

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：岡本誠一郎、小森行也、北村友一

【要旨】

本研究では、社会生活の中で身近に使用されている医薬品類や PRTR 対象物質の一部に生物影響が指摘されているものがあることから、下水道を経由する化学物質等の環境インパクト低減を目的として下水処理プロセスにおけるこれら化学物質（医薬品類）及び総毒性の挙動把握とリスクを低減するための制御技術の検討を行った。

その結果、医薬品類の担体処理における除去率は、活性汚泥処理の除去率に比べ大きな値を示したことから、微生物担体を用いる高度処理が二次処理水に残存する医薬品類の除去に有効であることがわかった。また、流入下水がメダカに及ぼす影響は、発達（development）、輸送（transport）、信号伝達（signaling）、筋肉（muscle）への影響が大きかった。発達への影響は下水処理過程で低減したが、輸送、シグナル伝達、筋肉への影響は、下水処理後も残存する可能性があった。

キーワード：医薬品、担体処理、メダカ、バイオアッセイ、遺伝子発現解析

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、医薬品類では、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 制度では、人の健康や生態系に悪影響を及ぼすおそれがある物質を（化管法）第一種指定化学物質としている。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影響の可能性を考慮すると調査未実施の多くの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 26 年度は、活性汚泥処理プロセスと微生物担体を用いた高度処理プロセスにおける医薬品類の除去

特性について調査を行った。また、流入下水、砂ろ過水、担体処理水に曝露したメダカの次世代シーケンサーによる網羅的遺伝子発現解析による総毒性の低減効果に関する調査を行った。

2. 活性汚泥処理プロセスと微生物担体を用いた高度処理プロセスにおける医薬品類の除去特性

2. 1 調査方法

調査は、有効水深が約 2m の最初沈殿池(0.5m³)、エアレーションタンク(0.5m³×4 槽)、最終沈殿池(0.7m³)で構成される活性汚泥処理実験装置と微生物保持担体を添加した反応槽(10L×4 槽)の担体処理実験装置を用いて行った(図-1 参照)。実下水処理場の流入下水を定量ポンプを用いて活性汚泥処理実験装置に導入した。生汚泥、余剰汚泥の引扱はタイマーコントロールによる間欠運転で行った。活性汚泥処理実験装置は、流入下水量 6.8m³/d、汚泥返送率約 38%、エアレーションタンク HRT 約 7 時間で運転した。担体処理実験装置は担体を嵩比率 35%で添加、反応槽は担体が浮遊するよう機械攪拌し、担体表面に自然発生的に付着した生物膜により高度処理した。担体処理実験装置の各反応槽の HRT は約 30 分であり、担体処理水④では約 2 時間の HRT となる。

分析試料は、運転開始から 2 ヶ月以上経過した後に、流入下水、初沈流出水、AT-1 混合液、AT-3 混合液、終

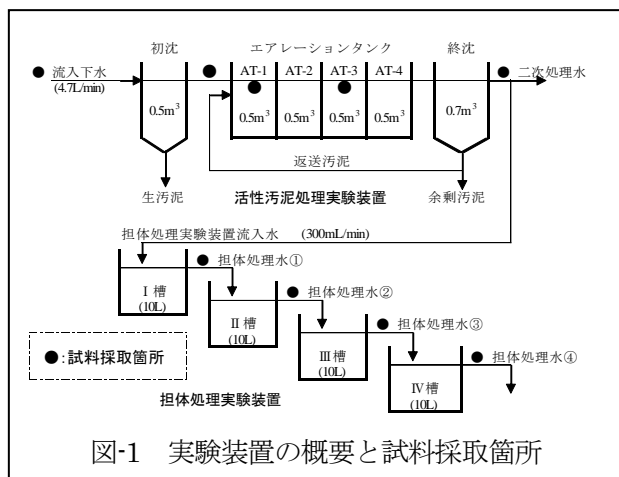


図-1 実験装置の概要と試料採取箇所

沈流出水(二次処理水)、担体処理水①~④を2時間間隔で採取し、それぞれ採取した各試料を等量混合したコンジット試料とした。

調査対象医薬品類は、クラリスロマイシン、アジスロマイシン、ケトプロフェン、トリクロサンの4物質とした。これら4物質は下水処理水に残存し、藻類生長阻害¹⁾²⁾又はミジンコ繁殖阻害³⁾があることが報告されている物質である。

クラリスロマイシン、アジスロマイシン、ケトプロフェンは、ガラス繊維ろ紙(GF/B)でろ過したろ液をOasis HLBを用い固相抽出した後、LC-MS/MSにより分析⁴⁾した。また、トリクロサンの分析は、ガラス繊維ろ紙(GF/B)でろ過したろ液をOasis HLBを用い固相抽出した後、アセチル誘導体化しGC-MSにより分析⁵⁾した。

2. 2 調査結果

一般水質項目分析結果を表-1に示す。本実験装置のBOD除去率は94%であり、本装置の処理水質は標準活性汚泥法の実下水処理場と同レベルであった。流入下水中のNH₄-N、NO_x-Nの濃度は、それぞれ20mg/L、0.05mg/L以下であるのに対し、二次処理水では0.47mg/L、18mg/Lで十分に硝化が進行していた。また、エアレーションタンク混合液のMLSS、余剰汚泥引き抜き量より計算したSRTは約13日であった。

活性汚泥処理実験装置及び担体処理実験装置の各処

表-1 一般水質項目分析結果

	流入水	初沈流出水	二次処理水	担体処理水④
BOD (mg/L)	150	140	9.1	-
DOC (mg/L)	35	37	7.8	6.4
NH ₄ -N (mg/L)	20	21	0.47	0.04
NO _x -N (mg/L)	<0.05	<0.05	18	19
TN (mg/L)	33	31	20	20
TP (mg/L)	3.2	3.2	1.6	1.6
水温 (°C)	16.8	16.4	14.9	13.4

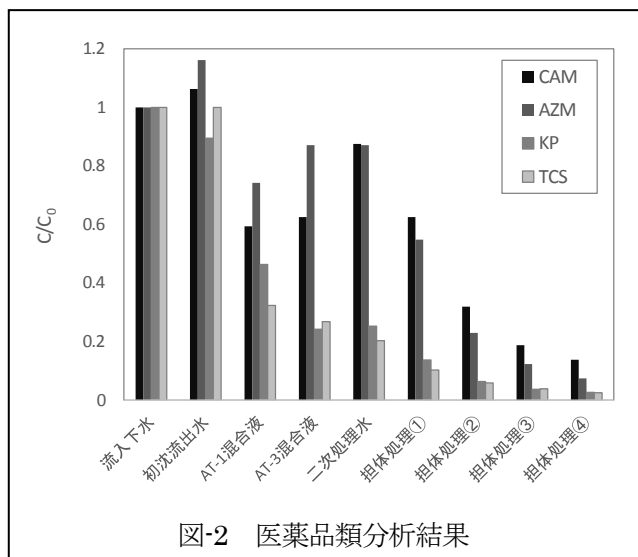


図-2 医薬品類分析結果

理プロセスにおける医薬品類4物質の分析結果を図-2に示す。流入下水のクラリスロマイシン(CAM)、アジスロマイシン(AZM)、ケトプロフェン(KP)、トリクロサン(TCS)の濃度は、それぞれ1,600ng/L、310ng/L、950ng/L、340ng/Lであった。図-2は、流入下水の医薬品類濃度をC₀、各プロセスの医薬品類濃度をCとし、C/C₀で示した。CAM、AZMは、初沈流出水で流入下水に比べ約10%高い値を示したが、エアレーションタンク内で減少し、二次処理水ではそれぞれ1,400ng/L、270ng/Lとなり流入下水の0.88、0.87の値を示した。本調査における活性汚泥処理による除去率は、それぞれ12%、13%である。KPは、初沈流出水で流入下水の0.89を示し、エアレーションタンク内で大きく減少し、二次処理水では240ng/Lとなり流入下水の0.25となった。TCSは、初沈流出水では流入下水とほぼ同じ値を示し、エアレーションタンク内で大きく減少し、二次処理水では69ng/Lとなり流入下水の0.2となった。KP、TCSの活性汚泥処理による除去率は、それぞれ75%、80%である。

担体処理実験装置での医薬品の減少は、各物質とも処理が進むにつれ減少し、担体処理水④では二次処理水(担体処理実験装置流入水)の1/5以下となった。担体処理における医薬品類除去率は、合計HRTが約2時間の担体処理水④では、CAMが84%、AZMが91%、KPが90%、TCSが88%であった。CAM、AZMは、活性汚泥処理での除去率(12%、13%)に比べ大きな除去率を示し、担体処理水④の濃度は220ng/L、23ng/Lであった。KP、TCSは、活性汚泥処理における除去率が75%、80%であり、活性汚泥処理により比較的除去され易い物質ではあるが、流入下水の20~25%は二次処理水に残存している。これら二次処理水に残存す

る KP、TCS は担体処理により更に除去することができ、担体処理水④の濃度は 25ng/L、8.5ng/L となった。また、担体処理における医薬品類除去は、DOC 除去率 18% に比べ大きな値を示したことから、二次処理水に残存する溶存有機物の中でも比較的除去され易い物質ということができる。

3. 下水処理プロセスにおける総毒性の低減効果

医薬品などの化学物質は活性汚泥処理過程で、種類によるが、ある程度除去されていることが明らかになった。しかし、個別の化学物質の濃度から生物影響を予測することは困難である。下水処理過程での生物影響評価の低減効果は、直接的なバイオアッセイから確認することも重要である。本研究では、流入下水、砂ろ過水、担体処理水に曝露したメダカについて、毒性の多角的な評価が可能と考えられている次世代シーケンサーによる網羅的遺伝子発現解析から、下水処理過程での毒性低減効果の評価を試みた。

3. 1 実験方法

3. 1. 1 下水処理実験装置

図-3 に調査に使用した下水処理実験装置の概要を示す。実験装置は、図-1 上段に示した活性汚泥処理実験装置の後に砂ろ過と担体処理装置を加えたものである。担体処理装置の反応槽は 1 槽とし、微生物が自然発生的に保持されたポリプロピレン製円筒担体(φ 5mm, 長さ 5mm, 厚さ 1mm)が充填され、水理学的滞留時間 2 時間で砂ろ過水を処理した。メダカの曝露水は、流入下水、砂ろ過水、担体処理水とし、対照区は水道水を活性炭処理した脱塩素水道水とした。採水時期は、2014 年 11 月 5~6 日で、24 時間連続採水とした。メダカの曝露水の水質分析は、DOC、NH₄-N、NO₂-N、NO₃-N 濃度とした。

3. 1. 2 メダカ曝露実験

メダカの曝露実験と遺伝子発現解析は、表-2 の方法で行った。曝露方式は半止水式、曝露時間は 96 時間とし、肝臓と鰓の RNA を抽出した。RNA サンプルは、同曝露区の 10 匹分の一部を混合して 1 曝露区 1 検体

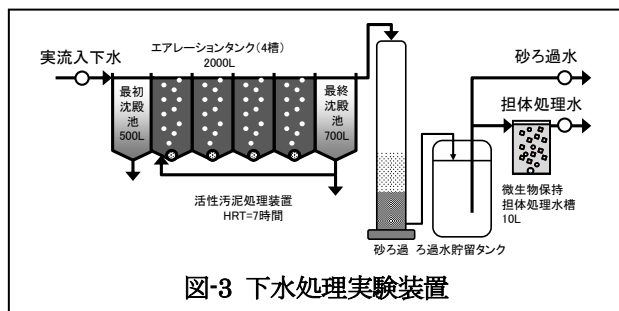


図-3 下水処理実験装置

表-2 曝露実験と遺伝子発現解析の実施方法

試験魚	d-rR系 ヒメダカ(6~7カ月齢)
曝露匹数	雄メダカ 10匹 /曝露区 雌メダカ 10匹 /曝露区
曝露時間	96時間
曝露水量	5L
曝露方式	半止水式(1日1回全換水)
試験水	流入下水 砂ろ過水 担体処理水 脱塩素水道水(対照区)
設定水温	24℃
照明	明期16時間/暗期8時間
給餌	なし
曝気	DOが低い試料は緩やかに曝気 飽和溶存酸素濃度の50%以上を確保
解析機器	肝臓、鰓
RNA抽出法	RNeasy mini kitにより1個体毎に抽出
RNA試料の調整	同曝露区の10匹分を1つに混合
遺伝子発現解析法	次世代シーケンサー Miseq(v3 150cycle)
cDNAライブラリ調製試薬	Truseq Stranded mRNA Sample Prep Kit

とした。そして、TruSeq Stranded mRNA Sample Prep Kit (Illumina) で cDNA ライブラリを調製し、次世代シーケンサー-Miseq (Illumina) を使い、ペアエンドリード (75bp×2) で塩基配列を取得した。

3. 1. 3 データ解析

データ解析は、セルイノベーション (国立遺伝学研究所データ解析拠点) ⁶⁾ を利用した。塩基配列が記載された FASTQ ファイルをアップロードし、Tophat2 でメダカゲノムにマッピング後、Cufflinks2 でゲノム上の遺伝子の位置と構造を推定した。Cuffmerge で 16 サンプル分の遺伝子推定結果を統合し、Cuffdiff で遺伝子発現量を計算した。

遺伝子発現量は、シーケンスされた cDNA 断片の総量と遺伝子の長さの両方で補正した値である、FPKM (Flagments Per Kilobase of exon per Million reads mapped) で表した。同じゲノム領域に複数の Isoform が確認された場合は、それらの FPKM の和を求め、ゲノム上の 1 領域につき 1 遺伝子となるようにした。また、解析の都合上、FPKM が 0.001 未満の場合は 0.001 に置換した。そして、各曝露区で、対照区と比較して FPKM が 2 倍以上、または 1/2 以下になった遺伝子を、その曝露区の発現変動遺伝子とした。

発現変動遺伝子の機能を解析するにあたり、メダカの遺伝子の機能情報が不足していたため、遺伝子の機能は、Uniprot-GOA に登録されている、ヒトの Gene Ontology (GO) データベース ⁷⁾ を利用した。始めに、各遺伝子の塩基配列を用い、ヒトのリファレンスシーケンス (Refseq Protein⁸⁾) に対して相同性検索 (Blastx) を行った。そして、それぞれの遺伝子と最も相同性が高いヒトの Refseq ID に対応した GO を、その遺伝子の機能とした。

遺伝子の機能の統計解析には、統計解析環境 R 3.2.0 および Excel を使用した。各曝露区の発現変動遺伝子について、特定の機能に關与する遺伝子が有意に多く含まれているか否かを Fisher の正確確率検定で検定した。解析対象の遺伝子機能は、5 個以上の遺伝子が含まれる機能に限定した。また、遺伝子機能は大きく Biological Process、Molecular Function、Cellular Component の 3 種に区分されているが、このうち Biological Process 關連の機能を対象とした。

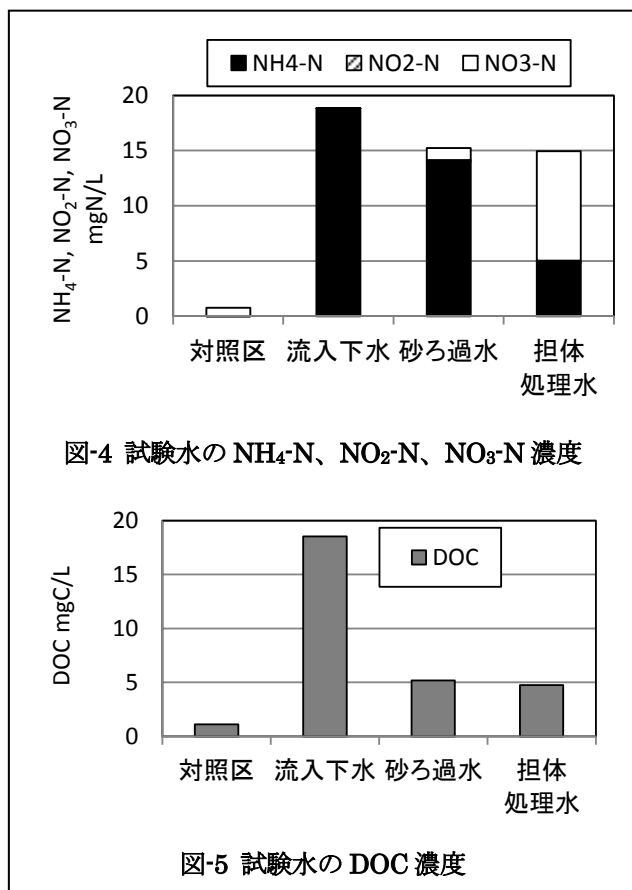
3. 2 実験結果

3. 2. 1 水質分析結果

図-4 は、試験水の NH₄-N、NO₂-N、NO₃-N 濃度、図-5 は、DOC 濃度である。活性汚泥処理で硝化が抑制されていたため、砂ろ過水の NH₄-N 濃度が高くなっていった。流入下水、砂ろ過水、担体処理水の NH₄-N 濃度は 18.8、14.0、4.9mgN/L であった。NO₂-N 濃度は、担体処理水の 0.17mgN/L が最大で、溶存態窒素濃度に占める割合は低かった。DOC 濃度は、活性汚泥処理で 72%低下したが、担体処理ではさらなる低下はみられなかった。

3. 2. 2 遺伝子発現解析結果

図-6 は、雄メダカの、肝臓と鰓における、対照区に対する曝露区の発現変動遺伝子数である。図-7 は、雌



メダカの結果である。発現変動遺伝子数は、雄メダカと雌メダカで似た傾向を示した。発現変動遺伝子数は、上昇と低下の合計でみると、肝臓と鰓のどちらも、流入下水と比較して砂ろ過水で低下した。雄メダカでは、担体処理による発現変動遺伝子数の変化は小さかった。雌メダカの鰓では、担体処理でも発現変動遺伝子数が低下した。活性汚泥処理による発現変動遺伝子数の低下は、肝臓よりも鰓で顕著であった。

流入下水の生体毒性を明らかにするため、Fisher の正確確率検定による発現変動遺伝子の機能 (GO) 解析

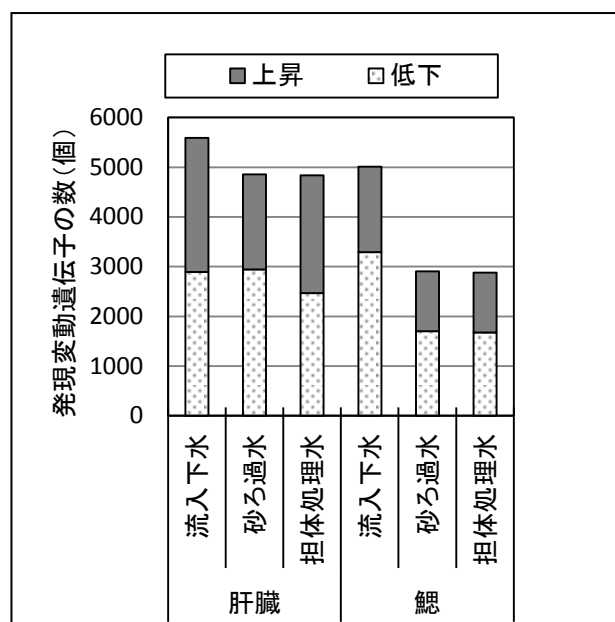


図-6 対照区雄メダカに対する曝露区雄メダカの発現変動遺伝子数

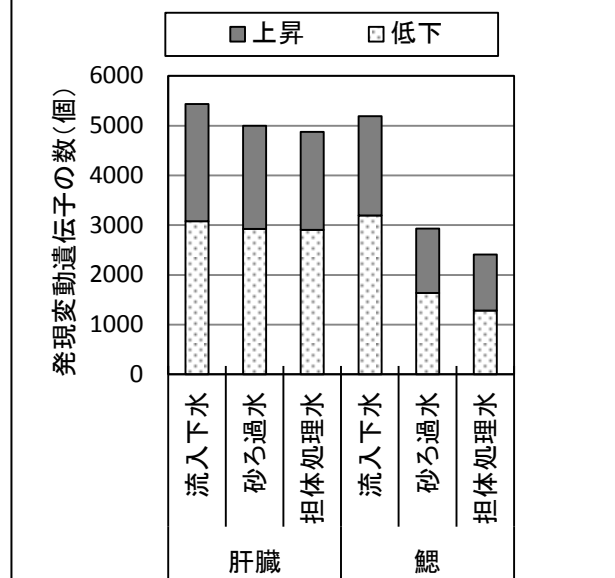
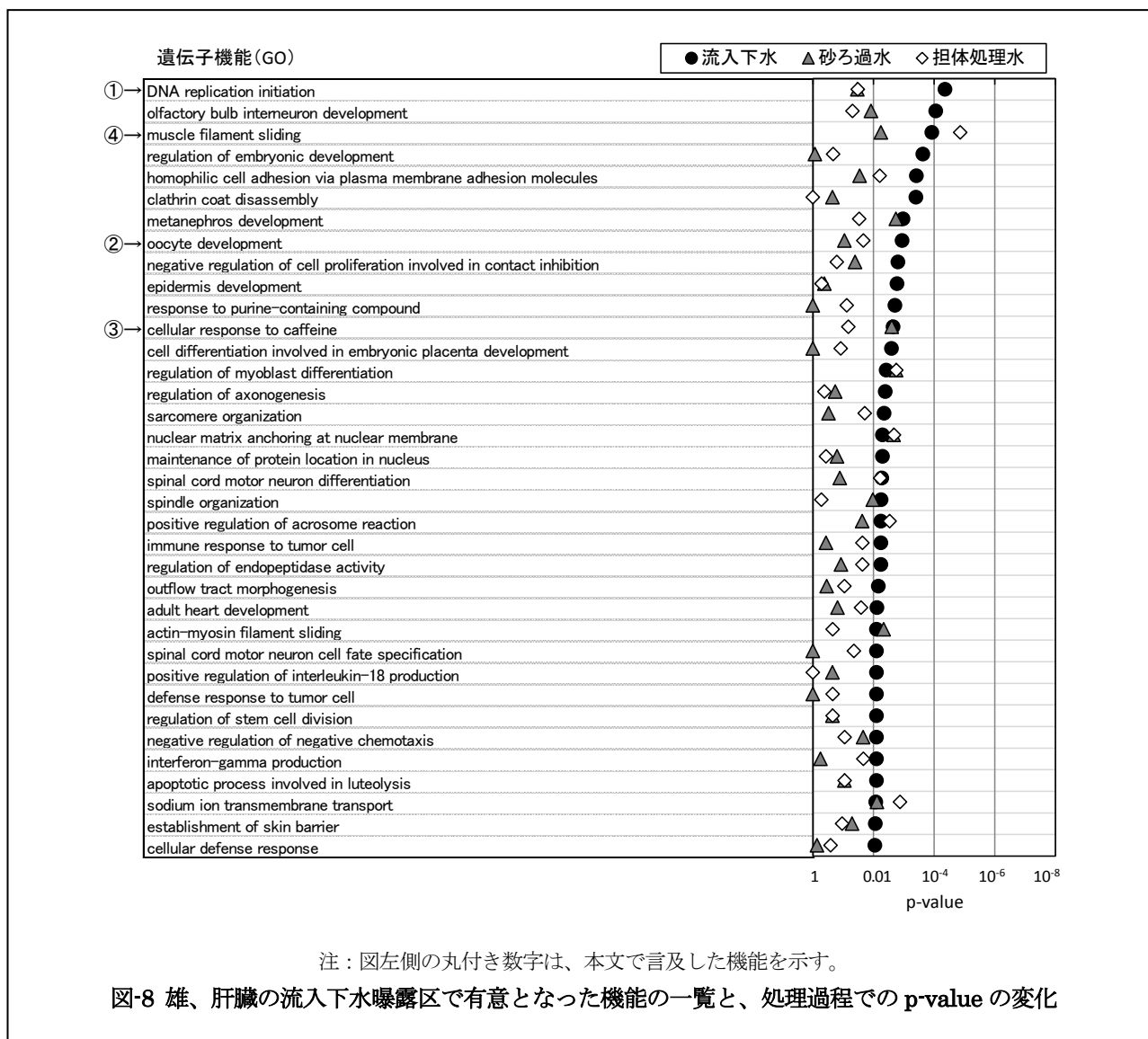


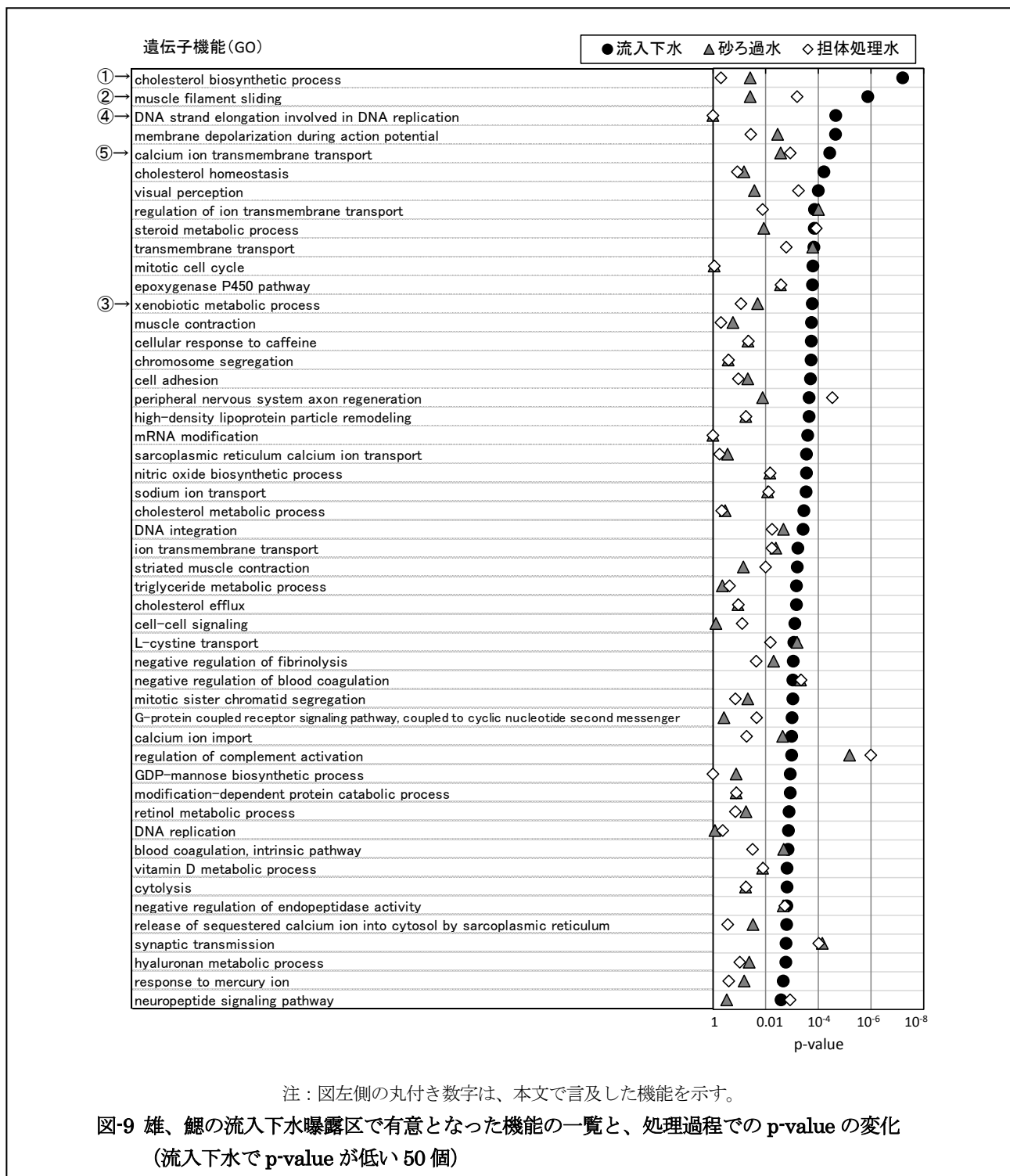
図-7 対照区雌メダカに対する曝露区雌メダカの発現変動遺伝子数



を行った。有意水準についての客観的な基準はないが、p-value 0.01 未満となった場合、その機能に関連した遺伝子群に、対照区と比較して有意な変化があったと考えることとした。図-8～図-11 は、性別および臓器毎の発現変動遺伝子の GO 解析結果である。GO の機能名は、流入下水曝露区で p-value が低い順に示した。以下では、p-value が最も低い機能、下水処理水中に残存する女性ホルモン様物質や医薬品類などの影響が予想される機能、個体の生存上重要と思われる機能について説明する。雄の肝臓 (図-8) の流入下水曝露区では、36 個の機能が有意となった。流入下水で最も p-value が低い機能は、DNA 複製開始 (DNA replication initiation, GO:0006270, ①) であり、流入下水のみで有意となった。卵母細胞の発達 (oocyte development, GO:0048599, ②) も、流入下水のみで有意となった。この機能遺伝子群は、卵膜蛋白前駆物

質のコリオジェニンなどを含み、雄魚の雌性化に関連していると考えられる。化学物質名を含んだ機能としては、カフェインに対する細胞応答 (cellular response to caffeine, GO:0071313, ③) が流入下水と砂ろ過水で有意となった。筋繊維のすべり運動 (muscle filament sliding, GO:0030049, ④) は、臓器 (肝臓、鰓) や性 (雄、雌) によらず流入下水で有意となった唯一の機能で、雄の肝臓では砂ろ過水と担体処理水でも有意となった。

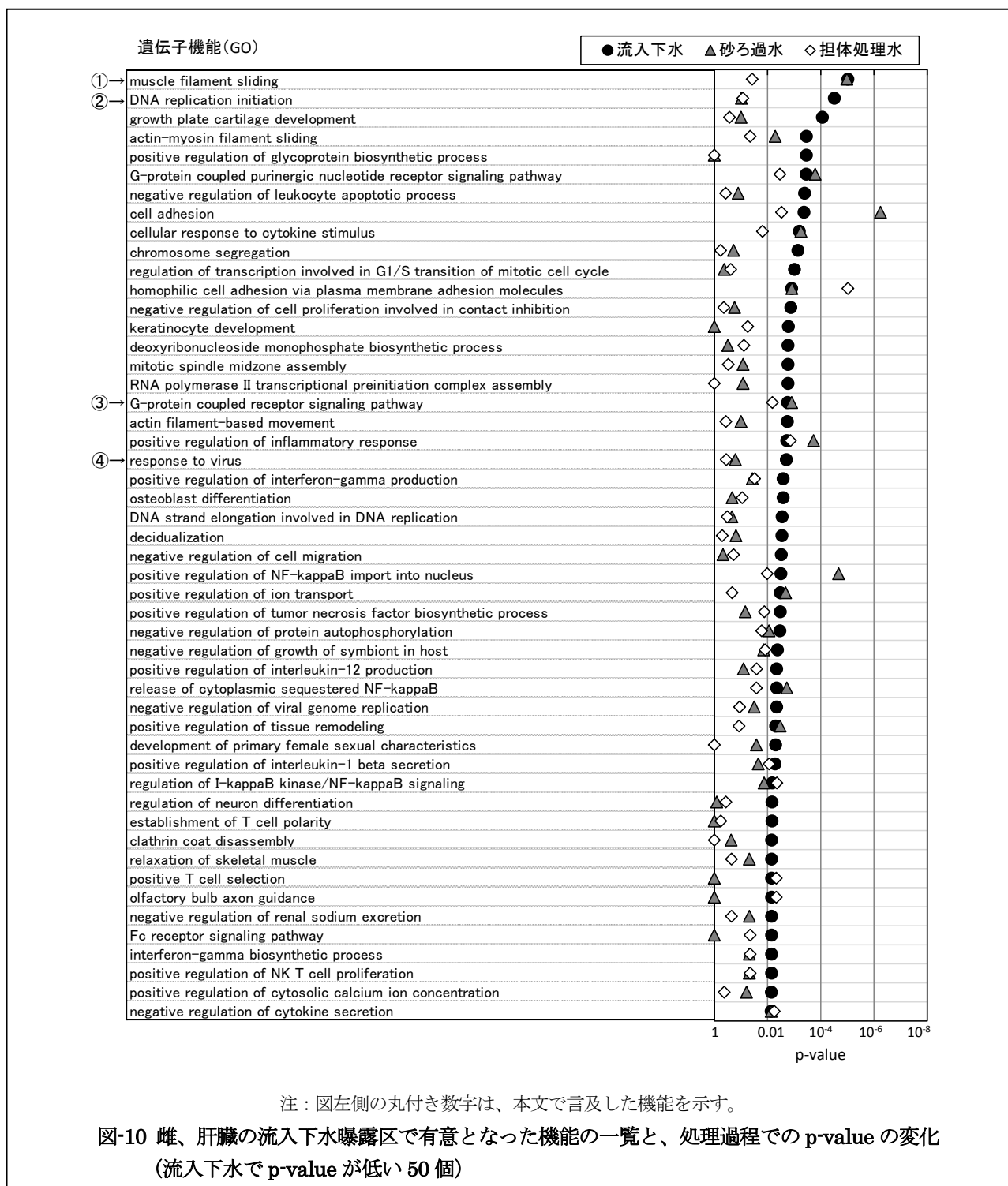
雄の鰓の流入下水曝露区では、93 個の機能が有意となった (図-9 には p-value が低い 50 個を示した)。流入下水で最も p-value が低い機能は、コレステロール合成 (cholesterol biosynthetic process, GO:0006695, ①) であり、流入下水のみで有意となった。流入下水で p-value が 2 番目に低い機能は、筋繊維のすべり運動 (②) で、これは担体処理水でも有意であった。薬



物代謝酵素 Cytochrome P450 family 1, family 2 の他多様な酵素を含み、医薬品類の影響を考える上で重要な機能である生体外物質の代謝 (xenobiotic metabolic process, GO:0006805, ③) は、流入下水のみで有意となった。DNA の複製は個体の生存上重要であるが、これに関連した機能としては、DNA 複製時の DNA 鎖伸長 (DNA strand elongation involved in DNA replication, GO:0006271, ④) が、流入下水のみで有

意となった。物質輸送に関連した機能としては、カルシウムイオン膜輸送 (calcium ion transmembrane transport, GO:0070588, ⑤) が、砂ろ過水や担体処理水でも有意であった。

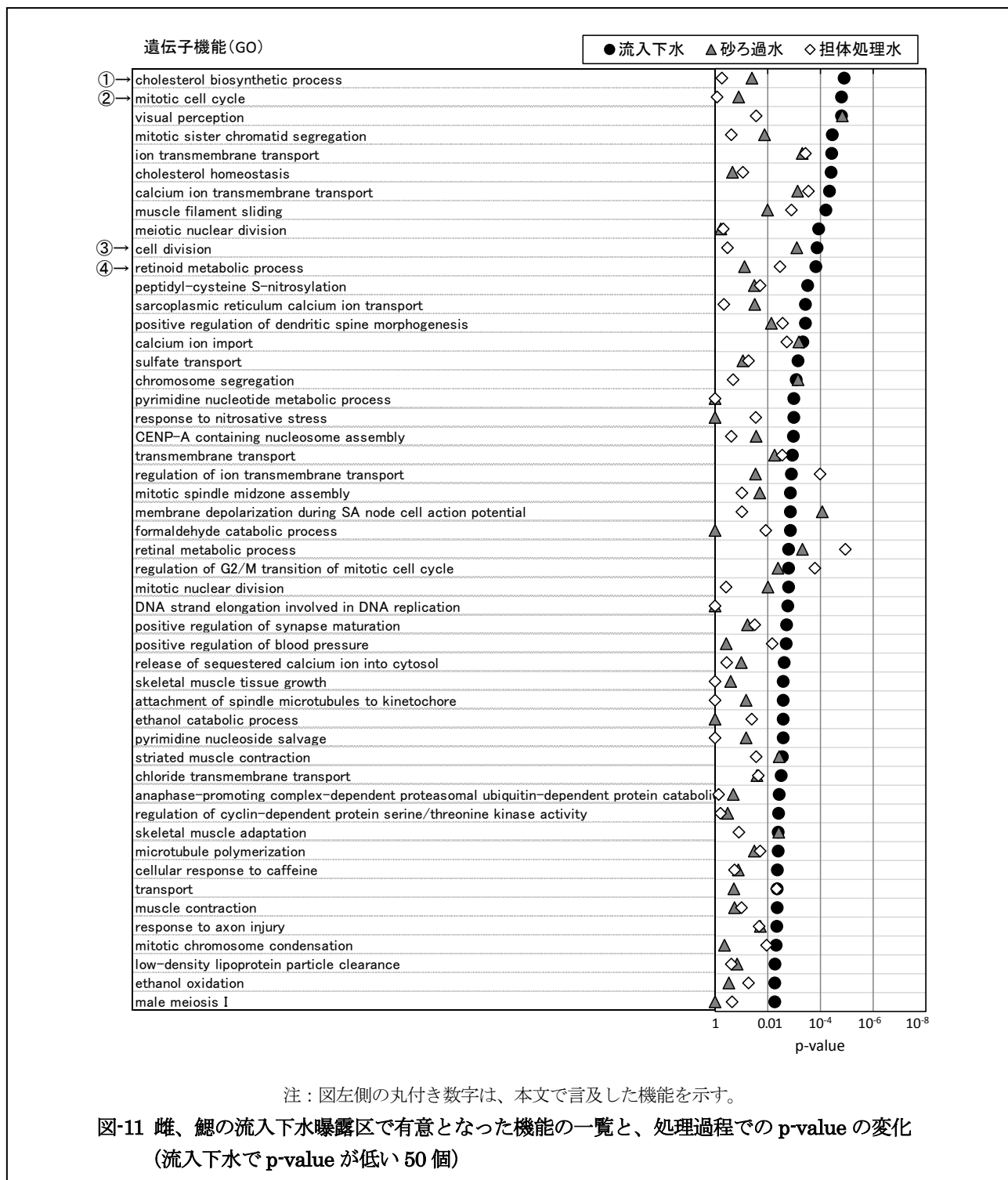
雌の肝臓の流入下水曝露区では、57 個の機能が有意となった (図-10 には p-value が低い 50 個を示した)。流入下水で最も p-value が低い機能は、筋繊維のすべり運動 (①) であり、担体処理水で $p > 0.01$ となった。



流入下水で p-value が 2 番目に低い機能は、DNA 複製開始 (②) であり、流入下水のみで有意となった。この 2 つを含む 6 つの機能が、雄の肝臓と雌の肝臓で共通して、流入下水で有意となっていた。G タンパク質連結型受容体関連シグナル (G-protein coupled receptor signaling pathway, GO:0007186, ③) は、砂ろ過水と担体処理水でも有意であった。G タンパク質連結型受容体は、神経伝達物質受容体や、網膜の光受

容体など様々な種類のもが存在し、医薬品の標的としても重要となっている。ウイルスへの応答 (response to virus, GO:0009615, ④) は、流入下水のみで有意となった。

雌の鰓の流入下水曝露区では、74 個の機能が有意となった (図-11 には p-value が低い 50 個を示した)。流入下水で最も p-value が低い機能は、コレステロール合成 (①)、2 番目に低い機能は、体細胞の分裂サイク



ル (mitotic cell cycle, GO:0000278, ②) であり、いずれも流入下水のみで有意となった。細胞分裂 (cell division, GO:0051301, ③) は、流入下水と砂ろ過水で有意であった。レチノイド (ビタミン A 前駆体) の代謝 (retinoid metabolic process, GO:0001523, ④) は、流入下水と担体処理水で有意であった。生体外物質の代謝は、雄の鰓とは異なり、雌の鰓の流入下水では有意にならなかった。雌の鰓の流入下水曝露区で有意と

なった機能のうち 35 個は、雄の鰓の流入下水曝露区でも有意であった。また、雌の鰓と雄の鰓で、流入下水曝露区で p-value が低い 10 個の機能を比較すると、5 個の機能が共通していた。流入下水が鰓の遺伝子発現に及ぼす影響は、雄と雌で共通した要素が多いと考えられる。

各下水試料曝露で有意となった遺伝子機能について、性別や臓器についての共通性や特異性を把握するため、

表-3 遺伝子機能名に含まれる主な単語の、流入下水曝露区で有意となった機能名と、流入下水と担体処理水の両方で有意となった機能名における出現頻度 (表の数値は、各単語を含む機能の個数)

注: 本文中で言及した単語は太字で示した。

機能・概念	単語	流入下水で有意 ($p < 0.01$)				流入下水で $p < 0.01$ かつ 担体処理水で $p < 0.01$			
		雄		雌		雄		雌	
		肝臓	鰓	肝臓	鰓	肝臓	鰓	肝臓	鰓
機能・概念	development (発達)	7	2	3	0	0	1	0	0
	growth (成長)	0	1	2	1	0	1	0	0
	stress (ストレス)	0	0	0	1	0	0	0	0
	muscle (筋肉)	1	8	2	6	1	2	0	1
	mitotic (有糸分裂)	0	3	2	8	0	1	0	1
	transport (輸送)	1	12	1	9	1	7	0	5
	apoptotic (細胞死)	1	0	2	0	0	0	0	0
	signaling (シグナル)	0	4	5	2	0	2	3	0
	immune (免疫)	1	0	0	0	0	0	0	0
	xenobiotic (生体外物質)	0	1	0	0	0	0	0	0
protein, DNA	protein	1	3	1	4	0	0	0	0
	lipoprotein	0	1	0	1	0	0	0	0
	collagen	0	1	0	0	0	0	0	0
	DNA	1	5	2	1	0	1	0	0
	RNA	0	0	1	0	0	0	0	0
	mRNA	0	1	0	0	0	0	0	0
	nucleotide	0	2	1	1	0	0	1	0
	nucleoside	0	0	0	1	0	0	0	0
シグナル・免疫	G-protein	0	1	2	1	0	0	2	0
	dopamine	0	1	0	0	0	0	0	0
	cytokine	0	0	2	0	0	0	1	0
	interferon-gamma	1	0	2	0	0	0	0	0
	T (T細胞)	0	0	3	0	0	0	1	0
無機物	ion	1	12	2	7	1	4	0	4
	cation	0	1	0	1	0	0	0	0
	acid	0	1	0	1	0	0	0	0
	sulfate	0	0	0	1	0	0	0	0
	calcium	0	8	1	5	0	2	0	2
	sodium	1	1	1	0	1	1	0	0
	ammonium	0	1	0	0	0	0	0	0
有機物	organic	0	1	0	1	0	0	0	0
	steroid	0	1	0	0	0	1	0	0
	cholesterol	0	5	0	3	0	0	0	0
	triglyceride	0	1	0	0	0	0	0	0
	vitamin	0	2	0	0	0	0	0	0
	retinal	0	1	0	1	0	0	0	1
	pyrimidine	0	1	0	2	0	0	0	0
	ethanol	0	0	0	2	0	0	0	0
	drug	0	2	0	0	0	1	0	0
	caffeine	1	2	0	1	0	0	0	0

遺伝子機能名を構成する様々な単語について、出現個数を集計した。流入下水で有意となった遺伝子機能名の一覧は、341 個の単語で構成されていた。表-3 は、流入下水で有意となった遺伝子機能名についての、主な単語の出現回数である。表右側は、処理で影響が残存した機能、すなわち、流入下水で有意かつ担体処理水でも有意となった機能の集計結果である。表には、

代表的な概念 10 個と、主な物質名 30 個を掲載した。

流入下水で有意な機能のうち、発達 (development) を含む機能名は、雄の肝臓で多かった。筋肉 (muscle) と輸送 (transport) は、雄と雌のどちらも、鰓で多かった。mitotic (mitosis = 有糸分裂) は、体細胞の分裂に関連した単語で、雌の鰓で多かった。apoptotic (apoptosis = アポトーシス、細胞死) は、雄と雌の肝

臓で有意な機能があった。免疫 (immune) は、雄の肝臓でのみ有意な機能があった。

タンパク質 (protein) を含む機能は、鰓で多かった。DNA を含む機能は、雄の鰓で多くみられたが、RNA は少なかった。

G-protein は、肝臓では雌のみで有意となった。免疫に関連する単語である cytokine、interferon-gamma、T (T 細胞) は、雌の肝臓で比較的多くみられ、鰓では該当するものはなかった。

ion および calcium は雄と雌のどちらも、鰓で多かった。カルシウムイオンは、筋繊維の運動とシグナル伝達の両方で重要な働きを担っており、流入下水曝露区では、雄雌を問わず、これらの機能について何らかの影響が生じていたものと考えられる。本実験の曝露水はアンモニアを多く含んでいたが、ammonium を含む機能は雄の鰓以外では有意にならなかった。

有機物関連では、コレステロール (cholesterol) が、雄と雌のどちらも、鰓で多かった。薬物 (drug) は雄の鰓でのみ有意となった。カフェイン (caffeine) は鰓だけでなく、雄の肝臓でも有意であった。

流入下水で有意かつ担体処理水でも有意となった機能の集計結果をみると、発達 (development) は、雄の鰓で 1 機能のみ有意で、他は 0 であることから、流入下水がメダカの発達関連の機能に及ぼす影響は、活性汚泥処理+担体処理で低減できていたと考えられる。

輸送 (transport)、信号伝達 (signaling)、筋肉 (muscle) は、担体処理後でも比較的有意な機能が多く残っていた。ion や calcium についても同様であった。流入下水が輸送、シグナル伝達関連および筋繊維関連の機能に及ぼす影響は、担体処理後も残存していたと考えられる。

担体処理後、drug は雄の鰓で 1 つ有意な機能が残った。この機能は薬物の膜輸送 (drug transmembrane transport, GO:0006855) であった。caffeine は、有意な機能の数が 0 になった。生体外物質の代謝 (xenobiotic metabolic process) が担体処理水で有意ではなくなっていたことから、薬物の代謝に関する機能についての影響は、活性汚泥処理+担体処理で低減できていたと考えられる。

4. まとめ

下水処理水に残存し水生生物への影響が懸念される医薬品類4物質について活性汚泥処理プロセスと微生物担体を用いた高度処理プロセスにおける除去特性の調査を行い以下の結果を得た。

・CAM、AZMは、活性汚泥処理による除去率は12%、13%であるが、微生物担体処理では84%、91%であり、全体除去率は86%、93%であった。また、KP、TCSの活性汚泥処理による除去率は、75%、80%であるが担体処理により更に90%、88%除去が可能であり、全体除去率は97%、98%であった。

・担体処理における医薬品類の除去率は、活性汚泥処理の除去率に比べ大きな値を示したことから、微生物担体を用いる高度処理が二次処理水に残存する医薬品類の除去に有効であることがわかった。

また、メダカ成魚の下水処理水曝露実験と次世代シーケンサーによる網羅的遺伝子発現解析を行い、下水が生物に及ぼす遺伝子レベルでの影響について、下水処理過程での低減効果について検討した。得られた知見を以下に記す。

・対照区と下水処理工程水曝露区で発現量が変動した遺伝子の個数は、肝臓、鰓とも流入下水曝露区で高く、砂ろ過水や担体処理水で低下した。特に、鰓の発現変動遺伝子数は、活性汚泥処理で大きく低下することがわかった。

・流入下水曝露区で有意となった発現変動遺伝子のうち、発達、免疫に関連する遺伝子機能は肝臓で、筋肉、輸送、イオンに関連する遺伝子機能は鰓で多くみられた。肝臓と鰓では生体影響の現れ方が異なることがわかった。

・流入下水曝露区では雄の肝臓で発達 (development) に関わる遺伝子の発現変動が多かったが、担体処理水では少なくなっていた。流入下水が発達関連の機能に及ぼす影響は、下水処理工程で低減したのと考えられた。一方で、輸送 (transport)、信号伝達 (signaling) および筋肉 (muscle) への影響は、担体処理後も残存していた。

参考文献

- 1) 福永他, 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, 43, pp.57-63, 2006
- 2) A. Harada et al., Biological effects of PPCPs on aquatic lives and evaluation of river water, Water Science & Technology, Vol.58, No.8, pp.1541-1546, 2008
- 3) 環境省, 化学物質の生態影響試験について, <http://www.env.go.jp/chemi/sesaku/seitai.html>, 2006
- 4) 小西他, 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, 43, pp.73-82 (2006)
- 5) 宝輪他, 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 (2007)

6) セルイノベーション (国立遺伝学研究所データ解析拠点), 最終利用日:2015/5/29

<https://cell-innovation.nig.ac.jp/members/index.html>

7) Uniprot-GOA, 利用日:2015/3/3

<http://www.ebi.ac.uk/GOA>

8) Refseq データベースおよび Blastn 検索プログラム (National Center for Biotechnology Information, NCBI), 最終利用日:2014/1/29

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

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,

Author: Seiichiro OKAMOTO, Koya KOMORI,
Tomokazu KITAMURA

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 2014, this research was a study of the removal of selected four pharmaceuticals (triclosan, clarithromycin, azithromycin, and ketoprofen) was investigated at experimental sewage treatment plant and the use of the microbial carrier process to perform advanced treatment to remove these compounds from wastewater treatment plant effluent. As a result of gene expression analysis of medaka exposed to untreated sewage, activated sludge treated water and microbial carrier treated water. The untreated sewage water contained development, transport and signaling toxicity. The development toxicity was reduced in the activated sludge treatment process. But, the transport, signaling and muscle toxicity might remain after the sewerage treatment process.

Key words: bioassay, medaka, gene expression, microbial carrier, pharmaceuticals