

家畜糞尿からのエストロゲン排出実態に関する研究

山口大学工学部 （正）○樋口隆哉，（正）浮田正夫
（正）関根雅彦，（正）今井 剛

1. はじめに

都市の下水処理場排水からヒト由来の女性ホルモンが検出され、周辺環境への影響が懸念されているが、農場から排出される家畜の糞尿に含まれる女性ホルモンなどが周囲へ流出し、野生生物に有害な影響を及ぼす可能性も考えられている。そこで本研究では、家畜糞尿に含まれる 17β-エストラジオール（以下、E2）およびエストロン（E1）、E2、エストリオール（E3）の総体であるエストロゲン（以下、ES）を定量し、家畜排泄物によるエストロゲンの排出実態を把握した。また、リグニンペルオキシダーゼなどの強力な活性を有する酵素を生産する白色腐朽菌は、ダイオキシン類などを分解できることが報告されていることから、エストロゲン分解におけるリグニン分解酵素の有効性に関する基礎的検討も行った。

2. 家畜糞尿中の E2 および ES の定量分析

2-1 試料

家畜糞およびそれらを原料にした堆肥を 5 箇所 12 種類、家畜排水を 7 箇所 14 種類採取した。試料の採取場所および内容は表－1 に示す通りである。

2-2 分析方法

試料を前処理した後、E2 および ES 濃度を ELISA 法にて測定した。

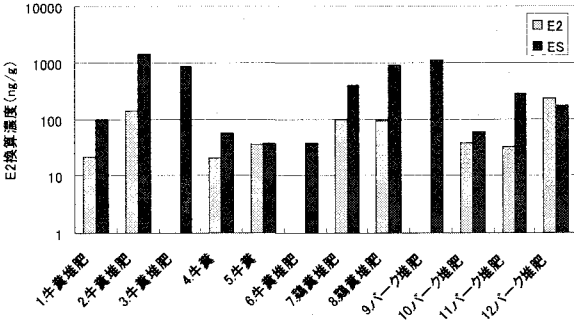
2-3 結果および考察

家畜糞および堆肥の分析結果を図－1 に示す。糞と堆肥を比較すると、糞そのものよりも堆肥中の E2 および ES 濃度が高くなっている場合がある。これは、E2 および ES が家畜体内で代謝・抱合化され、活性を失ってから排出されたためであると推測される。すなわち、抱合体は脱抱合されて再び活性を取り戻すと考えられ、堆肥中ではそれらが分解されていないために高濃度で検出されたのではないかと推測される。我が国における家畜排泄物は年間約 9 千万トン発生しており、その多くが堆肥として利用されていることから、活性を取り戻した E2 および ES が環境中に流出している可能性も考えられる。

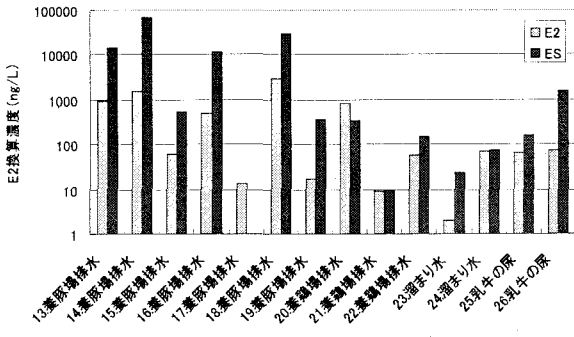
次に、家畜排水の分析結果を図－2 に示す。処理前の濃度は E2 が 9～2900ng/L、ES が 10～70000ng/L であり、処理後の濃度は E2 が 13～62ng/L、ES が 150～540ng/L であった。また、処理水における E2 の除去率は 93～99%（養豚場のみ）と非常に高かった。しかし、従来報告されている下水中の濃度と比較しても家畜排水中の E2 および

表－1 試料の採取場所および内容

種類	採取場所	試料名	内容
糞・堆肥	A牧場	1.牛糞堆肥	肉牛、2～3日経過
	B牧場	2.牛糞堆肥	乳牛、1～2日経過
		3.牛糞堆肥	乳牛、3ヶ月経過
		4.牛糞	乳牛（育成牛）の糞
	C牧場	5.牛糞	乳牛（経産牛）の糞
		6.牛糞堆肥	乳牛、1ヶ月経過
	D養鶏場	7.鶏糞堆肥	産卵鶏の比較的新しい糞
		8.鶏糞堆肥	産卵鶏、堆肥の完成品
	E堆肥製造工場	9.バーク堆肥	鶏糞10%、食品廃液2.5%含有（1ヶ月経過）
		10.バーク堆肥	鶏糞10%、食品廃液2.5%含有（9ヶ月経過）
		11.バーク堆肥	鶏糞10%、食品廃液2.5%含有（11ヶ月経過）
		12.バーク堆肥	鶏糞10%、食品廃液2.5%含有（13ヶ月経過）
排水	F養豚場	13.養豚場排水	子豚（糞尿混合）処理前
		14.養豚場排水	母豚（尿中心）処理前
		15.養豚場排水	処理後（曝気＋沈殿）
	G養豚場	16.養豚場排水	原水（尿）
		17.養豚場排水	処理水
	H養豚場	18.養豚場排水	原水（尿）、子豚と母豚の尿を混合
		19.養豚場排水	処理水
	I養鶏場	20.養鶏場排水	血液性原水
		21.養鶏場排水	チラー系原水
		22.養鶏場排水	処理水
	A牧場	23.溜まり水	牛舎近くの水溜り
	B牧場	24.溜まり水	雨水や堆肥倉からの排水
	J牧場	25.乳牛の尿	妊娠していない乳牛の尿
		26.乳牛の尿	妊娠中の乳牛の尿



図－1 家畜糞および堆肥の分析結果（値のない所は欠測）



図－2 家畜排水の分析結果（値のない所は欠測）

ES 濃度レベルは高く、処理後であってもなお高い濃度を示していることから、液肥などとして利用された処理水の一部が河川へ流出したり地下水へ浸透したりしている可能性も考えられる。

3. エストロゲン分解における酵素の有効性

3-1 実験方法

実験①：酵素液と E2 標準液との反応実験

本実験では、酵素活性の高い酵素液と E2 標準液を混合させ、E2 の分解に対する酵素の有効性を検討した。酵素液は白色腐朽菌の一種である *Pycnoporus coccineus* を培養したものを用いた。実験では、100ng/L の E2 標準液に酵素活性が 20U/L となるように酵素液を添加し、35℃の恒温振とう水槽に設置して 0、12 および 24 時間後にサンプリングを行い、E2 および ES 濃度を ELISA 法で測定した。

実験②：酵素液と乳牛の尿との反応実験

本実験では、酵素活性の高い酵素液と乳牛の尿を混合させ、家畜尿中の E2 および ES の分解に対する酵素の有効性を検討した。酵素液は実験①と同様のものを使用した。実験では、10 倍希釈した尿に酵素活性が 20 および 60U/L となるように酵素液を添加し、35℃の恒温振とう水槽に設置して 0、12 および 24 時間後にサンプリングを行い、E2 および ES 濃度を ELISA 法で測定した。

3-2 結果および考察

実験①における E2 および ES 濃度の経時変化をそれぞれ図-3 および図-4 に示す。これらの結果を見ると、酵素を添加していない場合はほとんど濃度変化が認められないのに対して、酵素を添加した試料では E2、ES とともに次第に濃度が低下している。したがって、酵素の添加によって E2 が分解されていると考えられる。次に、実験②における E2 および ES 濃度の経時変化をそれぞれ図-5 および図-6 に示す。結果を見ると、E2、ES とともにほとんど濃度の低下は認められず、むしろ増加するケースが多く観察された。この原因として、尿中の E2 および ES が乳牛体内で代謝・抱合化され、活性を失ってから排出された点が考えられる。そして、実験過程において抱合体が脱抱合され、再び活性を取り戻したのではないかと推測される。

4. まとめ

家畜排泄物に含まれる E2 および ES 濃度は非常に高いことが分かった。また、排泄物は処理されても依然として高濃度であり、環境中へ流出して悪影響を与えていることが懸念される。また、エストロゲン分解において酵素は有効であると考えられたが、家畜排泄物に含まれる E2 および ES に酵素が有効であると断言するには至らず、今後さらなる調査等が必要であることが示された。

謝辞

本研究の遂行に際して協力頂いた平成 16 年度山口大学卒業生の甲斐聡子氏に深く感謝いたします。

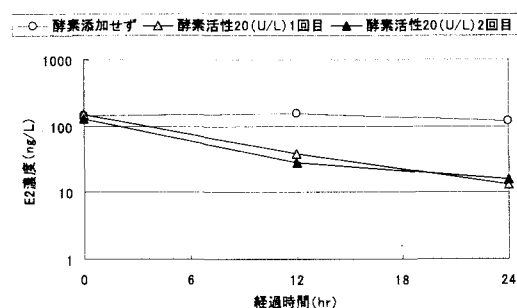


図-3 実験①における E2 濃度の経時変化

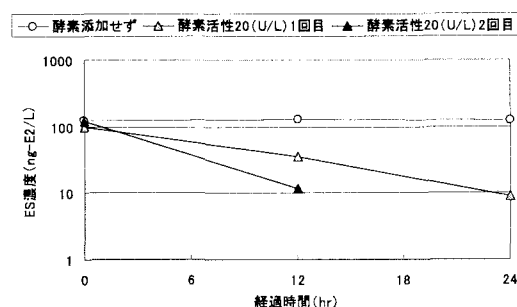


図-4 実験①における ES 濃度の経時変化

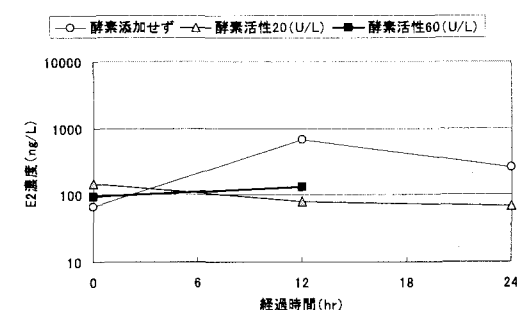


図-5 実験②における E2 濃度の経時変化

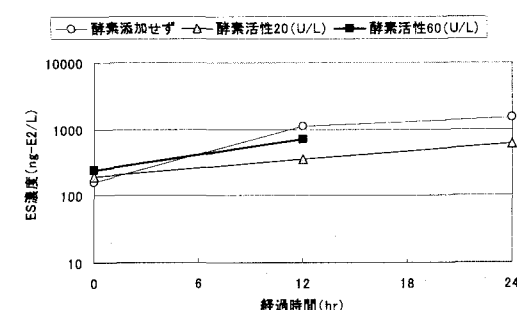


図-6 実験②における ES 濃度の経時変化