

14. 下水道における微量化学物質の評価に関する調査

研究予算：受託経費（下水道事業調査費）
研究期間：平 13～平 17
担当チーム：水循環研究グループ（水質）
研究担当者：鈴木 穰、小森行也、岡安祐司

【要旨】

平成 16 年度は、下水道に流入する可能性のある内分泌かく乱作用が懸念される微量化学物質の評価手法の開発を目的とし、①微量化学物質の検出方法の簡易化、迅速化、②微量化学物質の下水道での挙動把握を行った。

下水試料中の Estrone, 17 β -estradiol 測定用 ELISA 法における、交差反応及び妨害物質を除去する簡易な前処理法として、SS 除去、ヒューミン分画の分離およびフミン酸分画の分離について検討し、特に生物処理を受ける前の段階の下水試料に関しては、フミン酸分画の分離が効果的であることが推察された。

また、下水処理の好気工程におけるエストロゲンの遊離体及び抱合体の挙動特性をラボスケールの実下水を用いた連続実験装置において検討した。MLDO>5mg/L、SRT=60 日という好氣的生分解に有利な処理条件においては、遊離体エストロゲンの除去は完全に行われ、エストロゲン硫酸抱合体も減少を示したが依然、二次処理水に残留する結果となった。好気条件下では、エストロゲン硫酸抱合体の難分解性が強いことが明らかになった。

さらに、10ヶ所の下水処理場において合成エストロゲンのエチニルエストラジオール（EE2）の実態を調査した。HR-GC/MS、LC/MS/MS の機器分析と ELISA により測定したところ流入水、処理水中の EE2 濃度は極微量であることが分かった。最も高感度で検出可能な HR-GC/MS によれば、流入水ではすべて nd、処理水では nd から 0.28ng/l であった。

キーワード：内分泌かく乱物質、エストロゲン、硫酸抱合体、エチニルエストラジオール、ELISA 法、下水処理

1. はじめに

下水道施設へ流入する内分泌かく乱作用が懸念される化学物質の多くは、未規制であり、下水道に流入する可能性があるが、下水処理施設での挙動・運命についての知見は不十分な状況である。下水中の内分泌かく乱作用が懸念される化学物質は、機器分析に基づく手法により測定されるが、高価な機器、熟練した技術等が必要であり、幅広く下水中での挙動を把握できる状況ではない。そのため、簡易かつ迅速に測定できる手法の開発が求められている。さらに、これらの物質は、下水処理工程において、大部分が除去されることが判明してきている。しかし、詳細な下水処理工程における挙動、運転条件と除去率の関係についての知見は限られている。将来的に、これらの微量化学物質対策に下水道が取り組む場合には、下水処理場における運転条件が化学物質の環境への排出に及ぼす影響を予測、評価することが必要となる。

本研究では、このような背景を受け、以下の課題を目的とする。

- 下水道における内分泌かく乱物質の簡易・迅速測定法を確立し、監視を行う。
- 下水道に流入している内分泌かく乱作用が懸念される微量化学物質（エストロゲンおよびノニルフェノール類）の挙動把握とその評価技術をまとめ、下水道における微量化学物質の対策に資する。

2. 研究方法

2. 1. 下水道における内分泌かく乱物質の簡易・迅速測定法の開発

本研究では、14 年度に下水中の Estrone (E1) を、15 年度に下水中の 17 β -estradiol (E2) を簡易に定量する手法の開発を検討した。迅速測定手法としては定量性に優れる GC/MS や LC/MS/MS の機器分析による測定手法に比較して、簡易に測定可能な Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) 法を選択した。E2 や E1 などのエストロゲンに特異的に反応するモノクローナルまたはポリクローナル抗体を用いた ELISA キットについては、既に複数の民間企業から市販がなされている。しかし、それ

ぞれのキットにおける、抗体と下水中の類似物質との交差反応性、下水中の他の物質による抗体・酵素などの活性の妨害の程度については、完全には把握されていない。一般的には、ELISA法による測定結果は、交差反応・妨害等に由来する理由により、GC-MSやLC-MS/MSの機器分析による測定手法に比較して過大になることが指摘されている。本研究では、下水中のE1およびE2を測定するELISAキットを開発するとともに、比較的簡易に下水試料中のE1やE2を濃縮し、かつ交差反応・妨害等を示す物質を分離できる抽出手法を発見することを目的とした。14、15年度の検討で日本エンバイロケミカルズ製ELISAキットに対して、採水時後直ちに冷蔵保存、C18固相抽出+フロリジルカラムによるクリンナップ+アミノプロピルカラムによるクリンナップからなる前処理を実施することにより、ELISA法による測定結果はLC/MS/MS法による測定結果に対して1.5倍程度以内となることが判明し、概ね簡易測定法としての精度を確保できたと考えられる。

16年度は、前処理法のさらなる簡易化を目的とし、簡易な操作(①SS除去、②ヒューミン分画の分離、③フミン酸分画の分離)による測定対象エストロゲンと交差反応・妨害物質の分離除去の可能性について検討した。

① SS除去

同一の2つの下水試料500mLをガラス繊維ろ紙(GF/B)によりろ過し、ガラス繊維ろ紙を、ろ紙が浸る量のメタノール中に置き、5分間超音波抽出した。一方の抽出液をGF/Bろ紙でろ過し、ろ液をN₂ガスパージにより乾固した後、再度1mLのメタノールに溶解して500倍濃縮試料として、ELISA法の測定に供した。他方の抽出液は、500mLの超純水に溶解し、固相抽出-液体クロマトグラフ質量分析法¹⁾により測定を実施した。

② ヒューミン分画の分離

同一の2つの下水試料500mLへ0.1N NaOH溶液を添加し、溶液のpHを10に調整し、一晚(約18時間)冷蔵保存した。発生する沈殿物をガラス繊維ろ紙(GF/B)によりろ過し、ガラス繊維ろ紙を、ろ紙が浸る量のメタノール中に置き、5分間超音波抽出した。一方の抽出液をGF/Bろ紙でろ過し、ろ液をN₂ガスパージにより乾固し、1mLのメタノールに溶解し500倍濃縮試料として、ELISA法の測定に供した。他方の抽出液は、500mLの超純水に溶解し、固

相抽出-液体クロマトグラフ質量分析法¹⁾により測定を実施した。

③ フミン酸分画の分離

同一の2つの下水試料500mLへ0.1N NaOH溶液を添加し、溶液のpHを10に調整し、一晚(約18時間)冷蔵保存した。発生する沈殿物をガラス繊維ろ紙(GF/B)によりろ過して得たる液に1N HCl溶液を添加し、溶液のpHを2に調整し、一晚(約18時間)冷蔵保存した。発生する沈殿物をガラス繊維ろ紙(GF/B)によりろ過し、ガラス繊維ろ紙を、ろ紙が浸る量のメタノール中に置き、5分間超音波抽出した。一方の抽出液をGF/Bろ紙でろ過し、ろ液をN₂ガスパージにより乾固し、1mLのメタノールに溶解し、500倍濃縮試料としてELISA法の測定に供した。他方の抽出液は、500mLの超純水に溶解し、固相抽出-液体クロマトグラフ質量分析法¹⁾により測定を実施した。

なお、本研究は、日本エンバイロケミカルズ株式会社との共同研究「都市排水におけるエストロゲンおよびその関連物質の新しい検出技術の開発」で実施したものである。

2. 2. 微量化学物質の下水道での挙動把握

2. 2. 1. 人畜由来エストロゲン

英国の下水処理場下流の河川におけるローチの雌性化が社会問題化して以来、国内外で下水道におけるエストロゲン様物質に関する様々な調査が行われており、その水環境中の濃度とエストロゲン様活性から、遊離体エストロゲン(17β-エストラジオール(E2)、エストロン(E1))や合成エストロゲン(17α-エチニルエストラジオール(EE2))が主に注目されている。しかし、人畜の体内から排出されるエストロゲンは、その大部分が抱合体の形態として排出され、水環境中では脱抱合し、遊離体に変化する可能性があることを考慮すると、エストロゲン抱合体を含めた調査の必要があると考えられる。15年度には、土木研究所が開発した分析手法を用いて、遊離体エストロゲンE2, E1, E3と合成エストロゲン(EE2)に加えて、E1, E2, E3の硫酸又はグルクロン酸の抱合体のestrone-3-sulfate(E1-S)、β-estradiol 3-sulfate(E2-S)、estriol 3-sulfate(E3-S)、Estrone β-D-glucuronide(E1-G)、β-estradiol 17-(β-D)-glucuronide(E2-G)、estriol 3-(β-D)-glucuronide(E3-G)、β-estradiol 3-sulfate 17-glucuronide(E2-S&G)、estradiol 3,17-disulfate(E2-diS)の12化合物について、下水処理場の流入

下水および二次処理水中の濃度の実態を把握した。16年度は、下水処理で主に用いられている活性汚泥法における遊離体エストロゲンとエストロゲン硫酸抱合体の変化の特性を把握するために、実下水により好気条件で馴養した活性汚泥を用いた検討を行った。ここでは、既存の下水処理場の好気工程でのこれらの物質の除去を想定し、好気工程で設定可能な条件（曝気風量調整、汚泥の引き抜き調整）のうち最も除去のために有利と考えられる条件を設定した。なお、エストロゲングルクロン酸抱合体については、分析における添加回収率のバラツキが大きいため、今回の検討対象からは除外した。

1) 連続実験装置

連続実験装置の概略を図1に示す。連続実験の汚泥は、標準活性汚泥法を採用している実下水処理施設の好気槽より種汚泥を採取して、本報告の実験条件で3か月間馴致した。なお、本報告の連続実験は、冬期に行われたものであり、期間中、水温は10°C程度にまで低下した。反応槽は、茨城県霞ヶ浦流域下水道湖北処理場内の国土交通省国土技術政策総合研究所湖北総合実験施設室内に設置し、好気部分を7.2Lに設定した。好気槽および固液分離槽では、エアストーンを通じて曝気を行った。各槽における溶存酸素濃度は、実験期間を通じて5mg/L以上を維持した。固液分離には、交差流型中空糸膜モジュール（三菱レイヨン製超精密濾過フィルターSTNM424、保持粒径0.1μm）を用い、分離液は、一日あたりの流入水（一次処理水）投入量に相当する流量で連続的に排出し、反応槽における水理学的滞留時間（HRT）は8時間に設定した。余剰汚泥の排出は、1日あたり120mLの反応槽混合溶液を採

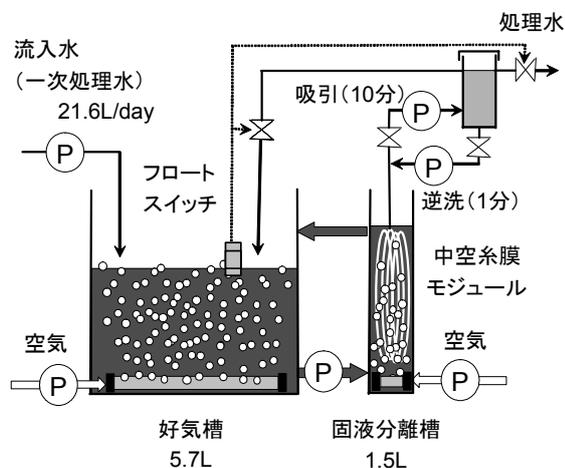


図1 連続実験装置の概要

取することで行い、固形物滞留時間（SRT）は60日に設定した。なお、連続運転期間中pHや水温の調整は行わなかった。

2) 測定方法

測定対象物質は、遊離体エストロゲンのE2、E1、E3、合成エストロゲンのEE2、エストロゲン硫酸抱合体の、β-estradiol-3-sulfate（E2-S）、estradiol 3,17-disulfate（E2-diS）、estron-3-sulfate（E1-S）、estriol 3-sulfate（E3-S）の計8化合物である。これらの物質の分析計量は週1回、流入水および処理水をスポット採取し実施した。分析方法は、小森らの方法³⁾によった。一般項目（DOC、NH₄⁺-N、NO₂⁻-N、NO₃⁻-N）の分析計量は、基本的には週2回、流入水および処理水をスポットサンプリングして実施した。

2. 2. 2. エチニルエストラジール

15年度に、内分泌攪乱化学物質（いわゆる環境ホルモン）に関する物質のうち、人畜由来のエストロゲン（女性ホルモン）と合成エストロゲンの下水道における実態について国内外の報告をまとめた。これら多くの調査により下水処理場における遊離体又は抱合体エストロゲンの存在実態が解明されつつある。しかし、経口避妊薬ピルの主成分である合成エストロゲンのエチニルエストラジオール（EE2）

表-1 下水処理場におけるEE2の実態調査結果(ng/l)

処理場	流入水		処理水		国名	文献
	機器分析*	ELISA	機器分析*	ELISA		
Southend STW			nd - 7.0		イギリス	1)
Harpden STW			nd			
Rye Meads STW			nd			
Deephams STW			nd			
Naburn STW			0.6 - 4.3			
Horsham STW			0.2 - 0.8			
Billing STW			nd			
16 STP			nd - 15		ドイツ カナダ	2)
10 STP			nd - 42			
WWTP A			<1.4		オランダ	3)
WWTP B			<1.8			
WWTP C			<0.3 - 7.5			
WWTP D			<1.8 - 2.6			
WWTP E			<0.3			
Cobis	<0.5 - 10		nd - 0.6		イタリア	4)
Fregene	<0.5 - 5.4		nd - 2.2			
Nord	<0.5 - 3.2		nd - <0.5			
Sud	<0.5 - 4.8		nd - <0.5			
A		5.3		1.8	日本	5)
B		4.5		1.9		
C		9.5		0.9		
D		10.0		1.2		
DSP-1			nd		日本	6)
DSP-2			nd			
DSP-3			nd			
DSP-4			nd			
DSP-5			nd			
DSP-6			nd			
DSP-7			nd			
20処理場	nd		nd		日本	7)

* : GC/MS, LC/MS/MS

についてみると、海外ではいくつかの処理場の流入水、処理水から検出されているが、国内においてはどの調査においても検出下限値以下 (nd) との報告であり、その存在濃度レベルは未だ不明である^{3) 4) 5) 6) 7) 8)} (表-1)。

ピルの使用が普及している欧米諸国での検出濃度は、流入水では 0.5ng/l 以下から 10ng/l、処理水では nd から 42ng/l である。従来日本ではピルの使用は認められていなかったが、平成 11 年に医師の処方が必要な医療用医薬品として承認された。土木研究所では平成 11 年にピルの使用が一般に普及する前の状況把握調査を 4 ヶ所の処理場で実施⁷⁾し、既に公表した。

本調査は、ピルの普及から数年が経過した下水処理場における EE2 の実態把握を目的としたものであり、平成 17 年 1 月、2 月に各処理場においてスポット採水を行った。EE2 の測定方法は、土木研究所がこれまで開発・検討してきた GC/MS による高感度分析手法⁹⁾ (HR-GC/MS) を用いることで、従来より一桁低い濃度レベルでの測定を行った。調査対象とした処理場は、表-2 に示す日平均処理水量約 3,000~620,000m³/day の 10 ヶ所の処理場である。また、全 10 ヶ所の処理場について LC/MS/MS による測定¹⁰⁾を行うとともに 5 ヶ所の処理場については ELISA による測定⁷⁾も行った。ELISA による測定を行った 5 ヶ所の処理場の内、A、B、C、D の 4 ヶ所の処理場は平成 11 年に土木研究所が EE2 の調査を行った処理場と同じ処理場である。

表-2 調査対象とした処理場の概要

処理場名	主な処理方式	日平均処理水量 (m ³ /day)
A	標準活性汚泥法	233,500
B	標準活性汚泥法	186,650
C	標準活性汚泥法	73,452
D	標準活性汚泥法	65,131
E	ステップエアレーション法	3,274
F	標準活性汚泥法	16,087
G	標準活性汚泥法	35,574
H	標準活性汚泥法	120,630
I	標準活性汚泥法	349,134
J	標準活性汚泥法	620,937

3. 研究結果

3. 1. 下水道における内分泌かく乱物質の簡易・迅速測定法の開発

①から③の手法とも、遊離体エストロゲンの標準溶液を用いた検討においては、対象の遊離体エストロゲンは検出されず、残渣への移行は起こらないことを確認した。

① SS 除去

表-3 に、ELISA 法による測定結果と LC/MS/MS 法による測定結果を示す。LC/MS/MS 法の測定結果はいずれも検出下限値以下 (nd) であり、測定対象の遊離体エストロゲンは SS には移行していないことが確認された。ELISA 法による測定では、流入下水と一次処理水では有意に定量される結果となり、この測定値は交差反応・妨害物質によるものであると考えられた。よって、流入下水、一次処理水に関しては、SS 除去により交差反応・妨害物質を除去

表-3 SS除去による交差反応・妨害物質の分離の効果

		E1	E2	EE2
流入下水①	ELISA法	2.18	0.20	n.d.
	LC/MS/MS法	n.d.	n.d.	n.d.
流入下水②	ELISA法	1.44	0.16	n.d.
	LC/MS/MS法	n.d.	n.d.	n.d.
一次処理水①	ELISA法	2.17	0.15	n.d.
	LC/MS/MS法	n.d.	n.d.	n.d.
一次処理水②	ELISA法	0.55	0.11	n.d.
	LC/MS/MS法	n.d.	n.d.	n.d.
二次処理水①	ELISA法	n.d.	n.d.	n.d.
	LC/MS/MS法	n.d.	n.d.	n.d.
二次処理水②	ELISA法	n.d.	n.d.	n.d.
	LC/MS/MS法	n.d.	n.d.	n.d.

できる可能性が考えられた。

② ヒューミン分画の分離

表-4 に、ELISA 法による測定結果と LC/MS/MS 法による測定結果を示す。LC/MS/MS 法の測定結果はいずれも検出下限値以下 (nd) であり、測定対象の遊離体エストロゲンはヒューミン分画には移行していないことが確認された。ELISA 法による測定では、流入下水、一次処理水および二次処理水で有意に定量される結果となり、この測定値は交差反応・妨害物質によるものであると考えられた。よって、流入下水、一次処理水および二次処理水に関しては、ヒューミン分画を分離除去することにより交差反応・妨害物質を除去できる可能性が考えられた。

表-4 ヒューミン分画の分離による交差反応・妨害物質の分離の効果

		E1	E2	EE2
流入下水①	ELISA法	0.67	0.11	n.d.
	LC/MS/MS法	n.d.	n.d.	n.d.
流入下水②	ELISA法	2.83	0.20	n.d.
	LC/MS/MS法	n.d.	n.d.	n.d.
一次処理水①	ELISA法	2.87	0.33	n.d.
	LC/MS/MS法	n.d.	n.d.	n.d.
一次処理水②	ELISA法	2.59	0.28	n.d.
	LC/MS/MS法	n.d.	n.d.	n.d.
二次処理水①	ELISA法	0.10	0.09	n.d.
	LC/MS/MS法	n.d.	n.d.	n.d.
二次処理水②	ELISA法	0.19	0.13	n.d.
	LC/MS/MS法	n.d.	n.d.	n.d.

③ フミン酸分画の分離

表-5 に、ELISA 法による測定結果と LC/MS/MS

法による測定結果を示す。LC/MS/MS 法の測定結果はいずれも検出下限値以下 (nd) であり、測定対象の遊離体エストロゲンがフミン酸分画には移行していないことが確認された。ELISA 法による測定では、流入下水、一次処理水および二次処理水で有意に定量される結果となり、特に生物処理を受ける前の段階である流入下水、一次処理水においては測定値が大きかった。その測定値は交差反応・妨害物質によるものであると考えられた。よって、特に流入下水

表-5 フミン酸分画の分離による交差反応・妨害物質の分離の効果

		E1	E2	EE2
流入下水①	ELISA法	72.3	2.13	n.d.
	LC/MS/MS法	n.d.	n.d.	n.d.
流入下水②	ELISA法	71.4	2.13	n.d.
	LC/MS/MS法	n.d.	n.d.	n.d.
一次処理水①	ELISA法	70.8	1.95	n.d.
	LC/MS/MS法	n.d.	n.d.	n.d.
一次処理水②	ELISA法	37.9	1.34	n.d.
	LC/MS/MS法	n.d.	n.d.	n.d.
二次処理水①	ELISA法	0.27	0.23	n.d.
	LC/MS/MS法	n.d.	n.d.	n.d.
二次処理水②	ELISA法	0.27	0.18	n.d.
	LC/MS/MS法	n.d.	n.d.	n.d.

および一次処理水に関しては、フミン酸を分離除去することにより交差反応・妨害物質を除去できる可能性が考えられた。

3. 2. 微量化学物質の下水道での挙動把握

3. 2. 1. 人畜由来エストロゲン

反応槽の平均的な汚泥濃度は、MLSS/VSS=2900/2500mg/L 程度であり、処理水中の溶解性窒素の形態は 80%以上を硝酸性窒素が占め、概ね硝化が進行していた。図 2 にエストロゲンの測定結果を示す。

図-3、-4 に、連続運転期間中に、反応槽の活性汚泥に、8 時間分の流入下水を添加して実施した回分実験の結果を示す。

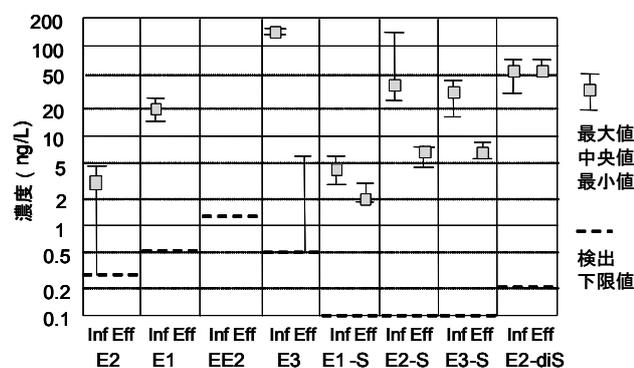


図2 流入水および処理水中のエストロゲン濃度

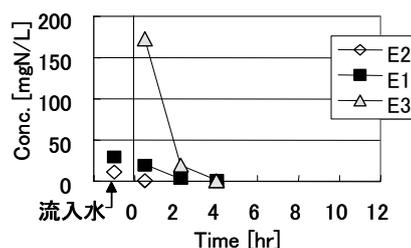


図-3 回分実験における、反応槽の遊離体エストロゲンの変化

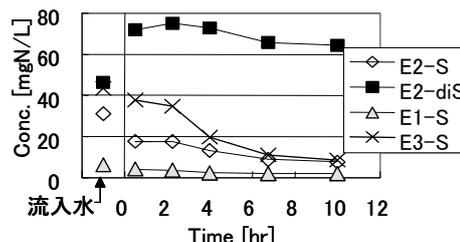


図-4 回分実験における、反応槽のエストロゲン硫酸抱合体の変化

遊離体エストロゲンは実験開始後 4 時間程度で水中からは検出されなくなったが、エストロゲン硫酸抱合体は、実験開始後 10 時間を経過しても検出され続け、一定濃度に漸近する挙動を示した。この結果は、連続実験結果を裏付けるものとなった。

結果を総括すると、下水処理場の一次処理水を流入水とした、HRT=8 時間、SRT=60 日、好気条件下(DO>5.0mg/L)での膜分離活性汚泥法での処理では、遊離体エストロゲンはほぼ完全に除去がなされる一方、エストロゲン硫酸抱合体のうち、E2-S、E1-S、E3-S に関しては一部の除去がなされるが、E2-diS に関してはほとんど変化を受けないと考えられた。よって、これらのエストロゲン硫酸抱合体は、遊離体エストロゲンと比較して、好気工程における分解性が小さいことが示唆された。

3. 2. 2. エチニルエストラジオール

10 処理場における EE2 の測定結果を表-6 に示した。HR-GC/MS による方法では、流入水ですべて nd (検出下限値以下)、処理水で nd から 0.28ng/l であった。従来から用いられている LC/MS/MS による方法では流入水、処理水とも全て nd であった。また、ELISA による方法では流入水で 6.3~25ng/l、処理水で nd~11ng/l の濃度が検出された。HR-GC/MS、LC/MS/MS、ELISA の各測定方法は、測定原理、検出方法が異なっており、それぞれ各方法の検出下限値は 0.05ng/l、0.13ng/l、0.6ng/l であ

表-6 EE2 測定結果 (ng/l)

処理場	HR-GC/MS		LC/MS/MS		ELISA	
	流入水	処理水	流入水	処理水	流入水	処理水
A	nd	0.06	nd	nd	11	nd
B	nd	0.07	nd	nd	25	11
C	nd	0.07	nd	nd	9.8	nd
D	nd	0.05	nd	nd	22	3.4
E	nd	nd	nd	nd	6.3	3.5
F	nd	nd	nd	nd	—	—
G	nd	nd	nd	nd	—	—
H	nd	0.12	nd	nd	—	—
I	nd	0.07	nd	nd	—	—
J	nd	0.28	nd	nd	—	—

注：ndはnot detectable(検出下限値以下)、—は未測定

る。検出下限値は、各測定法における検出下限値付近の濃度の標準試料を繰り返し測定し標準偏差 (S) を求め、その 3 倍 (3S) とした。

HR-GC/MS の測定結果をみると、流入水では検出下限値以下であるのに対し処理水では検出されているケースが見られる。流入水では処理水より夾雑成分が多く、前処理による精製が不十分となり EE2 のピークがベースラインのノイズに埋もれてしまったことが原因と考えられる。夾雑成分の多い試料で目的成分を検出しようとする場合、ベースラインのノイズが大きいことから、結果として、標準試料の繰り返し測定から求めた検出下限値に比べ検出下限値が高くなることもある。

HR-GC/MS、LC/MS/MS による機器分析と ELISA による測定を行った 5 ヶ所の調査結果のうち両測定方法で検出された B、D 処理場の処理水の測定値を比較すると、ELISA による測定値が 160 倍、70 倍高い値であった。ELISA による測定は抗原抗体反応と酵素反応を組み合わせた測定方法であり、目的成分 (EE2) 以外の類似化学物質の影響を受け測定値が高くなることもある。本調査では機器分析、ELISA の両測定方法で検出されたケースは 2 データのみであることから断定はできないが、ELISA による方法は機器分析に比べ 100 倍程度高い値を示す可能性があることが示唆された。

4. まとめ

(1) 下水試料中の Estrone, 17 β -estradiol 測定用 ELISA 法における、交差反応及び妨害物質を除去する簡易な前処理法として、SS 除去、ヒューミン分画の分離およびフミン酸分画の分離について検討し、特に生物処理を受ける前の段階の下水試料に関しては、フミン酸分画の分離が効果的であることが推察された。今後は、フミン酸分画の分離の手順を、前処理法のプロトコルへ編入することを検討する価値があると考えられる。

(2) 下水処理の好気工程におけるエストロゲンの遊離体及び抱合体の挙動特性を、実下水を用いたラボスケールの膜分離活性汚泥法の連続実験装置において検討した。水理的滞留時間は、一般的な下水処理場のエアレーションタンクと同程度の 8hr に設定し、MLDO、SRT についてはそれぞれ >5mg/L、60 日という好氣的生物分解に有利な処理条件を設定したところ、低水温期にもかかわらず、遊離体エストロゲンの除去は完全に行われたが、エストロゲン硫酸抱合体は、二次処理水に残留する結果となった。好気条件下では、エストロゲン硫酸抱合体は遊離体エストロゲンに比べて難分解性であることが示唆された。今後の課題としては、グルクロン酸抱合体などの硫酸抱合体以外の形態の抱合体についても同様の検討が必要であると考えられる。また、抱合体の形態で放流されたエストロゲンの水域環境中における挙動 (特に脱抱合して遊離体化する) の可能性についても検討する必要があると考えられる。

(3) HR-GC/MS、LC/MS/MS の機器分析と ELISA により下水処理場の EE2 の実態把握を行った結果、下水処理場流入水、処理水中の EE2 濃度は極微量であることが分かった。HR-GC/MS による方法では、流入水はすべて nd、処理水で nd から 0.28ng/l、LC/MS/MS による方法では流入水、処理水とも全て nd であった。ELISA による方法では流入水で 6.3 ~ 25ng/l、処理水で nd ~ 11ng/l であるが、HR-GC/MS により検出された B、D 処理場の処理水の測定値と比較すると、160 倍、70 倍高い値であり、ELISA による方法は機器分析に比べ 100 倍程度高い値を示す可能性があることが示唆された。

【参考文献】

- 1) 社団法人下水道協会編 (2002) 下水試験方法 (追補暫定版) - 内分泌攪乱化学物質編及びクリプトスポリジウム編 -, pp.285-299
- 2) 岡安祐司他 (2005) エストロゲン関連物質の好気条件下での分解特性について, 第 39 回日本水環境学会年会講演集, pp.52
- 3) C.Desbrow et al., Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. 1. Chemical fractionation and in vitro biological screening, Environmental science and Technology, Vol.32, No.11, pp.1549-1557, 1998
- 4) T.A.Ternes et al., Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants - I. Investigations in Germany, Canada, and Brazil, The Science of the Total Environment, 225,

pp.81-90, 1999

5) A.C. Belfroid et al., Analysis and occurrence of estrogenic hormones and their glucuronides in surface water and waste water in The Netherlands, *The Science of the Total Environment*, 225, pp.101-108, 1999

6) A.C.Johnson et al., Estimating steroid oestrogen inputs into activated sludge treatment works and observations on their removal from effluent, *The Science of the Total Environment*, 256, pp.163-173, 2000

7) 高橋 他, 下水試料中の環境ホルモン物質の測定, 第 37 回下水道研究発表会講演集, pp.264-266, 2000

8) 鳥貝真 他,GC/MS による下水処理場放流水及び河川水中のエストロゲンの分析, *環境化学*, Vol.10, No.3, pp.595-600, 2000

9) 末岡 他,下水試料を対象としたエストロゲンのGC/MS による高感度測定法, 第 6 回日本水環境学会シンポジウム講演集, p.97,2003

10) K. Komori et al., Analysis and Occurrence of Estrogen in Wastewater in Japan, *Water Science and Technology*, (50)5, pp93-100, 2004

11) 矢古宇靖子 他,組み換え酵母を用いた下水中のエストロゲン活性の測定,環境工学研究論文集,第 36 巻,pp.199-208,1999