

# 環境ホルモンの無害化と暴露量削減に関する研究開発

榎原 豊 (早稲田大学)、関根正人 (早稲田大学)、常田 聡 (早稲田大学)、角野立夫 (日立プラント建設)  
江森弘祥 (日立プラント建設)、森田明雄 (静岡大学)、高蔵 晃 (カワバ 伊)

## 1. はじめに

本研究は公共用水域における環境ホルモン暴露量を現状より大きく削減することを目的とし、新しい対策技術の開発と輸送・暴露過程の解明に関する研究開発 (以下の(1)~(3)の研究開発) を平成 15、16 年度に実施した。なお、平成 15 年度の成果は平成 16 年 10 月に公表している。

- (1) 高機能担体生物処理プロセスの開発
- (2) 省エネルギー型高度物理化学処理プロセスの開発
- (3) 水環境中のホルモン移動と植生の利用に関する研究

上記の(1)および(2)に関して、H15 年度では環境ホルモン類の吸着性、菌体滞留時間、生物活性を向上させた高機能担体生物処理、省エネルギー型の促進酸化処理及び3次元電解処理について検討し、その結果、両プロセスは人工排水中の環境ホルモンを効率よく除去可能であることを明らかにした。

また、水環境中の環境ホルモン輸送過程に深く関わる浮遊土砂の移動過程を現す数値モデルを構築すると共に、植生による環境ホルモンの浄化能力について基礎的検討を行った。その結果、環境ホルモン類は浮遊土砂に吸着して移動するが、浮遊土砂は河川の植生部に堆積し、また、植生には環境ホルモンを無害化・除去する能力があることが示された。

これらの成果に基づき、平成 16 年度は(1)高機能担体生物処理プロセス及び(2)省エネルギー型高度物理化学処理プロセスを組み合わせたパイロット試験プラントを C 市下水浄化センターに設置し、下水中の環境ホルモン及び共存汚濁物質の高度処理試験を行った。

また、河道内における環境ホルモンの貯留メカニズムを検証するために、実河川における現地調査を行い、環境ホルモン蓄積量と植生との関係について検討した。さらに湿地植物を用いた長期連続試験を行い、環境ホルモン浄化能力について検討した。

## 2. 研究内容

### 2.1 高機能担体生物処理及び物理化学処理組合せプロセスによる都市下水処理

#### 1) プロセス構成および実施方法など

C 市下水浄化センターの最初沈殿池越流場所付近に試験プロセスを設置した。供試下水は当下水処理施設の最初沈殿池越流水 (以下原水とする) をポンプアップしたものであり、前処理等は特に行わなかった。

実験装置の概略、装置容積、操作条件等を図 1 に示す。初沈越流水は一旦、原水槽に貯留させた後、高機能担体生物処理槽にチューブポンプを用いて連続供給した。生物処理水は貯留槽に貯留し、所定流量で物理化学的処理装置 (オゾン処理装置・電解処理装置) へ供給した。また、UV 照射とオゾン注入を併用する促進酸化処理(AOP)はオゾン単独と比べて大きな差が見られなかったことより、本試験ではオゾン処理および電解酸化処理について検討を行った。なお、この際、下水処理場の既設処理施設における処理水 (以下、既設処理水とする) も合わせて採取して分析し、本試験の処理水 (生物処理水及び物化処理水) と比較した。

高機能担体生物処理槽は前段の無酸素槽、担体を添加する好気槽及び沈殿槽よりなり、下水中の有機成分、環境ホルモン類に合わせ硝化・脱窒能力を有している。無酸素槽及び好気槽の容積は共に 50ℓで、液滞留時間は 3 時間である。一方、物理化学的処理の電解槽とオゾン酸化槽の容積は 1ℓで、高機能担体生物処理槽から排出される二次処理水をそれぞれの滞留時間 10~60 分、4~20 分となるように連続供給した。女性ホルモンは ELISA キット、他の環境ホルモンは GC/MS を用いて分析測定した。

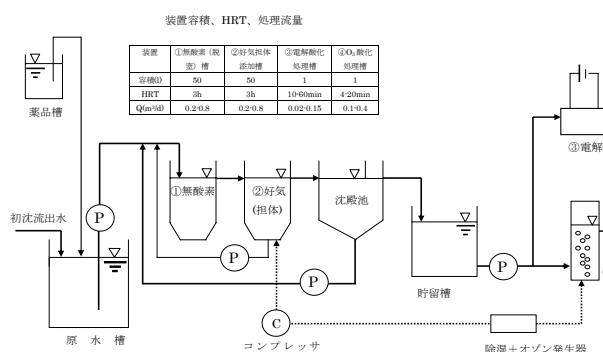


図 1 実験プロセスの構成図、容積、操作条件等

表2 一般水質項目の測定結果

測定項目	原水	既設処理水*		生物処理水	
	値 [mg/L]	値 [mg/L]	減少率 [%]	値 [mg/L]	減少率 [%]
pH	7.0~8.3	6.5~7.8	—	6.8~7.8	—
TOC	30.3	7.6	72.4	6.7	76.5
SS	38.6	1.5	96.3	1.6	96.0
T-BOD	72.0	4.3	93.5	3.4	93.4
S-BOD	36.0	2.3	92.5	2.7	92.4
COD	48.1	8.7	81.9	8.2	82.9
T-N	34.0	8.4	67.6	17.0	51.4
S-T-N	28.0	8.2	63.3	17.0	45.2
NO2+NO3	0.0	5.5	—	13.1	—
アンモニア等化合物**	10.1	8.0	—	14.9	—
T-P	3.0	—	—	—	—
PO4-P	1.2	0.0	100	0.0	100

表1 環境ホルモン濃度の測定値(中央値)

対象物質	測定濃度(中央値) [μg/L]						検出下限値 [μg/L]	定量下限値 [μg/L]
	原水	既設処理水	生物処理水	電解処理水 Pt	電解処理水 SUS	オゾン処理水		
NP	4.75	0.435	tr(0.265)	tr(0.229)	tr(0.186)	tr(0.151)	0.1	0.3
4tP	tr(0.245)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.1	0.3
DP	0.134	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.02	0.06
3PA	0.250	0.039	0.032	tr(0.026)	tr(0.025)	tr(0.023)	0.01	0.03
3ZP	0.975	0.368	0.332	0.418	0.389	0.426	0.01	0.03
E2	0.050	0.016	0.008	0.006	0.011	0.007	0.0002	0.0006

2) 試験結果

(a) 環境ホルモン除去<sup>1)~6)</sup>

本組合せプロセスによる環境ホルモンの浄化性能を把握するために測定結果の中央値を求め、その結果の一例を表1に示した。供試下水中の環境ホルモン濃度をみると、4t オクチルフェノール(4t-OP)およびジクロロフェノール(DP)の中央値は生物処理以降で定量下限値未満になった。

ノニルフェノール(NP), ビスフェノール(BPA), ベンゾフェノン(BZP), 17βエストラジオール(E2)の平均除去率(Run1~3)を求めると、生物/オゾン処理が約82%程度であった。一方、既設処理施設では約75%であった。本研究の試験プロセスの生物処理HRTは既設処理の約半分であり、したがって担体添加生物処理槽は環境ホルモン除去に優れていた。

NP, BPA 除去については、電解処理はわずかではあるが生物処理水を更に浄化できたものの、BZP, E2 に対しては殆ど除去されなかった。これは後で述べるように、処理時間がHRT=10minと短かく、電極表面への移動速度が処理性能を支配しているためである。処理性能を向上させるためには電極の比表面積を大きくするか、あるいはHRTを長く設定する必要がある。一方、オゾン処理では生物処理水に対して、BZPは除去できなかったが、NPは約4割、BPAは約3割、E2は約1割の除去率であった。

図2は国立環境研究所が酵母ツーハイブリッド・アッセイ法により得られた対象物質の相対強度(17βエストラジオールのエストロゲン活性を1とした時の環境ホルモンのエストロゲン活性)を用いて、処理過程のE2理論換算値を示したものである。図より、処理水に含まれるエストロゲン様物質のほとんどは女性ホルモンであり、生物処理/電解処理(Pt/Ti粒状電極)組み合わせプロセスで約90%の除去が可能であった。また、図の条件では生物処理による効果が大きかった。

図3はHRTを1h、Pt/Ti電極を用いて電解処理した場合の生物処理水(電解槽流入水)および電解流出水の総エストロ

ゲン(E1+E2+E3)濃度を示したものである。図より、

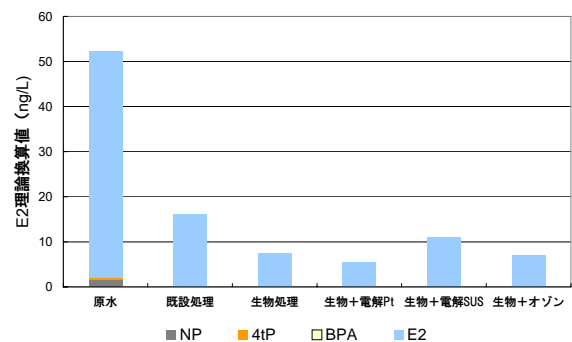


図2 エストロゲン活性(E2理論換算値)の変化

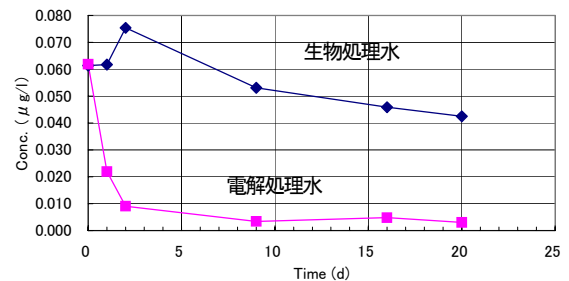


図3 総エストロゲンの電解処理

滞留時間を1時間とすると総エストロゲンは効率良く除去され、生物処理水中に残存する総エストロゲンを電解処理のみで90%以上の除去可能であり、また処理水濃度は数ng/lまで減少した。ここで、処理水中の主成分はE2であり、電解処理ではE1, E3はより速やかに処理されていると推察された。

電力消費量は数Wh/m<sup>3</sup>となり、活性汚泥処理の約1/100であった。魚類等の水生生物に対してエストロゲン換算値濃度が約1ng/l以下では攪乱作用が生じないと考えられることから<sup>8)</sup>、放流先河川の下水混入率が1/10以下の河川では、環境

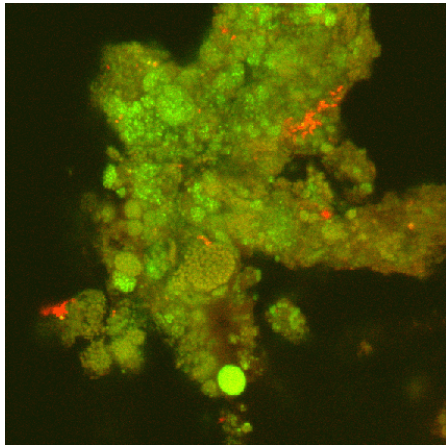


写真1 *Sphingomonas* sp. の検出  
(赤：*Sphingomonas* sp.，緑：全菌)

ホルモンの暴露レベルを十分に削減できると考えられる。しかしながら、今回の研究ではエストロゲン前駆物質の抱合体については測定しておらず、生物処理槽における挙動も含めて検討が今後必要である。

(b) 他の水質項目及び菌叢解析<sup>5),6)</sup>

高機能担体を用いた生物処理の硝化性能については水温の影響を受けずに安定しており、約99%の除去率で1mg/L以下(中央値0.2mg/L)まで処理できた。原水・生物処理水・既設処理水における一般項目の中央値を表2に示す。生物処理のTOC, SS, T-BOD, S-BOD, COD, TN, S-T-Nは既設処理と同様に良好な処理が可能であった。

環境ホルモン分解細菌として知られる菌株が含まれる *Sphingomonas* 属または *Sphingomonas* spp. を検出可能なプローブを用い、その空間分布の解析を試みた。その結果、従来担体においては検出されなかったのに対し、今回の実証プラントの担体においては微生物群の存在が確認された(写真1)。また、硝化細菌および環境ホルモン分解細菌ともに、担体の表層部にクラスターを形成していることが明らかとなった。

担体の表層部では、比較的酸素の獲得に有利であり、硝化および環境ホルモン分解に大きな影響を及ぼしていることが示唆された。これらの結果から、実証プラントにおいては、高機能担体に固定化された微生物群により、環境ホルモンおよびアンモニアの除去が効率よく行われていると推察できる。

## 2.2 水環境中のホルモン移動と植生利用に関する研究

### 1) 環境ホルモンの輸送・蓄積過程に関する現地調査

河道内に環境ホルモン物質が貯留されるメカニズムを以下

のように考え、T河川の現地調査からその妥当性について検討した。

- (a) 河川水中に取り込まれた環境ホルモンは水流中で浮遊するシルトに吸着し、土砂と一体となって輸送される。
- (b) 河道内にはたとえ低水路の中であっても微地形が形成されており、そこには植生が繁茂している。このような植生域では、植生自身による流水抵抗により流速ならびに底面せん断力が低下している。そのため、植生域に運び込まれたシルトは植生の根元付近に堆積し、貯留される。
- (c) 植生の根元付近にひとたび堆積した土砂は、これを再侵食するほどの掃流力が作用しない限りそこに捕捉・貯留される。

図4はT河川の調査対象区間(河口より約30km上流)を示したものである。測定箇所は低水路右岸付近からその背後に広がる砂州地形上であり、地形を構成する微細土砂(主としてシルト)を採取し、主として下水道由来と考えられるノニルフェノール(NP)およびビスフェノールA(BPA)と雨水経由と考えられるベンゾピレン(BaP)を分析した。ここで、BPAに関しては多くの地点で定量下限値未満であった。

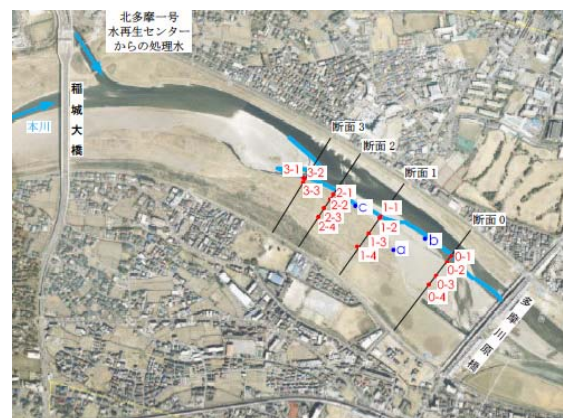


図4 調査対象区間



写真2 環境ホルモンを貯留する水際植生部分の一例

微細土砂の採取地点 2-1 および 3-2 は低水路水際付近で植生群落（写真 2）が形成されており、シルトが顕著に堆積していた。これらの地点では図 5 に示されるように、他に比べて高濃度の NP が蓄積していた。また、植生群落が存在する採取点 1-3、1-4、2-2、2-3、2-4 でも NP の蓄積量は比較的に大きかった。

一方、BaP は主として幹線道路周辺の気中ならびに道路面上に存在し、降雨時に雨水と共に一部は側溝・下水道を経由して河道に流出すると考えられる。BaP の分布も NP と同様に低水路水際付近の植生群落に堆積したシルト層から検出されたが、大気経由と考えられる砂州上の植生群落 根元付近の堆積層からも検出された。

以上より、環境ホルモンの河道内蓄積の調査結果は(a)-(c)の貯留メカニズムを支持するものであり、前年度に構築した土粒子輸送モデルの妥当性を示している。

## 2) 植生を用いた環境ホルモンの浄化<sup>7)</sup>

前年度の研究より、湿地植物であるクレソンとアシは高い BPA 分解活性を持ち、また、BPA 10 mg L<sup>-1</sup> の培地でも生育が阻害されず、強い BPA 耐性を有することが明らかになった。しかしながら、湿地における植物による BPA の浄化を考えると、長期間にわたって BPA に暴露され続ける中で安定した BPA 分解活性と BPA 耐性を有することが不可欠である。また、用いる植物種の選択は、植生利用による BPA 暴露削減対策を考える上で重要である。日本各地の河川や湿地に生息している植物種をみると、その中でアシは広い分布域を持ち、汚濁の著しい水域にも生育可能で幅広い適応性を備えている。本研究では、実際の適用場面を想定した条件下でアシの BPA 浄化能力について検討した。

実験は湛水状態で 0~50 mg BPA L<sup>-1</sup> に調整した処理溶液を 200 mL 加え、処理を開始した。処理開始後は、蒸散量に相当する量の処理溶液（1 週間に 2 回、50 mL ずつ）を与えた。処理 8 週間後、植物体を採取後、脱塩水で洗浄し、根を切り取り、液体窒素で凍結した。凍結したサンプルは、分析時まで -80℃ で冷凍保存した。処理開始時と処理終了時に新鮮重を測定し、処理終了時の値から処理開始時の値を差し引き、処理期間中の生育増加量を求めた。また、1 週間に一度、1 mL ずつ湛水の処理培養液を採取し、分析時まで冷凍保存（-20℃）した。なお、栽培はガラス温室にて行い、処理は 2 連で行った。また、アシを移植せずに湛水砂耕処理を行った処理区（植物なし）を対照として設けた。

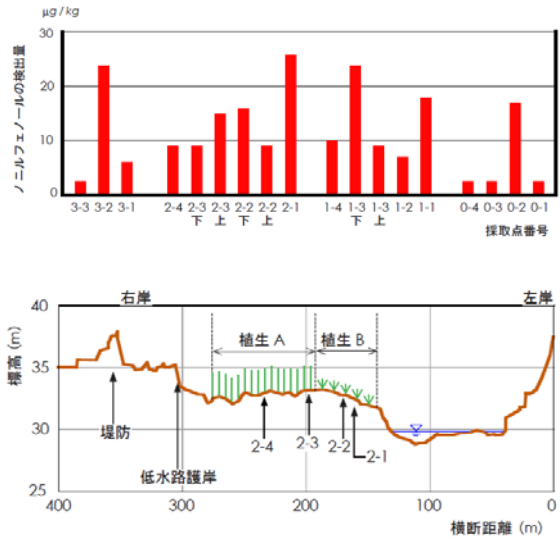


図 5 対象物質の検出量と横断面形状（断面 2）

砂耕湛水条件下で 8 週間処理した場合のアシによる BPA 処理結果を図 6 に示した。ここで、処理期間中、毎週蒸散した水分 (100 mL) を各 BPA 処理溶液 (100 mL) で補充したため、BPA の合計添加量と培地の水分量から求めた BPA 濃度（理論値）は直線的に上昇する。したがって、図中の「植物なし」で BPA の分解が起こらなければ、理論値と同じ値で推移をすることになる。「植物なし」の 10 mg L<sup>-1</sup> 区と 50 mg L<sup>-1</sup> 区では、処理 4 週間目まではほぼ理論値と同じ値で推移した。しかし、「植物なし」1 mg L<sup>-1</sup> 区では、理論値を下回っていた。

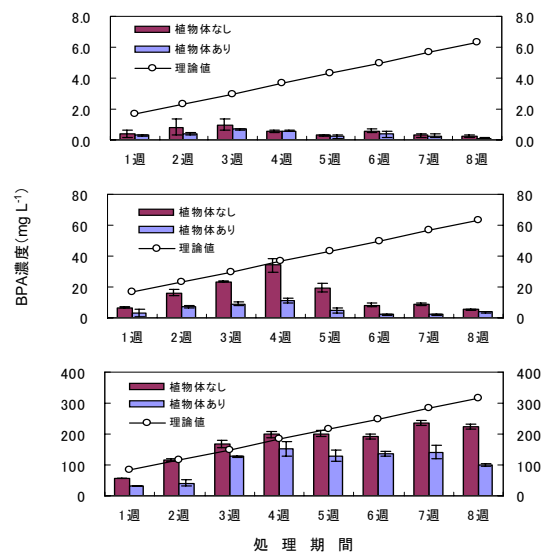


図 6 植生による連続処理試験

これは培養に用いた容器の周囲はアルミホイルで遮光したが、砂耕上面は覆っていなかったため、BPAの光分解が進行したことによるものと思われる。

本実験条件下では、BPAの光分解速度は1週間で0.1 mg BPA程度 (0.5 mg L<sup>-1</sup>/200 mL) と推定された。また、1 mg BPA L<sup>-1</sup>では処理3週間後、10 mg BPA L<sup>-1</sup>では処理5週間後、50 mg BPA L<sup>-1</sup>では処理6週間後から、「植物あり」、「植物なし」にかかわらず、処理培地の濃度は減少した。これらのBPA濃度の低下した時期は、緑藻類の発生時期に一致したことから、緑藻類によるBPA分解が生じたと考えられた。そこで、緑藻類の影響のない処理後3週間について本実験での「植物あり」と「植物なし」の培地BPA濃度の差、つまりアシのBPAの浄化活性をみると、1週間あたり1 mg L<sup>-1</sup>区で約0.2 mg L<sup>-1</sup>、10 mg L<sup>-1</sup>区で約4 mg L<sup>-1</sup>、50 mg L<sup>-1</sup>区で約25 mg L<sup>-1</sup>と、各処理区ともBPAが消失し植生による連続浄化が可能であることがわかった。

ここで、バイオマス当りの正味のBPA除去能は負荷条件及び栽培条件により異なるが、ほぼ0.01~0.1g/kgバイオマス・日の範囲内にあった。また、アシのポリフェノール酸化酵素活性(PO)は処理の経過につれ減少する傾向がみられたが、過酸化酵素活性(PPO)はほぼ一定に維持された。

### 3. おわりに

高機能担体生物処理プロセス及び省エネルギー型高度物理化学処理プロセスを組み合わせたパイロットプラントをC市下水浄化センターに設置し、下水中の環境ホルモン及び共存汚濁物質の高度処理試験を行った。また、河道内の環境ホルモン調査を行うと共に植生の浄化能力測定試験を行なった。その結果、以下の知見が得られた。

C市浄化センター内に設置した試験プラント(処理流量0.4 m<sup>3</sup>/日)に最初沈殿池越流水を供給したところ、流入下水の環境ホルモン濃度(最大値)は全国レベルより低く、処理水中の4tP, DP, NPは検出下限値以下となった。また、本研究の組合せプロセスは既設処理施設より環境ホルモン類の除去性能が優れており、特に前段の高機能担体生物処理プロセスの浄化効果が大きかった。これは担体表層部にクラスター状に生息する環境ホルモン分解菌である*Sphingomonas*属の作用によると考えられた。

また、本組合せプロセスによる曝露削減効果を測定環境ホルモンに基づいて総エストロゲン様作用強度として求めると、

内分泌攪乱性は最終的に女性ホルモン(E2)換算値で数 ng/l程度まで削減できることがわかった。同様な削減効果は蛍光偏光測定装置を用いた簡易エストロゲンレセプター結合試験によっても検証された。なお、本研究の組合せプロセスは有機物除去(BOD, COD等)及び栄養塩類除去に関しても優れた処理性能を示した。

一方、水環境中の環境ホルモンの移動に関して、実河道内(T川礫床区間の低水路河岸)の環境ホルモン貯留に関する現地調査を実施した。その結果、環境ホルモンは低水路水際付近の植生部分に堆積したシルト層に多く存在することが分かった。また、植生による環境ホルモン浄化試験から、水耕栽培のアシは高濃度レベルでも高い分解能を有し、長期間安定した浄化が可能であることがわかった。その浄化能力はBPAに対して0.01~0.1g/kgバイオマス・日であった。

### 【参考文献】

- 1) 榊原、千田：用排水の電解酸化処理に関する基礎的研究、環境工学研究論文集、41、221-227(2004)。
- 2) T. Obayama, Y. Senda, M. Prosnansky, and Y. Sakakibara: A New Electrochemical Systems for the Removal of Trace Endocrine Disrupting Chemicals, Conference Proceedings of Marrakech 2004 World Water Congress (2004)。
- 3) Y. Sakakibara, Y. Senda, T. Obayama, and R. Nagata: Enhanced Treatment of Trace Pollutants by a Novel 3-Dimensional Electrolytic Cell, Proc. of International Conf. on Environmental Science and Technology, New Orleans, LA(2005)。
- 4) R. Nagata, H. Kashimura, M. Prosnansky, and Y. Sakakibara: Continuous Treatment of Endocrine Disrupting Chemicals with a Three-dimensional Electrode System, Proc. of the 2<sup>nd</sup> European Conference on Oxidation and Reduction Technologies for Ex-Situ and In-Situ Treatment of Water, Air and Soil, Gottingen, Germany (2005)。
- 5) 青山ら：包括固定化担体を用いた下水中環境ホルモン除去技術、第12回衛生工学シンポジウム(北海道大学)(2004)。
- 6) S. Tsuneda, J. Auresenia, K. Hibiya, and A. Hirata: Simplified Modeling of Simultaneous Reaction Kinetics of Carbon Oxidation and Nitrification in Biofilm Process, Eng. Life Sci. 4(3), 239-246 (2004)。
- 7) H. Ohara, A. Morita, and H. Yokota: Effects of Bisphenol A on the Growth of Tea Plant, Procs. of 2004 International Conference on O-Cha(tea) Culture and Science, Shizuoka (2004)。
- 8) (社)日本水環境学会関西支部編：アプローチ環境ホルモン-その基礎と水環境における最前線、技報堂(2003)。