ナノろ過膜による内分泌かく乱様物質の阻止性能

金 時 浚* 鈴木 穰*

Rejection of Endocrine Disrupters Using Nanofiltration Membrane

Shijun KIM* and Yutaka SUZUKI*

* Recycling Research Team, Materials and Geotechnical Engineering Research Group, Public Works Research Institute, Minamihara 1-6, Tsukuba, Ibaraki 305-8516, Japan

Abstract

Two commercial nanofiltration membranes, NTR7410 (low salt rejection) and NTR7250 (medium salt rejection) were used for a basic experiment on the rejection of endocrine disrupters such as 17β estradiol, *p*-nonylphenol, bisphenol A and their complex solution. A nanofiltration membrane experiment was carried out under the operating condition of low transmembrane pressure of 0.5MPa. For the two nanofiltration membranes used, the rejection factor was high in the case, where pH adjustment of each feed solution was not performed. The *p*-nonylphenol rejection efficiency of NTR7410 was higher than that of NTR7250. On the basis of the former nanofiltration membrane experimental result, four commercial nanofiltration membranes, NTR7410, NTR7450 (medium salt rejection), NTR7250 and NTR729 (high salt rejection) were used for the rejection of endocrine disrupters contained in biologically treated sewage. The biologically treated sewage concentration of $0.039 - 0.055 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ as 17β estradiol equivalent was reduced to the following concentration by each nanofiltration membrane: $0.026 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ (NTR7410), $0.026 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ (NTR7450), $0.003 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ (NTR7250) and $0.009 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ (NTR729). Rejection efficiency of endocrine disrupters from the biologically treated sewage increased in the order of NTR7250, NTR729, NTR7450 and NTR7410. Permeate flux of the nanofiltration membranes increased in the order of NTR7410, NTR7250, NTR7450 and NTR729.

Key words: nanofiltration (NF), endocrine disrupters, secondary sewage effluent

1. はじめに

近年、人為的に製造・使用されている化学物質の一部に、体内に取り込まれるとエストロゲンレセプターに結合し、あたかも女性ホルモン様物質のように作用するため、今までとは全く異なった環境問題を提起している物質がある¹⁾。人畜由来排泄物からの 17β エストラジオールおよび非イオン性界面活性剤として広く使用されているノニルフェノール等は、水環境中から比較的に検出頻度が高いと知られており、またごくわずかな量でも生物に対しエストロゲン様作用が疑われている^{2, 3)}。

ところで、下水処理水は都市における水環境の創出に用いられている例が多いが、色や臭気を除去し、微生物学的安全性を高めるため、逆浸透膜による高度処理が行われている個所がある。様々な物質が流入してきている下水処理場内では、エストロゲン様作用が疑われている微量有害化学物質も混入している可能性は高い。このため、再利用先での生物への影響を低減させるため、逆浸透膜等の内分泌かく乱様物質の除去性能も検討する必要がある。

分子量分画的に限外ろ過膜と逆浸透膜の中間に位置しているナノろ過膜は、数百から数千の物質を阻止することを目的に開発された膜であり、最近ではその種類も多い。またナノろ過膜は逆浸透膜に比べて低い塩阻止率を有するのだが、1.5MPa以下の圧力で溶質分離操作ができるという特徴をもっている^{4, 5)}。そのため、多様な水質や用途への適用が可能になってきており、とくに微量有害化学物質の阻止についても期待されている。しかしその阻止性能は、操作圧力はもちろん供給液の pH および阻止しようとする溶質の性状等によって異なってくると考えられる^{6, 7)}。

本研究は、低圧操作により高透過フラックスが得られるナノろ過膜を用い、エストロゲン様作用が疑われている 17β エストラジオール、*p*-ノニルフェノールおよびビスフェノール A の pH 変化による阻止性能について検討した。さらにこの結果を基に、下水処理水中に含まれている内分泌かく乱様物質の阻止性能を検討し、最終的に下水処理水再利用への適用を試みようとしている。

*独立行政法人土木研究所材料地盤研究グループリサイクルチーム、〒305-8516 茨城県つくば市南原 1 番地 6

2. 実験装置および方法

2.1 ナノろ過膜装置

原水槽、平膜テストセル(日東電工社製, C10-T 型), 加圧ポンプ(タットヒル社製), 圧力計等から構成されている膜分離実験装置(日東電工社製, RUM-10 型)を Fig.1 に示す。実験装置はクロスフローろ過方式としたが, これは実際の膜処理施設に多く使用されているスパイラル膜モジュールに近い性能が得やすいためである。ナノろ過膜の膜面積は 60cm²(46mmW×180mm L)である。実験には, 塩阻止率の異なる 4 種類のナノろ過膜(日東電工社製)を用いた。ナノろ過膜の性状を Table 1 に示す。

Fig.1 Schematic diagram of nanofiltration membrane process

Table 1 Characteristics of nanofiltration membranes (data from the manufacturer)

	Nanofiltration membranes			
	7410	7450	7250	729
Rejection (%)				
NaCl	10.0	50.0	60.0	93.0
Sucrose	5.0	36.0	98.0	99.0
Conc. (%)	0.20	0.20	0.15	0.15
Flux [†] (m ³ ·d ⁻¹)	8	4.5	3.6	3.6
Pressure (MPa)	0.5	1.0	1.5	1.5
pH range	7.0			
Configuration	Flat sheet			
Area (cm ²)	60			
Charge	Negative			
Materials	SPS	SPS	PVA	PVA

† ; 2 inch spiral membrane
SPS; Sulfonated/Polysulfonate
PVA; Polyvinylalcohol/Polyamides

2.2 膜分離実験

膜分離実験は, 開始する前にイオン交換水で十分に膜洗浄を行い, さらに 10 分間イオン交換水を透過させてから, 試料水のろ過を行った。すべての実験は操作圧力を 0.5MPa に設定し, 20℃に保たれている恒温室内で行った。

ナノろ過膜 NTR7410 と NTR7250 による 17β エストラジオール(和光純薬), *p*-ノニルフェノール(関東化学), ビスフェノール A(関東化学), およびその混合液の阻止性能は, 下水処理水の pH 範囲に考慮して, 水溶液そ

れぞれの pH を pH 無調整(pH 6.5), pH 9, pH 7 および pH 5 に変化させ検討した。17β エストラジオール, *p*-ノニルフェノールおよびビスフェノール A の供試濃度は, それぞれ 250 μM (68 μg·l⁻¹), 500 μM (110 μg·l⁻¹) および 50mM (11400 μg·l⁻¹) にし, エタノール(和光純薬)に溶解させたものを標準溶液とした。この標準溶液を段階的に希釈し, 後述するエストロジェンレセプター結合試験より得られた蛍光偏光度から 50% 阻害濃度 (IC₅₀) を求め, その濃度に近い値に原水濃度を設定して実験を行った。

下水処理水は, 後述しているように試料貯蔵庫に保管しているため, 実験を行う際には室温まで水温を上げてから実験に供した。膜操作を妨げる生物やコロイド状物質などの成分を原水から取り除くため, 0.45 μm メンブランフィルター (ADVANTEC) でろ過した下水処理水(以下下水ろ過水) 2.5l を原水槽に入れた後, 加圧ポンプを作動させ操作圧力を 0.5MPa, 膜面流速は 1.0l·min⁻¹ と一定にし, 膜透過水 1l が得られるまで続けた。膜透過水 1l を得るため各ナノろ過膜, NTR7410, NTR7450, NTR7250 および NTR729 の膜分離操作時間はそれぞれ平均 2 時間, 5 時間, 4 時間および 22 時間であった。またグルコース濃度を 250mg·l⁻¹ に設定し, 各ナノろ過膜の阻止性能実験を行った。上記実験を 1 ペースとし, 1 ペースが終わる毎にイオン交換水で膜を洗浄し, 新膜のイオン交換水透過フラックスと比較した。溶質阻止率は次式により求めた。透過フラックスは実験経過とともに徐々に水温が上昇するため, (実験温度における透過水量)/温度換算係数 (1.03^(T-25)) から求めた。

Rejection (%) = {1 - (2 · C_p) / (C_F + C_R)}

C_F: Feed concentration
C_R: Retentate concentration
C_p: Permeate concentration

2.3 供試試料水

I 県 K 下水処理場にて稼動している標準活性汚泥法パイロットプラントから二次処理水を採水し, 試料貯蔵庫 (10℃) に保管した。採水の際, 容器付着の不純物による汚濁を防ぐため, メタノール(和光純薬)で洗浄したメジュームびんを使用した。

2.4 エストロジェン活性測定

内分泌かく乱様物質を総合的に評価するため, エストロジェン活性測定法として, エストロジェンレセプター競合結合試験およびそのアッセイキット (PanVera 社製) を用いた⁸⁾。エストロジェンレセプター競合結合試験は, 組み換えヒト・エストロジェンレセプター (hERα) と蛍光エストロジェン (FES1) の複合混合液に内分泌かく乱様物質を加えていくと, 蛍光エストロジェンと内分泌かく乱様物質の間でレセプター結合に関する競合反応が起こり, 結合阻害された蛍光エストロジェンの偏光度が変化するため, これを蛍光偏光測定器 (Full-Range Beacon 2000, PanVera 社製) により測定するものである。

試験手順は以下の通りである。緩衝液 48 μl に 2 μl の供試試料を添加し, 複合混合液 (FES1-hERα) 50 μl を加え全量 100 μl とする。陽性対照区 (0% 結合阻害に相当) は緩衝液 48 μl に複合混合液 50 μl とジメチル

スルホキシド(DMSO, 和光純薬)2 μ lを加え全量 100 μ lとする。陰性対照区(100%結合阻害に相当)は緩衝液 88 μ lに蛍光エストロゲン 10 μ lとジメチルスルホキシド 2 μ lを加え全量 100 μ lとする。その後、室温で 60 分間静置・反応させた後、蛍光偏光度計により偏光度を測定する。各試料の偏光度から次式により阻害率(I)を求めた。なお、競合結合曲線から得られる 50%阻害濃度(IC₅₀)を基に、試料のエストロゲン活性強度を 17 β エストラジオール濃度に換算した。

$$\text{Inhibition (\%)} = (A_0 - A)/(A_0 - A_{100})$$

A: Tset compound polarization (mP)

A₀: Positive control polarization (mP)

A₁₀₀: Negative control polarization (mP)

エストロゲンレセプター結合実験により、蛍光偏光度計で測定した 17 β エストラジオール標準溶液の偏光度を阻害率に変換し、17 β エストラジオール濃度に対してプロットしたものを、Fig.2 に示す。横軸には 17 β エストラジオール標準濃度を、縦軸には阻害率を示した。17 β エストラジオールの 50%阻害濃度(IC₅₀)は 6.5nM(1.8 μ g $\cdot$ l⁻¹)であった。

一方、蛍光偏光度計を用いて環境水および下水処理水を測定する場合、試料に含まれていると考えられる蛍光物質が測定に阻害を与える可能性がある。そのため、試料の前処理において蛍光物質を除去するため、固相抽出法による試料調整を行った。試料水は、Sep-Pak C18 カートリッジ(Waters 社製)によりジクロロメタン(関東化学)で抽出し、ジメチルホキシドを加え、分析試料とした。グルコースおよび下水処理水を用いた実験の場合には、総有機炭素(TOC)も TOC 計(島津社製、TOC-5000 型)により測定した。また無機塩類の濃度は電気伝導度計(TOA 社製)で測定した。

3. 結果および考察

3.1 内分泌かく乱が疑われる 17 β エストラジオール、*p*-ノニルフェノールおよびビスフェノール A の阻止性能

17 β エストラジオール、*p*-ノニルフェノールおよびビスフェノール A 濃度はそれぞれの 50%阻害濃度(IC₅₀)を基に、100nM、5000nM および 10000nM とした。NTR7410 および NTR7250 等は親水性膜であるため吸着は少ないと仮定し、上記 3 種の化学物質およびその混合液の pH を無調整(pH 6.5)、pH 9、pH 7 および pH 5 に変化させ、阻止性能実験を行った結果を Fig.3 に示す。

NTR7250 は 17 β エストラジオール(m. w. = 272)、ビスフェノール A(m. w. = 228)および *p*-ノニルフェノール(m. w. = 220)の順で阻止性能が良いことから分子量依存性を示していると考えられる。しかし本実験の pH 範囲では阻止性能の差を示さなかったため pH 依存性は見られないと考えられる。

NTR7410 は *p*-ノニルフェノール、ビスフェノール A および 17 β エストラジオールの順に阻止性能を示し、NTR7250 とは全く異なる傾向を示した。また pH 変化による阻止性能は *p*-ノニルフェノールの pK_a が 10.3 で

Fig.2 Competition curve of 17 β estradiol

Fig.3 Rejection of 17 β estradiol(E2), *p*-nonylphenol(*p*-NP), bisphenol A(BPA) and their complex solution using nanofiltration

あることから、本実験の pH 範囲では解離しておらず、17 β エストラジオールおよびビスフェノール A とともに pH 依存性はほとんど示さなかったと考えられる。

p-ノニルフェノールの場合、塩阻止率の低い NTR7410 が NTR7250 に比べて高い阻止性能を示したことからそれぞれの化学物質の分子量のみでの阻止性能評価は難しく、膜素材の特性や内分泌かく乱様物質それぞれの化学的性質により阻止性能が異なってくると考えられる。すなわち膜による溶質分離は、溶

媒(水)と溶質のどちらかの方が膜構成物質によって選択的に吸着されるかに関わってくると考えられる⁹⁾。

17βエストラジオール、*p*-ノニルフェノール、ビスフェノール A およびその混合液の阻止性能実験から、供試試料水の pH 調整を行わなかったときに高い阻止性能が得られた実験結果を基に、下水処理水を用いた膜分離実験では pH 調整を行わず、上記 2 種のナノろ過膜にさらに塩阻止率の異なる 2 種のナノろ過膜 NTR7450 と NTR729 を加えて実験を行った。

3.2 ナノろ過膜による下水処理水中の内分泌かく乱様物質の阻止性能

実験に用いた下水処理水の 17βエストラジオール等価濃度は $0.039 \sim 0.055 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ であった。 $0.45 \mu\text{m}$ メンブランフィルターでろ過しナノろ過膜実験の原水として使用した下水ろ過水の 17βエストラジオール等価濃度は $0.035 \sim 0.053 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ であった。したがって前処理として行った精密ろ過膜のみでは内分泌かく乱様物質はほとんど阻止されなかった。

4 種のナノろ過膜による下水ろ過水中の内分泌かく乱様物質の阻止性能を Fig.4 に示す。NTR7410 は下水ろ過水の 17βエストラジオール等価濃度 $0.035 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ に対し、膜透過水は $0.026 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ と 53%の阻止率を示した。NTR7450 は下水ろ過水の 17βエストラジオール等価濃度 $0.053 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ に対し、膜透過水は $0.026 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ と 66.5%の阻止率を示した。同じ膜素材である NTR7410 および NTR7450 は、17βエストラジオール等価濃度で表した内分泌かく乱様物質の阻止率に差は生じたものの膜透過水濃度は変わらなかった。NTR7250 は下水ろ過水の 17βエストラジオール等価濃度 $0.036 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ に対し、膜透過水の濃度は $0.003 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ と 94%の高い阻止率を示した。NTR729 は下水ろ過水の 17βエストラジオール等価濃度 $0.043 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ に対し、膜透過水の濃度は $0.009 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ と 84%の阻止率を示した。NTR7250 は NTR7450 と同様の公称塩阻止率を有しているにもかかわらず、内分泌かく乱様物質の阻止性能について約 30%の差が生じたのは膜素材によるものではないかと考えられる。

Fig. 4 Rejection of endocrine disrupters in the secondary sewage effluent using nanofiltration

Fig. 5 TOC of secondary sewage effluent using nanofiltration

Table 2 Glucose rejection efficiency using nanofiltration

NF	TOC ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$)			Re (%)
	Feed	Permeate	Retentate	
7410	100.2	104.8	112.6	1.5
7450	101.4	90.7	112.0	15.1
7250	101.5	40.2	183.5	71.8
729	101.1	18.9	175.1	86.3

Table 3 Conductivity of secondary sewage effluent using nanofiltration

NF	Conductivity ($\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$)			Re (%)
	Feed	Permeate	Retentate	
7410	251	254	228	-6.1
7450	263	259	222	-6.8
7250	241	243	242	-0.6
729	244	227	255	9.0

Fig.5 に示すように、NTR7410、NTR7450、NTR7250 および NTR729 による下水処理水の TOC 阻止率はそれぞれ 60%、70%、76% および 80% と、17βエストラジオール等価濃度で表した内分泌かく乱様物質の阻止性能と同様の傾向であった。Table 2 に示した、グルコース (m. w. = 180) を用いた阻止性能実験結果からも同様の阻止性能の傾向が得られたため、分子量依存性を示していると考えられる。また Table 3 に示した、無機塩類は 4 種ナノろ過膜ともほとんど阻止できなかったため、ナノろ過膜では下水処理水に含まれている塩素イオン、ナトリウムおよびカリウム等の無機塩類の阻止は困難であると考えられる。

透過フラックス変化を Fig.6 に示す。NTR7410 は約 $2000 \text{l} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{day}^{-1}$ と、他のナノろ過膜に比べて 3~10 倍程高い。NTR7450 および NTR7250 は同様の塩阻止率を持っていることから、それぞれ約 $780 \text{l} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{day}^{-1}$ および約 $830 \text{l} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{day}^{-1}$ の透過フラックスを示したと考えられる。

NTR729 は約 $190 \text{ l} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{day}^{-1}$ と低い。各ナノろ過膜の透過フラックスの低下率はそれぞれ 12%, 9%, 5% および 28% であった。一方下水処理水を再利用するには、内分泌かく乱様物質のような微量有害物質の阻止も重要である。しかし下水処理水再利用への適用を試みようとするためには、透過水量の確保も必要であるため低圧操作で有害化学物質等が阻止でき、高透過フラックスが得られるナノろ過膜が望ましいと考えられる。

Fig.7 より、見かけ上 NTR7410 の膜表面には NTR7250 よりゲル状付着物が付着していないものの透過フラックス低下率が高い。これは他のナノろ過膜に比べて塩阻止率が低いこともあって緻密層の構造が粗いため、吸着による抵抗あるいは膜内部でのファウリングによる抵抗により、膜の汚れが進行している可能性が考えられる。そして NTR729 は構造的により緻密であることから他のナノろ過膜に比べて膜表面にゲル状付着物の抵抗等によって透過フラックスの低下率が高かったと考えられる。

膜分離操作において膜素材の選択における基準は、阻止しようとする対象によって異なる。前処理として使用したメンブランフィルター(精密ろ過膜)のような多孔膜の場合には、膜材料の選択はそれほど重要ではない。Fig.4 から、NTR7250 による 17β エストラジオール (m.w. = 272) 阻止率は p -ノニルフェノール (m.w. = 220) より 25~30% 程度高く、分子量依存性を示している。しかし NTR7410 は p -ノニルフェノールについて相対的に高い阻止率を示しているのに対し、 17β エストラジオールに

ついてはもっとも低い阻止率を示した。したがってナノろ過膜による溶質阻止および透過フラックス等の膜性能は、膜表面の化学的性質や吸着および阻止率等の膜と溶質の親和性も含む膜素材固有の性質によって影響を受けると考えられる^{10, 11)}。

4. 結論

塩阻止率および膜素材の異なる NTR7410, NTR7450, NTR7250 および NTR729 の 4 種のナノろ過膜を用い、 17β エストラジオール、 p -ノニルフェノール、ビスフェノール A および下水処理水中の内分泌かく乱様物質の阻止性能実験から得られた知見を以下にまとめた。

1) NTR7250 は 17β エストラジオール (m.w. = 272)、ビスフェノール A (m.w. = 228) および p -ノニルフェノール (m.w. = 220) 順の阻止性能を示し、分子量依存性が示唆された。しかし公称塩阻止率が 10% と低い NTR7410 は 17β エストラジオールおよびビスフェノール A に対しての阻止性能は低かったが、 p -ノニルフェノールに対しては高い阻止性能を示した。膜分離における溶質阻止および透過フラックスの膜性能は、膜と溶質の親和性も含む膜素材固有の性質によって影響を受けることが示唆された。

2) 下水処理水中の内分泌かく乱様物質の濃度 $0.039 \sim 0.055 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ (17β エストラジオール換算) に対し、NTR7410 および NTR7450 (塩阻止率: 50%) の透過水濃度は $0.026 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$, $0.026 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ と 53% および 67% の阻止性能を示した。また NTR7250 および NTR729 (塩阻止率: 90%) の透過水濃度は $0.003 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$, $0.009 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ と 94% および 84% の阻止性能を示した。これらのナノろ過膜による内分泌かく乱様物質の阻止性能は、TOC 阻止率およびグルコース阻止率と同じ傾向を示した。

(原稿受付 2001 年 9 月 27 日)

(原稿受理 2002 年 4 月 22 日)

参考文献

- 1) 化学物質安全情報研究会編(1999), 環境ホルモンの問題とその対策, オーム社。
- 2) Tom Tanghe, Greet Devriese and Willy Verstraete(1999), Nonylphenol and estrogenic activity in aquatic environmental samples, *J. Environmental Quality*, 28, 702-709.
- 3) Marijan Ahel, Walter Giger and Markus Koch(1994), Behavior of alkylphenol polyethoxylate surfactants in the aquatic environment-I, occurrence and transformation in sewage treatment, *Water Research*, 28(5), 1131-1142.
- 4) 木村尚史, 中尾真一(1997), 分離の技術-膜分離を中心として-, pp120-131, 大日本図書。
- 5) 竹内 弘, 川崎睦男(1997), NF 膜(応用編), 造水技術, 24(2), 40-46.
- 6) Maria Dina Afonso, Victor Geraldies, Maria Joao Rosa and Maria Norberta de Pinho(1992), Nanofiltration removal of chlorinated organic compounds from alkaline bleaching effluents in a pulp and paper plant, *Water Research*, 26(12), 1639-1643.
- 7) Anne Braghetta, Francis A. DiGiano and William P. Ball(1997), Nanofiltration of natural organic matter: pH and

Fig. 6 Permeate flux variation of secondary sewage effluent using nanofiltration

Fig. 7 Membrane surface of nanofiltration after the secondary sewage effluent treatment experiments

- ionic strength effects, *J. Environ. Eng.*, **123**(7), 628-641.
- 8) 近藤昭宏, 麻柄由樹, 辻本善政, 加藤郁之進(1999), 蛍光偏光度測定システムを用いた河川水のエストロゲン受容体結合実験, 第33回日本水環境学会年会講演集, 401.
- 9) 萩原文二, 橋本光一(1974), 膜による分離法, pp135-160, 講談社.
- 10) Amy E. Childress and Menachem Elimelech(2000), Relating nanofiltration membrane performance to membrane charge (electrokinetic) characteristics, *Environ. Sci. Technol.*, **34**(17), 3710-3716.
- 11) Marcel Mulder(1997), Basic Principles of Membrane Technology, 2nd edition, pp164-168, Kluwer academic publishers.