ＩＳＳＮ　　0386-5878
土木研究所資料　第4123号

土木研究所資料

# 平成19年度下水道関係調査研究年次報告書集

FY2007 Annual Report of Wastewater Management and Water Quality Control

平成21年1月

独 立 行 政 法 人　　土 木 研 究 所

Incorporated Administrative Agency
Public Works Research Institute

Copyright © (2009) 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。

土 木 研 究 所 資 料
第4123号　平成21年1月

# 平成19年度下水道関係調査研究年次報告書集

土木研究所　材料地盤研究グループ　リサイクルチーム
水環境研究グループ　水質チーム
耐震研究グループ　振動チーム
材料地盤研究グループ　土質チーム

概要

本報告書集は、平成19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係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

Technical Note of PWRI
No.4123 January 2009

# FY2007 ANNUAL REPORT OF WASTEWATER MANAGEMENT AND WATER QUALITY CONTROL

RECYCLING RESEARCH TEAM
of MATERIAL AND GEOTECHNICAL ENGINEERING RESEARCH GROUP

WATER QUALITY RESEARCH TEAM
of WATER ENVIRONMENT RESEARCH GROUP

GROUND VIBRATION RESEARCH TEAM
of EARTHQUAKE DISASTER PREVENTION RESEARCH GROUP

SOIL MECHANICS RESEARCH TEAM
of MATERIAL AND GEOTECHNICAL ENGINEERING RESEARCH GROUP

INCORPORATED ADMINISTRATIVE AGENCY PUBLIC WORKS RESEARCH INSTITUTE

Synopsis

This Annual Report introduces researches on wastewater system, wastewater treatment, advanced wastewater treatment, wastewater sludge and water quality control carried out in Fiscal 2007 by Incorporated Administrative Agency Public Works Research Institute.

Key words: wastewater system, wastewater treatment, advanced wastewater treatment, wastewater sludge, water quality control, recycling

# 目　　次


**Ⅰ　下水道事業調査費による研究**

1. 下水処理場を核とした湿潤系バイオマスの資源化技術に関する調査・・・・・・・・(リサイクルチーム)・・・・ 1
2. 下水道における水質リスク低減に関する研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・(リサイクルチーム)・・・・ 7
3. 下水道における生理活性物質の実態把握と制御に関する調査・・・・・・・・・・・・・・・・(水質チーム)・・・・ 12
4. 下水道が水生生物に与える影響に関する研究業務・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・(水質チーム)・・・・ 21
5. 閉鎖性水域と下水道の放流水質の関係に関する研究業務・・・・・・・・・・・・・・・・・・(水質チーム)・・・・ 43
6. 下水道整備における信頼性・耐震性に関する研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・(土質チーム)・・・・ 49
7. 下水道整備における土質・地盤に関する研究業務・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・(振動チーム)・・・・ 55

**Ⅱ　その他の予算による研究**

【リサイクルチーム】

1. 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・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 61
2. 再生材の特性を活かした利用技術の開発に関する研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 65
3. 余剰有機物と都市排水の共同処理技術に関する研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 71
4. 流域規模での水・物質循環管理支援モデルに関する研究（３）・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 76
5. 水環境中における病原微生物の消長に関する研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 81
6. 下水汚泥中のリン等無機物資源の備蓄システムに関する調査検討業務・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 87
7. 河川流域における PPCPs（医薬品および日用品等由来化学物質）の挙動の解明に関する研究・・・ 95

【水質チーム】

1. 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）・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 117
2. 難分解性溶存有機物の由来と水域挙動に関する研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 127
3. 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・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 140
4. 水環境におけるプランクトン群集の迅速検出手法に関する基礎的研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 152
5. 都市水環境における水質評価手法に関する調査・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 156
6. 底質の酸素条件が藻類増殖に与える影響に関する調査・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 163
7. 湖沼における難分解性有機物の発生源とその質及び挙動特性に関する研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 169
8. 微量金属を対象としたダム湖富栄養化対策技術の開発・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 192

# Ⅰ．下水道事業調査費による研究

# 下水処理場を核とした湿潤系バイオマスの資源化技術に関する調査

リサイクルチーム　　室　　長　尾崎　正明
総括主任研究員　落　　修一
主任研究員　山下　洋正

## １．　はじめに

一般的に下水処理場はバイオマスをエネルギー転換できる汚泥処理プロセスの導入が可能であり，地域のエネルギー対策や地球温暖化対策の観点から，これらの特徴を活かして湿潤系バイオマス等の地域全体のバイオマスの効率的な利活用を推進することが期待されている。

本調査は，下水処理施設が有する資源・エネルギー供給機能を活用し，下水汚泥のほか，浄化槽汚泥，畜産廃棄物等の湿潤系バイオマスを有効利用するため，湿潤系バイオマスを有効利用する技術である「嫌気性消化法」を活用するプロセスについて，メタンガス等のエネルギーの回収能力や環境負荷削減効果の評価を行うことを目的とするものである。

平成１９年度の実施内容は以下の通りである。

（1）嫌気性混合発酵プロセスにおける環境負荷削減効果の評価
（2）嫌気性混合発酵プロセス等を活用した地域全体のバイオマスの効率的な利活用についての検討
（3）下水汚泥のバイオエタノール化技術の開発・評価

## ２．　嫌気性混合発酵プロセスにおける環境負荷削減効果の評価

### ２．１　調査方法

（1）省エネルギーな前処理方法に関する調査

下水汚泥を含む湿潤系バイオマスを用いて嫌気性消化により効率的にエネルギー回収を行うためには，バイオマスが十分に可溶化される必要がある。可溶化促進のための前処理方法としては，アルカリ処理，超音波処理，爆砕処理，熱処理，好気処理等が挙げられるが，可能な限り消費エネルギーの少ない方法が望ましい。従って，本調査では，まず，低温での加熱処理および低圧力での加圧減圧処理を検討するとともに，メタン発酵効率を低下させる可能性のある油脂成分を除去する溶媒洗浄処理について検討を行った。実験は，図－１に示す通り，35℃恒温水槽に嫌気性消化の反応槽（５Ｌ，ガラス製）４台を設置して，所定の条件で前処理した汚泥の投入および消化汚泥の引き抜きを１日１回自動で行う運転方式で実施した。また，同様の装置で，超音波処理，酸処理およびアルカリ処理についても検討を行った。



図－１　メタン発酵実験装置

（2）メタンガス増産技術に関する調査

下水汚泥の嫌気性消化法がバイオガス生産技術として注目され，メタンガスの増産に繋げるべく下水汚泥を可溶化する様々な取り組みが行われている。本調査では，特別なエネルギーや薬品を投入することなく従来の微生物反応のみで消化率を向上させ，メタンガスの増産を図る技術開発を目指した実験を行った。

（3）環境負荷削減効果の評価

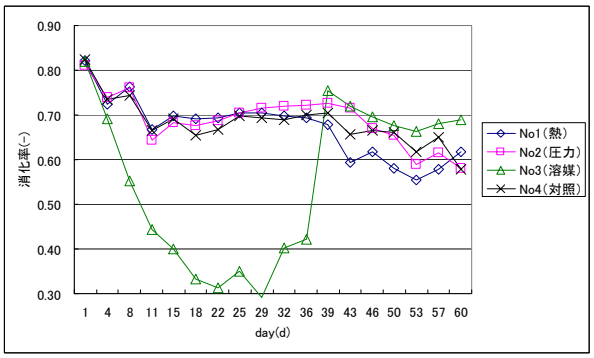
下水汚泥を含む湿潤系バイオマスの嫌気性消化により達成される環境負荷削減効果について，消化ガスのエネルギー利用の向上による効果，汚泥の焼却処分量の削減による効果，嫌気性消化の返流水による水質負荷等を考慮して評価を行った。

## 2．2　結果および考察

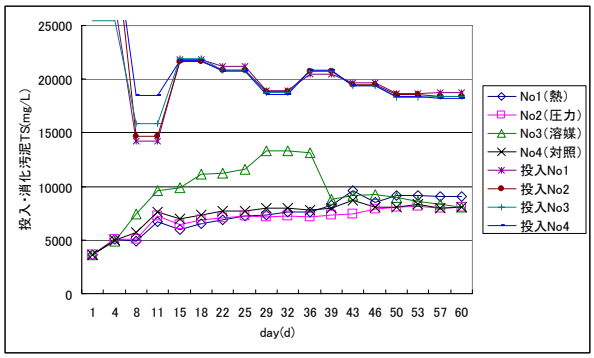
（1）省エネルギーな前処理方法に関する調査

嫌気性消化実験の結果を，消化率について図－2に，TS について図－3に，VS について図－4にそれぞれ示す。図－2より，低温加熱処理（75℃，1時間）および低圧での加圧減圧処理（3kgf/cm$^2$, 10 分加圧後急減圧）は，前処理なしと比較していずれも有意な消化効率の向上を示さなかった。また，溶媒洗浄処理は，消化率が急激に悪化して，前処理を中止しても回復傾向を示さなかったことから，汚泥の入れ替えを実施した。TS（図－2）および VS（図－3）の値からも消化率と同様の傾向が読みとれた。

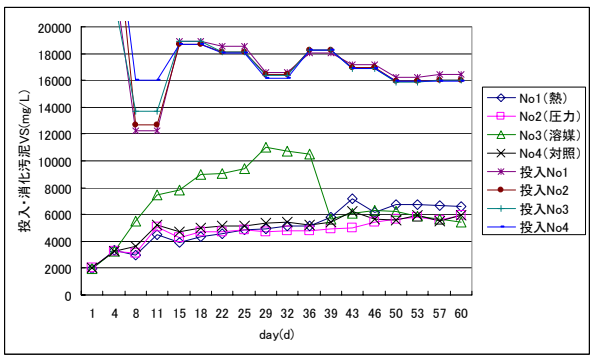
投入汚泥を熱処理した際の溶解性成分（1-SS/TS，1-VSS/VS）の変化を図－5に示す。これより，低温加熱処理で有機物の溶解性の割合が増加していることが確認できるが，消化率が向上していないことから，増加した溶解性成分は消化過程で熱処理なしでも容易に可溶化される成分であるか，あるいは消化過程で利用されない成分であると考えられた。



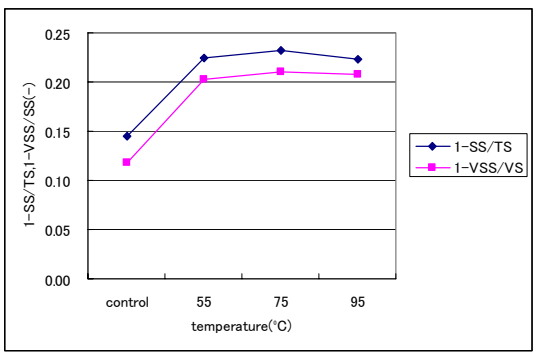

図－2　各前処理条件における消化率の変化




図－3　各前処理条件における TS の変化




図－4　各前処理条件における VS の変化




図－5　各熱処理条件における溶解性成分の変化

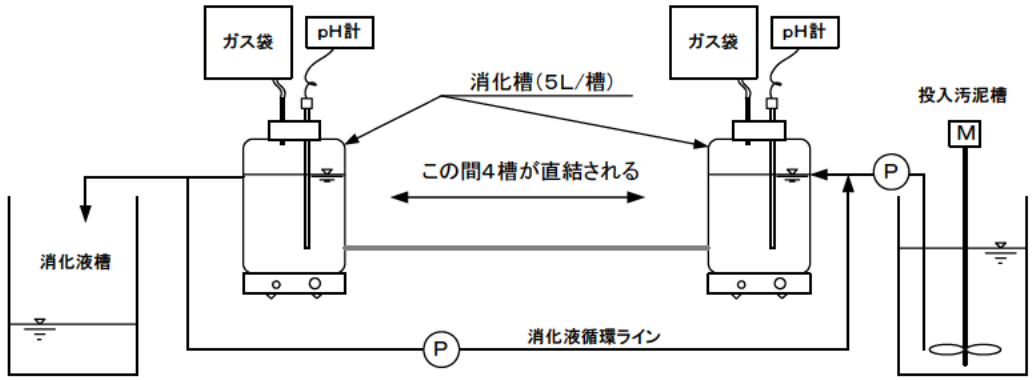
また，低圧での前処理では，有機物の溶解性の割合が増加しておらず，消化率も向上していないことから，3kgf/cm$^2$程度の加圧減圧処理では汚泥中の微生物の細胞壁破砕等の固形物可溶化促進の効果は得られないと考えられた。効果を得るためには，より高圧での処理が必要と考えられるが，消費エネルギーも増大することから，実現可能性についてはさらに検討が必要である。前処理の有無で明確な差異がでなかった一因として，供給汚泥として生汚泥を利用していることから，前処理なしでも消化率 60～70%程度と良好な結果を示しており， もともと消化率が高く可溶化のポテンシャルが高かったことが考えられる。

別途実施した，超音波処理（100kHz，15min），酸処理（10mol/L HCl 12mL/汚泥 2L，pH2，1hr 後中和），アルカリ処理（10mol/L NaOH 25m l /汚泥 2L，pH12，1hr 後中和）の結果についても，上述の実験結果と同様であり，無処理と比較して，顕著な消化促進効果は見られなかった。

今後は，より効果的な省エネルギーな前処理方法を検討するとともに，余剰汚泥等のより可溶化が難しい原料についても検討を進める必要があると考えられた。特に，畜産廃棄物に含まれる敷料由来の粗大粗繊維有機物のうち，稲わら・もみ殻等は爆砕処理でも嫌気性消化に適した性状とならないため，より消費エネルギーの少ない方法で効果的に処理するためには，酵素等の生化学的処理も組み合わせた方法も考えられる。

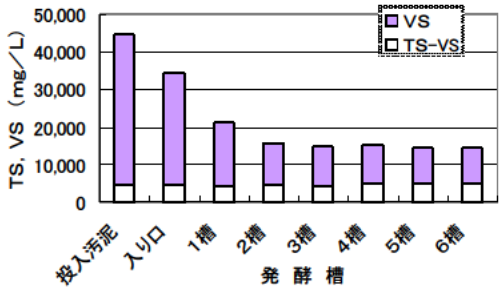
（2）メタンガス増産技術に関する調査

実験は，図－６に示す６連の直列の反応槽からなる実験装置を３５℃の恒温室に設置して，余剰活性汚泥にセルロースパウダーを混合した人工の汚泥をタイマー作動により完結的に供給する連続実験を行った。

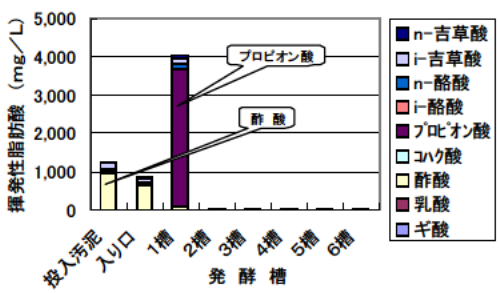



図－６　嫌気性消化実験装置の概要

定常状態にあると思われた時点の各槽間における汚泥濃度の変化を図－７に示す。また，同様に揮発性脂肪酸の濃度変化を図－８に示す。固形物は効果的に消化されて，投入汚泥と比較した場合の消化率で６８％，第１槽入り口と比較した場合で５８％と相当に高い消化率を示した。これには，図－８に発現しているように，第１槽で効果的に可溶化が進行し，それが酸発酵に円滑に繋がりプロピオン酸濃度を引き上げているものである。この可溶化を促進している要因についての現時点の評価は消化液循環がもたらす重炭酸イオンの作用が大きいと考えている。今後は，さらに消化率向上を目指した運転，制御法を追及していく必要がある。




図－７　固形物濃度の変化




図－８　揮発性脂肪酸濃度の変化

（3）環境負荷削減効果の評価

下水汚泥を含む湿潤系バイオマスを嫌気性消化した場合は，嫌気性消化により回収できるエネルギー分に相当する $CO_2$ 負荷削減が得られるとともに，汚泥減量化により汚泥焼却由来の温室効果ガス発生量が削減できる。

・エネルギー回収による削減効果

全国の下水処理場の消化ガス発生量は約 326 百万 $m^3$/年であり，そのうち約 71%が発電や消化槽の加熱等に有効利用され，残り約 29%が余剰ガスとして燃焼処分されている（平成 17 年度下水道統計より）。有効利用率を 100%にすれば，消化ガス 95 百万 $m^3$/年が新たに利用できることになり，都市ガス換算では約 147 百万 $m^3$/年に相当する（発熱量を消化ガス：5,600kcal，都市ガス：3,600kcal と仮定した場合）。都市ガスにおける $CO_2$ 係数 1.991kg$CO_2$/$m^3$ を用いると，年間 $CO_2$ 削減量として，約 293 千 t$CO_2$（293Gg）となり，平成８年度の全国下水処理場の温室効果ガス総排出量 4,632Gg/年の約 6%に相当する。下水汚泥以外の湿潤系バイオマスを受け入れて嫌気性消化を行い，エネルギー回収する場合でも，有効利用率を高めることで同様の削減効果が見込まれる。

また，投入有機物当たりの消化ガス発生量は全国平均で約 650$m^3$/t であるが，仮にこれを 5%増大させれば消化ガス発生量は約 16 百万 $m^3$/年増大し，都市ガス代替利用により約 50 千 t$CO_2$ の削減が可能となることから，消化効率の向上が重要であることが分かる。

・汚泥減量化による削減効果

嫌気性消化による汚泥減量効果により，汚泥の焼却量が削減され，温室効果ガスの発生も削減される。嫌気性消化による固形分の減量効果を平均で 30%と設定し，脱水汚泥の発生量も同じ比率で削減されていると仮定すると，全国の脱水汚泥発生量は約 1,840 千 t/年から約 1,720 千 t/年に削減されていることになる。全てが焼却されると仮定して，汚泥焼却量の減少による温室効果ガス排出削減量は，$CH_4$：約 20t/年，$N_2O$：約 510t/年に相当し，地球温暖化係数（$CH_4$：21，$N_2O$：310）により $CO_2$ 換算すると，約 157 千 t$CO_2$（157Gg）となる。下水処理場における嫌気性消化の導入率を高めれば，さらに削減効果が増大することになる。また，下水汚泥以外の湿潤系バイオマスを受け入れて嫌気性消化した場合は，例えば家畜ふん尿等ではそれまで堆肥化等で $CH_4$ を環境に放出していたものが削減されることからも，温室効果ガスの発生量削減につながる。

・環境負荷の増大の防止

上述の通り嫌気性消化の導入により環境負荷削減効果が見込まれる一方で，温暖化寄与率の高い $CH_4$ が環境に放出されないように，有効利用率を高めるとともに，利用されない余剰消化ガスは完全に焼却等処理する必要がある。また，消化脱離液および消化汚泥の脱水ろ液には，汚泥より溶出した窒素およびリンが高濃度に含まれていることに加え有機物負荷も高く，これらの返流水が水処理系への負荷となる。特に，放流先や閉鎖性水域の水質保全のために高度処理が要求されている下水処理場においては，目標水質達成が難しくなる場合もあり，また，追加的な高度処理が必要となる場合は，その所要エネルギーと嫌気性消化で回収できるエネルギーとを比較して環境負荷削減の観点で評価する必要がある。これらの制約および敷地面積の制約等により嫌気性消化の実施が現実的でないと考えられる下水処理場においては，例えば下水汚泥を炭化・燃料化して外部に供給してエネルギー化するなどの手法を検討することも必要と考えられる。

以上の結果より，下水汚泥を含む湿潤系バイオマスを嫌気性消化することにより，大きな環境負荷削減効果が得られることが明らかとなった。嫌気性消化の推進のためには，有効利用率の向上に向けた低コストで効率的なエネルギー化技術の実用化，消化率向上に向けた前処理・消化技術の実用化，消化脱離液等の排水処理の高度化等が必要と考えられた。

## ３．　嫌気性混合発酵プロセス等を活用した地域全体のバイオマスの効率的な利活用についての検討

### ３．１　調査方法

下水処理場を核とした地域バイオマスの利用実態を把握するために，都道府県(47)および政令指定都市(18)の下水道担当部局にアンケート調査を行った。具体的には，下水処理場を核として，下水汚泥と下水汚泥以外の地域発生バイオマス（例えば，浄化槽汚泥，畜産廃棄物，食品廃棄物，草木廃材等）をあわせてエネルギー利用している全ての下水処理場を対象とし，既に実施している事例，現在進行中の案件（事業認可手続中，建設中等），今後の構想（計画段階，実施未定，内部検討中も含む）の全てを調査した。対象となる事例は，他バイオマス受入，外部エネルギー供給，PFI 等民間活用の３ケースとした。
調査内容は，核となる処理場，地域発生バイオマスの詳細，事業制度，処理技術，課題とした。

### ３．２　結果および考察

46 都道府県（有効 40），18 政令指定都市（有効 17）より回答を得た。内訳は，供用済 7 県 10 ヶ所，現在進行中 10 県 13 ヶ所，構想段階 8 県 9 ヶ所であった（重複有）。

他バイオマス受入については，現状では MICS 事業によるし尿受入および浄化槽汚泥の受入の割合が大であるが，珠洲市のように多様な他バイオマスを受け入れる事例も今後増えることが期待される。
エネルギー外部供給については，消化ガスを都市ガスとして供給する事例（長岡市等），炭化汚泥を発電所等へ燃料として供給する事例（日本下水道事業団による燃料化事業）などが挙げられた。燃料化については，いくつかの自治体で構想段階にあり，今後の展開が期待される。
民間活用については，PFI（東京都，横浜市，大阪市）が実施されている。
課題としては，法律面（廃掃法との関連等），財政面（民間活用時における補助金の取り扱い，財政の逼迫等），コスト比較（追加コストの負担難等）が挙げられている。

## ４．　下水汚泥のバイオエタノール化技術の開発・評価

### ４．１　調査方法

下水汚泥を原料としたバイオエタノール化技術の開発・評価のため実験を行った。
実験では，3 種類の糖化酵素（αアミラーゼ，グルコアミラーゼ，セルラーゼ）を用いて下水汚泥中の炭水化物成分からのグルコース生成を行い，酵母（サッカロミセス・セレビシェ）を用いてエタノール発酵を行った。糖化実験およびエタノール化実験の条件は次の通りである。糖化実験は，汚泥の前処理条件としてオートクレーブ（121℃，15min），硫酸処理（0.5%または 1.5%硫酸を添加して 132℃，15min した後に約 pH7 に調整）または無処理，糖化酵素処理条件として 37℃，17hr で実施し，糖化酵素は３種類すべてまたは各１種類のみを添加し，添加量は 2.5 mg/mL，5 mg/mL，または 10mg/mL とした。糖化反応は，樹脂製 12 穴ウェル（汚泥 2mL，酵素液 1mL，合計反応液量 3mL）にて実施した。エタノール化実験は，糖化実験で得られた糖化試料を原料として行い，発酵条件として，37℃，64hr または 120hr で実施した。糖化反応によるグルコース生成量およびエタノール化反応によるエタノール生成量は，酵素反応キット（F-KIT）を用いてマルチプレートリーダーにより吸光度で測定し，検量線により定量化した。

### ４．２　結果および考察

下水汚泥を原料とした糖化実験の基本となる条件は，下水汚泥をオートクレーブ処理（121℃，15min）して，αアミラーゼ，グルコアミラーゼおよびセルラーゼの３種類の糖化酵素を添加し，37℃で 17 時間反応させるものである。この基本条件下で生成した糖はグルコースとして 1.67 g/L であり，汚泥を添加せずに糖化

酵素のみで実施した対照条件下で生成した糖は 1.03 g/L であったことから，汚泥由来で生成した糖は約 0.65 g/L と考えられた。これは下水汚泥の湿重 1g 当たり糖約 19mg に相当し，乾燥重量 1g 当たりでは糖約 130mg に相当する。下水汚泥を濃硫酸で処理した場合の全糖測定値が約 160mg/g-dry であったことから，オートクレーブ前処理した下水汚泥に糖化酵素を添加することにより，含有糖の約 80%が利用可能となることが分かった。

エタノール化実験の結果としては，下水汚泥の湿重 1g を糖化した試料をエタノール化した場合，下水汚泥の湿重 1g 当たり約 4mg のエタノールが生成された。乾燥重量 1g 当たりでは約 25mg のエタノールに相当する。下水汚泥より生成されたグルコース 1g 当たりのエタノール生成量は 0.19g となり，化学量論的な収率よりも大幅に低い値であることから，下水汚泥共存下では，酵母発酵の効率が低下する可能性が示唆された。発酵期間を 64 時間から 120 時間に延長した場合は，エタノール生成量は逆に低下した。発酵温度を 37℃から 20℃に低下させた場合は，エタノール生成量は同等であった。従って発酵期間は 64 時間程度で十分であり，より常温に近い温度でもエタノール生成が実施できる可能性が示された。

これらの結果より，下水汚泥を加熱処理（121℃，15min）して，糖化酵素のαアミラーゼ，グルコアミラーゼおよびセルラーゼを添加して糖化した後に，酵母サッカロミセス・セレビシェを添加してエタノール発酵させた場合に得られる正味のエタノール量は下水汚泥乾燥重量 1g 当たり約 25mg 程度であり，原料重量当たりの生産効率としてはかなり低いことが分かった。従って，下水汚泥をそのまま全量糖化してバイオエタノール化することは効率的でないと考えられ，実用化のためには，糖化の基質となる成分（セルロース，糖類）を選択的に抽出する前処理，エタノール化の効率向上等が必要と考えられた。

## ５．　まとめ

本調査で得られた主要な結果は次の通りである。

（１）嫌気性混合発酵プロセスにおける環境負荷削減効果の評価

①省エネルギーな前処理方法に関する調査の結果，熱処理により可溶化は促進されたが，消化率向上にはつながらなかった。溶媒洗浄，低圧力の加圧・減圧，超音波処理，酸処理，アルカリ処理については，今回検討した比較的穏和で省エネルギーな処理条件では消化促進効果が見られなかった。

②メタンガス増産技術に関する調査の結果，第１槽で効果的に可溶化が進行し，それが酸発酵に円滑に繋がりプロピオン酸濃度を引き上げており，消化液循環がもたらす重炭酸イオンの作用が大きいと考えられた。

③下水汚泥を含む湿潤系バイオマスを嫌気性消化することにより，エネルギー回収，消化ガスの有効利用を通じて大きな環境負荷削減効果が得られることが明らかとなった。

（２）嫌気性混合発酵プロセス等を活用した地域全体のバイオマスの効率的な利活用についての検討

下水処理場を核とした地域バイオマスの利用実態を把握した。供用済 7 県 10 ヶ所，現在進行中 10 県 13 ヶ所，構想段階 8 県 9 ヶ所であった（重複有）。課題としては，法律面（廃掃法との関連等），財政面（民間活用時における補助金の取り扱い，財政の逼迫等），コスト比較（追加コストの負担難等）が挙げられていた。

（３）下水汚泥のバイオエタノール化技術の開発・評価

下水汚泥を加熱処理して，糖化酵素のαアミラーゼ，グルコアミラーゼおよびセルラーゼを添加して糖化した後に，酵母サッカロミセス・セレビシェを添加してエタノール発酵させた場合に得られる正味のエタノール量は下水汚泥乾燥重量 1g 当たり約 25mg 程度で，生産効率はかなり低いことが分かった。従って，下水汚泥をそのまま全量糖化してバイオエタノール化することは効率的でないと考えられ，実用化のためには，糖化の基質となる成分（セルロース，糖類）を選択的に抽出する前処理，エタノール化の効率向上等が必要と考えられた。

# 下水道における水質リスク低減に関する研究

## ― 下水処理過程でのノロウイルス除去効率向上手法の検討 ―

研究予算：受託経費（下水道事業調査費）
研究期間：平19
担当チーム：材料地盤研究グループ（リサイクル）
研究担当者：尾崎正明、諏訪　守

**【要旨】**

ノロウイルスによる感染症が多発しており、感染流行期における下水処理過程での除去率の解明や処理水中のノロウイルスを低濃度化する手法の開発が求められている。本報告は、活性汚泥処理法や砂ろ過法によるノロウイルスの除去能力の把握および下水処理過程での除去率向上手法の開発を目的に、パイロットプラントを利用した活性汚泥処理法、砂ろ過法による連続除去実験を行い、各手法の除去率を評価した。その結果、感染流行期と考えられる12～3月初旬の期間において流入下水中のノロウイルス濃度はG1、G2型ともに$10^6$～$10^7$コピー/L レベルで推移した。活性汚泥処理法によるG1型の除去率は0.6～1.6log、G2型が1.1～2.1log、砂ろ過法ではG2型が0.6log程度であった。凝集剤添加活性汚泥処理法（5mg-AL/L）による除去率は各々0.6～2.6log、1.4～2.9log、10mg-AL/Lでは各々2.1～3.2log、2.5～3.5logであった。PACの添加濃度を10mg-AL/Lとすることで除去率を最大で2.1～2.5log程度向上させられることを明らかにした。また、凝集剤添加砂ろ過法（3mg-AL/L）によるG2型の除去率は1.9～2.4log以上となり、砂ろ過法と比較して除去率は最大で1.8log程度向上した。
キーワード：ノロウイルス、活性汚泥処理法、砂ろ過法、凝集剤添加

### ４．１ はじめに

ノロウイルス（NV）による感染症が多発しており、下水処理場における流入や放流実態に関して徐々に知見が集積されつつあるが、その除去率は十分に解明されていない。また、放流先や処理水再利用の形態によっては、処理水中のノロウイルスを極力低濃度化する必要があると考えられる。このため、下水処理過程での除去率の解明や処理水中のノロウイルス濃度を極力低濃度化するための手法の開発が望まれている。

本課題では上記の要請を踏まえ、活性汚泥処理法や砂ろ過法によるノロウイルスの除去率の把握および除去率向上手法の開発を目的に、ノロウイルス感染流行期においてパイロットプラントを利用した連続除去実験を行い、各手法の除去率を評価した。本検討結果は水環境へ大きな影響を及ぼすと考えられる下水処理水の感染リスク低減に資することができる。

### ４．２ 実験方法

#### 4.2.1 パイロットプラントを利用した除去実験

活性汚泥処理法の連続除去実験では、曝気槽（容量100L）、最初・最終沈殿槽（各容量50L）等より構成されているパイロットプラントを利用した。A下水処理場の流入下水を連続的に流入させ、MLSS濃度を2,000mg/L程度に設定、HRTを８時間とし運転を行った。凝集剤添加活性汚泥処理法（Ⅰ系）と凝集剤を添加していない標準活性汚泥処理法（Ⅱ系）の2系列のパイロットプラントを利用した。凝集剤はポリ塩化アルミニウム（PAC；多木化学社製250A）を使用、添加量は5、10mg-AL/Lとし曝気槽の最終槽に添加した。

砂ろ過法の連続除去実験では、内径 150mm、高さ3,000mm のろ過塔にろ砂として硅砂を充填して用いた。充填圧や粒径の構成等は高度処理施設設計指針[1)]を参考とし、硅砂は1mm,100cm、支持砂利は各々2～3mm、3～6mm、8～12mmは20cm、20～35mmは10cmとした。ろ過速度は200m/日の上向流ろ過方式とした。ろ過原水は、前記パイロットプラントとは異なる活性汚泥処理水を使用した。また、凝集剤添加砂ろ過法は、砂ろ過塔への配管ラインにPACを注入しスタティックミキサーで原水とPACを混合させた後、砂ろ過を行った。PACの添加量は3mg-AL/Lとした。ろ過水の採水は処理水の濁度が安定した段階で行ったことから、ろ過継続時間は砂ろ過法で6～7時間、凝集剤添加砂ろ過法で4～7時間程度となった。

#### 4.2.2 ノロウイルスの測定

ノロウイルスの濃縮は、ポリエチレングリコール（PEG）沈殿法を基本とした。試料中にPEG＃6000（終濃度8%）およびNaCl（終濃度0.4M）を添加・

撹拌し完全に溶解させた。4℃で 1 夜静置の後、10,000×G、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た。濃縮液中のウイルスは、リアルタイム PCR 法により定量を行った。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 0.5μg をランダムプライマー、Omniscript RT Kit（QIAGEN 社）を用い全量 20μL の系で逆転写反応を行い cDNA を作製し 2μL をリアルタイム PCR に供した。ノロウイルス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」[2] に準じた。リアルタイム PCR 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。なお、ウイルス濃縮液をウイルス遺伝子抽出カラムに通水しノロウイルス遺伝子を捕捉させる際、抽出カラム 1 本あたりの濃縮試料の通水量は、SS 負荷量を基準とし全ての測定試料で抽出カラム 1 本あたり 0.1mg とした。遺伝子抽出カラムへの SS 負荷量が異なることでウイルス検出濃度に大きな影響を及ぼす報告[3] があり SS 負荷量を統一しないと検出濃度にバラツキが生じて精度の高い定量評価ができなくなるためである。

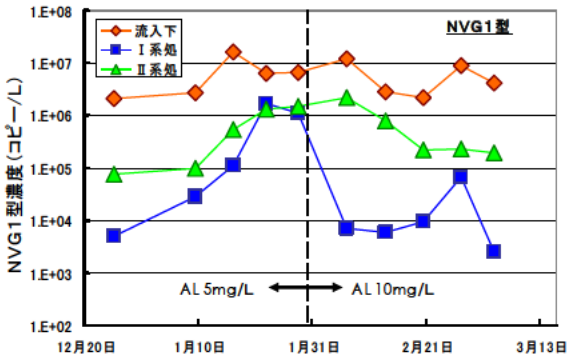
#### 4.2.3 水質測定項目

ノロウイルス以外の水質測定項目は、水温、pH、濁度、SS、MLSS、MLVSS、大腸菌、大腸菌ファージとした。大腸菌の測定法はクロモカルト培地による平板培養法、ファージは重層寒天法あるいは直接プラーク法とした。

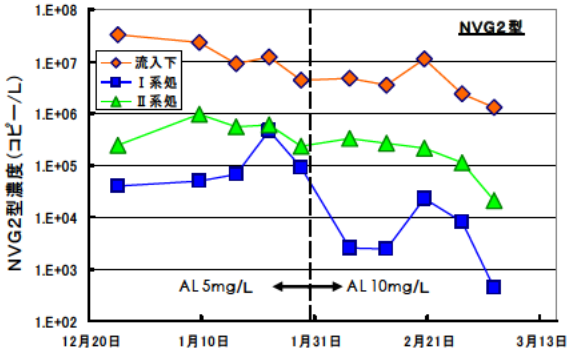
### 4．3 実験結果および考察

#### 4.3.1 活性汚泥処理法および凝集剤添加活性汚泥処理法による除去率

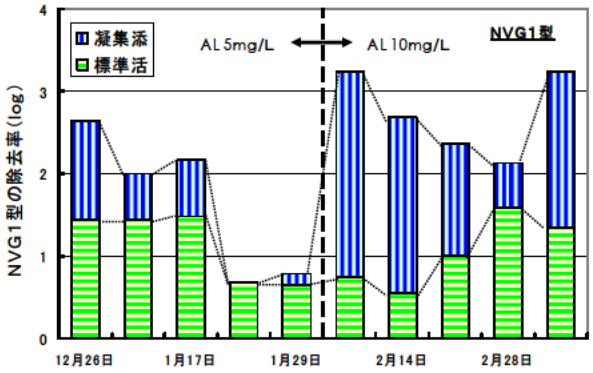
活性汚泥処理法および凝集剤添加活性汚泥処理法による連続除去実験結果を図－1～4 および表－1 に示す。図－1、2 はノロウイルスの濃度推移、図－3、4 は除去率を示したものである。11 月から活性汚泥処理プラントの馴致運転を行い、12 月下旬からノロウイルスの測定を開始した。表－1 に示したデータはノロウイルス測定時の試料を分析した結果である。12 月中旬から I 系では当初 5mg-AL/L になるよう PAC を添加、II 系



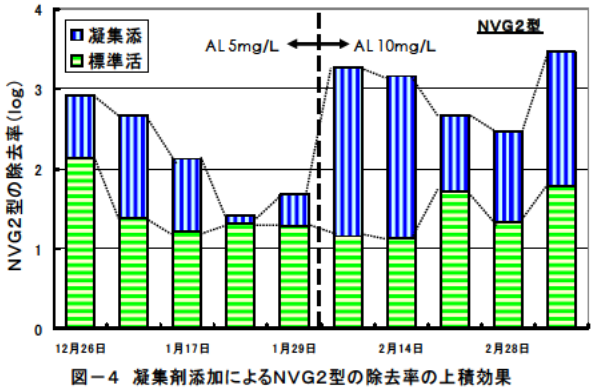
図－1 NVG1型の濃度の推移



図－2 NVG2型の濃度の推移



図－3 凝集剤添加によるNVG1型の除去率の上積効果



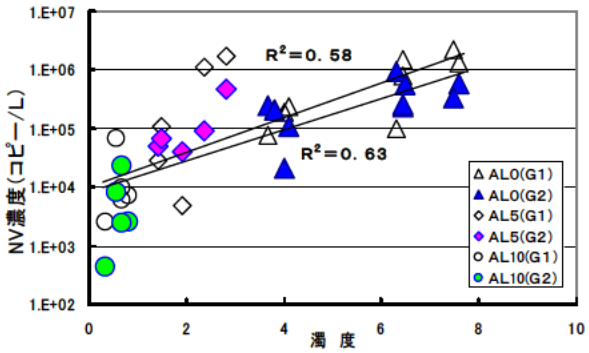
図－4 凝集剤添加によるNVG2型の除去率の上積効果

表―1　水質分析結果

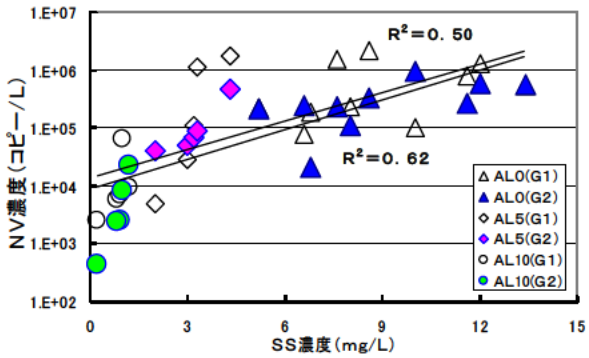
| 試料 / 項目 | 流入下水 12/19－1/28 | Ⅰ系 5mg-AL/L 処理水 | 流入下水 2/6－3/4 | Ⅰ系 10mg-AL/L 処理水 | 流入下水 12/19－3/4 | Ⅱ系 処理水 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 水温(℃) | 15.2－18.5 | 9.0－13.6 | 14.9－16.5 | 7.0－11.1 | 14.9－18.5 | 7.0－13.4 |
| pH(－) | 6.89－7.13 | 6.61－6.98 | 6.85－7.32 | 6.75－7.11 | 6.85－7.32 | 6.77－7.22 |
| 濁度 | 79－250 | 1.4－2.8 | 94－142 | 0.3－0.8 | 79－250 | 2.4－8.2 |
| SS(mg/l) | 105－315 | 2.0－4.8 | 75－171 | 1.5－2.8 | 75－315 | 4.0－13.8 |
| 大腸菌(cfu/ml) | $4.0\times10^{4}$－$9.0\times10^{4}$ | $3.0\times10^{1}$－$7.6\times10^{2}$ | $3.0\times10^{4}$－$7.0\times10^{4}$ | $2.0\times10^{1}$－$7.0\times10^{1}$ | $3.0\times10^{4}$－$9.0\times10^{4}$ | $1.0\times10^{1}$－$1.1\times10^{3}$ |
| ﾌｧｰｼﾞ(pfu/ml) | － | － | $5.0\times10^{2}$－$5.7\times10^{3}$ | N.D. －$9.0\times10^{-1}$ | － | $8.0\times10^{-1}$－$5.7\times10^{0}$ |
| NVG1 型(ｺﾋﾟｰ/L)12/25～ | $2.1\times10^{6}$－$1.6\times10^{7}$ | $4.9\times10^{3}$－$1.7\times10^{6}$ | $2.2\times10^{6}$－$1.2\times10^{7}$ | $2.5\times10^{3}$－$6.6\times10^{4}$ | $2.1\times10^{6}$－$1.6\times10^{7}$ | $7.7\times10^{4}$－$2.2\times10^{6}$ |
| NVG2 型(ｺﾋﾟｰ/L)12/25～ | $4.3\times10^{6}$－$3.3\times10^{7}$ | $4.0\times10^{4}$－$4.7\times10^{5}$ | $1.3\times10^{6}$－$1.1\times10^{7}$ | $4.4\times10^{2}$－$2.3\times10^{4}$ | $1.3\times10^{6}$－$3.3\times10^{7}$ | $2.1\times10^{4}$－$9.4\times10^{5}$ |

では無添加とした。流入下水中のノロウイルス濃度は12月～3月初旬の期間中G1型、G2型ともに$10^{6}$～$10^{7}$コピー/L レベルで推移していた。1月下旬までのⅠ系処理水（5mg-AL/L）のノロウイルス濃度はG1型で$10^{3}$～$10^{6}$コピー/L、G2型で$10^{4}$～$10^{5}$コピー/L レベルで推移し除去率の範囲は各々G1 型で 0.6～2.6log、G2 型で 1.4～2.9log 程度であった。1 月下旬からはPAC の添加濃度を 10mg-AL/L としたことで処理水のノロウイルスの濃度レベルは低下し各々$10^{3}$～$10^{4}$コピー/L、$10^{2}$～$10^{4}$コピー/L となり除去率は 2.1～3.2log、2.5～3.5log に向上した。Ⅱ系では各々0.6～1.6log、1.1～2.1log 程度の除去率であり、PAC の添加濃度を 5mg-AL/L とした場合では各々最大で 1.2～1.3log、10mg-AL/L では 2.1～2.5log の除去率が上積みされた。

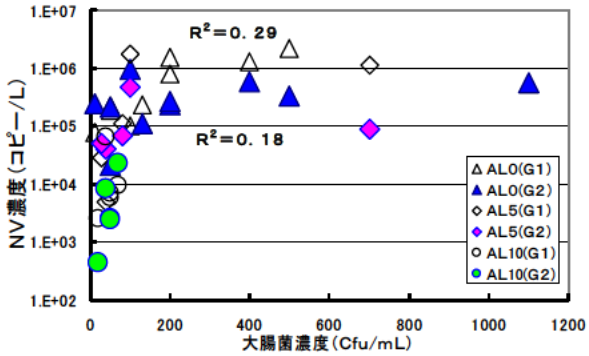
Ⅰ、Ⅱ系の活性汚泥処理水の濁度、SS 濃度、大腸菌濃度とノロウイルス濃度の関係を図－5～7 に示す。処理水の濁度、SS 濃度の上昇にともないノロウイルス濃度も増加しているが、凝集剤の添加系と無添加系の比較でその傾向は顕著となっている。このため、凝集剤の添加によるノロウイルスの低減効果を把握する上で、濁度、SS 濃度はある程度の指標になるものと考えられた。大腸菌に関しては検出濃度のバラツキが大きく、ノロウイルスの低減効果を把握するための指標としては課題があるものと考えられた。また、大腸菌ファージの除去率の範囲はノロウイルスと比較して高く、Ⅰ系(10mg-AL/L)で2.8～4.6log、Ⅱ系では1.9～3.2log であった。各々の除去率を比較したものを図－8 に示すが、高い相関関係は得られないためノロウイルスとどの程度その挙動を同じくするかを把握するための指標としては課題があるものと考えられた。



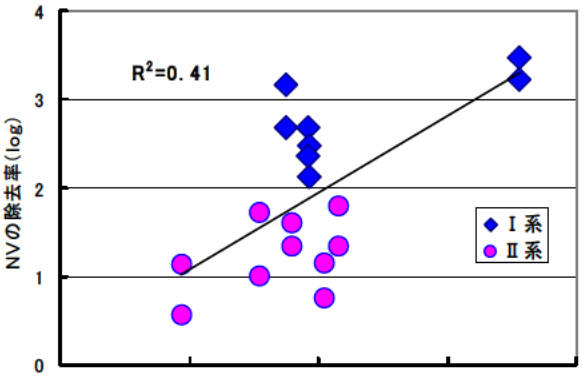
図－5　処理水の濁度とNV濃度の関係



図－6　処理水のSS濃度とNV濃度の関係



図－7　処理水の大腸菌濃度とNV濃度の関係



図－8 ファージとNVの除去率の比較

実験期間中の曝気槽内の平均MLSS濃度はⅠ系で約2,100～2,200mg/L、Ⅱ系で約 1,800mg/L であった。また、冬季における実験のため曝気槽内の水温は約8℃に低下することもあった。

Johan Nordgren ら[4] のスウェーデンの下水処理場における調査例では、下水中のノロウイルス濃度は最大で $10^7$ コピー/L レベル、年間を通じての下水処理場での減少は 0.9～2.7log と報告している。M.A.Laverick ら[5] のイギリスでの調査例では、流入下水の最大検出濃度は、$1.8\times10^6$ コピー/100mL、下水二次処理プロセスでの減少は 1～3log としている。陶山ら[6] はタイのバンコクにおいて流入下水中のノロウイルスを調査しており、最大濃度は $1.8\times10^7$ コピー/L と報告している。原本ら[7] が行った都内の下水処理場での調査例では、流入下水中のノロウイルスGⅡ型の濃度は 1,900PDU/mL、下水処理場での除去率は約 2log としている。これら既存の調査例における流入下水中のノロウイルス濃度は $10^6$～$10^7$ コピー/L、また、下水処理場での除去率は約 1～3log と整理された。今回の活性汚泥処理プラントでの除去率は 1～2log 程度であり若干の違いが見られたが、流入下水中のノロウイルスの濃度レベルは一致したものであった。

対象とする病原微生物は異なるが、同様の実験例としてクリプトスポリジウムの場合では、活性汚泥処理法による除去率は約 2log、凝集剤添加活性汚泥処理法では約 5log であるという報告[8] もある。今回の実験結果から得られたノロウイルスの除去率はそれらの値と比較して低かった。

### 4.3.2 砂ろ過法および凝集剤添加砂ろ過法による除去率

砂ろ過法によるノロウイルスの除去実験結果を表－2 に示す。ろ過速度が 200m/日の砂ろ過法では G1 型は 0.05log、G2 型は 0.6log（74%）の除去率であった。濁度、SS、大腸菌の平均除去率は 70～90%程度であり、ノロウイルス（G2 型）の除去率と同レベルであった。凝集剤添加砂ろ過法（3mg-AL/L）ではノロウイルスの除去率は G1 型で 1.4～2.7log、G2 型で 1.9～2.4log 以上となり PAC の添加により 1.4～1.8log（G2 型）程度向上した。この時の濁度、SS、大腸菌の平均除去率は 96～99%に向上している。

表―2 砂ろ過実験結果

| | 除去率範囲（log） | | 平均除去率（%） | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | NVG1 型 | NVG2 型 | 濁度 | SS | 大腸菌 |
| 砂ろ過法 | 0.05 | 0.6 | 90 | 79 | 74 |
| 凝集剤添加 | 1.4－2.7 | 1.9－2.4 以上 | 98 | 96 | 99 |

同様の実験例としてクリプトスポリジウムの場合では、PAC の添加により除去率が 2log 向上したとの報告[8] もあり、それらの値と比較して若干低かった。

下水処理水の再利用にあたり衛生学的安全性確保の観点から、下水処理水の再利用水質基準等マニュアルが策定[9] され水質基準等が提示されているが、ウイルス濃度の基準値は設定されていない。活性汚泥処理法による除去率の範囲は 0.6～2.1log、砂ろ過法では 0.6log 程度であった。凝集剤添加活性汚泥処理法により最大で 2.5log 程度、凝集剤添加砂ろ過法では最大で 1.8log 程度の除去率が上乗せできる可能性が示されたが、現在のところ目標とするウイルス濃度の設定は困難である。今後リスク評価に関わる研究の進展に伴い下水処理場において、さらなる除去率の向上が求められる可能性も否定できない。このため、今回実施した対策手法とは異なる除去手法の検討や消毒による不活化効果についても、今後評価が必要であると考えられる。さらに、非流行期におけるノロウイルスの流入・放流実態の把握も重要であろう。

### 4．4 まとめ

活性汚泥処理法や砂ろ過法によるノロウイルスの除去率の把握および除去率向上手法の開発を目的に、ノロウイルス感染流行期においてパイロットプラントを利用した連続除去実験を行い、各手法の除去率を評価した。評価結果を以下に示す。

1）感染流行期と考えられる 12～3 月初旬の期間における流入下水中のノロウイルス濃度は G1 型、G2

型ともに $10^6$～$10^7$コピー/L レベルで推移した。

2）活性汚泥処理法による除去率の範囲は 0.6～2.1log、砂ろ過法では0.6log 程度であった。

3）凝集剤添加活性汚泥処理法では PAC の添加濃度を 10mg-AL/L とすることで最大2.5log 程度向上させられることを明らかにした。

4）PAC の添加濃度を 3mg-AL/L とすることで砂ろ過法の除去率を最大で 1.8log 程度向上させられることを明らかにした。

**参考文献**


1）建設省・高度処理会議(1994)、高度処理施設設計資料.

2）厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課(2003)、ノロウイルスの検出法について.

3）尾崎正明、諏訪守、水環境中における病原微生物の消長に関する研究、未定稿.

4）Johan Nordgren *et al.*(2007) *Norovirus* in the wastewater treatment process, 14th International Symposium on Health-Related Water Microbiology.

5）M.A.Laverick *et al.* (2004) Quantitative RT-PCR for the enumeration of *noroviruses* (Norwalk-like viruses) in water and sewage, Letters in Applied Microbiology, 39,127-136.

6）陶山明子、諏訪守、尾崎正明（2006）、タイにおける病原微生物の定量とラグーンによる除去特性、第43回下水道研究発表会講演集,896-898.

7）原本英司、片山浩之　他（2005）、下水処理場におけるノロウイルスの季節変動の調査、日本ウイルス学会学術集会講演集、311.

8）M.Suwa and Y.Suzuki (2003) Control of *Cryptosporidium* with wastewater treatment to prevent its proliferation in the water cycle, Water Science and Technology ,47(9),45-49.

9）国土交通省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（2005）、下水処理水の再利用水質基準等マニュアル.

# 下水道における生理活性物質の実態把握と制御に関する調査

研究予算：受託（下水道）
運営費交付金（一般勘定）
研究期間：平 18～平 22
担当チーム：水環境研究グループ（水質）
研究担当者：鈴木穣、小森行也、岡安祐司、北村友一

【要旨】
人および動物用医薬品や身体ケア製品起源の化学物質は生理活性作用を有し、低濃度で特異的に作用することから、人や水生生物への影響や薬剤耐性菌の発生が危惧されている。また、魚類雌性化を引き起こす可能性のある下水処理水中のエストロゲン類については、効果的な除去法が求められている。本調査は、エストロゲン類の下水処理過程における効率的な除去手法の開発、および、下水道における生理活性物質の存在実態と下水処理過程における挙動の把握を目的としている。平成 19 年度は、エストロゲン類の除去方法として、下水処理工程の後段に好気条件の生物膜法を追加することで、溶解性エストロンの濃度を予測無影響濃度（PNEC）以下に低減させることが可能であることがわかった。また、この処理水をメダカに曝露した結果、雌性化の徴候であるビテロゲニン生成が抑えられることが明らかになった。さらに、下水道における医薬品、抗生物質の存在実態に関する調査を行った。
キーワード：エストロゲン、17β-エストラジオール、エストロン、医薬品、実態把握、一斉分析

## １．エストロゲン類の除去方法の開発

### １．１．はじめに

既往の調査によれば、内分泌撹乱作用が疑われる物質の中に、河川水中や下水道に広く存在するものがあり、河川水や下水処理水にメダカを曝露した場合に、エストロゲン様活性が 10ngE2/L を超えると、メダカの肝臓にメス特異的タンパクであるビテロゲニンが生成されることがわかっている。

一方で、*in vitro* の試験系によるエストロゲン様活性の測定手法と水中の化学物質の分画手法を用いた、下水中の内分泌かく乱化学物質の同定に関する調査結果によれば、下水処理水のエストロゲン様活性は下水処理場ごとに大きく異なっており、その大部分は 17β-エストラジオール（E2）やエストロン（E1）などの遊離体エストロゲンの寄与によるものであることが判明している。

このため、下水処理場の放流先河川における魚類のビテロジェニンの誘導を抑える対策として、下水処理場における E2 や E1 などの遊離体エストロゲンを削減することが有効である可能性が大きいと考えられる。

水質チームの既往の研究結果[1)～4)]では、下水処理工程の後段部分における酸化還元状態の管理方法が、エストロゲン類の除去効率に大きな影響を与えることが示されていることから、平成 19 年度は、下水処理工程の後段に好気条件の生物膜法を追加することで効率的なエストロゲン類の除去を試みた。

### １．２．標準活性汚泥法の後段に微生物担体好気処理槽と沈殿池を付加した処理方法におけるエストロゲン類除去効率の把握

#### １）実験方法

##### ① 連続実験

連続実験の概要を図-1 に示す。連続実験は通年に渡り実施し、茨城県霞ヶ浦流域下水道湖北処理場の実流入下水を、実験施設室内に設置した標準活性汚泥法実験プラントに導入し、二次処理水を得た。二次処理水の一部は、微生物保持担体が添加された反応槽に連続的に導入し、下部から曝気を行い、担体表面に自然発生した生物膜により好気処理を行った。さらに好気処理水を沈殿池に導入し、余剰生物膜の固液分離を行い、高度処理水を得た。

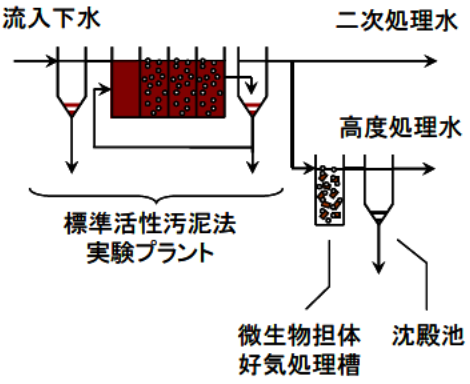



図-1　連続実験の概要

標準活性汚泥法実験装置は、有効水深 2m、最初沈殿池容量 0.5m³、反応槽容量 2m³、最終沈殿池容量 0.5m³、HRT＝8 時間、SRT＝約 7～9 日、返送比＝0.4 に設定し、押し出し流れを再現した 4 つに区切った反応槽の第 1 槽の送風を、最低限撹拌が行える程度に絞り、擬似的な嫌気状態とし、生物脱リンを行った。

微生物担体を用いた好気処理槽は、反応槽容量 60L、有効水深 0.5m、HRT＝2 時間、担体充填率は 35%とした。担体は、PP 製、φ5mm、長さ 5mm、薄さ 1mm の円筒の形状のものを使用した。

沈殿池は、容量 60L（直列 30L×2）、有効水深 0.5m、HRT＝2 時間とし、余剰汚泥は 3 時間に 1 回、10L を引き抜く運転を行った。

**② 水質分析**

連続実験期間中の運転条件を確認するために、7 月上旬から 8 月中旬までの期間を除く期間で、週 2 回の頻度で各処理工程のスポット採水試料水中の、浮遊物質（SS）、有機性浮遊物質（VSS）、溶解性有機炭素（DOC）、アンモニア性窒素（$NH_4^+$-N）、亜硝酸性窒素（$NO_2^-$-N）、硝酸性窒素（$NO_3^-$-N）、溶解性オルトリン酸態リン（D-$PO_4^{3-}$-P）の各濃度を測定した。

また、連続実験期間中の 4 月～7 月、9 月～11 月、1 月～3 月の期間で、2 週間に 1 回の頻度で各処理工程のスポット採水試料中の溶解性エストロゲンを化学分析により測定した。対象物質は、女性ホルモンの 17β-エストラジール（E2）、その代謝生成物であるエストロン（E1）、合成エストロゲンの 17α-エチニルエストラジオール（EE2）である。なお、試料水中のエストロゲン濃度は、試料水中の SS に由来する微生物により保存中に容易に変化することが考えられるため、試料は採水後直ちにガラス繊維ろ紙（1mm）によりろ過し SS を分離し、ろ液に酸化防止のために試料 1L あたり 1g のアスコルビン酸を添加後メジューム瓶に移し、さらに予め冷蔵庫内に準備した冷水中にメジューム瓶を浸し急冷し、冷蔵保存した。さらに、採水日の翌日中に固相抽出による濃縮までを実施した。

E2, E1, EE2 は、固相抽出－液体クロマトグラフ質量分析法[5] により測定した。測定条件、検出下限値、標準物質の添加回収率などの詳細は文献[6] のとおりである。

**2）実験結果**

図-2、3、4、5 に連続実験期間中に測定された、流入下水、二次処理水、高度処理水の SS、DOC、$NH_4^+$-N、$NO_3^-$-N の各濃度の経日変化を示す。なお、実験期間中の標準活性汚泥法プラントのエアレーションタンクの

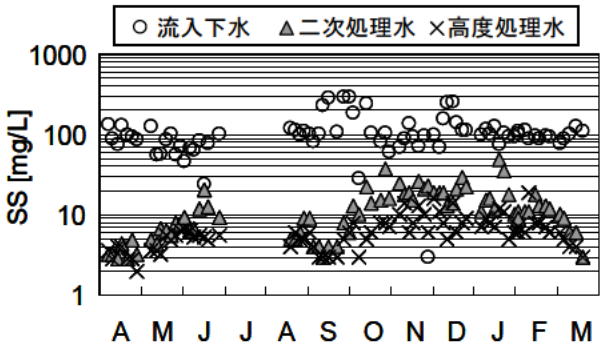


図-2　浮遊物質濃度の経日変化

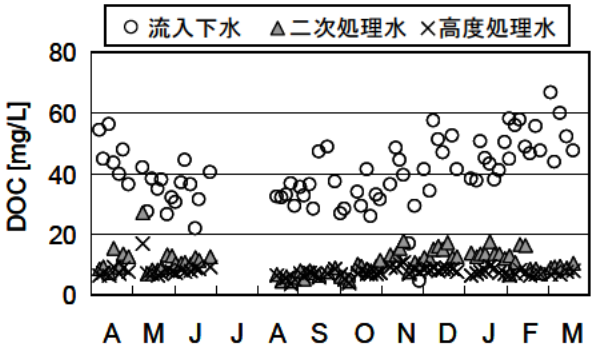


図-3　溶解性有機炭素濃度の経日変化

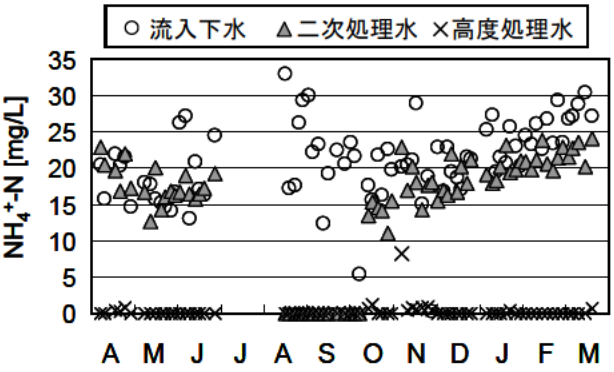


図-4 アンモニア性窒素濃度の経日変化

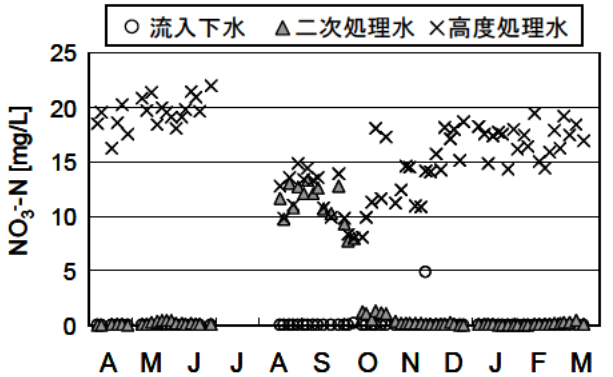


図-5　硝酸性窒素濃度の経日変化

MLSS 濃度は 1500～2000mg/L の間を推移した。

標準活性汚泥法実験プラントでは、硝化は高水温期（8 月～10 月中旬）のみ観察された。一方、微生物担体好気処理槽を通過した高度処理水では、年間を通じて $NH_4^+$-N はほとんど観測されず、ほぼ完全な硝化が進行していた。$NO_2^-$-N 濃度は二次処理水で 1mgN/L を超える値が 1 回、0.5mg～1.0mgN/L の値が 5 回観測されたが、高度処理水では 0.5mg/L を超える値は観測されず、低い濃度に抑えられていた。図-6 に連続実験期間中に測定された、流入下水、二次処理水、高度処理水の $D\text{-}PO_4^{3-}$-P 濃度の経日変化を示す。硝化が進行した高水温期に 0.5mg/L を超える高い濃度が観測されることがあったが、その他の時期はおおむね 0.2mg/L 以下であり、安定した生物脱リンが達成されていた。

図-7、8 に連続実験期間中に測定された、流入下水、二次処理水、高度処理水の溶解性 17β-エストラジオール（D-E2）、エストロン（D-E1）の各濃度の経日変化を示す。図中には、各試料分析時に検討した検出下限値（実線）、定量下限値（点線）を合わせて示した。検出下限値以下の測定結果が得られた場合には検出下限値を、検出下限値以上定量下限値以下の測定結果が得られた場合には測定結果を白抜きで示した。

図 9、10 に D-E2、D-E1 の測定結果の累積頻度を示す。D-E2 は、流入下水では 15 回の測定中 13 回、定量下限値以上の測定結果（3.9～22.2ng/L）が得られたが、二次処理水、高度処理水では定量下限値以上の測定結果は得られず、高度処理導入による除去効率の改善効果を確認することはできなかった。

一方、D-E1 は、流入下水ではすべての試料中から定量下限値以上の濃度で測定結果（17.6～32.3ng/L）が得られ、二次処理水では 15 回の測定中 11 回、定量下限値以上の測定結果（中央値 4.4ng/L、最大値 14.1ng/L）が得られた。高度処理水では 15 回中 2 回定量下限値以上の測定結果が得られ、それぞれ 3.2ng/L、3.4ng/L であり、高

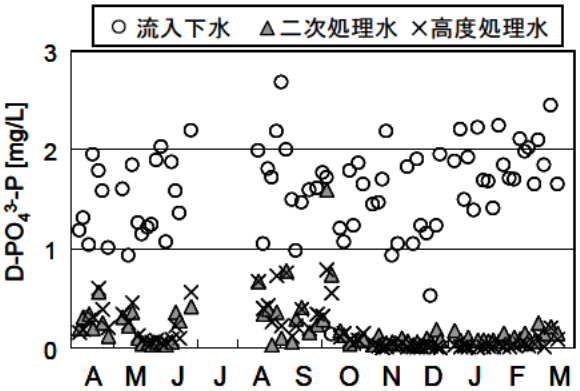


図-6　オルトリン酸態リン濃度の経日変化

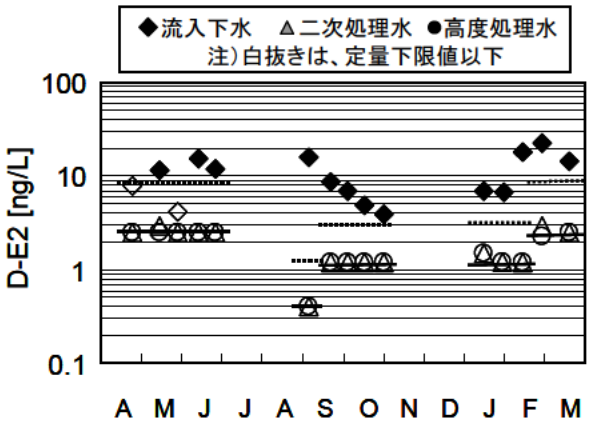


図-7　溶解性 17β-エストラジオール濃度の経日変化

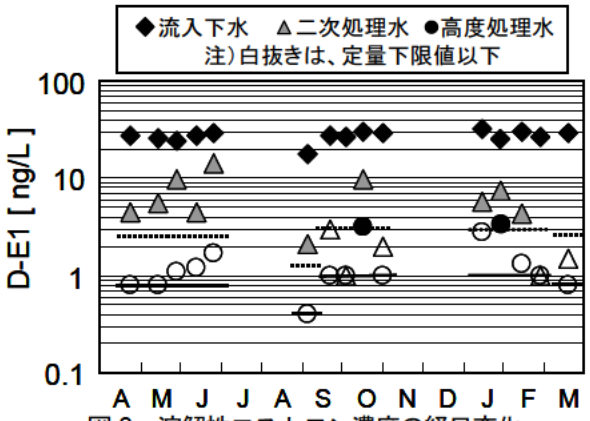


図-8　溶解性エストロン濃度の経日変化

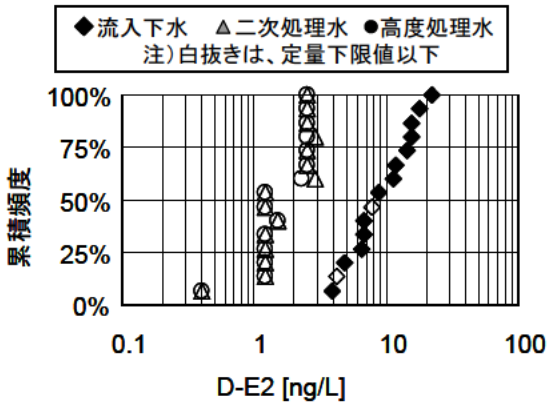


図-9　溶解性 17β-エストラジオール濃度の頻度分布

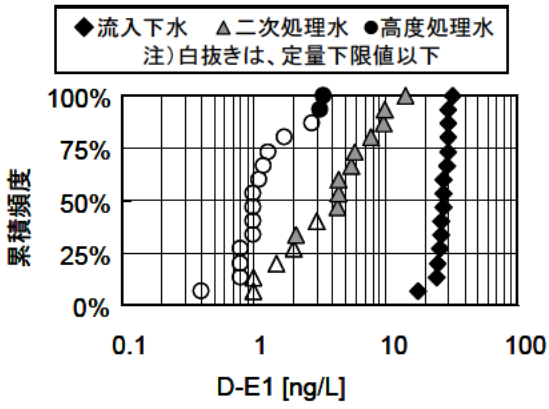


図-10　溶解性エストロン濃度の頻度分布

度処理導入による除去効率の改善を確認できた。また、高度処理水の測定結果は、英国環境保護庁が提案している予測無影響濃度（PNEC）値 3-5ng/L と同程度以下であった。

D-EE2 は、検出下限値は 0.6ng/L 程度の精度で分析を行ったが、流入下水、二次処理水、高度処理水のいずれの試料においても検出されなかった。

**3）考察**

図 11、12 に D-E2、D-E1 の各処理工程における実態を示す。流入下水と一次処理水の濃度分布を比較すると大きな差はなく、最初沈殿池での変化はほとんど無いと考えられる。一次処理水と AT-1（エアレーションタンク第 1 槽（嫌気条件））流出水を比較すると、濃度が大きく上昇する場合が見られ、嫌気条件下で D-E2、D-E1 が増加する機構の存在が考えられる。AT-1 流出水と AT-4 流出水を比較すると濃度が大きく減少しており、好気条件下で水中から除去されていた。

D-E1 濃度については、DO 供給の行われていない最終沈殿池を通過すると D-E1 濃度がわずかに増加する傾向が見られた。さらに、曝気の行われている微生物担体好気処理槽を通過すると D-E1 濃度が顕著に小さくなった。図 13 には、二次処理水、高度処理水中の DO 濃度と D-E1 濃度の関係を整理した。

以上のことから、D-E1 を効率的に除去するためには、十分な DO 供給により、最終工程における DO 濃度の低下を防ぐように管理することが重要であると考えられる。

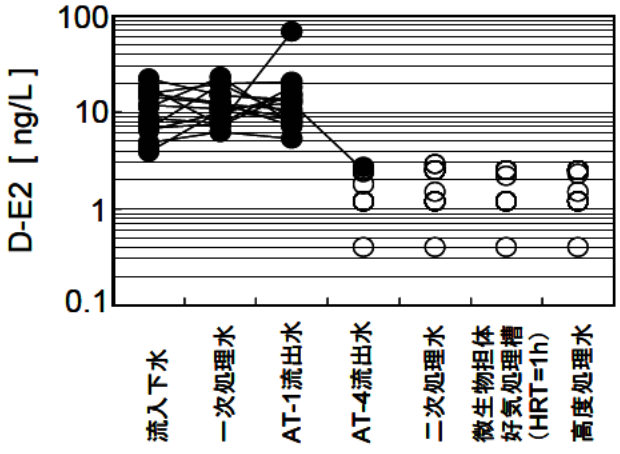



図 11　溶解性 17β-エストラジオール濃度の分布

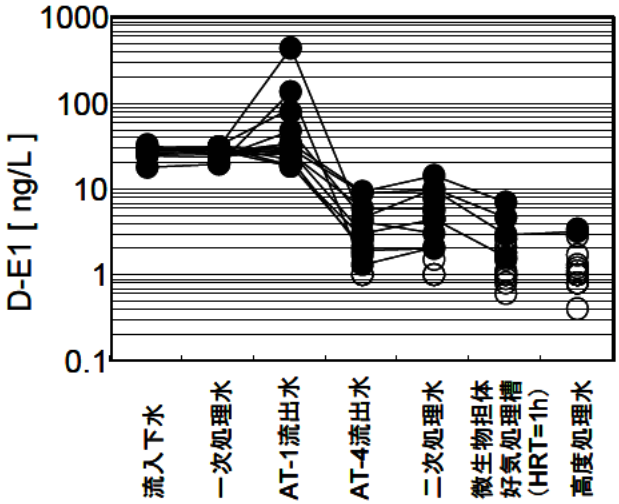



図 12　溶解性エストロン濃度の分布

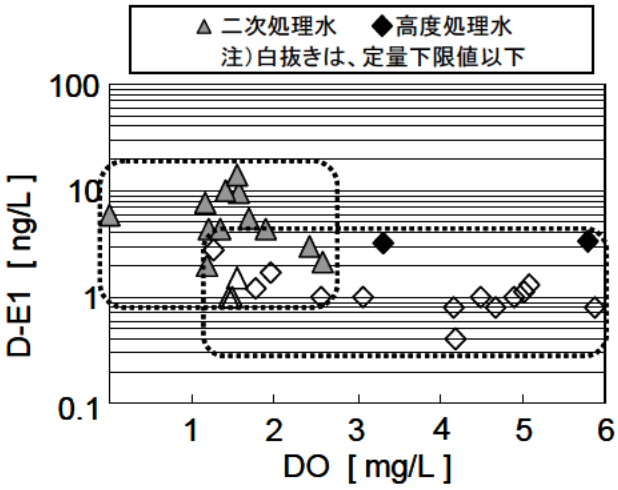



図 13　溶存酸素濃度と溶解性エストロン濃度の関係

## 2．下水処理レベルが魚類雌性化に及ぼす影響

### 2．1．はじめに

雄メダカを下水処理水に曝露した場合、エストロゲン様活性が 10ng/L を超えるとビテロゲニンが誘導される傾向にあるが、ビテロゲニンを確実に抑制するための処理法の評価や、処理が悪化した場合に魚類に与える影響の検討は十分ではない。

このため、下水処理レベルの異なる 3 種類の処理法を選定し、得られた処理水にメダカを曝露して、ビテロゲニン誘導、エストロゲン応答遺伝子発現量、精巣卵形成の有無を調べ、下水処理レベルが魚類雌性化に及ぼす影響について調査した。

## ２．２．実験方法

曝露試験：活性汚泥処理水の砂ろ過水(AS+s)、活性汚泥処理水の流動床型担体処理水(ASC)、高負荷運転の活性汚泥処理水(h-AS)を用い、表-1 の条件で試験を行った。

表-1　曝露試験条件

| | |
|---|---|
| 供試魚 | 雄メダカ(*Oryzias latipes*)<br>d-rR 系，5ヶ月齢 |
| 試験方式 | 流水式 |
| 換水率 | 約4回 / day |
| 曝露期間 | 12 週 |
| 水温 | 24 ± 2 C |
| 照明 | 16 h明，8 h暗 |
| 給餌 | 配合飼料，3 回 / 日 |

水質測定：エストロゲン様活性値を YES アッセイで、無機態窒素濃度を IC で 3 回/週測定した。また pH、DO、電気伝導度、濁度を多項目水質計で毎日測定した。

ビテロゲニン（VTG）タンパク濃度測定：各条件 10-12 匹ずつ肝臓を摘出し、ELISA 法で測定した。

エストロゲン応答遺伝子発現量測定：各条件 5-12 匹ずつ RNAlater(Ambion)中で肝臓、生殖腺を摘出後、RNA 抽出、逆転写を行い、リアルタイム PCR 法で、肝臓中の VTG(Ⅰ、Ⅱ)、コリオゲニン(CHG(H、Hminor、L))、エストロゲンレセプター遺伝子の発現量、および精巣中の ZPC5 遺伝子の発現量を測定した。

精巣卵観察：各条件 5 匹ずつ頭部と肝臓を摘出後、Davidson 固定液、10%中性緩衝ホルマリン溶液で固定した。脱水、パラフィン包埋、薄切後、ヘマトキシリン・エオシン二重染色を施して組織標本を作製し、顕微鏡観察した。

## ２．３．実験結果

水質：エストロゲン濃度は、図 14 に示すとおり、h-AS における値が高く変動も大きかった。AS+s は一時期高い濃度が測定されたものの、全般的に低い値で推移しており、ASC は、コンスタントに 1ngE2./L 未満の低い濃度が達成されていた。

VTG タンパク濃度：図 15 に VTG 濃度の経日変化を示す。エストロゲン様活性値の高かった h-AS において、4 週目以降、高い VTG 濃度が観察されたが、AS+s および ASC においては、濃度の上昇は見られなかった。

エストロゲン応答遺伝子発現量：図 16 に示すように、VTG Ⅰ遺伝子は h-AS において有意に増加し、AS+s においても 12 週目に増加が見られた。一方、ASC においては、コントロールと同程度であり、発現が抑えられていた。

精巣卵：どの条件でも精巣卵は観察されなかった。

以上のように、流動床型担体処理による高度処理を行うことによって、確実にエストロゲン濃度を低下させ、下水処理水の雄メダカへの雌性化影響を防止することが可能であった。

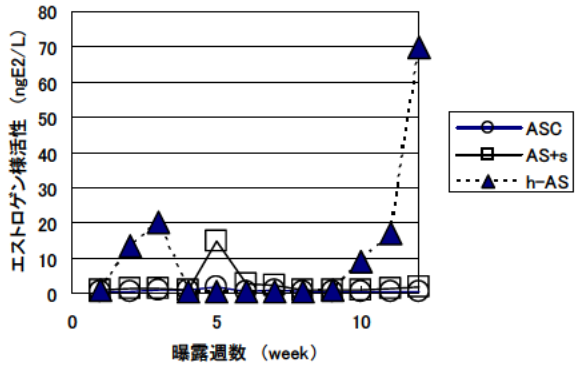



図 14　曝露試験における各種試験水のエストロゲン様活性値

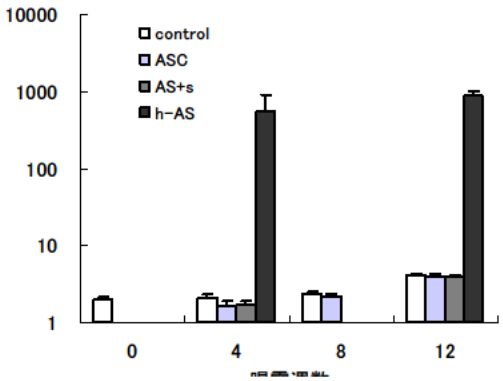



図 15　雄メダカの肝臓中 VTG 濃度の経日変化

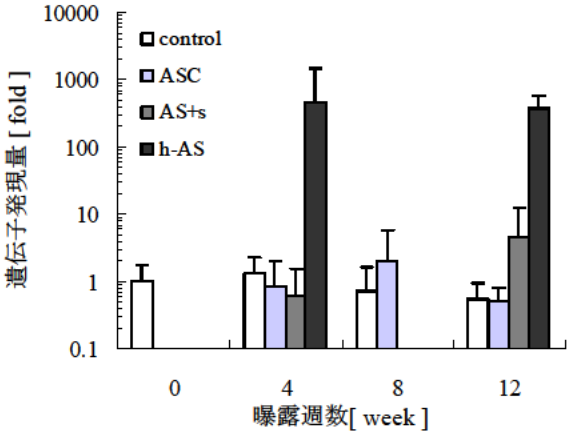



図 16　雄メダカの VTG Ⅰ遺伝子発現量の経日変化

## ２．下水道における医薬品の存在実態の把握

### ２．１　目的

最近、我が国においても医薬品、化粧品等日常生活において多く使用されている化学物質の環境汚染に関する調査・研究が数多く見られるようになってきた。河川、湖沼等に生息する生物へのインパクトを配慮し、下水処理水中に残留する医薬品の濃度レベルについても関心が持たれている。下水処理場は、生活排水、工場排水等を受け入れ汚濁物質を除去・削減（一般的には生物処理）したのち環境へ戻している施設であり、環境負荷削減に寄与している重要な施設である。本研究は、16 処理場において医薬品（92 物質）の下水処理場での実態把握調査を行い、関心が持たれているこれら医薬品に対する下水処理場での除去の可能性（除去特性）について調査を行ったものである。

### ２．２　調査方法

#### （１）　調査対象医薬品

人・動物用医薬品から解熱鎮痛剤、解熱鎮痛消炎剤、不整脈用剤、気管支拡張剤、鎮痛・消炎剤、抗てんかん剤、殺菌剤、抗生物質、高脂血症用剤、合成抗菌剤、寄生虫用剤、防虫剤、鎮暈剤等 92 物質（表-2）を調査対象医薬品とした。選定した医薬品は，薬事工業生産動態統計年報[7)] で生産量が多く一般的に用いられていると考えられる医薬品に我が国でこれまで検出例のある物質を加えたものである。

#### （２）　分析方法

調査対象医薬品 92 物質の分析方法（一斉分析）は、小西ら[8)]、小森ら[9)] の方法に変更を加え以下に示す前処理方法、測定方法に従い分析し絶対検量線法により定量した。

試料（約 200-500mL）をガラス繊維ろ紙（GF/F、粒子保持能 0.7μm）を用いてろ過した。ろ液は、予めメタノール 5mL と希塩酸 10mL でコンディショニングした固相カートリッジ（Oasis HLB Plus）に通水し、希塩酸で洗浄した後、吸引と遠心分離により固相カートリッジを脱水し、メタノール 5mL で溶出した。メタノール溶出液を濃縮乾固した後、アセトニトリル/水（0.1%ギ酸含有）に再溶解し、遠心分離の上澄み液を LC-MS/MS 測定検液とした。ろ紙上の残渣は、メタノールで超音波抽出し、抽出したメタノール溶液を濃縮乾固した後、アセトニトリル/水（0.1%ギ酸含有）に再溶解し、遠心分離の上澄み液を LC-MS/MS 測定検液とした。LC-MS/MS 測定条件、MS/MS 測定に必要なイオン化極性（Positive、Negative）、測定イオン及びコリジョンエネルギーは、予め希釈した各単品標準溶液を用いて決定した。

#### （３）　調査処理場の概要

調査処理場は、標準活性汚泥法の処理場が 7 ヶ所（1,500～27,000m³/d）、標準活性汚泥法+凝集剤添加+急速ろ過の処理場（13,000m³/d）、標準活性汚泥法＋高速エアレーション沈殿池の処理場（51,000m³/d）、凝集剤添加活性汚泥法の処理場（120,000m³/d）、嫌気好気活性汚泥法+急速砂ろ過+活性炭の処理場（5,000m³/d）、嫌気好気活性汚泥法の処理場（5,600m³/d）が各 1 ヶ所、オキシデーションディッチ法（OD 法）の処理場が 4 ヶ所（220～1,000m³/d）である。また、これらの処理場は、流域下水道が 4 ヶ所でその他は単独公共下水道である。

これらの処理場において平成 19 年 12 月 4 日と 5 日に試料採取を行った。試料採取時に測定した流入下水のｐＨは 6.9～8.1、放流水のｐＨは 6.8～7.2 であった。放流水の透視度は 2 処理場（35cm、46cm）を除き、他の処理場は 50cm 以上であった。また、流入水の導電率は 43.1～181mS/m、放流水の導電率は 42～94.3mS/m であった。

### ２．３　調査結果

16 処理場の流入水及び放流水の医薬品（92 物質）調査結果を集計し、最小値、25%値、中央値、75%値、最大値を求めた。流入水の結果を 75%値の高い順に並べ図-17 に示した。放流水の結果は流入水と同じ順に並べ図-18 に示した。

調査した 92 物質中、流入水から 86 物質、放流水から 85 物質が検出された。流入水から検出された物質で最も低濃度の医薬品は carbamazepine（抗てんかん剤）の 1.2ng/L、最も高濃度の医薬品は caffeine（強心剤）の約 63,000ng/L であった。一方、放流水から検出された物質で最も低濃度の医薬品は diclazuril（抗コクシジウム剤）の 0.6ng/L、最も高濃度の医薬品は sulpiride（消化性潰瘍用剤）の約 4,500ng/L であった。

流入水及び放流水の中央値が検出下限値以上の 62 物質について下水処理による医薬品の除去率を求めた（表-3）。除去率が 100%の acetaminophen（解熱鎮痛消炎剤）、prednisolone（副腎ホルモン剤）、caffeine（強心剤）の 3 物質を含む 16 物質が除去率 80%以上、60%以上 80%未満は 15 物質、40%以上 60%未満は 6 物質、10%以上 40%未満は 8 物質であった。また、除去率が-10%から 10%で下水処理により殆ど除去されない物質は 4 物質あった。除去率が大きくマイナスとなり下水処理を受けることによって検出されるようになった医薬品が 12 物質あった。なかでも carbamazepine（抗てんかん剤）、ethenzamide（解熱鎮痛消炎剤）、oleandmycin（抗生物質）の 3 物質は、除去率が-100%を超えており流入水に比べ放流水で

表-2　調査対象医薬品（92 物質）

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | acetaminophen | 解熱鎮痛消炎剤 | 人用 | 47 | sulpiride | 消化性潰瘍用剤 | 人用 |
| 2 | antipyrine | 解熱鎮痛消炎剤 | 人用 | 48 | flovoxate | 他の泌尿生殖器官,肛門用薬 | 人用 |
| 3 | atenolol | 不整脈用剤 | 人用 | 49 | amoxicillin | 抗生物質 | 両用 |
| 4 | carbamazepine | 抗てんかん剤 | 人用 | 50 | dipyridamole | 血管拡張剤 | 人用 |
| 5 | clarithromycin | 抗生物質 | 人用 | 51 | furosemide | 利尿剤 | 人用 |
| 6 | clenbuterol | 気管支拡張剤 | 両用 | 52 | verapamil | 血管拡張剤 | 人用 |
| 7 | clofibric acid | ｸﾛﾌｨﾌﾞﾗｰﾄの代謝物 | 人用 | 53 | diltiazem | 血管拡張剤 | 人用 |
| 8 | crotamiton | 鎮痛,鎮痒,収れん,消炎剤 | 人用 | 54 | tolbutamide | 糖尿病用剤 | 両用 |
| 9 | cyclophosphamide | 抗悪性腫瘍用薬 | 人用 | 55 | carbazochrome | 止血剤 | 人用 |
| 10 | diclofenac | 鎮痛,鎮痒,収れん,消炎剤 | 人用 | 56 | bromovalerylurea | 抗不安剤 | 人用 |
| 11 | N,N-diethyl-m-toluamide | 昆虫忌避剤 | 人用 | 57 | spironolactone | 利尿剤 | 人用 |
| 12 | disopyramide | 不整脈用剤 | 人用 | 58 | griseofulvin | 主にカビ作用剤 | 両用 |
| 13 | ethenzamide | 解熱鎮痛消炎剤 | 人用 | 59 | diphenidol | 鎮暈剤 | 人用 |
| 14 | fenoprofen | 解熱鎮痛剤 | 人用 | 60 | chlorpromazine | 神経系用剤 | 両用 |
| 15 | ibuprofen | 解熱鎮痛消炎剤 | 人用 | 61 | nalidixic acid | 合成抗菌剤 | 両用 |
| 16 | ifenprodil | 他の循環器官用薬 | 人用 | 62 | dextromethorphan | 鎮咳剤 | 人用 |
| 17 | indomethacin | 解熱鎮痛消炎剤 | 人用 | 63 | acetazolamide | 利尿剤 | 人用 |
| 18 | isopropylantipyrine | 解熱鎮痛消炎剤 | 人用 | 64 | trimethoprim | 合成抗菌剤 | 両用 |
| 19 | ketoprofen | 解熱鎮痛消炎剤 | 両用 | 65 | ampicillin | 抗生物質 | 両用 |
| 20 | mefenamic acid | 解熱鎮痛消炎剤 | 人用 | 66 | prednisolone | 副腎ホルモン剤 | 両用 |
| 21 | metoprolol | 降圧剤 | 人用 | 67 | tolperisone | 鎮けい剤 | 人用 |
| 22 | naproxen | 解熱鎮痛消炎剤 | 両用 | 68 | amitriptyline | 神経系用剤 | 人用 |
| 23 | p-phenylphenol | 殺菌剤 | 人用 | 69 | promethazine | 抗ヒスタミン剤 | 両用 |
| 24 | pindolol | 不整脈用剤 | 人用 | 70 | imipramine | 神経系用剤 | 人用 |
| 25 | propranolol | 不整脈用剤 | 人用 | 71 | metoclopramide | 他の消化器官用薬 | 両用 |
| 26 | salbutamol | 気管支拡張剤 | 両用 | 72 | scoporamine | 鎮けい剤 | 人用 |
| 27 | sotalol | 不整脈用剤 | 人用 | 73 | chlormadinone acetate | 混合ホルモン | 両用 |
| 28 | theophylline | 気管支拡張剤 | 人用 | 74 | mepirizole | 解熱鎮痛消炎剤 | 人用 |
| 29 | terbutaline | 気管支拡張剤 | 人用 | 75 | pirenzepine | 消化性潰瘍用剤 | 人用 |
| 30 | benzylpenicillin | 抗生物質 | 両用 | 76 | fulfenamic acid | 解熱鎮痛消炎剤 | 人用 |
| 31 | chlortetracyclin | 抗生物質 | 両用 | 77 | neospiramycin | 抗生物質 | 動物用 |
| 32 | danofloxacin | 抗生物質 | 動物用 | 78 | thiamphenicol | 合成抗菌剤 | 両用 |
| 33 | diclazuril | 抗コクシジウム剤 | 動物用 | 79 | chloramphenicol | 抗生物質 | 両用 |
| 34 | nicarbazin | 内寄生虫用剤 | 動物用 | 80 | primidone | 抗てんかん剤 | 人用 |
| 35 | oxytetracycline | 抗生物質 | 両用 | 81 | phenytoin | 抗てんかん剤 | 人用 |
| 36 | 2-quinoxalinecarboxylic acid | ｶﾙﾊﾞﾄﾞｯｸｽの代謝物 | 動物用 | 82 | haloperidol | 神経系用剤 | 人用 |
| 37 | sarafloxacin | 抗生物質 | 動物用 | 83 | pentoxifylline | 血管拡張剤 | 人用 |
| 38 | sulfadimidine | ｻﾙﾌｧ剤 | 動物用 | 84 | caffeine | 強心剤 | 人用 |
| 39 | sulfadimethoxine | ｻﾙﾌｧ剤 | 動物用 | 85 | bezafibrate | 高脂血症用剤 | 人用 |
| 40 | sulfamethoxazole | 他の化学療法剤 | 両用 | 86 | levofloxacin | 合成抗菌剤 | 両用 |
| 41 | sulfamonomethoxine | ｻﾙﾌｧ剤 | 動物用 | 87 | azithromycin | 抗生物質 | 人用 |
| 42 | tetracyclin | 抗生物質 | 両用 | 88 | phenobarbital | 催眠鎮静剤,抗不安剤 | 人用 |
| 43 | oleandmycin | 抗生物質 | 動物用 | 89 | phenacetin | 解熱鎮痛消炎剤 | 人用 |
| 44 | kitasamycin | 抗生物質 | 両用 | 90 | methoxsalen | 他の外皮用剤 | 人用 |
| 45 | josamycin | 抗生物質 | 両用 | 91 | dexamethasone | 副腎皮質ホルモン剤 | 人用 |
| 46 | novobiocin | 抗生物質 | 動物用 | 92 | dexamethasone acetate | 副腎皮質ホルモン剤 | 人用 |

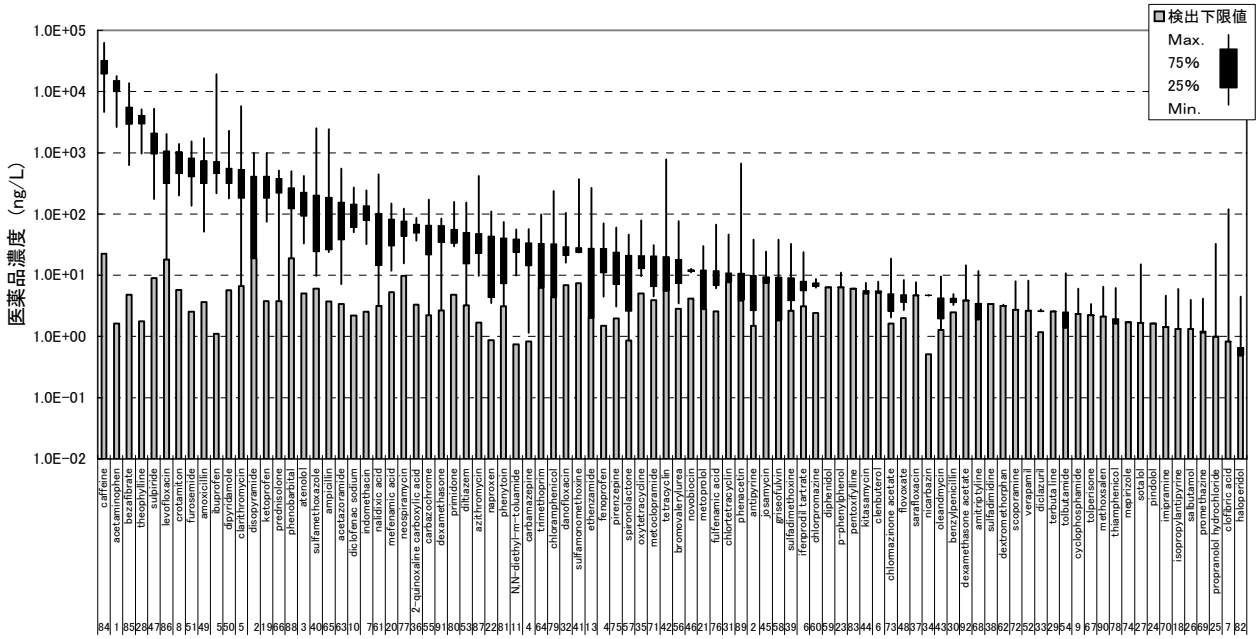



図-17　流入水における医薬品調査結果

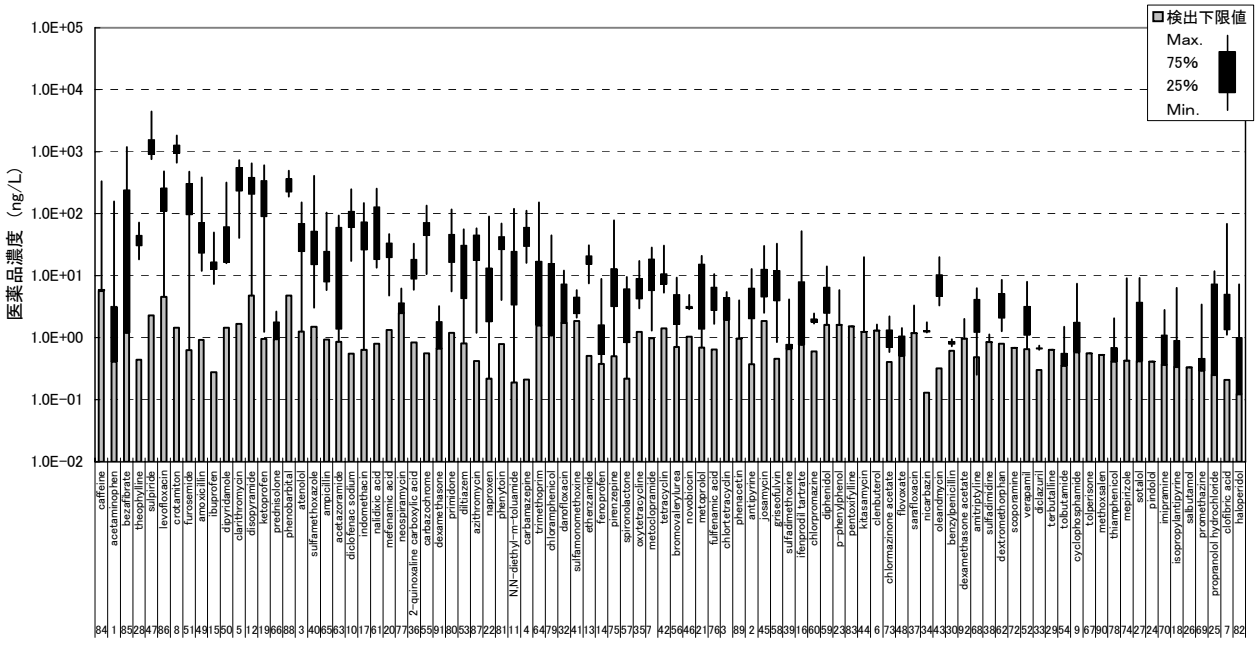



図-18　放流水における医薬品調査結果

表-3　下水処理における医薬品除去率

| No. | 医薬品名 | 除去率 (%) | No. | 医薬品名 | 除去率 (%) | No. | 医薬品名 | 除去率 (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | acetaminophen | 100 | 46 | novobiocin | 75 | 71 | metoclopramide | 19 |
| 84 | caffeine | 100 | 33 | diclazuril | 74 | 16 | ifenprodil tartrate | 16 |
| 66 | prednisolone | 100 | 34 | nicarbazin | 73 | 75 | pirenzepine | 14 |
| 28 | theophylline | 99 | 3 | atenolol | 73 | 80 | primidone | 8 |
| 91 | dexamethasone | 99 | 60 | chlorpromazine | 73 | 10 | diclofenac sodium | 3 |
| 15 | ibuprofen | 98 | 86 | levofloxacin | 71 | 47 | sulpiride | 3 |
| 85 | bezafibrate | 97 | 53 | diltiazem | 67 | 55 | carbazochrome | -2 |
| 77 | neospiramycin | 96 | 56 | bromovalerylurea | 67 | 68 | amitriptyline | -10 |
| 50 | dipyridamole | 95 | 31 | chlortetracyclin | 65 | 58 | griseofulvin | -14 |
| 49 | amoxicillin | 93 | 57 | spironolactone | 63 | 87 | azithromycin | -18 |
| 14 | fenoprofen | 92 | 35 | oxytetracycline | 59 | 21 | metoprolol | -31 |
| 41 | sulfamonomethoxine | 89 | 22 | naproxen | 56 | 8 | crotamiton | -46 |
| 32 | danofloxacin | 88 | 76 | fulfenamic acid | 54 | 12 | disopyramide | -48 |
| 39 | sulfadimethoxine | 86 | 11 | N,N-diethyl-m-toluamide | 53 | 5 | clarithromycin | -55 |
| 65 | ampicillin | 85 | 20 | mefenamic acid | 47 | 88 | phenobarbital | -63 |
| 48 | flovoxate | 80 | 17 | indomethacin | 40 | 61 | nalidixic acid | -80 |
| 30 | benzylpenicillin | 79 | 2 | antipyrine | 36 | 81 | phenytoin | -93 |
| 73 | chlormazinone acetate | 78 | 40 | sulfamethoxazole | 36 | 4 | carbamazepine | -102 |
| 36 | 2-quinoxaline carboxylic acid | 78 | 79 | chloramphenicol | 33 | 43 | oleandmycin | -119 |
| 64 | trimethoprim | 76 | 19 | ketoprofen | 33 | 13 | ethenzamide | -135 |
| 51 | furosemide | 75 | 63 | acetazoramide | 26 | | | |

は約 2 倍の値を示した。一般に流入水は夾雑物を多く含み分析を妨害することが知られているが、carbamazepine、ethenzamide、oleandmycin 等の除去率が大きくマイナスとなっている 12 物質については、夾雑物が流入水試料の定量に影響したと考えることもできる。また、生体内で抱合体を形成していたものが下水処理を受け脱抱合したことも考えられる。

下水処理方式の違いによる除去特性を把握するため処理方式を標準活性汚泥法（n=7）、OD 法（n=4）、その他（n=5）の 3 つに分類し、流入水濃度と放流水濃度の関係を図-16 に示した。流入水又は放流水のいずれか一方が ND のデータは除いた。個々のプロットは各医薬品に対応する。図-19 では処理方式による際だった傾向は見られないことから、医薬品除去において処理方式の違いは認められなかった。

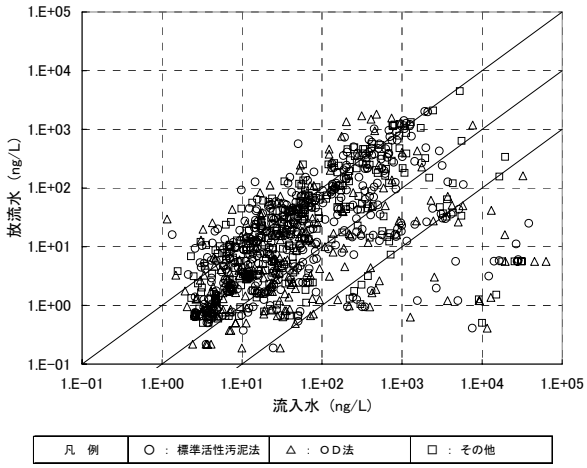



図-19　処理方式による医薬品除去特性

## 3．まとめ

下水処理過程でのエストロゲン類の効率的な除去方法として、標準活性汚泥法実験プラントの後段に好気条件の微生物担体槽と沈殿池を追加することで、高度処理を行った。溶解性エストロゲン類の濃度は、溶解性 17β-エストラジオール（D-E2）については、標準活性汚泥法処理水において定量下限値以下にまで低減されており、追加した高度処理工程の効果を評価することはできなかった。分析における検出下限値を下げる必要があると考えられる。溶解性エストロン（D-E1）については、標準活性汚泥法実験プラント処理水に比べて高度処理水中の D-E1 濃度は低減されており、追加した高度処理工程の効果を確認できた。また、高度処理水中の D-E1 濃度は、予測無影響濃度（PNEC）と同等程度以下に低減させることが可能であることがわかった。溶解性 17α-エチニルエストラジオール（D-EE2）濃度については、いずれの試料水中から検出されず、分析における検出下限値を下げる必要があると考えられる。

さらに、高度処理によって得られた処理水に雄メダカを曝露したところ、ビテロゲニンタンパクの誘導やエストロゲン応答遺伝子の発現は観察されず、本高度処理によって、下水処理水の魚類雌性化影響を確実に防止できることが明らかになった。

16 ヶ所の下水処理場において医薬品の実態把握調査を行った。調査医薬品 92 物質中、流入水から 86 物質、放流水から 85 物質が検出された。流入水と放流水の中央値を用い下水処理場における医薬品の除去率を求めた。中央値が検出下限値以上の 62 物質中 16 物質が除去率 80%以上であった。また、除去率が大きくマイナスとなり下水処理を受けることによって検出されるようになった医薬品が 12 物質あった。下水処理方式を標準活性汚泥法、OD 法、その他の 3 つに分類し、医薬品除去特性の比較を行ったところ、際だった傾向は見られず処理方式の違いによる医薬品除去特性に大きな特徴は認められなかった。

## ＝参考文献＝

1) 岡安祐司, 小森行也, 鈴木穣, 下水処理工程におけるエストロゲン関連物質の変化に与える DO 濃度の影響, 第 42 回下水道研究発表会講演集, pp.64-66, 2005

2) 岡安祐司, 小森行也, 鈴木穣, 活性汚泥処理におけるエストロゲンの挙動について, 第 40 回日本水環境学会年会講演集, pp.247, 2006

3) 岡安祐司, 中田典秀, 小森行也, 鈴木穣, 活性汚泥処理の運転条件とエストロゲンの挙動の関係について, 第 43 回下水道研究発表会講演集, pp.64-66, 2006

4) 岡安祐司、小森行也、鈴木穣(2007) 活性汚泥処理における嫌気条件下のエストロゲンの挙動について、第 41 回日本水環境学会年会講演集、pp.464

5) 日本下水道協会(2002) 下水試験方法（追補暫定版）－2002 年版－、pp.275-299

6) Koya Komori *et al*., Analysis and Occurrence of Estrogen in Wastewater in Japan, *Water Science & Technology* (50) 5, 93-100, 2004

7) 厚生労働省医政局編集, 薬事工業生産動態統計年報, じほう （2004）

8) 小西 他, (2006) 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, pp.73-82

9) 小森 他, (2007) 下水道未整備地域の小河川における医薬品の実態調査,学会誌「EICA」第 12 巻 2/3 号, pp.37-44

# 下水道が水生生物に与える影響に関する研究業務

水質チーム　　上席研究員　　鈴木　穣
主任研究員　　北村　清明
専門研究員　　原田　新

## 第１章　陸域からの栄養塩流入負荷等の影響を受ける水産物と下水道との関係に関する検討
## ＜下水処理水放流水域における下水処理水の拡散状況の検討＞

### １　はじめに

下水処理水は、その放流先の水域とは水温等の物理性状や水質が異なるため、下水処理水放流先の水域において貴重な生物の生息や水産活動等がある場合、対象水生生物に対する処理水の影響を考慮して放流方法を設定する必要がある。適切な放流方法の設定のためには下水処理水の拡散状況や周辺の河川等の影響の度合いを正しく評価する必要があるが、このことに関する知見はこれまでほとんど得られていない。

そこで、シミュレーションモデルを用いて下水処理水放流水域において水質計算を行い、下水処理水の水質、水量、放流口の位置等の条件変更による水域の水質への影響を検討した。

### ２　検討方法

シミュレーションには既報[1)]と同様のモデルを用いた。モデルの概要としては、流動解析のための多層レベルモデルとして仮想海域の海底地形に沿った座標系を設定して 10 層に層分割し、流体力学の基礎方程式（運動方程式、連続の式および水温・塩分の保存式）を差分化することにより解くモデルとした。水質解析モデルとしては、内部生産は考慮せず、陸域から海域へ流入した物質が移流と拡散によって移動し海域内へ広がっていく過程を計算するものとした。水質項目としては、COD、SS、T-N、T-P、名称を特定しない物質（以下、UM）を設定した。なお、既報において用いたモデルからの変更として気象条件（風量・風向、日射）を組み込むとともに、メッシュサイズを細かくし、より精密な計算を目指した。仮想海域の地形条件および陸域からの流入を図-1 に示した。

計算条件としては、高度処理を想定している基本的な条件（以下、基本条件）の他、河川水の水量を 2 倍に増加させた条件（以下、河川水量増加条件）、放流口の位置を沖合約 1km 先の底層に変更した条件（以下、放流口変更条件）、および、標準活性汚泥法を想定した条件（以下、水質変化条件）を設定した。

仮想海域における下水処理水、流入河川 a、流入河川 b、の流量比及び負荷量比は基本条件でそれぞれ、流量比=1:2:15、T-P 負荷量比=0:0.3:21（水質変化条件では 1:0.3:21）、UM 負荷量比=1:0:0 とした。海域を含め、各負荷源の水質等設定条件を表-1 に示す。

冬季の平均的気象条件を想定した。データ解析には、表層 0～10cm の日平均値を用いた。

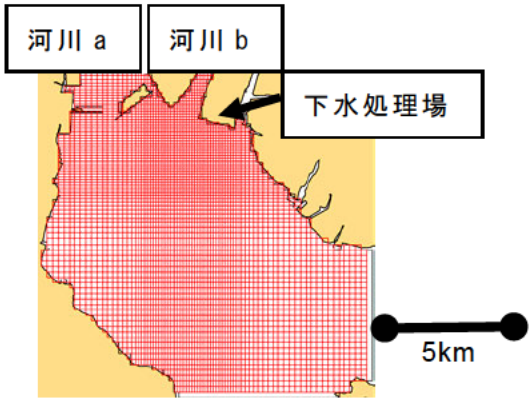



図-1　仮想海域の地形

表-1　各負荷源の水質等設定条件

| | 下水処理水 | 河川 a | 河川 b | 海域 |
|---|---|---|---|---|
| 水温（℃） | 20.7 | 9.95 | 9.02 | 9.66 |
| 塩分（PSU） | 0 | 0 | 0 | 31.73 |
| T-P(mg/L) | 0(0.321) | 0.466 | 0.043 | 0.033 |
| UM(mg/L) | 1 | 0 | 0 | 0 |

※　下水処理水の T-P の設定は、水質変化条件においては括弧内の数値とした。

## ３　検討結果

### ３－１　淡水流入による海域の水温への影響

基本条件と放流口変更条件での水温のシミュレーション結果を図-2 に示す。基本条件においては下水処理水の高水温を反映して、その差は大きくはないものの、周辺海域より高水温となる範囲が南方向に見られた。これに対し、放流口変更条件においては海水温の上昇が見られた海域はほとんどなく、放流口位置の沖合への変更は、海水温の上昇抑制を目的とした場合、その効果は広い範囲に渡って表れることが推測された。

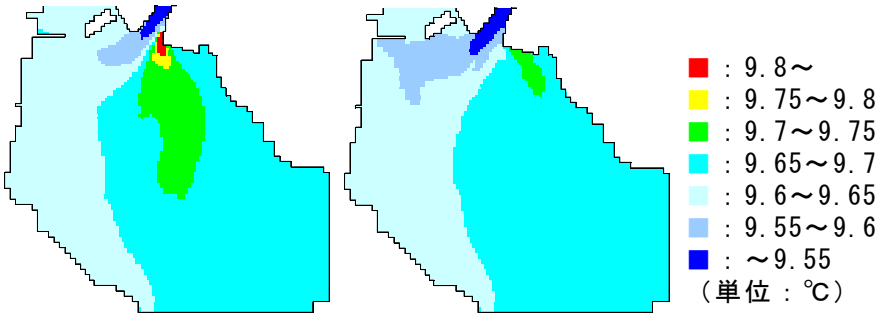



図-2　水温のシミュレーション結果（左：基本条件、右：放流口変更条件）

### ３－２　淡水流入による海域の塩分濃度への影響

基本条件、放流口変更条件、および河川水量増加条件での塩分濃度のシミュレーション結果を図-3 に示す。基本条件において、塩分濃度がやや低い海域が広い範囲に見られ、放流口変更条件においてもその傾向は変わらない。一方、河川水量増加条件においては、これらの条件よりさらに低い塩分濃度となっている。冬期においては下水処理水の水温が高いために表層付近を拡散し、これが海域表層の塩分濃度低下要因となるとも考えられているが、放流口の位置を変更しても塩分濃度が低下する範囲に変化はなく、河川水量が増加するとさらに塩分濃度が低下する結果となったことから、水量の大きい河川が下水処理場の近傍に存在する場合には、下水処理水の高水温にもかかわらず海域の塩分濃度は河川の状況に大きく左右されていることが推測される。

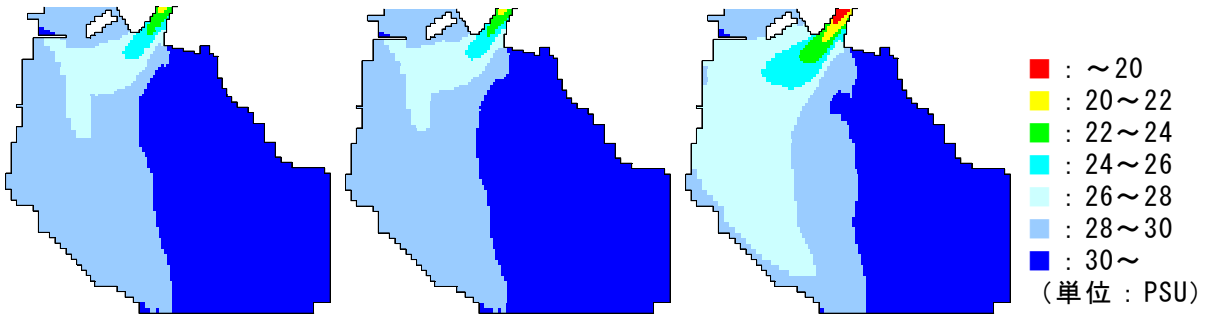



図-3　塩分濃度のシミュレーション結果

（左：基本条件、中：放流口変更条件、右：河川水量増加条件）

### ３－３　淡水流入による海域の水質への影響

基本条件、水質変化条件、および放流口変更条件での T-P 濃度のシミュレーション結果を図-4 に示す。基本条件においては、下水処理法として高度処理を想定しており、下水処理水中に T-P は含まれない条件設定となっている。このため、T-P の挙動により、下水処理水と河川水の挙動の推測ができると考えられる。

河川水量増加条件においては、陸域からの負荷が増加すると考えられるにもかかわらず、海域の濃度変化は少ない。一方、水質変化条件においては、変化する値は小さいものの、広い範囲での濃度の変化が見られる。ただし、これは河川水の流れに運ばれている可能性もあり、その影響範囲については、河川の状況により変化するものと考えられる。逆に、河川水の流れを利用すれば、処理条件のコントロールによる放流水の水質の変化を海域の広範囲に及ぼすことができる可能性があると考えられる。

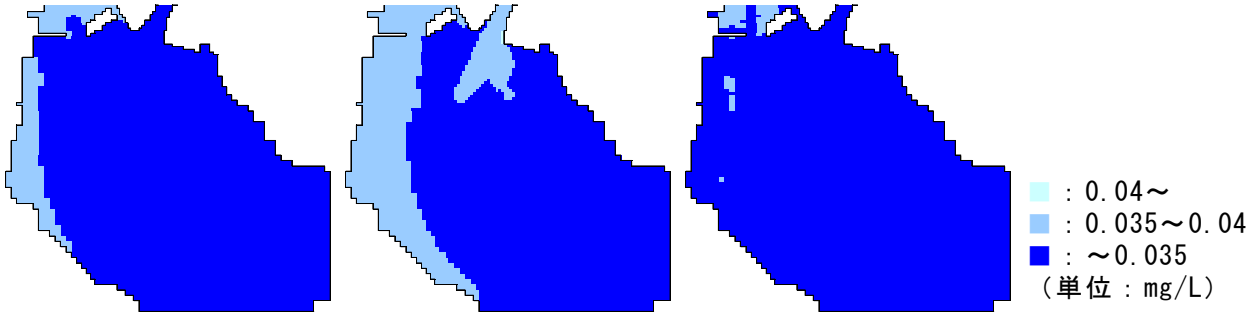



図-4　T-P 濃度のシミュレーション結果

（左：基本条件、中：水質変化条件、右：河川水量増加条件）

### ３－４　下水処理水にのみ含まれる物質の海域への拡散

基本条件と放流口変更条件での下水処理水にのみ含まれる物質である UM のシミュレーション結果を図-5 に示す。基本条件において、UM は海域の広範な範囲に拡散していた。これは、T-P 同様、河川水の流れに運ばれているためであると推測される。放流口変更条件においては、UM は表層ではほとんど見られなかったため、下水処理水にのみ含まれる物質が海域の表層に拡散することを防止するためには、放流口の位置を変更することが有効であることが示唆された。

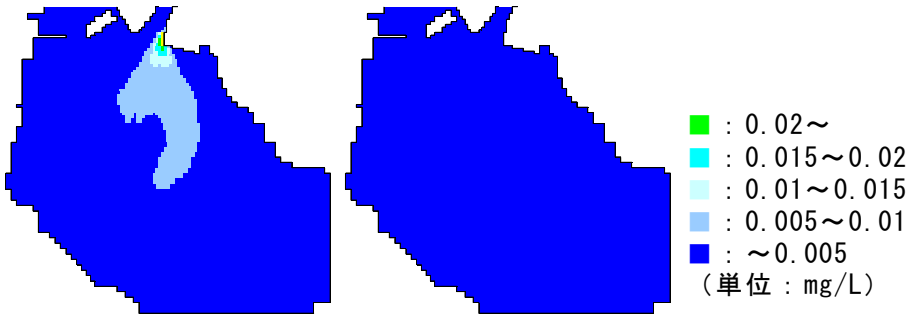



図-5　UM のシミュレーション結果（左：基本条件、右：放流口変更条件）

## ４　まとめ

以上、様々な条件を設定して海域の水質シミュレーションを実施した結果、以下の知見が得られた。

- 水温や下水処理水にのみ含まれる物質のように、下水処理水に起因する海域の水質への影響に関しては、放流口の位置を変更する対策が有効であり、下水処理水の影響を緩和することが可能となることが推測された。
- 塩分濃度のような淡水に起因する海域の水質への影響に関しては、水量の大きい河川が下水処理場の近傍に存在する場合には、下水道管理者の対策は効果が少ないことが示唆された。
- 下水処理水の水質変化による海域の水質への影響に関しては、その増減が表れる範囲は河川水の流れに左右されるものと考えられる。

このように、条件変更による海域の水質変化への影響を把握できたことから、本研究で用いたモデルによるシミュレーションは、下水処理水の適切な放流方法の検討に資するツールとして用いることができると考えられる。

## 参考文献

1）鈴木穣、北村清明、阿部千雅、岡安祐司、北村友一、澤井淳（2007）最適な水環境創造に資する下水道整備のあり方に関する調査，平成 18 年度下水道関係調査研究年次報告書集，29-66

## 第２章　下水処理水中の化学物質が水生生態系に与える影響の検討
## その１　＜毒性情報から水生生態系への影響が高いと考えられる化学物質の下水処理過程における挙動予測＞

### １　はじめに

近年、水環境中の微量化学物質の水生生態系への影響が懸念されているが、環境水中に含まれる微量化学物質は非常に種類が多く、分析が困難な物質も含まれている。そこで、土木研究所が開発したモデルを用いて水生生物への影響が明らかではない化学物質の下水処理過程における挙動を予測し、今後情報を収集すべき物質のスクリーニング等に資する資料を得ることとした。

### ２　検討方法

#### ２－１　挙動予測を行う物質の選択

挙動予測を行う物質の候補としては、土木研究所が作成したデータベースである、
「人用医薬品　物理・化学的情報集」（技報堂出版、平成 17 年 10 月）
「水系を対象とした医薬品等の検出技術および除去技術の開発」（土木研究所、平成 19 年 3 月）
に掲載の 217 物質から選択することとした。

これらの物質のうち､構造の類似したものについては代表的な物質を選択し､流通量等を鑑みて、29 物質を選択した。これらのうち、生分解を考慮する 12 物質を第一優先物質とし、生分解を考慮しない 17 物質を第二優先物質とした。選択した物質を表-2 に示す。

表-2　挙動予測計算対象物質とそれらの生分解速度および汚泥吸着係数
（左：生分解を考慮する第一優先物質、右：生分解を考慮しない第二優先物質）

| 物質名 | 生分解速度 Kbio L/mgSS/h | Kow |
|---|---|---|
| アスピリン※ | 2.08E-04 | 15.49 |
| アジスロマイシン※ | 1.67E-05 | 10471.29 |
| ベザファイブレート | 3.13E-05 | 17782.79 |
| カフェイン | 2.90E-05 | 0.85 |
| クラリスロマイシン※ | 3.33E-05 | 1445.44 |
| ジルチアゼム | 2.42E-05 | 501.19 |
| クロモグリク酸ナトリウム | 2.56E-05 | 0.00 |
| エテンザミド | 5.45E-05 | 5.89 |
| イブプロフェン※ | 1.04E-03 | 9332.54 |
| レボフロキサシン | 8.20E-06 | 0.41 |
| オセルタミビル | 5.17E-05 | 8.91 |
| トリクロサン | 1.07E-05 | 57543.99 |

| 物質名 | Kow |
|---|---|
| アシクロビル | 0.03 |
| ブロチゾラム | 616.60 |
| カモスタット | 8.91 |
| セフォチアム | 0.04 |
| シラスタチン | 0.10 |
| エピナスチン | 3235.94 |
| フルコナゾール | 1.78 |
| プロピオン酸フルチカゾン | 309.03 |
| 硝酸イソソルビド | 20.42 |
| L-カルボシステイン | 0.00 |
| ロサルタンカリウム | 1023.29 |
| ニザチジン | 0.37 |
| オランザピン | 165.96 |
| パロキセチン | 54954.09 |
| ピルシカイニド | 89.13 |
| リバビリン | 0.01 |
| スルバクタム | 3.16 |

#### ２－２　下水処理過程における挙動予測手法

##### (1)化学物質の下水処理過程における挙動予測モデル

土木研究所が開発した化学物質の下水処理過程における挙動予測モデル [1)]は、生分解、汚泥への

吸着、大気への揮発に関する反応速度式を有し、沈殿池、生物反応タンクといった下水処理過程のフローを設定して、物質収支を考慮した活性汚泥モデルに類似の構造となっている。以下にこのモデルの反応速度式の詳細を示す。

a.生化学反応

① BOD

下水中の BOD 物質の生化学反応（好気反応のみ）については、以下の反応式を利用した。

BOD 物質　＋　酸素　＋　アンモニア　→　微生物（汚泥）＋　二酸化炭素　＋　水

$$C_{18}H_{19}O_9N + 0.5292\,NH_3 + 9.854\,O_2 = 1.529\,C_5H_7O_2N + 10.354CO_2 + 4.942\,H_2O \quad (1)$$

② 硝化

生物的な硝化反応式として以下の式を用いた。

$$NH_4^+ + 1.86O_2 + 1.98HCO_3^- = 0.021\,C_5H_7O_2N + 0.98NO_3^- + 1.88H_2CO_3 + 1.041\,H_2O \quad (2)$$

③ 有機物の微生物分解

有機物の好気性従属栄養細菌による生化学的分解反応は、一般式として以下のように記述できる。

反応式：

$$C_xH_yO_zN_wCl_v + a\,NH_3 + b\,O_2 = c\,C_5H_7O_2N + d\,CO_2 + e\,H_2O + f\,HCl \quad (3)$$

反応の説明：

有機物　＋　窒素源　＋　酸素　＝　微生物細胞（VSS）＋　二酸化炭素＋　水 ＋塩酸

生物反応の場合、化学量論係数 a、b、c、d、e、f は、有機物の種類および微生物の種類によって異なるが、これらの係数のうち一つを定めると、他の係数の計算が可能となる。排水処理において、有機物の汚泥転換率（g：有機物あたりの生成される VSS 重量、$Y_{X/S}$）はよく利用されている。この $Y_{X/S}$ と係数 c の関係は次のとおりである。

$$Y_{X/S} = \frac{cM_b}{M_S} \quad (4)$$

ここで、$M_b$（＝113）および$M_S$は微生物および有機基質の Mol 重量である。

単位 TOC あたりの VSS を表わすと：

$$Y_{X/C} = \frac{cM_b}{12X} \qquad c = Y_{X/C}\frac{12X}{113} \tag{5}$$

$Y_{X/C}$ は、ほとんどの細菌および有機物の場合 0.7～1.1 の間にあり、大きくは変化しないが、多少の変化でも反応式が変わる。ある有機物において、$Y_{X/C}$ および $Y_{X/S}$ の値を決める因子はその有機物の完全酸化に伴う Gibbs 自由エネルギー変化（ΔG）である。ΔG と $Y_{X/S}$ の関係は次のとおりである。

$$Y_{X/S} = 0.108\Delta G \tag{6}$$

ここで、 $Y_{X/S}$ の単位は g 細胞／mol 有機物、ΔG の単位は kcal / mol 有機物である。

このように、式(3)および(4)によって、係数 c を定めることが可能で、他の化学量論係数の計算も可能となる。

通常、下水中の有機物の化学式は $C_{18}H_{19}O_9N$（元素分析からの推定）であり、微生物細胞の有機物の化学式は $C_5H_7O_2N$ である。これらを利用して、必要となる生化学反応式を求めると式(1)のとおりとなる。

BOD 物質の分解速度およびアンモニアの硝化速度は Monod 式で、PPCP 物質の分解速度は式(9)のように 2 次反応式で示した。

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{\mu_{\max,H}}{Y_{XH/S}}\frac{S}{K_S+S}\frac{DO}{DO+K_{DO,H}}X_H + \frac{k_{dH}}{Y_{XH/S}}X_H + \frac{k_{dA}}{Y_{XA/S}}X_A \tag{7}$$

$$\frac{dNH_3}{dt} = -\frac{\mu_{\max,A}}{Y_{XA/NH3}}\frac{NH_3}{K_{NH}+NH_3}\frac{DO}{DO+K_{DO,A}}X_A - \frac{\mu_{\max,H}}{Y_{NH3/S}}\frac{S}{K_S+S}\frac{DO}{DO+K_{DO,H}}X_H - \sum_{i=1}^{12}k_i Y_{NH3/i}C_i X_H + \frac{k_{dH}}{Y_{XH/NH3}}X_H + \frac{k_{dA}}{Y_{XA/NH3}}X_A \tag{8}$$

$$\frac{dC_i}{dt} = -k_i C_i X_H \tag{9}$$

b.汚泥への吸着

有機有害性物質の汚泥（VSS）への吸着について、吸着平衡係数（$K_d$、$m^3$／g）を有機有害性物質のオクタノール／水分配係数（$K_{OW}$）および汚泥の有機炭素重量比率（ $f_{OC}$、ｇＣ／ｇＶＳＳ）から算出する式を用いた。

$$K_d = 6.3\times10^{-7} f_{OC} K_{OW} \tag{10}$$

ここで、微生物の化学式から、$f_{OC}$ の値は 0.531 である。

線形的な吸着平衡を仮定すると、有機物の汚泥に吸着する比率は下記の式(11)で算出される。

$$f_{ads} = \frac{K_d VSS}{1 + K_d VSS} \qquad (11)$$

c.大気への揮発

大気への揮発についてもヘンリー定数を用いるモデルを組み込んだが、いずれの物質においても無視できるレベルとなったため、ここでは省略する。

**(2)化学物質の下水処理過程における挙動予測のための設定条件**

実際に下水処理過程における化学物質の挙動を予測するためには、反応速度に関するパラメータと下水処理条件の設定が必要になる。

a. 反応速度に関するパラメータ

反応速度に関するパラメータのうち、生分解速度については、EUの「POSEIDON」プロジェクトの実測値(http//www.eu-poseidon.com)、またはU.S.EPAが作成したEPI Suite 3.2を用いて推定したデータを利用した。吸着係数データについては、Kowの実測値があるものについてはこれを利用し、実測値がない場合にはEPI Suite 3.2を用いて推定したデータを利用した。これらのパラメータを表-2に示す。なお、生分解を考慮した第一優先物質のうち、POSEIDONプロジェクトの実測値を用いているものについては、物質名の脇に※を付した。

b.下水処理条件の設定

下水処理条件としては、標準活性汚泥法とし、プラントの仕様およびパラメータの設定において、(社)日本下水道協会発行の「平成十五年度版下水道統計行政編」から抽出したデータを利用した。

全国の1146ヶ所の処理場のうち、標準活性汚泥法を採用している809の処理場の平均値を算出し、最初沈殿槽、曝気槽、最終沈殿槽の仕様および流入水・流出水の水質を設定した。これらデータを表-3に示す。なお、医薬品等の流入濃度は1μg/Lと設定した。

**表-3　標準活性汚泥処理法の平均値およびシミュレーション値**

**運転条件、プラントの仕様**

| 項目 | 平均値 | シミュレーション値 | 単位 | 備考 |
|---|---|---|---|---|
| 処理水量・日平均量 | 36712 | 36000 | m3/day | 入力値 |
| 最初・沈殿時間 | 2.51 | 2.5 | h | 入力値 |
| 最初・計画水面積負荷 | 48.27 | 48 | m3/m2/day | 入力値 |
| | | | | |
| 曝気時間 | 8.72 | 8.72 | h | 入力値 |
| 送風倍率 | 5.93 | 6.00 | m3/m3/h | 入力値 |
| 曝気槽有効水深 | 5.46 | 5.46 | m | 入力値 |
| MLSS濃度 | 1768 | 1767 | mg/L | 計算結果 |
| | | | | |
| 最終・沈殿時間 | 6.23 | 6.27 | h | 入力値 |
| 最終・水面積負荷 | 23.99 | 21.07 | m3/m3/day | 入力値 |
| 返送汚泥濃度 | 5375 | 5375 | mg/L | 入力値 |
| 平均汚泥返送比 | 52.6 | 47.5 | % | 計算結果 |

表-3　標準活性汚泥処理法の平均値およびシミュレーション値（続き）

**水質(mg/L)**

| 項目 | 平均値 | シミュレーション値 | 備考 |
|---|---|---|---|
| 流入・水温 | 20.1 | 20.1 | 入力値 |
| 流入・ＢＯＤ | 189.6 | 189.6 | 入力値 |
| 流入・ＳＳ | 169 | 169 | 入力値 |
| 流入・全窒素 | 36.1 | 36.1 | 入力値 |
| | | | |
| 流出・水温 | 20.6 | 20.2 | 計算結果 |
| 流出・ＢＯＤ | 4.9 | 4.9 | 計算結果 |
| 流出・ＳＳ | 4.4 | 4.7 | 計算結果 |
| 流出・全窒素 | 14.8 | 21.0 | 計算結果 |

c.挙動予測計算のためのソフトウェア

シミュレーションの実施にあたって、プロセスシミュレータ Super Pro Designer に下水処理場を設定するとともに、対象とする医薬品等 29 物質それぞれについてのパラメータを入力し、シミュレーションを行った。

## ３　挙動予測計算結果および考察

医薬品等 29 物質について下水処理過程において挙動予測計算を行った結果について、生分解を考慮した 12 物質と生分解を考慮しない 17 物質の放流水における挙動を図-6 および図-7 に示す。

これらの物質の汚泥への吸着率は概して低く、トリクロサンとパロキセチンが 50%程度であった以外は 10%未満の物質が 25 物質と大半を占めた。これは、今回対象とした物質が医薬品であり、飲用により摂取する場合ある程度の親水性を持たせる必要があることが関係していると考えられる。なお、トリクロサンとパロキセチンはいずれも 2 個のベンゼン環を有しており、かつ親水性基が少ないことが汚泥への吸着率が高い理由であると考えられる。

これに対し、生分解率を考慮した 12 物質についての生分解率は範囲が広く、物質により大きく異なっていた。汚泥への吸着を含めての下水処理過程における除去率がこれら 12 物質のうち最も高いのはイブプロフェン(96.0%)、最も低いのはレボフロキサシン(6.0%)であった。

このような生分解性の違いは、主に分子の構造に起因すると考えられる。分解率の高かったイブプロフェン、ベザフィブラート、アスピリンといった物質はカルボキシル基を有しており、微生物が分解しやすい分子構造であると言える。一方、分解率の低かったレボフロキサシン、クロモグリク酸ナトリウム、ジルチアゼム、カフェインといった物質は、カルボキシル基を有しているものもあるものの、芳香族フッ素や三級アミンのように生分解を受けにくい官能基を有している。このため、分子全体としては生分解を受けにくい構造がより生分解率の計算結果に寄与すると考えられる。なお、実際の処理場における化学物質の挙動を把握する際には、分析対象物質の一部の官能基が反応すると除去率としてカウントされるため、場合によっては挙動予測計算結果は実測値と大きく異なる可能性があることに留意する必要がある。

## ４　まとめ

医薬品等 29 物質について下水処理過程において土木研究所が開発したモデルを用いて挙動予測計算を行ったところ、汚泥への吸着率は概して低く、10%未満の物質が 25 物質と大半を占めた。こ

れに対し、生分解率を考慮した 12 物質についての生分解率は範囲が広く、物質により大きく異なっていた。物質による汚泥への吸着率や生分解性は分子構造によるものと考えられる。

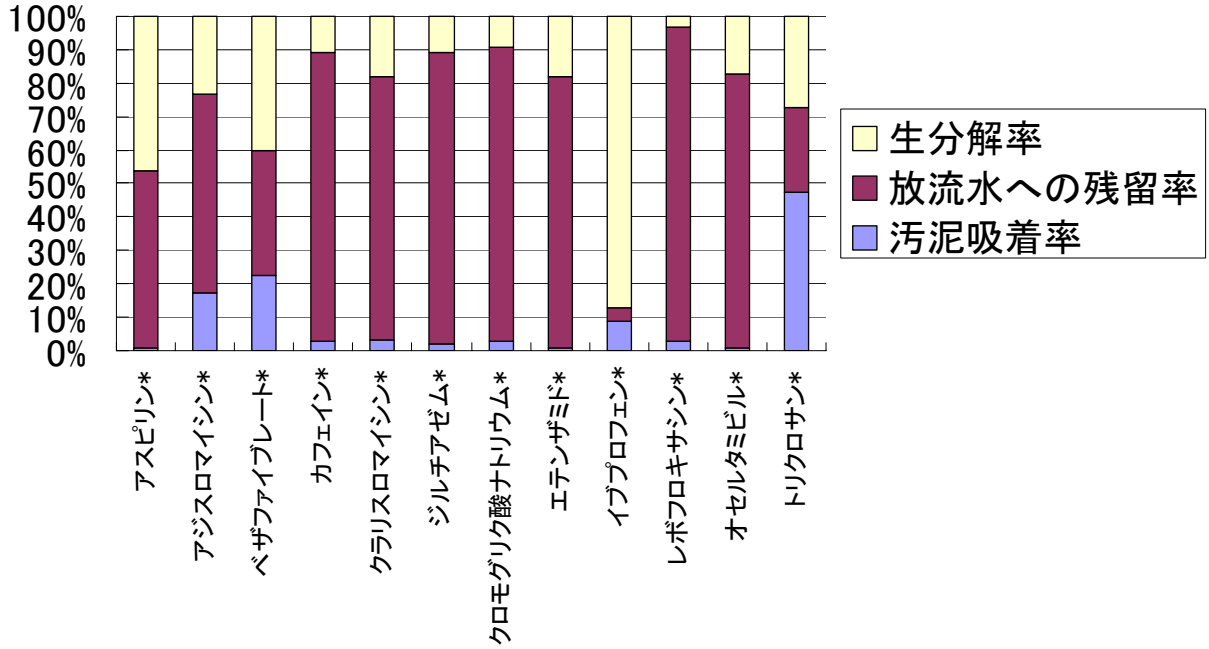



図-6　生分解を考慮した 12 物質の放流水における挙動

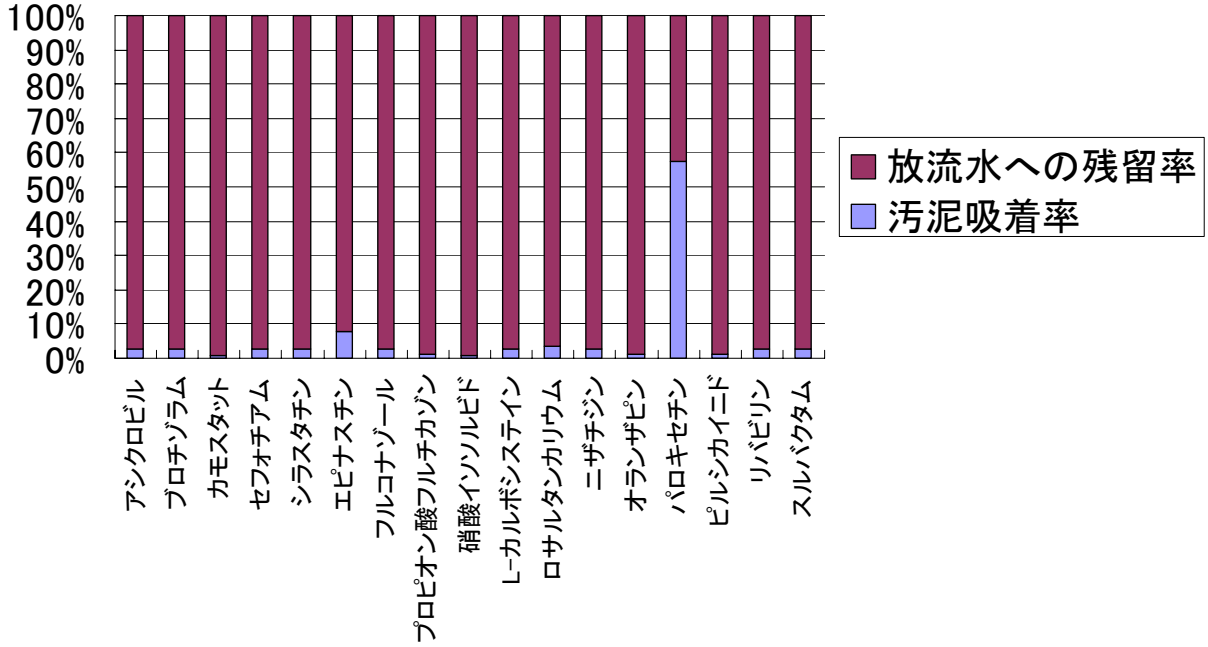



図-7　生分解を考慮しない 17 物質の放流水における挙動

**参考文献**

1）岡安祐司、小森行也、竹歳健治、田中宏明（2000）ベンチスケール活性汚泥処理実験装置と数理モデルを用いた揮発性物質の挙動の把握、環境工学研究論文集、37，299-310

## その２　＜化学物質の水生生態系への影響の検討
## （これまでの知見による医薬品等による水生生物に対するリスク推測）＞

### １　はじめに

近年、医薬品類や生活ケア用品等に由来する微量化学物質による環境汚染が懸念されている。これらの物質による環境汚染の実態については次第に明らかにされつつあるものの、環境中の濃度において生態系がどのような影響を受けるのかについては、ほとんど明らかになっていない。

そこで、その１において予測した化学物質の挙動による知見、これまで土木研究所が得てきた環境実態のデータ、および医薬品等のバイオアッセイ結果を組み合わせ、医薬品等の化学物質が水生生態系に与える影響を推測することとした。

### ２　方法

その１において予測した化学物質の下水処理過程における挙動による知見、これまで土木研究所が得てきた下水処理過程における医薬品等の実態データ、および医薬品等のバイオアッセイ結果を物質ごとに整理し、環境中における微量化学物質の水生生物に対するリスクを推測した。

### ２－１　リスク推測を行う物質の選定

その１において下水処理過程における挙動を予測した 29 物質のうち、生分解を考慮した 12 物質については､放流水における除去率の予測値を用いてリスクの推測に用いることができる｡そこで、これらの物質について､土木研究所におけるこれまで下水処理過程における実態把握状況､および、単独物質のバイオアッセイの実施状況について、表-4 にまとめた。

表-4　各種知見の把握状況

| 物質名 | 土研モデルによる<br>下水処理過程における<br>挙動予測 | 実測による<br>下水処理過程における<br>実態把握 | 単独物質の<br>バイオアッセイ |
|---|---|---|---|
| アスピリン | ○ | | |
| トリクロサン | ○ | | ○ |
| レボフロキサシン | ○ | ○ | ○ |
| リン酸オセルタミビル | ○ | | |
| クロモグリク酸ナトリウム | ○ | | |
| アジスロマイシン | ○ | ○ | ○ |
| ベザフィブラート | ○ | ○ | ○ |
| クラリスロマイシン | ○ | ○ | ○ |
| 塩酸ジルチアゼム | ○ | ○ | ○ |
| カフェイン | ○ | ○ | ○ |
| エテンザミド | ○ | ○ | ○ |
| イブプロフェン | ○ | ○ | ○ |

このように、8 物質で全ての知見が揃っており、さらに 1 物質の合計 9 物質についてバイオアッセイの結果が得られている。そこで、これら 9 物質を今後の解析の対象とする。

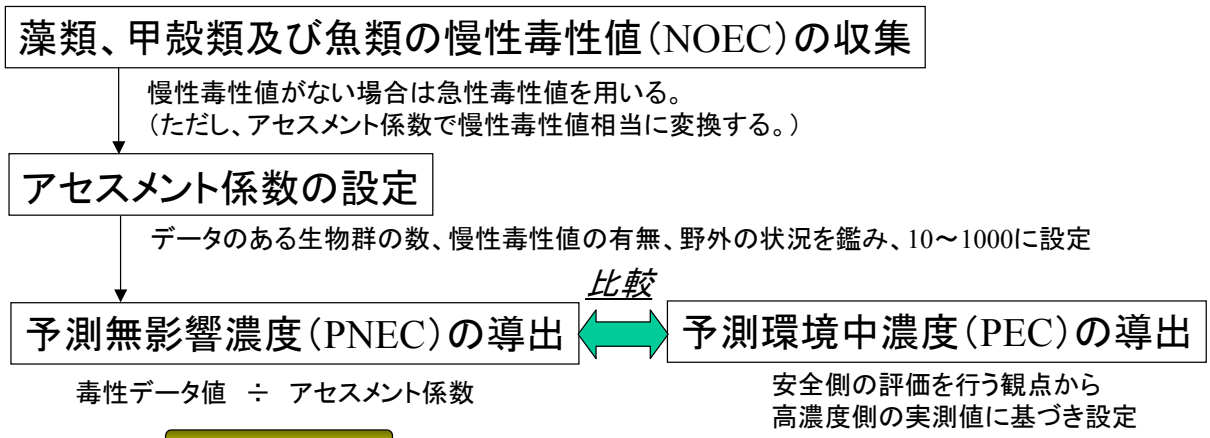
### ２－２　下水処理過程での医薬品除去率に関する土研モデル計算値と実測値の比較

その１で述べた下水処理過程における医薬品等の挙動予測結果について、その有効性を確認する

ために、実測データと比較することとした。実測データとしては、今年度多くの下水処理場において分析したデータを統計処理して用いた。なお、本来はこれらの中央値について解析すべきであるが、今回対象としている８物質のうち３物質については中央値の除去率がマイナスとなったため、今回は全ての除去率がプラスの値となった平均値のデータを用いた。

### ２－３　水生生物に対するリスク推測手法について

水生生物に対するリスクを推測する手法については、環境省環境保健部環境リスク評価室発行の『化学物質の環境リスク評価第１巻』の p. 28-33 に記載されている「生態リスク初期評価」に拠るのが望ましい。このスキームを図-8 にまとめた。




| 評価の分類 | |
|---|---|
| PEC／PNEC＜0.1 | 現時点では作業は必要ないと考えられる。 |
| 0.1≦PEC／PNEC＜1 | 情報収集に努める必要があると考えられる。 |
| 1≦PEC／PNEC | 詳細な評価を行う候補と考えられる。 |
| （情報が不十分な場合） | 現時点ではリスクの判定はできない。 |

図-8　生態リスク初期評価概要

このように、生態影響と環境の実態の比較により生態リスク評価を実施する必要があるため、リスク評価のためには、バイオアッセイデータのような生態影響に関する知見と、実測濃度や推測による環境実態の把握が必要になる。今回、9 物質についてバイオアッセイデータが存在するため、これらについての実態に関するデータを得ることができれば、生態リスク評価を行うことが可能となる。

バイオアッセイデータを有している９物質のうち８物質については、下水処理過程における挙動に関する実測値が得られている。残りの下水処理過程における挙動に関する実測値が得られていないトリクロサンに関しては、国内における使用量から下水処理水中の濃度を推測することとする。これら本調査で用いる環境中濃度の予測手法をまとめると図-9 のようになる。

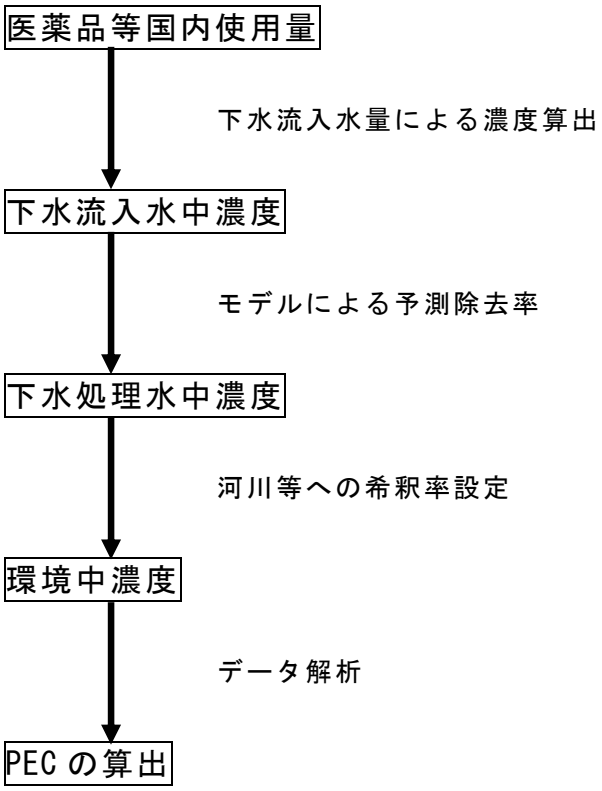



図-9　予測環境中濃度（PEC）の予測手法例
（濃度はいずれも実測または推定値）

## ３　結果

### ３－１　下水処理過程での医薬品除去率に関する土研モデル計算値と実測値の比較

8 物質についての除去率のその 1 で求めた土研モデル計算値と実測値の比較結果を図-10 に示す。イブプロフェンやアジスロマイシンのように実測と予測の結果がほぼ一致していた物質がある一方、カフェインやレボフロキサシンのように実測と予測の結果が大きく乖離している物質もあった。予測除去率に対する実測除去率の比が 2 倍を超えるカフェイン、レボフロキサシン、ジルチアゼムについては、いずれもモデルによる除去率が 20%未満であり、一方、モデルによる除去率が 20%以上の物質についてはいずれも予測除去率に対する実測除去率の比が 1～2 倍の範囲内であったため、モデルによる除去率が低い物質については、実測値との乖離に留意する必要があると考えられる。

このようにモデルによる除去率が低い物質について、予測除去率が実測除去率と乖離する理由としては、その 1 においても述べたように、モデルと実際の除去率についての扱いが異なることが理由として考えられる。モデルにおいては、物質を構成する全ての官能基を考慮してモデル計算を行うのに対し、実際には多くの官能基のうち一つの官能基が他の官能基に変換されると、元の物質とは異なる物質となり、分析上では除去されたと見なされる。こういった理由から、化学物質の下水処理過程における挙動を予測するモデルについては、さらなる改良の余地が残されていると考えられる。

しかし、図-10 に示したように、今回対象とした 8 物質全てにおいて全ての物質でモデル計算の除去率が実測の除去率より低かったことから、現状の土研モデルによる挙動予測計算は、除去率予測としては安全側の数値を導き出す手法として位置付けることができる。

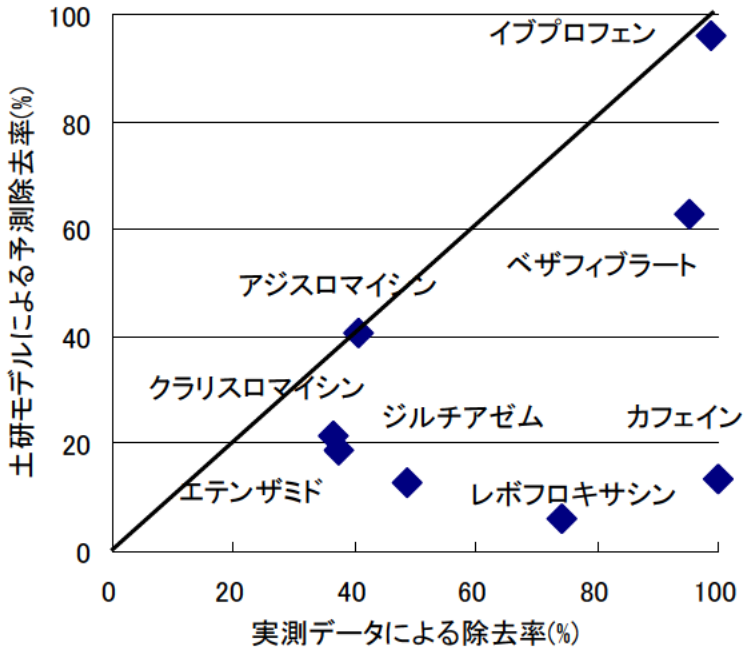



図-10　下水処理過程における医薬品等の挙動の土研モデルと実測の比較

### ３－２　水生生物に対するリスク推測結果

２－３で述べた手法により PNEC を算出した結果を表-5 に、PEC を算出した結果を表-6 に示す。なお、ベザフィブラートとカフェインについてはバイオアッセイの試験濃度において毒性影響が検出されなかったため、PEC の算出は行っていない。

表-5　医薬品等 9 物質のバイオアッセイデータより算出した予測無影響濃度(PNEC)

| 物質名 | 藻類の慢性影響データ (NOEC) (mg/L) | アセスメント係数 | 予測無影響濃度 (PNEC) (μg/L) |
|---|---|---|---|
| トリクロサン | 0.0083 | 100 | 0.083 |
| レボフロキサシン | 0.26 | 100 | 2.6 |
| アジスロマイシン | 0.0052 | 100 | 0.052 |
| ベザフィブラート | N.E. | – | – |
| クラリスロマイシン | 0.0052 | 100 | 0.052 |
| 塩酸ジルチアゼム | 0.52 | 100 | 5.2 |
| カフェイン | N.E. | – | – |
| エテンザミド | 2.1 | 100 | 21 |
| イブプロフェン | 0.52 | 100 | 5.2 |

表-6　医薬品等 7 物質について算出した予測環境中濃度(PEC)

| 物質名 | 算出方法 | 国内使用量<br>(t/年) | 下水流入水中濃度<br>(μg/L) | 下水処理水中濃度<br>(μg/L) | 予測環境中濃度<br>(PEC)<br>(μg/L) |
|---|---|---|---|---|---|
| トリクロサン | (モデルによる推定値) | 20 | 1.2 | 0.3 | 0.3 |
| レボフロキサシン | (処理水実測値の平均値) | − | − | 0.21 | 0.75 |
| | (流入水実測値とモデルによる推定値) | − | 0.8 | 0.75 | |
| アジスロマイシン | (処理水実測値の平均値) | − | − | 0.035 | 0.035 |
| | (流入水実測値とモデルによる推定値) | − | 0.06 | 0.035 | |
| クラリスロマイシン | (処理水実測値の平均値) | − | − | 0.44 | 0.55 |
| | (流入水実測値とモデルによる推定値) | − | 0.69 | 0.55 | |
| 塩酸ジルチアゼム | (処理水実測値の平均値) | − | − | 0.021 | 0.037 |
| | (流入水実測値とモデルによる推定値) | − | 0.042 | 0.037 | |
| エテンザミド | (処理水実測値の平均値) | − | − | 0.019 | 0.024 |
| | (流入水実測値とモデルによる推定値) | − | 0.03 | 0.024 | |
| イブプロフェン | (処理水実測値の平均値) | − | − | 0.017 | 0.24 |
| | (流入水実測値とモデルによる推定値) | − | 1.6 | 0.064 | |
| | (モデルによる推定値) | 100 | 5.9 | 0.24 | |

※下水流入水量は$1.7\times10^{13}$L/年、河川への希釈率は1とした。

予測無影響濃度(PNEC)は広い範囲の値が算出され、物質によって水生生物への影響が大きく異なることが分かった。予測無影響濃度(PEC)については、入手可能なデータを用いて 3 種類の方法を用いて算出し、最大の値を用いることとした。また、河川への希釈率は実際の値よりは大きい 1 と設定し、安全側の数値として算出した。

PNEC と PEC が算出できれば生態リスク評価を行うことが可能であるため、7 物質について PEC/PNEC を算出した結果を表-7 に示す。

表-7　医薬品等 7 物質の生態リスク評価における PEC/PNEC

| 物質名 | 予測環境中濃度<br>(PEC)<br>(μg/L) | 予測無影響濃度<br>(PNEC)<br>(μg/L) | PEC/PNEC |
|---|---|---|---|
| トリクロサン | 0.3 | 0.083 | 3.6 |
| レボフロキサシン | 0.75 | 2.6 | 0.29 |
| アジスロマイシン | 0.035 | 0.052 | 0.67 |
| クラリスロマイシン | 0.55 | 0.052 | 11 |
| 塩酸ジルチアゼム | 0.037 | 5.2 | 0.007 |
| エテンザミド | 0.024 | 21 | 0.001 |
| イブプロフェン | 0.24 | 5.2 | 0.046 |

この結果を用いて評価の分類を行うと、表-8 のようになる。このうち、詳細な評価を行う候補と考えられる物質と情報収集に努める必要があると考えられる物質の 4 物質のうち 3 物質は抗生物質であり、残りの 1 物質は殺菌剤であった。一方、現時点では作業は必要ないと考えられる物質はい

ずれも経口摂取の、用途としては血管拡張剤、解熱鎮痛剤であった。このように、用途により生態リスク評価結果をある程度分類できる可能性が示された。

表-8　医薬品等 7 物質の生態リスク評価結果

| 評価の分類 | 物質名 |
|---|---|
| 詳細な評価を行う候補と考えられる物質 | トリクロサン |
| | クラリスロマイシン |
| 情報収集に努める必要があると考えられる物質 | レボフロキサシン |
| | アジスロマイシン |
| 現時点では作業は必要ないと考えられる物質 | 塩酸ジルチアゼム |
| | エテンザミド |
| | イブプロフェン |

このように、下水処理過程挙動予測とバイオアッセイを組み合わせることにより、医薬品の出荷量等のデータがあれば水生生態系への影響を予測することが可能であることが示された。本手法は、今後数多くの医薬品の中からどういった物質について詳細な調査を行うべきかを判定するためのスクリーニング手法としても用いることができると考えられる。

## ４　まとめ

その１において予測した化学物質の挙動による知見、これまで土木研究所が得てきた環境実態のデータ、および医薬品等のバイオアッセイ結果を組み合わせて医薬品等のリスク判定を試みた結果、下水処理過程挙動予測とバイオアッセイを組み合わせることにより、医薬品の出荷量等のデータがあれば水生生態系への影響を予測することが可能であることが示され、数多くの医薬品の中からどういった物質について詳細な調査を行うべきかを判定するためのスクリーニング手法としても用いることができると考えられる。

## その３　＜下水処理水のバイオアッセイ手法の開発＞

### １　背景と目的

公共用水域の水質保全を目的とする下水道の普及によって、汚染した排水の河川等への流入が減少し、河川の水質汚濁は高度成長期に比べ格段に改善されてきた。このことによって、一時期みられなくなった昆虫や魚などの水生生物が多くの河川において再び姿を現すようになるなど、下水道は河川生物の生息環境の回復にも大きな役割を果たしてきたといえる。その一方で、下水道に取り込まれた多量の排水は下水処理場において処理された後に放流されるが、このシステムの構造的な特性として、「取水された河川水が河川を経由せずに都市の下水管網を通過して下流域に導流されることによる河川流量の減少」、「処理された水が一ヶ所へ大量に放流されることによる急激かつ局所的な水質変化や流量変化」、「処理対象である有機汚濁以外の栄養塩や微量化学物質等の残存」など、水生生物を含めた水環境に大きな影響を及ぼす可能性が存在し、環境保全の面からしばしば指摘されるようになってきている。

さらに、近年の産業活動の拡大発展に伴い、様々な化学物質が広範囲に使用されており、排水や河川水中にも多種多様な化学物質が存在することが明らかになっている。下水処理水からも環境ホルモン様物質等に代表される多種にわたる化学物質の存在が報告されており[1, 2)]、それらの生物への影響が懸念される。このことから、水環境中に放出された化学物質が、水域に生息する生物にどのような影響を与えるかを明らかにすることは重要である。

化学物質による生態系への影響を探る学問分野としては、生態毒性学（Ecotoxicology）がある。これは、生態学（Ecology）と毒性学（Toxicology）を組み合わせた造語であり、一般的には、「生態系における毒性のある物質の運命と生態系への影響に関する研究」と定義されている[3)]。欧米では、生態毒性関連の研究は盛んに行われており、研究者の数も多く層も厚い。我が国において、生態毒性の研究者は少数ではあるが、農村地帯の河川水、下水、廃棄物浸出水等に関していくつかの報告がなされている[4-9)]。畠山らは、つくば市とその周辺を流れる農村地帯の河川水について、水生生物への影響を調べている[4,5)]。採取した河川水について、藻類および甲殻類の試験を実施した結果、試験水中の*Selenastrum capricornutum*の増殖阻害は5月初旬から始まり、5月中旬にはほぼ完全に増殖が阻害されたこと、阻害の原因は除草剤の影響であったことを報告している。また、その河川水をヌカエビ（*Paratya compressa improvisa*）に曝露した結果、ヌカエビの死亡率は、5月中旬から6月上旬にかけて高く、この原因はこの時期に散布された殺菌剤、殺虫剤の影響であることを報告している。また、松原らは、マイクロトックス、藻類、カエル胚を用いて、下水および環境水について毒性試験を実施している[7)]。その結果、マイクロトックス、藻類、カエル胚試験とも、流入下水からは毒性を検出しているが、その毒性は、下水の生物処理後には検出されなくなったことを報告している。一方、下水処理において、生物処理後の塩素添加量が多い処理場については、マイクロトックスおよび藻類による試験で毒性が上昇する場合があることを報告している。

このような背景の中、最近では河川水や下水道等の水環境中における、PPCP（Pharmaceuticals and Personal Care Products）の存在に国内外で関心が集まりつつあり、河川表流水や下水処理水中から抗生物質等の医薬品が実際に検出される報告がなされてきている。医薬品等の物質は、その本来の目的において生体作用を持つため、環境中に存在するこれらの物質が水域の生態系にも何らかの影響を及ぼすことが懸念される。しかし、化審法による生態影響試験を課せられ

ている化学物質と異なり、医薬品はそのような評価対象とはなっていないため、これらの物質の持つ生態影響に関するデータは未だ十分とはいえない状況にある。

そこで本業務では、上記課題のうち、放流された下水処理水が水生生物に及ぼす影響について、特に水質面に注目して研究を行うために、バイオアッセイ手法を用いて毒性という視点から検討を行うこととした。この検討の中から下水処理水に含まれる様々な物質の生物への影響について把握し、今後の下水道事業において処理水に求められる水質レベルの検討に資する基礎データを得ること、及びそのための試験手法の検討を目的とした。

また併せて、環境中に存在する化学物質が水生生態系に及ぼす影響について、バイオアッセイ手法を用いて評価するための試験を実施し、下水道に流入する微量化学物質のうち医薬品についてのリスクを検討するためのデータを得ることを目的とした。

## ２　方法

### ２－１　バイオアッセイ手法について

細菌を用いる手法については、供試生物として海洋性発光細菌(*Vibrio Fischeri*)を使用する英SDI社製の試験システム(MICROTOX®)を用いた。試験は添付の急性毒性試験のプロトコールに従い、曝露時間を5分及び15分として、50%発光阻害濃度(EC50)を求めた。

藻類を用いるバイオアッセイについてはOECDやEPAによって標準化された手法があり、「化審法」における生態影響試験法としても規定されている。

これらの試験法はいずれもフラスコを用いた培養方法を採用しているが、フラスコを用いると１検体あたりの培養容量が大きくなるため、結果の誤差を小さくすることができる利点がある反面、大量の試料が必要となるうえ、培養装置の容量面からの制限があることから、一度に処理できる試料数に限界が生じる。

そこで、本研究では供試生物として緑藻類の *Pseudokirchneriella subcapitata* (NIES-35)を用いて、Blaiseらの方法[10,11]を参考にして､96孔のマイクロプレートを用いた藻類生長阻害試験（写真-1）を適用することとした。

試験における培養温度は24℃，照度4000Lux，120rpmの振とう条件で培養を行い、培養期間中マイクロプレートリーダー（Wallac社製，ARVO SX-1420：写真-2）を用いて藻類増殖量の変化をモニタリングし、吸光度から細胞数を換算する方法で、96時間曝露した後に藻類の増殖量から生長阻害率を計算し、試料濃度と阻害率の関係から無影響濃度(NOEC)を求めた。

甲殻類であるミジンコ（写真-3）を用いるバイオアッセイ手法としては、OECDやJIS[12]によって標準化された手法が

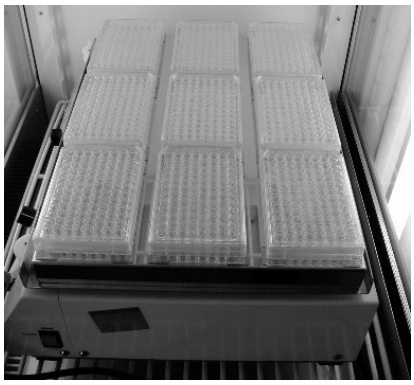


写真-1 ﾏｲｸﾛﾌﾟﾚｰﾄによる培養



写真-2 マイクロプレートリーダー

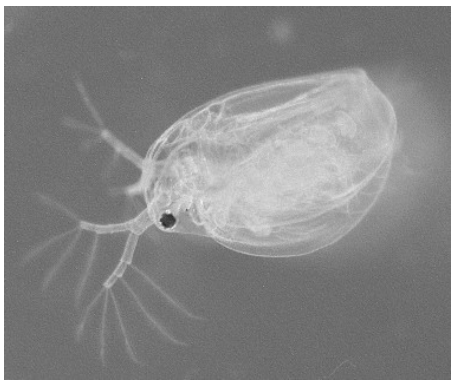


写真-3 オオミジンコ

あり、「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律」による届出における生態影響試験法としても規定されている。

試験の内容は、遊泳阻害を視点とする急性毒性物質、繁殖阻害を視点とする慢性毒性試験など、様々なものがあるが、いずれも供試生物を試験前から飼育・順化し、齢数を揃える等の準備が必要となる。この事前準備には飼育装置や飼育水の交換作業、発生仔個体の隔離等に多大な費用と労力が掛かり、限られた施設と人員によって安定した試験を行うことは困難である。

そこで、事前の大掛かりな準備を必要としない手法として、ミジンコを用いた毒性試験のキットを用いることとした。このキットはベルギーのMicroBioTests社から供給されている、急性毒性試験システム (DAPHTOXKIT F MAGNA$^{TM}$)である。

試験は冷蔵状態で保存したキット附属のミジンコの卵(耐久卵)を試験開始直前に孵化させ、孵った個体を試験に供する。

ミジンコは、試験対象物質の濃度を段階的に変化させた試水中で24及び48時間曝露した後に、水中で泳いで動き回ることができるかどうかによって、遊泳阻害を判定し、試料濃度と阻害率の関係から半数阻害濃度(EC50)を求めた。

### ２－２　試験対象試料

下水処理水等が水生生物にどのような影響を及ぼすのかについての知見を得るために、また下水試料をバイオアッセイに適用した場合の特徴を把握するために、実際の下水処理場からの試料や河川水を対象に、複数の生物種に対してバイオアッセイ試験を実施するとともに、試験対象となる下水処理水等の環境水の前処理方法について検討を行った。

①霞ヶ浦流域浄化センター（湖北処理場）：流入水，処理水
②境川（湖北処理場近傍河川）：河川表層水
③常磐自動車道（土浦市内高架部樋管）：路面雨水排水

### ２－３　下水処理水等の環境水をバイオアッセイに適用する際の手法の検討

日本の河川水や下水処理水などの環境水は、汚濁防止対策の進展によって汚染の程度が低いため、急性毒性試験においては明確な影響がみられないことが多い。一方、慢性毒性試験を適用した場合には、多くの時間と労力・費用が必要となることから、実施できる機関や検体数に限界が生じる。そこで、ここでは前処理として、吸着樹脂を用いた固相抽出法によって、環境試料中の毒性物質を濃縮したサンプルをバイオアッセイに供することで、急性毒性試験による環境水の水質評価への適用性について検討した。

未濃縮の状態で毒性影響のみられない試料については、濃縮処理によって毒性が検出された場合に、それが本来の毒性とどのような関係にあるのかを確認することが困難である。そこで、まず未濃縮の状態でも毒性を検出できる試料を用いて、濃縮試料と未濃縮試料の毒性の違いから、濃縮操作によって生じる毒性の変化を確認した。

## ３　結果と考察

### ３－１　下水流入水および路面排水を用いたバイオアッセイ手法検討結果

湖北下水処理場の流入水についてマイクロトックス・藻類・ミジンコについて試験を実施し

た。また、常磐道の路面排水についてマイクロトックス・藻類についての試験を実施した。

この結果、図-11と図-12に示すように下水流入水と路面排水ともに、固相濃縮したサンプル、固相に保持されず通過したサンプルのどちらも、未濃縮のサンプル（原水）と比べると毒性は低くなった。

また、生活排水のような有機物による汚濁が主となる試料の場合、濃縮液は原水と比較的よく似た毒性を示したのに対して、処理水と比べて重金属等による汚濁の割合が大きいと推測される路面排水の場合には、濃縮液は原水の毒性を反映しておらず、固相の通過液の方が原水と似た毒性パターンを示すことが示された。

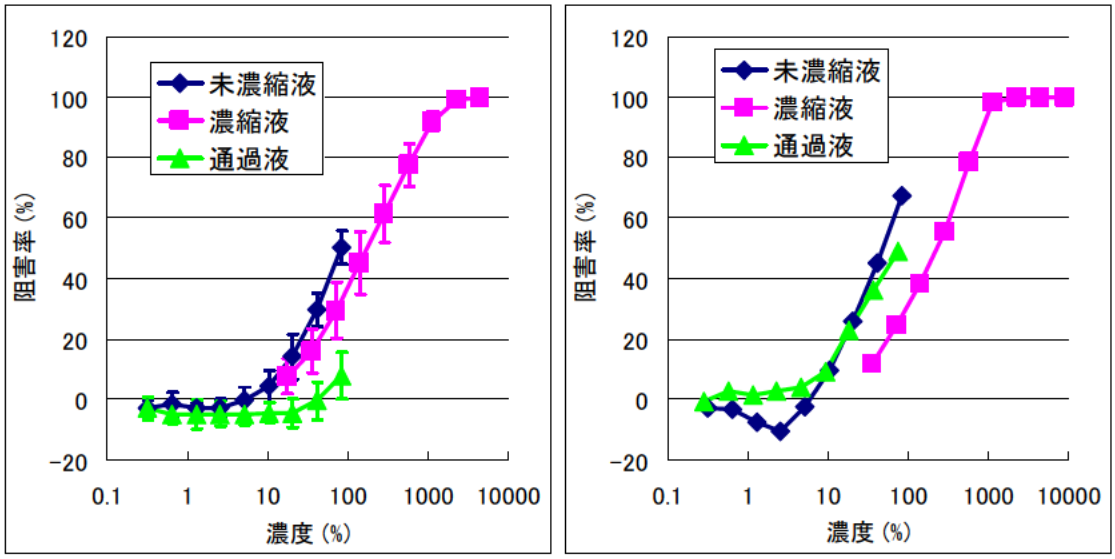



図-11　マイクロトックス阻害試験結果

（左：下水流入水、右：高速道路雨天時排水）

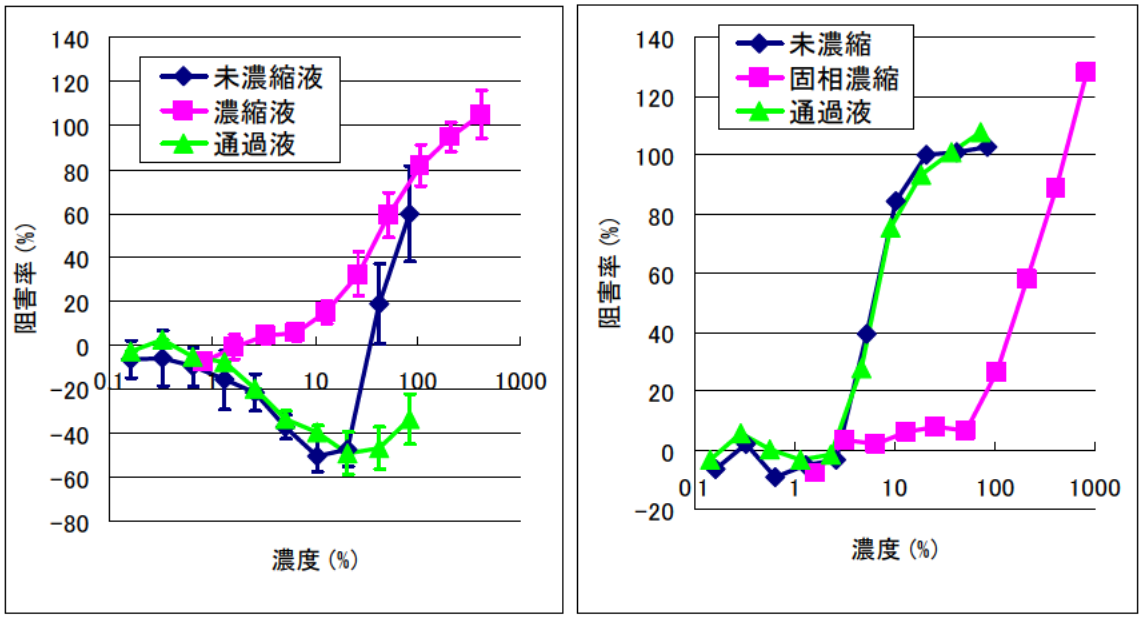



図-12　藻類生長阻害試験結果

（左：下水流入水、右：高速道路雨天時排水）

### ３－２　固相濃縮試料を用いるバイオアッセイ手法の環境水への手法適用の妥当性

上記の結果から、固相濃縮によって毒性は若干低下するものの、晴天時の生活排水主体の水域等においては、相対的な毒性を推定することが可能となるものと考えられた。従って、下水処理水やその放流先水域においては、固相濃縮法を前処理として使用することによって、各水域や処理放流水の生物影響の程度を相対的に比較することができるといえる。

ただし、生活排水以外の負荷源のある水域においては固相を通過したサンプルの毒性と併せて考える、または他の濃縮方法を検討する等の必要がある。

### ３－３　下水処理水および河川水を対象としたバイオアッセイ結果

上記の固相濃縮法を前処理として適用し、下水処理水および河川水を対象としたバイオアッセイを行った。

湖北下水処理場における処理水と、その近傍河川である境川河川水に対して、マイクロトックス、ミジンコ、藻類の各試験を行った。

これらの試水は未濃縮の状態では全ての試験において明確な阻害が観察されず、毒性指標値を得ることができなかった。続いて、下水処理水及び河川水ともに固相濃縮法によって前処理を行いバイオアッセイに供した。

バイオアッセイのデータは、阻害率と試料濃度との関係から半数阻害濃度（EC50）を計算し、さらにEC50の値から毒性単位（TU=100/EC50）を算出し、比較指標とした。

この計算されたTU値を、繰り返し試験の平均値として図-13に示す。

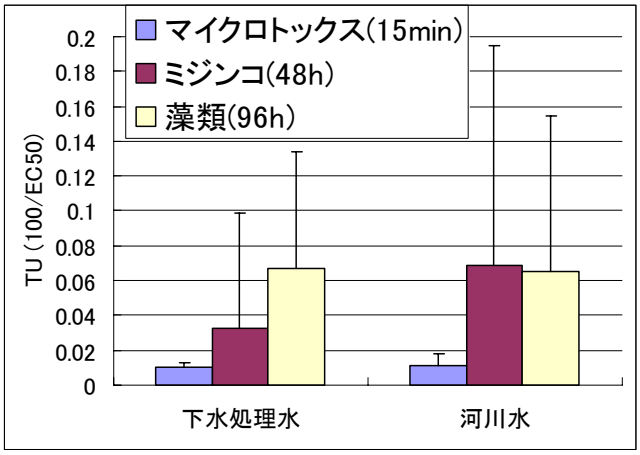



図-13　濃縮環境水に対するバイオアッセイ結果（エラーバーは標準偏差）

ミジンコ及び藻類では試験回ごとのばらつきが比較的大きく、また濃縮しても明確な阻害がみられず毒性値を計算できないこともあった。しかし、全体的にはマイクロトックス（細菌）及び藻類については、下水処理水と河川水の示した毒性は同程度であり、ミジンコについては河川水の方が処理水よりも若干高い傾向となった。

### ３－４　生物毒性から見た下水処理水の評価

上記の結果から、湖北処理場における処理水は、生物毒性の視点から見た場合、近傍の河川水と比べてほぼ同等か、またはより良好な水質となっていることが示された。

このように、下水処理水を生物毒性の面から評価する際には、濃縮試料として試験すること

で潜在的な毒性を検出することができ、さらに比較対象となる試水（今回は近傍河川水）を同一の方法によって前処理することで、相対的な水質指標として用いることができた。

なお、今回の比較対照試水として扱った近傍河川である境川の流域には、水田や蓮田等の耕作地が存在する他、一部に家庭などからの未処理排水が流入している可能性があることが、観察された毒性の由来となっていることが想定される。

## ４　まとめ

固相濃縮試料のバイオアッセイにより､下水処理水のバイオアッセイ手法を開発することができ、今後下水処理水中のリスク要因物質を推定する手法に用いることができると考えられる。

今後は、季節的変動や処理場の特性による違い等のデータを積み重ねていく。

また、処理場内等で化学分析によって測定された化学物質濃度等のデータと、バイオアッセイから得られた毒性値とを比較するなどして、各物質濃度と生物影響との関係を、化学物質の物性や生物種間の違いなども踏まえて考察する予定である。

## 参考文献


1) 田中宏明：水環境における内分泌攪乱化学物質の実態調査，水環境学会誌，**22**，629-632，1999

2) 田中宏明，小森行也，岡安祐司：下水道における微量化学物質の評価に関する調査，平成 14 年度下水道関係調査研究年次報告書集，129-132，2002

3) 若林明子：化学物質と生態影響，p.1，丸善，2003

4) 畠山成久，白石寛明，浜田篤信：霞ヶ浦水系河川のヌカエビ（*Paratya compressa improvisa*）生物試験による農薬毒性の季節変動，水質汚濁研究，**14**，460-468，1991

5) 畠山成久，福嶋悟，笠井文絵，白石寛明：河川の藻類生産に及ぼす除草剤の影響評価，陸水学雑誌，**53**，327-340，1992

6) Okamura, H., Omori, M., Luo, R., Aoyama, I., Liu, D. ：Application of short-term bioassay guided chemical analysis for water quality of agricultural land runoff, *Sci. Total Environ.*, **234**, 223-231, 1999

7) 松原正明，原田新，田中宏明 ： 藻類増殖阻害試験およびカエル胚催奇形性試験の基礎的検討と下水試料への適用，水環境学会誌，**20**，768-775，1997

8) 岡村秀雄，青山勲，羅栄，D. Liu，G. Persoone：産業廃棄物埋立地浸出水の生態毒性評価および毒性のキャラクタリゼーション，環境毒性学会誌，**1**，43-50，1998

9) 岡村芙美，豊田智子，市川大介，吉本祥子，岡村秀雄，井上雄三，毛利紫乃，山田正人，国本学：藻類増殖阻害試験の簡易化と埋立処分場浸出水の有害性評価への適用，水環境学会誌，**26**，765-768，2003

10) Blaise,C., Legault,R., Bermingham,N., VanCoillie,R., Vasseur,P. :A simple microplate algal assay technique for aquatic toxicity assessment, *Toxicity Assessment*, **1**, 261-281, 1986

11) St-laurent,D., Blaise,C., Macquarrie,P., Scroggins,R., Trottier,B. :Comparative assessment of herbicide phyto toxicity to Selenastrum capricornutum using microplate and flask bioassay procedure, *Environ.Toxicol.Wat.Qual.*, **7**, 35-48, 1992

12) 日本工業標準調査会，化学物質などによるミジンコ類の遊泳阻害試験方法，JIS K 0229，1992

# 閉鎖性水域と下水道の放流水質の関係に関する研究業務

## ～　下水道未整備地域における汚濁負荷流出モデルの構築と排出・流達負荷量の評価　～

研究予算：受託研究経費（下水道事業調査費）
研究期間：平成 19 年度
担当チーム：水環境研究グループ（水質）
研究担当者：鈴木穣、岡安祐司、久岡夏樹

### １．はじめに

湖沼や内湾などの閉鎖性水域では、依然として、水質環境基準が未達成の箇所が多く、アオコや赤潮の発生、貧酸素化等の水質汚濁の問題が発生しているため、下水道等の水質汚濁対策のさらなる実施が必要であると考えられる。

下水道計画では、水質環境基準を達成するために必要な下水道の整備を最も効率的に実施するために個別の下水道計画の上位計画として流域別下水道整備総合計画（流総計画）を策定している。

閉鎖性水域を対象とした流総計画策定の際の、流域からの汚濁負荷の流出解析では、雨天時も含めた長期間にわたる流域からの汚濁負荷が閉鎖性水域の水質に影響することを考慮し、流出負荷量を算定しなければならない。流出負荷量の総量は、対象とする水域への全流入河川での、各時刻における流量と水質の積を累積することによって求められるが、流量および水質（特に水質）を常時把握することは物理的に不可能であるため、何らかの推計手法を用いて算定する必要がある。

本研究では、小流域からの雨天時を含めた長期間にわたる流域からの汚濁物質の流出過程を、汚濁負荷流出モデルを用いて解析し、従来から流総計画策定の際に用いられている汚濁負荷流出解析手法[1)]との比較検討を行い、流達率に関する知見を得たので報告する。

### ２．研究内容

#### ２．１．汚濁負荷流出モデルを用いた流出解析

##### Ⅰ　対象小流域

本研究では、千葉県の手賀沼へ流入する支川・水路である大津川流域を対象に流出解析を行った。当該小流域は都市計画区域内に位置し、分流式下水道の整備が進められているが、目下のところ整備途上である。そのため、下水道未整備区域では、依然として、し尿の収集処理や浄化槽（単独処理、合併処理）による生活排水の処理が行われている。なお、下水の汚水は系外の下水処理場で、汲み取りし尿は系外のし尿処理場で処理されていることから、当該小流域へ排出される生活排水は、未処理雑排水および浄化槽排水（単独処理、合併処理）で構成されている。

##### Ⅱ　汚濁負荷流出モデルの選定

対象小流域からの汚濁負荷流出機構を解析するために、合流式下水道の雨水流出解析に使用されている市販ソフトを用いた。現在、一般的な雨水流出解析ソフトとしては、InfoWorks CS（英国 Wallingford 社）、XP-SWMM（米国 EPA、フロリダ大学、Water Resources Enginnering Inc.）、Mouse（デンマーク DHI 社）の 3 つのモデルがある。各ソフトは、解析に関して、ほぼ同等の高い精度を有することから、今回の検討では、GIS 情報の取り込み・表示が可能でデータのハンドリング性能に長けた InfoWorks CS を用いることとした。Infoworks CS は、下水道管渠網の機能解析、計画・設計を目的として英国で開発された雨水流出（流量、負荷量）シミュレーションソフトで、基本機能は、他のソフトと同様に、降雨損失モデル、表面流出モデル、管内水理モデル、汚濁負荷量モデルの要素から構成されている。モデルの詳細については、参考文献[2)]を参照されたい。ここでは、大津川流域の支川・水路網を、合流式下水道の管きょ網と見立てて、解析を行うこととした。

##### Ⅲ　支川・水路（管きょ）網モデルの構築

###### １）支川・水路のモデル化

まず、解析時間の短縮と作業性の向上を目的として、図-1 に示すように、小流域内の支川・水路網を簡素化した。

モデル化に当たって必要となる基本的な諸元は以下のものとなる。

a)　Nodo（基点）に関するデータ

① 基点 ID

支川・水路ごとにローマ字で記号を定め、河口からの距離を m 単位で 5 桁の番号を付した。

② 基点座標

GIS に国土地理院発行の数値地図 2500[3] を読み込み、平面直角座標系第IX系を基準に座標を取得した。

③ 地盤高

下水道管きょモデルの場合には、浸水状況を把握するために「地盤高」のデータを入力する必要があるが、本検討ではこれが堤防高に相当する。既往資料[4)～7)] 中に右岸堤防高と左岸堤防高のデータがある場合は、平均値を採用した。また、大津川最上流端および大津川本川以外の支川・水路については堤防高のデータが無いため、GIS ソフトで計測した標高値とした。

④ 排水面積

2002 年度の現況について、ブロックごとに、面積を調査した。また、人孔面積は 0 とし設定し，考慮しないこととした。

**b) Link（支川・水路の河道）に関するデータ**

① 区間 ID

区間IDは，上流基点IDと下流基点IDを結ぶIDとした。

② 区間延長

既往資料[4)～7)] を根拠に決定した。ただし、不明な箇所は GIS ソフトの距離計測により決定した。

③ 形状

既往資料[4)～7)] を根拠に、大津川本川の上流支川及びその合流点より上流河川については三面張水路、それ以外は法面勾配 1:2 の台形開渠と設定した。

④ 幅、高さ

河川の幅は、平面図から現況の値を設定した。河川の高さは、便宜上、大津川本川の上流から下流までの一定の値として平均値を採用し、大津川本川以外の支川・水路についても同じであると仮定した。この結果、河川の高さは一律 2500mm と設定した。

④ 計算式及び粗度係数

計算式は、河川の特性に適合していて、かつ、扱いが簡単で便利な Manning 公式を採用した。粗度係数は、参考文献[8)] を基に、一般河道では 0.035、三面張水路では 0.025 を採用した。

⑤ 河床高

既往資料[4)～7)] を根拠に決定した。河床高のデータが無い、大津川本川以外の支川・水路については、河床勾配が、上流端 Nodo と大津川本川との合流点の地盤高の勾配と同様と仮定し、河道延長から基点ごとに求めた。

**c) Sub catchment に関するデータ**

① 面積 ID

各基点に流入してくる複数のブロックを合わせた中ブロックを新たに設け，それを面積 ID として表し，流入基点の上流基点 ID と同じ ID を付けた。

② 面積

2002 年度の現況について、ブロックごとに調査した結果を元に，基点に流入してくる複数のブロック面積の合計を算出した。

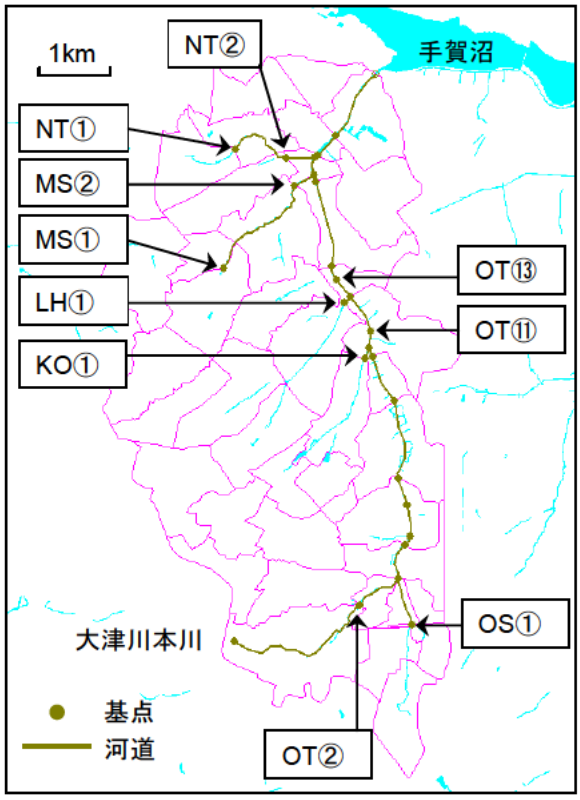



図-1 支川・水路網モデルの概要

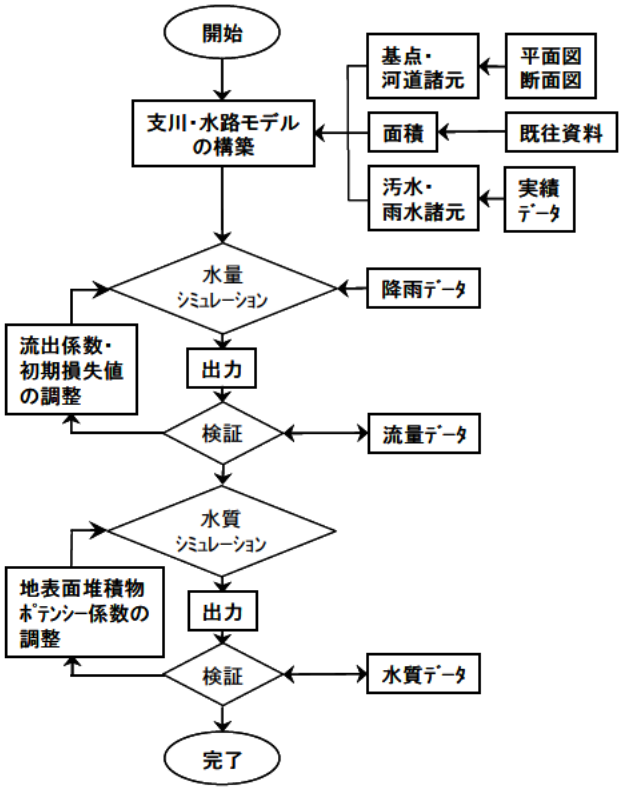



図-2 モデルの構築とキャリブレーションの流れ

③ 汚水プロファイル

汚水プロファイルは、図-1 に示す 10 カ所（大津川本川 OT②、OT⑪、OT⑬、名戸ヶ谷排水路 NT①、NT②、増尾排水路 MS①、MS②、L6 号樋管 LH①、上大津川 KO①、大津川上流支川 OS①）において、2002 年 11 月 5 日～6 日、2003 年 2 月 17 日～18 日、2003 年 3 月 12～13 日の晴天時に実施した、3 時間間隔の通日水質調査結果を元に、各支川・水路について決定した。

④ 基底流量

基底流量は、図-3 に示すような河川流量の変動のうち、常時一定量と見なせる A に該当すると考えられる。B は浄化槽等の排水による量であり、生活系の変動を有している。さらに、雨天時には雨水流出量 C が加わることとなる。ここで、基底流量は、排水の流入の影響が小さい、支川・水路上流地点における流量の実績値（A＋B）から浄化槽排水量 B を差し引くことで求めることとした。図-1 に示す OT②、NT②、および MS①において，③で述べた 3 回の晴天時調査の際に流量観測を実施し実績値（A＋B）を求めた。また、浄化槽排水量（B）は、「手賀沼流域下水道全体計画 計画説明書 平成 12 年 千葉県」における生活系汚水量原単位（310 $l \cdot 人^{-1} \cdot d^{-1}$）に浄化槽人口を乗じて算出した。次に、求めた基底流量を流域面積で除し比流量を求め、近傍のブロックにおいては同一の比流量値になると仮定し、基底流量を算出した。

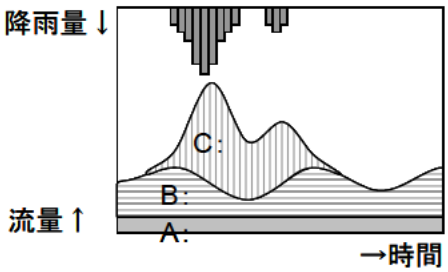



図-3　基底流量(A)，排水量(B)，雨水量(C)の概念図

表-1　基底流量の設定

| | 大津川本川 OT② | 名戸ヶ谷排水路 NT② | 増尾排水路 MS① | 備考 |
|---|---|---|---|---|
| ① 晴天時日平均流量 [$m^3 \cdot s^{-1}$] | 0.082 | 0.072 | 0.038 | 実績値 |
| ② 排水量原単位 [$l \cdot 人^{-1} \cdot d^{-1}$] | 310 | 310 | 310 | 全体計画値 |
| ③ 浄化槽人口 [人] | 17,770 | 1,313 | 7,620 | |
| ④ 浄化槽排水量 [$m^3 \cdot s^{-1}$] | 0.064 | 0.005 | 0.027 | ②×③ |
| ⑤ 基底流量 [$m^3 \cdot s^{-1}$] | 0.018 | 0.067 | 0.011 | ①－④ |
| ⑥ 流域面積 [ha] | 378.0 | 437.1 | 240.6 | |
| ⑦ 比流量 [$m^3 \cdot s^{-1} \cdot ha^{-1}$] | 0.000048 | 0.000154 | 0.000044 | |

⑤ 地表面流出エリア

大津川流域のブロックごとの水田、畑地・雑地、山林および市街地の地目別面積情報（1994 年度）を収集し、この情報に基づき設定した。

d) Land use データ

①　人口密度

大津川流域ブロックごとの、2002 年度における面積、浄化槽人口およびし尿収集処理人口を調査し決定した。

e) Runoff Surface に関するデータ

①　流出係数

大津川流域ブロックごとの流出係数は，地目別面積情報と標準的な流出係数[8)]（水田 0.7、畑地・雑地 0.6、山林 0.7、市街地 0.8）を考慮し、加重平均値とした。この数値については、後述のキャリブレーションで調整される。

②　初期損失値

InfoWorks CS の初期設定値(0)を用いた。この数値については、後述のキャリブレーションで調整される。

2）各パラメータの設定

a)　点源負荷に関するパラメータ（晴天時データによるキャリブレーション）

汚水量原単位、SS 濃度、溶解性汚濁物質濃度、ポテンシー係数（単位 SS 中の汚濁負荷量）、負荷量変動、汚水量時間変動、汚水量月変動は、1) c) ③および 1) c) ④で述べた晴天時流量・水質調査結果を解析し決定し、近傍のブロックにおいては同一の値になると仮定し、各ブロックにおける数値を決定した。

b)　面源負荷、雨水諸元に関するパラメータ

地表面への汚濁物質の集積係数は、InfoWorks CS では土地利用形態（工業地、中心市街地（商業地）、住宅地（高密）、住宅地、郊外）ごとにデフォルト値が示されており、大津川流域ブロックの中で市街地面積／流域面積の値が最も大きいブロックの集積係数を中心市街地（商業地）並み、最も小さい地域を郊外並みと仮定し、その他の地域の集積係数は市街地面積／流域面積の値に応じて按分して決定した。地表面堆積物のポテンシー係数（単位 SS 中の汚濁負荷量）は、後述のキャリブレーションで調整される。地表面初期堆積物量および集積時間に関するパラメータは、後述する 3 回の雨天時調査の結果から、雨天時 SS 負荷量、晴天時 SS 負荷量、先行無降雨時間の関係を解析し算出した。堆積物の減衰係数、降雨浸食係数は InfoWorks CS の標準設定値を用いた。なお、近傍のブロックにおいては同一の値になると仮定し、各ブロックにおける数値を決定した。

c)　河道内堆積物に関するパラメータ

河道内堆積物の厚さ、粒径および比重は InfoWorks CS の標準設定値とした。

Ⅳ　雨天時データによるキャリブレーション

キャリブレーションは、水量、水質の両面から実施した。構築した支川・水路モデルに過去の既往降雨を降らせるシミュレーションを行い、モデルの修正や各種パラメータを調整することにより、河川の任意の地点における水量や水質を再現する作業である。ここでは、既述の雨天時調査の結果を用いてキャリブレーションを実施した。雨天時調査は、図-1 に示す OT②、NT②、および MS①において，2003 年 5 月 31 日～6 月 1 日（時間最大 14mm･h$^{-1}$、総雨量 57mm）、2003 年 8 月 8 日～9 日（時間最大 7mm･h$^{-1}$、総雨量 23mm）、2003 年 10 月 22 日～23 日（時間最大 4mm･h$^{-1}$、総雨量 39mm）の雨天時に 3 時間間隔で流量・水質調査を実施した。

a) 水量シミュレーション

①　流出係数

流出係数の初期設定値は、河川砂防技術基準（案）[8)]における標準的な流出係数をもとに、地目別面積の加重平均からブロックごとの流出係数を求めて設定した。初期設定値でのシミュレーション結果は、雨天時の流出量が調査結果と比べて大きく算出される結果となったため、小さい値（水田 0.58、畑地・雑地 0.23、山林 0.30、市街地 0.37）に変更した。標準的な流出係数は計画高水流量の算定において用いる流出係数であり、50 年確率降雨に対して適用されるものである。したがって、年間降雨のうち大部分が小降雨である実降雨に適用させる場合、流出係数は小さく見積もる必要があると考えられる。

②　初期損失値

降雨の初期の部分は、地表面を濡らし、水溜まりを形成するため、地表面流出を起こさないものと考えられる。キャリブレーション前には、モデルにおいて降雨の初期損失を見込んでいなかったが、降雨がありながら流量の増加が見られない調査結果も得られたため、これを再現できるように初期損失値を設定した。

b) 水質シミュレーション

調査結果と整合するように、面源負荷の地表面堆積物のポテンシー係数を調整した。

Ⅴ　流出汚濁解析

対象小流域に最も近い気象庁の雨量観測所である我孫子観測所で観測された 2003 年の年間の降雨パターンを、大津川流域の支川・水路を再現したモデルに入力し、汚濁物質の大津川河口への年間流達負荷量を算出した。結果を表-2 に示す。

表-2　年間流達負荷量のシミュレーション結果

| BOD | COD | T-N | T-P |
|---|---|---|---|
| 645 t ･y$^{-1}$ | 791 t ･y$^{-1}$ | 293 t ･y$^{-1}$ | 32 t ･y$^{-1}$ |

２．２．原単位法による排出負荷量と流達率による流達負荷量の算定

閉鎖性水域を対象とした流総計画策定における汚濁解析では、流域からの流達負荷量は、原単位法に基づく排出負荷量に流達率を乗じて算出するのが一般的である。ここでは、この考え方に基づき、大津川流域について、流達負荷量を算定した。

Ⅰ　生活系排出負荷量

2002 年度における大津川流域の生活排水処理形態ごとの人口は、２．１．Ⅲ 1) d)①を調査した。排出負荷量原単位

は、流総指針に掲載されている平均値に基づき、合併処理浄化槽排水，単独処理浄化槽排水、未処理雑排水について設定した。

**Ⅱ　事業系排出負荷量**

2000 年度における①「特定事業場汚濁負荷量」と②「事業場一般汚濁負荷量」の合計値とした。①特定事業場汚濁負荷量は水質汚濁防止法の特定事業場で、規制対象事業所（排水量 30m$^3$･d$^{-1}$ 以上）、未規制事業所（排水量 30m$^3$･d$^{-1}$ 未満）からの排水汚濁負荷量である。また、②事業場一般汚濁負荷量は、特定事業場を有していない事業場でサービス業、営業所、学校、官公署（昼間人口のみのし尿処理施設を含む）及び一般店舗である。

**Ⅲ　畜産系排出負荷量**

流域内に 2 カ所存在している養豚場にアンケート調査を実施し、飼育頭数を把握した。排出負荷量原単位は、「手賀沼に係る湖沼水質保全計画」策定における原単位を用いた。

**Ⅳ　面源系排出負荷量**

土地利用状況（水田、畑地・雑地、山林、市街地の面積）は**2．1．Ⅲ 1) c)**⑤の結果を用いた。排出負荷量原単位は、「手賀沼に係る湖沼水質保全計画」策定における原単位を用いた。

表-３に排出源ごとのフレーム値、排出負荷量原単位および排出負荷量を示す。BOD、COD、T-N、T-P の年間排出負荷量総量は、それぞれ、1214t、691t、288t、35t と算出された。

**表-3　大津川流域における排出源ごとの汚濁物質の排出負荷量**

| 分類 | 排出源 | フレーム値 | 排出負荷量原単位 | | | | | 排出負荷量 [t・年$^{-1}$] | | | | 備考 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 単位 | BOD | COD | T-N | T-P | BOD | COD | T-N | T-P | |
| 生活系 | （下水道） | 126,627 人 | g･人$^{-1}$･日$^{-1}$ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 汚水系外 |
| | 合併処理浄化槽 | 23,453 人 | | 10.9 | 7.7 | 6.5 | 0.75 | 93 | 66 | 56 | 6.4 | |
| | 単独処理浄化槽＋未処理雑排水 | 43,585 人 | | 44.3 | 21.7 | 7.9 | 1.03 | 705 | 344 | 126 | 16 | |
| | （し尿収集処理）＋未処理雑排水 | 22,794 人 | | 40 | 17 | 2 | 0.40 | 333 | 141 | 17 | 3.3 | し尿系外 |
| 事業系 | | | | | | | | 34 | 34 | 40 | 6.6 | |
| 畜産系 | 豚 | 162 頭 | g･頭$^{-1}$･日$^{-1}$ | 6.0 | 4.4 | 1.4 | 0.85 | 0.4 | 0.3 | 0.1 | 0.1 | |
| 面源系 | 水田 | 229.0ha | g･ha$^{-1}$･日$^{-1}$ | 88 | 119 | 3.27 | 3.33 | 7.4 | 9.9 | 2.7 | 0.3 | |
| | 畑地･雑地 | 1046.6ha | | 88 | 33.1 | 69.2 | 0.86 | 34 | 13 | 26 | 0.3 | |
| | 山林 | 362.9ha | | 8.42 | 34.9 | 5.8 | 0.80 | 1.1 | 4.6 | 0.8 | 0.1 | |
| | 市街地 | 2059.3ha | | 8.42 | 103 | 30.2 | 1.53 | 6.3 | 77.4 | 22.7 | 1.2 | |
| 計 | | | | | | | | 1214 | 691 | 288 | 35 | |

**Ⅴ　流達率**

流総指針では、BOD、COD の排出負荷の年間平均流達率は、環境庁の調査結果を引用し、流域の比流量から定める方法が示されている。本研究の InfoWorks CS を用いた流出解析結果では、年間平均比流量が 2,627m$^3$･d$^{-1}$･(km$^2$)$^{-1}$ と算出されていることから、この値に対応する流達率を求めると、BOD、COD の年間平均流域達率はそれぞれ、0.15、0.3 となる。なお，T-N、T-P については考え方が示されていない。

**Ⅵ　流達負荷量**

流達負荷量は、排出負荷量に流達率を乗じて求めることができ、BOD、COD の年間流達負荷量はそれぞれ、182t、207t と算出される。

**３．考察**

大津川流域における汚濁物質の年間流達負荷量を、汚濁負荷流出モデルで推定した場合と、流総指針に基づく方法で推定した場合を比べる（表-4）と、BOD で 3.5 倍、COD で 3.8 倍の差が見られる。

流総指針に掲載されている流達率は、鶴見川、多摩川などの 8 流域について、定期水質調査の測定値を整理したものである。流達率は、流量によって値がかなり変化することが知られており、低水時には流域内で沈殿・堆積する量が多

くなるため流達率は小さく、高水時には沈殿・堆積する量が少なくなるばかりではなく、流域内に蓄積していた汚濁物質が掃流されることもあるため流達率が大きくなることが知られており、年間平均流達率を考える場合、高水時も含めた解析が必要である。流達率を算定した際の流量に関する情報が記載されていないため判断は難しいが、高水時も含めた解析になっていないため、流達率を過小評価している可能性が考えられる。

一方、流出解析モデルの側も、各パラメータの信頼性の点や、河道における生分解などの変化を考慮していない点などの不確実性は残るが、COD、T-N、T-P に関しては、流達負荷量は、原単位法に基づく排出負荷量の総量に近い値となっており、流域内に排出された汚濁物質が、遅かれ早かれ水域に流達する現象を示唆する結果となった。

また、COD、T-N の年間平均流達率が 100%を超えている点の理由としては、排出負荷量が小さめに積算されていることが考えられ、特に排出負荷量の大部分を占める生活系（合併処理浄化槽排水、単独処理浄化槽排水、未処理雑排水）の原単位が、この地域の実態よりも小さい可能性が考えられる。

**表-4　排出負荷量、流達負荷量、流達率の整理**

| 推定方法 | 項目 | 単位 | BOD | COD | T-N | T-P | 備考 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 汚濁負荷流出モデル（InfoWorks CS） | ① 流達負荷量 | $t \cdot y^{-1}$ | 645 | 791 | 293 | 32 | |
| | ② 年間平均流達率 | ― | 0.53 | 1.14 | 1.02 | 0.91 | ①／⑤ |
| 原単位法による排出負荷量×流達率 | ③ 流達負荷量 | $t \cdot y^{-1}$ | 182 | 207 | ― | ― | ⑤×④ |
| | ④ 年間平均流達率 | ― | 0.15 | 0.3 | ― | ― | T-N, T-P は情報無し |
| | ⑤ 排出負荷量 | $t \cdot y^{-1}$ | 1214 | 691 | 288 | 35 | |

## 4．まとめ

生活排水（浄化槽排水、未処理雑排水）による汚濁物質の排出負荷量が、流域からの排出負荷量の大部分を占める千葉県手賀沼流入河川である大津川流域を対象に、雨天時を含めた長期間（1 年間）にわたる汚濁物質の流出過程を、汚濁負荷流出モデル（InfoWorks CS）を用いて解析した。算出された流達負荷量を、原単位法に基づく排出負荷量の総量で除して、 BOD、COD、T-N、T-P の年間平均流達率を求めた結果、それぞれ、53%、114%、102%、91%となった。

さらに、従来から、閉鎖性水域を対象とした流域別下水道整備総合計画の策定の際に用いられている汚濁負荷流出解析手法との比較検討を行った。BOD、COD の年間流達率はそれぞれ、15%、30%であり、汚濁負荷流出モデルの結果と比べて小さく、流達負荷量を過小評価している可能性が考えられる。

## 参考文献


1）建設省都市局下水道部監修　社団法人日本下水道協会編：流域別下水道整備総合計画調査指針と解説 平成 11 年度版（1999）

2）財団法人下水道新技術推進機構：流出解析モデル利活用マニュアル（雨水対策における流出解析モデル運用の手引き）（2006）

3）国土地理院：数値地図 2500（空間データ基盤）千葉-1（2002）

4）鎌ヶ谷市土木部工務課：準用河川大津川整備測量委託平面図・縦断面図（1993）

5）千葉県東葛飾土木事務所：県単緊急都市河川対策委託（大津川河道計画）報告書（1994）

6）千葉県東葛飾土木事務所：県単河川調査及び県単緊急都市河川対策合併委託（河川測量）平面図・縦断面図・横断面図（1994）

7）千葉県東葛飾土木事務所：1 級河川利根川水系（手賀沼流域）河川図（2000）

8）建設省河川局監修　社団法人日本河川協会編：改訂新版建設省河川砂防基準（案）同解説　計画編（1997）

# 下水道整備における信頼性・耐震性に関する研究

土質チーム　上席研究員　小橋　秀俊
研　究　員　桝谷　有吾
研　究　員　吉田　直人
交流研究員　石原　寛隆

## 1　概要

下水道施設に起因する道路陥没が平成 17 年度には全国で約 6,600 箇所発生するなど年々増加する傾向にある。道路の沈下・陥没は地盤中に形成された空洞・ゆるみが進展し、地表面に届く現象であり、埋戻し材の締固め不足が空洞やゆるみの一因となっていると考えられる。締固めが不要であることや、流動性をもち自硬性がある流動化処理土による埋戻しはゆるみ対策として効果的である。

そこで、つくば市の協力のもと実施工において流動化処理土による下水道管の埋戻しを行い、施工実験を通じて、下水工事に適用するに当っての問題点を把握し、問題点について追加実験を行った。これらの実験により流動化処理工法による下水道管埋戻しの適用性の検討を行った。

## 2　研究方法と結果

### 2．1　流動化処理土による下水道管埋戻し

#### 2．1．1　施工概要

平成 19 年 7 月に茨城県つくば市において、流動化処理土を用いた下水道管の埋戻しを行った。流動化処理土を使った埋戻しは、総延長 141.5 mの工事区間のうち、41m の区間で行い、その他の区間においては改良土（施工延長 12m）、山砂・発生土（施工延長 88.5m）を用いて埋戻しを行った。

本施工で用いた流動化処理土の性状を表－1 に示す。流動化処理土の原料土は、「下水道用硬質塩化ビニル管道路埋設指針」[1] に準拠し、最大粒径 20mm とした。施工の流れを下記に示す。

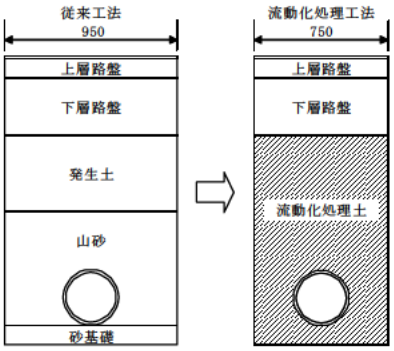
ｉ）掘削幅；締固め不要である流動化処理土のメリットを活かし、掘削幅を従来設計の 950mm から 750mm に狭小化した。掘削断面図を図－1 に示す。なお、この掘削幅は、本施工において土留めと切梁の設置を考慮した最小掘削幅であった。

ⅱ）土留め；軽量鋼矢板を用い、流動化処理土が矢板背面にも回り込むように矢板間の連結はせず、5cm 程度の隙間を空けて設置した。

ⅲ）浮止め；流動化処理土は流動性を有するため、下水道管には、一時的に浮力が働く。そのため、図－2 に示すような浮上がり対策工を 2m 間隔で設置した。

表－1　流動化処理土の性状

| | |
|---|---|
| 密度 | 1.49 g/cm$^3$ |
| フロー値 | 160 mm |
| ブリージング率 | 0.09% |
| 一軸圧縮強度 σ 7 | 146 kN/m$^2$ |
| 一軸圧縮強度 σ 28 | 417 kN/m$^2$ |
| 粘度 | 7.5 Pa･s |



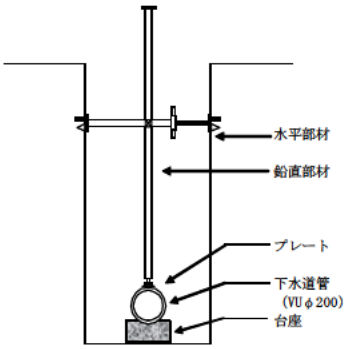

図－1　施工断面図［mm］



写真－1　流動化処理土打設状況

iv）埋戻し；予め作製した流動化処理土製台座を所定の高さに設置し、その上に下水道管を設置した。埋戻しは基礎、管周りも含めて全て流動化処理土で行い、天端より 45cm 下がりまで流動化処理土を打設した。

v）土留め撤去；流動化処理土の打設完了から 2 時間後に、矢板をバックホウにて引き抜いた。引抜いた矢板は高圧洗浄機にて洗浄を行った。また矢板引抜き後に浮上がり対策工も撤去した。



図－2 浮上り対策工

vi）養　生；強度発現過程を確認するため、流動化処理土が「流動化処理土利用技術マニュアル」[2]（以下、マニュアルと示す。）に示される交通開放基準の一軸圧縮強度 130kN/m$^2$ を発現するまで養生を行った。養生期間中は敷鉄板、バリケードによる養生を行ったうえで車両を 24 時間通行止めとした。流動化処理土の強度を一軸圧縮強度試験により確認した後、砕石による路盤部の埋戻しを行い、交通開放を行った。

vii）本復旧；本復旧は全面復旧となるため、本工事全ての工事区間の埋戻しならびに仮復旧期間が終わった後に行った。7月の流動化処理土の打設から約2ヶ月後の9月に本復旧を行い工事は終了となった。

## ２．１．２　計測概要

流動化処理土のメリットの１つである打設後の体積収縮や圧縮が小さいことを定量的に把握するため、流動化処理土の強度変化（一軸圧縮強度、地盤反力係数 $K_{30}$、土壌硬度）や埋戻し土の沈下量、下水道管の傾斜蛇行量等を測定した。また、同一区間の改良土や山砂・発生土による埋戻しと比較した。

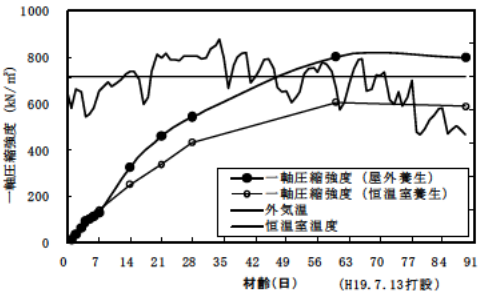
ｉ）一軸圧縮強度試験；養生の異なる 2 種類の供試体について試験を実施し、現地での実強度と恒温室での養生との強度の差を確認した。

ii）地盤反力係数 $K_{30}$；動的平板載荷試験により求めた。

iii）土壌硬度計貫入量；山中式土壌硬度計により測定した土壌硬度（貫入量）と一軸圧縮強度には相関があることが報告されている。[2) 3)] そこで、山中式土壌硬度計を用いて流動化処理土の天端硬度を測定し、現場の強度発現を確認した。

iv）埋戻し土の沈下量；路盤部の埋戻し時に各埋戻し材の天端に沈下板を設置し、埋戻し材の沈下量を測定した。

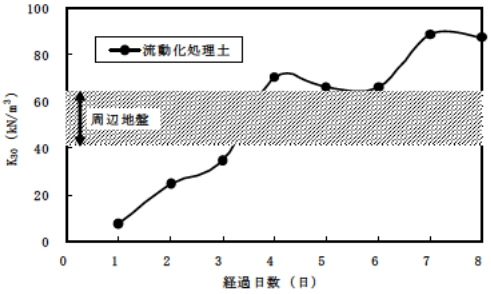
v）下水道管の傾斜蛇行量；埋戻した下水道管の管布設状況の確認として、レーザーによる下水道管の傾斜蛇行調査を実施した。



図－3 一軸圧縮強度の経時変化

## ２．１．３　計測結果と施工結果

流動化処理土の一軸圧縮強度の経時変化を図－3 に示す。マニュアルに示されている車道下の交通開放基準である一軸圧縮強度 130kN/m$^2$ は、打設から 7 日目で強度発現し、その後も強度増加が続き、2 ヵ月程度で強度の増加率が収束していく傾向が確認された。養生温度の違いにより恒温室養生より屋外養生の試験結果のほうが高い強度を示しているが、マニュアルに示されている再掘削可能な強度として、500～1000kN/m$^2$ 程度までとされており、



図－4 地盤反力係数 $K_{30}$ の経時変化

流動化処理土の強度増加率が収束傾向にあることから、今後においても再掘削は可能であると考えられる。

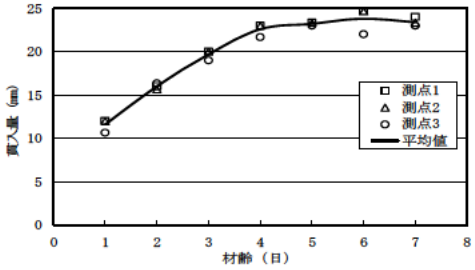
埋戻し土の地盤反力係数 $K_{30}$ の結果を図－4 に示す。流動化処理土の地盤反力係数 $K_{30}$ は、打設後 4 日程度で周辺地盤の地盤反力係数 $K_{30}$（40～65kN/m³）と同等以上となることを確認した。

流動化処理土の土壌硬度貫入量の経時変化を図－5 に示す。材齢 4 日程度で土壌硬度はほぼ一定の値となった。本施工における一軸圧縮強度と土壌硬度の関係を図－6 に示す。本施工においても良好な相関があることが確認された。また、東京都では打設した流動化処理土上に埋戻し用砂を敷均し転圧を行う場合、山中式土壌硬度計の貫入量が 3mm 以上となっていることを確認の上施工することとしている[4]。本施工においては打設翌日には貫入量が 10mm 以上となっているため、1 日以内に路盤工が可能であったことを確認した。

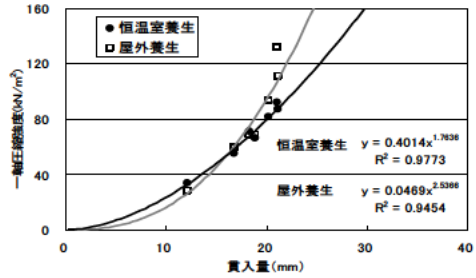
埋戻し土の天端沈下量の結果を図－7 に示す。なお、交通開放は路盤部の埋戻し後すぐに実施され、一般車両ならびに本工事で使用している工事車両が通行した。流動化処理土の天端沈下量は最大 3mm、改良土は最大 7mm、山砂は最大 7mm 程度の沈下を確認し、流動化処理土の沈下は改良土や山砂より沈下が少ないことを確認した。

下水道管の設計値からずれを図－8 に示す。傾斜・蛇行調査は、埋戻しから約 1 ヶ月後に実施した。調査の結果、流動化処理土で埋戻した場合も改良土、山砂・発生土による埋戻した場合と同様に管理幅 30mm 以内で埋戻し出来たことを確認した。

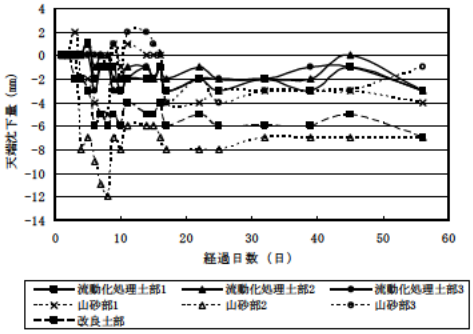
以上の計測結果より、流動化処理土の下水道管埋戻しは、周辺地盤と同等以上の強度が得られ、改良土や山砂・発生土による埋戻しと比較し、沈下量が少なく、高い品質で埋戻しが出来たことを確認できた。また、掘削幅を狭めて施工したが、管布設、埋戻し等、問題が無く施工できたことを確認した。



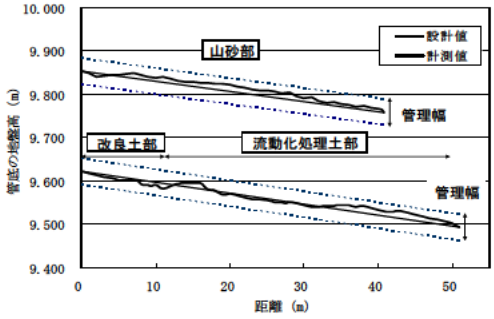

図－5 流動化処理土の土壌硬度貫入量の経時変化




図－6 土壌硬度と一軸圧縮強度の関係




図－7 埋戻し土の天端沈下量




図－8 下水道管の設計値からのずれ

## ２．２． 流動化処理土の浮力と初期強度

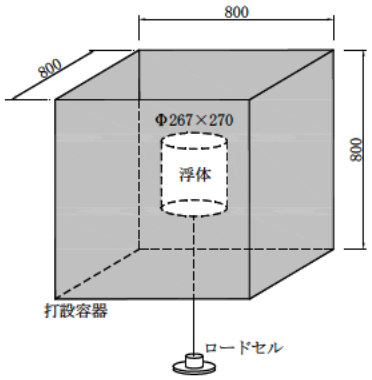
施工時には浮力の作用している間は浮上り対策工により、浮力による埋設物の浮上りを防いでいる。しかし、対策工を撤去するタイミング等は経験に基づいており、影響を受けないよう余裕を十分にとって撤去が行われているのが現状である。浮上り対策工の撤去のタイミング等を現場で簡易に確認する方法について検討を行った。

### ２．２．１ 実験概要

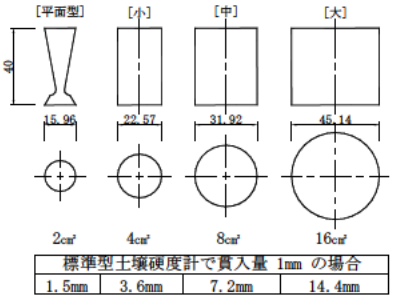
対策工を撤去するのに適した時間を把握するためには、作用する浮力の大きさとその持続時間を確認する必

要があると考えられる。今回は、容器（800mm×800mm×800mm）に流動化処理土をモルタルポンプにて打設し、その中に埋設物に見立てた浮体（φ267mm×270mm）を設置し、浮力を引張力としてロードセルにて計測した。使用した打設容器と浮体を図－9 に示す。

打設後、自硬が始まり、ある程度の強度があれば、浮力が作用していても埋設物が影響を受ける事はない。そのため、流動化処理土の発現過程を確認することも必要である。今回は、パレット（900mm×900mm×250mm）に流動化処理土を打設し山中式土壌硬度計を使用し流動化処理土の初期強度の発現を計測することとした。土壌硬度計には 2 種類（標準型・平面型）があるが、どちらの土壌硬度計も初期の自硬過程にある流動化処理土の強度を計測することは出来ない。そこで土壌硬度計の平面型の先端面積は 2cm² である為、その面積を 4cm²、8cm²、16cm² とした先端部に取り付けるアタッチメントを作製し、初期強度を計測した。使用したアタッチメントを図－10 に示す。実験に使用した流動化処理土は埋設管の埋戻しにおける流動化処理土の利用を想定した。製造した流動化処理土は配合比（原料土：水の重量比）を 3Case（2.8：1.0、3.3：1.0、2.8：1.0）、混練終了時の温度を冷（15～20℃）と温（25～30℃）の 2Case とし計 6Case とした。製造した流動化処理土の諸元を表－2 に示す。




図－9 実験モデル




図－10 土壌硬度計アタッチメント

表－2 実験ケース及び流動化処理土の諸元

| case | 配合比（土：水） | 混練終了時の温度 | ｾﾒﾝﾄ添加量 kg/m³ | 密度 g/cm³ | フロー値 mm | 粘度 Pa・s | ﾌﾞﾘｰｼﾞﾝｸﾞ率 % | 一軸圧縮強度 σ7 kN/m² | 一軸圧縮強度 σ28 kN/m² |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 2.8：1.0 | 冷（15-20℃） | 70 | 1.60 | 290×290 | 6.27 | 1.23 | 98.1 | 261.4 |
| 2 | 3.3：1.0 | | | 1.61 | 310×300 | 6.47 | 0.29 | 94.6 | 329.7 |
| 3 | 3.8：1.0 | | | 1.67 | 205×210 | 5.37 | 0.31 | 136.5 | 366.7 |
| 4 | 2.8：1.0 | 温（25-30℃） | | 1.60 | 240×240 | 7.57 | 0.00 | 79.5 | 256.5 |
| 5 | 3.3：1.0 | | | 1.59 | 300×300 | 9.40 | 0.00 | 73.5 | 279.9 |
| 6 | 3.8：1.0 | | | 1.68 | 160×160 | 28.27 | 0.24 | 132.8 | 353.3 |

### 2．2．2 実験結果

実験結果を図－11～15 に示す。図－13～15 の浮力はロードセルで測定した引張力を底面にかかる上向きの力として底面積で除して浮力強度（kN/m²）としている。強度は土壌硬度計による測定値（mm）を換算式（9806.65*測定値/[0.7952*（40－測定値）²]）により支持力強度（kN/m²）とした。

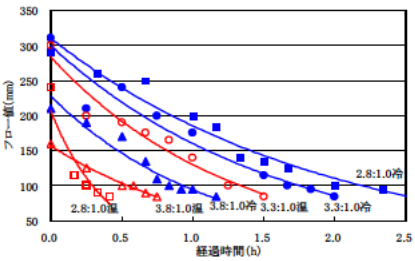
フロー値（図－11）は同じ配合比であれば混練終了時の温度が高い方が早く自立（80mm）することがわかる。また粘度（図－12）に関しても同様に粘度の上がり方が大きくなる。混練終了時の温度に大きく影響されることがわかる。

図 13～15 に示す浮力は全ての Case においても打設終了時に理論値（体積×埋戻し材の密度）よりも大きな値を示している。大きいものでは、理論値の 1.8 倍程度まで作用しており、浮上り対策工には大きな反力が必要となる。

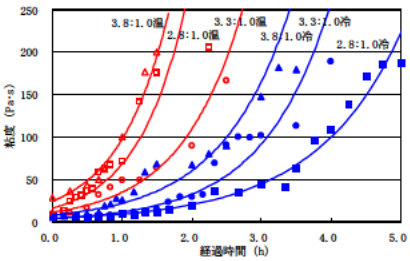
浮力と支持力の関係は、配合比 2.8：1.0 の場合、2.5h（冷）・1.0h（温）、配合比 3.3：1.0 の場合、2.0h（冷）・1.3h（温）、配合比 3.8：1.0 の場合、1.7h（冷）・0.5（温）程度の時間で浮力強度曲線と支持力強度曲線が交

差することがわかる。またそれぞれの交差した時間とフロー値が自立（80mm）するのに必要な時間とはほぼ同じである。フロー試験において自立が確認された時点で、打設された流動化処理土はすでに浮力が支配的な領域から支持力が支配的な領域に移動していると考えられる。

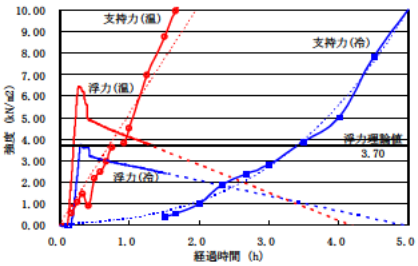
浮力は打設完了後、ほぼ一定の勾配で減少し、およそ 3～5h 後には“0”となる。浮力の減少は流動化処理土の自硬が進み、液体から固体へ変化する速度が勾配に表わされており、浮力“0”は流動化処理土が固体へと変化した状態と考えられる。



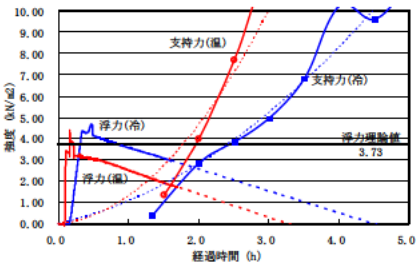

図－11　フロー値



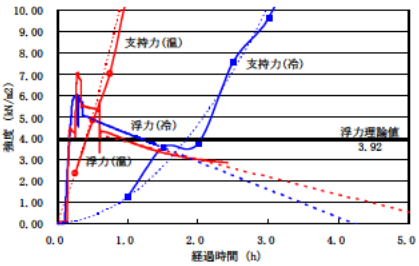

図－12　粘度




図－13　浮力強度と
支持力強度（2.8：1.0）




図－14　浮力強度と
支持力強度（3.3：1.0）




図－15　浮力強度と
支持力強度（3.8：1.0）

## ２．３　流動化処理土の表面強度

### ２．３．１　実験概要

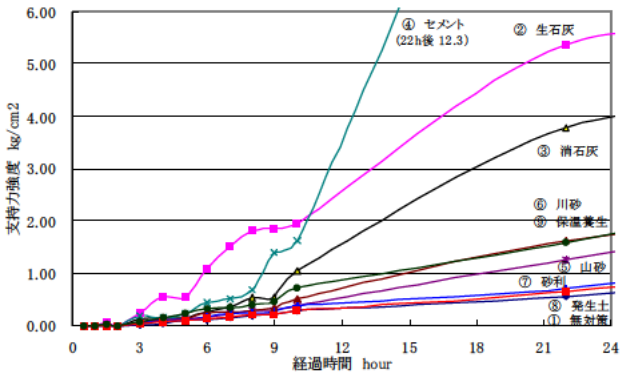
流動化処理土は、配合比（原料土：水の重量比）3.3：1.0 で製造し、パレットに打設した流動化処理土の表面を均し、その上に各種散布材と実験 Case は表－3 のとおりである。強度の測定は２．２流動化処理土の浮力と初期強度と同様にアタッチメントを使用した土壌硬度計で測定した。

表－3　散布材と実験 case

| 実験case | 散布材 | 散布量[kg] | 備　考 |
|---|---|---|---|
| 1 | 無対策 | － | |
| 2 | 生石灰 | 5 | 土壌改良用高度石灰 |
| 3 | 消石灰 | 3 | ライン用 |
| 4 | セメント | 5 | 高炉セメントB種 |
| 5 | 山砂 | 5 | 含水比　13.8% |
| 6 | 川砂 | 5 | 含水比　9.2% |
| 7 | 砂利 | 5 | 粒径　3～5mm |
| 8 | 発生土 | 5 | 含水比　25.3% |
| 9 | 保温養生 | － | 電気カーペット |

### ２．３．２　実験結果

測定結果を図－16 に示す。表面強度は無体策のものより各対策材を散布した場合の方が高い強度を示した。初期強度の発現は生石灰がもっとも早く、10 時間経過後からはセメントが最も強度が高く発現した。流動化処理土の打設後に強度の早期発現を実現するには散布材を用いることが有効であると考えられる。




図－16　表面強度と経過時間

## ３　まとめ

流動化処理工法による下水道管埋戻しは、高い品質

での埋戻しが可能であると考えられる。
①従来施工に比べ掘削幅を狭めて施工が可能である。（950mm→750mm）②浮上り対策工を設置した施工を行えば適切に下水道管を設置できる。③流動化処理土は必要な強度が得られ、再掘削も可能である。④埋戻し後の沈下量が少なく、仮復旧を省略し本復旧を行う事ができる可能性がある等があげられる。

問題点としては、浮力の持続時間が確認できず、浮上り対策工の撤去時間の設定が困難であること、強度発現まで時間が必要である為、即日の交通開放には対応できないことが挙げられる。しかし、今回の追加実験から、現場にてフロー試験を行い、自立を確認した時点で浮上り対策工の撤去は可能であること、早期に表面強度を発現させるためには、散布材を用いることが有効であると言える。ただし、浮上り対策の撤去時期は土被り厚や埋設物の大きさ等の施工条件によって現場毎に異なり一概には決定できないため、現場毎の施工条件に応じた撤去時期を見極める必要があること、早期の強度発現には、散布する材料によっては、再掘削に支障をきたす可能性もあることから今後更なる研究を行う必要がある。

謝辞

流動化処理土による下水道管埋戻しの実施工を行うにあたり、ご協力を頂いたつくば市都市建設部下水道事務所整備課の皆様に深く感謝の意を表します。

＜参考文献＞

1）財団法人国土開発技術センター、塩化ビニル管・継手協会：下水道用硬質塩化ビニル管道路埋設指針，pp70-71，2004
2）独立行政法人土木研究所/株式会社流動化処理工法総合監理：流動化処理土利用技術マニュアル《平成 19 年/第 2 版》，2008
3）小林一雄，内田喜太郎：道路占用工事における埋戻し工法，都土木技術年報，pp65-74，1992
4）東京都：道路掘削占有工事に伴う流動化処理土取扱い基準，pp25-33，1998

# 下水道整備における土質・地盤に関する研究業務

# （１）下水道施設の耐震診断技術・耐震対策技術の開発に関する試験調査

(独)土木研究所　耐震研究グループ(土質・振動)　上席研究員　杉田　秀樹
主任研究員　佐々木哲也
研　究　員　水橋　正典

## １．はじめに

2007 年能登半島地震、2007 年新潟県中越沖地震では、埋戻し土の液状化による下水道管路やマンホールの浮上がり、路面沈下等の被害が多発した。下水道管路施設が上記のような被害を受けた場合、下水道の使用が不可能になるほか、道路交通機能にも支障をきたし、汚水の漏洩による水質の悪化等の２次的な被害が生じる恐れがある。管路施設の被害には様々な形態があるが、管路施設の被害要因を明らかにするとともに、管路施設の被害と下水道管路施設の機能障害との関係を明らかにすることにより、下水道管路施設の対策区間の合理的な選定が可能となるものと考えられる。また、近年、下水管の老朽化対策として、車両交通及び住民生活等の影響を考慮し、非開削工法である更生工法が多く採用されている。更生工法には、多種多様な工法があり、工法の施工方法、材料、強度等についても異なっていることから、統一的な耐震性評価手法が確立されていない状況であり、今後とも、多くの需要が見込まれる更生工法について、下水道管理者である地方公共団体が、現場条件に応じて、適切に耐震性を評価する手法が必要となってきている。

そこで 19 年度は、2007 年能登半島地震で被災した下水道管路施設の被災要因を明らかにし、下水道管路の被災パターンと機能障害の関係を整理するとともに、更生工法の耐震性能を評価手法について検討を行った。

## ２．2007 年能登半島地震による下水道管路施設の被害調査

平成 19 年能登半島地震では、輪島市輪島地区及び門前地区で、埋戻し部の液状化が原因と考えられる下水道管路施設の被害が生じた。ここでは、両地区の下水道管路施設の被害状況を概観するとともに、復旧工事に合わせて埋戻し部の動的貫入試験及び現場密度試験を実施した結果を示す。また、管路施設の被害程度と下水流下機能の関係を整理し、下水流下機能確保の観点から防除すべき管路の被災パターンを整理した結果を示す。

### 2.1　被害の概要

平成 19 年能登半島地震での下水道施設等の被害は、七尾市、輪島市、志賀町、中能登町、穴水町の５つの市町で確認された。特に輪島市での被害が多く、輪島市輪島処理区で災害査定ベースの被災管路延長 3.2km、被災率 4.0%、輪島市門前地区で被災管路延長 10.3km、被災率 19.7%であった（**表-1**）。震度については、輪島処理区で 6 強～6 弱、門前処理区で 6 強が観測されている。**図-1**、**図-2** に、被害の大きかった輪島市輪島処理区、門前処理区の被害箇所位置図をそれぞれ示す。いずれの地区も、海岸付近よりも内陸の山裾付近で被害が多い傾向が見られる。

被害の形態として、マンホール被害では路面異常、人孔滞水、管渠被害では隆起沈下が多い。マンホールの浮上り被害は全体的に少なく、1m 近くのマンホール浮上りが確認されたのは門前地区で 1 箇所のみであった。また、門前処理区の国道 249 号沿いの一部では、推進区間におけるマンホールや管渠のクラック等の被害が見られた。

表-1　能登半島地震による下水道施設への被害の概要

| 区分 | 市町名 | 処理区名<br>地区名 | 管路延長<br>(km) | 被害状況 | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | 路面異常<br>(箇所) | 人孔滞水<br>(箇所) | 途中水没<br>(箇所) | 管閉塞<br>(箇所) | 本管破損<br>(箇所) | 本管<br>浸入水<br>(箇所) | 人孔鉄蓋<br>破損<br>(箇所) | 人孔躯体<br>破損<br>(箇所) | 土砂汚水<br>(箇所) | 管接合部<br>(箇所) | 隆起沈下<br>(箇所) | その他<br>(箇所) | 被災管路<br>延長<br>(km) | 被災人孔<br>個数<br>(箇所) | 被害率<br>(%) |
| 下水道 | 七尾市 | 七尾 | 33.5 | 1 | 3 | | | | | 1 | | | | 1 | | 0.1 | 3 | 0.3 |
| | | 和倉 | 52.7 | 13 | 17 | | | | | | | | | 1 | | 0.1 | | 0.2 |
| | | 田鶴浜 | 17.8 | 3 | 7 | | | | | | | | | | | 0.2 | | 0.9 |
| | | 中島 | 35.6 | 5 | 7 | | | 2 | | | 1 | | | | | 0.2 | | 0.5 |
| | 輪島市 | 輪島 | 80.1 | 多数 | 80 | | | 2 | | | 2 | | | 10 | | 3.2 | 26 | 4.0 |
| | | 門前 | 52.3 | 751 | 321 | 165 | 35 | 28 | 10 | 53 | 72 | 16 | 24 | 305 | 79 | 10.3 | 222 | 19.7 |
| | | 郷地 | 6.1 | 5 | 2 | | | | | 2 | | | 7 | 6 | | 0.1 | 2 | 1.8 |
| | 珠洲市 | 珠洲 | 61.9 | | | | | | | | 6 | | | | | 未申請 | | |
| | 志賀町 | 中央 | 37.2 | 4 | 1 | 2 | 1 | | | | | 1 | | | | 0.1 | 1 | 0.2 |
| | | 富来 | 6.1 | 1 | 1 | | | | | | | | | | | 未申請 | | |
| | 中能登町 | 南部 | 32.2 | 1 | 2 | | | | | | | | | | | 0.0 | | 0.1 |
| | 穴水町 | 穴水 | 35.0 | 20 | 2 | | | | 1 | | | | 1 | 2 | | 0.1 | | 0.4 |
| | 計 | | 450.5 | 804 | 443 | 167 | 36 | 32 | 11 | 56 | 81 | 17 | 32 | 325 | 79 | 14.5 | 254 | 28.3 |

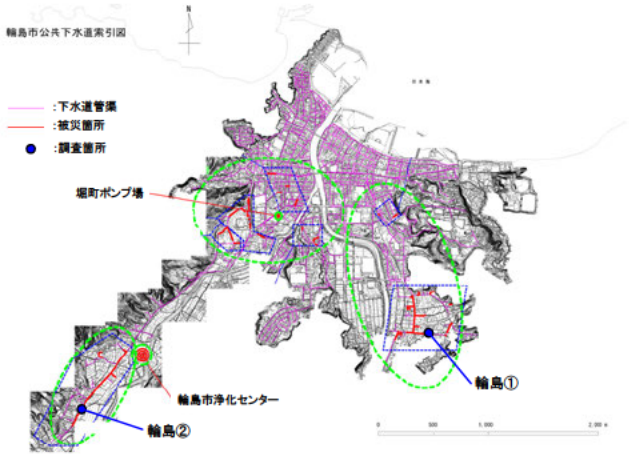



図-1　輪島処理区被災箇所位置図

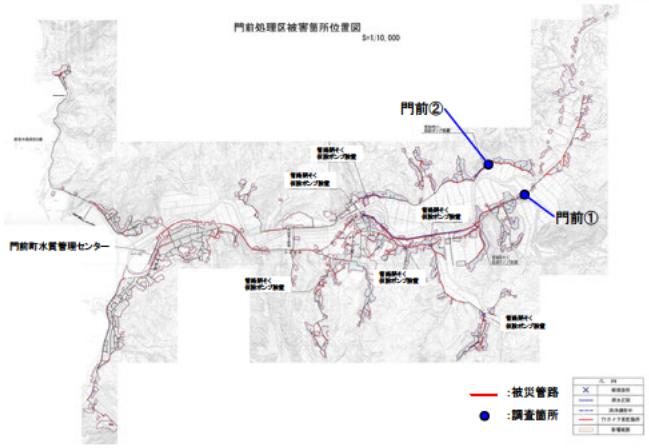



図-2　門前処理区被災箇所位置図

## 2.2　埋戻し部の被害調査

輪島市輪島地区及び門前地区の被災箇所を対象として、復旧工事の掘削に合わせて埋戻し部の地盤調査を実施した。調査箇所は図-1、図-2 に示したとおりである。試験の項目は、埋戻し土を対象とする簡易動的貫入試験、現場密度試験である。また、採取した試料を用いて物理試験等の室内土質試験を実施した。以下に、調査箇所の被災状況を示す。

(1) 輪島①：平成 17 年度に敷設された箇所で、被災形態としては、人孔滞水、管路たるみ、逆勾配であるが、仮設ポンプ等は設置されておらず比較的軽微な被害であった。



図-3　門前②の被災状況

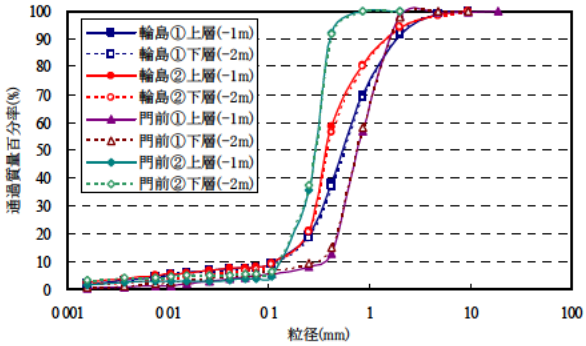
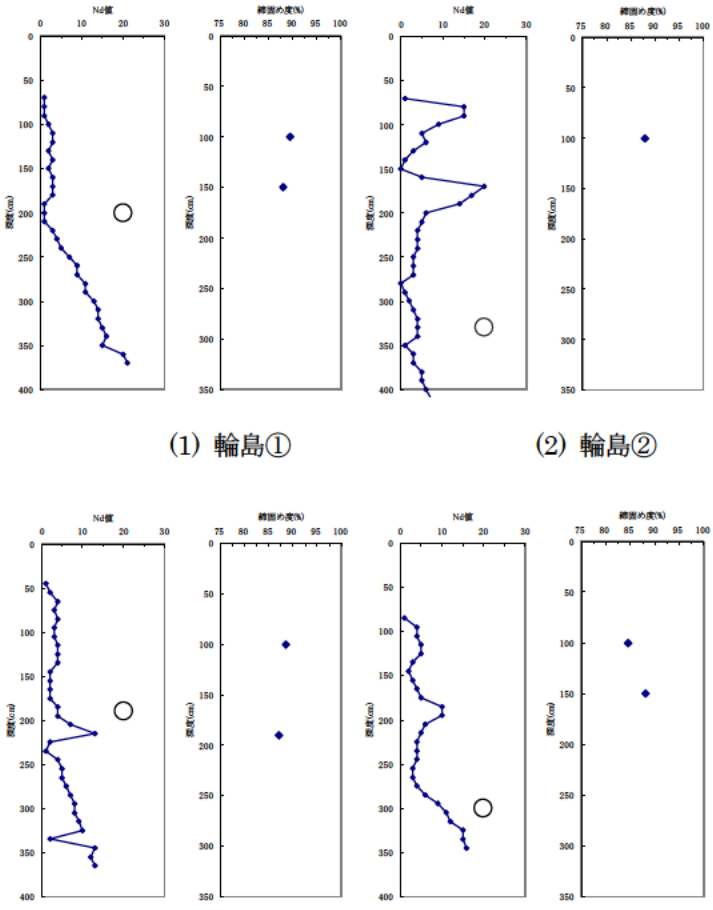



図-4　埋戻し土の粒度分布

(2)輪島②：埋戻し部の液状化によると考えられる路面の陥没、管路の浮上がり、それに伴う管路の破断が生じた箇所である。下水の流下不能が生じ、仮設ポンプによる切り回しが行われている。

(3)門前①：被災形態としては、マンホール内滞水、管渠のたるみであるが、仮設ポンプ等は設置されておらず比較的軽微な被害であった。

(4)門前②：マンホールが今回の地震では最大の 90cm 程度浮き上がった（図-3）。被害形態としては、人孔浮上、マンホール内滞水、路面陥没、本管抜出、管渠たるみである。路面には管渠埋設時の開削幅に沿って、数 10cm の路面陥没が生じていた。下水道管路は山裾沿いの 2m 程度の低盛土内に敷設されている。マンホールの浮き上がりに伴う流下不能により仮ポンプ、仮配管で切り回しが行われた。



(1) 輪島①　(2) 輪島②

(3) 門前①　(4) 門前②

図-5　地盤調査結果

図-4 に埋戻し土の粒度分布を、図-5 に簡易動的貫入試験及び現場密度試験の結果をそれぞれ示す。埋戻し材料はいずれの箇所も、細粒分が 10%以下と少なく、また礫の混入も少ない比較的粒径のそろった液状化しやすい材料であった。簡易動的貫入試験の結果から、いずれの箇所においても管渠付近では *Nd* 値は 5 以下で、緩いことがわかる。締固め度については、被災程度にかかわらず 84～89%を示している。これらの箇所では、路面の陥没が発生していたため、被災前の埋戻し土は調査時よりもさらに緩い状態にあったことが推測される。

## 2.3　下水道管路施設の被害と機能傷害の関係の整理

下水道管路施設を対象に、平成 19 年能登半島地震による被災パターンと機能傷害の関係を整理した。マンホール・管きょの浮上がりによる管の勾配不良、管きょの破断による土砂流入等の割合が多い。これは主に埋戻し

土の液状化により生じる被害である。一方、硫化機能を確保した箇所の被害は、管きょのクラック、継手部のズレ、マンホール本体の破損等の割合が高く、これらの被害は一般に過大な地震動や周辺地盤の変状に起因するものである。したがって、下水道管路施設につて下水の流下機能確保の観点からは、埋戻し土や周辺地盤の液状化による被害を防止する必要があるといえる。

**表-2** 管路施設の被災パターンと流下機能の関係

| 被災パターン | | 流下機能確保 (%) | 流下機能喪失 (%) |
|---|---|---|---|
| 管路 | 管路勾配不良 | 25.0 | 85.7 |
| | 管のたるみ | 91.7 | 14.3 |
| | 管の蛇行 | 0.0 | 0.0 |
| | 管本体クラック、変形、破損 | 8.3 | 14.3 |
| | 管継手ズレ、亀裂、破損 | 41.7 | 14.3 |
| マンホール | 蓋破損 | 4.0 | 0.0 |
| | 斜壁・直壁破損 | 84.0 | 0.0 |
| | 底版・インバート破損 | 4.0 | 12.5 |
| | 本管接続部破損 | 28.0 | 12.5 |

### 2.3. まとめ

輪島市輪島地区及び門前地区の被災箇所を対象とし、復旧工事の掘削に合わせて下水道管路の埋戻部の地盤調査を実施するとともに、下水道管路施設の被害と機能障害の関係を整理した。その結果、以下のことが明らかになった。

①被害の形態としては、路面異常、人孔滞水、人孔突出が多かった。

②いずれの地区でも、海岸付近よりも内陸の山裾付近で被害が多い傾向が見られた。

③被害箇所では、下水道管路は砂質土で埋め戻されており、埋戻し部の締固め度は低いことが分かった。

④下水流下機能確保の観点からは埋戻し土や周辺地盤の液状化による被害を防止する必要があることを確認した。

## 3. 更生管の耐震性能評価手法に関する検討

更生工法の耐震性能を評価・検討することを目的として、更生管の地震時挙動、更生工法の耐震性能評価手法の検討を行った。

まず、代表的なモデルを作成して地震時に更生管の地震時挙動を検討した。計算は、「下水道施設の耐震対策指針と解説　2006 年版　日本下水道協会」における「一体構造管きょ（硬質塩化ビニル管（接着接合管路））」に準拠した。ただし、管の強度の検討において鉛直方向と管軸方向のどちらが支配的な要因か検討することを目的として、鉛直断面方向についても検討した。解析では、自立管を対象とし、土被りは 3.0m、既設管径（呼径）をφ250、φ600、φ1000 の３とおりに、スパン延長Ｌ＝5、10m、20m、30m、40m、50m、70m、100mの７とおりに変化させた。解析モデルを図-6 に示す。

解析結果を図-7～図-8 に示す。

これより、以下のことがわかった。

１）地盤沈下による曲げ応力は、スパン延長が短いほど大きく、また管径が大きいほど大きくなる傾向がある。

２）永久ひずみによる抜け出しは、スパン延長が長いほど、管径が小さいほど大きくなる傾向がある。

３）地盤沈下による屈曲および抜け出しは、スパン延長が短いほど大きく、管径の影響はほとんどない。

解析事例およびこれまでの下水道管路施設の被害事例より、更生工法を施した管渠の想定される主な被災パターンを整理すると以下のとおりである。

① マンホールと管きょ間のクラック

② 管きょ本体の縦断方向クラック

③ 管渠本体の長手方向クラック

④ 管渠継ぎ手部のクラック、抜けだし

更生工法は、基本的には、マンホール間で管きょと管きょの継ぎ手がない一体管となっていることより、「下水道施設の耐震対策指針と解説　2006 年版　日本下水道協会」における「一体構造管きょ（硬質塩化ビニル管（接着接合管路））」の考え方を勘案しつつ、性能評価を行う必要があると考えられる。耐震性能の評価手法としては、①既設管と同様に耐震対策指針に準拠する、②詳細解析モデルによる評価、③実験に基づく性能照査があるが、更生工法には、多種多様な工法があり、工法の施工方法、材料、強度等についても異なっていること、更生管の外側には既存管が存在しており、スパン間において一律な耐荷能力を有しておらず、自立管に対し局所的に外力が働く可能性もあり、複雑な挙動を示すことから、解析手法の適用性については不明な点が多い。このため、実験に基づく耐震性能の照査手法について検討した。

実験に基づく更生管の耐震性能照査では、以下の項目について性能の照査を行う必要があると考えられる。

① 管渠断面の耐荷力

② 管軸方向の耐荷力

③ 継手部の屈曲

⑤ 継手部の抜出

試計算の結果から、それぞれの照査項目における許容値の目安を示すと以下のとおりである。

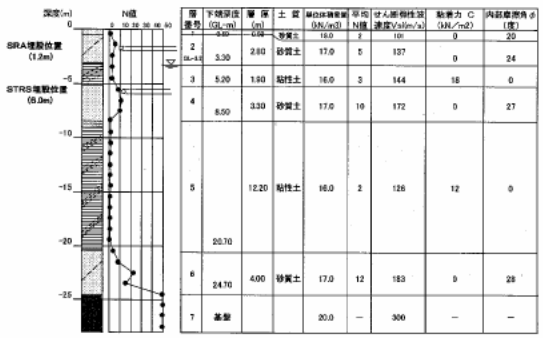



図-6　検討対象地盤

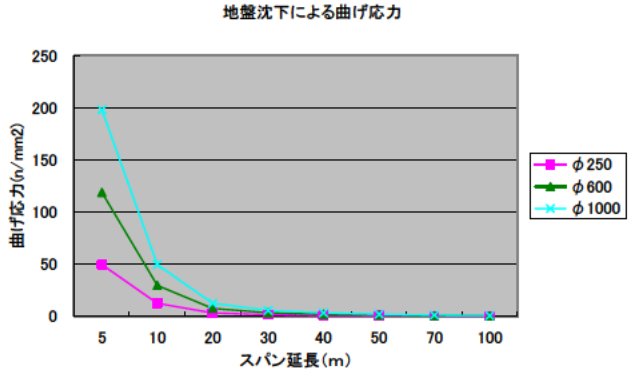



図-7　スパン延長と地盤沈下による曲げ応力の関係

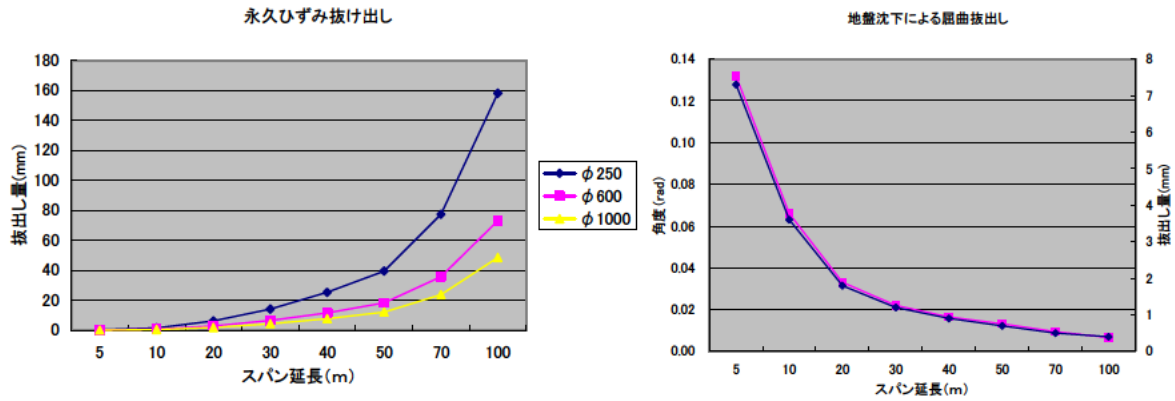



図-8　永久ひずみ及び地盤沈下による抜出および屈曲角の関係

表 3.2.5　更生管（自立管）の照査項目と許容値（案）

| 部位 | | 照査項目 | 許容値 | | | | | | | | | | 適用 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | レベル1地震動 | | | レベル2地震動 | | | | | | | |
| | | | 限界状態 | 地震動 | | 限界状態 | 地震動 | | 液状化時 | | 側方流動時 | | |
| | | | | φ800mm未満 | φ800mm以上 | | φ800mm未満 | φ800mm以上 | φ800mm未満 | φ800mm以上 | φ800mm未満 | φ800mm以上 | |
| マンホールと管渠の接続部 | | 継手部の屈曲 | 更生管の損傷により土砂流入の起こらない | ±2° | ±2° | 更生管の損傷により土砂流入の起こらない | ±2° | ±2° | ±5° | ±5° | ±5° | ±5° | マンホールと管きょの接続部に過当性継手を設ける場合には省略可能 |
| | | 継手部の抜出 | | 31mm | 31mm | | 31mm | 31mm | 62mm | 62mm | 62mm | 62mm | |
| 既設の管渠と管渠の継手部 | | 屈曲 | | ±2° | ±2° | | ±2° | ±2° | ±5° | ±5° | ±5° | ±5° | |
| | | 抜出 | | 31mm | 31mm | | 31mm | 31mm | 62mm | 62mm | 62mm | 62mm | |
| 管渠本体 | 管きょ断面 | 管渠断面の耐荷力 | | JSWAS K-1に準拠 | JSWAS K-2に準拠 | | JSWAS K-1に準拠 | JSWAS K-2に準拠 | JSWAS K-1に準拠 | JSWAS K-2に準拠 | JSWAS K-1に準拠 | JSWAS K-2に準拠 | |

表 3.2.6　更生管（複合管）の照査項目と許容値（案）

| 部位 | | 照査項目 | 許容値 | | | | | | | | | | 適用 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | レベル1地震動 | | | レベル2地震動 | | | | | | | |
| | | | 限界状態 | 地震動 | | 限界状態 | 地震動 | | 液状化時 | | 側方流動時 | | |
| | | | | φ800mm未満 | φ800mm以上 | | φ800mm未満 | φ800mm以上 | φ800mm未満 | φ800mm以上 | φ800mm未満 | φ800mm以上 | |
| マンホールと管渠の接続部 | | 継手部の屈曲 | 更生管の損傷により土砂流入の起こらない | ±2° | ±2° | 更生管の損傷により土砂流入の起こらない | ±2° | ±2° | ±5° | ±5° | ±5° | ±5° | マンホールと管きょの接続部に過当性継手を設ける場合には省略可能 |
| | | 継手部の抜出 | | 31mm | 31mm | | 31mm | 31mm | 62mm | 62mm | 62mm | 62mm | |
| 既設の管渠と管渠の継手部 | | 屈曲 | | ±2° | ±2° | | ±2° | ±2° | ±5° | ±5° | ±5° | ±5° | |
| | | 抜出 | | 31mm | 31mm | | 31mm | 31mm | 62mm | 62mm | 62mm | 62mm | |
| 管渠本体 | 管きょ断面 | 管渠断面の耐荷力 | | JSWAS A-1に準拠 | JSWAS A-1に準拠 | | JSWAS A-1に準拠 | JSWAS A-1に準拠 | JSWAS A-1に準拠 | JSWAS A-1に準拠 | JSWAS A-1に準拠 | JSWAS A-1に準拠 | |

## ３．まとめ

輪島市輪島地区及び門前地区の被災箇所を対象とし、復旧工事の掘削に合わせて下水道管路の埋戻部の地盤調査を実施するとともに、下水道管路施設の被害と機能障害の関係を整理した。その結果、以下のことが明らかになった。

①被害の形態としては、路面異常、人孔滞水、人孔突出が多かった。

②いずれの地区でも、海岸付近よりも内陸の山裾付近で被害が多い傾向が見られた。

③被害箇所では、下水道管路は砂質土で埋め戻されており、埋戻し部の締固め度は低いことが分かった。

④下水流下機能確保の観点からは埋戻し土や周辺地盤の液状化による被害を防止する必要があることを確認した。

また、更生管の耐震性評価手法の検討を行い、以下のことを明らかにした。

⑤地盤沈下による曲げ応力は、永久ひずみによる抜け出しは、地盤沈下による屈曲および抜け出しにつて、スパン延長と管径の影響を明らかにした。

⑤更生管の耐震性能評価としての実験における、照査項目、許容値の目安を示した。

## 参考文献


1)　下水道地震対策技術検討委員会：新潟県中越地震の総括と地震対策の現状を踏まえた今後の下水道地震対策のあり方、2005.

2)　(社)日本下水道協会：下水道施設の耐震対策指針と解説、1997.

# Ⅱ．その他の予算による研究
## ［リサイクルチーム］

# 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

研究予算：運営交付金（一般勘定）
研究期間：平 18～平 20
担当チーム：材料地盤研究グループ（リサイクル）
研究担当者：尾崎正明、落修一、山下洋正、宮本豊尚

【要旨】
国土交通省管轄の公共事業からは、毎年定期的に大量のバイオマスが発生している。本研究は、これらを資源と位置付け、安全性を確保しつつ積極的な利用推進に繋げることを目的に、バイオマスインベントリーシステム開発のための基礎調査や微量有害物質試験方法の開発を行うとともに、資源化技術や利用技術に関する開発実験を行った。その結果、インベントリーに必要なバイオマス種毎の組成性状を明らかとした。また、公共緑地管理から発生するバイオマスからは微量有害物質は検出されなかった。開発実験からはエネルギー変換技術とバイオガスエンジンは完成が近いと思われた。
キーワード：バイオマス、公共緑地、エネルギー、ガスエンジン、微量有害物質

## 1. はじめに

地球温暖化対策、エネルギー対策に大きく貢献することからバイオマス利用が世界的に注目され、我が国においても積極的な取り組みが期待されている。国土交通省管轄の公共事業からは毎年定期的に大量のバイオマスが発生しており、これを資源化・利用に繋げて行くことが重要であり、そのための具体の施策・技術を提供していく必要がある。

## 2. 研究の目的

本研究は、目的達成のために大きく３つから構成され、それぞれ取り組み方法が異なる。一つは、バイオマスを資源管理するインベントリーシステムの開発であり、そのためのデータ収集とシステム検討を行う。二つ目はバイオマスの安全性に係わるものであり、微量有害物質に関する情報収集と試験方法の開発である。三つ目は資源化・利用技術に関するものであり、エネルギー変換技術と大量炭化技術およびバイオガスエンジンの開発を行うともに、緑化基盤用ピートモス代替開発品の現地適用評価研究を行う。

## 3. 結　果

### 3. 1　バイオマスインベントリーシステム

草地・緑地の管理における年間の刈り草の時期や回数は、管理者により現地の社会的、自然的環境状況等を勘案して決定されている。緑地管理から発生する刈り草を資源として位置付けるデータ・情報整備は行われていない。このために、緑地管理方法と刈り草発生量の関係を把握するための基礎調査を行った。調査は、刈り草回数と発生量の関係を調べる調査と、国土交通省地方整備局における除草管理からの発生量に関する調査を行った。

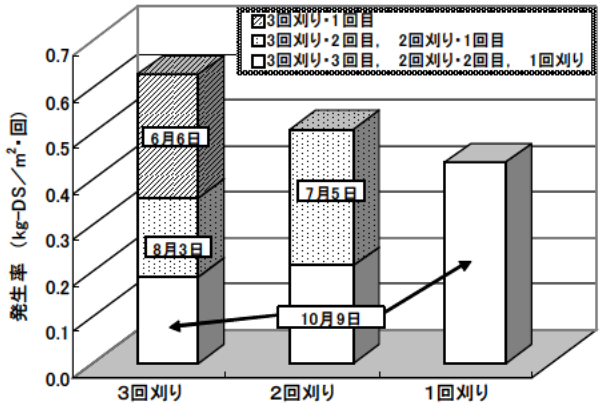
#### 3.1.1　調査方法

刈り草回数と発生量に関する調査は、北海道長万部町の下水道終末処理場と土木研究所の敷地内に試験フィールドを設定して行った。各フィールドには年間に１回刈り、２回刈り、３回刈りを行う３つの試験区を併設して設け、それぞれ道南地方や関東地方で行われている刈り草時期に合わせて草刈りを実施した。草刈りは肩掛け式刈払い機で行い、全量を回収、重量を測定した。試験区の大きさは、長万部町下水道終末処理場フィールドが 6.5m×20m×3 区、独立行政法人土木研究所フィールドが 3.3m×23.7m×3 区である。

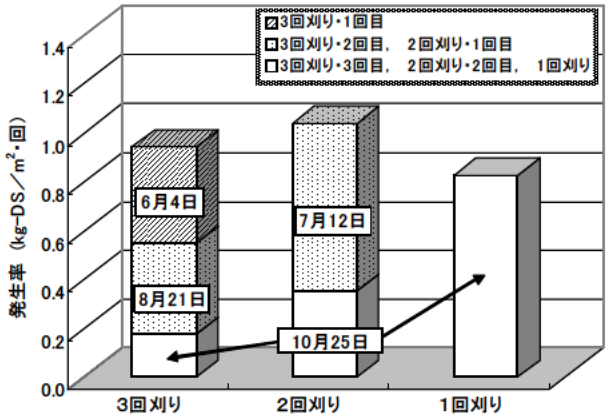
国土交通省地方整備局の除草管理発生量調査は、河川事務所や国道事務所が行っている堤防法面や道路法面の除草管理に合わせて発生量を調べる調査を北海道開発局から九州地方整備局までの各局管内の任意の１カ所づつで行った。

#### 3.1.2　調査結果

刈り草回数と発生量の関係を長万部町下水道終末処理場フィールドの結果を図－１に、土木研究所フィールドの結果を図－２に示す。刈り草の発生率は、



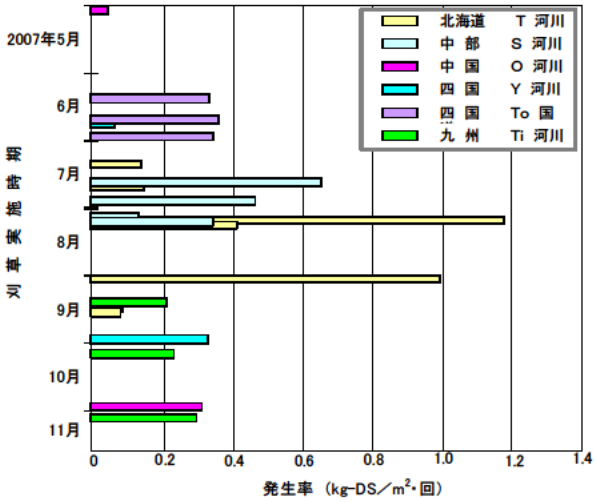

図－１　長万部町フィールドにおける
刈草回数と発生量の関係




図－２　土木研究所フィールドにおける
刈草回数と発生量の関係

1 回当たりでみた場合は年間の刈り草回数が少ない方が高く、年間では刈り草回数が多い方が高くなる傾向にあるとして良いものと思われる。ここで、2 つのフィールドには緑地管理上の特徴として、前者が毎年 3 回の除草が行われているのに対して後者は年 1 回のみの除草となっていることがあり、このために、前者は 3 回刈り緑地管理に馴染んだ安定した植生のもとでの結果であり、後者は 2 回や 3 回刈りの経験がない 1 回刈り管理に馴染んでいる植生のもとでの結果といえる。

国土交通省地方整備局の一部の河川および道路事務所における一部除草管理区間の発生率の結果を図－３に示す。結果は 0.05～1.17 kg-DS／m²・回と大きな範囲の中にあるが、1 回当りの発生率としては、傾向から、或は平均的にみて 0.2～0.3 kg-DS／m²・回にあるとして良いものと思われる。これらの人工法面の植生は大部分がイネ科主体の混合植種となっているが、現地調査からは時間経過とともに自然に単一種優先となってきている緑地も多く存在した。特徴的に北海道地区で見られたオオイタドリ群生地とクマザサ群生地の生育状況を調べた結果、それぞれオオイタドリ：1.34 kg-DS／m²、クマザサ：1.11 kg-DS／m² と大きな値が得られた。これらの値は緑地をバイオマスの資源地として管理していくとした際の参考値となる。




図－３　河川及び道路の法面除草における
１回当たりの刈草発生量

### 3．2　微量有害物質の試験方法の開発

刈り草等のリサイクル資材に含まれる可能性のある微量有害物質を把握するために，含有量の分析方法の検討および実態調査を行った。国土交通省地方整備局の河川および道路事務所より入手した刈り草試料 10 検体について，殺菌剤等の農薬 23 種類の含有量を，高速液体クロマトグラフータンデム型質量分析計（LC/MS/MS）により分析した。

表－１　刈り草試料中の殺菌剤等農薬の分析結果

| D | 農薬番号 | 物質名 | 用途 | 添加回収試験結果 回収率（%） | CV | 検出下限値 LOD(ng/g) | 10検体中検出率(%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 36 | asulam | 除草剤 | 124 | 1 3 | 11 5 | 0 |
| 2 | 74 | methomyl | 殺虫剤 | 128 | 1.4 | 11 5 | 0 |
| 3 | 87 | tricyclazole | 殺菌剤 | 101 | 4 0 | 1 9 | 0 |
| 4 | 82 | probenazole | 殺菌剤 | 86.5 | 1 2 | 0 0 | 0 |
| 5 | 55 | thiophanate-methyl | 殺菌剤 | 84.2 | 2 6 | 5.1 | 0 |
| 6 | 96 | thiodicarb | 殺虫剤 | 39.1 | 1 5 | 31 6 | 0 |
| 7 | 18 | carbofuran | 殺虫剤 | 80.2 | 1.4 | 9.1 | 0 |
| 8 | 48 | carbaryl | 殺虫剤 | 79.5 | 7 3 | 8.7 | 0 |
| 9 | 1 | thiram(thiuram) | 殺菌剤 | 41.8 | 12 5 | 7 3 | 0 |
| 10 | 68 | diuron | 除草剤 | 45.5 | 8.4 | 12.1 | 0 |
| 11 | 86 | bensulfuron-methyl | 除草剤 | 126 | 3.4 | 9 9 | 0 |
| 12 | 95 | flazasIfuron | 除草剤 | 132 | 6 3 | 5.4 | 0 |
| 13 | 98 | siduron | 除草剤 | 49.4 | 8 0 | 7 6 | 0 |
| 14 | 90 | azoxystrobin | 殺菌剤 | 77.6 | 4.4 | 7 6 | 0 |
| 15 | 84 | daimuron(dymron) | 除草剤 | 64.1 | 4 3 | 8.4 | 0 |
| 16 | 26 | iprodione | 殺菌剤 | 36.2 | 18 3 | 27.1 | 0 |
| 17 | 58 | carpropamid | 殺菌剤 | 35.1 | 8 0 | 4.7 | 0 |
| 18 | 42 | bensulide | 除草剤 | 36.4 | 7.1 | 44 6 | 0 |
| 19 | 17 | bentazone | 除草剤 | 61.2 | 1 3 | 4 0 | 0 |
| 20 | 94 | halosulfuron-methyl | 除草剤 | 60.2 | 13.7 | 5 9 | 0 |
| 21 | 19 | 2,4-D | 除草剤 | 25.3 | 16 5 | 5 2 | 0 |
| 22 | 20 | triclopyr | 除草剤 | 35.8 | 5.7 | 11.7 | 0 |
| 23 | 45 | mecoprop | 除草剤 | 40.5 | 15 9 | 2 6 | 0 |

農薬番号：厚生労働省水質管理目標設定項目15の対象農薬リストにおける番号
検出率：10検体中の検出下限値以上の検体数の割合(%)

結果は表－１に示す通りであり，分析法の回収率

が 40%未満と低い物質が一部あるものの，ng/g オーダーの検出下限値が得られており，LC/MS/MS を用いる本分析法は，スクリーニング目的に実用可能であると考えられた。調査対象農薬は LC/MS/MS で分析可能な比較的親水性を有した物質であるが，全て検出下限値未満であったことから，刈り草試料中にこれらの農薬が含まれている可能性は低く，リサイクル由来の環境影響の可能性も低いと考えられた。

今後は，親水性が低い物質の分析に適したガスクロマトグラフ質量分析計（GC/MS）でも調査を行う予定である。また，下水汚泥中に抗菌剤等が含有されている場合があることが分かっており，下水汚泥単独あるいは刈り草と混合して堆肥化・緑農地還元する際の微量有害物質の土壌生物への影響把握に適した試験方法も開発する予定である。

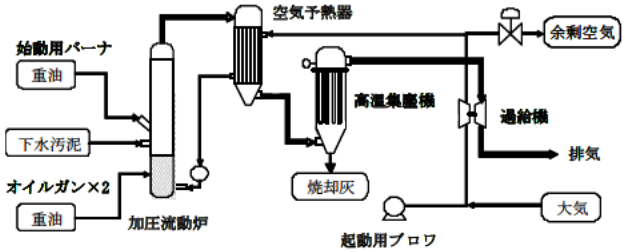
### 3. 3　資源化・利用技術

#### 3.3.1　エネルギー変換技術の開発

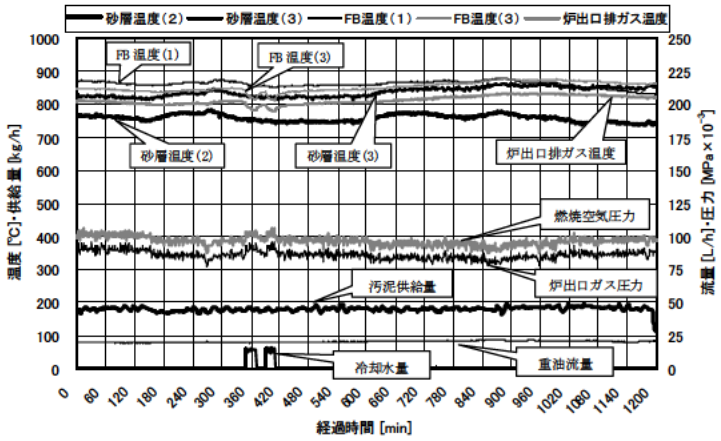
エネルギー変換技術の開発は、独立行政法人産業技術総合研究所と月島機械株式会社ならびに三機工業株式会社との共同研究「高含水バイオマスの熱化学的エネルギー直接変換技術に関する研究」において下水汚泥の従来の焼却炉に替わる新しい省・創エネルギー型の燃焼炉を開発しているものである。さらにその実用化を目指して、平成 17 年 3 月より、これらの共同研究者と独立行政法人新エネルギー・産業技術総合研究機構との間において共同研究「都市バイオマス収集システムを活用するためのエネルギー転換要素技術開発」に取り組んだ。

1)　開　発

開発技術は「過給式(加圧)流動炉」と称するものである[1)]。長万部終末処理場内に設置した実証プラント(処理能力：約 5 t-脱水汚泥／日)の概要およびフローを図－４に示す。開発技術は主に加圧流動炉、空気予熱機(熱交換機)、高温集塵機および過給機から構成される。そのシステムは、汚泥又は汚泥と草木系バイオマスの混合物が定量フィーダから加圧流動炉に送られ 0.2 MPa ほどの圧力下で燃焼される。そこからの燃焼ガスは空気予熱機、高温集塵機(セラミックフィルター)を介して過給機を稼動させる。過給機で得られた圧縮空気は空気予熱機を介して流動炉に供給するとともに、余剰となった圧縮空気は他に有効利用されるとともに、過給機を稼動した約




図－４　実証プラントの概要及びフロー




図－５　下水汚泥専焼時の炉内温度や圧力の変化

表－２　草木類の資源化検討のための代表的な値

| | 水分 (%－全重) | 強熱減量 (%－乾重) | 高位発熱量 (kJ／kg-乾重) |
|---|---|---|---|
| 草　本 | 67～73 | 91～93 | 17,500～18,100 |
| 木本(木幹) | 48～52 | 91～97 | 18,700～19,100 |
| 木本(小枝・葉) | 58～62 | 89～94 | 19,000～19,600 |

500℃の高温廃熱も有効利用が図れるものである。

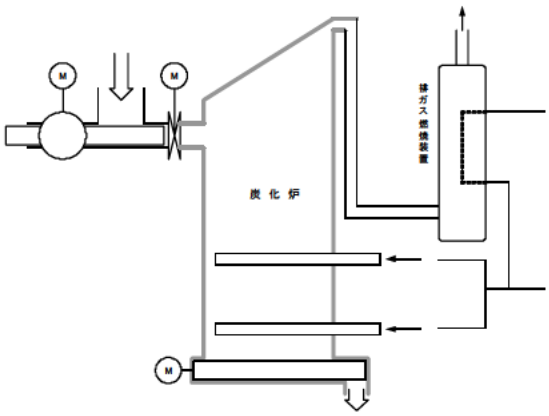
平成 19 年度は、実証プラントにおいて、下水汚泥の専焼実験と、下水汚泥と草木系バイオマスの混焼実験を行った。下水汚泥専焼時における炉内温度や圧力などの変化を図－５に示す。各指示値は非常に安定したものであり、円滑な燃焼が維持されていたものである。また、下水汚泥とバイオマスの混焼実験においても円滑な安定した燃焼が得られた。

2)　バイオマス分析

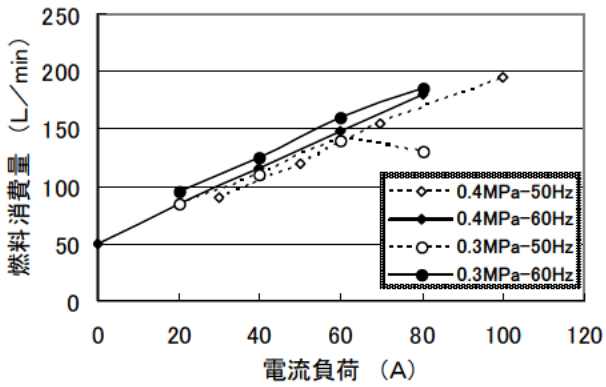
エネルギー資源、無機物資源さらにプロセスの制御や開発の基礎データを整備するために各種のバイオマスを採取して、組成・性状を分析した[2)]。草木類バイオマスの資源化を検討する際の伐採時における生資材の値としては中央値から±10%の範囲内にある表－２に示す値を用いてよいものと思われた。

#### 3.3.2　大量炭化技術の開発

これまでの研究から、草本類の炭化は極低温域で行う方が効果的であろうとの示唆[3)] を得ている。こ




図－６　炭化装置の検討結果の概要図




図－７　実ガスによる電流負荷と燃料消費量の関係

の知見に基づいて炭化炉・装置の具体化について検討した。条件は、原料が一度に大量に集積される生の刈草であること、炭化に際しては乾燥物である必要があること、炭化の過程で発生するタール分の対策が十分に取れることの大きく３つである。検討結果を図－６に示す。成案を得るまでには構造的、機械的要因も含めて更に検討を重ねる必要がある。

### 3.3.3　バイオガスエンジンの開発

バイオガスエンジンの開発は、ライト工業株式会社と株式会社井上政商店との共同研究「消化ガスエンジン動力システムの開発」で行っているものである。平成 19 年度は、土木研究所の屋外試験場において工業用メタンガスと炭酸ガスを用いた基礎的な稼動実験を行うとともに、鶴岡市浄化センターにおいて実ガスを用いた稼動実験を行った。

#### 1)　人工ガスを用いた実験

ガスエンジンが $CH_4$ 濃度範囲：100～50 %-v/v で始動、安定稼動するための開発実験を行った。実験には $CH_4$ ガスと $CO_2$ ガスを圧力計と流量計で一定濃度となるよう調整し、エンジンに供給する方法を取った。結果は、燃料ガスの供給圧力が 0.3～0.4 MPa の範囲において始動と安定稼動を達成できた。0.3 MPa 以下の実験は装置の制約から実施できなかった。

#### 2)　実ガスを用いた実験

開発の消化ガスエンジン発電機を鶴岡市浄化センターに設置して平均 $CH_4$ 濃度 60.3 v/v-%の消化ガスによる稼動実験を行った。実験では、供給圧力を 0.4, 0.3, 0.2, 0.15, 0.1, 0.08, 0.06 MPa と随時低下させ、エンジンの始動と安定稼動を調べた。

エンジンは、全ての供給圧力で始動が可能であった。しかし、0.08, 0.06 MPa では燃料供給が間に合わず、発電の負荷運転は不可能であった。実験結果の一例として供給圧力 0.4, 0.3 MPa における 50 Hz と 60Hz の場合の電流負荷と燃料消費量の関係を図－７示した。これらの結果における発電熱効率は約 20%ほどである。

## 4. まとめ

1) バイオマスの発生量に関して、緑地からの草類の発生は 0.2～0.3 kg-DS／$m^2$・回にあると思われた。また、単一種群生地の値としてオオイタドリ：1.34 kg-DS／$m^2$、クマザサ：1.11 kg-DS／$m^2$ が得られた。

2) 公共緑地管理から発生するバイオマスである刈り草中に含まれる可能性のある微量有害物質（殺菌剤等農薬）の試験方法を開発した。実試料中からは殺菌剤等農薬は検出されなかった。

3) 過給式(加圧)流動炉の開発に関して、実証プラントにより下水汚泥専焼実験および下水汚泥と草木系バイオマスの混焼実験を行い、安定燃焼を確認した。また、草木系バイオマスの資源化検討のための性状を明らかとした。

4) 大量炭化装置・システムの概略設計を行った。

5) 実ガスを用いたエンジン開発実験を行い、円滑な始動と安定稼動を確認した。

## 参考文献

1) 山本隆文，小関多賀美，落修一，村上高広：下水汚泥とバイオマスの加圧流動燃焼によるエネルギー回収，日本エネルギー学会・三部会合同シンポジウム講演集，pp. 15-20，2007

2) 独立行政法人土木研究所：草木系バイオマスの組成分析データ集，土木研究所資料第 4095 号，2008

3) 尾崎正明，落修一，宮本綾子，牧孝憲：草木廃材の緑化資材としての有効利用技術に関する研究，土木研究所成果報告書，平成 17 年度(2 分冊-2)，pp. 995-1002，平成 18 年 3 月

# 再生材の特性を活かした利用技術の開発に関する研究

土木研究所　リサイクルチーム　上席研究員　尾﨑　正明
主任研究員　山下　洋正
研　究　員　宮本　豊尚

## 1. はじめに

一般廃棄物、下水汚泥等の溶融スラグ骨材に関する JIS が公示され、土木研究所においても「他産業リサイクル材利用技術マニュアル」が策定されているが、再生材の利用用途は限定されたものとなっている。再生材の土木材料利用にあたっては、これまで安全性評価を中心とした検討がなされてきた。今後は安全性の確認された再生材について、その特性を活かした利用用途を開発するとともに、試験施工の段階など実績の少ないものについて利用を促進するための技術を開発する必要がある。

本年度は、土壌改良剤として下水汚泥焼却灰を使用した改良土の安全性評価のほか、下水汚泥溶融スラグの改質処理が与える影響について調査を行った。

## 2. 調査内容

### 2．1 下水汚泥を使用した埋戻用改良土の安全性調査

下水汚泥焼却灰利用改良土の長期的な環境安全性を確認するために、タンクリーチング試験に基づいた溶出試験を実施した。タンクリーチング試験は本来、供試体を 28 日間水中に静置することで六価クロムの溶出量を測定するものであるが、今回は重金属類の溶出量を測定した。なお、A 市の改良土についてはこれまで環境省告示 19 号による含有量試験と同 46 号による溶出量試験を行っており、それらの結果には問題がないことが確認されている。

#### 2.1.1 実験内容

１）試料

下水汚泥焼却灰を利用した A 市及び B 市の埋戻用改良土を、所要の CBR 値を得られるような締固めエネルギーを与えφ100mm×125mm (大供試体)およびφ50mm×100mm (小供試体)の供試体に成形した。成形後、実施する試験に合わせて一定期間密閉して養生した後に、タンクリーチング試験を行った。各材齢に対して供試体は一つずつしか対応していない。A 市の大供試体６つ、小供試体１つ、B 市の大供試体５つ、小供試体１つを実験に使用した。

また、改良土の環告 46 号試験も合わせて実施しているが、A 市の改良土はタンクリーチング試験用の供試体に使用したものとは別の時期に採取しており、ここでは参考値扱いとする。

２）試験方法

試料を有姿のままポリバケツ内に置き、試料の乾燥重量の 10 倍体積のイオン交換水を加えた後、容器を密閉し 20℃恒温室内で 28 日間静置した。水浸後、容器内を軽く攪拌してから採水し、孔径 0.45μm の濾紙でろ過し、ICP-AES 及び ICP-MS、水銀計を使用して溶出量を測定した。なお、一部試料においては 28 日経過後も引き続き溶出試験を継続した。溶出量の時系列変化を追った試験においては、水浸後 15 分、1 時間、2 時間、6 時間、24 時間、48 時間及び B 市のみ 28 日後に水質分析を行った。

表-1　分析装置の定量下限値

| 元素 | 定量下限値 | 分析装置 |
|---|---|---|
| Al | ＜1mg/L | ICP-AES |
| Ca | ＜1mg/L | |
| Fe | ＜0.5mg/L | |
| K | ＜1mg/L | |
| Mg | ＜1mg/L | |
| Na | ＜1mg/L | |
| P | ＜0.2mg/L | |

| 元素 | 定量下限値 | 分析装置 |
|---|---|---|
| Be | ＜0.5μg/L | ICP-MS |
| B | ＜0.5μg/L | |
| V | ＜0.5μg/L | |
| Cr | ＜0.5μg/L | |
| Mn | ＜0.5μg/L | |
| Co | ＜0.5μg/L | |
| Ni | ＜0.5μg/L | |

| 元素 | 定量下限値 | 分析装置 |
|---|---|---|
| Cu | ＜0.5μg/L | ICP-MS |
| Zn | ＜0.5μg/L | |
| As | ＜0.5μg/L | |
| Se | ＜0.5μg/L | |
| Mo | ＜0.5μg/L | |
| Ag | ＜0.5μg/L | |
| Cd | ＜0.5μg/L | |

| 元素 | 定量下限値 | 分析装置 |
|---|---|---|
| In | ＜0.5μg/L | ICP-MS |
| Sn | ＜0.5μg/L | |
| Sb | ＜0.5μg/L | |
| Te | ＜0.5μg/L | |
| Ba | ＜0.5μg/L | |
| Tl | ＜0.5μg/L | |
| Pb | ＜0.5μg/L | |
| Hg | ＜0.5μg/L | 水銀計 |

### 2.1.2　試験結果

図-1, 2 に供試体の大小・材齢に関係なく本実験において作成した全ての供試体($n_A$=8, $n_B$=6)における水浸後 28 日後の最大溶出量と最小溶出量及び環告 46 号試験の溶出量を示した。いずれも環境省の定めた土壌汚染対策法の基準値を下回っており、ヒ素やセレンで基準値の 1/6 程度、鉛やカドミウム・水銀は検出下限値以下であった。また多くの重金属において、表-1 に示す分析装置の検出下限値付近の値を示している。

全体的に、環告 46 号試験による溶出量よりも低い値を示している。これは、溶出の初期において物体の表面積に溶出量が依存していることと、供試体内の透水性が低く内部からの溶出が制限されていることが影響していると考えられる。

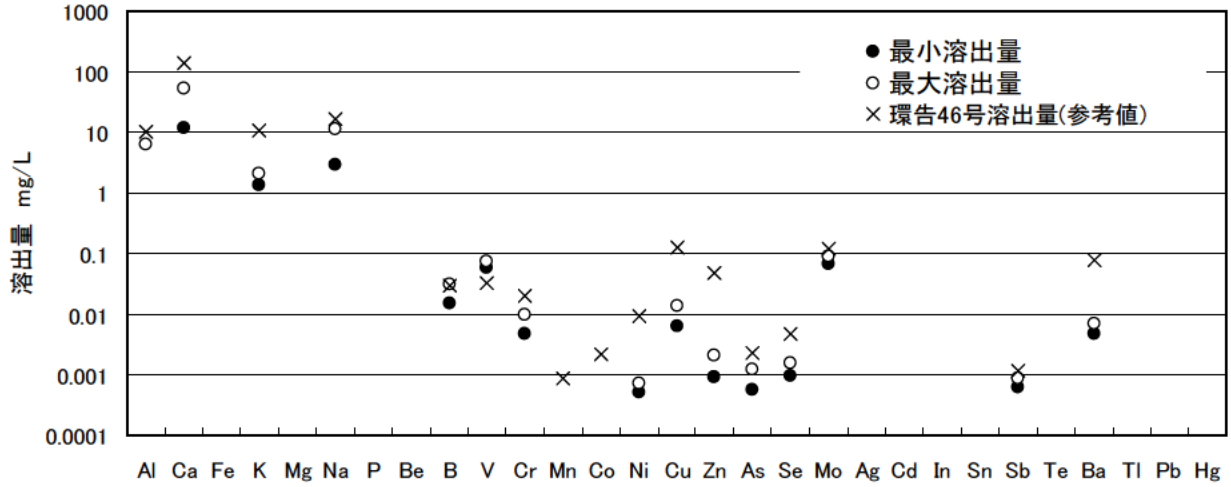



図-1　タンクリーチング試験による A 市改良土供試体からの単位体積あたり溶出量（$n_A$=8）

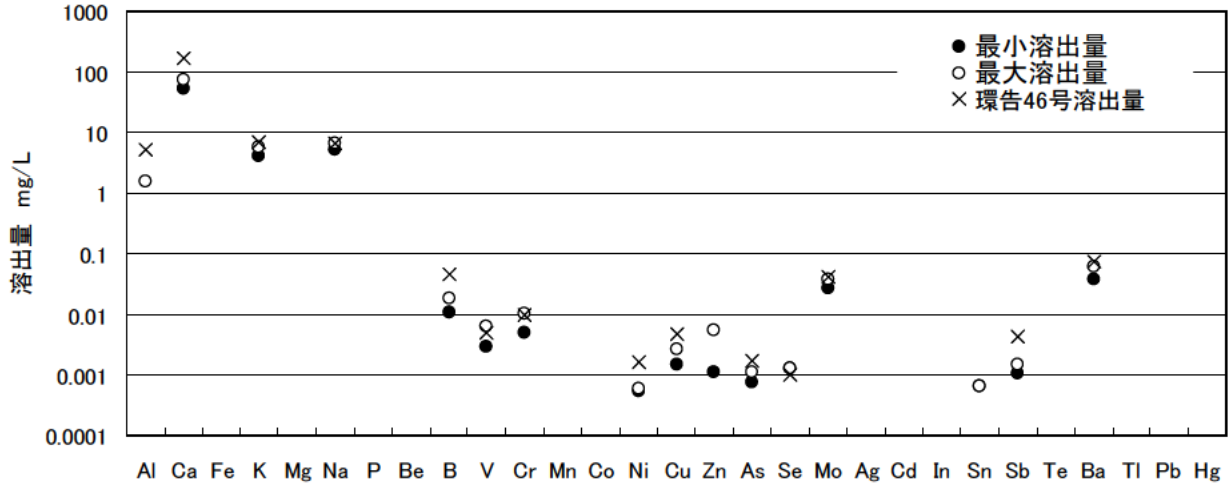



図-2　タンクリーチング試験による B 市改良土供試体からの単位体積あたり溶出量（$n_B$=6）

1）試料の大きさによる影響

十分に養生を行った A 市及び B 市の供試体を用い、固液比一定 (S/L=1/10)かつ等材齢の条件下で 28 日間のタンクリーチング試験を行った。供試体の体積に対する表面積の比は、大供試体：小供試体=0.56：1 である。ほとんどの元素で溶出量は 2 倍以内であり、供試体の大きさによる溶出量の差は見られなかった(図-3)。

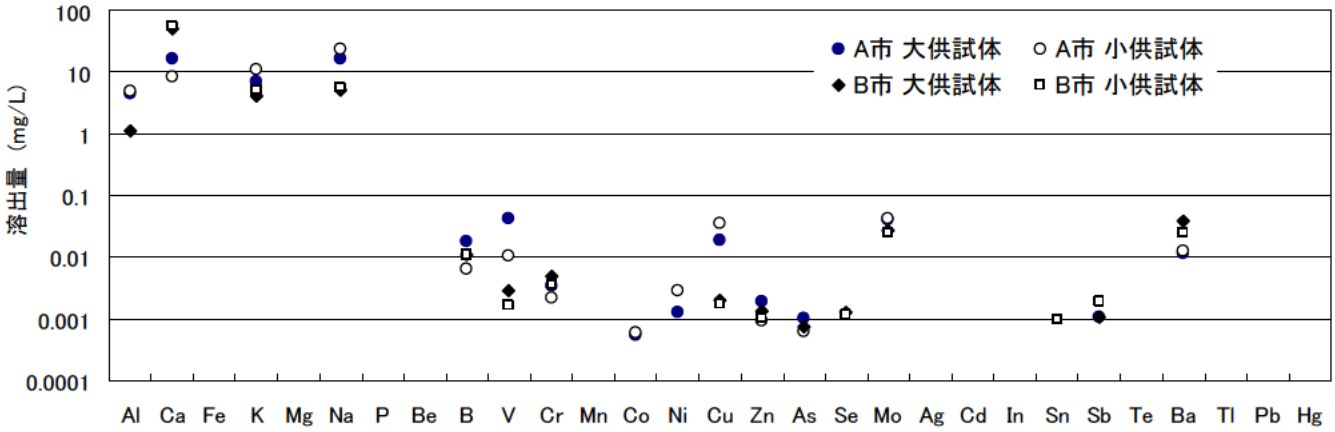



図-3 各元素の単位体積あたり溶出量

2）溶出量の時系列変化

十分に養生を行った小供試体を用い、溶出量の時系列変化を調査した。48 時間で溶出が確認された金属類は Al, Ca, K, Na, B, V, Cr, Ni, Cu, Zn, Mo, Ba であった。両市の下水処理方式の違いによる焼却灰の性質の違いや地質の違いにより、pH や溶出金属類の傾向が異なっていた。また、溶出初期においては pH と $Ca^{2+}$イオンの高い相関が確認される(図-5)。

A 市の改良土には焼却灰のほかに助剤として加えられている生石灰が影響し、pH=11 まで pH が上昇したと予想される。その後は、別途行った実験によると水浸後 57 日目で pH は 9 程度を示していた。これは空気中の二酸化炭素が溶液中に溶解したことが主たる要因として考えられる。

B 市の改良土は土壌改良剤として焼却灰のみが使用されており、pH の上昇は水浸 24 時間後に pH=10 で止まっている。一方で電気伝導度は増加しており(表-2)、水酸化物イオンが平衡に達した後も総イオンではまだ達していないことが予想される。

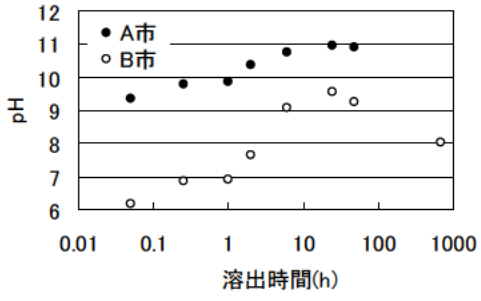



図-4 pH と溶出時間の関係

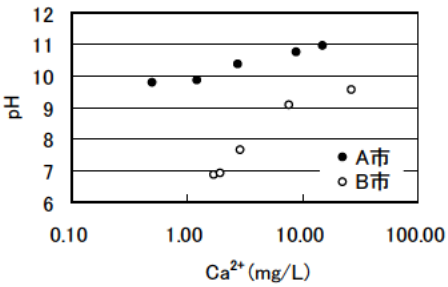



図-5 pH と溶出した $Ca^{2+}$濃度の関係
（試験開始後 24 時間まで）

表-2 pH と電気伝導度(B 市)

| | 48時間後 | 28日後 |
|---|---|---|
| pH | 9.25 | 8.03 |
| 電気伝導度（μS/cm） | 182 | 958 |

３）供試体の材齢による影響

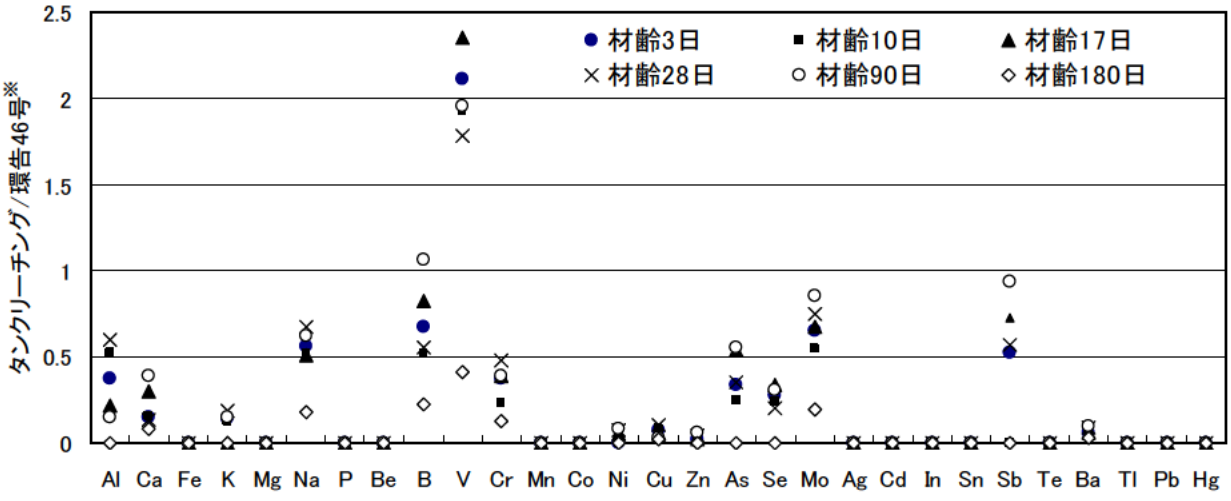
改良土は時間の経過とともに強度が発現する[1),2)]。強度と溶出量の関係を調べるため、大供試体を用い、材齢が溶出量に与える影響を調べた。図-7 には環告 46 号試験での溶出量に対する単位体積あたりの材齢 28 日の溶出量に対する各材齢の溶出量の割合を示している。

図-7(b)に示すように、B 市の供試体においては材齢が若いほど溶出量が増加している。B 市の供試体は、改良土の分取から数ヵ月後に作成したため含水率が最適な状態ではなく、強度が発現しにくい状況であった。若い供試体は強度が十分でないため水浸中に崩壊がおき (図-6)、表面積が増加することで溶出量が増大していたと考えられる。

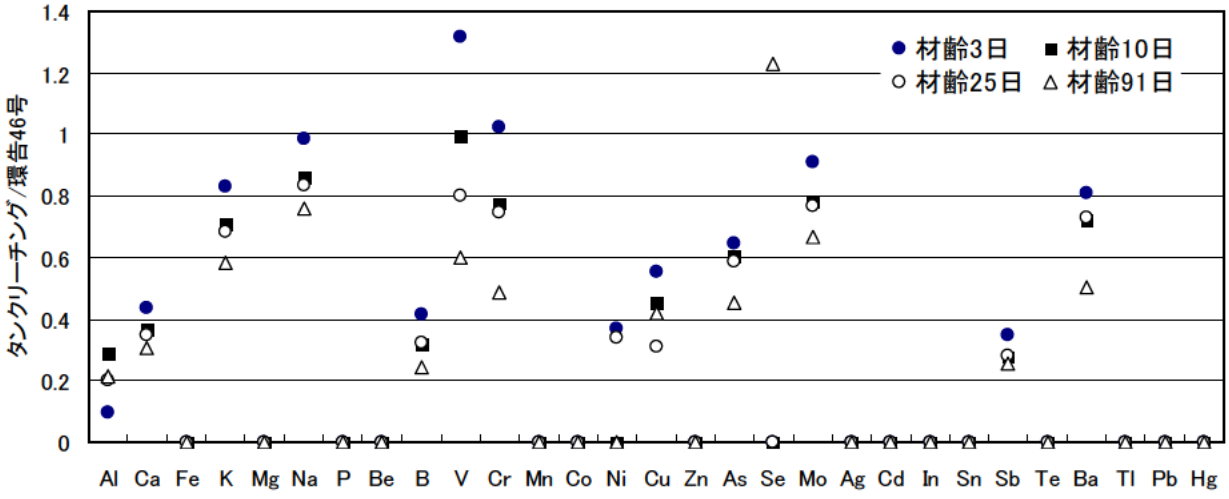
一方 A 市の改良土はいずれの供試体も水浸中に供試体の崩壊が起きていなかった。図-7(a)に示すように材齢と溶出量の関係は明らかにはならなかった。溶出量は材齢よりも材料自身の不均一性が影響していると考えられる。



図-6　タンクリーチング試験中の B 市供試体(材齢 3 日)




(a) A 市改良土における溶出量の比 （但し環告 46 号での溶出量は参考値である）




(b) B 市改良土における溶出量の比

図-7　材令による溶出量の影響

## 2．2　下水汚泥溶融スラグの改質実験 [3)]

下水汚泥溶融スラグは一般に角が尖っている。そのため、コンクリート用骨材として使う場合には所定のスランプを確保するための必要な水量が増加するため､材料分離が発生しやすく強度が低下する恐れがある。この問題を解決するため、摩砕等の手法がとられることがある。

加えて、多くのスラグは再結晶化されておらず、ガラス質のためぬれ性が悪いと予想される [4)]。一般に固体表面の液体に対するぬれ性は、固体表面の化学的性質と幾何学的な凹凸構造の二つの因子によって決定される。

本研究では、骨材のぬれ性を改善することによりコンクリート用骨材としての性能向上について検討を行うこととし、今年度はぬれ性を改善するための処理を行い、表乾密度と吸水率に与える影響を調査した。

### 2.2.1　実験内容

１）試料の詳細

C 処理場の下水汚泥溶融スラグ（水砕スラグ）約 7.5kg を用い、20℃の実験室で下記の処理を行った。

①アルカリ処理

スラグの表面をアルカリによって侵食し､表面に凹凸をつけることでぬれ性を改善することを目的とし、水砕スラグ約 2.5kg を 1 mol の水酸化ナトリウム水溶液中に浸し､一ヵ月後に取り出し十分な洗浄を行った。

②プラズマ処理

活性化されたプラズマ粒子には「表面を清浄・脱脂」､「表面を粗す」､「表面を活性化」の 3 種類の作用がある。そこで、スラグ約 2.5kg を数十 g 毎に小分けし、キーエンス社製プラズマ照射器　ST-7000 を使用してプラズマ改質を行った (図-8) 。照射時間は各 15 秒×3 回とし、絶縁体容器中で試料を攪拌しながら照射し、スラグ表面を改質してぬれ性を改善することを狙った。

２）表乾密度および吸水率試験

アルカリ処理・プラズマ処理を施した改質スラグと未処理のスラグについて､20℃の実験室で JIS A 1109 に従い表乾密度および吸水率試験を行った。その結果を図-9 に示す。

表乾密度はいずれも約 2.65g/cm³ であり、改質処理の影響は現れなかった。なお、表乾密度に関するコンクリート用及び道路用骨材の JIS 規格では、2.45 g/cm³ 以上であり、これを満足する結果となっている。



図-8　プラズマ照射器　ST-7000

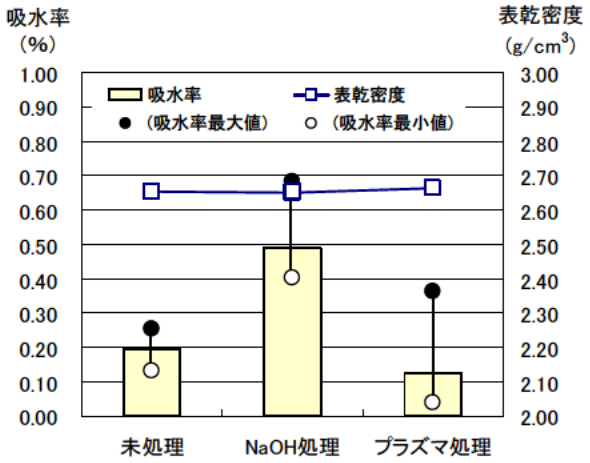



図-9　吸水率､表乾密度への改質の影響

NaOH のみ n=4, 未処理・プラズマは n=6

吸水率は、未処理のものでは 0.20％程度であった。アルカリ処理を行ったものは 0.50％程度となり吸水率が上昇している。これはアルカリ処理によりぬれ性が改善した影響が考えられる。一方プラズマ処理をしたものは吸水率には大きな変化が見られず、プラズマ処理がぬれ性に与える影響は小さいと考えられる。なお、いずれのスラグも JIS に規定されている吸水率の 3.0％以下を満足していた。

３．まとめ

１）2 種類の改良土を用いタンクリーチング試験を行い重金属類の溶出試験を行った結果、全てのケースで土壌環境基準値を下回っていた。また、環告 46 号試験による溶出量を多くが下回った。溶出量に影響を与える因子として、材齢は影響を直接的に与えるものではなかった。

2)水砕スラグを用いてアルカリ処理並びにプラズマ処理を施し、スラグの改質を試みた。アルカリ処理を行うと吸水率が上昇しぬれ性が改善した。一方、プラズマ処理を行ったスラグの吸水率には変化がみられず、ぬれ性の改善に及ぼす影響はわずかであった。

次年度は、改質したスラグを用いたモルタルのフロー試験等を行い、改質の影響が骨材利用に与える影響を明らかにするとともに、アルカリ処理の最適化についても検討を行う予定である。

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）勝又和信、小原明：汚泥焼却灰の建設資材への有効利用調査：平成５年度下水道研究室年次報告集、横浜市下水道局 pp.59-66

２）土木研究所資料　下水汚泥焼却灰の土質改良材としての利用マニュアル（案）、pp.21-33、平成 2 年 11 月

３）石井淑夫ほか編　ぬれ技術ハンドブック　テクノシステム　pp.25-34、471-479

４）斉藤丈士、飯生昌之、谷山教幸、奈良禧徳：ごみ溶融スラグ細骨材の改質がコンクリートの性状に及ぼす影響、2001 年度日本建築学会関東支部研究報告集、No.41、pp.41-44

# 余剰有機物と都市排水の共同処理技術に関する研究

研究予算：運営費交付金（一般勘定）
研究期間：平 18～平 20
担当チーム:材料地盤研究グループ(リサイクル)
研究担当者：尾崎正明，山下洋正

【要旨】
近年，都市の余剰有機物の有効利用および発酵廃水の効率的処理が求められおり，下水道施設を活用して余剰有機物と都市排水とを共同処理して資源・エネルギー回収を行う技術の開発が必要である。フィージビリティスタディにより，下水・発酵廃水共同処理への嫌気処理・高度後処理の導入がエネルギー効率および経済性の観点で有効と考えられた。UASB-DHS システム（上向流嫌気汚泥床－下向流無曝気好気処理）の処理安定性を検討し，酸性，アルカリ性，フェノール性排水流入の影響は少ないこと，夏期の高水温時の処理は良好で砂ろ過不要だが，冬期の低水温時に高負荷で処理水中に溶解性有機物が多い場合は，砂ろ過効果が限定的であることを把握した。
キーワード：余剰有機物，都市排水，共同処理，メタン発酵，嫌気処理

## 1. はじめに

バイオマス・ニッポン総合戦略[1)]の推進など、都市で発生する余剰有機物の有効利用が求められているが，発酵処理に伴い発生する廃水の処理に技術的課題が残されている。従って，都市の資産であり，有機物および廃水の処理に優れた能力を有している下水道施設を活用して，これら余剰有機物と都市排水とを合わせて処理して資源・エネルギー回収を行う，新たな複合処理技術の開発が求められている。本研究では、都市排水と地域社会で発生する余剰有機物を合わせて処理してエネルギー・資源回収を行う際に発生する発酵廃水を下水処理施設で効率的に共同処理する基礎技術を開発する。

## 2. 研究方法

### 2. 1 FS および処理方式の基本設計

フィージビリティスタディ(FS)として，余剰有機物と下水汚泥を混合して共同メタン発酵を行い，発酵廃水を嫌気処理および高度後処理を行う場合についてエネルギー効率および経済性の観点から検討を行った。検討の基本条件は前年度と同様であり，下水汚泥の嫌気性消化施設および下水処理施設については国土交通省等の資料[2),3)]を，食品廃棄物のメタン発酵施設については環境省資料[4)]をそれぞれ参照した。各資料の費用関数等の前提条件が異なっているため，FS に適用可能な部分を抽出した。

### 2. 2 発酵廃水・下水混合液の嫌気処理の基礎技術および嫌気処理水の高度後処理の基礎技術の開発

発酵廃水・下水混合液の嫌気処理の基礎技術の開発および嫌気処理水の高度後処理の基礎技術の開発のため，UASB（上向流嫌気汚泥床システム）－DHS（下向流スポンジ担体処理システム）[5)]および砂ろ過システムを用いて，無加温で嫌気処理を行い，無曝気で好気処理を行う技術について次に述べる通り実験的検討を行った。

また，NEDO 共同研究「無曝気・省エネルギー型次世代水資源循環技術の開発」により，計画処理水量 50m³/d の実証プラントを下水処理場に設置しており，実下水を用いて温度制御なしで連続運転を行いデータを蓄積している。

(1) 処理安定性評価

水処理に影響を与える可能性のある悪質下水として，酸性，アルカリ性，フェノール性排水がそれぞれ流入した場合の水処理安定性について，ラボスケールの実験装置（UASB 容量約 16L，DHS：スポンジ容量約 4L）を用いて 20℃条件下で人工下水による連続運転を行い，実験的検討を行った。

(2) 砂ろ過追加による処理水質安定化

低水温，高負荷による処理性能低下時において，砂ろ過の追加による処理水質安定化の可能性について検討した。下水処理場に設置した実験プラント（UASB 容量約 230L，DHS：スポンジ容量約 65L）で，実下水を用いて温度制御なしで連続運転を行った。砂ろ過は上向流で，平均粒径 0.6mm（砂）単層および平均粒径 1.8mm（アンスラサイト）単層の場合について，それぞれ検討した。

## 3. 結果および考察

### 3. 1 FS および処理方式の基本設計

余剰有機物と下水汚泥の共同処理技術のフィージビリティスタディ(FS)として，エネルギー効率および処理の経済性について検討した結果を以下に示す。

(1) エネルギー効率

嫌気処理・高度後処理を用いた下水・発酵廃水共同処理における消費エネルギーを，標準活性汚泥法を用いた場合の30%（70%減）と設定し，メタン発酵によるエネルギー回収とあわせてエネルギー効率を検討した。流入下水量約60×10³㎥/dで下水汚泥1,000t/d(TS1%換算)，食品廃棄物20t/d(TS20%)を共同メタン発酵している場合を想定し，発酵廃水（脱水ろ液等として返流）の処理水量を1,040㎥/dと想定した場合，標準活性汚泥法では，曝気および汚泥返送ポンプ等のエネルギー消費により約18MWh/dの電力消費が下水・発酵廃水共同処理過程で必要となり，嫌気処理・高度後処理では30%の約5.5MWh/dの電力消費となる。一方，消化ガス発生量（水処理過程の発生分は除く）は4,800Nm³/d（$CH_4$換算）と算出され，消化ガス発電の効率を2.6KWh/$CH_4$Nm³とすると，発電によるエネルギー回収は約12.4MWh/dであることから，嫌気処理・高度後処理を用いた下水・発酵廃水共同処理に必要な電力約5.4Mwh/dの約2.3倍に相当するエネルギーが消化ガス発電により自給可能であることが分かる。下水・発酵廃水共同処理に標準活性汚泥法を用いた場合のエネルギー自給率は約68%であり，嫌気処理・高度後処理を用いることによりエネルギー自給率を約4倍に高めて余剰エネルギー生産が可能となり，エネルギー効率を大幅に向上させられることが分かる。

(2) 経済性

余剰有機物として食品廃棄物をメタン発酵し，下水汚泥を嫌気性消化する場合を対象として，それぞれ単独で実施する場合と混合して共同メタン発酵および下水・発酵廃水共同処理を実施する場合の費用について検討した。

検討条件を表-1に示す。

**表-1 下水汚泥と食品廃棄物の共同メタン発酵および下水・発酵廃水共同処理の条件**

| | 下水汚泥 (t/d, TS1%換算) | 食品廃棄物 (t/d, TS20%) | 食品廃棄物割合 (TSベース%) | 都市排水と発酵廃水の共同処理 | 発酵廃液処理法 |
|---|---|---|---|---|---|
| Case1 | 1,000 | 50 | 50 | 下水＋汚泥+食品 | 嫌気法 |
| Case2 | 1,000 | 20 | 28.6 | 下水＋汚泥+食品 | 嫌気法 |
| Case3 | 5,000 | 50 | 16.7 | 下水＋汚泥+食品 | 嫌気法 |
| Case4 | 5,000 | 20 | 7.4 | 下水＋汚泥+食品 | 嫌気法 |
| 汚泥単独1 | 1,000 | − | 0 | 下水＋汚泥 | 嫌気法 |
| 汚泥単独2 | 5,000 | − | 0 | 下水＋汚泥 | 嫌気法 |
| 食品単独1 | − | 50 | 100 | − | 従来法 |
| 食品単独2 | − | 20 | 100 | − | 従来法 |

嫌気法:嫌気処理＋高度後処理
従来法:標準活性汚泥法その他これまで実施されていた処理方法

共同メタン発酵の下水・廃水共同処理方法について，前年度の検討では標準活性汚泥法を用いた場合の試算を行ったが，今年度は嫌気処理・高度後処理を用いた場合について検討した。建設費は既往の活性汚泥法と同等と設定し，維持管理費のうち，電力費・燃料費が30%（70%減）になるとして費用の算出を行った。下水処理場において，下水汚泥を単独メタン発酵する場合または食品廃棄物と共同メタン発酵する場合（Case1～4，汚泥単独1,2）に，下水と発酵廃水の混合排水処理に嫌気処理を適用するものとし，食品廃棄物のみを単独メタン発酵する場合（食品単独 1,2）の発酵廃水処理については従来行われている処理法(活性汚泥法等)を用いることとした。他の条件は前年度と同様であり，食品廃棄物の単独メタン発酵の場合は，含水率80%で収集し，前処理後にTS10%でメタン発酵し，ガス発電するものとした。発酵廃水は脱水し，固形分は埋め立て処分，排水は前処理後に下水道へ放流するものとした。施設規模としては，20t/d および50t/d（TS20%）の２通りの費用試算値[4]を用いた。

下水汚泥の単独メタン発酵（嫌気性消化）の場合は，消化汚泥は脱水・埋め立て処分，返流水は下水処理場で処理するものとした。施設規模は，下水汚泥 1,000t/d および5,000t/d（TS1%換算）の２通りを想定した。

下水処理および汚泥処理の費用関数をベースにして，食品廃棄物の受け入れによる処理量が増加するものとして試算した。いずれのCaseでも，消化汚泥は脱水後に埋め立て処分，発酵廃水（返流水）は下水処理場で処理するものとした。下水汚泥の単独／共同発酵ともに，濃縮方法およびガス発電の有無について，(a)重力濃縮＋発電なし，(b)機械濃縮＋発電なし，(c)重力濃縮＋発電あり，(d)機械濃縮＋発電あり，の４通りのシナリオで試算を行った。食品廃棄物受け入れによる排水処理の費用増大分については，水量の増加は全流入水量に比べてわずかであるため施設建設費には反映せず，流入下水水質の 100倍程度（BODで約20倍，TNで約90倍，TPで約130倍）の高濃度排水が発生することから維持管理費が水量×水質係数(100 と仮定)の分だけ増加するとして計上した。

年費用の試算結果について，下水・発酵廃水共同処理に嫌気処理・高度後処理を導入した場合における，単独メタン発酵と共同メタン発酵の比較を，費用増減率として図-1に示す。Case2～4では全シナリオで共同メタン発酵による費用削減効果が得られたが，Case1 ではシナリオ(c)以外では単独処理より割高となった。これは前年度に下水・廃水共同処理に活性汚泥法を用いる場合として試算した結果と同様であり，この理由としては食品廃棄物単独でのメタン発酵（TS10%程度）と比較して下水汚泥と混合する場合は低濃度（TS2～4%程度）となり容積効率

が低下すること，食品廃棄物の混合割合が増えるほど影響が大になること，Case1 は下水汚泥の嫌気性消化施設としては中規模であるが Case3,4 よりは規模が小さく食品廃棄物の追加によるコスト増加率が高いこと等が考えられる。食品廃棄物の割合が高い場合でも共同処理による費用削減効果を得るためには，下水汚泥の嫌気性消化濃度を高める等の効率化が必要と考えられた。

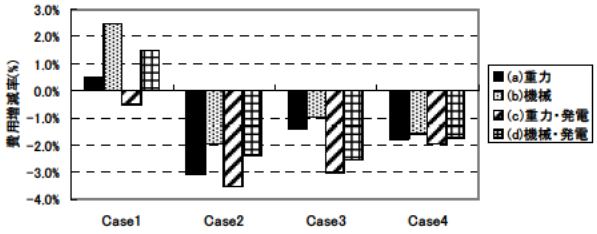



**図-1　嫌気処理導入時の各シナリオの費用増減率（単独メタン発酵で廃水嫌気処理の場合との比較）**

また，発酵廃水処理に標準活性汚泥法を用いた場合について前年度に検討した結果との比較を図-2 に示す。

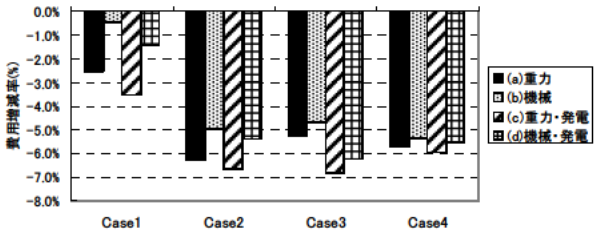



**図-2　嫌気処理導入時の各シナリオの費用増減率（単独メタン発酵で廃水を活性汚泥法処理の場合との比較）**

全ての Case およびシナリオについて，費用削減効果が得られており，発酵廃水処理に嫌気処理を導入することの有効性が示されている。なお，下水汚泥の単独処理の場合でも，下水汚泥 1000t/d，5000t/d でそれぞれ 3.7%および 5.3%の費用が削減されるなど，全体的に削減効果があるため，発酵廃水処理に標準法を使用する場合と比較すると，Case1 で共同処理の方が割高となる場合も含めて，全 Case・シナリオで費用の削減効果が発揮されると考えられる。これは主として維持管理費（電力費・燃料費）の削減による効果と考えられ，都市排水と余剰有機物の共同処理の推進において，嫌気処理・高度後処理の導入が有効であることを示している。

### 3. 2　発酵廃水・下水混合液の嫌気処理の基礎技術および嫌気処理水の高度後処理の基礎技術の開発

(1) 処理安定性評価実験

酸性排水（pH7.4 より pH5.0 へ段階的に低下）およびアルカリ性排水（pH7.4 より pH9.1 へ段階的に上昇）の流入による影響実験の結果について，UASB への流入水，UASB 処理水および DHS 処理水の流入排水および処理水中の CODcr 濃度（総濃度および溶解性濃度）ならびに UASB での CODcr 除去率および UASB-DHS での CODcr 除去率（総除去率および溶解性除去率）を，酸性廃水について図-3 に，アルカリ性排水について図-4 にそれぞれ示した。

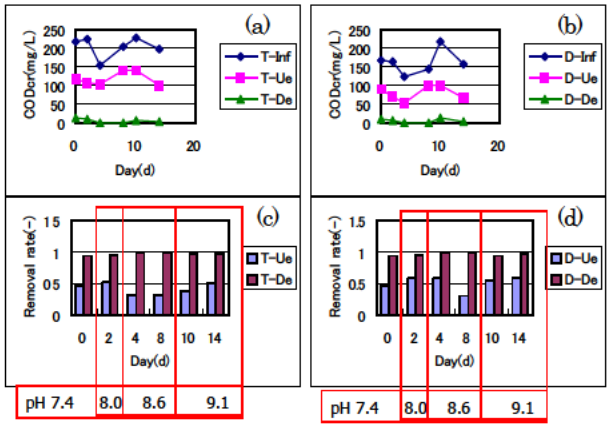



**図-3　酸性排水流入時の処理水質および除去率変化**

（凡例について，T-Inf：流入水濃度（全体），T-Ue：UASB 処理水濃度（全体），T-De：DHS 処理水濃度（全体），D-Inf：流入水濃度（溶解性），D-Ue：UASB 処理水濃度（溶解性），D-De：DHS 処理水濃度（溶解性）

グラフについて，T-a：全 CODcr 濃度，b：溶解性 CODcr 濃度，c：全 CODcr 除去率，d：溶解性 CODcr 除去率）

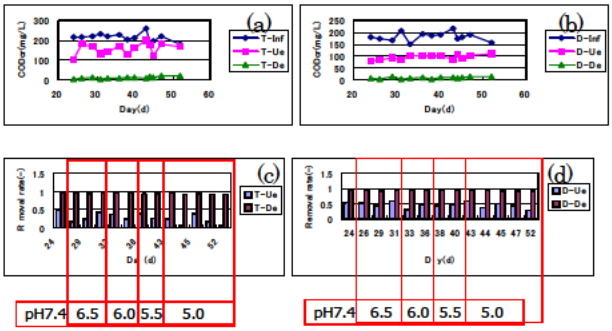



**図-4　アルカリ性排水流入時の処理水質および除去率変化（凡例およびグラフについて，図-3 と同じ）**

これより，酸性側で pH5.0 まで，アルカリ性側で pH9.1 までのいずれの流入水質の場合も処理に深刻な影響は見られなかった。UASB の COD 除去率がやや低下した場合でも後段の DHS において十分な処理が行われ，トータルの処理性能に影響はなく，砂ろ過も不要であった。また，フェノール性排水（フェノール 5mg/L）の流入による影響実験の結果については，排水の流入による処理影響はほとんど見られなかった。産業排水処理分野ではより高濃度のフェノールを含む排水の嫌気処理が実施されているが，それらは十分な馴致期間の確保あるいはフェノール処理に適した微生物の選択的利用等により実施されて

いるのに対して，本実験では特にフェノールに馴致していない通常の下水生物処理においてフェノール性排水が突発的に流入した場合に，処理に深刻な影響が起こらないかを確認するためのものであったが，5mg/L 程度は許容範囲であると考えられた。

(2) 砂ろ過追加による処理水質安定化

夏期および冬期を含む期間の運転状況について，水温および水質（全BOD，全CODcr，SS）の変化について図-5に示す。Day1～181 はUASB における HRT12 時間で運転しており，Day182 以降はHRT10 時間で運転した（DHS のスポンジ担体ベースではそれぞれ約 3.3 時間および約 2.8 時間）。BOD 測定については，Day139～167 の期間は全試料を ATU-BOD として測定を行い，それ以降は全試料を通常の総 BOD で測定し，DHS 処理水および砂ろ過処理水についてはATU-BOD の測定も実施した。

夏期の運転期間（2007 年 7 月～9 月，Day 88～176）は高水温（平均水温：流入水 25.9℃，UASB 処理水 27.1℃，DHS 処理水 27.1℃）かつ低負荷（HRT12 時間）の好条件であったため，UASB-DHS 処理水は常に BOD10mg/L 以下，DHS 出口での BOD 除去率は平均 95%以上あり，砂ろ過（粒径 0.6mm）は事実上不要であった。

冬期の運転期間（2007 年 12 月～1 月，Day 242～299）は低水温（平均水温：流入水 17.4℃，UASB 処理水 13.7℃，DHS 処理水 13.3℃）かつ高負荷（HRT10 時間）で夏期より悪条件に設定したため，UASB-DHS 処理水質は悪化し，砂ろ過後でもほとんど常に BOD15mg/L 以上となった。

DHS スポンジの汚泥保持量は夏期の Day 124 の時点で 27gSS/sponge L 以上と高濃度でありその後も同様であったことから，DHS 下部からの送風がスポンジ・汚泥層（1m カラムの上中下 3 段構成であり，各段の層厚約 60cm）に遮られて上部まで届かない閉塞に近い状態となり，酸素供給が不十分となっていた可能性がある。

実施設の処理装置では，こうした閉塞状態を避けて酸素供給を向上させる対策が当然なされるはずであるが，本実験では処理水質の悪化を砂ろ過でカバーできるかどうかを確認することを目的としているため，あえて処理が悪化した状態を保ったまた運転を継続した。DHS 処理水の DO 濃度は正の値であり，嫌気あるいは無酸素状態になっていたとは考えられないが，DHS 処理水の ORP は連続的に低下傾向にあり，水温低下以前の day180 頃からほぼ常に負の値を示していたことから，このような酸素供

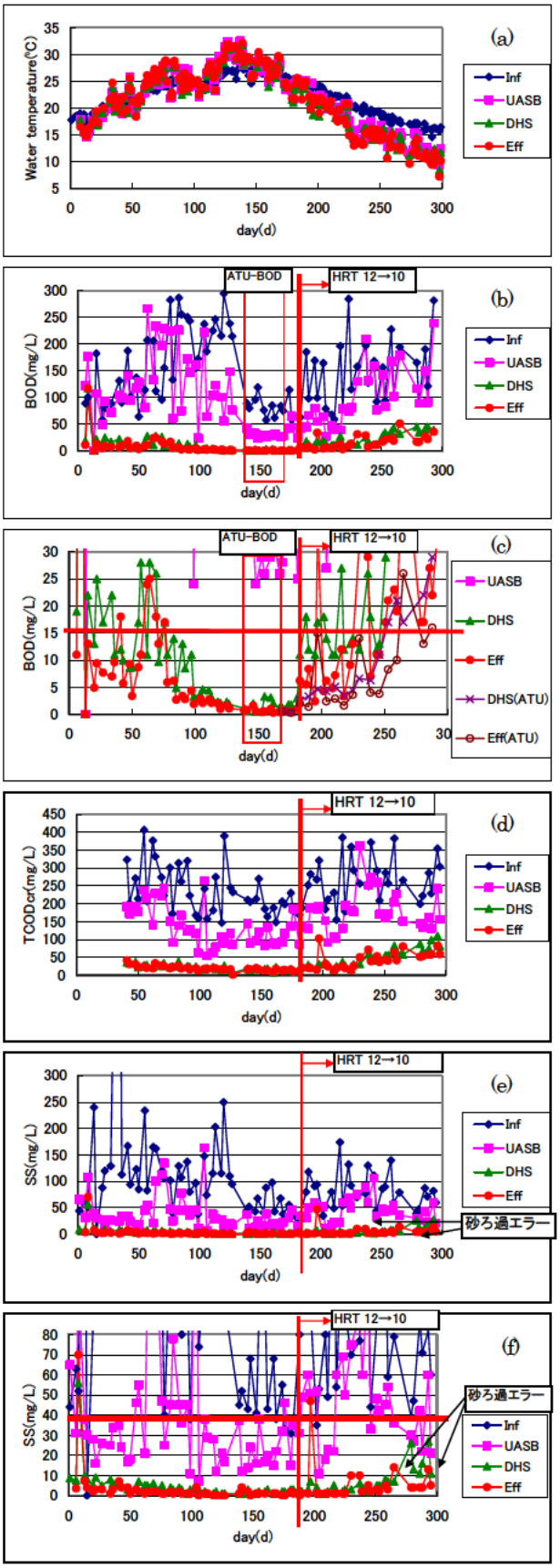



図-5　UASB-DHS の水温，BOD，TCODcr および SS の変化

（凡例について，Inf：流入下水，UASB：UASB 流出水，DHS：DHS 流出水，Eff：砂ろ過処理水，グラフについて，a：水温，b：全 BOD 濃度，c：全 BOD 濃度の拡大図，d：全 CODcr 濃度，e：SS 濃度，f：SS 濃度の拡大図）

給の低下に加えて，水温の低下， HRT の短縮等の悪条件が重なったことにより，DHS 処理水は水質・除去率が悪化したものと考えられる。DHS 処理水中の有機汚濁は溶解性の割合が高かったため（溶解性 CODcr が全 CODcr の約 80%），砂ろ過によっても十分に除去されず，UASB-DHS-砂ろ過システム全体としての BOD 除去率は 85%程度であった（砂ろ過実験装置エラーの場合を除く）。

砂ろ過のろ材の違いによる性能比較については，夏期に粒径 0.6mm の砂，冬期に粒径 1.8mm のアンスラサイトをそれぞれ単層で用いており，夏期は UASB-DHS で十分に処理された良好な水質で砂ろ過に供給されたため砂ろ過装置としての処理性能があまり把握できない状況であったのに対して，冬期は UASB-DHS 処理水の水質自体は低下していたものの存在割合が大であった溶解性有機汚濁についてはそもそも砂ろ過での除去が困難であったことから，砂ろ過性能の単純比較は難しいと考えられた。

しかし，ろ剤粒径が 0.5～数 mm までの範囲では SS 除去効果はろ剤粒径にあまり影響されないとされていること [6]，砂ろ過水の透視度低下，濁度上昇は，砂ろ過のろ剤変更以前に始まっており，DHS 処理水の水質悪化と同様な傾向にあったことなどから，砂ろ過のろ剤変更（0.6mm→1.8mm）が処理水質に悪影響を及ぼした可能性は低いと考えられる。DHS 処理水の水質悪化により，砂ろ過への負荷が高まり，砂ろ過ろ層の閉塞・圧力損失の急増等によるエラーがしばしば発生してろ剤や SS の流出につながったことから，あまり粒径が小さすぎると閉塞が進行しやすく逆洗浄頻度の増大やトラブルを招きやすくなる可能性が高いため，可能な範囲で粒径が大きめのろ剤を選んだ方が運転管理が容易になると考えられる。

本実験では，100～200m/d 程度の実用的な処理速度で UASB-DHS 処理水のろ過を行い，砂ろ過処理水中の SS 濃度は，処理が良好な夏期には平均 1.5mg/L（1 未満～4mg/L），処理が低下した冬期でも平均 5.3mg/L（2～14mg/L）であった。DHS 処理水の SS は冬期で最大 27mg/L であり，砂ろ過を設置することで余裕を持って水質基準 40mg/L を遵守できていた。

以上のことから，後処理システムとしての砂ろ過は，高水温や低負荷で運転が良好な場合には実質的に不要で補完的役割となり，低水温や高負荷で運転が良好でない場合には，SS の安定除去には効果的であるが，処理水中に溶解性有機物が多い場合は有効ではなく，運転条件の変更など他の対策の併用が必要と考えられた。

## 4. まとめ

（1）下水汚泥と食品廃棄物の共同メタン発酵および廃水処理の FS の結果，嫌気処理を活用した発酵廃水処理が，エネルギー効率および経済性の観点で有効と考えられた。

（2）UASB-DHS システム（上向流嫌気汚泥床－下向流無曝気好気処理）の処理安定性の実験的検討を行った結果，酸性，アルカリ性またはフェノール性排水流入の影響は少なかった。

（3）UASB-DHS システムへの砂ろ過追加による処理水質安定化の検討を行った結果，夏期の高水温時の処理水質は良好で安定しており，砂ろ過は実質的に不要であった。冬期の低水温時に高負荷で処理水質が悪化した場合で，処理水中に溶解性有機物が多くなった状況下では，砂ろ過の効果は限定的であり，運転条件の変更など他の対策の併用が必要と考えられた。

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) バイオマス・ニッポン総合戦略：2006.3.31 閣議決定
2) 国土交通省都市・地域整備局下水道部：バイオソリッド利活用基本計画策定マニュアル，（社）日本下水道協会，2004.3
3)（社）日本下水道協会：効率的な汚水処理施設整備のための都道府県構想策定マニュアル（案），2002.2
4) 環境省：生ごみ等の３R・処理に関する検討会資料，2006
5) Agrawal, et.al.: Treatment of raw sewage in a temperate climate using a UASB reactor and the hanging sponge cubes process, *Wat. Sci. Tech.*, Vol.36, No.6-7, pp.433-440, 1997.
6)（社）日本下水道協会：下水道施設計画・設計指針と解説後編 2001 年版，P245，2001.5

# 流域規模での水・物質循環管理支援モデルに関する研究（３）

研究予算：運営費交付金（治水勘定）
研究期間：平 18～平 21
担当チーム：材料地盤研究グループ（リサイクル）
研究担当者：尾崎正明、山下洋正

【要旨】
流域開発で必須元素の河川への供給が減少し水生生態系へ影響していると懸念されており、都市雨水・排水由来の必須元素の負荷量の解明および河川への影響把握と対策の可能性の検討を目標として、関東地方の都市影響河川の流域を調査した。溶解性鉄は都市排水中濃度が河川水中濃度の半分以下程度で、都市排水流入により河川水中濃度が低下、溶解性窒素・リンに対する濃度比も低下するが、レッドフィールド比より大で不足の可能性は低いと考えられた。溶解性ケイ素は都市排水中濃度が河川水中濃度と同程度で、都市排水流入が河川水中濃度へ影響しないが､溶解性窒素･リンが増大して濃度比がレッドフィールド比を下回る場合があり不足が考えられた。
キーワード：溶解性鉄、溶解性ケイ素、シリカ、河川、都市排水

## 1. はじめに

近年、流域での開発により溶解性の鉄（フミン鉄）やケイ素（シリカ）等の必須元素の河川への供給が減少して、河川や海の生態系に影響を及ぼしているとの報告[1)~3)]が見られる。都市化した流域では、都市雨水・排水が必須元素の挙動に大きな影響を与えている可能性があるため、その影響を明らかにすることが求められている。

そこで、研究の達成目標を次の通り設定し、都市河川流域における溶解性の鉄およびケイ素の挙動を把握するため、河川水および都市排水の調査を行った。

(1) 都市雨水・排水由来の必須元素の負荷量の解明
(2) 河川への影響把握と対策の可能性の検討

## 2. 調査方法

### 2. 1 調査対象物質

調査対象物質は、前年度と同様に溶解性の鉄およびケイ素（イオン状シリカ）とした。また、窒素およびリンについても同時に調査した。

溶解性の鉄は、表流水中では主にフミン物質等の有機物質と錯体を形成してコロイド状で存在すると考えられており[4)]、河川水中濃度は数十μg/L のオーダーであるが、河口付近で塩類濃度上昇に伴って沈降し、表層海水中ではほぼ枯渇する。近年、沿岸域においてコンブ等の有用藻類が減少して白色小型藻類が増殖する現象（磯焼け）が見られており、その原因の可能性の一つとして藻類に利用可能な溶解性鉄の供給減少が挙げられている。

溶解性のケイ素は、表流水中では主にイオン状シリカとして存在し､河川水中の濃度は数十 mg/L のオーダーであるが、海域では濃度が低下する。近年、渦鞭毛藻類が珪藻類に卓越して異常増殖して有害な赤潮が発生する原因の一つとして、溶解性ケイ素の不足と他の栄養塩類の過剰が疑われている。

必須元素が藻類等に利用される際の比率（レッドフィールド比）は、 モル比で C:N:P:Si:Fe=106:16:1:16～50:$10^{-3}$～$10^{-4}$ 程度とされており、必須元素の存在比率の変動は生物バランスに影響を与える。従って、溶解性の鉄やケイ素について論じる際には、絶対濃度のみならず窒素やリンとの存在比率についても把握する必要がある。

### 2. 2 調査対象流域

河川水および都市排水の調査対象は、前年度と同様に以下の通りである。

河川について､鶴見川水系 6 地点､多摩川水系 7 地点、利根川水系 12 地点、荒川水系 18 地点、園部川・巴川・涸沼川・寛政川（霞ヶ浦および涸沼流域）10 地点において流心付近を採水し、湖沼について、手賀沼 6 地点、霞ヶ浦 7 地点において表層水を採水して調査を行った。

調査は、前年度の秋期・冬期（2006 年 10 月～2007 年 3 月）に引き続いて、春期・夏期（2007 年 4 月～2007 年 9 月）に実施し、河川は鶴見川・多摩川・利根川・荒川の最下流地点のみ月２回、その他の地点は月１回調査した。湖沼については季節毎（３ヶ月に１回）に調査した。

都市排水について、鶴見川および多摩川流域に存在する下水処理場（それぞれ５箇所および８箇所）の流入下水および放流水を季節毎（３ヶ月に１回）に調査した。

## 2. 3　分析方法

溶解性の定義は、5種C ろ紙（孔径1μm相当）を通過するものとした。ICP-MS により溶解性鉄(D-Fe)および全鉄(T-Fe)を測定し、ICP-AES および自動比色分析（モリブデンイエロー法）により溶解性ケイ素(D-Si)を測定した。窒素およびリンは自動比色分析により測定した。

## 3. 結果および考察

結果および考察は調査対象物質ごとに記述した。

### 3. 1　溶解性鉄について

(1) 都市排水（下水処理場）

下水処理場の放流水中の溶解性鉄の濃度は、年間平均値として、鶴見川流域の5処理場で18～66μg/Lであり、1ヶ所の処理場のみ他処理場の3倍程度の濃度であった。多摩川流域の8処理場では20～32μg/Lであった。年間のの変動係数（各季節1回で計4回測定）はそれぞれ3.7～15%、8～21%であり、季節変動の明確な傾向は見られなかった。濃度が高い1処理場を除き、放流水中濃度は河川中濃度の半分以下であることが多かった。

(2) 河川水

前年度の調査結果と併せた1年間の調査結果より、季節ごとの河川水中の溶解性鉄の濃度について図-1に示す（河川については各3ヶ月の平均濃度）。また、鶴見川および多摩川の調査地点を図-2に示し，年間濃度変化を図-3に示した。

鶴見川・多摩川の溶解性鉄濃度は冬期および夏期にやや低下する傾向であった。この一因として、下水処理場放流水中の溶解性鉄濃度は晴天時の河川中濃度の平均約45～104μg /Lの半分以下程度の場合が多く、河川流量が低下して下水処理水の占める割合が増加する冬期や夏期に河川水中濃度が低下する可能性が考えられた。

多摩川について、夏期の平均値が多摩川上流（調布橋）で高濃度となっているのは、9月の調査の7日前および1～3日前に上流域で降雨があった影響と考えられ（累加雨量が御岳で22mm、小河内で14mm）、7月および8月濃度がいずれも5μg/L程度であったのに対して、9月濃度は844μg/Lと急増していた。一方、中流域の支流の浅川では、浅川橋において上流部の降雨（累加雨量が美山で14mm）の影響は全く見られず、7～9月濃度はそれぞれ5μg/L程度であった。

従って、上流域では降雨に伴い溶解性鉄が河川に供給されているのに対して、開発が進んでいる八王子市付近の中流域では降雨があっても溶解性鉄が河川に供給されておらず、流域特性の違いによって降雨による溶解性鉄

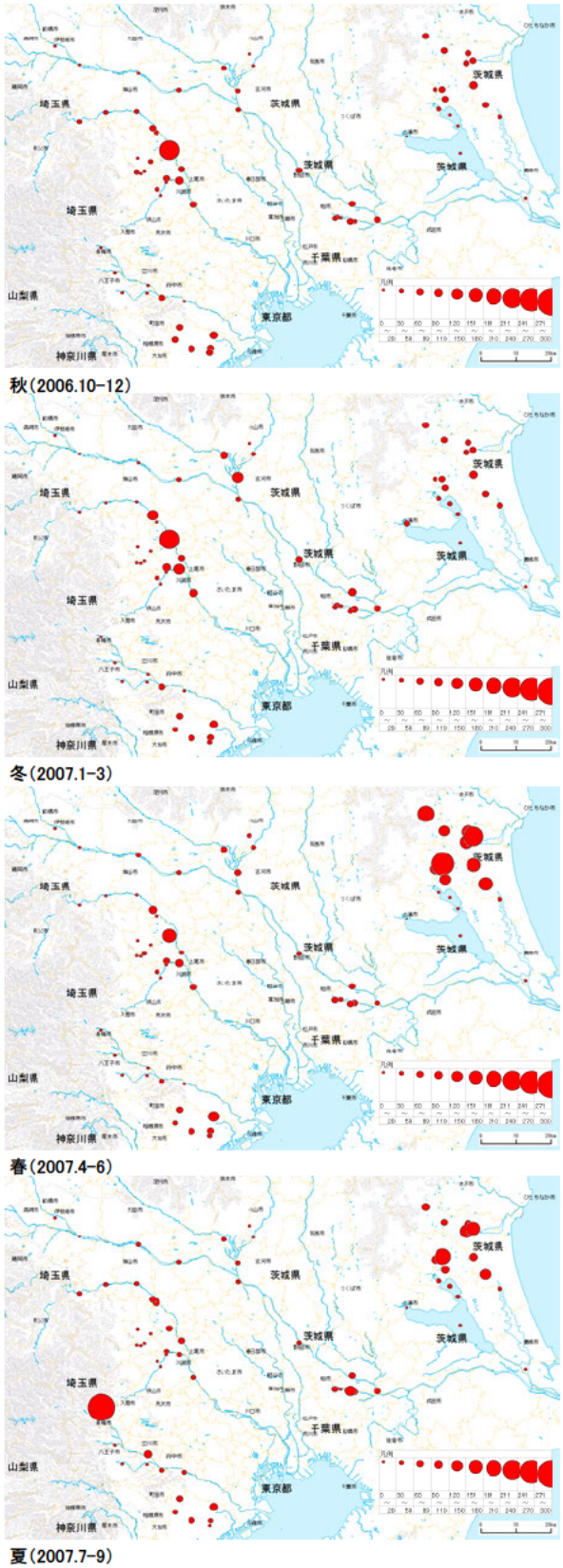



図-1　季節毎の河川水中の溶解性鉄濃度
(2006.10～2007.9、秋・冬・春・夏、単位μg/L)

の流出特性が著しく異なっていると考えられた。溶解性鉄と溶解性窒素・リンのモル比率Fe/N、Fe/Pについて、各地点の年間最低値を図-4に示す。Fe/NおよびFe/Pは、全地点でそれぞれレッドフィールド比 $6.3x10^{-5}$～$6.3x10^{-6}$の5倍以上、$1.0x10^{-3}$の13倍以上であった。よって、河川・湖沼水中では、溶解性鉄は窒素・リンと比較して相対的に不足する可能性は低いと考えられた。

### 3. 2 溶解性ケイ素について

(1) 都市排水（下水処理場）

下水処理場の放流水中の溶解性ケイ素濃度は、年間平均値として、鶴見川流域の5処理場で8.6～14mg/L、多摩川流域の8処理場で7.5～12mg/Lであった。年間の変動係数（各季節1回で計4回測定）はそれぞれ3.8～8.3%、3.7～19%であり、季節変動の明確な傾向は見られなかった。放流水中の溶解性ケイ素濃度は河川水中濃度と同レベルであった。

(2) 河川水

前年度の調査結果と併せた1年間の調査結果より、季節ごとの河川水中の溶解性ケイ素の濃度について図-5に示す（河川については各3ヶ月の平均濃度）。また、鶴見川および多摩川の年間濃度変化を図-6に示す。

多摩川について、上述の溶解性鉄と同様に、9月の調布橋で増加しており、上流域の降雨により溶解性ケイ素が河川に供給されているものと考えられる。

鶴見川の12月の調査は、降雨開始後4時間～7時間の初期降雨時に実施しており、水位が上昇開始した時点であった。溶解性ケイ素濃度は、前後の11月および1月の平均値と比較して、各地点で27%～64%の範囲であり、降雨初期の流量増加時には低濃度となるものと考えられた。

溶解性ケイ素と溶解性窒素・リンのモル比率Si/N、Si/Pについて、各地点の年間の最低値を図-7に示す。Si/Nはレッドフィールド比1～3.1程度を下回る地点が大半であり、Si/Pもレッドフィールド比16～50程度を下回る地点があった。

特に，鶴見川と多摩川で低い傾向がみられたため，それぞれ主要な数地点について，Si/NおよびSi/Pの年間変化を図-8および図-9にそれぞれ示す。鶴見川では，上流の寺家でSi/Nが最も高く，落合橋，亀の子橋と流下するに従いSi/Nが低下し，亀の子橋では1年のほとんど期間Si/Nが1を下回っていることが分かる。また，多摩川でも，上流の調布橋でSi/Nが最も高く，流下して下水処理場放流水が流入した日野橋，石原と流下するに従いSi/Nが低下し，石原では1年のほとんど期間Si/Nが1を下回っていることが分かる。Si/Pについても両河川で




図-2 鶴見川および多摩川の調査地点

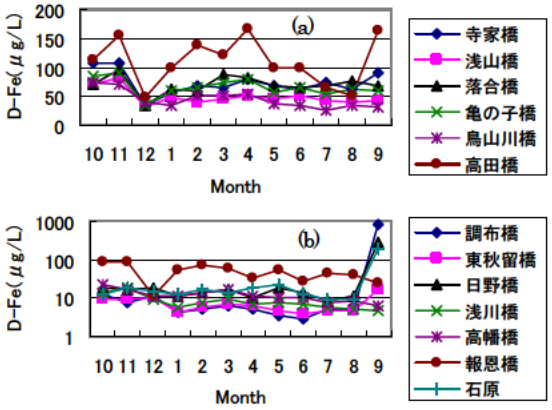



図-3 鶴見川および多摩川の河川水中の溶解性鉄濃度の年間挙動（a:鶴見川6地点、b:多摩川7地点、多摩川は9月の濃度が高いため縦軸を対数値で示した）

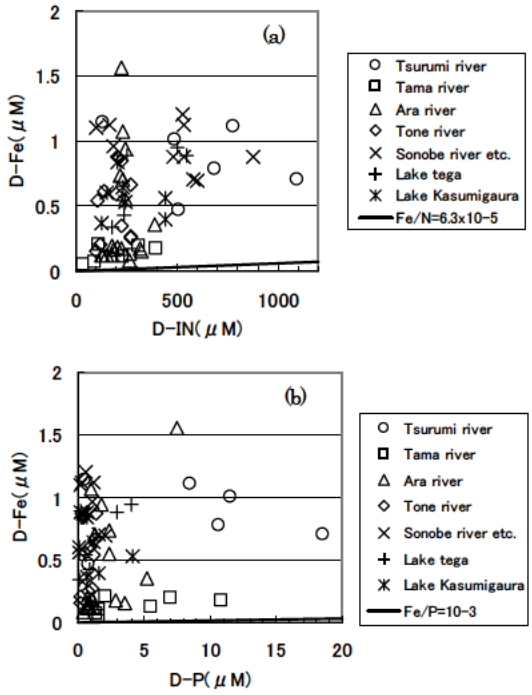



図-4 河川水中の溶解性鉄濃度と溶解性窒素・リン濃度との比率（a:Fe/N、b:Fe/P）

同様の傾向があり，下流の亀の子橋および石原でSi/Pが低下して20～80程度の値となっている。

以上より，河川・湖沼水中では、溶解性ケイ素は窒素・リンと比較して相対的に不足する傾向があり，特に都市排水の影響を大きく受けている鶴見川および多摩川の下流では1年のほとんどの期間で相対的に不足していると考えられた。この原因としては、都市排水の流入による窒素・リンの増加が考えられた。

## 4. まとめ

(1) 都市排水中の溶解性鉄濃度は、年間の季節変動の明確な傾向はなく、河川水中濃度の半分以下程度であった。都市排水中の溶解性ケイ素濃度は、年間の季節変動の明確な傾向はなく、河川水中濃度と同程度であった。

(2) 河川水中の溶解性鉄濃度は、夏期および冬期の低流量時にやや低下する傾向がみられた。一因としては、降雨流出由来の供給の減少および河川流量が減少して低濃度の下水処理場放流水の占める割合が増加するためと考えられた。溶解性窒素・リンに対する濃度比Fe/N、Fe/Pがいずれもレッドフィールド比よりも大であり、相対的に不足する可能性は低いと考えられた。

河川水中の溶解性ケイ素濃度は、年間の変動が少なく、溶解性窒素に対する濃度比Si/Nがレッドフィールド比を下回る場合が多く、リンに対する濃度比Si/Pも下回る場合があり、相対的に不足する可能性が考えられた。特に，都市排水の影響を大きく受けている鶴見川および多摩川の下流では1年のほとんどの期間で相対的に不足していると考えられた。

なお、本調査研究は、運営費交付金（治水勘定）により実施されたものである。

## 参考文献

1) Humborg et al.：Effect of Danube River dam on Black Sea biogeochemistry and ecosystem structure, Nature, Vol.386, No.27, pp.385-388, 1997.

2) 原島省，陸水域のシリカ欠損と海域生態系の変質，水環境学会誌，26，621-625，2003

3) Matsunaga et al.：Riverine input of bioavailable iron supporting phytoplankton growth in Kesennuma Bay (Japan), Water Research, Vol.32, 1998, pp.3436-3442.

4) Hutchins et al.:Competition among marine phytoplankton for different chelated iron species, Nature, 400, pp.858-861, 1999

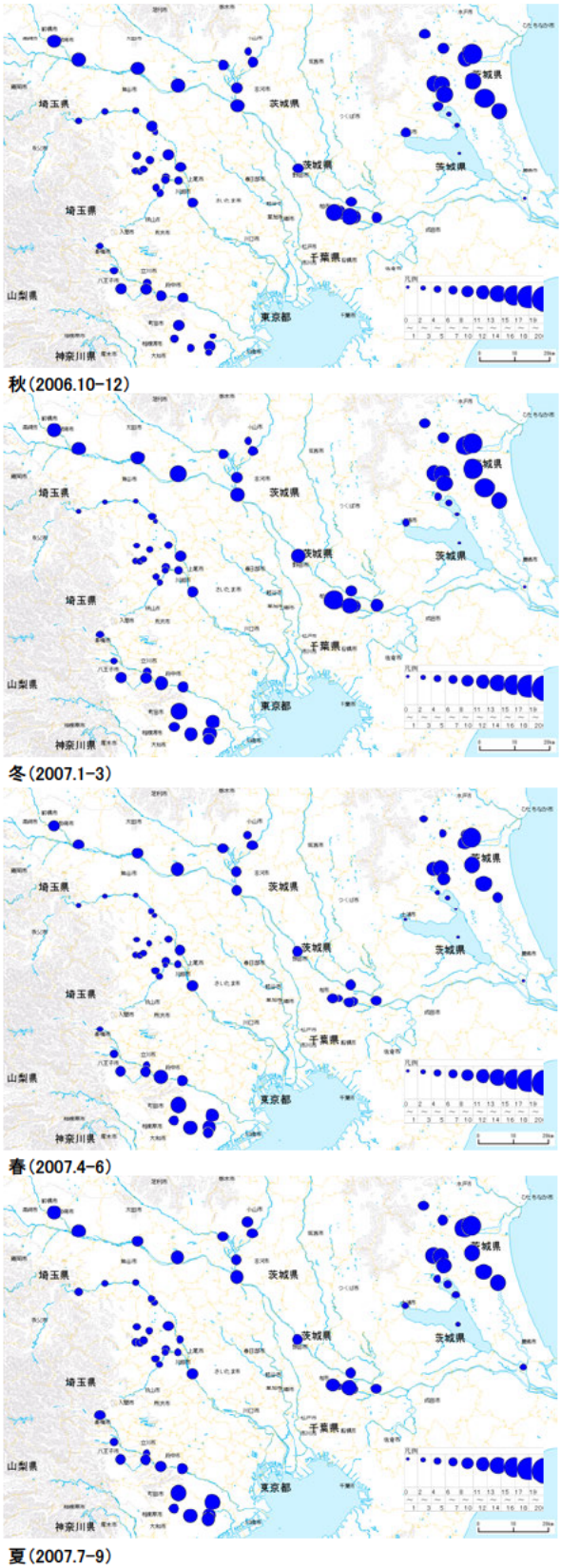



図-5　季節毎の河川水中の溶解性ケイ素濃度
(2006.10～2007.9、秋・冬・春・夏、単位mg/L)

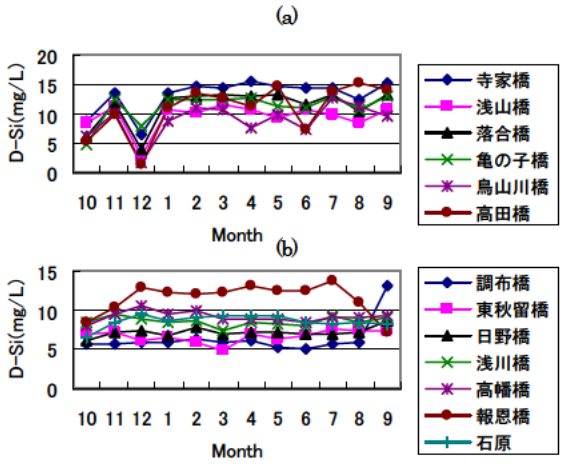



図-6　鶴見川および多摩川の河川水中の溶解性ケイ素濃度の年間挙動（a:鶴見川 6 地点、b:多摩川 7 地点）

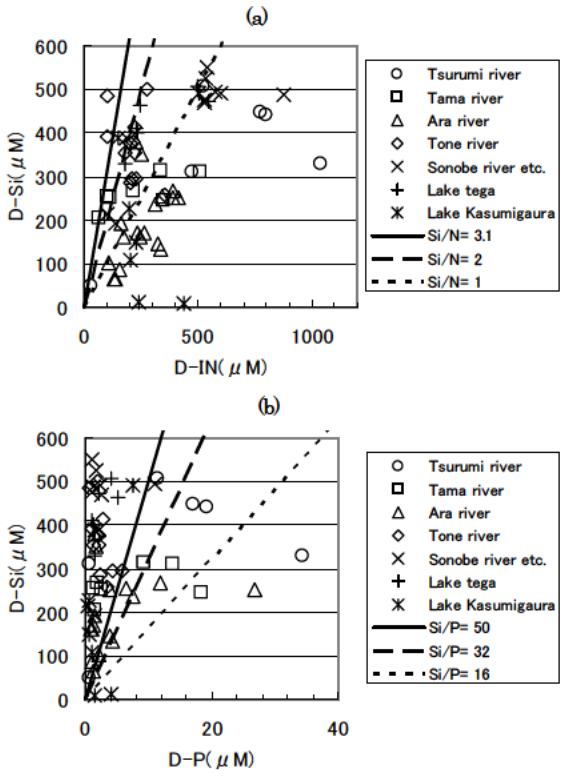



図-7　河川水中の溶解性ケイ素濃度と溶解性窒素・リン濃度との比率（a:Si/N、b:Si/P）

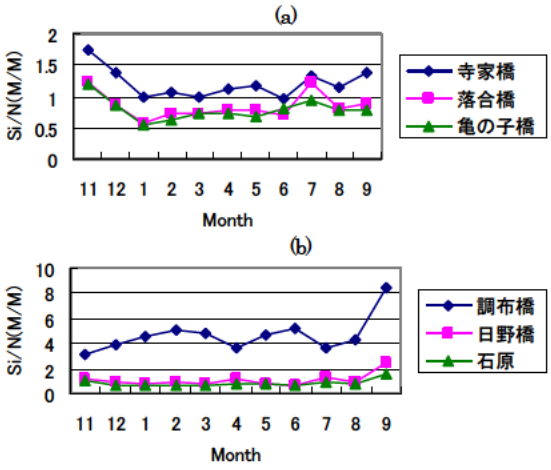



図-8　鶴見川および多摩川の Si/N の年間変化（a:鶴見川 3 地点、b:多摩川 3 地点）

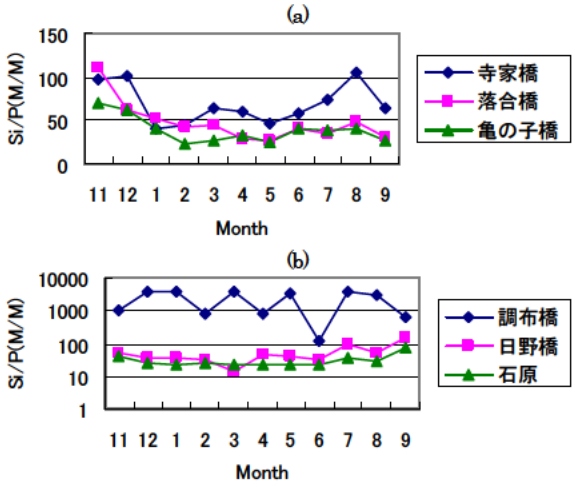



図-9　鶴見川および多摩川の Si/P の年間変化（a:鶴見川 3 地点、b:多摩川 3 地点、多摩川は縦軸の範囲が大であるため対数値で示した）

# 水環境中における病原微生物の消長に関する研究

研究予算：運営費交付金（一般勘定）
研究期間：平18～平22
担当チーム：材料地盤研究グループ（リサイクル）
研究担当者：尾﨑正明、諏訪守

**【要旨】**

19年度は、水試料中のノロウイルスをリアルタイムRT－PCR法により定量するにあたり、その検出濃度の向上を目的に、PEG沈殿法ではポリエチレングリコール添加濃度の最適化および遺伝子抽出カラムへの濃縮試料のSS負荷量、陰電荷膜法では膜への測定試料のSS負荷量を各々変動させウイルス検出濃度に及ぼす影響を明らかにするとともに、それら濃縮法の違いによる検出濃度を評価した。また、逆転写反応に用いる抽出RNA量の最適化についても検討した。さらに、ノロウイルス代替指標としてのネコカリシウイルスと下水試料から分離したノロウイルスの紫外線による不活化実験を行い消毒耐性を評価した。

その結果、ポリエチレングリコールの添加量は終濃度を8%、逆転写反応に用いる抽出RNA量は0.5μgとすることで最大検出濃度が得られることを明らかにした。PEG沈殿法による濃縮法では、遺伝子抽出カラムへの濃縮試料のSS負荷量をより低減させることで陰電荷膜法よりもノロウイルスの検出濃度を高められるものと考えられた。陰電荷膜へのSS負荷量は1mg/枚以下で、ほぼ一定した検出レベルにとどまった。環境水の汚染実態や下水処理過程での除去効率などを把握するためには、これらのSS負荷量を統一した上でウイルス遺伝子の抽出やウイルス濃縮を行う必要があるものと考えられた。ネコカリシウイルスを3log不活化するために必要な紫外線量は20mJ/cm$^2$程度であった。下水試料から分離したノロウイルスを紫外線照射することで、リアルタイムRT-PCR法による定量値の減少傾向が示された。

キーワード：ノロウイルス、リアルタイムRT－PCR法、濃縮法、紫外線、不活化効果

## １．はじめに

クリプトスポリジウム、ノロウイルス（NV）、薬剤耐性菌などによる感染症が多発しており、大きな社会問題となっている。感染者などから排出されるこれらの病原微生物は様々な経路を経て最終的には公共用水域へ排出される。公共用水域の衛生学的安全性確保のため、病原微生物の消長を把握し汚染源を明らかにするとともに、対策手法の適正な評価にあたっては、迅速・簡便・安全に病原微生物の感染能力などを測定できる方法の開発が望まれている。

本課題では上記の要請を踏まえ、水環境中での薬剤耐性菌の汚染実態や耐性遺伝子の伝播特性を評価するとともに、分子生物学的手法（PCR：Polymerase Chain Reaction）を活用した感染能力を有する病原微生物の検出法の開発を目的としている。特にノロウイルスに関しては、現在のところ生死判定を行うことができない課題がある。このため、代替指標の利用を含め唯一の検出法であるリアルタイムPCR法を活用し生死判定手法の構築の可能性を検討する。

本研究で研究対象としている病原微生物は薬剤耐性大腸菌、クリプトスポリジウムであり、ウイルスはノロウイルスである。19年度はノロウイルスを対象とし以下の研究を行った。

1）PEG添加濃度、逆転写反応に用いる抽出RNA量の最適化
2）各種濃縮法による検出濃度の比較とその影響要因
3）紫外線による不活化評価

## ２．研究目的

### ２．１ PEG添加濃度、逆転写反応に用いる抽出RNA量の最適化

ウイルス濃縮法の一種であるPEG沈殿法は、ポリエチレングリコール（PEG）を試料中に添加、遠心沈殿し沈渣を回収することでウイルス濃縮液を作成する。PEG沈殿法を用いたノロウイルスの検出事例[1)]ではPEGの添加濃度が8%、カキからの検出では添加濃度が8～20%という報告検討例[2)]があるものの、水試料からの検出に際し最適添加濃度の検討例はない。また、リアルタイムRT－PCR法によりウイルス遺伝子を定量する際には、抽出RNAを逆転写（RT：Reverse Transcription）しなけ

ればならない。逆転写効率を向上させるために抽出RNA量の最適化を行った検討例[1)]もあるが極めて限られたものとなっている。このため、ノロウイルスの検出濃度の向上を目的として、水質性状の異なる試料を対象にPEGの最適添加濃度や逆転写反応に利用する抽出 RNA 量の最適化を検討した。

### ２．２ 各種濃縮法による検出濃度の比較とその影響要因

水中のウイルスを安定的に定量するにあたり、濃縮を行う必要があると考えられる。代表的なウイルス濃縮法としてはPEGやセルロースを添加する方法、陽電荷膜または陰電荷膜の利用による方法、あるいは超高速遠心分離器により沈殿させる方法などがある。しかし、陽電荷膜は現在製造販売されておらず、また、超高速遠心法では高価な遠心分離器が必要となる。このため比較的安価かつ操作の容易性から、ここでは、PEG沈殿法、陰電荷膜法、さらには濃縮操作を行わない直接法の各種濃縮法により実下水試料中のノロウイルス濃度を測定し、その検出濃度から最適濃縮法の評価を行った。さらに、PEG沈殿法では遺伝子抽出カラムへの濃縮試料のSS負荷量、陰電荷膜法では膜への測定試料の SS 負荷量を各々変動させウイルス検出濃度に及ぼす影響を評価した。

### ２．３ 紫外線による不活化評価

ノロウイルスは、現在のところ培養細胞などにより増殖させられないため、感染能力（生死）の有無を判定できない課題がある。これらの課題も１つの要因となっており、衛生学的安全性確保の観点から下水処理水の再利用水質基準等マニュアルが策定[3)]され水質基準等が提示されているが、ウイルス濃度の基準値の設定には至っていない。ここでは、唯一の検出法であるリアルタイムRT－PCR法を活用しノロウイルス生死判定手法の構築の可能性を検討する。検討にあたっては、ノロウイルスの不活化効果を推定するための基礎データを得ることを目的に、下水中から分離したノロウイルスを紫外線照射しリアルタイム RT－PCR 法により定量し、その減少割合を把握した。さらに、ノロウイルス代替指標としてネコカリシウイルス（FCV）の適用に関しての提案[4)]があることから、紫外線での不活化効果をネコカリシウイルスにより評価した。

## ３．研究方法

### ３．１ PEG 添加濃度、逆転写反応に用いる抽出 RNA 量の最適化

PEG 沈殿法による添加濃度の最適化は、A 下水処理場の流入下水と処理場内に設置された活性汚泥処理プラントの二次処理水を用いて評価した。この時の流入下水のSS濃度は161mg/L、処理水は4. 1mg/Lであった。流入下水 25mL、処理水 250mL の試料中にPEG＃6000を終濃度が4～15%、NaClは終濃度約0. 2～0. 8Mを添加・撹拌し完全に溶解させた。4℃で 1 夜静置の後、10,000×G、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た。濃縮液中のウイルスは、リアルタイム RT－PCR 法により定量を行った。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。精製したウイルス RNA 試料 0. 5μg をランダムプライマー、Omniscript RT Kit（QIAGEN 社）を用い全量 20μL の系で逆転写反応を行いcDNAを作製し2μL をリアルタイム PCR に供した。ノロウイルス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」[5)]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。

逆転写反応に用いる抽出 RNA 量の最適化検討では、PEG 沈殿法、陰電荷膜法によって濃縮した試料中から抽出・精製したRNAを用いた。RNAを0. 2～1. 0μgの範囲でランダムプライマー、Omniscript RT Kitを用い全量20μLの系で逆転写反応を行いcDNAを作製し2μLをリアルタイム PCR に供しノロウイルス濃度を測定した。抽出RNA量はSpectrophotometer （NanoDrop社製）により定量した。

### ３．２ 各種濃縮法による検出濃度の比較とその影響要因

実験には上記A下水処理場の流入下水と活性汚泥処理プラントの二次処理水を用いた。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・撹拌し完全に溶解させた。4℃で1夜静置の後、10,000×G、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た。試料の濃縮水量と SS 濃度からSS負荷量を算出し、ウイルス遺伝子抽出カラム

への濃縮試料の通水量を調整することでカラムへの SS 負荷量を変動させた。

陰電荷膜法[6]による濃縮は、試料 100mL あたり 250mM の $MgCl_2$ を 1mL 添加攪拌し、HA 膜（公称孔径 0.45μm、90mm）で試料をろ過した。0.5mM の $H_2SO_4$ 200mL で酸洗浄し、1.0mM の NaOH10mL をろ過してウイルスを誘出回収した。誘出液を 50×TE バッファー 200μL と 100mM の $H_2SO_4$ 50μL を入れた試験管に回収・中和し、誘出液を CentriprepYM－50 （ミリポア社製）に入れ 2,500rpm・10 分間 4℃で遠心処理を行いウイルス濃縮液を作成した。陰電荷膜への SS 負荷量は試料の SS 濃度と膜への通水量から算出した。なお、陰電荷膜法では公称孔径 0.45μm の膜に試料を通水・濃縮し、その誘出液が濃縮試料となるため、遺伝子抽出カラムへの濃縮試料の SS 負荷量はゼロとして考えた。

直接法は 140μL の試料を遺伝子抽出カラムへ直接通水しウイルス遺伝子を捕捉させることで濃縮試料として考えた。

各濃縮液中のウイルスは、リアルタイム RT－PCR 法により定量を行った。

実験に使用したA下水処理場の流入下水の SS 濃度範囲は、114～161mg/L、プラントの二次処理水では 4.1～10.8mg/L であった。

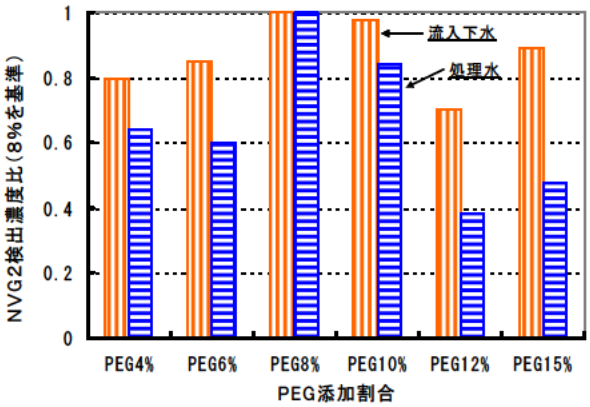
### 3．3 紫外線による不活化評価

不活化評価では、ネコ腎臓細胞（CRFK 細胞）により増殖させたネコカリシウイルス（FCV：F9 株）を用いた。細胞培養液の影響を取り除くため超高速遠心処理（140,000×G、3 時間）にてウイルスを精製した。このウイルスを 0～200mJ/cm$^2$ の範囲で紫外線（UV 波長 254nm）照射の後、ウイルス培養を行い細胞変性によりプラークを計数し不活化割合を把握した。実下水中のノロウイルスを用いた実験では、流入下水中から陰電荷膜法により濃縮・分離したノロウイルスを 0～50mJ/cm$^2$ の範囲で紫外線照射の後、逆転写反応を行いリアルタイム RT－PCR 法によってウイルス濃度を定量した。

## 4．研究結果と考察

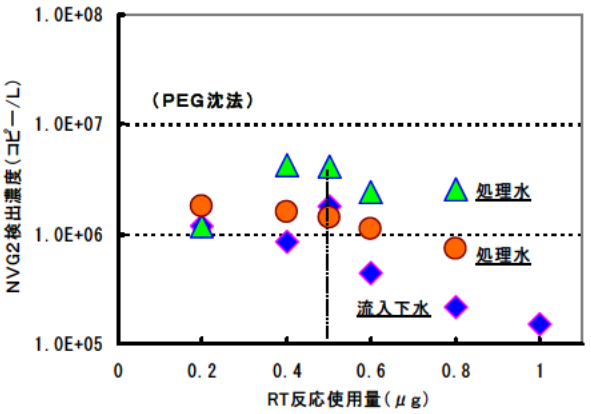
### 4．1 PEG 添加濃度、逆転写反応に用いる抽出 RNA 量の最適化

PEG 沈殿法による PEG 添加濃度の最適化の検討結果を図－1 に示す。流入下水、処理水とも終濃度の 8%でノロウイルス（NVG2 型）の検出濃度比が最大となった。次いで 10%、6%の順となっており、水質性状として SS 濃度などの異なる試料でも同様な傾向が見られた。カキの中腸腺からの検出では 12%とすることで回収量が高いとの報告[2]もあり若干の違いがあった。検討対象試料が水と中腸線であり、試料の性状が異なるため若干の違いが現れたものと推定される。よって、通常の水試料を PEG 沈法で濃縮を行う際には、終濃度を 8%とすることでノロウイルスの検出濃度が最大になると考えられた。

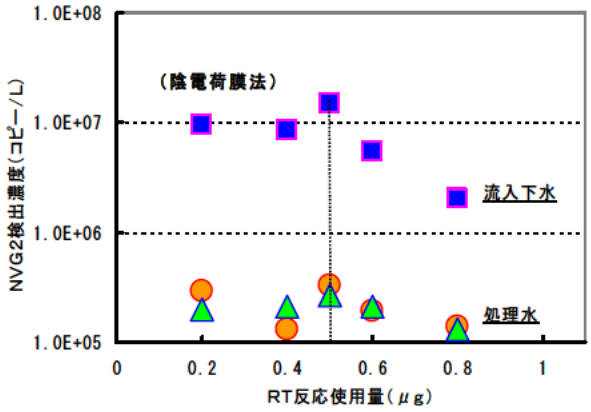



図－1 PEG添加割合毎のNVG2検出濃度比

逆転写反応に用いる抽出 RNA 量の最適化の検討結果を図－2、3 に示す。流入下水、処理水を PEG 沈殿法と陰電荷膜により濃縮した試料から抽出した RNA を 0.2～1.0μg の範囲内で逆転写反応させ cDNA を作成し、リアルタイムRT－PCR 法によりノロウイルス濃度を測定したものである。全てのケースで逆転写反応に用いる抽出RNA 量を 0.5μg とすることでノロウイルスの最大検出濃度が得られた。PEG 沈殿法と陰電荷膜法による 2 通りでの濃縮 RNA を利用したが、ともに同様な傾向を示した。一般に酵素反応は基質濃度の増加とともに反応速度が増加するが、基質濃度が過剰になると反応速度は




図－2 RT反応使用量の違いによる検出濃度

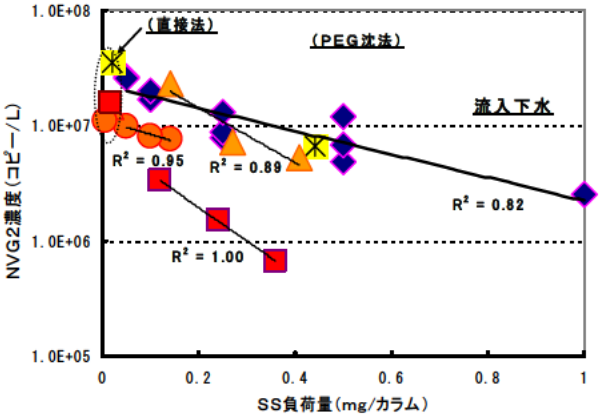



図－3 RT反応使用量の違いによる検出濃度

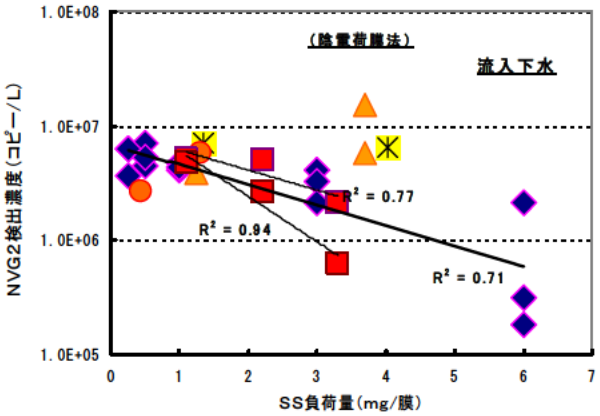
平衡に達し減少する。逆転写反応も逆転写酵素による酵素反応であるため同様の傾向を示したものと考えられた。なお、PEG 沈殿法と陰電荷膜法による検出濃度の違いや流入下水と処理水で検出濃度に逆転が生じているが、これは試料の採水日が異なるためである。

### 4．2 各種濃縮法による検出濃度の比較とその影響要因

A 下水処理場の流入下水を用いた各種濃縮法による検出濃度の評価結果を図－4、5 に示す。図－4 は PEG 沈殿法によるもので遺伝子抽出カラムへの SS 負荷量範囲を 0.05～1.0mg/カラムとした。併せて直接法による検出結果も示したが、抽出カラムへの SS 負荷量範囲は 0.007～0.02mg/カラム程度となった。図－5 は陰電荷膜法によるものであり、膜への SS 負荷量範囲を 0.25～6.0mg/枚（膜口径 90mm）とした。PEG 沈殿法は全ての試料において遺伝子抽出カラムへの SS 負荷量をより低減させることで検出濃度が高まる傾向が見られ、一部の試料では最大検出濃度が $10^7$コピー/L レベルとなった。逆に抽出カラムへの SS 負荷量を増加させることで検出濃度は低下し 1.0mg/カラムの場合では $10^6$コピー/L レベルとなった。直接法では PEG 沈殿法に比較して遺伝子抽出カラムへの SS 負荷量が低いため、検出濃度が高く維持されていた。PEG 沈殿法は遺伝子抽出カラムへの SS 負荷量をより低減させることで検出濃度が高まり、その濃度は直接法に近づくものと考えられた。陰電荷膜法は、検出濃度に若干のバラツキが見られるものの、膜への SS 負荷量がほぼ 1mg/枚以下であれば検出濃度レベルはほぼ一定となっていた。しかし、PEG 沈殿法で最大検出濃度が $10^7$コピー/L レベルであった同一試料を陰電荷膜法で濃縮し測定することで最大検出濃度は $10^6$コピー/L レベルに低下した。また、全体的に PEG 沈殿法は陰電荷膜法に比べ最大検出濃度が高い傾向が見られた。さらに、陰電荷膜法でも膜への測定試料の SS 負荷量を増加させることで検出濃度が低下する傾向が見られた。




図－4 抽出カラムへのSS負荷量がNV検出濃度に及ぼす影響

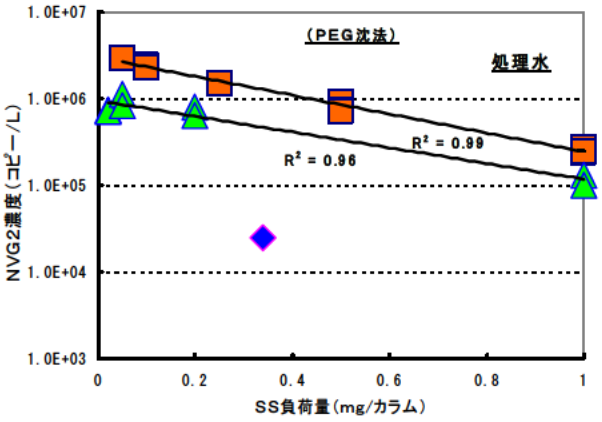



図－5 陰電荷膜めのSS負荷量がNV検出濃度に及ぼす影響

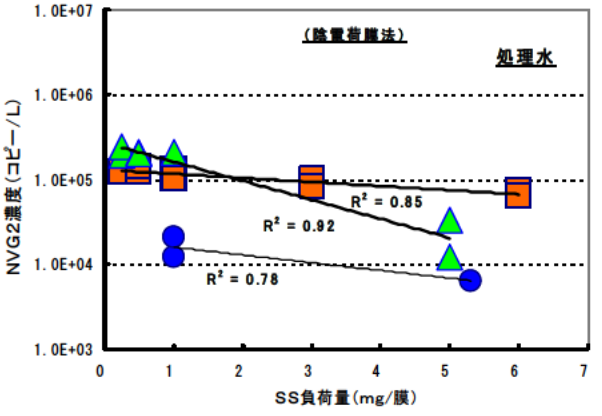
二次処理水を用いた各種濃縮法による検出濃度の評価結果を図－6、7 に示す。図－6 は PEG 沈殿法によるもので遺伝子抽出カラムへの SS 負荷量範囲を 0.02～1.0mg/カラムとした。直接法は 0.0006 mg/カラムとした。図－7 は陰電荷膜法によるものであり、膜への SS 負荷量範囲を 0.25～6.0mg/枚とした。PEG 沈殿法では遺伝子抽出カラムへの SS 負荷量をより低減させることで検出濃度が高まり、また、陰電荷膜法では膜への SS 負荷量をほぼ 1mg/枚以下とすれば検出濃度レベルはほぼ一定レベルであることから、流入下水での評価結果を裏付けるものとなった。同一試料での最大検出濃度も PEG 沈殿法が陰電荷膜法に比較して高かった。しかし、直接法では定量限界値以下となり、一定量以上の濃度でなければ直接法により処理水中のノロウイルスを定量することは難しいと考えられた。

以上の結果から、PEG 沈殿法は遺伝子抽出カラムへの

濃縮試料のSS負荷量を低減させることで、陰電荷膜法に比較してノロウイルスの検出濃度を高められるものと考えられた。また、ウイルス遺伝子抽出カラムに対する濃縮試料のSS負荷量や膜に対する試料のSS負荷量は、ノロウイルスの検出濃度に及ぼす影響が大きいことが明らかとなった。このため、水環境中での汚染実態や下水処理過程での除去効率などを把握するためには、これらの負荷量を統一した上で遺伝子抽出やウイルス濃縮を行う必要があるものと考えられた。



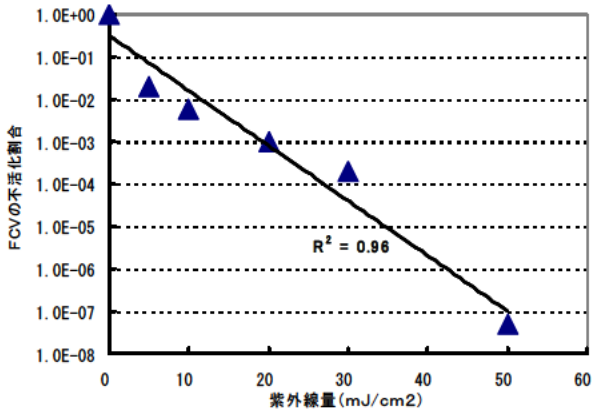
図－6 抽出カラムへのSS負荷量がNV検出濃度に及ぼす影響



図－7 陰電荷膜へのSS負荷量がNV検出濃度に及ぼす影響

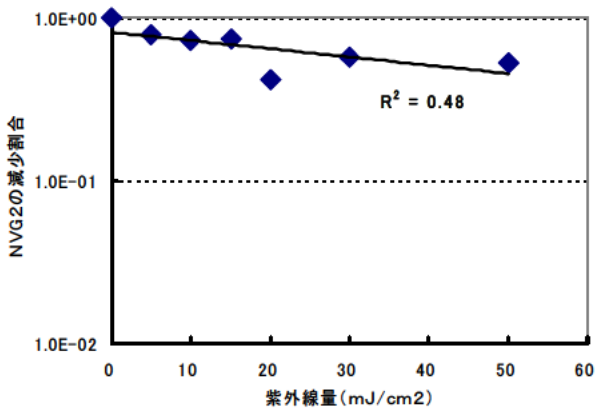
### 4．3 紫外線による不活化評価

紫外線の実験結果を図－8、9に示す。ネコカリシウイルスを 2～3log 不活化させるための紫外線量は 12～20mJ/cm²程度必要であった。同様の実験例では 25 mJ/cm²で 3log 以上、11.7mJ/cm²で 3log との報告[7)8)]もあり、12～20mJ/cm²程度の紫外線量により 3log の不活化効果が得られるものと考えられた。また、他の腸管系ウイルスとしてエコーウイルス、コクサッキーウイルス、ポリオウイルス、アデノウイルスを 3log 不活化させるための紫外線量は 20.5～27 mJ/cm²、アデノウイルスは 119 mJ/cm²と報告[9)]されている。これらネコカリシウイルスを含めた腸管系ウイルスの紫外線耐性は、アデノウイルスを除けばほぼ同レベルであると考えられた。



図－8 紫外線照射によるFCVの不活化割合

ノロウイルスでは、不活化割合を把握することができないため、リアルタイム RT－PCR による定量結果を示した。30mJ/cm²の紫外線量により定量値は約 0.24log、50mJ/cm²では約 0.35log 減少した。紫外線照射がノロウイルスの遺伝子に影響を及ぼしているため定量値の減少傾向が示されたものと考えられるが、30mJ/cm²の紫外線量により 3log の感染力の減少効果が推定されるとの報告[8)]もある。カリシウイルス科に属するネコカリシウイルスとノロウイルスは、形態や遺伝子の構造が類似、さらに、他の腸管系ウイルスでも 20～30mJ/cm²程度の紫外線量により 3log の不活化効果が得られているため、ノロウイルスでも同様の不活化効果があると推定される。しかしながら今回の結果から、ネコカリシウイルスを含め他の腸管系ウイルスなどを利用し、紫外線照射による



図－9 紫外線照射によるNVの減少割合

ウイルス濃度の減少割合をリアルタイム RT－PCR 法で定量し、その割合がノロウイルスとどの程度一致するのかを比較検討する必要があると考えられた。また、感染能力の評価を完全なものとするため、他の消毒法として塩素やオゾンなどに関しても検討を加える必要がある。

## ５．まとめ

19 年度は、水試料中のノロウイルスをリアルタイム RT－PCR 法により定量するにあたり、その検出濃度の向上を目的に、PEG 沈殿法ではポリエチレングリコール添加濃度の最適化および遺伝子抽出カラムへの濃縮試料の SS 負荷量、陰電荷膜法では膜への測定試料の SS 負荷量を各々変動させウイルス検出濃度に及ぼす影響を明らかにするとともに、それら濃縮法の違いによる検出濃度を評価した。また、逆転写反応に用いる抽出 RNA 量の最適化についても検討した。さらに、ノロウイルス代替指標としてのネコカリシウイルスと下水試料から分離したノロウイルスの紫外線による不活化実験を行い、ネコカリシウイルスの消毒耐性の評価とともに、ノロウイルスの不活化効果を推定するための基礎データを得ることを目的に、リアルタイム RT－PCR 法による定量値から、その減少割合を把握した。以下に結果を示す。

1）PEG 沈殿法による PEG の添加濃度は、流入下水、処理水とも終濃度を 8%とすることでノロウイルスの検出濃度が最大となった。

2）全量 20μL の系における逆転写反応では、抽出 RNA 量を 0.5μg とすることでノロウイルスの検出濃度が最大となった。

3）PEG 沈殿法は、遺伝子抽出カラムへの濃縮試料の SS 負荷量を低減させることで、陰電荷膜法に比較してノロウイルスの検出濃度を高められるものと考えられた。

4）ウイルス遺伝子抽出カラムに対する濃縮試料の SS 負荷量や膜に対する試料の SS 負荷量は、ノロウイルスの検出濃度に及ぼす影響が大きいことが明らかとなった。

5）濃縮操作を行わない直接法は、一定量以上の濃度でなければウイルスを定量することは難しいと考えられた。

6）ネコカリシウイルスを 3log 不活化するために必要な紫外線量は 20mJ/cm²程度であった。

7）下水試料から分離したノロウイルスを紫外線照射することで、リアルタイム RT－PCR 法による定量値の減少傾向が示された。

なお、本研究は、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） 陶山明子、諏訪守、鈴木穣、尾崎正明（2006）、下水試料からのノロウイルス定量法の検討、環境工学研究論文集 43,255-261.

2）野田衛、岡本玲子、有田知子、伊藤文明、池田義文、西尾治（2007）カキからのノロウイルス検出におけるアミラーゼ処理の有用性(2)、第 55 回日本ウイルス学会学術集会抄録集,161.

3）国土交通省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（2005）、下水処理水の再利用水質基準等マニュアル.

4) Antimicrobials Division U S.EPA, CONFIRMATORY VIRUCIDAL EFFECTIVENESS TEST , Using Feline Calicivirus As Surrogate for Norovirus.

5）厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課（2003）、ノロウイルスの検出法について.

6）H, Katayama., et al.,(2008) One-year monthly quantitative survey of noroviruses, enteroviruses, and adenoviruses in wastewater collected from six plant in Japan, Water Research,42,1441－1448.

7）笠井久会、吉永守（2007）ネコカリシウイルスを指標としたカキのノロウイルス浄化法について、第 55 回日本ウイルス学会学術集会抄録集,390.

8）T. Iwasaki, et al. (2007) Inactivation Effect of Ultraviolet Radiation on Norovirus(NV), 14th International Symposium on Health-Related Water Microbiology, 392.

9）Charles P. Gerba, et al. (2002) Comparative Inactivation of Enteroviruses and Adenovirus 2 by UV Light, Applied and Environmental Microbiology, 68(10), 5167-5169.

# 下水汚泥中のリン等無機物資源の備蓄システムに関する調査検討業務

土木研究所　リサイクルチーム　　上席研究員　尾﨑　正明
総括主任研究員　落　修一
研究員　宮本　豊尚

## 1.はじめに

新興国の台頭や世界的な人口増加にともなう食糧生産、バイオマスエネルギーへの注目により、肥料原料であるリンをはじめとする各種資源が高騰している。一方で下水汚泥中にはリン等の無機物資源が含まれていることが知られている。

本業務は、下水汚泥中に含まれる無機資源を戦略物質として長期的に活用するため、下水汚泥の焼却灰からの無機資源の様々な回収技術と、回収した無機物資源を管理・保存するための様々な技術を対象に、長期保存に適した最適な組み合わせを検討し、それぞれの組み合わせにおける技術課題の抽出やその対応策の検討を行ったものである。

本業務には大きく次の３つの課題が設定された。

（１）下水汚泥中のリン等の無機物資源を回収し、長期保存するための最適な技術の組み合わせについての基礎的検討

（２）（１）にあたっての技術的課題の抽出

（３）技術的課題の解決に向けた技術的開発の方向性等の検討

上記の課題を解決するため、有識者並びに下水道関係者とともに「リン等無機資源の備蓄システムに関する勉強会」を通して検討を行った。さらに汚泥中リンの安定性実験と備蓄検討資材の無機質特性調査を実施し、技術的課題の基礎的な検討を行った。

## 2.「リン等無機資源の備蓄システムに関する勉強会」成果概要

### ２．１　方法

勉強会は、平成 19 年度に 3 回の会合を持ち、年度内に結論を得ることとした。事務局は土木研究所リサイクルチームに置き、メンバーは自治体を中心としてリン備蓄に見識の深い有識者にも参加をお願いした。会への参画自治体の下水道関係者は参加自由とし、会自体は自由討議・発言とした。また有識者には専門分野の情勢分析や技術情報の提供等を通じて円滑な討論、議論のリードをお願いした。

第 1 回は主にリン資源を取り巻く情勢分析と貯蔵・備蓄の価値、必要性について討議され、第 2 回は主に備蓄・貯蔵システムと費用分析の討議が行われた。第 3 回は主にケーススタディーによる評価・討議が行われた。

### ２．２　成果概要

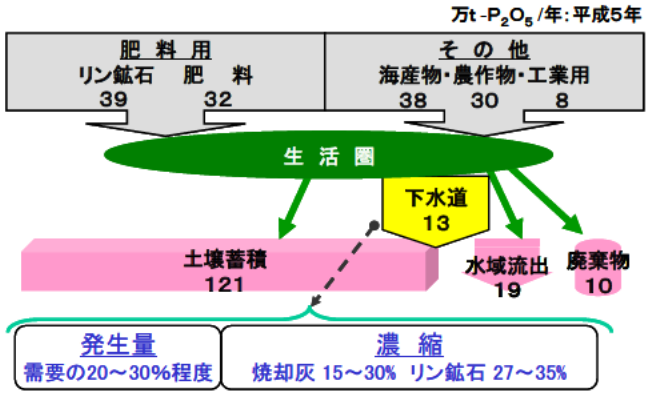
勉強会における検討結果は以下の 5 点に要約される。

①　【リンは国際的な戦略物資となってきており、我が国のリン資源全体から見て、下水に集積されるリンは貴重な存在である】

我が国はリンを産せず 100%輸入に依存している。地球温暖化に起因する地球環境問題や人口大国の経済的躍進等が植物、食糧の増産を誘発し、その影響を受けてリン鉱石の価格も￥10,000／トンほどで推移していたものがここ数年来上昇に転じ、2007 年度では年度当初と比べ 3～5 倍に急騰している。また、産出国によ

っては輸出制限を取り始めたところもあり、明らかにリン資源が国際的な戦略物質となってきている。

一方、国内にリン資源を求めるとなると、家畜糞や骨粉、食品残渣、人糞に求めざるを得ない。これらをその集積度合いや安定性の観点から資源としてみた場合、大部分の人糞と幾つかの食品残渣が常時、連続的に収集・集積される下水道システムが最も効果的な供給源であり、中でもその汚水処理過程でリンを蓄積した下水汚泥が最も優れた国内資源とみることができる。リン鉱石輸入との比較において、下水汚泥中に大量に効果的に集積されるリンは輸入量の３割ほどに相当すると試算され（図―１）、下水汚泥のリン酸資源としての利用の選択可能性が格段に高まった。そこで、下水汚泥は、産業廃棄物ではなく、有価価値があるものという認識を持ち、戦略物資の一つと捉える必要がある。




図－１　下水とリン資源の関係

②　【下水汚泥の処理処分ならびに有効利用の現状から鑑みて、下水汚泥をリン資源として活用することは十分可能であり、そこでは「備蓄」や「貯蔵・利用」、「直ぐの利用」が考えられる】

下水汚泥の有効利用率は 70%近くに達している。その主流はセメント原料としての利用となっているが、高い処分費用を必要とし、さらに近年リン含有量の増加がセメント材料としての利用に問題を生じている。また、リン資源の活用に類するものとしては古くより下水汚泥の優れた肥効性が着目され乾燥やコンポスト化、炭化などを施して緑農地に利用する取り組みも行われてきた。しかし、下水汚泥の緑農地利用に関しては、下水汚泥製品は組成成分に関係なく特別な扱いに分類され、普及の制約となってきた。

一方、下水汚泥の処理においては約７割が焼却処理されている。その灰分中にはリン酸が 20～30%ほど含有されており、低品位のリン鉱石に匹敵する。さらに近年は下水処理技術の向上などにより汚泥中のリン濃度が増加してきている。

このように現状の下水汚泥の処理は恒久的な安定処理の面から完全とは言い難いが、その資源性はより高まってきている。下水汚泥を真の資源と位置付けた恒久的な取り組みが求められるが、セメント化等の再利用不可能な形で分散させて処理処分していることや下水道事業者ごとの対応では安定供給に見合う量に問題があることなどから有効な資源化利用に繋がっていない場合が多い。

そこで、現時点で埋め立て処分されている下水汚泥や有効利用とはいえない処分形態となっている下水汚泥を対象として、これらを下水汚泥共通のリン資源と位置付け具体に取り組む必要がある。資源と位置付けるには品質はもとより一定量以上を安定確保することが必須となる。これに基づき様々な地域特性や規模、社会条件があることを考慮すると「備蓄」、「貯蔵＋利用」および「直ちに利用」の形態を通じたリン資源化利用が考えられる。

ここで、「備蓄」は「将来に備え蓄える」ことであり、「貯蔵＋利用」は「事業化が成立するまで必要量を貯め利用する」ことを意味する。「直ちに利用」は福岡市や島根県で取り組まれてきた MAP 利用や岐阜市で取り組まれているリン酸肥料化利用などのように直接、直ちに利用に結びつけるケースであり、これは事業化していることから本勉強会の対象としない。また、具体の利用技術については多くの研究、開発がなされてきていることから周知のものとして本勉強会の対象としない。

③　【「備蓄」する場合は将来の利用を見越した形態で行う。また、事業化には多くの関係機関との連携が必

要である】

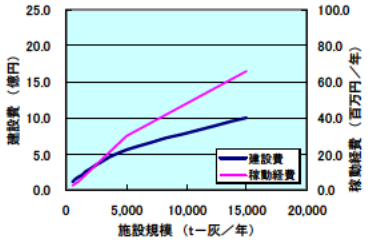
備蓄資材は安全かつ成分が変化しないものでなければならない。腐敗の問題があるため備蓄資材は無機体が好ましく、下水汚泥焼却灰は備蓄資材の有力候補の一つと位置づけられる。また保管に関しては、成分を把握するため他と混ぜないで管理し、輸送が容易な場所を選定し備蓄を行う必要がある。

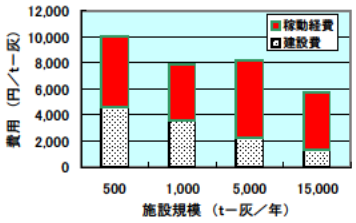
事業化への道筋として、ある程度の規模が必要なため、複数の自治体で行う必要がある。その場合、国の関与が必要であり、市場の流通も考えると全農との連携も必要である。また、排出する場所（地域）と使う場所が一致しないため、利用する側と備蓄する側のマッチングを考える必要がある。さらに、運搬や施工、管理、製品化、副産物を含む利用等の一連のシステム、事業化に際して関係する法律についても整理していく必要がある。

④　【「備蓄」や「貯蔵」は、施工費用の分析とケーススタディーから経済的には実現性が高い】

備蓄や貯蔵に必要な経費は、国内の平均処分単価￥8,000／トン以下（ロータスプロジェクト）とすることが必要である。

焼却灰を全面スロープ1:2の三角断面備蓄、法面防水・緑化することを想定して吹付け圧密工法とブルドーザ敷き均しローラ締固工法の経費を求めた結果、経済的に実現可能と判断された（図－２）。また、コンテナ活用について検討した結果、大量貯蔵は受入設備が高価となることから一定期間・規模の貯蔵法として有効であった。また、人口規模が約300万人の県をモデルとしたケーススタディーを行った結果（図－３）、経済的に十分に成り立つことが示された。なお、技術的課題として備蓄工法の確立と実証試験が挙げられた。

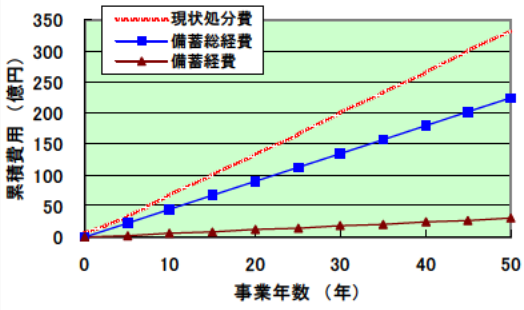



| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 施工規模 | ($m^3$-備蓄／年) | 333 | 667 | 3,333 | 10,000 |
| | (t-灰／年) | 500 | 1,000 | 5,000 | 15,000 |
| | (t-灰／日) | 1.4 | 2.7 | 13.7 | 41.1 |
| | (t-TS/年) | 2,500 | 5,000 | 25,000 | 75,000 |
| | (t-wet/年) | 12,500 | 25,000 | 125,000 | 375,000 |
| | (t-wet/日) | 34 | 68 | 342 | 1,027 |
| | (人口規模) | 97,847 | 195,695 | 978,474 | 2,935,421 |
| 備蓄規模（50年間相当量） | | | | | |
| 容積 | ($m^3$) | 16,667 | 33,333 | 166,667 | 500,000 |
| 平均高さ | (m) | 7.5 | 10 | 15 | 20 |
| 平均幅 | (m) | 30 | 40 | 60 | 80 |
| 長さ | (m) | 163 | 187 | 400 | 665 |
| 平均面積 | ($m^2$) | 4,894 | 7,467 | 24,022 | 53,200 |
| 建設費（施工基盤，施工建家，備蓄施工設備，仕上げ緑化） | | | | | |
| | (億円) | 1.1 | 1.8 | 5.6 | 10.0 |
| | (円／t-灰) | 4,570 | 3,578 | 2,234 | 1,333 |
| 稼動経費（動力費，人件費，施工補助材費，設備補修費） | | | | | |
| | (百万円／年) | 2.7 | 4.4 | 30.0 | 66.0 |
| | (円／t-灰) | 5,440 | 4,373 | 5,998 | 4,397 |

図－２　費用分析例　（ブルドーザ敷き均しローラ締固工法）

| 備蓄 | 広域 | 現状処分費 (百万円/年) | 備蓄経費 燃焼追加経費 建設 (億円) | 燃焼追加経費 維持管理 (百万円/年) | 備蓄工 建設 (億円) | 備蓄工 稼動経費 (百万円/年) | 面積 ($m^2$) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 県北・太平洋岸域 | Ⅰ域 | 71.67 | 0 | 19.9 | 3.8 | 15.7 | 15,600 |
| | Ⅱ域 | 78.6 | 11.61 | 72.1 | | | |
| 県西・南・内陸域 | Ⅲ域 | 27.49 | 0 | 0 | 4.1 | 17.8 | 16,900 |
| | Ⅳ域 | 223.47 | 0 | 8.8 | | | |
| | Ⅴ域 | 162.61 | 16.57 | 117.6 | | | |
| | Ⅵ域 | 74.06 | 0 | 0 | | | |
| 特定 | 特定 | 25.35 | 0 | 0 | 2.08 | 6.05 | 8,700 |
| 計 | | 663.25 | 28.18 | 218.4 | 9.98 | 39.55 | 41,200 |




図－３　ケーススタディー結果

⑤　【広く国民の理解を得る】

リンを取り巻く国内、国際情勢や下水汚泥灰がリン鉱石に匹敵する含有量を持っている資源的価値などを広く国民に周知し、共有し、それを利用に繋げる事業化、システム作りに理解を得る必要がある。

また、国民に公表・公開すれば、社会における下水道の役割・位置付けはこれまでと全く変わったもの（受け取り方）となる。衛生・環境保全と合わせて、生存に係わる必須物質の資源回収による社会活動支援のための基盤と位置付けられる。

## 3. 備蓄システムに係わる実験調査

### ３．１　汚泥中リンの安定性実験

下水汚泥中に含まれるリンを資源として捉え、下水汚泥を様々な形態に加工した場合の、そこでの加工製品およびそこに含まれるリン資源の長期安定性を調べるための実験を行った。

#### （１）　実験方法

実験は、２０℃の恒温実験室において**表－１**に示す４種類の試料に対して４種類の酸試薬を用いて pH 制御下における各種成分の約２０日間の溶出量を調べた。４種類の試薬は、硫酸溶液、塩酸溶液、硝酸溶液および炭酸であり、制御する pH は 3.5～4.0 の範囲とした。また、pH 調整下におかれる試料容器は２L のポリ容器とし、試料 200g をミリ Q2,000mL に浸積して開始した。

**表－１　安定性実験に用いた試料と試験期間中の試薬総添加量**

| No. | 名称 | 硫酸添加量(ml) | 塩酸添加量(ml) | 硝酸添加量(ml) |
|---|---|---|---|---|
| 試料1 | 熔成リン肥 | 1109.5 | 1229.0 | 1125.5 |
| 試料2 | リン鉱石 | 78.5 | 207.0 | 142.0 |
| 試料3 | 下水汚泥焼却灰 | 9.0 | 14.0 | 14.0 |
| 試料4 | リン酸カルシウム | 1101.5 | 1864.0 | 1625.0 |

※炭酸は $CO_2$ ガスを試料 1･2･4 では 500 ml/min で連続的に添加。試料 3 では pH4-5 付近を維持するよう添加した。

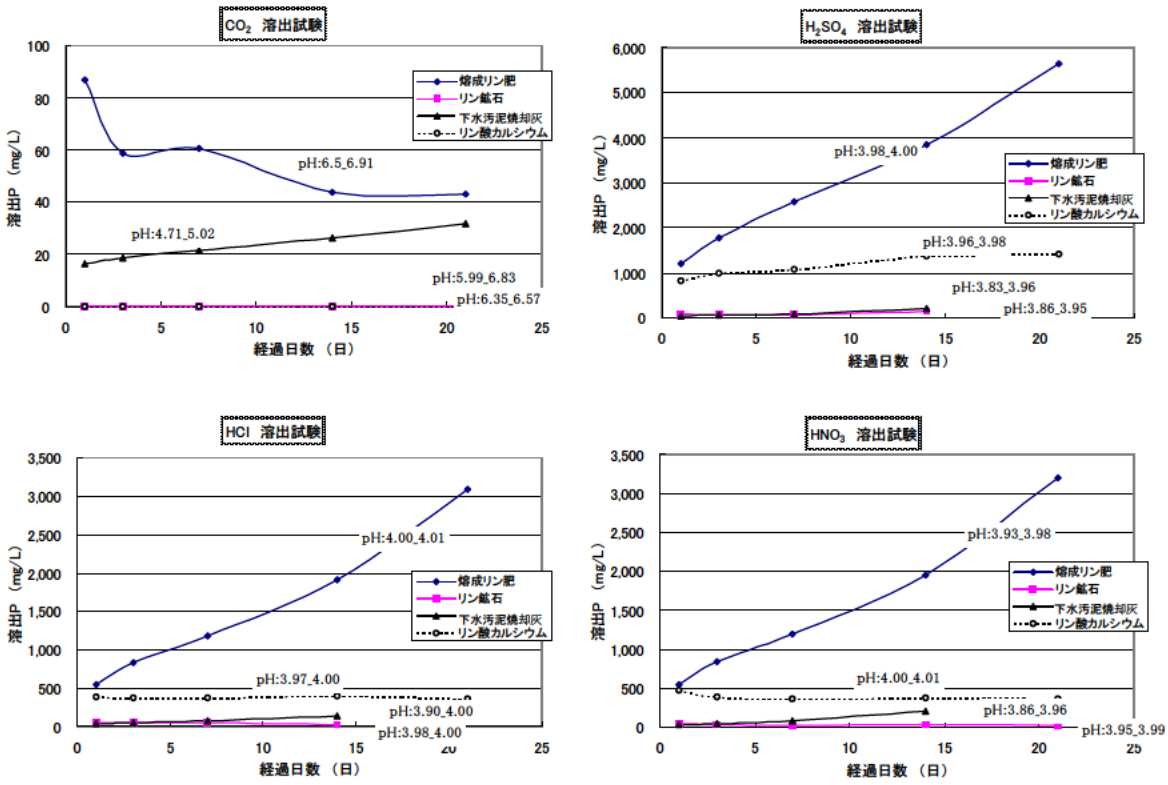
#### （２）　実験結果

実験に用いた試料中の主な元素の含有量を**表－２**に示す。また、本調査のターゲットであるリンの溶出に関する結果を**図－４**に示す。

熔成リン肥は、肥料であることからリンの円滑な溶出が見られる。この備蓄・貯蔵に関しては雨水進入、湿潤対策に十分な配慮が必要である。屋内施工、或いは半製品化・保管も考慮に入れて置く必要がある。特徴的な現象として､溶出液の試薬の違いにより試料間での溶出量､溶出傾向に差異が生じていることである。熔成リン肥を除いて全体的に溶出量は少ないが、$CO_2$ 雰囲気下で下水汚泥焼却灰からの溶出が顕著となっている。リン鉱石は全てに対して安定であり、問題なく備蓄・貯蔵ができると思われる。リン酸カルシウムは $CO_2$ 以外での溶出が見られることから前述の熔成リン肥と類似の扱いとなる可能性もある。下水汚泥焼却灰については更に現象解明のための調査が必要である。

**表－２　試料中の主要元素含有量**　（単位：mg/kg･DS）

| 元素 | 熔成リン肥 | リン鉱石 | 下水汚泥焼却灰 | リン酸カルシウム |
|---|---|---|---|---|
| Al | 5,396 | 744 | 5,549 | 31,337 |
| Ca | 211,961 | 373,737 | 7,264 | 342,486 |
| Fe | 27,567 | 842 | 3,051 | 1,452 |
| K | 536 | ＜500 | 3,252 | ＜500 |
| Mg | 116,970 | 1,372 | 2,518 | 3,189 |
| Na | 1,554 | 3,763 | 1,005 | 5,205 |
| P | 91,734 | 165,728 | 12,977 | 117,717 |




図－４　リンの溶出試験結果

３．２　備蓄検討資材の無機質特性調査

備蓄事業を実施する際、備蓄物質そのものの劣化も問題であるが、周辺土壌への影響評価も重要な課題である。法面を覆土したのち緑化することが想定されるが、その際、備蓄物質と土壌が接触して金属が流出するなどの影響について調査する必要がある。そこで備蓄検討資材の有力候補である焼却灰が土壌と接触する際に及ぼす影響について調査を実施した。焼却灰と土壌の模擬的な混合状態における影響を調査するため、下水汚泥焼却灰を利用した改良土に着目した。

### 3.2.1　改良土の溶出試験

（１）実験方法

溶出実験は、２０℃の恒温実験室において、表－３に示す試料について、表－４に示す３種類の溶媒を用いて各種成分の４８時間の溶出量を調べた。試験容器は２L のポリ容器とし、初期の固液比が 1:10 になるように溶媒を加えて rpm=200 で攪拌を行った。改良土自身は水酸化カルシウムをはじめとする塩基を含んでいるため、一般的に溶出液はアルカリ性を示す。しかし雨水や地下水などの環境水は酸性～中性を示すため、環境水の影響を調べるため酸を添加し pH の制御を行った。実験開始後 15 分、1 時間、2 時間、6 時間、24 時間、48 時間後に溶液を採取し、適切な前処理を行った後 ICP-AES および ICP-MS で分析を行った。

表－３　溶出試験に用いた試料とミリ Q 浸透後の PH

| No. | 名称 | 1時間後 | 48時間後 |
|---|---|---|---|
| 試料1 | A市改良土　（締固） | 10.72 | 8.62 |
| 試料2 | A市改良土　（未締固） | 12.12 | 11.97 |
| 試料3 | B市改良土　（締固） | 9.50 | 8.03 |
| 試料4 | B市改良土　（未締固） | 10.67 | 10.01 |

表－４　溶出試験に用いた試料

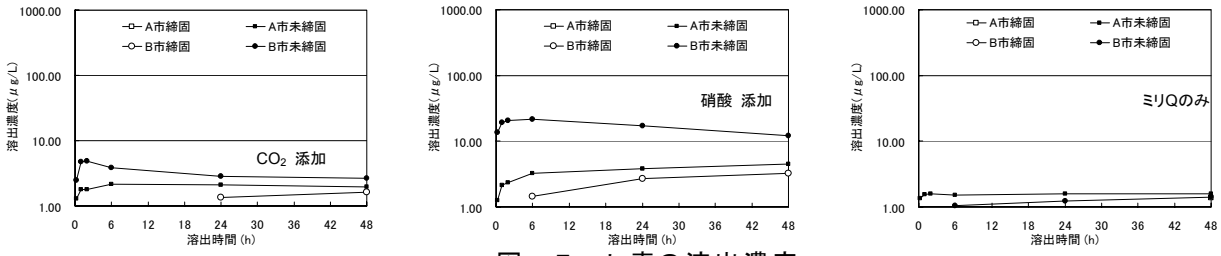
| No. | 名称 | 目標pH |
|---|---|---|
| 溶媒1 | ミリQ+$CO_2$(G) | 7 |
| 溶媒2 | ミリQ＋硝酸 | 4 |
| 溶媒3 | ミリQのみ | － |

（2）試験結果

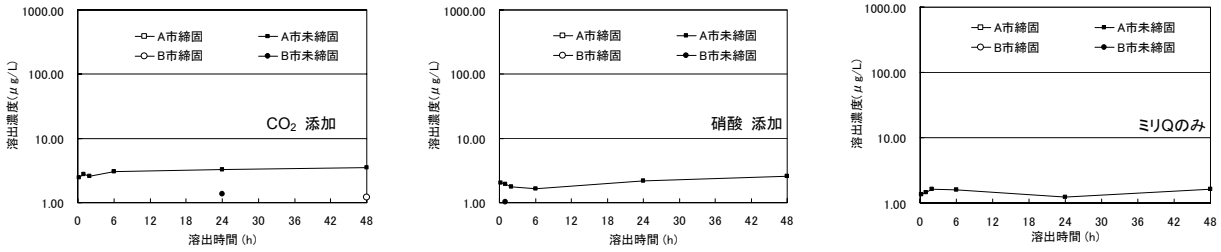
溶出量の推移を図－５～８に示す。いずれも改良土を固化した供試体のほうが、溶出が少ない。これは改良土の固化により供試体内部が難透水となり、溶出が制限されていることが予想される。

土壌環境基準が定められている 8 種の重金属類のうち、鉛・カドミウム・水銀はいずれの検体からも検出されなかった。その他の重金属類も基準値以下の値を示した。ヒ素は概ね酸性側で溶出量が増える傾向にあった。しかし硝酸条件下の B 市未締固改良土では数時間後に溶液中のヒ素濃度が低下していた。これは初期において溶出したヒ素と鉄などが共沈・吸着し難溶解性の物質が生成したと予想され、今後の詳しい研究が必要である。セレンは溶出量自体がわずかであるが、酸性～中性側で溶出量が増加している。ホウ素は酸性側で溶出量が増加する傾向にあった。六価を含む全クロムの溶出は、中性付近で増加する傾向にあった。なお、フッ素に関しては測定しておらず、ここでは議論しない。備蓄対象としているリンは、未締固・酸性条件下でのみ溶出が起きていた。

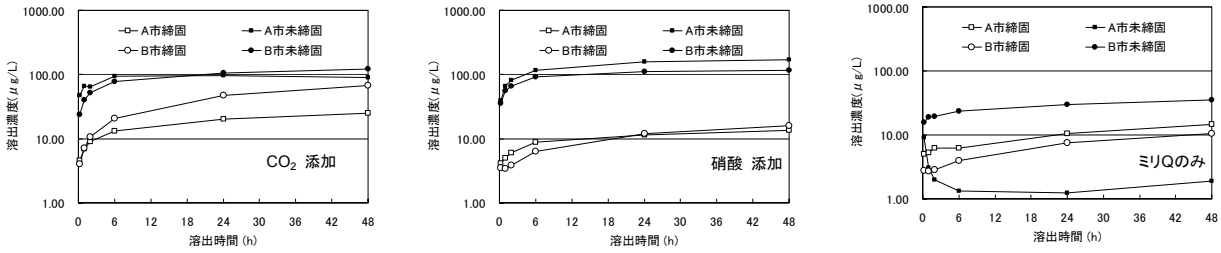
また金属類の溶出量は焼却灰の含有量や形態に依存しており、溶出傾向には地域特性が存在することが予想される。周辺地質特性も含め、備蓄施工を行う際には混合土壌の溶出傾向の調査が必要である。



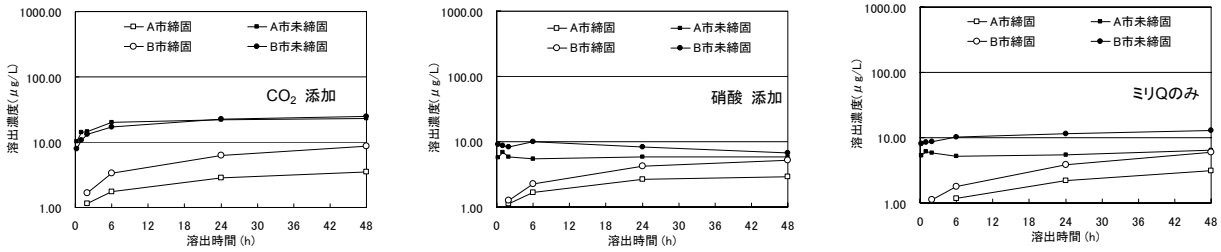

図－５　ヒ素の溶出濃度




図－６　セレンの溶出濃度




図－７　ホウ素の溶出濃度




図－８　全クロムの溶出濃度

### 3.2.2　炭酸化による物質の安定化試験

備蓄資材ならびに混合土壌は、地下水や雨水による影響のほか、大気中に含まれる二酸化炭素による影響も考えられる。炭酸化を促進する方法として、炭酸化(エージング)処理を実施した。エージング処理は主に一般ごみ焼却灰中に含まれる鉛の溶出を防ぐために有効な手段として知られている。

表－５　試験に用いた試料

| No. | 名称 |
|---|---|
| 試料1 | 焼却灰 |
| 試料2 | 改良土 |
| 試料3 | 溶融飛灰 |

（１）実験方法

２０℃の恒温実験室において表－５に示す３種類の試料をカラムに充填し、カラムに純度 99.7%の二酸化炭素を 100mL/min で通過させた、吸収させるエージング処理を行った。処理期間は２４時間とした。得られた試料とエージング処理を施す前の検体を加えた全６試料について、環告４６号溶出量試験を実施した。

（２）実験結果

エージング処理前後の溶出量を表－６に、溶出液の pH，ORP を表－７に示す。

焼却灰及び改良土は、エージングによりリンの溶出量が検出下限値付近ではあるが増加している。また一部の重金属も、溶出量が増加する傾向を示した。特にセレンについては溶出量が１．２倍に増加している。一方、カドミウムの溶出量は減少しているが、溶液の pH、ORP にはエージング前後で変化が見られなかったことから、中性化ではなく炭酸カルシウムによる吸着が予想される。

下水汚泥焼却灰は一般的にカドミウムが問題になることは少なく、セレンやヒ素といった元素が問題となっている。また、有用なリンの流亡を避けるためにも、できる限り二酸化炭素との接触を避ける方法で備蓄を行う必要があると考えられる。

表－６　エージング前後の溶出量の比（試験後溶出量／試験前溶出量）

| 試料 | 焼却灰 | 改良土 | 溶融飛灰 |
|---|---|---|---|
| Ca | 1.29 | 1.38 | 0.89 |
| P | 4.18 | 4.82※ | 0.89 |
| B | 1.13 | 1.31 | 1.02 |
| Cr | 1.00 | 0.95 | 0.99 |
| As | 1.03 | 1.02 | 0.98 |
| Se | 1.20 | 1.27 | 1.35 |
| Cd | 0.82 | － | 0.99 |
| Pb | － | － | 0.98 |

※　エージング前の溶出量が定量下限値以下のため，下限値の半分の値と仮定

表－７　エージング処理前後の溶出液の性質

| | エージング処理前 | | エージング処理後 | |
|---|---|---|---|---|
| | pH | ORP(mV) | pH | ORP(mV) |
| 焼却灰 | 8.96 | -131 | 8.76 | -127 |
| 改良土 | 11.84 | -278 | 11.83 | -281 |
| 溶融飛灰 | 3.94 | 144 | 3.92 | 145 |

## 4.まとめ

（1）下水汚泥中のリン等の無機物資源を回収し、長期保存するための最適な技術の組み合わせについての基礎的検討

「リン等無機資源の備蓄システムに関する勉強会」における検討結果は以下のとおりである。

① リンは国際的な戦略物資となってきており、我が国のリン資源全体から見て、下水に集積されるリンは貴重な存在である。

② 下水汚泥の処理処分ならびに有効利用の現状から鑑みて、下水汚泥をリン資源として活用することは十分可能であり、そこでは「備蓄」や「貯蔵・利用」、「直ぐの利用」が考えられる。

③ 「備蓄」する場合は将来の利用を見越した形態で行う。また、事業化には多くの関係機関との連携が必要である。

④ 「備蓄」や「貯蔵」は、施工費用の分析とケーススタディーから経済的には実現性が高い。

⑤ 広く国民の理解を得る。

（2）技術的課題の抽出

「リン等無機資源の備蓄システムに関する勉強会」を通じて抽出された課題は以下のとおりである。

① 備蓄資材の長期安定性の調査及び周辺土壌への影響評価

② 備蓄工法の確立

（3）技術的課題の解決に向けた技術的開発の方向性等の検討

① 備蓄資材の長期安定性の調査及び周辺土壌への影響評価について基礎的な検討を行った。

・各種リン資源の安定性について調査を行った。酸性条件下において、熔成リン肥からは比較的容易にリンが流亡する。リン鉱石は全てに対して安定である。リン酸カルシウムは $CO_2$ 以外での溶出が見られる。下水汚泥焼却灰については更に現象解明のための調査が必要である。

・周辺地盤の影響として、一般的に酸性条件下で重金属類の溶出量が増加する。焼却灰や周辺土質には地域特性が予想され、備蓄施工を行う際には混合土壌の溶出傾向の調査が必要である。

・焼却灰を二酸化炭素存在下に暴露するとリンやセレン等の溶出量が増加する傾向があり、備蓄の施工には水密性だけでなく気密性も求められる。

② 備蓄工法については今後の検討が必要である。

謝辞

「リン等無機資源の備蓄システムに関する勉強会」は岩井良博氏、木村武氏、佐伯謹吾氏、照沼誠氏、愛知県、岐阜県、岐阜市、名古屋市、三重県の関係者各位、そしてオブザーバー各位の協力を賜った。ここに記して謝意を表する。

参考文献

本幡照文、島岡隆行、崎田省吾：焼却灰の炭酸化に伴う鉛不溶化現象の解明、第 15 回廃棄物学会講演集 2004、pp. 1057-1059

# 河川流域におけるPPCPs（医薬品および日用品等由来化学物質）の挙動の解明に関する研究

国土交通省
（委託先）独立行政法人土木研究所
材料地盤研究グループリサイクルチーム　尾崎正明
山下洋正
亀田　豊

研究期間　平成１７年度～２１年度
平成１９年度当初予算額　１８，８５５千円

# Fate of PPCPs (Pharmaceuticals and Personal Care Products) in River Watershed

(FY2005～2009)

Masaaki Ozaki, Hiromasa Yamashita and Yutaka Kameda
Recycling Team, Material and Geotechnical Engineering Research Group

Incorporated Administrative Agency Public Works Research Institute
Ministry of Land, Infrastructure and Transport

In recent years, there have been many reports of the occurrence of PPCPs (Pharmaceuticals and Personal Care Products) in water environments and of concerns about environmental problems they cause. These chemicals such as antibiotics, synthetic antimicrobials, and antipyretics are diverse and consumed in large quantities. They are released from sources such as urban areas and stockbreeding widely distributed in watersheds. Analysis methods are not yet developed for some chemicals and their actual status in water environments is not clarified. The

reports already published include those concerning the occurrence of chemicals in water environments, their impact on ecosystems, emergence of antibiotic resistant bacteria, concerns with their influence on human health, interference with the biological treatment of wastewater and so on. There is a need for urgent research in this field. The object of this research is to perform sequential research from the mid/long term perspective by first listing various important PPCP chemicals then developing analysis methods, and clarifying the quantity of release, transport and change to clarify the fate of PPCPs in the watershed.

In FY2008, we carried out the following research.

1. PPCPs of 74 human and/or veterinary drugs and preservatives, 16 synthetic fragrance materials and 9 organic UV filters in influent and effluent samples of 120 wastewater treatment plants, 66 surface water samples and sediment samples in several rivers and lakes were successfully determined.

2. The fate of selected PPCPs in urban watershed was studied. Their sources, transport and change were discussed.

## １．　序

近年、医薬品や日用品などに由来する多様な化学物質（PPCPs: Pharmaceuticals and Personal Care Products）が水環境中に存在することが報告されており、環境影響が懸念されている。これらは、抗生物質、合成抗菌剤、鎮痛解熱剤など多様かつ使用量が膨大であり、また都市域、畜産など流域で広く発生しており、分析方法が未確立の物質もあり、実態の解明が十分ではない。これまでに報告されているだけでも，水環境中での存在，生態系への影響，薬剤耐性菌の出現，ヒト健康影響の懸念，排水の生物処理への影響等が挙げられ、早急な調査を必要としている。

本研究は、多様な PPCPs の中から重要物質をリストアップする作業から始めて、分析方法の開発、環境への放出・移行・変化量の把握により、流域での挙動把握につなげる一連の研究プロセスを中・長期的な視点で実施するものである。

平成 17～18 年度においては，重要物質のリストアップおよび分析方法の開発を行うとともに，環境への放出・移行・変化量の把握を行った[1) 2)]。これらの結果をふまえて，今年度は現地調査を継続して，環境への放出・移行・変化量の把握および流域における挙動の解明を行ったものである。

## ２．　研究方法

### ２－１．環境への放出・移行・変化量の把握

#### ２－１－１．調査対象物質

我が国で利用されている主要な PPCPs として，人用医薬品，動物用医薬品および飼料添加物，化粧品その他日用品由来の化学物質が考えられる。このうち人用医薬品，動物用医薬品，日用品防腐剤等（以下，医薬品類という）については，生産量が大で頻用されていると推定されるものを中心に，分析可能性等を考慮して，表－１に示す 74 物質を調査対象に選定した。

## 表－１　医薬品類の分析対象物質

| 物質ID | 物質名 | 用途 | 使用分野 | 推定生産量(t/年) | 試料・時期ごとの調査対象物質 流入下水 秋 | 流入下水 冬春夏 | 処理水 秋 | 処理水 冬春夏 | 下水汚泥 秋 | 下水汚泥 冬春夏 | 秋期調査 流入下水 回収率・CV (%) | 秋期調査 処理水 回収率・CV (%) | 秋期調査 下水汚泥 回収率・CV (%) | 秋期調査 検出下限値 (ng/L) | 冬・春・夏期調査 流入下水 回収率・CV (%) | 冬・春・夏期調査 処理水 回収率・CV (%) | 冬・春・夏期調査 下水汚泥 回収率・CV (%) | 冬・春・夏期調査 検出下限値 (ng/L) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| C1 | イブプロフェン | 非ステロイド系抗炎症薬(プロピオン酸系) | H | 82.8 | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | 76.2 ( 14.1 ) | 85.3 ( 4.1 ) | 82.8 ( 6.8 ) | 13.2 | 91.4 ( 3.8 ) | 93.3 ( 4.8 ) | 99.5 ( 5.2 ) | 6.4 |
| C2 | ケトプロフェン | 非ステロイド系抗炎症薬(プロピオン酸系) | H | 47.7 | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | 52.8 ( 7.7 ) | 72.1 ( 8.6 ) | 78.9 ( 5.8 ) | 10.8 | 189.4 * ( 17.0 ) | 186.5 * ( 11.1 ) | 110.8 ( 2.0 ) | 3.6 |
| C3 | ナプロキセン | 非ステロイド系抗炎症薬(プロピオン酸系) | H | 3 | ○ | × | ○ | △ | ○ | ○ | 63.8 ( 27.2 ) | 78.7 ( 11.0 ) | 99.1 ( 9.5 ) | 29.2 | 34.5 * ( 6.5 ) | 40.7 * ( 13.0 ) | 57.5 ( 5.6 ) | 3.6 |
| C4 | フルルビプロフェン | 非ステロイド系抗炎症薬(プロピオン酸系) | H | 0.4 | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | × | 126.0 ( 23.2 ) | 86.0 ( 12.1 ) | 127.1 ( 8.1 ) | 56.9 | 88.4 ( 18.8 ) | 84.1 ( 20.6 ) | 32.0 * ( 17.5 ) | 8.7 |
| C5 | フェノプロフェン | 非ステロイド系抗炎症薬(プロピオン酸系) | H | - | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | × | 74.4 ( 17.1 ) | 84.0 ( 14.3 ) | 104.2 ( 1.9 ) | 17.8 | 92.9 ( 2.6 ) | 82.3 ( 8.2 ) | 27.6 * ( 10.9 ) | 13.7 |
| C6 | ジクロフェナクナトリウム | 非ステロイド系抗炎症薬(フェニル酢酸系) | H | 7.4 | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | △ | 102.1 ( 11.8 ) | 89.0 ( 18.0 ) | 99.4 ( 1.3 ) | 11.4 | 117.3 ( 12.6 ) | 121.2 ( 25.8 ) | 44.0 * ( 4.5 ) | 1.2 |
| C7 | インドメタシン | 非ステロイド系抗炎症薬(インドール酢酸系) | H | 83.2 | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | 75.7 ( 2.5 ) | 86.7 ( 5.8 ) | 108.6 ( 8.7 ) | 9.0 | 81.9 ( 1.7 ) | 92.5 ( 0.4 ) | 98.2 ( 3.4 ) | 4.6 |
| C8 | メフェナム酸 | 非ステロイド系抗炎症薬(アントラニル酸系) | H | 407.7 | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | 86.4 ( 6.8 ) | 77.9 ( 15.2 ) | 133.0 ( 8.9 ) | 13.9 | 101.0 ( 5.4 ) | 98.7 ( 16.9 ) | 125.3 ( 2.9 ) | 4.9 |
| C9 | アセトアミノフェン | 非ステロイド系抗炎症薬(アニリン系) | H | 909 | ○ | - | ○ | - | ○ | - | 60.2 ( 3.1 ) | 57.7 ( 10.4 ) | 60.1 ( 7.6 ) | 51.2 | - ( - ) | - ( - ) | - ( - ) | |
| C10 | アセトフェネチジン | 非ステロイド系抗炎症薬(アニリン系) | H | - | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | 109.5 ( 3.9 ) | 111.0 ( 7.0 ) | 134.0 ( 6.7 ) | 13.9 | 117.9 ( 4.1 ) | 98.5 ( 3.7 ) | 96.3 ( 2.5 ) | 3.2 |
| C11 | サリチル酸 | 非ステロイド系抗炎症薬 代謝物)・防腐剤 | HP | 3.2 | △ | △ | △ | ○ | △ | ○ | 74.1 ( 31.7 *) | 47.4 * ( 6.9 ) | 152.2 * ( 8.0 ) | 7.0 | 114.1 ( 39.1 *) | 64.5 ( 4.6 ) | 67.7 ( 2.5 ) | 2.4 |
| C13 | エテンザミド | 非ステロイド系抗炎症薬(サリチル酸誘導体) | H | - | ○ | ○ | ○ | × | ○ | × | 131.4 ( 2.4 ) | 138.8 ( 4.2 ) | 229.0 * ( 2.0 ) | 3.3 | 109.0 ( 4.8 ) | 100.2 ( 8.6 ) | 90.2 ( 2.4 ) | 1.3 |
| C14 | クラリスロマイシン | 抗生物質(マクロライド系)・蛋白質合成阻害薬 | H | 76 | ○ | ○ | ○ | × | ○ | × | 72.0 ( 23.8 ) | 71.1 ( 16.4 ) | 2.0 * ( 34.5 *) | 17.2 | 72.8 ( 46.1 *) | 151.9 * ( 18.2 ) | 127.2 ( 2.7 ) | 4.7 |
| C15 | ロキシスロマイシン | 抗生物質(マクロライド系)・蛋白質合成阻害薬 | H | - | ○ | ○ | ○ | × | × | | 88.0 ( 14.0 ) | 77.5 ( 14.7 ) | 2.1 * ( 41.5 *) | 52.0 | 140.6 ( 17.1 ) | 134.3 ( 12.8 ) | 167.6 * ( 15.1 ) | 8.5 |
| C16 | オレアンドマイシン | 抗生物質(マクロライド系)・蛋白質合成阻害薬 | V | - | ○ | ○ | ○ | ○ | × | | 125.7 ( 6.1 ) | 119.9 ( 4.1 ) | 90.2 ( 24.9 ) | 20.1 | 142.5 ( 11.2 ) | 109.9 ( 7.2 ) | 250.1 * ( 3.0 ) | 5.1 |
| C17 | タイロシン | 抗生物質(マクロライド系)・蛋白質合成阻害薬 | V | 67.9 | ○ | × | ○ | × | × | × | 72.5 ( 10.8 ) | 78.1 ( 1.0 ) | 0.2 * ( 45.3 *) | 4.6 | 188.9 * ( 5.4 ) | 217.0 * ( 6.6 ) | 283.4 * ( 8.7 ) | 5.1 |
| C18 | アンピシリン | 抗生物質(ペニシリン系)・細胞壁合成阻害薬 | HV | 59.3 | ○ | | ○ | | × | | 119.7 ( 7.3 ) | 109.0 ( 0.9 ) | 261.8 * ( 26.8 ) | 224.4 | - ( - ) | - ( - ) | - ( - ) | |
| C19 | ベンジルペニシリン | 抗生物質(ペニシリン系)・細胞壁合成阻害薬 | HV | 20.1 | △ | × | ○ | × | × | × | 159.7 * ( 33.5 *) | 82.9 ( 10.1 ) | 283.7 * ( 12.0 ) | 23.9 | 37.0 * ( 5.8 ) | 22.7 * ( 5.0 ) | 34.1 * ( 5.4 ) | 4.0 |
| C20 | リンコマイシン | 抗生物質(リンコマイシン系)・蛋白質合成阻害薬 | HV | 17.2 | △ | | ○ | | ○ | | 47.6 * ( 3.5 ) | 92.1 ( 11.3 ) | 107.2 ( 6.3 ) | 2.6 | - ( - ) | - ( - ) | - ( - ) | |
| C21 | クロルテトラサイクリン | 抗生物質(テトラサイクリン系)・蛋白質合成阻害薬 | V | 167.5 | | | ○ | | | ○ | - ( - ) | - ( - ) | - ( - ) | | 91.9 ( 3.8 ) | 88.3 ( 5.2 ) | 96.9 ( 6.0 ) | 53.2 |
| C22 | ドキシサイクリン | 抗生物質(テトラサイクリン系)・蛋白質合成阻害薬 | HV | 21.5 | | | △ | | | × | - ( - ) | - ( - ) | - ( - ) | | 49.3 * ( 6.1 ) | 48.5 * ( 1.9 ) | 30.2 * ( 9.4 ) | 40.3 |
| C23 | オキシテトラサイクリン | 抗生物質(テトラサイクリン系)・蛋白質合成阻害薬 | V | 317.8 | | | ○ | | | ○ | - ( - ) | - ( - ) | - ( - ) | | 100.6 ( 5.9 ) | 105.7 ( 5.1 ) | 109.4 ( 1.6 ) | 45.4 |
| C24 | テトラサイクリン | 抗生物質(テトラサイクリン系)・蛋白質合成阻害薬 | V | 2.1 | | | ○ | | | ○ | - ( - ) | - ( - ) | - ( - ) | | 81.2 ( 4.8 ) | 85.9 ( 4.3 ) | 70.1 ( 3.9 ) | 46.7 |
| C25 | エンロフロキサシン | 抗生物質(ニューキノロン系)・核酸合成阻害薬 | V | 3.0 | | | ○ | | | × | - ( - ) | - ( - ) | - ( - ) | | 63.3 ( 2.6 ) | 71.0 ( 0.7 ) | 182.3 * ( 8.7 ) | 50.8 |
| C26 | レボフロキサシン(オフロキサシン含) | 抗生物質(ニューキノロン系)・核酸合成阻害薬 | HV | 26.3 | | | ○ | | | ○ | - ( - ) | - ( - ) | - ( - ) | | 100.2 ( 7.9 ) | 102.1 ( 10.3 ) | 133.6 ( 13.0 ) | 50.7 |
| C27 | オルビフロキサシン | 抗生物質(ニューキノロン系)・核酸合成阻害薬 | V | 2.31 | | | ○ | | | × | - ( - ) | - ( - ) | - ( - ) | | 77.0 ( 3.4 ) | 90.2 ( 4.5 ) | 185.9 * ( 6.2 ) | 13.6 |
| C28 | サリノマイシン | 抗生物質(イオノファ)・(飼料添加物) | V | 32.1 | △ | | ○ | | ○ | | 46.4 * ( 2.2 ) | 67.1 ( 2.7 ) | 63.6 ( 5.6 ) | 1.7 | - ( - ) | - ( - ) | - ( - ) | |
| C29 | モネンシン | 抗生物質(イオノファ)・(飼料添加物) | V | 22.8 | | | ○ | × | | ○ | - ( - ) | - ( - ) | - ( - ) | | 129.0 ( 9.3 ) | 70.4 ( 42.6 *) | 133.0 ( 9.7 ) | 2.5 |
| C30 | セフジトレンピボキシル | 抗生物質(セフェム系)・細胞壁合成阻害薬 | H | 20.9 | | × | | ○ | | ○ | - ( - ) | - ( - ) | - ( - ) | | 191.4 * ( 5.6 ) | 144.1 ( 3.2 ) | 134.3 ( 8.5 ) | 6.4 |
| C31 | スルファメトキサゾール | 合成抗菌剤(サルファ剤)・核酸代謝阻害薬 | HV | 52.9 | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | 90.8 ( 3.7 ) | 67.1 ( 6.5 ) | 112.2 ( 4.1 ) | 9.3 | 129.9 ( 5.2 ) | 109.7 ( 6.1 ) | 119.5 ( 4.6 ) | 1.7 |
| C32 | スルファジメトキシン | 合成抗菌剤(サルファ剤)・核酸代謝阻害薬 | HV | 30.8 | × | ○ | × | ○ | ○ | ○ | 893.7 * ( 3.6 ) | 596.2 * ( 3.8 ) | 93.2 ( 2.3 ) | 13.5 | 109.5 ( 3.9 ) | 96.6 ( 6.8 ) | 144.9 ( 4.0 ) | 1.7 |
| C33 | スルファジミジン | 合成抗菌剤(サルファ剤)・核酸代謝阻害薬 | V | 4 | ○ | × | ○ | × | ○ | × | 74.2 ( 2.9 ) | 101.7 ( 13.1 ) | 98.2 ( 1.9 ) | 31.9 | 30.1 * ( 14.4 ) | 34.2 * ( 5.3 ) | 34.5 * ( 4.4 ) | 7.9 |
| C35 | フェンベンダゾール | 抗寄生虫薬(チアベンダゾール系) | V | 2.6 | ○ | ○ | ○ | ○ | × | ○ | 95.8 ( 10.4 ) | 107.3 ( 3.1 ) | 32.9 * ( 5.8 ) | 17.3 | 102.0 ( 5.9 ) | 79.3 ( 3.0 ) | 86.3 ( 12.9 ) | 2.1 |
| C36 | トリクラベンダゾール | 抗寄生虫薬(チアベンダゾール系) | V | 0.7 | △ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | 58.7 ( 36.5 *) | 99.1 ( 6.7 ) | 89.2 ( 9.2 ) | 8.3 | 84.7 ( 5.9 ) | 78.5 ( 9.9 ) | 54.2 ( 8.8 ) | 5.6 |
| C37 | トリクラベンダゾール代謝産物 | 抗寄生虫薬(チアベンダゾール系)代謝物 | V | - | ○ | × | ○ | × | ○ | ○ | 60.7 ( 4.8 ) | 89.1 ( 1.4 ) | 68.9 ( 4.6 ) | 19.8 | 190.9 * ( 5.2 ) | 160.8 * ( 6.7 ) | 75.6 ( 8.3 ) | 2.2 |
| C38 | イベルメクチン | 抗寄生虫薬(アベルメクチン系) | HV | 0.2 | ○ | ○ | ○ | ○ | × | | 122.6 ( 21.4 ) | 124.1 ( 2.1 ) | 63.8 ( 19.4 ) | 2.5 | 62.3 ( 16.8 ) | 66.2 ( 10.2 ) | 14.1 * ( 19.9 ) | 0.6 |
| C39 | プラジカンテル | 抗寄生虫薬 | V | 7.6 | ○ | × | ○ | × | ○ | ○ | 74.7 ( 7.3 ) | 85.6 ( 7.2 ) | 93.9 ( 4.5 ) | 4.9 | 190.4 * ( 5.2 ) | 168.9 * ( 4.3 ) | 122.4 ( 2.9 ) | 1.8 |
| C40 | トリメトプリム | 合成抗菌剤 | HV | 13.8 | ○ | | ○ | | ○ | | 79.7 ( 10.5 ) | 83.8 ( 7.1 ) | 114.7 ( 6.5 ) | 10.4 | - ( - ) | - ( - ) | - ( - ) | |
| C41 | オルメトプリム | 合成抗菌剤 | V | 1.2 | △ | | ○ | | ○ | | 153.2 * ( 19.6 ) | 132.3 ( 18.7 ) | 138.7 ( 3.5 ) | 3.1 | - ( - ) | - ( - ) | - ( - ) | |
| C42 | ニフルスチレン酸ナトリウム | 合成抗菌剤(ニトロフラン系) | V | 5.5 | ○ | × | ○ | × | ○ | △ | 55.0 ( 9.7 ) | 58.7 ( 9.8 ) | 64.6 ( 6.3 ) | 14.0 | 21.7 * ( 5.0 ) | 23.9 * ( 12.8 ) | 46.1 * ( 2.3 ) | 3.6 |
| C43 | テルビナフィン | 抗真菌薬 | H | 14.1 | ○ | | ○ | | ○ | | 97.2 ( 2.5 ) | 95.4 ( 0.3 ) | 102.7 ( 5.8 ) | 10.1 | - ( - ) | - ( - ) | - ( - ) | |
| C44 | 3,4,5-トリクロロフェノール | 抗菌剤・防腐剤 | P | - | ○ | ○ | ○ | ○ | × | ○ | 96.7 ( 3.5 ) | 89.4 ( 3.0 ) | 181.4 * ( 6.5 ) | 13.5 | 130.4 ( 5.3 ) | 117.2 ( 13.4 ) | 73.6 ( 4.6 ) | 2.6 |
| C45 | 3,4,4'-トリクロロカルバニリド | 抗菌剤・消毒剤 | P | - | ○ | | ○ | | ○ | | 66.2 ( 15.2 ) | 116.2 ( 4.5 ) | 60.8 ( 8.6 ) | 4.7 | - ( - ) | - ( - ) | - ( - ) | |
| C46 | p-ヒドロキシビフェニル | 抗菌剤・消毒剤 | P | - | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | 111.0 ( 4.9 ) | 106.8 ( 1.7 ) | 96.7 ( 8.0 ) | 12.1 | 99.0 ( 1.9 ) | 95.9 ( 7.4 ) | 101.4 ( 4.2 ) | 6.0 |
| C47 | プロピルパラベン | 防腐剤 | P | - | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | 111.3 ( 11.6 ) | 103.0 ( 1.5 ) | 106.7 ( 8.9 ) | 10.4 | 87.6 ( 9.8 ) | 80.1 ( 7.2 ) | 74.1 ( 2.8 ) | 0.5 |
| C48 | ブチルパラベン | 防腐剤 | P | - | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | 96.6 ( 10.1 ) | 98.7 ( 6.0 ) | 118.3 ( 5.8 ) | 11.7 | 92.8 ( 2.6 ) | 88.7 ( 8.3 ) | 75.9 ( 2.0 ) | 2.9 |
| C49 | エチルパラベン | 防腐剤 | P | - | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | 121.9 ( 20.5 ) | 79.1 ( 2.8 ) | 105.5 ( 9.7 ) | 11.2 | 58.3 ( 7.2 ) | 61.4 ( 6.2 ) | 77.3 ( 0.5 ) | 1.8 |
| C50 | メチルパラベン | 防腐剤 | P | - | △ | △ | ○ | × | ○ | ○ | 125.8 ( 37.4 *) | 70.4 ( 2.7 ) | 107.5 ( 10.7 ) | 20.6 | 86.2 ( 33.7 *) | 37.0 * ( 19.4 ) | 58.3 ( 1.7 ) | 3.2 |
| C51 | クロフィブリン酸 | 高脂血症治療薬(代謝物)(フィブラート系) | H | 1.4 | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | 94.5 ( 8.2 ) | 104.2 ( 1.3 ) | 107.0 ( 6.6 ) | 9.6 | 115.9 ( 1.9 ) | 116.6 ( 6.2 ) | 112.3 ( 1.0 ) | 0.7 |
| C52 | フェノフィブラート | 高脂血症治療薬(フィブラート系) | H | - | ○ | △ | ○ | × | × | × | 93.6 ( 7.7 ) | 101.3 ( 4.1 ) | 257.6 * ( 13.5 ) | 4.7 | 61.2 ( 31.5 *) | 34.7 * ( 46.4 *) | 6.3 * ( 31.3 *) | 3.5 |
| C53 | ベザフィブラート | 高脂血症治療薬(フィブラート系) | H | 40.4 | △ | × | ○ | ○ | ○ | ○ | 121.8 ( 39.8 *) | 108.2 ( 13.2 ) | 91.1 ( 1.5 ) | 12.3 | 97.8 ( 55.9 *) | 82.8 ( 10.2 ) | 85.9 ( 3.6 ) | 1.4 |
| C54 | ゲンフィブロジル | 高脂血症治療薬(フィブラート系) | H | - | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | 87.8 ( 4.3 ) | 83.3 ( 4.9 ) | 83.2 ( 7.1 ) | 1.8 | 110.5 ( 4.2 ) | 103.6 ( 8.3 ) | 87.8 ( 3.1 ) | 9.9 |
| C56 | プロセミド | 降圧薬(ループ利尿薬) | H | 7.5 | × | △ | ○ | △ | ○ | ○ | 0.4 * ( 13288.2 *) | 99.5 ( 7.1 ) | 120.6 ( 4.3 ) | 10.1 | 79.9 ( 31.6 *) | 97.2 ( 36.8 *) | 91.6 ( 0.9 ) | 2.3 |
| C57 | ジルチアゼム | 降圧薬(Ca拮抗薬) | H | 32 | △ | ○ | × | ○ | ○ | ○ | 65.5 ( 31.1 *) | 106.1 ( 44.9 *) | 96.6 ( 5.5 ) | 12.8 | 126.8 ( 7.7 ) | 124.5 ( 9.6 ) | 149.7 ( 6.4 ) | 5.3 |
| C58 | エナラプリル | 降圧薬(ACE阻害剤) | H | - | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | 71.6 ( 9.8 ) | 86.2 ( 5.4 ) | 116.0 ( 5.4 ) | 3.7 | 121.4 ( 3.8 ) | 108.2 ( 6.9 ) | 105.9 ( 1.4 ) | 4.1 |
| C59 | メトプロロール | 降圧薬(β遮断薬) | H | 1.3 | ○ | | ○ | | ○ | | 109.7 ( 7.2 ) | 124.4 ( 3.4 ) | 82.5 ( 5.7 ) | 6.0 | - ( - ) | - ( - ) | - ( - ) | |
| C60 | プロプラノロール | 降圧薬(β遮断薬) | H | 1.2 | ○ | | × | | × | | 67.0 ( 7.1 ) | 1219.1 * ( 36.5 *) | 168.3 * ( 1.4 ) | 16.4 | - ( - ) | - ( - ) | - ( - ) | |
| C61 | ベタキソロール | 降圧薬(β遮断薬) | H | - | ○ | | ○ | | ○ | | 114.6 ( 10.6 ) | 111.8 ( 10.4 ) | 85.3 ( 9.3 ) | 4.6 | - ( - ) | - ( - ) | - ( - ) | |
| C62 | バルサルタン | 降圧薬(ARB製剤) | H | 45.2 | △ | × | ○ | ○ | ○ | × | 98.9 ( 32.3 *) | 97.9 ( 5.8 ) | 130.9 ( 8.3 ) | 55.9 | 178.1 * ( 50.2 *) | 106.7 ( 4.9 ) | 210.8 * ( 15.5 ) | 20.5 |
| C63 | ロサルタンカリウム | 降圧薬(ARB製剤) | H | 17.6 | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | 130.3 ( 4.9 ) | 129.0 ( 6.4 ) | 101.1 ( 17.3 ) | 25.9 | 74.1 ( 2.8 ) | 89.7 ( 6.3 ) | 92.2 ( 11.8 ) | 7.1 |
| C64 | ベラパミル | 抗不整脈薬(Ca拮抗薬) | H | 12.4 | ○ | | ○ | | ○ | | 130.7 ( 3.6 ) | 117.9 ( 4.7 ) | 137.5 ( 6.1 ) | 2.5 | - ( - ) | - ( - ) | - ( - ) | |
| C65 | カルバマゼピン | 抗てんかん薬(イミノスチルベン系) | H | 42.6 | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | 110.5 ( 2.4 ) | 96.2 ( 1.8 ) | 79.4 ( 4.9 ) | 8.2 | 116.7 ( 5.4 ) | 105.1 ( 8.3 ) | 131.5 ( 0.8 ) | 1.7 |
| C66 | カルバマゼピン代謝物 | 抗てんかん薬(イミノスチルベン系)代謝物 | H | 42.6 | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | 122.7 ( 2.5 ) | 111.0 ( 6.6 ) | 95.3 ( 8.7 ) | 7.3 | 137.8 ( 2.6 ) | 126.0 ( 13.7 ) | 117.1 ( 1.8 ) | 0.7 |
| C67 | ジアゼパム | 抗てんかん薬(ベンゾジアゼピン系) | H | - | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | 113.6 ( 13.1 ) | 112.4 ( 1.9 ) | 99.1 ( 6.6 ) | 23.4 | 130.3 ( 9.3 ) | 103.6 ( 3.8 ) | 102.4 ( 6.4 ) | 3.4 |
| C68 | デスメチルジアゼパム | 抗てんかん薬(ベンゾジアゼピン系) | H | - | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | 97.7 ( 7.6 ) | 100.2 ( 3.1 ) | 103.0 ( 7.9 ) | 20.1 | 109.2 ( 3.7 ) | 91.3 ( 7.9 ) | 98.2 ( 7.6 ) | 2.9 |
| C69 | フェニトイン | 抗てんかん薬(ヒダントイン系) | H | - | ○ | △ | ○ | △ | ○ | ○ | 87.1 ( 11.6 ) | 81.2 ( 3.4 ) | 123.2 ( 7.1 ) | 18.9 | 44.5 * ( 7.5 ) | 49.4 * ( 13.9 ) | 72.2 ( 4.4 ) | 3.1 |
| C70 | フルオロキセチン | 抗うつ剤(SSRI) | H | - | ○ | | ○ | | ○ | | 95.2 ( 10.8 ) | 114.4 ( 3.2 ) | 73.8 ( 4.5 ) | 13.8 | - ( - ) | - ( - ) | - ( - ) | |
| C71 | ノルフロキセチン | 抗うつ剤代謝物 | H | - | ○ | | ○ | | △ | | 84.8 ( 27.6 ) | 101.0 ( 9.2 ) | 41.4 * ( 12.3 ) | 17.0 | - ( - ) | - ( - ) | - ( - ) | |
| C72 | チオペンタール | 麻酔薬(バルビタール系) | H | - | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | 59.5 ( 19.2 ) | 61.7 ( 4.6 ) | 86.2 ( 7.0 ) | 14.3 | 62.3 ( 7.9 ) | 56.0 ( 14.6 ) | 106.7 ( 2.4 ) | 2.0 |
| C73 | シクロフォスファミド | 抗悪性腫瘍剤(アルキル化剤) | H | - | | ○ | | ○ | | ○ | - ( - ) | - ( - ) | - ( - ) | | 146.9 ( 2.7 ) | 127.0 ( 6.7 ) | 114.5 ( 2.8 ) | 1.4 |
| C74 | テオフィリン | 気管支拡張薬(β刺激薬) | H | 81.4 | ○ | | ○ | | ○ | | 141.5 ( 22.0 ) | 92.7 ( 3.6 ) | 107.1 ( 6.5 ) | 5.8 | - ( - ) | - ( - ) | - ( - ) | |
| C75 | サルブタモール | 気管支拡張薬(β刺激薬) | H | - | ○ | | ○ | | ○ | | 109.6 ( 5.2 ) | 120.0 ( 4.6 ) | 86.6 ( 8.6 ) | 8.0 | - ( - ) | - ( - ) | - ( - ) | |
| C76 | ウルソデオキシコール酸 | 胆道疾患治療薬(胆汁酸利胆薬) | H | 247.8 | × | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | 133.4 ( 41.9 *) | 101.7 ( 4.1 ) | 97.9 ( 7.6 ) | 277.3 | 97.2 ( 8.6 ) | 108.6 ( 8.9 ) | 63.7 ( 4.2 ) | 50.7 |
| C81 | ジヒドロジャスモン酸メチル | 香料(ジャスミン系) | P | - | | ○ | | ○ | | × | - ( - ) | - ( - ) | - ( - ) | | 80.0 ( 20.3 ) | 69.6 ( 21.9 ) | 25.7 * ( 19.6 ) | 3.3 |

(使用分野は，H:人用，V:動物用，P:日用品を示す。推定生産量は2003～2004年度の統計値より。試料・時期ごとの調査対象物質は，回収率50～150%，CV30%以内は○，それを越えて回収率40～160%，CV40%以内は△，それ以上は×，調査対象外は空欄で示す。回収率で50～150%外，CV(変動係数)で30%超過の回収率結果は*で示す。)

## 表－２　香料等の分析対象物質

| Fragrance materials trade name or abbreviation | Chemical name | log Kow | Vapor pressure (Pa) | Water solubility ($mg \cdot l^{-1}$) |
|---|---|---|---|---|
| benzyl acetate | phenylmethyl ester acetic acid | 2.1 | 21.9 | 1265 |
| methyl salicylate | 2-hydroxy-methyl ester benzoic zcid | 2.6 | 0.75 | 1687 |
| MDJ | 3-oxo-2-pentyl-methyl ester cyclopentaneacetic acid | 3 | 0.0549 | 91.72 |
| terpineol | 4-trimethyl-3-cyclohexene-1-methanol | 3.3 | 4.09 | 335.7 |
| isobornyl acetate | 1,7,7-trimethyl-acetate bicyclo[2,2,1]heptan-2-ol | 4.3 | 10 | 23.23 |
| benzyl salicylate | 2-hydroxy-phenylmethyl ester benzoic acid | 4.3 | 0.000449 | 24.59 |
| musk ketone (MK) | 1-[4-(1,1-dimethyl-ethyl)-2,6-dimethyl-3,5-dinitrophenyl]-ethanone | 4.3 | 0.00004 | 1.9 |
| iso methyl ionone | 3-methyl-4-(2,6,6-trimethyl-2-cyclohexen-1-yl | 4.6 | 1.3 | 9 |
| DPMI (cashmeran) | 6,7-dihydro-1,1,2,3,3-pentamethyl-4(5H)-indanone | 4.9 | 5.2 | 0.17 |
| hexyl cinnamaldehyde | 2-(phenylmethylene)octanol | 4.9 | 0.027 | 2.75 |
| musk xylene (MX) | 1-(1,1-dimethylethyl)-3,5-dimethyl-2,4,6-trinitrobenzene | 4.9 | 0.00003 | 0.49 |
| AHTN (tonalide) | 7-acetyl-1,1,3,4,4,6-hexamethyl-1,2,3,4-tetrahydronaphthalene | 5.7 | 0.0608 | 1.25 |
| HHCB (galaxolide) | 1,3,4,6,7,8-hexahydro-4,6,6,7,8-hexamethylcyclopenta-γ-2-benzopyran | 5.9 | 0.0727 | 1.75 |
| ADBI (celestolide) | 4-acetyl-1,1-dimethyl-6-*tert*-butylindan | 6.6 | 0.02 | 0.015 |
| AHMI (phantolide) | 6-acetyl-1,1,2,3,3,5-hexamethylindan | 6.7 | 0.024 | 0.027 |
| ATII (traseolide) | 5-acetyl-1,1,2,6-tetramethyl-3-isopropylindan | 8.1 | 8.1 | 85.1 |

| UV filters trade name or abbreviation | Chemical name | log Kow | Vapor pressure (Pa) | Water solubility ($mg \cdot l^{-1}$) |
|---|---|---|---|---|
| benzophenone (BP) | benzophenone | 3.2 | 130 | 137 |
| benzophenone-3 (BP-3) | 2-hydroxy-4-methoxybenzophenone | 3.5 | unknown | poor * |
| isoamyl *p*-methoxycinnamate | isoamyl *p*-methoxycinnamate | 4.3 | unknown | poor * |
| octyl dimethyl PABA (OD-PABA) | octyl dimethyl p-aminobenzoic acid | 5.7 | unknown | poor * |
| EHMC | 3-(4-methoxyphenyl)-2-propenoic acid 2-ethylhexyl ester | 5.8 | unknown | poor * |
| 4-MBC | 3-(4'-methyl-benzylidene)borman-2-one | 5.9 | unknown | poor * |
| octyl salicylate | 2-ethylhexyl 2-hydroxybenzoate | 5.97 | unknown | poor * |
| homosalate | 3,3,5-trimethylcyclohexyl salicylate | 6.2 | unknown | poor * |
| octocrylene | 2-cyano-3,3-diphenyl-2-propenoic acid 2-ethylhexyl ester | 6.9 | unknown | poor * |

対象物質は，非ステロイド系抗炎症薬１２種，抗生物質１７種，サルファ剤３種，抗寄生虫薬・抗真菌薬９種，抗菌・防腐剤等７種，高脂血症治療薬および代謝物等４種，降圧薬等９種，抗てんかん薬および代謝物等５種，抗うつ剤・麻酔剤等・抗悪性腫瘍薬４種，気管支拡張薬他４種である。

また，化粧品その他日用品由来の化学物質としては，香料および紫外線吸収剤（以下香料等という）について，国内外での使用実態や検出の報告事例を参考に，表－２に示す 25 物質を調査対象に選定した。対象物質は，香料 16 種，紫外線吸収剤 9 種である。

### ２－１－２．調査対象地点

全国の下水処理場および関東地方の河川に関する調査を前年度から今年度にかけて１年間実施した。今年度分は春期および夏期（2007 年 4～9 月）に実施したものである。下水処理場および河川調査のそれぞれについて，前年度分も含めた全体の調査地点について述べる。

（１）下水処理場

全国の下水処理場を，調査準備時点での最新の下水道統計に基づいて処理人口規模別に 6 区分（10,000 人未満，10,000～50,000 人，50,000～100,000 人，100,000～500,000 人，500,000～1,000,000 人，1,000,000 人以上）して，各区分より季節ごとに 5 処理場を無作為に抽出し，5 処理場×6 区分×4 季節により，合計 120 処理場を対象とした。なお，調査日時における実際の処理人口について，調査後にヒアリング等により把握して処理人口区分を修正したため，各区分の最終的な処理場数は 3～8 となった。下水処理方式は，標準活性汚泥法が 72 処理場（全体の 60%）で最も多く，次いで嫌気好気法などの高度処理法 28（23%），OD 法 12（10%），回分式活性汚泥法などの変法 5（4%），ろ床法 3（3%）であった。また，対象処理場の位置は図－１に示す通りであり，全国の約 83%である 39 都道府県にまたがり，1 県あたり平均 3 処理場（1～15 処理場）を調査したことになる。

２）対象試料と調査期間

流入下水・処理水の 24 時間コンポジット試料および下水汚泥（余剰返送汚泥）を採取して PPCPs の分析を行った。調査期間は 2006 年 10 月から 2007 年 9 月までの 1 年間であり，3 ヶ月ずつ秋・冬・春・夏の 4 季節に分けて実施した。測定可能な調査対象物質数は，秋期の流入下水は 60，処理水は 60，下水汚泥は 53 であり，冬期以降はそれぞれ 48，49，44 であった。

### ２－１－３．分析方法

下水処理場の流入水，放流水および河川水は，アセトン洗浄した GF/B によるろ過により，液体試料と固体試料に分離された後，液体試料は固相抽出カートリッジにより抽出した。固体試料については，下水処理場の流入水，下水処理水，河川水中の懸濁物質はろ紙ごと，底質は孔径 2 mm のふるいで粒径をある程度均一化したのち，凍結乾燥して抽出まで-80℃で保管した。抽出は，メタノール等の溶媒にて超音波抽出法にて行った。

抽出した試料は，医薬品類については LC/MS/MS（Agilent 1100 シリーズ HPLC，Agilent Technologies 製および 4000 Q TRAP LC/MS/MS システム，Applied Biosystems 製）により，MRM モードにて分析した。

香料等についてはおよび GC/MS（Agilent 6890 Plus ガスクロマトグラフおよび Agilent 5973 Network MSD, Agilent Technologies 製）により，SIM モードにて分析した。以下に医薬品類，香料等のそれぞれの分析法を説明する。

**（１）医薬品類**

医薬品類の分析方法は 17～18 年度の調査[1) 2)]で開発したものであり，概要は図－２に示す通りである。

本法は Castiglioni らの方法[3)]を参考に開発したものであり，図－４に示す Method1～9 のうち，Method1～6 は前年度の秋期調査試料の分析に用いたものであり，既報 1)の通り，酸性 PPCPs には Oasis MCX と Sep-Pak Plus Florisil を連結した固相抽出カートリッジ，中性 PPCPs には LiChrolut EN と Autoprep EDS-1 を連結した固相抽出カートリッジを用いて前処理を行い，アセトニトリル(ACN)と 0.05 %トリエチルアミン水(TEA)または ACN と 0.1 %ギ酸水(FA)を移動相として，Positive モードまたは Negative モードで合計 6 通りの方法で実施した。

前年度の冬期調査試料および今年度の春期および夏期調査試料の分析には Method7～9 を用いた。これは，既報 1)を改変して Oasis HLB と EDS-1 250-6 を連結した固相カートリッジを用いて次に述べる 3 通りの方法で実施したものである。試料水 100～500mL を GF/B でろ過して得たろ液（溶存態）ならびにろ紙上の SS および活性汚泥（懸濁態）を対象とした。懸濁態については，凍結乾燥試料にサロゲート混合物質を添加した後に，メタノール等により超音波抽出を行い，ろ液と同様の手法で測定を行った。ろ液にサロゲート物質混合溶液と EDTA(1L に対し 1g 添加)を順に添加し、1mol/L 塩酸で pH5 に調整した後に， Oasis HLB と EDS-1 250-6 を連結した固相カートリッジに通水(20mL/min)した。水を除去し $N_2$ 気流下で乾燥させた後、6mL のメタノールで溶出し，溶出液を窒素気流で乾固寸前まで乾燥したものに、酢酸水(pH3.5)250 μL とメタノール 250 μL を加えて溶解した計 500 μL を LC/MS/MS 測定試料とした。Method7,8 では ACN と 0.1%FA を移動相としたグラジェント溶離法を行い Method1 は Positive モード，Method2 は Negative モードで分析した。Method9 では ACN と 0.05%TEA を移動相としたグラジェント溶離法を行い Negative モードで分析した。

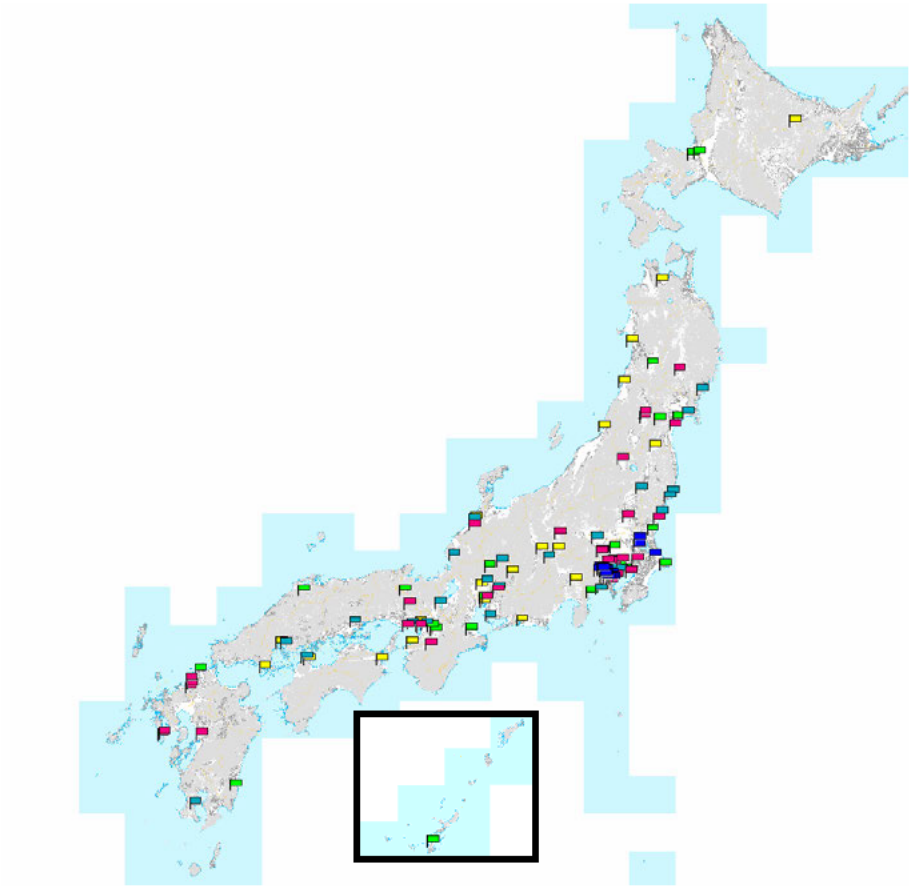
**（２）香料等**

香料等の分析方法は前年度の調査[1)]で開発した方法に準じて行い，概要は図－４および図－５の通りである。

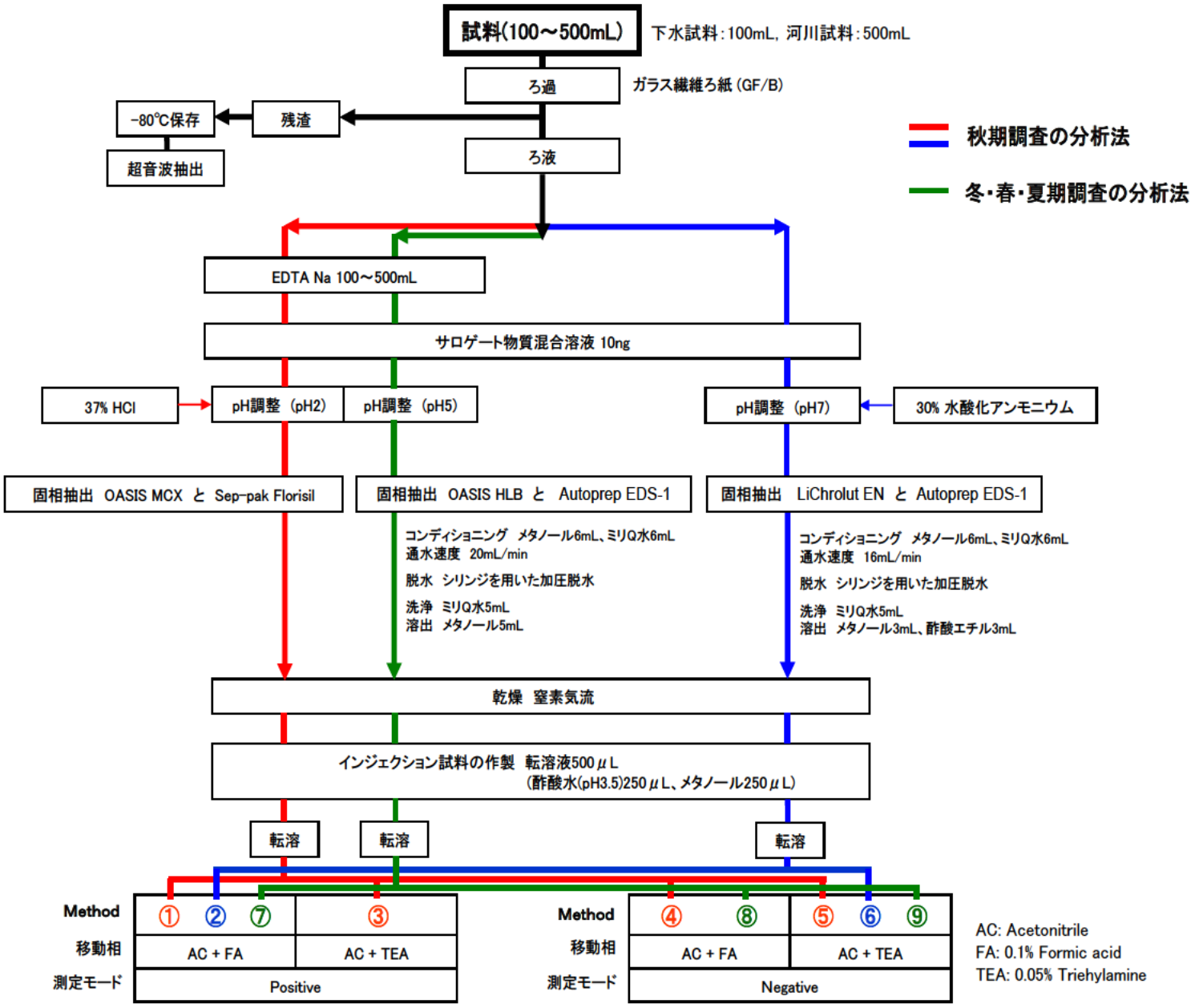
溶存態試料については，試料水 100～500mL を GF/B でろ過して得たろ液に表－３に示すサロゲート混合物質を添加した後に，10 mL/min で固相カートリッジに通水した。懸濁態試料については，凍結乾燥試料にサロゲート混合物質を添加した後に，ジクロロメタン等により超音波抽出を行い，ろ液と同様の手法で測定を行った。固相カートリッジは，J.T.Barkerbond PolarPlus C18 と Octadecyl C18 を連結したものであり，通水後に脱水した後に，15mL のジクロロメタンで溶出し，溶出液を窒素気流で濃縮し，500 μL の GC/MS 測定試料とした。試料はスプリットレスで HP-5MS GC カラムに注入して測定を行った。



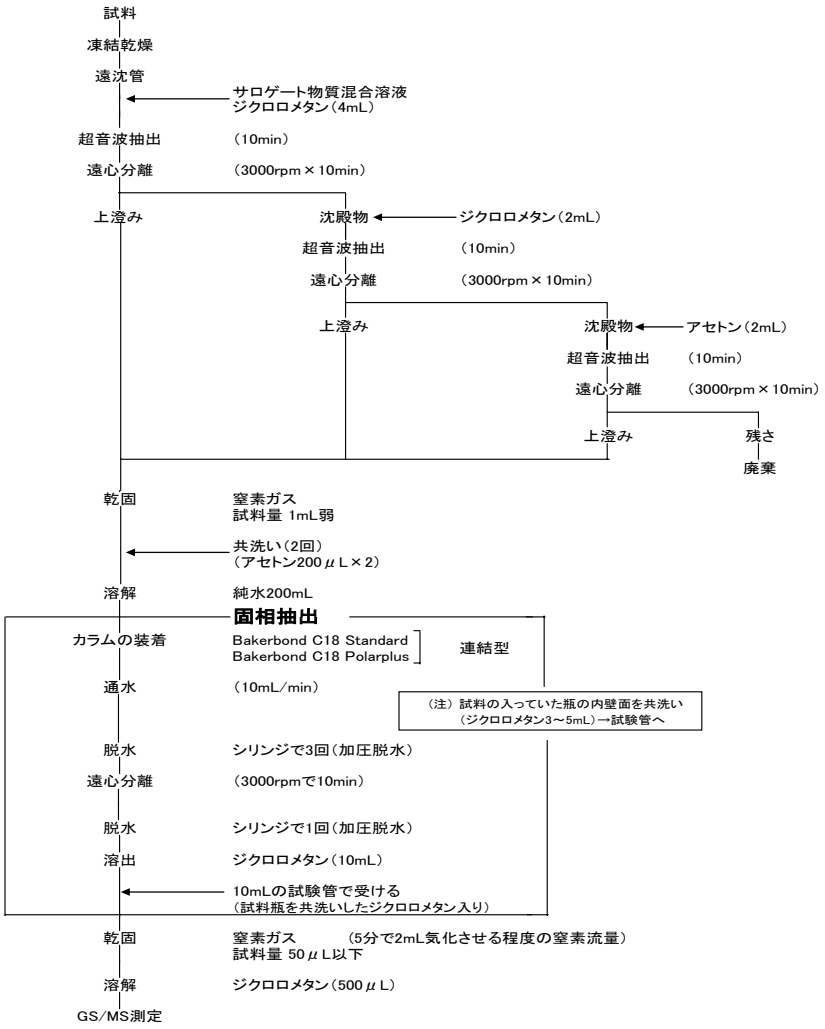

図－１　調査対象地点（河川）



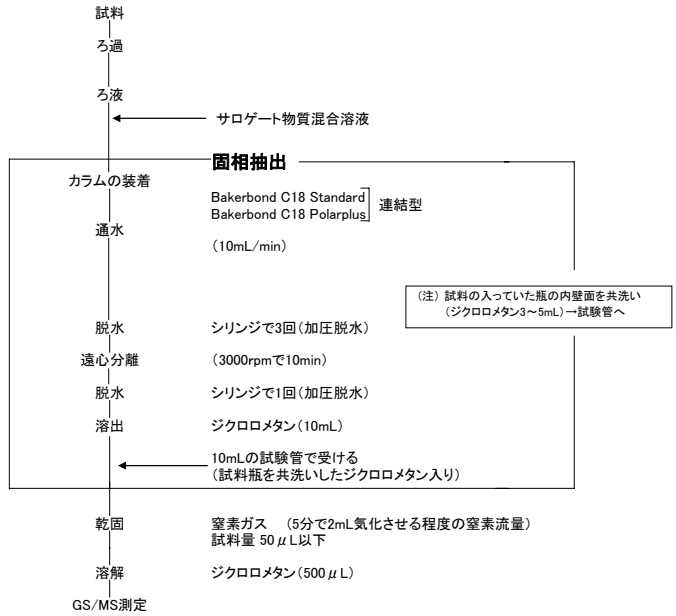
図－２　調査対象地点（下水処理場）




図－３　LC/MS/MS による PPCPs の分析方法




図－４　固形性試料の前処理方法（GC/MS 分析法）




図－５　溶解性試料の前処理方法（GC/MS 分析法）

表－３　香料等の分析条件

| ID | 物　質　名 | 保持時間 (min) | 確認イオン (m/z) | 定量イオン (m/z) | サロゲート物質名 |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Benzyl acetate | 11.22 | 108 | 150 | α-Terpineol(propyl methyl-d3) |
| 2 | Terpineol | 11.83 | 59 | 136 | Benzophenone-d10 |
| 3 | Methyl salicylate | 12 | 120 | 152 | α-Terpineol(propyl methyl-d3) |
| 4 | Isobornyl acetate | 14.34 | 95 | 136 | Musk xylene-d15 |
| 5 | α-Isomethyl ionone | 19.15 | 150 | 206 | Musk xylene-d15 |
| 6 | DPMI(Cashmeran) | 19.56 | 191 | 206 | Benzophenone-d10 |
| 7 | Benzophenone(BP) | 22.62 | 105 | 182 | Benzophenone-d10 |
| 8 | Methyl dihydrojasmonate(MDJ) | 23.22 | 83 | 156 | Benzophenone-d10 |
| 9 | ADBI(Celestolide) | 24.57 | 229 | 244 | Musk xylene-d15 |
| 10 | Hexylcinnamaldehyde | 25.17 | 129 | 115 | Benzophenone-d10 |
| 11 | AHMI(Phantolide) | 25.43 | 229 | 244 | Musk xylene-d15 |
| 12 | Octisalate(Octyl salicylate)(OS) | 26.34 | 120 | 138 | α-Terpineol(propyl methyl-d3) |
| 13 | ATII(Traseolide) | 27.25 | 215 |  | Musk xylene-d15 |
| 14 | HHCB(Galaxolide) | 27.28 | 243 | 258 | Musk xylene-d15 |
| 15 | Musk xylene(MX) | 27.48 | 282 | 297 | Musk xylene-d15 |
| 16 | AHTN(Tonalide) | 27.51 | 243 | 258 | Musk xylene-d15 |
| 17 | Benzyl salicylate | 27.64 | 91 | 228 | Benzophenone-d10 |
| 18 | Homosalate(HMS) | 27.84 | 138 | 69 | Musk xylene-d15 |
| 19 | Musk ketone(MK) | 29.82 | 279 | 294 | Musk xylene-d15 |
| 20 | 4-Methyl benzyliden camphor(4-MBC) | 30.46, 31.09 | 254 | 239 | Musk xylene-d15 |
| 21 | Benzophenone-3(BP-3) | 30.68 | 227 | 228 | Metolachlor-d6 |
| 22 | Isoamyl-p-methoxy cinnamate | 30.83 | 178 | 161 | Benzyl cinnamate |
| 23 | 2-Ethylhexyl p-methoxycinnamate(EHMC) | 33.10, 36.32 | 178 | 290 | Benzophenone-d10 |
| 24 | Octyl PABA | 35.08 | 165 | 277 | α-Terpineol(propyl methyl-d3) |
| 25 | Octocrylene(OC) | 47.08 | 249 | 361 | Benzyl cinnamate |
| サロゲート物質 | Benzophenone-d10 | 22.54 | 110 | 192 |  |
| サロゲート物質 | Benzyl cinnamate | 31.8 | 91 | 131 |  |
| サロゲート物質 | Metolachlor-d6 | 29.7 | 168 |  |  |
| サロゲート物質 | Musk xylene-d15 | 27.21 | 294 |  |  |
| サロゲート物質 | α-Terpineol(propyl methyl-d3) | 11.78 | 62 | 139 |  |

### ２－１．流域における挙動の解明

鶴見川および多摩川流域の各調査地点におけるPPCPs濃度を比較することにより，河川の流下や都市排水の流入による影響等を検討した。

鶴見川流域は，寺家橋，浅山橋，落合橋，鳥山，高田橋，亀の子橋（最下流地点）の計６地点について検討した。多摩川流域は，調布橋，東秋留橋，日野橋，浅川橋，高幡橋，報恩橋，石原（最下流地点）の計７地点について検討した。

検討対象とするPPCPsは，多くの地点で安定的に高濃度で検出されている代表的物質として，Clarithromycin（マクロライド系抗生物質），Levofloxacin（ニューキノロン系抗生物質），Sulfamethoxazole（サルファ剤）を選定した。

冬期および夏期での河川水中の濃度として，それぞれ1～3月，7～9月の平均値を用いて検討した。

## ３．　研究結果および考察

### ３－１．環境への放出・移行・変化量の把握

#### ３－１－１．医薬品類

下水処理場120ヶ所におけるPPCPsの年間の挙動について，流入下水・処理水中の溶存態濃度（ろ過後の液体試料）および下水汚泥中の懸濁態濃度（下水汚泥から抽出）の濃度の分布を図－１に示した。

測定結果の全体的な傾向として，人用医薬品の非ステロイド系抗炎症薬(C1～13)の多くが流入下水中に高濃度で検出され，多用されている実態を反映しているものと考えられた。特に，C11 サリチル酸が中央値で 1μg/L 以上であり，C1 イブプロフェン，C2 ケトプロフェン，C6 ジクロフェナクナトリウム，C7 インドメタシン，C8 メフェナム酸および C10 アセトフェネチジンが中央値で100ng/L以上であった。このうち，C11 と C1 は処理水中でも検出されるものの濃度は大幅に低下しており，下水汚泥中濃度も低い場合が多いことから下水処理で大部分が除去されるものと考えられ

た。C2，C6，C7 および C8 は処理水中でも同レベル（中央値で 100ng/L 以上）で検出され，下水処理における除去率が低いものと考えられた。C6，C7 および C8 は下水汚泥中にも中央値 10ng/g 以上で検出され，汚泥へも残留していた。

抗生物質(C14～30）では，C26 レボフロキサシン（オフロキサシン含む），C14 クラリスロマイシンが流入下水中で高濃度（中央値で 500ng/L 付近）で検出され，両者とも処理水中にも高濃度で残存して除去率が低いものと考えられた。下水汚泥中では C26 が中央値で 1μg/g 以上の高濃度で残留しており，C14 はより低いものの中央値で 10ng/g 以上で検出された。これら以外にも，抗菌・防腐剤として C45 トリクロロカルバニリド（トリクロカルバン）および C47～50 パラベン類が高濃度に流入して，処理水や下水汚泥からも検出されるなど，多様な物質が年間を通じて下水処理場に流入しており，その除去率は様々であり，処理水や下水汚泥に残留する場合も多いことが明らかとなった。今後，下水処理場における収支の把握，除去率への影響因子の推定等より詳細な検討を進めることとしたい。

なお，本調査では安定同位体を前処理時に添加して回収率補正を行う同位体希釈法（サロゲート法）により測定を行った。絶対検量線法と比較して多くの場合により良好な結果が得られたが，一部の試料でサロゲート物質の検出値が極端に低くなり測定値が過大と見られるような場合もあった。測定試料数を多くして測定結果の統計処理を行い，外れ値を除外して信頼性を高めることが必要と考えられた。

河川･湖沼 66 地点の表流水中の各季節の PPCPs 濃度を Fig.3 に示し、鶴見川における数物質の年間濃度変化の例を Fig.4 に示す。

（１）季節変動：C1 イブプロフェン（非ステロイド系抗炎症薬)、C14 クラリスロマイシン、C26 レボフロキサシン（抗生物質）等の濃度が冬期において高くなっており、感冒等の感染症の流行による使用量の季節変動を反映しているものと考えられた。一方、非ステロイド系抗炎症薬でも C7 インドメタシン、C13 エテンザミド等は冬期に特に高くなっていない等、物質によって季節変動に違いが見られた。

（２）流域特性：都市影響が顕著である鶴見川・多摩川では、他河川と比較して、PPCPs 濃度が高い傾向にあった。また上述の季節変動についても、66 地点全体では変動がやや不明瞭であるが、鶴見川・多摩川ではより明瞭に観察された。

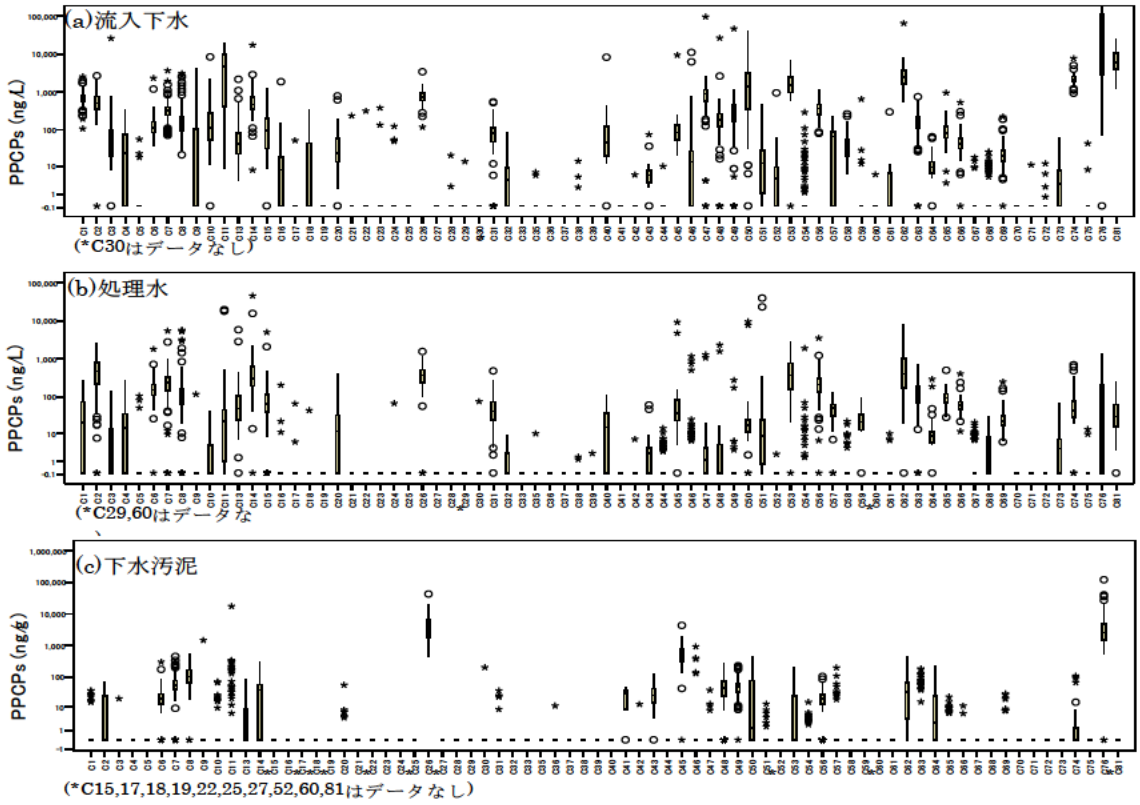
（３）底泥：表流水と比較して検出物質は少なく、特に湖沼底泥では河川底泥よりもさらに検出が少ない傾向であり、LC/MS/MS で測定可能な PPCPs は環境中での残留性・蓄積性が低いものが多いと考えられたが、抗菌剤・防腐剤として多用されている C48 ブチルパラベン～C50 メチルパラベンは底泥中で広く検出されるなど、例外も見られた。

### ３－１－２．香料等

都市影響を受けている湖沼における香料等濃度の季節変動を把握するため，霞ヶ浦の湖内 7 地点の冬期（2 月）および夏期（8 月）における香料の溶存態および懸濁態濃度を図－8 に示し，紫外線吸収剤について同様に図－9 に示した。

香料で最も高濃度であった Methyl dihydrojasmonate (MDJ)は，ほとんどが懸濁態で存在しており，夏期の方が濃度が高かったが，それ以外の香料は季節による違いがあまりなく，むしろ冬期の方がやや濃度が高い傾向にあった。

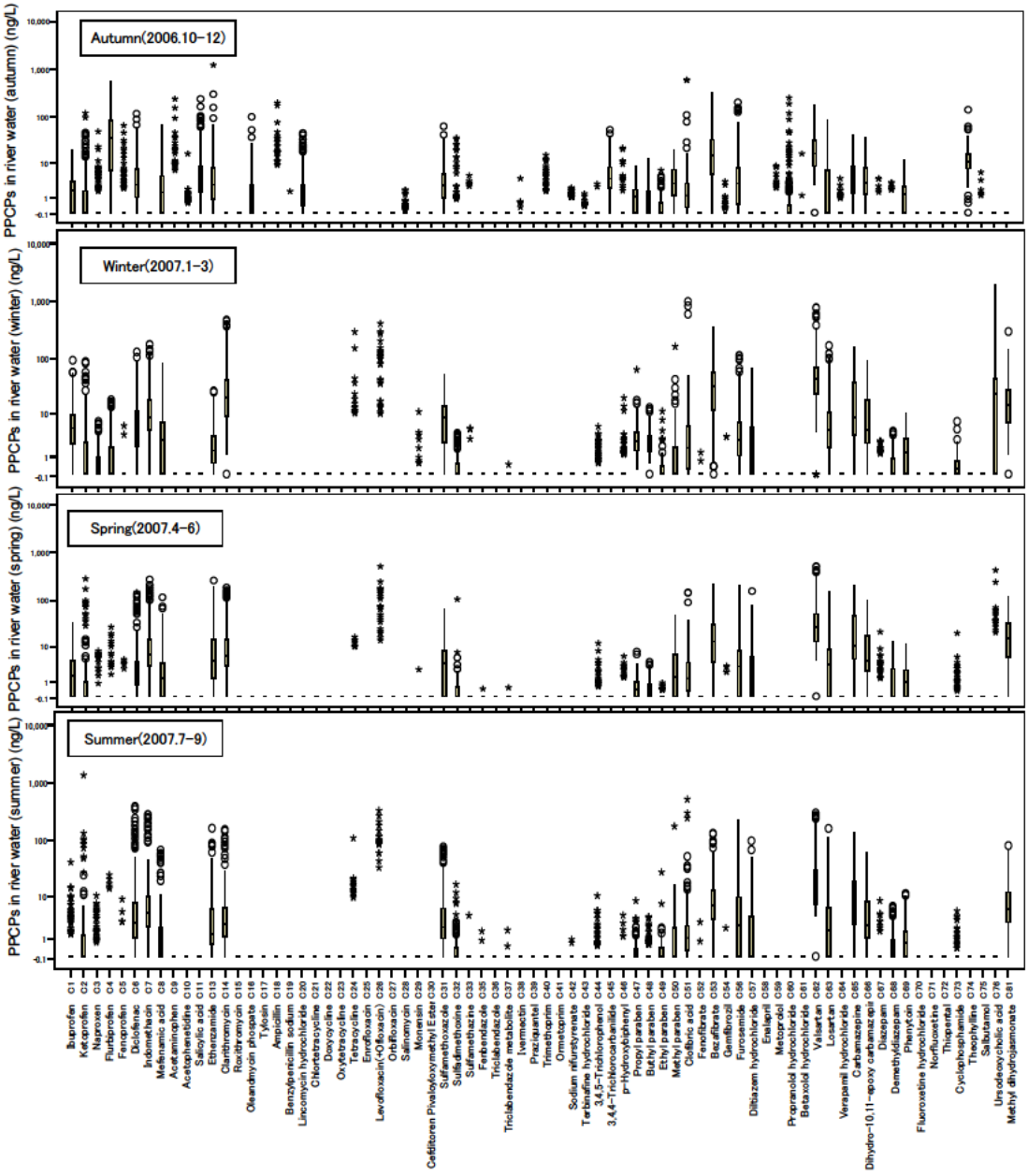
紫外線吸収剤では，2-Ethylhexyl p-methoxycinnamate (EHMC)が最も高濃度であり，他もほとんどが懸濁態で存在し，夏期の方が顕著に高濃度で冬期ではほとんどが検出下限値未満であり，夏期の使用増大によると考えられた。



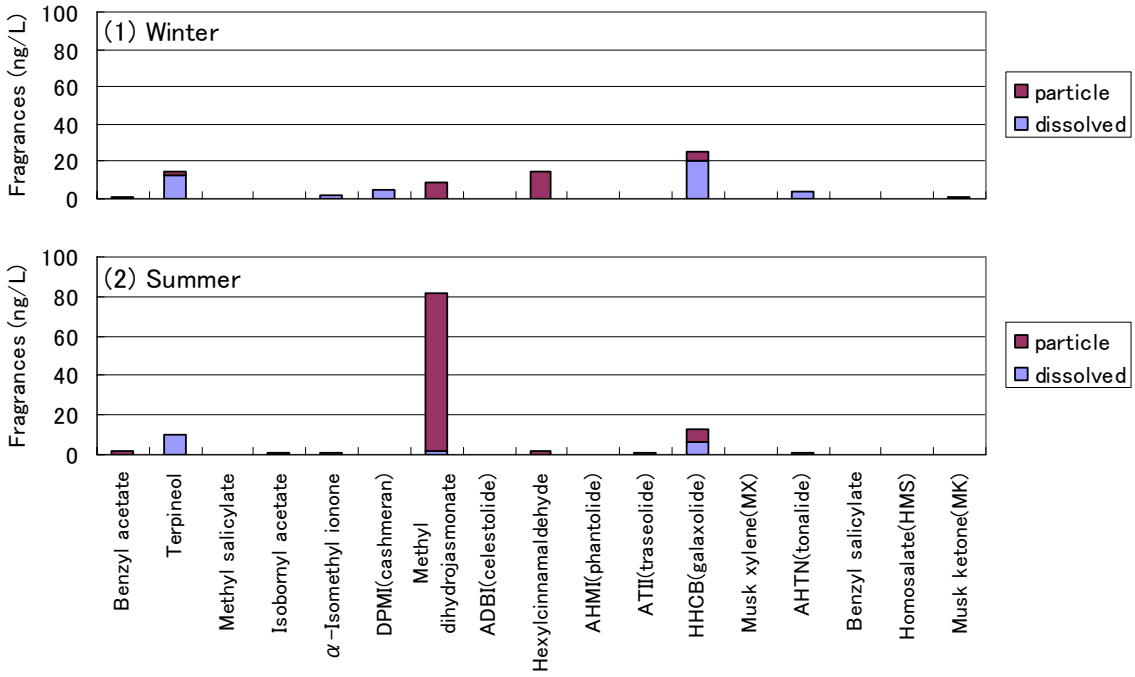

図－６　流入下水, 処理水, 下水汚泥中の PPCP s の年間挙動

a ：流入下水（溶存態濃度），b ：処理水（溶存態濃度），c ：下水汚泥（懸濁態濃度）

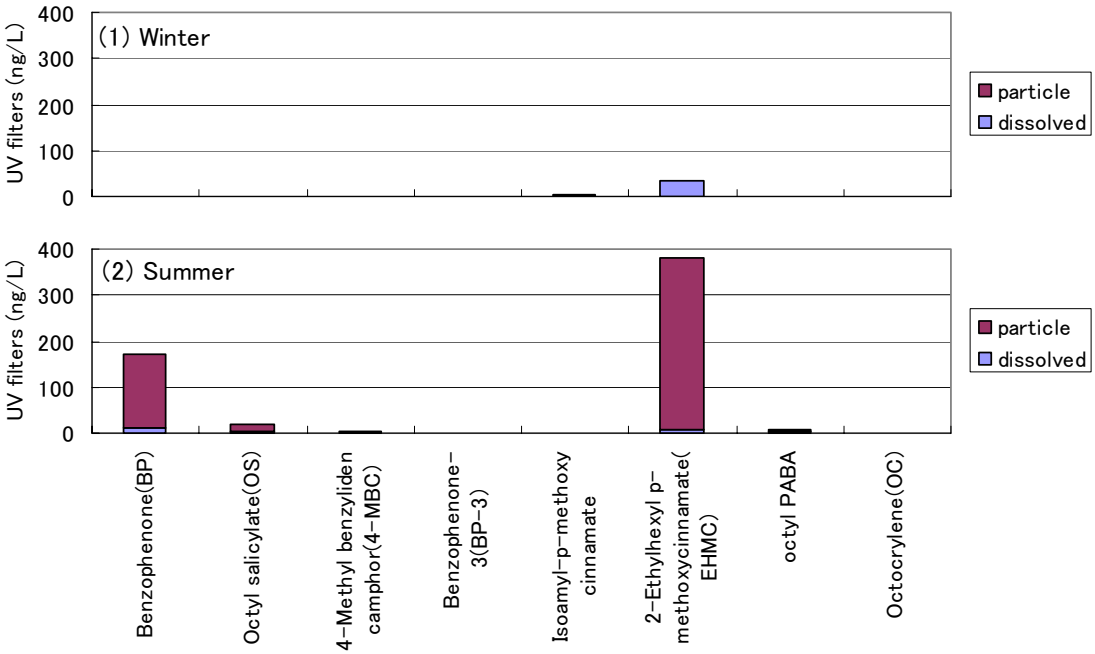
, 試料種類・物質に応じて n ＝28 から 119




図－７　関東地方の河川の PPCPs 濃度




図－８　霞ヶ浦における香料の挙動




図－９　霞ヶ浦における紫外線吸収剤の挙動

### ３－２．流域における挙動の解明

（１）流域の特性

鶴見川流域では，６地点中４地点（寺家橋，浅山橋，落合橋，亀の子橋）は上流～中流側であり下水処理水等の都市排水の流入の影響を受けており，他の２地点（鳥山，高田橋）はそうした影響のより少ない支流に存在していた。

多摩川流域では，７地点中２地点（調布橋，東秋留橋）は都市排水影響の少ない上流側で比較的清浄な水質であり，３地点（日野橋，高幡橋，石原）は下水処理水等の都市排水の流入の影響を強く受けてやや水質が悪化しており，残り２地点（浅川橋，報恩橋）はそうした影響のより少ない支流で中間的な水質の傾向であった。

こうした流域特性をふまえて，個別の物質について検討した結果を（２）以降に示す。

（２）Clarithromycin（マクロライド系抗生物質）の挙動

Clarithromycin の検討結果を鶴見川について図－１０，多摩川について図－１１にそれぞれ示す。両方の流域で，夏期よりも冬期の方が高濃度であったことから，Clarithromycin は感染症が流行する冬期により多く使用される抗生物質であり，環境中濃度も高くなるものと推測された。

鶴見川流域では，Clarithromycin は全地点から検出されたが，都市排水影響を受ける４地点は，そうでない支流２地点より２オーダー程度高い濃度を示した。

多摩川流域では，Clarithromycin は清浄な水質の２地点では不検出であり，他の５地点では全て検出されたが，都市排水影響を強く受ける３地点は，そうでない支流２地点より１オーダー程度高い濃度を示した。

これらの結果より，鶴見川および多摩川流域においては，河川水中の Clarithromycin は主として都市排水由来であると推測され，河川に放流された後もすぐに分解されずに，河川をある程度流下するものと考えられた。

（３）Levofloxacin（ニューキノロン系抗生物質）

Levofloxacin の検討結果を鶴見川について図－１２，多摩川について図－１３にそれぞれ示す。両方の流域で，夏期よりも冬期の方がやや高濃度であったが顕著な差ではなかったことから，Levofloxacin は通年的に使用される抗生物質であり，環境中濃度の季節変動も少ないものと推測された。

鶴見川流域では，Levofloxacin は都市排水影響を受ける４地点ではほぼ常に検出され，特に浅山が夏期冬期ともに最も高濃度であったが，都市排水影響の少ない支流２地点は常に不検出であった。

多摩川流域では，Levofloxacin は都市排水影響を強く受ける３地点では冬期は常に検出され，夏期も２地点で検出された。清浄な水質の２地点および中間的な水質の２地点では夏期冬期ともに常に不検出であった。

これらの結果より，鶴見川および多摩川流域においては，河川水中の Levofloxacin は Clarithromycin と類似した挙動を示すものの，濃度および検出頻度はやや低くなっていると考えられた。これは，Clarithromycin が Levofloxacin より出荷量で約３倍，排泄量で約２倍大と推定されることから，河川への放出量の違いを反映しているものと推測された。

（４）Sulfamethoxazole（サルファ剤）

Sulfamethoxazole の検討結果を鶴見川について図－１４，多摩川について図－１５にそれぞれ示す。鶴見川流域では冬期よりも夏期の方がやや高濃度で，多摩川流域では逆の傾向であったが，いずれも顕著な差ではなかったことから，Sulfamethoxazole は通年的に使用される抗生物質であり，環境中濃度の季節変動も少ないものと推測された。

鶴見川流域では，Sulfamethoxazole は都市排水影響を受ける４地点ではほぼ常に検出され，都市排水影響の少ない支流２地点よりも１オーダー以上高濃度であった。多摩川流域では，Sulfamethoxazole は都市排水影響を強く受ける３地点でほぼ常に検出され，中間的な水質の２地点でも１オーダー以上低いもののほぼ常に検出された。清浄な水質の２地点のうち，最上流の調布橋ではほぼ常に不検出であったが，東秋留橋では微量ながらほぼ常に検出された。

これらの結果より，鶴見川および多摩川流域においては，河川水中の Sulfamethoxazole は Clarithromycin や Levofloxacin と類似した挙動を示すものの，都市排水影響の少ない清浄な水質が想定される地点でもしばしば検出されることが明らかとなった。Sulfamethoxazole は人および動物用の医薬品として用いられており，都市域以外での排出の可能性も考えられた。

## ４．　まとめ

### ４－1．環境への放出・移行・変化量の把握

我が国で利用されている主要な PPCPs として，医薬品類および香料等を対象として，全国の下水処理場 120 箇所および関東地方の８河川･2 湖沼の 66 地点における現地調査を行い，これらの物質の環境への放出・移行・変化量の把握を行った。

医薬品類（人用医薬品，動物用医薬品，日用品防腐剤等）74 物質については，非ステロイド系抗炎症薬，抗生物質等の多様な物質が下水処理場に流入しており，除去率が高い物質もあるものの，多くの物質が下水処理水中や下水汚泥中に残存していた。河川・湖沼においても，非ステロイド系抗炎症薬，抗生物質等が表流水中に高頻度に検出された。冬期に高濃度となる物質もある一方で，明確な季節変動の傾向を示さない物質もあり，物質によって違いが見られた。底泥においては，検出物質は少なく，医薬品類の残留性・蓄積性はさほど高くない傾向と考えられたが，抗菌剤・防腐剤として多用されるパラベン類は広く検出されていた。

香料・紫外線吸収剤については，霞ヶ浦で多くの物質が検出され，香料は Methyl dihydrojasmonate (MDJ)，紫外線吸収剤は 2-Ethylhexyl p-methoxycinnamate (EHMC)が最も高濃度であった。香料は夏期と冬期の明確な季節変動の傾向がみられない場合が多かったが，紫外線吸収剤は夏期の方が顕著に高濃度で冬期ではほとんどが検出下限値未満であり，夏期の使用増大によると考えられた。紫外線吸収剤はほとんどが懸濁態で存在していた。

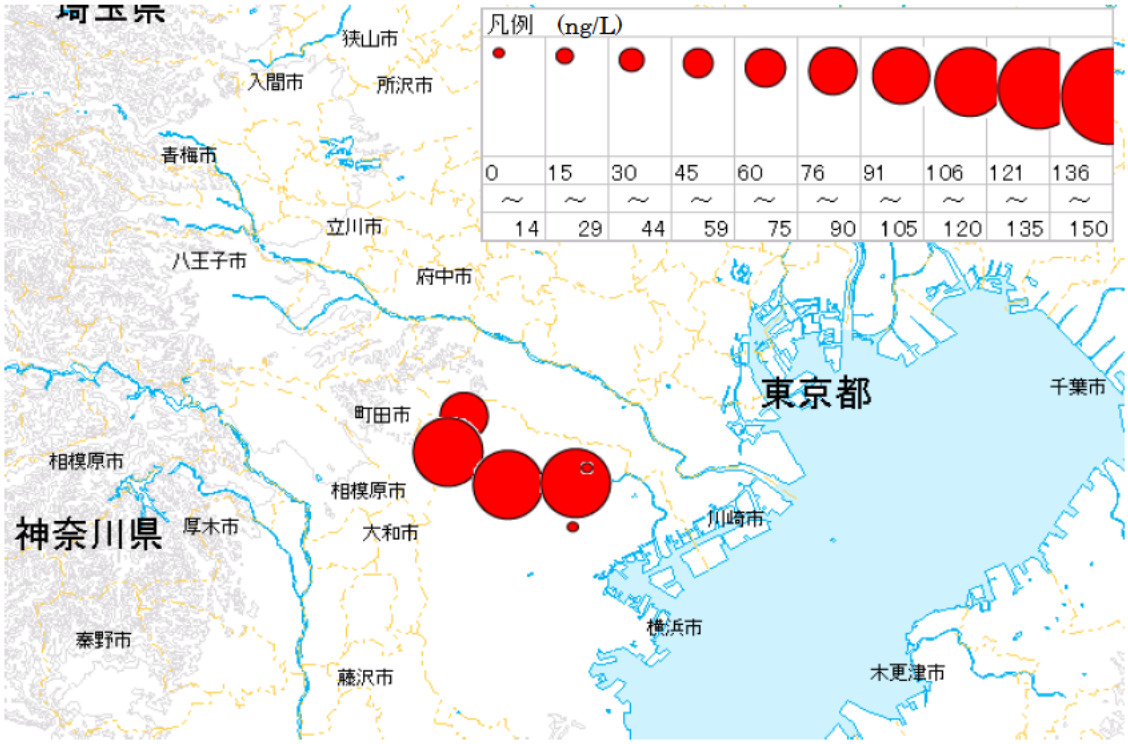
### ４－２．流域における挙動の解明

鶴見川 6 地点および多摩川 7 地点における PPCPs 濃度を比較することにより，河川流域における流下や都市排水の流入による影響等を検討した。

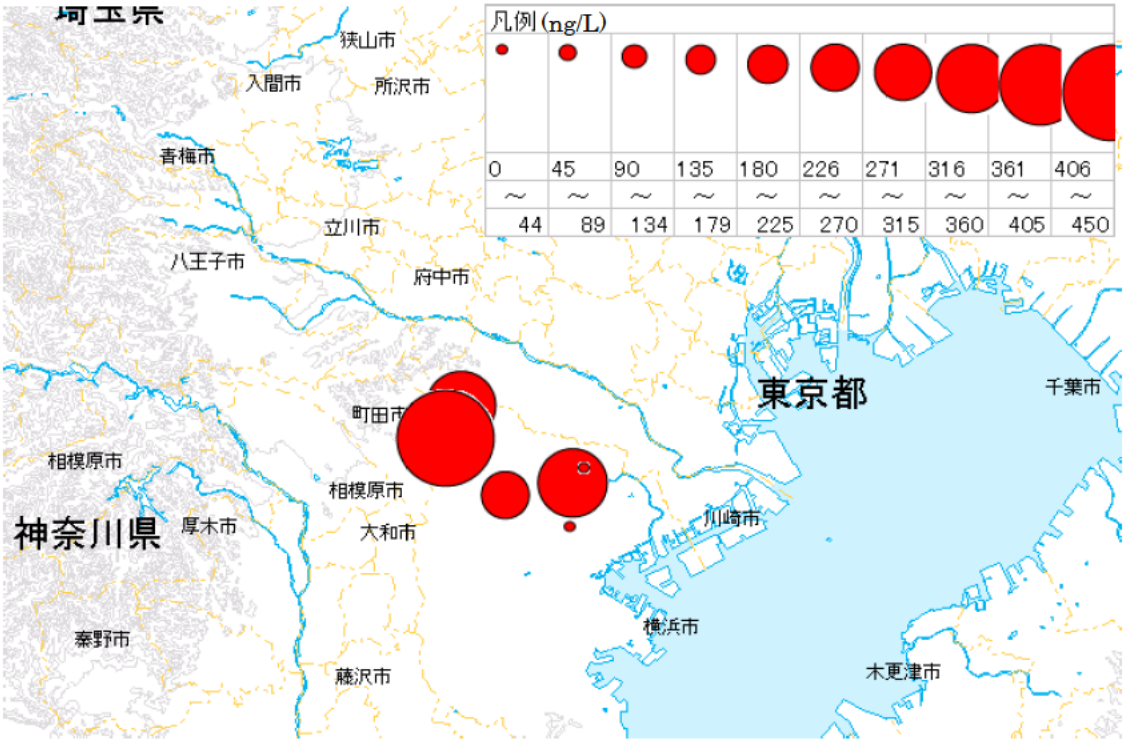
代表的物質として，Clarithromycin（マクロライド系抗生物質）は，夏期よりも冬期の方が高濃度であったことから，感染症が流行する冬期により多く使用される抗生物質であり，環境中濃度も高くなるものと推測された。両流域とも，都市排水影響を受ける地点がより高濃度であったことから，河川水中の Clarithromycin は主として都市排水由来であると推測され，河川に放流された後もすぐに分解されずに，河川をある程度流下するものと考えられた。

Levofloxacin（ニューキノロン系抗生物質）は，季節変動は示さなかったが，河川流域での挙動は Clarithromycin と同様と考えられた。Sulfamethoxazole（サルファ剤）も同様の挙動を示すものの，都市排水以外の影響も推定され，動物用としても使用されることによると考えられた。

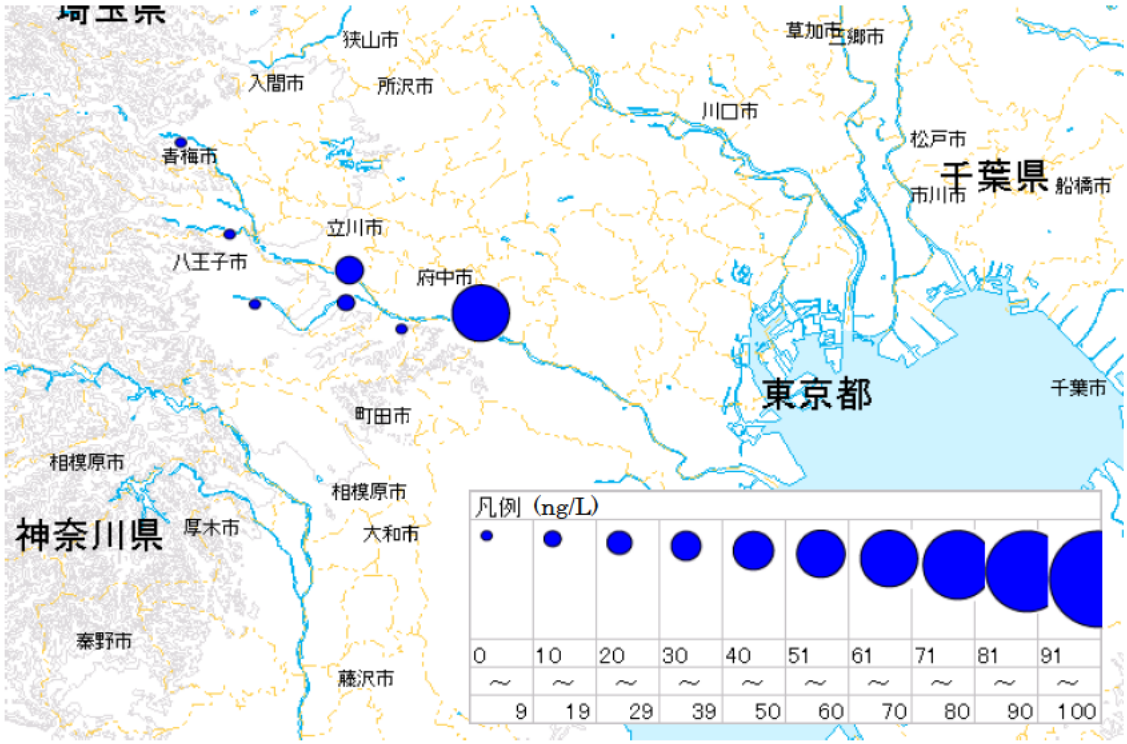
今後は，雨天時も含めた排出源の調査や詳細な挙動の解明に向けた検討を進めていくこととする。



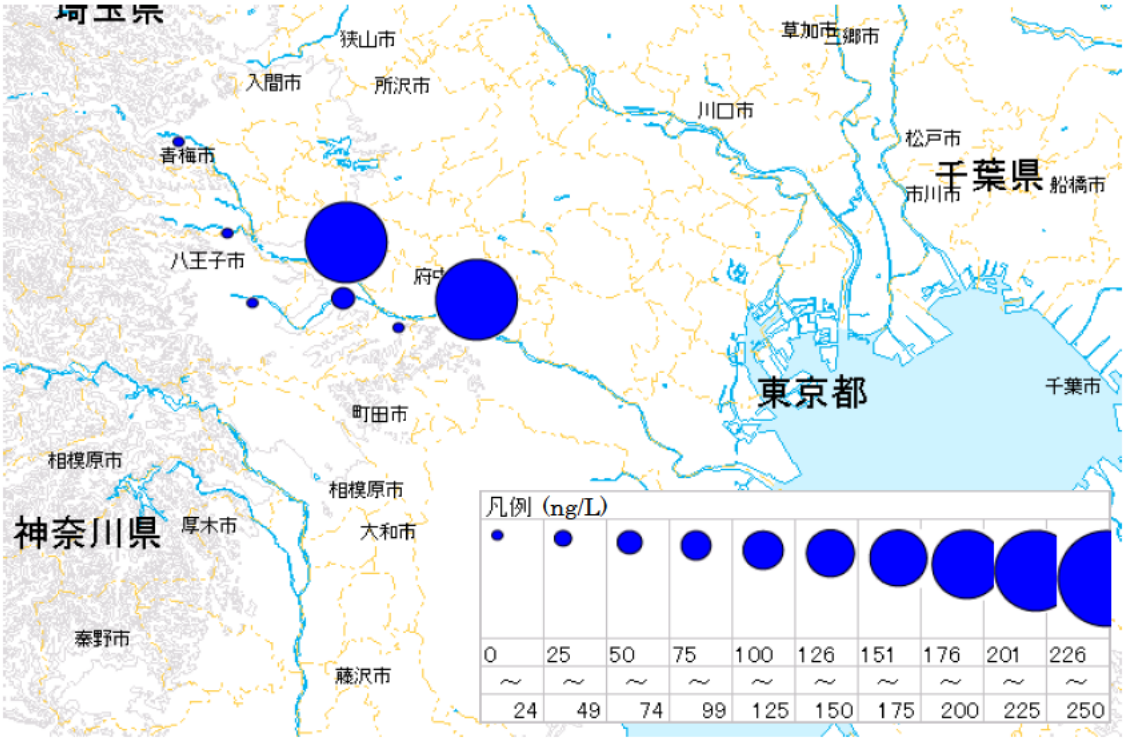

図－１０(1)　鶴見川流域の Clarithromycin の挙動（夏期）



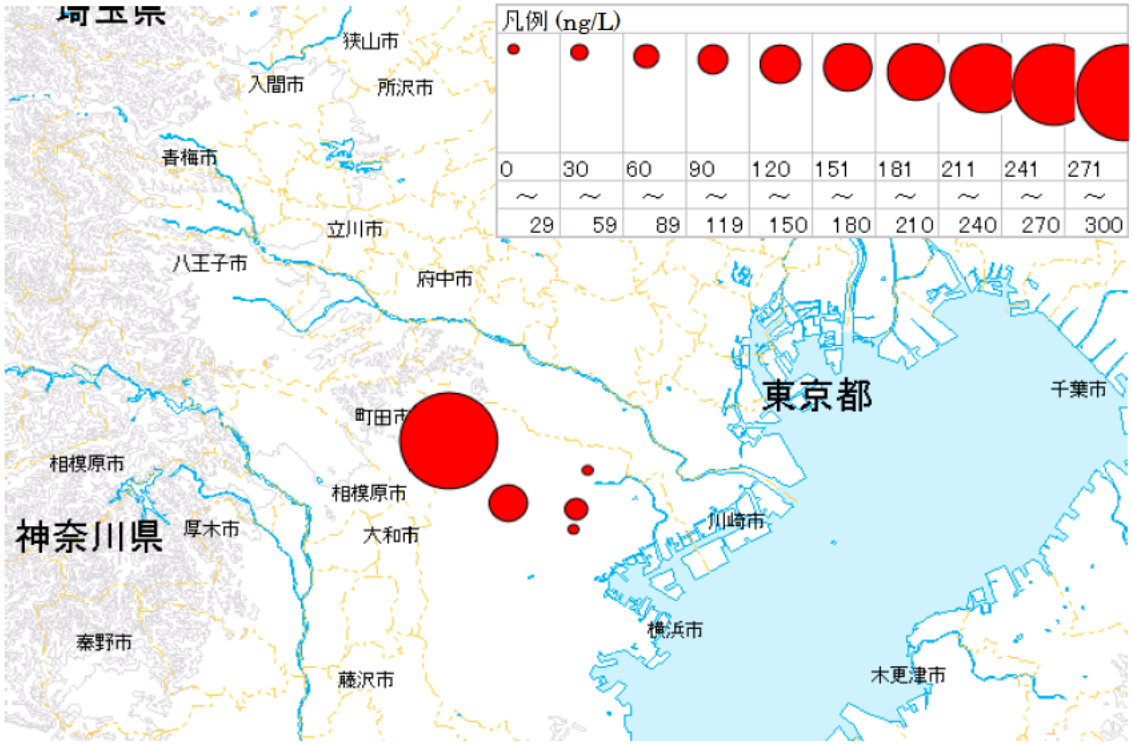

図－１０(2)　鶴見川流域の Clarithromycin の挙動（冬期）



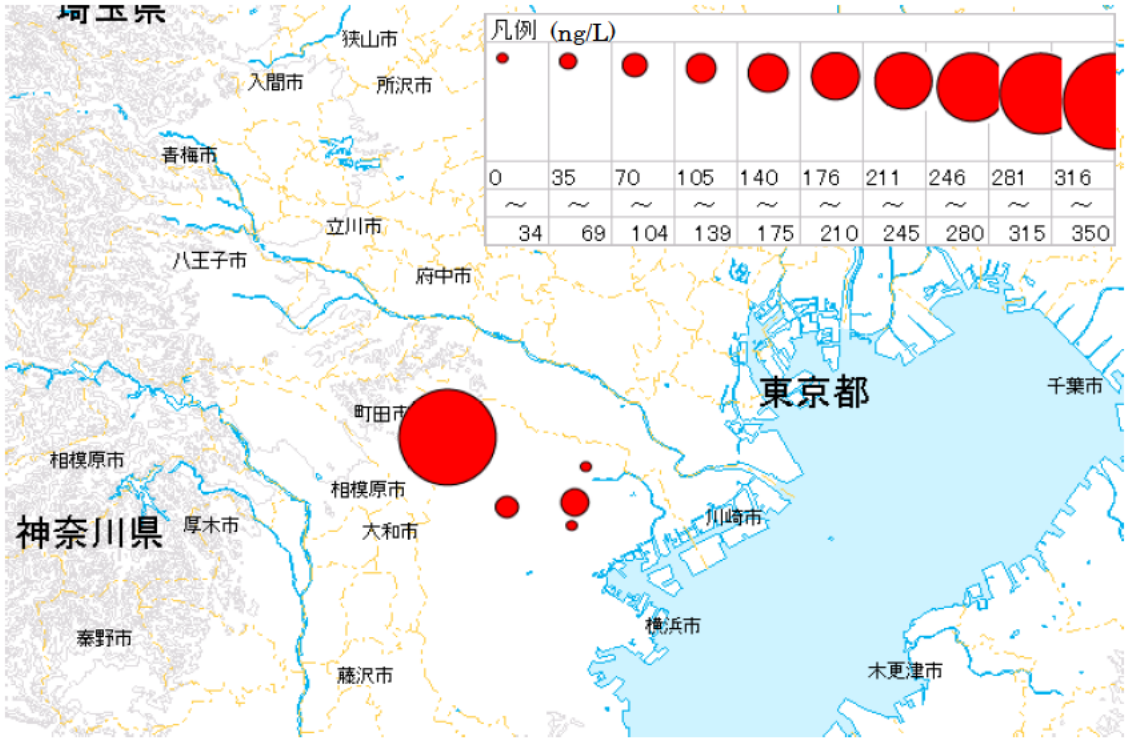

図－１１(1)　多摩川流域の Clarithromycin の挙動（夏期）



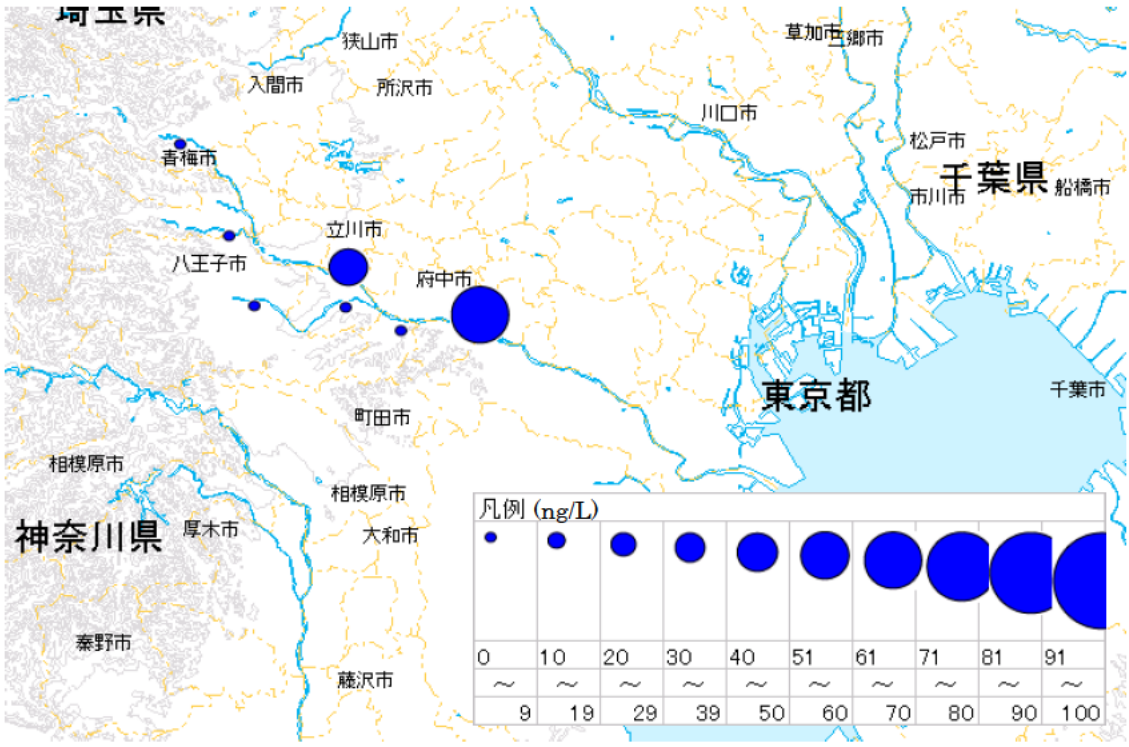

図－１１(2)　多摩川流域の Clarithromycin の挙動（冬期）



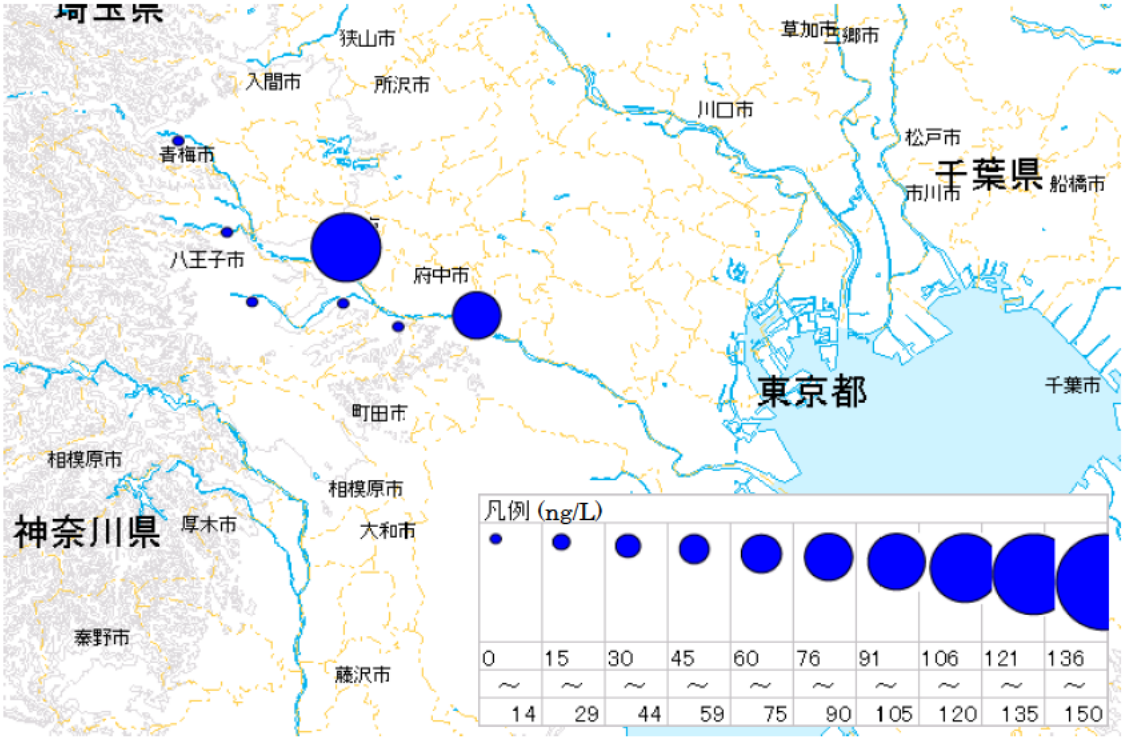

図－１２(1)　鶴見川流域の Levofloxacin の挙動（夏期）



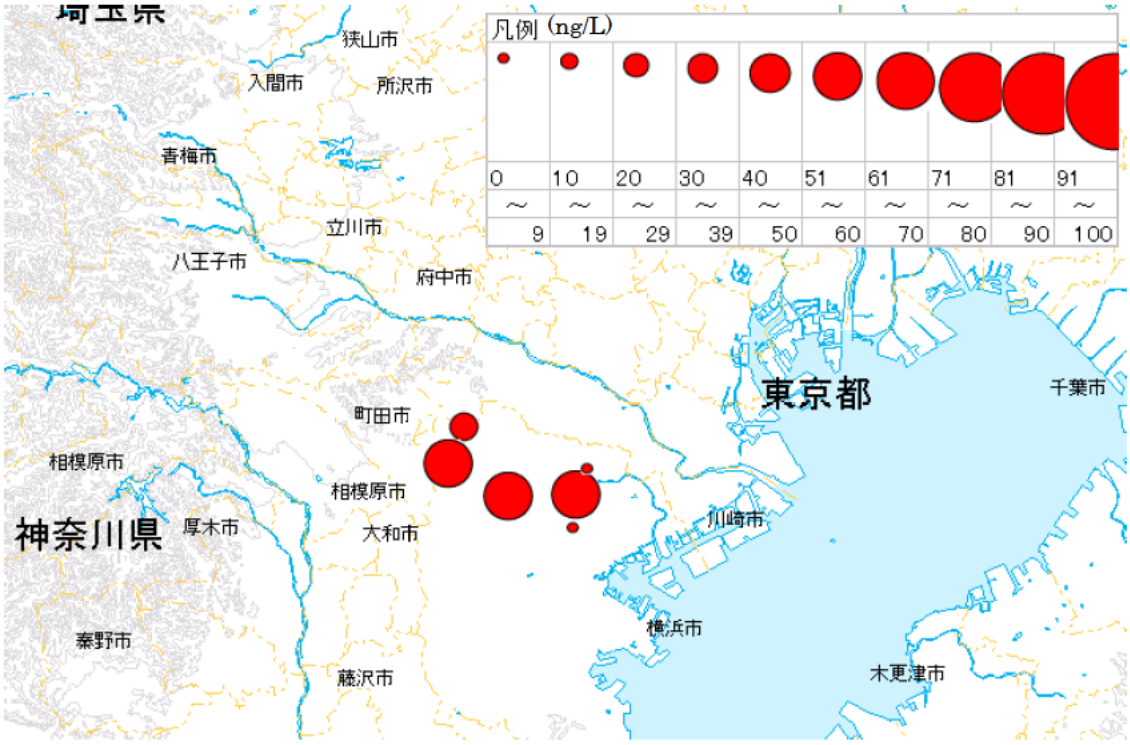

図－１２(2)　鶴見川流域の Levofloxacin の挙動（冬期）



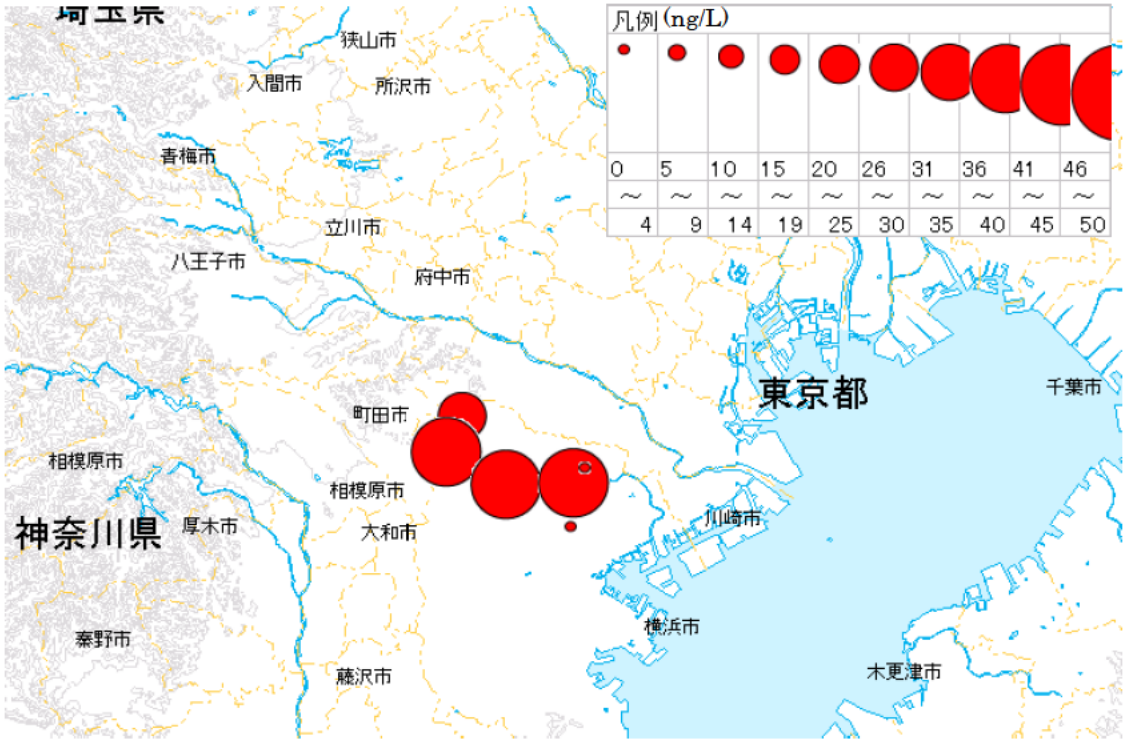

図－１３(1)　多摩川流域の Levofloxacin の挙動（夏期）



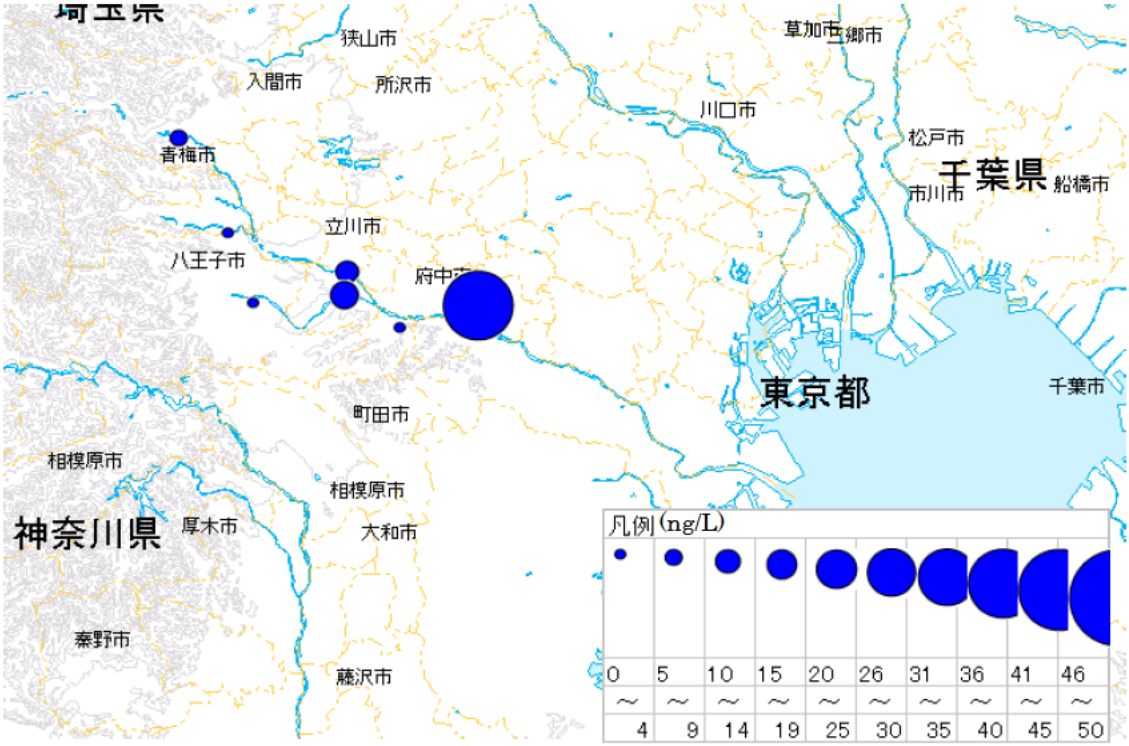

図－１３(2)　多摩川流域の Levofloxacin の挙動（冬期）



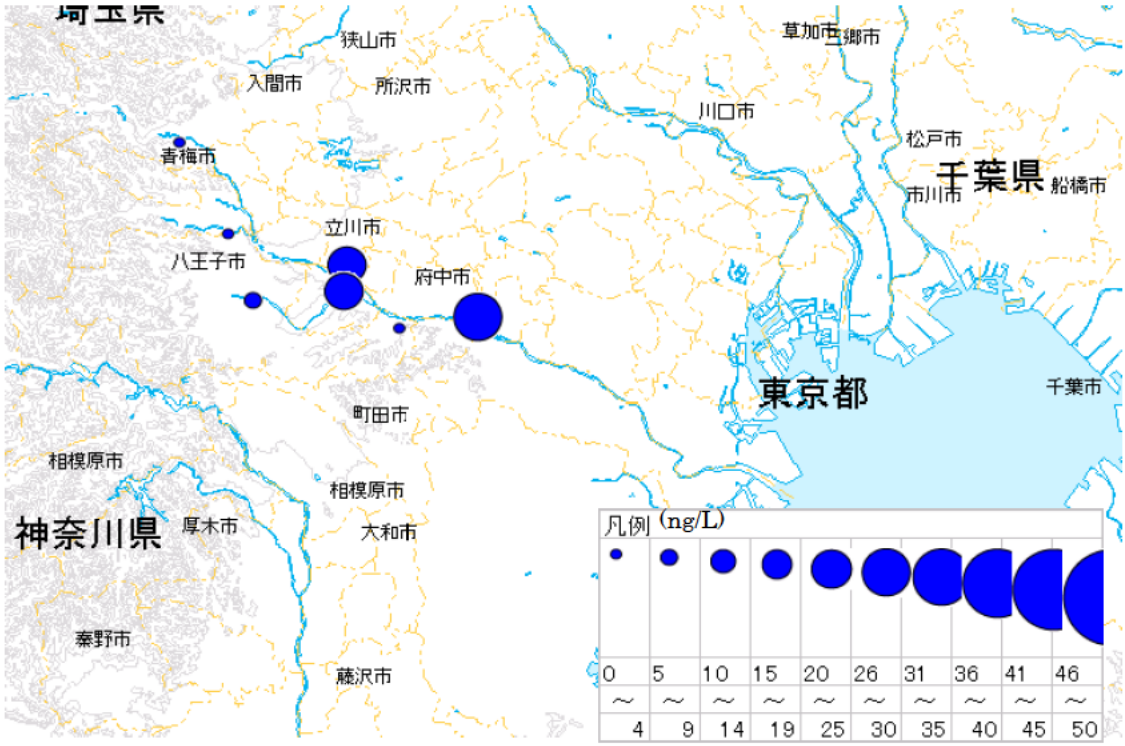

図－１４(1)　鶴見川流域の Sulfamethoxazole の挙動（夏期）




図－１４(2)　鶴見川流域の Sulfamethoxazole の挙動（冬期）




図－１５(1)　多摩川流域の Sulfamethoxazole の挙動（夏期）




図－１５(2)　多摩川流域の Sulfamethoxazole の挙動（冬期）

なお、本調査研究は、国土交通省からの受託業務費により実施されたものである。

## ５．参考文献

1) 尾崎正明，山下洋正，亀田　豊，(2006) 河川流域における PPCPs(医薬品および日用品等由来化学物質)の挙動の解明に関する研究，地球環境保全等試験研究費報告書

2) 尾崎正明，山下洋正，亀田　豊，(2007) 河川流域における PPCPs(医薬品および日用品等由来化学物質)の挙動の解明に関する研究，地球環境保全等試験研究費報告書

3) Sara Castiglioni, Renzo Bagnati, Davide Calamari, Roberto Fanelli, Ettore Zuccato, A multiresidue analytical method using solid-phase extraction and high-pressure liquid chromatography tandem mass spectrometry to measure pharmaceuticals of different therapeutic classes in urban wastewaters, Journal of Chromatography A, 2005, 1092, 206-215

## ６．研究発表

1) 下水道および水環境への PPCPs（医薬品等由来化学物質）負荷量の推定，山下洋正，亀田豊，尾崎正明，第 43 回下水道研究発表会，pp. 76-78，2006

2)多成分の医薬品類の下水道および河川における検出状況，山下洋正，尾崎正明，第 44 回下水道研究発表会講演集，pp. 46-48，2007

3)LC/MS/MS を用いた PPCPs の同時一斉分析方法の検討，山下洋正，亀田豊，尾崎正明，第 16 回環境化学討論会講演要旨集，pp. 760-761，2007

4)香料及び紫外線吸収剤の多成分一斉分析方法の確立と環境中濃度，亀田豊，山下洋正，尾崎正明，第 41 回日本水環境学会年会講演集，pp. 390，2007

5)香料および紫外線吸収剤の下水道における流入及び放流実態，亀田豊，山下洋正，尾崎正明，第 44 回下水道研究発表会講演集，pp. 43-45，2007

6)香料及び紫外線吸収剤の多成分一斉分析手法の確立と環境中の濃度分布，亀田豊，山下洋正，尾崎正明，第 16 回環境化学討論会講演要旨集，pp.166-167，2007

7)環境中の香料及び紫外線吸収剤の多成分同時分析手法の確立と環境中濃度の把握，亀田豊，　山下洋正，尾崎正明，水環境学会誌，Vol.31，No.1，pp.39-46，2008

8)PPCPs としての香料及び紫外線吸収剤の研究の現況と今後の展開，亀田豊，山下洋正，尾崎正明，水環境学会誌，Vol.30，No.12，pp.707-713，2007

9)日用品由来の抗菌剤トリクロカルバンおよび防腐剤パラベン類の下水処理場および河川流域における挙動，山下洋正，尾崎正明，岡本誠一郎，第 17 回環境化学討論会講演要旨集，pp.190-191，2008

10) 関東地方の河川流域における PPCPs の挙動，山下洋正，尾崎正明，岡本誠一郎，第 17 回環境化学討論会講演要旨集，pp.660-661，2008

11)下水処理場における PPCPs の年間挙動特性，山下洋正，岡本誠一郎，尾崎正明，第 45 回下水道研究発表会講演集，pp.112-114，2008

12)香料及び紫外線吸収剤の下水処理場及び環境中への負荷量原単位推定と下水処理場における除去特性の把握，亀田豊，山下洋正，尾崎正明，水環境学会誌 Vol.31，No.7，pp.367-374，2008

# Ⅲ．その他の予算による研究
# ［水質チーム］

# 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）

研究予算：運営費交付金（治水勘定）
研究期間：平 18～平 22
担当チーム：水環境研究グループ（水質）
研究担当者：鈴木穣、小森行也、岡安祐司

【要旨】
流域で発生する栄養塩類の閉鎖性水域への流出機構を明らかにするために、生活系の汚濁物質発生特性（トレーサー物質及び溶解性栄養塩類の実態）の解明を行い、流域における生活系汚濁排出量とその他の汚濁排出量の割合が異なる複数の流域を対象として、晴天時、雨天時におけるこれらの物質の流達特性を把握した。その結果、トレーサー物質と溶解性栄養塩類の濃度比の整理から、生活系以外の畜産系と考えられる汚濁源の存在を推定することが可能であった。
**キーワード**： 流域モデル、トレーサー、栄養塩類、流出機構、生活排水、畜産排水

## 1. はじめに

閉鎖性水域や河川において、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。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く、また、発生源ごとの寄与度と対策効果を総合的に評価できる流域規模の水質評価モデルが存在しないという問題点があるため、目標の実現に不確実性が残る。水質改善計画を確実なものとするためには、発生源ごとに窒素・リン等の栄養塩類の流出過程を追跡する手法と、土地利用や営農形態の変化等の定量的影響やそれらの相互関係を含めて総合的に把握・分析できるツールを開発する必要がある。

本研究では、土木研究所で開発中の流域水・物質循環モデル(WEP モデル)を基盤としつつ、栄養塩類の発生源ごとに水域への流出機構を明らかにし、窒素流出・輸送モデルを改良するとともに新たにリン流出・輸送モデルを追加することで、表流水と地下水の流域規模での総合的な水・物質循環モデルとして実用的なものとする。

水質チームは、①試験流域における水質・水文データ収集を行い、その情報を元に、②発生源ごとの水質特性の解明を行い、③発生源から水域への栄養塩類の流出機構の解明を行う部分を担当する。

## 2. 平成 19 年度調査の内容

### 2.1 晴天時流出特性の把握

流域で発生する汚濁負荷が水域へ到達する機構を考察するための基礎情報収集を目的として、流域における点源と面源の割合が異なる複数の流域を対象として、水質の実態を調査した。平成 18 年度調査では、生活系の汚濁物質発生特性の解明、および、流域で発生する汚濁負荷が水域へ到達する機構の解明のため、①利根川水系手賀沼流入河川の大津川の支流域、②利根川水系北浦流入河川を対象に晴天時のトレーサー物質及び溶解性栄養塩類の実態を調査した。

平成 19 年度は対象流域として、①利根川水系手賀沼流入河川の大津川の支流域（平成 18 年度調査に比べて採水地点を増加）、②利根川水系北浦流入河川の鉾田川（平成 18 年度調査で、畜産系排水の混入が示唆された地点）③群馬県赤城山西南麓の河川を選定し、晴天時のトレーサー物質及び溶解性栄養塩類の実態を調査した。

なお、晴天時には、生活系、事業系、大規模な畜産系等の点源で発生する汚濁が、人為的な処理や流下過程で土壌への吸着や生物などへの摂取により低減されて、その残りが恒常的に水域へ到達していると考えられる。閉鎖性水域へ到達する汚濁負荷の総量を考える際には、晴天時に一時的に流域に保持された汚濁負荷が雨天時に移動することも考慮する必要があり、雨天時も含めた調査が必要である。

#### 2.1.1 生活系汚濁の割合が大きい流域からの流出河川における晴天時水質の調査

既往の調査により、流域における汚濁発生量総量に占める生活系汚濁の割合が大きい流域であることが判明している利根川流域手賀沼流入河川の大津川の支流を対象に、トレーサー物質（$Na^+$）及び溶解性栄養塩類（$K^+$、$NH_4^+$-N、$NO_2^-$-N、D-$PO_4^{3-}$-P）の実態調査

を図-1 に示す 7 箇所で 3 回晴天時の日中に実施した。採水日は、非潅漑期である平成 19 年 12 月～平成 20 年 2 月の間である。結果を図-2～図-5 に示す。図中には比較のため、平成 18 年度調査で得られた流入下水中の $Na^+$濃度と各対象物質濃度/ $Na^+$濃度の 95%信頼区間を示す。

観測された $Na^+$濃度は 10.08～43.03mg $l^{-1}$ の範囲で、生活排水中の濃度の平均値である 48.82mg $l^{-1}$ と比べて低く、生活排水が地下水等で希釈されて流出していると考えられる。$Na^+$濃度と溶解性栄養塩類の濃度の比（$K^+/Na^+$）は、流入下水の平均値が 0.237 であるのに対して、大津川支流では 0.027～0.219 の範囲へ、D-N/$Na^+$では 0.455 から 0.144～0.442 へ、D-P/$Na^+$では 0.0333 から 0.00029～0.041 へ、DOC/$Na^+$では 0.922 から 0.053～0.837 へそれぞれ低下しており、流出過程において、この地域の基底的水質と考えられる低い $K^+/Na^+$値の水による希釈に加えて、$Na^+$よりも溶解性栄養塩類が流出しにくい機構が介在していると考えられる。この機構としては、生活系汚濁負荷に対する単独浄化槽や合併処理浄化槽などの人為的な処理や、土壌への吸着や生物などへ摂取が考えられ、結果として晴天時には $Na^+$に比べて栄養塩類の流出が抑制されていると考えられる。

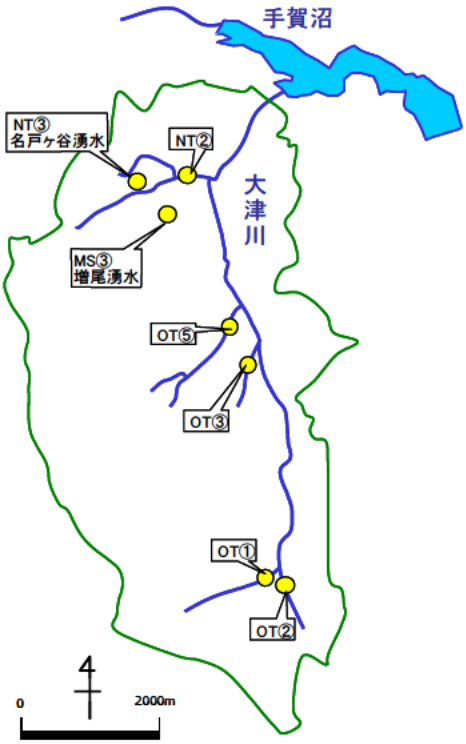



図-1 大津川支流採水地点

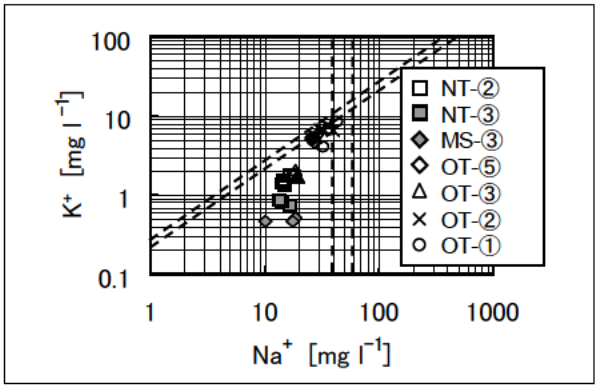



図-2 ナトリウムイオン濃度と
カリウムイオン濃度の関係

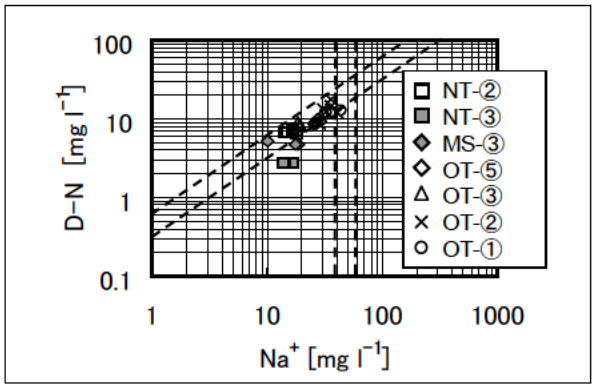



図-3 ナトリウムイオン濃度と
溶解性窒素濃度の関係

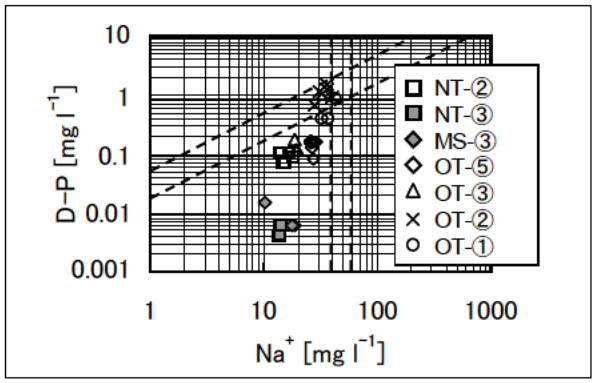



図-4 ナトリウムイオン濃度と
溶解性リン濃度の関係

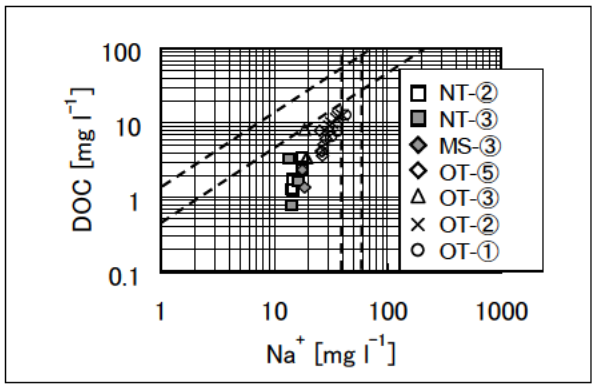



図-5 ナトリウムイオン濃度と
溶解性有機炭素濃度の関係

### 2.1.2　生活系汚濁の割合が小さい流域からの流出河川における晴天時水質の調査

流域における汚濁発生量総量に占める生活系汚濁の割合が小さいと考えられる農村地帯の利根川水系北浦流入河川を対象に、トレーサー物質（$Na^+$）及び溶解性栄養塩類（$K^+$、$NH_4^+$-N、$NO_2^-$-N、$NO_3^-$-N、D-$PO_4^{3-}$-P）の実態調査を実施した。採水は図-6 に示す 6 箇所で、平成 19 年 11 月～平成 20 年 2 月の間、各箇所 3 回晴天時の日中に実施した。結果を図-7～10 に示す。図中には比較のため、平成 18 年度調査で得られた流入下水中の $Na^+$濃度と各対象物質濃度/ $Na^+$濃度の 95%信頼区間を示す。

観測された $Na^+$濃度は 13.15～28.35mg $l^{-1}$ の範囲で、生活排水中の濃度の平均値である 48.82mg $l^{-1}$ と比べて低かった。$K^+/Na^+$は、流入下水の平均値が 0.237 であるのに対して、鉾田川支流の St.-①地点では 0.511～0.559 の範囲であり、この流域には生活排水以外の $K^+/Na^+$の大きい排水が混入していると考えられる。D-$N/Na^+$に関して、流入下水の平均値が 0.455 であるのに対して、鉾田川支流の St.-③、⑥地点では 0.744～0.869 の範囲であり、この流域には生活排水以外の D-$N/Na^+$の大きい排水が混入していると考えられる。D-$P/Na^+$では 0.0333 から 0.00004～0.00838 へ、DOC/$Na^+$では 0.922 から 0.015～0.349 へそれぞれ低下していた。なお、St.-①、③、⑥の上流域には大規模な養豚場が存在しており、これらとの関連性が考えられる。

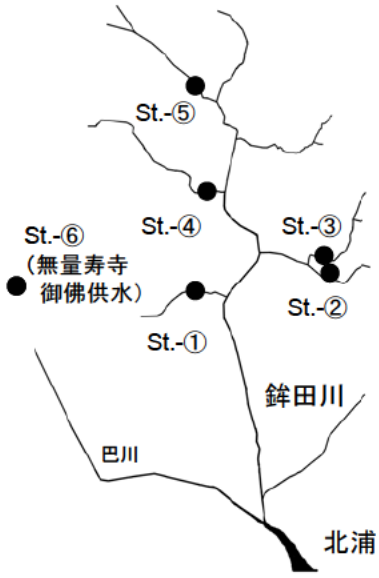



図-6 鉾田川支流採水箇所

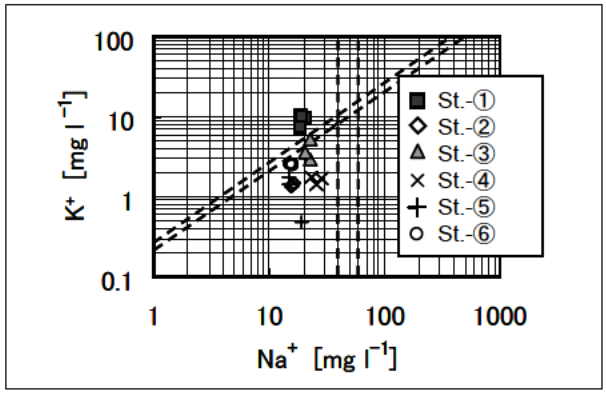



図-7 ナトリウムイオン濃度と
カリウムイオン濃度の関係

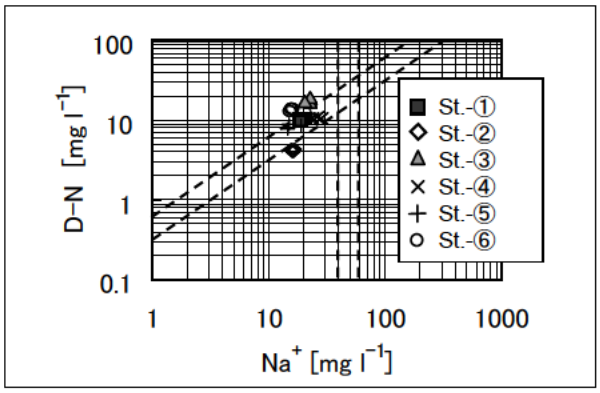



図-8 ナトリウムイオン濃度と
溶解性窒素濃度の関係

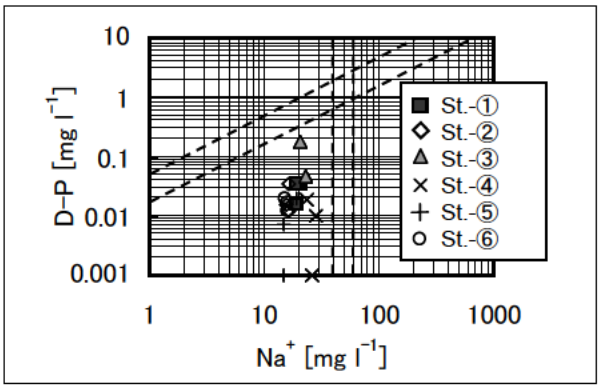



図-9 ナトリウムイオン濃度と
溶解性リン濃度の関係

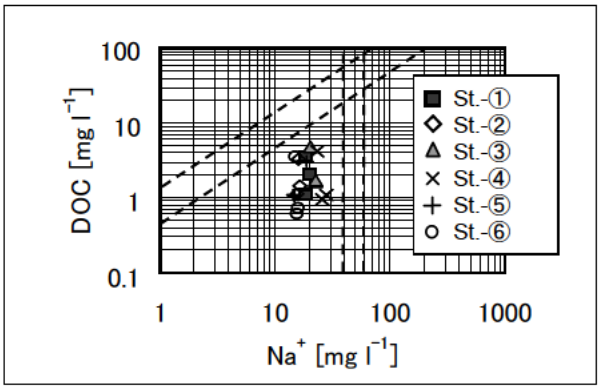



図-10 ナトリウムイオン濃度と
溶解性有機炭素濃度の関係

### 2.1.3. 畜産系汚濁の割合が大きい流域からの流出河川における晴天時水質の調査

畜産業が盛んで、流域における汚濁発生量総量に占める畜産系汚濁負荷の割合が大きいと考えられる群馬県赤城山西南麓の河川を対象に、トレーサー物質（$Na^+$）及び溶解性栄養塩類（$K^+$、$NH_4^+$-N、$NO_2^-$-N、$NO_3^-$-N、D-$PO_4^{3-}$-P）の実態調査を実施した。採水は図-11に示す46箇所で、平成20年1月～平成20年2月の間、各箇所2回晴天時の日中に実施した。結果を図-12～15に示す。図中には比較のため、平成18年度調査で得られた流入下水中の $Na^+$濃度と各対象物質濃度/$Na^+$濃度の95%信頼区間を示す。

観測された$Na^+$濃度は3.24～74.75mg $l^{-1}$の範囲で、生活排水中の濃度の平均値である48.82mg $l^{-1}$と比べて高い場所も見られ、生活排水よりも$Na^+$濃度が大きい排水が混入していると考えられる。$K^+/Na^+$は、流入下水の平均値が0.237であるのに対して、赤城山西南麓では、0.053～2.08の範囲であり、この流域には生活排水以外の$K^+/Na^+$の大きい排水が混入している場所もあると考えられる。D-N/$Na^+$に関しも、流入下水の平均値が0.455であるのに対して、0.0275～1.334、D-P/$Na^+$でも0.0333から0.00031～0.127へ、それぞれ流入下水の平均値に比べて大きい場所も散見された。特に、これらの場所は、畜産業が盛んな標高300m以下の場所に集中しており、関連性が考えられる。DOC/$Na^+$では、最も高い地点1箇所を除くと、0.922から0.015～0.456へ低下していた。有機性汚濁については、ある程度の除去がなされていると考えられる。

### 2.2. トレーサー濃度比と畜産系、生活系の排水の混入の実態の関係

鉾田川支流域のSt,-③と赤城山西南麓の標高150～500m付近の畜産が盛んな地域（畜産地域）の調査結果では、生活排水が主に混入している大津川支流域（市街地）と比較して、$K^+/Na^+$が大きい河川が散見された。水質チームが実施したある養豚場の排水の水質分析結果では、$K^+$ 199.5mg/L、$Na^+$ 155.1mg/L、$K^+/Na^+$=1.29の大きい数値が得られており、畜産系排水の混入の結果、河川水の$K^+/Na^+$が大きくなる可能性があると推定される。

図-16、17では、$K^+/Na^+$値と栄養塩類濃度の関係について整理した。人間活動の少ない赤城山麓の標高500m付近の河川水を畜産地域の基底流（$K^+/Na^+$＝0.124～0.338）と考えると、$K^+/Na^+$値の上昇とともに、D-N、D-P濃度も上昇する傾向が見られた。これは、

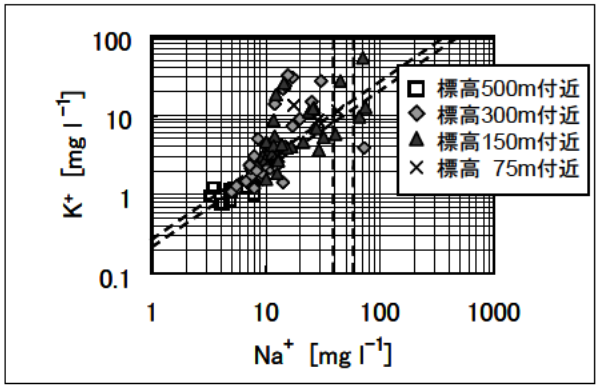



図-12 ナトリウムイオン濃度と
カリウムイオン濃度の関係

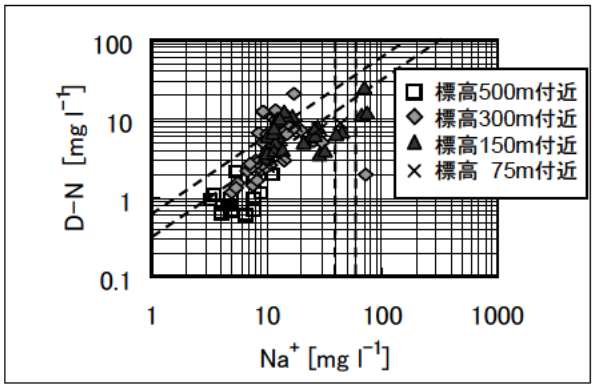



図-13 ナトリウムイオン濃度と
溶解性窒素濃度の関係

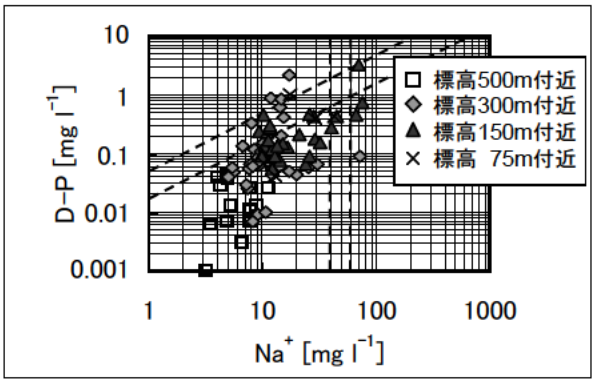



図-14 ナトリウムイオン濃度と
溶解性リン濃度の関係

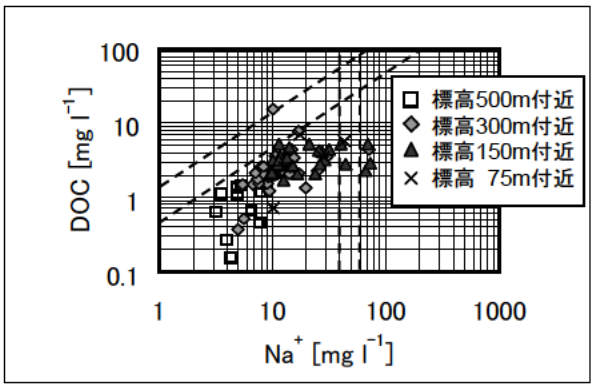
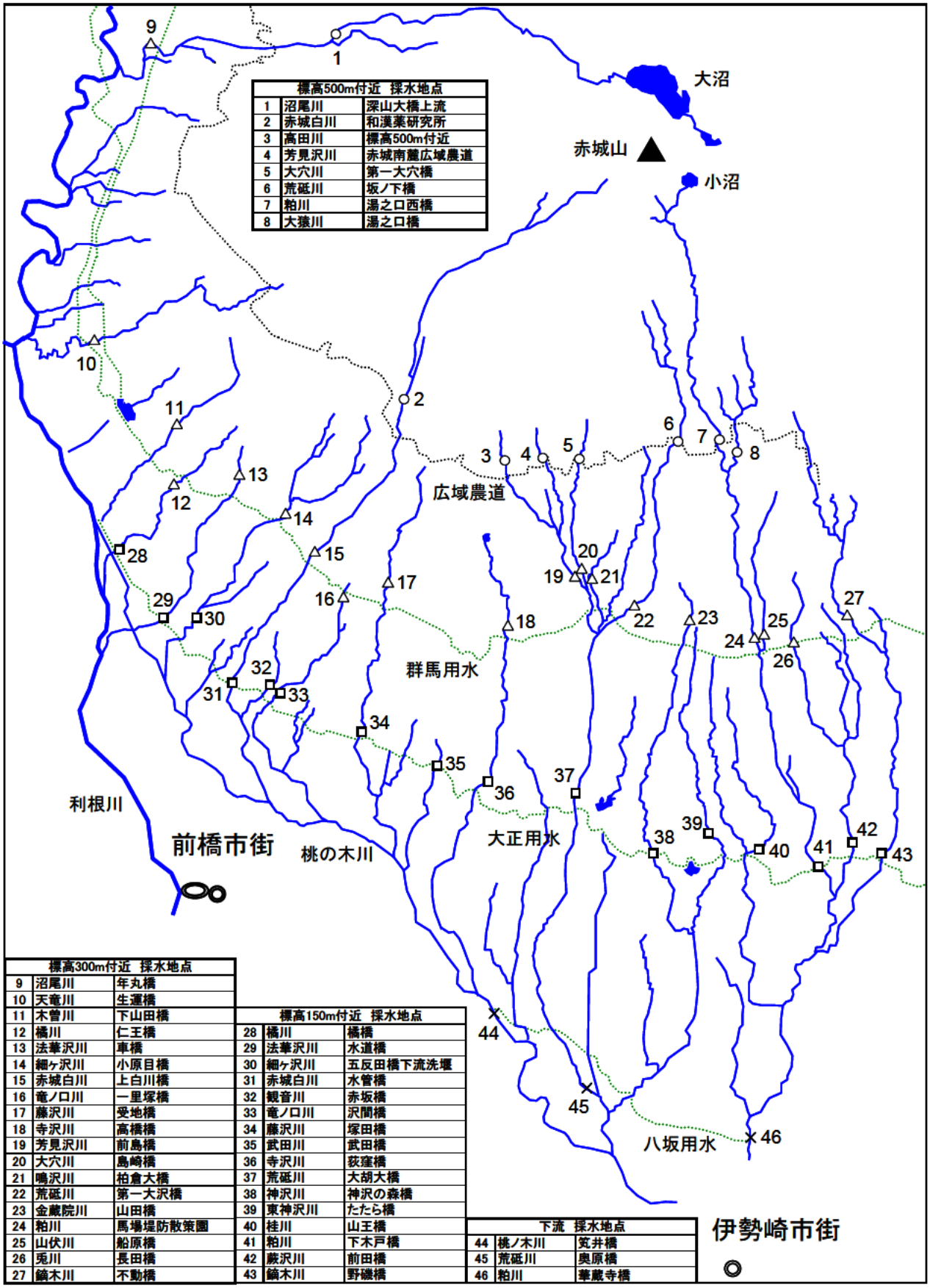



図-15 ナトリウムイオン濃度と
溶解性有機炭素濃度の関係




| 標高500m付近 採水地点 | | |
|---|---|---|
| 1 | 沼尾川 | 深山大橋上流 |
| 2 | 赤城白川 | 和漢薬研究所 |
| 3 | 高田川 | 標高500m付近 |
| 4 | 芳見沢川 | 赤城南麓広域農道 |
| 5 | 大穴川 | 第一大穴橋 |
| 6 | 荒砥川 | 坂ノ下橋 |
| 7 | 粕川 | 湯之口西橋 |
| 8 | 大猿川 | 湯之口橋 |

| 標高300m付近 採水地点 | | |
|---|---|---|
| 9 | 沼尾川 | 年丸橋 |
| 10 | 天竜川 | 生運橋 |
| 11 | 木曽川 | 下山田橋 |
| 12 | 橋川 | 仁王橋 |
| 13 | 法華沢川 | 車橋 |
| 14 | 細ヶ沢川 | 小原目橋 |
| 15 | 赤城白川 | 上白川橋 |
| 16 | 竜ノ口川 | 一里塚橋 |
| 17 | 藤沢川 | 受地橋 |
| 18 | 寺沢川 | 高橋橋 |
| 19 | 芳見沢川 | 前島橋 |
| 20 | 大穴川 | 島崎橋 |
| 21 | 鳴沢川 | 柏倉大橋 |
| 22 | 荒砥川 | 第一大沢橋 |
| 23 | 金蔵院川 | 山田橋 |
| 24 | 粕川 | 馬場堤防散策園 |
| 25 | 山伏川 | 船原橋 |
| 26 | 兎川 | 長田橋 |
| 27 | 鏑木川 | 不動橋 |

| 標高150m付近 採水地点 | | |
|---|---|---|
| 28 | 橋川 | 橋橋 |
| 29 | 法華沢川 | 水道橋 |
| 30 | 細ヶ沢川 | 五反田橋下流洗堰 |
| 31 | 赤城白川 | 水管橋 |
| 32 | 観音川 | 赤坂橋 |
| 33 | 竜ノ口川 | 沢間橋 |
| 34 | 藤沢川 | 塚田橋 |
| 35 | 武田川 | 武田橋 |
| 36 | 寺沢川 | 荻窪橋 |
| 37 | 荒砥川 | 大胡大橋 |
| 38 | 神沢川 | 神沢の森橋 |
| 39 | 東神沢川 | たたら橋 |
| 40 | 桂川 | 山王橋 |
| 41 | 粕川 | 下木戸橋 |
| 42 | 蕨沢川 | 前田橋 |
| 43 | 鏑木川 | 野磯橋 |

| 下流 採水地点 | | |
|---|---|---|
| 44 | 桃ノ木川 | 笂井橋 |
| 45 | 荒砥川 | 奥原橋 |
| 46 | 粕川 | 華蔵寺橋 |

. 図-11　赤城山西南麓採水箇所

畜産排水の混入の結果、$K^+/Na^+$値、栄養塩類濃度が大きくなると考えられる。大津川支流域では、湧水を市街地域の基底流（$K^+/Na^+$＝0.027～0.064）と考えると、$K^+/Na^+$値の上昇とともに、D-N、D-P 濃度も上昇する傾向が見られた。これは、生活排水の混入の結果、$K^+/Na^+$値、栄養塩類濃度が大きくなると考えられる。

一方、ある一定の栄養塩類濃度から、$K^+/Na^+$値を見ると、畜産排水由来の栄養塩類を多く含む河川水の場合には$K^+/Na^+$値が大きく、生活排水由来の栄養塩類を多く含む河川水の場合には $K^+/Na^+$値が小さくなると考えられる。以上より、ある場所における栄養塩類濃度を構成する畜産排水、生活排水の混入割合について考察するマーカーとして $K^+/Na^+$値が有効であると考えられる。

### 2.3. 生活系の排水のマーカーとしての生理活性物質

最近、我が国においても医薬品、PPCPs 等の生理活性物質の環境汚染に関する調査・研究が数多く見られるようになってきた。これらの報告によると、医薬品等 PPCPs は親水性でかつ分解性に特徴があり、自然界には存在しないため、マーカーとしても有効であることが示されている。

特にかゆみ止め成分であるクロタミトンは、下水処理過程でほとんど除去されず [1]、環境中でも安定であると言われているため、生活排水由来の水のマーカーとなりうると考えられる。また、カフェインは、下水処理過程でほぼ 100%除去され [2]、かつ河川水中にも検出されることから、未処理生活排水のマーカーとして使用できるものと考えられる。

本調査では、既述の大津川支流域、鉾田川支流域において、GC/MS により両医薬品の分析を行い、金属イオンとの関係について検討した。

#### 2.3.1. 調査方法

図-1 に示す手賀沼流入河川の大津川の支川（水路）のうち、NT-②、OT-⑤、OT-①、OT-②の地点、および図-6 に示す北浦流入河川の鉾田川の支川（水路）のうち、St.-①～⑤において、各地点 1 回ずつ、非潅漑期の晴天時に調査を実施した。

#### 2.3.2. 分析方法

これら調査対象医薬品の分析（前処理・測定条件等）は、宝輪ら [3]の方法に準じた。

#### 2.3.3. 調査結果

カフェイン、クロタミトンの 2 物質は、すべての地点、または、1 箇所を除くすべての地点で検出された。検出された濃度と、各地点で観測された非潅漑期の

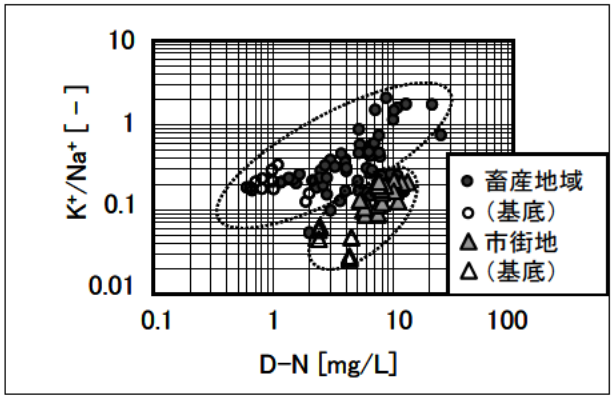



図-16　カリウム/ナトリウム濃度比と
溶解性窒素濃度の関係

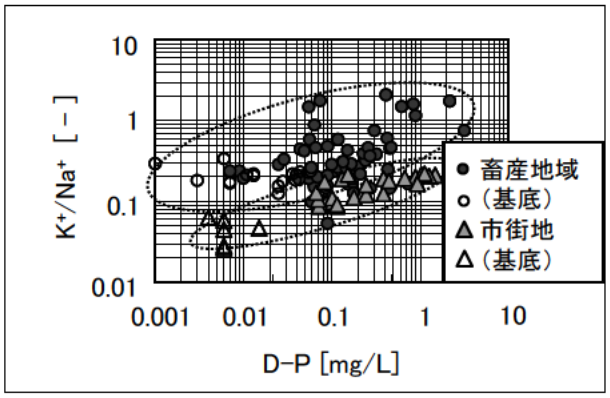



図-17　カリウム/ナトリウム濃度比と
溶解性りん濃度の関係

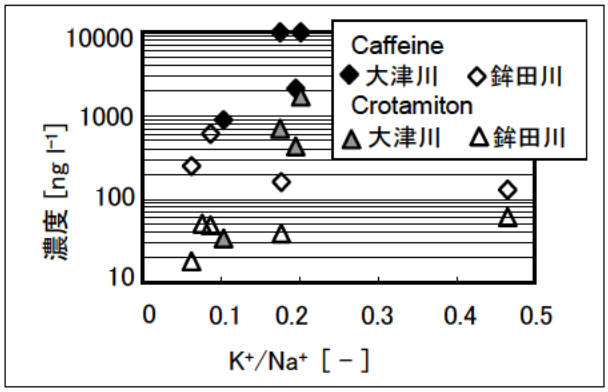



図-18　カリウム/ナトリウムイオン濃度比と
生理活性物質濃度の関係

$K^+/Na^+$ の平均値とを比較すると（図-18）、大津川流域では$K^+/Na^+$値が大きくなる（生活排水の混入割合が大きくなる）と検出濃度も大きくなった。一方、鉾田川流域では、大津川流域の同程度の $K^+/Na^+$値の場所と比較すると、検出濃度はかなり低く、生活排水の混入割合が小さいことが反映されている可能性が考えられる。今後も、知見を集積し、生活排水のマーカーとしての適性を判断していく予定である。

## 2.4 雨天時流出特性の把握

流域で発生する汚濁負荷が水域へ到達する機構を考察するための基礎情報収集を目的として、流域における点源と面源の割合が異なる複数の流域を対象として、雨天時水質の実態を調査した。平成 19 年度は対象流域として、利根川水系北浦流入河川の鉾田川を選定し、雨天時時のトレーサー物質（$Na^+$）及び溶解性栄養塩類（$K^+$、$NH_4^+$-N、$NO_2^-$-N、$NO_3^-$-N、D-$PO_4^{3-}$-P）の実態調査を実施した。採水は図-6 に示す St.-①～⑤の 5 箇所で、平成 19 年 9 月 6 日～7 日の間、各箇所 7 回ずつ採水を実施した。なお、採水時には、採水地点の流量を合わせて測定した。また、採水時の対象流域における降雨量は、国土交通省防災情報提供センターで公開されている水資源機構利根川下流総合管理所鉾田出張所内（茨城県鉾田市鉾田 1066)での雨量観測結果を用いた。

図-19 に降雨量の時間変化を示す。降雨開始より 3 時間前を 0 時間の基準と設定した。降雨開始後 3～4 時間目には時間あたり 21mm の強い雨を記録した。図-20 に各採水地点での流量の時間変化を示す。各地点の集水域の形状が類似していることから、ほぼ同様の流出の状況が観測された。

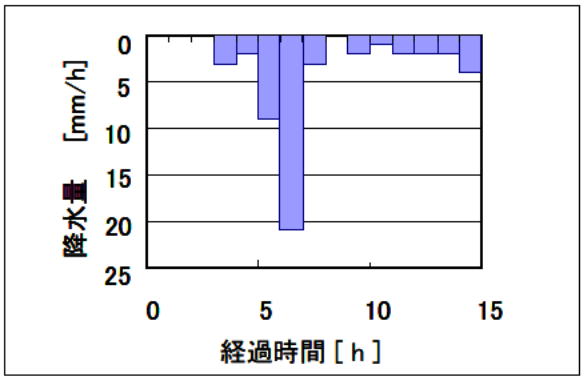



図-19 降雨量の時間変化

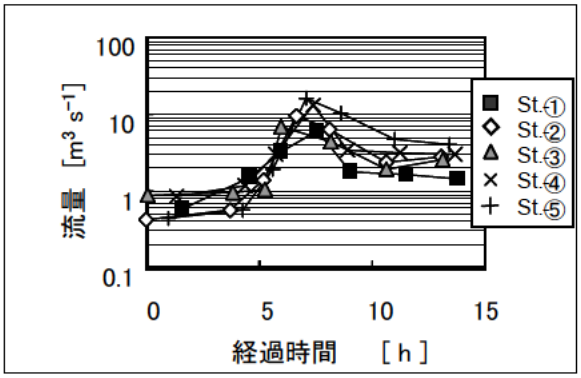



図-20 流量の時間変化

図-21 に流量とナトリウムイオン負荷量の関係を示す。St.-③、⑤で他と比べてやや大きな負荷量が見られたが、各地点とも大きな差は見られなかった。図-22 に流量とカリウムイオン負荷量の関係を示す。晴天時においても高い $K^+/Na^+$が観測された St.-①と、St.-③において、他の地点に比べて大きな $K^+$負荷量が観測された。図-23 に $K^+/Na^+$の時間変化を示す。St.-①、③では他の地点に比べて $K^+/Na^+$の値も大きく、この流域には生活排水以外の $K^+/Na^+$の大きい排水が混入していると考えられる。しかし、非出水時から出水時にかけての $K^+/Na^+$値の変化は、両者で大きく異なっており（St.-①では同程度、St.-③では大きく上昇）、汚濁

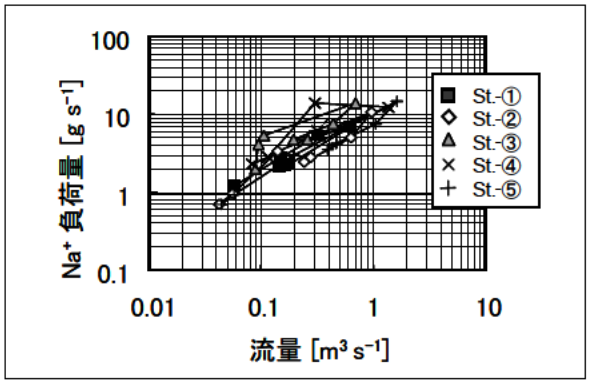



図-21 流量とナトリウムイオン負荷量の関係

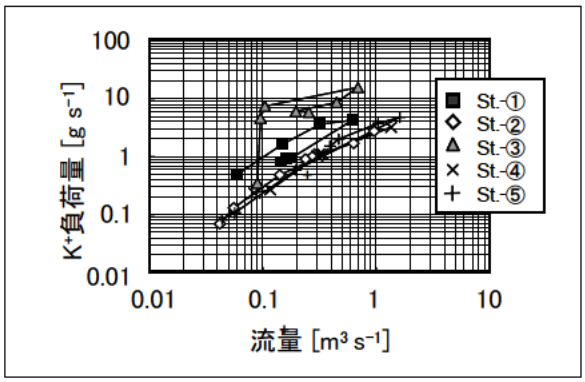



図-22 流量とカリウムイオン負荷量の関係

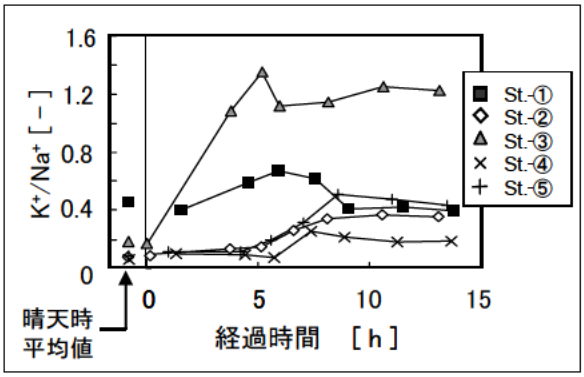



図-23 カリウム/ナトリウムイオン濃度比の時間変化

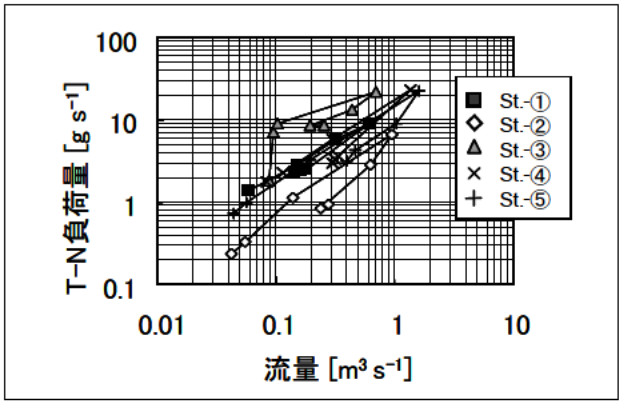



図-24　流量と全窒素負荷量の関係

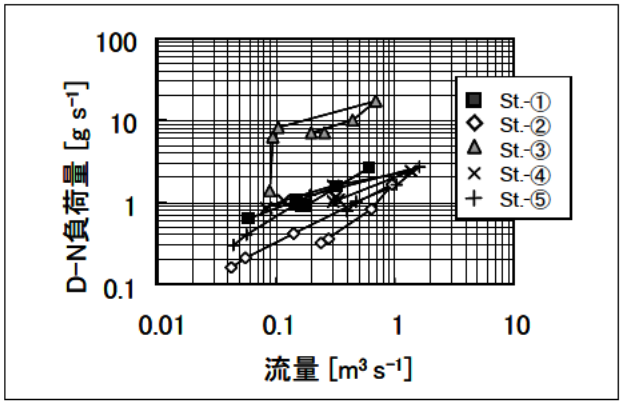



図-27　流量と溶解性窒素負荷量の関係

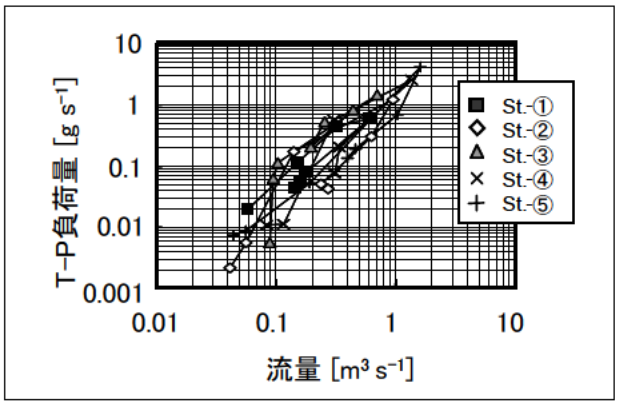



図-25　流量と全りん負荷量の関係

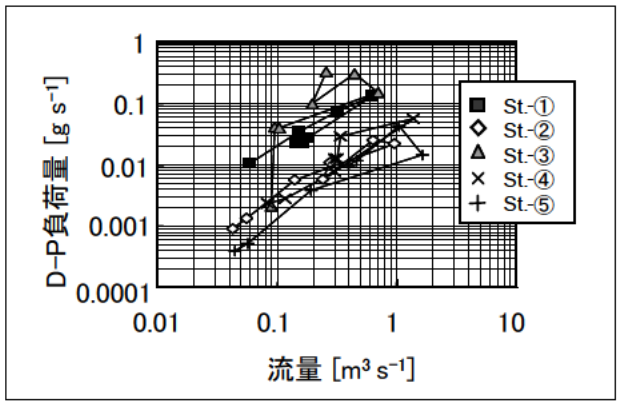



図-28　流量と溶解性りん負荷量の関係

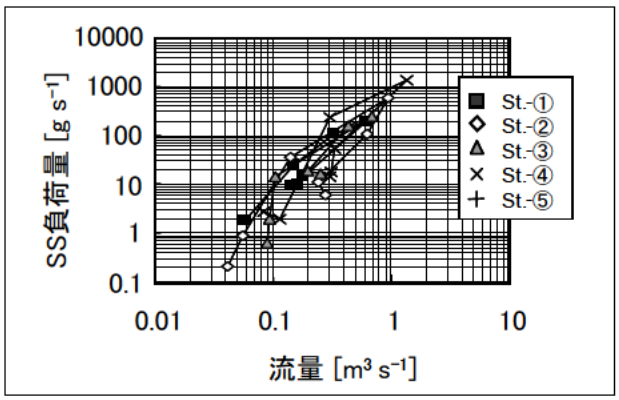



図-26　流量と浮遊物質負荷量の関係

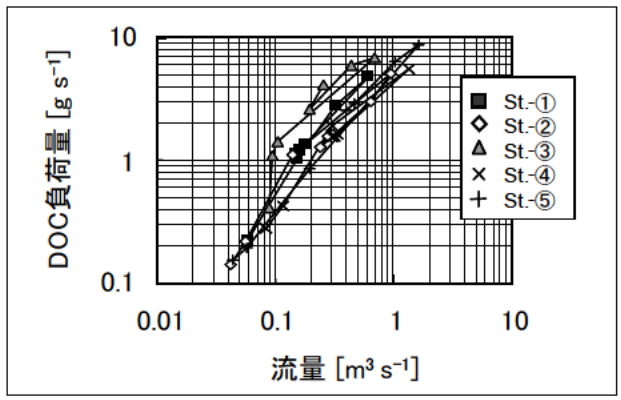



図-29　流量と溶解性有機炭素負荷量の関係

源の形態に何らかの差異がある可能性がある。既述のとおり、St.-①、③の上流域には大規模な養豚場が存在しており、これらとの関連性が考えられる。

雨天時調査で得られた各栄養塩類、有機汚濁指標負荷量と流量の関係を図-24～29 に示す。D-N については St.-③で、D-P については St.①、③で他の地点に比べて大きな傾向が見られた。

図-30～41 に、トレーサー物質（$Na^+$、$K^+$）の負荷量と各栄養塩類、有機汚濁指標負荷量の関係を示す。

今後も、雨天時調査を充実し、流出負荷量と流量の関係を把握していく予定である。

## 3. まとめ

流域で発生する栄養塩類の閉鎖性水域へ流出機構を明らかにするために、平成 19 年度は生活系の汚濁物質発生特性（トレーサー物質及び溶解性栄養塩類の実態）の解明を行った。流域で発生する汚濁負荷が水域へ到達する機構を考察するための基礎情報収集を目的として、流域における点源と面源の割合が異なる①利根川水系手賀沼流入河川の大津川の支流域、②利根川

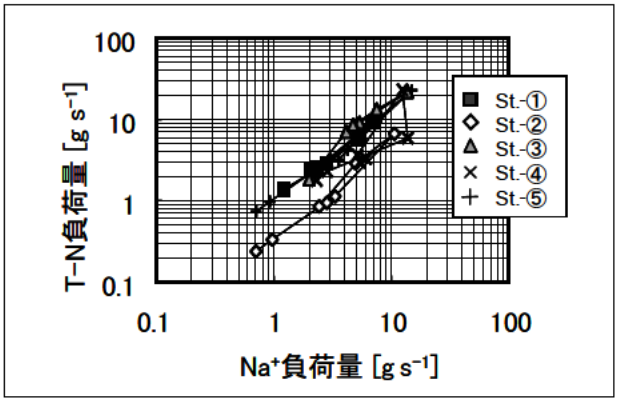



図-30　ナトリウムイオン負荷量と
全窒素負荷量の関係

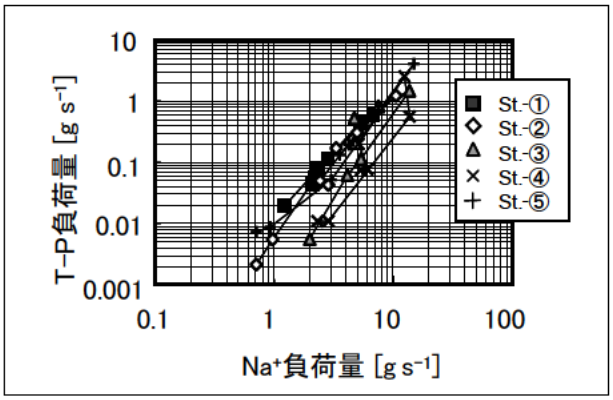



図-31　ナトリウムイオン負荷量と
全りん負荷量の関係

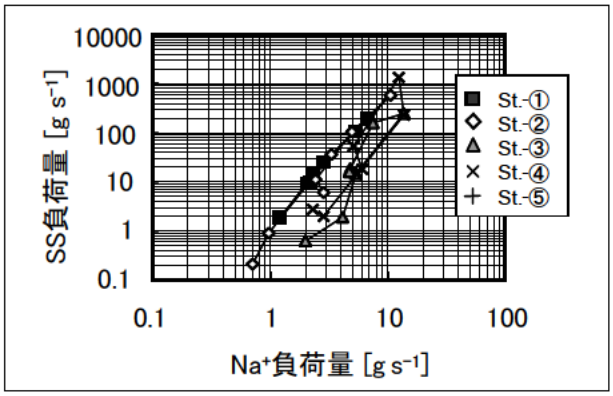



図-32　ナトリウムイオン負荷量と
浮遊物質負荷量の関係

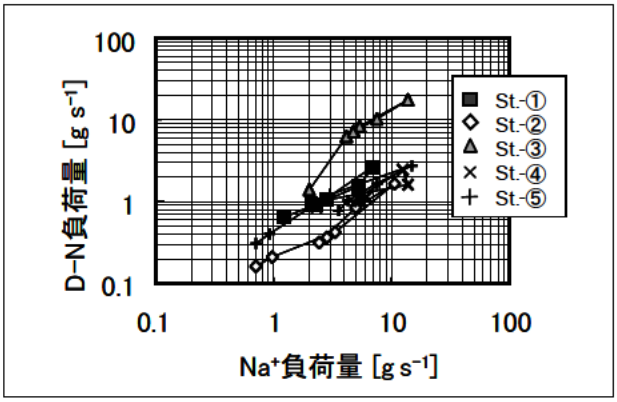



図-33　ナトリウムイオン負荷量と
溶解性窒素負荷量の関係

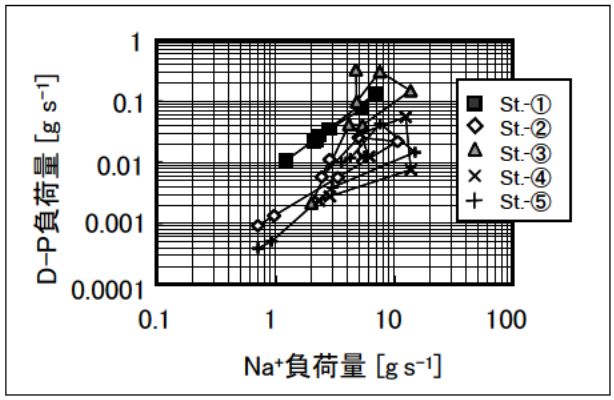



図-34　ナトリウムイオン負荷量と
溶解性りん負荷量の関係

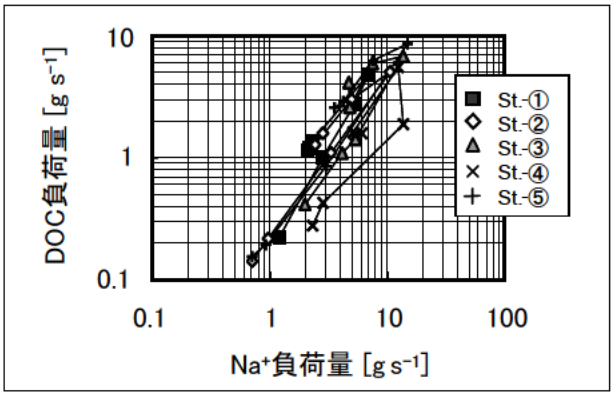



図-35　ナトリウムイオン負荷量と
溶解性有機炭素負荷量の関係

水系北浦流入河川の鉾田川支流域、③群馬県赤城山西南麓の河川を選定し、晴天時のトレーサー物質及び溶解性栄養塩類の実態を調査した。

その結果、ある場所における栄養塩類濃度を構成する畜産排水、生活排水の混入割合について考察するマーカーとして $K^+/Na^+$ 値が有効であると考えられた。

また、カフェイン、クロタミトンが生活排水混入のマーカーとして活用できる可能性が示された。

さらに、②利根川水系北浦流入河川の鉾田川支流域、においては、雨天時のトレーサー物質、栄養塩類、有機汚濁指標の流出特性についても調査を行い、トレーサー物質と溶解性栄養塩類の流出特性に濃度比の整理から、畜産系の点源の存在を推定することが可能であった。

今後は、特徴的な流域において、各種発生源の汚濁物質発生特性の把握、土地利用情報収集、懸濁成分の分析、雨天時流出実態調査の充実等の詳細な検討を行い、汚濁発生源から水域への栄養塩類の流出機構の解明を行う予定である。

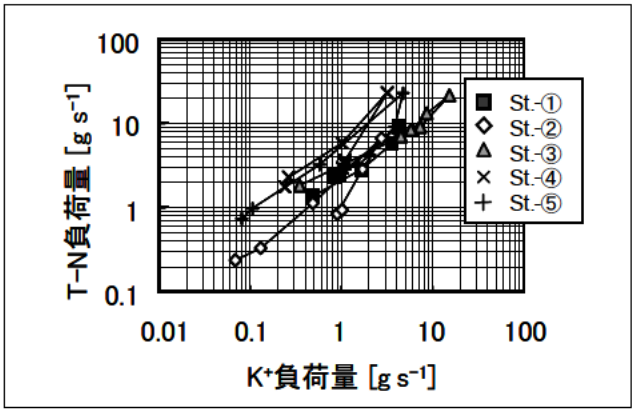



図-36　カリウムイオン負荷量と
全窒素負荷量の関係

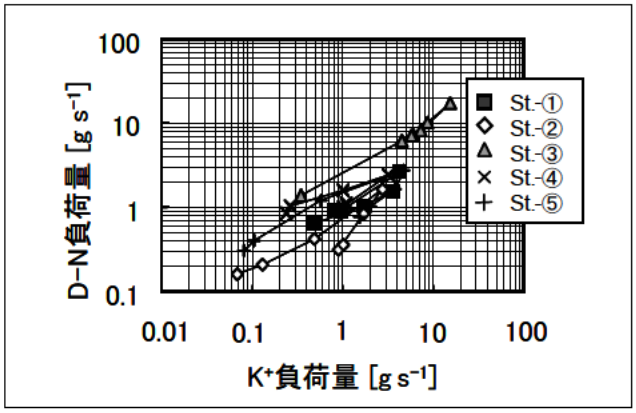



図-39　カリウムイオン負荷量と
溶解性窒素負荷量の関係

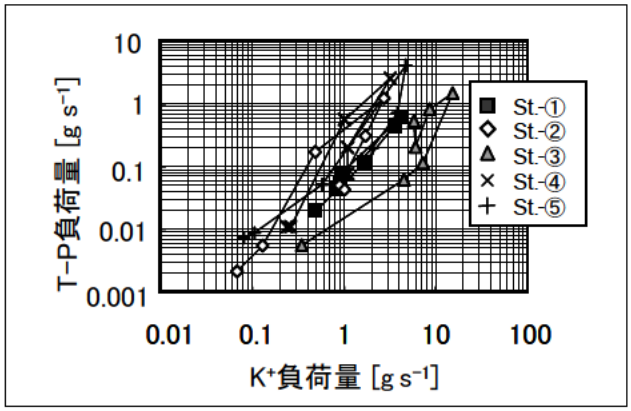



図-37　カリウムイオン負荷量と
全りん負荷量の関係

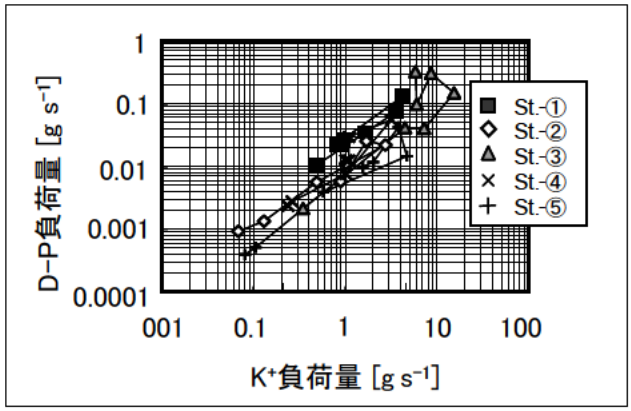



図-40　カリウムイオン負荷量と
溶解性りん負荷量の関係

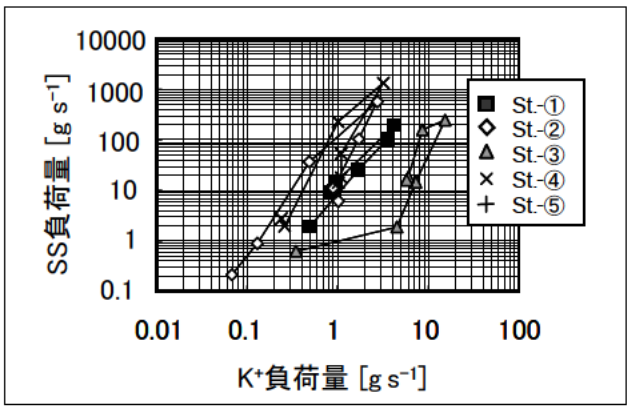



図-38　カリウムイオン負荷量と
浮遊物質負荷量の関係

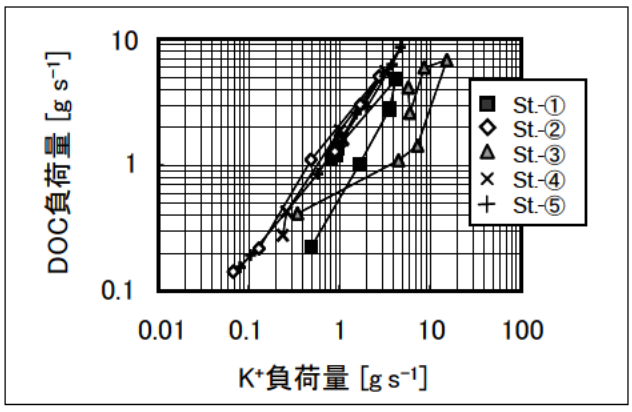



図-41　カリウムイオン負荷量と
溶解性有機炭素負荷量の関係

**参考文献:**


1) 平成 18 年度下水道関係調査研究年次報告書集、21-28、2007

2) N. Nakada, et al., Occurrence of 70 Pharmaceutical and Personal Care Products in Tone River Basin in Japan, *Water Science and Technology*, 2007, **56**(12), 133-140

3) 宝輪他，GC-MS による環境中の PPCP s 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，p.774-775（2007）

# 難分解性溶存有機物の由来と水域挙動に関する研究

研究予算：運営費交付金（一般勘定）
研究期間：平 17～平 19
担当チーム：水環境研究グループ（水質）
研究担当者：鈴木穣，北村友一，日下部武敏

【要旨】
湖水に蓄積する難分解性溶存有機物の由来や湖内での挙動を解明するためには、溶存有機物を分類、測定する必要がある。そこで、霞ヶ浦流域を主な調査対象とし、霞ヶ浦湖水、河川水、底泥間隙水、下水放流水を試験水とし、三次元励起蛍光スペクトル(3D-EEMs)により溶存有機物の性状を把握した。その結果、霞ヶ浦湖水と流入河川水の 3D-EEMs は類似しており、霞ヶ浦は、河川の水質に影響を受けていると考えられた。溶存有機性炭素(DOC)は、霞ヶ浦内で高くなる傾向を示し、内部生産の影響も大きいことがわかった。3D-EEMs 上にも、霞ヶ浦内で高くなるピークがあり、このピーク物質は内部生産に由来しているものと考えられた。下水放流水は霞ヶ浦湖水と異なる 3D-EEMs を示したが、200 日程度、明条件で保存すると河川水や霞ヶ浦湖水と類似することがわかった。

キーワード：難分解性有機物、溶存有機性炭素、三次元励起蛍光スペクトル、霞ヶ浦、下水放流水

## 1. はじめに

流域から湖沼への汚濁負荷は下水道整備などの発生源対策により減少傾向にあるものの、湖沼中の有機物濃度は横ばいあるいは増加傾向が観察されている。図-1 のとおり霞ヶ浦においても、COD 値は環境基準を大きく上回り、横ばい傾向が続いている。

湖水中に蓄積される溶存有機物は、フミン物質などと考えられているものの、精密な定性分析は行われておらず、その発生源についても不明である。また、湖水は水道水源として利用されているところも多く、湖水中の難分解性溶存有機物が水道水を介してヒトの健康に影響を及ぼすことも懸念される。

本研究では、湖沼に流入する河川水や下水放流水などに含まれる溶存有機物の質的・量的な特性を簡易に把握する手法を確立し、湖沼に蓄積する溶存有機物の発生源についての知見を得、発生源から湖沼への到達過程および湖沼内での挙動を明らかにすることを目的とする。

難分解性溶存有機物の発生源や由来を調査するためには、難分解性溶存有機物を定性しこれを測定する必要がある。しかし、難分解性溶存有機物の簡易な定性定量分析法は確立されていない。そこで、本研究では、はじめに、水中の難分解性溶存有機物の簡易分析法の検討を行い、その後、本法を利用し霞ヶ浦流域の水質調査を行い、溶存有機物の性状や発生源に迫ることとした。

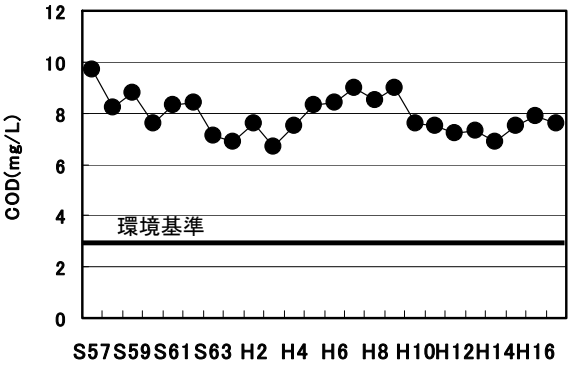



**図-1 霞ヶ浦の COD の経年変化[1)]**

## 2. 調査方法

### 2.1 三次元励起蛍光スペクトル測定による溶存有機物の特性把握

水中の溶存有機物の簡易分析には、三次元蛍光分光光度計による三次元励起・蛍光スペクトル(three dimensions excitation-emission matrix spectroscopy : 3D-EEMs)測定を適用することとした。三次元励起・蛍光スペクトルは、励起波長、蛍光波長を変化させながら蛍光強度を測定し、横軸を蛍光波長、縦軸を励起波長とするグラフに蛍光強度を等高線として表示するものであり、三次元スペクトルの形状やピーク位置から、簡易に水中の溶存有機物の定性と定量が可能と考えられる[2)]。そこで、霞ヶ浦流域を調査対象とし、霞ヶ浦湖水、流入河川水、底泥間隙水および下水放流水の

3D-EEMs を測定し、どのような 3D-EEMs が得られ、水中の溶存有機物の定性が可能かどうかや、その季節変動の有無、河川上流から下流の間での 3D-EEMs の変化、さらに、3D-EEMs から下水放流水が霞ヶ浦水質に与える影響を調査した。

### 2.2 霞ヶ浦流域の調査地点

霞ヶ浦流入河川水、湖水、底泥間隙水および下水放流水の採水位置は、図-13のとおりであり、採水時期は、平成17年10～11月の晴天時、平成18年8月、11月、平成19年2月、5月、平成19年9月の出水時と10月の晴天時である。なお、平成18、19年の調査は西浦のみである。

河川の上流から下流の調査は、霞ヶ浦流入河川の中で流量が最も大きい桜川を調査対象とした。採水地点は図-14に示すとおりであり、採水時期は平成18年9月である。

### 2.3 下水放流水の3D-EEMsとその経日変化

下水放流水の霞ヶ浦内での挙動を解明するため、下水放流水の3D-EEMsの経日変化を調査した。調査は室内実験とし以下の方法で行った。GF/Fでろ過した下水放流水（図-13#5）500mlを、それぞれ2個の500mlの3三角フラスコに入れ、それぞれに湖水を１％添加した。2個の三角フラスコのうち一つは、光がフラスコ内に入らないようにアルミホイルで包み、2つの3角フラスコを、26℃の照明付きインキュベーター（明暗周期12時間）で約200日間保存した。保存後、約14日間隔で採水し3D-EEMsのみを測定した。

### 2.4 分析方法

水試料は、GF/Fグラスファイバーフィルターでろ過し、底泥間隙水は、底泥を3000rpmで20分間遠心分離し、その上澄水をGF/Fでろ過し、ろ液を蛍光分光光度計（日立製F-4500）で測定した。測定条件は、励起波長、蛍光波長とも200～600nmで、その間隔は5nmとした。蛍光強度は、10μg/Lの硫酸キニーネ水溶液の励起波長350nm、蛍光波長450nmの蛍光強度を1QSUとし、その相対値とした。なお、ブランクには、ミリQ水を用い、全ての測定結果から差し引いた。霞ヶ浦流調査では、一般的な水質分析項目（溶存性有機炭素:DOC、溶存性CODcr、溶解性窒素$NH_4$-N、$NO_{2+3}$-N、$PO_4$-P）の測定も行った。クロロフィルを反映する励起波長(Ex)460nm、蛍光波長（Em）680nmの蛍光強度の測定も行った。

## 3. 調査結果と考察

### 3.1 霞ヶ浦流域の調査結果

平成17年度の霞ヶ浦流入河川水、霞ヶ浦湖水、底泥間隙水および下水放流水の3D-EEMsを図-13に示す。霞ヶ浦流入河川水と霞ヶ浦湖水の3D-EEMsは、概ね類似したパターンを示したが、下水放流水と底泥間隙水は、異なった傾向を示した。河川水や霞ヶ浦湖水では、フルボ酸様物質のピークと考えられるEx230nm/Em425nmの蛍光強度が高いことがわかる。下水放流水では、Ex230nm/Em340nm, Ex230nm/Em425, Ex345nm/Em435nm, Ex500nm/Em525nmの位置で蛍光強度が高くなり、底泥間隙水では、Ex230nm/Em340nm の蛍光強度が高い値を示していた。なお、Ex500nm/Em525nmは下水放流水のみで観察された。

表-1 EEMs 上のピーク位置と起源[2)]

| | Ex/Em | 起源 |
|---|---|---|
| Peak1 | 230/300 | 蛋白質様(ﾁﾛｼﾝ) |
| Peak2 | 230/340 | 蛋白質様(ﾄﾘﾌﾟﾄﾌｧﾝ) |
| Peak3 | 230/425 | フルボ、フミン酸様 |
| Peak4 | 280/340 | 蛋白質様 |
| Peak5 | 320/425 | フルボ、フミン酸様 |
| Peak6 | 345/435 | フルボ、フミン酸様<br>蛍光増白剤様 |
| Peak7 | 500/525 | 下水様 |

3D-EEMs上でピークが現れた位置と、それぞれのピークを反映すると考えられている物質を表-1に示す。

各河川水、霞ヶ浦湖水、底泥間隙水、下水放流水のPeak1～7の蛍光強度値を用いてクラスター解析（ウォード法, Excel 統計 2004）した結果を図-2 に示す。霞ヶ浦湖水は、霞ヶ浦流入河川（新利根川を除く）水と概ね同じグループに分類された。霞ヶ浦の水質は、流入河川の水質に大きく影響されているものと考えられる。下水放流水は、流入河川水と霞ヶ浦湖水のグループと離れているが、下水放流水が湖内に放流された後、蛍光特性が変化している可能性もあり、下水放流水の

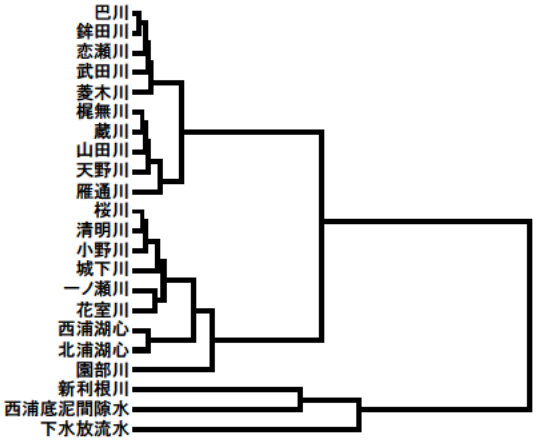



図-2 霞ヶ浦流入河川水、湖水、底泥間隙水、下水放流水のクラスター解析の結果

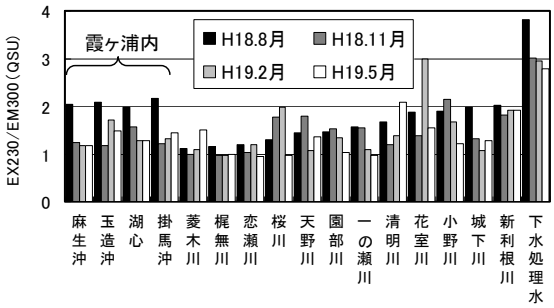



図-3　霞ヶ浦湖水と流入水の Peak1 の蛍光強度

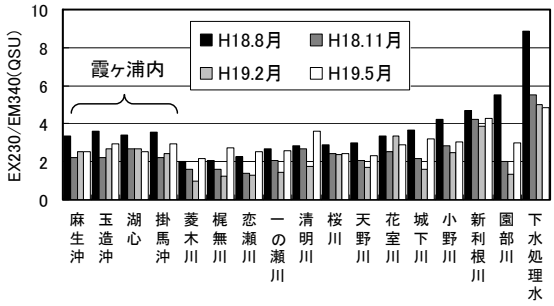



図-4　霞ヶ浦湖水と流入水の Peak2 の蛍光強度

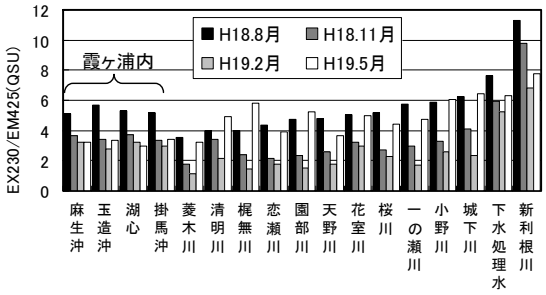



図-5　霞ヶ浦湖水と流入水の Peak3 の蛍光強度

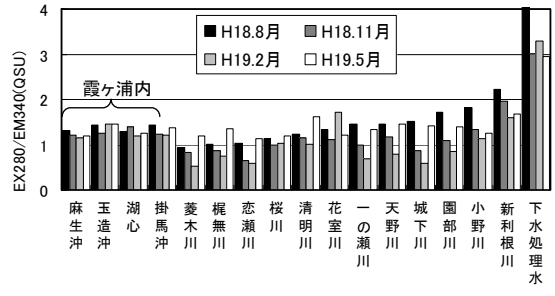



図-6　霞ヶ浦湖水と流入水の Peak4 の蛍光強度

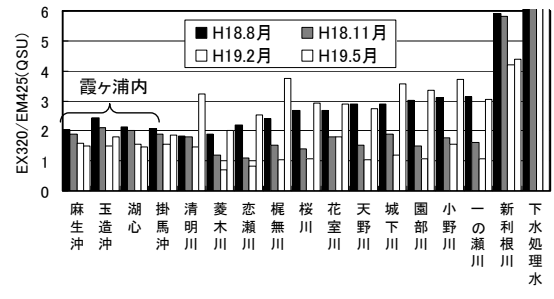



図-7　霞ヶ浦湖水と流入水の Peak5 の蛍光強度

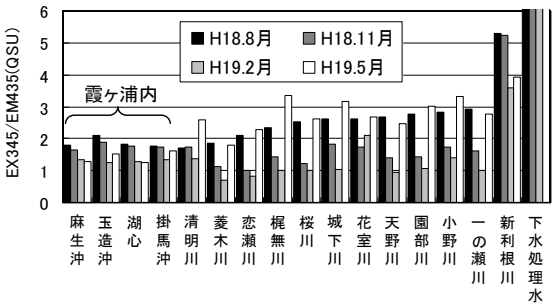



図-8　霞ヶ浦湖水と流入水の Peak6 の蛍光強度

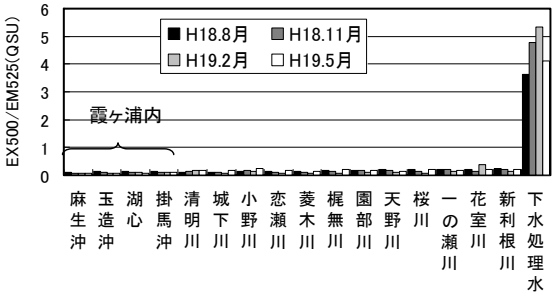



図-9　霞ヶ浦湖水と流入水の Peak7 の蛍光強度

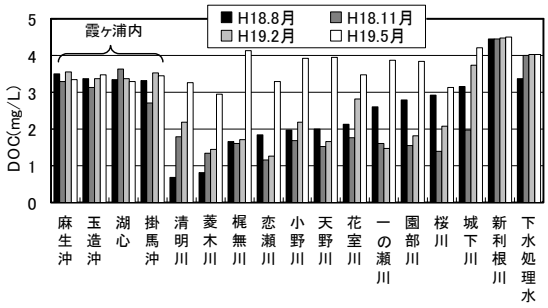



図-10　霞ヶ浦湖水と流入水の DOC 濃度

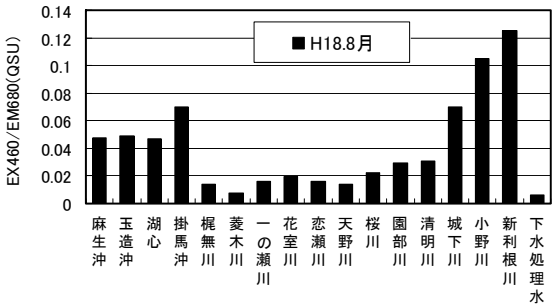



図-11 霞ヶ浦湖水と流入水のEx460/Em680の強度(ｸﾛﾛﾌｨﾙ)

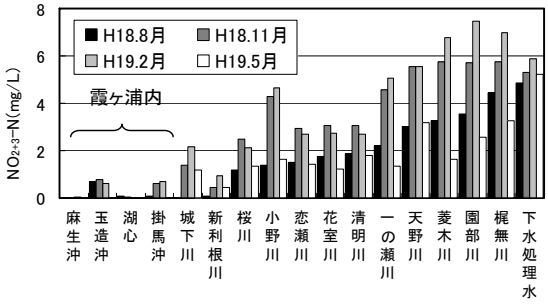



図-12　霞ヶ浦湖水と流入水の $NO_{2+3}$-N 濃度

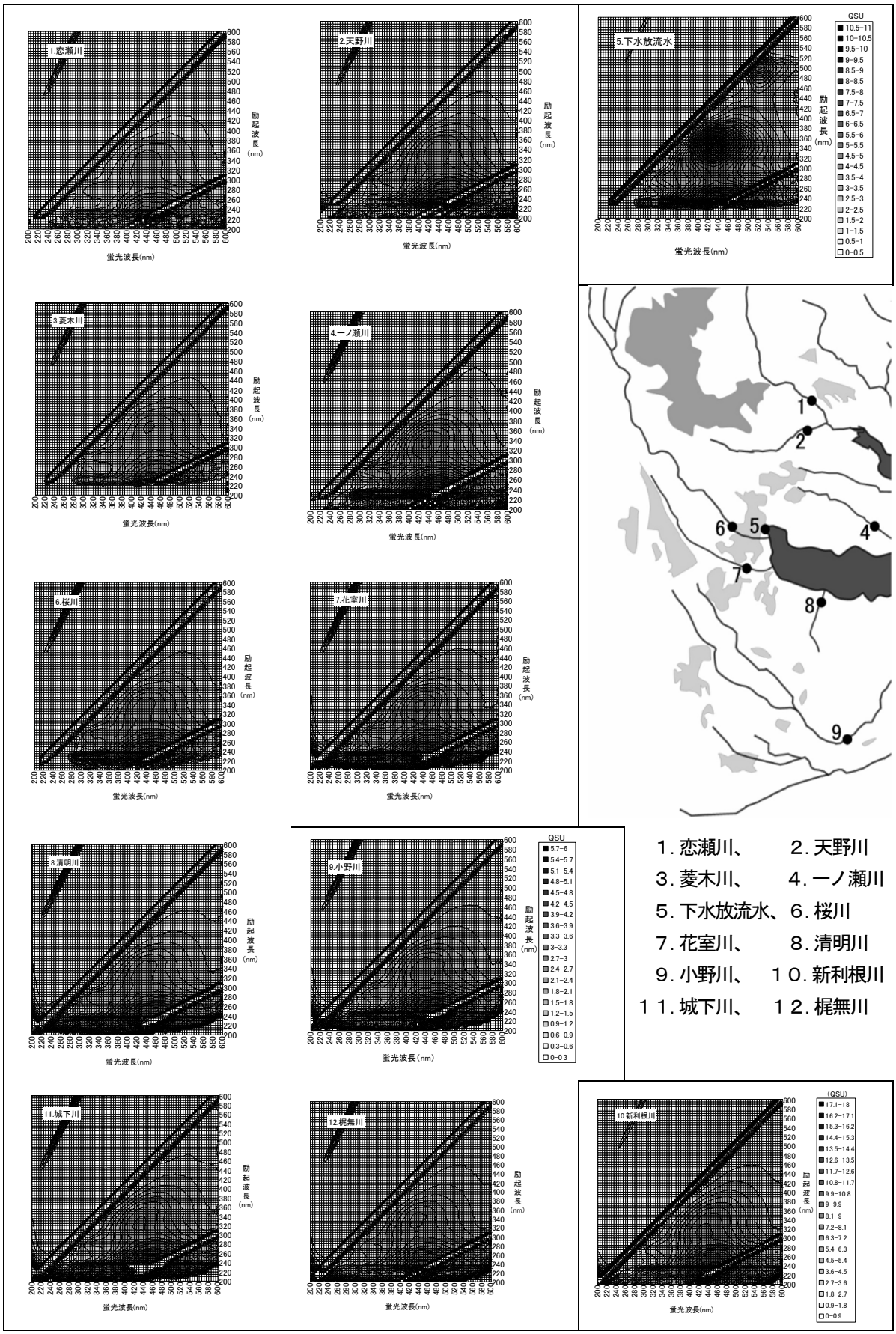
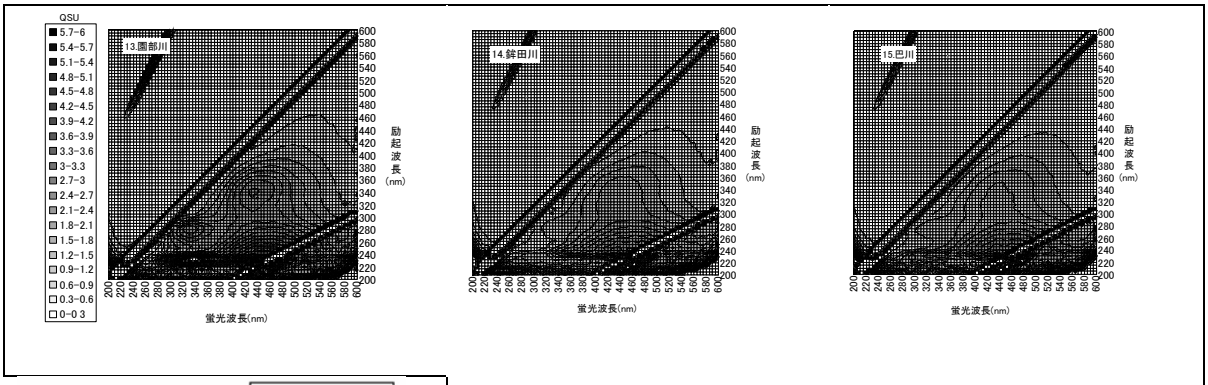
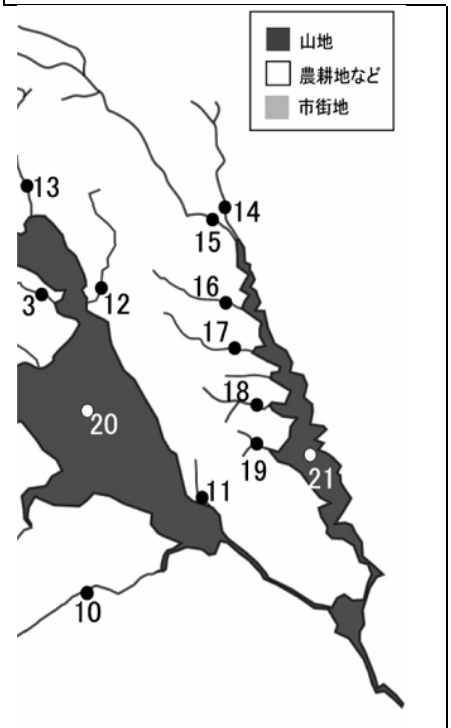
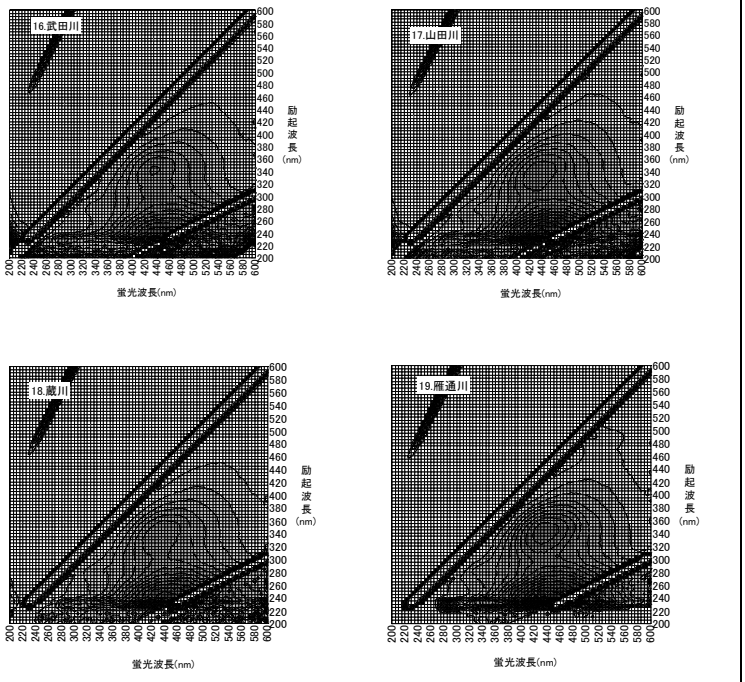


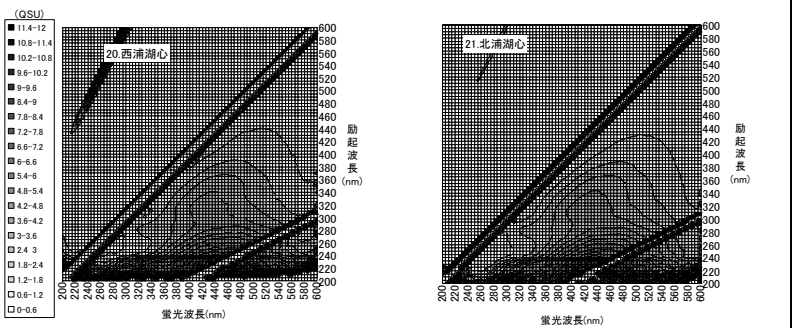

図-13　霞ヶ浦流入河川と霞ヶ浦の採水地点と

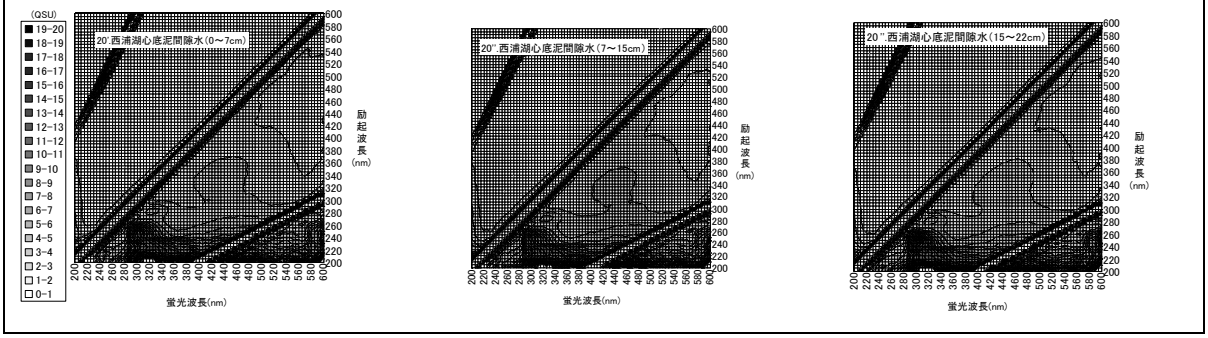



１３.園部川、１４.鉾田川
１５.巴川、　１６.武田川
１７.山田川、１８.蔵川
１９.雁通川、２０.西浦湖心
２１.北浦、２０’.西浦底泥




そのＥＥＭｓスペクトル

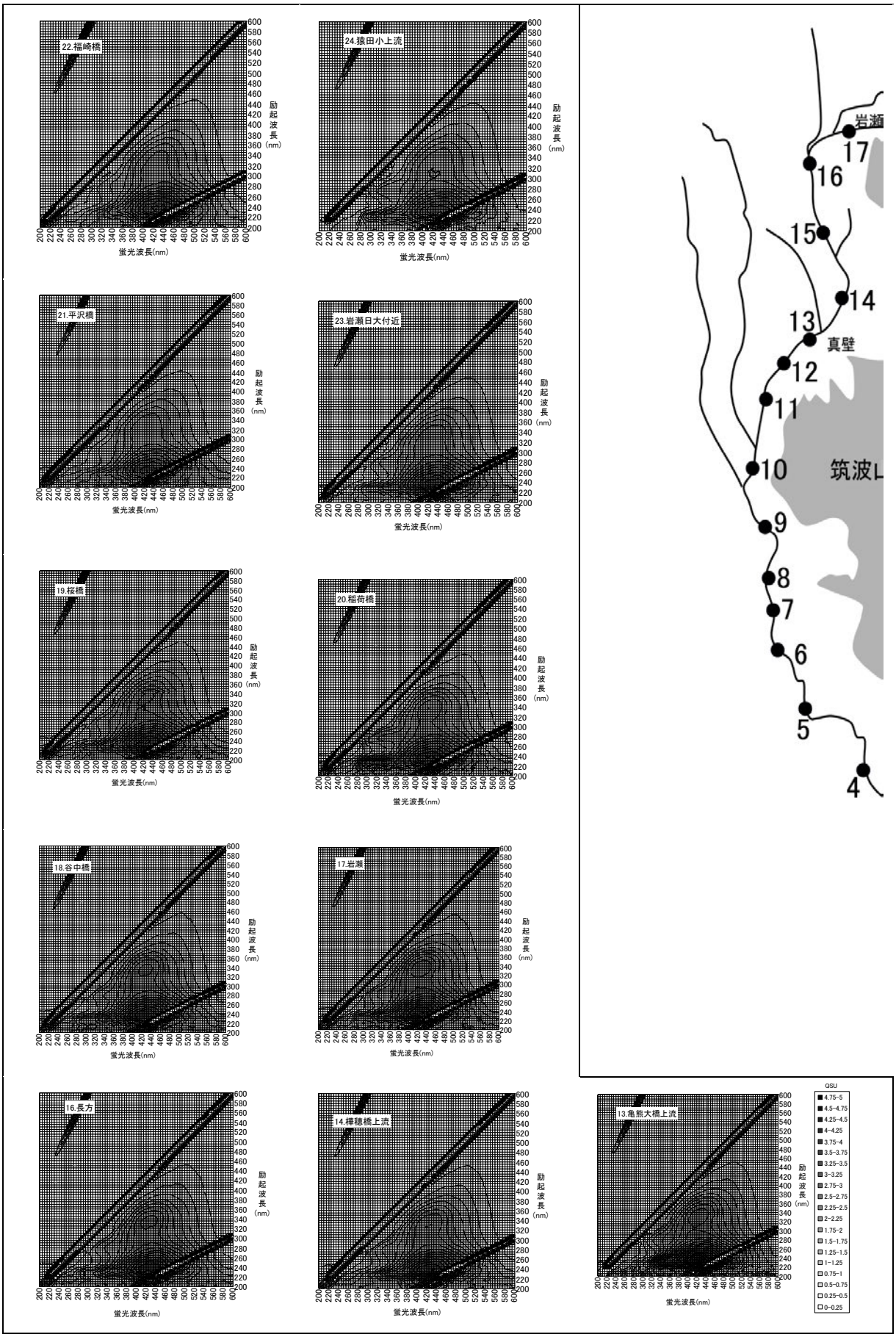
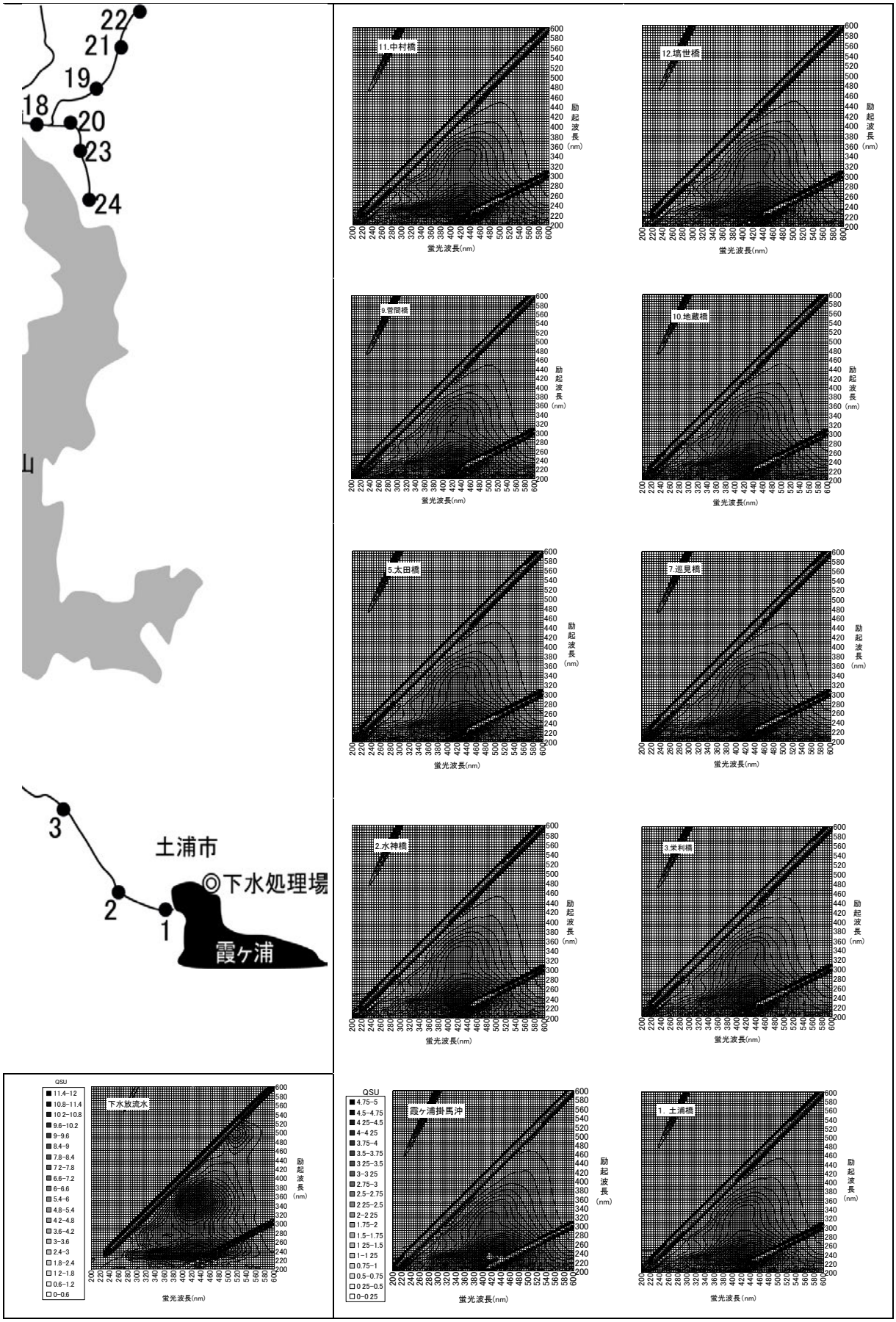



図-14　桜川の採水地点と




3D-EEMs の測定結果

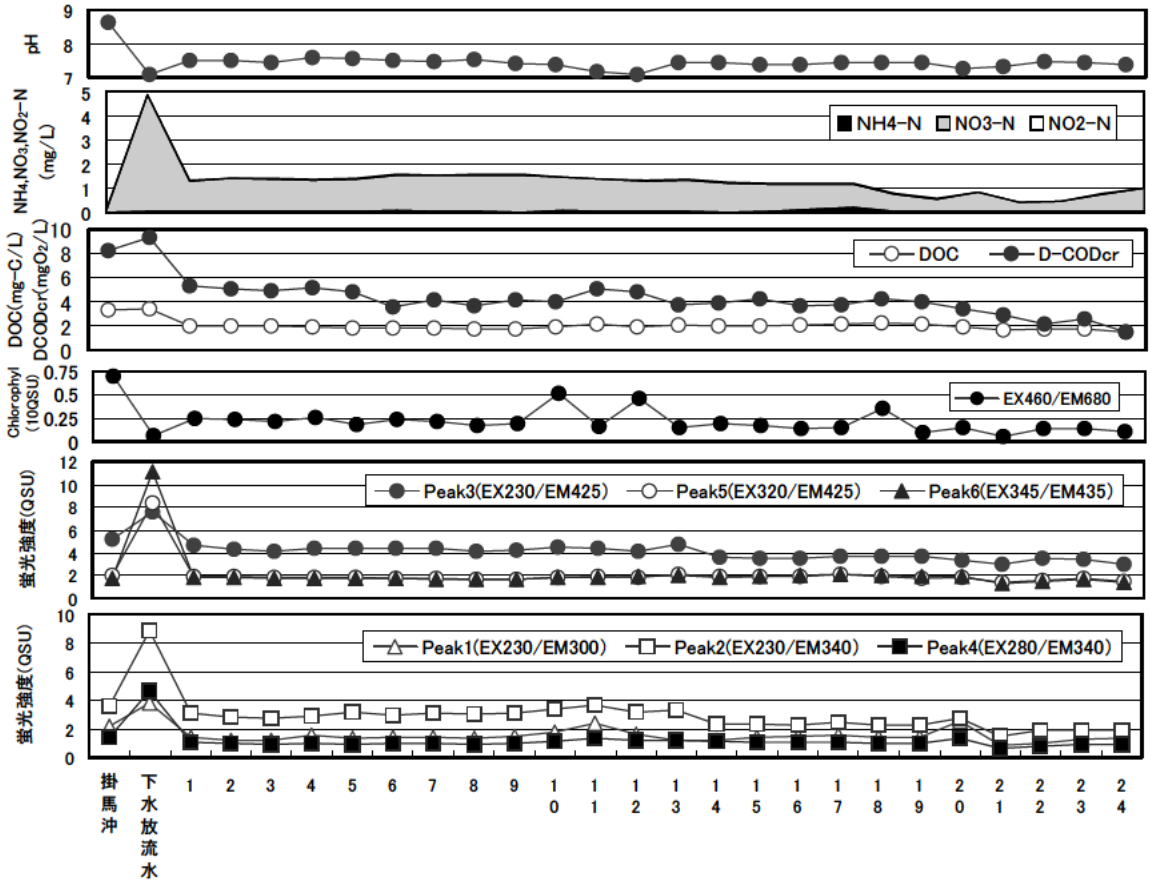


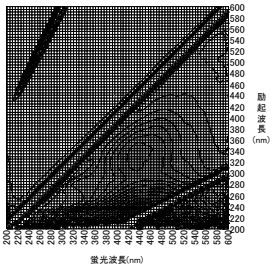

図-15 桜川各地点での pH, $NH_4$-N, $NO_3$-N, $NO_2$-N, DOC, CODcr, ｸﾛﾛﾌｨﾙ(Ex460nm/Em680nm), Peak1～6 の蛍光強度

霞ヶ浦水質への寄与について調査も必要である。

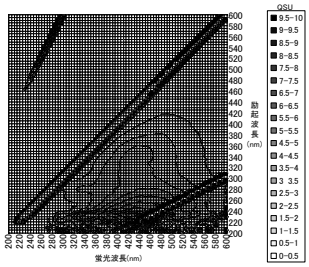
図-3～12 は、平成 18 年 8 月、11 月、平成 19 年 2 月､5 月の霞ヶ浦流入河川水と霞ヶ浦湖水の Peak1～7 の蛍光強度と DOC、クロロフィル、$NO_{2+3}$-N である。図-10 の DOC の結果より、5 月を除き、霞ヶ浦内の DOC は、ほとんどの流入河川水より高くなっていることがわかる。DOC ほど顕著ではないが、DOC と類似した傾向を示した蛍光ピークは、8 月の Peak1 であった。霞ヶ浦湖内での DOC の増加は、図-11 のクロロフィルや図-12 の $NO_{2+3}$-N の結果から、植物プランクトンによる内部生産と考えられる。このことから、Peak1 は内部生産に由来する可能性がある。また、Peak1 は河川水や下水放流水でも検出されており、発生源については、詳細な調査も必要である。フルボ酸やフミン酸と考えられる Peak3、5、6 は、5 月と 8 月で高い値を示した。5 月は田植えの影響を受けていると考えられるが、8 月で高くなる理由は不明である。これらのピーク強度は、霞ヶ浦内での顕著な上昇はみられなかった。

次に、桜川の各調査地点、霞ヶ浦掛馬沖、下水放流水の 3D-EEMs を図-14 に示す。図より、桜川各地点と霞ヶ浦掛馬沖の 3D-EEMs は、類似しており、いずれの点でもフルボ酸またはフミン酸と考えられる Peak3 (EX230nm/EM425nm)付近の蛍光強度が高いことがわかる。このピークは、桜川上流から下流のすべてで検出され、下流ほど強くなる傾向を示した。図-15 は、桜川各調査地点での pH、クロロフィルの励起/蛍光波長である Ex460nm/Em680nm の蛍光強度、DOC、D-CODcr、$NH_4$-N、$NO_3$-N、$NO_2$-N および Peak1～7 の蛍光強度の結果である。pH は、桜川の各地点とも 7.5 付近であったが、霞ヶ浦掛馬沖では、8.6 付近となり、クロロフィルの蛍光強度も霞ヶ浦掛馬沖で上昇している。逆に、$NO_3$-N は、掛馬沖で低下していることから、本調査時期には、霞ヶ浦内では、植物プランクトンが増殖していたことがわかる。

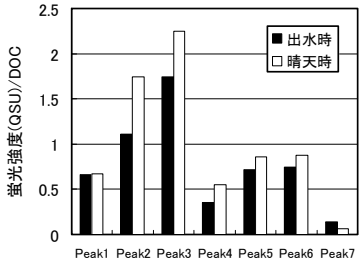
桜川での Peak3(Ex230nm/EM425nm)の蛍光強度は、河川上流付近で低下する傾向を示した。この傾向は､DOC、D-CODcr と概ね類似していることがわかる。霞ヶ浦掛馬沖の DOC、D-CODcr 濃度は、河川水より高い値を示したが、これは、河川から流入するフルボ酸様物質などのベースに下水放流水と内部生産由来の有機物が積み上げられたためと考えられる。特に、下水放流水の DOC と蛍光強度は河川水より高いことから、下水放流水が



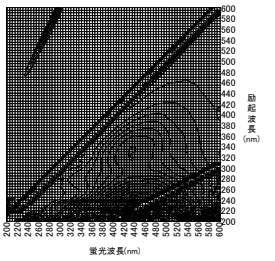

桜川(出水時, 9/7, DOC:4.99mg/L)



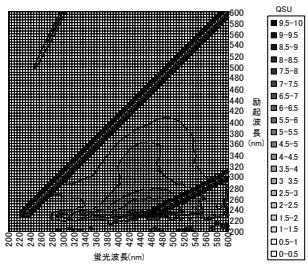

桜川 (晴天時, 10/24, DOC:1.97mg/L)



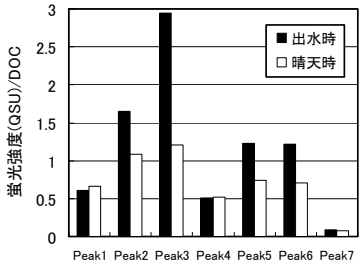

DOC 当たりの蛍光強度 (桜川)



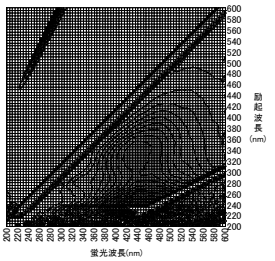

菱木川(出水時, 9/7, DOC:2.82mg/L)



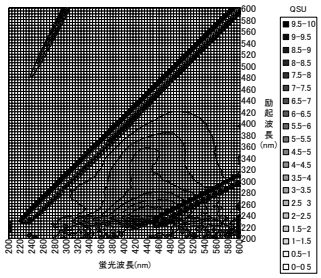

菱木川(晴天時, 10/24, DOC:1.57mg/L)



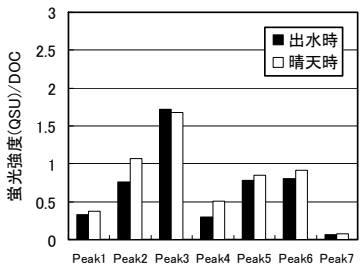

DOC 当たりの蛍光強度 (菱木川)



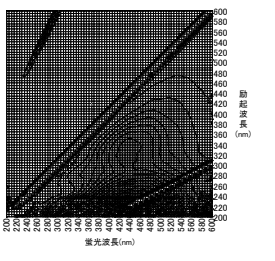

天野川(出水時, 9/7, DOC:6.05mg/L)



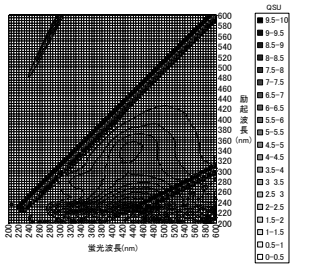

天野川(晴天時, 10/24, DOC:1.84mg/L)



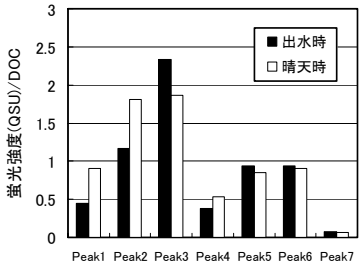

DOC 当たりの蛍光強度 (天野川)



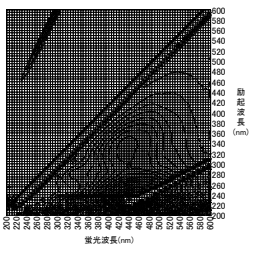

小野川(出水時, 9/7, DOC:3.90mg/L)



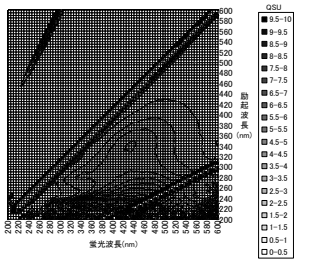

小野川(晴天時, 10/24, DOC:2.43mg/L)



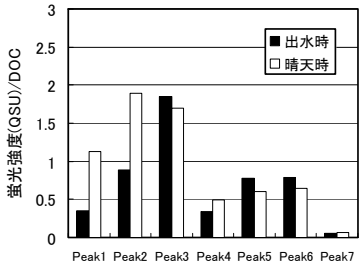

DOC当たりの蛍光強度 (小野川)




清明川(出水時, 9/7, DOC:5.63mg/L)




清明川(晴天時, 10/24, DOC:3.17mg/L)




DOC当たりの蛍光強度 (清明川)

図-16　出水時と晴天時の霞ヶ浦流入河川の3D-EEMsとDOC当たりの蛍光強度

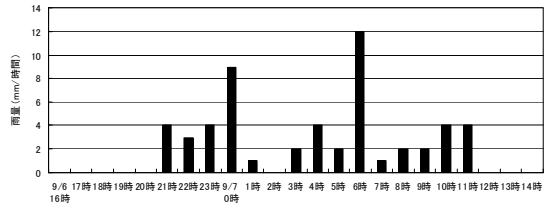



**図-17　平成19年9月6日16時から7日14時までの時間降水量（土浦）（アメダスより）**

霞ヶ浦水質に与える影響は大きい可能性がある。流入河川や下水放流水の霞ヶ浦水質への寄与率を解明するためには、河川水や下水放流水の負荷量ベースでの解析が重要となる。

平成19年9月7日（出水時）と平成19年10月24日（晴天時）の3D-EEMsを図-16に示す。土浦での9月6日16時から9月7日15時までの時間降水量を図-17に示した。6日から7日の総雨量は59mmであった。7日午後からの降水はなく、採水は7日の午後に行った。図-16より出水時は、全体的に蛍光強度が上昇し、出水時の河川は、霞ヶ浦への有機物負荷は高くなることがわかる。出水時のDOCは河川によって異なるが晴天時の1.6～3.3倍高くなっていた。Peak1～7をDOCで規格化すると図-16右図が得られる。図より、出水時に高くなるPeak、出水時と晴天時で変化がないPeak、出水時が低くなるPeakが存在することがわかる。これらのパターンは流域の土地利用や降水強度や採水時間によって変わってくるものと考えられる。DOCで規格化したPeak4、5、6の蛍光強度は、概ね変化しない河川が多かった。

### 3.2　下水放流水の3D-EEMsの経日変化の結果

暗条件と明条件下での3D-EEMsの変化を図-19、20に示す。図-21、22は、Peak1～7の蛍光強度の経日変化である。明条件では3D-EEMsの変化が顕著にみられ、下水特有のPeak7（Ex500/Em525）は、2週間以内に消え、Peak3(Ex230/Em425)，5(Ex320/425)，6(Ex345/Em435)は同じ傾向で低下した。peak3，5，6の60日までのそれぞれの低下率は、約40，55，70％となった。しかし、60日以降は大きく低下することはなかった。明条件の3D-EEMsより、Peak6（Ex345/435）の中心は、短波長側のPeak5（EX320/Em425)付近に蛍光強度を低下しながら移動しているようにも観察される。Peak1(Ex230/Em300)は、保存期間中一端上昇する傾向を示した。なお、明条件では藻類の増殖が観察されており、このPeakは微生物に由来する可能性があると考えられる。Peak2(Ex230/Em340)、4(Ex280/Em340)の蛍光強度は、緩やかな減少傾向を示し、200日までの蛍光強度の低下率は、それぞれ約50，40％であった。

暗条件では、Peak1、2、 4は保存期間中一時期（保存期間80～100日間）増加する傾向を示した。増殖した細菌が分解され溶解性のタンパク質様物質が増加した可能性も考えられるが、厳密な条件での再検証が必要と考えられる。Peak3、5、6の強度は、保存期間40日までに30から40％低下したが、それ以降の顕著な低下は

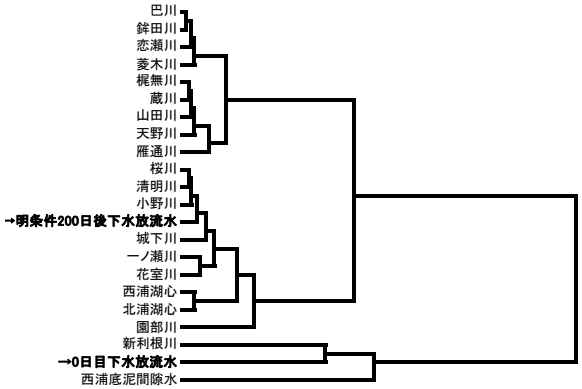
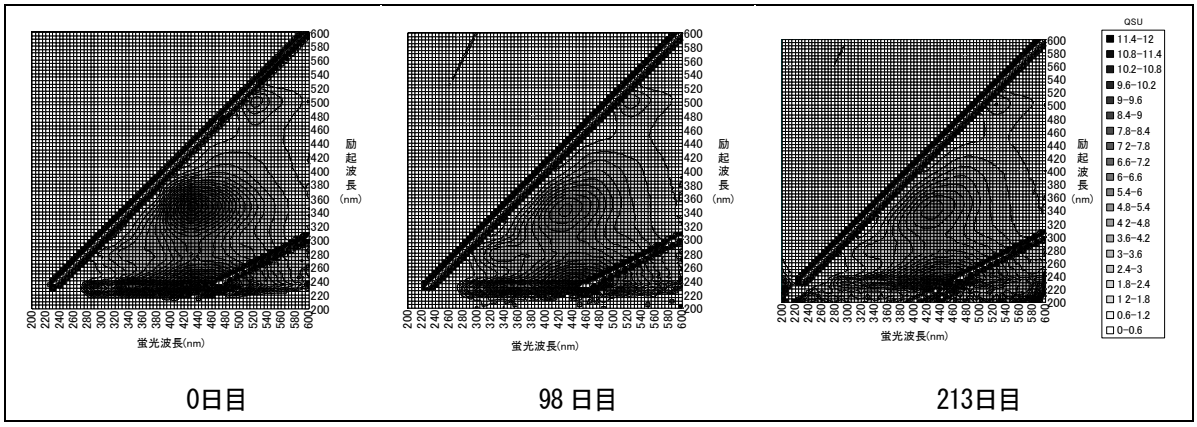



**図-18　霞ヶ浦流入河川水、湖水、底泥間隙水、下水放流水、明条件200日後の下水放流水のクラスター解析の結果**




**図－19　暗条件下での下水放流水の3D-EEMsの変化(3D-EEMsの縦軸は励起波長、横軸は蛍光波長、単位はnm)**

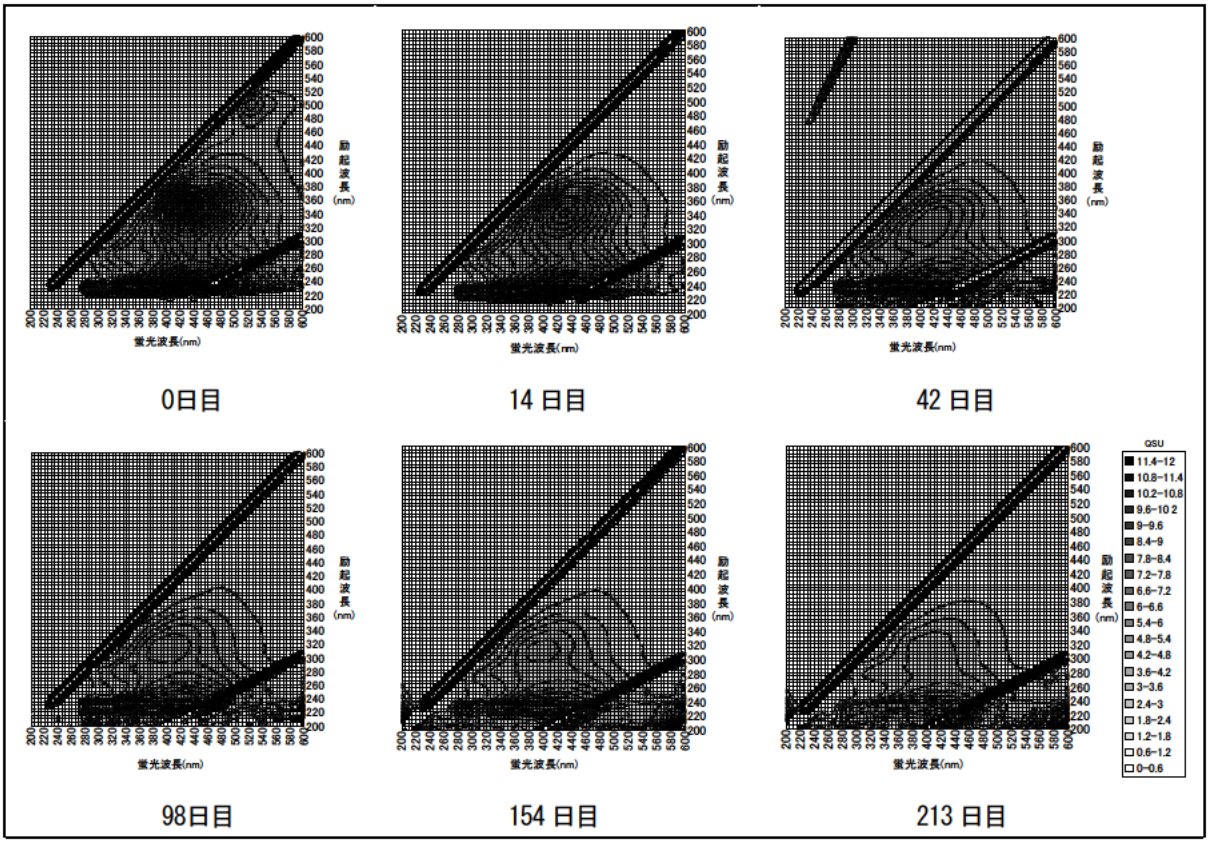



図-20　明条件下での下水放流水の3D-EEMsの変化(3D-EEMsの縦軸は励起波長、横軸は蛍光波長、単位はnm)

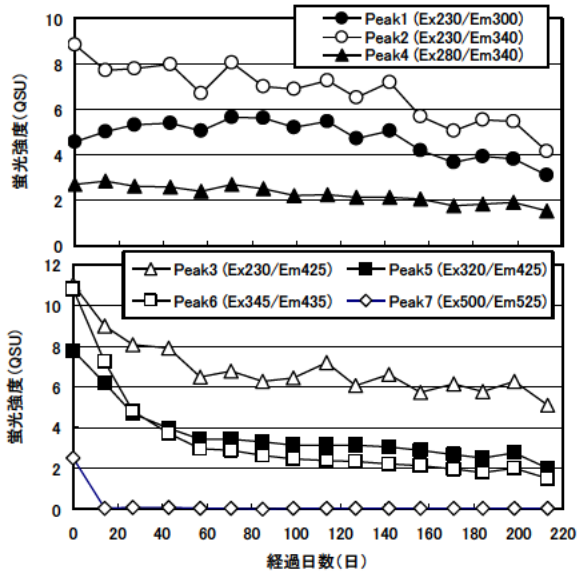



図-21　明条件下での下水放流水のPeak1～6の経日変化

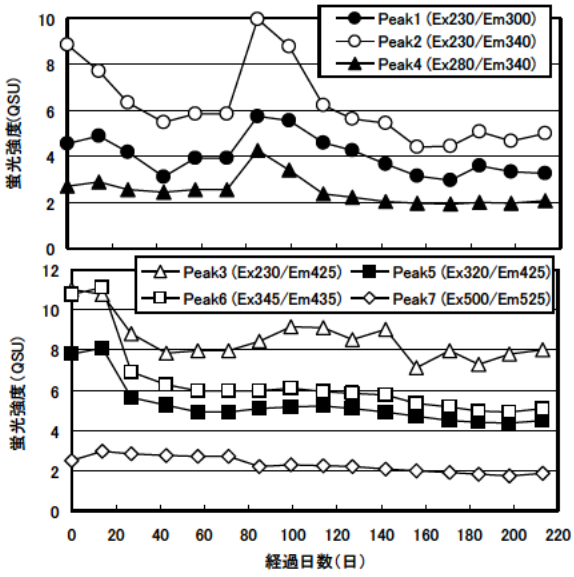



図-22　暗条件下での下水放流水のPeak1～7の経日変化

みられなかった。下水放流水中の有機物は生物処理困難な物質であることから基本的に難生物分解性有機物であると考えられるが、下水放流水の3D-EEMsの各peakの蛍光強度の低下のパターンは異なることがわかった。明条件Peak1, 2, 4は、霞ヶ浦の平均滞留時間と同じ約200日間培養した後でも、蛍光強度の低下率は50%以下であり、この有機物は、難分解性である可能性がある。明条件でより蛍光強度の低下が確認されたが、現時点では、光分解なのか、生物分解なのかは明らかでない。今後、詳細な調査が必要と考えられる。

明条件、約200日後の3D-EEMsの形状は、流入河川水や湖水の3D-EEMsと類似した形状となった。200日後の蛍光強度を用い3.1と同じ条件でクラスター解析した結果（図-18）、200日経過後の下水放流水は、霞ヶ浦流入河川水や湖水に近いグループに入ることがわかる。この解析では、河川水は、霞ヶ浦流入前の蛍光強度を使っているため、その寄与率については明らかではないが、下水放流水は霞ヶ浦の水質に影響を与えている可能性がある。

## ６．霞ヶ浦湖水と琵琶湖水との比較

本研究で得られた霞ヶ浦の3D-EEMsと琵琶湖の3D-EEMsと比較し、湖によって有機物特性が異なるかどうかを解析した。比較試料は、平成18年8月の霞ヶ浦湖心と同月の琵琶湖安曇川沖の表層水とした。図-23は、霞ヶ浦と琵琶湖の3D-EEMs測定から得られたPeak1～7の強度をレーダーチャートで整理したものである。各Peakの蛍光強度は、霞ヶ浦の方で高いことがわかる。このときの霞ヶ浦のDOCは3.35mg/L、琵琶湖は1.70mg/Lであり、霞ヶ浦で約2倍高い値となっていた。有機物組成を比較するため、各Peak強度をDOCで規格化すると図-24が得られる。霞ヶ浦では、Peak3、5、6が高く、琵琶湖では、Peak1が高いことが明らかとなった。

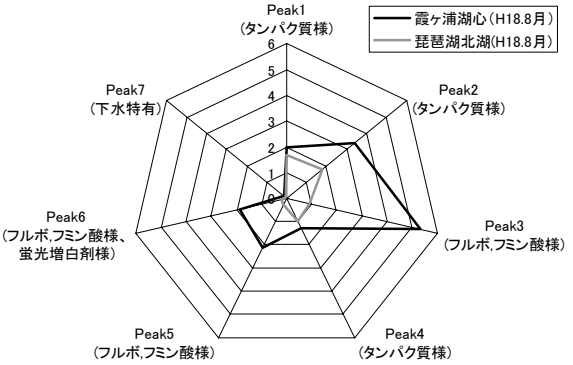



**図-23　霞ヶ浦と琵琶湖のPeak1～7の蛍光強度**

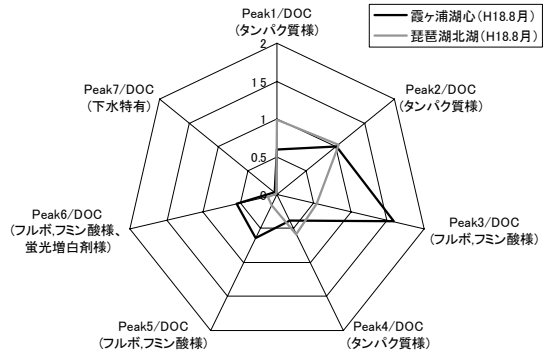



**図-24　霞ヶ浦と琵琶湖のPeak1～7のDOC当たりの蛍光強度**

## ７．おわりに

湖水に蓄積する難分解性溶存有機物の由来や湖内での挙動を解明するためには、湖水中の溶存有機物を分類、測定する必要がある。そこで、霞ヶ浦流域を調査対象とし、霞ヶ浦湖水、霞ヶ浦流入河川水、底泥間隙水、下水放流水を試験水とし、3D-EEMsによる溶存有機物の簡易把握への適用性の検討と各試験水の有機物性状把握、さらに、本法による季節変動、河川流下過程、出水時の河川水の有機物特性を把握した。また、下水放流水は、霞ヶ浦湖水質に影響を与えている可能性があることから、下水放流水を霞ヶ浦の平均滞留時間と同じ約200日間、明と暗条件で保存し、その間の3D-EEMs測定を行い、3D-EEMsの経日変化を明らかにした。

本研究で得られた知見は以下のとおりである。

1) 3D-EEMs測定により、湖水中の溶存有機物の簡易分類と特性把握は可能であった。今後、3D-EEMs上で現れるピークを反映している物質を追求していく必要がある。
2) 3D-EEMsによる分類では、霞ヶ浦湖水と霞ヶ浦流入河川水は類似し、底泥間隙水、下水放流水は異なっていた。
3) 霞ヶ浦流域水の3D-EEMsを測定した結果、Ex230nm/Em300nm、Ex230/Em340nm、Ex230nm/Em425nm、Ex280nm/Em320nm, Ex320nm/Em425nm, mEx345nm/Ex435nm、Ex500nm/Em525nmの位置に蛍光ピークが現われることがわかった。
4) Ex500nm/Em525nmの蛍光ピークは、下水処理水特有のものであった。このピークは、明条件では２週間以内に消滅した。
5) 河川水で観察されたEx230nm/Em425nmのピークは5月と8月に高い値を示した。Ex230nm/Em300nm、は、河川水より霞ヶ浦内で高くなる傾向を示し、この物質は内部生産に由来すると考えられた。
6) 桜川の上流から下流の間の3D-EEMsを測定した結果、フルボ酸に由来すると考えられるピークEx230nm/Em425nmが検出された。このピークは桜川上流域でも検出され、下流になるに従い高くなる傾向を示した。
7) 出水時の流入河川水は、蛍光強度が増加することがわかった。
8) 下水放流水を明条件、26℃で約200日間保存したときの3D-EEMsは、霞ヶ浦流入河川水や湖心の3D-EEMsと類似していた。
9) 下水放流水の明条件での保存実験からEx230nm/Em425nmの蛍光強度は、60日までに約40%

低下したが、それ以降大きく低下しなかった。

10)暗条件では、下水放流水中の蛍光強度は、明条件より低下することはなかった。

11)霞ヶ浦と琵琶湖湖水の3D-EEMsから、DOC当たりの蛍光強度を比較すると、霞ヶ浦では、Ex230nm/Em425nm, Ex320nm/Em425nm, Ex345nm/Ex435nmが高く、琵琶湖では、Ex230nm/Em300nmが高いことが明らかとなった。

**参考文献**


1) 霞ヶ浦環境科学センター, 茨城県水質マップ, 霞ヶ浦, http://w2.kasumigaura.pref.ibaraki.jp/gmap/suisitu/gmap.html

2) 福島武彦, 中島俊之, 今井章雄, 松重一夫, 尾崎則篤:EEMS による水中様存有機物の特性解析, *水環境学会誌*, Vol.24, No.10, pp.686-692, 2001


**謝辞**


霞ヶ浦の採水は、国土交通省　関東地方整備局　霞ヶ浦河川事務所、琵琶湖の採水は、近畿地方整備局　琵琶湖河川事務所の協力を得て実施されたものである。ここに記して、感謝の意を表す。

# 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

研究予算：運営費交付金（一般勘定）
研究期間：平 18～平 22
担当チーム：水環境研究グループ（水質）
研究担当者：鈴木穣，小森行也，北村清明，
北村友一

【要旨】
医薬品等の生理活性物質は、環境ホルモン同様、低濃度での水生生物への影響が懸念されており、新たな環境汚染問題となっている。このため、生理活性物質が水環境に与える影響を評価し、発生源や排出源などで効率的なリスク削減対策を講じることが求められている。本研究は、医薬品等の生理活性物質の分析法開発、水環境中での実態把握と挙動解明を目的とするとともに、水生生態系への影響評価をするため、魚類・両生類・甲殻類・藻類・細菌等を用いたバイオアッセイ手法により医薬品等の評価法の提案を行うことを目的としている。平成 19 年度は、医薬品 95 種類の一斉分析方法の開発、水環境中での実態把握と 5 種の生物を用いたバイオアッセイ手法を用い医薬品が生物に及ぼす影響、遺伝子手法を用いる河川水の魚類への影響評価について検討した。

キーワード：医薬品、一斉分析法、実態把握、バイオアッセイ

## 1. はじめに

医薬品等の生理活性物質は、使用の後に水環境中に排出される。これらの物質は環境ホルモン同様、低濃度での水生生物への影響が懸念されており、新たな環境汚染問題となっている。このため、生理活性物質が水環境に与える影響を評価し、発生源や排出源などで効率的なリスク削減対策を講じることが求められているが、それには、生理活性物質の水環境での実態を把握するとともに、水環境中での挙動を解明することが必要である。さらに、水生生物への影響を評価するために、生理活性物質の含まれた環境水の生物影響ポテンシャルを評価する手法が求められている。

このため本研究課題では、医薬品等の生理活性物質の分析方法を開発するとともに、水環境中での実態把握と挙動解明、医薬品等の特性に応じたグルーピングと分析方法および挙動予測手法の提案を行うことを目的とする。さらに、水生生態系への影響を評価するため、魚類・両生類・甲殻類・藻類・細菌等を用いたバイオアッセイ手法により医薬品等の評価を行うとともに、生理活性物質の含まれた環境水の生物影響ポテンシャルを評価する手法および水質リスク評価法の提案を行うことを目的とする。

平成19年度は、医薬品95種類の一斉分析法の開発、水環境中での医薬品等の実態把握、バイオアッセイを用いた医薬品等の評価について実施した。

## 2. 医薬品 95 種類の一斉分析法の開発

### 2. 1 目的

医薬品は、「低濃度」かつ「特異的」に作用することから、極低濃度の長期的暴露による水生生物や人間への影響が懸念されはじめている[1)~3)]。医薬品は日常的に処方され、服用後、主としてし尿排水として下水道を経由し、下水道で除去されないものは環境中に排出される。平成 19 年度は、数多くある医薬品のなかから95種類を選定し一斉分析法の開発を行った。なお、本一斉分析法の開発は、環境省・環境技術開発費の「水環境に見出される医薬品の排出段階における物理化学処理」に関する研究との連携において行った。

### 2. 2 対象医薬品（95 種類）

研究対象医薬品等は、薬事工業生産動態統計年報[4)]で生産量が多く一般的に用いられていると考えられる医薬品に、我が国でこれまで検出例のある物質を加えたものであり、表-2.1 に示す 95 物質とした。これらの医薬品は、解熱鎮痛消炎剤、利尿剤、神経系用剤、抗生物質、不整脈用剤、高脂血症用剤等であり、使用対象は人用、動物用、両用である。

### 2. 3　分析方法（標準添加法）

調査対象医薬品等 95 物質の分析は、小西ら[5]の方法（1 点標準添加法）を標準添加法に変更して行った。変更後の分析フローを図-2.1 に示す。

試料の分析前処理を以下に示す。先ず、試料（約 1500mL）をガラス繊維ろ紙（Whatman 社製 GF/F, 粒子保持能 0.7μm）を用いてろ過した。ろ液を 200mL に 6 分割した後 2 つは標準物質無添加, 残りの 4 つに各分析対象物質（標準物質）を添加した。各標準物質の添加量は試料換算濃度で αng/L、βng/L、γng/L、δng/L の 4 段階である。標準物質の具体的な添加量は、これまで検出報告がある物質についてはこれらの値を参考とし、報告例のない物質は検出下限値をベースに決定した。α は検出下限値、β は検出下限値の2倍、γ は検出下限値の 10 倍、δ は検出下限値の 20 倍とした。標準物質無添加試料（2 試料）、標準物質添加試料（4 試料）を予めメタノール 5mL と希塩酸 10mL でコンディショニングした固相カートリッジ（Waters 社製 Oasis HLB Plus）に通水し、希塩酸で洗浄した後、吸引と遠心分離により固

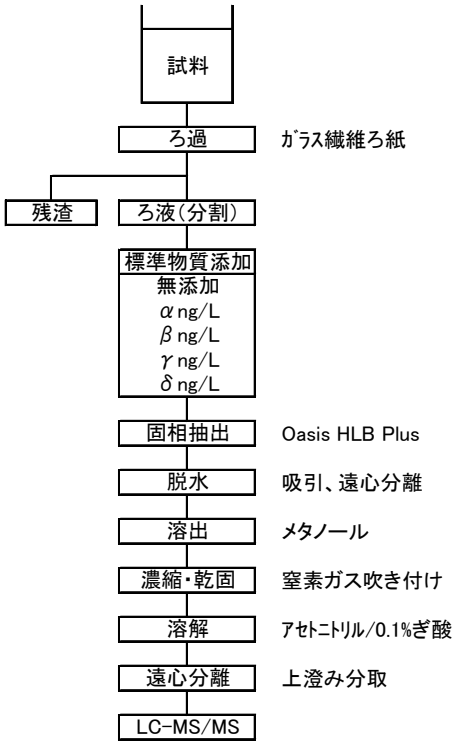



図-2.1　分析フロー

相カートリッジを脱水し、メタノール 5mL で溶出した。メタノール溶出液を濃縮乾固した後、アセトニトリル／水（0.1%ギ酸含有）に再溶解し，遠心分離の上澄み液を LC-MS/MS の測定検液とした。LC-MS/MS の測定条件を表-2.2 に示した。MS/MS のイオン化方式は、エレクトロンスプレーイオン化（ESI）とした。分離カラムは，測定対象物質のイオン化極性（Positive, Negative）により異なる。MS/MS 測定に必要なイオン化極性、測定イオンおよびコリジョンエネルギーは、予め希釈した各単品標準溶液を用いて決定した。

### 2. 4　検出下限値，定量下限値

調査対象物質の混合標準溶液を LC-MS/MS により繰返し測定(n=5)を行い、その再現性から装置の検出下限値、定量下限値を設定した。測定した混合標準液の各物質濃度は、0.1、0.25、0.5、1、5、10、25pg/μL の 7 段階である。測定した混合標準溶液の 5 回繰返し測定において、目的成分ピークが判別できかつ再現性が良い（CV で 20%以下）最低濃度の標準偏差（σ）の 3 倍を検出下限値とし 10 倍を定量下限値とした。検出下限値、定量下限値の算出に用いた標準溶液の濃度は定量下限値の約 0.4 倍～4 倍であった。本研究では試料前処理の段階で 200 倍濃縮となることから、試料の検出下限値と定量下限値はここで得た値の1/200 となる。

具体的には、神経系用剤の amitriptyline、不整脈用剤の atenolol 等、試料濃度に換算した検出下限値が 0.1 を超え 1.0ng/L 以下の医薬品が 30 物質、解熱鎮痛消炎剤の acetaminophen、抗生物質の amoxicillin 等 1.0 を超え 10ng/L 以下の医薬品が 53 物質、利尿剤の acetazolamide、抗生物質の ampicillin 等 10ng/L を超える医薬品が 12 物質であった。

## 3. 水環境中での医薬品 95 物質の実態把握

### 3. 1　目的

人が使用する医薬品は、体内で代謝された後排泄物とともに排出され主に下水道を経由して水環境に排出されると考えられるが、下水道未整備区域にあっては、浄化槽等を経由し河川等の水環境に排出される。また、家畜に使用される医薬品は、排水処理施設等を経由するものもあると考えられるが、一部は直接水環境に排出される。環境水中の医薬品の実態把握については多くの研究が進められているが、未だ十分解明されたとはいえない。そこで本研究では、95 物質の医薬品を一斉分析する方法を用いて、畜産業を含む農村地域や下水道普及状況の異なる都市域において医薬品の存在状況を把握することとした。

表-2.1　調査対象医薬品（95 物質）

| No. | 医薬品名 | 使用対象 | 用　途 | No. | 医薬品名 | 使用対象 | 用　途 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | acetaminophen | 人用 | 解熱鎮痛消炎剤 | 51 | mepirizole | 人用 | 解熱鎮痛消炎剤 |
| 2 | acetazolamide | 人用 | 利尿剤 | 52 | methoxsalen | 人用 | 他の外皮用剤 |
| 3 | amitriptyline | 人用 | 神経系用剤 | 53 | metoclopramide | 両用 | 他の消化器官用薬 |
| 4 | amoxicillin | 両用 | 抗生物質 | 54 | metoprolol | 人用 | 降圧剤 |
| 5 | ampicillin | 両用 | 抗生物質 | 55 | N,N-diethyl-m-toluamide | 人用 | 昆虫忌避剤 |
| 6 | antipyrine | 人用 | 解熱鎮痛消炎剤 | 56 | nalidixic acid | 両用 | 合成抗菌剤 |
| 7 | atenolol | 人用 | 不整脈用剤 | 57 | naproxen | 両用 | 解熱鎮痛消炎剤 |
| 8 | azithromycin | 人用 | 抗生物質 | 58 | neospiramycin | 動物用 | 抗生物質 |
| 9 | benzylpenicillin | 両用 | 抗生物質 | 59 | norfloxacin | 両用 | 合成抗菌剤 |
| 10 | bezafibrate | 人用 | 高脂血症用剤 | 60 | novobiocin | 動物用 | 抗生物質 |
| 11 | bromovalerylurea | 人用 | 抗不安剤 | 61 | ofloxacin | 両用 | 合成抗菌剤 |
| 12 | caffeine | 人用 | 強心剤 | 62 | oleandmycin | 動物用 | 抗生物質 |
| 13 | carbamazepine | 人用 | 抗てんかん剤 | 63 | oxytetracycline | 両用 | 抗生物質 |
| 14 | carbazochrome | 人用 | 止血剤 | 64 | pentoxifylline | 人用 | 血管拡張剤 |
| 15 | chloramphenicol | 両用 | 抗生物質 | 65 | phenacetin | 人用 | 解熱鎮痛消炎剤 |
| 16 | chlormadinone acetate | 両用 | 混合ホルモン | 66 | phenobarbital | 人用 | 催眠鎮静剤,抗不安剤 |
| 17 | chlorpromazine | 両用 | 神経系用剤 | 67 | p-phenylphenol | 人用 | 殺菌剤 |
| 18 | chlortetracyclin | 両用 | 抗生物質 | 68 | phenytoin | 人用 | 抗てんかん剤 |
| 19 | citicoline | 人用 | 他の循環器官用薬 | 69 | pindolol | 人用 | 不整脈用剤 |
| 20 | clarithromycin | 人用 | 抗生物質 | 70 | pirenzepine | 人用 | 消化性潰瘍用剤 |
| 21 | clenbuterol | 両用 | 気管支拡張剤 | 71 | prednisolone | 両用 | 副腎ホルモン剤 |
| 22 | clofibric acid | 人用 | ｸﾛﾌｨﾌﾞﾗｰﾄの代謝物 | 72 | primidone | 人用 | 抗てんかん剤 |
| 23 | crotamiton | 人用 | 鎮痛,鎮痒,収れん,消炎剤 | 73 | promethazine | 両用 | 抗ヒスタミン剤 |
| 24 | cyclophosphamide | 人用 | 抗悪性腫瘍用薬 | 74 | propranolol hydrochloride | 人用 | 不整脈用剤 |
| 25 | danofloxacin | 動物用 | 抗生物質 | 75 | 2-quinoxalinecarboxylic acid | 動物用 | ｶﾙﾊﾞﾄｯｸｽの代謝物 |
| 26 | dextromethorphan | 人用 | 鎮咳剤 | 76 | salbutamol | 両用 | 気管支拡張剤 |
| 27 | diclazuril | 動物用 | 抗コクシジウム剤 | 77 | sarafloxacin | 動物用 | 抗生物質 |
| 28 | diclofenac sodium | 人用 | 鎮痛,鎮痒,収れん,消炎剤 | 78 | scoporamine | 人用 | 鎮けい剤 |
| 29 | diltiazem | 人用 | 血管拡張剤 | 79 | sotalol | 人用 | 不整脈用剤 |
| 30 | diphenidol | 人用 | 鎮暈剤 | 80 | spiramycin | 動物用 | 抗生物質 |
| 31 | dipyridamole | 人用 | 血管拡張剤 | 81 | spironolactone | 人用 | 利尿剤 |
| 32 | disopyramide | 人用 | 不整脈用剤 | 82 | sulfadimethoxine | 動物用 | ｻﾙﾌｧ剤 |
| 33 | erythromycin | 両用 | 抗生物質 | 83 | sulfadimidine | 動物用 | ｻﾙﾌｧ剤 |
| 34 | ethenzamide | 人用 | 解熱鎮痛消炎剤 | 84 | sulfamethoxazole | 両用 | 他の化学療法剤 |
| 35 | fenoprofen | 人用 | 解熱鎮痛剤 | 85 | sulfamonomethoxine | 動物用 | ｻﾙﾌｧ剤 |
| 36 | flovoxate | 人用 | 他の泌尿生殖器官,肛門用薬 | 86 | sulpiride | 人用 | 消化性潰瘍用剤 |
| 37 | fulfenamic acid | 人用 | 解熱鎮痛消炎剤 | 87 | terbutalline | 人用 | 気管支拡張剤 |
| 38 | furosemide | 人用 | 利尿剤 | 88 | tetracyclin | 両用 | 抗生物質 |
| 39 | gemfibrozil | 人用 | 高脂血症用剤 | 89 | theophylline | 人用 | 気管支拡張剤 |
| 40 | griseofulvin | 両用 | 主にカビ作用剤 | 90 | thiamphenicol | 両用 | 合成抗菌剤 |
| 41 | haloperidol | 人用 | 神経系用剤 | 91 | tilmicosin | 動物用 | 抗生物質 |
| 42 | ibuprofen | 人用 | 解熱鎮痛消炎剤 | 92 | tolbutamide | 両用 | 糖尿病用剤 |
| 43 | ifenprodil tartrate | 人用 | 他の循環器官用薬 | 93 | tolperisone | 人用 | 鎮けい剤 |
| 44 | imipramine | 人用 | 神経系用剤 | 94 | trimethoprim | 両用 | 合成抗菌剤 |
| 45 | indomethacin | 人用 | 解熱鎮痛消炎剤 | 95 | verapamil | 人用 | 血管拡張剤 |
| 46 | isopropylantipyrine | 人用 | 解熱鎮痛消炎剤 | | | | |
| 47 | josamycin | 両用 | 抗生物質 | | | | |
| 48 | ketoprofen | 両用 | 解熱鎮痛消炎剤 | | | | |
| 49 | kitasamycin | 両用 | 抗生物質 | | | | |
| 50 | mefenamic acid | 人用 | 解熱鎮痛消炎剤 | | | | |

表-2.2　LC-MS/MS 測定条件

| | Positive | | Negative | |
|---|---|---|---|---|
| HPLC | Agilent1100 | | | |
| 移動相 A | 超純水（0.1%ぎ酸含有） | | 超純水（1mM酢酸アンモニウム含有） | |
| 移動相 B | アセトニトリル（0.1%ぎ酸含有） | | アセトニトリル | |
| グラジエント | 時間 | B (%) | 時間 | B (%) |
| | 0 | 4 | 0 | 7 |
| | 12 | 95 | 13 | 95 |
| | 18 | 95 | 13.1 | 7 |
| | 18.1 | 4 | 21 | 7 |
| | 24 | 4 | | |
| カラム | Atlantis T3 C18, 2.1×100mm, 3□m | | Hypersil GOLD, 2.1×100, 3□m | |
| カラム温度 | 40℃ | | 40℃ | |
| 注入量 | 5□L | | 5□L | |
| MS/MS | Thermo Quantum Discovery MAX | | | |
| Spray Voltage | 4,500 | | 4,000 | |
| Sheath gas | 30 | | 20 | |
| Aux gas | 5 | | 10 | |
| Capillary temperature | 320 | | 320 | |

### 3. 2　調査方法

調査は、茨城県の霞ヶ浦（北浦）に流入する鉾田川、千葉県の手賀沼に流入する大津川においてそれぞれ 2 つ支川（水路）で調査を実施した。各調査地点の集水面積は，①5.4km2、②3.94km2、③4.1km2、④4.6km2 である。図-3.1 に示すとおり地点①、地点②の集水域の土地利用状況は、田、畑、人口林、広葉樹林が 90%を占める農村地域である。なお、地点①の集水域には養豚場が存在する。地点③、地点④は、一般住宅地区が 36%、38%の他、文教地区、空き地、畑、野草地裸地、人口林が 54%、56%を占める都市域である。また、地点①、地点②は下水道未整備、地点③は下水道普及率 74%、地点④は下水道普及率 31%である（下水道普及率：2002 年）が、下水処理場は本流域の外に位置している。

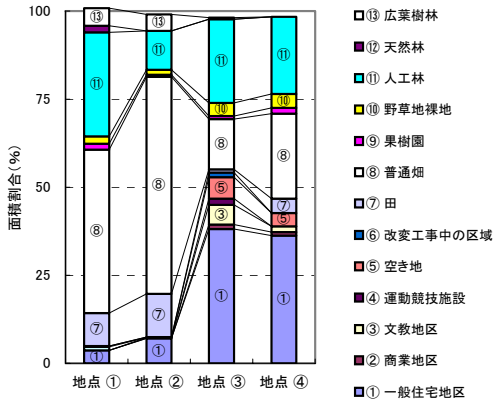



図-3.1　各調査地点集水域の土地利用状況

### 3. 3　調査結果と考察

調査医薬品 95 物質中、図-3.2 に示す 47 物質が地点①、②、③、④のいずれかの試料において検出された。検出濃度範囲は diltiazem の 0.2ng/L から caffeine の 4,800ng/L であった。地点①では人用 11 物質、動物用 2 物質、両用 5 物質の計 18 物質、地点②では人用 7 物質、両用 1 物質の計 8 物質、地点③では人用 20 物質、両用 4 物質の計 24 物質、地点④では人用 34 物質、動物用 1 物質、両用 10 物質の計 45 物質が検出された。

農村地域の小河川では、都市域の小河川に比べ検出医薬品数が少なく、それらの検出濃度も低いことが確認された。また、動物用医薬品 2 物質（サルファ剤）が検出された地点①では集水域に養豚場があることを現地踏査で確認した。サルファ剤は豚に寄生する原虫の駆除に使用される医薬品である。

都市域の小河川では、より下水道が普及し、家庭からの排水が下水道において収集されて他の流域に移送されている地点③の方が、地点④に比べ検出医薬品数が少なく、また各検出濃度も低い傾向が見られた。

### 3. 4　今後の展開と課題

95 物質の医薬品を一斉分析する方法を用いて、畜産業を含む農村地域や下水道普及状況の異なる都市域において医薬品の存在状況の把握を行った。農村地域、都市域において検出される医薬品の種類及び濃度レベルの概略は把握できたものの、本調査は晴天時に試料採取を行ったものであり、雨天時に河川流量が増加した時の医薬品流出状況は不明である。今後は、雨天時においても同様の調査を実施し、雨天時における医薬品流出特性の把握を検討する。

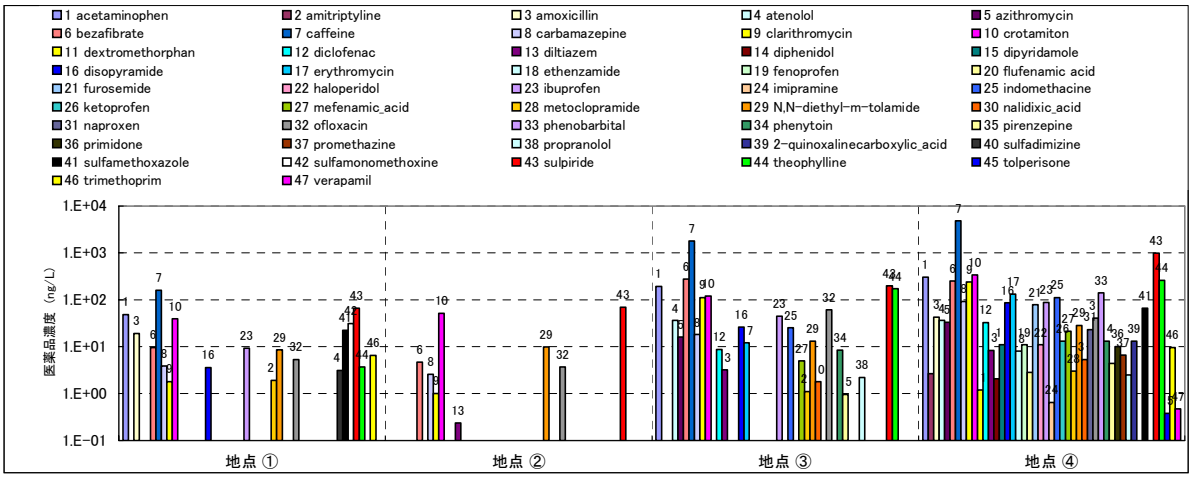



図-3.2　医薬品調査結果（図中の数字は医薬品番号）

## 4. 排水処理施設の整備状況が異なる集水域での医薬品存在実態

### 4. 1 目的

排水処理施設の整備状況が異なる地域の小河川（水路）においてGC/MSにより医薬品の分析を行い、排水処理施設の整備状況と医薬品存在濃度の関係把握を目的とした。

### 4. 2 調査方法

#### (1) 調査地点

千葉県に位置する手賀沼に流入する大津川の支川（水路）において調査を実施（2007年1月）した。大津川は、河川延長約12.5km、流域面積37km$^2$の小河川である。大津川流域の排水処理施設の整備状況は下流域、中流域、上流域で異なっている。本調査では排水処理施設の整備状況（2002年）が異なる5地点（A、B、C、D、E：図-4.1参照）において試料を採取した。A地点の集水域では下水道普及率96%、他の排水は単独浄化槽（2%）、合併浄化槽（2%）により処理されている。Bでは下水道74%、単独12%、合併12%、くみ取り2%、C地点では下水道31%、単独36%、合併28%、くみ取り5%、D地点では下水道8%、単独45%、合併14%、くみ取り33%、E地点では下水道0%、単独12%、合併13%、くみ取り75%である。

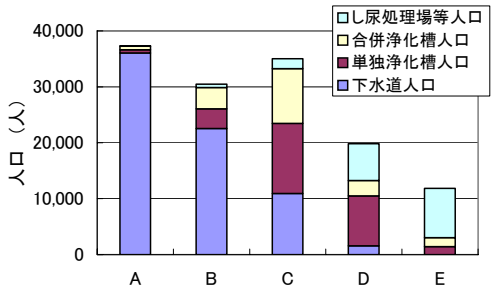



図-4.1 各調査地点集水域の生活排水処理人口

#### (2) 調査対象物質および分析方法

調査対象とした医薬品は、解熱鎮痛剤のaspirin、phenacetin、強心剤のcaffeine、高脂血症用剤のclofibrate、gemfibrozil、鎮痛・鎮痒・収れん・消炎剤のcrotamiton、他の外皮用剤のmethoxsalen、昆虫忌避剤のN,N-diethyl-m-toluamide、殺菌剤のp-phenylphenol、triclosan、thymolで11物質である。これら調査対象医薬品の分析（前処理・測定条件等）は、宝輪ら[6]の方法に準じた。

### 4. 3 結果及び考察

調査11物質中caffeine、crotamiton、N,N-diethyl-m-toluamide、triclosan、thymolの5物質がいずれかの試料において検出された。各物質とも下水道普及率が比較的高い地域の調査地点では、他の地点に比べ低い値を示した。

表-4.1、図-4.2より下水道普及率が高い地域では調査医薬品濃度は低く、下水道があまり普及していない地域では高い傾向がみられた。下水道普及率96%のA地点において検出されたcaffeine、crotamiton、triclosanの3物質について下水道普及率が異なる他の地点と検出濃度を比較すると、caffeineでは、下水道普及率が31%のC地点では5.6倍、0%のE地点では11倍の濃度を示した。Crotamitonでは13倍、50倍、triclosanでは3.5倍、12倍の濃度を示し、下水道未整備地域の医薬品濃度は下水道が整備された地域の10～50倍の濃度で存在していた。

表-4.1 医薬品分析結果 (ng/L)

| 物質名 | A | B | C | D | E |
|---|---|---|---|---|---|
| caffeine | 890 | 2,100 | 5,000 | 10,000 | 10,000 |
| crotamiton | 34 | 150 | 430 | 700 | 1,700 |
| N,N-diethyl-m-toluamide | ND | ND | 22 | 17 | 23 |
| triclosan | 31 | 46 | 110 | 200 | 360 |
| thymol | ND | ND | ND | 110 | 120 |

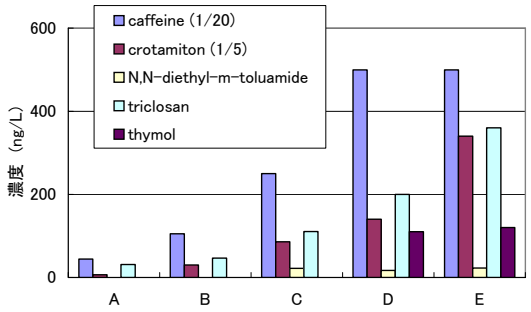



図-4.2 各調査地点における医薬品濃度

### 4. 4 今後の展開と課題

水環境中での医薬品95物質の実態把握同様、晴天時に試料採取を行ったものであり、雨天時に河川流量が増加した時の医薬品流出状況は不明である。今後は、雨天時においても同様の調査を実施し、雨天時における医薬品流出特性の把握を検討する。また、底質等固形物中の医薬品分析手法の開発を行い、固形物中含有量を含めた医薬品の実態把握を行う。

## ５．バイオアッセイを用いた医薬品等の評価

### ５．１　目的

河川水や下水処理水などの環境水中に医薬品等の生理活性物質が存在する場合、それらは水生生態系を構成する水生生物の生育・生息に何らかの影響を及ぼす可能性が考えられる。また、それらが水中の植物や無脊椎動物等に与える影響は、元々の投与対象である人間または家畜に対する効果とは異なる作用となり、生物種ごとに様々な影響が生じる可能性が推測される。

さらに、河川水中からは多種にわたる医薬品が同時に検出されているうえに、洗剤等の多様な有機物、重金属などの物質と共存している。このため、各医薬品が認可・製造される際には想定されることのない物質との組み合わせで水環境中の生物は曝露されることとなり、それらの複合影響が懸念される。

そこで、昨年度に引き続き、医薬品による生態リスクの評価方法の検討に資するため、水環境中においてその存在が確認されてきている様々な医薬品を対象に、細菌や甲殻類など5種の生物を用いたバイオアッセイ手法を適用し、医薬品が生物に及ぼす影響についてのデータ集積を目的とした。

### ５．２　方法

#### 5.2.1.　供試生物

**(1)　細菌**

供試生物として海洋性発光細菌(*Vibrio Fischeri*)を使用する英 SDI 社製の試験システム(MICROTOX®)を用いた。試験は添付の急性毒性試験のプロトコールに従い、曝露時間を 5 分及び 15 分として、50%発光阻害濃度(EC50)を装置附属の計算ソフトにより求めた。

**(2)　藻類**

供試生物として緑藻類の *Pseudokirchneriella subcapitata* (NIES-35)を用いた。試験は96ウェルマイクロプレートを使用して曝露し、マイクロプレートリーダーによる吸光度測定から細胞数を換算する方法で行った。96時間曝露した後に藻類の増殖量から生長阻害率を計算し、試料濃度と阻害率の関係から半数阻害濃度(EC50)を求めた。

**(3)　甲殻類**

供試生物としてオオミジンコ(*Daphnia magna*)を使用するベルギーのMicroBioTests社の急性毒性試験システム (DAPHTOXKIT F MAGNA™)を用いた。試験は生物を24及び48時間曝露した後に遊泳阻害を観察し、試料濃度と阻害率の関係から半数阻害濃度(EC50)を求めた。

**(4)　両生類**

供試生物としてアフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)を用いた。試験はASTM(American Society for Testing and Materials)に記載されている FETAX (the Frog Embryo Teratogenesis Assay-Xenopus)の方法を一部改変して 24 ウェルマイクロプレートで曝露する方法で行った。胞胚期になった胚を24℃で96時間曝露し、死亡及び奇形について観察した。本試験において奇形の発生は確認できなかったため、死亡率をエンドポイントとし、試料濃度と死亡率のグラフから半数致死濃度(LC50)を求めた。

**(5)　原生動物**

供試生物として繊毛虫の *Tetrahymena pyriformis* (NIES-403)を用いた。試験は、1%プロテオースペプトン培地と、対象医薬品を加えた培地を入れたフラスコ中で原生動物を増殖させ、顕微鏡によって細胞数を計数した。96時間曝露後の増殖量から増殖阻害率を計算し、曝露濃度との関係から半数阻害濃度(EC50)を求めた。

#### 5.2.2.　対象医薬品

試験に用いた医薬品は、環境中で検出された報告のある物質を中心に選定し、表5-1に示す46物質とした。

なお、試薬は DMSO を溶媒として使用し working solution として 10,000mg/L の溶液を調製し、適宜希釈して試験に用いた。各試験における最大曝露濃度は、10 mg/L とし、曝露溶液中の溶媒濃度が0.1%を超えないように設定した。また、濃度と阻害反応の関係をみるための希釈系列の作成においては、公比2として希釈を行い、細菌及び藻類については10段階、他の生物については5段階の希釈段階を設定した。ただし、設定した濃度範囲の低濃度区で阻害が十分に低減されなかった物質については、さらに低濃度まで濃度区を設定して試験を行った。

### ５．３　結果

各医薬品に対するバイオアッセイの結果をまとめると、表5-2のようになった。

なお、ここで示すEC50やNOEC等の指標は生物に作用する濃度を示しており、数値が低いほど低濃度でも生物に影響を及ぼす、すなわち毒性が強いことを意味している。

表 5-1　供試対象医薬品

| 分類 | 医薬品名 |
|---|---|
| 解熱鎮痛剤 | ｴﾃﾝｻﾞﾐﾄﾞ |
| | ﾅﾌﾟﾛｷｾﾝ |
| | ｹﾄﾌﾟﾛﾌｪﾝ |
| | ｼﾞｸﾛﾌｪﾅｸ |
| | ｲﾌﾞﾌﾟﾛﾌｪﾝ |
| | ﾒﾌｪﾅﾑ酸 |
| | ﾌｪﾉﾌﾟﾛﾌｪﾝ |
| | ﾌﾙﾌｪﾅﾐﾝ酸 |
| 抗菌剤<br>（抗生物質） | ﾁﾓｰﾙ |
| | ﾄﾘｸﾛｻﾝ |
| | 2-ｷﾉｷｻﾘﾝｶﾙﾎﾞﾝ酸 |
| | ｸﾗﾘｽﾛﾏｲｼﾝ |
| | ｱｼﾞｽﾛﾏｲｼﾝ |
| | ﾚﾎﾞﾌﾛｷｻｼﾝ |
| | ｵﾌﾛｷｻｼﾝ |
| | ﾅﾘｼﾞｸｽ酸 |
| | ｸﾛﾗﾑﾌｪﾆｺｰﾙ |
| | ﾉﾎﾞﾋﾞｵｼﾝﾅﾄﾘｳﾑ |
| 循環器薬 | ｼﾞﾙﾁｱｾﾞﾑ塩酸塩 |
| | ﾍﾞﾗﾊﾟﾐﾙ塩酸塩 |
| | ｼﾞﾋﾟﾘﾀﾞﾓｰﾙ |
| | ｱﾃﾉﾛｰﾙ |
| | ｿﾀﾛｰﾙ塩酸塩 |
| | ﾄﾙﾌﾞﾀﾐﾄﾞ |
| | ﾍﾞｻﾞﾌｨﾌﾞﾗｰﾄ |
| | ｶﾌｪｲﾝ |
| 消化器薬 | ﾋﾟﾚﾝｾﾋﾟﾝﾆ塩酸塩-水和物 |
| | ﾒﾄｸﾛﾌﾟﾗﾐﾄﾞ |
| | ｽﾙﾋﾟﾘﾄﾞ |
| 抗神経薬 | ｶﾙﾊﾞﾏｾﾋﾟﾝ |
| | ﾌｪﾆﾄｲﾝ |
| | ﾋﾟﾘﾐﾄﾝ |
| | ｱﾐﾄﾘﾌﾟﾁﾘﾝ塩酸塩 |
| | ｲﾐﾌﾟﾗﾐﾝ塩酸塩 |
| | ﾊﾛﾍﾟﾘﾄﾞｰﾙ |
| | ｸﾛﾙﾌﾟﾛﾏｼﾞﾝ塩酸塩 |
| | ｼﾞﾌｪﾆﾄﾞｰﾙ塩酸塩 |
| 抗アレルギー薬 | ﾌﾟﾛﾒﾀｼﾞﾝ塩酸塩 |
| 呼吸器薬 | ﾃﾞｷｽﾄﾛﾒﾄﾙﾌｧﾝ臭化水素酸塩 |
| 利尿薬 | ﾌﾛｾﾐﾄﾞ |
| | ｱｾﾀｿﾞｰﾙｱﾐﾄﾞ |
| 抗炎症薬 | ﾃﾞｷｻﾒﾀｿﾞﾝ |
| 筋弛緩剤 | ﾄﾙﾍﾟﾘｿﾞﾝ塩酸塩 |
| 鎮痒剤 | ｸﾛﾀﾐﾄﾝ |
| 昆虫忌避薬 | ｼﾞｴﾁﾙﾄﾙｱﾐﾄﾞ |

ここから、各生物種に対する医薬品の影響に関して次のような傾向がみられた。

**(1)　細菌**

マイクロトックスによる試験からは、46 種類の医薬品のうち 19 種類の医薬品について毒性が検出された。

表 5-2　医薬品等の生物影響まとめ

(mg/L)

| 医薬品名 | 細菌<br>15min<br>EC50 | 藻類<br>96h<br>EC50 | <br><br>NOEC | ミジンコ<br>48h<br>EC50 | カエル<br>96h<br>LC50 | 原生動物<br>96h<br>EC50 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| ｲﾌﾌﾟﾛﾌｪﾝ | 9.194 | 2.348 | 0.521 | N.E. | N.E. | |
| ﾌｪﾉﾌﾟﾛﾌｪﾝ | 10.30 | 5.669 | 2.083 | N.E. | N.E. | |
| ﾅﾌﾟﾛｷｾﾝ | 17.17 | 3.665 | 0.521 | N.E. | N.E. | |
| ﾒﾌｪﾅﾑ酸 | 13.84 | 5.385 | 2.083 | N.E. | 5.21 | 2.36 |
| ｹﾄﾌﾟﾛﾌｪﾝ | N.E. | 1.991 | 1.041 | 2.304 | N.E. | N.E. |
| ｼﾞｸﾛﾌｪﾅｸ | 23.89 | 5.021 | 0.521 | N.E. | N.E. | |
| ｴﾃﾝｻﾞﾐﾄﾞ | 19.37 | 3.686 | 2.083 | N.E. | N.E. | N.E. |
| ﾌﾙﾌｪﾅﾐﾝ酸 | 14.20 | 1.582 | 0.260 | 3.536 | | |
| ﾁﾓｰﾙ | 2.170 | 1.680 | 0.521 | 5.378 | N.E. | 4.16 |
| ﾄﾘｸﾛｻﾝ | 0.983 | 0.012 | 0.008 | 0.262 | 0.82 | 0.21 |
| 2-ｷﾉｷｻﾘﾝｶﾙﾎﾞﾝ酸 | N.E. | N.E. | – | N.E. | | |
| ｸﾗﾘｽﾛﾏｲｼﾝ | N.E. | 0.012 | 0.005 | N.E. | N.E. | |
| ｱｼﾞｽﾛﾏｲｼﾝ | N.E. | 0.019 | 0.005 | N.E. | N.E. | |
| ﾚﾎﾞﾌﾛｷｻｼﾝ | N.E. | 1.501 | 0.260 | N.E. | N.E. | |
| ｵﾌﾛｷｻｼﾝ | N.E. | 2.290 | 0.416 | N.E. | | |
| ﾅﾘｼﾞｸｽ酸 | N.E. | N.E. | – | 3.832 | | |
| ｸﾛﾗﾑﾌｪﾆｺｰﾙ | N.E. | 0.177 | 0.016 | N.E. | | |
| ﾉﾎﾞﾋﾞｵｼﾝﾅﾄﾘｳﾑ | N.E. | N.E. | – | N.E. | | |
| ｼﾙﾁｱｾﾑ塩酸塩 | N.E. | 4.193 | 0.521 | N.E. | | |
| ﾍﾞﾗﾊﾟﾐﾙ塩酸塩 | N.E. | 3.467 | 0.521 | N.E. | | |
| ｼﾞﾋﾟﾘﾀﾞﾓｰﾙ | N.E. | 6.242 | 1.041 | N.E. | | |
| ｱﾃﾉﾛｰﾙ | N.E. | N.E. | – | N.E. | | |
| (+/-) ｿﾀﾛｰﾙ塩酸塩 | N.E. | N.E. | – | N.E. | | |
| ﾄﾙﾌﾞﾀﾐﾄﾞ | 2.380 | N.E. | – | N.E. | | |
| ﾍﾞｻﾌｨﾌﾞﾗｰﾄ | N.E. | N.E. | – | N.E. | | |
| ｶﾌｪｲﾝ | 340.7 | N.E. | – | N.E. | | |
| (+/-) ｽﾙﾋﾟﾘﾄﾞ | N.E. | N.E. | – | N.E. | | |
| ﾋﾟﾚﾝｾﾋﾟﾝﾆ塩酸塩-水和物 | N.E. | N.E. | – | N.E. | | |
| ﾒﾄｸﾛﾌﾟﾗﾐﾄﾞ | N.E. | 7.805 | 1.041 | N.E. | | |
| ｶﾙﾊﾞﾏｾﾋﾟﾝ | N.E. | 48.86 | 0.521 | N.E. | N.E. | |
| ﾌｪﾆﾄｲﾝ | N.E. | N.E. | – | N.E. | | |
| ﾋﾟﾘﾐﾄﾝ | N.E. | N.E. | – | N.E. | | |
| ｱﾐﾄﾘﾌﾟﾁﾘﾝ塩酸塩 | 14.96 | 0.246 | 0.065 | 0.183 | | |
| ｲﾐﾌﾟﾗﾐﾝ塩酸塩 | 3.910 | 0.192 | 0.033 | 4.374 | | |
| ﾊﾛﾍﾟﾘﾄｰﾙ | 19.19 | 0.441 | <0.016 | 3.805 | | |
| ｸﾛﾙﾌﾟﾛﾏｼﾞﾝ塩酸塩 | 1.103 | 0.199 | 0.033 | N.E. | | |
| ｼﾞﾌｪﾆﾄﾞｰﾙ塩酸塩 | N.E. | 0.835 | 0.065 | N.E. | | |
| ﾌﾛｾﾐﾄ | N.E. | N.E. | – | N.E. | | |
| ｱｾﾀｿﾞｰﾙｱﾐﾄ | N.E. | 1.349 | 0.521 | N.E. | | |
| ﾌﾟﾛﾒﾀｼﾞﾝ塩酸塩 | 10.26 | 0.347 | 0.016 | 5.860 | | |
| ﾃﾞｷｻﾒﾀｿﾞﾝ | N.E. | N.E. | – | N.E. | | |
| ﾄﾙﾍﾟﾘｿﾝ塩酸塩 | 22.11 | 0.695 | 0.065 | 3.259 | | |
| ﾃﾞｷｽﾄﾛﾒﾄﾙﾌｧﾝ臭化水素酸塩 | 46.630 | 0.623 | 0.016 | N.E. | | |
| ｸﾛﾀﾐﾄﾝ | N.E. | 3.540 | 2.083 | N.E. | N.E. | |
| ｼﾞｴﾁﾙﾄﾙｱﾐﾄﾞ | 41.73 | 4.055 | 0.521 | N.E. | N.E. | |

N.E. : 設定した濃度範囲において明確な影響がみられなかった
－ : 明確な影響がみられず計算されなかった
空欄 : 試験未実施

毒性が検出された医薬品数は、分類群毎に以下のようであった。

解熱鎮痛剤 : 7 種類（8 種類中）
抗菌剤 : 2 種類（10 種類中）
循環器薬 : 2 種類（8 種類中）
消化器薬 : 0 種類（3 種類中）
抗神経薬 : 4 種類（8 種類中）
その他 : 4 種類（8 種類中）

その他内訳 : 利尿薬, 抗アレルギー薬, 抗炎症薬, 筋弛緩剤, 呼吸器薬, 鎮痒剤, 昆虫忌避薬

このように、解熱鎮痛剤の多くで毒性が検出された。しかし、毒性の強さからみると、最も強い毒性を示したのは抗菌剤のトリクロサンであり、次いで抗神経薬のクロルプロマジン塩酸塩、抗菌剤のチモール、循環器薬のトルブタミド、抗神経薬のイミプラミン塩酸塩の順であり、抗菌剤や抗神経薬に毒性の強いものがみられた。

**(2)　藻類**

藻類の成長阻害試験からは、46 種類の医薬品のうち、31 種類の医薬品について毒性が検出された。

毒性が検出された医薬品数は、分類群毎に以下のよ

うであった。

解熱鎮痛剤：8 種類（8 種類中）
抗菌剤：7 種類（10 種類中）
循環器薬：3 種類（8 種類中）
消化器薬：1 種類（3 種類中）
抗神経薬：6 種類（8 種類中）
その他：6 種類（8 種類中）

細菌に対する影響と同じく、解熱鎮痛剤の多く（藻類については全て）から毒性が検出された。さらに藻類では抗菌剤や抗神経薬、その他の分類群からも多くの毒性が検出されるとともに、それらの毒性の程度は比較的強かった。

一方、毒性の強さからみると、抗菌剤のトリクロサンやクラリスロマイシン、アジスロマイシンが他の医薬品と比べ特に強い毒性を示していた。さらに、抗神経薬や抗アレルギー薬、筋弛緩剤、呼吸器薬に強い毒性がみられた。

**(3) 甲殻類**

甲殻類のミジンコ遊泳阻害試験からは、46 種類の医薬品のうち、10 種類の医薬品について毒性が検出された。

毒性が検出された医薬品数は、分類群毎に以下のようであった。

解熱鎮痛剤：2 種類（8 種類中）
抗菌剤：3 種類（10 種類中）
循環器薬：0 種類（8 種類中）
消化器薬：0 種類（3 種類中）
抗神経薬：3 種類（8 種類中）
その他：2 種類（8 種類中）

傾向としては細菌に対する影響と同じく、解熱鎮痛剤、抗菌剤、抗神経薬等から毒性が検出された。しかし、細菌や藻類と比べると毒性が検出された医薬品の種類は少なく、毒性の程度も弱かった。

毒性の強さについては、抗神経薬のアミトリプチリン塩酸塩が最も強い毒性を示し、次いで抗菌剤のトリクロサンが強い毒性を示した。

**(4) 両生類**

両生類のカエル胚発生に対する阻害試験については、現段階で 15 種類の医薬品に関して試験結果が得られている。この 15 種類の医薬品のうち、2 種類の医薬品について毒性が検出された。

毒性が検出された医薬品数は、分類群毎に以下のようであった。

解熱鎮痛剤：1 種類（7 種類中）
抗菌剤：1 種類（5 種類中）
抗神経薬：0 種類（1 種類中）
その他：0 種類（2 種類中）

毒性の強さについては、抗菌剤のトリクロサンが最も強い毒性を示したほか、解熱鎮痛剤のメフェナム酸についても毒性が検出された。

**(5) 原生動物**

原生動物の増殖に対する阻害試験については、現段階で 5 種類の医薬品に関して試験結果が得られている。この 5 種類の医薬品のうち、3 種類の医薬品について毒性が検出された。

毒性が検出された医薬品数は、分類群毎に以下のようであった。

解熱鎮痛剤：1 種類（3 種類中）
抗菌剤：2 種類（2 種類中）

毒性の強さについては、抗菌剤のトリクロサンが最も強い毒性を示したほか、解熱鎮痛剤のメフェナム酸、抗菌剤のチモールについても毒性が検出された。

## ５．４　生態リスク初期評価

上記の生物試験結果と、前述の河川における医薬品測定結果から、生態リスクについての初期評価を試みた。これは、生態系に対して有害な影響を及ぼさないと予想される濃度として設定される予測無影響濃度（PNEC：Predicted No Effect Concentration）と、予測環境中濃度（PEC：Predicted Environmental Concentration）または実測環境中濃度（MEC：Measured Environmental Concentration）との比較を行うことにより、リスク評価の第一段階となる詳細な評価を行う候補物質を選定する手法であり、環境省による「化学物質の環境リスク初期評価ガイドライン－生態リスク初期評価」の手順に準じて検討を行った。

PNEC は生物試験の結果得られた毒性指標値にアセスメント計数を乗じて算出を行うが、ここでは慢性毒性値と見なせる NOEC の得られた藻類阻害試験の結果をのみを用いることとし、NOEC にアセスメント係数 100 を適用して［PNEC=NOEC/100］として計算した。

また、環境中濃度としては、下水道普及率が 31%と低い地点（2 章の地点④、3 章の地点 C も同一地点）におけるそれぞれの物質に関する実測濃度を MEC として検討対象とした。

まず、各医薬品についての PNEC をまとめると表 5-3 のようになった。

表 5-3　藻類生長阻害試験から算出された PNEC

| 医薬品名 | PNEC（μg/L） |
|---|---|
| ｲﾌﾞﾌﾟﾛﾌｪﾝ | 5.21 |
| ﾌｪﾉﾌﾟﾛﾌｪﾝ | 20.8 |
| ﾅﾌﾟﾛｷｾﾝ | 5.21 |
| ﾒﾌｪﾅﾑ酸 | 20.8 |
| ｹﾄﾌﾟﾛﾌｪﾝ | 10.4 |
| ｼﾞｸﾛﾌｪﾅｸ | 5.21 |
| ｴﾃﾝｻﾞﾐﾄﾞ | 20.8 |
| ﾌﾙﾌｪﾅﾐﾝ酸 | 2.60 |
| ﾁﾓｰﾙ | 5.21 |
| ﾄﾘｸﾛｻﾝ | 0.0833 |
| 2-ｷﾉｷｻﾘﾝｶﾙﾎﾞﾝ酸 | － |
| ｸﾗﾘｽﾛﾏｲｼﾝ | 0.0521 |
| ｱｼﾞｽﾛﾏｲｼﾝ | 0.0521 |
| ﾚﾎﾞﾌﾛｷｻｼﾝ | 2.60 |
| ｵﾌﾛｷｻｼﾝ | 4.16 |
| ﾅﾘｼﾞｸｽ酸 | － |
| ｸﾛﾗﾑﾌｪﾆｺｰﾙ | 0.163 |
| ﾉﾎﾞﾋﾞｵｼﾝﾅﾄﾘｳﾑ | － |
| ｼﾞﾙﾁｱｾﾞﾑ塩酸塩 | 5.21 |
| ﾍﾞﾗﾊﾟﾐﾙ塩酸塩 | 5.21 |
| ｼﾞﾋﾄﾞﾘﾀﾞﾓｰﾙ | 10.4 |
| ｱﾃﾉﾛｰﾙ | － |
| ｿﾀﾛｰﾙ塩酸塩 | － |
| ﾄﾙﾌﾞﾀﾐﾄﾞ | － |
| ﾍﾞｻﾞﾌｨﾌﾞﾗｰﾄ | － |
| ｶﾌｪｲﾝ | － |
| ｽﾙﾋﾟﾘﾄﾞ | － |
| ﾋﾟﾚﾝｾﾞﾋﾟﾝ二塩酸塩-水和物 | － |
| ﾒﾄｸﾛﾌﾟﾗﾐﾄﾞ | 10.4 |
| ｶﾙﾊﾞﾏｾﾞﾋﾟﾝ | 5.21 |
| ﾌｪﾆﾄｲﾝ | － |
| ﾋﾟﾘﾐﾄﾝ | － |
| ｱﾐﾄﾘﾌﾟﾁﾘﾝ塩酸塩 | 0.651 |
| ｲﾐﾌﾟﾗﾐﾝ塩酸塩 | 0.325 |
| ﾊﾛﾍﾟﾘﾄﾞｰﾙ | － |
| ｸﾛﾙﾌﾟﾛﾏｼﾞﾝ塩酸塩 | 0.325 |
| ｼﾞﾌｪﾆﾄﾞｰﾙ塩酸塩 | 0.651 |
| ﾌﾛｾﾐﾄﾞ | － |
| ｱｾﾀﾞｿﾞｰﾙｱﾐﾄﾞ | 5.21 |
| ﾌﾞﾛﾒﾀｼﾞﾝ塩酸塩 | 0.163 |
| ﾃﾞｷｻﾒﾀｿﾞﾝ | － |
| ﾄﾙﾍﾟﾘｿﾞﾝ塩酸塩 | 0.651 |
| ﾃﾞｷｽﾄﾛﾒﾄﾙﾌｧﾝ臭化水素酸塩 | 0.163 |
| ｸﾛﾀﾐﾄﾝ | 20.8 |
| ｼﾞｴﾁﾙﾄﾙｱﾐﾄﾞ | 5.21 |

次に、河川における実測データによる MEC と上記の PNEC を比較すると、図 5-1 のようになった。

なお、ここではバイオアッセイに適用した医薬品のうち、抗菌剤のレボフロキサシン、及び抗炎症剤のデキサメタゾンについては当該地点における調査で測定対象となっていないため、今回の評価においては判定を行わなかった。また、藻類阻害試験における設定濃度範囲で毒性影響がみられず PNEC の算出されなかった物質についても今回は判定対象から外した。

この結果から、抗菌剤のトリクロサン，クラリスロマイシンについては、MEC/PNEC＞1 となり、詳細な評価を行う必要があると考えられる物質と評価され、同じく抗菌剤のアジスロマイシンについては、0.1≦MEC/PNEC＜1 となり、情報収集に努める必要があると考えられる物質と評価された。

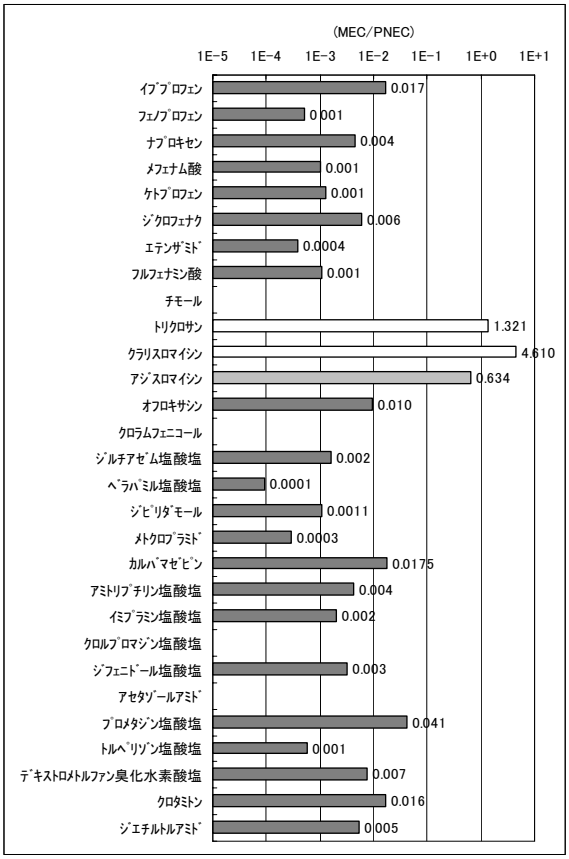



図 5-1　実河川における生態リスク初期評価結果

これら以外の物質については、現時点においては作業は必要ないと考えられる物質と評価された。

このように、特に抗菌剤に関するリスクが高く評価される傾向になったが、この要因としては、環境中濃度が高いというよりは、生物影響が強いことによるものと考えられる。

## ５．５　今後の展開と課題

今後の展開としては以下のような点があげられる。

- 全体として藻類の毒性影響が強くみられたが、これは他の多くの毒性試験が一個体への影響をみる急性毒性を対象としているのに対して、生長阻害という慢性影響を指標としていることによるものと考えられる。そこで、新たに導入した原生動物を用いた増殖阻害試験は増殖における世代間の影響をみることにより慢性影響の指標へ発展できる可能性があることから、原生動物を用いたバイオアッセイ手法の改良をはかり、より詳細な生物影響データが得られるよう検討を行う。
- 今回のリスク評価の手法を用いて、他の水域に

ついても評価を行い、各地点の流域における土地利用状況や汚水処理状況などと、リスクの大きさや、リスク要因となる医薬品の特徴等との関連について検討を行う。

・　リスク評価において、今回は藻類のNOECのみを指標として用いたが、対象とする医薬品と生物種によって観察される毒性影響が異なることから、リスク評価に採用する生物種についても、データの充実に並行して増やしていく。

また、今後の課題としては以下のような点があげられる

・　環境中には複数の医薬品が同時に混在することから、各医薬品の単体投与ではなく、複数の医薬品や界面活性剤等の他の化学物質の同時投与時にどのような濃度で影響が生じるかも重要な視点となる。

・　今回試験に用いた医薬品等のうち、各医薬品の物性にも揮発性や分解性、吸着性などについて特徴がある。従って、これらの物性を考慮してバイオアッセイ試験期間中において曝露濃度が維持されているかどうかを化学分析等により確認する必要がある。

・　本研究で算出された生態リスクと、実際の現場において形成される河川生態系との間における関連について解析を行い、バイオアッセイ試験による結果から得られたリスク評価の示す意味についての検討を試みる必要がある。

以上の点を考慮しながら、今後もさらに検討を進め効率的な試験やリスク評価につなげるデータとすることを目指す。

## ６．河川水中の微量化学物質による魚類への影響評価

### ６．１　目的

近年、河川環境に対する市民の要求は高く、水質の改善のみならず、豊かな生態系が確保されることが望まれている。特に、魚類の存在は水質浄化の効果を市民が実感できるため、河川中の汚濁物質による魚類への影響について、適切に把握する必要がある。

そこで本研究では、河川水中でメダカを飼育する連続曝露試験を行って遺伝子レベルでの影響を評価するとともに、河川中の微量化学物質等の分析を同時に行い、魚類に影響を与える微量化学物質についての知見を得ることを目的とした。

### ６．２　方法

#### 6.2.1.　供試魚類と影響評価法

曝露試験には、土木研究所の実験室で継体飼育しているメダカ（d-rR系統）を用いた。この系統は遺伝的に雄が緋色、雌が白色であるため、雌雄の識別が容易である。

一定曝露期間後、メダカを解剖し、肝臓からのRNA抽出後、マイクロアレイにより発現遺伝子を解析した。メダカ用マイクロアレイは、Agilent社のカスタムアレイを使用した。このマイクロアレイには約32,000種類のメダカの遺伝子断片が配置されている。

#### 6.2.2.　分析対象物質

曝露試験時の分析は、栄養塩類等一般項目の他、金属類、エストロゲン様活性および表2-1に示した物質を中心とした医薬品類について実施した。一般項目の分析はJIS K0102に掲載の方法に準じた。総水銀を除く金属類はICP-MSを用いて分析し、総水銀は昭和46年12月28日環境庁告示59号の付表1に掲げられている方法にて分析した。エストロゲン様活性は遺伝子組み換え酵母を用いて分析[7]した。医薬品類は２章に記載の方法で分析した。

#### 6.2.3.　河川水曝露実験

河川水曝露実験は、都市部の河川の水質観測所に水槽を設置して既報[8]と同様の方法で実施した。この水質観測所の地点の上流側には下水処理場が7つ存在しており、下水処理水の河川の流量に占める割合は概ね30～50%程度であると考えられる。曝露は雄と雌をそれぞれ40匹、別の水槽で行った。また、比較対照試験として水道水での曝露試験も行った。曝露期間は21日間とし、平成20年1月に実施した。

### ６．３　結果と考察

#### (1)微量化学物質等の分析結果

栄養塩類と金属類については、期間中の水道水の平均濃度と比較して濃度が2倍以上であった物質は11あった。これらについて、平均濃度を表6-1に示す。重金属類ではFeとZnの濃度が10μg/L以上であったが、亜鉛（Zn）の濃度は測定期間中を通じて河川の環境基準値の0.03mg/L（30μg/L）を下回っており、これらの物質に関しては通常の都市河川で見られる濃度であった。

表 6-1 河川水中の濃度が高かった栄養塩類と金属類

| 物質 | 単位 | 比較対照（水道水曝露） | 河川水曝露 |
|---|---|---|---|
| $NO_3$-N | [ mg/L ] | 0.17 | 8.1 |
| $PO_4$-P | [ mg/L ] | 0.038 | 0.49 |
| $K^+$ | [ mg/L ] | 5.3 | 11 |
| Li | [ μg/L ] | 0.65 | 2.8 |
| Al | [ μg/L ] | 7.0 | 41 |
| Mn | [ μg/L ] | <0.5 | 8.5 |
| Fe | [ μg/L ] | 3.4 | 38 |
| Ni | [ μg/L ] | <0.5 | 3.1 |
| Cu | [ μg/L ] | 2.0 | 5.9 |
| Zn | [ μg/L ] | 3.2 | 18 |
| Mo | [ μg/L ] | 0.82 | 2.1 |

エストロゲン様活性については 10～40ng/L の範囲にあり、河川としては高い濃度であった。

医薬品類に関しては、55 物質が検出され、うち 49 物質は曝露期間にわたって検出された。検出物質の平均濃度分布を表 6-2 に示す。

表 6-2 河川水中に検出された医薬品類の濃度分布

| 平均濃度の範囲 | 物質数 |
|---|---|
| ～1ng/L | 1 |
| 1～10ng/L | 16 |
| 10～100ng/L | 26 |
| 100ng/L～1μg/L | 5 |
| 1～10μg/L | 1 |

### (2) メダカ遺伝子の発現状況

遺伝子の発現状況については、各遺伝子について、対照試験の水道水曝露試験による発現量倍率変化に対する、河川水曝露試験による発現量倍率変化の比を算出した。その範囲に対応した遺伝指数を表 6-3 に示す。河川水曝露試験による発現量倍率変化が 10 倍以上であった遺伝子について、そのほとんどは機能不明である未同の遺伝子であった。雄と雌で共通のものは 5 つあった。

表 6-3 メダカ遺伝子の発現量倍率変化比

| 発現量倍率変化比の範囲 | 雄 | 雌 |
|---|---|---|
| ～1 | 30668 | 18576 |
| 1～2 | 5170 | 16874 |
| 2～10 | 603 | 986 |
| 10～ | 17 | 22 |

### (3) 微量化学物質の濃度とメダカ遺伝子の発現状況との関係

各種物質の河川中の濃度分析結果より、一般項目や金属類は一般的な値であり、特に顕著な汚染はないと言える。しかし、エストロゲン様活性が通常河川より高く、医薬品類の検出率も 2 章で検討した各地点より高かったことから、微量化学物質による汚染は比較的進行している状況にあると考えられる。

一方、遺伝子の発現状況については、割合は少ないながらも、比較対照に対して顕著な発現遺伝子が見られ、そのうち雄と雌で共通しているものも見られた。この発現状況と河川中の物質濃度の関係から、これらの遺伝子の発現は微量化学物質によって引き起こされた可能性がある。

## 6．4　今後の課題と展開

今回の曝露試験結果については、さらなる解析が必要であると同時に、より明確に微量化学物質による魚類への影響を把握するため、個々の物質による影響に関する知見が必要であると考えられる。しかし、個々の物質を用いて魚類の曝露試験を行うには多大な労力と時間が必要となることから、5 章で用いたようなより低次な生物への影響をスクリーニングのための知見として用い、効率的に曝露試験を行う必要があると考えられる。

また、下水処理水を用いる曝露試験により、より明確に遺伝子への影響が見られる可能性もあることから、下水処理水を用いる曝露試験の結果との比較も必要であると考えられる。

発現が見られる遺伝子については、バイオマーカーとして利用できる可能性があることから、詳細な情報を収集することにより、個体レベルで見られる生体反応との関連を把握する必要がある。

このような今後の研究の展開により、河川中の魚類へのリスク要因を明らかにし、リスク低減のために必要な施策を構築して行く予定である。

## 7．まとめ

数多くある医薬品のなかから生産量が多く一般的に用いられていると考えられる医薬品に、我が国でこれまで検出例のある物質を加えた 95 種類を選定し一斉分析法の開発を行った。

医薬品 95 物質の一斉分析法を用い、水環境中での医薬品の実態把握を行った。小河川における医薬品存在実態は、農村地域では都市域に比べ検出数は少なく、それらの濃度も低いことが確認された。また、家庭からの排水が下水道において収集・処理され、他の流域に放流されている地域では、医薬品の濃度が低い傾向にあった。

排水処理施設の整備状況が異なる小河川において GC/MS を用い 11 物質の医薬品を調査し排水処理施設の整備状況と医薬品存在濃度の関係を調べた。調査医

薬品濃度は、各物質とも下水道普及率が高い地域では、他の地点に比べ低い値を示した。下水道未整備地域の調査医薬品濃度は、下水道が整備された地域の 10～50 倍の濃度で存在していた。

また、5 種の生物を用いたバイオアッセイ手法を用いて医薬品が生物に及ぼす影響を調査した結果、46 物質中 35 物質で生物影響が確認された。特に抗菌剤や抗神経薬が高い毒性を示した。この生物試験結果を用いて下水道普及率が低い地点における生態リスク初期評価を行ったところ、トリクロサンとクラリスロマイシンについて MEC/PNEC＞1 となり、詳細な評価を行う必要があると考えられる物質と評価された。

さらに、遺伝子手法を用いた河川水曝露実験により魚類への影響を評価したところ、試験水中に医薬品類が検出されるとともに発現量が大きく変化した遺伝子が見られた。このことから、今後は河川中の魚類へのリスク要因を明らかにする必要があると考えられた。

**参考文献**


1) Hirsch, R., Ternes, T., Haberer, K. and Kratz, K. L. (1999) Occurrence of antibiotics in the aquatic environment, *The Science of Total Environment*, **225**, 109-118.

2) 高田秀重，谷島利勝（2003）医薬品による環境汚染，医学のあゆみ，**205**，159-160.

3) 田中宏明，岡安祐司，中田典秀，八十島誠（2004）新たに登場してきた下水道の微量汚染物質問題，下水道協会誌，**41**（499），27-30.

4) 厚生労働省医政局編集, 薬事工業生産動態統計年報, じほう (2004)

5) 小西千絵，宝輪勲，中田典秀，小森行也，鈴木穣，田中宏明，環境工学研究論文集，43，73-82 (2006)

6) 宝輪他，GC-MS による環境中の PPCP s 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，p. 774-775 (2007)

7) 矢古宇靖子, 高橋明宏, 東谷忠, 田中宏明 : 組み換え酵母を用いた下水中のエストロゲン活性の測定、環境工学研究論文集、36、199-204、1999

8) T. Higashitani, K. Miyajima, N. Nakada, M. Yasojima, H. Tanaka and Y. Suzuki : Development of on-site fish exposure system placed in water quality monitoring stations along a river, Water science and technology , vol. 52, No12, pp. 275-282, 2005

# 水環境におけるプランクトン群集の迅速検出手法に関する基礎的研究

水環境研究グループ　水質チーム
上席研究員　鈴木　穣
主任研究員　北村　友一

## 1.　はじめに

湖沼中での有機物の生成や変換および分解には、微生物が大きく関与している。たとえば、藻類は、光合成により二酸化炭素から有機物を生産し、過剰な有機物は体外に排出する。排出された有機物の内、易分解性有機物は、細菌に消費され分解される。藻類や細菌は死後、他の細菌に分解され、溶存有機物に変換され、再度、細菌に利用される。

これらの微生物群集の動態は、湖沼の水質に大きな影響を与えていると考えられる。湖沼の微生物群集構造や活性、相互作用を明らかにすることは、湖沼の水質の理解を深め、また、水質予測の基礎的知見となる。しかし、湖沼中の微生物の群集測定や解析は、技術的に難しいことからこれまで行われてこなかった。

本研究では、湖沼の微生物群集を簡易に測定できる方法の開発を目指しており、本年度は、フローサイトメトリーセルソーターによる植物プランクトンと細菌の検出を試みた。

## 2.　調査方法

平成 19 年 5,8,11,平成 20 年 2 月に、琵琶湖安曇川沖(図-1 参照)において水深 0.5m,5m,10m,20m,50m,約 60m（底面上 1.5m）と大宮川沖(図-1 参照)の水深 0.5m から湖水を採水した。湖水は 50μm のナイロン製メッシュでろ過し、ろ液 1ml を藻類分析試料とし、フローサイトメトリーで測定した。細菌測定のための試料は、藻類試料とは別に、グルタールアルデヒドで固定した後、核染色（染色試薬：SYBR GREEN）し、50μm のナイロン製メッシュでろ過し、ろ液 1ml をフローサイトメトリーで測定した。フローサイトメトリー分析は、488nm のアルゴンレーザーを励起光とし、側方散乱強度、前方散乱強度、緑色、黄色、オレンジ、赤色蛍光を測定した。




図-1　採水位置

## 3.　植物プランクトンの測定結果

図-2 は、平成 19 年 5,8,11,平成 20 年 2 月の琵琶湖安曇川沖水深 5m から採水した藻類分析試料のフローサイトメトリーによる測定結果である。本図は、フローサイトメトリーで検出された各粒子について横軸を黄色蛍光強度、縦軸を赤色蛍光強度の関係でプロットしたものである。植物プランクトンが有するクロロフィルなどの色素は、488nm 付近の光で励起されると、黄色や赤色の蛍光を発することから、図中のプロット 1 つひとつは、植物プランクトンを反映している。図中の A の領域は、黄色と赤色蛍光粒子がプロットされる全範囲であり、B,C,D,E,F,G で囲んだ領域は、A 領域の中でさらに、プロットが集中する部分を著者が目視で囲んだものである。蛍光強度が低くなるに従い、藻類の大きさも小さくなる傾向があり、D 領域のグループがコプランクトン（0.2μm～2μm）を反映していると考えられる。

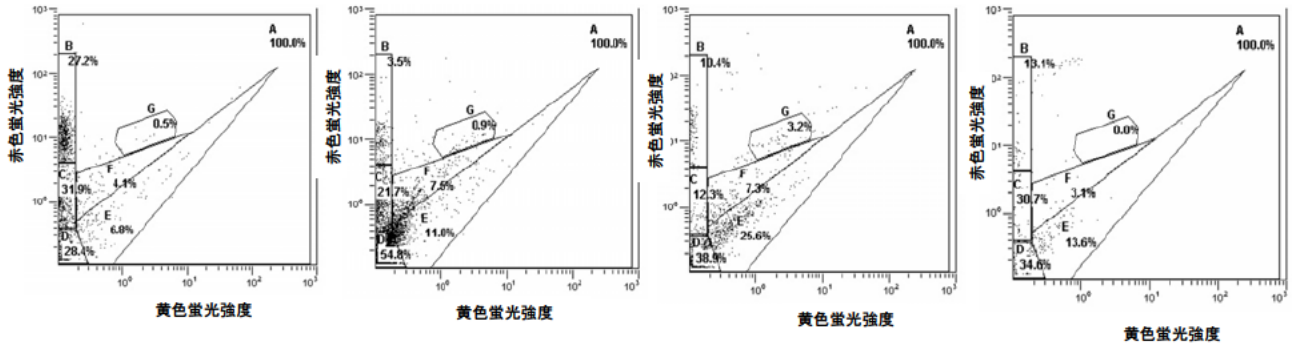
図-3 は、B から G 領域およびこれらの領域に属さなかった粒子数を水深別で帯グラフで図示したものである。図-4 は、図-2 と同条件で整理したときの大宮川沖 0.5m の結果である。

図-3 より、5,8,11 月の安曇川沖では、水深 0.5 から 10m 付近の植物プランクトン数が多いことがわかる。特に 8 月は、水深 10m 付近で、1ml あたり約 3 万 5 千個と最大となった。2 月は、水深 0.5m の植物プラン

クトン数は若干高いものの、水深別で大きな違いはみられなかった。8 月の水深 0.5～10m の間で最も存在割合が多かったのは、D 領域に属するプランクトンであった。この領域のプランクトンは、ピコプランクトンと考えられ、夏季に増殖することがわかる。

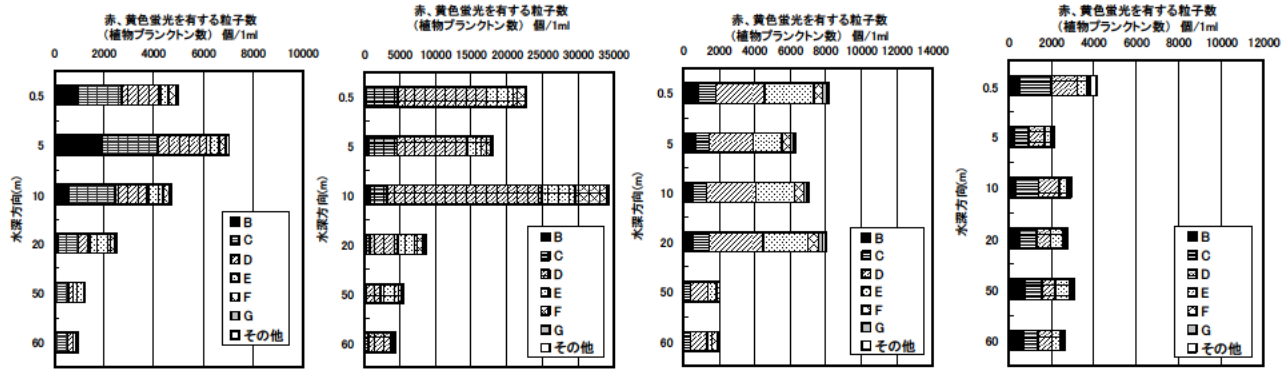
大宮川沖の植物プランクトンは、夏季に多くなるものの 1ml あたり約 1 万個であり、安曇川沖に比べて少なく、季節変動も小さくなっていた。大宮川沖では、B 領域のプランクトンの存在割合が多いことがわかった。

今回のフローサイトメトリーによる藻類の分析では、藻類の分散処理は行っていないため、群体を形成している藻類は、1 細胞と計数されるため、本分析結果は正確な細胞数ではないが、植物プランクトン数の季節変動および水深方向別の変化はとらえることができた。今後は、より正確な細胞数の計測法や各領域の藻類を分取し同定していく必要がある。



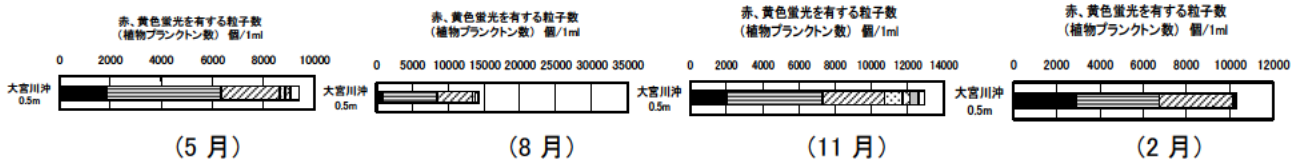

（5 月）　（8 月）　（11 月）　（2 月）

図-2　H19 年 5 月,8 月,11 月,H20 年 2 月の琵琶湖安曇川沖水深 5m 中粒子の黄色と赤色蛍光強度の関係




（5 月）　（8 月）　（11 月）　（2 月）

図-3　H19 年 5 月,8 月,11 月,H20 年 2 月の琵琶湖安曇川沖水深方向別の藻類の種類と濃度




（5 月）　（8 月）　（11 月）　（2 月）

図-4　H19 年 5 月,8 月,11 月,H20 年 2 月の琵琶湖大宮川沖水深方向別の藻類の種類と濃度（凡例は図-3 に従う）

## 4.　細菌の測定結果

フローサイトメトリーで細菌を検出する場合、細菌は蛍光色素を含有していないため別途蛍光染色する必要がある。本年度は簡便な核染色を試みた。核染色では細菌を特異的に検出するものではないが、染色操作が簡易であり、蛍光強度が強くフローサイトメトリーで容易に検出できる特徴がある。本実験で使用した核染色試薬は SYBR GREEN である。本試薬は 488nm のレーザー光で励起すると緑色の蛍光を発すること

から、藻類と細菌の同時検出が可能と考えられる。

はじめに、SYBR GREEN 染色した細菌をフローサイトメトリーで測定し、どのようなサイトグラムが得られるかを明らかにした。細菌試料は、琵琶湖表層水を R2A 培地（従属栄養細菌測定用培地）で培養し、出現したコロニーの１つを適宜希釈したものである。

図-5 は、SYBR GREEN 染色した細菌のフローサイトメトリーによる検出結果である。本図は、側方散乱強度と緑色蛍光強度および緑色蛍光強度と赤色蛍光強度の関係で図示したものである。図-5 右図より、SYBER GREEN は、赤色蛍光への漏れ込みがあることがわかる。

図-6 は、琵琶湖安曇川沖の水深 5m の湖水を SYBR GREEN 染色したときの側方散乱強度と緑色蛍光強度および緑色蛍光強度と赤色蛍光強度でプロットしたものである。緑色蛍光強度と赤色蛍光強度の関係から、細菌と藻類の同時検出が可能と考えられたが、SYBER GREEN が赤色蛍光へ漏れ込みやピコプランクトンの赤色蛍光強度は低いことから、藻類と細菌について明確に集団としてわけることは困難であった。

核染色は、核を有する粒子のほとんどを染色していると仮定すると、核染色された粒子数と藻類数の差は、植物プランクトン以外の粒子となり、細菌はこの粒子に含まれると考えられる。そこで、5,8,11,2 月の琵琶湖安曇川沖の水深別の分析結果から、植物プランクトン以外の粒子数を算出し図示すると、図-7 左図が得られた。

図-7 左図から、5 月の藻類以外の粒子数が多くなる傾向となっている。5 月の湖水は田植えの影響を受けることから、土壌細菌などが湖に流出され、こうした粒子を検出している可能性がある。8 月は、藻類が多い水深 10m で、藻類以外の粒子が多くなることがわかった。

SYBR GREEN による核染色は、死細菌、ファージ、藻類、原生動物など様々な微生物を染色することから、フローサイトメトリーによる細菌の検出を試みる場合は、FISH 法などで直接、細菌を検出することが望ましいと考えられる。

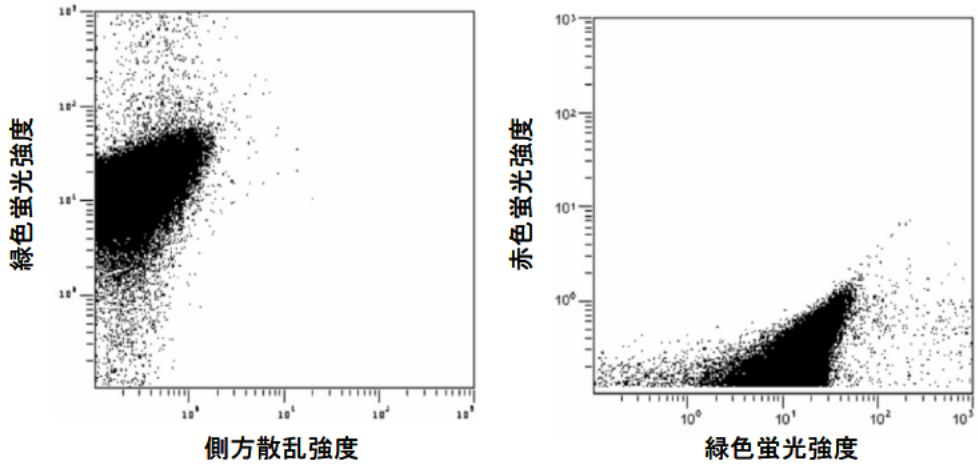



図-5　SYBR GREEN 染色した細菌のフローサイトメトリーによる分析結果
（左図：側方散乱強度と緑色蛍光強度の関係、右図：緑色蛍光強度と赤色蛍光強度の関係）

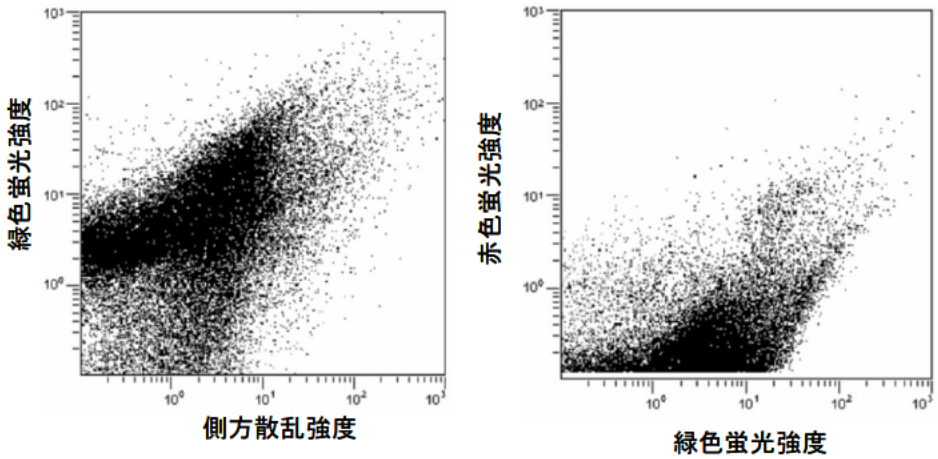



図-6　琵琶湖（安曇川沖，8 月，水深 5m）湖水を SYBR GREEN 染色したときのフローサイトメトリー分析結果（左図：側方散乱強度と緑色蛍光強度の関係、右図：緑色蛍光強度と赤色蛍光強度の関係）

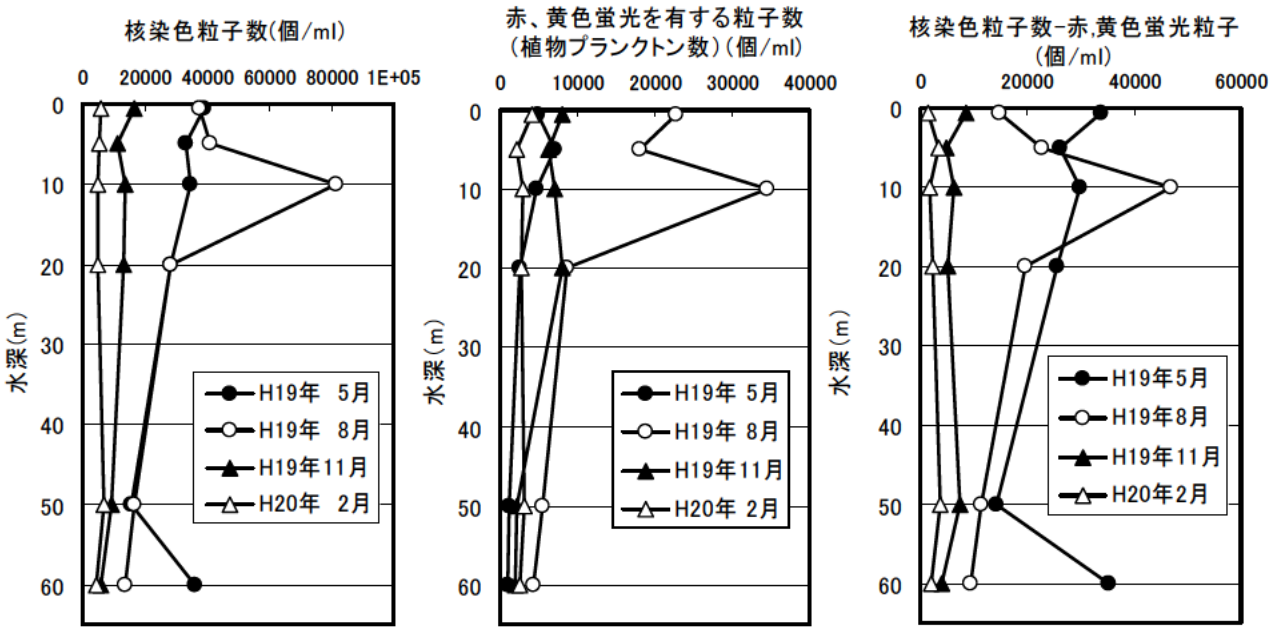



図-7　琵琶湖安曇川沖水深別の核染色粒子数（左図）と赤,黄色蛍光を有する粒子数（植物プランクトン数）（中図）およびその差の関係（右図）

## 5. まとめ

琵琶湖湖水を分析試料としフローサイトメトリーによる植物プランクトンと細菌の測定を試みた結果、以下のことがわかった。

1）　フローサイトメトリーによる植物プランクトンの測定は、赤色蛍光と黄色蛍光を有する粒子を計数することにより可能であった。

2）　各粒子を赤色と黄色蛍光強度の関係でプロットし、プロット集団の位置から藻類を種類別に計数することが可能であった。

3）　琵琶湖安曇川沖では、夏季にピコ植物プランクトンが増殖していることが示唆された。

4）　核染色による細菌の検出は、藻類と細菌の判別が難しく、藻類と細菌の同時検出は困難であった。

## 6. 今後の課題

湖水中の藻類などのプランクトンをより正確に計数するためには、水中で群体を形成している藻類を分散させる必要がある。今後は、湖水中のプランクトンを正確に計数する方法を開発していく予定である。

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。

【謝辞】　琵琶湖湖水の採水には、国土交通省琵琶湖河川事務所の協力を得た。ここに記して謝意を表す。

# 都市水環境における水質評価手法に関する調査

研究予算：運営費交付金（治水勘定）
研究期間：平 18～平 22
担当チーム：水環境研究グループ（水質）
研究担当者：鈴木穣、北村清明、岡安祐司、北村友一

【要旨】
水質環境基準の遵守のみでは都市部の水環境に豊かな水生生態系を構築することが困難である現状を踏まえ、化学的水質分析手法に加えて生態系評価手法やバイオアッセイ手法を取り込み、生態影響を対象とした水質評価指標を開発することを本研究の目標としている。今年度は、流入する排水の種類が異なる河川における水質、付着藻類や底生動物に関して統計解析を行い、底生動物に影響を与える水質項目を推測するとともに、水のきれいさを表現できる指標の構築を試みた。また、底生動物に影響を与える水質項目を明らかにするために必要な水路実験を行うための基礎的な知見として、底生動物の水路における短期的な移動状況を明らかにした。さらに、下水処理水の藻類増殖能を低下させることを可能とする簡易で安価な高度処理法を開発した。
キーワード：河川水質、水生生態系、底生動物、付着藻類、統計解析、水路実験、藻類抑制

## 1. はじめに

近年、下水道普及率の向上等により、都市部の河川環境は改善の方向にある。しかし、水質環境基準は水生生態系の保全のために設定されているわけではないため、水質環境基準が遵守されている水環境においても、豊かな水生生態系が構築されているとは限らない状況である。

このような中、平成 15 年度から新たに水生生物保全の観点から亜鉛が水質環境基準の項目として加えられた。この設定に当たっては、魚類の餌となる底生動物の一種であるヒラタカゲロウの生息条件が考慮された。また、国土交通省は平成 17 年に、従来の有機性汚濁指標（BOD）のみでは評価しきれない川の水質を住民に対し分かりやすく評価するという観点から「今後の河川水質管理の指標項目（案）」[1)]を提案し、「豊かな生態系の確保」という視点においては、溶存酸素（DO）とアンモニア態窒素（$NH_4$-N）を評価項目として設定した。しかし、水生生態系に対しては、他にも様々な水質項目が影響を与えていると考えられ、また、水生生物が河川における水質の指標ともされることから、これまでの化学的水質分析手法のみならず、現場における生物相の調査手法やバイオアッセイ手法を取り込み、生態影響を対象とした水質評価指標を開発する必要がある。

平成 18 年度は、様々な汚濁状況の河川において試料採取を行い、水質と生物相（付着藻類と底生動物）についてのおおまかな傾向を把握した。今年度は、流入する排水の種類が異なり様々な水質を有する都市河川における水質と生物相について統計解析を行うことにより、底生動物に影響を与える水質項目を推測するとともに、水のきれいさを表現できる指標の構築を試みることとした。また、このようなフィールド調査において明らかにした水質と水生生態系との関係を検証するためには、実験水路を用いた検討が必要であるが、その際、水路における底生動物の短期的な移動状況が基礎的知見として必要であるので、これに関する検討を行った。

## 2. 水質、付着藻類、底生動物の統計解析による関係解明

### 2. 1 調査対象水系

本調査では、水質と水生生態系の関係を明らかにするため、様々な水質を有する河川における実態調査を行う必要があり、下水道整備途上地域、下水道浄化槽混在地域等を対象とした他、下水処理水せせらぎや畜産排水含有河川等も含め、5 水系 19 地点を調査対象とした。試料の採取は全て冬期に実施した。

### 2. 2 調査項目

#### 2.2.1 水質項目

水質については、電気伝導度、DO、水温、残留塩素、全窒素、アンモニア態窒素、硝酸態窒素、全りん、TOC の 9 項目を解析の対象とした。

電気伝導度、DO、水温、については、調査対象地点に

おいて携帯型水質測定器（HORIBA 社，U-22 または U-10）を河川中に投入して測定を行った。残留塩素については対象地点で採取した試水を携帯型の測定器（HACH 社，Pocket Colorimeter［DPD 法準拠］）を用いて測定した。

全窒素、アンモニア態窒素、硝酸態窒素、全りん、TOC については、対象地点においてポリビンへ河川水を採水し、分析室へ冷蔵で輸送した後、分析を行った。分析は、TOC については自動分析計（SHIMADZU 社，TOC-5000A）を用い、全窒素、アンモニア態窒素、硝酸態窒素、全りんについてはオートアナライザー（Bran Lubbe 社，TRAACS800）を用いて行った。

### 2.2.2 付着藻類項目

付着藻類の分析試料は、対象地点において水中にある径 10～30cm の石を採取し、その石の表面へ 5×5cm の方形枠を当てて枠の範囲にある付着物をブラシで擦り取ることによって採取した。この作業を 5 回繰り返すことを基本として、採取した全ての試料を混合して分析用の試料とした。

採取した付着藻類分析用試料は、変質を防ぐためにホルマリンを約 5%(v/v)の割合で混ぜて生物を固定した上で分析室へ輸送した。

分析方法は定量分析とし、光学顕微鏡を用いて出現種の同定および計数を行って、出現種ごとの単位面積当たりの細胞数を算出した。

統計解析には、出現種数、多様度指数(shannon-Wiener)、糸状藻類種数、総細胞数、糸状藻類細胞数、珪藻類細胞数、藍藻類細胞数の 7 項目を用いた。なお、細胞数については対数化して解析を行った。

### 2.2.3 底生動物項目

底生動物の分析試料は、対象地点の河床へ 30×30cm の方形枠を設定し、その下流側に採集ネットを受けて、枠内にある石表面や底質中に生息する生物を収集した。およそ径 10cm 以上の石礫については、河川中で表面をブラシ等で擦ることで生物をネット中に洗い落とした。小石や砂泥については水中から取り出し、水を入れたバケツの中で生物を洗い落とした後にピンセット等で採集した。この作業を 3 回繰り返すことを基本として、採取した全ての試料を混合して分析用の試料とした。

試料採取の対象地点は、水深が比較的浅く、流速が確保されている、いわゆる“瀬”の状態になっている所を原則として選定した。

採取した底生動物分析用試料は、変質を防ぐためにホルマリンを約 10%(v/v)の割合で混ぜて生物を固定した上で分析室へ輸送した。

分析方法は定量分析とし、出現種の同定および計数を行って、出現種ごとの単位面積当たりの個体数および湿重量を算出した。

統計解析には、出現種数、多様度指数(shannon-Wiener)、総湿重量、総個体数、ミミズ類個体数、ユスリカ類個体数、カゲロウ類個体数、トビケラ類個体数の 8 項目を用いた。なお、個体数については対数化して解析を行った。

### 2.2.4 統計解析手法

統計解析手法としては、重回帰分析と主成分分析を用いた。重回帰分析においては、最適項数の決定のためにベイズ情報量基準を算出し、最も値が小さくなる場合を最適項数とした。また、重回帰分析と主成分分析は STATISTICA5.1J を用いて行った。

## 2. 3 調査結果

### 2.3.1 残留塩素による付着藻類、底生動物への影響

水質項目等について統計解析を行う際、適切な解析結果を得るためには値の分布等に注意を払う必要がある。今回対象としている水質項目のうち残留塩素については、下水処理における消毒過程で用いられるために下水処理水やその放流先のみで観測され、一般的に水生生態系への影響が大きいと考えられていることから、まず残留塩素による付着藻類、底生動物への影響について解析することとした。

今回の地点のうち残留塩素が観測されたのは、19 地点中 1 つの水系における 3 地点であった。これらの箇所の位置関係を図 2-1 に示す。

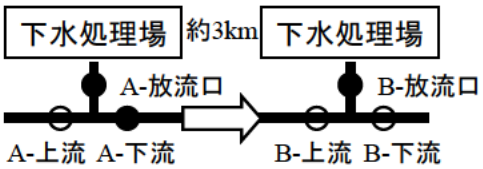



図 2-1 残留塩素が観測された地点の位置関係
（●は残留塩素が観測された試料採取地点、
○は残留塩素が観測されなかった試料採取地点）

このように、A-下流地点においては下水処理水の影響を受け、残留塩素が観測されたが、約 3km 流下するうちに残留塩素は消滅し、B-上流地点では残留塩素は観測されなかった。B-放流口では残留塩素は観測されたが、その濃度は低く、B-下流においては残留塩素は観測されなかった。

これらの 6 地点における残留塩素濃度、付着藻類の総細胞数、底生動物の総個体数を図 2-2 に示す。底生動物の総個体数は塩素の混入により大きく減少し、塩素の影響がなくなると再び増加していた。また、付着藻類の出現種数、底生動物の出現種数や湿重量についても、同様

の傾向であった。これに対し、付着藻類の個体数については、A-放流口で最大値を示す等、A 地点において全く異なる傾向を示していた。これは、A-放流口において観測された付着藻類は、そのほとんどが塩素に対して耐性を有する *Chlorolobion* 属であったことによる。

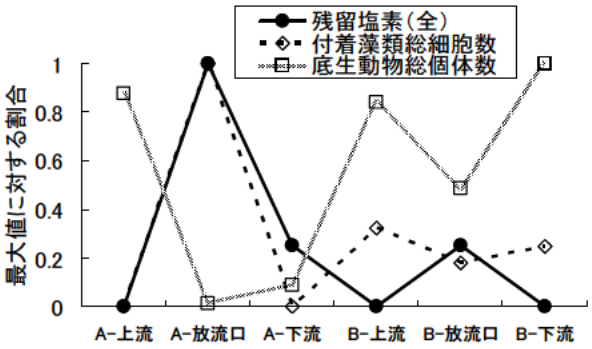



図 2-2 残留塩素の混入による生物指標の変化

以上のように、付着藻類、底生動物ともに、残留塩素が存在する地点においては種や量について大きな影響を受けることが分かった。

### 2.3.2 付着藻類項目、底生動物項目の水質項目による説明

付着藻類、底生動物の各項目について、水質項目による説明を試みるため、重回帰分析を行った結果を表 2-1 に示す。なお、上に述べたように残留塩素による影響が大きいため、その影響を排除して解析を行うこととして残留塩素を解析項目から除くとともに、残留塩素が観測された3地点を除く16地点のデータを用いて解析を行った。また、重相関係数が有意であり、説明水質項目として分布に偏りが少ない項目を含むもののみ掲載した。

表 2-1 生物項目の水質項目による説明

| 生物項目 | 相関係数 | 最適水質項目数 | 説明水質項目（符号が＋） | 説明水質項目（符号が－） |
|---|---|---|---|---|
| Log(付着藻類総細胞数) | 0.76 | 4 | 電気伝導度<br>溶存酸素<br>TOC | 水温 |
| Log(珪藻類細胞数) | 0.96 | 6 | 電気伝導度<br>溶存酸素<br>T-P<br>T-N | 水温<br>$NH_4$-N |
| 底生動物出現種数 | 0.88 | 3 | － | 電気伝導度<br>水温<br>T-P |
| 底生動物多様度指数 | 0.93 | 3 | － | 水温<br>T-P<br>T-N |
| Log(ミミズ個体数) | 0.61 | 1 | T-N | － |
| Log(カゲロウ個体数) | 0.84 | 3 | 電気伝導度 | T-N<br>TOC |
| Log(トビケラ個体数) | 0.71 | 1 | － | TOC |

付着藻類は汚濁負荷を利用して細胞の増殖が可能であることから、電気伝導度、全りん、全窒素等が正の相関になったと考えられる。電気伝導度が正の相関となったことは、電気伝導度の上昇には排水などに由来する栄養塩類等の増加が関係することから、排水の河川への流入により種数や細胞数が増加するという一般的な現象と合致する。また、溶存酸素については、細胞数が多い方が光合成が活発に行われて酸素を生成するため、同様に正の相関になったと考えられる。アンモニア態窒素については負の相関となっているが、このことから付着珪藻の優先性に対する負の要因の一つであると推測される。付着藻類については、上位生物の餌となることを個々の環境において考慮する必要があること、景観上増殖を抑制することが望ましいことがあること等から、今回得られた知見を用いて目的に応じた水質の管理を行うことが望まれる。

一方、底生動物については、水のきれいさを判定する指標として用いられる [2]ことから、種数や多様度指数は大きい方が望ましい。また、個体数についても、きれいな水に住む生物は多い方が望ましい。このような観点から見ると、ミミズ以外については負の相関となる項目が多く、項目にかかわらず水質の悪化が底生動物の生息にとっては制限要因になると推測される。一方、比較的汚濁の進んだ環境にも生息できるミミズについては汚濁により個体数が増加する現象と合致する結果が得られた。

付着藻類と底生動物のそれぞれの重回帰分析結果を比較すると、相関係数は同程度であるが、説明のために必要な水質項目数は、付着藻類の場合 4～6 項目、底生動物の場合 1～3 項目となっている。このことから、付着藻類に水質が与える影響はより複雑であると推測される。しかし、通常は一次生産者と水質との関わりが深いと考えられていることから、付着藻類に水質が与える影響については別の側面からの検討等も必要であると考えられる。

### 2.3.3 底生動物項目の指標化

個々の項目の重回帰分析を行った結果として付着藻類項目、底生動物項目の水質項目による説明が可能であったが、生物にとって良好な河川環境の評価を行うためには、これらの各項目を総合的な指標として表現する必要がある。この目的のため、前述のように水のきれいさを判定する指標として用いられる底生動物について、主成分分析を行い、底生動物全体を表現できる指標の提案を試みることとした。

底生動物に関する 8 項目の主成分分析を行ったところ、第二主成分までで約 78%の寄与率となった。これらについて、各項目の因子負荷量を図 2-3 に示す。

この図において、第一主成分の値が大きい項目は、多様度指数や出現種数のように生物多様性に関する項目や、

カゲロウ類、トビケラ類のように比較的きれいな水に住む（水質階級Ⅰ～Ⅱ）生物の個体数であったこと、小さい値は比較的きたない水に住む（水質階級Ⅳ）生物の個体数であったことから、この第一主成分は水のきれいさを表していると考えられる。

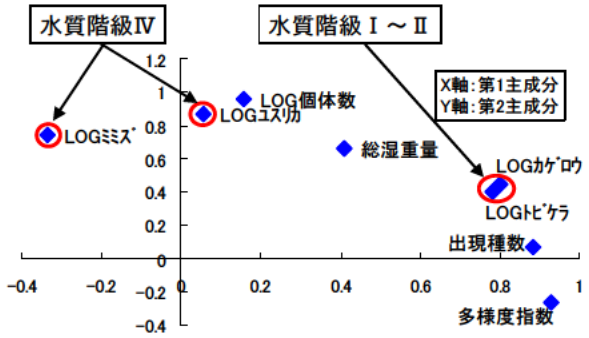



図 2-3 底生動物項目の主成分分析結果

この第一主成分は、底生動物の各項目により式(1)で表される。

底生動物の第一主成分＝0.286×出現種数
＋0.325×多様度指数＋0.085×総湿重量
－0.021×Log(総個体数)-0.165×Log(ミミズ類個体数)
-0.047×Log(ユスリカ類個体数)+0.229×Log(カゲロウ類個体数)
＋0.227×Log(トビケラ類個体数)　(1)

この式中、符号が正で係数が大きいのは、多様度指数、出現種数、Log(カゲロウ類個体数)、Log(トビケラ類個体数)であり、きれいな水との関連性の高い項目であった。

このように、底生動物項目を水のきれいさを判定する指標としてまとめることができたことから、全国で行われている水生生物調査結果の集計により、水のきれいさを一つの数値として表して比較することも可能であると考えられる。

### 2.3.4 指標化した底生動物項目の水質項目による説明

水生生態系にとってよりよい河川環境を構築する場合、指標化した底生動物項目を目安として、数値の向上を目指すことが指針となり得る。そのためには、排水処理方法や区域の改善等の人為的な行為に拠るため、そういった方策による水質の向上による水生生態系の生息環境の改善を予測できることが望ましい。そこで、2.3.2 において指標化した底生動物項目を水質項目により説明することを試みた。

手法として重回帰分析を用い、水質項目により底生動物の第一主成分を説明する式を導いた。ただし、水質項目間には相関が見られる項目があること、分布に偏りがある項目があること等を考慮し、適宜項目の変換を行った。得られた式を式(2)に示す。また、この式による予測値と観測値を図 2-4 に示す。

底生動物の第1主成分 = -1.35 -0.57×変数1 -0.71×変数2 -0.05×T-N +1.83×飽和度　(2)
ただし、変数1：電気伝導度と水温と TOC を標準化した値の平均値
変数2：残留塩素のステップ変数

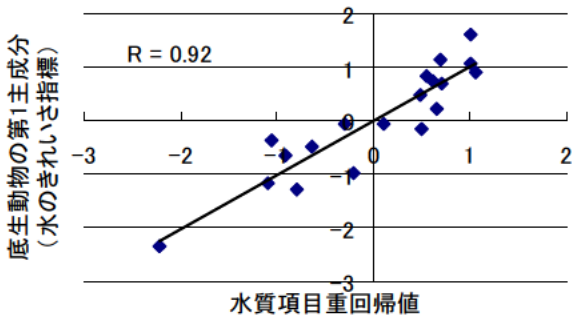



図 2-4 指標化した底生動物項目の水質項目による説明

このように、高い相関係数で重回帰式(2)を導くことができたことから、この式(2)は水のきれいさを水質項目で判定するための指標となり得ると考えられる。

なお、この式(2)中では飽和度(溶存酸素と水温の関数)に関する項のみが符号がプラスとなっていた。従って、溶存酸素が良好な水環境に寄与し、他の水質項目は負の影響を与えていることが推測される。

## 3. 実験水路を用いた底生動物の短期的な移動状況の確認

### 3. 1 調査目的

「2. 水質、付着藻類、底生動物の統計解析による関係解明」において明らかにしてきたように、河川において豊かな水生生態系を構築することが必要であり、これには、水質の適切な向上により効果を挙げることができることが推測された。しかし、実際に底生生物等が各水質項目にどのような影響を受けるのかについては、統計解析のみで明らかにすることは困難であり、実験等で確認することが必要となる。そのためには水質を変化させた複数の実験水路を用いる実験が必要と考えられる。しかし、水のきれいさの判定に用いられる底生動物はライフサイクルにおいて移動が欠かせないため、実験水路の設計にはこのような底生動物の習性を適切に考慮する必要がある。そこで、本調査では、水路実験を実施するための前段階として、底生動物の移動状況に関する基礎的な知見を得るための調査を行うこととした。

### 3. 2 実験方法

#### 3.2.1 実験水路

実験には、湖北実験場に設置されている人工水路を用いた。長さ 28m 幅 20cm の往復の水路であり、2m$^3$の水槽とポンプを介して試験水を循環させる。水路の傾きは試験水の流速が概ね 30cm/s となるように調節した。この水

路の復路に、群馬県山間部の渓流河川において採取した礫を敷き詰め、実験水路とした。

### 3.2.2 試験水および実験に用いた底生動物

実験水路用の礫を採取した群馬県の河川において、試験水および実験に用いた底生動物を採取した。これは、実験に用いた底生動物の生息環境をなるべく再現し、水質以外の要素からの影響を最小限とするためである。水温の上昇を避けるため、これら試料は採取後迅速に実験水路に持ち込んだ。底生動物の採取、同定および分類は、2.2.3 で示した方法と同様に行った。

### 3.2.3 実験方法

実験水路は、図 3-1 に示すように上流側 4m を底生動物供給ヤードとし、これ以降については 8m ごとに第一ヤード、第二ヤード、第三ヤードとした。水路内での底生動物のサンプリングは、サーバーネット（20×20cm，オープニングメッシュ 475μm）を各ヤードの最下流部に設置し、各ヤード内の石を洗いながらサンプリングを行った。また流下個体については最下流の塩ビパイプにネット（オープニングメッシュ 0.5mm）を設置しサンプリングを行った。底生動物のサンプリングは、実験開始から 24 時間後に第一ヤード、第二ヤード、第三ヤード、流下ネットで行い、48 時間後にはこれらに加え、底生動物供給ヤードでもサンプリングを行った。

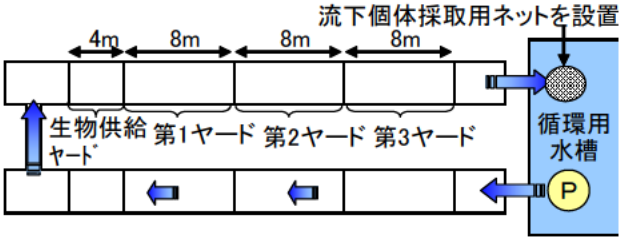



図 3-1 実験水路の概要

## 3. 3 実験結果

### 3.3.1 実験期間中の流速、水質等

実験期間中の流速は、各ヤードごとに 5 回測定したが、その平均値は 25～40cm/s であった。水深は各地点 15cm 程度であった。

簡易測定器で測定した DO は、3 回の測定でそれぞれ 8.8mg/L 以上であり、底生動物の生息には十分な値であった。また、BOD は定量下限値の 0.5mg/L 未満であった。水温は 16.5～20.6℃の範囲であった。

### 3.3.2 底生動物の移動状況

各ヤードおよび流下ネットにおいて観測された底生動物の個体数を表 3-1 に示す。この表中、実験開始時と 24 時間後の底生動物供給ヤードの個体数は計算値である。

表 3-1 各ヤードにおける底生動物の残存個体数

| | 底生動物供給ヤード | 第一ヤード | 第二ヤード | 第三ヤード | 流下ネット | 底生動物供給ヤード残存率 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 実験開始時 | 501 | – | – | – | – | – |
| 24時間後 | 401 | 6 | 3 | 4 | 87 | 0.800 |
| 48時間後 | 382 | 3 | 4 | 1 | 11 | 0.762 |

このように、24 時間後には約 80%の個体が底生動物供給ヤードに残存しており、それ以外の流下個体はほとんどが流下ネットまで流下していた。48 時間後には約 76%の個体が残存しており、24 時間後の残存率とほとんど変わらなかったことと併せて考えると、個体の流下は徐々に起きるのではなく、実験条件設定後比較的速やかに起き、それ以外の個体は比較的長期間残存すると考えられる。

表 3-2 には、底生動物供給ヤードに残存した底生動物の種数、多様度指数、EPT 出現割合(E:カゲロウ目、P:カワゲラ目、T:トビケラ目の合計種数を全確認種数で除した値)を示した。観測底生動物種数は実験期間を通じて減少していたが、多様度指数は 24 時間後にやや低下したものの、その後の低下は見られなかった。EPT 出現割合は逆に増加しており、水質の影響を調査する対象であるこれらの生物の移動が他の生物と比較して少ないことが分かった。

表 3-2 底生動物供給ヤードにおける種数等の推移

| | 観測底生動物種数 | 多様度指数（Shannon−Wiener） | EPT出現割合 |
|---|---|---|---|
| 実験開始時 | 27 | 2.46 | 0.815 |
| 24時間後 | 23 | 2.18 | 0.826 |
| 48時間後 | 20 | 2.12 | 0.900 |

実験期間中に流下した個体数が最も多かったのはフタバカゲロウの 46 個体であり、底生動物供給ヤードに残存した個体はなかった。その次に流下個体数が多かったのはウルマーシマトビケラであり、34 個体中 18 個体が流下した。これらについては、流速が適しなかったか、巣を移送中に破壊してしまったと考えており、これらの種に特に着目する場合には、注意が必要と考えられた。

しかし、実験期間中の流下状況から総合的に判断すると、底生生物を水路に入れた後 1 日程度の馴致期間を設けることにより、水質が底生動物に与える影響を調査する実験を行うことが可能であると考えられる。また、実験水路に必要な水路長は、底生動物供給ヤードの区間の 4m で十分であることが分かった。

# 4. 下水処理の高度処理による藻類増殖抑制

## 4.1 はじめに

下水処理水は、都市内の水資源として有効利用が求められているが、窒素やリン等の栄養塩類を高濃度に含むため、都市内水路や池などに再利用した場合に、付着藻類や浮遊藻類の大量発生を引き起こし、景観障害等の問題が生じる。この問題に対応するため、下水処理水中の栄養塩類の濃度を極めて低くする方法（凝集剤の大量使用によるリンの高度除去等）が試験的に適用されているが、設備費、運転費とも高価であり、普及していないのが現状である。このため、下水処理水に対して、簡易な設備かつ安価な運転費用により追加的に高度処理を実施し、下水処理水の藻類増殖能を低下させ、再利用に当たっての景観障害を低下させることを目的とする。

### 4.2. 実験方法

#### 4.2.1 連続実験

茨城県霞ヶ浦流域下水道湖北処理場内の実験施設室内に設置した擬似嫌気好気活性汚泥法実験プラント（有効水深 2m、最初沈殿池容量 0.5m$^3$、反応槽容量 2m$^3$、最終沈殿池容量 0.5m$^3$、HRT＝8 時間、SRT＝約 10 日、返送比＝0.4）の下水処理水を、微生物保持担体が添加された反応槽（容量 0.25 m$^3$、HRT＝2 時間）に導入し、下部より曝気を行い、担体表面に自然発生的に付着した生物膜により高度処理を実施した。さらに、反応槽流出水は急速砂ろ過装置（ろ過速度＝300m/日）を通過させ、余剰生物膜を分離し、ろ過水②を得た。また比較対照として、下水処理水の一部を急速砂ろ過装置（ろ過速度＝300m/日）によりろ過し、ろ過水①を得た。

ろ過水①、②はそれぞれ、屋外に設置された同一形状の円筒形の試験池（ポリエチレン製、φ365mm、深さ＝300mm）に満たし、以降はHRT＝14 日となるように連続的に通水した。

なお、本報告の連続実験は、2007 年夏季（7～9 月）に行われたものであり、期間中の下水処理水の水温は 24～30℃程度であった。

#### 4.2.2. 測定方法

水質測定は、ろ過水①、②については、週 2 回の頻度で一般項目（SS、DOC、T-N、$NH_4^+$-N、$NO_2^-$-N、$NO_3^-$-N、T-P、$PO_4^{3-}$-P）を、2 週間に 1 回の頻度で T-Fe, D-Fe, T-Mn, D-Mn を実施した。また、試験池については、上記の項目に加えて週 2 回の頻度で Chl-a についても測定を実施した。

### 4.3. 実験結果と考察

表 4-1 に実験期間中のろ過水①、②及び試験池水の水質測定結果を、また、図 4-2 には試験池で観測された Chl-a 濃度の累積頻度分布を示す。ろ過水①に比べて、担体処理を行ったろ過水②では、T-Mn 濃度が大きく低下

表 4-1　水質測定結果（平均値）

| 項目 | 単位 | ろ過水① | ろ過水② | 藻類増殖水槽(ろ過水①) | 藻類増殖水槽(ろ過水②) |
|---|---|---|---|---|---|
| SS | mg/l | 2.6 | 1.6 | 24.4 | 13.8 |
| DOC | mg/l | 9.5 | 6.4 | 11.4 | 3.0 |
| T-N | mg/l | 18.7 | 19.7 | 13.0 | 17.3 |
| T-P | mg/l | 0.38 | 0.46 | 0.77 | 0.19 |
| T-Fe | μg/l | 36.9 | 32.2 | 36.0 | 23.4 |
| T-Mn | μg/l | 33.1 | 0.5 | 8.5 | 1.4 |
| Chl-a | μg/l | - | - | 326 | 92 |

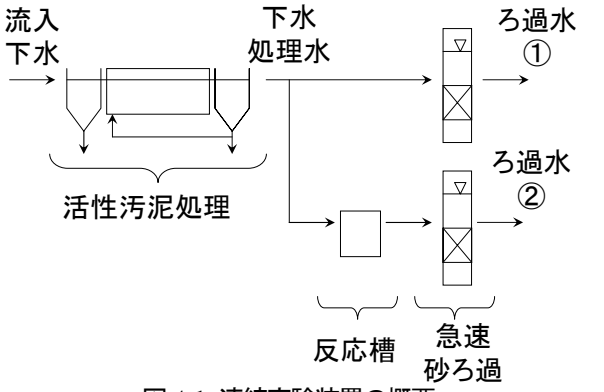



図 4-1 連続実験装置の概要

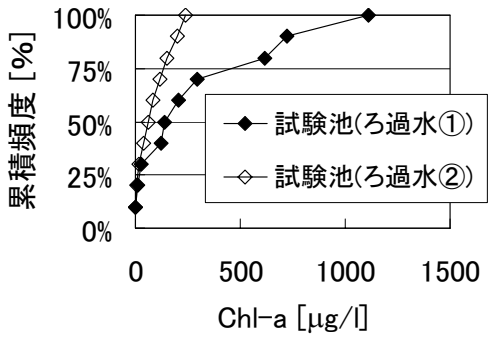



図 4-2　試験池で観測された Chl-a 濃度の累積頻度分布

しているのが特徴的である。そして、ろ過水②を供給した試験池では、藻類増殖が顕著に抑制されていた。

活性汚泥処理では、生物脱りんにより、ろ過水①、②における T-P 濃度を 0.4mg/l 程度にまで低下することができたが、藻類増殖が抑制されるレベルを大きく上回っており、P 濃度が藻類増殖を抑制しているとは考えられない。一方、Mn は環境水中に通常、100μg/l 程度含まれ、これが藻類増殖を抑制することは無いと考えられている。しかし、本研究では、ろ過水②では 1μg /l にまで低下しており、藻類増殖を抑制する因子となっている可能性が考えられる。

## 5．まとめ

様々な水質を有する河川における水質、付着藻類、底生動物を調査し、これらの関係について統計解析を行っ

たところ、付着藻類や底生動物の種に水質が大きな影響を与えることを裏付ける結果が得られた。また、底生動物項目については水のきれいさを判定するための指標として用いることができ、この指標を水質項目の多項式で表すことも可能であった。このような知見から、水質改善による水生生態系の改善を定量的に予測することが可能になると考えられる。

また、水質が水生生態系に与える影響を確認するための水路の基本的な設計条件を得るための実験を行ったところ、きれいな水環境に住む底生動物は大部分の個体が比較的狭い範囲に留まることが分かり、水路実験を行うために必要な水路長や注意点を明らかにすることができた。

今後は、今回の調査地点を含む様々な調査地点において季節を変えて生物相調査を行い、今回構築した指標の有用性を確認するとともに、水路実験により各水質項目の水生生態系への影響を確認していく。さらに、これらの知見を元に、主に都市域において多様性のある生態系を創出するために必要な要件を検討していく。

**参考文献**

1) 国土交通省、河川水質の新しい指標について、http://www.mlit.go.jp/kisha/kisha05/05/050330_.html、平成17年3月
2) 環境省・国土交通省、川の生きものを調べよう　水生生物による水質判定、平成13年6月

# 底質の酸素条件が藻類増殖に与える影響に関する調査

水質チーム　上席研究員　鈴木　穣
研　究　員　久岡　夏樹
専門研究員　中薗　孝裕

## １．はじめに

近年，湖沼でのアオコ大発生による水質障害の事例が減少するという現象が起こっている．その理由については，N/P 比のバランス変化や藻類が利用可能な鉄・マンガンの低下による説もあるが，未解明である．一方，これら湖沼においては，流域の下水道整備や浚渫などの底質改善事業の結果，底質の酸素条件が改善されてきたと言われており，アオコ発生量の減少との関係性が問われている．

本研究では，底質の酸素条件がアオコ発生量に与える影響について検討し，そのメカニズムを解明することを目的とする．

## ２．研究方法

### (1) 調査地点

本研究は霞ヶ浦の西浦（湖心・浚渫区）と北浦（釜谷沖）を対象として行った（図－○）．西浦（浚渫区）では H18 年度に浚渫を行っており，底質の改善が期待される流域である．それに対して西浦（湖心）や北浦（釜谷沖）は未浚渫区であり，更に北浦は下水道普及率が低く，流域負荷の高い地点である．




図－○　調査地点

### (2) 調査時期

高水温期と低水温期の水質・底質の状態を把握するため，夏季調査と冬季調査を行った．

・夏季調査：平成 19 年 8 月 20 日（西浦），8 月 22 日（北浦）

・冬季調査：平成 20 年 1 月 21 日（西浦），1 月 23 日（北浦）

### (3) 採水・採泥方法

1）採水

横型バンドーン採水器を用いて，深さ方向に表層（水面下約 50cm），中層（水深の約半分），下層（底泥表面上約 50cm）と三箇所採水を行った．各地点でポリ容器に 2L 採取し，低温状態で輸送した．また，底泥溶出試験に必要な底泥直上水（下層と同じ）も必要量を同様に採取した．

2）採泥

HR 型不攪乱柱状採泥器（離合社製）および透明アクリル製円筒型カラム（φ10cm×50cm，φ4cm×50cm）を用いて船上より採泥を行った．採泥はカラム内の泥高が 30cm 以上となるように採取し，採取後は底泥表面が攪乱しないよう養生し，低温状態で輸送した．

**(4) 測定項目**

1）水試料

現地にて多項目水質計を用い，pH，電気伝導度，濁度（COND），溶存酸素濃度（DO），水温，塩分濃度および酸化還元電位（ORP）を水面から 50cm ピッチで測定した．また，別途試料を採取して持ち帰り，窒素，リンおよび微量金属濃度を，オートアナライザーを用いて測定した．

2）底泥試料

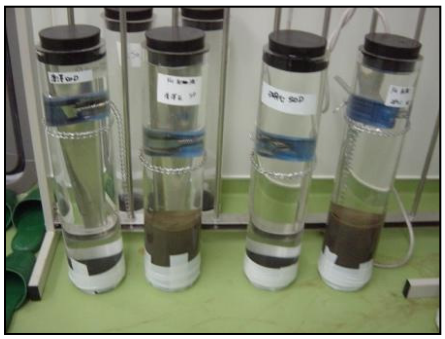
現地にて，カラムで採取した底泥を，深さ方向に 5cm ピッチで pH，ORP，泥温を測定した．また，別途採取して持ち帰り，底泥中や間隙水中の栄養塩類等の濃度測定，栄養塩の溶出試験および酸素消費速度試験を行った．

**(5) 底泥溶出試験**

底泥からの栄養塩類の溶出が，地点や酸素・温度条件の影響をいかに受けるかを確認するため，西浦，北浦より採取した底泥を用いて栄養塩溶出試験を行った．試験方法は，泥厚 15cm に調整した各地点の底泥に，1μm のろ紙でろ過した各地点の底泥直上水をサイフォンにて静かに注入し，好気条件（DO=8mg/L 以上）・嫌気条件（DO=1mg/L 以下）で試験を行った．また，温度条件は夏季条件と冬季条件として 20℃と 5.5℃で行った．

**(6) 底泥の酸素消費速度試験**

霞ヶ浦における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，それが現在の藻類増殖にも起因していることが考えられる．底質の改善が溶存酸素濃度にもたらす効果を実証する目的で，各水域における底泥を用いた静置系と攪拌系による酸素消費速度試験を行った．静置系試験は，底泥溶出試験と同様に内径 10cm×高さ 50cm のアクリルカラムを用い，底泥厚みを 15cm に調整した．採取地点ごとの違いを把握するため，各底泥直上水を 1.0μm のフィルターにてろ過し，Air 曝気にて溶存酸素濃度を 8mg/L 以上の飽和状態にしてサイフォンにてカラムへ静かに注いだ（写真－1）．カラム内の DO 濃度の測定を経時的に DO 計を用いて行い，酸素消費速度を算出した．攪拌系では層ごとの違いを把握するため，底泥を 2cm ごとに切り出し三角フラスコにいれ，静置系と同様の処理を行った直上水を注ぎ，回転子で攪拌しながら DO 濃度の測定を行い，底泥の酸素消費速度を算定した（写真－2）．



写真－1　酸素消費速度試験（静置系）



写真－2　酸素消費速度試験（攪拌系）

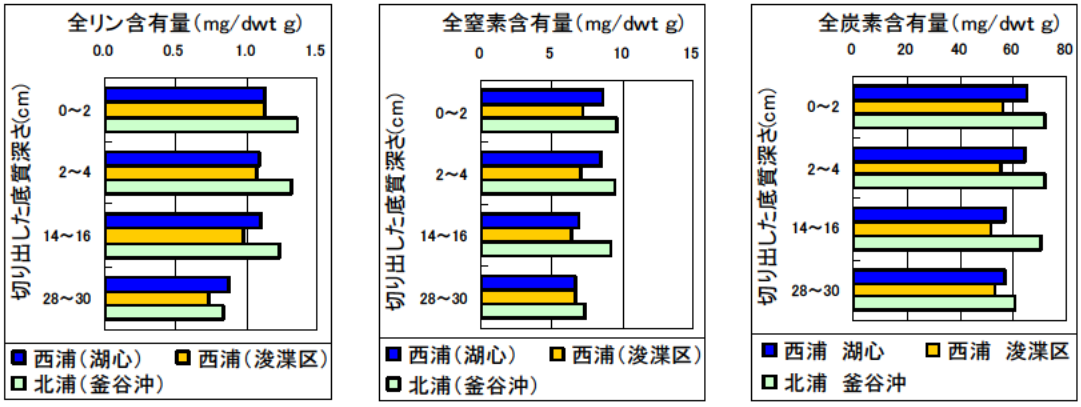
## 3．研究結果

### (1) 調査結果

夏季調査においては，DO が下層にいくにつれて低下していることが確認できた．これは水温の上昇に伴う酸素溶存量の低下や，有機物の酸化，微生物の呼吸が原因として考えられる．逆に冬季調査では，水温が低下するため，有機物の酸化や微生物の呼吸は抑制され，水の循環も起こるため DO は上層から下層までほぼ同じ値を示していた．下層中の栄養塩類濃度は冬季に比べ夏季の方が高い値を示したことから，水温上昇や DO の低下等の影響による底泥からの栄養塩類溶出が生じている可能性が考えられる．

### (2) 底泥の物質含有量

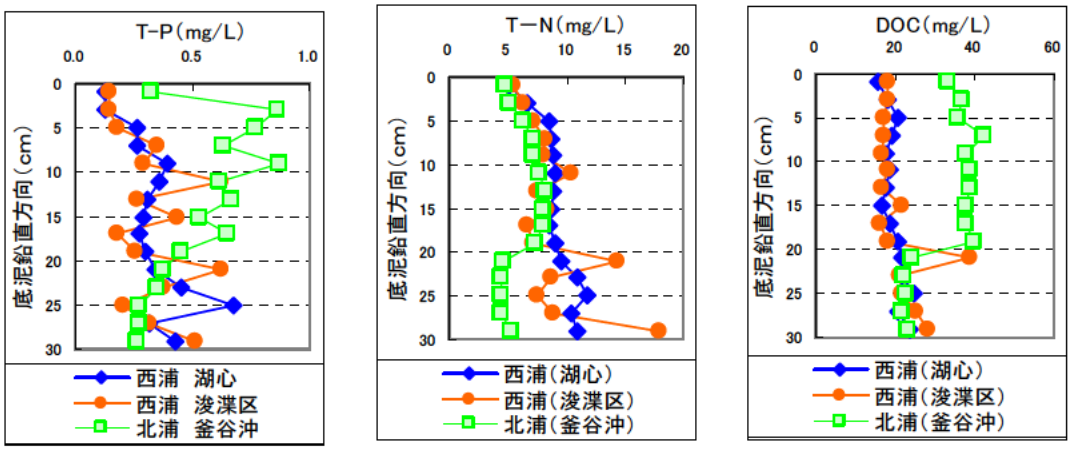
夏季の底泥中の全リン，全窒素，全炭素の含有量を図－○に示す．各物質において北浦（釜谷沖）＞西浦（湖心）＞西浦（浚渫区）という傾向が示されており，北浦の底泥に含まれる栄養塩の濃度が高いことが確認された．冬季の調査においても同様の傾向が示された．




図－○　夏季の底泥物質含有量

### (3) 底泥間隙水中の濃度

間隙水中の濃度を把握することは，栄養塩が底泥から間隙水に移行し，水中に溶出・回帰する機構を知る上で重要である．夏季の底泥間隙水中の T-P，T-N，DOC の濃度を図－○に示す．採取した底泥の上層部で，北浦底泥間隙水中のリン，炭素濃度の値が西浦と比較して高いことが確認された．このことからも，西浦と比較して北浦の底泥が持つ栄養塩類の含有量の高さが確認された．




図－○　夏季の底泥間隙水物質含有量

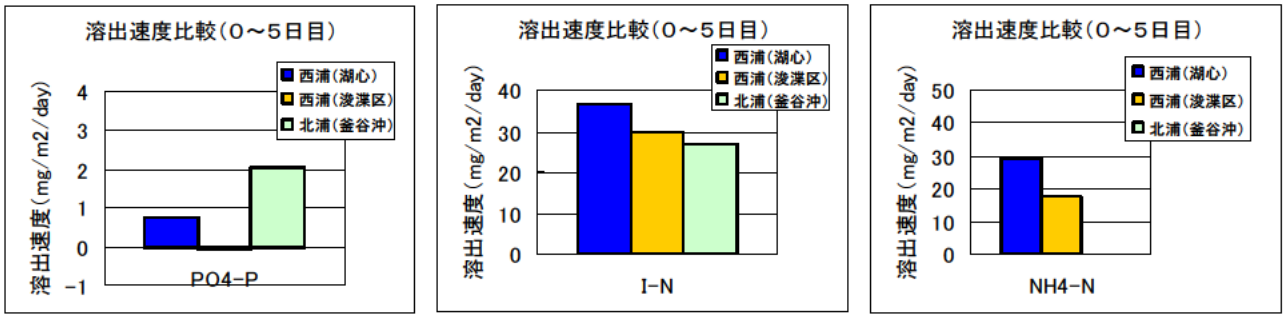
### (4) 溶出試験結果

底泥の溶出試験結果を図－○○に示す．夏季の試験においては，各調査地点，各物質において，嫌気条件で

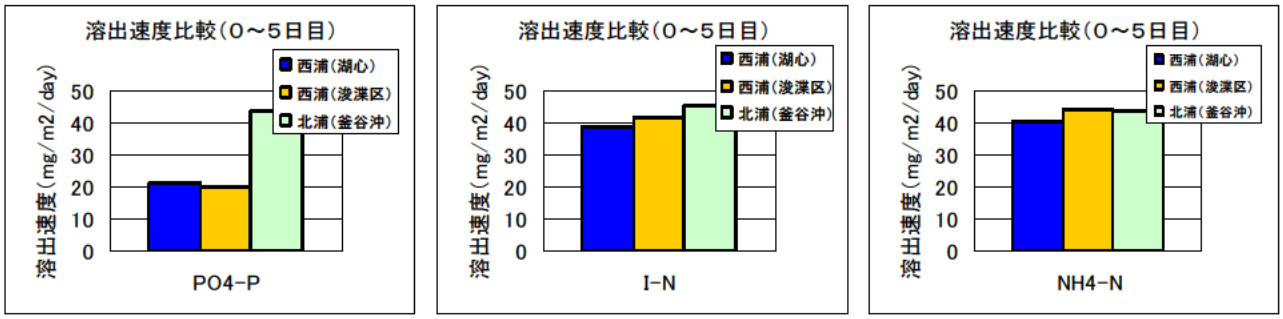
の溶出速度が好気条件での溶出速度を大きく上回っていた．また，浚渫が行われた西浦と未浚渫の北浦とを比較すると，西浦の $PO_4$-P の溶出速度が抑えられる傾向を示した．なお，冬季においては夏季と比較して溶出が抑えられており，特に $PO_4$-P の溶出が顕著に抑えられていた．

本試験により，DO の低下が進む夏季には栄養塩類の溶出が顕著になり，逆に冬季では，水温が低くなり DO が回復するため溶出が押さえられることがわかった．近年の北浦における藻類増殖に起因する底泥と湖水間における物質移動が頻繁であることが今回の調査から推察された．

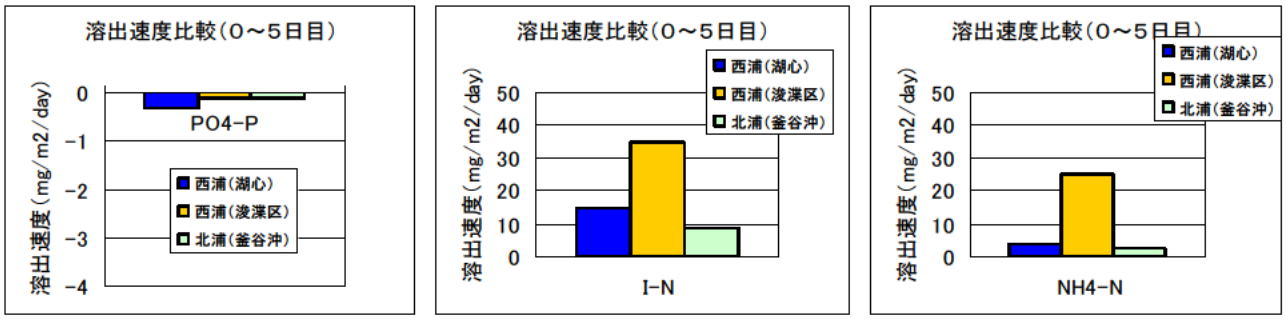
夏季（好気）　水温：20℃




夏季（嫌気）　水温：20℃




冬季（好気）　水温：5.5℃

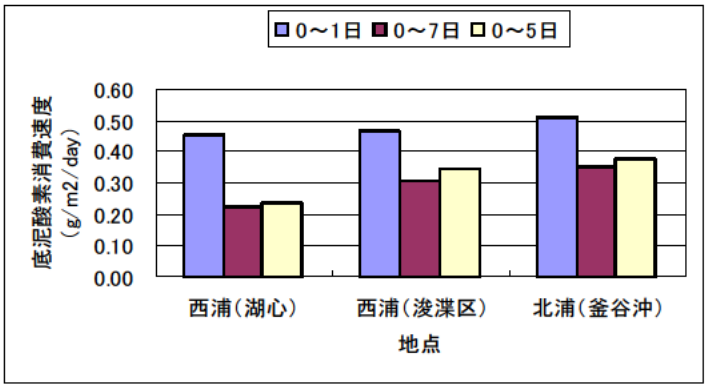



図－○　溶出速度試験結果

(5) 底泥の酸素消費速度

1）静置系

静置系による底泥の酸素消費速度試験は，各地点での栄養塩溶出を把握することを目的に，内径 10cm×高さ 50cm のカラムで採取した底泥を用いて 20℃の暗室にて行った．試験水には別途採取した各調査地点の直上水を 1 μm のろ紙でろ過し，Air 曝気により溶存酸素濃度を飽和状態にしたものを用いた．各試験水の酸素濃度を DO 計により測定を行い，酸素消費速度を算出した．その結果を図－○に示す．酸素消費は初期が大きい結果であり，0～1 日目で酸素消費速度を算出した．水域別に見ると北浦が最も高く，西浦の浚渫区と湖心においては同等の値を示した．

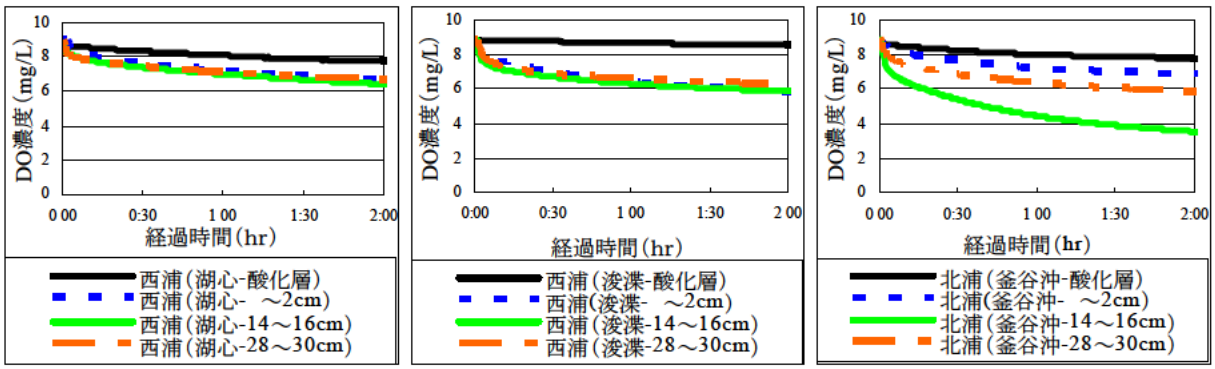



図－○　酸素消費速度試験結果（静置系）

2）攪拌系

攪拌系による底泥の酸素消費速度試験は，各地点における底泥および鉛直層ごとの違いを評価することを目的に，採取した底泥の溶存酸素濃度を DO 計により測定した．試験は 20℃の暗室にて行い，その結果として各地点の層別底泥における酸素濃度の変化を図－○に，各層別による底泥の酸素消費速度を図－○に示す．なお，攪拌系においては静置系よりも酸素消費速度が速まるため，0.5 時間，1 時間および 2 時間後について評価を行った．

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，浚渫を行った地点が最も低く，北浦に比べると西浦の酸素消費速度が低いことがわかった．時間別に見ると，初期の 0.5 時間が最も早く，時間の経過につれ DO の消費が低下する傾向を示した．これにより，水質と水中の溶存酸素等により底質表面の改善が進行しているものと推察され，改善の進捗を評価する上において，重要な結果が得られた．




図－○　酸素消費速度試験結果（攪拌系）

## ４．まとめ

霞ヶ浦の西浦（湖心・洲崎区）と北浦（釜谷沖）を対象に，水質・底質調査を行い，水・底泥試料の分析や底泥からの栄養塩類溶出試験を行った結果，底質改善を行っている西浦の栄養塩濃度は低く，溶出速度の遅いことが確認された．また，酸素消費速度も遅く，底質改善の効果が確認された．一方北浦においては，底泥に含まれる栄養塩類の濃度は高く，特に $PO_4$-P の溶出速度は西浦と比較して非常に大きかった．また，酸素消費速度も高く，底層が貧酸素化しやすいことが確認された．貧酸素化が起こると底質に含まれる栄養塩類等の溶出が起こり，特に北浦ではリンの溶出が顕著であることが栄養塩溶出試験より確認された．湖沼では窒素よりリンが藻類増殖の制限因子となりうることから，北浦での藻類増殖は，底層の酸素濃度の低下と，それに伴う栄養塩類の溶出等が原因の一端であると推察された．

今後は，酸素濃度や栄養塩類の濃度などの条件の違いが藻類増殖へ及ぼす影響を検討していく必要がある．

＊　なお，本調査研究は，運営費交付金（治水勘定）により実施されたものである．

参考文献

１）Edward A. Laws 著　水環境の基礎科学　（35 ページ～）

# 湖沼における難分解性有機物の発生源とその質及び挙動特性に関する研究

国土交通省
（委託先）独立行政法人土木研究所 水環境研究グループ水質チーム　鈴木　穣
北村　友一
日下部　武敏

研究期間　平成18年度～21年度
平成19年度当初予算　17，440千円
（研究予算総額　57，121千円）

# Study on Origin, Quality and Behavior of Recalcitrant Dissolved Organic Matter in Lakes

(FY2006～2009)

Yutaka SUZUKI, Tomokazu KITAMURA and Taketoshi KUSAKABE
Water Quality Team, Water Environment Research Group

Incorparated Administrative Agency Public Works Research Institute
Ministry of Land, Infrastructure and Transport

To indentify the origin and to elucidate the quality and behavior of the refractory dissolved organic matter (DOM) in the lake watersheds, it is essential to develop methodologies and indices for monitoring, control and management of the lake environments and to shed some light on organic compostitions in DOM. The objectives of the research in FY2007 were (1) to establish the new methodology for concentration and purification of DOM in combination with reverse osmosis (RO) membrane and electrodialysis (ED) treatments, (2) to characterize DOM by fluorescence spectroscopic techniques (i.e., excitation-emission matrix spectroscopy, EEM and humification index, HIX), (3) to elucidate the organic composition of amino acids, carbohydrates, lipids/fatty acids in DOM, and (4) to demonstrate the structural analysis of DOM by proton nuclear magnetic resounance ($^{1}$H-NMR) spectroscopy. The research fields in this research were the watersheds of Lake Biwa and Lake Kasumigaura. Results in FY2007 were as follows:

1) Combination of concentration by RO and desalting by ED were relevant to DOM isolation from natural waters and effluents from wastewater treatment plants (WWTPs). Analysis by electrospray ionization-mass spectrometry (ESI-MS) demonstrated that RO/ED system established in this research improved 20% of total ion current (TIC) in ESI-MS spectra and showed effectiveness in advanced qualitative analyses especially susceptible to inorganic salts;

2) Major seven peaks were detected in EEM spectra for lacustrine, riverine, and effluent DOMs in the watersheds of Lake Biwa and Lake Kasumigaura. In Lake Biwa watershed, chemical

properties of DOM are seasonally and spatially changed. Lake Biwa DOM could originate from an autochthonous source (i.e., algae) in summer and controlled by hydrodynamics and stratification of the lake water. In Lake Kasumigaura watershed, an allochthonous sourece (i.e., forest and agricultural land) is relatively important than Lake Biwa watershed. Lacustrine and riverine DOMs evenly distribute and did not change over the lake watershed through the year;
3) Seasonal and vertical variations in HIX were observed in Lake Biwa similar to results by EEM approach. Upstream DOMs were mostly humified fulvic acid originating from forest soil. DOM from a paddy field and municipal wastewater had the lowest HIX value and consisted mainly of less humified, fresh organic materials. Lacustrine and effluent DOMs demonstrated the same extent of humification in watersheds of Lake Biwa and Lake Kasumigaura;
4) Composition of dissolved hydrolysable amino acids (DHAAs) in DOMs of Lake Biwa and Lake Kasumigaura watersheds might be characterized by four constituent amino acids, i.e., alanine, valine, leucinen and isoleucine;
5) Carbohydrate composition of DOMs is different between inter-/inner-watersheds. It is suggested thet Lake Biwa DOM is contributed from extracellular polysaccharides (EPS) and Lake Kasumigaura DOM are affected by an effluent from WWTP;
6) Results of lipid component analysis show simple lipid (SL) and triglyceride (TG) change among samples. Additional analyses of fatty acid composition for each lipid class demonstrate TG fraction has a huge variety of fatty acids; and
7) Structural analyses of lacustrine, reverine and effluent from WWTP by $^{1}$H-NMR indicated that DOMs in watersheds both of Lake Biwa and Lake Kasumigaura are highly aliphatic as well as results in FY2006.

## 1. はじめに

近年、流域から湖沼への流入汚濁負荷は各種点源・面源対策の実施により減少傾向にあるものの、湖沼水中の有機物濃度は横ばいあるいは漸増傾向が観られる[1)]。琵琶湖をはじめとした霞ヶ浦、印旛沼、十和田湖、児島湖等の湖沼、また広島湾、富山湾などの閉鎖性内湾においても難分解性有機物の増加・蓄積が報告され、その影響が懸念されている(図1)。湖沼における有機物の発生源や動態については不明な点も多く、さまざまな議論や実証的な研究が行われてきた。現在、主な発生源としては、陸域から流入するもの、湖内で産生されるもの、湖底から回帰するもの等が考えられている。しかし、各起源に由来する有機物は水環境中において保存されている訳ではなく、物理的・化学的・生物的にさまざま反応を経て、ダイナミックに質的、量的に変化していることが海洋や生物地球化学等の研究分野を中心に明らかにされつつある。湖沼の難分解性有機物の発生源やその質および水環境中における挙動を明らかにするためには、難分解性有機物の質・量的特性のみならず流域特性をも考慮して物質循環を網羅的かつ系統的に解明する必要がある。

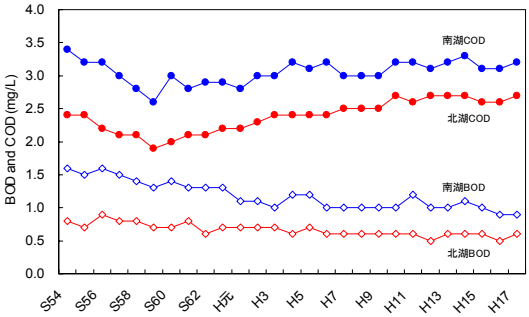


図1 琵琶湖におけるCODおよびBODの経年変化[1)]

本研究では、琵琶湖流域および霞ヶ浦を対象流域として、まず湖水に蓄積される難分解性有機物をその特性により詳細に分類するための方法論を確立し、その発生源および質・量的特性を明らかにするとともに、溶存有機物の分解性試験等から湖沼における難分解性有機物の挙動を明らかにすることにより、最終的には豊かな水環境の構築・保全に資することを目的としている。

## 2. 平成19年度の研究

### 2.1 平成18年度における主な研究成果および課題

平成18年度においては、琵琶湖流域および霞ヶ浦流域内の湖水、河川水、下水処理水を対象として、3次元励起・蛍光マトリックス分光法(Three dimension

excitation- emission matrix fluorescence spectroscopy, EEM）による溶存有機物（DOM）の性状把握の可能性についての検討と、EEM 測定結果と他の一般的な水質分析項目を比較・検討して溶存有機物に含まれる蛍光性物質の由来についての解析を実施した。さらに、琵琶湖水を対象として、順相 HPLC を用いて極性に基づいて DOM が分画できるか、さらに分画した有機物の FT-IR、$^{1}$H-NMR、ESI-MS による分析を試み、有機物の分類やその部分構造の推定を行った。

EEM による DOM の性状把握では、蛍光性物質に限定されるものの、季節や場所により DOM の特性が異なっていること、夏季においては藻類由来有機物の寄与が無視できないこと等を簡易に評価できる手法であることを明らかにした [2)]。

一方、順相 HPLC で琵琶湖 DOM を分画した後、各種高度機器分析により構造解析を実施した結果、その部分構造としてカルボキシル基（極性官能基）、アルカン等を有していること、琵琶湖 DOM の主要構成成分が脂肪族性に富んだ有機酸であること等を明らかにした。このことは、DOM の樹脂分画の結果とも合致するものであり、DOM 中の疎水性および親水性の有機酸の重要性をあらめて実証的に確認できた。

湖水中の溶存有機物あるいは難分解性有機物は多種多様な化学物質の混合物であるため、その質・量的特性を明らかにするためには、それらを詳細に分類し、精密に定性するための方法論の確立が必要不可欠である。これらの詳細な基礎的情報を入手することができれば、科学的意味の明白な簡易分類指標および手法を開発することが可能となり、最終的には水環境のモニタリングや流域対策につなげることができるものと考える。

### 2.2 研究目的

過年度までの成果および課題を踏まえて、平成 19 年度においては、高効率で DOM を抽出、精製できる方法論を確立することおよび琵琶湖流域および霞ヶ浦西浦流域における DOM の詳細な有機物組成（アミノ酸、糖類、脂質・脂肪酸）を明らかにすることを目的として研究を実施した。さらに、EEM および NMR による DOM の性状把握についても引き続き実施することとした。平成 19 年度に得られた知見および成果を以下に詳述する。

## 3. 調査の概要

平成 19 年度は、琵琶湖流域および霞ヶ浦西浦流域において湖水、河川水、下水処理水を網羅的に採水した。また、DOM の詳細な組成を明らかにすることを目的として両流域内において各種発生源、挙動、季節等を考慮して採水地点を選定し、組成分析用の水試料を採水した。組成分析用試料の採水は、平成 20（2008）年 1 月に行った。これは、冬季の有機物は、夏季に産生された藻類由来有機物の生産・（生）分解反応が終息し、実際の湖沼における定常的な難分解性有機物に相当するものと考えたためである。さらに、琵琶湖においては、夏季に成層化することにより、有機物の一次生産や湖内での分布、分解反応等が時空間的に不均一となることから、湖水が全循環し、有機物組成が均一化する冬季の有機物を本年度の研究対象とした。

### 3.1 琵琶湖流域

本年度は、琵琶湖流域において、琵琶湖水（表層水、4 地点）および下水処理水（4 処理場）を月 1 回の頻度で、流入河川（20 河川、計 22 地点）および瀬田川（1 地点）においては適宜採水を実施した（図 2）。なお、安曇川沖（全水深約 64 m）においては、水深別（0.5 m、5 m、10 m、20 m、50 m、底上から 1.5 m）の採水も実施した。DOM 組成分析用の試料水は、安曇川、野洲川（上流および下流）、法竜川、安曇川沖、大宮川沖、A 浄化センター（計 7 地点）において実施した。

### 3.2 霞ヶ浦流域

本年度は、霞ヶ浦西浦流域において、霞ヶ浦水（表層水、4 地点）、流入河川水（12 河川、計 13 地点）および下水処理水（1 処理場）を月 1 回の頻度で採水を実施した（図 3）。 DOM 組成分析用の試料水は、桜川（上流および下流）、掛馬沖、湖心、浄化センター（計 5 地点）において実施した。

### 3.3 採水方法

本研究で使用したすべての試料容器には、テフロン（PTFE）ライナー付のホウケイ酸ガラス製容器を用いた。容器の洗浄手順は、精密測定器具洗浄用の中性洗剤を用いて 30 分間超音波洗浄した後、アセトン洗浄して超純水で入念に洗浄したものを乾燥機で乾燥させた。また、採水時には試料水で共洗いを実施し、氷冷して実験室に持ち帰るか、冷蔵して配送した。

### 3.4 分析方法

実験室に持ち帰った水試料は、予め超純水 500 mL で洗浄し、110℃で乾燥させたガラス繊維ろ紙（GF/B、1.0 μm）を用いて速やかにろ過を行った。本研究では、このろ液中の有機物を溶存態有機物（DOM）と定義した。

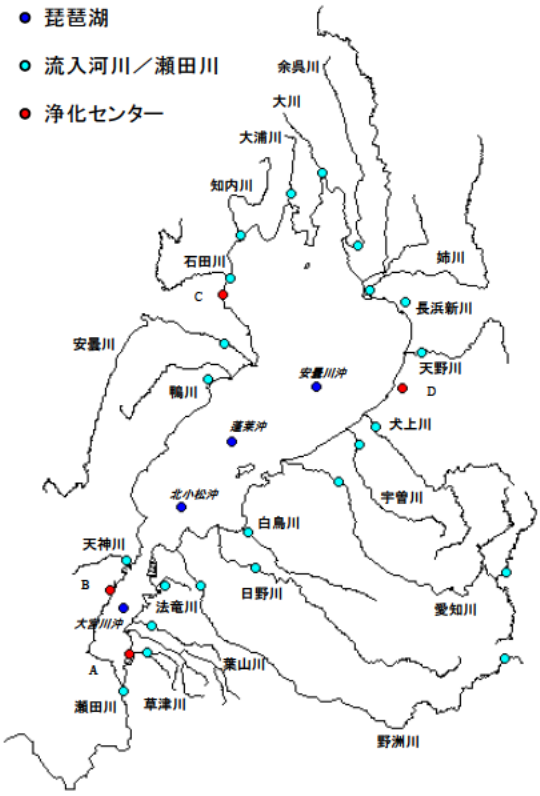



図 2　琵琶湖流域における採水地点

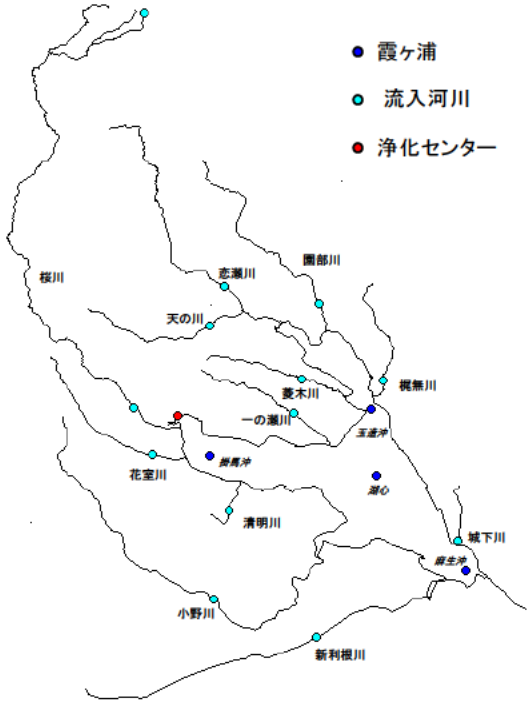



図 3　霞ヶ浦流域における採水地点

溶存態有機炭素（DOC）濃度は、2 N 塩酸を添加した試料を高純度窒素ガスでスパージしたものを TOC-5000A（島津製作所）により測定した。EEM スペクトルは、ろ過試料を石英セル（光路長 10 mm）に入れて、分光蛍光光度計（日立、F-4500）により測定した。測定条件は、励起波長（Ex）、蛍光波長（Em）ともに 200～600 nm、サンプリング間隔 5 nm、スリット幅 5 nm、スキャンスピード 2,400 nm/min、ホトマル電圧 700 V であった。ブランク試料として超純水を用い、水のラマン散乱ピーク（Ex350/Em395）を用いて補正した蛍光強度を用いた。試料間で蛍光強度に差があったため、蛍光強度軸を適宜拡大させて EEM スペクトルを表示した。その倍率は、EEM スペクトルに付記した。なお、pH、イオン強度の調整および内部遮蔽効果（IFEs）の補正はしていない。この他、SS、$UVA_{254}$、$COD_{Cr}$（BRAN+LUEBBE、AUTO ANALYZER II）、$NH_4$-N、$NO_{2+3}$-N、$NO_3$-N、$PO_4$-P（BRAN+LUEBBE、TRAACS2000）の測定もあわせて実施した。

## 4. 溶存有機物質の抽出・精製方法の開発

水環境中に遍在している溶存有機物（DOM）の質的特性を高度機器分析装置を用いて精密に定性するためには多量の試料が必要となり、そのためには対象試料水中から DOM を抽出しなければならない。一般に、我が国の淡水系湖沼や河川においても溶存態有機炭素（DOC）濃度に比べて無機成分の濃度は高く、これまで DOM 分析の際の課題として残されてきた [3]。湖沼水中の難分解性有機物の質・量的特性を明らかにするためには、効率良く無機成分を除去しつつ、網羅的に溶存態有機物を抽出できる方法の開発が必要不可欠である。そこで、平成 19 年度においては、逆浸透（RO）膜を用いた DOM 濃縮および電気透析による RO 濃縮液からの無機成分の除去方法を組み合わせた方法の開発を行ったので、以下に報告する。

### 4.1 逆浸透（RO）膜を用いた溶存有機物の抽出方法

RO 膜処理では、原理的には水以外の溶質を保持することができ、水中に溶存しているすべての溶質成分を濃縮、回収することができること、熱や化学薬品が不要であること等の理由から、DOM 抽出方法として選定した（図 4）[4]。

本研究で採用した RO 膜処理装置の流路図を図 5 に示す。本研究において採用した DOM 抽出システムは、平膜メンブレンセル（日東電工、C10-T）とマグネットギヤポンプ（TUTHILL、Model DDS-EJDH-.99）、配管（SUS およびテフロン）、バルブ等から構成され、タンジェンシ

ャルフローろ過方式の膜処理を行えるものであった。一方、DOM 抽出用の RO 膜には、阻止率が高いだけでなく、操作圧力がより低く、有機物の溶出（立ち上がり）や吸着による影響が少ない等の性能が求められる。そこで、本研究では、脱塩性能および TOC 阻止性に優れた架橋芳香族ポリアミド系の超低圧逆浸透膜（日東電工、ES20）を選定した。この RO 膜の NaCl 阻止率は 99.7%で、0.5～0.6 MPa の超低圧運転が可能であった。

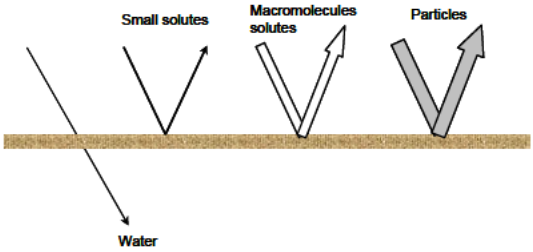



図 4　RO 膜による分離の概略

### 4.2 電気透析による RO 濃縮液からの無機成分の除去特性の把握

本研究では、各種プロセス溶液から分離、脱塩、精製、回収方法として適用されている電気透析法に着目した。電気透析法の適用により、原理的には非イオン性物質（有機物）とイオン性物質を分離、精製、回収することが可能であり、RO 濃縮液中の有機物から無機イオンを選択的に除去できると考えられる（図 6）[5]。まず、電気透析による RO 濃縮液中からの溶存無機成分の除去特性を明らかにした上で、さらに、質量分析（ESI-MS）を実施し、電気透析法による脱塩の有効性を検討した。

#### 4.2.1 実験方法

本研究において使用した電気透析装置は、卓上型マイクロ・アシライザーS1 型（アストム）であった。透析膜には分画分子量の異なる膜（トクヤマ、ネオセプタ）を使用した。ネオセプタは、イオン選択透過性が高い、電気抵抗が低い、溶質・溶媒の拡散係数が小さい等の特性を有し、複雑な混合物である DOM の脱塩・精製に適していると考えられる。

まず、超純水に NaCl 等を溶解させた水溶液を電気透析処理し、無機塩類の除去特性を調べた。無機塩類の供試濃度は、RO 膜処理によって濃縮されることを考慮して一般的な表層水の濃度レベルよりもかなり高濃度（～0.500 M）に設定した。

一般に、イオン価数が高いほど、（溶媒和）イオン半径が小さいほどイオン交換されやすい傾向がある[6]。さらに、電気透析ではイオンは膜透過しなければならず、イオン交換過程と比べてイオン半径の寄与は大きいと考えられる。そこで、透析膜の分画分子量（MWCO）がイオンの除去特性に与える影響についても調べた。

最後に、琵琶湖水の RO 濃縮液[7]を電気透析装置に供し、無機成分の除去特性およびその際の有機態炭素の回収率を評価した。さらに、電気透析法による脱塩の有効性を検討するため、無機成分の影響を受けやすいと考えられるエレクトロスプレーイオン化質量分析法（ESI-MS）を用いて検討を行った。ESI-MS 分析はフローインジェクション法により行い、電気透析処理前後の質量スペクトルの比較を行った。なお、本研究で使用した質量分析装置は、四重極型 LC MSD（Agilent）であった。

#### 4.2.2 実験結果および考察

NaCl 水溶液中の $Cl^-$の除去特性を図 7 に示す。図 7 より、高濃度領域では単位時間当りの除去率は低下するものの 30 分程度でほぼすべての $Cl^-$イオンを除去でき

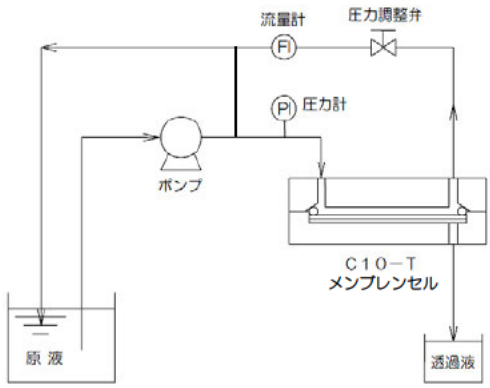



図 5　本研究で構築した RO 膜処理装置の流路図

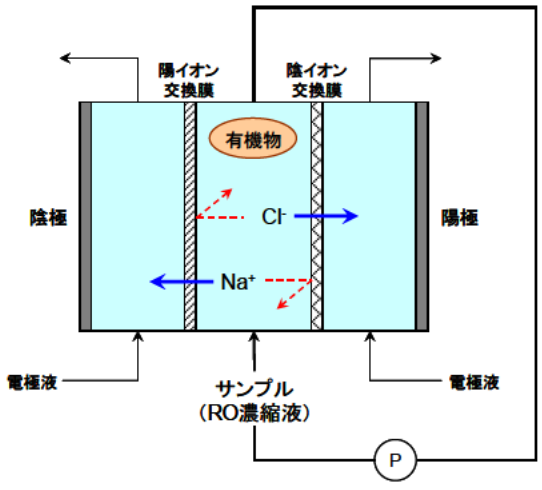



図 6　電気透析の原理

ることが分かった。精密定性分析においては、有機態炭素濃度と比して、妨害成分、ここでは無機成分が相対的に低い濃度に抑えられればよい。したがって、30 分程度の電気透析による脱塩によって、充分な精製能を有していると考えられた。

次に、分画分子量(MWCO)の異なる電気透析膜を用い、イオンの除去特性に与える膜孔径の影響を調べた結果を図 8 に示す。供試した試料は、我が国の平均的な表流水で主要なイオンである $Cl^-$および $SO_4^{2-}$の Na 塩の水溶液であった。図 8 より、陽イオン側の分画分子量に関係なく、陰イオン側の分画分子量が 100 Da(1 価イオン選択膜)の透析膜では、徹底脱塩を実施しても $SO_4^{2-}$の一部しか分離されなかった。また、陰イオン側の分画分子量が 300 Da の透析膜を用いた電気透析処理では、陽イオン側の分画分子量に関係なく、$Cl^-$および $SO_4^{2-}$が分離、除去できることが分かった。しかし、同時に DOC 回収率が低下した(～20%)。これは、負に帯電している有機物が透析膜を透過(もしくは透析膜へ吸着)したことによると考えられた。本研究の目的は、有機物を網羅的に抽出することであるため、陰イオン側の分画分子量は100 Da の透析膜とし、有機物の損失を可能な限り抑えて脱塩できる透析膜を採用することとした。なお、陽イオン側の分画分子量についても、100 Da を採用した。これは、RO 濃縮の際に、スケールの析出、有機物の膜への吸着を抑制することを目的として、陽イオン交換処理($Na^+$型)を実施しているため、水試料中に存在しているほぼすべての陽イオンは $Na^+$となっているためである。

次に、琵琶湖水の RO 濃縮液に対して電気透析処理を行った結果を図 9 に示す。図 9 より、RO 濃縮液の電気透析処理においても、定性的にイオンの価数が低く、溶媒和イオン半径が小さいイオンほど、高い膜透過性(除去率)を示した。さらに、溶存有機炭素(DOC)をほぼ全量を回収できており、本法が RO 濃縮液の脱塩、精製に有効であることを示すことができた。

最後に、電気透析処理が DOM の ESI-MS スペクトル(ポジティブモード、ES+)に与える影響を図 10 に示す。電気透析前後で TIC(total ion current)が 20%程度上昇しただけでなく、いくつかの特徴的なシグナルが検出されるようになったことが分かる。このことは電気透析によって RO 濃縮液中から溶存無機成分が除去され、イオン化抑制(ion suppression)が低減したことによると考えられる。一方で、溶存無機成分の除去により、これらの無機イオンが付加することによってイオン化促進(ion enhancement)されていた成分のイオン化率が低下することも考えられるため、ESI-MS スペクトルにおいてシグ

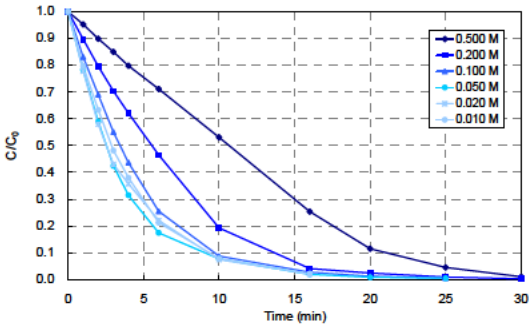



図 7 NaCl 除去特性

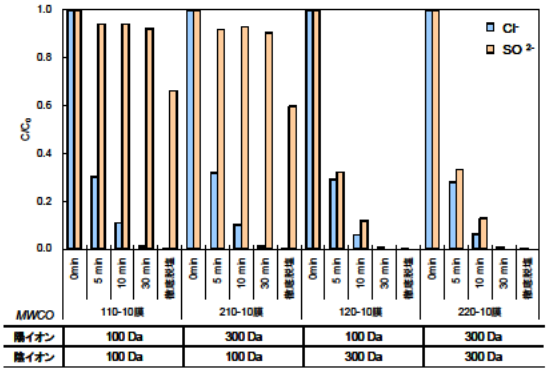



図 8 陰イオンの除去特性に与える透析膜孔径の影響

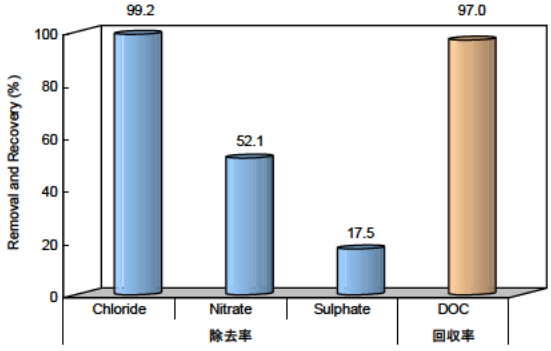



図 9 RO 濃縮液(琵琶湖水)への適用結果
(分画分子量:陽・陰イオンともに 100 Da)

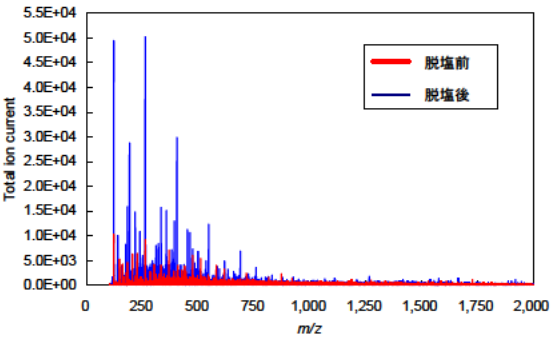



図 10 電気透析前後の ESI-MS スペクトルの変化

ナルの挙動を把握しておくことは重要である。そこで、ESI-MS スペクトルの一部を拡大したものを図 11 に示す。図 11 より、脱塩時間とともに abundance が増えるシグナル、減るシグナルおよび変化しない成分があることが明らかとなった。複雑な混合物である DOM や難分解性有機物等の質量分析においては、すべての成分に対して分析条件を最適化することは現実的に不可能であり、全体の abundance、すなわち TIC が最大となるように分析条件を最適化することが望ましいと考えられる [8]。図 11 により、脱塩処理時間とともにシグナル強度が低くなっている成分は少ないことが分かった。したがって、本研究で開発した電気透析による RO 濃縮液の精製では、全体としてシグナル強度が強くなっており、かつ得られる情報の損失も抑えられていることから、塩類の妨害を受けやすい質量分析等による精密分析における必要不可欠な技術の提案ができた。

### 4.3 まとめ

本研究では、水環境中の有機物に対して高度機器分析および各種特性解析を行うために必要不可欠な DOM の抽出・精製方法の開発を行った。DOM の抽出システムには超低圧逆浸透（LPRO）膜処置装置を、RO 濃縮液の脱塩・精製方法として電気透析を採用した。RO 濃縮液中に含まれる高濃度の無機塩類は、これまで解決されずに残されてきた課題であり、本研究において、無機塩類の除去特性を把握し、ESI-MS 分析による本法の有効性を実験的に示したことは非常に重要な研究成果であると言える。

## 5. 蛍光分光法による溶存有機物の簡易分析および有特性把握

### 5.1 3 次元励起・蛍光マトリックス（EEM）スペクトルによる溶存有機物の特性把握

平成 18 年度に引き続き EEM 法による DOM の簡易分析および特性把握を実施した。EEM 分析は、濃縮等の前処理が不要で、短時間で測定できる等の分析上の利点だけでなく、ピーク位置や蛍光強度などから簡易に有機物の発生源や質的特性に関する情報が得られることから、海洋、陸水、土壌・地下水などの幅広い分野で適用されてきた方法である [9), 10)]。

#### 5.1.1 実験方法

採取した水試料は、あらかじめ 500 mL の超純水で洗浄したガラス繊維ろ紙（GF/B、Whatmann）でろ過したものを蛍光分析に供した。本研究では、分光蛍光度計に F-4500（日立製作所）を使用して、3 次元励起・蛍光マトリックス（EEM）スペクトルを取得した。本研究において用

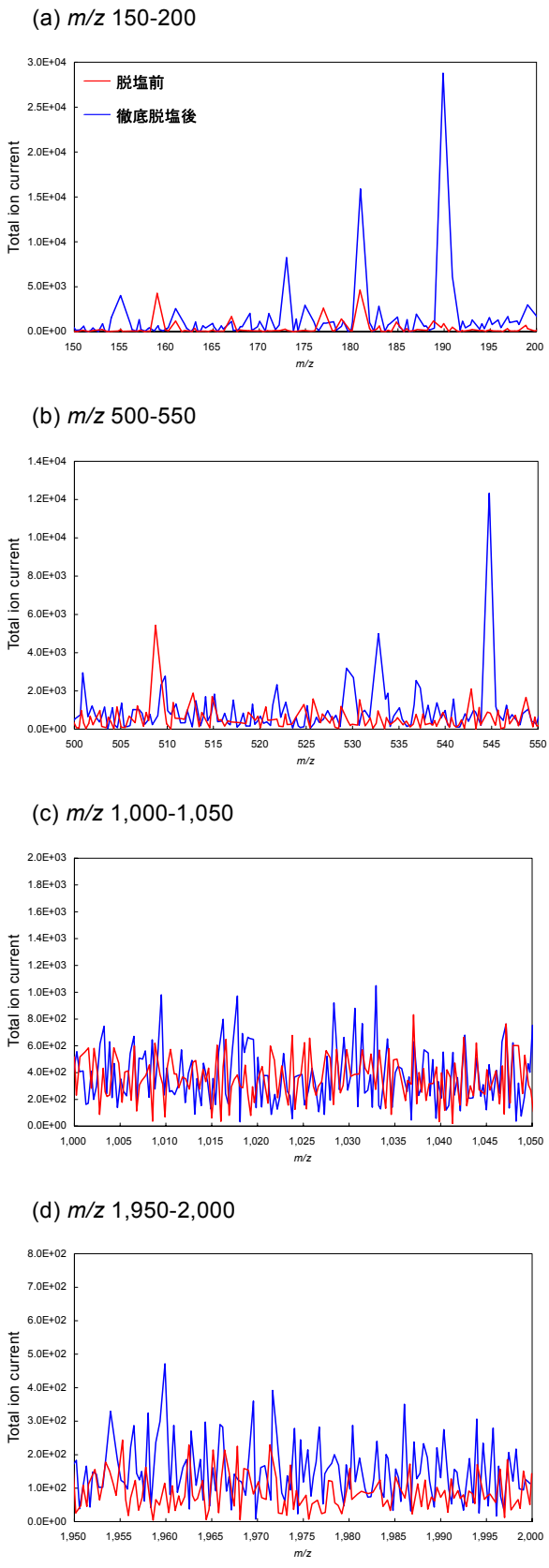



図 11　電気透析処理が ESI-MS に与える影響

表 1 本研究における EEM 分析条件

| | |
|---|---|
| 光源 | Xe ランプ |
| 励起波長 | 200-600 nm |
| 蛍光波長 | 200-600 nm |
| スキャンスピード | 2,400 nm/min |
| スリット幅 | 5 nm |

表 2 本研究において検出された主な蛍光ピーク [11)]

| | ピーク位置 | 帰属 |
|---|---|---|
| Peak 1 | 230/300 | ﾀﾝﾊﾟｸ質様（ﾁﾛｼﾝ） |
| Peak 2 | 230/340 | ﾀﾝﾊﾟｸ質様（ﾄﾘﾌﾟﾄﾌｧﾝ） |
| Peak 3 | 230/425 | ﾌﾙﾎﾞ酸、ﾌﾐﾝ酸様 |
| Peak 4 | 280/340 | ﾀﾝﾊﾟｸ質様 |
| Peak 5 | 320/425 | ﾌﾙﾎﾞ酸、ﾌﾐﾝ酸様 |
| Peak 6 | 345/435 | 蛍光増白剤様 |
| Peak 7 | 500/525 | 下水処理水様 |

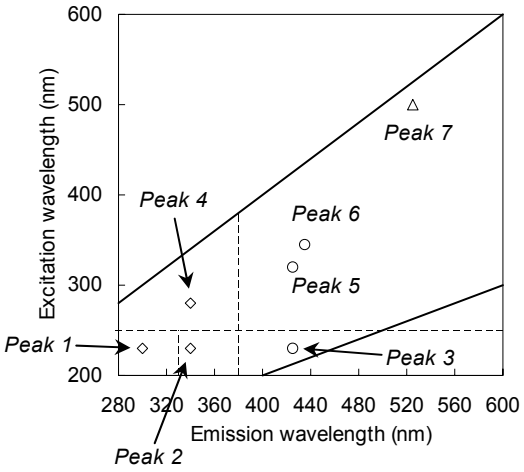



図 12 本研究における EEM ピークの帰属 [11),12)]

いた分析条件をまとめて表 1 に示す。本研究では、蛍光強度を水のラマン散乱ピーク（Ex350/Em395）の蛍光強度を用いて規格化し、ブランク試料（Milli-Q 水）の EEM スペクトルを差し引くことにより試料の EEM スペクトルを得た。琵琶湖流域および霞ヶ浦流域における DOM の EEM スペクトルにおいて、主要な 7 つのピークが検出された（表 2）[11)]。図 12 には、本研究で得られたピーク位置および Chen et al.による分類 [12)]をまとめて示した。以下に、琵琶湖流域において採水した DOM を中心に主な結果を報告する。

**5.1.2 EEM スペクトル分析の結果および考察**

**5.1.2.1 EEM スペクトルの季節変化**

本研究では、DOM の質的特性の季節変化を把握することを目的として琵琶湖流域および霞ヶ浦流域において季節ごとに採水を実施した。ここでは、2007 年 8 月および 2008 年 1 月に安曇川沖および大宮川沖において採水した琵琶湖（表層水）DOM の EEM スペクトルを図 13 に示す。図 13 より、琵琶湖表水層における DOM の EEM スペクトルは、季節により大きく変化していることが分かった。藻類に由来すると考えられるタンパク質様ピーク（Peak 2 および Peak 4）の蛍光強度は、夏季において非常に強く、冬季にはほぼ消失していることが分かった。したがって、これらのタンパク質様ピークは、内因性起源（autochthonous）有機物の指標として活用できることが分かった。また、冬季においては、藻類由来有機物が分解等のプロセスを経て、その割合が相対的に減少し、フルボ酸／フミン酸様ピーク（Peak 3 および Peak 5）の割合が高くなることが明らかとなった。また、このことは夏季に深水層に蓄積した難分解性有機物が湖水の全循環により表水層へ供給されたことも影響していると考えられた。したがって、琵琶湖の湖内における有機物の挙動を考える際には、内因性の発生源のみならず、湖内流動、時空間的な変動要因をも考慮して総合的に調査し、評価することが必要であると言える。

一方、霞ヶ浦水 DOM では、年間を通して、また採水地点間で EEM スペクトル間に大きな違いは観られず、藻類等による内部生産の寄与は琵琶湖 DOM と比較して小さいことが推察された。このことは、霞ヶ浦が比較的浅く、流域面積に比べて貯水量が少ないために陸域からの流入負荷の割合が相対的に高いことによるものと考えられた。したがって、霞ヶ浦流域においては、外因性（allochthonous）起源の有機物の寄与が重要であることが明らかとなった。

**5.1.2.2 EEM スペクトルの鉛直分布**

琵琶湖の有機物の挙動、分布を考える際には、琵琶湖の湖面積の大きさだけでなく、深さについて考慮する必要がある [13)]。本研究では、琵琶湖北湖（安曇川沖、全水深約 64 m）において水深別の採水を実施し、EEM スペクトルの比較を行った。2007 年 8 月および 2008 年 1 月に安曇川沖において水深 0.5 m および底上から 1.5 m の深さにおける DOM の EEM スペクトルを図 14 に示す。図 14 より、夏季の表水層において藻類由来と考えられるタンパク質様ピークの蛍光強度が強く（図 14(a)およ

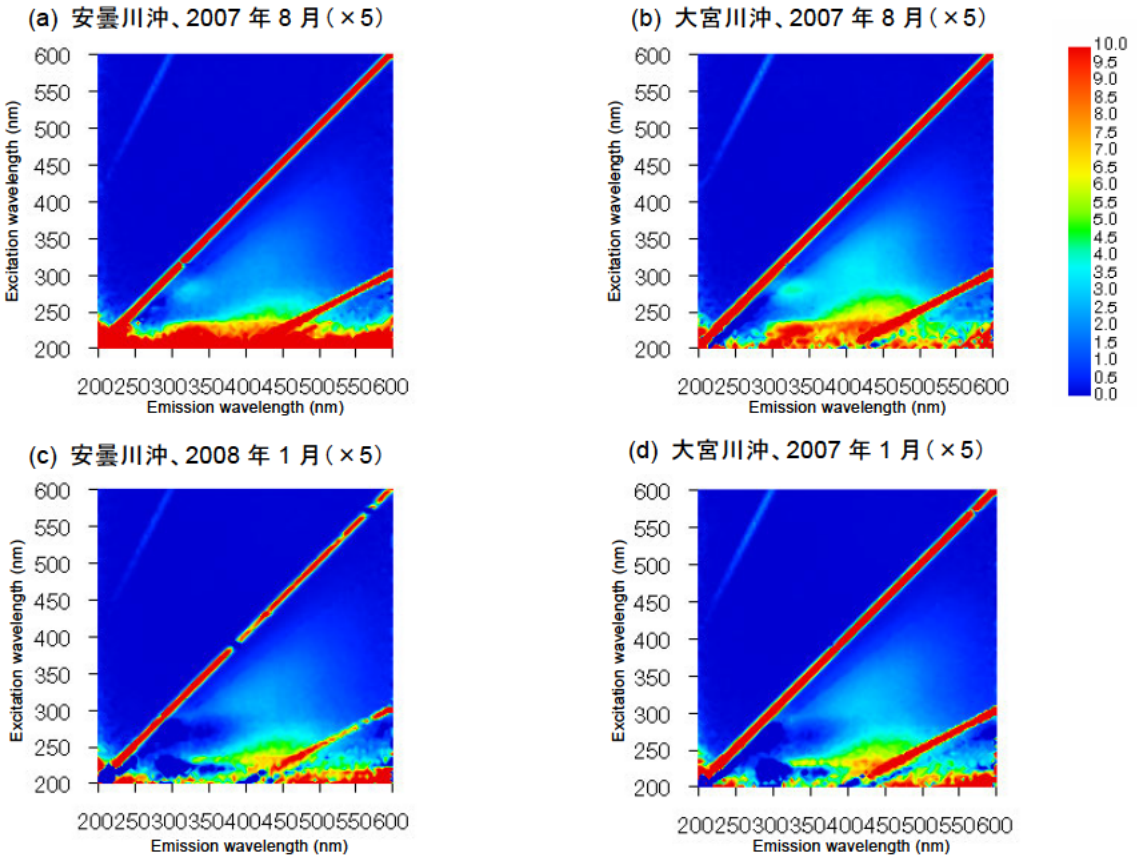



図 13 安曇川沖および大宮川沖における EEM スペクトルの季節変化
（夏季、2007 年 8 月； 冬季、2008 年 1 月）

び(b))、深水層においては弱いことが分かった（図 14(c)および(d)）。一方、冬季における水深別 DOM の EEM スペクトル比較より、冬季においては湖水が全循環することによって、鉛直方向においてはほぼ均一に分布していることが分かった（図 14(b)および(d)）。水深別 DOM の EEM スペクトルを比較した結果、夏季表水層においては、藻類由来と考えられる有機物の寄与が一時的に多くなるが、湖水全循環の起こる冬季までには、これらの有機物は鉛直混合、微生物等による分解プロセスを経て、DOM に占める割合は低下しているものと考えられた。しかし、夏季深水層および冬季の湖水中に存在する有機物と易分解性を有する藻類由来有機物の関係、すなわち有機物の変換過程は明らかにされておらず、湖内おいて微生物や光等による分解性（degradability）を総合的に評価する必要がある。

#### 5.1.2.3 流入河川水中 DOM の EEM スペクトル

湖沼流域において、流入河川は湖水中に存在する有機物の主要な発生源（負荷源）のひとつと考えられる。各種発生源対策により BOD 負荷量は減少傾向にあるものの、その質的特性および湖内に流入した後の変化等については不明な点が多く、その難分解性有機物への寄与は不明である。また、流入河川数が多く、流域特性や土地利用、流況、流域における様々な活動は刻々と変化しているため、詳細かつ総合的な調査はほとんど実施されていないのが現状である。本研究において採用した EEM スペクトル法は簡易に有機物特性を把握できることから、総合的な調査・モニタリング等に適した方法であると言える。本研究では、琵琶湖流域および霞ヶ浦流域において流入河川調査を実施し、有機物特性の把握を試みた。主な琵琶湖流入河川水 DOM の EEM スペクトル（2008 年 1 月）を図 15 に示す。野洲川および愛知川では、そのほとんどが森林に囲まれている上流域においても採水を実施した。 図 15 より、流入河川ごとに EEM スペクトル形状が大きく異なっていることが分かった。図 15(a)および(c)より、野洲川（上流）および愛知川（上流）においては、フルボ酸／フミン酸様ピーク（Peak 3 および Peak 5）の寄与が大きく、森林土壌に由来する腐植物質が主要な構成成分であると考えられた。また、

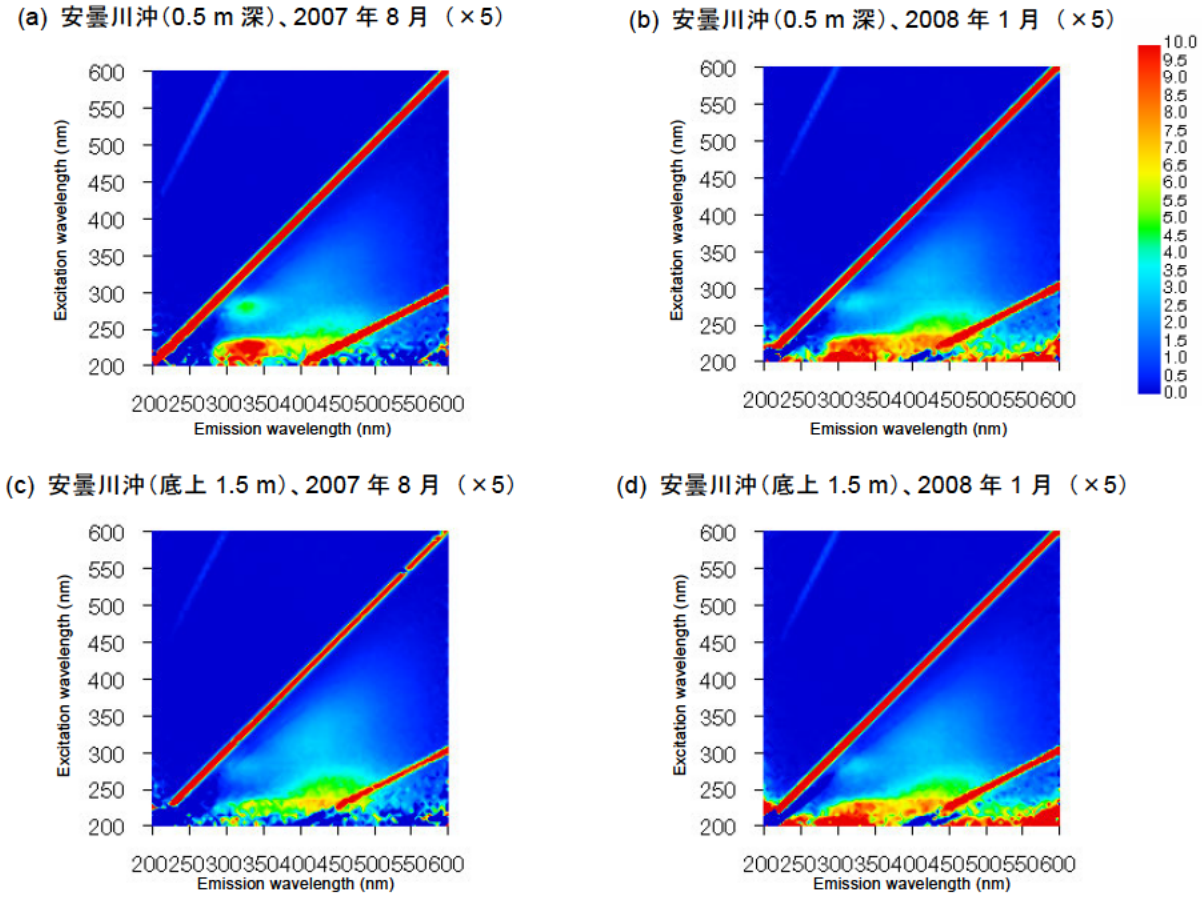



図 14 安曇川沖における EEM スペクトルの季節変化(0.5、底上 1.5 m)
(夏季、2007 年 8 月; 冬季、2008 年 1 月)

両河川の下流域においては、EEM スペクトルは上流域のそれとは大きく異なっており、河川ごとに流下にともなう有機物特性の変化に大きな違いがあることが分かった(図 15(b)および(d))。琵琶湖流入河川の下流域では、湖水の逆水灌漑が行われていたり、土地利用が流域ごとに多様であるため、これらの影響を複合的に受けているものと考えられた。図 15(e)より、森林系河川である安曇川では、全体的な蛍光強度は弱いものの、森林由来と考えられるフルボ酸様ピーク(Peak 3)が相対的に強いことが分かった。したがって、琵琶湖流入河川では Peak 3 は森林由来のフルボ酸の指標として用いることが可能であると考えられた。都市系河川である草津川では、他の河川と比較して Peak 2 の寄与が大きいことが分かった(図 15(f))。したがって、Peak 2 は生活雑排水等の人間活動の影響を強く受けているものと考えられる。Peak 2 はタンパク質様(トリプトファン)ピークに帰属され、生活雑排水や尿由来物質等の寄与が推察された。農業系河川である宇曽川および法竜川では、水田等の土壌に由来すると考えられるフミン酸様ピーク(Peak 5)が観られるものの、Peak 1、2、3、4 の寄与が大きいことが分かった。しかし、これら 4 つのピークは宇曽川と法竜川で異なるパターンを示しており、流域間の違いを反映しているもの考えられる。

一方、霞ヶ浦流域における流入河川調査の結果より、霞ヶ浦の流入河川水中 DOM の EEM スペクトルは、琵琶湖流入河川のそれと比較して、河川ごとの差は観られなかった。したがって、霞ヶ浦流域では外因性(陸域由来)有機物の発生源は、琵琶湖流域と比較して多様性が低いことが推察された。また、霞ヶ浦流入河川 DOM の EEM スペクトルでは、蛍光強度に河川間で多少の差が観られるものの、主に Peak 3 および Peak 5 が検出された。これらのピークは腐植物質によるものと考えられ、琵琶湖流入河川と比べて霞ヶ浦流入河川 DOM では新鮮な有機物(タンパク質等)の寄与が非常に少ないことが分かった。

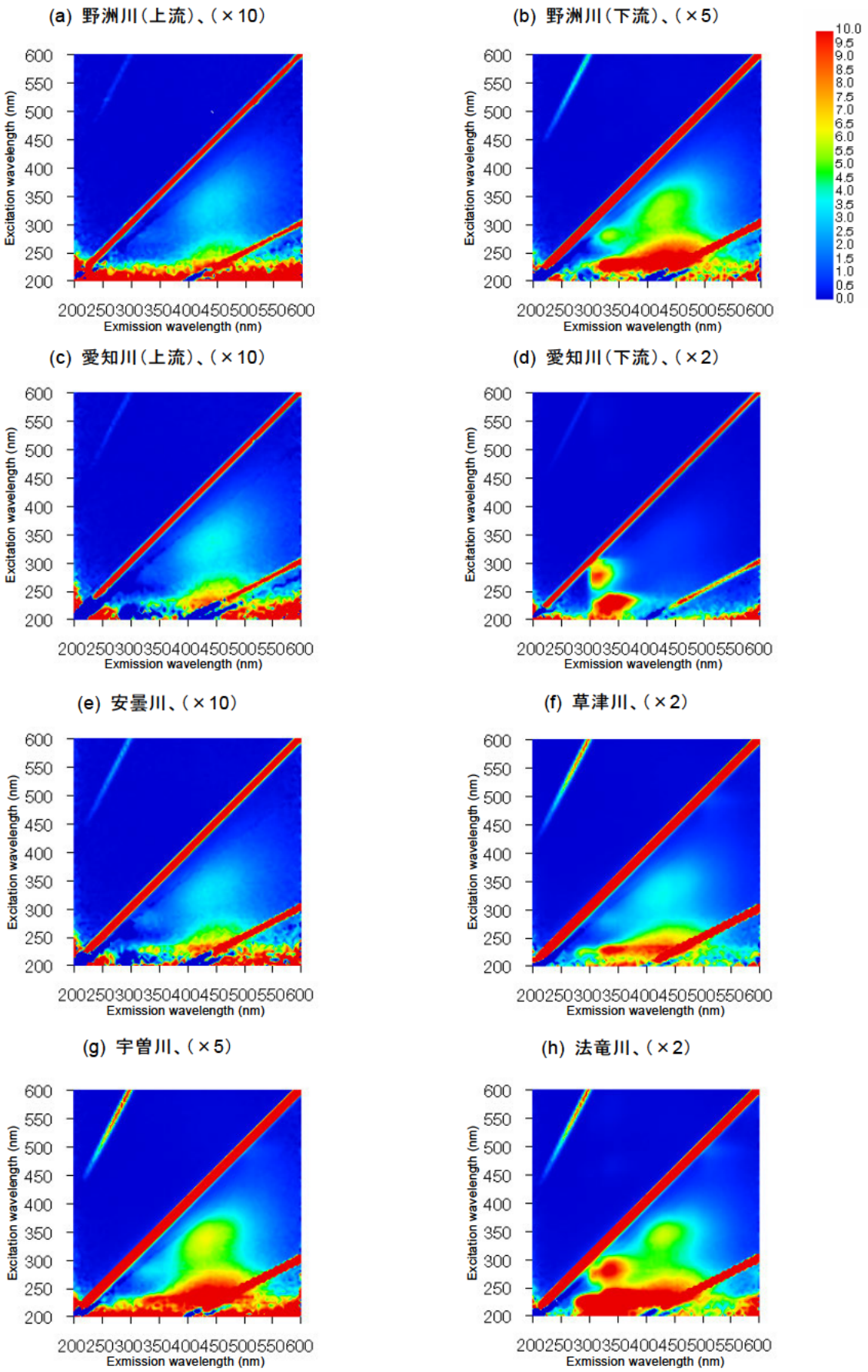



図 15 琵琶湖流入河川の EEM スペクトル（2008 年 1 月）

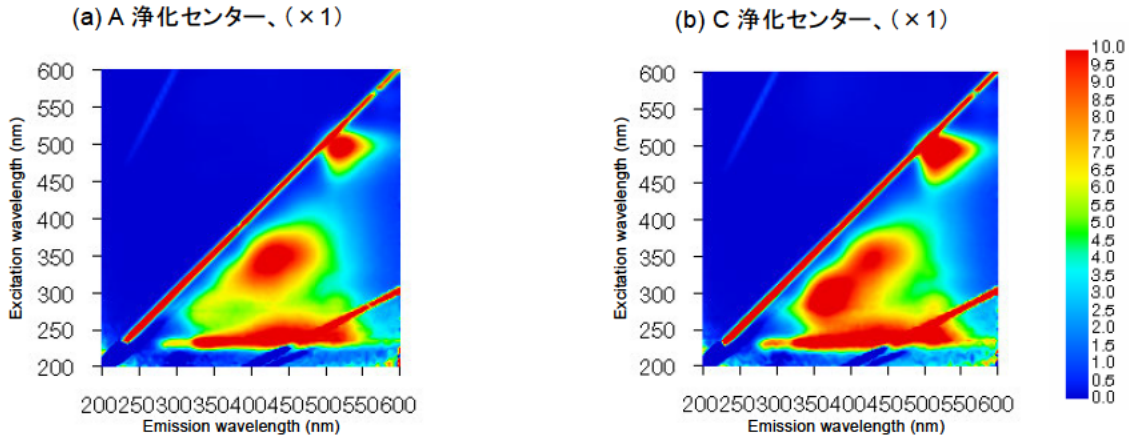



図 16 下水処理水の EEM スペクトル(琵琶湖流域、2008 年 1 月)

#### 5.1.2.4 下水処理水中 DOM(EfOM)の EEM スペクトル

A 浄化センターおよび C 浄化センターにおいて、下水処理水中の有機物の EEM スペクトルを図 16 に示す。図 16 より、湖水や河川水と比較して、下水処理水中有機物は蛍光強度が強く、下水処理水に特徴的な Peak 7 が観られた。平成 18 年度に実施した下水処理水中有機物の分解試験の結果から、Peak 7 は比較的速やかにその蛍光強度が減少することが明らかになっている。河川水や湖水では検出されないか検出されてもごく僅かであったのは、このためであると考えられた。したがって、Peak 7 は処理場付近では検出される可能性は高いが、湖沼流域において下水処理水の寄与を調べるための指標には向かないと考えられる。

処理場間では、EEM スペクトルは概ね同じパターンを示したが、C 浄化センターの EfOM では、A 浄化センターのそれと比較して Peak 4 の寄与が大きいことが分かった。Peak 4 は、微生物に由来する水溶性の高い有機物(タンパク質様)と考えられることから、活性汚泥由来の有機物であることが推察される。処理場間で比較すると、Peak 4 に差が観られることから、これらの有機物は処理方式の影響を強く受けやすい化学特性を有していると言える。

### 5.1.3 EEM 法による有機物の特性把握のまとめ

本研究では、平成 18 年度に引き続き、EEM 法を用いて琵琶湖流域および霞ヶ浦流域において有機物の特性把握を実施した。

琵琶湖流域では有機物の特性が時空間的に明白な分布を示し、多様な挙動をしていることが明らかとなった。湖内においては、藻類などの活動や湖水の循環等の影響が大きいこと、流域河川調査では有機物の詳細な発生源は不明であるが、河川間の有機物特性の差を高感度で検出できること等が明らかとなった。霞ヶ浦流域の DOM は、湖内、流入河川ともに琵琶湖流域の DOM と比べて時空間的な変動は観られず、陸域からの寄与が大きいものと推察された。

EEM 法の適用および湖沼間で EEM スペクトルの比較を行うことにより、簡易に有機物の特性把握できることを示すことができた。EEM 法では、分子レベルの分解能はないが、その簡便性、迅速性により、湖沼流域における有機物のモニタリング手法として有効であると考える。

## 5.2 腐植化指標(HIX)を用いた溶存有機物の特性把握

平成 19 年度は、流域圏における溶存有機物(DOM)の特性を腐植化指標(Humification index、HIX)により評価することを試みた。得られた知見および成果は以下のとおりである。

### 5.2.1 腐植化指標(HIX)の原理

水環境中において、DOM はその腐植化(humification)の進行にともなって、カルボキシル基含有量等の化学的特性が変化する。特性の変化によって、DOM は化学物質や鉱物表面との相互作用が促進されるなど、水環境中における DOM の役割や機能を考える上で腐植化の程度を調べることは重要であるとされる。

Zsolnay らは、DOM の腐植化にともなって DOM の蛍光波長が長波長側へシフト(red-shifting)することを利用して、蛍光分光法による腐植化指標(humification index、HIX)を提案した [14]。HIX の定義はいくつか提案されているが、本研究では次式を採用した [15]。

$$HIX = \frac{\sum FI_{435\rightarrow480}}{\sum FI_{300\rightarrow345} + \sum FI_{435\rightarrow480}} \qquad (式\ 1)$$

ここで、$\Sigma FI_{300\rightarrow345}$ および $\Sigma FI_{435\rightarrow480}$ は、それぞれ蛍光波長 300 nm～345 nm および 435 nm～480 nm の範囲における補正蛍光強度の総和であり、DOC 濃度に依存しない有機物に固有の値をとり、HIX 値は 0 から 1 の範囲をとる。本研究では、励起波長に 255 nm を採用した。

### 5.2.2 HIX による有機物評価の結果および考察

#### 5.2.2.1 HIX の季節変化

2007 年 8 月から 2008 年 2 月にかけて採水した琵琶湖 DOM および霞ヶ浦 DOM（表層水）の HIX 値を図 17 に示す。図 17 より、琵琶湖 DOM は、夏季から冬季にかけてその HIX 値が大きく増加する傾向がすべての地点で観られた。一方、霞ヶ浦 DOM については、季節が異なっても HIX 値は大きく変化せず、琵琶湖 DOM と比較して高い HIX 値を有していることが明らかとなった。琵琶湖 DOM の HIX の季節変化は、夏季表水層において藻類活動が活発で、また成層化することにより新鮮な有機物、すなわち腐植化の進行していない有機物が多く表水層に存在するためと考えられ、EEM 法で得られた知見と合致するものであった。冬季になれば、藻類の活動が低下するとともに易分解性有機物が消失し、また湖水が全循環することによって深水層中に留まっていた腐植化の進行した有機物が上方向に供給された結果として、HIX 値が高くなったと推察された。冬季に観られる高い HIX 値は、Ohno の報告によれば、森林土壌中のフルボ酸（0.973）と同程度の値 [15]であり、これら腐植化度の高い有機物は、陸域由来の有機物中に含まれる分解性の低い成分であることが示唆された。しかし、夏季に表水層において生産された易分解性有機物が微生物等により分解されて生じた分解産物による寄与も否定できないことから、琵琶湖に蓄積する有機物の由来を解明するためには、有機物の分解特性を詳細かつ網羅的に評価する必要がある。

霞ヶ浦 DOM は調査期間をとおして HIX 値は大きく変化をしていないことから、琵琶湖 DOM と比して藻類の影響度は低く、有機物特性は大きく変化しないことを示す結果であった。したがって、霞ヶ浦では相対的に内因性有機物の寄与は少ないことが明らかとなった。

#### 5.2.2.2 HIX の鉛直分布

2007 年 8 月から 2008 年 1 月にかけて安曇川沖（琵琶湖）において水深別採水調査を実施した。水深の異なる DOM に対して求めた HIX 値を図 18 に示す。図 18 より、琵琶湖が成層化している夏季においては、水深が深くなるにつれて HIX 値が増加する傾向が観られた。一方、冬季では、HIX 値は鉛直方向で大きな差は観られず一様に分布していることが分かった。琵琶湖のような深水湖では、季節成層が湖の物理・化学・生物過程と

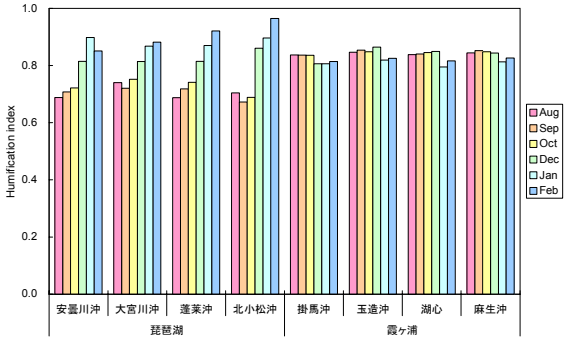



図 17 琵琶湖および霞ヶ浦 DOM の HIX 季節変化

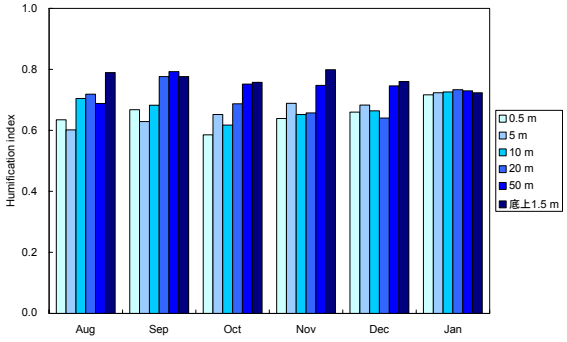



図 18 安曇川沖（水深別）DOM の HIX 季節変化

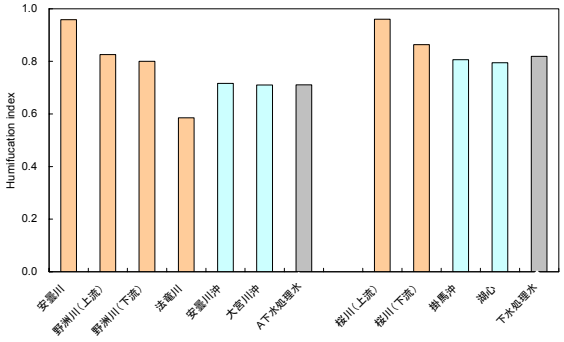



図 19 琵琶湖流域および霞ヶ浦流域における DOM の HIX 分布

それらの季節変化を支配していることが知られている [13]。本研究で適用した腐植化指標（HIX）を用いた特性評価においても、琵琶湖 DOM が湖水のダイナミックな湖水循環の影響を受けていることが明らかとなった。

#### 5.2.2.3 流域における HIX の変化

湖沼流域における有機物の動態を調べることおよび湖沼間の比較を目的として、琵琶湖流域および霞ヶ浦流域において、主要流入河川水（上流および下流）、下水処理水、湖水の採水を実施した。琵琶湖流域および霞ヶ浦流域における HIX 値の結果を図 19 に示す。図 19 より、全体的な傾向として、河川水 DOM の HIX 値は上

流地点ほど高くなる傾向を示し、湖水 DOM と下水処理水 DOM は同程度の HIX 値を示すことが明らかとなった。なお、周囲を水田および民家で囲まれた法竜川 DOM では最も低い HIX 値が得られた。

主な土地利用が森林である安曇川および桜川（上流）において高い HIX 値が得られており、森林土壌由来フルボ酸（腐植物質）の寄与によるものと考えられた。しかし、同様に周囲を森林で囲まれている野洲川（上流）DOM は、比較的低い HIX 値を示し、野洲川（下流）DOM および桜川（下流）と同程度の値であった。森林内における有機物の挙動は複雑であり、植生や土壌構造、先行降雨等の違いによるものと考えられるが、現段階では原因は不明である。Ohno によれば、Corn residue の HIX 値は 0.584[15]であり、法竜川 DOM は水田土壌に由来する新鮮な有機物の割合が多いものと考えられた。法竜川 DOM の HIX 値は他の流入河川と比較しても顕著に低い値を有していることから、生活雑排水等の影響も少なからず受けていることが推察された。また、琵琶湖流域および霞ヶ浦流域ともに、湖水 DOM と下水処理水 DOM の HIX 値は、同程度の値を有していることから、腐植化度の観点では同様の化学的特性を有していた。

#### 5.2.2.4 HIX による湖沼流域の DOM 特性把握のまとめ

本研究では、湖沼流域における有機物の化学的特性の変化を定量的に評価し、比較することを目的として腐植化指標（humification index）の適用を試みた。その結果、琵琶湖流域および霞ヶ浦流域における有機物の質的特性の把握に利用できることが明らかとなった。HIX は、有機物の化学的特性を定量化できること、それ自身が規格化された指標であること等の理由から、試料間の比較が容易に行える。蛍光センサー等を活用すれば、HIX による原位置での水質評価・モニタリングへつながることが明らかとなった。

### 5.3 蛍光分光法による有機物の簡易分析および有機物特性の把握のまとめ

平成 19 年度は、平成 18 年度に引き続き、蛍光分光法を用いて琵琶湖流域および霞ヶ浦流域の有機物の特性把握を実施した。その結果、琵琶湖流域では、夏季表水層において琵琶湖 DOM の特性および分布は藻類活動および季節成層による影響を強く受けていること、深水層には陸域由来の腐植物質と考えられる成分が蓄積していること、流入河川 DOM の特性は河川ごとに大きく異なること等が明らかとなった。一方、霞ヶ浦流域では、霞ヶ浦 DOM の蛍光特性は時空間的に一様に分布していること、内因性有機物の寄与が比較的小さいこと、流入河川 DOM の蛍光特性は流域内で大きな差が観られないこと等が明らかとなった。

以上の結果から、EEM 法は有機物の質的特性のより詳細な把握に、そして HIX 法は簡易水質評価指標として有効であることが明らかとなった。今後は、長期モニタリングデータの蓄積、他の手法による有機物特性の評価と組み合わせること等により、湖沼流域における難分解性有機物の簡易分析・分類手法としての適用可能性を高める予定である。

## 6. 湖沼流域における DOM の有機物組成

湖沼流域における物質循環、ここでは有機物（炭素）の循環は、藻類・植物による光合成を起点として無機炭素から有機物が生産されることではじまる。これらの有機物は食物連鎖（生食連鎖および腐食連鎖）のみならず物理化学的な作用により変換、分解することにより流域内でダイナミックな挙動をしている。海洋などでは微生物ループと呼ばれる概念が定着するなど、従属栄養細菌や原生動物の役割・機能が重要であることが明らかにされつつある。湖沼では、陸域からの寄与が相対的に大きく、生物地球科学的過程のバランスは海洋とは異なることが予想される。水環境中に存在する有機物の組成およびその特性には、発生源および各種物理的、化学的、生物的プロセスの情報を反映しているものと考えられる。本研究では起点となる生体有機物（タンパク質、糖類および脂質）に焦点をあて、溶存有機物（DOM）の組成を明らかにすることにより、湖沼流域における有機物の発生源、質・量的特性の把握に結びつけることを目的とした。

一般的な細胞構成有機物は、種や増殖条件、増殖期によって組成は大きく変化するが、タンパク質、炭水化物および脂質が大半（細菌では、90%）を占める [16]。その他、色素、灰分などが含まれる。本研究では、これらの有機物についての組成を明らかにすることを目的として、DOM 中のアミノ酸、糖類および脂質・脂肪酸について詳細な有機物組成分析を実施した。本研究で得られた成果および知見は以下のとおりである。

### 6.1 DOM の加水分解性アミノ酸（DHAA）組成

#### 6.1.1 分析方法

ガラス繊維ろ紙（GF/B）でろ過した試料 10 mL を凍結乾燥した後、1.5 mL の精製水に再溶解させたものを減圧乾固して粉末試料を得た。粉末試料に対して、6 mol/L HCl 400 μL を添加し、110℃、22 時間の条件で酸加水分解した。加水分解後の試料は、減圧乾固した後、0.02 mol/L HCl 100 μL で再溶解したものをメンブレンフィルター（0.22 μm）でろ過してアミノ酸分析計（日立、

L-8500 形)を用いてニンヒドリン発色により分析を行った。分析対象としたアミノ酸は、glycine (Gly)、alanine (Ala)、valine (Val)、leucine (Leu)、isoleucine (Ile)、methionine (Met)、phenylalanine (Phe)、tryptophan (Trp)、proline (Pro)、serine (Ser)、threonine (Thr)、tyrosine (Tyr)、1/2-cystine、aspartic acid (Asp)、glutamic acid (Glu)、arginine (Arg)、lysine (Lys)、histidine (His)の計 18 種類で、Trp、1/2-cystine および His 以外の 15 成分を検出することができた。なお、本研究で適用した条件では、asparagine (Asn)および glutamine (Gln)はそれぞれ対応する酸として検出され、Trp は加水分解されてしまうため検出されなかった。

### 6.1.1 アミノ酸(DHAA)分析結果および考察

本研究では、河川水および下水処理水の DOM では Pro が主要な成分として検出され、それ以外の成分はほとんど検出されなかったため、湖水 DOM のアミノ酸組成について結果を示す。アミノ酸分析で得られたアミノ酸濃度から各構成アミノ酸の炭素含有率(%C)を用いて、有機炭素濃度で表したアミノ酸分析結果をまとめて図 20 に示す。霞ヶ浦 DOM のみで Tyr および Met が検出されたが、それ以外の 13 成分は琵琶湖 DOM および霞ヶ浦 DOM で検出された。試料間の比較をするためにアミノ酸組成を図 21 に示す。図 21 より、琵琶湖 DOM および霞ヶ浦 DOM について全体的な DHAA 組成は類似していることが分かった。また、湖水中 DOM の主要な構成アミノ酸は、Gly、Ala、Asp、Glu で、霞ヶ浦 DOM では Thr の含有率も多いことが明らかとなった。次に、極性等に基づく分類および側鎖の化学構造に基づく分類をそれぞれ図 22 および図 23 に示す。図 22 および図 23 より、琵琶湖 DOM と霞ヶ浦 DOM のアミノ酸組成の特徴は、「non-polar, neutral」かつ「aliphatic」な構成成分の差にあることが示唆され、両画分に共通するアミノ酸は、Ala、Val、Leu、Ile の 4 種であった。これらの構成アミノ酸は、DOM の発生源や化学特性を特徴付けることを可能にする指標性を有することが示唆された。

## 6.2 DOM の加水分解性糖類(HCl-HCHO)組成

### 6.2.1 分析方法

#### 6.2.1.1 中性糖の分析方法

ガラス繊維ろ紙(GF/B)でろ過した試料 5 mL を凍結乾燥した後、1.5 mL の精製水に再溶解させたものを減圧乾固して粉末試料を得た。粉末試料に対して 2 mol/L トリフルオロ酢酸 400 µL を添加し、100℃、6 時間の条件で酸加水分解した。加水分解後の試料は、減圧乾固した後、精製水 200 µL を添加、再溶解させたものをメンブレンフィルター(0.22 µm)でろ過したものを HPLC 分析に

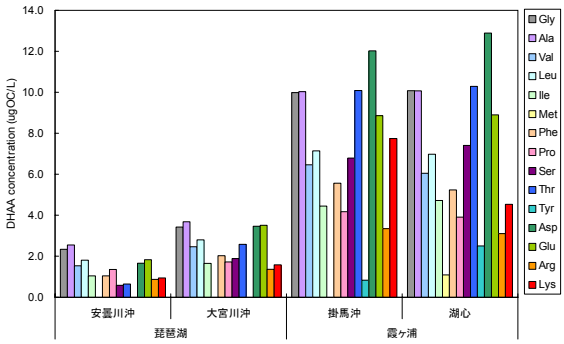



図 20 アミノ酸分析(濃度)結果

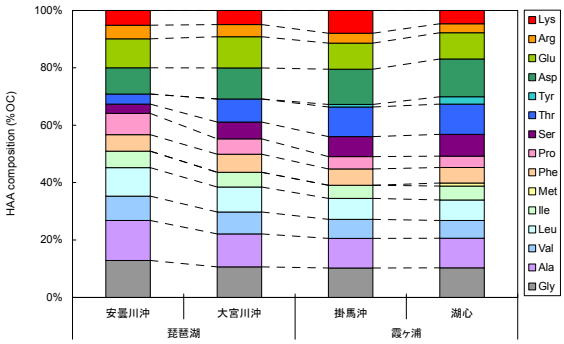



図 21 アミノ酸分析(組成)結果

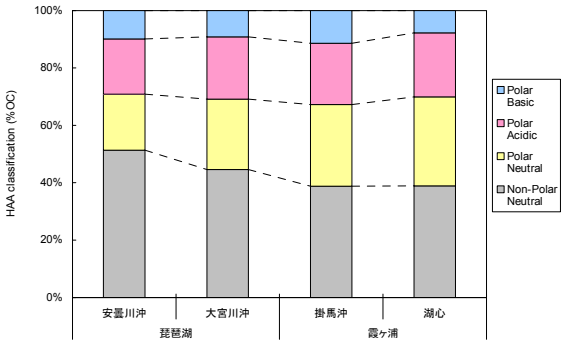



図 22 アミノ酸の極性に基づく分類

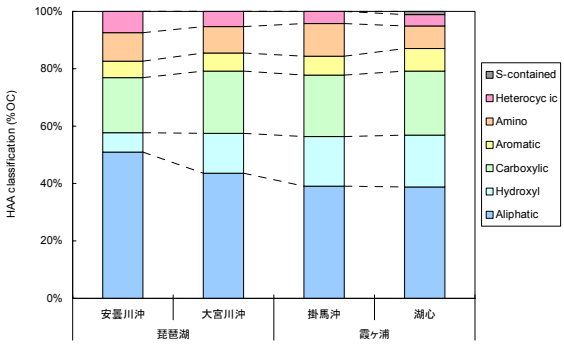



図 23 アミノ酸の官能基に基づく分類

供した。HPLC には LC-20A システム(島津)、検出器には RF-535(島津)、分析カラムには TSK-gel Sugar AXG (東ソー)を用いた。分析条件は、カラム温度 70℃、移動相 0.5 mol/L ホウ酸カリウム緩衝液(pH 8.7)、流速 0.4 mL/min、検出波長 Ex320/430 であった。ポストカラム標識条件は、1 w/v%アルギニン・3 w/v%ホウ酸、0.5 mL/min、150℃であった。分析対象の中性糖は、rhamnose (Rha)、ribose (Rib)、mannose (Man)、fucose (Fuc)、galactose (Gal)、xylose (Xyl)、glucose (Glc)の 7 種類であった。

#### 6.2.1.2 アミノ糖の分析方法

ガラス繊維ろ紙(GF/B)でろ過した試料 5 mL を凍結乾燥した後、1.5 mL の精製水に再溶解させたものを減圧乾固して粉末試料を得た。粉末試料に対して 4 mol/L HCl 400 µL を添加し、100℃、6 時間の条件で酸加水分解した。加水分解後の試料は、減圧乾固した後、精製水 200 µL を添加、再溶解させたものをメンブレンフィルター(0.22 µm)でろ過したものを HPLC 分析に供した。HPLC には LC-9A システム(島津)、検出器には RF-10$A_{XL}$(島津)、分析カラムには TSK-gel SCX(東ソー)を用いた。分析条件は、カラム温度 60℃、移動相 0.16 mol/L ホウ酸ナトリウム緩衝液(pH 7.6)、流速 0.3 mL/min、検出波長 Ex320/430 であった。ポストカラム標識条件は、1 w/v%アルギニン・3 w/v%ホウ酸、0.5 mL/min、150℃であった。分析対象のアミノ糖は、galactosamine (GalN)および glucosamine (GlcN)の 2 種類であった。

#### 6.2.1.3 ウロン酸の分析方法

ガラス繊維ろ紙(GF/B)でろ過した試料 25 mL を凍結乾燥した後、2.0 mL の精製水に再溶解させたものを減圧乾固して粉末試料を得た。粉末試料に対して 2 mol/L トリフルオロ酢酸 400 µL を添加し、100℃、6 時間の条件で酸加水分解した。加水分解後の試料は、減圧乾固した後、精製水 200 µL を添加、再溶解させたものをメンブレンフィルター(0.22 µm)でろ過したものを HPLC 分析に供した。HPLC には LC-9A システム(島津)、検出器には RF-10$A_{XL}$(島津)、分析カラムには Shimpak ISA-07(島津)を用いた。分析条件は、カラム温度 70℃、移動相 1 mol/L ホウ酸カリウム緩衝液(pH 8.7)、流速 0.8 mL/min、検出波長 Ex320/430 であった。ポストカラム標識条件は、1 w/v%アルギニン・3 w/v%ホウ酸、0.8 mL/min、150℃であった。分析対象のウロン酸は、galacturonic acid (GalA)、Iduronic acid (IdoA)、glucuronic acid (GlcA)の 3 種類であった。

#### 6.2.1.4 糖アルコールの分析方法

ガラス繊維ろ紙(GF/B)でろ過した試料 100 mL を凍結乾燥した後、3 mL 純水×3 回再溶解させて回収したものを遠心エバポレーターで減圧乾固した。次に、乾燥残渣にピリジンおよび無水酢酸を各 500 µL を加え、100℃、3 時間の条件で加熱し、アセチル化した。その後、窒素ガスを吹き付け、ピリジンおよび無水酢酸を除去した後、内部標準物質(2-deoxyglucose、2-DG)を加えて乾固した。残渣をクロロホルム 0.15 mL で抽出し、GC 分析に供した。GC には HP5890 型(Hewlett Packard)、検出器には FID、分析カラムには SP-2380(スペルコ)を用いた。分析条件は、カラム温度 50℃(1 min 保持)→275℃(+20℃/min で昇温)、キャリアーガス He、注入口温度 250℃、検出器温度 250℃、注入量 1 µL(スプリットレス)であった。分析対象とした糖アルコールは、rhamnitol (Rha-OH)、fucitol (Fuc-OH)、arabitol (Ara-OH)、xylitol (Xyl-OH)、mannitol (Man-OH)、galactitol (Gal-OH)、glucitol (Glu-OH)、inositol の 8 種類であった。なお、糖アルコール分析では、加水分解等の前処理は実施しておらず、遊離の糖アルコールを測定対象としている。

### 6.2.2 糖類組成分析結果および考察

本研究で得られた琵琶湖流域および霞ヶ浦流域における DOM の糖類組成分析結果を図 24 および図 25 に示す。琵琶湖流域においては、河川下流、湖水、下水処理水中の糖類濃度に大きな差は観られなかった。森林系河川である安曇川、野洲川(上流)では、糖類濃度

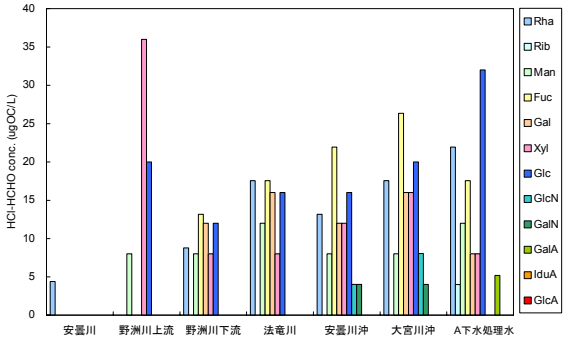



図 24 DOM の糖類分析(濃度)結果(琵琶湖流域)

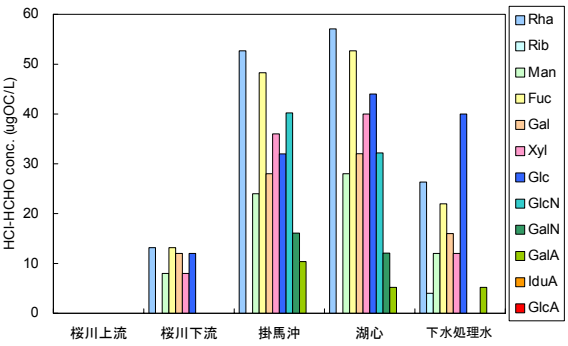



図 25 DOM の糖類分析(濃度)結果(霞ヶ浦流域)

は低いことが分かった。野洲川(上流)DOMの糖類組成は他の試料と比べ組成が大きく異なり、Xyl、Glc、Manの順に含有量が多いことが分かった。このことから、野洲川(上流)DOM中の糖類は、ヘミセルロース等の木質由来であることが明らかとなった。一方、湖水DOMでは他の地点と比べ、Fuc含有率が高く、藻類などの細胞外多糖類(extracellular polysaccharides、EPS)の1つであるフコイダン等の寄与が示唆された。さらに、湖水DOM中にのみアミノ糖(GalN、GlcN)が検出された。検出されたアミノ糖は天然に広く存在する代表的なもので、動植物、微生物のムコ多糖、糖タンパク質、糖脂質の構成成分である。湖外の試料中には検出されていないことから、アミノ糖は湖水中に生息している微生物等の寄与によるものと推察された。A 下水処理水では、ウロン酸の1つであるGalAが検出された。GalAは細胞壁のペクチン質の主成分であり、植物粘液、細菌多糖などの構成成分として存在しており、細菌由来の有機物の寄与が大きいことが考えられた。また、Glc 含有率も高いことも下水処理水中 DOM の特徴であったが、その由来は不明である。

霞ヶ浦流域においては、桜川(上流)以外の試料では糖類が検出された。桜川(下流)では、糖類濃度が低いために、特徴的な組成が観られなかった。霞ヶ浦 DOM の糖類組成は、琵琶湖 DOM のそれと比べて Rha 含有率が高く、GalA が検出された等の違いが観られた。Rha は、植物・細菌に広く分布し、植物の細胞壁ペクチン質やグラム陰性菌の細胞表層の多糖やリポ多糖中に多く含まれており、これらの寄与が推察された。琵琶湖流域と霞ヶ浦流域の下水処理水中 DOM の糖類組成は、大差は観られず、Glc および GalA に特徴付けられた組成を有していることが明らかとなった。

次に、湖沼間比較のため、琵琶湖 DOM および霞ヶ浦 DOM 中の糖類組成を図 26 に示す。糖類組成を比較した結果、霞ヶ浦では下水処理水に特徴的な GalA が検出されており、琵琶湖と比較して下水処理水の寄与が大きいと考えられた。本研究では、酸加水分解糖類(HCl-HCHO)について組成を調べた。一般に、単糖類をはじめとした低分子の糖類は易分解性であり、冬季の湖水等には残留していないと考えられる。したがって、比較的高分子のオリゴ糖、多糖中の糖類組成を反映していると言える。本研究において得られた糖類組成からは、藻類や細菌等の内部生産に起因する成分が多く、陸域からの影響は小さいことが明らかとなった。

琵琶湖流域および霞ヶ浦流域における DOM の糖アルコール分析の際に得られたクロマトグラムを図 27 および図 28 にまとめて示す。本研究において分析対象とした糖アルコール成分はほとんど検出されなかったが、その他に多くの成分が検出されていることが分かった。現時点で、これらの成分を同定するには至っていないが、試料間で組成に違いが大きいことは明らかである。したがって、これらの未同定成分に対して GC/MS 等による精密定性分析を実施することにより、DOM 中に含まれる有機物の指標化につなげることが可能となる。

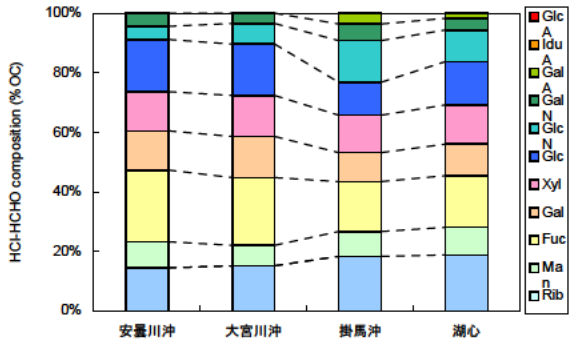



図 26 糖類組成の湖沼間比較

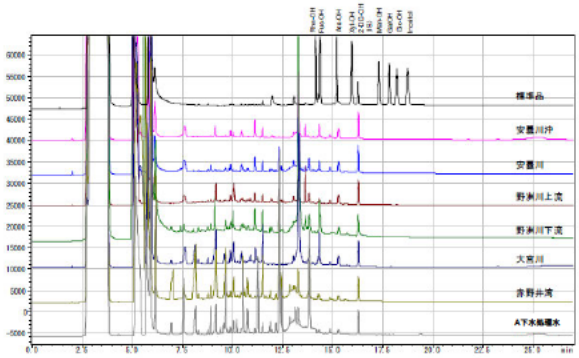


図 27 糖アルコール分析の GC クトマトグラム(琵琶湖流域)

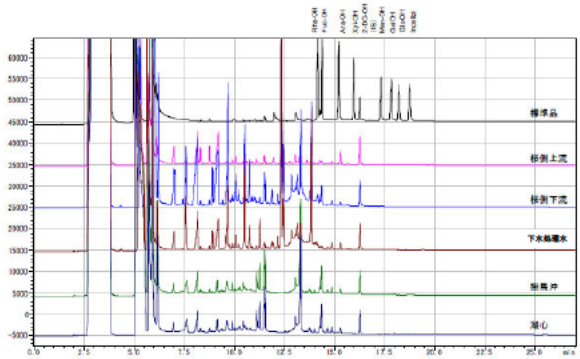


図 28 糖アルコール分析の GC クトマトグラム(霞ヶ浦流域)

### 6.3 脂質・脂肪酸分析

#### 6.3.1 分析方法

##### 6.3.1.1 脂質の分析方法

ガラス繊維ろ紙(GF/B)でろ過した試料 200 mL を凍結乾燥後、クロロホルム／メタノール(1／2)3 mL を加え、さらに水 0.8 mL を加えて voltex mixer で 2 分間撹拌した。ここに、クロロホルム 2 mL を添加して voltex mixer で 30 秒間撹拌した。さらに、水 2 mL を添加し、voltex mixer で 30 秒間撹拌した後、遠心分離(3,000 rpm、10 min)し、下層(クロロホルム層)を回収した。残りの上層(水／メタノール層)にクロロホルム 2 mL を添加し、vortex Mixer で 30 秒間攪拌したものを遠心分離(3,000 rpm, 10 min)し、下層(クロロホルム層)を回収した。全てのクロロホルム層を合わせ、窒素吹き付けで有機溶媒を除去後、クロロホルム 2 mL に再溶解し、あらかじめメタノール 10 mL とクロロホルム 10 mL で洗浄後、ヘキサン 10 mL でコンディショニングした固相抽出カートリッジ(Sep-Pak Vac 3cc、Silica Cartridge、Waters)に全量を通液した。これにクロロホルム 10 mL を通液し、透過液およびクロロホルム溶出液を回収したものを中性脂質画分とした。次に、固相抽出カートリッジにメタノール 10 mL を通液し、メタノール溶出物を回収してリン脂質画分とした。全ての試料の中性脂質画分、リン脂質画分を窒素吹き付けで溶媒除去後、クロロホルム 50 µL に溶解し、うち 5 µL を TLC 分析に供した(元の試料として 20 mL 相当を供試した)。TLC 分析には、HPTLC plates Silica Gel 60 (10 cm×10 cm、Merck)を用いて、室温で展開した。中性脂質の展開条件は石油エーテル／ジエチルエーテル／酢酸＝75／50／1(vol 比)で、リン脂質の展開条件はクロロホルム／メタノール／石油エーテル／アセトン／酢酸／水＝100／75／50／25／6.5／5(vol 比)であった。発色試薬は、中性脂質およびリン脂質ともに、10%硫酸銅／8%リン酸水溶液(150℃、15 分間加熱)であった。

#### 6.3.1.2 脂肪酸の分析方法

6.3.1.1 脂質分析における中性脂質画分溶液 10 µL (元の試料 40 mL に相当)について中性脂質画分を前記条件により TLC 分離させ、SL(単純脂質)、TG(トリグリセリド)、FFA(遊離脂肪酸)、DG(ジグリセリド)の溶出位置を掻きとり、クロロホルム 0.2 mL と 5%塩酸-メタノール 1 mL を加えて 80℃、3 時間反応させたものを放冷後、水 0.2 mL とヘキサン 1mL を加えて撹拌し、ヘキサン層を回収した。回収したヘキサン層を溶媒除去後、0.01%ペンタデカン酸メチルを含むクロロホルム 100 µL に再溶解し、GC 分析に供した。なお、定量用標準品としては濃度既知のステアリン酸メチル(0.01%ペンタデカン酸メチルを含むクロロホルム溶液として調製)を用いた。GC には GC2010 型(島津)、検出器には FID、分析カラムには Omegawax 320(スペルコ)を用いた。分析条件は、カラム温度 50°C(1 分保持)→270°C(+10°C/min.で昇温)、キャリヤーガス He、注入口温度 250°C、検出器温度 250°C、注入量 1 µL(スプリットレス)であった。

### 6.3.2 脂質組成分析の結果および考察

本研究で実施した TLC による脂質組成分析結果を図 29 に示す。なお、本研究ではリン脂質組成分析も行ったが、検出されなかった。これは、有機組成分析を行った試料は冬季に採水したため、藻類等の活動が低くかっただけでなく、ろ過した際にガラス繊維ろ紙に捕捉されたためと考えられた。琵琶湖流域および霞ヶ浦流域において得られた DOM の脂質組成をそれぞれ図 30 および図 31 に示す。琵琶湖流域では、採水地点間で DOM の脂質組成に大きな差が観られ、特に SL(単純脂質)

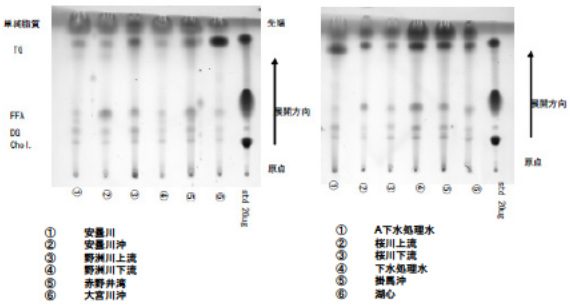



図 29 本研究で得られた TLC 分析結果

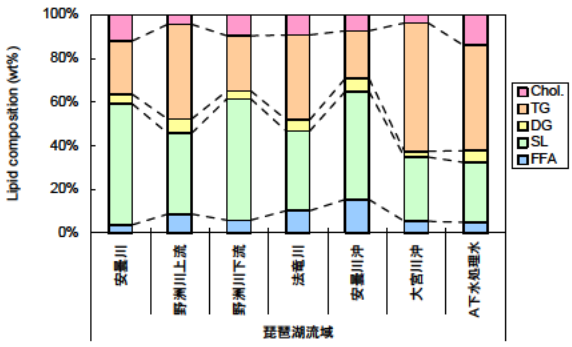



図 30 琵琶湖流域における DOM の脂質組成

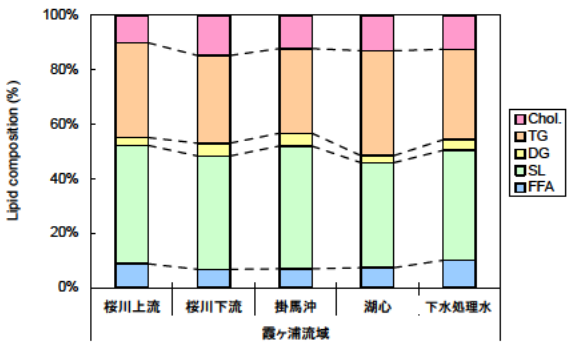



図 31 霞ヶ浦流域における DOM の脂質組成

および TG(トリグリセリド)の差が影響していることが明らかとなった。しかし、脂質組成と採水地点の間に一定の関係は観られなかった。一方、霞ヶ浦流域におけるDOMの脂質組成は、琵琶湖流域におけるそれとは異なり、採水地点間で大きな違いは観られなかった。

次に、TLC により粗分画した脂質クラスごとに GC による脂肪酸組成分析を実施した。各脂質クラスの脂肪酸組成分析の結果を図 32～図 35 に示す。図 32、図 33 および図 34 から、FFA(遊離脂肪酸)、SL(単純脂質)および DG(ジグリセリド)の脂肪酸組成は、試料間で多少の違いは観られるものの、比較的単純な組成であることが分かった。一方、図 35 より、TG(トリグリセリド)の脂肪酸は、他の脂質クラスと比べて多様であることが明らかとなった。脂質クラス別の脂肪酸濃度を比較すると、FFA は桜川(上流)で非常に多く、森林由来の遊離脂肪酸であることが推察された。また、DG および TG は大宮川沖および下水処理水の DOM 中に高濃度で存在していたことから、比較的汚濁の進行した地点では、DG および TG の寄与が多くなっているものと考えられた。

平成 18 年度において実施した $^{1}$H-NMR の結果からも琵琶湖 DOM は脂肪族性に富んだ有機酸であることが明らかとなっており、脂質および脂肪酸の組成情報は、その多様性を利用することで、分類指標となることが期待できる。

## 7. 核磁気共鳴分光法(NMR)による構造推定

### 7.1 核磁気共鳴分光法(NMR)について

核磁気共鳴分光法は、原子核の化学結合状態や分子内／分子間相互作用などによって核の共鳴周波数(ラーモア周波数)が変化すること(化学シフト)を利用した構造解析手法である。核磁気共鳴現象は核スピンを有する原子核に限られ、有機物の NMR 研究では $^{1}$H、$^{13}$C、$^{15}$N などが最も広く利用されている。本研究では、$^{1}$H の絶対感度が $^{13}$C の $5.7\times10^{3}$ 倍 [17]と高いことから、$^{1}$H-NMR による構造解析を行うこととした。観測核(ここでは $^{1}$H 核)の共鳴周波数は外部静磁場($\boldsymbol{B_0}$)の強度に比例するためデータ間の比較ができない。しかし、化学シフト($\delta$、ppm)は被観測核に固有の値となるため、NMR スペクトルの横軸は化学シフトで表すのが一般的である。Marcolm によるフミン質の $^{1}$H-NMR スペクトルの帰属を表 3 および図 36 に示す [18]。また、$^{1}$H-NMR スペクトル例として本研究で得られた下水処理水中 DOM の $^{1}$H-NMR スペクトルを図 37 に示す。

### 7.2 $^{1}$H-NMR の分析方法

ガラス繊維ろ紙(GF/B)でろ過した試料 200 mL を凍結

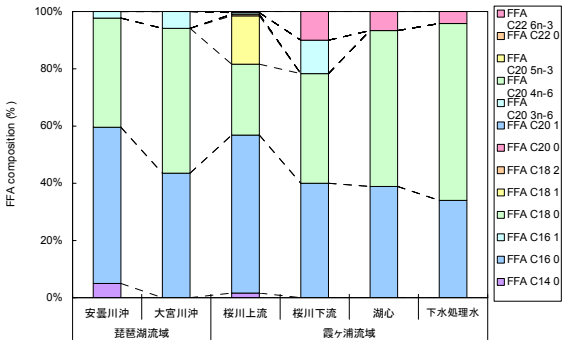



図 32 DOM 中脂肪酸(FFA)組成の湖沼間比較

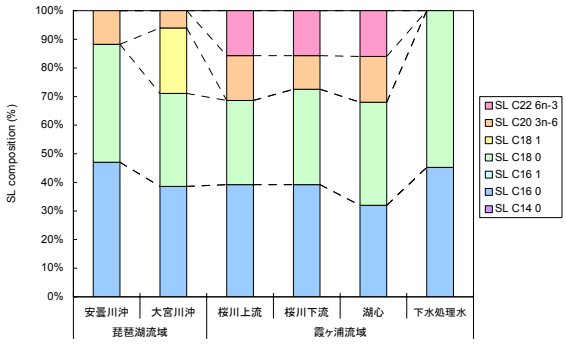



図 33 DOM 中脂肪酸(SL)組成の湖沼間比較

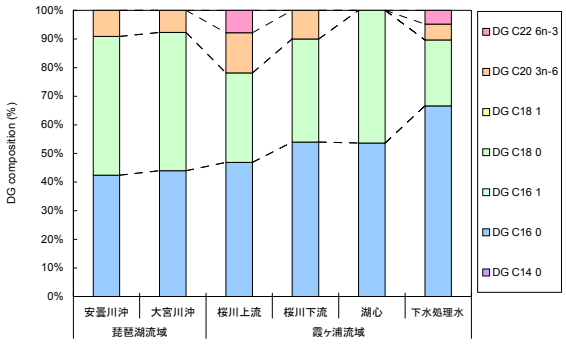



図 34 DOM 中脂肪酸(DG)組成の湖沼間比較

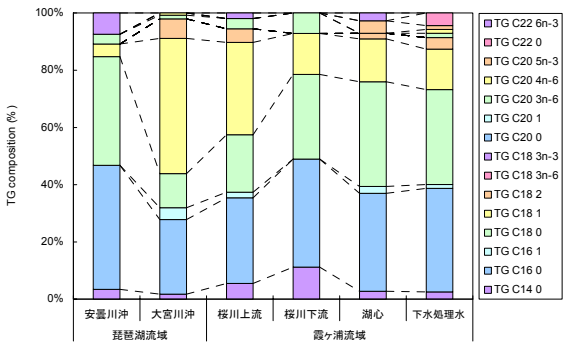



図 35 DOM 中脂肪酸(TG)組成の湖沼間比較

乾燥して得た粉末試料にDMSO-$d_6$を加えてNMR測定に供した。本研究で使用した重水素化溶媒（ISOTEC）は、重水素化率 99.96%以上で同じロットのものを使用した（Lot# TV0178）。使用した NMR 装置は、UNITY INOVA 600型（バリアン）であった。測定条件は、観測周波数 599.7369 MHz（$^1$H 核）、45° パルス（3.4 μsec）、relaxation time 2.184 sec、acquisition time 3.277 sec、sweep width 10,000 Hz、line broadening 1.0 Hz、温度25℃であった。NMRチューブ径は5 mmで、回転させずに測定を行った。また、pre-saturation により水由来のピーク（3.3 ppm 付近）を照射して飽和させ、水シグナルを消去した。化学シフトは、重水素化溶媒（DMSO-$d_6$）のメチル基 $CD_2H$ シグナル（2.50 ppm）を基準とした。

表 3 $^1$H-NMR スペクトルの帰属（Marcolm）[18)]

| $\delta$ (ppm) | Assignment and interpretations |
|---|---|
| ① 0.8-1.0 | Terminal methyl groups of methylene chains |
| ② 0.8-1.4 | Ptotons on methyl groups of highly branched aliphatic structures |
| ③ 1.4-1.8 | Protons on aliphatic carbonswhich are two or more carbons removed from aromatic rings or polar functional groups (electronegative groups) |
| ④ 1.7-3.3 | Protons attached to aliphatic carbons (methyl and methylene groups) which are $\alpha$ or attached to electronegative groups (e.g., carboxyl group or an aromatic ring) |
| ⑤ 3.3-5.0 | Protons on carbons attached to O or N heteroatoms (primarily O in humic substances), e.g., the HCO of saccharides, methoxyl groups, amines and traces of water |
| ⑥ 6.5-8.1 | Unhindered aromatic protons |
| ⑦ 8.1-9.0 | Sterically hindered aromatic protons, nitrogen heteroaromatics and formate |

### 7.3 $^1$H-NMR 分析結果および考察

本研究で得られた琵琶湖流域および霞ヶ浦流域における DOM の $^1$H-NMR スペクトルの一部をそれぞれ図 38 および図 39 に示す。図 38 および図 39 より、フタル酸エステル類と考えられるコンタミネーションしていることが判明した。DOM は多種多様な有機物の混合物であることから、$^1$H-NMR シグナルは比較的ブロードなピークとなる。したがって、以下ではシャープなシグナルを無視し、定性的に得られた知見および成果について述べる。

全体的な傾向としては、平成 18 年度と同様に、琵琶湖流域および霞ヶ浦流域の DOM は脂肪族性に富んだ有機物であることが分かった。低磁場領域（芳香族および二重結合など）では、下水処理水 DOM や一部の河川水 DOM（桜川（上流）、法竜川など）でブロードなピークが観測された。さらに、同じ低磁場領域においてもそのピーク形状は若干異なっているなど、採水地点間の差が観られた。一方、高磁場領域（飽和炭化水素など）では、一連のブロードなピークが観られ、脂肪族性の高さを裏付けていると考えられた。これは、脂質・脂肪酸組成分析の

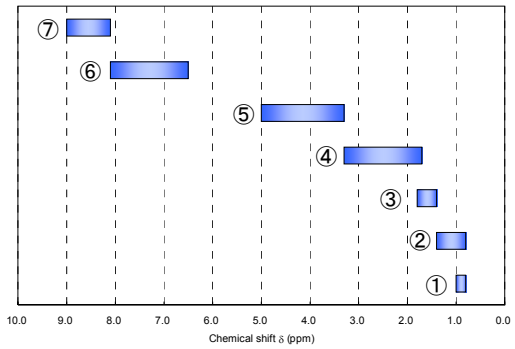



図 36 化学シフトの一般領域 [18)]

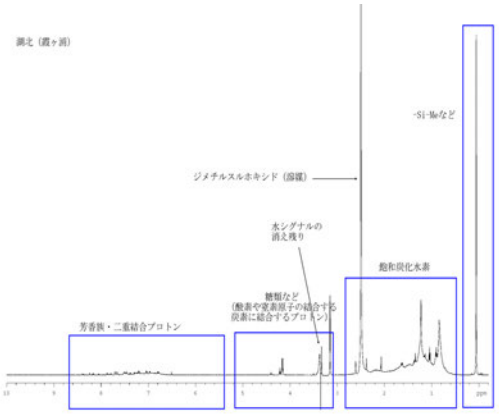
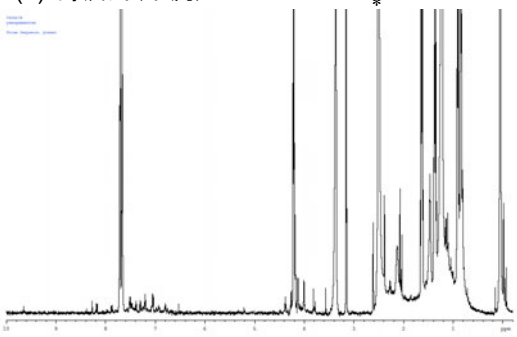
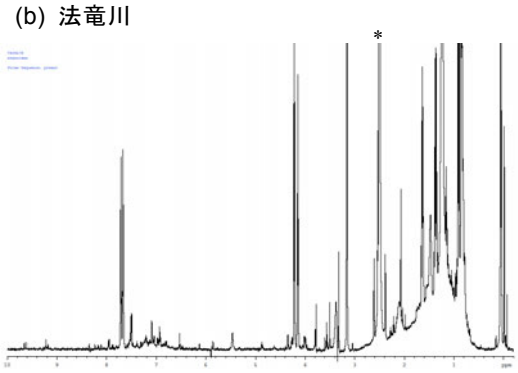



図 37 湖北 DOM の $^1$H-NMR スペクトル

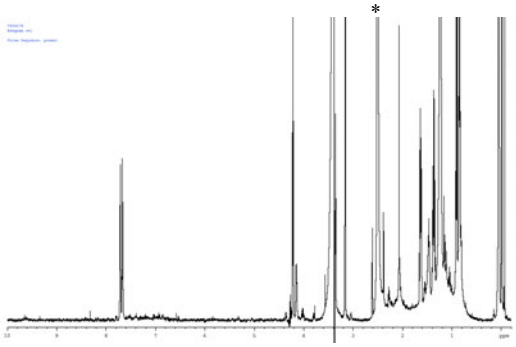
(a) 野洲川（下流）



(b) 法竜川



(c) 安曇川沖



(d) A 浄化ｾﾝﾀｰ

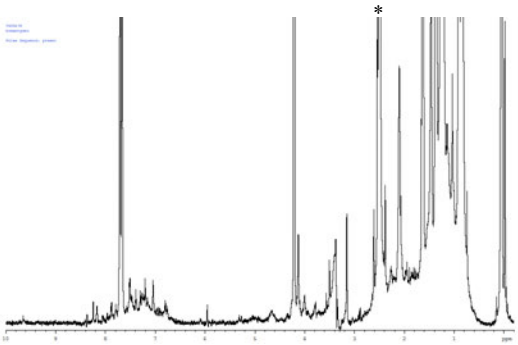
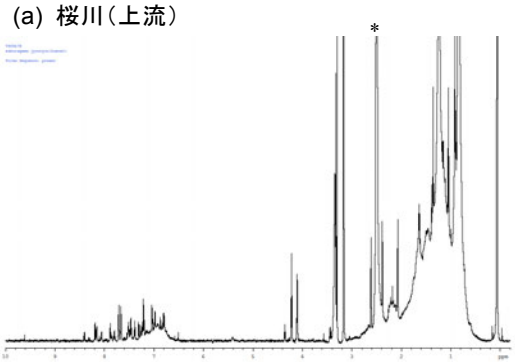
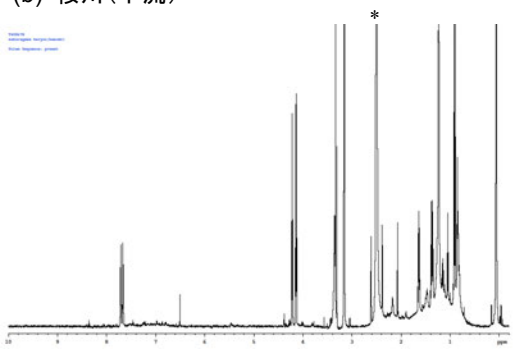


図 38 琵琶湖流域における DOM の $^{1}$H-NMR スペクトル（*DMSO-$d_6$ 由来ピーク）

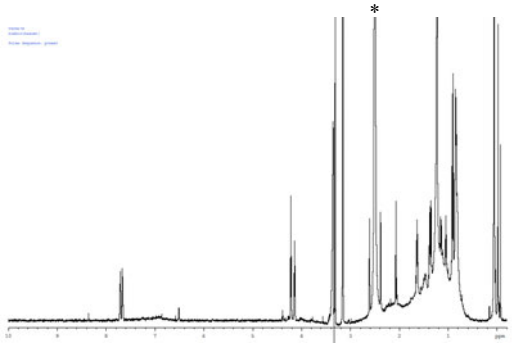
(a) 桜川（上流）



(b) 桜川（下流）



(c) 湖心



(d) 浄化ｾﾝﾀｰ

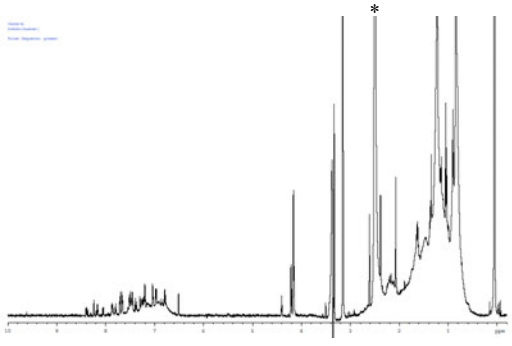


図 39 霞ヶ浦流域における DOM の $^{1}$H-NMR スペクトル（*DMSO-$d_6$ 由来ピーク）

結果とも一致するものであった。

NMR 法は、他の分光法と比べて感度は劣るものの、試料中のすべての観測核を検出できるという網羅性を有している。本年度において得られた $^{1}$H-NMR スペクトルからも DOM 中の多くの成分が同時検出できたことが分かる。今後は、$^{13}$C-NMR および 2D-NMR の適用、もしくは他の分離・分画手法と NMR 法の組み合わせにより、より多くの組成、化学構造に関する情報が得られると考えられる。

## 8. おわりに

本研究は、湖沼における難分解性有機物の発生源とその質及び分解挙動等を明らかにすることにより、最終的には豊かな水環境の構築・保全に資することを目的としている。平成 19 年度は、高効率で DOM を抽出、精製できる方法論の確立、蛍光分光法（EEM および HIX）による溶存有機物の簡易分析および有機物特性の把握、および DOM の詳細な有機物組成（アミノ酸、糖類、脂質・脂肪酸）を明らかにすることを目的として、琵琶湖流域および霞ヶ浦流域において調査研究を実施した。さらに、$^{1}$H-NMR による DOM の構造解析も実施した。

以下に、本年度の成果および課題をまとめて示す。

1） 湖沼有機物の精密定性分析に向けて、DOM 抽出・精製方法の開発を行った。本研究では、逆浸透（RO）膜による DOM の濃縮および電気透析による RO 濃縮液の脱塩、精製する方法を確立した。

2） 透析膜の膜孔径（MWCO）が電気透析処理に及ぼす影響を検討した。陰イオン側の MWCO が 100 Da であれば、溶存有機炭素の損失せずに処理できることが明らかとなった。電気透析による無機イオンの除去は、30 分程度の電気透析処理により主要な無機イオンを除去できることが明らかとなった。

3） 電気透析処理が DOM の質量分析に与える影響を調べた。電気透析処理により、ESI-MS スペクトル強度（TIC）が 20%程度改善されること、イオン強度が低下する成分が少ないこと等が明らかとなり、精密定性分析における電気透析法の有効性を示すことができた。

4） 3 次元励起・蛍光（EEM）法を湖水、河川水および下水処理水に適用した結果、琵琶湖流域および霞ヶ浦流域の DOM を簡易に分析でき、発生源等の推定を行うことができることが分かった。

5） 腐植化指標（HIX）を湖水、河川水および下水処理水に適用した結果、有機物の化学的特性に関する情報が得られ、簡易水質評価指標として有効であることが明らかとなった。

6） 琵琶湖 DOM は、夏季には藻類の活動および季節成層、冬季には湖水の大循環に強く影響を受けていることが明らかとなった。流入河川 DOM は、河川ごとに異なる EEM スペクトル形状を示し、有機物の組成が多様であった。

7） 霞ヶ浦流域では、湖水、河川水中 DOM の蛍光特性は琵琶湖のそれと比較して時空間的な変動少なく、季節や場所による違いは観られなかった。また、霞ヶ浦 DOM は、藻類等の内因性発生源の寄与は小さいと推察された。

8） アミノ酸組成から、「non-polar、neutral」および「aliphatic」に分類される構成アミノ酸（Ala、Val、Leu、Ile）が湖沼有機物のアミノ酸組成を特徴付けており、有機物の発生源や化学特性の指標としての可能性を有していることを示すことができた。

9） 糖類組成から、流域内および流域間で組成が異なることを明らかにした。琵琶湖 DOM は細胞外多糖（EPS）の寄与が示唆され、霞ヶ浦 DOM は下水由来有機物の影響が観られることが明らかとなった。

10） 糖アルコール分析の結果、GC クロマトグラム上に同定されない成分が多数検出され、有機物組成の指標（指紋）としての利用可能性が示された。

11） 脂質組成から、DOM の SL（単純脂質）および TG（トリグリセリド）含有率は、試料間で異なり、DOM の脂質組成を規定していることが示唆された。各脂質クラスごとに脂肪酸組成分析を実施した結果、TG の脂肪酸組成は非常に多様であることが明らかとなった。

12） $^{1}$H-NMR による DOM の構造解析を行った結果、琵琶湖流域および霞ヶ浦流域の DOM は脂肪族性に富んでいることを明らかにした。これは、平成 18 年度に琵琶湖水で得られた成果と一致するものであった。

今後は、有機物の詳細な分類・分析手法を提案し、発生源や挙動を追跡すること、水環境中における有機物の分解特性を詳細に評価するための試験系を確立して有機物変換過程を解明すること、これまでに開発した蛍光分光法（EEM および HIX）、開発予定の分類・分析手法、分解性試験法の適用により、湖沼流域における有機物の発生源の探索を行う予定である。

## 9. 参考文献


1） 滋賀県(2005) 平成 17 年（2005 年）版 環境白書.

2） 北村友一,日下部武敏,鈴木穣(2008) 琵琶湖流域における溶存有機物の蛍光特性, *第 42 回日本水環境学会年会講演集*, 541.

3） Sun L., Perdue, E.M. and McCarthy, J.F. (1995) Using reverse osmosis to obtain organic matter from surface and ground waters, *Water Research*,

**29**(6), 1471-1477.
4) Serkiz, S.M. and Perdue, E.M. (1990) Isolation of dissolved organic matter from Suwannee River using reverse osmosis. *Water Research*. **24**(7), 911 - 916.
5) 日本海水学会・電気透析および膜技術研究会編 (2004) イオン交換膜の機能と応用, アイピーシー.
6) 妹尾学,阿部光雄,鈴木喬(1991) イオン交換 高度分離技術の基礎, 講談社サイエンティフィク.
7) 日下部武敏(2007) 琵琶湖天然有機物質の分子量分布および微量有機汚染物質の収着に関する研究, *博士学位論文(京都大学)*.
8) 池田和弘,清水芳久,日下部武敏,松井三郎(2005) 天然有機物質の質量分析条件の検討とその適用, *環境システム計測制御学会誌*, 60 (2), 66-72.
9) Coble, P.G., Green, S.A., Blough, N.V., Gagosian, R.B. (1990) Characterization of dissolved organic matter in the Black Sea by fluorescence spectroscopy. *Nature*, 348, 432-435.
10) Chen, W., Westerhoff, P., Leenheer, J.A., Booksh, K. (2003) Fluorescence excitation-emission matrix regional integration to qualify spectra for dissolved organic matter. *Environmental Science and Technology*, **37** (24), 5701-5710.
11) 福島武彦,中島俊之,今井章雄,松重一夫,尾崎則篤 (2001) EEMs による水中溶存有機物の特性解析. *水環境学会誌*, **24** (10), 686-692.
12) Chen, W., Westerhoff, P., Leenheer, J.A., Booksh, K. (2003) Fluorescence excitaion-emission matrix regional integration to quantify spectra for dissolved organic matter. *Environmental Science and Techonology*, **37** (24), 5701-5710.
13) 宗宮功(2000) 琵琶湖―その環境と水質形成, 技報堂出版.
14) Cox, L., Celis, R., Hermosin, M.C., Cornejo, J., Zsolnay, A., Zeller, K. (2000) Effect of organic amendments on herbicide sorption as related to the nature of the dissolved organic matter. *Environmental Science and Technology*, **34** (21), 4600-4605.
15) Ohno, T. (2002) Fluorescence inner-filtering correction for determining the humification index of dissolved organic matter. *Environmental Science and Technology*, **36** (4), 742-746.
16) 宗宮功,津野洋(1997) 水環境基礎科学, コロナ社.
17) 日本分析化学会編(1994) 改訂 4 版 分析化学データブック, 丸善.
18) Malcolm, R.L. (1990) The uniqueness of humic substances in each of soil, stream and marine environments. *Analytica Chimica Acta*, **232**, 19-30.

## 11. 研究発表

(誌上発表)

1) Kusakabe, T., Ikeda, K., Shimizu, Y., Higashi, S., Kawabata, Y., Kitamura, T., Suzuki, Y. (2008) Seasonal and spatial variations in characteristics of Lake Biwa dissolved organic matter: Sorption of pyrene and its derivatives and fluorescence properties. *Water Science and Technology*. (in press)
2) Kusakabe, T., Kitamura, T., Suzuki, Y. 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 and Technology* (submitted).

(口頭発表)

3) 日下部武敏,北村友一,鈴木穣(2008) 電気透析による RO 濃縮液中からの溶存無機成分の除去特性. *第 42 回日本水環境学会年会講演集*, 434.

(ポスター発表)

4) 北村友一,日下部武敏,鈴木穣(2008) 琵琶湖流域における溶存有機物の蛍光特性. *第 42 回日本水環境学会年会講演集*, 541.
5) Kusakabe, T., Kitamura, T., Suzuki, Y. (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. 4th IWA Specialist Conference, Natural Organic Matter: from Source to Tap, Bath, U.K. (accepted)

## 謝辞

琵琶湖および霞ヶ浦における採水は、国土交通省近畿地方整備局琵琶湖河川事務所および関東地方整備局霞ヶ浦河川事務所の協力を得て実施された。また、琵琶湖流域下水道における採水では、滋賀県下水道課および財団法人滋賀県下水道公社の協力を得て実施されたものである。ここに記して、深く感謝の意を表します。

なお、本調査研究は、環境省からの受託業務費により実施されたものである。

# 微量金属を対象としたダム湖富栄養化対策技術の開発

水質チーム　上席研究員　鈴木　穣
主任研究員　岡安　祐司
研　究　員　久岡　夏樹

Development of the countermeasure of eutrophication of reservoir targeting at trace metal, by Natsuki HISAOKA, Yuji OKAYASU, Yutaka SUZUKI (Water Environmental Research Group, PWRI)

## １．目的

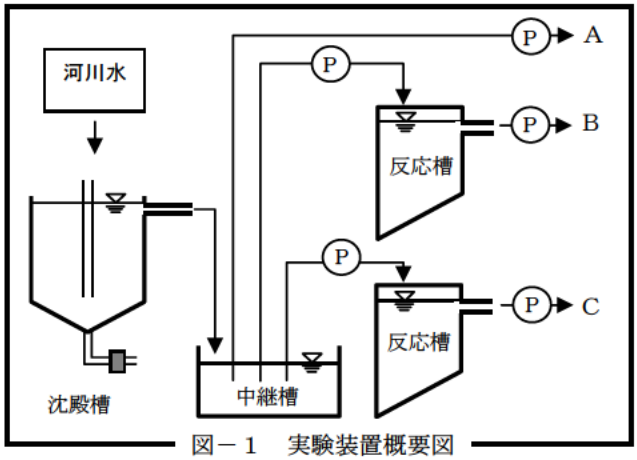
近年，多くのダム湖が，窒素・リン流入負荷が高いために起こる藻類の異常増殖と，それに伴う景観障害や異臭味などの問題を抱えている．窒素・リン流入負荷を削減する流域対策が基本ではあるが，ダム湖内で可能な対策も求められている．従来，曝気循環を行うことによって藻類の異常増殖を抑制する手法が適用されてきたが，効果が思わしくない例も多々見られる．このため，より効果的な対策技術の開発が待たれている．

本研究では対策技術の一つとして，微量金属を対象とした藻類の異常増殖を抑制する技術について，富栄養化ダム湖で現場実験等を行ったので報告する．

## ２．実験方法

藻類異常増殖が問題となっているダムにおいて，流入する河川の脇に実験装置（図－1）を設置し，川からポンプで直接採水した水を用いて実験を行った．実験系は，河川水そのままのもの（A），反応槽（ポリプロピレン製の微生物保持体を体積比で 30%添加）で曝気を行いながら 30 分間処理を行ったもの（B）と 2 時間処理を行ったもの（C）の計３系である．３週間ほどの連続運転の後，処理が安定した時点で，試料の採取と分析を行った．

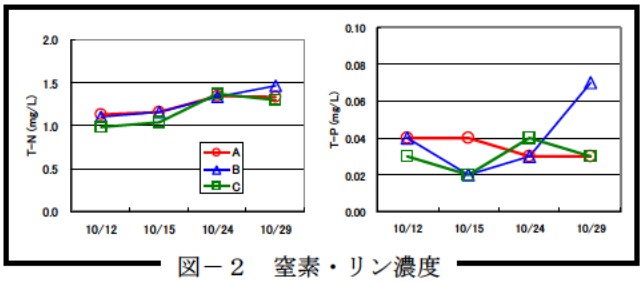
装置を通過した水をそれぞれ採取して持ち帰り，微量金属濃度等を測定した。また、試料水を試験管に 100ml ずつとり，夏季に同ダムより採取した藻類を添加した後，30℃恒温室内で照度 8000lx、明暗それぞれ 12 時間にて藻類を培養した．なお、試験管上層での比較を行うため，中底層に光が当たらないように試験管の底から４割水深ほどの高さまでを黒紙で覆った．約 10 日間培養した後，クロロフィル a を測定し，濃度の違いを系ごとに比較した．




図－１　実験装置概要図

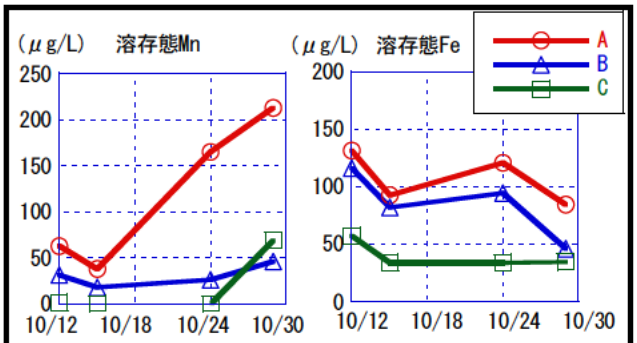
## ３．結果及び考察

現地で採取した水の N, P 濃度および溶解性微量金属（Mn，Fe）濃度の分析結果をそれぞれ図－２、図－３に示す．T-N, T-P 濃度に関して、各ケース間で大きな差は認められないが、微量金属のうち特に Mn については、Aに比べ，B，Cの




図－２　窒素・リン濃度

濃度が低くなっている。Mn 等は、微生物保持体上に生育した微生物によって酸化され，取り除かれたと考えられる．




図－３　溶解性微量金属濃度

次に，試験管で培養を行った藻類の，クロロフィル a の濃度測定結果を表－１に示す．B，C がＡに比べて藻類増殖が抑えられていることがわかる．

表－１　クロロフィルaの濃度（μg/L）

| | 10/12 | 10/15 | 10/24 | 10/29 |
|---|---|---|---|---|
| A | 27 | 4 | 27 | 37 |
| B | 2 | Tr | Tr | 19 |
| C | 5 | Tr | Tr | 3 |

## ４．結論

ダム湖へ流入する河川水に微生物保持体を用いて処理を行うことで、微量金属の濃度が低下することが明らかになるとともに，当該処理によって藻類の増殖抑制の可能性があることが示された．今後は，夏場における検討を通して，本技術の適用性等を検討する予定である．

なお、本調査研究は、運営費交付金(治水勘定)により実施されたものである。

土 木 研 究 所 資 料
TECHNICAL NOTE of PWRI
No.4123 January 2009
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