(論 文)

活性汚泥による直鎖アルキルベンゼンスルホン酸 ナトリウム (LAS) の生分解性に関する研究(II)

—LASの吸着と生分解—

Studies on the Biodegradation of Linear Alkylbenzene Sulfonate(LAS) by Activated Sludge — Adsorption and Biodegradation of LAS on Activated Sludge —

吉村孝一*, 中栄篤男*
Koichi YOSHIMURA Atsuo NAKAE

Abstract

Adsorption and biodegradation of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) on activated sludge has been studied using Abbott's methylene blue method and high-performance liquid chromatography (HPLC), and the following results are obtained;

- (1) No accumulation of LAS in activated sludge was observed.
- (2) The disappearance of LAS homologues/isomers was occurred in the order of C_{13} to C_{10} homologues and 2-phenyl to inner phenyl isomers in both effluent and sludge.
- (3) As biodegradation intermediates of LAS, several peaks were observed on the HPLC chromatograms, but most of these peaks disappeared within 24 hours of incubation. Furthermore, one of these peaks was identified as 3-(4-sulphophenyl)butyrate (S ϕ B).

From these results, it is confirmed that LAS is adsorbed onto activated sludge and then immediately biodegraded.

1. 結 言

前報¹⁾においてLASの活性汚泥に対する吸着性を論じ、吸着性がLASの疎水性に大きく依存していることを明らかにした。そこで本報では吸着後のLASがどのような挙動を示すのか検討することにした。すなわち、LASの活性汚泥による除去が関根ら²⁾の懸念するごとく、果たして吸着だけによるものであるのかを調べるため、実際に運転されている二ヶ所の都市下水処理場と実験室規模の連続式活性汚泥処理装置³⁾(LASを20 mg/l 添加した合成下水)から活性汚泥を分離し、それらの中に残存しているLASをメチレンブルー法と逆相高速液体のクロマトグラフ法により測定した。また、LASの吸着と生分解との関係をさらに確かめるため、上記三種汚泥に新たにLASを添加して振盪培養する回分式活性汚泥処理試験を行ない、7時間後および24時間後の汚泥中に残存するLASを前記と同様の方法により測定した。これらの検討の結果、LASは活性汚泥中に微量もしくは全く存在せず、また、回分式活性汚泥処理試験の場合でも時間の経過につれ、添加されたLASは処理水および汚泥中とともに順次消失していくことが明らかとなった。

一方、LASの分解生成物について逆相高速液体クロマトグラフィーで検討したところ、いったん生成した分解中間体は10数時間後もしくは24時間後には微量もしくはゼロへと減少していくことが明らかとなった。

2. 実験方法

2.1 供試界面活性剤

n-C₁₂ LAS : 和光純薬製の生分解試験用標準LAS
(n-ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム)

C₁₀₋₁₃ LAS¹⁾ : 花王石鹸製ネオベレックスF25。
LAS有効分 23.36%

S ϕ B : Sodium 3-(4-sodium sulfo-phenyl) butyrate
和光純薬製 3-phenyl butyric acid
を70℃の油浴槽中で6時間、97%硫酸と反応させスルホン化した後、NaOHにて中和した。この中和溶液を減圧濃縮し、70%エタノールにて反応生成物を抽出し減圧乾固によりS ϕ Bを得た。

* 花王石鹸株式会社研究所 〒321-34 栃木県芳賀郡市見町大字赤羽2606 Tochigi Research Laboratories, Kao Soap Company
(Akabane 2606, Ichikai-machi, Haga-gun Tochigi 321-34)

2.2 活性汚泥

2.2.1 都市下水処理場活性汚泥（以後、下水汚泥と略記）

東京都A下水処理場および宇都宮市B下水処理場から活性汚泥をサンプリングし実験室に持ち帰った後、ただちに遠心分離（8000 r.p.m, 10分）を行ない上澄みと汚泥に分けた。この汚泥に上澄みと等量の生理食塩水を加え攪拌洗浄した後、遠心分離（8000r.p.m, 10分）する操作を2回くり返した。このようにして得られた洗浄汚泥を以後の実験に供した。

Table 1 Laboratory continuous-flow activated sludge treatment of synthetic sewage containing LAS

LAS addition (mg/l)	Detention time (hr)	Removal(%)		
		BOD	TOC	MBAS
5	24	97.7 ± 0.2	89.7 ± 1.8	95.5 ± 1.9
10	24	97.0 ± 0.5	88.4 ± 1.8	94.7 ± 2.9
15	24	97.2 ± 0.3	88.6 ± 11.8	96.8 ± 1.7

* Significance level, $P < 0.05$

2.2.2 合成下水活性汚泥（以後、合成下水汚泥と略記）

完全混合方式のアクリル製活性汚泥装置³⁾（曝気槽 350 ml, 沈降槽 150 ml）にA下水汚泥を投入し, LAS 15mg/ℓを含んだ合成下水¹⁾を滞留時間24時間, BOD-MLSS負荷 0.1 Kg・BOD/Kg・MLSS・日の条件にて連続運転した。この活性汚泥を処理開始約3ヶ月後に分取し2.2.1と同様に処理したもの。Table 1 にこの連続処理試験の結果を示した。

2.3 回分式活性汚泥処理試験

2.2で調製した洗浄汚泥 12.5gを1ℓ容量のL型培養管にとり, これに下水もしくはBOD希釈水を500ml加え汚泥を均一に分散させた後, 供試LASを20mg/ℓ相当量加え, 25℃にて振盪培養した(30 r.p.m)。振盪開始直後および振盪開始後の任意時間ごとに汚泥溶液を20~40ml分取し遠心分離(8000 r.p.m, 10分)したのち, 得られた上澄み液中のLAS残存量を測定した。また, 7時間および24時間後には汚泥溶液を250ml分取し, 2.2.1と同様の処理を行ない, 遠沈上澄と洗浄汚泥を得た。本操作により得られた洗浄汚泥は以下に示すLASの抽出測定に供した。一方, 分解中間体SφBの分解性を検討するため, 2.1で合成したSφBをスタート物質とする処理実験をB下水汚泥について行なった。

2.4 汚泥からのLASの抽出

2.2および2.3の洗浄汚泥3.5~5gを円筒濾紙中に正確にはかりとり, 安部ら¹⁴⁾らの方法に準拠しベンゼン:メタノール=1:1溶液約100mlによるソックスレー抽出を約12時間行なった。抽出液から溶剤を減圧留去し

た後, 10mlのイオン交換水を加え(全量20~30ml), 密栓後湯浴中で熱水抽出した(95℃, 1時間)。この抽出液をNo.2濾紙および0.45μmのミリポアフィルターで濾過した後得られた濾液および洗液を合わせ50mlにメスアップし, LASの分析に供した。

2.5 LASの分析方法

分析用試料はすべて微生物による分解を防ぐため, ホルマリン1%を加え低温(5℃)もしくは-5℃にて凍結保存した。

2.5.1 メチレンブルー活性物質（以後, MBASと略記）

JIS K0102 陰イオン界面活性剤の分析法に準拠。検量線用試料にはC₁₂ LASを使用した。

2.5.2 逆相高速液体クロマトグラフィによるLASの分析（以後, HPLCと略記）

1) LASの測定 前報の通り¹⁾

2) LAS分解生成物の測定

以下の条件により分解生成物の測定を行なった。

カラム: 5μm LiChrosorb RP-18, 4.6mmφ×150mm
溶離液: 0.1MKH₂PO₄-CH₃CN/H₂O (5/95 または8/92)

カラム温度: 40℃ 流速: 1ml/min

検出器: Fluorimetric detector

Ex: 233nm, スリット幅 10nm

Em: 288nm, スリット幅 15nm

3. 実験結果

3.1 活性汚泥中のLAS残存量

4種の活性汚泥中に残存するLAS量を測定し, それらの結果をTable 2に示した。AおよびB下水汚泥は実際に運転されている東京都および宇都宮市の下水処理場にてサンプリングしたものであり, CはLAS15mg/ℓを含んだ合成下水を実験室内にて約3ヶ月連続処理した曝気槽からサンプリングしたものである。Dは合成下水のみで半連続培養している保存活性汚泥中から分取したもので, 上記LASを含む汚泥のコントロールとした。

Table 2に示すごとく, 汚泥中に残存していたMBASはLAS合成下水汚泥(C汚泥)で乾泥1g当たり1.17mg, 東京都A下水汚泥で0.71mg, 宇都宮市B下水汚泥で0.16mgであった。また, LASを含まない合成下水汚泥(D汚泥)では0.58mgであった。これに対しHPLC法でLASとして検出されたのは, 東京都のA下水汚泥のみで, その残存量は乾泥1g当たり約0.1mgであった。本報で用いた抽出法の回収率はTable 3に示すごとく, 汚泥溶液全体で71.1%, 洗浄汚泥59%であったことから, この値を考慮し上記値を計算し直してみると約0.17mgとなった。この場合MBASに占めるLASの割合は14% (回収率を考慮した場合24%) ときわめて低い値であっ

た。

以上の結果より、汚泥から抽出されるMBA S成分の多くのものはLAS以外の物質であり、また、LASは汚泥中に残留蓄積しないものと思われた。

Table 2 Recovery of LAS from municipal and laboratory continuous-flow activated sludge*

	Recovered LAS or MBAS(mg/g-dry solids)			
	A	B	C	D
C₁₀LAS				
4-5 ♀	0.011	N.D	N.D	N.D
3 ♀	N.D	N.D	N.D	N.D
2 ♀	N.D	N.D	N.D	N.D
total	0.011	N.D	N.D	N.D
C₁₁LAS				
5-6 ♀	0.035	N.D	N.D	N.D
4 ♀	N.D	N.D	N.D	N.D
3 ♀	N.D	N.D	N.D	N.D
2 ♀	N.D	N.D	N.D	N.D
total	0.035	N.D	N.D	N.D
C₁₂LAS				
5-6 ♀	0.039	N.D	N.D	N.D
4 ♀	N.D	N.D	N.D	N.D
3 ♀	N.D	N.D	N.D	N.D
2 ♀	N.D	N.D	N.D	N.D
total	0.039	N.D	N.D	N.D
C₁₃LAS				
5-7 ♀	0.013	N.D	N.D	N.D
4 ♀	0.001	N.D	N.D	N.D
3 ♀	N.D	N.D	N.D	N.D
2 ♀	N.D	N.D	N.D	N.D
total	0.014	N.D	N.D	N.D
LAS	0.099	N.D	N.D	N.D
MBAS	0.712	0.161	1.167	0.582
LAS/MBAS	0.14	0	0	0

* A: activated sludge of (A) sewage treatment plant in Tokyo (LAS and MBAS conc. in effluent were 0 and 0.75 mg/l)
 B: activated sludge of (B) sewage treatment plant in Utsunomiya (LAS and MBAS conc. in effluent were 0 and 0.06 mg/l)
 C: laboratory continuous-flow activated sludge fed synthetic sewage containing LAS 20 mg/l (LAS and MBAS were not detected in effluent)
 D: control activated sludge fed synthetic sewage by fill and draw method
 N.D: Not detected; ♀ represents sulfophenyl group of LAS

3.2 LASの活性汚泥処理試験

下水汚泥A, Bおよび合成下水汚泥Cを用いてLASの回分式活性汚泥処理試験を行ない、試験開始後の任意時間ごとに処理水中のMBASおよびHPLC-LAS濃度を測定した (Fig.1,2)。Fig. 1はC₁₂-LASについて検討したもので、Aは下水として有機物を含まないBOD希釈水を、また、Bは合成下水を用いたものである。A, Bいずれの場合もHPLC-LASは7時間で消失しているのに対し、MBASはわずかに残存する傾向を示し、B汚泥の場合、24時間後でも約1mg/ℓのMBA Sが存在した。これらの傾向は Fig. 2のC₁₀₋₁₃ LASについても同様に認められた。Fig. 2よりアルキル鎖長の異なったLAS同族体については、アルキル鎖長の長

いものから順に除去されることが明らかとなった。Fig. 3はこれらの測定の一例としてB下水汚泥のHPLCクロマトグラムを示したものである。処理水の測定と併行して汚泥中に残存しているLASの定量を、振盪7時間後および24時間後に行なった。Table 4はこれらの結果をまとめたものだが、これよりいずれの汚泥の場合でもLASは時間経過とともに減少し、24時間後にはその大部分が消失していた。すなわち、C₁₀₋₁₃ LASで試験したB下水汚泥の場合、MBA Sの残存量は7時間後で乾泥1g当たり1.19mg (残存率、約11%)、24時間後では0.9mg (残存率約8%)であったのに対し、HPLC-LASは7時間後で0.92mg (残存率、約10%)、24時間後では0.21mg (残存率、約2%)であった。また、合成下水汚泥Cおよび下水汚泥Aの場合、24時間後にHPLC-LASは検出されなかった。一方、汚泥中に残存しているLAS同族体および異性体の分布は処理水の場合と同様、アルキル鎖長の長いものほど、またベンゼン環のつく位置がアルキル鎖の末端近くにあるものほど少なかった。また、MBAS中に占めるHPLC-LASの割合は処理水の場合と同様、時間が経過するにつれ減少することが明らかとなった。

3.3 LAS分解生成物の検討

Fig. 4は先に行なったC₁₂-LASの回分式活性汚泥処理試験結果を示しており、図のクロマトグラム上には分解生成物と思われるピークが7個出現した。このうち、5のピークが、2-フェニル体LASからの分解生成物であるSodium 3-(4-Sodiumsulfophenyl) butyrate (SφB)のRetention timeとよく一致した。Fig. 5はこのSφBの消長を示したものである。A下水汚泥の場合、SφBの分解は早く5時間で消失した。これに対しB下水汚泥の場合、SφBの分解は遅く9時間後で最大(1.2mg/ℓ)に達し、それ以後は減少した。この分解性の差は、A下水汚泥の場合、BOD希釈水にLASを唯一炭素源として加えているのに対し、B下水汚泥の場合、BOD 300mg/ℓの合成下水にLASを加えているためと考えられる。ピーク1, 2, 3はSφBの消失後もさらに増加したが、9時間目以後は徐々に減少し、24時間後にはほぼ100%消失した (Fig. 4)。一方、C₁₀₋₁₃ LASについては14個のピークがクロマトグラム上に認められた (Fig. 6)。このうち、9, 10, 11, 12, 13のピークは試験開始時点でも微量認められた。14個のピークのうち、15のピークはSφBのRetention timeとよく一致した。C₁₀₋₁₃ LASの実験はB下水処理場流入原水にC₁₀₋₁₃ LASを20mg/ℓ相当量加えて行なったものである。SφBの消長は、Fig. 5からも明らかごとく、先に述べたC₁₂-LAS(合成下水)の場合と同様の傾向を示した。SφBの生成量に差のあるのは、試験開始時の

Table 3 Recovery test of LAS from activated sludge

LAS homologues and isomers	Initial		Recovered LAS						
	LAS		from solid phase		from liquid phase *1		Total		
	%	mg	mg	Recovery (%)	mg	Recovery (%)	%	mg	Recovery (%)
C ₁₀ LAS									
4-5 ϕ	4.16	0.409	0.042	10.3	0.336	82.2	5.4	0.378	92.4
3 ϕ	3.90	0.383	0.049	12.8	0.243	63.4	4.2	0.292	76.2
2 ϕ	4.97	0.488	0.102	20.9	0.255	52.3	5.1	0.357	73.2
total	13.03	1.28	0.193	15.1	0.834	65.2	14.7	1.027	80.2
C ₁₁ LAS									
5-6 ϕ	16.72	1.642	0.249	25.6	0.935	53.2	19.9	1.386	78.8
4 ϕ	1.19	0.117	0.202						
3 ϕ	8.43	0.828	0.289	34.9	0.334	40.3	8.9	0.623	75.2
2 ϕ	10.57	1.038	0.530	51.1	0.244	23.5	11.0	0.774	74.6
total	36.91	3.625	1.270	35.0	1.513	41.7	39.9	2.783	76.8
C ₁₂ LAS									
5-6 ϕ	11.29	1.109	0.527	47.5	0.291	26.3	11.7	0.818	73.8
4 ϕ	6.94	0.682	0.305	44.7	0.163	23.9	6.7	0.468	68.6
3 ϕ	5.38	0.528	0.297	56.3	0.047	8.9	4.9	0.344	65.2
2 ϕ	8.64	0.848	0.416	49.1	0.040	4.7	6.5	0.456	53.8
total	32.25	3.167	1.545	48.8	0.541	17.1	29.9	2.086	65.9
C ₁₃ LAS									
6-7 ϕ	7.24	0.711	0.467	65.7			6.7	0.467	65.7
5 ϕ	0.76	0.075	0.047	62.7			0.7	0.047	62.7
4 ϕ	1.14	0.112	0.180	160.7			2.6	0.180	160.7
3 ϕ	2.49	0.245	0.163	66.5			2.3	0.163	66.5
2 ϕ	6.18	0.607	0.227	37.3			3.3	0.227	37.3
total	17.81	1.75	1.084	61.9			15.5	1.084	61.9
Ground total	100.0	9.822	4.092	41.7 (59.0) *2	2.888	29.4	100.0	6.980	71.1

*1 After centrifugation of activated sludge, precipitated sludge was washed by isotonic NaCl solution (same volume as supernatant) two times

*2 Parenthesis represents net recovery from adsorbed LAS (6.934=9.822-2.888)

L A S 試料中に含まれている 2-フェニル体 L A S が、C₁₂-LAS の場合で 2.7 mg/l、C₁₀₋₁₃LAS の場合で 1.9 mg/l と異なるためである。次に、汚泥中に残存する分解生成物の消長について述べる。Fig. 7 は前章で述べた汚泥抽出液の HPLC クロマトグラムを示している。これらのクロマトグラム上に、S ϕ B のピークが認められなかったことより、S ϕ B は汚泥中に残留蓄積しないものと思われる。また、クロマトグラム上に認められた各ピークは L A S 添加前のものと変わっていなかったこと、しかも、ピーク面積が L A S 添加前とほぼ同じか、むしろ減少する傾向にあったことから、これらのピーク成分が汚泥中に残留蓄積することはないものと思われた。

4. 考 察

4.1 LAS の吸着と生分解の関係について

前報¹⁾にも報告したごとく、L A S は界面活性剤の特性として界面に吸着しやすい性質をもっていることから、活性汚泥溶液中では水と汚泥との界面、すなわち汚泥表面にその多くが吸着されることになる。実際、本報で行なった回分式活性汚泥処理試験でも、汚泥と L A S 溶液

Fig. 1 MBAS and LAS isomers remaining in batch activated sludge effluents

Fig. 2 -(a) MBAS and LAS homologues/isomers remaining in a batch activated sludge effluent

を混合した直後、既に60~80%のLASが汚泥に吸着されていた (Fig. 1, 2)。しかし、吸着されたLASはその後、分解により消失した。すなわち、処理水および汚泥中に残存するLASおよびその分解生成物の量を測定したところ、それらは時間の経過とともに減少し、消失してゆくことが明らかとなった Fig. 1-7。

LASの吸着と生分解の関係について Swisher⁴⁾ は本報と同様の実験を行ない、活性汚泥1gあたりに吸着されたMBAS 6.5mgが23時間後には0.3mgと減少したことより、LASは分解によって除かれていると報告している。これに対し、関根¹⁾らは合成洗剤と粉石鹼のフィールドにおける比較試験を行ない、合成洗剤使用期間のMBAS吸着量が11,300mgであったと報告している、しかし、今

Fig. 2 -(b) LAS homologues/isomers remaining in a batch activated sludge effluent

Fig. 3 HPLC chromatogram of LAS remaining in a batch activated sludge effluents; activated sludge; (B); column, Hitachigel 3053 4.6 mm ϕ $\times$ 150 mm; eluent; 0.1 M NaClO₄-CH₃CN/H₂O (45/55); LAS, 22.3 mg/ ℓ

Fig. 4 HPLC chromatogram of C₁₂-LAS intermediates in batch activated sludge effluents; activated sludge, (A); column; 5 μ m LiChrosorb RP-18 4.6 mm ϕ $\times$ 150 mm; eluent, 0.1 M KH₂PO₄-CH₃CN/H₂O (8/92); LAS, 20 mg/ ℓ

回の調査によると、下水汚泥中のMBAS含量はかなり異なっており、乾泥1g当たり0.16 mg (160 ppm) から、1.17 mg (1,170 ppm)であった(Table 2)。また、LAS 20 mg/ ℓ を添加した回分式活性汚泥処理試験の24時間後汚泥からは0.33 mg (330 ppm)から2 mg (2000 ppm)

のMBASが検出された(Table 4)。しかしながら、これらのMBAS中に占めるLASの割合は低く、Table 2の下水汚泥の場合で0~14% (0.1 mg)、また、回分式活性汚泥試験の場合でも0~31% (0.191 mg)と低い値であった。これらのことより、LASの吸着と生

Table 4 Recovery of LAS from activated sludge in the course of treatment (biological removal)

LAS homologues and isomers	C ₁₀₋₁₃ LAS (commercial LAS)						C ₁₂ LAS					
	B			C			A			B		
	Initial	After 7 hr	after 24 hr	Initial	After 24 hr		Initial	After 7 hr	after 24 hr	Initial	After 7 hr	after 24 hr
C ₁₀ LAS												
4-5 ∅	0.858	0.148	0.053	0.770	N.D		0.009					
3 ∅				0.042	N.D		N.D					
2 ∅	0.473	0.052	0.040	0.477	N.D		N.D					
total	1.331	0.200	0.093	1.289	N.D		0.009					
C ₁₁ LAS												
5-6 ∅				1.803	N.D		0.026					
4 ∅	1.923	0.378	0.079	0.097	N.D		N.D					
3 ∅	0.717	0.010	N.D	0.822	N.D		N.D					
2 ∅	0.931	0.015	N.D	0.882	N.D		N.D					
total	3.571	0.403	0.079	3.604	N.D		0.026					
C ₁₂ LAS												
5-6 ∅	1.096	0.163		1.088	N.D		2.868		N.D	2.886	0.392	0.191
4 ∅	0.661	0.052	0.039	0.882	N.D		1.674	0.154	N.D	1.674	0.163	N.D
3 ∅	0.505	0.013	N.D	0.451	N.D		1.755	0.002	N.D	1.755	0.102	N.D
2 ∅	0.774	0.002	N.D	0.583	N.D		1.141	N.D	N.D	1.141	0.031	N.D
total	3.036	0.230	0.039	3.004	N.D		7.408	0.156	N.D	7.456	0.688	0.191
C ₁₃ LAS												
6-7 ∅			N.D	0.750	N.D		0.003					
5 ∅	0.749	0.069	N.D	0.037	N.D		0.005					
4 ∅	0.092	0.002	N.D	0.241	N.D		N.D					
3 ∅	0.202	0.014	N.D	0.222	N.D		N.D					
2 ∅	0.500	0.002	N.D	0.375	N.D		N.D					
total	1.543	0.087	N.D	1.625	N.D		0.008					
Total	9.481	0.920	0.211	9.522	N.D		7.451	0.156	N.D	7.456	0.688	0.191
LAS (HPLC)												
MBAS	10.779	1.185	0.896	11.167	1.97		8.122	0.746	0.33	7.575	1.074	0.621
LAS/MBAS	0.88	0.78	0.24	0.85	0		0.92	0.21	0	0.98	0.64	0.31

* A: activated sludge obtained from (A) sewage treatment plant in Tokyo

B: activated sludge obtained from (B) sewage treatment plant in Utsunomiya

C: laboratory continuous-flow activated sludge fed synthetic sewage containing LAS 20 mg/l

N.D: Not detected; Unit: mg/g-dry sludge

分解の関係について議論する場合には、単なる MBA S 測定だけではなく Intact な LAS の測定か、もしくは泡沫濃縮等の前処理により妨害物質を除いた後の MBA S 測定によるべきものと考えられる。

ところで、Swisher らは⁵⁾、LAS ベンゼン環の開裂について検討を加えており、それによると 193 および 223 nm における U・V 吸収でベンゼン環の定量を行なった場合、24 時間後の活性汚泥処理水で 90 - 92% の環分解率になったと報告している。また、Huddleston^{6) 7)} らは¹⁴ C でラベルされた C₁₂-LAS および市販 LAS の半連続式活性汚泥処理試験を行ない、MBA S およびベンゼン環の分解率 98% という値を得た。さらに、Huddleston らはこの時の物質収支についても検討しており、CO₂ および

Biomass への交換率として、前者で 62%、後者で 29.3% という値を報告している。吉村⁸⁾ らは LAS の活性汚泥におよぼす影響を半連続および連続式活性汚泥処理試験にて検討し、40 ~ 50 mg/l の濃度までは活性汚泥の処理機能に対し悪い影響をおよぼさず、また、処理水中の MBA S もゼロもしくは微量しか検出されないことを報告した。これらの報告は、LAS の活性汚泥による除去が吸着だけではなく分解によるものであることを別の面から示しているものと考えられる。

4.2 分解生成物の検討

Swisher ら⁴⁾ は LAS 分解中間体のうちベンゼン環を有したものは脱スルホン化処理によりインダノンもしくはテトラロン誘導体になることをガスクロマトグラフ分

析により明らかにした。この方法により、たとえば、2-フェニル体LASからの生成物として、1-メチル-3-インダノンが得られたことからSφBの存在が示唆された。今回、著者らはこのような前処理を行なうことなく、直接高速液体クロマトグラフ分析を行なうことによりSφBの存在を確認することができた。SφB以外の他のピークの構造についてはまったく不明であるが、本測定は233 nmで励起し288 nmのけい光を検出する方法をとっていることから、これらの物質の基本骨格にパラ置換されたベンゼン環構造の含まれる可能性が考えられる。また、LAS分解生成物溶液を酸性にしHPLC分析を行なうと、すべてのピークのRetentiontimeが遅くなることから、これらの成分の構造中にはCOOHやOHのような酸性解離基が存在するものと考えられる。さらに、SφBをスタート物質とする活性汚泥処理試験を行なった際、SφB以外のピークがまったく現れなかったことから、Fig. 4の1~4のピークは2-フェニル体LAS以外の異性体由来のものと考えられる。最近、Divo⁸⁾らはLAS分解細菌を用いたLAS(8種類)の分解試験を行ない、各々の異性体について、1種類から2種類のスルホフェニルカルボン酸誘導体が検出されたことを報告している。これらの報告をもとにC₁₂-2φLASの分解経路を示すとFig. 8⁹⁾¹⁰⁾のごとくとなる。このうち、ベンゼン環開裂前のカテコール誘導体の存在を活性汚泥で直接証明した報告はない。このことと、先に述べたSφBをスタート物質とする処理実験の際、SφB以外のピークが現れなかったことから、カテコール誘導体は不安定であり、すぐに分解されてしまうものと考えられる。なお、LAS分解生成物の毒性についてKimerle¹¹⁾らは、C₁₀₋₁₄LASのFathead minnow および

Fig. 5 The behaviour of sodium 3-(4-sulfophenyl)-butyrate (SφB) in the course of LAS biodegradation, detected by HPLC

Fig. 6 HPLC chromatograms of C₁₀₋₁₃LAS intermediates in batch activated sludge effluents; activated sludge; (B); column, 5 μm Li-Chrosorb RP-18 4.6 mm^φ×150 mm; eluent, 0.1 M KH₂PO₄CH₃CN/H₂O (5/95); LAS, 22.3 mg/l

ミジンコ(*Daphnia magna*)に対するLC₅₀(24 hr)が、それぞれ2.6 mg/l、1.9 mg/lであったのに対し、分解中間体であるSφB、SφV(SφValerate)およびSφU(SφUndecanoate)のFathead minnowに対するLC₅₀(24 hr)は10000 mg/l以上(SφB、SφV)および85.9±5.1 mg/l(SφU)であり、また、ミジンコに対しては、12000 mg/l以上(SφB、SφV)および355±150 mg/l(SφU)であったと報告している。また、Borstlap¹²⁾はC₁₂-LASのグッピーに対する最低致死濃度が5 mg/lであったのに対し、生分解後は1000 mg/l以上の値になったと報告している。これらの報告より、LAS

Fig. 7 HPLC chromatograms of LAS intermediates recovered from activated sludge; column, 5 μ m LiChrosorb RP-18 4.6mm ϕ $\times$ 150mm; eluent, 0.1 M KH₂PO₄CH₃CN/H₂O (5/95); retention time of S ϕ B, 6.5 min.

Fig. 8 Proposed biodegradation pathway of C₁₂ (2 ϕ) LAS
a) R. D. Swisher (reference 4))
b) P. Shöberl (reference 10))

が生分解された場合、水棲生物に対する毒性は増加せず、逆にかかなりの程度減少することがわかる。

4.3 活性汚泥からの LAS 抽出方法について

今回用いた抽出方法の LAS 回収率は total で 71.1%, 汚泥単独では 59% と低い値であった。本法はベンゼン:メタノール (1:1) にて熱抽出する方法だが、同じ方法を用いた宇都宮¹³⁾らの報告をみると、河川底泥からの回収率として 54~82%, という値が報告されている。この報告および本報より、ベンゼン:メタノールによる熱抽出法の欠点として LAS 回収率の低いことがあげられる。そこで本報告ではこの回収率を考慮し議論をすすめたが、今後は本抽出方法の改良検討を行なうことがまず必要と考えられる。溶剤による抽出効率もさることながら、抽出後の溶剤留去等の濃縮操作の段階で多量の析出物が生成し、これらが LAS の回収率を低下させているとも考えられるのでこの点についても今後検討が必要である。なお、LAS の定量を MBAS 単独で行なう場合には、泡沫濃縮法等により妨害物質を除去することが必要と考えられる。

5. 結 語

活性汚泥による LAS の吸着と生分解について検討を加え、次のような結果を得た。

- 1) 2ヶ所の都市下水汚泥および実験室で連続運転している2種類の合成下水汚泥中に含まれるLASの分析を行なった結果、これより乾泥1g当たり0.16mgから1.17mgのMBA Sが検出されたが、LASとして検出されたのは東京都のA下水汚泥のみで、その値は乾泥1g当たり約0.1mgであった。
 - 2) LASの生分解性の順は吸着性の順と一致した。これより、LASは吸着されやすいものから順に分解除去されることが明らかとなった。
 - 3) LASの消失とともに分解中間体がいったんは増加したが、その後は減少し汚泥中に残留蓄積するような傾向は認められなかった。
 - 4) 2-フェニル体LASの分解中間体として3-(4-sulfophenyl)-butyrate (SφB) の存在をHPLCクロマトグラム上で直接確認できた。
 - 8) C. Divo and G. Cardini (1980) Primary and total biodegradation of linear alkylbenzene sulfonates, Tenside Detergents 17, 30
 - 9) Huddleston, R. L et al. (1963) Microbial oxidation of sulfonated alkylbenzenes, Develop Ind. Microbiol. 4, 24
 - 10) Shöberl, P und K. J. Bock (1980) Tensidabbau und dessen Metaboliten, Tenside Detergents 17, 262
 - 11) Kimerle, A and R. D. Swisher (1977) Reduction of aquatic toxicity of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) by biodegradation, Water Res. 11, 31
 - 12) Borstlap, C (1964) IV. International Congress of Surface Active Substance P. 891
 - 13) 宇都宮暁子, 伊藤伸一ら (1980) 直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム (LAS) に関する研究 (第1報) 一相模川河口域底質中のLASについて。衛生化学, 26 (4)
 - 14) 安部喜也 (1972) 諏訪湖底泥中のABS (アルキルベンゼンスルホン酸塩) の分布。陸水学雑誌, 33 (3) 40-50
- 本研究を行なうにあたり貴重な御助言をいただいた花王石鹸(株)長瀬邦彦理事ならびに岡本暉公彦室長に対し感謝の意を表します。また、LAS分解生成物SφBの合成をしていただいた増田進一(薬博)氏、および、界面活性剤の分析を手伝っていただいた塙信子、鈴木英之の各氏に対しても感謝の意を表します。
- (原稿受理: 昭和56年7月31日)

—引用文献—

- 1) 吉村孝一, 中栄篤男 (19) 活性汚泥による直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム (LAS) の生分解性に関する研究(I) — LASの吸着機構について。水質汚濁研究
- 2) 関根寛ら (1980) 污水处理施設に及ぼす合成洗剤の影響調査。公害と対策, 16 (9), 17
- 3) 吉村孝一, 谷垣雅信ら (1980) 界面活性剤の活性汚泥に及ぼす影響。用水と廃水, 22 (7), 48
- 4) Swisher, R. D. (1970) Surfactant Biodegradation, P. 185 P. 283, Marcel DeRer, Inc, New York
- 5) Swisher, R. D et al. (1967) Biodegradation of LAS benzene rings in activated sludge, Jour. Am. Oil chem. Soc. 44, 717
- 6) Huddleston, R. L and A. M. Nielsen (1979) LAS biodegradation: The fate of the aromatic ring; Soap/cosmetic/chemical specialties for March 34
- 7) Nielsen. A. M and R. L. Huddleston (1980) LAS biodegradation: Ultimate fate of alkyl and ring carbon, ibid for March 48