

平成 21 年 5 月 21 日現在

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2007～2008

課題番号：19760372

研究課題名（和文）下水処理場での多環芳香族炭化水素類(PAHs)の動態把握と微生物分解性の評価

研究課題名（英文）Behavior of PAHs (polycyclic aromatic hydrocarbons) in sewage treatment plant and the estimation of biodegradation in it

研究代表者

尾崎 則篤 (Noriatsu OZAKI)

広島大学・大学院工学研究科・准教授

研究者番号：50294541

研究成果の概要：本研究では分流式下水道での多環芳香族炭化水素類(PAHs)の動態を明らかにし、下水処理過程、特に活性汚泥反応槽内における微生物分解性を明らかにすることを目的として郊外部の下水処理場を対象とし調査および室内実験を行った。下水処理場内調査、尿尿処理場調査、また調理こげ生成試験により、家庭排水を主要な寄与とする発生源を明らかにした。それによると下水由来の PAHs 量負荷は、代表的な 16 物質の合計値(以下同じ)で 30~3000 $\mu\text{g}/(\text{人}\cdot\text{日})$ であり、また放流負荷は 6~300 $\mu\text{g}/(\text{人}\cdot\text{日})$ であった。これらの負荷源は主に家庭排水に由来するものであり、また尿尿ではなく、生活雑排水が主な負荷源であると考えられた。その内容としては、特に調理こげの重要性が示唆された。一方、放流水が水系の負荷へ寄与する割合を検討したところ、一般的に PAHs の主な経路とされる大気降下と比較すると、無視し得ない寄与であることが明らかになった(1 割以上程度)。これは都市域においては生活排水に由来する寄与も無視し得ないことを意味している。処理場内における分解特性について述べると、その平均的な分解率は 40~80%であると見積もられた。これは一般に考えられているよりもかなり高い値であり、その理由としては、PAHs が汚泥とともに処理場内部で循環をし、それにより長時間の、分解に十分な滞留時間が得られたためではないかと考えられた。いっぽう、室内実験においては、集積培養によってある程度の分解率が得られたものの、反応槽と同程度の条件では、ほとんど分解されなかった。この違いは今後の検討課題である。低分子の PAHs については分解に関与する菌種の同定を行い、Betaproteobacteria に属する菌が関与していることを明らかにした。さらに光分解性の有無について検討した。下水処理場内では光分解の影響はないと考えられた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,600,000	0	1,600,000
2008 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	510,000	3,810,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：土木工学・土木環境システム

キーワード：PAHs,多環芳香族炭化水素類,下水処理場,生物分解性

1. 研究開始当初の背景

社会活動によって非意図的に排出する微量環境汚染化学物質のひとつとして多環芳香族炭化水素類(PAHs)がある。PAHsは主に化石燃料の燃焼によって生じる物質群でありベンゾ(a)ピレンをはじめとする発癌性をもつものも多く、米国 EPA ではそれら 6 物質を優先モニタリング物質としている。PAHsは自動車、工業、家庭など広範な発生源を持ち、都市大気、水系汚染物質として環境リスクの大きさが懸念されている。

PAHsの大気中、水環境中の動態については様々な研究が行われておりその動態が次第に明らかになりつつある。筆者等も大気と水系の両方をフィールドとして研究をおこない動態の解明につとめているところである。しかしながら未だリスクマネジメントを行うにあたっての十分な情報を得ているという状況からは遠い。研究における現状の問題点としては以下の2点がある：

- ・ 発生原単位が曖昧で、そのため解析の出発点となるべき発生総量の把握が困難である。特に PAHs の主要な発生源としては自動車交通起源がもっとも主要な寄与と見なされているが、その寄与程度すら実際には十分には分かっていない。

- ・ 大気環境と水環境を双方にまたがる研究が少ない。

筆者らは、以上の問題点をふまえ大気・水環境の両方で環境中発生総量の包括的な把握を目指し研究を進めてきた。その結果、自動車交通起源の寄与は一般に考えられているよりも遙かに少ない可能性があることがわかった。すなわち道路交通起源以外の大きな寄与の可能性を示唆している。

2. 研究の目的

以上の背景をふまえ、本研究では特に分流式下水道での動態と、環境中での寄与を明らかにすることを目的とする。下水道からの発生は、PAHs 発生源の寄与として小さくない可能性が指摘され続けられているが、実際の検討は非常に限られている(日本においては旧建設省による環境ホルモンの下水道内での調査の一環としてベンゾ(a)ピレンが測定されたのがもっとも主要、また海外ではフランス、ギリシャ、カナダなど(Pham and Proulx, 1997: Water Res.; Manoli and Samala, 1999: J. Environ. Qual.; Blanchard et al., 2004: Environ. Res.)). 下水処理場中 PAHs は、その疎水性から多くは汚泥へ吸着して除去されると考えられ、一方生物分解はあまり生じてないのではないかと考えられている

が実態はほとんど明らかではない。筆者らも限られた調査内容であるがこれまで処理場への流入・流出に関して調査・検討を行ってきた。その結果大都市中心部の合流式下水道の調査では、年平均ベースでは雨天時流入よりも晴天時流入のほうがはるかに大きいこと、また分流式下水処理場内での調査では、大気への発生にも匹敵する相当な発生負荷量が観測され、一方処理場内ではかなりの微生物分解(6割程度)が生じている可能性があることを示した。これらから窺えることは

- ・ 汚水経路の PAHs の環境負荷は相当大きいこと
- ・ 生物分解性に関しては特に高分子のものも含めて実はかなり微生物分解性が高いのではないかと

ということであり、PAHs 動態の全体像の把握のためにも早急な実態の解明が望まれる。

3. 研究の方法

本研究の目的は主要課題 1, 2 と分けられる。それぞれについて説明する：

主要課題 1

(1) 分流式下水処理場を対象として多環芳香族炭化水素類(PAHs)の動態を調査・解析し、(2) 反応槽内での PAHs の分解特性を把握すること、すなわち分解程度とその機能微生物を探索することである。

具体的には以下の内容の検討をおこなった：

(1-1) 処理場の下水の流入から流出および処理汚泥の排出に至る経路での PAHs の消長の観測・測定、それに基づく以下の課題の検討

(1-2) 流入負荷原因およびその原単位の検討と流出による水環境への負荷の検討

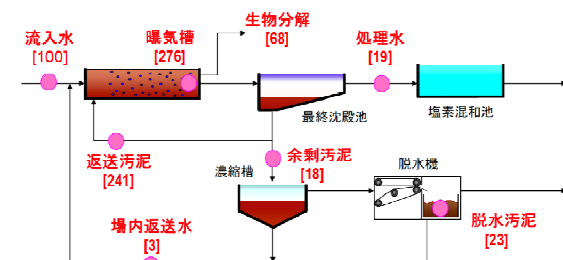


図 1 分流式下水処理場で得られた PAHs の物質収支の方法と結果例(秋期;なお対象処理場は最初沈殿池を稼働させていない)

主要課題 2

(2-1) 処理場内での PAHs 分解機能微生物の探索及び処理能力の把握

(2-2) 上記調査に基づく処理場内 PAHs 分解性の定量化

(2-3)MAR-FISH法を用いたPAHs分解細菌の基質利用特性の把握

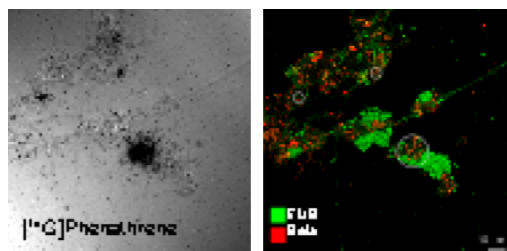


図 2MAR-FISH で観察された微生物による

Phenanthrene(PAHs のひとつ)の取り込み

4. 研究成果

本研究の主要課題 1 では、分流式下水処理場を対象にして処理場内における各地点での PAHs 濃度調査を 1 年間行い、この結果に基づき、諸栄場内での物質収支、PAHs 発生源としての下水処理場の寄与について検討した。対象とする下水処理場は広島県内の分流式下水処理場であり、年平均流入水量は $24,000\text{m}^3\text{d}^{-1}$ 、処理人口 37,000 である。これら調査に加え、下水に流入する PAHs の発生源を把握するため、し尿処理場での調査、調理済み食品中に含まれる PAHs の分析を行った。さらに、下水処理場の調査において、PAHs の生物分解性が示唆された。PAHs の生物分解性について把握するため、反応槽内および系全体における分解率を算出し、これらの評価を行った。さらに人工基質を用いた生物分解実験を行い、生物分解性の把握を試みた。

下水処理場における年間調査に基づき以下の結果を得た：処理場内における PAHs 濃度は、流入水が $23.3\sim 5577.2\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ 、好気槽が $13.9\sim 821.6\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ 、返送汚泥が $177.0\sim 11934.6\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ 、脱水後返送水が $31.3\sim 969.7\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ 、濃縮槽上澄みが $38.1\sim 353.2\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ 、処理水が $2.9\sim 104.4\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ であった。流入水に関しては、秋期や冬期に比べ春期や夏期に PAHs 濃度が高くなる傾向が見られ、夏期に比べ冬期に高くなるという大気環境の傾向とは異なる結果であった。また、Indeno(123-cd)pyrene の濃度が高く検出され、大気等の他の環境とは異なる結果を得た。他の地点については、濃縮槽の上澄みが冬期に PAHs 濃度が低くなっていたが、その他の地点ではほとんど変動は見られず、特に処理水については、年間を通して PAHs 濃度は一定であった。

PAHs の除去率は、春期:71.6%、夏期:85.1%、秋期:74.8%、冬期:41.5%であり、冬期に除去率が低下すると言う結果を得た。物質ごとに見ると、PAHs の除去率は低分子量の物質より反応槽における流入負荷量と流出負荷量の

年平均値はそれぞれ、 $20.7\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$ 、 $11.3\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$ であり、反応槽内で 45%の PAHs が減少していた。これより、PAHs の生物分解性が示唆された。物質ごとに見ると、低分子量の物質は概ね減少傾向にあったが、高分子の物質は増加傾向にあった。このことから、生物利用性が高いのは低分子量の物質であり、また低分子の物質は蒸気圧が高いことから、曝気による揮発の影響を受けていると考えられた。処理場全体における流入負荷量と流出負荷量の年平均値はそれぞれ、 $11.9\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$ 、 $2.3\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$ であり、処理場全体で 80%の PAHs が減少していた。冬期に減少率が小さくなる傾向が見られたが、年間を通して約 60%以上の割合で減少していたことから、この約 60%の PAHs が処理場内で生物分解や揮発によって減少したと考えられた。

以上の結果に基づき PAHs 発生源としての下水処理場の寄与についてまとめると、以下のようなものである：一人一日あたりの流入負荷量、および放流負荷量は 16PAHs でそれぞれ、 $31.1\sim 3212.7\mu\text{g}\cdot\text{person}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 、 $6.3\sim 290.9\mu\text{g}\cdot\text{person}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ であった。

単位面積あたりの流入負荷量および放流負荷量はそれぞれ、 $106.3\sim 10971.6\text{ng}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ 、 $21.4\sim 993.5\text{ng}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ であり、大気降下負荷量と比較すると、値は小さいものの同程度の結果であり、環境中への PAHs 排出源として下水処理場は無視し難いことがわかった。しかしながら、下水処理場は、流入負荷量の約 80%を除去しており、環境中への PAHs 排出の抑制に大きな効果があることがわかった。

下水中に存在する PAHs の発生源については以下のことが明らかとなった：し尿処理場における調査の結果、未処理のし尿中の PAHs 濃度は 16 物質の合計で $362.7\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ であり、この数値を一人一日あたりの負荷量に換算すると $1473\text{ng}\cdot\text{person}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ であった。この数値は、下水処理場の流入水における一人一日あたりの負荷量 ($95300\text{ng}\cdot\text{person}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)に對して、約 1.5%と非常に小さいものであり、下水中の PAHs 発生源としてし尿排水の寄与は極めて小さいと考えられた。焦げた野菜と魚における PAHs 含有量はそれぞれ、16 物質の合計平均値で $3.90\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $0.97\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ であった。これらの数値に対し下水流入水の PAHs 含有量は、年間の中央値で $0.37\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ である。野菜や魚の焦げに含まれる PAHs は、下水流入水に含まれる含有量よりも 1 オーダー程高く、生活排水が下水中の PAHs の所要名発生源となっていることが推測された。

PAHs の生物分解性については以下の事項が明らかとなった：反応槽内分解率は、16 物質の合計値で、春期 42.0%、夏期 36.7%、秋期 28.6%、冬期 0.0%であった。PAHs の反応槽内分解率は、春が最も高く、冬に向かうにつれて分解率が減少していた。反応槽において

は、低分子量の物質よりも高分子量の物質の方が分解率は明らかに高くなっており、特に Indeno(123-cd)Pyrene は年間を通して分解率が高い傾向にあった。また、存在形態別の分解率を見ると、懸濁態では、秋期を除いて高分子量の物質の方が分解率は高くなっていた。一方、溶存態はどの季節においても高分子量の物質の分解率は高かった。また、低分子量の物質の分解率も比較的高い傾向であった。これより、溶存態 PAHs のうち、低分子量は生物分解、高分子量は汚泥への吸着による減少ではないかと考えられたが、懸濁態の高分子量の分解率は高く、汚泥への吸着は考えにくい。よって、溶存態の PAHs は低分子量の物質も高分子量の物質も生物分解されていると考えられた。系全体の分解率は、春期 81.0%、夏期 46.1%、秋期 28.9%、冬期 30.6%であった。どの季節においても、高分子量の物質に比べ、低分子量の物質の分解率が高かった。このことから、処理場全体で除去されるのは低分子量の物質であり、これらの物質が生物分解を受けていると考えられた。また、存在形態別に見ると、懸濁態においては、高分子量物質の分解率は低く、処理場内では生物分解されることはないと考えられた。一方低分子量の物質は、夏期に 60~80%分解率を得たが、その他の季節においては、約 40%程度の分解率であった。このことから、懸濁態においては低分子量の物質であれば、生物分解されるのではないかと考えられた。溶存態においては春期と夏期では全体的に分解率が高かった。一方、秋期では低分子量、冬期では高分子量物質の分解率が低くなっていた。溶存態 PAHs においては、低分子量の物質の生物分解と揮発、高分子物質の懸濁態への移行と生物分解が考えられた。

人工基質を用いた生物分解実験を実施し、以下の結果を得た：人工基質を用いた生物分解実験では、懸濁態、溶存態ともに低分子量の物質は増加し、高分子量の物質は減少していた。懸濁態については、処理場での調査結果と一致していたが、溶存態はそれとは相反する結果であった。また、非培養系と培養系を比較すると、両者に大きな変化は見られなかった。よって PAHs の分解性には基質の有無とは無関係、あるいは用いた人工基質が微生物の PAHs 分解の代謝を活性化するものではなかったと考えられた。

本研究の主要課題 2 では活性汚泥中の細菌が PAHs の分解が可能かどうかを検討した。また、微生物分解が比較的容易と考えられるベンゼン、ナフタレン、フェナントレン、アントラセンを唯一の炭素源として集積培養を行った。集積された細菌に対して群集構造解析および MAR-FISH 法により分解細菌の特異的検出を試みた。以下に得られた結論を示す。

活性汚泥内の微生物はベンゼン、ナフタレン、フェナントレン、フルオランテン、ベンゾ(a)ピレンの分解が可能であり、その中でもベンゼン、ナフタレン、フェナントレンは有機炭素源として利用可能であることが示唆された。

ベンゼン、ナフタレン、フェナントレンを炭素源として集積培養を行った結果、継続的な対象物質の濃度減少および菌体量の増加も確認することができた。

集積培養を行った各系に対して 16S rRNA 遺伝子に基づく群集構造解析および MAR-FISH 法を適用した結果、ベンゼン培養系では *Acinetobacter* sp. , および *Betaproteobacteria* に属する細菌によるベンゼンの取り込みが確認された。ナフタレン培養系では、*Betaproteobacteria* , *Gammaproteobacteria* に属する細菌によるナフタレンの取り込みが見られた。フェナントレン培養系では *Gammaproteobacteria* に属する細菌による取り込みが見られた。ナフタレン、フェナントレンは、門レベルでしか検出を行うことができなかった。

門レベルでは微生物学的実体が不明確であることから、今後はプローブの設計を含めて、もう少し細かいレベルでの解析を行いたい。今後は本研究で得られた知見を生かして分解細菌を分離するとともに、各物質ごとの分解速度および分解経路について検討することでバイオレメディエーションの適用に寄与できると考えられる。また、方法論を確立することで土壌や海洋に本手法を適用できるようになると考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

1. 田辺泰人、金田一智規、尾崎則篤”MAR-FISH 法を用いた活性汚泥内における芳香族炭化水素類の分解に関与する細菌の検出”,環境工学研究論文集,査読有,45 巻,2008,pp.399-405

[学会発表] (計 5 件)

1. Noriatsu OZAKI, Koji IWASAKI, Tomonori KINDAICHI, Akiyoshi OHASHI: Contribution of biomass burning on PAHs emissions in atmospheric and water environments The 13th International Conference on Integrated Diffuse Pollution Management (IWA DIPCON2009) 2009, Oct. 12~15 (発表確定), in Korea
2. 尾崎則篤、高村斎弘、小島啓輔、金田一智規”下水処理場内における PAHs の分解性

の検討”,第62回年次学術講演会講演概要集
[CD-ROM] 2008.09.20,広島県東広島市

3. Noriatsu OZAKI, Koji IWASAKI, Keisuke KOJIMA and Tomonori KINDAICHI Comparison of atmospheric deposition and river discharges of PAHs, The 12th International Conference on Integrated Diffuse Pollution Management (IWA DIPCON2008) 2008, Aug. 25~29, in Thailand

4. 中里聡洋、尾崎則篤、大橋晶良、金田一智規,”光触媒を用いた PAHs 分解とその毒性評価”第60回土木学会中国支部 研究発表会発表概要集,2008.05.30,広島県広島市

5. 田辺泰人、金田一智規、尾崎則篤”MAR-FISH 法を用いた活性汚泥内に芳香族炭化水素類分解細菌の探索”,第42回日本水環境学会年会講演集 2008.03.20,山口県山口市

6. 研究組織

(1) 研究代表者

尾崎 則篤 (Noriatsu OZAKI)

広島大学・大学院工学研究科・准教授

研究者番号：50294541

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者

金田一 智規 (Tomonori KINDAICHI)

広島大学・大学院工学研究科・助教

研究者番号：10379901