

10. 下水汚泥中内分泌かく乱物質の汚泥処理過程 及び土壌環境中での挙動に関する調査

リサイクルチーム 首席研究員 鈴木 穰
主任研究員 落 修一
主任研究員 南山 瑞彦

1. はじめに

近年、人や野生生物の内分泌作用をかく乱し、生殖機能阻害等を引き起こす可能性があると疑われている物質等（以下、内分泌かく乱物質）による環境汚染が各国で報告されている。これらの物質は、社会活動や日常生活にともない環境中に放出されているとされており、我が国においても環境中に広範囲にわたって存在していることが明らかとなってきている。下水道は社会活動や個々の生活を反映すると考えられることからこれらの物質とも無縁ではなく、その監視方法や制御方法の確立が必要となると考えられる。

建設省（現、国土交通省）が 10 年度に行った「水環境における内分泌攪乱化学物質に関する実態調査」¹⁾の結果によると、内分泌かく乱物質が下水処理場へ流入し、それらの濃度が低下した後、放流されている様子が伺われた。また、国土交通省の「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」²⁾でも、内分泌かく乱物質の多くが下水道の水処理系において除去されていることが報告されている。これらの結果は、内分泌かく乱物質が下水道の水処理系において分解除去されている、または汚泥系へ移行している可能性を示唆している。したがって、下水処理場における内分泌かく乱物質の監視方法や制御方法を確立するためには、汚泥処理プロセスを構成する個々の処理工程での内分泌かく乱物質の挙動・消長を明らかにすることが必要である。

そのため、本調査では、下水汚泥試料中の内分泌かく乱物質の分析手法の検討、下水汚泥処理系における内分泌かく乱物質の挙動に関する調査、下水汚泥リサイクル製品の施用先における内分泌かく乱物質の挙動に関する調査を行っており、本年度は、下水汚泥試料中の内分泌かく乱物質の分析手法の検討、下水汚泥リサイクル製品の施用先における内分泌かく乱物質の挙動に関する調査について報告する。

2. 下水汚泥試料中の内分泌かく乱物質の分析手法の検討

汚泥処理系での内分泌かく乱物質の消長を把握する上で、ノニルフェノールエトキシレート（以下、NPEO 類）、ノニルフェノールエトキシカルボン酸（以下、NPEC 類）等を含めたノニルフェノール（以下、NP）類、17 β -エストラジオール（以下、E2）やエストロン（以下、E1）等の分析手法を確立する必要がある。多量の有機物を含む泥状試料を対象とした内分泌かく乱物質の分析方法は確立されておらず、汚泥中の内分泌かく乱物質含有量の把握のため、抽出効率が高く、安定した分析結果を得ることができる分析手法の開発が必要である。14 年度は、NP 類のうち、NPEC 類の分析手法の検討を開始した。

2. 1 下水汚泥試料中のノニルフェノールエトキシカルボン酸類の分析方法に関する検討

2. 1. 1 検討方法

本検討では、10 年度の建設省の実態調査¹⁾において高頻度でその存在が確認された NP の関連物質である NPEC 類を分析対象物質とした。NPEC 類の分析は、水試料を対象とし LC/MS 法を用いる八十島らの方法³⁾に主に基づいて行った。分析フローの概略を図-1 に示す。14 年度は、抽出溶媒にメタノールおよびアセトンを用い、固相抽出のための pH 調整条件を pH 3 および 7 として、NPEC の添加回収試験を行った。

供試汚泥には余剰活性汚泥またはコンポストを1mm篩を通過させた後風乾し0.84mm以下に粉碎したものをを用いた。

2. 1. 2 検討結果

添加回収試験の結果、メタノールを抽出溶媒とした方が抽出物が多く得られる傾向が見られたが、現行の前処理方法では夾雑物が多く、ピークが確認できない場合、また、敢えて濃度を計算した場合も回収率が10,000%を越える場合が頻出した。

水試料中のNPEC類の分析に用いられる前処理方法の応用では汚泥試料中のNPEC類の分析が困難であり、汚泥試料用の前処理方法の開発が必要であることが明らかとなった。

3. 下水汚泥リサイクル製品の施用先における内分泌かく乱物質の挙動に関する調査

下水汚泥の有効利用が進められていく中で、下水汚泥リサイクル製品の施用先における内分泌かく乱物質の消長を明らかにすることが重要であり、そのためには施用先の状況を再現した実験施設による長期間の調査が必要である。本年度は、ライシメータ実験および植物栽培実験を実施した。

3. 1 ライシメータ実験

下水汚泥コンポストの緑地利用や農地利用を想定し、下水汚泥コンポスト中に含まれる可能性のある内分泌かく乱物質の土壤中での消長を把握するためライシメータを用いた実験を行った。

3. 1. 1 実験方法

1) ライシメータへの仕込み

本実験で使用したライシメータを写真-1、ライシメータ内部の概略を図-2に示す。幅1m×奥行1m×高さ1mのステンレス製のライシメータ六台を屋外に設置した。実験では、気象を連続観測するとともに、適宜、土壌と浸出水を採取した。本実験は11年10月に開始し、14年8月までの約2年10ヶ月にわたって実施した。

各ライシメータの設定条件を表-1

表-1 ライシメータ仕込み条件

| | | |
|------|----------------------|---------------|
| ケース1 | 土壌 | (対照系) |
| ケース2 | 土壌 | + 薬品 (NP, E2) |
| ケース3 | 土壌+コンポスト | |
| ケース4 | 土壌+コンポスト | 土壌採取毎耕耘 |
| ケース5 | 土壌+コンポスト+薬品 (NP, E2) | |
| ケース6 | 土壌+コンポスト+薬品 (NP, E2) | 土壌採取毎耕耘 |

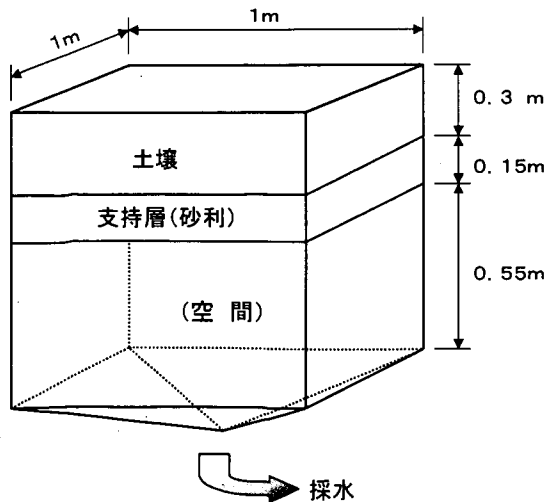


図-2 ライシメータ内部

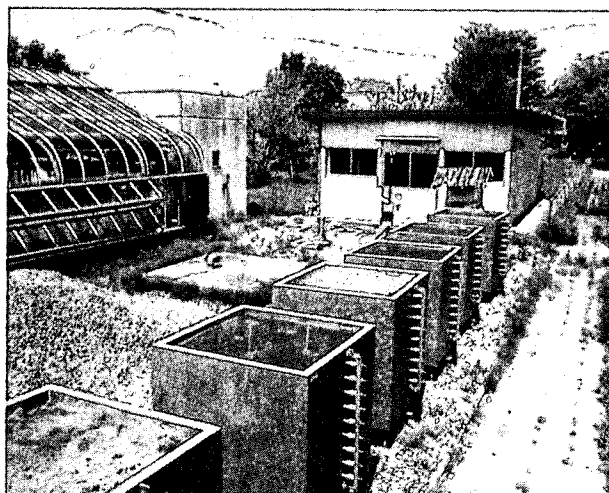


写真-1 ライシメータ実験装置

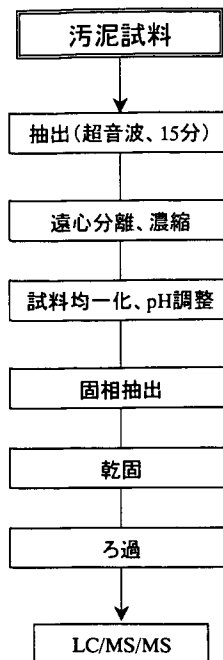


図-1 分析フロー

に示す。図-2で“土壌”と記されている部分に、表-1に示した条件で調製した土壌を充填した。下水汚泥コンポストを施用した系には10kg/基のコンポストを、また薬品を添加した系にはNP及びE2をそれぞれ約500mg/基、約17mg/基、土壌（赤土）と混合した。また、下水汚泥コンポストを施用し耕耘を行うこととした系については土壌採取毎に耕耘した。

実験に使用した土壌は茨城県南部で代表的に見られる赤土であり、農薬や肥料にあまりさらされていないものを用いた。土壌は全て5mm以下に篩い分けたものを用いた。実験に使用した下水汚泥コンポストは高分子系の消化脱水汚泥を原料とし、破碎したモミガラを副資材として発酵したものである。土壌に添加したNPとE2は建設省の実態調査¹⁾において比較的高頻度でその存在が確認された物質の中から選択した。

仕込み土壌の調製は以下の手順により行った。NPとE2の添加にあたり、あらかじめそれぞれ1,500mg、50mgを1Lのメタノールに溶解し、混合原液を調製した。ライシメータ1台につき土壌を330L（258kg・湿）計量し、そこから約10Lを分取してNPとE2の混合原液を333mL添加した（ライシメータ1台あたりNPを500mg、E2を16.7mg添加することに相当）。残りの土壌には下水汚泥コンポストを現物として10kg混合し、十分に攪拌した。これに、NPとE2を混合した土壌の全量に戻し、更に十分に攪拌した後、ライシメータに仕込んだ。

2) 分析方法

ライシメータからの浸出水および土壌中のNP及びE2の分析は既存の分析マニュアル^{4) 5)}を参考とし、NPはGC/MS法、E2はELISA法を用いて測定した。

ELISA法については、E2と構造が似ている他の物質を合わせて測定している可能性が指摘されている⁶⁾。試行的にLC/MS/MS法⁷⁾により本実験に使用したコンポストと同種のコンポストについてエストロゲン含有量を測定したところE2は検出されなかったが、ここでは便宜上、これまで主に用いられてきたELISA法で得られた値をE2の濃度として扱うこととする。より詳細な消長の解明には、E1等の関連物質

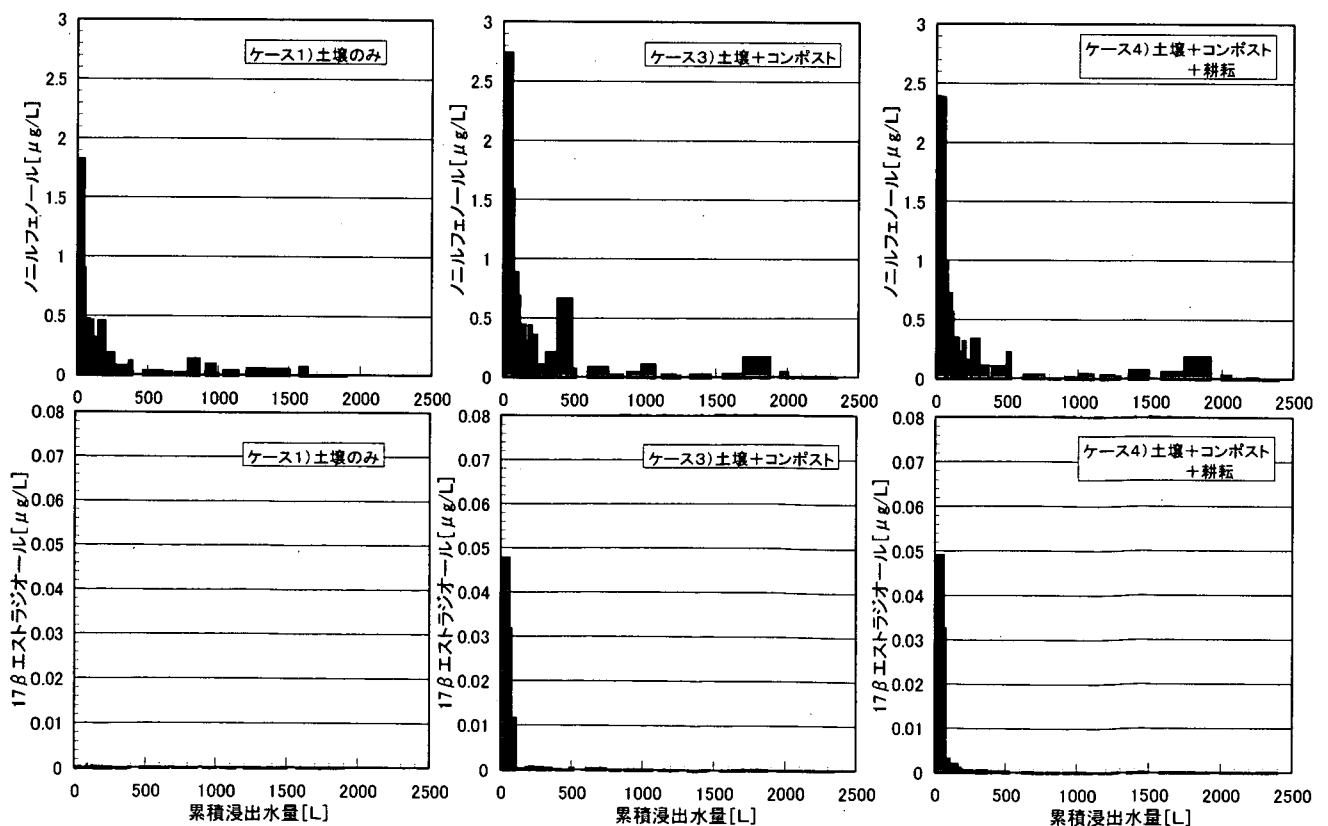


図-3 ライシメータからの浸出水中のNP、E2濃度

も含めた分析手法の開発とそれに基づく検討が必要である。また、現時点では汚泥および土壌のNP類やエストロゲン（E2やE1等）の含有量の分析は検討すべき課題が多く⁸⁾、今後さらに検討が必要である。

3. 1. 2 実験結果

ライシメータからの浸出水中のNP、E2濃度の推移の例を図-3に示す。横軸は浸出水の累積量である。各ライシメータの土壌の締めり方が異なるため、浸出水量が異なっていた。

NP、E2については実験初期に比較的高濃度での浸出が見られたが、累積浸出水量にして100L程度からは比較的低濃度で推移していた。

各ライシメータの初期土壌中NP、E2存在量に占める浸出したNP、E2の累積量を累積浸出率としてまとめ、図-4に示す。横軸は累積浸出水量をB.V.≡(累積浸出水量)/(土壌嵩体積)で無次元化した値である。今回の実験期間では初期土壌中存在量に対してNPで0.34~13%(コンポスト混入系では0.34~0.69%)、E2で0.55~8.1%(コンポスト混入系では1.6~5.3%)が浸出水とともにライシメータ外に排出されていた。

土壌のNP、E2含有量、土壌中残留率の推移を図-5、6に示す。前述の通り含有量の分析は検討すべき課題が多く、分析結果の傾向を判断することが困難であるが、NPについてはB.V.で0.5程度以降は減少傾向にあり、ケース3(土壌+コンポスト)では初期700μg/kg-dryが249日目(B.V.約1.6)には43μg/kg-dryにまで減少していた。

図-4、6の比較から、NPの減少は浸出水による排出以外の機構による減少である可能性が高く、ライシメータ内での物理化学的または生物学的分解によるものであると考えられる。

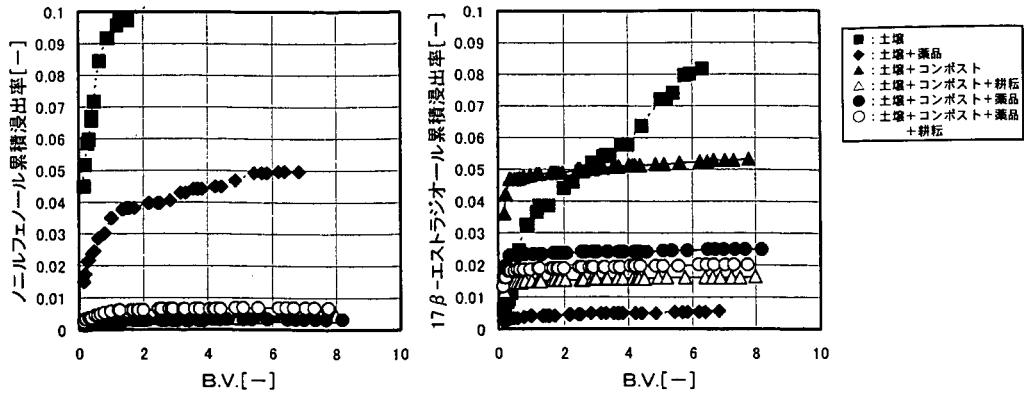


図-4 ライシメータからのNP、E2の累積浸出率

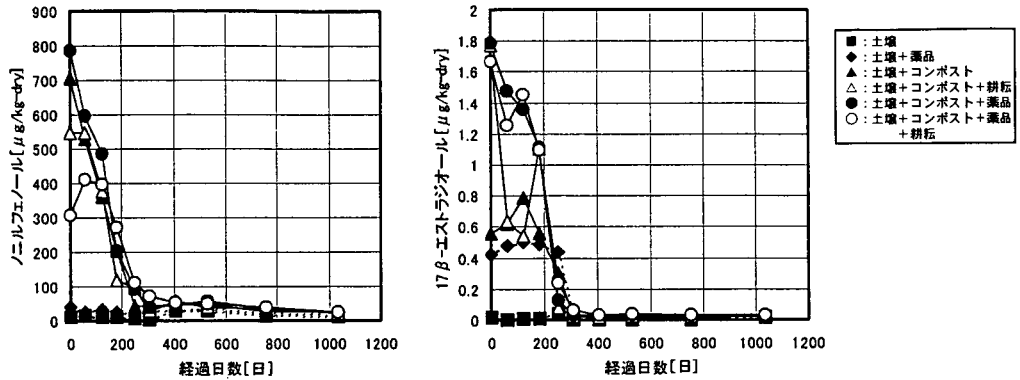


図-5 ライシメータの土壌のNP、E2含有量の推移

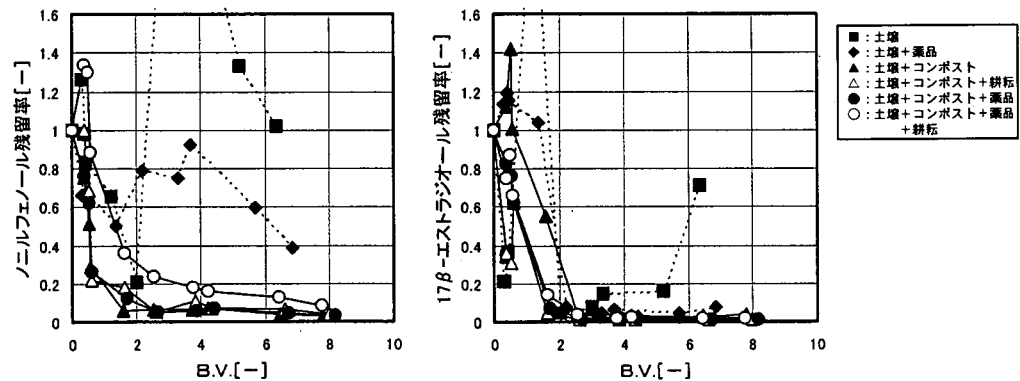


図-6 ライシメータの土壌中のNP、E2残留率

3. 2 植物体への移行確認実験

下水汚泥コンポストの緑地利用や農地利用を想定し、下水汚泥コンポスト中に含まれる可能性のある内分泌かく乱物質の植物体への移行の有無を確認するため、植物の栽培実験を行った。

3. 2. 1 実験方法

基本的な実験条件は植害試験方法を参考として設定した。ステンレスバット (312mm×520mm×h134mm) に表-2、3のとおり調整した土壌を充填した。基礎土壌は3.1ライシメータ実験で用いたものと同様の赤土と沸騰石を3:1で混合したものであり、窒素、りん酸、カリ分の調整には過りん酸石灰、硫酸アンモニウム、塩化カリウムを用いた。添加したコンポストは、生汚泥起源の塩鉄石灰系脱水汚泥から製造されたものを用いた。コンポストの添加量は3.1ライシメータ実験での添加量より少ないが、今回の実験方法における植物栽培では、高濃度添加条件において植物の成長が必ずしも低濃度添加条件よりも旺盛となるわけではなく、コンポスト添加量を今回の条件よりも多くすることは適切ではないと考えられた。

土壌を充填したバットに市販の小松菜、ラディッシュの種をまき、それぞれ表-2、3に示す期間栽培した後、植物体を収穫し、NP類の分析を行った。栽培時の水分調整は、バット全体の重量を一定に保つように精製水を添加することで行った。

植物体 (茎、葉) 中のNP類の分析は南山らの高速溶媒抽出法を用いる方法⁹⁾を参考としつつ、固相抽出操作を除かずに行った。また、土壌、植物体 (根) 中のNP類の分析は、南山らの高速溶媒抽出法を用いる方法⁹⁾で行った。根の中のNP類の分析にあたっては、超音波洗浄器等を用いて根と栽培に用いた土壌の分離を行ったが、完全な分離は困難であった。

3. 2. 2 実験結果

栽培実験後の植物体中のNP類含有量を表-2、3に示す。今回の実験では、小松菜もラディッシュも、定量が可能な濃度域でのNP類の植物体への移動はほとんど確認されなかった。NPは検出下限値に至らなかった。NPnEO類についても、定量下限に至らない場合の参考値は、コンポストの添加条件の差にほとんど影響されなかった。

表-2 植物栽培実験の実験条件と結果 (小松菜)

| 播種 | | 無播種 | | | 播種 (230粒/バット) | | | | |
|-------|-----|------------------------|----------------|----------------|---------------|----------------|----------------|---------|---------|
| コンポスト | | なし | 1430mg-N相当/バット | 8580mg-N相当/バット | なし | 1430mg-N相当/バット | 8580mg-N相当/バット | | |
| 化学肥料 | | N、P2O5、K2Oで各1001mg/バット | | | | | | | |
| 栽培日数 | | 56日 | | | | | | | |
| 実験終了時 | 土壌 | NP | ND | Tr(0.02) | 0.07 | ND | ND | 0.4 | |
| | | NPnEO (n≤4) | ND | ND | 0.3 | ND | ND | 0.2 | |
| | | NPnEO (n≥5) | 0.07 | 0.1 | 0.3 | 0.1 | 0.2 | 0.3 | |
| | 植物体 | 茎葉 | NP | - | - | - | ND | ND | ND |
| | | | NPnEO (n≤4) | - | - | - | ND | ND | ND |
| | | 根 | NPnEO (n≥5) | - | - | - | ND | Tr(0.4) | Tr(0.4) |
| | | | NP | - | - | - | ND | ND | ND |
| | | | NPnEO (n≤4) | - | - | - | ND | ND | ND |
| | | | NPnEO (n≥5) | - | - | - | Tr(0.7) | Tr(1) | Tr(0.8) |

注) 単位: μg/g-dry, ND: 検出下限未満, Tr: 検出下限以上定量下限未満

表-3 植物栽培実験の実験条件と結果 (ラディッシュ)

| 播種 | | 無播種 | | | 播種 (8粒/バット) | | | | |
|-------|-------------|------------------------|----------------|----------------|-------------|----------------|----------------|----------|------|
| コンポスト | | なし | 1430mg-N相当/バット | 8580mg-N相当/バット | なし | 1430mg-N相当/バット | 8580mg-N相当/バット | | |
| 化学肥料 | | N、P2O5、K2Oで各1001mg/バット | | | | | | | |
| 栽培日数 | | 42日 | | | | | | | |
| 実験前 | 土壌 | NP | ND | Tr(0.01) | 0.06 | ND | Tr(0.02) | 0.1 | |
| | | NPnEO (n≤4) | ND | ND | ND | ND | ND | ND | |
| | | NPnEO (n≥5) | ND | ND | 0.05 | ND | Tr(0.01) | Tr(0.02) | |
| | 植物体 | 葉 | NP | 0.04 | ND | 0.09 | 0.03 | 0.03 | 0.07 |
| | | | NPnEO (n≤4) | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| 実験終了時 | 植物体 | 葉 | NPnEO (n≥5) | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| | | | NP | - | - | - | ND | ND | ND |
| | | 根 | NPnEO (n≤4) | - | - | - | ND | ND | ND |
| | NPnEO (n≥5) | | - | - | - | ND | ND | ND | |
| | NP | | - | - | - | ND | ND | ND | |

注) 単位: μg/g-dry, ND: 検出下限未満, Tr: 検出下限以上定量下限未満

4. まとめ

我が国の下水処理場への内分泌かく乱化学物質の流入が報告されており、それらが水処理系から汚泥処理系へ移行する可能性が指摘されている。本研究は、下水汚泥処理系および下水汚泥リサイクル製品施用先での内分泌かく乱物質の挙動・消長を明らかにすることを目的として実施した。14年度は、下水汚泥試料中のNP類の分析手法の検討、下水汚泥リサイクル製品の施用先におけるNP類の挙動把握のためのライシメータ実験、及び植物体への移行確認実験を行った。その結果、以下のことが明らかとなった。

- ① 下水汚泥試料中のNP類のうちNP E C類の分析手法の検討を行ったところ、水試料中のNP E C類の分析に用いられる前処理方法では分析が困難であることが明らかとなった。
- ② ライシメータを用いたコンポスト施用土壌からの内分泌かく乱物質浸出実験を行ったところ、降雨によるNPの累積浸出率から、コンポスト施用土壌中のNPが降雨により浸出する量は少ないことが明らかとなった。また、NPの累積浸出率と土壌中残留率から、NPの土壌中での分解機構の存在が示唆された。
- ③ コンポスト施用土壌中の内分泌かく乱物質の植物体への移動に関する検討を小松菜等を用いて行ったところ、分析が可能な濃度域でのNPの植物体への移動は確認されなかった。

NP類の挙動を明確にするためには、NP E C類等、NPの関連物質を含めた物質収支を明らかにする必要がある。今後、下水汚泥試料を対象とした分析手法の検討を進めるとともに、関連物質を含めたNP類の挙動、消長に関する実験を行う必要がある。

参考文献

- 1) 建設省河川局、建設省都市局下水道部：平成10年度 水環境における内分泌攪乱化学物質に関する実態調査結果、1999.
- 2) 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、2001.
- 3) 八十島誠、小森行也、田中宏明：「LC/MSによるノニルフェノキシ酢酸類の分析」、日本内分泌攪乱化学物質学会第4回研究発表会要旨集、p.171、日本内分泌攪乱化学物質学会、2001.
- 4) 建設省都市局下水道部監修：下水道における内分泌攪乱化学物質水質調査マニュアル、pp.48-51、(社)日本下水道協会、1999.
- 5) 建設省都市局下水道部：下水道における内分泌攪乱化学物質調査マニュアル（案）、pp.74-76、2000.
- 6) 高橋明宏、小森行也、矢古宇靖子、岡安祐司、斉藤正義、東谷忠、田中宏明：「下水試料中の女性ホルモン測定法の課題—LC/MS/MSとELISAの比較から—」、第3回日本水環境学会シンポジウム講演集、pp.175-176、(社)日本水環境学会、2000.
- 7) 小森行也、高橋明宏、田中宏明：「LC/MSによる下水試料中の17β-エストラジオールの分析」、第9回環境化学討論会講演要旨集、pp.346-347、日本環境化学会、2000.
- 8) 森田弘明、落修一、川嶋幸徳：「下水汚泥中内分泌かく乱物質の消長に関する調査」、平成11年度下水道関係調査研究年次報告書集、pp.217-222、建設省土木研究所、2000.
- 9) 南山瑞彦、落修一、鈴木穰：「下水汚泥中のノニルフェノール等の分析」、第39回下水道研究発表会講演集、pp.86-88、(社)日本下水道協会、2002.