

I S S N 0 3 8 6 - 5 8 7 8

土木研究所資料 第4275号

土木研究所資料

平成24年度下水道関係調査研究年次報告書集

FY2012 Annual Report of Wastewater Management and Water Quality Control

平成25年12月

独立行政法人 土木研究所

Incorporated Administrative Agency
Public Works Research Institute

Copyright © (2013) by P.W.R.I.

All rights reserved. No part of this book may be reproduced by any means, nor transmitted, nor translated into a machine language without the written permission of the Chief Executive of P.W.R.I.

この報告書は、独立行政法人土木研究所理事長の承認を得て刊行したものである。したがって、本報告書の全部又は一部の転載、複製は、独立行政法人土木研究所理事長の文書による承認を得ずしてこれを行ってはならない。

平成24年度下水道関係調査研究年次報告書集

材料資源研究グループ リサイクルチーム
水環境研究グループ 水質チーム

概要

本報告書集は、平成24年度に独立行政法人土木研究所において実施された下水道に関する調査研究の成果を集約して資料としてとりまとめたものである。

キーワード：下水道、下水処理、高度処理、汚泥、水質浄化、リサイクル

目 次

I リサイクルチーム		頁
1	下水道革新的技術実証事業一般化検討調査 (受託業務費)	1
2	地域バイオマスの資源管理と地域モデル構築に関する研究 (運営費交付金)	3
3	下水道を核とした資源回収・生産・利用技術に関する研究 (運営費交付金)	9
4	低炭素型水処理・バイオマス利用技術の開発に関する研究 (運営費交付金)	15
5	水環境中における病原微生物の対策技術の構築に関する研究 (運営費交付金)	21
6	開発途上国における都市排水マネジメントと技術適用に関する研究 (運営費交付金)	30
7	再生水利用の安全リスクに関する研究 (運営費交付金)	34
8	21世紀型都市水循環系の構築のための水再生技術の開発と評価 (水の衛生学的評価) (戦略的創造研究推進事業)	39
9	有効な肥料資源の保全方法と下水汚泥燃焼方法の検討 (農水省実用技術開発事業)	46
II 水質チーム		
10	下水道における化学物質の挙動評価と対策技術の開発に関する調査 (受託業務費)	47
11	流域スケールで見た物質動態特性の把握に関する研究 (2) (運営費交付金)	51
12	土地利用や環境の変化が閉鎖性水域の水質・底質におよぼす影響に関する研究 (運営費交付金)	65
13	水環境中における未規制化学物質の挙動と生態影響の解明 (運営費交付金)	69
14	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 (運営費交付金)	88
15	閉鎖性水域の貧酸素化に及ぼす陸域負荷の影響と対策手法に関する研究 (運営費交付金)	93
16	地球環境の変化が河川湖沼水質に及ぼす影響の評価に関する研究 (運営費交付金)	103
17	水生生物の生体反応を用いた下水処理水の毒性評価に関する研究 (運営費交付金)	119
18	水生生物に蓄積している未規制化学物質の実態の解明に関する研究 (運営費交付金)	146
19	魚類の繁殖・稚魚の生育試験による下水処理水の安全性評価に関する研究 (運営費交付金)	149
20	微量金属を対象とした藻類抑制手法の提案 (運営費交付金)	153
21	亜酸化窒素の水環境中動態に水質が与える影響に関する研究 (運営費交付金)	164
22	21世紀型都市水循環系の構築のための水再生技術の開発と評価 (バイオモニタリング) (戦略的創造研究推進事業)	177
付録 平成24年度 下水道関係刊行報告書一覧		181

*受託業務費とは、国土交通省からの受託によるものである。

*流域スケールで見た物質動態特性の把握に関する研究(1)は、水災害研究グループによって行われており、本報告書には、掲載していない。

I. リサイクルチームによる研究

下水道革新的技術実証事業一般化検討調査

リサイクルチーム 上席研究員
主任研究員

内田 勉
日高 平

1. はじめに

地球温暖化対策の進展や資源・エネルギー問題の対応に向けて、下水汚泥の嫌気性消化により発生するメタンガスの有効利用に期待が高まっている。そのような中、平成 23 年度および 24 年度には、大阪および神戸で下水道革新的技術実証事業（B-DASH プロジェクト）が実施されている¹⁾。これらの実証事業の成果を活かしながら対象技術の全国展開に向けた可能性・阻害要因を明らかにするためには、実証フィールドとなる下水処理場以外の条件での対象技術の適用可能性を検証する必要がある。特に、いずれの実証フィールドでも、下水汚泥以外の有機性廃棄物（地域バイオマス）と下水汚泥を混合消化させることが提案されているものの、地域により汚泥やバイオマスの性状が異なる可能性があり、実証フィールドの結果のみからでは、全国展開に必要な情報が得られない。

平成 23 年度には、異なる下水処理場の汚泥試料を評価する手法を提示するとともに、実証都市を想定した地域バイオマス試料との混合消化実験により、基礎的な知見を提示した²⁾。平成 24 年度には、異なる地域バイオマスを対象として、混合消化に関する実験的検討を行うとともに、実験結果を簡単な数理モデルの形で表現し、実証実験のガイドライン化に資する基礎知見の収集を目的とした。

2. 本調査の成果

本調査で得られた成果は以下の通りである。

(1) 地域バイオマスに馴致したメタン発酵汚泥の培養および特性分析

- ・ 中温および高温条件下で、実証都市とは異なる都市の下水汚泥および地域バイオマスに馴致したメタン発酵汚泥を培養し、回分式実験の植種材料として活用した。
- ・ COD 基準のメタン転換率は、下水汚泥のみの場合の 6 割程度と比して、地域バイオマスを添加した場合は 7 割程度まで向上することが示された。

(2) 回分式の混合メタン発酵実験による反応特性分析

- ・ 地域バイオマス試料について、中温および高温条件下で、回分式実験を行い、基礎的な性状分析を行い、混合消化の基礎的な知見を整理した。
- ・ COD 基準のメタン転換率を求めた（図 1）。グルコースのメタン転換率は 0.9 程度であり、添加したグルコースはおおむねメタンに転換されていた。混合汚泥は 0.6 程度であり、昨年度の実験と同様の値であることから、昨年度と本年度の実験の再現性が確認された。生ごみについては 0.9 程度、牛糞は中温で 0.8 程度、高温で 0.6 程度、豚糞は 0.6 程度、野菜くずとして用いたキャベツ、ジャガイモ、にんじんはいずれも 0.8 程度であった。食品系廃棄物の一部の成分は COD で検出されないため、計算上転換率が 1 を超過した。間伐材では、可溶化処理が実証フィールドと異なり、転換率が低かった。
- ・ 地域バイオマスの性状、投入量およびメタン発酵後の消化液性状の変化との関係を分析

した。アンモニア性窒素については、地域バイオマスの窒素含有率に応じて、投入 COD に対して 1~3%程度のアンモニア性窒素が増加することが示された。

- ・地域バイオマス投入によるアンモニア性窒素の増加とアルカリ度の増加は、関連していることが示された。

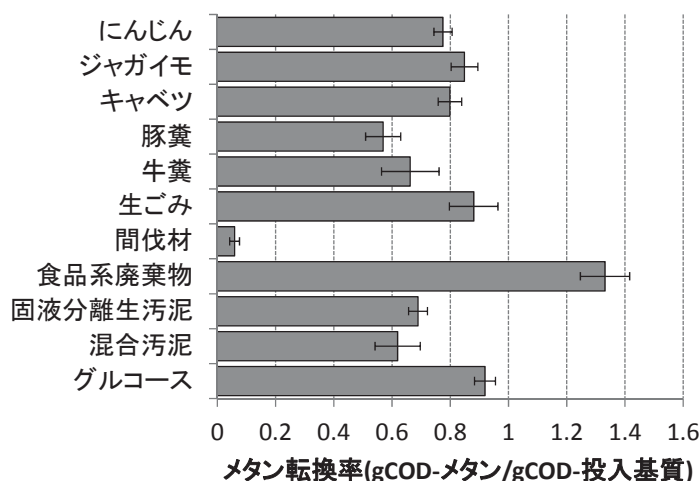


図1 回分式実験での COD ベースメタン転換率測定結果 (中温および高温での平均値±標準偏差)

(3) 数理モデルによる混合メタン発酵特性解析

- ・メタン発酵に関する簡易数理モデルを構築し、回分式実験の結果を基に、パラメータを算出した。
- ・回分式実験でのメタンガス生成経時変化の結果で、数理モデルの精度の検証を行った。
- ・大阪および神戸での実証実験条件を入力して計算したところ、回分式実験で求めたパラメータにより、おおむね実証実験状況が再現されることが示された。

(4) 革新的技術の他都市への適用性に係る検討

- ・既往知見を整理し、数理モデルの適用範囲を拡大した。
- ・地域バイオマスとの混合消化の観点で、革新的技術の他都市への適用性を検討する際の数理モデル活用方法をまとめた。

謝辞

本調査を行うにあたり、下水汚泥試料および実証実験関連バイオマス試料については、地方自治体関係各位および実証実験関係者各位の協力を得ております。畜産関係試料については、静岡県畜産技術研究所中小家畜研究センターの協力を得ております。ここに記して、謝意を表します。

参考文献

- 1) 白崎亮：下水道革新的技術実証事業(B-DASH プロジェクト)の概要，再生と利用，Vol. 36，No. 134，pp. 16-19，2012.
- 2) 日高 平，内田 勉：下水汚泥の性状および消化特性に関する処理場毎の比較調査：土木学会論文集 G (環境)，Vol, 68，No. 7，III_325-III_332，2012.

地域バイオマスの資源管理と地域モデル構築に関する研究

研究予算：運営費交付金

研究期間：平 23～平 27

担当チーム：材料資源研究グループ（リサイクル）

研究担当者：内田 勉、日高 平、桜井健介、
堀尾重人、王 峰

【要旨】

刈草の有望な利用方法の一つとして考えられる下水処理場での嫌気性消化に関する基礎的知見を収集するために、刈草と下水汚泥の高温混合嫌気性消化に関する連続式実験および回分式実験を行った。その結果、高温条件下で安定した処理が可能であり、刈草のメタン転換率は COD ベースでおおむね 40%程度、および VS ベースで 0.19 L CH₄/g VS-刈草程度であることが示された。また、LCCO₂ による評価手法の構築を目指し、原単位の設定を行った。

キーワード：(刈草と下水汚泥の) 混合消化、高温メタン発酵、インベントリ、LCCO₂

1. はじめに

地球温暖化対策の推進の観点から、国は地方公共団体と連携を図りつつ、温室効果ガスの排出の抑制等のために必要な施策を推進するように努めるものとされている¹⁾。また、地球温暖化の防止、循環型社会の形成、競争力のある新たな戦略点産業の育成などの観点からエネルギーや製品としてバイオマスを総合的に最大限利活用し、持続的に発展可能な社会をできる限り早期に実現することが求められている²⁾。

一方で、河川、道路、公園、ダムなどの公物管理のため広大な緑地の除草などが行われている。河川の堤防法面等において、点検の条件整備とともに堤体の保全のために除草が定期的に行われている。河川管理上あるいは廃棄物処理上支障がなく刈草を存置できる場合を除いて、焼却などにより処理されているが、リサイクル及び除草コスト削減の観点から、有効利用等について取り組むこととされている³⁾。道路でも通行車両からの視認性を確保等のために除草が実施されている⁴⁾。例えば、国土交通省の109国道事務所、102河川事務所、17公園事務所、25ダム事務所に対して実施されたアンケート結果によれば、これらの定期的な除草を要する緑地の合計は約360km²であり、そのうち、河川事業が約290km²、道路事業が約60km²であった⁵⁾。

一般に、バイオマスは広く、薄く存在している上、水分含有量が多い、かさばる等の扱いづらいという特性のために収集が困難であることが、十分に活用されてい

ない原因の一つである²⁾。しかし、公物管理で発生する刈草は、毎年、一定量が発生し、管理責任者が明確であることから、比較的利用しやすいバイオマスと考えられ、有効利用が期待される。これらのバイオマスを効率的に利活用していくためには、その特性に留意しつつ、できる限り既存の施設・システムを活用した利活用システムを構築することが有効であり、そのための要素技術の開発が望まれるところである。

本研究は、公共緑地等バイオマスを資源として位置づけ、恒久的に利用していくための要素技術やシステムを提示することが目的である。平成24年度は、提示にあたり、刈草と下水汚泥の高温混合嫌気性消化実験を行った。また、LCCO₂による評価手法の構築を目指し、原単位の設定を行った。

2. 刈草と下水汚泥の高温混合嫌気性消化に関する実験的検討

2.1 目的

公共緑地等バイオマスの有望な利用方法の一つとして下水処理場での嫌気性消化が考えられる。木質系バイオマスと下水汚泥の混合消化については、前処理技術として蒸煮・爆砕の技術を開発してきており、その適用性が示されているものの、前処理に要するエネルギーや費用の点が課題である⁶⁾⁷⁾。刈草については、中温(35℃)条件下での混合消化についての研究例はみられ、特殊な前処理を行わなくても裁断のみで、ある程度のメタン転換が

表 1 連続式嫌気性消化実験の運転条件 (温度 55°C)

反応器	基質	経過日数 (日)				
		0~60	61~74	75~95	96~151	152~284
反応器 1	混合汚泥	HRT 70~25 d	HRT 21 d	HRT 21 d	HRT 21 d	HRT 21 d
反応器 2	混合汚泥+刈草 (25%*)	—	—	HRT 28 d 刈草 (A)	HRT 21 d 刈草 (A)	HRT 21 d 刈草 (B)
反応器 3	混合汚泥+刈草 (50%*)	—	—	同上	同上	同上

*混合汚泥 VS 量に対して

期待できるものの⁸⁾⁹⁾、高温 (55°C) 条件下での例はほとんど見られない。そこで、高温条件下での刈草の嫌気性消化に関する基礎特性を把握するために、混合汚泥および刈草を基質として、3 系列の連続式実験を行うとともに、消化汚泥を用いた回分式実験を行った。

2. 2 実験方法

2.2.1 連続式実験

連続実験の運転条件を表 1 に示す。反応器 1 (有効容積 10 L) として、55°C の条件下で混合汚泥を基質とした連続運転をまず開始した。植種汚泥には、都市下水処理場の混合汚泥で運転していた嫌気性消化反応器から採取した消化汚泥を用いた。投入基質には、同じ下水処理場の混合汚泥を用いた。混合汚泥の固形物 (TS) 濃度は 1~2% 程度であるので、実験室での遠心分離操作により、4% 程度まで濃縮した。反応器 1 の水理的滞留時間 (HRT) は、70 日で開始し、運転開始 60 日目にかけて徐々に 25 日まで低下させた。61 日目以降の HRT は 21 日とした。その後 75 日目に、有効容積 4.5 L の反応器 2 系列 (反応器 2 および反応器 3) にて、混合汚泥と刈草の混合消化連続運転を、反応器 1 の消化汚泥を植種汚泥として、55°C の条件下で開始した。実験に用いた刈草は、土木研究所内の草を使用した。刈草の投入量は、混合汚泥の有機物 (VS) に対して、反応器 2 では 25% 程度、反応器 3 では 50% 程度とした。運転開始当初は 110°C で乾燥して、長さ 8.9mm、幅 0.9mm 程度に裁断した刈草 (A) を用い、152 日目以降は乾燥させずに長さ 13.2mm、幅 1.0mm 程度に裁断した刈草 (B) を投入した。基質投入および消化液の引抜操作は、平日 1 日 1 回の頻度で手動にて行った。

2.2.2 回分式実験

消化汚泥および投入刈草の混合比の影響を確認するために、刈草 (B) および反応器 1 の引抜消化汚泥を用いて、消化汚泥のみのブランク系、混合汚泥のみを添加した系、汚泥および刈草の混合消化系 2 段階、ならびに刈草のみの系 2 段階について、55°C にて回分式実験を行った (表 2)。ガラス瓶および攪拌機を組み合わせた反応器

を用い、消化汚泥 260 mL、混合汚泥を添加する場合は 40 mL、および刈草所定量を投入し、沸騰後冷ました水道水を加えて 500 mL とした。そして、経時的にメタンガスの発生量を測定した。

表 2 回分式実験の設定条件

	基質
回分 0	なし (コントロール系)
回分 1	下水汚泥のみ
回分 2	下水汚泥+刈草 (25%*)
回分 3	下水汚泥+刈草 (50%*)
回分 4	刈草のみ (25%*)
回分 5	刈草のみ (50%*)

*回分 1 の下水汚泥の VS 量に対する割合

2.2.3 分析方法

汚泥性状の分析は、下水試験方法に従って行った。なお、COD_{Cr} および有機酸の分析は吸光度計 (DR2400、HACH 社) により、それぞれ COD_{Cr} 試薬 (HR) および有機酸試薬 (TNT872) を用いた。アンモニアは自動比色分析装置 (TRAACS2000、BRAN LUEBBE 社) を用いた。発生ガスは、3M 水酸化ナトリウム水溶液を通過させることで二酸化炭素を除去し、メタンガス発生量として計量した。発生量は、連続式実験の場合ガスバックで採集し週に一回湿式ガスメータで測定し、回分式実験では水上置換で測定した。

2. 3 結果および考察

2.3.1 連続式実験

連続式実験における、TS および VS の経時変化を図 1 に示す。反応器 1 の TS および VS の平均値は、投入汚泥ではそれぞれ 3.8 および 3.0 %、消化汚泥では 152 日目以降それぞれ 2.1 および 1.4% であった。投入および消化汚泥の VS の差を投入汚泥の VS で除して算出した VS ベースでの消化率は 60% 程度であり、一般的な混合汚泥の消化率と同等であった¹⁰⁾。アンモニア性窒素濃度はおおむね 1,000 mgN/L 以下であり、メタン発酵への阻害影響はなかった。有機酸濃度は徐々に低下し、152 日目

以降には 1,000 mgHOAc/L 以下になった。

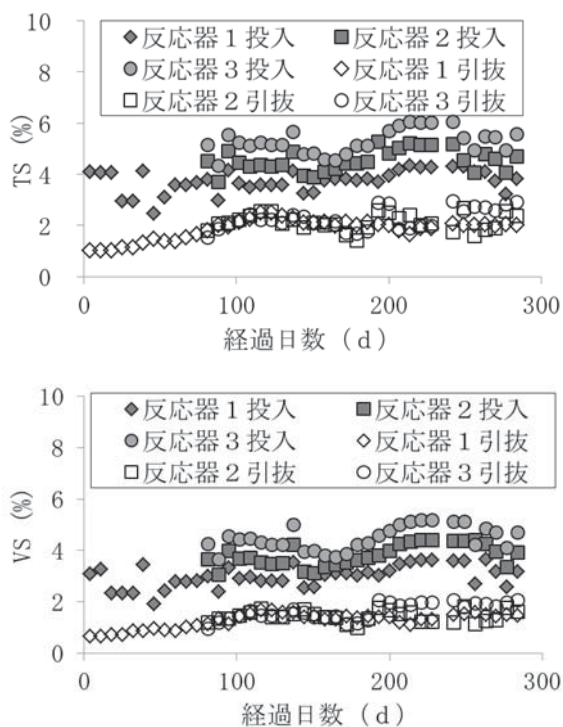


図1 連続式実験における TS および VS の経時変化

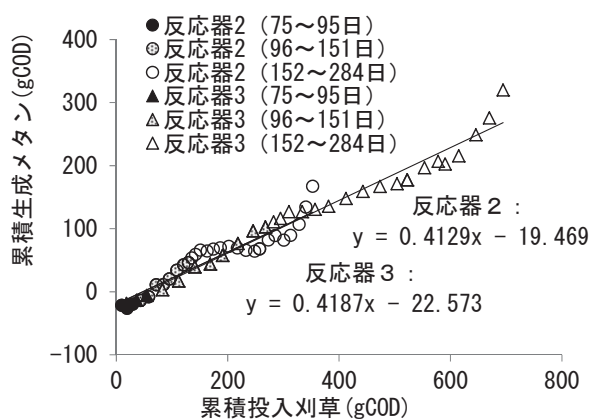


図2 連続式実験における累積投入刈草量と累積生成メタン量の関係

反応器 2 の消化汚泥では、HRT 21 日の条件で、TS および VS の平均値が、それぞれ 2.2 および 1.5%であった。反応器 3 での同じ条件では、それぞれ 2.3 および 1.7%であった。いずれも VS ベースでの消化率は 60%程度であった。アンモニア性窒素濃度はおおむね 1,200 mgN/L 以下であり、メタン発酵への阻害影響はなかった。有機酸濃度は運転開始から 120 日目まで 4,000~5,000 mgHOAc/L 程度であり、250 日目以降 1,000 mgHOAc/L

程度以下まで低下した。

連続式実験における COD ベースの累積投入刈草量と累積生成メタン量の関係を図 2 に示す。刈草のメタン転換率は、反応器 1 における下水汚泥のメタン転換率分を差し引いて算出した。反応器 2 では、185 日目から 221 日目までの間攪拌が不安定であり、メタン転換率が低かった。攪拌機を交換して、222 日目以降、メタン転換率は回復した。いずれの反応器でも、刈草のメタン転換率は COD ベースでおおむね 40%程度であった。草の VS ベースのメタン発生量では、0.19 L CH₄/g VS 程度であり、中温での研究例とおおむね同程度である⁹⁾。異なる消化汚泥および投入刈草の混合比でも、同程度の値であった。

2.3.2 回分式実験

回分式実験における刈草からのメタン生成量の経時変化を、ブランク系での消化汚泥によるメタン生成量を差し引き、投入刈草 VS あたりに換算して図 3 に示す。回分式実験で用いた消化汚泥および混合汚泥の VS は、それぞれ 1.4 および 2.8%であった。回分式実験 2 および 3 における刈草のメタン転換率は、回分式実験 1 における下水汚泥のメタン転換率分を差し引いて算出した。

刈草のみの場合の COD ベースメタン転換率は 30%弱であり、汚泥との混合消化で刈草のメタン転換率は、連続式実験と同じ 40%程度であった。下水汚泥と混合することで刈草のメタン転換が促進されると考えられる。

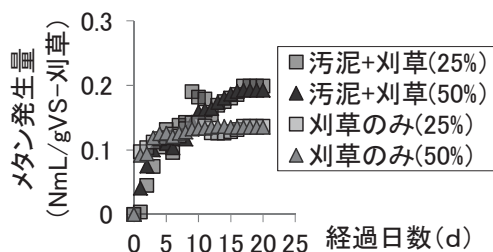


図3 回分式実験における刈草からのメタン発生量の経時変化

3. LCCO₂による公共緑地等バイオマス利用の評価

刈草の特徴は木材に比べリグニンの含有量が少なく柔らかい点であり¹¹⁾、生物による分解が比較的早い。この特徴を活かし、飼料化^{12),13)}、堆肥化^{14),15)}、下水処理場での嫌気性消化^{8),9)}などが有望な処理方法と思われる。

刈草の処理による温室効果ガスの排出量は、処理方法毎に異なる。加えて、発生する刈草の性状、運搬距離、処理方法などに左右されるため、様々な処理シナリオ毎

異なる。そのため、公物管理者が刈草の処理方法を検討するために温室効果ガスの排出抑制効果を評価することが困難となっている。そこで本研究では、想定されるシナリオ毎の温室効果ガス排出量を定量的に評価し、管理者の処理方法の判断材料を与えようとするものである。

平成24年度は、平成23年度の成果に加え、昨今の社会情勢を把握しつつ、原単位の設定を行った。以下に現在までにとりまとめたモデルケースでのLCCO₂評価の試算例を示す。

本研究における処分・有効利用方法の温室効果ガス排出量の評価手順は、LCAの国際標準規格(ISO 14040:2006とISO 14044:2006)および伊坪らによる方法¹⁰⁾を参考にした。

3.1 目的と調査範囲の設定

目的は、公物管理者が刈草の処理を行う際に、処理経費に加えて、地球温暖化対策の効果を定量的に考慮して、処理方法を選択することである。評価対象とする機能単位の「公共緑地1,000m²から発生する刈草の処理」とした。刈草の発生量は、既報⁹⁾を元に、緑地1,000m²の除草1回から発生し、数日間乾燥された状態とし334kg-wet(含水率18.0%)と設定した。

ここで刈草の処理とは、河川などの公物管理のために除草し、必要に応じ中間処理(焼却や資源化)の後、廃棄または利用され最終的に安定した状態となることとした。評価する環境影響の領域は、地球温暖化であり、温室効果ガス(GHG)排出量を評価した。

評価対象とするシナリオは図4に示すとおり、現状で現実的と思われる、(A)存置、(B)焼却(発電無し)、(B')焼却(発電有り)(C)飼料化、(D)堆肥化、(E)バイオガス化(下水処理場での嫌気性消化)とした。

シナリオ中の運用からのGHG排出量を対象とし、施設や設備の建設や廃棄は対象外とした。シナリオ内で生じる資源化物(焼却や嫌気性消化から発電した電力、飼料、堆肥)は同等の機能を提供するシステム(電力供給、飼料の供給、合成肥料の供給)を代替すると考え、このシステム分を差し引いた。データは、国内全域で適用可能なものを用いることとした。

3.2 インベントリ分析

インベントリ分析では、各シナリオ内のプロセス毎に分類した上で、消費量などの物理量にGHG排出量原単位を乗じ単位プロセス毎に算出し、それらを積み上げてシナリオ全体のGHG排出量とした。データの利用の優先順位は、自ら取得したデータ、業界の標準値、文献値、積み上げ法の基づくLCIデータベースの参照値とした。GHG排出量原

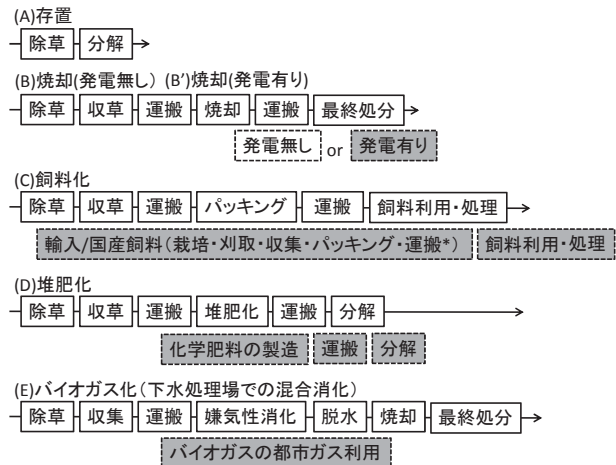


図4 計算された処理方法と構成プロセス (バウンダリ) 着色されたセルはエネルギーや資源の代替による削減を示す。

単位は、二酸化炭素(CO₂)、メタン(CH₄)、一酸化二窒素(N₂O)について設定した。

試算にあたって、除草・集草プロセスではハンドガイド式を用いることとした。運搬では、2tトラックに2m³積載することとし、積載刈草の体積で按分した。トラックへの積み込みや積み下ろしは人力とした。人力による作業は、GHG排出量が無いものとした。焼却施設1施設あたりの可住地面積の全国平均は、99.1km²(=12.1万km²¹⁷⁾/1221施設¹⁸⁾であり、同面積の円の半径5.62kmの往復分を平均的な運搬距離として設定した。

焼却は、発生した刈草を既存のごみ焼却場で中間処理し、最終処分するシナリオを想定した。焼却のGHG排出量は、既報¹⁹⁻²¹⁾によると、炉の形式、炉の大きさ、発電効率、溶融の有無などにより異なる。本報告において焼却施設の処理方式は、全国で最多(1255施設中454施設²²⁾)の全連続運転のストーカ式施設とした。施設規模は200t/dとし、発電効率は10%とした。GHG排出量の算定は、実施において刈草の影響だけを取得するのは困難であるため、既報¹⁹⁾のモデルを参照した。本報中に特に記述の無いものはモデルのデフォルト条件を採用した。モデル中では、発電量は、主に施設規模に依存する場内蒸気使用量とごみの発生量に依存する発生蒸気量の差から使用可能蒸気量を求め、発電効率を用いて計算される。場内蒸気使用量は、ごみ処理分および集塵灰処理分等から計算される。本シナリオでは、既存の焼却処理場に刈草が追加的に投入されることを想定し、場内蒸気使用量は変わらず発生蒸気量が変化するものとして計算した。また、刈草の投入前の既存の状態から発生蒸気量は場内蒸気使用量を上回っていたものとした。なお、平成22年一般廃棄物処理実態調査結果²²⁾から計算された全国の焼却施設に持ち込まれるごみの低位発熱量の平均は7.66MJ/kg-wetであり、補助燃料無しに焼却可能な熱

量（モデル中では4.18MJ/kg-wetが採用されている）を上回るため、既存施設では補助燃料を使用していないこととした。集塵灰は薬剤処理後セメント固化するものとした。

最終処分では焼却灰のセメント固化物を対象とした。処分場の設計条件はモデル¹⁹⁾中のデフォルトとした。すなわち、山間部での陸上埋立等とし、浸出水の排水基準はBOD20mg/L、COD20mg/L、T-N10mg/L等とした。なお、浸出水の処理は、追加的に処理された焼却灰から発生する分のみを対象とし、Ca前処理や脱塩素処理、酸性凝集処理、脱窒素型生物処理等の必要な処理を行うこととした。処分場の平均使用予定期間は10年とし、浸出水の処理はその後7年間行うこととし、その期間に要するエネルギー量を計上した。最終処分場1施設あたりの日本の総面積は、213.0km²(=37.8万km²¹⁷⁾/1775施設¹⁸⁾)であり、同面積の円の半径8.23kmの往復分を平均的な焼却灰の運搬距離として設定した。

飼料利用は、刈草を乳牛等に飼料として利用することを想定し、同量のオーストラリア産輸入乾草²³⁾および国産乾草を混合して、代替することとした。飼料中の国産乾草の混合の割合は仮想的に、平成23年度純国内産粗飼料自給率と同じ77.4%²⁴⁾とした。代替分として計算された輸入乾草のGHG排出量は、耕作、肥料、輸送などの合計として計算されている。国産乾草は、それからオーストラリアから国内主要港への海上輸送分を引いたものとして計算した。

堆肥化については、堆肥の製造および利用にかかるGHG排出量から相応の化学肥料分を差し引くことで全体のGHG排出量を計算した。相応の化学肥料とは、既報²⁴⁾中の稲わらやバーク堆肥の肥効率を堆肥の養分に乘じて

求めた有効養分量と同等の化学肥料である。

バイオガス化とは、刈草を数cmに破碎後、下水処理場にて下水汚泥と混合して嫌気性消化し、メタンガスを回収した後、機械脱水後焼却して、焼却シナリオ中の最終処分と同様に埋め立てるものとした。また、刈草の追加によって発生したメタンガスを熱量にして等価の都市ガスと代替することを想定した。なお、メタンガスを元にガスエンジンにて発電する場合も考えられるが、計算値は都市ガスと大きく変わらなかった。

3.3 影響評価

GHGの地球温暖化係数は、京都議定書の前例となっておりIPCC第二次報告書²⁵⁾における積分期間100年の係数とし、重量当たりの温室効果が、CO₂に対し、CH₄は21倍、N₂Oは310倍とし、CO₂を基準物質として表現した。ただし、刈草の焼却や分解に伴うCO₂の排出は、草の成長時に吸収したCO₂を還元する効果とみなせるので、IPCCガイドライン²⁶⁾と同様に、温室効果は無いものとした。

3.4 試算結果例

十分な情報が収集できなかったため一部（特に、バイオガス化中のメタン発酵残渣の脱水や焼却の具体的なプロセス、堆肥化中の化学肥料の施用に伴うN₂Oの発生や堆肥の肥効率など）に大まかな仮定によって設定された暫定値を含むが、概況を把握するため、現在までの試算結果例を図5に示した。刈草の刈取場所から処理を行う場所までの運搬距離は、実情に合わせて設定されるべきだが、試算では一律に焼却シナリオで設定した5.62kmの往復分で計算した。なお、今後、本データは暫定値の見直しなどにより更新される可能性がある。

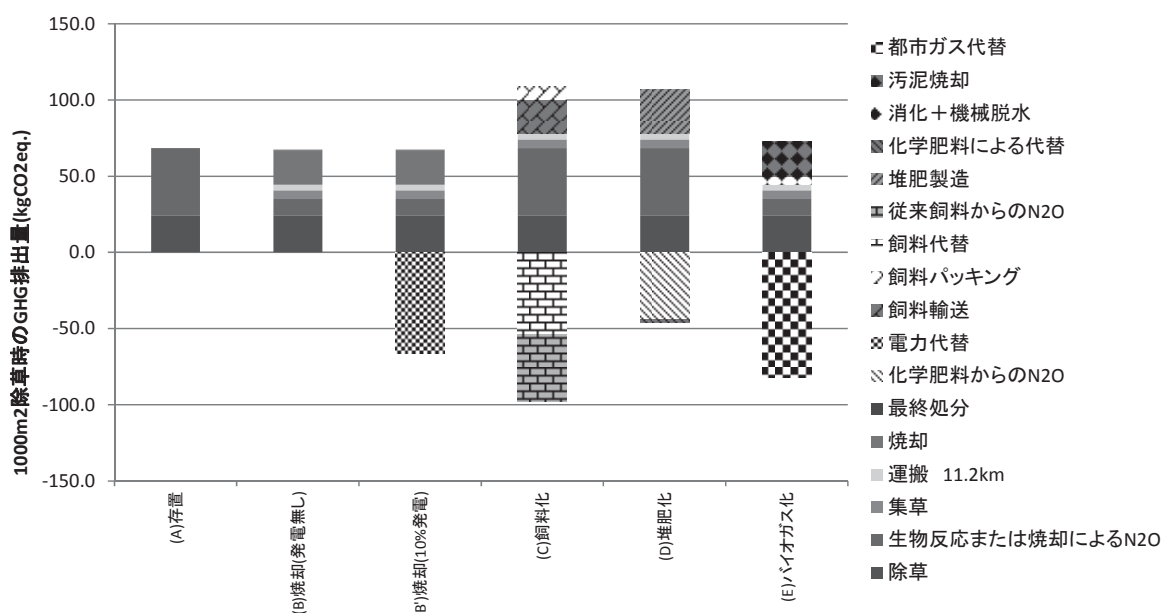


図5 1000m²の緑地から発生した刈草 334kg(含水率 18%)の各処分方法毎の GHG 排出量(バイオマスに由来する CO₂ 420kg-CO₂は評価対象外、一部暫定値を含んでおり今後見直される可能性がある)

本試算における GHG 排出量は、存置の場合に発電無しの焼却処理の場合と同程度であった。ただし、生物反応および焼却による窒素の N_2O 転換率は、GHG 排出量への寄与率が高い上に不確実性が大きいことから、継続して研究の最新動向を調査していくことが重要と考えられる。また、発電有りの焼却、飼料化およびバイオガス化（下水処理場での混合嫌気性消化）の場合は、存置や発電無しの焼却の場合より GHG 排出量が低かった。また、除草作業の寄与は大きかった。

ここに暫定値を含む GHG 排出量を示したが、実際には、当然、各処理方法は GHG 排出量のみで選択されるものではなく、経済性や地域のニーズなどを考慮して選択されるものである。今後は、原単位のさらなる精度向上を図るとともに、より地域の実情を反映していく予定である。

4. まとめ

刈草および下水混合汚泥を基質とした嫌気性消化の連続式実験を行ったところ、高温条件下で安定した処理が可能であった。混合消化における刈草の適用性が示され、例えば既設消化槽に投入負荷増加の余裕がある場合などに活用することが考えられる。また、LCCO₂ による評価手法の構築を目指し、原単位の設定を行い、一部暫定値が含まれるものの現時点での試算例を示した。

謝辞

汚泥採取などでお世話になりました下水処理場関係各位に謝意を表します。

参考文献

- 地球温暖化対策の推進に関する法律（平成十年十月九日法律第百十七号），第 20 条の 1 第 1 項，最終改正：平成二三年六月二四日法律第七四号
- バイオマス・ニッポン総合戦略、平成 18 年 3 月 31 日閣議決定
- 国道（国管理）の維持管理等に関する検討会：国が管理する一般国道及び高速自動車国道の維持管理基準（案）、http://www.mlit.go.jp/road/ir/fir-council/road_maintenance/pdf/32.pdf
- 独立行政法人土木研究所：公共事業由来バイオマスの資源化・利用技術に関する研究、平成 20 年度下水道関係調査研究年次報告書集、土木研究所資料、第 4157 号、pp.38-46、2009。
- 国土交通省：河川砂防技術基準維持管理編（河川編）http://www.mlit.go.jp/river/shishin_guideline/gijutsu/gijutsu_kijunn/ijikanri/kasen/pdf/gijutsukijun.pdf [Accessed 1 February 2013]
- 落 修一、鈴木 穰、南山 瑞彦、越智 崇：木質に蒸煮・爆砕を施すことによる木質と下水汚泥との混合・嫌気性消化法に関する研究、下水道協会誌論文集、41(498)、pp.97-107、2004。
- 落 修一、南山 瑞彦、長沢 英和、鈴木 穰：蒸煮・爆砕木質と下水汚泥とを混合・嫌気性消化した消化汚泥の処理性、下水道協会誌論文集、42(508)、pp.111-123、2005。
- 独立行政法人土木研究所：平成 21 年度下水道関係調査研究年次報告書集、土木研究所資料、第 4191 号、2010。
- 独立行政法人土木研究所：平成 22 年度下水道関係調査研究年次報告書集、土木研究所資料、第 4212 号、2011。
- 日高 平、内田 勉：下水汚泥の性状および消化特性に関する処理場毎の比較調査：土木学会論文誌 G（環境）、Vol. 68, No.7, III_325-III_332、2012
- 公益社団法人化学工業会、一般社団法人日本エネルギー学会編：バイオマスプロセスハンドブック、株式会社オーム社、2012。
- 愛知県畜産総合センター：河川敷刈草飼料利用促進の取り組み、<http://www.pref.aichi.jp/0000022559.html> [Accessed 1 February 2013]
- 国土交通省関東地方整備局河川部河川管理課：堤防の刈草無償提供、http://www.ktr.mlit.go.jp/river/shihon/river_shihon0000127.html [Accessed 1 February 2013]
- 道路緑化保全協会：植物発生材堆肥化の手引き—緑のリサイクルの実現を目指して、1998。
- 環境省九州地方環境事務所：野草堆肥利用マニュアル、平成 18 年 3 月。
- 伊坪徳宏、田原聖隆、成田暢彦：LCA 概論、社団法人産業環境管理協会発行、2007。
- 総務省統計局：社会生活統計指標—都道府県の指標—2012 基礎データ <http://www.e-stat.go.jp/SG1/estat/List.do?bid=000001036794&cycod=0>
- 環境省大臣官房廃棄物・リサイクル対策部廃棄物対策課：日本の廃棄物処理平成 22 年度版、平成 24 年 3 月
- 松藤敏彦：都市ごみ処理システムの分析・計画・評価—マテリアルフロー・LCA 評価プログラム—、技報堂出版株式会社、2005。
- 田畑 智博、李 一石、菱沼 竜男、楊 翠芬：統計資料を用いた一般廃棄物焼却施設の LCI データの簡易算定法に関する検討、第 21 回廃棄物資源循環学会研究発表会講演論文集、A8-7、2010。
- 楊翠芬、田畑智博、菱沼竜男、玄地裕：廃棄物由来 CO₂ 排出量を考慮した焼却施設の LCA 手法の検討—千葉県を事例に、都市汚掃、61(283)、pp.235-241、2008。
- 環境省：平成 22 年一般廃棄物処理実態調査結果、http://www.env.go.jp/recycle/waste_tech/ippan/h22/index.html [Accessed 30 January 2013]
- 農林水産バイオリサイクル研究「システム化サブチーム」：バイオマス利活用システムの設計と評価、資料 2 輸入飼料の地域別ライフサイクル・エネルギー消費量および GHG 排出量データベース、pp.253-261、2006。
- 農林水産省生産局畜産部畜産振興課、消費・安全局畜産安全課：飼料をめぐる情勢（平成 25 年 1 月）、http://www.maff.go.jp/j/chikusan/sinko/lin/l_siryu/pdf/siryu_2501.pdf [Accessed 1 April 2013]
- 堆肥施用時の施肥設計 http://www.maff.go.jp/j/seisan/kankyo/hozen_type/h_sehi_kizyun/pdf/tuti302.pdf [Accessed 1 April 2013]
- IPCC Second Assessment Report: Climate Change 1995 (SAR)、1995。

下水道を核とした資源回収・生産・利用技術に関する研究

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：リサイクルチーム

研究担当者：内田勉、井上研一郎、
桜井健介

【要旨】

下水処理場実環境下において電気分解による下水からのリン資源の回収や藻類バイオマスの培養を試みた。下水脱水分離液の上澄みの電気分解では、硫酸マグネシウム水和物の添加によりリンの回収量が約 2 倍に増加した。白金コーティングチタン電極の使用により、リン鉱石等の結晶の形でリンを析出させることが可能であった。下水による藻類の屋外培養では、藻類の株や栄養塩等を外部から供給することなく、下水のみを用いた培養により藻類が増殖した。夏季では培養開始後の最初の 7 日間、冬季では 14～28 日間にかけて培養が大きく進んだ。水理的滞留時間の制御や CO₂ 添加により、培養水中の窒素の消費が進み、緑藻の細胞数も増加した。培養藻類の発熱量等の分析から下水培養された藻類バイオマスのエネルギー利用の可能性が示された。

キーワード：下水、資源回収、電気分解、藻類屋外培養

1. はじめに

リンは肥料用資源として欠かすことができないが、日本ではその多くを海外からの輸入に頼っている。一方、輸入価格の高騰によりリン資源の入手が困難となる場合があり、その安定した確保が求められている。また、原子力発電所の事故による代替エネルギーの確保等の観点から、バイオマス燃料の利用が注目されている。なかでも、単位面積あたりの収穫量が高い藻類バイオマスを生産し、燃料として利用する試みが国内でも見られるようになった¹⁾。下水道は資源を大量に保有していることから、地域の特性を踏まえ、これらを積極的に利用することが期待される。

これらの観点から電気分解による下水からのリン資源の回収を目的とし「高濃度栄養塩含有物質からの資源回収・利用技術の開発」を行った。また、栄養塩を多く含む下水を利用して培養した「藻類による資源生産システムの開発」を行い、バイオマスエネルギーとしての利用可能性を検討した。

2. 高濃度栄養塩含有物質からの資源回収・利用技術の開発

輸入価格の高騰によりリン等の肥料用資源の入手が困難となる場合があり、これらの安定した確保が重要な課題となっている。下水中には、わが国が輸入している肥料用資材の 13% 程度に相当するリンが

含まれていることから、これまでに種々の回収技術が開発されてきた²⁾。当チームにおいては、白金コーティングチタン電極を用いた電気分解による下水試料からのリン資源の回収方法を検討してきた。たとえば、電極に鉄³⁾を適用した場合、析出物としてリン酸鉄が得られる。一方、白金電極を用いた場合、電極触媒反応によりリンは下水中に多く存在するマグネシウムやカルシウムを含む結晶として析出する⁴⁾ことが予想される。

平成 23 年度は、下水中でリンが多く含まれる脱水分離液の上澄みを用い、電気分解によってリンを回収する方法を 24 時間にわたる回分試験により検討した⁵⁾。脱水分離液に他バイオマス(茶かす)や硫酸マグネシウム水和物を混合することによりリン回収率の向上が示された。

平成 24 年度は同様の電気分解を 14 日間にわたって半連続試験により行い、得られた析出物の元素分析と構造解析を行った。併せて、硫酸マグネシウム水和物を混合した場合のリン回収量の向上や電気分解に係る消費電力の低減効果について検討した。

2.1 方法

図-1 に電気分解試験装置の概要を示す。電気分解の容器には 5 L ビーカーを用いた。電極板 4 枚を陽極と陰極を交互に配列した。電源には直流安定化電源(菊水電子工学(株)、PCM 18-5A)を用いた。実処

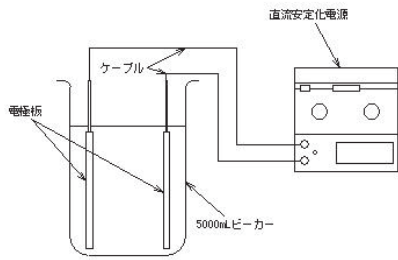


図-1 電気分解試験装置の概要

理場より採取した脱水分離液の上澄み 5 L をビーカーに入れた。その後、電流を 5 A に設定し電流一定で 14 日間通電した。容器内の脱水分離液の上澄みの液は、試験期間中の平日、1 日 1 回交換を行い、水理学的滞留時間(HRT)が約 15 日となるように交換量を調節した。また、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ を脱水分離液の上澄みに 0.25 wt% 添加した系でも試験を行った。電極上の析出物を回収し、凍結乾燥、粉碎、秤量後に元素分析と構造解析を行った。

元素分析は高周波誘導結合プラズマ発光分光分析法によった。析出物を加圧ポンベ法(MLS1200MEGA、Milestone)で硝酸により分解したのち ICPS-8000E ((株)島津製作所)を用いて定量した。また、脱水分離液の上澄みの液体試料についても、硝酸による分解ののち定量した。構造解析に関しては、粉末 X 線回折分析装置((株)リガク、RINT2200)により回折パターンを求め、解析ソフト(MDI JADE6)を用いて析出物中のリン酸塩結晶を同定した。

2. 2 結果と考察

前述のとおり、電気分解試験は脱水分離液の上澄みのみ、および脱水分離液の上澄みに $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ を 0.25 wt% 添加した系で行った。電流は 5 A で一定とし 14 日間にわたり電気分解を行った。図-2 には電圧の変化を示すが、 $MgSO_4$ の添加によりイオンの量が増加するため、脱水分離液のみの系に比べ電圧が低くなる傾向が示された。電気分解後に得られた析出物の乾燥重量は脱水分離液のみの系では 0.62 g、 $MgSO_4$ 添加の系では 2.4 g となった。 $MgSO_4$ の添加により、電気分解に係る消費電力の低下、回収量の向上が示された。

粉末 X 線回折により析出物の構造解析を行った。白金コーティングチタン電極を用いた場合、リンは電極触媒反応によりリン鉱石等の結晶 $MgCa_2(PO_4)_2(H_2O)_2$ 、 $Ca_2P_2O_7$ 、 $Ca_3F(PO_4)_3$ の形で回収され、前述の電極に鉄を用いた場合とは異なること

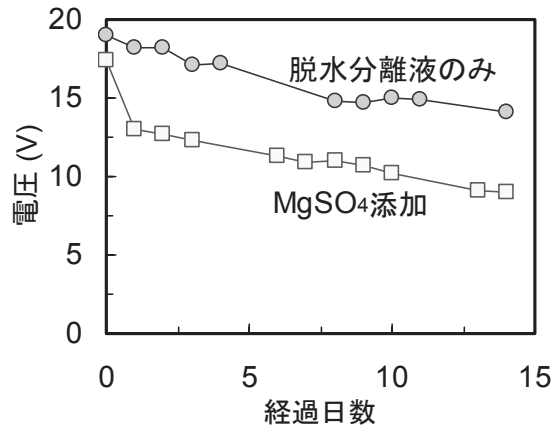


図-2 電気分解中の電圧の変化

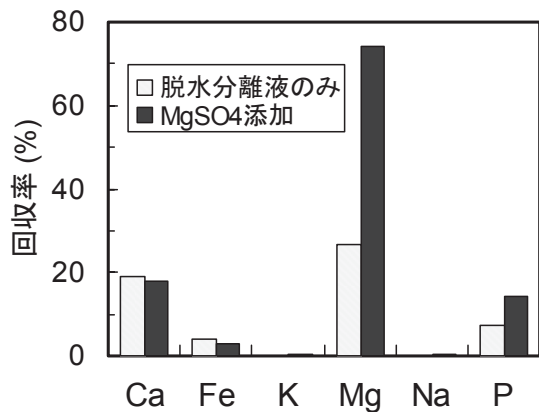


図-3 脱水分離液上澄みに対する析出物中の元素の回収率

が明らかとなった。また、脱水分離液の上澄み中および析出物中の元素成分を定量し、回収率を求めた(図-3)。回収率は、脱水分離液中に含まれる元素の重量($MgSO_4$ 添加の重量を含む)に対する析出物に含まれる元素の重量の割合で示した。カルシウムや鉄では、回収率にほとんど違いが見られないが、リンの回収率は $MgSO_4$ 添加により約 2 倍増加し 14% 程度となった。平成 23 年度に実施した回分試験の結果に比べ、リン回収率(析出物への移行率)を大きく増加させることが可能となった。

3. 藻類による資源生産システムの開発

化石燃料の枯渇や地球温暖化防止の観点から、バイオマス燃料の利用が促進されている。典型的なバイオマス燃料の原料としてサトウキビやトウモロコシ等があげられる。これらと比べ、単位面積あたりの収穫量が高く、また一般に食料と競合しないバイオマス燃料として藻類が注目されている⁶⁾。国内でも震災復興等の観点から、石巻市において燃料等の

生産を目的とした藻類の培養が行われるようになった⁷⁾。

下水道事業における電力使用量は日本全体の電力使用量の約0.7%であり、また温室効果ガスの排出量も日本全体の約0.6%を占めている⁷⁾。これらは下水道普及率の向上に伴い、年々増加傾向にある。一方、下水道は大きなエネルギーポテンシャルを有することから、地域の特性を踏まえ、これらを積極的に活用しエネルギー供給を促進することが求められる。

下水中にはリンや窒素等の栄養塩が含まれることから下水処理場の環境を利用した藻類の培養が期待される。しかし、実際の下水の性状を考慮した培養に関する知見は十分に得られていない。本研究では、下水処理場実施設において下水流入水、下水二次処理水を用い藻類の屋外培養を試みた。培養水の種類、HRT、培養水中へのCO₂供給や培養時季等の与える藻類培養への影響を検討し、培養条件の最適化を図った。さらに藻類中に含有する燃料成分を分析し、バイオマス燃料としての利用可能性について検討した。

3.1 方法

藻類の屋外培養は、国内の下水処理場実施設において平成24年7月から12月に行った。培養原水(下水流入水または下水二次処理水)を透明の培養容器(容量20L、ポリカーボネート製)に入れ、屋外に設置し半連続培養した。空気量約4 L min⁻¹で曝気(培養水中に空気を送風)しながら培養した。容器内の培養水は培養期間中の平日、1日1回交換を行い、HRTが4日または10日となるように下水流入水、二次処理水の交換量を調節した。また、CO₂供給の影響に関する試験においては培養水中にCO₂を流量約30 mL min⁻¹で連続的に供給した。

培養時における培養水に含まれる溶解性全リン(DTP)、溶解性全窒素(DTN)の分析を行った。下水試験方法に基づき試料を孔径1.0 μmのガラス繊維ろ紙を用いてろ過し、そのろ液を連続流れ分析装置TRAACS 2000 (Bran+Luebbe)を用いて分析した。また培養終了後、容器内に残存した藻類種の同定を行った。検鏡により生細胞を対象に種の同定、計数を行った。計数した細胞数は1 mLあたりの細胞数に換算した。

藻類中の燃料成分の定量は、ガスクロマトグラフー質量分析法によった。乾燥・粉碎後の藻類検体をn-ヘキサンに溶解させ、Agilent 6890/5973 (アジレン

ト・テクノロジー(株))を用いて定量した。藻類の高位発熱量の定量は、JIS M 8814に基づき行った。乾燥・粉碎後の藻類検体をボンベ型発熱量計1013-B((株)吉田製作所)を用いて定量した。

3.2 結果と考察

3.2.1 藻類の下水培養

流入下水および二次処理水を用いた培養における培養水中の栄養塩濃度の変化を図-4に示す。図-4に示す培養は10~12月に実施し、期間中の平日は毎日、処理場から原水を採取し容器内の培養水を交換することにより半連続培養を行った。図中には培養原水の濃度も示した。流入下水中の栄養塩濃度は変

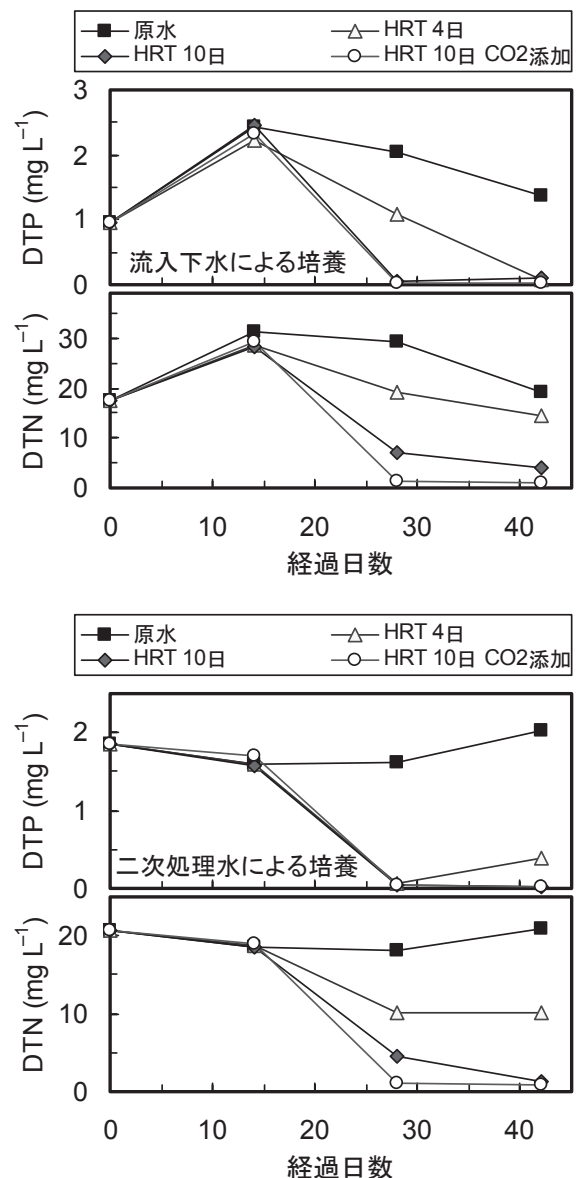


図-4 培養時の培養水中の栄養塩濃度

動が大きい。

培養開始から14日後までは、容器内の培養水の色はほとんど変化しなかった。原水と容器内の培養水の栄養塩濃度を比較してもほとんど差が見られない。しかし、14～28日目にかけて培養水が緑色に着色し、栄養塩濃度も原水と培養水とで大きく差が開いた。藻類の株や栄養塩等を外部から添加、供給することなく、培養原水のみを用いた培養により藻類が増殖することが示された。また、窒素よりもリンが先に枯渇する傾向を示すとともに HRT の増加および CO₂ 添加により窒素の消費が進むことが明らかとなった。

培養42日後の容器内に残存した(培養水の交換時にオーバーフロー水として排出された水中の浮遊性藻類を除く)藻類種を同定した。結果を図-5に示す。最後段の夏季の培養結果については後述する。すべての条件において主要成分として緑藻が観察された。また、二次処理水 HRT 4日の条件では珪藻が高い割合で観察された。HRT を4日から10日に上昇させることにより、総細胞数および緑藻の割合が上昇した。図-4を見ても培養による42日後の窒素の消費量は HRT 4日より10日の方が大きく、培養水を長く滞留させることにより培養がより促進されることが示された。

さらに培養水中に CO₂ を添加した場合の培養への影響について検討した。CO₂ の添加により培養に必要な炭素源の取り込みを拡大させ、藻類の生産を促進させるという報告がある⁸⁾。また、燃焼施設

からの排ガス中には CO₂ が含まれるため、これを培養水中に流入し藻類を培養することも考えられる。特に下水処理場に併設される焼却炉からの排ガスの利用が期待される。流入下水による培養では CO₂ 添加により緑藻の細胞数が1.9倍に上昇した。また、緑藻のうちセネデスムス科の細胞数が30倍に増加した。緑藻類⁹⁾、特にセネデスムス科¹⁰⁾の藻類には脂質が多く含まれる。CO₂ 添加により、燃料として有用となる成分を増加させることができた。

二次処理水を用い、HRT 10日の条件で同様に7～8月(夏季)に培養を行った。図-6には培養時における栄養塩濃度の変化を10～12月(冬季)の培養結果と併せて示した。培養時における午前10時の水温は、夏季は26～37℃、冬季は1.7～16℃の範囲にあった。夏季の培養水中の DTP、DTN 濃度は、培養開始から7日後までに劇的に減少している。一方、冬季の培養においては前述のとおり14日目では培養原水および培養水の濃度に変化が見られない。夏季では培養開始後、最初の7日間にかけて、冬季では14～28日間にかけて培養が大きく進むものと考えられた。夏季(21日間培養)および冬季(42日間培養)に培養された藻類種を比較すると夏季の方が緑藻の細胞数が増加している。また、夏季の培養では珪藻の割合が減少し、藍藻の割合が増加した(図-5)。

培養時における攪拌および曝気の及ぼす藻類培養への影響を検討した。攪拌および曝気、攪拌のみ、曝気のみ、攪拌・曝気いずれもなし(静置)の4条件で7～8月に21日間、二次処理水を用いて半連続培

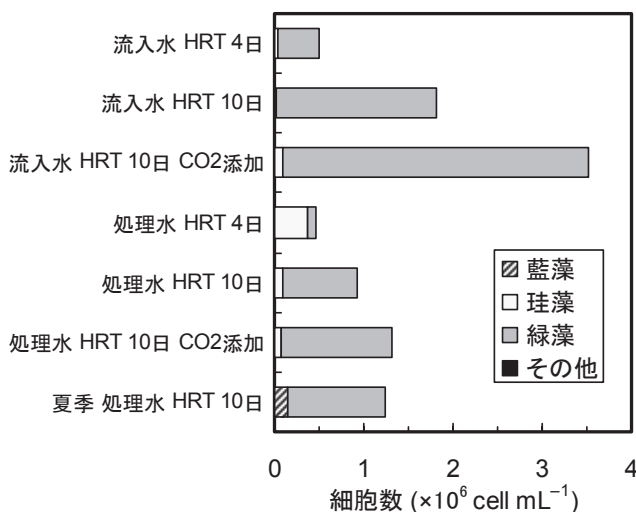


図-5 培養された藻類種 (最後段以外は10～12月に培養)

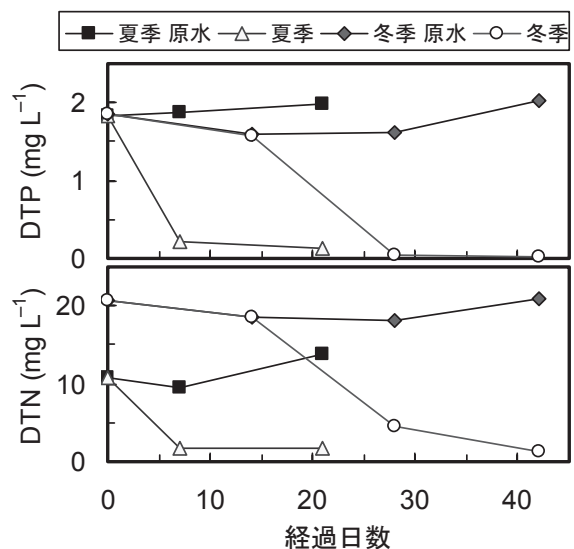


図-6 夏季・冬季培養時の培養水中の栄養塩濃度 (二次処理水を使用、HRT 10日)

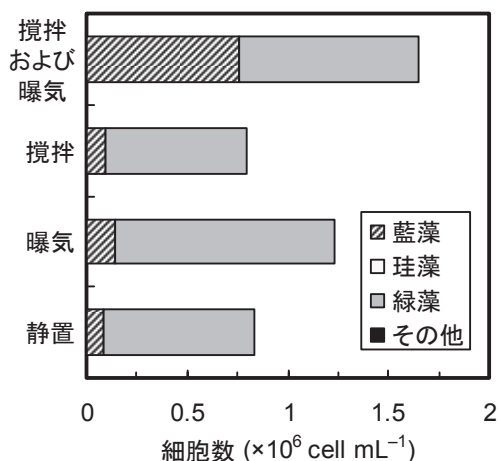


図-7 攪拌・曝気条件を変え培養された藻類種 (7~8月に培養、二次処理水を使用、HRT 10日)

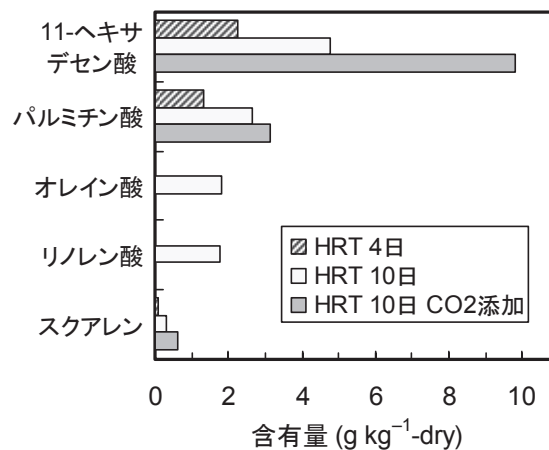


図-8 *n*-ヘキサンに溶出させた培養藻類中の有機成分 (10~12月に培養、二次処理水を使用)

養を行った。藻類種を同定した結果を図-7に示す。攪拌および曝気を行った場合に全細胞数が最も多くなった。しかし、曝気のみ条件において緑藻の細胞数および全細胞数に対する緑藻の割合が最も高くなり、燃料として有用な成分の割合が大きく上昇した。曝気のみ条件において緑藻の細胞数、構成割合が最も高くなる傾向は、前年度、室内培養により得られた結果と同様である⁵⁾。

3. 2. 2 藻類中の燃料成分

二次処理水を用いて10~12月(冬季)に培養された藻類について、前述のとおり乾燥・粉碎のち *n*-ヘキサンに溶出させ燃料成分を定量した。*n*-ヘキサンの溶出効率を求めているが、本報告ではこの方法で溶出された成分のみを定量した。結果を図-8に示す。主要成分として脂肪酸があげられた。細胞膜を構成しているリン脂質二重層は膜の中央に脂肪酸が集まっているが、脂肪酸組成を変化させることにより細胞膜の流動性を一定に保っている。膜の流動性が減少すると融点の低い常温で液体の不飽和脂肪酸を増加させ、流動性を一定に保つ⁹⁾。温度の低い本培養条件では膜の流動性が低くなるため、11-ヘキサデセン酸、オレイン酸、リノレン酸等の不飽和脂肪酸が増加するものと考えられた。また、鮫の肝油から抽出される高付加価値成分であるスクアレンも下水培養により生成した。HRT 10日の条件で培養した藻類の高位発熱量は 20000 kJ kg^{-1} であり、HRT を4日から10日に長くすることにより発熱量は1.3倍増加した。下水培養による藻類バイオマスのエネルギー利用の可能性が示唆された。

4. まとめ

下水処理場実環境下において電気分解による下水からのリン資源の回収や藻類バイオマスの培養を試みた。

下水脱水分離液の上澄みの電気分解を14日間行った。 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ の添加により電気分解に係る消費電力が低下し、リン回収量が約2倍に増加した。白金コーティングチタン電極を用いることにより、リンは下水試料中に多く存在するマグネシウムやカルシウムと反応し、リン鉱石等の結晶 $\text{MgCa}_2(\text{PO}_4)_2(\text{H}_2\text{O})_2$ 、 $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ 、 $\text{Ca}_5\text{F}(\text{PO}_4)_3$ の形で回収され、電極に鉄を用いた場合とは異なることが明らかとなった。

下水流入水、下水処理水を用いて藻類を屋外培養した。藻類の株や栄養塩等を外部から添加、供給することなく、下水のみを用いた培養により藻類が増殖した。HRTの制御や CO_2 添加により、培養水中の窒素の消費が進み、さらに燃料成分を増加させることが可能であった。夏季では培養開始後の最初の7日間、冬季では14~28日間にかけて培養が大きく進んだ。藻類中の燃料成分や発熱量の分析の結果、下水培養された藻類バイオマスのエネルギー利用の可能性が示された。

文献

- 1) 三陸河北新報社：石巻で石油作る藻培養、石巻かほく、第9779号、1頁、平成23年9月16日
- 2) 高岡昌輝：リン資源の現状と下水からの回収、再生と利用、34(127)、23-31、2010
- 3) 宮本彰彦、中林昭、鈴木晴彦、澄田康光、井関正博、

- 安田昌司：鉄電解を用いた下水汚泥脱離液からのりん回収、第 43 回下水道研究発表会講演集、25-27、2006
- 4) 田中恒夫、小池範幸、佐藤孝志、新井忠男、平靖之：電解法による畜産排水からのリン酸塩の回収、水環境学会誌、32、79-85、2009
- 5) 内田勉、岡本誠一郎、桜井健介、堀尾重人、浅井圭介、井上研一郎：下水道を核とした資源回収・生産・利用技術に関する研究、平成 23 年度下水道関係調査研究年次報告書集、土木研究所資料 4241 号、24-34、2012
- 6) Yusuf Chisti: Biodiesel from microalgae, *Biotechnology Advances*, 25, 294-306, 2007
- 7) 白崎亮：汚泥エネ導入検討の契機、日本下水道新聞、第 2094 号、3 頁、平成 24 年 1 月 26 日
- 8) J. B. K. Park, R. J. Craggs: Wastewater treatment and algal production in high rate algal ponds with carbon dioxide addition, *Water Science & Technology*, 61, 633-639, 2010
- 9) 彼谷邦光：微細藻類オイルの化学、日本微生物資源学会誌、26、1-10、2010
- 10) Luisa Gouveia, Ana Cristina Oliveira: Microalgae as a raw material for biofuels production, *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 36, 269-274, 2009

低炭素型水処理・バイオマス利用技術の開発に関する研究

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：リサイクルチーム

研究担当者：内田 勉、日高 平、王 峰

【要旨】

下水処理場に設置している嫌気性消化槽を活用した、低炭素型水処理・バイオマス利用技術を開発するための基礎実験を行った。拠点となる下水処理場へ汚泥を効率的に輸送することも意図して、高濃度の下水汚泥のメタン発酵技術を開発するために、TS 7.5%程度の下水混合汚泥を対象とした嫌気性消化の連続式実験を行った。中温条件下では安定した処理が可能であり、一般的な濃度の場合と同程度のCODベースで60%程度のメタン転換が、高濃度化しても示された。高温条件下での運転はやや不安定であった。回分式実験によりその原因を調査し、アンモニアなどの阻害物質蓄積による可能性が考えられた。また地域の廃棄物系バイオマスについて、下水処理場での混合消化に関する基礎的知見を収集するために、回分式実験により、メタン転換率を調査した。いずれも下水汚泥の転換率（60%）とおおむね同等であり、下水処理場で受け入れることで、メタンガス回収量増加に寄与する可能性が示された。

キーワード：メタン発酵、高濃度下水汚泥、混合消化、バイオマス、高温発酵

1. はじめに

国土交通省下水道部とりまとめデータによれば、下水汚泥のエネルギー資源としての利活用状況を全国ベースでみると、発生する下水汚泥中の有機分総量のうち、下水道バイオガス又は汚泥燃料としてエネルギー利用された割合は約1割であることから¹⁾、下水汚泥のエネルギー利用を進めることが必要であり、そのための嫌気性消化技術が注目されている。さらに、下水処理場を拠点とした地域の有機性廃棄物を有効利用するため、食品廃棄物、剪定枝、農業系廃棄物など様々なバイオマスとの混合消化がますます広まることが期待されている^{2,3,4)}。

しかし、農業系廃棄物など個別には嫌気性消化特性についての知見が集積している^{5,6)}ものの、下水汚泥との混合消化の観点では、これまでほとんど実現していなかったこともあり、基礎的知見が十分には蓄積していない。また、廃棄物系バイオマスを受け入れる場合、負荷が高まるので、既設処理場を活用する場合には受入可能な余裕があるかが重要である。

負荷率の増加に対応する手段として、中温から高温条件への変更や、投入汚泥の高濃度化が考えられる⁷⁾。例えば地方都市などにおいて、拠点となる下水処理場に汚泥を集約して嫌気性消化を行うことで効率化が図れ、その際には汚泥の含水率を低下させ

濃度を高め、体積を減らすことで輸送を効率的に行うのが望ましい。汚泥処理の集約化を意図した高濃度下水汚泥のメタン発酵については、平成3年度～平成8年度に建設省土木研究所汚泥研究室で実験的検討がなされた。中温（30℃恒温室）では固形物濃度（TS）10%程度まで、高濃度化がガス発生に及ぼす影響が少ないことが示されている⁸⁾。高温（55℃）ではTS10%程度でアンモニア性窒素濃度が4,000 mgN/L程度まで増加し、ガス発生量は通常の数%でしかなかったことが示されている⁹⁾。しかしながら、これらの研究は主として回分式実験や数ヶ月程度の連続式実験に限られており、長期的な連続実験による評価はなされていない。実用化には至っておらず、現場で採用されている高濃度消化はおおむねTSS5%程度までである¹⁰⁾。

そこで本研究では、現状で採用されている消化における一般的な下水汚泥より高濃度であるTS7.5%程度でのメタン発酵特性を、長期的に調査した。TS5%の場合に比して、体積で2/3程度に削減される。そして、廃棄物系バイオマスの下水汚泥との混合消化におけるメタン転換率などの基礎的知見を収集するために、回分式実験を実施した。

表1 連続式実験の運転条件

反応器番号	温度	基質	Run 1	Run 2				←投入量
				50 mL/d	75 mL/d	100 mL/d	125 mL/d	
反応器1	35℃	処理場Aの混合汚泥	~150 mL/d	50 mL/d	75 mL/d	100 mL/d	125 mL/d	←投入量
			28~d	84 d	56 d	42 d	34 d	←HRT
反応器2	55℃	処理場Aの混合汚泥	~100 mL/d	50 mL/d				←投入量
			42~d	84 d				←HRT
反応器3	55℃	処理場Bの混合汚泥	—	50 mL/d				←投入量
			—	84 d				←HRT
反応器4	55℃	処理場Aの混合汚泥 +ご飯	—	混合汚泥50 mL/d+ご飯5g-wet/d				←投入量
			—	76 d				←HRT
経過日数 (日)			0~112	113~230	231~257	258~313	314~342	
混合汚泥濃度設定値 (TS)			5%	7.5%				

注1. 基質投入は、平日のみ

注2. 反応器3および反応器4は194日目に運転開始

2. 高濃度濃縮下水汚泥の嫌気性消化に関する研究

2.1 実験方法

2.1.1 連続式実験

処理場 A および処理場 B の試料を用いて、有効容積 3 L の反応器を 4 系列運転した(表 1)。反応器 1 は中温 (35℃) で、それ以外は高温 (55℃) で運転した。反応器 1、反応器 2 および反応器 3 は、混合汚泥のみを投入した系で、投入基質の採取処理場が異なる。反応器 4 では混合汚泥およびご飯を混合消化した。ご飯は、易分解性バイオマスの例として実験上用いたものである。

反応器 1 および反応器 2 の Run 1 の 96 日目までの状況は昨年度に報告しており、それに引き続いて運転した。反応器 3 および反応器 4 は、194 日目に新たに運転を開始した。その際の植種汚泥には、処理場 A の消化槽の高温消化汚泥を濃縮して用いた。混合汚泥の濃度は TS 3~4%程度であるので、実験室での遠心分離操作により、5%程度(Run 1)もしくは7.5%程度(Run 2)まで濃縮した。一部の期間は汚泥性状が異なり 7.5%程度まで濃縮できなかったため、その間は投入汚泥 TS 量が同じになるように投入容積を調整して対応した。基質投入および消化液の引抜操作は平日のみ 1 日 1 回の頻度にて手動で行った。反応器 3 および反応器 4 の立ち上げ期間(30 日間)は、引き抜き消化汚泥を遠心分離し、上澄み液を除いて投入分の基質と混合してから反応器に返送することで、極力汚泥を流出させないようにした。

2.1.2 回分式実験

高温条件での不安定原因を探るために、Run 2 の期間中に高温条件下で反応器 2 の消化汚泥を用いて

下記 3 種類の回分式実験を行った。あわせて中温条件下で反応器 1 の消化汚泥を用いて回分 1 および回分 2 の回分式実験を行った。

- ・回分 1(コントロール系): 反応器の引き抜き消化汚泥のみ
- ・回分 2(希釈系): 反応器の引き抜き消化汚泥を、沸騰後冷ました水道水で半分に希釈
- ・回分 3(アンモニアストリッピング系): 反応器の引き抜き消化汚泥を遠心分離し(3,000 g、15 分)、上澄み液に KOH を添加して pH10 とし、窒素ガスで 10 分間ページし、HCl で pH を戻し、分離汚泥と混合それぞれ、0.5 L の反応器に 400 mL 投入し、基質として酢酸を 1 mL を添加し、55℃の条件下で、メタンガス生成量の経時変化を測定した。

2.1.3 分析方法

投入基質や消化汚泥の分析は、基本的に下水試験方法に従って行った。なお、COD_{Cr} の分析は HACH 社の吸光光度計 DR2400 および COD 試薬(HR)を用いた。発生ガスはガスクロマトグラフ(GC-2014ATF、SHIMADZU)を、アンモニア性窒素は自動比色分析装置(TRAACS2000、BRAN LUEBBE 社)を用いた。見かけの除去率は、投入濃度と消化液濃度の差を投入濃度で除して算出した。Run 2 では HRT が長いので、完全混合槽を仮定して理論的に計算される投入基質の反応器内での濃度を用いて算出した。

2.2 結果および考察

2.2.1 連続式実験

pH の経時変化を図 1 に示す。反応器 1 では徐々に増加し 7.8 程度で安定した。反応器 2 では 150 日

目以降徐々に低下したので、引き抜き汚泥を濃縮して返送したところ、230日目頃から7.0~7.5程度まで回復した。反応器3では運転開始時から徐々に低下したので、引き抜き汚泥の濃縮返送操作を267日目から続けて行った。しかしpHは6以下まで低下したので、292日目以降KOHを添加してpHを7程度まで回復させた。その後も週1回程度はKOHによるpH調整を行った。反応器4では運転開始当初低下傾向が見られたものの、7.4程度まで回復した。

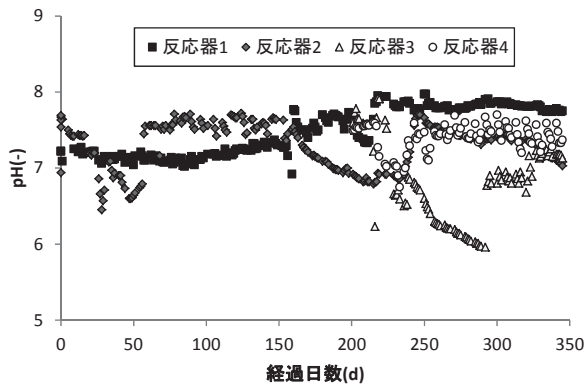


図1 連続実験におけるpHの経時変化

TSおよびVSの経時変化を図2に示す。投入TSを7.5%に設定した後、消化液のTS濃度は徐々に増加し、反応器1および反応器4では3.5%程度となり、反応器2では5%程度まで増加した。投入汚泥の異なる反応器3でも、同様の条件で運転した反応器2と同様に5%程度まで増加した。VS濃度も同様の傾向を示し、TS濃度の8割程度で推移した。見かけのVS除去率(図3)は、反応器1で60%程度であったのに対して、反応器2および反応器3では30~45%程度であった。反応器4では、ご飯が完全に分解すると仮定した、下水汚泥分のみの除去率が50%程度であった。見かけのCOD_{Cr}除去率について、反応器1では、全期間を通じておおむね60%程度を安定して維持した。これは、投入TS濃度2~4%で運転している一般的な中温消化槽と同程度の除去効率であり¹⁾、投入TS濃度を7.5%程度まで増加させても、安定した運転の可能であることが示された。

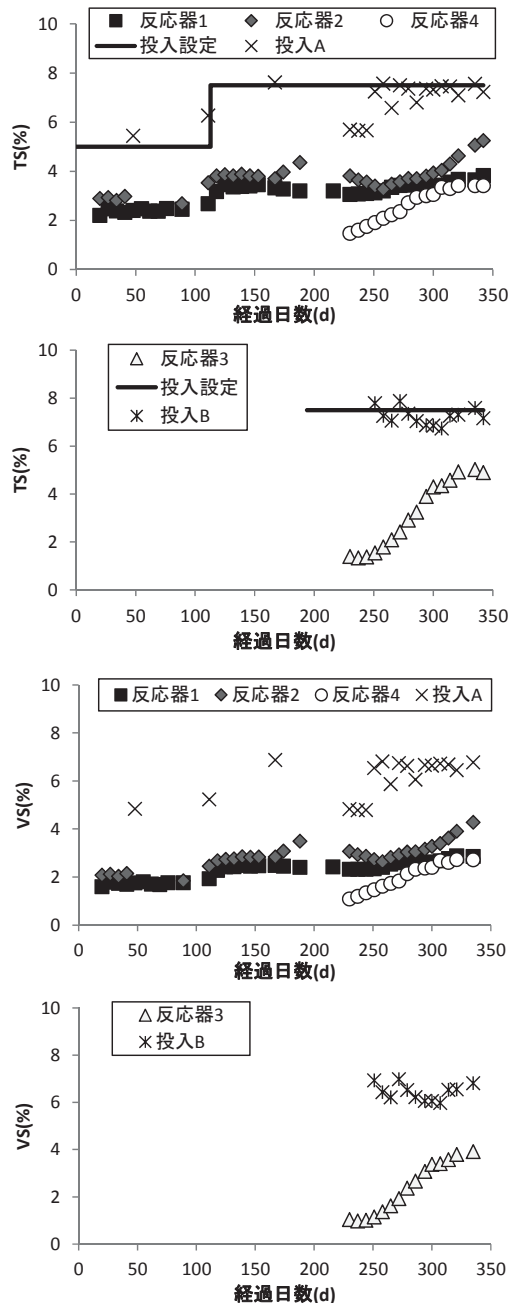


図2 連続実験におけるTSおよびVSの経時変化

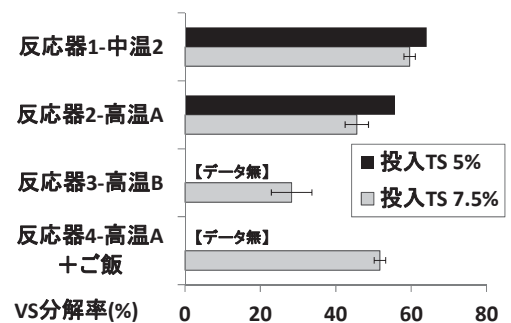


図3 連続式実験におけるみかけのVS除去率 (ご飯は完全に分解すると仮定)

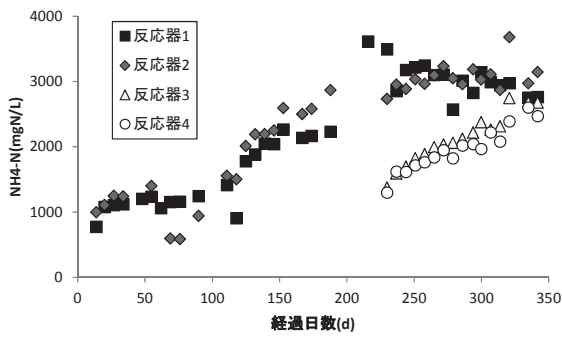


図4 連続実験におけるアンモニア性窒素濃度の経時変化

アンモニア性窒素濃度の経時変化を図4に示す。投入TS濃度が5%の時は、反応器1および反応器2いずれも1,000 mgN/L程度で推移し、メタン発酵への阻害影響は考えられない濃度であった。投入TS濃度を7.5%に増加させた後はすべての系列で徐々に増加し、いずれの系列も3,000 mgN/L程度に達した。反応器1では処理が安定していたことから中温条件では問題なかった。高温条件である反応器2および反応器3では処理が不安定であったことから、アンモニア性窒素濃度がメタン発酵を阻害していた

可能性が考えられる⁹⁾。およそ1年間の連続運転を経ても、馴致されることはなかった。

粘度について、反応器1では3 dPa・s程度であった。高温系では運転期間中徐々に増加する傾向が見られ、Run 2の最後の時期に、反応器2では3 dPa・s程度、反応器3では2.5 dPa・s程度、反応器4では1.5 dPa・s程度に達した。全体として、高温で運転した系列でやや低い傾向が見られた。

中温系では、投入TS濃度7.5%での負荷率が2.2 kgTS/(m³・d)程度で、一般的な下水処理場と同程度の安定した運転が可能であった。アンモニアやVFAs(図5)の蓄積は見られなかったことから、負荷率のさらなる向上が可能であると考えられる。高温系は不安定であったものの、粘度が低めであることは高濃度化で懸念される攪拌の点で有利である。易分解性有機性廃棄物を混合消化することで、反応に関わる微生物群が活性化し安定する可能性も考えられた。

2.2.2 回分式実験

回分式実験におけるメタン生成量の結果を図6に示す。希釈した実験では、比較しやすいように希釈倍率をかけたメタン生成量を示している。高温条件

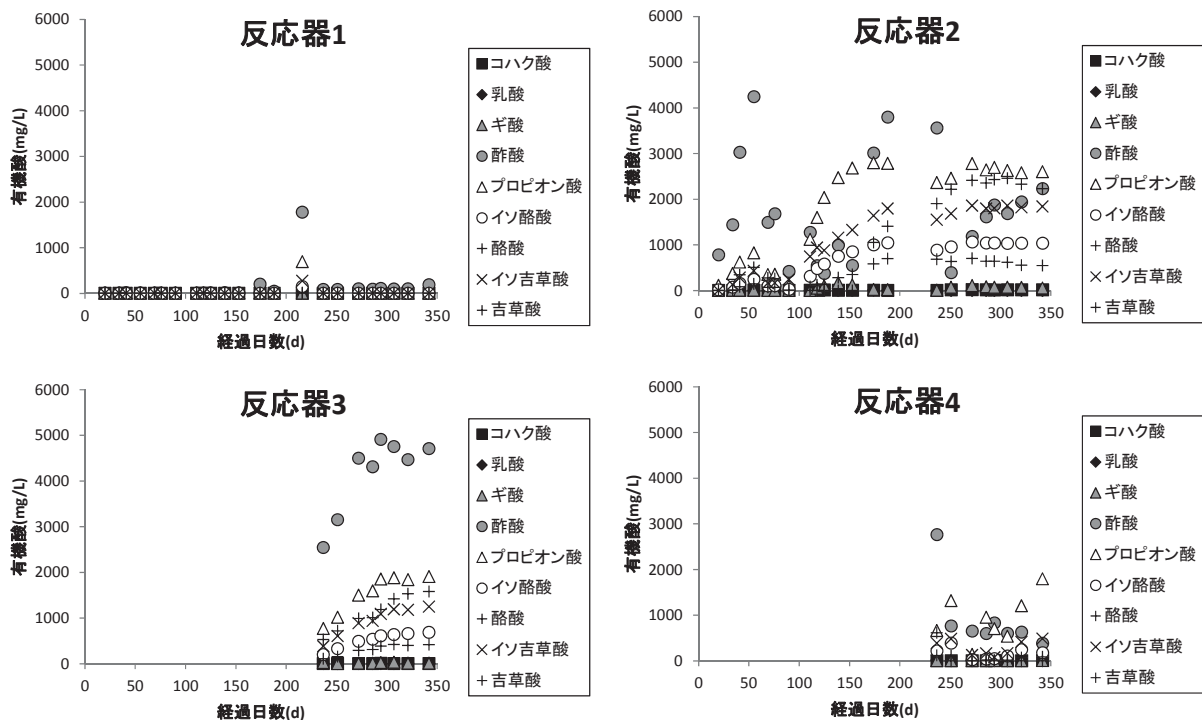


図5 連続実験における有機酸濃度の経時変化

下での回分1、回分2 および回分3 の実験開始時におけるアンモニア性窒素濃度は、それぞれ 3,320、1,670 および 2,460 mgN/L であった。回分3 では実験開始直後のメタン生成量が多かった。回分2 では、実験開始直後からメタン生成効率が回分1 および回分3 より高く、80 h 以降にはメタン生成量がさらに向上し、回分1 および回分3 を大きく上回った。これらの結果より、反応器2でのメタン生成活性が弱かったのは、アンモニアもしくは他の物質の蓄積によりメタン発酵が阻害されていた可能性が考えられた。

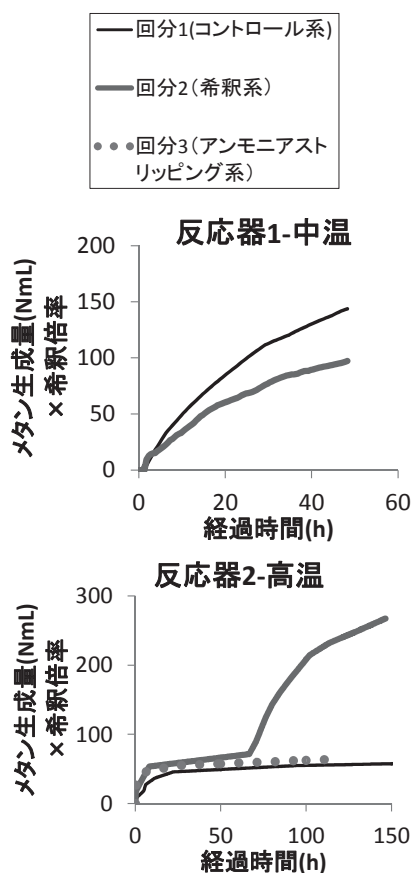


図6 回分式実験におけるメタン生成量の経時変化

3. 地域の廃棄物系バイオマスの嫌気性消化に関する研究

3.1 実験方法

嫌気性反応器（容量 0.5 L）に消化汚泥および基質を投入し、高温条件下では2週間程度回分式にて嫌気性消化実験を行った。ここでは、処理場Aの消化汚泥を植種汚泥として用いた。廃棄物系バイオマスとしては、処理場Aの地域で可能性の考えられた食

品廃棄物として、おから、豆皮、および和菓子を対象とした。

実験の前後で汚泥や基質の性状を分析すると共に、実験中メタンガス生成量の経時変化を計測した。発生したバイオガスは、強アルカリ溶液を通過させることで二酸化炭素を除去し、メタンガスの生成量として計測した。

3.2 結果および考察

回分式実験による廃棄物系バイオマスのメタン転換率測定結果を図7に示す。処理場Aの混合汚泥の転換率は60%程度であり、他都市での値と同程度¹¹⁾であることから、実験精度も問題ないと考えられる。食品廃棄物については、50~60%程度であった。一般的な生ごみ¹²⁾の80~90%と比しては低いものの、いずれも下水汚泥の転換率とおおむね同等以上であり、下水処理場で受け入れることで、メタンガス回収量増加に寄与することが期待できる。

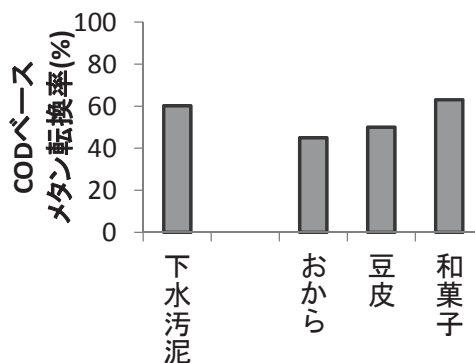


図7 回分式実験による廃棄物系バイオマスのメタン転換率測定結果

4. まとめ

本研究では、下水処理場に設置している嫌気性消化槽を活用した、低炭素型水処理・バイオマス利用技術を開発するための基礎実験を行った。得られた成果は以下の通りである。

- 1) TS 7.5%程度の下水混合汚泥を対象とした嫌気性消化の連続式実験を行ったところ、
 - 中温条件下では安定した処理が可能であり、一般的な濃度の場合と同程度の COD ベースで 60%程度のメタン転換が、高濃度化しても示された。
 - 高温条件下での運転はやや不安定であった。回分式実験によりその原因を調査し、アンモニアなどの阻害物質蓄積による可能性が考えられた。

2) 地域の廃棄物系バイオマスについて、回分式実験により、メタン転換率を調査した。いずれも下水汚泥の転換率（60%）とおおむね同等以上であり、下水処理場で受け入れることで、メタンガス回収量増加に寄与することが期待できる。

今後も引き続き基礎的実験を継続することで、より高負荷で安定した処理をめざし、バイオマス受入時の影響を評価する予定である。

謝辞

嫌気性消化の実験は、主として石川県他との共同研究として実施した。一部の実験試料は、ジャパンウェルネス（株）から提供頂いた。ここに記して、関係各位に謝意を表する。

参考文献

- 1) 日本下水道協会：日本の下水道、平成 23 年度下水道白書, 2012.
- 2) 菅野一敏, 村上清志, 平川一省：既設下水処理場への複合バイオマスの受入れと混合消化の取組, 第 48 回下水道研究発表会講演集, 208-210, 2011.
- 3) 堀尾重人, 桜井健介, 岡本誠一郎：下水処理場を核としたバイオマス利活用による GHG 削減効果, 第 48 回下水道研究発表会講演集, 193-195, 2011.
- 4) 下水道新技術推進機構：下水処理場へのバイオマス（生ごみ等）受入マニュアル, 2011.
- 5) 古市徹：バイオガスの技術とシステム、オーム社, 2006.
- 6) 中村真人, 柚山義人, 山岡賢, 折立文子, 清水夏樹, 阿部邦夫, 相原秀基, 藤川智紀：メタン発酵プラントのトラブル記録と長期運転データの解析—山田バイオマスプラントを事例として—, 農村工学研究所技報, 210, 11-36, 2010.
- 7) 山口律子, 石橋重則, 常松順子, 松尾和正：福岡市における高温高濃度消化の検証と維持管理に関する一考察, 第 47 回下水道研究発表会講演集, 912-914, 2010.
- 8) 建設省土木研究所：平成 4 年度下水道関係調査研究年次報告書集, 土木研究所資料, 第 3215 号, 1993.
- 9) 建設省土木研究所：平成 8 年度下水道関係調査研究年次報告書集, 土木研究所資料, 第 3528 号, 1997.
- 10) 日本下水道協会：下水道統計（平成 22 年度版）（第 67 号）, 2012.

11) 日高 平, 内田 勉：下水汚泥の性状および消化特性に関する処理場毎の比較調査：土木学会論文集 G（環境）, Vol, 68, No.7, III_325-III_332, 2012.

12) 洪 鋒, 津野 洋, 日高 平, 千 智勲：1 日 1 回給餌操作での生ごみの高温メタン発酵特性に関する研究, 廃棄物学会論文誌別冊, Vol.15, No.5, 381-388, 200

水環境中における病原微生物の対策技術の構築に関する研究

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：材料資源研究グループ（リサイクル）

研究担当者：内田勉、諏訪守、桜井健介

【要旨】

病原微生物の検出技術の高度化により、下水や環境水での汚染実態が徐々に明らかになりつつあるが、それらに起因する集団感染発生が危惧されている。現行指標である大腸菌群では汚染の実態を十分に把握できないこともあり、公共用水域への各種汚染源の解明や汚染レベルの違いによる対策手法の構築が望まれている。

下水道へ排出される病院排水を対象に薬剤耐性菌の実態を明らかにするとともに、浄化槽排水負荷源を流域に持つ河川を対象にウイルス、原虫類の実態を明らかにした。

また、ノロウイルスの検出感度の向上を目的に、測定試料の水質性状や試料希釈がノロウイルスの定量値に及ぼす影響を評価した。

さらに、東日本大震災により壊滅的な被害を受けた下水処理場を対象に、段階的な復旧対策技術による病原微生物の除去効果や塩素消毒による不活化効果の改善を評価した。

キーワード：抗生物質耐性大腸菌、原虫類、ウイルス、浄化槽排水、段階的対策技術

1. はじめに

分子生物学的手法による微生物の同定・検出技術の進展により、感染症の原因究明が比較的容易となり病原微生物に関する知見が集積されてきている。殊に分離・培養が容易ではない細菌やウイルスなどの存在実態が徐々に明らかになるにつれ、これまで衛生学的な指標とされてきた大腸菌群に比較して、その存在実態や消毒耐性等に関し乖離した状況が課題となっている。また、原虫類や一部のウイルスに関しては、近年になっての集団感染発生や、分子生物学的手法による検出技術の進展により、比較的近年に存在実態が明らかとなったことから新興感染症としての位置づけがなされている。一方、薬剤耐性菌などは抗生物質の利用の増加に伴い耐性能力を拡大する細菌が徐々に蔓延してきている状況から、多剤耐性菌の存在が再興感染症の一原因であるとして大きな社会問題となっている。

これら新興・再興感染症の原因となる病原微生物に関しては、水環境に及ぼす衛生学的な観点から環境水を含め下水処理場等において、実態把握のため調査・研究が行われているが、他の汚染源と推定されるポイント、ノンポイント負荷源について実態把握が遅れており、全体的な対策技術の構築には繋がっていない。このため、公共用水域の衛生学的な安全性を担保する上で、汚染源の実態把握やその汚染源に対する対策技術の構築は重要である。

本研究では上記の要請を踏まえ、利用形態に応じた公

共用水域の安全性を確保するため、その基本となるリスク評価に資するべく、下水や水環境中における新興・再興感染症としての病原微生物である原虫類、ウイルス、薬剤耐性菌の汚染実態を解明する。汚染実態の解明とともに、対策技術として今まで明らかとなっていない生物学的高度処理法等によるこれらの病原微生物の除去要因の解明を行う。その結果を基に汚濁負荷の観点から適切な水環境保全システムとしての対策技術を構築するものである。

本研究で対象としている病原微生物は抗生物質耐性大腸菌、クリプトスポリジウム、ジアルジア、ノロウイルス（NV）とした。24年度は23年度に引き続き下記1）～3）の項目を実施したが、3）では東日本大震災により壊滅的な被害を受けた下水処理場を対象に、段階的な復旧対策技術による放流水質の改善効果の評価を重点的に実施した。

- 1) 下水や環境水における新興・再興感染症としての病原微生物である原虫類、ウイルス、薬剤耐性菌の実態解明
- 2) リスク評価のための極低濃度試料に対応した濃縮・定量技術の開発
- 3) 生物学的高度処理法による除去率向上要因の解明と消毒法による効果の検討

2. 研究目的および方法

2.1 下水や環境水における新興・再興感染症としての病原微生物である原虫類、ウイルス、薬剤耐性菌の実態解明

2.1.1 抗生物質耐性大腸菌の実態

抗生物質の利用増加や開発が繰り返され、複数の抗生物質に対して耐性を有する多剤耐性菌の存在が社会的に大きな問題となっている。殊に、複数の抗生物質に耐性を有する多剤耐性菌の1つであるスーパー耐性菌と称される細菌は、切り札と称される抗生物質に耐性を有することから、臨床分野等においても大きな脅威となっている。

一方、微生物混在系としての下水処理場においても耐性菌の実態調査は行われており、多剤耐性株の存在¹⁾や耐性遺伝子の検出報告例²⁾がある。特に、下水処理場へスーパー耐性菌の流入がある場合には、微生物混在系としての活性汚泥中において、ニューデリー・メタロβ-ラクタマーゼ1 (NDM-1: カルバペネムを含む広域β-ラクタム薬を分解する酵素) に代表される耐性遺伝子の伝播により他の細菌に対し多剤耐性能力が付与されることが危惧される。海外においてNDM-1の遺伝子を保持した細菌の実態について、水道を含む環境水での検出事例³⁾もあり、抗生物質の消費大国である我が国においても、その実態解明を早急に実施する必要性があると考えられる。

本研究課題では、まず、スーパー耐性菌を含めた多剤耐性菌の実態把握を目的に、下水道へ排出される病院排水を対象に、耐性菌の存在状況について評価を行った。病院排水は、関東圏内にある比較的大規模なA病院を対象とし、排水中に含まれる大腸菌の抗生物質感受性試験により評価を行った。大腸菌の検出はクロモカルト培地による平板培養法とし、検出された各々の大腸菌の典型コロニーを釣菌、その培養液を平板に固めた寒天培地上に塗布し、平板上に抗生物質の含有されたディスクを置いた。この平板を35°Cで16~18時間培養の後、平板上に形成された阻止円の直径を測定し耐性、感受性の判定を行った。対象抗生物質はカルバペネム系の代表的な抗生物質であるイミペネム (IPM) 以外に、アンピシリン (ABPC)、カナマイシン (KM)、ゲンタマイシン (GM)、スルファメトキサゾール・トリメトプリム (ST)、セフジニル (CFDN)、テトラサイクリン (TC)、レボフロキサシン (LVFX) の8種類とした。抗生物質含有ディスクはKBディスク (栄研化学) を利用し、感受性試験の判定基準などはKBディスクの手引きを参照した⁴⁾。

2.1.2 浄化槽排水負荷の影響を受ける河川調査

公共用水域に対する病原微生物の負荷源はポイント、ノンポイント負荷として様々なものが存在する。本研究においては、これら負荷源における病原微生物の実態を

明らかにするとともに、対策手法の構築、評価を行うものである。その中でも汚水処理人口に占める浄化槽の処理人口は比較的多いため、浄化槽排水の影響を受ける河川における病原微生物の実態把握を目的に、NV、原虫類の存在実態を評価した。

調査対象河川はB県内にあるC、D、Eの3河川 (D、Eは水路) とした。これらの3河川の流域には、下水道整備未普及地域であるものの一部の排水を単独・合併浄化槽により処理している地域が含まれる。調査対象とした河川の流域における浄化槽設置数等を表-1に示す。住戸数の約30%が浄化槽を設置しており、設置数と戸数平均人数から推定される浄化槽人口は約110~220人である。また、当該流域内における浄化槽設置施設は小学校等があり、D、E、C河川流域の順で人口負荷が多い。調査は感染性胃腸炎の流行期である1~2月下旬の間に、これらの浄化槽排水の影響を受ける3河川を対象に4~6時間間隔で24時間採水を2回実施した。

表-1 影響戸数と浄化槽設置数

	住戸数	浄化槽設置数	浄化槽推定人口(人)	その他流域内浄化槽設置施設(人)	浄化槽推定人口計(人)
C河川	約210戸	約60戸	約220	-	約220
D水路	約120戸	約30戸	約110	小学校等(約330人)	約440
E水路	約240戸	約60戸	約220	保育園(約60人)	約280

原虫類の測定は、試料をポリカーボネート製メンブレンフィルターによるろ過濃縮後、超音波処理によりフィルターからオーシスト (シスト) を剥離させ免疫磁気ビーズ法で回収し、蛍光抗体染色を行った。免疫磁気ビーズはダイナル社製のダイナビーズ GC-コンボキット、蛍光抗体染色にはイージーステインを用い、染色したプレパラートを落射蛍光微分干渉顕微鏡にて観察・定量を行った。なお、原虫類の測定試料は4~6時間毎の24時間採水試料を混合したものである。

NVの測定は、安定した定量値を得るため試料の濃縮はポリエチレングリコール (PEG) 沈殿法とした。PEG沈殿法では、試料中にPEG #6000 (終濃度8%) およびNaCl (終濃度0.4M) を添加・攪拌し完全に溶解させ、4°Cで1夜静置の後、10,000×Gで30分間遠心分離し沈渣を回収した。この沈渣をRNase-free水 (遺伝子分解酵素を除去した水) に再浮遊させてウイルス濃縮液とし、濃縮液中のウイルスは、リアルタイムPCR法により定量⁵⁾を行った。ウイルス遺伝子の抽出は、ウイルス濃縮液からQIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN社) の抽出カラムを用いたグアニジン法とした。抽出したRNAに微量に含まれているDNAを除去するためDNaseI処理

し、RNeasy MinElute Clean up Kit (QIAGEN 社) でウイルス RNA を精製した。上記で抽出したウイルス RNA 試料 0.5 μ g をランダムプライマー、Omniscript RT Kit (QIAGEN 社) を用い全量 20 μ L の系で逆転写反応を行い cDNA を作製し 2 μ L をリアルタイム PCR に供した。NV の検出に用いたプライマー、プローブおよび反応条件は、「ノロウイルスの検出法について」⁶⁾ に準じた。リアルタイム PCR 反応のための試薬は QuantiTect Probe PCR Kit (QIAGEN 社) を用い、リアルタイム PCR 装置は LightCycler (ロシュ・ダイアグノスティックス社) を使用した。逆転写反応に使用する抽出 RNA 量は Spectrophotometer (NanoDrop 社製) により定量した。なお、ウイルス遺伝子抽出カラムへのウイルス濃縮液の通水量は、検出濃度にバラツキが生じないように抽出カラム 1 本あたり 0.05mg-SS となるように統一した⁵⁾。

2.2 リスク評価のための極低濃度試料に対応した濃縮・定量技術の開発

分子生物学的手法の進展により従来、培養が困難であった細菌やウイルスなどの定量が可能となってきている。特に、細胞培養法による評価が困難である腸管系ウイルスの定量には、リアルタイム RT-PCR 法が主に用いられている。試料の濃縮、遺伝子抽出・精製、逆転写、PCR 反応とした定量工程では最終的には μ L 系の試験操作となるため、濃縮精製試料の極一部量の評価となる。評価対象とするウイルスが試料中に高濃度に存在すれば、安定した PCR 値が得られるが、環境水や高度に処理されたウイルス低濃度試料を対象とした場合、定量値のバラツキが大きくなる可能性がある⁷⁾。また、遺伝子抽出カラムへの濃縮試料の SS 負荷量等の適正化を図る必要性があり、測定対象試料の水質性状の違いによって定量値に影響を及ぼす可能性が指摘されている⁵⁾。下水処理水の再生水利用や放流先水域における衛生的安全性のリスク評価にあたっては、極低濃度のウイルス試料を対象とすることから、安定した定量値を得るための手法を開発する必要がある。

このため、極低濃度試料に対応した濃縮・定量技術の開発を目指し、24 年度には水質性状が異なる試料を用いノロウイルスの定量値に及ぼす影響を把握することで定量値向上のための方策を評価した。

評価対象試料には、低濃度試料として各種高度処理水を、また、比較対象に流入下水を利用したが、水質性状の違いをより明確にするため、各々の試料をミリ Q 水で希釈した。基本的な定量法は 2.1.2 と同様であるが、逆転写反応に利用する RNA 量を変動させ、さらに、試料を

希釈することで RNA 抽出カラムに対する SS 負荷量は 0.05mg-SS/カラム以下となった。

2.3 生物学的高度処理法による除去率向上要因の解明と消毒法による効果の検討

2.3.1 段階的な復旧対策技術による放流水質の改善効果の評価

東日本大震災による津波により、沿岸部に位置する下水処理場は壊滅的な被災を受け水処理機能が停止した。また、下水管渠にも広範囲な被害が及び、流下機能の阻害によりマンホール等からの溢水が発生したことから、公共用水域を含めた市街地等の衛生的なリスクが上昇した。水道を含めた他のインフラ復旧により下水は継続的に流入するため、下水処理場は応急復旧対策により速やかに下水の排除・水質浄化を行う必要がある。壊滅的な被災のため、完全な水処理の実施には長期間を要することから、段階的な復旧対策の実施により公共用水域に対する衛生的安全性を担保しなければならないが、段階的な対策技術ごとに病原微生物の除去効果が異なると考えられる。

本研究は、下水処理場の水処理機能が被災により停止した場合、病原微生物の除去のために必要な要件を明らかにすることを目的に実施した。また、段階的復旧において生じた課題を明確にして、解決策を提案することで、本研究の達成目標の 1 つである「水環境保全システムとしての適切な対策技術の構築」に繋がると考えられる。

本研究では、壊滅的な被災により水処理機能が停止した F 下水処理場を対象に、段階的な復旧対策技術として①簡易沈殿処理、②簡易沈殿処理+簡易曝気処理、③簡易沈殿処理+簡易曝気処理+汚泥返送系の仮復旧、④活性汚泥生成の各段階における大腸菌群、NV の除去・塩素消毒特性と課題を明らかにすることを目的に、23~24 年度にかけ現地調査・実験を実施した。併せて原虫類の流入実態についても把握した。

各病原微生物の測定法は、大腸菌群数では、デソキニコール酸培地による平板培養法とした。

原虫類、NV の測定法は、上記 2.1.2 に示した手法と同様である。その他の水質測定項目は、水温、pH、DO、ORP、濁度は多項目水質計により、SS は下水試験方法を準拠、残留塩素は DPD 法により測定した。

3. 研究結果および考察

3.1 下水や環境水における新興・再興感染症としての病原微生物である原虫類、ウイルス、薬剤耐性菌の実態解明

3.1.1 抗生物質耐性大腸菌の実態

入院患者に対する抗生物質の投与により病院排水中には多剤耐性菌の存在割合が高いと推定されるため、下水や環境水の実態把握に先立ち下水道へ排出される病院排水を対象に、抗生物質耐性大腸菌の存在状況を調査した。調査対象とした病院排水は、関東圏内にある比較的大規模なA病院である。ここからの排水を23～24年度にかけ複数回採水し、その試料中の大腸菌コロニーについて抗生物質感受性試験を行った。

耐性大腸菌の検出結果を図-1に示す。供試株数は722株であり、その内、8剤の抗生物質に対して耐性が無いと評価された株は202株であった。1剤のみに耐性を示した株は216株であるが、その内ABPCに耐性のあるものは126株であった。2剤以上の抗生物質に対し耐性を示した多剤耐性株は304株であり、供試株数の約40%であった。304株の内292株がABPCに耐性を示しており、多剤耐性株の96%を占めていたことから、多剤耐性株の多くはABPCに耐性を有することが明らかとなった。また、3株が最大7剤に対し耐性を示した。

図-2は各抗生物質に対する耐性株の割合を示したものであり、ABPCに耐性を示す株は約60%と最も高く、次いで、TCが約30%を占めていた。ABPCは1963年、TCは1954年に発売され長期間使用されており⁸⁾、時間

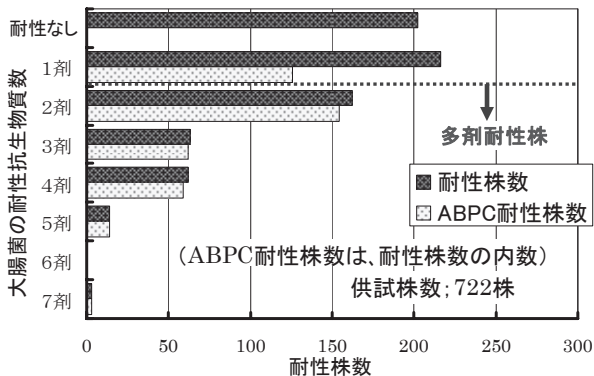


図-1 大腸菌の耐性抗生物質数ごとの検出株数

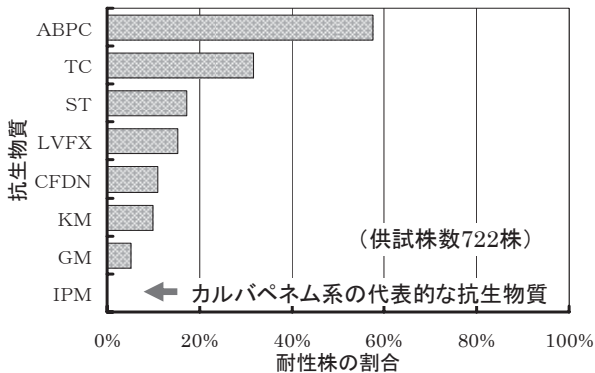


図-2 各抗生物質に対する耐性株の割合

の経過が耐性株の増加に繋がったと考えられる。現状において比較的販売量が多いとされるLVFXに関しては⁹⁾、上記2つの抗生物質に比較して耐性株の割合は約15%と高くないため、抗生物質販売量と耐性株の存在実態との関係はないようである。

一方、カルバペネム系の代表的な抗生物質の1つであるIPMに対しては、耐性を示した大腸菌株は検出されなかった。大腸菌などの腸内細菌科でカルバペネム剤に耐性を示す株が分離された場合には、NDM-1産生の可能性を考慮する必要があるとされているが¹⁰⁾、今回の実態調査では検出されなかったため、現状においてはスーパー耐性菌と称される細菌の存在レベルは未だ低いと推定された。今後、下水や環境水などを含め調査対象を拡げ実態把握を行う。

3.1.2 浄化槽排水負荷の影響を受ける河川調査の結果

23～24年度にかけ1月下旬から2月下旬に行った調査結果を表-2～4に示す。表-2は河川流量に占める浄化槽排水量の推定割合を示したものであり、水使用量を1人あたり230Lと仮定¹¹⁾し、浄化槽利用推定人口(表-1)を乗じて排水量を算出した。調査対象河川の中で比較的河川流量の多いC河川では、河川流量に占める浄化槽排水量の推定割合は数%程度、D、E水路では流量状況により概ね20～90%で推移していた。

表-3は各河川水のNV濃度の測定結果を基に、推定浄化槽排水量から試算した浄化槽排水のNV濃度を示した。概ね $10^4 \sim 10^6$ copies/Lの範囲内で推移していたが、23年度はNVG2はNVG1と比較して検出濃度が高いのに対し、24年度は異なった傾向であることから、調査対象地域の流行状況の影響を受けているものと推定された。一方、既往の調査研究による1～2月の下水処理水のNVG2平均濃度は、通常の活性汚泥法であれば 10^5 copies/Lレベル、窒素・りんの高度処理法では 10^4 copies/Lレベル¹²⁾であり、それらと比較して浄化槽排

表-2 河川流量に占める浄化槽排水量の推定割合

調査時期と対象河川	河川流量 (m ³ /日)	浄化槽排水量 (m ³ /日)※	河川流量に占める排水量の推定割合
平成24年1月下旬	C河川	968	5.3%
	E水路	57	51～55 ※※
平成24年2月下旬	C河川	3,223	1.6%
	D水路	86	25～52 ※※
	E水路	137	51～55 ※※
平成25年1月下旬	C河川	1,757	2.9%
	D水路	156	25～52 ※※
	E水路	101	51～55 ※※
平成25年2月下旬	C河川	7,322	0.7%
	E水路	69	51～55 ※※

※ 1人230L/日と仮定¹¹⁾

※※ 小学校等の昼間人口として1人230L/日の35%量と仮定¹¹⁾

表-3 推定浄化槽排水量から試算した浄化槽排水のノロウイルス濃度

調査時期と対象河川	NVG2平均濃度 (copies/L)	NVG1平均濃度 (copies/L)	昼間人口を加えたG2平均濃度 (copies/L)	昼間人口を加えたG1平均濃度 (copies/L)
平成24年1月下旬	C河川	2.3E+06	1.9E+05	—
	E水路	1.1E+06	7.6E+04	1.0E+06
平成24年2月下旬	C河川	5.1E+05	9.4E+04	—
	D水路	3.8E+05	6.9E+04	1.8E+05
	E水路	3.2E+05	5.9E+04	3.0E+05
平成25年1月下旬	C河川	5.2E+03	3.2E+04	—
	D水路	3.4E+04	2.7E+05	1.6E+04
	E水路	4.0E+04	7.0E+04	3.7E+04
平成25年2月下旬	C河川	2.4E+05	1.3E+06	—
	E水路	1.9E+04	2.4E+04	1.8E+04

水の NV 濃度レベルは同じかやや高い状況にあった。なお、河川水量に占める浄化槽排水の割合が高い D、E 水路を含め全ての河川水試料において残留塩素は検出されなかった。

河川水の SS 濃度と NV 濃度の関係を図-3、4に示す。河川水の NV 濃度は SS 濃度の上昇とともに増加する傾向があり各河川の上流域では浄化槽排水以外に負荷源が存在しないことから、浄化槽による SS 除去性能の変動が放流先河川水の NV 濃度に影響を及ぼしているものと考えられた。

次いで、原虫類の調査結果を表-4に示す。24時間採水により得られた試料を混合し分析を行ったことから、その水量は3~30L程度となった。クリプトスポリジウム

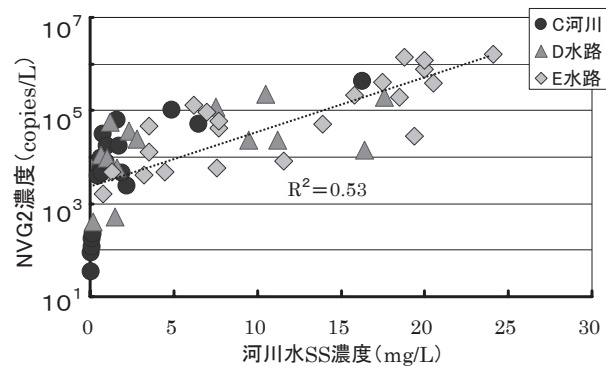


図-3 河川水のSS濃度とNV濃度の関係

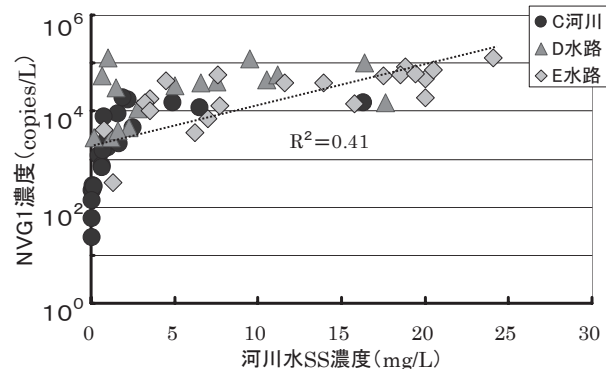


図-4 河川水のSS濃度とNV濃度の関係

ムについては全ての試料で不検出（検出限界値 0.03~0.20ocyst/L；存在していたとしてもこれらの濃度以下）であるが、ジアルジアの検出濃度は1試料において0.54cyst/Lであった。

表-4 推定浄化槽排水量から試算した浄化槽排水の原虫類濃度

調査時期と対象河川	クリプトスポリジウム (ocyst/L)	ジアルジア (cyst/L)	検出限界値 (ocyst/L)	残留塩素濃度 (mg/L)
平成24年1月下旬	C河川	N.D.	0.06	0
	E水路	N.D.	0.03	0
平成24年2月下旬	C河川	N.D.	0.20	0
	D水路	N.D.	0.05	0
	E水路	N.D.	0.54	0
平成25年1月下旬	C河川	N.D.	0.31	0
	D水路	N.D.	0.07	0
	E水路	N.D.	0.05	0
平成25年2月下旬	C河川	N.D.	0.22	0
	E水路	N.D.	0.10	0

これらの結果から公共用水域における NV、原虫類の排出負荷源は下水処理場に加え浄化槽排水の存在が明らかとなったが、その排水の NV 濃度は下水処理水と比較して同レベルか高濃度であった。

よって、公共用水域における衛生学的な安全性を担保するには、下水道のみならず他の施策における対応の構築が急務であると考えられた。

3.2 リスク評価のための極低濃度試料に対応した濃縮・定量技術の開発

NV の検出感度の向上を目的に、測定試料の水質性状が NV の定量値に及ぼす影響を評価した。評価結果を図-5、6に示す。水質性状の違いをより明確にするための希釈倍率は、処理水系試料で1~10,000倍、また、比較対象とした流入下水系では1~20,000倍とし、希釈水にはミリQを用いた。さらに、20μL系での逆転写 (RT) に利用する RNA 量を0.1~1.0μgとした影響評価も加えた。処理水系の試料としては、二次処理水、生物学的高度処理水、膜・オゾン処理水、流入下水系では流入下水、ろ過下水 (GF/Bろ過)を用いた。

処理水系試料の多くは希釈倍率の高まりとともに NV の換算検出濃度 (希釈倍率考慮) が上昇傾向を示した。検出濃度が 10³copies/L レベルである無希釈試料では、希釈することで換算検出濃度は2~4オーダー程度上昇し 10⁵~10⁷copies/L となった。また、RNA の逆転写量を0.1~1.0μgとした影響評価でも、同様な傾向が示されるとともに、20μL系において逆転写に利用する RNA 量を0.1μgとすることで他のケースよりも検出濃度が高くなる傾向が示された。

比較対象として流入下水系試料を利用した評価においても処理水系と同様な傾向が示された。検出濃度が 10⁶copies/L レベルである無希釈試料では、希釈により 10⁹

copies/L となり、換算検出濃度は 3 オーダー程度上昇した。RNA の逆転写量の影響評価では、希釈倍率が低い場合には $0.5 \mu\text{g}$ において、希釈倍率が高まることで $0.1 \mu\text{g}$ とした検出濃度に上昇傾向が見られた。

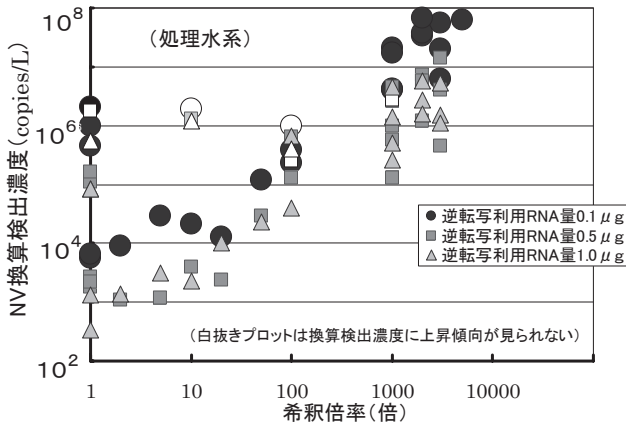


図-5 試料の希釈倍率とNV換算検出濃度

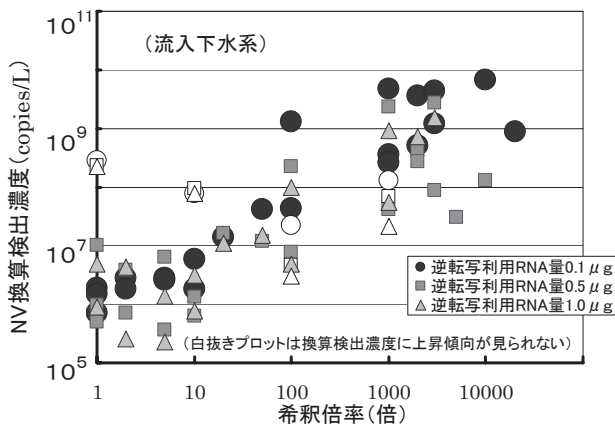


図-6 試料の希釈倍率とNV換算検出濃度

測定試料の希釈による換算検出濃度の上昇要因を推定することを目的に、各試料・希釈倍率毎の RNA の抽出量を評価した。評価結果を図-7 に示すが、試料によっては希釈することで若干の RNA 抽出量の減少が見られたが、希釈倍率に応じた減少量とはなっておらず、希釈倍率が高くても抽出 RNA 量に大きな変化が無いことが確認された。従来、RNA 抽出カラムに対する濃縮試料の SS 負荷量が NV の検出濃度に影響を及ぼすことが確認されている⁵⁾。今回の評価実験では、試料の希釈によって抽出カラムへの SS 負荷量は極低レベルに抑えられており、それが 1 つの要因となり RNA の抽出阻害が回避されているものと推定される。また、ろ過下水や膜処理水の評価結果においても、希釈倍率に応じて換算検出濃度が上昇していることから、RNA 抽出カラムに対する SS 負荷以外にも溶存物質の影響があるものと推定される。しかし、流入下水系、処理水系ともに 1,000~10,000 倍

程度の希釈によって換算検出濃度の最大値が得られていることから、溶存物質のみが影響を及ぼしているとも考えにくい。

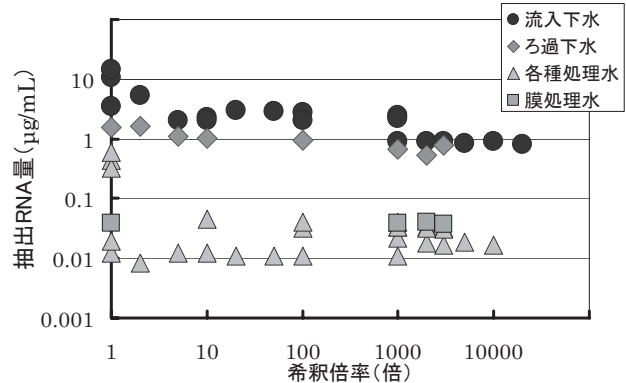


図-7 希釈倍率と試料 1mL あたりの抽出 RNA 量

一部のケースでは希釈により換算検出濃度の大幅な上昇傾向が見られなかったデータもあることから、今後、データの蓄積を図るとともに、濃縮・PCR 反応効率など、他の要因を含めた評価が必要であると考えられた。

3.3 生物学的高度処理法による除去率向上要因の解明と消毒法による効果の検討

3.3.1 段階的な復旧対策技術による放流水質の改善効果の評価

震災により水処理機能が停止した F 下水処理場では、被災直後の簡易沈殿処理による対応から、簡易曝気、簡易曝気+汚泥返送系の仮復旧、一部分の生物処理復旧を経て、現状では、生物処理法の復旧により、段階的な対策技術としては最終段階に至った。本評価では、段階的な対策技術に応じて放流水質が大きく変動すると考えられたため、その病原微生物濃度や消毒効果への影響を明らかにした。24 年度は 23 年度に引き続き F 下水処理場において継続調査を行うことで、簡易沈殿処理から活性汚泥処理に至る段階的な復旧対策技術の評価を実施した。

まず、F 下水処理場における原虫類の調査結果を図-8 に示す。震災後から約 1 年半の間に初沈流出水の 8 試料を測定し 1 試料からクリプトスポリジウムが、2 試料からジアルジアが検出され、検出濃度は各々 1.5 oocyst/L 、 $0.5 \sim 1.4 \text{ cyst/L}$ (検出限界値: $0.17 \sim 0.67 \text{ oocyst(cyst)/L}$) であった。クリプトスポリジウムによる集団感染症発生時には感染者から多量のオーシストが排出されるため、流入下水の検出濃度・割合が高まると報告¹³⁾されているが、今回の結果では検出濃度・割合とも低いことから、F 下水処理場の処理区域内において、これらの原虫類が原因となる感染症は発生していないものと考えられた。

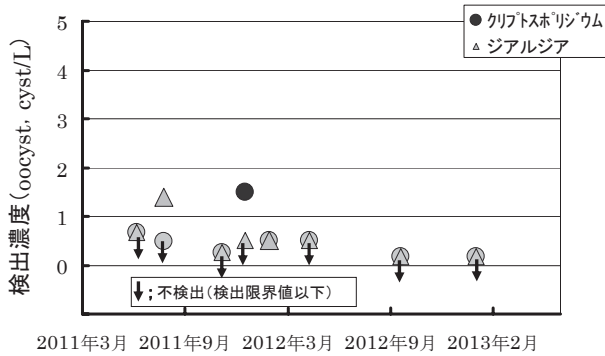


図-8 初沈流出水の原虫類の検出状況

23年度に行った段階的な復旧対策技術による放流水質の改善効果の評価結果では、その初期対応での簡易沈殿処理法については、沈殿汚泥からの還元性物質による消毒剤の消費が消毒効果に影響するため、汚泥の引き抜き管理の重要性が明らかとなった。次いで、簡易曝気や汚泥返送系の復旧は、塩素消毒によるTCの不活化効果やNV濃度の減少効果の向上に寄与していた。また、生物学的な処理法の復旧により、有機物濃度が減少することで次亜塩素酸ナトリウムの添加濃度を低減でき、より消毒効果が向上するものと考えられた。

24年度では、簡易曝気+汚泥返送系の復旧に加え、一部の生物処理復旧を経て最終段階である生物処理法の復旧に至っており、それらの評価を主に実施した。

活性汚泥の生成系と簡易曝気+汚泥返送系における処理水質の比較結果を表-5、図-9に示す。活性汚泥生成系と簡易曝気+汚泥返送系の処理水質には違いが見られ、活性汚泥生成系では活性汚泥濃度の上昇と処理に見合う酸素供給により、処理水質が良好であった。

また、各系の処理水質が消毒効果に与える影響評価結果について図-10、11に示す。各系の最終沈殿池の上澄液を用いて評価を行ったが、活性汚泥生成系では簡易曝気+汚泥返送系に比較して、処理水中のTC濃度が低下するとともに、塩素の消毒効果がより向上しており、1~2mgCl/L程度とした通常の添加濃度において放流水質基準値以下となった。さらに、NVについても活性汚泥生成系では塩素消毒によるNV濃度の減少効果がより向上しており、活性汚泥生成にともなう水質の改善効果は、TCの不活化効果やNV遺伝子に及ぼす塩素消毒の影響に強く反映するものと考えられた。

表-5 活性汚泥濃度と処理水質

	活性汚泥濃度		処理水質 (mg/L)	
	MLSS (mg/L)	T-CODcr	SS	
活性汚泥生成	1,500	61	8	
簡易曝気+汚泥返送	160	301	66	

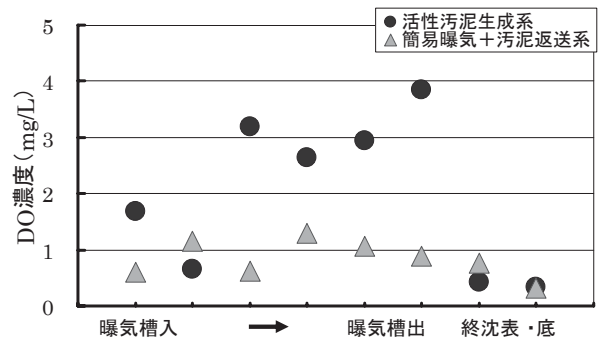


図-9 DO濃度の推移

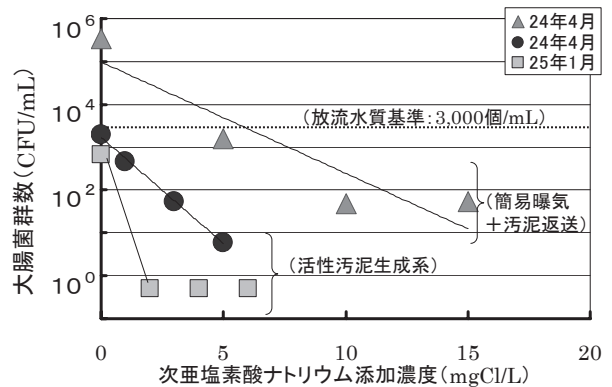


図-10 次亜塩素酸ナトリウム添加濃度とTC濃度の関係

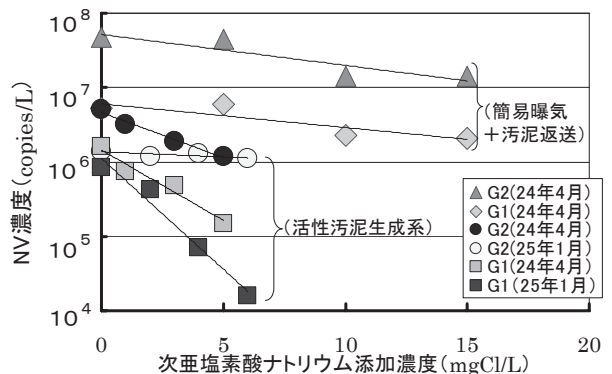


図-11 次亜塩素酸ナトリウム添加濃度とNV濃度の関係

次いで、段階的な対策技術による消毒効果の改善効果の評価として、塩素混和池における次亜塩素酸ナトリウム添加濃度に対する残留塩素濃度の割合とその濃度に対する大腸菌群の不活化率を、23年度の調査結果を含め図-12、13に整理した。震災直後の簡易沈殿処理では、沈殿池下層に堆積した沈殿汚泥の存在により生成された還元性物質が消毒剤を消費したことで残留塩素濃度が検出されなかった。その後、震災直後から簡易沈殿処理を行っていた沈殿池の通水を止め、異なる系列の沈殿池利用や、最終沈殿池の堆積汚泥の腐敗防止・酸化促進による有機物等の溶出抑制を目的とした簡易曝気+汚泥返送系の仮復旧が行われたことで、残留塩素濃度の割合は上昇し

た。さらに、活性汚泥生成による処理機能の回復にともない添加塩素濃度に対して残留する塩素濃度の割合が高まるとともに、残留塩素濃度が上昇することで TC の不活化率が向上した。

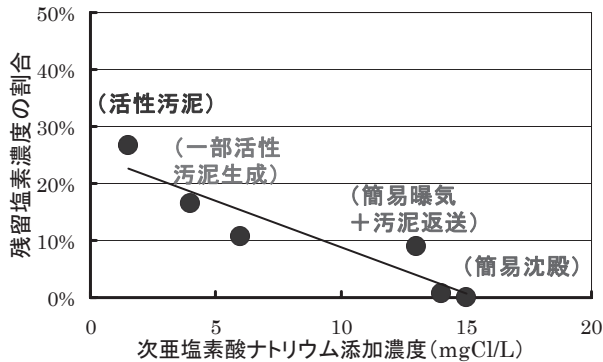


図-12 添加塩素濃度に対する残留塩素濃度の割合

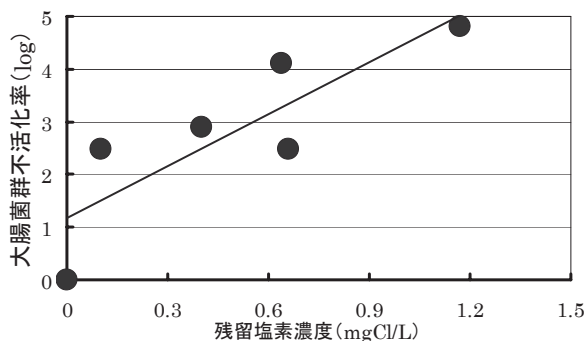


図-13 残留塩素濃度とTC不活化率の関係

生物処理法の復旧により段階的な対策技術としては最終段階に至っており、活性汚泥処理への移行当初における活性汚泥生物相と NV 除去率の関係を評価した。図-14 には活性汚泥生物相に占める活性性生物の割合と NV 除去率の関係を示した。比較のため他の処理場の測定結果を含めてグラフ上にプロットした。ここで、活性性生物とは活性汚泥に出現する微生物の分類¹⁴⁾の中で *Aspidisca* や *Vorticella* などの原生動物などを示し、そ

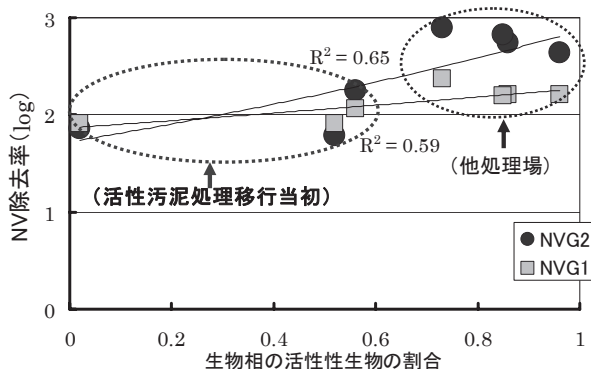


図-14 活性汚泥生物相に占める活性性生物の割合とNV除去率の関係

他の中間汚泥生物や非活性汚泥生物を含めた全体数を計数し、活性性生物の割合を求めた。他の下水処理場における活性汚泥生物相に占める活性性生物の割合は、70%程度～90%以上であるのに対し、F 下水処理場では数%～50%程度と低く、活性汚泥処理による NV 除去率は、活性性生物割合の影響を受けていると考えられることから、活性汚泥処理への移行当初には、NV 除去率が劣ることに留意が必要であると考えられた。

23～24 年度にわたる調査、実験により得られた段階的な対策技術の評価結果を表-6 に示す。簡易沈殿処理では沈殿池に堆積した汚泥の引き抜き管理が消毒効果に及ぼす重要な因子であり、また、簡易曝気や汚泥の返送の実施により消毒効果は向上する。さらに、最終段階としての活性汚泥処理では有機物濃度が減少し、より消毒効果が向上するとともに消毒剤の低減が図られるが、活性汚泥処理への移行当初は生物相が生成途上であることから、NV 除去率が劣ることに留意が必要であることを明らかにした。

表-6 段階的な対策技術の評価結果

段階的な対策技術	評価結果
簡易沈殿処理	堆積汚泥の引き抜き管理が重要
簡易沈殿処理 + 簡易曝気	沈殿処理よりも消毒効果が向上
簡易沈殿処理 + 簡易曝気 + 汚泥の返送 ※	汚泥返送系の仮復旧により、さらに消毒効果が向上
簡易沈殿処理 + 曝気 + 汚泥の返送 ※※	有機物濃度の減少および消毒剤添加濃度の低減
活性汚泥生成による生物処理	活性汚泥処理移行当初は、生物相が生成途上のため安定化を要する

※ 堆積汚泥の腐敗防止等を目的 ※※ 活性汚泥の生成を目的

4. まとめ

24 年度は、23 年度に引き続き下水道へ排出される病院排水を主に薬剤耐性菌の実態把握を行うとともに、浄化槽排水負荷源を流域に持つ河川を対象にウイルス、原虫類の実態を把握した。また、東日本大震災により壊滅的な被害を受けた下水処理場を対象に、段階的な復旧対策技術による放流水質の改善効果の評価を重点的に実施した。

リスク評価のための極低濃度試料に対応した濃縮・定量技術の開発では、水質性状が異なる試料を用いノロウイルスの定量値に及ぼす影響を把握することで定量値向上のための方策を評価した。以下に得られた結果を示す。

「抗生物質耐性大腸菌の実態」

- 1) 多剤耐性大腸菌株の多くはアンピシリンに耐性を有することが明らかとなった。
- 2) 現状における抗生物質販売量と耐性大腸菌株の存在実態との関係は見られなかった。

3) カルバペネム系の代表的な抗生物質の1つであるイミペネムに対して耐性を示した大腸菌株は検出されなかった。

「浄化槽排水負荷の影響を受ける河川調査の結果」

4) 公共用水域におけるノロウイルス、原虫類の排出負荷源として、下水処理場に加え浄化槽排水の存在が明らかとなった。

5) 浄化槽によるSS除去性能の変動が放流先河川水のノロウイルス濃度に影響を及ぼしているものと考えられた。

6) 浄化槽排水の割合が高い河川水でも残留塩素濃度は検出されなかった。

「水質性状がNVの定量値に及ぼす影響を評価」

7) 測定試料の希釈倍率に応じて、ノロウイルスの換算検出濃度が上昇する傾向が見られた。

8) 希釈によって抽出カラムへのSSや溶存物質負荷量は極低レベルに抑えられており、それが1つの要因となりRNAの抽出阻害が回避されているものと推定された。

「段階的な対策技術による放流水質の改善効果の評価結果」

9) 段階的な対策技術による処理機能の回復にともない、添加塩素濃度に対して残留する塩素濃度の割合が高まる。

10) 活性汚泥生成にともなう水質の改善効果は、大腸菌群の不活化効果やノロウイルス遺伝子に及ぼす塩素消毒の影響に強く反映するものと考えられた。

11) 活性汚泥処理によるノロウイルス除去率は、活性生物割合の影響を受けていると考えられ、活性汚泥処理への移行当初には、除去率が劣ることに留意が必要であると考えられた。

12) 今回、調査対象とした河川水や下水試料からの原虫類の検出濃度・割合は低いことから、これらの原虫類が原因となる感染症は発生していないものと考えられた。

謝辞

本研究・調査を実施するにあたり、F下水処理場、B県およびB県内の各下水道管理者には特段のご配慮・ご協力を頂いた。また、A病院排水の採水に協力して頂いた、多くの関係各位に謝意を表します。

参考文献

1) M.Suwa, M.Ozaki, (2007), Study of the actual condition of

antibiotic resistant bacteria in water environments and wastewater, 14th International Symposium on Health-Related Water Microbiology, Proceedings, pp.354-355.

2) 岡本誠一郎、諏訪守、桜井健介(2011)、水環境中における病原微生物の消長に関する研究、平成22年度下水道関係調査研究年次報告書集。

3) T.R.Walsh, J.Weeks, D.M. Livermore and M.A. Toleman (2011) Dissemination of NDM-1 positive bacteria in the New Delhi environment and its implications for human health: an environmental point prevalence study, Lancet Infect Dis., 11, 355-362.

4) 細菌感受性試験用、KBディスク栄研手引き。

5) 諏訪守、岡本誠一郎、尾崎正明、陶山明子(2009)、下水処理のノロウイルス除去効果とその検出濃度に及ぼす濃縮法の影響、下水道協会誌論文集、46(561)、91-101.

6) 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課(2007)、ノロウイルスの検出法について。

7) 諏訪守、岡本誠一郎、桜井健介(2009) 各種下水処理法によるノロウイルス除去率の評価と測定技術の課題、第12回日本水環境学会シンポジウム講演集、239-240.

8) 橋本一、井上松久(1993) 病原菌の薬剤耐性一機構の解明とその対策一、学会出版センター。

9) 八十島誠、山下尚之、中田典秀、小森行也、鈴木穰、田中宏明(2004) 下水処理水中に含まれるレボフロキサシン、クラリスロマイシンの分析と藻類生長への影響、水環境学会誌、27(11)、707-714.

10) 日本感染症学会、多剤耐性菌情報-NDM-1およびNDM-1産生菌の特徴、<http://www.kansensho.or.jp/mrsa/100908ndm-2.html>.

11) (社)日本下水道協会(2008) 流域別下水道整備総合計画調査指針と解説。

12) 諏訪守、岡本誠一郎、桜井健介(2010)、ノロウイルスの除去率に及ぼす下水処理法の影響因子、下水道協会誌論文集、47(571)、103-111.

13) 諏訪守、鈴木穰、尾崎正明(2007)、クリプトスポリジウム集団感染発生地域の下水処理場におけるオーシストの実態、下水道協会誌論文集、44(538)、151-160.

14) (社)日本下水道協会(1997) 下水試験方法(上巻)。

開発途上国における都市排水マネジメントと技術適用に関する研究

研究予算：運営費交付金

研究期間：平成 23～27 年

担当チーム：材料資源研究グループ (リサイクル)

研究担当者：内田 勉、桜井健介、王 峰

【要旨】 変化する開発途上国の社会的要請を踏まえた水・汚泥処理技術の適合性の評価やそれらの適用方法の開発に向け、統計情報からアジア地域の現状の整理を行った。また、High Rate Algal Ponds の藻類の沈降促進を目指し、下水から培養された藻類に *Moringa oleifera* の種子の水溶液を凝集剤として適用したところ、藻類の沈降が促進した。特に pH4 で凝集剤 20mg-C/L による凝集沈殿処理が、上澄み中の A₆₆₀ とクロロフィル a を最も効率よく低下させた。

キーワード：アジア、統計、*Moringa oleifera*、藻類、凝集、ゼータ電位

1. はじめに

新興国を中心に、急速な経済成長により工場排水や生活排水の河川、湖沼等への放流に伴い、著しい水質汚濁とそれに伴う利水障害、生態系の破壊など深刻な影響が生じている。また、昨今、人口増加による水資源の逼迫に伴う高度な水の再利用、地球温暖化対策に配慮した下水汚泥等を有効利用した省エネルギー対策が求められつつある。我が国では、こうした状況に対応しうる優れた公害対策の経験や汚水処理、汚泥有効利用技術等を保有しており、海外の多くの開発途上国から支援要請があるものの、開発途上国では気候風土、生活様式、経済状況、水資源の逼迫状況等が異なっており、我が国における下水道に関する考え方や技術がそのまま適用できない場合がある。

本研究では、開発途上国の変化する社会的要請を踏まえ、処理水の各種用途への再利用、下水汚泥等の副産物の有効利用や水・汚泥処理の省エネルギー化などの水・汚泥処理技術の適合性の評価やそれらの適用方法の開発を目指すものである。

本研究は、平成 23～27 年度にかけ、①途上国の地域要件を踏まえた水・汚泥処理技術の適用性の分類、②水・汚泥処理技術の現地適用手法の開発、③都市排水マネジメント方策の提示、の各項目を達成目標に掲げ実施するものである。

2. 統計情報からのアジア地域の現状の整理

変化する開発途上国の社会的要請を踏まえた水・汚泥処理技術の適合性の評価やそれらの適用方法の開発に

表 1 下水道施設の整備に関係する経済・衛生・水資源・エネルギー・農業等の統計情報

	GNI per capita, PPP (current international \$, 2011)	Improved sanitation facilities (% of population with access, 2010)	Renewable internal freshwater resources per capita (cubic meters, 2009)	Arable land (hectares per person, 2009)	Agriculture value added per worker (constant 2000 US\$)	Energy self-sufficiency rate, net (% of energy use, 2009)	CO2 emissions (metric tons per capita, 2008)
United States	48,890	100	9,186	0.53	47,320	78	18.0
United Kingdom	35,940	100	2,346	0.10	26,330	81	8.5
Japan	35,530	100	3,371	0.03	40,763	20	9.5
Malaysia	15,190	96	20,752	0.06	6,432	134	7.6
China	8,450	64	2,113	0.08	521	92	5.3
Thailand	8,390	96	3,268	0.22	715	60	4.2
Indonesia	4,530	54	8,504	0.10	710	174	1.7
Philippines	4,160	74	5,223	0.06	1,126	60	0.9
India	3,620	34	1,197	0.13	479	74	1.5
Vietnam	3,260	76	4,178	0.07	361	120	1.5
Pakistan	2,880	48	323	0.12	963	76	1.0
Bangladesh	1,940	56	714	0.05	480	84	0.3
Median	8,360	85	2,769	0.14	2,755	77	2.7
Number of countries	162	171	173	203	148	134	197

(世界銀行資料より作成)

向け、統計情報を用い国レベルの視点から水・汚泥処理技術の現状について整理した。対象国は、アジア地域 9 か国（マレーシア、中国、タイ、インドネシア、フィリピン、インド、ベトナム、パキスタン、バングラデシュ）と日本、米国、英国とした。

世界銀行の資料より作成した下水道整備に関する経済・衛生・水資源・エネルギー・農業等の統計情報を表 1 に示す。衛生施設普及率については、年々改善が進んでいるものの、インドネシア、インド、パキスタン、バングラデシュは、いまだ 60%を下回っている。水資源について、アジア地域は、一人当たりの水資源利用可能量が日本並みの国が多く、比較的恵まれていた。ただし、インド、パキスタン、バングラデシュは、日本の 1/3~1/10 程度であり、処理水の再利用（間接利用を含む）の需要が高いと思われる。また、農業生産高について、マレーシアを除いて各国とも労働者当たりの農業生産高が日本の 1/36~1/113 程度と低かった。安価な汚泥肥料が望まれるものと考えられた。

また、昨年度の調査¹⁾や文献²⁾によると開発途上国の排水基準は、下水処理水の放流先の用途によって設定され、BOD₂₀ から 60 程度まで幅広かった。開発途上国では、中級処理を含む幅広いレベルの処理技術が求められているものと考えられた。

3. 凝集剤による藻類の凝集沈殿処理

3.1 背景と目的

排水処理の一つに、High Rate Algal Ponds (HRAPs)がある。HRAPs は、滞留時間 2-8 日間、水深 0.2-1m で継続的に攪拌されたポンドであり、藻類の光合成による酸素供給によって、排水中の溶解性有機物が従属栄養細菌によって好気分解するのを促進する方法である³⁾。バイオ燃料への変換のために藻類を生産する技術が世界的に研究されているが、現在、HRAPs は経済的に実施可能で、かつ、最小の環境影響でできる方法と考えられている⁴⁾。

Moringa oleifera は、多くの開発途上国が位置するアジア、中東、アフリカの熱帯、亜熱帯地域で広く生育する樹木で、*Moringa oleifera* の種子の水溶液(以下、MO 溶液と呼ぶ)が優れた凝集作用⁵⁾を持つことが知られている。MO 溶液が HRAPs の藻類の凝集沈殿に効果があれば、HRAPs の開発途上国での導入が容易になるとと思われる。また、現在の化学凝集剤の代わりに *Moringa oleifera* の種子が利用されることになれば、収入を得る機会が増えるだけでなく、化学凝集剤の生産に伴って排出される温室効果ガスの排出抑制になるとと思われる。

そこで、本研究の目的は、MO 溶液を藻類の凝集沈殿処理に適用し、その効果を評価することとした。評価にあたっては、PSI (ポリシリカ鉄凝集剤) と比較することとした。

3.2 方法

HRAPs の処理水を想定し作成した藻類培養液に MO 溶液を添加し、PSI を対象として、凝集沈殿の効果を評価した。HRAPs の処理水を想定した藻類培養液は、流入下水の上澄みを 5L の三角フラスコに入れ、回分式で曝気およびマグネチックスターラーで 1,000rpm の攪拌を行い、照明付きの恒温機で水温 24°C、照射条件は 150 μ mol/m²/s、12hr/day で 2 週間行い作成した。流入下水は、処理区の一部に合流式下水道を採用している実下水処理場から晴天日（採水前の 24 時間の降雨量が 0mm）に採取した。

評価にあたっては、沈殿のための静置時間について予備実験を行った上で、pH および添加量の与える影響を検討した。実験は数回にわたって行い、実験毎に流入下水を採取して培養した。

MO 溶液は、精製を行わず、比較的作成が容易な既報⁶⁾の方法とした。すなわち、*Moringa oleifera* の種の内部 2g を 1.0mol/L の塩化ナトリウム水溶液 200mL に加え、30 分攪拌したのち、孔径 8.0 μ m および 0.45 μ m のニトロセルロースメンブレンフィルターでろ過した。溶液の TOC を測定し、炭素量で注入量を管理した。MO 溶液の劣化による影響が不明であったため、溶液は作成後 1 週間以内に使用することとした。PSI は PSI-025 (シリカ/鉄モル比 0.25) を用いた。

凝集のための急速・緩速攪拌は、ジャーテスター（宮本理研工業株式会社、JMD-4E）を用い、2 分間 150rpm (G 値 : 85.6 sec⁻¹) の後、15 分間 30rpm (G 値 : 7.66 sec⁻¹) で攪拌した。

実験中の水質の分析の方法は、以下のように行った。吸光度(A₆₆₀)は分光光度計（島津製作所株式会社、SPEC TROPHOTOMETER UV-160）にて光路長 10mm で波長 660nm の吸光度を測定した。なお、10.0abs/m はカオリン標準液を用いた透過光測定法による濁度 50 度に相当した。pH および水温の測定にはポータブル pH 計（東亜 DKK 株式会社、HM-30P または 31P）を使用した。ゼータ電位の測定は Delsa Nano HC（ベックマン・コールター社）と低濃度用フローセルを使用した。MO 溶液の TOC 分析には TOC-5000（島津製作所株式会社）を使用した。クロロフィル a の分析は河川水質試験方法（案）の短波長吸光度法に従った。

3. 3 凝集沈殿処理後の静置時間の影響

凝集沈殿処理後の静置時間を決定するため、静置時間を変化させて上澄みの水質の変化を調査した。

500mL ビーカーに入れた 400mL の実験原水に 1,360mg-C/L の MO 溶液を 15mL 加えて、終濃度 51mg-C/L で急速・緩速攪拌し、静置後の水質を測定した。また、参考に凝集剤を添加しない原水も、急速・緩速攪拌の後に静置した。静置時間はそれぞれ 0、15、30、60、90、120 分とした。静置後、上澄み 100mL を水面付近からピペットで採取し、 A_{660} を測定した。

結果を図 1 に示す。MO 溶液の添加により藻類の沈殿による分離の効率が向上した。また、MO 溶液の沈殿による水質への影響が安定するのは 90 分から 120 分程度と考えられた。

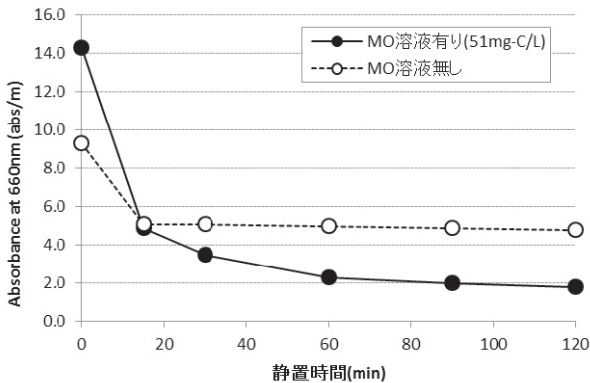


図 1 MO 溶液を添加し急速・緩速攪拌した後の静置時間と上澄みの A_{660} の関係

3. 4 一定 pH での凝集剤の添加量が藻類の凝集沈殿効果に与える影響

一定 pH での凝集剤の添加量の違いが藻類の凝集沈殿効果に与える影響を評価するため、凝集剤の添加量を変化させて、凝集沈殿後の上澄みの水質を調査した。

下水を用いた藻類培養液 400mL を 500mL ビーカーに入れ、急速・緩速攪拌しながら、終濃度で MO 溶液 0、10、20、30、40mg-C/L、または PSI 0、1.5、3、6、12mg-Fe/L を添加し、MO 溶液は pH4 と 9、PSI は pH4 で反応させた。なお、MO 溶液の pH は既報⁵⁾を参考に選んだ。PSI の pH は、pH4~11 までの添加量 6mg-Fe/L での予備試験の結果、最も高い除去率を示したものを選んだ。pH 調製には、水酸化ナトリウム溶液 0.5mol/L および希硫酸 0.5mol/L を用いた。90 分間静置した後、上澄み 100mL を水面付近からピペットで採取した。

結果を図 2、3、4 に示す。MO 溶液および PSI の添加量が多くなるにつれてゼータ電位も高くなる傾向が見ら

れ、藻類培養液中での MO 溶液による電荷の中和効果が確認された。藻類の凝集に適したゼータ電位は -12mV から 12mV の範囲と言われる⁷⁾。MO 溶液 10 または 20mg-C/L でその藻類の凝集に適したゼータ電位(-12mV) に達した。

MO 溶液の添加により上澄みの A_{660} とクロロフィル a が大幅に低下した。特に pH4 で MO 溶液 20mg-C/L の凝集沈殿処理により上澄み中の A_{660} とクロロフィル a が最も低下した。pH4 の条件下で、MO 溶液 10-20 mg-C/L と PSI-025 3-6 mg-Fe/L が同程度の能力を示した。しかし、MO 溶液を多く添加した際 (30 または 40mg-C/L)、 A_{660} およびクロロフィル a が高くなった。MO 溶液による藻類の凝集では、適した注入量の把握が重要になる可能性が考えられた。

4. まとめ

変化する開発途上国の社会的要請を踏まえた水・汚泥処理技術やそれらの適用方法の開発に向け、統計情報からアジア地域の現状の整理を行った。また、High Rate Algal Ponds の藻類の沈降促進を目指し、下水から培養された藻類に *Moringa oleifera* の種子の水溶液 (MO 溶液) を凝集剤として適用し、以下の結果を得た。

- A) MO 溶液の添加により藻類の沈殿による分離の効率が向上した。
- B) MO 溶液の添加によりゼータ電位が上昇し、pH4 で MO 溶液 20mg-C/L、pH9 で MO 溶液 20mg-C/L でゼータ電位 -12mV に達した。
- C) pH4 で MO 溶液 20mg-C/L の凝集沈殿処理により上澄みの A_{660} とクロロフィル a が最も低下した。
- D) pH4 で MO 溶液 10-20 mg-C/L と PSI-025 3-6 mg-Fe/L が同程度の能力を示した。
- E) MO 溶液を多く添加した際 (30 または 40mg-C/L)、上澄みの A_{660} およびクロロフィル a が高くなった。MO 溶液による藻類の凝集では、適した注入量の把握が重要になる可能性が考えられた。

参考文献

- 1) 内田勉、諏訪守、日高平、桜井健介：開発途上国における都市排水マネジメントと技術適用に関する研究、平成 23 年度下水道関係調査研究年次報告書集、土木研究所資料 第 4241 号、pp.49-52, 2012.
- 2) 実用水の処理・活用大辞典編集委員会編集：実用水の処理・活用大辞典、産業調査会辞典出版センター、2011.
- 3) Andy Shilton, Pond treatment technology, IWA publishing,

2006.

- 4) J.B.K. Park, R.J. Craggs, A.N. Shilton. Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. *Bioresource Technology*, 102(1), pp.35-42, 2011.
- 5) K.A. Yongabi, Biocoagulants for water and waste water purification: a review, *International review of chemical*

engineering, 2(3), pp.444-458, 2010.

- 6) 鈴木祐麻, 新苗正和, 真田靖瑛: 天然凝集剤 *Moringa oleifera* によるカオリナイト粒子の凝集沈殿に水質が与える影響, *環境資源工学*, 59, pp.73-80, 2012.
- 7) S A Parsons and B Jefferson: *Introduction to portable water treatment processes*, Blackwell publishing Ltd., 2006.

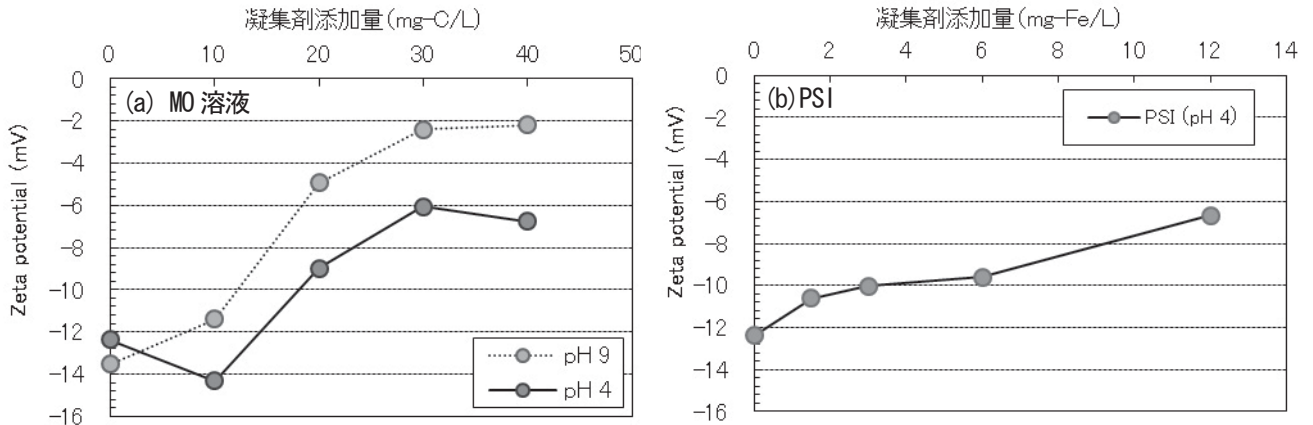


図2 凝集剤添加量とゼータ電位の関係 (静置・pH調整前の藻類培養液のゼータ電位は-15.0mV)

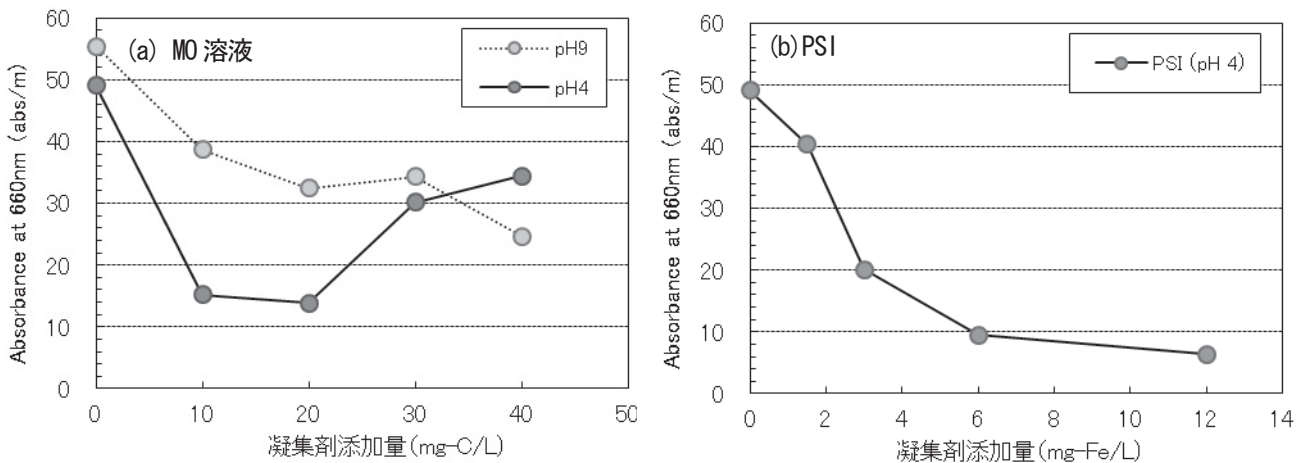


図3 凝集剤添加量と A_{660} の関係 (静置・pH調整前の藻類培養液の A_{660} は105 abs/mであった)

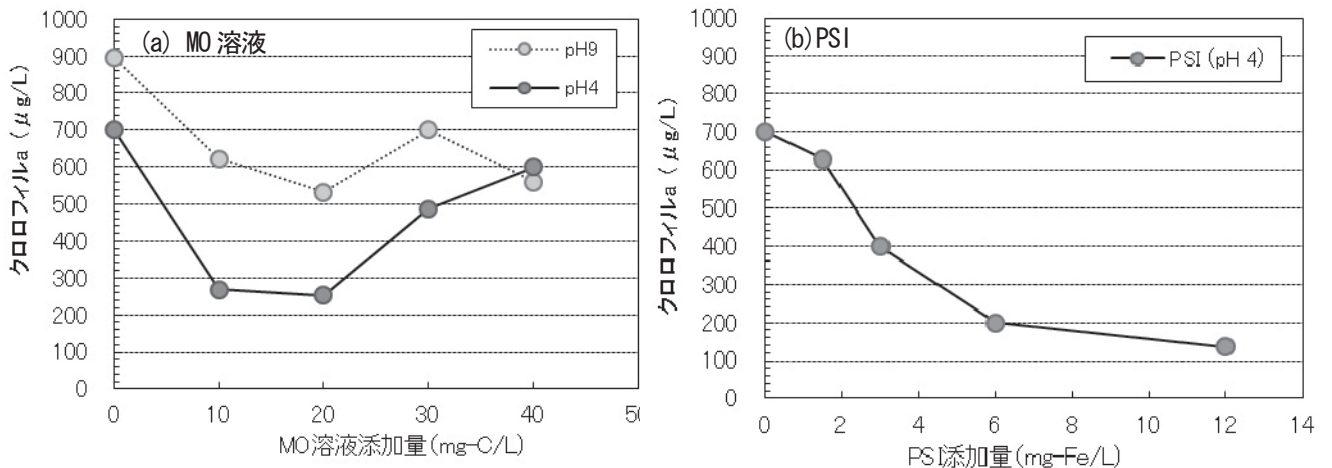


図4 凝集剤添加量とクロロフィルaの関係 (静置・pH調整前の藻類培養液のクロロフィルaは1510 μg/Lであった)

再生水利用の安全リスクに関する研究

リサイクルチーム 上席研究員 内田 勉
 主任研究員 諏訪 守
 研究員 桜井 健介
 専門研究員 安井 宣仁

1. はじめに

現在，図-1 に示すように我が国における下水処理水年間 147.1 億 m³ のうち，再利用量は約 2.0 億 m³、再生水利用率は約 1.4% と低水準¹⁾であり，下水処理水の再利用促進が望まれる。今後，水量，水質の双方からの水環境の改善と都市内水資源の有効活用が求められている。下水処理水の再利用にあたり，特に再生水利用時における病原微生物による感染リスク

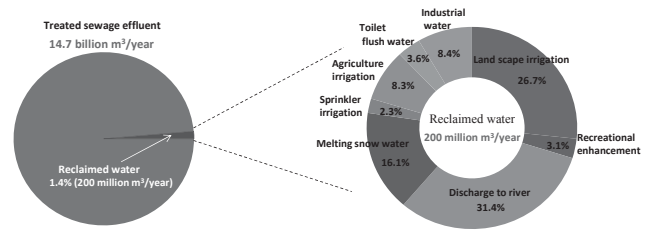


図-1 下水再生水の利用状況¹⁾

の管理は重要である。現状では、「下水処理水の再利用水質基準マニュアル」が策定され，水質基準や施設基準等が提示されており，衛生学的な安全評価のために大腸菌，大腸菌群を中心に管理が行われている。しかしながら，近年，病原微生物の知見の集積により病原微生物が関与した水系感染症の課題が生じてきている。特に下水および下水処理水から，一年間を通して検出されるノロウイルス(以下，NoV と記す)は，調査検討すべき病原微生物である^{2),3)}。

再生水の処理技術としては，海外では，都市下水の再生水処理が増加する傾向があり，その処理技術として膜処理技術が大幅に普及・発展している。国内では，利用率が 1.4% と低いことから，持続可能な社会を実現するためにも再生水処理技術の評価と再生水の利用促進がカギとなる。

本研究では，平成 21～25 年度において，再生水利用促進のための要因分析を行うとともに，水質基準を設定するための課題抽出および再生処理技術の評価することである。

平成 24 年度は，達成目標③「再生処理技術におけるウイルス除去効果の明確化」を達成するために，再生処理技術として，今後，促進・発展が期待される膜処理技術に着目し，微小懸濁物質とウイルス除去との関係を明らかにすることを目的に研究を行った。

2. 膜ろ過処理による NoV 除去性の検討

2. 1 実験材料

a) 原水

前処理および膜処理による除去効果を的確に把握するためには，原水中の NoV 濃度が比較的高濃度で存在することが望ましい。そこで，本実験においては，A 下水処理場の流入下水とパイロットプラントの活性汚泥を用いて疑似処理水を作成し，本実験の原水とした。疑似処理水は，流入下水 16L 中に活性汚泥を 4L 投入し，約 1 時間曝気を行い，活性汚泥を沈降させ，その上澄みを疑似処理水とした。作成した疑似処理水の水質は，SS=5.5 mg/L，COD_{Cr}=50 mg/L，NoVGI=2.66×10⁷ (copies/L)，NoVGII=1.51×10⁶(copies/L)であった。

b) 前処理

前処理として，一般に市販されているポリ塩化アルミニウム (PAC) を用い，ジャーテスターにて凝集沈殿を行

い、その上澄み水を膜ろ過した。PAC 添加量は、アルミ濃度で約 4mg-AL/L (PAC 濃度=5.6mg/L), 10mg-AL/L (PAC 濃度=13.6mg/L) になるように添加した。急速攪拌 2 分間, 緩速攪拌 15 分間行い, 60 分間静置後に上澄み水を得た。

c) 膜モジュール

実験には、MF 膜(膜材質：ポリフッ化ビニリデン (PVDF), 公称孔径=0.45 μ m, 有効膜面積=120cm²)と UF 膜 (膜材質：ポリアクリロニトリル (PAN), 分画分子量=50000Da, 有効膜面積=170cm²)の膜材質, 膜種の異なる 2 種類の膜を用いた。ろ過流量は 24~120mL/min となるように膜間差圧を調整した。

2. 2 実験方法

公称孔径, 分画分子量, 材質の異なる膜モジュールを用い, 前処理条件ことなる条件下で膜処理によるノロウイルス除去性の把握を試みた。図-2 に示す, 膜ろ過装置を用いた。実験は回分式にて行った。前処理の有無, PAC 添加量, 膜種の影響を把握するために表-1 に示す実験条件にて, 膜処理を行った。表-1 に示す, 各条件での試料を原水として用いた。

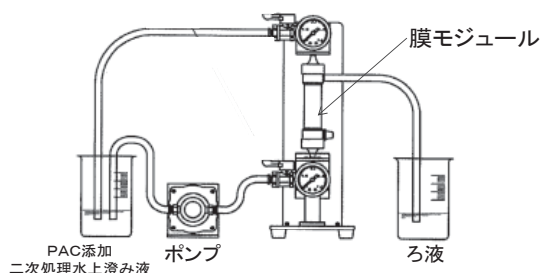


図-2 膜ろ過装置

表-1 実験条件

RUN No.	使用膜種	PAC 添加量 (mg/L)	膜圧 MPa (入口)	膜圧 MPa (出口)	濾過流量 (mL/min)
P-0	—	0	—	—	—
P-4		5.6			
P-10		13.9			
MF-0	MF 膜 (0.45 μ m)	0	0.09	0.08	24
MF-4		5.6	0.09	0.08	52
MF-10		13.9	0.06	0.05	124
UF-0	UF 膜 (50000Da)	0	0.09	0.08	17
UF-4		5.6	0.09	0.08	29
UF-10		13.9	0.07	0.06	38

a) 定量項目

RUN No.P-0, P-4, P-10 の試料を, ゼータ電位計(Delsa Nano HC, ベックマン・コルータ社)を用い, PAC 添加による電位の変化および粒径の変化を把握した。

原水および前処理後, 膜ろ過後の NoV はリアルタイム PCR 法にて NoVGI および NoVGII の定量を行った。リアルタイム PCR 装置は Light Cycler 2.0 (ロッシュ・ダイアグノスティクス社)を使用し, 1 tube あたり 20 μ L または 100 μ L にて定量を行った。NoV の濃縮, 抽出, 定量方法は文献^{2),3)} に準拠した。なお本法による定量下限値は 10 copies/tube, 検出限界は 1 copy/tube である。

前処理, 膜ろ過後の水質変動を把握するために, SS 濃度, CODcr 濃度, 濁度, 水温, pH を測定した。

3. 実験結果

3. 1 水質変化

図-3に各実験条件における試料のSS濃度と濁度, 図-4にCOD_{Cr}濃度, 図-5にPAC添加後のゼータ電位と粒径を示す. 水温およびpHは全ての試料において, 前処理前後, 膜処理前後で大きな変化はなく, pH=7.3~7.5, 水温=18.3~19.8℃であった. 各図よりPAC未添加時(PAC=0mg-AL/L)では, ゼータ電位が-18.3eVであったのに対して, PAC=4mg-AL/Lで-17.1eV, PAC=10mg-AL/Lで-7.9eVとプラス側へシフトしたことが確認された. ゼータ電位は界面の性質を評価する上で重要な値であり, コロイドの分散, 凝集性を評価するための指標となり, ゼータ電位が増加すると, 粒子間の反発が強く, ゼロに近づくにつれ粒子が凝集しやすくなる. よって, PAC添加により, 凝集性が高まったことが確認された. また, 平均粒径を見ても, 凝集したことで粒径が大きくなった傾向が確認された. 同様にPAC添加によりSS濃度, 濁度, COD_{Cr}濃度も減少していることが確認されたが, 膜ろ過後ではPAC添加量の差による大きな水質変化は確認されなかった.

3. 2 NoVの除去性

図-6, 7にPAC添加量, 膜種の違いによるNoV GI, GIIの濃度変化を示す. PACのみによる凝集沈殿では, PAC=4mg-AL/Lと未添加を比較するとGI, GIIともに顕著な濃度変動は確認されなかったが, PAC=10mg-AL/L添加で, GI, GIIともに2Log程度の除去されたことが確認された. 一方, MF膜処理では, PAC添加による濃度差はGI, GIIとも大きな変動はなく, MF膜のみでGI, GIIともに2.3Log程度除去された. UF膜処理ではGI, GIIともに検出限界以下であり, UF膜処理によりGI, GIIともに4.4Log以上の除去が見込まれた. このことから, MF膜とUF膜処理におけるNoVの除去率UF膜>MF膜であったが, PACによる前処理と組み合わせても除去率の向上があまり期待できない可能性が考えられた. これの結果を検証するために, 図-8, 9にPAC濃度とNoVの除去率を示す. 図-8, 9の横軸はPAC添加量とし, PAC添加量の違いによる除去率を把握するために縦軸は各処理でのPAC添加後の処理水濃度をPAC=0での濃度で除したLog除去率とした.

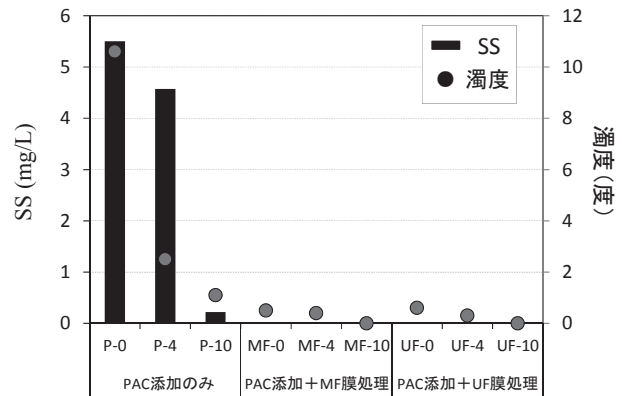


図-3 SS濃度と濁度

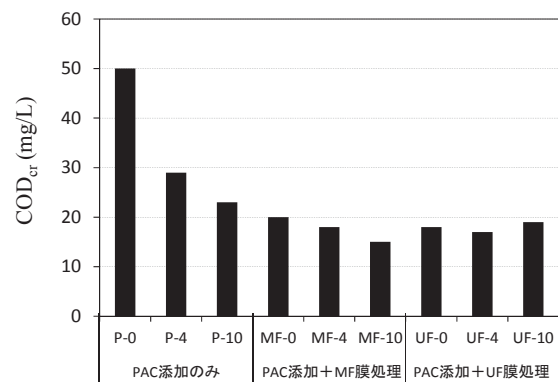


図-4 COD_{Cr}濃度の変化

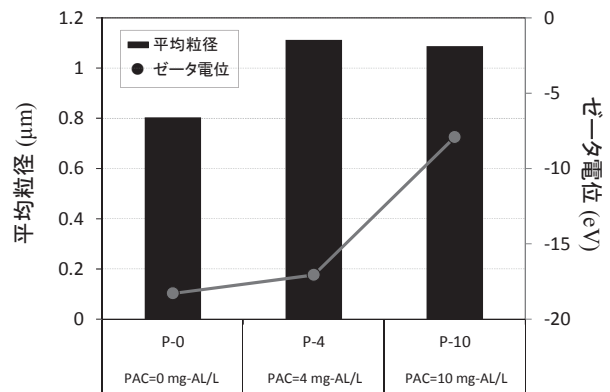
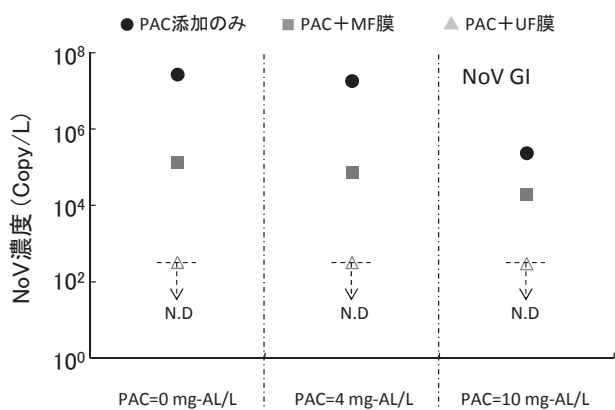
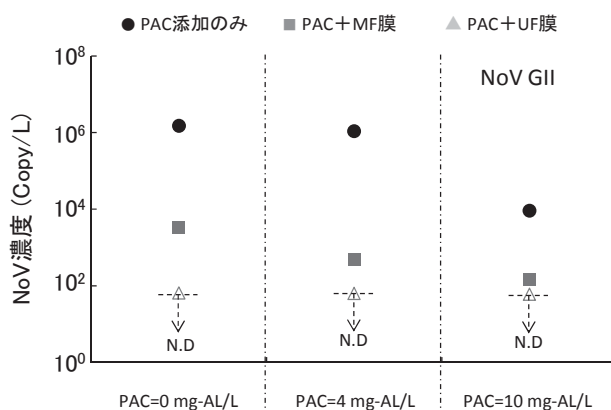


図-5 PAC添加によるゼータ電位と平均粒径の関係



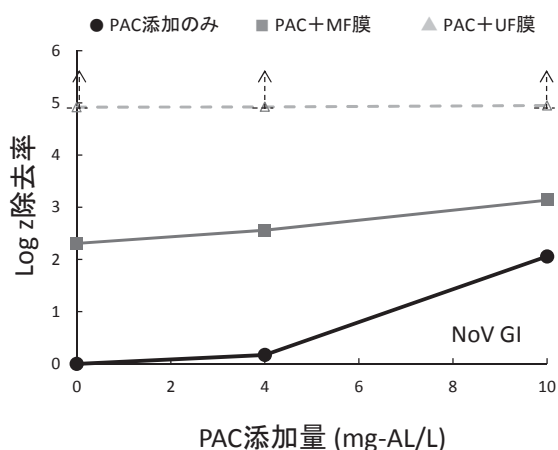
(△は 1copy/tube 検出された仮定した場合濃度を示している)

図-6 PAC 添加量，膜種の違いによる NoV GI 濃度



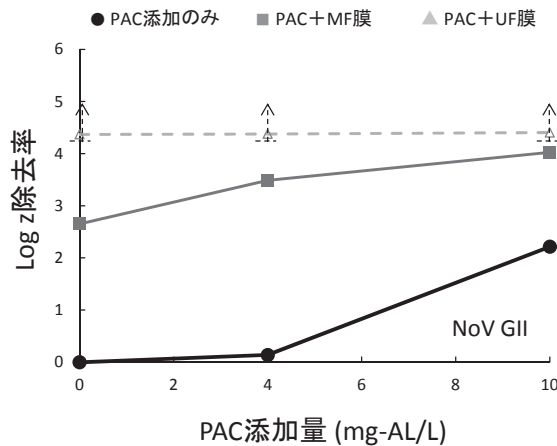
(△は 1copy/tube 検出された仮定した場合濃度を示している)

図-7 PAC 添加量，膜種の違いによる NoV GII 濃度



(△は 1copy/tube 検出されたと仮定した際の除去率)

図-8 PAC 濃度と NoVGI の除去率の関係



(△は 1copy/tube 検出されたと仮定した際の除去率)

図-9 PAC 濃度と NoVGI の除去率の関係

図-8, 9 より PAC のみの添加では，GI, GII ともに PAC 濃度に応じて Log 除去率が向上しており，GI, GII の遺伝種の違いによる顕著な差は確認されなかった．一方，PAC+MF 膜処理では，GI, GII ともに PAC 濃度増加により若干であるが，除去率が向上していた．また GII の方が MF 膜処理の前処理としての PAC 添加による除去率の向上が大きい傾向が確認された．PAC+UF 膜処理は全ての試料で検出限界以下であったため，PAC 添加による効果を明確に評価することは出来なかったが，UF 膜処理により GI, GII ともに 4 Log 以上の除去が期待できると考えられた．

4. まとめ

平成 24 年度は，膜処理技術に着目し，微小懸濁物質とウイルス除去との関係を明らかにすることを目的に，前処理条件，膜種の違いによる NoV の除去性を検討した．以下に得られた結果を示す．

- ・ 疑似処理水に前処理として PAC を添加することで，ゼータ電位の値が増加し，凝集性が高まったことが確認された．また，SS，濁度，COD_{cr}濃度が減少し，水質が向上した結果が得られた．
- ・ NoV の除去性は，PAC のみ添加では，添加濃度が増加するにつれて，GI, GII とも除去率が向上し，GI, GII ともに PAC=10mg-AL/L の添加で，2Log 程度の除去率が得られた．

- ・一方、膜種の違いを見ると、MF膜ではGI, GIIともに2.5 Log程度の除去が見込まれ、PAC添加により若干ではあるが、除去率が向上した。UF膜では全ての試料で検出限界以下であり、PAC添加による影響を的確に評価が出来なかったが、UF膜処理を行うことで、GI, GIIとも4.5Log以上の除去が期待できると考えられた。

参考文献

- 1) 日本下水道協会：平成24年度下水道白書 日本下水道循環のみち下水道の成熟化へ，pp. 87-92，公益社団法人日本下水道協会，2012.
- 2) 諏訪守，岡本誠一郎，尾崎正明，陶山明子：下水処理のノロウイルス除去効果とその検出濃度に及ぼす濃縮法の影響，下水道協会雑誌，46(512)，pp.91-101，2009.
- 3) 諏訪守，岡本誠一郎，桜井健介：下水道におけるウイルス対策手法に関する検討調査，平成22年度下水道関係調査研究年次報告書集，No.4191，ISSN 0386-5878，土木研究所資料，2010.

21 世紀型都市水循環系の構築のための水再生技術の開発と評価（水の衛生学的評価）

材料資源研究グループ グループ長 鈴木 穰
 リサイクルチーム 上席研究員 内田 勉
 主任研究員 諏訪 守
 研究員 桜井 健介
 専門研究員 安井 宣仁

1. はじめに

現在の都市における水利用システムは大量取水、大量排水の「一過型」であるといえ、今後予想される水資源の量的不足と質的悪化に対応するためにも「新たな水利用システム」の開発を行う必要がある¹⁾。下水処理水の再利用に関しては、特に処理工程における腸管系ウイルスの挙動が重要であるが、これらは十分に把握されていない。腸管系ウイルスの中でも、近年、感染症が多発しているノロウイルス（以下、NoV という）が評価対象ウイルスの1つとして挙げられる。

本研究では新しい水利用技術において、安全、安心な利用システムの構築に資するよう遺伝子解析を中心とした手法で、病原微生物である腸管系ウイルスを対象に定量を行い、開発される水処理技術の安全性評価を行う。平成24年度は、NoVを対象に下水再生水の農業利用について、農業従事者および消費者の定量的微生物リスク評価を行い、再生水の農業利用に伴う感染リスクと膜処理による低減効果を明らかにすることを目的とした。なお、感染リスク評価は、UF膜処理を用いたパイロットプラントでの実測値を基に、障害調整生存年数（DALY）を指標に、ケーススタディーとして実施した。

2. 調査概要

(1) 運転条件

本パイロットプラントは、材質がポリフッ化ビニリデン、分画分子量が150,000 DaのUF膜を用い、下水二次処理水を再生水の原水としている。1系は、前処理としてpHを5.5に調整し、PAC添加（50 ppm）による凝集沈殿とUF膜ろ過、2系は原水を直接UF膜でろ過した。調査時のFluxは1系で2 m/day、2系で1 m/dayとし24時間連続運転を同時に行った。これらの運転条件は大腸菌ファージMS2を添加した予備実験において、ウイルスの除去性ならびに膜ろ過の運転の安定性上、最も効果的であった曝露対象者は農業従事者と消費者とした。消費者を対象とした場合の試算においては、流通・加工段階でのウイルスの減衰を考慮した。

(2) 採水方法

調査時期は、水稻栽培で最も水を必要とする出穂時期を想定し2012年8月に調査を行った。パイロットプラントでの採水は、24時間連続運転時での水量、水質変動、滞留時間を考慮し、各処理工程前後にて約4時間おきに24時間の採水を行った。水温、pH、濁度、電気伝導度、DO、ORPとし多項目水質計（U-50, HORIBA社）を用い測定した。その他の水質項目として、SS、COD_{Cr}、T-N、T-P、NO₃-N、NO₂-N、NH₃-N、大腸菌、大腸菌群を定量した。なお大腸菌、大腸菌群の測定には選択培地としてクロモカルト寒天培地を用いた平板培養法とした。

(3) NoVの定量方法

NoVの濃縮、抽出、定量方法は文献^{2), 3)}に準拠し、リアルタイムPCR法にてNoVGIおよびNoVGIIの定量を行った。リアルタイムPCR装置はLight Cycler 2.0（ロッシュ・ダイアグノスティクス社）を使用し、1 tubeあたり20 μLまたは100 μLにて定量を行った。なお本法による定量下限値は10 copies/tube、検出限界は1 copy/tubeである。

(4) 調査結果

調査時の二次処理水の大腸菌は、1系で 41 ± 15 CFU/mL、2系で 59 ± 62 CFU/mL、大腸菌群は、1系で 236 ± 111 CFU/mL、2系で 645 ± 572 CFU/mL であった。1系の凝集沈殿+膜処理水および2系の膜処理水は大腸菌、大腸菌群とも全ての採水した試料で不検出であった。またその他水質項目は、1系の凝集沈殿+膜処理水の T-P を除き、処理前後で大きな水質変化が確認されなかった。

図-1~4に1系、2系の各処理工程における NoV の濃度を示す。各採水時間において原水中の NoV 濃度は GI、GII ともに $10^4 \sim 10^5$ copies/L の範囲で変動している傾向が確認されたが、1系の処理水の NoV は、GI で6検体中3検体、GII で6検体中5検体が検出限界以下であった。2系の処理水は、GI で6検体中2検体、GII で6検体中3検体が検出限界以下であった。

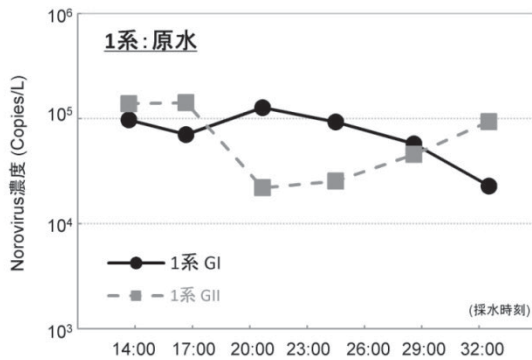


図-1 1系原水の NoV 濃度推移

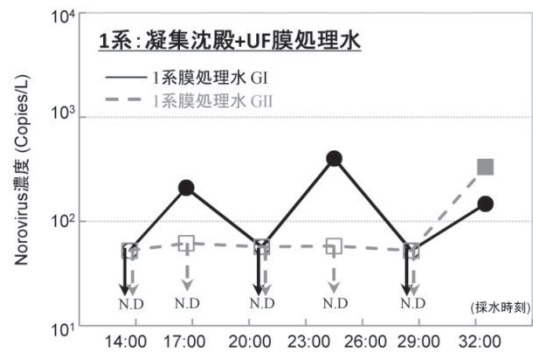


図-2 1系の凝集沈殿+UF膜処理水の NoV 濃度推移
(N. D : 検出限界以下=1copy/tube 未満)

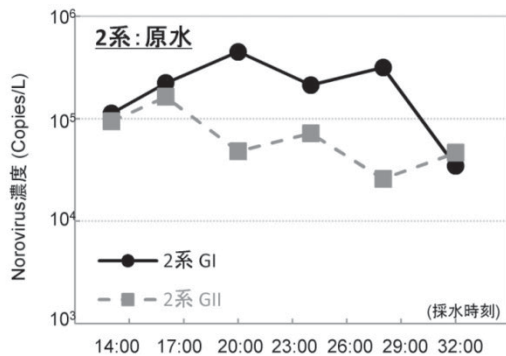


図-3 2系原水の NoV 濃度推移

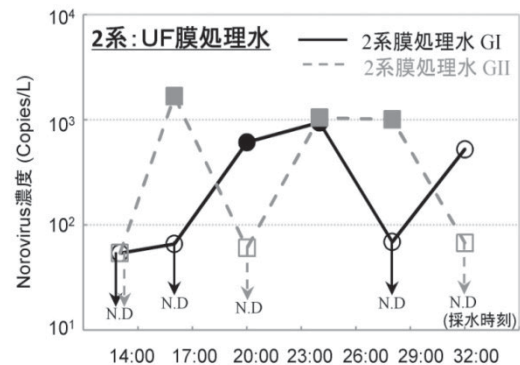


図-4 2系の UF 膜処理水の NoV 濃度推移
(N. D : 検出限界以下=1copy/tube 未満)

3. 定量的微生物リスク評価

本研究では、UF 膜処理を用いたパイロットプラントより産出される再生水の利用可能性について Case 1~4(後述)の水を農業利用した場合を想定し、リスクシナリオを設定した。リスクシナリオを設定するにあたり、パイロットプラントにおける濃度変動等の不確実性を考慮するために、原水濃度分布および再生水処理の除去率分布を推定し、再生水中の NoV 濃度分布を算出した。NoV の発症確率、疫病負荷、反応-用量モデルを設定し、モンテカルロシミュレーション(n=10000回)により各シナリオでの障害調整生存年数(DALY)を算出し、本パイロットプラントの再生水処理により得られた再生水の感染リスクの低減効果を DALY の相対値で評価した。

(1) 実測値に基づく再生水中の濃度分布の推定

1系, 2系の原水中の NoV の濃度分布推定には, Shaoiro-Wilk 検定による正規性の検討を行った. その結果, 1系, 2系の原水ともに, 対数変換した NoV 濃度が有意水準 5%で正規性が棄却されず原水の濃度分布は対数正規分布に従うとみなされた. 除去率分布の推定は, 検出限界以下の値は 1copy/tube 検出されたと仮定し, 原水の濃度分布同様に Shaoiro-Wilk 検定を行った結果, 有意水準 5%で正規性が棄却されず, 除去率分布も対数正規分布に従うとみなされた(図-5). その結果, 図-6 に示すように 1系および 2系の再生水中の NoV の濃度分布が推定された.

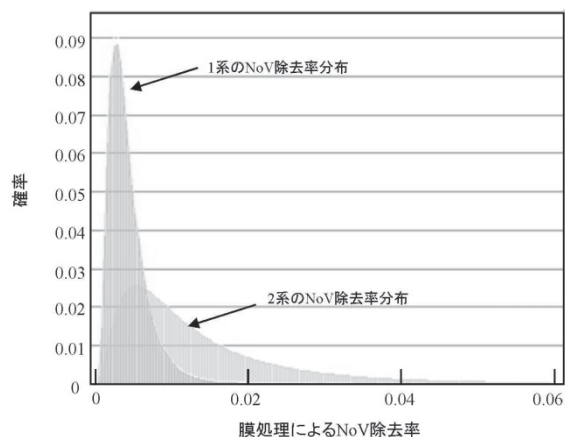


図-5 1系, 2系の膜処理による除去率分布

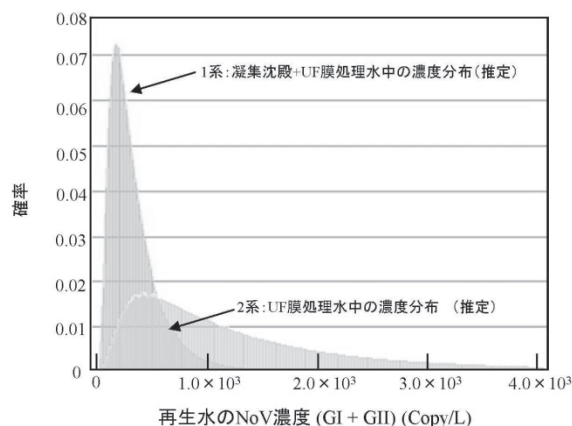


図-6 1系, 2系の膜処理による再生水の
NoV (GI+GII) の濃度分布

(2) リスクシナリオの設定

本パイロットプラントでの再生水の農業利用の可能性を評価するために, 下記の Case 1~4 の条件を仮定し, リスクシナリオを設定した.

Case 1: 再生水原水 (二次処理水) を利用した場合

Case 2: 河川水を利用した場合

Case 3: パイロットプラントでの 1系の凝集沈殿+UF 膜処理水を利用した場合

Case 4: パイロットプラントでの 2系の UF 膜処理水を利用した場合

なお, Case 2 の河川水は, 農業利用されている A 河川, B 河川, および都市河川である C 河川の上流地点(C-1)と下流域の下水処理水が混入している C-2 地点とした. A 河川, B 河川の流域人口は約 4 万人, 下水道普及率は 19.7% (汚水処理普及率は 95.7%)である³⁾. C 河川の上流(C-1)の流域人口は約 30 万人, 下流(C-2)の流域人口は約 100 万人, 下水道普及率は 100% (汚水処理普及率は 100%)である⁴⁾.

Case 2 の河川水中の NoV 濃度は, 本パイロットプラントの調査時期と同時期での採水によって得られた値から, 濃度変動が対数正規分布に従うことを仮定して濃度を推定した. 図-7 に各河川の NoV 濃度を示す.

リスク対象は消費者と農業従事者とし, 消費者は, 生食用として野菜と加熱調理用食材を摂取することで感染することを想定した. 加熱調理用の作物種は穀類 (米, 小麦), 豆類 (大豆), 芋類 (かんしょ, ばれいしょ) とし, 作物は収穫時に 100g 当たり 0.1mL~10mL の再生水が付着した状態を仮定した. 1日の摂取量は農林水産省「食糧需給表」より H22 年度の 1人・1年当たり供給量から算出し, 文献⁵⁾を参照し, 収穫一流通—加工段階で作物に付着した病原微生物が減衰することを考慮した. ただし, 作物への病原微生物の蓄積はないと仮定した. 農業従事者は水稻栽培時に作業中に経口間接摂取により感染することを想定した. 表-1

にリスクシナリオを示す。なお、NoV 濃度は GI と GII の濃度を合算し感染リスクの試算を行った。

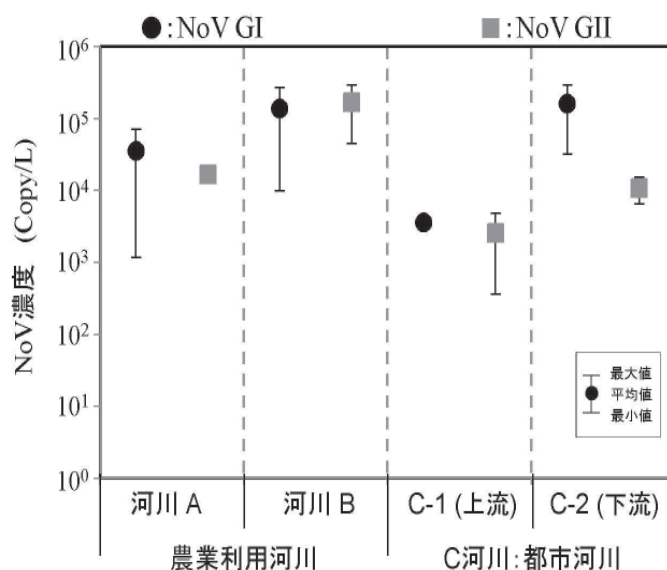


図-7 農業利用河川(A, B 河川), 都市河川(C 河川)の NoV 濃度

表-1 リスクシナリオ

シナリオ	リスク対象者	曝露日数	曝露形態	曝露量(消費量)
①	消費者 (生食用 = 野菜)	365	作物摂取による感染を想定 (収穫時に作物100gあたり0.1~1mLの水が付着した状態を仮定)	242 g/日
②	消費者 (加熱調理用)			381 g/日 (穀類、芋類、豆類)
③	農業従事者	27.2	作業時における経口間接摂取による感染を想定	0.3 mL/1日

*文献⁵⁾を参照してシナリオ①, ②では, 収穫—流通—加工段階でのウイルスの減衰を考慮

(生食用では 4 Log の減衰, 加熱調理用では 6 Log の減衰を仮定)

*農業従事者の曝露日数は文献⁶⁾を参照し設定, 曝露量は文献⁷⁾を参照し設定した。

(3) DALY の計算手順

障害調整生存年数 (Disability Adjusted Life Years : DALY) は特定の疾病やリスク要因による健康負荷の指標であり, 式(1)で示される。

$$DALY_{pppy} = \left\{ 1 - \left(1 - P_{inf}(D) \right)^n \right\} \times R_{inf} \times DB \quad (1)$$

ここで,

$DALY_{pppy}$ は 1 人 1 年あたりの疫病負荷 (DALY/人・年), $P_{inf}(D)$ は感染確率 (用量反応モデルによる決定), R_{inf} は発症確率 = 0.8, D は摂取病原微生物量 (Copy), DB は疫病負荷 (年) = 9.0×10^{-4} , n は曝露回数である。

NoV の国内での疫学データは存在せず, 本研究では発症確率および疫病負荷は Moe et al.(2009)⁸⁾および Kemmeren et al.(2006)⁹⁾のデータを参照した。

a) 用量反応モデル

病原微生物の用量反応モデルは疫学データに基づき, Beta-Poisson モデルや Exponential モデルなどが用

いられているが⁹⁾, NoVは細胞培養や動物感染試験等による感染価を直接定量する方法が確立されておらず, 明確な用量反応モデルが提唱されていない. 本研究では Masago et al. (2006)⁸⁾で報告されている用量反応モデル, 式(2)を用いた.

$$P_{inf}(D) = 1 - \exp\left(\frac{\ln 0.5}{ID_{50}} \times D\right) \quad (2)$$

ここで, ID_{50} は50%の確率で発症する際の摂取ウイルス量である.

Masago et al.(2006)⁸⁾では, 式(2)における50%の確率で発症する際の摂取ウイルス量 ID_{50} を10~100個の範囲としており, リスクを高めに見積もった安全側の仮定であるとしている. 本検討では Real-time PCR法による定量結果(Copy数)をそのままウイルス粒子数と仮定して用いた. また ID_{50} は10~100copiesで50%感染する割合が一様であると仮定した.

b) 摂取量 (D)

消費者に対する1日の病原微生物摂取量 (copy) は, 推定した再生水中の濃度分布, 作物への再生水付着量分布, 1日の消費量, 収穫—流通—加工段階での病原性微生物の減衰の積で表せられる. なお, 作物への再生水付着量分布は, 最小量が0.1mL, 最大量が1mLの一様分布を仮定した.

農業従事者に対する1日の病原微生物摂取量 (copy) は, 消費者と同様に再生水中の濃度分布と曝露量 (0.3mL/1日) の積で表せられる.

(4) 試算結果

図8~10にリスクシナリオ①~③における各Caseでの試算結果を示す. 図中の縦軸は, 二次処理水を利用した際の95% DALY値を各Caseの95% DALY値で除した相対値としており, 二次処理水よりもどの程度, 農業利用に対する安全性が高くなったかを示している. 図-8より消費者に対して, 生野菜を摂取した際の感染リスクは, 農業利用されている河川Aではリスク低減割合が約3倍, 河川Bでは0.7倍であった. 一方, 下水処理水が混入している都市河川C-2ではリスクの低減割合は, 1.1倍と二次処理水利用時とほぼ同等であるのに対して, C-1の上流地点では, 25倍とリスク低減割合が高い結果であった. 本パイロットプラントで産出される再生水を利用した場合, 農業利用河川 (A河川, B河川) と比較して, リスク低減割合は, 凝集沈殿+UF膜処理水(1系)で約140倍, UF膜処理水(2系)では26倍であり, 膜処理により, NoVの感染リスクを低減できる可能性が示された. また, UF膜処理単独よりも, 前処理として凝集沈殿処理を組み合わせることで, 5倍ほど, 感染リスクを低減できる効果が示された. 図-9の消費者における加熱調理を摂取した際の感染リスク低減効果も図-8の生野菜を摂取した場合とほぼ同様の結果であった.

一方, 図-10における農業従事者に対するリスク低減効果は, 二次処理水を利用した場合も本試算で検討した河川水全ての地点で, ほぼ同程度の感染リスクが存在し, 消費者と同様にはUF膜単独処理では1.8倍, 凝集沈殿+UF膜処理水では7.2倍, リスクを低減できる可能性が示された. この結果は, 曝露日数は消費者よりも少ないが, 1回の曝露量が大きく, 再生水中のNoVの摂取量が大きいためであると考えられた.

以上より, 消費者ならびに農業従事者に対するNoVの感染リスクは, 本プラントでのUF膜処理および凝集沈殿+UF膜処理により生産される再生水を農業へ利用することで, 数倍から数十倍のリスク低減効果が期待でき, 病原微生物リスク低減の観点から, 本プラントの再生水の農業への利用価値は高いと考えられた. また, 本報で用いた定量的微生物リスク評価手法は, 対象とする施設の原水濃度分布と再生処理の除去率変動が明らかとなれば適用することが可能であると考えられた.

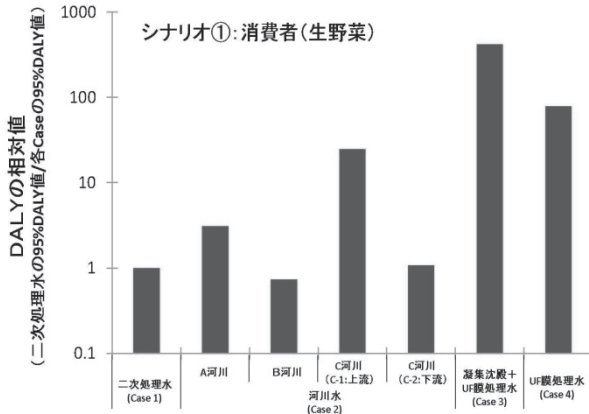


図-8 各 Case の水を農業利用に直接利用した場合の消費者(生野菜摂取)に対する感染リスク低減効果

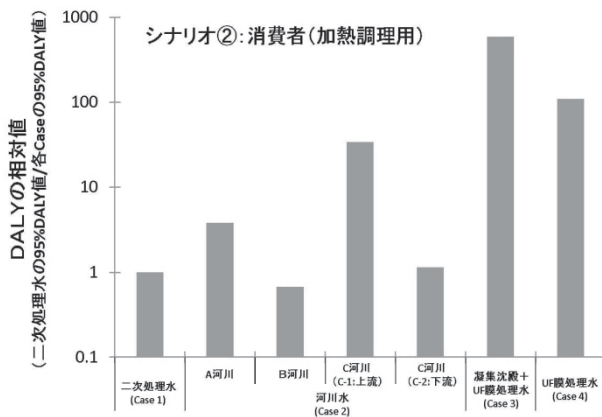


図-9 各 Case の水を農業利用に直接利用した場合の消費者(加熱調理用食材摂取)に対する感染リスク低減効果

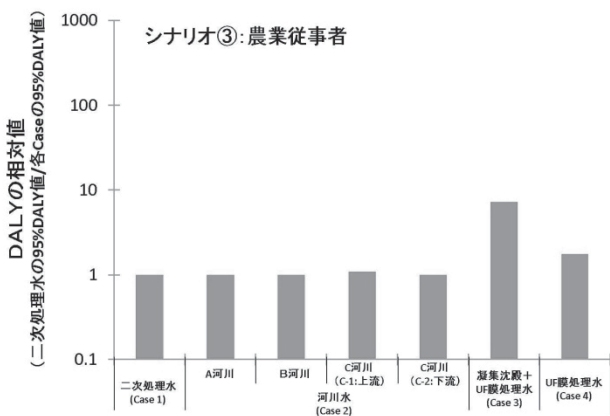


図-10 各 Case の水を農業利用に直接利用した場合の農業従事者に対する感染リスク低減効果

5. まとめ

本報では、NoV を対象に、今後利用拡大が期待される下水再生水の農業利用時について、UF 膜処理を用いたパイロットプラントでの実測値より、原水中の濃度分布、処理の除去率変動を考慮して、定量的微生物リスク評価 (QMRA) をケーススタディーとして行い、以下の結論を得た。

- ・実測データに基づき再生水原水の濃度分布ならびに処理の除去率分布は、対数正規分布で仮定できると考えられた。
- ・UF 膜処理、凝集沈殿+UF 膜処理により、消費者への NoV の感染リスクが、農業利用河川でのリスクよりも、26~140 倍低減できる可能性が示された。農業従事者に対しても同様に 1.8~7.2 倍低減できる可能性が示された。
- ・消費者ならびに農業従事者に対する NoV の感染リスクは、本プラントでの UF 膜処理および凝集沈殿+UF 膜処理により生産される再生水を農業へ利用することで、数倍から数十倍のリスク低減効果が期待でき、病原微生物リスク低減の観点から、本プラントの再生水の農業への利用価値は高いと考えられた。
- ・本報で用いた定量的微生物リスク評価手法は、対象とする施設の原水濃度分布と再生処理の除去率変動が明らかとなれば適用することが可能であると考えられた。

謝辞：本研究の一部は、独立行政法人科学技術振興機構、CREST 戦略的創造研究推進事業「21 世紀型都市水循環系の構築のための水再生技術の開発と評価」の助成を受けて実施した。

参考文献

- 1) 田中宏明:21世紀型都市水循環系構築のための水再生技術の開発と評価, CREST国際シンポジウム 第1回 21世紀型都市水循環系構築のための水再生技術の開発と評価に関するシンポジウム, pp. 1, 2011.
- 2) 諏訪守, 岡本誠一郎, 尾崎正明, 陶山明子: 下水処理のノロウイルス除去効果とその検出濃度に及ぼす濃縮法の影響, 下水道協会雑誌, 46 (512), pp.91-101, 2009.
- 3) 諏訪守, 岡本誠一郎, 桜井健介: 下水道におけるウイルス対策手法に関する検討調査, 平成 22 年度下水道関係調査研究年次報告書集, No.4191, ISSN 0386-5878, 土木研究所資料, 2010.
- 4) 日本下水道協会: 平成 24 年度下水道白書 日本の下水道 循環のみち下水道の成熟化へ, pp. 87-92, 公益社団法人日本下水道協会, 2012.
- 5) World Health Organization: WHO Guidelines for the safe use of wastewater, excreta and greywater, volume II; Wastewater use in agriculture, pp.56-64, 2006.
- 6) 長野県: 平成 21 年度 農業経営指標 作物別経営指標・旬別労働時間, 長野県ホームページ, 2009.
- 7) 国土交通省都市・地域整備局下水道部, 国土交通省国土技術政策総合研究所: 下水処理水の再利用水質基準等マニュアル, pp. 12, 国土交通省, 2005.
- 8) Masago Y., Katayama H., Watanabe T., Haramoto E., Hashimoto A., Omura T., Hirata T. and Ohgaki S. : Quantitative risk assessment of Noroviruses in drinking water based on qualitative data in Japan, Environ. Sci. Tech., Vol.40, No.23, pp.7428-7433, 2006.
- 9) Kemmeren, J.M., Mangen, M.J.J., van Duynhoven, Y.T.H.P. and Havelaar, A.H.: Priority setting of foodborne pathogens, RIVM report 2006, p.68, 2006.

有効な肥料資源の保全方法と下水汚泥燃焼方法の検討

研究予算：農林水産省 農林水産技術会議事務局
 新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業
 研究期間：平 23～平 25
 担当チーム：リサイクルチーム
 研究担当者：内田勉、井上研一郎

【要旨】

全国の処理場から排出される下水灰中の重金属含有量を調査したところ、ろ過式集じん灰(バグフィルタ灰、セラミックフィルタ灰)は、セレンの含有量が比較的高くなる傾向がみられた。また、異なる処理場において低温集じんされた6種類の下水灰を950℃に昇温した場合、クロムやニッケル等の高沸点成分の重金属含有量が減少した。集じんプロセスの最適化や、熱的処理(昇温)により、下水灰中の重金属含有量の低減が可能であることが示された。

キーワード：下水灰、肥料、重金属、集じん

1. はじめに

下水処理工程で発生する下水汚泥焼却灰(下水灰)には、わが国が100%輸入に依存しているリン鉱石に匹敵するリンを含有しているが、これらのリン資源としての利用は、緑農地への還元等一部にとどまっている。世界的な食料問題は、肥料や肥料原料の高騰を招いており、リン資源の確保は国家的な重要課題となっている。

下水灰を肥料として適用する場合に有害となる重金属の含有実態や低減・除去特性を明らかにし、より価値の高い資源として下水灰の利用・促進を図ることを目的とし、調査および実験的検討を行った。

2. 方法

全国の下水灰を排出する22都府県、63市町の85の自治体等を対象とし、平成23年度後半に回収したアンケート調査結果の解析を継続した。異なる下水汚泥焼却処理場において低温集じんされた飛灰6種類について、熱的処理(昇温)による含有重金属の低減特性を実験的に検討した。

3. 結果と考察

アンケート調査の結果として、図-1に全国の下水灰中のセレンの含有量を示す。バグフィルタ灰およびセラミックフィルタ灰は、その他の集じん灰(サイクロン灰、電気集じん灰)に比べ含有量が比較的高くなる傾向がみられた。バグフィルタ方式は、約140～210℃の温度範囲で適用されていた。排ガスがろ布

を通過する際、燃焼炉内でガス態となったセレンが、低温のためろ布上の飛灰に凝集、吸着することから含有量が高くなるものと考えられた。

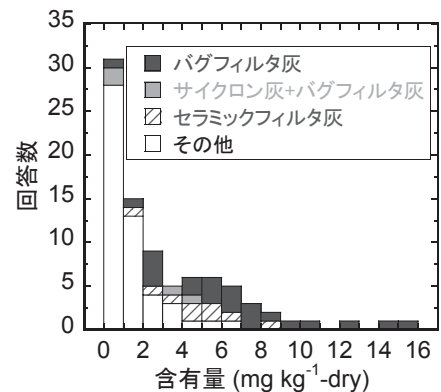


図-1 全国の下水灰中セレンの含有量

また、セラミックフィルタは耐熱性を有し、高温での集じんに耐久できるものの、ガス体積や廃熱の利用等を考慮し350℃以下の比較的低温領域で適用されていたことから、同様に排ガスがろ材を通過する際、飛灰に凝集、吸着し含有量が高くなるものと考えられた。

異なる処理場において低温集じんされた6種類の飛灰をマッフル炉内で(炉内を排気させながら)950℃で1時間昇温した場合、クロムやニッケル等の高沸点成分の重金属含有量が減少した。たとえばクロムの低減率は4%～80%程度の範囲にあり、飛灰の種類によって異なった。この違いは灰の表面構造に基づくものと考えられたが、詳細については検討を継続し、次年度報告する。

集じんプロセスの最適化や、熱的処理(昇温)により、下水灰中の重金属含有量の低減が可能であることが示された。

Ⅱ. 水質チームによる研究

下水道における化学物質の挙動評価と対策技術の開発に関する調査

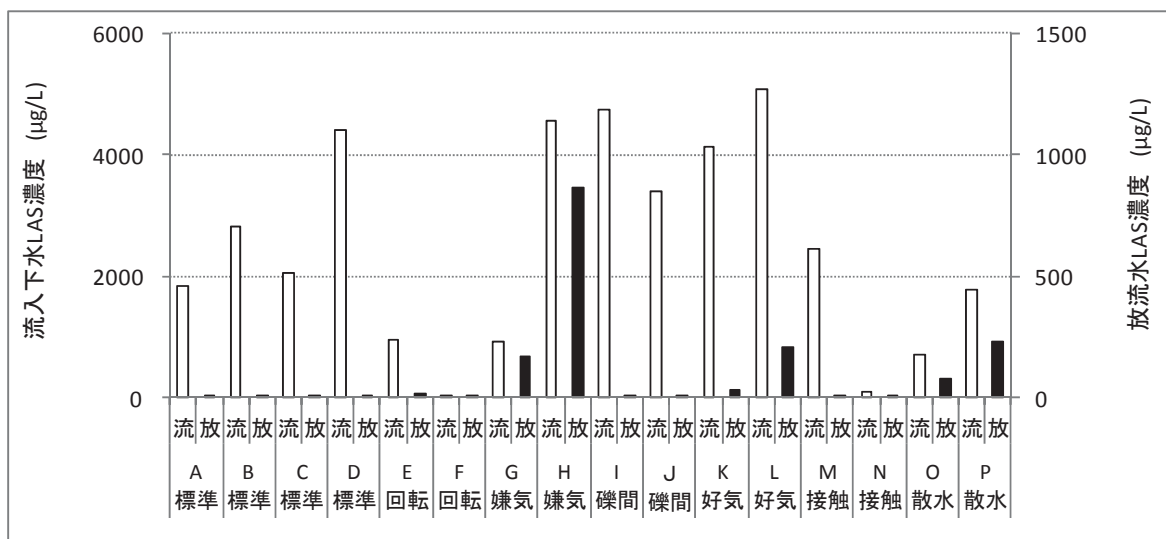
水質チーム 上席研究員 池田 茂
 総括主任研究員 小森 行也
 主任研究員 北村 友一

1. 下水処理場における直鎖アルキルベンゼンスルホン酸の除去特性

水系リスクをもたらす可能性のある化学物質のうち、環境基準への追加が検討されている直鎖アルキルベンゼンスルホン酸（LAS）を対象として、下水処理場における実態把握調査を行った。調査処理場は、標準活性汚泥法（4 処理場）、回転生物接触法（2 処理場）、嫌気好気ろ床法（2 処理場）、礫間接触酸化法（2 処理場）、好気性ろ床法（2 処理場）、接触ばっき法（2 処理場）、高速散水ろ床法（2 処理場）の 16 処理場において実施した。16 ヶ所の下水処理場において LAS（C10、C11、C12、C13、C14）の実態把握を行い以下の結果を得た（図-1 参照）。

流入水の LAS 濃度は、LAS-C10（ろ液：1.8～560 μg/L、SS：0～48 μg/L）、LAS-C11（ろ液：1.8～1800 μg/L、SS：0.15～460 μg/L）、LAS-C12（ろ液：0.89～1000 μg/L、SS：1.8～620 μg/L）、LAS-C13（ろ液：0.52～530 μg/L、SS：6.3～730 μg/L）、LAS-C14（ろ液：0～2.7 μg/L、SS：0.099～6.3 μg/L）であった。放流水の LAS 濃度は、LAS-C10（ろ液：0.11～120 μg/L、SS：0～5.7 μg/L）、LAS-C11（ろ液：0.19～370 μg/L、SS：0.017～43 μg/L）、LAS-C12（ろ液：0.1～160 μg/L、SS：0.02～60 μg/L）、LAS-C13（ろ液：0.039～43 μg/L、SS：0～62 μg/L）、LAS-C14（ろ液：0～0.39 μg/L、SS：0～0.29 μg/L）であった。

各処理場の LAS の合計濃度は流入下水では 13 μg/L～5100 μg/L、放流水では 0.51～860 μg/L であった。また、各処理方式の LAS 除去率は 81.3%～99.9%であり、処理方式により異なることがわかった。



注) 流：流入下水、放：放流水、標準：標準活性汚泥法、回転：回転生物接触法、嫌気：嫌気好気ろ床法、礫間：礫間接触酸化法、好気：好気性ろ床法、接触：接触ばっき法、散水：高速散水ろ床法

図-1 各処理場の LAS 濃度 (Total)

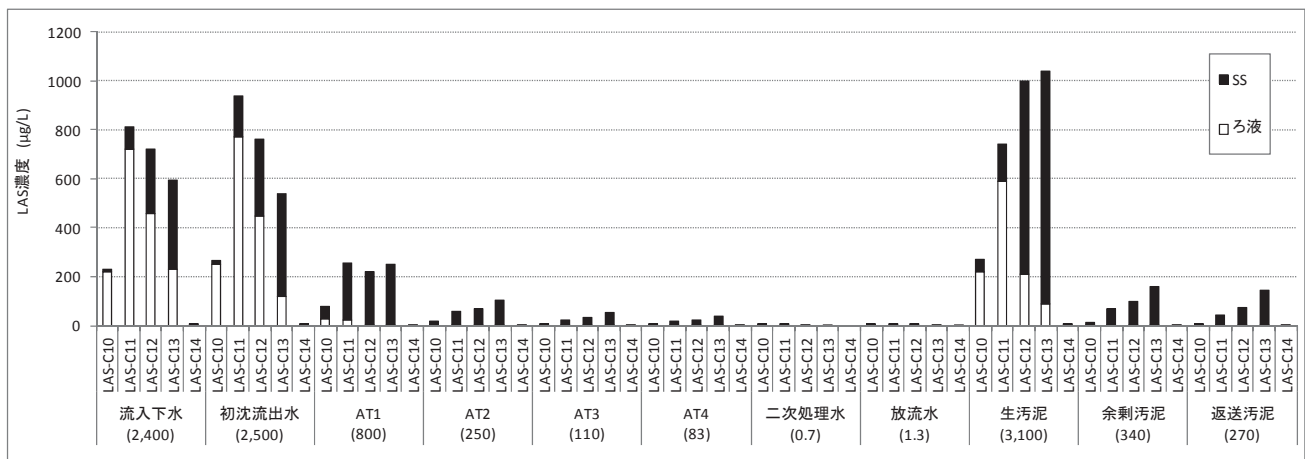
2. 活性汚泥処理プロセスにおける LAS の挙動把握

活性汚泥処理実験装置を用いた実験により活性汚泥処理プロセスにおける LAS の挙動把握を行い以下の結果を得た（図-2 参照）。

流入下水の LAS 濃度は、合計約 2,400 $\mu\text{g/L}$ であった。初沈流出水の LAS 濃度は、合計約 2,500 $\mu\text{g/L}$ で流入下水とほぼ同じ値であり、約 2 時間の沈殿処理では除去されないことがわかった。また、流入下水と初沈流出水の各 LAS の濃度比もほぼ同じであることから殆ど分解していないものと考えられる。エアレーションタンク（以下「AT」という）内の各 LAS 濃度は、AT1 では合計約 810 $\mu\text{g/L}$ となり、初沈流出水の濃度に対し大きく減少していた。AT2 では、合計約 250 $\mu\text{g/L}$ 、AT3 では、合計約 110 $\mu\text{g/L}$ 、AT4 では、合計約 83 $\mu\text{g/L}$ となった。LAS はバッキ時間約 2 時間の AT1 内において大きく減少し、流入下水、初沈流出水の濃度の 1/20 以下となった。二次処理水の LAS 濃度は、合計約 0.7 $\mu\text{g/L}$ であった。放流水の LAS 濃度は、合計約 1.3 $\mu\text{g/L}$ で二次処理水とほぼ同じ値であり、滞留時間が約 30 分の塩素混和槽内では殆ど変化しないことがわかった。生汚泥の各 LAS 濃度は、合計約 3,100 $\mu\text{g/L}$ で流入下水、初沈流出水の濃度に近い値であった。余剰汚泥の LAS 濃度は、合計約 340 $\mu\text{g/L}$ であった。返送汚泥の LAS 濃度は、合計約 270 $\mu\text{g/L}$ で余剰汚泥とほぼ同じ値であった。

活性汚泥処理プロセスにおける LAS 負荷量の挙動把握を行った。流入水中の LAS（ろ液+SS）負荷量を 100%とした各処理工程、各汚泥における負荷割合をみたところ、流入水と初沈流出水の LAS 負荷量は、ほぼ同じ値であり、最初沈殿池における LAS の除去はみられないが、AT1 で 49%、AT2 で 15%、AT3 で 7%、AT4 で 5%と処理が進むに従い大きく減少した。二次処理水、放流水では 0.03%、0.1%となり活性汚泥処理により 99%以上が除去されることがわかった。

活性汚泥処理における LAS 負荷量の挙動より、流入負荷量に対する排出負荷量（放流水、生汚泥、余剰汚泥）の合計は 2.2%であった。残りの 97.8%は活性汚泥処理により分解・除去されたものと考えられる。



注) 横軸の () 内の数値は、LAS 合計濃度

図-2 各処理工程試料と汚泥試料の LAS 濃度 ($\mu\text{g/L}$)

3. メダカを用いた下水処理水の安全性評価に関する調査

本調査では、下水処理工程での水生生物の影響の低減効果を把握するため、流入下水、活性汚泥処理実験装置の 2 次処理水、2 次処理水に塩素を添加した塩素処理水、2 次処理水に担体処理を追加した担体処理水を対象に、オスメダカとメスメダカの 96 時間半死水式曝露実験を行い、マイクロアレイ法による遺伝子レベルでの生体影響の低減効果を調査した。

図-3 に各処理水曝露区のエストロゲン応答遺伝子の発現変化を示す。流入下水に曝露したオスメダカ肝臓では、

卵母細胞発達に係わる遺伝子（vitellogenin；卵黄前駆タンパク質、choriogenin；卵膜前駆物質）の発現強度の増加がみられたことから、流入下水のオスメダカへの影響としては、エストロゲン作用が大きいことがわかった。一方で、2次処理水に曝露したオスメダカでは、卵母細胞発達に係わる遺伝子発現はみられなかったことから、流入下水中のエストロゲン作用は、活性汚泥処理により低減できることがわかった。

流入下水、2次処理水、塩素処理水に曝露したメスメダカ肝臓では、卵母細胞発達に係わる遺伝子（vitellogenin；卵黄前駆タンパク質、choriogenin；卵膜前駆物質）の発現強度の低下がみられたことから、流入下水、2次処理水、塩素処理水の雌メダカへの影響として、アンチエストロゲン作用があることがわかった。一方で、担体処理水曝露区では、卵母細胞発達に係わる遺伝子発現強度の低下は抑制されていたことから、担体処理により、アンチエストロゲン作用の影響を低減できることがわかった。

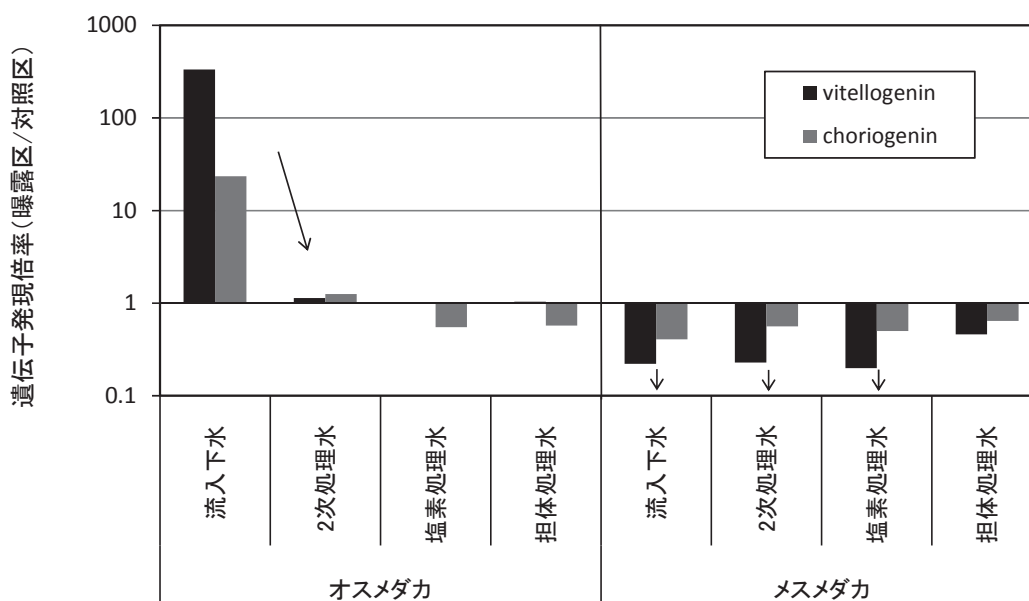


図-3 下水処理過程におけるメダカ肝臓のエストロゲン応答遺伝子の変化

図-4 は、バックグラウンド以下の遺伝子を排除した遺伝子群の発現強度を用いて主成分分析を行った結果である。流入下水曝露区は、メスの遺伝子発現パターンがオスの方向に近づいており、流入下水は、メスの機能低下の作用があることがわかった。

オス・メスメダカとも流入下水曝露区の遺伝子発現パターンは、下水処理されることにより、オス、メスそれぞれの対照区（脱塩素水道水曝露区）の遺伝子発現パターンの方向に近づいており、下水処理過程で遺伝子発現レベルでも生物影響が低減されていることがわかった。

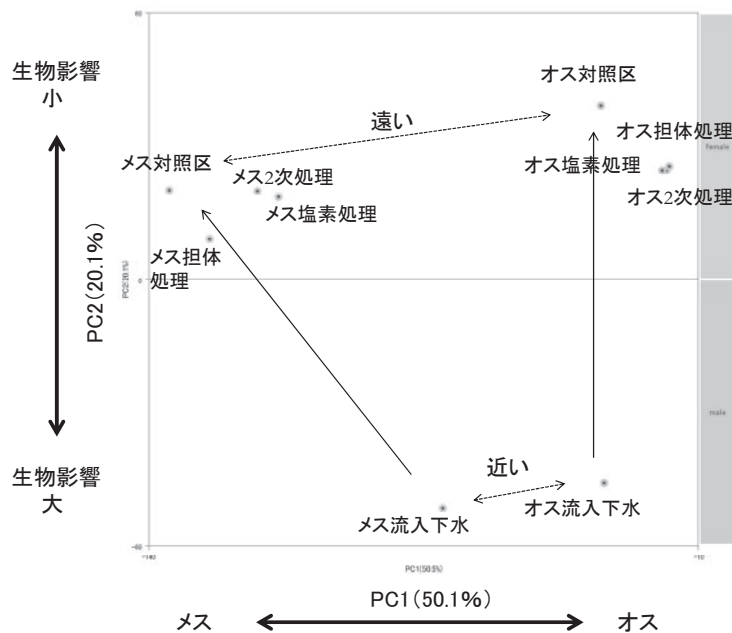


図-4 各下水処理工程の遺伝子群の発現強度を用いた主成分分析結果

4. 除去効率向上手法の検討

水系リスクをもたらす可能性のある化学物質のうち、環境基準への追加が検討されている直鎖アルキルベンゼンスルホン酸（LAS）を対象として、下水処理場における実態把握調査と活性汚泥処理実験装置を用いた実験により活性汚泥処理プロセスにおけるLASの挙動把握を行った。各処理場のLASの合計濃度は流入下水では $13\mu\text{g/L}$ ～ $5100\mu\text{g/L}$ 、放流水では $0.51\sim 860\mu\text{g/L}$ であり、LASの除去率は81.3%～99.9%であった。前述したとおり、下水処理場におけるLASの除去は、調査対象とした処理場の処理方式により異なっており、我が国で広く用いられている標準活性汚泥法の処理場では99%以上の除去率であった。標準活性汚泥法でのLAS除去については、活性汚泥処理実験装置を用いたLAS負荷量の挙動調査において、流入負荷量に対する排出負荷量（放流水、生污泥、余剰污泥）の合計は2.2%であったことから、残りの97.8%は活性汚泥処理により分解・除去されたことを確認した。この他、回転生物接触法、礫間接触酸化法、好気性ろ床法、接触ばっき法の処理場においても90%以上の除去率であったが、嫌気好気ろ床法、高速散水ろ床法の処理場では、LAS除去率が81%～89%と90%以下であった。本調査対象としたLASは、好気条件下では除去効率が良く、嫌気的な処理方式では除去率が低い傾向がみられたことから、高除去率を得るためには好気条件の処理方式が適していることがわかった。

また、下水処理工程での水生生物の影響の低減効果を把握するため、流入下水、活性汚泥処理実験装置の2次処理水、2次処理水に塩素を添加した塩素処理水、2次処理水に担体処理を追加した担体処理水に、オスとメスメダカの96時間半死水式曝露実験を行い、マイクロアレイ法による遺伝子レベルでの生物影響の低減効果を調査した。その結果、流入下水に曝露したオスメダカ肝臓で卵母細胞発達に係わる遺伝子の発現強度の増加がみられたが、2次処理以降で遺伝子発現の増加はみられなかったことから、流入下水中のエストロゲン作用は、活性汚泥処理により低減できることがわかった。メスメダカ肝臓では、流入下水、2次処理水、塩素処理水曝露区で卵母細胞発達に係わる遺伝子の発現強度の低下がみられたことから、これらの試料には、アンチエストロゲン作用があることがわかった。担体処理はアンチエストロゲン作用の影響を低減できることがわかった。

なお、本調査研究は、国土交通省水管理・国土保全局下水道部の下水道事業調査費による受託調査業務により実施されたものである。

流域スケールで見た物質動態特性の把握に関する研究②

研究予算：運営交付金（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：池田 茂、(鈴木 穰)、小森行也、
平山孝浩、北村友一、柴山慶行

【要旨】

河川集水域からの栄養塩類の流出機構を解明するため、印旛沼流入河川である高崎川で晴天時と雨天時の、鬼怒川支流の山川で雨天時の負荷量調査を行った。そして、地点間比較や土地利用との関係から流出特性を調査した。晴天時調査からは、集水域の畑の割合が高いほど河川水中のNO₃-N濃度が高くなる傾向がみられた。集水域の家畜密度が高いと推察される最上流の地点は、K⁺/Na⁺が高く、比負荷量ではNH₄-N、溶存態リンが高かった。雨天時調査からは、高崎川では、増水時に粒子態N、Pの濃度が上昇し、溶存態N、Pの濃度が低下した。雨天時の高崎川各地点の窒素の累積比負荷量を基底流出と直接流出に分けると、それぞれ39～59%、41～61%となり、直接流出の48～74%は粒子態によるものであった。リンの累積比負荷量を基底流出と直接流出に分けると、それぞれ約4%、約96%となり、直接流出の約95%は粒子態によるものであった。

キーワード：印旛沼、山川、栄養塩、土地利用、雨天時調査

1. はじめに

近年、閉鎖性水域や河川においては、種々の対策が行われているにも関わらず栄養塩濃度は横ばい傾向にある。閉鎖性水域においては富栄養化が常態化しており、環境基準の達成率が低い。閉鎖性水域の水質を良質に保つ必要がある。水質改善のために、河川管理者によるマスタープラン策定が行われているが、発生源ごとの水域への栄養塩類の流出機構が明確でないという問題点がある。本研究は、栄養塩類の発生源別と雨天時流出機構の解明を行うことを目的としている。H23年度は、霞ヶ浦流域と印旛沼流域を対象に各河川水質と、その集水域の土地利用の関係について統計解析を行った。その結果、集水域の畑の割合、豚飼育密度と河川水中のT-N、NO₃-N濃度間に有意な正の相関があることがわかった。しかし、畑の割合と豚飼育密度の寄与の程度は不明であった。本年度は引き続き、畑の割合と豚飼育密度が高い印旛沼流入河川である高崎川を対象とし、昨年度より調査地点を増やし、晴天時と雨天時の栄養塩類の流出特性を詳細に調査した。また、

畜産業が盛んである鬼怒川支流の山川で雨天時調査を行い、高崎川と比較した。

2. 調査方法

2.1 調査河川と水質調査地点

本年度は、印旛沼流入河川の鹿島川の支流である高崎川と、鬼怒川の支流である山川を対象に、集水域の土地利用情報を整理し、栄養塩類の負荷量調査を実施した。図-1は、高崎川と山川の集水域と採水調査地点である。集水域の面積は、高崎川で79km²、山川で32km²である。高崎川の晴天時調査は、平成25年1月から2月にかけて4回実施した。本流の7

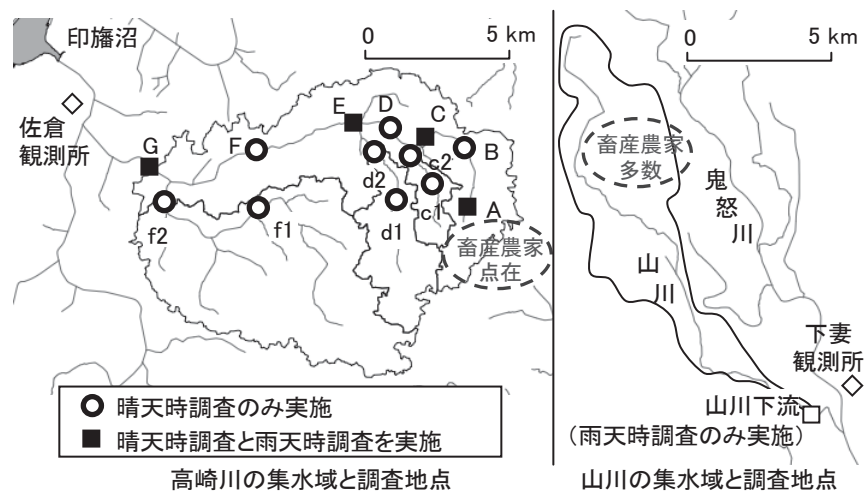


図-1 調査河川の高崎川と山川の概形および調査地点

地点（上流から下流に向かってA～Gとする）と、3つの支流（支流c、d、fとする）それぞれの上流と下流の、計13地点で調査した。

高崎川の雨天時調査は、平成24年11月17日に実施した。先行晴天日数は4日、累積降雨量は38.5mmである。降雨開始前を含め数時間おきに8回、本流のA、C、E、Gの4地点で流量観測と水質調査を行った。

山川の雨天時調査は、平成24年11月6日に実施した。先行晴天日数は5日、累積降雨量は40mmである。下流側の1地点で数時間おきに流量観測と水質調査を11回行った。

2.2 土地利用情報の整理

各採水地点より上流の集水域の土地利用情報を、GIS (Geographic Information System) を用いて整理した。高崎川では、数値地図50mメッシュ標高データ¹⁾から求めた各メッシュの流下方向に基づき集水域の範囲を決定した。土地利用のデータは国土数値情報²⁾を利用した。人口と家畜頭数のデータは、「地図で見る統計」³⁾のうち、平成17年国勢調査および農林業センサスを利用した。

土地利用は、平成18年度版の100m細分メッシュデータを水田、畑、森林、市街地、その他の5種に区分して集水域ごとに集計し、土地利用割合を求めた。人口は、500mメッシュ人口データをもとに、集水域ごとに集計して求めた。家畜頭数は、市町村別家畜頭数を対応する市町村の500mメッシュに均等に配分し、全集水域で集計した。

山川では、集水域の範囲、土地利用割合、人口、家畜頭数のデータは、利根川流域別下水道整備総合計画に関する基本方針策定調査報告書⁴⁾を用いた。

2.3 水質調査方法

晴天時、雨天時それぞれの調査では、現地でも水、pH、DO、ECを測定するとともに河川水を採水し、流量観測を行った。水質測定項目はSS、VSS、DOC (TOC-5000: 島津製作所)、T-N、T-Pおよび溶存態N、P (TRAACS2000: BRAN+LUEBBE)、NO₃-N、NO₂-N、NH₄-N、PO₄-P、Na⁺、K⁺、Mg²⁺、Ca²⁺、Cl⁻、SO₄²⁻ (イオンクロマトグラフDX-120およびICS-1100: 日本ダイオネクス)である。金属類は、総濃度と溶存態の濃度を測定した。粒子態濃度は、総濃度から溶存態の濃度を差し引いて求めた。測定項目はFe、Al、Zn、Cu、Mn、B、Ni、Co、Mo、Se (ICP-MS X7CCT: サーモフィッシャーサイエンティフィック)である。

流量観測は、河川を横断方向に適宜分割して水深と流速を測定し、流量を河川断面積と流速の積として算出した。流速は電磁流速計を用い、6割水深で測定した。高崎川の地点Gの雨天時調査では水深のみの測定であった。

2.4 雨天時調査のデータの解析方法

雨天時調査の結果を解析するにあたり、高崎川は佐倉観測所、山川は下妻観測所の1時間ごとの雨量データを使用した。各水質成分濃度、流量、集水域面積から比流量と比負荷量を求め、L-Q式を導出した。また、流量と負荷量について、基底流出分と直

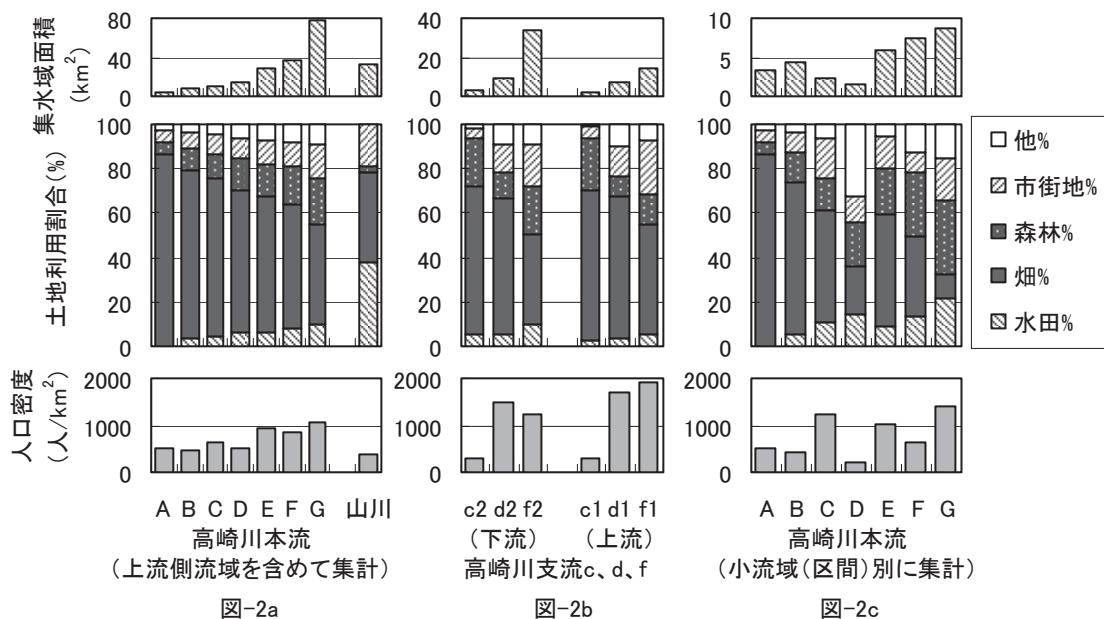


図-2 高崎川13調査地点の集水域と、山川の集水域の面積、土地利用割合、人口密度

接流出分を分離し、土地利用との関係を調べた。なお、高崎川の地点 G については雨天時の流量観測ができなかったため、流量は推定値を用いた。

3. 結果と考察

3.1 集水域の土地利用特性

図-2a は高崎川本流の地点 A～G の集水域面積と土地利用割合、人口密度である。比較のため山川のデータを合わせて示した。高崎川では、最上流の地点 A の畑の割合は 86% であり、地点 G (高崎川全体) の畑の割合は 44% である。本流では下流の調査地点ほど畑の割合が低く、水田、森林、市街地、その他の割合が高い。山川では畑と水田の割合はいずれも 40% で、森林の割合は 3% と低い。高崎川の人口密度は山川と比較して高く、地点別でみると下流側の地点 E、F、G で高い。

図-2b は、3 つの支流 c、d、f の集水域面積と土地利用割合である。支流 c は他の支流と比較すると、畑の割合と森林の割合が高い。支流 f は集水域面積が最も大きい支流であり、市街地の割合が高い。各支流の上流のみで比較した場合も同様の傾向である。人口密度は支流 d と f で高い。

図-2c は、採水区間ごとの小流域 A～G の面積と土地利用割合である。小流域の面積は、D が最小、G が最大である。畑の割合は小流域 A、B で高く、森林の割合は小流域 F、G で高い。市街地の割合は他の小流域と比較すると C、G で高い。人口密度は小流域 C、E、G で高い。

家畜頭数は、市町村別データの特性上、小流域ごとには算出できなかったが、全集水域でみると、高崎川では乳牛、肉牛、豚がそれぞれ 800、1,170、6,250 頭であった。山川ではそれぞれ 119、864、17,005 頭であった。全集水域の豚の密度は高崎川で 80 頭/km²、山川で 530 頭/km² となった。なお、高崎川の現地調査から、上流の地点 A 付近に畜産農家が点在していることを確認した。

3.2 晴天時調査

3.2.1 晴天時調査の結果

図-3 は、各調査地点の SS 濃度、溶存態窒素、粒子態窒素、NO₃-N、NO₂-N、NH₄-N、溶存態リン、粒子態リン濃度の 4 回の平均値である。SS 濃度は、本流の地点 E と支流の地点 d1 で高かった。

全窒素濃度 (溶存態+粒子態) は 6.0～15.5mg/L の範囲であり、本流の地点 A～G では上流ほど高い値を示し、支流の地点 c1、c2 でも高かった。いずれの地点でも粒子態窒素濃度は 0.6mg/L 以下であり、全窒素濃度の大部分は溶存態であった。

NO₃-N 濃度は、概ね全窒素濃度と同様の傾向を示し、地点 A、B、C、c1、c2 で高かった。溶存態窒素濃度に占める NO₃-N 濃度の割合は、いずれの地点でも 70% 以上となった。全窒素濃度と NO₃-N 濃度は、畑の割合と正の相関があることがわかる。

NO₂-N 濃度は本流の地点 A、B、C と支流の地点 d1、d2、f1 で高かった。

NH₄-N 濃度は、最上流の地点 A で最も高い値を示した。支流では地点 d1、f1 で高かった。

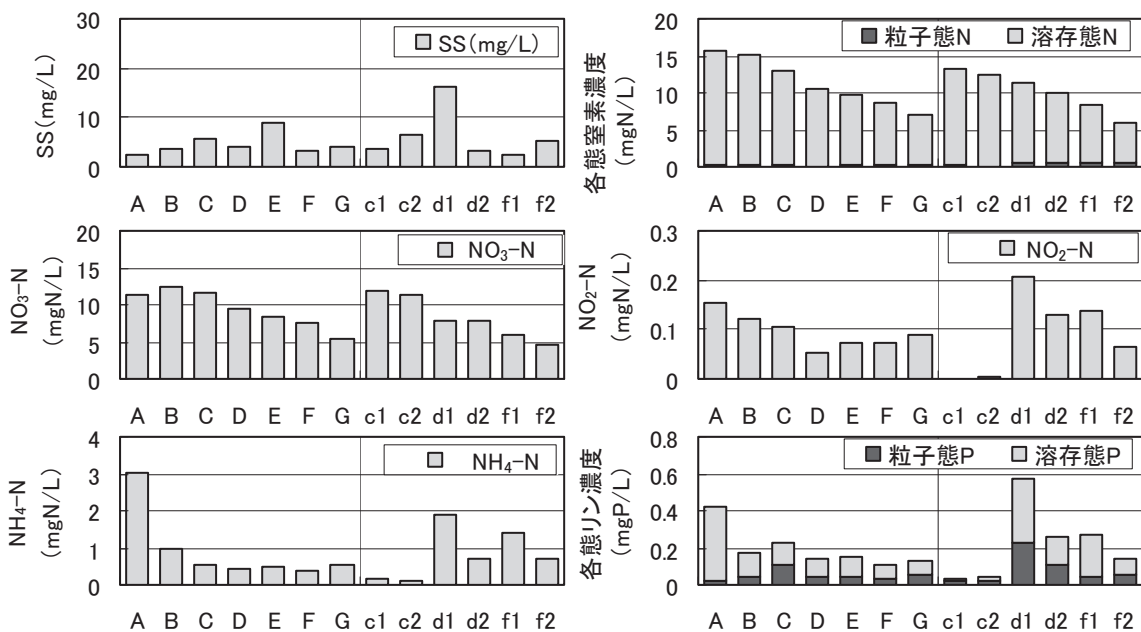


図-3 高崎川晴天時調査の SS、各態窒素、NO₃-N、NO₂-N、NH₄-N、各態リン濃度の平均値

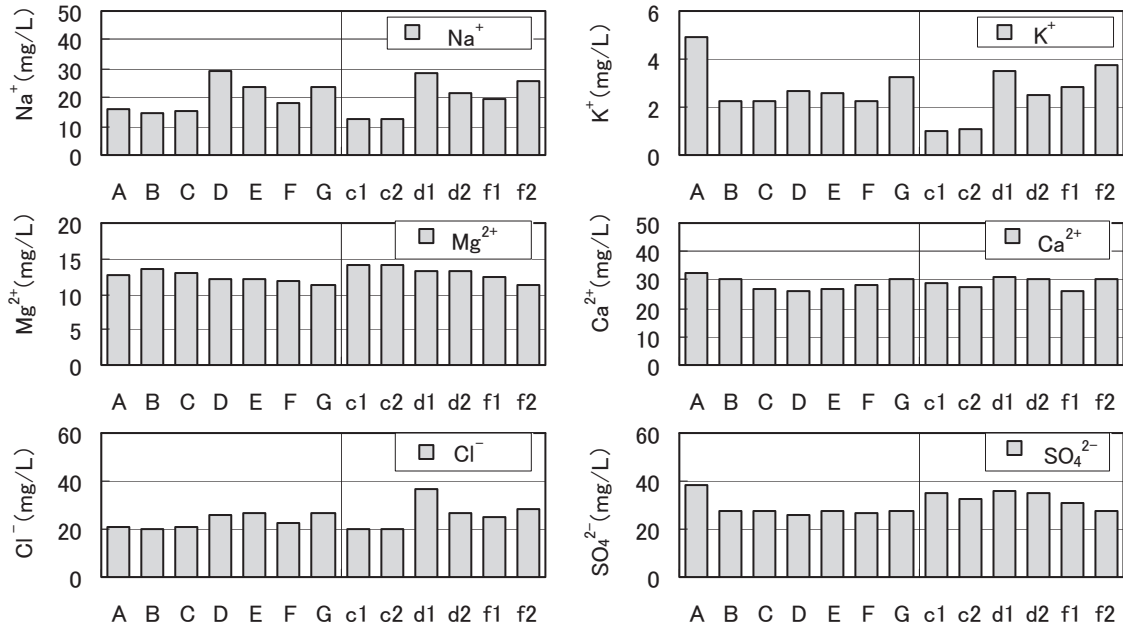


図-4 高崎川晴天時調査のNa⁺、K⁺、Mg²⁺、Ca²⁺、Cl⁻、SO₄²⁻濃度の平均値

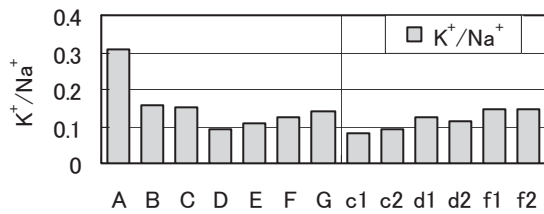


図-5 高崎川晴天時調査のK⁺/Na⁺

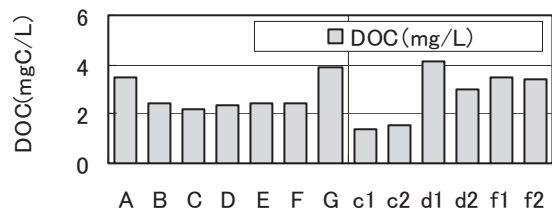


図-6 高崎川晴天時調査のDOC濃度の平均値

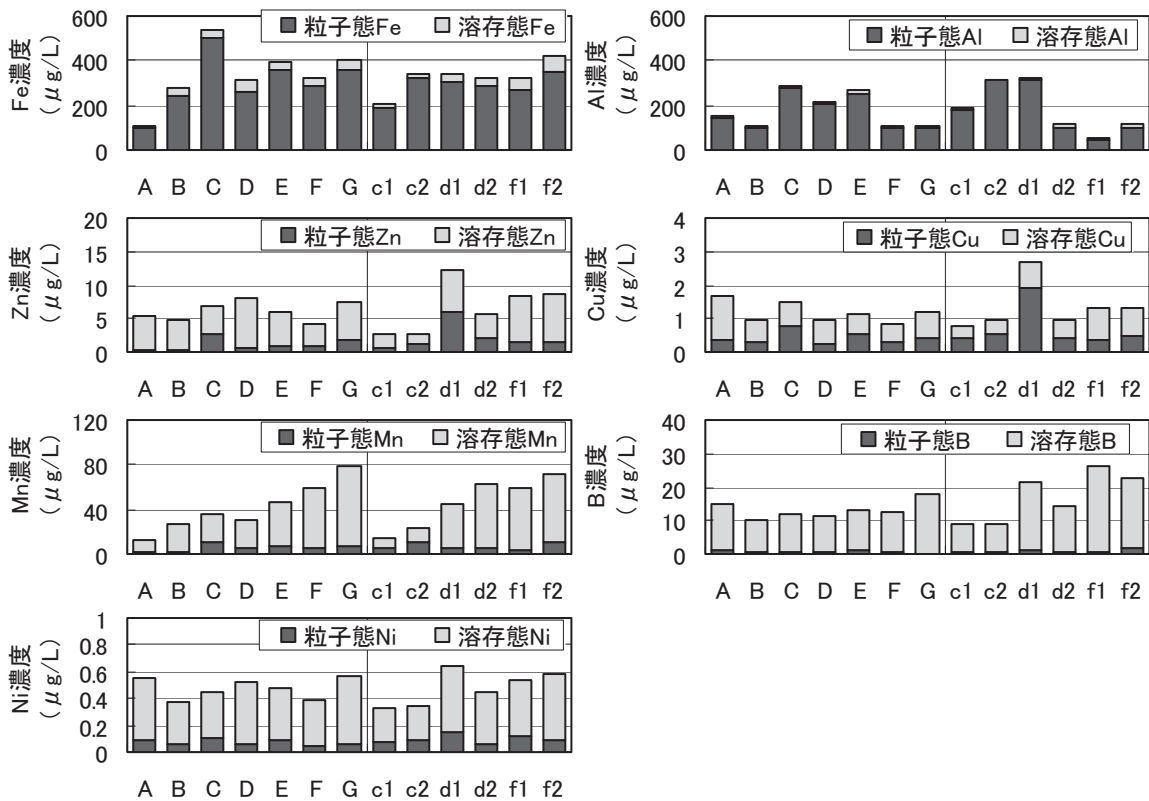


図-7 高崎川晴天時調査の粒子態と溶存態のFe、Al、Zn、Cu、Mn、B、Ni濃度の平均値

全リン濃度は、0.03～0.57mgP/Lの範囲であり、最上流の地点Aは地点B～Gと比較して高い値を示した。支流では地点d1で高かった。リンの存在形態をみると、地点Aでは大部分が溶存態リンであったが、地点d1では粒子態リンの割合が高かった。地点Gでは、全リンに対する粒子態リンの割合は約40%であった。

図-4は、Na⁺、K⁺、Mg²⁺、Ca²⁺、Cl⁻、SO₄²⁻濃度の、各調査地点の平均値である。Na⁺濃度は、地点A～Cで低く、地点D～Gで高かった。支流では地点c1、c2で低く、地点d1、d2、f1、f2で高かった。Na⁺濃度と集水域の人口密度は、地点Dを除くと概ね正の相関を示した。

K⁺濃度は、集水域に畜産農家の点在する地点Aで最大となった。地点B～Fでは濃度の違いは小さかった。地点c1、c2では他の地点と比較して低かった。

Mg²⁺濃度は、本流の上流で高くなる傾向がみられた。3つの支流を比較すると、支流cで高かった。

Ca²⁺濃度は、本流では地点AとGで高かった。支

流では地点による違いは小さかった。

Cl⁻濃度は、本流では、地点D、E、Gで高かった。支流では地点d1で高い値を示した。

SO₄²⁻濃度は、地点Aで高かった。地点B～Gの値は概ね等しかった。支流cと支流dは、支流fと比較して高い値であった。

図-5は、各調査地点のK⁺/Na⁺である。K⁺/Na⁺は、畜産排水の流入する河川で高くなることが知られている⁹⁾。地点Aでは約0.3、他の地点はいずれも0.2以下であった。地点Aの高いNH₄-N濃度とK⁺/Na⁺は、この集水域内の豚飼育密度が高いと推察されることから、畜産に由来するものと考えられる。

図-6は、各調査地点のDOC濃度の平均値である。DOC濃度は、本流では地点A、Gで、支流ではd1で高い値を示した。

図-7は、各地点の溶存態と粒子態の金属(Fe、Al、Zn、Cu、Mn、B、Ni)濃度の平均値である。河川水中の金属を粒子態と溶存態で区分すると、Fe、Alは主に粒子態、Bは主に溶存態で存在していた。Mn、

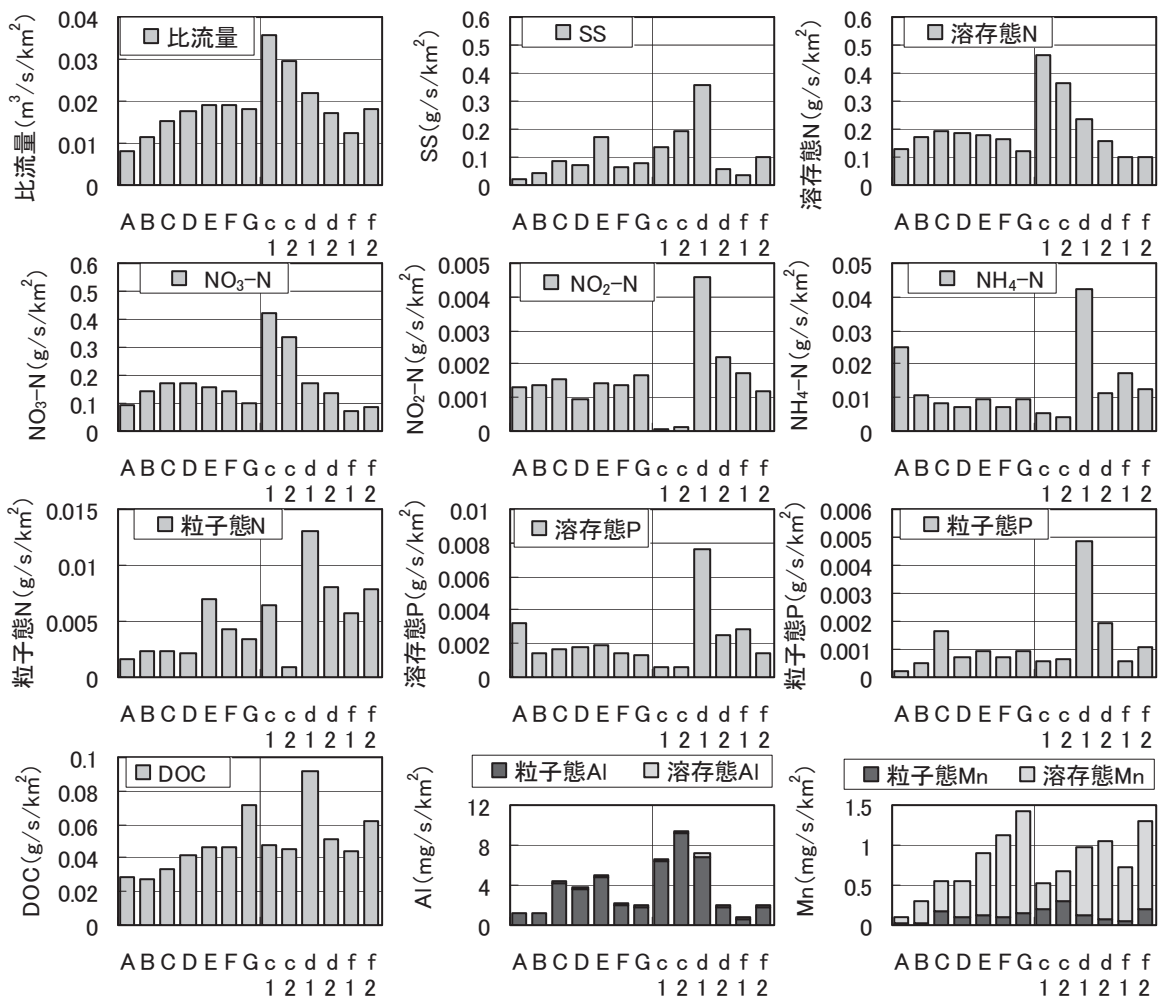


図-8 各地点の比流量と、SS、各態窒素、各態リン、DOC、Al、Mnの比負荷量

Zn、Cu、Ni は粒子態と溶存態の両方が含まれており、地点によって割合が異なった。地点別では、Mn は下流の地点ほど高くなる傾向がみられた。Fe は他の地点と比較して地点 A で低かった。Zn と Cu は、地点 d1 で高かった。Al は地点 C、c2、d1 で、B は d1、f1、f2 で高かった。Ni は、地点間で大きな違いはみられなかった。溶存態 Mn は、畑の割合と負の相関を示したものの、金属濃度と土地利用との明確な関係は見出せなかった。

3.2.2 晴天時の流出負荷量の解析

栄養塩類の流出についてより詳細に解析するため、負荷量と比負荷量を算出した。すなわち各水質成分の濃度について、4 回の調査の平均値を求め、平均流量を掛けて地点別の負荷量を算出し、上流側流域を含めた集水域の面積で割って比負荷量を求めた。図-8 は、各地点の比流量と、SS、各態窒素、各態リン、DOC、Al、Mn の比負荷量である。

比流量は、地点 A で低く、地点 c1、c2 で高かった。

SS の比負荷量は、本流では地点 E で、支流では地点 d1 で高かった。

溶存態窒素と NO₃-N の比負荷量は、比流量と同様の傾向を示し、支流 c の比負荷量が高いことがわかる。NO₂-N は、地点 d1 で、NH₄-N は地点 A と d1 で比負荷量が高かった。粒子態窒素の比負荷量は、本流では地点 E で、支流では c2 を除いた 5 地点で高かった。

溶存態リンの比負荷量は、NH₄-N と同様の傾向を示した。粒子態リンの比負荷量は、溶存態リンと異なり、地点 A で低かった。

DOC の比負荷量は、下流ほど高くなっていった。また、地点 d1 で高かった。

Al の比負荷量は、本流では地点 C、D、E で、支流では地点 c1、c2、f1 で高かった。Mn の比負荷量は、本流では下流側ほど高く、支流では d1、d2、f2 で高かった。

図-9 は、高崎川各調査地点の位置関係と、地点ごとの溶存態窒素の負荷量である。下流の地点ほど溶存態窒素の負荷量が増大していることがわかる。下流の負荷量と、上流の負荷量の差は、その区間の小流域からの流入負荷量を表すと考えられる。そこで、地点 A～G と支流 c、d、f について各水質成分の負荷量の差分を算出し、対応する区間の小流域の面積で割って、それぞれの小流域の比負荷量を求めた。図-10 は、各小流域別の、比流量と各水質成分

の比負荷量である。

比流量は地点 C、E、支流 c で高かった。

SS の比負荷量は、地点 E で高かった。地点 D、F では差分が負の値になっており、粒子の沈降による負荷量の減少が考えられる。

溶存態窒素の比負荷量は、地点 D では負の値、他の地点では正の値となり、地点 C と支流 c で高かった。NO₃-N の比負荷量は、溶存態窒素と同様であった。NO₂-N は、地点 D では負の値、他の地点では正の値となり、地点 G で高かった。NH₄-N の比負荷量は、地点 A で最大となった。地点 B、C、F では 0 に近い値であった。粒子態窒素の比負荷量は、地点 E で高かった。

溶存態リンの比負荷量は、地点 A、B、D で高かった。粒子態リンの比負荷量は、地点 C で高かった。

Na⁺と K⁺は、地点 D で高かった。Mg²⁺は、溶存態窒素と同様の傾向を示し、地点 C と支流 c で高かった。Ca²⁺は、地点 A、B、D では他の地点より低い値であった。Cl⁻は、Na⁺と同様の傾向を示し、地点 D で高く、地点 A、F で低かった。SO₄²⁻は Mg²⁺と同様の傾向を示した。DOC の比負荷量は、すべての地点で正の値となり、地点 G で高かった。

溶存態の金属では、Fe、Al、Zn が地点 D で高かった。Cu は地点 C、D、F で高かった。Mg は下流の地点ほど高くなっていった。B は地点 C、E、G、支流 f で高く、地点 A、B で低かった。Ni は地点 D、G で高かった。

粒子態の金属では、差分が負の値になる地点が多く、粒子の沈降によって負荷量が減少したものと考えられる。Fe は地点 C、E で高く、Al は地点 C、E と支流 c で高かった。Zn は地点 C、G で高く、Cu は地点 C、E で高かった。Mn は地点 C で、B は地点 E で、Ni は地点 C、E で高かった。地点 C、E では、調査回数 4 回のうち 1 回で粒子態金属濃度が高くなったため、上記の結果となった。晴天時でも金

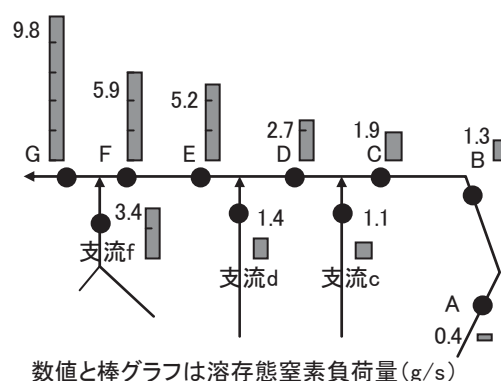


図-9 地点間の位置関係と、溶存態窒素負荷量

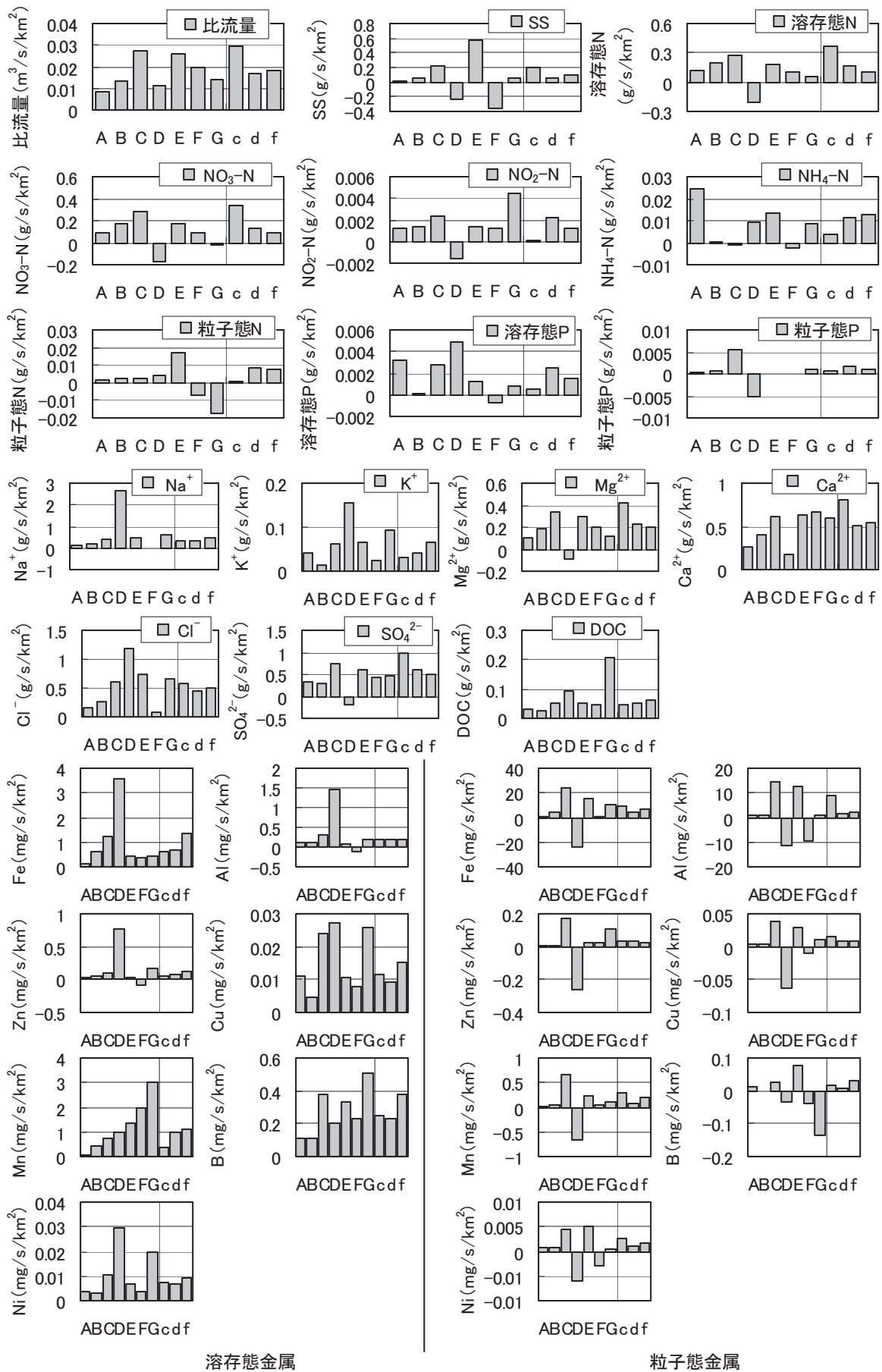


図-10 小流域（区間）別に求めた、比流量と、各水質成分の比負荷量

属類の流出特性は変動することが明らかになったことから、より精度の高い金属類の流出特性解析のためには、調査回数や採水ポイントを増やす必要がある。

単位面積あたりの各負荷量と土地利用の関係は明確ではなかった。これは、小流域によって比流量が異なることなどが原因と考えられる。

以上、晴天時調査から、家畜密度の高い集水域で $\text{NH}_4\text{-N}$ 、溶存態リン、 K^+ 濃度が高く、 Na^+ 濃度が低下する傾向がみられた。必ずしも河川水質を土地利用などで説明できなかったが、より精緻な土地利用、地質、畜産、人口、下水道普及率などの集水域情報および水文情報を重ね合わせるにより栄養塩類の流出機構の解明に近づけると考えられる。

3.3 雨天時調査

3.3.1 雨天時調査の結果

図-11 は各時間の雨量と、高崎川の各調査地点における水深、SS 濃度、各態窒素濃度、各態リン濃度、各態窒素比負荷量、各態リン比負荷量、 K^+/Na^+ の変化である。高崎川の雨天時調査では、雨量のピークは21時ごろであった。地点A、C、Eでは水深のピークは雨量のピークの直後となったが、地点Gでは水深のピークは雨量のピークに対して約4時間遅れていた。SS濃度はいずれの地点でも上昇し、ピークの時間は水深のピークと一致していた。

溶存態窒素濃度は、いずれの地点でも増水時に低下し、水深が下がるとともに上昇した。今回調査の時間内では、開始時と同じ濃度には戻らなかった。

粒子態窒素濃度は、SS濃度と連動し、いずれの地点でも増水時に上昇したが、水深のピークが過ぎるともとの濃度に戻った。

$\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度は、溶存態窒素濃度と同様の変化を示した。溶存態窒素濃度に占める $\text{NO}_3\text{-N}$ の割合は、地点Aでは降雨前は95%であったが、高水深時には、54%まで低下した。

$\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度は、地点Aでは、原因は明らかでないが一旦上昇した後、溶存態窒素濃度が最低となった21時頃に一度低下し、再び高くなる変化を示した。地点間で比較すると、濃度の上昇は上流側ほど大きかった。

$\text{NO}_2\text{-N}$ 濃度は、地点Aでは降雨前に高かったが、降雨後に低下した。地点C、E、Gでも濃度の低下がみられた。

溶存態リン濃度はいずれの地点でも低いまま推移した。地点Aでは増水時に低下する傾向がみられた。

粒子態リン濃度は、SS濃度や粒子態窒素濃度と同様、増水時に上昇した。ピーク時の濃度を地点間で比較すると、上流側ほど高くなっていた。

比負荷量でみると、溶存態窒素は、地点Aでは小さいピークを示し、Cでは概ね横ばい、地点E、Gでは増水時に上昇した。

粒子態窒素はいずれの地点でも増水時に上昇した。比負荷量が最大となった時間に着目すると、地点Gの溶存態窒素のピークは粒子態窒素のピークよりも先行していた。

$\text{NO}_3\text{-N}$ の比負荷量は、溶存態窒素と同様の変化を示した。地点Gでは、他の地点と比較してピーク時の上昇が大きかった。

$\text{NH}_4\text{-N}$ と $\text{NO}_2\text{-N}$ の比負荷量は、いずれの地点でも増水時に上昇した。地点Aでは、他の地点と比較してピーク時の $\text{NH}_4\text{-N}$ の上昇が大きかった。

粒子態リンの比負荷量は、粒子態窒素と同様の変化を示し、いずれの地点でも増水時に上昇した。溶存態リンの比負荷量は、粒子態リンと比較すると小さかった。

K^+/Na^+ は、いずれの地点でも増水時に上昇し、ピークの時間は水深のピークとほぼ一致していた。地点間で比較すると、ピーク時の K^+/Na^+ は、降雨前と同様地点Aで最大となっていた。雨天時においても、家畜密度が高いと推察される地点Aで、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 比負荷量と K^+/Na^+ が高くなる傾向がみられた。

図-12 は各時間の雨量と、山川における水深、SS濃度、各態窒素濃度、各態リン濃度、各態窒素比負荷量、各態リン比負荷量、 K^+/Na^+ の変化である。山川の雨天時調査では、雨量は6時頃と12時頃に大きかった。調査開始時刻は8時で、降雨の最中であった。水深は、19時半まで上昇が続いた。翌7~10時には低下したが、調査開始時と比較すると高かった。SS濃度は、16時半に最大となり、翌日までには低下した。

溶存態窒素濃度は、18時までには低下し、翌日まで横ばいであった。粒子態窒素濃度は増水時でも小さく、顕著な上昇はみられなかった。

$\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度は溶存態窒素と同様の変化を示した。 $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度は8時の時点では高かったが、10時以降は低下した。 $\text{NO}_2\text{-N}$ 濃度は増水時に低下した。

溶存態リン濃度はあまり変化がみられなかった。粒子態リン濃度は増水時に上昇したが、翌日までには概ね初期の濃度まで低下した。

溶存態窒素、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ および粒子

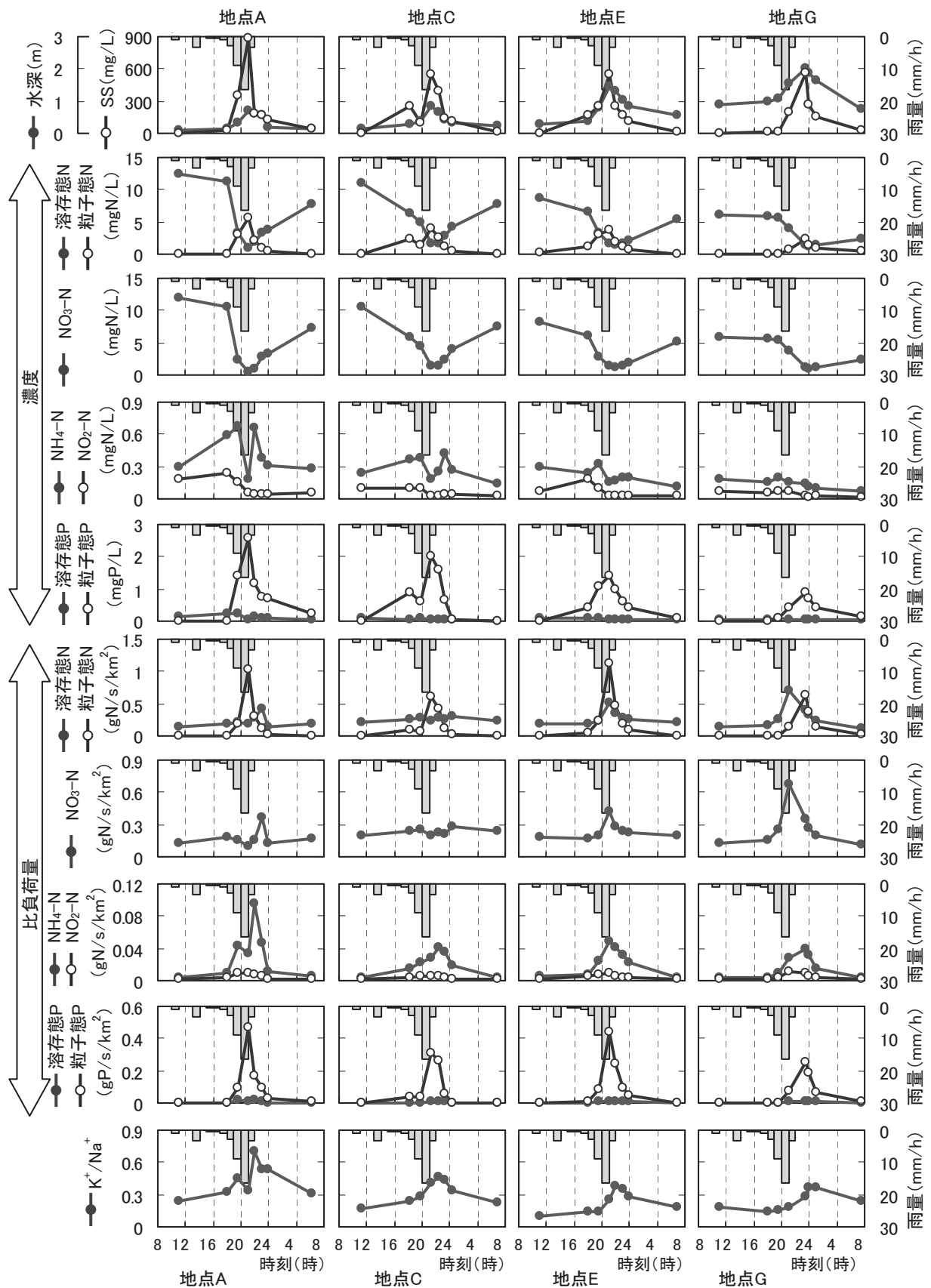


図-11 高崎川の雨天時調査の雨量、水深、SS濃度、各態窒素および各態リンの濃度と比負荷量、K⁺/Na⁺の変化

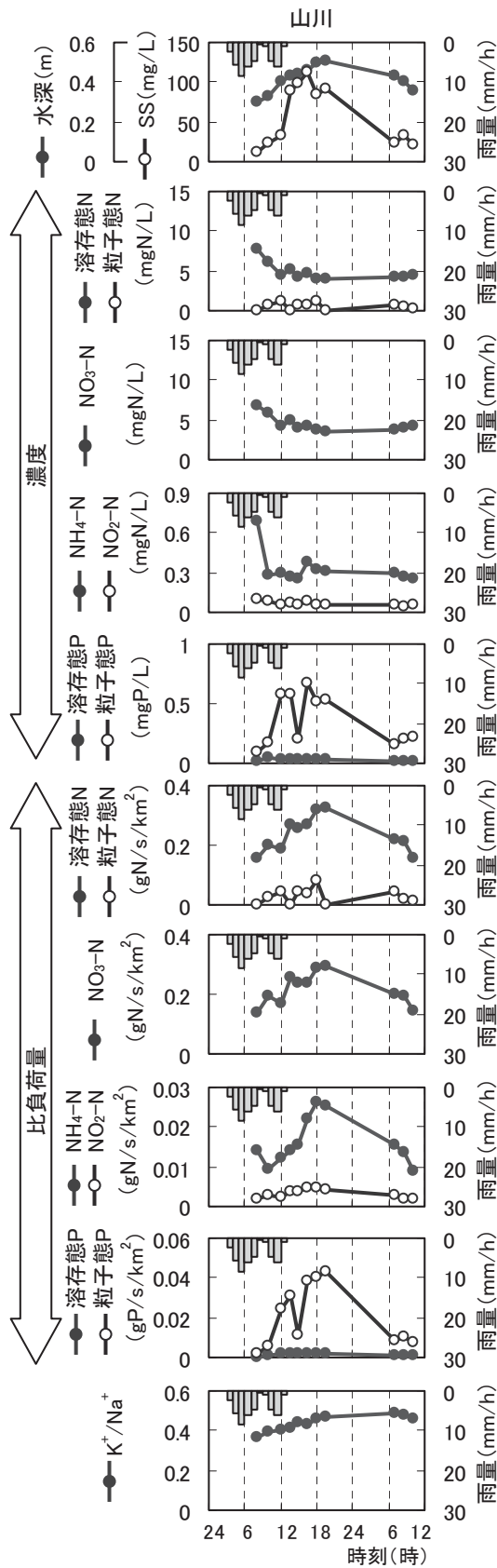


図-12 山川の雨天時調査の雨量、水深、SS濃度、各態窒素および各態リンの濃度と比負荷量、 K^+/Na^+ の変化

態リンの比負荷量は、増水時に上昇し、翌日には低下していた。一方、粒子態窒素と溶存態リンの比負荷量はあまり上昇しなかった。

K^+/Na^+ は、増水とともに上昇し、翌日も高いままであった。山川の家畜密度は、高崎川の約6倍であるが、 NH_4-N 濃度や K^+/Na^+ は、それに見合った増加は確認されなかった。

3.3.2 雨天時の流出負荷量の解析

図-13は、溶存態窒素と粒子態窒素に関する、地点Aと地点Gにおける比流量と比負荷量の関係である。比流量と窒素比負荷量は、両対数グラフ上で概ね直線上にプロットされ、窒素の存在形態によって傾きが異なることがわかった。そこで、比流量と各水質成分の比負荷量の関係を、以下のL-Q式で表した。

$$L = aQ^b$$

ただし、 L ：比負荷量

Q ：比流量

a, b ：定数

定数 a, b は、比流量と比負荷量をそれぞれ常用対数に変換して最小二乗法により回帰直線を求めて算出した。表-1は、主要な水質成分の、地点別の定数と R^2 である。定数 b は増水時の濃度変化を反映し、 $b < 1$ は濃度が低下する希釈型、 $b > 1$ は濃度が増加する洗い出し型、 $b = 1$ は濃度が変化しない一定型に分類される⁶⁾。定数 b に着目すると、SSはいずれの地点でも洗い出し型であった。

溶存態窒素、 NO_3-N 、 NO_2-N はいずれも希釈型であった。 NH_4-N は、上流側の地点A、Cでは $b = 1$ 、地点E、Gと山川では $b < 1$ となった。希釈型とならなかった地点A、Cでは、雨天時に集水域から NH_4-N が流出したと考えられる。粒子態窒素は、高崎川で

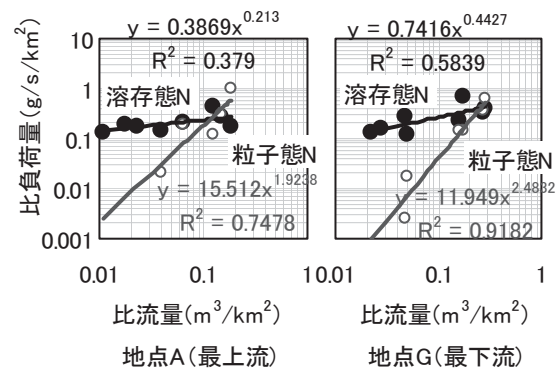


図-13 地点AとGにおける比流量と各態窒素の比負荷量の関係

表-1 主要な水質成分のL-Q式の定数a、bとR²

地点	a	b	R ²	地点	a	b	R ²	地点	a	b	R ²			
SS	A	7038	2.45	0.92	粒子態 P	A	6.65	1.77	0.91	溶存態 Fe	A	57.7	1.32	0.99
	C	17405	2.87	0.88		C	51.87	2.86	0.66		C	42.8	1.04	0.87
	E	1797	2.17	0.82		E	2.78	1.72	0.82		E	69.4	1.08	0.91
	G	4051	2.78	0.99		G	3.36	2.13	0.98		G	82.5	1.07	0.97
	山川	8063	2.65	0.86		山川	8.86	2.12	0.73		山川	93.3	1.02	0.63
溶存態 N	A	0.39	0.21	0.38	Na ⁺	A	1.60	0.53	0.83	溶存態 Al	A	113.3	1.47	0.97
	C	0.31	0.06	0.21		C	1.15	0.36	0.86		C	294.7	1.87	0.99
	E	0.57	0.31	0.85		E	2.75	0.43	0.60		E	111.6	1.47	0.99
	G	0.74	0.44	0.58		G	3.96	0.54	0.66		G	151.9	1.71	0.93
	山川	1.30	0.57	0.82		山川	3.42	0.62	0.94		山川	1107.4	2.38	0.95
NO ₃ -N	A	0.18	0.04	0.01	K ⁺	A	1.29	0.76	0.92	溶存態 Zn	A	7.49	1.06	0.90
	C	0.21	-0.02	0.02		C	1.29	0.83	0.98		C	6.39	1.04	0.90
	E	0.43	0.25	0.75		E	1.59	0.85	0.98		E	6.61	0.95	0.92
	G	0.59	0.39	0.48		G	1.70	0.80	0.95		G	7.30	1.02	0.98
	山川	1.18	0.57	0.83		山川	2.40	0.77	0.96		山川	4.99	1.02	0.79
NO ₂ -N	A	0.02	0.56	0.56	DOC	A	2.56	0.97	0.97	溶存態 Cu	A	2.35	1.06	0.93
	C	0.01	0.55	0.51		C	2.11	0.96	0.97		C	1.79	1.07	0.88
	E	0.01	0.52	0.44		E	2.97	0.99	0.98		E	2.47	1.14	0.90
	G	0.02	0.75	0.72		G	3.12	1.02	0.99		G	2.99	1.34	0.99
	山川	0.02	0.66	0.58		山川	4.42	1.07	0.97		山川	2.69	1.13	0.99
NH ₄ -N	A	0.38	1.00	0.83	粒子態 Fe	A	350986	2.35	0.92	溶存態 Mn	A	6.20	1.01	0.55
	C	0.29	1.03	0.81		C	1099787	2.84	0.89		C	11.51	0.95	0.35
	E	0.15	0.88	0.88		E	105783	2.21	0.89		E	3.61	0.83	0.44
	G	0.11	0.90	0.90		G	76548	2.38	0.97		G	6.74	0.63	0.80
	山川	0.11	0.65	0.53		山川	478409	2.74	0.87		山川	1.35	0.16	0.00
粒子態 N	A	15.51	1.92	0.75	粒子態 Al	A	368687	2.28	0.92	溶存態 B	A	5.84	0.86	0.93
	C	178.53	3.00	0.79		C	2036628	3.03	0.89		C	4.10	0.75	0.91
	E	4.92	1.56	0.85		E	143242	2.31	0.88		E	5.55	0.80	0.95
	G	11.95	2.48	0.92		G	144572	2.74	0.96		G	7.62	0.81	0.95
	山川	0.01	-0.30	0.01		山川	7794176	3.78	0.90		山川	12.38	0.86	0.98
溶存態 P	A	0.06	0.79	0.72	粒子態 B	A	1.16	0.57	0.27	溶存態 Ni	A	0.17	0.75	0.98
	C	0.04	0.82	0.88		C	1.08	0.69	0.28		C	0.13	0.67	0.97
	E	0.03	0.73	0.86		E	0.85	0.78	0.47		E	0.19	0.76	0.96
	G	0.04	0.92	0.92		G	0.29	0.20	0.20		G	0.29	0.84	0.90
	山川	0.04	1.16	0.66		山川	1.50	1.49	0.22		山川	0.06	0.42	0.30

※ 洗い出し型(b>1.1)は網掛け+太字で、希釈型(b<=0.9)は網掛けのみで示した。

はすべての地点で洗い出し型となった。山川では増水時に粒子態窒素の負荷量が上昇しなかったため、b<1となった。

溶存態リンは、高崎川では概ね希釈型であったが、山川では洗い出し型となった。粒子態リンはいずれの地点でも洗い出し型となった。地点Cでは他の地点と比較して、粒子態リンの定数bが高かった。

Na⁺とK⁺は希釈型であり、表中には載せていないがMg²⁺、Ca²⁺、Cl⁻、SO₄²⁻も希釈型であった。Na⁺とK⁺は、地点による定数bの違いは小さかった。

DOCは、いずれの地点でも定数bが1に近い一定型となり、増水時の希釈や洗い出しの作用が小さかった。

粒子態金属では、Fe、Al、Zn、Cu、Mn、Niはいずれの地点でも洗い出し型であった。粒子態のBは、高崎川では希釈型、山川では洗い出し型となった。

溶存態金属は元素種によって異なった。Feは地点Aでは洗い出し型となり、他の地点では定数bが1

に近かった。Alはすべての地点で洗い出し型となった。Znはいずれの地点でも定数bが1に近い値となった。Cuは、高崎川下流の地点E、Gと山川で洗い出し型となった。Mnは、高崎川下流の地点E、Gと山川で希釈型となった。BとNiは、いずれの地点でも希釈型となった。

L-Q式の定数bから、出水時には溶存態窒素濃度は低下し、粒子態リン濃度は増加することなど、各物質の流出特性が明らかとなった。

降雨が栄養塩類の流出負荷量に及ぼす影響は、河川が増水した期間全体で評価する必要がある。そこで、地点別に累積流量と各水質成分の累積負荷量を求め、基底流出分と直接流出分に分解した。図-14は、基底流出と直接流出の概念図である。累積負荷量の計算は、1回目の調査から最後の調査までの時間範囲で行った。各調査間の濃度の変化を直線で仮定し、全体の累積負荷量を算出した。基底流出の各時間の負荷量は1回目(増水前)の負荷量と等しい

と仮定して、基底流出分の累積負荷量を算出した。そして、全体から基底流出分を差し引いて直接流出分の累積負荷量を求めた。最後に、地点間の比較のため、集水域面積で割って累積比負荷量を求めた。

図-15 は、各態窒素と各態リンの累積比負荷量である。全窒素の累積比負荷量は、地点 A よりも地点 C、E、G で大きかった。山川は、地点 G と同程度となった。全窒素の累積比負荷量のうち、基底流出と直接流出はそれぞれ 39~59%、41~61%となった。高崎川では、直接流出のうち 48~74%は粒子態によるものであった。山川では直接流出のうち 22%が粒

子態であった。地点間で比較すると、溶存態窒素の直接流出は、地点 G と山川で、粒子態窒素の直接流出は地点 E で大きかった。

全リンの累積比負荷量は、山川と比較して高崎川で大きく、地点別では地点 E で大きかった。リンの累積比負荷量を基底流出と直接流出に分けると、それぞれ約 4%、約 96%となり、直接流出のうち約 95%は粒子態によるものであった。

累積負荷量と土地利用との関係を検討するため、地点 C、E、G について上流側の累積負荷量との差分を求めた。図-16 は、地点 A、C、E、G、山川の

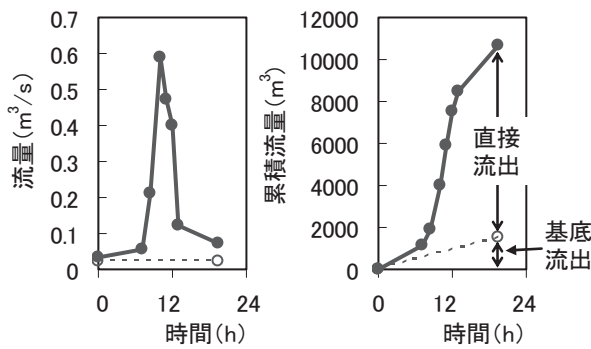


図-14 基底流出と直接流出の分解方法

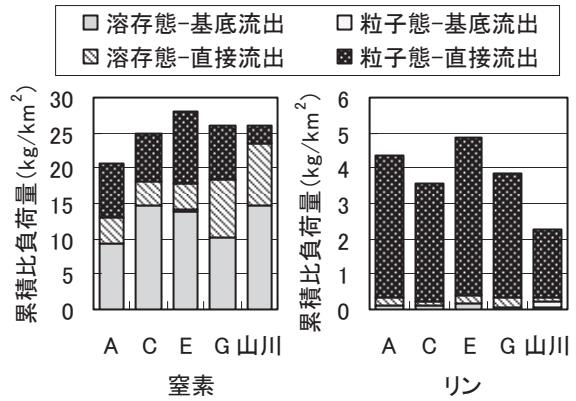


図-15 窒素とリンの累積比負荷量とその内訳

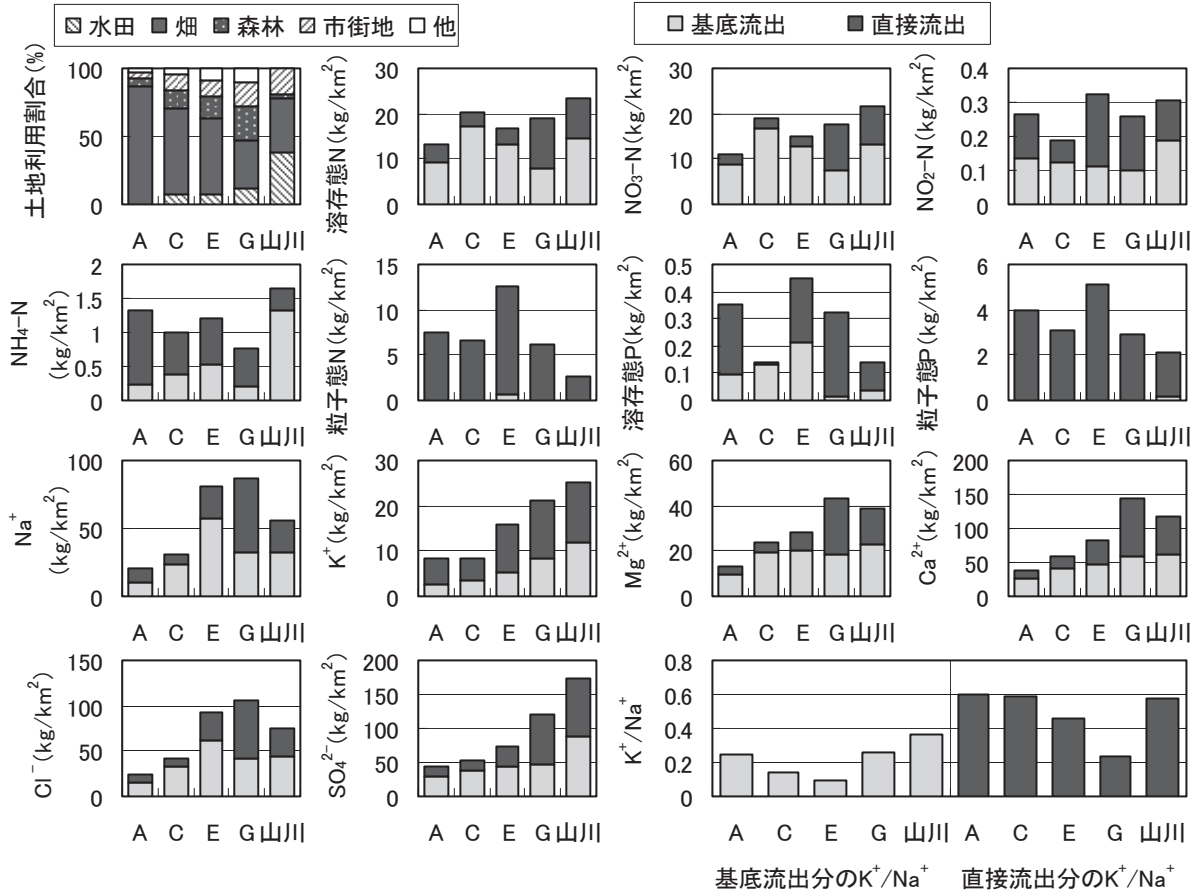


図-16 小流域（区間）別の土地利用と、各水質成分の基底流出と直接流出の累積比負荷量

土地利用割合と、各水質成分の累積比負荷量である。土地利用割合は、上流側の小流域ほど畑の割合が高くなっている。

基底流出と直接流出を含めた全体の累積比負荷量でみると、溶存態窒素は、地点 A は他の地点と比較して小さかった。直接流出のみに着目すると、地点 G と山川で大きかった。

NO₃-N は、溶存態窒素と同様であった。NO₂-N は、基底流出は山川で大きく、直接流出は地点 E で大きかった。NH₄-N は、全体では地点 A と山川で大きかった。高崎川では、NH₄-N の累積比負荷量に対する直接流出の占める割合は、地点 A では 83%、地点 C、E、G では 55~70% であった。山川の直接流出は低い傾向を示した。

粒子態窒素は、山川よりも高崎川で大きく、特に地点 E で大きかった。粒子態窒素はほぼ全量が直接流出であった。

溶存態リンは、高崎川の地点 A、E、G で大きかった。地点 C では基底流出の割合が高く、地点 G と山川では直接流出の割合が高かった。

粒子態リンは、地点 E で最も大きく、次いで地点

A で大きかった。粒子態リンは粒子態窒素と同様、ほぼ全量が直接流出であった。

高崎川では、Na⁺、K⁺、Mg²⁺、Ca²⁺、Cl⁻、SO₄²⁻ はいずれも、累積比負荷量が下流の地点ほど大きかったが、基底流出と直接流出に分けると、イオン種によって違いがみられた。Na⁺ は、基底流出は地点 E で、直接流出は地点 G で大きかった。K⁺ は地点間で構成が似ており、直接流出の割合は地点 A で 70%、他の地点で約 60% となった。

Mg²⁺ の基底流出は、他の地点と比較して地点 A で小さかった。直接流出は、地点 G で大きかった。Ca²⁺ は Mg²⁺ と同様の傾向であった。

Cl⁻ は、Na⁺ と同様の傾向を示し、SO₄²⁻ は Ca²⁺ と同様の傾向を示した。

Na⁺ と K⁺ の累積比負荷量から、基底流出分と直接流出分の Na⁺/K⁺ を算出したところ、地点 A、C、E と山川では、基底流出分と比較して直接流出分が高い値となった。集水域の家畜密度が高いと推察される高崎川上流と山川では、降雨時に畜産由来の負荷が流入している可能性がある。

図-17 は、溶存態と粒子態の金属の、各地点の基

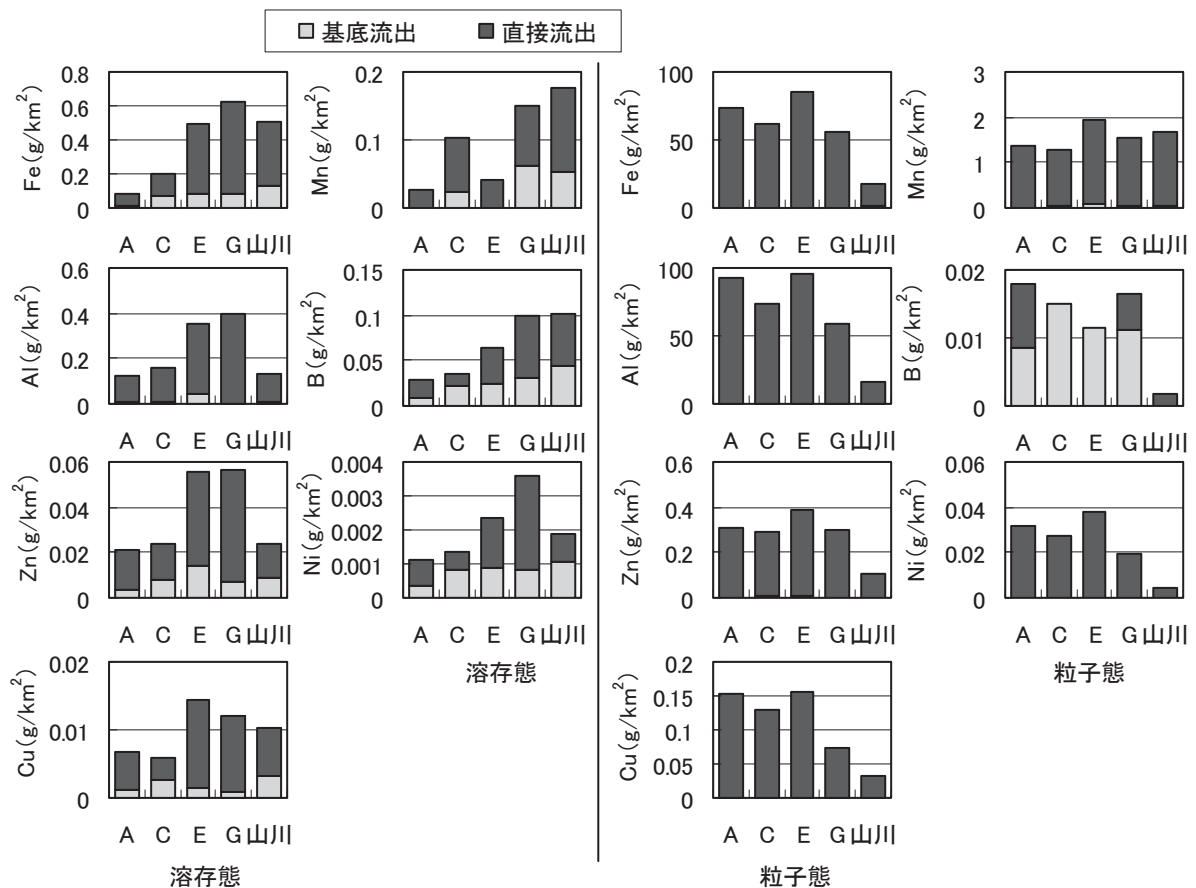


図-17 小流域（区間）別の、金属成分の基底流出と直接流出の累積比負荷量

底流出と直接流出の累積比負荷量である。溶存態金属の累積比負荷量は、Fe、Al、Zn、Cu はいずれも直接流出の割合が高く、地点間で比較すると地点 E、G で高かった。山川では Fe は高く、Al、Zn は低かった。溶存態 Mn は、地点 C、G、山川で大きかった。溶存態 B は、 K^+ と同様の傾向を示した。溶存態 Ni は、地点 G で大きく、地点 G では直接流出の割合が高かった。

粒子態金属では、Fe、Al、Zn、Cu、Ni は同様の傾向を示し、山川よりも高崎川で大きかった。また、大部分は直接流出であった。Mn は、大部分は直接流出であり、山川でも高崎川と同程度の値を示した。粒子態 B は、高崎川では基底流出の割合が高かった。

各水質の累積比負荷量は、土地利用（水田、畑、森林、市街地、その他）だけから傾向をつかむのは難しいが、直接流出に着目すると、畑の割合が低下すると、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、Cl、 SO_4^{2-} および溶存態の Fe、Al、Zn、B、Ni の累積比負荷量が高くなる傾向がみられた。これらは、畑以外からの流出と考えられる。より精緻な土地利用、地質、畜産、人口、下水道普及率などの集水域情報および水文情報を重ね合わせるにより、雨天時の発生源別の寄与を推定できる可能性がある。

4 おわりに

河川集水域からの栄養塩類の流出機構を解明するため、印旛沼流入河川である高崎川を対象とし、晴天時と雨天時の負荷量調査を行った。さらに、集水域内に畜産農家の多い鬼怒川支流の山川で雨天時調査を行った。そして、濃度、負荷量、比負荷量の地点間比較や土地利用との関係から流出特性を調査した。得られた知見を以下に示す。

高崎川の晴天時調査からは、

- (1) 集水域の畑の割合が高い上流の調査地点で、 NO_3-N 濃度が高かった。
- (2) 集水域に畜産農家が点在する最上流の調査地点では、 NH_4-N 、溶存態リン、 K^+ 濃度が高く、 Na^+ 濃度が低かった。
- (3) 金属成分については、Fe と Al は粒子態の割合が、Mn、B、Ni は溶存態の割合が高かった。
- (4) 小流域ごとの比負荷量を求めると、 NH_4-N の比負荷量は、最上流の地点の集水域で大きかった。溶存態リンは、最上流だけでなく中流にも負荷の大きい集水域があった。

雨天時調査からは、

(5) 高崎川と山川のどちらも、溶存態窒素と NO_3-N の濃度は、増水のピーク時に低下した。 NH_4-N 濃度は高崎川の上流側で上昇した。

(6) 高崎川の調査では、L-Q 式の定数 b からは、粒子態 N、P は洗い出し型、溶存態 N、P は希釈型に分類された。また、粒子態成分は概ね洗い出し型、溶存態成分は概ね希釈型に分類されたが、溶存態 Al は洗い出し型に分類された。

(7) 雨天時の高崎川の各地点の窒素の累積比負荷量を基底流出と直接流出に分けると、それぞれ 39～59%、41～61% となり、直接流出のうち 48～74% は粒子態によるものであった。

(8) リンの累積比負荷量を基底流出と直接流出に分けると、それぞれ約 4%、約 96% となり、直接流出のうち約 95% は粒子態によるものであった。

(9) 小流域別の累積比負荷量を算出した結果、高崎川の上流と山川の集水域では NH_4-N の比負荷量が高いことがわかった。

(10) 雨天時の直接流出分の累積比負荷量から K^+/Na^+ を求めると、高崎川の上流と山川で高い値を示した。

参考文献

- 1) 平成 13 年版数値地図 50m メッシュ (標高) 日本 - II、国土地理院
- 2) 国土数値情報 (平成 22 年度版行政界データ、平成 21 年度版河川流域界データ、平成 18 年度版土地利用細分メッシュデータ)、国土交通省
- 3) 地図で見る統計 (H17 国勢調査 - 世界測地系 (500 m メッシュ)、2005 年農林業センサス - 農業 (総数))、総務省統計局
- 4) 平成 21 年度利根川流域別下水道整備総合計画に関する基本方針策定調査報告書、利根川流域別下水道整備総合計画検討委員会 (2009)
- 5) 鈴木穰、小森行也、岡安祐司 (2007)、流域における物質動態特性の解明と流出モデルの開発 (2)、平成 19 年度下水道関係調査研究年次報告書集、117-126。
- 6) 岩田杉夫、遠藤忠嗣、井上隆信、横田久里子、大久保陽子 (2013)、中小河川からの栄養塩負荷の流出特性、水環境学会誌、36(2)、39-47。

土地利用や環境の変化が閉鎖性水域の水質・底質におよぼす影響に関する研究

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：池田茂、(鈴木 穰)、平山孝浩、
柴山慶行

【要旨】

霞ヶ浦では、近年再びアオコが発生するようになり、平成 23 年には大発生した。一方で、平成 13 年から平成 20 年ごろまでは、発生が少ない期間が続く等、アオコ発生に寄与する湖沼環境の変化が考えられた。そこで、長期観測データをもとに、霞ヶ浦で生じた変化を探るとともに夏季に現地調査を行ったが、その結果について報告する。

キーワード：霞ヶ浦、閉鎖性水域、土地利用

1. 霞ヶ浦における経年観測データを用いた解析

1. 1 はじめに

霞ヶ浦では、近年再びアオコが発生するようになり、平成 23 年には大発生した。一方で、平成 13 年から平成 20 年ごろまでは、発生が少ない期間が続く等、アオコ発生に寄与する湖沼環境の変化が考えられた。そこで、長期観測データをもとに、霞ヶ浦で生じた変化を解析した。

1. 2 使用データ

国土交通省霞ヶ浦河川事務所のホームページで公開されている定期観測データ¹⁾を用いた。これは、1ヶ月に1～2回の頻度で観測しているものである。

1. 3 解析結果

1. 3. 1 塩分濃度と底層 DO について

図-1 に西浦湖心における底層 DO の推移を示す。昭和 59 年から平成 12 年の夏季と平成 23 年夏季に底層が貧酸素状態となっている。特に、昭和 59 年から平成 3 年までは、冬季においても酸素の少ない状態となっていた。また、平成 11 年以降より夏季の底層 DO の上昇がみられるようになり、平成 21 年までは、底層の貧酸素状態が解消されている。この貧酸素状

態ではなくなっている期間においては、冬季から春季にかけての溶存酸素が、過去と比較して、やや高い値を記録していた。

麻生沖と外浪逆浦の塩化物イオン濃度を図-2 に示す。麻生沖は西浦でもっとも下流に位置する観測所である。また、常陸利根川を通じて下流方向に外浪逆浦が位置している。外浪逆浦での値は、昭和 60 年、昭和 63 年に高く、以後、高濃度を記録していなかったが、平成 23 年には突出して高い濃度を記録して、平成 24 年も過去 10 年と比較すると高い値となっている。霞ヶ浦河川事務所の公表資料³⁾によると、平成 23 年の値は東日本大震災時の津波が霞ヶ浦に進入したことによるもので、平成 24 年は常陸川水門の老朽化等の影響によるもの⁴⁾とされている。

塩分濃度と底層 DO の経年変化を比較すると、平成 10 年以前の塩分濃度の変動が大きい時期に底層が貧酸素傾向にあることがわかる。塩分濃度と底層 DO の関係は、塩分躍層が生じている汽水域で議論されることが多い。西浦は淡水湖と言われているが、海水の侵入により汽水湖と同様な現象が発生し、西浦に侵入した高い塩分濃度の水が底層 DO の低下を促したと考えられる。

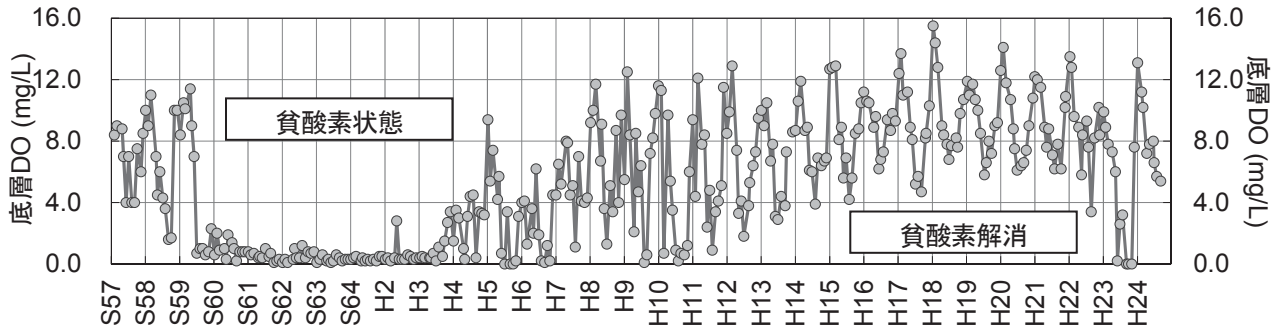


図-1 西浦湖心における水位変化

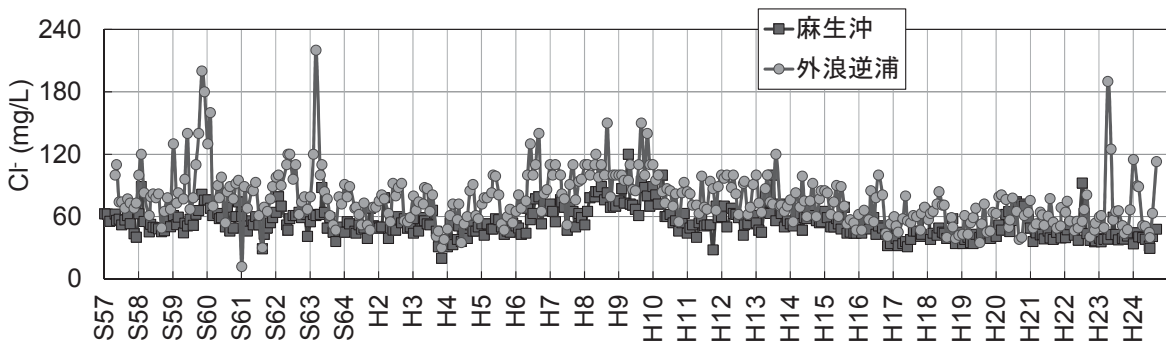


図-2 外浪逆浦と麻生沖における塩化物イオン濃度の推移

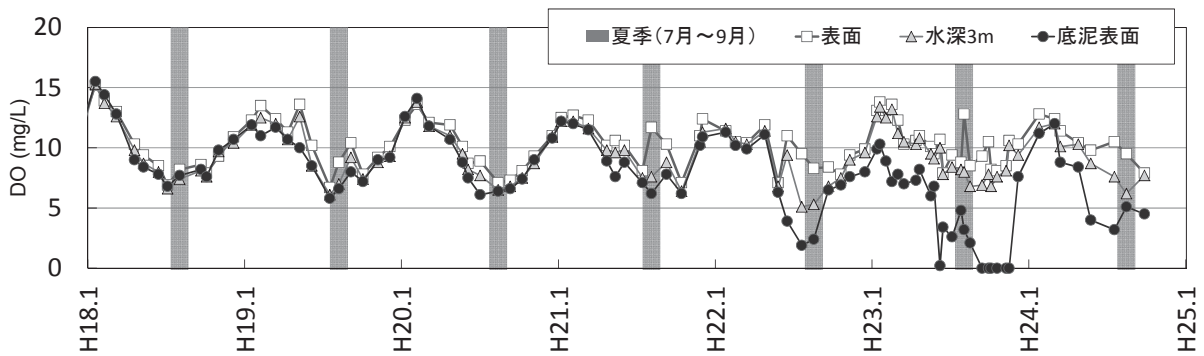


図-3 西浦湖心の DO の鉛直分布の推移

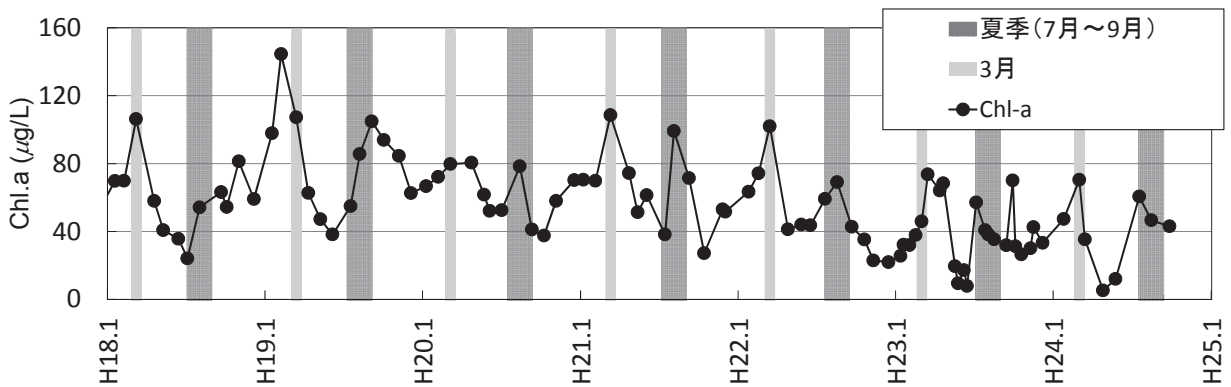


図-4 西浦湖心の Chl. a の推移

1. 3. 2 DOの鉛直分布とChl.aの推移について

霞ヶ浦西浦湖心のDOの鉛直分布とChl.aの変化について、図-3と図-4に示す。ここでは、平成23年前後の変化をみるために、平成18年以降で示した。

DOについては、目立ったアオコが観測されていなかったH18～H20では、夏季において、表層と底層のDOの差が少なかったが、H21以降では表層と底層の値に差があり、特にH23には底層でほぼ0mg/Lの値を記録していることが読み取れる。平成21年以降は、アオコの発生が確認されており、湖内の酸素消費との関連が疑われる。H23夏季には、アオコ大発生したことで、湖水の酸素消費量が増え、表層からの酸素供給量を上回ったため底層が貧酸素化したと考えられる。

Chl.aについては、H22までは3月にピーク値をとっていることが特徴的である。H23以降は、3月のピーク値がH22までと比較して低くなっており、発生プランクトン相の変化との関連が示唆される。一方で、夏季の値は、H23夏季のChl.aよりも、H22以前の夏季や春季の値の方が高い値となっている。これらのことから、湖心のChl.aのみではアオコを評価できないことがわかる。表層に浮かんでいる藍藻類が風によって流されて湖岸で集積してアオコとなるが、主たるアオコ発生地区と湖心との距離が長いことから、湖心での値に反映されていないことが原因として考えられる。また、アオコが表層付近で鉛直方向に移動したり、風によって鉛直混合が生じたりすることで、採水時に藍藻類の量が反映されていないことも考えられる。アオコ発生と水質の関係を比較する際には、種構成等の別の指標とも比較する必要がある。

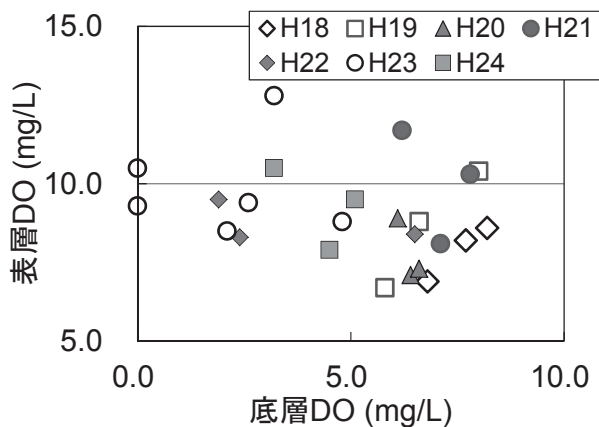


図-5 夏季の西浦湖心における表層DOと底層DOの関係

図-5に夏季の西浦湖心における表層DOと底層DOの平均値についてグラフ化したものを示す。アオコが多く発生している場合には、アオコの活性により表層では、DOが高くなる一方で、底層ではアオコによる酸素消費のために、DOが低下すると考えられる。H22以降に、底層が貧酸素傾向となっており、表層のDOがやや高い傾向にあることがわかる。アオコの活性により、H20以前と比較して、表層DOに目立った差が出ると予想されたが、湖水の鉛直方向の混合により、表層DOの上昇幅が抑えられている可能性がある。

2. 現地調査について

2.1 方法

平成24年8月7日に土浦港にて、さらに8月20日に霞ヶ浦西浦の数地点にて、多項目水質計(堀場製作所製、U-22XD)による測定と水試料採取を行った。図-6に調査地点を示す。採取した水試料は、実験室に持ち帰り、溶存態の窒素類とリンの定量分析に供した。懸濁態の分離はGFBフィルターを用いた。分析には、オートアナライザー(ブランルーベ、TRAACS2000)を使用した。

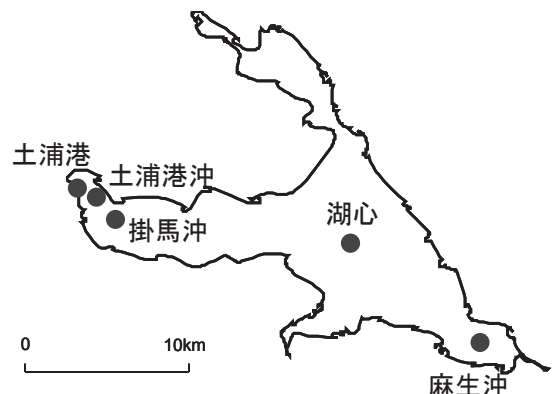


図-6 現地観測地点

2.2 結果

図-7に多項目水質計の溶存酸素濃度の計測結果について示す。掛馬沖では、水深が浅いにも関わらず、底層DOが5mg/L程度にまで下がっていた。土浦港沖は、深掘れ部での計測だったため、鉛直混合によるDO供給が十分でなく、底層のDOが低くなったと考えられる。

図-8、図-9に、8月20日に行った採水試料の窒素とリンの測定結果を示す。溶存態の窒素とリンは、ともに下層で高い値であった。表層の値と比較すると、湖心の値と比較して、掛馬沖での値が、窒素は高く、リンは低かった。土浦港内の調査では、港口と港内の変化を見る

とD-TPが0.057mg/L → 0.049mg/L、D-TNが1.205mg/L → 0.705mg/Lであり、窒素の減少が大きかった。港内では、底層のDOが2mg/L程度だったため、脱窒の影響を考慮する必要があるが、硝酸態窒素が0.34mg/L → NDであったことから、アオコの窒素消費による影響が考えられる。

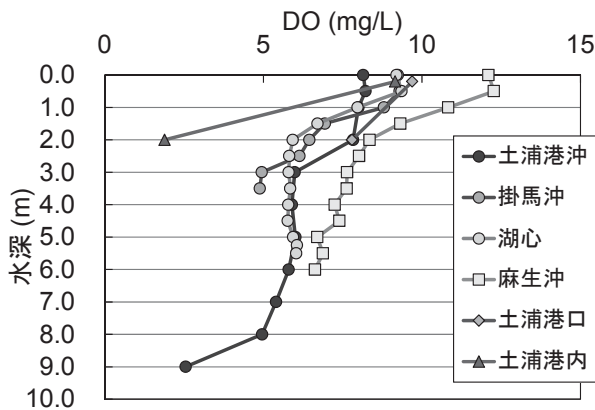


図-7 溶存酸素濃度

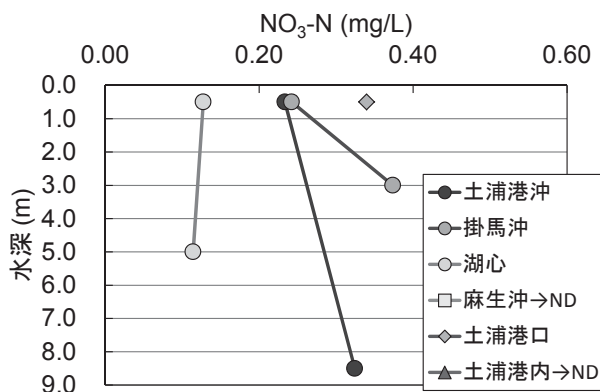


図-8 硝酸態窒素

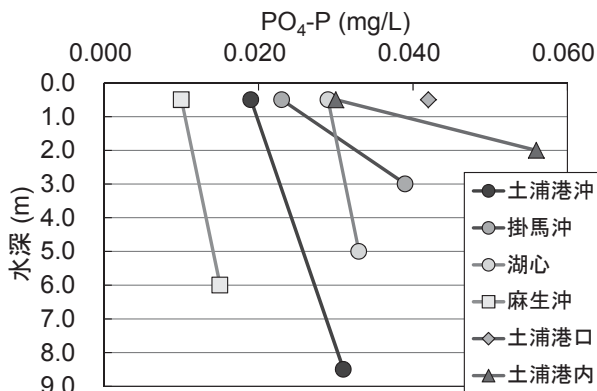


図-9 オルトリン酸態リン

参考文献

- 1) 霞ヶ浦の水質調査データ、国土交通省霞ヶ浦河川事務所、<http://www.ktr.mlit.go.jp/kasumi/kasumi00145.html> アクセス日時：2013.06.13
- 2) 水文水質データベース、国土交通省、<http://www1.river.go.jp/> アクセス日時：2013.06.13
- 3) 「震災後高くなった常陸川水門上流部の塩化物イオン濃度が下がってきました」、国土交通省霞ヶ浦河川事務所、<http://www.ktr.mlit.go.jp/kasumi/kasumi00191.html>、アクセス日時：2013.06.13
- 4) 常陸川の塩分濃度上昇について、国土交通省霞ヶ浦河川事務所、<http://www.ktr.mlit.go.jp/kasumi/kasumi00380.html>、アクセス日時：2013.06.13
- 5) 霞ヶ浦導水事業の背景、国土交通省霞ヶ浦導水工事事務所、<http://www.ktr.mlit.go.jp/dousui/dousui0009.html>、アクセス日時：2013.06.13

水環境中における未規制化学物質の挙動と生態影響の解明

水質チーム 上席研究員 池田 茂
 統括主任研究員 小森 行也
 主任研究員 北村 友一
 研究員 真野 浩行

1. はじめに

化管法対象物質や医薬品類などの水質規制の対象となっていない化学物質（未規制物質）の中には、水溶性が高い物質や、下水道などを通じて処理場へ運ばれるものの処理しきれずに下水処理水を通して水環境中に排出される物質が含まれている。近年、水環境中に流出する未規制物質による水生生物への影響が懸念されており、未規制物質の水環境への効率的なリスク管理や削減対策が求められている。

リスク管理や低減対策を講じる上で、未規制化学物質の水環境中での存在実態の把握や挙動の解明を行うとともに、水生生物への影響の評価を行うことが必要とされる。本研究課題では、水質汚濁防止法などの規制対象外となっている化学物質、特に、生体の特定の生理的調節機能に対して作用する生理活性物質等について、水環境における環境リスクが懸念されるものを検討した上で、それらの物質を対象として水環境中での実態把握と挙動解明を行うとともに、これらの物質が水生生態系に対して与える影響を評価することを目的としている。本年度では、河川環境中の未規制化学物質の存在実態と挙動を明らかにするために、多摩川流域及び一般的な下水処理場からの放流水が流入する河川を対象として、流下過程における未規制物質の濃度と負荷量の変化および物質収支を調査した。

2. 研究方法

2. 1 対象化学物質の選定

本研究チームではこれまで、医薬品類等生理活性物質を対象として、分析法の開発や水環境中における実態把握、生態リスクの検討などを進めてきた。本年度の調査では、過去の研究成果を基に、河川中において水生生物に対する生態リスクの懸念が指摘されている医薬品類 10 物質を調査対象に選定した（表-1）。対象物質には抗生物質や殺菌剤、解熱消炎剤などが多く含まれ、予測無影響濃度（Predicted No Effect Concentration、以下 PNEC）が ng/L オーダーと強い生態毒性を示すものもある¹⁾。

表-1 H24 年度調査の対象物質

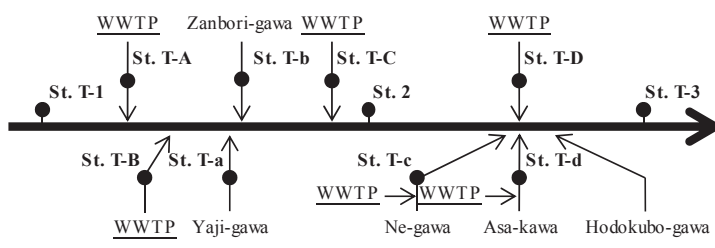
物質名	主な効用	PNEC (µg/L) ¹⁾	
Azithromycin	アジスロマイシン	マクロライド系抗生物質	0.019
Bezafibrate	ベザフィブラート	高脂血症治療薬	10
Caffeine	無水カフェイン	中枢興奮・強心・利尿剤	5.2
Clarithromycin	クラリスロマイシン	マクロライド系抗生物質	0.02
Crotamiton	クロタミトン	かゆみ止め軟膏	3.5
Ibuprofen	イブプロフェン	消炎・鎮痛・解熱剤	130
Ketoprofen	ケトプロフェン	消炎・鎮痛・解熱剤	0.16
Levofloxacin	レボフロキサシン	フルオロキノロン系合成菌剤	0.079
Sulfamethoxazole	スルファメトキサゾール	サルファ剤(感染症治療薬)	1.6
Triclosan	トリクロサン	殺菌剤	0.002

2. 2 調査地点および調査時期

H24 年度は、多摩川流域および関東地方の一般的な下水処理場からの放流水が流入する河川（以下、河川 A）で計 16 箇所の調査地点を設定し、延べ 63 試料の採水、分析を行った。

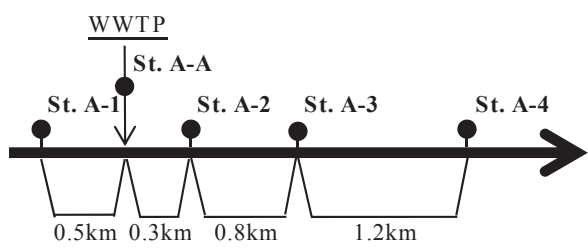
多摩川は、山梨県、東京都、神奈川県を流れる多摩川水系の本川である（延長 138 km、流域面積：1240 km²、流域人口：約 380 万人（H17 年）²⁾）。代表的な都市河川であり、高度成長期の急激な流域の都市化の影響を受けて水質が悪化したが、下水道整備や河川浄化施設の設置などに伴い改善が進み、近年では中流域（多摩

川原橋)の水質は、BOD 2mg/L程度で推移している(2001年以降の環境基準はB類型、BOD 3mg/L)。一方で、人口増加および下水道普及率の上昇に伴い、中流域においては河川流量の5割以上を下水処理水が占める状態となっている。対象とする医薬品類の存在実態と挙動を流域規模で検討することを目的として、多摩川本川と支川で調査を行った。また、多摩川本川での医薬品類の物質収支を把握するため、下水処理場の排水樋門で調査を行った。調査地点の概要を図一1に示す。多摩川本川の調査地点 St. T-1 から St. T-2 までの距離および St. T-2 から St. T-3 までの距離は約 5km である。また、下水処理水中の医薬品類濃度の日内変動を検討するため、下水処理場の排水樋門 St. T-A、St. T-B、St. T-C において、調査回ごとに6時間おきに計4回の現地調査および採水を行った。その他の調査地点では、調査回ごとに現地調査および採水を1回おこなった。H24年度は、8/23、1/30の2回調査を行った。



図一1 多摩川流域の調査地点の概要

本研究で対象とした河川 A において、下水処理場からの放流水の流入地点(放流口)より下流では、支川等はなく、水の流出入がほとんどみられない。そのため、流下過程における微量化学物質の挙動を検討することができる。調査地点は、放流口と放流口より上流の1地点と下流の3地点とした(図二)。調査河川上流の調査地点 St. A-1 から放流口までの距離は約 0.5km で、下水処理場の放流口 St. A-A から St. A-2 までの距離は約 0.3km、St. A-2 から St. A-3 までの距離は約 0.8km、St. A-3 から St. A-4 までの距離は約 1.2km である。下水処理場の流入地点より下流では、河川流量に対する下水処理水の寄与が大きくなっていることから、流下過程における微量汚染化学物質の挙動を検討することを目的として調査地点に選定した。H24年度は、5/24、7/10、9/18、12/13、1/7の5回、調査を行った。ただし、St. A-3のみ、9/18、12/13、1/17の3回、調査を実施した。各地点において、調査回ごとに現地調査および採水を1回行った。St. A-A では、下水処理場内で放流水を採取した。



図二 河川 A の調査地点の概要

2.3 医薬品類の分析

アルミ箔で遮光したガラス瓶に満水状態で採水し、アスコルビン酸(酸化防止剤)と Na₂EDTA(マトリックス元素のマスキング剤)をそれぞれ約 1g/L となるように加え、冷蔵状態で試験室へ持ち帰った。試料中の溶存態成分について、Triclosan は、Nakada *et al.*³⁾の方法を参考に抽出、濃縮、アセチル化等の前処理を行った後、GC-MS を用いて測定した。その他の物質は小西ら⁴⁾の方法を参考に抽出、濃縮等の前処理を行った後、LC-MS/MS を用いて測定した。定量は、GC-MS 法、LC-MS/MS 法ともに、同位体希釈法により定量した。本研究では、濃度が検出下限値以上で定量下限値未満の値を示した場合は、その値を濃度として用いた。

2.4 流量の推計

医薬品類の負荷量および物質収支を検討するため、一部の河川の調査地点において、「河川砂防技術基準(案)⁵⁾」に準じて流量観測を行った。多摩川流域では、St. T-2 および St. T-c を除く多摩川本川と支川の流量を観測した。また、東京都下水道局から下水処理場からの調査日の放流量データを入手した。

流量観測を行わなかった多摩川流域の St. T-c での流量を、東京都環境局より入手した調査日と同じ月の流量データ(2012年8月8日と2013年1月9日)を代用して推計した。また、多摩川流域の St. T-2 の流量を St. T-2 よりも上流の St. T-1、St. T-a と St. T-b の流量と下水処理場 St. T-A、St. T-B と St. T-C の放流量を積算し

て推計した。

調査対象とした多摩川流域での流量の収支を確認するため、St. T-2 での流量の推計値と、St. T-c と St. T-d の流量と St. T-D の放流量を積算し、St. T-3 での流入合計の流量を求め、実測値と比較した。また、程久保川の流量は少ないため、本研究では、程久保川の流入量を考慮しなかった。

河川 A では、放流口から 30m 下流の地点で流量を観測した。また、下水処理場からの調査日の放流量のデータを入手した。放流口下流の河川地点での流量の測定値から下水処理場の放流量を引くことで、河川上流の調査地点における流量を推計した。

2. 5 負荷量の推計

各調査地点の対象医薬品類の負荷量を把握するため、調査地点ごとに医薬品類の濃度と一日当たりの流量の積から負荷量を推計した。多摩川流域において、6 時間おきに調査を行った排水樋門 St. T-A、St. T-B、St. T-C では、医薬品類濃度の平均値を用いて負荷量を推計した。また、医薬品類濃度が検出下限値未満の場合には、検出下限値の 1/2 の値を用いた。

2. 6 物質収支の推計

調査対象とした河川のある一定の区間に着目し、その区間内に流入する負荷量と区間から流出する負荷量との物質収支を検討した。物質収支の検討として、流入負荷量に対する流出負荷量の割合を浄化残率と定義し⁶⁾、対象とする医薬品類の下流水域への流達性を評価した。

浄化残率を推計する際に、ある基準地点と、その上流側の一定範囲を対象区間として設定する必要がある。この対照区間に流入する負荷量を合計し、予測流入負荷量として設定し、この値で基準地点での負荷量を除することで浄化残率を求めた。

多摩川流域では、基準地点として St. T-2 と St. T-3 を設定した。基準地点 St. T-2 に対して、上流地点 St. T-1 から St. T-2 の区間を対象区間として設定した（表-2）。この区間での予測流入負荷量を区間に流入する調査地点の負荷量を合計して推計した。また、基準地点 St. T-3 に対して、上流地点 St. T-2 から St. T-3 の区間を対象区間として設定し、この区間での予測流入負荷量を、区間に流入する調査地点の負荷量を合計して推定した。

河川 A では、基準地点として St. A-2、St. A-3、St. A-4 を設定した。基準地点 St. A-2、St. A-3、St. A-4 に対して、St. A-1 から St. A-2 の区間、St. A-2 から St. A-3 の区間、St. A-3 から St. A-4 の区間を対象区間として設定した（表-2）。区間 St. A-1 から St. A-2 の予測流入負荷量を、St. A-1 と St. A-A の負荷量の合計から推計した。河川 A では、放流口より下流では、支川等はなく、水の流出入がほとんどみられないため、区間 St. A-2 - St. A-3 と区間 St. A-3 - A-4 の予測流入負荷量は、それぞれ St. A-2、St. A-3 の負荷量とした。

今回、St. A-3 で調査を行った 9/18、12/13、1/7 における調査回について、河川 A での浄化残率を推計した。

表-2 浄化残率推計の概要

調査河川	基準地点	区間	区間に流入する調査地点
多摩川	St. T-2	St. T-1-St. T-2	St. T-1、St. T-a、St. T-b、St. T-A-St. T-C
	St. T-3	St. T-2-St. T-3	St. T-2、St. T-c、St. T-d、St. T-D
河川A	St. A-2	St. A-1-St. A-2	St. A-1、St. A-A
	St. A-3	St. A-2-St. A-3	St. A-2
	St. A-4	St. A-3-St. A-4	St. A-3

3. 研究結果

3. 1 医薬品類濃度

3. 1. 1 多摩川

図 3 に多摩川流域の調査地点における調査対象の医薬品類 10 物質の濃度を示す。生活系・事業系排水の影響が少ない上流地点 St. T-1 において、Caffeine 以外の 9 物質は低濃度または検出下限値以下であった。Caffeine は他の医薬品類に比べて、St. T-1 において高い濃度で検出された。下水処理水が流入する調査範囲

の中流地点 St. T-2 と下流地点 St. T-3 において、Azithromycin、Caffeine、Clarithromycin、Crotamiton、Levofloxacin、Sulfamethoxazole は、2 回の調査のいずれかで 100ng/L を超える濃度で検出された。また、Azithromycin、Bezafibrate、Clarithromycin、Crotamiton、Ibuprofen、Levofloxacin、Triclosan は、夏季よりも冬季において高い濃度で検出された。Ketoprofen の濃度は St. T-1 から St. T-3 にわたって低い濃度を示した。多摩川の支川では、生活系・事業系排水の影響が少ない St. T-a と T-b に比べ、下水処理水の流入する St. T-c と T-d において医薬品類が高い濃度で検出された。

下水処理場の排水樋門では、Caffeine と Ibuprofen 以外の医薬品類は、比較的高い濃度で検出された。排水樋門において、Caffeine は本川、支川と同程度か低い濃度で検出された。Azithromycin と Bezafibrate、Clarithromycin、Crotamiton、Levofloxacin は夏季にくらべ、冬季において高い濃度を示した。また、St. T-C において Bezafibrate、Ibuprofen、Ketoprofen の濃度が比較的大きく日内変動することが確認された。

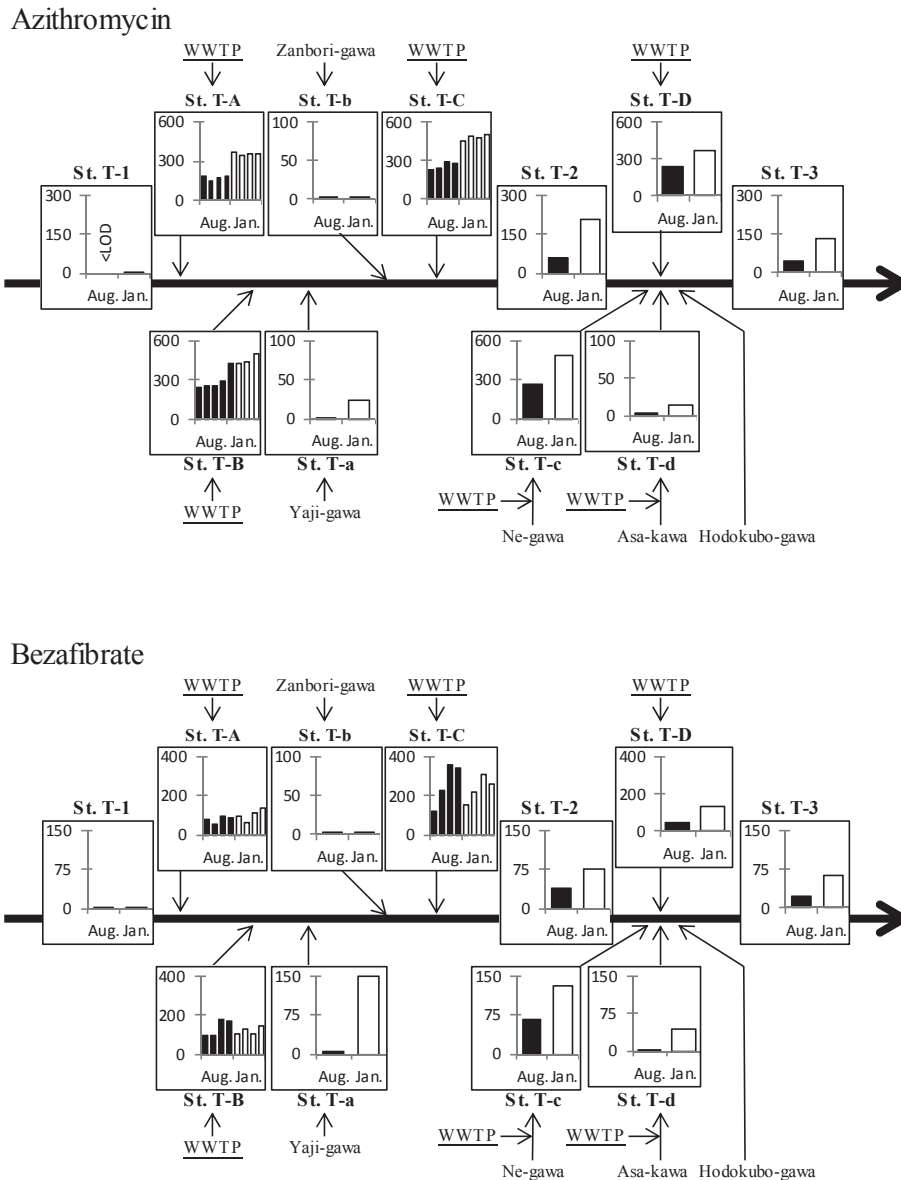
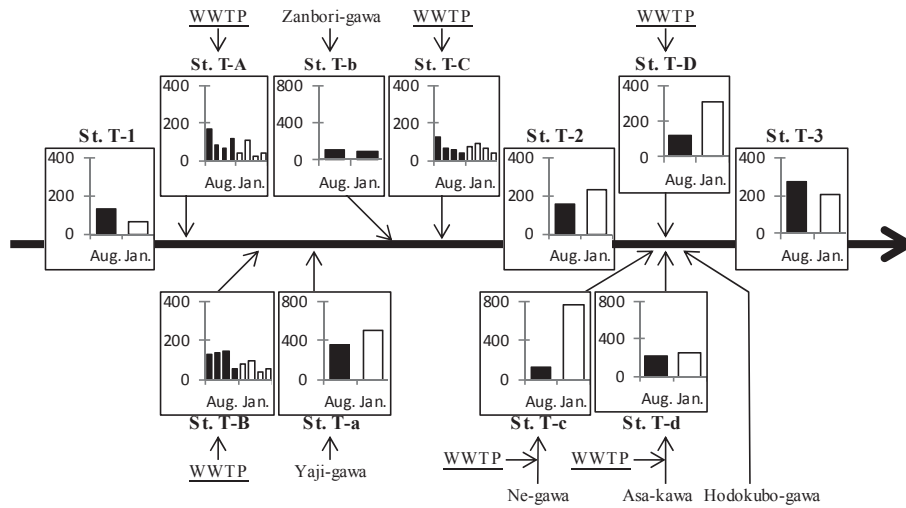
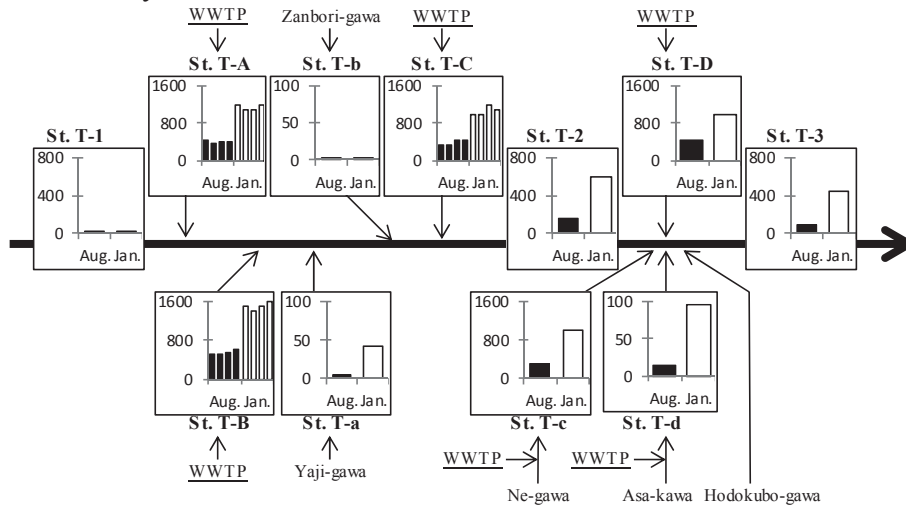


図- 3 多摩川流域の調査地点における医薬品類 10 物質の濃度 (単位: ng/L)

Caffeine



Clarithromycin



Crotamiton

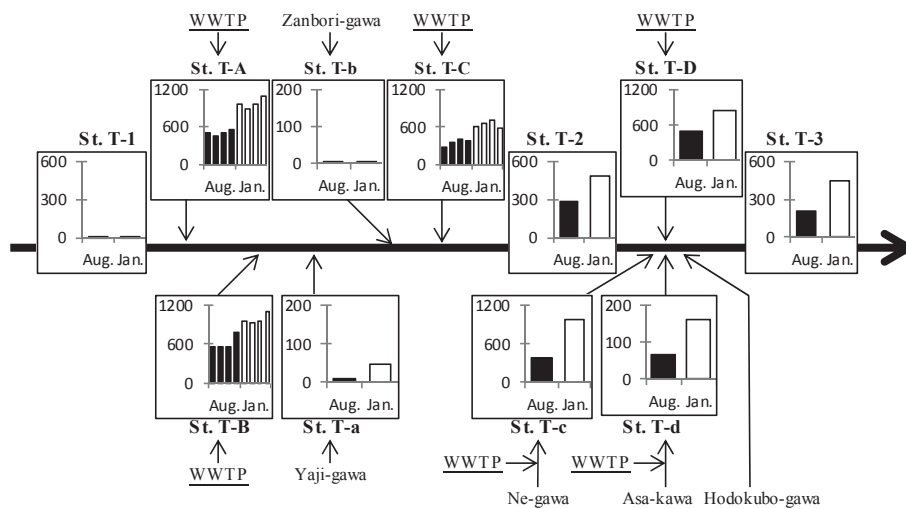
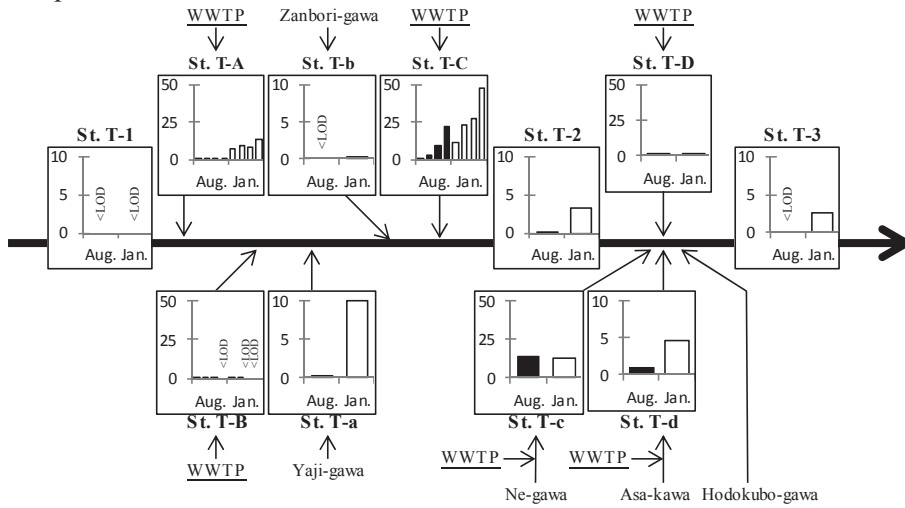
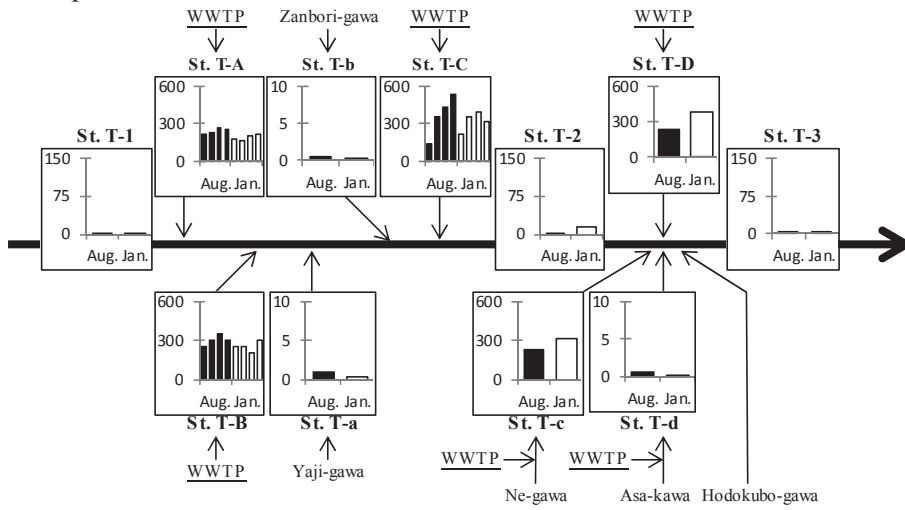


図- 3 (続き) 多摩川流域の調査地点における医薬品類 10 物質の濃度 (単位 : ng/L)

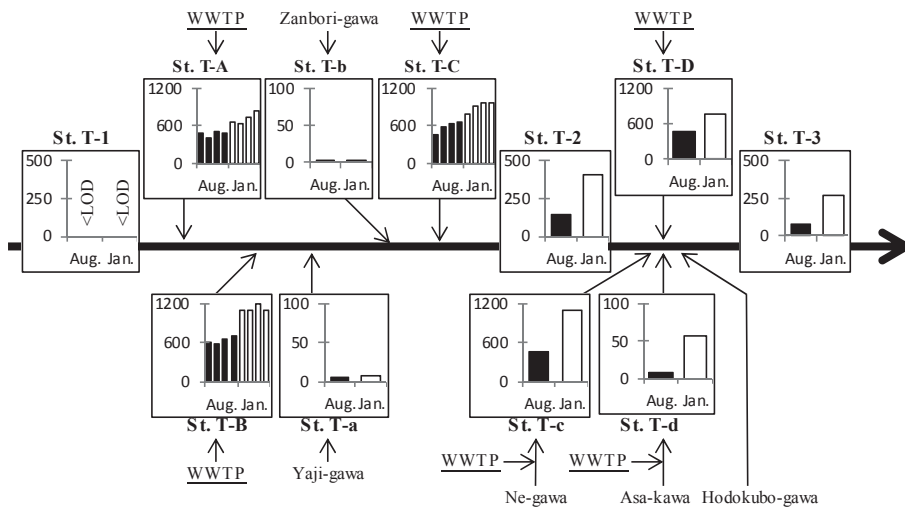
Ibuprofen



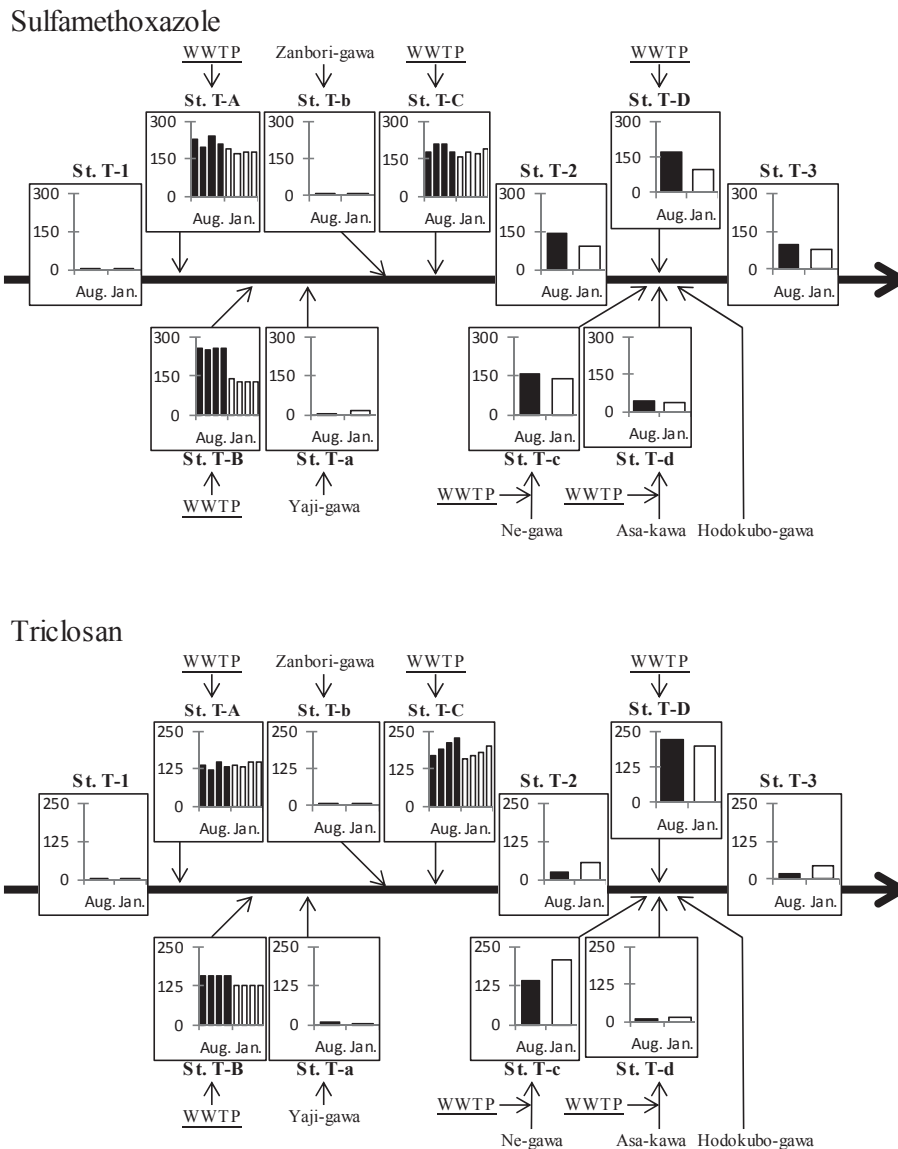
Ketoprofen



Levofloxacin



図－3（続き）多摩川流域の調査地点における医薬品類 10 物質の濃度（単位：ng/L）



図－ 3 （続き）多摩川流域の調査地点における医薬品類 10 物質の濃度（単位：ng/L）

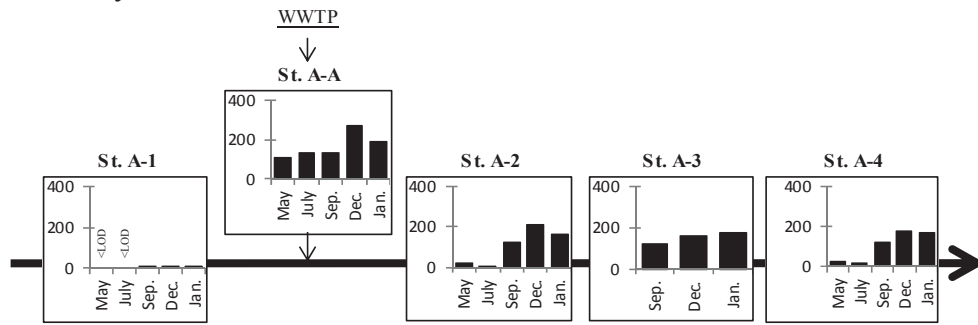
3. 1. 2 河川 A

図 4 は河川 A の調査地点における医薬品類 10 物質の濃度を示す。Caffeine 以外の医薬品類 9 物質は河川上流の調査地点 St. A-1 に比べて、下水処理場の放流口 St. A および河川下流の調査地点 St. A-2～St. A-4 で比較的高い濃度で検出された。Caffeine は河川上流の調査地点 St. A-1 で比較的高い濃度で検出された。

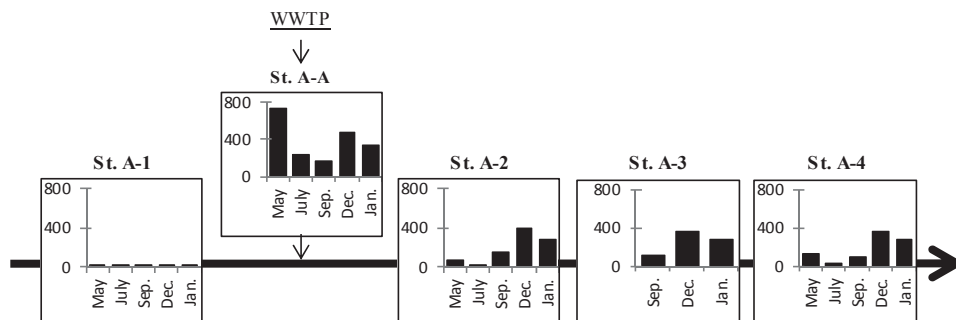
放流口より下流にある河川の調査地点において、Caffeine 以外の 9 物質は 5 月と 7 月の調査回に低い濃度で検出された。また、Azithromycin、Bezafibrate、Clarithromycin、Ibuprofen、Levofloxacin の濃度は、12 月と 1 月の調査において、他の調査回よりも高い濃度で検出されており、冬季において河川水中濃度が高い傾向を示した。Ketoprofen は流下とともに濃度が減少する傾向がみられた。

下水処理場からの放流水中の Azithromycin、Bezafibrate、Clarithromycin、Crotamiton、Ketoprofen、Levofloxacin の濃度は、全ての調査回において 100ng/L を超えて検出された。また、Azithromycin、Clarithromycin、Crotamiton、Levofloxacin の濃度は、12 月と 1 月の調査において、他の調査回よりも高い濃度で検出されており、冬季において濃度が高い傾向を示した。

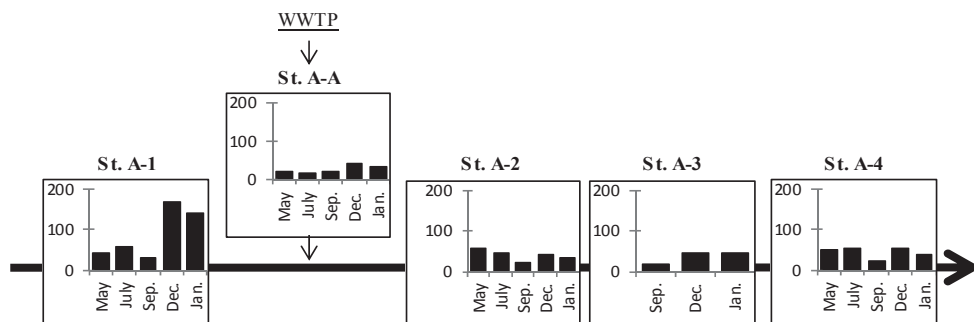
Azithromycin



Bezafibrate



Caffeine



Clarithromycin

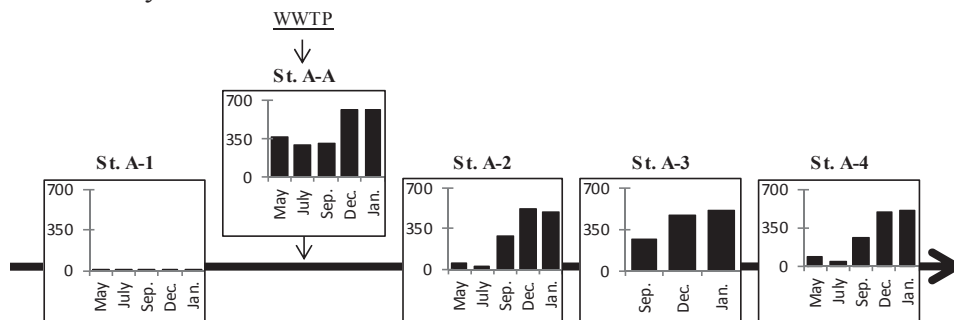
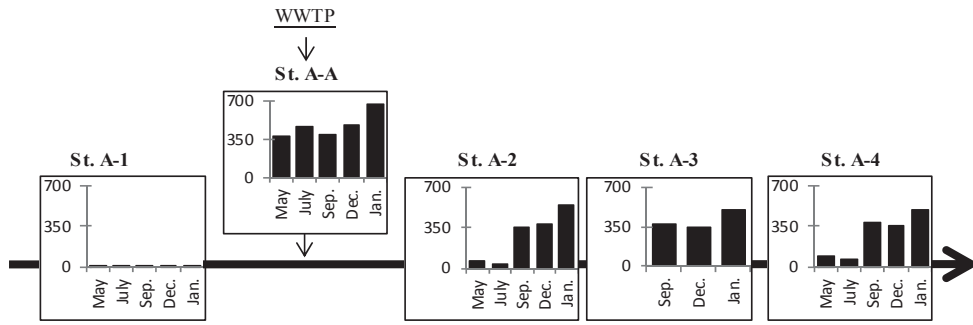
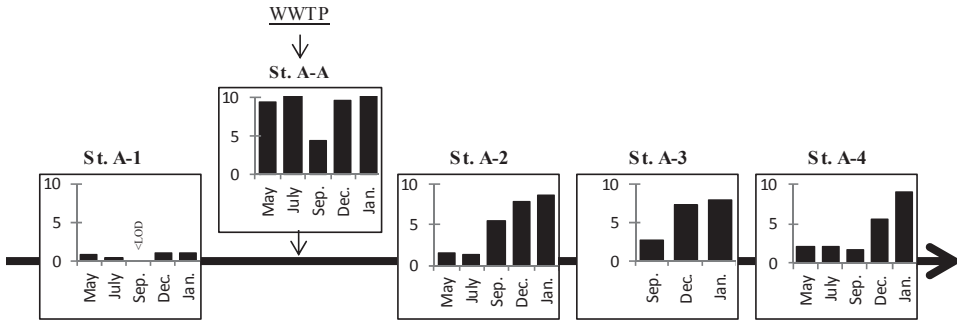


図-4 河川Aの調査地点における医薬品類濃度 (単位: ng/L)

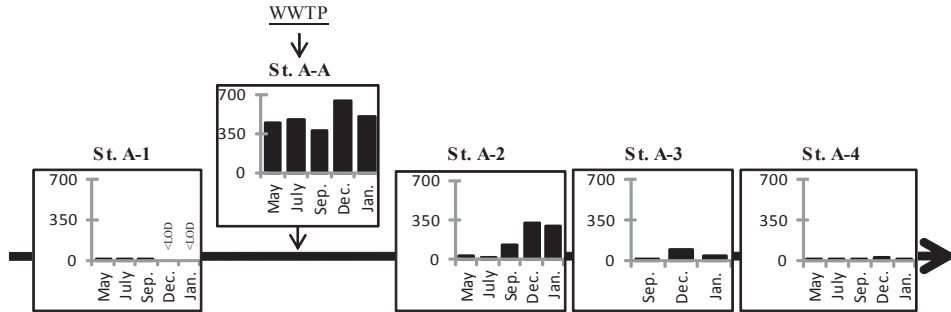
Crotamiton



Ibuprofen



Ketoprofen



Levofloxacin

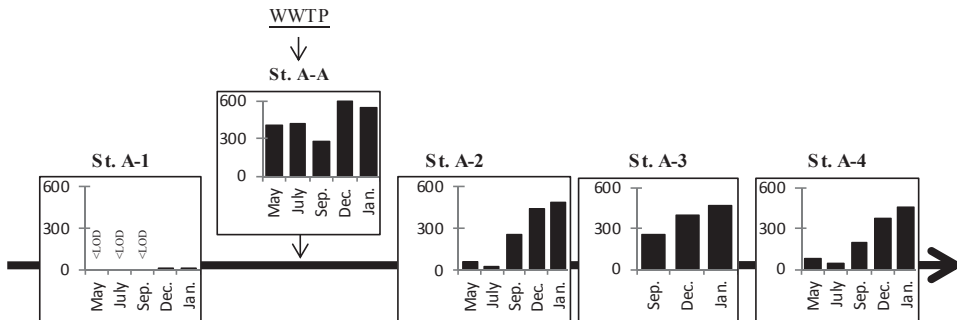
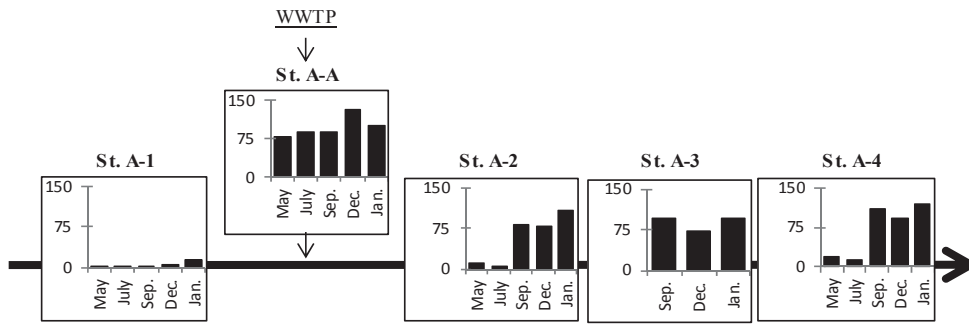


図-4 (続き) 河川 A の調査地点における医薬品類濃度 (単位: ng/L)

Sulfamethoxazole



Triclosan

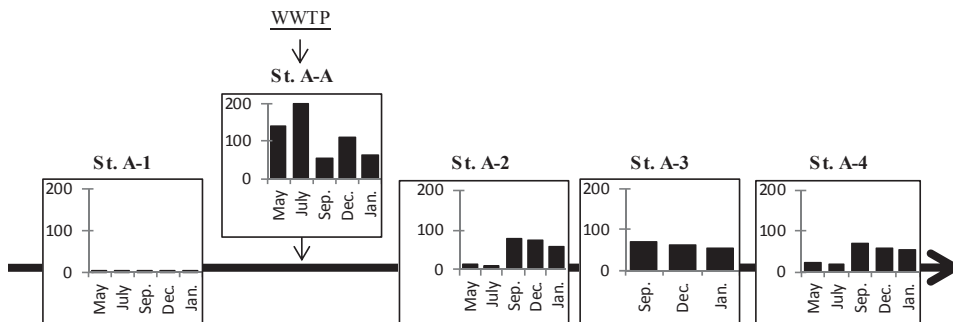


図-4 (続き) 河川Aの調査地点における医薬品類濃度 (単位: ng/L)

3. 2 流量

3. 2. 1 多摩川

多摩川流域の流量を図5に示す。St. T-3の流量の実測値は、夏季と冬季の調査において、流入合計の流量の約1.1倍であった。流量のずれは1割以下と小さかったため、本研究では流量の補正を行わないこととした。

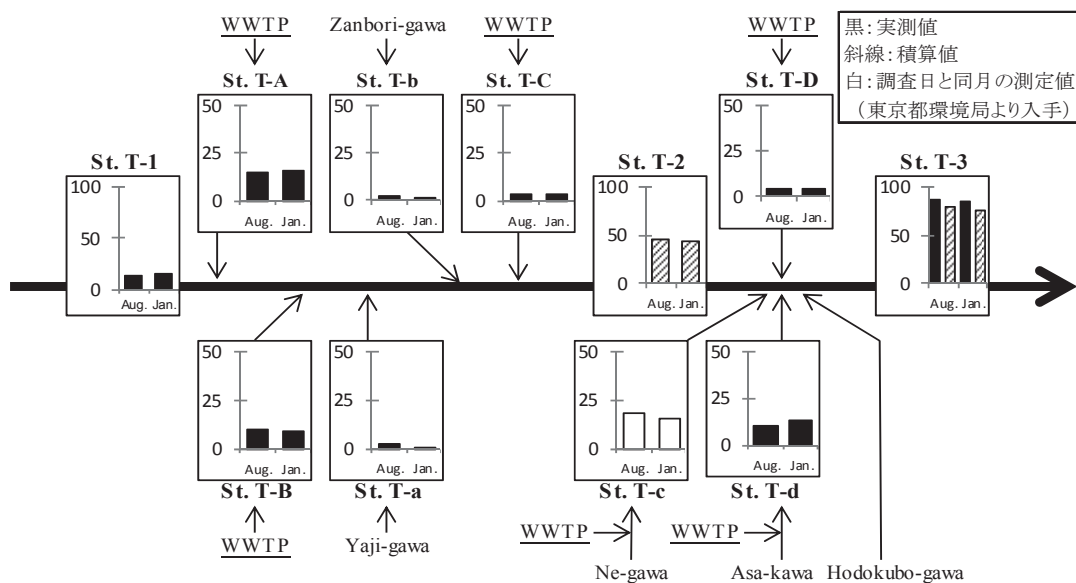


図-5 多摩川流域の調査地点ごとの流量 (単位: $\times 10^4 \text{ m}^3/\text{Day}$)

3. 2. 2 河川 A

調査日における放流口の下流にある河川地点での流量の実測値と放流量および河川上流の地点地点での流量の推定値を図 6 に示す。放流口から下流の測定地点では、5 月と 7 月の流量は他の調査回に比べて多かった。これらの時期の下水処理場からの放流量は、河川の流量に比べて少なく、5 月と 7 月における放流口から下流の測定地点における流量は、上流からの流入に大きく由来していると考えられる。5 月と 7 月では、下水処理水が上流の河川水により大幅に希釈されることで、Caffeine 以外の医薬品類 9 物質は放流口から下流にある河川調査地点において、低い濃度で検出されたことが考えられる。

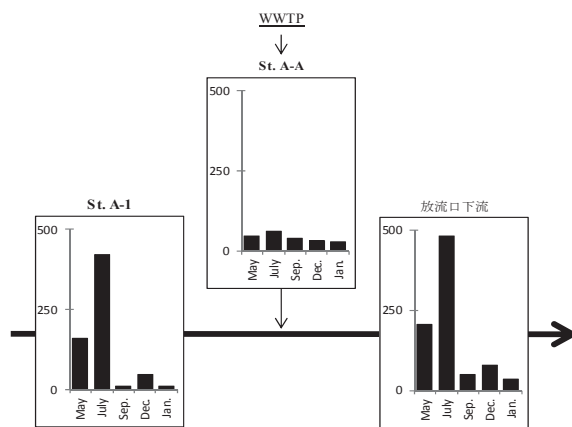


図 - 6 河川 A の流量 (単位 : $\times 10^3 \text{ m}^3/\text{Day}$)

3. 3 負荷量

3. 3. 1 多摩川

図 7 に多摩川流域の調査地点における対象医薬品類 10 物質の負荷量を示す。生活系・事業系排水の流入が少ない多摩川本川や支川に比べて、処理場からの放流水や下水処理水の流入する多摩川本川および支川において、Caffeine 以外の医薬品類 9 物質の負荷量の推計値は高かった。多摩川本川の調査地点 St. T-2 または St. T-3 において、Azithromycin、Caffeine、Clarithromycin、Crotamiton、Levofloxacin は、夏季または冬季のいずれかにおいて高い負荷量を示した。また、St. T-2 と St. T-3 では、Azithromycin、Bezafibrate、Clarithromycin、Crotamiton、Ibuprofen、Levofloxacin、Triclosan の負荷量は夏季よりも冬季で高い傾向を示した。処理場からの放流水による Caffeine の負荷量は他の医薬品類に比べて低かった。Caffeine は下水処理場での処理により除去されることが報告されており⁷⁾、放流口からの Caffeine の負荷量は、下水処理場での除去により低くなったことが考えられる。

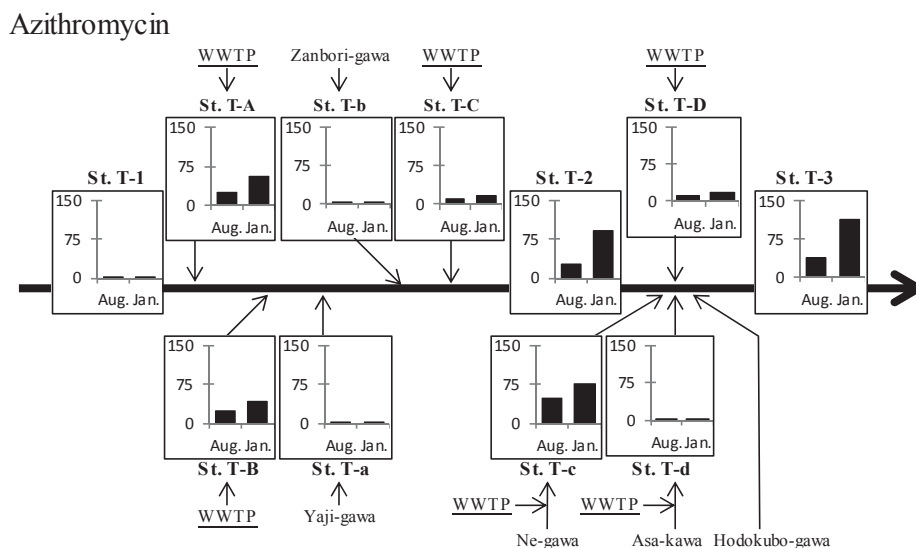
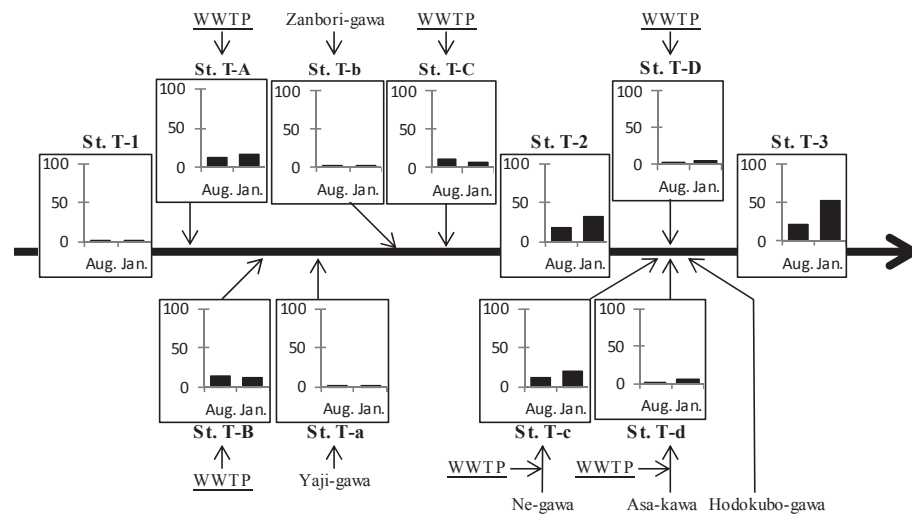
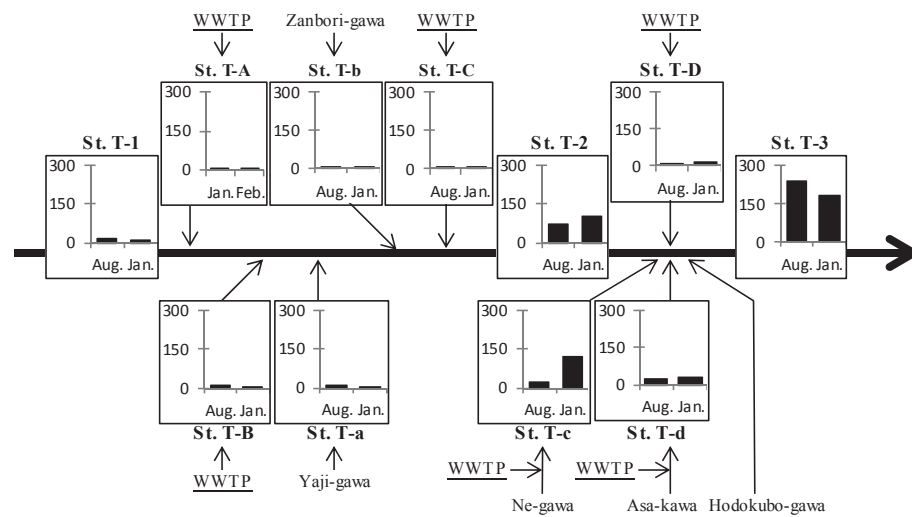


図 - 7 多摩川流域の調査地点ごとの医薬品類の負荷量 (単位 : g/Day)

Bezafibrate



Caffeine



Clarithromycin

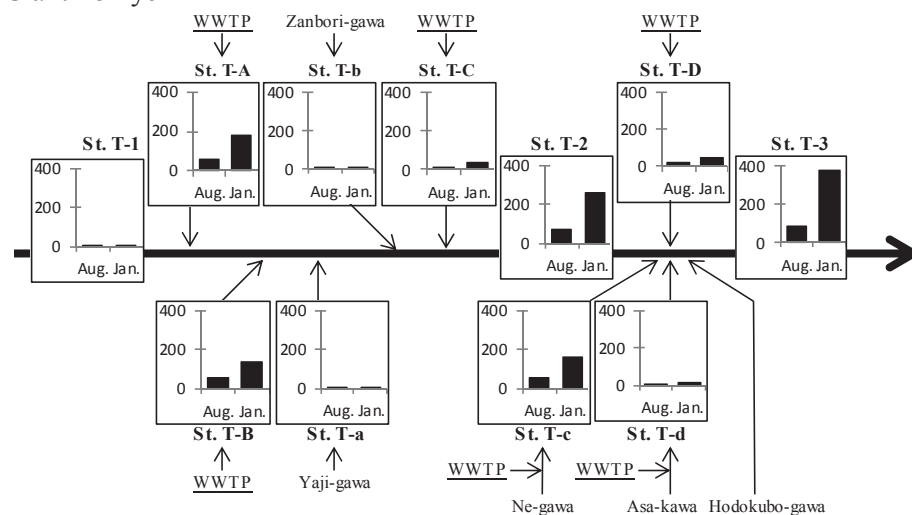
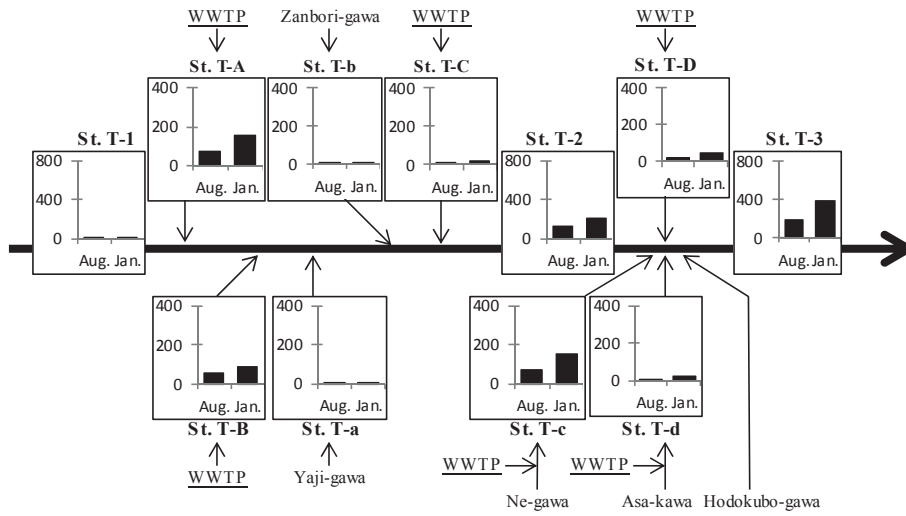
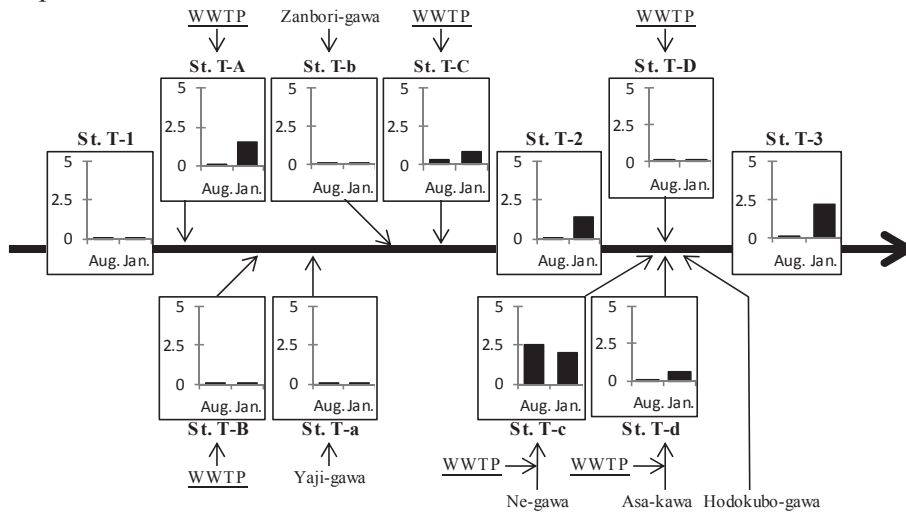


図-7 (続き) 多摩川流域の調査地点ごとの医薬品類の負荷量 (単位: g/Day)

Crotamiton



Ibuprofen



Ketoprofen

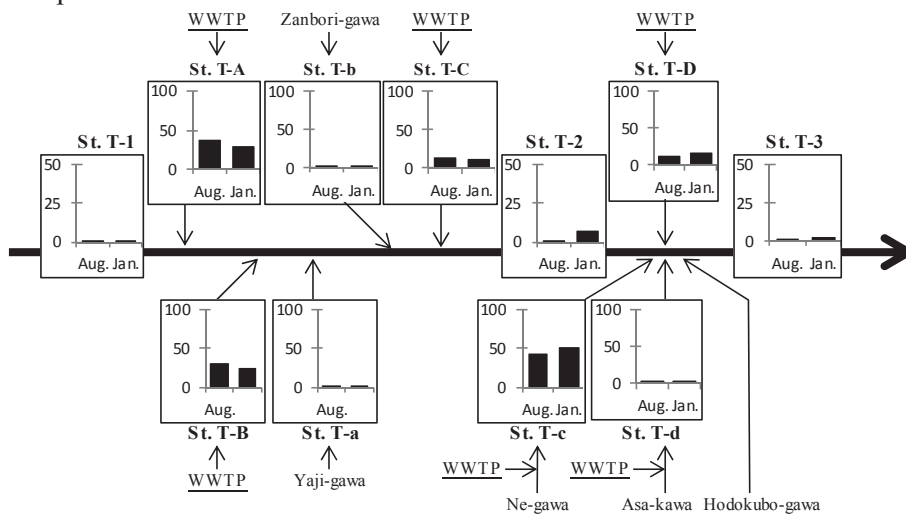
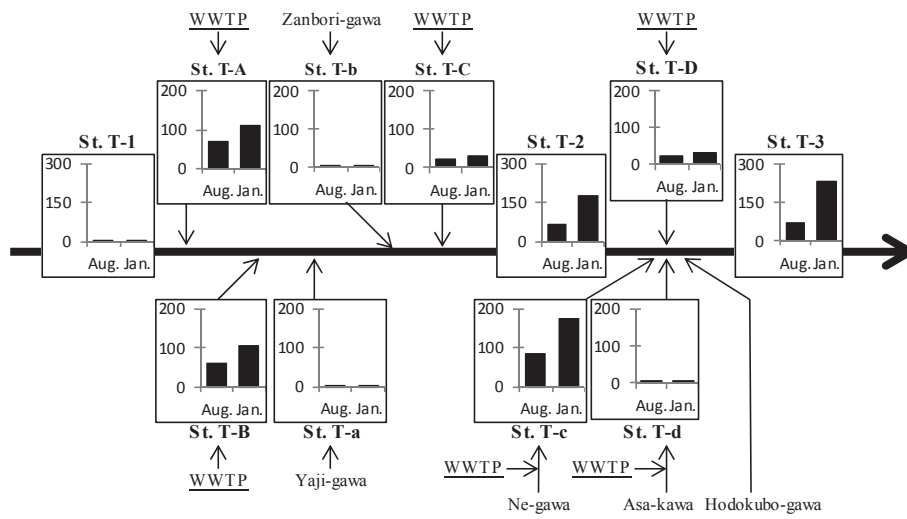
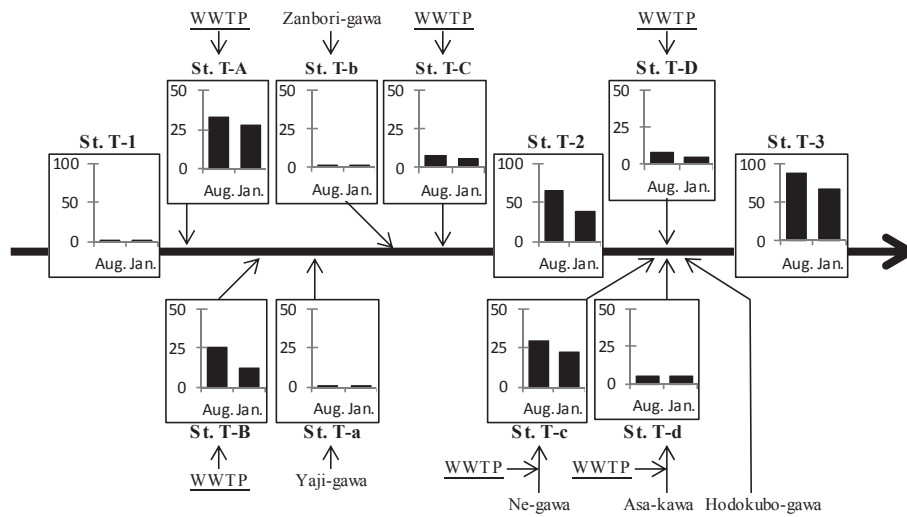


図-7 (続き) 多摩川流域の調査地点ごとの医薬品類の負荷量 (単位: g/Day)

Levofloxacin



Sulfamethoxazole



Triclosan

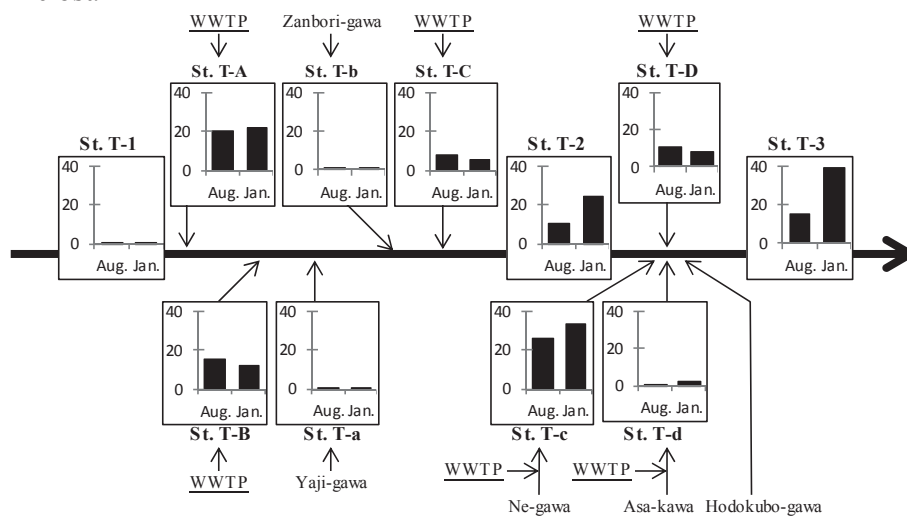


図-7 (続き) 多摩川流域の調査地点ごとの医薬品類の負荷量 (単位: g/Day)

3. 3. 2 河川 A

調査地点ごとの医薬品類 10 種類の負荷量を図 8 に示す。河川上流の調査地点 St. A-1 に比べ、放流口および河川下流の調査地点 St. A-2-A-4 において Caffeine 以外の医薬品類 9 種類の負荷量は比較的高く推計された。Clarithromycin、Crotamiton、Ketoprofen、Levofloxacin は下水処理場の放流口において、全ての調査回で 10g/Day を超える負荷量を示した。下水処理場の放流口下流にある河川調査地点における 5 月と 7 月の Caffeine の負荷量は、上流からの流入に由来することが確認できる。また、下水処理場の放流口下流にある河川調査地点において、Ketoprofen の負荷量は、流下過程に伴って減少する傾向を示した。

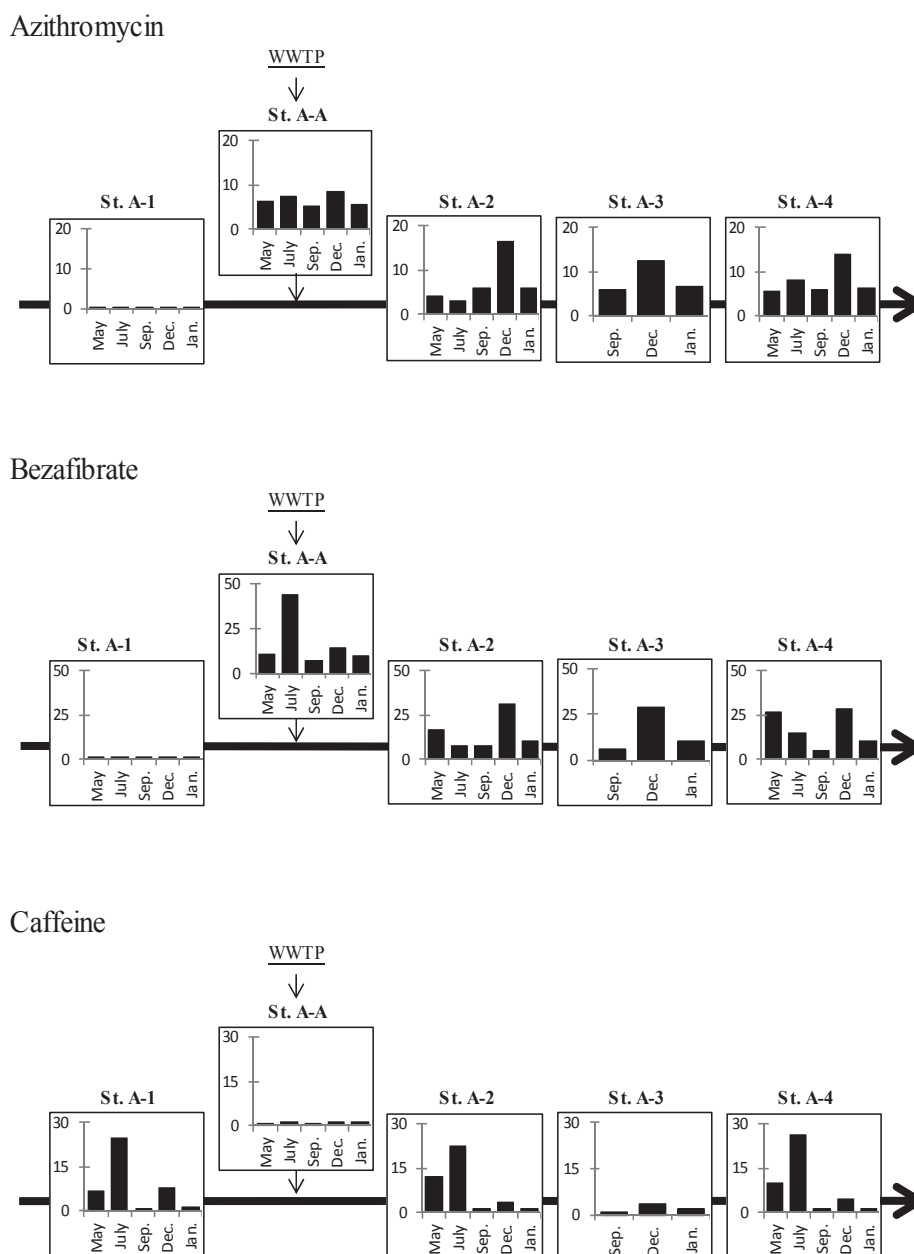
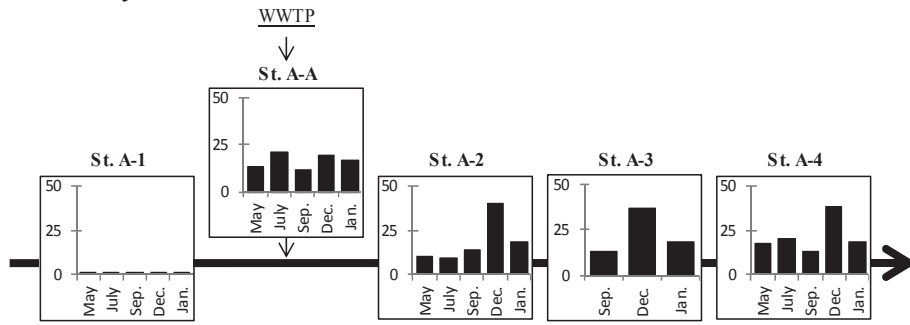
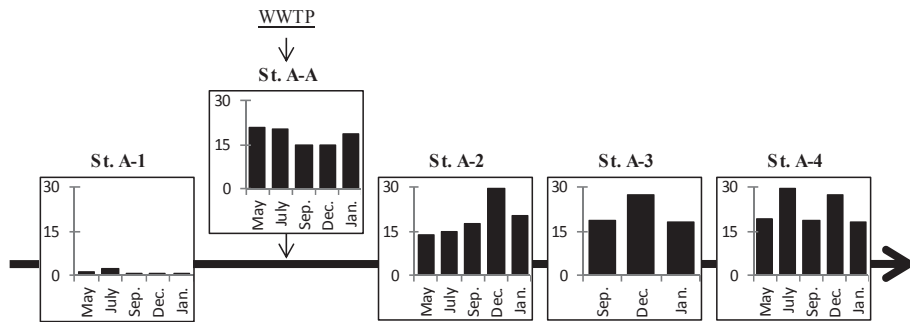


図- 8 河川 A の調査地点ごとの医薬品類の負荷量 (単位 : g/Day)

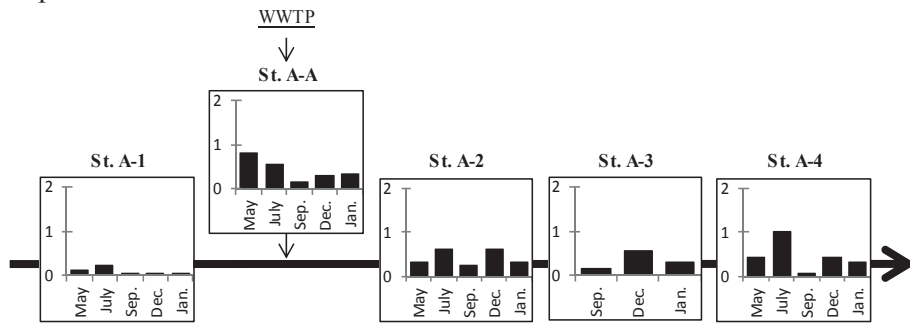
Clarithromycin



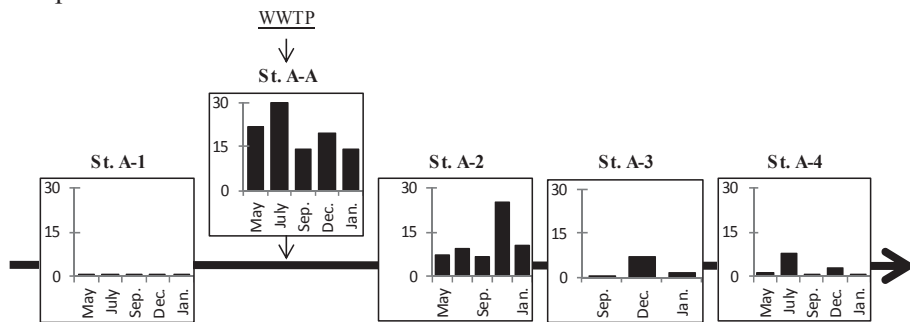
Crotamiton



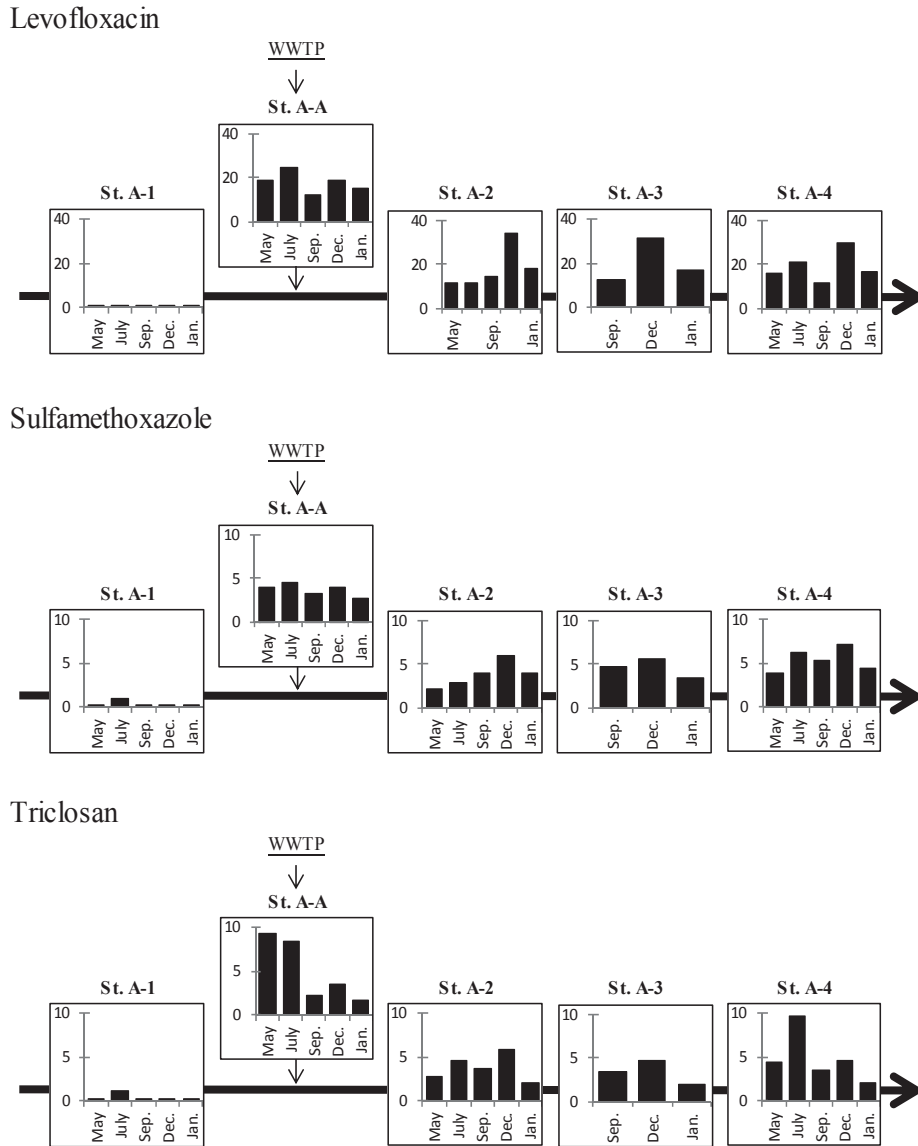
Ibuprofen



Ketoprofen



図一 8 (続き) 河川 A の調査地点ごとの医薬品類の負荷量 (単位: g/Day)



図－ 8 （続き）河川 A の調査地点ごとの医薬品類の負荷量（単位：g/Day）

3. 4 浄化残率

3. 4. 1 多摩川

図 9 に多摩川本川 St. T-2 と St. T-3 の浄化残率を示す。夏季と冬季の浄化残率の平均値は、値の高い医薬品から、Caffeine、Sulfamethoxazole、Crotamiton、Bezafibrate、Clarithromycin、Azithromycin、Levofloxacin、Triclosan、Ibuprofen、Ketoprofen の順になった。St. T-2 における夏季と冬季、および St. T-3 における夏季の Caffeine の浄化残率は 100%を超える値を示した。これは、基準地点での負荷量が予測流入負荷量を上回ったことを示しており、その原因の 1 つとして、調査していない流入源が存在することが考えられる。また、Azithromycin、Bezafibrate、Clarithromycin、Ibuprofen、Ketoprofen、Levofloxacin、Triclosan の夏季における浄化残率は冬季の浄化残率よりも低くなる傾向が示され、これらの物質の夏季の流達性は冬季よりも低いことが示された。今後、季節や医薬品類の間で流達性に違いをもたらす要因を明らかにする必要がある。

Ketoprofen の浄化残率は他の医薬品類に比べ低く、この物質の流達性は低いことが示された。Ketoprofen は高い光分解性を有することが報告されていることから⁸⁾、下水処理水中に残留していた Ketoprofen は河川中において速やかに分解または除去されたと考えられる。

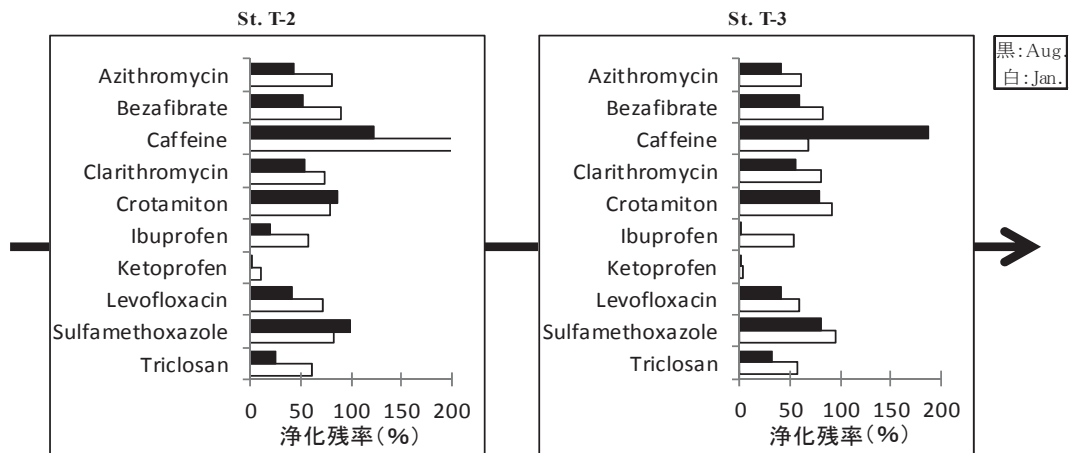


図 - 9 多摩川 St. T-2 と St. T-3 での浄化残率

3. 4. 2 河川 A

図 10 に河川下流の調査地点 St. A-2、St. A-3、St. A-4 における医薬品類 10 物質の浄化残率を示す。St. A-2 において、Caffeine を除く医薬品類 9 物質の浄化残率がいずれかの調査回で 100%を超えた。この調査地点では、上流の河川水と下水処理水が十分に混合しておらず、下水処理水に偏ったサンプル水を採取・分析したことにより、この地点での負荷量を過大に推定した可能性がある。そのため、今後、St. A-2 において、河川水と放流水が十分混合しているかどうかを確認する必要がある。

調査地点 St. A-3 と A-4 において Ketoprofen 以外の医薬品類は高い浄化残率を示した。多摩川本川の結果と比較すると、医薬品類の流達性は総じて高く、今後、河川間での流達性の違いに関係する要因を明らかにする必要がある。また、Ketoprofen は、多摩川の結果と同様に低い浄化残率を示し、下水処理水中に残留していた Ketoprofen は河川中において速やかに分解または除去されたと考えられる。

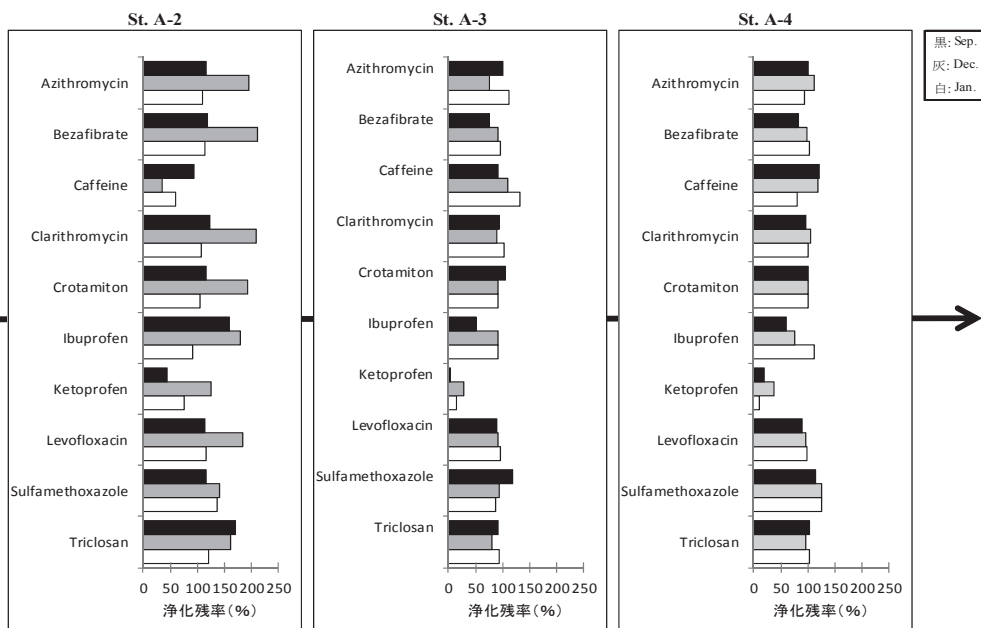


図 - 10 河川 A の St. A-2、St. A-3、St. A-4 での浄化残率

4. まとめ

本研究では、多摩川流域及び一般的な下水処理場からの放流水が流入する河川（河川 A）を対象として、流下過程における未規制物質の濃度と負荷量の変化および物質収支を検討した。その結果、以下のことが分かった。

- 1) 医薬品類の濃度と負荷量は、河川、調査地点、調査時期、対象とする医薬品類により異なっていた。
- 2) 物質収支を把握するために、浄化残率を推計したところ、河川、調査時期、対象とする医薬品類により浄化残率が異なっていた。

今後、さらに時空間的な濃度や負荷量の挙動などの詳細な調査を行うとともに、室内実験などによる物性データの収集を進めることで、未規制化学物質の流域スケールでの動態把握や生態リスク初期評価を進める予定である。

なお、本調査研究は、運営費交付金（一般勘定）により実施されたものである。

参考文献

- 1) 南山瑞彦 他：「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」、平成 22 年度下水道関係調査研究年次報告書集、土木研究所資料 No. 4212、pp. 239-265、2011 年 11 月
- 2) 国土交通省：「一級水系における流域等の面積、総人口、一般資産額等について」、http://www.mlit.go.jp/river/toukei_chousa/kasen/ryuiki.pdf (2013 年 4 月確認)
- 3) Nakada N、Tanishima T、Shinohara H、Kiri K、Takada H: “Pharmaceutical chemicals and endocrine disruptors in municipal wastewater in Tokyo and their removal during activated sludge treatment”, *Water Res.*, 40, pp. 3297-3303, 2006
- 4) 小西千絵 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 巻、pp. 73-82、2006 年
- 5) 建設省河川局 監修、日本河川協会編集：建設省河川砂防技術基準（案）同解説 調査編、技報堂出版、1997
- 6) 田中宏明：「水道水源河川における都市排水由来の医薬品の収支に関する研究」、平成 17 年度河川整備基金助成事業報告書、2006 年
- 7) 南山瑞彦 他：「下水道における微量化学物質の安全性評価に関する調査」、平成 22 年度下水道関係調査研究年次報告書集、土木研究所資料 No. 4212、pp. 225-238、2011 年 11 月
- 8) 花本征也 他：「水環境中における医薬品類の光分解に関する検討」、日本水環境学会年会講演集、45、pp. 535、2011 年

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：池田茂、小森行也、北村友一

【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 24 年度は、環境基準への追加が検討されている直鎖アルキルベンゼンスルホン酸（LAS）を優先的に調査が必要な化学物質として選定し、その分析方法の検討と活性汚泥処理実験プラントを用い下水処理プロセスにおける LAS の除去特性調査を行った。

キーワード：医薬品、PRTR、分析方法、LAS、LC-MS/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 24 年度は、年度当初環境基準への追加が検討されていた直鎖アルキルベンゼンスルホン酸（LAS）を優先的に調査が必要な化学物質として選定し、その分析方法の検討と活性汚泥処理実験プラントを用い下水処理プロセスにおける LAS の除去特性調査を行った。なお、LAS は H25 年 3 月 27 日環境基準に追加された。

2. 直鎖アルキルベンゼンスルホン酸の分析

直鎖アルキルベンゼンスルホン酸（LAS）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た物質である。平成 24 年 10 月 16 日～11 月 15 日までの間、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸及びその塩（LAS）などについて、「水生生物の保全に係る水質環境基準の項目追加等について」（第 2 次報告案）に対する意見の募集（パブリックコメント）が実施される等、項目追加に向けて具体的な検討がなされ、平成 25 年 3 月 27 日に環境基準に追加された。

LAS は、ベンゼン環に直鎖のアルキル基

(-C_nH_{2n+1}) が結合した直鎖アルキルベンゼンにスルホ基 (-SO₃H) が結合した化合物である。このうち環境基準項目追加が検討されている LAS は、デシルベンゼンスルホン酸ナトリウム(LAS-C10)、ウンデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム(LAS-C11)、ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム(LAS-C12)、トリデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム(LAS-C13)、テトラデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム(LAS-C14)の5物質である。本研究において優先的に調査が必要な化学物質としてこれらの LAS (LAS-C10、LAS-C11、LAS-C12、LAS-C13、LAS-C14) 5物質を選定し分析法の検討を行った。

2. 1 分析方法

LAS の分析は、環境省の要調査項目等調査マニュアル¹⁾の他、佐来ら²⁾、Garcia ら³⁾の方法を参考とし、図-1 に示す分析フローに従った。

各試料は、ガラス繊維ろ紙 (1 μm) でろ過を行い、ろ液とろ紙上残渣 (SS) に分け、ろ液はそのまま固相カートリッジ (Oasis HLB) による抽出を行い、カートリッジからメタノールで溶出させたものを定容して抽出液とした。その抽出液の全量もしくは一部を分取して、必要に応じて精製 (Oasis WAX) を行った後、濃縮・定容したものを LC/MS/MS 測定溶液とした。

SS はメタノールによる超音波抽出液を定容して抽出液とした。その全量もしくは一部を分取して濃縮後、水で希釈し固相カートリッジ (Oasis HLB) に通液し、精製操作を行った。そのカートリッジからのメタノール抽出液を濃縮し、必要に応じて精製 (Oasis WAX)

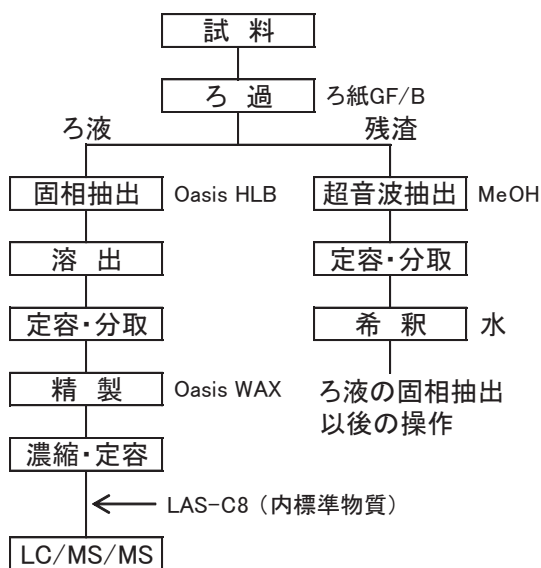


図-1 LAS 分析フロー

を行い、濃縮・定容したものを LC/MS/MS 測定溶液とした。

測定は、各検体をオートサンプラーによって液体クロマトグラフ質量分析計 (LC/MS/MS) に導入した。測定条件を、表-1 に示す。測定においては適宜、検体間に適切な溶液 (メタノール等) を測定する等により、検体間のクロスコンタミネーション (対象物質の次検体への持ち越し) を防いだ。

表-1 LC/MS/MS 測定条件

機器名	液体クロマトグラフ 島津製作所製 Prominence 質量分析計 AB SCIEX製 トリプル四重極型質量分析計 API3200	
カラム	化学物質評価研究機構製 L-column2 ODS 内径2.1 mm×長さ150 mm、粒子径3 μm	
カラム温度	40 °C	
移動相	ポンプA: 50 mmol/L 硝酸アンモニウム水溶液 (0.1% 硝酸含有) ¹⁾ ポンプB: アセトニトリル 0 min A: B=60: 40 0→12 min A: 60→20 B: 40→80 12→15 min A: B=20: 80 15→16 min A: 20→5 B: 80→95 16→26 min A: B=5: 95 26→27 min A: 5→40 B: 95→60 27→33 min A: B=40: 60	
流量	0.2 mL/min	
試料注入量	5 μL	
イオン化法	ESI (エレクトロスプレーイオン化法)	
検出器モード	MRM (Multiple Reaction Monitoring)	
	LAS-C10	297 > 183
	LAS-C11	311 > 183
モニター イオン	LAS-C12	325 > 183
	LAS-C13	339 > 183
	LAS-C14	353 > 183
	LAS-C8 (内標準物質)	269 > 170

1) 50 mmol/L 相当の硝酸アンモニウムを 0.1% 硝酸水溶液に溶解して調製

同定・定量は、標準物質と同じ保持時間に検出されるピークを LAS として同定し、内標準法により定量を行った。横軸に対象物質と内標準物質 (LAS-C8) との濃度比、縦軸に対象物質と内標準物質との面積値の比をとり、検量線 (直線近似式) を求めて、この検量線に測定検体中の対象物質と内標準物質との面積比を代入して求められる対象物質と内標準物質との濃度比から、LC/MS/MS 測定試料中の濃度を算出した。さらに試料量と最終液量の関係から実際の環境試料中濃度を求め、操作ブランクが検出された場合は差し引いて定量値とした。

2. 2 分析精度

検出下限値は、検量線作成用標準溶液の最低濃度を 5 回繰り返し測定し、得られた測定値の標準偏差の 3 倍を装置の検出下限値 (IDL)、10 倍を装置の定量下限値 (IQL) とした。試料量、抽出液量、分取量、最終液量から測定試料の試料中濃度に換算した値を表-2、表-3 に示す。また、添加回収試験の結果を表-4 に示す。

表-2 ろ液試料のIDLおよびIQL

		LAS				
		C10	C11	C12	C13	C14
流入下水 (ろ液)	IDL	0.40	0.20	0.22	0.23	0.19
	IQL	1.3	0.65	0.75	0.78	0.64
放流水 (ろ液)	IDL	0.002	0.001	0.001	0.001	0.001
	IQL	0.007	0.003	0.004	0.004	0.003
汚泥 (ろ液)	IDL	0.008	0.004	0.005	0.005	0.004
	IQL	0.027	0.013	0.015	0.016	0.013

単位：μg/L

表-3 SS 試料のIDLおよびIQL

		LAS				
		C10	C11	C12	C13	C14
流入下水 (SS)	IDL	0.80	0.39	0.45	0.47	0.38
	IQL	2.7	1.3	1.5	1.6	1.3
放流水 (SS)	IDL	4.0	2.0	2.2	2.3	1.9
	IQL	13	6.5	7.5	7.8	6.4
汚泥 (SS)	IDL	0.080	0.039	0.045	0.047	0.038
	IQL	0.27	0.13	0.15	0.16	0.13

単位：μg/g-dry

表-4 添加回収率(%)

		LAS				
		C10	C11	C12	C13	C14
流入下水	ろ液	91.2	84.4	83.0	81.6	73.2
	SS	85.6	105	92.1	86.9	86.8
返送汚泥	ろ液	81.9	82.3	78.7	77.3	73.6
	SS	93.0	88.7	94.3	100	95.8

各 LAS の IDL は、ろ液試料では流入下水 0.19～0.40μg/L、放流水 0.001～0.002μg/L、汚泥 0.004～0.008μg/L であった。SS 試料では流入下水 0.38～0.80μg/g-dry、放流水 1.9～4.0μg/g-dry、汚泥 0.038～0.080μg/g-dry であった。また、流入下水と返送汚泥を用いて行った添加回収試験の結果、流入下水のろ液では 81.6～91.2%、SS では 85.6～105%、返送汚泥のろ液では 73.6～82.3%、SS では 88.7～100%であった。

本分析方法は下水試料の LAS 分析に十分適用可能と判断された。

3. 直鎖アルキルベンゼンスルホン酸の下水処理における除去特性

3.1 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) と塩素混和槽 (0.1m³)、生汚泥貯留槽 (0.15m³)、余剰汚泥貯留槽 (0.15m³) で構成される活性汚泥処理実験装置を用いて行った。実下水処理場の流入水をピットに受けた後、定量ポンプを用いて装置に導入した。生汚泥、余剰汚泥の引抜はタイマーコントロールによる間欠運転で行った。また、次亜塩素酸ナトリウム溶液を定量ポンプにより塩素混和槽に注

入した。

分析試料の採取は、実験装置の運転開始から約 4 ヶ月が経過した平成 25 年 2 月に行った。2 時間間隔で採取した各試料を等量混合し分析試料とした。LAS は前述した方法により分析した。本装置は、流入量 6m³/d、汚泥返送率約 30%、HRT 約 8 時間、SRT 約 16 日で運転した。下水試験方法 4) に従い分析した一般水質項目の分析結果(実験装置の運転管理状況)を表-5 に示す。二次処理水の BOD、COD、SS 濃度はそれぞれ 5.6mg/L、9.4mg/L、5.7mg/L で、これらの除去率は 96%、87%、96%であった。これらの値は、標準活性汚泥法の実下水処理場と同等であり、本装置の処理水質は実際の下水処理場と同レベルであった。

3.2 調査結果

分析対象とした LAS の各水処理工程及び汚泥の濃度を図-2 に示す。流入下水の各 LAS 濃度 (C10、C11、C12、C13、C14) は、230μg/L、840μg/L、610μg/L、420μg/L、1.7μg/L の合計約 2,100μg/L であった。初沈流出水の各 LAS 濃度は、230μg/L、840μg/L、640μg/L、330μg/L、2.1μg/L の合計約 2,040μg/L で流入下水とほぼ同じ値であり、約 2 時間の沈殿処理では除去されないことがわかった。また、流入下水と初沈流出水の各 LAS の濃度比もほぼ同じであることから殆ど分解していないものと考えられる。AT 内の各 LAS 濃度は、AT1 では 52μg/L、210μg/L、210μg/L、240μg/L、1.7μg/L の合計約 710μg/L となり、初沈流出水の濃度に対し大きく減少していた。AT2 では、7.8μg/L、51μg/L、80μg/L、94μg/L、0.3μg/L の合計約 230μg/L、AT3 では、3.5μg/L、22μg/L、39μg/L、48μg/L、0.3μg/L の合計約 110μg/L、AT4 では、3.4μg/L、22μg/L、38μg/L、62μg/L、0.5μg/L の合計約 130μg/L となった。

LAS はバッキ時間約 2 時間の AT1 内において大きく減少し、流入下水、初沈流出水の濃度の 1/20 以下となった。二次処理水の各 LAS 濃度は、0.1μg/L、0.1μg/L、0.1μg/L、0.1μg/L、ND の合計約 0.4μg/L であった。放流水の各 LAS 濃度は、0.1μg/L、0.1μg/L、0.1μg/L、0.05μg/L、ND の合計約 0.4μg/L で二次処理水とほぼ同じ値であり、滞留時間が約 30 分の塩素混和槽内では殆ど変化しないことがわかった。

また、生汚泥の各 LAS 濃度は、290μg/L、780μg/L、1,070μg/L、1,150μg/L、12μg/L の合計約 3,300μg/L で流入下水、初沈流出水の濃度に近い値であった。余剰汚泥の各 LAS 濃度は、16μg/L、96μg/L、150μg/L、220μg/L、1.6μg/L の合計約 480μg/L であった。返送汚泥の各 LAS 濃度は、10μg/L、67μg/L、110μg/L、

180 $\mu\text{g/L}$ 、1.4 $\mu\text{g/L}$ の合計約 370 $\mu\text{g/L}$ で余剰汚泥とほぼ同じ値であった。

次に、活性汚泥処理プロセスにおける LAS 負荷量の挙動を図-3 に示す。また、流入水中の LAS (ろ液+SS) 負荷量を 100%とした各処理工程、各汚泥における負荷割合を括弧内に示した。流入水と初沈流出水の LAS 負荷量は、ほぼ同じ値であり、最初沈殿池における LAS の除去はみられないが、AT1 で 49%、AT2 で 16%、AT3 で 8%、AT4 で 9%と処理が進むに従い大きく減少

した。二次処理水、放流水では 0.01%、0.01%となり活性汚泥処理により 99%以上が除去されることがわかった。

活性汚泥処理における LAS 負荷量の挙動より、流入負荷量に対する排出負荷量 (放流水、生汚泥、余剰汚泥) の合計は 2.6%であった。残りの 97.4%は活性汚泥処理により分解・除去されたものと考えられる。

表-5 活性汚泥処理実験装置の運転管理状況

	流入下水	初沈流出水	エアタン(AT4)	二次処理水	放流水
水温 [°C]	19.6 (14.4-25.6)	19.2 (15.2-26.2)	18.2 (13.4-26.8)	18.0 (12.9-26.8)	17.8 (12.7-26.8)
pH [-]	6.8-7.3	6.7-7.2	6.4-6.7	6.4-7.0	6.4-6.9
BOD [mg/L]	150 (87-240)	94 (79-130)	—	5.6 (1.8-9.7)	3.4 (1.3-8.9)
COD [mg/L]	75 (40-100)	45 (34-63)	—	9.4 (6.4-13)	9.4 (7.1-12)
DOC [mg/L]	34 (26-52)	31 (25-46)	—	6.6 (5.6-7.8)	6.5 (5.4-8.0)
SS・MLSS [mg/L]	140 (82-250)	70 (54-110)	2,000 (1,590-2,400)	5.7 (2.0-19)	4.5 (1.9-7.6)
残留塩素(Total) [mg/L]	—	—	—	—	0.45 (0.15-0.69)

上段: 平均値, 下段: 範囲

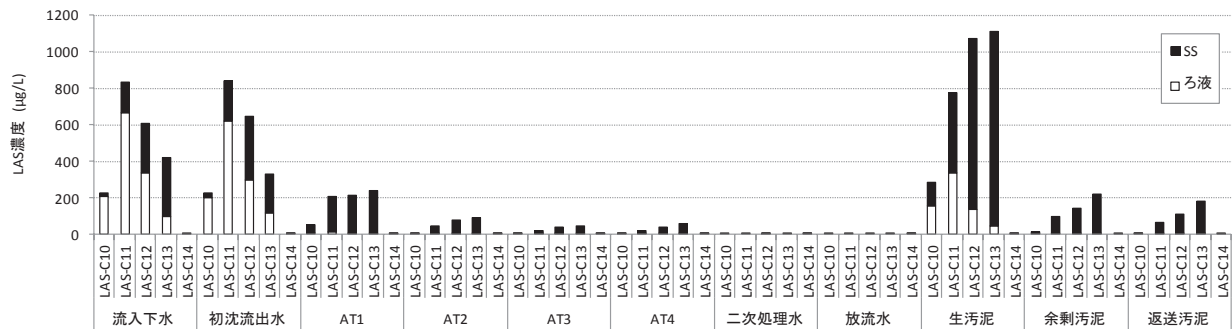


図-2 各水処理工程の LAS 分析結果

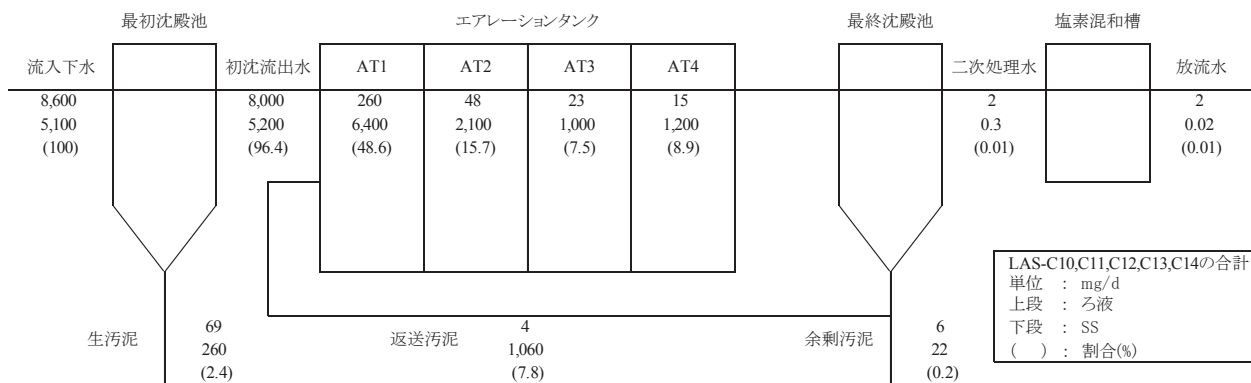


図-3 活性汚泥処理プロセスにおける LAS 負荷量の挙動

4. まとめ

環境基準への追加が検討されている直鎖アルキルベンゼンスルホン酸 (LAS) を優先的に調査が必要な化学物質として選定し、その分析方法の検討と活性汚泥処理実験プラントを用い下水処理プロセスにおける LAS の除去特性調査を行った。

LAS の分析方法は、試料をろ過しろ液と SS についてそれぞれ定量する方法とし、ろ液は固相抽出、SS は超音波抽出した後、濃縮・精製し LC/MS/MS により定量する方法を提案した。ろ液試料の検出下限値は流入下水 0.19~0.40 $\mu\text{g/L}$ 、放流水 0.001~0.002 $\mu\text{g/L}$ 、汚泥 0.004~0.008 $\mu\text{g/L}$ であった。SS 試料では流入下水 0.38~0.80 $\mu\text{g/g-dry}$ 、放流水 1.9~4.0 $\mu\text{g/g-dry}$ 、汚泥 0.038~0.080 $\mu\text{g/g-dry}$ であった。また、流入下水と返送汚泥を用いて行った添加回収試験の結果、流入下水のろ液では 81.6~91.2%、SS では 85.6~105%、返送汚泥のろ液では 73.6~82.3%、SS では 88.7~100%であり本分析方法は下水試料の LAS 分析に十分適用可能と判断された。

また、実下水を流入水とした活性汚泥処理実験を行い、活性汚泥処理プロセスにおける LAS の挙動・除去特性について以下の結果を得た。

① 流入水と初沈流出水の LAS 濃度はそれぞれ

2,100 $\mu\text{g/L}$ 、2,040 $\mu\text{g/L}$ とほぼ同じ値であり、最初沈殿池における LAS の除去はみられないが、エアレーションタンク内で大きく減少 (AT1 : 710 $\mu\text{g/L}$ 、AT2 : 230 $\mu\text{g/L}$ 、AT3 : 110 $\mu\text{g/L}$ 、AT4 : 130 $\mu\text{g/L}$) し、二次処理水、放流水では 1 $\mu\text{g/L}$ 以下であった。

② LAS の流入負荷量に対する排出負荷量 (放流水、生汚泥、余剰汚泥) の合計は 2.6%であった。残りの 97.4%は活性汚泥処理により分解・除去されたものと考えられる。

=参考文献=

- 1) 環境省要調査項目等調査マニュアル, 平成 22 年 10 月, 環境省水・大気環境局水環境課
- 2) 佐来栄治, 早川修二, 直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム(LAS)の LC/MS 分析と環境濃度について, 三重保環研年報第 6 号(通巻第 49 号), 65-70 (2004)
- 3) M.T. Garcia, E. Campos, J. Sanchez-Leal, I. Ribosa, Effect of linear alkylbenzene sulphonates (LAS) on the anaerobic digestion of sewage sludge, Water Research, 40, pp.2958-2964 (2006)
- 4) 下水試験方法・2012 年版, 日本下水道協会 (2012)

閉鎖性水域の貧酸素化に及ぼす陸域負荷の影響と対策手法に関する研究

研究予算：運営費交付金（一般勘定）

研究期間：平 21～平 24

担当チーム：水質チーム

研究担当者：池田 茂、鈴木 穰、南山瑞彦
小森行也、久岡夏樹、柴山慶行
中菌孝裕、秋元さおり

【要旨】

東京湾や伊勢湾等においては、汚濁負荷削減により水質は改善傾向にあるものの、底層の貧酸素化により底生生物の死滅などの被害が生じている。また、アオコの発生が減少している諏訪湖においても、底層の貧酸素化は長期化しているとの報告がある。現時点で、底層貧酸素化における酸素消費機構や、有機物負荷のうち陸域からの外部負荷と藻類発生による内部負荷の寄与度が明確ではないことから、効果的な対策の選定や対策実施による効果の評価が困難となっている。このため、底層における酸素消費機構と汚濁源ごとの酸素消費への寄与度を明らかにし、効果的な対策を提示することが求められている。底質性状の分析、底泥の酸素消費・溶出速度実験等を行い、水質改善事業の進む西浦と対照的な北浦を対比し、水質と底質の違いを明らかにするとともに、夏季の高水温期における栄養塩類と金属類の溶出が藻類増殖に及ぼす影響について最新の知見を得た。

キーワード：底泥間隙水、栄養塩類と金属類の溶出、底泥酸素消費速度、藻類増殖潜在能力

1. はじめに

東京湾や伊勢湾等においては、汚濁負荷削減により水質は改善傾向にあるものの、底層の貧酸素化により底生生物の死滅などの被害が生じている。また、アオコの発生が減少している諏訪湖においても、底層の貧酸素化は長期化しているとの報告がある。現時点で、底層貧酸素化における酸素消費機構や、有機物負荷のうち陸域からの外部負荷と藻類発生による内部負荷の寄与度が明確ではないことから、効果的な対策の選定や対策実施による効果の評価が困難となっている。このため、底層における酸素消費機構と汚濁源ごとの酸素消費への寄与度を明らかにし、効果的な対策を提示することが求められている。本研究においては、底層の酸素濃度、N・P濃度、微量必須元素濃度の分布を調査するとともに湖沼水の藻類（藍藻、緑藻）増殖能力を測定し水質と藻類増殖特性との関係、異なる酸素条件下において底泥からの栄養塩類の溶出速度を測定し、底質の性状と酸素条件が各物質の動態に与える影響を検討すると共に水質保全対策の違いによる底質の性状・酸素条件を把握し、浚渫等の水質改善事業が藻類増殖に与える影響の評価を行った。また、陸域汚染源から負荷される有機物や内部生産される藻類の酸素消費速度を評価するため、都市域の河川水、水田排水及び集

積培養した珪藻と霞ヶ浦で異常発生したアオコの酸素消費量の検討を行った。

2. 研究方法

2.1 底泥および湖水の採取

1) 調査地点

調査は霞ヶ浦の西浦（湖心、浚渫区）と北浦（釜谷沖）を対象として行った（図-1）。西浦（浚渫区）ではH18年度に浚渫を行っており、一方、西浦（湖心）や北浦（釜谷沖）は未浚渫の状態であり、更に北浦は下水道の普及率が低く、流域の負荷が高い状況である。



図-1 調査地点

2) 調査・試料の採取時期

霞ヶ浦の3地点について、現地観測と底泥・湖水の試料採取を行い、各種試験および分析を実施した。また、水質・底質が藻類の増殖に与える影響を把握するために、西浦（土浦出張所入り江）にて採取した天然アオコ（優占種藍藻：*Microcystis* sp.）株を試験に供した。

また、西浦の流入河川（桜川）と土浦港から湖心に向けての4地点（①～④）において金属類（Fe, Mn）の分布確認を行った（図-1）。

2.2 水質・底質の栄養塩類と金属類の分析方法

表層、中層、下層に切り分けた底泥は、遠心分離により間隙水を採取するとともに、強熱減量、窒素およびリン含有量、粒度分布を測定した。

分析用に採水した直上水および間隙水の試料は、GF/Bろ紙（保留粒子径：1.0 μ m）によるろ過を行った後、栄養塩自動分析装置（TRAACS2000型：ブラン・ルーベ社製）にてアンモニア性窒素（NH₄-N）、亜硝酸性窒素（NO₂-N）、硝酸性窒素（NO₃-N）、溶存態窒素（D-N）、オルトリン酸態リン（PO₄-P）、溶存態リン（D-P）の濃度を測定し、溶存態有機炭素（DOC）の分析には全有機炭素計（TOC5000型：島津製作所社製）を用いた。

また、栄養塩類と共に藻類増殖の必須微量元素である鉄（Fe）とマンガン（Mn）¹⁾についても、測定を行った。

2.3 底泥の酸素消費速度試験

霞ヶ浦では底泥浚渫や下水道整備等により、湖内の底質等に変化が生じており、現在の藻類増殖にも起因していることが考えられる。底質にもたらず改善効果を検討するため、各水域における底泥を用いた攪拌系による酸素消費速度試験を行った。

各地点および鉛直層毎の底質の特性を評価することを目的に、採取した底泥の深さ方向の詳細な酸化還元状態をORP計により測定するとともに、底泥を酸化層（0～0.2cm）、還元層（0.2～1cm, 1～2cm, 2～3cm, 3～4cm および 4～5cm）の5層に切り分け、攪拌系による酸素消費速度試験に供した。

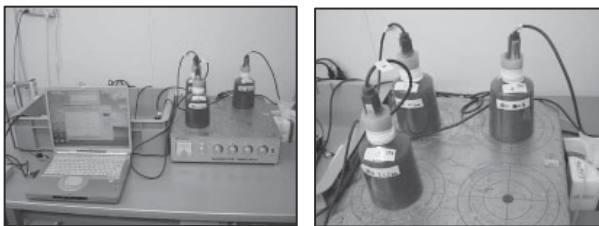


写真-1 底泥酸素消費速度試験

試験においては、まず、500mLの三角フラスコに底泥試料を各10g投入し、ろ過後Air曝気にて溶存酸素濃度を8mg/L以上の飽和状態にした各地点の底泥直上水を加えて満水（600mL）にした。その後、連続攪拌（400rpm）を行いながら、カラム内のDO濃度の連続測定を行い（写真-1）、酸素消費速度を算出した。

2.4 底泥溶出試験

現地にて簡易柱状採泥器により採取した試料を、底泥厚が15cmとなるように底泥量を調整した。試験水は別途採取した直上水をGF/B（1.0 μ m）にてろ過後（Mn：200 μ L添加）、底泥表面を乱さないよう底泥上30cmまでサイホンにて注入し、20 $^{\circ}$ Cの恒温室（暗条件）にてAir曝気による好気条件（DO：8mg/L以上）とN₂曝気による低酸素条件（DO：1mg/L以下）で溶出試験を行った。分析用に採取した試料はNH₄-N、NO₂-N、NO₃-N、T-N、PO₄-P及びT-Pの分析を行った。

2.5 藻類増殖潜在能力試験

1) 試験方法および条件

藻類増殖を助長する要因並びに阻害要因について検討するために藻類増殖潜在能力試験を実施し、各水域の底質性状（栄養塩類、金属類等）が藻類増殖に及ぼす影響の評価を行った。試験に用いた藻類は、西浦（土浦出張所入り江、図-1、写真-2）にて採取した天然アオコ（優占種 藍藻：*Microcystis* sp.）株とした。優占種である藍藻（*Microcystis* sp.）を顕微鏡観察にて単離、その後、単離培養を繰り返して増殖した株を試験に用いた。

試験においては、底泥溶出実験終了後20日目の各直上水を別途採取し（その水質を表-1に示す）、0.22 μ mのメンブレンフィルターにてろ過後、ろ液

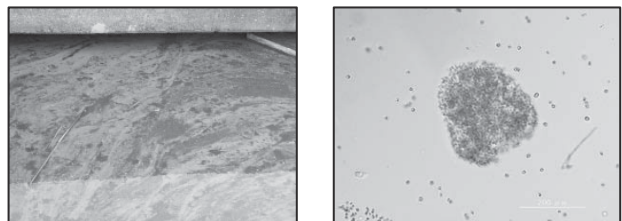


写真-2 アオコ発生状況（左）と優占藍藻：*Microcystis* sp.（右）（ $\times 200$ ）

表-1 藻類増殖試験（培養液水質）

試験水(溶出実験終了時)	NH ₄ -N mg/L	PO ₄ -P mg/L	NO ₃ -N mg/L	NO ₂ -N mg/L	D-P mg/L	D-N mg/L	DOC mg/L
湖心	0.39	0.13	2.93	0.12	0.18	4.19	8.38
	0.40	0.09	4.01	0.16	0.13	4.13	9.50
	1.17	0.53	2.38	0.06	0.54	4.62	17.59
浚渫区	1.54	1.19	0.59	1.04	1.25	3.85	9.88
	3.02	1.34	0.02	0.22	1.38	3.84	10.63
	0.72	1.54	0.67	3.27	1.54	5.31	11.72

各 50mL を三角フラスコ (100mL) 中に入れ、西浦から単離・培養した *Microcystis* sp. 株をクロロフィル a 濃度として 20 μ g/L を添加、藻類培養実験を開始した。藻類の培養試験条件を下記に示す。

藻類培養試験条件

照度：明暗条件：各 12 時間

温度：26 $^{\circ}$ C (アオコ発生時の現地水温)

照度：5000 Lux

培養期間：30 日間

静置：試験期間中は 1~2 日に一回、手振り又はミキサーにて各三角フラスコを混合した。

2) 分析方法

試料は試験期間中の 0, 3, 7, 15, 22 および 31 日目に各 4mL を採取し、直ちに 1.0 μ m のフィルターにてろ過を行い、そのろ紙をメタノールにて抽出、分析試料とした。

クロロフィル a は、HPLC-蛍光検出器を用いて定量分析を行った²⁾。測定条件を以下に示す。

使用機器:GL サイエンズ社 GL-7400, 設定条件:

- ① カラム :Inertsil ODS-3 3 \times 250mm (GL-サイエンズ)
- ② 移動相: メタノール:エタノール=8:2
- ③ 流量: 1mL/min
- ④ 蛍光波長: 励起波長 430nm, 測定波長 670nm
- ⑤ カラム温度: 40 $^{\circ}$ C
- ⑥ 注入量: 50 μ L
- ⑦ 分析時間: 15 分

クロロフィル a 標準品: Chlorophyll a, シグマアルドリッチ社 (No.6144-1MG)

また別途、緑藻: *Pseudokirchneriella subcapitata* を用いた藻類の増殖試験を行い、マイクロプレートリーダーによる吸光度を測定する方法³⁾により、最大増殖細胞数についても評価を行った。

藻類培養条件

照度：明暗条件：各 12 時間

温度：24 $^{\circ}$ C

照度：4000 Lux

培養期間：21 日間

2.6 排水及び藻類の酸素消費量測定

都市域の河川水、水田排水及び集積培養した珪藻を酸素消費量測定用瓶 500mL に採取し、クーロメータを用いて酸素消費量を測定した。クーロメータ内の温度は 20 $^{\circ}$ C とし、酸素消費量を 5 日間連続測定した。また、平成 23 年の夏に霞ヶ浦で異常発生したアオコの酸素消費量を測定した。土浦港に吹き寄せら

れたアオコを 9 月に採取し、遠心分離により集積した後、10 $^{\circ}$ C、20 $^{\circ}$ C、30 $^{\circ}$ C の温度条件下で保存した。約 6 ヶ月間経過した各アオコに霞ヶ浦底泥の上澄液数 mL を植種しクーロメータにより酸素消費量を測定した。

3. 研究結果

3.1 水質の季節変動

2008 年の 4 月から 2009 年の 3 月までの期間、月に 1 回、西浦 (湖心) と北浦 (釜谷沖) において、上層水 (水面より 50 cm 付近) と下層水 (底泥表面より 50cm の直上) の採取を行った後、水の分析は公定法に準拠し行った。試料採取時に現地観測を行った DO の季節変動と鉛直分布 (4 月から 11 月) を図-2 に示す。DO 濃度は、春季に濃度が高くなる傾向が西浦と北浦で確認された。水温が上昇する夏季には、北浦にて DO 濃度が上層水で高く、下層水で低くなる傾向が確認された。春季・夏季における表層付近の DO 上昇は藻類増殖とそれに伴う光合成によるものと考えられる。なお、今回の調査時には下層の DO 濃度は 5mg/L であったが、霞ヶ浦においては下層水の貧酸素化が報告されており⁴⁾、風浪等の気象条件により湖内の水温成層状況が異なると、貧酸素水塊の形成と消長が発生していると考えられる。

T-P, T-N, TOC, DOC の季節変動を図-3, クロロフィル a, D-COD, SS の季節変動を図-4 に示す。

T-P 濃度は西浦に比べ北浦が高い傾向を示した。T-N 濃度は西浦と北浦で近い傾向を示したが、北浦の 8 月が高い値を示した。また、北浦は上層よりも下層水の濃度が高い傾向が認められ、底泥からの溶出の影響と考えられる。

クロロフィル a 濃度は、春季から夏季までの間、西浦に比べ北浦が高い傾向を示した。春季のクロロフィル a 濃度が高い原因は、珪藻によると考えられ、7~9 月に高い傾向を示しているのは、夏季の優先種である藍藻類によると考えられる。クロロフィル a の他項目との相関に関しては、SS が北浦の上層において、TOC が西浦・北浦の上下層において相関が強く、D-COD についても相関性が見られた。

なお、西浦と北浦の夏季 (7~9 月) における T-N / T-P 比の平均は、西浦の上層: 14, 下層: 13, 北浦の上層: 7, 下層: 6 であり、北浦の T-N / T-P 比が西浦の 1/2 と低い傾向を示した。

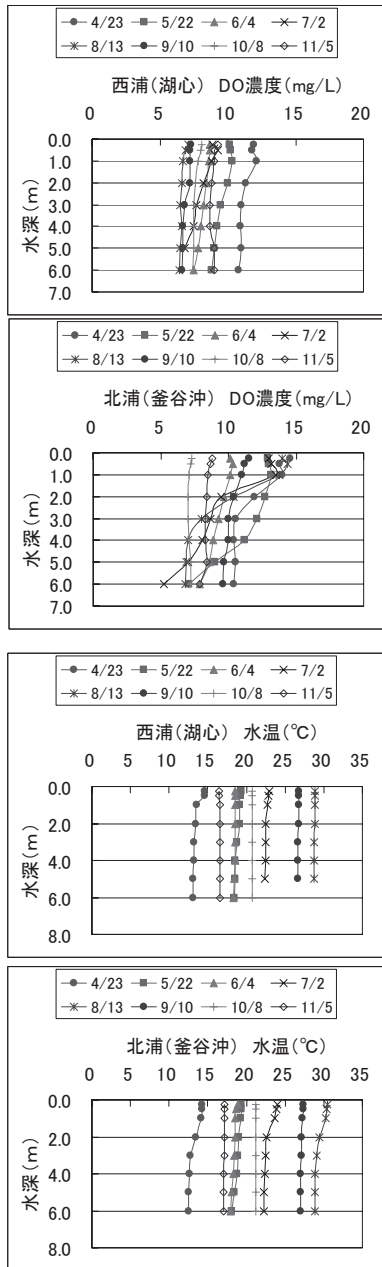


図-2 現地調査時における DO と水温の季節変動と鉛直分布（西浦と北浦）

水中の金属類（Totalと溶存態-Fe, Mn）の季節変化を図-5に示す。TotalのFeとMnは共に、下層の濃度が上層に比べ高く、更に西浦（湖心）より北浦（釜谷沖）の濃度が高い傾向を示した。溶存態のMnについては、北浦において上層より下層が高い傾向を示しており、Total-MnやFeが下層で高い理由として底泥からのMn溶出の影響と推察される。なお、定期調査の試料の採水は、霞ヶ浦河川事務所 の調査時に同時に行った。

流入河川（桜川）および湖水中のFe, Mn濃度の分布確認を行った結果を図-6に示す。水中の溶存

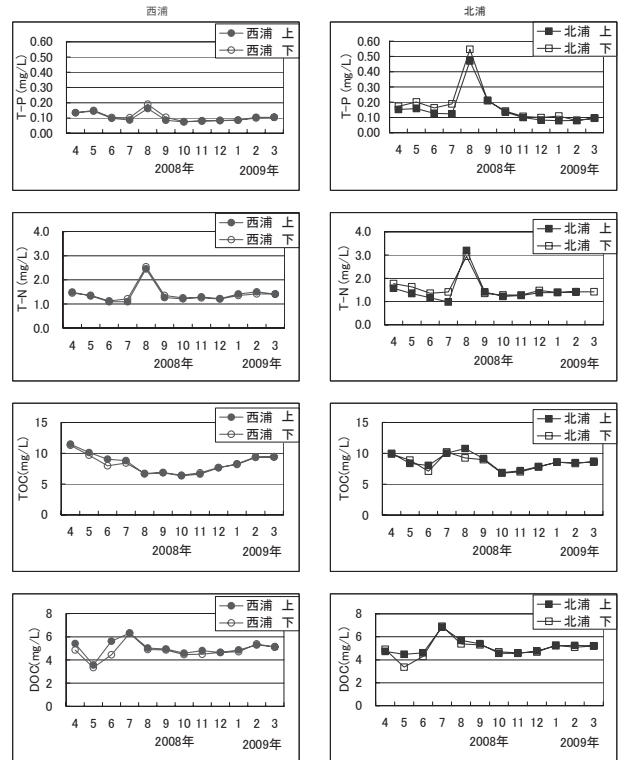


図-3 T-P、T-N、TOC、DOCの季節変動（西浦と北浦）

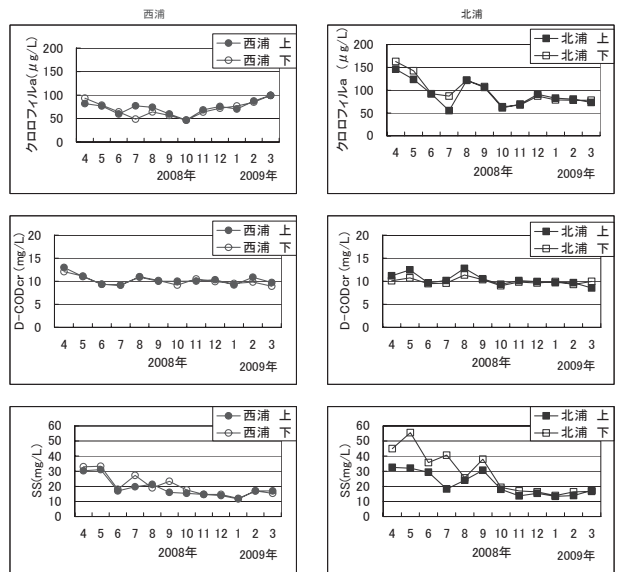


図-4 クロロフィルa、COD、SSの季節変動（西浦と北浦）

態Fe, Mnは流入河川から湖内に向かうにつれ低下し、特にMnにおいて湖水中での濃度が極端に小さくなった。マンガンは、pHが10以上でないと起きないことから、溶存態マンガンの低下は湖内に存在するマンガン酸化細菌の影響によると考えられる。

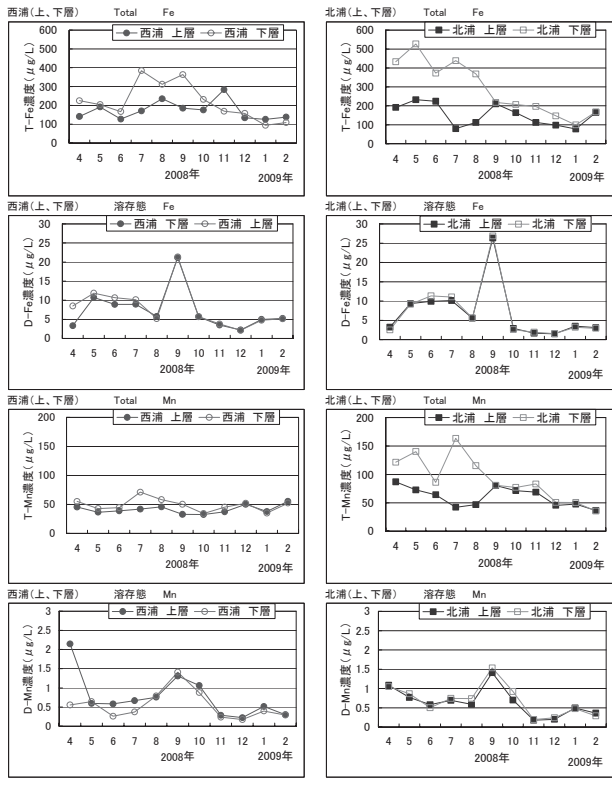


図-5 Total、溶存態のFe・Mnの季節変動(西浦と北浦)

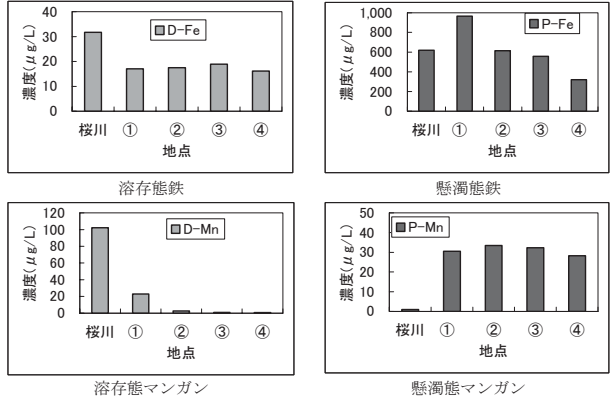


図-6 流入河川および湖水中の金属類(Fe, Mn)濃度

3.2 底質の性状

調査期間中の底泥および間隙水に含まれる富栄養物質(窒素・リン等)と微量必須元素(鉄・マンガン等)の調査を行った。底泥中のORP(酸化還元電位)の変化を図-7に示す。夏季における底泥中の全リン、全窒素および全炭素の含有量を図-8に、底泥鉛直方向の間隙水中のD-N、D-P、DOCおよびFe・Mnの濃度を図-9に示す。

夏季の霞ヶ浦底泥中の全リン、全窒素、全炭素含有量の鉛直分布を地点毎に比較すると、北浦(釜谷沖) > 西浦(湖心) > 浚渫区(牛込沖付近) となっ

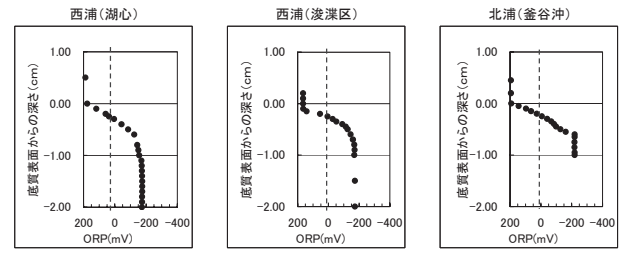


図-7 底泥中のORP鉛直分布(夏季)

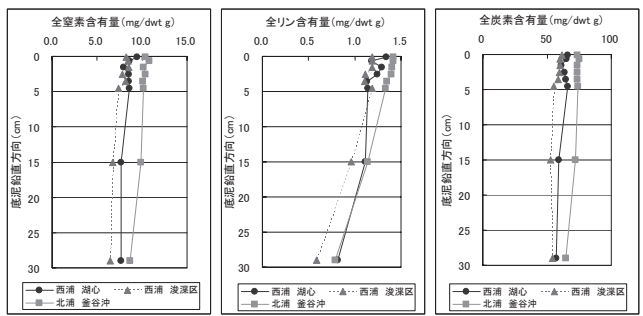


図-8 底泥中の全リン、全窒素、全炭素含有量(夏季)

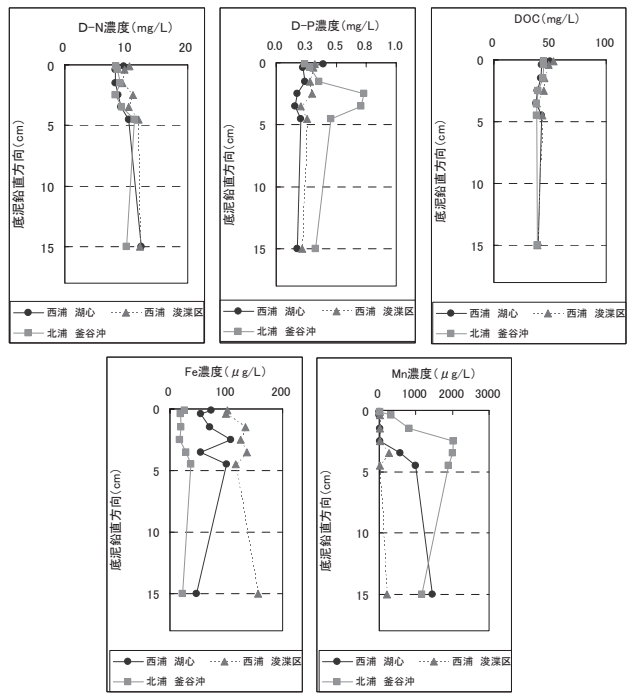


図-9 底泥間隙水におけるD-N、D-P、DOCとFe・Mnの濃度

ており、北浦が西浦の2地点よりも高い値を示した。底泥間隙水中のD-P濃度は、北浦(釜谷沖)の2~5cmまでの濃度が西浦(湖心、浚渫区)よりも顕著に高かった。DOC濃度は、西浦と北浦ともに差は確認されなかった。Fe濃度は、西浦(浚渫区)が最も高く、北浦は西浦に比べ低かったが、最大濃度は100 µg/L程度であり、湖水と比べて顕著に高くはなかった。Mn濃度は、北浦が西浦に比べ高く、底泥表層下数cmがより高かった。さらにその濃度は、

2,000 $\mu\text{g/L}$ に達し、湖水に比べて非常に高い値であった。なお、西浦の最表層において低い値を示しているのは、北浦よりも還元状態が弱く、Mn の還元反応が生じにくくなっているためと考えられる。この測定により、北浦において栄養塩類・有機物含有量が高く、還元性が強いために $\text{PO}_4\text{-P}$ や Mn の間隙水中の濃度が高くなっていると底質性状を把握することができた。このため、水温の上昇や DO の低下、風浪等による巻き上げにより⁵⁾、栄養塩類等の溶出は北浦において高い可能性が示唆された。

3.3 底泥の酸素消費速度

各地点の層別底泥における攪拌系での DO 濃度の変化 (30°C : 暗室) を図-10 に示す。実験は 2 時間まで行い、0.5 時間目までの平均的酸素消費速度について評価を行った。(図-11)。

表層酸化層における 0.5 時間後の酸素消費速度を水域別に見ると北浦 (釜谷沖) : 2.9 $\text{mgO}_2/(\text{g}\cdot\text{h})$ 、西浦 (湖心) : 3.1 $\text{mgO}_2/(\text{g}\cdot\text{h})$ 、西浦 (浚渫区) : 3.5 $\text{mgO}_2/(\text{g}\cdot\text{h})$ となり、各地点とも近い値を示した。しかしながら、0.2~1cm と 1~2cm の還元層では、北浦 (釜谷沖) > 西浦 (浚渫区) > 西浦 (湖心) であり、北浦に比べると西浦の酸素消費速度が

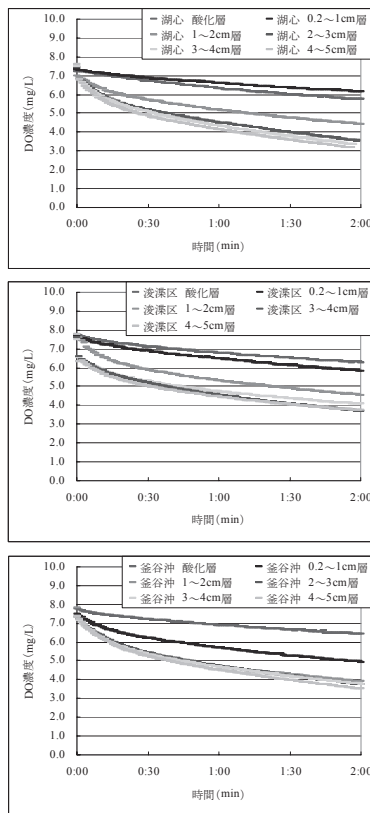


図-10 各地点の層別底泥における DO 濃度の変化

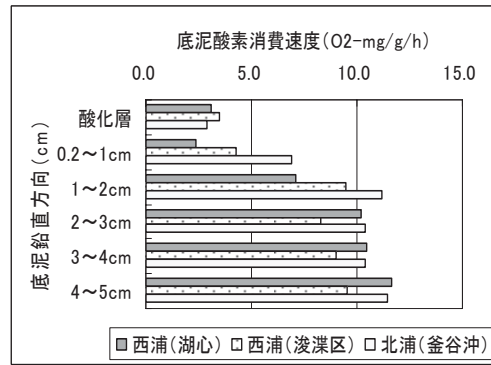


図-11 各層別による底泥の酸素消費速度

低いことが分かった。時間別にみると、初期の 0.5 時間が最も速く、時間の経過につれ DO の消費速度が低下する傾向を示した。これにより、北浦の 0.2~2cm 深さの底泥は酸素消費能力が高く、底層水の混合状態が弱まった場合には、DO 濃度が低下しやすいことが明らかとなった。

3.4 底泥の栄養塩類と金属類の溶出

夏季の高水温期 (30°C) に採取した底泥からの $\text{PO}_4\text{-P}$ 溶出速度の結果を図-12 に示す。また、底泥からの $\text{PO}_4\text{-P}$ と DOC および溶存態金属類 (Fe, Mn) の溶出挙動を図-13, 図-14 に示す。

溶出速度は 0~5 日目にて算出した。 $\text{PO}_4\text{-P}$ の溶出速度は、好気条件において北浦 (釜谷沖) が 37.9 $\text{mg/m}^2/\text{day}$ と最も高く、西浦 (湖心) : 3.8 $\text{mg/m}^2/\text{day}$ および西浦 (浚渫区) : 0.93 $\text{mg/m}^2/\text{day}$

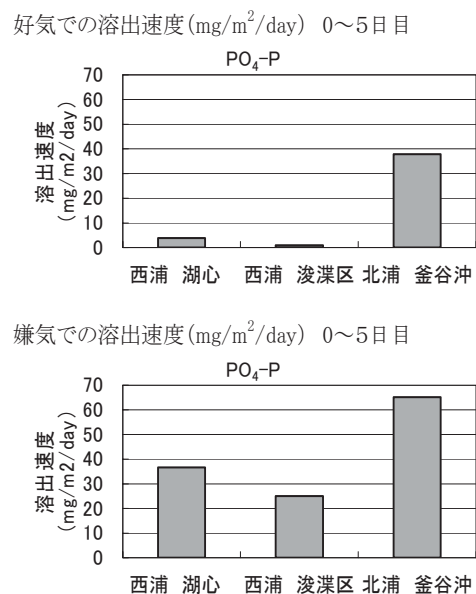


図-12 底泥溶出試験における溶出速度の比較 (好気・嫌気条件)

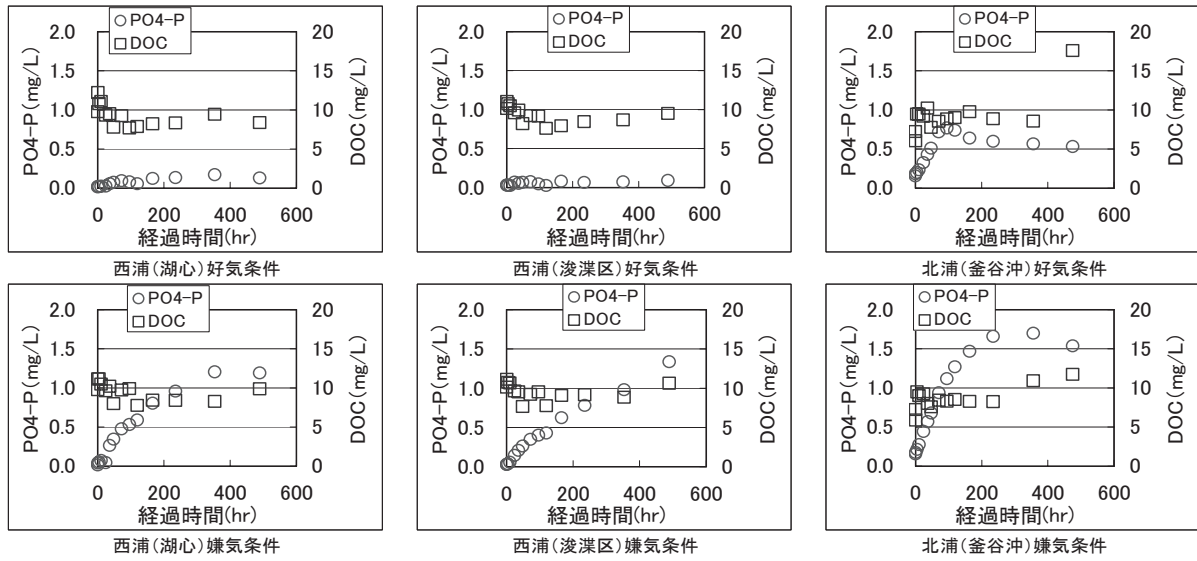


図-1.3 底泥溶出実験における PO₄-P と DOC の溶出挙動

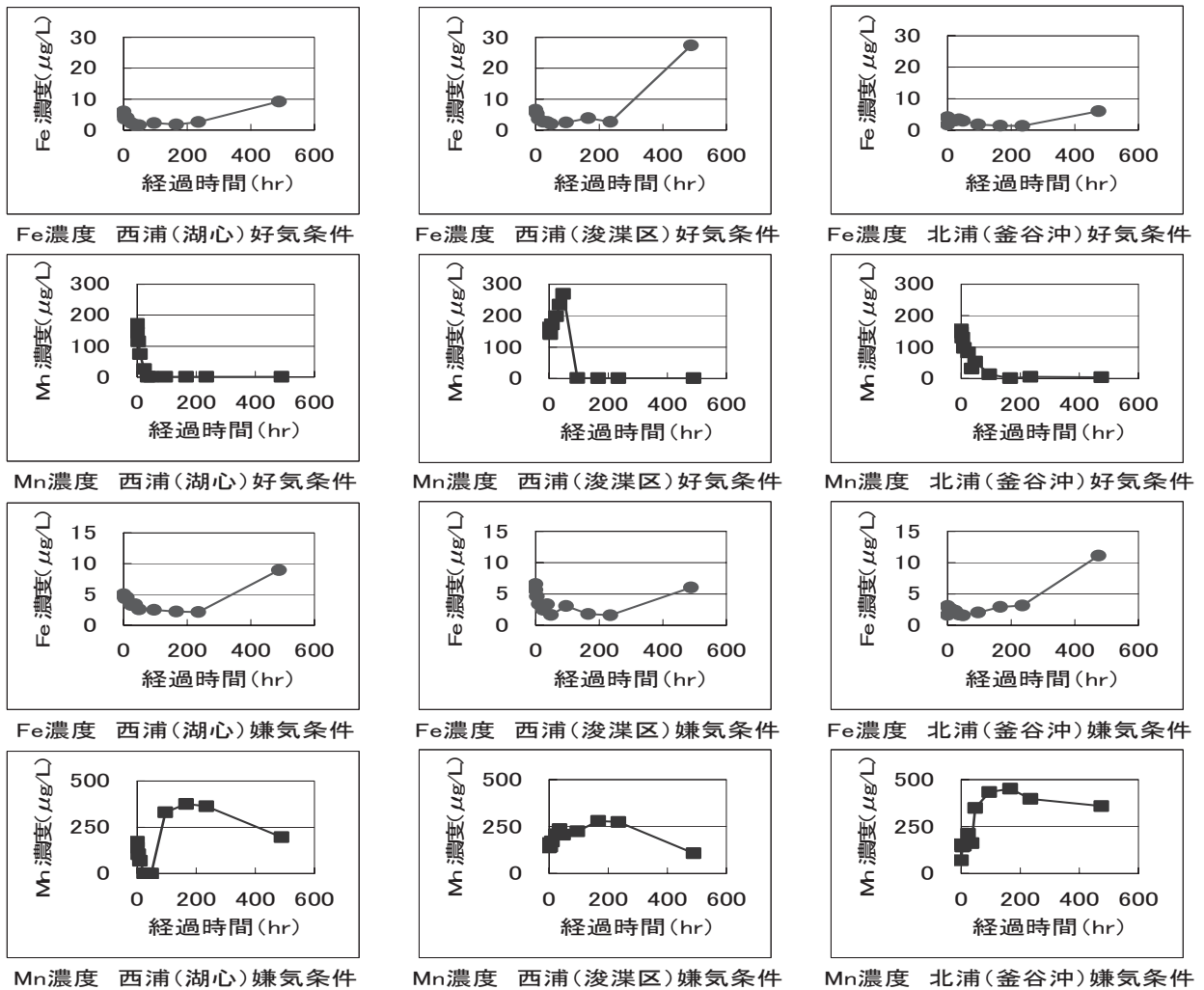


図-1.4 底泥溶出実験における溶存態金属類 (Fe, Mn) の溶出挙動

は低い値を示した。嫌気条件においては、更に北浦（釜谷沖）が 65.1mg/m²/day と高く、次いで西浦（湖心）で 36.6mg/m²/day、西浦（浚渫区）の溶出速度が最も低く 24.9mg/m²/day であり、好気・嫌気条件共に北浦（釜谷沖）>西浦（湖心）>西浦（浚渫区）の傾向を示した。底泥浚渫により底泥表層の分解されやすい有機物を含んだ層が除去された浚渫区は、PO₄-P 溶出において低い傾向を示した。なお、冬季の低水温期（5.5℃）に採取した底泥では、夏季と比較して顕著に溶出が抑えられていた。

底泥中の全リン含有量、間隙水中の PO₄-P 濃度、底泥の酸素消費速度は、西浦に比べ北浦の底質が高く、DO の低下やそれに伴うリン溶出が、北浦において進行しやすいことが分かった。

好気条件においては、Fe・Mn 共に濃度の低下が見られた。これは、酸素条件下において、溶存酸素による金属の酸化反応と凝集沈殿が起こったことが原因と考えられる。なお、西浦（好気）の湖心と浚渫区の Fe 濃度が 489 時間目に高かったのは、長期間の溶出試験中に底泥の還元層からガス泡が突沸し、直上水に影響したものと思われる。一方、嫌気条件においては、Fe と Mn の溶出が確認された。特に北浦（嫌気条件下）の Mn 溶出が非常に大きかった。

底泥表面が DO の存在により酸化され、その状態が維持されると、有機物の酸化や微生物の働きにより金属類の溶出が抑制される一方、DO の低下に伴い、栄養塩類と金属類の水中への溶出が起りやすくなることが確認された。

3.5 藻類増殖潜在能力

現地藍藻の単離培養株（*Microcystis* sp.）を用いた藻類増殖試験に用いた試験水の各濃度を表-2 に、結果を図-15 に示す。嫌気条件における最大増殖細胞数を示した 15 日目のクロロフィル a の濃度は、

西浦の湖心水で 90 μg/L、浚渫区水で 108 μg/L、北浦の釜谷沖水では 368 μg/L であり、北浦が西浦に比べ3倍以上高い値を示した。また、好気条件での溶出水についても、クロロフィル a は同様な傾向を示した。種類の異なる緑藻（*Pseudokirchneriella subcapitata*）を用いた試験結果を図-16 に示す。クロロフィル a 濃度が最も増加した培養液は、藍藻と同様に北浦（釜谷沖）の溶出試験嫌気条件 20 日目終了後の直上水であった。

D-N/D-P 比をレッドフィールド比と比べると、好気条件では P 制限、嫌気条件では N 制限となっていると考えられる。好気条件の浚渫区と北浦を比較すると、D-P 濃度比は北浦/浚渫区=0.54/0.13=4.2 であるのに対し、クロロフィル a 比は北浦/浚渫区= (226-20) / (63-20) =4.8 である。

このため、浚渫区の方が、北浦よりも藍藻類が増殖しにくい水質条件が存在すると考えられる。D-Mn は浚渫区で 0.8 μg/L であり、このような低濃度においては、下水処理水を用いた付着藻類増殖実験において、藻類の増殖抑制が見られた⁶⁾ことから、D-Mn 濃度が影響している可能性がある。

嫌気条件では、制限因子と考えられる D-N 濃度にはあまり差が見られないけれども、藻類濃度には大きな違いが見られた。N 濃度レベルからすると、最大クロロフィル a 濃度は、300~500 μg/L 程度になる可能性があると考えられるが、北浦以外は極端にその濃度が抑制されていた。D-Mn 濃度は十分にあることから、制限因子については明確ではない。

しかし、D-Mn の溶出濃度が北浦で大きいことから、底質の還元性は北浦が強いと考えられ、同時に溶出すると想定される有機物等の影響によって好気・嫌気の結果を併せて見ると、還元性の強い北浦において藻類増殖が大きいことから、底質の性状が

表-2 藻類増殖試験水（溶出実験：好気・嫌気条件 20 日目終了後の直上水）

藻類培養試験水		NH ₄ -N mg/L	NO ₂ -N mg/L	NO ₃ -N mg/L	I-N mg/L	D-N mg/L
湖心	好気条件	0.39	0.12	2.93	3.44	4.19
浚渫区		0.40	0.16	4.01	4.57	4.13
釜谷沖		1.17	0.06	2.38	3.61	4.62
湖心	嫌気条件	1.54	1.04	0.59	3.17	3.85
浚渫区		3.02	0.22	0.02	3.26	3.84
釜谷沖		0.72	3.27	0.67	4.65	5.31
		PO ₄ -P mg/L	D-P mg/L	DOC mg/L	D-Fe μg/L	D-Mn μg/L
		0.13	0.18	8.38	9.2	0.6
		0.09	0.13	9.50	27.4	0.8
		0.53	0.54	17.59	6.0	3.9
		1.19	1.25	9.88	9.0	197
		1.34	1.38	10.63	6.0	108
		1.54	1.54	11.72	11.1	359

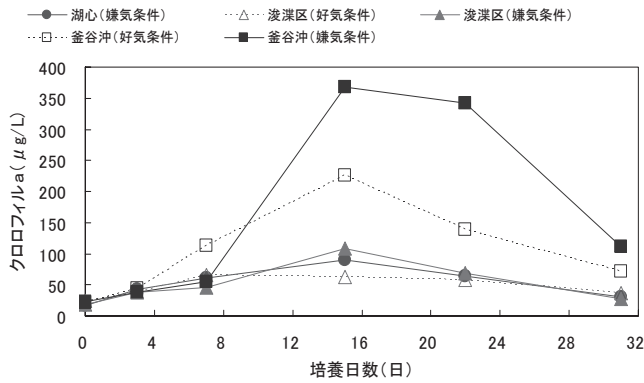


図-15 藻類（藍藻）培養結果

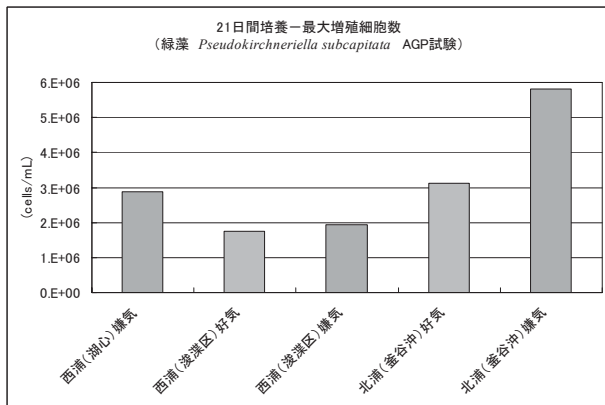


図-16 藻類（緑藻）培養結果

藻類増殖に影響を及ぼしている可能性があるのではないかと考えられる。

3.6 排水及び藻類の酸素消費量測定

都市域の河川水、水田排水及び集積培養した珪藻の酸素消費量を図-17、霞ヶ浦で採取したアオコの酸素消費量を図-18に示す。図-17に示すとおり、都市域の河川水、水田排水の酸素消費量は、5日経過時ではほぼ同じであるのに対し、集積培養した珪藻の酸素消費量は、都市域の河川水、水田排水の約3倍であった。これらの酸素消費量は、COD 1 mg/L 当たりで比較すると都市域の河川水(1.6mg/L)、

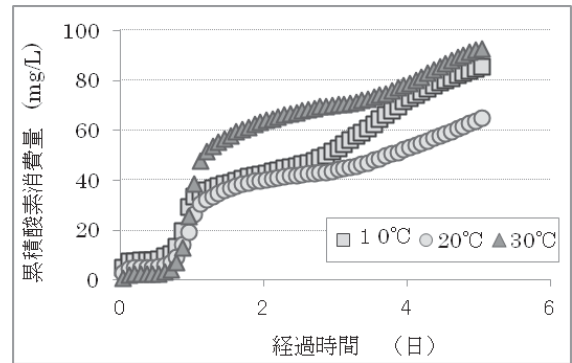


図-18 アオコの酸素消費量

水田排水(1.3mg/L)、珪藻(0.05mg/L)であり、珪藻の酸素消費量は都市域の河川水、水田排水に比べ小さいことが分かった。

また、H23年の夏に霞ヶ浦で異常発生したアオコの5日経過時の酸素消費量は、保存温度による大きな違いは観察されず概ね同じであった。各温度条件下で保存した試料の酸素消費量は、COD 1 mg/L 当たりで比較すると1.4mg/L(10°C)、1.0mg/L(20°C)、1.5mg/L(30°C)であり、集積培養した珪藻の酸素消費量(0.05mg/L)に比べ大きいことが分かった。

4. まとめ

本研究は霞ヶ浦の底泥の酸素条件と湖水・底泥中のN・P濃度、微量必須元素濃度、および、藻類の増殖特性に着目し検討を行った。その結果、以下のことが明らかとなった。

- 1) 夏季の高温期には、北浦においてDO濃度が下層ほど低くなる傾向があり、それに伴い底泥からの栄養塩類と金属類の溶出が増し、湖水に影響している実態の把握が行えた。
- 2) 水質改善事業対策の実施状況の異なる西浦と北浦では、水質だけでなく底質状況も異なった。対策等

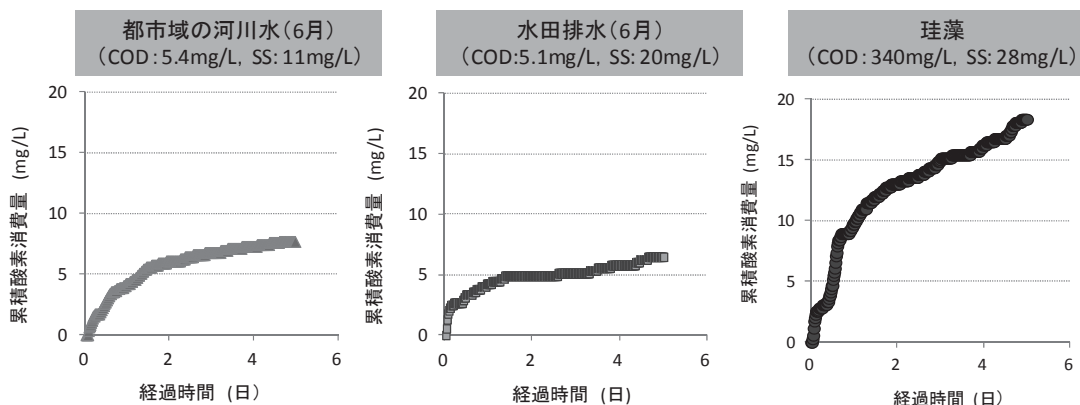


図-17 都市域の河川水、水田排水及び集積培養した珪藻の酸素消費量

が遅れている北浦において、底泥間隙水中の $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度と D-Mn の濃度が大きいとともに、これらの溶出速度も大きかった。また、酸素消費速度も表層近くで大きい値を示した。

以上のように、北浦の底質は還元性が強く、これが水質に影響を及ぼしていると考えられる。

3) 都市域の河川水、水田排水及び集積培養した珪藻の各試料の酸素消費量は、5日経過時の COD 1 mg/L 当たりの酸素消費量と比較すると都市域の河川水 (1.6mg/L)、水田排水(1.3mg/L)、珪藻(0.05mg/L)であり、珪藻の酸素消費量は都市域の河川水、水田排水に比べ小さいことが分かった。

また、H23年の夏に霞ヶ浦で異常発生したアオコを遠心分離により集積した後、10°C、20°C、30°Cの温度条件下で約6ヶ月間保存したものについて酸素消費量を測定した。各温度条件下で保存した試料の酸素消費量は、5日経過時の COD 1 mg/L 当たりの酸素消費量と比較すると 1.4mg/L (10°C)、1.0mg/L (20°C)、1.5mg/L (30°C) であり、集積培養した珪藻の酸素消費量(0.05mg/L)に比べ大きいことが分かった。

参考文献

- 1) 藤永太一郎, 宗林由樹, 一色健司 (2005) 海と湖の化学—微量元素で探る—, 京都大学学術出版会, pp.312-332
- 2) Akira Otsuki, Noriko Takamura (1988) Comparison of chlorophyll-a concentrations measured by fluorometric HPLC and spectrophotometric methods in highly eutrophic shallow Lake Kasumigaura, Internationale Vereinigung fuer Theoretische und Angewandte Limnologie. Verhandlungen IVTLAP Vol. 23, No. 2, pp. 944-951
- 3) 山下尚之, 田中宏明, 宮島潔, 鈴木穰 (2005) マイクロプレートを用いた AGP 試験の検討, 水環境学会誌, Vol.28, No8, pp.493-499
- 4) 小松伸行, 北村立実, 石井裕一, 北澤大輔 (2007) 霞ヶ浦における貧酸素水塊の現地観測, 茨城県霞ヶ浦環境科学センター年報 第3号, pp.83-92
- 5) 関智弥, 福島武彦, 今井章雄, 松重一夫 (2006) 霞ヶ浦の濁度上昇と底泥巻き上げ現象, 土木学会論文集 G, Vol.62, No1, pp122-134
- 6) 岡安祐司, 原田新, 鈴木穰 (2009) 下水の高度処理による付着藻類増殖の抑制, 第43回日本水環境学会年会講演集, pp.359

地球環境の変化が河川湖沼水質に及ぼす影響の評価に関する研究

研究予算：運営費交付金（一般）

研究期間：平 21～平 25

担当チーム：水環境研究グループ（水質）

研究担当者：池田茂、平山孝浩、北村友一

【要旨】

地球温暖化が河川水質に及ぼす影響を明らかにするため、霞ヶ浦流域で夏季と冬季に河川水質の現地調査を行い、気温および河川集水域の土地利用と河川水質の関係を解析した。さらに、森林土壌培養 - 溶出実験から気温に対する土壌中の金属類や有機物等の溶出挙動および溶出液の藻類増殖ポテンシャルを調査した。現地調査からは、T-N や $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度は、冬に集水域の畑の割合が高い河川で、高くなる傾向がみられた。また、DOC 濃度は、森林の割合が低い河川では夏に濃度が上昇する傾向がみられた。森林土壌培養 - 溶出実験からは、気温が高い条件では、土壌からの $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} や Mn 、 Zn 、 B 、 Ni 、 Co の溶出量が増大し、また、気温が高い条件での山林表層の土壌溶出液の藻類増殖ポテンシャルは、高くなった。

キーワード：地球温暖化、気温、河川水質、土壌溶出、AGP、霞ヶ浦

1. はじめに

近年、大気中の温室効果ガス濃度の上昇に起因する気温の上昇などの気候変動が問題化している。気温の上昇は、物理・生態環境の変化を通じて河川や湖沼の水質に影響を及ぼすことが懸念されている。河川や湖沼の水質は、集水域の地質や土地利用などによって異なるが、地球温暖化が河川湖沼水質に及ぼす影響の評価のためには、気温と様々な集水域における河川水質の形成過程の関係を明らかにすることが重要である。

2012 年度は現地調査から河川水質の季節変化と集水域の土地利用の関係を把握した。さらに、気温と土壌からの金属や有機物等の溶出特性の関係を明らかにするため、屋内で森林土壌培養 - 溶出実験を行った。そして、溶出液の藻類増殖特性を明らかにするため、土壌溶出液の AGP 試験を行った。

2. 調査と実験

2.1 現地調査の方法

現地調査は霞ヶ浦流域を対象とし、冬季と夏季にそれぞれ 2 回実施した。調査日は、冬季は 2012 年 1 月 17～19 日と 30～31 日、夏季は 2012 年 8 月 29 日と 9 月 6 日である。いずれも調査中および前日の降雨はなかった。図-1 は、調査対象河川と集水域および採水地点である。調査河川は、各集水域の土地利用割合が異なるように選定し、桜川の支流の一つである山口川、桜川の中流と下流、恋瀬川の上流と下

流、鉾田川の 2 つの支流および巴川を対象とした。

河川水採水の際に、現地で気温、水温、pH、EC、DO を測定し、試料水を持ち帰り、SS、VSS、DOC (TOC-5000 : SHIMADZU)、 Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Cl^- 、 SO_4^{2-} 、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ (イオンクロマトグラフ ICS-1100 および DX-120 : 日本ダイオネクス)、総金属と溶存態金属 (Fe 、 Mn 、 Cu 、 Al 、 Zn 、 B 、 Mo 、 Ni 、 Co (ICP-MS X7CCT : サーモフィッシャーサイエンティフィック)) を測定した。また、ケルダール分解法により T-N、T-P と溶存態 N、溶存態 P (TRAACS2000 : BRAN+LUEBBE) を測定した。さらに、GF/B でろ過した試料の 3 次元励起蛍光スペクトル (Excitation - Emission Matrix fluorescence spectra, EEM) を蛍光分光光度計 (F-4500 : HITACHI)

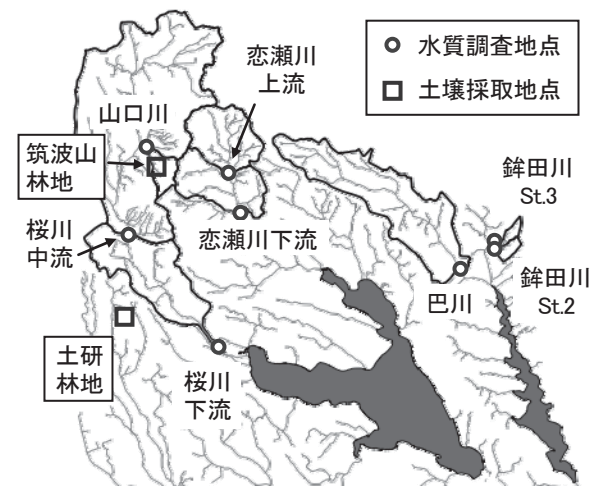


図-1 調査対象河川とその集水域、調査地点

で測定した。得られた蛍光強度は励起波長 350nm における超純水のラマンピークの面積で割って規格化した後、試料水と同様に規格化したブランク（超純水）の蛍光強度を差し引いた¹⁾。

集水域の土地利用情報は、GIS（Geographic Information System）を用いて整理した。河川流域界、土地利用のデータは国土数値情報²⁾を利用した。各河川の集水域の土地利用は、平成 18 年度版の 100m 細分メッシュデータを水田、畑、森林、市街地、その他に区分して河川流域ごとに集計し、土地利用割合を求めた。なお、銚田川 St.3 は畜産の集中している流域である。

2.2 森林土壌培養 - 溶出実験の方法

土壌の採取地点は図-1 に示す山口川集水域内の森林（以下、筑波山林地）と、つくば市内に位置する土木研究所内の林地（以下、土研林地）である。筑波山林地は山地の杉林の土壌であり、土壌分類は褐色森林土壌である。一方、土研林地は平地の竹林の土壌であり、土壌分類は黒ボク土である。

図-2 は実験条件の概要である。土壌採取日（7/17）の地下 10cm の地温は、土研林地は 23.4℃、筑波山林地は 20.7℃であった。森林の表層付近の地温は、気温と同様季節変化をしめすが、夏季には 15℃～25℃程度である³⁾ ことから、実験では 15℃と 25℃の 2 段階の温度条件を設定した。採土の前日に蒸留水を如雨露で 50cm² の範囲に 10L 散布し、土壌の含水率を調整した。翌日（7/17）に土壌をステンレス製スコップで表層堆積物、土壌深さ 0～5cm、5～10cm の 3 層に分けて採取した。土壌試料はそれぞれ均一になるように混ぜ、チャック付きのポリ袋 2 つに分けた。また、0 日目分析用土壌を 1L 容ポリビンに約 100g、含水率等測定用土壌を磁皿に約 70g（表層は約 40g）分取した。

土壌は 25℃と 15℃の恒温容器に静置した。恒温容器内は暗室とし、土壌を入れた袋の口には若干隙間

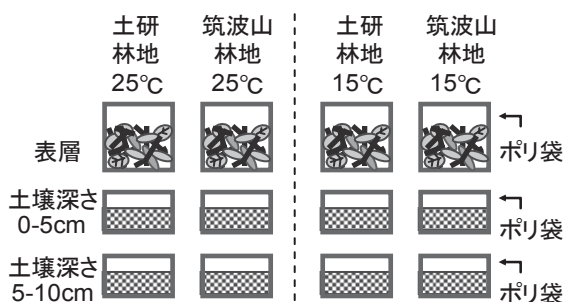


図-2 森林土壌培養 - 溶出実験の実験条件の概要

を空け通気を保った。培養後 10、20、41 日目に袋をよく振って土壌を混ぜ、ゴム手袋と薬さじで一部を 1L 容ポリビンに採取した。採取した土の重量は、10、20 日目は約 50g、41 日目は約 120g である。溶出操作は、土壌に蒸留水を重量比 1 対 5 になるように加え、120rpm で 1 時間回転振とうした後、懸濁液を 50mL 遠心管に移して 3000rpm で 40 分間遠心分離を行い、上澄み液を得た。なお、蒸留水の pH は、雨水水質調査で年平均 pH が 4.6～5.5 である⁴⁾ ことを考慮し、使用前にあらかじめマグネティックスターラーを用いて 400rpm で 1 時間以上攪拌して大気中の CO₂ を溶解させ、5 付近とした。

上澄み液は、GF/B でろ過して DOC と EEM を測定し、孔径 0.45 μm のメンブレンフィルターで再びろ過して NH₄-N、NO₃-N、PO₄-P、Na⁺、K⁺、Mg²⁺、Ca²⁺、Cl⁻、SO₄²⁻ を測定した。0、41 日目は孔径 0.45 μm のメンブレンフィルターでろ過した試料について、金属（Fe、Mn、Cu、Al、Zn、B、Mo、Ni、Co）を分析した。なお、懸濁態成分は分析していない。含水率は、0、10、20、41 日目に土壌を少量磁皿に採取して 60℃で 2 日間乾燥し、乾燥前後の重量を測定して求めた。0 日目は含水率を測定した後の土壌を乳鉢ですりつぶし、強熱減量、交換性陽イオンを測定した。交換性陽イオンは、土壌粉末 2.5g と 1N CH₃COONH₄ 50mL をポリビンにとり、120rpm で 60 分間攪拌し、GF/B およびメンブレンフィルターでろ過後、Na⁺、K⁺、Mg²⁺、Ca²⁺ を測定した。

溶出液の藻類増殖特性を把握するため、41 日目に GF/B でろ過した試料を用いて 2 条件で AGP 試験を行った。溶出液の pH は水酸化ナトリウムで約 7 に調整した。条件 1 では、溶出液を 300mL 容三角フラスコに 100mL とり、緑藻類の一種である *Selenastrum* を約 1100 cell/mL となるように添加した。条件 2 では、溶出液を 100mL 容三角フラスコに 49mL とり、霞ヶ浦湖水を 1% 添加した。培養条件は温度 24℃、照度約 3000 lux、明/暗=12h/12h の周期で、条件 1 では毎日手で振り混ぜ、条件 2 では 90rpm の回転振とうとした。

3. 結果

3.1 現地調査の結果

図-3 は、水温、pH、EC、SS、VSS、DOC の測定結果である。水温は夏に高く、冬と夏の差は 9～22℃であった。各採水地点の夏の水温を比較すると、山

河口と鉾田川 St.3 は他の地点より低かった。冬の水温は鉾田川 St.2、St.3、巴川で高かった。pH の値はどの地点も概ね中性付近であり、夏と冬の違いは小さかった。EC は夏と冬の違いが小さく、鉾田川 St.3 で最も高かった。また、渓流水である山口川で低く、桜川中・下流で高くなっていった。SS 濃度は夏に全ての地点で高かった。夏には山口川、桜川中・下流で高かった。VSS 濃度は SS 濃度の 10~40% を占め、SS 濃度と同様夏に高かった。DOC 濃度は、夏に桜川中・下流、恋瀬川上・下流で高かったが、夏と冬の差は小さかった。夏と冬のそれぞれの DOC 濃度

について、採水地点による顕著な違いはみられなかった。

図-4 は、T-N、T-P 濃度とその存在形態別の内訳である。T-N 濃度は夏と冬の差が小さかった。鉾田川 St.3 で特に高く、鉾田川 St.2 と巴川でも高かった。冬の T-N 濃度のうち大部分は溶存無機態窒素であり、溶存有機態窒素は鉾田川 St.3 を除いて検出されなかった。また、桜川中・下流、鉾田川 St.3 の夏の 1 回目は懸濁態窒素が多く含まれていた。T-P 濃度は、山口川、桜川中・下流、恋瀬川上・下流で夏に高くなる傾向がみられた。T-P 濃度の割合は、桜川の中・

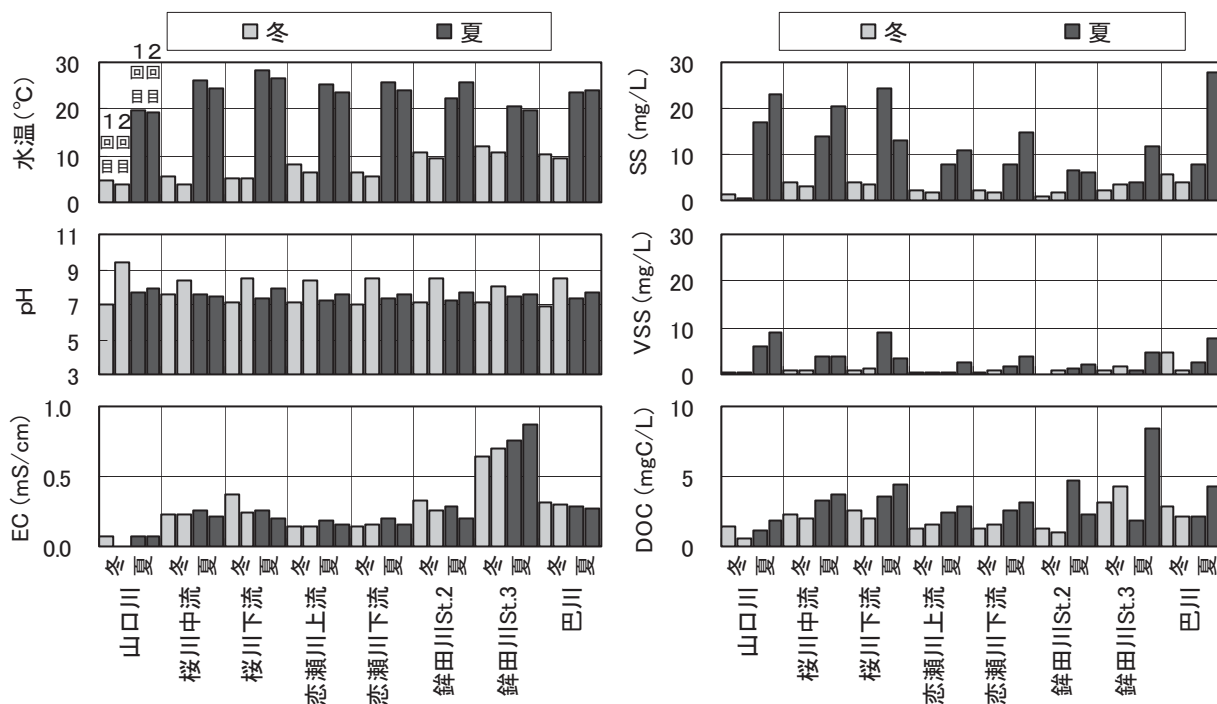


図-3 各河川水の水温、pH、EC、SS、VSS、DOC の測定結果

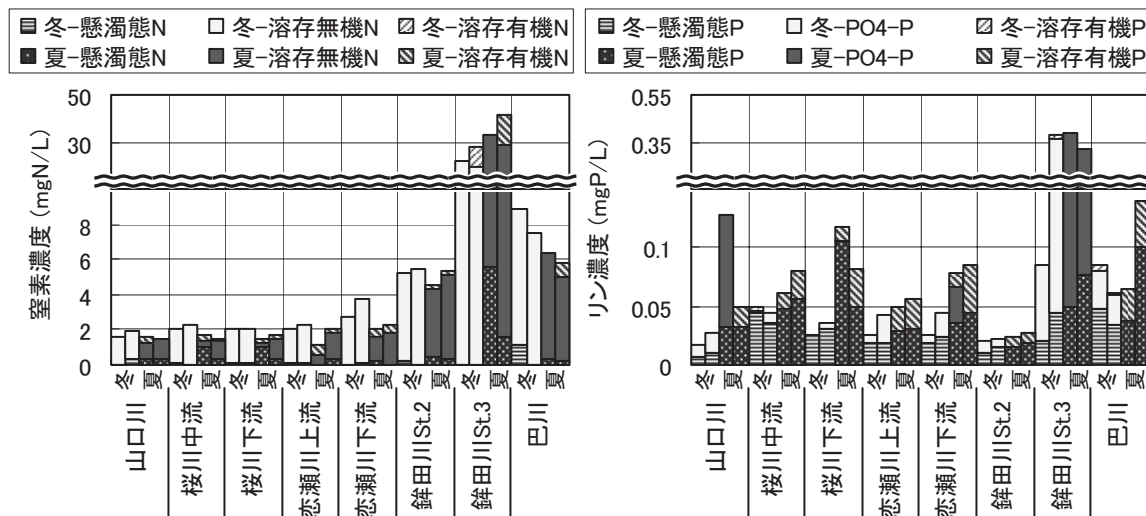


図-4 各河川水の T-N、T-P 濃度とその内訳

下流では約 8 割が懸濁態リンであった。懸濁態リン濃度と溶存有機態リン濃度は夏に高くなる傾向がみられた。

図-5 は、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度である。 $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度は冬に桜川中・下流、恋瀬川上・下流、巴川で高かった。 $\text{NO}_2\text{-N}$ 濃度は銚田川 St.3 を除

くほとんどの地点でほぼゼロとなり、夏と冬の違いは不明瞭であった。 $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度は銚田川 St.3 を除いて冬に高かった。採水地点別では、銚田川 St.3 で高かった。 $\text{PO}_4\text{-P}$ は冬には全ての地点で検出されたが、夏には山口川の 1 回目、恋瀬川下流の 1 回目と銚田川 St.3 でのみ検出された。

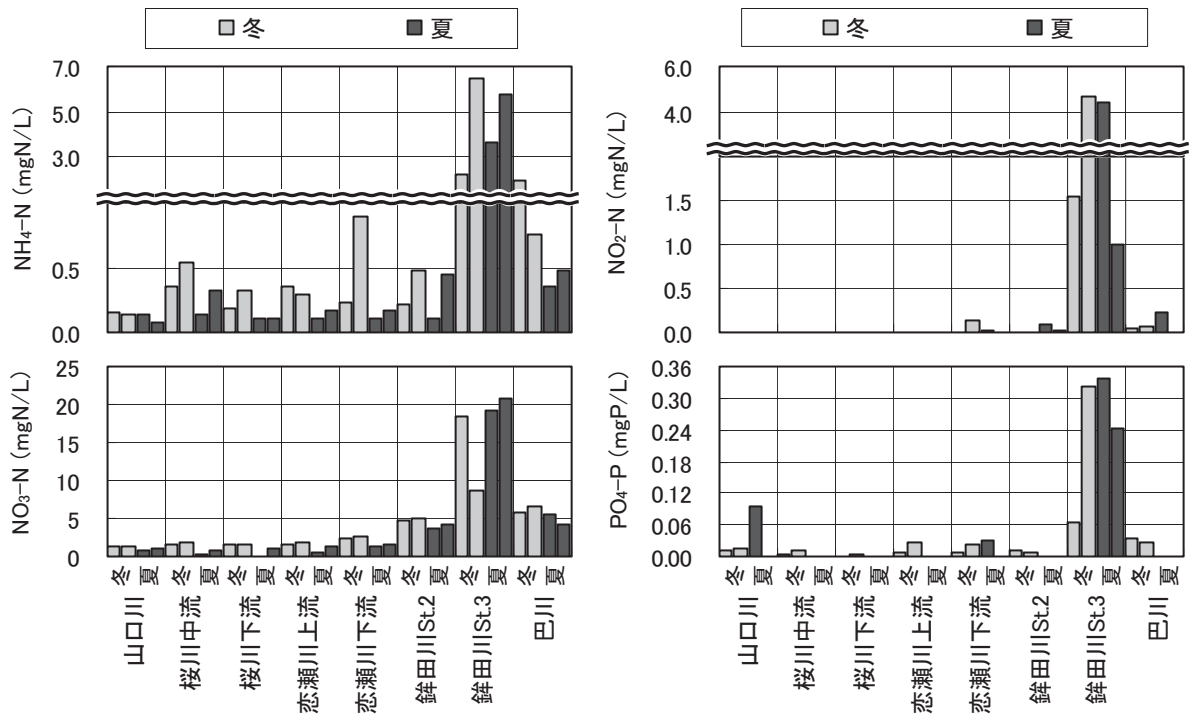


図-5 各河川水の $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度

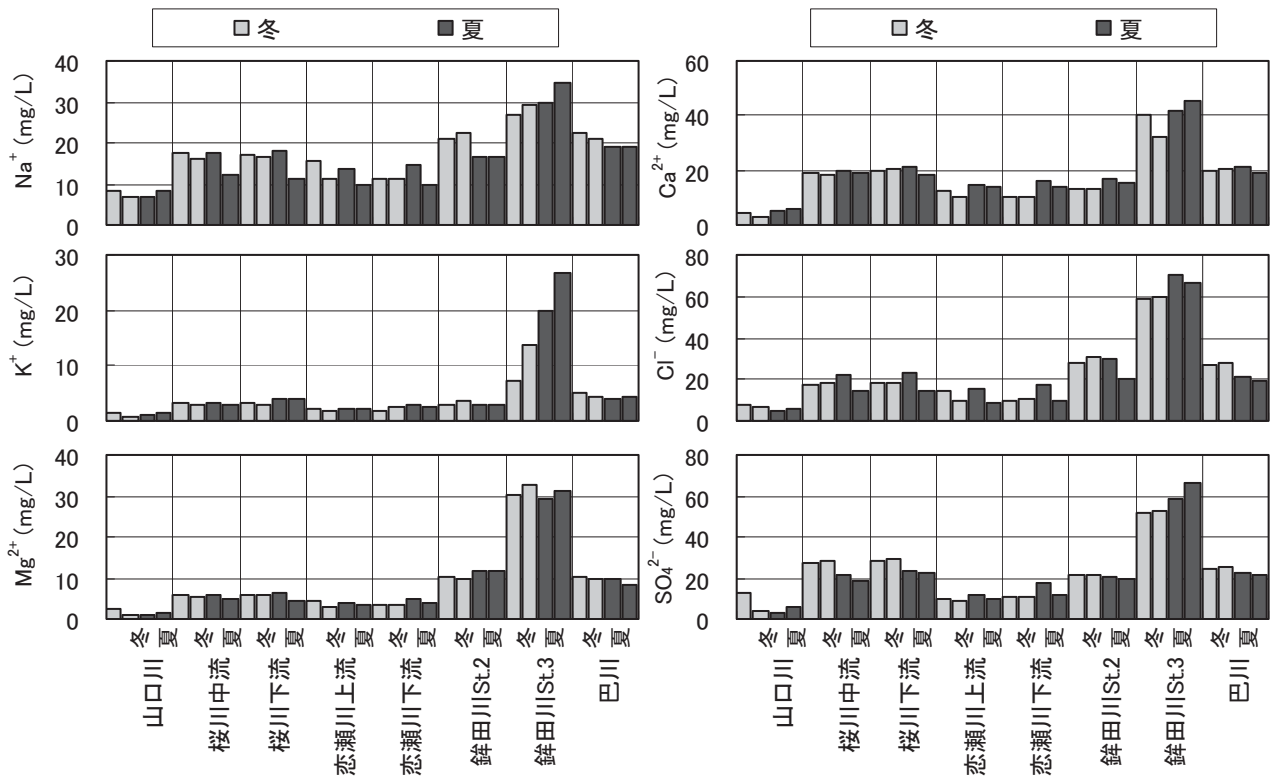


図-6 各河川水の Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Cl^- 、 SO_4^{2-} 濃度

図-6 は、 Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Cl^- 、 SO_4^{2-} 濃度である。これらはいずれも、夏と冬の差が小さく、山口川で低濃度、銚田川 St.3 で高濃度となった。

図-7 は、河川水の EEM でみられた主なピークの位置である。Peak① (Ex230nm/ Em300nm)、Peak② (Ex230nm/ Em340nm)、Peak③ (Ex280nm/ Em340nm) はタンパク質様物質、Peak④ (Ex230nm/ Em425nm) Peak⑤ (Ex320nm/ Em425nm) はフルボ酸様物質のピークである⁵⁾。図-8 は、各ピーク位置の蛍光強度である。Peak①、Peak②、Peak③は夏と冬の差が小さかった。Peak②は桜川中・下流で、Peak③は銚田川 St.3 で高かった。Peak④、Peak⑤は夏に高くなる傾向がみられた。Peak④は桜川中・下流で、Peak⑤は銚田川 St.3 で高かった。

図-9 は、溶存態と懸濁態の金属濃度である。溶存態 Fe 濃度は夏と冬で顕著な違いはみられなかった。山口川は他の採水地点より低い値であった。懸濁態 Fe 濃度は溶存態 Fe と比較して高く、冬よりも夏に高くなる傾向がみられた。夏はどの地点でも高く、冬は桜川の中・下流、巴川で高かった。

Al は、約 90%が懸濁態であった。溶存態 Al 濃度は、夏に高くなる傾向がみられた。懸濁態 Al 濃度は SS 濃度と似た変動パターンを示し、冬より夏に高く、夏には山口川、桜川中・下流で高かった。

溶存態 Mn 濃度は、桜川下流を除いて夏と冬の違いが小さかった。地点間で比較すると、桜川中流、銚田川 St.3 で高かった。懸濁態 Mn 濃度は夏に高かった。

溶存態 Zn 濃度は、銚田川 St.3 では夏に高かったが、他の地点では夏と冬で顕著な違いはみられなかった。懸濁態 Zn 濃度の夏と冬の変化は地点によって異なった。

溶存態 Cu 濃度は、銚田川 St.3 では夏に高かったが、他の地点では夏と冬で顕著な違いはみられなかった。懸濁態 Cu 濃度は、概ね夏に高くなる傾向がみられた。

B 濃度は、大部分が溶存態であり、夏に高くなる傾向がみられた。また、山口川より桜川中・下流で高かった。

Mo 濃度は B と同様溶存態の割合が高く、夏に桜川中・下流と恋瀬川上・下流で高くなる傾向がみられた。

溶存態 Ni 濃度は夏と冬の違いが小さく、桜川中・下流と銚田川 St.3 で高かった。

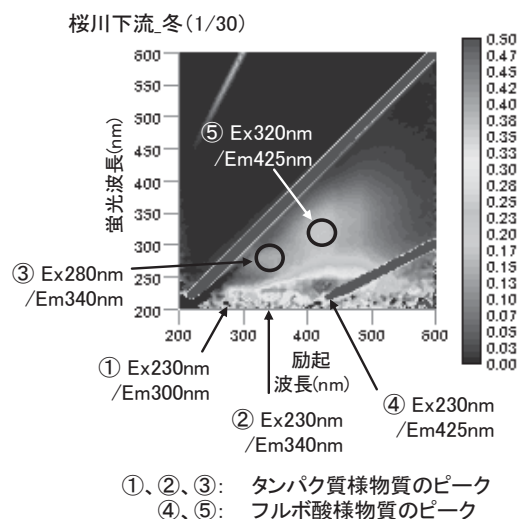


図-7 EEM の一例と主なピーク位置

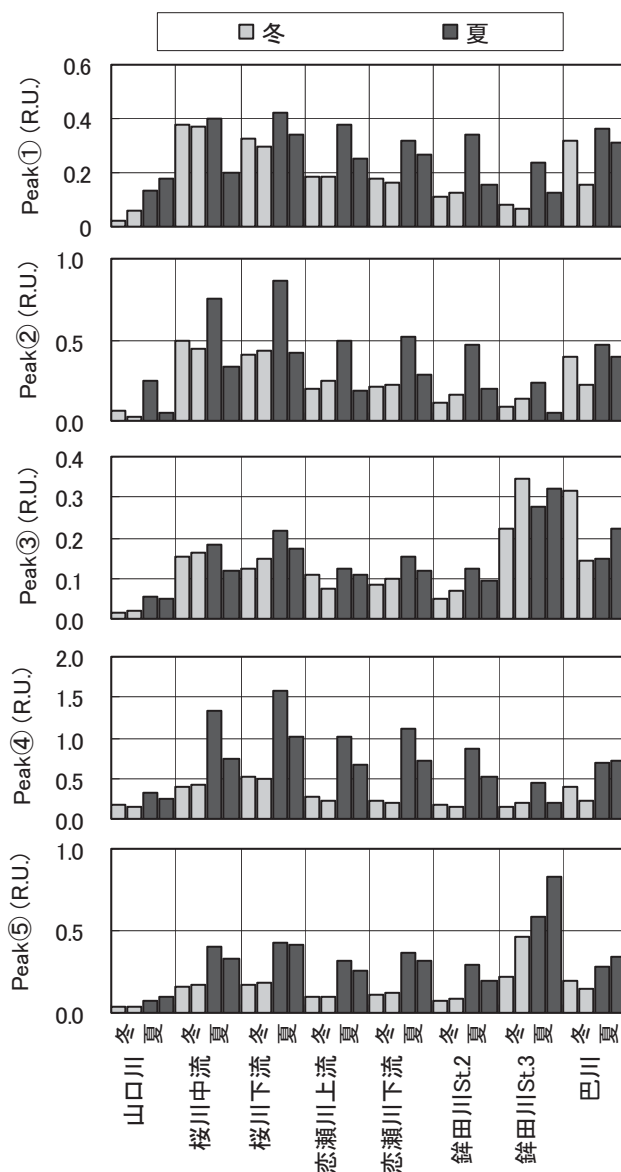


図-8 各河川水の EEM の主なピーク位置の蛍光濃度

溶存態 Co 濃度は、桜川中・下流では冬に、銚田川 St.3 では夏に高かった。また、山口川では夏、冬とも低い値であった。懸濁態 Co 濃度は夏に高く、採水地点による違いは小さかった。

3.2 集水域の土地利用と水質の季節変化の関係

地球温暖化による気温上昇が河川水質に及ぼす影響は、河川集水域の土地利用によって異なると考え

られる。そこで、河川集水域の土地利用と水質変化の関係性を解析した。銚田川 St.3 については他の河川と大きく水質が異なり、畜産の影響を受けていると推測されたため、解析から除外した。

図-10 は、各河川集水域の土地利用割合である。集水域に占める森林の割合が最大の地点は山口川で79%である。桜川中・下流は比較的水田の割合が高

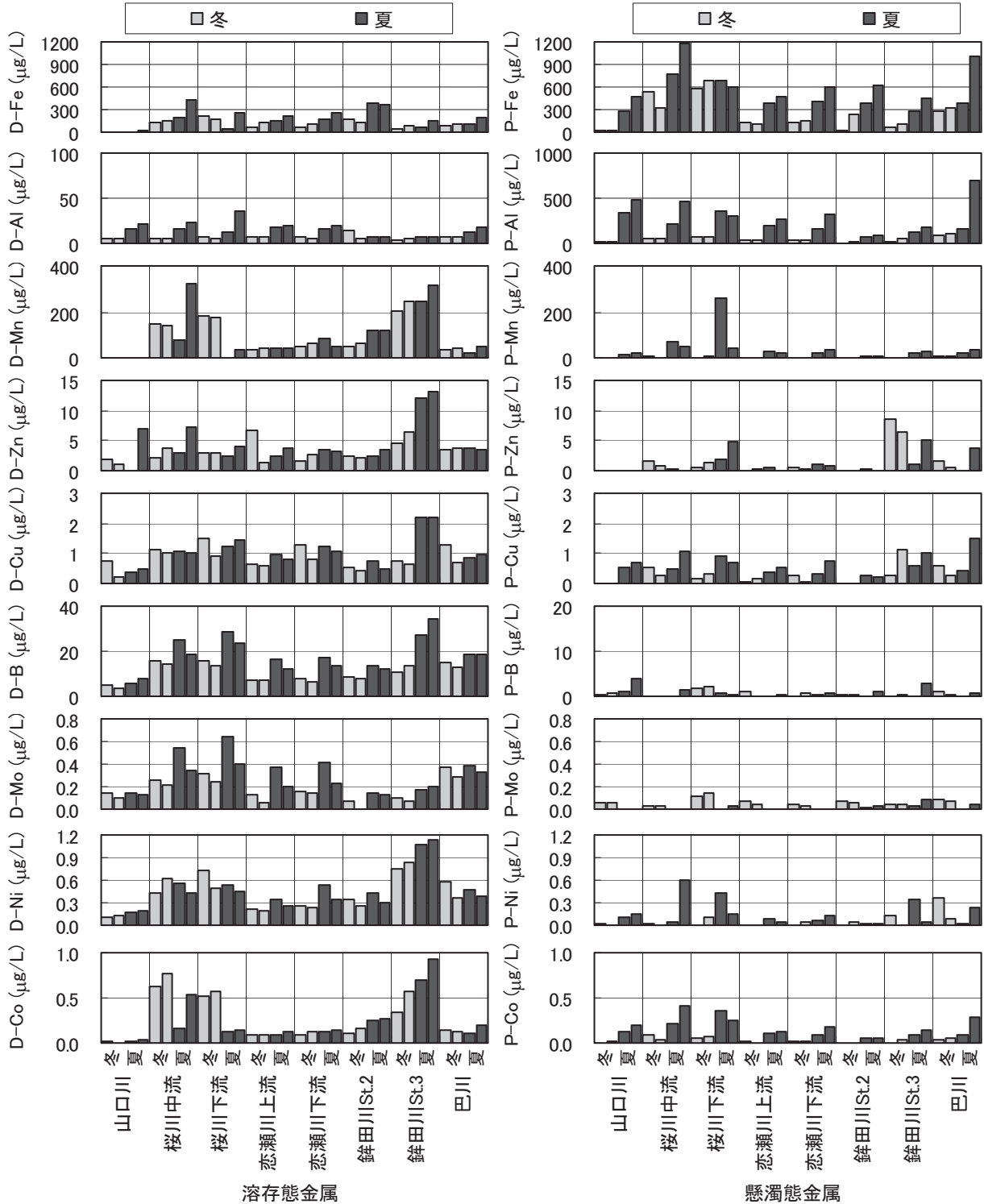


図-9 各河川水の溶存態金属および懸濁態金属の濃度

くなっている。銚田川 St.2 と巴川は畑の割合が高くなっている。市街地の割合はどの地点でも 20%未滿である。

冬と夏の水質特性と集水域の土地利用の関係把握するため、水質の変化量として、夏の水質の平均

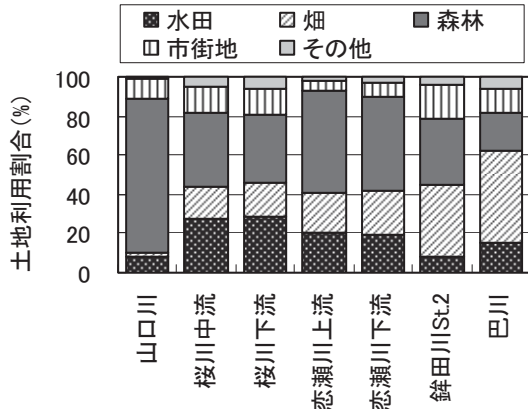


図-10 各河川集水域の土地利用割合

値と冬の水質の平均値の差を求めた。図-11 は、集水域の森林および畑の割合と、水質の差の関係である。森林の割合と、T-N の濃度差の間には正の相関がみられた。すなわち、T-N 濃度は森林の割合が高い山口川で夏に若干上昇し、森林の割合が低い巴川で夏に低下した。畑の割合と T-N の濃度差の間には負の相関がみられた。NO₃-N 濃度は冬に高くなっており、濃度差は森林の割合が高い山口川で小さかった。全体としては森林の割合と正の相関を示した。畑の割合が高い河川で T-N、NO₃-N 濃度が冬に高く夏に低かったのは、夏季は土壌中の窒素の植物への吸収や、微生物による脱窒反応が促進され、河川への流出量が少なくなったためと考えられる。

T-P 濃度は夏に高くなっており、濃度差は桜川下流で最大となった。畑の割合と弱い負の相関がみられた。DOC 濃度は夏に高くなっており、濃度差は銚田川 St.2 で大きく、山口川で小さかった。畑の割合

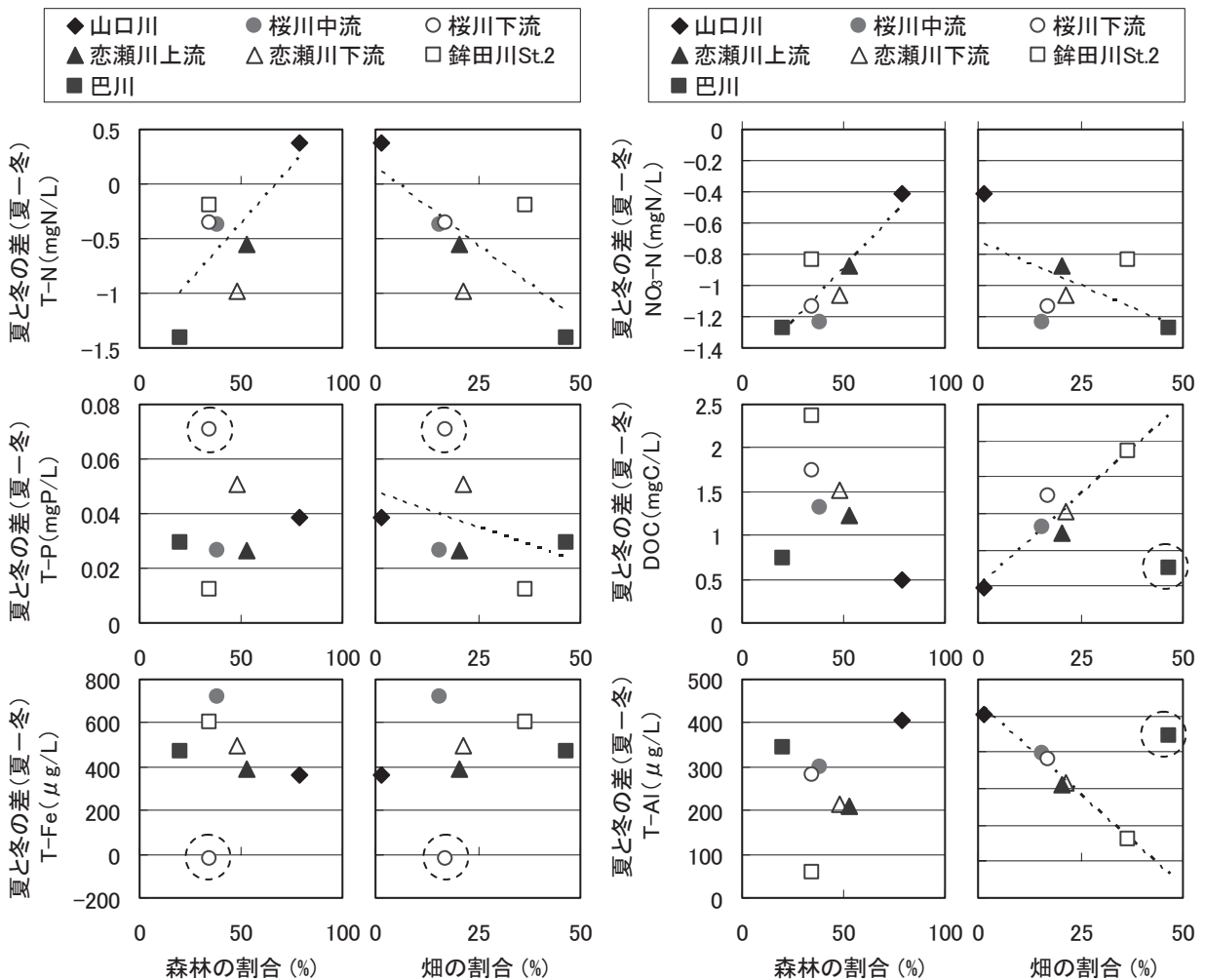


図-11 森林および畑の割合と、夏と冬の水質の差の関係

と正の相関がみられたが、巴川は畑の割合が高いにもかかわらず濃度差が比較的小さかった。

T-Fe 濃度は桜川下流では夏と冬の差が小さく、他の地点では夏に高かった。土地利用割合との相関はみられなかった。T-Al 濃度は夏に高く、濃度差は畑の割合と負の相関がみられた。しかし、畑の割合が高い巴川で濃度差が大きくなった。

3.3 森林土壌培養 - 溶出実験の結果

次に森林土壌培養 - 溶出実験の結果を記す。図-12 は、採取した土壌の含水率と強熱減量、強熱残留物の割合である。含水率は土研林地では 35~45%、筑波山林地では 32~65%であった。強熱残留物の割合は土壌深さ 5-10cm で、強熱減量の割合は表層で高かった。図-13 は交換性陽イオンの濃度である。試料 100g あたりの保持イオンの量は表層で大きく、交換性陽イオンの主要な成分は Ca^{2+} 、 K^+ 、 Mg^{2+} であった。

図-14 は、含水率と土壌溶出液の pH の変化である。どの実験条件でも含水率は 41 日間概ね一定であった。溶出操作に用いた蒸留水の pH は、0 日目は 4.5、10~41 日目は約 5.3 であったが、土壌溶出液の pH は、土研林地表層では 6.0 前後、他の試料では 3.5~5.0 の範囲となった。pH の経日的な変化をみると、土研林地と筑波山林地のどちらも 0~5cm と 5~10cm の試料では低下し、表層での変化は小さかった。

図-15 は、乾燥土壌 100g あたりの $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 、DOC の溶出量である。 $\text{NO}_3\text{-N}$ の溶出量は土研林地では 0~5cm で、筑波山林地では表層と 0~5cm で経日的に増加した。これらの試料では、15°C よりも 25°C の条件で増加が大きかった。5~10cm の試料は、土壌乾燥重量の 80%以上が強熱後に残留する無機物であり、窒素含有量が元々少なかったため、 $\text{NO}_3\text{-N}$ の溶出量が低くなったものと思われる。

$\text{NH}_4\text{-N}$ は、 $\text{NO}_3\text{-N}$ と比較すると溶出量が小さかった。 $\text{PO}_4\text{-P}$ は、筑波山林地の表層の溶出液でのみ検出された。DOC の溶出量は、表層で大きく、5~10cm ではほとんど溶出しなかった。表層の溶出量の変化は土研林地と筑波山林地のどちらも、25°C で 10 日目に溶出量が増大しその後低下した。

図-16 は無機イオンの溶出量の変化である。 Na^+ は、土研林地の表層と 0~5cm で若干増加し、土研林地の 5~10cm と筑波山林地では概ね横ばいであった。また、温度による溶出量の違いは小さかった。 K^+ は、土研林地と筑波山林地のどちらも表層で経日的に増

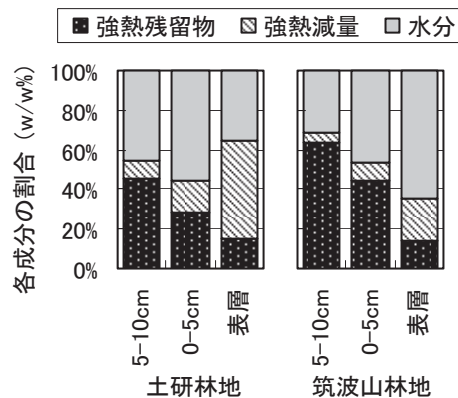


図-12 土壌試料の含有水量、強熱減量、強熱残留物の割合

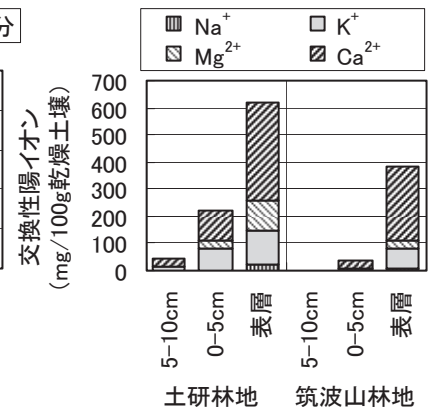


図-13 土壌試料の交換性陽イオン濃度

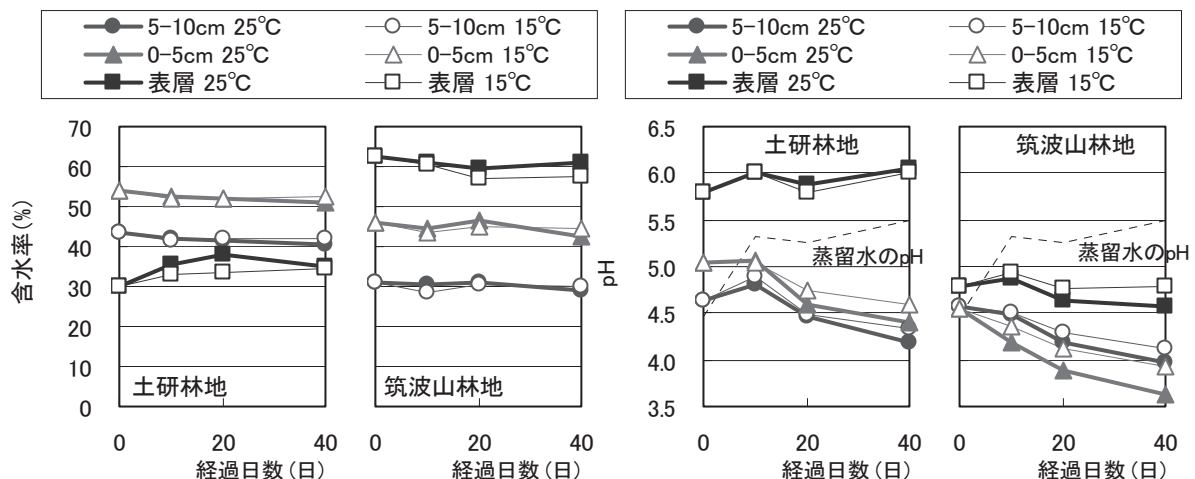


図-14 森林土壌培養 - 溶出実験における土壌の含水率と土壌溶出液の pH の変化

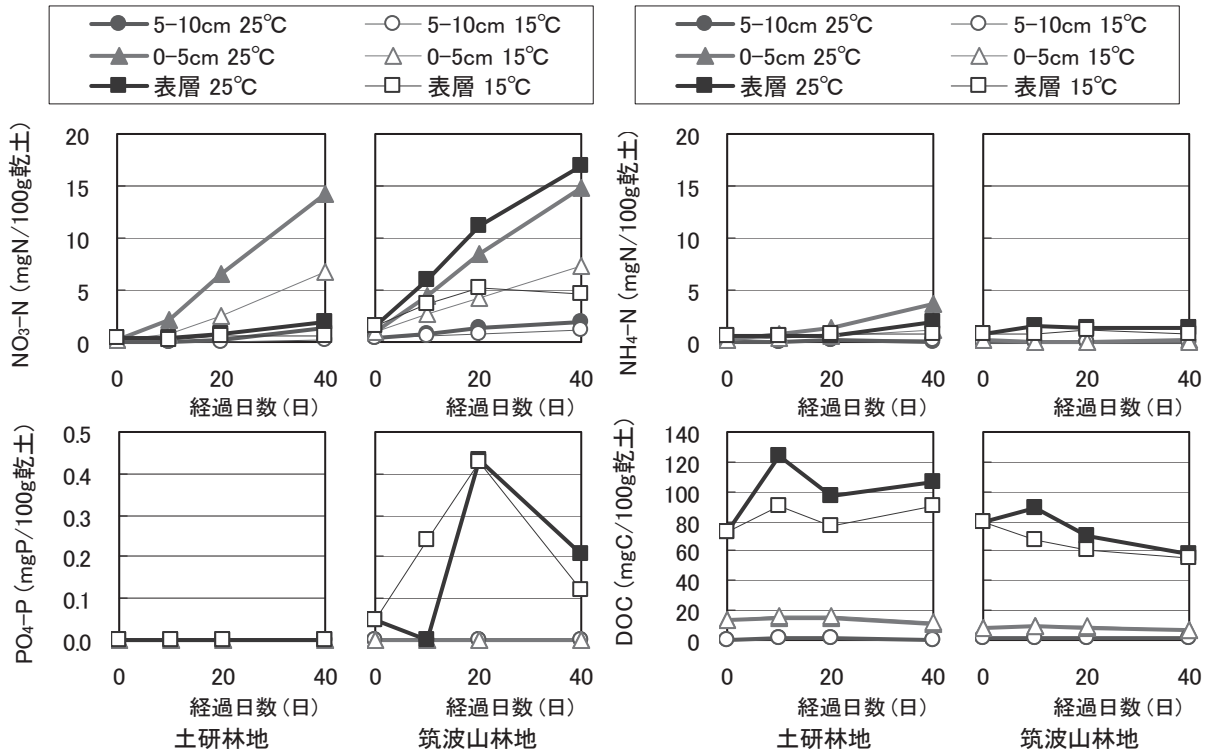


図-15 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 、DOC の溶出量の変化

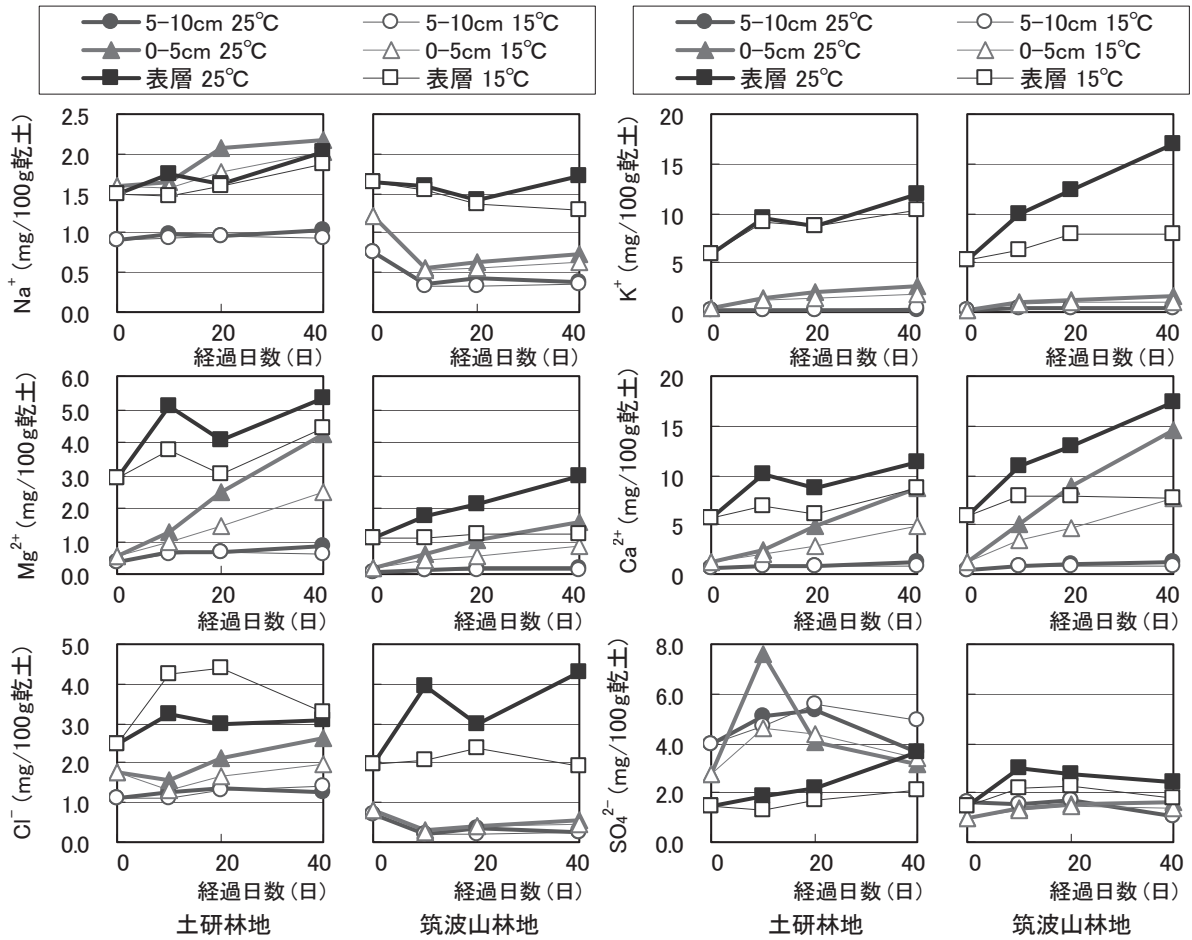


図-16 Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Cl^- 、 SO_4^{2-} の溶出量の変化

加した。筑波山林地の表層では 15℃よりも 25℃で K^+ の溶出が大きくなった。 Mg^{2+} は土研林地表層では 10 日目と 41 日目に高くなり、0~5cm では経日的に増加し、15℃よりも 25℃で溶出量が大きくなっていった。筑波山林地の表層では 25℃で経日的に増加したが、15℃では横ばいであった。0~5cm では 15℃よりも 25℃で増加が大きかった。 Ca^{2+} の変化は Mg^{2+} と類似しており、表層と 0~5cm のどちらも、15℃よりも 25℃で増加が大きかった。 Cl^- は、土研林地では表層の 15℃で、10、20 日目に高くなった。表層の 25℃や 0~5cm、5~10cm では概ね横ばいであった。筑波山林地では表層の 25℃で、10 日目と 41 日目に高くなった。 SO_4^{2-} は、土研林地では 5~10cm で溶出量が大きく、表層で溶出量が小さかった。0~5cm の 25℃では 10 日目に溶出量が増大した。筑波山林地での変化は横ばいであり、採取深さや温度による溶出量の違いが小さかった。

図-17 は土壤溶出液の EEM の主なピーク位置の蛍光強度の変化である。どのピークも、蛍光強度は表層で高く、0~5cm と 5~10cm で低かった。Peak①は土研林地の表層では 0 日目に高く、経日的に減少する変化を示した。筑波山林地の表層では 20 日目から 41 日目にかけて減少した。Peak②、Peak③は土研林地の表層では 10 日目に高くなった。筑波山林地の表層では若干減少傾向がみられた。Peak④、Peak⑤は概ね横ばいであった。土研林地の表層では 25℃で Peak⑤が高かった。

図-18 は、0 日目と 41 日目の金属の溶出量である。Fe の溶出量は、筑波山林地の表層で大きく、41 日目には 0 日目より増加した。25℃では 15℃と比較すると溶出量の増加が小さかった。土研林地の表層、0~5cm と筑波山林地の 0~5cm では溶出量は小さかったが、41 日目で比較すると、25℃では 15℃より溶出量が低くなる傾向があった。

Al は土研林地と筑波山林地の表層で溶出量が大きく、41 日目で比較すると 25℃では 15℃より低くなっていた。土研林地の 5~10cm、0~5cm では、溶出量の変化や 41 日目の温度による違いは小さかったが、筑波山林地の 5~10cm、0~5cm では、41 日目に 15℃より 25℃で若干溶出量が高かった。

Mn は、土研林地ではあまり溶出しなかった。41 日目で比較すると、5~10cm と 0~5cm では 25℃で溶出量が若干大きかった。筑波山林地では、0 日目は溶出量が低かったが、41 日目には 0~5cm と表層

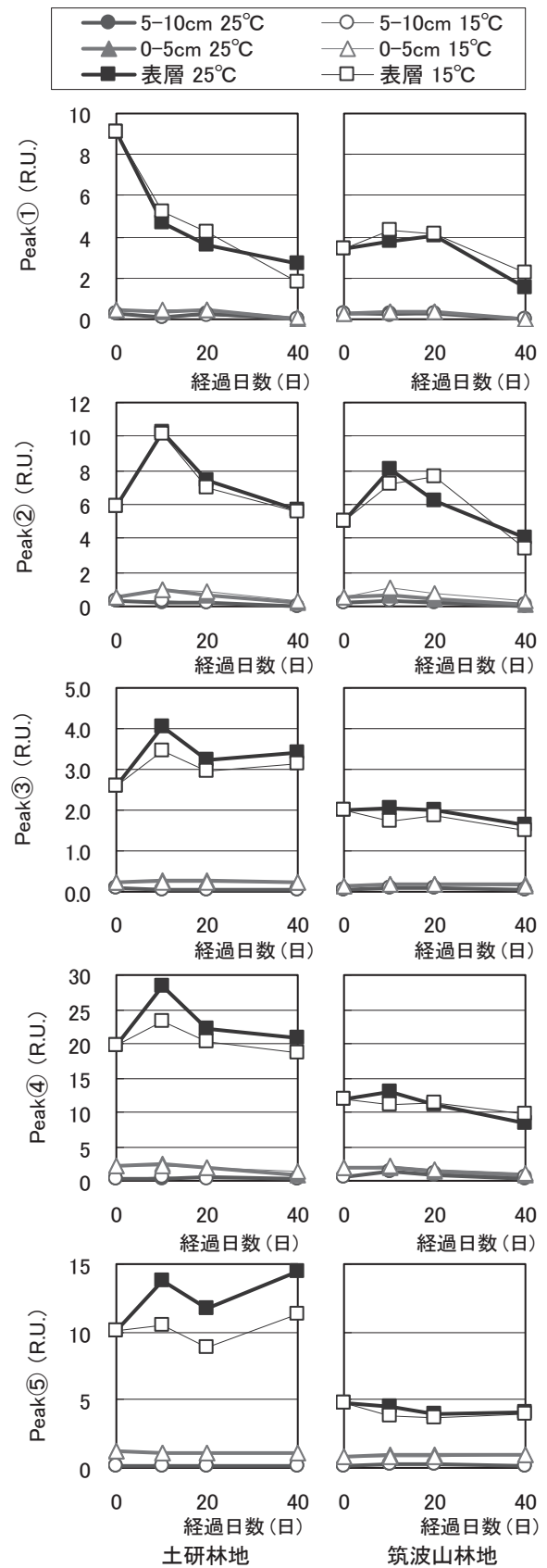


図-17 土壤溶出液の EEM の主なピークの蛍光強度の変化

の 25°C で溶出量が大きく増加した。

Zn は、土研林地の 5~10cm と 0~5cm では 41 日目に 25°C で増加した。土研林地の表層では差は小さいものの、15°C より 25°C で溶出量が高かった。筑波山林地では、5~10cm、0~5cm、表層のいずれも 41 日目に溶出量が増加し、15°C より 25°C でより溶出量が大きくなっていった。

Cu は、土研林地の表層では 15°C よりも 25°C で溶出量の増加が大きかったが、筑波山林地の表層では 25°C は 15°C より溶出量の増加が小さかった。5~10cm、0~5cm では顕著な変化はみられなかった。

B は、土研林地と筑波山林地のどちらも表層で溶出量が大きく、41 日目には 15°C よりも 25°C で溶出

量の増加が大きかった。5~10cm、0~5cm でも 15°C より 25°C で若干大きくなっていった。

Mo の溶出量の変化は Cu と類似しており、土研林地の表層では 25°C で、筑波山林地の表層では 15°C で溶出量が大きかった。

Ni は、採取地点や採取深さによらず 41 日目に溶出量が増加し、15°C よりも 25°C でより増加が大きかった。

Co は、土研林地では 0、41 日目に 5~10cm で、筑波山林地では 41 日目に 0~5cm の 25°C で溶出量が大きかった。また、15°C よりも 25°C で溶出量が大きくなる傾向がみられた。

温度による溶出挙動の変化を把握するため、25°C

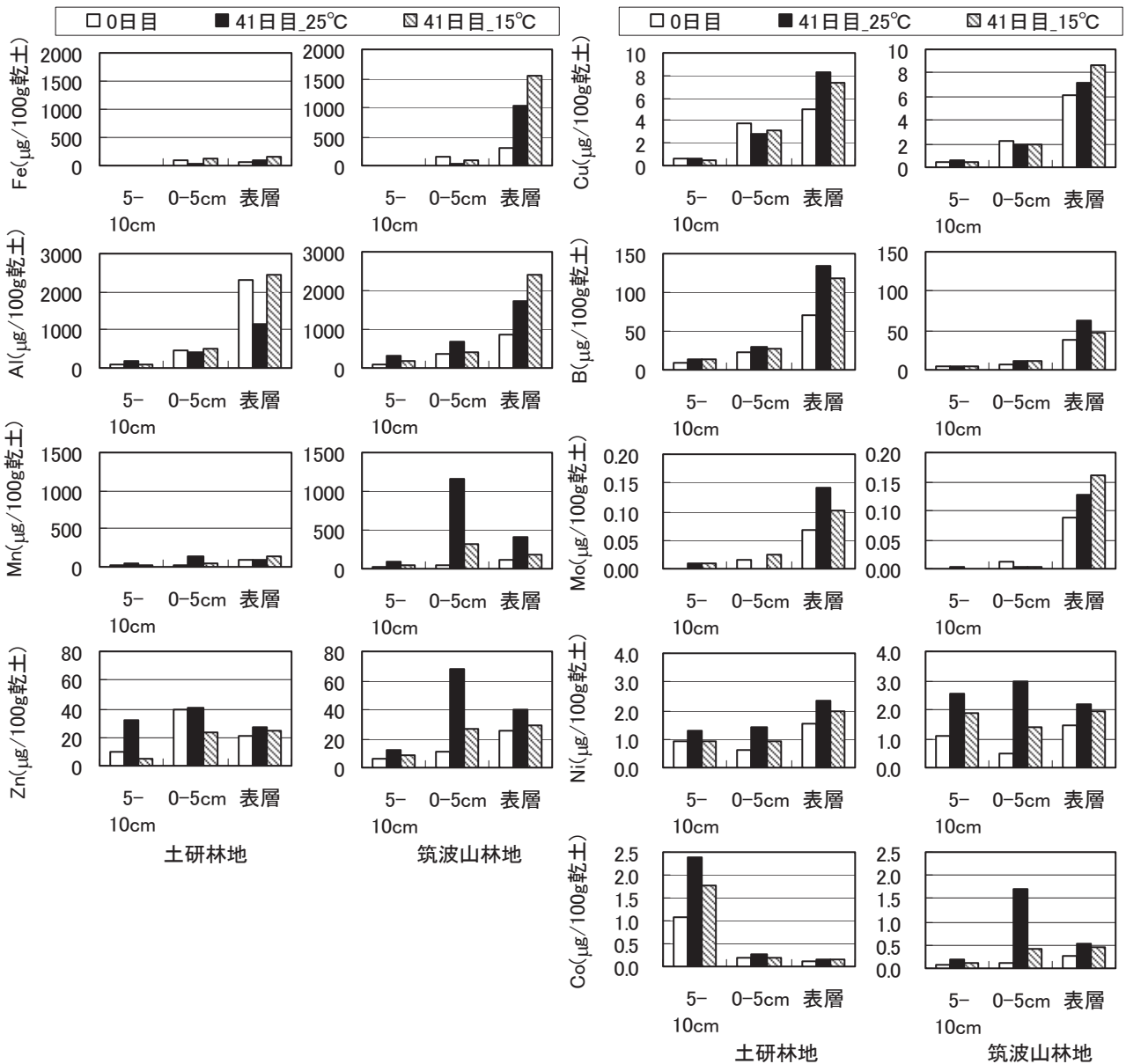


図-18 0 日目と 41 日目の 25°C および 15°C の条件における金属溶出量の比較

での溶出量から 15°Cでの溶出量を引き、差を求めた。図-19は10、20、41日目の主な水質項目の差である。pHは、土研表層を除いて、温度が高いと低くなる傾向がみられた。筑波山林地ではいずれも経過日数とともに差が増大した。NO₃-Nは、どの試料も温度が高いと溶出量が増加し、経過日数とともに差が増大した。小野寺ら⁹⁾による実験でも、温度の高い条件で静置された土壌ではNO₃-Nの生成量と溶出液のpHの低下量が大きくなる結果が得られている。温度が高い条件では有機態窒素の無機化と硝化反応が促進され、NO₃-Nが蓄積されたと考えられ、pHの低下は、硝化反応に伴い放出される水素イオンによると考えられる。土研林地表層ではNO₃-Nの溶出量が小さく差も小さかったが、これは含水率が低いため微生物反応が抑制された可能性がある。

Na⁺の溶出量の温度による差は最大でも0.4 (mg/100g乾燥土壌)であり、他の陽イオンと比較する

と小さかった。また、経過日数による差の変化は土壌試料によって異なった。K⁺の溶出量の差は、筑波山林地表層で大きかった。また、土研林地と筑波山林地のいずれも、0~5cmと表層で、経過日数とともに差が増加する傾向がみられた。Mg²⁺とCa²⁺の溶出量の温度による差は、土研林地の5~10cmでは小さく、0~5cmでは経過日数とともに増加し、表層では低下した。筑波山林地では0~5cmと表層で差が大きく、経過日数とともに差が増加する傾向がみられた。SO₄²⁻の溶出量は、土研林地と筑波山林地の表層で、15°Cより25°Cで大きかった。しかし、経過日数に応じた差の変化はみられなかった。土研林地の0~5cmと5~10cmでは、10日目は温度が高い条件で、20、41日目は温度が低い条件で溶出量が大きくなった。

DOCは、土研林地と筑波山林地の表層で温度が高いと大きく、経過日数とともに差が小さくなった。

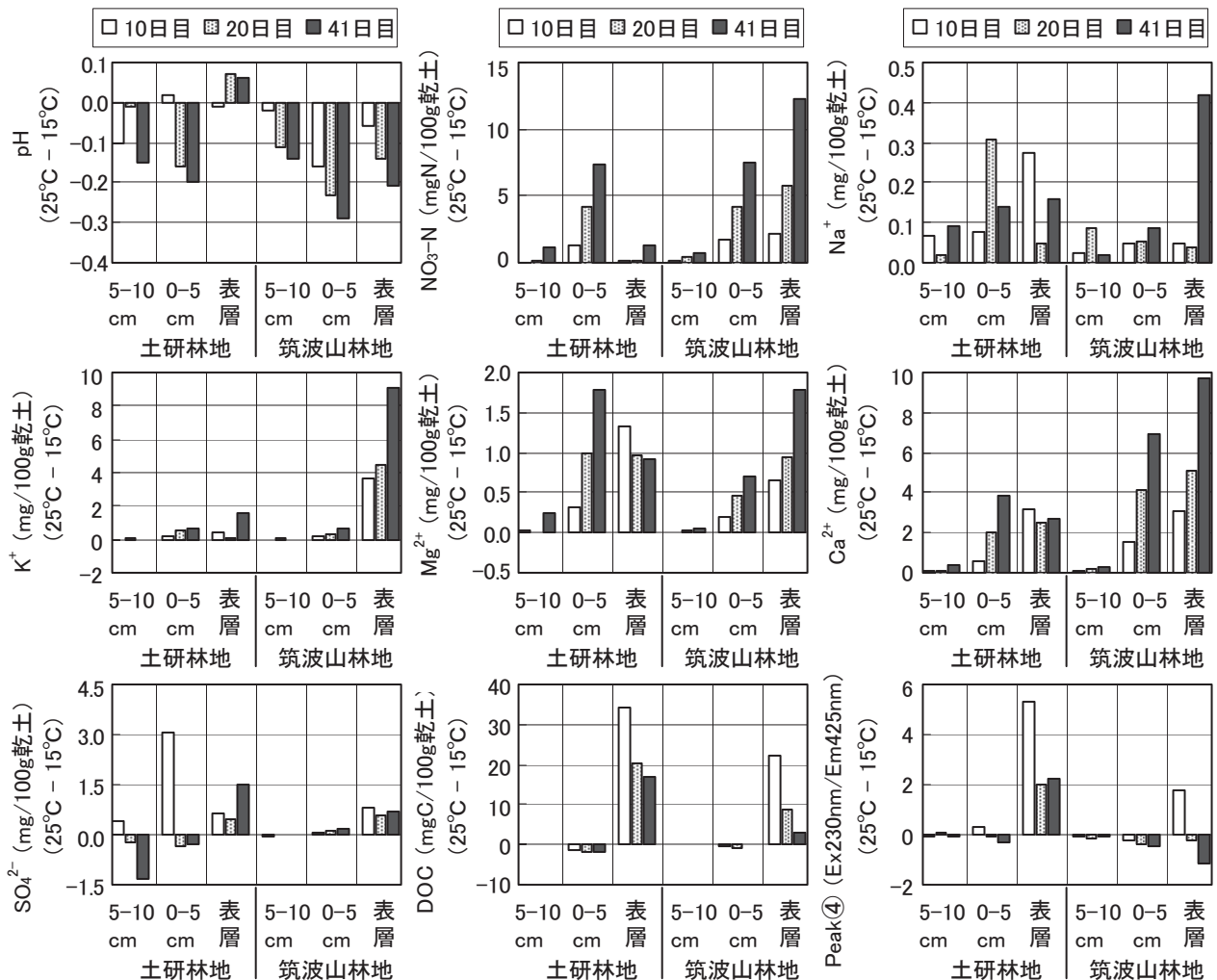


図-19 pH、NO₃-N、Na⁺、K⁺、Mg²⁺、Ca²⁺、SO₄²⁻、DOCの溶出量およびEEMのPeak④の蛍光強度の25°Cと15°Cの差の変化

EEM の Peak④ (Ex230nm/Em425nm、フルボ酸様物質) の蛍光強度は概ね DOC の差の変化と同様であった。

以上から、NO₃-N、K⁺、Mg²⁺、Ca²⁺は温度が高いと溶出量が大きくなり、時間の経過によってその差が増大する傾向であった。一般に、生物反応は温度が 10℃上昇すると反応速度が 2~3 倍になるといわれている。そこで、41 日目の溶出量から 0 日目の溶出量を引き、日数で割った値を各物質の可溶化速度とみなした。そして 25℃での可溶化速度を 15℃での可溶化速度で割った比を求めた。図-20 は、NO₃-N、Na⁺、K⁺、Mg²⁺、Ca²⁺、DOC の 25℃と 15℃の可溶化速度および比である。NO₃-N の可溶化速度はどの土壌試料も 25℃で高かった。土研林地の 5~10cm を除くと、可溶化速度の比は約 2~6 倍であった。土研林地の 5~10cm では 14.6 倍となったが、これは 15℃の条件で溶出量の変化が小さかったためである。

土研林地では、Na⁺の可溶化速度は正であり、25℃で高く、比は 1.3~3.4 であった。筑波山林地の 5~10cm、0~5cm では可溶化速度が負になった。これは、41 日目の溶出量が 0 日目より少なかったことを意味する。筑波山林地の表層では、可溶化速度は 25℃で正、15℃で負となり、比も負の値となった。温度による Na⁺の溶出量の変化は、土壌によって異

なることがわかった。

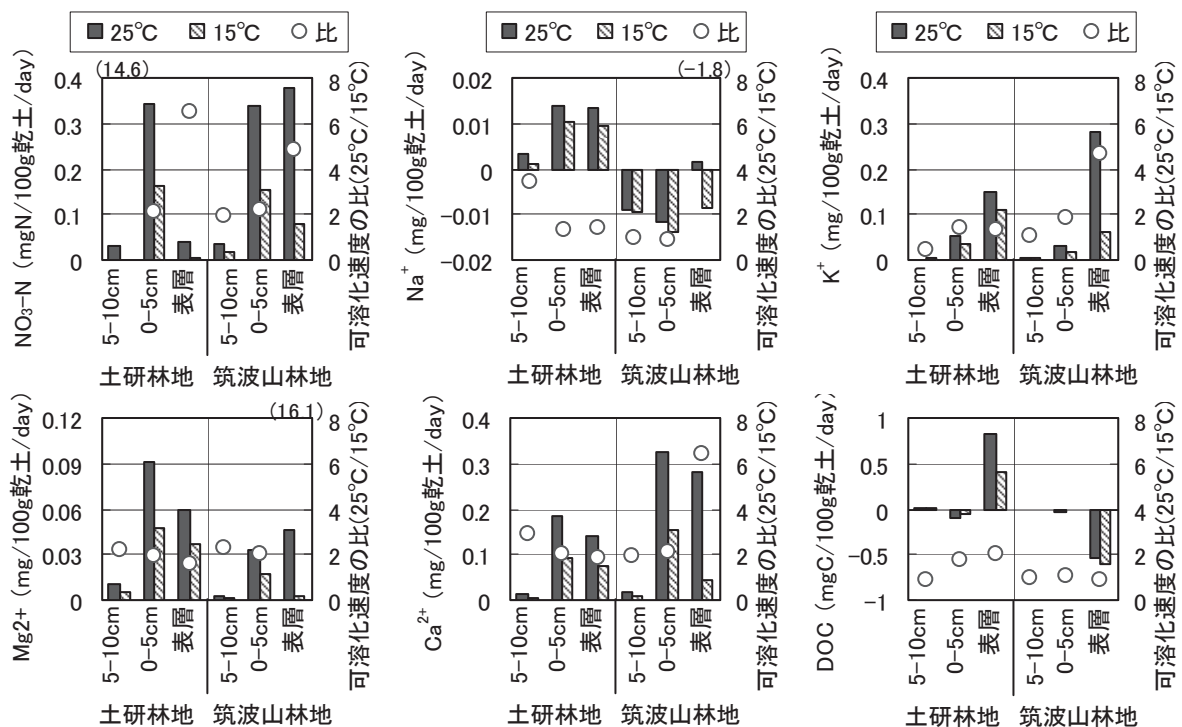
K⁺、Mg²⁺、Ca²⁺の可溶化速度の比は、概ね 1 より大きくなった。筑波山林地の表層ではいずれも比が高かった。他の試料についてみると、10℃の温度上昇に対し Mg²⁺、Ca²⁺の可溶化速度は約 2 倍になっていた。温度が高いと、硝化反応が促進され土壌間隙水中の pH が低下するが、土壌中の Mg²⁺や Ca²⁺による緩衝作用が働く⁷⁾ため、これらの無機陽イオンが溶出すると推測される。

DOC の土研林地の表層では、温度が高いと DOC の溶出量が高くなり、可溶化速度の比は 0.8~2.0 であった。

図-21 は、金属の 25℃と 15℃の可溶化速度および比である。Fe の可溶化速度は筑波山林地表層で大きかったが、比は 1 を下回った。

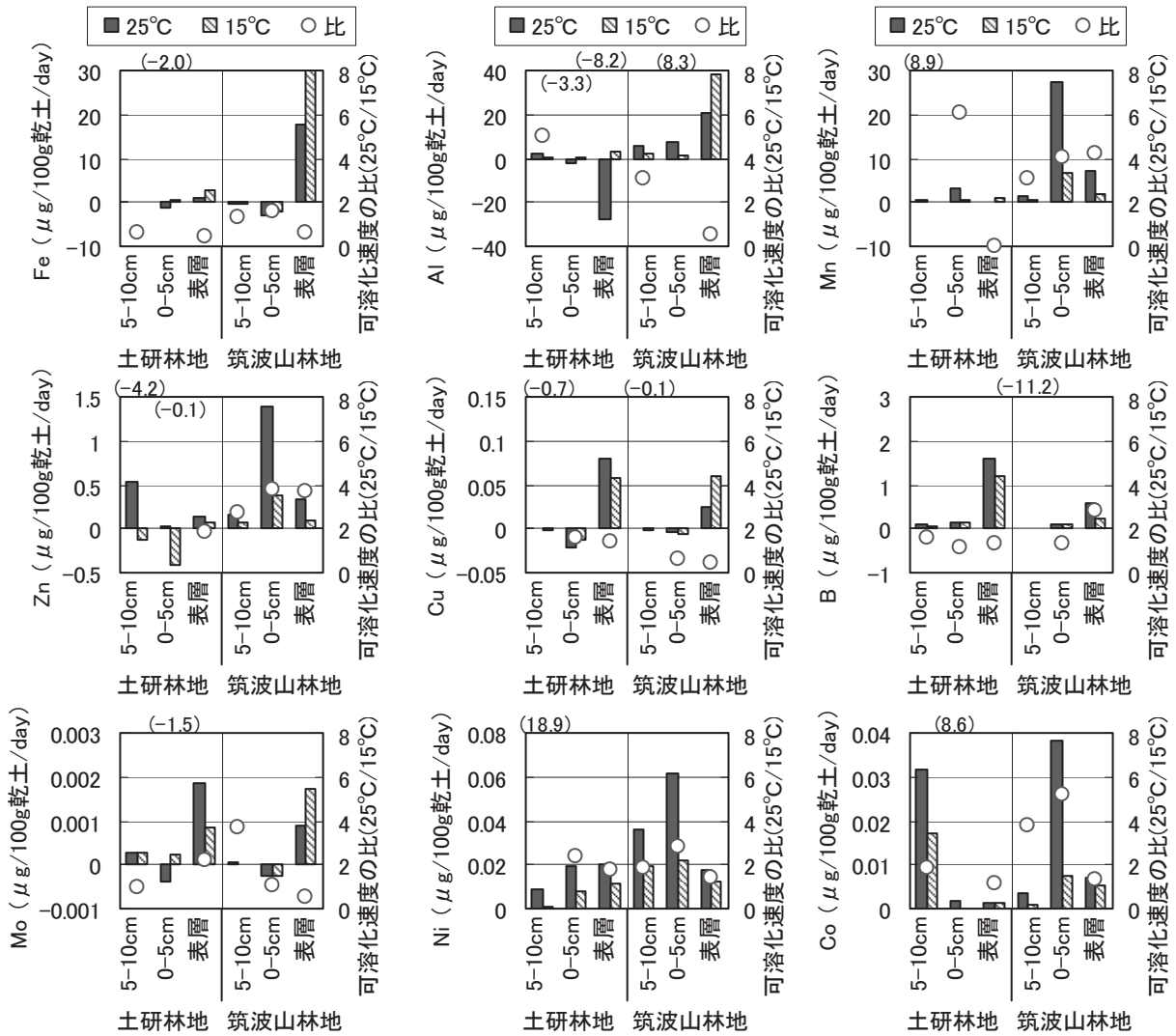
Al の可溶化速度は、表層では 25℃より 15℃で大きかった。可溶化速度の比は、土研林地の 5~10cm と筑波山林地の 5~10cm、0~5cm で 2 以上となった。

Mn の可溶化速度は正であり、土研林地表層を除いて比が 2 以上となった。土壌中では、難溶性の 3 価と 4 価の Mn と可溶性の Mn²⁺が平衡状態にあり、pH が 6 以上だと Mn²⁺はほとんど溶出しない⁸⁾。土研林地の表層では、41 日目の溶出液の pH が、25℃と 15℃のどちらも約 6 であったため、Mn が溶出せ



※ 比の値がグラフ内に収まらないものは、グラフ上部に括弧で値を示した。

図-20 25℃と 15℃における NO₃-N、Na⁺、K⁺、Mg²⁺、Ca²⁺、DOC の可溶化速度とその比



※ 比の値がグラフ内に収まらないものは、グラフ上部に括弧で値を示した。

図-21 25°Cと15°Cにおける金属の可溶化速度とその比

ず、比が低くなったと推測される。

Znは土研林地表層と、筑波山林地の各試料で可溶化速度の比が2以上となった。

Cuの可溶化速度は表層で正となったが、比は2を下回った。

Bは、筑波山林地の5~10cmを除いて可溶化速度が正となった。比は筑波山林地表層が2.8であり、他は2未満であった。

Moの可溶化速度はCuと類似しており、表層で正となった。

Niの可溶化速度はいずれも25°Cで高く、土研林地の5~10cmを除くと比は約2であった。

CoはNiと同様、25°Cで可溶化速度が高くなった。可溶化速度の比は0~5cmで高かった。

以上の結果から、気温の上昇によって森林土壌のpHが低下し、土壌からのNO₃-N、K⁺、Mg²⁺、Ca²⁺

やMn、Zn、B、Ni、Coの溶出量が増大する可能性が示唆された。

次に、温度の違いによって生じた土壌溶出液中の成分が藻類増殖に及ぼす影響を調べた結果を記す。図-22は、セレンストルムを用いたAGP試験における、各試料の650nm吸光度の変化である。Selenastrumは筑波山林地表層の土壌溶出液で増殖した。25°Cの土壌溶出液では、22日目まで増加が続いたが、15°Cの土壌溶出液では12日目以降横ばいとなった。図-23は、土浦港湖水を用いたAGP試験の、650nm吸光度の変化である。Selenastrumと同様筑波山林地表層で増加が大きく、25°Cの土壌溶出液では18日目まで増加が続いた。図-24は、藻類の増加が大きかった筑波山林地表層の土壌溶出液中に観察された藻類の個体数(群體数)に基づく構成である。図-25は、湖水の藻類を添加した条件での主な出現藻類の顕微

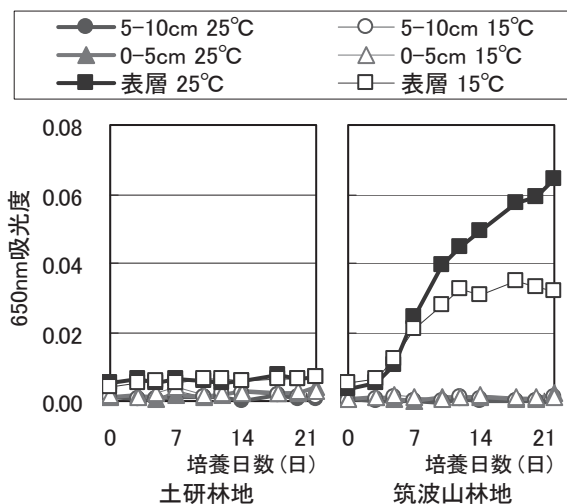


図-22 *Selenastrum* を用いた AGP 試験の 650nm 吸光度の変化

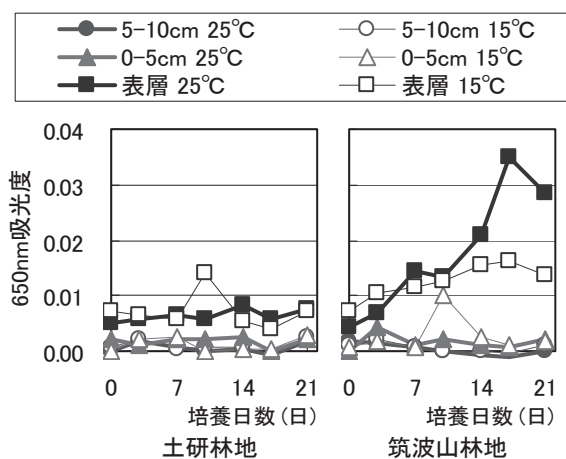
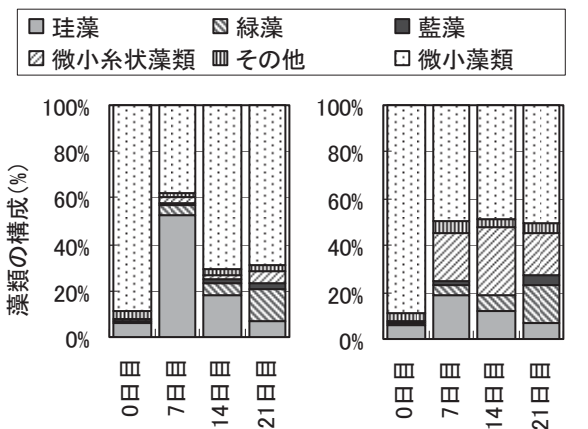


図-23 土浦港湖水を用いた AGP 試験の 650nm 吸光度の変化

鏡写真である。0 日目は光学顕微鏡による分類が困難な微小藻類の割合が高かった。微小藻類は 25°C、15°Cのどちらの溶出液でも多く出現し、21 日目には 25°Cの溶出液で約 70%、15°Cの溶出液で約 50%を占めた。珪藻は、25°Cの土壤溶出液では 7 日目に高い割合となったがその後低下し、21 日目には 25°C、15°Cのどちらの溶出液でも同じ程度の割合となった。出現珪藻の種類は、主に *Cyclotella*、*Urosolenia*、*Nitzschia* であった。緑藻は、21 日目にはどちらの溶出液でも約 10%を占め、主に *Monoraphidium* がみられた。微小糸状藻類は、藍藻の *Spirulina* と考えられるらせん状の藻類で、25°Cの溶出液にはあまり観察されなかったが、15°Cの溶出液では約 20%程度の割合を占めた。その他の藍藻としては、割合は少ないが *Oscillatoria* や *Merismopedia* などが観察された。

以上から、筑波山林地の表層の 25°Cの溶出液は他



筑波山林地、表層、25°C 筑波山林地、表層、15°C

図-24 筑波山林地表層の土壤溶出液で観察された藻類の構成

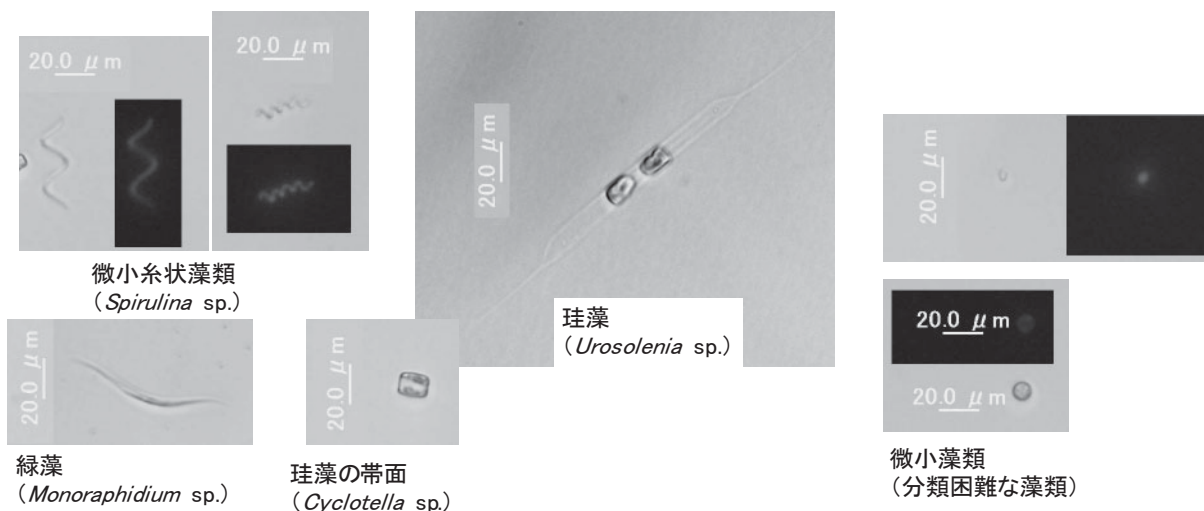


図-25 筑波山林地表層の土壤溶出液で観察された藻類の顕微鏡写真

の試料と比較して藻類増殖ポテンシャルが高いことがわかった。気温の上昇と降雨によって山林表層の堆積物に由来する負荷が河川水で増大すると、下流で藻類が増殖しやすくなると推測された。

4. まとめ

地球温暖化が河川の水質や、集水域からの汚濁負荷特性の変化に及ぼす影響を明らかにするため、河川水質の現地調査から季節および河川集水域の土地利用と水質の関係を、森林土壌培養 - 溶出実験から気温に対する土壌中の金属類や有機物等の溶出挙動および溶出液の藻類増殖ポテンシャルを調査した。

本研究で得られた主要な知見を以下に示す。

夏季と冬季の河川水質の現地調査の結果からは、

(1) SS、VSS、P-Fe、P-Al 濃度は土地利用にかかわらず、いずれの河川でも夏に高くなった。

(2) T-N、NO₃-N 濃度は、冬に集水域の畑の割合が高い河川で、高くなる傾向がみられた。

(3) DOC 濃度は夏に高くなっていたが、森林の割合が高い河川では夏の濃度上昇量が小さくなる傾向がみられた。

森林土壌培養 - 溶出実験の結果からは、

(4) 土壌溶出液の pH は、土壌深さ 5~10cm と 0~5cm の土壌で低下した。

(5) NO₃-N の溶出量は、土壌深さ 0~5cm の土壌で増加し、山林表層でも増加した。

(6) K⁺、Mg²⁺、Ca²⁺は、温度が高い条件で溶出量が大きくなる傾向がみられた。Mg²⁺と Ca²⁺の溶出挙動は類似していた。

(7) D-Fe、D-Al は表層の 15°C で溶出量が大きかった。

(8) D-Mn、D-Zn、D-B、D-Ni、D-Co の溶出量は、温度が高い条件で大きくなる傾向がみられた。

(9) NO₃-N、K⁺、Mg²⁺、Ca²⁺の可溶化速度は、25°C では概ね 15°C の 2 倍以上となっていた。

(10) 土壌溶出液を用いた AGP 試験では、山林表層の溶出液で藻類の増殖が大きく、特に、15°C よりも 25°C で藻類増殖ポテンシャルが高かった。

参考文献・資料

1) T. Kusakabe, T. Kitamura and Y. Suzuki (2008), Characterization of dissolved organic matter in watersheds of Lake Biwa and Lake Kasumigaura

by excitation-emission matrix fluorescence spectroscopy and application of humification index, *Water Science & Technology: Water Supply* 8, 6, 663-671.

- 2) 国土数値情報 (平成 22 年度版行政界データ、平成 21 年度版河川流域界データ、平成 18 年度版土地利用細分メッシュデータ)、国土交通省
- 3) 縄田孝彦、土屋十圀、保坂香(2006)、異なる森林土壌における CO₂ ガス濃度の時間的・空間的変動特性、*水工学論文集*、50、469-474.
- 4) 伊藤優子、加藤正樹(2003)、関東地方の都市近郊平地林における降水中の成分濃度と負荷量 - 森林総合研究所構内における降水の観測結果 -、*森林総合研究所研究報告*、2(3)、149-155.
- 5) Chen, W., Westerhoff, P., Leenheer, J.A., Booksh, K. (2003) Fluorescence excitation-emission matrix regional integration to quantify spectra for dissolved organic matter. *Environmental Science and Technology*, **37** (24), 5701-5710.
- 6) 小野寺真一、加藤正樹(1997)、森林土壌中の溶質移動に及ぼす冷夏および猛暑の影響、*陸水学雑誌*、58、45-59.
- 7) 津野洋、宗宮功、西村文武、小島岳晴(1997)、酸性雨による土壌溶出水の水質特性とその藻類増殖に及ぼす影響に関する研究、*水環境学会誌*、20(4)、246-253.
- 8) 土壌養分測定法委員会(2002)「土壌養分分析法」、株式会社養賢堂、333-351.

水生生物の生体反応を用いた下水処理水の毒性評価に関する研究

研究予算：運営費交付金（一般勘定）

研究期間：平 22～平 24

担当チーム：水環境研究グループ（水質）

研究担当者：池田 茂、南山瑞彦、北村友一、村山康樹、
朴 昶範

【要旨】

下水処理水の水生生物への毒性影響を迅速検出するため、マイクロアレイによる遺伝子発現解析手法の適用を試みた。メダカの遺伝子発現プロファイルの変化から下水処理水に含まれる毒性を評価するためには、作用機序の異なる様々な化学物質の曝露実験から、比較対照として化学物質毎の遺伝子発現プロファイルを得る必要がある。本研究では、公共の遺伝子発現データベースを基に、メダカマイクロアレイを設計し、各遺伝子に機能などのアノテーション情報を追加した。次に、7種類のモデル化学物質をメダカに曝露し、化学物質濃度と臓器（肝臓、エラ、精巣、脳）毎の遺伝子発現プロファイルの取得を行った。さらに、下水試料に曝露したメダカのマイクロアレイによる遺伝子発現プロファイルの取得を行い、マーカー候補遺伝子の抽出や統計解析手法を用いて下水処理水の毒性評価を行った。その結果、下水処理過程で毒性が低減していることがわかった。

キーワード：メダカ、マイクロアレイ、遺伝子発現解析、毒性評価、下水処理水

1. はじめに

下水処理水の安全性を個別の化学物質によって管理することは困難であるとの考え方から、バイオアッセイによる排水の総毒性評価と管理が注目されている。排水の毒性評価では、ヒトや生態系への悪影響を未然に防ぐため、迅速かつ高感度の試験法が求められる。現在の水生生物の毒性試験では、魚類、ミジンコ、藻類の生死や生長阻害などを指標として評価されるが、検出感度が低いこと、さらに、検出感度向上のためには、試料の濃縮が必要であることが問題となっている。

一方で、近年のバイオテクノロジーの発展により、生体反応の微小変化を検出できる遺伝子発現解析などの分析技術の開発が進んでおり、水環境分野においてもこれらの技術の応用が期待されている。

本研究は、下水処理水の水生生物への影響評価手法へ遺伝子発現解析技術を適用するための基礎研究と位置付け、処理水の毒性把握のための方法論と評価法の提案を目指した。本研究で使用した水生生物は、遺伝子情報が豊富で、小型で飼育の容易な魚類のモデル生物であるメダカとした。

本研究では、はじめに、遺伝子発現解析に必要なメダカマイクロアレイの設計と作成を行った。次に、下水処理水の生物影響を遺伝子レベルで高感度検出するため、化学物質や下水試料を用いて曝露時間の

最適化実験、さらに、メダカの遺伝子発現の変化から下水処理水に含まれている毒性を評価するため、作用機序の異なる様々な化学物質によるメダカの曝露実験を行い、化学物質毎の遺伝子発現プロファイルの取得を行なった。次に、処理レベルの異なる下水処理水のメダカの曝露実験を行い、各下水処理水曝露時の遺伝子発現プロファイルと化学物質毎の遺伝子発現プロファイルの比較から、下水処理過程での毒性低減の評価を行った。

2. マイクロアレイ搭載遺伝子の設計

2.1 使用マイクロアレイの選定

マイクロアレイは、任意の遺伝子が搭載可能（搭載遺伝子の見直しも可能）で、1 検体当たりの費用が比較的安価となる Agilent 社のプラットフォームを利用することとした。Agilent 社製のマイクロアレイに搭載可能な遺伝子数は、43,803（44K）、103,747（105K）である。44K は、1 枚のスライドグラスで 4 検体(図-1a)、105K は、2 検体(図-1b)の測定が可能である。



図-1 採用したマイクロアレイの形式

マイクロアレイに搭載するメダカの遺伝子情報は、公共のデータベース DFCI Medaka Gene Index (http://compbio.dfci.harvard.edu/cgi-bin/tgi/gimain.pl?gudb=o_latipes)に登録されている Release8.0 (2009年6月2日更新)とし、このデータベースからマイクロアレイに搭載する遺伝子を抽出した。

2.2 マイクロアレイ搭載遺伝子の抽出条件

DFCI Medaka Gene Index Release8.0に登録されている遺伝子は、68,425あり、その中から、44Kマイクロアレイと105Kマイクロアレイに搭載する遺伝子を以下に示す優先順位に従い選択した。

2.2.1 44K マイクロアレイ搭載遺伝子の抽出

44K マイクロアレイを使用する場合、データベースに登録されている68,425の遺伝子から、43,803個を選抜する必要がある。44K用メダカマイクロアレイの選抜条件は以下のとおりとした。

- 1) TC(Tentative consensus)から始まる ID があるもの。(複数の塩基配列情報が繋ぎ合わされ、統一されたもの)
- 2) TCから始まる ID 以外の ID であるもの。
 - 2)-1 アノテーション情報があるもの。
 - 2)-2 塩基にNを含まないもの。
 - 2)-3 塩基配列が700ベースを超えるもの
- 3) これまで著者らの研究¹⁾²⁾から、搭載した方が

よいと判断された ID のうち、1)、2)と重ならないもの

2.2.2 105K マイクロアレイ搭載遺伝子の抽出

105K マイクロアレイは、遺伝子を選抜せずに DFCI Medaka Gene Index Release8.0に登録されている遺伝子のほぼ全てが搭載可能であり、さらに、搭載遺伝子に余裕がある。そこで、105Kフォーマットは、「1)TC(Tentative consensus)から始まる ID があるもの。」の条件に該当する遺伝子のプローブを2回(duplicate)で搭載した。

2.3 マイクロアレイに搭載するプローブの設計

マイクロアレイに搭載するプローブの設計は、Agilent社のeArray (<https://earray.chem.agilent.com/earray/>)を使用した。eArrayは、ユーザーがアップロードした塩基配列から独自のアルゴリズムによりAgilentフォーマットに適したプローブを設計する事が可能である。プローブ設計の際のパラメータは以下のとおりとした。

Probe Length: 60bp

Probes per Target: 1

Probe Orientation: Sense

Design Options: Best Probe Methodology, Design with 3' Bias

Target File Details: Upload in FASTA Format

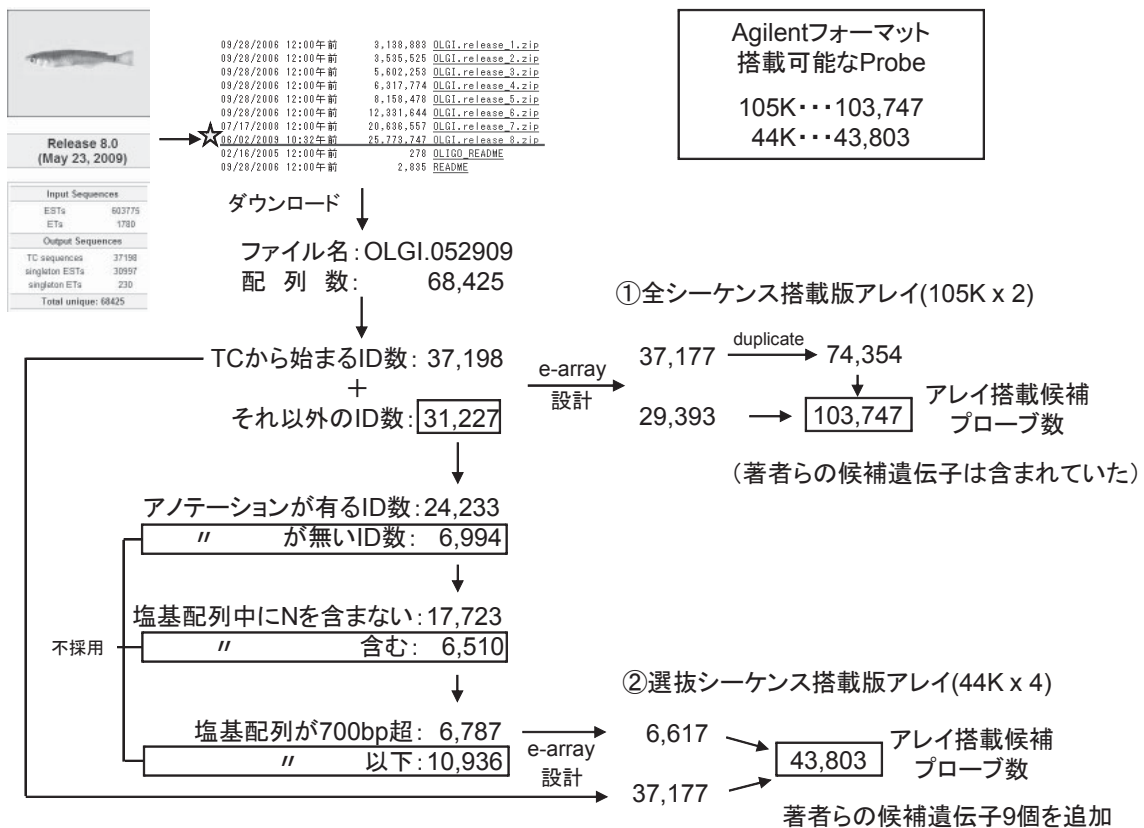


図-2 メダカアレイ搭載プローブの選定手順

Transcriptome Details: Select Agilent-Provided Transcriptome (by Species)

2.4. マイクロアレイの設計結果

44K と 105K マイクロアレイに搭載する遺伝子の抽出結果を図-2 と表-1 に示した。表-1 は、研究目的と研究費に応じてマイクロアレイを選択できるように、データベース登録遺伝子数に対する搭載遺伝子数とカバー率さらに1検体あたりのコストも記載した。44K アレイ搭載遺伝子は、データベース登録遺伝子の 64%程度であるが、比較的安価で試験が可能である。

表-1 メダカマイクロアレイの設計結果

抽出条件	44K アレイ	105K アレイ
TC から始まる ID	37,177 個	37,177×2 個
TC から始まる ID 以外の ID	6,617 個	29,393 個
搭載遺伝子数/全遺伝子数	(43,803/68,425 =0.64)	(66,587/68,425 =0.97)
カバー率	64%	97%
1 検体あたり価格	27,300 円	54,600 円

2.5 アノテーションの追加方法

DFCI Gene Index Release8.0 に登録されている遺伝子の機能情報は少ないため、化学物質や下水処理水曝露で発現変動した遺伝子の役割について解析が必要な場合、各遺伝子の機能情報 (アノテーション)が必要となる。機能情報を追加することにより、どのような役割の遺伝子が変動するかを知ることができ、生物影響をより詳細に解析できる。そこで、マイクロアレイに搭載した各遺伝子と同一性の高いヒトとゼブラフィッシュの機能情報 (EntrezID (NCBI のデータベースで染色体の位置、構造、機能などの情報が登録されている ID) と GO : geneontology (遺伝子機能の用語と体系情報)) を追加することとした。機能情報の追加作業工程は以下のとおりである。

マイクロアレイに搭載した各遺伝子についてプローブ設計の基になった mRNA 配列情報 (DFCI Gene Index Release8.0) を用いて Blastx (Blastx: 核酸の同一性検索のひとつで、塩基配列をアミノ酸配列に変換した後、アミノ酸配列データベースに対して検索を行う方法) 検索し、ヒトおよびゼブラフィッシュの RefSeq ID (NCBI (米国バイオテクノロ

ジーセンター) が提供しているデータベースの ID) の遺伝子を取得した。その後、得られた RefSeq ID を用いて NCBI Entrez Gene ID (NCBI の Entrez というデータベース (染色体の位置、構造、機能など) の ID) を検索し、各リストに Entrez ID を追加した。さらに、RefSeq ID を用いてヒトの GO 情報は、Uniprot-GOA (<http://www.ebi.ac.uk/GOA/>)、ゼブラフィッシュは、ZFIN (<http://zfin.org>) データベースから取得した。

2.6 アノテーション情報の追加結果

44K アレイに搭載されている 43,803 プローブのうち 96.4%にヒトの Entrez Gene ID、98.0%にゼブラフィッシュ Entrez Gene ID を取得することができた。ヒトとゼブラフィッシュで Entrez Gene ID まで取得できた割合を比較すると、ゼブラフィッシュの方がその割合が高かった。残りのプローブについては、同一性の高いヒト、ゼブラフィッシュのアミノ酸配列が存在しなかった。

各 Blastx 検索結果からメダカ塩基配列との同一性の高さを表す E-value (同一性が高いほど低い値を示す) について、ヒトおよびゼブラフィッシュそれぞれの分布を調査した。その結果、ヒトでは、E-value が 1.0E-5 以下だったものは、43,803 プローブのうち 65.6%、ゼブラフィッシュでは、69.4%であり、ゼブラフィッシュと同一性が高いプローブが多かった。

得られたヒトとゼブラフィッシュの Refseq ID を基に GO 情報を生物学的プロセス (B : biological process)、分子機能 (M : molecular function)、細胞構成要素 (C : Cellular component) に分けて取得した。43,803 プローブのうち GO 情報が取得できた割合は、ヒト GO では 75.4% (B)、79.0% (M)、83.5% (C)、ゼブラフィッシュ GO では、49.7% (B)、53.7% (M)、54.6% (C) となった。

本アノテーション追加作業で追加した項目は以下のとおりである。

human RefSeqID,	zebra RefSeq ID
human EntrezGeneID,	zebra EntrezGeneID
human biological process,	zebra biological process
human molecular function,	zebra molecular function
human Cellular component,	zebra Cellular component
human GeneSymbol,	zebra GeneSymbol
human E-value,	zebra E-value

今後、追加したアノテーション情報の検証や修正は必要となるが、追加した遺伝子の機能情報を利用することにより、発現変動遺伝子の機能解析が可能

となる。

3. メダカの曝露時間と解析臓器の決定

メダカの遺伝子発現から下水試料の毒性を評価する場合、メダカの遺伝子発現の変化を確実にとらえる必要がある。遺伝子発現の変化は、曝露水質の変化に対して速やかに反応すると考えられるものの、曝露時間と遺伝子発現の関係は明らかでない。さらに、解析に相応しい臓器を明らかにする必要がある。そこで、メダカを3、24、96時間、化学物質（エストロン（女性ホルモン）、トリクロサン（殺菌剤）、NDMA（発がん性物質））、流入下水、2次処理水に曝露し、各曝露時間での肝臓、エラ、精巣、脳の遺伝子発現解析を行った。

3.1 実験方法

曝露条件は表-2のとおりである。各化学物質の曝露濃度は、下水試料で検出されるレベルの3段階とした。概ね、高濃度区が流入下水、中濃度区が2次処理水、低濃度が高度処理水レベルとなっている^{3) 4) 5)}。曝露時間は、急性毒性試験で使用される96時間以内とし、3、24、96時間の3条件から最適曝露時間を検討した。なお、対照区には脱塩素水道水を使用した。マイクロアレイは、より網羅的に検出できる105Kを使用することが望ましいが、予算の制約上44Kを使用することとした。

表-2 メダカの曝露条件の一覧

曝露方式	: 半止水式
化学物質と曝露濃度	
エストロン(estrone)	2、20、200 (ng/L)
N-ニトロソジメチルアミン(NDMA)	10、100、1000 (ng/L)
トリクロサン(triclosan)	50、500、5000 (ng/L)
下水試料	: 流入下水、2次処理水
水温	: 24±1℃
曝露期間	: 3、24 および 96 時間
供試生物	: d-rR 系メダカ雄魚 (3~9 カ月齢)
供試生物数	: 6~8 個体/曝露区
照明	: 明期 16 時間/暗期 8 時間
給餌	: なし
エアレーション	: 緩やかに曝気
遺伝子発現解析臓器	: 肝臓、エラ、精巣、脳
使用マイクロアレイ	: 44K

3.2 曝露実験の操作

エストロン(2、20、200 ng/L の3濃度区)、NDMA(10、100、1,000 ng/L の3濃度区)、トリクロサン

(50、500、5,000 ng/L の3濃度区)を添加した脱塩素水道水で、3~9カ月齢のd-rR系メダカの雄魚を曝露し、曝露開始時から3、24、96時間後に、各試験区6個体を1匹ずつ、RNAlater中で肝臓、エラ、精巣、脳を摘出した。摘出した臓器は1個体毎にRNAlaterに浸漬し、RNA抽出まで-20℃で保存した。

各臓器は、1個体毎にRNA抽出(RNeasy mini kit)を行い、それぞれ6個体のRNA抽出液の一部を混合し、アジレントのプロトコールに従い、RNAの増幅、Cy3標識、マイクロアレイスキャン、各プローブの数値化を行った。

3.3 遺伝子発現解析の方法

遺伝子発現解析は、subio および Microsoft EXCEL を使用した。はじめに、曝露時間および臓器毎にアレイ間ノーマライズ(75%値で規格化)を行い、バックグラウンド以下と判定されたものを排除した。

ノーマライズされた各プローブのシグナル値を用いて、各臓器毎に時間依存性のある遺伝子を以下の条件で抽出した。

3、24、96 時間の経過時間とともに遺伝子発現が増加または減少しているもの

3、24、96 時間の遺伝子発現強度が対照区の3倍以上または1/3以下となったもの

さらに、遺伝子発現強度が時間依存性を有している遺伝子群の中から vitellogenin、choriogenin などのバイオマーカー遺伝子の発現挙動も調べた。

3.4 解析結果

図-3、4、5、6は、肝臓、エラ、精巣、脳の遺伝子発現強度が、曝露時間とともに増加(up regulation)、または、減少(down regulation)した時間依存性を有する遺伝子を抽出し、各曝露条件で対照区の3倍以上、1/3以下となった遺伝子数を示したものである。各臓器において時間依存性を有する遺伝子群は、曝露時間96時間で、遺伝子発現強度が対照区の3倍以上、1/3以下となる遺伝子が多くなることがわかった。特に、肝臓は他の臓器と比べ、3倍以上、1/3以下となる遺伝子数が多いことがわかった。これらの遺伝子数は、化学物質によって異なることがわかった。

図-7、8、9は、肝臓での女性ホルモン様物質のバイオマーカー遺伝子として知られている vitellogenin、choriogenin 遺伝子の曝露時間と遺伝子発現強度を示したものである。96時間曝露区で遺

伝子発現強度が最も高くなることがわかる。女性ホルモン様物質をより高感度で検出しようとする場合は、96時間曝露が適していることがわかった。

図-10,11は、エラでの多環芳香族炭化水素のバイオマーカーとして知られるP4501A1伝子とL-SF(choriogenin L)伝子の曝露時間と伝子発現強度の関係である。P4501A1伝子は、下水試料曝露区のみで高発現を示し、曝露時間3時間で最も高く、曝露時間が長くなるに従い低下する傾向を示した。96時間曝露後も伝子発現強度は十分に検出できるレベルであった。L-SF伝子は、エラにおいても発現しており、96時間曝露区で伝子発現強度は最大となった。

雌の卵巣で高発現を示すZPC1とZPC5伝子は、Estrone20ng/L、96時間曝露で最も高くなった。濃度依存性の傾向はみられなかったものの、影響が出る場合は96時間曝露により検出できる可能性がある。精巣でもL-SF伝子は誘導され、流入下水曝露区では、96時間曝露後に高発現となることがわかった。(図-12~14参照)

脳では、各化学物質曝露区で時間・濃度依存性のある伝子はみられなかったが、NDMA 100ng/L、96時間曝露、トリクロサン 500ng/L、3時間曝露時に高発現となっていた。流入下水曝露区では、蛋白質分解酵素伝子であるElastase伝子、Carboxypeptidase伝子が時間依存性を有し、96時間後の高発現を示した。(図-15,16参照)

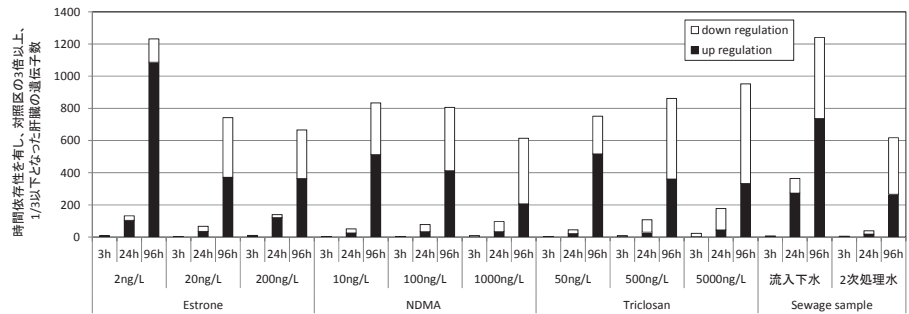


図-3 肝臓で時間依存性を有し、対照区の3倍以上、1/3以下となった遺伝子数

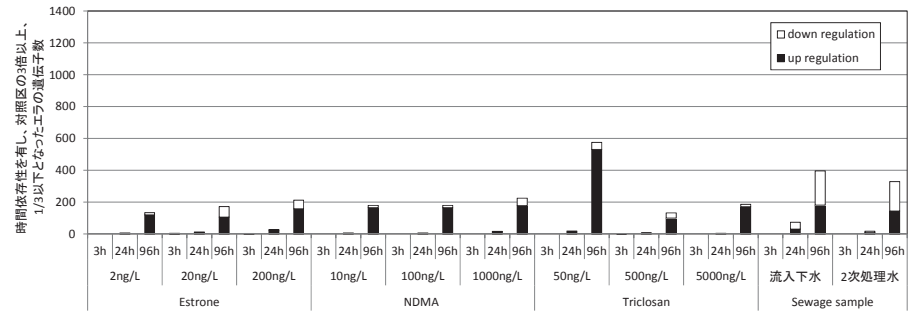


図-4 エラで時間依存性を有し、対照区の3倍以上、1/3以下となった遺伝子数

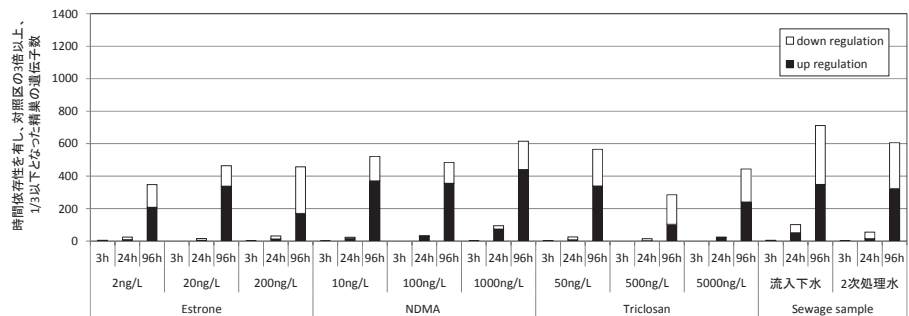


図-5 精巣で時間依存性を有し、対照区の3倍以上、1/3以下となった遺伝子数

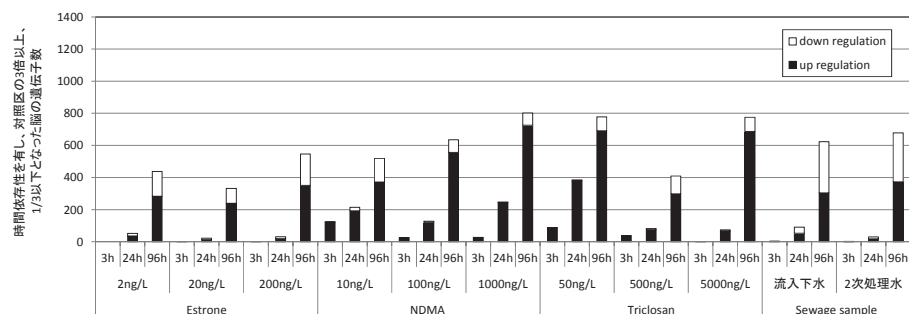


図-6 脳で時間依存性を有し、対照区の3倍以上、1/3以下となった遺伝子数

以上の結果から、下水処理水の魚類影響として懸念されるのは、女性ホルモン様物質であり、女性ホルモン様物質の影響を高感度に検出するには96時間が適していること。また、96時間曝露により高発現となる遺伝子が多かったこと。96時間曝露は、急性毒性試験としても利用できることから、以降の実験では、曝露時間は96時間とした。

4. 化学物質および下水試料に曝露したメダカの網羅的遺伝子発現プロファイルの取得

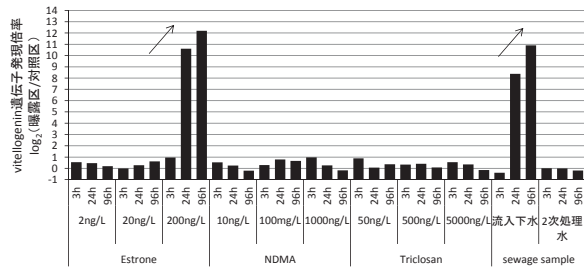


図-7 肝臓での各曝露物質とvitellogenin遺伝子の発現強度の関係

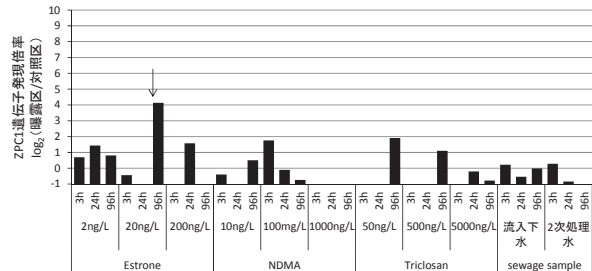


図-12 精巣での各曝露物質とZPC1遺伝子の発現強度の関係

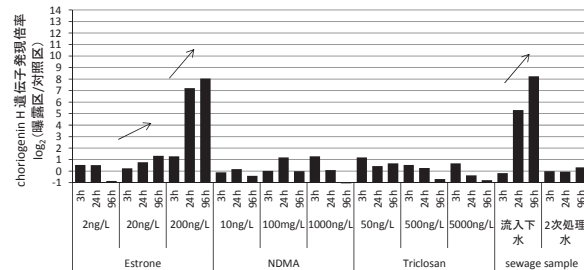


図-8 肝臓での各曝露物質とchorogenin H遺伝子の発現強度の関係

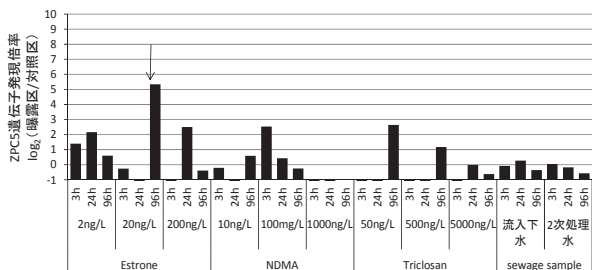


図-13 精巣での各曝露物質とZPC5遺伝子の発現強度の関係

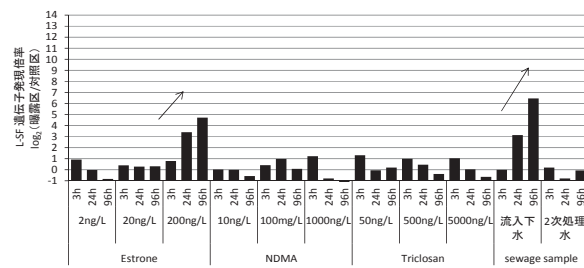


図-9 肝臓での各曝露物質とL-SF遺伝子の発現強度の関係

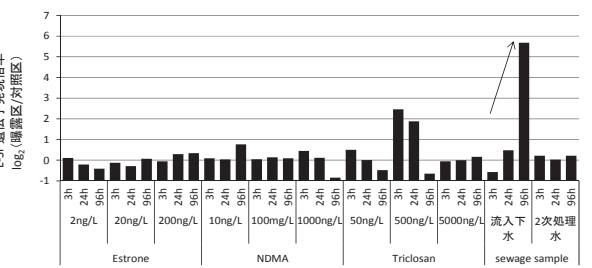


図-14 精巣での各曝露物質とL-SF遺伝子の発現強度の関係

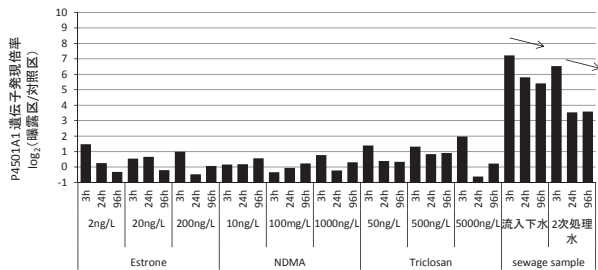


図-10 エラでの各曝露物質とP4501A1遺伝子の発現強度の関係

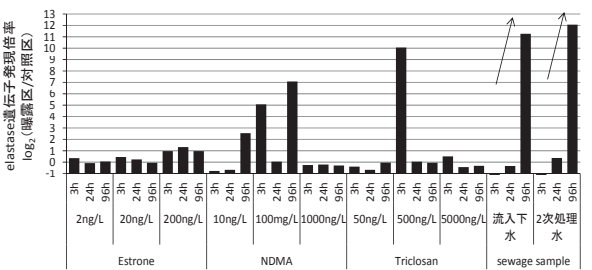


図-15 脳での各曝露物質とelastase遺伝子の発現強度の関係

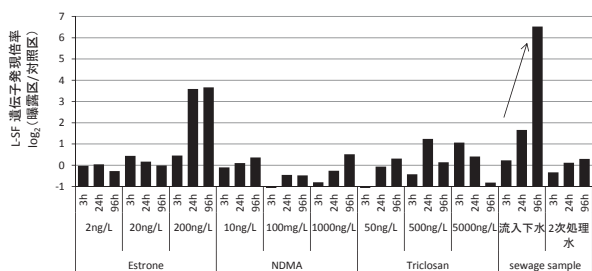


図-11 エラでの各曝露物質とL-SF遺伝子の発現強度の関係

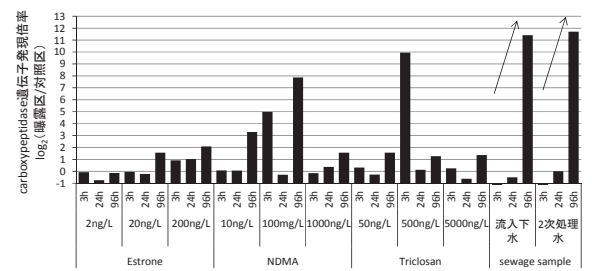


図-16 脳での各曝露物質とcarboxypeptidase遺伝子の発現強度の関係

マイクロアレイによるメダカの遺伝子発現プロファイルの変化から、下水処理水の毒性を予測するためには、作用機序の異なる様々な化学物質のメダカの曝露試験を行い、メダカの遺伝子発現のプロファイルを得る必要がある。そこで、近年、下水処理水に含まれ、水生生物への影響が懸念されている化学物質などから次の7種類を曝露物質として選定した。

曝露物質は、エストロン(女性ホルモン)、N-ニトロソジメチルアミン:NDMA(発がん性物質)、トリクロサン(殺菌剤)、フルタミド(抗男性ホルモン)、クラリスロマイシン(抗生物質)、シクロホスファミド(抗がん剤)、ジヒドロテストステロン:DHT(男性ホルモン)である。毒性を評価する下水試料は、実際の下水試料とし、流入下水、2次処理水、塩素

処理水、担体処理水とした。

4.1 曝露実験の方法

メダカの曝露条件は表-3のとおりである。各化学物質の曝露濃度は、排水試料で検出されるレベルの3段階とした。概ね、高濃度区が流入下水、中濃度区が2次処理水、低濃度が高度処理水レベルとなっている³⁾⁴⁾⁵⁾⁶⁾⁷⁾⁸⁾⁹⁾。曝露時間は、96時間とし、対照区は脱塩素水道水とした。使用したマイクロアレイは、44Kとした。下水試料の曝露実験は、化学物質曝露と同条件で行った。

表-3 メダカの曝露条件の一覧

曝露方式	半止水式		
曝露物質と濃度			
エストロン*	2, 20, 200	(ng/L)	
NDMA*	10, 100, 1000	(ng/L)	
トリクロサン*	50, 500, 5000	(ng/L)	
フルタミド**	10, 100, 1000	(μ g/L)	
クラリスロマイシン**	50, 500, 5000	(ng/L)	
シクロホスファミド**	5, 50, 500	(ng/L)	
ジヒドロテストステロン***	40, 400, 4000	(ng/L)	
201009	流入下水, 2次処理水****		
201012	流入下水, 2次, 塩素処理水*****		
201111	流入下水, 2次, 塩素, 担体処理水*****		
水温	24 \pm 1 $^{\circ}$ C		
曝露期間	96時間		
供試生物	d-rR系メダカ雄魚(3~9カ月齢)		
供試生物数	6~8個体/曝露区		
照明	明期16時間/暗期8時間		
給餌	なし		
エアレーション	D0が低い場合は緩やかに曝気		
遺伝子発現解析臓器	肝臓、エラ、精巣、脳		
使用マイクロアレイ	44K		

注1 フルタミド濃度は抗男性ホルモン活性値としての検出値
 注2 ジヒドロテストステロンは男性ホルモン活性としての検出値
 注3 全ての曝露実験は、同時にできなかったため、本研究期間中6回、毎回コントロールを含めて行った。(*Run1, **Run2, ***Run3, ****Run4, *****Run5, *****Run6)

4.2 曝露実験の操作

3.2 と同様

4.3 遺伝子発現解析の方法

遺伝子発現解析は、subio および Microsoft EXCEL を使用した。はじめに、曝露濃度および臓器毎にアレイ間ノーマライズ(75%値で規格化)を行い、バックグラウンド以下のシグナルを排除した。次に、各化学物質および流入下水のバイオマーカー探索と全遺伝子セットと各種遺伝子の機能を特定し

た遺伝子セットを用いた統計解析手法により、化学物質や下水処理水の毒性評価を行った。

(1) バイオマーカー探索と下水試料の毒性評価

各化学物質および流入下水のバイオマーカー候補遺伝子の探索は、以下の抽出条件で行った。

各化学物質のマーカー候補遺伝子の抽出条件

1. 遺伝子発現強度が濃度依存性を有しているもの。
2. 曝露濃度中濃度区で、遺伝子発現が対照区の3倍以上、1/3以下となるもの。
3. 他の化学物質の遺伝子発現強度は、遺伝子発現強度に変化がないもの(3倍以内、1/3以上)

流入下水のマーカー候補遺伝子の抽出条件

3回の流入下水の曝露試験で、全てで対照区の3倍以上となるもの

(2) 統計解析による毒性評価

バックグラウンド以上の遺伝子セットを用いて、Kishi¹⁰⁾らの各遺伝子発現をユークリッド距離とピアソン相関係数による解析を試みた。解析法の概要を図-17に示す。ユークリッド距離が全体的な遺伝子発現強度の分布、ピアソン相関が各遺伝子発現強度の違いを反映する。このユークリッド距離とピアソン相関の関係から、生理活性度(Degree of physiological activity)を評価するものである。上記解析は、全遺伝子セットと geneontology 情報の biological process 第一階層の遺伝子セットで行った。

$$d(\text{Euclidean distances}) = \sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

ここで、 i は n 個におよぶ遺伝子の添え字、 x_i は i 番目の遺伝子の発現強度、 \bar{x} は n 個の遺伝子発現強度の平均値(本ケースの n は38,996遺伝子)

$$\text{PearsonCC} = \cos \theta = \frac{\sum_{i=0}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=0}^n (x_i - \bar{x})^2} \sqrt{\sum_{i=0}^n (y_i - \bar{y})^2}}$$

ここで、 θ は2サンプル間ベクトル角度、 \bar{x} 、 \bar{y} はそれぞれ2サンプルの遺伝子発現強度の平均値(本ケースの n は38,996遺伝子)

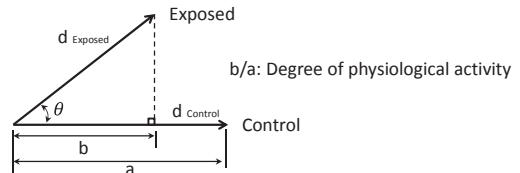


図-17 ユークリッド距離とピアソン相関係数、生理活性度(Degree of physiological activity)の算出法¹⁰⁾

4.4 実験結果

4.4.1 各化学物質と下水試料のマーカー遺伝子の探索と下水試料の評価

■ Estrone 2ng/L ■ Estrone 20ng/L ■ Estrone 200ng/L ■ NDMA 10ng/L ■ NDMA 100ng/L ■ NDMA 1000ng/L ■ Triclosan 50ng/L ■ Triclosan 500ng/L ■ Triclosan 10μg/L ■ Flutamide 100μg/L ■ Flutamide 1000μg/L ■ Cyclophosphamide 50ng/L ■ Cyclophosphamide 500ng/L ■ Clarithromycin 50ng/L ■ Clarithromycin 500ng/L ■ DHT 40ng/L ■ DHT 400ng/L ■ DHT 4000ng/L

■ 201111 流入下水 ■ 201111 2次処理水 ■ 201111 相対処理水 ■ 201009 流入下水 ■ 201012 2次処理水 ■ 201012 堆糞処理水

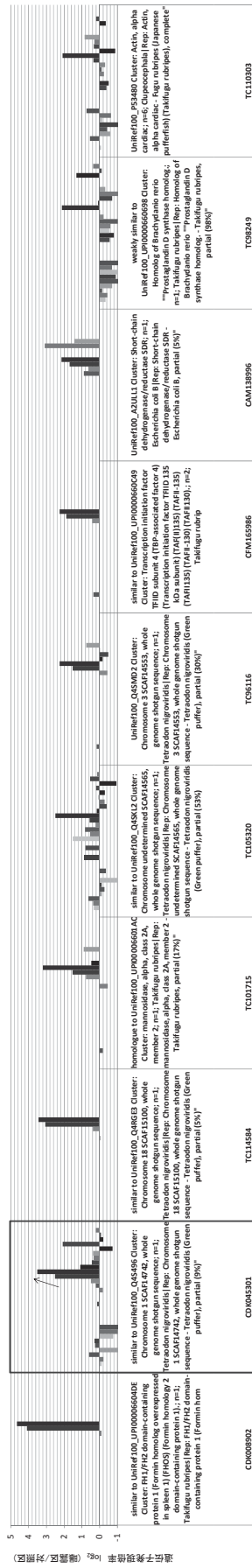


図-45 脳でのジドロテストステロン (DHT) マーカー候補遺伝子

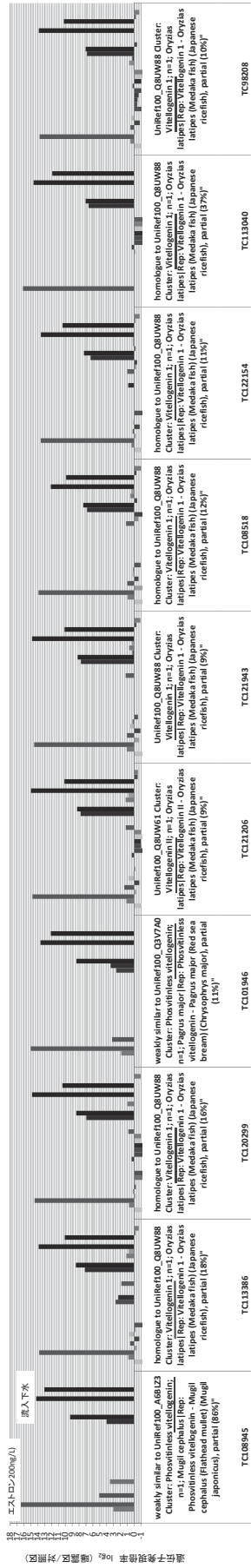


図-46 流入下水曝露時の肝臓マーカー候補遺伝子(高発現遺伝子上位1~10)

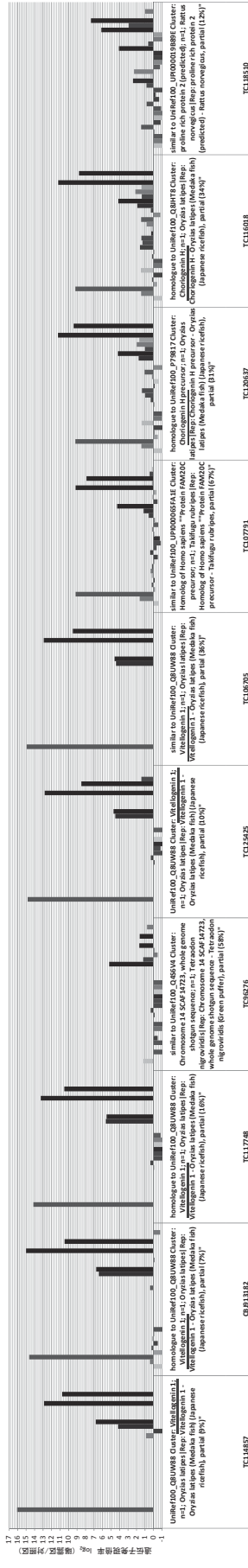


図-47 流入下水曝露時の肝臓マーカー候補遺伝子(高発現遺伝子 10-20)

5ng/L ■ Estrone 2ng/L ■ Estrone 200ng/L ■ NDMA 10ng/L ■ NDMA 100ng/L ■ NDMA 1000ng/L ■ Triclosan 50ng/L ■ Triclosan 500ng/L ■ Triclosan 10μg/L ■ Flutamide 100μg/L ■ Flutamide 1000μg/L ■ Cyclophosphamide 50ng/L ■ Cyclophosphamide 500ng/L ■ Clarithromycin 50ng/L ■ Clarithromycin 500ng/L ■ DHT 40ng/L ■ DHT 400ng/L ■ DHT 4000ng/L
 ■ 201111 流入下水 ■ 201111 2次処理水 ■ 201111 担体処理水 ■ 201009 流入下水 ■ 201009 2次処理水 ■ 201012 流入下水 ■ 201012 2次処理水 ■ 201012 担体処理水

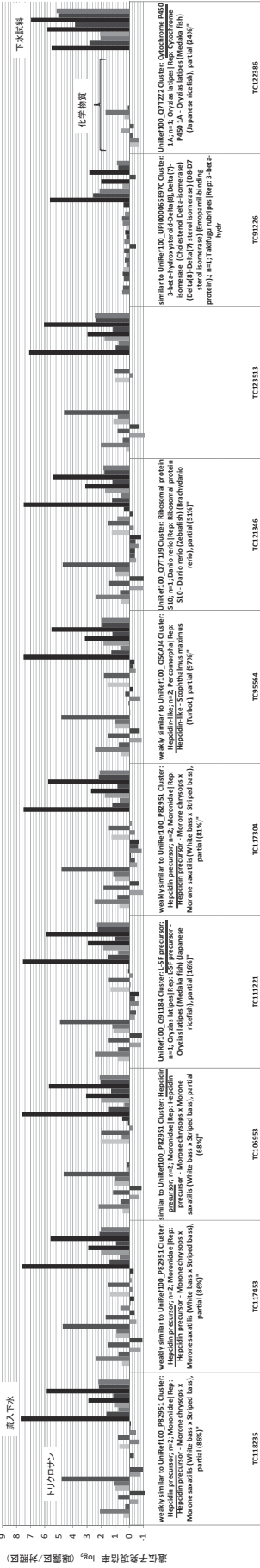


図-48 エラでの流入下水マーカー候補遺伝子(高発現遺伝子1-10)

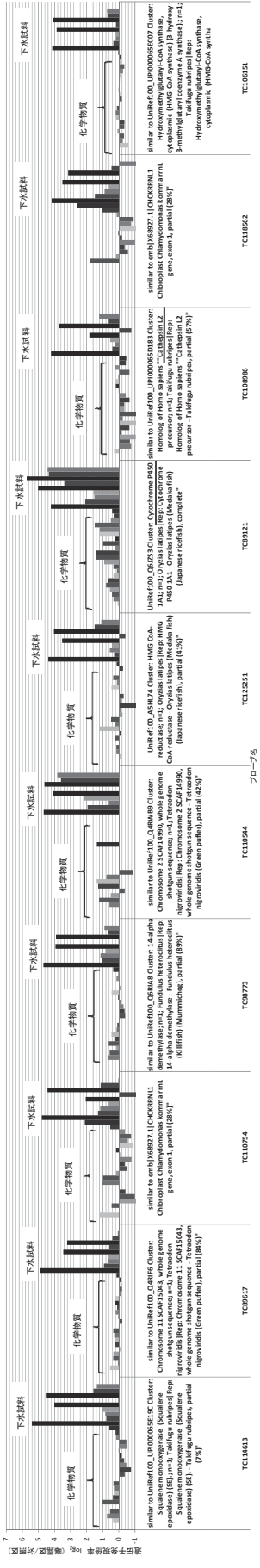


図-49 エラでの流入下水マーカー候補遺伝子(高発現遺伝子10-20)

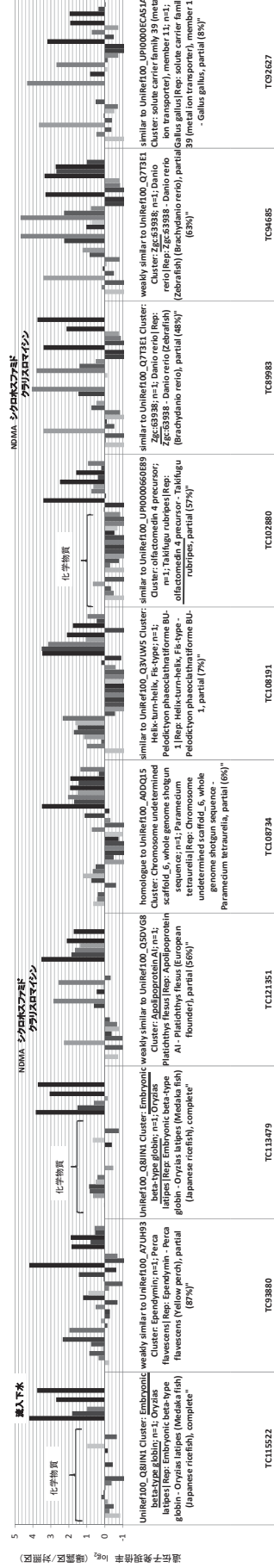


図-50 精製での流入下水マーカー候補遺伝子(高発現遺伝子1-10)

■ Estrone 2ng/L ■ Estrone 20ng/L ■ Estrone 200ng/L ■ NDMA 10ng/L ■ NDMA 100ng/L ■ NDMA 1000ng/L ■ Triclosan 50ng/L ■ Triclosan 500ng/L ■ Triclosan 10μg/L ■ Flutamide 100μg/L ■ Flutamide 1000μg/L ■ Cyclophosphamide 5ng/L ■ Cyclophosphamide 50ng/L ■ Cyclophosphamide 500ng/L ■ Clarithromycin 50ng/L ■ Clarithromycin 500ng/L ■ DHT 40ng/L ■ DHT 400ng/L ■ DHT 4000ng/L

■ 201111 流入下水 ■ 201111 2次処理水 ■ 201111 塩素処理水 ■ 201111 担体処理水 ■ 201009 流入下水 ■ 201009 2次処理水 ■ 201012 流入下水 ■ 201012 2次処理水 ■ 201012 塩素処理水

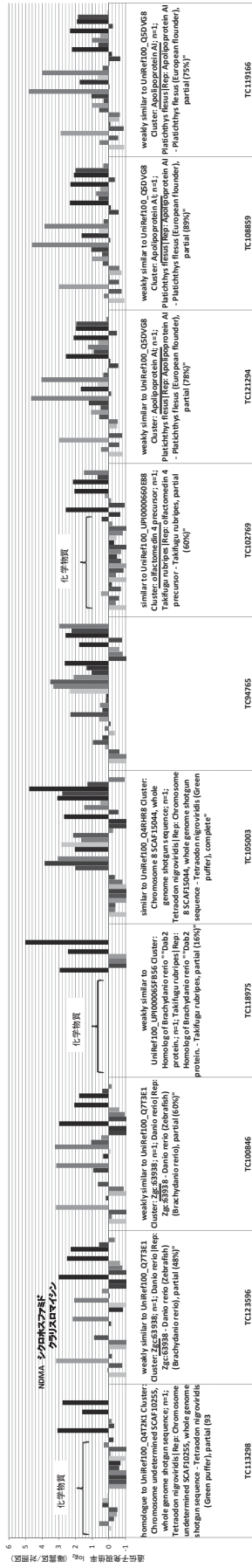


図-51 精製での流入下水マーカー候補遺伝子(高発現遺伝子 10-20)

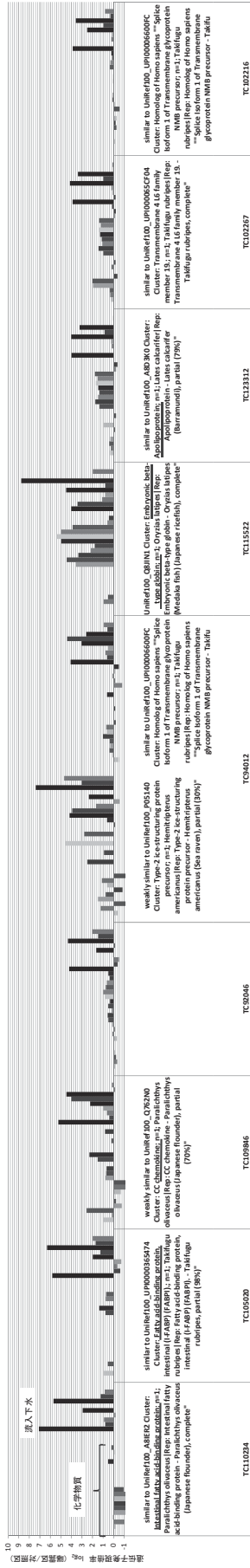


図-52 脳での流入下水マーカー候補遺伝子(高発現遺伝子 1-10)

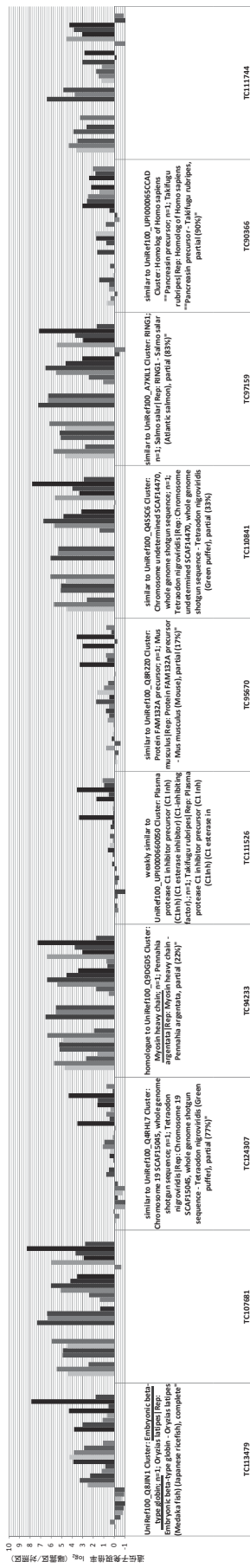


図-53 脳での流入下水マーカー候補遺伝子(高発現遺伝子 10-20)

図-18~45は、各化学物質、臓器毎にマーカー探索を行った結果である。横軸は抽出された遺伝子名とその説明、縦軸は対照区との発現倍率である。なお、図は、高濃度区で遺伝子発現倍率が高くなった上位10遺伝子を掲載している。例えば、エストロン曝露時の肝臓での抽出された遺伝子をみると(図-18)、TC107791、TC9610遺伝子は、エストロン曝露区で濃度依存性がみられ、他の化学物質では遺伝子発現は変化していない。流入下水では遺伝子発現が高倍率になっていることから、流入下水には、エストロンすなわち女性ホルモンが含まれていることがわかる。これらの遺伝子は、エストロン(女性ホルモン物質)のマーカー候補遺伝子になると考えられる。2次処理水、塩素処理水、担体処理水では、遺伝子発現強度は低いことから、女性ホルモン物質は下水処理過程で除去されていることがわかる。エストロンはエラ(図-19)、精巢(図-20)、脳(図-21)でも応答しているが、全ての流入下水曝露区で応答していないことから、エストロンの検出は、肝臓が適していると考えられる。

図-22~25は、NDMAのマーカー遺伝子の抽出結果である。肝臓ではTC98217、エラではCAU169583、精巢ではCAM138678、脳ではCAM337375遺伝子が、NDMAと濃度依存性を有し、流入下水曝露区でも高発現となっていた。これらの遺伝子は、各下水処理水曝露区で高発現となっていないことから、下水処理過程で発がん性物質は除去されていると考えられる。

図-26~29は、トリクロサンのマーカー遺伝子の抽出結果である。肝臓、エラではマーカー遺伝子は抽出されてこなかったが、精巢ではTC125005、脳ではTC107067がトリクロサンと濃度依存性を有し、下水試料でも高発現となっていた。下水処理レベルの高度化に従い、遺伝子発現倍率も低下していることから、下水処理過程でトリクロサン様物質は減少していると考えられる。

図-30~33はフルタミドのマーカー遺伝子の抽出結果である。肝臓ではTC102198、精巢ではCDK199844遺伝子が、濃度依存性を有し、下水処理曝露区でも検出された。肝臓のTC102198遺伝子は、下水処理レベルの高度化に従い、遺伝子発現強度が低下する傾向を示した。

図-34~37は、シクロホスファミドの結果である。濃度依存性を有する遺伝子は抽出されたが、下水試料で高発現となるものはなかった。シクロホスファミドは、抗がん剤であるが流入下水に高濃度で含まれていない可能性があり、このため流入下水試料で遺伝子発現が高発現にならなかった可能性がある。

ミドは、抗がん剤であるが流入下水に高濃度で含まれていない可能性があり、このため流入下水試料で遺伝子発現が高発現にならなかった可能性がある。

図-38~41はクラリスロマイシンのマーカー遺伝子の抽出結果である。エラのTC124985遺伝子は、濃度依存性を有し、流入下水、2次処理水曝露区で高発現となった。

図-42~45はDHTのマーカー遺伝子の抽出結果である。精巢のTC9432遺伝子は濃度依存性を有し、流入下水曝露区で高発現となった。

今回曝露実験に使用したモデル化学物質以外にも、下水試料には様々な物質が含まれていると考えられる。そこで、流入下水で高発現となる遺伝子を抽出し、化学物質の曝露実験での遺伝子発現との関係を調べた。

図-46,47は、肝臓で流入下水に高応答を示した遺伝子である。図は、201111流入下水曝露区で昇順ソートした上位20位までを掲載している。図よりvitellogenin、choriogeninと情報が付く遺伝子が多いことがわかる。エストロンも高くなっており、流入下水のメダカへの影響としては、女性ホルモン作用が大きいことがわかる。

図-48,49は、エラで流入下水に高応答を示した遺伝子である。ヘプシジン(hepcidin)と情報が付いた遺伝子が、上位を占め、トリクロサン高濃度曝露区でも高発現となっていることがわかる。P4501A1遺伝子なども下水試料曝露区で高発現となっているが、モデル化学物質では低発現である。未知の物質が、エラに影響を与えていることがわかる。

図-50,51は、精巢で流入下水に高応答を示した遺伝子である。Embryonic beta-type globinの遺伝子発現が高発現になることがわかった。この遺伝子はモデル化学物質曝露区では高発現になっていないことから、下水試料中の未知物質が影響を与えている。Apolipoprotein遺伝子は、下水で高発現になると同時にNDMA、シクロホスファミド、クラリスロマイシンで高発現となっていた。

図-52,53は、脳で流入下水に高応答を示した遺伝子である。Faty acid-binding protein, chemokineは、流入下水曝露区で高発現となっている。この遺伝子はモデル化学物質曝露区では高発現になっていないことから、下水試料中の未知物質が影響を与えている。脳でもApolipoprotein遺伝子が高発現になることがわかった。

臓器によって化学物質の応答遺伝子が異なることがわかった。下水試料に含まれる化学物質の影響を幅広

く検出する場合は、臓器毎の遺伝子発現解析を行う必要がある。例えば、女性ホルモン様作用の検出は肝臓、発がん性物質の検出は脳、医薬品類はエラというように臓器毎に解析することにより、多角的な

毒性評価が可能となる。

4.4.2 統計解析による毒性評価

図-54、55は、代表例としてエストロン曝露区と下水試料曝露区の全遺伝子発現データを用いて、ユーク

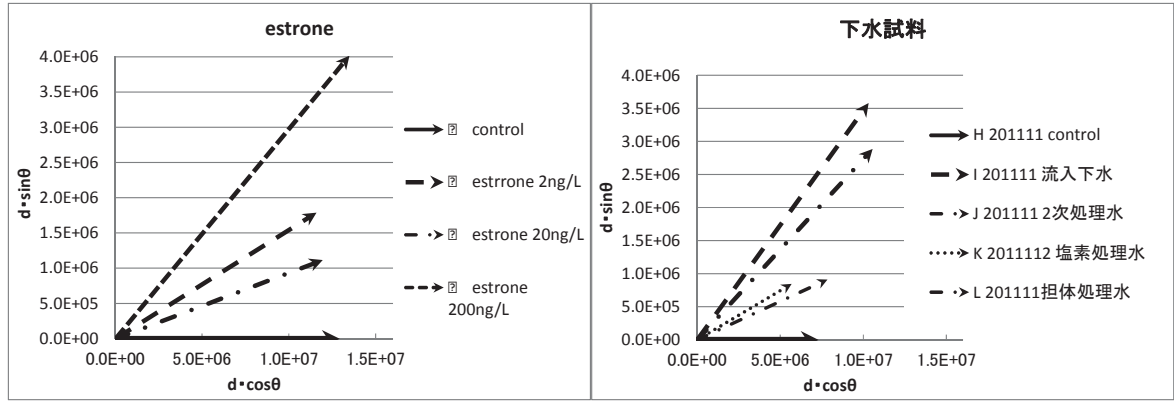


図-54 肝臓でのエストロン曝露区のユークリッド距離とピアソン相関の関係

図-55 肝臓での下水試料曝露区のユークリッド距離とピアソン相関の関係

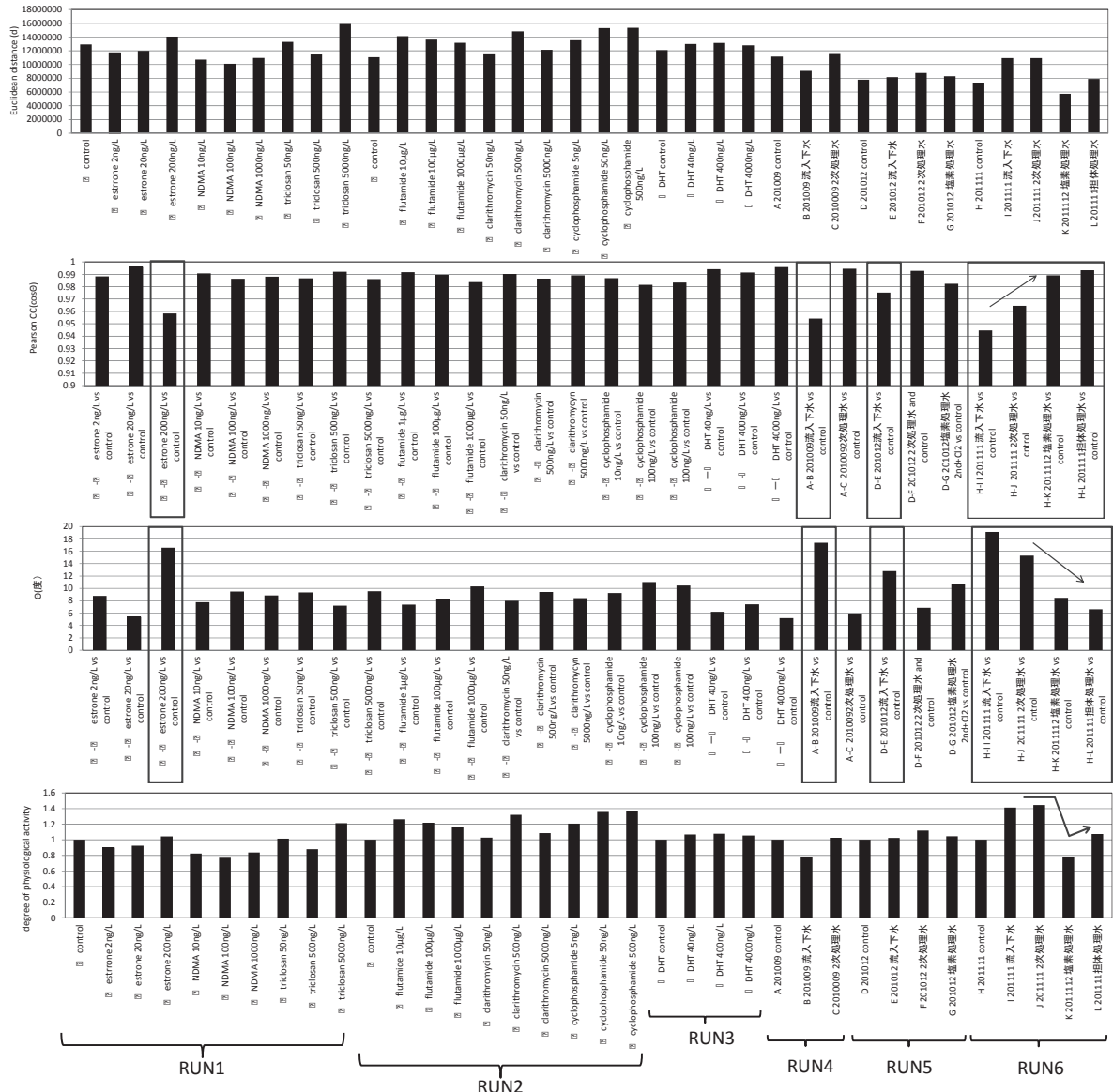


図-56 肝臓での化学物質、下水試料曝露区のユークリッド距離(d)、ピアソン相関係数、θ、生理活性度

リッド距離とピアソン相関の関係を作図したものである。図より、エストロン曝露では高濃度曝露区で、ピアソン相関係数が低下 (θ の増加) することがわかる。下水試料でも流入下水曝露区でピアソン相関

係数が低下 (θ の増加) し、処理レベルが上がるにしたがい、 θ が小さくなり、ベクトルの方向がコントロールに近づくことがわかる。図-56 は、各曝露区のユークリッド距離(d)、ピアソン相関係数 ($\cos\theta$)、 θ 、生

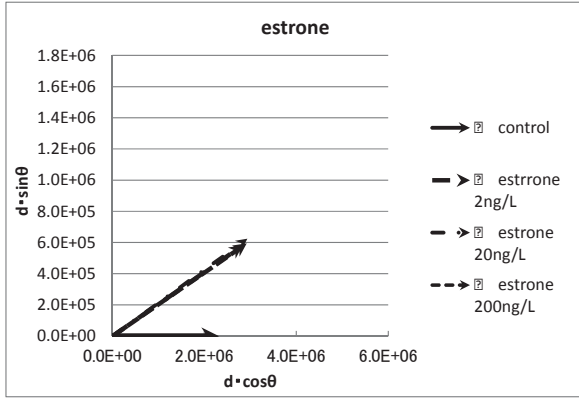


図-57 エラでのエストロン曝露区のユークリッド距離とピアソン相関の関係

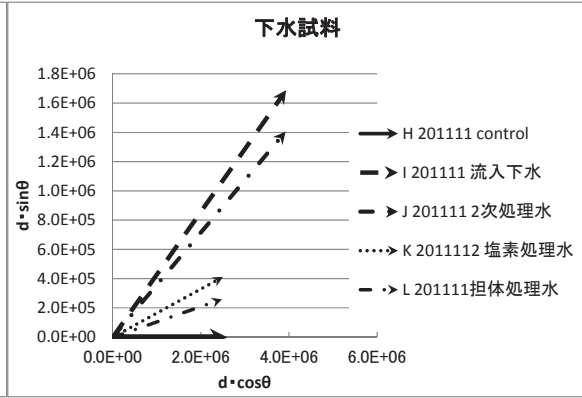


図-58 エラでの下水試料曝露区のユークリッド距離とピアソン相関の関係

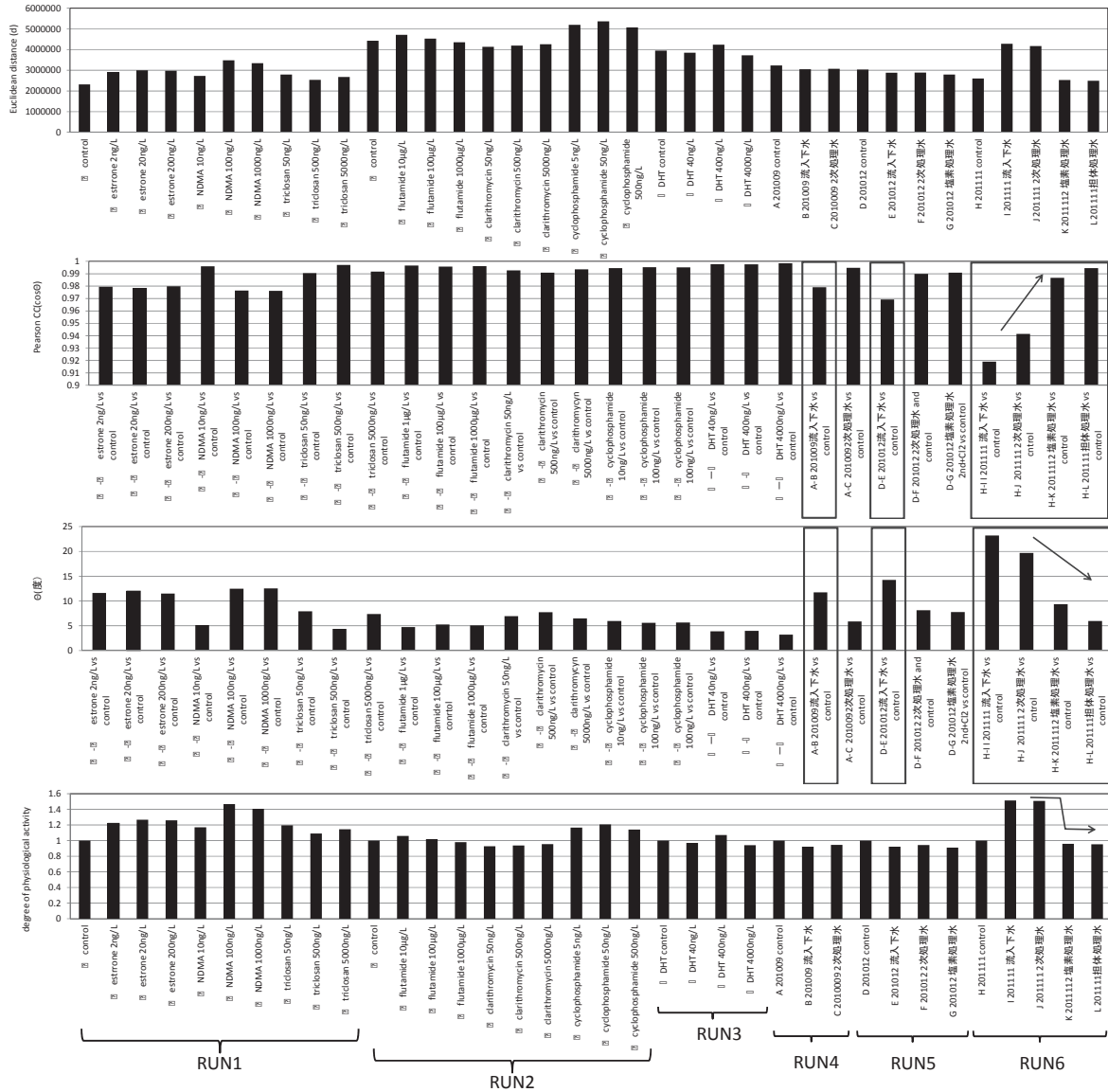


図-59 エラでの化学物質、下水試料曝露区のユークリッド距離(d)、ピアソン相関係数、 θ 、生理活性度

理活性度 (Degree of physiological activity) を表示したものである。図より、エストロン高濃度区、流入下水でピアソン相関係数の低下 (θ の増加) がみられる。201111 下水試料でこれらの傾向をみると処

理レベルが高度化するに従い、ピアソン相関係数の上昇 (θ の低下)、生理活性度は、1 に近づくことがわかる。

図-57,58,59 はエラの結果である。ベクトル表示の

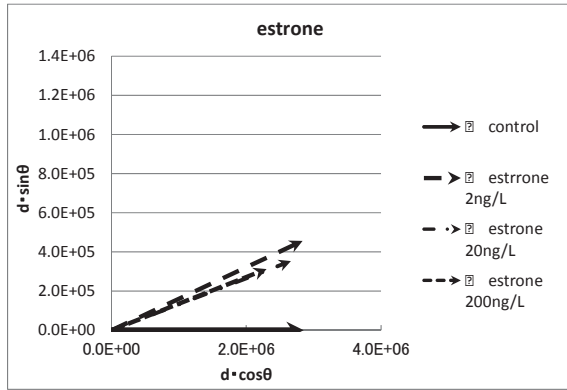


図-60 精巢でのエストロン曝露区のユークリッド距離とピアソン相関の関係

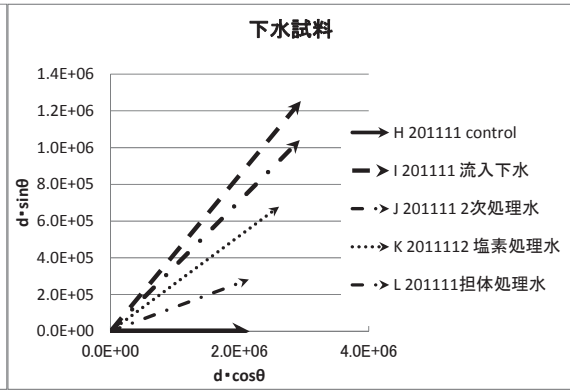


図-61 精巢での下水試料曝露区のユークリッド距離とピアソン相関の関係

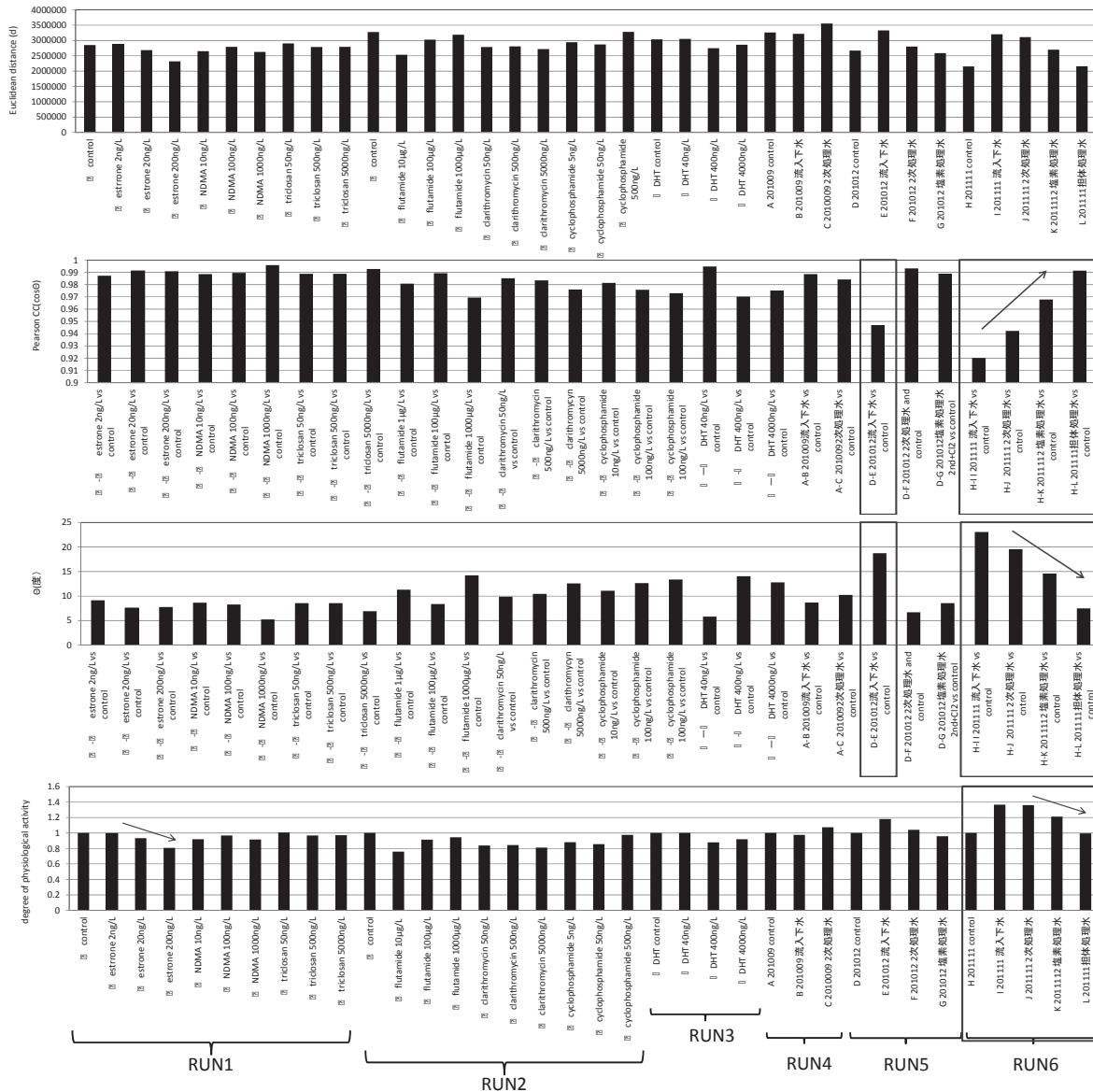


図-62 精巢での化学物質、下水試料曝露区のユークリッド距離(d)、ピアソン相関係数、 θ 、生理活性度

図より、エラではエストロン濃度の違いは顕著にみられないが、下水試料では、処理レベルが高度化するに従い、ベクトルがコントロールに近づくことがみて取れる。処理レベルの高度化によりピアソン相

関係数の上昇 (θ の低下)、生理活性度も1へ近づいており、影響が低減していることがわかる。

図-60,61,62 は精集の結果である。下水試料曝露区ではエラと同様の結果を示した。エストロン曝露区で

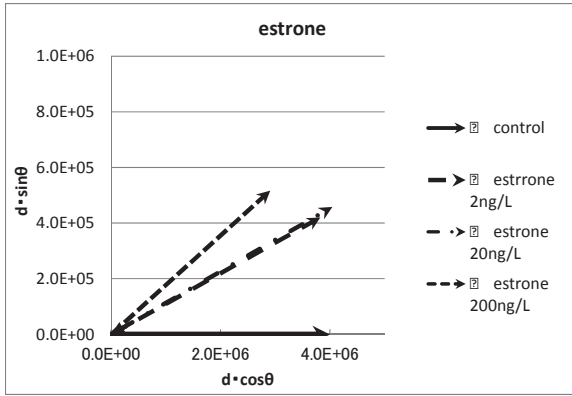


図-63 脳でのエストロン曝露区のユークリッド距離とピアソン相関の関係

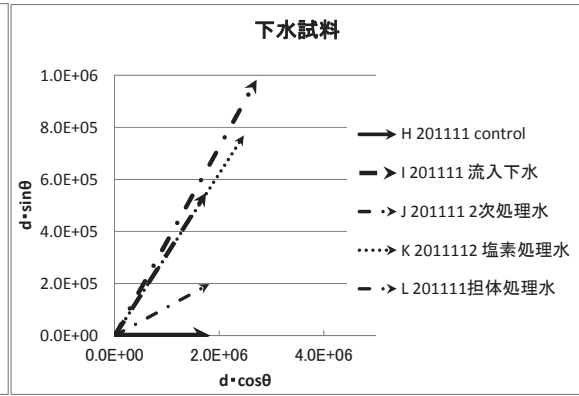


図-64 脳での下水試料曝露区のユークリッド距離とピアソン相関の関係

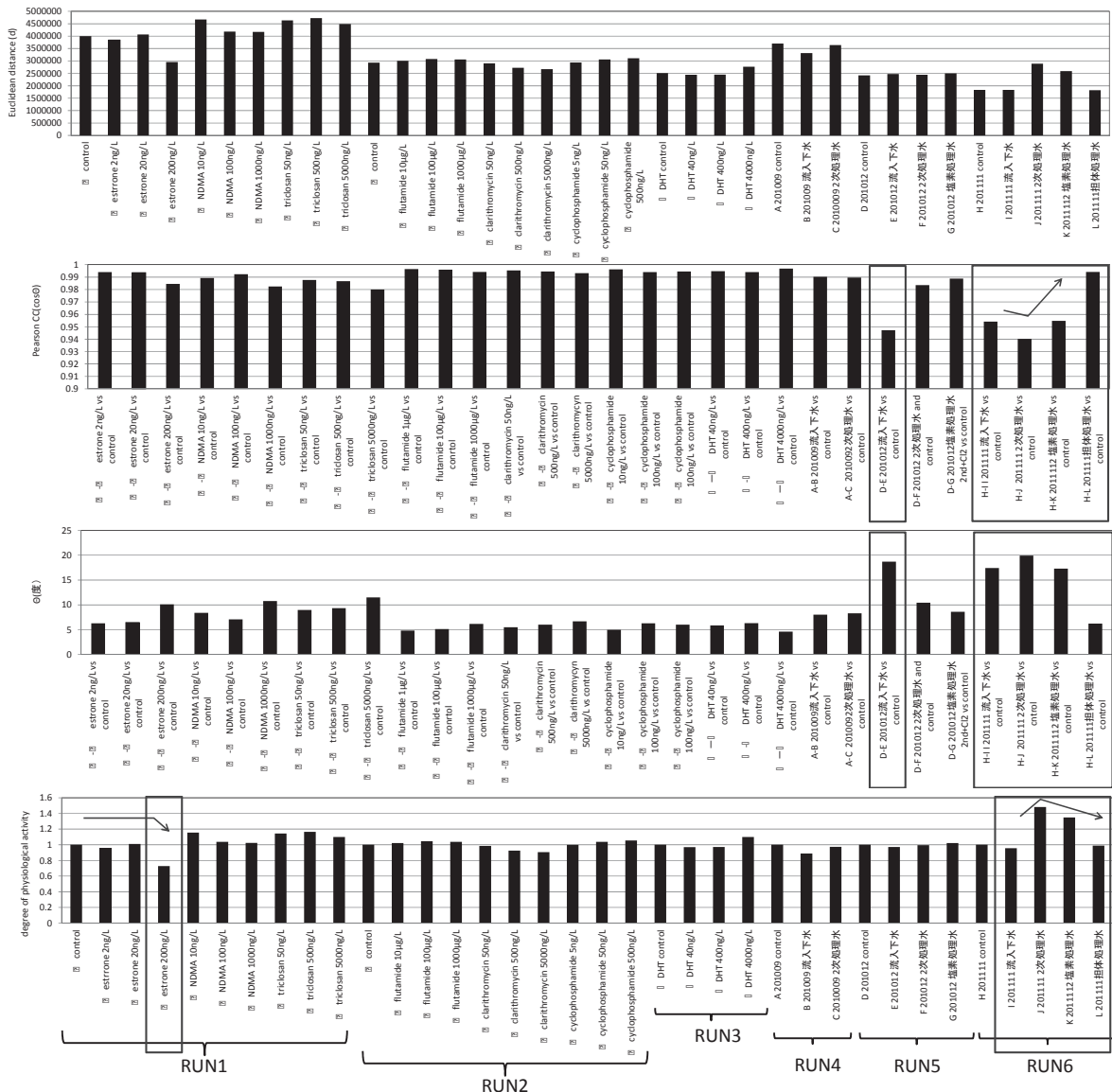


図-65 脳での化学物質、下水試料曝露区のユークリッド距離(d)、ピアソン相関係数、 θ 、生理活性度

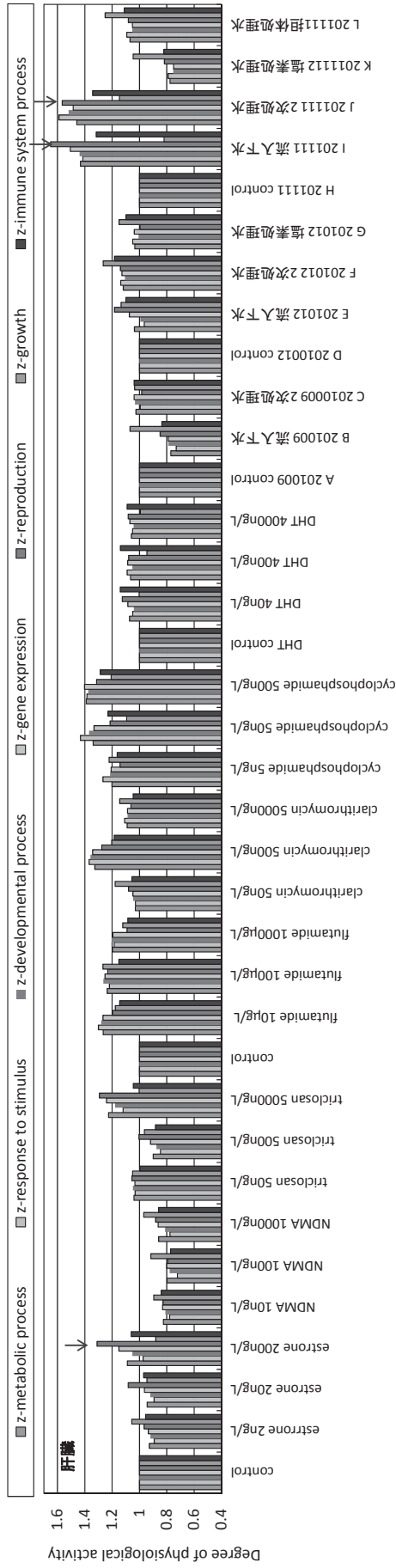


図-66 肝臓での機能別遺伝子セットによる化学物質、下水試料曝露区の生体活性度

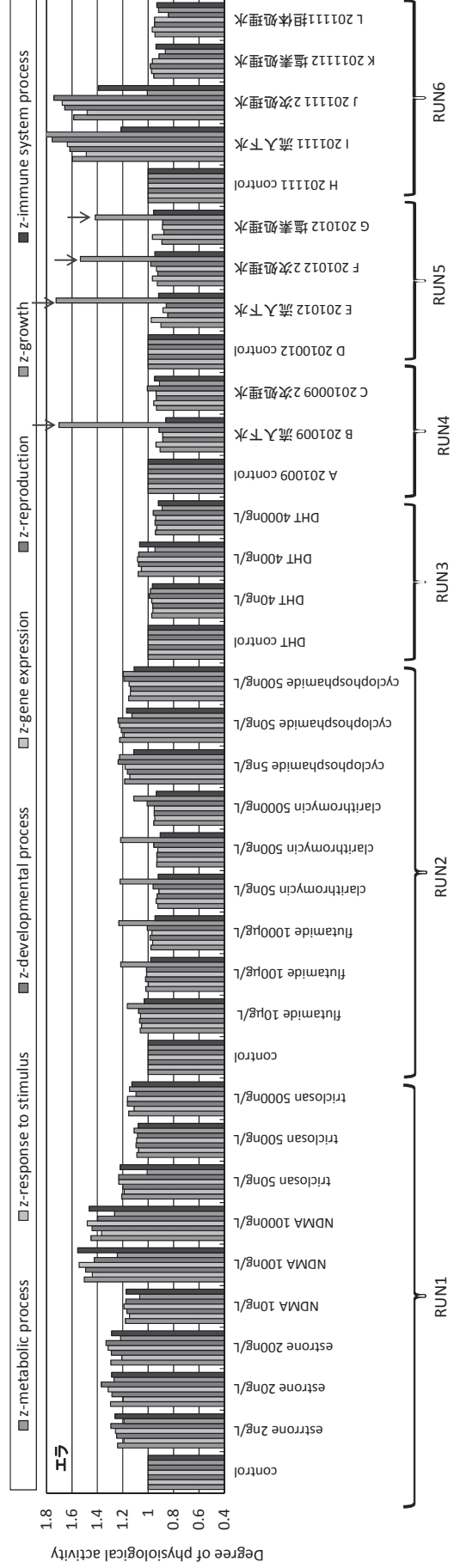


図-67 エラでの機能別遺伝子セットによる化学物質、下水試料曝露区の生体活性度

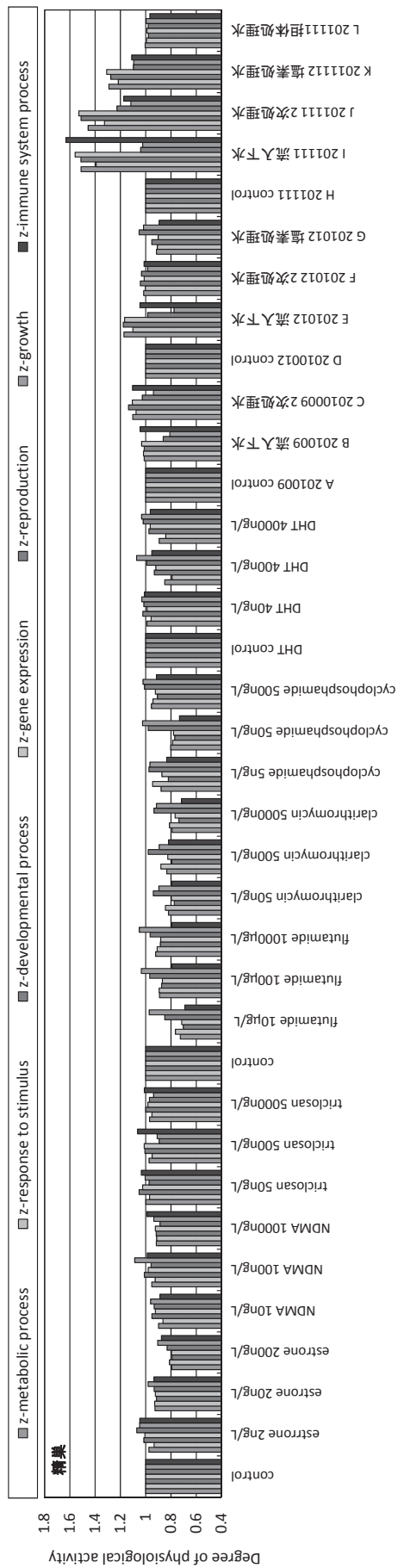


図-68 精巣での機能別遺伝子セットによる化学物質、下水試料曝露区の生理活性度

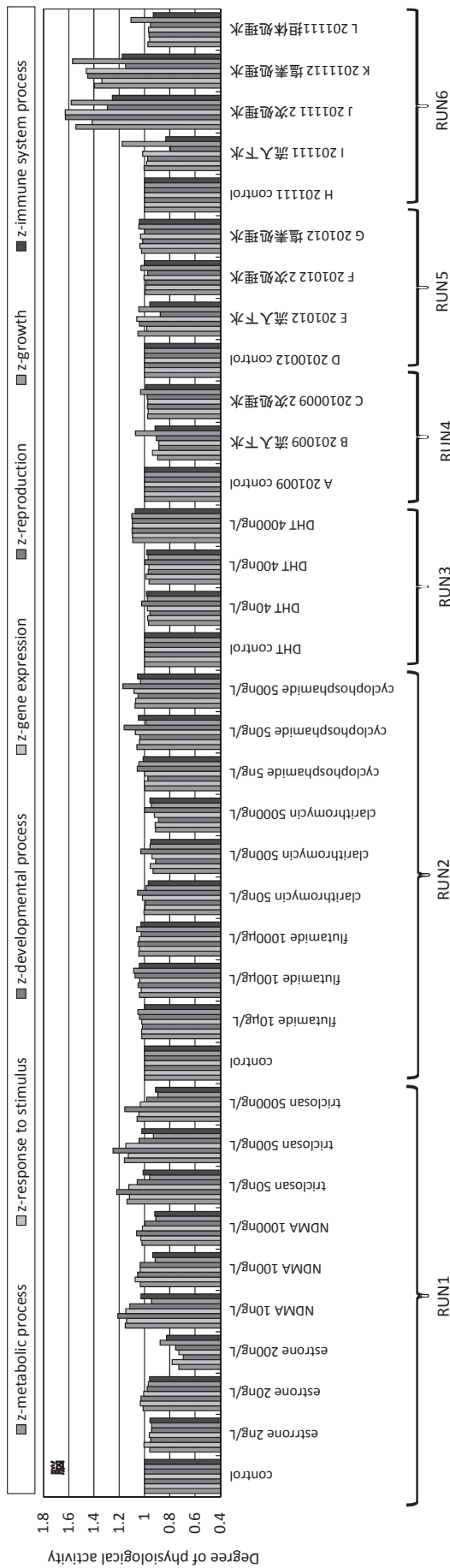


図-69 脳での機能別遺伝子セットによる化学物質、下水試料曝露区の生理活性度

は、濃度の上昇に従い、生理活性度が低下する傾向がみられた。図-63,64,65 は脳の結果である。下水試料曝露区では肝臓、エラ、精巣と同様の結果を示した。エストロン曝露区では、高濃度曝露区で、生理活性度が低下する傾向がみられた。

以上は全遺伝子セットによる解析であるが、より生物影響を明確にするため、遺伝子を生物機能毎にグルーピングした遺伝子セットを用いて、ユークリッド距離とピアソン相関係数から、生理活性度を算出した。遺伝子のグルーピングは、geneontology 情報の biological process¹ 階層目でグルーピングした。グループは、代謝プロセス (metabolic process)、刺激反応 (response to stimulation)、発達プロセス (developmental process)、遺伝子発現 (gene expression)、再生産 (reproduction)、生長 (growth)、免疫システムプロセス (immune system process) である。

図-66~69 は、上記グループの遺伝子セットを用いて、生理活性度を算出した結果である。図-66 は肝臓の結果であるが、201111 に着目すると、流入下水、2次処理水では、metabolic process, response to stimulation, developmental process, reproduction, immune system process が1より高い値となり影響を受けていることがわかる。reproduction はエストロン高濃度区でも、影響がみられている。処理レベルが高度化するに従い影響は低減していることがわかる。図-67 はエラの結果であるが、流入下水曝露区では、growth への影響がみられたが、処理レベルの高度化とともに影響は減少していた。精巣、脳では、グループ間での顕著な違いはみられなかった。以上、統計解析手法による毒性評価からも、下水処理レベルの高度化により、毒性影響が低減することがわかった。

5. おわりに

本研究では下水処理水に含まれる毒性影響を迅速検出するため、マイクロアレイによる遺伝子発現解析手法の適用を試み、以下の順序で研究を進めた。

1. メダカマイクロアレイの設計と作成
2. 化学物質濃度と臓器 (肝臓、エラ、精巣、脳) 毎の遺伝子発現プロファイルの取得
3. 下水試料に曝露したメダカのマイクロアレイによる遺伝子発現プロファイルの取得
4. マーカー候補遺伝子の抽出と統計解析手法を

用いた下水処理水の毒性評価
本研究成果は以下のとおりである。

- (1) 約 4 万種類の遺伝子を搭載したメダカマイクロアレイの設計と作成を行った。各遺伝子の機能情報も収集した。
- (2) 女性ホルモン、抗男性ホルモン、男性ホルモン、発がん性物質、殺菌剤、抗生物質、抗がん剤に曝露したメダカの肝臓、エラ、精巣、脳の遺伝子発現プロファイルの取得を行った。
- (3) 流入下水、2次処理水、塩素処理水、担体処理水に曝露したメダカの遺伝子発現プロファイルの取得を行った。
- (4) 化学物質曝露と下水試料曝露時の遺伝子発現プロファイルを用いて各物質のマーカー候補遺伝子の抽出を行った。
- (5) 下水試料曝露時のマーカー候補遺伝子の遺伝子発現の変化から、流入下水の生物影響は、女性ホルモンの影響が大きいことがわかった。処理レベルの高度化に従いこの影響は低減されることがわかった。
- (6) 遺伝子セットを用いた統計解析から、流入下水に含まれる毒性は、処理レベルの高度化に従い、低下することがわかった。

参考文献

- 1) 澤井淳 他(2009),都市河川水に曝露されたメダカの遺伝子発現解析,第43回水環境学会年會講演集,186
- 2) 澤井淳 他(2009),仔魚期からの下水処理水の長期間曝露が雄メダカ精巣に及ぼす影響,第12回環境ホルモン学会,157
- 3) Kkomori et al.(2004), Analysis and occurrence of estrogen in waste water in japan, Water Science and Technology, 50, 5, 93-100.
- 4) M Krauss,(2009), Occurrence and removal of N-nitrosamines in wastewater treatment plants, Water Research, 43,17,4381-4391
- 5) R.U.Halden et al.(2005), Co-Occurrence of triclocarban and triclosan in U.S water resource, Environ. Sci. Technol. 39,6,1420-1426
- 6) Daniel Stalter et al.(2011), Ozonation and activated carbon treatment of sewage effluents: Removal of endocrine activity and cytotoxicity Water Research, 45, 3, 1015-1024
- 7) Ghosh GC(2009), Occurrence and elimination of antibiotics at four sewage treatment plants in japan and their effects on bacteria ammonia oxidation, Water Science and Technology, 59,4 779-786
- 8) T.Steger-Hartmann(1997)Biological Degradation of Cyclophosphamide and Its Occurrence in sewage water, Ecotoxicology and Environmental safety, 36, 2,174-179
- 9) Lucy A. Kirk et al. (2002), Changes in estrogenic and androgenic activities at different stages of treatment in wastewater treatment works, Environmental Toxicology and Chemistry, 21, 5, 972-979
- 10) Kishi, K., Kitagawa, E., Iwahashi, H., Suzuki, K., Hayashi, Y.(2008), Medaka DNA Microarray: A Tool for Evaluating physiological Impacts of Various Toxicants, Interdisciplinary Studies on Environmental Chemistry Biological Responses to Chemical Pollutants, 143-154

水生生物に蓄積している未規制化学物質の実態の解明に関する研究

水質チーム 上席研究員 池田 茂
 総括主任研究員 小森行也
 主任研究員 北村友一

1. はじめに

現在、河川・湖沼においては環境基準が設定され、BOD、COD、重金属、有機塩素化合物、農薬等を指標とした水質管理が行われているが、河川・湖沼に棲息する水生生物への蓄積という視点でみると不明な点が多い。水質（濃度）測定では検出されない物質であっても、生物濃縮により検出可能となる物質も考えられることから、生物濃縮による指標を加えた総合的な水質管理が必要である。本研究の調査対象物質は、水生生態系への影響が懸念されている医薬品類のなかから、広く一般細菌に対する殺菌剤として使用され、石鹼、シャンプー、歯磨き等に含有されている医薬部外品のトリクロサンとした。調査対象生物は、水系食物連鎖における高次消費者の魚類とした。平成24年度は、処理方式の異なる3種類の下水処理水にメダカを約3カ月間曝露し、曝露終了後、生体中のトリクロサン濃度を測定し、生物蓄積濃度、さらに、産卵された卵中のトリクロサン濃度を測定し、卵への移行について調査した。

2. 方法

2. 1 下水処理実験装置とメダカ曝露

本調査で用いた下水処理実験装置と流水式メダカ曝露水槽の関係を図-1に示す。下水処理実験装置は、最初沈殿池（500L）、活性汚泥処理槽（500L×4槽）、最終沈殿池（700L）、塩素混和池（100L）、担体処理槽（10L×4槽）から構成されている。流入下水は、主に生活排水が流入する実下水処理場の生下水を用いた。活性汚泥槽は、第1槽から第4槽まで全面エアレーションを行う、活性汚泥法による処理とした。水理学的滞留時間（HRT）は7時間程度である。塩素混和池では、塩素接触時間30分程度で、塩素混和池の流出水で遊離残留塩素濃度が約0.1mg/Lとなるように、次亜塩素酸ナトリウム溶液を連続注入した。担体処理槽は、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（φ5mm、長さ5mm、厚さ1mm）が充填され、水理学的滞留時間2時間で2次処理水を処理した。メダカの曝露水は、2次処理水、2次処理水を塩素消毒した水（塩素処理水）、2次処理水を担体処理した水（担体処理水）とし、対照区は脱塩素水道水とした。なお、各曝露水槽中の曝露水の溶存態トリクロサン濃度を月1回測定した。

メダカの曝露は流水式とし、表-1の条件で行った。81日間の曝露終了後、各処理区で4~5匹を1匹毎にトリクロサン分析に供した。卵の採卵は、曝露終了後6日前から始め、2日分を1検体とし、3検体分を採卵した。採卵の際は、受精卵と未受精卵に分けて採卵し、それぞれを、

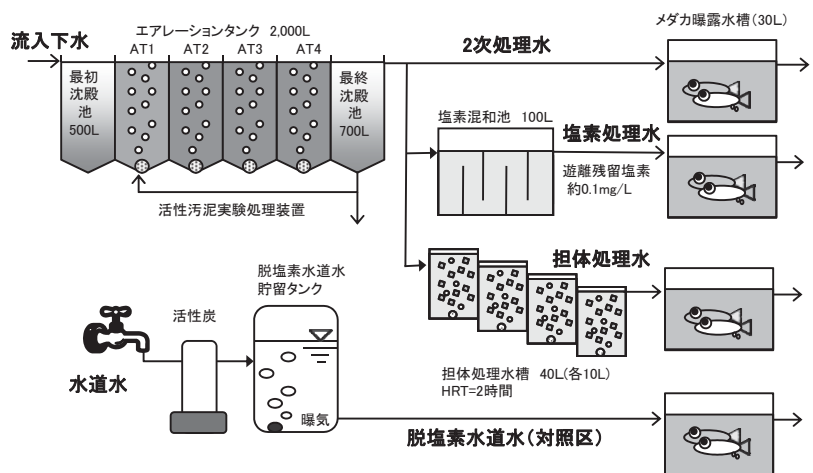


図-1 下水処理実験装置とメダカ曝露水槽の関係

表-1 メダカ曝露条件

試験期間	H24.10.8~H24.12.28 (81日間)
試験魚	d-rR系 ヒメダカ(6~7カ月齢)
曝露匹数	(雄12匹 + 雌12匹)/曝露区
曝露方式	流水式
曝露水	脱塩素水道水(対照区) 2次処理水 塩素処理水 担体処理水
換水率	約5換水/日
水温	26°C(ヒータ制御)
照明	明期16時間/暗期8時間
給餌	飽食量 おとひめB2 4回/日(9:00、12:00、16:00、19:00)
曝気	あり

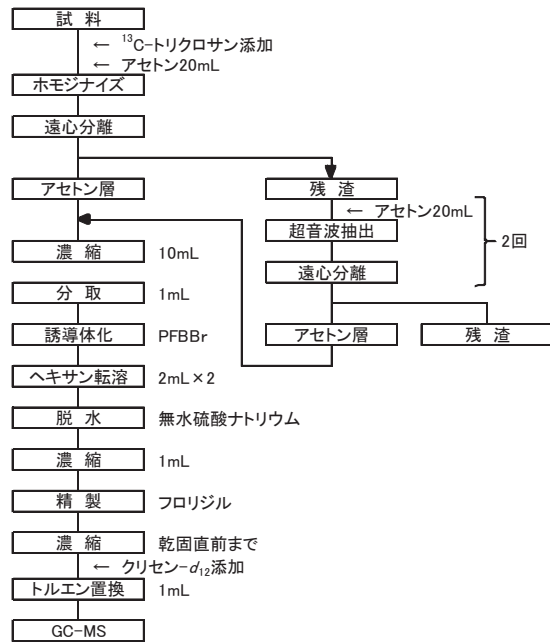


図-2 生物試料（魚類）のトリクロロサン分析フロー

2. 2 分析方法

生物試料（魚類）の分析は平成23年度に既往研究・調査報告等^{1)~8)}を参考に検討実施し提案した方法により行った(図-2参照)。また、各処理水のトリクロロサン分析は、宝輪ら⁸⁾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。

3. 結果と考察

図-3に曝露期間中の各曝露水槽中のトリクロロサン濃度を示す。各曝露区の水中トリクロロサン濃度は一定ではなかったが、水中トリクロロサン濃度は、2次処理水で高いことがわかる。曝露中・後半は、塩素処理水、担体処理水のトリクロロサン濃度は近い値となっていた。

図-4に各曝露区の曝露終了後のメダカ生体中トリクロロサン濃度を示す。2次処理水曝露区で雄、雌メダカともトリクロロサン濃度が高くなった。担体処理区での生体中のトリクロロサン濃度は低かった。

図-5は、各曝露区の水中トリクロロサン濃度と生体中トリクロロサン濃度の平均値を用い、雄、雌毎に次式から濃縮倍率を算出した結果である。

$$\text{濃縮倍率} = \text{生体中トリクロロサン濃度}(\text{ng-wet/kg}) / \text{水中トリクロロサン濃度}(\text{ng/L})$$

トリクロロサンの濃縮倍率は、メダカ雌の場合2次処理水(約350倍)、塩素処理水(約150倍)、担体処理水(約100倍)であり、100~350倍となった。この値はトリクロロサン純物質でのコイの濃縮試験結果で得られた生物濃縮倍率2.7~469と概ね同等の値⁹⁾であった。また、卵中のトリクロロサンは、各処理水曝露区の未受精卵で検出され、その濃度は、担体処理水、塩素処理水、2次処理水の順で高くなった。なお、2次処理水曝露区では受精卵でも検出された(図-6)。

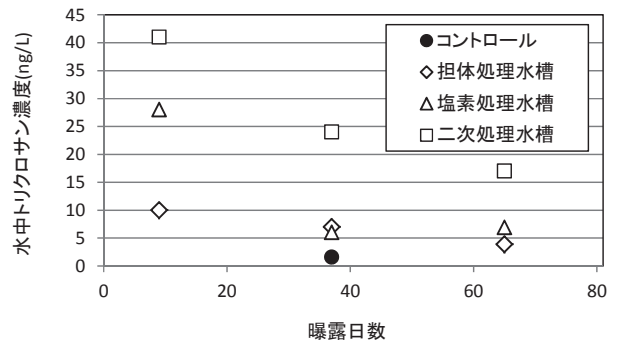


図-3 各曝露水のトリクロロサン濃度

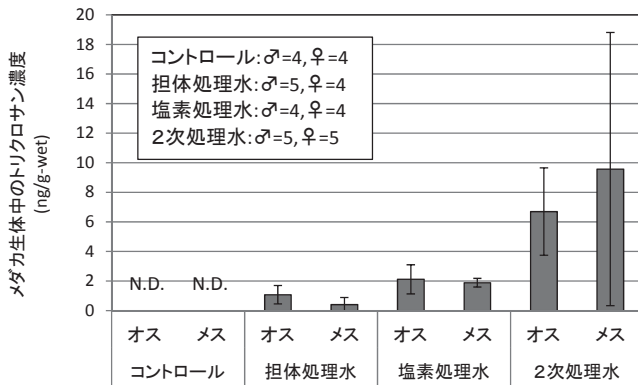


図-4 各曝露区の生体中トリクロロサン濃度

エラーバー：標準偏差

4. まとめ

2次処理水、塩素処理水、担体処理水にメダカを曝露し、メダカ生体中のトリクロロサン分析からトリクロロサンはメダカに蓄積することがわかった。その濃縮倍率は100~350倍であり、低濃縮蓄積性と判断された。また、卵中のトリクロロサン分析により卵への移行も確認された。

トリクロロサン濃度が低減された担体処理水に曝露したメダカ生体中のトリクロロサン濃度は2次処理水に比べ低いことから、担体処理によりメダカ体内蓄積および卵中濃度を低下できることがわかった。

なお、本研究は、運営交付金（一般勘定）により実施されたものである。

5. 参考文献

- 1) 田中宏明(2008)河川水中で見出される医薬品の底質汚染の実態と生物影響に関する研究、平成19年度河川整備基金助成事業報告書、平成20年6月
- 2) 高田秀重ほか(2011)東京湾におけるトリクロロサン類の分布と動態、第20回環境化学討論会講演要旨集
- 3) 要調査項目等調査マニュアル（水質、底質、生物）、平成15年
- 4) 吉岡敏行ほか(2007)環境中超微量有害化学物質の分析、検索技術の開発に関する研究、岡山県環境保健センター年報
- 5) 亀田豊(2009)化粧品及び高分子製品由来の紫外線吸収剤の水環境中の汚染状況、第18回環境化学討論会講演要旨集
- 6) 篠原竜一ほか(2008)二枚貝を用いたアジア沿岸域の紫外線吸収剤汚染モニタリング、第17回環境化学討論会講演要旨集
- 7) 松原英理子ほか(2011)下水試料中医薬品のGC-MS(LRMS,MS/MS,HRMS)による分析検討、第20回環境化学討論会講演要旨集
- 8) 宝輪勲ほか(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
- 9) 環境省,化学物質の環境リスク評価 第7巻 [3],5-クロロ-2-(2,4-ジクロロフェノキシ)フェノール、H21年2月、<http://www.env.go.jp/chemi/report/h21-01/>

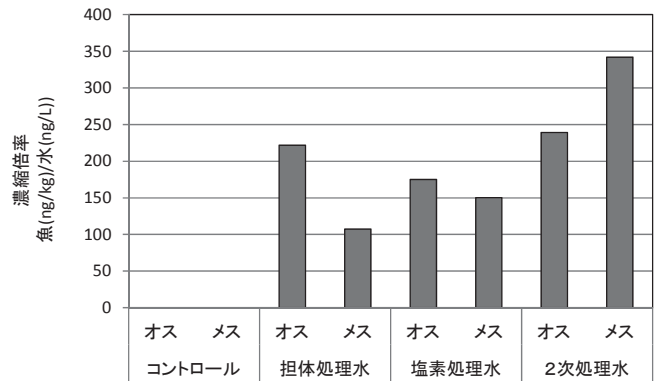


図-5 各曝露区のトリクロロサン濃縮倍率

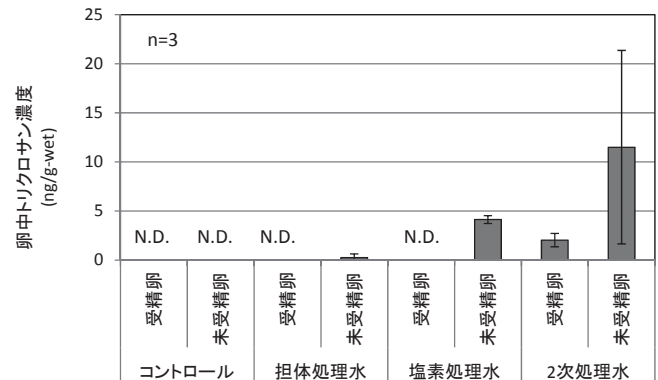


図-6 各曝露水の卵中トリクロロサン濃度

エラーバー：標準偏差

魚類の繁殖・稚魚の生育試験による下水処理水の安全性評価に関する研究

研究予算：運営費交付金（一般勘定）

研究期間：平 23～平 25

担当チーム：水環境研究グループ（水質）

研究担当者：池田 茂、北村友一、朴 昶範

【要旨】

下水処理水が魚類の繁殖に与える影響を明らかにするため、活性汚泥処理水、塩素処理水、担体処理水に 28 日間、雄と雌メダカをペアで曝露し、産卵数、受精率を調査した。これ加えて、生後 1 カ月齢のメダカ稚魚を 28 日間曝露し、その生長阻害も調査した。その結果、活性汚泥処理水、塩素処理水、担体処理水に曝露したメダカの産卵数、受精卵数は、有意に増加し、産卵数の低下はみられず、下水処理水がメダカ成魚の産卵に及ぼす顕著な悪影響は確認されなかった。各下水処理水に 1 カ月齢のメダカ稚魚を 28 日間曝露した結果、顕著な生長阻害は確認されなかった。

キーワード：下水処理水、メダカ、産卵数、受精率、稚魚、生長阻害

1. はじめに

科学技術に関する基本政策について、総合科学技術会議（22 年 11 月 17 日）では、人の健康保護や生態系の保全に向けて、大気、水、土壌における環境汚染物質の有害性やリスクの評価、その管理及び対策に関する研究を推進することが位置づけられている。近年、水生生物に影響を与える恐れのある未規制の化学物質が下水処理水中に検出され、さらに、河川水に占める下水処理水の割合が高くなっていることから、水生生物に対する影響が懸念されている。水生生物の中で、魚類は、水生生物の代表種、経済生物でもあり、下水処理水が魚類に与える影響を把握する必要がある。魚類影響は、生態系保全を考慮すると、繁殖（産卵数、孵化率、稚魚の生長など）に関する項目で評価すべきであるが、下水処理水の魚類繁殖への影響評価法はまとめられていないこと、さらに、試験に長期間・手間を要すことから、下水処理水が魚類の繁殖に与える影響についての知見が得られていないのが現状である。

本研究では、下水処理水の魚類の繁殖試験法の提案と本法による下水処理水の魚類繁殖への影響解明を目指している。

本年度は、下水処理水がメダカの産卵に及ぼす影響と稚魚の生長に及ぼす影響を明らかにするため、処理レベルの異なる 3 種類の下水処理水に雄・雌ペアでメダカ成魚を 28 日間曝露し、その間の産卵数、受精率を調査した。これ加えて、生後 1 カ月齢のメ

ダカ稚魚を 28 日間曝露し、その生長阻害も調査した。

2. 実験方法

2.1 下水処理実験装置の運転

下水処理実験装置の概要とメダカ曝露水槽の関係を図-1 に示す。下水処理実験装置は、最初沈殿池（500L）、生物反応槽（500L×4 槽）、最終沈殿池（700L）、塩素接触槽（100L）、担体処理水槽（10L）から構成されている。

流入下水は、分流式下水道として整備され主に生活排水が流入する下水処理場の生下水を用いた。生物反応槽は、第 1 槽から第 4 槽まで全面エアレーションを行う、活性汚泥法による処理を行った。水理的滞留時間（HRT）は、7 時間となるように入水量を制御した。塩素処理槽では、塩素接触槽の流出

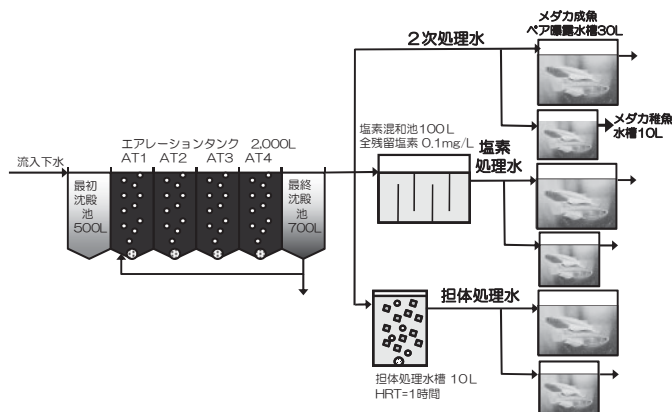


図-1 下水処理装置とメダカ曝露水槽の関係

水で全残留塩素濃度が0.1mg/L程度となるように、次亜塩素酸ナトリウム溶液を連続注入した。担体処理槽は、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(φ5mm,長さ5mm,厚さ1mm)が充填され、水理的滞留時間1時間で2次処理水を処理した。メダカの曝露水は、上記の2次処理水、塩素処理水、担体処理水とし、対照区は脱塩素水道水とし、流水式でメダカの曝露実験を行った。

2.2 メダカの曝露条件

メダカの曝露条件を表-1に示す。メダカの曝露水槽は、各曝露区で2つ用意し、1つを産卵実験用、残り1つを稚魚成長実験用とした。コントロールは、活性炭処理をした脱塩素水道水とした。産卵実験は、28日間、毎日受精卵と未受精卵を区別し、産卵数を計数した。曝露終了後は、全長、体重を測定し、続いて、肝臓、生殖腺を取り出し重量の測定を行い、肥満度、肝臓重量指数、生殖腺重量指数を算出した。

表-1 メダカの曝露条件

産卵実験		メダカ(d-rR系)、6~7カ月齢
供試魚	♂9匹+♀9匹/試験水槽	
曝露形式	流水式	
曝露期間	28日(H23.10.22~H23.11.18)	
水温	24°C	
照明	16h明(6:00~22:00)、8h暗	
曝露水量	30L	
換水率	5回/日	
給餌	配合飼料(初期飼料共和N250) 4回/日(9:00、12:00、16:00、19:00)	
稚魚成長実験		メダカ(d-rR系)、1カ月齢
供試魚	15匹(雄雌の判別は不明)/試験水槽	
曝露形式	流水式	
曝露期間	28日(H23.10.22~H23.11.18)	
水温	24°C	
照明	16h明(6:00~22:00)、8h暗	
曝露水量	10L	
換水率	5回/日	
給餌	配合飼料(初期飼料共和N250) 4回/日(9:00、12:00、16:00、19:00)	

2.3 水質分析

曝露水の性状を把握するため、各曝露水槽の水温、pH、DO、電気伝導度、DOC、NH₄-N、NO₃-N、残留塩素濃度、エストロン(E1)、17βエストラジオール(E2)の分析を行った。

3. 実験結果

3.1 水質分析の結果

図-2に曝露期間中の曝露水槽内の水質分析の結果を示す。曝露期間中の水温は24°C、pHは7~8程度、DOは約6mgO₂/Lに維持されていた。曝露実験開始時は、活性汚泥の馴致が不十分であった

ため、NH₄-Nが残留していたが次第に低下した。塩素処理水曝露区の曝露水槽中での全残留塩素濃度は、約0.05mg/Lであった。曝露開始から12日目のE1、E2濃度は高かったが、曝露後半は10ng/L以下で維持された。

3.2 メダカ成魚の産卵実験の結果

図-3に曝露期間の累積産卵数、図-4に累積受精卵数、図-5に受精率の結果を示す。曝露開始から15日目程度までは、活性汚泥処理が安定せず、また、対象区の餌量が他の曝露区よりも多めになっていたため、解析から外すこととした。図-6、7、8は活性汚泥処理が安定した15日目以降の結果を示してい

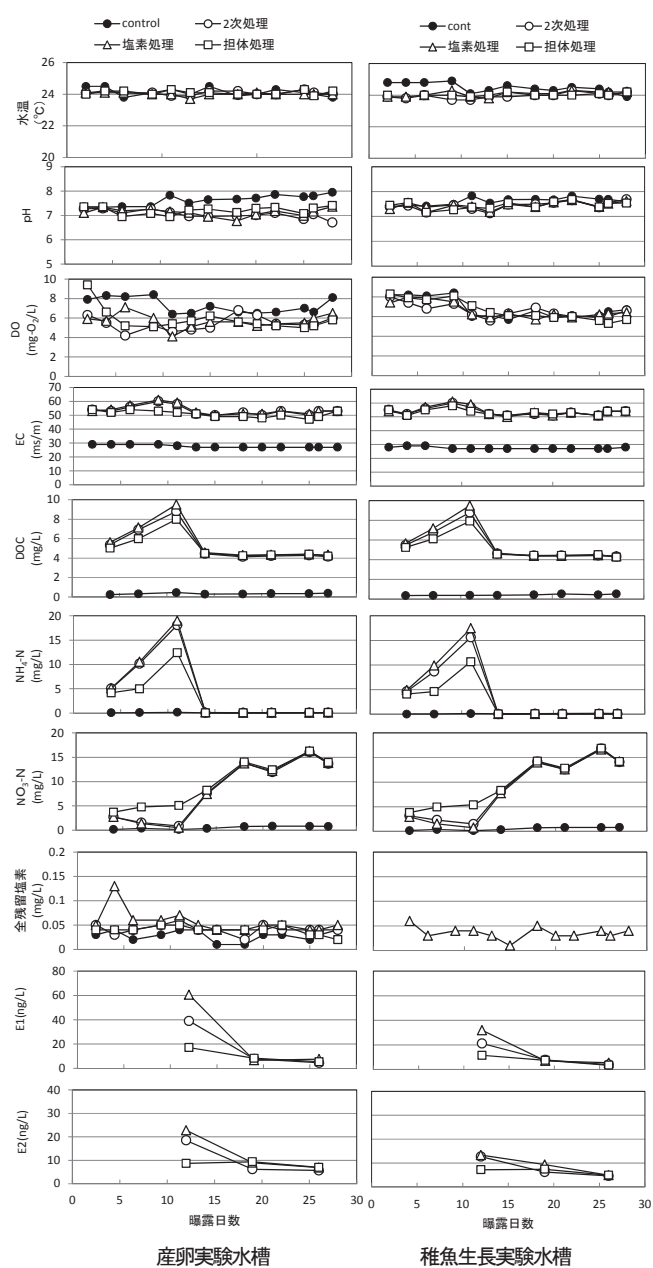
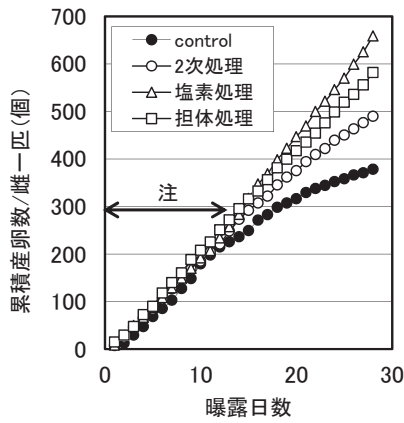
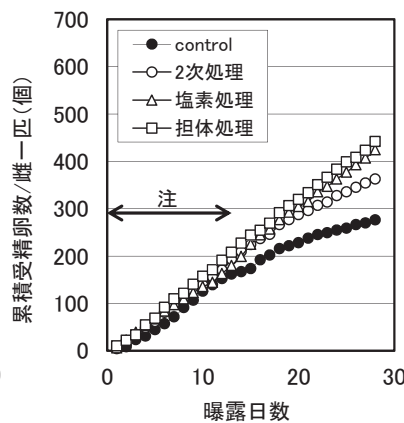


図-2 メダカ曝露水槽の水質分析結果



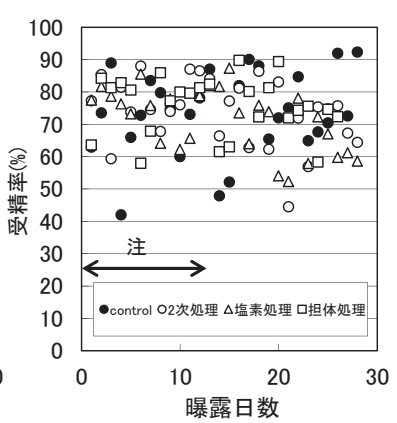
注 活性汚泥理不調、コントロール餌多め

図-3 雌1匹当たり累積産卵数の結果



注 活性汚泥理不調、コントロール餌多め

図-4 雌1匹当たりの累積受精卵の結果



注 活性汚泥理不調、コントロール餌多め

図-5 受精率の結果

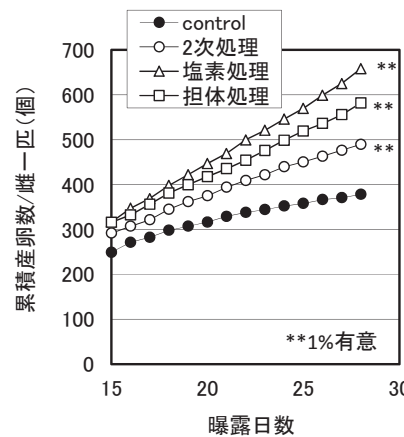


図-6 曝露15日目以降の

雌1匹当たり累積産卵数の結果

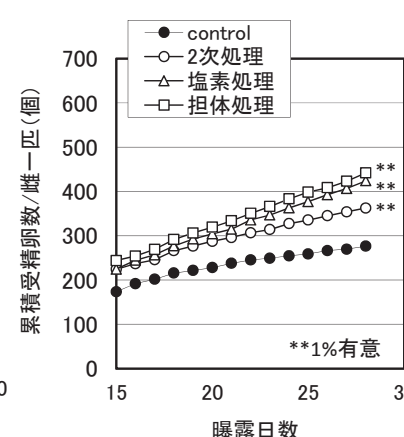


図-7 曝露15日目以降の

雌1匹当たりの累積受精卵の結果

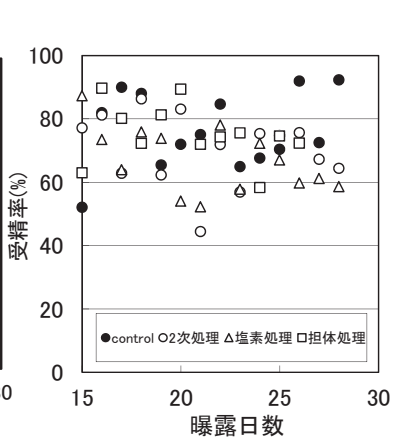


図-8 曝露15日目以降の

受精率の結果

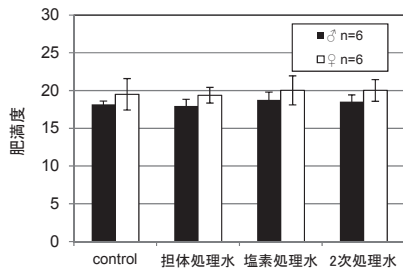


図-9 産卵実験終了後の肥満度

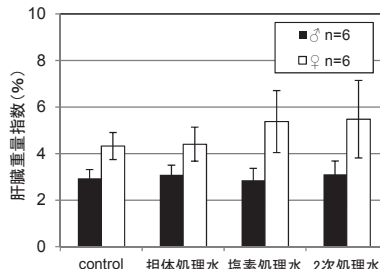


図-10 産卵実験終了後の肝臓重量指数

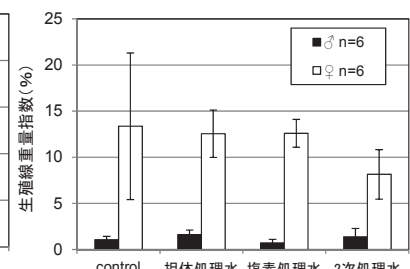


図-11 産卵実験終了後の生殖腺重量指数

る。15日目以降の各下水処理水曝露区の産卵数、受精卵数は、コントロール区より、有意に多くなる傾向がみられた。各下水処理水曝露区で比較すると、担体処理水、塩素処理水曝露区で多くなる傾向がみられた。表-2 に曝露15日目以降の平均受精率を示す。受精率は、塩素処理水曝露区で対照区より若干低下したものの、下水処理水曝露区で顕著に低下するものはなかった。曝露終了後の試験魚の、肥満度、肝臓重量指数、生殖腺重量指数を次の式で算出した。

$$\text{肥満度} = (\text{体重}(\text{g}) / \text{全長}(\text{cm})^3) \times 1000$$

表-2 曝露15日目以降の平均受精率

control	担体処理水	塩素処理水	2次処理水
76.3%	70.2%	66.8% *	74.7%

* 5%有意

肝臓重量指数 = (肝重量(g)/体重(g)) × 100
 生殖腺重量指数 = (生殖腺重量(g)/体重(g)) × 100
 いずれの指標も対照区との有意な違いは検出されなかった。以上の結果から、下水処理水がメダカ成魚の産卵に与える悪影響は確認されなかった。

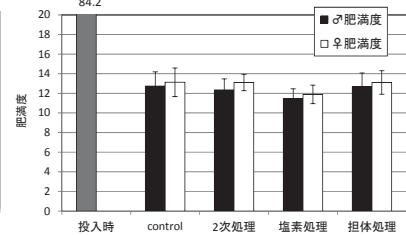
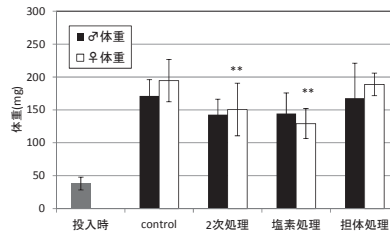
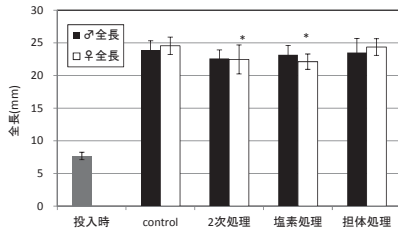


図-12 各処理水曝露後の稚魚の全長 図-13 各処理水曝露後の稚魚の体重 図-14 各処理水曝露後の稚魚の肥満度
 (コントロール: ♂=7匹, ♀=8匹, 2次処理水: ♂=7匹, ♀=8匹, 塩素処理水: ♂=9匹, ♀=5匹, 担体処理水: ♂=5匹, ♀=8匹 *5%有意)

3.3 稚魚の生長実験の結果

稚魚曝露実験終了後、雄と雌メダカに分けて全長、体重を測定した。図-12、13、14 は曝露終了後の稚魚の全長、体重、肥満度の結果である。2次処理水、塩素処理水曝露区の雌メダカの全長、体重が、対照区に比べて若干低下する傾向を示したが、肥満度では影響はみられなかった。

4. おわりに

下水処理水が魚類の繁殖に与える影響を明らかにするため、活性汚泥処理水、塩素処理水、担体処理水に28日間、雄と雌メダカをペアで曝露し、産卵数、受精率などを調査した。これに加えて、1カ月齢の稚魚メダカの曝露も行い、生長阻害も調査した。

その結果、活性汚泥処理水、塩素処理水、担体処理水に曝露したメダカの産卵数、脱塩素水道水曝露区に比べ、受精卵数は有意に増加し、産卵数の低下もみられず、メダカ成魚の産卵に及ぼす顕著な悪影響は確認されなかった。

各下水処理水に1カ月齢のメダカ稚魚を28日間曝露した結果、顕著な生長阻害は確認されなかった。

下水処理水の安全性を確認するためには、さらに長期の曝露実験から影響の有無を確かめる必要がある。今後は、長期産卵実験、仔魚期からの曝露の影響、2世代目の影響(産卵数)を調査する予定である。

微量金属を対象とした藻類抑制手法の提案

水環境研究グループ長
水質チーム 上席研究員 池田 茂
(材料資源研究グループ長 鈴木 穰)
主任研究員 平山 孝浩
研 究 員 柴山 慶行

1. はじめに

下水処理水は、窒素やリン等の栄養塩類を比較的高濃度を含むため、都市内の水路や修景池などに利用した場合に藻類の大量増殖を引き起こし、景観障害等の問題が生じる場合がある。この問題に対応するため、下水処理水中の栄養塩類濃度を極めて低くする手法（凝集剤の使用によるリンの高度除去等）が適用可能であると考えられるが、設備費・運転費等の追加費用が必要である。

土木研究所では、微生物保持担体による追加的な処理による藻類発生抑制手法を開発しており、本研究では下水処理水を修景利用している施設において、追加的な処理を行った処理水の導水を行い、実施設での藻類増殖抑制の効果を検証した。

2. 微生物固定化担体による藻類増殖抑制手法¹⁾

本手法の概要は次の通りである。

下水処理水を微生物保持担体（ポリプロピレンを基材とした中空円筒状の固体 $4\text{mm}^{\text{OD}} \times 3\text{mm}^{\text{ID}} \times 5\text{mm}^{\text{L}}$ ）を投入した反応槽に導入する。反応槽内では、下部より曝気が行われており比重が水と同程度の担体は曝気によって流動する。馴致期間を置くことで、自然発生的に担体上に生物膜が発生し、この生物膜により処理水中の溶存マンガンが酸化され懸濁態となるが、懸濁態のマンガンの後段の砂ろ過装置で除去することにより処理水中のマンガン濃度を高効率に低下させた処理水（以

下、担体処理水）を得ることができる。

土木研究所で実施した過去の研究によると、担体処理水を、模擬的な水路と池に導水したところ、糸状藻類の発生が抑制されることがわかっている^(例えば、2)。この実験では、担体処理水中の窒素やリンの濃度は低減しておらず、マンガン濃度が大幅に低下していたことを確認している。この実験での糸状藻類抑制の詳しいメカニズムは明らかではないが、藻類にとって微量必須元素の一つであるマンガン濃度の低下が、藻類増殖に影響を与えたものと考えられる。本手法は、設備費用や運転経費が安価であるため、必要な費用を抑えつつ、下水処理水を再利用している施設の藻類増殖を抑制することが期待される。

3. 藻類増殖抑制手法の実施設における適用

3.1 方法

藻類増殖抑制手法の効果を調べるために下水処理水を修景利用している人工水路（写真-1、写真-2）施設において適用実験を行った。水路は、実験のために設置したものではなく、実施設であるため、せせらぎ水路Aは底が砂質、せせらぎ水路Bは岩やモルタルに石を埋め込んだものである等、水路間の構造に違いがある。そのような状況では、水路の壁に増殖する藻類の量も異なってくる可能性がある。そのため、素焼きタイルを設置してその上で増殖した藻類の量を測定するとともに、タイル間の日射量の差が少なくなるようにタイルを設置し、水路間の状況の差が小さくなるように努めた。

平成 21 年 10 月～平成 23 年 12 月には、担体処理水をせせらぎ水路 B に導水し、導水していないせせらぎ水路 A の藻類発生状況と比較することで藻類の増殖状況を確認した。藻類発生量は、水路内に設置した素焼きのタイルを、定期的に回収することで定量した。平成 24 年 1 月～平成 24 年 10 月には、二つの水路に担体処理水を導水せず、平成 22 年の藻類発生量の結果と比較した。

図-1には担体処理水を導水した際の実験系概念図を示す。標準活性汚泥法とオゾン処理が施された下水処理水を、微生物保持担体（写真-3）が添加された円筒形の反応槽（写真-4）2槽（有効容量 0.56m³、水学的滞留時間計 2 時間）に流入させた。担体処理水中の懸濁態マンガンは、せせらぎ水路 B の再生水処理施設内の砂ろ過装置を通して除去され、マンガン濃度が低下した水が水路に流れる仕組みになっている。ただし、この実験系では担体処理していない下水処理水の混合を完全には防げない仕組みとなっている。



写真-1 せせらぎ水路 A



写真-2 せせらぎ水路 B

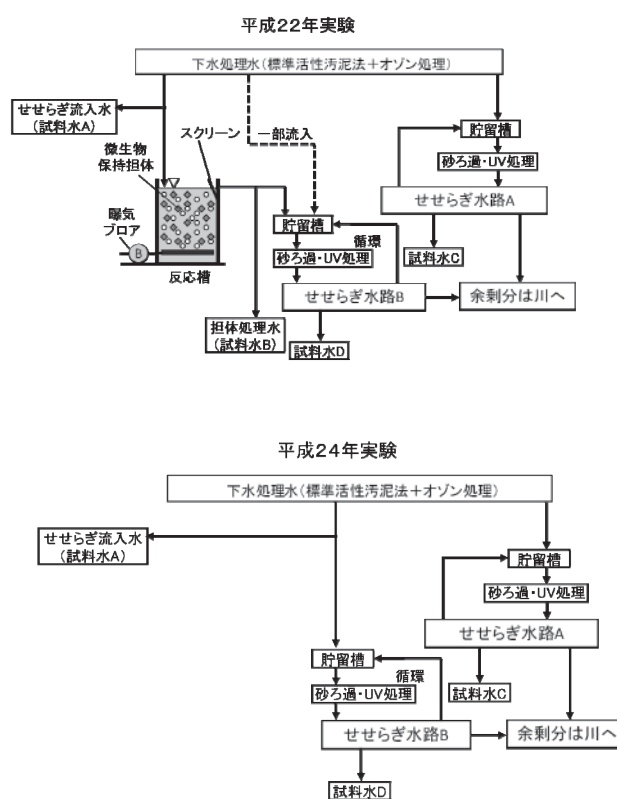


図-1 実験系概念図

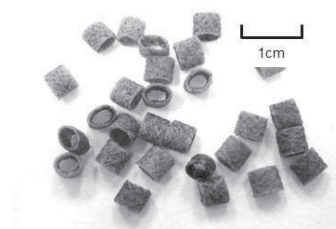


写真-3 微生物保持担体



写真-4 担体処理反応槽



写真-5 せせらぎ水路Aにおけるタイル設置状況



写真-6 せせらぎ水路Bにおけるタイル設置状況

水質分析は、平成 21 年 10 月～平成 24 年 10 月まで、平成 23 年の一部の期間を除き、1～2 か月に 1 回を目途に実施した。平成 22 年 5 月から 9 月までの計 5 回、平成 24 年 6 月から 10 月までの計 4 回については、水路内に設置したタイル上に発生した藻類量の分析

を実施しており、本報告書では、この期間の水質分析結果をもとに藻類増殖抑制効果について考察することとする。採水は、以下の場所で行った。

- ・せせらぎ流入水（試料水 A）
- ・担体処理水（試料水 B）
- ・せせらぎ水路 A 流入水（試料水 C）
- ・せせらぎ水路 B 流入水（試料水 D）

※採水箇所については、図-1 も参照。また、平成 24 年の 7 月と 8 月は、せせらぎ流入水が不足していたため、採水していない。

採水試料中の溶解性有機性炭素（DOC）、総窒素（T-N）、アンモニア性窒素（ $\text{NH}_4\text{-N}$ ）、亜硝酸性窒素（ $\text{NO}_2\text{-N}$ ）、硝酸性窒素（ $\text{NO}_3\text{-N}$ ）、総リン（T-P）、オルトリン酸態リン（ $\text{PO}_4\text{-P}$ ）、総鉄（D-Fe）、溶存態鉄（D-Fe）、総マンガン（T-Mn）、溶存態マンガン（D-Mn）の各濃度を測定した。また、せせらぎ水路では、浮遊物質（SS）、有機性浮遊物質（VSS）の測定も行った。懸濁態と溶存態の分離は採水時に行い、金属成分以外の試料水にはガラス繊維ろ紙（GF/B、粒子保持能 $1\mu\text{m}$ ）を、金属成分用の試料水には、メンブレンフィルター（孔径 $0.2\mu\text{m}$ ）を用いた。窒素とリンの定量分析には、オートアナライザー（ブランルーベ、TRAACS2000）を使用し、金属類は、ICPMS（サーモフィッシャーサイエンティフィック、X7CCT）により分析を行った。窒素とリンの有機態の測定においては、ペルオキシニ硫酸カリウムによる分解を行った。

写真-5と写真-6はせせらぎ水路内に設置した素焼きタイルの写真である。タイルは、付着藻類の発生状況を観察するとともに、クロロフィル a（Chl.a）の定量分析を行った。タイルは、平成 22 年分は 5 月、平成 24 年分は 4 月にまとめて設置し、設置後は採水時に 1 枚ずつ回収した。回収したタイルは付着物を樹脂のブラシでこすり落とし、分析に供した。Chl.a の測定方法は、単波長吸光度法

を用いた。

3. 2 結果と考察

3. 2. 1 平成 22 年実験

表-1には、せせらぎ流入水と担体処理水の水質分析結果の平成 22 年実験期間における平均値を示す。T-N、T-P については、大きな差が見られない一方、担体処理水では Fe 濃度と Mn 濃度の低下が確認された。反応槽前後の D-Fe の形態は、曝気処理により、また、D-Mn の形態は、担体上のマンガン酸化細菌等の活動により溶存態から懸濁態へと変化したと考えられる。今回の実験結果では、D-Fe、D-Mn だけでなく、T-Fe 及び T-Mn の濃度も低下する結果となっている。

次に、水路内における水質分析結果を比較する。表-2に、下水処理水を通水したせせらぎ水路 A と、担体処理を行った後にろ過処理を行った水を通水したせせらぎ水路 B の実験期間中の水質測定結果(平均値)を示す。T-N、T-P と NO₃-N 等、多くの項目で、せせらぎ水路 B がせせらぎ水路 A より、大幅に減少していた。金属類に関しては、D-Fe には大きな差はみられなかったが、T-Fe はせせらぎ水路 B がせせらぎ水路 A の 1/6 程度であり、Mn は懸濁態、溶存態ともに 1/10 程度であった。Fe は曝気により、Mn は担体処理により懸濁化し、砂ろ過で取り除かれたものと考えられる。

次に、素焼きタイル上に発生した藻類量の定量結果について示す。写真-7、写真-8 は、平成 22 年 7 月のタイルの写真である。せせらぎ水路 A では実験期間を通じて表面全体を覆うほどの付着物が確認されたが、せせらぎ水路 B では付着物はみられたものの、表面全体が覆われることは無く、付着藻類の長さも短かった。せせらぎ水路 B のタイルと比較して、せせらぎ水路 A のタイルは藻類が多く発生している様子がうかがえる。表-3 には、期間中におけるタイル上の Chl.a の値の平均値を示す。Chl.a の定量値からもせせ

らぎ水路 B 内の付着藻類の発生が抑制されていることが確認できる。

3. 2. 2 平成 24 年実験

平成 24 年実験期間に水路に流入していたせせらぎ流入水の平均水質を表-4に示す。また、平成 24 年の水路内の水質分析結果の平均値を表-5に示す。ここで、せせらぎ水路 A の 10 月の値は、8 月の値の 10 倍程度となっており、糸状の藻類が大発生する夏場の水質を代表しているとはいえない可能性が考えられたため、10 月の値を除いて水質平均値を算出した。平成 22 年のデータと同様に、せせらぎ水路 B 内では、せせらぎ水路 A と比較して、窒素やリン類の濃度が低い傾向にあった。また、NO₃-N や PO₄-P 等の値が、平成 22 年と比較して高い値であった。T-Mn、D-Mn の濃度も、平成 22 年と比較して、やや高い値を示していることがわかる。

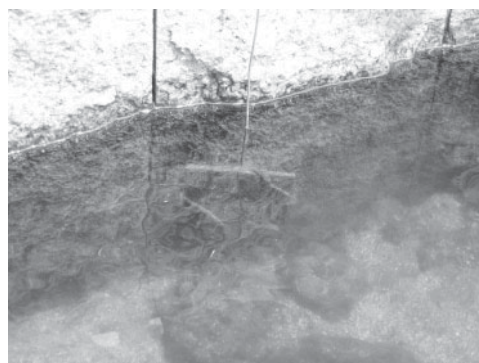
写真-9、写真-10は、平成 24 年 6 月における水路内の素焼きタイルの写真である。二つの水路の間で、藻類発生量の明確な差は確認できない。表-6にタイル上の Chl.a 定量結果の平均値を示す。同程度の数値となっており、この結果からも二つの水路間で、藻類発生量に大きな差はなかったことがわかる。

表－1 担体処理実験における平均水質
(平成22年実験期間平均値)

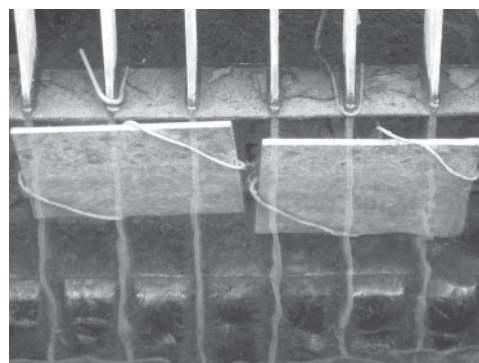
項目	単位	せせらぎ 流入水	担体処理水
DOC	mg/L	2.91	2.22
T-N	mg/L	7.28	7.23
NH ₄ -N	mg/L	0.02	0.01
NO ₂ -N	mg/L	0.28	0.12
NO ₃ -N	mg/L	6.35	6.69
T-P	mg/L	0.81	0.59
PO ₄ -P	mg/L	0.51	0.46
T-Fe	μg/L	118.59	38.19
D-Fe	μg/L	28.64	5.52
T-Mn	μg/L	43.05	17.88
D-Mn	μg/L	2.16	0.26

表－2 水路内の平均水質
(平成22年実験期間平均値)

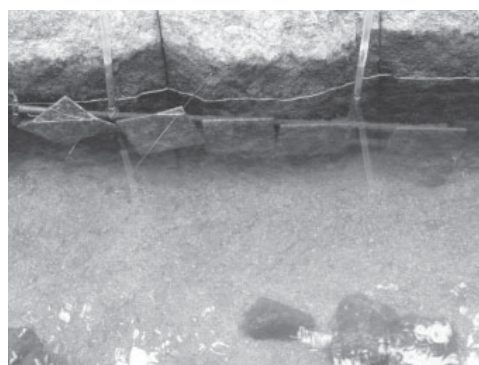
項目	単位	せせらぎ 水路 A	せせらぎ 水路 B
SS	mg/L	6.2	2.6
VSS	mg/L	2.4	1.3
DOC	mg/L	2.8	3.6
T-N	mg/L	4.26	0.87
NH ₄ -N	mg/L	0.02	0.01
NO ₂ -N	mg/L	0.04	0.01
NO ₃ -N	mg/L	3.58	0.23
T-P	mg/L	0.16	0.02
PO ₄ -P	mg/L	0.09	0.01
T-Fe	μg/L	57.19	10.00
D-Fe	μg/L	6.75	5.70
T-Mn	μg/L	4.67	0.50
D-Mn	μg/L	1.62	0.33



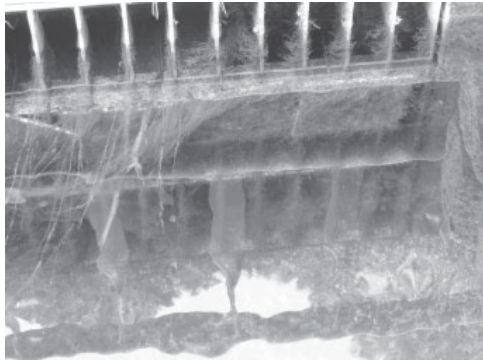
写真－7 平成22年7月せせらぎ水路Aの
タイル



写真－8 平成22年7月せせらぎ水路B
のタイル



写真－9 平成24年6月せせらぎ水路Aの
タイル



写真－１０ 平成 24 年 6 月せせらぎ水路 B
のタイル

表－３ 付着物の分析結果
(平成 22 年実験期間平均値)

項目	単位	せせらぎ 水路 A	せせらぎ 水路 B
Chl.a	μg/cm ²	20.8	3.6

表－４ せせらぎ流入水の平均水質
(平成 24 年実験期間平均値)

項目	単位	せせらぎ流入水
SS	mg/L	0.90
VSS	mg/L	0.55
DOC	mg/L	5.84
T-N	mg/L	6.33
NH ₄ -N	mg/L	0.01
NO ₂ -N	mg/L	0.04
NO ₃ -N	mg/L	5.31
T-P	mg/L	1.38
PO ₄ -P	mg/L	1.43
T-Fe	μg/L	32.09
D-Fe	μg/L	28.01
T-Mn	μg/L	25.71
D-Mn	μg/L	24.32

表－５ 水路内の平均水質
(平成 24 年実験期間平均値)

項目	単位	せせらぎ 水路 A	せせらぎ 水路 B
SS	mg/L	7.23	2.65
VSS	mg/L	3.45	1.55
DOC	mg/L	4.74	4.70
T-N	mg/L	3.33	2.02
NH ₄ -N	mg/L	0.01	0.01
NO ₂ -N	mg/L	0.02	0.01
NO ₃ -N	mg/L	2.17	1.25
T-P	mg/L	0.39	0.22
PO ₄ -P	mg/L	0.09	0.10
T-Fe	μg/L	89.87	13.07
D-Fe	μg/L	11.81	6.05
T-Mn	μg/L	6.90	1.03
D-Mn	μg/L	2.12	0.52

表－６ 付着物の分析結果
(平成 24 年実験期間平均値)

項目	単位	せせらぎ 水路 A	せせらぎ 水路 B
Chl.a	μg/cm ²	50.3	54.0

3. 2. 3 平成 22 年と平成 24 年の比較

平成 22 年と平成 24 年の藻類発生量が大きく異なったことについて、NO₃-N、PO₄-P、D-Fe、D-Mn のデータに基づいて考察する。

ここで、平均値ではなく、実験中の濃度の推移も確認する。図－２～図－６に NO₃-N と PO₄-P、D-Fe と D-Mn、Chl.a の推移を示す。また、表－７に水質平均値を抜き出して整理した結果を示す。

次に、藻類増殖量に影響を与えた因子について検討を行った。せせらぎ流入水とせせらぎ水路内の濃度とその差について検討するため、表－８に、濃度変化を整理したものを示す。

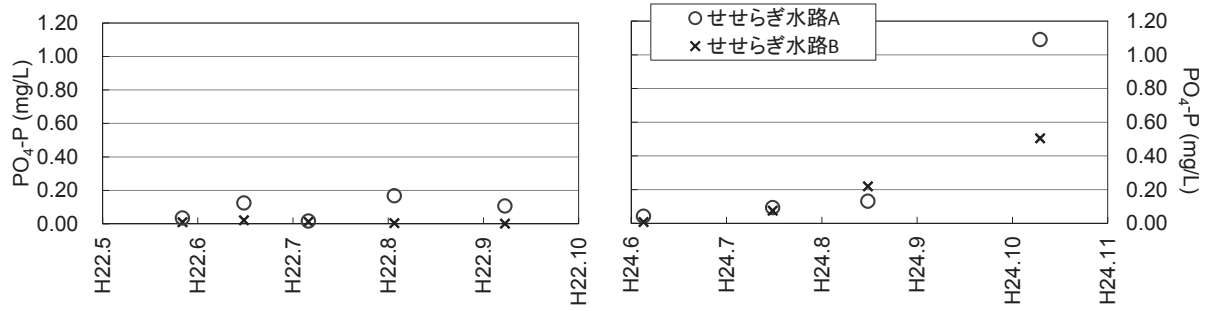


図 - 2 PO₄-P の変化

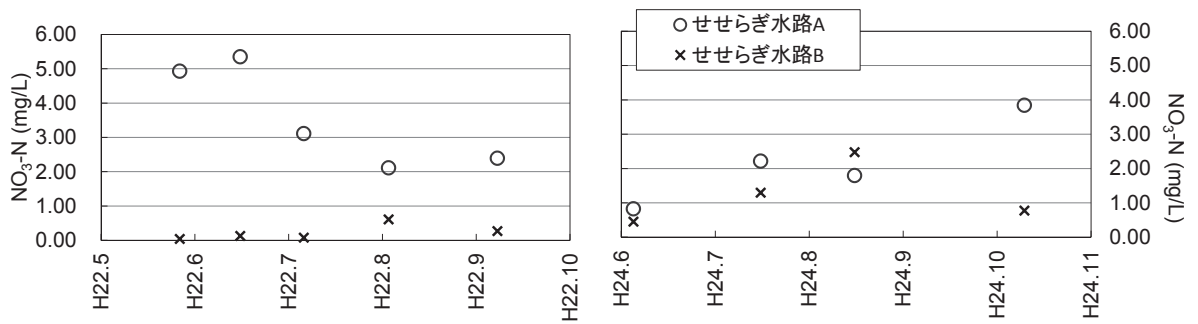


図 - 3 NO₃-N の変化

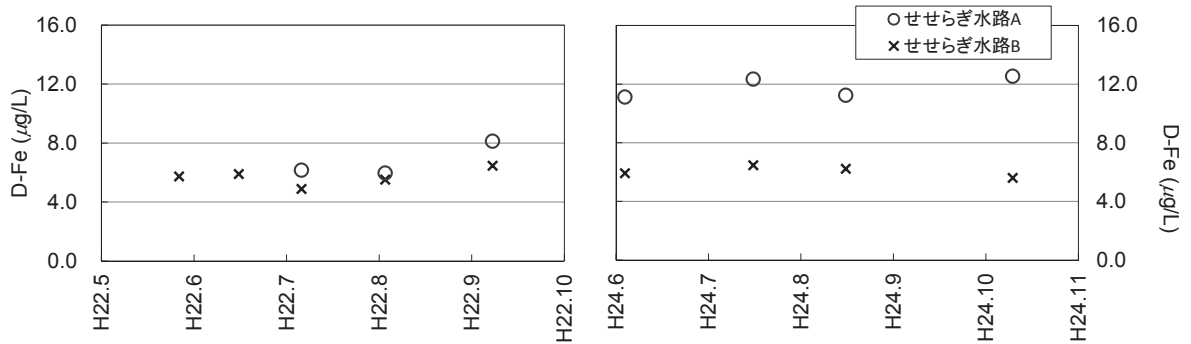
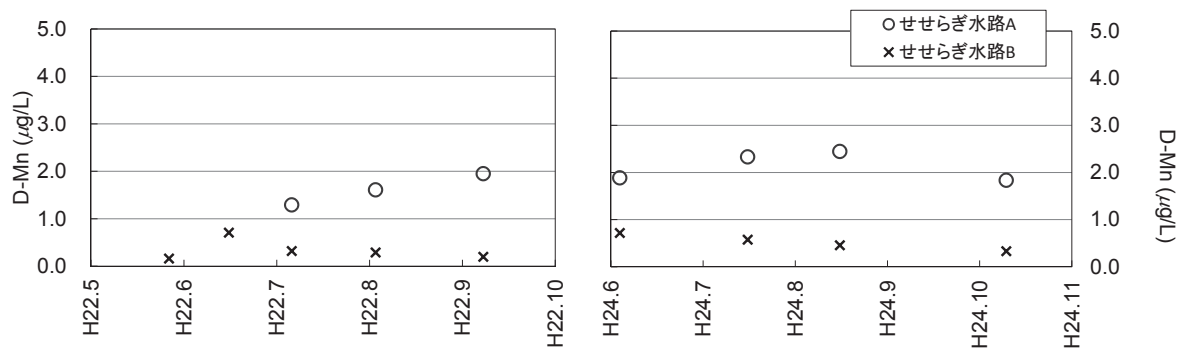
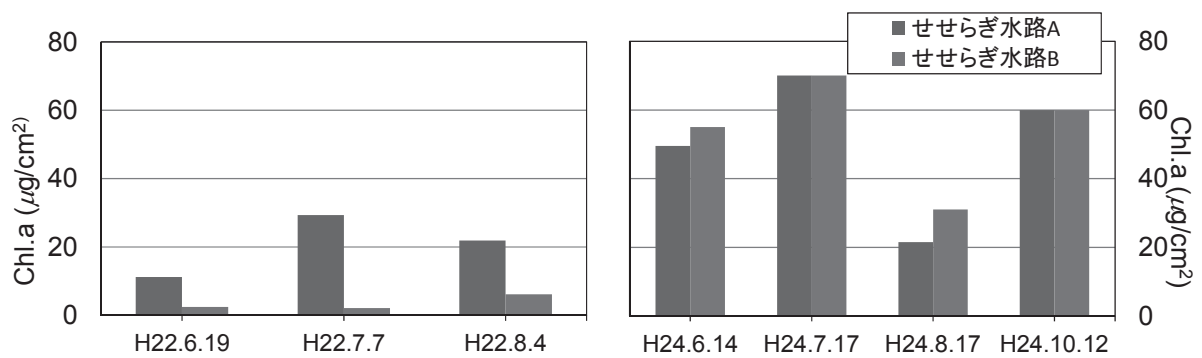


図 - 4 D-Fe の変化



図－5 D-Mn の変化



図－6 Chl.a の推移

表－7 水質平均値の比較

項目	単位	平成 22 年		平成 24 年	
		せせらぎ水路 A	せせらぎ水路 B	せせらぎ水路 A	せせらぎ水路 B
PO ₄ -P	mg/L	0.09	0.01	0.09	0.10
T-Mn	µg/L	4.67	0.50	7.72	1.23
D-Mn	µg/L	1.62	0.33	2.22	0.58
Chl-a	µg/cm ²	20.8	3.6	47.0	52.0

表一8 流入水と水路内水質の比較
(網掛けは、制限因子になった可能性のある項目)

	流入水の変化	濃度変化	流入からの変化	水路内残存濃度
平成22年	PO ₄ -P せせらぎ流入水→せせらぎ水路A	0.2~1 → 0.02~0.2	↓	○
	担体処理水 → せせらぎ水路B	0.2~1 → ほぼ0	↓↓	×
	せせらぎ流入水→せせらぎ水路A	4~10 → 2~6	↓	○
	担体処理水 → せせらぎ水路B	4~10 → 0~0.5	↓↓	×
	せせらぎ流入水→せせらぎ水路A	20~40 → 6	↓↓	×
	担体処理水 → せせらぎ水路B	5~10 → 6~9	↓	×
	せせらぎ流入水→せせらぎ水路A	1~3 → 1~2	→	○
	担体処理水 → せせらぎ水路B	0.1~0.6 → 0.1~0.6	→	×
平成24年	PO ₄ -P せせらぎ流入水→せせらぎ水路A	0.7 → 0.04~0.13	↓	○
	せせらぎ流入水→せせらぎ水路B	0.7 → 0.01~0.2	↓	○
	せせらぎ流入水→せせらぎ水路A	5.1 → 0.8~2.2	↓	○
	せせらぎ流入水→せせらぎ水路B	5.1 → 0.5~2.5	↓	○
	せせらぎ流入水→せせらぎ水路A	27 → 11.1~12.3	↓	○
	せせらぎ流入水→せせらぎ水路B	27 → 5.9~6.2	↓↓	×
	せせらぎ流入水→せせらぎ水路A	47 → 1.8~2.5	↓↓	○
	せせらぎ流入水→せせらぎ水路B	47 → 0.3~0.7	↓↓	△

水路内水質について、藻類増殖の半飽和定数や湖沼等で測定した半飽和定数値³⁾と比べると、平成22年のせせらぎ水路Bでは、 $PO_4\text{-P}$ と $NO_3\text{-N}$ の値が半飽和定数と同程度かそれより低く、藻類増殖の制限因子となっていたと思われる。さらに、D-Fe、D-Mnは、実験期間を通じて低い値となっていたことから、これらも藻類増殖の制限因子となっていたと思われる。平成22年のせせらぎ水路AではD-Feがせせらぎ水路Bと同程度だったため、この項目が制限因子となっていた可能性が高い。

一方で、平成24年では、二つの水路で、 $PO_4\text{-P}$ と $NO_3\text{-N}$ は制限因子となるほど値が低くないため、制限因子とはならなかったと考えられる。せせらぎ水路Bでは、D-Feが平成22年と同程度なため、制限因子となった可能性が高い。また、D-Mnも低濃度まで低下している。

次に、せせらぎ流入水と水路内の濃度差について検討する。この濃度差は、藻類が増殖に伴って摂取あるいは利用した結果生じるものと考えられる。

図-7～図-10は、せせらぎ流入水と水路内流入水の濃度差と藻類量(Chl.a)との関係を示している。濃度は、平均値を用いた。 $NO_3\text{-N}$ は、濃度差とChl.aの関係が顕著でないようである。 $PO_4\text{-P}$ とD-Fe、D-Mnについては、相関傾向が見られる。

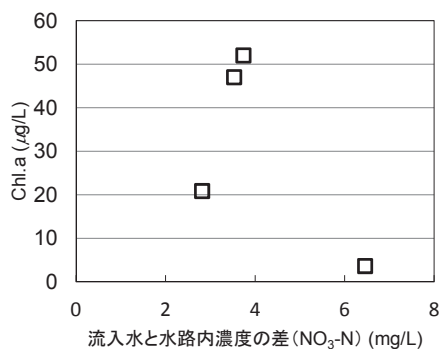


図-7 流入水と水路内濃度の差 ($NO_3\text{-N}$)

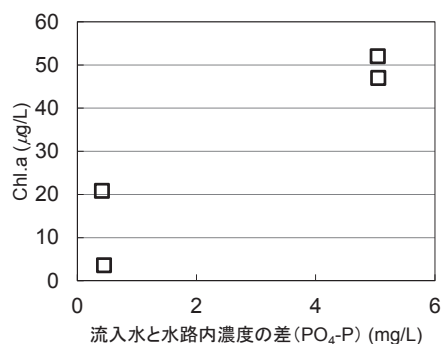


図-8 流入水と水路内濃度の差 ($PO_4\text{-P}$)

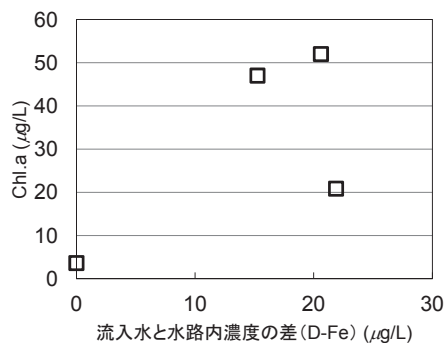


図-9 流入水と水路内濃度の差 (D-Fe)

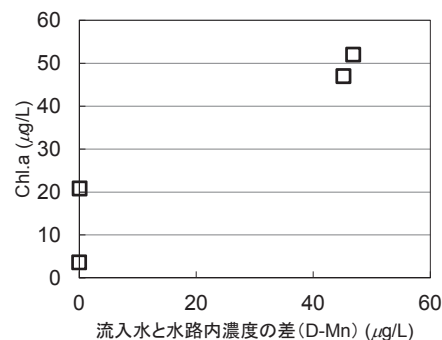


図-10 流入水と水路内濃度の差 (D-Mn)

4. おわりに

以下に、本実験のまとめを記述する。

- ・担体処理水を導入した平成22年のせせらぎ水路Bでは、担体処理水を導入していない同時期のせせらぎ水路Aや平成24年度のせせらぎ水路A,Bと比較して、付着藻類量が著しく少なかった。

- ・水路流入水と水路内の水質変化より、せせらぎ水路Bでは、平成22年に $PO_4\text{-P}$ と $NO_3\text{-N}$ 、D-Fe、D-Mnが、平成24年には、D-Feが藻類発生制限因子となっていたと思われる、また、せせらぎ水路Aでは、平成22年にD-Feが制限因子となっていた可能性が高い。

・流入水と水路内の水質差と Chl.a のデータからは、
PO₄-P と D-Fe、D-Mn との相関が見られた。

なお、本調査研究は、運営交付金（一般勘定）により実施されたものである。

参考文献

- 1) 鈴木穰、岡安祐司：下水処理水の藻類増殖抑制方法及びその装置、特開 2009-207985
- 2) 岡安祐司：担体による都市河川の藻類抑制技術、河川整備基金助成事業成果報告書、平成 21 年
- 3) 岩佐義朗編著：湖沼工学、山海堂、平成 2 年

亜酸化窒素の水環境中動態に水質が与える影響に関する研究

研究予算：運営費交付金（一般勘定）

研究期間：平 23～平 25

担当チーム：水環境研究グループ（水質）

研究担当者：池田茂、平山孝浩、北村友一

【要旨】

河川や湖における N_2O の生成実態を解明するため、霞ヶ浦流域を対象に、溶存 N_2O 濃度の実態調査を行った。さらに、 N_2O の生成に及ぼす影響要因を解明するため、霞ヶ浦底泥と河川水、下水処理水、 $NaNO_3$ 水溶液などを用いた回分式の N_2O 生成実験を行った。実態調査からは、溶存 N_2O 濃度は、 NO_2-N 濃度の高い銚田川で高く、 NO_3-N 、 NO_2-N 、 NH_4-N 濃度と正の、DO 濃度、pH と負の相関を示した。 N_2O 生成実験からは、 N_2O 生成には底泥が関与しており、 NO_3-N 濃度が高い条件ほど生成量が大きくなった。 NH_4-N 濃度が高い条件では生成しなかったことから、 N_2O の生成は硝化過程よりも脱窒過程で大きいことがわかった。また、脱窒反応の最初の 24 時間は N_2O の生成速度が高いが、蓄積した N_2O はその後還元されることがわかった。

キーワード：亜酸化窒素、霞ヶ浦、底泥、下水処理水、 NO_3-N

1. はじめに

亜酸化窒素 (N_2O) は温室効果ガスの一つであり、二酸化炭素の 280 倍の温室効果能を有することから、発生量の削減が求められている。 N_2O は、下水処理場¹⁾だけでなく河川²⁾や湖³⁾からも発生していることが報告され、硝化と脱窒の両方のプロセスで発生することが知られている。しかし、水環境中における N_2O の生成要因については、溶存酸素濃度 (DO) や温度の影響が指摘されているものの⁴⁾、生成条件については不明な点が多い。そこで本研究では、 N_2O の生成に影響を及ぼす水質要因を解明するため、河川水・湖水中の溶存 N_2O 濃度の実態調査と実験室での試薬、下水処理水、底泥を用いた N_2O 生成実験を行った。

電気伝導度 (EC) を測定し、溶存 N_2O 濃度分析用の試料を採水した。また、ガラス瓶に試料水を満水にして持ち帰り、DO、pH を測定した後、GF/B ろ紙でろ過して NH_4-N 、 NO_2-N 、 NO_3-N 、 PO_4-P 、DOC を測定した。

溶存 N_2O 濃度は、ヘッドスペース (HS) 法で測定した。採水した試料水を現地で容量 22mL の HS バイアルに 10mL 注ぎ入れ、微生物不活性化用ヒビテン液 (グルコン酸クロルヘキシジン 5%含有、住友製薬) を 333 μ L 添加し、ブチルゴムセプタムとアルミシールで密閉した。試料は 30 秒間振とうした後、室温で 1 時間静置し、気相を HS-GC-MS 測定に供した。

表-1 は、HS-GC-MS の分析条件である。カラムは無機ガスを保持できる TC-BOND Q (GL サイエ

2. 調査・実験方法

2.1 溶存 N_2O 濃度の実態調査

実態調査は霞ヶ浦流域を対象とし、2012 年 10 月から 2013 年 2 月まで毎月 1 回実施した。図-1 は、調査地点である。北浦流入河川の銚田川、北浦湖内の 3 地点、西浦流入河川の桜川を対象とした。また、下水処理水由来の硝酸が河川中で N_2O の生成に関係するかどうかを確認するため、土浦市内の農業集落排水の放流地点 (処理水) とその下流で調査を実施した。現地で水温と



霞ヶ浦流域 (5 地点)

図-1 調査地点

ス)を用いた。N₂Oの定量にあたっては、マススペクトルのうち、フラグメントイオンの中で最も低濃度までピークが確認されたm/z 30をモニターイオンとして用いた。溶存N₂O濃度は、標準N₂Oガスを

よる溶存N₂O濃度の定量下限値は0.25μgN/Lであった。

2.2 N₂Oの生成に及ぼす影響要因把握のための室内実験

霞ヶ浦の西浦掛馬沖の底泥を用いて、回分式実験

表-1 HS-GC-MS 分析条件

HS部(使用機器:PerkinElmer TurboMatrix 40)		GC-MS部(使用機器:GCMS-2010)	
カラムヘッド圧	: 40 kPa	使用カラム	: TC-BOND Q, 0.32mm×30m, 10μm
ヘッドスペースモード	: コンスタント	カラムオープン温度	: 35°C(3min)→10°C/min→150°C(5min)
HSバイアル保温温度	: 65°C	キャリアガス	: ヘリウム
HSバイアル保温時間	: 5 min	インターフェース温度	: 220°C
HSバイアル加圧時間	: 0.3 min	イオン源温度	: 200°C
HSガス注入時間	: 0.05 min	イオン化法	: EI法
ニードル引き上げ時間	: 0.5 min	測定モード	: SIM
ニードル温度	: 150°C	測定イオン	: m/z 30
トランスファーライン温度	: 150°C	エミッション電流	: 150μA
		検出器電圧	: 1.5 kV
		インターバル時間	: 0.50 sec

表-2 N₂Oの生成・還元実験における実験条件の一覧

実験名と概要	試料	窒素、炭素の設定濃度	底泥重量	DO濃度	方法	試験日数	開始日	瓶容量
実験① 底泥の有無	蒸留水	-	40g	無調整	静置	0,1,2,4,6日	2/12	250mL
	蒸留水	-	無	無調整	静置	0,1,2,4,6日	2/12	250mL
	河川水	-	40g	無調整	静置	0,1,2,4,6日	2/12	250mL
	河川水	-	無	無調整	静置	0,1,2,4,6日	2/12	250mL
	下水処理水	-	40g	無調整	静置	0,1,2,4,6日	2/12	250mL
	下水処理水	-	無	無調整	静置	0,1,2,4,6日	2/12	250mL
実験② N、C濃度調整	蒸留水	0mgN/L, 0, 2, 10.5mgC/L	6g	無調整	静置	1日	2/25	50mL
	NH ₄ -N水溶液	3mgN/L, 0, 2, 10.5mgC/L	6g	無調整	静置	1日	2/25	50mL
	NH ₄ -N水溶液	7mgN/L, 0, 2, 10.5mgC/L	6g	無調整	静置	1日	2/25	50mL
	NO ₃ -N水溶液	3mgN/L, 0, 2, 10.5mgC/L	6g	無調整	静置	1日	2/25	50mL
	NO ₃ -N水溶液	7mgN/L, 0, 2, 10.5mgC/L	6g	無調整	静置	1日	2/25	50mL
	下水処理水	-	6g	無調整	静置	1日	2/25	50mL
	下水処理水	-	無	無調整	静置	1日	2/25	50mL
実験③ N、C濃度調整 転倒攪拌	蒸留水	0mgN/L, 0, 2, 10.5mgC/L	6g	無調整	攪拌	1日	2/21	50mL
	NO ₃ -N水溶液	3mgN/L, 0, 2, 10.5mgC/L	6g	無調整	攪拌	1日	2/21	50mL
	NO ₃ -N水溶液	7mgN/L, 0, 2, 10.5mgC/L	6g	無調整	攪拌	1日	2/21	50mL
実験④ 底泥重量	蒸留水	-	0, 0.5, 3, 6, 12g	無調整	静置	1日	3/12	50mL
	NO ₃ -N水溶液	7mgN/L, 0mgC/L	0, 0.5, 3, 6, 9, 12g	無調整	静置	1日	3/12	50mL
実験⑤ DO濃度	蒸留水	-	6g	低、中、飽和	静置	1日	3/14	50mL
	蒸留水	-	無	低、中、飽和	静置	1日	3/14	50mL
	NH ₄ -N水溶液	7mgN/L, 0mgC/L	6g	低、中、飽和	静置	1日	3/14	50mL
	NH ₄ -N水溶液	7mgN/L, 0mgC/L	無	低、中、飽和	静置	1日	3/14	50mL
	NO ₃ -N水溶液	7mgN/L, 0mgC/L	6g	低、中、飽和	静置	1日	3/14	50mL
	NO ₃ -N水溶液	7mgN/L, 0mgC/L	無	低、中、飽和	静置	1日	3/14	50mL
	下水処理水	-	6g	低、中、飽和	静置	1日	3/14	50mL
	下水処理水	-	無	低、中、飽和	静置	1日	3/14	50mL
実験⑥ N ₂ Oの還元	N ₂ O水溶液	約50μL, 0mgC/L	6g	無調整	静置	1日	2/25	50mL
	N ₂ O水溶液	約50μL, 0mgC/L	無	無調整	静置	1日	2/25	50mL
	N ₂ O水溶液	約50μL, 0mgC/L	6g	無調整	攪拌	1日	2/21	50mL
	N ₂ O水溶液	約50μL, 0mgC/L	無	無調整	攪拌	1日	2/21	50mL
	N ₂ O水溶液	約100μL, 0mgC/L	6g	低、飽和	静置	1日	3/14	50mL
	N ₂ O水溶液	約100μL, 0mgC/L	無	低、飽和	静置	1日	3/14	50mL
実験⑦ 連続測定	下水処理水	-	6g	無調整	静置	11日	2/28	50mL
	蒸留水	-	6g	無調整	静置	11日	3/16	50mL

を行った。回分式実験では溶存 N_2O 濃度は、Unisense社の N_2O マイクロセンサーを用いて測定した。検量線用の標準列は、蒸留水に2% N_2O 標準ガスを曝気して得た N_2O 水溶液を希釈して作成した。蒸留水のシグナル強度の標準偏差(σ)を求め、 3σ を検出限界、 10σ を定量限界とすると、検出限界は、 $1.7 \mu gNL$ 、定量下限値は、 $5.7 \mu gNL$ であった。

表-2は実験条件の一覧である。実験①は、実河川水、実下水処理水を用いて、底泥の有無で N_2O の生成能を調査した。本実験では、250mL試薬ビンを分析回数分用意し、底泥ありの条件では均一に攪拌した底泥をビンの底に40g入れ、試料水として未ろ過の蒸留水、桜川河川水、下水処理水を静かに注いで満水とし、密封した。20°C、暗所で静置し、0、1、2、4、6日目に開封して溶存 N_2O を分析した。

実験②～実験⑥は、 N_2O の生成に影響を及ぼす要因を把握するため、窒素濃度($NaNO_3$ 、 NH_4Cl)、炭素濃度(グルコース)、DO濃度、底泥の量を変化させた条件で実験を行ったものである。容器はいずれも50mLのブチルゴム栓付バイアルを用い、底泥の上に試料水を静かに注いで満水にして密封した。試験日数は1日、試験条件は暗所、20°Cとした。

実験②は、蒸留水に $NaNO_3$ 、 NH_4Cl 、グルコースを溶かして窒素と炭素の濃度を調整した試料水と、蒸留水および下水処理水を用いた。実験③は、 NO_3-N とDOCを調整した試料水を用い、毎分12回転の速度で転倒攪拌をした。なお、他の実験はすべて静置条件である。実験④は、 NO_3-N 7mg/Lの試料水を用い、底泥の重量を0～12gの範囲で変化させた。実験⑤は、空気と窒素ガスで曝気してDO濃度を調整した。DO低濃度の試料では、窒素ガスの吹き込み後に減圧脱気を行い、DO濃度を低下させた。実験⑥は、 N_2O 標準ガスを用いて溶存 N_2O 濃度を調整した蒸留水を用い、 N_2O の還元反応に影響を及ぼす要因を調べた。

N_2O マイクロセンサーは溶存 N_2O 濃度をリアルタイムで測定することができる。そこで、実験⑦は、底泥に蒸留水または下水処理水を加えた条件で、溶存 N_2O 濃度の連続測定を行った。図-2は、連続測定実験の写真である。容器は50mLバイアルを用い、底泥6gの上に試料水を満水に注ぎ、穴を開けたブチルゴム栓をはめ、センサーの先端を試料水中に挿入し、ゴム栓との間に空隙がないようにした状態で測定した。シグナル強度値は5秒間隔で自動記録し、測定開始日に作成した検量線で濃度に換算した。温

度は恒温器で20°Cに保ち、期間は11日間とした。

実験①～実験⑦は、溶存 N_2O 濃度の他に、DO濃度、pH、 NH_4-N 、 NO_2-N 、 NO_3-N 、 PO_4-P 、DOC濃度を測定した。



写真1 N_2O マイクロセンサーによる連続測定の実験の全景

写真2 センサーの先端

写真3 センサー挿入部

図-2 連続測定実験の写真

3. 調査・実験結果

3.1 溶存 N_2O 濃度の実態調査

図-3は、銚田川、北浦、桜川の各月の溶存 N_2O 濃度と水温、DO、pH、ECである。溶存 N_2O 濃度は、銚田川では11月に最大の $3.5 \mu gNL$ を示した。また、いずれの月も湖内より高かった。大気と気液平衡状態にある N_2O の水中の濃度は約 $0.3 \mu gNL$ であり、銚田川では10月から1月まで N_2O が過飽和となっていた。北浦湖内では最も北側の調査地点である北浦1で10月に $0.75 \mu gNL$ となった。北浦2と北浦3では定量下限値を下回った。桜川ではどの月も低かった。

水温とDO濃度は、いずれの地点でも季節的に変化した。銚田川のDO濃度は他の地点より低い値であった。pHは、北浦湖内では藻類の影響によりアルカリ側となっており、北浦1から北浦3にかけて高くなっていた。ECは銚田川と北浦3で高く、季節による変化は小さかった。

図-4は、銚田川、北浦、桜川の各月の NO_3-N 、 NO_2-N 、 NH_4-N 、 PO_4-P 、DOC濃度である。 NO_3-N 濃度は銚

田川で約 9.5mgN/L と高い値を示した。北浦湖内では、北浦1から北浦3にかけて低下した。NO₃-N濃度は、北浦1では気温が最低となる1月に最大となった。桜川では約 1.5mgN/L であり、概ね横ばいであった。NO₂-N濃度は銚田川で高く、特に10月から12月にかけて高かった。北浦湖内では北浦1から北浦3にかけて低下した。NH₄-N濃度はNO₂-N濃度と同様銚田川で高かった。PO₄-P濃度は銚田川では11月から1月にかけて、桜川では10月、11月に高くなっていた。DOC濃度は北浦1よりも北浦2と北浦3で高かった。季節別にみると、いずれの地点でも11月に高くなっていた。

図-5は、農業集落排水の処理水と下流の各月の溶存N₂O濃度と水温、DO、pH、EC、NO₃-N、NO₂-N、NH₄-N、PO₄-P、DOC濃度である。溶存N₂O濃度は10月から12月にかけて高い値となった。処理水では12月に最大の0.92μgN/Lを示した。下流では、処理水より低く、12月は0.34μgN/Lであった。

水温は10月から1月にかけて低下し、DO濃度は10月から1月にかけて上昇した。水温とDO濃度は、下流では処理水より低かった。pHは概ね横ばいであ

った。10月から12月の下流のpHは、処理水より高かった。ECは概ね横ばいであり、処理水と下流でほぼ等しかった。

NO₃-N濃度は10月から12月にかけて高かった。下流では処理水より低い値となったが、差は小さかった。NO₂-N濃度は、下流では、12月を除いて処理水より高い値であった。NH₄-N濃度は、下流では、1月を除いて処理水より低い値であった。PO₄-P濃度は10月から12月にかけて高く、処理水と下流の差は小さかった。DOCは11月から1月にかけて高く、下流では、処理水より高い値であった。

図-6は、溶存N₂O濃度とNO₃-N、NO₂-N、NH₄-N濃度およびDO濃度の関係を散布図で示したものである。地点や調査月の違いを無視して全体の傾向をみると、溶存N₂O濃度はNO₂-N濃度に対して直線的に増加していた。NO₃-N濃度やNH₄-N濃度とは正の相関、DO濃度とは負の相関を示した。表-3は、溶存N₂O濃度と他の水質項目との相関係数の一覧である。相関係数の絶対値が0.7以上のものに注目すると、溶存N₂O濃度は、銚田川では、NO₂-N濃度、NH₄-N濃度、水温、EC、DOC濃度と正の相関を示

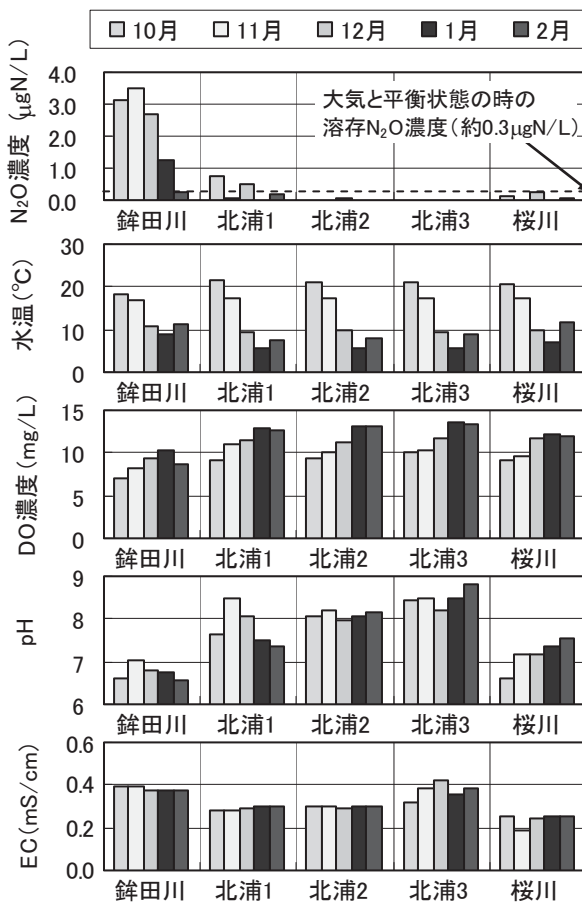


図-3 銚田川、北浦、桜川における各月の溶存N₂O濃度、水温、DO濃度、pH、EC

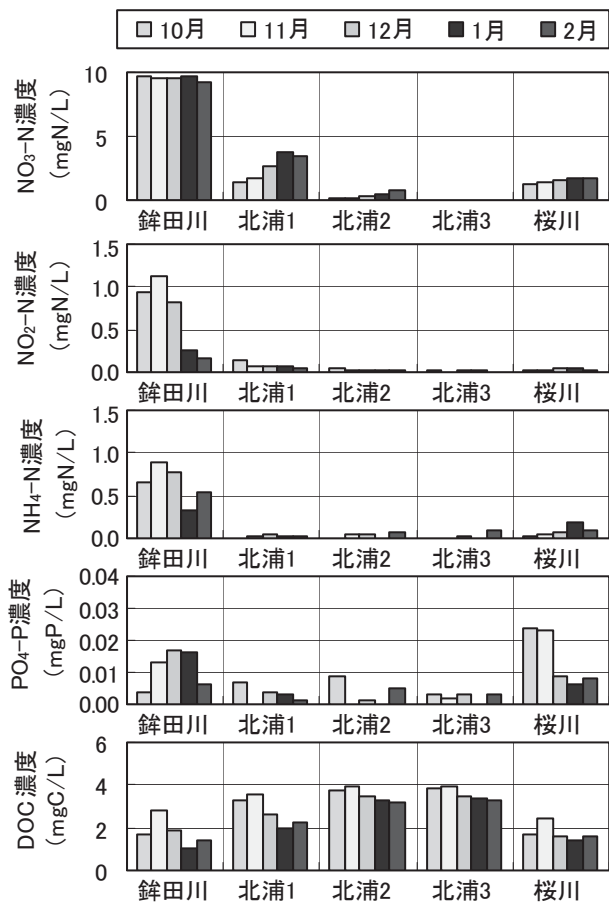


図-4 銚田川、北浦、桜川における各月のNO₃-N、NO₂-N、NH₄-N、PO₄-P、DOC濃度

した。北浦1では、NO₂-N、PO₄-P濃度と正の、DO濃度と負の相関を示した。北浦2では相関の高い項目はなかったが、北浦3ではNO₃-N濃度、NH₄-N濃度と正の相関を示した。桜川では相関の高い項目はなかった。農業集落排水の処理水と下流では、どちらもNO₃-N濃度、PO₄-P濃度、水温と正の、DO濃度と負の相関を示し、NO₂-N濃度との相関は低かった。処理水ではNH₄-N濃度と正の、pHと負の相

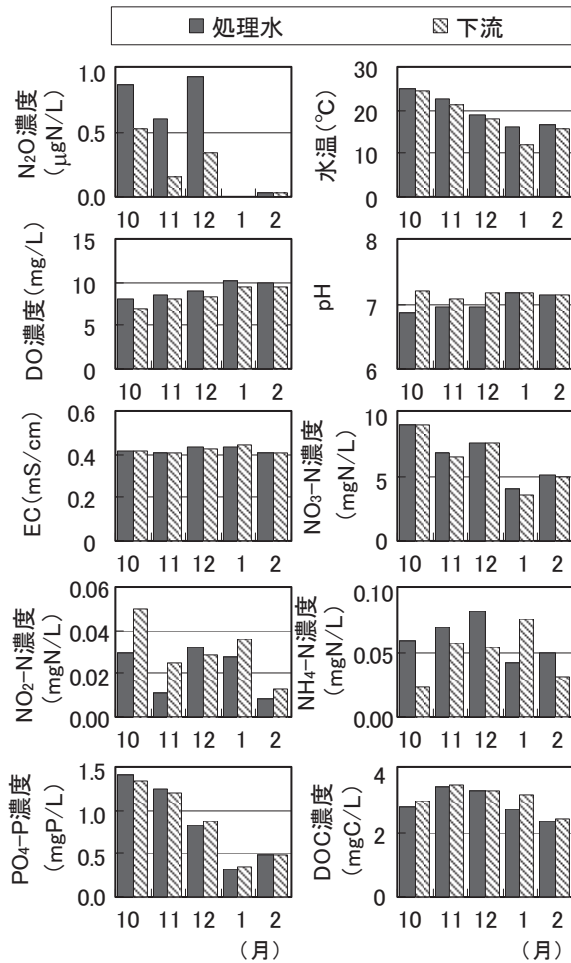


図-5 農業集落排水の処理水と下流の各月の溶存N₂O濃度、水温、DO濃度、pH、EC、NO₃-N、NO₂-N、NH₄-N、PO₄-P、DOC濃度

関を示したが、下流ではこれらの項目との相関は低下した。全データを用いて解析すると、溶存N₂O濃度は、NO₃-N、NO₂-N、NH₄-N濃度と正の、DO濃度、pHと負の有意な相関を示した (p<0.01)。

実態調査から、溶存N₂O濃度は溶存態窒素濃度の高い河川で高くなる傾向があり、季節によって異なることもわかった。水環境でのN₂Oの生成実態把握のためには、年間を通じた調査が必要である。

3.2 N₂Oの生成に及ぼす影響要因把握のための室内実験

実態調査による溶存N₂O濃度と水質の関係は、地点によって異なっていた。これは、地点による水質の違いがN₂Oの生成過程に影響を及ぼしているためと考えられる。そこで、N₂Oの生成条件の解明のため回分式のN₂O生成実験を行った。

図-7は、蒸留水、河川水、下水処理水を用いた6日間の培養実験の結果である(実験①)。溶存N₂O

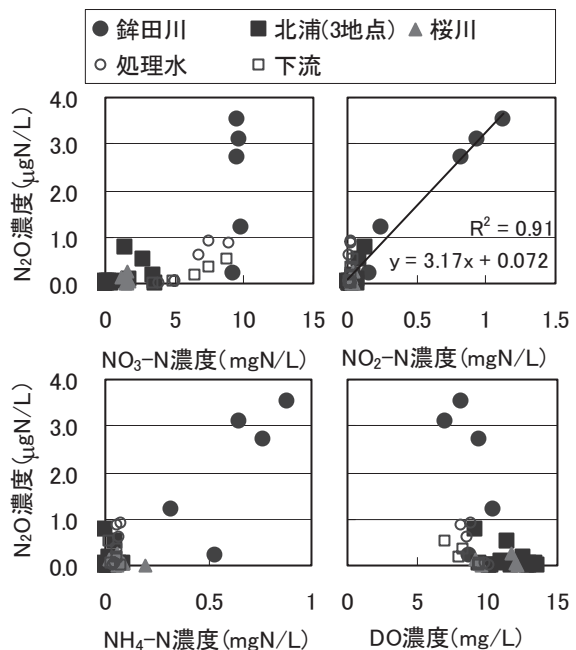


図-6 溶存N₂O濃度とNO₃-N、NO₂-N、NH₄-N濃度およびDO濃度の関係

表-3 溶存N₂O濃度と各水質項目の間の相関係数

地点	NO ₃ -N	NO ₂ -N	NH ₄ -N	PO ₄ -P	水温	EC	DO	pH	DOC
銚田川 (n = 5)	0.39	0.98 **	0.76	0.13	0.72	0.87	-0.52	0.67	0.78
北浦1 (n = 5)	-0.57	0.77	-0.23	0.84	0.58	-0.45	-0.81	0.01	0.37
北浦2 (n = 5)	0.29	-0.11	0.25	0.48	-0.01	-0.22	-0.04	-0.53	-0.27
北浦3 (n = 5)	0.78	-0.66	0.90 *	0.54	-0.44	0.58	0.50	0.29	-0.64
桜川 (n = 5)	-0.12	-0.01	-0.44	-0.10	-0.03	0.36	0.06	-0.33	-0.29
処理水 (n = 5)	0.93 *	0.47	0.85	0.80	0.74	0.14	-0.90 *	-0.94 *	0.69
下流 (n = 5)	0.96 **	0.68	-0.55	0.81	0.83	-0.19	-0.92 *	0.53	0.21
全データ (n = 35)	0.67 **	0.96 **	0.87 **	0.00	0.16	0.27	-0.47 **	-0.45 **	-0.26

※相関係数の絶対値が0.7以上の箇所と、統計的に有意である箇所を、網掛けで示した。有意確率は、* : p<0.05, ** : p<0.01

濃度は、下水処理水の底泥ありの条件で1日目までに大きく増加し、その後は減少する変化を示した。下水処理水のみ条件では横ばいであった。河川水の底泥ありの条件では2日目に最大となったが、1日目までの増加が大きかった。蒸留水を用いた実験では底泥のあるなしに関わらず増加しなかった。

NO₃-N濃度は、河川水と下水処理水の底泥ありの条件で、経過日数に対して概ね直線的に減少した。底泥なしの条件では横ばいであり、底泥によってNO₃-Nが消費されたことがわかる。減少速度は河川水よりも下水処理水で大きかった。1日目に着目すると、NO₃-Nの減少に従い、溶存N₂Oは増加していることから、脱窒過程でN₂Oが生成していると考えられる。

NO₂-N濃度は、下水処理水の底泥ありの条件では

1日目に高くなり、河川水の底泥ありの条件では経過日数とともに増加した。しかし、6日目には底泥なしの条件との差は小さくなった。

NH₄-N濃度は、蒸留水の底泥ありの条件で2日目まで増加した。これは実験に用いた底泥中にあらかじめ含まれていたものと考えられる。河川水の底泥ありの条件では4~6日目に、下水処理水の底泥ありの条件では0日目から経日的に増加した。これは、NO₃-Nの一部がNH₄-Nに還元されたものと考えられる。

DO濃度は、河川水と下水処理水の底泥ありの条件では、概ね1日で半減し、4日目までに約10%まで低下した。下水処理水のみ条件では若干減少していた。

pHは、底泥ありとなしでは、概ね同じ値であった。

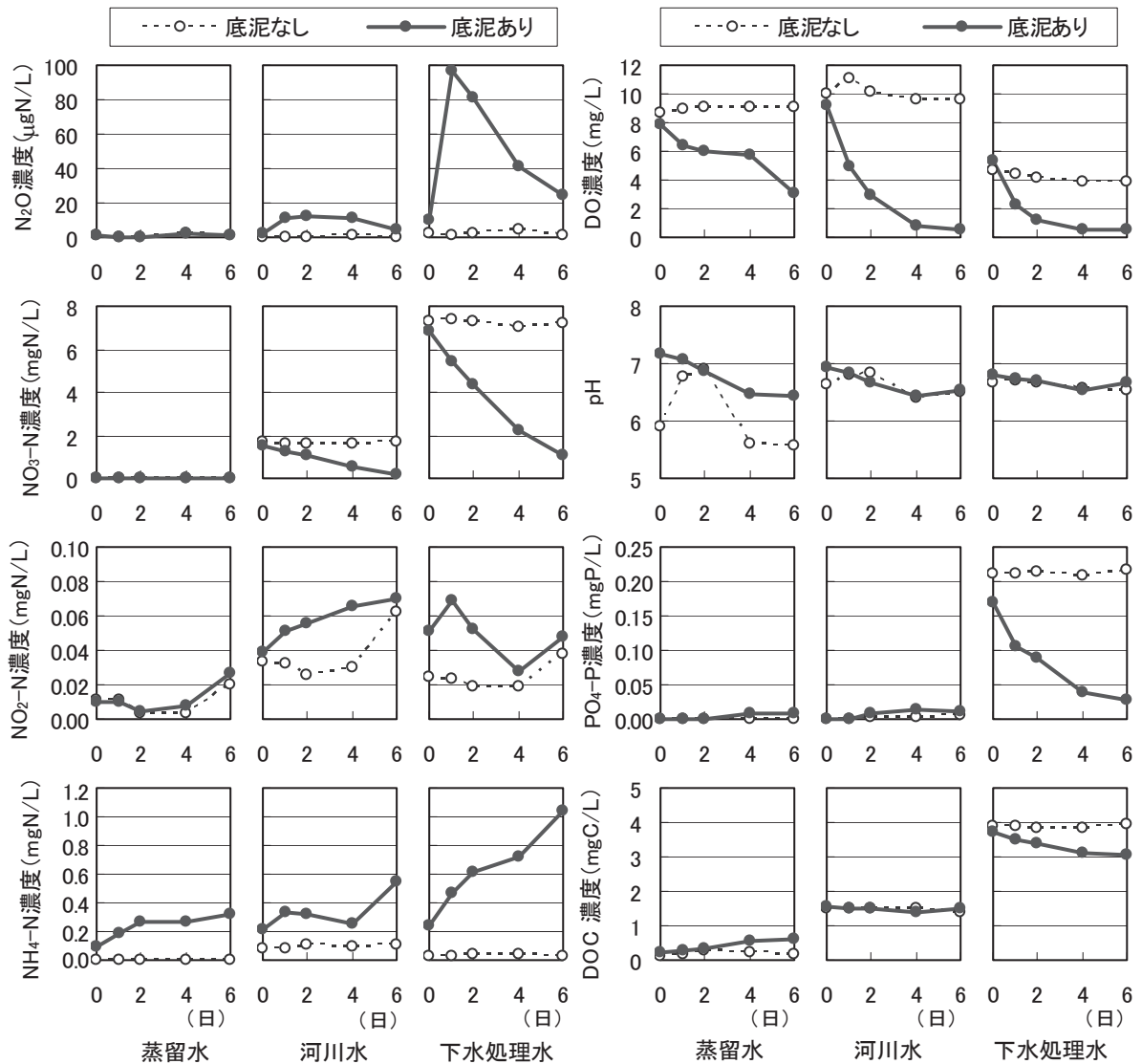


図-7 6日間のN₂O生成実験における溶存N₂O濃度、NO₃-N、NO₂-N、NH₄-N濃度、DO濃度、pH、PO₄-P濃度、DOC濃度の変化(実験①)

また、経過日数による変化も、試料水の種類による違いも小さかった。

PO₄-P 濃度は、下水処理水の底泥ありの条件で減少し、下水処理水のみ条件では横ばいであった。

PO₄-P が底泥に消費されたと考えられる。

DOC 濃度は、底泥ありの条件では、蒸留水で若干増加、河川水で横ばい、下水処理水で減少した。底泥なしの条件ではいずれも横ばいであった。

図-8 は、河川水と下水処理水の底泥ありの条件における、NO₃-N から N₂O への転換率である。転換率は 0~1 日目で算出した場合に最大となり、下水処理

水の底泥ありの条件では 5% となった。下水処理過程での窒素の N₂O への転換率は、0.01~0.6% と報告されている⁵⁾が、この実験ではこれより高かった。

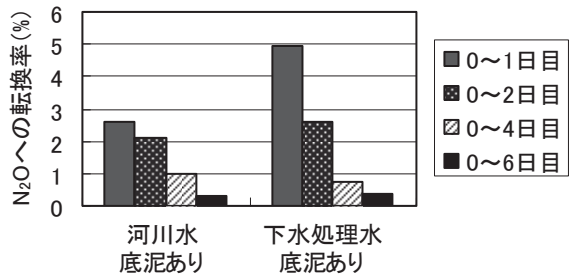


図-8 実験①における NO₃-N から N₂O への転換率

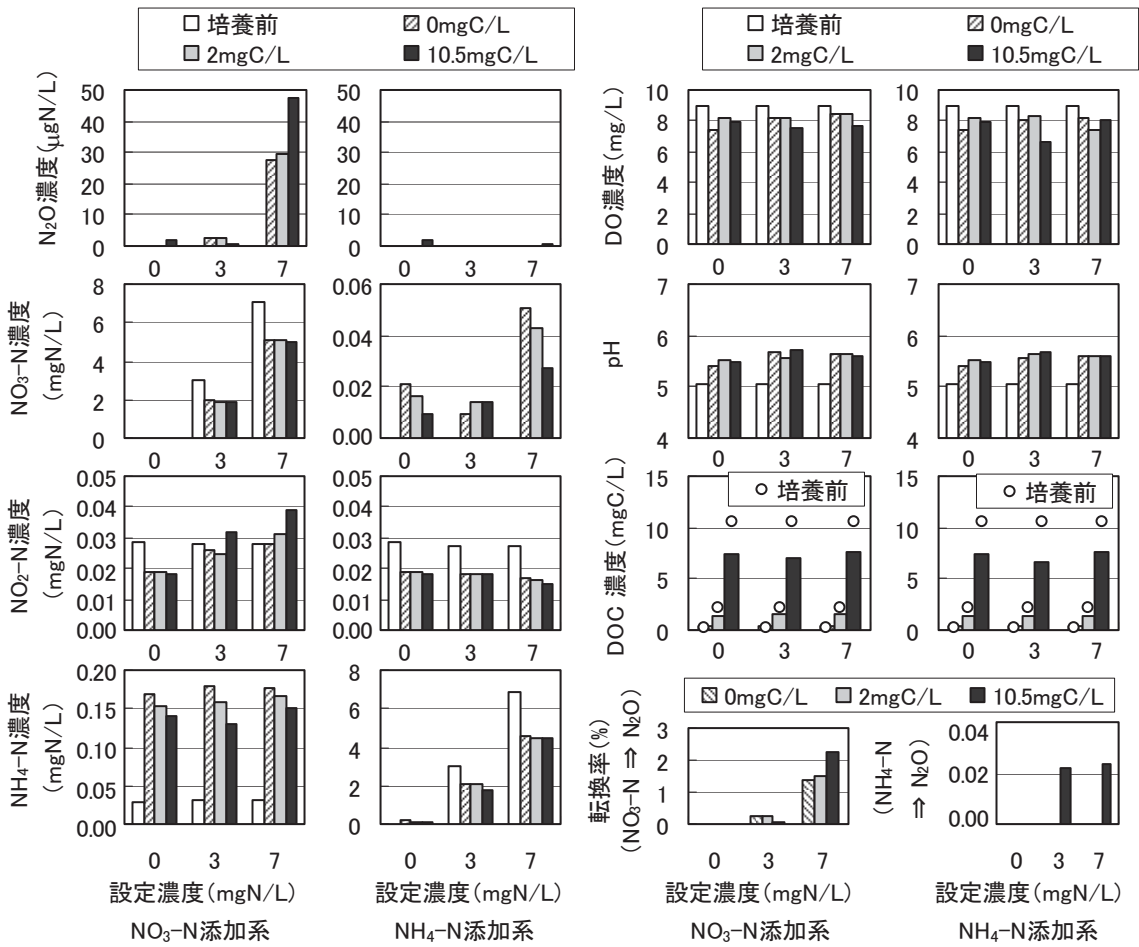


図-9 窒素、炭素濃度を調整した試験水による、静置条件での N₂O 生成実験における溶存 N₂O 濃度、NO₃-N、NO₂-N、NH₄-N 濃度、DO 濃度、pH、DOC 濃度と、窒素から N₂O への転換率 (実験②)

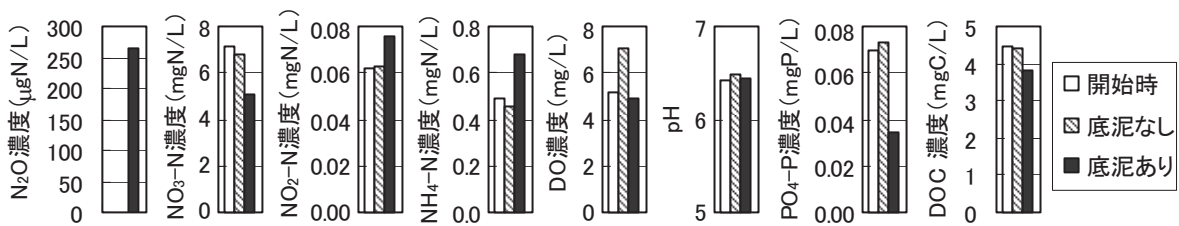


図-10 下水処理水を用いた静置条件での N₂O 生成実験における溶存 N₂O 濃度、NO₃-N、NO₂-N、NH₄-N 濃度、DO 濃度、pH、PO₄-P 濃度、DOC 濃度の変化 (実験②)

上記の実験結果から、底泥中の細菌による脱窒反応により、0~1 日目に N_2O が生成しやすいことが推測された。そこで、0~1 日目の N_2O の生成に影響を及ぼす要因を明らかにするため、試薬を用いて NO_3-N 、 NH_4-N 、DOC 濃度を調整した試料水による N_2O 生成実験を行った (実験②)。図-9 は培養前後の溶存 N_2O 濃度、 NO_3-N 、 NO_2-N 、 NH_4-N 、DO、pH、DOC 濃度および各態窒素から N_2O への転換率である。溶存 N_2O 濃度は、 NO_3-N 7mgN/L の条件で大きく増加し、設定した DOC 濃度が高いほど高濃度となった。 NH_4-N を添加した条件では溶存 N_2O はほとんど検出されなかった。

NO_3-N を添加した条件について、 NO_3-N 、 NO_2-N 、 NH_4-N 濃度の変化をみると、 NO_3-N 濃度は、3mgN/L の条件で約 1mgN/L、7mgN/L の条件で約 2mgN/L 減少した。DOC の設定濃度は、 NO_3-N の減少量にはあまり影響を及ぼさなかった。 NO_2-N 濃度は、 N_2O の増加がみられた NO_3-N 7mgN/L、10.5mgC/L の条件で増加した。 NH_4-N 濃度は、いずれの条件でも増加したが、 NO_3-N の設定濃度による違いは小さかった。

NH_4-N を添加した条件について、 NO_3-N 、 NO_2-N 、 NH_4-N 濃度の変化をみると、 NH_4-N 濃度は、3mgN/L よりも 7mgN/L で減少し、設定 DOC 濃度による違いは小さかった。 NO_2-N 濃度の変化は、いずれの条件でもほぼ同じであった。 NO_3-N 濃度は、 NH_4-N 7mgN/L の条件で増加が大きく、設定 DOC 濃度が高いほど増加が小さくなった。

DO 濃度と pH は、それぞれ減少、増加を示したが、いずれも設定した条件による違いは小さかった。DOC 濃度を 2mgC/L、10.5mgC/L に設定した条件では DOC の減少がみられたが、窒素の添加量による減少量の違いは小さかった。

N_2O への転換率は、 NO_3-N 7mgN/L の条件では 1.4~2.3% となった。 NH_4-N を添加した条件では最大でも 0.023% であった。

図-10 は、下水処理水を用いた実験の結果である。溶存 N_2O 濃度は、底泥なしの条件では増加せず、底泥ありの条件で大きく増加した。底泥ありの試料では、底泥なしの試料と比較して、 NO_3-N 濃度、DO 濃度、 PO_4-P 濃度、DOC 濃度が減少し、 NO_2-N 、 NH_4-N 濃度が増加した。この実験では、下水処理水と底泥の反応による NO_3-N の N_2O への転換率は 12.5% となった。

図-11 は、 NO_3-N 濃度と DOC 濃度を調整した試料

水を用いた、転倒攪拌条件下での N_2O 生成実験の結果である (実験③)。溶存 N_2O 濃度は、 NO_3-N 7mgN/L と 3mgN/L の条件で、静置条件の実験結果 (実験②) と比較して大きく増加していた。設定した DOC 濃度との関係は、 NO_3-N 7mgN/L では、0mgC/L、2mgC/L よりも 10.5mgC/L で高くなった。一方 NO_3-N 3mgN/L では、0mgC/L、2mgC/L よりも 10.5mgC/L で低くなった。

NO_3-N 濃度の減少量は、設定した DOC 濃度が高いほど大きくなった。 NO_2-N 濃度は、 NO_3-N 7mgN/L かつ DOC 10.5mgC/L の条件で増加した。 NH_4-N 濃度は、いずれの条件でも減少し、設定した DOC 濃度が高いほど減少量が大きくなった。

DO 濃度は、培養前の濃度に対して約 20% まで低下した。pH は横ばいであった。DO 濃度と pH は、設定した条件による違いが小さかった。

DOC 濃度は、培養後には 2.5~5.0mgC/L の範囲と

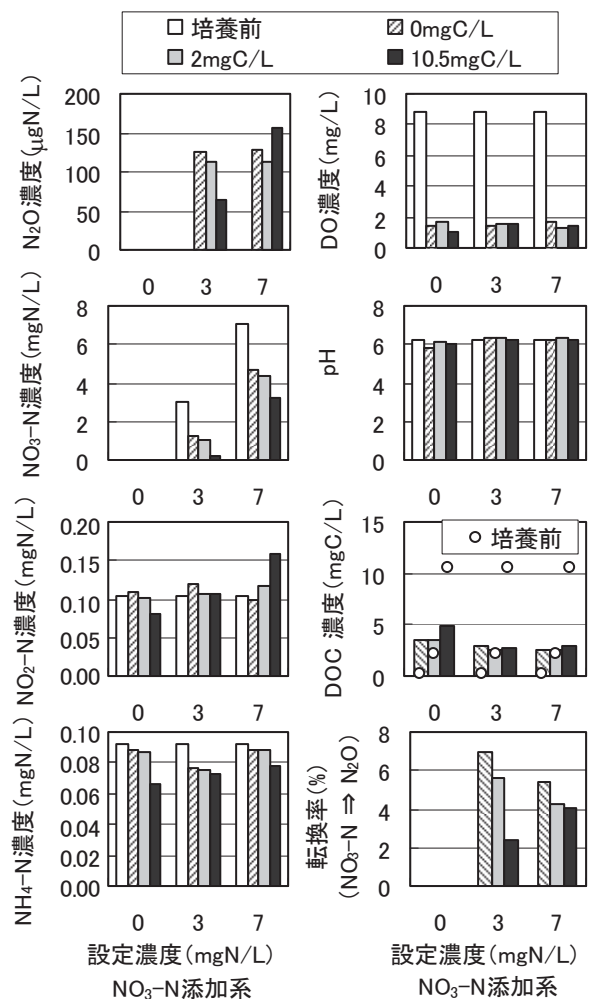


図-11 攪拌条件下での N_2O 生成実験における溶存 N_2O 濃度、 NO_3-N 、 NO_2-N 、 NH_4-N 濃度、DO 濃度、pH、DOC 濃度と NO_3-N から N_2O への転換率 (実験③)

なった。実験終了後の試料は、GF/Bろ紙でろ過しても泥粒子が残ったため、添加したDOCの挙動は不明である。

N₂Oへの転換率は、7mgN/Lと3mgN/Lの条件ではどちらも数%のオーダーとなった。転換率が最大となったのは3mgN/L、0mgC/Lの条件で、6.9%であった。設定したDOC濃度との関係は、DOC濃度が低いほど転換率が高く、実験②と相反する結果となった。実験③では攪拌を行ったことから、NO₃-NからN₂Oへの転換率は、N₂O生成に関わる細菌の置かれた環境条件によって変わるものと考えられる。

N₂Oが底泥中の細菌によって生成されるとするならば、基質が十分にある条件下では、細菌の量によりN₂Oの生成量に変化すると考えられる。そこで、バイアルにとる底泥の量を変化させ、蒸留水およびNO₃-N 7mgN/Lの試料水を用いた実験を行った(実験④)。図-12は、各底泥重量の条件における溶存

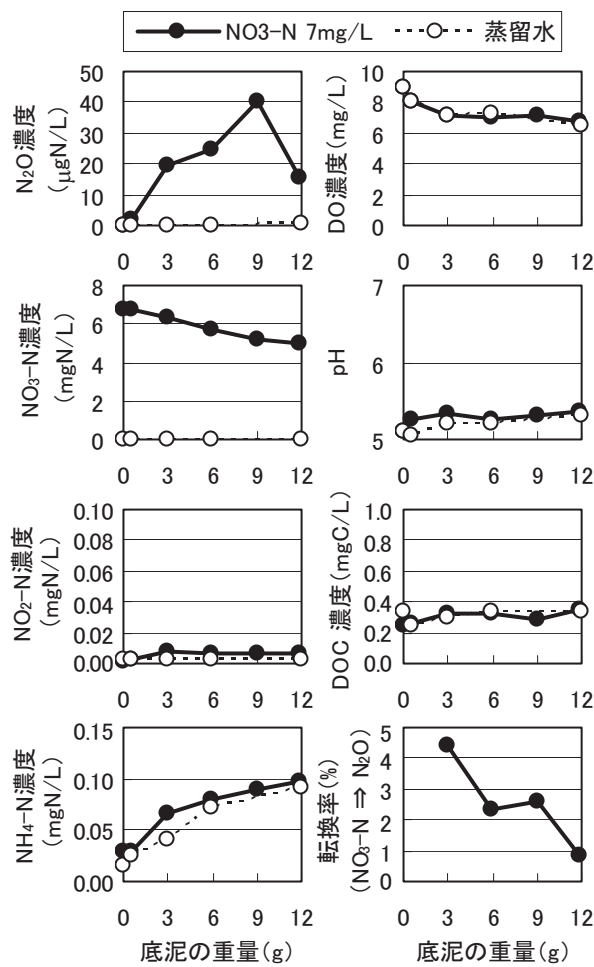


図-12 底泥の重量を変化させた実験における溶存N₂O濃度、NO₃-N、NO₂-N、NH₄-N濃度、DO濃度、pH、DOC濃度とNO₃-NからN₂Oへの転換率(実験④)

N₂O濃度、NO₃-N、NO₂-N、NH₄-N濃度、DO濃度、pH、DOC濃度およびNO₃-NからN₂Oへの転換率である。蒸留水と底泥の試料ではいずれも溶存N₂Oが検出されなかった。溶存N₂O濃度は、NO₃-N水溶液と底泥の試料では、底泥0~9gの範囲で底泥重量の増加とともに上昇したが、12gで減少した。12gの条件で溶存N₂O濃度が低下した理由は不明である。

NO₃-N濃度は、底泥重量に対して概ね直線的に減少した。NO₂-N濃度はどの条件でも低かった。NH₄-N濃度はNO₃-N水溶液と蒸留水で概ね等しく、底泥重量の増加とともに上昇した。

DO濃度は、底泥3~12gの範囲では大きな違いがみられなかった。pHとDOC濃度も、試料間の違いは小さかった。

N₂Oへの転換率は、底泥3gの条件で4.4%と最大値を示した。底泥12gの条件では低い転換率となった。なお、底泥0.5gの条件ではNO₃-N濃度が減少せず、転換率を計算できなかった。

実験条件によって試料水の液量と底泥量が異なることから、各水質濃度の測定値に液量をかけて底泥重量で割り、1g、1日あたりの変化速度を求めて比較を行った。図-13は、N₂Oの生成量、NO₃-N、DOの消費量と、底泥1g、1日あたりの生成、消費速度である。N₂Oの生成量は底泥9gの条件で最大となったが、1g、1日あたりの生成速度は底泥3gの条件で最大となった。NO₃-Nの消費量は底泥0.5~9gま

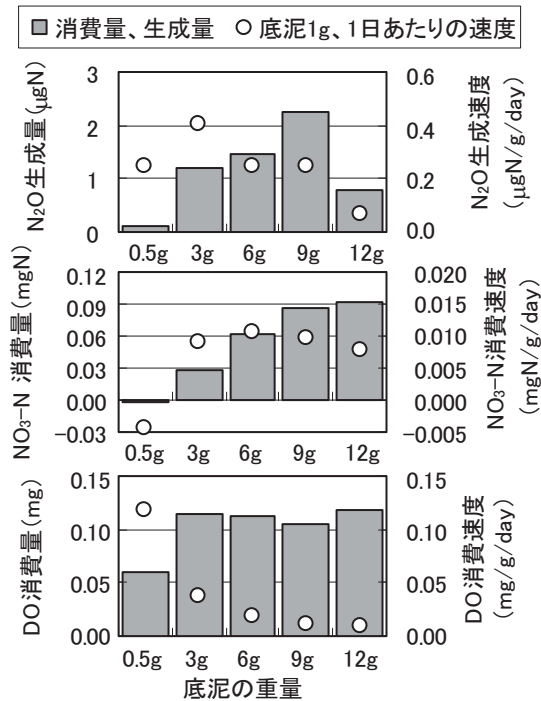


図-13 実験④における、N₂Oの生成量と生成速度、NO₃-NおよびDOの消費量と消費速度

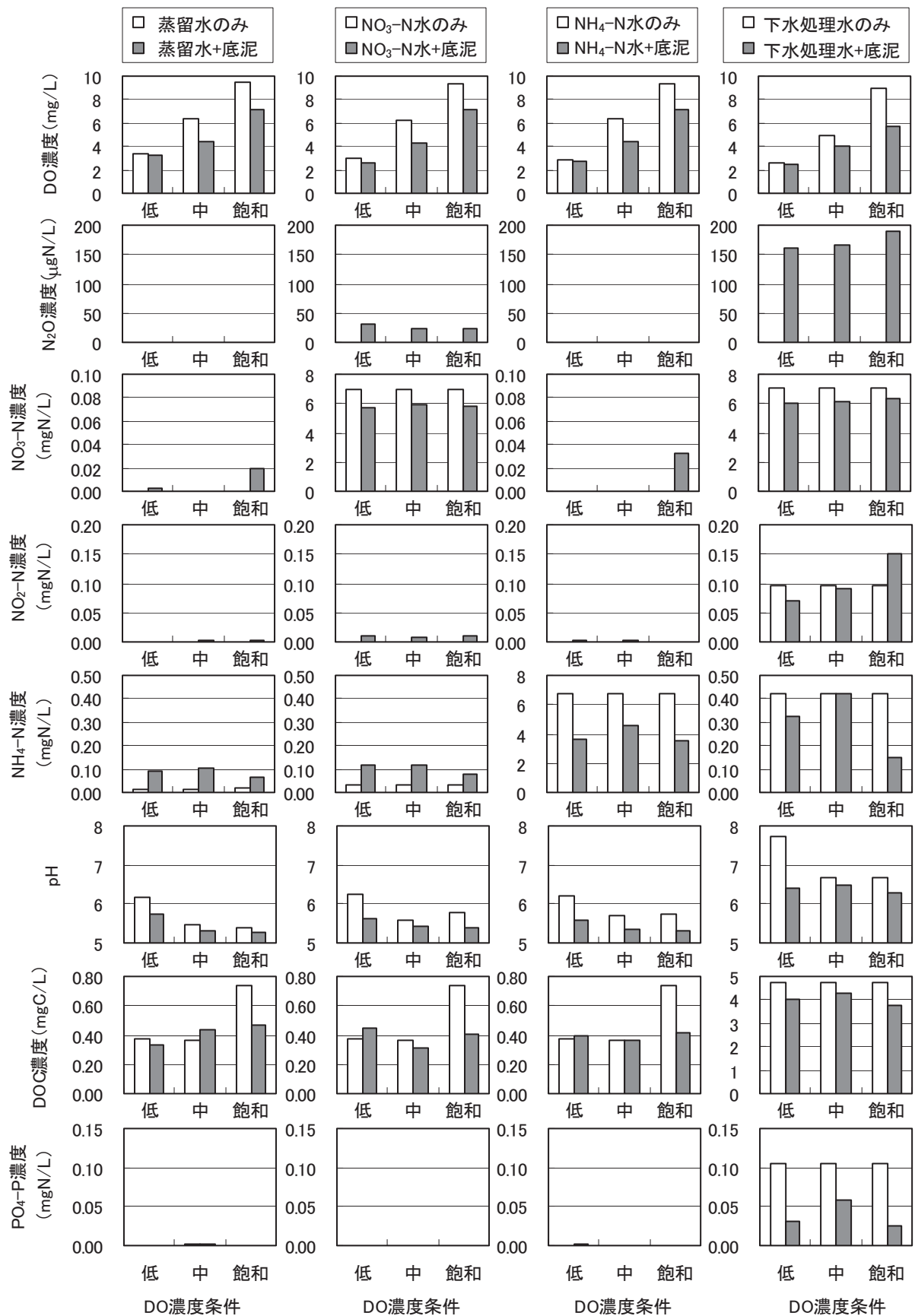


図-14 DO濃度を調整した実験におけるDO濃度、溶存N₂O濃度、NO₃-N、NO₂-N、NH₄-N濃度、pH、DOC濃度、PO₄-P濃度（実験⑤）

で増加したが、底泥 12g の条件では横ばいとなった。 $\text{NO}_3\text{-N}$ の消費速度は 6g の条件で最大となった。DO の消費量は底泥 3~12g の範囲では概ね等しかった。DO の消費速度は底泥重量とともに低下した。 $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度の減少がみられた底泥 3~12g の範囲に着目すると、 $\text{NO}_3\text{-N}$ から N_2O への転換率が高かった底泥 3g の条件では、底泥 1g、1 日あたりの N_2O の生成速度と DO の消費速度の両方が高いことがわかった。

底泥細菌による N_2O の生成と DO の消費の間の関係をより詳しく調べるため、DO の初期条件を変えて実験を行った。DO 濃度は、低、中間、飽和濃度（約 3、6、9mg/L）に調整した。図-14 は DO 濃度、溶存 N_2O 濃度、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度、pH、DOC、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度の、底泥ありとなしの比較である（実験⑤）。DO 濃度の減少量は、低濃度の条件で小さく、飽和の条件で大きかった。試料水の種類の違いによる DO 濃度の減少量の違いは小さかった。

溶存 N_2O 濃度は、底泥に $\text{NO}_3\text{-N}$ 水溶液、下水処理水を加えた試料で増加し、下水処理水では DO 飽和の条件で最大となった。

$\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度の減少量は、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 水溶液と下水処理水で大きな違いはみられなかった。また、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 水溶液では $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度はほとんど増加しなかった。

$\text{NO}_2\text{-N}$ 濃度は、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 水溶液で増加したが、増加量は小さかった。下水処理水では、DO 低濃度と DO 中間濃度の条件で減少し、DO 飽和の条件で増加した。

$\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度は、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 水溶液では減少し、下水処理水では、DO 飽和の条件で減少した。 $\text{NO}_3\text{-N}$ 水溶液では、蒸留水と同程度の増加量であった。

pH は、底泥ありの条件で低下した。DOC、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度は、下水処理水で減少した。

図-15 は、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 水溶液と下水処理水の、底泥ありの試料について求めた $\text{NO}_3\text{-N}$ から N_2O への転換率である。転換率は下水処理水の試料では 14.8~23.4%であり、DO 飽和の条件で高かった。 $\text{NO}_3\text{-N}$ 水

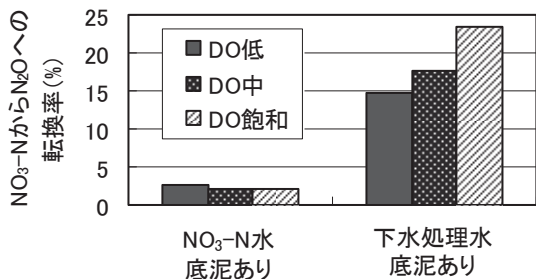


図-15 実験⑤における、 $\text{NO}_3\text{-N}$ から N_2O への転換率

溶液の試料では DO 濃度による転換率の違いは小さかった。

$\text{NO}_3\text{-N}$ 水溶液と下水処理水では、 $\text{NO}_3\text{-N}$ の減少量が概ね等しいにもかかわらず下水処理水で N_2O の生成量が大きくなった。下水処理水では DOC や $\text{PO}_4\text{-P}$ が減少しており、 N_2O 生成細菌が増殖した可能性がある。

N_2O は脱窒反応の中間生成物であり、最終的には N_2 に還元される。そこで、 N_2O の還元反応に影響を及ぼす要因を検討した（実験⑥）。図-16 は、 N_2O 水溶液を用いた還元実験の溶存 N_2O 濃度、DO 濃度である。底泥ありの試料の、底泥なしに対する溶存 N_2O 濃度の減少率は、静置条件と攪拌条件で、それぞれ 16%、96%であった。攪拌条件では DO 濃度も大きく減少していたことから、底泥と試料水が混合されて細菌が N_2O を利用しやすくなったため、 N_2O の還元反応が促進されたものと考えられる。なお、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度の変化は、溶存 N_2O 濃度の減少量と比較して小さかったことから、 N_2O はこれらには転換しなかったと考えられる。

図-17 は、静置条件で、 N_2O 水溶液の DO 濃度を調整した実験の溶存 N_2O 濃度、DO 濃度である。 N_2O 濃度の減少率は、DO 低濃度と飽和でそれぞれ 14%、16%であり、違いが小さかった。DO の減少率は、

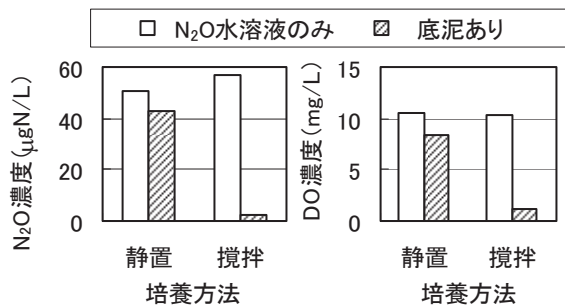


図-16 N_2O の還元実験の、静置条件と攪拌条件における溶存 N_2O 濃度と DO 濃度の変化（実験⑥）

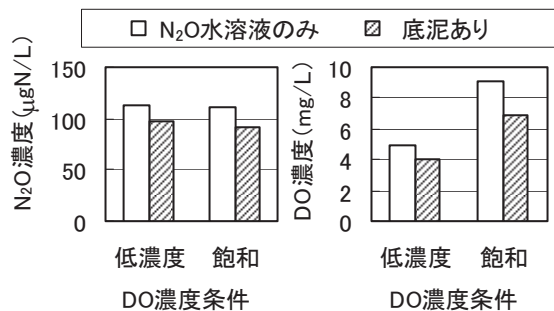


図-17 DO 濃度を調整した N_2O 水溶液における、溶存 N_2O 濃度と DO 濃度の変化（実験⑥）

DO 低濃度と飽和でそれぞれ 17%、24%であった。

N₂O の生成、還元挙動をリアルタイムで把握するため、下水処理水と底泥を用いた N₂O 生成・還元実験を行い、溶存 N₂O 濃度を連続測定した(実験⑦)。図-18は、11 日間の実験中の N₂O 濃度の変化である。N₂O 濃度は開始から約 3 時間は横ばいであった。その後は、24 時間目まで概ね一定の速度で増加した。2 日目に一旦増加が緩やかになったが、3 日目に降再び増加し、5 日目に最大値に達した。6 日目以降は、10 日目まで概ね一定の速度で減少し、11 日目に 0mgN/L となった。

図-19は、実験前後の下水処理水の NO₃-N、NO₂-N、NH₄-N、DO、PO₄-P、DOC 濃度の変化である。実験前後で NO₃-N 濃度は 99.5%減少し、NO₂-N、DO、PO₄-P、DOC 濃度が減少していた。NH₄-N 濃度は若干増加したが、NO₃-N の大部分は脱窒されたものと考えられる。

連続測定の結果から見かけの N₂O の生成・還元速度を以下の手順で計算した。始めに、5 秒ごとの溶

存 N₂O 濃度データから 1 時間間隔で値を抽出した。次に、各時間とその前後 2 時間の濃度値に最小 2 乗法で直線を当てはめて傾きを計算し、各時間の濃度の平均変化率とした。そして、濃度の平均変化率に試料水量を掛け、底泥重量で割り、1 時間あたりの見かけの N₂O の生成・還元速度を求めた。図-20は、N₂O の見かけの生成・還元速度である。N₂O の生成速度は 0~1 日目に高く、13 時間目に最大となった。今回の培養実験では、4~5 日目にも N₂O の生成速度が高くなったが、この原因は明らかでない。

見かけ上は、5~6 日目に N₂O の還元が始まった。7~8 日目は、見かけの N₂O の還元速度は概ね一定であった。この期間は、6 日間の培養実験の結果を踏まえると、DO 濃度が低下し、NO₃-N の大部分が消費され、N₂O を N₂ に還元する細菌が活発になっていたものと推測される。

4. おわりに

本研究は、水環境中の N₂O の動態を明らかにする

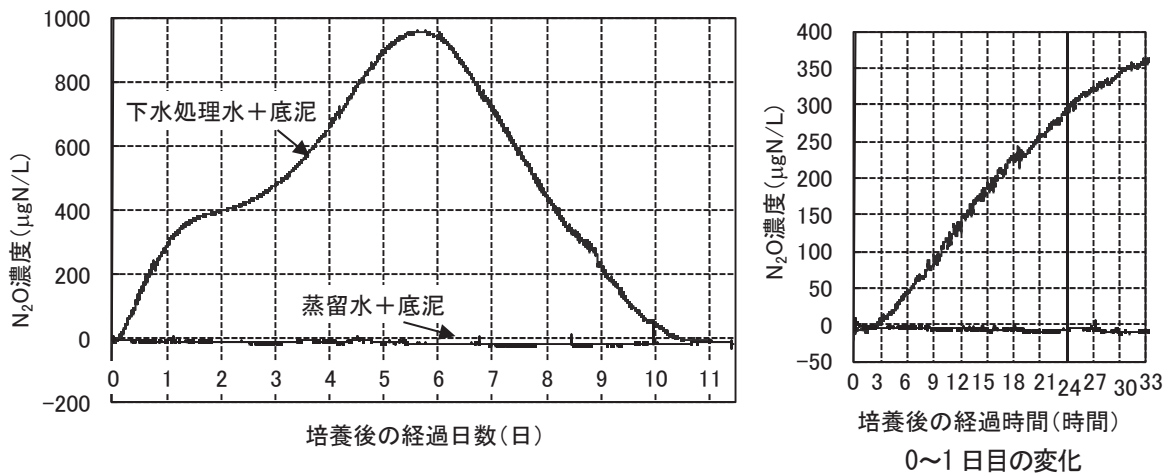


図-18 培養中の溶存 N₂O 濃度の変化 (実験⑦)

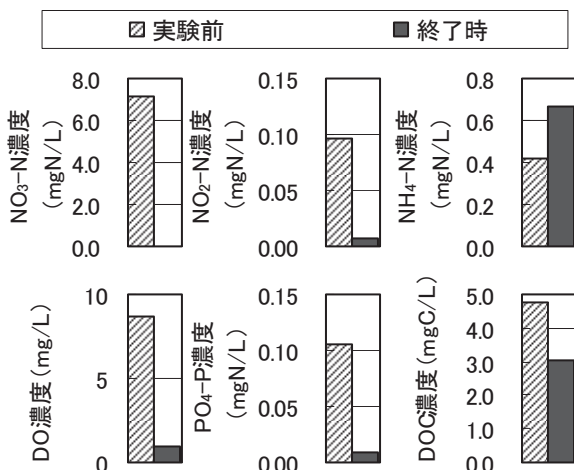


図-19 底泥に下水処理水を加えた試料の実験前後の NO₃-N、NO₂-N、NH₄-N、DO、PO₄-P、DOC 濃度

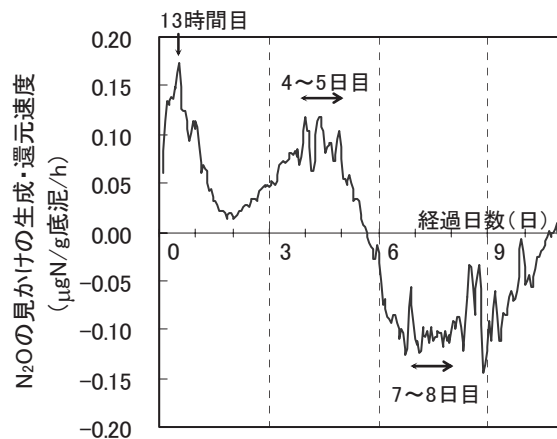


図-20 底泥に下水処理水を加えた試料における、N₂O の見かけの生成・分解速度

ため、霞ヶ浦流域を対象に河川水・湖水中の溶存 N_2O 濃度の実態調査を行った。さらに、 N_2O の生成に影響を及ぼす要因を明らかにするため、霞ヶ浦掛馬沖の底泥を用いて N_2O の生成・還元実験を行った。得られた知見を以下に示す。

実態調査からは、

- (1) 溶存 N_2O 濃度は、銚田川では11月に $3.5\ \mu\text{g}/\text{L}$ となった。また、10月から1月まで N_2O が過飽和となっていた。
- (2) 北浦湖内では北側の調査地点で高くなる傾向がみられたが、北浦の中間と南の調査地点では定量下限値以下であった。
- (3) 農業集落排水では、12月に処理水で $0.92\ \mu\text{g}/\text{L}$ 、下流で $0.34\ \mu\text{g}/\text{L}$ となった。下流では処理水と比較して濃度が低かった。
- (4) 溶存 N_2O 濃度は $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度と正の、DO濃度、pHと負の有意な相関を示した($p<0.01$)。

N_2O の生成・還元実験からは、

- (5) 溶存 N_2O は、底泥と河川水や下水処理水を組み合わせた条件で生成した。底泥なしではほとんど生成しなかった。
- (6) NaNO_3 を用いた生成実験では、溶存 N_2O は、底泥に $\text{NO}_3\text{-N}$ 水溶液を加えた条件で生成した。また、 $\text{NO}_3\text{-N}$ の濃度が高いほど生成量が大きくなった。
- (7) NH_4Cl を用いた生成実験では、溶存 N_2O は、底泥の有無によらず生成しなかった。 N_2O は、硝化過程よりも脱窒過程での生成量が大きいことがわかった。
- (8) 底泥と下水処理水を用いて溶存 N_2O 濃度を連続測定した結果、最初の24時間は N_2O の生成が大きいが、その後は N_2 へと還元されることがわかった。

今後は、河川や湖の溶存 N_2O 濃度の季節変動を明らかにするとともに、 N_2O の大気への放出量などの推定を行う予定である。

参考文献

- 1) 花木啓祐、中村剛雄、松尾友矩、糸川浩紀(2000)、都市下水の硝化脱窒過程での亜酸化窒素の発生、水環境学会誌、23(12)、803-810。
- 2) 長谷川聖、花木啓祐(2006)、都市および農業地域に位置する河川からの亜酸化窒素の生成と放出、土木学会論文集G、62(1)、183-190。
- 3) Muneoki YOH(1990)、Experimental Examination on Nitrous Oxide Accumulation during Nitrification in a Freshwater Lake, *Japanese Journal of Limnology*, 51(4), 237-248。

- 4) 村井聡、大石京子、川原敬、楠田哲也(2000)、河川底質から発生する N_2O の挙動に及ぼす溶存酸素濃度と温度の影響、土木学会第55回年次学術講演会、55(7)、180-181。
- 5) 中村栄一、鈴木穰、重村浩之、落修一、原田一郎(1998)、温室効果ガス排出抑制のための下水処理システム対策技術、建設省土木研究所平成9年度下水道関係調査研究年次報告書集、119-133。

21 世紀型都市水循環系の構築のための水再生技術の開発と評価（バイオモニタリング）

研究予算：戦略的創造研究推進事業（CREST）

担当チーム：材料資源・水環境研究グループ（水質）

研究担当者：鈴木 穰、北村友一、真野浩行、朴 昶範

1. はじめに

現在の都市の一過性の水循環システムでは、人口の集中化、都市開発事業などにより都市の水資源の不足が予測されることから、量・質的に安全・安心な「新たな水利用システム」の開発を行う必要がある¹⁾。下水処理水は都市における安定した水資源であり、その活用を進めることにより水不足が緩和できると期待されている。下水処理水を水資源とした「新たな水利用システム」の構築のためには、再利用水の水質リスクを利用用途別に評価し、効率的にリスクを制御する手法を開発することが重要となる。

水質チームは、再利用水のバイオモニタリングによる安全性評価を担っている。バイオモニタリングは、メダカと藻類を水生生物のモデルとし、メダカではDNAマイクロアレイによる遺伝子発現解析、藻類では生長阻害により、下水処理水の水生生物への毒性の実態解明および下水再利用プロセスでの毒性低減効果を明らかにすることを目的としている。

本年度は、昨年度作成したメダカマイクロアレイを用いて、2次処理水に膜ろ過などの追加処理を行った高度処理水、河川水のバイオモニタリングを実施した。本報告書では、メダカの遺伝子発現解析の結果を報告する。

2. 実験方法

2.1 下水処理水の再利用システム

本年度のメダカの遺伝子発現解析から評価する下水処理水再利用システムは、膜ろ過システム、生物膜ろ過+オゾン処理システムとした。生物影響低減効果

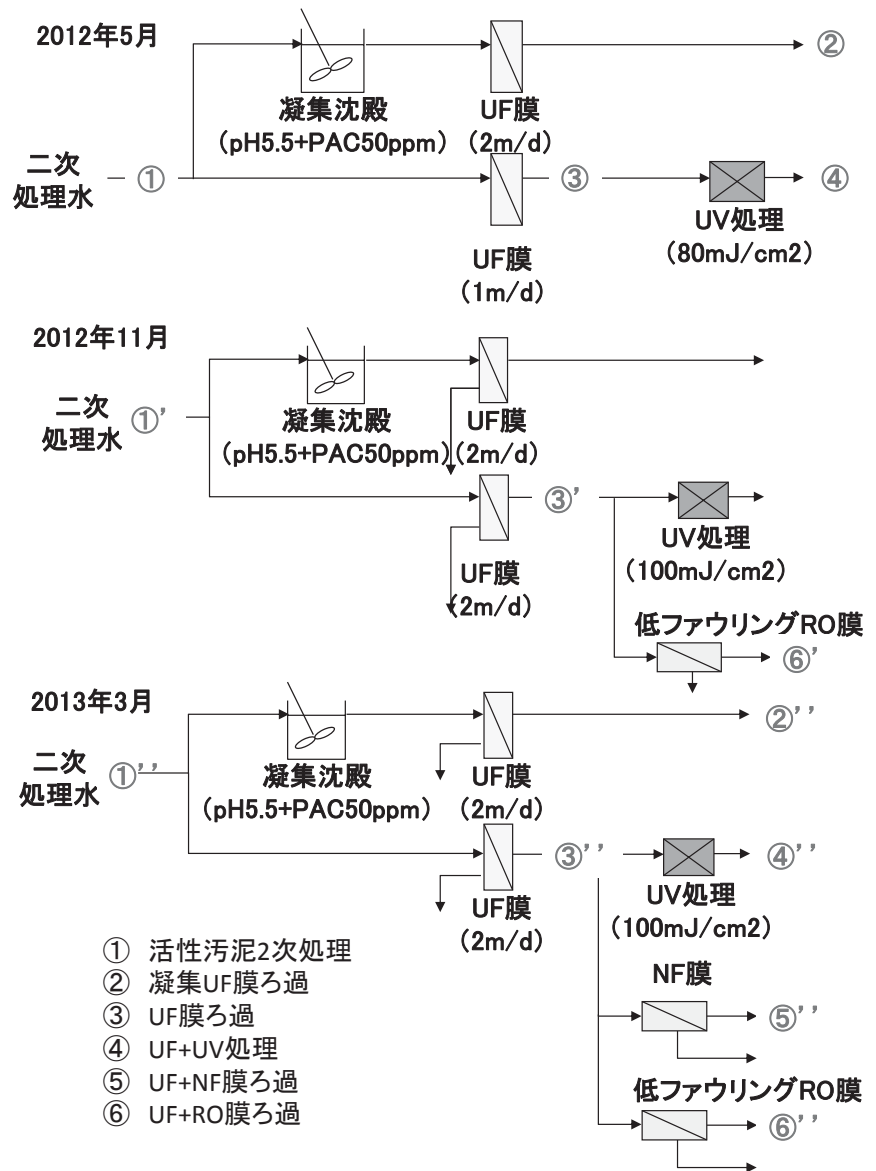


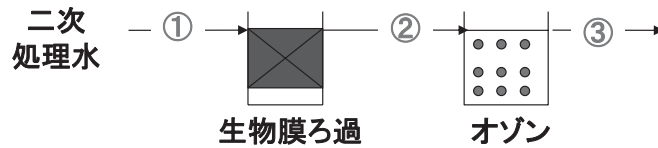
図-1 膜ろ過システム

を評価するため、処理工程前後の試料でメダカ曝露実験を実施した。

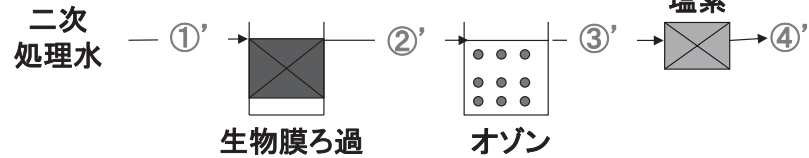
膜ろ過システムは、図-1 に示した活性汚泥 2 次処理水を原水とした凝集 UF 膜 (PAC+UF)、UF 膜、UF+UV 処理、UF+NF 膜、UF+RO 膜処理である。図-2 は、生物膜ろ過+オゾン処理システムの処理工程である。

採水は、2012 年 5 月、11 月、2013 年 3 月に各処理工程からスポットで行い、この試料をろ過せずメダカ曝露実験に供した。

2012年5月



2012年3月



- ① 活性汚泥2次処理
- ② 生物膜ろ過
- ③ 生物膜+オゾン処理
- ④ 生物膜+オゾン処理+塩素処理

図-2 生物膜ろ過+オゾン処理システム

メダカの曝露実験は、昨年度と同様、雄メダカを用いた 96 時間の半止水式で行った。メダカの遺伝子発現解析部位は肝臓とした。下水試料が魚類に及ぼす影響として、看過できないものの 1 つに雄魚の雌性化があげられる。そこで、再利用工程水のエストロゲン応答遺伝子の発現変動を調査した。なお、脱塩素水道水を対照区とし遺伝子発現倍率を算出した。

2.2 河川水

下水処理水再利用システムから生産される再利用水の生物影響を相対評価するため、2.1 と同じ条件で河川水に雄メダカを曝露し遺伝子発現解析を行った。河川水は水不足が懸念されている沖縄県下の 8 河川から採水した。採水時期は、2012 年 7 月、12 月である。

3. 実験結果

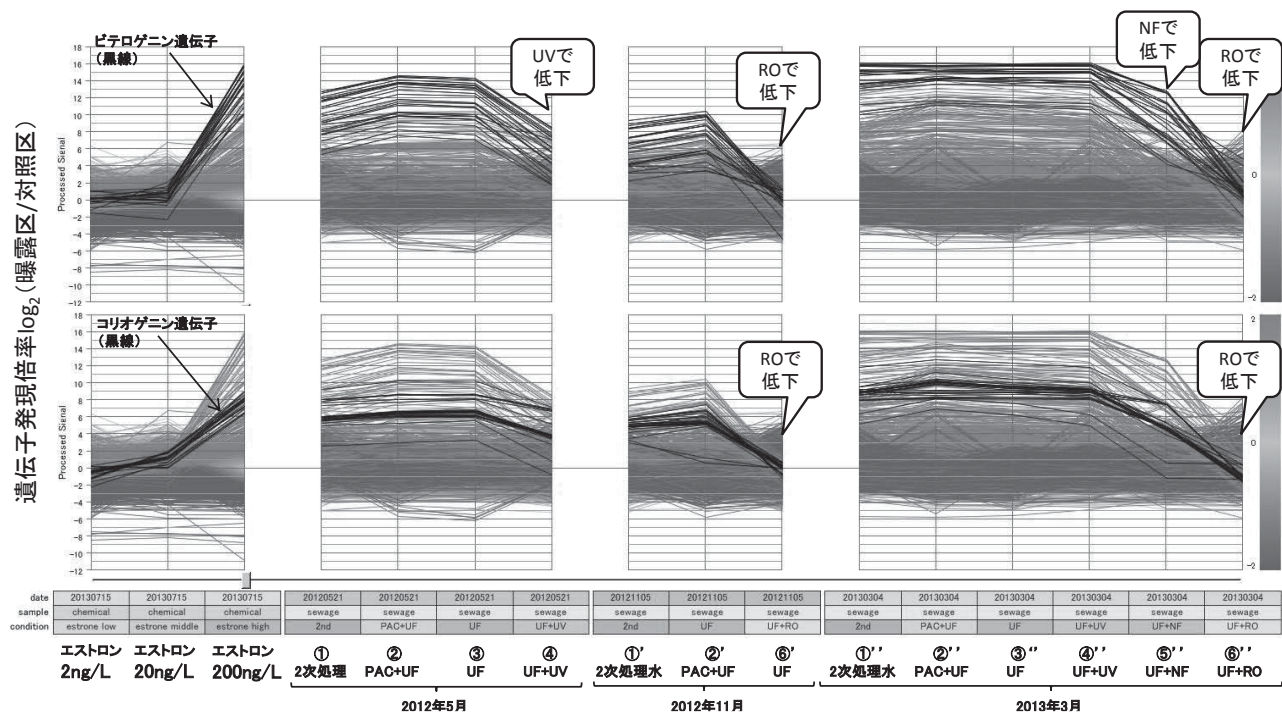


図-3 膜処理システムでのエストロゲン応答遺伝子の発現変動 (赤線はエストロン 200ng/L で上昇した遺伝子、青線は低下した遺伝子を表す)

3.1 下水処理水の再利用システムでのエストロゲン応答遺伝子の発現変動

図-3は、2012年5月、11月、2013年3月の膜ろ過システム工程水のエストロゲン応答遺伝子の発現変動である。図には、2011年度に実施したエストロン純物質の曝露実験での雄メダカの遺伝子発現倍率を比較のため併せて示している。図には、エストロゲンのマーカーとなるピテロゲニン（卵黄前駆物質）とコリオゲニン（卵膜前駆物質）遺伝子の発現変動を黒線で示している。図より、2次処理水中に含まれているエストロゲン様作用は、PAC+UFやUF膜では低減されないことがわかる。NFやUVで遺伝子発現倍率の低下がみられたものの対照区レベルまでの低減はみられていない。エストロゲン様作用を対

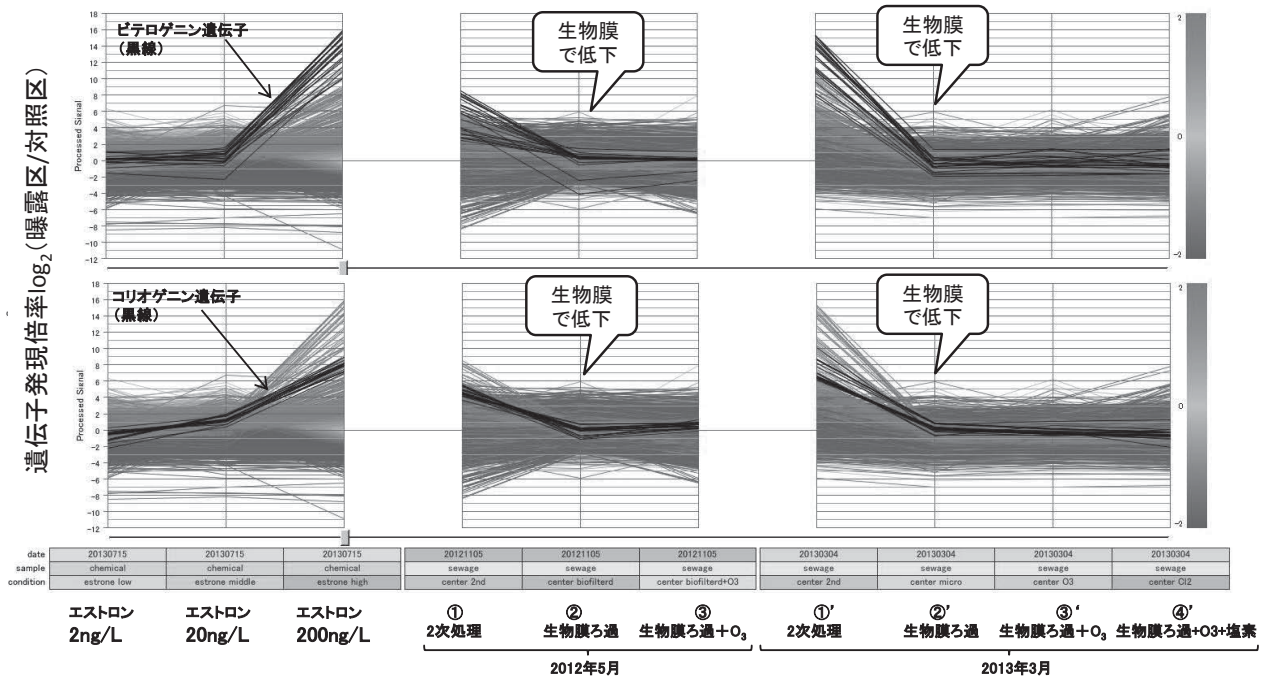


図-4 生物膜ろ過+オゾン処理システムでのエストロゲン応答遺伝子の発現変動
(赤線はエストロン 200ng/Lで上昇した遺伝子、青線は低下した遺伝子を表す)

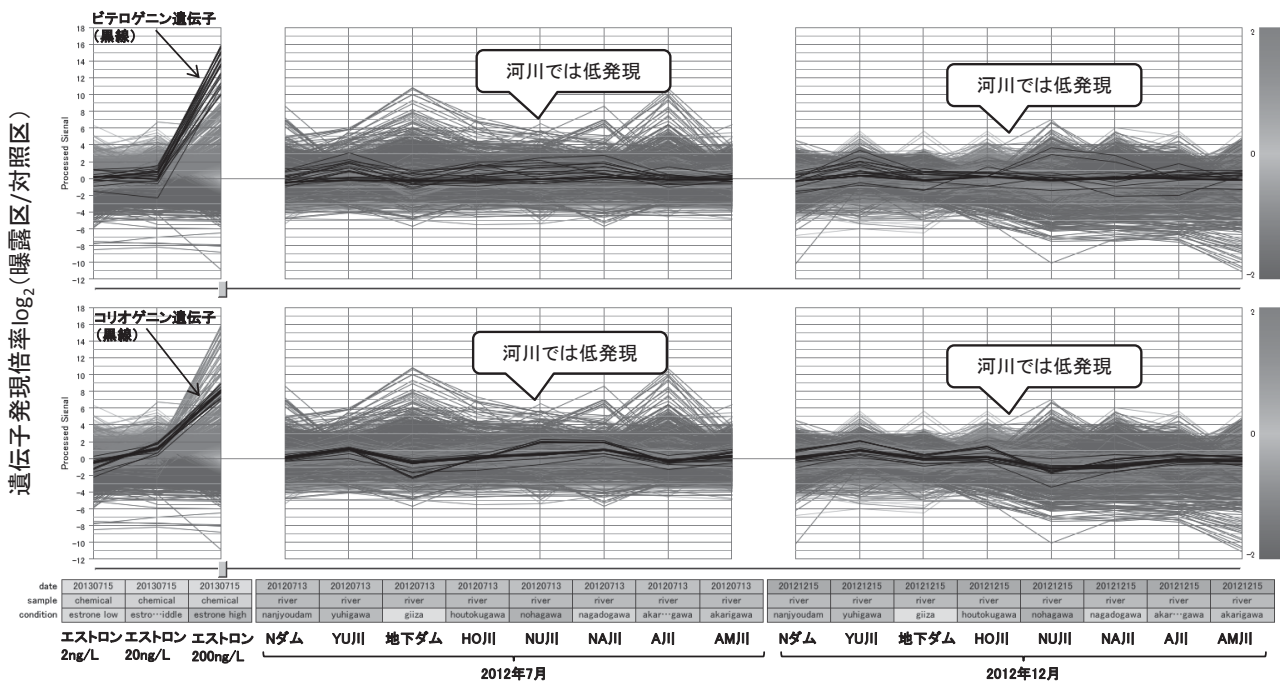


図-5 沖縄河川水のエストロゲン応答遺伝子の発現変動
(赤線はエストロン 200ng/Lで上昇した遺伝子、青線は低下した遺伝子を表す)

照区レベルまで低減するためには、RO 膜処理が必要であることがわかった。

図-4 は、生物膜ろ過+オゾン処理システムでのビテロゲニン、コリオゲニン遺伝子の発現変動である。これらの遺伝子発現レベルは、生物膜ろ過処理で対照区と同等レベルまで低下しており、エストロゲン様作用は、生物膜ろ過処理で低減できることがわかった。

3.2 河川水のエストロゲン応答遺伝子の発現レベル

図-5 は、沖縄県の河川水のビテロゲニン、コリオゲニン遺伝子の発現レベルである。河川水中のこれらの遺伝子発現レベルは低いことがわかった。

魚類繁殖場が存在する河川への水量維持用水として再利用する場合は、RO 膜処理、または、生物膜ろ過処理が必要と考えられた。

4. 本年度の研究のまとめ

本年度は、膜ろ過、生物膜ろ過システムでのエストロゲン応答遺伝子に着目した雄メダカの遺伝子発現解析を行い、処理工程でのエストロゲン様作用の低減効果を調査し、以下のことを明らかにした。

- ① メダカへのエストロゲン様作用は、PAC+UF や UF 膜では低減されなかった。エストロゲン様作用を脱塩素水道曝露区と同等まで低減するためには、RO 膜処理や生物膜ろ過処理が必要であることがわかった。
- ② 沖縄県の河川水のメダカへのエストロゲン様作用は低レベルであることがわかった。
- ③ 今後は、エストロゲン以外の影響を遺伝子レベルで評価する方法について検討していく予定である。

本研究は独立行政法人科学技術振興機構（JST）、CREST 戦略的創造研究推進事業「21 世紀型都市水循環系の構築のための水再生技術の開発と評価」の一環により実施されたものであり、土研水質担当分をまとめたものである。

【参考文献】

- 1) 田中宏明、21 世紀都市代謝系としての下水道への期待（2009）新都市、Vol.63、No.9、pp.16-22

付録 平成 24 年度 下水道関係刊行報告書一覧

下水灰の有効利用に関するアンケート調査報告書

土木研究所資料第 4243 号 平成 24 年 10 月

概要

全国の下水灰中のリンや重金属等の含有実態等を明らかにし、有価な肥料としての利用促進に繋げていくための技術開発の基礎資料を得ることを目的とし、下水灰の有効利用に関するアンケート調査を実施した。本報告書はその結果を集約し、資料としてまとめたものである。

キーワード：下水灰、リン、重金属、肥料、有効利用

土 木 研 究 所 資 料
TECHNICAL NOTE of PWRI
No. 4275 December 2013

編集・発行 © 独立行政法人 土木研究所

本資料の転載・複写の問い合わせは

独立行政法人 土木研究所 企画部 業務課
〒305-8516 茨城県つくば市南原 1-6 電話 029-879-6754