

下水処理プロセスにおける化学物質の制御技術に関する研究

研究予算：運営費交付金（一般勘定）

研究期間：平 23～平 27

担当チーム：水環境研究グループ（水質）

研究担当者：南山瑞彦、小森行也、北村友一、村山康樹

【要旨】

近年、社会生活の中で身近に使用されている医薬品類や PRTR 対象物質を対象とした環境汚染実態に関する調査が進められ、河川、湖沼等の水環境に対する主要な排出源が下水道であることが明らかになりつつある。医薬品類には、クラリスロマイシン等の抗生物質の一部に生態影響が指摘されているものがある。また、PRTR では、人の健康や生態系に悪影響を及ぼすおそれがある物質（化管法第一種指定化学物質）を対象としている。医薬品類、PRTR 対象物質の一部の物質については、既往調査により下水処理場での除去特性について明らかになっているものがあるが、多くの物質の水環境での存在実態は未だに解明されていない。下水道を経由する化学物質の環境インパクトを考えると調査未実施の多く化学物質についての実態解明は急務であり、早期に下水道での実態を把握するとともに、処理水中に残存する物質については新たな除去手法の開発等、リスクを低減するための制御技術の開発を行う必要がある。平成 23 年度は、優先的に調査が必要な化学物質の選定とその分析方法の検討を行った。

キーワード：医薬品、PRTR、分析方法、LC-MS/MS、GC/MS

1. はじめに

社会生活の中で身近に使用されている医薬品類や PRTR 対象物質（462 物質）については、環境分野や水道分野において実態調査が進められており、主要な排出源が下水道であることが明らかになりつつある。医薬品類には、クラリスロマイシン等の抗生物質の一部に生態影響が指摘されているものがある。また、PRTR では、人の健康や生態系に悪影響を及ぼすおそれがある物質（化管法第一種指定化学物質）を対象としている。医薬品類、PRTR 対象物質の一部の物質については、既往調査により下水処理場での除去特性について明らかになっているものがあるが、多くの物質についての実態は不明である。下水道を経由する化学物質の環境インパクトを考えると調査未実施の多く化学物質についての実態解明は急務であり、早期に下水道での実態を把握するとともに、処理水中に残存する物質については新たな除去手法の開発と併せて、リスクを低減するための制御技術の開発を行う必要がある。

本研究は、①優先的に調査が必要な化学物質を選定し、その分析方法を提案する。②下水処理プロセスにおける除去特性の把握と下水処理プロセスにおける総毒性の除去特性の把握を行う。③下水処理水中に残存する化学物質と総毒性の除去手法を提案することを目的としている。

平成 23 年度は、優先的に調査が必要な化学物質の選定

とその分析方法の検討を行った。

2. 調査対象化学物質の選定

2. 1 医薬品類

過年度の調査又は既往研究より、河川及び下水処理水中に残存している医薬品類^{1)~3)}で水生生物に対する生態リスクが大きい可能性が指摘されている物質^{4)~6)}を本研究の調査対象物質として選定した。河川又は下水処理水から検出された医薬品類の最高濃度と各検出医薬品類の予測無影響濃度（PNEC）との比較により表-1 に示す 10 物質を選定した。

表-1 調査対象医薬品

物質名	用途
Azithromycin (アジスロマイシン)	抗生物質
Bezafibrate (ベザフィブラート)	高脂血症用剤
Caffein (カフェイン)	強心剤
Clarithromycin (クラリスロマイシン)	抗生物質
Crotamiton (クロタミトン)	鎮痒剤
Ibuprofen (イブプロフェン)	解熱鎮痛消炎剤
Ketoprofen (ケトプロフェン)	解熱鎮痛消炎剤
Levofloxacin (レボフロキサシン)	合成抗菌剤
Sulfamethoxazole (スルファメトキサゾール)	サルファ剤
Triclosan (トリクロサン)	殺菌剤

2. 2 PRTR 対象物質

PRTR 対象物質の 1 つであるノニルフェノール（種-政令番号：1-320）は、中央環境審議会水環境部会の水生生物

保全環境基準専門委員会において「水生生物の保全に係る水質環境基準」の項目追加について検討が行われている物質である。また、類似物質の4-ノニルフェノール(分岐型)と4-t-オクチルフェノール(4-t-OP)は、化学物質の内分泌かく乱作用に関する今後の対応-EXTEND2010-(平成22年7月、環境省)⁷⁾によれば、SPEED'98における取組みのなかでメダカに対し内分泌かく乱作用を有することが強く推察された物質である。EXTEND2005における取組みでも調査が行われ、ノニルフェノールの甲殻類(アミ類)に及ぼす影響に関する実験において、環境水中濃度よりやや高い濃度のノニルフェノールはアミ類の脱皮を抑制することで成長阻害を引き起こすことが認められたと報告されている。環境省が行ってきた化学物質の生態影響試験結果⁸⁾によれば、ノニルフェノールはミジンコ急性遊泳阻害試験の48h-EC50が0.059mg/L、繁殖阻害試験の21day-NOECが0.089mg/L、魚類急性毒性試験の96h-LC50が0.24mg/Lと報告されている。また、4-t-オクチルフェノールについては魚類急性毒性試験の96h-LC50が0.36mg/Lと報告されている。

このようにノニルフェノール及び4-t-オクチルフェノールは水生生物に対し毒性を有することから水系リスクをもたらす物質と考えられることから本調査における調査対象物質とした。

また、アルキルフェノール(AP)は、界面活性剤のアルキルフェノールポリエトキシレート(APhEO)が好気条件下で生物分解し、エトキシ鎖の短いアルキルフェノールエトキシレート(AP1EO、AP2EO)又は、エトキシ鎖の短いアルキルフェノールエトキシ酢酸(AP1EC、AP2EC)になることが知られている。APhEOは嫌気条件下で生物分解を受けエトキシ鎖の短いアルキルフェノールエトキシレート(AP1EO、AP2EO)又は、アルキルフェノール(AP)になる。好気・嫌気条件下で生物分解を受けエトキシ鎖の短くなったこれらの物質は、嫌気条件下の汚泥処理によりAPとなる⁹⁾。APの調査においては前駆物質であるAPEO、APECもあわせて調査することが重要となる。

本調査では、アルキルフェノール類のうち、アルキルフェノール(AP)はノニルフェノール(NP)と4-t-オクチルフェノール(4-t-OP)、アルキルフェノールエトキシレート(APEO)はノニルフェノールエトキシレートのエトキシ基数が1~15(NP(1)EO~NP(15)EO)、オクチルフェノールエトキシレートのエトキシ基数が1~10(OP(1)EO~OP(10)EO)、アルキルフェノールエトキシ酢酸(APEC)はノニルフェノールエトキシ酢酸のエトキシ基数が0、1~9(NP(1)EC~NP(10)EC)、オクチルフェノールエトキシ酢酸のエトキシ基数が0、1~2(OP(1)EC~OP(3)EC)を調

査対象物質とした。

3. 調査対象化学物質の分析方法

3.1 医薬品類

調査対象医薬品として選定した10物質の分析は、LC/MS/MSによる一斉分析(9物質)と、GC/MSによる分析(トリクロサン)とした(表-2参照)。

LC/MS/MSによる一斉分析は、小西ら¹⁰⁾の方法を参考に抽出・濃縮等の前処理を行った後、LC-MS/MSを用いて測定する方法とした。また、GC/MSによるトリクロサン分析は、宝輪ら¹¹⁾の方法を参考に抽出・濃縮・誘導体化等の前処理を行った後、GC/MSを用いて測定する方法とした。

表-2 医薬品分析方法

物質名	分析方法
アジスロマイシン ベザフィブラート カフェイン クラリスロマイシン クロタミトン イブプロフェン ケトプロフェン レボフロキサシン スルファメトキサゾール	固相抽出/LC-MS/MS (一斉分析)
トリクロサン	固相抽出/GC-MS

LC/MS/MSによる医薬品分析9物質一斉分析フローとGC/MSによるトリクロサン分析フローを図-1、図-2に示す。

医薬品9物質の一斉分析は、図-1の分析フローに従い、前処理(抽出・精製)した後、サロゲート法により定量した。各対象物質について、横軸に検量線溶液中の濃度、縦軸にサロゲート物質との面積値の比をとり、検量線(直線近似式)を求めた。この検量線に測定試料中の対象物質とサロゲート物質との面積値の比を代入して、バイアル中の濃度を算出後、最終液量及び試料量から試料中濃度を求めた。試料量200mLで前処理した場合の検出下限値は、アジスロマイシン(2.2ng/L)、ベザフィブラート(4.1ng/L)、カフェイン(12.4ng/L)、クラリスロマイシン(8.1ng/L)、クロタミトン(0.3ng/L)、イブプロフェン(0.9ng/L)、ケトプロフェン(1.1ng/L)、レボフロキサシン(3.3ng/L)、スルファメトキサゾール(5.8ng/L)であった。

トリクロサンの分析は、図-2の分析フローに従い、前処理(抽出・精製)した後、試料濃度の算出は内部標準法で行った。各対象物質について、横軸に検量線溶液中の濃度、縦軸に対象物質面積値 / IIS 面積値比をとり、検量線(直線近似式)を求めた。ここで、トリクロサンのIISには、GC/MSカラム保持時間の近い、p-テルフェニル

下水処理プロセスにおける化学物質の
制御技術に関する研究

-d14 を用いた。この検量線に試料中の対象物質面積値 / IIS 面積値比を代入して、バイアル中の濃度を算出後、最終液量及び試料量から試料中濃度を求めた。これを Label 化体の回収率によって補正した濃度を算出した。

検量線の濃度範囲は試料ピーク面積値の大きさに合わせて適宜設定した。その際、濃度段階が 4 点以上となるようにした。試料量 200mL で前処理した場合の検出下限値は、10.8ng/L であった。

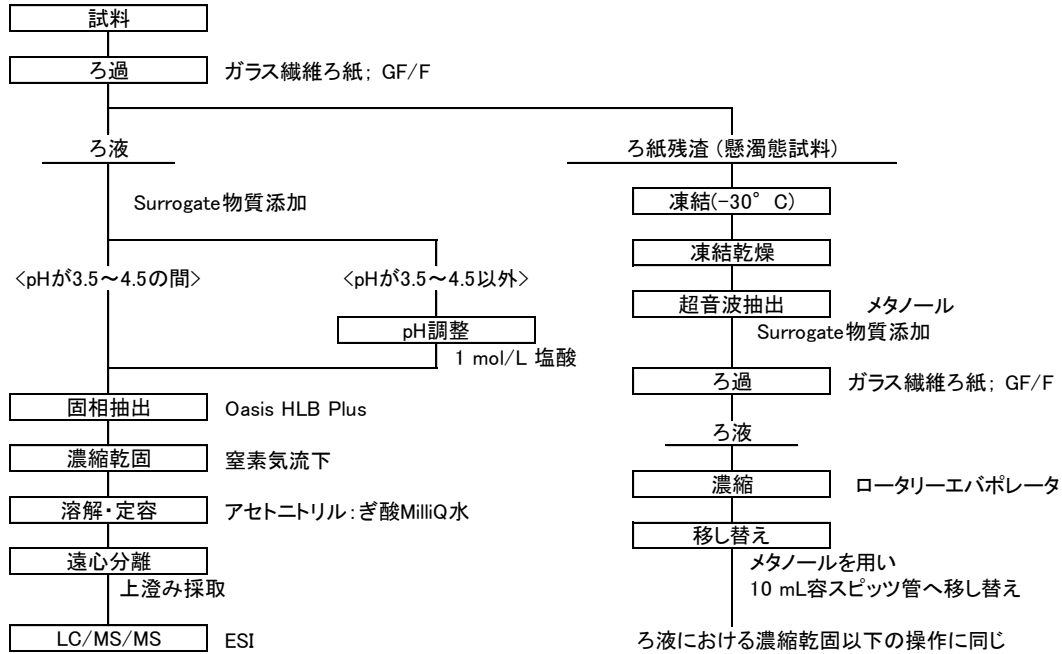


図-1 LC/MS/MS による医薬品分析 9 物質一斉分析フロー

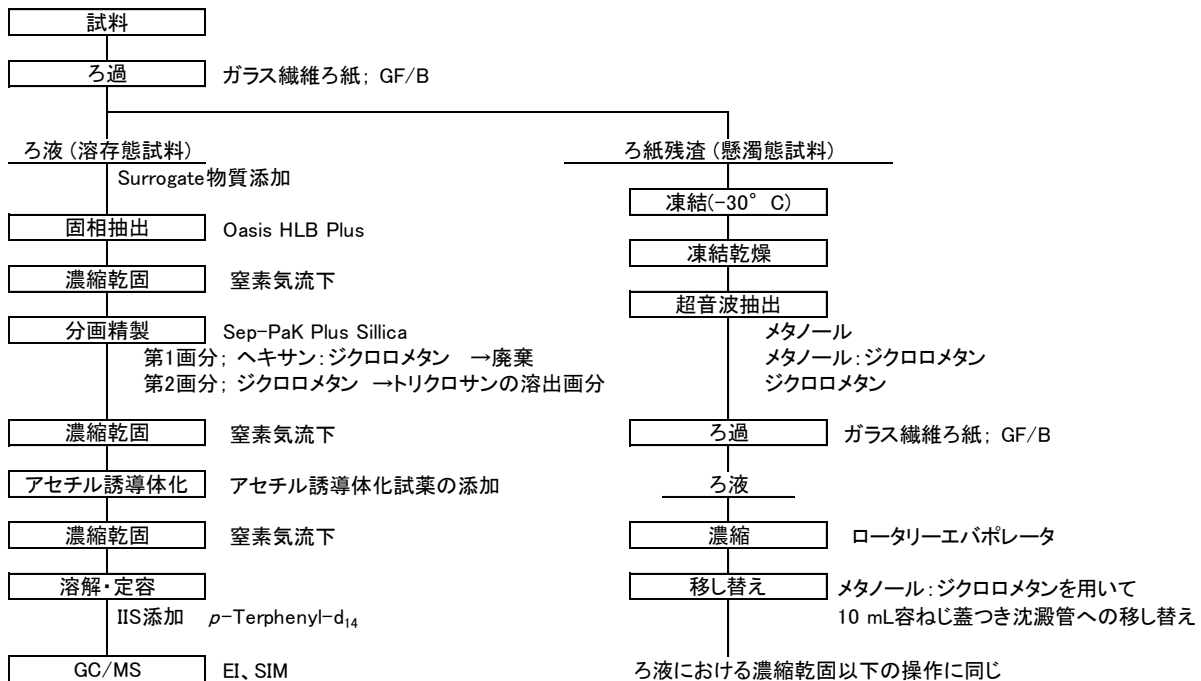


図-2 GC/MS によるトリクロサン分析フロー

3. 2 PRTR 対象物質

アルキルフェノール類の分析は、既往研究・調査報告等^{12)~21)}を参考に下水試料に最も適した方法を選択した。NP、4-t-OPの分析は、GC/MSにより定量する方法、NPEC、OPEC、NPEO、OPEOはLC-MS/MSにより定量する方法とした。

NP、4-t-OPの分析は、図-3に示すとおり、ろ液試料は、ジクロロメタンによる液-液抽出の後、5%含水シリカゲルを用いて不純物を除いたのちガスクロマトグラフ質量分析(GC/MS)計により定量した。SS試料は、アセトンを用いて超音波抽出を行った後精製水に溶解した。その後は、

ろ液試料と同様の操作により定量した。

NPの検出下限値は25ng/Lであり、5試料について試験した分析操作BLは、29~75ng/Lであった。また、流入下水にNPを100ng添加して行った添加回収試験の結果、回収率は92%であった。

4-t-OPの検出下限値は1.6ng/Lであり、5試料について試験した分析操作BLは<1.6~2.7ng/Lであった。また、流入下水に4-t-OPを15ng添加して行った添加回収試験の結果、回収率は76%であった。

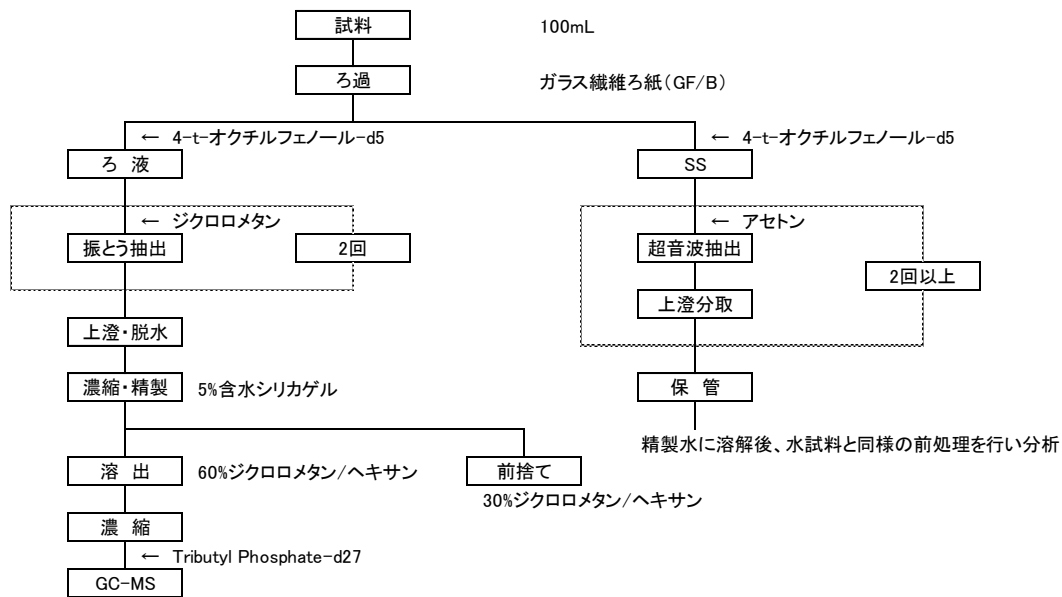


図-3 NP、4-t-OPの分析フロー

EC、OPECの分析は、図-4に示すとおり、ろ液試料は、pH2に調整した後EDS-1による固相抽出による方法とした。メタノールとメタノール/酢酸エチルにより溶出した後、精製し(液体クロマトグラフ質量分析(LC-MS/MS)計により定量した。SS試料は、メタノールを用いて超音波抽出を行った後精製水に溶解した。その後は、ろ液試料と同様の操作により定量した。

NPECの検出下限値は0.7ng/L~6.1ng/Lであり、4試料について試験した分析操作BLは、すべて検出下限値以下

であった。また、流入下水にNP(1)EC~NP(10)ECをそれぞれ50ng添加して行った添加回収試験の結果、NP(1)EC~NP(10)ECの回収率は74%~90%であった。

OPECの検出下限値は0.7ng/L~5.3ng/Lであり、4試料について試験した分析操作BLはすべて検出下限値以下であった。また、流入下水にOP(1)EC~OP(3)ECをそれぞれ50ng添加して行った添加回収試験の結果、OP(1)EC~OP(3)ECの回収率は75%~93%であった。

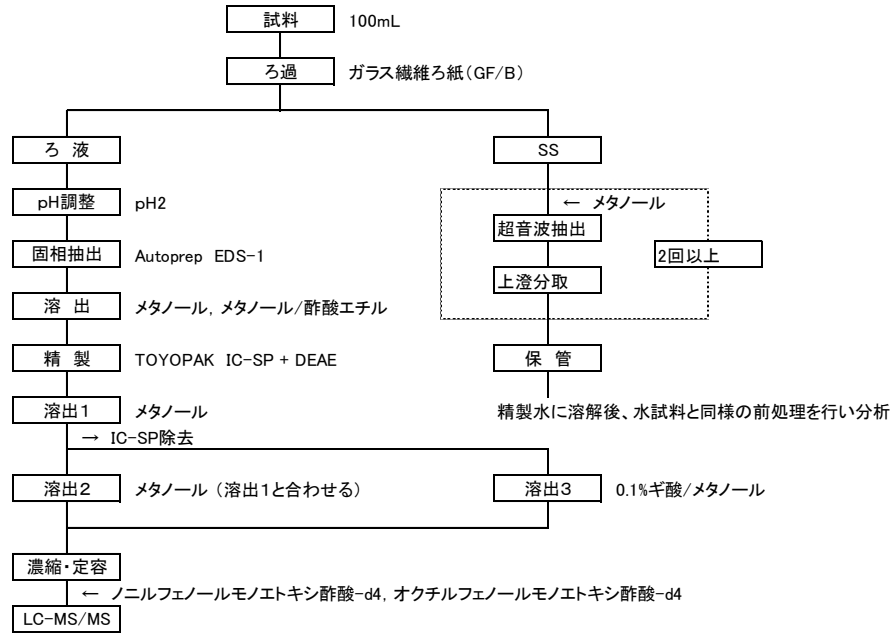


図-4 NPEC、OPEC の分析フロー

NPEO、OPEO の分析は、図-5 に示すとおり、ろ液試料は、pH2 に調整した後 EDS-1 による固相抽出による方法とした。メタノールとメタノール/酢酸エチルにより溶出した後、精製し（液体クロマトグラフ質量分析（LC-MS/MS）計により定量した。SS 試料は、メタノールを用いて超音波抽出を行った後精製水に溶解した。その後はろ液試料と同様の操作により定量した。

NPEO の検出下限値は 1.1ng/L～7.0ng/L であり、4 試料について試験した分析操作 BL は、2.0ng/L～16ng/L であ

った。また、流入下水に NP(1)EO～NP(15)EO をそれぞれ 200ng 添加して行った添加回収試験の結果、NP(1)EO～NP(15)EO の回収率は 86%～97%であった。

OPEO の検出下限値は 1.0ng/L～2.8ng/L であり、4 試料について試験した分析操作 BL はすべて検出下限値以下であった。また、流入下水に OP(1)EO～OP(10)EO をそれぞれ 200ng 添加して行った添加回収試験の結果、OP(1)EO～OP(10)EO の回収率は 71%～103%であった。

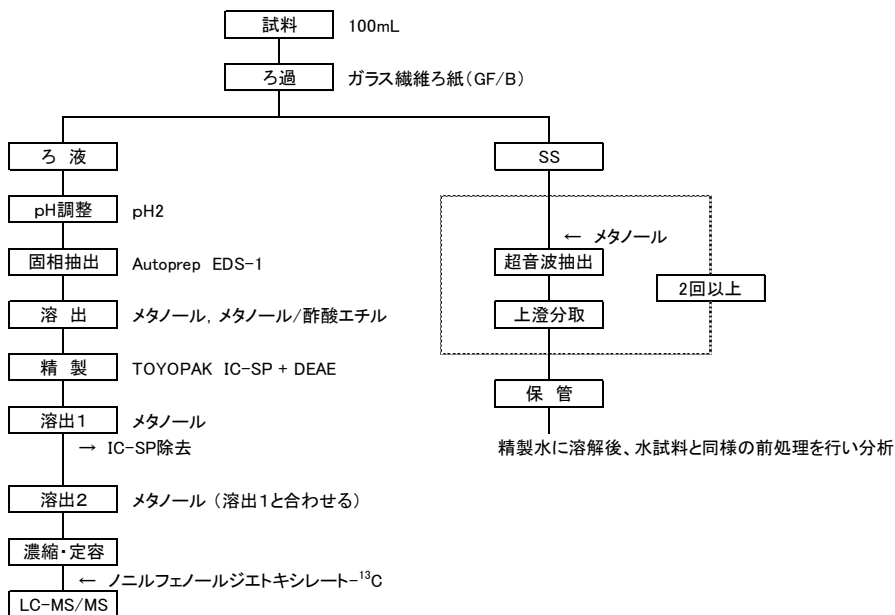


図-5 NPEO、OPEO 分析フロー

4. まとめ

優先的に調査が必要な医薬品類として、河川及び下水処理水中に残存し、水生生物に対する生態リスクが大きい可能性が指摘されている10物質を選定した。また、PRTR対象物質からは、NPとその関連物質の4-t-OP、NPEC、OPEC、NPEO、OPEOを選定した。選定した医薬品類(10物質)及びNP及びその関連物質の分析は、前処理(抽出・精製)後、GC/MS又はLC-MS/MSにより定量する方法を提案した。

医薬品10物質のうちトリクロサンを除く9物質はLC-MS/MSによる一斉分析とし、各物質の検出下限値は、アジスロマイシン(2.2ng/L)、ベザフィブラート(4.1ng/L)、カフェイン(12.4ng/L)、クラリスロマイシン(8.1ng/L)、クロタミトン(0.3ng/L)、イブプロフェン(0.9ng/L)、ケトプロフェン(1.1ng/L)、レボフロキサシン(3.3ng/L)、スルファメトキサゾール(5.8ng/L)であった。また、トリクロサンはGC/MSによる分析で検出下限値は10.8ng/Lであった。

NP、4-t-OPは、GC/MSによる分析とし検出下限値はそれぞれ25ng/L、1.6ng/Lであった。NPEC、OPEC、NPEO、OPEOはLC-MS/MSにより分析とし検出下限値はそれぞれ0.7~6.1ng/L、0.7~5.3ng/L、1.1~7.0ng/L、1.0~2.8ng/Lであった。

参考文献

- 1) 小森行也ほか(2009)生活排水の処理状況が異なる都市域小河川における医薬品の存在実態と生態リスク初期評価、水環境学会誌、Vol. 32、No. 3、pp. 133-138
- 2) 成宮正倫ほか(2009)下水処理過程における医薬品の存在実態と動態、環境工学研究論文集、第46巻、pp. 175-185
- 3) 小森行也ほか(2010)下水処理場放流水中の医薬品とその生態リスク評価、資源環境対策、Vol. 48、No. 8、pp. 14-19
- 4) 福永彩ほか(2006)藻類生長阻害試験を用いた医薬品の毒性評価、環境工学研究論文集、第43巻、pp. 57-63
- 5) 南山瑞彦ほか(2011)生理活性物質の水環境中での挙動と生態系影響の評価方法に関する研究、土木研究所資料第4212号、平成22年度下水道関係調査研究年次報告書集、pp. 239-265
- 6) 環境省、生態影響試験結果一覧(平成23年3月版)、化学物質の生態影響試験について、<http://www.env.go.jp/chemi/sesaku/01.html>
- 7) 化学物質の内分泌かく乱作用に関する今後の対応-EXTEND2010-、p. 2、平成22年7月、環境省
- 8) 環境省、化学物質の生態影響試験について、生態影響試験結果一覧(平成23年3月版)p. 38、p. 23、<http://www.env.go.jp/chemi/sesaku/01.html>

- 9) MARUAN AHEL, WALTER GIGER, MARKUS KOCH (1994) BEHAVIOUR OF ALKYLPHENOL POLYETHOXYLATE SURFACTANTS IN THE AQUATIC ENVIRONMENT-I, WATER RESEARCH、Vol. 28、No. 5、pp. 1131-1142
- 10) 小西千絵ほか(2006)水環境中医薬品のLC-MS/MSによる一斉分析法の検討、環境工学研究論文集、pp. 73-82
- 11) 宝輪勳ほか(2007)GC-MSによる水環境中のPPCPs一斉分析法の基礎的検討、第16回環境化学討論会講演要旨集、pp. 774-775
- 12) 環境省水・大気環境局水環境課 要調査項目等調査マニュアル(平成22年10月)4-t-オクチルフェノール及びノニルフェノールの分析法、pp. 8-17
- 13) 堀井勇一ほか(2004)相対感度係数を用いるノニルフェノール異性体別測定法の開発と検証、分析化学、53、pp. 1139-1147
- 14) 小西博之ほか(2006)飲料水中ノニルフェノールの分析法の検討、東京健安研七報 Ann. Rep. Tokyo Metr. Inst. P. H.、57、pp. 319-323
- 15) JIS K 0450-20-10:2006 工業用水・工場排水中のアルキルフェノール類試験方法
- 16) JIS K 0450-60-10:2007 工業用水・工場排水中の4-ノニルフェノールの異性体別試験方法
- 17) 吉田寧子ほか(2004)高速液体クロマトグラフ/質量分析法を用いたアルキルフェノールエトキシレート及びその関連物質の定量、水環境学会誌、27、pp. 41-46
- 18) Haude, F. et al. (2002) Liquid chromatographic-tandem mass spectrometric determination of nonylphenol polyethoxylates and nonylphenol carboxylic acids in surface water、J. Chromatogr. A、961、pp. 245-256.
- 19) 川中洋平ほか(2000)LC/MS/MSを用いた河川水及び下水処理場放流水中のノニルフェノールポリエトキシレートの定量、環境化学、10、pp. 607-614
- 20) 環境省環境保健部環境安全課 化学物質分析法開発調査報告書(平成16年度)ポリ(オキシエチレン)ノニルフェニルエーテル
- 21) 環境省環境保健部環境安全課 化学物質分析法開発調査報告書(平成17年度)ポリ(オキシエチレン)アルキルエーテル

A STUDY ON OCCURRENCE AND CONTROL OF MICRO POLLUTANT IN ACTIVATED SLUDGE
PROCESS

Budget: Grants for operating expenses
(General account)

Research Period: FY2011-2015

Research Team: Water Quality Research Team,
Water Environment Research Group

Author: MINAMIYAMA, Mizuhiko

KOMORI, Koya

KITAMURA, Tomokazu

MURAYAMA, Kouki

Abstract:

The occurrence and fate of physiologically active substances (e.g., pharmaceuticals) in the water environment are emerging issues in environmental chemistry. Although there have been various reports on the efficiency of removing pharmaceuticals at wastewater treatment plants (WTP), many pharmaceuticals still exist in WTP effluent, and sometimes at concentrations exceeding environmental risk levels. Further studies on techniques for removing pharmaceuticals in WTP effluent are required to control these compounds. The objectives of this research are to determine the occurrence and fate of selected pharmaceuticals in activated sludge process and to develop new technique the removal of to remove pharmaceuticals in WTP effluent using the microbial carrier process. In FY 2011, we selected 10 study pharmaceuticals and some alkyl phenol. Analytical methods of these pharmaceuticals were examined.

Key words: analytical method, micro pollutant, pharmaceuticals, wastewater