ＩＳＳＮ　　　0386 5837
土木研究所資料　第4157号

土木研究所資料

平成20年度下水道関係調査研究年次報告書集

FY2008 Annual Report of Wastewater Management and Water Quality Control

平成21年11月

独 立 行 政 法 人　　土 木 研 究 所

Incorporated Administrative Agency
Public Works Research Institute

土　木　研　究　所　資　料
第4157号　平成21年11月

平成20年度下水道関係調査研究年次報告書集

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

概要

本報告書集は、平成20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

目　　次

Ⅰ　リサイクルチーム

Ⅱ　水質チーム

＊受託業務費とは、国土交通省からの受託によるものである。

＊流域規模での水・物質循環管理支援モデルに関する研究（1）は、水文チームによって行われており、本報告書には、掲載していない。

Ⅰ．リサイクルチームによる研究

下水道施設におけるバイオガスの完全利用に関する調査

リサイクルチーム　　上席研究員　岡本誠一郎
研　究　員　桜井　健介
研　究　員　宮本　豊尚

１．はじめに

下水汚泥の嫌気性消化の工程で発生するバイオガス（メタンガス）を、より効率的に回収し、利用を促進し、処理場のエネルギー自立度を向上させるため、温度、圧力、ガス添加等の様々な条件のもとで、運転方法や運転条件の最適化を図る必要がある。

さらに、木質系廃棄物の蒸煮爆砕物と下水汚泥の混合による嫌気性消化は、有望な技術であり、実証段階にある。実用化に向けてのステップとして、実際に発生している木質系廃棄物の蒸煮爆砕による前処理の評価や下水汚泥との混合嫌気性消化に及ぼす評価を行う必要がある。

20 年度調査では、主に、炭酸ガスの添加・返送によるバイオガスの回収量の変化、草木系バイオマスの蒸煮爆砕処理による影響評価と下水汚泥と爆砕物の混合嫌気性消化特性について検討を行った。

２．圧力の変化、ガス添加によるバイオガスの回収量の変化に関する検討

嫌気性消化におけるメタン生成経路は下の①～③式が主体であると考えられており、メタン菌はガス状の水素やある種のアルコール及び脂肪酸の存在下で、CO_2 をメタンに還元する働きをし、脂肪酸は水を還元または水素供与体として利用することもあると報告されている[1)]。これまで①、②式の反応に関しては多くの報告がなされているが③式についての研究はほとんど行われていない。

既往の研究によると、炭酸ガス分圧がバイオガス回収量へ影響を与えているという報告がなされているが[2), 3)]、そのメカニズムについては十分解明されていないのが現状である。また、いずれの報告も一段嫌気性消化での報告であり、現在多くの処理場で行われている二段嫌気性消化槽に適用した事例はまだ報告されていない。そこで、本検討では、二段嫌気性消化槽への適用を念頭とした、炭酸ガス添加による二酸化炭素の分圧変化によるバイオガスの回収量の変化について検討を行った。

あわせて、返送による影響も検討を行った。乳牛スラリーの発酵実験では返送を行うことによりバイオガスの発生量が増えたと報告されており[4)]、下水汚泥を使用した場合でも同様の効果が現れるのか調査した。

$$CH_3COO^- + H_2O \rightarrow CH_4 + HCO_3^- \qquad \cdots①$$

$$4HCOO^- + 2H^+ \rightarrow CH_4 + CO_2 + 2HCO_3^- \qquad \cdots②$$

$$CO_2 + 4H_2 \rightarrow CH_4 + 2H_2O \qquad \cdots③$$

嫌気性消化におけるメタンの生成反応式[1)]

２．１　実験概要

図-2.1 に実験装置の外観を、図-2.2 に模式図を示す。実験は 35℃恒温室において 5L の反応槽を前段、後段と 2 槽をビニールチューブで連結したものを、A~D の 4 系列作成した。表-2. 1 に各系の実験条件を示している。

図-2.1 実験装置

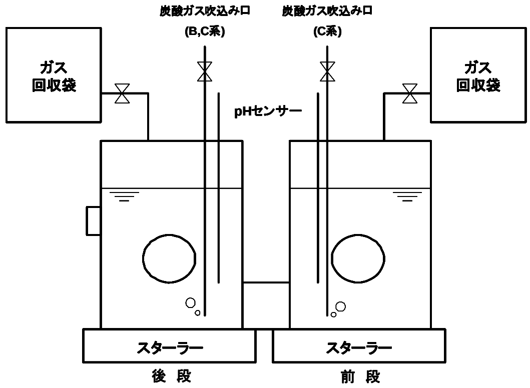


図-2.2 実験装置概念図

表-2.1 実験条件

		A	B	C	D
汚泥量(L)	前段	3.6	3.6	3.6	3.6
	後段	3.6	3.6	3.6	3.6
HRT(日)	前段	15	15	15	15
	後段	15	15	15	15
全圧力(atm)		1	1	1	1
CO2分圧	前段	維持せず	維持せず	45～55	維持せず
V/V ％	後段	維持せず	45～55	45～55	維持せず
返送		なし	なし	なし	投入1：返送1

２．１．１　汚泥

実験の立上げに際して、種汚泥は茨城県 M 処理場の消化汚泥を、投入タンクから各槽前段への投入汚泥には同処理場の余剰汚泥を調整したものをそれぞれ用いた。なお投入汚泥には蒸発残留物(TS)調整のためにセルロースパウダーを添加している。実際の処理場では最初沈殿池で発生する初沈汚泥と余剰汚泥が消化槽へ送られているが、気象等の影響を受け初沈汚泥の性状は変化しており汚泥の性状は常に変化している。そこで初沈汚泥のうち消化に影響を与えるセルロースのみを、性状の比較的安定している余剰汚泥に一定割合で混合することで汚泥の性状変化の影響をなるべく小さくしている。

２．１．２　実験条件

各槽前段にポンプを用いて 240ml/日ずつ余剰汚泥を投入し、後段より 240mL/日の汚泥を引き抜くことで反応槽内の水理学的滞留時間(HRT)を 15 日とした。A 系は他の 3 系の対照系とし、B 系は後段のみ、C 系は前段、後は返送による効果を観察するためにポンプを用いて後段から前段へと 240mL/日で汚泥の返送を行った。

2 月中旬には、炭酸ガス濃度が 40～50％と安定したため、B 系はそれを維持し、C 系では炭酸ガス濃度を前段後段ともに 70%程度になるよう炭酸ガス分圧を調整した。

なお、炭酸ガスの分圧は、週に 2 回ガス分析を行って炭酸ガス濃度を把握した後、気相の濃度が目標の濃度になるように工業用炭酸ガス（純度 99.7%）をシリンジに採取し、液相へ吹き込むことで調整を行った。

２．１．３　分析項目

本実験では液相、気相分析をそれぞれ行った。

液相では週に一度、各槽から消化液の引き抜きを行い、pH・蒸発残留物(TS)・強熱減量(VS)・浮遊物質(SS)・揮発性浮遊物質(VSS)・無機性炭素(IC)・有機性炭素(TOC)・アンモニア態窒素(NH_4-N)・亜硝酸態窒素(NO_2-N)・硝酸態窒素(NO_3-N)・リン酸態リン(PO_4-P)及び揮発性脂肪酸(VFA)（コハク酸・乳酸・ギ酸・酢酸・プロピオン酸・

i-酪酸・n-酪酸・i-吉草酸・n-吉草酸）について分析した。

気相は週に二度ガスのサンプリングを行い、ガス発生量及びガスクロマトグラフにより CO_2・CH_4・N_2・O_2 のガス組成の分析を行った。

２．１．４　分析方法

消化液及び発生ガス中の各成分は、以下の分析器具・装置・方法を用いて分析した。
pH(NPH-660NED:開始～27 日目 , YOKOGAWA pH7I:27 日目～終了)、TS･VS･SS･VSS(下水試験方法(1997))、TOC(TOC-5000A)、NH4-N・NO2-N・NO3-N・PO4-P（TRAACS 2000)、ガス組成(O2、N2、CH4、CO2 (SHIMADZU GC-2014) , O2、N2 (SHIMADZU GC-3BT))、有機酸分析(DIONEX IC 20 Ion Chromatograph)、CHN 分析（AMCO FLASH EA 1112）

２．２　実験結果・考察

２．２．１　pH の推移と有機酸

図-2.3、図-2.4 に各系の pH の推移を示した。本実験は馴致期間が大半を占めているため、A～D の系列の違いよりも時系列的な変化の影響の方が大きくなる。実験開始直後は pH7.0 強であったが、時間の経過とともに pH は低下してきた。実験の途中、センサーの故障が発生し、pH が異常に低い値を示すようになったため、測定方法を連続観測から測定するバッチ測定へと変更した。概ね実験開始 7 日後から測定方法を変更するまでの期間（1/23～2/14）は pH の観測値は参考値とする。ちなみに pH3.5～4.0 程度になると酸発酵から水素発酵になる [3] といわれているが、測定方法変更後の測定ではいずれの槽も pH5 以上であり水素発酵に移行していないことが確認できた。また、ガスクロマトグラフの結果からは水素のピークは検出されていなかった。

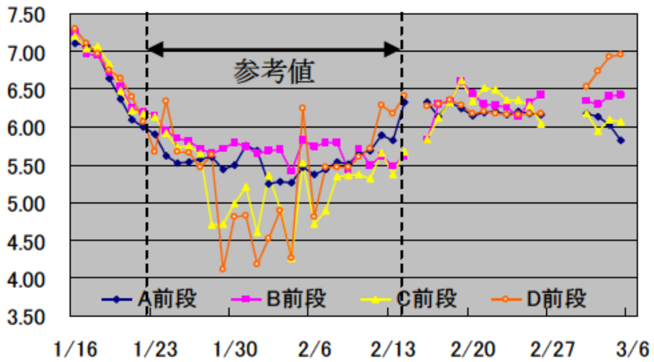


図-2.3 各系前段の pH 推移

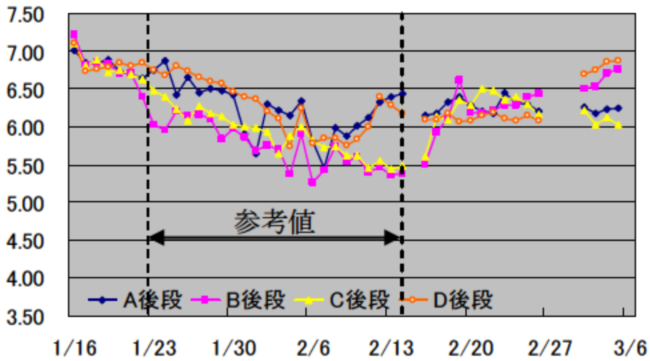
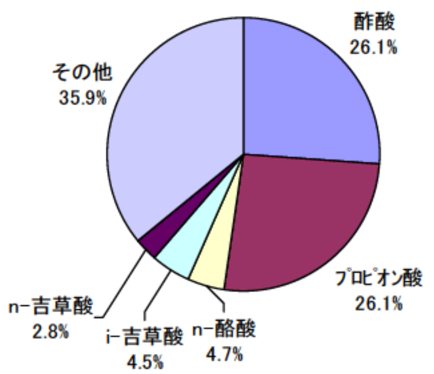


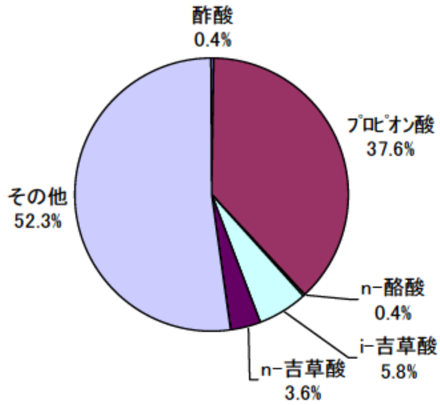
図-2. 4 各系後段の pH 推移

有機酸の分析結果から、本嫌気性消化実験においては、酢酸ならびにプロピオン酸が主要な成分であった。蟻酸、コハク酸、乳酸はほとんど検出されず、i-酪酸に関しては、測定上の問題から有意な値を得ることができなかった。図-2.5 に酸発酵状態と、メタン発酵に移行した状態における代表的な TOC に占める各酸の割合を示す。 酢酸ならびにプロピオン酸の推移の一例を図-2.6 に示す。実験開始後から、酢酸及びプロピオン酸の濃度は増加し、酸が蓄積する傾向が見受けられる。その後酢酸は 2/12～19 を境に、濃度が急激に減少していた。酢酸の挙動は pH にも影響しており、pH の値は 2 月の中旬までは低く 17 日前後を境に急上昇していることが、参考値ではあるが確認できる。プロピオン酸に関しては実験期間中蓄積傾向にあったが、返送を行っている D の系列においては、実験最終日の 3/5 に減少に転じていた。



2/5 A 前段分析結果

(TOC 3.3g/L)



2/26 A 前段分析結果

(TOC 3.4g/L)

図-2. 5 TOC に占める有機酸

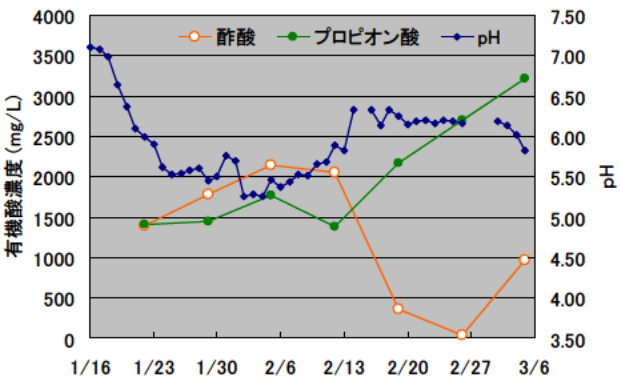


図-2. 6 酢酸とプロピオン酸の推移の一例

(A 系前段)

２．２．２　ガスと有機酸

図-2. 7 に全ガス、メタンガス、炭酸ガス、窒素ガスの発生量の推移を示す。

ガスの発生量は実験開始直後から減少し、1 週間で 1 L に満たない場合もあったが、2 月中旬になるころからガスの発生量が増加している。しかし、発生のピークを迎えた後、またガスの発生量が減少する傾向も見られる。

メタン及び炭酸ガスは発生量が大きく変動している。ガスの発生量が多いときには、両者でほぼ 90%を占めている。一方、窒素は概ね 0.2L/day 以下で安定しており、ガスの発生量が少ないときにはその割合は大きくなる。

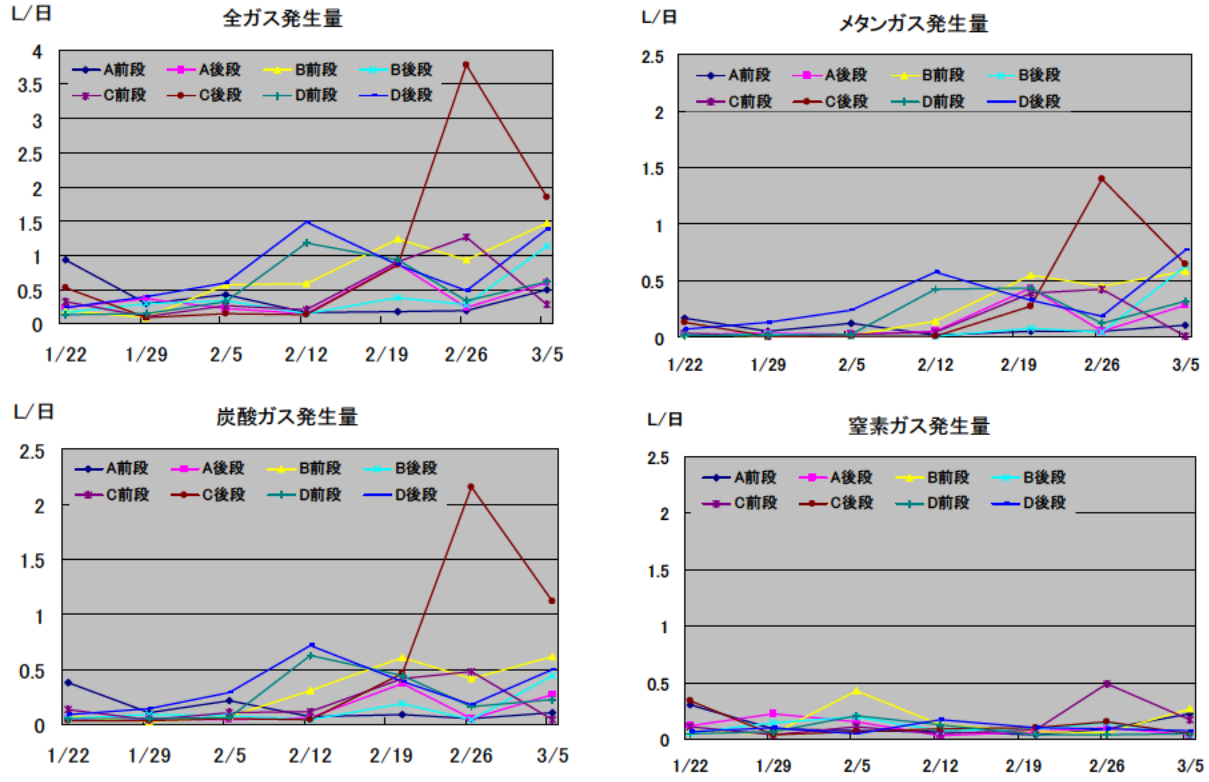


図-2.7 全ガス、メタンガス、炭酸ガス、窒素ガスの発生量の推移

ガスの発生量が急増した時系列順番は D 系（返送）、A,B 系（返送なし）、C 系（炭酸ガス添加）であった。ガス量の変動と有機酸の変動の比較の一例として、D 系の後段の結果を示す(図-2.8)。D 系後段では、実験期間中に 2 度ほどガスの発生が盛んになっている。１度目は 2/5〜12 にかけて、2 度目は 2/26〜3/5 にかけてである。最初のガス発生のピーク時には、実験開始から約 3 週間で蓄積されてきた酢酸を一気に消費し、ガスが発生したことが予想される。2 度目のピーク時には、プロピオン酸が消費されている様子が分かる。

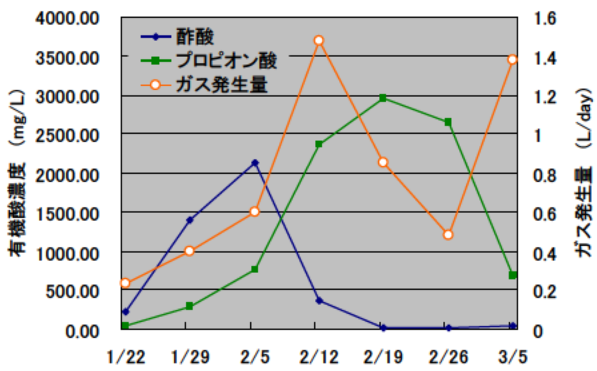


図-2. 8　ガス量の変動と有機酸の変動の比較
(D 系後段)

他の系列では、それぞれ一度ずつガス発生のピークを迎えている。このとき C の前段を除き酢酸の濃度が１、２週間で約 2000mg/L から約 30mg/L と減少していた。実験期間中にはプロピオン酸濃度の減少は確認されておらず、本実験を継続して行った場合にはプロピオン酸を消費することによるガス発生量の増加がおきると予想される。

２．２．３　返送・炭酸ガス吹き込みによる効果

各系列の累積ガス発生量を比較したところ､図-2.9 に示すように返送を行った D 系が最もガスが発生していた。また、実験開始から 4 週間後と比較的早い段階からガスの発生量が多く、安定していた(図-2.7)。VS ベースの消化率についても、最も安定しており、いずれも 60%以上の値となっている(図-2.10)。有機酸については２．２．２

で示したように、実験の最後にはプロピオン酸の分解も始まっている。以上の結果から、返送を行うことで生物反応の促進がなされ、系の安定に寄与している可能性がある。一方で本実験ではまだ安定的な消化が行われておらず、定常状態での影響については不明である。

炭酸ガスを吹き込んだ系では、3/5 の時点でも前段で酢酸の濃度が高くなっており(図-2.11)、図-2.10 に示したように消化率はコントロール系と比べ悪化している。一方、発生しているガス量は、対照系よりも多くなっており、図-2.9 に示すようにメタンの生成が確認できる。また、TOC･IC は他の系と比べても大差ない。以上から 2 つの可能性が考えられる。

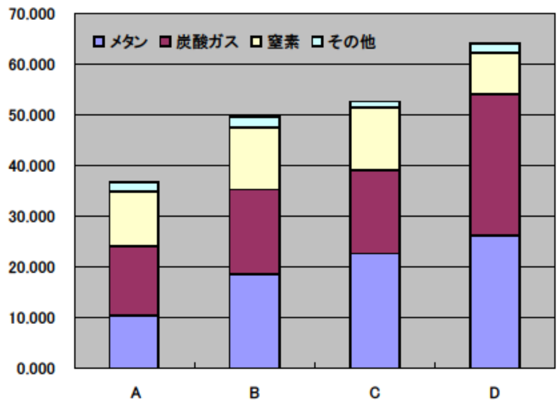


図-2.9　累積ガス発生量(L)

注）吹き込んだ炭酸ガス分については差し引いている

① 炭酸ガスを吹き込むことにより炭酸ガスからメタンが生成され、その一方で酢酸や酪酸からのメタン生成が阻害または遅延される。

② 炭酸ガスと他の成分が反応し、何らかの有機酸あるいは有機酸前駆物質が生産される。その分解の過程で酢酸が生産されるため酢酸の濃度が高くなっており、メタン生成量も増加している。

今後は、実験条件を詳細に設定し、発生メタンガスを増量するための炭酸ガス分圧などの条件の確認する必要がある。また、定常状態における返送・炭酸ガス添加の影響評価についても検討が必要である。

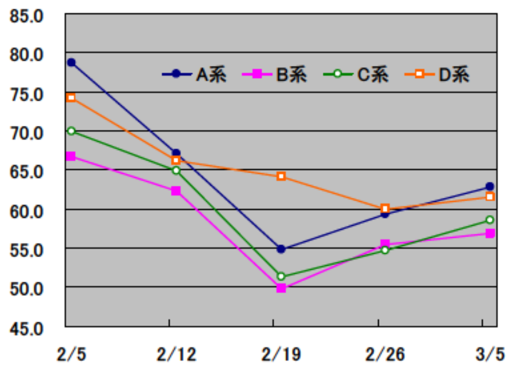


図-2. 10　VS ベースの消化率(%)

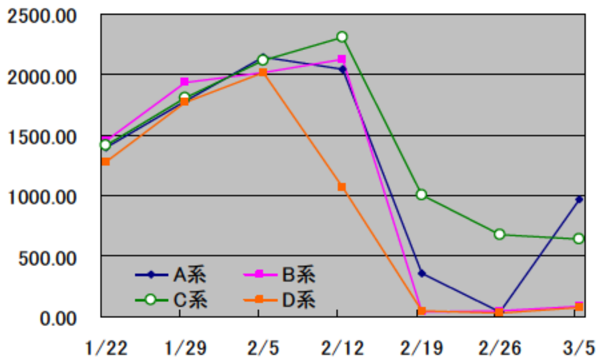


図-2. 11　各系前段の酢酸濃度(mg/L)

３．　下水汚泥の他のバイオマスの添加、薬剤等の添加によるバイオガス回収量の変化に関する検討

木質系廃棄物の蒸煮爆砕物と下水汚泥の混合による嫌気性消化は、有望な技術であり、実証段階にある。本調査では、実用化に向けてのステップとして、実際に発生している木質系廃棄物にいくつかの条件を設定し、蒸煮爆砕処理をし、性状の変化について調査し、さらに 100L の実験用嫌気性消化槽を用いて、下水汚泥との混合による嫌気性消化実験を行った。

３．１　蒸煮爆砕処理

木質系廃棄物の蒸煮爆砕物と下水汚泥の混合による嫌気性消化を行うにあたり必要となる実際に発生している木質系廃棄物を蒸煮爆砕処理の原料として入手し、蒸煮爆砕処理を行い、物性の変化、水抽出物の組成の変化を調査した。

３．１．１　蒸煮爆砕処理原料および調査方法

公園管理や街路樹管理等で実際に発生した間伐材や伐採木および剪定材と刈草を等量ずつ混合した物を、それぞれ破砕機を用いて 10cm 程度に破砕し、蒸煮爆砕処理用の試料とした。蒸煮爆砕装置は、蒸気発生装置および試験用蒸煮爆砕装置から構成した。蒸気発生装置には、ヒーター容量 40kw の電気ボイラーを使用した。試験用蒸煮爆砕実験装置は、主にステンレス(SUS316)製で、許容圧力 4MPa、反応器 30L のものを使用した。処理は、バッチ式で行われる。蒸煮爆砕処理は、表-3.1 の反応条件により行った。

表-3.1 蒸煮爆砕処理条件系列

系列名	試料	ボイラー圧力(MPa)	蒸煮時間(min)	投入重量(wet-kg)
RUN-1	破砕済み間伐材・伐採木	3	3	4
RUN-2		3	6	4
RUN-3	破砕済み剪定枝および刈草	2.7	3	5
RUN-4		2.7	1.5	5

各試料の pH、比重、蒸発残留物及び含水率、強熱減量、砂分、粒形分布を分析した。原則として、下水試験方法に従うものとし、粒形分布は、呼び寸法 2、4.75、9.5、19、26.5、 37.5、 53、75mm のふるいを使用し、手動で十分に落下するまで振るった。

また、蒸煮処理前の試料および各種蒸煮爆砕処理物の水抽出試料の分析を行った。有機物試料 25g（湿潤重量）に超純水 500mL を加え、20℃の恒温室にて 120rpm で 1 時間浸盪により水抽出試料を得た。分析項目は、TOC、NH_4-N、NO_2-N、NO_3-N、PO_4-P、T-N、T-P、有機酸とした。水抽出試料を GF/B ろ紙（whatman、孔径 1μm）によるろ過後、TOC、NH_4-N、NO_2-N、NO_3-N、PO_4-P、T-N、T-P を測定した。TOC は、TOC 計（TOC-5000、SHIMADZU CORPORATION）により測定した。NH_4-N、NO_2-N、NO_3-N、PO_4-P は、自動比色分析装置(TRAACS2000,BRAN LUEBBE)により測定した。T-N、T-P はろ液を銅・カドミウムカラム還元法（下水試験方法）におけるペルオキソ二硫酸カリウムによる分解を行い、適宜、希釈し、自動比色分析装置(TRAACS2000,BRAN LUEBBE)により測定した。有機酸は、メンブレンフィルター（Dismic 25CS、Advantec、孔径 0.2μm）によるろ過を行い、ろ液をイオンクロマトグラフ（IC20 Ion Chromatograph、Dionex Corporation）により測定した。

３．１．２　結果

RUN-1、2 の蒸煮爆砕物は、蒸煮爆砕の強度を高めるほど、木質の原型を失った。RUN-1 蒸煮爆砕物は、RUN-2 蒸煮爆砕物より木質の原型を留めるものが多かった。RUN-1、2 蒸煮爆砕物は共に、針葉樹と思われる木が原型を留めていた。RUN-3、4 の蒸煮爆砕物は、草は原型をとどめないが、剪定枝に含まれる枝などが原型を留めていた。RUN-3、4 は共に繊維状の蒸煮爆砕物が残った。

各試料の分析結果を表-3.2 に示した。蒸煮爆砕物の pH は、原料に比べて低かった。生木材の pH は 5.3 から、3.0 および 3.2 まで低下した。生剪定枝・刈草の pH は、7.3 から 4.5 および 4.8 まで低下した。蒸煮爆砕に伴う pH の低下は、ヘミセルロール中のアセチル基が遊離することにより起こる[5)]とされており、後述するように蒸煮爆砕物には酢酸が生じていた。

表-3.2 原料および蒸煮爆砕物の分析

試料名		生木材	生剪定 枝・刈草	RUN-1	RUN-2	RUN-3	RUN-4
項目	単位						
pH	-	5.3	7.3	3.2	3	4.5	4.8
比重	-	0.78	0.89	1.1	1.1	1.1	1.1
蒸発残留物	%	61.4	46.9	35.1	43.8	37.8	38.4
含水率	%	38.6	53.1	64.9	56.2	62.2	61.6
強熱残留物	%	1.2	6.6	0.6	0.8	6.1	6.4
砂分	mg/kg	404	32,459	0	0	15,548	18,253
	%	0	3.2	0	0	1.6	1.8

生木材および生剪定枝・刈草の乾燥重量 1g に対する砂分の重量を図-3.1 に示す。また、参考として、3.2 嫌気性消化で利用した湖北総合実験施設の実験用プラントの初沈汚泥と、その汚泥を汚泥滞留日数 30 日で運転した消化汚泥の蒸発残留物 1g あたりの砂分の重量を示した。これら汚泥中の砂分の重量と比べると、今回測定した剪定木材と刈草の混合物の乾燥重量 1g に対する砂分の重量は多かった。実施設の維持管理において、汚泥消化タンクを長年使用するとタンク内に土砂が堆積し有効容積が減少し能力の低下をきたすので、堆積土砂量の調査を行い、必要に応じ除去を行う。今回測定した剪定木材と刈草の混合物をこのまま混合嫌気性消化を行おうとすると、投入量により異なるが、消化タンク内に土砂が堆積し有効容積が減少する速度が速くなることが考えられるため、収集時や保管時に工夫し砂分を入りにくくしたり、堆積土砂を引き抜く頻度を増やしたりする対応が求められる可能性がある。

生木材、RUN-1、RUN-2 の粒形分布を図-3.2 に示した。生剪定枝・刈草およびその蒸煮爆砕処理物（RUN-3,4）の試料は、繊維状の固まりになっており、十分にふるいわけられず、測定できなかった。生木材は、蒸煮爆砕処理により、粒径が小さくなった。生木材が呼び寸法 26.5mm のふるいを通過するのが 80%程度であったが、RUN-1 の蒸煮爆砕処理により、呼び寸法 9.5mm のふるいを 80%程度が通過し、RUN-2 の蒸煮爆砕処理により、呼び寸法 9.5mm のふるいを 90%程度が通過した。

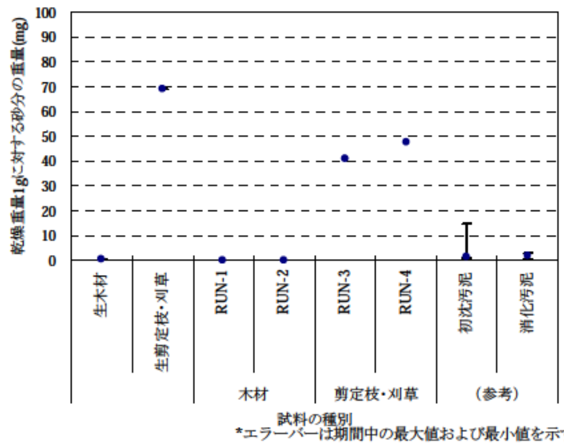


図-3.1 乾燥重量 1g に対する砂分の重量
（ただし、汚泥は蒸発残留物 1g に対する砂分の重量）

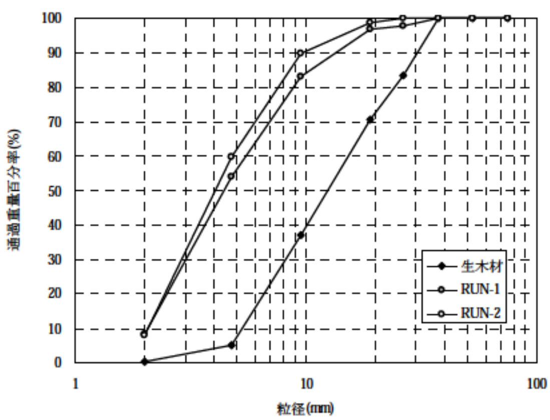


図-3.2 生木材および蒸煮爆砕物の通過重量百分率

原料および蒸煮爆砕物の水溶性試料の組成は表-3.3 のとおりであった。木材の蒸煮爆砕物中の水溶性 TOC は、蒸煮時間の増加と共に水溶性 TOC が高まった。剪定枝・刈草の蒸煮爆砕物中の水溶性 TOC は、蒸煮時間 1.5 分の時が未爆砕の試料よりも低く、3 分の時が最も高かった。蒸煮時間 1.5 分の時が低かった理由はわからなかった。また、剪定枝・刈草の蒸煮爆砕処理物(RUN-3、4)の水溶性 T-N や T-P は、木質の蒸煮爆砕物より大きかった。水

表-3.3 原料および蒸煮爆砕物の水溶性試料の組成

試料名			生木材	生剪定枝・刈草	RUN-1	RUN-2	RUN-3	RUN-4
項目		単位						
水溶性TOC		mg/L	83.1	205.0	294.3	728.8	833.7	111.6
水溶性NH_4-N		mg/L	0.5	0.4	0.3	2.4	3.2	0.0
水溶性NO_2-N		mg/L	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
水溶性NO_3-N		mg/L	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
水溶性PO_4-P		mg/L	0.7	1.2	0.8	3.4	3.6	1.5
水溶性T-N		mg/L	0.8	4.8	5.0	6.3	28.3	23.7
水溶性T-P		mg/L	0.4	2.3	1.3	4.7	3.8	3.8
水溶性有機酸	コハク酸	mg/L	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	乳酸	mg/L	0.0	0.0	33	47	28	22
	ギ酸	mg/L	0.0	0.0	83	89	87	65
	酢酸	mg/L	0.0	0.0	290	363	133	79
	プロピオン酸	mg/L	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	イソ酪酸	mg/L	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	イソ吉草酸	mg/L	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	吉草酸	mg/L	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

溶性有機酸について、蒸煮爆砕処理により、木材および剪定枝と刈草の混合物は、酢酸、ギ酸、乳酸が生じ、蒸煮時間の増加により、それぞれの量が増加していた。

３．２　嫌気性消化

下水汚泥との混合嫌気性消化の対象として、前項において蒸煮爆砕処理した試料のうち RUN-2（3.0MPa-6.0min）の処理物を用い、添加する木質系廃棄物の性状による影響、蒸煮爆砕物を混合した消化汚泥の粘性について調査を行った。

３．２．１　嫌気性消化材料および実験方法

嫌気性消化実験にあたっては、湖北総合実験施設に設置してある２つの系列を持つ 100L 嫌気性消化槽を用いた。100L 嫌気性消化槽は、消化槽の容量は 100L であり、消化槽の周囲は電気ヒーターで 35℃に温度調整された恒温水で覆われており、中央部の攪拌機により攪拌される。本実験では、Ⅰ系、Ⅱ系ともに消化槽内に消化汚泥を 60L 投入し運転した。

嫌気性消化にあたっては、Ⅰ系、Ⅱ系ともに実下水処理場の消化汚泥を種汚泥に用い、湖北総合実験施設の実験用プラントの初沈汚泥を投入し、馴致のため 3 週間運転し、Ⅱ系に蒸煮爆砕物を投入し始め、8 週間運転を続けた。Ⅰ系の嫌気性消化槽の運転条件は、平均汚泥滞留日数は 30 日とし、汚泥の投入・引抜量は 2L/day とした。Ⅱ系の嫌気性消化槽の運転条件は、汚泥の投入量は 2L/day とし、蒸煮爆砕物は、乾燥重量が投入汚泥の TS と同量となるように投入し、汚泥の引抜量は 2L/day に投入した蒸煮爆砕物分を加えて、引き抜いた。Ⅱ系の平均汚泥滞留日数は 29.1 日となった。Ⅱ系に加えた下水汚泥との混合嫌気性消化の対象として、前節において蒸煮爆砕処理した試料のうち RUN-2（3.0MPa-6.0min）の処理物を呼び寸法 9.5mm のふるいでふるった通過物を使用した。期間中の投入汚泥の平均蒸発残留物濃度は、24.9mg/L であった。蒸煮爆砕物の投入量は 120g-wet/day で、含水率は、59.2%であった。期間中に投入した下水汚泥の平均蒸発残留物と蒸煮爆砕物の乾燥重量の比は、1:1.06 であった。

汚泥の試験方法は、原則として３．１蒸煮爆砕処理と同様とした。それらに加えて、粘度を粘度計（リオン㈱製 VISCOTESTER VT-04）により測定した。CH_4、CO_2、N_2、O_2含有率を下水試験方法ガスクロマトグラフ法（GC-2014ATF、SHIMADZU CORPORATION）により測定した。

３．２．２　嫌気性消化の実験結果

Ｉ・Ⅱ系のメタンガス発生量を図-3.3、3.4 に示す。Ｉ系は、7 週目以降に消化ガス発生量は減少した。Ⅱ系は、爆砕物投入開始間もない 4,5,6 週目では発生量の増加は見られなかったが、爆砕物を下水汚泥と共にポンプ圧送にて投入する方法に変更したところ、ガス発生量が増加した。これは、ポンプ圧送により、爆砕物の投入に伴う酸素の混入量が減少したためと考えられる。また、下水汚泥の消化において、消化が順調に行われている場合には、投入有機物量 1kg あたりの消化ガス発生量は、500～600NL とされており [6]、本実験におけるⅡ系の投入有機物量（下水汚泥＋蒸煮爆砕物）1kg あたりの消化ガス発生量は、最大で 468NL であり、下水汚泥よりやや少なかった。

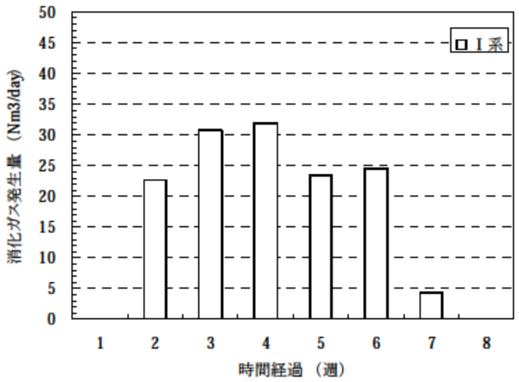


図-3.3　Ｉ系のメタンガス発生量

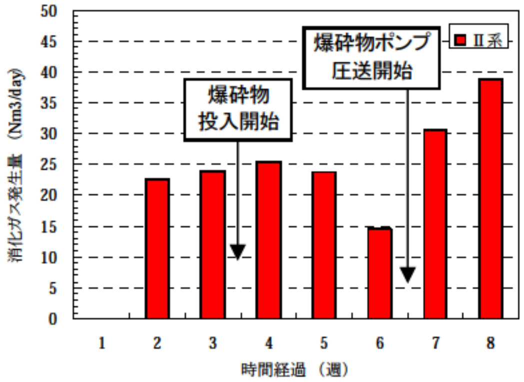


図-3.4　Ⅱ系のメタンガス発生量

消化ガス中のメタン濃度を図-3.5 に示す。蒸煮爆砕物投入後（4 週目以後）のＩ系のメタン濃度は 48.9～55.2%であり、Ⅱ系のメタン濃度は、43.3～51.2%であった。一般的な消化ガスのメタン濃度は 60～65%[6]であり、それに比べやや低かった。

消化汚泥中の pH を図-3.6 に示す。嫌気性消化反応を律するメタン生成細菌の最適 pH は 6.4～7.2 であり [7]、概ねその範囲内であった。

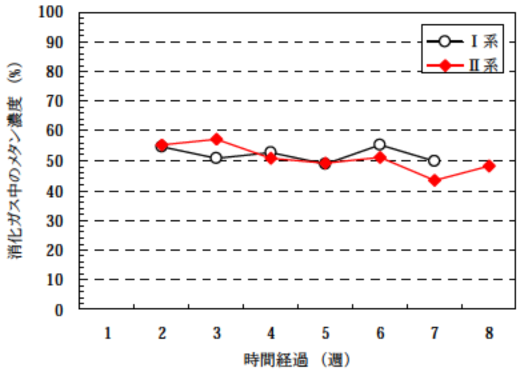


図-3.5 消化ガス中のメタン濃度

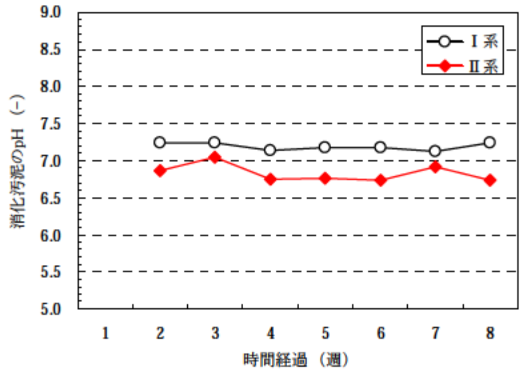


図-3.6 消化汚泥の pH

投入および引抜汚泥の粘度を図-3.7 に示す。粘度の定量下限値は、0.3dPa・s であり、測定値が下回った場合には、グラフ中では 0.3dPa・s として表記した。Ｉ系、Ⅱ系とも消化によって粘度は低下した。Ｉ・Ⅱ系ともに、引抜汚泥が 0.3dPa・s 以上になることはなかった。過去の回分式の消化実験 [2]と同程度であることから、攪拌への大幅な負荷増大に繋がる可能性は少ないと考えられた。

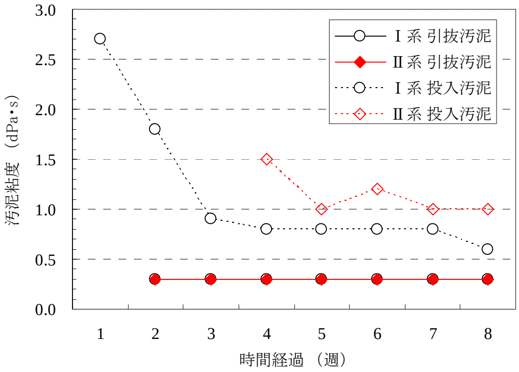


図-3.7 投入および引抜汚泥の粘度

その他に、Ⅰ系、Ⅱ系ともに引抜汚泥の有機酸濃度は低かった。良好な消化状態での有機酸は、約 300ppm[8]または 100～250ppm[9]と言われており、有機酸濃度はそれらを下回っており、良好な消化状態と考えられた。消化液中の有機物やりん・窒素については、Ⅱ系で、蒸煮爆砕処理物の投入量の増加とともに、TOC、PO_4-P は増加し、NH_4-N は減少した。この傾向は、既報[2]と同様であった。

４． まとめ

本調査では、二槽式の嫌気性消化槽に炭酸ガスを添加・消化液の返送の実施を行い、バイオガスの回収量の変化に関する検討を行った。また、草木系バイオマスの蒸煮爆砕処理による下水汚泥との混合嫌気性消化について、実際に発生している草木系バイオマスを用い、嫌気性消化の実験を行った。調査の結果、以下の事項が明らかとなった。

A．嫌気性消化槽への炭酸ガスの添加・返送の与える影響について

(1) 実験開始から約一ヶ月間は酢酸をはじめとする有機酸が蓄積し、pH が低下する傾向を示した。

(2) 酢酸が消費されることにより、ガスの発生が盛んになるとともに pH が上昇した。

(3) 返送を行うことで生物反応の促進がなされている可能性があり、系の安定に寄与していると考えられる。

(4) 炭酸ガスを吹き込んだ系では、対照系よりもガスが多く発生しており、メタンの生成が確認できる。一方で 3/5 の時点でも前段で酢酸の濃度が高く、VS 分解率も低い。今後は、実験条件を詳細に設定し、発生メタンガスを増量するための炭酸ガス分圧などの条件の確認する必要がある。

(5) 定常状態における炭酸ガス添加・返送の与える影響評価が必要である。

B. 蒸煮爆砕処理について

(6) 初沈汚泥中の蒸発残留物 1g あたりの砂分の重量と比較して、今回測定した木材チップの乾燥重量 1g あたりの砂分の重量は同程度であった。剪定木材と刈草の混合物の乾燥重量 1g あたりの砂分の重量は多く、投入量により異なるが、消化タンク内に土砂が堆積し有効容積の減少が速くなることが考えられるため、収集時や保管時の工夫により砂分を入りにくくしたり、堆積土砂を引き抜く頻度を増やしたりする対応が求められる可能性がある。

(7) 呼び寸法 26.5mm のふるいを通過するのが 80%程度の木材チップを蒸煮爆砕処理したところ、3.0MPa-3.0min の処理により、呼び寸法 9.5mm のふるいを 80%程度が通過し、3.0MPa-6.0min の処理では、呼び寸法 9.5mm のふるいを 90%程度が通過した。

(8) 木材の蒸煮爆砕物中の水溶性 TOC は、蒸煮圧力 3.0MPa において、蒸煮時間の増加と共に高まった。剪定枝・刈草の蒸煮爆砕物中の水溶性 TOC は、蒸煮圧力 2.7MPa において、蒸煮時間 1.5 分の時は未処理の木材チッ

プより低かった。蒸煮時間3分ではTOC値は高くなった。

(9) 木材および剪定枝と刈草の混合物の蒸煮爆砕物中の水溶性有機酸は、酢酸、ギ酸、乳酸が生じ、蒸煮時間の増加により、それぞれの量が増加していた。

C．混合メタン発酵について

(10) 蒸煮爆砕物の添加系では、蒸煮爆砕物の添加後、ガス発生量が増加した。下水汚泥および爆砕処理物による投入有機物量1kgあたりの消化ガス発生量は、最大で468NLであり、下水汚泥よりやや少ない程度だった。

(11) 蒸煮爆砕物の無添加系の消化ガス中のメタン濃度は 48.9～55.2%であり、添加系のメタン濃度は、43.3～51.2%であった。どちらも、実施設における一般的な消化ガスのメタン濃度に比べやや低かった。

(12) 引抜汚泥の pH は、蒸煮爆砕物の添加系および無添加系ともに、概ねメタン生成細菌の最適 pH の範囲内であった。

(13) 引抜汚泥の粘度は、蒸煮爆砕物の添加系および無添加系ともに消化によって低下しており、攪拌への大幅な負荷増大に繋がる可能性は少ないと考えられた。

(14) 蒸煮爆砕物を添加しても有機酸濃度は低く、pHも低下しなかったことから、酸発酵に陥ることなく良好な消化が可能だったことが確認された。

(15) 蒸煮爆砕物の添加系では、蒸煮爆砕処理物の投入量の増加とともに、TOC、PO_4-Pは増加し、NH_4-Nは減少した。

謝辞

本調査を実施するにあたっては長岡技術科学大学の朝倉有人氏の協力を賜った。ここに記して謝意を示す。

参考資料

1) 建設省土木研究所下水道部汚泥研究室：二酸化炭素還元型メタン発酵機構の解明に関する共同研究報告書、共同研究報告書、第64号、pp.15-26、1991

2) 落修一：下水汚泥と各種有機性廃棄物との混合嫌気性消化に関する研究、東北大学博士学位論文、2005

3) 坂上正美、奥藤武、春木裕人、吉本聡：二酸化炭素還元型メタン発酵機構の研究、下水道協会誌、vol. 33, No.407, pp.162-172, 1996

4) 梅津一孝、高畑英彦、川本常美、佐藤 哲也：乳牛スラリーの嫌気発酵における汚泥返送の効果、帯広畜産大学学術研究報告、第I部、17(1)、pp.41-47、1990

5) 志水一允：木質系資源の蒸煮爆砕処理、紙パ技協誌、Vol.42、No.10、pp.22-38、1998.

6) 社団法人日本下水道協会：下水道施設計画・設計指針と解説　2001年版

7) 社団法人日本下水道協会：下水道維持管理指針　後編　2003年版

8) Issac, P.C.G. ”Waste Treatment”, pp.223-232, 1961.

9) Sawyer, C.W. “Chemistry for Sanitary Engineers,” pp.336-341 McGrawHill, 1960.

下水道におけるウイルス等の安全性評価に関する調査

研究予算：受託経費（下水道事業調査費）
研究期間：平 20 年度
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：岡本誠一郎、諏訪　守、桜井健介

【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など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や実施設においてノロウイルスの実態を把握し、各手法の除去率を評価した。また、降雨時における合流式下水道の越流水のノロウイルスを測定することで、その汚濁状況を明らかにし環境水へ及ぼす影響を評価するための基礎データを得た。

その結果、感染流行期と考えられる 1～3 月初旬の期間において、流入下水のノロウイルス最大検出濃度は G1 型で 10^7 コピー/L、G2 型では 10^8 コピー/L レベルであった。パイロットプラント利用による活性汚泥処理法の G1 型の平均残存除去率は 1. 6log、G2 型が 1. 9log、砂ろ過法（200m/日）では G1 型が 1. 0log、G2 型では 0. 9log であった。凝集剤添加活性汚泥処理法（10mg-Al/L）による残存除去率は、PAC 添加当初においては標準活性汚泥処理法と大差がないが、徐々に添加効果が現れ、最終的には最大で 2log 程度の上積み効果があった。また、凝集剤添加砂ろ過法では PAC の添加により最大 1log 程度の除去率の上積み効果があった。

水中の濃度と比較すると低濃度ではあるが、曝気槽から排気された気相中からもノロウイルスが検出された。

りん･窒素の除去を目的とした各種高度処理実施設でのノロウイルスの平均残存除去率はG1 型で 2. 0～2. 8log、G2 型で 2. 4～3. 3log であり、標準活性汚泥処理法と比較して除去率は高いと考えられた。また、実砂ろ過施設（160m/日）では G1 型が 0. 4log、G2 型は 0. 7log、300m/日の場合には 0. 3log、0. 2log あり、ろ過速度を高速とすることで除去率は低下した。

降雨時の合流式下水道の越流水には、10^4～10^8 コピー/L レベルでノロウイルスが存在しており、越流水対策の必要性を明らかにした。

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、高度処理、合流式下水道越流水

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など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うとともに、りん･窒素の除去を目的とした各種高度処理実施設でのノロウイルスの除去率を評価した。また、降雨時における合流式下水道の越流水対策の必要性を明らかにした。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などの感染リスク低減に資することができる。

２． 調査実験方法

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 P.P.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、Ⅱ系）と凝集剤を添加していない標準活性汚泥処理法（Ⅲ系）の 3 系列の P.P.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 10 分割された曝気槽の第 9 槽へ添加した。

曝気槽から排出される気相中のノロウイルス調査では、曝気槽の排気をエアーポンプにて吸引し水中に置換した。陰電荷膜にてその試料水を濃縮し、ウイルス濃度を測定した。水中に置換したエアー量は約 $60m^3$ であった。

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 P.P.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、ろ過継続時間は約 7 時間となった。

2.2 実施設における調査

A 下水処理場を対象として実施設における調査を行った。A 下水処理場では凝集剤添加活性汚泥処理法（反応槽 HRT8. 5h）、A_2O 法（9. 7h）、修正 Bardenpho 法（11. 8h）、循環式硝化脱窒法（15. 2h）などの各種高度処理法により水処理が行われている。標準活性汚泥処理法によるノロウイルスの除去率については現在調査が行われ解明されつつあるが、りん･窒素の高度処理を導入している下水処理場での除去率は解明されておらず、また、積極的に高度処理法を採用している場合には、放流先の公共用水域において様々な水利用形態が予想される。今後、放流先水域のリスク評価を行う上で高度処理法導入施設での除去率を把握する必要があると予想されるため、実施設を対象に冬季の感染流行期に実態調査を行った。

P.P.や実施設における除去率の実態調査は、冬季の感染流行期と考えられる 1 月から 3 月初旬の間において実施した。また、実施設ではノロウイルス濃度の日間変動を把握するため、1 月 28 日～30 日にかけ流入下水、処理水の各試料を 4 時間間隔で 6 回の採水を行った。さらに、A 下水処理場では下水の排除方式の一部が合流式であることから、降雨時における流入水量の増加がノロウイルスの除去率に及ぼす影響について調査した。

2.3 降雨時の合流式下水道越流水の汚染実態

下水道の普及に早くから取り組んできた一部の自治体においては、下水と雨水の排除を同一の管渠で行う合流式下水道を採用している。合流式下水道は降雨時において、雨水量が増加し下水処理場において処理対応が困難になる場合には、未処理下水が合流式下水道越流堰から公共用水域へ排出される可能性がある。越流水が公共用水域の水質へ影響を及ぼす可能性についての報告はあるが、冬季における降雨時越流水のノロウイルスの汚染実態については把握がなされていない。今後、公共用水域のリスク評価を行う上で降雨時における越流水のノロウイルスの排出負荷量を把握する必要があると考えられる。このため、冬季の感染流行期において、降雨時に公共用水域へ排出された越流水のノロウイルスの調査を行った。調査対象箇所は B 市 B1 河川、B2 河川、C 市 C1 河川、D 市 D1 河川の各越流堰であり、1 月から 3 月初旬の間の降雨時において、各河川へ放流された 4 ヶ所の越流水とその放流先河川水を採水しノロウイルスの汚染実態を把握した。

2.4 ノロウイルスの測定法

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。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 で 30 分間遠心分離し沈渣を回収した。この沈渣を RNase-free 水（遺伝子分解酵素を除去した水）に再浮遊させてウイルス濃縮液とした。また、気相中のノロウイルスの測定においては気相試料を水に置換し、その水試料を陰電荷膜法により濃縮を行った。陰電荷膜法[2]による濃縮は、試料に 2. 5M の $MgCl_2$ を終濃度が 25mM になるよう添加攪拌し、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 NaOH 10mL 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。

各々の濃縮液中のウイルスは、リアルタイム PCR 法により定量[3]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」[4]に準じた。リアルタイム PCR 反応のための試薬は QuantiTect Probe PCR Kit（QIAGEN 社）を用い、リアルタイム PCR 装置は LightCycler（ロシュ・ダイアグノスティックス社）を使用した。逆転写反応に使用する抽出 RNA 量は Spectrophotometer(NanoDrop 社製)により定量した。

なお、ウイルス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. 05mg-SS/カラムとなるように統一した。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。

2.5 水質測定項目

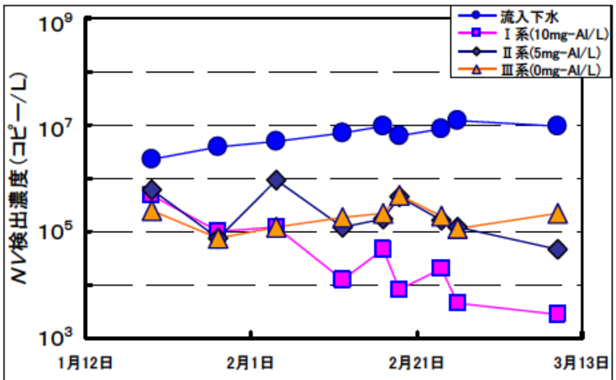
ノロウイルス以外の水質測定項目は、水温、pH、濁度、SS、MLSS、MLVSS、大腸菌、COD_{MN}とした。大腸菌の測定法はクロモカルト培地による平板培養法とした。

3． 調査･実験結果

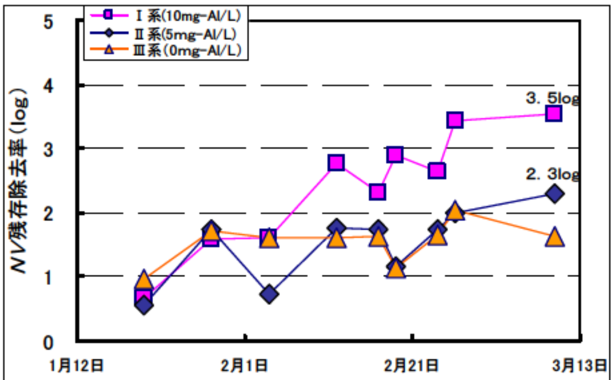
3.1 パイロットプラントを利用した除去実験の結果

P.P.を利用した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－1-1～2-2 に示す。1 月初旬から活性汚泥処理プラントの馴致運転を行い、1 月中旬からノロウイルスの測定を開始した。Ⅰ系では凝集剤（PAC）添加量を 10mg-Al/L、Ⅱ系では同様に 5mg-Al/L、Ⅲ系は無添加とした。1 月～3 月における本実験期間中の流入下水のノロウイルス最大検出濃度は G1 型、G2 型で 10^7～10^8コピー/L レベルで推移しており、高濃度の流入が維持されていた。冬季の感染流行期におけるノロウイルスの最大検出濃度は 10^7コピー/L レベルという報告[3]があり、今回の調査結果での最大検出濃度レベルは若干高かった。当初のⅠ系処理水（10mg-Al/L）のノロウイルス濃度は G1 型で 10^5コピー/L、G2 型で 10^6コピー/L レベルであったが、最終的には 10^3～10^4コピー/L レベル推移し、最大の残存除去率は各々3. 5～3. 8log となった。Ⅱ系処理水（5mg-Al/L）では当初の濃度が G1 型で 10^5コピー/L、G2 型で 10^6コピー/L レベルであったが、最終的には 10^4～10^5コピー/L レベルとな

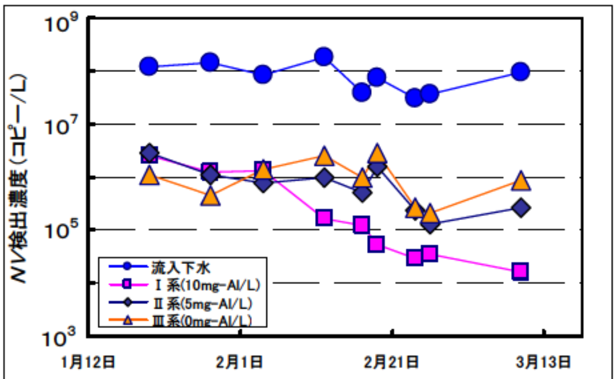
り、最大の残存除去率は各々2. 3～2. 5log となった。また、PAC の無添加ケースであるⅢ系の処理水では、G1 型で 10^5コピー/L、G2 型で 10^6コピー/L レベルで推移しており、平均の残存除去率は G1 型で 1. 6log、G2 型で 1. 9log であった。よって PAC の添加濃度を 10mg-Al/L とすることで最大 2log 程度の除去率が上乗せできると考えられたが、5mg-Al/L の添加ケースでは除去率の上積み効果は若干量であった。同様の実験結果でも、10mg-Al/L の添加ケースで最大 2. 5log 程度の除去率が上乗せできる可能性が示されており[3)]、今回の実験結果とほぼ同一の除去率が得られている。しかし、曝気槽への PAC の添加により除去率は向上するが、添加効果が現れるまでに 1 ヶ月程度の時間を要することが明らかとなった。



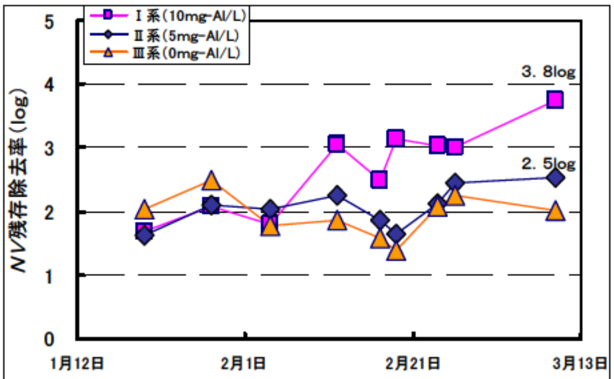
図－1-1　P.PにおけるNVG1型濃度の推移



図－1-2　P.P.におけるNVG1型残存除去率の推移



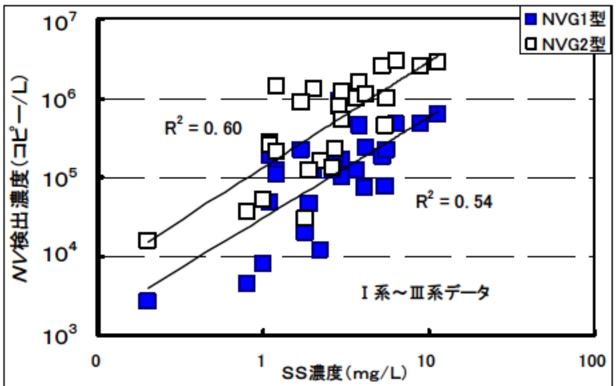
図－2-1　P.P.におけるNVG2型濃度の推移



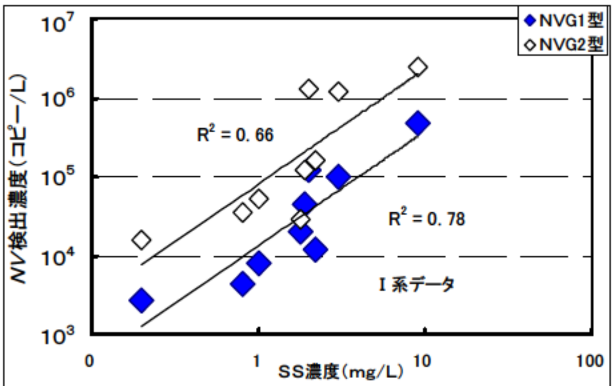
図－2-2　P.P.におけるNVG2型残存除去率の推移

処理水の SS 濃度とノロウイルス濃度の関係を図－3-1～3-4 に示す。図－3-1 は PAC の添加と無添加ケース全てのデータをプロット、図－3-2～3-4 は系列毎のデータをプロットしたものである。全てのデータをプロットしたものと PAC を添加したケースのみにおいて処理水の SS 濃度とノロウイルス濃度に相関関係が見られた。PAC の無添加のケースでは相関関係がないため、通常の活性汚泥処理法の評価において、その除去効率を把握する上で SS 濃度は有効ではない。しかし、活性汚泥処理法から凝集剤添加活性汚泥法等の追加的対策手法に変更した場合には、変更に伴う除去効率向上割合を把握する上で SS 濃度はある程度の指標になるものと考えられた。

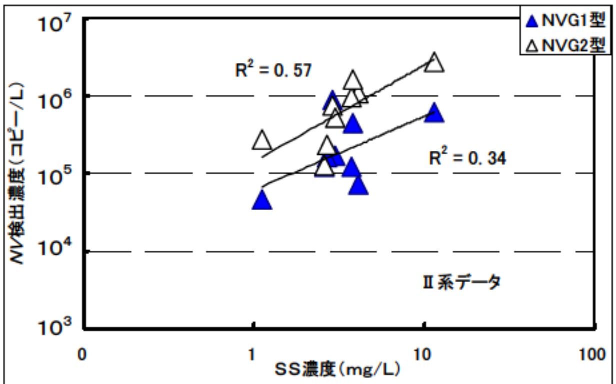
一方、曝気槽から排出される気相中のノロウイルス濃度の測定結果を表－1 に示す。気相から水中への置換されたウイルス量は G1 型が 1,000 コピー、G2 型は 40 コピーであり、気相 $1m^3$あたりの換算濃度は各々17、0. 7 コピーとなった。この時の処理水のノロウイルス濃度は 10^5コピー/L レベルで推移していたため、水中の濃度と比較するとその割合は極微量であった。気相中からも極微量ではあるがウイルスが検出されたため、今後下水処理場における感染リスクを評価する上で、気相試料も評価対象とするか否かについて更なるデータの蓄積が必要であるものと考えられた。



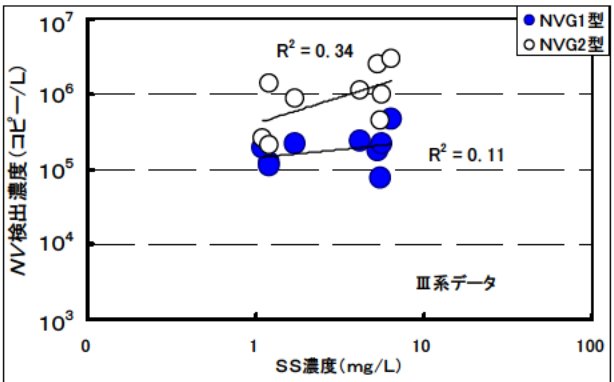
図－3-1　処理水のSS濃度とNV濃度の関係



図－3-2　処理水のSS濃度とNV濃度の関係



図－3-3　処理水のSS濃度とNV濃度の関係



図－3-4　処理水のSS濃度とNV濃度の関係

表－1　曝気槽から排出される気相中のNV濃度

	水中への置換量	気相濃度
G1型	1000 コピー	17 コピー／m^3
G2型	40 コピー	0.7 コピー／m^3

各系列の水質分析結果を表－2 に示す。流入下水の濁度は平均で約 100NTU であるのに対し I 系の処理水では 1. 3NTU（最終濃度 0. 3NTU）、Ⅱ系は 2. 1NTU（0. 5NTU）、Ⅲ系では 2. 7NTU（1. 5NTU）であった。同様に流入下水の SS 濃度は平均で約 100mg/L、I 系の処理水では 2. 9mg/L（最終濃度 0. 3mg/L）、Ⅱ系は 5. 4mg/L（2. 1mg/L）、Ⅲ系では 6. 1mg/L（2. 9mg/L）であり、PAC の添加濃度に比例して処理水の水質性状に違いが見られた。また、PAC の添加効果により大腸菌の検出濃度は最終的に 10cfu/mL と低レベルとなった。実験期間中の各曝気槽内の平均 MLSS 濃度は約 1,800～1,900mg/L、平均 MLVSS 濃度は約 1,400～1,500mg/L であった。各曝気槽内の平均水温は約 11℃であったが、最低水温は約 7℃に低下することもあった。

表－2　P.P.での水質分析結果

	流入下水（平均）	I 系（10mg－Al/L）		Ⅱ系（5mg－Al/L）		Ⅲ系（0mg－Al/L）	
		平均値	最終値	平均値	最終値	平均値	最終値
濁度	102	1.3	0.3	2.1	0.5	2.7	1.5
SS(mg/l)	98	2.9	0.3	5.4	2.1	6.1	2.9
大腸菌(cfu/ml)	－	2.0×10^2	1.0×10^1	3.5×10^2	1.0×10^1	4.1×10^2	3.0×10^1
MLSS MLVSS (mg/l)	－	1,900、1,400		1,900、1,500		1,800、1,500	
平均水温	15.8℃	約11℃(曝気槽内)					

砂ろ過法によるノロウイルスの除去実験結果を表－3 に示す。ろ過速度が 200m/日の砂ろ過法での残存除去率はG1 型が 1. 0～1. 1log、G2 型は 0. 6～1. 1log であった。濁度、SS の平均除去率は 80%程度であり、ノロウイルスの除去率と同レベルであった。凝集剤添加砂ろ過法では PAC の添加により濁度、SS とともにウイルスの除去率についても無添加のケースと比較して最大で 1 オーダー程度向上したが、同様の実験例でもウイルスの残存除去率が最大で 1. 8log 程度向上するとの報告もあり[3)]、更なるデータの蓄積により評価を行う必要があるものと考えられた。

表－3　砂ろ過法による残存除去率

	残存除去率(log)		残存除去率(%)	
	*NV*G1型	*NV*G2型	濁度	SS
砂ろ過法（200m／日）（n=3）	1.0－1.1	0.6－1.1	76－81	78－86
砂ろ過＋PAC（200m／日）（n=2）	0.6－2.4	0.9－1.8	85－96	92－95

3. 2 実施設における除去率

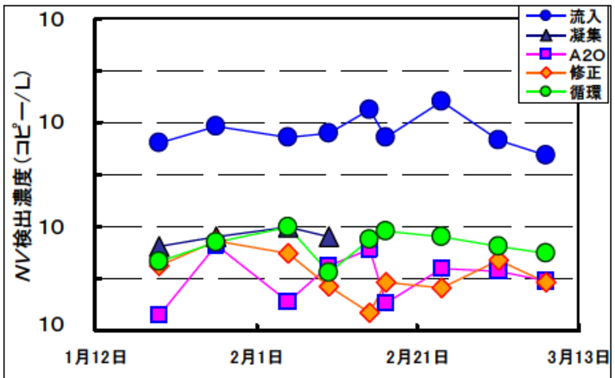
実施設における調査結果を表－4､5および図－4-1～5-2に示す｡流入下水のノロウイルス最大検出濃度はG1型、G2 型で 10^7～10^8 コピー/L レベルであった。上記 P.P.の流入下水も A 下水処理場のものであり、検出濃度は同レベルであるが採水日時が若干異なることで検出濃度は厳密には一致しない。各種高度処理法によるノロウイルスの平均の残存除去率は､凝集剤添加活性汚泥処理法ではG1型が 2. 0log､G2 型は 2. 4log､同様に A_2O 法は 2. 8log、3. 3log、修正 Bardenpho 法は 2. 8log、3. 2log、循環式硝化脱窒法では 2. 2log、3. 0log であり、凝集剤添加活性汚泥処理法に比較して他の高度処理法の除去率は高かった。実施設における凝集剤添加活性汚泥処理法はりん除去を主目的としているため、Al の添加濃度としては数 mg/L 程度と想定されることから、P.P.の除去実験のⅡ系とほぼ同じ除去率となった。よって、りん除去を主目的とした Al の添加濃度レベルでは、P.P.の標準活性汚泥法と比較して除去率は若干の向上にとどまると考えられた。修正 Bardenpho 法と循環式硝化脱窒法では、反応槽の HRT が P.P.の 8 時間と比較すると 1. 5～2 倍程度の長時間となっている｡曝気槽内の HRT が長時間となることでノロウイルスの除去率が高くなる調査結果も得られており[5)]､これらが 1 つの要因となり標準法と比較して除去率が高くなるものと推定された。また、A_2O 法においてもノロウイルスの除去率が高いが、MLSS 濃度、反応槽滞留時間などは他の高度処理法と比較して大きく異なっているわけではない。反応槽のプロセスは嫌気･無酸素･好気槽であり、他のプロセスとは構成が異なる。今後、これらの構成の違いがノロウイルスの除去効果に及ぼす影響を検証する必要があるものと考えられた。

表－4　実施設における*NV*の平均検出濃度と残存除去率

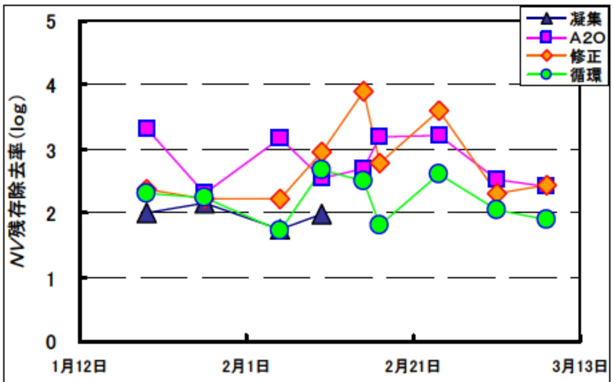
	平均検出濃度(コピー／L)		平均残存除去率(log)	
	G1型	G2型	G1型	G2型
流入下水（n=4）	9.0×10^6	1.4×10^8	―	―
凝集剤添加活性汚泥法（n=9）	6.6×10^4	6.0×10^5	2.0	2.4
A_2O法（n=9）	1.6×10^4	1.3×10^5	2.8	3.3
修正Bardenpho法（n=9）	1.8×10^4	1.1×10^5	2.8	3.2
循環式硝化脱窒法（n=9）	5.1×10^4	2.0×10^5	2.2	3.0

表－5　実施設での水質分析結果

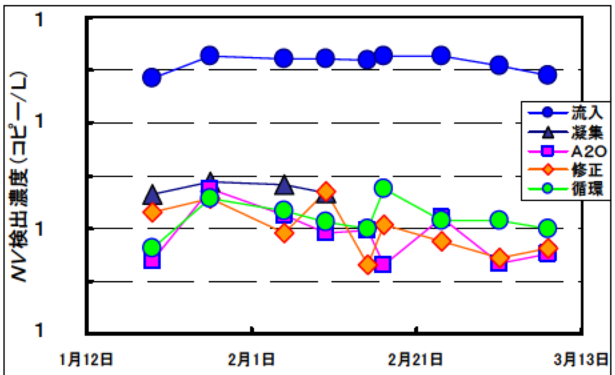
処理水	平均濃度			
	濁度	SS(mg/l)	CODMn(mg/l)	大腸菌(cfu/ml)
凝集剤添加活性汚泥法	1.3	2.6	5.3	20
A_2O法	0.9	1.0	6.6	60
修正Bardenpho法	1.4	1.8	6.2	110
循環式硝化脱窒法	1.4	2.0	5.9	70



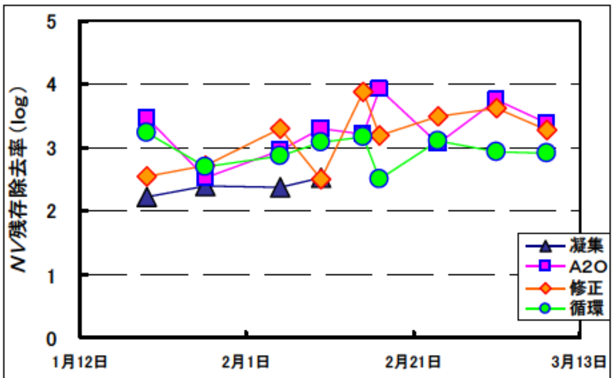
図－4-1　実施設におけるNVG1型濃度の推移



図－4-2　実施設におけるNVG1型残存除去率の推移



図－5-1　実施設におけるNVG2型濃度の推移



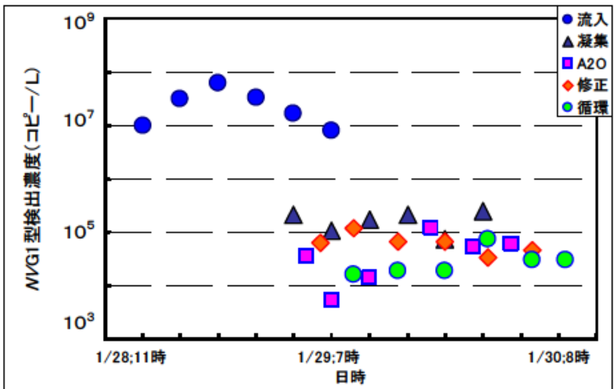
図－5-2　実施設におけるNVG2型残存除去率の推移

次いで、ノロウイルス濃度の日間変動の調査結果を表－6、図－6-1～7-2 に示す。最大検出濃度は上記定期調査時に得られたものとほぼ同一の値であり G2 型で 10^8コピー/L レベルに達していた。しかし、流入下水、処理水とも最大検出濃度に対する最小検出濃度の変動割合は 10%以下に低下する場合があるとともに、検出濃度の変動割合の平均は流入下水で 0.4～0.5、処理水では 0.5～0.7 であることが明らかとなった。凝集剤添加活性汚泥処理法の処理水濃度の多くは 10^5コピー/L レベル、その他の高度処理法の処理水濃度の多くは 10^4コピー/L レベルの範囲内で推移していたが、流入下水のノロウイルス濃度の変動に伴い、処理水濃度も変動しており、残存除去率は 1～2 オーダー程度の日間変動があることが明らかとなった。各高度処理法における日間変動から求めた平均の残存除去率は、一部のデータを除き定期採水で得られた残存除去率（表－4）とほぼ一致した値であったが、日間変動調査による残存除去率では 1～2 オーダーの日間変動があるため、除去率の変動に及ぼす影響因子の解明は今後の課題であると考えられた。また、影響因子を解明することで、さらなる除去率の向上が図れるものと推定される。

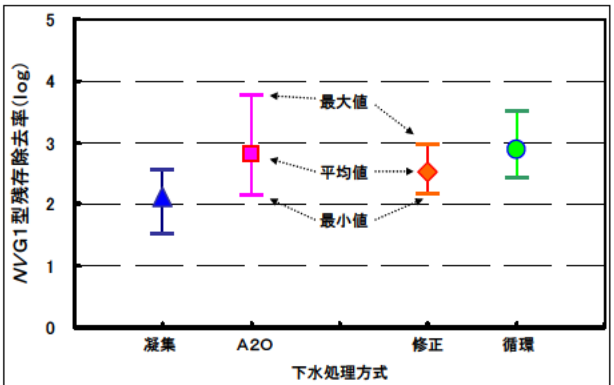
系列毎の処理水 SS 濃度とノロウイルス濃度の関係について図－8、9 に示す。処理系列毎での評価では相関関係がないが、全てのデータとした場合には右上がり傾向がありやや弱い相関関係が見られた。特に A_2O 法の処理水の SS 濃度は他法と比較して低く、かつ全体的にノロウイルス濃度も若干低くなっていた。P.P.の結果も含め異なる水処理法や追加的対策手法に変更した場合には、変更などに伴う除去効率向上割合を把握する上で SS 濃度はある程度の指標になるものと考えられた。参考までに流入下水の SS 濃度とノロウイルス濃度の関係を整理したものを図－10 に示す。G1 型については相関関係なく G2 型ではやや弱い相関関係が見られたが、流入下水のノロウイルス濃度は季節や下水処理区域内での流行状況に大きく影響を受けるとの報告[5)]があり、流入下水の SS 濃度とノロウイルス濃度には密接な関係はないものと考えられた。

表－6 実施設におけるNV濃度の日間変動

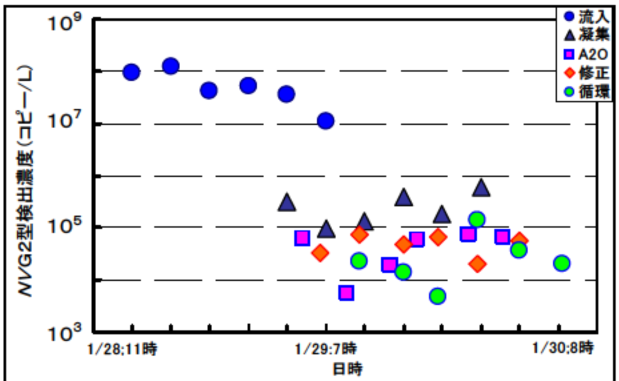
1月28日～30日	採水時刻	G1型濃度（コピー/L）	除去率（log）	変動割合	G2型濃度（コピー/L）	除去率（log）	変動割合
流入下水	11:00	9.7E+06		0.16	9.3E+07		0.78
	15:00	3.1E+07		0.51	1.2E+08		1.0
	19:00	6.1E+07		1.0	4.1E+07		0.34
	23:00	3.3E+07		0.54	5.2E+07		0.43
	3:00	1.7E+07		0.28	3.6E+07		0.30
	7:00	8.1E+06		0.13	1.1E+07		0.09
（平均値）	－	2.7E+07		0.44	5.9E+07		0.49
凝集剤添加活性汚泥処理法	3:00	2.1E+05	1 67	0.84	3.2E+05	2 46	0.52
	7:00	1.1E+05	2 45	0.44	9.5E+04	3 10	0.16
	11:00	1.7E+05	2 55	0.68	1.3E+05	2 50	0.21
	15:00	2.1E+05	2 20	0.84	4.0E+05	2 11	0.66
	19:00	7.5E+04	2 36	0.30	1.8E+05	2 30	0.30
	23:00	2.5E+05	1 51	1.0	6.1E+05	1 26	1.0
（平均値）	－	1.7E+05	2 2	0.68	2.9E+05	2 3	0.48
A2O法	5:00	3.5E+04	2 44	0.29	6.2E+04	3 18	0.84
	9:00	5.4E+03	3 76	0.05	5.5E+03	4 34	0.07
	13:00	1.4E+04	3 64	0.12	1.9E+04	3 33	0.26
	17:00	1.2E+05	2 44	1.0	6.0E+04	2 94	0.81
	21:00	5.5E+04	2 49	0.46	7.4E+04	2 69	1.0
	1:00	5.9E+04	2 14	0.49	6.7E+04	2 22	0.91
（平均値）	－	4.8E+04	2 8	0.40	4.8E+04	3 1	0.65
修正Bardenpho法	8:00	6.5E+04	2 17	0.54	3.3E+04	3 45	0.45
	12:00	1.2E+05	2 41	1.0	7.4E+04	3 21	1.0
	16:00	6.7E+04	2 96	0.56	4.7E+04	2 94	0.64
	20:00	6.7E+04	2 69	0.56	6.5E+04	2 90	0.88
	0:00	3.3E+04	2 71	0.28	2.0E+04	3 25	0.27
	4:00	4.6E+04	2 25	0.38	5.7E+04	2 29	0.77
（平均値）	－	6.6E+04	2 6	0.55	4.9E+04	3 1	0.67
循環式硝化脱窒法	12:00	1.6E+04	2 78	0.22	2.2E+04	3 63	0.16
	16:00	1.9E+04	3 21	0.26	1.4E+04	3 93	0.10
	20:00	1.9E+04	3 51	0.26	4.7E+03	3 94	0.03
	0:00	7.4E+04	2 65	1.0	1.4E+05	2 57	1.0
	4:00	3.1E+04	2 74	0.42	3.7E+04	2 99	0.26
	8:00	3.1E+04	2 42	0.42	2.0E+04	2 74	0.14
（平均値）	－	3.2E+04	2 9	0.43	4.0E+04	3 1	0.28



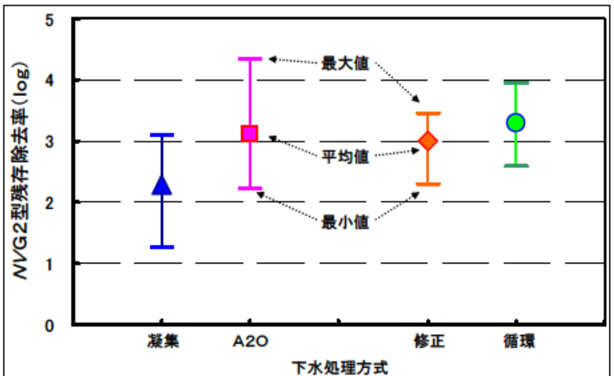
図－6－1 NVG1型濃度の日間変動



図－6－2 NVG1型の残存除去率の日間変動



図－7－1 NVG2型濃度の日間変動



図－7－2 NVG2型の残存除去率の日間変動

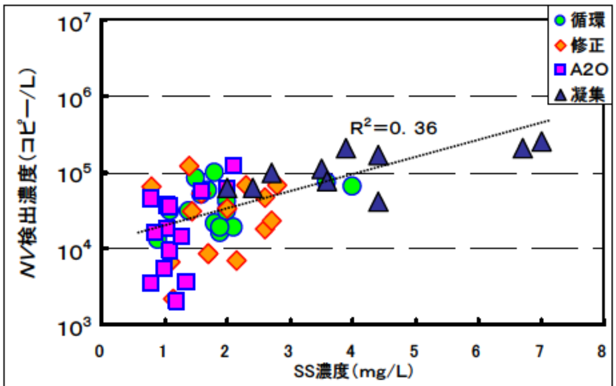


図-8 実施設の処理水SS濃度とNVG1型濃度の関係

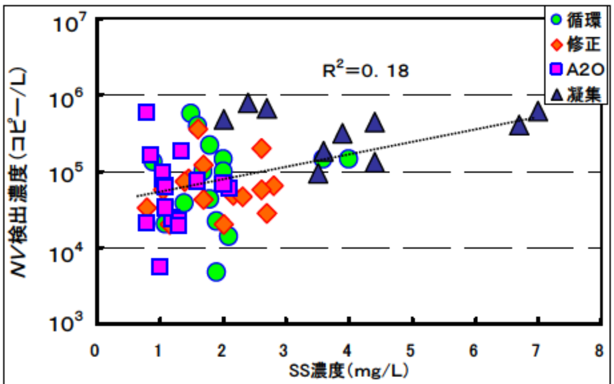
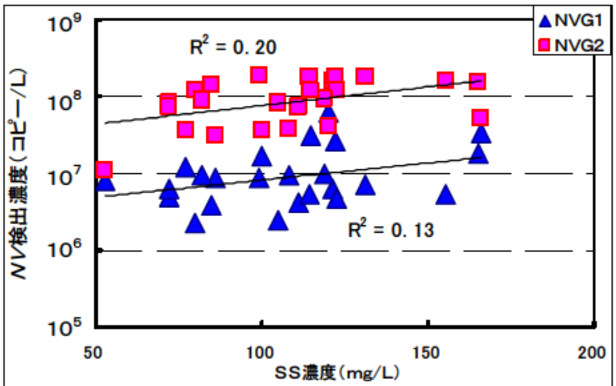


図-9 実施設の処理水SS濃度とNVG2型濃度の関係



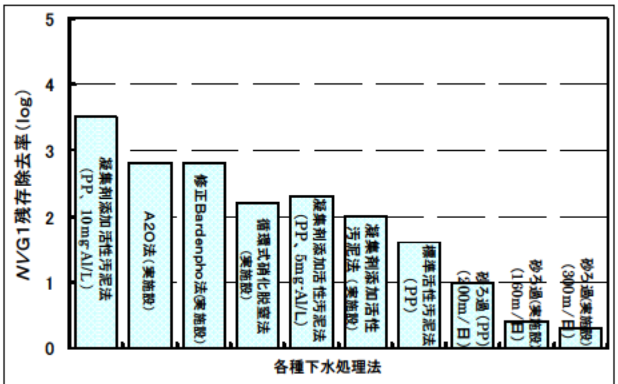
図－10 流入下水のSS濃度とNV濃度の関係

実砂ろ過施設におけるノロウイルスの除去率の調査結果を表－7 に示す。ろ過速度は 1 系が 160m/日、2 系が 300m/日である。1 系に比較して 2 系のノロウイルス残存除去率は低下しており、ろ過速度は除去率に影響を及ぼす一因であることが考えられた。同様に濁度、SS の除去率も 2 系では低下した。ろ過速度が 200m/日の砂ろ過 P.P.での結果と今回の 1 系の除去率はほぼ同レベルであるが、残存除去率は 1log 未満であり砂ろ過法によるノロウイルスの高度な除去は期待できないものと考えられた。しかし、ろ過原水に PAC を添加し砂ろ過を行うことで最大で 1. 8log 程度の除去率を上乗せできる可能性を示した報告もある[3)]。

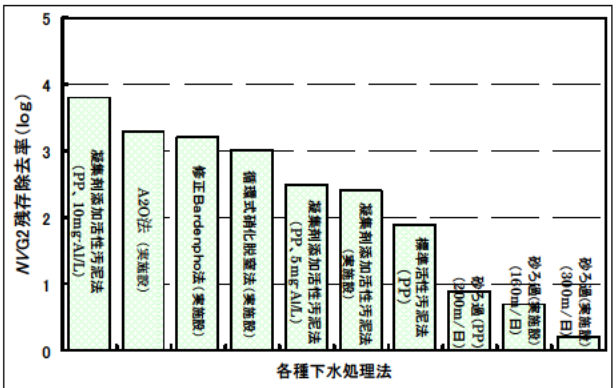
図－11､12 は本実験･調査結果から得られた各種下水処理法によるノロウイルスの残存除去率を整理したものである。凝集剤添加活性汚泥処理法（10mg-Al/L）により最大の残存除去率は 3. 5～3. 8log が得られており、標準活性汚泥処理法と比較すると除去レベルは 2 オーダー程度の違いがあった。次いで、A_2O 法、修正 Bardenpho 法となり平均の残存除去率は 3log 程度であった。凝集剤添加活性汚泥処理法でもりん除去を目的とした PAC の添加レベルや Al の添加濃度を 5mg/L とした場合には、10mg-Al/L の添加ケースと比較して残存除去率は低く 2. 0～2. 5log の範囲であった。以上の結果から凝集剤添加活性汚泥処理法、A_2O 法、修正 Bardenpho 法などのりん･窒素の高度除去を目的とした高度処理法は、標準活性汚泥処理法に比較して残存除去率は 1～2 オーダー高いことが明らかとなった。

表－7 実砂ろ過施設におけるNVの平均除去率

	除去率(log)		除去率(%)	
	NVG1型	NVG2型	濁度	SS
1系砂ろ過 (160m／日) (n=10～13)	0.4	0.7	66	73
2系砂ろ過 (300m／日) (n=13)	0.3	0.2	28	44

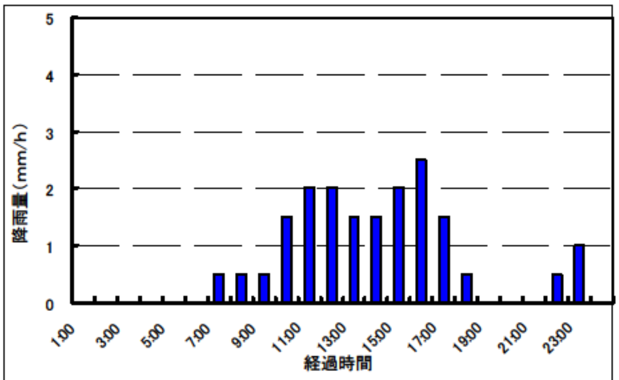


図－11 各種下水処理法による*NVG*1の残存除去率

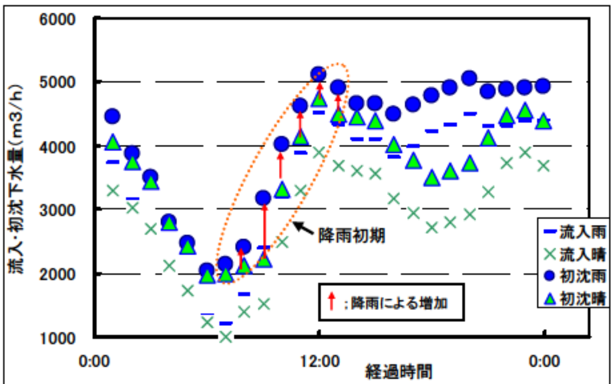


図－12 各種下水処理法による*NVG*2の残存除去率

一方、降雨時における流入水量の増加がノロウイルスの除去率に及ぼす影響について調査した結果を図－13、14 および表－8 に示す。処理区域内の降雨量は 0.5～2.5mm/h であり、降雨初期の流入下水・初沈下水量は晴天時に比較して 20%程度増加した。その影響により A_2O 法、循環式硝化脱窒法の系列のみに水量負荷を高めた運転を行っていたため、両系列における滞留時間の短縮分を考慮し、処理水の採水を行いノロウイルス濃度を測定した。両系列とも定期調査で得られた平均残存除去率（表－4）と大差がなく、流入下水量が 20%程度の増加であればノロウイルスの除去率に及ぼす影響が少ないものと考えられた。



図－13 時間あたりの降雨量



図－14 降雨時における流入・初沈下水量の推移

Johan Nordgren ら[6)] 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[7)] のイギリスでの調査例では、流入下水の最大検出濃度は、1.8×10^6 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[8)] 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 1.8×10^7 コピー/L と報告している。原本ら[9)] 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 G2 型の濃度は 1,900PDU/mL、下水処理場での残存除去率は約 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、下水処理場での残存除去率は約 1～3log と整理された。今回の P.P.での残存除去率は 1～2log 程度であり、3log には至っておらず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ほぼ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残存除去率は約 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[10)] もある。今回の P.P.における実験結果から得られたノロウイルスの残存除去率はそれらの値と比較して低かった。

表－8　雨天時における影響調査の結果

	平均検出濃度(コピー／L)		平均残存除去率(log)	
	G1型	G2型	G1型	G2型
流入下水	8.9×10^{6}	2.5×10^{8}	－	－
A_2O法（n=2）	1.5×10^{4}	2.6×10^{5}	2.8	3.0
循環式硝化脱窒法（n=2）	4.9×10^{4}	1.2×10^{5}	2.3	3.4

3.3 合流式下水道越流水の調査結果

降雨時における合流式下水道越流水とその放流先河川での調査結果を表－9 および図－15-1～21-3 に示す。表は近郊の雨量観測所における累加雨量、時間雨量、各々の図は越流水、河川水の濁度やノロウイルス濃度の経時変化を示したものである。また、河川水･越流水のノロウイルス濃度の推移図における測定限界値以下の表記は、20μl の PCR 反応 tube 系においてウイルスが定量されなかったデータであり、この場合には反応 tube あたり 1 コピーと仮定して算出したウイルス濃度をプロットしたものである。

全てのケースにおいて累加雨量の増加に伴い合流式下水道越流水が河川へ放流されており、越流水が放流されることで河川水の濁度濃度やその負荷量、ノロウイルス濃度も上昇した。越流水放流前の河川水でもノロウイルスが検出されているデータもあるため、その上流域においても汚染源の存在が推定されるが、越流水放流後には明らかに河川水のノロウイルス濃度が上昇していることから、公共用水域へ及ぼす合流式下水道越流水の影響は大きいものと考えられた。また、ほとんどのデータで越流初期の越流水、河川水においてノロウイルスの検出濃度や SS 濃度、濁度濃度･負荷量は最大となっているが越流時間の経過とともに、それらの濃度などは減少していた。これらの傾向を裏付けるデータとして、降雨時における合流式下水道流入下水のノロウイルス濃度の推移を示したものが図－15-4 である。降雨時に越流水として B1 河川へ放流される流入下水と雨水の混合水である。降雨初期においては雨水の影響が少ないため流入下水のノロウイルス濃度は G1 型が 10^{6}コピー/L、G2 型は 10^{7}コピー/L レベルであったが、時間の経過とともに雨水が混入することで各々10^{4}コピー/L レベルにまで低下していた。さらに、越流水の濁度･SS 濃度とノロウイルス濃度の関係について整理したものについて図－22、23 に示す。濁度は現地にて簡易かつ速やかに測定できることから、越流水の汚濁指標の 1 つとして評価を行った。越流水の濁度や SS 濃度の上昇に伴ってノロウイルス G1 型、G2 型の検出濃度も高まる傾向を示しており、濁度･SS 濃度の推移によりノロウイルスの汚染実態を推測できる可能性があるものと考えられた。これらの結果は、合流式下水道越流水の越流初期においては極めて高濃度のノロウイルスが存在していることを示しているが、時間経過とともに濃度は減少することから、降雨初期における越流水対策の実施は公共用水域へ及ぼす影響を少なくできるものと考えられた。

一方、越流水対策の 1 手法として滞水池を設置することで降雨時の越流水量を減少させ、公共用水域への流出汚濁負荷量を削減する事例がある。本調査対象の B1 河川においても、滞水池を設置し合流式下水道の改善対策を実施していたため、降雨時に滞水池に貯留させた下水試料のノロウイルス濃度を測定し、ノロウイルス負荷の削減量を求めた。その結果、G1 型では 10^{12}～10^{13}コピー、G2 型では 10^{13}～10^{14}コピーのノロウイルスが滞水池に貯留されると試算された（表－10）。この試算を基にノロウイルス負荷削減量が河川水のノロウイルス濃度に及ぼす低減効果について推定した。推定方法は、越流水越流時の河川水のノロウイルス平均濃度と、削減されたノロウイルス負荷量を越流時の河川水量で除して平均濃度を求め、各々の平均濃度からノロウイルス濃度の低減割合を求めた。推定結果を表－11 に示すが、ウイルス濃度の低減割合は 1 月 31 日の結果では G1 型で 16%、G2 型では 52%、同様に 3 月 6 日では 86%、87%と推定された。低減割合の範囲は 20～90%程度であったが、下水

処理区域内での降雨状況や降雨に伴って滞水池に流入下水を貯留するタイミングの違いなどにより差が現れたものと推定された。図－22 には越流水の濁度とノロウイルス濃度の関係を示したが、降雨初期の高濁度流入下水を滞水池に貯留させることで、滞水池によるノロウイルス負荷の削減効果を最大限発揮させられるものと考えられた。

本調査結果から合流式下水道の越流水には、高濃度のノロウイルスが存在していることが明らかとなり、その最大検出濃度は冬季の感染流行期における流入下水の検出濃度レベルとほぼ同じであった。このため、公共用水域におけるウイルス汚染の拡大を防止する上で、越流水対策は急務であると考えられた。

表－9 各調査対象地域における降雨の状況

	第1回B1河川	第2回B1河川	第1回B2河川	第1回C1河川	第2回C1河川	第1回D1河川	第2回D1河川
時間最大雨量（mm/h）	7.5	8.5	7.5	11.0	7.0	12.0	2.0
累加雨量（mm）	64.5	43.0	64.5	112	45.0	106	12.0

表－10 滞水池内のNV濃度とその削減負荷量

日時	NV濃度(コピー／L)		削減負荷量(コピー)	
	G1型濃度	G2型濃度	G1型	G2型
1/31 0:15 滞水池	3.1×10^{5}	2.9×10^{6}	1.6×10^{12}	1.5×10^{13}
3/6 9:40 滞水池	1.3×10^{7}	1.4×10^{8}	6.5×10^{13}	7.0×10^{14}

（滞水池容量 約 5,000m³）

表－11 滞水池によるノロウイルス濃度の低減割合の推定

			ノロウイルス濃度(コピー／L)	河川水濃度の低減割合(%)
1/31	G1型	B1河川水濃度 ※	1.5×10^{5}	(0.28÷(0.28+1.5))×100＝16
		削減濃度 ※※	2.8×10^{4}	
	G2型	B1河川水濃度 ※	2.4×10^{5}	(2.6÷(2.6+2.4))×100＝52
		削減濃度 ※※	2.6×10^{5}	
3/6	G1型	B1河川水濃度 ※	1.0×10^{5}	(6.3÷(1.0+6.3))×100＝86
		削減濃度 ※※	6.3×10^{5}	
	G2型	B1河川水濃度 ※	9.8×10^{5}	(6.7÷(0.98+6.7))×100＝87
		削減濃度 ※※	6.7×10^{6}	

※ 越流水越流時の河川水平均濃度

※※ 滞水池内のノロウイルス負荷量／越流水越流時の河川平均流量

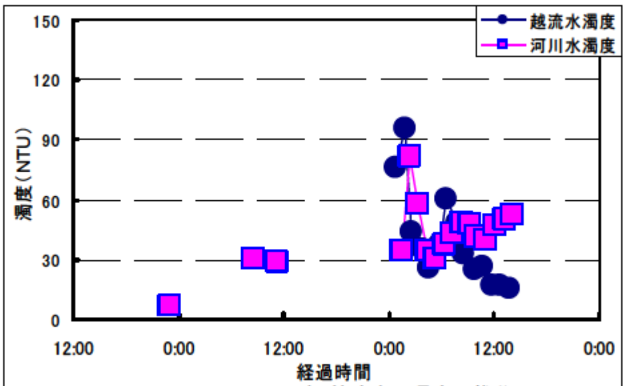


図-15-1　B1河川水･越流水の濁度の推移

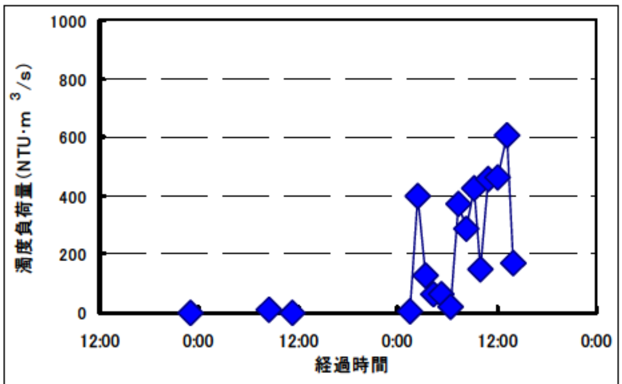
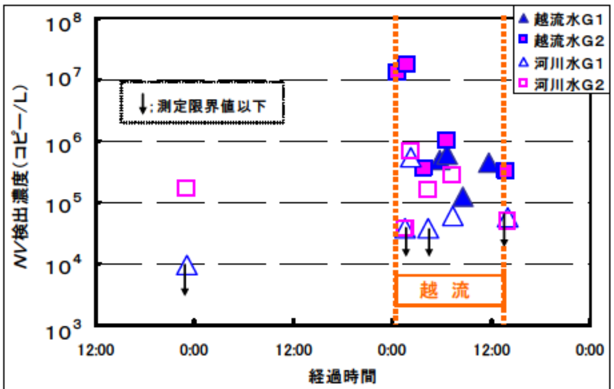
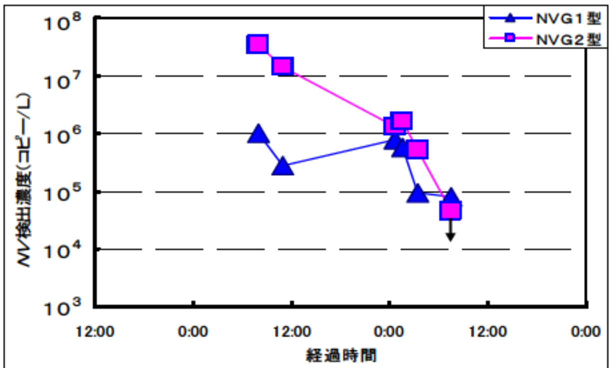


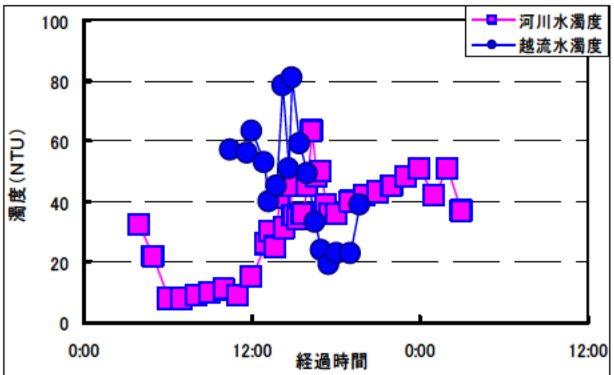
図-15-2　B1河川水の濁度負荷量の推移



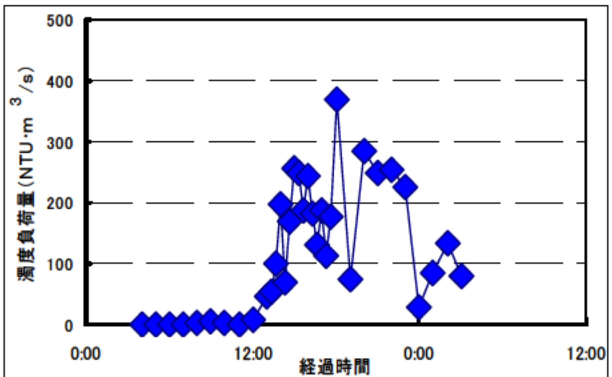
図－15-3　B1河川水･越流水の*NV*濃度の推移



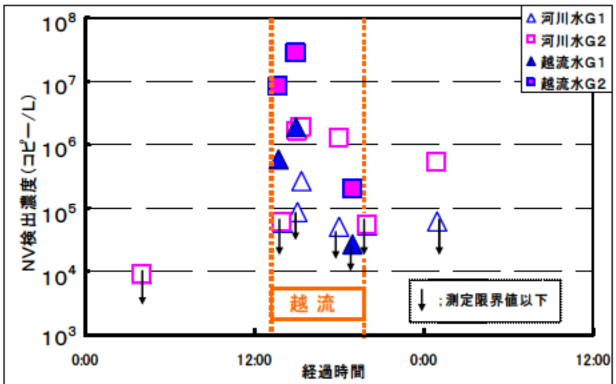
図－15-4　降雨時における合流式下水道
流入下水の*NV*濃度の推移



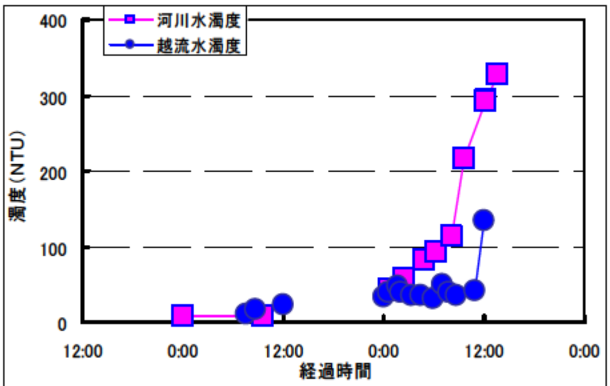
図－16-1　B1河川水･越流水の濁度の推移



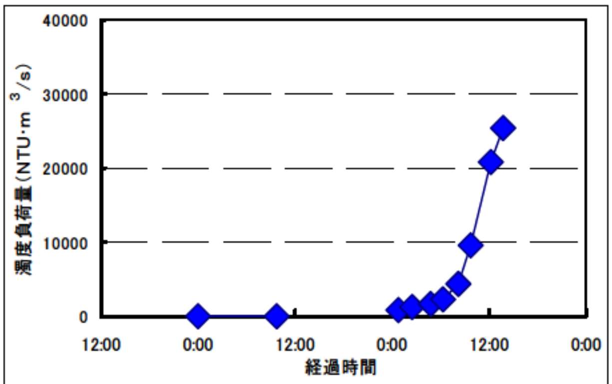
図－16-2　B1河川水の濁度負荷量の推移



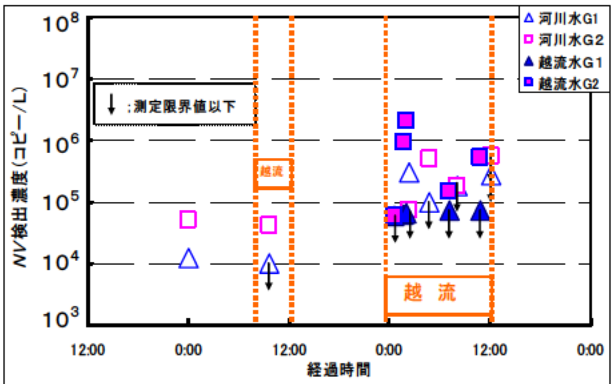
図－16-3　B1河川水･越流水のNV濃度の推移



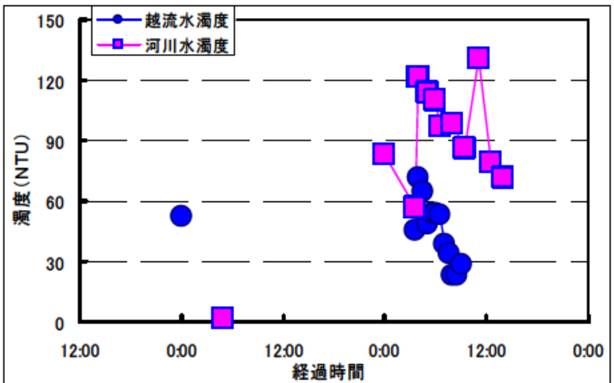
図－17-1　B2河川水･越流水の濁度の推移



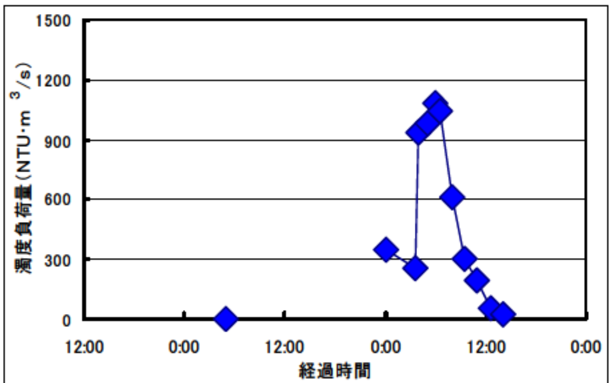
図－17-2　B2河川水の濁度負荷量の推移



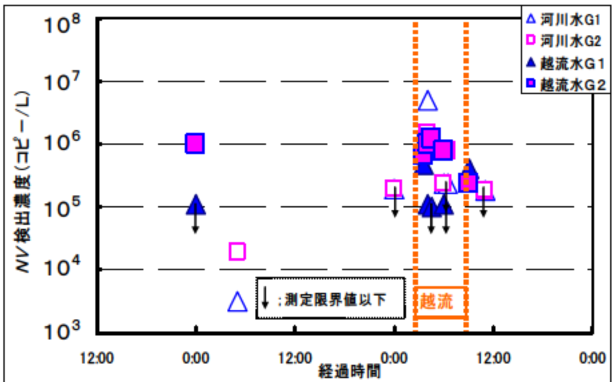
図－17-3　B2河川水･越流水のNV濃度の推移



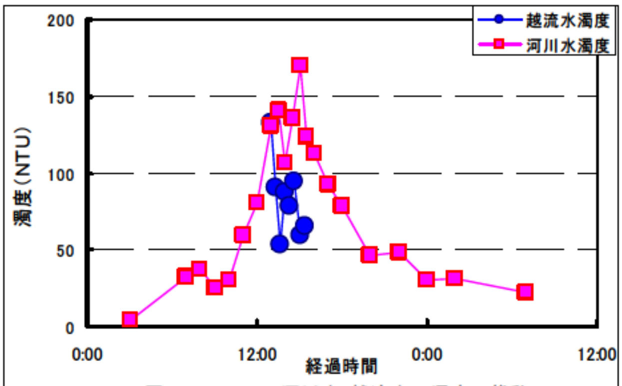
図－18-1　C1河川水･越流水の濁度の推移



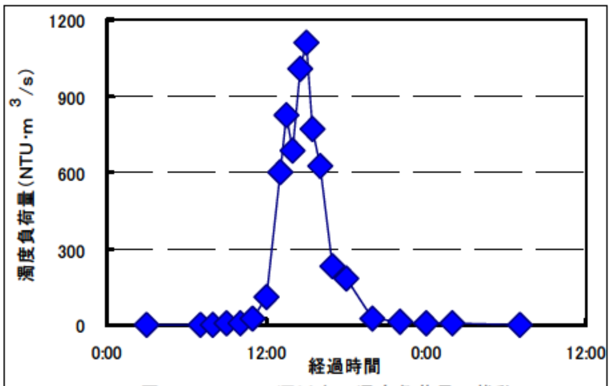
図－18-2　C1河川水の濁度負荷量の推移



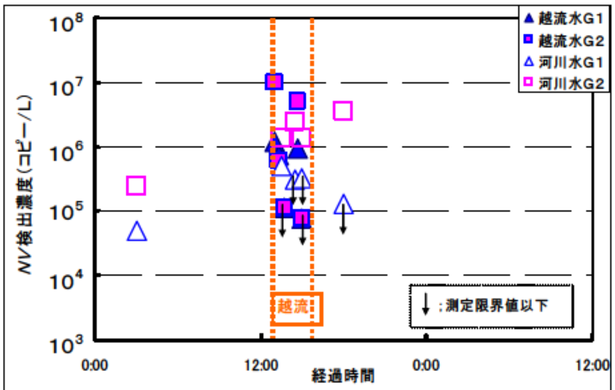
図－18-3　C1河川水･越流水のNV濃度の推移



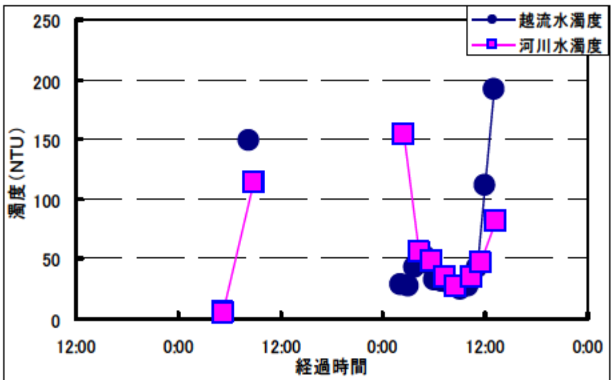
図－19-1　C1河川水･越流水の濁度の推移



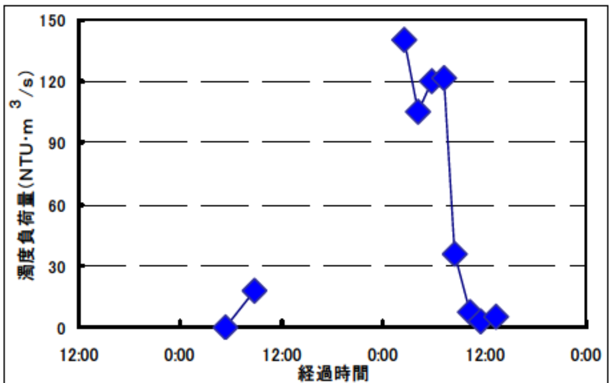
図－19-2　C1河川水の濁度負荷量の推移



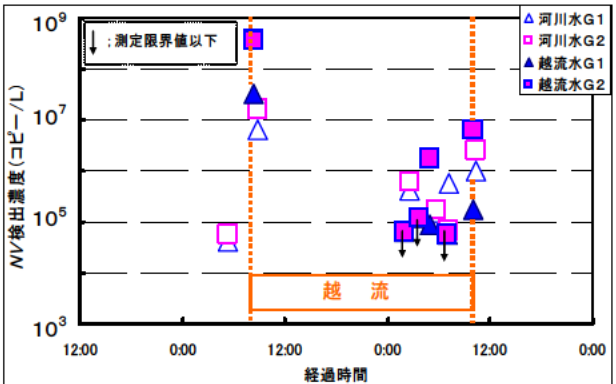
図－19-3　C1河川水･越流水の*NV*濃度の推移



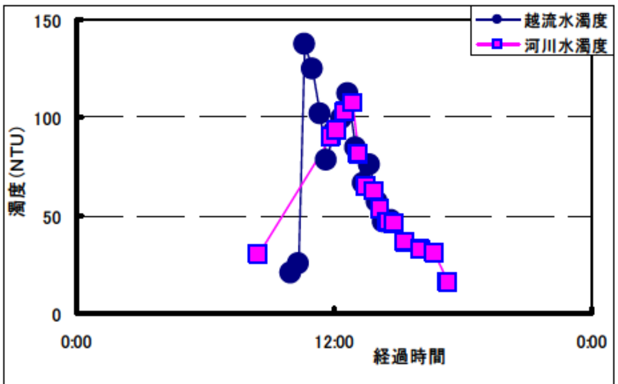
図－20-1　D1河川水･越流水の濁度の推移



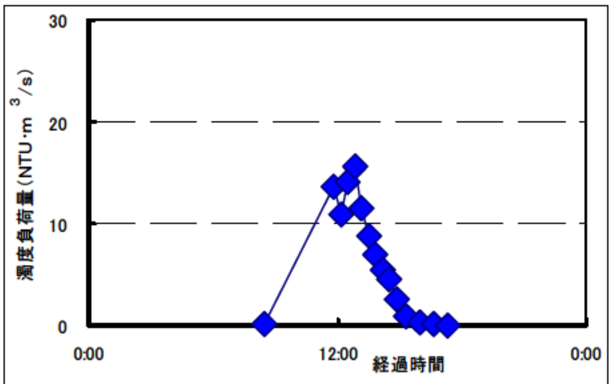
図－20-2　D1河川水の濁度負荷量の推移



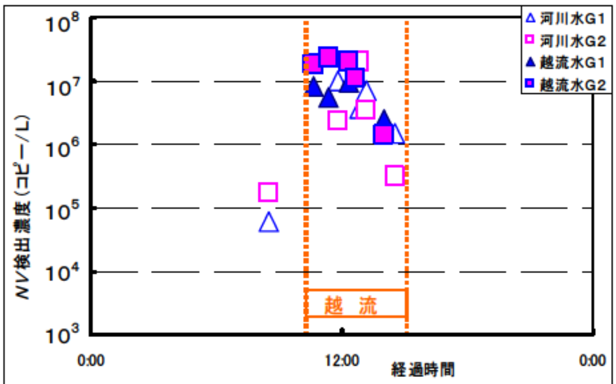
図－20-3　D1河川水･越流水の*NV*濃度の推移



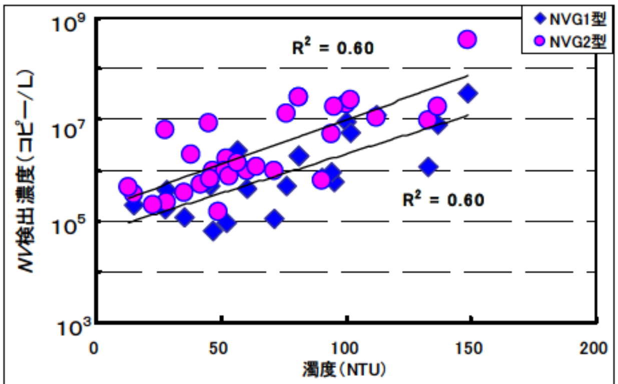
図－21-1 D1河川水･越流水の濁度の推移



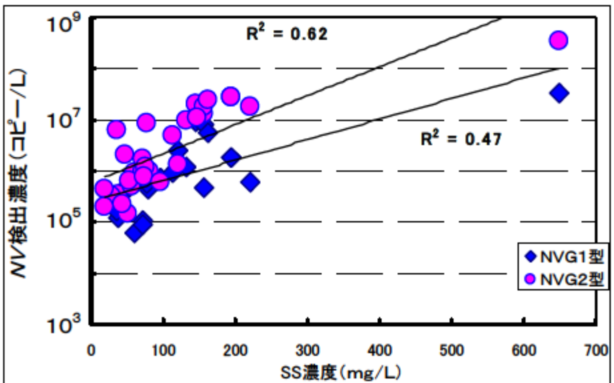
図－21-2 D1河川水の濁度負荷量の推移



図－21-3 D1河川水･越流水のNV濃度の推移



図－22 越流水の濁度とNV濃度の関係



図－23 越流水のSS濃度とNV濃度の関係

4．まとめ

活性汚泥処理法や砂ろ過法など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うとともに、りん･窒素の高度処理を目的とした実施設でのノロウイルスの除去率を評価した。また、降雨時における合流式下水道越流水とその放流先河川においてノロウイルスの実態を把握した。以下に得られた結果を示す。

1) 感染流行期と考えられる1～3月初旬の期間における流入下水のノロウイルス最大検出濃度はG1型が10^7コピー/L、G2型で10^8コピー/Lレベルであった。

2) 活性汚泥処理法によるノロウイルスの残存除去率は、G1型が1.6log、G2型で1.9logであった。

3) りん･窒素除去を目的とした高度処理法のノロウイルスの残存除去率は、凝集剤添加活性汚泥処理法

（10mg-Al/L）、A_2O 法、修正 Bardenpho 法の順で高く、活性汚泥処理法の残存除去率と比較すると 1～2 オーダーの違いがあることが明らかとなった。

4）凝集剤添加活性汚泥処理法によりノロウイルスの残存除去率は向上するが、最大効果が発現するまでに PAC の添加開始から 1 ヶ月程度の時間を要することが明らかとなった。

5）活性汚泥処理法から凝集剤添加活性汚泥法等の追加的対策手法に変更した場合には、変更に伴うノロウイルス除去効率向上割合を把握する上で SS 濃度はある程度の指標になるものと考えられた。

6）流入下水のノロウイルス濃度の変動に伴い、処理水濃度も変動しており、残存除去率は 1～2 オーダー程度の日間変動があることが明らかとなった。

7）各高度処理法における定期採水調査と日間変動調査から求めた平均残存除去率は、ほぼ一致した値であった。

8）降雨時の合流式下水道において、流入下水量が 20%程度の増加であればノロウイルスの残存除去率に影響がないものと考えられた。

9）砂ろ過法では、ろ過速度を速くすることでノロウイルスの残存除去率が低下した。

10）ろ過原水に PAC を添加し砂ろ過を行うことで、ノロウイルスの除去率を高められた。

11）処理水の濃度と比較すると極めて低濃度ではあるが、曝気槽から排気された気相中からもノロウイルスが検出された。

12）合流式下水道の越流水には、高濃度のノロウイルスが存在していることが明らかとなり、越流水の影響を受けることで河川水のノロウイルス濃度も上昇した。

13）越流水の濁度･SS 濃度の推移により、ノロウイルスの汚染実態を推測できる可能性があるものと考えられた。

14）滞水池による公共用水域へのノロウイルス流出汚濁負荷の削減量を明らかにした。

15）降雨初期の高濁度流入下水を滞水池に貯留させることで、滞水池によるノロウイルス負荷の削減効果を最大限発揮させられるものと考えられた。

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）Hiroyuki Katayama, Eiji Haramoto 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.

3）諏訪守，岡本誠一郎，尾崎正明，陶山明子，下水処理のノロウイルス除去効果とその検出濃度に及ぼす濃縮法の影響，下水道協会誌論文集投稿中.

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

5）土木研究所未公表資料.

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

7）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.

8）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.

9）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.

10）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.

下水汚泥の有効利用における微量化学物質の存在実態および挙動

リサイクルチーム　　上席研究員　岡本　誠一郎
主任研究員　山下　洋正

1. はじめに

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、解熱剤など多様かつ使用量が膨大であり、都市域で使用された物質は下水道に流入するものと考えられるが，その挙動は明らかでない。特に、下水汚泥に残留した場合は，有効利用の際に障害となる懸念もあり，早急な調査を必要としている。

本調査では、下水処理場より採取した下水汚泥試料の PPCPs 分析を行い，下水汚泥中の PPCPs の存在実態および挙動を把握するために実施したものである。

平成２０年度の実施内容は以下の通りである。

（1）下水処理場における下水汚泥中 PPCPs の存在実態の把握

（2） 有効利用時における下水汚泥中 PPCPs の挙動の把握

2. 調査方法

2.1　調査の概要

まず，下水処理場 22 箇所の試料を分析して，生汚泥中の PPCPs 濃度を把握し，余剰汚泥中の PPCPs 濃度と比較検討して，下水処理場における汚泥中 PPCPs の存在実態を把握した。

次に，嫌気性消化・コンポスト化を実施している下水処理場の詳細な現地調査を行い，試料採取および分析により，有効利用時における汚泥中 PPCPs の挙動を把握した。

2.2　試料採取方法

下水処理場 22 箇所の生汚泥試料の調査では，流入下水中の SS を GF/B ろ過により分離した固形物を凍結乾燥保存した試料を生汚泥として分析した。

嫌気性消化・コンポスト試料の調査では，生汚泥と余剰汚泥を嫌気性消化せずにコンポスト化している処理場 A と，嫌気性消化した後にコンポスト化している処理場 B において，生汚泥・余剰汚泥・消化汚泥・脱水汚泥・コンポスト（一次発酵，二次発酵）を採取して，PPCPs 濃度の変化を把握した。

いずれの場合も，試料の採取は，溶媒洗浄済みのガラス容器またはステンレス容器を用いて行い，コンタミネーションを防止した。

2.3　分析項目

表-1 に示す通り，医薬品類・日用品類の PPCPs として，生下水汚泥については 58 種，嫌気性消化・コンポスト試料については 60 種類を LC/MS/MS（高速液体クロマトグラフータンデム型質量分析）により分析した。また，表-2 に示す通り，香料・紫外線吸収剤の PPCPs として，嫌気性消化・コンポスト試料については 25 種類を GC/MS（ガスクロマトグラフ質量分析）により分析した。

表-1　LC/MS/MS により分析した PPCPs

物質ID	物質名	用途	使用分野	推定生産量(t/年)	下水生汚泥	コンポスト・消化汚泥
C1	Ibuprofen	非ステロイド系抗炎症薬(プロピオン酸系)	H	82.8	○	○
C2	Ketoprofen	非ステロイド系抗炎症薬(プロピオン酸系)	H	47.7	○	○
C3	Naproxen	非ステロイド系抗炎症薬(プロピオン酸系)	H	3	○	○
C4	Flurbiprofen	非ステロイド系抗炎症薬(プロピオン酸系)	H	0.4	○	○
C5	Fenoprofen	非ステロイド系抗炎症薬(プロピオン酸系)	H	-	○	○
C6	Diclofenac	非ステロイド系抗炎症薬(フェ　ル酢酸系)	H	7.4	○	○
C7	Indomethacin	非ステロイド系抗炎症薬(インドール酢酸系)	H	83.2	○	○
C8	Mefenamic acid	非ステロイド系抗炎症薬(アントラ　ル酸系)	H	407.7	○	○
C10	Acetophenetidine	非ステロイド系抗炎症薬(ア　リン系)	H	-	○	○
C11	Salicylic acid	非ステロイド系抗炎症薬(代謝物)・防腐剤	HP	3.2	○	○
C13	Ethenzamide	非ステロイド系抗炎症薬(サリチル酸誘導体)	H	-	○	○
C14	Clarithromycin	抗生物質(マクロライド系)・蛋白質合成阻害薬	H	76	○	○
C15	Roxithromycin	抗生物質(マクロライド系)・蛋白質合成阻害薬	H	-	○	○
C16	Oleandmycin	抗生物質(マクロライド系)・蛋白質合成阻害薬	V	-	○	○
C17	Tylosin	抗生物質(マクロライド系)・蛋白質合成阻害薬	V	67.9	○	○
C19	Benzylpenicillin	抗生物質(ペ　シリン系)・細胞壁合成阻害薬	HV	20.1	○	○
C21	Chlortetracycline	抗生物質(テトラサイクリン系)・蛋白質合成阻害薬	V	167.5	○	○
C22	Doxycycline	抗生物質(テトラサイクリン系)・蛋白質合成阻害薬	HV	21.5	○	○
C23	Oxytetracycline	抗生物質(テトラサイクリン系)・蛋白質合成阻害薬	V	317.8	○	○
C24	Tetracycline	抗生物質(テトラサイクリン系)・蛋白質合成阻害薬	V	2.1	○	○
C25	Enrofloxacin	抗生物質(　ューキノロン系)・核酸合成阻害薬	V	3.0	○	○
C26	Levofloxacin(+Ofloxacin)	抗生物質(　ューキノロン系)・核酸合成阻害薬	HV	26.3	○	○
C27	Orbifloxacin	抗生物質(　ューキノロン系)・核酸合成阻害薬	V	2.31	○	○
C29	Monensin	抗生物質(イオノフォア)(飼料添加物)	V	22.8	○	○
C30	Cefditoren Pivaloyloxymethyl Ester	抗生物質(セフェム系)・細胞壁合成阻害薬	H	20.9	○	○
C31	Sulfamethoxazole	合成抗菌剤(サルファ剤)・核酸代謝阻害薬	HV	52.9	○	○
C32	Sulfadimethoxine	合成抗菌剤(サルファ剤)・核酸代謝阻害薬	HV	30.8	○	○
C33	Sulfamethazine	合成抗菌剤(サルファ剤)・核酸代謝阻害薬	V	4	○	○
C35	Fenbendazole	抗寄生虫薬(チアベンダゾール系)	V	2.6	○	○
C36	Triclabendazole	抗寄生虫薬(チアベンダゾール系)	V	0.7	○	○
C37	Triclabendazole metabolite	抗寄生虫薬(チアベンダゾール系)代謝物	V	-	○	○
C38	Ivermectin	抗寄生虫薬(アベルメクチン系)	HV	0.2	○	○
C39	Praziquantel	抗寄生虫薬	V	7.6	○	○
C42	Sodium nifurstyrenate	合成抗菌剤(　トロフラン系)	V	5.5	○	○
C44	3,4,5-Trichlorophenol	抗菌剤・防腐剤	P	-	○	○
C45	Triclocarban	抗菌剤・消毒剤	P	-	×	○
C46	p-Hydroxybiphenyl	抗菌剤・消毒剤	P	-	○	○
C47	Propyl paraben	防腐剤	P	-	○	○
C48	Buthyl paraben	防腐剤	P	-	○	○
C49	Ethyl paraben	防腐剤	P	-	○	○
C50	Methyl paraben	防腐剤	P	-	○	○
C51	Clofibric acid	高脂血症治療薬(代謝物)(フィブラート系)	H	1.4	○	○
C52	Fenofibrate	高脂血症治療薬(フィブラート系)	H	-	○	○
C53	Bezafibrate	高脂血症治療薬(フィブラート系)	H	40.4	○	○
C54	Gemfibrozil	高脂血症治療薬(フィブラート系)	H	-	○	○
C56	Furosemide	降圧薬(ループ利尿薬)	H	7.5	○	○
C57	Diltiazem	降圧薬(Ca拮抗薬)	H	32	○	○
C58	Enalapril	降圧薬(ACE阻害剤)	H	-	○	○
C62	Valsartan	降圧薬(ARB製剤)	H	45.2	○	○
C63	Losartan	降圧薬(ARB製剤)	H	17.6	○	○
C65	Carbamazepine	抗てんかん薬(イミノスチルベン系)	H	42.6	○	○
C66	Carbamazepine metabolite	抗てんかん薬(イミノスチルベン系)代謝物	H	42.6	○	○
C67	Diazepam	抗てんかん薬(ベンゾジアゼピン系)	H	-	○	○
C68	Demethyldiazepam	抗てんかん薬(ベンゾジアゼピン系)	H	-	○	○
C69	Phenytoin	抗てんかん薬(ヒダントイン系)	H	-	○	○
C72	Thiopental	麻酔薬(バルビタール系)	H	-	○	○
C73	Cyclophosphamide	抗悪性腫瘍剤(アルキル化剤)	H	-	○	○
C76	Ursodeoxycholic acid	胆道疾患治療薬(胆汁酸利胆薬)	H	247.8	○	○
C81	Methyl dihydrojasmonate	香料(ジャスミン系)	P	-	○	○

（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 年度の統計からの算出値[1]より。試料の○×は分析の有無を示す。）

表-2　GC/MS により分析した香料・紫外線吸収剤

物質ID	物質名	用途	推定使用量(t/年)
C101	HHCB(galaxolide)	香料・多環状ムスク	3,568
C102	AHTN(tonalide)	香料・多環状ムスク	1,382
C103	DPMI(cashmeran)	香料・多環状ムスク	
C104	ADBI(celestolide)	香料・多環状ムスク	
C105	AHMI(phantolide)	香料・多環状ムスク	
C106	ATII(traseolide)	香料・多環状ムスク	
C107	Musk ketone(MK)	香料・ニトロムスク	
C108	Musk xylene(MX)	香料・ニトロムスク	
C109	Benzyl acetate	香料・芳香族　アルコールエステル	600
C110	Methyl salicylate	香料・芳香族　カルボン酸エステル	3
C111	Benzyl salicylate	香料・芳香族　アルコール・カルボン酸エステル	10
C112	Jasmonal H	香料・芳香族系アルデヒド	70
C113	α Isomethyl ionone	香料・ヨノン系ケトン	
C114	M. Dhjasmonate(Hedione)	香料・シクロペンタン（ジャスミン系）	2,500
C115	Isobornyl acetate	香料・脂肪族アルコールエステル	
C116	Terpineol	香料・環状テルペンアルコール	375
C117	EHMC	紫外線吸収剤・桂皮酸誘導体	
C118	IAMC	紫外線吸収剤・桂皮酸誘導体	
C119	Benzophenone(BP)	紫外線吸収剤・ベンゾフェノン誘導体	
C120	Benzophenone 3(BP 3)	紫外線吸収剤・ベンゾフェノン誘導体	
C121	Homosalate(HMS)	紫外線吸収剤・サリチル酸誘導体	
C122	Octyl salicylate	紫外線吸収剤・サリチル酸誘導体	
C123	octyl PABA	紫外線吸収剤・安息香酸誘導体	
C124	4 MBC	紫外線吸収剤・カンファー誘導体	
C125	Octocrylene(OC)	紫外線吸収剤・その他エステル	

（推定生産量は，輸入量を含むものであり，主として 2007 年度の統計値[2] より。）

2.4　分析方法

分析方法は，LC/MS/MS については図-1 に示す通り，GC/MS については図-2 に示す通り行った。汚泥等の固形性試料は，凍結乾燥した後に，分析に必要なサロゲート物質を加えて超音波抽出を行い，抽出液を固相抽出により濃縮精製を行って測定用試料を作成した。LC/MS/MS（4000 QTRAP，Applied Biosystems 製）により MRM モードにて分析，あるいは GC/MS（Agilent 5973 Network MSD，Agilent Technologies 製）により SIM モードにて分析した。定量はサロゲート法で行ったが，Levofloxacin(C26)等 7 物質は絶対検量線法で行った。

3.　結果

下水汚泥，コンポスト等の試料中の PPCP s 濃度分析を行った結果，下水処理場における下水汚泥中の PPCPs の濃度が明らかとなり，挙動を把握することができた。詳細を以下に述べる。

3.1　下水処理場における下水汚泥中の PPCPs の存在実態

下水処理場 22 箇所の生汚泥（流入下水 SS）の医薬品等 PPCPs 分析結果を，図-3 に示す。

処理場により，検出の度合いおよび検出濃度に違いが見られた。また，物質によってはほとんど不検出のものがある一方で，高頻度に検出される物質もあった。

人用抗生物質で mg/kg オーダーの高濃度で存在したのは Levofloxacin(C26)で，中央値 2.7(25%値 2.3～75%値 4.1)mg/kg(検出率 100%)であった。次いで，Clarithromycin(C14)が 0.2(0.15～0.24)mg/kg(95%)であった。非ステロイド系抗炎症薬はより低い μg/kg オーダーであり，Ketoprofen(C2)が 35(25～50) μg/kg(82%)，Indomethacin(C7)が 33(0～44) μg/kg(59%), Mefenamic acid(C8)が 39(0～56) μg/kg(64%)主として検出された。その他に，防腐剤 Paraben 類(C47～C50)が中央値で 42～230 μg/kg，高脂血症薬 Bezafibrate(C53)が中央値で 62 μg/kg で検出されるなど，全体で 15 物質が検出率 50%以上であった。

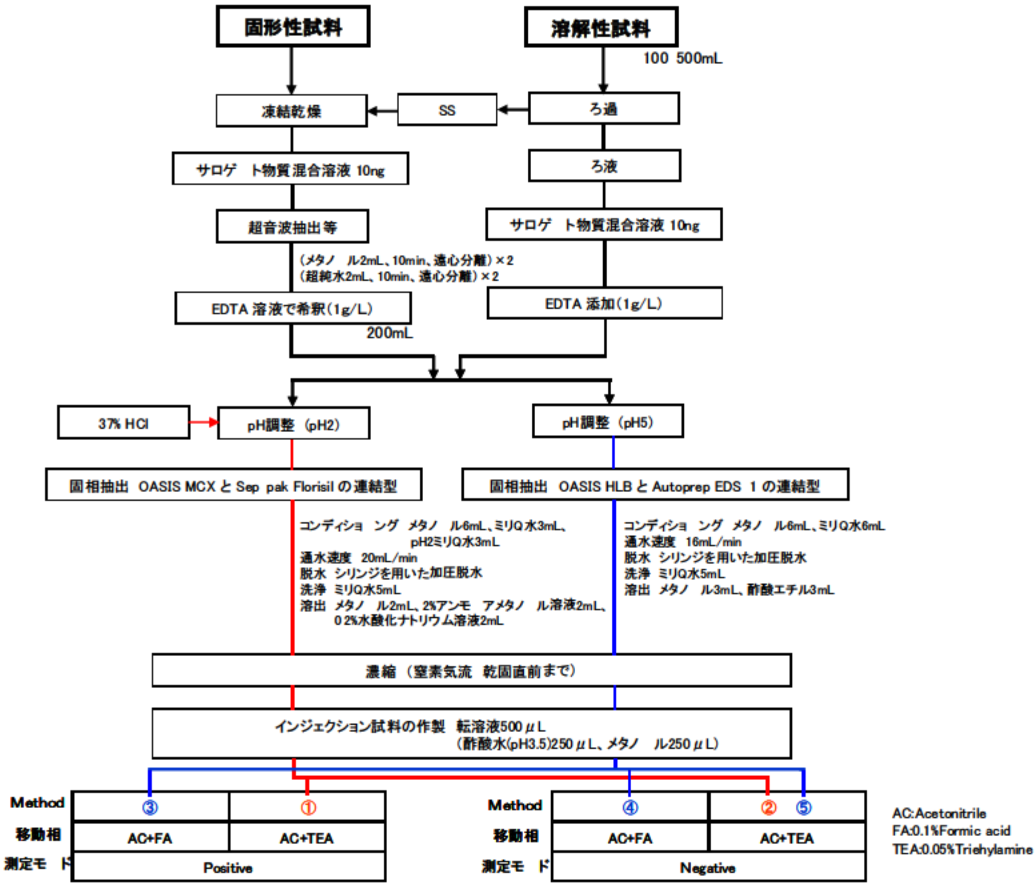


図-1 LC/MS/MS による分析方法

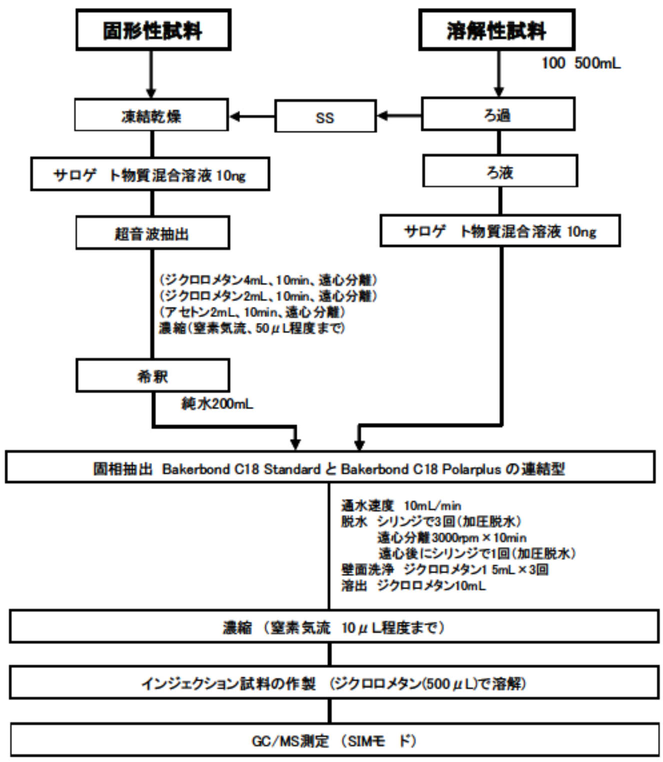


図-2 GC/MS による分析方法

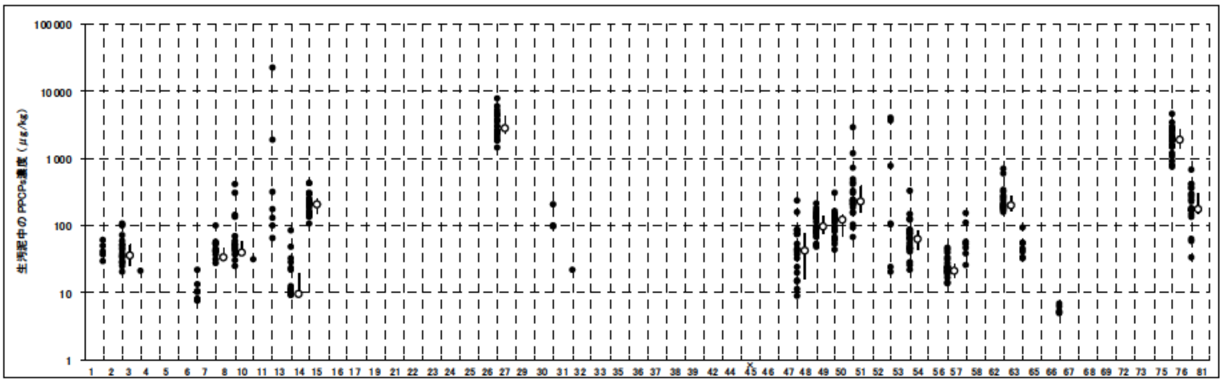


図-3　生汚泥中の PPCPs（医薬品等）濃度

（横軸は C1 等の物質番号を示す。●は個別のデータを示す。その右横の○は中央値，上下の縦棒は 25%～75%値を示す。）

これらは下水中でよく検出される物質であり存在量が多いため下水汚泥中でも検出されるものと考えられるが，一方，抗てんかん薬 Carbamazepine(C65)のように，下水中ではよく検出されるが，下水汚泥中では検出されなかった物質もあり，汚泥への吸着特性の違い等が影響しているものと考えられた。

余剰汚泥中の PPCPs 検出状況と比較すると，抗生物質 Levofloxacin(C26)など生汚泥中と同等に検出されている物質もあるが，抗生物質 Clarithromycin(C14)や高脂血症薬 Bezafibrate(C53)のように，余剰汚泥中では低濃度で検出頻度も低い物質があった。従って，生汚泥と余剰汚泥は，含まれる PPCPs の種類・濃度が異なる場合があり，汚泥の有効利用においては汚泥性状に応じて注意をはらう必要があると考えられた。

3.2　有効利用時における下水汚泥中 PPCPs の挙動の把握

下水処理場 2 箇所の有効利用時における下水汚泥中の PPCPs 濃度について，図-4（医薬品等）および図-5（香料等）に示す。図-4 より，二次発酵コンポスト中では，非ステロイド系抗炎症薬の Ibuprofen(C1), Diclofenac(C6), Mefenamic acid(C8)，人用抗生物質 Levofloxacin(C26)，抗菌剤 Toriclocarban(C45)等が共通して検出され，これらの物質は数ヶ月の熟成期間を経てもコンポストに残留しているものと考えられた。

検出された医薬品等 PPCPs の物質数は，処理場 A で生汚泥 16，余剰汚泥 15，脱水汚泥 18，一次発酵コンポスト 24，二次発酵コンポスト 19 であり，処理場 B で生汚泥 16，余剰汚泥 12，消化汚泥 15，脱水汚泥 21，一次発酵コンポスト 9，二次発酵コンポスト 9 であった。生汚泥～（嫌気性消化汚泥）～脱水汚泥では共通して検出される物質が多い一方で，サンプルにより検出・不検出が見られる物質もあった。汚泥の滞留時間を考慮すると各サンプルは異なる時期に発生したものであるため，水処理・汚泥処理の時系列的変化に伴う医薬品等 PPCPs 存在状況の変化を単純に示すものではないが，人用抗生物質 Clarithromycin(C14)や高脂血症薬 Bezafibrate(C53)等の一部の物質は余剰汚泥中において生汚泥中よりも減少していた。しかし，嫌気性消化や脱水は汚泥中の医薬品等 PPCPs 存在状況にあまり影響しないものと考えられた。

コンポスト中に検出される医薬品等 PPCPs については，処理場 A では脱水汚泥と同様の傾向であったが，処理場 B では検出される物質数が減少していた。この理由としては，処理場 A では脱水汚泥を含水率 40～50%程度に乾燥させてからコンポスト化していたのに対して，処理場 B では乾燥させずにコンポスト化していたため，水分が多く，好気的な生物分解反応等による減少が起きやすくなっていた可能性が考えられる。

例えば抗生物質 Clarithromycin(C14)，Roxithromycin(C15)，高脂血症薬 Fenofibrate(C52)，Bezafibrate(C53)等が処理場 A，B の脱水汚泥で検出されており，処理場 A では一次発酵および二次発酵コンポストでも検出されているが，処理場 B では不検出であった。従ってこれらの物質は一次発酵プロセスの条件次第で分解除去される可能性があると考えられた。

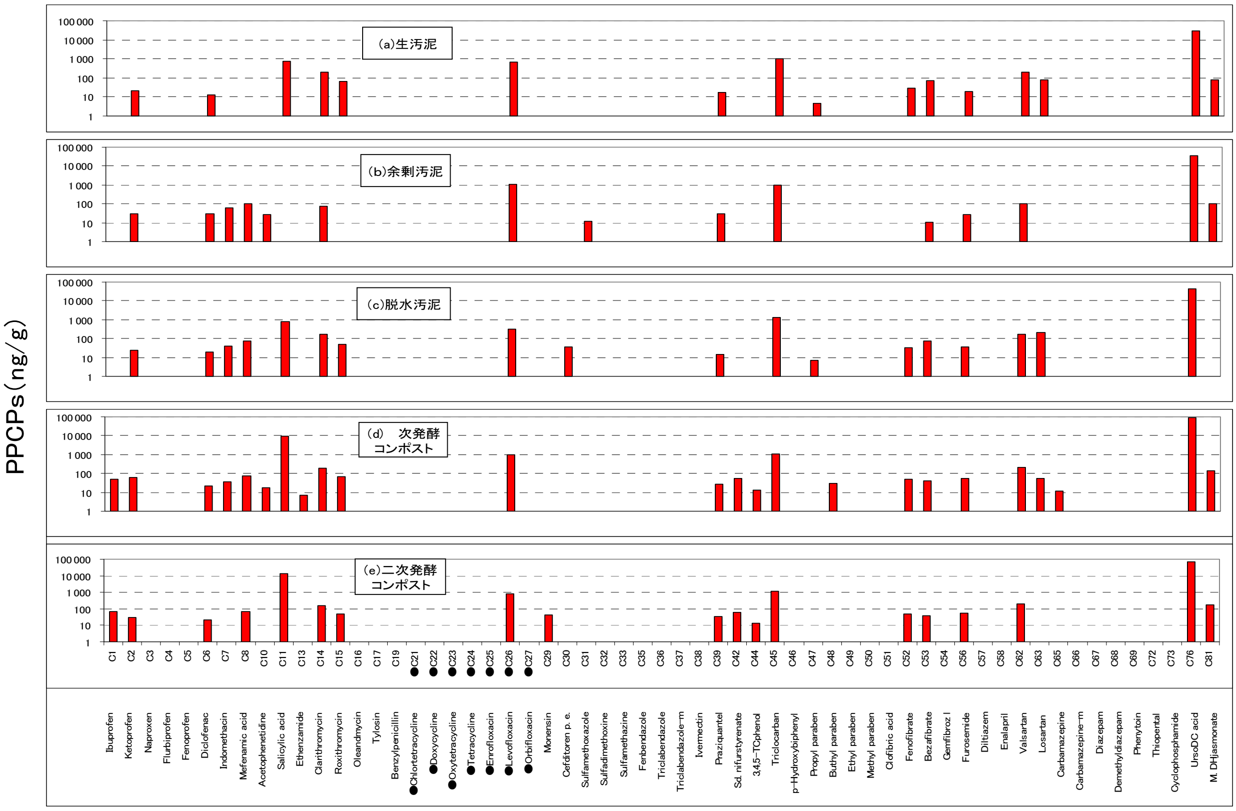


図-4(1) 下水汚泥およびコンポスト中の PPCPs（医薬品類）濃度（処理場 A, ●：絶対検量線法）

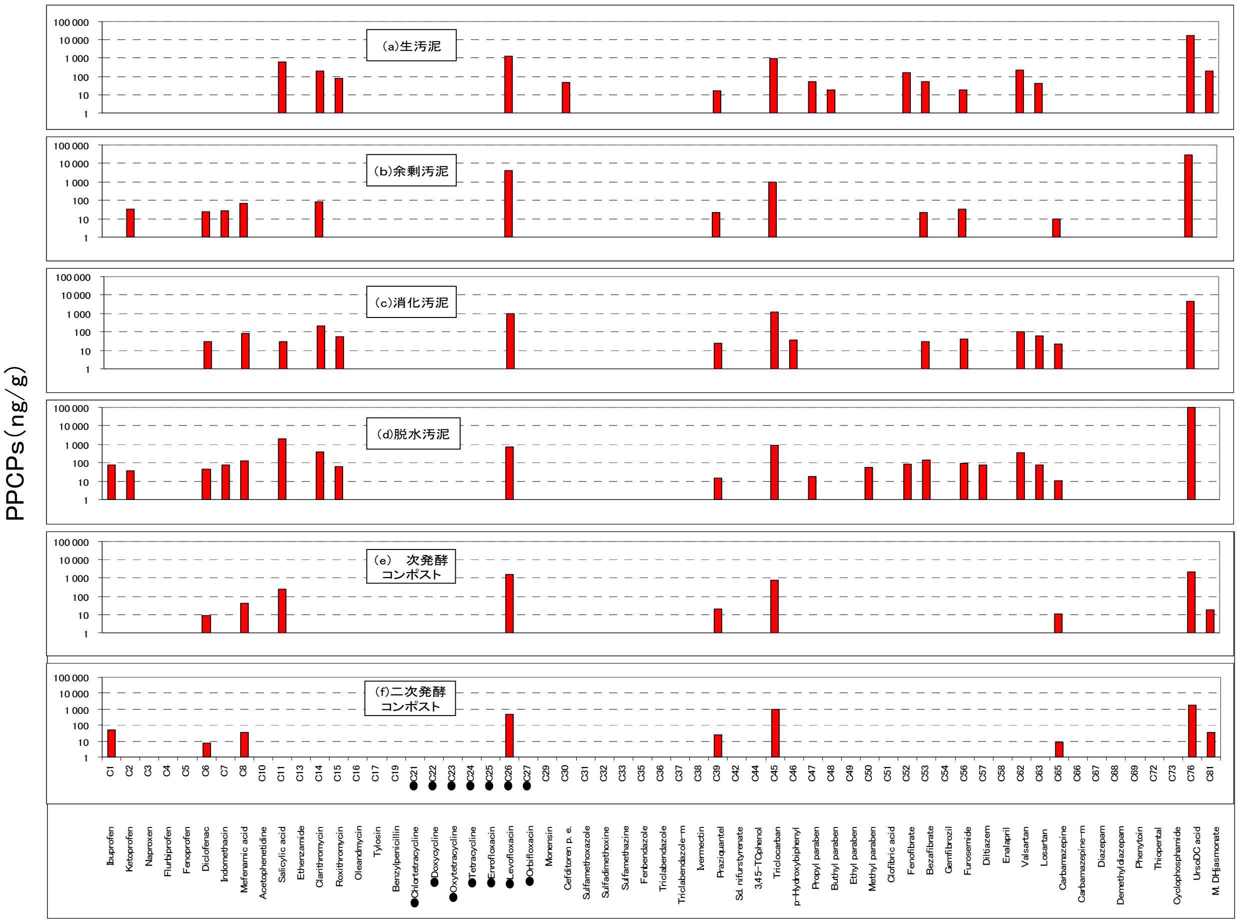


図-4(2) 下水汚泥およびコンポスト中の PPCP s （医薬品類）濃度（処理場 B, ●：絶対検量線法）

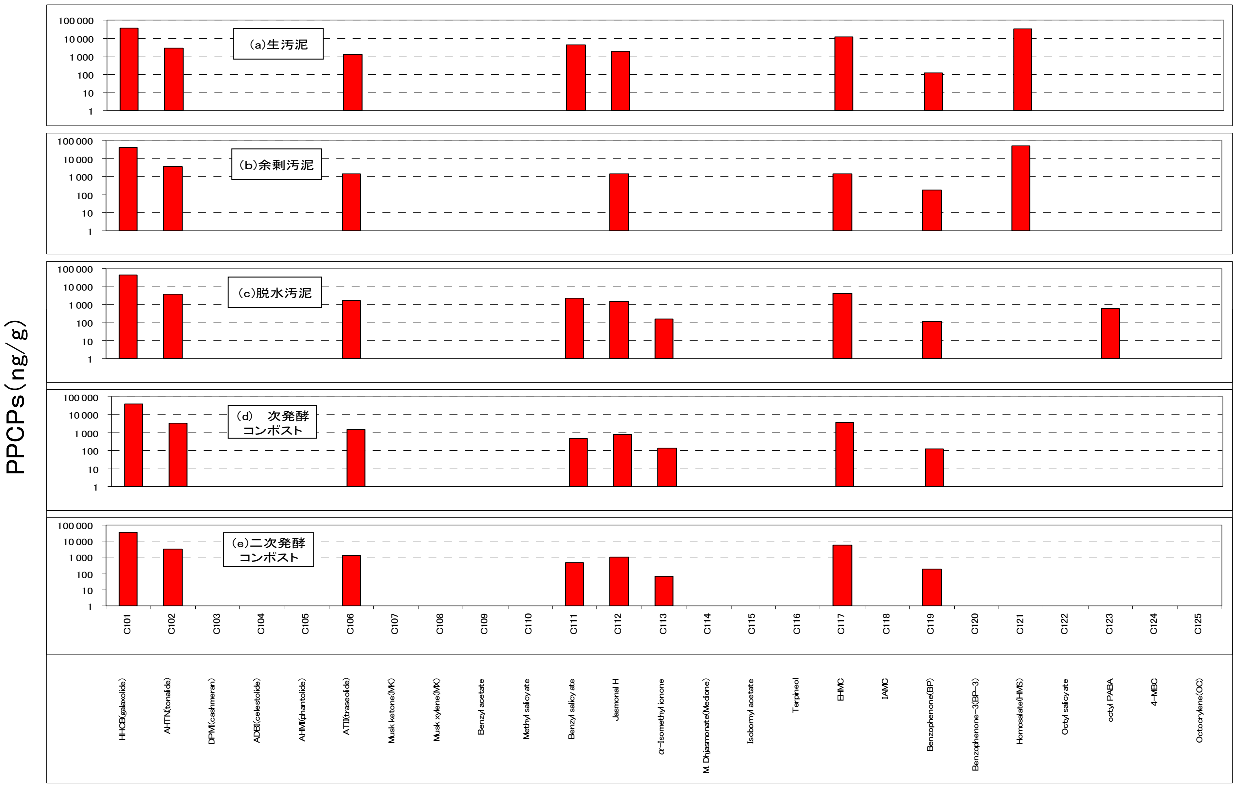


図-5(1)　下水汚泥およびコンポスト中の PPCPs（香料等）濃度（処理場 A）

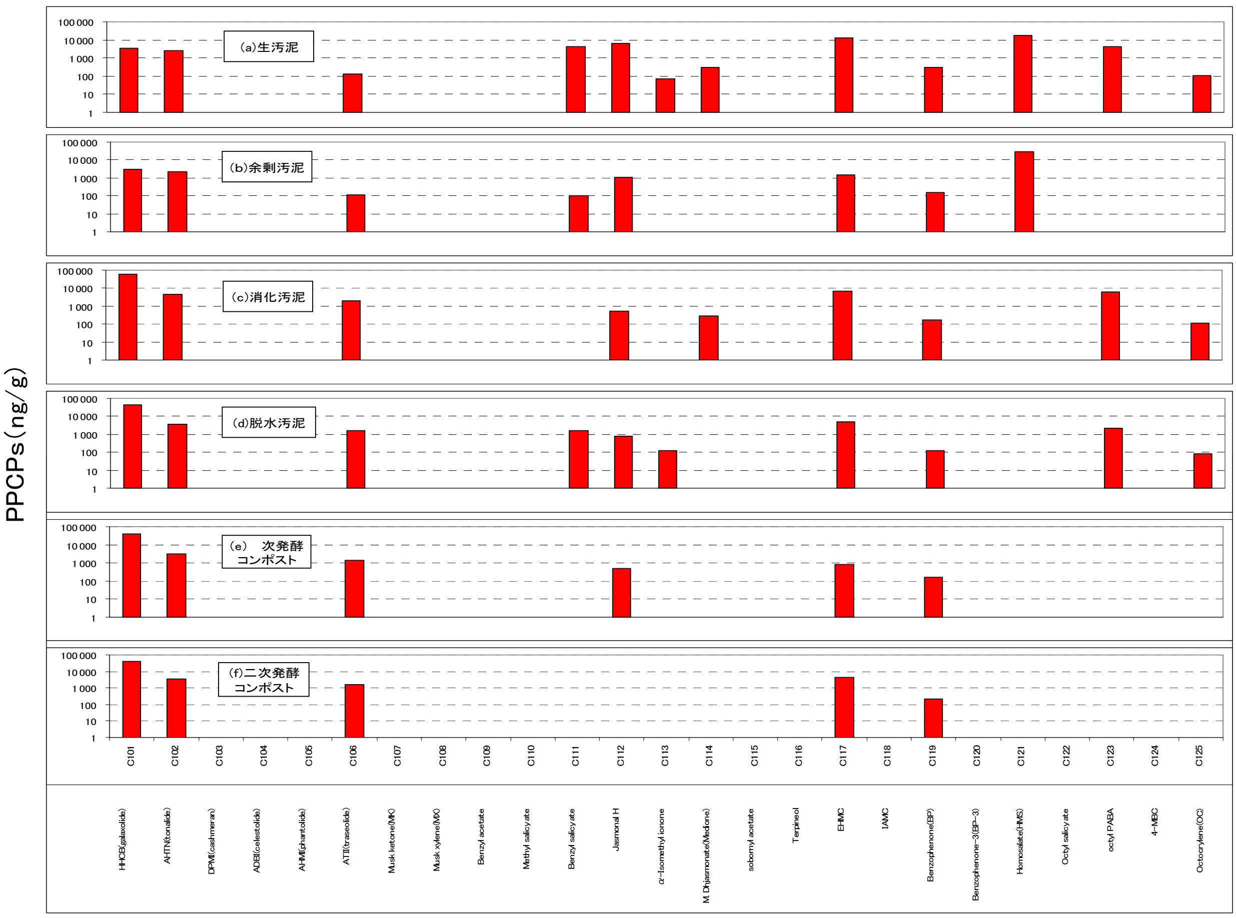


図-5(2)　下水汚泥およびコンポスト中の PPCPs（香料等）濃度（処理場 B）

図-5 より，二次発酵コンポスト中では，香料では多環状ムスクの HHCB(C101)が約 37～42mg/kg，AHTN(C102)が約 3.3mg/kg，ATII(C106)が約 1.3～1.5mg/kg，紫外線吸収剤では桂皮酸誘導体の EHMC(C117)が約 4.6～5.5mg/kg，ベンゾフェノン誘導体の BP(C120)が約 0.19～0.21mg/kg で共通して検出され，これらの物質は数ヶ月の熟成期間を経てもコンポストに残留しているものと考えられた。

検出された香料等 PPCPs の物質数は，処理場 A で生汚泥 8，余剰汚泥 7，脱水汚泥 9，一次発酵コンポスト 8，二次発酵コンポスト 7 であり，処理場 B で生汚泥 12，余剰汚泥 8，消化汚泥 9，脱水汚泥 10，一次発酵コンポスト 6，二次発酵コンポスト 5 であった。生汚泥～（嫌気性消化汚泥）～脱水汚泥では共通して検出される物質が多い一方で，サンプルにより検出・不検出が見られる物質もあり，医薬品類 PPCPs と同様の傾向であった。処理場 B では多環状ムスクの HHCB(C101)，ATII(C106)について，生汚泥・余剰汚泥中濃度が低く嫌気性消化以降の汚泥の方が約 16～20 倍高濃度であったが，これが濃縮を意味するのかは不明である。他の試料と比較して，処理場 B の生汚泥・余剰汚泥のみ低濃度であったことから，変動により偶然低濃度であった可能性も考えられる。

コンポスト中に検出される香料等 PPCPs を脱水汚泥中と比較すると，処理場 A では紫外線吸収剤・安息香酸誘導体の Octyl PABA(C123)が不検出となっており，処理場 B ではさらに香料の Benzyl salicyate(C111)，α-Isomethyl ionene(C113)，紫外線吸収剤の Octocrylene(C125)が不検出であった。処理場 A では熱により汚泥を乾燥させてからコンポスト化しており，香料が揮発することによりコンポスト中に残留していないことが想定されたが，実際には一次発酵コンポストで 8 物質が検出され，乾燥させていない処理場 B のコンポスト（同 6 物質）よりも多くの物質が検出された。従って，コンポスト中の香料等の分解除去の観点からは，水分が多い条件下で一次発酵を行った方が効果的である可能性が考えられた。

4. 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）下水処理場 22 箇所の生汚泥中の医薬品・日用品類の PPCPs 濃度を調査した結果，抗生物質 Levofloxacin，Clarithromycin，非ステロイド系抗炎症薬 Ketoprofen，Indomethacin，Mefenamic acid，防腐剤 Paraben 類，高脂血症薬 Bezafibrate など，全体で 15 物質が検出率 50%以上であった。余剰汚泥での検出結果と比較して，余剰汚泥では Clarithromycin や Bezafibrate が低濃度となり検出頻度も低下しているなど異なる特徴がみられたことから，下水汚泥の有効利用時における PPCPs の挙動については，生汚泥と余剰汚泥のそれぞれの特性に応じた検討が必要と考えられた。

（2）嫌気性消化を行っている下水処理場 1 箇所を調査した結果，ほとんどの PPCPs で嫌気性消化による分解除去は見られなかった。また，嫌気性消化はその後のコンポスト中の PPCPs 濃度に影響しないと考えられた。

（3）下水処理場 2 箇所を調査した結果，二次発酵コンポスト中に，非ステロイド系抗炎症薬の Ibuprofen，Diclofenac, Mefenamic acid，人用抗生物質 Levofloxacin，抗菌剤 Toriclocarban，香料・多環状ムスクの HHCB，AHTN，ATII，紫外線吸収剤・桂皮酸誘導体の EHMC，ベンゾフェノン誘導体の BP 等が共通して検出された。従って，これらの物質は数ヶ月の熟成期間を経てもコンポストに残留していると考えられた。

（4）一次発酵において，汚泥を乾燥後にコンポスト化した場合よりも，水分の多いままでコンポスト化した場合の方が，PPCPs の検出物質数が少なくなっており，分解除去が進みやすい可能性が考えられた。

5. 参考文献

1) 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

2) 15509 の化学商品，化学工業日報社，2009

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：岡本誠一郎、落　修一、山下洋正、
宮本豊尚、桜井健介

【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、バイオマスインベントリー情報を整備するとともに、バイオマス中に含まれる可能性のある微量有害物質の試験方法を開発した。また、エネルギー変換技術（過給式流動炉）とバイオガスエンジンはほぼ実用化レベルのシステムを構築し、緑化基盤用ピートモス代替開発品は現地への試験施工を行った。

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、これを資源化してその利用に繋げて行くことが重要であり、そのための施策やその基礎となる利用技術を確立していく必要がある。

2. 研究の目的

本研究は、未利用の草木系バイオマスの利用促進を目的として大きく３つに区分される。第１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。第２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を行う。第３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. 研究内容

3．1　バイオマスインベントリーシステム

緑地や樹木の管理における年間の除草や剪定の時期や回数は、管理者により現地の社会的、自然的環境状況、管理費用等を勘案して決定されている。緑地・樹木管理により発生する除草・剪定枝葉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、国土交通省管轄（内閣府沖縄総合事務局所管事業を含む。以下同じ。）の全国の公共緑地の除草・剪定の実施状況を調査した。また、平成19年度に引き続き、緑地・樹木管理によって実際に発生した草木系バイオマス試料の組成を調査した。これらの結果から緑地や樹木の管理により発生する除草・剪定枝葉のエネルギー賦存量を推算した。

3.1.1　調査方法

緑地・樹木の除草・剪定の実施状況調査は、国土交通省北海道開発局、同省各地方整備局、内閣府沖縄総合事務局の道路、河川、公園、ダム事務所を対象に、アンケート調査により各事務所の管理する緑地・樹木の平成19年度の除草・剪定の実施状況を調べた。

緑地・樹木管理によって実際に発生した草木系バイオマス試料の組成の調査は、実際の緑地の草木類は複数種が混在することに配慮し、10河川事務所および14国道事務所、その他2緑地（土木研究所内緑地、下水処理場内緑地）より、通常の維持管理作業で発生する刈草と同様の組成となるよう、複数種が混合された145試料を採取し、調査を行った。分析項目は含水率、強熱減量、高位発熱量、主要構成元素（炭素、水素、窒素、硫黄、酸素）とした。

国土交通省管轄の緑地管理から発生する除草・剪定物のエネルギー賦存量の推算にあたっては、発生

表-1. 国土交通省管轄の地域別緑地・樹木管理量

種別	単位	北海道	東北	関東	北陸	中部	近畿	中国	四国	九州	沖縄	全国
緑地	km^2	103	43	82	25	28	25	19	10	24	1	361
高木	万本	9	3	10	4	8	11	2	4	3	5	61
単独植え中低木	万本	19	6	6	55	34	7	25	36	3	2	193
寄せ植え中低木	km^2	0.1	0.5	1.7	0.2	0.9	1.2	0.3	0.9	1.1	0.2	7.1

量、含水率、発熱量が必要である。しかしながら、全発生量の重量は、発生量が容量で管理されていたり、一部存置され計量されなかったりするため、把握されていない。また、各除草・剪定枝葉の含水率や発熱量が測定されることは少ない。そのため、国土交通省管轄の緑地・樹木管理により発生する除草物および剪定物のエネルギー賦存量 E (J/year)は、以下の式によって計算した。

$$E = A \times W \times \frac{100 - w}{100} \times h \qquad ・・・(1)$$

ここで、A は 1 年あたりの除草面積(m^2)または剪定量(本または m^2)とし、W は 1 年間の単位面量（除草面積または剪定量）あたりの除草物または剪定物の回収時の平均重量(g/m^2/year または g/本/year)とし、w は回収された除草物または剪定物の平均含水率(%)とし、h は、除草物または剪定物の乾燥重量あたりの高位発熱量(J/g)とした。1 年あたりの除草面積または剪定量は、アンケート調査により各事務所の管理する緑地・樹木における平成 19 年度の除草・剪定実績を用いた。除草物の回収時の重量及び含水率は、除草物の大半が数日乾燥後に回収されていることを踏まえ、2 日以上後に回収されたデータを基にした。剪定物の回収時の重量及び含水率は、剪定物の大半が即日回収されていることを踏まえ、即日回収されたデータを元にした。また、除草物または剪定物の発熱量は昨年度調査 1)から、刈草 17,800kJ/kg-dry 及び剪定枝葉 19,300kJ/kg-dry とした。

3.1.2　調査結果

緑地・樹木の除草・剪定の実施状況調査は、109 国道事務所、102 河川事務所、17 公園事務所、25 ダム事務所からアンケートの回答を得た。アンケートに回答した事務所の定期的な除草を要する緑地の合計は、約 360km^2 であり、そのうち、河川事業が約 290 km^2、道路事業が約 60 km^2 であった。地域別の結果を表-1 に示した。1 年間の除草の回数は、1 回/年の地区数が全地区数の 30%、2 回/年の地区数が 48%であり、3 回/年の地区数が 13%であった。平成 19 年度ののべ除草面積は、650km^2 であった。定期的な除草を要する緑地のほとんどが年 1 回以上除草されていた。

また、定期的な剪定を要する樹木の合計は、高木（高さ 3m 以上）約 60 万本、単独植えの中低木が約 200 万本、寄せ植えの中低木の表面積は、約 7km^2 であり、それぞれの 8 割以上が道路事業によるものであった。地域別の結果を表-1 に示した。平成 19 年度ののべ剪定量は、高木約 26 万本、単独植えの中低木が約 24 万本、寄せ植えの中低木の表面積は、約 5km^2 であり、全樹木が毎年剪定されるわけではない。

地域毎ののべ除草および剪定の実施日数の季節毎の割合は、全体として、除草の実施日は、7～9 月に多く、1～3 月に少なかった。剪定の実施日は、刈草同様に 7～9 月に多く、1～3 月に少なかったが、刈草と比較すると 1～3 月の実施も多く、季節的な偏りが少なかった。

また、本アンケートの結果から、賦存量推算にあたって必要となる 2 日以上存置後回収された除草物の単位面積あたりの平均年間発生重量を計算した。2 日以上存置後に回収された除草物の回収時重量のヒストグラムを図-1 に示した。ヒストグラム作成にあたっては、除草面積の大半を占める河川事業由来のデータを用いることとし、条件に該当した 109 工区のデータを抽出した。条件は、①重量と面積が記載されている、②記載されている重量の内訳に剪定枝や他の工区の除草物などの重量が含まれていない、③対象地区の面積が 100m^2 以上である、④対象工区のうち 9 割以上の面積が 2 日以上存置後回収されて

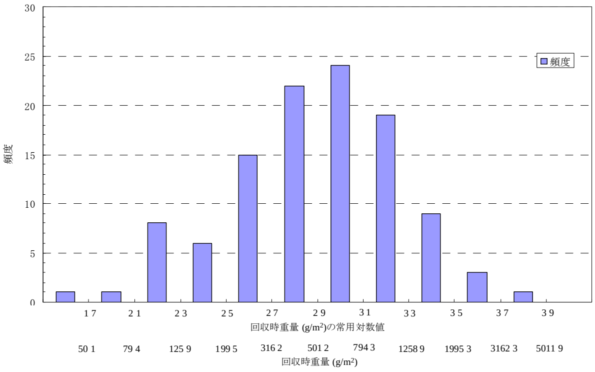


図-1. 2 日以上存置後に回収された 109 除草物の回収時重量のヒストグラム

いる、とした。1 年間のうち複数回除草作業が行われている工区は、全ての除草回の合計重量を用いた。このヒストグラムは、正規分布よりも対数正規分布に近かった。この 2 日以上存置後に回収された 109 除草物の回収時重量の相加平均値は、667(g/m^2/year)であった。

剪定物については、高木、中低木（単独植え）、中低木（寄せ植え）に分け、単位剪定量（本数又は表面積）あたりの剪定物の平均重量を計算した。計算にあたっては、条件に該当したデータを抽出した。条件は、①剪定量（本数または表面積）と剪定物の重量が記載されている、②記載されている重量の内訳に他の試料の重量が含まれていない、③剪定量が一定量以上である（高木 : 10 本、中低木（単独植え）: 10 本、中低木（寄せ植え）: 100m^2）、④対象工区のうち 9 割以上の剪定量が即日回収されている、とした。データ数は、高木 50 工区、中低木（単独植え）11 工区、中低木（寄せ植え）29 工区であった。即日回収された単位剪定量（本数又は表面積）あたりの剪定物の平均重量は、高木 61.8kg/本、中低木（単独植え）10.2kg/本、中低木（寄せ植え）1.5kg/m^2 であった。

緑地・樹木管理によって実際に発生した草木系バイオマス試料の組成の調査における、145 試料の乾燥重量あたりの高位発熱量は、最大値は 20,390kJ/kg、最小値は 12,220kJ/kg、中央値は 17,460kJ/kg、相加平均値 17,315kJ/kg であった。

本調査における全試料 145 試料（河川事業に由来する 86 試料、道路事業に由来する 46 試料）の回収時の含水率の測定の結果、河川管理に由来する試料と道路管理に由来する試料の含水率は、異なる傾向を示した。河川管理に由来する試料の含水率は、最大値は 77.5%、最小値は 8.7%、相加平均値は 33.8%であった。道路管理に由来する試料の含水率は、最大値は 82.3%、最小値は 24.4%、相加平均値は 63.2%であった。除草・剪定物は、軽量の方が運搬しやすく、乾燥させた方が望ましい。しかしながら、道路管理に由来する除草・剪定物は、存置できる空間が少なく通行への支障が生じやすいことから、即日の収集が行われることが多いため、河川管理に由来する試料と比較して含水率が高かったと考えられる。草本及び木本（小枝・葉）の伐採時の含水率は、それぞれ 67-73%、58-62%程度であり [1]、草本の方が木本（小枝・葉）よりも高い傾向がある。河川管理に由来する除草・剪定物は、道路管理に由来する除草・剪定物に比べ、草本の割合が高かったが、含水率は低い傾向にあることから、回収された試料の含水率は、試料の草本及び木本（小枝・葉）の構成比よりも、除草・剪定から回収までの行程の方が影響が大きいと考えられた。

本調査における全試料 145 試料のうち、試料の回収された状況が明らかで、伐採直後に回収された試料および数日間存置させるなどして乾燥後に回収された試料の含水率の分析の結果、伐採直後に回収された試料の含水率の相加平均値は 62.5%であった。また、乾燥後回収された試料の含水率の相加平均値は 26.6%であった。

地域毎の特性を検討するため、本調査における全試料 145 試料を地域別に分類した。試料数は、北海道 33 試料、東北地方 8 試料、関東地方 22 試料、北陸地方 8 試料、中部地方 13 試料、近畿地方 9 試料、中国地方 4 試料、四国地方 38 試料、九州地方 10 試料であった。各地域の年間平均気温と試料中の窒素、炭素、水素、硫黄、酸素含有率、C/N 比、熱量およびそれらと年間平均気温との相関係数を表-2 に示した。年間平均気温は、気象庁気象統計情報の平成 19 年の各地方整備局の所在地のデータを用いた。各地域の試料の平均窒素含有率、平均炭素含有率、平均 C/N 比と年間平均気温との相関係数は、-0.89、0.73、0.83 と強い相関がみられた。

表-2. 各地域の年間平均気温と試料中の窒素、炭素、水素、硫黄、酸素含有率・C/N 比・熱量およびそれらと年間平均気温との相関係数

		北海道	東北	関東	北陸	中部	近畿	中国	四国	九州	年間平均気温との相関係数
年間平均気温	(℃)	9.4	13.1	15.4	14.4	16.6	17.6	17.0	17.3	18.0	1.00
平均窒素含有率	(%)	1.7	1.4	1.4	1.3	1.3	1.1	1.4	1.1	1.0	-0.89
平均炭素含有率	(%)	46.0	46.2	46.4	46.1	46.5	47.7	47.5	47.0	46.7	0.73
平均水素含有率	(%)	5.4	5.4	5.4	5.4	5.5	5.5	5.6	5.5	5.4	0.40
平均硫黄含有率	(%)	0.00	0.02	0.01	0.00	0.00	0.00	0.02	0.01	0.00	-0.05
平均酸素含有率	(%)	39.7	39.7	40.2	41.7	39.4	40.5	41.1	40.8	42.0	0.47
平均C/N比	(−)	29.2	35.5	37.9	38.0	37.8	44.0	35.2	45.7	46.2	0.83
平均熱量	(kJ/kg)	17213	17278	17467	17208	17412	16710	17948	17356	17442	0.14

国土交通省管轄の緑地・樹木管理から発生する除草物・剪定物のエネルギー賦存量は、式(1)より、3.1PJ/year、0.17PJ/yearであった。除草物と剪定物の合計では、3.3PJ/year (=3.3×10^{15}J/year)であった。この熱量は、A 重油 8.5×10^{7}L に相当した。A 重油の熱量は、39.1 MJ/L[2]とした。地域別の国土交通省管轄の緑地・樹木管理から発生する除草物・剪定物のエネルギー賦存量を図-2 に示した。

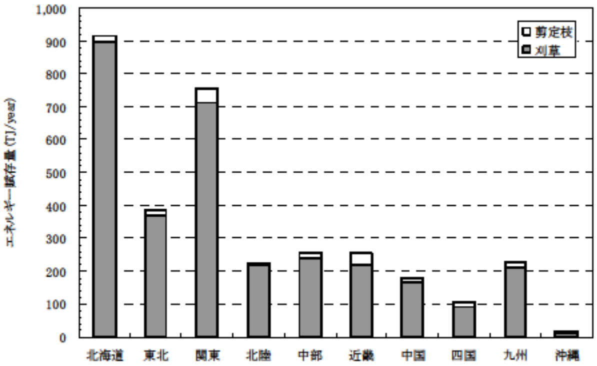


図-2. 推算された地域別の国土交通省及び内閣府沖縄総合事務局管轄の緑地・樹木管理から発生する除草物・剪定物のエネルギー賦存量

3. 2 微量有害物質の試験方法の開発

3. 2. 1 刈草等の農薬等に関する分析法の検討

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草試料 10 検体について、殺菌剤等の農薬 42 種類の含有量を、ガスクロマトグラフ一質量分析計（GC/MS）により分析した。

結果は表-3 に示す通りであり、分析法の回収率(添加回収試料検出濃度/添加濃度）は 49.5%～153.4%であり、ng/g オーダーの検出下限値が得られており、GC/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 GC/MS で分析可能な比較的親水性が低い物質であるが、全て検出下限値未満であったことから、刈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。

3. 2. 2 下水汚泥中の抗菌剤等に関する生物試験方法の検討

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、これらの物質が土壌中で生物へどのように移行するかを把握するために、シマミミズを用いた曝露試験を行った。下水汚泥より検出されることがある抗菌剤等 11 物質を 4 段階の異なる濃度（無添加、0.1mg/kg、1mg/kg、10mg/kg）で添加した人工土壌を用いて、シマミミズを 10 週間にわたり飼育して体組織中の抗菌剤等の濃度変化を調査した。人工土壌およびミミズ体組織中の抗菌剤等は、試料より超音波抽出を行い、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）を用いて分析した。

試験結果として、曝露したシマミミズ 160 検体中で死亡は 1 検体のみであったことから、個体の生死レベルをエンドポイントと考えた場合の急性毒性は見られなかった。これは、一般にシマミミズは重金属や化学物質毒性への耐性が比較的大きいとされていることに合致する結果である。

体組織への移行については、例として図-3 に日用品由来の抗菌剤トリクロカルバンの結果を示す。トリクロカルバンは人工土壌中で 10 週間残存し、ミミズ体組織へも移行して濃度が同レベルとなった。一方でメチルパラベンは、人工土壌中で速やかに分解し、ミミズ体組織中の濃度もほとんど上昇しなかった。他の物質についてもそれぞれ異なった挙動が見られ、物質特性に応じて土壌中での挙動および生物への移行の度合いが異なるものと考えられたが、高

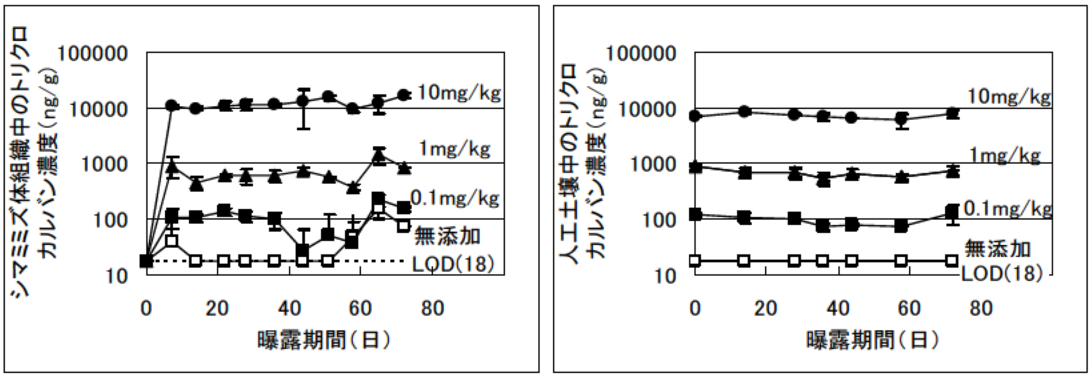


図-3. 抗菌剤等の生物曝露試験の結果(トリクロカルバンの例)

度に生物濃縮される物質はなかった。

シマミミズは入手および飼育管理が容易であり、これを用いた曝露試験は、物質特性に応じた挙動の違いを把握することが可能であることから、リサイクル資材由来の微量有害物質の土壌生物への影響把握に有効な試験方法と言える。

ただし、試験が容易とはいえ、試験生物の準備および試験の実施に相当の労力および期間を要することから、より迅速に結果が得られる方法も必要である。超音波抽出および LC/MS/MS・GC/MS 分析の場合は、より迅速に含有濃度を把握することができ、物質によってはそれがそのまま生物影響濃度と考えることができる。

従って、まずはスクリーニング試験として、LC/MS/MS・GC/MS 等による分析を行い、高濃度に検出された物質について追加検討が必要と判断した場合は、シマミミズ等を用いた生物暴露試験を実施するという、２段階の試験方法が合理的と考えられ、本研究では、その両方の手法を開発することができた。

表−3. 刈り草試料中の殺菌剤等農薬の分析結果

ID	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	54	Isoprocarb（MIPC）	殺虫剤	80	6.0	5.3	0
2	12	Fenobucarb（BPMC）	殺虫剤	89	3.7	23.4	0
3	100	Trifluralin	除草剤	95	5.2	49.1	0
4	43	Benfluralin	除草剤	78.0	5.7	34.2	0
5	66	Dimethoate	殺虫剤	116.3	5.0	15.0	0
6	63	Atrazine	除草剤	69.1	7.7	23.3	0
7	6	Diazinon oxon	殺虫剤	129.2	11.6	21.1	0
8	6	Diazinon	殺虫剤	86.6	1.0	22.0	0
9	10	Propyzamide	除草剤	86.1	6.3	65.3	0
10	50	Pyroquilon	殺菌剤	65.6	6.6	43.9	0
11	81	Disulfoton	殺虫剤	74	18.9	108.7	0
12	38	Terbucarb	除草剤	95	7.8	34.2	0
13	7	Fenitrothion oxon	殺虫剤	85.0	10.3	109.1	0
14	59	Bromobutide	除草剤	75.5	6.9	17.3	0
15	47	Alachlor	除草剤	84.8	7.2	7.9	0
16	37	Dithiopyr	除草剤	74.0	6.7	36.3	0
17	34	Metalaxyl	殺菌剤	74.0	7.0	212.8	0
18	7	Fenitrothion	殺虫剤	84.6	3.5	91.3	0
19	83	Esprocarb	除草剤	77.6	5.4	31.5	0
20	73	Malathion	殺虫剤	77.2	4.7	36.4	0
21	3	Thiobencarb	除草剤	120.9	2.6	68.3	0
22	22	Isofenphos oxon	殺虫剤	131.1	20.9	66.3	0
23	22	Isofenphos	殺虫剤	102.5	15.8	118.7	0
24	46	Methyldymron	除草剤	74.4	9.5	93.4	0
25	79	Phenthoate	殺虫剤	93.0	8.4	310.3	0
26	78	Dimepiperate	除草剤	77.1	10.3	79.9	0
27	57	Methidathion	殺虫剤	83.9	6.3	34.1	0
28	69	α-Endosulfan(I)	殺虫剤	49.5	4.9	44.5	0
29	41	Butamifos	除草剤	84.4	6.6	45.8	0
30	32	Flutolanil	殺菌剤	101.8	9.8	71.8	0
31	53	Pretilachlor	除草剤	79.3	11.3	104.7	0
32	8	Isoprothiolane	殺菌剤,殺虫剤	81.8	7.7	78.8	0
33	80	Buprofezin	殺虫剤	76.7	5.8	90.9	0
34	69	β-Endosulfan(II)	殺虫剤	72.1	8.1	196.3	0
35	49	Edifenphos(EDDP)	殺菌剤	132.9	10.2	100.0	0
36	69	Endosulfan - sulphate	殺虫剤	68.0	6.3	126.7	0
37	56	Thenylchlor	除草剤	116.2	17.1	49.6	0
38	40	Pyributycarb	除草剤	153.4	12.6	81.1	0
39	26	Iprodione	殺菌剤	112.0	8.4	369.7	0
40	88	Piperophos	除草剤	128.8	13.6	322.8	0
41	62	Anilofos	除草剤	146.1	13.1	87.8	0
42	101	Cafenstrole	除草剤	119.2	14.3	128.8	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(%)

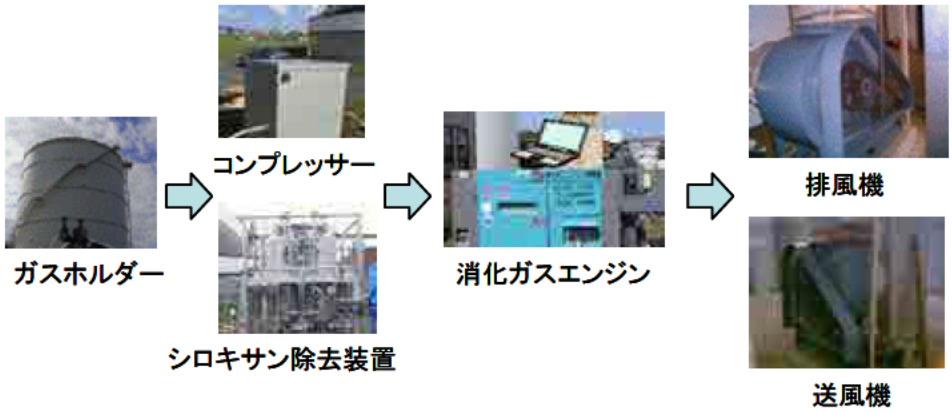


図-4. 長期連続稼動実験フロー

3. 3 資源化・利用技術

3.3.1 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」として行ったものである[3)]。平成 20 年度は、函館湾浄化センターにおいて実ガスを用いた長期連続稼動実験を行った(図-4)。

実験は CH_4 濃度 58.3 v/v-%のバイオガスを用い、10 月 9 日～11 月 19 日まで約 40 日間の連続稼動を行った。ガスは 0.4MPa で供給し、ガスエンジンで発電した電力(200v-約 10A)は浄化センター内の消化槽に設置された排風機(1.5kw)・送風機(2.2kw)の電源として使用した。実験期間中の稼働時間と日平均の供給電力・電圧・周波数の推移を図-5、6 に示す。実験期間中、電圧、周波数ともに人為的な要因を除き安定していた。11 月 19 日は気温は急激な低下し、ガス供給管内が凍結して燃料の供給が止まった結果、エンジンは停止した (図-7)。

本実験での発電効率は、改造後の最大出力約25kwに対して1.5kwと発電量が少ないため、3%程度に留まった。

また、図-8に示すように、安定時における電圧は232.3～173.1Vであり、これは「電力品質確保に係る系統連系技術要件ガイドライン」[4)]に示されている202±20Vの基準値の幅を超えており、現状では系統連系することができない。発電量の小さい本システムでは、無理に系統連系するよりも多少の電圧変動を許容する機器に直接電力供給を行うほうが望ましいことが分かった。

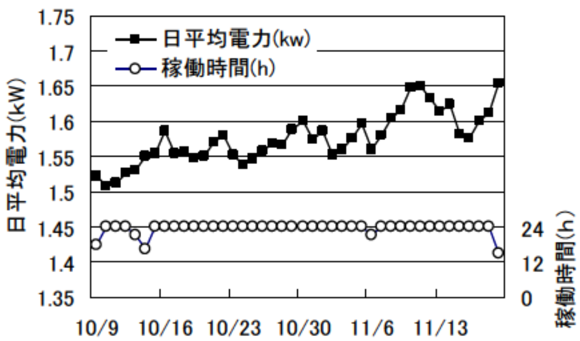


図-5. 稼働時間と日平均電力の推移

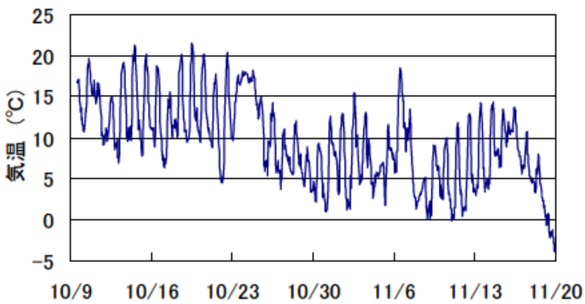


図-7. アメダスでの気温の観測結果(北斗)[5)]

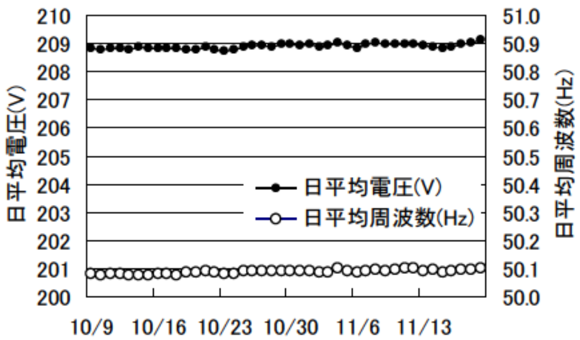


図-6. 日平均電圧と周波数の推移

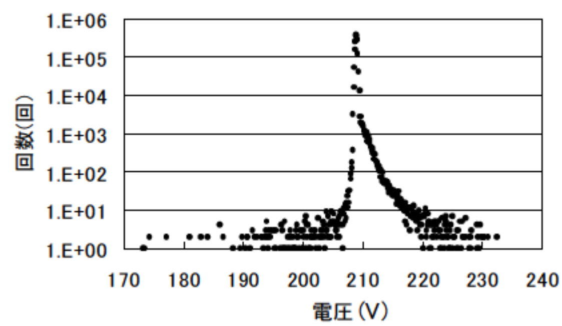


図-8. 長期連続試験で観測された電圧の頻度分布

3.3.2　緑化基盤用ピートモス代替開発品の現地適用評価

これまでに土木研究所では、東興建設株式会社、日本植生株式会社、ライト工業株式会社との共同研究により、木質系廃棄物に蒸煮爆砕処理を施すことによりピートモスの代替材料として法面緑化資材へ利用する工法（以下、「本工法」という）を開発してきた[6]。本工法を、国土交通省九州地方整備局嘉瀬川ダム工事事務所の協力を得て、道路建設工事の法面に適用し、本工法の施工性、植生基盤の耐久性、植物の生育性を調査した。

1）施工方法

調査にあたっては、裸地状態での生育基盤の耐久性を確認するため、植物が生長するまでに時間が十分と取れるよう、しばらくは発芽が少ないと考えられる10月下旬頃に施工することとした。施工場所は、道路建設工事の南西向きの勾配 1:1.2 の法面 $100m^2$ とし、金網設置後、植生基盤の吹き付けを行うこととした。吹き付け材の配合条件は、過去の実験[6]を参考に、表-4のとおりとした。蒸煮爆砕物は、嘉瀬川ダム建設工事に伴って生じたイヌシデ、シイ・カシ類、クロキ、ヤマハゼ、クヌギ、コナラ、スギ等の抜根材を破砕機で5cm程度に破砕したチップに、2.5MPaの蒸気によって3分間蒸煮後、爆砕した（写真-1参照）。種子は、嘉瀬川ダム工事事務所で既施工区の発育が良好なことを踏まえ、従来と同様、メドハギ、ヨモギ、イタドリ、ススキ、グリーピングレッドフェスクとした。吹き付けには、一般的な吹付ノズルの口径42mmの湿式吹付け機を使用した。蒸煮爆砕物、バーク堆肥、肥料、中和剤は事前に配合・梱包し現場へ搬入した。吹付厚さは5cmとした。吹き付けの際には、吹付ノズルは、原則としてその先端が、吹付面にほぼ直角になるように保持し、上部より下部へ一回仕上げとし、むらなく所定の厚さに均一に仕上げることとした。

写真-1. 蒸煮爆砕処理物

写真-2. 施工時の状況

写真-3. 施工完了時の状況

表-4. 生育基盤材の配合条件（仕上がり $1m^3$ あたり）

材料	蒸煮爆砕物	バーク堆肥	肥料	接合剤	中和剤	種子
単位	L	L	L	kg	kg	-
配合量	850	850	170	0.85	0.85	有り

2）追跡調査方法

施工後の追跡調査として生育基盤材の理化学試験および生育した植生を調査した。生育基盤材の理化学試験では、pH、水分含有率、電気伝導率、C/N比、水溶性有機酸（酢酸、プロピオン酸）、土壌硬度指数を測定した。pH、水分含有率、電気伝導率、C/N比は、肥料分析法[7]に従った。水溶性酢酸は、植生基盤材25g（湿潤重量）に超純水500mLを加え、20℃の恒温室にて120rpmで1時間浸盪し、メンブレンフィルター（孔径0.2μm）によるろ過を行い、ろ液をイオンクロマトグラフ（IC20 Ion Chromatograph、Dionex Corporation）により測定した。生育した植生については、品種、本数、高さ、緑被率を調査した。調査は、平成20年10月28日（施工直後）、平成20年11月28日（31日経過）、平成21年1月29日（92日経過）に実施した。

3）施工結果

施工時の状況および施工完了時の状況を写真-2、3に示す。吹き付け作業については、作業者によると、生育基盤材が比較的細かく均質であるため、ムラができにくく､作業性は良かったとのことであった。また、今回使用したノズル径では植生基盤材がノズルに詰まることなく作業できた。

4）追跡調査結果

生育基盤の組成の分析結果を表-5に示す。92日目の調査時には、雨天であったため、水分含有率は高かった。有機酸は、酢酸とプロピオン酸が検出された。酢酸およびプロピオン酸は､31日目には､減少していた。酢酸をはじめとする有機酸は低分子であるため、屋外においては微生物によって分解が進行する[8]ためと思われる。また、pHは、蒸煮爆砕物単独では3程度となるが、中和剤をはじめとする資材と混合した生育基盤材の吹き付け時のpHは、5.7であった。31日経過時では、ややアルカリ性となった。高濃度の有機酸や低pHは、植物の生育を阻害するが、吹き付け後、時間を経ることによって、生育に適した条件に近づいたと言える。また、本生育基盤材の物性は、未分解チップを主原料とした生育基盤材と比較して、やわらかく、保水性が高く、植物の生育に適した性質を示した。

生育基盤材の発芽密度の結果を表-6に示す。31日目の調査時には種子からの発芽が確認された。メドハギやクリーピングレッドフェスクは、31～92日目の間に凍上によって枯死したものと考えられる。

期間中の降雨によって生育基盤材が大きく流出することは無く、耐久性に問題は見られなかった。施工区では凍上が起きることもあったが、生育基盤材の外見に大きな影響は見られなかった。法面緑化は植物の生育により、法面の安定と土壌の侵食防止効果を期待しているが、植物がまばらで侵食防止効果を有するまで生長していない状態が5ヶ月程度と、比較的長期間であっても、耐侵食性を有していることが示された。

表-5. 生育基盤材の理化学性と経時変化

分析項目	単位	0日目	31日目	92日目
pH	(-)	5.7	7.7	7.5
水分含有率	(%)	58	46	68
電気電導率	(mS/cm)	3.1	0.75	0.76
C/N比	(-)	48	42	43
酢酸	(mg/L)	1690	37	42
プロピオン酸	(mg/L)	30.1	0.6	1.8

表-6. 生育基盤材の発芽密度

種	単位	0日目	31日目	92日目
メドハギ	(本/㎡)	0	10	0
ヨモギ	(本/㎡)	0	0	0
イタドリ	(本/㎡)	0	0	0
ススキ	(本/㎡)	0	0	0
クリーピングレッドフェスク	(本/㎡)	0	1	3

4. まとめ

本研究の結果、以下の知見が得られた。

バイオマスインベントリーシステム整備により、以下の成果を得た。

1) 国土交通省管轄の地域別緑地･樹木管理量および平成19年度の作業実績が明らかとなった。

2) 2日以上存置後に回収された除草物の回収時重量の相加平均値は、667(g/m^2/year)であった。また、即日回収された単位剪定量（本数又は表面積）あたりの剪定物の平均重量は、高木61.8kg/本、中低木（単独植え）10.2kg/本、中低木（寄せ植え）1.5kg/m^{2}であった。

3) 草木系バイオマス 145 試料の乾燥重量あたりの高位発熱量の相加平均値は17,315kJ/kgであった。

4) 国土交通省管轄の緑地･樹木管理から発生する除草物および剪定物のエネルギー賦存量は、3.1PJ/year、0.17PJ/yearと推算された。除草物と剪定物の合計では、3.3PJ/year (=3.3×10^{15}J/year)と推算された。この熱量は、A重油8.5×10^{7}Lに相当した。

微量有害物質の試験方法の開発により、以下の成果を得た。

1) 公共緑地管理から発生するバイオマスである刈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GC/MSによる試験方法を開発した。

2) 実試料中からは殺菌剤等農薬は検出されなかった。

3) シマミミズを用いた生物暴露試験により，バイオマスを堆肥化した場合に含まれる可能性のある微量有害物質について土壌生物への影響を考慮した試験方法を開発した。

バイオガスエンジンの開発により、以下の成果を得た。

1) 実際のバイオガスを用いた40日間のエンジン稼動実験を行い、安定稼動を確認するとともにエンジンの特性を把握した。

2)処理場内の実施設に電力供給を行ったが、人為的要因および気温低下による凍結の影響を除き安定しており、問題は発生しなかった。

3) 運転安定時における電圧の変動幅が大きいため系統連系することができない。発電量の小さい本システムでは、無理に系統連系するよりも多少の電圧変動を許容する機器に直接電力供給を行うことが望ましい。

緑化基盤用ピートモス代替開発品の現地適用評価により、以下の成果を得た。
1) 緑化基盤用ピートモス代替開発品を現地適用した。
2)生育基盤材が比較的細かく均質であるため、ムラができにくく、作業性は良好だった。
3) 生育基盤材の理化学性は、吹き付け後、時間を経ることによって、生育に適した条件に近づいた。
4) 31 日目の調査時には種子からの発芽が確認された。
5) 植物がまばらで侵食防止効果を有するまで、凍上や降雪があったが、生育基盤材に支障は見られなかった。

なお、国土交通省及び内閣府沖縄総合事務局管轄事務所の緑地・樹木の除草・剪定の実施状況調査は、国土交通省総合政策局事業総括調整官室と共同で実施した。

謝辞
バイオガスエンジンの実証実験には、北海道庁、北海道函館土木現業所、函館湾流域下水道事務組合の関係各位に協力頂いた。
緑化基盤用ピートモス代替開発品の現地適用評価の施工にあたっては、嘉瀬川ダム工事事務所より協力を得た。追跡調査にあたっては、日本植生株式会社、ライト工業株式会社より協力を得た。ここに記して、謝意を表す。

参考文献
1) 独立行政法人土木研究所、平成 19 年度下水道関係調査研究年次報告書集、土木研究所資料第 4123 号、平成 21 年 1 月
2) 経済産業省資源エネルギー庁・総合エネルギー統計検討会事務局、2005 年度以降適用する標準発熱量の検討結果と改訂値について、平成 19 年 5 月
3) 宮本豊尚、岡本誠一郎、落修一、バイオガスエンジン発電システムの開発、土木技術資料、第 51 巻、第 1 号、pp.59、2009
4) 資源エネルギー庁、電力品質確保に係る系統連系技術要件ガイドライン、平成 16 年 10 月
5) 気象庁　気象統計情報
http://www.jma.go.jp/jma/menu/report.html
6) 牧 孝憲、高橋 徳、舛田 智江、根本 健児、落 修一、木質爆砕物の法面緑化資材としての利用、土木学会論文集G、Vol. 62, No. 2、pp.220-228、2006.
7) 農林水産省農業環境技術研究所、肥料分析法（1992 年版）、財団法人日本肥料検定協会発行
8) 河田弘：バーク（樹皮）堆肥　製造・利用の理論と実際、博友社発行、1981.

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（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：岡本誠一郎、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の懸念があることから、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、溶解性の鉄およびケイ素の化学種分析法の検討を行うとともに、関東地方の都市影響河川の流域において都市雨水の水質を調査した。溶解性鉄については、ゲル浸透クロマトグラフィーで分画して誘導結合プラズマ質量分析を行う方法を採用し、鉄が特定の分子量範囲の有機物に主として結合していることを把握した。溶解性ケイ素については、高速原子衝突質量分析を行う方法を採用し、標準試料では質量スペクトルにおけるピークを把握したが、実試料の測定では、イオン交換樹脂で精製濃縮する前処理等のさらなる検討が必要であった。都市雨水中の溶解性鉄は、河川水中と同等またはそれ以上の濃度であり、鉄と結合した 1μm 未満の有機物が雨天時に多く放流先河川へ輸送されているものと考えられた。都市雨水中の溶解性ケイ素は、河川水中の半分未満の濃度であり、雨水が都市表面を流出する際のケイ素の溶出は少ないものと考えられた。
キーワード：溶解性鉄、溶解性ケイ素、シリカ、河川、都市排水、都市雨水

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、溶解性の鉄およびケイ素の化学種分析法の開発を行うとともに、関東地方の都市影響河川の流域において都市雨水の水質を調査した。

(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。

溶解性の鉄は、表流水中では主にフミン物質等の有機物と錯体を形成してコロイド状で存在すると考えられているが[4)]、フミン物質は不定形の高分子物質であり分子量も一定ではないため、溶解性鉄と結合している有機物の分子量その他の特性および生物利用性との関連性については知見が少ない。

また、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ており、$Si(OH)_4^-$の多量体であると考えられているが、その組成および生物利用性との関連については知見が少ない。

そこで、これらの不明な点を明らかにし、水生生態系への影響を把握するために調査を行った。

2．2　化学種分析法の開発

水試料中の溶解性鉄および溶解性ケイ素の化学種分析法を開発するため、次の通り検討を行った。

(1) 溶解性鉄

フミン標準物質、下水処理水試料、都市雨水試料および河川水試料について、ゲル浸透クロマトグラフィー（GPC）を行い、示差屈折率検出器（RI）および紫外分光検出器（UV）により測定するとともに、分子量分画した試料を所定の間隔で分取し、その鉄濃度を誘導結合プラズマ質量分析（ICP-MS）により測定した。

詳細な分析手順は次の通りである。

試料を孔径 0.2μm のセルロースアセテート製フィルターで加圧ろ過したものを GPC 用試料とし、ゲル浸透クロマトグラフィーShodex GPC SYSTEM-21H を用いて測定

した。

溶離液は超純水を用い、流速は0.5mL/minとした。カラムは、Shodex GPC SB-806MHQ(ポリヒドロキシメタクリレート系、排除限界分子量が 20000000、理論段数が10000)を2本連結したものを用いた。また、ガードカラムとしてShodex SB-Gを用いた。RI検出の対照区となるリファレンスカラムには、Shodex GPC SB-800MHQを2本連結したものを用いた。カラムの恒温室は40℃とし、カラム圧は20kgf/cm^{2}前後になるようにした。

カラムより流出した試料を、RI検出器およびUV検出器を通過させて測定した後に、フラクションコレクターで分取し、高周波誘導結合プラズマ質量分析計(ICP/MS、X7CCT サーモフィッシャーサイエンティフィック製)により鉄濃度を分析した。

(2) 溶解性ケイ素

最初に、溶解性ケイ素の標準試料（試薬）を用いて、高速原子衝突質量分析法（FAB-MS）により、$Si(OH)_4^-$の多量体の質量スペクトルの分析を試みた。次に、河川水試料、下水処理水試料および都市雨水試料について、イオン交換樹脂カラムを用いた固相抽出を行い、溶解性ケイ素を精製・濃縮してからFAB-MS分析を行った。FAB-MSによる溶解性ケイ素の化学種分析法は Tanaka ら[5)]により開発されたものであり、質量分析計 JEOL JMS-HX110を用いて、海水試料等を前処理なしで測定して $Si(OH)_4^-$の多量体の質量ピークを検出できていることが報告されている。

本研究において、質量分析計JEOL JMS-700Vを用いて試みたところ、溶解性ケイ素濃度が1～10mg/L程度の都市雨水試料等では、ピーク強度が小さくて目的の物質が検出できなかったことから、試料の前処理として、溶解性ケイ素の精製・濃縮を導入したものである。

イオン交換樹脂カラムを用いた固相抽出では、5 種 C ろ紙（孔径1μm相当）でろ過した試料40～80mLを次の通り3種類のカラムで処理して、溶解性ケイ素の精製・濃縮を行った。

1) 強陽イオン交換樹脂カラム（MC-1、GLサイエンス製）に通過させ、陽イオンの除去を行い、通過液を得た。

2) 弱陰イオン交換樹脂カラム（MA-2、GLサイエンス製）に通過させ、強陰イオン（Cl^-等）の除去を行い、通過液を得た。

3) 強陰イオン交換樹脂カラム（MA-1、GLサイエンス製）に通過させ、溶解性ケイ素をカラムに吸着させ、水酸化ナトリウム水溶液で溶出した。

精製・濃縮した溶解性ケイ素試料を、Tanaka ら[5)]の方法に準じて、FAB-MSにより分析した。試料の導入は、直接導入ポートより行った。ステンレス製の測定ターゲットに試料及びマトリクス（グリセリン）をよく混合して塗布し、Xe の中性原子を高速で衝突させることにより、試料中の $Si(OH)_4^-$の多量体イオンを放出させた。これを逆配置二重収束型の質量分析部へ導入し、質量スペクトルを得た。

(3) 元素分析その他

化学種分析の他に、ICP-MSにより試料全体の溶解性鉄(D-Fe)および全鉄(T-Fe)を測定し、ICP-AES（誘導結合プラズマ発光分光分析）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。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。

2. 3　調査対象試料

調査対象試料は、河川水試料、下水処理水試料および都市雨水試料とした。

(1) 河川水試料

晴天時に、霞ヶ浦流域の山王川および園部川で1回採取を行った試料を用いた。

(2) 下水処理水試料

霞ヶ浦流域下水道霞ヶ浦浄化センターの流入下水を活性汚泥法プラントで処理した二次処理水を試料とした。

(3) 都市雨水試料

鶴見川および多摩川流域の3地点で都市雨水（雨天時における都市表面からの流出水）を採取した。降雨による増水が継続している間に 1～3 時間間隔で複数回の採取を行い、各地点で複数回の降雨に対して実施した。

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

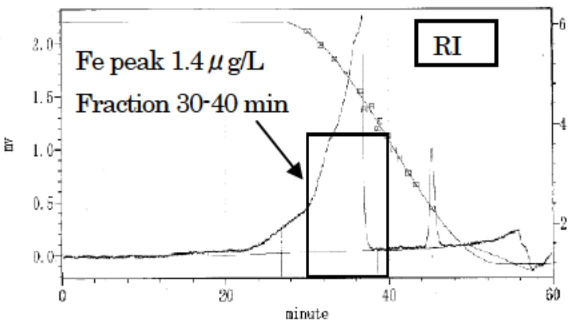
(1) 化学種の分析

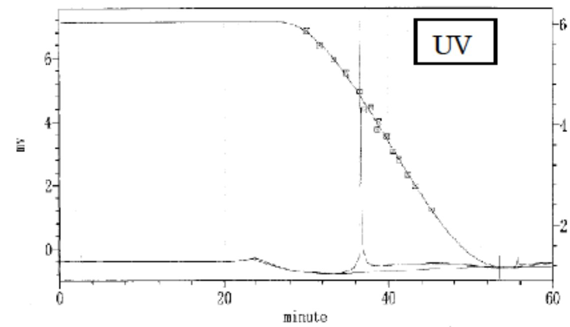
GPC測定のクロマトグラムにおいて,RIとUVのピーク位置は概ね一致していたが、都市雨水、河川水、下水処理水等の試料種類毎にピーク位置は異なっていた。

UVクロマトグラムについては、常に明瞭な1本のピークが検出された。RIクロマトグラムについては、2本のピークが検出され、試料がフミン標準物質の場合は比較的明瞭なピークが得られたが、実試料では多くの場合にピークの乱れや広がりが見られた。ピーク形状の問題は、実試料に含まれるイオンの影響など様々な要因が考えら

れるが、完全に排除することは困難であった。以下に、試料毎の特徴を述べる。

(i) フミン標準物質 (Sigma Aldrich) における測定結果を図-1 に示す。RI のクロマトグラムは 39.2min でピークが検出され、分子量 8、200 相当であった。UV でもほぼ同様であった。フミン標準物質を 10 分間隔で GPC 分画した場合の鉄濃度のピーク位置は、30～40min の分画で検出された。従って、RI および UV でピークとして検出される物質と溶解性鉄が主として結合している物質は、近い分子量範囲に存在することが分かった。しかし、各分画の TOC 濃度にほとんど差がなかったことから、RI および UV のクロマトグラムは、試料中の有機物の全体的な挙動を示しているものではないと考えられた。そして、溶解性鉄に結合している有機物は、試料の有機物全体の中の一部に過ぎないものと考えられた。





(「minute」は測定時間(min)、「mv」はピーク高さ(mv)、「Log M」は平均分子量の対数値を表す)

図-1 フミン標準物質の GPC および鉄分析結果の例

(ii) 下水処理水試料を GPC で 1 分間隔で分画した試料について、鉄濃度を分析した結果を図-2 に示す。

RI のピークが分子量 20000～22800 付近であったのに対して、鉄濃度のピークは 5900～8300 付近であったことから、RI および UV のクロマトグラムは、溶解性鉄と結合した有機物とは異なる物質を示しているものと考えられた。

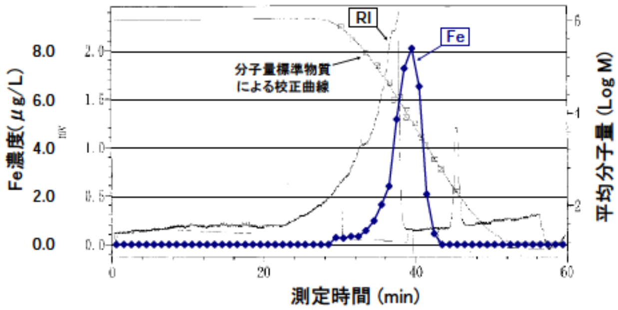


図-2 下水処理水試料の GPC および鉄分析結果の例

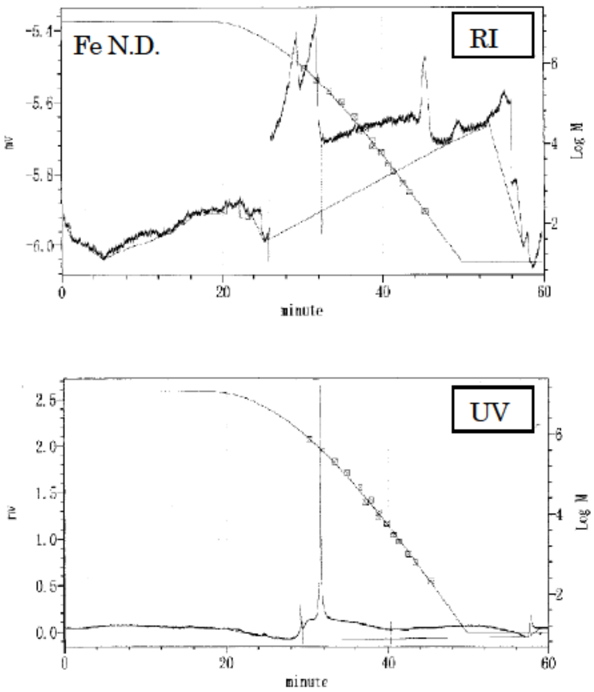
(iii) 都市雨水試料では、図-3～図-5 に示すとおり、RI のクロマトグラムに 2 本のピークが見られた。また、しばしばピークの乱れや広がりなどが生じたが、都市雨水試料は RI 検出での信号強度が低かったことが原因の一つと推測された。

一つめのピーク位置は UV のクロマトグラムのピーク位置とほとんど同じであった。RI および UV のクロマトグラムの形状は、採取地点毎に微妙に異なる特徴が見られ、同一の採取地点では異なる日時の試料でもほぼ同様のクロマトグラムが得られた。調査した 3 地点のピークの retention time および相当分子量は、32min(約 404、000)、33.8min(約 163、000)、30.8min(約 639、000)であった。

従って採取地点が異なっていても、いずれも分子量数十万程度の物質がピークとなっていることから、都市雨水という試料性状に共通する特徴と考えられた。都市雨水に溶解している物質の種類は都市や流域の特性に応じて微妙に異なっているが、ピークとして検出される主要な物質は共通しているものと推測された。

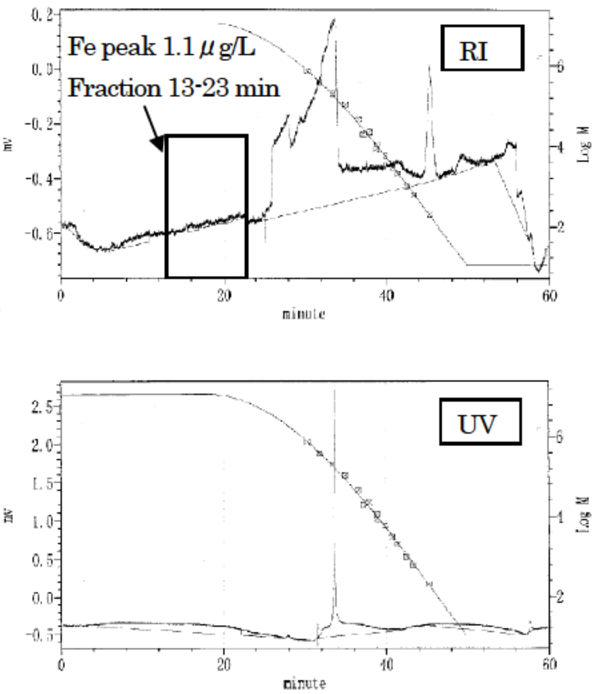
RI のピーク付近 (30～33min) の鉄濃度を把握するために、10 分間隔で 13～23min、23-33min、33-43min の 3 分画を採取して鉄濃度を測定した結果、鉄は 13～23min の分画でのみ検出され、RI および UV のピーク位置に相当する 23-33min の分画では検出されなかった。

従って、都市雨水中で溶解性鉄と結合している有機物は、RI でピークとして検出されている物質とは異なるものと考えられた。鉄が検出された分画の分子量は校正曲線の上限 788、000 以上であることから、都市雨水中の溶解性鉄は分子量が約 80 万以上の高分子の有機物に結合していると考えられた。



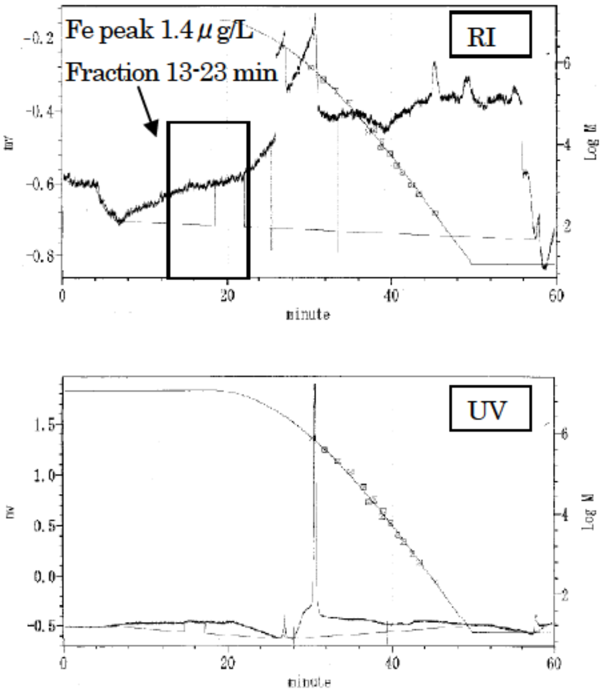
（「minute」は測定時間(min)、「mv」はピーク高さ(mv)、「Log M」は平均分子量の対数値を表す）

図-3　都市雨水試料の GPC および鉄分析結果の例（鶴見川流域の都市雨水）



（「minute」は測定時間(min)、「mv」はピーク高さ(mv)、「Log M」は平均分子量の対数値を表す）

図-4　都市雨水試料の GPC および鉄分析結果の例（多摩川流域の都市雨水 1）



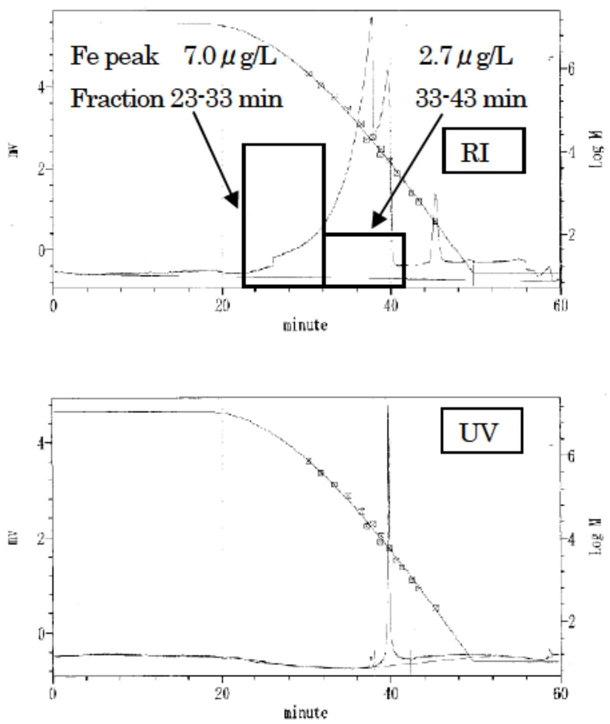
（「minute」は測定時間(min)、「mv」はピーク高さ(mv)、「Log M」は平均分子量の対数値を表す）

図-5　都市雨水試料の GPC および鉄分析結果の例（多摩川流域の都市雨水 2）

(iv) 河川水試料では、図-6 および図-7 に示すとおり、RI のクロマトグラムにしばしばピーク割れが生じたが、都市雨水試料よりは明瞭なピーク形状であり、ピーク位置は UV のクロマトグラムとほとんど同じであった。図示した 2 地点のピークの retention time および相当分子量は、39.7min(約 6、000)、37.4min(約 25、000)であった。

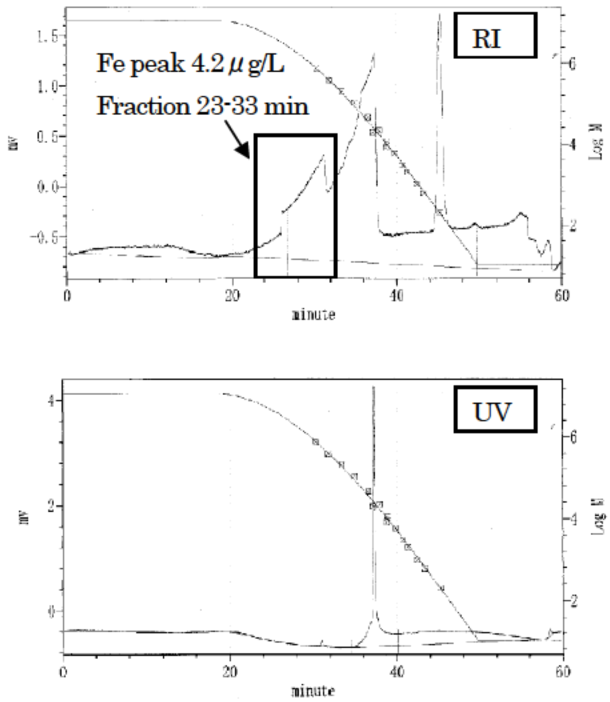
従って、河川水試料では分子量数千～数万程度の物質がピークとなっており、都市雨水試料とは性状が異なるものと考えられた。

RI のピーク付近（30～33min）の鉄濃度を把握するために、10 分間隔で 13～23min、23-33min、33-43min の 3 分画を採取して鉄濃度を測定した結果、鉄は 23～33min の分画で最も高濃度で検出され、33～43min の分画でも一部検出された。従って、RI のピーク位置よりも高分子量側で鉄濃度のピークが存在するものと考えられた。



(「minute」は測定時間(min)、「mv」はピーク高さ(mv)、「Log M」は平均分子量の対数値を表す)

図-6　河川水試料のGPCおよび鉄分析結果の例(山王川)



(「minute」は測定時間(min)、「mv」はピーク高さ(mv)、「Log M」は平均分子量の対数値を表す)

図-7　河川水試料のGPCおよび鉄分析結果の例(園部川)

これらの(i)～(iv)の結果より、都市雨水、河川水および下水処理水試料をゲル浸透クロマトグラフィーで分画した場合に、溶解性鉄はそれぞれ異なった分子量の分画においてピーク濃度が検出されることが分かった。

溶解性鉄が結合していると考えられる有機物が最も多い分子量範囲は、都市雨水中で約80万以上であり、河川水中では約20万以上、下水処理水中では数千程度であった。鉄濃度のピーク位置は、RIおよびUVのクロマトグラムのピーク位置とほとんどの場合異なっており、フミン標準物質試料においてのみ両者がほぼ一致していた。

従って、都市雨水、河川水および下水処理水中には、様々な分子量の有機物が混在しており、UVおよびRIのピークが必ずしも有機物分布を示しているとは言えないが、溶解性鉄と結合している有機物は特有の分子量範囲にピークを有していると考えられた。

今後は、都市雨水・排水の特性と溶解性鉄のピーク分子量範囲との関係性、溶解性鉄と結合している有機物の違いが生物利用性にもたらす変化について検討を進め、水生生態系への影響および対策の可能性の検討を行うことが必要である。

(2) 都市雨水中の濃度について

多摩川および鶴見川流域の都市雨水採取地点3箇所およびそれぞれ近傍の河川地点の溶解性鉄濃度の平均および標準偏差ならびに範囲は以下の通りであった。

(i)多摩川1：60.5±42.3μg/L (17.2～195) (n=17)
　報恩橋　：50.8±25.3μg/L (11.6～90.0) (n=12)
(ii)多摩川2：276±92.8μg/L (193～505) (n=10)
　日野橋　：14.5±3.8μg/L (8.7～296) (n=12)
　(平均値および標準偏差は最大値296を除いた値)
(iii)鶴見川　：66.9±15.7μg/L (45.1～81.3) (n=5)
　亀の子橋：64.7±14.7μg/L (33.8～89.2) (n=12)

従って、都市雨水中の溶解性鉄濃度は、当該流域の河川水中の濃度と比較して、同等またはそれ以上であった。

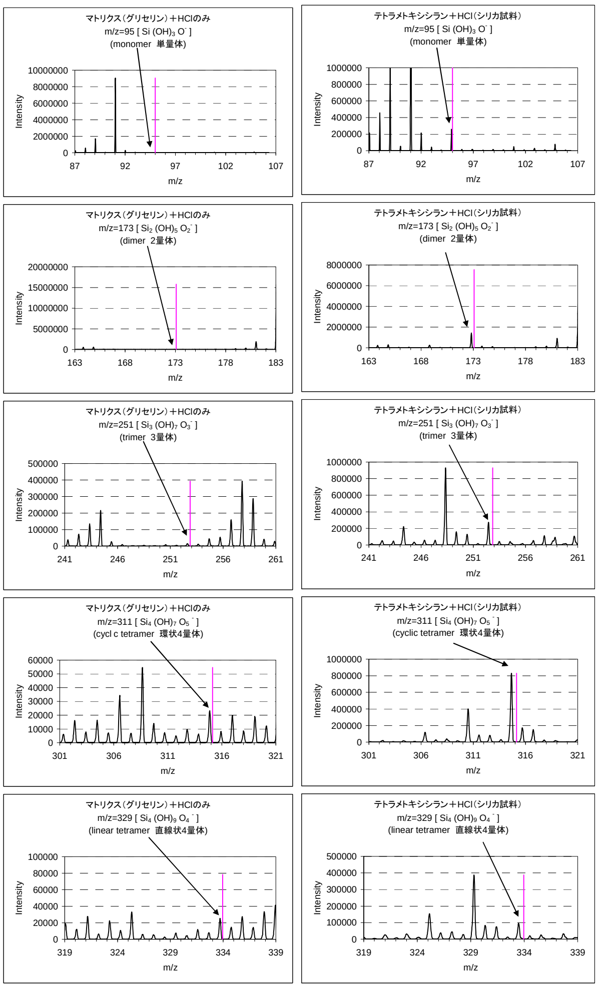
雨天時には懸濁態の物質が増加することから、完全に溶解性でなくとも5種Cのろ紙(孔径約1μm)によるろ過で溶解性と分類される1μm未満の大きさの有機物に結合した鉄が、都市雨水中に多く存在しており、雨天時に多く放流先河川へ輸送されているものと考えられた。

3.2 溶解性ケイ素について

(1) 化学種の分析について

溶解性ケイ素のFAB-MS分析について、溶解性ケイ素の標準試料の作成方法として、テトラメトキシシラン(Tetramethoxysilane、$(CH_3)_4SiO_4$)にHClを加えて

$Si(OH)_4^-$の単量体を生成させる方法[6]を用いた。テトラメトキシシランにHCl を添加して反応させ、速やかにマトリクス（グリセリン）と混合してFAB-MS（negative mode）で測定した結果を図-8 に示す。



（x 軸の m/z 値は未補正の生データを表示しているため，補正したピーク位置の図示と見かけ上ずれている）

図-8 溶解性ケイ素のFAB-MS 測定の例（標準試料）

マトリクスにHCl のみを添加したブランク試料での質量スペクトル（図-8 の左側）とシリカ試料（溶解性ケイ素試料）での質量スペクトル（図-8 の右側）を比較すると、$Si(OH)_4^-$の単量体（m/z =95）、2 量体（m/z=173）、3 量体（m/z=251）および環状4 量体（m/z=311）について、シリカ試料由来と考えられる明確なピークが検出された。なお、これ以外に、マトリクスのみを分析した場合や、HCl を添加しないでテトラメトキシシランのみをマトリクスと混合して分析した場合でも、いずれも該当するピークは得られなかった。従って、テトラメトキシシランにHCl を添加して生成された$Si(OH)_4^-$の単量体が、複数結合して多量体も形成し、FAB-MS であわせて検出されたものと考えられた。一方で、直線状4 量体（m/z=329）については、ブランク試料とシリカ試料で明確な差異が見られなかったが、生成量が少なかったのか、生成されたが検出されにくかったのかは不明であった。

以上より、FAB-MS で$Si(OH)_4^-$の単量体および多量体を検出できることが、溶解性ケイ素の標準試料を用いて確認できた。

次に、河川水試料、都市雨水試料等について、イオン交換樹脂による前処理を用いたFAB-MS 分析法を検討した。

前処理を行わない場合の分析結果では、質量スペクトルのピーク強度が小さく、目的ピークの検出が困難であった。FAB-MS 分析では、分析種は少なくとも0.1mg/mL の濃度で溶媒またはマトリクスに溶解することが望ましく、マトリクス中濃度で0.1～3μg/μL 程度が理想的とされており[7]、都市雨水試料では溶解性ケイ素濃度が1～10mg/L 程度であり、河川水試料でも5～14mg/L 程度であることから、前処理なしではマトリクス中濃度が低すぎるために、ピークがうまく得られないものと考えられた。

前処理を行って、$Si(OH)_4^-$多量体以外のイオンをできるだけ除外して精製し、$Si(OH)_4^-$多量体を約30 倍に濃縮する操作を行った場合は、陽イオン（Na^+、Mg^+、Ca^+等）および陰イオンCl^-、NO_3^{2-}、SO_4^{3-}等）が除去されていることがイオンクロマトグラフ測定の結果より確認できており、また、溶解性ケイ素が高濃度に濃縮されていたことから、前処理としての目的は達成できていた。

しかし、前処理後の試料をFAB-MS 測定した結果、得られた質量スペクトルのピークのほとんどは、ミリQ水（超純水）を前処理したブランク試料あるいはNaOH 水溶液（前処理の最終段階で使用）をFAB-MS 測定した場合と同様であった。よって、これらのピークには、前処理のイオン交換樹脂からの溶出等によるもの、または、添加したNaOH 由来のものが含まれていると考えられ、本来の目的である$Si(OH)_4^-$多量体のピークが仮に同じ位置に検出されていたとしても、分別は困難と考えられた。

本来、水環境中の溶解性ケイ素の化学種組成をありのままに把握するためには、できるだけ前処理を行わずに測定することが望ましいが、濃度の低さ等により目的ピークが検出できなかったため、前処理として精製・濃縮を行う方法を採用したものである。蒸発濃縮等により濃縮のみを行うことも考えられるが、共存している陽イオン、陰イオン等も同様に濃縮されてしまい目的ピークの

検出を妨害する可能性が高いため、イオン交換樹脂による精製もあわせて行ったものである。

しかしながら、現状の前処理法とFAB-MS測定を組み合わせても、実試料中の目的のピークを検出できておらず、さらなる改良が必要と考えられた。

前処理法では他イオンの排除および溶解性ケイ素の濃縮ができており、FAB-MS測定も溶解性ケイ素の標準試料ではできていることから、今後は両手法をうまく組み合わせて目的のピークを得るための検討を行うこととする。

(2) 都市雨水中の濃度について

多摩川および鶴見川流域の都市雨水採取地点3箇所およびそれぞれ近傍の河川地点の溶解性ケイ素濃度の平均および標準偏差ならびに範囲は以下の通りであった。

(i)多摩川1：4.1±1.8μg/L (2.1～9.6) (n=17)
報恩橋　：11.5±2.0μg/L (7.1～13.7) (n=12)
(ii)多摩川2：1.7±0.2μg/L (1.4～2.1) (n=10)
日野橋　：7.2±0.6μg/L (6.2～8.6) (n=12)
(iii)鶴見川　：4.3±1.5μg/L (3.1～6.1) (n=5)
亀の子橋：11.1±2.4μg/L (4.9～13.0) (n=12)

従って、都市雨水中の溶解性ケイ素濃度は、当該流域の河川水中の濃度と比較して半分未満であった。

雨水中に元から含まれる溶解性ケイ素は微量であると考えられ、雨水が都市表面を流出する際にケイ素があまり溶け込まないために低濃度となっていると考えられた。

4. まとめ

(1) 溶解性鉄について、ゲル浸透クロマトグラフィーで分画して誘導結合プラズマ質量分析を行う方法を採用し、鉄が特定の分子量範囲の有機物に主として結合していることを把握した。

(2) 溶解性ケイ素について、高速原子衝突質量分析を行う方法を採用し、標準試料では質量スペクトルにおけるピークを把握したが、実試料の測定については、イオン交換樹脂で精製濃縮する前処理法等について、さらに改良が必要と考えられた。

(3) 都市雨水中の溶解性鉄は、河川水中と同等またはそれ以上の濃度であり、鉄と結合した1μm未満の有機物が雨天時に多く放流先河川へ輸送されているものと考えられた。

(4) 都市雨水中の溶解性ケイ素は、河川水中の半分未満の濃度であり、雨水が都市表面を流出する際のケイ素の溶出は少ないものと考えられた。

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、pp.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

5) Tanaka and Takahashi: The Identification of Chemical Species of Silica in Sodium Hydroxide, Potassium Hydroxide and Sodium Chloride Solutions by FAB-MS, Analytical Sciences, 1999, 15(12), pp.1241-1250.

6) Nicole Poulsen et al.:Biosilica formation in diatoms: Characterization of native silaffin-2 and its role in silica morphogenesis, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2003, 100(21), pp.12075-12080.

7) J. H. Gross：マススペクトロメトリー、日本質量分析学会出版委員会訳、2007、p.442、シュプリンガー・ジャパン

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：岡本誠一郎、諏訪守、桜井健介

【要旨】

20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、陰電荷膜法による検出濃度の向上を目的に、$MgCl_2$の添加終濃度を変動させウイルス検出濃度に及ぼす影響を評価した。また、試料中のノロウイルス濃度の違いがPCR実測値に及ぼす影響を評価した。さらに、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、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塩素消毒実験を行い、消毒耐性と遺伝子量の変動割合を評価した。

その結果、陰電荷膜による濃縮法においては試料中に$MgCl_2$を添加することで無添加と比較して検出濃度は若干向上したが、終濃度が2.5mM～25mMの範囲内において検出濃度に大きな違いはなく、検出濃度を向上させることができなかった。ウイルス濃度が異なる下水･河川水試料を用いて多重測定を行いPCR実測値に及ぼす影響を評価したが、低濃度域におけるPCR実測値の変動係数（相対標準偏差）は高濃度域に比較して大きくなることから、検出効率の高い濃縮法を選択する必要があると考えられた。塩素消毒によりネコカリシウイルスを3log不活化するために必要なCt値は 40mg･min/L 程度であった。下水試料から分離したノロウイルスを塩素消毒することにより、リアルタイムRT-PCR法による定量値に若干の減少傾向が示され、Ct値と遺伝子の減少量には弱い相関関係が見られた。

キーワード：ノロウイルス、リアルタイムRT－PCR法、多重測定、塩素、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。20年度はノロウイルスを対象とし以下の研究を行った。

1）陰電荷膜法による$MgCl_2$の添加終濃度が検出濃度に及ぼす影響
2）ノロウイルス濃度が異なる試料の多重測定によるPCR実測値の安定性評価
3）代替指標やノロウイルスを利用した塩素消毒による不活化･遺伝子減少量の評価

2．研究目的

2．1 陰電荷膜法による$MgCl_2$の添加終濃度が検出濃度に及ぼす影響

水試料中のノロウイルスをリアルタイムRT-PCR法により定量するためのウイルス濃縮法には、ポリエチレングリコール沈殿法（PEG沈殿法）や陰電荷膜法などがあるが、同一試料を用いた測定では、陰電荷膜法はPEG沈殿法に比較して検出濃度が低くなる結果が得られている[1]。一方、試料中のウイルス濃度が極めて低い場合や清浄な試料を濃縮する際には、濃縮水量を多くする必要があり、操作性の観点から陰電荷膜法の利用を余儀なくされることも想定される。大腸菌ファージを利用した陰電

荷膜法による回収率の評価例では、膜へのファージ吸着率が95%以上との報告[2]もあり、膜からの誘出効率を向上させることで検出濃度が高まる可能性がある。陰電荷膜法は試料中へ$MgCl_2$などの陽イオンを添加することで膜へのウイルス吸着を促進させるため、陰電荷膜法の検出濃度の改善を目的として試料中に添加する$MgCl_2$濃度を変動させ、その影響を評価した。$MgCl_2$終濃度が低ければ膜へのウイルス吸着力が弱くなるが、膜からウイルスを誘出しやすく、終濃度が高ければ膜へのウイルス吸着力が強くなる分、誘出しにくくなることが想定されたためである。

２．２ ノロウイルス濃度が異なる試料の多重測定によるPCR実測値の安定性評価

リアルタイムRT-PCR法によるノロウイルスの定量では、コントロールDNAを検量線として利用することで試料中のウイルス濃度の算定を行う。コントロールDNAによる検量線の評価では、低濃度域における定量値のバラツキが若干大きくなる可能性が指摘[2]されており、非流行期における試料や高度処理水を測定対象とした場合、定量値へ及ぼす影響が大きくなると考えられる。このため、ノロウイルス濃度の異なる実下水・河川水を用いて、多重測定を行い定量値へ及ぼす影響を評価した。

２．３ 塩素消毒実験による不活化評価

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の塩素消毒実験を行い、リアルタイムRT－PCR法によりその遺伝子量の変動割合を把握した。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、塩素消毒実験による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陰電荷膜法による$MgCl_2$の添加終濃度が検出濃度に及ぼす影響

本実験では、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162mg/L、処理水は0.48mg/Lであった。陰電荷膜法[5]による濃縮は、試料に250mM～2.5Mの$MgCl_2$を終濃度が2.5mM～25mMになるよう添加攪拌し、HA膜（公称孔径0.45μm、90mm）で試料をろ過した。0.5mMの$H_2SO_4$200mLで酸洗浄し、1.0mMのNaOH 10mLをろ過してウイルスを誘出回収した。誘出液を50×TEバッファー200μLと100mMの$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。なお、陰電荷膜へのSS負荷量の違いは検出濃度に影響を及ぼすことから、全てのケースで1mg-SS/膜に統一した。

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。精製RNA量はSpectrophotometer（NanoDrop社製）により定量した。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」[6]に準じた。リアルタイムPCR反応のための試薬はQuantiTect Probe PCR Kit（QIAGEN社）を用い、リアルタイムPCR装置はLightCycler（ロシュ・ダイアグノスティックス社）を使用した。

３．２ ノロウイルス濃度が異なる試料の多重測定によるPCR実測値の安定性評価

実験ではB下水処理場の流入下水と処理水、その放流先河川のC河川水、さらにD下水処理場の流入下水と放流先河川のE河川水を用いて、各試料はPEG沈殿法で濃縮を行った。これらの試料は、濃度測定を行った際に1tubeあたりPCRの実測値が不検出～2000コピー程度と検出濃度が広範囲に及んでいるため、実験の対象試料として影響評価に用いた。PEG沈殿法の濃縮では試料中

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。ウイルス遺伝子抽出カラムへのウイルス濃縮液の通水量は、試料の濃縮水量とSS濃度からSS負荷量を算出し、SS負荷量が0.05mg-SS/カラムになるよう統一した上でウイルス遺伝子の抽出を行った。抽出･精製の後、逆転写反応を行いリアルタイムRT-PCR法により定量した。

実験に使用した流入下水のSS濃度は､160～220mg/L､処理水は0.8～2.7mg/L､河川水では5.7～15mg/Lであった。

３．３ 塩素消毒実験による不活化評価

不活化の評価では、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、ウイルス増殖液を限外ろ過膜により濃縮･精製した。精製した濃縮液を蔗糖液に重層して超高速遠心処理（141,000×G､3時間）にて形成されたウイルスバンドを回収して実験に供した。このウイルス精製液に次亜塩素酸ナトリウムを添加し、不活化評価を行った。不活化実験は次亜塩素酸ナトリウムを高濃度添加として10～200mg/Lと低濃度添加として1～10 mg/Lの2ケースで行った。接触時間は高濃度添加ケースで15～30秒、低濃度添加ケースでは15分間とし、各々混合接触させた後、チオ硫酸ナトリウムにて中和を行った。中和した試料はりん酸緩衝生理食塩水により10倍段階希釈し、CRFK細胞に各希釈ウイルス液を100μL接種、0.7%寒天細胞維持培地を添加し37℃にて炭酸ガスフラン器で培養を行った。72時間後、0.1%クリスタルバイオレット10%ホルマリン溶液で固定染色し、プラーク数を計測した。

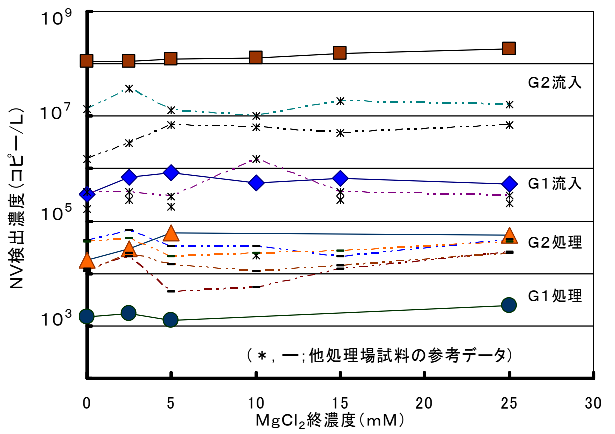
実下水中のノロウイルスを用いた実験では、消毒対象試料中の有機物やSS濃度が塩素消毒効果に及ぼす影響を極力回避するため、陰電荷膜法により濃縮試料を作成した。流入下水から陰電荷膜法により濃縮･分離したノロウイルスに次亜塩素酸ナトリウムを3～10mg/L添加し、15分間混合接触させた後、チオ硫酸ナトリウムにて中和を行った。中和した試料は、ウイルス遺伝子を抽出･精製の後、逆転写反応を行いリアルタイムRT-PCR法により定量した。

４．研究結果と考察

４．１陰電荷膜法による$MgCl_2$の添加終濃度が検出濃度に及ぼす影響

陰電荷膜法による$MgCl_2$の添加終濃度の違いが検出濃度に及ぼす検討結果を図－1に示す。流入下水、処理水とも無添加のケースと比較して$MgCl_2$を添加することで検出濃度は向上した。参考に他下水処理場試料のデータも併せて記載したが、終濃度が2.5mMと25mMで検出濃度が最大となるケースが多く見られた。既報の陰電荷膜法[5)]による濃縮では終濃度が25mMであるため、終濃度をそれよりも低くし、ウイルス誘出効率が高まることを期待したが、本実験の範囲内である2.5mM～25mMにおいて検出濃度の大幅な向上は見込めないものと考えられた。

試料中のウイルス濃度が極めて低い場合や清浄な試料を濃縮する際には陰電荷膜法が一般的に用いられるが、検出濃度が低くなるため、誘出効率改善のための影響因子を解明しPEG沈殿法による検出濃度に近づける課題があるものと考えられた。



図－1 $MgCl_2$添加終濃度がNV検出濃度に及ぼす影響

４．２ ノロウイルス濃度が異なる試料の多重測定によるPCR実測値の安定性評価

多重測定によるPCR実測値の安定性評価では､B下水処理場の流入下水と処理水､その放流先河川のC河川水､さらにD下水処理場の流入下水と放流先河川であるE河川水の各濃縮試料を用いた。1濃縮試料あたり約20回の同時測定を実施したが、異常値と推定される値については、Grubbsの方法[7)]により棄却検定を行った。評価結果を表－1および図－2に示す。当初のPCR実測値が不検出であった河川水は多重測定を行っても不検出であった。各試料とも当初のPCR実測値と多重測定による平均値はほぼ一致した値となったが、その平均値と変動係数には強い相関関係が見られ、10コピー以下の実測値では

表－1　PCR実測値の安定性評価

	当初のPCR実測値（コピー／tube）	多重測定の実測値範囲と平均値（コピー／tube）			標準偏差	変動係数（%）
C河川水	0	0		(n＝19)	－	－
E河川水	0	0		(n＝19)	－	－
E河川水	4.05	0-7.41	(2.00)	(n＝20)	2.35	118
C河川水	17.1	8.62-43.4	(25.8)	(n＝20)	11.3	44
B流入下水	182	90.3-248	(178)	(n＝20)	34.4	19
B流入下水	661	429-793	(561)	(n＝18)	108	19
B処理水	36.5	14.8-55.0	(33.5)	(n＝19)	10.1	30
B砂ろ過処理水	2.86	0-9.73	(2.15)	(n＝20)	3.68	171
D流入下水	207	155-312	(212)	(n＝20)	40.6	19
D流入下水	2,133	1,745-2,679	(2200)	(n＝20)	250	11

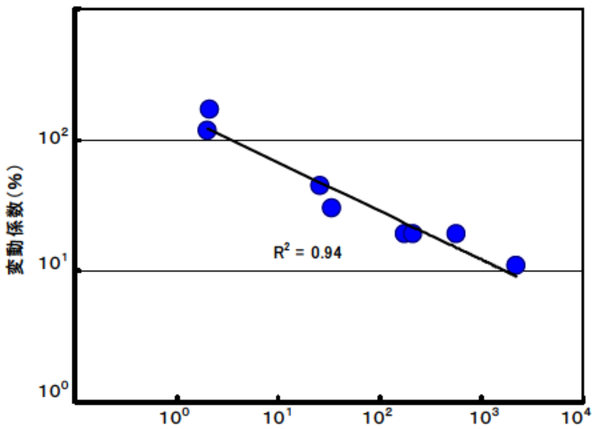


図-2　PCR実測値の平均値と変動係数の関係

変動係数は100%を超えたが、高濃度域では10%程度となった。また、当初のPCR実測値が3～4コピーであった試料の多重測定結果では、20個のデータの内10～13個が不検出であったことから、極低濃度域試料を測定する場合には、陰性（検出限界値以下）と評価される可能性が高くなると考えられた。

過去に土木研究所が測定を行った試料[8)]のPCRの実測値について整理したものを図－3に示す。同一試料をPEG沈殿法と陰電荷膜法で濃縮を行い、そのPCRの実測値を比較したものである。PEG沈殿法ではウイルス遺伝子抽出カラムへのSS負荷量を0.05、0.1mgとし、それに対応する陰電荷膜法では膜へのSS負荷量を0.5、1.0mgとした。複数の下水処理場の流入下水、処理水、さらに河川水の測定結果であるが、全体的に、陰電荷膜法に比較してPEG沈殿法の実測値が高い傾向を示している。特に、陰電荷膜法での実測値が不検出（10^{-1}上のプロット）の試料でもPEG沈殿法ではそれら多数の試料で実測値が得られている。また、陰電荷膜法によるG1型の実測値で10^0～10^1コピー/tubeの試料において、PEG沈殿法ではその多くが10^1～10^2コピー/tubeであった。

濃縮試料中のウイルス濃度の違いにより測定精度が大きく左右される可能性のあることが明らかとなった。このため、リアルタイムRT-PCR法によりノロウイルスを定量する上でPCRの実測値を極力高めることは、測定精度の向上に資すると考えられることから、ウイルスの検出効率の高い濃縮法の適用や、PCR実測値が低濃度と想定される試料の測定では多重測定を実施することで、より実態に近い定量値を得る必要があるものと考えられた。

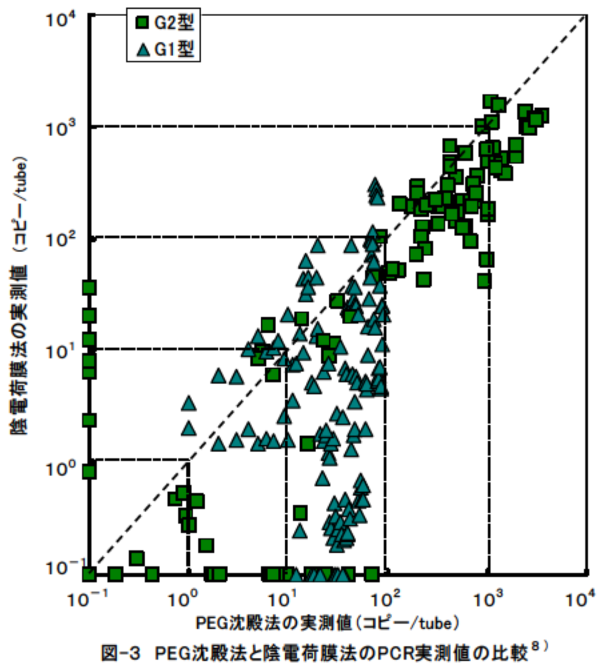
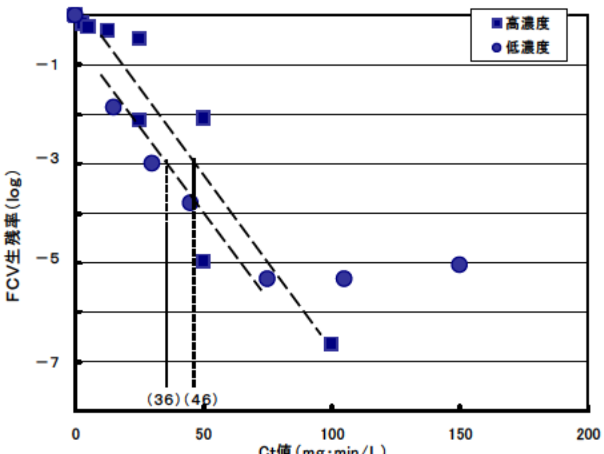


図-3　PEG沈殿法と陰電荷膜法のPCR実測値の比較[8)]

4．3 塩素消毒実験による不活化評価

塩素消毒の実験結果を図－4、5 に示す。ネコカリシウイルスを 3log 不活化させるための Ct 値は、低･高濃度の添加ケースにおいて 36～46mg･min/L 必要であった。両ケースでは、Ct 値とウイルス生残率の関係において回帰直線の傾きはほぼ同一であり、3log の生残率に対する Ct 値に若干の違いはあるが、低･高濃度域における不活化効果に大差はないと考えられた。



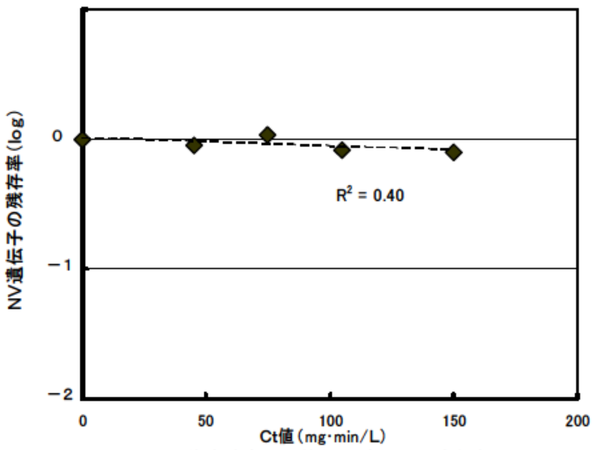
図－4　塩素消毒のCt値とFCVの生残率

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 による遺伝子量の変動の推移を示した。Ct 値の範囲を 45～150mg･min/L とした実験ケースにおいて、ウイルス遺伝子の最大減少量は 20%程度であったが Ct 値と遺伝子の減少量には弱い相関関係が見られた。

紫外線照射によるウイルス遺伝子量の減少割合を 19 年度に把握したが、照射量と遺伝子量の減少割合にも弱い相関関係が見られた。

一方、下水処理場における消毒レベルは塩素消毒では平均で 40mg･min/L 程度、紫外線量の平均は 40mJ/cm^2 である[9) 10)]。一概に比較はできないが、これらの消毒レベルを消毒実験結果にあてはめた場合の遺伝子減少量は紫外線消毒で約 50%、塩素消毒では約 10%となり、消毒方式が異なることにより、遺伝子減少量に違いが見られた。紫外線照射ではウイルス遺伝子へ直接影響を及ぼすが、塩素消毒では薬剤が直接に遺伝子ではなく、ウイルス表面のタンパク質へ作用すると推定されるため、遺伝子の減少量に明確な違いが現れるものと考えられた。

Ct 値が 40mg･min/L 程度の塩素消毒によりネコカリシウイルスは 3log の不活化効果が得られており、同じカリシウイルス科に属するノロウイルスは形態や遺伝子の構造がネコカリシウイルスと類似していることや、マウスノロウイルスを用いた塩素消毒による不活化評価結果もあり[11)]、同様の不活化効果があると推定される。しかし、データ数や実験対象としたウイルス種も限られたものであるため、今後、更なる詳細な検証が必要である。このため、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、塩素消毒によるウイルス遺伝子量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、下水処理場において塩素、紫外線消毒に次いで導入事例[10)]の多いオゾン消毒などに関しても検討を加える必要がある。



図－5　塩素消毒のCt値とNV遺伝子の残存率

5．まとめ

20 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、陰電荷膜法による検出濃度の向上を目的に、$MgCl_2$ の添加終濃度を変動させウイルス検出濃度に及ぼす影響を評価した。また、試料中のノロウイルス濃度の違いが PCR 実測値の精度に及ぼす影響を評価した。さらに、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、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塩素消毒実験を行い、消毒耐性と遺伝子量の変動割合を評価した。以下に得られた結果を示す。

1）$MgCl_2$ の添加濃度を変動させ陰電荷膜法による検出濃度を評価したが、検討の範囲内において検出濃度の大幅な向上は見込めなかった。

2) PCR 実測値の濃度レベルが低いと、ウイルスの定量精度に及ぼす影響が大きくなる可能性が示された。

3) PCR 実測値が低濃度と想定される試料の測定では、多重測定を実施することで、より実態に近い定量値を得る必要があるものと考えられた。

4) 塩素消毒によりネコカリシウイルスを 3log 不活化するために必要なCt値は40mg･min/L程度であった。

5) 下水試料から分離したノロウイルスを塩素消毒することで、リアルタイム RT－PCR 法による定量値に若干の減少傾向が示され、Ct 値と遺伝子の減少量には弱い相関関係が見られた。

参考文献

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

2) 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.

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) Hiroyuki Katayama, Eiji Haramoto 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.

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

7) 藤森利美著、分析技術者のための統計的方法、第 2 版･改訂増補、（社）日本環境測定分析協会.

8) 土木研究所、未公表資料.

9) 平成 16 年度版下水道統計（2006）（社）日本下水道協会.

10) 平成 17 年度版下水道統計（2007）（社）日本下水道協会.

11) 北島正章、松原康一、他（2008）上水道の塩素消毒におけるマウスノロウイルスの感染力価および遺伝子数の消長、第 42 回日本水環境学会年会講演集、（社）日本水環境学会.

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 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：岡本誠一郎、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。下水生汚泥と食品廃棄物を混合発酵して、発酵廃水と下水一次処理水を UASB で共同嫌気処理する効率的な処理技術を開発した。また、実下水が流入する UASB-DHS システムにおいて、UASB に保持している汚泥を小型の中温嫌気性消化槽との間で循環させることにより、気温低下時においてもメタン発酵の維持および汚泥発生量の抑制が可能であり、処理水質への悪影響はなかった。
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す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することにより、資源・エネルギー回収を行い、その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　発酵廃水・下水混合液の嫌気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のため、UASB 法（Upflow Anaerobic Sludge Blanket、上向流嫌気性汚泥床法）を用いて、無加温で嫌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。

2.1.1 下水生汚泥・食品廃棄物の混合発酵および発酵廃水・下水一次処理水の共同嫌気処理実験

流入下水を最初沈殿池で一次処理し、発生した下水生汚泥に食品廃棄物を添加して嫌気性消化槽で混合発酵を行い、消化汚泥を脱水汚泥と発酵廃水に分離して、発酵廃水と下水一次処理水を UASB で共同嫌気処理する技術の開発を行った。

下水生汚泥・食品廃棄物の混合発酵の特性を把握するとともに、その発酵廃水と下水一次処理水の共同嫌気処理の特性を把握するために、嫌気性消化槽（容量約 4L）および UASB（容量約 16L）を組み合わせた実験装置を温度制御条件下（消化槽：35℃、UASB：20℃）で連続運転した。装置の概要は図-1 に示すとおりである。

嫌気性消化槽に投入する基質として、実下水の生汚泥を沈降濃縮させた汚泥および家庭厨芥を模擬して既報[2)]を参考に調製した食品廃棄物の混合スラリーを用いた。食品廃棄物の組成は、湿重ベースで、果物の皮 30%（リンゴ・グレープフルーツ・バナナを各 10%）、野菜 36%（にんじん・キャベツを各 18%）、炭水化物 20%（うどん・パンを各 5%、米飯を 10%）、タンパク質等 14%（魚の骨皮・豚肉を各 7%）として、ミキサーで混合した。

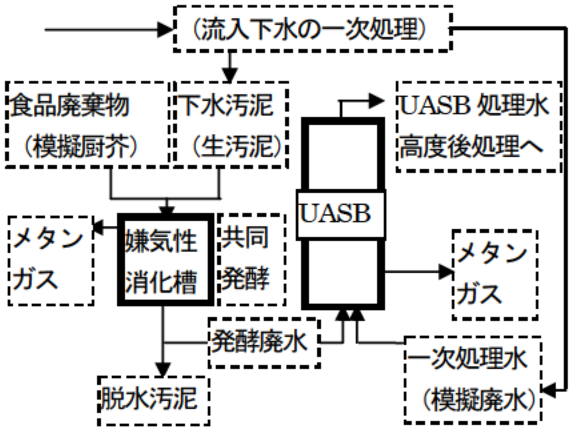


図-1　下水生汚泥・食品廃棄物の混合発酵および発酵廃水・下水一次処理水の共同嫌気処理の実験装置の概要

この下水生汚泥と食品廃棄物の混合スラリーを、嫌気性消化槽に1日1回0.2L供給した。供給量と等量の消化汚泥を供給前に引き抜く運転方法により、嫌気性消化槽をSRT20日で運転した。実験開始時の1～28日目(Run 1)は嫌気性消化槽に下水生汚泥のみを供給して運転を行い、嫌気性消化が安定してから、食品廃棄物の添加率を、29～63日目(Run 2)は25%、64～91日目(Run 3)は50%、92～119日目(Run 4)は100%、120～154日目(Run 5)は75%と段階的に変化させた。155～217日目(Run 6)は、75%のままで、嫌気性消化槽を2基にして発酵廃水量を2倍に増やした。

嫌気性消化槽より引き抜いた消化汚泥は、遠心分離により発酵残さ（脱水汚泥）と発酵廃水（脱水ろ液）に分離した。この発酵廃水と下水一次処理水（模擬廃水）を所定の比率で混合して、UASBへ流入させた。

UASBは、下水汚泥の嫌気性消化汚泥を種汚泥として予備運転を開始して、安定後にHRT12hで実験した。

2.1.2 嫌気処理におけるエネルギー回収効率の向上実験

エネルギー回収の向上およびUASB汚泥発生量の制御に関する検討のため、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」(共同研究者：三機工業（株）、（株）荏原製作所、（財）造水促進センター)により、UASBとDHS(Downflow Hanging Sponge、下降流懸架式スポンジ反応器）からなるUASB-DHSシステム[3]と嫌気性消化槽を組み合わせた実験プラント（UASB容量約230L、DHSスポンジ容量約65L、嫌気性消化槽容量はUASBの20%の約46L）を下水処理場に設置し、UASBに実下水460L/d（HRT12時間）を流入させて温度制御なし（流入水温は14.4℃～23.2℃で平均17.9℃）で運転した。実験プラントの概要は図-2に示すとおりである。

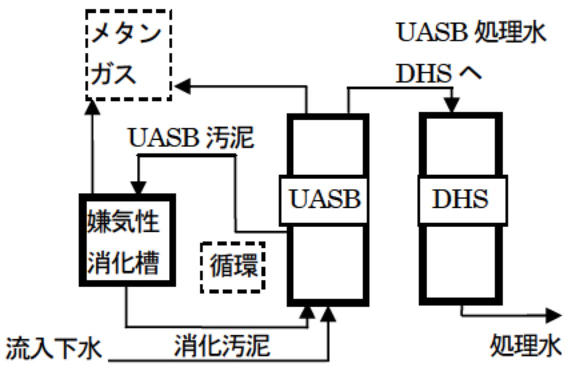


図-2　嫌気処理におけるエネルギー回収効率の向上の実験装置の概要

UASBと嫌気性消化槽の間で汚泥を2.3L/dで1日1回循環させる運転条件で（UASBの流入水量に対する汚泥循環率0.5%、嫌気性消化槽のSRT20日)、1～35日目（Run 0）の予備運転後に、36～109日目（Run 1）の運転を行い、110日目以降（Run 2）は循環量を2倍の4.6L/d(UASB汚泥循環率1.0%、嫌気性消化槽SRT10日）として141日目まで運転した。

2.1.3 分析

実験装置より必要な汚泥・水・ガス試料を週に1回程度採取して、温度、pH、BOD、CODcr、TS、VS、SS、VSS、N・P、ガス量およびCH_4濃度等の分析を、下水試験方法に則って行った。

2. 2　嫌気処理水の高度後処理の基礎技術の開発

2.2.1 方法

嫌気処理水の高度後処理を、嫌気処理と組み合わせて導入する際の適用性について、小規模下水処理場を念頭にケーススタディとして検討を行った。

平均気温が高い九州・沖縄地方の下水処理場の維持管理費に占める汚泥処理費および燃料費の割合を下水道統計[4]により算出し、UASB-DHSでの年費用削減率を試算した。また、UASB-DHSの導入に際して、汚泥発生量およびエネルギー消費量の高度な抑制のために建設コストを増加することが可能か検討した。

3. 結果および考察

3. 1　発酵廃水・下水混合液の嫌気処理の基礎技術の開発

UASBを用いて、無加温で嫌気処理を行う技術について検討した結果を以下に示す。

3.1.1 下水生汚泥・食品廃棄物の混合発酵および発酵廃水・下水一次処理水の共同嫌気処理実験

(1) 下水生汚泥への食品廃棄物の添加による性状変化

家庭厨芥を模擬して調製した食品廃棄物は、下水生汚泥と比べて、TS当たりのCOD濃度が約120%と高く、T-N・T-Pの濃度は、TS当たりで約81%・50%、COD当たりで約65%・41%と低かった。S-N・S-Pの濃度は、下水生汚泥と比べて、TS当たりで約120%・600%、COD当たりで約86%・510%であり、特にS-P濃度が高かった。これは、溶解性Pの割合S-P/T-Pが、下水生汚泥では約4.5%であるのに対して、食品廃棄物では約57%と高いことによるものと考えられた。溶解性Nの割合については、下水生汚泥で約16%、食品廃棄物で約24%と大

差なかった。従って、下水生汚泥に食品廃棄物を添加した場合の分析値では、TS 当たりの COD 濃度が高くなり、TS・COD 当たりの T-N・T-P 濃度は低くなり、S-N 濃度については、TS・COD 当たりで変化は少ないが、S-P 濃度は、TS・COD 当たりで大幅に上昇した。

(2) 混合発酵の特性と発酵廃水の性状（食品廃棄物添加率 50%）

下水生汚泥へ食品廃棄物を TS 比率で 50%添加した混合スラリーは、COD 濃度が下水生汚泥の約 1.5 倍の 52,000mg/L 程度となったが、35℃・SRT20 日で COD 分解率は約 70%で安定して嫌気性消化が可能であった。下水生汚泥のみで消化した場合と比べて、メタンガス発生量は約 1.4 倍となった。消化汚泥を遠心分離して得た発酵廃水の揮発性脂肪酸濃度は 40mg/L 程度であり、消化槽への揮発性脂肪酸の蓄積はなかった。COD 濃度は約 1.7 倍の 2,600mg/L 程度、T-N 濃度は約 1.5 倍の 900mg/L 程度、T-P 濃度は約 1.7 倍の 50mg/L 程度であり、食品廃棄物の添加により、発酵廃水中の COD・N・P 濃度が上昇することが分かった。投入スラリーの S-N 濃度は約 340mg/L、S-P 濃度は約 49mg/L であったことから、N については嫌気性消化により可溶化されて発酵廃水中の T-N（ほとんど S-N）が約 3 倍に増加しているが、P についてはほとんど変化がないことが分かった。

(3) 混合発酵の特性と発酵廃水の性状（食品廃棄物添加率 100%）

下水生汚泥への食品廃棄物の添加率を 100%に変更し、COD 濃度が最大で下水生汚泥の約 1.8 倍の 71,000mg/L 程度まで高くなった混合スラリーを嫌気性消化槽に供給すると、3 週間の運転で発酵廃水の pH が 5.3 まで低下し、揮発性脂肪酸濃度が約 4,900mg/L まで上昇した。嫌気性消化が負荷量増大により不調になったものと考えられ、下水生汚泥のみで消化した場合と比べて、メタンガス発生量は約 17%まで減少し、発酵廃水の COD 濃度は約 10 倍の 16,000mg/L 程度、T-N 濃度は約 1.6 倍の 990mg/L 程度、T-P 濃度は約 3.9 倍の 110mg/L 程度となった。発酵廃水の COD 濃度のうち、約 55%に相当する 8,600mg/L が揮発性脂肪酸によるものと計算された。食品廃棄物添加率 50%の場合と比べて、T-N 濃度がほとんど変化がないのに対して、T-P 濃度は約 2 倍に上昇していた。これは、嫌気性消化の不調とは関係なく、食品廃棄物添加量を増加させたことにより、投入スラリー中の S-P 濃度が約 100mg/L に上昇し、発酵廃水中でも同程度となったためと考えられた。

(4) 混合発酵の特性と発酵廃水の性状（食品廃棄物添加率 75%）

嫌気性消化槽への負荷量を減少させるため、下水生汚泥への食品廃棄物の添加率を 75%に低下させ、あわせて消化槽に NaOH 水溶液を添加して pH を 7 付近に調整したところ、メタンガス発生量が増加して 1 週間で下水生汚泥のみの場合の約 98%まで回復し、約 3 ヶ月後には約 1.7 倍となった。発酵廃水中の揮発性脂肪酸濃度は約 1 ヶ月で 10mg/L 以下となった。約 2 ヶ月後には、COD 濃度も約 3,000mg/L まで低下して、嫌気性消化が安定した。メタン発酵自体は速やかに復調したものの、SRT（=HRT）20 日であるため、消化槽内で高濃度に蓄積した揮発性脂肪酸および COD が減少するのに時間を要したものと考えられた。

(5) 発酵廃水の性状

UASB へ流入する一次処理水（模擬廃水）の平均水質は、BOD 約 180mg/L、SS 約 140mg/L、T-N 約 36mg/L で、一般的な下水一次処理水よりやや高めの値であり、特に T-P については約 9.3mg/L であり、一般的な 1～3mg/L 程度より数倍高い濃度であった。発酵廃水は、UASB への流入水質と比較して、COD 濃度で約 3.4～45 倍、T-N 濃度で約 17～31 倍、T-P 濃度で約 2.1～11 倍であった。下水生汚泥への食品廃棄物の添加割合が高い方が発酵廃水が高濃度となる傾向であったが、これは易分解性・溶解性の成分が多くなるためと考えられた。特に、負荷量が急に過大となり嫌気性消化が不調になると、大量の揮発性脂肪酸が生成されて高濃度に蓄積することにより、発酵廃水の COD 濃度が著しく上昇した。

(6) UASB での共同嫌気処理への発酵廃水の影響

HRT12 時間で運転している UASB へ流入させた発酵廃水の流量は、UASB 流入水量の 0.55%程度（消化槽容量が UASB 容量の 25%相当の場合）または 1.1%程度（消化槽容量が UASB 容量の 50%相当の場合）であり、UASB への流入負荷量は、COD で約 1.9～23%、T-N で約 9.4～34%、T-P で約 1.2～7.8%増加した。負荷量増加の要因として、COD については、嫌気性消化が不調になった際の揮発性脂肪酸の増加、T-N については、有機物の可溶化による NH_4-N の増加が考えられた。T-P については、食品廃棄物の添加割合が高い方が投入スラリー中の S-P 濃度が高かったため、発酵廃水中の T-P 濃度も高くなったと考えられた。発酵廃水の T-P の負荷量割合が COD・T-N より低いのは、UASB 流入水質で T-P が一般的な流入下水の数倍高いことによるものと考えられ、通常の水質の流入下水として T-P 濃度を 1/3 にして再計算すると、負荷量の増加は約 3.5～24%と推定され

た。

UASB での共同嫌気処理に与える発酵廃水の影響については、発酵廃水の COD 濃度変化は UASB の処理水質にほとんど影響しなかった。発酵廃水中の COD 濃度上昇時の COD 増加分は主として嫌気性消化の不調により蓄積された揮発性脂肪酸と考えられたが、これは UASB で速やかに分解され、UASB 処理水中に揮発性脂肪酸はほとんど検出されなかった。T-N および T-P は UASB ではほとんど除去されないため、発酵廃水による負荷量増加分は、そのまま UASB 処理水に反映されるものと考えられた。

また、現実的な下水処理場の運転管理を想定して、1 日に発生する発酵廃水を 8 時間程度で UASB に流入させるものと仮定すると、その間の水処理への負荷量増加割合は、全体に対する増加割合の 3 倍となり、一時的に処理水質が悪化することも考えられた。このため、UASB への負荷量変動の均質化を考慮する必要があると考えられた。

(7) まとめ

下水生汚泥に食品廃棄物を添加して嫌気性消化槽で混合発酵して、その発酵廃水と下水一次処理水を UASB で共同嫌気処理するシステムにおいては、下水生汚泥への食品廃棄物の添加割合を TS 比で 75%程度までとすれば、35℃・SRT20 日で安定して嫌気性消化が可能であった。75%添加で安定時の CH_4 発生量は下水生汚泥のみ消化の場合の約 1.7 倍であった。発酵廃水による UASB への流入負荷量の増加割合は、COD で約 6.0%、T-N で約 16%、T-P で約 11%であり、下水生汚泥のみ消化の場合と比較して、COD で約 2.3 倍、T-N で約 1.5 倍、T-P で約 2.0 倍であった。

3.1.2 嫌気処理におけるエネルギー回収効率の向上実験

UASB-DHS と嫌気性消化槽を組み合わせたシステムの実験結果について、水質項目および汚泥項目を図-3 および図-4 に示した。また、運転が安定した Run1（36～109 日目）および Run2（110～141 日目）について、T-COD（全 CODcr）、VS の除去およびメタンガス回収の状況を図-5 に、COD 物質収支を図-6 にそれぞれ示した。

(1) 水処理・汚泥処理の全般的特性

図-3 より汚泥の循環条件によらず水処理が安定して行われていたことが分かる。図-4 より、UASB 汚泥を嫌気性消化槽に循環させることにより、汚泥濃度が半分未満に減少することが分かる。嫌気性消化槽における有機酸や S-COD の蓄積もなく、嫌気性消化が安定して行われていたと考えられる。メタンガスは、実験装置の不具合により嫌気性消化槽・UASB ともに精確に回収できず、ガス発生量の定量的評価はできなかった。図-4 および図-5 より、T-COD（全 CODcr）の除去と VS の除去が同様の傾向であることが確認できるので、収支として T-COD を中心に検討することにした。

(2) COD 収支の計算方法

図-6 では、UASB と嫌気性消化を組み合わせたシステム全体（UASB-嫌気性消化）について、流入水としての COD 流入量と UASB 処理水としての COD 流出量（DHS へ流入）の差を COD 除去量として、総除去率を算出した。また、嫌気性消化槽単独としての COD 流入量（UASB からの流入）と COD 流出量（UASB への返送）の差を COD 除去量として、除去率を算出した。UASB については、COD 流入量（流入水および嫌気性消化槽からの返送）と COD 流出量（UASB 処理水および嫌気性消化槽への流出）の差を COD 除去量として、除去率を算出した。いずれの場合も、COD 除去量には、メタン発酵等による COD 分解の他に、嫌気性消化槽および UASB 内部の汚泥量の増減（蓄積等）も含まれており、見かけの除去量となっている。

(3) 汚泥循環率が低い Run1 における COD 収支

Run1（36 日目～109 日目、UASB の流入水量に対する汚泥循環率 0.5%、嫌気性消化槽の SRT20 日）では、UASB-嫌気性消化に COD 約 9.8kg が流入し（流入水）、COD 約 5.6kg が流出した（UASB 処理水）。差し引き約 4.2kg の COD が UASB-嫌気性消化において削減されて除去率が約 42%であった。UASB と嫌気性消化槽の汚泥循環により、嫌気性消化槽において約 2.4kg の COD が減少しており、嫌気性消化槽としての除去率は約 51%で、UASB-嫌気性消化の除去率 45%の半分よりやや多い約 25%の除去に寄与していた。

嫌気性消化槽の汚泥濃度は Run1 の開始時と終了時でほとんど差がなく容量も一定であることから、嫌気性消化槽における COD 除去は汚泥量の増減ではなく嫌気性消化よる分解が主体と考えられた。UASB では約 1.7kg の COD が見かけ上除去されたが、UASB の汚泥濃度は Run1 の開始時と終了時で約 2 倍に上昇しており、換算すると約 1kg の COD が UASB 内に汚泥として貯留されたことになる。残りの COD 約 0.7kg は UASB で分解されたと考えられる。

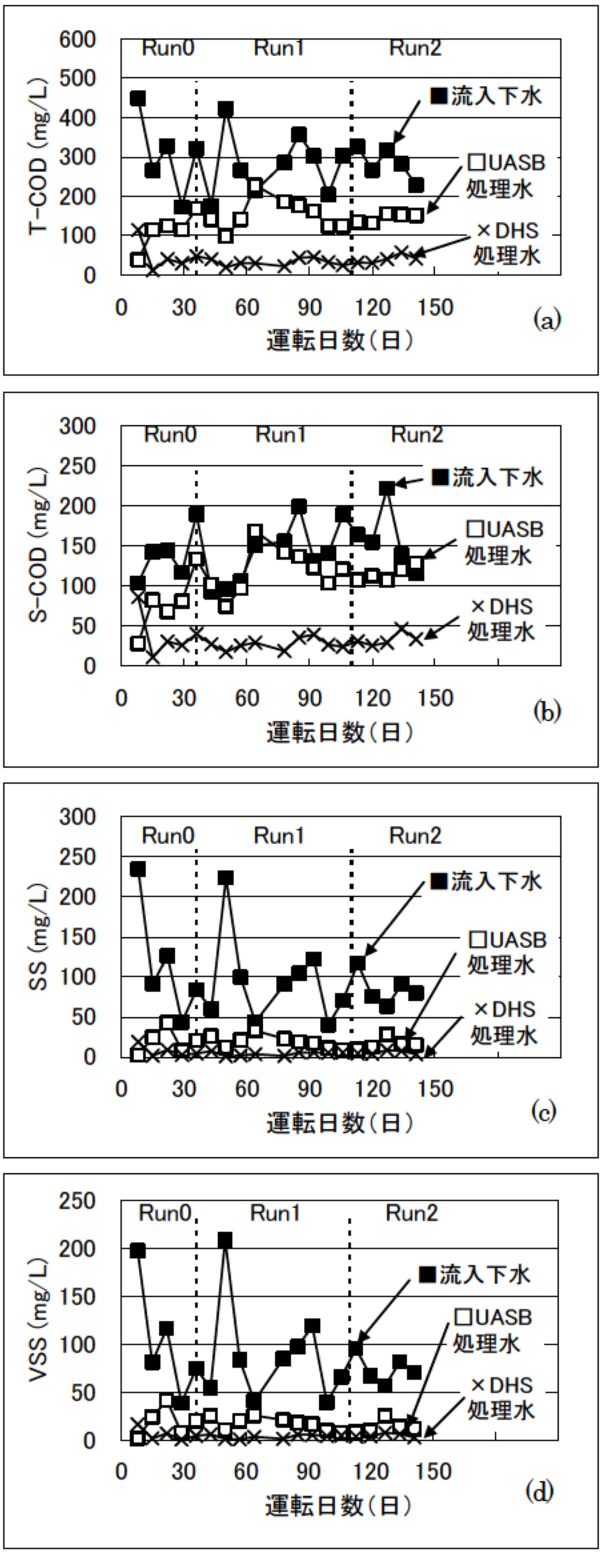


図-3 UASB-DHS と嫌気性消化を組み合わせたシステムの処理特性（水質）

（凡例について、Run0:運転 1～35 日目、Run1:運転 36～109 日目、Run2:運転 110～141 日目、グラフについて、:全 CODcr 濃度、b:溶解性 CODcr 濃度、c:SS 濃度、d:VSS 濃度）

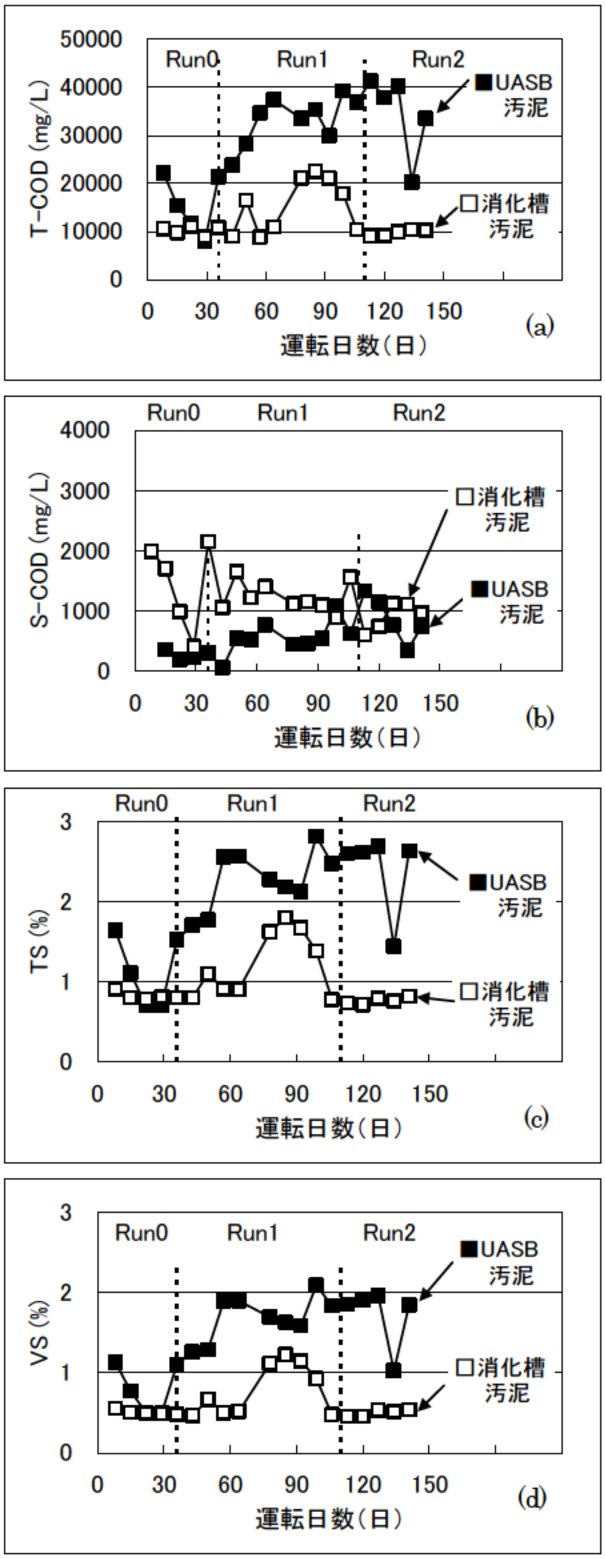


図-4 UASB-DHS と嫌気性消化を組み合わせたシステムの処理特性（汚泥）

（凡例について、Run0:運転 1～35 日目、Run1:運転 36～109 日目、Run2:運転 110～141 日目、グラフについて、a:全 CODcr 濃度、b:溶解性 CODcr 濃度、c:TS 濃度、d:VS 濃度）

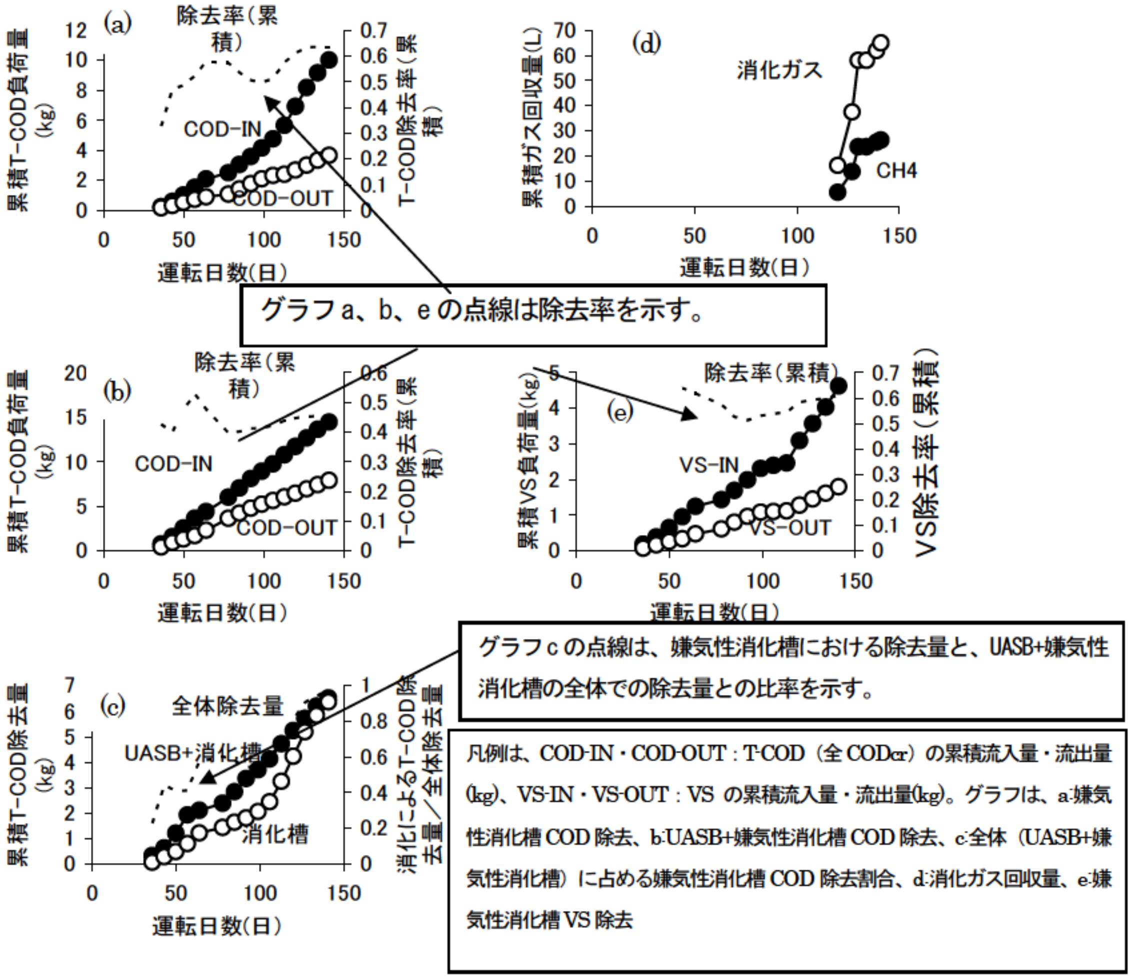


図-5　UASB＋嫌気性消化槽部分における有機物処理特性

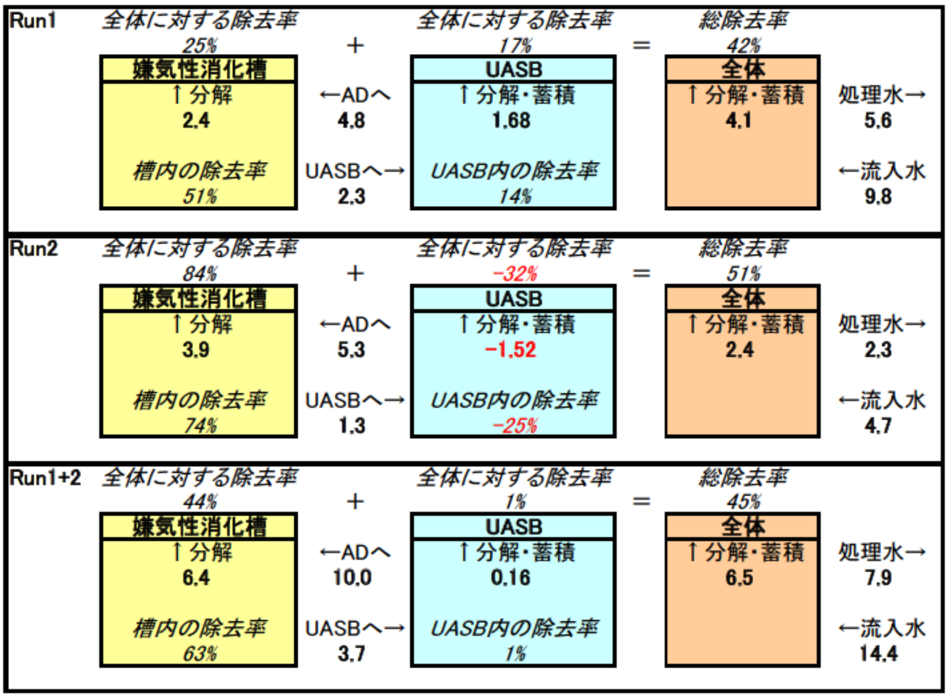


図-6　UASB＋嫌気性消化槽部分における有機物収支（全CODcr(kg)および除去率）

⑷ 汚泥循環率が高い Run2 における COD 収支

Run2（110 日目〜141 日目、UASB の流入水量に対する汚泥循環率 1%、嫌気性消化槽の SRT10 日）では、UASB-嫌気性消化に COD 約 4.7kg が流入し（流入水）、COD 約 2.3kg が流出した（UASB 処理水）。差し引き約 2.4kg の COD が UASB-嫌気性消化において削減されて除去率が約 51%であった。UASB と嫌気性消化槽の汚泥循環により嫌気性消化槽において約 3.9kg の COD が減少しており、嫌気性消化槽としての除去率は約 74%で、UASB-嫌気性消化の除去率 51%より多い約 84%の除去に寄与していた。

嫌気性消化槽の汚泥濃度は Run2 の開始時と終了時でほとんど差がなく容量も一定であることから、嫌気性消化槽における COD 除去は汚泥量の増減によるものではなく、UASB に Run1 で貯留されていた汚泥が嫌気性消化槽へ移動して分解されたことによるものと考えられた。UASB-嫌気性消化への流入を上回る量の COD が UASB から嫌気性消化槽へ移動したことになり、UASB 汚泥が減少し、UASB-嫌気性消化としての COD 除去量よりも多くの COD が嫌気性消化槽で除去されたものと考えられた。

UASB の汚泥は、Run2 の開始時と終了時の比較で COD 相当で約 0.7kg 減少しているが、UASB での COD 減少量約 1.5kg と比較すると汚泥の減少量が少ないことから、差し引きの COD 減少量約 0.8kg は UASB での分解によるものと考えられた。

⑸ 汚泥量の制御に関する考察

Run1 と Run2 を通して見ると、Run1 の UASB 汚泥循環率 0.5%（流入水量約 460L/d に対して汚泥循環 2.3L）、嫌気性消化槽 SRT20 日の条件では、嫌気性消化槽における汚泥分解速度よりも UASB における汚泥蓄積速度が大であり、UASB に汚泥が蓄積されていた。Run2 で汚泥循環率を 2 倍にすると（UASB 汚泥循環率 1%、嫌気性消化槽 SRT10 日）、嫌気性消化槽における汚泥分解速度が UASB における汚泥蓄積速度を上回り、UASB 汚泥の嫌気性消化槽における分解が進んだため、UASB 汚泥が減少するとともに、UASB-嫌気性消化の COD 除去がほとんど嫌気性消化槽でなされていた。

ここで、UASB の HRT(12 時間)、汚泥循環率(0.5%)、嫌気性消化槽の容積比（20%）および嫌気性消化槽の SRT（20 日）の間には、次式が成立する。

$$\frac{\text{UASB の HRT}}{\text{嫌気性消化槽の SRT}} \times \frac{\text{嫌気性消化槽の容積比}}{\text{汚泥循環率}} = 1$$

実際には、UASB の HRT は主として流入水量・水質により決定されることから、汚泥制御のために操作可能な因子は、残りの 3 因子となる。例えば汚泥循環率を変えずに（0.5%）嫌気性消化槽の容積比を 2 倍（40%）にして SRT を 2 倍（40 日）にする場合と、汚泥循環率を 2 倍（1%）にして嫌気性消化槽の容積比を変えずに（20%）に SRT を 1/2 倍（10 日）にする場合とを比較すると、後者の方が嫌気性消化槽への有機物供給速度が高くなり、嫌気性消化に過負荷にならない範囲では、有機物分解速度も大になると考えられる。

従って、UASB と嫌気性消化槽を組み合わせたシステムでは、汚泥循環率を操作因子として、UASB の汚泥量を容易に制御することが可能と考えられた。

循環率が過大になると、UASB 汚泥が減少しすぎて水処理に影響が発生するおそれがあるとともに、汚泥循環等に要するエネルギーの増大を招くことから、流入水質、HRT、汚泥性状等を考慮して循環率を適切に設定することが重要である。

⑹ まとめ

UASB と嫌気性消化槽を組み合わせることで、汚泥発生量の抑制と水処理性能の維持を両立しつつ、メタンガス回収によるエネルギー高度利用も達成可能であると考えられた。効果のより詳細な評価については、ガスの回収可能量の確認などについて、今後さらなる実験的検討と技術開発が必要と考えられた。

3．2　嫌気処理水の高度後処理の基礎技術の開発

下水道統計に基づく集計により、対象地域（九州・沖縄）の下水処理場の汚泥処理費・エネルギー費が維持管理費に占める割合は約 25%であった。よって、UASB-DHS システムにより、エネルギー消費量・汚泥発生量を 70%削減すると、維持管理費の約 18%（25%×0.7=17.5%）の削減が可能と考えられた。

表-1 に示す年費用の試算例より、UASB-DHS システムの建設費が同規模の活性汚泥処理システムと同等と仮定すると、処理場の建設費および維持管理費の年費用に対する削減率は約 8〜11%となる。

また、建設コストの償却年数を検討した図-7 より、例えば活性汚泥システムと比較して、仮に建設費が 10〜20%程度割高になっても、15〜27 年で回収可能であることが分かる。逆に、実際の建設費が活性汚泥法と同等かより低ければ、原価償却年数の短縮が可能になる。従って、UASB-DHS システムの下水処理分野への導入にあたり、経済性の問題が阻害要因となる可能性は低く、む

しろ促進要因となる可能性も十分あるものと考えられた。

表-1　小規模下水道を想定したケーススタディにおける年費用試算例

計画人口 P(人)	日平均 Qa(m^3/d)	日最大 Qd(m^3/d)	建設費 C(百万円)	償却年数 Y(y)	年当たり建設費 Cy(百万円/y)	維持管理費 M(百万円/y)	年費用合計 CM(百万円/y)
1,000	300	429	245	33	7	12	19
5,000	1,500	2,143	1,557	33	47	40	87
10 000	3 000	4 286	2 259	33	68	61	129

計画人口 P(人)	維持管理費削減率 R(%)	維持管理費削減額 Mr(百万円/y)	年費用削減率 CMr(%)
1,000	18	2	11
5,000	18	7	8
10,000	18	11	8

（建設費・維持管理費の推定は、[「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）」[5] より）

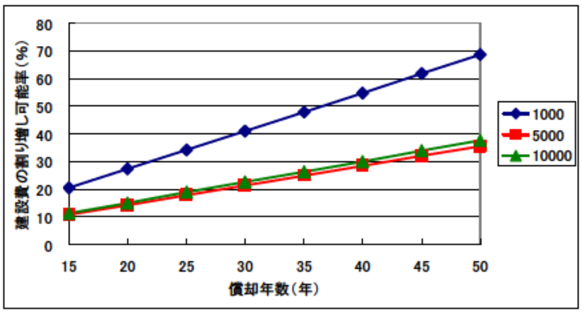


図-7　小規模下水道を想定したケーススタディにおける償却年数と建設費の関係（凡例は計画人口（人））

4. まとめ

(1) 下水生汚泥に食品廃棄物を添加して嫌気性消化槽で混合発酵して、その発酵廃水と下水一次処理水を UASB で共同嫌気処理するシステムを開発した。下水生汚泥への食品廃棄物の添加割合を TS 比で 75%程度までとすれば、35℃・SRT20 日で安定して嫌気性消化が可能であった。75%添加で安定時の CH_4 発生量は下水生汚泥のみ消化の場合の約 1.7 倍であった。発酵廃水による UASB への流入負荷量の増加割合は、COD で約 6.0%、T-N で約 16%、T-P で約 11%であり、下水生汚泥のみ消化の場合と比較して、COD で約 2.3 倍、T-N で約 1.5 倍、T-P で約 2.0 倍であった。

(2) UASB と嫌気性消化槽を組み合わせることで、汚泥発生量の抑制と水処理性能の維持を両立しつつ、メタンガス回収によるエネルギー高度利用も達成可能であると考えられた。効果のより詳細な評価については、ガスの回収可能量の確認などについて、今後さらなる実験的検討と技術開発が必要と考えられた。

(3) 小規模下水道を想定したケーススタディによる検討の結果、UASB-DHS システムでは活性汚泥法と比較して維持管理費が約 2 割削減可能と想定され、建設費もあわせた年費用の約 1 割を削減できる可能性があるなど、経済性で有利となりうることが分かった。費用関数を用いた試算であり、かつ開発した UASB-DHS システムの実際の建設費用についても現時点では不確定要素があるなど、精度に課題が残るものの、少なくとも導入に当たり経済性が阻害要因となる可能性は低く、むしろ促進要因となりうるものと考えられた。

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) 竹崎義則他、「ディスポーザ排水の負荷原単位設定」、廃棄物学会誌、Vol.12、No.5、pp.312-321、2001
3) 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.
4) (社)日本下水道協会：平成 18 年度版下水道統計、2008.8
5) (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

再生材の特性を活かした利用技術の開発に関する研究

研究予算：運営費交付金（一般勘定）
研究期間：平 18～平 20
担当チーム：リサイクルチーム
研究担当者：岡本誠一郎、宮本豊尚、山下洋正

【要旨】再生材の土木材料への利用促進のためには一層の利用技術の開発が求められている。そこで下水汚泥溶融スラグ並び改良土に対して利用技術の開発および安全性評価を実施した。20 年度はアルカリで改質したスラグにブリージング試験を施したが、改質が与える影響は不明であった。また、スラグを粗骨材として利用したコンクリートを暴露試験した結果、ポップアウトは確認されず、超音波パルス試験の結果は良好であった。

1. はじめに

再生材の土木材料利用では、これまで安全性評価の検討がなされており、物性等の品質面は通常製品の規格によることが多い。安全性が確認された再生材を利用促進するためには、更なる利用技術の開発が求められている。18 年度には、一般廃棄物、下水汚泥等の溶融スラグ骨材について JIS 化されており、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」が策定されたところである。

本研究では安全性の確認された再生材について、その特徴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。本年度はアルカリ改質を行った下水汚泥溶融スラグのブリージング試験と、溶融スラグを粗骨材として利用したコンクリートの耐久性について調査を行った。

2. 研究結果

2．1　溶融スラグの改質

下水汚泥溶融スラグは一般に角が尖っており、また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(親水性)が悪いと予想される[1)]。ぬれ性が悪いとコンクリートの流動性を確保するために練り混ぜに必要とされる水量が増加し、余分な水の影響で材料分離が起きやすくなることでコンクリートの品質が悪くなる。

そこで、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った。19 年度の結果ではアルカリ処理とプラズマ処理を施し、表乾密度と吸水率に与える影響を調査したところ、アルカリ処理によって吸水率が増加する傾向を示すことがわかった。

（１）ぬれ性改善効果の確認

アルカリ処理及びプラズマ処理によって、スラグ骨材のぬれ性が変化するのか、追認試験を行った。3 処理場のスラグを使用し、19 年度と同様に①アルカリ処理及び②プラズマ処理を施した。

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ねらった。水砕スラグを 1 mol の NaOH 水溶液中に浸し、取り出して十分な洗浄を行った。ここでは 1 週間浸した試料を使用した。

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 を使用してスラグの表面の改質を行った (図-1) 。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た。

図−1　プラズマ照射器　ST−7000

表-1　プラズマ処理による効果

ﾌﾟﾗｽﾞﾏ処理	水滴の高さ(mm)	水滴の径(mm)	検体数
処理前	0.6	5.4	N=2
処理後0min	0.2	7.4	N=2
処理後　5min	0.3	6.91	N=1
処理後　15min	0.5	6.36	N=1
処理後　30min	0.6	6.3	N=2
処理後　1h	0.7	6.21	N=1
処理後　2h	0.7	6.47	N=1

表-2　アルカリ処理による効果

1N NaOH処理	水滴の高さ(mm)	水滴の径(mm)	検体数
処理前	0.7	4.2	N=2
処理後	0.5	測定不能※	N=2

※　水滴がスラグ全体に広がったため、測定ができなかった

A 処理場の水砕スラグに対して、それぞれの処理を施したスラグの表面に、蒸留水 10μL をピペットで垂らしてその水滴の形状を観察した。水滴が広がり、高さが低くなるほどぬれ性が良いといえる。

実験結果を表-1、2 に示す。いずれの処理も効果が確認されている。しかし、プラズマの改質効果は時間とともに失われており、照射後 15 分経過すると効果が確認できなかった。

（2）ブリージングへの影響

19 年度の結果及び（1）で効果の確認されたアルカリ処理を行ったスラグと未処理のスラグを用い、モルタルを作成してブリージングについて評価を行った。ここでは一ヶ月間 1mol の NaOH 水溶液に浸したスラグを用いて実験を行った。配合の割合を表-3 に示す。作成したモルタルを 3 つのプラスチック容器に三等分し、50 回打接を行った。ブリージングの測定は打接後 60 分後から 180 分後まで行った。図-2 に、モルタルの平均ブリージング率を示す。アルカリ改質よるブリージング率への影響は不明確であった。

表-3 モルタルの配合

単位g

水	セメント	スラグ
120	240	420

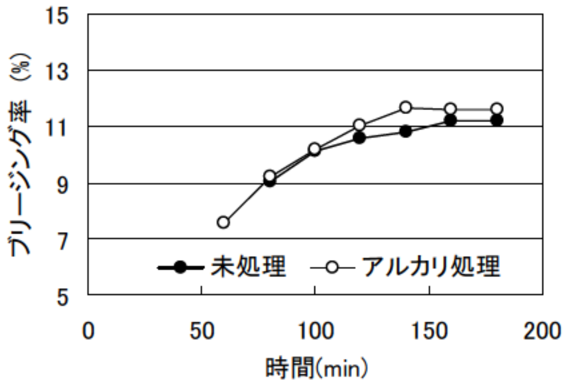


図-2 ブリージングへの改質の影響

2. 2　溶融スラグを粗骨材として利用したコンクリートの耐久性

溶融スラグの粗骨材利用を検討するために下水汚泥溶融処理検討プロジェクトにおいて 2006 年秋まで暴露試験が行われた [2]。5 年間の暴露試験後の供試体を譲り受け、暖地で暴露していた供試体は 2008 年 4 月よりつくば市内で、寒冷地で暴露していた供試体は 2008 年 7 月より北海道千歳市美々で暴露試験を再開している。供試体は 10cm×10cm×10cm の立方体である。暴露試験による供試体の劣化を確認するため、目視での表面観察の他、質量測定、超音波パルス伝播速度試験を再暴露前および 2008 年 10 月に行った。暴露試験の様子を図-3 に示す。

（1）表面観察

川上らは下水汚泥溶融スラグを粗骨材として利用したコンクリート供試体の一部で試験開始 4 年後にポップアウトが発生したと報告している [3]。しかし本供試体においては、5 年間の暴露試験中、再暴露前および暴露開始半年後に供試体を観察したところ、いずれのコンクリート供試体にもポップアウトを確認することはできなかった。

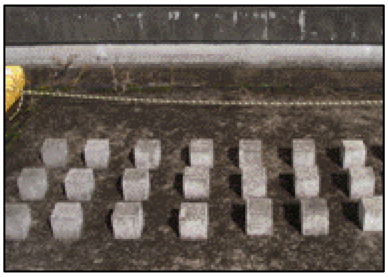
（2）質量変化

半年間の暴露試験の結果、わずかではあるが水中および屋外の供試体は質量が増加しており、屋内においていたものは質量が減少していた。これは、再暴露まで屋内で約半年近く保管されていたため供試体が乾燥しており、水中および屋外では水分を吸収したことによる影響と考えられる。

（3）超音波パルス伝達速度変化

超音波速度測定装置(東横エルメス社製 エルソニック）を使用し、向かい合う面の中心間の超音波伝達速度を測定した。各暴露環境下における全供試体の測定結果の平均値を表-4 に示す。

（1） 標準状態



（2） 暖地屋外

（3） 寒地屋外

図-3 暴露試験の様子

表-4 超音波伝達速度

単位 km/s

	標準状態	暖地屋内	暖地屋外	寒地屋外
再暴露前	4.6	4.2	4.3	4.4
2008年10月	4.3	4.1	4.1	4.5

文献値[4)]と比較するといずれもコンクリートの品質としては優～良に相当し、品質には問題がないといえるが、暖地屋内、暖地屋外の値が小さくなっている。これは乾燥による含水率の低下が影響していると考えられる。また、石灰系のスラグを用いたコンクリートでは、相対的に伝達速度が遅くなっている傾向にあった。

4. まとめ

本研究から、以下の事象が明らかとなった。

1) スラグのぬれ性を改善するため、アルカリ処理及びプラズマ処理で改質を試みた。いずれの処理も効果が確認されたが、プラズマの改質効果は時間とともに失われ、照射後 15 分経過すると効果が確認できなかった。
　アルカリ処理をしたスラグを用いたモルタルでブリージング試験を行ったが、影響は不明確であった。
2) スラグを粗骨材として利用したコンクリート供試体の暴露試験を行った結果、ポップアウトは確認されなかった。超音波パルス伝達速度から、コンクリートの品質は優～良であった。今後も継続的な調査を行っていく予定である。

参考文献

1) 石井淑夫、小石眞純、角田光雄：「ぬれ技術ハンドブック」、pp.471-479、2005
2) 宮本豊尚、尾崎正明、岡本誠一郎：「下水汚泥溶融スラグを粗骨材に用いたコンクリートの長期暴露試験」、第 45 回下水道研究発表会講演集、pp.476-478、2008
3) 川上勝弥、依田彰彦、横室隆、吉崎芳郎：「溶融スラグ骨材を用いたコンクリートの長期性状」、コンクリート工学年次論文集、Vol.27、No.1、pp.103-108、2005
4) （社）日本材料学会：建設材料実験、pp.228-232、平成 15 年第 3 版

公共用水域の人畜由来汚染による健康影響リスクの解明と制御に関する研究

独立行政法人　土木研究所　上席研究員　鈴木　穣
水環境研究グループ　水質チーム　総括主任研究員　小森　行也
材料地盤研究グループ　リサイクルチーム　上席研究員　岡本誠一郎
主任研究員　諏訪　守
研究員　桜井　健介

研究期間　平成 20 年度～22 年度
平成 20 年度当初予算額　5, 304　千円

１．はじめに

我が国では、下水処理および合併浄化槽等の普及が進みつつあるが、依然として水源河川において人畜由来に起因する大腸菌群数等の公共用水域汚染は高いレベルにある。地域や季節などによる変動はあるが、塩素に耐性をもつクリプトスポリジウムやノロウイルスなどの病原微生物の検出例なども報告されている。浄水処理においては、人畜由来汚染の恐れのあるところでは膜ろ過または紫外線処理の導入などが進められているが、一方で排水施設の処理条件向上や取水位置の調整など、その他の方策との連携が求められている。

このような状況を受けて、効果的な病原微生物への対応が求められており、人畜由来汚染指標のグループ化により、微生物学的方法と化学的方法を併用して水源汚染の機構を解明するとともに、環境および処理における病原微生物のリスクの構造解明とその対策についてリスク削減効果を最大とする手法の開発が必要となっている。

本研究は、人畜由来汚染指標のグループ化により、水道水源等の公共用水域の人畜由来汚染による健康影響リスクの特性を把握し、それらによるリスクを削減するための規制や技術上の方策の効果を最大とするための施策を提案することを目的とし、国立保健医療科学院、国立感染症研究所、独立行政法人土木研究所の 3 機関共同で、また、静岡県立大学環境科学研究所、山梨大学大学院、東京都水道局、埼玉県企業局、相模川･酒匂川水質協議会の協力を得て実施している。

土木研究所では、公共用水域における人畜由来汚染の実態の把握とともに、これらの負荷の寄与率を把握するため下水処理場等での削減効果について評価を行うものである。併せて、消毒除去効果等によるリスク削減効果についても把握する。すなわち、水道水源ともなる公共用水域に対するポイント型およびノンポイント型汚染のうち、特に人畜由来汚染による健康影響リスクの最小化を目的とする調査研究を行うものである。本研究の達成目標は、「効率的なリスク削減手法・施策の提案」であり、その達成目標の柱の１つが下水道におけるリスクの削減手法の評価である。活性汚泥処理、高度処理、消毒などのプロセスにおいて指標病原微生物、化学物質マーカーの実態や消長把握を行う。

20 年度は、公共用水域において下水処理水の流入による微生物マーカー、化学物質マーカーの変化と相互関係を把握するため、1 河川を対象に下水処理水の流入前後で実態調査を行った。また、調査対象流域における各マーカーの特性との関係を把握するため、河川流域内にある下水処理場で流入下水、放流水を対象に各マーカーの除去特性についても調査を行った。調査は北関東を流れる A 川とその流域内にある H 下水処理場を対象とした。下水処理水放流先の A 川の上流では、ウシ、ブタなどの畜産が行われており、河川流域には畜産系の負荷が存在する。H 下水処理場の下水処理方式は活性汚泥処理法であり、処理水量は約 11,000m³/日、次亜塩素酸ナトリウムによる塩素消毒を行っている。調査は平成 21 年 2 月 18～19 日の晴天時（平水位時）に 4 時間毎の 24 時間採水を行った。採水試料は流入下水、放流水に加え、放流先河川の放流口上流河川水、放流水の混合

された下流河川水とした。

２　調査対象とした微生物マーカー、化学物質マーカーとその測定法

２．１　微生物マーカー

本研究で対象とした微生物マーカーは病原微生物の大腸菌、クリプトスポリジウム、ジアルジア、ノロウイルス（G1 型､G2 型）である。各々の病原微生物の測定法を以下に示す。

大腸菌はクロモカルト培地による平板培養法（37℃）とした。

原虫類のクリプトスポリジウム、ジアルジアは試料をポリカーボネート製メンブランフィルターによるろ過濃縮後、超音波処理によりフィルターからオーシスト（シスト）を剥離させ免疫磁気ビーズ法で回収し、蛍光抗体染色による顕微鏡観察とした。免疫磁気ビーズはダイナル社製のダイナビーズ GC-コンボキット、蛍光抗体染色にはイージーステインを用いた。濃縮に用いた試料量は流入下水 200mL、その他の試料は 20L とした。

ウイルス濃縮法は PEG 沈殿法によるもので、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、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。この濃縮液をウイルス遺伝子抽出カラムへ通水させウイルス遺伝子の抽出を行うが、遺伝子抽出カラムへの SS 負荷量を低減させることにより､ウイルス遺伝子の抽出効率が向上することが予想され検出濃度が高まることが明らかとなっている[1)]。このため、試料の SS 濃度と濃縮水量から SS 負荷量を算出し、ウイルス遺伝子抽出カラムへの濃縮液の通水量を調整することで、カラムへの SS 負荷量を 0.05mg/カラムに統一した。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」[2)] 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･ﾀﾞｲｱｸﾞﾉｽﾃｨｯｸｽ社)を使用した。抽出 RNA 量は Spectrophotometer(NanoDrop 社製)により定量した。

２．２　化学物質マーカー

本研究で対象とした化学物質マーカーは 10 種のステロール類およびカフェインである。ステロール類の測定は、Nakada *et al.*,[3)]、Isobe *et al.*,[4)] を参考に行った。具体的な方法を以下に示す。試料(100-500 mL)をガラス繊維ろ紙(GF/B)で吸引ろ過した。以後、ろ液を溶存態試料、ろ紙上の残渣を懸濁態試料とし、それぞれ個別に前処理操作を行った。ろ過後のろ紙は分析直前まで-30° C にて凍結保存した。分析操作における回収率補正のため、ろ液に Surrogate 物質としてステロール Label 化体(コレステロール-d_6)のメタノール溶液を添加した後、固相カートリッジ Oasis HLB Plus を用い固相抽出を行った。通水後、遠心分離機等を用い脱水し、次いで窒素吹き付けにより乾燥した。カートリッジからの対象物質の溶出は、メタノール 10 mL を加え、自然滴下にて溶出した。次に、Sep-PaK Plus Sillica を用い分画精製を行った。分画精製画分は次の 3 通りとした。第 1 画分；ヘキサン：ジクロロメタン(3：1), 5 mL、第 2 画分；ジクロロメタン, 5 mL、第 3 画分；ジクロロメタン：アセトン(7：3), 10 mL である。ステロール類は第 3 画分に溶出するため、第 1、第 2 画分溶出液は廃棄した。

また、懸濁態試料は-30° C にて凍結保存したろ紙を凍結乾燥機で乾燥した後、ビーカーに入れ、溶存試料と同じ Surrogate を添加した。ろ紙が浸るまでメタノールを加え、超音波抽出し、抽出液をのビーカーに移し入れた。同様にメタノール：ジクロロメタン 1：1 とジクロロメタンで超音波抽出し、抽出液をさきのビーカーに集めた。抽出液にはろ紙繊維等の残渣が含まれるため、ガラス繊維ろ紙(GF/B)でろ過した。ろ過した抽出液はロータリーエバポレータで濃縮乾固し、以後、溶存態試料の分画精製と同様な操作を行った。

次に、溶存態試料、懸濁態試料の抽出・精製液をアセチル誘導体化処理した。窒素気流下で乾固直前

まで穏やかに濃縮し、ピリジン 100 μL と無水酢酸 100 μL を添加し、室温にて 20 時間静置した。アセチル誘導体化物は無水硫酸ナトリウムにより精製・脱水した後、窒素気流下で濃縮乾固し、50 μg/L ペリレン-d_{12}イソオクタン溶液を加え、GC/MS の測定用試料とした。GC/MS の測定条件は、Nakada *et al.*,[3]、Isobe *et al.*,[4] を参考に設定した。

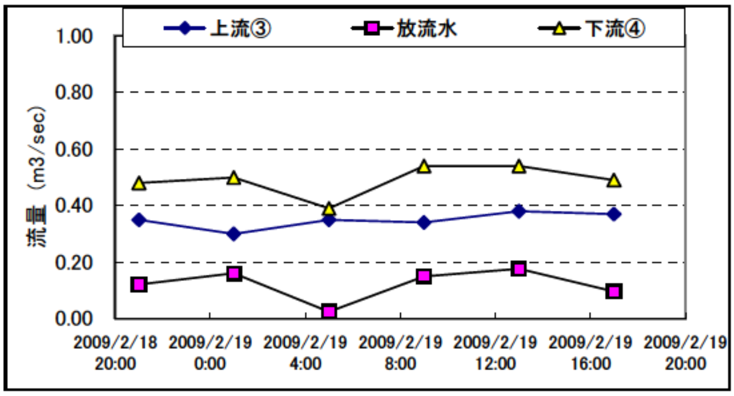
また､カフェインの測定は小西他[5]および小森他[6]を参考に行った。具体的な方法を以下に示す。試料(50-200 mL)をガラス繊維ろ紙(GF/B)で吸引ろ過した。以後、ろ液を溶存態試料、ろ紙上の残渣を懸濁態試料とし、それぞれ個別に前処理操作を行った。ろ過後のろ紙は分析直前まで-30° C にて凍結保存した。ろ液は、1 mol/L 塩酸を用いて pH3.5～4.5 の間となるように pH 調整を行った後，固相カートリッジ Oasis HLB Plus を用いて固相抽出した。固相カートリッジは、遠心分離機等により脱水した後、窒素吹き付けにより乾燥した。カートリッジからの対象物質の溶出には、メタノールを用いた。また、懸濁態試料は-30° C にて凍結保存したろ紙を凍結乾燥機で乾燥した後、ビーカーに入れ、メタノールを加えて超音波抽出を行った。抽出液はガラス繊維ろ紙(GF/F)にてろ過した後、ロータリーエバポレータで約 10mL まで濃縮した。

次に、溶存態試料、懸濁態試料のメタノール溶液を窒素気流下で濃縮乾固し、アセトニトリル：0.1% ギ酸 MilliQ 水 ＝7:93 溶液を加え超音波抽出装置にかけた後、遠心分離機に浮遊物質を沈降させ、上澄み液を LC/MS/MS の測定用試料とした。LC/MS/MS の測定条件は、小西他[5]、小森他[6] を参考に設定した。

３．調査結果と考察

３．１　流量観測および現場観測結果

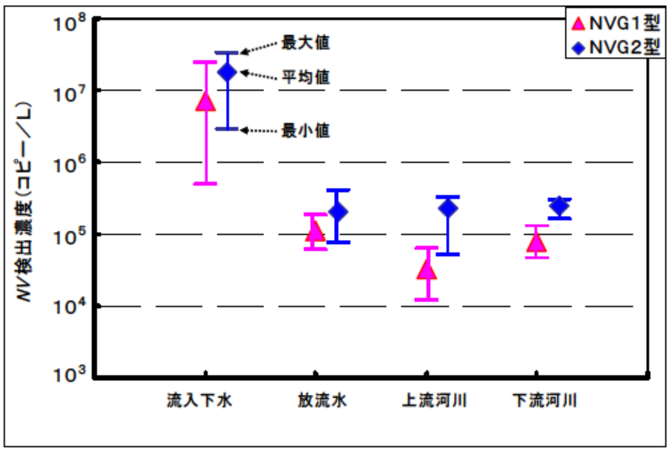
調査における流量観測結果を図－1 に示す｡いずれの調査においても、上流地点と下流地点における流量の時間変動、調査を行った処理場の放流水量の時間変動はともに小さく、下流地点の流量に占める下水処理放流水の割合は 8～33%程度（平均 24%）であった。上流地点の流量に放流水量を加算した値と下流地点の流量はほぼ同じ値を示し、流量観測は精度よく測定されていた。上・下流地点河川水および下水処理水の水温は、それぞれ 4.0～8.9℃、5.0～12.3℃、16.7～18.4℃であった。



図－1　A 川隣接下水処理場放流量および放流水流入地点上下流の流量

３．２　微生物マーカー

微生物マーカーの調査結果を表－１～３および図－２に示す。病原微生物については各試料で 6 検体（4 時間毎の 24 時間採水；計 24 試料）の採水分析を行った。大腸菌は活性汚泥処理法、塩素消毒法により下水処理場でその多くは除去・不活化されており、放流水の大腸菌の濃度は放流先河川水と比較して低かった。クリプトスポリジウムは 24 試料の内 1 試料（流入下水）から検出され、その濃度は 5.0 oocysts/L であった。その他の試料では全て不検出であり、平常時における汚染のレベルは低いものと考えられた。我が国の下水処理場や関東圏内の河川水におけるクリプトスポリジウムの調査例[7] では、平常時において検出濃度・割合は海外との調査例と比較して低いとの報告もあり、本調査ではこれを裏付ける結果となった。しかし､集団感染症発生時には、感染者から多量のクリプトスポリジウムのオーシストが排出されることから、流入下水の検出濃度･割合が高まると報告されている[8]。



図－2　*NV* 濃度の 24 時間変動

ジアルジアは流入下水試料の 2 試料から検出され、その濃度は 5.0 cysts/L であったが、活性汚泥処理法により除去が行われ放流水の検出濃度範囲は不検出〜0.05 cysts/L と低下していた。その他の河川水試料では全て不検出であり、汚染のレベルは低いものと考えられた。

流入下水のノロウイルスは、G1 型が 5.0×10^{5}〜2.4×10^{7}copies/L、G2 型は 2.8×10^{6}〜3.3×10^{7} copies/L の範囲で検出されており、冬季の感染流行期には高濃度のノロウイルスが流入すると考えられた。活性汚泥処理法による平均除去率は G2 型が 1.9log に対し、G1 型は 1.4log と G2 型に比較して若干低かった。活性汚泥処理パイロットプラントを利用した除去率の評価でも、G1 型は 0.6〜1.6log、G2 型が 1.1〜2.1log 程度であり G1 型の除去率が低いとの報告[1]もある。下水処理場におけるノロウイルスの除去率は、既往の研究結果[9)][10)][11)]によると 1〜3log 程度という報告がある。今回の実態調査での平均除去率は 1.9log であり 3log には至っていないが、24 時間調査結果での最大除去率は 2.4log であることから、既往の結果より若干低いものと考えられた（表－２）。しかし、24 時間調査結果における除去率の範囲は最大で 1log 以上の違いが見られ、また、下水試料のノロウイルス濃度も 24 時間の間で最大 1 オーダー以上の変動が見られた。さらに、最大検出濃度に対する平均濃度の割合は流入下水で G2 型が 55%、G1 型は 30%、放流水では G2 型が 49%、G1 型は 61%であった（表－１）。

放流先河川水のノロウイルスの検出濃度は上流、下流試料とも最大で 10^{4}〜10^{5}copies/L レベルであり、放流水の流入により下流試料の大幅な濃度上昇は見られなかった。ノロウイルス G1 型、G2 型はヒトから排出されることから、実態は不明であるが上流河川水にも合併浄化槽などからのヒト由来の負荷があるものと推定された。このため、下水・河川水から検出されたノロウイルスは、分子系統解析により遺伝子型判別を行い、流域内における存在状況の相互関係を評価する必要があると考えられた。河川試料では最大検出濃度に対する最小検出濃度の割合は 20〜50%程度、同様に平均検出濃度の割合は 50〜80%程度であり、下水試料に比較して変動割合は小さいと考えられた。

表－１　生物マーカーの調査結果

		ｸﾘﾌﾟﾄｽﾎﾟﾘｼﾞｳﾑ (oocysts／L)	ジアルジア (cysts／L)	*NV* G1型 (copies／L)	*NV* G2型 (copies／L)	大腸菌 (cfu／mL)	残留塩素(mg／L) 遊離	結合
流入下水	2/18　9時	N.D.	5.0×10^{0}	1.1×10^{7}	1.8×10^{7}	1.0×10^{5}	－	－
	13時	N.D.	5.0×10^{0}	3.1×10^{6}	3.3×10^{7}	1.7×10^{5}	－	－
	17時	5.0×10^{0}	N.D.	2.4×10^{6}	1.9×10^{7}	1.4×10^{5}	－	－
	21時	N.D.	N.D.	1.8×10^{6}	3.0×10^{7}	1.0×10^{5}	－	－
	2/19　1時	N.D.	N.D.	5.0×10^{5}	2.8×10^{6}	1.2×10^{4}	－	－
	5時	N.D.	N.D.	2.4×10^{7}	7.3×10^{6}	5.0×10^{4}	－	－
放流水	2/18　21時	N.D.	N.D.	1.4×10^{5}	1.7×10^{5}	5.0×10^{-1}	0.04	0.29
	2/19　1時	N.D.	N.D.	1.1×10^{5}	1.9×10^{5}	N.D.	0	0.12
	5時	N.D.	5.0×10^{-2}	1.0×10^{5}	2.5×10^{5}	N.D.	0.04	0.34
	9時	N.D.	N.D.	8.6×10^{4}	1.3×10^{5}	5.0×10^{-1}	0.05	0.15
	13時	N.D.	N.D.	6.0×10^{4}	7.6×10^{4}	5.0×10^{-1}	0.03	0.14
	17時	N.D.	N.D.	1.8×10^{5}	4.1×10^{5}	5.0×10^{-1}	0	0.10
上流	2/18　21時	N.D.	N.D.	6.3×10^{4}	3.2×10^{5}	2.7×10^{1}	0	0.01
	2/19　1時	N.D.	N.D.	6.3×10^{4}	2.5×10^{5}	1.9×10^{1}	0	0.01
	5時	N.D.	N.D.	2.2×10^{4}	3.2×10^{5}	1.8×10^{1}	0	0
	9時	N.D.	N.D.	1.8×10^{4}	2.6×10^{5}	1.4×10^{1}	0	0.06
	13時	N.D.	N.D.	1.5×10^{4}	1.6×10^{5}	6.0×10^{0}	0.04	0.08
	17時	N.D.	N.D.	1.2×10^{4}	5.2×10^{4}	1.1×10^{2}	0.01	0.12
下流	2/18　21時	N.D.	N.D.	1.1×10^{5}	1.8×10^{5}	3.3×10^{1}	0	0.06
	2/19　1時	N.D.	N.D.	1.3×10^{5}	2.8×10^{5}	2.5×10^{1}	0	0
	5時	N.D.	N.D.	4.9×10^{4}	1.6×10^{5}	1.9×10^{1}	0	0.05
	9時	N.D.	N.D.	6.7×10^{4}	3.0×10^{5}	8.0×10^{0}	0.03	0.12
	13時	N.D.	N.D.	4.5×10^{4}	2.6×10^{5}	8.0×10^{0}	0.04	0.07
	17時	N.D.	N.D.	7.1×10^{4}	2.9×10^{5}	7.0×10^{1}	0	0.01

※N.D.：不検出
検出限界値：測定に供した試料中に1個のオーシスト（シスト）が存在した場合の濃度。流入下水5.0個／L、処理水・河川水は0.05個／Lである。分析水量は流入下水200mL、放流水・河川水20Lである。

表－２　*NV*最大検出濃度に対する平均・最小濃度の割合

	流入下水	放流水	上流河川水	下流河川水
G1型 平均濃度の割合	0.30	0.61	0.51	0.61
G1型 最小濃度の割合	0.02	0.33	0.19	0.35
G2型 平均濃度の割合	0.55	0.49	0.72	0.83
G2型 最小濃度の割合	0.08	0.19	0.16	0.53

表－３　*NV*除去率の日間変動（log）

採水日(2/18－19)	PEG沈殿法	
	G2型	G1型
9時流－翌1時処	2.0	2.0
13時流－翌5時処	2.1	1.5
17時流－翌9時処	2.2	1.5
21時流－翌13時処	2.6	1.5
1時流－17時処	0.8	0.4
平均	**1.9**	**1.4**

下水試料からクリプトスポリジウム、ジアルジア、ノロウイルスが検出されたが、ともに下水処理場で除去されることにより、放流先河川水の検出濃度と同レベルあるいはそれ以下となるため、本調査対象流域においては放流先河川水への放流水の影響は小さいものであると考えられた。しかし、ノロウイルスに関しては、24 時間の間で除去率は 1log 以上の違いが見られ、同様に流入下水のノロウイルス濃度も最大で 1 オーダー以上の変動が見られた。このため、下水処理場における除去率や流入･流出濃度の適切な評価を行う上で、時間や濃度変動などの要因を考慮することが重要であると今回の実態調査結果から明らかとなった。

３．３　化学物質マーカー

化学物質マーカーのステロール類（10 種）の測定結果を図－３～６に示す。測定したステロール類は、Coprostanone、Coprostanol、Epicoprostanol、Cholesterol、Cholestanol、Campesterol、Stigmasterol、Sitosterol、Fucosterol、Stigmastanol の 10 種である。下水処理場流入水、放流水と放流先河川において放流水が合流する上流地点と下流地点において 2 月 18 日 9：00～翌日 17：00 まで 4 時間間隔で試料採取を行った。流入下水は、18 日 9：00～19 日 5：00 までとし、放流水は下水処理場での滞留時間（約 16 時間）を考慮し 18 日 21：00～19 日 17：00 とした。また、上流河川水と下流河川水は放流水と同じ時間に試料採取を行った。

図－３に示すとおりステロール類の濃度は日間変動がみられ、総ステロール類の最大値（990,000ng/L）と最小値（310,000ng/L）では 3.2 倍の開きがみられたが、その組成は大きく異なることはなく、ほぼ一定の値を示した。Cholesterol が約 50%、Coprostanol が約 30%、Sitosterol が約 15%でありこの 3 物質で総ステロール類の約 95%を占めていた。

放流水（図－４）の総ステロール類濃度は 10,000～18,00ng/L であり、時間変動は流入水に比べ小さく、最大値と最小値の比は 1.6 倍であった。放流水のステロール組成は Cholesterol が約 40%、Coprostanol が約 15%、Sitosterol が約 15%、Stigmasterol が約 10%、Campesterol が約 10%であり、流入下水の組成とは異なる結果となった。

上流河川水のステロール類濃度は、9,500～12,000ng/L であった。国包他[12]の調査結果と比較すると、下水道普及率が約 30%の区域の小河川の濃度（1,900～3,500ng/L）より高く下水道が普及していない区域の小河川の濃度（14,000～57,000ng/L）より低いことから、上流河川水の集水区域の下水道普及率はそれほど高くない（30%以下）ことが推察される。また、ステロール組成は放流水の組成に類似していた。

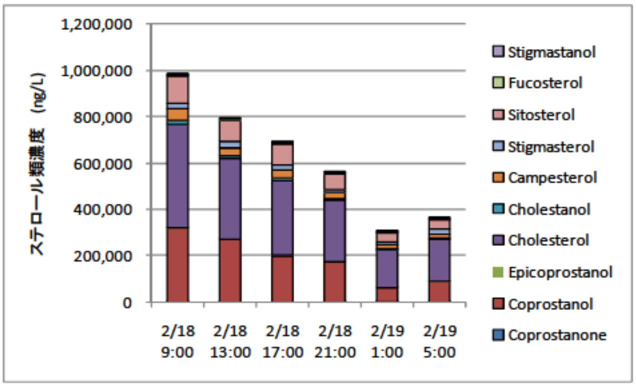
上流河川水に放流水が合流した後の下流河川水のステロール類濃度は 9,300～12,000ng/L で上流河川水とほぼ同レベルで、その組成もまた放流水と類似していた。糞便汚染指標として提案されている Coprostanol /Cholesterol 比[13) 14) 15)]について整理し表－４に示した。水域における生活排水の負荷を示す指標：b/baCOP [coprostanol/(coprostanol+cholestanol)]は、流入下水では 0.92～0.96 と高い値を示し、水域における畜産排水の負荷を示す指標：e/baCOP [epicoprostanol/(coprostanol+cholestanol)] は、

0.005～0.013 と低い値を示した。放流水では b/baCOP は 0.50～0.81、e/baCOP は 0.048～0.11 を示した。上流河川水の b/baCOP は 0.43～0.53、e/baCOP は 0.10～0.14 を示し、放流水に比較的近い値を示していることから処理を受けた生活排水が流れているものと考えられるが、放流水に比べ b/baCOP が低く、e/baCOP が高いことから、畜産排水の混入が推察される。

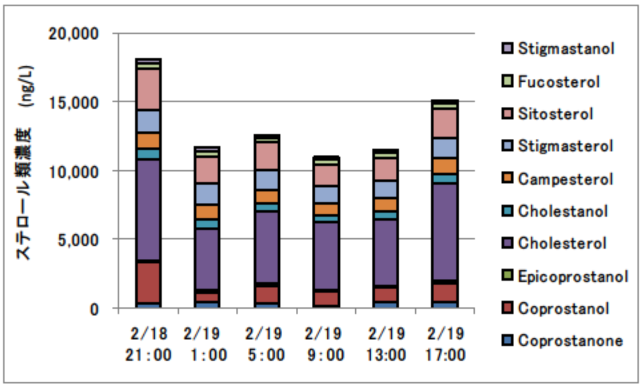
流入下水、放流水、上流河川水、下流河川水について総ステロール濃度を図－７に示した。また、それぞれ各 6 試料の測定結果から平均値を算出し図－８に濃度、図－９にステロール組成を示した。流入下水の濃度は 620,000ng/L、放流水は 13,000ng/L であり、下水処理場におけるステロール類の除去率は約 98%であった。前述したとおり流入下水と放流水のステロール組成は若干異なることがわかる。化学物質マーカーの Caffeine の測定結果を図－10、図－11 に示した。図－10 から流入下水の Caffeine の日間変動はステロール類に比べ小さく、最大値と最小値の比は約 1.5 倍であった。

Caffeine の流入下水濃度は 20,000～30,000ng/L と高い値を示したが放流水では 150～390ng/L であり下水処理場における除去率は 98%以上と非常に高い値を示した。ステロール類同様に未処理の流入水に高濃度に含まれているが下水処理によりほとんど除去されることから、人為汚染のマーカーとして提案[16] されているとおり未処理排水混入の有無を定性的に判断することが可能となる。上流河川水の Caffeine 濃度は 1,300～2,000ng/L と放流水の 150～390ng/L に比べ数倍高い値を示しており、未処理排水の混入が推察される。

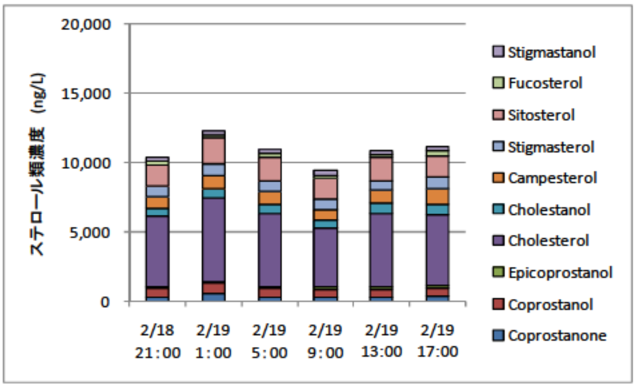
化学物質マーカーのステロール類やカフェインは、下水処理によって 2log 程度の除去率であり、放流先河川水の測定結果も含め、生物マーカー（ノロウイルス）と同様の傾向を示した。



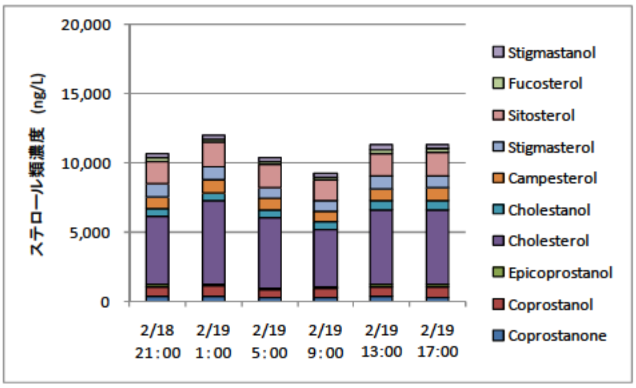
図－３　流入下水中のステロール類の時間変動



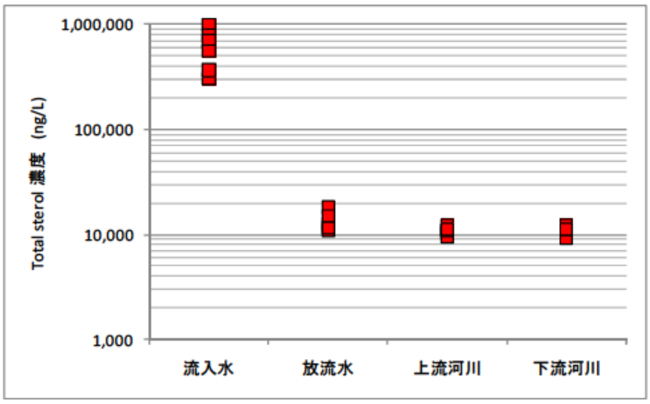
図－４　放流水中のステロール類の時間変動



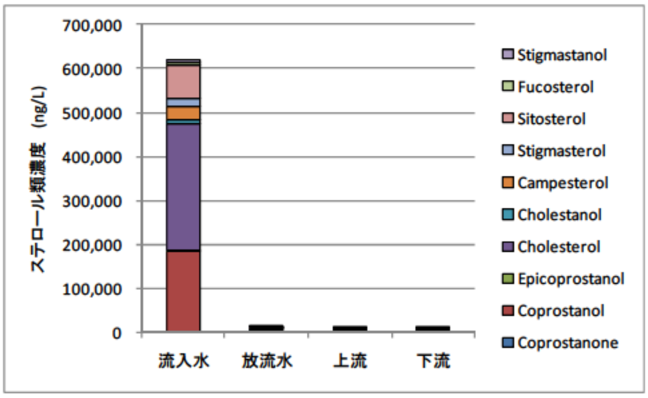
図－５上流地点河川水のステロール類の時間変動



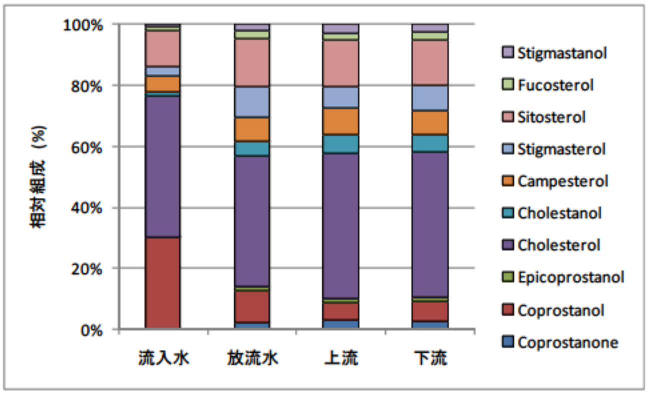
図－６下流地点河川水のステロール類の時間変動



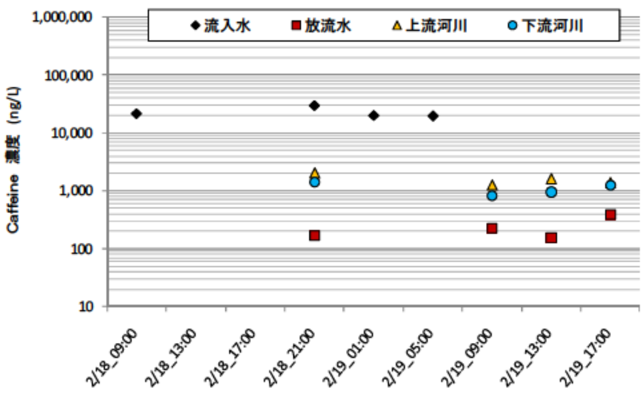
図－７　各試料の総ステロール濃度



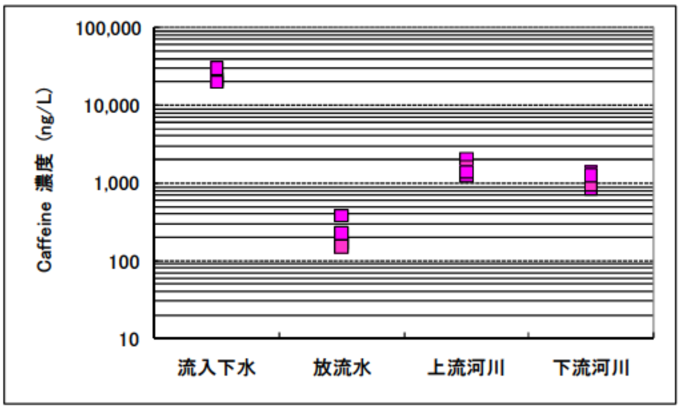
図－８　各試料のステロール類濃度（平均値）



図－９　各試料のステロール組成（平均値）



図－10　Caffeine の経時変化



図－11　各試料の Caffeine 濃度

表－４　各試料の b/baCOP と e/baCOP

	b/baCOP	e/baCOP
流入下水	0.92～0.96	0.005～0.013
放流水	0.50～0.81	0.048～0.11
上流河川	0.43～0.53	0.10～0.14
下流河川	0.49～0.56	0.10～0.14

４．まとめ

20 年度は、公共用水域への下水処理水の流入による微生物マーカー、化学物質マーカーの変化と相互関係を把握するため、1 河川を対象に放流水の流入前後で実態調査を行った。また、調査対象流域における各マーカーの特性との関係を把握するため、河川流域内にある下水処理場で流入下水、放流水を対象に各マーカーの除去特性についても調査を行った。得られた結果を以下に示す。

１）　下水･河川水試料からのクリプトスポリジウム、ジアルジアの検出割合･濃度は低かった。

２）　下水処理場での除去により放流水のノロウイルス濃度は放流先河川水と同程度となるため、今回調査対象とした流域における評価では、公共用水域へ及ぼす放流水の影響は小さいものであると考えられた。

３）　下水処理場におけるノロウイルスの除去率は 24 時間の間で 1log 以上の違いが見られ、同様に流入下水のノロウイルス濃度も 1 オーダー以上の変動が見られた。このため、下水処理場における除去率や流入･流出濃度の適切な評価を行う上で、時間や濃度変動などの要因を考慮することが重要であると今回の実態調査結果から明らかとなった。

４）ステロール類の測定結果を用いた水域におけ

る生活排水の負荷を示す指標(b/baCOP)と水域における畜産排水の負荷を示す指標(e/baCOP)から上流河川水は処理を受けた生活排水に畜産排水の混入があることが示唆された。
５）人為汚染のマーカーとして提案されているCaffeine の測定結果から上流河川水は未処理排水の混入があることが示唆された。

謝辞

本調査を遂行するにあたり、H 下水処理場の関係各位には多くの便宜をはかって頂いた。試料の採取などでは長岡技術科学大学からの実習生の朝倉有人君に協力を得た。ここに記して謝意を表する。

なお、本調査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。

参考文献

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

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

３）Nakada *et al.*,（2006）, Pharmaceutical chemicals and endocrine disrupters in municipal wastewater in Tokyo and their removal during activated sludge treatment, Water research, (40)3297-3303.

4)Isobe *et al.*, (2002)， Quantitative application of fecal sterols using as chromatography mass spectrometry to investigate fecal pollution in tropical waters: Western Malaysia and Mekong Delta, Vietnam, (36)4497-4507.

５）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（第43 回環境工学研究フォーラム）pp.73-82.

６）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.

７）M.Suwa and Y.Suzuki(2001)，Occurrence of *Cryptosporidium* in Japan and countermeasures in wastewater treatment plant, *Water Science and Technology.* 43(12), 183-186.

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

９）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，第 53 回日本ウイルス学会学術集会抄録集，311.

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

11）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.

12）国包章一他(2006)，公共用水域の人畜由来汚染による健康影響リスクの解明と規制影響分析に関する研究，平成 18 年度環境保全研究成果集，総合環境政策局総務課環境研究技術室編，環境省，pp.61-1～61-31.

13） Gilpin B. et al. (2003)， The use of chemical and molecular microbial indicator for faecal source identification, Water Sci. Technol. 47(3), 39-43.

14） Gilpin B. et al. (2002)， Identification of the source of faecal pollution in contaminated rivers, Water Sci. Technol. 46(3)9-15.

15） Laurel J. Standley et al. (2000)，Molecular tracers of organic matter sources to surface water resources. Environ. Sci. and Tech., 34, 3124-3130.

16） Ignaz J. Buerge et al. (2003)，Caffeine, an anthropogenic marker for wastewater contamination of surface waters. Environ. Sci. and Tech., 37, 691-700.

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　岡本誠一郎
山下　洋正

研究期間　平成１７年度～２１年度
平成２０年度当初予算額　１７，５５２千円

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

(FY2005～2009)

Seiichirou Okamoto and Hiromasa Yamashita
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 68 human and/or veterinary drugs and preservatives, 16 synthetic fragrance materials and 9 organic UV filters in surface water samples in several rivers, lakes and urban stormwater runoff were successfully determined.
2. The fate of selected PPCPs in urban and rural watershed was studied. Their sources, transports and changes 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 17～19 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，現地調査により，主として下水処理場由来の環境への放出・移行・変化量の把握を行い，流域における挙動の解明を行った [1) 2) 3)]。
これらの結果をふまえて，今年度は雨天時における都市からの表面流出水および畜産・浄化槽排水等の下水処理場以外の排出源からの環境への放出・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 68 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)
C1	Ibuprofen	非ステロイド系抗炎症薬(プロピオン酸系)	H	82.8
C2	Ketoprofen	非ステロイド系抗炎症薬(プロピオン酸系)	H	47.7
C3	Naproxen	非ステロイド系抗炎症薬(プロピオン酸系)	H	3
C4	Flurbiprofen	非ステロイド系抗炎症薬(プロピオン酸系)	H	0.4
C5	Fenoprofen	非ステロイド系抗炎症薬(プロピオン酸系)	H	-
C6	Diclofenac	非ステロイド系抗炎症薬(フェニル酢酸系)	H	7.4
C7	Indomethacin	非ステロイド系抗炎症薬(インドール酢酸系)	H	83.2
C8	Mefenamic acid	非ステロイド系抗炎症薬(アントラニル酸系)	H	407.7
C10	Acetophenetidine	非ステロイド系抗炎症薬(アニリン系)	H	-
C11	Sa icylic acid	非ステロイド系抗炎症薬(代謝物)・防腐剤	HP	3.2
C13	Ethenzamide	非ステロイド系抗炎症薬(サリチル酸誘導体)	H	-
C14	Clarithromycin	抗生物質(マクロライド系)・蛋白質合成阻害薬	H	76
C15	Roxithromycin	抗生物質(マクロライド系)・蛋白質合成阻害薬	H	-
C16	Oleandmycin phospate	抗生物質(マクロライド系)・蛋白質合成阻害薬	V	-
C17	Tylosin	抗生物質(マクロライド系)・蛋白質合成阻害薬	V	67.9
C19	Benzylpenici lin sodium	抗生物質(ペニシリン系)・細胞壁合成阻害薬	HV	20.1
C20	Lincomycin hydrochloride	抗生物質(リンコマイシン系)・蛋白質合成阻害薬	HV	17.2
C21	Chlortetracycline	抗生物質(テトラサイクリン系)・蛋白質合成阻害薬	V	167.5
C22	Doxycycline	抗生物質(テトラサイクリン系)・蛋白質合成阻害薬	HV	21.5
C23	Oxytetracycline	抗生物質(テトラサイクリン系)・蛋白質合成阻害薬	V	317.8
C24	Tetracycline	抗生物質(テトラサイクリン系)・蛋白質合成阻害薬	V	2.1
C25	Enrofloxacin	抗生物質(ニューキノロン系)・核酸合成阻害薬	V	3.0
C26	Levofloxacin(+Ofloxacin)	抗生物質(ニューキノロン系)・核酸合成阻害薬	HV	26.3
C27	Orbifloxacin	抗生物質(ニューキノロン系)・核酸合成阻害薬	V	2.31
C28	Salinomycin	抗生物質(イオノフォア)(飼料添加物)	V	32.1
C29	Monensin	抗生物質(イオノフォア)(飼料添加物)	V	22.8
C30	Cefditoren Pivaloyloxymethyl Ester	抗生物質(セフェム系)・細胞壁合成阻害薬	H	20.9
C31	Sulfamethoxazole	合成抗菌剤(サルファ剤)・核酸代謝阻害薬	HV	52.9
C32	Sulfadimethoxine	合成抗菌剤(サルファ剤)・核酸代謝阻害薬	HV	30.8
C33	Sulfamethazine	合成抗菌剤(サルファ剤)・核酸代謝阻害薬	V	4
C35	Fenbendazole	抗寄生虫薬(チアベンダゾール系)	V	2.6
C36	Triclabendazole	抗寄生虫薬(チアベンダゾール系)	V	0.7
C37	Triclabendazole metabolite	抗寄生虫薬(チアベンダゾール系)代謝物	V	-
C38	Ivermectin	抗寄生虫薬(アベルメクチン系)	HV	0.2
C39	Praziquantel	抗寄生虫薬	V	7.6
C40	Trimethoprim	合成抗菌剤	HV	13.8
C41	Ormetoprim	合成抗菌剤	V	1.2
C42	Sodium nifurstyrenate	合成抗菌剤(ニトロフラン系)	V	5.5
C44	3 4 5 Trichlorophenol	抗菌剤・防腐剤	P	-
C45	3 4 4 Trichlorocarbanilide	抗菌剤・消毒剤	P	-
C46	p Hydroxybiphenyl	抗菌剤・消毒剤	P	-
C47	Propyl paraben	防腐剤	P	-
C48	Buthyl paraben	防腐剤	P	-
C49	Ethyl paraben	防腐剤	P	-
C50	Methyl paraben	防腐剤	P	-
C51	Clofibric acid	高脂血症治療薬(代謝物)(フィブラート系)	H	1.4
C52	Fenofibrate	高脂血症治療薬(フィブラート系)	H	-
C53	Bezafibrate	高脂血症治療薬(フィブラート系)	H	40.4
C54	Gemfibrozil	高脂血症治療薬(フィブラート系)	H	-
C56	Furosemide	降圧薬(ループ利尿薬)	H	7.5
C57	Diltiazem hydrochloride	降圧薬(Ca拮抗薬)	H	32
C58	Enalapril	降圧薬(ACE阻害剤)	H	-
C59	Metoprolol	降圧薬(β遮断薬)	H	1.3
C61	Betaxolol hydrochloride	降圧薬(β遮断薬)	H	-
C62	Valsartan	降圧薬(ARB製剤)	H	45.2
C63	Losartan	降圧薬(ARB製剤)	H	17.6
C65	Carbamazepine	抗てんかん薬(イミノスチルベン系)	H	42.6
C66	Dihydro 10 11 epoxy carbamazepine	抗てんかん薬(イミノスチルベン系)代謝物	H	42.6
C67	Diazepam	抗てんかん薬(ベンゾジアゼピン系)	H	-
C68	Demethyldiazepam	抗てんかん薬(ベンゾジアゼピン系)	H	-
C69	Phenytoin	抗てんかん薬(ヒダントイン系)	H	-
C72	Thiopental	麻酔薬(バルビタール系)	H	-
C73	Cyclophosphamide	抗悪性腫瘍剤(アルキル化剤)	H	-
C75	Salbutamol	気管支拡張薬(β刺激薬)	H	-
C76	Ursodeoxycholic acid	胆道疾患治療薬(胆汁酸利胆薬)	H	247.8
C81	Methyl dihydrojasmonate	香料(ジャスミン系)	P	-
C82	Caffeine	日用品	P	-
C83	Nicotine	日用品	P	-

（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 1)。）

表－２　香料等の分析対象物質

物質ID	物質名	用途	推定使用量(t/年)
C101	HHCB(galaxolide)	香料・多環状ムスク	3,568
C102	AHTN(tonalide)	香料・多環状ムスク	1,382
C103	DPMI(cashmeran)	香料・多環状ムスク	-
C104	ADBI(celestolide)	香料・多環状ムスク	-
C105	AHMI(phanto ide)	香料・多環状ムスク	-
C106	ATII(traseo ide)	香料・多環状ムスク	-
C107	Musk ketone(MK)	香料・ニトロムスク	-
C108	Musk xylene(MX)	香料・ニトロムスク	-
C109	Benzyl acetate	香料・芳香族　アルコールエステル	600
C110	Methyl salicylate	香料・芳香族　カルボン酸エステル	3
C111	Benzyl salicylate	香料・芳香族　アルコール・カルボン酸エステル	10
C112	Jasmonal H	香料・芳香族系アルデヒド	70
C113	α-Isomethyl ionone	香料・ヨノン系ケトン	-
C114	M. Dhjasmonate(Hedione)	香料・シクロペンタン(ジャスミン系)	2,500
C115	Isobornyl acetate	香料・脂肪族アルコールエステル	-
C116	Terpineol	香料・環状テルペンアルコール	375
C117	EHMC	紫外線吸収剤・桂皮酸誘導体	-
C118	IAMC	紫外線吸収剤・桂皮酸誘導体	-
C119	Benzophenone(BP)	紫外線吸収剤・ベンゾフェノン誘導体	-
C120	Benzophenone-3(BP-3)	紫外線吸収剤・ベンゾフェノン誘導体	-
C121	Homosalate(HMS)	紫外線吸収剤・サリチル酸誘導体	-
C122	Octyl salicylate	紫外線吸収剤・サリチル酸誘導体	-
C123	octyl PABA	紫外線吸収剤・安息香酸誘導体	-
C124	4-MBC	紫外線吸収剤・カンファー誘導体	-
C125	Octocrylene(OC)	紫外線吸収剤・その他エステル	-

（推定使用量は，2007 年度の統計値 4)より，国内使用量に生産量+輸入量−輸出量として求めた。）

対象物質は，非ステロイド系抗炎症薬１１種，抗生物質１６種，サルファ剤３種，抗寄生虫薬・抗真菌薬８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７種，抗てんかん薬および代謝物等５種，麻酔剤等・抗悪性腫瘍薬２種，気管支拡張薬他５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

関東地方の都市の雨天時表面流出水（図－１）および霞ヶ浦流域の畜産・浄化槽排水の影響が大きいと考えられる河川・湖沼地点（図－２）に関する調査を秋季から冬季（2008年10月～2009年3月）にかけて実施した。

（１）都市の雨天時表面流出水調査

図－１に示すとおり，鶴見川流域 1 地点，多摩川流域 2 地点の合計 3 地点において都市の雨天時表面流出水の調査を行った。いずれも下水道が整備された区域である。調査期間は 2008 年 10 月から 2009 年 3 月までであり，その間に降雨に応じて自動採水器により継時的に採取を行った。原則として先行無降雨期間が 3 日以上続いた後の一定規模以上の降雨を対象として調査を行い，1 地点につき 4～6 降雨の試料を得た。各降雨では 30 分～数時間の間隔で複数回のサンプリングを行った。

（２）畜産・浄化槽排水の影響を受ける河川・湖沼調査

図－２に示すとおり，霞ヶ浦流域の山王川 3 地点，園部川 2 地点，巴川 2 地点，鉾田川 3 地点，小野川 1 地点，清明川 1 地点，桜川 1 地点，恋瀬川 1 地点および霞ヶ浦湖内 7 地点の合計 21 地点において，流心付近（湖内においては表層）の採水を行った。調査期間は 2009 年 1 月から 2 月までであり，採水は晴天時に全地点で 1 回，雨天時に山王川，園部川，巴川，鉾田川の 4 河川 10 地点において約 6 時間の間隔で 2 回実施した。

２－１－３．分析方法

試料水は，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，水中の懸濁物質をろ紙ごと，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－３に示す通りである。

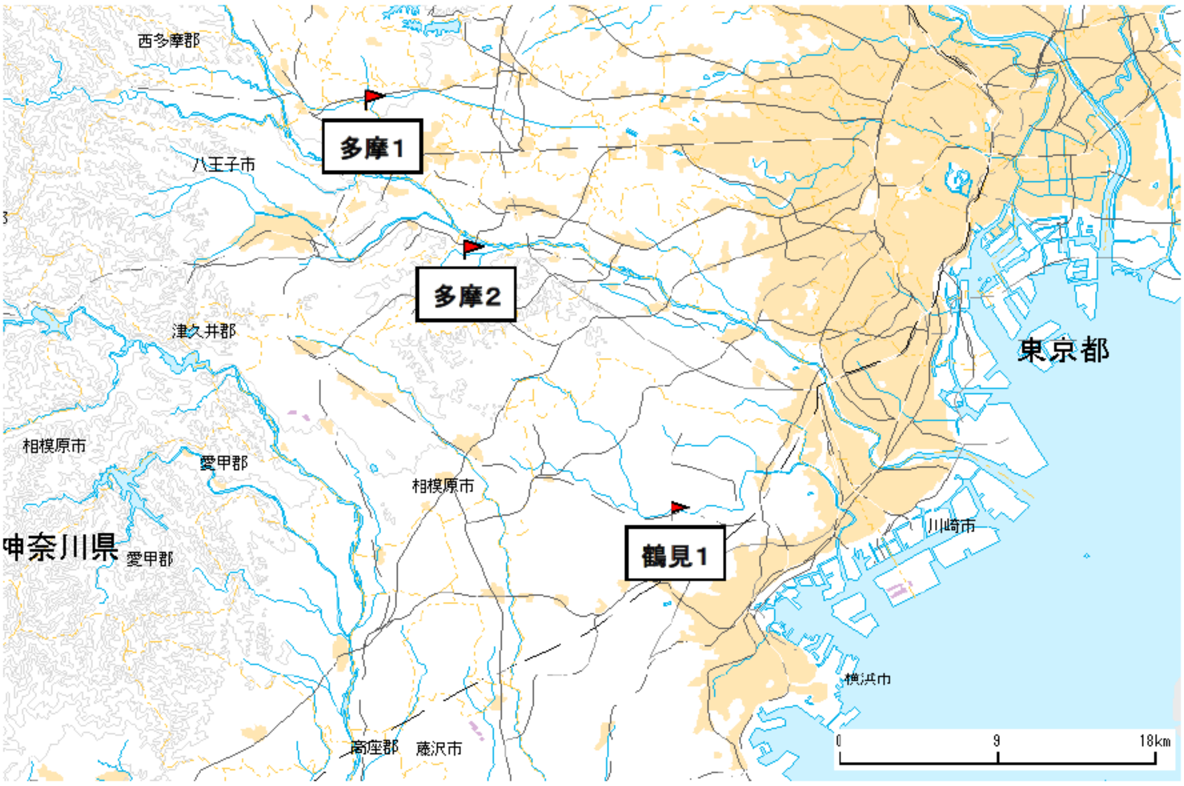
本法は Castiglioni らの方法[5)]を参考に開発したものであり，既報[1)2)]の通り，一部の酸性 PPCPs には Oasis MCX と Sep-Pak Plus Florisil を連結した固相抽出カートリッジ，それ以外の PPCPs には Oasis HLB と EDS-1 250-6 を連結した固相カートリッジを用いて次に述べる 5 通りの方法で実施したものである。試料水 100～500mL を GF/B でろ過して得たろ液（溶存態）ならびにろ紙上の SS および活性汚泥（懸濁態）を対象とした。

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ｐH2 に調整した後に，Oasis MCX と Sep-Pak Plus Florisil を連結した固相カートリッジに通水（20 mL/min）または，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)250μL とメタノール 250μL を加えて溶解した計 500μL を LC/MS/MS 測定試料とした。Method3,4 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，Method3 は Positive モード, Method4 は Negative モードで分析した。Method1,2,5 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，Method1 は Positive モード，Method 2,5 は Negative モードで分析した。

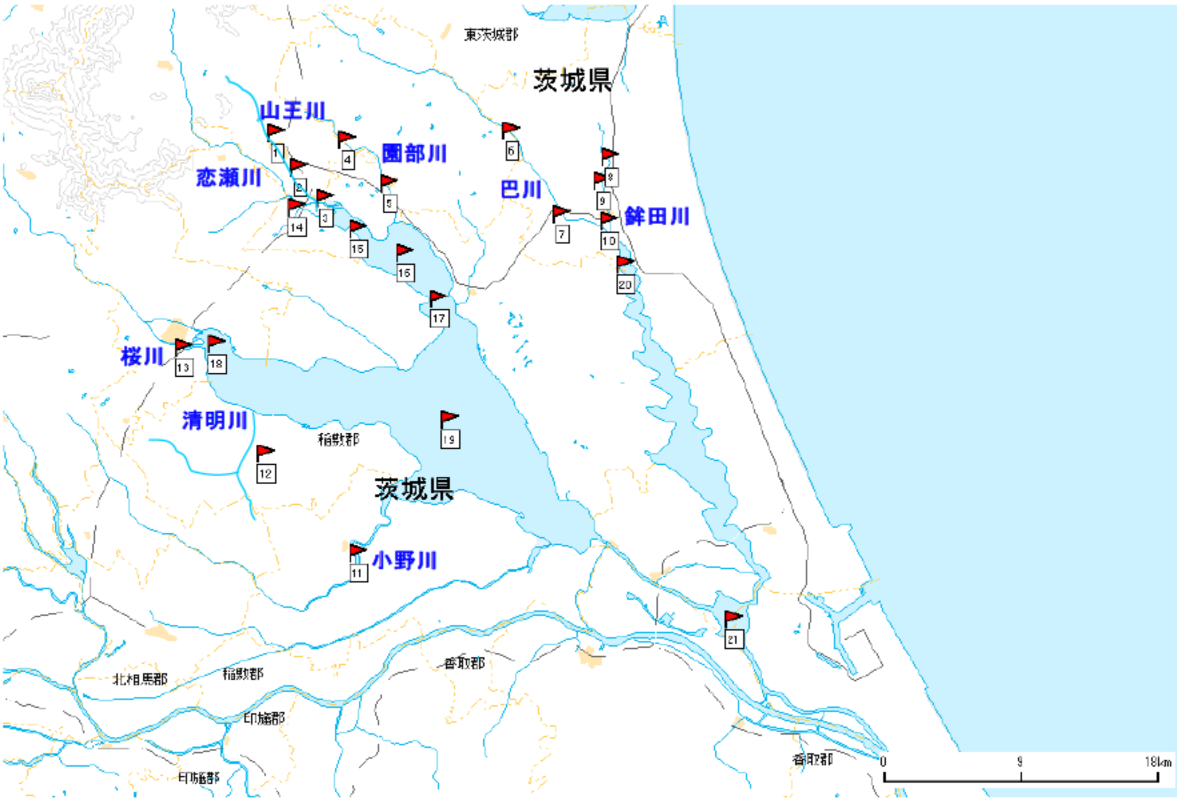
（2）香料等

香料等の分析方法は 17～18 年度の調査 [1) 2)] で開発した方法に準じて行い，概要は図－4の通りである。

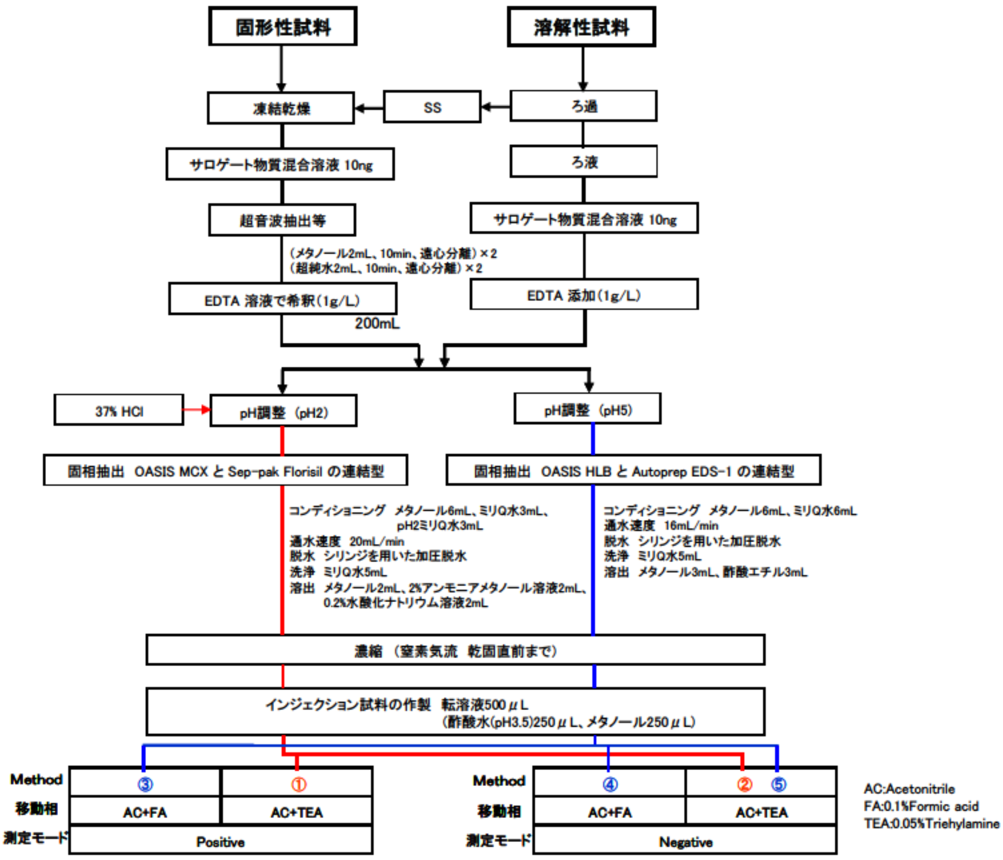
溶存態試料については，試料水 100～500mL を GF/B でろ過して得たろ液に表－3に示すサロゲート混合物質を添加した後に，10 mL/min で固相カートリッジに通水した。懸濁態試料については，凍結乾燥試料にサロゲート混合物質を添加した後に，ジクロロメタン等により超音波抽出を行い，ろ液と同様の手法で測定を行った。固相カートリッジは，J.T.Barkerbond PolarPlus C18 と Octadecyl C18 を連結したものであり, 通水後に脱水した後に，15mL のジクロロメタンで溶出し，溶出液を窒素気流で濃縮し，500μL の GC/MS 測定試料とした。試料はスプリット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



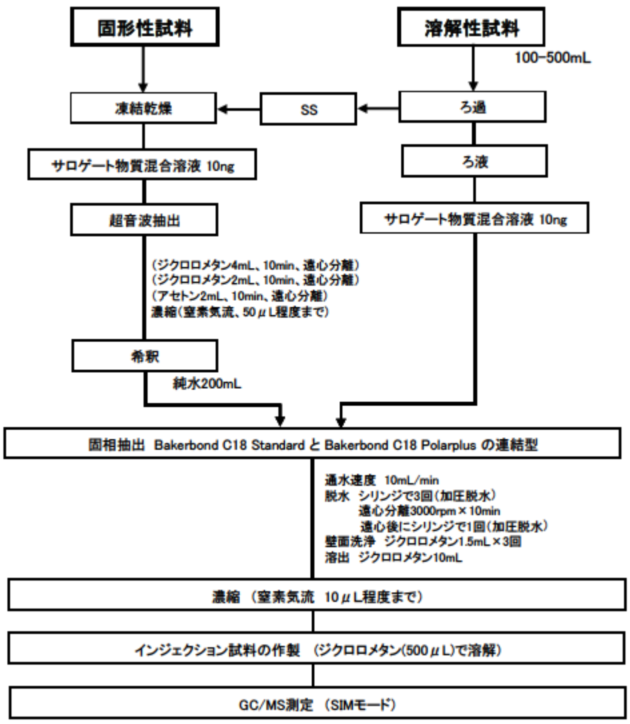
図－１　調査対象地点（都市の雨天時表面流出水）



図－２　調査対象地点（畜産・浄化槽排水等の影響を受ける河川・湖沼）



図－３　LC/MS/MS による PPCPs の分析方法



図－４　GC/MS による PPCPs の分析方法

２－２．流域における挙動の解明

霞ヶ浦流域の河川・湖沼の各調査地点における晴天時・雨天時の PPCPs 濃度および輸送量を比較することにより，降雨による PPCPs 負荷量変化や畜産・浄化槽排水の流入による影響等を検討した。検討対象とする PPCPs は，多くの地点で検出されている代表的物質として，動物用医薬品として C20 Lincomycin（リンコマイシン系抗生物質），人用医薬品として C14 Clarithromycin（マクロライド系抗生物質），日用品として C82 Caffeine（カフェイン）を選定した。

３．　研究結果および考察

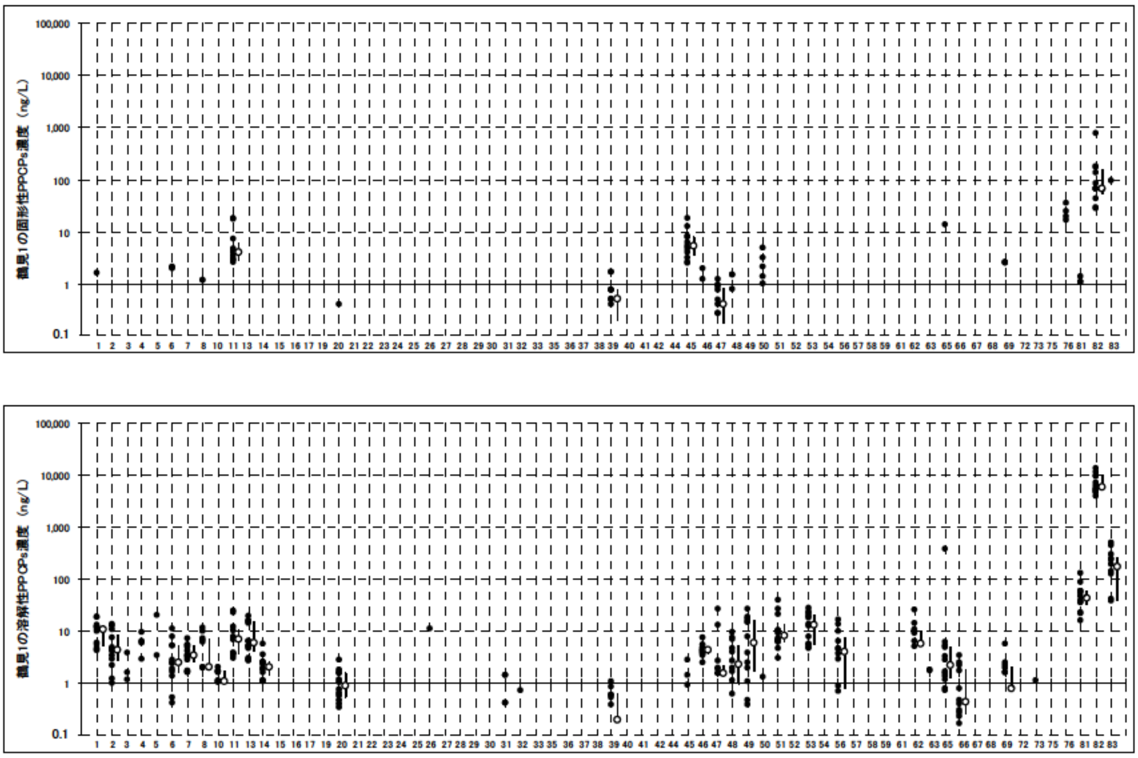
３－１．環境への放出・移行・変化量の把握

３－１－１．都市の雨天時表面流出水調査

都市の雨天時表面流出水中のPPCPsの濃度について，LC/MS/MS で測定した医薬品・日用品類の固形性および溶解性濃度を図-5 に示し，GC/MS で測定した香料・紫外線吸収剤の固形性および溶解性濃度を図-6 に示した。以下に，結果の詳細を述べる。

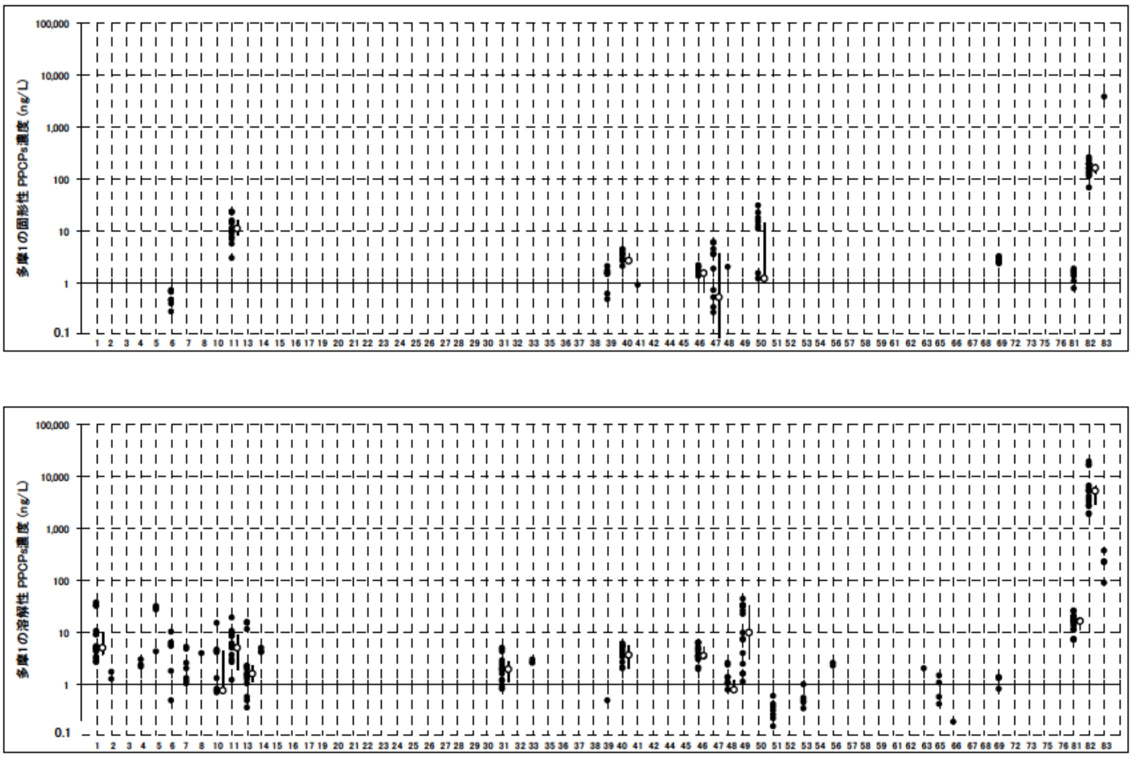
（１）医薬品・日用品類(LC/MS/MS 測定)

測定結果の全体的な傾向として，都市の雨天時表面流出水中の医薬品・日用品類の濃度は，下水処理水や河川水よりも低濃度であった。従って，都市表面流出由来のこれらのPPCPsの排出量は全般的に少ないものと考えられた。また，雨天時に低濃度の都市表面流出水が河川に流入することにより，河川水中濃度は低下するものと考えられた。一方で，C83 ニコチンについては，溶解性で高濃度であり特異的に流出していることから，路面のタバコの吸い殻等に由来するものではないかと推定され，都市の表面流出に由来する微量化学物質汚染の指標マーカーとして有用であると示唆された。



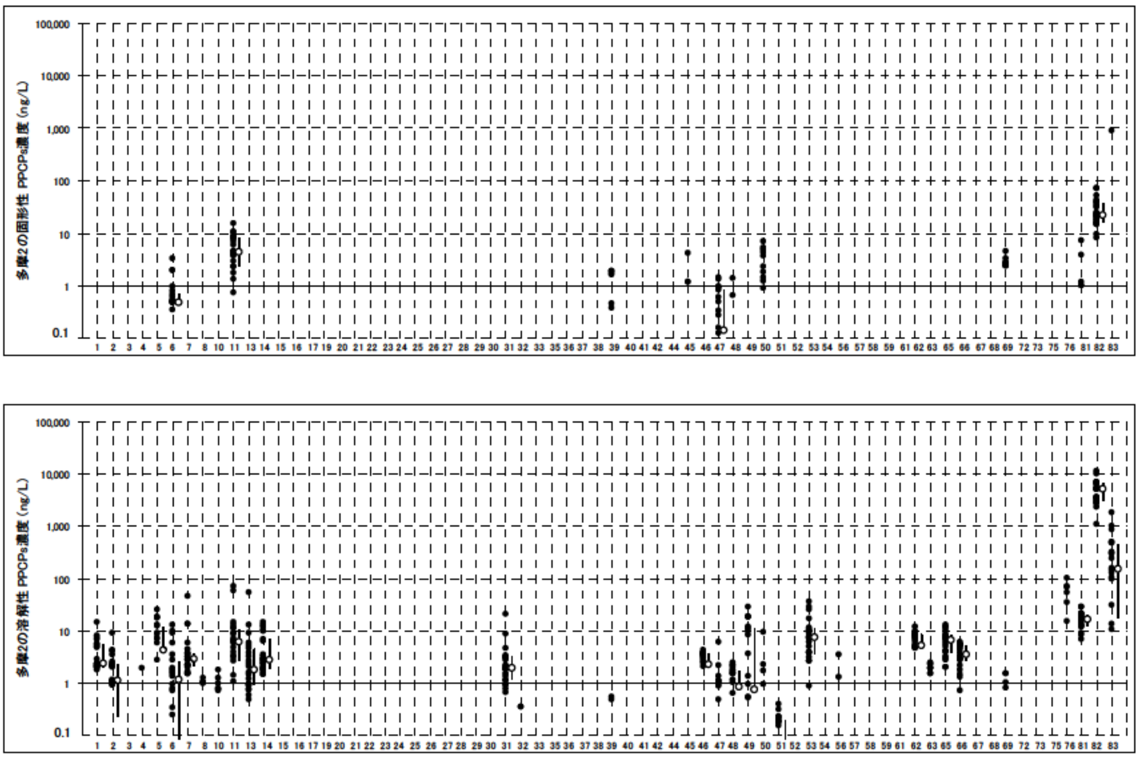
図－5(1)　都市の雨天時表面流出水中の医薬品類濃度（鶴見 1）

(横軸は C1 等の物質番号を示す。●は個別のデータを示す。その右横の○は中央値，上下の縦棒は 25%～75%値を示す。)



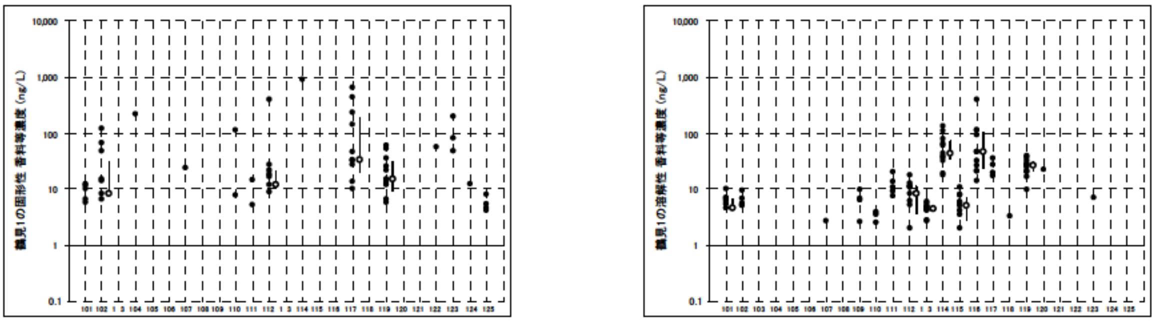
図－5(2)　都市の雨天時表面流出水中の医薬品類濃度（多摩 1）

（横軸は C1 等の物質番号を示す。●は個別のデータを示す。その右横の○は中央値，上下の縦棒は 25%～75%値を示す。）



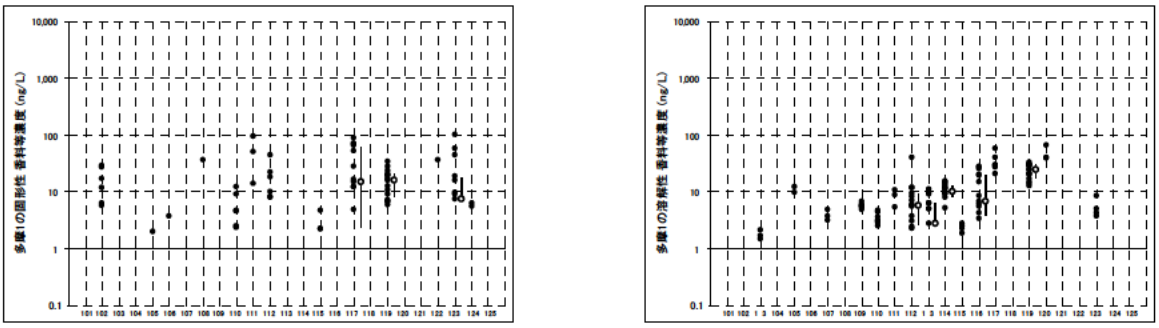
図－5(3)　都市の雨天時表面流出水中の医薬品類濃度（多摩 2）

（横軸は C1 等の物質番号を示す。●は個別のデータを示す。その右横の○は中央値，上下の縦棒は 25%～75%値を示す。）



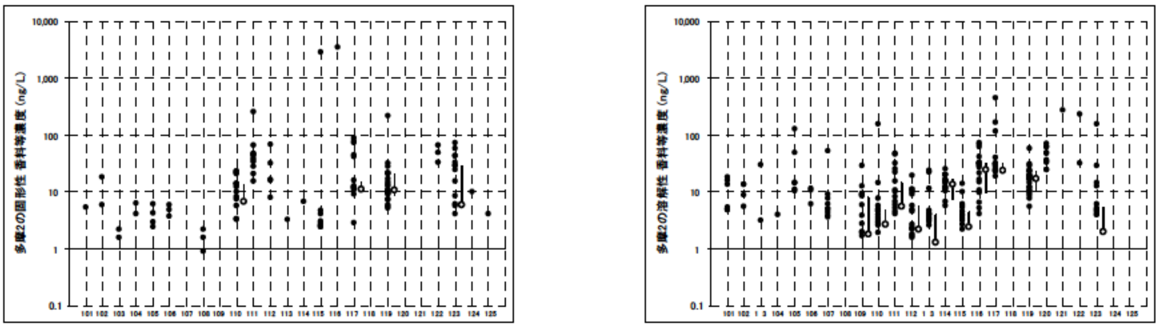
図－6(1)　都市の雨天時表面流出水中の香料等濃度（鶴見 1）

（横軸は C1 等の物質番号を示す。●は個別のデータを示す。その右横の○は中央値，上下の縦棒は 25%～75%値を示す。）



図－6(2)　都市の雨天時表面流出水中の香料等濃度（多摩 1）

（横軸は C1 等の物質番号を示す。●は個別のデータを示す。その右横の○は中央値，上下の縦棒は 25%～75%値を示す。）



図－6(3)　都市の雨天時表面流出水中の香料等濃度（多摩 2）

（横軸は C1 等の物質番号を示す。●は個別のデータを示す。その右横の○は中央値，上下の縦棒は 25%～75%値を示す。）

検出頻度の高い物質は河川水・下水処理水と同様であり，非ステロイド系抗炎症薬（C1 Ibuprofen ～C13 Ethenzamide），人用抗生物質の C14 Clarithromycin ， サルファ剤の C31 Sulfamethoxazole ， 日用品の抗菌剤 C45 Triclocarban，C46 p-Hydroxybiphenyl，防腐剤の Paraben 類（C47～C51），高脂血症薬の C53 Bezafibrate，降圧剤の C62 Valsartan，抗てんかん薬の C65 Carbamazepine 等であった。また，C82 Caffeine についても，中央値が溶解性で 1μg/L 以上で高濃度であった。
一方，固形性物質については，溶解性物質よりも存在量が少なく検出率も低い場合が多かったが，C45 Triclocarban では固形性の方が高濃度であった。Triclocarban は物性として固形性で存在する割合が高い傾向があり，雨天時の表面流出水中には SS 等の懸濁物質が多く存在することから，固形性濃度が高くなったものと考えられた。

医薬品・日用品類由来の化学物質は，主として下水中に排出されると考えられることから，今回の調査対象である下水道整備済みの区域では，雨水（雨天時の表面流出水）中にはほとんど検出されないと予想された。しかし結果としては，低濃度ながらも幅広い物質が検出されており，その排出源は明らかではないが，雨水の水路等に存在している PPCPs が，降雨により希釈された流出水として河川等に放流されるものと考えられた。

（２）香料・紫外線吸収剤(GC/MS 測定)

測定結果の全体的な傾向として，都市の雨天時表面流出水中の香料・紫外線吸収剤の濃度は，下水処理水や河川水よりも低濃度であった。従って，都市表面流出由来のこれらの PPCPs の排出量は全般的に少ないものと考えられた。また，雨天時に低濃度の都市表面流出水が河川に流入することにより，河川水中濃度は低下するものと考えられた。香料では芳香族系アルデヒドの C112 Jasmonal H，シクロペンタンの C117 Methyl dihydrojasmonate（Hedion)が高濃度でよく検出され，ほとんどが溶解性で存在していた。紫外線吸収剤では，桂皮酸誘導体の C117 2-Ethylhexyl p-methoxycinnamate (EHMC), ベンゾフェノン誘導体の C119 Benzophenone，安息香酸誘導体の C123 Octyl PABA が高濃度でよく検出され，固形性が溶解性と同等またはより存在量が大である傾向にあった。固形物重量ベースでの濃度は，河川底泥の報告値と同等またはそれ以上の傾向が見られたことから，雨天時に河川に輸送される SS 等の固形性物質が，河川底泥中で検出される香料・紫外線吸収剤の排出源となっている可能性が考えられた。香料・紫外線吸収剤は，医薬品類とは異なり，表皮等に外用される割合が高いことから，その排出先が主として下水であるとは限らないと考えられ，多様な経路で都市の表面流出水中に移行するものと推測された。

３－１－２．畜産・浄化槽排水の影響を受ける河川・湖沼調査

畜産・浄化槽排水の影響を受ける河川・湖沼水中の PPCPs の濃度について，LC/MS/MS で測定した医薬品・日用品類の固形性および溶解性濃度を図-7 に示し， GC/MS で測定した香料・紫外線吸収剤の固形性および溶解性濃度を図-8 に示した。以下に，結果の詳細を述べる。

（１）医薬品・日用品類(LC/MS/MS 測定)

測定結果の全体的な傾向として，浄化槽・市街地排水の影響を受けている河川（山王川）では，人用抗生物質をはじめとして，下水処理水が放流されている河川でよく検出される医薬品類が同様に検出されていた。また，畜産排水の影響を受けている河川（鉾田川）では，動物医薬品などが高濃度に検出される一方で，人由医薬品・日用品類

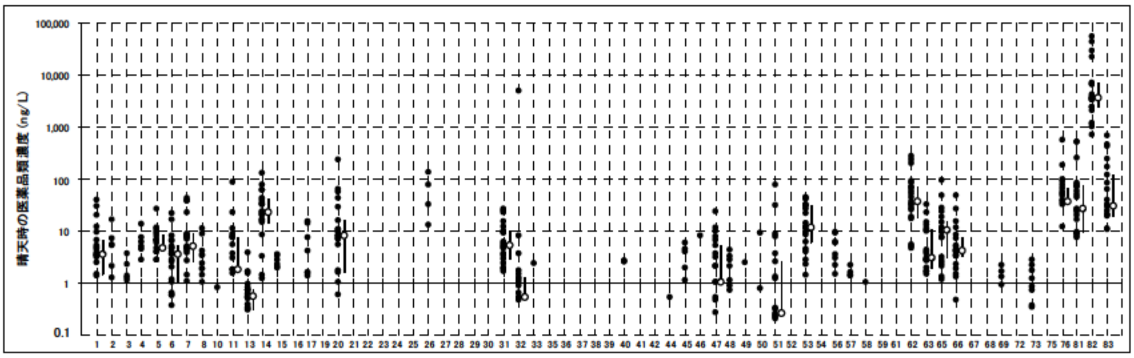
の検出頻度は低く，低濃度であった。雨天時と晴天時の比較では，浄化槽排水由来と考えられる人用医薬品等は雨天時に濃度が低下する傾向が見られたが，畜産排水由来と考えられる動物医薬品は雨天時においてより高濃度となる場合があった。従って，人用医薬品等は一定量が排出されている中で雨天時に河川水量が増加することにより濃度が低下するものと考えられた。逆に動物医薬品等は，排出された物質の一部が晴天時に流域に蓄積して雨天時に一挙に流出する可能性が示唆された。

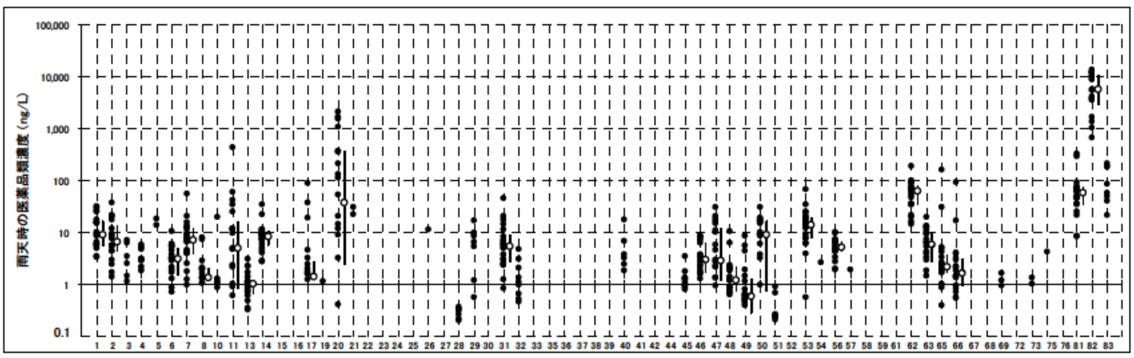
園部川・巴川では浄化槽排水と畜産排水の両方の影響が見られ，中間的傾向にあった。霞ヶ浦においては，河川流入部に近い地点では多くの物質が検出されたが，湖心では低濃度または不検出の物質が多かった。しかし，低濃度ながらもサルファ剤の C31 Sulfamethoxazole，抗てんかん薬の C65 Carbamazepine および代謝物(C66)，日用品の C82 Caffeine，C83 Nicotine 等が検出され，PPCPs が湖心にまで到達して残留していることが確認された。

（２）香料・紫外線吸収剤(GC/MS 測定)

測定結果の全体的な傾向として，浄化槽排水の影響を受けている河川水中の香料・紫外線吸収剤の濃度は，下水処理水が放流されている河川水と同程度であった。香料については，多環状ムスクの C101 HHCB，C102 AHTN，C105 AHMI，ニトロムスクの C107 Musk ketone，芳香族アルコールエステルの C109 Benzyl salicylate，シクロペンタンの C114 Methyl dihydrojasmonate (Hedion)，環状テルペンアルコールの C116 Terpineol 等が検出され，特に山王川流域で最も高濃度となる場合が多かった。

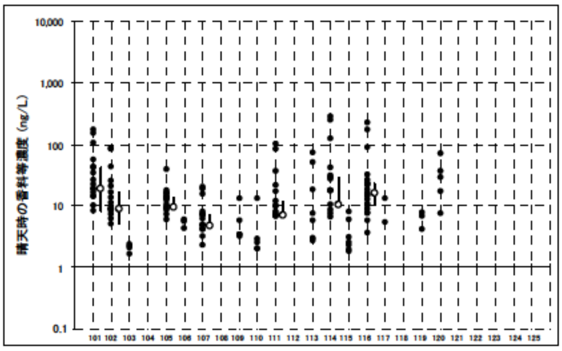
湖沼水では，C116 Terpineol が全地点で検出された他は，C101 HHCB, C102 AHTN, C107 Musk ketone が桜川沖や巴川沖で検出されるなど，少数

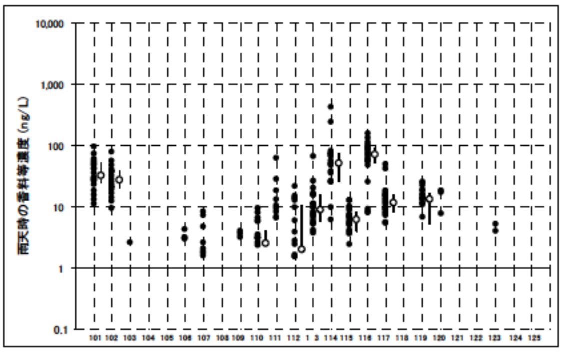




図－7　霞ヶ浦流域の河川湖沼の医薬品類濃度

（横軸は C1 等の物質番号を示す。●は個別のデータを示す。その右横の○は中央値，上下の縦棒は 25%～75%値を示す。）





図－8　霞ヶ浦流域の河川湖沼の香料等濃度

(横軸は C1 等の物質番号を示す。●は個別のデータを示す。その右横の○は中央値，上下の縦棒は 25%～75%値を示す。)

の検出事例はあったものの，検出濃度および頻度ともに河川水よりは低かった。紫外線吸収剤については，晴天時にベンゾフェノン誘導体の C120 Benzophenon-3 が主に山王川流域の河川水で検出されたが，湖沼水では不検出であった。雨天時には河川水中で桂皮酸誘導体の C117 EHMC が晴天時よりも高頻度・高濃度で検出され，固形性での存在割合も高かった。EHMC は物性として固形性で存在する割合が高い傾向があることから，晴天時に河川底泥等に堆積したものが雨天時に流出している可能性が示唆された。これらより，霞ヶ浦流域では，浄化槽・市街地排水の影響が大きい山王川流域において特に香料・紫外線吸収剤が高い濃度で検出されるが，湖沼では濃度が低下するものと考えられた。また，紫外線吸収剤の検出例は少なかったが，調査時期が冬季であったため，使用量が少ないことにより低濃度であった可能性も考えられた。

３－２．流域における挙動の解明

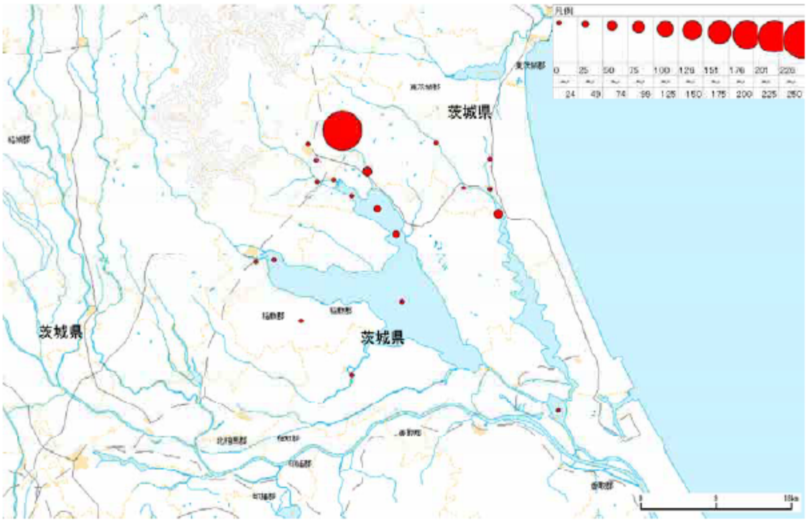
（１）流域の特性

霞ヶ浦流域には，下水道整備が進んでいない地域が残っており，特に山王川流域は浄化槽・市街地排水の影響が強いとされている。また，鉾田川は畜産影響が強いとされており，園部川，巴川でも下水道以外の影響が強いと考えられる。恋瀬川，清明川，小野川，桜川は霞ヶ浦に流入する主要河川である。湖内においては，西浦に 5 地点があり，桜川沖（土浦入り）は桜川の影響を受けやすい湖岸に近い位置にあり，高崎沖（高浜入り）は恋瀬川および山王川の影響を受けやすい湖岸に近い位置にある。園部川沖（高浜入り）は，湖岸より離れているが園部川の影響を受ける位置にあり，玉造沖（高浜入り）はより湖内に入った位置にある。湖心は湖岸より遠く，流入水質の影響を減少していると考えられる位置にある。巴川沖は北浦にあり，鉾田川および巴川の影響を受けやすい位置にある。外浪逆浦は，西浦および北浦とつながっており両者の影響を受けると考えられる。

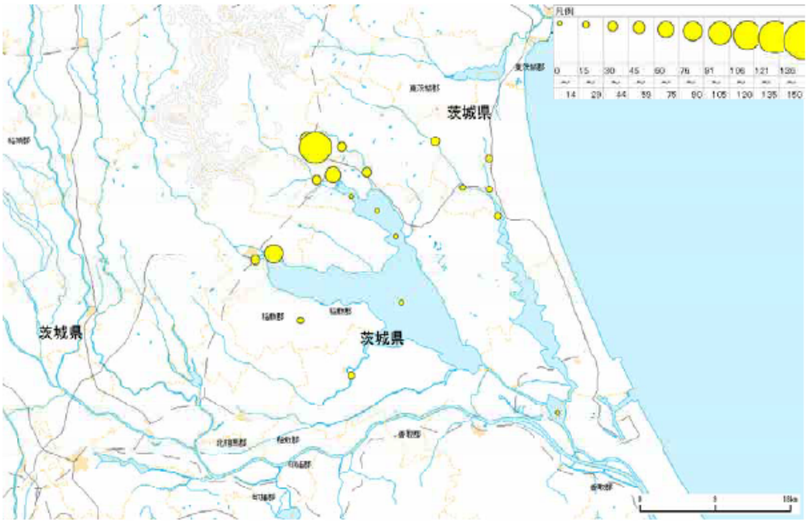
こうした流域特性をふまえて，個別の物質について検討した結果を（２）以降に示す。

（２）Lincomycin（リンコマイシン系抗生物質）の挙動

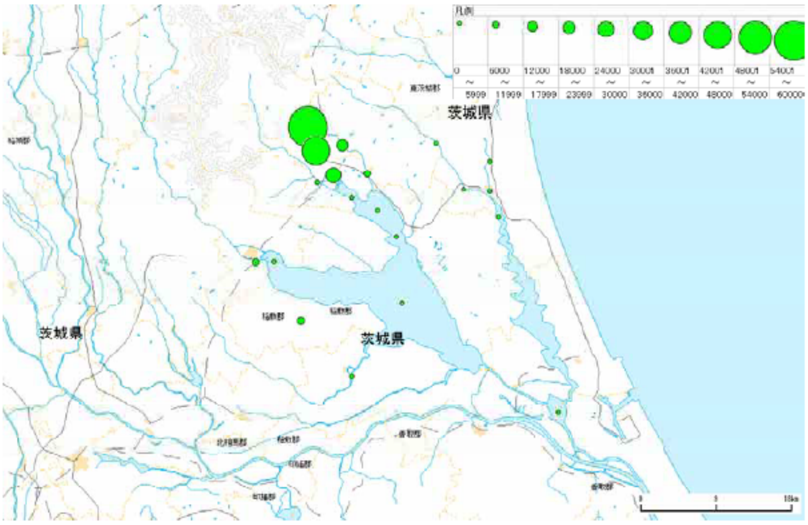
C20 Lincomycin の検討結果を，溶解性濃度の挙動について図-9(a)に，輸送量について図-10 の(a)にそれぞれ示す。動物用医薬品であり，畜産影響が強いとされる鉾田川で高濃度が予想されたが，晴天時では園部川流域が最も高濃度（約 63～240mg/L）であり，1 オーダー以上低い 10ng/L 付近の濃度で，鉾田川，巴川，桜川で検出された。一方，雨天時では鉾田川が最も高濃度であり，最大で約 2μg/L となり晴天時の 200 倍程度であった。



(a)C20 Lincomycin

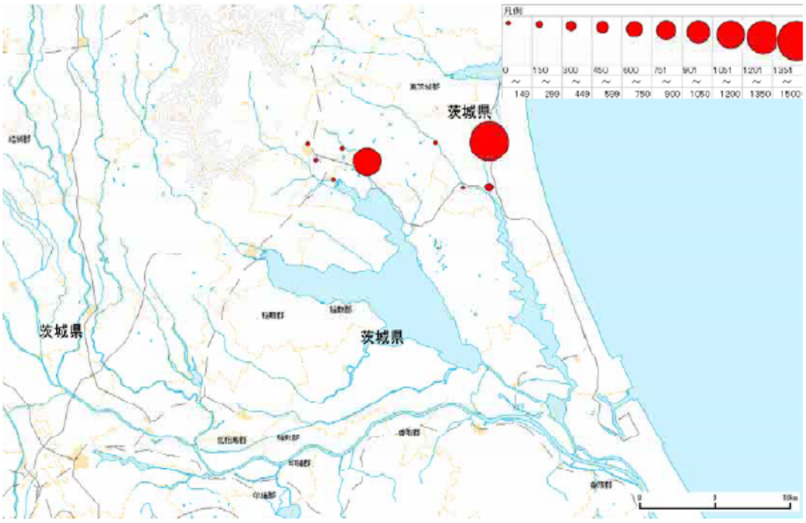


(b)C14 Clarithromycin



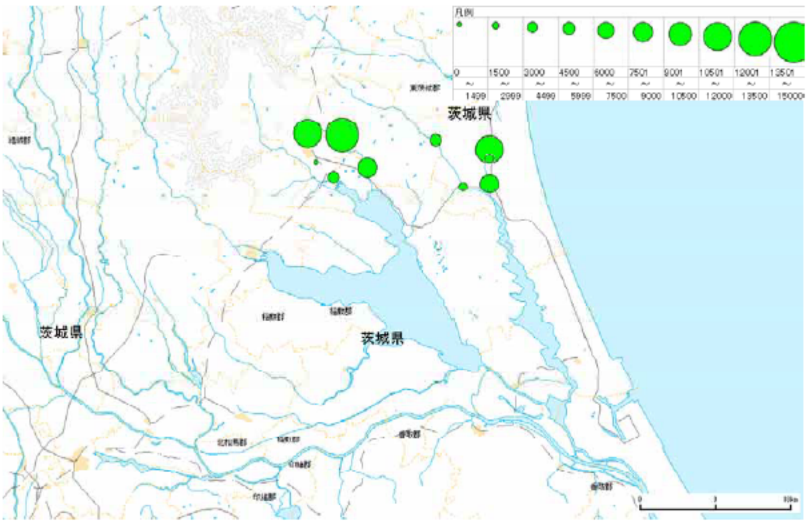
(c)C82 Caffeine

図－9(1)　霞ヶ浦流域の PPCPs 挙動（晴天時，21 地点，溶解性濃度 ng/L）



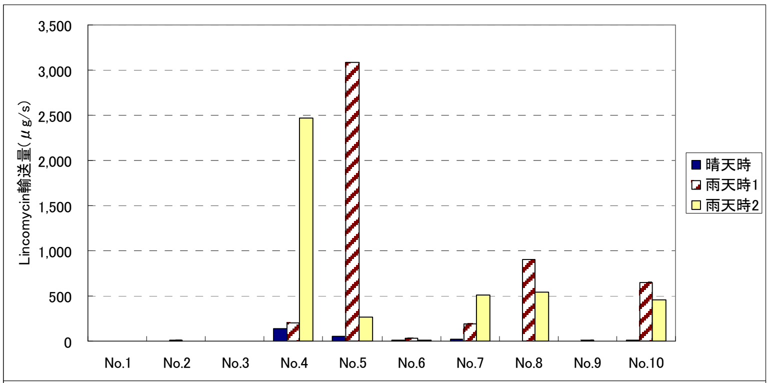
(a)C20 Lincomycin

(b)C14 Clarithromycin

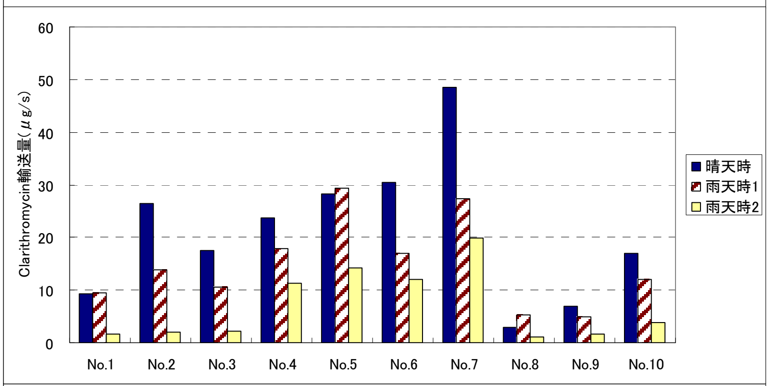


(c)C82 Caffeine

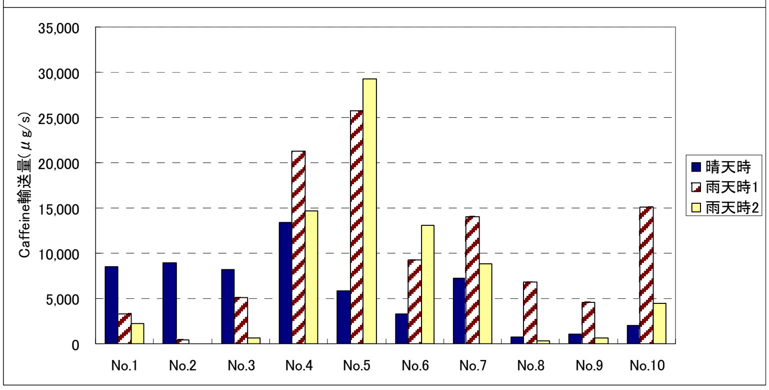
図－9(2)　霞ヶ浦流域の PPCPs 挙動（雨天時，10 地点，溶解性濃度 ng/L）



(a)C20 Lincomycin



(b)C14 Clarithromycin



(c)C82 Caffeine

図－10　霞ヶ浦流域の河川における雨天時の PPCPs 輸送量

鉾田川では，本流の上流側の地点（No.9 駒木根橋下流）よりも，そこへ合流する前の支流の地点（No.8 安房合流前）の方が高濃度であり，下流の地点（No.10 富士橋）において検出された濃度は主として支流からの寄与によるものと考えられた。

園部川では，上流の大手橋よりも下流の園部大橋で低濃度であったことから，大手橋より上流部で Lincomycin が多く排出されているものと考えられた。

湖内では，西浦の園部川沖，玉造沖で約 29ng/L，約 44ng/L で検出されているのは園部川の影響と考えられ，桜川沖で約 5ng/L で検出されているのは桜川の影響と考えられるが，恋瀬川および山王川で 1～2ng/L 程度にもかかわらず，高崎沖で約 16ng/L で検出されている理由は不明である。

また，北浦の巴川沖で約 56ng/L で検出されているのは巴川および鉾田川の影響と考えられるが，流入河川よりも湖内濃度が高くなる理由は不明であり，他の小さな流入河川などで高濃度の流入がある可能性も考えられた。

湖心においても約11ng/Lで検出されていることから，Lincomycinは湖へ連続的に供給されていること，水環境中での分解が比較的遅く湖への流入後に速やかに分解されることなく湖心にまで到達していることが推定され，流域での挙動に注意する要する物質であると考えられた。

輸送量については，山王川，園部川，巴川および鉾田川の最下流地点での合計値として，晴天時で約 80 μ g/s，雨天時で約 3.9mg/s および約 1.2mg/s（約6時間後）であり，雨天時に大幅に増加した。流量の合計が晴天時で4.0m³/s，雨天時で9.4m³/s および6.6m³/s（約6時間後）であり，降雨による流量増加は約 2.3 倍にしか達していないが, Lincomycinの輸送量は約49倍になっている。従って, 晴天時に流域で排出されたLincomycinが河川まで流達せずに蓄積しており，雨天時に一挙に流出しているのではないかと考えられた。

輸送量が最も多かったのは, 園部川であり（No.5 園部大橋で約 3mg/s），次いで鉾田川（No.10 富士橋で約 0.65mg/s）であった。鉾田川の方が高濃度であったが，園部川の方が流量が大であったため，輸送量で上回った。鉾田川では, 上流の支流の No.8 安房合流前の方が最下流の No.10 富士橋よりも高濃度かつ輸送量も多く，雨天時には晴天時の約 3 倍の流量で約 450 倍の輸送量となったことから，雨天時にLinconycinが大量に流出する排出源を抱えた流域特性を有するものと考えられた。

Lincomycin は主として動物用の抗生物質であり, 統計によると年間生産量17.2tの大半は犬猫用であるが，約0.3tが豚にも使用されている。仮に犬猫用に使用されたものが流出しているのであれば，地域に大きな偏りなく検出されるはずであるが，実際には園部川や鉾田川流域で特異的に高濃度に検出されていることから，畜産（豚）に集中的に使用されたLincomycinが, 雨天時に流出している可能性が示唆された。

（３）Clarithromycin（マクロライド系抗生物質）の挙動

Clarithromycinの検討結果を，溶解性濃度の挙動について図-9(b)に，輸送量について図-10 の(b)にそれぞれ示す。まず晴天時の結果については，人用医薬品であることから，浄化槽・市街地排水の影響が強い山王川流域で最も高濃度（約 61～130ng/L）であった。それ以外の河川でも，約 15ng/L～42ng/L の範囲で全地点で検出されていることから，Clarithromycinが広く使用されて排出が広範囲でなされていることが分かった。

また，畜産排水の影響が大きい鉾田川では約 15～21ng/L であったのに対して，山王川では約 61～130ng/L，園部川では約 33～40ng/L，桜川では約 42ng/L であり, 浄化槽排水の影響が大きいと考えられる流域で，より高濃度であると考えられた。

湖沼では，湖心を除く各地点で検出された。桜川沖が約 79ng/L で最も高濃度であり, 桜川の影響を受けているものと考えられた。次いで巴川沖で約 22mg/L で検出されており，主として巴川の影響を受けているものと考えられたが，恋瀬川および山王川の影響を受ける高崎沖ならびに園部川の影響を受ける園部沖，さらに湖内よりの玉造沖では，流入河川の濃度が巴川よりも高いにもかかわらず湖水濃度は約 1～3ng/L と低い値であり, その理由は不明であった。湖心では不検出であったことからも，河口部から離れると速やかに濃度が減少する可能性が考えられた。

従って，Clarithromycinは水環境中での残留性はあまり高くなく，湖心まではほとんど到達しないものの，多量に使用されて排出されているために河川水中では高濃度となり，湖水中でも河川流入部近くでは高濃度となっていると推定され，市街地排水等の影響を受けている近傍の地点では注意が必要な物質であると考えられた。

雨天時においては，晴天時より濃度が低下する

傾向であった。輸送量は，山王川，園部川，巴川および鉾田川の最下流地点での合計値として，晴天時で約 110μg/s，雨天時で約 79μg/s および約 40μg/s（約 6 時間後）であり，雨天時に輸送量が増加することはなかった。従って，Clarithromycina は晴天･雨天にかかわらず定常的に河川に流出しており，雨天時には流量の増加により濃度が低下するものと考えられた。この挙動特性は，主たる排出源が浄化槽排水であるとの想定に一致している。

（4）Caffeine（カフェイン）の挙動

Caffeine の検討結果を，溶解性濃度の挙動について図-9(c)に，輸送量について図-10 の(c)にそれぞれ示す。医薬品としても用いられているが，主として日用品（飲料等）であり，晴天時の結果では，浄化槽・市街地排水の影響が強い山王川流域で最も高濃度（約 29～55μg/L）であった。それ以外でも，河川の全地点で約 2.4～23μg/L 程度で検出されており，前述の Lincomycin，Clarithromycin に代表される他の医薬品類がせいぜい 100ng/L 程度で ng/L レベルであったのと比べて，3 オーダーほど高濃度のμg/L レベルで存在していたことから，広範囲に排出されているものと考えられた。

鉾田川では約 2.4～3.5μg/L であったのに対して，山王川では約 29～55μg/L，園部川では約 6.8～23μg/L，桜川では約 7.0μg/L であり，市街地排水の影響が大きいと考えられる流域で，より高濃度であると考えられた。

湖沼でも全地点で検出され，巴川沖が約 3.9μg/L で最も高濃度であり，湖心が約 0.7μg/L で最も低濃度であった。巴川沖については，巴川の下流（粟野橋）で約 3.5μg/L，鉾田川の下流（富士橋）で約 2.4μg/L であり他の流入河川と比較して低濃度であることから，これらの流入河川以外の負荷源が寄与している可能性が示唆された。次いで，高崎沖が約 3.3μg/L で高濃度であったが，これは山王川が最も高濃度であったことと，恋瀬川でも約 4.1μg/L であったことから，これらの流入河川の影響を受けているものと考えられた。

逆に，園部川の下流（園部大橋）で約 6.8μg/L，桜川で約 4.2μg/L と高濃度であったにもかかわらず，これらの流入河川の影響を受けている園部川沖では約 1.0μg/L，桜川沖では約 2.1μg/L であり比較的低濃度であった理由は不明であった。

また，湖心でも，μg/L レベルで検出されたことから（約 0.7μg/L），高濃度で流入した Caffeine が減少しながらも湖心にまで到達していることが分かった。

従って，Caffeine は他の医薬品類よりも 3 オーダー程度高い濃度で水環境中に存在しており，水環境中でも急速には分解されず，湖心にまで到達していることから，極めて広範囲かつ高濃度で検出される物質であることが分かった。Caffeine 自体に強い環境影響があるとの報告はないものの，高濃度・高頻度検出の特性を利用して，他の医薬品類の挙動を検討する上での指標物質として活用できる可能性が示唆された。

雨天時においては，浄化槽・市街地排水の影響が大である山王川では晴天時より濃度が低下する傾向であり，それ以外の河川では雨天時にやや増加する場合が見られた。輸送量は，山王川，園部川，巴川および鉾田川の最下流地点での合計値として，晴天時で約 23mg/s，雨天時で約 60mg/s および約 43mg/s（約 6 時間後）であった。

Caffeine は主として人の日用品由来と考えられることから，Clarithromycin と同様に晴天・雨天にかかわらず定常的に河川に流出しており，雨天時には流量の増加により濃度が低下するものと予想されたが，山王川以外では，雨天時に濃度が増加していた。流域内で蓄積された Caffeine が雨天時に流出している可能性も考えられるが，固形性での Caffeine 濃度は溶解性よりも大幅に低いこと

からも，雨天時に輸送量が増加する挙動の機構は不明であった。

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・日用品類および香料・紫外線吸収剤を対象として，雨天時における都市からの表面流出水および畜産・浄化槽排水等の下水処理場以外の排出源からの環境への放出・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。

都市の雨天時表面流出水については，下水処理水や河川水よりも低濃度であった。従って，都市表面流出由来のこれらのPPCPsの排出量は全般的に少ないものと考えられた。また，雨天時に低濃度の都市表面流出水が河川に流入することにより，河川水中濃度は低下するものと考えられた。医薬品・日用品類では，非ステロイド系抗炎症薬，抗生物質等が検出され，香料・紫外線吸収剤も一部検出された。

畜産・浄化槽排水等の影響を受ける河川・湖沼水については，市街地・畜産それぞれの流域特性に応じて，検出される物質の傾向に違いが見られた。浄化槽・市街地排水の影響を受ける河川では下水処理水が放流されている河川と同様の物質が検出され，畜産排水の影響を受ける河川では，特徴的な動物医薬品が検出された。雨天時に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。

４－２．流域における挙動の解明

霞ヶ浦流域の河川・湖沼の各調査地点における晴天時・雨天時の PPCPs 濃度および輸送量を比較することにより，降雨による PPCPs 負荷量変化や畜産・浄化槽排水の流入による影響等を検討した。

検討対象とする PPCPs は，多くの地点で検出されている代表的物質として，動物用医薬品として C20 Lincomycin（リンコマイシン系抗生物質），人用医薬品として C14 Clarithromycin（マクロライド系抗生物質），日用品として C82 Caffeine（カフェイン）を選定した。

代表的物質として，動物用医薬品の Lincomycin（リンコマイシン系抗生物質）は，畜産排水の影響を受ける鉾田川や園部川で高濃度に検出された。雨天時において晴天時よりも高濃度となり，輸送量も大幅に増加したことから，晴天時に排出されたLincomycinが流域内に蓄積しており，雨天時に一挙に河川に流出することが示唆された。また，霞ヶ浦湖内の各地点および湖心でも検出されたことから，湖へ連続的に供給されていること，水環境中での分解が比較的遅く湖への流入後に速やかに分解されることなく湖心にまで到達していることが推定され，流域での挙動に注意する要する物質であると考えられた。

人用医薬品の Clarithromycin（マクロライド系抗生物質）は，浄化槽・市街地排水の影響を受ける山王川で最も高濃度であった。雨天時においても輸送量が増加しなかったことから，晴天・雨天にかかわらず定常的に河川に流出しており，雨天時には流量の増加により濃度が低下するものと考えられた。また，湖沼での挙動として，水環境中での残留性はあまり高くなく，湖心まではほとんど到達しないものの，多量に使用されて排出されているために河川水中では高濃度となり，湖水中でも河川流入部近くでは高濃度となっていると推定され，市街地排水等の影響を受けている近傍の地点では注意が必要な物質であると考えられた。

日用品の Caffeine（カフェイン）は，浄化槽・市街地排水の影響が強い山王川流域で最も高濃度であり，他の医薬品類がせいぜい 100ng/L 程度でng/L レベルであったのと比べて，3 オーダーほど

高濃度のμg/L レベルで存在していた。水環境中でも急速には分解されず，湖心にまで到達していることから，大量に排出されて極めて広範囲かつ高濃度で検出される物質であることが分かった。Caffeine 自体に強い環境影響があるとの報告はないものの，高濃度・高頻度検出の特性を利用して，他の医薬品類の挙動を検討する上での指標物質として活用できる可能性が示唆された。

今後は，畜産等の排出源の調査および詳細な挙動の解明ならびにとりまとめを進めていくこととする。

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) 尾崎正明，山下洋正，亀田　豊，(2008) 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

4) 15509 の化学商品，化学工業日報社，2009

5) 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

Ⅱ．水質チームによる研究

下水道における化学物質の挙動に関する調査

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、最近、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の懸念から、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。平成 20 年度は、標準活性汚泥法に準じた運転を行っている活性汚泥処理実験プラントにおいて、処理プロセスごとの試料について溶存態・懸濁態別に医薬品（92 物質）の測定を行い、活性汚泥処理プロセスにおける挙動把握を行った。また、標準活性汚泥法等における下水処理水中に残存する化学物質の除去率向上手法についての検討を行なった。更に、PRTR 制度対象物質のうち下水道法の規定に基づく水質検査対象物質以外で下水道への排出量が多い又は排出割合の高い物質について、下水処理プロセスにおける挙動把握を行った。

キーワード：医薬品、挙動把握、実態把握、一斉分析、下水処理水

１．　はじめに

最近、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[1)～6)]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の懸念から、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。本調査では、我が国で最も多く採用されている標準活性汚泥に準じた処理プロセスにおいて医薬品（92 物質）の挙動把握について調査を行った。また、標準活性汚泥法等における下水処理水中に残存する化学物質の除去率向上手法についての検討を行なった。更に、PRTR 制度対象物質のうち下水道法の規定に基づく水質検査対象物質以外で下水道への排出量が多い又は排出割合の高い物質について、下水処理プロセスにおける挙動把握を行った。

２．　調査対象医薬品及び分析方法

２．１　調査対象医薬品

平成 19 年度と同じ人・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 物質を調査対象医薬品とした。

２．２　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[7)]、小森ら[8)]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（図-1）。本調査では、ろ過試料の溶存態成分(D)に加え、懸濁態成分(S)についても測定した。

先ず、メスシリンダーで量りとった試料 50-200 mL を吸引ポンプを用いてガラス繊維ろ紙(Whatman 社, GF/F 47 mm Ø, 粒子保持能 0.7 μm)で吸引ろ過した。以後、ろ液を溶存態試料、ろ紙上の残渣を懸濁態試料とし、それぞれ個別に前処理操作を行った。ろ過後のろ紙は、分析前処理直前まで-30℃にて凍結保存した。

①　溶存態試料（ろ液）の前処理

ろ液は固相抽出に先立ち、1 mol/L 塩酸を用いて pH3.5～4.5 の間となるように pH 調整を行った。固相カートリッジには、Waters 社の Oasis HLB Plus 6 cc（充填量 200

mg)を使用し、Waters 社の加圧型固相抽出装置 Sep-Pak Concentrator を用いて固相抽出を行った。カートリッジは、メタノール 15 mL 及び、1mol/L 塩酸を用いて pH4 に調整した MilliQ 水(以下 pH4 水)15mL（各通液速度 1 mL/min)でコンディショニングした後、ろ液を 10 mL/min の速度で通水した。通水後、試料容器内壁を pH4 水で洗い(約 20 mL × 2 回, 通水 10 mL/min)、次いで、pH4 水 10 mL を 1 mL/min の速度で通水してカートリッジの洗浄を行った。カートリッジは、10 mL の注射筒で加圧しておおまかな脱水を行った後、遠心分離機で遠心(3000 rpm, 5 min)し、次いで窒素吹き付け装置で窒素気流下(室温, 90 min)において乾燥した。カートリッジからの対象物質の溶出には、エキストラクションマニホールド(Waters 社製)を用いた。カートリッジを設置後、メタノール 6 mL をホールピペットで加え、自然滴下にて溶出した。溶出液は 10 mL のねじ蓋付きガラス管にて受けた。

② 懸濁態試料（ろ紙上残渣）の前処理

-30° C で凍結保存したろ紙をアルミホイルごと 900 mL 容ガラス製凍結乾燥瓶に入れ、凍結乾燥機で乾燥した。ろ紙を 100 mL 容ビーカーに入れ、メタノール 15 mL を加えて、超音波抽出装置（周波数 28 kHz）により超音波抽出を行った(15 分間)。抽出液は別の 100 mL のビーカーに移し、同様に後 2 回超音波抽出を行い、その抽出液も同じビーカーに集めた。抽出液のろ過はステンレスフィルターホルダー(Millipore 社製)にセットしたガラス繊維ろ紙(Whatman 社, GF/F 25 mm Ø, 粒子保持能 0.7 μm)にて行った。フィルターホルダーの上には 20 mL 容注射筒を溶液リザーバーとして取り付けた。ろ過に先立ち、ホルダー及びろ紙を十分量のメタノールで洗浄した。ろ過の操作方法は以下の通りとした。ろ紙抽出液をパスツールピペットで 20 mL の注射筒にのせ、自然ろ過した。次いでメタノール 5 mL をのせ、ホルダー及びろ紙を洗浄した。ろ液は 100 mL のナス型フラスコで受けた。100 mL のナス型フラスコ内のろ液をロータリーエバポレータ(湯煎 34° C)で濃縮乾固し、少量のメタノールでフラスコ内壁を洗いながら、洗液を 10 mL のねじ蓋付きガラス管に移し入れた。

③ LC/MS/MS 測定用試料の調整

溶存態試料および懸濁態試料のメタノール溶液を窒素気流下(恒温槽温度;37℃)で濃縮乾固し、1 mL 容ホールピペットを用いてアセトニトリル：0.1%ギ酸 MilliQ 水 = 7：93 溶液 1 mL で定容した。溶液は超音波抽出装置（周波数 28 kHz, 1 min)にかけた後、遠心分離機（1000 rpm, 1 min)にかけ、上澄み液を LC/MS/MS の測定用試料とした。試料は LC/MS/MS 測定直前まで 4° C で保管した。

④ LC/MS/MS による測定方法

LC/MS/MS 分析で用いたカラム等の分析条件を表-1、溶離液の条件を表-2 に示した。

⑤ 検量線溶液の作製

医薬品 92 物質の混合標準物質溶液を基に、濃度範囲 0, 0.4, 0.8, 2.0, 4.0, 10, 20, 50, 100, 250 μg/L となる検量線溶液を作製した。希釈は分析試料溶液に合わせて、同じアセトニトリル：0.1%ギ酸 Milli-Q 水 = 7：93 溶液にて行った。0 μg/L は希釈溶液そのものとした。

⑥ 定量計算

絶対検量線法により定量した。横軸に標準物質の濃度、縦軸に標準物質の対象物質面積値をとり、検量線(直線近似式)を求めた。この検量線に試料中の対象物質面積値を代入して、バイアル中の試料濃度を算出した。これに最終液量、試料量を換算することによって実際の試料中濃度を求めた。検量線の濃度範囲は試料ピーク面積値の大きさに合わせて適宜設定した。その際、検量線濃度段階が 5 点以上となるように選択した。

⑦ 検出下限値、定量下限値

検量線に用いる濃度段階のうち、最低濃度の混合標準物質溶液を 5 回連続で LC/MS/MS に導入して装置の検出下限値を算出した。試験方法は、面積値の標準偏差を算出し、それぞれバイアル中の濃度に換算後、最終液量及び試料量から環境試料中濃度として表した。その 3 倍値を検出下限値、10 倍値を定量下限値とした。

３．活性汚泥処理プロセスにおける医薬品の挙動把握

３．１　活性汚泥処理実験プラントの概要

活性汚泥法実験装置（図-2）は、有効水深 2m、最初沈殿池容量 4.4m^3、反応槽容量 10m^3（2m^3×5 槽）、最終沈殿池容量 4.0m^3、HRT＝12 時間、ASRT＝約 9 日、返送比＝0.6 に設定し実下水を流入水として運転した。本条件で数ヶ月運転した後、医薬品挙動調査試料の採取を行った。試料採取は平成 21 年 1 月 8 日と 13 日の 2 回スポット採取により行った。採取試料は、図-2 に示す流入水、初沈流出水、好気槽（第 1 槽）、終沈流出水、生汚泥、返送汚泥の 6 試料である。

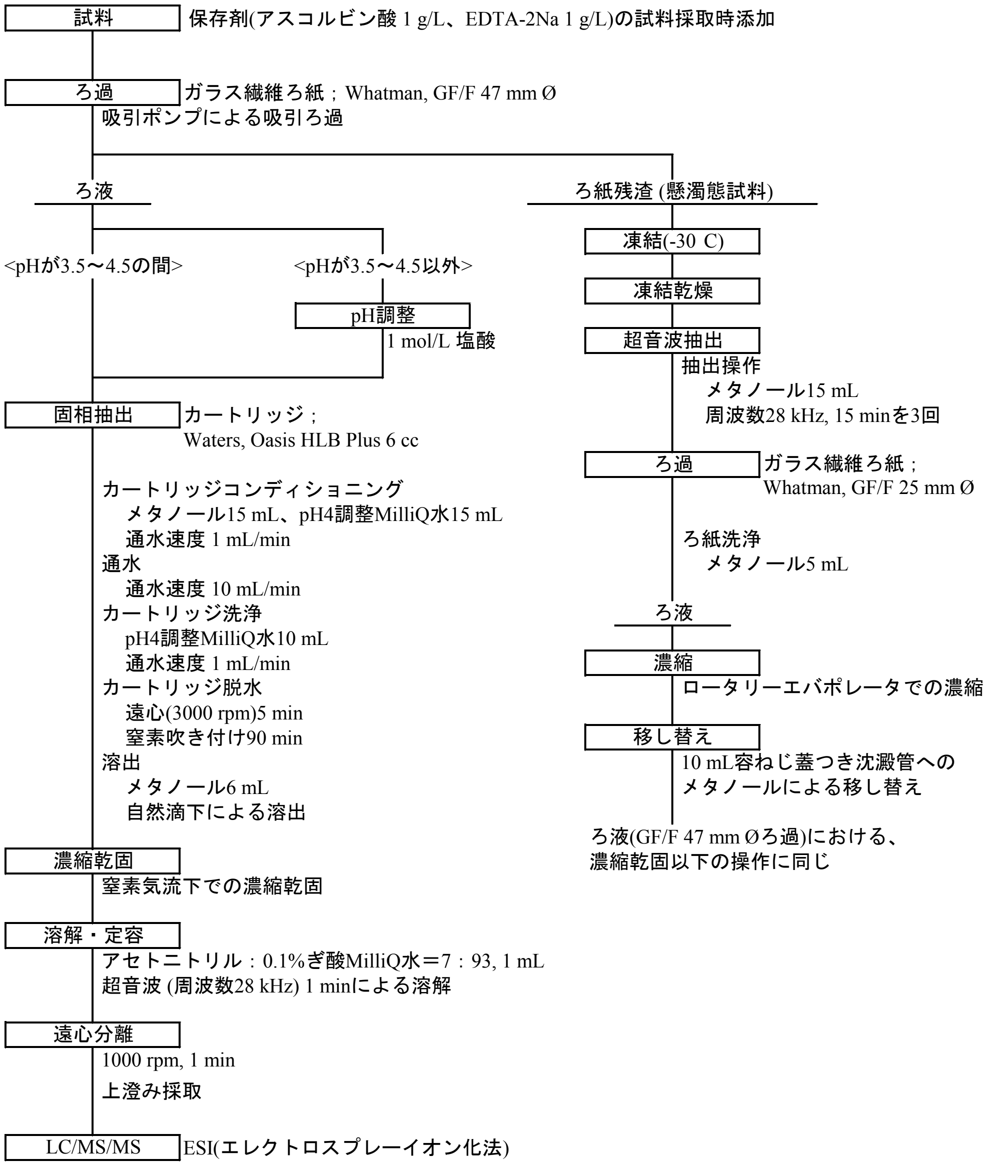


図-1　医薬品（92 物質）の分析フロー（溶存態成分・懸濁態成分）

表-1　LC/MS/MS 測定における分析条件

機器名	液体クロマトグラフ- トリプル四重極型質量分析装置(LC/MS/MS) (Aginlent 1100Series - Applied Biosystems API4000 LC/MS/MS system)	
カラム	Positiveモード	
		Waters, Atlantis T3 C_{18}； 粒子径3 µm, 内径2 1 × 長さ100 mm (ガードカラムは長さ10 mm)
	Negativeモード	
		Thermo Fisher Scientific, Hypersil Gold C_{18}； 粒子径3 µm, 内径2 1 × 長さ100 mm (ガードカラムは長さ10 mm)
カラムオーブン温度	40 00 ± 1 00℃	
試料注入量	5 µL	
試料注入方式	オートサンプラー (試料槽温度;5℃オートサンプラー (試料槽温度;5℃)	
イオン化方法	ESI(エレクトロスプレーイオン化法)	
検出器モード	MRM (Multiple Reaction Monitering)モード	
データ解析ソフト	Applied Biosystems, Analyst 1 4 2 Build 1236	

表-2　LC/MS/MS 測定における溶離液の条件

LC操作条件 (Positiveモード)

時間(min)	流速 (μL/min)	A (%)	B (%)
0.0	200	96	4
1.0	200	75	25
8.0	200	65	35
12.0	200	5	95
23.0	200	5	95
23.1	200	96	4
30.0	200	96	4

溶離液A: 0.1%ギ酸 MilliQ水
溶離液B: 0.1%ギ酸 アセトニトリル

LC操作条件 (Negativeモード)

時間(min)	流速 (μL/min)	A (%)	B (%)
0.0	200	93	7
1.5	200	65	35
6.0	200	45	55
8.0	200	5	95
18.0	200	5	95
18.1	200	93	7
26.0	200	93	7

溶離液A: 1 m mol/L 酢酸アンモニウム MilliQ水
溶離液B: アセトニトリル

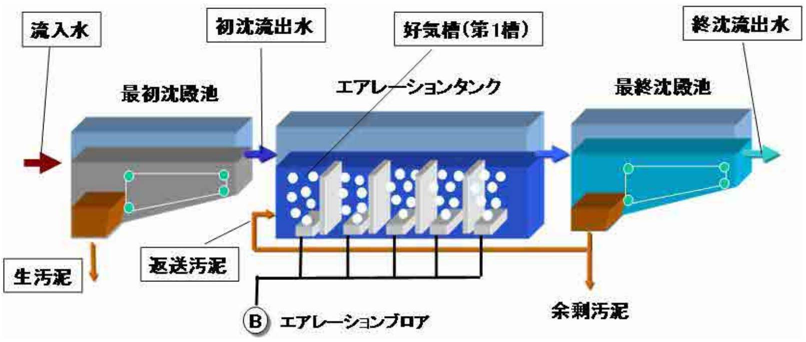


図-2　活性汚泥処理実験プラントの概要及び試料採取場所

３．２　調査結果と考察

（１）　活性汚泥処理実験プラントの運転管理状況

医薬品分析試料採取前約 1 ヶ月から試料採取時期（平成 20 年 12 月 3 日～平成 21 年 1 月 28 日）までの実験プラントの運転管理状況（水質）を表-3 に示した。

好気槽（第 3 槽）の MLSS は 2,530mg/L であり一般的な標準活性汚泥法の MLSS 濃度（1,500～2,000mg/L）に比べ少し高めの値であった。BOD-SS 負荷は 0.06～0.15（平均 0.09）kgBOD/kgSS･day となり一般的な標準活性汚泥法での数値に比べ低い設定となっていた。終沈流出水の BOD は 4.4mg/L、SS は 8.4mg/L でそれぞれ除去率は 96%(BOD)、88%(SS)であり処理は良好であった。

表-3　実験プラントの運転管理状況

	流入水	初沈流出水	終沈流出水	好気槽(第3槽)
水温(℃)	15.3-19.0 (17.0)	7.3-20.1 (14.9)	9.0-16.5 (13.0)	9.5-18.6 (14.0)
pH(—)	7.1-7.4	6.8-7.4	6.4-7.0	6.6-7.2
BOD (mg/L)	77-190 (115)	71-163 (110)	1.1-18 (4.4)	—
SS (mg/L)	37-167 (72)	19-54 (34)	1.3-26 (8.4)	—
MLSS (mg/L)	—	—	—	2,090-2,900 (2,530)
MLDO (mg/L)	—	—	—	0.5-2.2 (1.1)
SVI (mL/g)	—	—	—	207-397 (309)

（２）　採取試料の水質（一般項目）

平成 21 年 1 月 8 日、13 日に採取した試料の水質分析（一般項目）結果を表-4 に示した。採取試料の水質は表-3 に示す実験プラントの水質とほぼ同じ値を示しており、安定した運転の中で試料採取が行われたことが確認できた。

表-4　採取試料の水質（一般項目）

		流入水	初沈流出水	好気槽	終沈流出水	生汚泥	返送汚泥
BOD (mg/L)	1/8	168	110	—	2.9	—	—
	1/13	118	84	—	1.3	—	—
SS (mg/L)	1/8	201	98	—	1.2	—	—
	1/13	177	97	—	0.8	—	—
CODMn (mg/L)	1/8	73	69	—	5.9	—	—
	1/13	90	67	—	6.1	—	—
DOC (mg/L)	1/8	57	57	—	12	—	—
	1/13	42	42	—	6.5	—	—
MLSS (mg/L)	1/8	—	—	2,760	—	30,700	5,770
	1/13	—	—	2,890	—	44,500	6,380
MLVSS (mg/L)	1/8	—	—	2,670	—	28,000	5,320
	1/13	—	—	2,760	—	39,900	5,860

（3）　医薬品分析結果

医薬品測定結果を表-5、図-3、-4 に示した。検出下限値未満はN.D.とし、検出下限値以上で定量下限値未満の値は参考値として( )内にその数値を示した。溶存態試料は 1L 当たりの存在量を ng/L の濃度で表し、懸濁態試料についても1Lの試料中に存在する浮遊物質(ろ過残渣)に含まれる医薬品存在量を測定しており ng/L で表した。

調査対象医薬品 92 物質中いずれかの試料から 88 物質が検出された。流入水の溶存態試料(D)からは 92 物質中 61 物質(1 月 8 日)、59 物質(1 月 13 日)が検出された。強心剤の caffeine が 22,100ng/L、21,500ng/L と 88 物質中最も高濃度で検出された。次に解熱鎮痛消炎剤の acetaminophen が 12,300ng/L、11,700ng/L で検出された。また、最も低濃度で検出された物質は不整脈用剤の propranolol でありその検出値は 1.4ng/L、1.9ng/L であり、流入水には多くの医薬品が数 ng/L～数十μg/L の濃度で存在していることが確認された。

懸濁態試料試料(S)からは、21 物質（1 月 8 日)、24 物質（1 月 13 日）が検出された。溶存態試料と同じく強心剤の caffeine が懸濁態試料中最も高濃度（116ng/L、80.9ng/L）で検出された。最も低濃度で検出された物質は、抗コクシジウム剤の diclazuril、抗ヒスタミン剤の promethazine であり、それぞれ 1.8ng/L であった。処理が進むに従い初沈流出水からは溶存態試料で 62 物質、61 物質、好気槽（第 1 槽）からは 64 物質、58 物質、終沈流出水からは 66 物質、64 物質が検出され、懸濁態試料からは初沈流出水から 17 物質、18 物質、好気槽（第 1 槽）から 44 物質、38 物質、終沈流出水から 13 物質、12 物質が検出された。

流入水の溶存態試料から検出された 61 物質、59 物質のうち 22 物質、19 物質は 70%以上の除去率で生物処理により除去されていた。平成 19 年度同様、acetaminophen、caffeine、ibuprofen 等は 90%以上の高い除去率であった。また、acetazoramide、diclofenac sodium、clarithromycin、crotamiton は除去率が 50%以下と低く、carbamazepine、ethenzamide、metoprolol は計算上除去率がマイナスとなった。除去率がマイナスとなった物質については、流入水では試料からの抽出に影響（妨害）を及ぼす夾雑物質が多く含まれている可能性があることから抽出効率（回収率）が低くなり定量値が低めになったことが原因と考えられる。また、流入水では抱合体の形態のものが下水処理を受け脱抱合したことにより、流入水中の濃度より処理水中の濃度が高くなった可能性も否定出来ない。

汚泥試料では生汚泥の溶存態試料(D)から 58 物質、57 物質が検出され、懸濁態試料(S)からは 73 物質、75 物質が検出された。流入水から高濃度で検出された caffeine は生汚泥の溶存態試料から 1,480ng/L、991ng/L、懸濁態試料から 6,630ng/L、6,850ng/L で検出された。流入水の SS 濃度、生汚泥の MLSS 濃度から固形物 1mg 当たりの caffeine 濃度は流入水では 0.58ng/mg、0.40ng/mg、生汚泥では 0.21ng/mg、0.15ng/mg であり生汚泥への濃縮は見られなかった。流入水及び生汚泥の懸濁態試料から検出された医薬品 21 物質、24 物質について生汚泥への濃縮についてみたところ、消化性潰瘍用剤の sulpiride は 1 月 8 日の試料で 4.9 倍、1 月 13 日の試料で 12 倍に濃縮されている結果となった。他の医薬品については、1 月 8 日の試料で気管支拡張剤の theophylline が 1.3 倍、1 月 13 日の試料で解熱鎮痛消炎剤の acetaminophen が 2.7 倍となった他は 1 以下の数値であり、多くの医薬品は生汚泥への濃縮はみられなかった。生汚泥への濃縮同様、返送汚泥への医薬品の濃縮倍率を算出したところ、1 月 8 日の試料で解熱鎮痛消炎剤の phenacetin が 1.1 倍、高脂血症用剤の bezafibrate が 0.8 倍、1 月 13 日の試料で消化性潰瘍用剤の sulpiride が 0.9 倍を示した他は 0.5 倍以下の値であり多くの医薬品は活性汚泥への濃縮は見られなかった。以上の結果から流入水の SS 及び生汚泥、返送汚泥から検出された医薬品（21 物質、24 物質）のうち、汚泥への濃縮が見られた医薬品は限られており多くの医薬品は汚泥に蓄積することはなかった。

図-3、図-4 に示すとおり流入水中に存在する医薬品の溶存態/懸濁態比率を医薬品総量でおおまかに比べると、その殆どが溶存態試料(D)に含まれていることがわかる。1 月 8 日の試料は 99.2%、13 日の試料は 99.3%溶存態が占めていた。初沈流出水では 99.6%、99.4%、終沈流出水では 99.3%、99.2%であり流入水と同じく、殆どが溶存態で占めていた。好気槽（第 1 槽）の活性汚泥にあっても溶存態が占める割合は 92.8%、94.2%であり多くは溶存態が占めている。汚泥試料にあっては生汚泥では 12.7%、11.0%と流入水等と異なり懸濁態が多くを占めている。しかしながら、返送汚泥として好気槽に戻される活性汚泥では 84.7%、87.0%であった。

活性汚泥処理における医薬品の除去率を医薬品総量でおおまかに求めると、最初沈殿池ではほとんど除去されないことが分かった。好気槽（第 1 槽）では 34.5%、47.2%であり、生物処理後の終沈流出水では 77.0%、77.3%の除去率となった。下水中の医薬品は、個々にみると活性汚泥処理により除去され易い物質、除去され難い物質があるが、微量に含まれる医薬品を総量としてみた場合、約 80%が活性汚泥処理により除去されていることが分かった。

表-5　医薬品測定結果（ng/L）

医薬品	流入水				初沈流出水				好気槽（第1槽）				終沈流出水				生汚泥				返送汚泥			
	2009/1/8		2009/1/13		2009/1/8		2009/1/13		2009/1/8		2009/1/13		2009/1/8		2009/1/13		2009/1/8		2009/1/13		2009/1/8		2009/1/13	
	D	S	D	S	D	S	D	S	D	S	D	S	D	S	D	S	D	S	D	S	D	S	D	S
acetaminophen	12,300	53	11,700	(2.6)	14,600	(4.7)	15,700	8.4	5,940	298	3,530	(3.2)	(1.0)	(0.7)	(0.6)	2.3	519	1,580	1,030	1,780	19	6.6	13	6.7
antipyrine	(3.4)	N.D.	(4.8)	N.D.	N.D.	N.D.	(3.1)	N.D.	6.0	N.D.	5.8	N.D.	5.2	N.D.	5.3	N.D.	N.D.	(4.6)	N.D.	(2.4)	(2.4)	(4.9)	5.9	N.D.
atenolol	220	N.D.	228	N.D.	238	N.D.	241	N.D.	65	22	90	(13)	42	N.D.	61	N.D.	N.D.	573	(11)	478	27	20	40	(15)
carbamazepine	11	N.D.	12	N.D.	13	N.D.	11	N.D.	15	3.2	12	(2.7)	15	N.D.	13	N.D.	12	10	7.9	11	20	3.9	19	3.5
clarithromycin	536	70	682	62	540	69	574	80	558	188	502	331	282	52	395	70	1,110	817	1,050	576	760	395	587	285
clenbuterol	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	(7.8)	(10)	N.D.	(12)	N.D.	(12)	N.D.	(9.0)
clofibric acid	(2.1)	N.D.	(2.1)	N.D.	11	N.D.	10	N.D.	11	(1.9)	10	(1.2)	15	N.D.	15	N.D.	(1.6)	10	(1.5)	12	11	N.D.	11	(1.7)
crotamiton	1,320	N.D.	900	N.D.	1,220	N.D.	1,140	N.D.	813	70	882	50	731	(1.7)	822	(1.5)	385	78	266	81	659	54	722	50
cyclophosphamide	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	(2.4)	(3.1)	N.D.	N.D.	2.6	N.D.	(0.7)	N.D.	N.D.	(7.8)	N.D.	9.2	N.D.	(4.7)	N.D.	N.D.
diclofenac sodium	244	(3.1)	277	(4.7)	226	(2.8)	212	N.D.	61	14	87	(7.4)	124	N.D.	139	N.D.	27	76	28	56	45	22	77	7.8
N,N-diethyl-m-toluamide	45	N.D.	30	N.D.	43	N.D.	34	N.D.	38	31	36	(1.8)	19	10	19	N.D.	54	12	31	15	25	24	23	(1.7)
disopyramide	253	N.D.	310	N.D.	365	N.D.	399	N.D.	300	(43)	326	(42)	471	N.D.	457	N.D.	267	1,260	198	1,790	281	66	244	(47)
ethenzamide	7.5	N.D.	38	N.D.	12	N.D.	18	N.D.	9.1	N.D.	14	N.D.	8.5	N.D.	19	N.D.	(3.8)	N.D.	(4.9)	N.D.	7.9	N.D.	14	N.D.
fenoprofen	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	7.6	(2.5)	N.D.	N.D.	7.6	N.D.	N.D.	N.D.	2.6	N.D.	(0.9)	N.D.	N.D.	38	N.D.	8.5	N.D.	(1.6)	N.D.	N.D.
ibuprofen	778	N.D.	817	N.D.	1,160	N.D.	1,060	N.D.	280	26	255	(1.3)	88	N.D.	43	N.D.	180	154	216	136	37	5.2	25	N.D.
ifenprodil tartrate	(3.7)	N.D.	(5.1)	N.D.	(4.8)	N.D.	(3.8)	N.D.	(10)	N.D.	(11)	N.D.	5.8	N.D.	5.6	N.D.	(8.7)	N.D.	(5.9)	N.D.	15	(3.9)	15	N.D.
indomethacin	113	(2.8)	140	(5.7)	140	(6.0)	125	N.D.	46	12	65	(8.2)	105	N.D.	113	N.D.	10	55	16	47	28	12	47	(7.3)
isopropylantipyrine	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	(0.5)	N.D.	(0.8)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
ketoprofen	217	N.D.	213	N.D.	251	N.D.	257	N.D.	386	54	426	41	334	N.D.	350	N.D.	141	104	107	132	319	61	353	44
mefenamic acid	177	18	126	(15)	243	(16)	134	(10)	36	18	45	(7.7)	70	N.D.	71	N.D.	(16)	75	(13)	32	32	36	46	(9.3)
metoprolol	(7.7)	N.D.	(6.0)	N.D.	(8.6)	N.D.	(9.2)	N.D.	10	N.D.	(8.5)	N.D.	13	N.D.	14	N.D.	14	(4.1)	(8.6)	(7.5)	13	N.D.	14	N.D.
naproxen	100	N.D.	82	N.D.	95	N.D.	78	N.D.	36	5.4	57	N.D.	26	N.D.	35	N.D.	N.D.	49	N.D.	16	15	N.D.	18	N.D.
p-phenylphenol	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	(7.6)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
pindolol	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	(2.2)	N.D.	(1.7)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	(1.7)
propranolol hydrochloride	(1.4)	N.D.	(1.9)	N.D.	(2.1)	N.D.	(2.4)	N.D.	3.8	N.D.	3.8	N.D.	2.7	N.D.	2.3	N.D.	(2.1)	N.D.	(1.6)	4.4	5.7	N.D.	5.6	N.D.
salbutamol	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
sotalol	7.6	N.D.	11	N.D.	N.D.	N.D.	7.4	N.D.	N.D.	16	(3.9)	26	N.D.	N.D.	4.0	N.D.	N.D.	7,260	N.D.	7,850	N.D.	29	(6.4)	160
theophylline	1,860	7.8	1,770	N.D.	2,140	N.D.	2,300	N.D.	1,520	106	1,320	62	573	N.D.	368	N.D.	287	1,590	360	1,680	594	78	405	20
terbutalline	N.D.	(3.1)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	(3.2)	N.D.	(4.5)	N.D.	(3.9)
benzylpenicillin	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	(2.5)	N.D.	(2.5)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	10	N.D.	10	N.D.	(2.5)	N.D.	(2.7)
chlortetracyclin	N.D.	N.D.	N.D.	(13)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	(16)	(12)	(13)	N.D.	N.D.	N.D.	12	N.D.	N.D.	155	161	192	26	(18)	105	39
danofloxacin	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	(14)	41	N.D.	(16)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
diclazuril	N.D.	(1.8)	N.D.	(1.8)	N.D.	N.D.	N.D.	(1.8)	N.D.	(1.8)	N.D.	(1.8)	N.D.	(0.4)	N.D.	(0.4)	N.D.	7.2	N.D.	7.2	N.D.	(1.8)	N.D.	(1.8)
nicarbazin	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
oxytetracycline	58	(11)	55	21	23	N.D.	54	(11)	202	30	200	25	10	(2.8)	(1.6)	N.D.	276	420	30	383	369	20	548	33
2-quinoxaline carboxylic acid	31	N.D.	24	N.D.	36	N.D.	37	N.D.	36	(7.7)	13	N.D.	4.7	N.D.	10	N.D.	43	104	17	20	(6.1)	N.D.	(8.1)	16
sarafloxacin	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	24	N.D.	(15)	N.D.	N.D.
sulfadimidine	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	(10)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
sulfadimethoxine	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	(2.8)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
sulfamethoxazole	45	N.D.	67	N.D.	71	N.D.	72	N.D.	74	N.D.	59	N.D.	21	N.D.	20	N.D.	(8.5)	(16)	(7.9)	(12)	36	(7.4)	30	(7.8)
sulfamonomethoxine	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	(22)	N.D.	28	N.D.	(7.5)	N.D.	N.D.
tetracyclin	52	(13)	129	(13)	55	N.D.	133	(19)	1,780	94	1,480	39	57	N.D.	45	(4.6)	254	188	157	297	2,690	133	2,040	84
oleandmycin	(2.2)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	(2.1)	(2.8)	(2.2)	(2.9)	(2.3)	N.D.	N.D.	N.D.
kitasamycin	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	(6.4)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	(5.8)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	(7.3)	21	(8.2)	(5.8)	(6.4)	N.D.
josamycin	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	(8.8)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	(3.7)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	(24)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
novobiocin	(5.4)	(9.0)	(4.7)	(9.4)	(5.1)	(9.0)	(5.3)	(9.1)	(4.8)	(13)	(4.6)	17	(1.3)	(2.2)	(1.2)	N.D.	(5.2)	36	(5.0)	40	(4.6)	16	(5.1)	17

表-5　医薬品測定結果（ng/L）つづき

医薬品	流入水				初沈流出水				好気槽（第1槽）				終沈流出水				生汚泥				返送汚泥			
	2009/1/8		2009/1/13		2009/1/8		2009/1/13		2009/1/8		2009/1/13		2009/1/8		2009/1/13		2009/1/8		2009/1/13		2009/1/8		2009/1/13	
	D	S	D	S	D	S	D	S	D	S	D	S	D	S	D	S	D	S	D	S	D	S	D	S
sulpiride	9,090	49	8,797	(15)	7,230	(12)	3,570	(10)	2,840	267	3,120	227	4,360	12	4,880	9.1	1,470	36,500	2,410	45,500	2,990	665	3,230	472
flovoxate	N.D.	N.D.	N.D.	(2.3)	N.D.	(2.1)	N.D.	(2.4)	N.D.	(2.6)	N.D.	(2.5)	N.D.	(0.6)	N.D.	(0.6)	N.D.	11	N.D.	11	N.D.	(3.4)	N.D.	(2.1)
amoxicillin	890	N.D.	871	(8.9)	797	(8.9)	883	(8.9)	418	26	416	15	215	N.D.	170	N.D.	215	164	217	204	185	38	195	20
dipyridamole	432	34	476	52	398	28	323	56	146	110	128	121	5.4	N.D.	5.2	N.D.	377	2,070	362	1,760	54	92	51	83
furosemide	351	N.D.	348	(4.9)	336	N.D.	325	(3.0)	192	52	199	49	181	N.D.	179	N.D.	154	306	116	431	151	77	149	65
verapamil	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	(1.6)	N.D.	(1.6)	N.D.	N.D.	(4.5)	N.D.	N.D.	N.D.	(3.9)	N.D.	(2.8)
diltiazem	18	N.D.	20	N.D.	23	N.D.	22	N.D.	25	(4.6)	27	(5.6)	19	N.D.	24	N.D.	26	33	24	29	33	(11)	31	(8.9)
tolbutamide	(3.9)	N.D.	(3.4)	N.D.	(3.0)	N.D.	(2.7)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.3	N.D.	(0.5)	N.D.	N.D.	(4.2)	N.D.	(4.1)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
carbazochrome	N.D.	N.D.	8.6	N.D.	8.8	N.D.	9.2	N.D.	9.3	10	10	13	2.4	N.D.	3.5	N.D.	8.8	82	10	103	11	51	12	27
bromovalerylurea	10	N.D.	(6.8)	N.D.	14.7	N.D.	(6.9)	N.D.	12	N.D.	N.D.	N.D.	5.9	N.D.	3.5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	11	(5)	(5)	N.D.	N.D.
spironolactone	4.6	(0.9)	N.D.	6.4	(1.7)	N.D.	(1.6)	(1.6)	(2.3)	N.D.	5.4	(1.7)	2.4	N.D.	(0.7)	N.D.	6.9	8.3	(2.5)	11	6.8	4.2	5.8	N.D.
griseofulvin	7.4	N.D.	(5.6)	18.7	(2.6)	N.D.	6.7	N.D.	9.0	(5.0)	(5.3)	(4.4)	5.2	N.D.	4.0	N.D.	7.9	15	11	8.0	(5.5)	(4.8)	10	(5.6)
diphenidol	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	(8.9)	N.D.	(10)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
chlorpromazine	(3.1)	(2.7)	(2.5)	(3.3)	(2.6)	(3.0)	N.D.	N.D.	(4.1)	N.D.	N.D.	N.D.	(0.7)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	19	N.D.	11	(5.0)	(3.2)	(4.1)	N.D.
nalidixic acid	(7.9)	N.D.	N.D.	N.D.	(5.2)	N.D.	(8.6)	N.D.	26	N.D.	18	N.D.	2.8	N.D.	N.D.	N.D.	(11)	N.D.	(4.8)	N.D.	32	(3.6)	15	N.D.
dextromethorphan	(4.4)	N.D.	(5.1)	N.D.	(3.3)	N.D.	(4.0)	N.D.	(6.9)	N.D.	(6.6)	N.D.	4.2	N.D.	3.2	N.D.	(4.8)	11	(3.8)	(10)	(8.6)	(3.5)	(8.3)	N.D.
acetazoramide	38	N.D.	30	N.D.	34	N.D.	44	N.D.	34	N.D.	34	N.D.	16	N.D.	19	N.D.	(8.9)	21	(11)	(11)	26	N.D.	33	N.D.
trimethoprim	(8.9)	N.D.	(17)	N.D.	(15)	N.D.	(19)	N.D.	25	N.D.	23	N.D.	15	N.D.	14	N.D.	(21)	(6.6)	(17)	(8)	37	N.D.	40	N.D.
ampicillin	67	N.D.	68	N.D.	76	N.D.	76	N.D.	44	N.D.	37	N.D.	34	N.D.	34	N.D.	32	(11)	15	(12)	29	N.D.	25	N.D.
prednisolone	(7.1)	N.D.	N.D.	N.D.	(5.1)	N.D.	(6.4)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	(1.1)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	20	N.D.	34	N.D.	(10)	N.D.	(6.5)
tolperisone	(2.8)	N.D.	(2.8)	N.D.	(2.9)	N.D.	N.D.	N.D.	(3.4)	(2.3)	(2.8)	N.D.	(0.8)	N.D.	(0.7)	N.D.	(3.4)	27	(3.0)	35	(2.9)	(4.2)	(2.9)	(3.2)
amitriptyline	(5.3)	N.D.	(3.0)	N.D.	(5.3)	N.D.	(2.5)	N.D.	11	N.D.	10	N.D.	3.1	N.D.	2.7	N.D.	N.D.	(2.2)	N.D.	N.D.	14	(4.7)	14	N.D.
promethazine	4.6	(1.9)	4.4	(1.8)	4.3	(1.9)	(3.7)	(2.0)	10	(2.9)	8.6	(2.6)	2.7	(0.4)	2.6	(0.4)	(3.0)	27	(3.3)	18	13	4.7	11	5.6
imipramine	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	(2.4)	N.D.	(2.0)	N.D.	(0.7)	N.D.	(0.8)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	(2.9)	N.D.	(2.6)	N.D.
metoclopramide	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	(11)	N.D.	(8.5)	(4.6)	13	N.D.	12	N.D.	(7.3)	20	N.D.	19	19	(6.5)	18	(5.9)
scoporamine	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	9.4	N.D.	(8.4)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
chlormazinone acetate	N.D.	N.D.	(2.1)	N.D.	(3.2)	N.D.	(2.8)	N.D.	N.D.	N.D.	(1.7)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	(4.2)	15	(2.8)	(3.5)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
mepirizole	(3.3)	(2.8)	(3.2)	(2.8)	(3.2)	(2.8)	(3.5)	(2.7)	(3.3)	(2.7)	(3.2)	(2.8)	(0.8)	(0.6)	(0.7)	(0.6)	(3.2)	12	(3.2)	11	(3.5)	(3.0)	(3.2)	(2.9)
pirenzepine	7.6	N.D.	(5.5)	N.D.	(5.0)	N.D.	(4.0)	N.D.	(2.9)	N.D.	N.D.	N.D.	2.0	N.D.	3.1	N.D.	7.3	13	10	13	N.D.	N.D.	(3.4)	N.D.
fulfenamic acid	16	N.D.	(3.8)	N.D.	14	N.D.	(3.9)	N.D.	(4.6)	N.D.	N.D.	N.D.	3.0	N.D.	(2.2)	N.D.	(6.7)	(5.3)	N.D.	(6.6)	11	N.D.	(4)	N.D.
neospiramycin	(25)	N.D.	(23)	N.D.	(22)	N.D.	(24)	N.D.	N.D.	(28)	(14)	(20)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	43	41	79	25	(24)	78	(33)	(30)
thiamphenicol	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	(1.7)	(1.7)	N.D.	N.D.	1.9	N.D.	2.0	N.D.	N.D.	42	(2.8)	57	N.D.	N.D.	(1.7)	(1.8)
chloramphenicol	(9.3)	N.D.	(6.9)	N.D.	(10)	N.D.	23	N.D.	(4.9)	N.D.	15	N.D.	5.1	N.D.	6.3	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
primidone	19	N.D.	26	N.D.	42	N.D.	31	N.D.	35	(7.4)	39	N.D.	45	N.D.	46	N.D.	34	(8.8)	17	20	29	N.D.	31	N.D.
phenytoin	17	N.D.	18	N.D.	16	N.D.	20	N.D.	17	N.D.	19	N.D.	24	N.D.	28	N.D.	15	12	(11)	13	19	(4.9)	23	(3.4)
haloperidol	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	3.7	N.D.	3.2	N.D.	1.3	N.D.	0.7	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	7.0	(1.4)	5.4	N.D.
pentoxifylline	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
caffeine	22,100	116	21,500	81	21,800	(30)	21,400	(69)	9,190	470	7,290	(73)	2,210	N.D.	1,260	N.D.	1,480	6,630	991	6,850	1100	(70)	544	(54)
bezafibrate	1,860	(8.0)	2,160	(7.5)	2,890	(6.2)	2,950	(7.4)	1,830	210	1,700	146	1,680	N.D.	1,710	N.D.	708	1,050	552	1,080	915	186	795	106
levofloxacin	594	N.D.	840	N.D.	774	N.D.	881	N.D.	5,800	242	3,770	204	290	N.D.	302	N.D.	554	672	199	510	6,420	705	4,500	442
azithromycin	51	11	60	11	55	11	63	11	72	16	64	19	25	3.9	32	5.2	78	62	77	56	59	22	69	17
phenobarbital	236	N.D.	239	N.D.	209	N.D.	231	N.D.	222	N.D.	267	N.D.	288	N.D.	299	N.D.	175	91	105	116	237	(41)	253	(27)
phenacetin	35	(4.3)	85	N.D.	26	N.D.	31	N.D.	(6.7)	63	(5.2)	46	N.D.	(1.0)	N.D.	(1.4)	45	92	(17)	84	N.D.	137	N.D.	55
methoxsalen	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
dexamethasone	56	N.D.	62	(7.2)	51	N.D.	77	N.D.	(5.6)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	(2.1)	(14)	54	18	58	(2.8)	28	N.D.	(12)
dexamethasone acetate	(8.4)	N.D.	(7.7)	N.D.	(9.2)	N.D.	(8.4)	N.D.	(5.0)	N.D.	N.D.	N.D.	(1.3)	N.D.	(1.3)	N.D.	(4.3)	(5.1)	(6.1)	(14)	(6.4)	N.D.	(4.2)	N.D.

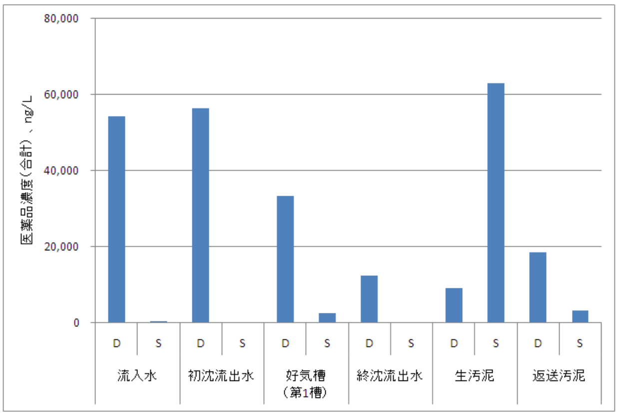


図-3　医薬品分析結果（平成21年1月8日採取試料）

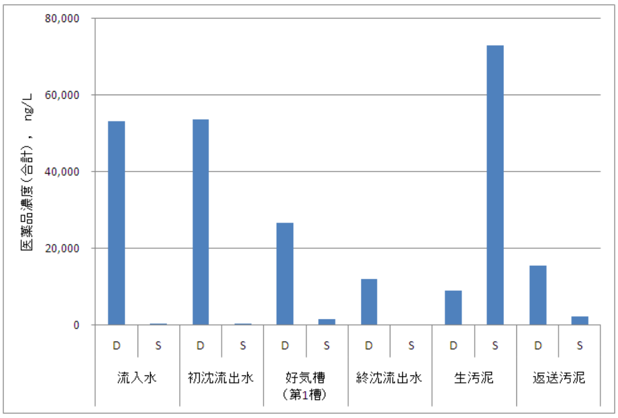


図-4　医薬品分析結果（平成21年1月13日採取試料）

３．３　まとめと課題

標準活性汚泥法に準じた運転を行っている活性汚泥処理実験プラントを用い汚泥処理プロセスにおける医薬品（92物質）の挙動把握調査を行い以下の結果を得た。調査対象医薬品92物質中いずれかの試料から88物質が検出された。流入水の溶存態試料から約60物質が検出され、懸濁態試料から約20物質が検出された。流入水の溶存態試料から検出された約60物質のうち1/3に当る約20物質が70%以上の除去率で生物処理により除去されていた。汚泥試料では生汚泥の溶存態試料から約60物質、懸濁態試料から約70物質が検出された。流入水及び生汚泥の懸濁態試料から検出された医薬品約20物質の生汚泥への濃縮は、消化性潰瘍用剤のsulpiride、acetaminophen等一部の医薬品が数倍～約10倍濃縮されている結果となった他は濃縮倍率が1倍以下であり多くの医薬品は濃縮していないことがわかった。また、返送汚泥への濃縮もほとんど見られず多くの医薬品は活性汚泥に蓄積することはなかった。

調査試料の溶存態/懸濁態比率から流入水、初沈流出水、終沈流出水中に存在する医薬品はその殆どが溶存態試料に含まれていることがわかった。活性汚泥処理における医薬品の除去率は医薬品総量でおおまかに評価すると、最初沈殿池ではほとんど除去されないこと、また、生物処理により約80%が除去されることが分かった。

平成20年度は、活性汚泥処理プロセスにおける医薬品の挙動把握について溶存態・懸濁態別に測定し、その挙動実態を明らかにしたところであるが、流量データ等を入手し各処理プロセスにおけるフラックスとして評価するなどより定量的な解析が必要である。

４．標準活性汚泥法等における下水処理水中に残存する化学物質の除去率向上手法の検討

４．１　調査内容

標準活性汚泥法等における下水処理水中に残存する医薬品の除去率向上手法を検討するために、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、担体の嵩比率 35%）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。本条件で数ヶ月運転した後、医薬品の除去向上手法検討調査試料の採取を行った。試料採取は、平成20年12月11日にスポット採取により行った。採取試料は図-5に示す下水処理水、ろ過水①（下水処理水＋急速砂ろ過水）およびろ過水②（下水処理水＋担体処理＋急速砂ろ過水）の3試料である。

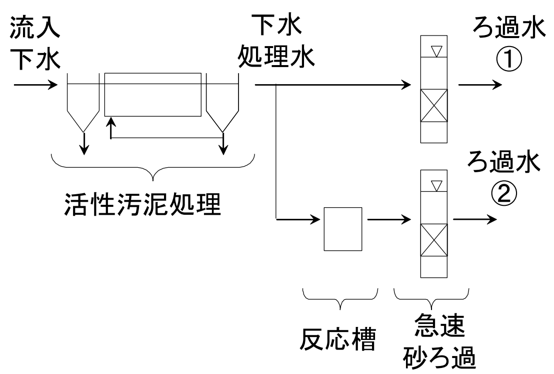


図-5　下水処理水中に残存する医薬品の除去率向上手法の検討用実験装置の概要

4．2　調査結果

（1）　採取試料の水質（一般項目）

平成 20 年 12 月 11 日に採取した試料の水質分析(一般項目)結果を表-6 に示した。水質測定は、下水処理水、ろ過水①、②について、水温、pH、SS、DO、DOC、T-N、NH_4^+-N、NO_2^- -N、NO_3^- -N、T-P、PO_4^{3-}-P の項目を実施した。DOC は、下水処理水、ろ過水①、ろ過水②の順にわずかに低下していた。また、活性汚泥処理では完全に硝化は進行しておらず、下水処理水中に約 10mg/L の NH_4^+-N が残留していたが、ろ過水②においては、ほとんど残留しておらず、担体処理工程で硝化が進行していた。

表-6 採取試料の水質（一般項目）

項目	下水処理水	ろ過水①	ろ過水②
水温［℃］	17.8	17.3	16.8
pH［－］	6.98	6.99	6.96
DO［mg/L］	0.8	1.85	3.1
SS［mg/L］	19.2	2.8	1.2
DOC［mg/L］	9.6	8.74	6.93
T-N［mg/L］	19.21	17.67	17.75
NH_4^+-N［mg/L］	10.08	8.51	0.51
NO_2^- -N［mg/L］	0.74	0.15	0
NO_3^- -N［mg/L］	4.77	6.24	15.72
T-P［mg/L］	0.93	0.13	0.18
PO_4^{3-}P［mg/L］	0.06	0.02	0.09

（2）医薬品分析結果

医薬品測定結果を表-7 に示した。検出下限値はN.D.と表記し、検出下限値以上で定量下限値未満の値はtrと表記し、参考値として（ ）内にその数値を示した。溶存態試料は1L当たりの存在量をng/Lの濃度で表し、懸濁態試料についても 1L の試料中に存在する浮遊物質（ろ過残渣）に含まれる医薬品存在量を測定しており ng/L で表した。

調査対象医薬品 92 物質中いずれの試料から 74 物質が検出された。下水処理水の溶存態試料(D)からは 92 物質中 65 物質が検出された。sulpiride（No.47）が 4,072ng/L と 65 物質中最も高濃度で検出された。次に clarithromycin（No.5）が612ng/L で検出された。懸濁態試料(S)からは 16 物質が検出された。levofloxacin（No.86）が懸濁態試料中最も高濃度（16.2ng/L）で検出された。ろ過水①、②からは溶存態試料からは、65 物質、64 物質、懸濁態試料からは、13 物質、13 物質が検出された。

下水処理水の溶存態試料から検出された65物質のうち、28物質は50%以上の除去率でろ過水②で除去されていた。図-6にろ過水②に残存する濃度が大きい方から2位から10位までの9物質の分析結果を示す。なお、ここでは、最大濃度（4,072ng/L）が検出された sulpiride（No.47）は桁が異なるため除外した。9物質のうち、clarithromycin（No.5）、ketoprofen（No.19）、amoxicillin（No.49）、dipyridamole（No.50）、furosemide（No.51）の、溶存態と懸濁態を合計した全量の除去率は、それぞれ63.6%、97.3%、85.5%、94.1%、86.4%と高かったが、crotamiton（No.8）、disopyramide（No.12）、sulpiride（No.47）、levofloxacin（No.86）、phonobarbital（No.88）については、除去率がそれぞれ0.1%、10.2%、11.7%、38.1%、-3.9%と低かった。

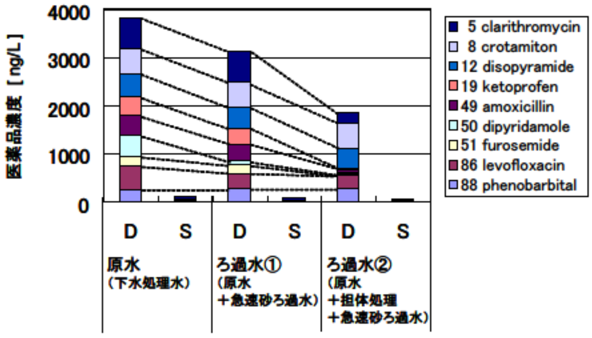


図-6 医薬品分析結果

4．3　まとめと課題

標準活性汚泥法等における下水処理水中に残存する医薬品の除去率向上手法を検討するために、下水処理水に、微生物保持担体を用いた好気性の生物膜法（担体処理）および急速砂ろ過法を適用し高度処理を行った。

調査対象医薬品 92 物質中いずれの試料から 74 物質が検出された。下水処理水の溶存態試料(D)からは 92 物質中 65 物質が検出され、懸濁態試料(S)からは 16 物質が検出された。下水処理水＋急速砂ろ過水、下水処理水＋担体処理＋急速砂ろ過水からは、溶存態試料からは、65 物質、64 物質、懸濁態試料からは、13 物質、13 物質が検出された。

下水処理水の溶存態試料から検出された 65 物質のうち、28 物質は 50%以上の除去率で下水処理水＋担体処理＋急速砂ろ過水で除去されていた。

今後は、担体処理の水理学的滞留時間が除去性能に及ぼす影響や、有機物酸化や硝化との共代謝の有無、さらには、化学的処理等についても検討を進める予定である。

表-7 医薬品測定結果［ng/L］

No.	物質名	検出下限値	定量下限値	原水（下水処理水）		ろ過水① 原水＋急速砂ろ過水			ろ過水② 原水＋担体処理＋急速砂ろ過水		
		ng/L	ng/L	溶存態 D ng/L	懸濁態 S ng/L	溶存態 D ng/L	懸濁態 S ng/L	除去率 %	溶存態 D ng/L	懸濁態 S ng/L	除去率 %
1	acetaminophen	0.4	1.4	31	tr(1.2)	22.2	tr(1.0)	28.0%	N.D.	tr(0.8)	96.2%
2	antipyrine	0.4	1.3	3.9	N.D.	4.1	N.D.	−4.7%	3.2	N.D.	16.4%
3	atenolol	1.3	4.2	16.8	N.D.	11.4	N.D.	29.9%	5.3	N.D.	63.6%
4	carbamazepine	0.2	0.7	8.9	N.D.	9.4	N.D.	−5.5%	14	N.D.	−56.0%
5	clarithromycin	1.7	5.6	612.4	59.3	648	52.1	−4.2%	192.7	21.8	68.1%
6	clenbuterol	1.3	4.5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	−	N.D.	N.D.	−
7	clofibric acid	0.2	0.7	14.8	N.D.	11.3	N.D.	23.3%	5.3	N.D.	63.3%
8	crotamiton	1.5	4.9	534.4	N.D.	510.1	N.D.	4.5%	533.6	N.D.	0.1%
9	cyclophosphamide	0.6	2.0	3.7	N.D.	2.5	N.D.	28.0%	3.3	N.D.	9.3%
10	diclofenac sodium	0.6	1.9	136.7	tr(1.1)	144.1	N.D.	−5.0%	100.1	N.D.	27.0%
11	N,N−diethyl−m−toluamide	0.2	0.6	32.6	1.9	34.7	N.D.	−1.1%	7.3	N.D.	78.3%
12	disopyramide	4.9	16.4	485.9	N.D.	437.3	N.D.	9.9%	435.6	N.D.	10.2%
13	ethenzamide	0.5	1.7	10.1	N.D.	12.9	N.D.	−26.4%	12.3	N.D.	−20.7%
14	fenoprofen	0.4	1.2	2.3	N.D.	2.6	N.D.	−11.2%	N.D.	N.D.	72.0%
15	ibuprofen	0.3	0.9	63.5	N.D.	78.2	N.D.	−23.0%	9.2	N.D.	85.1%
16	ifenprodil tartrate	0.8	2.6	4.8	N.D.	5.6	N.D.	−14.3%	3.3	N.D.	26.8%
17	indomethacin	0.7	2.2	108.9	N.D.	118.3	N.D.	−8.6%	45.6	N.D.	57.8%
18	isopropylantipyrine	0.3	1.1	4.4	N.D.	3.7	N.D.	14.8%	4.6	N.D.	−4.2%
19	ketoprofen	1.0	3.3	379.5	N.D.	338.6	N.D.	10.7%	9.1	N.D.	97.3%
20	mefenamic acid	1.3	4.5	54.2	tr(1.6)	67.3	N.D.	−23.0%	46.6	N.D.	14.1%
21	metoprolol	0.7	2.3	10.4	N.D.	10.5	N.D.	−0.9%	10.3	N.D.	0.9%
22	naproxen	0.2	0.7	44.1	N.D.	47.6	N.D.	−7.9%	10.3	N.D.	76.3%
23	p−phenylphenol	1.6	5.3	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	−	N.D.	N.D.	−
24	pindolol	0.4	1.4	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	−	N.D.	N.D.	−
25	propranolol hydrochloride	0.2	0.8	2.4	N.D.	2.6	N.D.	−7.6%	2.8	N.D.	−15.1%
26	salbutamol	0.3	1.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	−	N.D.	N.D.	−
27	sotalol	0.5	1.7	2.9	N.D.	2.9	N.D.	0.0%	2.5	N.D.	11.8%
28	theophylline	0.5	1.5	45.4	N.D.	44.9	N.D.	1.1%	18.4	N.D.	58.9%
29	terbutalline	0.6	2.2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	−	N.D.	N.D.	−
30	benzylpenicillin	0.6	2.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	−	N.D.	N.D.	−
31	chlortetracyclin	1.9	6.4	16.3	N.D.	tr(3.4)	N.D.	70.8%	11.5	N.D.	26.3%
32	danofloxacin	1.7	5.8	tr(1.8)	N.D.	N.D.	N.D.	2.1%	N.D.	N.D.	2.1%
33	diclazuril	0.3	0.9	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	−	N.D.	N.D.	−
34	nicarbazin	0.1	0.4	0.5	N.D.	0.8	N.D.	−47.7%	0.6	N.D.	−15.9%
35	oxytetracycline	1.3	4.2	29	N.D.	8.9	N.D.	66.4%	7.2	N.D.	72.0%
36	2−quinoxaline carboxylic acid	0.9	2.9	14	N.D.	6.2	N.D.	52.5%	3.8	N.D.	68.6%
37	sarafloxacin	1.2	4.0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	−	tr(3.1)	N.D.	−
38	sulfadimidine	0.9	2.9	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	−	N.D.	N.D.	−
39	sulfadimethoxine	0.7	2.3	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	−	N.D.	N.D.	−
40	sulfamethoxazole	1.5	5.1	41.8	N.D.	40.8	N.D.	2.3%	44.7	N.D.	−6.7%
41	sulfamonomethoxine	1.8	6.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	−	N.D.	N.D.	−
42	tetracyclin	1.4	4.8	105.5	N.D.	62.6	N.D.	40.1%	33.8	N.D.	67.1%
43	oleandmycin	0.3	1.1	N.D.	N.D.	N.D.	tr(0.5)	−	N.D.	N.D.	−
44	kitasamycin	1.3	4.2	N.D.	tr(1.6)	N.D.	N.D.	12.2%	N.D.	N.D.	12.2%
45	josamycin	1.9	6.2	tr(2.3)	N.D.	tr(2.3)	N.D.	0.0%	tr(2.6)	N.D.	−7.2%
46	novobiocin	1.0	3.5	N.D.	N.D.	N.D.	tr(1.1)	−	N.D.	N.D.	−
47	sulpiride	2.3	7.6	4072	11.5	3828	14.2	5.9%	3592.6	12.1	11.7%
48	flovoxate	0.5	1.7	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	−	N.D.	N.D.	−
49	amoxicillin	0.9	3.1	418	N.D.	339.4	N.D.	18.8%	59.1	tr(1.6)	85.5%
50	dipyridamole	1.5	4.9	440.8	5.3	92	tr(2.2)	78.9%	23.9	tr(2.4)	94.1%
51	furosemide	0.6	2.1	188.1	N.D.	173.2	N.D.	7.9%	25.1	N.D.	86.4%
52	verapamil	0.7	2.2	1.9	N.D.	3.1	N.D.	−46.8%	3	N.D.	−42.9%
53	diltiazem	0.8	2.7	23.9	N.D.	23.9	N.D.	0.0%	29.4	N.D.	−22.3%
54	tolbutamide	0.4	1.2	1.8	N.D.	1.9	N.D.	−4.6%	tr(0.6)	N.D.	55.6%
55	carbazochrome	0.6	1.9	11	2.1	2.5	2.1	64.9%	tr(1.1)	2.1	75.6%
56	bromovalerylurea	0.7	2.4	3.2	N.D.	3.5	N.D.	−7.7%	tr(1.7)	N.D.	38.4%
57	spironolactone	0.2	0.7	N.D.	0.6	1	N.D.	−48.9%	N.D.	0.9	−36.7%
58	griseofulvin	0.5	1.5	7.4	N.D.	5.9	N.D.	19.1%	tr(0.5)	tr(0.8)	83.5%
59	diphenidol	1.6	5.3	N.D.	N.D.	tr(2.2)	N.D.	−	tr(2.1)	N.D.	−
60	chlorpromazine	0.6	2.0	2.1	N.D.	12.7	N.D.	−390.8%	2.9	N.D.	−29.5%
61	nalidixic acid	0.8	2.8	6.6	N.D.	7.7	N.D.	−14.8%	11.9	N.D.	−71.3%
62	dextromethorphan	0.8	2.7	5.1	N.D.	6.8	N.D.	−28.8%	7.3	N.D.	−37.2%
63	acetazoramide	0.9	2.9	17.8	N.D.	17.1	N.D.	3.8%	6.9	N.D.	58.4%
64	trimethoprim	1.6	5.4	13.6	N.D.	13.2	N.D.	2.6%	N.D.	N.D.	78.6%
65	ampicillin	0.9	3.1	73.1	N.D.	68.2	N.D.	6.6%	25.5	N.D.	64.3%
66	prednisolone	1.0	3.2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	−	N.D.	N.D.	−
67	tolperisone	0.6	1.9	N.D.	tr(0.7)	N.D.	tr(0.7)	0.0%	N.D.	tr(0.7)	0.0%
68	amitriptyline	0.5	1.6	3.7	N.D.	7.3	N.D.	−85.9%	4	N.D.	−7.2%
69	promethazine	0.3	1.0	3.6	tr(0.4)	7	tr(0.4)	−85.0%	1.3	tr(0.4)	57.5%
70	imipramine	0.4	1.2	tr(1.1)	N.D.	3.2	N.D.	−143.5%	1.6	N.D.	−34.2%

表-7 医薬品測定結果［ng/L］　（つづき）

No.	物質名	検出下限値	定量下限値	原水（下水処理水）		ろ過水① 原水＋急速砂ろ過水			ろ過水② 原水＋担体処理＋急速砂ろ過水		
				溶存態 D	懸濁態 S	溶存態 D	懸濁態 S	除去率	溶存態 D	懸濁態 S	除去率
		ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	%	ng/L	ng/L	%
71	metoclopramide	1.0	3.4	16.2	N.D.	16.8	N.D.	−3.5%	17.2	N.D.	−5.8%
72	scoporamine	0.7	2.3	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	−	N.D.	N.D.	−
73	chlormazinone acetate	0.4	1.4	N.D.	N.D.	tr(0.9)	N.D.	−	tr(0.6)	N.D.	−
74	mepirizole	0.4	1.4	N.D.	tr(0.8)	N.D.	tr(0.7)	8.2%	N.D.	tr(0.7)	8.2%
75	pirenzepine	0.5	1.7	5.2	N.D.	4.8	N.D.	7.0%	4.7	N.D.	8.8%
76	fulfenamic acid	0.7	2.2	6.9	N.D.	16	N.D.	−120.2%	7.8	N.D.	−11.9%
77	neospiramycin	2.8	9.3	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	−	N.D.	N.D.	−
78	thiamphenicol	0.4	1.4	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	−	N.D.	N.D.	−
79	chloramphenicol	1.1	3.8	10.9	N.D.	tr(2.3)	N.D.	71.4%	tr(1.7)	N.D.	76.4%
80	primidone	1.3	4.2	32.9	N.D.	30.2	N.D.	7.9%	31	N.D.	5.6%
81	phenytoin	0.8	2.7	30.6	N.D.	33.4	N.D.	−8.9%	34.8	N.D.	−13.4%
82	haloperidol	0.1	0.4	1.6	N.D.	7.1	N.D.	−319.1%	3.6	N.D.	−116.0%
83	pentoxifylline	1.6	5.4	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	−	N.D.	N.D.	−
84	caffeine	5.7	18.9	tr(12.7)	N.D.	55.5	N.D.	−232.8%	tr(18.1)	N.D.	−29.4%
85	bezafibrate	1.2	4.1	38.9	N.D.	44	N.D.	−12.7%	6.9	N.D.	79.7%
86	levofloxacin	4.6	15.2	495.4	16.2	320.5	16.5	34.1%	298	18.7	38.1%
87	azithromycin	0.4	1.4	63.1	5.4	59.4	4.4	6.9%	21.5	1.9	65.8%
88	phenobarbital	4.8	15.9	247.6	N.D.	259.7	N.D.	−4.8%	257.4	N.D.	−3.9%
89	phenacetin	1.0	6.5	tr(3.2)	N.D.	N.D.	N.D.	53.4%	N.D.	N.D.	53.4%
90	methoxsalen	0.5	3.5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	−	N.D.	N.D.	−
91	dexamethasone	0.7	4.4	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	−	N.D.	N.D.	−
92	dexamethasone acetate	1.0	6.4	tr(1.7)	tr(1.3)	N.D.	tr(1.0)	34.7%	N.D.	N.D.	36.0%
	合計			9110.7	187.5	8191.5	175.6	10.0%	6113.2	144.3	32.7%

N.D.　検出下限値未満
tr　検出下限値以上定量下限値未満

５．下水処理プロセスにおけるPRTR制度対象物質の挙動

５．１　はじめに

平成11年7月に「特定化学物質の環境への排出量の把握等及び管理の改善の促進に関する法律」（化学物質把握管理促進法：化管法）が公布され、PRTRが制度化された。下水道事業者は、事業活動に伴って付随的に第一種指定化学物質（以下、「PRTR制度対象物質）という。）を公共用水域に排出していることから、化管法施行規則第4条の規定により下水道法の規定に基づく水質検査の対象となるPRTR制度対象物質（30種類）の当該施設からの排出量について届出することとなっている。これら届出義務のある30種類以外については、下水道施設からの排出量に関する調査報告も少なく十分解明されてない。本調査では、PRTR制度対象物質のうち下水道法の規定に基づく水質検査対象物質以外で下水道への排出量が多い又は排出割合の高い物質について、下水処理プロセスにおける挙動把握を行った。

５．２　調査対象化学物質

調査対象物質は、平成17年度のPRTRデータ[9]を基にPRTR制度対象物質のうち下水道法で規定する水質検査対象物質以外で下水道への排出量が多い又は排出割合の高い物質(13物質)を選定し表-8に示した。

５．３　分析方法

調査対象物質の分析は、水又は底質試料の分析方法[10)～13)]を参考に下水試料への適用について検討した方法[14)]を用いた。イソプレン、1,2-エポキシプロパン、キシレン、1,4-ジオキサン、o-ジクロロベンゼン、トルエンの6物質はヘッドスペースGC/MS法、エチレンオキシドは活性炭臭素化-GC/MS法、エチレンジアミン四酢酸はメチルエステル化-GC/MS法、1,3-ジクロロ-2-プロパノールは水蒸気蒸留-固相抽出-GC/MS法、ニッケル化合物、バリウム及びその化合物は酸分解-ICP法、フェノールはPFB化-GC/MS法、ホルムアルデヒドはPFBB化-GC/MS法により分析した。これらの分析法を用いた流入水及び生汚泥への添加回収試験結果を図-7に示した。各物質とも回収率は60～110%と比較的良い結果であった。

５．４　調査処理プロセス

調査は、標準活性汚泥法とA2O法を有する下水処理場の標準活性汚泥法の水処理プロセスと汚泥処理プロセスで行なうこととし、平成20年3月3日に分析用試料をスポット採取した。調査処理場の処理プロセスフローと試料採取場所を図-8に示した。水処理プロセスでは流入水、最初沈殿池流出水、最終沈殿池流出水、放流水、場内返水の5試料、汚泥処理プロセスでは生汚泥、余剰汚泥、脱水ケーキ、焼却灰の4試料について採取した。

表-8　調査対象物質一覧

物質番号	物質名称	下水道への排出量（kg/年）	下水道への排出割合（%）	用途等（または意図しない生成）
28	イソプレン	8,670	10.4	ゴム原料、医薬品原料、香料原料等
42	エチレンオキシド	38,500	11.4	殺虫・殺菌剤、界面活性剤原料等
47	エチレンジアミン四酢酸	24,300	15.9	化粧品添加剤、プラスチック添加剤等
56	1,2-エポキシプロパン	86,000	21.9	医薬品原料、顔料原料、殺菌剤等
63	キシレン	22,000	0.0	医薬品原料、自動車排ガス等
113	1,4-ジオキサン	15,100	0.3	洗剤、洗浄剤
134	1,3-ジクロロ-2-プロパノール	19,000	32.5	有機薬品原料、重合触媒等
139	o-ジクロロベンゼン	10,500	0.7	殺虫・殺菌剤、冷媒等
227	トルエン	142,000	0.1	染料原料、顔料原料、自動車排ガス等
232	ニッケル化合物	26,700	0.7	触媒、メッキ剤、電池、石灰飛灰等
243	バリウム及びその水溶性化合物	40,300	5.0	顔料、農薬添加剤、ガラス材料等
266	フェノール	21,600	0.6	染料原料、農薬原料、塗料等
310	ホルムアルデヒド	69,100	3.7	医療用・漁業用殺菌剤、自動車排ガス等

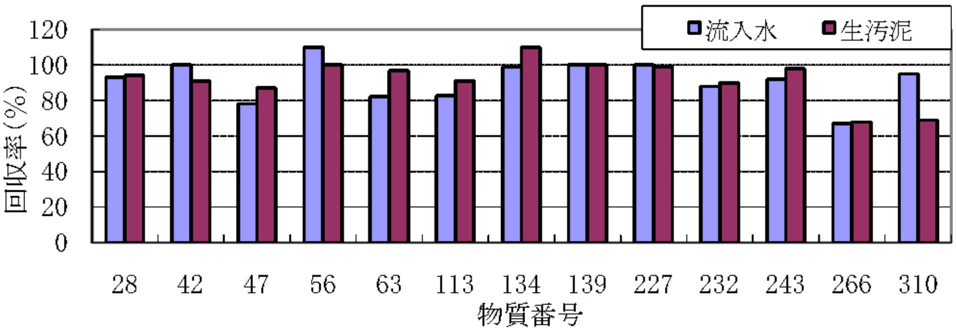


図-7　添加回収試験結果

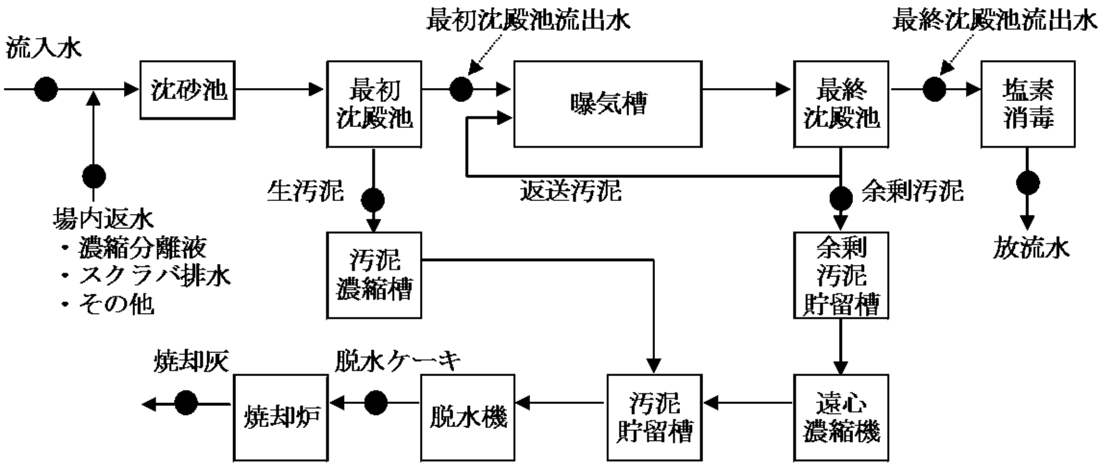


図-8　下水処理場の処理プロセスと試料採取場所

５．５　調査結果

採取試料の PRTR 制度対象物質分析結果を表-9 に示した。水処理プロセスの試料は全て SS を含む濃度(μg/L)で示し、汚泥処理プロセスの試料は、固形物濃度 (μg/kg)で示した。検出下限値未満については各物質の検出下限値を用い不等号で示した。調査対象 13 物質中、エチレンジアミン四酢酸、トルエン、ニッケル化合物、バリウム及びその水溶性化合物、フェノール、ホルムアルデヒドの 6 物質が水処理プロセス及び汚泥処理プロセスの各試料から検出された。また、1,4-ジオキサン、1,3-ジクロロ-2-プロパノールの 2 物質は水処理プロセスからは検出されたものの汚泥処理プロセスのからは検出されなかった。また、エチレンオキシドは流入水からのみ 0.12μg/L の濃度で検出された。

水処理プロセスから検出された 8 物質のうちホルムアルデヒドを除く 7 物質は、処理が進むに従い減少する傾向がみられた。水処理プロセスにおける各物質の除去率を求める（検出下限値未満は 1/2 の値を用いた。）とその除去率は、エチレンオキシド(>59%)、エチレンジアミン四酢酸(24%)、1,4-ジオキサン(60%)、1,3-ジクロロ-2-プロパノール(47%)、トルエン(>75%)、ニッケル化合物(62%)、バリウム及びその水溶性化合物(>95%)、フェノール(99%)であった。

調査対象 13 物質中流入水及び各汚泥試料から検出された 6 物質について汚泥への濃縮倍率（汚泥濃度/流入水濃度）を求め図-9 に示した。エチレンジアミン四酢酸、トルエン、フェノール、ホルムアルデヒドの 4 物質は、生汚泥、余剰汚泥、脱水ケーキに 1～30 倍濃縮され、焼却灰では全て 1 倍以下であった。また、ニッケル化合物、バリウム及びその水溶性化合物は、生汚泥、余剰汚泥、脱水ケーキへは 20～1,000 倍濃縮であったが、焼却灰ではニッケル化合物で 10,000 倍、バリウム及びその水溶性化合物で 30,000 倍濃縮されていた。

５．６　まとめと課題

下水処理場の標準活性汚泥法の水処理プロセスと汚泥処理プロセスでPRTR 制度対象物質の挙動把握調査を行い以下の結果を得た。

1）調査対象の 13 物質中、水処理プロセス及び汚泥処理プロセスの各試料から 6 物質が検出され、2 物質が水処理プロセスのみから検出された。

2）水処理プロセスから検出された 8 物質のうちホルムアルデヒドを除く 7 物質は、処理が進むに従い減少する傾向がみられ、水処理における除去率は 24%～99%であった。

3）流入水及び各汚泥試料から検出された 6 物質の汚泥への濃縮倍率は、有機物の 4 物質は 1～30 倍、金属類の 2 物質は、生汚泥、余剰汚泥、脱水ケーキでは 20～1,000 倍であったが、焼却灰では 10,000、30,000 倍であり高い濃縮倍率を示した。

今後は、下水処理水量、汚泥処理量についての情報も収集し、負荷量を算出するなど定量的な評価を行なう予定である。

表-9　下水及び汚泥中の PRTR 制度対象物質（13 物質）検出状況

物質番号	物質名称	流入水 (μg/L)	最初沈殿池流出水 (μg/L)	最終沈殿池流出水 (μg/L)	放流水 (μg/L)	返流水 (μg/L)	生汚泥 (μg/kg)	余剰汚泥 (μg/kg)	脱水ケーキ (μg/kg)	焼却灰 (μg/kg)
28	イソプレン	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<10	<10	<10	<10
42	エチレンオキシド	0.12	<0.098	<0.098	<0.098	<0.098	<2.14	<2.14	<2.14	<2.14
47	エチレンジアミン四酢酸	170	150	150	130	120	1,100	690	4,700	13
56	1,2-エポキシプロパン	<1	<1	<1	<1	<1	<100	<100	<100	<100
63	キシレン	<3	<3	<3	<3	<3	<25	<25	<25	<25
113	1,4-ジオキサン	3.0	2.1	1.3	1.2	1.3	<10	<10	<10	<10
134	1,3-ジクロロ-2-プロパノール	0.15	0.19	0.08	0.08	0.08	<30	<30	<30	<30
139	o-ジクロロベンゼン	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<10	<10	<10	<10
227	トルエン	2	2	<1	<1	3	<8.3	12	14	<8.3
232	ニッケル化合物	37	27	14	14	40	4,200	3,500	8,500	370,000
243	バリウム及びその水溶性化合物	100	36	<10	<10	100	59,000	2,000	100,000	3,000,000
266	フェノール	2.9	8.0	0.73	0.03	0.25	10	3	69	3
310	ホルムアルデヒド	4	4	1	8	<1	92	<50	120	<50

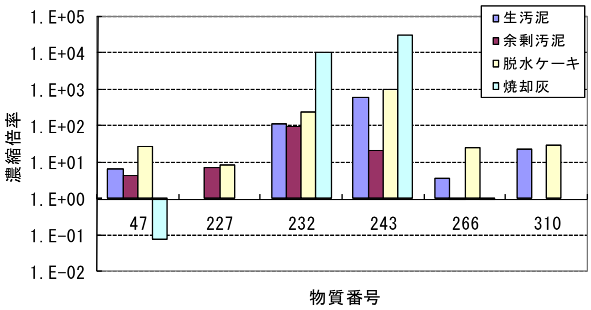


図-9　調査対象物質の汚泥濃縮

＝参考文献＝

1) 清野敦子，古荘早苗，益永茂樹 (2004) わが国の水環境中における人用･動物用医薬品の存在, 水環境学会誌, 27，pp.685-691.

2) 桐賢太郎，高田秀重，田中宏明，原田新，中田典秀，鈴木穣 (2006) 水環境中における合成医薬品の動態，第15回環境化学討論会講演要旨集，pp.188-189.

3) 村田綾子, 真名垣聡, 高田秀重, 村上和雄, 田中宏明, 原田新，中田典秀，鈴木穣 (2006) 日本の河川の抗生物質汚染の実態解明，第15回環境化学討論会講演要旨集, pp.190-191.

4) 杉下寛樹, 山下尚之, 田中宏明, 田中周平, 藤井滋穂, 宝輪勲，小西千絵 (2007) 淀川流域の下水処理場放流水と支川における医薬品の存在実態，環境工学研究論文集, 44，pp.307-312.

5) 小森行也，岡安祐司，鈴木穣　(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」, 12 (2/3)，pp.37-44.

6) Nakada, N., Komori, K., Suzuki, Y., Konishi, C., Houwa, I. and Tanaka, H. (2007) Occurrence of 70 pharmaceutical and personal care products in Tone River basin in Japan, Water Science & Technology, 56, pp.133-140.

7) 小西千絵，宝輪勲，中田典秀，小森行也，鈴木穣，田中宏明，(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

8) 小森行也、岡安祐司、鈴木穣 (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

9) 経済産業省・環境省 (2007) 平成17年度PRTRデータの概要-化学物質の排出量・移動量の集計結果-

10) 環境庁 (1999) 平成11年度要調査項目等調査マニュアル

11) 環境庁 (2000) 平成12年度要調査項目等調査マニュアル

12) 環境庁 (2002) 平成13年度要調査項目等調査マニュアル

13) 下水試験方法-1997年版- (1997) 日本下水道協会

14) 小森行也、鈴木穣 (2009) 下水試料を対象としたPRTR制度対象物質の分析,第18回環境化学討論会講演要旨集、pp.244-245

総体的毒性評価による下水処理水中微量化学物質の生態系影響の把握

水質チーム　上席研究員　鈴木　穣
主任研究員　北村　清明
北村　友一
専門研究員　原田　新

その１　様々な処理レベルの下水処理水中の医薬品等微量化学物質濃度と生態系影響との関係に関する検討

１　はじめに

近年、河川や下水処理水などの環境水中において、医薬品類や生活ケア用品（PPCPs）等に由来する微量化学物質の検出が多く報告されている。水生生態系への影響が懸念されることから、これらの生理活性物質による水環境に対するリスクを適切に評価することや、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。そのためには、水環境中における実態把握や挙動の解明、水生生物に対する生態影響の評価法の確立などが必要となるが、環境中の濃度域において水生生態系に与える影響については、これまでほとんど明らかになっていない。

そこで、本研究では、医薬品類などの微量化学物質が水生生態系に与える影響を把握するため、以下の調査を行った。

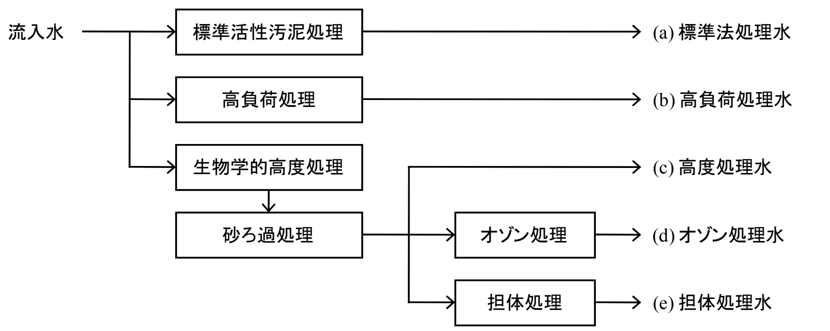
（1）様々な処理レベルの下水処理水中の医薬品類濃度を分析し、既に得ている各物質の生態毒性との比較から各医薬品類による生態リスクを算出した。

（2）これまでに開発してきたバイオアッセイ手法により、下水処理水の総体的な生態リスク評価を実施した。

２　調査方法

本調査は、茨城県霞ヶ浦流域下水道事務所の霞ヶ浦浄化センター内に設置されている実験施設で行われた。同センターの流入水に対して下記の 5 つの処理方法で処理を行い、得られた処理水を試料として用いた。試料の採取は、平成 21 年 1 月 20 日、1 月 27 日、2 月 3 日、2 月 17 日の 4 回行った。

(a) 標準活性汚泥法
(b) 標準活性汚泥法（高負荷条件）
(c) 高度処理法（生物学的高度処理法＋砂ろ過処理）
(d) 高度処理法＋砂ろ過処理＋オゾン処理
(e) 高度処理法＋砂ろ過処理＋担体処理



図−１　本調査における下水処理のフロー

２．１　各処理法の概要及び運転条件

（１）標準活性汚泥法

わが国の下水処理場で採用されている標準的な処理法の一つである。本調査では、実験処理装置を用い、「下水道施設計画・設計指針と解説」[1)]に記載された標準的な処理条件を参考に、運転条件を以下のように設定した。

・反応タンク容量	10m^3 (2m^3×5 槽)
・反応タンク滞留時間（HRT）	6～8 時間
・固形物滞留時間（SRT）	3～6 日
・反応タンク溶存酸素濃度（DO）	1.5mg/L
・反応タンク MLSS	1,500～2,000mg/L

以下、この処理法の処理水を「標準法処理水」という。調査期間中、1 月後半に一時的に処理水質が悪化したが、それ以外の時期は概ね良好に処理が行われた。

（２）標準活性汚泥法（高負荷条件）

標準活性汚泥法において、適切な運転管理がされず処理が悪化した状況を想定した。本調査では、反応タンク容量 100L の実験処理装置を用い、（１）に比べて MLSS 負荷が高い条件で運転管理を行った。

・反応タンク容量	100L (10L×10 槽)
・反応タンク滞留時間（HRT）	6 時間
・固形物滞留時間（SRT）	5 日
・反応タンク内溶存酸素濃度 1.0mg/L	
・反応タンク MLSS	1,000mg/L

以下、この処理法の処理水を「高負荷処理水」という。調査期間中は、処理水の透視度 10 前後、COD_{Mn}20mg/L 以上の状態が継続し、硝化反応もほとんど進行しないなど、企図した通り処理が悪化した状況となっていた。

（３）高度処理法（生物学的高度処理法＋砂ろ過処理）

霞ヶ浦浄化センターでは、処理水の放流先が閉鎖性水域の霞ヶ浦であることから、水質の悪化を防ぐため、以下のような高度処理法が採用されている[2)]。

・凝集剤添加活性汚泥法	14,000m3/day
・嫌気 - 無酸素 - 好気法	14,000m3/day
・担体投入型修正 Bardenpho 法	9,000m3/day
・凝集剤併用型循環式硝化脱窒法	52,000m3/day
（合計	89,000 m3/day）

本調査では高度処理水として、同センターの一部系列（凝集剤添加活性汚泥法、嫌気 - 無酸素 - 好気法、担体投入型修正 Bardenpho 法の処理水が混合された後、砂ろ過処理）の処理水を使用した。以下、この処理法の処理水を「高度処理水」という。霞ヶ浦流域下水道事務所から提供を受けた水質データ（不掲載）から、調査期間を通じて良好な処理状況であったと考えられる。

（４）高度処理法＋オゾン処理

オゾン処理は、オゾンの強い酸化力を利用した物理化学的処理法の一つで、通常の生物処理では除去できない難分解性有機物の分解除去が可能である。本調査では、（３）の高度処理水を原水として、オゾン処理を行った。処理条件は、以下の通りとした。

・オゾン反応タンク容積	450L
・オゾン注入率	1.2mg/L

以下、この処理法の処理水を「オゾン処理水」という。

（５）高度処理法＋担体処理法

担体処理法は、表面に微生物を保持する担体（微生物保持担体）を反応タンクに添加することにより短時間で効率的な生物処理を行う処理法で、比較的簡易かつ安価な栄養塩類の高度除去手法である。本調査では、（３）の高度処理水を原水として、付加的に担体処理を行った。処理条件は、以下の通りとした。

- 反応タンク容積　　200L (100L×2 槽)
- 担体添加率　　40%程度
- 反応タンク滞留時間　　3.6 時間

以下、この処理法の処理水を「担体処理水」という。

２．２　医薬品類の分析

表−1 に示す医薬品類 44 物質について、処理水中の濃度を分析した。

thymol 及び triclosan については、宝輪らの方法 [3)]を参考にガスクロマトグラフィ／質量分析（GC/MS）法、それ以外の 42 物質は、小森らの方法 [4)]を参考に液体クロマトグラフィ／タンデム質量分析（LC/MS/MS）法により分析した。使用機器は、島津 GC2010/QP2010 及び Agilent 1100/Thermo Quantum Discovery MAX である。

２．３　生態毒性試験

処理水の生態毒性試験として、細菌、藻類及び甲殻類を用いたバイオアッセイによる急性毒性試験を行った。

（１）試料の濃縮

わが国の河川や下水処理水では一般に汚染の程度が低いため、急性毒性試験において明確な影響がみられないことが多い。そこで本調査では、処理水中の生態リスク要因として有機物などに注目し、固相抽出（SPE）法により前濃縮を行った後、バイオアッセイに供する手法を適用した。

ガラス繊維ろ紙（ワットマン社、GF/B）で濾過した処理水1000mLを固相抽出カートリッジ（Waters社、OASIS-HLB）に通水した後、吸着成分をメタノールで溶出させた溶出液を乾固、100µLのDMSOに再溶解することで10,000倍濃縮試料（1,000,000%）を得た。

（２）細菌を用いたバイオアッセイ

市販の試験システムMICROTOX®（米SDI社）を用い、海洋性発光細菌*Vibrio fischeri*を供試生物とし、発光阻害をエンドポイントとするバイオアッセイを実施した。システム添付のプロトコールに従って、試水の段階希釈系列（32～9000%、公比2）中に5分曝露した後の発光阻害を分析し、付属の計算ソフトにより半数阻害濃度（EC50）を求めた。

（３）藻類を用いたバイオアッセイ

単細胞緑藻 *Pseudokirchneriella subcapitata* (NIES-35)を供試生物とし、生長阻害をエンドポイントとする「藻類生長阻害試験」を実施した。本調査では、Yamashita ら[5)]の方法を参考に、96孔のマイクロプレートを用いて温度24℃、照度4000Lux、振とう速度120rpm の条件で培養を行い、吸光度から細胞数を求める手法を適用した。試水の段階希釈系列（1.6～830%、公比2）中に96時間曝露した後、期間中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。

（４）甲殻類を用いたバイオアッセイ

鰓脚綱のオオミジンコ*Daphnia magna*を供試生物とし、遊泳阻害をエンドポイントとする「ミジンコ急性遊泳阻害試験」を実施した。本調査では、市販の急性毒性試験キットDAPHTOXKIT F^{TM} MAGNA（ベルギーMicroBioTests社）を用いた。孵化後24時間以内のミジンコ各5個体を試水の段階希釈系列（63～1000%、公比2）中に48時間曝露した後、遊泳阻害を受けた個体数を観察し、試料濃度と阻害率の関係から半数阻害濃度（EC50）を求めた。

表−１　分析対象の医薬品類 44 物質

対象物質		主な用途等
acetazolamide	（アセタゾラミド）	利尿剤
amitriptyline	（アミトリプチリン）	精神神経用剤
atenolol	（アテノロール）	不整脈用剤
azithromycin	（アジスロマイシン）	抗生物質製剤
bezafibrate	（ベザフィブラート）	高脂血症用剤
caffeine	（カフェイン）	強心剤
carbamazepine	（カルバマゼピン）	抗てんかん剤、躁状態治療剤
chloramphenicol	（クロラムフェニコール）	抗生物質製剤
chlorpromazine	（クロルプロマジン）	精神神経用剤
clarithromycin	（クラリスロマイシン）	抗生物質製剤
crotamiton	（クロタミトン）	鎮痛，沈痒，収斂，消炎剤
dexamethasone	（デキサメタゾン）	副腎ホルモン剤
dextromethorphan	（デキストロメトルファン）	鎮咳剤
diclofenac	（ジクロフェナク）	解熱鎮痛消炎剤、鎮痛，沈痒，収斂，消炎剤
N,N-diethyl-m-toluamide	（ジエチルトルアミド）	昆虫忌避剤
diltiazem	（ジルチアゼム）	血管拡張剤
diphenidol	（ジフェニドール）	鎮暈剤
dipyridamole	（ジピリダモール）	血管拡張剤
ethenzamide	（エテンザミド）	解熱鎮痛消炎剤
fenoprofen	（フェノプロフェン）	解熱鎮痛消炎剤
flufenamic acid	（フルフェナム酸）	解熱鎮痛消炎剤
furosemide	（フロセミド）	利尿剤
haloperidol	（ハロペリドール）	精神神経用剤
ibuprofen	（イブプロフェン）	解熱鎮痛消炎剤
imipramine	（イミプラミン）	精神神経用剤
ketoprofen	（ケトプロフェン）	解熱鎮痛消炎剤、鎮痛，沈痒，収斂，消炎剤
levofloxacin	（レボフロキサシン）	合成抗菌剤
mefenamic acid	（メフェナム酸）	解熱鎮痛消炎剤
metoclopramide	（メトクロプラミド）	消化器官用薬
nalidixic acid	（ナリジクス酸）	合成抗菌剤
naproxen	（ナプロキセン）	解熱鎮痛消炎剤
novobiocin	（ノボビオシン）	動物用医薬品（抗菌剤）
phenytoin	（フェニトイン）	抗てんかん剤
pirenzepine	（ピレンゼピン）	消化性潰瘍用剤
primidone	（プリミドン）	抗てんかん剤
promethazine	（プロメタジン）	抗ヒスタミン剤
2-quinoxaline carboxylic acid	（2−キノキサリンカルボン酸）	動物用医薬品carbadoxの代謝物
sotalol	（ソタロール）	不整脈用剤
sulpiride	（スルピリド）	精神神経用剤、消化性潰瘍用剤
thymol	（チモール）	防腐剤、駆虫剤
tolbutamide	（トルブタミド）	糖尿病用剤
tolperisone	（トルペリゾン）	鎮けい剤
triclosan	（トリクロサン）	殺菌剤
verapamil	（ベラパミル）	血管拡張剤、不整脈用剤

3　結果と考察

3．1　処理水中の医薬品類濃度

医薬品類濃度の分析結果を図－２に示す。各物質の処理水中での濃度は、概ね 0.1ng/L～数 μg/L 程度の範囲であった。sulpiride, crotamiton, caffeine, bezafibrate 等が比較的高濃度で検出された一方で、imipramine や tolperisone の様にほとんど検出されない物質もあった。また、caffeine や dipyridamole, thymol, triclosan 等では、処理法間で濃度が 10 倍以上異なるなど、除去率の差が大きい様子がうかがわれた。

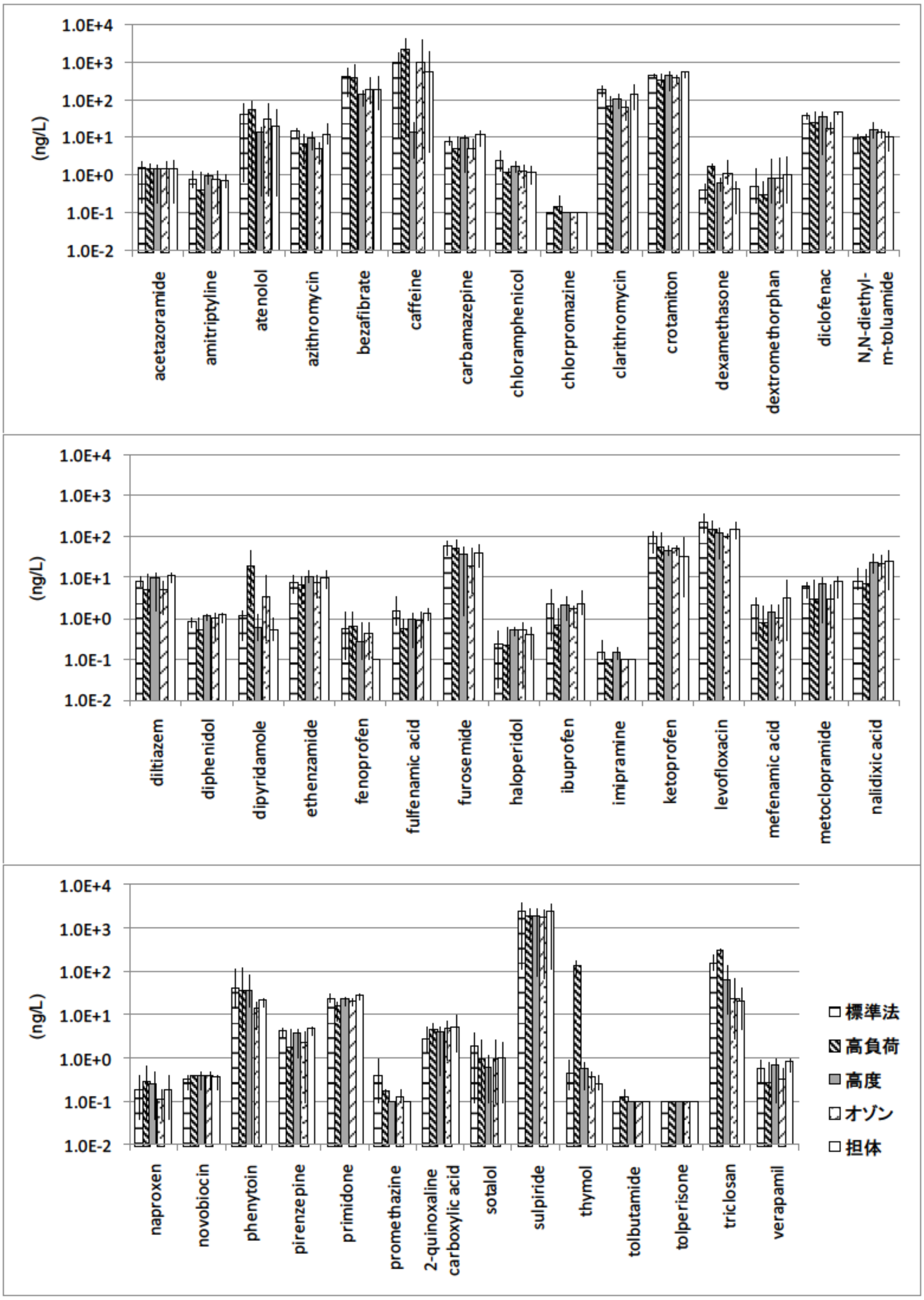


図-２　各処理法処理水中の医薬品類濃度

３．２　下水処理水の生態毒性

（１）半数阻害濃度（EC50）

バイオアッセイ結果から、各処理法処理水の生態毒性について半数阻害濃度（EC50(%)）を求め、さらに毒性単位 TU を算出した。TU は半数阻害濃度の逆数（TU＝100/EC50）であり、TU の値が大きいほど生態毒性が強いことを意味する。算出された EC50 及び TU を、表－２に示す。また、図－３には、処理法、アッセイ系ごとにまとめた TU のグラフを示した。

標準法処理水では、細菌及び甲殻類に対しては明確な影響がほとんど見られなかったが、藻類に対しては TU=0.3 程度の毒性が検出された。また高負荷処理水は、すべてのアッセイ系（細菌、藻類、甲殻類）で同程度の生態毒性（TU=0.3～0.6）を示した。一方、高度処理水、オゾン処理水及び担体処理水では、いずれの生物に対しても明確な影響は見られなかった（TU<0.1）。

また、本調査期間中においては、試料の採取日間での生態毒性の差はあまり見られなかった。

これらのことから、以下のような可能性が示唆された。

・　藻類の下水処理水に対する感受性は細菌や甲殻類に比べて高く、標準活性汚泥法では生態リスクを十分に低減できない可能性がある。

・　生物学的高度処理＋砂ろ過処理では、藻類に対する生態リスク要因も除去可能である。

・　高負荷条件などにより処理が悪化した場合には、様々な生物種に対する生態リスクが大きくなる。

一方、オゾン処理や担体処理による生態毒性の低減効果については、原水として用いた高度処理水の生態毒性が低かったため、本調査では把握することができなかった。また、本調査で実施した細菌によるバイオアッセイは短時間の暴露で影響をみる試験であり、抗生物質のように静菌的に作用する物質の生態毒性については、十分に把握できていない可能性に留意する必要がある。

表−２　各処理法処理水の生態毒性

		半数阻害濃度EC50(%)			毒性単位TU		
		細菌 *V.fisheri*	藻類 *P.subcapitata*	甲殻類 *D.magna*	細菌 *V.fisheri*	藻類 *P.subcapitata*	甲殻類 *D.magna*
標準法処理水	1月20日	5,600	370	>1,000	0.02	0.27	<0.10
	1月27日	6,800	290	>1,000	0.01	0.34	<0.10
	2月3日	8,200	340	>1,000	0.01	0.29	<0.10
	2月17日	6,800	300	>1,000	0.01	0.33	<0.10
高負荷処理水	1月20日	350	200	350	0.29	0.50	0.29
	1月27日	280	170	350	0.36	0.59	0.29
	2月3日	380	210	310	0.26	0.48	0.32
	2月17日	480	200	710	0.21	0.50	0.14
高度処理水	1月20日	7,100	>1,000	>1,000	0.01	<0.10	<0.10
	1月27日	7,800	>1,000	>1,000	0.01	<0.10	<0.10
	2月3日	>9,000	>1,000	>1,000	<0.01	<0.10	<0.10
	2月17日	>9,000	>1,000	>1,000	<0.01	<0.10	<0.10
オゾン処理水	1月20日	>9,000	>1,000	>1,000	<0.01	<0.10	<0.10
	1月27日	>9,000	>1,000	>1,000	<0.01	<0.10	<0.10
	2月3日	>9,000	>1,000	>1,000	<0.01	<0.10	<0.10
	2月17日	>9,000	>1,000	>1,000	<0.01	<0.10	<0.10
担体処理水	1月20日	>9,000	>1,000	>1,000	<0.01	<0.10	<0.10
	1月27日	>9,000	>1,000	>1,000	<0.01	<0.10	<0.10
	2月3日	>9,000	>1,000	>1,000	<0.01	<0.10	<0.10
	2月17日	>9,000	>1,000	>1,000	<0.01	<0.10	<0.10

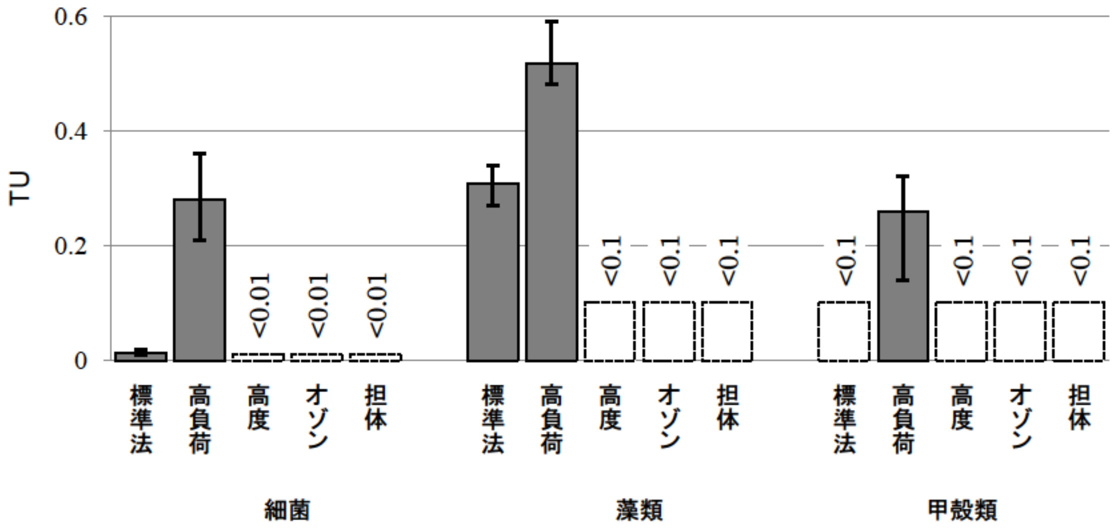


図-３　処理法、生物による毒性単位 TU の比較

３．３　医薬品類に由来する生態リスク

本調査で測定対象とした医薬品類 44 物質中 39 物質については、過去の研究において水生生物に対する予測無影響濃度（PNEC）が算出されている。また、残りの 5 物質については、正確な PNEC の値は算出されていないが、PNEC が 10μg/L 以上であると判定されている。この値と今回測定した試料中濃度を用い、各試料中の医薬品類による生態リスク評価を行った。さらに、個々の物質の生態リスクをもとに、各処理水試料における、医薬品類由来の生態リスクについて検討した。

（１）個々の物質の生態リスク評価

医薬品類各物質について、試料中の濃度（MEC）と予測無影響濃度（PNEC）を用い、生態リスク評価の指標 MEC/PNEC を算出した。安全側の値を求めるため、正確な PNEC が算出されていない 5 物質については PNEC＝10μg/L とし、試料中の濃度が検出下限値未満であった場合には検出下限値を MEC とみなして計算した。

各物質の MEC/PNEC 値のうち、今回調査した 20 試料における最大値を図－４に示す。算出された値は、0.001 未満～28 と物質により大きく異なっていた。

生態リスク初期評価の指針を示した「化学物質の環境リスク初期評価ガイドライン」[6]において、MEC/PNEC が 1 以上の物質は詳細な検討を行う候補であると考えられ、0.1 以上 1 未満の物質については情報収集に努める必要があると考えられる、とされている。本調査において MEC/PNEC が 1 以上となったのは、azithromycin, clarithromycin, triclosan の 3 物質、0.1 以上 1 未満となったのは caffeine, crotamiton, levofloxacin, thymol の 4 物質であった。これらの物質については、下水処理プロセスにおける挙動に関心を払う必要があると考えられ、なかでも clarithromycin 及び triclosan の MEC/PNEC 値は 1 を大きく上回っていることから、生態リスクの観点から特に注目する必要がある。また、PNEC が算定されていない 5 物質中、sulpiride については MEC/PNEC が 0.1 以上である可能性があり、正確な PNEC を算出する必要がある。

一方、上記の医薬品類の用途をみると、8 物質中 5 物質（azithromycin, clarithromycin, levofloxacin, thymol, triclosan）が抗菌剤（抗生物質）や殺菌剤として用いられている（caffeine は強心剤、crotamiton は鎮痒剤、sulpiride は抗潰瘍薬、向精神薬）。このことから、環境中での生態リスクが大きい医薬品類には抗菌作用や殺虫作用等を示す物質が多い可能性が示唆される。膨大な種類の医薬品類の全てについて生態リスク評価を行うことは困難であり、生理活性や標的分子等と関連付けた研究が必要となると考えられる。

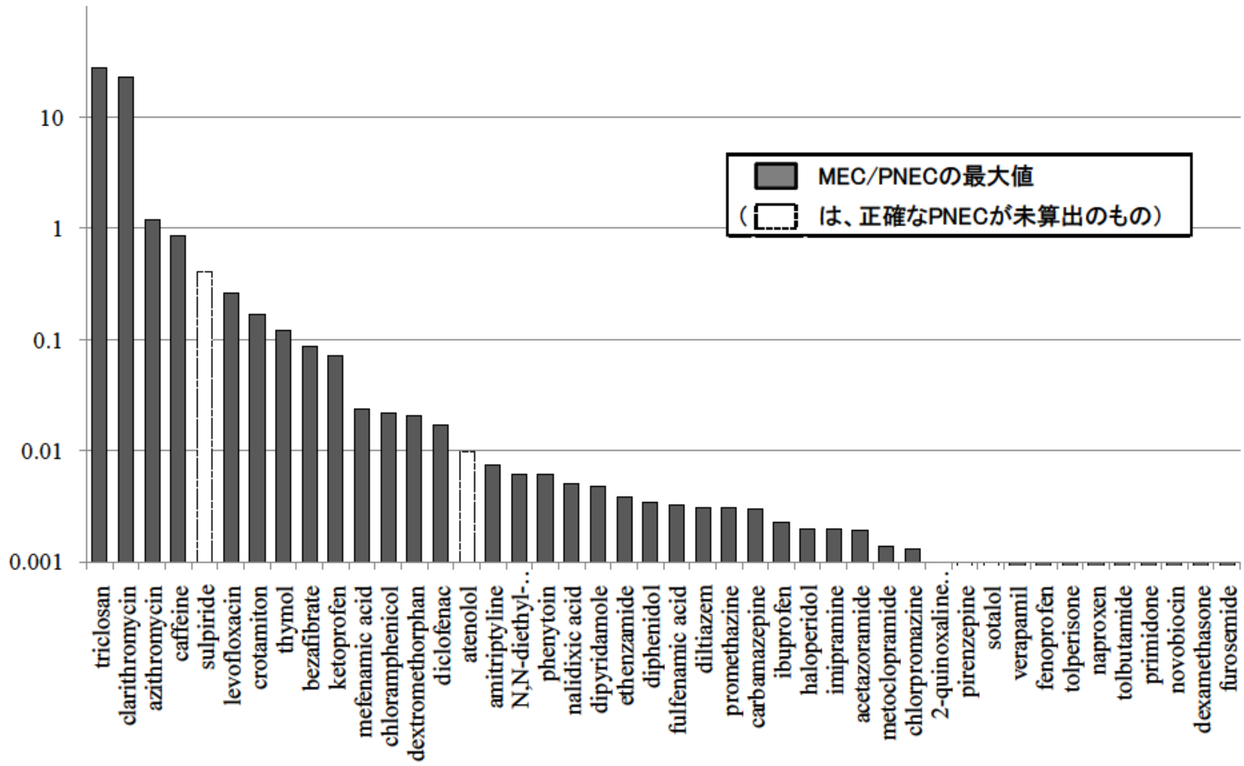


図-４　医薬品類 44 物質の生態リスク初期評価（MEC/PNEC）

（２）対象医薬品類全体としての生態リスク

（１）で求めた個々の物質の生態リスク（MEC/PNEC）をもとに、各処理水試料中における、対象医薬品類全体としての生態リスクについて検討した。

複数の医薬品類が共存する場合に水生生物に及ぼす生態影響については、これまで十分明らかにされていない。ここでは、対象とした医薬品類による複合作用は濃度相加（concentration addition）であり、対象外の物質との複合作用は無視できると仮定して、簡易的な評価を行った。この仮定のもとでは、対象医薬品類全体としての生態リスクは、個々の物質について計算された生態リスクの合計値（Σ(MEC/PNEC)）で表現される。

各処理水試料について、Σ(MEC/PNEC)を算出した結果を表‐３及び図‐５に示す。各試料の Σ(MEC/PNEC)は、3.9～25（平均値 20）と比較的大きな値となった。

処理法間で比較すると、標準法処理水に比べて高度処理水は 35~70%程度低い値となっていた。さらにオゾン処理水の Σ(MEC/PNEC)値は、高度処理水と比べて 30～60%程度、標準法処理水との比較では 60～80%低減されていた。このことから、下水処理水中の医薬品類による生態リスクは、高度処理生物学的高度処理（＋砂ろ過）によって低減可能であること、オゾン処理を行うことでさらに大きな低減効果が得られることが示された。一方、高負荷処理水では、標準法処理水に比べて処理状況、処理水質が悪かったにもかかわらず、Σ(MEC/PNEC)の値はほとんど差がなかった。また、担体処理水では調査日ごとの変動があるものの高度処理水と概ね同程度の値であることから、高度処理水の水質をさらに向上させる手法としては限界があると考えられる。。

一方、各物質の占める影響の大きさをみると、いずれの試料においても clarithromycin 及び triclosan の寄与が大きく、この２物質の合計で概ね 90%以上を占めていた（図‐６）。ただし高負荷処理水では、他の処理法と比べて triclosan の寄与が大きく clarithromycin の寄与が比較的小さい傾向がみられた。この様な挙動については、今後の調査で検証していくことが求められる。

表-３　各処理法処理水における医薬品類由来の生態リスク（Σ(MEC/PNEC)）

	1月20日	1月27日	2月3日	2月17日	平均
標準法処理水	32	38	25	30	31
高負荷処理水	27	32	39	36	34
高度処理水	11	25	12	9.1	14
オゾン処理水	6.8	14	5.1	6.3	8.1
担体処理水	8.5	11	27	9.1	14

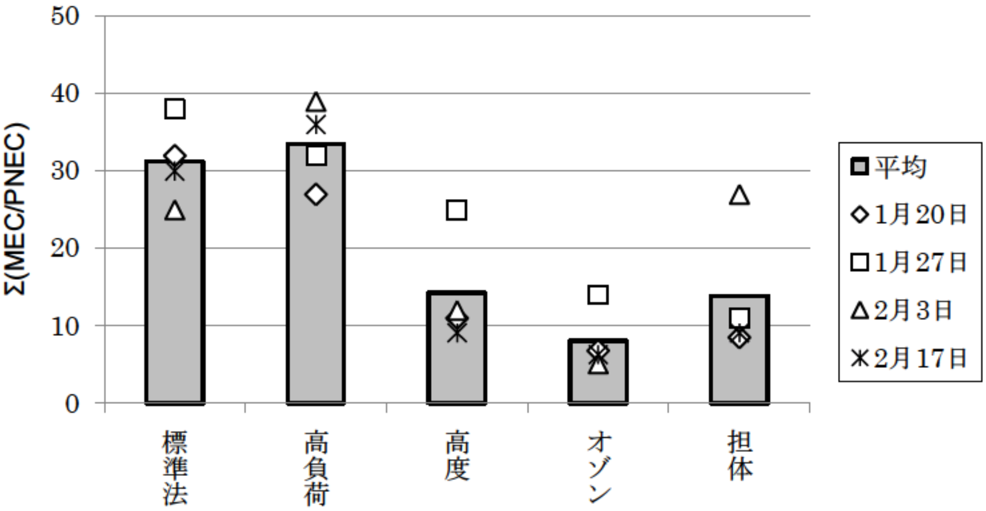


図-５　各処理法処理水における医薬品類由来の生態リスク（Σ(MEC/PNEC)）

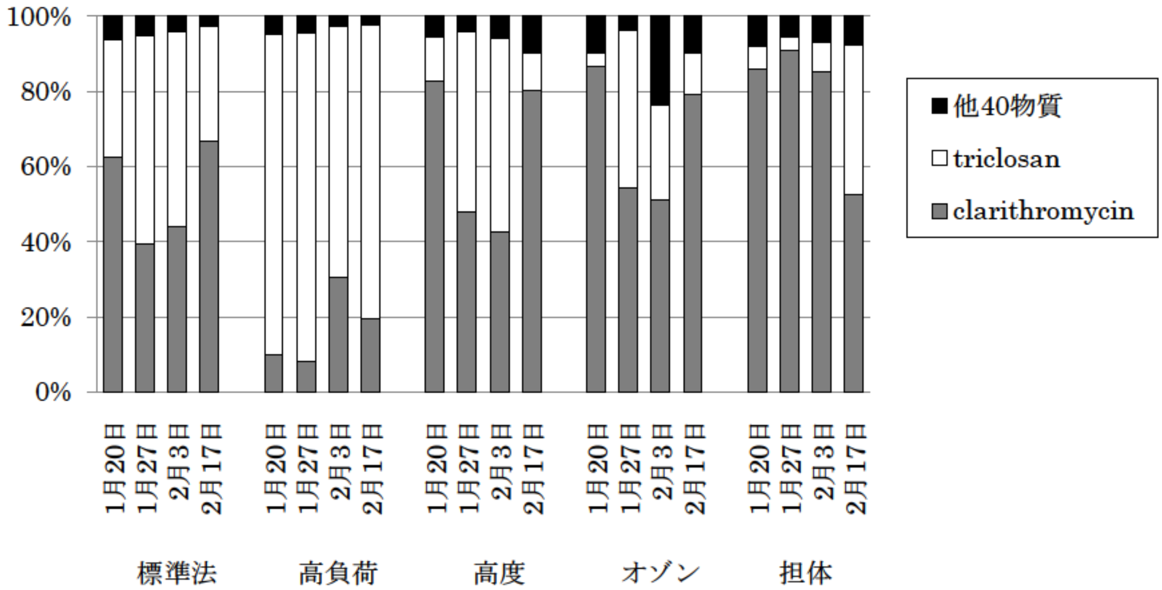


図-６　Σ(MEC/PNEC)に対する各医薬品類の寄与

４　まとめ

標準活性汚泥法、生物学的高度処理法、オゾン処理法など5種類の下水処理法の処理水について医薬品類の濃度を分析するとともに、細菌、藻類及び甲殻類によるバイオアッセイを行い、生態リスクの評価を実施した。得られた主な知見は以下のとおりである。

・今回分析対象とした44医薬品類の下水処理水中濃度は、概ね0.1ng/L～数μg/L程度の範囲であった。sulpiride, crotamiton, caffeine, bezafibrate等の物質が比較的高濃度で存在していた。

・caffeineやdipyridamole, thymol, triclosan等の物質は、処理法による除去率の差が大きい可能性がある。

・azithromycin, caffeine, clarithromycin, crotamiton, levofloxacin, thymol, triclosanの7物質について、生態リスクの視点で注目する必要性が示された。なかでも、clarithromycinとtriclosanは特に生態リスクが高いと予想され、詳細な評価が必要と考えられる。

・PNECが算定されていない物質のうちsulpirideについては、生態リスクが比較的高い可能性があり、今後正確なPNECを算出する必要がある。

・藻類の下水処理水に対する感受性は細菌や甲殻類に比べて高く、標準活性汚泥法では生態リスクを十分に低減できない可能性がある。

・高度処理法（生物学的高度処理＋砂ろ過）によって、細菌や甲殻類に加えて藻類に対する生態リスクの低減も可能である。

・高負荷条件などにより処理が悪化した場合には、様々な生物種に対する生態リスクが高くなる恐れがある。

一方、課題としては次のようなことが挙げられる。

・処理水の総体的な生態毒性（バイオアッセイ結果）と各物質の生態リスクを比較可能な評価手法の確立。

・生物種による感受性の差を反映できる評価手法の開発。

・分子構造や医薬品としての生理活性などを基に生態毒性を予測する手法の検討。

・生態リスクが高いと予測される物質（今回の調査の中ではsulpirideが該当）について、生態毒性試験を実施。

・複数の医薬品類による複合作用、さらには他の生態リスク要因（重金属、界面活性剤、内分泌かく乱物質等）との複合影響についての検討。

今後は、上記の課題を含めて研究を進め、さらに精度の高いリスク評価手法を確立していくことが求められる。これによって、水環境における生態リスクを的確に把握するとともに、各種処理技術の生態リスク低減効果やその特性について評価を行うことが可能となり、水環境における生態リスクの効果的な低減が期待される。

参考文献

1)　(社)日本下水道協会（2001）: 下水道施設計画・設計指針と解説（前編）

2)　茨城県霞ヶ浦流域下水道事務所（2008）: 平成 19 年度霞ヶ浦湖北流域下水道維持管理年報

3)　宝輪勲 他（2007）: GC-MS による水環境中の PPCPs 一斉分析法の基礎的検討，第 16 回環境化学討論会講演要旨集，pp.774-775

4)　小森行也 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」，12 巻 2/3 号，pp.37-44

5)　Yamashita, N. *et al.* (2006); Effects of antibacterial agents, levofloxacin and clarithromycin, on aquatic organisms, *Water. Sci. Technol.*, **53**, pp.65-72

6)　環境省（2009）; 化学物質の環境リスク初期評価ガイドライン（平成 21 年 2 月版）

その２　下水処理水に曝露したメダカの遺伝子発現解析

1　調査の目的

これまで当研究所水質チームで行ってきた下水処理水中のエストロゲンやエストロゲン様物質が魚類に及ぼす影響の調査から、下水処理水中に残存しているエストロゲン類は、オスメダカ肝臓中のビテロゲニンやコリオゲニン遺伝子を誘導することがわかってきた[1)]。メダカ肝臓中でのビテロゲニンやコリオゲニン遺伝子は、数ng/Lの低エストロゲン濃度でも誘導されていた[2)]ことから、遺伝子発現の変化を指標とすることにより、高感度で魚類影響を把握できる可能性がある。下水処理水にはエストロゲン以外にも様々な物質が存在し、これらの物質が魚類に及ぼす影響については明らかになっていない。そこで本研究では、遺伝子発現の変化に着目し、処理の程度が異なる3種類の下水処理水にメダカを曝露し、下水処理レベルとメダカ遺伝子発現の関係についての基礎的知見を得ることとした。

2　調査の内容

本調査の内容は、以下のとおりである。

(1)　処理レベルの異なる3種類の下水処理水にメダカを曝露させ、曝露後のメダカの脳、エラ、肝臓、精巣のマイクロアレイによる網羅的遺伝子発現を調査した。

(2)　遺伝子発現解析により、臓器ごとに下水処理レベルの影響を把握した。

3　調査方法

曝露下水処理水：図-1に示した活性汚泥処理実験装置を用い、①活性汚泥処理水の流動床型担体処理水の砂ろ過水(ASC)、②活性汚泥処理水の砂ろ過水(AS)、③水理学的および汚泥滞留時間を短くした高負荷二次処理水(h-AS)の3種類をメダカ曝露用下水処理水とした。なお、コントロールには、脱塩素水道水を用いた。

曝露試験：曝露実験装置は、水質チームが考案、作成した現場型魚類曝露試験装置[3)]を使用した。本装置を用いることにより、水温制御、間欠流水式でメダカ曝露実験を行うことが可能となる。この装置4台（1台はコントロール区用）を用い、図-1の各処理水をそれぞれの装置に導水した。

メダカの曝露条件は、表-1に示すとおりである。

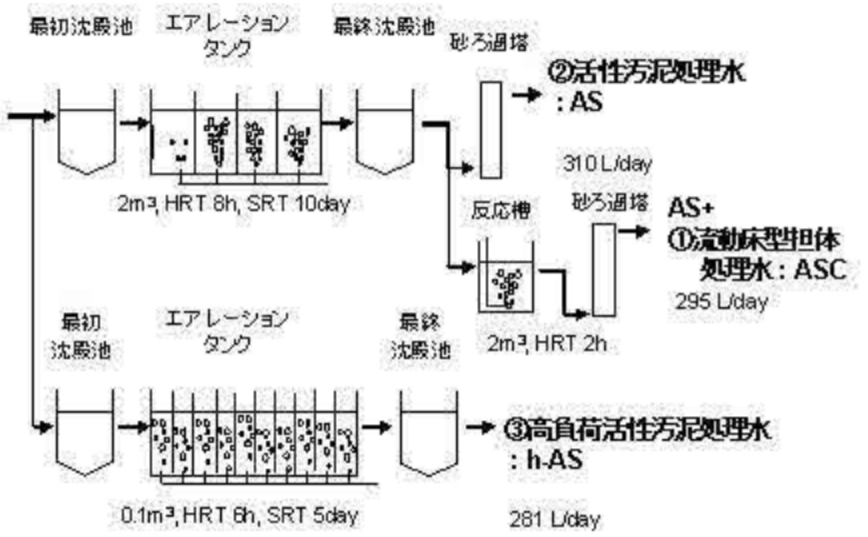


図-1　活性汚泥処理装置の概要

表-1　メダカ曝露試験の条件

試験魚	オスメダカ(d-rR系、5ヶ月齢)　60匹／曝露区
曝露形式	間欠流水式
換水率	約4回
曝露期間	4週間
水温	24℃
照明	16h明（6:00～22:00)、8h暗
曝露水槽容量	30L
給餌	配合飼料、3回/日

水質測定：各曝露水槽水中の pH、DO、電気伝導度(多項目水質計 U21)を月水金の週3回、イオンクロマトグラフ法による無機態窒素 (NH_4-N, NO_2-N, NO_3-N) 濃度および組み換え酵母によるエストロゲン様活性を週1回測定した。

メダカの解剖方法：メダカを水槽からタモで取り上げ、氷冷麻酔後、RNAlater 中で一匹ごとに解剖し、脳、精巣、エラ、肝臓を摘出した。摘出した各臓器は、RNA 抽出までの間 RNAlater 中で保存した。

遺伝子発現測定法：メダカから摘出した各臓器は、キアゲン社製の RNeasy mini kit により RNA を抽出した後、バイオアナライザーで RNA の分解の程度を確認した。RNA が分解されていない試料3匹分の RNA 抽出液を混合し１検体とし、Ambion 社製の Amino Allyle Message Amp II kit with Cy5を使用し、RNA の増幅および蛍光標識を行った。遺伝子発現は、約800遺伝子が搭載されているエコジェノミクス社製のメダカマイクロアレイ(EG750)を使用し、マイクロアレイスキャナー(Affymetrix 428 Array Scanner)によりマイクロアレイ画像を読み取った。

遺伝子発現解析：マイクロアレイの数値化ソフト ImaGene7.0 (BioDiscovery 社)を用いて、マイクロアレイ画像から各遺伝子発現強度を数値化した後、GeneSight4.0 (BioDiscovery)を用い、Acidic Ribosomal Phosphoprotein 遺伝子の発現量を内在性コントロールとし各遺伝子発現を相対定量した。下水処理レベルと各臓器の遺伝子発現の関係は、Cluster3.0(フリーソフト)を用いてクラスター解析を行い、各遺伝子発現強度から下水処理レベル間の類似性を調べた。

4　調査結果と考察

図-2は、曝露期間中の各曝露水の水温、pH、DO、電気伝導度、NO_3-N、エストロゲン様活性値および累積メダカ死亡数の結果である。NH_4-N,NO_2-N は不検出であり、エストロゲン様活性値以外は、各処理水間で顕著な違いはみられなかった。②AS 区では、曝露3週間目からメダカの死亡数の増加がみられた。なお、死亡原因については不明である。

図-3は、肝臓、エラ、精巣、脳の各臓器別に、コントロール（脱塩素水道水）曝露後の遺伝子発現強度と各処理水曝露後の遺伝子発現強度をスキャッタープロットしたものである。

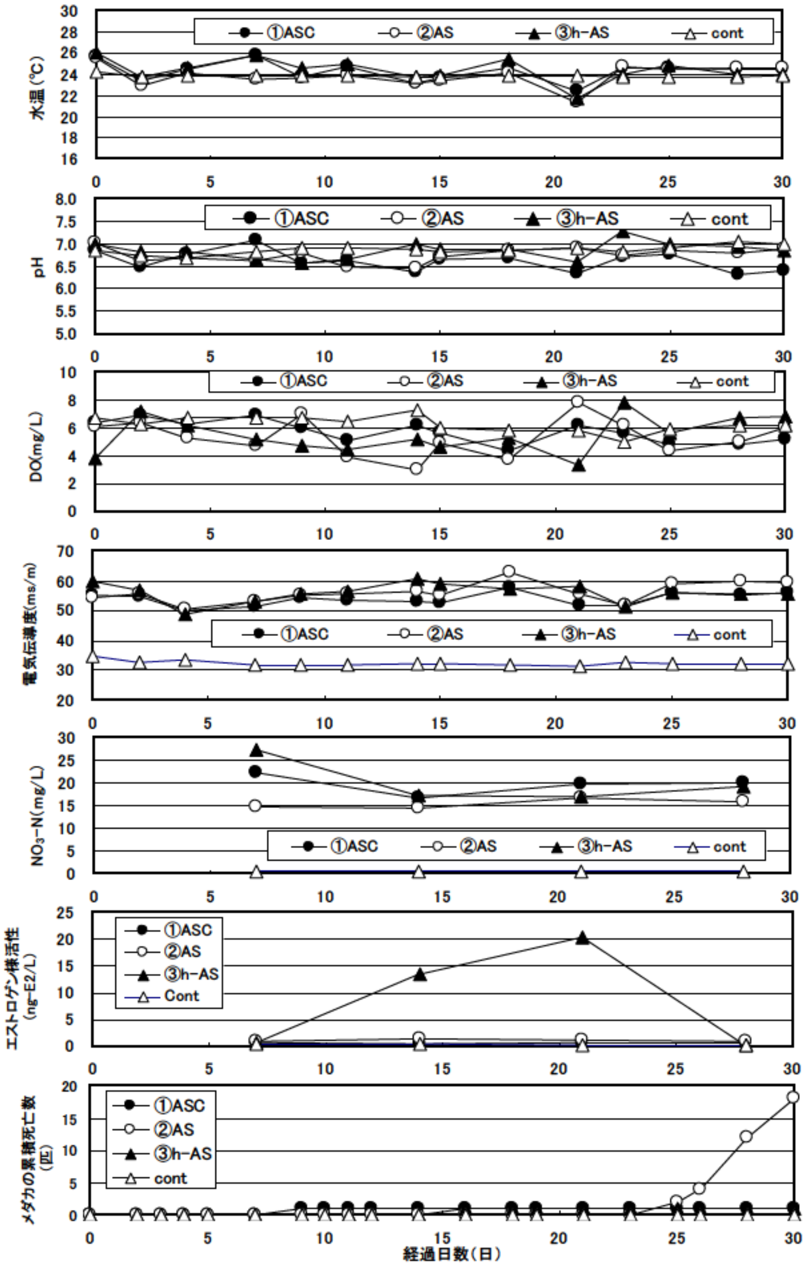


図-2　曝露期間の水温, pH, DO, 電気伝導度とメダカ死亡数の結果

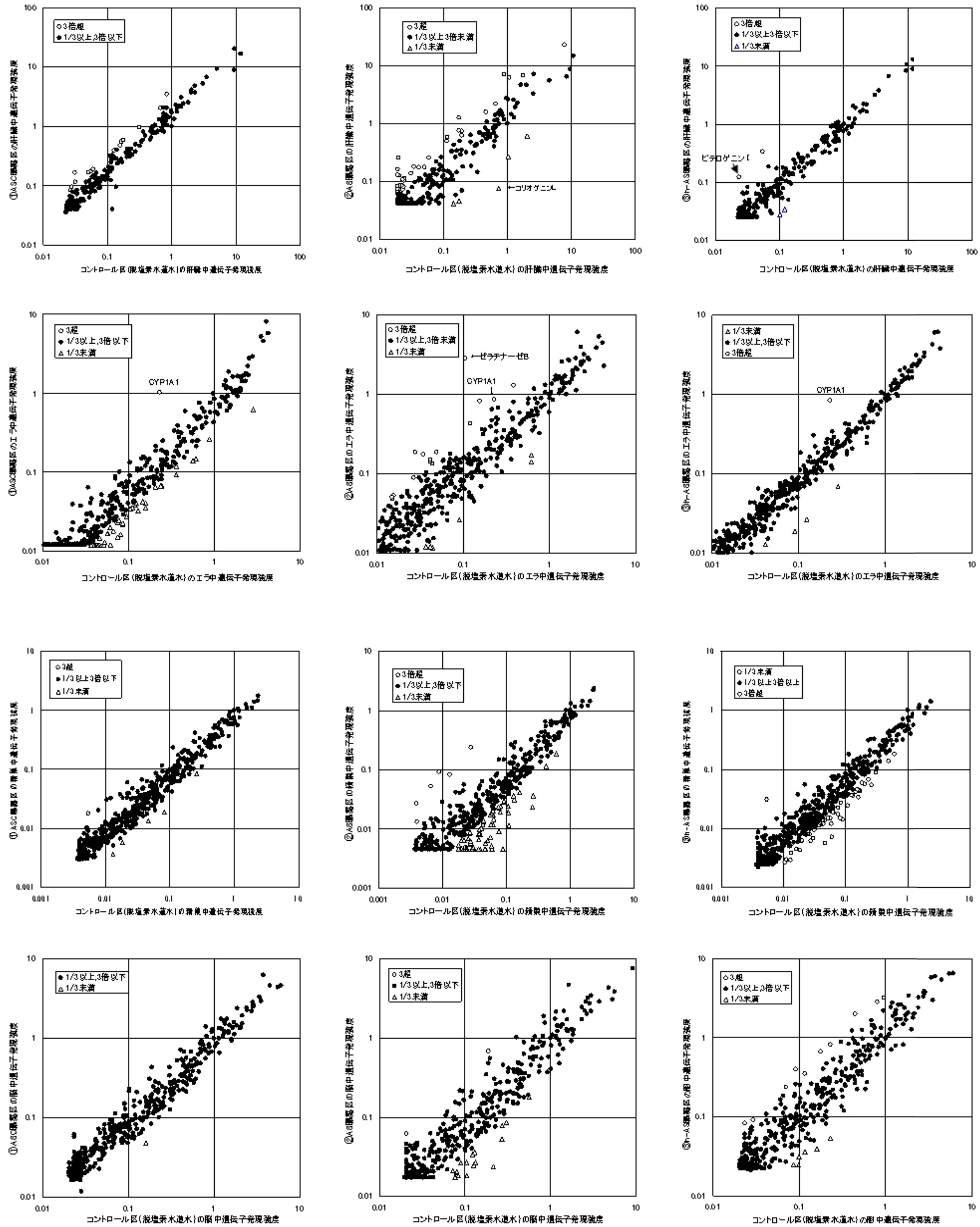


図-3　コントロール(脱塩素水道水)区と各下水処理水曝露区の臓器別遺伝子発現の関係

(上行から肝臓、エラ、精巣、脳)（左列から ASC、AS、h-AS)

コントロール区と①ASC の高度処理水曝露区の肝臓、精巣、脳の遺伝子発現強度は、概ね対角線上にプロットされており、同等の遺伝子発現強度であり、高度処理を行うことにより、分子レベルで魚類への影響は抑えられていることがわかった。死亡数が多かった②AS では、対角線から外れてプロットされる遺伝子が多いことから、各臓器に分子レベルで何らかの影響を与えている可能性がある。特に②AS 曝露区の精巣中では、抑制される遺伝子が多くみられ、精巣の機能が低下していると考えられる。精巣はストレスを高感度に反映する臓器であることが推察された。

現時点でメダカの遺伝子は機能不明なものが多く、遺伝子発現から死亡原因や分子レベルでの魚類影響を明らかにすることは難しい。各臓器別に下水処理水曝露により発現変動した同定されている遺伝子を個別にみると、肝臓では、高ストレスが負荷されていると考えられる②AS でコリオゲニン L の低下がみられた。コリオゲニン L 遺伝子はストレスの指標になる可能性がある。③h-AS 区では、ビテロゲニン I 遺伝子の上昇がみられ、エストロゲンの影響を受けていることがわかる。

エラでは、①ASC、③h-AS に曝露したもので、薬物代謝酵素の遺伝子である CYP1A1遺伝子発現が増加していた。CYP1A1は、水環境中の芳香族化合物の汚染の指標として有用と考えられている[4)]遺伝子である。CYP1A1遺伝子は高度処理水の①ASC でもコントロールの4.5倍程度発現しており、処理水中の低濃度の化合物により誘導されている可能性があった。メダカの死亡が多く観察された②AS では、タンパク質分解酵素であるゼラチナーゼ B 遺伝子の発現が増加していた。このとき②AS のメダカは、鼻上げ状態が観察されたことから、エラに異常が生じていた可能性がある。エラ中の CYP1A1やゼラチナーゼ B 遺伝子は、化学物質やメダカの健康状態を把握する指標遺伝子になる可能性がある。

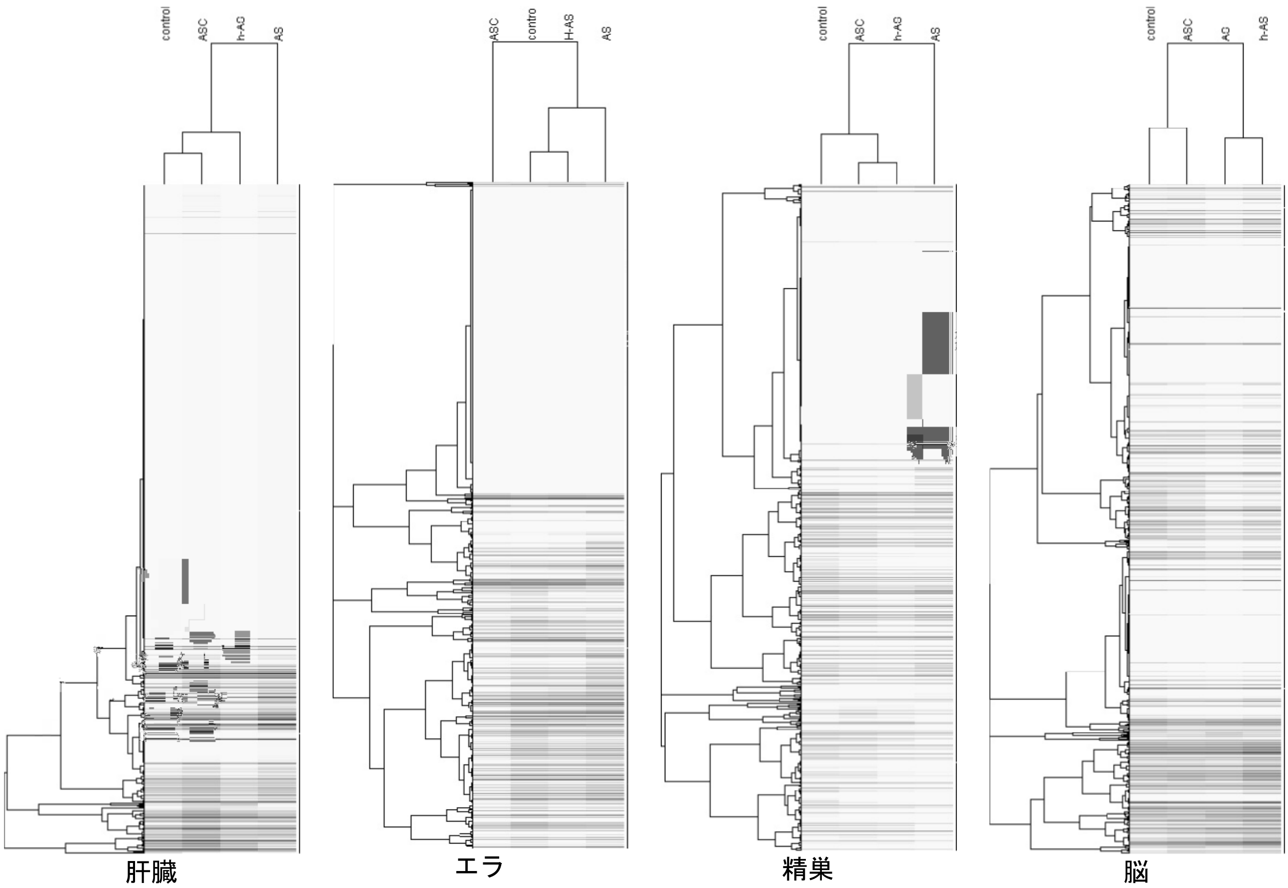


図-4　肝臓, エラ, 精巣, 脳別の全遺伝子発現強度を用いたクラスター解析　　（□低発現←→■高発現）

図-4は、肝臓、エラ、精巣、脳別の全遺伝子発現強度を用いたクラスター解析[5]の結果である。ヒートマップの上段の系統樹が各処理水、左横側の系統樹が各遺伝子のグループ分けの結果となる。臓器によって処理水のグループ分けは異なる結果となった。エラでは、コントロールと③h-AS が類似しているグループに分類され、説明や解釈が困難な結果となったが、肝臓や精巣では②AS が最も遠いグループに位置付けられており、脳ではコントロールと①ASC が近いグループに分類され、肝臓、精巣、脳は妥当な分類ができているようにみえる。エラ以外でコントロールと ASC が近いグループに分類されていることから、クラスター解析からも高度処理をすることにより魚類影響を低減できることがわかる。

臓器により処理レベルの分類が異なっていることは、臓器によって魚類影響の評価が異なることを意味し、評価を複雑化する。しかし、臓器毎に遺伝子発現をみることは、例えば、エラの遺伝子発現からは化学物質のスクリーニング、肝臓では内分泌撹乱化学物質への影響、精巣では生殖能力の低下の評価、脳ではストレス全般影響評価など、様々な魚類への影響を把握できる可能性がある。

５　調査結果のまとめ

処理レベルの異なる3種類の下水処理水にメダカを曝露させ、曝露後のメダカの脳、エラ、肝臓、精巣のマイクロアレイによる網羅的遺伝子発現の調査と解析を行い以下の結果を得た。

・活性汚泥処理後に流動床型担体処理を行うことにより、各臓器の遺伝子発現は脱塩素水道水で飼育しているものと同程度となり、高度処理は、魚類影響を抑えることができることがわかった。ただし、活性汚泥処理後に流動床型担体処理を行った場合でも、エラで CYP1A1遺伝子発現の増加がみられた。

・メダカの死亡が多く観察された曝露区では、エラでゼラチナーゼ B 遺伝子の発現が増加し、肝臓ではコリオゲニン L 遺伝子が低下し、精巣では抑制される遺伝子が多く存在した。

・マイクロアレイで得られた遺伝子発現強度を用いて、臓器別に処理レベルをクラスター解析した結果、脱塩素水道水飼育メダカと高度処理水曝露メダカが近いグループに分類されたことから、クラスター解析からも高度処理をすることにより魚類影響を低減できることが確認できた。臓器によってグルーピングは異なっていたことから、検査する臓器によって魚類影響の評価が異なることが予想された。

６　今後の課題

臓器毎に遺伝子発現を測定する場合の短所としては、脳や精巣の摘出は困難で煩雑であること、マイクロアレイや試薬にかかる費用が高くなることがあげられる。今回実験で使用したマイクロアレイは搭載遺伝子数が800程度と少なかったことから、搭載遺伝子数が多いマイクロアレイを持ちいることにより、1つの臓器からでも、分子レベルでの影響を幅広くとらえられる可能性もあり、試験方法の最適化や簡易化を進めていきたいと考えている。また、遺伝子発現を指標とする場合の魚類影響の定量方法についても検討していく必要がある。

参考文献

1) 独立行政法人土木研究所（2006）：平成17年度下水道関係調査研究年次報告書集，土木研究所資料 No.4021, 254-322

2) 独立行政法人土木研究所（2007）：平成18年度下水道関係調査研究年次報告書集，土木研究所資料 No.4080, 51-66

3) 独立行政法人土木研究所（2003）：平成14年度下水道関係調査研究年次報告書集，土木研究所資料 No.3917, 364-366

4)　藤渕航，堀本勝久（2008）：マイクロアレイデーター統計解析プロトコール，羊土社，139-158
5)　大村恒雄，石村巽，藤井義明（2003）：P450の分子生物学，講談社，177-182

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するとともに、これらの物質が水生生態系に対して与える影響の評価手法を提案することを目的としている。平成20年度は、医薬品95種類の一斉分析方法の開発および水環境中での実態把握と、バイオアッセイ手法による医薬品類および河川水の生態影響評価を行った。

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20年度は、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. 生活排水の処理状況が異なる都市域小河川における医薬品の存在実態

2．1　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[1～6]が進められているが、河川の医薬品実態については一級河川など比較的大きな河川を調査対象としている場合が多い。そこで本研究では、生活排水の処理状況が異なる都市域の小河川における医薬品の存在実態を把握し、集水域の生活排水の処理状況と医薬品存在濃度の関係について検討を行った。

2．2　対象医薬品（95 種類）及び分析方法

研究対象医薬品は、平成19年度と同じく解熱鎮痛消炎剤、利尿剤、神経系用剤、抗生物質、不整脈用剤、高脂血症用剤、抗不安剤、強心剤、抗てんかん剤、止血剤、混合ホルモン、気管支拡張剤等の95物質とした。これらの医薬品の使用対象は人用、動物用、両用である。また、これら95物質の分析は、平成19年度と同じく標準添加法により行った。

2．3　調査方法

2.3.1　調査地点

調査地点は、千葉県に位置する手賀沼に流入する大津川の5つの支川（St. 1、St. 2、St. 3、St. 4、St. 5）とした（図-2. 1）。大津川は、河川延長約12. 5km、流域面積約37km^{2}の小河川である。各調査地点の集水面積は、St. 1は4. 4km^2、St. 2は4. 2km^2、St. 3は5. 9km^2、St. 4は4. 1km^2、St. 5は2. 4km^{2}である。大津川流域の柏市、松戸市、鎌ヶ谷市から入手した下水道整備人口および生活排水処理人口から、各調査地点集水域の生活排水処理の人口を整理し図-2. 2に示した。大津川流域の下水道整備状況は下流域、中流域、上流域で異なっており、各調査地点の流域人口に占める下水道人口の割合は2007年3月末の集計（一部推計）でSt. 1が約97%、St. 2が約91%、St. 3が約83%、St. 4が約47%、St. 5が0%である。大津川流域の下水道は、下水を収集・処理した後、他の流域へ放流水を放流していることから、これら下水道人口分の負荷は調査流域には流入しない。下水道人口以外の生活排水のうち、単独処理浄化槽人口分は、し尿は浄化槽で処理され、し尿以外の生活排水は未処理のまま調査集水域へ排出される。合併処理浄化槽人口分は、し尿と生活排水が浄化槽で処理されその処理水が排出される。し尿処理人口分は、し尿は収集・運搬された後、し尿処理場で処理され、し尿以外の生活排水はそのまま調査集水域へ排出される。

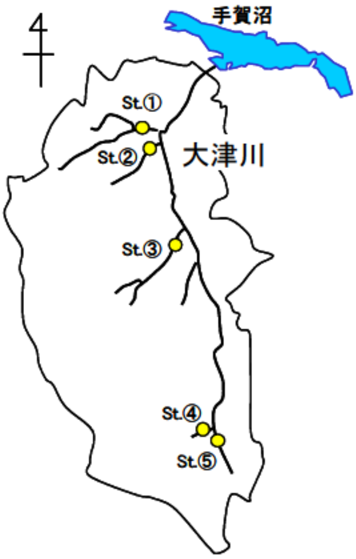


図-2.1　調査地点

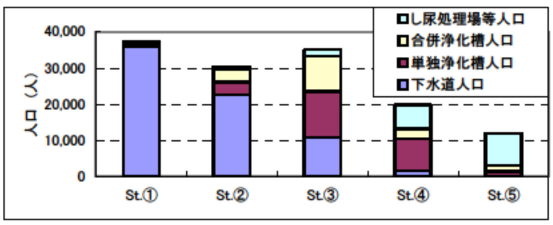


図-2.2　各調査地点集水域の生活排水処理人口

試料採取は、2007年1月29日に実施した。当日の天候は、曇りで一時的に小雨がぱらついたが、降雨量としては0mm であった。医薬品分析用の採取試料は、アスコルビン酸（酸化防止剤）と Na_2EDTA（マトリックス元素のマスキング剤）を各約1g/L となるように加え、分析まで冷蔵保存した。一般水質項目（DOC、NH4-N、T-N、T-P）分析用の採取試料は、保存剤は添加せずそのままクーラーボックスに入れ冷却しながら分析所に持ち帰った。また、試料採取時に河川の流量測定を行うとともに水質モニター（U-22DX、HORIBA, Ltd.）を用い水温、pH、DO を測定した。

2．4　調査結果と考察

2.4.1　一般水質項目

採水時に行った現場測定と流量測定の結果、および、分析所に持ち帰った後行った一般水質項目の分析結果を表-2. 1に示した。

表-2. 1　水質分析結果（一般項目）

試料採取地点 (Time)	St① (13:00)	St② (13:30)	St③ (11:30)	St④ (11:00)	St⑤ (10:40)
水温 (℃)	12	11	11	11	13
pH (-)	7 9	8 4	7 5	7 1	7 3
DO (mg/L)	10	15	9 3	3 4	2 3
DOC (mg/L)	0 8	3 0	2 8	4 1	6 6
NH_4-N (mg/L)	0 1	0 7	3 3	5 5	6 4
T-N (mg/L)	6 8	9 5	9 4	14	13
T-P (mg/L)	0 06	0 35	0 24	0 71	0 92
流量 (m^3/s)	0 09	0 06	0 08	0 10	0 09

冬期の調査であり水温は11～13℃であった。pH は7. 1～8. 4であり、St. 1と St. 2で少しアルカリ側の値を示した。DO は St. 1～St. 3は9. 3～15mg/L を示していたが St. 4、St. 5では3. 4mg/L、2. 3mg/L であり、St. 1～St. 3に比べ低い値であった。DOC、NH4-N、T-N、T-P についてみると、どの項目も St. 1は最も低く、次に St. 2又は St. 3、そして St. 4又は St. 5の順に高くなる傾向を示した。

DO、DOC、NH4-N、T-N、T-P の値から St. 1は人為汚染が小さく、St. 4、St. 5は強い人為汚染がみられ、St. 2、St. 3はその中間の汚染状況であることが分かる。下水道整備により生活排水の多くを調査流域外へ排出している地点では人為汚染が小さく、生活排水の多くを未処理あるいは単独・合併処理浄化槽により処理している地点では人為汚染が強い傾向がみられ、生活排水の処理状況と強い関係がうかがえる。

2.4.2　医薬品

検出下限値、定量下限値は各医薬品の混合標準溶液をLC-MS/MSにより繰返し測定(n=5)を行い、その再現性から標準偏差(σ)を算出し、3σを検出下限値、10σを定量下限値とした。

St.1～St.5のいずれかの地点で検出された医薬品の分析結果を表-2.2に示した。研究対象医薬品95物質の内、人用医薬品38物質、動物用3物質、人・動物両用医薬品13物質（合計54物質）が検出された。装置検出下限値未満はND、検出下限値以上で定量下限値未満はTr.としカッコ内に測定値を示した。

St.1では20物質、St.2では24物質、St.3では45物質、St.4では43物質、St.5では48物質が検出された。Table 2から分かるように、St.1、St.2では他の調査地点に比べ検出物質数が少なく、検出濃度も低い。逆にSt.4、St.5では他の調査地点に比べ検出物質数が多く、検出濃度も高い結果となった。また、St.3は検出物質数、検出濃度とも平均的な状況であった。これらの状況は、前述した一般水質項目の結果において人為汚染が小さい地点では、検出された医薬品数が少ないとともに検出濃度も低く、人為汚染が強い地点では、検出された医薬品数が多くかつ検出濃度も高い傾向がみられた。

表-2.2　水質分析結果（医薬品）

No.	医薬品	本調査							既往調査[6]	
		LOD	LOQ	St.①	St.②	St.③	St.④	St.⑤	河川水	放流水
1	acetaminophen	2.0	6.6	170	190	300	530	550	52	263
2	acetazoramide	38	130	ND	ND	ND	Tr.(50)	Tr.(75)	-	-
3	amitriptyline	0.85	2.8	ND	ND	Tr.(2.7)	Tr.(1.5)	4.6	<0.5	14
4	amoxicillin	5.5	18	ND	ND	42	23	110	-	-
7	atenolol	0.82	2.7	8	36	36	100	180	46	930
8	azithromycin	0.96	3.2	ND	16	33	47	87	70	441
10	bezafibrate	1.8	6.0	Tr.(19)	270	250	280	310	77	1,500
12	caffeine	13	45	860	1,800	4,800	9,000	12,000	2,100	3,500
13	carbamazepine	0.33	1.1	4.1	18	91	44	25	12	86
15	chloramphenicol	7.9	26	ND	ND	ND	ND	Tr.(18)	<0.3	140
17	chlorpromazine	0.76	2.5	ND	ND	ND	ND	Tr.(1.9)	-	-
18	chlortetracycline	18	59	ND	ND	ND	ND	98	-	-
20	clarithromycin	0.56	1.9	34	110	240	280	280	38	726
23	crotamiton	1.4	4.7	45	120	340	440	1,600	160	1,900
26	dextromethorphan	1.1	3.8	ND	ND	Tr.(1.2)	ND	Tr.(3.5)	-	-
28	diclofenac	2.2	7.3	ND	8.7	32	43	83	3.3	220
29	diltiazem	0.18	0.6	ND	3.2	8.3	6.9	11	2.2	90
30	diphenidol	0.12	0.41	ND	ND	2.1	1.9	2.5	-	-
31	dipyridamole	0.75	2.5	ND	ND	11	32	78	<40	460
32	disopyramide	0.19	0.63	0.85	26	85	210	110	19	71
33	erythromycin	1.1	3.8	6.3	12	130	160	230	-	-
34	ethenzamide	1.0	3.4	ND	ND	7.9	6.9	11	2.8	47
35	fenoprofen	1.0	3.5	ND	ND	11	ND	ND	-	-
37	flufenamic acid	0.90	3.0	Tr.(1.2)	ND	Tr.(2.8)	ND	ND	-	-
38	furosemide	8.2	27	Tr.(19)	ND	79	130	160	9.1	940
41	haloperidol	0.68	2.3	ND	ND	11	Tr.(1.4)	ND	0.4	4.5
42	ibuprofen	3.1	10	12	44	87	180	220	<30	77
44	imipramine	0.41	1.4	ND	ND	Tr.(0.64)	4.1	Tr.(0.97)	-	-
45	indomethacine	5.6	19	ND	25	110	99	120	16	251
48	ketoprofen	6.0	20	ND	ND	Tr.(13)	57	130	24	820
50	mefenamic acid	0.75	2.5	Tr.(1.1)	5.0	21	37	52	<4	62
53	metoclopramide	0.19	0.63	Tr.(0.29)	1.1	3.0	16	9.3	<1	76
54	metoprolol	5.4	18	ND	ND	ND	ND	Tr.(6.3)	-	23
55	N,N-diethyl-m-tolamide	6.1	20	Tr.(11)	Tr.(13)	28	Tr.(20)	34	36	191
56	nalidixic acid	0.64	2.1	ND	Tr.(1.8)	5.3	9.7	2.7	3.9	345
57	naproxen	3.1	10	ND	ND	23	110	Tr.(5.1)	-	-
60	novobiocin	2.4	8.1	Tr.(2.9)	ND	ND	ND	ND	-	-
61	ofloxacin	2.1	6.9	9.5	61	40	110	98	-	-
66	phenobarbital	47	160	ND	ND	Tr.(140)	Tr.(92)	Tr.(74)	-	-
68	phenytoin	3.3	11	ND	Tr.(8.4)	13	14	14	2.3	54
70	pirenzepine	0.52	1.7	ND	Tr.(0.97)	4.4	6.9	8.1	1.1	100
72	primidone	5.5	18	ND	ND	Tr.(10)	34	Tr.(11)	<11	180
73	promethazine	0.54	1.8	ND	ND	6.6	Tr.(1.3)	Tr.(1.4)	-	-
74	propranolol	1.3	4.4	ND	Tr.(2.2)	Tr.(2.5)	Tr.(4.2)	Tr.(3.9)	<9	23
75	2-quinoxalinecarboxylic acid	10	34	ND	ND	Tr.(13)	ND	ND	-	-
79	sotalol	0.43	1.4	ND	ND	ND	ND	Tr.(1.2)	-	-
82	sulfadimethoxine	0.72	2.4	ND	ND	ND	ND	5.7	3.4	10
84	sulfamethoxazole	2.4	8.0	9.9	ND	65	43	230	7.2	76
86	sulpiride	0.19	0.62	110	200	980	470	660	110	2,100
89	theophylline	2.2	7.5	38	170	260	510	560	50	930
92	tolbutamide	1.2	4.0	ND	ND	ND	Tr.(1.5)	Tr.(1.3)	-	-
93	tolperisone	0.18	0.58	ND	ND	Tr.(0.38)	Tr.(0.32)	ND	-	-
94	trimethoprim	1.2	4.0	ND	ND	9.5	Tr.(3.2)	4.7	<6	56
95	verapamil	0.34	1.1	ND	ND	Tr.(0.47)	1.7	Tr.(1.0)	0.4	11

下水処理を受けても分解することなく、また、汚泥への吸着も殆どみられないことから人為汚染のマーカーとして提案されている carbamazepine[7] と crotamiton[8]をみても、St.1、St.2では低く、St.3〜St.5で高い傾向がみられ、St.3〜St.5は、St.1、St.2に比べ人為汚染が強い地点であることがわかる。また、下水処理による除去率が99%以上ではあり、未処理排水による人為汚染のマーカーとして提案されている caffeine[9]においても同様の傾向であった。

本研究において検出された54物質について、既往文献の報告値[6]から利根川本川の存在濃度（最大値）と比較する（表-2.2）。調査地点別に報告値のある34物質についてみると、報告値を上回った物質数、同等の物質数、下回った物質数はそれぞれ、St.1は3物質、12物質、19物質、St.2は14物質、7物質、13物質、St.3は25物質、4物質、5物質、St.4は27物質、4物質、3物質、St.5は28物質、4物質、2物質であった。St.1の医薬品濃度は、大河川の濃度に比べ同等或は低いレベル、St.2は同等あるいは少し高いレベルにあり、St.3〜St.5は概ね高いレベルであった。

本研究は、生活排水の処理・排出状況が異なる都市域（下水道未整備地域を含む）の小河川における医薬品存在実態について調査したものであり、その濃度が既往報告の下水処理場放流水[6]に比べどの程度なのか比較した。下水処理場での除去率の高い acetaminophen[10]、caffeine[10]、ibuprofen[8]の3物質がSt.3、St.4、St.5においてその濃度を超えた他は、下水処理場放流水を下回る濃度であった。また、St.4とSt.5では下水処理場放流水の濃度の2倍以上の値を示しており、未処理排水や処理レベルの低い排水による強い汚染がうかがえる。なお、下水処理場での除去がほとんど見られない crotamiton[8]については、St.5が下水処理水と同レベルであり、St.5の河川水のほとんどは生活排水由来であることが推察される。多くの物質について、下水処理水より濃度が低いことに関しては、土壌への吸着の可能性も含めて検討する必要がある。

各調査地点においていくつかの動物用医薬品が検出された。St.1で検出された novobiocin はグラム陽性菌に対し有効な抗生物質で、ブドウ球菌や肺炎球菌の感染の治療に使用されている[11]。St.3で検出された 2-quinoxalinecarboxylic acid は豚赤痢の治療薬等[12]として用いられている合成抗菌剤（carbadox）の代謝物である。St.5で検出された sulfadimethoxine は豚のトキソプラズマ病や鶏のコクシジウム病等の治療に用いられているサルファ剤[13]である。これら動物用医薬品が検出されたSt.1、St.3の集水域では鶏舎、乗馬クラブ、動物病院の存在が確認された。しかし、St.5の集水域ではこれらの存在を確認することは出来なく排出源は不明であった。

2.4.3　検出医薬品の排出負荷量と人口一人当たりの排出量

前述した医薬品検出濃度と試料採取時に観測した流量から排出負荷量を求めた。各調査地点の負荷量比較を行うため、調査地点5ヶ所全てで検出された17物質について表-2.3に示した。約半数の医薬品はSt.1の負荷量が最も小さく、St.2、St.3、St.4、St.5の順に負荷量が大きくなっている。調査流域からの人用医薬品の排出源は、基本的に人であると考えられ、表-2.3下段に示した流域内の人口（下水道人口を除く）が大きいほど排出負荷量が大きい傾向が見られた。また、他の医薬品も同様の傾向を示していた。

表-2.3　調査地点別の医薬品負荷量（g/d）と人口（人）

No.	医薬品	St.①	St.②	St.③	St.④	St.⑤
1	acetaminophen	1.4	1.0	2.1	4.8	4.2
7	atenolol	0.064	0.20	0.25	0.90	1.4
10	bezafibrate	0.15	1.5	1.7	2.5	2.3
12	caffeine	6.9	9.9	33	81	91
13	carbamazepine	0.033	0.099	0.63	0.39	0.19
20	clarithromycin	0.27	0.60	1.7	2.5	2.1
23	crotamiton	0.36	0.66	2.3	3.9	12
32	disopyramide	0.0068	0.14	0.59	1.9	0.83
33	erythromycin	0.050	0.066	0.90	1.4	1.7
42	ibuprofen	0.096	0.24	0.60	1.6	1.7
50	mefenamic_acid	0.0088	0.027	0.15	0.33	0.39
53	metoclopramide	0.0023	0.0060	0.021	0.14	0.070
55	N,N-diethyl-m-tolamide	0.088	0.071	0.19	0.18	0.26
61	ofloxacin	0.076	0.33	0.28	0.99	0.74
86	sulpiride	0.90	1.1	6.8	4.2	5.0
89	theophylline	0.30	0.93	1.8	4.6	4.2
人口		1,073	2,413	6,180	10,269	11,950

次に、本調査流域の排出負荷量を流域内人口（下水道人口を除く）で除して一人当たりの医薬品負荷量を算出し、図-2.3および表-2.4に示した。人口一人当たりの各医薬品負荷量は、全地点の平均値に対し0.1倍〜2.5倍の範囲であった。調査流域に排出している浄化槽（単独・合併）の処理機能の違い、排出後の水環境における各医薬品の分解率の違い等が一因と考えられる。

2．5　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、生活排水の処理状況が異なる都市域小河川における医薬品の存在実態調査を行った。生活排水の排出割合が小さい集水域の河川では検出される医薬品数が少なく、その検出濃度も低く、生活排水の排出割合が多い集水域の河川では検出される医薬品数が多く、その検出濃度も高い傾向を示すこと、小河川においては、生活排水処理人口が大きいほど医薬品排出負荷量が大きくなる傾向があることが分かった。また、人口一人当たりの

各医薬品排出負荷量（mg/day･人）は、それぞれ全調査地点の平均値の0.1～2.5倍の範囲にあった。しかしながら、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把握を検討する。

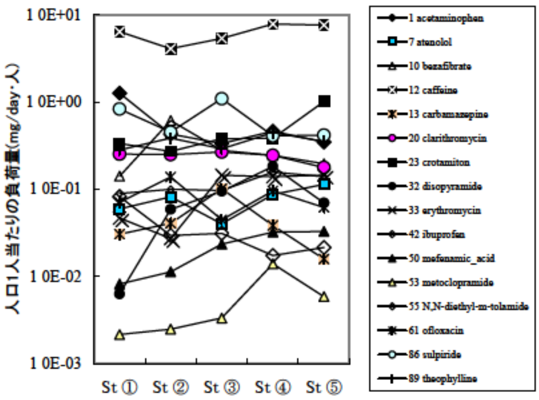


図-2.3　人口１人当たりの医薬品負荷量

表-2.4　人口１人当たりの医薬品負荷量（mg/d･人）

No.	医薬品	人口1人当たりの負荷量
1	acetaminophen	0.57 ± 0.39
7	atenolol	0.077 ± 0.028
10	bezafibrate	0.30 ± 0.19
12	caffeine	6.3 ± 1.6
13	carbamazepine	0.045 ± 0.033
20	clarithromycin	0.24 ± 0.035
23	crotamiton	0.48 ± 0.30
32	disopyramide	0.083 ± 0.065
33	erythromycin	0.10 ± 0.059
42	ibuprofen	0.12 ± 0.030
50	mefenamic_acid	0.022 ± 0.012
53	metoclopramide	0.0056 ± 0.0049
55	N,N-diethyl-m-tolamide	0.036 ± 0.026
61	ofloxacin	0.082 ± 0.036
86	sulpiride	0.64 ± 0.31
89	theophylline	0.35 ± 0.068

3. 湖沼とその流入河川における医薬品存在実態

3. 1　目的

前述の生活排水の処理状況が異なる都市域小河川における医薬品の存在実態把握に加え、湖沼とその流入河川における医薬品の存在実態把握を目的として調査を行った。

3. 2　調査方法

3.2.1　試料採取地点

面積36km^{2}の湖沼内で3ヶ所とその流入河川11ヶ所、合計14ヶ所で試料を採取した（図-3.1）。2008年2月13日に採取し、アスコルビン酸とNa2EDTAを各約1g/L添加後、冷却しながら分析所に持ち帰った。

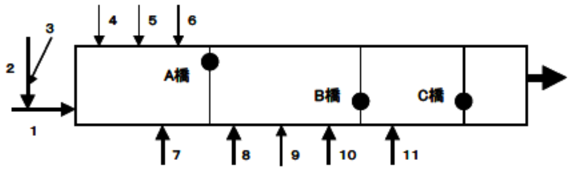


図-3.1　試料採取地点

3.2.2　調査対象物質および分析方法

調査対象とした医薬品は、前述の95物質から高脂血症用剤の gemfibrozil、他の循環器官用薬の citicoline、抗生物質の erythromycin、spiramycin、tilmicosin の5物質を除き、副腎皮質ホルモン剤の dexamethasone、dexamethasone acetate の2物質を加えた92物質とした。これら92物質の分析は、既報[5,14]を参考に抽出・濃縮等の前処理を行い、定量は絶対検量線法により行った。

3. 3　調査結果と考察

92物質中66物質が14ヶ所のいずれかの試料で検出された、その検出濃度は carbamazepine の0.26ng/L から amoxicillin の480ng/L であった。10ヶ所以上の多くの地点で検出された38物質についてその検出状況を図-3.2に示した。各地点とも強心剤の caffeine が比較的高濃度（36-450ng/L）で検出された。また、地点2では抗生物質の amoxicillin （480ng/L）、地点3ではサルファ剤の sulfamethoxazole（400ng/L）、地点5及び点9ではかゆみ止めの crotamiton（150ng/L、79ng/L）、地点8では解熱・鎮痛消炎剤の mefenamic acid（76ng/L）が高濃度で検出された。他の医薬品は55ng/L以下であった。

流入11河川の医薬品検出パターンは、地点毎に大きく異なっているが、湖沼内3ヶ所で採取した試料の検出パターンは概ね同じであった。また、湖沼内で検出された多くの医薬品は、流入河川の濃度に比べ低い値を示したが、虫よけ剤の N,N-diethyl-m-tolbutamide、気管支拡張剤の theophylline は5～7倍高い値を示した。

3. 4　今後の展開と課題

湖沼とその流入河川の医薬品濃度を明らかにした。湖沼内で検出された殆どの医薬品は、流入河川の濃度に比べ低い値を示したが、本調査は晴天時に試料採取を行ったものであり、雨天時に湖沼に流入する河川の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、流量観測も合わせて行い、負荷量を算出するなど、定量的な視点からの考察についても検討する。

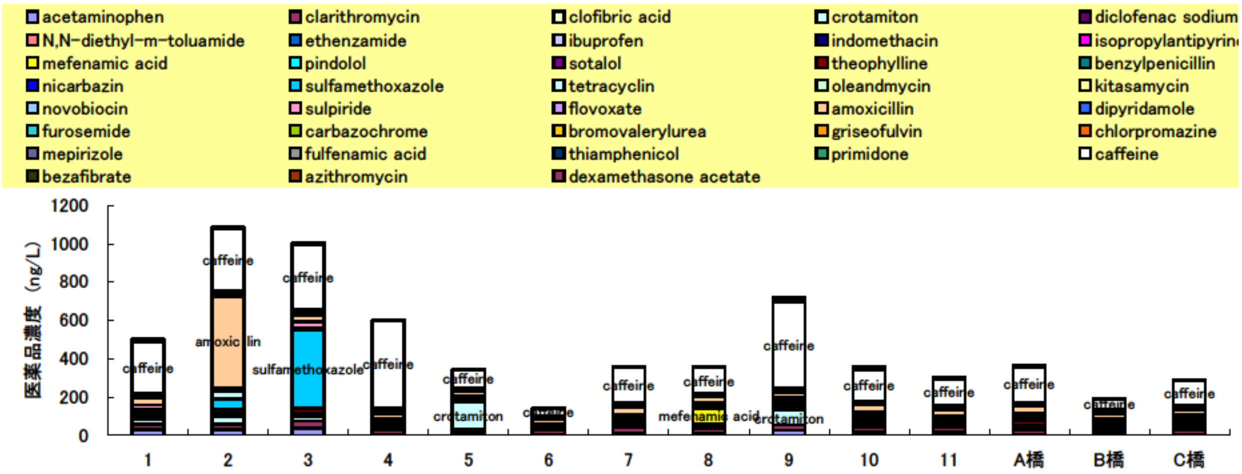


図-3.2　各試料の医薬品濃度

4. バイオアッセイによる医薬品類の生態影響評価

4. 1　目的

医薬品等の生理活性物質は、その開発目的が疾病の治療など生物の生体反応への作用を主とするため、何らかの形で生体機能へ影響を及ぼす性質を持ち、またその作用を生体内で維持できるように化学構造が設計されている。そのため、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、医薬品等は、投与対象であるヒトへの作用や副作用についての情報を得るため開発段階において齧歯類等を用いた動物実験は多くなされているが、それらが体外へ排出された後の環境中の様々な生物への影響（生態影響）については、薬事法で義務付けられていないため、十分なデータが得られていない。さらに、医薬品類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ヒトなど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。

そこで本研究では、医薬品類が生物に及ぼす影響についての知見を充実させ生態リスク評価方法の検討に資することを目的に、昨年度に引き続き、水環境中において存在が確認されてきている様々な医薬品類を対象に、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データの集積を行った。

4. 2　対象医薬品類および生態影響試験方法

評価対象とする医薬品類は、環境中で検出された報告のある物質を中心に選定し、解熱鎮痛薬、神経系作用薬、循環器薬、消化器薬、抗菌薬など、表-4.1に示す44物質とした。なお、昨年度対象としていたofloxacin については、同じく対象としているlevofloxacin の光学異性体混合物であることから、今年度は対象としていない。

各医薬品類について、working solution としてDMSOを溶媒に10,000mg/L の溶液を調製した後、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、曝露溶液中の溶媒（DMSO）濃度が0.1%を超えないように10mg/L と設定した。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、藻類及び原生動物については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。

4.2.1　細菌による試験

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、細菌が発する光量の増減から細菌の代謝に対する阻害影響をみた。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、半数阻害濃度（EC50）を装置附属の計算ソフトにより求めた。

4.2.2　藻類による試験

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）及び最大無影響濃度（NOEC）を求めた。

4.2.3　甲殻類（ミジンコ）による試験

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48時間試験溶液に曝露して24時間毎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。

4.2.4　両生類（カエル）による試験

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。本試験において明確な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関係から半数致死濃度(LC50)を求めた。

4.2.5　原生動物による試験

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、対象医薬品類を加えた培地を入れた使い捨ての吸光度セルの中で原生動物を増殖させ、吸光度計で測定した吸光度の値を細胞数に換算し生物量の変化を算定した。曝露後24時間毎に生物量を確認し、72時間後までの増殖量から増殖阻害率を計算して、曝露濃度との関係から半数阻害濃度(EC50)及び最大無影響濃度(NOEC)を求めた。

4．3　試験結果

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。なおEC50については、設定した濃度範囲(10mg/L以下)を超える場合でも外挿値を記載したが、各医薬品類の水への溶解性が不明であることから、計算値が1g/Lを超える場合には曝露濃度が維持されないものとみなし、影響は無いと判断することとした。

各生物種に対する医薬品類の影響に関しては、次のような傾向がみられた。また、各医薬品類に対する生態影響試験の結果をまとめたものを、表-4.2に示す。

4.3.1　細菌

海洋性発光細菌による急性毒性試験で算出された毒性値について、比較的多くの物質を試験した解熱鎮痛薬、神経系作用薬、循環器薬、抗菌薬の用途分類群別にみると、以下のとおりであった。

表-4.1　供試対象医薬品

解熱鎮痛薬	ibuprofen
	ethenzamide
	ketoprofen
	diclofenac
	naproxen
	fenoprofen
	flufenamic acid
	mefenamic acid
神経系作用薬	amitripthline
	imipramine
	carbamazepine
	chlorpromazine
	diphenidol
	haloperidol
	phenytoin
	primidone
筋弛緩薬	tolperisone
循環器薬	atenolol
	caffeine
	dipyridamole
	diltiazem
	sotalol
	tolbutamide
	bezafibrate
	verapamil
消化器薬	sulpiride
	pirenzepine
	metoclopramide
呼吸器薬	dextromethorphan
利尿剤	acetazoramide
	furosemide
抗菌薬	2-quinoxaline carboxylic acid
（含 抗生物質）	azithromycin
	clarithromycin
	chloramphenicol
	thymol
	triclosan
	nalidixic acid
	novobiocin
	levofloxacin
抗炎症薬	dexamethasone
抗アレルギー薬	promethazine
昆虫忌避薬	N,N-diethyl-m-tolamide
沈痒剤	crotamiton

［EC50］

解熱鎮痛剤	：10～30 mg/L	(8/8種)
神経系作用薬	：1～300 mg/L	(8/8種)
循環器薬	：1～250 mg/L	(2/8種)
消化器薬	：(検出されず)	(0/3種)
抗菌薬	：0.5～50 mg/L	(3/9種)

5min 試験値、カッコ内は（毒性検出物質数／試験物質数）

解熱鎮痛薬と神経系作用薬は全ての種類で毒性が検出された。一方、抗菌剤では9種中3種のみで毒性が検出されたが、triclosan は全試験物質中で最も強い毒性を示し、thymol も比較的強い毒性を示すなど、物質ごとの影響に大きな差がみられた。

なお、細菌を用いた試験であるにも関わらず阻害効果がみられない抗菌剤がある理由は、本試験が個々の細菌の代謝を指標にした急性毒性試験であり細菌の増殖過程をみていないため、主に増殖を抑制する抗菌剤については作用を確認することができなかったものと考えられる。

4.3.2 藻類

藻類による増殖阻害試験で算出された毒性値は、主な用途分類群別にみると以下のとおりであった。

［EC50］

解熱鎮痛剤	：1～5mg/L	(8/8種)
神経系作用薬	：0.1～50mg/L	(6/8種)
循環器薬	：3～5mg/L	(4/8種)
消化器薬	：7mg/L 程度	(1/3種)
抗菌薬	：0.01～1mg/L	(6/9種)

［NOEC］

解熱鎮痛剤	：0.1～2mg/L
神経系作用薬	：0.01～0.5mg/L
循環器薬	：0.3～1mg/L
消化器薬	：1mg/L 程度
抗菌薬	：0.005～0.5mg/L

解熱鎮痛剤では細菌に対してと同様に全ての種類から毒性が検出されたが、神経系作用薬、循環器薬、抗菌薬では一部で毒性の確認できないものがみられた。一方、毒性が検出された物質について影響の強さをみると、EC50値で細菌に対してより一桁程度低かった。また、NOEC は EC50の1/10～1/100程度であった。

4.3.3 甲殻類（ミジンコ）

甲殻類のミジンコ遊泳阻害試験から算出された毒性値は、主な用途分類群別にみると以下のとおりであった。

［EC50］

解熱鎮痛剤	：2～4mg/L	(2/8種)
神経系作用薬	：1～20mg/L	(4/8種)
循環器薬	：(検出されず)	(0/8種)
消化器薬	：(検出されず)	(0/3種)
抗菌薬	：0.2～10mg/L	(3/9種)

細菌や藻類と比べると毒性が検出された医薬品類の種類は少なかった。また、毒性が検出された物質について影響の強さをみると、藻類に対する EC50より一桁程度高く、細菌とほぼ同等のレベルであった。

4.3.4 両生類（カエル）

両生類のカエル胚発生に対する阻害試験から算出された毒性値は、主な用途分類群別にみると以下のとおりであった。

［LC50］

解熱鎮痛剤	：5mg/L 程度	(2/8種)
神経系作用薬	：1～3mg/L	(4/8種)
循環器薬	：(検出されず)	(0/8種)
消化器薬	：(検出されず)	(0/3種)
抗菌薬	：0.8mg/L 程度	(1/9種)

他の生物種と比べると毒性が検出された医薬品類の種類は少なかった。また、毒性の確認された医薬品類についても、影響の強さは藻類に対する EC50より一桁程度高く、細菌やミジンコと同等またはそれ以下であった。この要因としては、胚発生期で医薬品類の作用対象となる器官や代謝経路が整っていない時期であることや、脊椎生物であるため生体防御機構が他の生物より高度に発達していることなどが考えられる。

4.3.5 原生動物

原生動物による増殖阻害試験で算出された毒性値は、主な用途分類群別にみると以下のとおりであった。

［EC50］

解熱鎮痛剤：1～15mg/L (6/8種)
神経系作用薬：1～40mg/L (6/8種)
循環器薬：9mg/L 程度 (1/8種)
消化器薬：(検出されず) (0/3種)
抗菌薬：0.6～10mg/L (2/9種)

［NOEC］

解熱鎮痛剤：0.03～0.6mg/L
神経系作用薬：0.1～5mg/L
循環器薬：0.3mg/L 程度
消化器薬：1mg/L 程度

抗菌薬：0.2mg/L 程度

甲殻類やカエルと比べ、比較的多くの医薬品類から毒性が検出された。また、影響の強さについてみると、EC50では細菌による試験と同等か、それ以上であった。一方、NOEC では藻類による試験よりも感度が低い物質が多いが、一部の物質に対しては藻類よりも低い濃度で影響が生じることが確認された。

4．4　予測無影響濃度（PNEC）の算出

生態リスク評価の第一段階として詳細な評価を行う候補物質を選定する「生態リスク初期評価」では、予測無影響濃度（PNEC：Predicted No Effect Concentration）を算出し、環境中の化学物質濃度に関する知見である予測環境中濃度（PEC：Predicted Environmental Concentration）、または実測環境中濃度（MEC：Measured Environmental Concentration）との比較を行うとされている[15)]。このPNEC は、化学物質の水生生物に対する生態毒性に関する知見に基づき、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のことであり、生物試験の結果得られた毒性指標値から算出される。基本的には、急性毒性値および慢性毒性値について生物群ごとに整理した上で、それぞれの中で最も低い値に対して情報量に応じたアセスメント係数を乗じ、算出されたうち低い方の値が当該物質のPNEC とされる。

本検討においては、アセスメント係数として急性毒性値（EC50）に対しては1000、慢性毒性値（NOEC）に対しては100を適用し、上述の生態影響試験結果から、各医薬品類についてPNEC を算出した（表-4.2右列）。評価対象とした医薬品類の中には、PNEC が0.1μg/L 未満のものもあった。

表-4.2　医薬品の生態影響試験結果

（単位　EC50/LC50/NOEC：mg/L，PNEC：μg/L）

		細菌		藻類		ミジンコ	カエル	原生動物		PNEC	
		5min	15min	96h	96h	48h	96h	72h	72h		
		EC50	EC50	EC50	NOEC	EC50	LC50	EC50	NOEC		（試験系）
解熱鎮痛薬	ibuprofen	1.2E+1	1.2E+1	2.3E+0	5.2E−1	N.E.	N.E.	4.1E+0	6.3E−1	2.3E+0	A-a
	ethenzamide	2.0E+1	2.4E+1	3.7E+0	2.1E+0	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	3.7E+0	A-a
	ketoprofen	2.3E+1	2.3E+1	2.0E+0	1.0E+0	2.8E+0	N.E.	N.E.	N.E.	2.0E+0	A-a
	diclofenac	2.5E+1	2.2E+1	5.0E+0	5.2E−1	N.E.	N.E.	5.3E+0	3.1E−1	3.1E+0	P-c
	naproxen	3.3E+1	1.7E+1	3.7E+0	5.2E−1	N.E.	N.E.	8.9E+0	3.1E−1	3.1E+0	P-c
	fenoprofen	1.1E+1	1.1E+1	5.7E+0	2.1E+0	N.E.	N.E.	1.7E+1	5.0E+0	5.7E+0	A-a
	flufenamic acid	1.5E+1	1.4E+1	1.1E+0	1.4E−1	4.1E+0	6.3E+0	1.4E+0	3.1E−1	1.1E+0	A-a
	mefenamic acid	3.1E+1	2.7E+1	5.4E+0	2.1E+0	N.E.	5.2E+0	1.1E+0	3.9E−2	3.9E−1	P-c
神経系作用薬	amitripthline	1.9E+1	1.2E+3	1.9E−1	4.1E−2	1.3E+0	3.5E+0	3.1E+0	1.3E+0	1.9E−1	A-a
	imipramine	8.0E+0	9.0E+0	1.5E−1	2.4E−2	4.9E+0	3.5E+0	4.1E+0	1.3E+0	1.5E−1	A-a
	carbamazepine	5.3E+1	5.6E+1	4.9E+1	5.2E−1	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	5.2E+0	A-c
	chlorpromazine	1.2E+0	1.7E+0	2.7E−1	2.4E−2	2.2E+1	1.9E+0	1.0E+0	1.6E−1	2.4E−1	A-c
	diphenidol	1.6E+2	1.8E+2	7.5E−1	4.1E−2	N.E.	N.E.	3.9E+1	2.5E+0	4.1E−1	A-c
	haloperidol	1.6E+1	1.8E+1	4.1E−1	<1.6E−2	6.3E+0	3.6E+0	4.0E+0	6.3E−1	4.1E−1	A-a
	phenytoin	7.6E+1	9.2E+1	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	2.1E+1	5.0E+0	2.1E+1	P-a
	primidone	3.1E+2	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	3.1E+2	M5-a
筋弛緩薬	tolperisone	1.1E+2	5.6E+1	6.3E−1	4.1E−2	4.0E+0	1.8E+1	1.6E+1	5.0E+0	4.1E−1	A-c
循環器薬	atenolol	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	−	-
	caffeine	2.6E+2	3.2E+2	1.5E+1	5.2E−1	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	5.2E+0	A-c
	dipyridamole	N.E.	N.E.	1.0E+1	1.6E+0	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	1.0E+1	A-a
	diltiazem	N.E.	N.E.	4.5E+0	5.2E−1	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	4.5E+0	A-a
	sotalol	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	−	-
	tolbutamide	1.5E+0	1.6E+0	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	1.5E+0	M5-a
	bezafibrate	N.E.	N.E.	N.E.	1.0E+0	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	1.0E+1	A-c
	verapamil	N.E.	N.E.	3.3E+0	3.9E−1	N.E.	N.E.	8.8E+0	3.1E−1	3.1E+0	P-c
消化器薬	sulpiride	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	−	-
	pirenzepine	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	−	-
	metoclopramide	N.E.	N.E.	7.7E+0	1.0E+0	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	7.7E+0	A-a
呼吸器薬	dextromethorphan	7.0E+1	8.2E+1	5.8E−1	1.6E−2	1.2E+1	N.E.	8.4E+1	2.5E+0	1.6E−1	A-c
利尿剤	acetazoramide	N.E.	N.E.	1.4E+0	5.2E−1	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	1.4E+0	A-a
	furosemide	N.E.	N.E.	N.E.	>8.3E+1	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	3.0E+9	A-a
抗菌薬（含 抗生物質）	2-quinoxaline carboxylic acid	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	−	-
	azithromycin	N.E.	N.E.	1.9E−2	5.2E−3	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	1.9E−2	A-a
	clarithromycin	N.E.	N.E.	1.2E−2	5.2E−3	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	1.2E−2	A-a
	chloramphenicol	N.E.	N.E.	2.1E−1	4.1E−2	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	2.1E−1	A-a
	thymol	1.6E+0	2.1E+0	1.7E+0	5.2E−1	6.1E+0	N.E.	9.9E+0	3.1E−1	1.6E+0	M5-a
	triclosan	4.7E−1	5.3E−1	1.2E−2	8.3E−3	2.6E−1	8.2E−1	6.3E−1	2.5E−1	1.2E−2	A-a
	nalidixic acid	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	9.3E+0	N.E.	N.E.	N.E.	9.3E+0	D-a
	novobiocin	5.3E+1	5.6E+1	N.E.	>8.3E+1	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	5.3E+1	M5-a
	levofloxacin	N.E.	N.E.	1.5E+0	2.6E−1	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	1.5E+0	A-a
抗炎症薬	dexamethasone	1.3E+5	5.6E+2	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	5.6E+2	M15-a
抗アレルギー薬	promethazine	1.1E+1	1.2E+1	3.2E−1	4.1E−2	4.3E+0	2.7E+0	4.0E+0	6.3E−1	3.2E−1	A-a
昆虫忌避薬	N,N-diethyl -m-tolamide	3.7E+1	4.9E+1	4.1E+0	5.2E−1	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	4.1E+0	A-a
沈痒剤	crotamiton	6.9E+1	9.5E+1	3.5E+0	2.1E+0	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	3.5E+0	A-a

ＮＥ：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

4．5　今後の展開と課題

今回用いた試験手法の中では、藻類増殖阻害試験が比較的高い感度で多くの医薬品類に反応したが、一部の医薬品類では他の生物種に対する毒性の方が高いなど、影響は医薬品種・生物種によって様々であった。従って、生態系に対する医薬品類の影響を検討する際には、複数の生物種を用いた試験を行い、その影響を把握する必要がある。

また、環境水中の医薬品類について何らかのコントロールを行おうとする際に個々の医薬品類を対象とすると、数が膨大な上に、生体へのリスクも様々であるため規制や管理における手順が煩雑になる。そこで、医薬品類の標的器官や標的経路等の作用機序、または、化学構造などから毒性を整理し、生態リスクに基づいた医薬品類のグループ化といった視点を取り入れることが必要となる可能性がある。

さらに、今回試験対象とした医薬品類の中には、水生生物に対する予測無影響濃度（PNEC）が0.1μg/L 未満と、比較的強い毒性を示すものがいくつかあった。特に抗菌薬の triclosan は、今回用いた生物種の全てに対して EC50、LC50が1mg/L 未満と、幅広い毒性を示した。このような医薬品類については、生態影響の観点から環境中での挙動に注目する必要がある。

5．河川水中の医薬品類による生態影響評価

河川水中からは多種にわたる医薬品類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。このため水環境中の生物は、各医薬品類が開発、認可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長期間曝露されることとなり、それらの複合影響も懸念される。

そこで本研究では、実際の河川水を対象に、総体的な生態リスク及びその中における医薬品類の寄与について、試行的な評価、検討を行った。

5．1　調査地点

調査対象は、群馬県及び栃木県における利根川水系の8つの小河川とし､その流程において山間部から平野部に変化する付近に調査地点を11ヶ所設定した（St.6～16)。これらの流域には､家庭からの生活排水や畜産施設からの排水等の負荷源が存在している。

5．2　調査項目

5.2.1　河川水中の医薬品類濃度

表-4.1に示した医薬品類のうち triclosan および thymol を除く42物質について測定した。

5.2.2　調査地点の生物相

調査地点の河川内に形成されている生態系の生物相を把握するため、現地において底生動物を採取して定量分析を行い、出現生物種の同定と種ごとの個体数のデータを得た。さらに、河川水中の生物相を示す指標として、式-5.1により Shannon の多様度指数（H'）

$$H' = -\sum_{i=1}^{S} Pi \cdot \log_2 Pi \quad \cdots \text{式-5.1}$$

S : 生物群集内の種類数
Pi : i 番目の種に属する個体の数が総個体数の中に占める割合

を求めた。

5.2.3　環境水毒性試験

わが国においては、河川水の毒性は通常低いため、生態影響試験で阻害等が確認されることは稀である。そこで本研究では、医薬品等を含めた有機物を中心とする物質群に対象を限定して環境水の毒性評価を行うこととし、固相抽出法を用いる試験法を適用した。この手法により、原水より濃縮された高い濃度での曝露が可能となり、通常では明確にならない毒性を確認することができる。抽出のための固相は OASIS-HLB を使用し､GF/B で濾過した1000mL の試料を通水した後にメタノールで溶出を行い､溶出液を乾固後100μL の DMSO に再溶解することで濃縮とした。この濃縮液を培養液中に、最大濃度1000%（原水の10倍濃度、DMSO の最大濃度が0.1%）となるように添加し、4.2.1で示した細菌による急性毒性試験に供した。

この試験からは半数阻害濃度（EC50）が求められるが、EC50は毒性が強いほど数値が小さくなるため毒性の強弱を直感的に把握しにくく、また、毒性が確認できない場合には値が無限大となるため他の指標との比較検討において扱いにくい。そこで、EC50の値から毒性単位（TU=100/EC50）を算出した。急性毒性値より算出した毒性単位であることから､以後 TUa と表記する。

5．3　河川における医薬品類の生態リスクの検討

各調査地点から採取した河川水の毒性単位 TUa を図-5.1に示す。相対的に高い毒性が確認されたのは St.12及び13で、他の地点では同程度の毒性であった。

河川水の生態毒性は、多様な物質によって発現していると考えられる。ここでは、複数の医薬品類が存在する場合の複合作用が相加効果であり、また医薬品類以外の有機性物質との複合作用は無視できると仮定し、河川水のもつ生態リスクに対して医薬品類がどの程度影響しているか、把握を試みた。

5.3.1　医薬品類全体による生態リスク

まず、水質分析により得られた各医薬品類の河川水中濃度(MEC)と、表-4.2で示した PNEC の値との比(MEC/PNEC)を求めた。この値は、河川水中において、個別の医薬品類が生物影響を示す濃度に対してどの程度の割合で存在しているかを示しており、生態リスク初期評価の指標値として用いられる。

さらに上記の仮定により、各調査地点における検討対象医薬品類全体による生態リスクは、各医薬品類の生態リスクの合計で表現できる。そこで各医薬品類の(MEC/PNEC) を合計した値Σ(MEC/PNEC)を算出した。

5.3.2　河川水の総体的生態リスク

一方、河川水が持つ生態リスクについては、毒性単位(TUa)にアセスメント係数を乗じることで算出できる。本調査では、1種の生物に対する急性毒性試験によって TUa を求めたことから、アセスメント係数は1000が適用され、TUa の1000倍値が河川水の総体的生態リスク（ただし有機性物質のみ）となる。

5.3.3　医薬品類による生態リスクへの寄与

上で求めた医薬品類全体による生態リスク（Σ(MEC/PNEC)）と河川水の総体的生態リスク（TUa×1000)の値を比較し､河川水全体の生態リスクの中で、測定対象とした医薬品類のリスクによる寄与を求めた。結果を図-5.2に示す。

各調査地点において、測定対象とした医薬品類が生態リスク全体に占める寄与率は､平均で14.9%となった。一方、河川水全体では高い毒性のみられた St.12及び13では、それぞれ7.3%、1.9%と低くなっており、これらの地点でみられた高い毒性は、医薬品類以外の有機性物質（洗剤等）の影響が大きかったと考えられる。

5.3.4　医薬品類による生態リスクと生物相との関係

実際の河川水中に存在する医薬品類が生態系に及ぼしている影響について検討するため、各調査地点について、医薬品類による生態リスクの総合評価値Σ(MEC/PNEC)と、底生動物の多様性指数との関係を求めた（図-5.3)。

両者の関係から、河川水中に存在する医薬品類の生態リスク値が高くなると、底生動物の多様性低下という形で生態系に影響を及ぼしている可能性がうかがえた。

ただし、今回の結果のみでは医薬品類の存在が直接生態系に影響を及ぼしているとは確認できず、医薬品類の負荷と同じ傾向をもって変動する他の毒性物質が生態系へ影響を及ぼしている可能性も想定される。

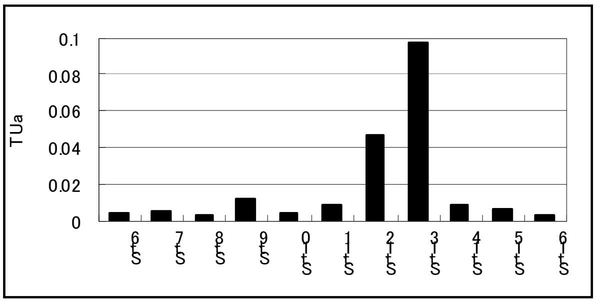


図-5.1　河川水から検出された毒性単位（TUa）

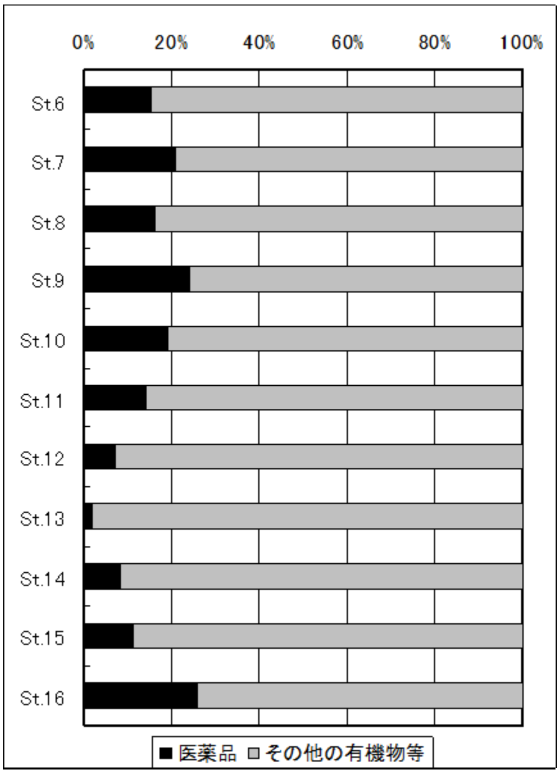


図-5.2　河川水の生態リスクに対する医薬品の寄与

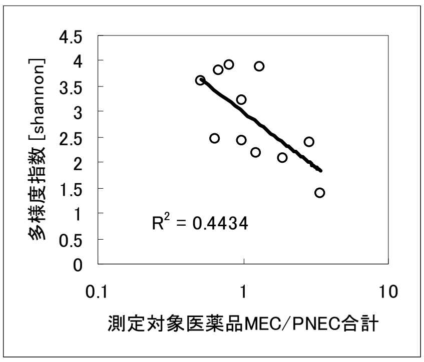


図-5.3　医薬品の生態リスクと生物多様性の関係

5. 4　今後の展開と課題

今回、試行した河川水の生態リスクにおける医薬品類の寄与に関する評価においては、化学物質の複合作用についていくつかの仮定を用いているが、その妥当性については、最新の研究成果についての情報収集や独自の調査によって随時確認を行う必要がある。

また、医薬品類による生態リスク価の計算においては複数種の生物試験から導出された値を用いているが、河川水の総体的生態リスク値は細菌を用いた試験結果のみから計算されたものである。そのため、医薬品類による生態リスクは最大化されており、今回算出した寄与率は過大となっている可能性に留意すべきである。

このように、河川水の生態影響試験における情報量が現段階では少ないことから、さらに情報を集積する事が重要である。

今後はまず、地域的、時間的に異なる様々な河川水中に含まれる医薬品類濃度を把握することで、幅広い水域の生態リスク初期評価の事例を集積する。また、河川水中に形成される生物相の現地調査データや、バイオアッセイによる河川水の毒性試験データを合わせて集積する。これらの相互関係から、それぞれの結果が示す意味を考察し、医薬品等の生理活性物質が生態系に及ぼす影響の評価手法を検討・構築するためのデータとすることを目指す。

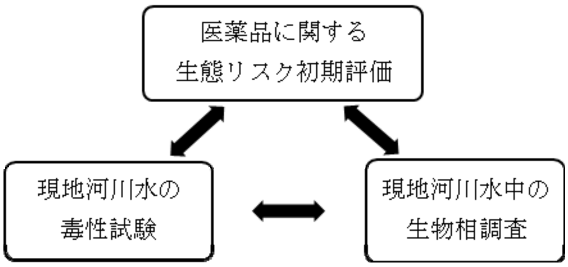


図-5.4　河川水の生態リスク評価の展開

6. まとめ

平成19年度に引き続き医薬品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。

生活排水の処理状況が異なる区域の小河川における医薬品は、生活排水の排出割合が小さい集水域の河川では検出される医薬品数が少なく、その検出濃度も低く、生活排水の排出割合が多い集水域の河川では検出される医薬品数が多く、その検出濃度も高い傾向を示し、生活排水排出人口が大きいほど、医薬品排出負荷量が大きくなる傾向があることが分かった。また、人口一人当たりの各医薬品排出負荷量(mg/day・人)は、それぞれ全調査地点の平均値の0.1～2.5倍の範囲にあった。

比較的滞留時間の長い湖沼とその流入河川の医薬品は、調査92物質中66物質がいずれかの試料で検出され、各地点とも強心剤の caffeine が比較的高濃度（36-450ng/L）で検出された。流入11河川の医薬品検出パターンは、地点毎に大きく異なっているが、湖沼内3ヶ所で採取した試料の検出パターンは概ね同じであり平均化されていることが確認された。

また、医薬品類44物質を対象に、細菌や甲殻類など5種の生物を用いた生態毒性試験を行い、予測無影響濃度（PNEC）を算出した。その結果、今回対象とした医薬品類の中には、PNEC が0.1μg/L 未満と比較的強い毒性を示す物質があることが確認された(Azithromycin, Clarithromycin, Triclosan)。中でも Triclosan は、5生物種全てに対して EC50、LC50が1mg/L と、幅広い毒性を示した。

さらに利根川水系の小河川11地点を対象に、試行的な生態リスク評価手法を適用するとともに生物相調査を実施した結果、河川水の生態リスクや医薬品類による寄与は調査地点によって異なっており、医薬品類による生態リスクの増加は底生動物の種多様性に負の影響を与えている可能性が示唆された。

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) 清野敦子，古荘早苗，益永茂樹（2004）わが国の水環境中における人用・動物用医薬品の存在，水環境学会誌，27，685-691.
2) 桐賢太郎，高田秀重，田中宏明，原田新，中田典秀，鈴木穣（2006）水環境中における合成医薬品の動態，第15回環境化学討論会講演要旨集，188-189.
3) 村田綾子，真名垣聡，高田秀重，村上和雄，田中宏明，原田新，中田典秀，鈴木穣（2006）日本の河川の抗生物質汚染の実態解明，第15回環境化学討論会講演要旨集，190-191.
4) 杉下寛樹，山下尚之，田中宏明，田中周平，藤井滋穂，宝輪勳，小西千絵（2007）淀川流域の下水処理場放流水と支川における医薬品の存在実態，環境工学研究論文集，44，307-312.
5) 小森行也，岡安祐司，鈴木穣（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」，

12（2/3），37-44.
6) Nakada, N., Komori, K., Suzuki, Y., Konishi, C., Houwa, I. and Tanaka, H. (2007) Occurrence of 70 pharmaceutical and personal care products in Tone River basin in Japan, Water Science & Technology, 56, 133-140.
7) Clara, M., Strem, B. and Kreuzinger, N. (2004) Carbamazepine as a possible anthropogenic marker in the aquatic environment: investigations on the behaviour of carbamazepine in wastewater treatment and during groundwater infiltration, Wat. Res., 38, 947-954.
8) Nakada, N., Tanishima, T., Shinohara, H., Kiri, K. and Takada, H. (2006) Pharmaceutical chemical and endocrine disrupters in municipal wastewater in Tokyo and their removal during activated sludge treatment, Wat. Res., 40, 3297-3303.
9) Buerge, I. J., Poiger, T., Muller, M. D. and Buser, H. R. (2003) Caffeine, an anthropogenic marker for wastewater contamination of surface waters, Environ. Sci. Technol., 37, 691-700.
10) 小森行也，岡安祐司，鈴木穣（2008）下水処理における医薬品（92 物質）の除去特性，第 45 回下水道研究発表会講演集．91-93.
11) 岡見吉郎（1978）クリロビッツ抗生物質論，p169，学会出版センター，東京
12) 農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所九州支所，
http://niah.naro.affrc.go.jp/sat/index.html
13) 動物医薬品副作用等情報集，
http://www.nval.go.jp/vet-cop/index.htm
14) 小西千絵，宝輪勲，中田典秀，小森行也，鈴木穣，田中宏明（2006）環境工学研究論文集，43，73-82
15) 環境省，化学物質の環境リスク初期評価ガイドライン（平成 20 年 2 月版），
http://www.env.go.jp/chemi/risk/guideline_ia.pdf

流域規模での水・物質循環管理支援モデルに関する研究(2)

研究予算：運営費交付金
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、畜産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、物質循環

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 20 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。

平成 20 年度は対象流域として、利根川水系鬼怒川の支川である山川を選定し、晴天時のトレーサー物質及び栄養塩類の実態を調査した。本支流域内の家畜頭数は人口と同程度の高水準であり、畜産系排水の混入が想定される。

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. 山川における非灌漑期晴天時水質の調査

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利根川水系鬼怒川右岸山川流域を対象に、トレーサー物質（Na^+）および溶解性栄養塩類（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-1 に示す 4 箇所で、平成 20 年 12 月～平成 21 年 3 月の間、各箇所 7 回晴天時の日中に実施した。結果を図-2～5 に示す。ここではNa^+を基準に整理した。吉田用水や霞ヶ浦用水は非灌漑期には、必要最小限の維持用水を供給しており、この地域の非灌漑期の基底的な水を構成していると考えられる。Na^+、K^+、D-N（NH_4^+-N、NO_2^- -N、NO_3^- -N の合計）、D-P（D-PO_4^{3-}—P）、DOC濃度の平均値は、霞ヶ浦用水では、9.69、2.09、0.62、0.004、4.28mg･l^{-1}であり、K^+/Na^+の平均値は 0.216 であった。一方、吉田用水では、17.10、3.39、4.09、0.120、4.04mg･l^{-1}であり、K^+/Na^+の平均値は 0.198 であった。

図中には、当該期間に山川流域において発生すると推定される生活排水のNa^+濃度の範囲と、生活排水が純水で希釈される場合のトレーサー物質および溶解性栄養塩類の濃度を点線で示した。なお、生活排水中のトレーサー物質および溶解性栄養塩類の濃度は、山川流域内の 2 ヶ所で同時期に、同頻度で採取された上水の水質測定結果に、生活排水として発生するトレーサー物質および溶解性栄養塩類の濃度[3]を加えて算出した。

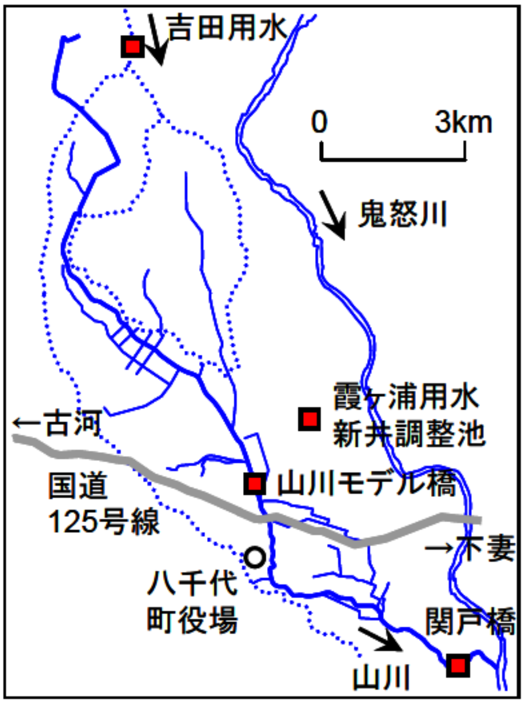


図-1　山川流域採水地点

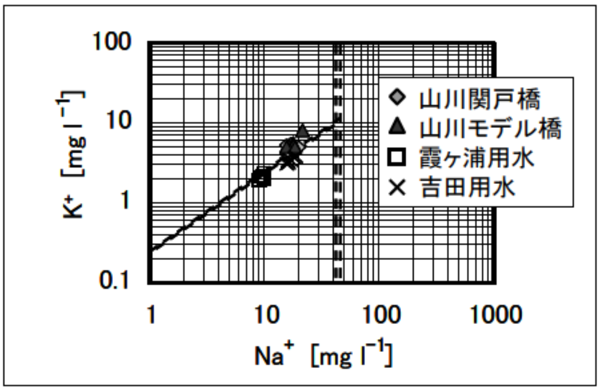


図-2 ナトリウムイオン濃度とカリウムイオン濃度の関係

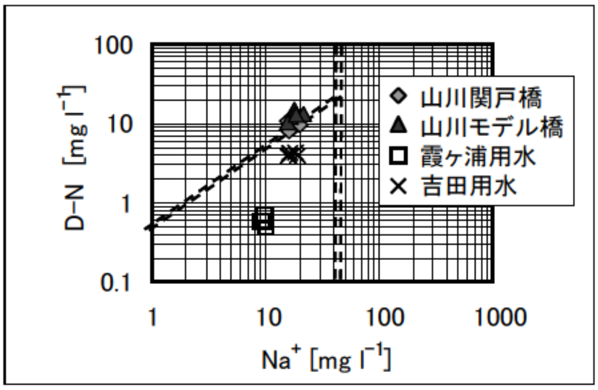


図-3 ナトリウムイオン濃度と溶解性窒素濃度の関係

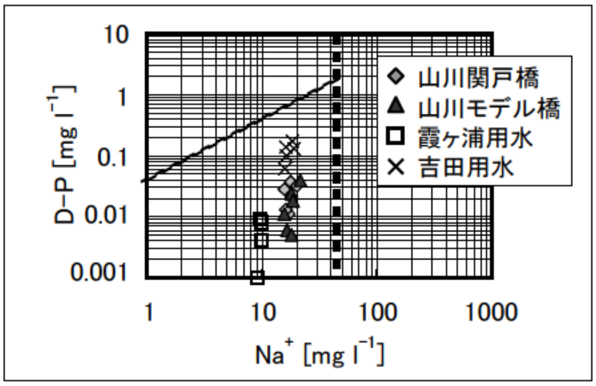


図-4 ナトリウムイオン濃度と溶解性リン濃度の関係

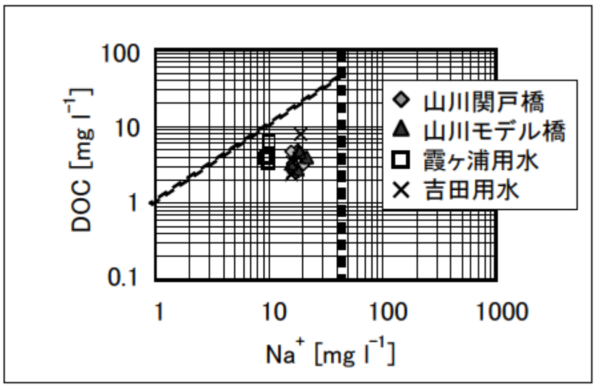


図-5 ナトリウムイオン濃度と溶解性有機炭素濃度の関係

山川関戸橋、山川モデル橋で観測されたNa^+濃度は15.62～21.53mg l^{-1}の範囲で、生活排水の推定濃度である40.4～46.4mg l^{-1}と比べて低く、Na^+濃度が大きい排水の程度は小さいと考えられる。K^+/Na^+は、生活排水の推定値は 0.203～0.292 であり、仮に生活排水以外に汚濁排出源が無く、基底的な水（吉田用水や霞ヶ浦用水）で希釈を受けているとすれば、山川流域のK^+/Na^+は、基底的な水の値（0.198、0.216）と生活排水の推定値（0.203～0.292）の間の値となるはずであるが、実際に観測された値は 0.246～0.370 とやや大きく、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可能性があると考えられる。

D-N/Na^+に関しても、生活排水の推定値が 0.471～0.546 であるのに対して、0.479～0.826 と大きく、D-N/Na^+の大きい排水が混入している可能性があると考えられる。

D-P、DOC の各プロットは、生活排水が純水で希釈される斜め線よりも下部に位置しており、流域内で負荷が低減されていると考えられる。

2.1.2. 山川流域からの非潅漑期晴天時流達負荷量の調査

山川流域からの非潅漑期の晴天時の流達負荷量を調査するために、山川関戸橋において、平成 20 年 2 月 17 日 12:00～平成 21 年 2 月 18 日 12:00 の間、4 時間間隔で、流量観測及びトレーサー物質（Na^+）、溶解性栄養塩類（K^+、NH_4^+-N、NO_2^- -N、NO_3^- -N、D-PO_4^{3-}-P）、BOD、COD、T-N、T-Pの水質測定を実施した。得られた負荷量の積分値を表-1 に示す。ここでは、流域面積あたりの比負荷量、Na^+負荷量に対する他の項目の負荷量の比率を合わせて示す。

表−1　山川流域からの晴天時流達負荷量の調査結果

水質項目 i	流達負荷量		i/Na^+
	kg/日	kg/日/ha	
Na^+	820	0.263	―
K^+	257	0.0825	0.312
D-N	810	0.260	0.989
D-P	0.595	0.0002	0.0007
DOC	140	0.0449	0.171
BOD	116	0.0374	0.141
COD	244	0.0782	0.297
T-N	871	0.280	1.065
T-P	4.90	0.0016	0.0060

2.1.3. 山川流域への排出負荷量の推定

山川流域への各排出源からの排出負荷量の推定を、原単位法に基づいて行った。

利根川流域に関しては、国土交通省関東地方整備局が目下、利根川流域別下水道整備総合計画の改訂を進めており、平成 18 年度現在の生活系、事業系、観光系、施設系の排出負荷量について、表-2 のようにとりまとめている。

表-2 生活系及び事業系の排出負荷量　[kg/日]

	生活系	事業系	観光系	施設系	小計
COD	212	743	0	2	957
T-N	86.8	46.5	0.2	4	138
T-P	11.3	19.6	0.0	0.0	31.0

表-3 畜産系のフレーム値及び排出負荷量

畜種	フレーム値 [頭]	項目	排出負荷量原単位 [kg /日/頭]	排出負荷量 [kg/日]
牛	561	COD	31	17.4
		T-N	7.85	24.2
		T-P	0.24	0.135
豚	11208	COD	5.74	88.0
		T-N	5.74	64.3
		T-P	0.12	1.345

表-4 面源系のフレーム値及び排出負荷量

	フレーム値 [ha]	項目	排出負荷量原単位 [kg /ha/年]	排出負荷量 [kg/日]
水田	1167	COD	24.2	77.4
		T-N	9.1	29.1
		T-P	0.26	0.83
畑地・果樹園	1228	COD	8.9	29.9
		T-N	19.2	64.6
		T-P	0.28	0.94
山林	165	COD	14.0	6.35
		T-N	5.7	2.60
		T-P	0.20	0.091
市街地	527	COD	55.8	80.6
		T-N	9.9	14.3
		T-P	0.91	1.31

さらに、畜産系及び面源系については、フレーム値がまとめられている。ここでは、第5期霞ヶ浦の湖沼水質保全計画で用いられている排出負荷量原単位を用いて、表-3、表-4のように排出負荷量を算定した。

さらに、生活系、事業系、観光系、施設系、畜産系及び面源系の排出負荷量を総計した結果、総排出負荷量は、COD、T-N、T-P について、それぞれ、1176kg/日、322kg/日、34.3kg/日と算出された。

2.1.4. 非潅漑期晴天時汚濁負荷流達率の算定

非潅漑期の晴天時の汚濁負荷流達率は、2.1.2.で算定された流達負荷量を、2.1.3.で算定された排出負荷量で除して求められ、COD、T-N、T-P の流達率は、それぞれ、20.7%、270.5%、14.3%と算出された。

一般的には、汚濁源から排出された汚濁物質は、晴天時には多くの部分が流域に滞留し、雨天時に掃流されると考えられ、COD、T-P に関しては、この機構が当てはまると考えられるが、T-N に関しては、流達負荷量が排出負荷量を大きく上回っており、排出負荷量を過小評価している可能性が考えられる。

本流域では、2.1.1. で示したように、非潅漑期晴天時に生活排水以外のK^+/Na^+の大きい排水が混入している可能性が示された。一方で、本流域では、K^+/Na^+の大きい排水を排出する畜産業が盛んなことから、畜産排水の混入が示唆され、これらの関連性について詳細な調査を行う必要があると考えられる。

さらに、今後は、雨天時も含めた流達負荷量の測定を行い、汚濁負荷が水域へ到達する機構の解明を行う予定である。

2.2 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、畜産業が盛んな利根川水系北浦流入河川の鉾田川を選定し、雨天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。

平成 20 年度は、流域における汚濁負荷発生総量に占める生活系の割合が大きい利根川流域手賀沼流入河川の支流を対象に、雨天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 NT-②、OT-④、OT-⑤の 3 ヶ所で、平成 20 年 4 月 8 日～9 日の間、各箇所 9 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国土交通省関東地方整備局千葉国道事務所柏維持修繕出張所（千葉県柏市吉野沢 3-9）での雨量観測結果を用いた。

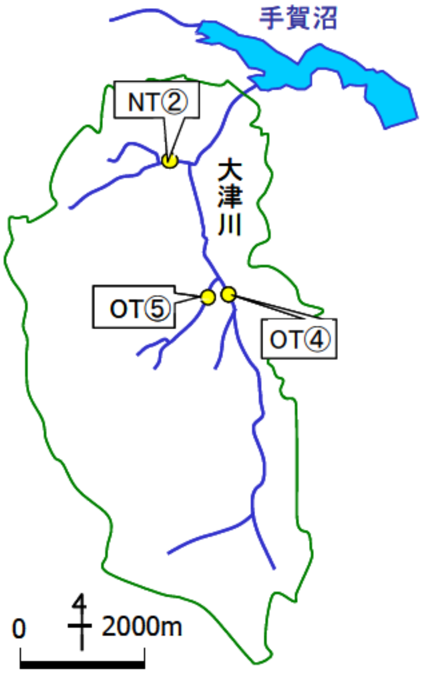


図-6　大津川調査採水地点

図-7 に降雨量の時間変化を示す。降雨開始より 2 時間前を 0 時間の基準と設定した。降雨開始後 23 時間の間の累積雨量は 64mm であった。図-8 に各地点での比流量の時間変化を示す。各地点の流出特性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-9 に比流量とナトリウムイオン負荷量の関係を、図-10 に比流量とカリウムイオン負荷量の関係を示す。比流量と負荷量の関係を

$$L = aQ^b$$

ここで、L ：負荷量 [$g/s/km^2$]

Q ：比流量 [$m^3/s/km^2$]

a, b ：それぞれ定数

と仮定し近似式を得ると、定数 a, b は表-5 のようにまとめられる。今回の調査で観測された比流量の範囲では、NT-②での近似式の負荷量の値が他の 2 地点に比べて小さかった。NT-②の流域は、系外放流されている下水道の整備が他の流域に比べて進んでおり、浄化槽排水や雑排水の混入密度が小さいことが反映されているものと考えられる。

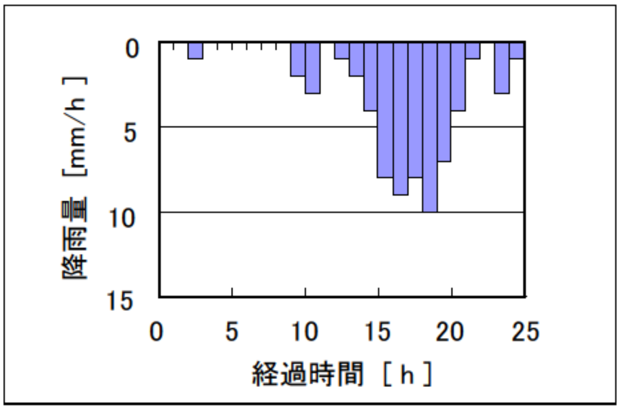


図-7 降雨量の時間変化

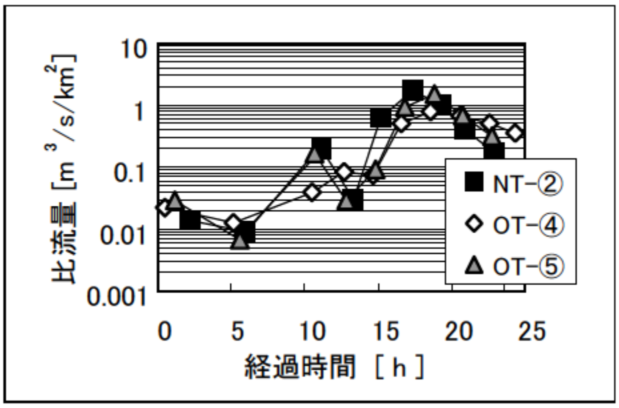


図-8 流量の時間変化

表-5 比流量と負荷量の関係

項目↓	地点→	NT-②	OT-④	OT-⑤
Na^+	*a*	2.26	2.76	3.45
	b	0.65	0.44	0.56
K^+	*a*	0.81	1.20	1.27
	b	0.80	0.64	0.67

図-11 にK^+/Na^+の時間変化を示す。各地点とも大きな差は見られなかった。また、K^+/Na^+は流量の増加とともに一時的に 0.5 程度まで増加したが、時間の経過とともに減少した。平成 19 年度に、利根川水系北浦の流入河川である鉾田川の支流域で実施した雨天時調査結果[2]では、畜産排水の混入がほとんどなく、流域における汚濁負荷発生総量に占める生活系の割合が大きい支流域では、K^+/Na^+が 0.5 程度までの増加で抑えられており、同様の傾向が見出された。なお、平成 19 年度の鉾田川雨天時調査では、畜産排水の混入が考えられる支流域ではK^+/Na^+が 0.6～1.4 程度にまで増加しており、対照的であった。

平成 20 年度の大津川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比流量の関係を図-12～17 に、得られた近似式の定数*a*, *b*を表-6、表-7 に示す。Na^+、K^+と同様に、NT-②地点での近似式の負荷量の値が、他の 2 地点に比べて小さかった。

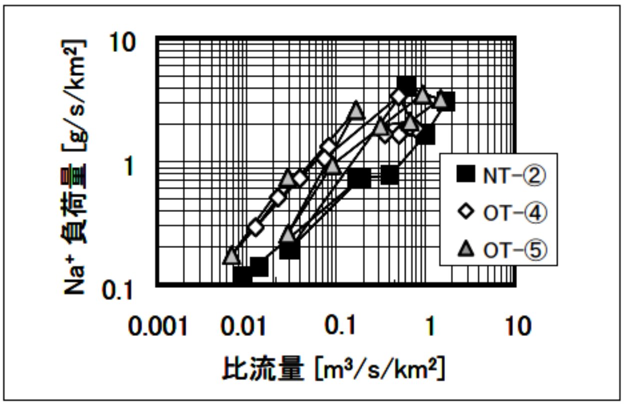


図-9 比流量とナトリウムイオン負荷量の関係

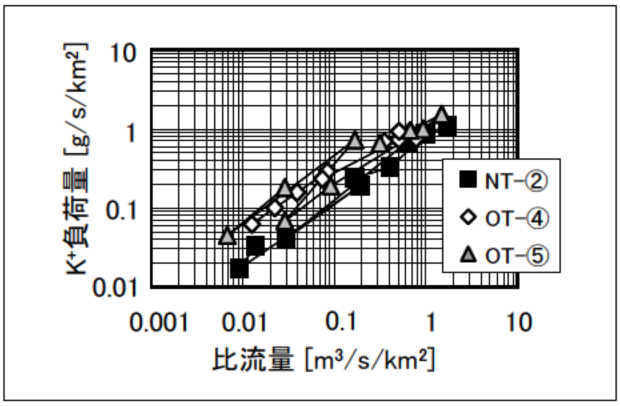


図-10 比流量とカリウムイオン負荷量の関係

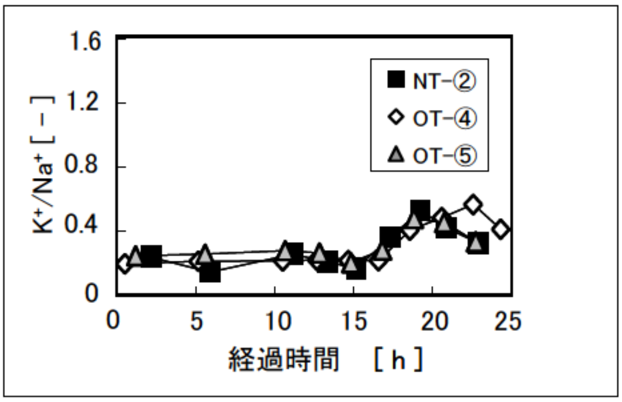


図-11 カリウム/ナトリウムイオン濃度比の時間変化

図 18～23 に、トレーサー物質（Na^+）の負荷量に対する各栄養塩類、有機汚濁指標負荷量の比率の時間変化を示す。図 21～23 に示す溶解性成分の比率は各地点とも大きな時間変化は見られず、トレーサー物質と溶解性栄養塩類および溶解性有機炭素の流出は連動していると考えられる。

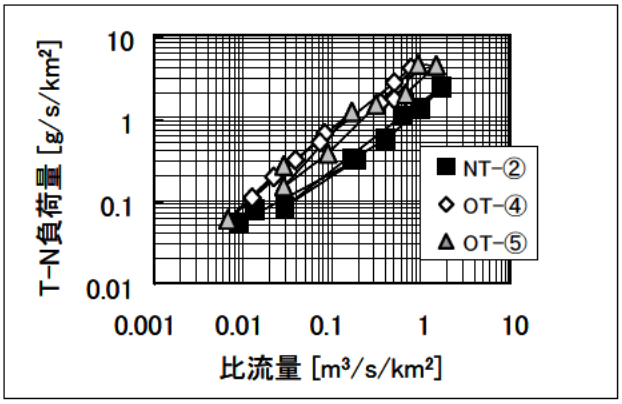


図-12　比流量と全窒素負荷量の関係

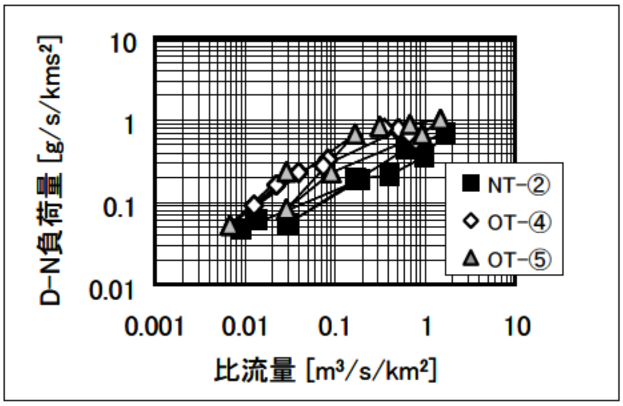


図-15　比流量と溶解性窒素負荷量の関係

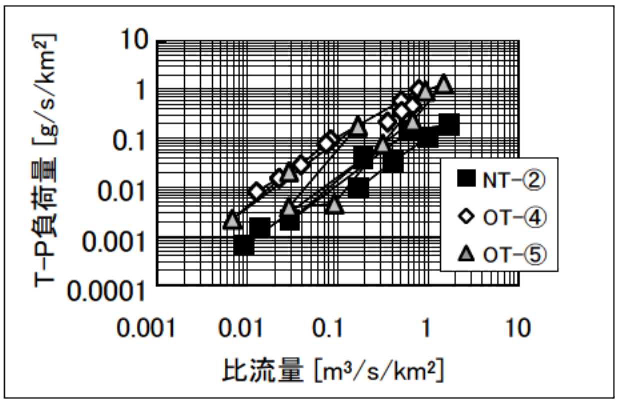


図-13　比流量と全りん負荷量の関係

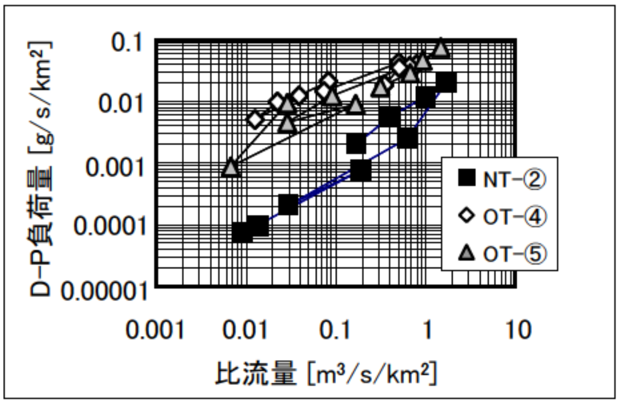


図-16　比流量と溶解性りん負荷量の関係

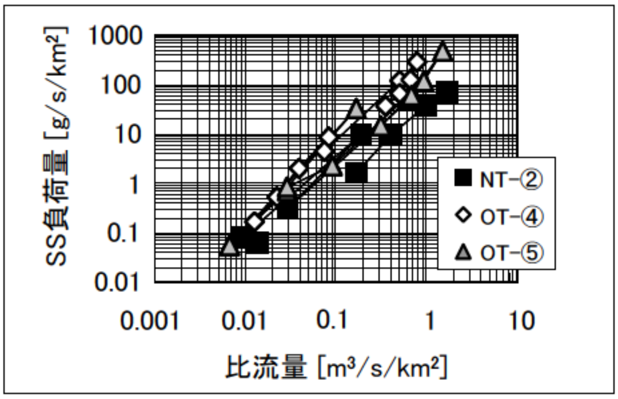


図-14　比流量と浮遊物質負荷量の関係

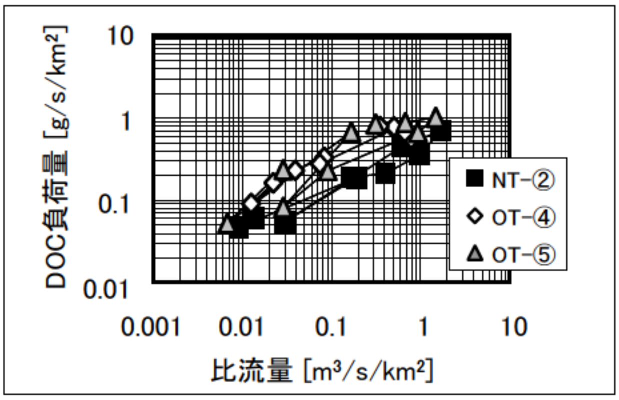


図-17　比流量と溶解性有機炭素負荷量の関係

表-6 比流量と負荷量の関係

項目↓	地点→	NT-②	OT-④	OT-⑤
T-N	*a*	1.24	3.60	3.53
	b	0.70	0.77	0.82
T-P	*a*	0.124	0.928	0.543
	b	1.10	1.06	1.20
SS	*a*	44.0	300	167
	b	1.42	1.64	1.56

表-7 比流量と負荷量の関係

項目↓	地点→	NT-②	OT-④	OT-⑤
D-N	*a*	0.44	0.94	1.03
	b	0.50	0.47	0.56
D-P	*a*	0.0091	0.0457	0.0475
	b	1.06	0.44	0.69
DOC	*a*	1.78	2.35	2.33
	b	0.79	0.70	0.75

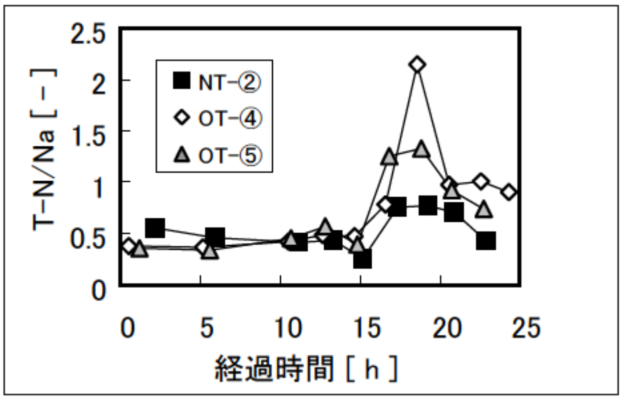


図-18 全窒素/ナトリウムイオン濃度比の時間変化

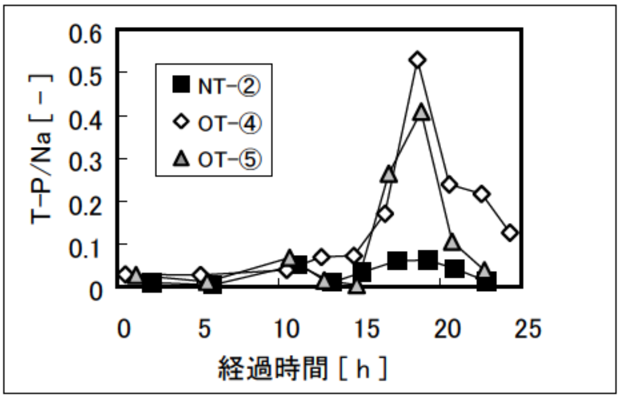


図-19 全りん/ナトリウムイオン濃度比の時間変化

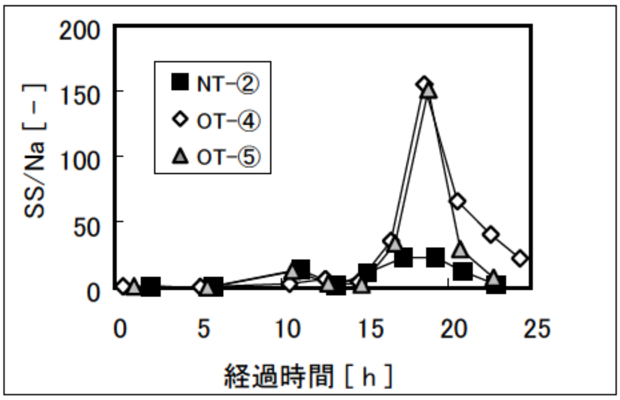


図-20 浮遊物質/ナトリウムイオン濃度比の時間変化

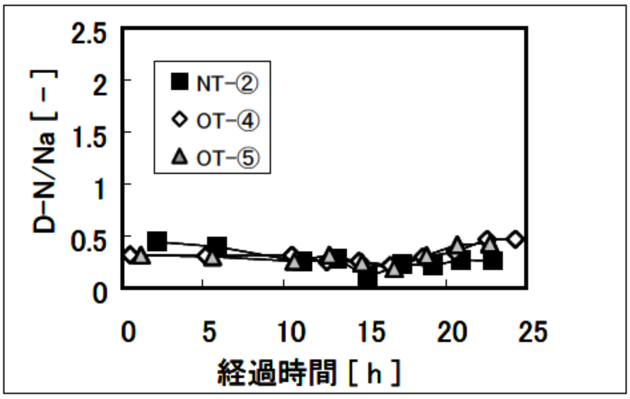


図-21 溶解性窒素/ナトリウムイオン濃度比の時間変化

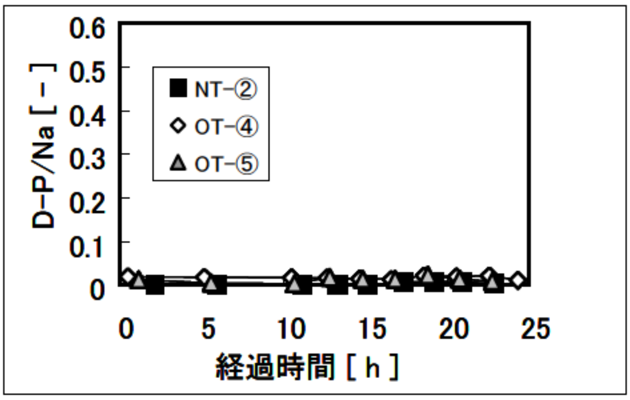


図-22 溶解性りん/ナトリウムイオン濃度比の時間変化

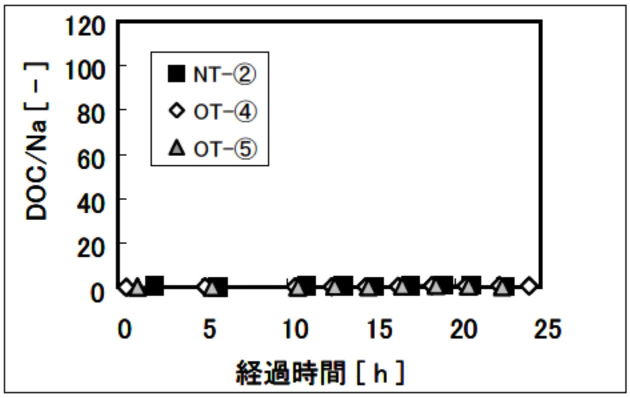


図-23 溶解性有機炭素/ナトリウムイオン濃度比の時間変化

一方、図18～19に示す懸濁態成分も含めた全窒素、全りんおよび図 20 に示す浮遊物質については、比流量が0.3m³/ s / km²を超えた15時間目以降に、OT-④、OT-⑤地点では比率が急激に増大し、その後、比流量の低下とともに比率も低下する現象が見られた。OT-④、OT-⑤流域では、懸濁態成分が比流量が小さい場合には流域内に堆積し、一定以上の比流量に達した時点で急激に移動する機構の存在が考えられる。

なお、下水道整備が進んだ NT-②地点では、比率の増大、低下の程度が小さく、流域における懸濁態成分の堆積が少ないことが示された。

3. まとめ

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、平成 20 年度は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、利根川水系鬼怒川の支川である山川を選定し、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、畜産排水の混入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。

さらに、利根川水系手賀沼流入河川の大津川支流域において、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濃度比の整理を行った。

今後は、山川流域において、特に畜産排水に着目した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。

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、土木研究所資料第 4080 号、pp.21-28、2007
2) 平成 19 年度下水道関係調査研究年次報告書集、土木研究所資料第 4123 号、pp.117-126、2009
3) 岡安祐司、鈴木穣、晴天時における,生活排水,畜産排水起源のトレーサー物質および栄養塩類の流出実態、環境工学研究論文集、45、pp.19-28、2008

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（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、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、付着藻類や底生動物に水質が与える影響を推測するため、水質項目として新たに金属類を加え、流入する排水の種類が異なる様々な河川について統計解析を行った。また、水質指標として適切なバイオアッセイ手法を見出すため、3 種類のバイオアッセイ手法により様々な河川水の測定を実施した。さらに、下水処理水に対して、好気条件での担体処理を追加的に実施し、下水処理水の付着藻類増殖を抑制する手法を検討した。
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、バイオアッセイ、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、水質環境基準を達成しても良好な水生生態系が形成されるとは限らないため、水生生態系の保全も考慮した水質改善が求められている。

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。平成 19 年度は、流入する排水の種類が異なるため様々な水質を呈する都市河川において、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た。今年度は、水質項目として金属類を加えて水質が水生生態系に与える影響についてより詳細な解析を行うとともに、水質指標として適用できるバイオアッセイ手法を検討した。

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、様々な水質の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も含め、24 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、一般項目として電気伝導度、DO、水温、全窒素、アンモニア態窒素、硝酸態窒素、全りん、TOC の 8 項目、金属類として Li, B, Al, Mn, Fe, Cu, Zn, Sr, Ba の 9 項目を統計解析の対象とした。

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。残留塩素についても対象地点で採取した試水を携帯型の測定器を用いて測定したが、ほとんどの地点で非検出であったため、解析には用いなかった。

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。

金属類については、前処理として試料に硝酸を加え加熱処理を行った後、冷却、内部標準物質添加、定容後、ICP 質量分析法（サーモフィッシャーサイエンティフィック社製：X7CCT にて測定した。なお、測定を実施した項目はLi, Be, B, Al, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Sr, Mo, Ag, Cd, In, Sn, Sb, Te, Ba, Tl, Pb の 25 項目である。

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）、総細胞数、糸状藻類細胞数、珪藻類細胞数、藍藻類細胞数の 6 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、単相関等基本的な統計量を算出した他、多変量解析手法である主成分分析と重回帰分析を用いた。主成分分析は STATISTICA5.1J を用いて行った。

2. 3 調査結果

2.3.1 金属類の検出状況

今回測定を実施した項目は 25 項目であったが、このうち全地点で定量下限値である 0.5μg/L を全地点で下回り非検出であった項目は Be, Ag, Cd, In, Te, Tl の 6 項目、半分以上の地点で非検出であった項目は V, Cr, Co, Ni, As, Se, Sn, Sb, Pb の 9 項目、半分以上の地点で検出されたが統計処理のために必要と判断した検出率 80%を下回っていたのが Mo のみの 1 項目、検出率80%以上100%未満であったのが Li と Mn の 2 項目、全地点において検出されたのが B, Al, Fe, Cu, Zn, Sr, Ba の 7 項目であった。このように、項目により大きく検出率が異なり、水質環境基準が設定されている項目については B（ホウ素）以外は概ね検出率が低かった。人の健康の保護に関する環境基準が設定されている Cd, Pb, Cr, As, Se, B については、基準値を超過している地点はなかったが、生活環境の保全に関する環境基準が設定されている Zn については、基準値である 0.03mg/L を超過する地点が 3 地点あり、このうち 2 地点は下水処理水せせらぎであった。なお、環境基準の達成状況は年間平均値により評価するため、今回の測定結果において基準値を超過していたことと基準の適否とは関連がない。

2.3.2 水質項目のグループ化

水質項目は相互の相関が高く、そのまま統計解析を実施すると冗長な項目により実際の現象と全く異なる

表 2-1　水質項目間の相関係数（網掛けは無相関検定において p<0.05 で相関が無いと判定）

	電気伝導度	溶存酸素	水温	NH4-N	NO3-N	T-P	T-N	TOC	Li	B	Al	Mn	Fe	Cu	Zn	Sr	Ba
電気伝導度	1																
溶存酸素	−0.62	1															
水温	0.621	−0.8	1														
NH4-N	0.16	−0.22	−0.1	1													
NO3-N	0.698	−0.61	0.612	−0.08	1												
T-P	0.775	−0.44	0.463	0.291	0.661	1											
T-N	0.736	−0.69	0.544	0.352	0.898	0.751	1										
TOC	0.61	−0.65	0.373	0.678	0.438	0.671	0.738	1									
Li	0.139	0.311	−0.29	0.007	−0.04	−0.06	−0.04	−0.07	1								
B	0.335	0.105	−0.09	0.079	0.102	0.069	0.132	0.122	0.945	1							
Al	0.337	−0.51	0.468	0.133	0.485	0.287	0.554	0.542	−0.14	−0	1						
Mn	0.143	−0.24	−0.06	0.879	−0	0.328	0.386	0.744	−0.02	0.037	0.287	1					
Fe	0.09	−0.19	−0.16	0.92	−0.08	0.294	0.338	0.71	−0.05	−0.02	0.228	0.966	1				
Cu	0.461	−0.5	0.335	0.253	0.512	0.352	0.619	0.539	0.046	0.14	0.43	0.307	0.271	1			
Zn	0.72	−0.73	0.604	0.354	0.509	0.536	0.672	0.747	−0.13	0.122	0.61	0.259	0.239	0.619	1		
Sr	0.493	−0.03	−0.05	0.263	0.143	0.2	0.238	0.132	0.513	0.524	−0.15	0.121	0.156	0.311	0.183	1	
Ba	0.266	−0.02	−0.1	0.015	−0.06	0.032	−0.03	−0.01	0.188	0.093	−0.25	0.044	0.102	0.311	−0.04	0.57	1

結果が得られる。そこで、主成分分析により類似の挙動を取る物質をグループ化することとした。

グループ化の手法としては、まず項目間の相関を調べ、さらに主成分分析を用いた。水質項目間の相関係数を表 2-1 に示す。ここで、無相関検定により相関がない（p<0.05）と判定されたケースには網掛けをしてある。この表から、他の項目とは相関が低く、かつ相互には相関が高い水質項目として、Li と B、Sr と Ba、アンモニア態窒素と Mn と Fe（以下 G3）の 3 グループを抽出した。

残りの 10 項目のうち、溶存酸素のみは他の項目との相関係数の符号が負であるため、溶存酸素のみを 1 つのグループとした。

残りの 9 項目について、主成分分析を行い、第二主成分までの因子負荷量を図 2-1 に示す。この図において、第一主成分の因子負荷量が大きい全窒素、水温、

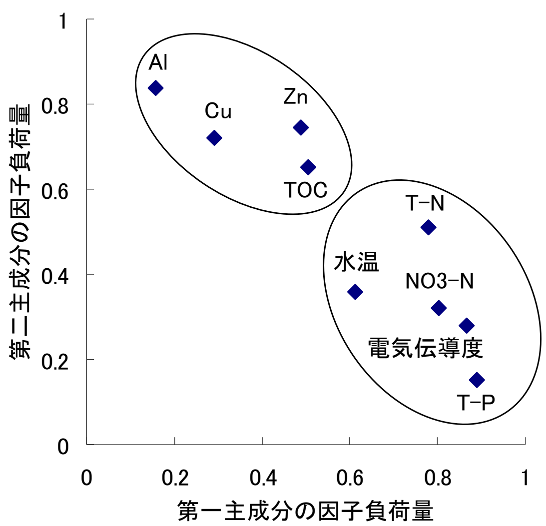


図 2-1　主成分分析における因子負荷量

硝酸態窒素、電気伝導度、全りん、第二主成分の因子負荷量が大きい TOC, Al, Cu, Zn をそれぞれグループ化することとした。(それぞれ以後 G1,G2 と呼ぶこととする。)

以上の作業により 17 の水質項目から 6 つの水質グループが抽出できた。それぞれのグループに含まれる水質項目のデータを標準化し、それらの平均値を以後の解析に用いることとした。

2.3.3　グループ化した水質と生物項目との関係

水質による水生生態系への影響を推測するため、グループ化した水質と生物項目の関係を調べることとし、相関係数を表 2-2 に示す。ここで、無相関検定により相関がない（p<0.05）と判定されたケースには網掛けをしてある。この表より、付着藻類については水質との相関が低いことが分かり、今回検討した手法では水質による影響を把握することが困難であると判断し、以後は底生動物についての解析を行うこととする。

水質と底生動物の項目間では相関係数が大きい関係が多かった。符号については、溶存酸素と底生動物との関係が全て正、溶存酸素以外の水質項目と底生動物との関係がほとんど負となっており、溶存酸素は底生動物の生息に対して好影響を与え、水質の悪化は悪影響を与えるという一般的な知見と一致する。

グループ化した個々の水質項目に着目すると、Li と B のグループ､Sr と Ba のグループは底生動物との相関がほとんどなく、これらの項目は環境中の濃度では底生動物に影響を与えないと考えられる。一方、他の水質グループは水生生態系に与える影響を否定できない。

2.3.4　各水質グループによる底生動物への影響の寄与比較

水生生態系への影響が否定できない各水質グルー

表 2-2　グループ化した水質と生物項目との間の相関係数

		G1	G2	溶存酸素	G3	Li, B	Sr, Ba
付着藻類	出現種数	−0.043	0.170	0.121	0.462	0.131	−0.262
	多様度指数	−0.058	0.142	0.181	0.462	0.107	−0.334
	総細胞数	−0.191	−0.101	0.039	−0.016	−0.032	0.382
	藍藻類細胞数	0.064	−0.006	−0.045	−0.006	0.076	0.474
	珪藻類細胞数	−0.403	−0.011	0.177	0.384	0.001	0.082
	糸状藻類細胞数	0.071	−0.012	−0.100	−0.078	0.092	0.467
底生動物	出現種数	−0.622	−0.688	0.606	−0.437	−0.063	0.076
	多様度指数	−0.485	−0.545	0.433	−0.399	−0.279	0.048
	総湿重量	−0.148	−0.220	0.262	−0.160	−0.078	−0.094
	総個体数	−0.516	−0.500	0.377	−0.448	−0.025	0.176
	ミミズ類個体数	−0.319	−0.196	0.377	−0.138	−0.039	0.431
	ユスリカ類個体数	−0.743	−0.572	0.557	−0.180	0.029	0.113
	カゲロウ類個体数	−0.410	−0.697	0.586	−0.465	−0.008	0.101
	トビケラ類個体数	−0.363	−0.510	0.440	−0.454	0.003	0.108

（網掛けは無相関検定において p<0.05 で相関が無いと判定）

プがどの程度水生生態系へ影響を与えるのか、重回帰分析を用いて推測することとした。水質グループとしては G1、G2、溶存酸素、G3 を、生物項目としては出現種数、多様度指数、総個体数、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 6 項目（個体数については対数化した値）を用いた。なお、これらの水質グループと生物項目とは、表 2-2 に示したように相関が否定できない結果となっている。

水質グループを独立変数、生物項目を従属変数として重回帰分析を行った結果として、各独立変数の寄与比を表 2-3 に示す。ここで、最大寄与となる変数を-1 として比を算出している。なお、表 2-2 の結果と符号が異なる、あるいは寄与比が最大寄与の 10%以下の場合は、寄与がない変数であると見なした。

表 2-3　各水質グループの生物項目への影響の寄与比

	G1	G2	溶存酸素	G3
出現種数	−1	−0.92	0.56	−0.84
多様度指数	−1	−0.75	−	−0.90
総個体数	−1	−	−	−0.74
ユスリカ類個体数	−1	−	−	−
カゲロウ類個体数	−	−1	0.57	−0.28
トビケラ類個体数	−	−0.66	0.69	−1

この表より、底生動物に対しては G1 が最も影響を与える生物項目であると推測され、G1 に含まれる項目は一般的な水質汚濁を表していると考えられることから、河川中水質の向上が水生生態系の改善につながることが裏付けられた。なお、G2 や G3 による影響も小さくはなく、溶存酸素はいくつかの項目に対して好影響を与えていると推測される。

各生物項目について見ると、カゲロウ個体数、トビケラ個体数については他の 4 項目とやや異なる結果となっている。他の 4 項目では最も寄与が大きい G1 の寄与が見られない一方、他の水質グループの寄与は見られる。カゲロウやトビケラは比較的きれいな水環境に生息する底生動物である [2] ことから、これら G2 や G3 のような水質グループあるいはこれらと同様の挙動を示す水質項目の河川中濃度を低減できれば、水生生態系の質的向上につながると考えられる。なお、G2 に含まれる物質のうち 3 つは金属類であることから、排出源としては、工業、ノンポイント負荷源、自然由来等が考えられる。また、G3 にはアンモニア態窒素が含まれていることから、排出源としては単独浄化槽排水や未処理雑排水等が考えられる。このような手法により、排水の由来と水生生態系との関係が把握できると、よりよい水生生態系の形成のための適切な排水処理計画の策定が可能になると考えられる。

3. バイオアッセイの水質指標としての検討

3. 1　供試生物とバイオアッセイ手法

3.1.1　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、細菌が発する光量の増減から細菌の代謝に対する阻害影響をみた。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、半数阻害濃度（EC50）を装置附属の計算ソフトにより求めた。

3. 1. 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。

3.1.3　環境水毒性試験

通常の河川水の毒性は低く、バイオアッセイ試験で阻害等が確認されにくい。そこで、固相抽出法を用いて試料を濃縮する試験法を適用した。

抽出のための固相はOASIS-HLBを使用し、GF/Bで濾過した 1000mL の試料を通水した後にメタノールで溶出し、溶出液を乾固後100μLのDMSOに再溶解したものを濃縮サンプルとした。この濃縮液を培養液中に最大濃度1000%（原水の10倍濃度、溶媒のDMSO最大濃度0.1%）となるように添加して試験に供した。

試験によって得られる毒性指標である EC50 は毒性が強いほど数値が小さくなるため毒性の強弱を直感的に把握しにくく、毒性が確認できない場合には値が無限大となり他の数値との比較が困難になる。そこで、EC50 の値から毒性単位（TU=100/EC50）を算出し指標とすることとした。ここでは、急性毒性値より算出した毒性単位であることから、TUa と表記する。

3. 2　調査対象水系

様々な水質を有する河川として、2.1 に挙げた下水道整備途上地域、下水道浄化槽混在地域、下水処理水せせらぎ等、32地点を調査対象とし、複数回採取のデータも含め54試料を得た。

3. 3　調査結果

3.3.1　TUa（毒性単位）の検出状況

細菌と藻類を用いた濃縮河川水のバイオアッセイ結果をTUa値として得られた割合を表3-1に示す。

表3-1　供試生物ごとの濃縮河川水TUa値検出状況

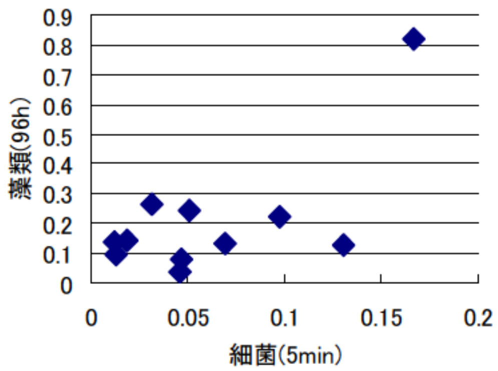
供試生物	細菌 (5min)	細菌 (15min)	藻類 (96h)
検出状況	53/54	43/54	12/54

細菌を用いた場合のTUa値の検出割合は高く、試験時間が5分の場合に1検体を除きTUa値が検出された。一方、藻類については検出率が22%と低かった。なお、細菌を用いた場合の試験時間が5分と15分の結果は相関係数が0.996と非常に高かったため、以後は検出率の高かった試験時間5分の結果を用いる。

3.3.2　細菌と藻類のバイオアッセイ結果の比較

バイオアッセイの供試生物による違いを調べるため、藻類のバイオアッセイ試験において結果が得られた12検体について、細菌の結果との相関を図3-1に示す。ここに示した全12データの相関係数は0.68で統計的に有意な相関となるが、細菌、藻類、ともに最も高いTUa値が得られたデータを除く11データの相関係数は0.10と有意な相関とはならなかった。このことから、河川水中に含まれる異なる物質群がそれぞれの生物に対して影響を与えていることも考えられ、水質指標としては異なる用途へ適用できる可能性がある。

図3-1　細菌と藻類によるバイオアッセイの結果比較（TUa値）



次に、細菌によるバイオアッセイにより得られた全データをTUa値の大きな順に図3-2に示す。ここで、藻類のバイオアッセイにより毒性値が得られたか否かを色分けにより区別をしている。この図より分かるように、藻類のバイオアッセイにより値が得られた検体については細菌によるTUa値は大きい値となっており、細菌で算出された値が小さい場合には藻類では値が算出されなかったことから、細菌と藻類の毒性試験においては感度に差があることが考えられる。

以上のような細菌と藻類を用いた濃縮河川水のバイオアッセイ結果の比較から、これら生物によるバイオアッセイを水質指標として用いることを想定した場合、スクリーニングには藻類を用い、詳細なデータを得る場合は細菌を用いるという使い分けができる可能性がある。また、2種の試験を併行して実施することで、より幅広い汚濁物質に対応できる可能性もある。

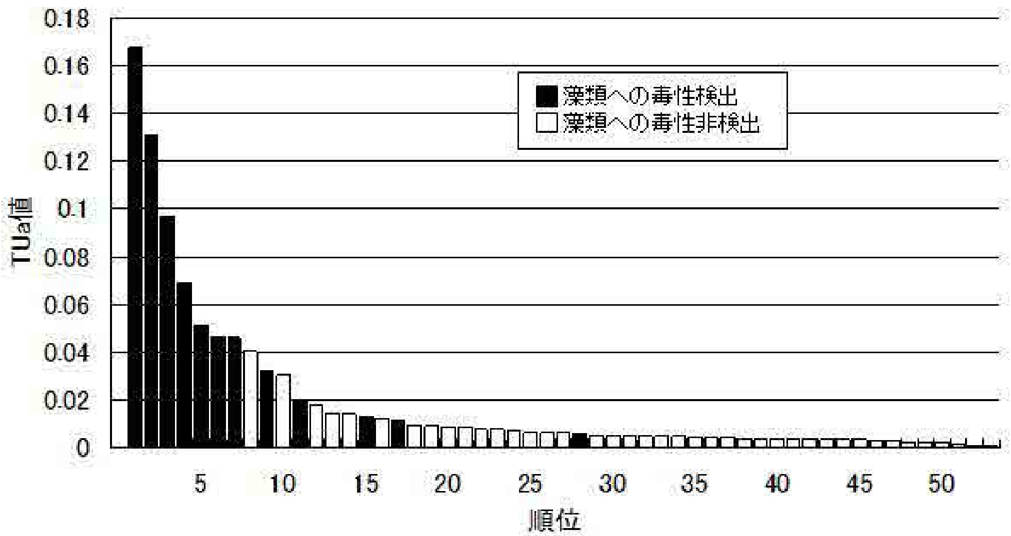


図3-2　細菌によるバイオアッセイ結果

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。

本研究では、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0.5m³、反応槽容量2m³、最終沈殿池容量0.5m³、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㎥、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循環式試験水路（市販の雨樋、塩化ビニール製、長さ180cm、幅7cm）に通水し、水深1.8cm、流速20cm/secになるように流量および水路床勾配を調整した。また、水路内水のHRTは約11分となるように設定した。なお、本報告の連続実験は、2008年夏季（6～9月）の10週間にわたり行い、期間中の下水処理水の水温は22～29℃程度であった。

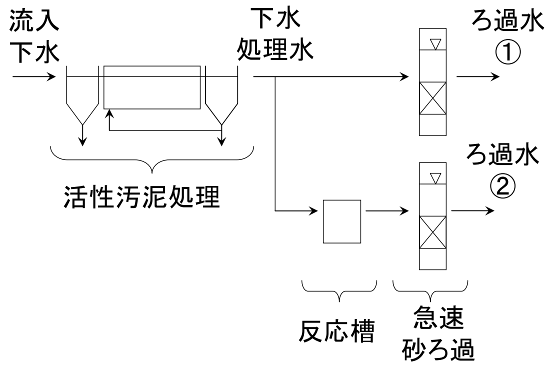


図4-1　連続実験装置の概要

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、試験水路については、10週間の連続実験後に通水を停止し、水路床および側壁に付着した固形物を回収し、TS、T-N、T-P、T-Fe、T-Mn、Chl.-aについて測定を実施した。

4．3　実験結果と考察

表 4-1 に実験期間中のろ過水①、②の水質測定結果を、表 4-2 に試験水路で観測された固形物の測定結果を示す。ろ過水①に比べて、担体処理を行ったろ過水②では、T-Mn 濃度が大きく低下しているのが特徴的である。

ろ過水②を供給した試験水路では、固形物や付着藻類の生成が顕著に抑制され、Chl.-a 量は、良好な景観と感じられる範囲（100～150mg/m^2以下）[3]に入っていた。ろ過水①、②の T-P 濃度は、生物脱りんにより 0.4mg/L 程度に低下させることができたが、藻類増殖が抑制されるレベル[4]を大きく上回っており、P 濃度が藻類増殖を制限しているとは考えにくい。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るが、本研究では、ろ過水②では1μg/L 以下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、水生生態系の向上には有機物や窒素等の一般的な水質汚濁の改善が有効であることを裏付ける結果が得られたとともに、きれいな水環境に生息する底生動物への影響が大きい水質項目を推定できた。こういった知見は今後よりよい水生生態系の形成のための適切な排水処理計画の策定等に活用できると考えられる。

また、細菌と藻類を用いるバイオアッセイの水質指標としての利用可能性を検討したところ、詳細なデータを得る場合には細菌、スクリーニングには藻類という使い分けができる可能性や、2 種の試験の併行実施により、より幅広い汚濁物質に対応できる可能性が示唆された。

さらに、下水処理水に対して、好気条件での担体処理を追加的に実施し、微量金属（Mn）の除去により、下水処理水の付着藻類増殖を抑制し、再利用に当たっての景観障害を低下させることができる可能性が示された。

今後は、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とともに、バイオアッセイの水質指標としての可能性をさらに調査していく。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。

表 4-1　水質測定結果（平均値）

項目	単位	ろ過水①	ろ過水②
SS	mg/l	1.6	1.1
DOC	mg/l	7.3	6.0
T-N	mg/l	15.7	16.2
T-P	mg/l	0.44	0.37
T-Fe	mg/l	40.7	37.5
T-Mn	mg/l	15.9	0.6

表 4-2　試験水路上の固形物の測定結果

項目	単位	ろ過水①通水	ろ過水②通水
TS	g/m^2	117.	16.8
T-N	g/m^2	1.83	0.41
T-P	g/m^2	0.25	0.08
T-Fe	mg/m^2	201.	5.0
T-Mn	mg/m^2	279.	0.77
Chl.-a	mg/m^2	383.	127.

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) 国土交通省（2005）河川水質の新しい指標について，http://www.mlit.go.jp/kisha/kisha05/05/050330_.html
2) 環境省，国土交通省（2001）川の生きものを調べよう 水生生物による水質判定
3) 身近な水環境研究会編（1996）都市の中に生きた水辺を，信山社，70-81
4) (財)河川環境管理財団編（2005）河川と栄養塩類，技報堂出版，109-113

湖水中の藻類生産有機物の性状と挙動に関する研究

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
専門研究員　日下部武敏

1.　はじめに

わが国の湖の有機物汚濁は、流域内での発生源対策など行われてきているものの、改善されていないのが現状である。湖の有機物汚濁の指標には、COD（化学的酸素要求量）やTOC（全有機性炭素）が利用されているが、CODやTOCでは湖水中の有機物の性状や由来までは明らかにできない。湖水中の有機物汚濁の発生源は、湖の外部と内部にわけられ、湖水中の有機物の発生源が、外部か内部由来のどちらの影響が大きいかを把握することは、湖の有機物汚濁低減のための施策の決定に重要である。

本研究は、湖水中での有機物の内部生産のうち、主に植物プランクトンに由来する溶存有機物に焦点をあて、植物プランクトンに由来する溶存有機物の特性把握と、湖内での消長などの挙動を明らかにすることを目指している。

本年度は、霞ヶ浦を調査フィールドとし、湖水中の植物プランクトン数と溶存有機物の特性の関係を調査した。

2.　調査方法

平成20年4月から21年3月に、図-1に示した霞ヶ浦（西浦と北浦）の湖心表層から湖水を採水した。水質分析項目は、ろ過前湖水のTOC、50μmのナイロン製メッシュでろ過した湖水中の植物プランクトン数（フローサイトメトリー法：本報告書中の「水環境におけるプランクトン群集の迅速測定に関する研究」参照）、孔径1μmのグラスフィルターでろ過した湖水のDOC，D-CODcr，3次元励起･蛍光スペクトル(3DEEMs)である。

図-1　霞ヶ浦の採水地点

3.　調査結果

図-2は、7月の西浦湖水中の植物プランクトンのフローサイトメトリーでの分析結果の一例である。本図は前方散乱強度(Forward Scatter)とクロロフィルを反映する赤色蛍光強度の関係で1個1個の植物プランクトンをプロットしたものである。Bの領域にプロットが集中しており、この領域にはケイ藻や糸状や微細ラン藻が含まれる。図-3は、7月の西浦湖水の3DEEMsであり、①Ex230nm/Em300nm、②Ex230nm/Em340nm、③Ex280nm/Em340nm、④Ex230nm/Em425nm、⑤Ex345nm/Em435nmの5つのピークが確認された。

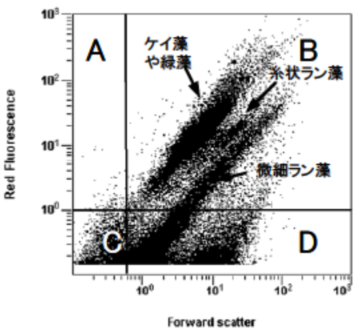


図-2　7月西浦湖水中の植物プランクトンの
フローサイトメトリーによる分析結果

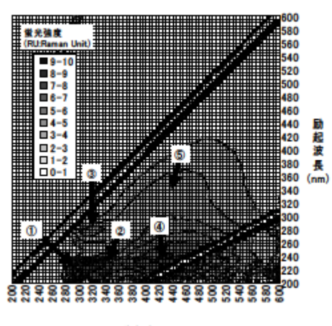
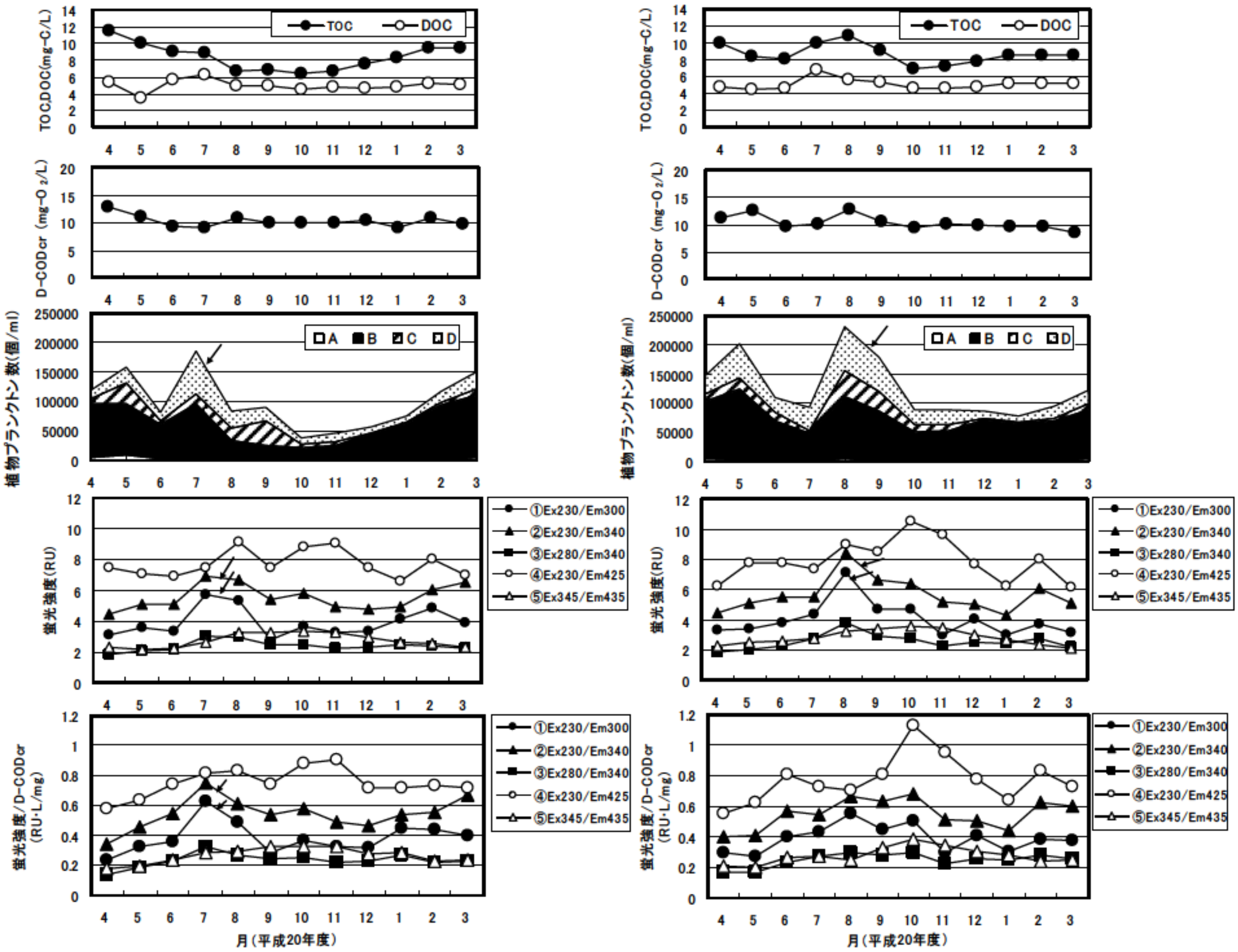


図-3　7月西浦湖水の3DEEMs

図-4 は、西浦と北浦の TOC、DOC、D-CODcr、植物プランクトン数、各蛍光強度の経月変化である。全有機炭素(TOC)のうち、5～7 割が溶存態(DOC)であることがわかった。西浦では、8～11 月に溶存態の割合が高くなることがわかった。TOC の変動の傾向は、植物プランクトン濃度と概ね類似していることがわかるが、DOC や D-CODcr は一年を通して概ね一定であることがわかる。しかし、植物プランクトンが増殖した月（西浦では 7 月、北浦では 8 月）の①Ex230nm/Em300nm、②Ex230nm/Em340nm の蛍光強度が上昇し、D-CODcr に占めるこれらの蛍光強度の割合も高くなっており、湖水中の溶存有機物の構成割合は、変動しているものと考えられた。①Ex230nm/Em300nm、②Ex230nm/Em340nm のピーク物質は、植物プランクトンに関係する有機物である可能性があった。



西浦　　　　　　　　　　　　北浦

図-4　霞ヶ浦湖水の TOC、DOC、D-CODcr、植物プランクトン数、各蛍光強度の経月変化

4. おわりに

本年度は、霞ヶ浦を調査フィールドとし、湖水中の植物プランクトン数と溶存有機物の特性の関係を調査し、以下の結果を得た。

霞ヶ浦湖水中の全有機炭素(TOC)のうち、5～7 割が溶存態有機炭素(DOC)であることがわかった。溶存有機物濃度は一年を通して概ね一定であったが、植物プランクトンが増殖した月では、①Ex230nm/Em300nm、②Ex230nm/Em340nm の蛍光強度が上昇した。これらのピーク物質は、植物プランクトンに関係する有機物である可能性があった。

なお、本調査研究は、運営費交付金により実施されたものである。

底質の酸素条件が藻類増殖に与える影響に関する調査

研究予算：一般勘定（一般勘定）
研究期間：平 18～平 20
担当チーム：水質チーム
研究担当者：上席研究員　鈴木　穣
研　究　員　久岡　夏樹
専門研究員　中薗　孝裕

【要旨】

近年，霞ヶ浦の西浦においては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みられ，その理由については，N/P 比のバランスの変化や，藻類が利用可能な鉄やマンガンの低下によるのではないかという説もあるが，未解明である。底層における溶存酸素濃度が近年回復しているとの調査データもみられることから，本研究では，底質の酸素条件が藻類（アオコ）増殖に与える影響について検討することを目的とした。底質性状の分析，底泥の酸素消費・溶出速度実験等を行い，水質改善事業の進む西浦と対照的な北浦を対比し，水質と底質の違いを明らかにするとともに，夏季の高水温期における栄養塩類と金属類の溶出が藻類増殖に及ぼす影響について最新の知見を得た。

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

1．はじめに

霞ヶ浦においては，水質改善事業の結果，底質の酸素条件が改善されてきていると言われている。しかしながら，この改善が藻類増殖に与える影響については，まだ明らかでなく，底泥浚渫等の事業効果として評価できるに至っていない。本研究においては，底層の酸素濃度，N・P 濃度，微量必須元素濃度の分布を調査するとともに，湖沼水の藻類（藍藻，緑藻）増殖能力を測定し，水質と藻類増殖特性との関係を検討した。また，異なる酸素条件下において，底泥からの栄養塩類の溶出速度を測定し，底質の性状と酸素条件が各物質の動態に与える影響を検討した。以上を統合化して水質保全対策の違いによる底質の性状・酸素条件を把握し，浚渫等の水質改善事業が藻類増殖に与える影響の評価を行った。

2．研究方法

2.1　底泥および湖水の採取

1)　調査地点

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

2)　調査・試料の採取時期

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

- 西浦　湖心：平成 18～20 年　夏季
- 西浦　浚渫区：平成 18～20 年　夏季
- 北浦　釜谷沖：平成 18～20 年　夏季
- 西浦　土浦出張所入江：平成 20 年 8 月 1 日に天然アオコ（優占種　藍藻：*Microcystis* sp.）を採取

図－１　調査地点

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

2.2　水質および底質の栄養塩類と金属類の分析方法

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

分析用に採水した直上水および間隙水の試料は，GF/Bろ紙（保留粒子径：1.0μm）によるろ過を行った後，栄養塩自動分析装置(TRAACS2000型:ブラン・ルーベ社製）にてアンモニア性窒素（NH_4-N)，亜硝酸性窒素（NO_2-N)，硝酸性窒素（NO_3-N)，溶存態窒素（D-N)， オルトリン酸態リン（PO_4-P)，溶存態リン（D-P）の濃度を測定し，溶存態有機炭素（DOC）の分析には全有機体炭素計（TOC5000 型：島津製作所社製）を用いた。

また，栄養塩類と共に藻類増殖の必須微量元素である鉄（Fe）とマンガン（Mn）[1)]についても，測定を行った。金属類の分析は，ICP-MS（X7CCT：Thermo Fisher SCIENTIFIC社製）によりMnを，ICP－AES（Optima3000：Perkin Elmer社製）によりFeの分析を行った。

2.3　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，現在の藻類増殖にも起因していることが考えられる。底質にもたらす改善効果を検討するため，各水域における底泥を用いた撹拌系による酸素消費速度試験を行った。

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

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

写真－１　底泥酸素消費速度試験

2.4　底泥の栄養塩類溶出試験

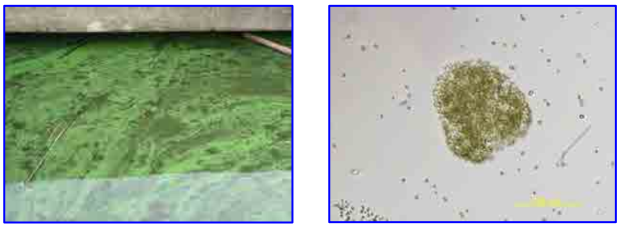
現地にて簡易柱状採泥器により採取した試料を，底泥厚が15cmとなるように底泥量を調整した。試験水は別途採取した直上水をGF/B（1.0μm）にてろ過後（Mn：200μL添加)，底泥表面を乱さないよう底泥上30cmまでサイホンにて注入し，20℃の恒温室（暗条件）にてAir曝気による好気条件（DO:8mg/L以上）とN_2曝気による低酸素条件（DO:1mg/L以下）で溶出試験を行った。分析用に採取した試料はオートアナライザー（ブラン・ルーベ社製）にてNH_4-N，NO_2-N，NO_3-N，T-N，PO_4-P及びT-Pの分析を行った。

2.5　藻類増殖潜在能力試験

1)　試験方法および条件

藻類増殖を助長する要因並びに阻害要因について検討するために藻類増殖潜在能力試験を実施し，各水域の底質性状（栄養塩類，金属類等）が藻類増殖に及ぼす影響の評価を行った。試験に用いた藻類は，2008年８月１日に西浦の土浦出張所入り江(図－１)にて採取した天然アオコ（写真－２，優占種　藍藻：*Microcystis* sp.）株とした。優占種である藍藻（*Microcystis* sp.）を顕微鏡観察にて単離，その後，単離培養を繰り返して増殖した株を試験に用いた。

試験においては，底泥溶出実験終了後20日目の各直上水を別途採取し（その水質を表－１に示す)，0.22μm のメンブレンフィルターにてろ過後，ろ液各50mLを三角フラスコ（100mL）中に入れ，西浦から単離・培養した *Microcystis* sp.株をクロロフィルａ濃度として20μg/Lを添加，藻類培養実験を開始した。藻類の培養試験条件を下記に示す。



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

表－１　藻類増殖試験（培養液水質）

試験水（溶出実験終了時）		NH4-N	PO4-P	NO3-N	NO2-N	D－P	D－N	DOC
		mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L
湖心	好気条件	0.39	0.13	2.93	0.12	0.18	4.19	8.38
浚渫区		0.40	0.09	4.01	0.16	0.13	4.13	9.50
釜谷沖		1.17	0.53	2.38	0.06	0.54	4.62	17.59
湖心	嫌気条件	1.54	1.19	0.59	1.04	1.25	3.85	9.88
浚渫区		3.02	1.34	0.02	0.22	1.38	3.84	10.63
釜谷沖		0.72	1.54	0.67	3.27	1.54	5.31	11.72

藻類培養試験条件

照度：明暗条件：各 12 時間

温度：26℃（アオコ発生時の現地水温）

照度：5000 Lux

培養期間：30 日間

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

2) 分析方法

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

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

使用機器：GL ｻｲｴﾝｽ社 GL-7400，設定条件：

① カラム ：Inertsil ODS-3 3×250mm（GL-サイエンス）

② 移動相： メタノール：エタノール＝８：２

③ 流量： 1mL/min

④ 蛍光波長： 励起波長 430nm，測定波長 670nm

⑤ カラム温度： 40℃

⑥ 注入量： 50μL

⑦ 分析時間： 15 分

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

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

藻類培養条件

照度：明暗条件：各 12 時間

温度：24℃

照度：4000 Lux

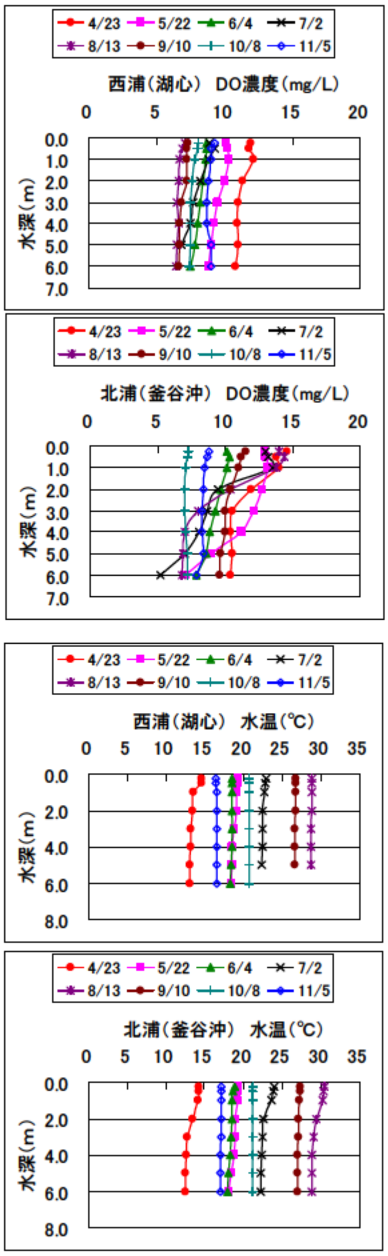
培養期間：21 日間

3．研究結果

3.1 水質の季節変動

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

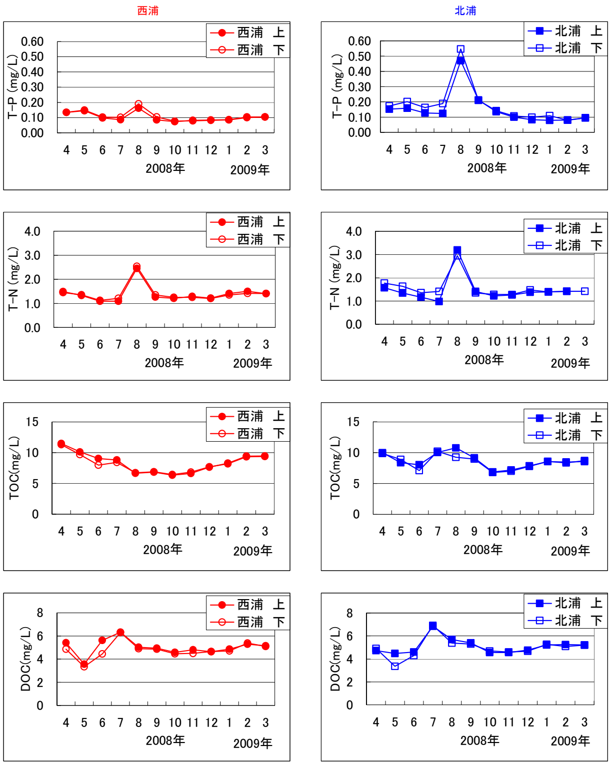
T-P，T-N，TOC，DOC の季節変動を**図－３**，クロロフィル a，D-COD，SS の季節変動を**図－４**に示す。



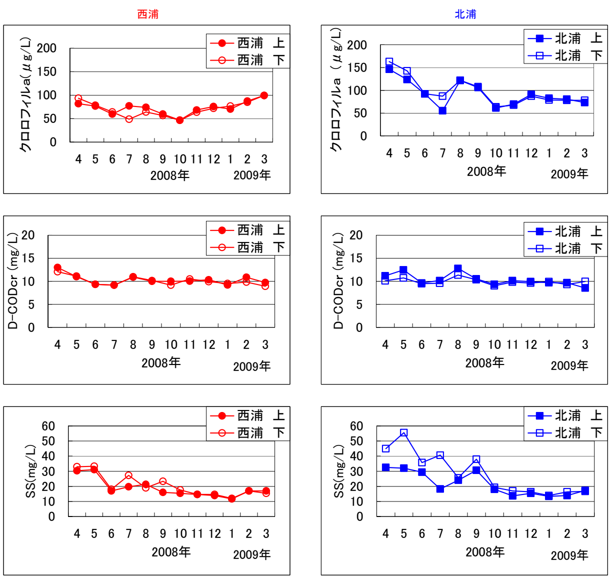
図－２ 現地調査時における DO と水温の季節変動と鉛直分布（西浦と北浦）

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

クロロフィルａ濃度は，春季から夏季までの間，西浦に比べ北浦が高い傾向を示した。春季のクロロフィルａ濃度が高い原因は,珪藻によると考えられ,



図－３　T-P、T-N、TOC、DOC の季節変動（西浦と北浦）

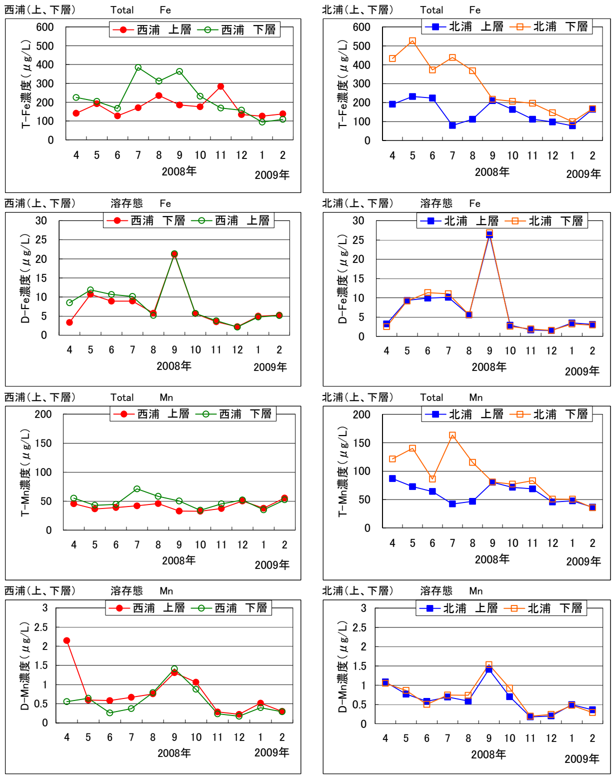


図－４　クロロフィルａ、COD、SS の季節変動（西浦と北浦）

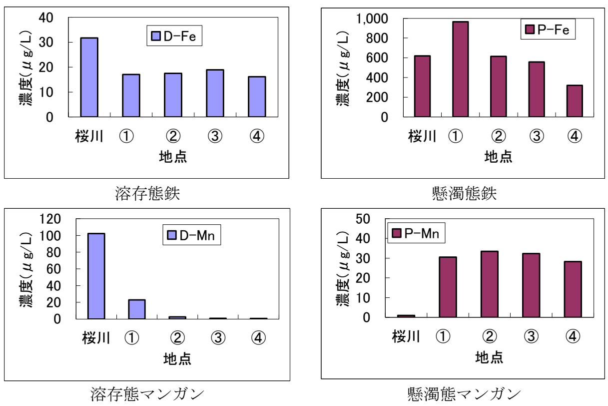
7～9 月に高い傾向を示しているのは，夏季の優占種である藍藻類によると考えられる。クロロフィル ａ の他項目との相関に関しては，SS が北浦の上層において，TOC が西浦・北浦の上下層において相関が強く，D-COD についても相関性が見られた。

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

水中の金属類（Total と溶存態-Fe，Mn）の季節変化を図－５に示す。Total の Fe と Mn は共に，下層



図－５　Total、溶存態の Fe・Mn の季節変動（西浦と北浦）



図－６　流入河川および湖水中の金属類（Fe，Mn）濃度

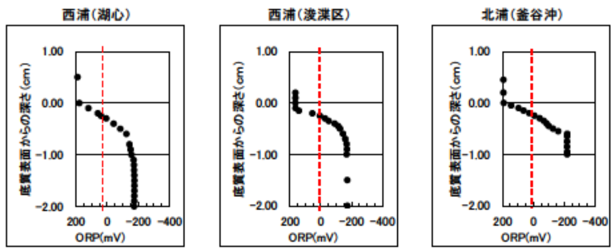
の濃度が上層に比べ高く，更に西浦（湖心）より北浦（釜谷沖）の濃度が高い傾向を示した。溶存態のMn については，北浦において上層より下層が高い傾向を示しており，Total-Mn や Fe が下層で高い理由として底泥からの Mn 溶出の影響と推察される。なお，定期調査の試料の採水は，霞ヶ浦河川事務所の調査時に同時に行った。

流入河川（桜川）および湖水中の Fe, Mn 濃度の分布確認を行った結果を**図－６**に示す。水中の溶存態 Fe, Mn は流入河川から湖内に向かうにつれ低下し，特に Mn において湖水中での濃度が極端に小さくなった。マンガンの空気酸化は，pH が 10 以上でないと起きないことから，溶存態マンガンの低下は湖内に存在するマンガン酸化細菌の影響によると考えられる。

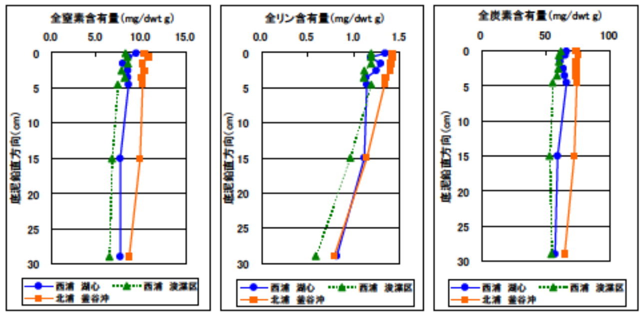
3.2　底質の性状

調査期間中の底泥および間隙水に含まれる富栄養物質（窒素・リン等）と微量必須元素（鉄・マンガン等）の調査を行った。底泥中の ORP（酸化還元電位）の変化を**図－７**に示す。ORP は，北浦が西浦に比べ 3mm ほどの浅い深さから緩やかに還元状態となる傾向を示した。夏季における底泥中の全リン，全窒素および全炭素の含有量を**図－８**に，底泥鉛直方向の間隙水中の D-N, D-P, DOC および Fe・Mn の濃度を**図－９**に示す。

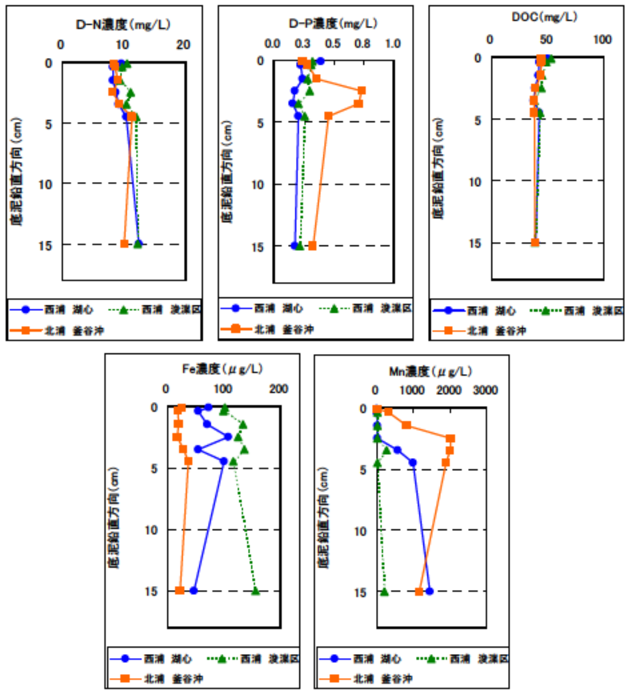
夏季の霞ヶ浦底泥中の全リン，全窒素，全炭素含有量の鉛直分布を地点毎に比較すると，北浦（釜谷沖）＞西浦（湖心）＞浚渫区（牛込沖付近）となっており，北浦が西浦の２地点よりも高い値を示した。底泥間隙水中のD-P濃度は，北浦（釜谷沖）の 2～5cm までの濃度が西浦（湖心，浚渫区）よりも顕著に高かった。DOC濃度は，西浦と北浦ともに差は確認されなかった。Fe濃度は，西浦（浚渫区）が最も高く，北浦は西浦に比べ低かったが，最大濃度は 100μg/L 程度であり，湖水と比べて顕著に高くはなかった。Mn濃度は，北浦が西浦に比べ高く，底泥表層下数cm がより高かった。さらにその濃度は，2,000μg/Lに達し，湖水に比べて非常に高い値であった。なお，西浦の最表層において低い値を示しているのは，北浦よりも還元状態が弱く，Mnの還元反応が生じにくくなっているためと考えられる。この測定により，北浦において栄養塩類・有機物含有量が高く，還元性が強いためにPO_4-PやMnの間隙水中の濃度が高くなっていると底質性状を把握することができた。このため，水温の上昇やDOの低下，風浪等による巻き



図－７　底泥中の ORP 鉛直分布（夏季）



図－８　底泥中の全リン、全窒素、全炭素含有量（夏季）



図－９　底泥間隙水における D-N，D-P，DOC と Fe・Mn の濃度（夏季）

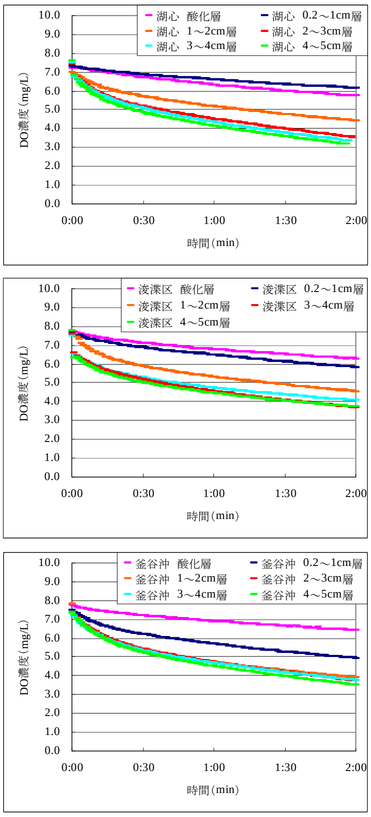
上げにより[5]，栄養塩類等の溶出は北浦において高い可能性が示唆された。

3.3　底泥の酸素消費速度

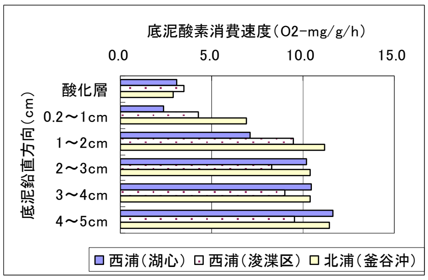
各地点の層別底泥における撹拌系での酸素消費濃度の変化（30℃：暗室）を**図－１０**に示す。実験は2時間まで行い，0.5 時間目までの平均的酸素消費速

度について評価を行った。(図－１１)。

表層酸化層における 0.5 時間後の酸素消費速度を水域別に見ると北浦（釜谷沖）: 2.9 mgO_2/（g・h），西浦（湖心）: 3.1 mgO_2/（g・h），西浦（浚渫区）: 3.5 mgO_2/（g・h）となり，各地点とも近い値を示した。しかしながら，0.2～１cmと 1～2cmの還元層では，北浦（釜谷沖）＞西浦（浚渫区）＞西浦（湖心）であり，北浦に比べると西浦の酸素消費速度が低いことが分かった。時間別にみると，初期の 0.5 時間が最も速く，時間の経過につれDOの消費速度が低下する傾向を示した。これにより，北浦の 0.2～2cm深さの底泥は酸素消費能力が高く，底層水の混合状態が弱まった場合には，DO濃度が低下しやすいことが



図－１０　各地点の層別底泥における酸素消費濃度の変化



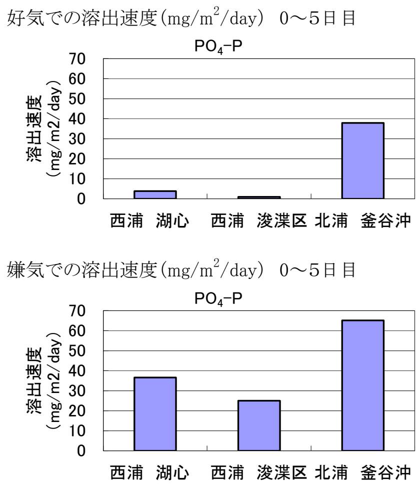
図－１１　各層別による底泥の酸素消費速度

明らかとなった。

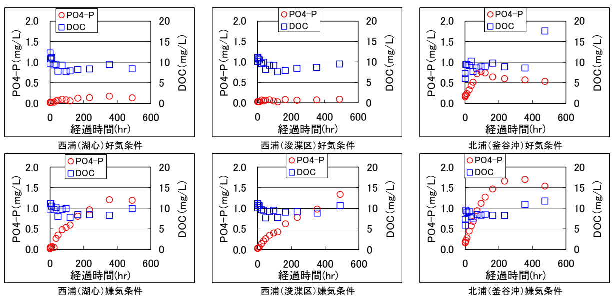
3.4　底泥の栄養塩類と金属類の溶出

夏季の高水温期（30℃）における底泥からのPO_4-P溶出速度の結果を図－１２に示す。また、底泥からのPO_4-PとDOCおよび溶存態金属類（Fe，Mn）の溶出挙動を図－１３，図－１４に示す。

溶出速度は 0～5 日目にて算出した。PO_4-Pの溶出速度は，好気条件において北浦（釜谷沖）が 37.9mg/m²/day と最も高く，西浦（湖心）: 3.8mg/m²/dayおよび西浦（浚渫区）: 0.93mg/m²/dayは低い値を示した。嫌気条件においては，更に北浦（釜谷沖）が 65.1mg/m²/dayと高く，次いで西浦（湖心）で 36.6mg/m²/day，西浦（浚渫区）の溶出速度が最も低く 24.9mg/m²/dayであり，好気・嫌気条件共に北浦（釜谷沖）＞西浦（湖心）＞西浦（浚渫区）の傾向を示した。底泥浚渫により底泥表層の分解されやすい有機物を含んだ層が除去された浚渫区は，PO_4-P溶出において低い傾向を示した。なお，冬季の低水温期（5.5℃）には，夏季と比較して顕著に溶出が抑えられていた。



図－１２　底泥溶出試験における溶出速度の比較（好気・嫌気条件）

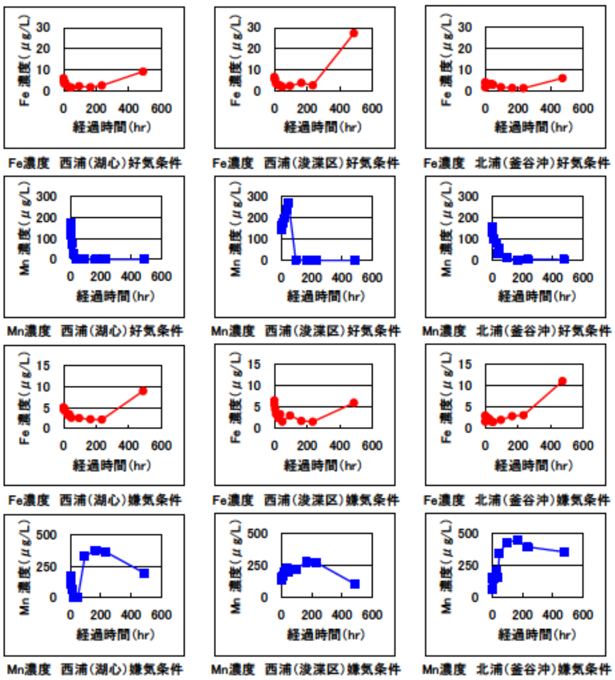


図－１３　底泥溶出実験におけるPO_4-PとDOCの溶出挙動

底泥中の全リン含有量，間隙水中のPO_4-P濃度，底泥の酸素消費速度は，西浦に比べ北浦の底質が高く，DOの低下やそれに伴うリン溶出が，北浦において進行しやすいことが分かった。

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

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



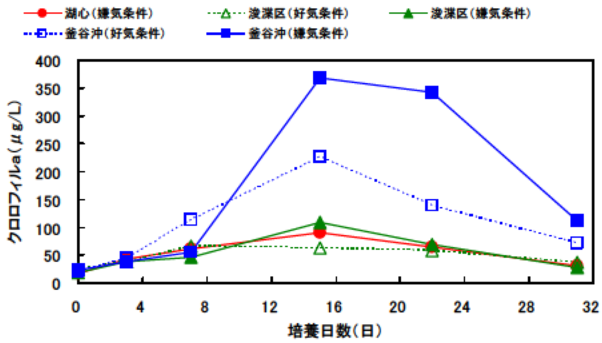
図－１４　底泥溶出実験における溶存態金属類（Fe，Mn）の溶出挙動

3.5　藻類増殖潜在能力

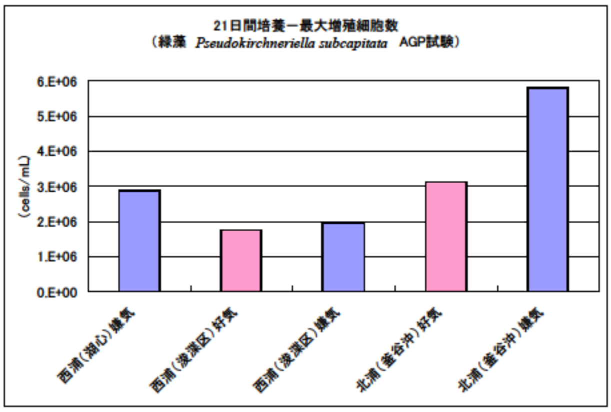
現地藍藻の単離培養株（*Microcystis* sp.）を用いた藻類増殖試験に用いた試験水の各濃度を**表－２**に，結果を**図－１５**に示す。嫌気条件における最大増殖細胞数を示した 15 日目のクロロフィル a の濃度は，西浦の湖心水で 90 μg/L，浚渫区水で 108 μg/L，北浦の釜谷沖水では 368 μg/L であり，北浦が西浦に比べ３倍以上高い値を示した。また，好気条件での溶出水についても，クロロフィル a は同様な傾向を示した。種類の異なる緑藻（*Pseudokirchneriella subcapitata*）を用いた試験結果を**図－１６**に示す。クロロフィル a 濃度が最も増加した培養液は，藍藻と同様に北浦（釜谷沖）の溶出試験嫌気条件 20 日目終了後の直上水であった。

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

藻類培養試験水		NH4-N mg/L	NO2-N mg/L	NO3-N mg/L	I-N mg/L	D−N mg/L	PO4-P mg/L	D−P mg/L	DOC mg/L	D-Fe μg/L	D-Mn μg/L
湖心	好気条件	0.39	0.12	2.93	3.44	4.19	0.13	0.18	8.38	9.2	0.6
浚渫区		0.40	0.16	4.01	4.57	4.13	0.09	0.13	9.50	27.4	0.8
釜谷沖		1.17	0.06	2.38	3.61	4.62	0.53	0.54	17.59	6.0	3.9
湖心	嫌気条件	1.54	1.04	0.59	3.17	3.85	1.19	1.25	9.88	9.0	197
浚渫区		3.02	0.22	0.02	3.26	3.84	1.34	1.38	10.63	6.0	108
釜谷沖		0.72	3.27	0.67	4.65	5.31	1.54	1.54	11.72	11.1	359



図－１５　藻類（藍藻）培養結果



図－１６　藻類（緑藻）培養結果

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

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

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

しかし，D-Mn の溶出濃度が北浦で大きいことから，底質の還元性は北浦が強いと考えられ，同時に溶出すると想定される有機物等の影響によって好気・嫌気の結果を併せて見ると，還元性の強い北浦において藻類増殖が大きいことから，底質の性状が藻類増殖に影響を及ぼしている可能性があるのではないかと考えられる。

４．まとめ

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

1）夏季の高水温期には，北浦において DO 濃度が下層ほど低くなる傾向があり，それに伴い底泥からの栄養塩類と金属類の溶出が増し，湖水に影響している実態の把握が行えた。

2)水質改善事業対策の実施状況の異なる西浦と北浦では，水質だけでなく底質状況も異なった。対策等が遅れている北浦において，底泥間隙水中のPO_4-P 濃度とD-Mnの濃度が大きいとともに，これらの溶出速度も大きかった。また，酸素消費速度も表層近くで大きい値を示した。

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

参考文献

1）藤永太一郎，宗林由樹，一色健司（2005）海と湖の化学－微量元素で探る－, 京都大学学術出版会, pp.312-332

2） Akira Otsuki，Noriko Takamura（1988）Comparison of chlorophyll-a concentrations measured by fluorometric HPLC and spectrophotometric methods in highly eutrophic shallow Lake Kasumigaura，Internationale Vereinigung fuer Theoretische und Angewandte Limnologie. Verhandlungen IVTLAP Vol. 23，No. 2，pp. 944-951

3）山下尚之，田中宏明，宮島潔，鈴木穣（2005）マイクロプレートを用いた AGP 試験の検討，水環境学会誌，Vol.28, No8, pp.493-499

4) 小松伸行，北村立実，石井裕一，北澤大輔（2007）霞ヶ浦における貧酸素水魂の現地観測, 茨城県霞ヶ浦環境科学センター年報　第３号，pp.83-92

5) 関智弥，福島武彦，今井章雄，松重一夫（2006）霞ヶ浦の濁度上昇と底泥巻き上げ現象，土木学会論文集 G, Vol.62,No1,pp122-134

6）岡安祐司，原田新，鈴木穣（2009）下水の高度処理による付着藻類増殖の抑制，第 43 回日本水環境学会年会講演集，pp.359

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
研究員　久岡　夏樹

1．はじめに

近年，多くのダム湖で富栄養化による藻類異常増殖と，それに伴う景観障害や異臭味などの発生に対する対策を行っているが，従来の手法では効果が思わしくない例が少なくない．このため，より効果的な対策技術の開発が待たれている．

そこで，当課題では微量金属を対象としたダム湖の富栄養化対策として，手法の異なる２つの現地実験(担体実験，高濃度酸素水供給実験)を行ったので報告する．

2．担体実験

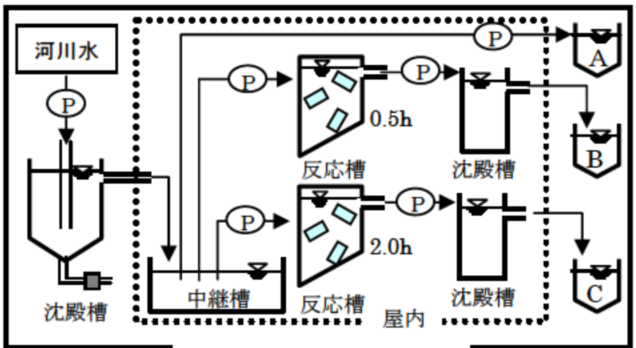
2.1　実験概要

当チームの既往の研究より，下水処理水に，微生物保持担体を用いて好気的処理を行うことで，微量金属濃度の低下と藻類の増殖抑制効果が確認されている．

本研究では対策技術の一つとして，微生物保持態である担体を用い，そこに自然に発生する微生物の反応を利用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．

2.2　実験方法

藻類異常増殖が問題となっているダム湖において，流入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取した水を用いて実験を行った．

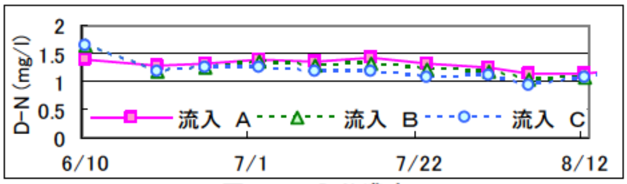


図－１　実験装置概要

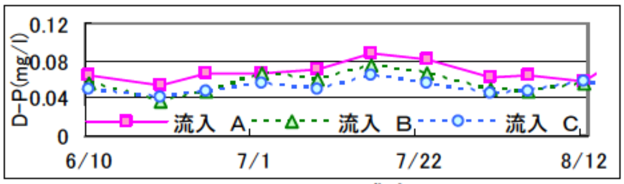
実験系は，河川水そのままのもの（A)，反応槽（ポリプロピレン製の微生物保持体を体積比で 30％添加）で曝気を行いながら 30 分間処理を行ったもの（B）と 2 時間処理を行ったもの（C）の計３系である．B と C は処理後に沈殿槽を通した．３系の水をそれぞれ屋外に設置したタンクへ溜め，それぞれのタンク内に発生する藻類の Chl.a 濃度を比較した．各系の試験水はそれぞれ採取して持ち帰り，栄養塩や微量金属の濃度等を測定した．

2.3　結果

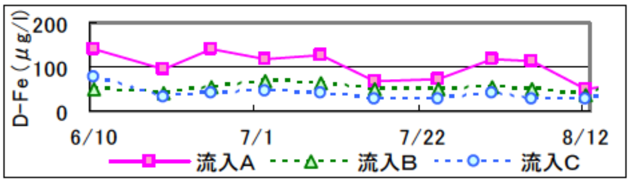
タンクへの流入水を採取し，溶存態 N，P 濃度および溶解態微量金属（Fe，Mn）濃度を分析した結果をそれぞれ図－２，３，４，５に示す．



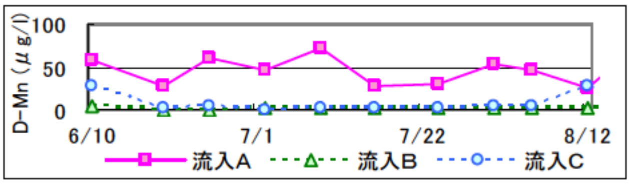
図－２　D-N 濃度



図－３　D-P 濃度



図－４　D-Fe 濃度

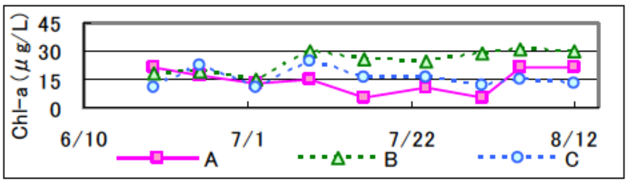


図－５　D-Mn 濃度

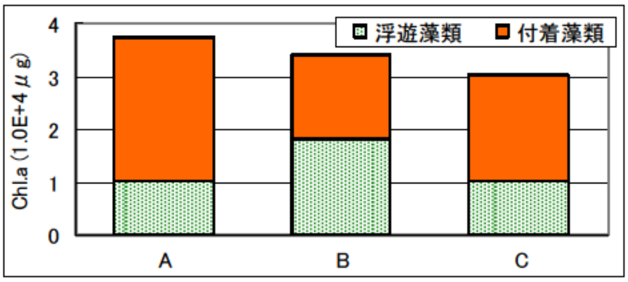
D-N，D-P 濃度に関して各ケース間で大きな差は認められないが、微量金属の Fe，Mn については、A に比べ，B，C の濃度が低くなっている．これらは、微生物保持体上に生育した微生物によって酸化され，沈

殿槽で沈降し，取り除かれたと考えられる．

また，タンク内に発生した浮遊藻類の Chl.a 濃度の経日変化を図－6に示す．浮遊藻類は珪藻が優占種であった．各系を比較すると，処理時間の長い C は B より低い値であったが，A も同様に低い値を示した．この原因として，壁面に多く発生した珪藻が浮遊藻類の増殖を妨げていると考えられた．そこで，流量と定期計測した Chl.a 濃度から算出した浮遊藻類の累計 Chl.a 量と，壁面に発生した藻類をこそぎ落として測定した Chl.a 量を足して系ごとに比較したところ（図－7），A の付着藻類量が多く，担体処理により藻類の Chl.a 量が抑制されていることがわかった．



図－6　浮遊藻類 Chl.a 濃度経日変化



図－7　タンク内累計 Chl.a 量

2.4　結論

ダム湖へ流入する河川水に担体を用いて処理を行うことで、微量金属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，対象地を変更し，本技術の検証を行う予定である．

3. 高濃度酸素水供給実験

3.1　はじめに

日本の多くのダム貯水池では，春季から秋季にかけて，表層水が温められることにより底層水との温度差が生じ，水温躍層が形成される．このような状況下では，鉛直方向の水の混合が抑制されるため，底層への酸素供給が抑制される．一方，ダム貯水池に供給された有機物や，貯水池内で発生した藻類は，底層に沈降した後，微生物により分解され，その際に溶存酸素(DO)が消費される．これらの要因から，有機物濃度の高い貯水池においては，水温躍層が形成される時期に，底層は貧酸素状態となる．このような状態においては，好気性生物の棲息は困難となるとともに，底泥から栄養塩，有機物や金属などの溶出が増加し，貯水池の水質に悪影響を及ぼす．

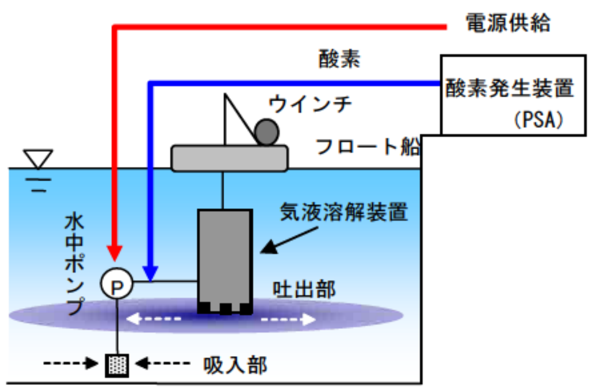
底層の貧酸素化対策としては，底層部に空気や酸素を供給する深層曝気方式[1)]が主として用いられてきたが，水平方向への拡散や，吐き出し高さの変更などに課題がある[2)]．新たな微細気泡発生装置を用いた方式[3)]や，DO の豊富な表層水を底層へ送り込む方法[4)]などが検討されているが，底層の貧酸素状態を完全に解消させるのは，未だ困難な状況にある．

また，気泡噴流により鉛直混合流を起こし，水温躍層を破壊して DO が豊富な表層水を底層へ送る曝気循環方式では，本来富栄養化の対策を目的としたものであり，底層の DO 改善がされにくく，底層水の浮上や底泥の巻き上げといった課題[3)5)]がある．

土木研究所では，水温躍層を破壊することなく，効果的に底層の DO 濃度を広範囲にわたり回復させることを目的として，株式会社松江土研との共同研究により，高濃度酸素水供給装置について検討を行った．また，高濃度酸素水供給による底層の金属類濃度の低減についても検討を行った．

3.2　高濃度酸素水供給装置

検討を行った高濃度酸素水供給装置を図－8に示す．本装置の特徴は以下の通りである．



図－8　高濃度酸素水供給装置

(1)水圧を利用しての酸素溶解

水中に設置した気液溶解装置において，水圧を利用することで，酸素を効率的に溶解させて高濃度酸素水

とする．装置を設置した水深における水圧を利用することにより，吐出後の発泡が生じず，上昇流や底泥の巻上げが生じにくい．なお，酸素は酸素発生装置(PSA)により，空気中の酸素濃度(21%)を高めた(90%以上)ものを使用する．これにより，高濃度酸素水の DO 濃度は 50～70mg/L とすることができる．

(２)高濃度酸素水の水平拡散

酸素を溶解させた状態で水平方向に吐出させることにより上昇流を抑制する．

(３)吐出量の自動制御

センサによる水温，DO の連続モニタリングを行い，吐出によって生じる流動により水温躍層が破壊されず，かつ，効率的に DO 濃度が確保されるよう，吐出量の自動制御を行うことができる．

3.3　ダム貯水池Ａにおける実験

水温躍層期に底層が貧酸素化して金属類濃度が高まるダム貯水池 A において，改良型の高濃度酸素水供給装置を用い，底層への酸素供給と金属類濃度の低減について検討を行った．

(１)実験方法

ダムの堤体付近に改良型の高濃度酸素水供給装置を設置し，8 月下旬～10 月にかけて高濃度酸素水供給実験を行った．定期的に，実験装置付近およびいくつかの補助地点において，多項目水質計を用いて DO 濃度等の測定，および採水，採泥を行った．なお，貯水池の最大水深は約 30m である．

(２)運転条件

装置の設置水深の変動を図-９に示す．

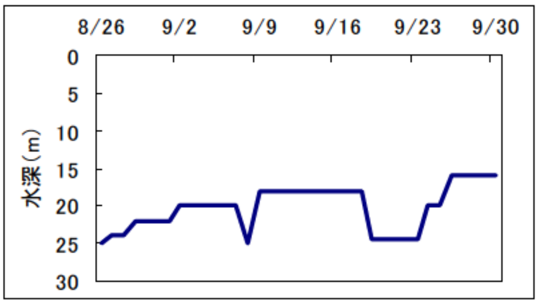


図-９　気液溶解装置の設置水深

運転は，最下層から DO 濃度の改善を図ることとし，所定の DO 濃度が達成された段階で，順次上方に向かって気液溶解装置を移動させる方式とした．なお，最下層の DO 濃度が低下した場合には，再度装置を下方に移動する操作も行った．実験期間中は 24 時間連続運転を行った．

(３)実験結果

ｉ)水温および DO 濃度

図－１０に示すように，実験開始前（8/26）に形成されていた水温躍層は，水深 15～25m の位置での酸素供給にかかわらず維持されており，酸素供給は，鉛直方向の水の混合を伴わずに行われていた．なお，表層水の水温は気温低下に伴い漸次低下した．

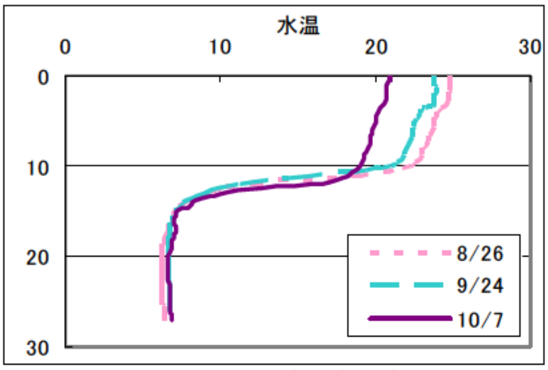
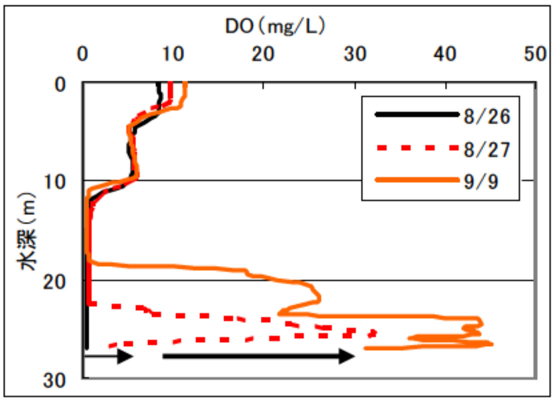


図-10　水温鉛直分布の変化

実験期間中の，気液溶解装置設置地点における鉛直方向の DO 濃度分布を図-11，12 に示す．

運転開始前の 8/26 には底層部の DO 濃度はほぼ 0mg/L であったが，運転開始後 1 日で酸素供給水深における DO 濃度が 30mg/L にまで上昇した．順次装置を上方に移動させ，また，再度最下層での酸素供給を行うことより，14 日後の 9/9 には水深 20m 以深の底層部で，DO 濃度が 20mg/L 以上にまで上昇した．



しかし，装置を上方へ移動させた結果，最下層において，高濃度酸素水の供給停止と有機物分解等に伴う酸素消費により，池底の DO 濃度は次第に低下し，図－12 に示すように，9/19 には再び約 0mg/L となった．

そこで装置を最下層まで下げて酸素供給を行ったところ，9/24 には再度 DO 濃度が上昇した．

装置設置場所より 370m上流に位置する，観測点(st.5)における DO 濃度鉛直分布の経日変化を図-13 に示す．装置稼動の 2 週間後(9/9)に底層の DO 濃度の上昇がみられた．その後も高い値を保ち続けたことから，上流まで高濃度酸素水が伝播していることが確認された．

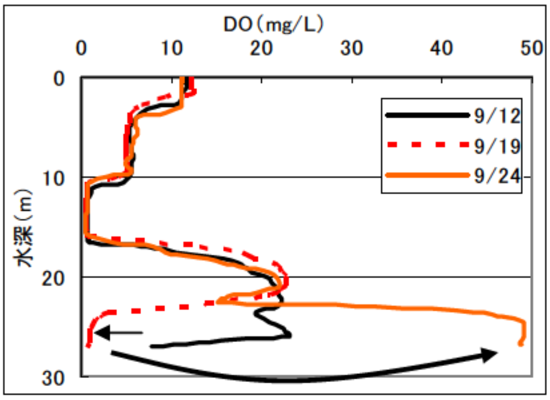


図-12 DO 濃度鉛直分布の変化（9/12～9/24）

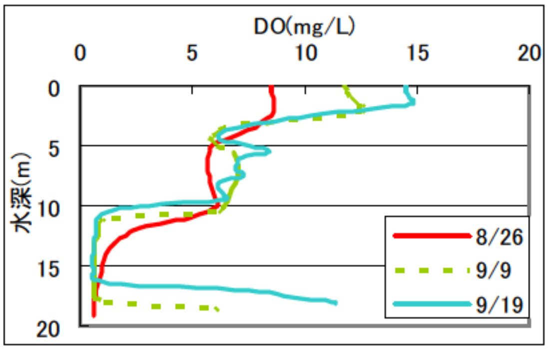


図-13 DO 濃度鉛直分布の変化(st.5)

ii)金属類濃度

気液溶解装置設置地点における金属類濃度鉛直分布の経日変化を，溶存態の鉄，ヒ素，マンガンについてそれぞれ図-14，15，17 に示す．

水深 25.5m における溶存態鉄（D-Fe）濃度（図-14）は，高濃度酸素水の供給開始後にいったん上昇したが，すぐに減少を始め，9/16 には表層水と同程度にまで低下した．9/19 に一旦最下層の DO 濃度がほぼ 0mg/L に低下したが，底泥からの再溶出による溶存態鉄の濃度上昇は見られなかった．

溶存態ヒ素（D-As）濃度（図-15）は，D-Fe と同様の挙動を示した．図-16 に減少 D-Fe 濃度と減少 D-As 濃度との関係を示す．D-Fe：D-As＝100：1 の比で，D-Fe の濃度変化につれ，D-As の濃度が変化していた．

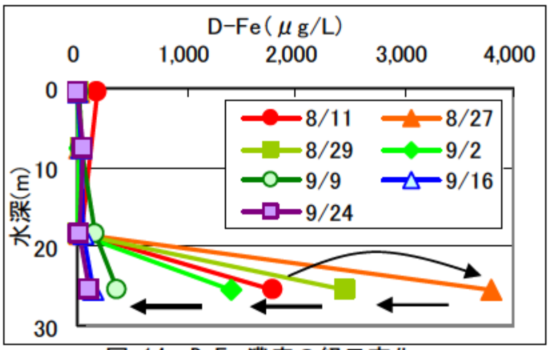


図-14 D-Fe 濃度の経日変化

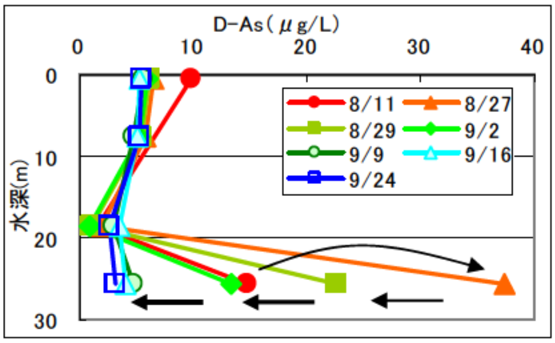


図-15 D-As 濃度の経日変化

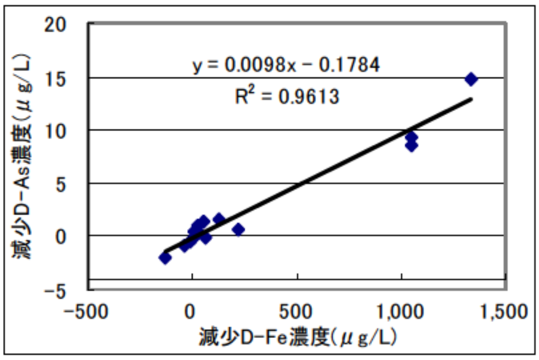


図-16 D-Fe と D-As の減少濃度の関係

溶存態マンガン（D-Mn）濃度（図-17）は，最下層の DO 濃度が上昇して約 2 週間後（9/9）に低下し始めた（①）．その後濃度は下がり続けた（②）が，最下層の DO 濃度が 9/19 にほぼ 0mg/L まで低下した後，9/24 には顕著に濃度が上昇した（③）．しかし，高濃度酸素水供給装置の設置水深を下げることで最下層の DO 濃度を上昇させると，D-Mn 濃度は再び低下する傾向が見られた（④）．Mn は還元されやすいため，D-Mn 濃度の十分な低下のためには DO 濃度を高く保ち続ける必要があると考えられることから，さらに運転方法等の検討が必要である．

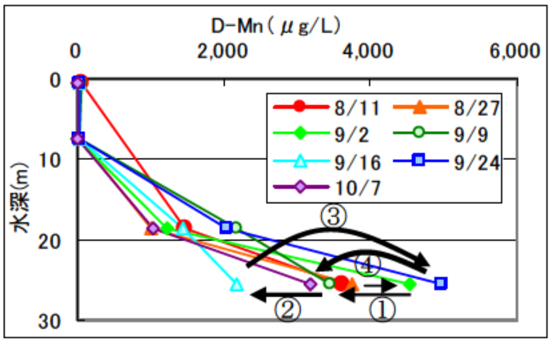


図-17　D-Mn 濃度の経日変化

装置運転開始直後に最下層の金属類濃度が上昇していることが図-14，15，17 から確認できる．これは，最下層付近に設置した実験装置を稼動させた際に起こった底泥の巻上げによるものであると考えられる．しかし，その影響は底層部のみに限られ，また速やかに沈降することが濁度の鉛直分布(図-18)より確認されており，表層の水質に影響を与えるものではないと考えられた．

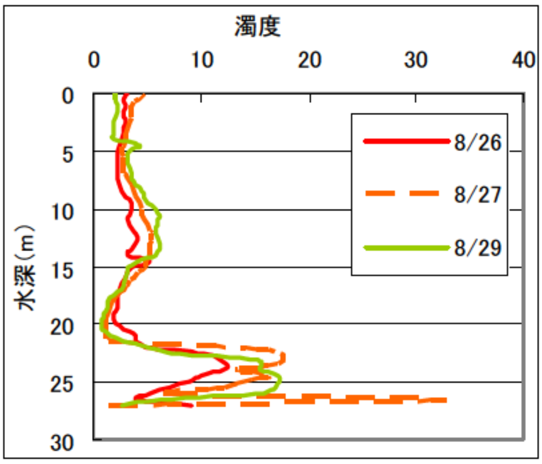


図-18　濁度鉛直分布の変化

3.4　まとめ

ダム貯水池底層の貧酸素状態を回復するとともに，金属類の濃度を低下させるため，水温躍層を破壊することなく，効果的に底層に酸素を供給する手法について検討を行った．

(1) 底層水を吸入し，加圧下で純酸素を溶解させ，これを底層に吐出する高濃度酸素水供給システムは，池底近くの DO 濃度を広範囲にわたって効果的に上昇させることが可能であった．

(2) 底層に吐出された高濃度酸素水は，等水温層に沿って水平方向に広がっていく挙動を示した．

(3) 酸素溶解に水圧を利用することを目的とした水中設置型の気液溶解装置は，これを上下可動させることで，水温躍層下の任意水深において，DO 濃度を回復させることが可能であった．

(4) 底層の DO 濃度回復により，鉄やヒ素といった金属類の濃度が低下することが確認された．

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) 中村悟，梶谷隆志：布目ダムにおける深層曝気装置の水質改善効果，ダム技術，No.164，pp.42-52，2000.
2) 国土交通省中国地方整備局山口河川国道事務所，島地川ダム水質改善検討委員会，第 2 回委員会資料，p.30
3) 道奥康治，神田徹，大成博文，森口昌仁，松尾昌和，松尾克美：曝気形態と貯水池深層水質との関係について，水工学論文集，第 46 巻，pp.1091-1096，2002.
4) 小松利光，長谷部崇，松永崇，井上徹教，藤田和夫，井芹寧，西元誠，稲垣晃：底層への表層水連続供給による貯水池の水質改善実験，水工学論文集，第 45 巻，pp.1207-1212，2001.
5) 天野邦彦，藤原正好：成層破壊型曝気循環による貯水池水質変化の現地観測とその評価，環境工学研究論文集，第 39 巻，pp.191-200，2002.
6) 津森ジュン，田中宏明，鈴木穣，李建華，和田順之輔，田中克知，福井真司：貯水池底層への高濃度酸素水供給による水質変化の連続観測，環境工学研究論文集，第 41 巻，pp.625-634，2004
7) 清水俊昭，矢沢賢一，丹羽薫：三春ダムさくら湖の水質保全対策，ダム技術，No.143，pp.71-81，1998.
8) 高柳淳二，他：閉鎖性水域の底泥対策技術に関する研究，土木研究所報告，No.209，pp.135-144，2008

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

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：水環境研究グループ（水質）
研究担当者：鈴木穣、北村友一

【要旨】
湖水中の植物プランクトン群集の迅速検出の開発を目指し、琵琶湖と霞ヶ浦湖水を測定対象としてフローサイトメトリーの適用性を検討した。その結果、フローサイトメトリーを用いることにより植物プランクトン群集は、植物プランクトンの散乱特性と細胞内に含有するクロロフィルなどの色素とその量の違いから分類・定量できることがわかった。琵琶湖湖水中の植物プランクトンは、赤色と黄色蛍光強度の関係、霞ヶ浦では、前方散乱強度と赤色蛍光強度の関係から概ねグルーピングでき、それぞれの集団を計数できることがわかった。また、フローサイトメトリーによる琵琶湖湖水の測定から、夏季に表層付近でピコ植物プランクトンと考えられる藻類が増加することがとらえられ、フローサイトメトリーは微細植物プランクトンの検出にも有効であることがわかった。フローサイトメトリーで検出された各集団について、分取、同定していくことにより、植物プランクトン群集の迅速検出が可能になるものと考えられた。

キーワード：植物プランクトン群集、フローサイトメトリー、琵琶湖、霞ヶ浦

1. はじめに

湖水中の植物プランクトンの種類や存在量は、湖沼の富栄養化の指標となり、湖沼環境を把握する上で重要である。しかし、植物プランクトンの同定や存在量の測定は、専門的技術や知識を必要とし、簡単に把握できないのが現状である。

そこで、本研究では、湖水中の植物プランクトンの迅速検出の開発を目指した。湖水中の植物プランクトンの迅速検出には、フローサイトメトリー（レーザー光を用いて細胞１つひとつを散乱や蛍光特性の違いから計測する技術）による測定が有効と考えられる。そこで、琵琶湖と霞ヶ浦の湖水を測定対象とし、湖水中の植物プランクトンをフローサイトメトリーで測定した際、どのような情報が得られるのか、また植物プランクトンの種類の判定やその計数が可能かどうかを調査した。

2. 調査方法

図-1, 2 は、琵琶湖と霞ヶ浦の湖水の採水地点である。琵琶湖の採水は、平成 19 年 5, 8, 11, 平成 20 年 2 月に、安曇川沖の水深 0.5m, 5m, 10m, 20m, 50m, 約 60m（底面上 1.5m）と大宮川沖の水深 0.5m から行った。

霞ヶ浦では、平成 20 年 4 月から平成 21 年 3 月の間、毎月、西浦と北浦の湖心の表層水を採水した。

図-3 は、本実験に使用したフローサイトメーターの概要である。レーザーは 488nm のアルゴンレーザーを使用し、側方散乱強度（Side scatter:SS）、前方散乱強度(Forward scatter:FS)、緑(525nm±15nm)、黄（575nm ± 15nm）、橙（610nm ± 15nm）、赤色蛍光（675nm±15nm）強度を測定した。なお、本実験で使用した装置には、任意の集団を分取できる機能がある。

湖水はフローセルの目詰まりを防ぐため 50 μm のナイロン製メッシュでろ過し、ろ液を 0.5ml または 1ml をフローサイトメーターにより測定した。

図-1　琵琶湖の採水地点

図-2　霞ヶ浦の採水地点

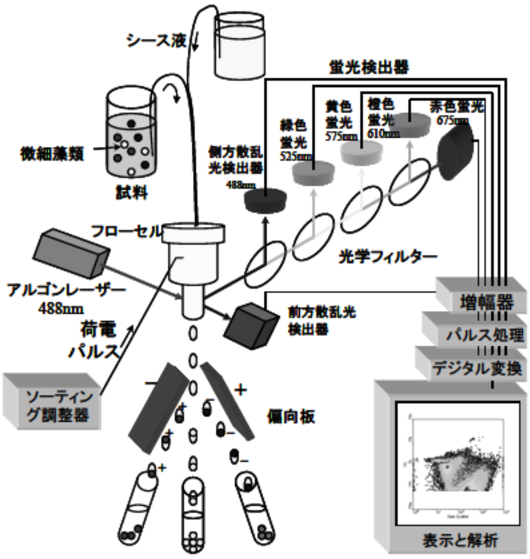


図-3　フローサイトメーターの概要図

3. 調査結果

3.1　琵琶湖湖水中の植物プランクトンの測定結果

図-4～9 は、平成 19 年 8 月に琵琶湖安曇川沖水深 5m から採水した湖水のフローサイトメトリー測定結果である。図-4, 5 は、前方散乱強度と赤色および黄色蛍光強度、図-7, 8 は側方散乱強度と赤色および黄色蛍光強度、図-6, 9 は、黄色および橙色蛍光強度と赤色蛍光強度の関係であり、図中のプロット１つひとつは、湖水中の粒子である。植物プランクトンが 488nm 付近の光で励起されると、細胞内に含有されるクロロフィルは赤色蛍光、フィコエリスリンは橙色蛍光を発することから、図中のプロットは、植物プランクトンを反映している。図-6 に示したように琵琶湖水中の植物プランクトンを赤と黄色蛍光強度の関係で図示することにより、色素の違いで分類できることがわかった。

図-10, 11 は、平成 19 年 5, 8, 11, 平成 20 年 2 月の琵琶湖安曇川沖と大宮川沖水深 0.5m の湖水中のプランクトンを黄と赤色蛍光強度の関係で図示したものである。季節によって図中のプロットのパターンが異なっていることがわかる。プロットが集中する位置の植物プランクトンを同定し、その関係を把握することにより、フローサイトメトリー測定でも、植物プランクトン種の変化を把握することが可能になるものと考えられる。

図中のA, B, C, D領域は、著者が赤色および黄色蛍光強度の強弱で簡易分類したものであり、図-12 は、季節毎に安曇川沖水深方向別と大宮川沖表層水中の植物プランクトン数をA、B、C、D領域毎に図示した

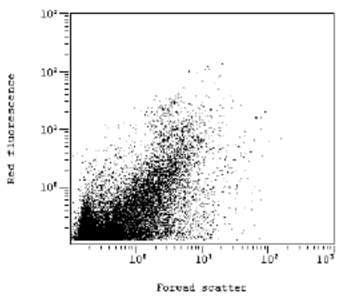


図-4　FS と赤色蛍光強度の関係

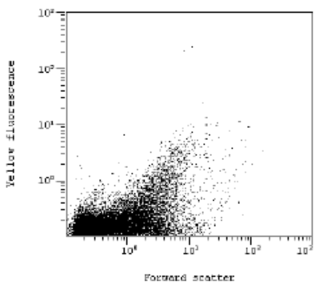


図-5　FS と黄色蛍光強度の関係

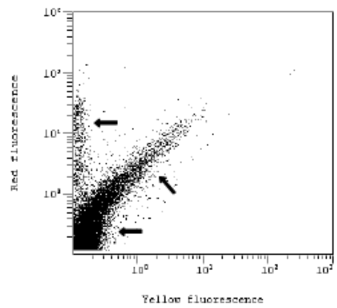


図-6　黄と赤色蛍光強度の関係

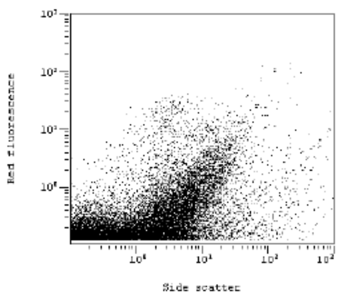


図-7　SS と赤色蛍光強度の関係

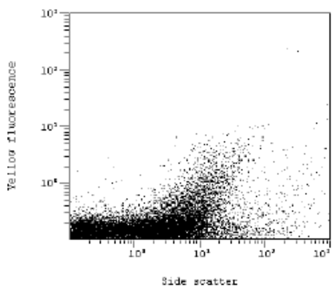


図-8　SS と黄色蛍光強度の関係

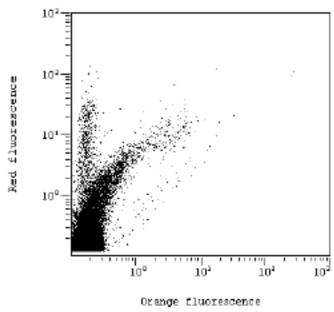
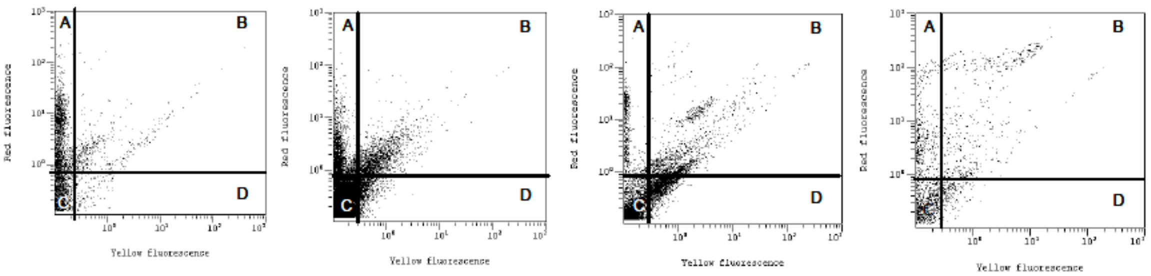


図-9　橙と赤色蛍光強度の関係

ものである。安曇川沖では８月にC領域（赤色および黄色蛍光強度の弱い集団）の植物プランクトン数が、水深10m以上で多くなることがわかる。水深10m付近では、1mlあたり約３万個と最大となった。琵琶湖では、夏季にピコプランクトン（0.2～2μm）が増加することが観察されており[1]、このC領域の植物プランクトンはピコプランクトンを反映していると考えられる。２月では、植物プランクトン数は減少し、水深別で植物プランクトン数に大きな違いはみられなかった。

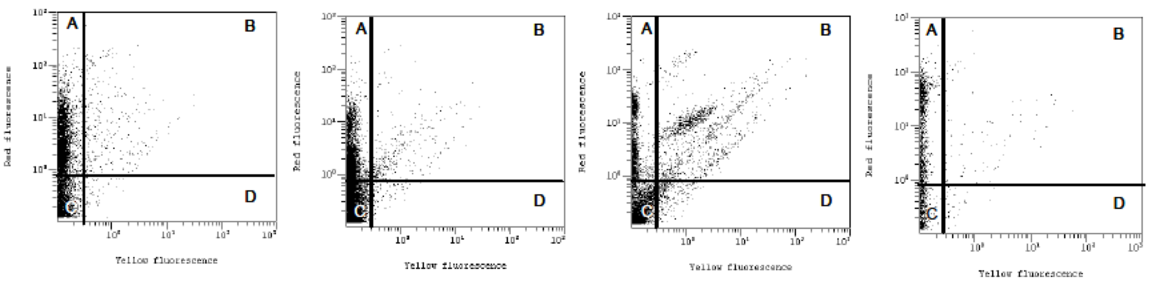
大宮川沖の植物プランクトン数は、８月に若干多くなるものの、安曇川沖に比べて季節変動は小さくなっていた。構成割合でみるとA領域（クロロフィルを多く含有する比較的大きな植物プランクトン）の割合が多くなっていた。

3.2　霞ヶ浦の植物プランクトンの測定結果



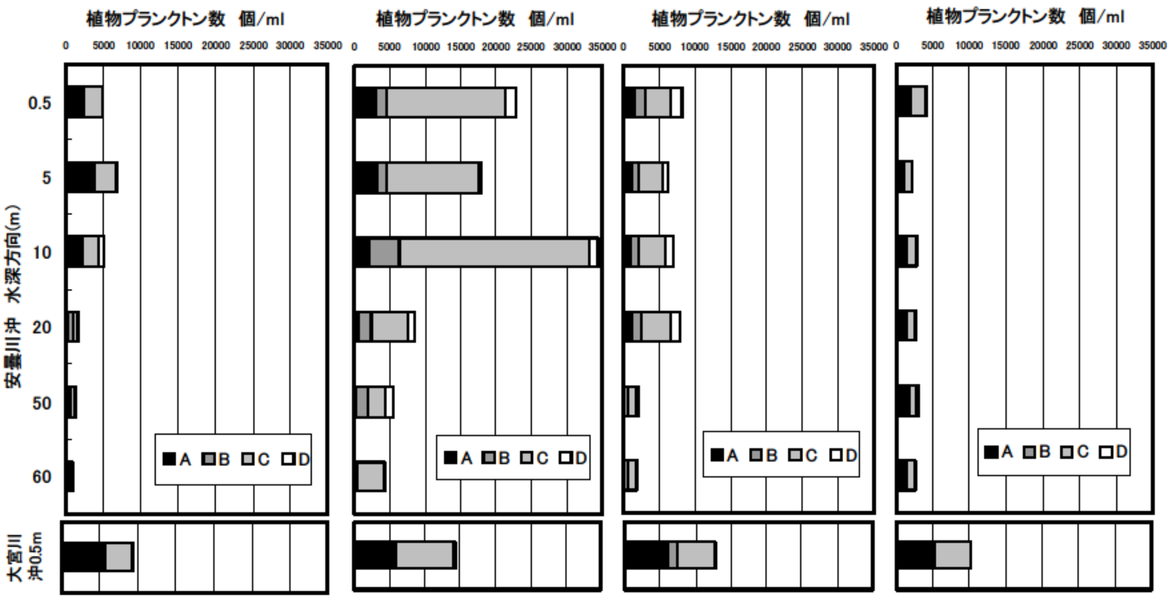
（5月）　（8月）　（11月）　（2月）

図-10　琵琶湖安曇川沖の水深0.5mの植物プランクトンの黄色と赤色蛍光強度の関係



（5月）　（8月）　（11月）　（2月）

図-11　琵琶湖大宮川沖の水深0.5mの植物プランクトンの黄色と赤色蛍光強度の関係



（5月）　（8月）　（11月）　（2月）

図-12　大宮川沖表層、安曇川沖水深方向別の植物プランクトンの種類と濃度の関係

図-13～18は､H20年8月の北浦湖水中のフローサイトメトリーの分析結果である。図-13, 14は、前方散乱強度と赤色および黄色蛍光強度、図-16, 17 は、側方散乱強度と赤色および黄色蛍光強度、図-15, 18は、黄色および橙蛍光強度と赤色蛍光強度の関係である。前方および側方散乱強度と赤色蛍光強度の関係で図示（図-13, 16）した場合、プロットが集中する位置があり、これらの関係で整理することにより概ねグルーピングできることがわかった。図-19は、9 月の西浦と北浦の湖水中の植物プランクトンを前方散乱強度と赤色蛍光強度の関係で図示し、主な集団を分取し、顕微鏡観察した結果である。顕微鏡観察像には、G 励起による蛍光顕微鏡像も合わせて掲載した。なお、顕微鏡写真は、多く観察された種類のみを掲載している。西浦や北浦のAとA’集団は、タルケイソウやマルケイソウ、Bは糸状ラン藻であるオシラトリア、Cは約10μmの微細ラン藻が主体である集団であった。北浦のD集団は、アウラコセ

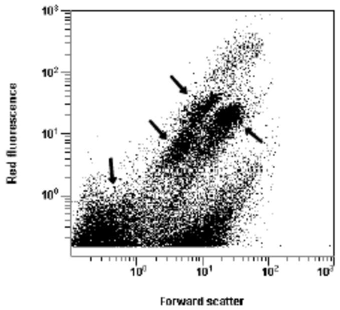


図-13　FSと赤色蛍光強度の関係

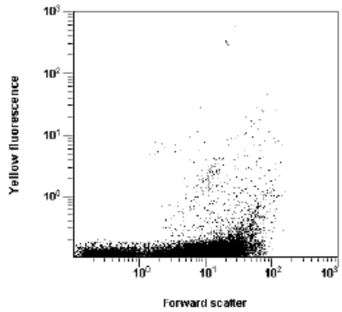


図-14　FSと黄色蛍光強度の関係

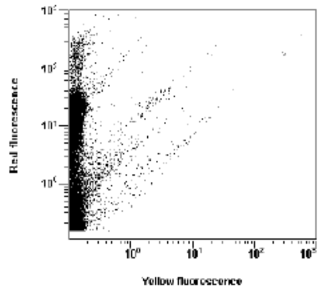


図-15 黄と赤色蛍光強度の関係

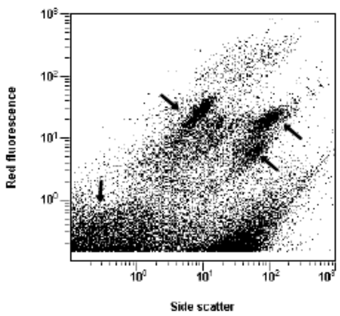


図-16　SSと赤色蛍光強度の関係

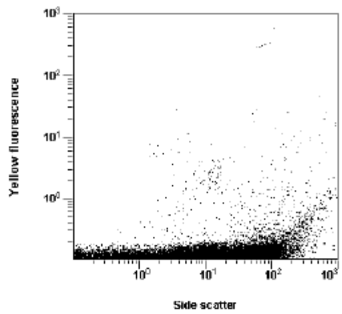


図-17　SSと黄色蛍光強度の関係

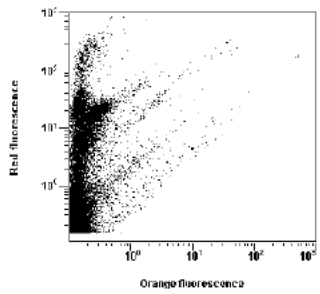


図-18 橙と赤色蛍光強度の関係

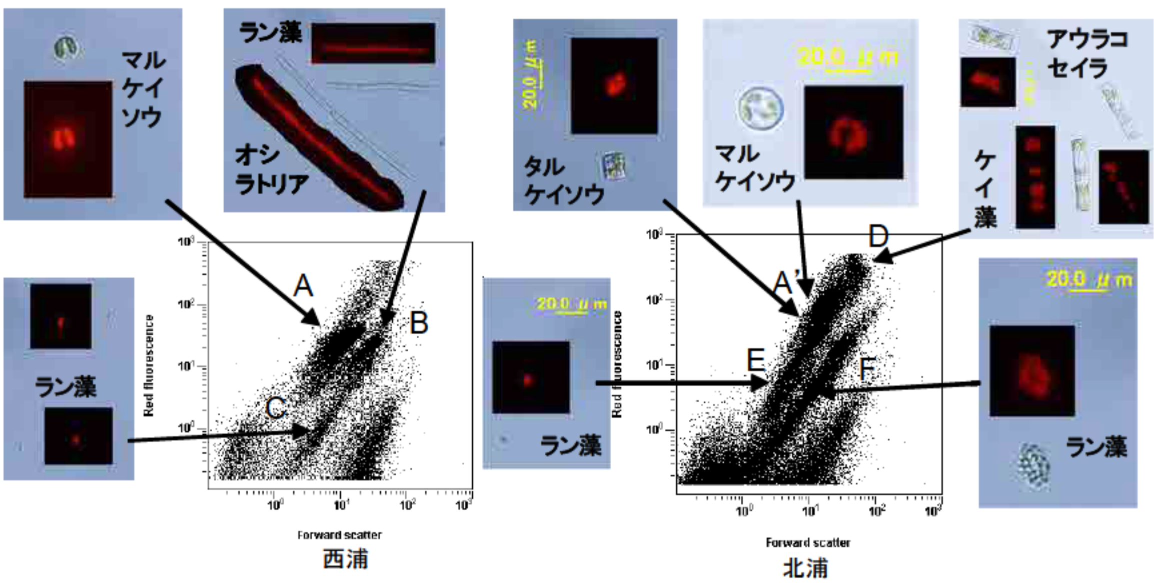


図-19　霞ヶ浦湖水の植物プランクトンのFSと赤色蛍光強度の関係と各集団の顕微鏡観察像

イラなどの大型のケイ藻、Eは微細ラン藻、Fは群体を形成したラン藻が多く含まれる集団であった。各集団の顕微鏡観察から、植物プランクトンの種類毎に完全にグループ化できていなかったが、フローサイトメトリーは、湖水中の植物プランクトンのスクリーニングには十分利用できるものと考えられた。

図-20は、H20年4月からH21年3月までの西浦と北浦湖水中の植物プランクトンを前方散乱と赤色蛍光強度の関係で図示したものである。図中のA,B,C,D領域は、植物プランクトンの簡易分類のため著者が前方および赤色蛍光強度の強弱で分割したものであり、図-21は、北浦と西浦の植物プランク

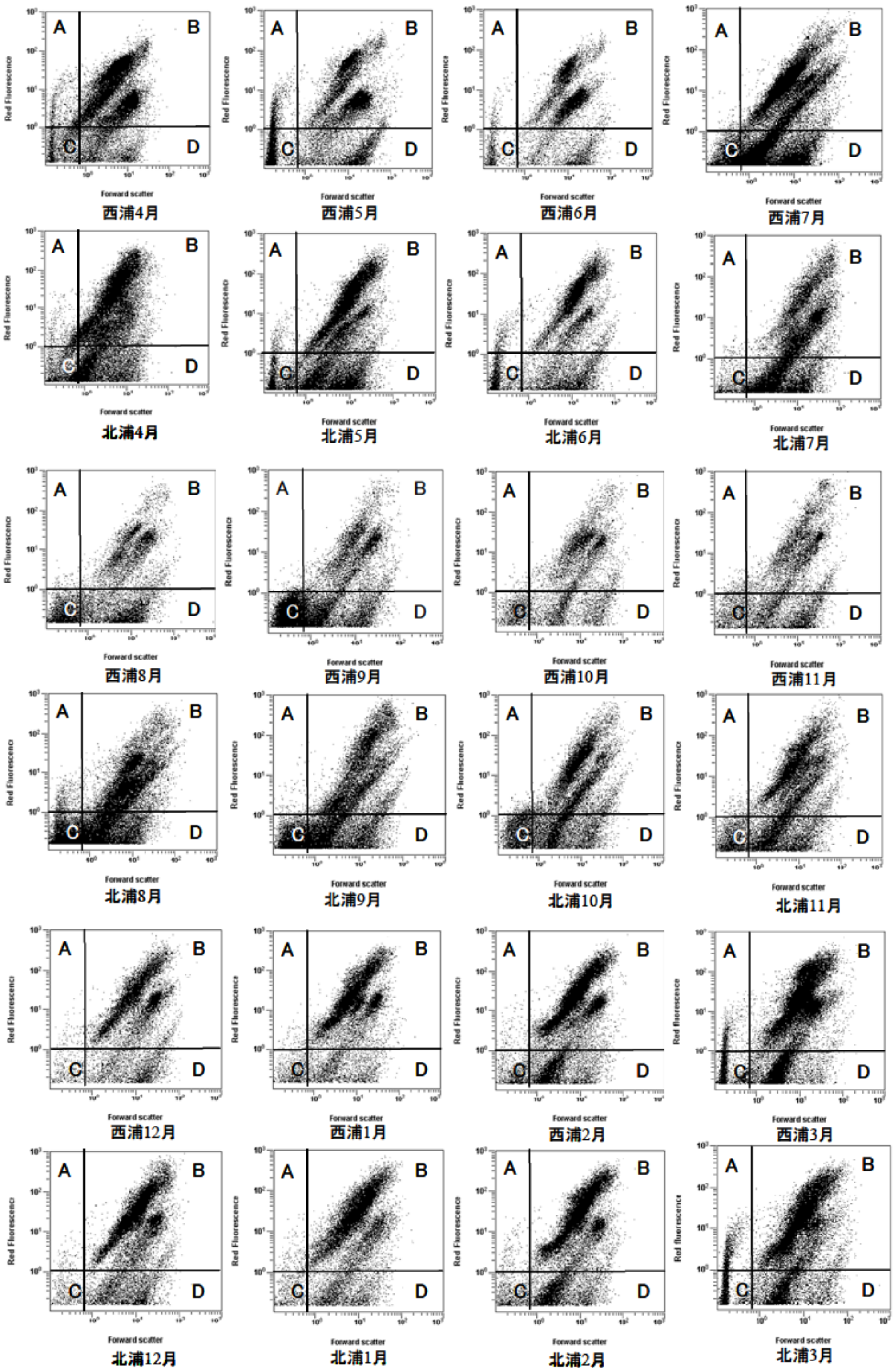


図-20 H20年4月～H21年3月の霞ヶ浦湖水中植物プランクトンのFSと赤色蛍光強度の関係

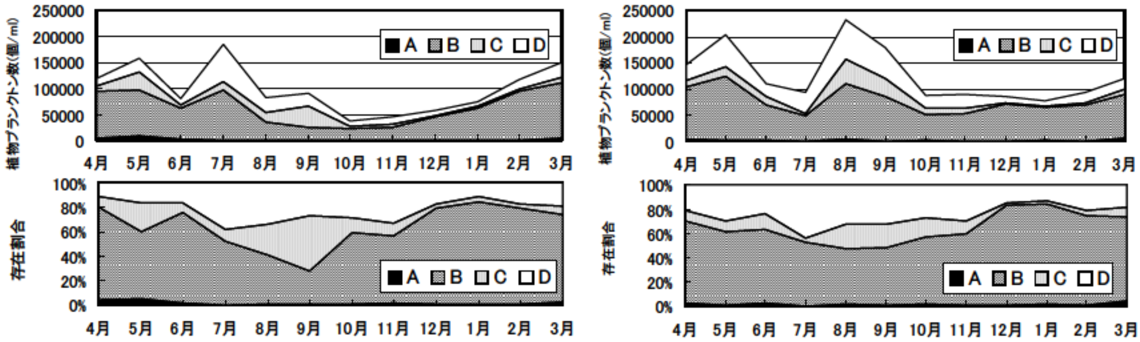


図-21　H20 年 4 月～H21 年 3 月の霞ヶ浦の植物プランクトン数と存在割合の経月変化

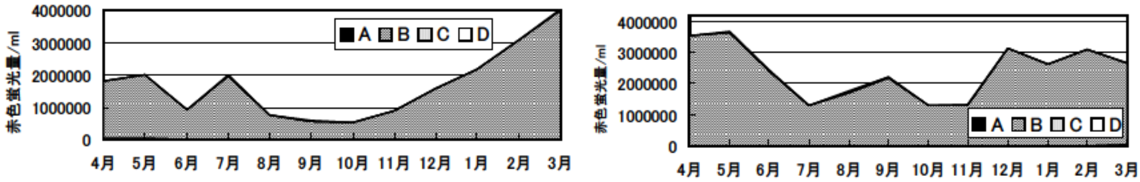


図-22　H20 年 4 月～H21 年 3 月の霞ヶ浦の赤色蛍光量の経月変化

トン数と割合をA、B、C、D 領域毎に図示したものである。図-20 より季節や湖間でプロットパターンが異なっていることがわかる。フローサイトメトリーは、湖間の植物プランクトン群集の違いの判別にも利用できるものと考えられた。

西浦では 9, 10, 11 月に B 領域のケイ藻やオシラトリア数が減少する傾向がみられた。

湖水中の植物プランクトンの中には群体を形成しているものもあり、フローサイトメトリーによる測定では、群体を 1 細胞と計数し、細胞数を過小計数する可能性がある。植物プランクトンの量ベースについての情報も必要であると考えられる。そこで、A, B, C, D 領域の総赤色蛍光量を次式

赤色蛍光量/ml=Σ(各赤色蛍光強度×細胞数/ml)（式 1）

で算出し、総赤色蛍光量の経月変化を図-22 に示した。赤色蛍光量は、概ね B 領域の細胞数と同様の傾向を示し、西浦では 9, 10, 11 月に低下する傾向を示した。

4. まとめ

湖水中の植物プランクトンの迅速検出の開発を目指し、琵琶湖と霞ヶ浦湖水を測定対象としてフローサイトメトリーの適用性を検討した。本研究で得られた成果は以下のとおりである。

1) フローサイトメトリーを用いることにより、植物プランクトン群集は、植物プランクトンの散乱特性と細胞内に含有するクロロフィルなどの色素や量の違いから分類・定量できることがわかった。

2) 琵琶湖湖水中の植物プランクトンは、赤色と黄色蛍光強度の関係、霞ヶ浦では、前方散乱強度と赤色蛍光強度の関係から概ねグルーピングでき、それぞれの集団を計数できることがわかった。

3) フローサイトメトリーによる琵琶湖湖水の測定から、夏季に表層付近でピコ植物プランクトンと考えられる藻類が増加することがわかり、フローサイトメトリーは微細植物プランクトンの検出にも有効であることがわかった。

4) フローサイトメトリーによる西浦と北浦湖水の測定結果から、湖水間の植物プランクトン群集の違いは、プロットパターンの違いとして表現できることがわかった。

5) フローサイトメトリーで検出される各集団を分取、同定し、データを蓄積していくことにより、迅速に植物プランクトン群集の検出が可能になるものと考えられる。

5. 参考資料

1) 琵琶湖環境科学センターホームページ http://www.lberi.jp/root/jp/06db/planktonzukan/bkjhpico02.htm

【謝辞】

琵琶湖湖水の採水には琵琶湖河川事務所、霞ヶ浦湖水の採水には霞ヶ浦河川事務所の協力を得た。ここに記して謝意を表す。

なお、本研究は運営費交付金により実施されたものである。

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 20 年度当初予算　11，920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 Research Team, Water Environment Research Group

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

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 FY2008 were (1) to clarify relationship between phytoplankton characteristics and DOM characteristics in Lake Kasumigaura, and (2) to develop characterization method of the DOM using liquid chromatography mass spectrometry (LC/MS). Results in FY2008 were as follows:
1) The phytoplanktons in the Lake Kasumigaura water were classified using the flow cytometry. The phytoplankton number in Lake Kasumigaura-west increased in the winter-spring season, mostly caused by Bacillariophyceae. The increase in the number of the community forming picoplankton was observed in the summertime.
2) TOC tended to be approximately similar to the phytoplankton number, though DOM concentration in Lake Kasumigaura did not greatly change. The tendency of the seasonal change of DOM evaluated by fluorescence intensities of three peaks, Ex230nm/Em300nm, Ex230nm/Em340nm and Ex280nm/Em340nm detected by three dimenntional EEMs was similar to that of the number of community forming picoplankton. These DOM might originate from the community forming picoplankton.
3) Comprehensive analysis of DOM using LC/ESI-TOF MS was examined. The analysis

condition of LC was gradient method using reversed phase column. The mass spectrum was acquired at positive mode and negative mode. As a result, characterization of the total DOM was possible by plotting the peaks on the relation between retention time and *m/z*.
4) It is important for the characterization of DOM by LC/MS that DOM is effectively separated through the LC, therefore, the separating function of DOM by three types of columns, reversed phase, HILIC and SEC was evaluated. As a result, the reversed phase column did not retain the DOM; the HILIC column retained the DOM, but the distinction of inorganic and organic matters on the mass spectrum was difficult; the separation of the DOM by the SEC column was not satisfactory, however, it could separate inorganic and organic matters.

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みられる[1)]。琵琶湖（図 1）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。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。

本研究では、琵琶湖・霞ヶ浦流域を対象として、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。これにより、現在の有機物の濃度上昇の原因を明らかにして、対策の方向性を検討し、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。

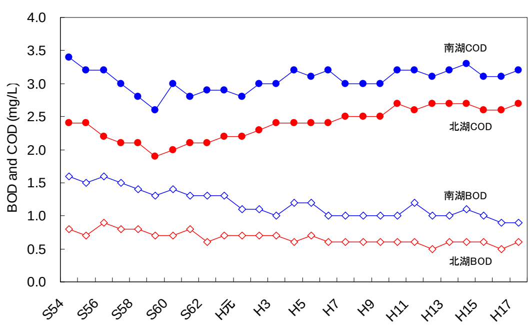


図 1　琵琶湖におけるCODおよびBODの経年変化[1)]

2. 平成 20 年度の研究

2.1 平成 19 年度における主な研究成果と課題

湖水中の溶存有機物を精密定性するためには、溶存有機物（DOM）の濃縮と脱塩法が必要不可欠となることから、平成 19 年度は DOM の逆浸透（RO）膜による濃縮および電気透析による RO 濃縮液の脱塩法を検討した。その結果、陰イオン側の電気透析膜 MWCO を 100 Da とすれば、RO 濃縮液中の DOM を損失せず、主要な無機イオンを除去できることを明らかとした。さらに、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、LC/MS による定性分析において電気透析法の有効性を示した。LC/MS を用いて DOM の定性分析をする場合、DOM を高分離できるカラムや分析条件の最適化が必要であると考えられる。

琵琶湖流域および霞ヶ浦流域のDOMの 3 次元励起・蛍光スペクトル（EEMs）法によるの簡易分析およびDOM組成（アミノ酸、糖類、脂質・脂肪酸）分析、および^{1}H-NMRによるDOMの構造解析を行った。その結果、3次元EEMs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の特性を簡易に把握でき、発生源等の推定を行うことができることがわかった。EEMsから得られる腐植化指標（HIX）を湖水、河川水および下水処理水に適用した結果、DOMの化学的特性の違いが見わけられ、DOMの特性把握の 1 つの指標として利用できる可能性があった。3 次元EEMs法を用いた調査から、琵琶湖DOMは、夏季には植物プランクトン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、河川ごとに異なるスペクトルパターンを示し、有機物の組成が多様であるにもかかわらず、いくつかの

グループに簡易分類できた。一方、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が少なく、季節や場所による違いはみられなかった。また、霞ヶ浦DOMは、植物プランクトンの内因性発生源の寄与は小さいと推察された。DOMの質や濃度は、植物プランクトンにどの程度影響を受けるのかを明らかにしておく必要あると考えられた。

DOM のアミノ酸組成は両湖沼で類似していた。主要構成アミノ酸は、Glycine、Alanine、Aspartic acid、Glutamic acid であった。河川水および処理水中 DOM では、アミノ酸はほとんど検出されなかった。糖類組成からは、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みられた。脂質組成から、琵琶湖、霞ヶ浦流域とも単純脂質、トリグリセリドの存在量が多く、トリグリセリドの脂肪酸組成は採水地点で異なっており、発生源等を識別するための指紋情報として利用できる可能性があった。

^{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。DOMのアミノ酸、糖、脂質・脂肪酸分析から、DOMの特性把握はできるものの、流域全体にわたる有機物の挙動、特性を明らかにするためには、DOM全体の特性把握法の開発が必要と考えられた。

2.2 研究目的

湖水中の有機物は、粒子態と溶存態にわけることができ、粒子態有機物は植物プランクトンに大きく影響されると考えられる。植物プランクトンと DOM の関係については明らかでないことから、この関係を把握しておく必要があるとの観点から、平成 20 年度は、霞ヶ浦を調査フィールドとし、湖水中の植物プランクトンの種類および量と DOM 特性の関係を調査した。

さらに、DOM 特性は、3 次元 EEMs から概要を把握できるものの、蛍光特性を有していないDOMも多く存在することが明らかとなった。アミノ酸、糖、脂質の分析から DOM の特徴付けはある程度可能であることが示されたものの、分析にかかる手間やコストなど制約が生じることから、LC/MS を用いた DOM の網羅的分析による DOM の特性把握の検討を試みた。平成 20 年度に得られた知見および成果を以下に詳述する。

3. 植物プランクトンと湖水中有機物の関係調査

湖水中の植物プランクトンの種類や量を簡便かつ迅速分析するには、フローサイトメトリーが有効と考えられる[2]ことから、はじめに、フローサイトメトリーによる霞ヶ浦の植物プランクトン群集の測定法の確立を目指した。フローサイトメトリーから得られた植物プランクトンの種類や量の結果とTOC、DOC、3 次元EEMsなどの結果を比較し、植物プランクトンと有機物の関係を調査した。

3.1 調査方法

平成 20 年 4 月から 21 年 3 月の間、図 2 に示した霞ヶ浦西浦と北浦の表層から湖水を毎月採水した。本試料を用い、フローサイトメトリーによる植物プランクトン群集の測定と水質分析を行った。図 3 は、本実験に使用したフローサイトメーター(ベックマンコールター社製 ALTRA)の概要である。レーザーは 488nm のアルゴンレーザーを使用し、湖水中の1つひとつの粒子の側方散乱強度(Side scatter)、前方散乱強度(Forwad scatter)、緑色(525nm ± 15nm)、黄色(575nm ± 15nm)、橙色(610nm±15nm)、赤色蛍光(675nm±15nm)強度を測定した。なお、本実験で使用した装置には、任意の集団を分取できる機能があり、分取した集団は微分干渉付き蛍光顕微鏡で観察した。なお、フローサイトメトリー測定では、フローセルの目詰まりを防ぐため 50μm のナイロン

図 2 西浦と北浦の採水地点

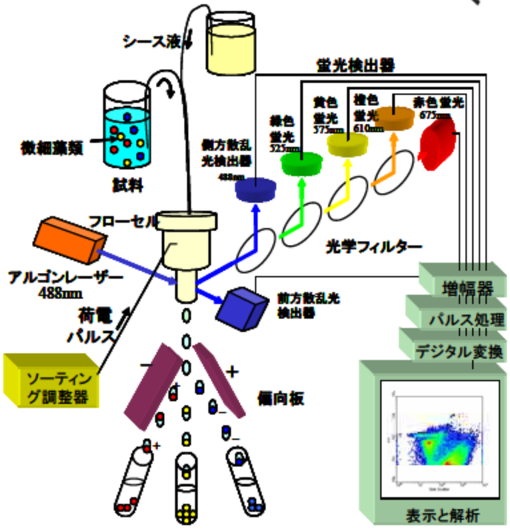


図 3 フローサイトメトリーの概要

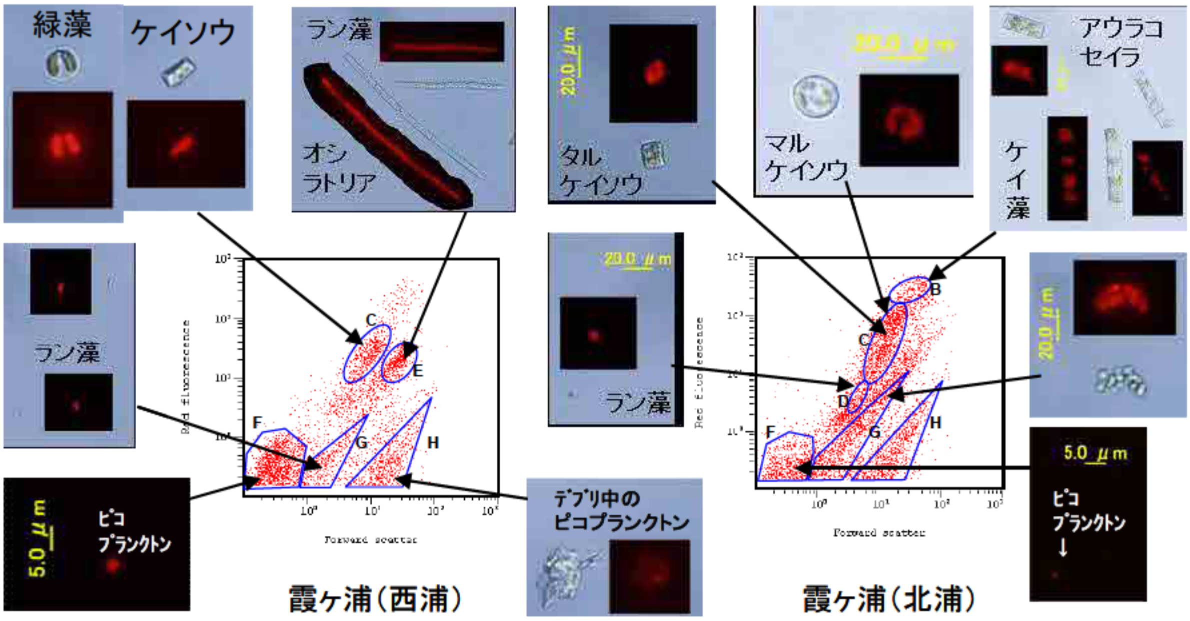


図 4 霞ヶ浦湖水の植物プランクトンの前方散乱強度と赤色蛍光強度の関係と各集団の顕微鏡観察像

製メッシュでろ過した湖水 0.5mL を測定している。

水質分析項目は、ろ過前湖水の TOC、GF/B でろ過した試料の DOC, D-CODcr および 3 次元 EEMs である。3 次元EEMsは水のラマン散乱ピーク（Ex350/Em395）を用いて補正し、超純水をブランクとし蛍光強度を得た。

3.2 植物プランクトンと湖水中有機物の調査結果

フローサイトメトリーによる霞ヶ浦湖水中の植物プランクトン群集の測定法を検討した結果、各検出器で検出された粒子を粒子の大きさを反映する前方散乱強度とクロロフィルを反映する赤色蛍光強度の関係でプロットした場合、プロットが集中する位置がみられ、この関係から概ね植物プランクトンをグルーピングできることがわかった。

図 4 は、H20 年 9 月の西浦と北浦の湖水にフローサイトメトリーを適用し、植物プランクトンを前方散乱強度と赤色蛍光強度の関係で図示したものである。主な集団を分取し、顕微鏡観察した結果（G 励起による蛍光像）も合わせて掲載した。なお、顕微鏡写真は、多く観察された種類のみを掲載している。西浦や北浦の C 集団は、タルケイソウ、マルケイソウ、円形の緑藻、E は糸状ラン藻であるオシラトリア、D は約 10 μ m の微細ラン藻が主体である集団であった。北浦の B 集団は、アウラコセイラなどの大型のケイ藻、F はピコ植物プランクトン、G は群体を形成した微細ラン藻が多く含まれる集団であった。H はデブリに取り込まれたピコ植物プランクトンが多く観察された。各集団の顕微鏡観察から、植物プランクトンの種類毎に完全にグループ化できていなかったが、フローサイトメトリーは、湖水中の植物プランクトンのスクリーニングに十分利用できるものと考えられた。

図 6 は、H20 年 4 月から H21 年 3 月までの西浦と北浦湖水中の植物プランクトンを図 4 と同様に前方散乱と赤色蛍光強度の関係をプロットしたものである。図 6 より季節や西浦と北浦でプロットパターンが異なっており、フローサイトメトリーは、湖間の植物プランクトン群集の違いの判別にも利用できることがわかる。図中の各領域は、植物プランクトンの簡易分類のため各集団に分割したものであり、図 7 中下から3段目に、北浦と西浦の各領域毎の植物プランクトン数の経月変化を図示した。湖水中の植物プランクトンの中には群体を形成しているものも

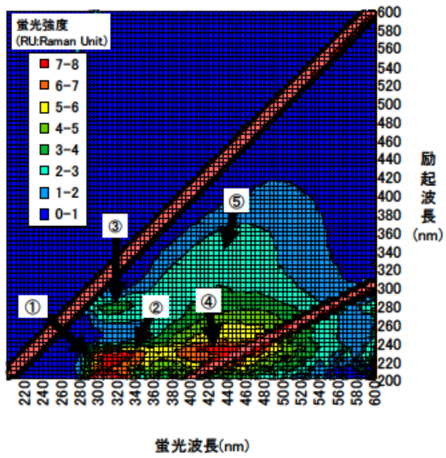


図 5 西浦 7 月の 3 次元 EEMs

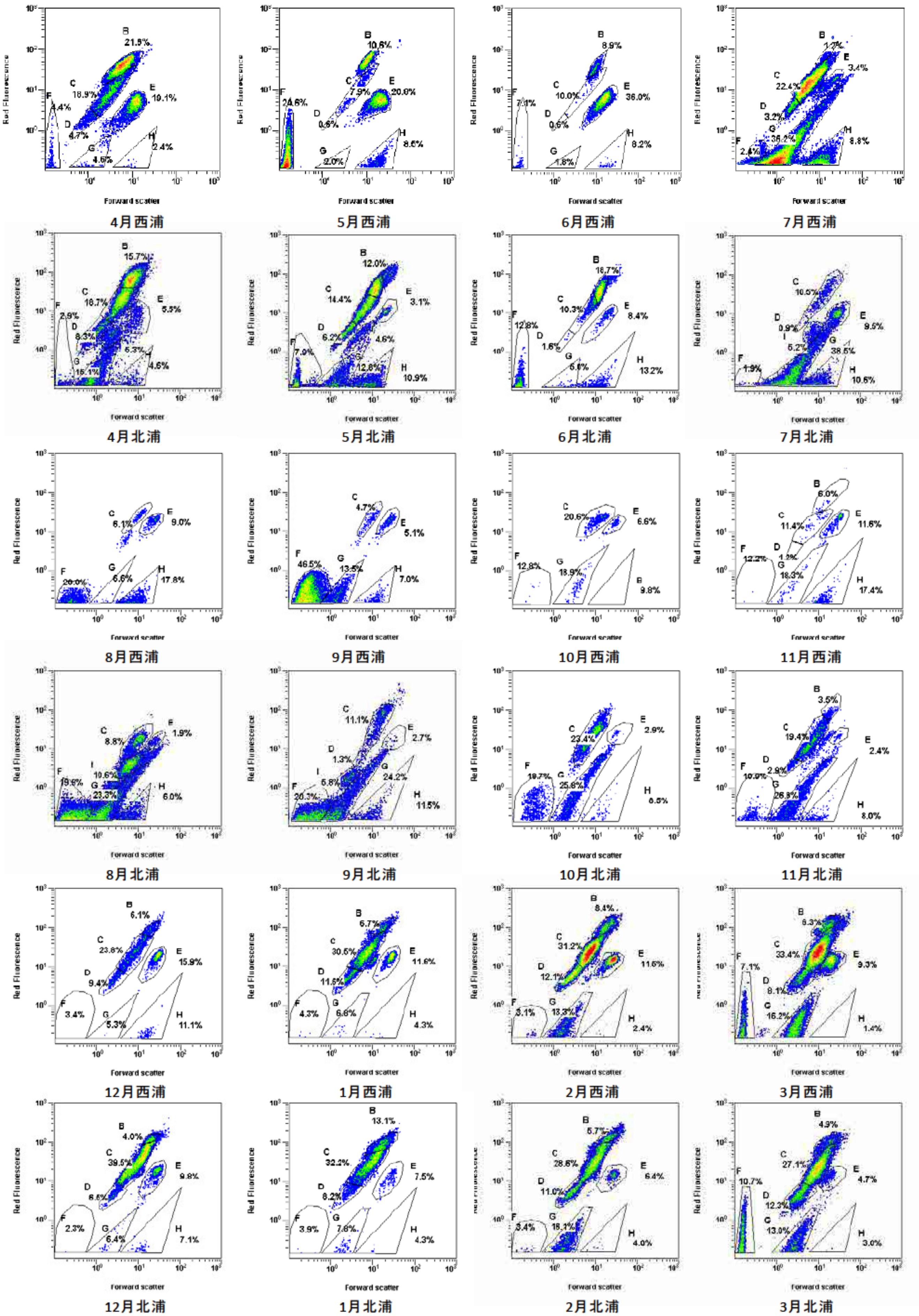


図6 フローサイトメトリーによる霞ヶ浦湖水中の植物プランクトン群集の測定結果

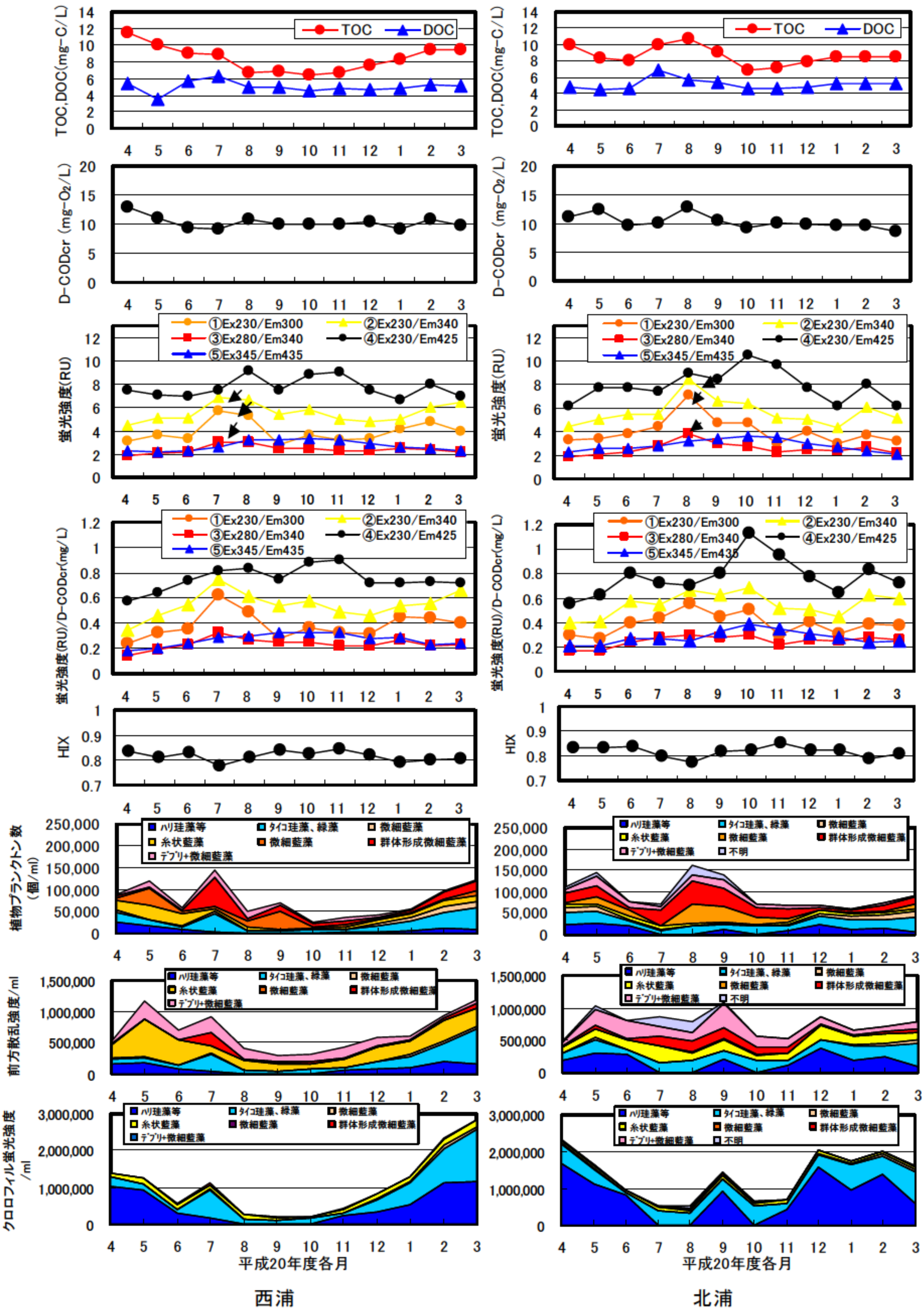


図 7　霞ヶ浦湖水の TOC、DOC、D-CODcr、各蛍光強度、HIX、植物プランクトン個数,クロロフィル, 前方散乱強度の経月変化

あり、フローサイトメトリーによる測定では、群体を 1 細胞と計数し、細胞数を過小計数する可能性がある。植物プランクトンの体積やクロロフィルベースについての情報も必要であると考えられたことから、図 7 中の下から 1～2 段目に各領域のクロロフィル蛍光量および大きさを反映する前方散乱強度の関係も示した。図よりクロロフィルは、比較的大きな藻類に影響され、微細植物プランクトンの存在量の指標には適さないことがわかった。微細植物プランクトンについては、数や体積ベースでの評価も必要であった。西浦では 9、10、11 月にケイ藻やオシラトリア数が減少する傾向がみられ、微細ラン藻の割合が多くなることがわかった。特に、西浦では7月、北浦では、8、9月にG領域の群体を形成する微細ラン藻が多くなっていることがわかった。

図 5 は、湖水の 3 次元 EEMs の一例として 7 月の西浦の 3 次元 EEMs 分析結果である。西浦、北浦とも、①Ex230nm/Em300nm, ② Ex230nm/Em340nm, ③Ex280nm/Em340nm, ④ Ex230nm/Em425nm, ⑤Ex345nm/Em435nm の 5 つのピークが確認された。

図 7 上から 1～5 段目に、西浦と北浦の TOC、DOC、D-CODcr、EEMs の①～⑤の各蛍光強度、腐植化指標(HIX)の経月変化を示した。

TOC は、西浦では冬・春季に高くなることがわかった。北浦では夏季に高くなる時期もあった。TOC の傾向は、植物プランクトン数やクロロフィル蛍光強度の経月変化と概ね一致しており、TOC は植物プランクトン、特に、珪藻や緑藻に影響されることがわかる。TOC に占める DOC の割合は、季節により異なり、西浦では、冬・春季は 5 割、夏季 7 割となり、TOC 濃度が低下する 8～11 月に溶存態の割合が高くなることがわかった。DOC や D-CODcr は植物プランクトン数が多い時期に若干上昇するものの、TOC 濃度が低い夏季においても大きく低下することなく、一年を通して概ね一定であることがわかった。DOC は、植物プランクトン数が増加しても、大きく増加しないことからから、珪藻や緑藻は、直ちにDOMに寄与しないと考えられた。

DOMの組成をEEMsからみると、植物プランクトンが増殖した月（西浦では 7 月、北浦では 8 月）の①Ex230nm/Em300nm 、② Ex230nm/Em340nm 、③Ex280nm/Em340nmの蛍光強度が上昇し、D-CODcrに占めるこれらの蛍光強度の割合も高くなっていることがわかる。この時期のHIX指標も低下しており、DOMに占める植物プランクトンに由来する有機物の割合が多く[2)]なっていると考えられる。この時期は、群体を形成するラン藻が多い時期と重なっており、この有機物の由来はこのラン藻による可能性があった。この①Ex230nm/Em300nm 、② Ex230nm/Em340nm 、③Ex280nm/Em340nmのピークは、群体形成ラン藻の減少とともに低下しており、このピークを反映する有機物は易分解性である可能性があった。

3 次元 EEMs で得られた④Ex230nm/Em425nm,⑤Ex345nm/Em435nm は、植物プランクトン数の少ない夏季に高くなる傾向を示したが、植物プランクトンとの関連性については不明である。

4. LC/MS による溶存有機物の特性把握

湖水中 DOM は、非常に多種多様な有機物の混合物であるため、通常の分析化学的な（ボトムアップ型）アプローチでは、その全体的な組成・構造・特性などを定性・定量することは困難である。また、DOM の組成や特性は、その起源や移動経路に強く支配されると考えられるため、湖沼ごとに評価するだけでなく、湖沼間比較をすることによって、それらの特性を支配している成分について明らかにすることが可能となる。さらに、湖沼の諸元（形状、流域面積、湖容積、滞留時間など）や土地利用などを考慮すれば、スポットデータや通年データでは不十分な場合が多く、長期モニタリングが必要不可欠である。

有機物全体を評価することを目的として、トップダウン型アプローチにより湖水中 DOM の特性評価方法の確立を目指すこととした。近年、その分離能および分解能の向上により汎用装置となった液体クロマトグラフ法（HPLC）とエレクトロスプレーイオン化質量分析装置（ESI-MS）を用いて、DOM の分析方法の開発を行ったので、以下に本研究で得られた成果について詳述する。

4.1 LC/ESI-TOF MS を用いた湖水中溶存有機物の網羅的分析

4.1.1 研究概要

湖水中の有機物の組成や起源、挙動特性を解明することを目的として、湖沼流域において採取したDOMのカラムへの吸着特性による特徴把握と精密質量を網羅的に明らかにしようと試みた。分析法は、高速液体クロマトグラフ装置（HPLC）により DOM を粗分離した後、飛行時間型質量分析計(TOF-MS)による DOM の網羅的精密質量分析である。

4.1.2 分析方法

(1) 分析試料

分析試料は以下のとおりである。

①琵琶湖 DOM（安曇川沖）

②霞ヶ浦 DOM（湖心）

③霞ヶ浦流入河川 DOM(桜川下流)

④下水処理水中有機物(茨城県内)

⑤SRNOM (Suwannee River natural organic matter)

なお、①〜④の各採水時期は、H20 年 1 月に採水したものである。⑤は国際腐植物質学会(International Humic Substances Society, IHSS)から頒布されているものを約 100mg-C/L に希釈したものである。

(2)前処理

①〜④の試料はGF/Bでろ過し、凍結乾燥した後、$MeCN/H_2O$=25/75 に再溶解し、溶解試料 200 μLをポリプロピレンチューブに採取し、1.5×10^4rpm、5 分間遠心した。上澄 100 μLを新しいポリプロピレンチューブに移し、さらに、アセトニトリルで 2 倍に希釈して供試試料とした。

(3) LC/TOF MS 分析

調製した測定試料を下記条件で分析した。なお、測定試料分析に先立ち、TFA Na 溶液を用いて質量分析計のキャリブレーションを行った。

＜LC/MS 条件＞

機器:

HPLC:装置構成:ポンプ(2 台), デガッサ, カラムオーブン, オートサンプラ, UV 検出器(島津製作所製 Prominence)

質量分析計:飛行時間型質量分析計(島津製作所:LCMS-IT-TOF)

HPLC 条件:

カラム:ZirChrom(逆相、2.1 mm I.D.×150 mm, 5 μm、ZirChrom Separations, Inc.)

カラム温度: 35° C

移動相:

移動相A液:20 mM $AcONH_4$ in water

移動相 B 液:Acetonitrile

移動相グラジエント条件:

時間(分)	移動相 A 液(%)	移動相 B 液(%)
0	95.0	5.0
3	95.0	5.0
15	5.0	95.0
40	5.0	95.0

流速:0.2 mL/分

注入量:50 μL

UV 検出器:254 nm

質量分析条件:

イオン化方式:ESI

測定イオン:正イオン, 負イオン

インターフェース電圧:4.5 kV

ネブライズガス流量:1.50 L/分

CDL 温度:200° C

ヒートブロック温度:200° C

データ採取時間: 40 分

検出器電圧:1.80 kV

測定範囲(MS):*m/z* 100-3000

(4)ピーク抽出条件と解析

質量分析計で得られた正イオンと負イオンデータに対して、ピーク抽出ソフト(Mass++ ver. 1.4.0)にてピークピックアップを行い、保持時間, *m/z* 値, ピーク高さの 3 項目の情報を得た。さらに、正イオンと負イオンでのピーク抽出結果を用い、それぞれ Cluster3.0 ソフトをもちいたユークリッド距離法によるクラスター解析を行いサンプル間の類似性を解析した。

4.1.3 分析結果

図 8 および図 9 はそれぞれ正イオンおよび負イオンモードで取得したトータルイオンクロマトグラム(TIC)と保持時間 0〜5 分、5〜18 分、18〜40 分の積算質量スペクトルを示す。本分析では、逆相系カラムを用い、アセトニトリル濃度を高めていくグラジエント分析していることから、0〜5 分間に検出される化合物は親水性物質、18〜40 分間は疎水性物質、5〜18 分はその中間的な極性を有する化合物を概ね反映している考えられる。図よりシャープなピークを無視し、各保持時間の質量スペクトルの特徴をみると、0〜5 分間は、琵琶湖、霞ヶ浦、河川水、SRNOM とも *m/z* 300 付近を中心に分布する質量スペクトルが得られた。この 0〜5 分間のイオン強度は、正イオンより、負イオン分析で高くなる傾向を示した。下水処理水のみで *m/z* 700 付近を中心とする 22u 等間隔のシグナルがみられた。5〜18 分間の質量スペクトルは、各試料とも *m/z* 500 付近を中心に分布する質量スペクトルが得られ、試料間で大きな違いはみられなかった。18〜40 分間の質量スペクトルは、正イオンモードでは、琵琶湖では *m/z* 700 付近、霞ヶ浦では *m/z* 500 付近を中心に分布する質量スペクトルがみられた。なお、正イオン分析ではこのような傾向は明確ではなかった。

図 10,12 は、Mass++ソフトで抽出された正イオンのピーク情報(保持時間、*m/z* 値、ピーク高さ)から、霞ヶ浦と琵琶湖特有化合物および両湖沼共通化合物について保持時間と *m/z* の関係でピーク位置をプロットしたものである。図 11,13 は負イオン分析の場合である。

正イオンモードで保持時間と *m/z* のピーク位置のプロットパターンを霞ヶ浦と琵琶湖で比較すると、琵琶湖では、保持時間 20〜40 分の疎水性物質が検出される区間で、*m/z* 800 付近にプロットが集中する傾向がみられた。負イオンではこの傾向はみられなかった。負イオン

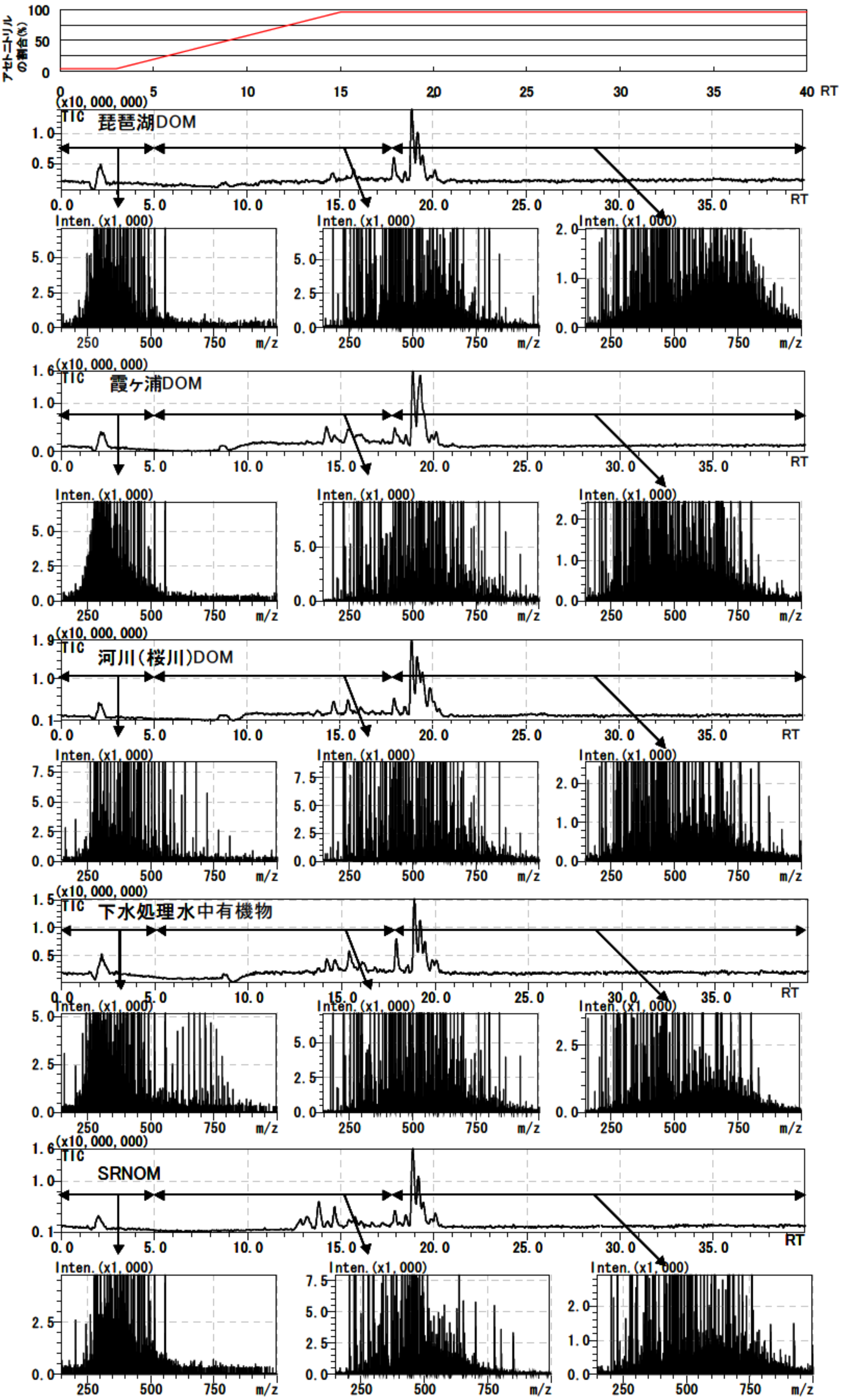


図 8　LC-TOF-MS による琵琶湖,霞ヶ浦,河川水,下水処理水,SRNOM の分析結果（正イオン）

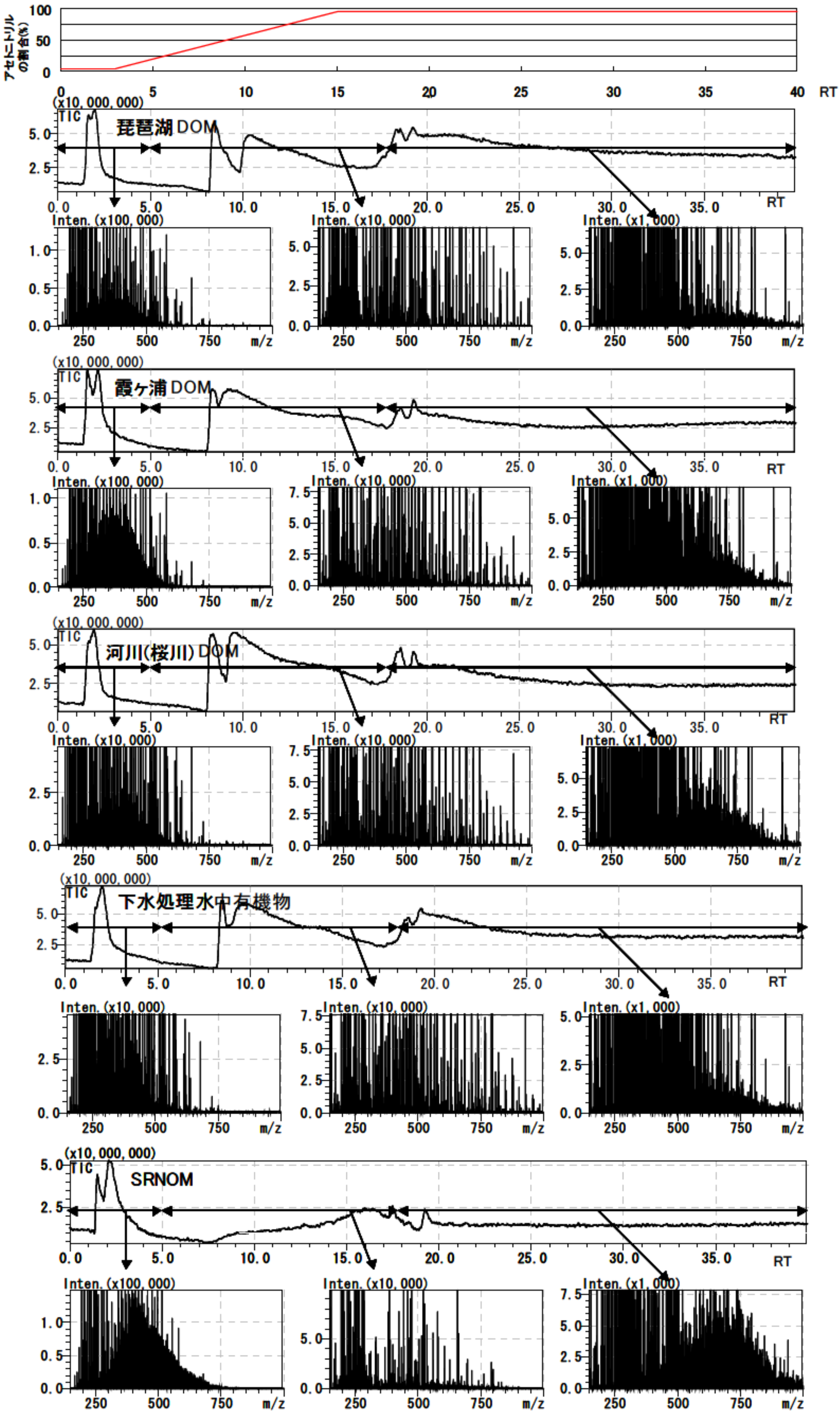


図 9　LC-TOF-MS による琵琶湖,霞ヶ浦,河川水,下水処理水,SRNOM の分析結果（負イオン）

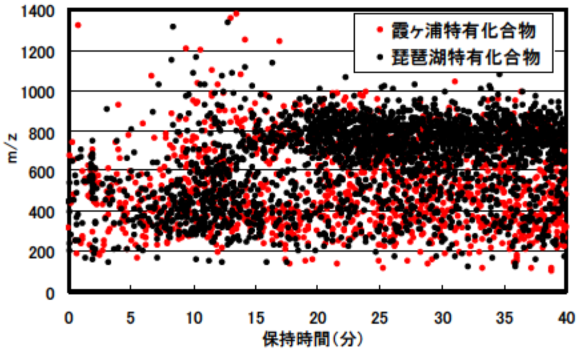


図 10 霞ヶ浦と琵琶湖特有化合物の保持時間とm/zの関係(正イオン)

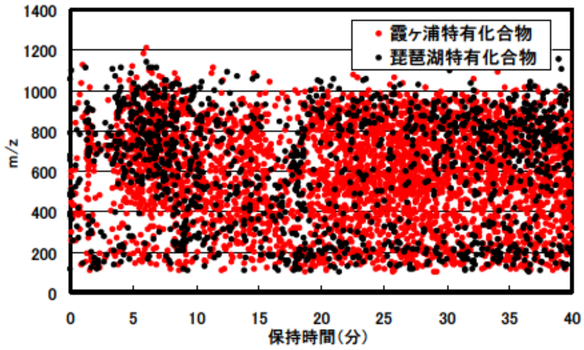


図 11 霞ヶ浦と琵琶湖特有化合物の保持時間とm/zの関係(負イオン)

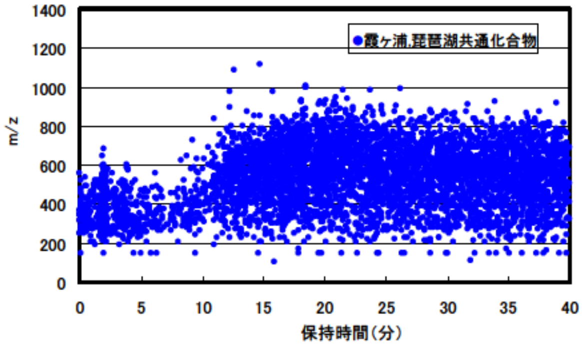


図 12 霞ヶ浦と琵琶湖共通化合物の保持時間とm/zの関係(正イオン)

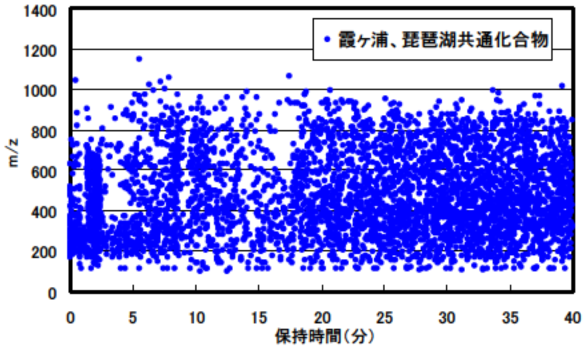


図 13 霞ヶ浦と琵琶湖共通化合物の保持時間とm/zの関係(負イオン)

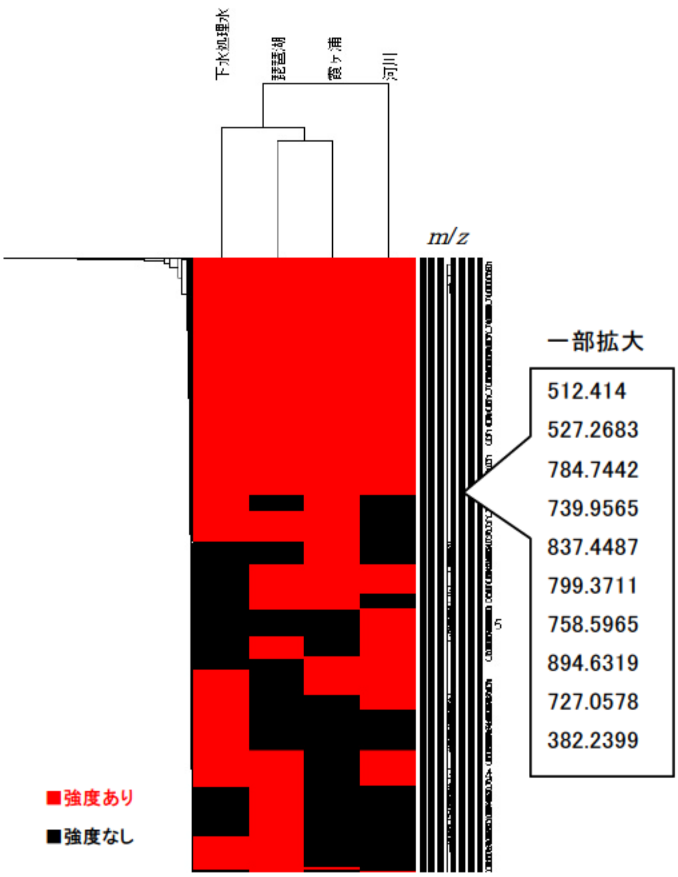


図 14 正イオンピークによるクラスター解析結果

図 15 負イオンピークによるクラスター解析結果

分析では、琵琶湖特有化合物より、霞ヶ浦特有化合物の方が多く検出されていた。これは湖水中の DOM の濃度と関係している可能性がある。正イオンと負イオン分析では、保持時間と m/z で整理したとき、ピーク位置のプロットパターンが異なることがわかった。

図 14,15 は、正イオンと負イオンで検出されたピーク情報をもとに同条件でクラスター解析した結果である。図よりイオン化法によって試料間の類似性が異なる結果となった。これはイオン化法によってバイアスがかかることを意味しているが、分析条件を固定することで試料間の比較は可能となると考えられる。LC/MS による網羅的 DOM の検出と統計解析を組み合わせることにより、DOM の特性把握や各河川や排水の湖水への寄与率の推定が可能性になるものと考えられた。

4.2 LC/ESI-四重極 MS を用いた湖水中溶存有機物の分析条件の最適化

4.2.1 研究概要

4.1 より LC/ESI-TOF-MS を使用することにより DOM 全体の特性把握が可能となることが示唆された。しかし、TOF-MS は精密質量情報が得られるものの高額な分析機器であり、分析にあたっては分析費用をはじめとする様々な制約が生じる。そこで、TOF-MS よりも簡易で一般的な四重極型質量分析計を用いたDOMの特徴把握法の開発を行うこととした。四重極型質量分析計は、TOF-MS より質量分析の精度が高くないため、四重極型質量分析計で DOM のピークを高感度検出するためには、前段の高速液体クロマトグラフでの DOM の分離能に向上させる必要がある。そこで、本年度は、DOM の分離能の優れた最適なカラムの検索、移動相の最適化を検討した。カラムの選定にあたっては、DOM は逆相系カラムにほとんど保持しないことおよび湖水中 DOM の物理化学的特性が広範囲にわたることに鑑み、分離能に優れた逆相カラムに加えて、SEC カラム、近年注目されている HILIC カラムを用いることとした。HILIC 分離モードでは、疎水性～親水性までの広範囲にわたる成分を分離することができること、移動相が有機溶媒リッチな条件（順相）で利用できるために固相抽出法（SPE）や ESI-MS 法との相性がよいこと等の利点を考慮した。

4.2.2 実験方法

(1)本研究で使用した天然有機物（natural organic matter, NOM）

本研究で用いた試料は、琵琶湖・北小松沖にて採取した後、前ろ過、陽イオン交換による前処理を施し、逆浸透膜による濃縮を行ったものである。これに、同体積のアセトニトリルを加えて2倍希釈したものを供試した。ここで、添加溶媒としてアセトニトリルを選択したのは、エレクトロスプレーイオン化法（ESI）では、対象化合物を溶解できる（水、極性有機溶媒）こと、微細な帯電液滴を形成させやすい（低溶媒粘度）こと、LC カラムとの相性などを考慮したためである。NOM 中には、多種多様な物理化学的特性を有する物質が混在していることから、すべての成分について分離、イオン化等の条件を最適化することは不可能である。ここでは、添加剤として酢酸アンモニウム（AcONH4）25 mM を加えた系において、主にカラムの選定やグラジエントの効果をLC/ESI-四重極 MS 法から検討した。

(2)本研究で使用した LC カラム

本研究において検討を実施したカラムの概要は、以下の通りである。

- A 社
  - ZORBAX XDB-C18（逆相、2.1×150 mm、5 μm）：pH 2～9 の幅広い領域で良好なピーク形状を実現し、メソッド開発における柔軟性が得られる。中性 pH 領域では、残存シラノール基の活性が高くなり、テーリングが起こりやすくなる。XDB-C18 カラムは、テーリングを抑えるために超高密度結合とダブルエンドキャッピングを導入し、シラノール活性をできる限り抑えたものである。
  - ZORBAX Extend-C18（逆相、2.1×150 mm、5 μm）：Extend-C18 カラムは、高 pH 領域においても高分解能分離が可能なカラムで、塩基性化合物は基質成分のシリカと反応しない。pH2-11.5 の幅広い領域において安定で、あらゆるタイプの化合物を良好なピーク形状で分離することが可能である。
  - ZORBAX SB-C18（逆相、2.1×150 mm、5 μm）：低 pH 領域における分離では、シロキサン結合の加水分解により耐久性が低くなる。SB-C18 カラムは、エンドキャッピングを行っていないため、酸性移動相で優れた安定性やカラム寿命と最良の再現性を維持されている。
- W 社
  - XBridge C18（逆相、2.1×150 mm、5 μm）：高 pH 領域においてカラム性能は劣化せず、低 pH 領域においても高い安定性を有するため、幅広い pH 領域（1-12）において分析法開発が可能である。
  - Atlantis T3（逆相、2.1×150 mm、5 μm）：トリファンクショナル結合を採用することにより過酷

な低 pH 条件下においても長期間の耐久性を有し、極性～疎水性化合物に適した逆相系カラムである。さらに、100%水系移動相でも安定した保持を可能とし、ジェネリックメソッド用カラムに適している。

- Sunfire C18（逆相、2.1×150 mm、5 μm）：Sunfire C18カラムは、低pH～中性領域において高負荷量を分析することが可能で、疎水性化合物に対する保持力が強いカラムである。したがって、有機溶媒リッチな条件下においても適度な保持が得られ、かつ ESI-MS で高感度化が期待できるなどの利点を有する。
- Atlantis HILIC（HILIC、2.1×150 mm、5 μm）：Atlantis HILIC カラムは、未修飾シリカを固定相とするもので、分配モードと弱カチオン交換モードにより、高極性塩基化合物を保持することができる。

- S 社
  - Discovery C18（逆相、2.1×150 mm、5 μm）：カラム選択の際、最も汎用的な第一選択カラムで、C8 カラムと比べて保持が大きい（アルキル鎖長の違い）。
  - Discovery C8（逆相、2.1×150 mm、5 μm）：移動相の有機溶媒比率を高くしたくない場合などに有効なカラムである。C18 カラムと C8 カラムの選択性は類似している。
  - Discovery RP Amide C16（逆相、2.1×150 mm、5 μm）：疎水性と水素結合性のダブルモードによるバランスのよい分離が可能で、C18 カラムと比べて疎水性が低いため高速分析が可能である。アミド基由来の選択性により、フェノール性水酸基、カルボキシル基などとの特異的な相互作用がある。
  - Discovery HS F5（逆相、2.1×150 mm、5 μm）：フッ素化フェニルの導入により、芳香環／複素環化合物と特異的な相互作用が観られる。水 100%移動相および有機溶媒 100%移動相を使用できる。
  - Discovery Cyano（逆相＆順相、2.1×150 mm、5 μm）：古典的な極性基導入カラムで、シアノ基による特異的な相互作用が観られ、順相モードでの使用も可能である。
- N 社
  - Develosil C30-UG-5（逆相、2.0×150 mm、5 μm）：C30 カラムは、トリアコンチル基を主成分とするアルキル基を結合し、TMS によりダブルエンドキャッピング処理したもので、水 100%移動相からトルエン／アセトニトリル移動相まで使用でき、高極性から高脂溶性の試料を分離することができる。
- T 社
  - TSKgel Amide-80（HILIC、2.0×150 mm、5 μm）：Amide-80 カラムは、カルバモイル基を化学結合したシリカゲルカラムである。HILIC モードにより、ODS カラムに保持されにくい親水性化合物の分離に適し、固定相が非イオン性のためアミノカラムよりも化学的に安定である。
  - TSKgel Super AW2500（SEC、6.0×150 mm、4 μm）：親水性ビニルポリマーを基材とし、水系から極性有機溶媒系まで幅広い移動相の使用が可能である。排除限界分子量（PEO・PEG/DMF）は、2×10^3である。
  - TSKgel Super AW3000（SEC、6.0×150 mm、4 μm）：親水性ビニルポリマーを基材とし、水系から極性有機溶媒系まで幅広い移動相の使用が可能である。排除限界分子量（PEO・PEG/DMF）は、6×10^4である。
- N 社
  - COSMOSIL HILIC（HILIC、2.0×150 mm、5 μm）：トリアゾール基をシリカゲルに化学結合した充填剤を用いた HILIC モードカラムで、主な相互作用は水素結合である。ODS カラムでは保持されにくい化合物の分離に向いている。また、トリアゾール基の陰イオン交換モードにより酸性化合物を強く保持することができる。
- Sh 社
  - Shodex GS220A-4E（SEC、4.6×250 mm、6 μm）：ポリビニルアルコールを基材とした SEC カラムである。SEC モードが主体ではあるが、溶離液条件により分配・吸着やイオン交換などの分離モードを組み合わせたマルチモード分離が可能である。排除限界分子量（プルラン）は、3,000 である。
  - Shodex GS320A-4E（SEC、4.6×250 mm、6 μm）：ポリビニルアルコールを基材とした SEC カラムである。SEC モードが主体ではあるが、溶離液条件により分配・吸着やイオン交換などの分離モードを組み合わせたマルチモード分離が可能である。排除限界分子量（プルラン）は、40,000 である。
  - OHpak SB-802.5 HQ（SEC、8.0×300 mm、6 μm）：ポリヒドロキシメタクリレートを基材とした

水系 SEC カラムである。DMF 交換も可能で、極性ポリマーの分析にも使用することが可能である。排除限界分子量(プルラン)は、10,000である。

- Se 社
  - ZIC-HILIC(HILIC、2.1×150 mm、5 μm):多孔性シリカ基材にスルホベタイン型官能基が化学結合された HILIC カラムである。ODS カラムなどで保持されにくい極性/親水性化合物の分離に適している。
- Z 社
  - ZirChrom-MS(逆相、2.1×150 mm、5 μm):ジルコニア系逆相カラムで、ルイス酸部位を不活性化処理したものである。幅広い pH 領域(1-10)において使用可能で、塩基性、酸性、中性化合物の混合物の一斉分離が可能である。
- K 社
  - Mightysil NH2(HILIC、4.6×200 mm、5 μm):高純度シリカゲルをベースとしたアミノプロピルシリル基をモノメリック修飾した充填剤で、弱陰イオン交換充填剤としての利用や特異的な選択性を利用した逆相分離にも応用できる。

(3)本研究で使用した装置および分析条件

本研究では、LC-MS 装置に Agilent 1100-1200 シリーズを用い、前記 4.2.2(2)の LC カラムを用いて UV クロマトグラム、TIC クロマトグラム、質量スペクトルを比較・検討することにより分離特性の評価を実施した。

本研究における主な質量分析条件は、以下の通りである。なお、MS 分析条件は、DOM が複雑な混合物であることを考慮して比較的標準的な条件としている。

・Ionization mode: API-ES
・Polarity: 正、負
・Mass range: 150 - 1,500
・Fragmentor: 70 V
・Gas temp.: 350℃
・Drying Gas: 10.0 L/min
・Neb. Press.: 40 psig
・Cap. Vol.: 2,500 V(Pos、Neg)

また、UV 検出器では、波長 254 nm においてクロマトグラムを得た。

4.2.3 分析結果

逆相モード、HILIC モードおよび SEC モードの LC カラムを用いて、湖水中 DOM の特性把握を目的として、琵琶湖 NOM の LC/ESI-四重極 MS 分析を実施した。四重極 MS では原理的に精密質量が得られないため、ここでは主に TIC クロマトグラムにおいてより良い分離能が得られる分析条件(カラム、移動相条件、など)の検討を行った。図 16~21 は、逆相、HILIC、SEC カラムのイソラティック(0~90 分間:acetonitrile15%)での分析結果の一例を示す。

一般に、DOM の主要成分は酸性画分であり、かつ親水性の高いことが知られており、逆相系カラムでは保持され難いといわれている。本研究においても複数メーカーの逆相系カラム(図 16,17 参照)では、DOM 成分を保持することができなかった。一方、HILIC 系カラム(図 18,19 参照)では、充填材の表面官能基の特性の違いに起因してクロマトグラムの形状は異なるものの、逆相系カラムと比べてよい保持挙動がみられた。DOM は多種多様な官能基を有し、コンフォメーションも多様であることから、それらの差異に基づいて分離(保持)されたものと考えられた。しかし、質量スペクトルからは、有機物と無機物の判別が難しく、有機物の特性把握は、困難になると予想された。

SEC分離モードは、一般的に逆相系モードやイオン交換モード比べて分離能は劣るものの、DOMの基本的特性である分子量(サイズ)情報が得られる点で非常に優れた手法である。本SEC分離モードでの分析条件は、検出器としてESI-四重極MSを用いるため、低流量(0.200 mL/min)、有機溶媒(30% acetonitrile)および揮発性添加剤(AcONH4)の条件を採用することとした。SEC分離モードでは(図 20,21 参照)、UVA_{254}クロマトグラム上ではシグナルのみられない位置、RT=75 分付近に無機物質と考えられるピークがみられることがわかった。DOMはRT=36 分付近と考えられ、無機物と有機物のピークは分離できていた。SEC分離モードは、無機物質と有機物質のLC分離を短時間で実施するためや有機物の特徴把握のために必要不可欠な条件であり、湖水中DOMのLC/ESI-四重極MSを用いた特性把握に適していると考えられた。

今後は、本研究で得られた成果を踏まえて、2 次元(2D)HPLC/ESI-四重極 MS 法へ拡張することにより、湖水中 DOM のより網羅的な検出を可能とする評価手法を確立し、DOM の総合的な特性把握を目指していきたいと考えている。

5. 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

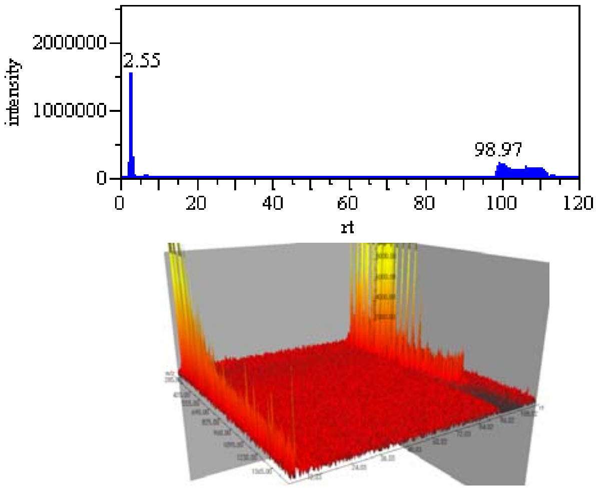


図 16 逆相カラム(Discovery C18)での TIC(上図)と RT,m/z,強度(下図)の関係(正イオン)

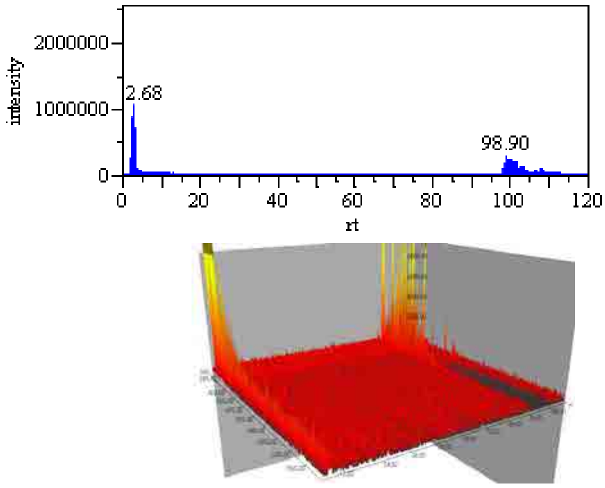


図 17 逆相カラム(Discovery C18)での TIC(上図)と RT,m/z,強度(下図)の関係(負イオン)

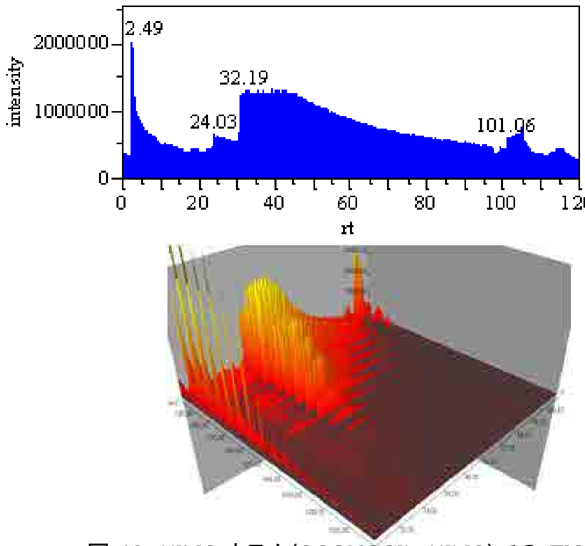


図 18 HILIC カラム(COSMOSIL HILIC)での TIC(上図)と RT,m/z,強度(下図)の関係(正イオン)

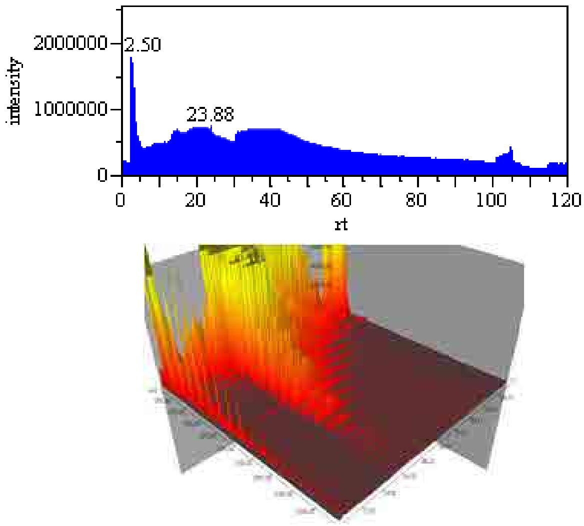


図 19 HILIC カラム(COSMOSIL HILIC)での TIC(上図)と RT,m/z,強度(下図)の関係(負イオン)

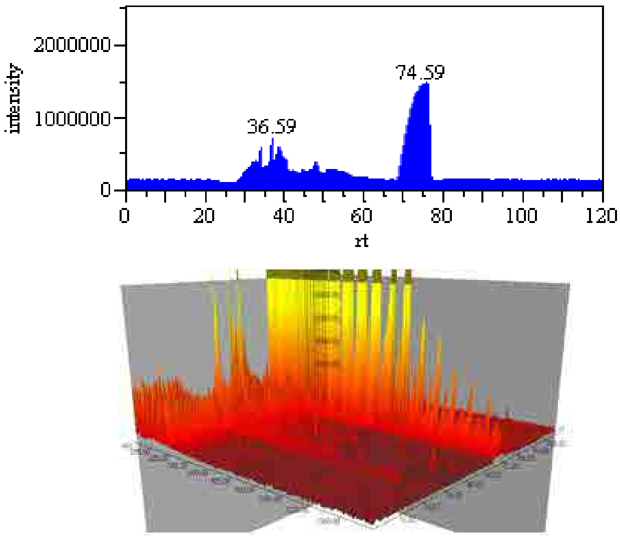


図 20 SEC カラム(SB-802.5 HQ)での TIC(上図)と RT,m/z,強度(下図)の関係(正イオン)

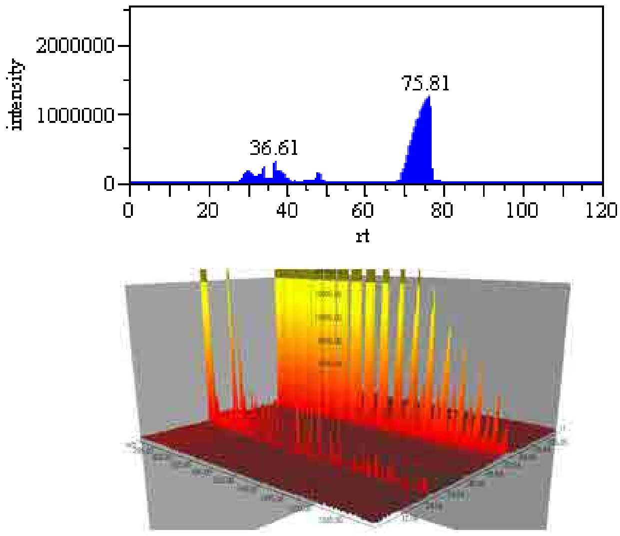


図 21 SEC カラム(SB-802.5 HQ)での TIC(上図)と RT,m/z,強度(下図)の関係(負イオン)

している。平成 20 年度は、霞ヶ浦を調査フィールドとし、湖水中の植物プランクトンの種類および量と DOM 特性の関係を調査した。さらに、DOM 全体を評価することを目的として、LC/MS により湖水中 DOM の特性評価方法の確立を目指した。

以下に、本年度の成果をまとめて示す。

1) フローサイトメトリーによる霞ヶ浦の植物プランクトン調査から、西浦では 9、10、11 月にケイ藻やオシラトリア数が減少する傾向がみられ、微細藍藻の割合が多くなることがわかった。特に、西浦では 7 月、北浦では、8、9 月に微細植物プランクトン数が多くなることがわかった。

2) TOC は、西浦では冬・春季に高くなることがわかった。北浦では夏季に高くなる時期もあった。TOC の傾向は、植物プランクトン数やクロロフィル蛍光強度と概ね一致していた。

3) DOC は、TOC の 5〜7 割を占めていることがわかったが、西浦では、TOC 濃度が低下する 8〜11 月に溶存態の割合が高くなることがわかった。DOC や D-CODcr は植物プランクトン数が多い時期に若干上昇するものの、TOC 濃度が低い夏季においても大きく低下することなく、一年を通して概ね一定であることがわかった。

4) 霞ヶ浦湖水の 3 次元 EEMs は、① Ex230nm/Em300nm, ② Ex230nm/Em340nm, ③ Ex280nm/Em340nm, ④ Ex230nm/Em425nm, ⑤ Ex345nm/Em435nm の 5 つのピークがみられ、①、②, ③の蛍光強度は、群体形成ラン藻類が増加した時期に、増加しており、この DOM は、ラン藻類に由来している可能性があった。

5) ①Ex230nm/Em300nm、②Ex230nm/Em340nm、③Ex280nm/Em340nm のピークは、群体形成ラン藻が減少するともに、低下しており、このピークを反映する有機物は易分解性である可能性があった。

6) LC/ESI-TOF MS を用いて DOM の網羅的分析を検討した結果、検出されたピークを保持時間と *m/z* の関係でプロットすることにより、DOM 全体の特徴把握が可能になると考えられた。

7) 逆相、HILIC、SEC カラムによる DOM の分離性能を評価した結果、逆相カラムでは、DOM は保持されないことがわかった。HILIC カラムでは、DOM は保持されていると考えられるものの、質量スペクトル上で有機物と無機物判別が難しいと考えられた。SEC カラムは、DOM の分離能は劣るものの、有機物と無機物が分離できることがわかった。

6. 参考文献

1) 滋賀県(2005) 平成 17 年(2005 年)版 環境白書.

2) D.Marie, F. Partensky, S. Jaquet, D. Vaulot, Enumeration and Cell Cycle Analysis of Natural Populations of Marine Picoplankton by Flow Cytometry Using the Nucleic Asid Stain SYBR Green, *Applied and Environmental Microbiology*, 63(1), 186-193(1997)

3) 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 :WaterSupply*, 8(6)、663-671(2008)

7. 20 年度研究発表

(紙上発表)

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*, 58(8), 1609(2008)

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 :WaterSupply*, 8(6)、663-671(2008)

(口頭発表)

1) 日下部武敏,北村友一,鈴木穣(2009) 琵琶湖流域および霞ヶ浦流域における溶存有機物(DOM)の有機物組成 *第 43 回日本水環境学会年会講演集*, 126.

(ポスター発表)

2) 北村友一,鈴木穣(2009) フローサイトメトリーによる霞ヶ浦の微細植物プランクトン測定, *第 43 回日本水環境学会年会講演集*, 506.

謝辞

琵琶湖および霞ヶ浦における採水は、琵琶湖河川事務所および霞ヶ浦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、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。

流域からの栄養塩類の流出機構解明と滞水域生態系修復技術の開発

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

伊勢湾流域圏の自然共生型環境管理技術開発のサブテーマとして，「流域からの栄養塩類の流出機構解明と滞水域生態系修復技術の開発」を目指し，伊勢湾に流入する河川下流域の滞水域のモデルとして油ヶ淵を選定して研究を行っている．

20年度は油ヶ淵の栄養塩収支の解明に向けて，季節ごとの流入・流出の水質特性の把握を行った．また，晴天時・雨天時における流入河川からの負荷量の調査を行った．汚濁負荷状況については，流域情報の整理を行った．

湖内における内部負荷要因として，特に底泥について，湖水中の塩分のコントロールが酸素消費速度に及ぼす影響の検討を行なった．

最終的に流域からの汚濁負荷量，油ヶ淵底泥からの溶出量と流出河川への流出量から，油ヶ淵における物質収支の把握を行った．

1.1 油ヶ淵の汚濁状況

伊勢湾に流入する河川の下流域に位置する油ヶ淵において，流域の汚濁負荷状況の整理を行った．

油ヶ淵湖内の今年度のCOD値は 9.0mg/L[4] であり，18年度の 9.8mg/Lに比べ若干低下したが，基準値（5mg/L以下）より高い値を示した．環境省が平成 19 年度に実施した全国の河川，湖沼，海域の代表的な水質指標であるBOD又はCODの環境基準達成率は河川で 90.0%，湖沼で 50.3%，海域で 78.7%であり[5]，未だ湖沼の改善度は低い．19 年度，油ヶ淵は全国のワースト５から抜け，流域の下水道普及率も 52%（18 年度）から 55%（19 年度）と，改善効果は見られているが未だ汚濁負荷の影響が大きな湖である．

2．調査・試験内容

2.1 調査時期

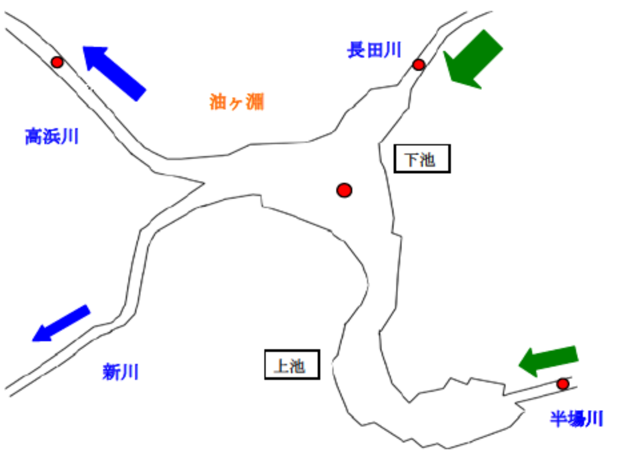
油ヶ淵とその流入と流出河川において 2008 年 1 月から 2009 年 3 月まで期間，月 1 回の定期調査を実施し，年間の水質変動の把握を行った。また，定期調査とは別に，水質と流量の調査を 5 月（田植え期），8 月（夏期）および 9 月（雨天時）に行った．

・冬期：平成 20 年 1 月 9～10 日実施
・春期：平成 20 年 3 月 4～5 日実施
・田植え（代掻き）期：平成 20 年 5 月 8 日実施
・夏期：平成 20 年 7 月 29～30 日実施
・雨天時：平成 20 年 9 月 19～20 日実施
・秋期：平成 20 年 11 月 18～19 日実施

2.2 採取地点および測定項目

油ヶ淵の採取地点は，下池（環境基準点）と流入２河川，流出１河川とし，現地調査と試料採取を実施した（図－1）．

底泥および湖水等の環境条件の観測として各調査地点の測定項目は，気温，水温，pH，溶存酸素濃度（DO），酸化還元電位（ORP），電気伝導率（EC），塩濃度，濁度とした．湖水は，表層から底層直上付近まで水深方向に 50cmピッチで携帯型多項目水質計(HORIBA製:W-22XD)を用いて測定した．流量は，現地にて流速計（ALEC ELECTRONICS製：AEM1-D）を用いて測定後，算出した．[1] 水質は別途，各地点より採取した試料について，公定法により分析した．



図－1　油ヶ淵および河川調査地点

2.3 試料の採取方法

(1) 水試料

定期調査時には全地点とも，表層水を採取した．また，5,8,9 月の調査時において，流入河川水（長田川，半場川）は，橋上よりポリバケツにて表層水を採取した．下

池調査地点と流出河川水（高浜川）においては，表層（水面から 50cm付近）・中層（水深の中間）・下層（底泥表面から 50cm付近）の 3 試料について，各 2Lを船上から採水器（バンドーン型）を用いてポリ容器に採取した．水質は，ｵｰﾄｱﾅﾗｲｻﾞｰ（TRAACS2000 型：BLTEC社製）にて NH_4-N, NO_2-N, NO_3-N, D-N, PO_4-P, D-P及びDOC（TOC5000 型：島津製作所社製）の分析を行った．

(2) 底泥試料

下池調査地点において，柱状採泥器を用いて船上より採泥を行った．底泥は，透明アクリルカラム（内径 4cm 又は 10cm，長さ 50cm）に不撹乱の状態でコア状に抜き取った．採泥時は，コアサンプル中の底質量がコア高さで 30cm 以上となるように採取した．採取した底泥試料は，カラムごと陸上へ移動させ，底泥表面が撹乱しないように十分に注意してかつ低温に保ちながら車両輸送し，速やかに 20℃に温度管理された試験室へ持ち帰り，試験に供した．

2.4 油ヶ淵流域における汚濁負荷量等の整理

油ヶ淵の流域における行政人口と下水処理人口，未処理人口と普及率および湖面積の情報を整理した．なお，未処理人口を湖面積で割ることにより，現状の湖沼への人由来汚濁負荷状況を求めた．さらに，他の汚濁源からの負荷も含めた汚濁負荷量状況についても取りまとめた．

2.5 底泥酸素消費速度試験

本研究においては，塩濃度の違いが底泥表面の酸素消費に与える影響を検討するため，異なる試験水として①湖沼水：塩濃度 0%，②海水：塩濃度 3%，③混合水：塩濃度 1.5%（①と②の混合水）を用いた．現地にて簡易柱状採泥したコア試料を，底泥厚が 15cm となるように底泥量を調整した．試験水は GF/B（1.0μm）にてろ過後，Air 曝気による飽和水（DO:8mg/L 以上）を調整し，底泥表面を乱さないよう底泥上にサイホンにて満水になるまで注入し，ゴム栓にてシールを行った．試験は 20℃の恒温室（暗条件）にて行った．

3．結果および考察

3.1 油ヶ淵流域汚濁負荷割合と下水道の普及率

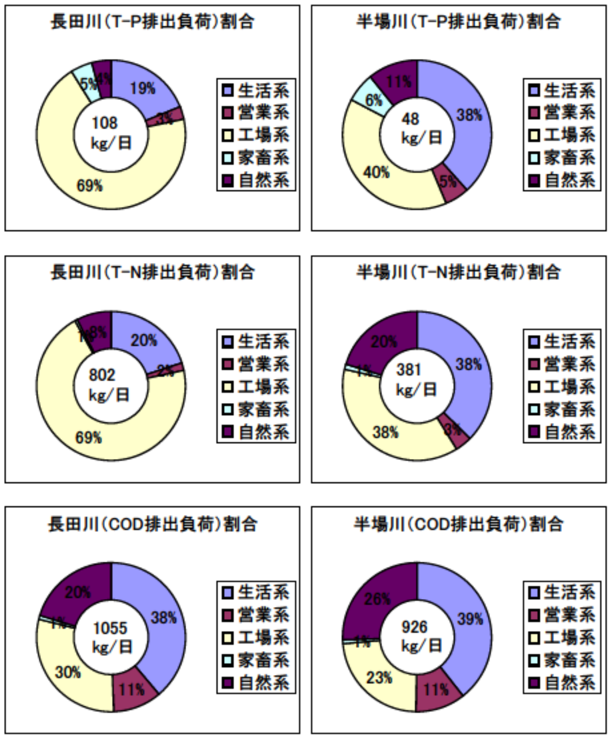
油ヶ淵流域からの汚濁負荷量と汚濁源の割合（T-P, T-N, COD）として，流入河川（長田川・半場川）の状況を図－2 に示す．

流域における排出負荷源は，その流域特性を表しており，油ヶ淵は工場・事業所等と生活排水の排出負荷が高く，特に長田川の T-P と T-N の排出負荷量は，半場川の 2 倍以上と高かった．半場川流域においては T-N の自然（農業）系割合も多く，汚濁源としては田・畑の影響が大きい．COD 排出負荷量は，生活系と工場系，さらに自然（農業）系の割合が多かった．

また，油ヶ淵流域における汚水処理施設状況を表－1 に示す．平成 17 年度の下水道普及率は 56.8%，接続率は 74%である[2]．全国の下水道普及率の平均は 72%[3] に比べると，やや低い整備状況である．また，湖面積に対する未処理人口は，流域人口が多く湖面積の小さい油ヶ淵においては、極めて大きな値であった．

表－1　油ヶ淵流域における汚水処理施設状況

湖沼名	湖面積 (km^2)	行政人口 (人)	処理人口 (人)	未処理人口 (人)	普及率 (%)	未処理人口／湖面積 (人/km^2)
油ヶ淵(19年度)	0.64	99168	56290	42878	56.8	66997

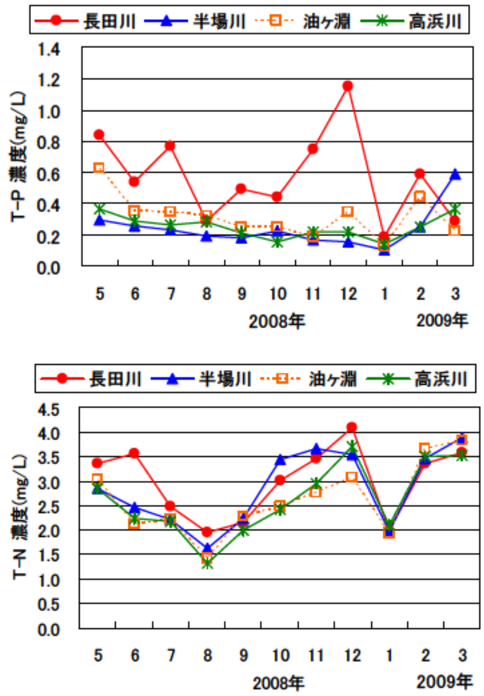


図－2　油ヶ淵流域の汚濁負荷割合（T-P, T-N, COD）

3.2 年間の水質変動

2008 年 5 月から 2009 年 3 月までの期間，月 1 回の定期調査を実施した水質結果（T-P, T-N）を図－3 に示す．

T-P 濃度は，流入河川（長田川・半場川）で平均 0.41mg/L（0.1～1.2mg/L）であり，年間を通して長田川の T-P 濃度が極めて高い傾向であった．油ヶ淵は平均 0.31mg/L（0.13～0.62mg/L），流出河川（高浜川）は平均 0.25mg/L（0.14～0.37mg/L）と濃度の低下が認められた．



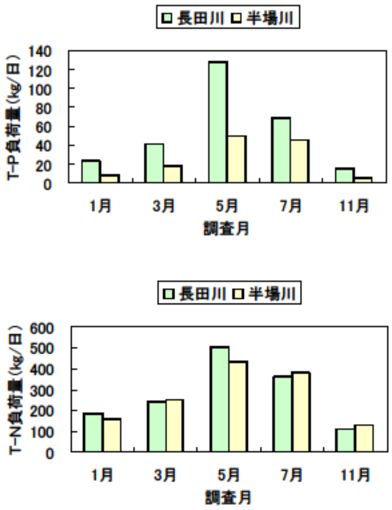
図－3　油ヶ淵流域の水質変動（T-P, T-N）

一方，T-N 濃度は，流入河川（長田川・半場川）で平均2.9mg/L(1.6～4.1mg/L)であり，油ヶ淵は平均2.6mg/L(1.4～3.8mg/L)，流出河川(高浜川)は平均 2.6mg/L(1.3～3.7mg/L)と濃度の変化は認められなかった．この原因は，図－2 で示したように，長田川と半場川の異なる流域特性と汚濁負荷割合の状況が存在し，長田川の T-P 濃度が極めて高い原因は，工場系由来の汚濁物質の流入が影響していると考えられる．

3.3 季節調査における汚濁負荷量の変化

季節毎の調査における T-P と T-N の負荷量の比較を図－4 に示す．

5 月の T-P と T-N の負荷量が高いのは，調査時期が油ヶ淵流域の水田の田植え（代掻き）時期であり，晴天時にも関わらず，SS 濃度は 60mg/L 程の値を示したことより，田植え時の濁水の影響と考えられる．一方，晴天時の 1 月と 11 月は，河川の流量が少なかったことが，負荷量の低い原因と考えられる．7 月の調査時は，前日に油ヶ淵流域において，降雨があり，その影響を若干受けている可能性がある．

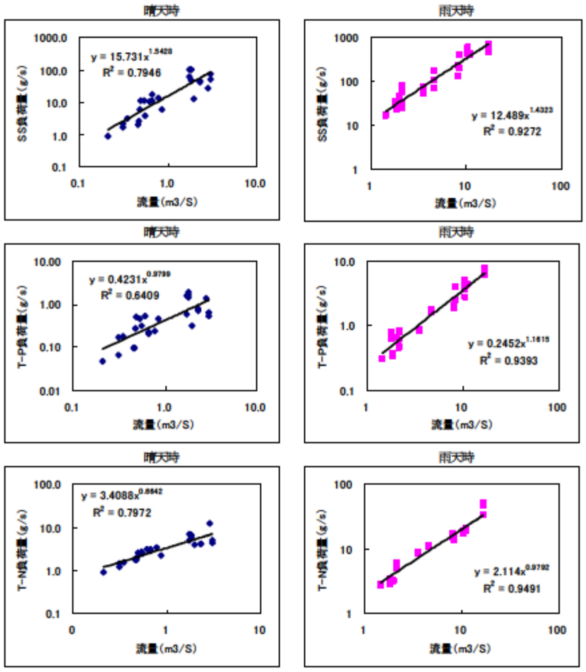


図－4　季節毎の調査における T-P と T-N の負荷量の比較

3.4 晴天時と雨天時における LQ 式

油ヶ淵の流入河川（長田川・半場川）において，2008 年 1 月から 2008 年 11 月まで期間に実施した晴天時，雨天時調査の水質と流量調査データを図－5 に，それより算出した L-Q 式を表－2 に示す．

雨天時と晴天時の L-Q 式の作成を行った結果，雨天時は，SS，T-P，T-N 共に流量と負荷量の相関が高かった．晴天時は，季節・田植え（代掻き）期等のインパクトにより，濃度差が生じ，流量と負荷量の相関が雨天時に比べ低かった．よって，L-Q 式の作成に当っては，負荷量の異なる時期において，評価することも必要であると考える．



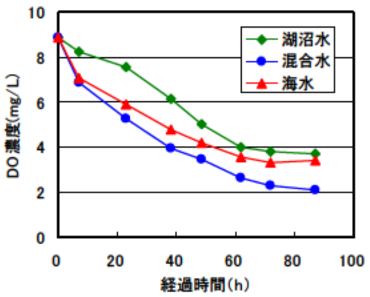
図－5　晴天時と雨天時における流量と負荷量の関係 (T-P,T-N,SS)

表−2　晴天時と雨天時における L-Q 式（T-P, T-N, SS）

項目	晴天時		雨天時	
	L-Q式	R^2	L-Q式	R^2
SS	$L=15.7Q^{1.5428}$	0.7946	$L=12.5Q^{1.4323}$	0.9272
T-P	$L=0.42Q^{0.9799}$	0.6409	$L=0.24Q^{1.1615}$	0.9393
T-N	$L=3.41Q^{0.6642}$	0.7972	$L=2.11Q^{0.9792}$	0.9491

3.5 底泥の酸素消費速度試験

静置系における底泥の酸素消費試験における DO の濃度変化を図−6 に示す．初期から 24h までの区間より求めた酸素消費速度は，湖沼水（塩濃度：0%）：0.40g/m2/day，混合水（塩濃度：1.5%）：1.06g/m2/day，海水（塩濃度：3.0%）：0.87g/m2/day と，直上水に海水が混入した方が，湖沼水に比べ 2 倍以上の酸素消費速度を示した．



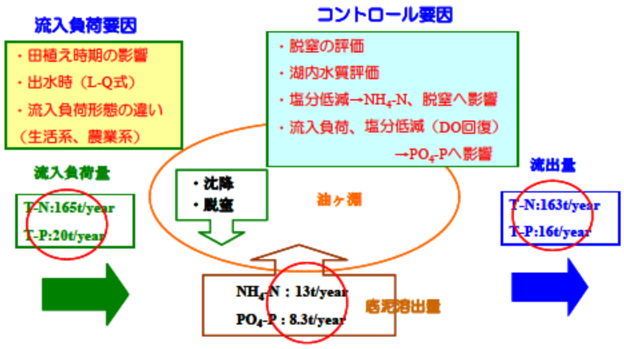
図−6　各底泥における酸素消費速度（静置系）

3.6 汚濁負荷量の把握と物質収支

油ヶ淵流域における晴天時を基本とした汚濁負荷量収支を図−7 に示す．

先ず，冬期，春期、夏期、秋期における流入河川の水質と流量から，流入負荷量を算出した．同様に流出河川において流出負荷量の算出を行った．また，湖内の内部負荷量については，19 年度に実施した底泥溶出実験の溶出速度より，溶出量の算出を行った．

流入負荷量は T-N で 165t/year，T-P で 20t/year であり，流出負荷量は T-N で 163t/year，T-P で 16t/year となった．T-P 流出負荷量は，底泥からの溶出量から見て，12t/year の減少であり，油ヶ淵湖内における沈殿効果と考えられる．一方，T-N 流出量は流入負荷量と大きな差がないが，減少分は塩分流入時の湖内水質変化による底泥からの脱窒影響等が 原因と考えられる．なお，本物質収支の算出に用いた調査結果は，晴天時のものであり，今後，雨天時等の流入負荷を考慮する必要がある．



図−7　油ヶ淵流域における汚濁負荷量の収支

4．まとめ

一年間の水質変動と季節イベント毎の汚濁負荷量について検討を行った結果，流入河川の長田川流域では，工場系の排出負荷割合が極めて多く，一方，半場川では，生活系の排出負荷割合が多いことが分かった．また，5 月の田植え時期における流域からの汚濁負荷量も高いことが分かった．

雨天時と晴天時の L-Q 式の作成を行った結果，雨天時の SS，T-P，T-N 共に流量と負荷量の相関が高かった．晴天時は，季節・田植え期等のインパクトにより，濃度差が生じ，流量と負荷量の相関が雨天時に比べ低かった．

油ヶ淵は汽水湖特有の性質を持ち，海水の流入による塩水くさびが湖内においても確認され，塩分濃度が高くなる層より急激な溶存酸素濃度（DO）の低下が確認された．本研究において，夏季の底泥を用いた酸素消費試験より，湖沼水質の塩濃度の変化が酸素消費速度に異なる影響を与えることが確認された．よって，湖水の塩濃度をコントロールすることにより，DO の回復が起きた場合には，リンの溶出抑制と脱窒効果が期待でき，油ヶ淵における水質改善効果が行え，伊勢湾に与える流域からの排出負荷の削減に寄与する可能性が考えられた．

謝辞:

本研究を実施するに当たり，愛知県知立建設事務所，愛知県環境調査センター水圏部，愛知県碧南市役所経済環境部，愛知県建設部下水道部ならびに油ヶ淵漁業協同組合にご協力を頂いたことを，ここに深く感謝の意を表します．

なお、本調査研究は、科学技術振興調整費（文部科学省），および運営費交付金（一般勘定）により実施されたものである。

参考文献

１）国土交通省河川局 HP，汽水域の河川環境の捉え方に関する手引き書
http://www.mlit.go.jp/river/shishin_guideline/kankyo/kankyou/kisuiiki/index.html
２）油ヶ淵清流ルネッサンスⅡの進捗状況について，2007
３）（社）日本下水道協会 HP，下水道処理人口普及率
http://www.jswa.jp/05_arekore/motto/07/index.html
４）愛知県環境部水地盤環境課　油ヶ淵流域水環境モニタリング HP
http://www.aburagafuchi.jp/
５）環境省　報道発表資料　平成 19 年度公共用水域水質測定結果の概要
http://www.env.go.jp/water/suiiki/h19/full.pdf

土　木　研　究　所　資　料
TECHNICAL NOTE of PWRI
No.4157　　　　November 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