

11. 下水汚泥中内分泌かく乱物質の汚泥処理過程

および土壌環境中での挙動に関する調査

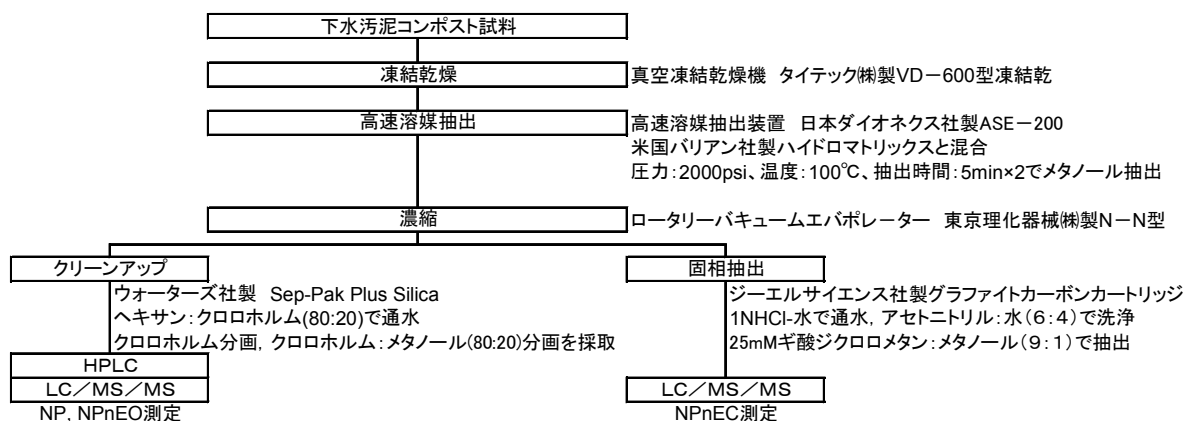
リサイクルチーム 室 長 尾崎 正明
主任研究員 山下 洋正

1. はじめに

近年、資源の有効利用の観点から下水汚泥の再利用が進んでいるが、このとき、下水中のノニルフェノール類やエストロゲン等の内分泌かく乱物質、微量化学物質が再利用される下水汚泥中に移行し、環境汚染につながる事が懸念される。このため、下水汚泥中および下水汚泥リサイクル製品中に含まれるこれら物質の制御技術の開発が求められている。本調査は、下水汚泥中のノニルフェノール類（NP 類）、エストロゲン等の内分泌かく乱物質、微量化学物質を分析するための抽出手法を提案し、下水汚泥コンポストの施用時の土壌環境での挙動を把握するとともに、下水汚泥処理過程における挙動および運転条件との関係を解明することを目的としている。平成 16 年度は、液体クロマトグラフータンデム型質量分析装置（LC/MS/MS）を用いたノニルフェノール（NP）、ノニルフェノールエトキシレート（NPnEO）、ノニルフェノールエトキシ酢酸（NPnEC）の分析法の開発、下水汚泥処理過程のうちコンポスト化過程における NP 類の挙動把握のための室内実験および実処理場のコンポスト中の NP 類の存在実態の調査を行った。

2. 液体クロマトグラフータンデム型質量分析装置（LC/MS/MS）を用いたノニルフェノール類（NP 類）の分析法の開発

下水汚泥等の試料中のNPnECについては、HPLCによる定量が困難であり、LC/MS/MS測定が必要である。また、NPおよびNPnEOについては、HPLCにより簡便に測定が可能であるが、例えばコンポスト副資材のおがくず等の共存物質の妨害ピーク等により正確な定量が困難な場合がある。よって、下水汚泥等の試料中のNP、NPnEO、NPnECについて、LC/MS/MSによる測定方法を開発することとした。抽出方法は南山ら¹⁾の方法を用い、LC/MS/MS分析は、下水試験法（追補暫定版）²⁾、八十島らの方法³⁾等を参考にした。測定フローについて図－1に示し、測定方法については表－1および表－2に、測定イオンについては表－3にそれぞれ示した。



図－1 HPLC および LC/MS/MS による NP, NPnEO, NPnEC の測定フロー

表－１ HPLC による NP, NPnEO 測定法

装置	ウォーターズ社製HPLC (2691 セパレーションモジュール)
検出器	ウォーターズ社製 475 スキャニング蛍光検出器
カラム	Inertsil Ph 5 μ m (4.6 ϕ * 151mm) ジーエルサイエンス社製
カラム温度	40℃
サンプル温度	5℃
注入量	20 μ l
測定波長	Ex 225nm Em 300nm
分析時間・溶離液	イソクラティック溶離法 (40分) メタノール：水 (70：30)
流速	1ml/min

表－２ LC/MS/MS による NP, NPnEO および NPnEC 測定法

HPLC装置	アジレント社製HPLC (1100 HPLCモジュール)
カラム	NP, NPnEO : Inertsil Ph 5 μ m (4.6 ϕ * 150mm) ジーエルサイエンス社製 NPnEC : Agilent Zorbax Eclipse XDB-C18 2.1mm x 150mm
カラム温度	40℃
サンプル温度	5℃
注入量	10 μ l
分析時間・溶離液	イソクラティック溶離法 (10分) メタノール：2mM酢酸アンモニウム (85:15)
流速	NP, NPnEO : 1ml/min NPnEC : 0.3ml/min
MS/MS装置	ABI社製4000QTRAPシステム
イオン化法	ESI (TurboSpray)
測定モード	MRM
極性	NP : Positive NPnEO, NPnEC : Negative

表－３ LC/MS/MS による NP 類測定における測定イオン

	測定イオン(m/e)			測定イオン(m/e)	
	Target	Product		Target	Product
NP	219.1	133.0	NP1EC	277.0	219.0
NP1EO	282.2	252.0	NP2EC	321.1	219.0
NP2EO	326.3	183.1	NP3EC	365.1	219.0
NP3EO	370.3	227.0	NP4EC	409.2	219.0
NP4EO	414.3	397.2	NP5EC	453.2	218.9
NP5EO	458.4	441.4	NP6EC	497.3	218.9
NP6EO	502.3	485.3	NP7EC	541.3	219.0
NP7EO	546.3	529.3	NP8EC	585.3	219.0
NP8EO	590.4	573.4	NP9EC	629.4	219.0
NP9EO	634.4	133.2	NP10EC	677.3	219.0
NP10EO	678.5	133.0			
NP11EO	722.5	89.1			
NP12EO	766.5	89.1			
NP13EO	810.6	89.1			
NP14EO	854.6	89.0			
NP15EO	898.7	89.1			

３．コンポスト化過程におけるノニルフェノール類 (NP 類) の挙動把握

下水道に流入するノニルフェノールエトキシレート(NPnEO)は、下水処理過程で短鎖化・分解され、nがより小さいNPnEO、ノニルフェノールエトキシ酢酸(NPnEC)及びノニルフェノール(NP)を生じる。これらは低極性の物質が多く、大部分が下水汚泥に吸着されて下水処理場外に排出されていると考えられる⁴⁾。下水汚泥はコンポスト化による緑農地利用が行われているが、コンポスト化の過程におけるNP類の挙動は十分に把握されていない。そこで、実験室規模のコンポスト化装置を用いたコンポスト化実験を行い、下水汚泥

のコンポスト化におけるNP類の挙動を調査した

3. 1 実験方法

嫌気性消化を行っているK処理場およびI処理場の消化脱水汚泥および副資材（おがくず）を用いてコンポスト化実験を行った。脱水汚泥および副資材等の性状について表－4に示し、運転温度等の実験条件について表－5に示す。

実験は、容量 4L のガラス製カラムに脱水汚泥、副資材および返送コンポストを充填し、恒温槽に設置して温度を管理し、カラム下部より強制通気して好気性条件下で連続運転を行った。用いた実験装置の概要を図－2に示す。実験期間中は1～2週間の所定の周期でコンポストの引き抜き、返送(50%)、新規材料の投入を行い、コンポスト化の開始時および返送・新規材料投入時に NP を人工的に添加した。

表－4 脱水汚泥および副資材等性状

	含水率 (%)	強熱減量 (%)	pH (-)	EC (ms/cm)	N (%)	C (%)
消化脱水汚泥K	80.6	62.5	7.7	3.2	4.38	30.1
消化脱水汚泥I	80.0	60.3	7.3	3.2	4.33	32.2
おがくず	11.4	97.9	5.5	0.5	0.0	46.3
返送コンポスト	60.9	83.7	6.2	1.8	1.91	40.2

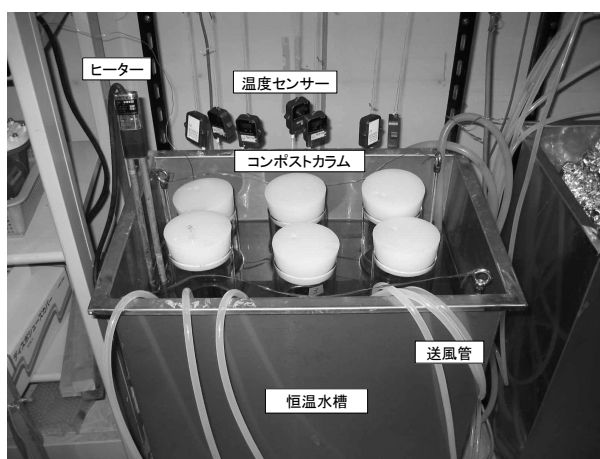
表－5 実験条件

	Run 1	Run 2	Run 3
運転温度	35	50	70
初期NP濃度	150	60	60
混合率			
消化脱水汚泥 ⁽¹⁾		0.4	
おがくず		0.1	
返送コンポスト		0.5	
通気量		1	

Run1のみ15日目から汚泥Iを使用, それ以外は全て汚泥Kを使用

3. 2 測定

NP 類として, NP, NPnEO および NPnEC を測定した。NP および NPnEO については, HPLC による測定を主とし、一部の試料については LC/MS/MS による測定を併せて行った。NPnEC については一部の試料について LC/MS/MS により測定を行った。LC/MS/MS による測定方法は、表－1 から表－3 および図－1 に示した通りである。一般項目として、含水率および強熱減量（下水試験方法による）、pH および EC（肥料分析法による）ならびに TC および TN（下水試験方法に従い、CHN コーダーを使用）を測定した。



図－2 実験装置の概要

3. 3 結果および考察

原料に用いた消化脱水汚泥、おがくず中のノニルフェノール類の濃度を表－6に示す。これより、嫌気性消化汚泥を脱水した汚泥中には、NP が約 10～40 $\mu\text{g/g-dry}$ 存在しており、NPnEO はより低濃度であることが分かった。また、副資材であるおがくず由来のノニルフェノール類は低濃度で、コンポスト中のノニルフェノール濃度にほとんど寄与しないと考えられた。

表－6 消化脱水汚泥、副資材等のノニルフェノール類の濃度

濃度 ($\mu\text{g/g-dry}$)	消化脱水汚泥 K	消化脱水汚泥 I	おがくず	返送コンポスト
NP	40.8	10.4	8.4	25.8
NP1EO	6.0	8.5	4.5	3.7
NP2EO	3.1	2.5	0.09 ⁽¹⁾	2.0
NP3EO	1.1	0.7	5.2	0.1

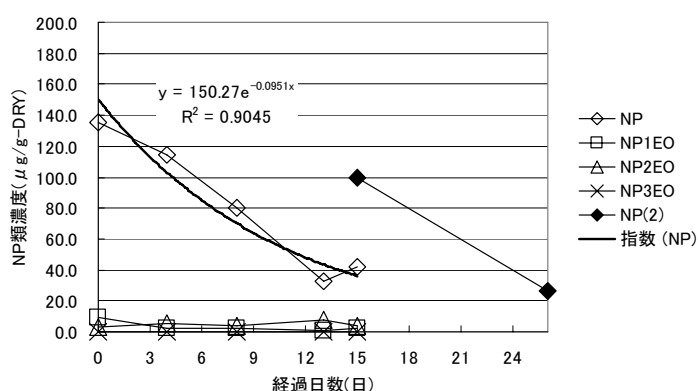
(1) のみLC/MS/MS測定値, 他はHPLC測定値

実験開始時点（0日目）で表－2に示す比率で混合した試料中の NPnEC(n=1-10)濃度 ($\mu\text{g/g-dry}$)は、2.7 (NP2EC)～0.14(NP7EC)といずれも低濃度であり、実験にほとんど影響しないと考えられた。

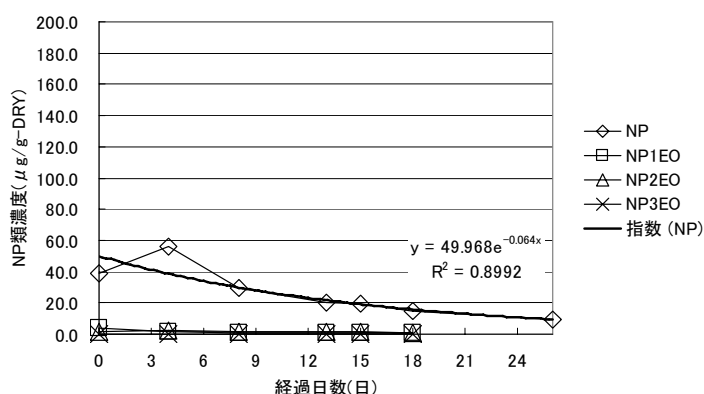
Run1 においては、35℃の運転条件下で、連続して安定的にNPが分解された。2周期におけるノニルフェノール類の挙動を図－3に示す。NP濃度 ($\mu\text{g/g-dry}$) が経過日数 t に関して指数関数的に減少するとして近似した場合は、 $C = 150 * e^{(-0.095t)}$ ($R^2=0.905$) なる関係式が得られ、半減期は 7.3 日と算出された。

一方、Run2 (50℃) においては、Run1 (35℃) より緩やかな減少が観察された (図－4)。指数関数近似として、 $C = 50 * e^{(-0.064t)}$ ($R^2=0.899$) なる関係式が得られ、半減期は 11 日と算出された。また、Run3 (75℃) においては、NPの減少は観察されなかった (図－5)。従ってこれらの温度が高い条件下においては、NP分解微生物の活性が低下して、分解速度の低下あるいは分解停止となる可能性が示唆された。ただし、Run2 および Run3 においては、高温という不利な条件を考慮して、NPの阻害等を避けるためにNP初期濃度をRun1 の 40%と低めに設定したために、減少が見かけ上小さくなっている可能性も否定できないので、今後はより高濃度での実験を行って確認する必要がある。また、いずれの実験においてもNPnEOの変化に有意な傾向は見られなかった。

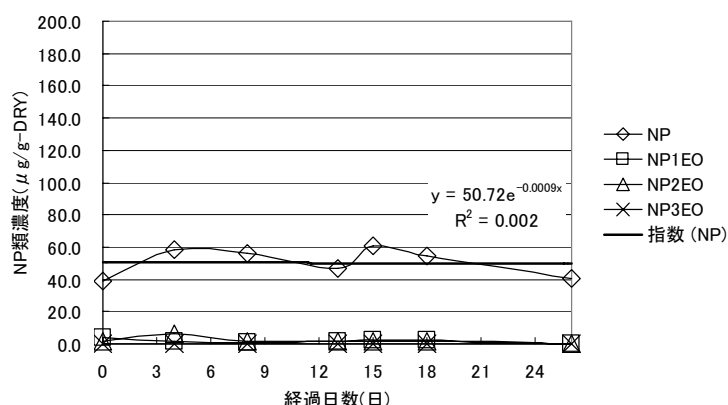
実際のコンポスト化施設の運転条件下においては、65℃以上で2日間以上保持するという運転管理が行われているため、この間にNPを分解する微生物が活性を失う可能性が考えられる。今後は、追加実験および実施設での調査を行って、コンポスト化過程におけるNP類の挙動をより詳細に把握する必要がある。



図－3 35℃でのコンポスト化における NP 類の挙動



図－4 50℃でのコンポスト化における NP 類の挙動



図－5 70℃でのコンポスト化における NP 類の挙動

4. 実処理場の下水汚泥コンポスト中のノニルフェノール類 (NP 類) の存在実態

実処理場に流入したNP類の水処理における挙動については、調査報告がなされている⁴⁾が、下水汚泥に移行した後に、コンポスト化過程でどのような挙動を示すかについては、十分なデータがない。そこで、実処理場の下水汚泥コンポストを収集してNP類の分析を行い、その存在実態を把握した。

4. 1 実験方法

2003 年秋に国内 17 道県で製造された下水汚泥コンポスト（肥料及び土壌改良材）を収集し、高速溶媒抽出及び HPLC 法により、ノニルフェノール(NP)及びノニルフェノールエトキシレート(NPnEO)(n=1-15)を分析した。分析法の詳細は表－1 および図－1 に示すとおりである。収集した下水汚泥コンポストの種類・性状について、表－7 に示す。

17 種類の下水汚泥コンポストのうち、5 種類は嫌気性消化汚泥 (D) を原料としており、7 種類は生余剰汚泥 (R) を原料としており、残り 5 種類については原材料について十分な情報が得られなかった。そのうちいくつかについては、食品廃棄物やその他の雑多な有機物を含んでいると考えられた。

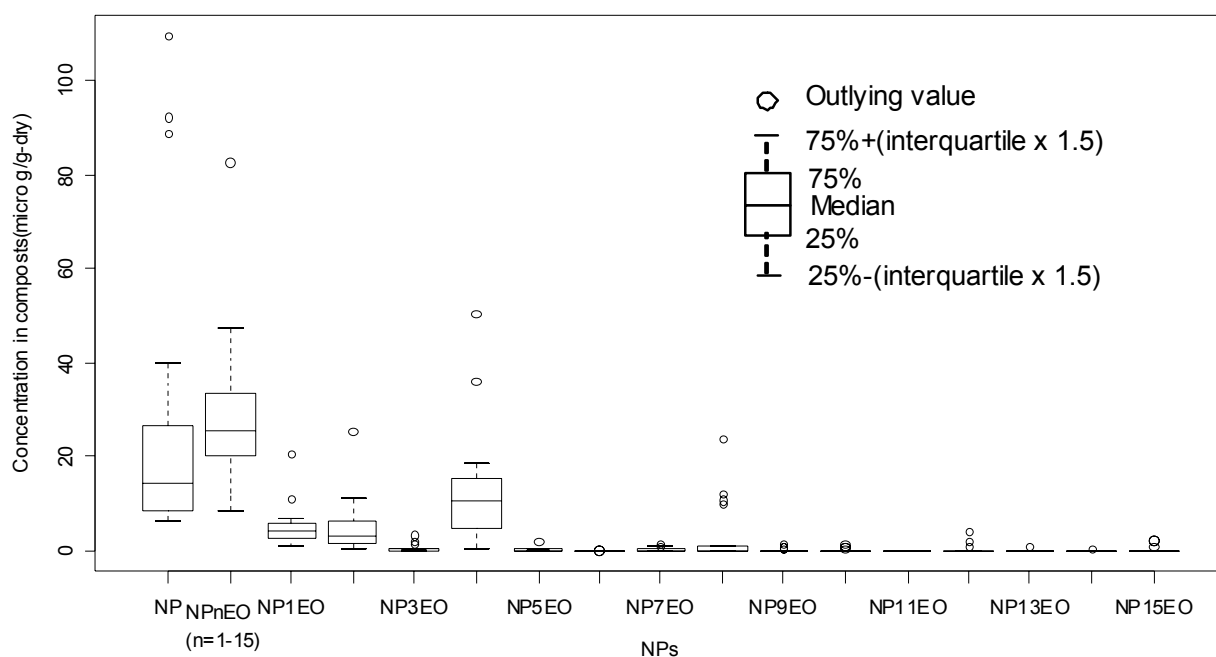
表－7 下水汚泥コンポストの種類と含水率

No.	type of sludge	% solids	No.	type of sludge	% solids
1	D	34.8	10	M	48.0
2	D	16.2	11	R	26.3
3	M	31.9	12	M	35.9
4	R	20.9	13	R	28.5
5	D	25.2	14	D	32.8
6	R	59.8	15	R	8.5
7	R	26.0	16	M	66.6
8	R	27.8	17	D	26.2
9	M	52.1			

D:anaerobically digested sewage sludge, R:raw excess sewage slud
M:other (data not available or sludge containing food waste etc.)

4. 2 結果と考察

下水汚泥コンポスト中の NP 及び NPnEO(n=1-15 の合計)ならびに NP 類合計の濃度は、それぞれ 6.5～110(μ g/g-dry), 8.3～82.3(μ g/g-dry), 23.6～174.9(μ g/g-dry)であった (図－6 および表－8)。



図－6 下水汚泥コンポストにおける NP 類の分布

表－8 下水汚泥コンポストにおける NP 類濃度

Compost No.	NPCs (micro g/dry g)																	Σ NPCs
	NP	NPnEO	NP1EO	NP2EO	NP3EO	NP4EO	NP5EO	NP6EO	NP7EO	NP8EO	NP9EO	NP10EO	NP11EO	NP12EO	NP13EO	NP14EO	NP15EO	
1	26.2	25.5	4.2	2.4	0.5	18.4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	51.7
2	92.2	82.7	20.4	6.5	1.5	50.5	0	0.2	1.4	0	0.7	1.5	0	0	0	0	0	174.9
3	21.4	28.2	3.4	4.7	0.6	18.1	0.5	0	0.5	0	0	0.4	0	0	0	0	0	49.6
4	6.5	33.7	11.3	9.7	3.4	8.7	0.6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	40.2
5	40.0	19.9	2.7	0.9	0.2	14.2	1.9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	59.9
6	19.6	8.3	1.3	0.6	0.2	4.4	0	0	0	1	0	0.8	0	0	0	0	0	27.9
7	11.1	37.2	4.5	11.1	0.6	15.2	0	0	0.4	0.3	0	0	0	4.2	0	0	0.9	48.3
8	7.3	16.3	5.4	1.8	0.5	8.6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	23.6
9	8.7	23.1	0.8	9	0	0.5	0	0	0	10	0.6	0	0	2.2	0	0	0	31.8
10	6.6	47.4	5.5	25.5	0	3.9	0	0	0	10.8	0	0.9	0	0.8	0	0	0	54.0
11	9.6	29.7	6.9	5.8	0.7	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2.3	39.3
12	26.8	24.6	1.7	3.4	0	4.8	0	0.2	0.8	12.2	1.5	0	0	0	0	0	0	51.4
13	9.0	20.1	4.1	2.5	0.3	10.6	0.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2.3	29.1
14	88.8	45.8	5.6	2.2	0.6	36	0	0	1.1	0	0.3	0	0	0	0	0	0	134.6
15	14.3	23.1	6.9	3.3	2.2	10	0.4	0	0.3	0	0	0	0	0	0	0	0	37.4
16	6.8	29.6	1.5	1.5	0.2	1.2	0	0	0	23.7	0	0	0	0	1.2	0.3	0	36.4
17	109.7	16.0	3.2	0.7	0.1	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	125.7

n>5(NP5EO より長鎖) では 50%以上、n>9(NP9EO より長鎖) では 75%以上の試料において不検出であり、下水汚泥のコンポスト製品においては、NPnEO の短鎖化が進んでいることが分かった。

原料に関する情報が得られた 12 種類の下水汚泥コンポストについて、NP濃度によって整理した結果を表－9 に示す。これより、嫌気性消化汚泥を原料とするコンポストは、生汚泥を原料とするコンポストと比較して、有意に高濃度のNPを含んでいた (P<0.05, Mann-Whitney's U test)。Gigerら⁵⁾ は、NPが下水汚泥の嫌気性消化過程において生成されると報告しており、平成 15 年度の調査においても確認されている。従って、嫌気性消化過程において、NPnEO等よりNPが生成され、コンポスト化過程において残存していると考えられる。

嫌気性消化課程で生成したNPがコンポスト実験においては 35℃条件下ではNPが分解されるにもかかわらず、実際のコンポスト化施設でNPが残留している理由としては、すでに述べたとおり、実施設の運転条件下においては、65℃以上で2日間以上保持するという運転管理が行われているため、この間にNPを分解する微生物が活性を失った可能性が考えられる。例えば、Banatら⁶⁾ は、50 および 100 mg/Lの 4-NPが 60℃、10 日間の実験室規模の好気性熱処理で 66%まで削減されたと報告しており、Moellerら⁷⁾ は 65℃条件下のコンポスト化実験でNP分解が低下したと報告している。今後は、実施設における現地調査により、実際の運転条件下でのNP類挙動について確認を行うとともに、エストロゲンの挙動も調査する必要がある。

参考文献

- 1) 南山瑞彦他, 第 39 回下水道研究発表会講演集, pp.86-88, 日本下水道協会, 2002
- 2) (社) 日本下水道協会; 下水試験方法 (追補暫定版) 2002 年版
- 3) 八十島誠他, 下水中の環境ホルモン物質の分析技術, 土木技術資料 Vol.45, No.6, pp.68-73
- 4) 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物質 (環境ホルモン) に関する調査報告(2001)
- 5) Giger, W., P. H. Brunner, and C. Schaffner. (1984). 4-Nonylphenol in sewage sludge: accumulation of toxic metabolites from nonionic surfactants. Science 225:623-5.
- 6) Banat, F. A., S. Pechtl, and F. Bischof. (2000). Aerobic thermophilic treatment of sewage sludge contaminated with 4-nonylphenol. Chemosphere 41:297-302.
- 7) Moeller et.al (2003). Degradation of nonylphenol ethoxylates (NPE) in sewage sludge and source separated municipal solid waste under bench-scale composting conditions. Bull Environ Contam Toxicol 70:248-54.