

## (85) 下水の生物学的処理における 天然エストロゲンの除去機構に関する研究

高部 祐剛<sup>1\*</sup>・津野 洋<sup>1</sup>・西村 文武<sup>1</sup>・坂本 昌則<sup>1</sup>・寺杣 優一<sup>1</sup>

<sup>1</sup>京都大学大学院工学研究科都市環境工学専攻 (〒615-8540 京都府京都市西京区京大桂C1)

\* E-mail: takabe.yugo@i02.mbox.media.kyoto-u.ac.jp

回分式実験により、活性汚泥法からのE1およびE2の除去特性について、吸着および生物作用に注目し実験的考察を試みた。不活化汚泥の吸着実験より、フロイントリッヒの吸着等温式で表せ、また生物分解特性を把握する実験でも、汚泥相と水相の濃度はこの吸着等温線に従うことが示された。好気性条件下では、E2はE1に酸化されさらにE1も酸化され、速やかに減少し、また好気性の後に嫌気性になると、これらの濃度は上昇することが示された。E1およびE2の好気性条件下での分解速度 (E1:  $k_1$ , E2:  $k_2$ ) および嫌気性条件下でのE1とE2の合計の増加速度 ( $k_d$ ) は、それぞれ各々の濃度および潜在的抱合体・前駆物質の汚泥相中濃度に関して一次反応で表されるとし、 $k_1=0.0430$ ,  $k_2=0.1015$  および  $k_d=0.0105$  (L/g-MLSS/min) を得た。

**Key Words :** E1, E2, Sewage, Freundlich adsorption isotherm, Biodegradation, First-order reaction

### 1. はじめに

イギリスのリー川で下水処理場下流域に生息するローチに雌雄同体が確認され<sup>1)</sup>、我が国でも多摩川などで同様の報告があり<sup>2)</sup>、エストロゲン性物質の生態学的な影響が懸念されている。我が国での調査では<sup>3, 4)</sup>、天然エストロゲンの濃度は、人工エストロゲンに比して3オーダーほど低いが、E2に対するエストロゲン活性値を加味して検討すると、水環境中のエストロゲン活性に占める寄与率は天然エストロゲンであるE1が最も高いことが示されている<sup>5)</sup>。また河川水の画分とバイオアッセイによりE1の画分に最も高い活性が見られたと報告されている<sup>6)</sup>。このようなことから天然エストロゲンの水環境中での挙動の把握は重要である。下水処理場は、家庭排水や工場廃水を受け入れて処理していることから、エストロゲン性物質の負荷源の一つとなりうると思われる、下水処理場放流口の下流で濃度が高くなる現象も見られている<sup>7)</sup>。

天然エストロゲンであるE1およびE2の下水処理場での除去率は総じて高い<sup>8, 9)</sup>が、しばしば、除去率が低いケースや放流水中濃度が流入水中よりも高いケースも報告されている<sup>10), 11), 12)</sup>。これらの原因としては、処理方式<sup>13, 14)</sup>、SRT<sup>15), 16), 17), 18)</sup>、HRT<sup>16), 17), 18)</sup>、水温<sup>19), 20)</sup>、抱合体の脱抱合<sup>21), 22)</sup>などの観点から検討されているが機制的には明らかにさ

れてはいない。生物学的処理法での除去機構では生物学的分解と汚泥への吸着が主な機構として考えられる。E1やE2は好気性条件下では比較的速やかに分解されるとの研究もある<sup>23), 24)</sup>が、定量的な解析や嫌気性条件下での挙動に関する知見などはほとんど無い。一方で、E1やE2の除去では汚泥への吸着も重要であることが知られている<sup>24), 25), 26)</sup>が、処理方式の差などの汚泥種や好気性と嫌気性条件の影響などについての検討は十分にはなされていない。

本研究では、下水処理場でのエストロゲンの除去機構の中で、E1およびE2を取り上げ、汚泥への吸着と生物学的変換を対象に、定量的な研究を行うが、これは、下水処理方式の差や操作の観点では、吸着現象が卓越するならばSRTを短くする、または生物学的分解が卓越するならばSRTやHRTを長くすることが効果的となるためである。さらに、これらの除去機構に及ぼす溶存酸素の条件やpH条件などを検討する。

### 2. 実験方法

#### (1) 不活化汚泥での吸着特性実験

2ヶ所の下水処理場 (TおよびK処理場) の返送汚泥を採取し、実験室で80°Cで30分間温浴の後直ちに4°Cの暗所で冷却し、20°Cになったものを吸着実験

に用いた。吸着実験においては、試料を100mLの規格びんに満たしてスターラで2時間攪拌し、一部の実験では曝気も行った。その後直ちにサンプリングし、遠心分離（2,500rpmで15分間）で汚泥相と水相を分けた。混合液についてMLSS濃度を測定するとともに、水相と汚泥相の各々のE1あるいはE2を測定した。

天然エストロゲンの汚泥への吸着は比較的瞬時に起こると報告されており<sup>24), 25)</sup>, 2時間の吸着時間は十分であると考えられ、また予備実験でもこのことは確認している。そして80℃で30分間の加熱処理で十分に不活化することも予備実験で確かめており、またRenら<sup>24)</sup>も同様の不活化処理で研究を行い、2時間程度では再活性化しないことを明らかにしている。

吸着実験の条件を表-1に示す。各Runでは、被吸着物質であるE1あるいはE2を濃度が0.5, 1, 2, 5および10μg/Lとなるように添加して行った。全ての実験で再現性の確認のために、各々3回の繰り返し実験を行った（各結果は大きな差はなく、平均値でデータ処理した）。pHは、6.7±0.1であった。

Run1-1およびRun1-2では、各々E1およびE2を対象物質とし、それぞれでDOを消失させた嫌気性条件および直前の曝気によりDOを存在させた後での好気性条件で（DO: 8.3mg/L, ORP: 164±16mV）行った。Run1-3では攪拌せずに沈殿条件でも行った。Run1-4は、試料採取直後に塩酸でpH3にしての試料の保存性を検討する目的で行った。

本研究では後述の実験も含めて、E1およびE2の濃度について、水相および汚泥相を別々に測定した。両相の合計での回収率は全ての実験で100±10%の範囲にあった。

## (2) 生物分解特性実験

E1およびE2の生物反応槽での挙動を検討するために、下水処理場で採取してきた活性汚泥に対してE1およびE2を添加して回分式実験を行った。行った実験系の条件を表-2にまとめて示す。

各Runにおける実験で用いた反応器は、10Lある

表-1 吸着実験概要

| Run | 試験汚泥           | 添加物 | DO | 攪拌 | HCl添加 |
|-----|----------------|-----|----|----|-------|
| 1-1 | T下水処理場<br>返送汚泥 | E1  | 有り | 有り | 無し    |
| 1-2 |                | E2  | 有り | 有り | 無し    |
| 1-3 | K下水処理場<br>返送汚泥 | E1  | 有り | 有り | 無し    |
| 1-4 |                | E1  | 有り | 有り | 有り    |

表-2 生物学的除去実験の概要

| Run | 対象水                      | 汚泥               | DO条件        | 実験目的             |
|-----|--------------------------|------------------|-------------|------------------|
| 2-1 | 最初沈殿池<br>流出水+過           | E1添加<br>E2添加     | なし          | 曝気と空気酸化          |
| 2-2 | 最初沈殿池流出水<br>E2添加 (5μg/L) | 標準法*             | 曝気攪拌<br>好気性 | E2の除去機構          |
| 2-3 | 最初沈殿池流出水<br>E2添加 (1μg/L) | AO法*<br>SBR AO法* | 曝気攪拌<br>好気性 | E2除去機構と<br>汚泥側の熱 |

\*: 返送汚泥（T下水処理場）

いは5Lのステンレス缶をアルミ箔で覆ったものであり、曝気を行い好気性条件下で反応を行った。Run2-2およびRun2-3で用いた汚泥は、T下水処理場の返送汚泥であり、それを初沈流入水と3（汚泥）：7で混合して、さらに所定濃度となるようにE1あるいはE2を加えて実験を開始した。全ての実験でのMLSS濃度は、1,500mg/L前後であった。また、実験時の温度は20±1℃の条件であった。

実験期間中には所定時間毎にサンプリングし汚泥相中および水相中のE1およびE2濃度を追跡した。サンプリング試料は採取後直ちに、塩酸でpH3にして汚泥の不活化を図った。この操作により吸着特性が変化しないことは、後述するRun1-4での吸着実験結果で明らかにされる。この後速やかに遠心分離（2,500rpmで15分間）で汚泥相と水相に分けた。

## (3) 好気性－嫌気性（無酸素）条件での天然エストロゲンの挙動

実際の処理場では、好気状態の後に嫌気状態が起こることが多々ある。そこでここでは、一度好気性条件になった後に嫌気性（ここでは無酸素条件も含めて嫌気性と呼ぶ）条件となった場合のE1およびE2の挙動の検討を試みた。行った実験系の条件を表-3にまとめて示す。

Run3-4以外の全てのRunでは、T下水処理場の返送汚泥と最初沈殿池流出水とを3：7の比で混合し、所定の濃度のE1あるいはE2を添加し、Run3-5以外では、さらに曝気をしないと確実に無酸素となるようにするために表-4に示される組成の人工下水を合計でDOCが200mg/Lとなるようにして実験を行った。Run3-4では人工下水で培養したエストロゲンを含まない汚泥を用いて実験を行った。全ての実験でのMLSS濃度は、1,500mg/L前後であった。また、実験時の温度は20±1℃の条件であった。

Run3-1は、好気性条件後の嫌気性条件下でのエス

表-3 好気性－嫌気性条件下での挙動実験の概要

| Run | 対象水                                                              | 汚泥                           | DO条件                                   |
|-----|------------------------------------------------------------------|------------------------------|----------------------------------------|
| 3-1 | 最初沈殿池流出水+<br>E2 (5μg/L) + 人工下水                                   | 返送汚泥<br>(標準法)                | 曝気攪拌2時間 + 攪拌10時間<br>曝気攪拌2時間 + 曝気攪拌10時間 |
| 3-2 | 最初沈殿池流出水+<br>E2 (1μg/L) + 人工下水                                   | 返送汚泥<br>(標準法)                | 曝気攪拌2時間 + 攪拌2時間 +<br>pH変化 (±1) 攪拌2時間   |
| 3-3 | 最初沈殿池流出水+<br>E2 (5μg/L) + 人工下水<br>最初沈殿池流出水+<br>E2 (0μg/L) + 人工下水 | 返送汚泥<br>(標準法)                | 曝気攪拌2時間 + 攪拌5時間                        |
| 3-4 | 人工下水 (エストロゲン0μg/L)<br>人工下水 + E2 (1μg/L)<br>最初沈殿池流出水 + 人工下水       | 人工下水<br>培養汚泥                 | 曝気攪拌2時間 + 攪拌5時間                        |
| 3-5 | 混合液 + E1 (1μg/L)<br>混合液 + E2 (1μg/L)                             | 返送汚泥<br>(標準法)                | 曝気攪拌8時間 + 攪拌5時間20分                     |
| 3-6 | 最初沈殿池流出水 + 人工下水                                                  | 返送汚泥<br>(標準法)                | 曝気攪拌2時間 + 攪拌5時間<br>曝気攪拌24時間 + 攪拌5時間    |
| 3-7 | 最初沈殿池流出水 + 人工下水                                                  | 標準法<br>AO法<br>AO法<br>SBR AO法 | 曝気攪拌2時間 + 攪拌5時間<br>(汚泥は返送汚泥)           |

注) 曝気攪拌は好気性条件、ならびに攪拌および沈殿は嫌気性条件であった。

表-4 人工下水の組成

| 物質   | グルコース | ポリペプトン | 酢酸   | NaHCO <sub>3</sub> | (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> |
|------|-------|--------|------|--------------------|-------------------------------------------------|---------------------------------|
| 含有比率 | 15.00 | 7.50   | 5.25 | 11.25              | 5.00                                            | 2.00                            |

トロゲンの挙動を検討する基礎的条件を得るために行ったもので、10Lのステンレス缶を反応器として用い、2時間の好気性条件下での反応を行い、その後各250mLをヘッドスペースが生じないように9本の密閉瓶の中に入れスターラ攪拌で嫌気性条件下での反応を10時間行った。残りの混合液は続けて曝気攪拌を行い好気性条件下での反応を行った。Run3-2は上記挙動に及ぼすpHの影響を検討するために行ったもので反応器や手順はRun3-1と同様であるが、好気性条件後の9本の密閉瓶は、2時間の嫌気性条件後に、3本はそのまま(pH7.0)、3本は塩酸でpHを6.0、および残りの3本は水酸化ナトリウムでpH8.0にして嫌気性条件下での反応を行った。

Run3-3は、E2の分解代謝物の影響を把握する目的で、E2を5 $\mu$ g/Lと高濃度で添加し、低濃度のE2しか含まない最初沈殿池流出水での挙動と比較したものである。実験手順はRun3-1と同様である。Run3-4はエストロゲンが含まれていない人工下水で培養し、エストロゲン吸着物のない(実際に抽出測定を行い確認した)人工汚泥を用いて、エストロゲンを添加しない系、E2が1 $\mu$ g/L含まれている系、および最初沈殿池流出水の系で挙動を調べた。手順はRun3-1と同様である。Run3-5およびRun3-6は標準活性汚泥法での最終沈殿池で嫌気性状態になったときの挙動を調べたもので、またRun3-6では好気性での時間が長いときの効果も調べたものである。手順等はRun3-1と同様であるが、嫌気性状態では攪拌をせずに沈殿状態においた。Run3-7では、異なる処理法での汚泥の場合の影響を検討する目的で、同じ流入水に対して4つの異なる処理法での返送汚泥を対象に実験を行ったものであり、手順等はRun3-1と同様である。

実験期間中には所定時間毎にサンプリングし、あるいは各瓶の反応を塩酸でpH3にして止めて分析に供し、汚泥相中および水相中のE1およびE2の濃度を追跡した。サンプリング試料は採取後直ちに、塩酸でpH3にして汚泥の不活化を図った。この後速やかに遠心分離(2,500rpmで15分間)で汚泥相と水相に分けた。

以上の実験において、E1およびE2の濃度について、水相および汚泥相を別々に測定した。試験方法は下水試験方法<sup>27)</sup>を一部改良して行った<sup>28)</sup>。概略では、混合液を遠心分離(2,500rpmで15分間)にて水相試水と汚泥相試料に分離し、汚泥試料中のE1およびE2はメタノール・酢酸で超音波分解併用で抽出した。この抽出試水および水相試水は各々Oasis HLB Glassカートリッジを用いて濃縮し、乾固後トリメチルシリル化(誘導体化)し、GC-MSで分析を行った。なお、分析ではサロゲートとしてE2-17acetateを用い、汚泥試料では抽出前に、そして水相試料では濃縮操作前に添加した。添加回収率は、100 $\pm$ 10%の範囲にあった。

また、溶存酸素、pH、ORP、SS、DOC、各態窒素についても測定を行ったが、これらは下水試験方法<sup>29)</sup>および上水試験方法<sup>30)</sup>に準じて行った。

### 3. 実験結果および考察

#### (1) 汚泥への吸着特性

不活化汚泥での吸着特性実験で得られたE1およびE2の各々の汚泥相中濃度( $C_s$  ng/g-MLSS)および水相中濃度( $C_w$  ng/L)を用いて、以下に示されるフロイントリッヒの吸着等温式で表せる<sup>24), 25), 26)</sup>として解析を行った。

$$C_s = K_f \times C_w^{1/n} \quad (1)$$

ここで、 $K_f$ はフロイントリッヒ係数で、 $(1/n)$ は定数である。

E1についての実験結果(Run1-1, 1-3および1-4)の吸着等温式によるプロットを図-1に示す。なお、この試験では、低濃度域での状態を把握するためE1を添加しないで実験対象としたMLSSを5段階に希釈した場合の吸着実験も行っており、その結果もプロットしている。また、他の研究者により提示された吸着等温式の結果<sup>24), 25), 26)</sup>の線も示している。この図より、嫌気性条件と好気性条件では、またT下水処理場とK下水処理場とは吸着特性に有意な差はなく、高い相関係数の吸着等温線が得られることが示されている。また、塩酸でpH3.0に調整した場合(Run1-4)の吸着への影響もないことが示され、生物分解特性での実験でサンプリング後直ちに、塩酸を加えてpH3.0にして、生物学的反応をストップさせることは適切であることも示されている。そして、本研究で得られた等温線はAndersenら<sup>25)</sup>やLesterら<sup>26)</sup>が得たものと同様の範囲にあることも示されている。Renら<sup>24)</sup>の得たデータは汚泥への吸着が高い結果が得られているが、これは汚泥中のE1を直接測定せずに初期設定値から水相中の濃度を引いた値を用いているための誤差も含まれている可能性も考えられる。

E2の添加実験(Run1-2)での吸着等温式によるプロットを図-2に示す。また、他の研究者により提示された吸着等温式の結果の線も示している。この図より、嫌気性条件と好気性条件では吸着特性に有意な差はなく、高い相関係数の吸着等温線が得られることが示されている。また、本研究で得られた等温線はAndersenら<sup>25)</sup>やLesterら<sup>26)</sup>が得たものと同様の

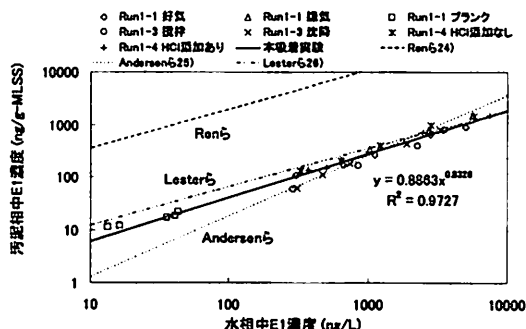


図-1 吸着等温線 (E1)

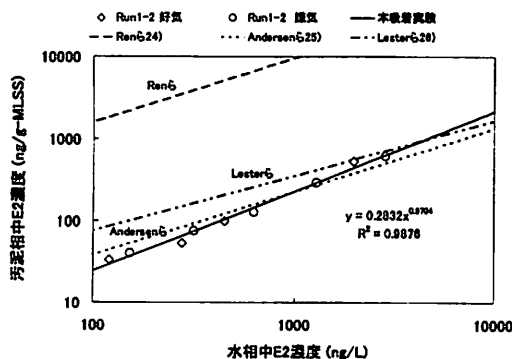


図-2 吸着等温線 (E2)

表-5 E1およびE2の吸着等温線の係数値

|                        | E1     | E2     |
|------------------------|--------|--------|
| 1/n                    | 0.8326 | 0.9704 |
| Kf                     | 0.8863 | 0.2832 |
| 相関係数 (R <sup>2</sup> ) | 0.9727 | 0.9876 |

範囲にあることも示されている。

以上の結果より、式1で示されるE1およびE2の吸着等温線の係数値は各々表-5のように示される。

## (2) 生物分解特性

### (2-1) 吸着特性

生物分解特性を把握する実験においても、時間経過毎にサンプリングを行い、直ちに pH を 3.0 に調整し、汚泥試料と水試料を分離保存し、汚泥相および水相各々の E1 および E2 を測定した。もし生物学的変換速度に比して吸着速度が非常に速ければ、これらの測定データは吸着等温線上にプロットされることとなる。E1 および E2 の添加実験 (表-2, 表-3 参照) におけるすべてのプロットを各々図-3 に示す。またこれらの図には、吸着実験で得られた吸着等温線も合わせて示す。これらの図より、多くのデータは吸着等温線の信頼限界 95% 範囲内に存在しており、生物分解実験において、E1 および E2 濃度の経時変化を測定したデータについて、吸着平衡が成り立っていたものと考えられる。このことから、吸着は生物学的変換速度に比して比較的早く生ずると判断してもよく、また汚泥吸着量はおよそ吸着実験で得られた吸着等温線で表示しようと考えられる。また、この吸着等温線により、流入水中 BOD 濃度を 200mg/L、収率を 0.5 に設定し、生物反応槽を含めた処理プロセスにおいて E1 および E2 が生物分解されないと仮定した場合において、汚泥中濃度と水中濃度が平衡状態にあるとの考えのもと物質収支式を解くことで、余剰汚泥引抜によるエストロゲン性物質自体の除去量が E1 で 8.1%、E2 で 2.8% と試算された。実処理場では E1 および E2 の生物分解が期待されるので、標準汚泥法で余剰汚泥引抜によるエストロゲン性物質自体の除去量は、流入水中のその量の数%程度と考えられる。したがって、除去の大半は生物分解によるものと判断される。

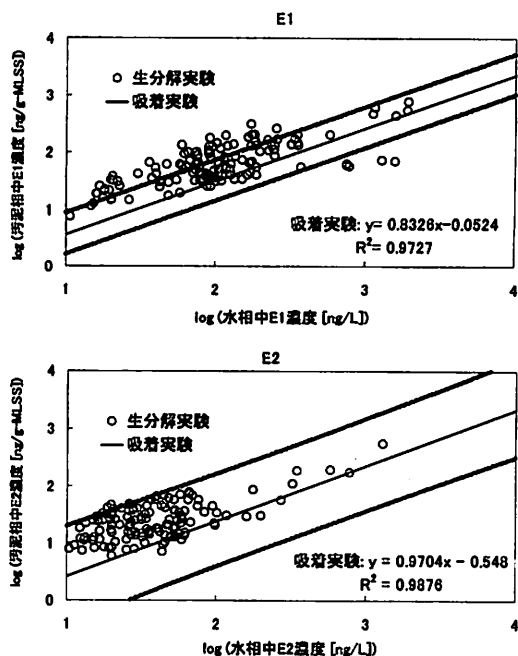


図-3 生物分解実験結果の吸着等温線への適合性 (E1, E2)

### (2-2) 好気性条件下での変換特性

最初沈殿池流出水を GF/B でろ過した試水に E1 あるいは E2 を添加し、曝気した実験 (Run2-1) においては、水温は 23°C で DO は飽和 (8.0mg/L) で ORP は 150~200mV の範囲にあったが、実験期間中の 480 分の間は E1 および E2 の濃度変化は見られなかった。これより、揮散や流入水中の物質との化学変化などはないことが確認された。

好気性条件下での E2 および E1 の分解特性を把握するために、最初沈殿池流出水に E2 を 5μg/L 添加して標準活性汚泥法の汚泥を用いて曝気条件下で行った実験 (Run2-2) での DO, pH, 硝酸性窒素と DOC ならびに E2 と E1 の濃度の変化を図-4 に示す。なお、t=0 の E1 および E2 の値は、E1, E2 を添加する前の下水処理場で採取してきた活性汚泥中に元々含まれていた値であり、以下の実験結果においても同様である。pH は 7.5~8 の範囲にあり、DO は初期には 3mg/L 前後であったものが、240 分頃から上昇し始め 400 分頃から飽和となった。これは当初 20mgC/L あった DOC の分解や 30mgN/L 程度のアンモニア性窒素の硝化が生じたためである。E2 濃度は好気性処理開始 5 分経過時に水相で 752ng/L 検出され、汚泥中では 250ng/L 上昇し、また E1 は 5 分経過後に急激に上昇し水相で 1,880ng/L および汚泥相中で 1,080ng/L が検出された。これは添加 E2 の一部は汚泥に吸着され、また急速に E2 が酸化され E1 が生成されたことを示している。その後は E2 だけでなく E1 も急激に低下しており、好気性処理開始 120 分経過後には、添加した 5,000ng/L の E2 はほとんど全てが E1 に酸化され、さらにそれもほとんど分解された。汚泥による差を

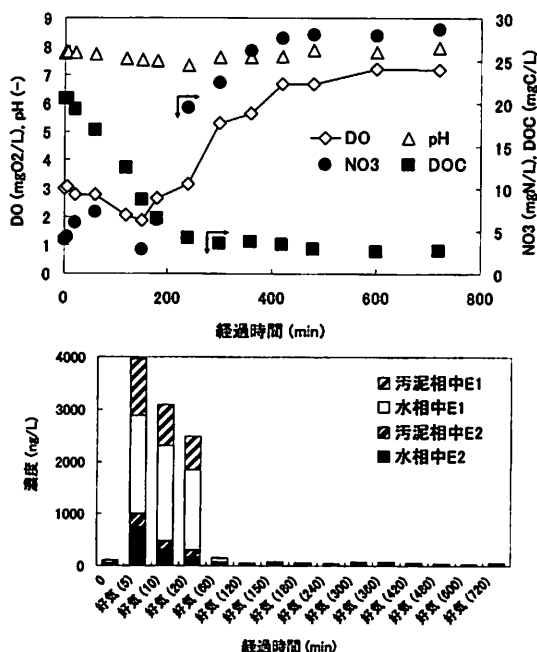


図-4 好気性条件下でのE2およびE1の挙動 (E2添加 Run2-2)

検討するためにAO法汚泥とStep AO法汚泥を用いたE2添加の好気性条件下での実験 (Run2-3) でも同様の結果が示され、汚泥による差は見られなかった。

### (2-3) 好気性-嫌気性 (無酸素) 条件下での変換特性

最初沈殿池流出水にE2を5 $\mu$ g/L添加し、標準活性汚泥法を用いて2時間曝気後に、嫌気条件下10時間と好気条件下10時間との比較検討した実験 (Run3-1) でのDO, ORP, NO<sub>x</sub>とDOCならびにE1とE2の経時変化を図-5に示す。なお、pHは嫌気性条件の系では若干低く6.5前後で好気性条件の系では7.5~8の範囲にあり (図示はしていない)、また好気性条件下では硝化が、嫌気性条件では脱窒が起こっていた。DOは曝気を維持した系では2~7mg/Lの範囲にあり、途中から曝気を止めた系では、直ぐに0mg/LとなりORPも0mV以下となり-300mVまで低下した。添加した5,000ng/LのE2は好気性処理の120分までにほぼ分解され、水相中および汚泥相中のE1およびE2の合計濃度は73ng/Lまで低下した。その後、好気性を維持した系ではほとんど変化がなかったが、曝気を止めDOが枯渇した系では濃度が上昇し、嫌気性 (無酸素) 条件となった30分経過後には、E1およびE2の合計濃度は200ng/Lになった。

Run3-1の実験では、設定した2つの系で1程度のpHの差が生じた。このためpHの影響についてチェックを行った (Run3-2)。その結果を図-6に示す。嫌気性条件として2時間後に、pHを塩酸と水酸化ナトリウムでコントロール系に対して $\pm 1.0$ 変動させた。嫌気性 (無酸素) になるとE1およびE2の合計濃度

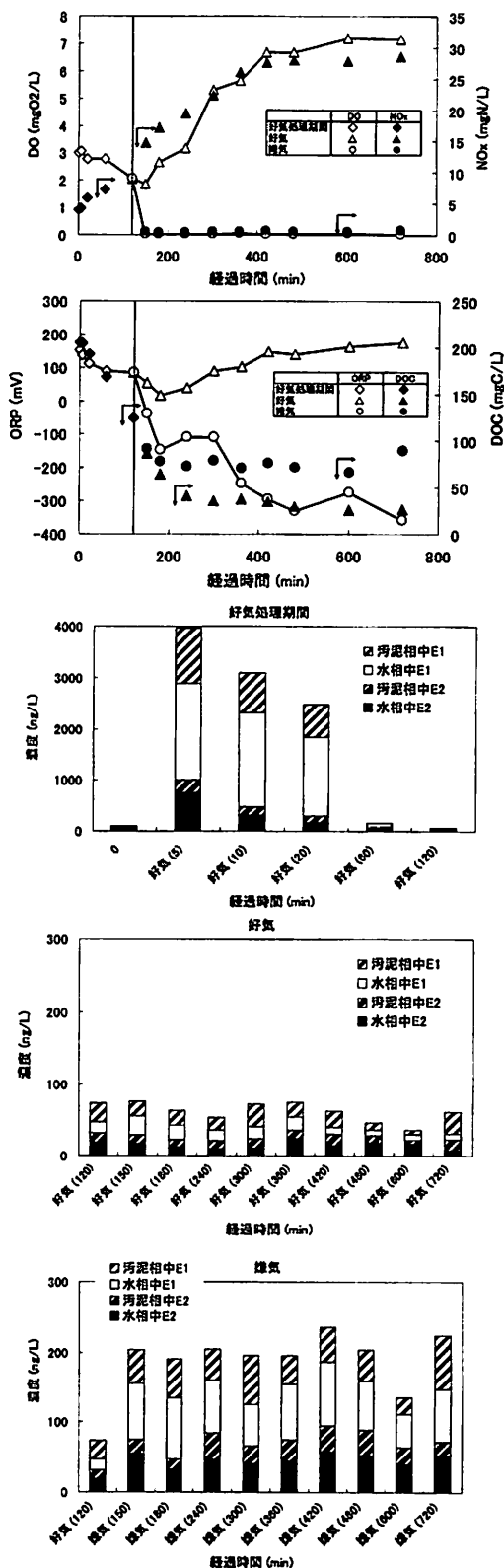


図-5 好気性-嫌気性でのE2およびE1の挙動 (Run3-1)

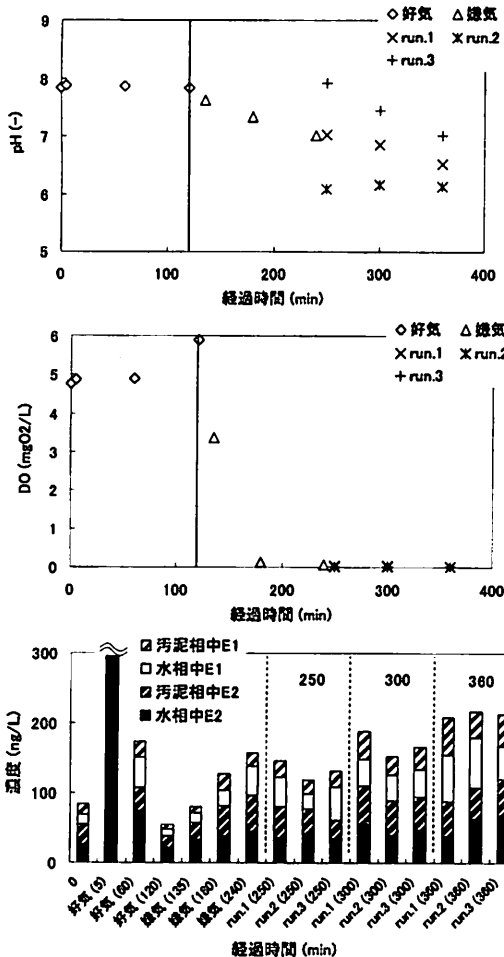


図-6 E2およびE1の挙動に及ぼすpHの影響 (Run-2)

は上昇し、またpHの影響は受けずに360分で200ng/L程度まで上昇した。

嫌気性（無酸素）条件下での上昇は、抱合体・前駆物質の還元（抱合体の脱抱合を含む）によるものか、またはE1の分解産物からの還元による再生産であるのかを検討するために行った実験（Run-3）の結果を図-7に示す。なお、各時間における左の棒はE2を添加しなかった系の結果を、右の棒はE2を5 $\mu$ g/L添加した系での結果をそれぞれ示す。曝気停止後には直ぐに嫌気性（無酸素）となった。そして好気性条件下では硝化が生じ嫌気性（無酸素）条件下では脱窒が生じた（図示はしていない）。嫌気性（無酸素）条件下での水相および汚泥相のE2およびE1の合計濃度の上昇は、E2を高濃度に添加した系でも添加しなかった系でも差がないことが示されている。これは、上昇は分解産物ではなく主に、汚泥中に蓄積している抱合体・前駆物質の還元によるものであることを示している。

上記の結論を確認し、また抱合体・前駆物質の由来を確かめる必要がある。そこで、天然エストロゲ

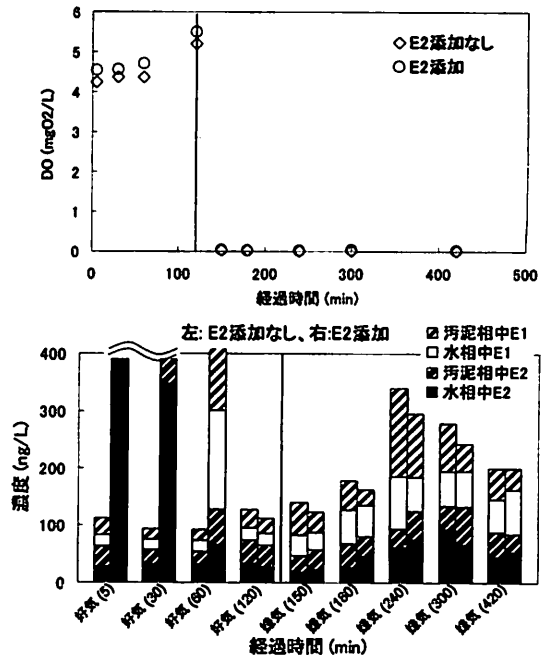


図-7 E2およびE1の挙動に及ぼすE2添加の影響 (Run-3)

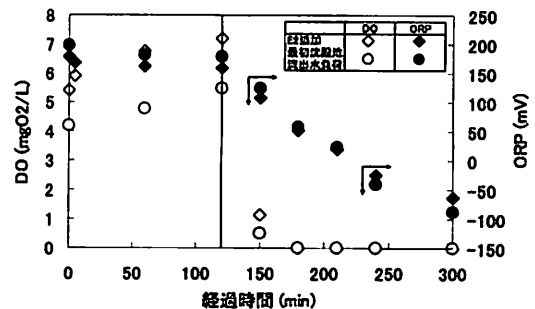


図-8 人工培養汚泥でのE2およびE1の挙動 (Run-4)

ンをまったく含まない人工下水で培養した汚泥を用い、①人工下水、②人工下水にE2を1 $\mu$ g/L添加した試水、③最初沈殿池流出水と人工下水を混合した試水を対象とした実験（Run-3-4）を行った。その結果を図-8に示す。図には①人工下水の系での結果は示しておらず、各時間における左の棒は②人工下水に

E2を1 $\mu$ g/L添加した試水での結果を、右の棒は③最初沈殿池流出水と人工下水を混合した試水での結果をそれぞれ示す。人工下水の系では実験を通じて全く天然エストロゲンは検出されなかった。人工下水にE2を添加した試水の系では、実験開始後5分経過後から好気性条件および嫌気性（無酸素）条件を通じて、天然エストロゲン濃度は添加濃度の1,000ng/Lであった。しかし、好気性条件ではE2のE1への酸化は進み、また嫌気性条件でのE1からE2への還元は生じていた。また、最初沈殿池流出水と人工下水の混合水の系でも天然エストロゲンの濃度は200ng/Lで変化しなかった。これらの結果から、人工汚泥はE1の代謝能力を有せず、またこのためE1の酸化分解産物の汚泥への蓄積はされず、そして汚泥に吸着された抱合体・前駆物質は存在しなかったものと考えられる。そして流入水中に含まれる前駆物質のE2への変換も無視しうる、あるいは人工汚泥は前駆物質分解能力を有していなかったとも考えられる。

嫌気性条件下でE2およびE1が上昇することが示されたが、実際の最終沈殿池で溶存酸素が枯渇するようになるかを模擬的な条件（8時間曝気＋沈殿5時間20分）の実験（Run3-5）を行った。その結果を図-9に示す。曝気・攪拌を止めて溶存酸素が枯渇するとE2およびE1濃度が急激に上昇することが示されている。最終沈殿池での汚泥管理を適切に行い、溶存酸素の枯渇が生じないような運転が重要であることが示されている。

好気性条件を長く取ると、その後の嫌気性条件下での天然エストロゲンの上昇は抑えられるか（抱合体・前駆物質の分解を進められるか）を検討するた

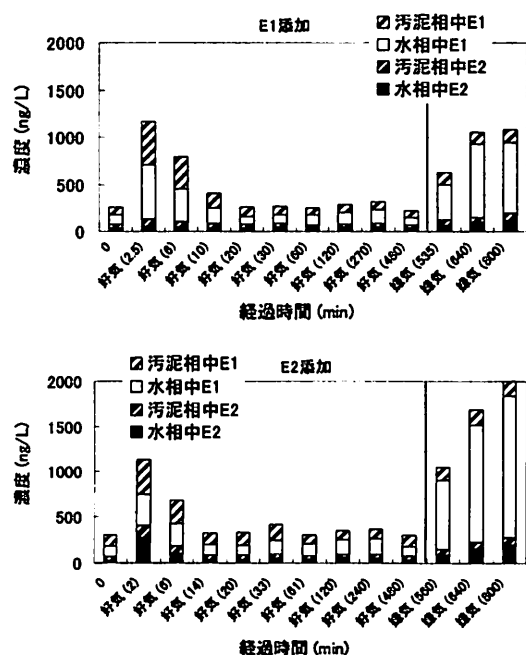


図-9 最終沈殿池での挙動 (Run3-5)

めに、先行好気条件の時間を2時間の系と24時間の系との比較を行った (Run3-6)。その結果を図-10に示す。どちらの系においても嫌気性条件になると天然エストロゲン濃度は上昇したが、長時間（24時間）好気性条件を保つことにより2時間の系に比べて上昇は5割程度減じ、ある程度は効果があることが示された。しかし、最終沈殿池での溶存酸素の枯渇は避けることが必要である。

嫌気性条件下での天然エストロゲンの上昇は、生物学的処理法の異なる汚泥でどうなるかを検討するために標準活性汚泥法、A2O法、AO法およびStep AO法の汚泥を用いて比較実験を行った。例としてA2O法およびStep AO法の結果を図-11に示す。なお、各時間における左の棒はA2O法の結果を、右の棒はStep AO法での結果をそれぞれ示す。嫌気性条件下での天然エストロゲンの上昇は、大小の差はあれ、汚泥の種にかかわらず同様に生じていることが示されている。

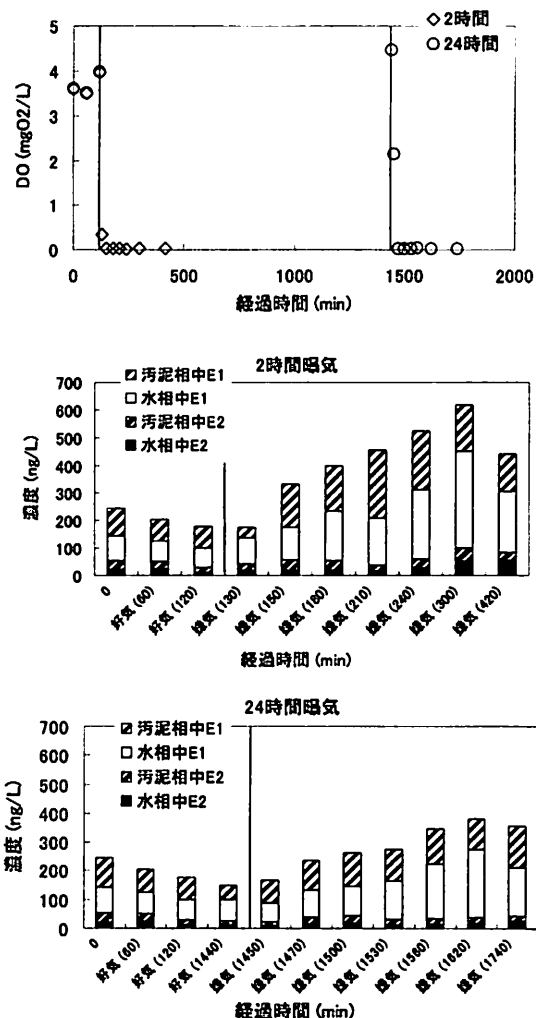


図-10 最終沈殿池での挙動に及ぼす長時間曝気の影響 (Run3-6)

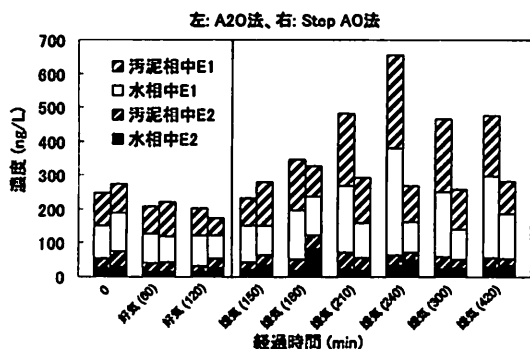


図-11 E2およびE1の挙動に及ぼす汚泥種の影響 (Run3-7)

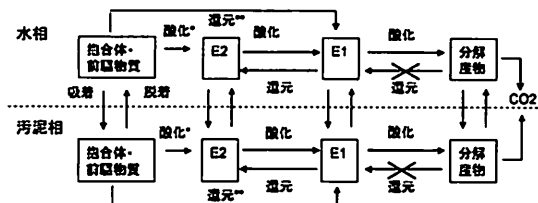


図-12 E2およびE1の除去機構。\*:好気条件におけるその他の反応も含む。\*\*:嫌気・無酸素条件におけるその他の反応も含む

E1およびE2の下水処理場での除去機構について、本研究で行った、不活化汚泥での吸着特性実験、生物分解特性実験および好気性・嫌気性（無酸素）条件から得られた知見を図-12にまとめて示す。なお、図-12における水相での反応は汚泥との接触によるものである。

#### (2-4) 速度論的考察

実験結果より、吸着は生物学的変換速度に比して速く生ずると判断でき、汚泥相と水相の合計のE1およびE2の濃度変化は生物学的変換速度によって律せられると考えられる。好気性条件下でそれらの分解速度は、各々の濃度に関して一次反応で表されたとすると以下の式となる。

$$\frac{dE2}{dt} = -k_2 \times MLSS \times E2 \quad (2)$$

$$\frac{dE1}{dt} = k_2 \times MLSS \times E2 - k_1 \times MLSS \times E1 \quad (3)$$

ここで、E2およびE1は、それぞれの水相および汚泥相の合計濃度、 $t$ は時間、ならびに $k_2$ および $k_1$ はそれぞれ好気性条件下でのE2およびE1の分解速度定数である。なお、本研究でのE1およびE2の濃度の増減は、生物分解に左右されるものであるので、本反応速度がMLSS濃度に正比例すると考えるのは、妥当なものであると考えられる。

式2に基づき、 $k_2$ を求める片対数プロットを図-13に示す（この図では初期に対し0.1の濃度になるまでのデータを使用）。なお、E2を添加した実験系

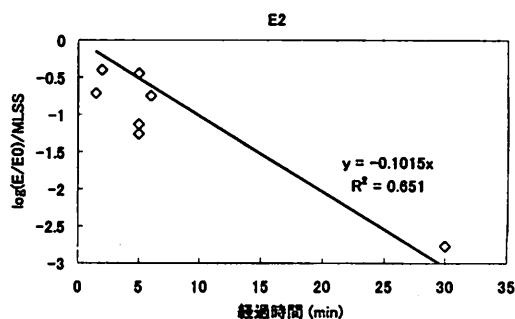


図-13 E2の分解速度

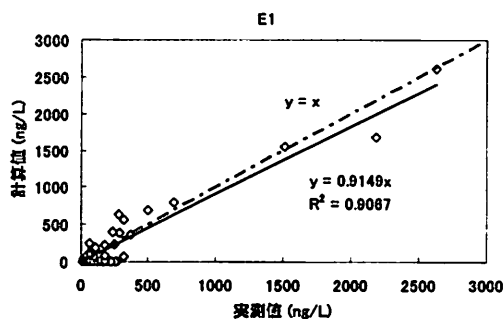


図-14 E1における実測値と計算値の相関

においては、E2添加後の最初のサンプリングにおける濃度を初期値とした。そして $k_2=0.1015$  (L/g-MLSS/min) が得られた。また、この値を用いて、式3よりパラメータフィッティングにより $k_1=0.0430$  (L/g-MLSS/min) の値が得られた。図-14にパラメータフィッティングの結果を示す。回帰式の係数が0.91であることから、高々1割程度の誤差であり、低濃度域におけるばらつきも含め、妥当なものと判断される。

嫌気性条件下では、どの実験においても天然エストロゲンの濃度上昇が見られた。また、嫌気・無酸素条件下においても、E1およびE2の生成と同時にE1およびE2の分解も生じていると考えられるが、図-7よりE1およびE2の分解速度は、E1およびE2の生成速度に比べ小さいと判断した。そこで、嫌気条件において、天然エストロゲンに還元されたと考えられる抱合体・前駆物質を潜在的抱合体・前駆物質と定義し、その最大値を潜在的抱合体・前駆物質量と考え上昇スピードはその汚泥相中濃度 ( $Ex$ ) に関して一次反応で示されたと考え、以下の式で表した。

$$\frac{dEx}{dt} = k_x \times MLSS \times Ex \quad (4)$$

$$E2 + E1 = Ex_{max} - Ex$$

ここで、 $Ex_{max}$ は汚泥相中の潜在的抱合体・前駆物質濃度で、 $k_x$ は増加速度定数である。なお、 $Ex_{max}$ の値については、嫌気条件下の実験期間におけるE1およびE2の合計濃度の最大値から、好気条件処理

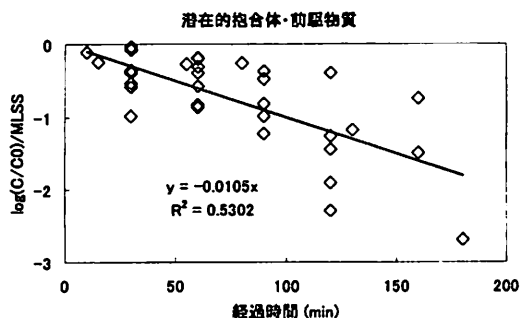


図-15 潜在的抱合体・前駆物質の分解速度

終了時のE1およびE2の合計濃度を差し引いた値と定義する。

式4に基づき、 $k_x$ を求める片対数プロットを図-15に示す。そして $k_x=0.0105$  (L/g-MLSS/min) が得られた。  $R^2=0.5302$  と高い相関が得られたが、今後のさらなる議論が必要であると考えられる。

#### 4. まとめ

回分式実験により、活性汚泥法からの天然エストロゲン性物質の除去特性について、吸着および生物作用に注目して実験的考察を試みた。得られた主な結果は以下のとおりである。

- (1) 不活化汚泥での吸着特性実験より、フロイントリッヒの吸着等温式で表せることを明らかとし、その係数値をE2およびE1について提示した。
- (2) この吸着特性は、汚泥を塩酸でpH3.0に調整した場合でも影響を受けず、生物分解特性での実験でサンプリング後直ちに、塩酸を加えてpH3.0にして、生物学的反応をストップさせることは適切であることも示された。
- (3) 生物分解特性を把握する実験においても、吸着は生物学的変換よりも速く、E2およびE1の汚泥相中量と水相中濃度との関係は、上記の吸着等温線に従うことが示された。これにより標準活汚泥法で余剰汚泥引抜によるエストロゲン性物質の除去量は、流入水中のその量の数%程度と試算された。
- (4) E2およびE1とも揮散や流入水中の物質との反応は無いことが明らかにされ、好気性条件下では、E2はE1に酸化されさらにE1も酸化され、速やかに減少することが示された。
- (5) 好気性の後に嫌気性（無酸素）条件にすると、E1濃度が上昇し、またE2濃度も上昇することが示された。好気性条件を長く取ると、その後の嫌気性条件下でのそれらの上昇は減じるが、それでも最終沈殿池での溶存酸素の枯渇は避けることが必要であることが示された。
- (6) エストロゲン性物質を含まない人工下水で培養した人工汚泥では、好気性条件ではE2のE1への酸化は進み、また嫌気性条件でのE1からE2への

還元は生じた。しかし、E2とE1の合計濃度は変化せず、E1代謝能力は無いものと判断され、酸分解産物の汚泥への蓄積はされず、そして汚泥に吸着された抱合体・前駆物質は存在しなかったものと考えられた。

- (7) E1およびE2の好気性条件下での分解速度は、各々の濃度に関して一次反応で表されるとして、E2およびE1の分解速度定数値として、 $k_2=0.1015$  および $k_1=0.0430$  (L/g-MLSS/min) を得た。
- (8) また嫌気性条件では、潜在的抱合体・前駆物質の汚泥相中濃度に関して一次反応で示されると仮定し、E2とE1の合計の増加速度定数値として、 $k_x=0.0105$  (L/g-MLSS/min) を得た。

#### 参考文献

- 1) Jobling S., Nolan M., Tyler C.T., Brighty G., Sumpter J.P.: Widespread Sexual Disruption in Wild Fish, Environmental Science and Technology, Vol. 32 (17), pp.2498-2506, 1998.
- 2) Tanaka H., Higashitani T., Miyamoto N., Tamamoto H., Komori K., Tsujihara K., Onishi Y.: Estrogenic activity of river water and feminization of wild carp in Japan, Proceedings of WEFTEC, CD-ROM, 2003.
- 3) 平成14年度国土交通省一斉調査:  
<http://www.milt.go.jp/kisha/kisha03/05/051024>
- 4) Tanaka H., Yakou Y., Takahashi A., Komori K., Okayasu Y.: Evaluation of environmental estrogens in Japanese rivers, Proceedings of WEFTEC, CD-ROM, 2001.
- 5) Furuichi T., Kannan K., Giesy J.P., Masunaga S.: Contribution of known endocrine disrupting substances to the estrogenic activity in Tama River water samples from Japan using instrumental analysis and in vitro reporter gene assay, Water Research, Vol.38, pp.4491-4501, 2004.
- 6) 鈴木穰, 小森行也, 宮島深, 東谷忠, 中田典秀, 八十島誠: 都市排水中に含まれるエストロゲン様物質が魚類に及ぼす影響と指標化に関する研究, 下水道関係調査研究年次報告書集, 平成16年度.
- 7) 北本靖子, 武田万里子, 宮田雅典: エストロゲンとその抱合体の水源における存在状況及び高度浄水処理における挙動, 水道協会雑誌, 第77巻, 第12号, 2008.
- 8) 国土交通省都市地域整備局下水道部: 平成12年度下水道における内分泌攪乱化学物質（環境ホルモン）に関する調査報告書, 2001.
- 9) Andersen H., Siegrist H., Sorensen B.H., Ternes T.: Fate of Estrogen in a Municipal Sewage Wastewater Treatment Plant, Environmental Science and Technology, Vol.37 (18), pp.4021-4026, 2003.
- 10) Komori K., Okayasu Y., Miyajima K., Higashitani T., Nakada N., Suzuki Y.: Fate of estrogens in sewage treatment process and effect of treated sewage on fish, 国総研資料, 第360号, pp.381-387, 2007.
- 11) Baronti C., Curini R., D'Ascenzo, G. Corcia A.D., Gentili A., Samperi R.: Monitoring Natural and Synthetic Estrogens at Activated Sludge Sewage Treatment Plants and in a Receiving Water, Environmental Science and Technology,

- Vol.34 (24), pp.5059-5066, 2000.
- 12) Carballa M., Omil F., Lema J.M., Llompart M., Garcia-Jares C., Rodriguez I., Gomez M., Ternes T.: Behavior of pharmaceuticals, cosmetics and hormones in a sewage treatment plant, *Water Research*, Vol.38, pp.2918-2926, 2005.
  - 13) Matsui S., Takigami H., Matsuda T., Taniguchi N., Adachi J., Kawami H., Shimizu Y.: Estrogen and estrogenmimics contamination in water and the role of sewage treatment, *Water Science and Technology*, Vol.42 (12), pp.173-179, 2000.
  - 14) Lee H.B., Liu D.: Degradation of 17 $\beta$ -estradiol and its metabolites by sewage bacteria, *Water, Air and Solid Pollution*, Vol.134, pp.353-368, 2002.
  - 15) 斎野秀幸, 山縣弘樹, 中島英一郎, 重村浩之, 鈴木穰: SRT制御による下水中内分泌攪乱物質の除去, *水環境学会誌*, Vol.27 (1), pp.61-67, 2004.
  - 16) Johnson A.C., Aerni H.R., Gerritsen A., Gibert M., Giger W., Hylland K., Jurgens M., Nakari T., Pichering A., Suter M.J.F., Svenson A., Wettstein F.E.: Comparing steroid estrogen and nonylphenol content across a range of European sewage plants with different treatment and management practices, *Water Research*, Vol.39, pp.47-58, 2005.
  - 17) 橋本敏一, 恩田健介, 中村由美子, 多田敬太郎, 宮晶子, 三品文雄: 下水処理場における内分泌攪乱物質の消長と挙動, *水環境学会誌*, Vol.27 (12), pp.797-802, 2004.
  - 18) Servos M.R., Bennie D.T., Burnison B.K., Jurkovic A., McInnis R., Neheli T., Schell A., Sato P., Smyth S.A., Ternes T.A.: Distribution of estrogens, 17 $\beta$ -estradiol and estrone, in Canadian municipal wastewater treatment plants, *Science of the Total Environment*, Vol.336, pp.155-170, 2005.
  - 19) Nakada N., Yasojima M., Okayasu Y., Komori K., Tanaka H., Suzuki Y.: Fate of estrogenic compounds and identification of estrogenicity in a wastewater treatment process, *Proceedings of IWA International conference*, B-2-1, 2005.
  - 20) Nakada N., Okayasu Y., Yasojima M., Miyajima K., Komori K., Suzuki Y., Tanaka H.: Fate of estrogenic compounds and estrogenic activity in wastewater treatment process, *Technology*, pp.298-304, 2005.
  - 21) 鈴木穰, 小森行也, 岡安祐司: 下水道における微量化学物質の評価に関する調査, 平成16年度下水道関係調査年次報告集, pp.65-71.
  - 22) D'Ascenzo G., Corcia A.D., Gentili A., Mancini R., Mastropasqua R., Nazzari M., Samperi R.: Fate of natural estrogen conjugates in municipal sewage transport and treatment facilities, *Science of Total Environment*, Vol.302, pp.199-209, 2003.
  - 23) Ternes T.A., Kreckel P., Mueller J.: Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants. II. Aerobic batch experiments with activated sludge, *Science of the Total Environment*, Vol.228 (1), p.89, 1999.
  - 24) Ren Y.X., Nakano K., Nomura M., Chiba N., Nishimura O.: A thermodynamic analysis on adsorption of estrogens in activated sludge process, *Water Research*, Vol.41, pp.2341-2348, 2007.
  - 25) Andersen H., Hansen M., Kjolholt J., Stuer-Lauridsen F., Ternes T., Halling-Sorensen B.: Assessment of the importance of sorption for steroid estrogens removal during activated sludge treatment, *Chemosphere*, Vol. 61, pp.139-146, 2005.
  - 26) Lai K.M., Johnson K.L., Scrimshaw M.D., Lester J. N.: Binding of waterborne steroid estrogens to solid phases in river and estuarine systems, *Environmental Science and Technology*, Vol.34, pp.3890-3894, 2000.
  - 27) 下水道協会: 下水試験方法 (追補暫定版) - 内分泌攪乱化学物質及びクリプトスポリジウム編, pp.285-299, 2002.
  - 28) 坂本昌則: 嫌気/好気条件での活性汚泥によるエストロゲン物質の除去機構, 京都大学工学研究科修士論文, 2008.
  - 29) 下水道協会: 下水試験方法, 1997.
  - 30) 日本水道協会: 上水試験方法・解説, 2001.

(2010.5.21受付)

## Removal characteristics of natural estrogens in biological treatment process

Yugo TAKABE<sup>1</sup>, Hiroshi TSUNO<sup>1</sup>, Fumitake NISHIMURA<sup>1</sup>,  
Masanori SAKAMOTO<sup>1</sup>, Yuichi TERASOMA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Environmental Engineering, Kyoto University

Focusing on the adsorption on the sludge and biodegradation, removal characteristics of E1 and E2 from the activated sludge process were discussed based on results of batch experiments. Adsorption experiments showed that the adsorption of E1 and E2 could be expressed by the Freundlich adsorption isotherm. In addition, it was suggested that the adsorption isotherm could be applied to experiments for comprehension of biodegradation characteristics. It was found that E2 was oxidized to E1 under aerobic condition, and E1 was also oxidized. Consequently, the concentrations of E1 and E2 sharply decreased. However, it was cleared that the concentrations of E1 and E2 increased after the conditions were changed from aerobic to anaerobic. Decomposition rate constants of E1 ( $k_1$ ) and E2 ( $k_2$ ) under aerobic condition

and a increase rate constant of sum of E1 and E2 ( $k_x$ ) under anaerobic condition were obtained as following:  $k_1=0.0430$  (L/g-MLSS/min),  $k_2=0.1015$  (L/g-MLSS/min) and  $k_x=0.0105$  (L/g-MLSS/min), basing on the assumption that each reaction rate would be expressed as the first-order reaction of E1 and E2 and potential conjugates and precursors in the sludge.