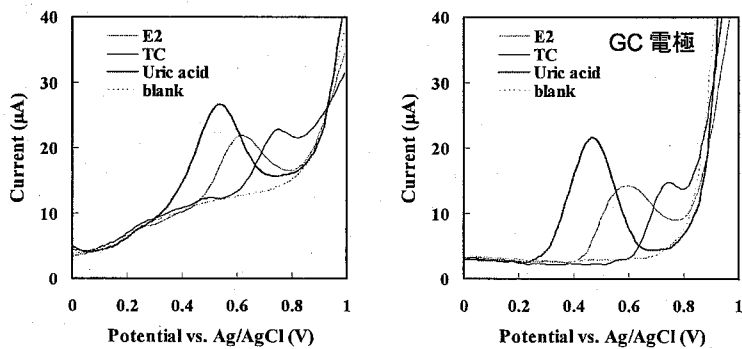


図-5 1.0mM E2, TC, 尿酸のディファレンシャルパルスボルタモグラム.

し、Pt電極およびGC電極共に0.4V ~ 0.5Vの付近に酸化ピーク電流が生じた。この酸化ピーク電位はE2およびTCより低いことから、共存系では尿酸が最初に酸化されやすいと考えられる。このことはE2, TCを除去する観点からはその反応が尿酸によって影響されることを示している。TC同様、2サイクル目以降、酸化ピーク電流は減少しなかった。また、塩化ナトリウム、塩化マグネシウム、塩化カリウムは0 - 1.0Vの範囲では全て酸化ピーク電流は現れなかった。

c) E2およびTCのディファレンシャルパルスボルタモグラム

より明瞭な酸化ピーク電流を計測するために、CV測定よりも高感度のDPV測定を行った。その結

果を図-5に示す。Pt電極およびGC電極共に、CV測定では不明瞭だったTCの明瞭な酸化ピーク電流が確認され、反応電位の小さいものから順に、尿酸 < E2 < TCとなった。このことから、酸化反応は尿酸 > E2 > TCの順に進行し易いと考えられる。

(2) 回分処理結果

a) 通電の効果

Pt/Ti粒状電極を用いて、人工尿（表-1）に対してE2, TCの回分処理を行った。図-6(a)に示すとおり、通電状態ではE2, TCを除去することができ、電流値が大きくなれば除去速度は増加した。非通電状態では、両物質共に除去することはできなかった。

b) 共存物質の影響

共存物質の電解処理速度への影響を調査するため

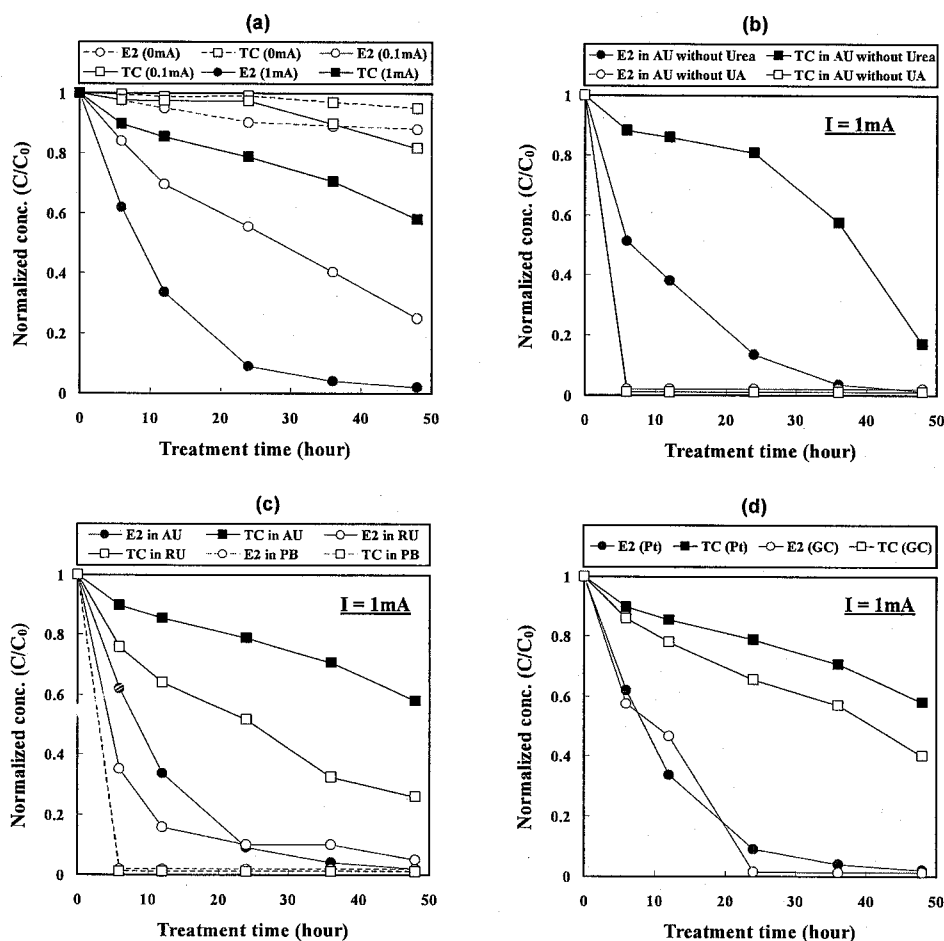


図-6 回分処理実験結果：(a) 人工尿中における電流値による除去効率の違い、(b) 人工尿成分から尿素または尿酸 (UA) を除いたもの、(c) 人工尿 (AU) 中・生尿 (RU) 中・リン酸緩衝液 (PB) 中、(d) 人工尿中における各電極による除去効率の違い ((a), (b), (c)は Pt/Ti 粒状電極の結果)。

に、Pt/Ti粒状電極を用いて、尿中に最も高濃度で存在する尿素および酸化ピーク電流が確認された尿酸を対象に検討を行った。図-6(b)に示すように、尿素を含まない人工尿に対する回分処理速度は、人工尿中での結果(図-6(a), (c))とほぼ一致し、尿素には影響されなかった。一方、尿酸を含まない人工尿に対する回分処理において、E2(図中の○)およびTC(図中の□)の除去速度が大幅に速くなり、リン酸緩衝液に対する除去速度と一致した(図-6(b), (c))。これより、尿酸を前処理等により除去すれば除去速度を大きく向上できることが分かる。尿酸は水に溶けにくく、pHにより溶解度が大きく異なり(常温の水に溶ける尿酸量は、pH 8で1520mg/dl, pH 7で158mg/dl, pH 6で22mg/dl, pH 5で8mg/dl)、特に酸性側ではより溶けにくい¹⁶⁾。尿酸の前処理は、この性質を利用し、酸を加えることでpHを下げ、沈殿処理する化学的処理等が考えられる。

c) 生尿処理と人工尿処理の比較

Pt/Ti粒状電極を用いて、生尿、人工尿およびリン酸緩衝液に対してE2, TCの回分処理を行った。その結果を図-6(c)に示す。リン酸緩衝液中の処理は、生尿(図中のRU)と人工尿(AU)に対する回分処理に比べ、除去速度は格段に速く、E2, TCともに数時間でほぼ除去することが可能であった。本実験条件では生尿(図中のRU)と人工尿(AU)とで、E2, TCの除去速度に差がみられた。これは、生尿に含まれる有機物濃度(特に、E2, TCの除去に対し、主として影響を与える尿酸濃度)の違い等が原因ではないかと考えられる。また、Pt/Ti粒状電極およびGC粒状電極の処理性能を比較したが(図-6(d))、両電極とも同等の除去速度となり、処理性能はおおむね等しくなった。現在、尿に対する微量有害物質の処理技術は、栄養塩類と微量有害物質を分離処理する膜処理や沈殿処理、また微量有害物質そのものを分解し除去するオゾン処理等の酸化処理等が検討されているが、前者の分離処理における処理中のエネルギー消費量は、電気透析で約30kWh/m³、ナノろ過で約6kWh/m³程度であることが報告されている¹⁷⁾。また、促進酸化処理法等による尿に対する微量有害物質の効率的な処理結果はまだ報告されていないが、これらと同程度かあるいはより大きなエネルギー消費量が予想される^{17, 18)}。一方、本実験における電解酸化処理に必要な電極電位は1V前後であり、処理中のエネルギー消費量は、両電極とも約1~50Wh/m³の範囲にあった。これは、単一発生源による処理であることや、尿主成分の尿

素を酸化せずに、微量成分であるE2, TCおよび尿酸を選択的に酸化処理することによるものと考えられる。なお、電解処理を長期間継続すると電極表面にE2酸化に伴う重合膜が形成され処理効率が低下すると考えられるが、フェントン法等を用いれば電極の再生が可能である⁸⁾。今後はその再生条件についても検討が必要である。また、尿中の医薬品、ホルモン等の微量物質はその種類、濃度がヒトにより大きく異なる場合があると考えられることから(本実験においてAUとRUの除去速度が異なった)、異なる濃度、成分条件、また、より効率的な電解条件についての検討が今後必要である。

4. 結論

本研究では、尿中のE2およびTCの電解酸化処理の可能性および回分処理性能について実験的検討を行い、以下の知見を得た。

- a) 電解処理により、生尿中および人工尿中のE2およびTCを除去することが可能である。ここで、E2及びTCの処理は主として尿酸により影響されるが、尿の主成分である尿素には影響されなかった。
- b) 本研究で用いたPt/Ti粒状電極とGC粒状電極はほぼ同等の除去性能であった。また、消費電力は極めて少なく、供試尿に対して約1~50Wh/m³であった。
- c) 尿酸を前処理することにより、より高効率で高速処理が可能であると考えられた。

謝辞：本研究の一部は、科学技術振興機構 戦略的創造研究推進事業(CREST)の補助を得て実施した。また、GC粒状電極は日本カーボン㈱より提供いただいた。

参考文献

- 1) Kirchmann H., et al.: Human urine - chemical composition and fertilizer use efficiency, *Fertilizer Research*, **40**, 149-154, 1995.
- 2) Lisha M., et al.: Determination of environmental estrogens in human urine by high performance liquid chromatography after fluorescent derivatization with p-nitrobenzoyl chloride, *Analytica Chimica Acta*, **522**, 241-246, 2004.
- 3) 鈴木穰：下水処理過程における医薬品類の挙動，水環境学会誌，**29**, 196-199, 2006.

- 4) Onda K., et al.: Evaluation of estrogen-like activity using recombinant yeast in wastewater, *Ebara engineering review*, **195**, 23-31, 2002.
- 5) 清野敦子ら：わが国の水環境における人用・動物用医薬品の存在，水環境学会誌，**27**, 685-691, 2004.
- 6) Staple CA., et al.: A review of the environment fate, effects, and exposures of bisphenol A, *Chemosphere*, **36**, 2149-2173, 1998.
- 7) Sajiki J., et al.: Degradation of bisphenol A (BPA) in the presence of reactive oxygen species and its acceleration by lipids and sodium chloride, *Chemosphere*, **46**, 345-354, 2002.
- 8) 柏村斉ら：内分泌かく乱物質の電気化学的連続処理および電極再生に関する研究，早稲田大学理工学研究科修士論文，2007.
- 9) Rodgers L. D., et al.: Electrochemical oxidation of chlorinated phenols, *Environmental Science and Technology*, **33**, 1453-1457, 1999.
- 10) Kuramitz H., et al.: Electrochemical removal of bisphenol A based on the anodic polymerization using a column type carbon fiber electrode, *Water Research*, **38**, 2331-2338, 2004.
- 11) Burns, J.R., et al.: A proposal for a standard reference artificial urine in in-vitro urolithiasis experiments, *Investigat.Urol.*, **18**, 167-169, 1980.
- 12) Grases F., et al.: Uric acid calculi : types, etiology and mechanisms of formation, *Clinica Chimica Acta*, **302**, 89-104, 2000.
- 13) 外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル（水質，底質，水生生物），環境庁水質保全局水質管理課，1998.
- 14) Saalci B., et al.: Voltammetric investigation of β -estradiol, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **28**, 753-759, 2002.
- 15) Miriam M. Ngundi, et al.: First comparative reaction mechanisms of β -estradiol and selected environmental hormones in a redox environment, *Electrochemistry Communications*, **5**, 61-67, 2003.
- 16) 検査と技術 増刊号「尿検査法」，医学書院，**20**, 1992.
- 17) Maurer M., et al.: Treatment processes for source-separated urine, *Water Research*, **40**, 3151-3166, 2006.
- 18) 榊原豊ら：環境ホルモンの無害化と暴露量削減に関する研究開発，平成 15・16 年度国交省建設技術研究開発助成制度 研究成果報告書，2005.

(2007.5.25 受付)

Electrolytic Treatment of Trace Toxic Substances in Urine

Taiki ONO¹, Masaki HAYASHI¹, Yutaka SAKAKIBARA¹

¹ Dept. of Civil and Environmental Engineering, Waseda University

Endocrine Disturbing Chemicals (EDCs) and pharmaceuticals from human beings and livestock origin are excreted via urine. These substances exist in the levels of mg/l in urine and μ g/l or less in aquatic environment, respectively. Their effects are of great concern to public health as well as reproductions of aquatic lives. In this study, we investigated the possibility and performance of electrolytic oxidation treatment of 17 β estradiol (E2) and tetracycline (TC) in artificially prepared urine (AU) and human urine. In the batch experiments, it was shown that E2 and TC were removed both in AU and human urine. However, removal rates of E2 and TC were smaller than those observed in an AU solution containing only E2 and TC, where these contaminants were almost removed within an hour. Furthermore, removal efficiency of E2 and TC at 1mA was higher than at 0.1mA. These results indicated that if uric acid was removed by a proper treatment with sufficient electric current, E2 and TC in urine could be efficiently removed by the present electrolytic process.