ＩＳＳＮ　０３８６-５８７８
土木研究所資料　第４２１２号

土木研究所資料

平成22年度下水道関係調査研究年次報告書集

FY2010 Annual Report of Wastewater Management and Water Quality Control

平成23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４２１２号　平成23年11月

平成22年度下水道関係調査研究年次報告書集

材料資源研究グループ　　リサイクルチーム
水環境研究グループ　　水質チーム

概要

本報告書集は、平成22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**

			頁
1	下水処理場の再生可能エネルギー供給拠点化方策	（受託業務費）	1
2	下水道におけるウイルス対策手法に関する検討調査	（受託業務費）	40
3	下水汚泥再生材のリン資源としての利用可能性評価に関する調査	（受託業務費）	53
4	流域規模での水・物質循環管理支援モデルに関する研究(3)	（運営費交付金）	90
5	水環境中における病原微生物の消長に関する研究	（運営費交付金）	103
6	余剰有機物と都市排水の共同処理技術に関する研究	（運営費交付金）	112
7	LCAからみた公共緑地等バイオマスの資源利用システムに関する研究	（運営費交付金）	121
8	下水中の栄養塩を活用した資源回収・生産システムに関する研究	（運営費交付金）	125
9	再生水利用の安全リスクに関する研究	（運営費交付金）	149
10	バイオマス発酵残さの緑農地還元における微量有害物質のリスク評価に関する研究	（運営費交付金）	157
11	21 世紀型都市水循環系の構築のための水再生技術の開発と評価（水の衛生学的評価）	（戦略的創造研究推進事業）	161
12	循環型社会ビジョン実現に向けた技術システムの評価モデル構築と資金効率・環境効率の予測評価	（科研費補助金）	182

Ⅱ **水質チーム**

13	下水道における生理活性物質の実態把握と制御に関する調査	（受託業務費）	195
14	下水道における微量化学物質の安全性評価に関する調査	（受託業務費）	225
15	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	（運営費交付金）	239
16	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)	（運営費交付金）	266
17	都市水環境における水質評価手法に関する調査	（運営費交付金）	270
18	湖水中の藻類生産有機物の性状と挙動に関する研究	（運営費交付金）	286
19	微量金属を対象としたダム湖富栄養化対策技術の開発	（運営費交付金）	311
20	閉鎖性水域の貧酸素化に及ぼす陸域負荷の影響と対策手法に関する研究	（運営費交付金）	315
21	地球環境の変化が河川湖沼水質に及ぼす影響の評価に関する研究	（運営費交付金）	317
22	水生生物の生体反応を用いた下水処理水の毒性評価に関する研究	（運営費交付金）	324

Ⅲ **リサイクルチーム・水質チーム共同**

23	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	（地球環境保全等試験研究費）	333

＊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

下水処理場の再生可能エネルギー供給拠点化方策検討調査

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　新井小百合

１．はじめに

地球温暖化対策の進展に向けて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）の有効利用に期待が高まっているが、消化施設における下水汚泥以外のバイオマス受け入れの際のバイオガス発生量の増加や、消化工程、脱水工程へ与える影響、さらには汚泥系から発生する分離液による水処理系への影響等は不明確である。平成 22 年度調査では、上記に関する実験等を行い、最適な運転条件等を明らかにして今後の施設設計や施設管理に反映させるための検討を行った。

２．様々な条件下での消化実験

２．１　他バイオマスの破砕機による破砕後の性状と消化ガス発生量

はじめに、他バイオマスの破砕機による破砕後の性状と消化ガス発生量について検討する。ここで、「他バイオマス」としては、生ゴミ、畜産排せつ物、木質、刈草等があるが、生ゴミは実機投入の実例もあり、木質は燃料としての利用価値が高い。また、畜産排せつ物はその発生場所が都市域から遠いケースが多い。そのため、本調査で対象とする「他バイオマス」は、現在利用率の低い刈草とした。

平成21年度の検討[1)]より、前処理方法によるメタン発酵効率は、メタンガスの発生量で評価すると、蒸煮・爆砕処理を行なったもの及び微粉砕処理を行なったものが最も高かった。そこで他のより良い前処理方法を追求するため、本業務では他バイオマスを微粉砕処理することに着目する。

国土交通省総合政策局事業総括調整官室及び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の調査 [2)]では、国土交通省直轄事業で除草・剪定により発生する草木系バイオマスの種類については、刈草：25 万トン-wet（道路：4.5 万トン-wet、河川：18 万トン-wet)、剪定枝葉：1.6 万トン-wet であった。また、県、市町村等の発生量を加えさらに除草・剪定可能な物を加えると、それ以上となる。それらの処分方法の内訳は、刈草については、37%が放置、12%が焼却、30%が再資源化であり、剪定枝葉については、5 割が民間再資源化（堆肥、チップ等）であった。堆肥等への資源化の際に、処理効率を上げるため、刈草は破砕機によって破砕されることが多く、メタン発酵で消化槽に刈草を投入する際に投入した刈草による送泥管等の閉塞を防ぐため、刈草の破砕が必要と考えられることから、破砕性能の異なる 3 種類の破砕機について比較検討を行った。

２．１．１　刈草

本業務で用いた刈草は全て、横浜市グリーン事業協同組合が運営する第三セクターの「横浜動物の森公園　緑のリサイクルプラント」で集荷した刈草を使用した。（図 2.1.1-1）本プラントでは、公共事業で発生する街路と公園のみの刈草を受け入れている。刈草以外のゴミが混じると受け入れをしていないため、大部分は公園由来の刈草で草の種類は種々雑多である。今回は 9 月下旬に発生した刈草を使用したため、晩夏～秋の雑草が多いと考えられる [3)]。試料とした刈草は、室内で冷蔵保管した物を用いた。



図 2.1.1-1 使用した刈草

２．１．２　使用破砕機

破砕機は、下記に挙げる 3 種類のものを用いた。

(1) A 細破砕機

破砕機の説明書によると、廃木材、パレット、幹、根株、剪定枝葉、バイオ廃棄物等の破砕を対象としている。破砕の原理は、タイヤショベルで材料を投入し、揺動可能に支持された引き込みロールで草を引き入れて網刃を通して破砕している。通常 3cm に設定して破砕しており、刈草が網刃に対して平行に通った場合等は 3cm より大きな刈草も通過する。



図 2.1.2-1　A 細破砕機



図 2.1.2-2　A 細破砕機で破砕した刈草

(2) B 破砕機

破砕機の説明書によると、刈草、剪定枝、食品残さ等の破砕を対象としている。同じ構造の機械は廃棄物処理や堆肥化等にも用いられている。破砕の原理は、材料を投入し、左右に設置された回転刃（オーガー）によって材料を中央部に連続して送り、中央部で盛り上がった材料が自然落下するときに回転刃によって破砕している。回転刃の間隔は 2cm になっており、刈草が回転刃の隙間を通った場合等は 2cm より大きな刈草も通過する。



図 2.1.2-3　B 破砕機

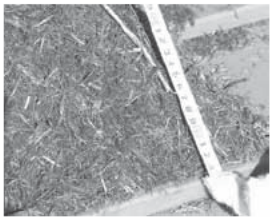


図 2.1.2-4　B 破砕機で破砕した刈草

(3) C 万能破砕機

破砕機の説明書によると、紙、布、竹のみならずプラ塊やポリ容器等廃棄物の破砕を対象としている。破砕の原理は、材料を投入し、左右に設置された回転刃とその下に設置された固定刃によって材料を押し出して破砕する。固定刃及び回転刃は様々な大きさの径があり、交換も可能である。破砕後の寸法については固定刃と回転刃の刃の寸法と固定刃のセットする数量によって決定するが、スクリーン等は通さないので実際の試料を測定しないと破砕後の寸法は分からない。今回の使用した固定刃及び回転刃の寸法と固定刃のセットする数量は、今まで破砕した実績で 1 番細かくなる組み合わせを用いた。

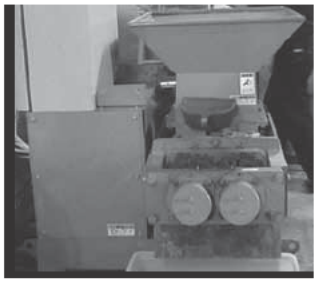


図 2.1.2-5　C 万能破砕機

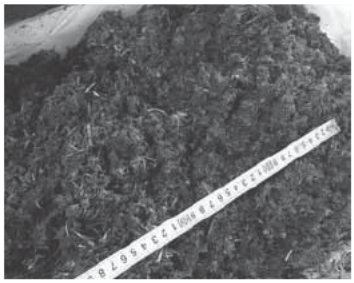


図 2.1.2-6　C 万能破砕機で破砕した刈草

２．１．３　方法

(1)長さの測定

試験に用いた刈草の長さ及び幅について測定した。長さ及び幅については破砕前の刈草及び破砕機ごとに破砕した刈草をできるだけ無作為になるように抽出した 100 試料について定規によって計測した。

(2)含水率、TS、VS

試験に用いた刈草の含水率、TS、VS を測定した。含水率は植物栄養実験法を、TS、VS は下水試験方法を参考にして計測した。

(3)回分式消化試験

２．１．２(1)～(3)で示した破砕機により破砕した刈草及び竹を用い以下の条件で発酵性を調査した。実験は、1L フラスコを用いた回分式試験とし、14 日間 35℃の条件下にて消化させ、テドラーバックによりガス回収を行なった。種汚泥としての消化汚泥に対し、投入汚泥は TS ベースで 1/5 となるように投入し、刈草等はさらにその半分である 1/10 となるように投入した。汚泥についてはろ過試料の TOC と pH を測定した。測定方法は、下水試験方法に準拠し、機器はそれぞれ pH は YOKOGAWA、pH7I 用いた。窒素ガスパージ後の回分試験前の pH は 7.7、14 日後の pH は 7.1～7.3 であった。発生したガスは、CH_4、CO_2、N_2、O_2 の含有率を測定した。測定方法は、ガスクロマトグラフ法（下水試験方法）に準拠し、機器は SHIMADZU CORPORATION、GC-2014ATF を用いた。



図 2.1.3-1　回分式実験の様子

(4)消費電力量

破砕機ごとの電力量にあたっては、20kg 程度の刈草を破砕する電力量（動力量）を出力及び動力の値から算出した。C 万能破砕機については測定した電力計で読みとった電流値より電力量を算出し、機器は三和電気計器㈱、Mini Tester DG34 を用いた。

２．１．４　結果

(1)長さの測定

破砕前及び破砕機ごとの破砕後の長さ及び幅の測定結果を以下の表 2.1.4-1 に示す。表 2.1.4-1 より、破砕後の刈草の長さは C 万能破砕機、B 破砕機、A 細破砕機の順に細かくなっている。幅については長さほど大きな差はないが、同様の傾向が見られる。データの分布の広がり幅(ばらつき)をみる一つの尺度である各標準偏差の値より、A 細破砕機と比較して、B 破砕機及び C 万能破砕機はばらつきが小さい。

表 2.1.4-1 破砕機ごとの長さ及び幅

	長さ(mm)		幅(mm)	
	平均	標準偏差	平均	標準偏差
破砕前（刈草）	235.46	198.79	20.27	0.69
A 細破砕機	27.45	32.23	2.06	1.22
B 破砕機	17.35	10.74	0.79	0.37
C 万能破砕機	9.59	10.08	0.61	0.45

(2)含水率、TS、VS

測定した含水率、TS、VS を表 2.1.4-2 に示す。(1)の結果から細かい破砕ができたものほど、含水率が高く TS、

VS が小さい傾向にある。細かく破砕できたものほど VS 分解率が高くなり反応が進んだ一因だと考えられる。

表 2.1.4-2 破砕機ごとの含水率、TS、VS

	含水率（%）	TS(%)	VS(%)	VS 分解率
破砕前（刈草）	51.84	48.17	43.56	
A 細破砕機	60.97	39.03	33.35	0.23
B 破砕機	58.73	41.27	33.30	0.24
C 万能破砕機	68.99	31.01	26.06	0.40

(3)回分式消化試験

測定した消化ガス発生量を表 2.1.4-3 に、破砕機ごとの汚泥および刈草の消化ガス発生量を図 2.1.4-1 に示す。全体のガス発生量及びメタンガスの発生量で比較すると、C 万能破砕機、A 細破砕機、A 細破砕機の順に発生量が多かった。表 2.1.4-3、図 2.1.4-1 より、破砕機ごとの汚泥および刈草の VS あたりの消化ガス発生量を比較すると、窒素及び酸素の増加量が 0.01～0.02（ＮＬ）と小さいのに対し、二酸化炭の増加量は 0.05～0.09（ＮＬ）、メタンの増加量は 0.13～0.21（ＮＬ）となっていた。

表 2.1.4-3　破砕機ごとの消化ガス発生量

No.	刈草の種類	ガス発生量(NL)	CH_4(NL)	CO_2(NL)	N_2(NL)	O_2(NL)
1	―	0.759	0.48	0.09	0.16	0.02
2	A 細破砕機	1.015	0.65	0.16	0.17	0.03
3	B 破砕機	0.958	0.63	0.14	0.15	0.02
4	C 万能破砕機	1.034	0.67	0.16	0.16	0.03

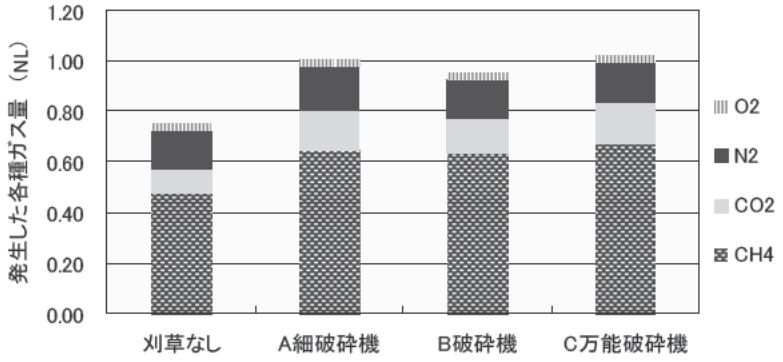


図 2.1.4-1 破砕機ごとの汚泥及び刈草の消化ガス発生量

破砕機ごとの汚泥及び刈草の VS あたりの消化ガス発生倍率は投入汚泥からは刈草なしの消化ガス発生量と同量が発生するものと仮定し、残りについては、刈草より発生したものと仮定して計算した。表 2.1.4-4 より、C 万能破砕機、A 細破砕機、B 破砕機、の順に小さくなり、ガスの発生は細かくばらつきの小さい C 万能破砕機による破砕が優れていると考えられるが、刈草と竹を比較すると同じ破砕機を用いて細かく破砕してもバイオマス分のガス発生倍率は低くなり、材質として刈草よりガスが発生しにくいことが確認できた。

表 2.1.4-4 破砕機ごとの汚泥及び刈草の VS あたりの消化ガス発生倍率

No.	刈草の種類	汚泥及び刈草重量（VS-g）	汚泥及び刈草 VS あたり消化ガス発生倍率（NL/VS-g）	刈草重量（VS-g）	刈草 VS あたり消化ガス発生倍率（NL/VS-g）
1	ー	1.54	0.49	0.00	-
2	A 細破砕機	2.36	0.43	0.82	0.31
3	B 破砕機	2.31	0.41	0.77	0.26
4	C 万能破砕機	2.37	0.44	0.83	0.33

(4)消費エネルギー量及び CO_2 換算の GHG 発生量

① A 細破砕機

利用者へのヒアリングによると、A 細破砕機はディーゼルエンジンで駆動しており、年間（平成 21 年度）で破砕作業にかかる燃料使用量は 26,755L、破砕処理量は 3,437tであった。1t あたりの刈草破砕に用いられる燃料使用量は 7.79Lとなる。軽油の発熱量換算は 1L=38.2MJ/L であるため [4]、消費エネルギー量は出力量はおよそ 297.6MJ と算出される。また、軽油の CO_2 排出係数は単位あたり 2.62t-CO_2/であるため [5]、CO_2 換算の GHG 発生量は 0.78t と算出される。また、A 細破砕機の設計値では機械の処理能力 80t/8h、破砕作業にかかる燃料使用量は 25～30L/h（エンジン回転数 2,000rpm）より 1t あたりの刈草破砕に用いられる燃料使用量は上記と同様に計算すると、約 2.75L、消費エネルギー量はおよそ 105.1MJ、CO_2 換算の GHG 発生量は 0.28t と算出される。

② B 破砕機

消費エネルギー量はエンジン動力から算出する。過去の牧草破砕試験で破砕作業にかかる燃料使用量は 39.66L、破砕処理量は 1254.0kg であった。1t あたりの刈草破砕に用いられる燃料使用量は 31.63Lとなる。軽油の発熱量換算は 1L=38.2MJ/L であるため [4]、消費エネルギー量はおよそ 1,208.1MJ と算出される。また、軽油の CO_2 排出係数は単位あたり 2.62t-CO_2/であるため [5]、CO_2 換算の GHG 発生量は 3.17t と算出される。また、B 破砕機の設計値では機械の処理能力 0.6t/h、破砕作業にかかる燃料使用量は 7.3L/h（エンジン回転数 2,000rpm）より 1t あたりの刈草破砕に用いられる燃料使用量は上記と同様に計算すると、約 12.17L、軽油の発熱量換算は 1L=38.2MJ/L であるため [4]、消費エネルギー量は出力量はおよそ 464.8MJ、CO_2 換算の GHG 発生量は 1.22t と算出される。

③ C 万能破砕機

C 万能破砕機は刈草 4 回試験を行い、表-2.1.4-5 の様な結果となった。本試験で用いた破砕機電圧は 200V で、他人から供給された電気の単位発熱量は 9.76GJ/千 kWh、CO_2 排出係数は単位あたり 0.555t-CO_2 で [5]算出した。

表-2.1.4-5 C 万能破砕機による試験結果

	投入重量	破砕後重量	破砕時間		電流	電力量	発熱量	CO_2 換算のGHG 発生量	投入重量当たりの GHG 発生量
	(kg-wet)	(kg-wet)	(分)	(秒)	(A)	(Wh)	(GJ)	(t-CO2)	(t-CO2/t-wet)
刈草 A	19.2	16.4	3	6	25.69	265.5	2.59	1.44	74.9
刈草 B	19.8	18.6	2	19	30.32	234.1	2.29	1.27	64.1
刈草 C	19.6	18.8	2	22	26.66	210.3	2.05	1.14	58.1
刈草 D	16.7	17.0	2	35	27.98	240.9	2.35	1.31	78.2

また、各破砕機の消費エネルギー及び CO_2 換算の GHG 発生量を表 3.1.4-7 に示す。A 細破砕機、C 万能破砕機

が連続的に破砕を行えるのに対し、B 破砕機は回分式に破砕を行うため、A 細破砕機及び C 万能破砕機は消費エネルギー量及び CO_2 換算の GHG 発生量が少なく、B 破砕機は消費エネルギー量及び CO_2 換算の GHG 発生量が大きい。今回の算定方法では、A 細破砕機での破砕が設計値・実測値共に 1 番 CO_2 換算の GHG 発生量が少なかった。

しかし、今回消費エネルギー量及び CO_2 換算の GHG 発生量の計算は機械によって得られる情報が異なるため、算定方法及び精度も異なった。そのため今回の計算は目安の値として算出したもので、今後の消費エネルギー量及び CO_2 換算の GHG 発生量の算定についてはより詳細な検討が必要となる。

表-2.1.4-6　1t あたりの各破砕機の消費エネルギー及び CO_2 換算の GHG 発生量

項目	条件（刈草 1t あたり）	A 細破砕機	B 破砕機	C 万能破砕機
エネルギー量（MJ）	設計値	105.05	464.89	
	実測値	297.59	1,208.14	68.81
GHG 発生量（t-CO_2）	設計値	0.28	1.22	
	実測値	0.78	3.17	1.29

２．１．５　実機に投入する際の破砕機の選定

実機へ投入する際の破砕機の選定要素は以下のものが考えられる。

① 破砕の連続性（実機へは回分式に破砕してその都度刈草を混合投入するよりも、連続的に破砕した刈草をそのまま投入する方法が効率が良いと考えられる。）
② 刈草の径（径が長いと熱交換機等を閉塞する恐れがある）
③ 消化ガス発生量
④ 消費エネルギー量及び CO_2 換算の GHG 発生量
⑤ 費用（本体価格及び維持管理費）

今回検討した 3 種類の破砕機のうち、B 破砕機は回分式であるため実機への適用には不向きだと考えられ、刈草の径は C 万能破砕機により破砕した刈草竹が優れていた。消費エネルギー及び CO_2 換算の GHG 発生量と費用は得られるデータの限界から公平な比較ができない。そのため、今回の試験では消費エネルギー及び CO_2 換算の GHG 発生量以外の①、②、③の要因から適した機械を選定した。そこで、連続的な破砕が可能で刈草の径も小さく、消化ガス発生量の多い C 万能破砕機による刈草の破砕が今回の試験結果からは実機への適用性が高いと判断した。

２．２　他バイオマスと下水汚泥との混合特性とメタン発酵後の脱水性改善効果

刈草の受け入れに伴い消化槽への有機物負荷量が増大することから、他バイオマスと下水汚泥との混合特性を明らかにするため、他バイオマスの投入比率や投入方法、消化槽温度、圧力等の様々な運転条件下で消化実験を行い、脱水性状についても検討した。

試験に用いる刈草は、２．１での検討により、C 万能破砕機によって破砕された刈草を用いて発酵性を調査した。

２．２．１　刈草の投入比率

（１）回分式消化試験

１）実験方法

今回の回分式試験の目的は投入汚泥に対する発酵が可能な刈草の割合の限界値を確認するための調査である。そのため、既往の研究で確認されている下水汚泥と稲藁の投入比率を参考に [6]、TS ベースで投入汚泥 : 刈草＝2:1、

1:1、1:2 を基準に刈草の割合を大きくした。刈草等の投入比率は表 3.2.1-1 に示す。実験は、それぞれの比率について 2 検体ずつ行い、1L フラスコを用いた回分式試験とし、14 日間 35℃の条件下にて消化させ、テドラーバックによりガス回収を行なった。

表-2.2.1-1　回分式試験の有機物負荷量割合

No.	消化汚泥		投入汚泥		刈草		有機物負荷量割合(TS 比)		
	TS-g	VS-g	TS-g	VS-g	TS-g	VS-g	消化汚泥	投入汚泥	刈草
1	11.83	8.22	2.37	1.70	0.00	0.00	10	2	0
2	11.83	8.22	2.37	1.70	4.61	1.09	10	2	1
3	11.83	8.22	2.37	1.70	9.22	2.18	10	2	2
4	11.83	8.22	2.37	1.70	18.45	4.35	10	2	4
5	11.83	8.22	2.37	1.70	27.67	6.53	10	2	6
6	11.83	8.22	2.37	1.70	36.90	8.71	10	2	8

2）　分析項目

汚泥（刈草入りのものを含む）はろ過試料の TOC、pH、比重、蒸発残留物及び含水率、強熱減量、粗浮遊物、砂分、粘度、窒素及びリン化合物含有量及び揮発性有機酸(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）を測定した。測定方法は下水試験方法に準拠し、機器はそれぞれ、TOC は SHIMADZU CORPORATION、TOC-5000A を、pH は YOKOGAWA、pH7I を、窒素及びリン化合物含有量は自動比色分析装置(TRAACS2000)、BRAN LUEBBE 社を、VFA 分析は DIONEX IC 20 Ion Chromatograph を用いた。窒素ガスパージ後の回分試験前の pH は 7.6、14 日後の pH は 7.1～7.3 であった。発生したガスは、CH_4、CO_2、N_2、O_2 の含有率を測定した。測定方法は、ガスクロマトグラフ法(下水試験方法）に準拠し、機器は SHIMADZU CORPORATION、GC-2014ATF を用いた。

3）結果

測定した pH、比重、蒸発残留物、強熱減量、粗浮遊物、砂分、粘度、TOC を以下の表 3.2.1-2 に示す。

表-2.2.1-2　回分式試験の汚泥分析結果

項目	単位	消化汚泥	投入汚泥	刈草	1	2	3	4	5	6
pH	-	7.88	5.63	-	7.32	7.28	7.19	7.17	7.18	7.14
比重	-	1.008	1.009	-	1.008	1.008	1.008	1.009	1.010	1.011
蒸発残留物	%	1.30	2.68	28.13	1.23	1.33	1.43	1.62	1.89	2.16
強熱減量	%	0.91	2.22	-	0.84	0.91	0.98	1.14	1.35	1.57
浮遊物質	mg/L	-	-	-	9,298	9,294	10,137	11,978	13,223	14,699
粗浮遊物	mg/kg	-	-	-	270	374	463	729	1179	1174
	%	-	-	-	0.03	0.04	0.05	0.07	0.12	0.12
砂分	mg/kg	-	-	-	13	13	22	17	27	12
	%	-	-	-	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
粘度	mPa･s	-	-	-	28	27	27	31	30	29
TOC	mg/L	155	770	-	167	213	283	305	595	1047

表-2.2.1-2 より、汚泥の pH は、刈草の投入量の多いものほど低くなった。しかし、メタン発酵を阻害するほど低い pH とはならなかった。

比重は発酵前より発酵後は小さくなるが、刈草の投入量が多いほど発酵が未完了のまま刈草が残ったため、わずかな差が生じたと考えられた。含水率及び粘度はほとんど差が見られず、蒸発残留物と強熱減量は刈草投入分の固形物及び有機物質が残ったと考えられた。

砂分は浮遊物質及び粗浮遊物と比較して値が非常に小さく、汚泥中の浮遊物の大半が 0.074㎜ より小さな有機物質であった。実施設の維持管理において、砂分は大きい場合、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来すので、堆積土砂量の調査及び除去を行う必要が生じる[7]。今回測定した刈草の混合嫌気性消化の結果は、どれも皆過去に測定した消化汚泥及び投入汚泥と比較して砂分の値が小さく[8]、これらの問題はほとんど生じないと考えられた。

TOC は刈草の投入量が増えるほど大きくなっていた。これは投入の蒸発残留物が高く、汚泥中の有機物含有量が分解量を超えていることが原因だと考えられる。

VFA 分析結果を表-2.2.1-3 に示す。表-2.2.1-3 より、消化汚泥には VFA はギ酸、酢酸のみ存在し、投入汚泥には、ギ酸、酢酸、プロピオン酸、イソ酪酸、酪酸、イソ吉草酸、吉草酸が存在していた。刈草の添加がない場合消化後は酢酸以外の濃度はいずれも低く、刈草添加量が多いほど乳酸、酪酸を除く VFA 濃度が増加した。これは、グルコースの代表的な発酵生成プロセスで、グルコースからピルビン酸、オキザロ酢酸、リンゴ酸、フマル酸、コハク酸、プロピオン酸へと最終的には水素の消費が伴う反応が生じる。これは酢酸発酵とは逆の反応で、通常のメタン発酵リアクターでは原料となる水素ガスの濃度が低いため、グルコースからプロピオン酸のみ生成する反応は起こりにくく、プロピオン酸を最終産物とする細菌も発見されていない[6]。そのため、刈草投入量が多い系については何らかの影響で水素濃度が高くなり一部プロピオン酸、コハク酸、酪酸等が生成したのだと考えられる。

表-2.2.1-3　回分式試験の VFA 分析結果

No.	刈草 投入量(g)	コハク酸 (mg/L)	乳酸 (mg/L)	ギ酸 (mg/L)	酢酸 (mg/L)	プロピオン酸 (mg/L)	イソ酪酸 (mg/L)	酪酸 (mg/L)	イソ吉草酸 (mg/L)	吉草酸 (mg/L)
1	0.00	0.00	0.00	0.00	2.49	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2	4.61	0.46	0.00	0.00	5.59	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3	9.22	0.56	0.00	0.23	6.05	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4	18.45	0.59	0.00	0.12	4.82	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5	27.67	1.48	0.00	0.10	76.04	276.95	7.93	0.00	90.87	0.00
6	36.90	2.43	0.00	0.10	221.03	692.08	106.42	0.00	122.57	5.41
	投入汚泥	0.00	0.00	0.00	615.05	458.00	40.95	177.05	53.70	75.75
	消化汚泥	0.00	0.00	0.18	4.39	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

測定した消化ガス発生量を表-2.2.1-4 に、回分式試験の汚泥及び刈草の消化ガス発生量を図-2.2.1-1 に示す。図-2.2.1-1 より、全体のガス発生量及びメタンガスの発生量で比較すると、刈草の投入量が大きくなるほどガス発生量が多い傾向にあるが、刈草投入量 36.90g(投入汚泥：刈草＝1:4）の系ではガス発生量が減少した。この時消化汚泥に対する有機物負荷量（投入汚泥と刈草の有機物合計量）が 1:1 となり、消化汚泥に対する有機物負荷量が多すぎたためだと考えられる。また、刈草の投入量の増加に対してメタンの発生割合が小さくなり、二酸化炭素の発

生割合が大きくなっている。メタン発酵のプロセスは酢酸からメタンと二酸化炭素が等量ずつ発生するプロセスが一般的であるが、水素の濃度が低くなると酢酸と水から水素と二酸化炭素が発生する [6]。表-2.2.1-3 より、刈草の添加量が多い系ほど酢酸濃度が高かった。このことから、全体に対する酢酸の割合が大きくなり、別の反応も生じた可能性も考えられる。

表-2.2.1-4 回分式試験の消化ガス発生量（標準状態）

No.	ガス発生量(NL)	CH_4(NL)	CO_2(NL)	N_2(NL)	O_2(NL)
1	1.12	0.73	0.21	0.15	0.02
2	1.67	1.08	0.38	0.17	0.03
3	1.92	1.21	0.49	0.17	0.03
4	2.40	1.49	0.71	0.15	0.03
5	2.57	1.50	0.86	0.17	0.03
6	2.53	1.39	0.96	0.15	0.03

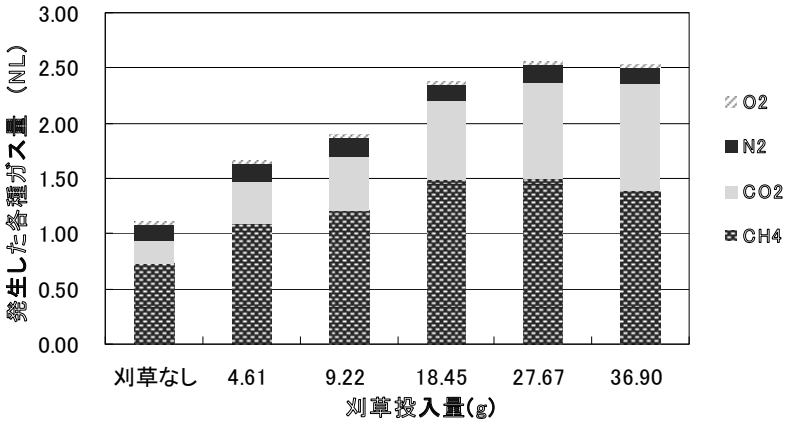


図-2.2.1-1　回分式試験の汚泥及び刈草の消化ガス発生量

測定した VS 分解率を表-2.2.1-5 に示す。表−2.2.1-5 より、全ての系で VS 分解率はほぼ等しかった。

表-2.2.1-5　回分式試験の VS 分解率

No.	VS−g		VS分解率	有機物負荷量割合(TS 比)		
	試験前	試験後		消化汚泥	投入汚泥	刈草
1	9.92	8.42	0.15	10	2	0
2	11.00	9.13	0.17	10	2	1
3	12.09	9.90	0.18	10	2	2
4	14.27	11.50	0.19	10	2	4
5	16.45	13.66	0.17	10	2	6
6	15.90	15.90	−	10	2	8

回分式試験の汚泥及び刈草の VS あたりの消化ガス発生倍率を表-2.2.1-6 に示す。汚泥及び刈草の VS あたりの消化ガス発生倍率は、投入汚泥から刈草なしの消化ガス発生量と同量が発生するものと仮定し、残りは刈草より発生したものと仮定して計算した。表-2.2.1-6 に示したように、汚泥及び刈草 VS あたりの消化ガス発生倍率は、刈

草投入量を増加させるほど小さくなった。この原因として有機物の高負荷によってメタン発酵の反応が十分に進行しなかった可能性が考えられる。

表-2.2.1-6 回分式試験の汚泥及び刈草の VS あたりの消化ガス発生倍率

No.	刈草投入量(g)	投入汚泥及び刈草重量(VS-g)	投入汚泥及び刈草 VS あたり消化ガス発生倍率(NL/VS-g)	刈草重量(VS-g)	刈草 VS あたり消化ガス発生倍率(NL/VS-g)
1	0.00	1.70	0.66	0.00	-
2	4.61	2.79	0.60	1.09	0.51
3	9.22	3.87	0.50	2.18	0.37
4	18.45	6.05	0.40	4.35	0.29
5	27.67	8.23	0.31	6.53	0.22
6	36.90	10.40	0.24	8.71	0.16

（2）連続式消化試験

1）実験方法

今回の連続試験では２．２．１（１）の回分試験の結果をふまえ、連続的に投入する汚泥に対する刈草の割合を一定量まで増やして発酵の性状を確認することを目的とする。そのため、過去の実績として確認されている投入汚泥：刈草＝10:1[8]、目安として回分式試験で比較的良い結果の得られた 1:0.5、1:1 の系を作成した。刈草等の投入比率は表 3.2.1-7 に示す。実験は、5L のアクリル製反応槽を、Ⅰ~Ⅳの 4 系列作成した。表-2.2.1-7 に各系の実験条件を示している。

表-2.2.1-7 連続試験の有機物負荷量割合（1 日あたりの投入量）

No.	有機物負荷量(TS･g)		有機物負荷量割合(TS 比)	
	投入汚泥	刈草	投入汚泥	刈草
Ⅰ	26.84	0	10	0
Ⅱ	26.84	9.54	10	1
Ⅲ	26.84	47.71	10	5
Ⅳ	26.84	95.41	10	10

実験の立上げに際して、種汚泥は消化汚泥を投入汚泥は混合汚泥をそれぞれ用いた。反応槽内には 4L の種汚泥を投入し馴致期間を 26 日設けることで 4 系列の状態を同様に保つようにし､35℃の条件下にて消化させ､テドラーバックによりガス回収を行なった。馴致前の pH は 8.0（消化汚泥のみの pH)、馴致後の pH は 7.1 前後となった。

中温消化条件で実績の多い水理学的滞留時間(HRT)は 20～30 日であり [6]､本実験では標準的な滞留時間の範囲の下限での状況を見るものとし、反応槽内の HRT は 20 日とした。

汚泥の投入及び引き抜きは平日 1 日 1 回（休日分は平日に均等に投入）行うものとし、投入及び引き抜き量は 280ml ずつとし、装置の界面が一定になるよう保った。

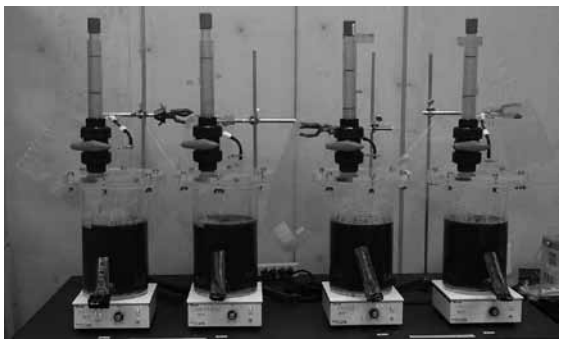


図-2.2.1-2 連続実験の様子

２）分析項目

本実験では液相、気相、刈草の分析をそれぞれ行った。

液相では平日 1 日 1 回、各槽から消化液の引き抜きを行い、そのつど pH の測定を行った。また 2 週間に 1 度の間隔で、蒸発残留物(TS)、含水率、強熱減量(VS)、浮遊物質(SS)、比重、粘度、粗浮遊物、砂分、有機性炭素(TOC)、NH_4-N、揮発性有機酸(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。

気相では週に 1 回ガスのサンプリングを行い、ガス発生量を測定し、必要に応じてガス組成(CO_2・CH_4・N_2・O_2)の分析を行った。刈草では必要に応じて蒸発残留物(TS)、含水率、強熱減量(VS)を行った

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(YOKOGAWA pH7I)、TS・VS・SS、浮遊物質(SS)、比重、粘度(下水試験方法(1997))、TOC(TOC-5000A)、NH_4-N（自動比色分析装置(TRAACS2000)、BRAN LUEBBE 社）、ガス組成(O2、N2、CH4、CO2 (SHIMADZU GC-2014)、揮発性有機酸（VFA）分析(DIONEX IC 20 Ion Chromatograph)

３）結果

①pH と VFA の推移

本試験の状態が安定していたことを確認するため、pH と VFA の推移を調べた。

各系の連続実験の pH の推移を図-2.2.1-3 に示す。今回投入汚泥の pH の平均値は 5.5 であった。図-2.2.1-3 より、pH について馴致期間は変動も大きかったが、刈草投入期間は 4 系とも pH は 6.9～7.5 の間で安定した。良好に運転されているメタン発酵槽の pH 範囲は 6.5～8.2 の間である[6]ことからも本試験は 4 系とも安定した状態であったと考えられる。

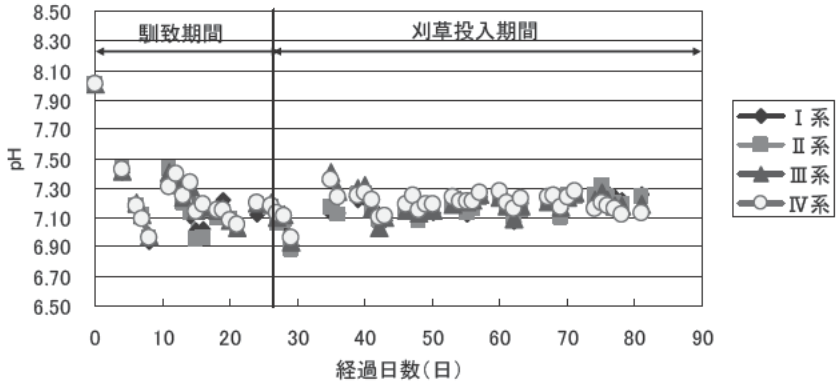


図-2.2.1-3 各系の連続実験の pH の推移

Ⅰ系の連続実験の VFA の推移を表-2.2.1-8 に、Ⅱ系の連続実験の VFA の推移を表-2.2.1-9 に、Ⅲ系の連続実験の VFA の推移を表-2.2.1-10 に、Ⅳ系の連続実験の VFA の推移を表-2.2.1-11 に示す。VFA については馴致期間に 1 回と、刈草投入期間に 2 週間に 1 回ずつ測定した。表-2.2.1-8～表-2.2.1-11 より、実験開始後 42 日目の測定までは多少の存在は確認されたが、56 日目以降の測定された VFA 濃度は酢酸、プロピオン酸を除いていずれも低く、大きな差は見られなかった。酢酸及びプロピオン酸は 4 系共に 56 日目以降安定しており、ガスの発生も 56 日目以降から安定したと考えられる。

表-2.2.1-8　Ⅰ系の連続実験の VFA の推移

経過日数（日）	コハク酸 (mg/L)	乳酸 (mg/L)	ギ酸 (mg/L)	酢酸 (mg/L)	プロピオン酸 (mg/L)	イソ酪酸 (mg/L)	酪酸 (mg/L)	イソ吉草酸 (mg/L)	吉草酸 (mg/L)
19	0.00	0.00	0.27	126.06	575.09	93.80	0.00	159.77	44.56
42	0.00	0.00	0.23	68.90	57.14	0.00	0.00	0.00	0.00
56	0.00	0.00	0.36	30.22	3.09	0.00	0.00	0.00	0.00
68	0.00	0.00	0.20	13.12	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

表-2.2.1-9　Ⅱ系の連続実験の VFA の推移

経過日数（日）	コハク酸 (mg/L)	乳酸 (mg/L)	ギ酸 (mg/L)	酢酸 (mg/L)	プロピオン酸 (mg/L)	イソ酪酸 (mg/L)	酪酸 (mg/L)	イソ吉草酸 (mg/L)	吉草酸 (mg/L)
19	0.00	0.00	0.25	112.55	595.74	96.25	0.00	164.66	44.71
42	0.00	0.00	0.25	66.71	36.55	0.00	0.00	0.00	0.00
56	0.00	0.00	0.32	23.32	1.87	0.00	0.00	0.00	0.00
68	0.00	0.00	0.20	13.66	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

表-2.2.1-10　Ⅲ系の連続実験の VFA の推移

経過日数（日）	コハク酸 (mg/L)	乳酸 (mg/L)	ギ酸 (mg/L)	酢酸 (mg/L)	プロピオン酸 (mg/L)	イソ酪酸 (mg/L)	酪酸 (mg/L)	イソ吉草酸 (mg/L)	吉草酸 (mg/L)
19	0.00	0.00	0.24	110.48	601.44	99.73	0.00	170.09	7.82
42	0.00	0.00	0.26	99.99	183.61	7.44	0.00	0.00	0.00
56	0.00	0.00	0.45	30.14	9.99	0.00	0.00	0.00	0.00
68	0.84	0.00	0.33	30.44	2.62	0.00	0.00	0.00	0.00

表-2.2.1-11　Ⅳ系の連続実験の VFA の推移

経過日数（日）	コハク酸 (mg/L)	乳酸 (mg/L)	ギ酸 (mg/L)	酢酸 (mg/L)	プロピオン酸 (mg/L)	イソ酪酸 (mg/L)	酪酸 (mg/L)	イソ吉草酸 (mg/L)	吉草酸 (mg/L)
19	0.00	0.00	0.22	105.51	589.73	97.65	0.00	168.90	8.37
42	0.00	0.00	0.29	64.41	104.49	0.00	0.00	0.00	0.00
56	0.00	0.00	0.57	40.74	41.23	0.00	0.00	0.00	0.00
68	0.88	0.00	0.52	41.82	50.09	0.00	0.00	0.00	0.00

②TS、VS の推移

有機物の分解に対する汚泥の性状を確認するために、引抜汚泥の TS、VS を測定した。測定は馴致期間に 1 回と、刈草投入期間に 2 週間に 1 回ずつ行った。Ⅰ～Ⅳ系の TS の推移を図-2.2.1-4 に、VS の推移を図-2.2.1-5 に、VS 分解率を表-2.2.1-12 に示す。

図-2.2.1-4、図-2.2.1-5 より、TS、VS は刈草の投入割合が大きいほど値が大きくなり経過日数による値の増加幅も大きくなった。

VS 分解率の計算は、表-2.2.1-8～表-2.2.1-11 より、反応槽内のメタン発酵は実験開始後 56 日目以降から安定し

たと考えられるため、投入 VS は 56 日目以降に投入した汚泥及び刈草の有機物投入量(VS-g)の合計値を、引抜 VS は 67 日目の数値を用いて 56 日目以降の有機物投入量(VS-g)の合計値から算出した。表-2.2.1-12 より、VS 分解率は刈草投入量が多いほど、値が小さく分解しにくくなっていた。しかし、回分試験と比較するとどの系も全て値が大きく有機物の分解が進んでいた。

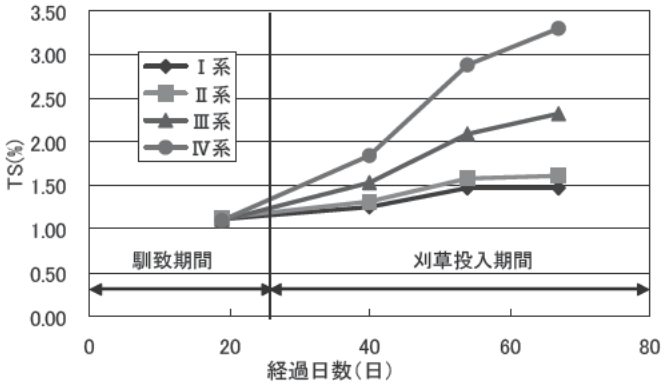


図-2.2.1-4　Ⅰ～Ⅳ系の TS の推移

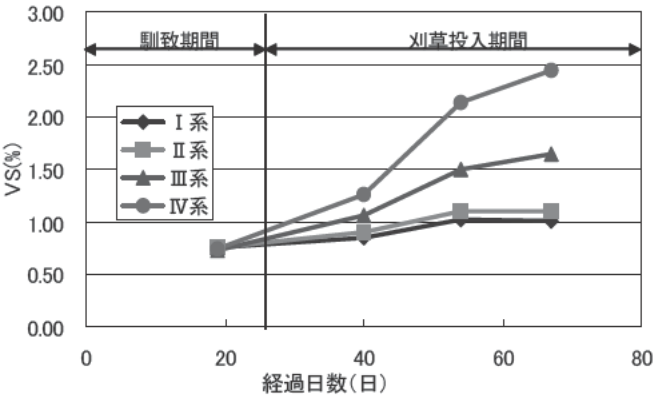


図-2.2.1-5　Ⅰ～Ⅳ系の VS の推移

表-2.2.1-12　Ⅰ～Ⅳ系の VS 分解率

No.	刈草投入量(g)	VS-g		VS分解率
		投入 VS	引抜 VS	
Ⅰ	0.00	108.36	45.17	0.58
Ⅱ	42.74	118.29	49.55	0.58
Ⅲ	213.74	158.01	74.77	0.53
Ⅳ	427.44	207.66	111.45	0.46

③浮遊物質(SS)、比重、粘度、粗浮遊物、砂分

撹拌や刈草投入に対する固形物の影響を確認するため、浮遊物質(SS)、比重、粘度を測定した。Ⅰ～Ⅳ系の浮遊物質(SS)の推移を図-2.2.1-6、比重の推移を図-2.2.1-7 に、粘度の推移を図-2.2.1-8 に、粗浮遊物の推移を図-2.2.1-9 に、砂分の推移を図-2.2.1-10 に示す。

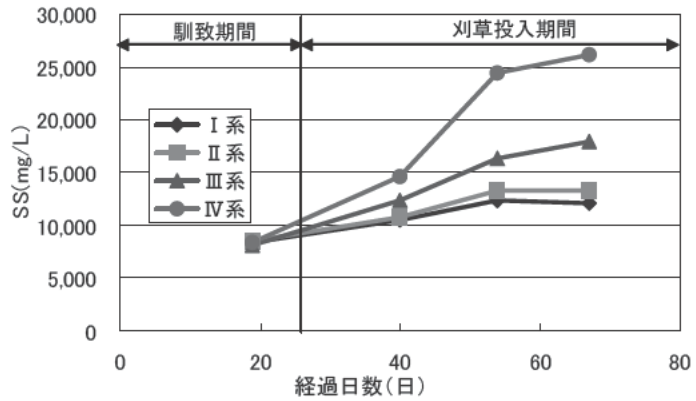


図-2.2.1-6　Ⅰ～Ⅳ系の浮遊物質(SS)の推移

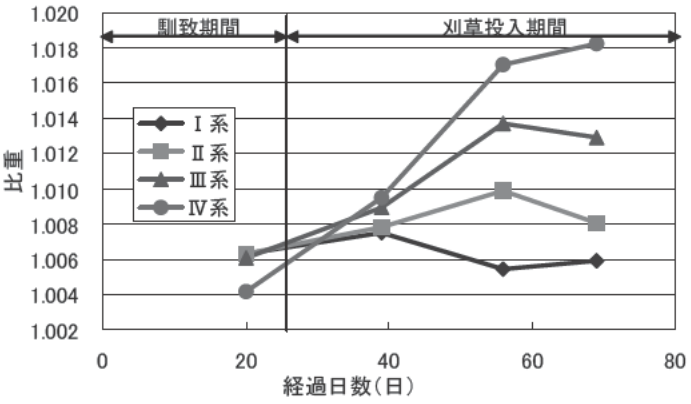


図-2.2.1-7　Ⅰ～Ⅳ系の比重の推移

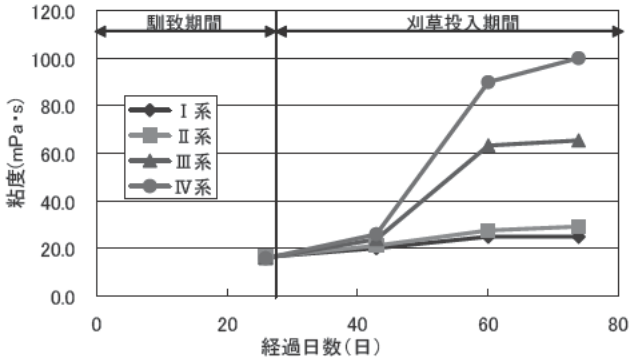


図-2.2.1-8　Ⅰ～Ⅳ系の粘度の推移

図-2.2.1-6、図-2.2.1-7、図-2.2.1-8 より、浮遊物質(SS)、比重、粘度共に刈草の投入割合が大きいほど値も大きくなり、経過日数による値の増加幅も大きくなるが、実験開始から 60 日目頃からどの系も値が収束する傾向が見られた。Ⅳ系（刈草添加率 100%）においては 60 日目以降粘性が強く、図-2.2.1-4 より TS も増加したため撹拌力が小さくなったことが目視でも確認できた。粘性の面で刈草添加率を 100%より大きくする場合、撹拌力の増強が必要だと考えられる。また、刈草の添加量が 100%以下の場合は本試験より長期間の試験で確認する必要があると考えられる。

図-2.2.1-9、図-2.2.1-10 より、一部異なる箇所もあるが粗浮遊物や砂分は刈草投入量が大きいほど値が大きくなる傾向にあった。砂分は浮遊物質及び粗浮遊物と比較して値が非常に小さく、汚泥中の浮遊物の大半が 0.074㎜より小さな有機物質であった。実施設の維持管理において、砂分は大きい場合、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来すので、堆積土砂量の調査及び除去を行う必要が生じる[6]。今回測定した刈草の混合嫌気性消化の結果は、どれも皆過去に測定した消化汚泥及び投入汚泥と比較して砂分の値が小さく[8]、これらの問題はほとんど生じないと考えられた。

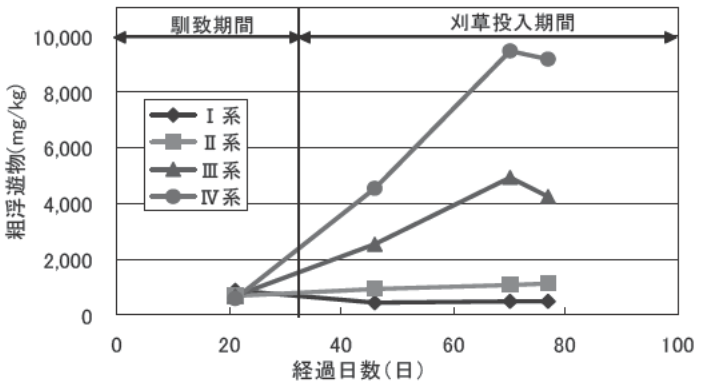


図-2.2.1-9　Ⅰ～Ⅳ系の粗浮遊物の推移

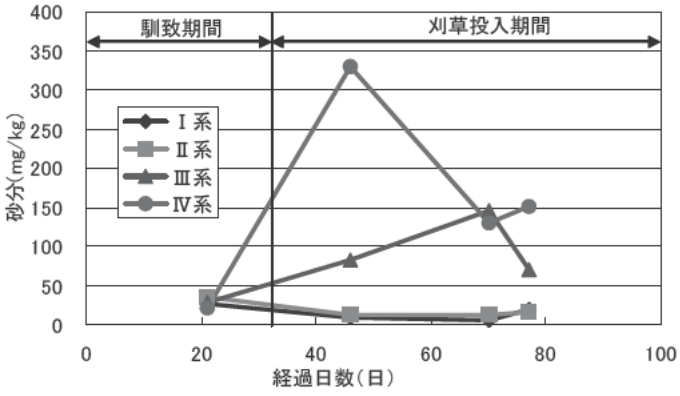


図-2.2.1-10　Ⅰ～Ⅳ系の砂分の推移

④TOC、NH_4-N

有機物負荷を確認するため、TOC を測定した。Ⅰ～Ⅳ系の TOC の推移を図-2.2.1-11 に、NH_4-N の推移を図-2.2.1-12 に示す。

図-2.2.1-11 より、4 系とも実験開始後 42 日目までは TOC の値が減少している。これは 4 系とも汚泥及び刈草の有機物が分解される量が投入量よりも大きいためである。42 日目以降は刈草を 100%添加しているⅣ系の TOC が増加し、55 日目以降は刈草を 50%添加しているⅢ系の TOC が増加した。これは投入量よりも汚泥及び刈草の有機物が分解される量が上回ったためであり、有機物の分解は継続されているものと考えられた。

図-2.2.1-12 より、NH_4-N 濃度は 4 系とも日数が経過するほど濃度も大きくなっているが、本試験は期間中全て中温消化での安全濃度 4,500～5,000mg/L[9]をはるかに下回っており、アンモニアによる阻害はなかったと考えられる。

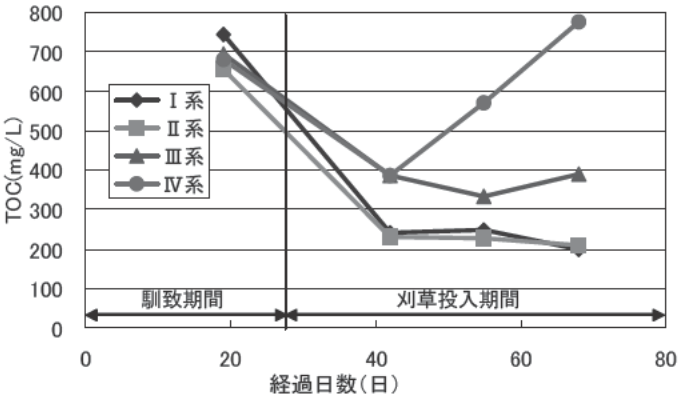


図-2.2.1-11　Ⅰ～Ⅳ系の TOC の推移

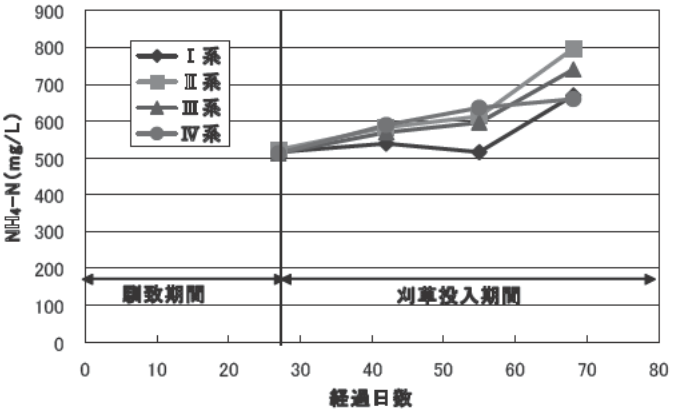


図-2.2.1-12　Ⅰ～Ⅳ系の NH_4-N の推移

⑤消化ガスの発生量

消化ガスの発生量を確認するため、消化ガスの発生量及びガス性状を測定した。Ⅰ～Ⅳ系の累積ガス発生量の推移を図-2.2.1-13 に示す。なお、ガス発生量は数日間連続でテドラーバックに採取したガスを計測しているため、1 日あたりのガス発生量は発生日数に対する全体のガス発生量の値としている。

図-2.2.1-13 より、4 系とも多少の変動はあるが累積ガス発生量の傾きも経過日数がたつほど傾きは大きくなり、ガス発生量は増加傾向にある。特に刈草の投入割合の大きい系ほどガスの発生量が多かった。

Ⅰ～Ⅳ系の累積メタンガス発生量の推移を図-2.2.1-14 示す。

図-2.2.1-14 より、Ⅰ系～Ⅲ系は実験開始後 40 日目までは経過日数に応じてメタンの発生割合が増加し、54 日目以降から全ての気体の構成割合はほぼ一定となり安定していた。Ⅳ系は経過日数に応じてメタンの割合は減少し二酸化炭素の割合は増加していた。しかし、メタンガス発生量を 4 系で比較すると 54 日目以降は常にメタンガスの発生量はⅣ系が 1 番多かった。

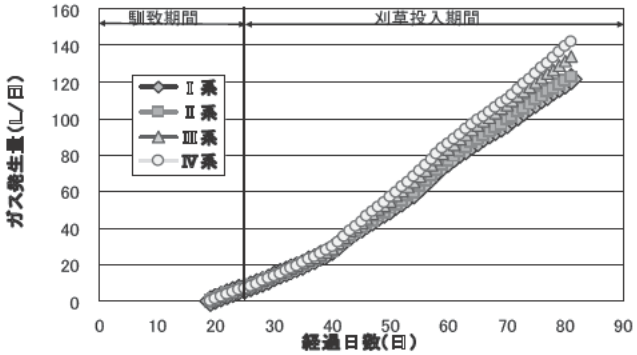


図-2.2.1-13　Ⅰ～Ⅳ系の累積ガス発生量の推移

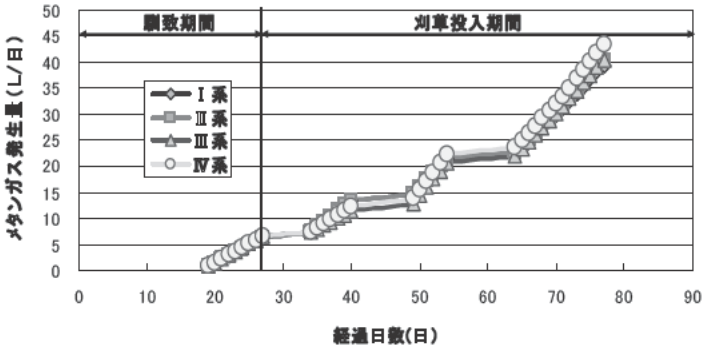


図-2.2.1-14　Ⅰ～Ⅳ系の累積メタンガス発生量の推移

刈草の投入量における汚泥及び刈草の VS あたりの消化ガス発生倍率を表-2.2.1-13 に示す。表-2.2.1-2～表-2.2.1-11 より、ガスの発生は実験開始後 56 日目以降から安定したと考えられるため、ガス発生量は 56 日目以降のガス量の合計値を、VS は 56 日目以降に測定した 67 日目の数値を用いて 56 日目以降の有機物投入量(VS-g)の合計値から算出した。刈草の投入量における汚泥及び刈草の VS あたりの消化ガス発生倍率は、投入汚泥から刈草なしの消化ガス発生量と同量が発生するものと仮定し、残りは刈草より発生したものと仮定して計算した。表-2.2.1-13 に示したように汚泥及び刈草 VS あたり消化ガス発生倍率は、刈草の投入量が増えるほど、低くなる傾向が見られ

た。刈草 VS あたりの消化ガス発生倍率はどの値も小さくほぼ変わらないと考えられた。これは回分試験でも同様の結果が得られ、発酵性状の面からは今回の実験条件の範囲では大きな差は見られなかった。

表-2.2.1-13 刈草の投入量における汚泥及び刈草の VS あたりの消化ガス発生倍率

No.	刈草 投入量(g)	汚泥及び刈草重量 (VS-g)	汚泥及び刈草 VS あたり消化ガス 発生倍率(NL/VS-g)	刈草重量 (VS-g)	刈草 VS あたり消化ガス 発生倍率(NL/VS-g)
Ⅰ	0.00	108.36	0.62	0.00	-
Ⅱ	42.74	118.29	0.58	9.93	0.13
Ⅲ	213.74	158.01	0.47	49.65	0.15
Ⅳ	427.44	207.66	0.39	99.30	0.14

本試験結果からは、消化ガス発生倍率は汚泥のみの系と比較して若干落ちるが、投入汚泥に対する刈草の添加率が TS ベースで 1:1 まで順調な消化が確認された。投入汚泥に対する刈草の添加率の限界及び長期間の運転に対する刈草投入の影響を確認するため、今後は、刈草が本実験より添加割合が大きい場合及び長期間の場合の影響の検証が必要であると考えられる。

２．２．２　刈草の投入方法

（1）刈草の投入方法の検討

下水処理場の消化槽への刈草の投入方法として、破砕した刈草を攪拌機等で投入汚泥と撹拌させ汚泥投入用のポンプ等から投入する方法があるが、破砕条件によっては熱交換機等での目詰まりが問題となる。

そこで、攪拌機の必要がなくなり、汚泥と刈草を細かく破砕し混合しながら同時に破砕してポンプに投入する方法についても検討した。

（2）湿式破砕機

汚泥を消化槽に投入する際、汚泥中の固形物がポンプや消化槽内の装置（特に熱交換機）等が閉塞しないように、汚泥を破砕して消化槽内に投入している処理場もある。この時に用いられる汚泥破砕機は多様な種類があるが、今回は液中固形物の破砕・分散・混合・圧送の同時処理が可能となり、細かい破砕粒度が可能とされている D 湿式破砕機を用いて試験を行った。

破砕機製造企業のヒアリングよると、D 湿式破砕機は、生ゴミ、下水、汚泥、ペットボトル、合成樹脂、古紙等水処理の閉塞防止、バイオマスのメタン発酵促進、リサイクル原料の減容、化学物質の溶解、食品成分の抽出等多様な分野で用いられており、破砕物も多種多様である。基本的には固いものでも液体と混ぜれば破砕が可能だと言われている。バイオマス関連では全国でも下水処理場（石川県珠洲市等）、屎尿処理場、食品工場等で納入されている。

破砕の構造としては、3 段階で破砕される。まず原料は切刃①と回転する破砕羽根車②の入口のエッジによって、荒切りされる。次に、軸流型の破砕羽根車②によって撹拌圧送され、この時の遠心力によって一部原料はシュラウドリング③の刃部に当たって切断される。破砕羽根車②を通った原料は格子④との間で更に細かく破砕撹拌され、格子④スクリーン状の目を通って加圧羽根車⑤より加圧され次行程に移送される。今回の破砕に用いたスクリーンは 8mm 程度の目幅となる刃を使用した。

（3）破砕試験

1）実験方法

過去の D 湿式破砕機の実験値を参考に、溶液 25L（1 回の試験に必要な最低量）に対し刈草を投入汚泥の TS 比で 10%～400%の範囲で添加し破砕性状を確認した。循環については試料がほぼ破砕完了するまでの時間が、試料によって異なるため、予め時間を決めることができず目安として 1 分の循環と 3 分の循環を試験した。破砕完了時間は、製造会社の方によると、一般的に電流値が一定になった時間と考えられている。今回の刈草は破砕前後の長さを比較するため、２．１．２で検討した際に GHG 発生量は少ないが長さ・幅共に平均値及びばらつきの大きい A 細破砕機で破砕した刈草を使用した。実験の破砕条件を表-2.2.2-1 に示す。水・汚泥及び刈草については計量したものをタンクにあけ棒で撹拌し、ホッパに投入した。試験は刈草の添加割合の小さなものから順番に行った。実験の様子等を図-2.2.2-1～図-2.2.2-2 に示す。

表-2.2.2-1　破砕試験条件

No.	溶媒	刈草(汚泥に対する TS 比ベース)	刈草投入量(g)	循環
1	水	10%	236	なし
2	汚泥	10%	236	なし
3	汚泥	10%	236	有り(1 分)
4	汚泥	10%	236	有り(3 分)
5	汚泥	50%	1179	なし
6	汚泥	100%	2358	なし
7	汚泥	400%	9431	なし

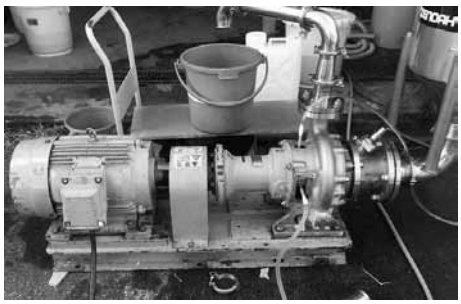


図-2.2.2-1　D 湿式破砕機



図-2.2.2-2　破砕試験の様子

2）測定項目

本試験では破砕前後の刈草の長さ及び幅、刈草及び汚泥の破砕前後の TS、VS、含水率、比重、粘度、各条件の電力量について測定した。汚泥に対する刈草の割合が 10%の循環無と 1 分間環循環有りの系で破砕した混合物は発酵性の調査のために回分式消化試験も行った。

長さ及び幅については破砕前の刈草をできるだけ無作為になるよう一塊を採取し、更に一塊の中から無作為になるように抽出した 100 試料についてを定規で計測した。各条件で破砕した刈草は試料を汚泥ごと 500mL 計りとり、汚泥のほとんどが通過する 1mm のふるいにかけて通過しなかった刈草を水洗いし、一塊の中から無作為になるように抽出した 100 試料を定規で計測した。また、通過した汚泥の体積も計測した。含水率は植物栄養実験法

を、TS、VS、比重、粘度は下水試験方法を参考にして計測した。電力量は電流計で読みとった電流値より電力量を算出し、機器は三和電気計器㈱、Mini Tester DG34 を用いた。

回分式消化試験は、1L フラスコを用いた回分式試験とし、14 日間 35℃の条件下にて消化させ、テドラーバックによりガス回収を行なった。種汚泥としての消化汚泥に対し、投入汚泥（刈草入り）を TS ベースで 1/10 となるように投入した。汚泥（刈草入りのものを含む）については TOC、pH、比重、蒸発残留物及び含水率、強熱減量を測定した。測定方法は、下水試験方法に準拠し、機器はそれぞれ TOC は SHIMADZU CORPORATION、TOC-5000A を、pH は YOKOGAWA 、pH7I 用いた。窒素ガスパージ後の回分試験前の pH は 7.4、14 日後の pH は 7.1～7.3 であった。発生したガスは、CH_4、CO_2、N_2、O_2 の含有率を測定した。測定方法は、ガスクロマトグラフ法（下水試験方法）に準拠し、機器は SHIMADZU CORPORATION、GC-2014ATF を用いた。

３）結果

今回の試験では汚泥に対する刈草の割合が 100%の系まで破砕できたが、汚泥に対する刈草の割合が 400%の系については刈草の量が水分に対して多く刈草が汚泥を吸収してしまい、破砕機にかけると一部の刈草のみの破砕しかできなかった。そのため、400%の系の結果については掲載できない。

①長さ及び幅（1mm のふるいによる測定）

各条件での 1mm ふるい通過量を表-2.2.2-2 にに示す。

表-2.2.2-2 より、1mm ふるいの通過率は刈草の割合を増やすほど通過できない割合が増えていった。また、割合が等しいものでも循環をかけたもののほうが細かく破砕されたが、1 分と 3 分の循環時間の差はあまり見られなかった。これは破砕完了の目安となる電流値の一定になった時間が循環開始からわずか 10 秒ほどであったため、循環時間を延ばしても、刈草も汚泥も 10 秒で十分に破砕されたためほとんど変わらなかったと考えられる。また、溶媒が水の場合は溶媒が汚泥の場合と比較して通過率が高かった。

表-2.2.2-2　各条件での 1mm ふるい通過量

No.	実験条件	1mm ふるい		
		抽出量(ml)	通過量(ml)	通過率
1	水＋刈草 10%	1000	990	0.99
2	汚泥＋刈草 10%	500	365	0.73
3	汚泥＋刈草 10%(1 分循環)	500	375	0.75
4	汚泥＋刈草 10%(3 分循環)	200	150	0.75
5	汚泥＋刈草 50%	500	350	0.7
6	汚泥＋刈草 100%	500	340	0.68

②長さ及び幅（定規による測定）

破砕前及び各破砕条件での破砕後の長さ及び幅の測定結果を以下の表-2.2.2-3 に示す。ここで平均破砕率とは、各実験条件で破砕した刈草の長さの平均値を投入した刈草の長さの平均値で割ったものと定義した。

表-2.2.2-3 より、刈草の混合割合が同じものについては長さ・幅共に循環時間を長くするほど大きさ及びばらつき共に小さくなり、水と汚泥では水を溶媒にしたものが平均値は小さくなった。刈草の混合割合を増やすとばらつきは大きくなるが、平均値は小さくなる傾向にあった。1mm ふるいの通過率から、刈草及び汚泥は刈草の割合が増えるほど破砕されにくくなった。しかし、試験後の破砕した刈草に対して 1mm のふるいにかけて通過しなかっ

た刈草を水洗いし、一塊の中から無作為になるように抽出した 100 試料を計測したため、1mm 以下に破砕されたものが勘案できず、差が大きかった。また、刈草は汚泥と比較して固い物が多いため汚泥のほうが破砕されやすかったことも考えられる。よって、今回は刈草の割合が 10%の系が大きく測定されたと考えられる。また、平均破砕率は今回 A 細破砕機一次破砕した刈草を用いたため、A 細破砕機の平均値の長さを基準に割合を表す。長さは 1 割～3 割、幅は 4 割～5 割程度となり、始めから細かい物は大きく値が変わりにくいことが確認できた。

また、今回の試験結果では幅は大差がないが、長さは３．１．２で１番細かく破砕できると考えられた C 万能破砕機よりも平均値・標準偏差共に小さいことから、湿式破砕機のほうが大きさ及びばらつきが小さく破砕することが可能であると考えられた。また、破砕後の刈草の長さは湿式破砕機で破砕前（コンポシュレッダで破砕した刈草）に比べてほぼ 1 割以内の大きさに破砕された。本試験では、湿式破砕機はエネルギー消費は大きくなるが循環させることにより破砕長さを調整できるので、投入機器の目詰まり危険性などの状況に応じた破砕が可能であると考えられた。

表-2.2.2-3　各条件での長さ及び幅

No.	実験条件	長さ(mm)			幅(mm)		
		平均	標準偏差	平均破砕率	平均	標準偏差	平均破砕率
1	水＋刈草 10%	6.77	4.58	0.25	0.99	0.30	0.48
2	汚泥＋刈草 10%	9.34	3.63	0.34	1.19	0.51	0.58
3	汚泥＋刈草 10%(1 分循環)	4.64	2.63	0.17	0.93	0.26	0.45
4	汚泥＋刈草 10%(3 分循環)	3.02	1.15	0.11	0.77	0.31	0.37
5	汚泥＋刈草 50%	7.92	4.92	0.29	0.96	0.35	0.47
6	汚泥＋刈草 100%	7.83	3.87	0.29	0.97	0.35	0.47
参考	A 細破砕機	27.45	32.23		2.06	1.22	
参考	C 万能破砕機	9.59	10.08		0.61	0.45	

③TS、VS、含水率、比重、粘度

各条件による破砕試験後の試料（汚泥）及び 1mm ふるいを通過した試料（ろ液）の TS、VS、含水率、比重、粘度の測定結果を表-2.2.2-4 に示す。

表-2.2.2-4　各条件での汚泥及びろ液の測定結果

試料	単位	混合汚泥	刈草	水＋刈草 10%		汚泥＋刈草 10%		汚泥＋刈草 10%（1 分循環）		汚泥＋刈草 10%（3 分循環）		汚泥＋刈草 50%		汚泥＋刈草 100%	
項目				汚泥	ろ液	汚泥	ろ液	汚泥	ろ液	汚泥	ろ液	汚泥	ろ液	汚泥	ろ液
TS	%	1.41	1.95	0.03		1.09	0.35	1.08	0.54	1.15	0.73	1.52	0.49	1.83	0.70
VS	%	1.15	1.64	0.02		0.89	0.26	0.88	0.42	0.94	0.57	1.27	0.37	1.53	0.52
含水率	%	97.20	70.22	99.94		97.84	99.30	97.85	98.92	97.71	98.54	96.99	99.01	96.40	98.61
粘度	mPa･s	65				41		43		51		51		58	
比重	－	1.008				1.015		1.013		1.010		1.006		1.007	

TS、VS は循環時間の差は汚泥ではほとんど影響がなかったが、ろ液では循環時間が長くなるほど TS、VS ともに大きくなったので、循環時間が長いほど細かく破砕され、1mm ふるいを通る固形物量が増加したと考えられる。草の投入量は草の固形分及び有機物質投入量の増加により TS、VS が汚泥及びろ液共に大きくなった。

含水率は各条件でほとんど差が見られなかった。

粘度は循環時間が長いほど、草の投入量が多いほど大きい値となった。

汚泥の比重はわずかな差ではあるが、刈草の投入量が大きいほど比重が小さくなった。同じ体積であれば汚泥に比べて刈草が軽いため、試料中の草の割合が多いほど比重は軽くなるためだと考えられた。

④ 消化試験

測定した pH、比重、蒸発残留物及び含水率、強熱減量、TOC 及び VS 分解率の結果を以下の表-2.2.2-5 に、各条件での窒素及びリン化合物含有量を表-2.2.2-6 に示す。

表-2.2.2-5 より、汚泥の pH、比重、蒸発残留物及び含水率、強熱減量、TOC は、含水率を除いて全て標準系よりも破砕ポンプを用いた 2 系の方が小さい値が出たが、循環の有無による差はほとんど見られなかった。VS 分解率は、循環の有無による差はなかったが、刈草なしに比べて値が非常に小さく、破砕ポンプを用いた系はメタン発酵のプロセスがうまく進まなかったと考えられた。

表-2.2.2-5 回分式試験の汚泥分析結果

項目	単位	消化汚泥	投入汚泥	刈草	刈草なし	汚泥＋刈草 10%	汚泥＋刈草 10%(1 分循環)
pH	−	7.57	5.33	−	7.34	7.32	7.28
比重	−	1.006	1.009	−	1.010	1.006	1.005
蒸発残留物	%	0.90	2.82	28.13	0.89	0.88	0.87
含水率	%	99.10	97.18	71.87	99.11	99.12	99.13
強熱減量	%	0.64	2.29	−	0.61	0.61	0.60
TOC	mg/L	97.74	1,720.40	−	350.66	135.01	126.75
VS 分解率	−	−	−	−	0.92	0.32	0.32

測定した消化ガス発生量及びガスの成分構成割合を表-2.2.2-5、表-2.2.2-6 に、刈草投入量ごとの汚泥及び刈草の消化ガス発生量を図-2.2.2-3 に示す。全体のガス発生量及びメタンガスの発生量で比較すると、湿式破砕機を用いて破砕した系では循環なしに比べて循環ありのほうが気体の発生量が大きかったが、発生したガスのメタンの割合はほとんど変わらなかった。

表-2.2.2-6 各条件による消化ガス発生量（標準状態）

No.	条件	ガス発生量(NL)	CH_4 (NL)	CO_2 (NL)	N_2 (NL)	O_2 (NL)
1	刈草なし	0.90	0.57	0.13	0.15	0.02
2	汚泥＋刈草 10%	0.74	0.47	0.09	0.14	0.02
3	汚泥＋刈草 10%（1 分循環）	0.92	0.59	0.13	0.16	0.03

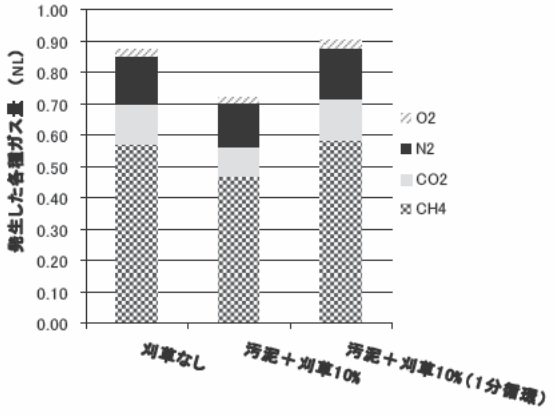


図-2.2.2-3 各条件による汚泥及び刈草の消化ガス発生量

各条件による汚泥及び刈草の VS あたりの消化ガス発生倍率を表-2.2.2-7 に示す。刈草の投入量における汚泥及び刈草の VS あたりの消化ガス発生倍率は投入汚泥からは刈草なしの消化ガス発生量と同量が発生するものと仮定し、残りについては、刈草より発生したものと仮定して計算した。表-2.2.2-7 より、刈草 VS あたりの消化ガス発生倍率は、汚泥＋刈草 10%の系は標準系よりもガスの発生量が少なかったため評価できなかった。汚泥＋刈草 10%（1 分循環）の系は、消化ガス発生倍率は低いが若干のガス発生が確認された。

表-2.2.2-7　各条件による汚泥及び刈草の VS あたりの消化ガス発生倍率

No.	条件	汚泥及び刈草重量(VS-g)	汚泥及び刈草 VS あたり消化ガス発生倍率(NL/VS-g)	刈草重量(VS-g)	刈草 VS あたり消化ガス発生倍率(NL/VS-g)
1	刈草なし	1.20	0.75	0.00	-
2	汚泥＋刈草 10%	1.40	0.53	0.20	-
3	汚泥＋刈草 10%(1 分循環)	1.31	0.70	0.11	0.20

⑥消費エネルギー量及び CO_2 換算の GHG 発生量

各条件での破砕時間及び電流値及び CO_2 換算の GHG 発生量の測定結果を表-2.2.2-8 に示す。本試験で用いた破砕機電圧は200V で、他人から供給された電気の単位発熱量は9.76GJ/千kWh、CO_2 排出係数は単位あたり 0.555t-CO_2 で[5]算出した。また、この破砕機は連続的に大量の生ゴミ等の処理を想定しているため、必要最小量の 25L では破砕時間が非常に短く一瞬の値を読みとったため多少の誤差を含んでいる可能性がある。循環させた条件については、試験開始後の 10 秒程度で電流値が安定し、安定後の電流値を計測した。表-2.1.4-6 の破砕機による破砕に必要な CO_2 換算の GHG 発生量と比較すると、湿式破砕機の CO_2 換算の GHG 発生量は今回の試験で最も CO_2 換算の GHG 発生量の少ない汚泥＋刈草 10%の系と比較すると 1/10 以下の CO_2 換算の GHG 発生量となる。更に本試験で用いた刈草は A 細破砕機で一次破砕した刈草なので、それぞれ 0.28t 加算された CO_2 換算の GHG 発生量が発生しても C 万能破砕機による破砕より少ない発生量となる。循環させた系では湿式破砕機のみで C 万能破砕機よりも CO_2 換算の GHG 発生量が多くなるが、実機に投入する際の混合や混合物の消化系への送泥に要するエネルギー量、手間、更には汚泥そのものの破砕を考えると、湿式破砕機は 1 度に刈草と汚泥の撹拌と破砕が可能であるため、実施設の利用に有効なものだと思われる。刈草の割合及び循環時間に関しては、表-2.2.2-3 と比べるとどの条件も平均 1cm 未満の細かい破砕が可能となる。導入を検討する際には、混合、撹拌、送泥等作業全体での評価検討が必要である。

表-2.2.2-8　各条件での破砕時間及び電流値及び CO_2 換算の GHG 発生量の測定結果

No.	実験条件	投入量	破砕時間		電流	電力量	発熱量	GHG 発生量	刈草 1t あたりの GHG 発生量
		(L)	(分)	(秒)	(A)	(kWh)	(GJ)	(t-CO2)	(t-CO2/t-wet)
1	水＋刈草 10%	25		1	20.6	14.8	0.14	0.08	340.43
2	汚泥＋刈草 10%	25		3	23.6	14.2	0.14	0.08	325.01
3	汚泥＋刈草 10%（1 分循環）	25	1	0	21.6	259.2	2.53	1.40	5,949.30
4	汚泥＋刈草 10%（3 分循環）	25	3	0	21.0	756.0	7.38	4.10	17,352.12
5	汚泥＋刈草 50%	25		4	27.3	21.8	0.21	0.12	100.34
6	汚泥＋刈草 100%	25		5	28.2	28.2	0.28	0.15	64.78

２．２．３　消化温度

（１）消化温度の検討

下水汚泥を対象としたメタン発酵の嫌気性消化の運転温度は、20℃以下の低温消化帯、40℃以下の低中温消化帯、65℃以下の高温消化帯の 3 種類だが、通常メタン発酵プロセスは加温を行い、運転温度 30～37℃の中温メタン発酵と 50～55℃の高温メタン発酵で運転されている [6]。そこで消化槽温度条件について中温消化条件と高温消化条件について検討した。

（２）試験方法

刈草を用いて表-2.2.3-1 の様な条件で発酵性を調査した。実験は、1L フラスコを用いた回分式試験とし、14 日間消化させ、テドラーバックによりガス回収を行なった。35℃条件は 35℃恒温室で行い、55℃条件はヒーターで温浴した水槽中に三角フラスコを入れて実験を行った。ヒーターは、TITEC、THEMO MINDER SM-05 を用いた。種汚泥としての消化汚泥に対し、投入汚泥は TS ベースで 1/2 となるように投入し、刈草等はさらにその半分である 1/4 となるように投入した。汚泥についてはろ過試料の TOC と pH を測定した。測定方法は、２．２．１．２連続式消化試験と同様であった。

表 2.2.3-1　実験条件

No.	温度	刈草の長さ	刈草投入量
1	35℃	―	なし
2	35℃	B 破砕機（平均破砕長さ 2cm 程度）	3.92
3	35℃	A 細破砕機（平均破砕長さ 3cm 程度）	4.15
4	55℃	B 破砕機（平均破砕長さ 2cm 程度）	3.92
5	55℃	A 細破砕機（平均破砕長さ 3cm 程度）	4.15

（３）試験結果

(1) TS、VS、VS 分解率、TOC

測定した TS、VS、VS 分解率、TOC を表-2.2.3-2 に示す。

TS、VS、VS 分解率については値がほとんど変わらないが、細かい破砕ができたもの及び消化温度が高いものほど、若干ではあるが TS、VS の値がが小さくなる傾向にあった。VS 分解率は刈草を添加した系は何も添加しない系よりわずかに大きかったが、温度や破砕長さの違いはほとんどなかった。しかし、TOC は中温消化条件と比較して高温消化条件の方が 3 倍程度大きな値となった。高温消化は固形物の分解能力には優れているものの、酸生成細菌の働きが中温消化と異なり、固形物が分解されて可溶化した溶解性有機物の一部は分解できずに残留する [10]ため、TOC の濃度が大きくなったと考えられる。

表-2.2.3-2 破砕機ごとの TS、VS、VS 分解率、

No.	温度	刈草の長さ	TS(%)	VS(%)	VS 分解率	TOC(mg)
1	35℃	―	0.92	0.59	0.21	173.37
2	35℃	B 破砕機	0.96	0.63	0.29	179.41
3	35℃	A 細破砕機	0.95	0.62	0.30	166.26
4	55℃	B 破砕機	0.95	0.61	0.30	550.73
5	55℃	A 細破砕機	1.01	0.66	0.25	455.27

(2) 消化ガス発生量

測定した消化ガス発生量表-2.2.3-3 に、汚泥及び刈草の消化ガス発生量を図-2.2.3-1 に示す。

全体のガス発生量及びメタンガスの発生量で比較すると、高温消化条件のほうが中温消化条件より発生量が多いが、発生したガス中のメタンの割合が低く、二酸化炭素の割合が高い傾向となった。また、標準状態でのガス発生量を比較すると高温消化の A 細破砕機で破砕した系が比較的大きくなった。

表-2.2.3-3　各条件による消化ガス発生量（標準状態）

No.	温度	刈草の長さ	ガス発生量(NL)	CH_4(NL)	CO_2(NL)	N_2(NL)	O_2(NL)
1	35℃	―	1.94	1.28	0.44	0.18	0.03
2	35℃	B 破砕機	1.80	1.18	0.42	0.16	0.03
3	35℃	A 細破砕機	1.80	1.17	0.42	0.16	0.03
4	55℃	B 破砕機	1.91	1.18	0.51	0.17	0.04
5	55℃	A 細破砕機	2.38	1.48	0.67	0.16	0.03

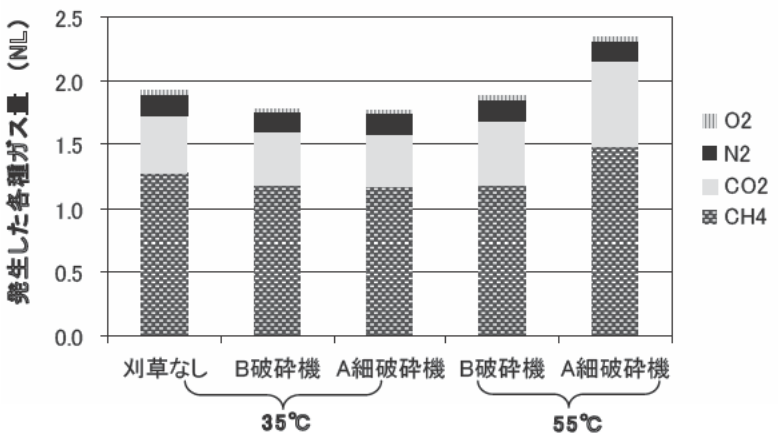


図-2.2.3-1　各条件による汚泥及び刈草の消化ガス発生量

各条件に対する汚泥及び刈草の VS あたりの消化ガス発生倍率を表-2.2.3-4 に示す。汚泥及び刈草の VS あたりの消化ガス発生倍率は投入汚泥からは刈草なしの消化ガス発生量と同量が発生するものと仮定し、残りについては、刈草より発生したものと仮定して計算した。今回の試験では刈草なしの系よりも標準状態への換算でガス量が多く発生したのは 55℃の A 細破砕機（3cm 程度に破砕）のみであったため、他の系は刈草の VS あたりの消化ガス発生倍率の計算できなかった。表-2.2.3-4 より、汚泥及び刈草 VS あたり消化ガス発生倍率は、刈草を添加すると全体的に小さくなるが、刈草を添加した系どうしで比較すると中温消化条件より高温消化条件の方が大きくなった。有機物負荷量の試験では、２．２．１．１回分試験では刈草の添加率が大きいほど、汚泥及び刈草 VS あたり消化ガス発生倍率が小さくなったが、２．２．１．２連続試験では刈草の添加率を大きくしてもほとんど差はなかった。そのため、汚泥及び刈草 VS あたり消化ガス発生倍率は中温消化条件より高温消化条件の方が大きくなるが、有機物負荷量は連続的にある一定以上投入するとほとんど差は見られなくなることが分かった。しかし、高温消化条件に保つためには中温消化条件よりも 20℃程度加温が必要になるため、更にエネルギーを要するので、実施設導入には検討が必要である。

表-2.2.3-4　各条件に対する汚泥及び刈草の VS あたりの消化ガス発生倍率

No.	温度	破砕機（刈草の長さ）	汚泥及び刈草重量（VS-g）	汚泥及び刈草 VS あたり消化ガス発生倍率(NL/VS-g)	刈草重量（VS-g）	刈草 VS あたり消化ガス発生倍率(NL/VS-g)
1	35℃	―	1.95	1.00	-	-
2	35℃	B 破砕機	3.25	0.55	1.31	-
3	35℃	A細破砕機	3.33	0.54	1.38	-
4	55℃	B 破砕機	3.25	0.59	1.31	-
5	55℃	A細破砕機	3.33	0.71	1.38	0.31

２．２．４　気体の添加による圧力（分圧）の違いによる影響

（１）気体の添加の検討

昭和 63 年からの共同研究の成果[11]では、下水汚泥の嫌気性消化における二酸化炭素分圧の影響を調査し、二酸化炭素を添加した系は充填した気体中のメタンガスの割合が増加し、メタンガス増収の可能性が示唆された。一般的に消化ガスの組成は表-2.2.4-1[12]のとおりでエネルギーとして利用可能なメタンに次いで二酸化炭素が発生し、発生した二酸化炭素の回収や焼却排ガスの活用等によりメタンガスの増収が可能となる。そこで、本試験は二酸化炭素分圧をコントロールすることによるメタンガス発生量の増加可能性について検討を行った。

表-2.2.4-1　消化ガスの組成(vol%)

成分	メタン	二酸化炭素	水素	窒素	硫化水素
容積割合	60～65	33～35	0～2	0～3	0.02～0.08

（２）試験方法

昭和 63 年からの共同研究の成果では、二酸化炭素を添加してもメタン発酵は可能だったが、気体の発生量の差は明確に確認できなかった。そのため、二酸化炭素のみを投入した系と、二酸化炭素を投入し刈草を添加した系、刈草を添加した系について消化試験を行った。

1L フラスコを用いた回分式試験とし、14 日間 35℃の条件下にて消化させ、テドラーバックによりガス回収を行なった。種汚泥としての消化汚泥に対し、投入汚泥（刈草入り）は TS ベースで 1/10 となるように投入した。汚泥（刈草入りのものを含む）については TOC 及び IC、pH、比重、蒸発残留物及び含水率、強熱減量を測定した。測定方法は、２．２．１．２　連続式消化試験と同様であった。

（３）試験結果

pH、比重、TS、VS、含水率、TOC 及び IC、窒素及びリン化合物含有量、VS 分解率を以下の表 2.2. 4-2 に示す。

pH は刈草なしの系が刈草入りの系よりも若干高いがほとんど変わらなかった。比重、TS、VS、含水率、VS 分解率もほとんど変わらない値だった。

TOC 及び IC、窒素及びリン化合物含有量も大きな差は見られなかった。

回分試験の結果から汚泥の消化には、二酸化炭素の添加の有無は刈草の添加の有無より影響が小さい傾向が見られた。

表-2.2. 4-2　回分式試験の汚泥分析結果

試料名	単位	消化	投入	刈草	刈草なし		刈草入り	
項目		汚泥	汚泥		CO2 添加なし	CO2 添加あり	CO_2 添加なし	CO_2 添加あり
pH	−	7.57	5.33	−	7.34	7.25	7.24	7.20
比重	−	1.006	1.009	−	1.006	1.006	1.006	1.006
TS	%	0.90	2.82	28.13	0.89	0.89	0.97	0.97
含水率	%	99.10	97.18	71.87	99.11	99.11	99.03	99.03
VS	%	0.64	2.29	−	0.61	0.61	0.67	0.67
TOC	mg/L	97.74	1,720.40	−	138.29	143.28	147.59	140.90
IC	mg/L	509.41	20.80	−	558.55	570.18	563.46	552.24
NH_4-N	mg/L	484.70	217.06	−	625.95	629.40	626.40	601.40
VS 分解率	−	−	−	−	0.18	0.18	0.18	0.18

測定した消化ガス発生量表-2.2. 4-3 に、刈草投入量ごとの汚泥及び刈草の消化ガス発生量を図-2.2. 4-1 に示す。全体のガス発生量及びメタンガスの発生量で比較すると、刈草を添加した系の方が刈草を添加しなかった系よりメタンガス発生量が若干多かったが、二酸化炭素の添加の有無はほぼ変わらなかった。

表-2.2. 4-3　各条件における消化ガス発生量（標準状態）

No.	刈草投入	CO2 添加	ガス発生量(NL)	CH_4(NL)	CO_2(NL)	N_2(NL)	O_2(NL)
1	×	×	0.90	0.57	0.13	0.15	0.02
2	×	○	0.91	0.59	0.17	0.10	0.03
3	○	×	1.02	0.65	0.16	0.16	0.03
4	○	○	0.99	0.67	0.20	0.07	0.02

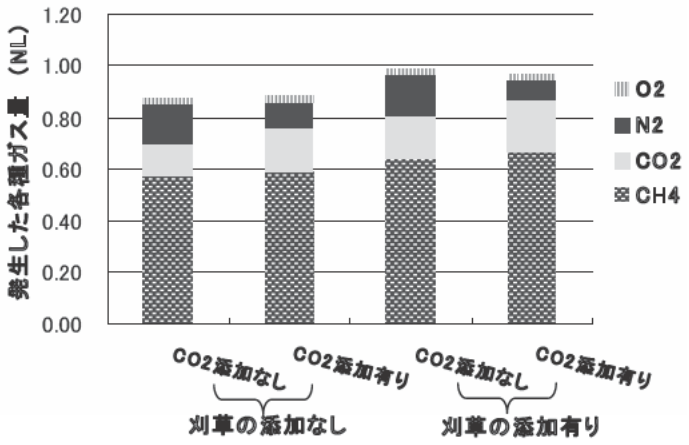


図-2.2. 4-1　各条件における汚泥及び刈草の消化ガス発生量

各条件の汚泥及び刈草の VS あたりの消化ガス発生倍率を表-2.2.4-4 に示す。刈草の投入量における汚泥及び刈草の VS あたりの消化ガス発生倍率は投入汚泥からは刈草なしの消化ガス発生量と同量が発生するものと仮定し、残りについては、刈草より発生したものと仮定して計算した。表-2.2.4-4 に示したように汚泥及び刈草 VS あたり

の消化ガス発生倍率は、刈草を添加した系が汚泥のみの系よりも若干大きくなったが、二酸化炭素添加の有無による差はほとんどなかった。このことから二酸化炭素添加は気体の発生及び消化ガス発生倍率には影響を及ぼさなかったと考えられる。

表-2.2. 4-4　各条件の汚泥及び刈草の VS あたりの消化ガス発生倍率

No.	刈草投入	CO2 添加	汚泥及び刈草重量（VS-g）	汚泥及び刈草 VS あたり消化ガス発生倍率（NL/VS-g）	刈草重量（VS-g）	刈草 VS あたり消化ガス発生倍率（NL/VS-g）
1	×	×	1.39	0.64	0.00	-
2	×	○	1.39	0.65	0.00	-
3	○	×	2.17	0.47	0.78	0.16
4	○	○	2.17	0.46	0.78	0.10

２．２．５　脱水性試験

（１）脱水性試験の検討

下水汚泥に他のバイオマスを混合した際の脱水性状とろ液の性状は、混合処理の設計上、重要な因子となる。そのため、下水汚泥に刈草を混合した際の脱水性とろ液の性状について調べた。

本試験では、できるだけ多くの条件で実験を行い、脱水性状の基礎的情報を得ることを目的とした。

（２）試験方法

今回は全国の稼働している脱水施設の中でも 560 施設（全体の約 30%）を占める遠心脱水機[14)]の方法で試験を行った。汚泥の凝集作用は汚泥の性状により最適な条件は異なるため、落の成果[15)]を参考に試験方法手順及び条件、使用凝集剤を設定した。表-2.2.5-1 に実験条件を示す。

表-2.2.5-1　実験条件と凝集剤添加量（100ml あたり）

No	サンプル内容	TS (%)	カチオン系凝集剤添加量(ml)		鉄系凝集剤添加量(ml)	
			1%	0.20%	0.40%	0.20%
1	湖北連続実験（刈草入り）*	1.30	5.18	1.04	1.30	0.65
2	湖北連続実験（刈草なし）*	0.45	1.78	0.36	0.45	0.22
3	有機物負荷連続実験（ブランク）**	1.41	5.62	1.12	1.41	0.71
4	有機物負荷連続実験（10%添加）**	1.49	5.97	1.19	1.50	0.75
5	有機物負荷連続実験（50%添加）**	2.00	8.00	1.60	2.01	1.00
6	有機物負荷連続実験（100%添加）**	2.40	9.59	1.92	2.41	1.20
7	湿式破砕機（消化無し）***	2.19	8.74	1.75	2.19	1.10
8	汚泥＋刈草 10%（消化なし）****	2.78	11.11	2.22	2.79	1.39

*　：２．３湖北総合実験施設の 100L 嫌気性消化装置で刈草投入後 40 日以上運転した汚泥とその対象系の試料

**　：２．２．１（２）の連続実験で刈草投入後 40 日以上運転したⅠ～Ⅳの試料

***：２．２．２（３）の湿式破砕機の試験で汚泥＋刈草 10%で混合破砕した試料

****：２．２．２（３）の湿式破砕機の試験で用いた汚泥と刈草を等量ずつ棒でかき混ぜた試料（湿式破砕機の対象系）

今回の試験ではカチオン系高分子凝集剤（ヘルスフロック C-809、日本ヘルス工業㈱）、鉄系凝集剤（PSI-100、水道機工㈱）を用いて、それぞれ薬品溶解濃度 0.25%（水道水 1L に対し、薬品 2.5g）、薬品溶解濃度 20%（5 倍希釈）で作成した。また、脱水後の汚泥は含水率を、ろ液は TOC 及び NH_4-N、NO_2-N、NO_3-N、PO_4-P を測定した。測定方法は、下水試験方法に準拠し、機器はそれぞれ TOC 及び IC は SHIMADZU CORPORATION、TOC-5000A を、NH_4-N、NO_2-N、NO_3-N、PO_4-P は、自動比色分析装置(TRAACS2000)、BRAN LUEBBE 社を用いた。

（1）遠心脱水機

以下①～⑦の手順で作業を行った。実験条件は表-2.2.5-2 に示す。

①1 種の試料当たり 100mL ずつを 500mL の広口ポリビンに計量する。

②20%鉄系凝集剤中の Fe 濃度(2wt%)が引抜汚泥の TS に対し 0.2%、0.4%となるように添加し、手動で高速攪拌（約 1～2 秒）する。

③0.25%カチオン系高分子凝集剤を引抜汚泥の TS に対し 0.2%、1%となるように添加する、手動で緩速攪拌（約 4～6 秒）する。

④脱水用濾布を装着した 500mL のポリビンに注ぎ、濾液の TOC、NH_4-N、NO_2-N、NO_3-N、PO_4-P を測定する。

⑤500mL 用の遠心分離管の底部にガラスビーズを敷き詰め、その上部を飛散防止のために濾紙（GF/B、ワットマンジャパン株式会社）で覆う。

⑥④にてポリビンの濾布上に残った凝集汚泥の全量を 2 枚重ねした薄紙（ワィパーS-200、㈱クレシア）に写し、それを準備した遠心分離管内にセットする。1500G-10min の遠心分離を施す。

⑦脱水された汚泥部分のみを回収して、含水率を測定する。濾液の TOC、NH_4-N、NO_2-N、NO_3-N、PO_4-P を測定する。

表-2.2.5-2　遠心脱水機による実験条件

No.	1	2	3	4	5	6
添加凝集剤	No.1～8	No.1～8	No.1～8	No.1～8	No.1～8	No.1～8
鉄系凝集剤	添加なし	添加無し	0.2%添加	0.2%添加	0.4%添加	0.4%添加
カチオン系凝集剤	0.2%添加	1%添加	0.2%添加	1%添加	0.2%添加	1%添加

（3）試験結果

1）遠心脱水機

各サンプルの結果を表-2.2.5-3～表-2.2.5-10 に、有機物負荷連続実験での刈草添加率ごとの脱水性試験後含水率の平均値を図-2.2.5-1 に示す。なお、同じサンプルの含水率、TOC、NH_4-N、NO_2-N、PO_4-P の 1 番低い値の出た箇所は黄色で着色した。（NO_3-N は今回の測定結果は自動比色分析装置の定量下限以下であったため、無視した。）

表-2.2.5-3～表-2.2.5-6、図-2.2.5-1 より、刈草を投入した系が刈草を投入しない系より含水率は低い傾向があった。また、湖北総合実験棟と有機物負荷の実験を比較するとスケールは異なるが、HRT=20 日、刈草添加割合＝10%等同様の条件で試験を行ったにもかかわらず、脱水性試験の結果は 5L の装置で行った試験よりも 100L の装置で行った試験のほうが含水率、TOC、NH_4-N の値が小さかった。

表 2.2.5-5～表 2.2.5-8 より、刈草の投入量が増えるほど含水率が下がる傾向にあった。図-2.2.5-1 より、刈草添加率ごとの含水率の平均値で比較すると、その傾向は顕著に現れた。また、脱水前後の増加率で比較すると、刈草の投入量が増えるほど TOC、NH_4-N は下がる傾向にあった。

表-2.2.5-9～表-2.2.5-10 より、湿式破砕機で破砕された汚泥の脱水性は、かき混ぜ棒を用いて撹拌した対象系の汚泥より含水率の値が低く、ろ液の TOC、NH_4-N、NO_2-N、NO_3-N、PO_4-P の値も小さかった。

汚泥によって脱水後の性状及び効果は様々であったが、全体的にはカチオン系凝集剤を 1%添加した系が含水率及びろ液の性状の両方から値が小さく良好な結果となっており、鉄系凝集剤はその汚泥にあわせて選定するのが良いと考えられる。

表-2.2.5-3　湖北連続実験（刈草入り）の測定結果

	脱水前	1-1	1-2	1-3	1-4	1-5	1-6
鉄系		0mL	0mL	0.65mL(0.2%)	0.65mL(0.2%)	1.30mL(0.4%)	1.30mL(0.4%)
カチオン系		1.04mL (0.2%)	5.18mL(1%)	1.04mL (0.2%)	5.18mL (1%)	1.04mL (0.2%)	5.18mL (1%)
最初（mL）	100	100	100	100	100	100	100
最初（g）	100.7	100.00	100.12	99.90	99.92	100.05	100.18
含水率（%）	98.67	82.94	81.19	81.97	81.11	81.39	80.19
TOC	148.70	153.09	157.20	168.62	171.54	149.77	140.65
NH_4-N	533.60	468.30	517.90	471.50	496.80	479.50	493.40
NO_2-N	0.05	0.06	0.04	0.08	0.09	0.06	0.07
PO_4-P	31.83	27.22	26.53	14.28	16.72	17.95	13.97

表-2.2.5-4　湖北連続実験（刈草なし）の測定結果

	脱水前	2-1	2-2	2-3	2-4	2-5	2-6
鉄系		0mL	0mL	0.65mL(0.2%)	0.65mL(0.2%)	1.30mL(0.4%)	1.30mL(0.4%)
カチオン系		1.04mL (0.2%)	5.18mL (1%)	1.04mL(0.2%)	5.18mL(1%)	1.04mL(0.2%)	5.18mL(1%)
最初（mL）	100	100	100	100	100	100	100
最初（g）	100.30	99.46	99.64	100.09	100.28	99.87	100.00
含水率（%）	99.63	76.46	79.01	74.47	78.26	75.27	76.39
TOC	350.05	201.44	225.43	231.08	232.93	222.31	233.90
NH_4-N	538.10	543.40	539.90	516.50	515.50	517.90	532.20
NO_2-N	0.06	0.08	0.08	0.11	0.12	0.12	0.12
PO_4-P	34.21	29.26	29.73	22.05	19.34	20.39	19.53

表-2.2.5-5　有機物負荷連続実験（ブランク）の測定結果

	脱水前	3-1	3-2	3-3	3-4	3-5	3-6
鉄系		0mL	0mL	0.65mL(0.2%)	0.65mL(0.2%)	1.30mL(0.4%)	1.30mL(0.4%)
カチオン系		1.04mL (0.2%)	5.18mL (1%)	1.04mL(0.2%)	5.18mL (1%)	1.04mL (0.2%)	5.18mL (1%)
最初（mL）	100	100	100	100	100	100	100
最初（g）	100.50	99.68	99.73	100.11	100.09	100.07	100.07
含水率（%）	98.53	83.20	83.33	89.11	81.99	87.68	84.90
TOC	246.86	199.70	197.45	205.57	235.96	223.26	208.28
NH_4-N	515.90	517.10	502.80	510.70	614.60	544.00	630.80
NO_2-N	0.02	0.07	0.08	0.09	0.13	0.11	0.09
PO_4-P	28.14	9.53	13.17	18.27	20.59	16.62	16.83

表-2.2.5-6　有機物負荷連続実験（10%添加）の測定結果

	脱水前	4-1	4-2	4-3	4-4	4-5	4-6
鉄系		0mL	0mL	0.65mL(0.2%)	0.65mL(0.2%)	1.30mL(0.4%)	1.30mL(0.4%)
カチオン系		1.04mL (0.2%)	5.18mL (1%)	1.04mL (0.2%)	5.18mL(1%)	1.04mL (0.2%)	5.18mL (1%)
最初（mL）	100	100	100	100	100	100	100
最初（g）	101.00	99.20	99.80	99.88	99.85	99.89	99.86
含水率（%）	98.39	82.55	84.24	86.21	83.16	85.74	82.52
TOC	225.65	212.71	178.89	206.06	162.13	218.99	187.72
NH_4-N	611.80	561.80	549.40	576.90	590.00	576.20	614.40
NO_2-N	0.02	0.07	0.05	0.09	0.06	0.07	0.08
PO_4-P	18.53	11.52	10.60	15.18	15.62	13.90	17.18

表-2.2.5-7　有機物負荷連続実験（50%添加）の測定結果

	脱水前	5-1	5-2	5-3	5-4	5-5	5-6
鉄系		0mL	0mL	0.65mL(0.2%)	0.65mL(0.2%)	1.30mL(0.4%)	1.30mL(0.4%)
カチオン系		1.04mL (0.2%)	5.18mL (1%)	1.04mL (0.2%)	5.18mL (1%)	1.04mL(0.2%)	5.18mL (1%)
最初（mL）	100	100	100	100	100	100	100
最初（g）	101.40	99.01	99.23	100.16	100.03	100.10	100.18
含水率（%）	97.68	80.69	81.05	81.91	81.09	81.69	80.60
TOC	331.50	330.48	238.71	301.11	252.51	318.15	246.65
NH_4-N	596.00	578.10	489.20	574.40	491.50	542.90	491.20
NO_2-N	0.04	0.12	0.08	0.12	0.10	0.12	0.09
PO_4-P	29.63	12.11	11.36	10.43	11.03	10.11	10.02

表-2.2.5-8　有機物負荷連続実験（100%添加）の測定結果

	脱水前	6-1	6-2	6-3	6-4	6-5	6-6
鉄系		0mL	0mL	0.65mL(0.2%)	0.65mL(0.2%)	1.30mL(0.4%)	1.30mL(0.4%)
カチオン系		1.04mL (0.2%)	5.18mL (1%)	1.04mL (0.2%)	5.18mL (1%)	1.04mL (0.2%)	5.18mL (1%)
最初（mL）	100	100	100	100	100	100	100
最初（g）	101.70	99.33	99.75	100.05	100.05	100.23	100.23
含水率（%）	96.70	80.92	77.69	78.23	77.42	79.16	79.54
TOC	569.55	425.60	381.52	458.24	303.68	417.60	274.58
NH_4-N	634.80	555.80	508.60	538.70	541.50	519.90	555.90
NO_2-N	0.09	0.16	0.13	0.20	0.11	0.18	0.10
PO_4-P	26.18	14.17	16.68	13.13	10.70	11.97	10.45

表-2.2.5-9　汚泥破砕ポンプ（消化無し）の測定結果

	脱水前	7−1	7−2	7−3	7−4	7−5	7−6
鉄系		0mL	0mL	0.65mL(0.2%)	0.65mL(0.2%)	1.30mL(0.4%)	1.30mL(0.4%)
カチオン系		1.04mL(0.2%)	5.18mL(1%)	1.04mL(0.2%)	5.18mL (1%)	1.04mL (0.2%)	5.18mL (1%)
最初（mL）	100	100	100	100	100	100	100
最初（g）	101.5	100.23	100.09	99.31	99.48	99.67	99.13
含水率（%）	97.84	76.89	74.65	76.62	73.69	74.65	73.97
TOC		1,030.77	876.58	1,144.79	1,013.38	1,099.00	988.55
NH_4−N		143.50	109.50	165.10	141.00	157.70	138.80
NO_2−N		0.12	0.09	0.21	0.06	0.15	0.06
PO_4−P		13.27	12.22	15.90	15.02	9.65	8.09

表-2.2.5-10　汚泥＋刈草 10%（消化無し）の測定結果

	8−1	8−2	8−3	8−4	8−5	8−6
鉄系	0mL	0mL	0.65mL(0.2%)	0.65mL(0.2%)	1.30mL (0.4%)	1.30mL(0.4%)
カチオン系	1.04mL(0.2%)	5.18mL (1%)	1.04mL (0.2%)	5.18mL (1%)	1.04mL (0.2%)	5.18mL (1%)
最初（mL）	100	100	100	100	100	100
最初（g）	100.15	100.02	99.58	99.42	99.39	99.16
含水率（%）	77.16	75.41	75.67	73.93	75.35	73.63
TOC	1,464.56	1,213.62	1,583.20	1,401.16	1,567.56	1,350.53
NH_4−N	172.60	149.30	220.40	194.40	222.00	197.10
NO_2−N	0.22	0.05	0.21	0.06	0.22	0.05
PO_4−P	14.24	7.03	19.30	11.81	10.68	4.94

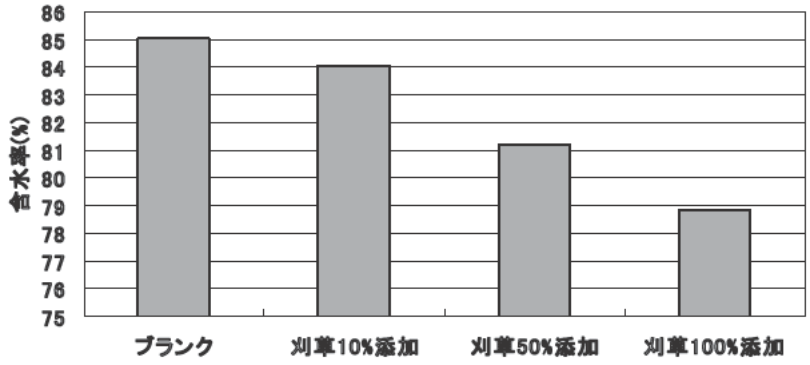


図-2.2.5-1　刈草添加率ごとの脱水性試験後含水率の平均値（有機物負荷連続実験）

２．３　実験装置による消化槽の消化効率

下水汚泥との混合嫌気性消化の対象として、２．１での検討によりラブ・マシーンによって破砕された刈草を用いて、実用化に向けてのステップとして 100L の実験用嫌気性消化槽を 2 系列用い、Ⅰ系は汚泥の他に刈草を添加する系とし、Ⅱ系は汚泥のみを添加する系とし、添加する刈草によるバイオガス回収量の検討を行った。

２．３．１　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 80L 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、実下水処理場の濃縮混合汚泥を投入し、馴致のため 70 日運転した後に、Ⅰ系に刈草を投入し始め、53 日運転を続けた。本実験では、２．２．１．２　連続式消化試験と同様に中温消化条件で実績の多い水理学的滞留時間(HRT)は 20～30 日であり[6]、標準的な範囲内で本実験は消化が不足しやすい滞留時間の短い条件下での状況を見るものとし、反応槽内の HRT は 20 日とし、平日のみ汚泥の投入及び引き抜きを行った。Ⅰ系には、投入汚泥に対し、TS ベースで 10%の刈草を投入した。刈草は室内で保管し、含水率は、73.5%であった。実際の現場での運転を想定し、週に 1 度にまとめて投入した。期間中の投入汚泥の平均 pH は 6.10、平均蒸発残留物濃度は 2.25%であり、VS/TS は 0.82 であった。

刈草は、汚泥を投入する管の径が 20mm と実施設と比較して小さいため、投入時の閉塞が懸念された。そのため、汚泥の投入とは別系統である消化槽上部の蓋を開けて投入することとし、嫌気状態を保つため、刈草投入後 20 日目以降窒素ガスによってパージすることとした。

２．３．２　分析項目

汚泥は、下水試験方法に準拠し pH、TS、VS、浮遊物質(SS)、比重、粘度、TOC、NH_4-N、揮発性有機酸(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）を測定した。また、消化ガスは、流量を測定し、適宜ガスの成分を分析した。

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(YOKOGAWA pH7I)、TOC、NH_4-N（自動比色分析装置(TRAACS2000)、BRAN LUEBBE 社）、ガス組成(O_2、N_2、CH_4、CO_2 (SHIMADZU GC-2014)、揮発性有機酸（VFA）分析(DIONEX IC 20 Ion Chromatograph)

２．３．３　結果

①pH と VFA の推移

本試験の試験状態が安定していたのかを確認するため、pH と VFA の推移を調べた。

各系の連続実験の pH の推移を図-2.3.3-1 に示す。

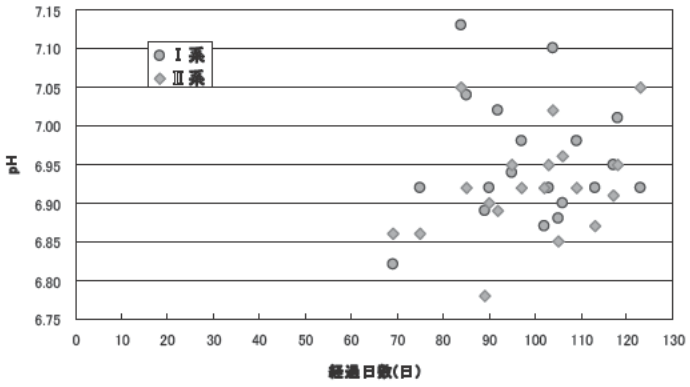


図-2.3.3-1　各系の連続実験の pH の推移

図-2.3.3-1 より、Ⅰ系、Ⅱ系ともに pH は多少の変動はあったが、2 系とも pH は 6.75～7.15 の間であり安定し

ていた。メタン発酵槽の良好に運転されている pH は 6.5～8.2 の間である[6]ことからも本試験は 2 系とも汚泥の消化の際のメタン発酵が安定した状態であったと考えられる。

Ⅰ系の連続実験の VFA の推移を表-2.3.3-1 に、Ⅱ系の連続実験の VFA の推移を表-2.3.3-2 に示す。

表-2.3.3-1　Ⅰ系の連続実験の VFA の推移

経過日数（日）	コハク酸 (mg/L)	乳酸 (mg/L)	ギ酸 (mg/L)	酢酸 (mg/L)	プロピオン酸 (mg/L)	イソ酪酸 (mg/L)	酪酸 (mg/L)	イソ吉草酸 (mg/L)	吉草酸 (mg/L)
74	0.00	0.00	0.00	550.46	175.47	33.29	0.00	45.94	13.81
85	0.00	0.00	0.09	46.85	66.80	0.00	0.00	0.00	0.00
97	0.00	0.00	0.10	14.00	1.34	0.00	0.00	0.00	0.00
106	0.00	0.00	0.13	10.12	1.21	0.00	0.00	0.00	0.00
111	0.00	0.00	0.18	8.30	0.42	0.00	0.00	0.00	0.00
113	0.00	0.00	0.26	6.38	0.17	0.00	0.00	0.00	0.00
117	0.00	0.00	0.19	13.47	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
119	0.00	0.00	0.17	4.81	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
123	0.00	0.00	0.16	4.54	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

表-2.3.3-2　Ⅱ系の連続実験の VFA の推移

経過日数（日）	コハク酸 (mg/L)	乳酸 (mg/L)	ギ酸 (mg/L)	酢酸 (mg/L)	プロピオン酸 (mg/L)	イソ酪酸 (mg/L)	酪酸 (mg/L)	イソ吉草酸 (mg/L)	吉草酸 (mg/L)
74	0.00	0.00	0.00	632.68	221.91	34.41	0.00	48.27	23.79
85	0.00	0.00	0.08	22.43	7.01	0.00	0.00	0.00	0.00
97	0.00	0.00	0.07	78.77	18.31	0.00	0.00	0.00	0.00
106	0.00	0.30	0.06	250.15	134.69	17.97	0.00	0.00	0.00
111	0.00	0.00	0.14	75.60	33.25	5.01	0.00	0.00	0.00
113	0.00	0.00	0.18	93.61	141.65	8.06	0.00	0.00	0.00
117	0.00	0.00	0.12	35.88	16.68	0.00	0.00	0.00	0.00
119	0.00	0.00	0.15	36.83	133.09	5.81	0.00	0.00	0.00
123	0.00	0.00	0.14	30.41	4.33	0.00	0.00	0.00	0.00

表 2.3.3-1、表 2.3.3-2 より、実験開始後 117 日目の測定までは多少の存在は確認されたが、117 日目以降の測定された揮発性有機酸濃度は酢酸及びプロピオン酸、ギ酸を除いていずれも検出できないほど低く、差は見られなかった。酢酸については刈草投入のないⅡ系は 113 日目以降、Ⅰ系は 119 日目以降安定しており、ガスの発生も 119 日目以降から 2 系とも安定したと考えられる。

②TS、VS の推移

有機物の分解に対する汚泥の性状を確認するために、TS、VS を測定した。各条件における TS の推移を図-2.3.3-2 に、各条件における VS の推移を図-2.3.3-3 に、各条件における VS 分解率を表 2.3.3-3 に示す。

図-2.3.3-2、図-2.3.3-3、TS、VS は刈草なしの系（Ⅱ系）よりも刈草を投入する系（Ⅰ系）の値が大きく、投入汚

泥の TS、VS の値の変動と同様に変動しているが、Ⅰ系・Ⅱ系とも実験開始後 90 日以降の値はほぼ安定していた。VS 分解率の計算は、表-2.3.3-1、表-2.3.3-2 より、反応槽内のメタン発酵は実験開始後 119 日目以降から 2 系とも安定したと考えられるため、投入 VS は 121 日目以降に投入した汚泥及び刈草の有機物投入量(VS-g)の合計値を、引抜 VS は 123 日目の数値を用いて 121 日目以降の有機物投入量(VS-g)の合計値から算出した。表 2.3.3-3 より、VS 分解率は刈草投入量が多いほど、値が小さく分解しにくくなっていた。しかし、回分試験と比較すると 2 系とも値が大きく有機物の分解が進んでいた。

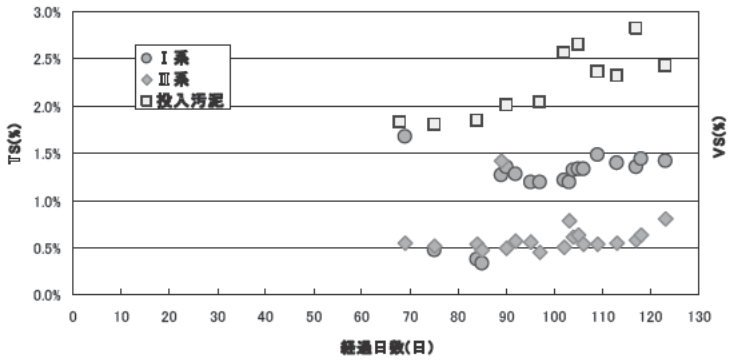


図-2.3.3-2　各条件における引抜汚泥の TS の推移

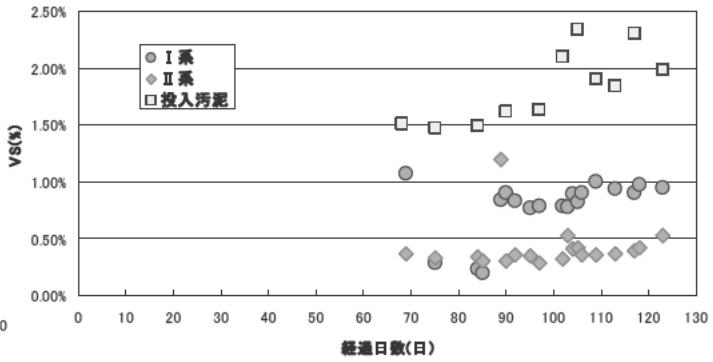


図-2.3.3-3　各条件における引抜汚泥の VS の推移

表-2.3.3-3　各条件における VS 分解率の推移

No.	刈草投入量(g)	VS-g		VS分解率	分解 VS
		投入 VS	引抜 VS		
Ⅰ	140.00	249.62	159.04	0.36	90.58
Ⅱ	0.00	221.76	90.72	0.59	131.04

③浮遊物質(SS)、比重、粗浮遊物、砂分

撹拌や刈草投入に対する固形物の影響を確認するため、粗浮遊物、砂分、浮遊物質(SS)、比重を測定した。各条件における浮遊物質(SS)の推移を図-2.3.3-4、比重の推移を図-2.3.3-5 に、粗浮遊物の推移を図-2.3.3-6 に、砂分の推移を図-2.3.3-7 に示す。

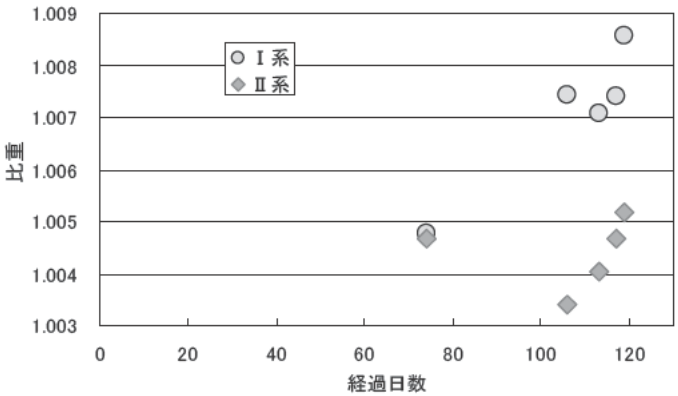


図-2.3.3-4　各条件における浮遊物質(SS)の推移

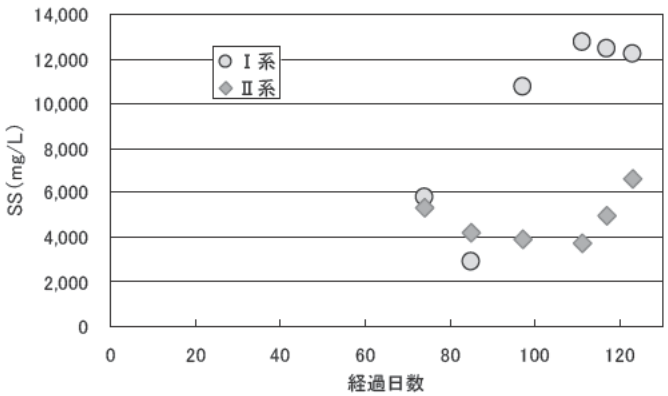


図-2.3.3-5 各条件における比重の推移

図-2.3.3-4、図-2.3.3-5、図-2.3.3-6 より、浮遊物質(SS)、比重共に刈草の投入割合が大きいほど値も大きくなるが、経過日数による値の増加幅は刈草を投入する系（Ⅰ系）より刈草なしの系（Ⅱ系）のほうが小さかった。

図-2.3.3-6 より、粗浮遊物は多少変動があったが、刈草を投入する系（Ⅰ系）は増加傾向、刈草なしの系（Ⅱ系）は減少傾向であった。

図-2.3.3-7 より、砂分は刈草の有無及び経過日数による大きな差はみられなかった。砂分は浮遊物質及び粗浮遊物と比較して値が非常に小さく、汚泥中の浮遊物の大半が 0.074mm より小さな物質であった。実施設の維持管理において、砂分は大きい場合、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来すので、堆積土砂量の調査及び除去を行う必要が生じる[7]。今回測定した刈草の混合嫌気性消化の結果は、どれも皆過去に測定した消化汚泥及び投入汚泥と比較して砂分の値が小さく[8]、これらの問題が発生する頻度は少ないと考えられた。

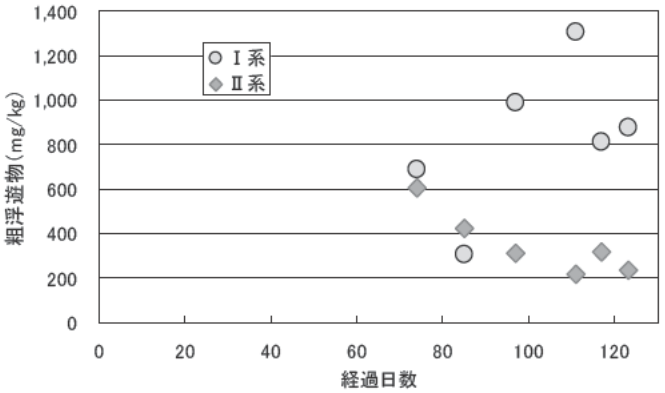


図-2.3.3-6　各条件における粗浮遊物の推移

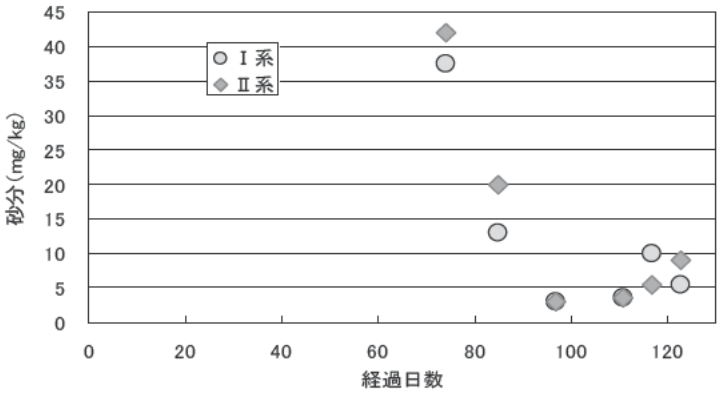


図-2.3.3-7　各条件における砂分の推移

④TOC、NH_4-N

有機物負荷、アンモニア阻害を確認するため、TOC、NH_4-N、PO_4-P を測定した。各条件における TOC の推移を図-2.3.3-8 に、各条件における NH_4-N の推移を図-2.3.3-9 に、各条件における PO_4-P の推移を図-2.3.3-10 に示す。

図-2.3.3-8 より、刈草入りの系（Ⅰ系）がほとんどの期間で刈草なしの系（Ⅱ系）よりも小さい値を示した。期間中の値の変動は投入汚泥の有機物量の差が影響したと考えられる。

図-2.3.3-10 より、NH_4-N の濃度は 2 系とも濃度差はほとんど見られず日数が経過するほど濃度も大きくなっているが、本試験は期間中全て中温消化での安全濃度 4,500～5,000mg/L[9]をはるかに下回っており、アンモニアによる阻害はなかったと考えられる。

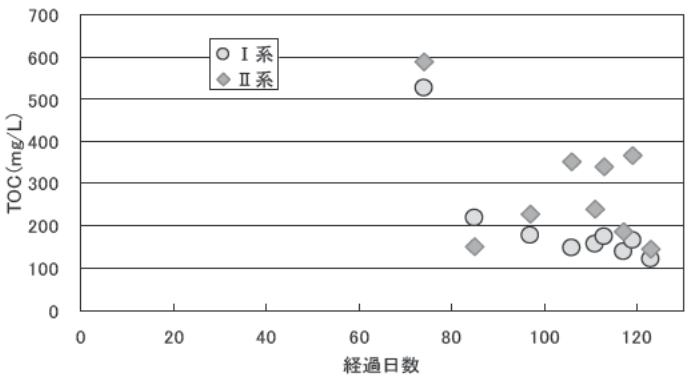


図-2.3.3-8　各条件における TOC の推移

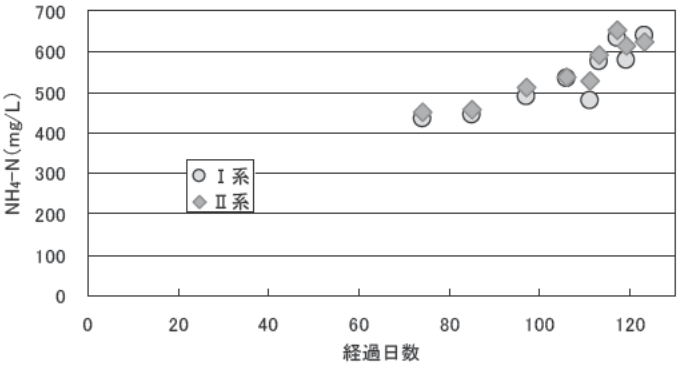


図-2.3.3-9　各条件における NH_4-N の推移

⑥ 消化ガスの発生量

消化ガスの発生量を確認するため、消化ガスの発生量及びガス性状を測定した。各条件におけるガス発生量の

推移を図-2.3.3-11 に、各条件におけるメタンガス発生量の推移を図 2.3.3-12 に示す。週末などは消化ガス発生量を測定せず、後日その期間分の発生量をまとめて測定し、その期間の平均値を示した。また、停電、ガス漏れ等装置の異常があった場合は計測していいない。

図-2.3.3-11 より、2 系とも多少の変動はあるが刈草を添加したⅠ系のほうが刈草なしのⅡ系よりほとんどの期間でガス発生量が多く、経過日数がたつほどガス発生量は増加傾向を示した。しかし、表-2.3.3-3 の分解 VS と下水汚泥（混合物）におけるメタン発酵のガス発生倍率(=1.003)[6]より、刈草なしのⅡ系では 131(NL/日)程度発生するが、本試験では 121 日目～123 日目のガス量の合計値は計算値の約 1/3 程度であり、VS の減少に対してガス発生量が少なかった。図-2.3.3-12 より、Ⅰ系及びⅡ系は実験開始後 85 日目までは経過日数に応じてメタンの発生割合が増加し、85 日目以降から全ての気体の構成割合はゆるやかに減少した。メタンガス発生量を比較すると刈草を添加したⅠ系が多く発生する傾向が見られた。

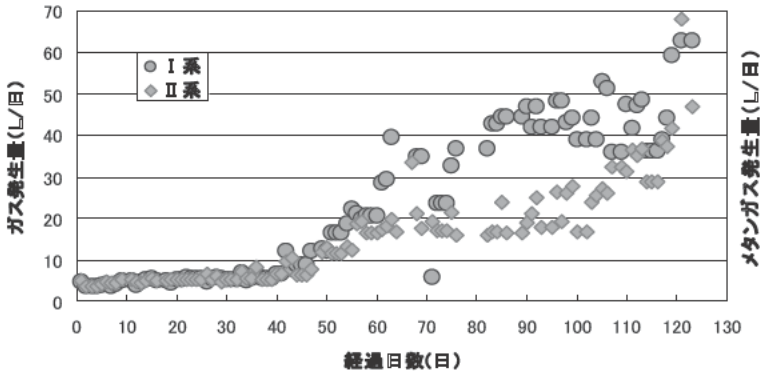


図-2.3.3-11　各条件におけるガス発生量の推移

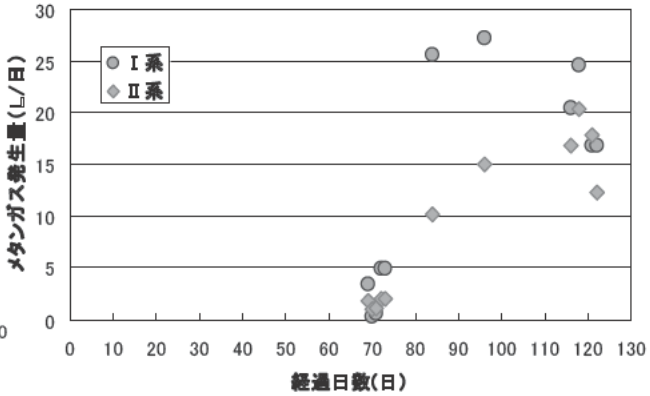


図-2.3.3-12　各条件におけるメタンガス発生量の推移

刈草の投入量における汚泥及び刈草の VS あたりの消化ガス発生倍率を表 2.3.3-4 に示す。表 2.3.3-1～表 2.3.3-2 より、ガスの発生は実験開始後 119 日目以降から 2 系とも安定したと考えられるため、ガス発生量は 121 日目～123 日目のガス量の合計値を、VS はその間測定した 123 日目の数値を用いて 121 日目～123 日目の有機物投入量(VS-g)の合計値から算出した。刈草の投入量における汚泥及び刈草の VS あたりの消化ガス発生倍率は、投入汚泥から刈草なしの消化ガス発生量と同量が発生するものと仮定し、残りは刈草より発生したものと仮定して計算した。表 2.3.3-4 より、汚泥及び刈草 VS あたりの消化ガス発生倍率は、刈草を添加したⅠ系のほうが刈草の添加のないⅡ系よりも大きくなった。また、今回は「汚泥及び刈草 VS あたり消化ガス発生倍率」が「刈草 VS あたり消化ガス発生倍率」の半分程度になってしまったが、これは⑥でも検討したように本試験の刈草を添加しないⅡ系が、VS の減少に対してガス発生量が少なかったことから計算上「刈草 VS あたり消化ガス発生倍率」の値が大きくなったように見えるためだと考えられる。

表 2.3.3-4　刈草の投入量における汚泥及び刈草の VS あたりの消化ガス発生倍率

No.	刈草 投入量(g)	汚泥及び刈草 重量(VS-g)	汚泥及び刈草 VS あたり消化ガス 発生倍率(NL/VS-g)	刈草重量 (VS-g)	刈草 VS あたり消化ガス 発生倍率(NL/VS-g)
Ⅰ	140.00	249.62	0.27	27.86	0.60
Ⅱ	0.00	221.76	0.22	0.00	-

本試験結果からは、100L の実験用嫌気性消化槽を用いて、投入汚泥に対する刈草の添加割合が TS ベースで 10:1

の系で、順調な消化が確認された。5L 消化槽で確認された投入汚泥に対する刈草の添加率の限界の確認と更に長期間の運転に対する刈草投入の影響を確認するため、今後は、実機に近い大きさの消化槽で刈草が本実験より添加割合が大きい場合及び長期間の場合の影響の検証が必要であると考えられる。

３．他バイオマスの受け入れに関する評価・検討

２章での測定結果を基に、下水汚泥中に刈草を投入した場合の有機物負荷量、ガス発生量その他の諸元、消化後の汚泥の脱水性及び刈草の前処理方法に関する評価・検討を行う。

３．１　有機物負荷量

２．２．１（１）の結果から、回分試験では刈草の投入量が増えるほど、汚泥及び刈草の VS あたりの消化ガス発生倍率は低くなるが、投入汚泥に対する刈草の添加率 400%まで投入量を増やしても消化ガスの発生が確認できた。２．２．１（２）の有機物負荷量連続試験では、刈草添加率（汚泥 TS 比）0%から 100%の実験を行い、回分試験よりも減少幅は小さかったが、回分試験と同様の傾向が見られた。３．３の湖北の連続実験では刈草なしの系及び刈草添加率（汚泥 TS 比）10%の 2 つの系の実験を行い、汚泥及び刈草の VS あたりの消化ガス発生倍率は刈草 10%添加の系の方が刈草なしの系より高くなった。

刈草の投入量における汚泥及び刈草の VS あたりの消化ガス発生倍率を表-3.1-1 に、各試験における投入汚泥及び刈草 VS あたり消化ガス発生倍率を図-3.1.1 に示す。

表-3.1.-1、図-3.1-1 より、刈草の添加によりガス発生量は増加するが、刈草単位量あたりのガス発生量は少ない結果となり、刈草は今回の破砕条件では、下水汚泥よりも単位重量あたりのガス発生が若干少ない傾向となった。また、刈草の添加量を増加しても、pH は全て良好に運転されているメタン発酵槽の pH 範囲は 6.5～8.2 の間で[6)]あったため、酸敗状態などに陥ることなくメタン発酵が行われていた。刈草は今回の実験の範囲では有機物分解率は汚泥より低いが消化ガスは発生しているため、メタン発酵の阻害要因となりにくい物質であると考えられる。

表-3.1-1　刈草の投入量における汚泥及び刈草の VS あたりの消化ガス発生倍率

	投入汚泥に対する刈草の割合	刈草投入量(g)	汚泥及び刈草重量（VS-g）	汚泥及び刈草 VS あたり消化ガス発生倍率（NL/VS-g）	刈草重量（VS-g）	刈草 VS あたり消化ガス発生倍率(NL/VS-g)
回分試験	0%	0.00	1.70	0.66	0.00	-
	50%	4.61	2.79	0.60	1.09	0.51
	100%	9.22	3.87	0.50	2.18	0.37
	200%	18.45	6.05	0.40	4.35	0.29
	300%	27.67	8.23	0.31	6.53	0.22
	400%	36.90	10.40	0.24	8.71	0.16
有機物負荷量連続試験	0%	0.00	108.36	0.62	0.00	-
	10%	42.74	118.29	0.58	9.93	0.13
	50%	213.74	158.01	0.47	49.65	0.15
	100%	427.44	207.66	0.39	99.30	0.14
湖北連続試験	0%	0.00	221.76	0.22	0.00	-
	10%	140.00	249.62	0.27	27.86	0.60

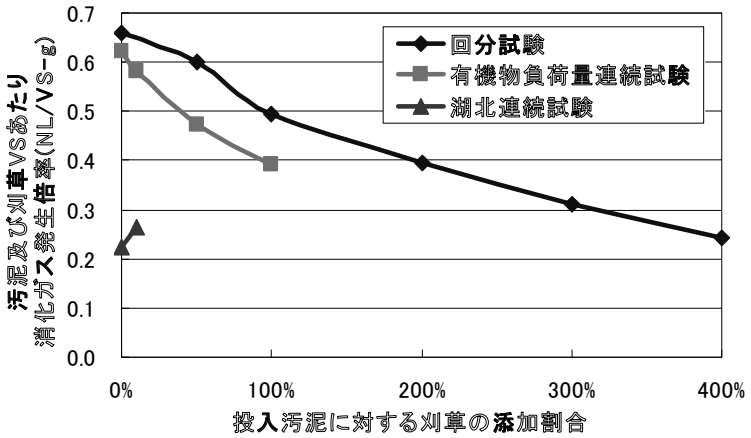


図-3.1.-1　各試験における投入汚泥及び刈草 VS あたり消化ガス発生倍率

３．２　前処理方法

平成 21 年度の結果 [1)]から、投入する刈草が極小の時に発酵効率が良いことが分かっている。これは、下水汚泥と混合発酵する際に用いる刈草は反応する物質の体積に対する表面積が大きいほど、メタン発酵の反応が進みやすいためだと考えられる。また、実機へ投入する際に消化槽への投入配管や熱交換器内で閉塞する恐れもあり、可能な限り細かい破砕物に出来る処理方法が実施設で導入しやすい。

平成 22 年度は、実機に投入する際の破砕方法を比較検討した。破砕機は刈草を 1cm 程度にまで細かく破砕できるが、刈草の投入時に撹拌の作業を更に要する。２．２．１．３で検討した汚泥破砕時に刈草と混合破砕するポンプは、刈草を 1cm 程度にまで細かく破砕しつつ消化ガスも問題なく発生することが分かった。刈草の投入量における汚泥及び刈草の VS あたりの消化ガス発生倍を表-3.2-1 に示す。表-3.2-1 より多少前後する部分もあるが、刈草を添加した系は破砕長さの平均値が小さい系ほど、汚泥及び刈草の VS あたりの消化ガス発生倍率が高くなる傾向がみられた。刈草なしと刈草を添加した系を比較すると、こちらは全て刈草なしの系の方が汚泥及び刈草の VS あたりの消化ガス発生倍率が高くなった。３．１でも検討したように、刈草の添加によりガス発生量は増加した。刈草の有機物分解率は実験装置が大きくなるほど汚泥と比較して改善される傾向が見られた。

なお、汚泥破砕ポンプは通常の破砕機と比較して、刈草 1t あたりで発生する GHG 量が 20 倍～100 倍程度大きいことが結果となっており、その設置条件や運転条件に工夫を要する必要がある。

表-3.2-1　刈草の投入量における汚泥及び刈草の VS あたりの消化ガス発生倍率

破砕条件	破砕長さ(平均値) (単位:mm)	汚泥及び刈草重量 (VS-g)	汚泥及び刈草 VS あたり消化ガス発生倍率(NL/VS-g)	刈草重量 (VS-g)	刈草 VS あたり消化ガス発生倍率(NL/VS-g)
刈草なし	0.00	1.54	0.49	0.00	-
A 細破砕機	27.45	2.36	0.43	0.82	0.31
B 破砕機	17.35	2.31	0.41	0.77	0.26
C 万能破砕機	9.59	2.37	0.44	0.83	0.33
刈草なし	0.00	1.20	0.75	0.00	-
D湿式破砕機	9.34	1.40	0.53	0.20	-
	4.64	1.31	0.70	0.11	0.20

３．３　脱水性

脱水は汚泥中の水分量を減らすことにより汚泥量を減少させ、その後の処理や利用・処分を容易にする重要なプロセスである。本業務では刈草と下水汚泥の混合発酵による消化ガス（エネルギー）回収を主目的として検討してきたが、刈草と汚泥を混合発酵させることにより脱水性の効果が改善されることも期待できる。

２．２．５の結果からカチオン系と鉄系の凝集剤の配分は含水率に注目するとカチオン系 1%の系で含水率が低い傾向にある。また、含水率とろ液の性状の両方の観点から結果を見ると鉄系がカチオン系より添加率が高い系は全てにおいて含水率が高い結果となった。そのため、カチオン系をベースとして汚泥に応じて鉄系を添加して調整することが望ましいと考えられる。

刈草の添加状況で汚泥の含水率を比較すると消化なしの系、刈草添加率の大きい系の含水率が低くなる傾向が見られ、刈草の添加による脱水性向上の傾向が確認できた。しかし、ろ液の性状は消化なしの系が TOC 及び窒素・リンの残留量が多かった。脱水分離液は再び水処理プロセスで浄化する必要があるため、ろ液の性状は汚泥の含水率低下と水処理にかかる負荷の増加をエネルギー及びコストの面等から比較する等、更なる検討が必要である。

４．まとめ

消化施設における下水汚泥以外のバイオマス受け入れる際の下水道バイオガス発生量の増加や消化工程、脱水工程へ与える影響、さらには汚泥系から発生する分離液による水処理系への影響等が不明確であることから、本業務では、特に利用が進んでいない刈草の受入れに関する最適な運転条件等を明らかにするための知見を得ることを目的として、各種の実験を実施した。本検討の結果、以下の事項が明らかとなった。

A．刈草の破砕機による破砕後の性状と消化ガス発生量について

(1) 破砕機による破砕後の刈草性状と、混合発酵による消化ガス発生量についての検討の結果、刈草以外のゴミがほとんど混じらない平均破砕長さが約 3cm 以下の刈草の破砕物は下水汚泥との混合発酵が可能であり、刈草を添加した系は破砕長さの平均値が小さい系ほど､汚泥及び刈草の VS あたりの消化ガス発生倍率が高くなる傾向が示唆された。

B．刈草と下水汚泥との混合発酵特性とメタン発酵後の脱水性改善効果

(2) 刈草の下水汚泥への適正な添加率を検討するため、その投入比率について検討した結果、回分試験では投入汚泥に対する刈草の添加率 400%まで投入量を増やしても消化ガスの発生が確認できた。また、回分試験結果では、刈草の投入量が増えるほど、発生ガス量は増加するが、汚泥及び刈草の VS あたりの消化ガス発生倍率は低くなる傾向が確認された。

(3) 有機物負荷量連続試験では､投入汚泥に対する刈草の添加率 100%まで投入量を増やしても問題なくメタン発酵が行われていた。また、刈草の投入量が増えるほど、発生ガス量は増加するが、汚泥及び刈草の VS あたりの消化ガス発生倍率は低くなる傾向が見られた。

(4) 刈草の投入方法について検討した結果、湿式破砕機により汚泥破砕時にポンプによって刈草と汚泥を混合しつつ草を破砕する方法は、循環により刈草を平均 1cm の必要な細かさまで破砕の度合いを調整することが可能で、下水汚泥との混合撹拌も同時に行うことが可能だった。混合物は、発酵槽において消化ガスも問題なく発生することが分かった。

(5) 刈草添加の混合メタン発酵における消化温度について検討した結果、汚泥及び刈草 VS あたり消化ガス発生倍率は、中温消化条件より高温消化条件の方が大きくなることが分かった。消化ガス発生量も高温消化条件の方が多かった。しかし、高温消化条件に保つためには中温消化条件よりも 20℃程度加温が必要になるため、更にエネルギーを要する。

(6) 気体の添加について検討した結果、汚泥及び刈草 VS あたりの消化ガス発生倍率は、二酸化炭素の添加の有無にかかわらずどちらも小さい値となり、二酸化炭素の添加の有無による差は認められなかった。

(7) 刈草と下水汚泥の混合メタン発酵後の脱水性について検討した結果、刈草添加率の大きい系ほど脱水汚泥の含水率が低くなる傾向が見られ、刈草の添加による脱水性向上の傾向が確認できた。また、消化プロセスの有無による脱水後の含水率をみると、消化なしの汚泥含水率が低いことが確認された。

C．実験装置による消化槽の消化効率

(8) 下水汚泥と刈草の混合嫌気性消化の実用化に向けてのステップとして、下水処理場に設置した 100L 消化槽を用い、刈草を下水汚泥に対し、TS ベースで 10%混合して運転したところ、過負荷による酸発酵が生じることなく、刈草の投入により消化ガス及びメタンガス発生量の増加が確認された。

５　終わりに

調査にご協力いただいた地方公共団体及び企業の方々に深く感謝する次第である。本調査研究は、国土交通省事業調査費により実施されたものである。

参考文献

1) 土木研究所資料：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、平成 21 年度下水道関係調査研究年次報告書集、pp. 1-16.

2) 国土交通省総合政策局事業総括調整官室、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：河川・道路・公園管理由来バイオマス賦存量把握に向けた全国調査

3) 緑のリサイクルプラントヒアリング

4) 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：平成 19 年 5 月　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、http://www.enecho meti.go.jp/info/statistics/jukyu/resource/pdf/070601.pdf、

5) 国土交通省都市・地域整備局下水道部記者発表資料：平成 21 年 3 月 下水道における地球温暖化防止推進計画策定の手引きについて、http://www mlit.go.jp/report/press/city13_hh_000062 html、

6) 野池達也：メタン発酵、pp.34-36、117-121、122-123、147-148、技報堂出版、2009.

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、p359、2006.

8) 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、pp.1-12.

9) Li Y.Y.,Ko I.B.,Noike T., Funaishi K. and Sakaki H. : ”Comparison of Ammonia Inhabition between the Metheophilic and Thermophilic Anaerobic Digestion, Volume 1,pp507-514,29/Aug-2/Sep/2004,Montreal,Canada..

10) 小林拓朗、Sangsan Teepyobon,、李玉友、野池達也：微生物群集解析からみた中温嫌気性消化と高温嫌気性消化の性能比較、pp.989-991、第 43 回下水道研究発表会講演集、2006

11) 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，建設省土木研究所，1991.

12) 日本下水道協会：下水道施設計画・設計指針と解説　後編，2001

13) 卜部吉庸：化学ＩＢ・Ⅱの新研究、pp128-129、三省堂、2003.

14) (社) 日本下水道協会編：平成 20 年度下水道統計.

15) 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、pp77-86、東北大学博士学位論文、2005 年 3 月.

下水道におけるウイルス対策手法に関する検討調査

研究予算：受託経費（下水道事業調査費）
研究期間：平 22 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】

毎冬季にはノロウイルスによる感染症が多発しており[1)]、大きな社会問題となっている。感染者からは多量のノロウイルスが排出されるため、様々な経路を経て公共用水域へ達すると考えられる。下水処理区域内に感染者が存在することにより、ノロウイルスは下水処理場へ流入し活性汚泥処理法等で除去され公共用水域へ放流される。下水道普及率の向上に伴い、放流先河川水等に占める処理水量は増加することから公共用水域の水質への影響は大きいものとなる。

国土交通省は平成 20 年 11 月に「下水道におけるウイルス対策に関する調査委員会」を設置し、ノロウイルスに関して全国的な実態調査を行った。その結果から、下水処理場へのノロウイルスの流入実態や活性汚泥処理法による除去率についての知見が徐々に集積されてきている。しかしながら、残された課題として下水処理プロセスにおける除去メカニズムの解明や効率的な除去技術の開発、挙動実態データの蓄積など、さらなる調査検討の必要性を挙げている[2)]。

本検討調査では、まず下水処理場におけるノロウイルスの除去効率向上手法の確立を目的に、標準活性汚泥法や各種高度処理過程でどの程度除去しているかを把握するため、滞留時間の変化や、嫌気･無酸素状態等を経る水処理過程の違い、さらには凝集剤の添加量などの違いによるノロウイルス除去効率を評価した。また、水処理条件の違いが処理水濃度に及ぼす影響を把握し、処理水のノロウイルス濃度と放流先水域のノロウイルス濃度と比較を行うことで、下水道の整備効果をノロウイルス削減量から評価した。

その結果、凝集剤添加活性汚泥法では曝気槽の HRT を長くすることで、凝集剤の添加効果が向上する可能性が明らかとなった。PAC 添加によるノロウイルスの除去効果は添加濃度に応じて異なるが、添加効果は早急には発現せず 1 ヶ月程度を要することが明らかとなった。凝集剤添加活性汚泥法へ水処理法を変更した場合には、ノロウイルスの除去効率を把握する上で処理水の SS 濃度、濁度指標は有効であると考えられた。

実下水処理施設における凝集剤添加活性汚泥法では、HRT の長時間化にともない除去率の向上傾向が見られたことから、パイロットプラントによる評価結果を裏付けるものと考えられた。標準的な活性汚泥処理法に比較して、りん･窒素の高度除去を目的とした各種高度処理法のノロウイルス除去率は、全体的に高いと考えられた。また、今回評価した生物学的高度処理法の活性汚泥は、凝集剤添加活性汚泥法の活性汚泥と比較してノロウイルスの除去能力が高い可能性がある。

浄化槽整備区域におけるノロウイルスの感染性胃腸炎の流行状況にもよるが、浄化槽排水およびその影響を受ける河川水のノロウイルス最大検出濃度は、流入下水のノロウイルス濃度と同レベルとなる可能性が明らかとなった。浄化槽排水のノロウイルス濃度は、下水処理場の処理水に比較して高くなる可能性があるものと推定された。また、浄化槽による SS 除去性能の変動が放流先河川水のノロウイルス濃度に影響を及ぼしているものと考えられた。公共用水域におけるノロウイルス排出負荷源は下水処理場に加え浄化槽排水の存在が明らかとなった。

キーワード：ノロウイルス、活性汚泥処理法、高度処理法、浄化槽

１．　はじめに

毎冬季の感染性胃腸炎流行時には、流入下水のノロウイルス（NV）濃度が上昇するため、放流先や処理水再利用の形態によっては、放流水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。国土交通省は「下水道におけるウイルス対策に関する調査委員会」を設置し、その全国的な実態調査の結果から、下水処理場へのノロウイルスの流入実態や活性汚泥処理法による除去率についての知見が徐々に集積されてきている。しかしながら、残された課題として下水処理プロセスにおける除去メカニズムの解明や効率的な除去技術の開発、挙動実態データの蓄積など、さらなる調査検討の必要性を挙げている[2)]。

本検討調査では、上記の要請を踏まえ、まず下水処理場におけるノロウイルスの除去効率向上手法の確立を目的に、標準活性汚泥法や各種高度処理過程でどの程度除去しているかを把握するため、滞留時間の変化や、嫌気･無酸素状態等を経る水処理過程の違い、さらには凝集剤の添加量などの違いによるノロウイルス除去効率を評価した。また、水処理条件の違いが処理水濃度に及ぼす影響を把握し、処理水のノロウイルス濃度と放流先水域のノロウイルス濃度と比較を行うことで、下水道の整備効果をノロウイルス削減量から評価した。

本調査結果は、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．　業務の内容および方法

本検討業務の内容は、(1) ノロウイルス除去効率向上手法の最適化の検討（実下水を用いた実験)、(2) (1) の結果と実下水処理施設における挙動との関連性の検証、(3) 下水道の整備効果の評価、（４）報告書とりまとめ、より構成される。

2.1 ノロウイルスの除去効率向上手法の最適化の検討（実下水を用いた実験）

実下水を用いた実験による最適化の検討では、複数の市町村からの下水を受け入れている流入下水量が約 9 万 m^3/日規模の関東圏内にある A 下水処理場の流入下水を実験原水とした。実験はパイロットプラント（P.P.）を利用し、除去効率向上手法の最適化として凝集剤添加効果による評価を行った。既存の評価結果では、凝集剤の添加濃度に応じてノロウイルスの除去率は向上するが、より高い除去率を得るためには凝集剤の添加量を多くする必要があり、実施設における対応策としては対策費用等の増大が見込まれる。このため、本検討においては凝集剤の添加量を抑えつつ反応タンクの HRT を確保することで、除去率に及ぼす影響を評価した。

利用した P.P.は曝気槽（容量 100L)、最初･最終沈殿池（各容量 50L）等より構成されており、A 流域下水処理場の流入下水を連続的に流入させた。流入下水の採水は、毎回ほぼ同一時刻とし、処理水は P.P.での滞留時間を考慮した。実験は 12 月から開始したが、各々設定した MLSS 濃度に安定するまでに若干の時間を要したことから､除去率の評価に利用したデータは 1 月から翌 3 月初旬の間のものとした｡実験条件を表－1 に示す。既存の実験例では反応タンクの HRT を 8 時間として評価を行っていることから、本検討では 12 時間とした。その他、MLSS 濃度は 2,000mg/Ｌ程度、凝集剤にはポリ塩化アルミニウム（PAC）を用い、添加濃度を 0、5、10mg-Al/L とした。

表－1 P.P.の実験条件

実験条件		0mg-Al/L	5mg-Al/L	10mg-Al/L
流入水量 m^3/日（1池）		200	200	200
【最初沈殿池】	滞留時間 hr	6	6	6
【反応槽】	反応槽容量 m^3	100	100	100
	反応槽滞留時間 hr	12	12	12
	MLSS mg/l	2000 程度		
【最終沈殿池】	滞留時間 hr	6	6	6

2.2 2.1 の結果と実下水処理施設における挙動との関連性の検証

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、A^2/O 法、修正 Bardenpho 法、循環式硝化脱窒法などの各種高度処理法により水処理（表－2）が行われている。これらの高度処理法は窒素・りんの高度除去を目的としているが、調査対象とした実施設は凝集剤添加活性汚泥法によっても一部水処理が行われていることから、2.1 の結果との関連性を検証するため、他の水処理系列も含め比較評価を行った。また、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ノロウイルス除去率を明らかにする必要がある。実施設における除去率評価のための実態調査は、12 月から翌 3 月初旬の間において実施した。

表－2 実施設の運転条件

処理方法		実施設			
		凝集剤添加活性汚泥法	A^2/O法	修正 Bardenpho法	循環式硝化脱窒法
流入水量 m^3/日（1池）		9,700～15,600	9,700～13,700	8,600～10,600	6,200～9,100
【最初沈殿池】	滞留時間 hr	2.7～4.3	3.0～4.3	3.9～4.9	1.5～2.2
【反応槽】	反応槽容量 m^3	4,250	4,250	4,250	3,870
	反応槽滞留時間 hr ※	6.5～10.5	7.4～10.4	9.6～11.9	10.2～14.9
	平均MLSS mg/l	2,300	2,200	1,800	2,100
	凝集剤添加 mol/mol	1.94	－	－	1.09
【最終沈殿池】	滞留時間 hr	2.7～4.4	3.1～4.4	4.0～5.0	4.0～5.9

※嫌気、無酸素槽等の滞留時間を含

2.3 下水道整備効果の評価

夏季の感染性胃腸炎非流行時を含め、季節変動によりノロウイルスの検出濃度に違いがあるものの流入下水には常にノロウイルスが存在している。下水処理場にて多くが除去されるが放流先の公共用水域に対して負荷源となりうる可能性がある。同様に下水処理場以外にも浄化槽等排水処理施設があるため、公共用水域へのノロウイルスの負荷源は多数存在すると推定される。下水処理場におけるノロウイルスの流入や除去の実態については、徐々に知見が集積されつつあるが、浄化槽等排水処理施設の処理水のノロウイルスが公共用水域へ及ぼす影響や実態については不明な点が多い。

本評価では、下水道整備未普及地域であるものの一部の排水を浄化槽により処理している地域を流域にもつ B 県の 3 河川を対象に、ノロウイルスの実態を把握しその検出濃度から下水道の整備効果を考察した。調査対象とした河川の流域における浄化槽設置数等を表－3 に示す。住戸数の約 30%が浄化槽を設置しており、設置数と戸数平均人数から推定される浄化槽人口は約 110～220 人である。また、当該流域内における浄化槽設置施設は小学校等があり、B、C、A 河川流域の順で人口負荷が多い。

調査は感染性胃腸炎の流行期である 2 月初旬に、これらの浄化槽排水の影響を受ける 3 河川を対象に 4 時間間隔で 24 時間採水を実施しノロウイルスの定量を行った。

表－3 影響戸数と浄化槽設置数

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

2.4 測定方法等

2.4.1 ノロウイルスの測定法

安定したノロウイルスの定量値を得るため、試料の濃縮はポリエチレングリコール（PEG）沈殿法を基本とした。PEG 沈殿法は試料中に 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。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 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ため、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[3)]。

2.4.2 他の水質測定項目

ノロウイルス以外の水質測定項目は、水温、pH、濁度、SS、MLSS、MLVSS とした。測定手法は下水試験方法を準拠した。

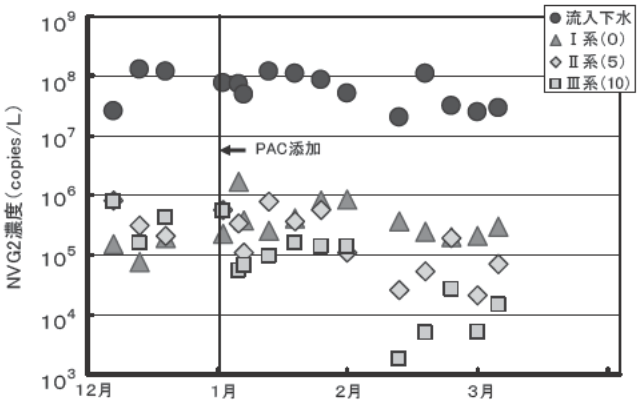
3． 調査･実験結果

3.1 ノロウイルスの除去効率向上手法の最適化の検討

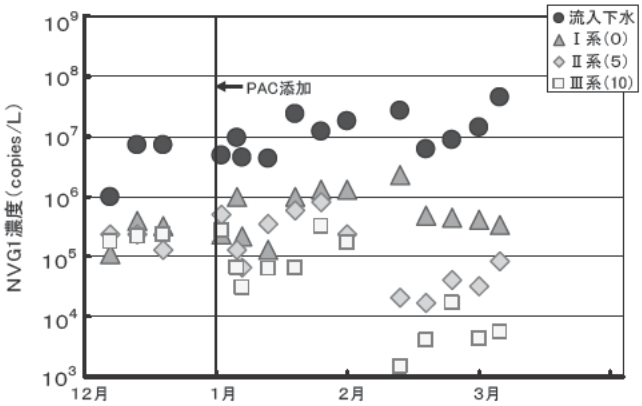
凝集剤添加活性汚泥法は、ノロウイルスの除去効率を向上させる 1 手法であるが、凝集剤の添加量に応じて費用の増大が見込まれる。ノロウイルスの除去効率向上手法の最適化の検討では、凝集剤の添加量を抑えつつ反応タンクの HRT を確保することで、除去率に及ぼす影響を評価した。検討結果を図－1～4 および表－4 に示す。検討にあたっては、感染性胃腸炎の流行期に実験を行ったことから流入下水の G2 濃度は 10^7～10^8コピー/L レベル、G1 濃度は 10^6～10^7コピー/L レベルと高濃度に推移していた。表中の PCR 実測値のごく一部で 10 コピー以下となるものがあったが、ほぼ全ての実測値は 10 コピー以上であった。表中には定量･検出限界値を記したが、10 コピー以下の実測値においては多重測定での変動係数が 100%を超え、測定値のバラツキが大きくなる結果[5)]が得られているため、定量限界値は 20μL の反応 tube あたり 10 コピー、検出限界

値は同様に 1 コピーと仮定して算出を行った。

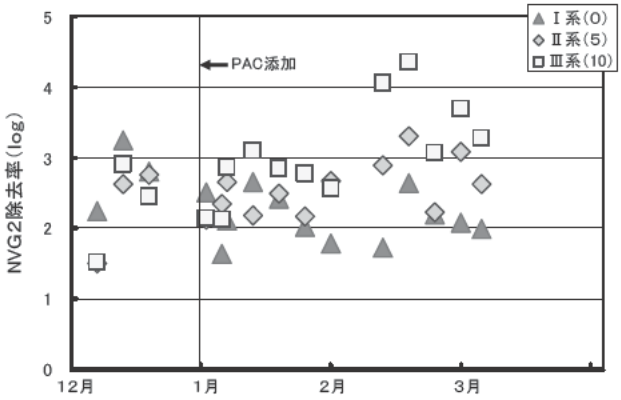
12 月では、活性汚泥処理 P.P.の馴致運転期間として水処理を行い、1 月から凝集剤として PAC を添加した。添加濃度は I 系では 0 mg-Al/L、Ⅱ系が 5 mg-Al/L、Ⅲ系が 10mg-Al/L とした。実験期間中の平均 MLSS 濃度は I 系では約 2,000 mg/L、PAC を添加した期間のⅡ～Ⅲ系が約 2,000 mg/L と全ての系列で平均濃度は同一であった。PAC の添加前においては、各系列の処理水のノロウイルス濃度に大差はないが、添加後は PAC の添加濃度に応じて処理水のノロウイルス濃度と除去率に徐々に違いが現れてきた。PAC を添加してから、約 1 ヶ月後には処理水のノロウイルス濃度の低下や除去率の向上が顕著に現れてきた。このため、PAC 添加によるノロウイルスの除去効果は、早急には発現せず 1 ヶ月程度を要することが明らかとなった。PAC の添加効果の発現が見られた 2 月下旬から 3 月初旬での平均除去率とその範囲について整理したものを表－4 に示す。各々除去率の範囲については、1log 程度の違いが見られたが、PAC の添加濃度に応じて平均除去率は異なっており、G2 で 2.1～3.7log、G1 で



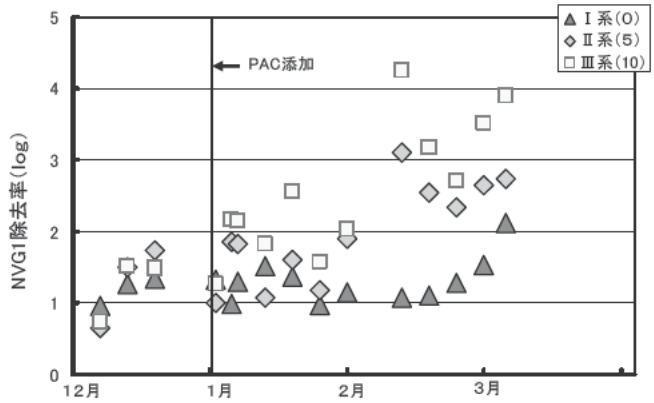
図－1 凝集剤の添加効果の評価（G2）



図－2 凝集剤の添加効果の評価（G1）



図－3 凝集剤添加による除去率の推移（G2）



図－4 凝集剤添加による除去率の推移（G1）

表－4 平均除去率とその範囲 （2月中旬から3月初旬）

	G2の除去率の範囲 （log）	G2の平均除去率 （log）	G1の除去率の範囲 （log）	G1の平均除去率 （log）
Ⅰ系※	1.7－2.6	2.1	1.1－2.1	1.4
Ⅱ系	2.2－3.3	2.8	2.3－3.1	2.7
Ⅲ系	3.1－4.4	3.7	2.7－4.3	3.5

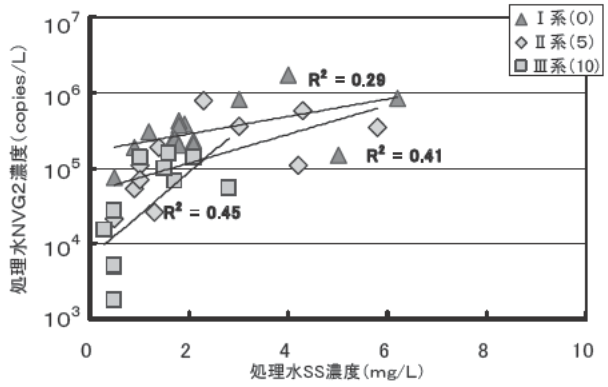
※1月から3月初旬のデータ

は 1.4～3.5log と整理された。Ⅰ系の平均除去率は標準的な活性汚泥法とほぼ同一[5)] で G2 が 2.1log、G1 は

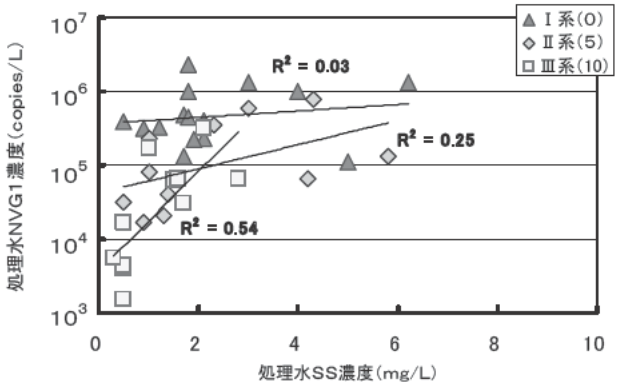
1.4log であった。過年度に実施した PAC 添加による除去率の評価では、HRT を 8 時間とし実験を行ったが、その時の最大除去率は 5mg-Al/L で G2 が 2.5log、G1 は 2.3log、10mg-Al/L では同様に 3.8log、3.5log であった[5)]。凝集剤添加濃度を 4mg-Al/L とした実施設の評価においても平均除去率は G2 が 2.5log、G1 は 2.0log であり P.P.と実施設でほぼ整合した値が得られている[5)]。今回の実験では、ともに最大除去率で 0.6～0.8log、平均除去率では 10mg-Al/L の系で違いは見られなかったが、5mg-Al/L の系においては 0.3～0.4log 上積みされており、HRT を長
時間化させた効果が現れたものと考えられた。また、G1 の平均除去率は PAC の無添加ケースにおいては G2 と比較して大差が見られたが、PAC の添加ケースでは G2 の除去率に近似した。

なお、活性汚泥処理法による G2 と G1 の除去率に差があるが、活性汚泥細菌から分離されたノロウイルス吸着タンパク質の特性を評価した研究事例では、GⅡ．4 と GⅠ．1 の間で、そのタンパク質に対する吸着能力の差があることが報告されている[6)]。遺伝子群の違いにより外殻タンパク質のアミノ酸組成が異なると考えられるため、除去率に差が生じたものと推定された。

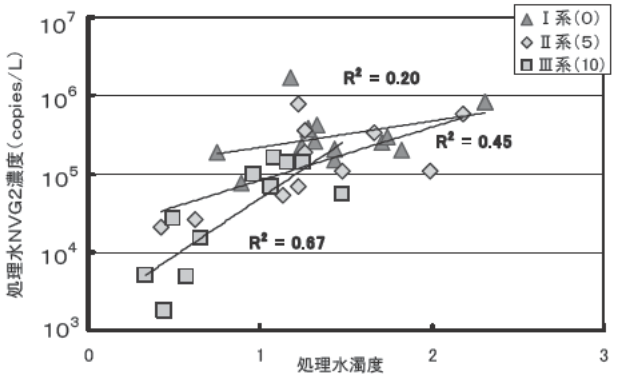
次に、処理水の水質とノロウイルス濃度の関係について整理し図－5～8 に示す。Ⅰ系のケースを除けば処理水の SS 濃度、濁度とノロウイルス濃度には相関関係が見られた。この傾向は、PAC の添加効果の発現によるものと考えられ、SS、濁度の推移により凝集剤の添加効果によるノロウイルスの低減効果を把握できる可能性が示された。また、標準的な活性汚泥処理法であれば処理水の SS 濃度、濁度とノロウイルス濃度との相関関係は低いが、凝集剤添加活性汚泥法へ水処理法を変更した場合には、ノロウイルスの除去効率を把握する上で処理水の SS 濃度、濁度指標は有効であると考えられた。



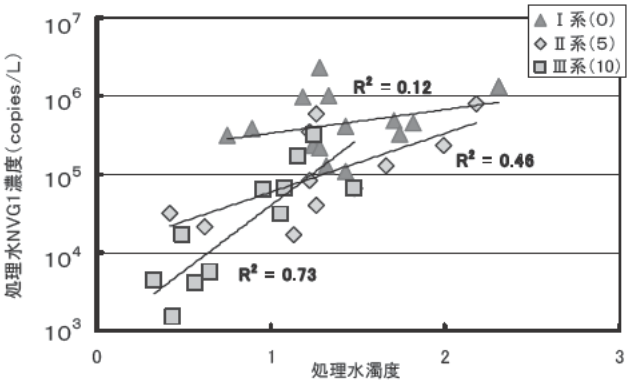
図－5　処理水のSS濃度とNVG2濃度の関係



図－6　処理水のSS濃度とNVG1濃度の関係



図－7　処理水濁度とNVG2濃度の関係

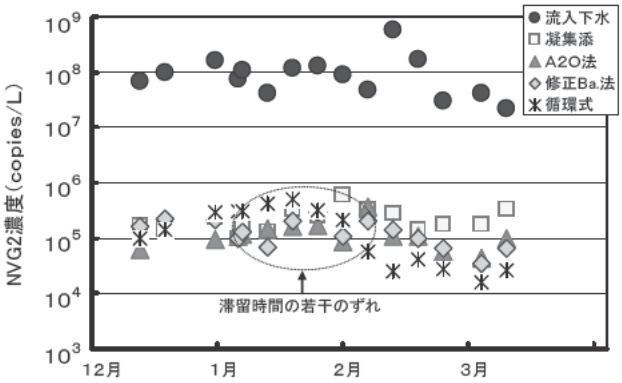


図－8　処理水濁度とNVG1の関係

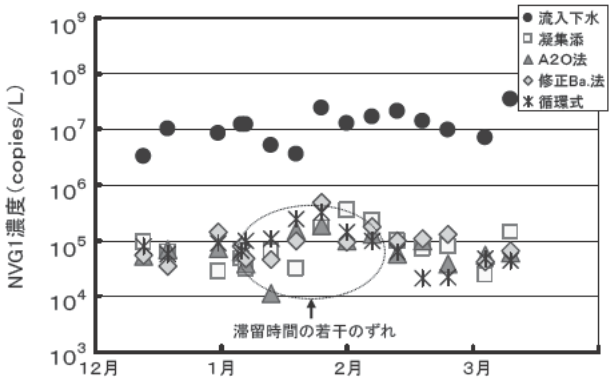
3.2　3.1 の結果と実下水処理施設における挙動との関連性の検証

上記 3.1 では、やや HRT が長時間であるものの標準的な活性汚泥処理法と凝集剤添加活性汚泥法のノロウイ

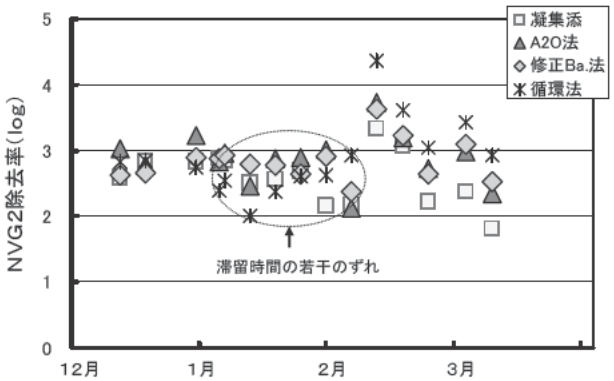
ルス除去率を評価した。その結果、凝集剤の添加濃度が同一でも反応タンクの HRT を 8 時間から 12 時間に変更することでノロウイルスの除去率は向上することが明らかとなった。本検証では実下水処理施設において、凝集剤添加活性汚泥法を導入している A 下水処理場を対象に実態調査を行うことで、上記 3.1 で得られた結果との関連性を検証した。なお、A 下水処理場では凝集剤添加活性汚泥法を含め A^2/O 法、修正 Bardenpho 法、循環式硝化脱窒法によっても水処理が行われていることから、これらの水処理系列も併せて評価した。A 下水処理場におけるノロウイルス除去率の評価結果を図－9～12 および表－5 に示す。冬季における感染流行期であるため流入下水の G2 濃度は 10^7～10^8 コピー/L レベル、G1 濃度は 10^6～10^7 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。なお、図中の点線で囲まれたデータは、降雨等の影響を含め流入水量が変動したことにより実滞留時間と採水時間で若干のズレが生じたことから、参考値扱いとした。各種高度処理法によるノロウイルスの平均除去率は、凝集剤添加活性汚泥処理法では G2 が 2. 6log、G1 が 2. 2log、同様に A^2/O 法は 3. 0log、2. 3log、修正 Bardenpho 法は 2. 9log、2. 2log、循環式硝化脱窒法は 3. 2log、2. 4log と整理され、参考値を含めた評価でもほぼ同一の値が得られていた。また、他の下水処理場における A^2/O 法でも同様な除去率が得られており[7)]、標準的な活性汚泥処理法に比較して高度処理法のノロウイルス除去率は全体的に高いことが明らかとなった。各処理水の G2 濃度は 10^4～10^5 コピー/L レベル、G1 濃度も 10^4～10^5 コピー/L レベルであり、流入下水の検出濃度に各々違いがあるが、G2、G1 ともに検出濃度がほぼ同レベルであることは除去率の影響を受けているものと考えられた。



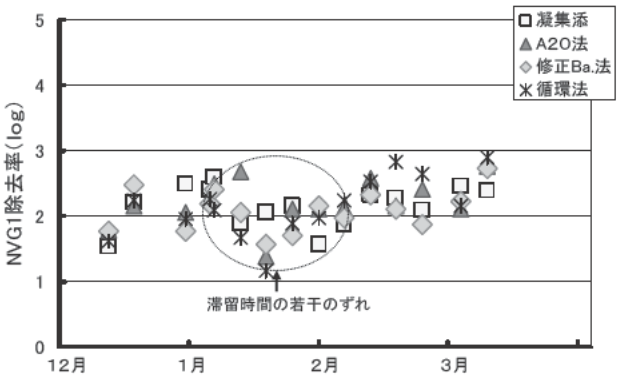
図－9 実下水処理場のノロウイルスG2の実態



図－10 実下水処理場のノロウイルスG1の実態



図－11 ノロウイルスG2の除去率の推移



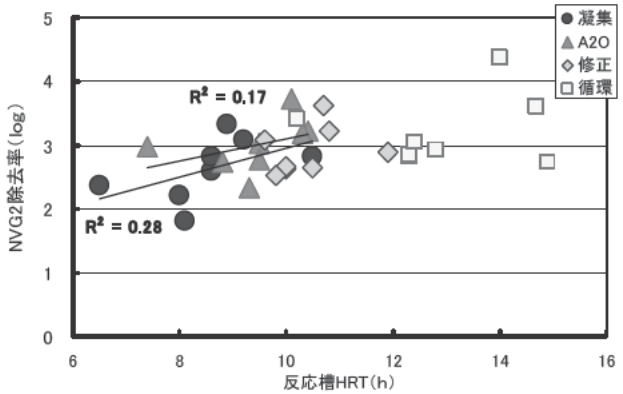
図－12 ノロウイルスG1の除去率の推移

表－5　各種高度処理法におけるノロウイルスの平均除去率とその範囲

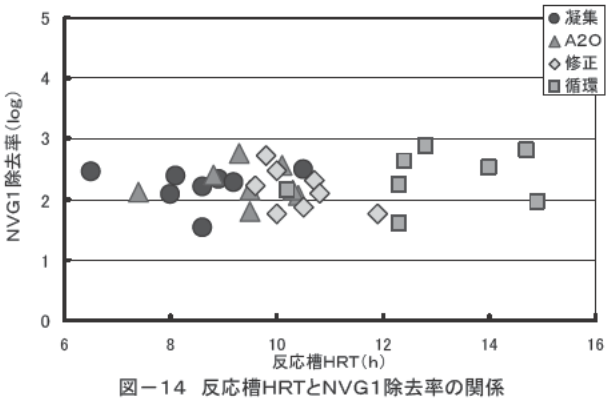
水処理方式	G2平均除去率（log）	G2除去率範囲（log）	G1平均除去率（log）	G1除去率範囲（log）
凝集剤添加活性汚泥法	2.6	1.8－3.3	2.2	1.5－2.5
A^2/O法	3.0	2.3－3.7	2.3	1.8－2.8
修正Bardenpho法	2.9	2.5－3.6	2.2	1.8－2.7
循環式硝化脱窒法	3.2	2.7－4.4	2.4	1.6－2.9
凝集剤添加活性汚泥法（参考値含）	2.6	1.8－3.3	2.2	1.5－2.6
A^2/O法（参考値含）	2.9	2.1－3.7	2.2	1.4－2.8
修正Bardenpho法（参考値含）	2.8	2.4－3.6	2.1	1.6－2.7
循環式硝化脱窒法（参考値含）	2.9	2.0－4.4	2.1	1.2－2.9

次いで、水処理条件の違いがノロウイルス除去率に及ぼす影響を評価した。反応槽の HRT、MLSS 濃度とノロウイルス除去率の関係について図－13～16 および表－6 に整理した。G2 の除去率に関しては、凝集剤添加活性汚泥法や A^2/O 法において HRT とやや弱い相関関係が見られ、HTR の長時間化は除去率に影響を及ぼす可能性があるものと考えられた。特に、凝集剤添加活性汚泥法では HRT の長時間化にともない除去率の向上傾向が見られたことから、P.P.による評価結果を裏付けるものと考えられた。一方、修正 Bardenpho 法や循環式硝化脱窒法では、他の高度処理法に比較してやや反応槽の HRT が長いが明確な関係は見られなかった。また、G1 に関しては反応槽の HRT とノロウイルス除去率に明確な関係は見られず、凝集剤添加活性汚泥法や A^2/O 法の G2 除去率とは異なる傾向であった。反応槽の HRT とノロウイルス除去率の関係については、今回の評価では約 7～15 時間であるが、より長時間とした評価においては除去率の向上の可能性を述べた報告がある[8)]。

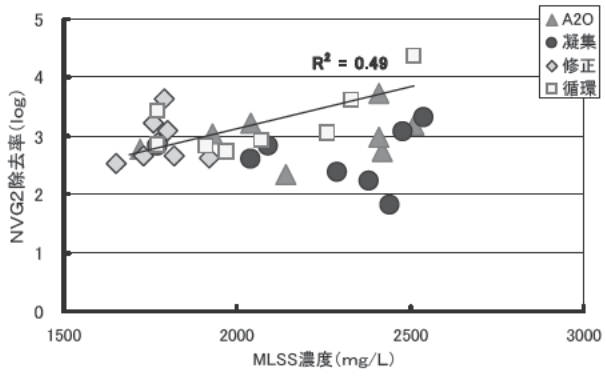
反応槽内の MLSS 濃度とノロウイルス除去率の関係については、G2、G1 ともに循環式硝化脱窒法のみに相関関係が見られ、MLSS 濃度の上昇とともにノロウイルスの除去率が向上しているが、他の水処理法に関しては明確な傾向は見出せなかった。反応槽の MLSS 濃度とノロウイルス除去率の関係については、今回の評価では一部を除き関係が見られなかったが、これらの高度処理法の評価においても両指標に関係が見られないとの報告がある[8)]。各高度処理法の処理水 SS 濃度とノロウイルス濃度の関係について図－17、18 に示す。G2 のみにやや弱い相関関係があるものの、SS 濃度の評価範囲が限られたため、G1 では関連性が見られなかった。



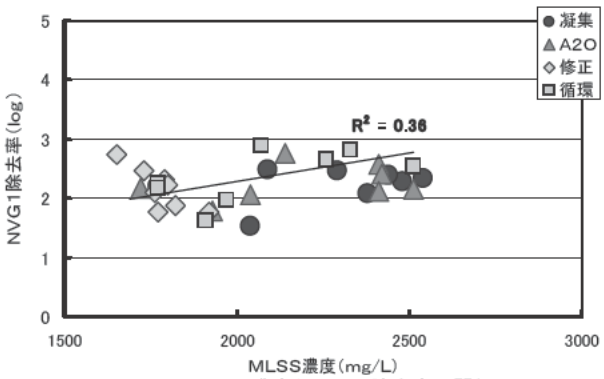
図－13　反応槽HRTとNVG2除去率の関係



図－14　反応槽HRTとNVG1除去率の関係



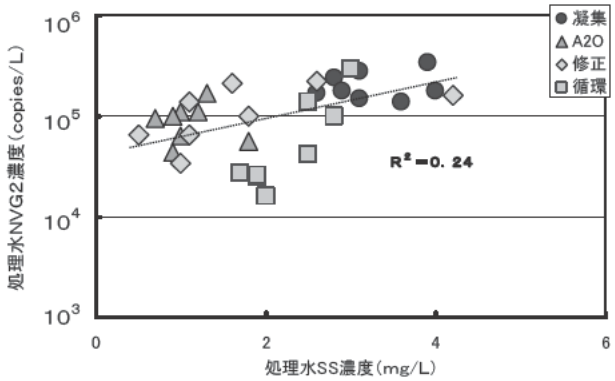
図－15　MLSS濃度とNVG2除去率の関係



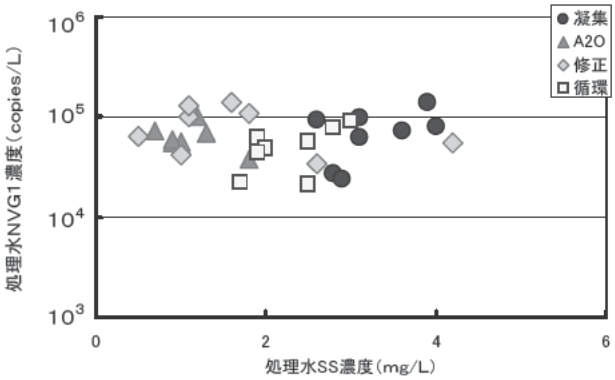
図－16　MLSS濃度とNVG1除去率の関係

表－6　各種高度処理法における水処理条件

水処理方式	反応タンク平均HRT　(h)	HRTの範囲 (h)	MLSS平均濃度 (mg/L)	MLSS濃度範囲 (mg/L)
凝集剤添加活性汚泥法	8.6	6.5－10.5	2,300	1,800－2,500
A^2/O法	9.4	7.4－10.4	2,200	1,700－2,500
修正Bardenpho法	10.4	9.6－11.9	1,800	1,700－1,900
循環式硝化脱窒法	13.0	10.2－14.9	2,100	1,800－2,500



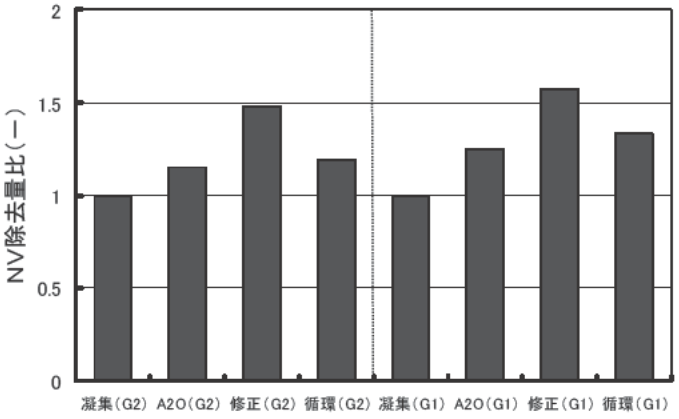
図－17　高度処理法処理水SS濃度とNVG2濃度の関係



図－18　高度処理法処理水SS濃度とNVG1濃度の関係

さらに、各処理系列の曝気槽から採取した活性汚泥を利用し、ノロウイルスの除去性能の比較を行った。比較方法は、各処理系列最終の曝気槽から活性汚泥を 20L 採取し静置沈殿させ 10L の上澄液を除き、濃縮汚泥に 10L の流入下水を添加した後、8 時間の曝気混合を行い、1 時間の静置沈殿を経て上澄液のノロウイルスを定量した。各処理系列の活性汚泥のノロウイルス除去能力を比較した結果を図－19 に示す。沈殿濃縮した活性汚泥と等量の流入下水を添加し曝気混合を行ったことから、測定した流入下水のノロウイルス濃度の 1/2 を初期濃度と仮定し、8 時間後の上澄液のノロウイルス濃度と MLSS 濃度から単位 MLSS 量あたりの除去量を算出した。凝集剤添加活性汚泥法の活性汚泥（実験評価時には PAC は無添加）に比較して、各高度処理法の活性汚泥のノロウイルス除去量は G2、G1 ともに 1.2～1.5 倍程度と算出され、除去能力に違いが見られた。特に修正 Bardenpho 法では PAC の無添加活性汚泥と比較して 1.5 倍量の違いが見られたため、実処理施設において MLSS 濃度をさらに高めた運転条件とすることで、高いノロウイルス除去率が得られる可能性があるものと推定された。凝集剤添加活性汚泥法の活性汚泥は本比較実験時において PAC は無添加であることから、通常の活性汚泥と仮定すれば、今回評価した生物学的高度処理法の活性汚泥はノロウイルス除去能力が高いことから汚泥性状が異なると推定されるが、その性状を解明することでノロウイルスの除去能力向上手法に繋が

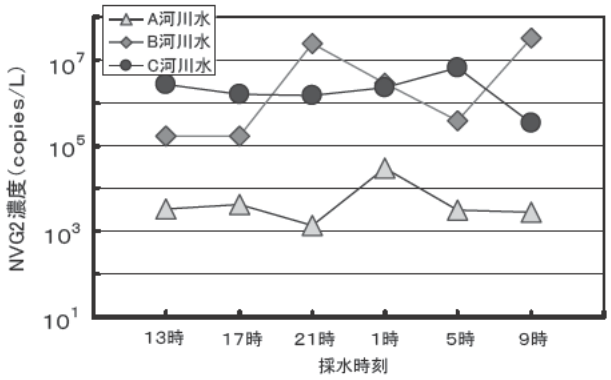
ると考えられた。



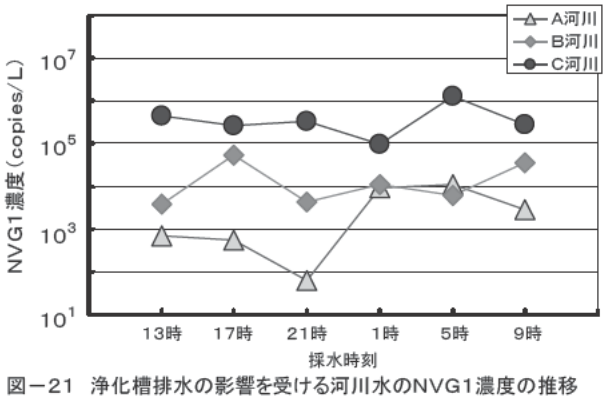
図－19　単位MLSS量あたりのNV除去量比

3.3 下水道整備効果の評価

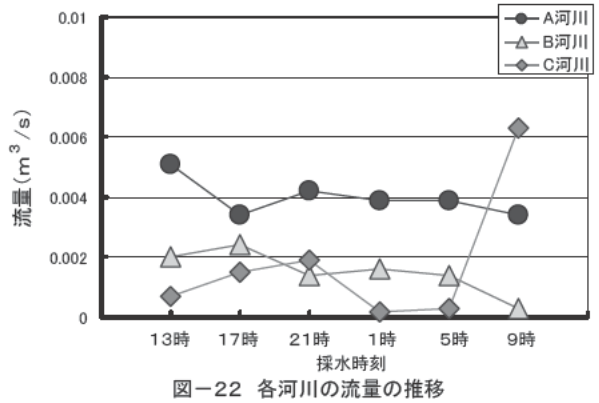
感染性胃腸炎の流行期である 2 月初旬に、浄化槽排水の影響を受ける 3 河川を対象に 4 時間間隔で 24 時間採水を実施しノロウイルスの定量を行った。調査結果を図－20、21 に示す。各河川流域における浄化槽の人口負荷は B 河川が他の 2 河川に比較して最も高いため、浄化槽処理水の影響を受ける放流先河川水の最大検出濃度は B 河川で 10^7 コピー/L レベルに達していた。平均検出濃度は A 河川で G2 が 7.4×10^3 コピー/L、G1 は 3.0×10^3 コピー/L、同様に B 河川では 1.0×10^7 コピー/L、1.9×10^4 コピー/L、C 河川は 2.5×10^6 コピー/L、4.5×10^5 コピー/L あった。河川流量の測定結果について図－22 に示したが、流況は A、B、C 河川（一部データ除く）の順で多くなっていることから、河川水による希釈効果がノロウイルスの検出濃度に反映されているものと推定される。



図－20　浄化槽排水の影響を受ける河川水のNVG2濃度の推移



図－21　浄化槽排水の影響を受ける河川水のNVG1濃度の推移



図－22　各河川の流量の推移

ここで、河川水量に占める浄化槽排水量の割合から排水中のノロウイルス濃度の推定を行った。水使用量を1人あたり1日に230Lと仮定[9)]し、浄化槽推定人口を乗じて排水量を試算し、河川流量に占める排水量の割合から浄化槽排水のノロウイルス濃度を推定した。試算結果を表－7に示す。浄化槽排水のノロウイルス(G2)濃度は10^4コピー/L～10^7コピー/Lレベルと試算され、最大検出濃度は上記3.1や3.2の調査時における流入下水のノロウイルス濃度とほぼ同レベルであった。当該浄化槽整備区域におけるノロウイルスによる感染性胃腸炎の流行状況にもよるが、浄化槽排水およびその影響を受ける河川水のノロウイルス最大検出濃度は、流入下水のノロウイルス濃度と同レベルとなる可能性が明らかとなった。また、上記3.1や3.2の調査時における処理水のノロウイルス濃度は、10^4コピー/L～10^6コピー/Lレベルであり、浄化槽排水のノロウイルス濃度は下水処理水に比較して高くなる可能性があるものと推定された。

表－7　浄化槽排水量の試算と推定ノロウイルス濃度

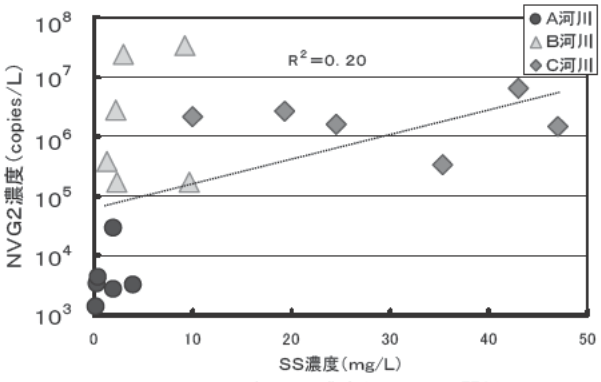
	河川流量(m^3/日)	浄化槽排水量(m^3/日)※	河川流量に占める排水量の割合	割合から推定したNVG2平均濃度(copies/L)	昼間人口を加え推定したNVG2平均濃度(copies/L)
A河川	346	51	0.15	4.9E+04	－
B河川	130	25～52※※	0.19～0.40	5.3E+07	2.5E+07
C河川	156	51～55※※	0.33～0.35	7.6E+06	7.1E+06

※　1人230L/日と仮定[9)]

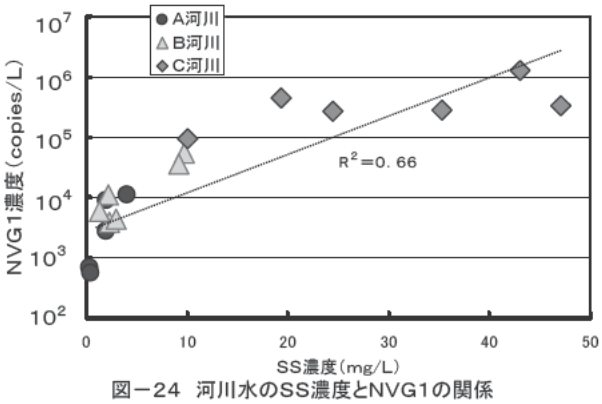
※※　小学校等の昼間人口として1人230L/日の35%量と仮定[9)]

放流先河川水のSS濃度とノロウイルス濃度の関係について図－23、24に示すが、SS濃度とG2についてはやや弱い相関関係、G1では相関関係が見られた。各河川の上流域では浄化槽排水以外に負荷が存在しないことから、浄化槽によるSS除去性能の変動が放流先河川水のノロウイルス濃度に影響を及ぼしているものと考えられた。

本調査結果から公共用水域におけるノロウイルス排出負荷源は下水処理場に加え浄化槽排水の存在が明らかとなったが、その排水のノロウイルス濃度は下水処理水と比較して高濃度となる可能性が示された。よって、公共用水域におけるノロウイルス濃度の低減のためには、下水道のみならず他の施策との連携が必要であると考えられた。



図－23　河川水のSS濃度とNVG2の関係



図－24　河川水のSS濃度とNVG1の関係

4．まとめ

本検討調査では、下水処理場におけるノロウイルスの除去効率向上手法の確立を目的に、標準活性汚泥法や各種高度処理過程でどの程度除去しているかを把握するため、滞留時間の変化や、嫌気･無酸素状態等を経る

水処理過程の違い、さらには凝集剤の添加量などの違いによるノロウイルス除去効率を評価した。また、水処理条件の違いが処理水濃度に及ぼす影響を把握し、処理水のノロウイルス濃度と放流先水域のノロウイルス濃度と比較を行うことで、下水道の整備効果をノロウイルス削減量から評価した。以下に得られた結果を示す。

「ノロウイルスの除去効率向上手法の最適化の検討」

1）凝集剤添加活性汚泥法では曝気槽の HRT を長くすることで、凝集剤の添加効果が向上する可能性が明らかとなった。

2）PAC 添加によるノロウイルスの除去効果は添加濃度に応じて異なるが、添加効果は早急には発現せず 1 ヶ月程度を要することが明らかとなった。

3）凝集剤添加活性汚泥法へ水処理法を変更した場合には、ノロウイルスの除去効率を把握する上で処理水の SS 濃度、濁度指標は有効であると考えられた。

「実下水処理施設における挙動との関連性の検証」

4）凝集剤添加活性汚泥法では HRT が長くなることで除去率の向上傾向が見られたことから、P.P.による評価結果を裏付けるものと考えられた。

5）A 下水処理場における調査結果から、標準的な活性汚泥処理法に比較して、りん･窒素の高度除去を目的とした各種高度処理法のノロウイルス除去率は高い結果となった。他処理場における調査結果でも同様の結果となっており、各種高度処理法ではノロウイルス除去率が全体的に高くなる傾向にあると考えられる。

6）今回評価した生物学的高度処理法の活性汚泥は、凝集剤添加活性汚泥法の活性汚泥と比較してノロウイルスの除去能力が高い可能性がある。

「下水道整備効果の評価」

7）当該浄化槽整備区域におけるノロウイルスの感染性胃腸炎の流行状況にもよるが、浄化槽排水およびその影響を受ける河川水のノロウイルス最大検出濃度は、流入下水のノロウイルス濃度と同レベルとなる可能性が明らかとなった。

8）浄化槽排水のノロウイルス濃度は、下水処理場の処理水に比較して高くなる可能性があるものと推定された。

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

10）公共用水域におけるノロウイルス排出負荷源は下水処理場に加え浄化槽排水の存在が明らかとなった。

謝辞

本調査･検討を実施するにあたり A 下水処理場の管理者、B 県下水道管理者の関係各位には多大なご協力を頂いた。ここに記して謝意を表する。

参考文献

1）国立感染症研究所感染症情報センター病原微生物検出情報.

2）国土交通省(2010) 下水道におけるウイルス対策に関する調査委員会報告書.

3）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.

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）諏訪守，岡本誠一郎，桜井健介（2009）各種下水処理法によるノロウイルス除去率の評価と測定技術の課

題，第 12 回日本水環境学会シンポジウム講演集，239-240.
6）和田圭史，今井崇博，佐野大輔，大村達夫（2007）活性汚泥細菌から分離されたノロウイルス吸着タンパク質（Norovirus-Binding Proteines : NoVBPs）の特性評価，水環境学会誌，Vol.30，No.12，pp.731－736.
7）土木研究所未公表資料.
8）諏訪守，岡本誠一郎，桜井健介，ノロウイルスの除去率に及ぼす下水処理法の影響因子，下水道協会誌論文集, 47(571),103-111.
9）（社）日本下水道協会(2008) 流域別下水道整備総合計画調査指針と解説.

下水汚泥再生材のリン資源としての利用可能性評価に関する調査

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　堀尾　重人

１．はじめに

近年、世界的に資源価格が高騰しており、肥料原料であるリン鉱石についても、新興国における食料の増産やバイオ燃料利用の促進に伴うバイオマス生産への注目から高騰している。日本は使用するリンをほぼ全量輸入に依存しており、加えて輸入先は中国、南アフリカ、ヨルダン、モロッコ等に偏在[1)]していることから、資源確保の安全保障上、非常に脆弱な構造であると言える。

一方、年間の肥料としてのリン輸入量の約25%が下水処理場に流入していることから[2)]、下水道からのリン回収システムを構築することで、持続可能なリン資源利用に大きく貢献できる可能性がある。特に、下水汚泥焼却灰中のリン酸含有率はリン鉱石と同等と言える[3)]ことから、下水汚泥焼却灰からのリン回収が有望である。将来的にリン資源の確保が非常に困難になった場合を想定すると、通常時はリン資源のストックとして保存しておき、有事の際に、回収して利用できるような形態が望ましいことから、一つの可能性として、焼却灰から下水汚泥焼成レンガを製造し、建設資材として利用しつつリン資源のストックとすることが考えられる。

下水汚泥焼成レンガを始めとした下水汚泥再生材を巡っては、既に各種溶出試験に代表される安全性評価試験の適用事例が数多く報告されているが、長期間に渡りリン資源のストックとして活用するためには、前提として、このような長期的な安全性評価が不可欠である。また、リン資源としてのポテンシャルについて、定量的な評価を行うことも重要である。

２．調査の目的

本業務は、下水汚泥再生材の一種である下水汚泥焼成レンガについて、長期的にリン資源のストックとして利用することを想定し、リン資源としての利用可能性評価を行うことを目的に、それに必要となる長期的な安全性評価や成分分析、製造量（ストック量）・流通実態の把握を行うものである。本調査は、大きく次の２つの課題が設定された。

（１）下水汚泥再生材の長期暴露時の安全性評価

（２）下水汚泥再生材のリン資源としての利用可能性評価

３．下水汚泥再生材の長期暴露時の安全性評価

３．１　はじめに

再生材の安全性評価の必要性

循環型社会の構築に向けて、建設系の廃棄物や副産物についても、再生材としての利用が進められている。ただ、これらの再生材は環境安全性から見て配慮すべき化学物質を含有する場合があり、品質保証や適切な安全性評価を行う必要がある。例えば、コンクリートに用いるスラグ骨材については、高炉スラグ骨材、フェロニッケルスラグ骨材、銅スラグ骨材、電気炉酸化スラグ骨材の JIS が存在し、環境安全品質が規定されている。また、一般廃棄物、下水汚泥又はそれらの焼却灰を溶融固化したコンクリート用溶融スラグ骨材の JIS も 2006 年に制定されており、下水汚泥溶融スラグの有効かつ適正な利用の促進に大きく貢献している。

主要な安全性評価試験としては、環境庁告示 46 号試験[4]（以下、「環告 46 号試験」とする）、JIS K 0058 -1[5]に代表される溶出試験や、環境庁告示 19 号試験[6]（以下、「環告 19 号試験」とする）、JIS K 0058-2 に代表される含有量試験が存在する。これらの試験は単一バッチ試験であり、シンプルな手法で環境安全品質管理が可能であることから、幅広く適用されている。

下水道分野における再生材の役割

近年、日本国内の下水道の普及拡大に伴い、下水汚泥発生量は年々増加しており、1980 年に 136 百万 m^3 であった下水汚泥発生量は、2006 年時点で 460 百万 m^3 となっている[7]。日本は国土が狭く、土地に制約があることから、最終処分地が不足しており、下水汚泥の処分に当たっては、焼却・溶融等の減量化を推進している。また、同時に下水汚泥の有効利用も進んでおり、1990 年に 16%であったリサイクル率は、2005 年時点で 70%まで増加している[8]。有効利用の内訳を見ると、大部分を建設資材利用（セメント化及びそれ以外）が占めており、次いで緑農地利用、燃料化となっている。これらの結果、近年埋立処分量は減少傾向にあり、ここにおいて再生材が大きな役割を果たしていると言える。今後は、汚泥燃料化の進展等もあり、焼却・溶融の割合は小さくなることも想定されるが、汚泥発生量が増加傾向にある中で、依然として再生材の貢献度は大きいものであると思われる。

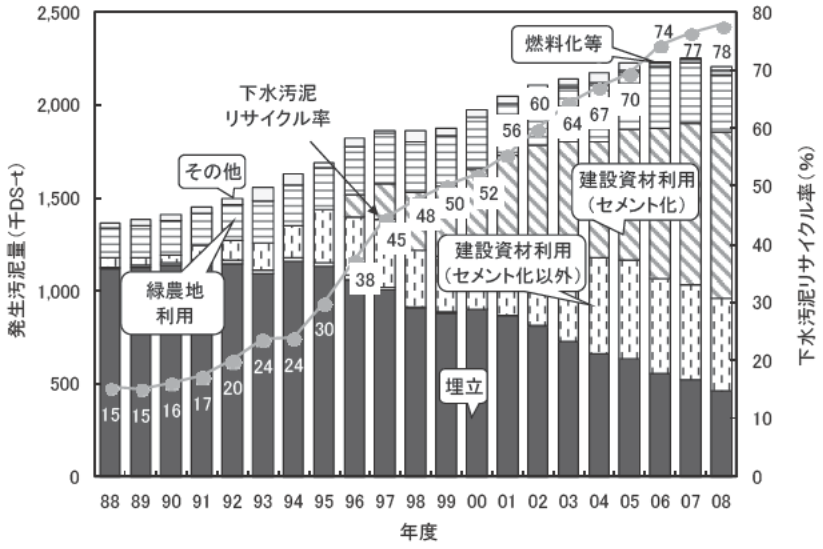


図３．１．１　下水汚泥発生量及び処理・有効利用状況の推移

廃棄物資源循環学会において規格化が検討されている溶出試験方法

先述したように、主要な安全性評価試験としては、環告 46・19 号試験や JIS K 0058-1,2 が存在する。溶出試験である環告 46 号試験は、粗砕分級して得られた 2mm 以下の試料を一定量採取し、その 10 倍量の溶媒（水）を加えて毎分約 200 回で 6 時間振とうして化学物質を溶出させて検液を得る方法であり、JIS K 0058-1 は、利用有姿の試料を用いる他は環告 46 号試験と同様の方法である。これらはシンプルな判定試験として、環境安全品質管理の面では十分な機能を発揮するものと思われる。ただ、近年、再生材の暴露環境が多様化し、また暴露が長期間に及ぶものもあることから、これらのシンプルな判定試験を補完し、多様な暴露環境条件や暴露期間に対応した環境影響の評価方法の開発が求められている。

例えば EU では、天然資源や再生材に関わらず、あらゆる建設製品の環境安全品質評価法を策定するための取り組みが進められている。その成果として、建設製品の様々な使用環境に対して、既に欧州標準化機構（CEN）で規格化されている pH 依存性試験などの特性化試験を割り当てた評価ガイドラインが提示される予定となっている。

日本においても、このような EU の考え方を参考とし、廃棄物資源循環学会において、一連の特性化試験の規格化を行い、これらの規格群により再生材中に含まれる重金属類等の溶出による土壌・地下水への影響を詳細に評価することが検討されている。規格群は、各試験を適用し評価するための「評価フレーム」と、その中に位置付けられる個々の「試験規格」で構成され、個々の試験規格は、原則的には評価フレームに基づいて適用されるが、一試験として単独で適用し、試験結果の評価を行うことも可能である。

試験規格群は、環境最大溶出可能量試験 [9]、pH 依存性試験 [10)11)]、カラム通水試験[(12)]、シリアルバッチ試験 [13)]などの各特性化試験で構成されている。環境最大溶出可能量試験は、再生材に含まれる成分の、環境中へ溶出し得る最大量（最大溶出可能量）を評価することを目的としたものであり、すり減りや風化による微細化、及び特に pH に関する環境変化を想定した試験方法が採られている。従来の環告 46 号試験と比較して、試料の微細化を行い、溶媒として酸・アルカリを使用している点で、より安全側に立った試験と言える。pH 依存性試験は、酸性雨等の暴露環境を想定し、溶媒の pH が異なる数系列のバッチ試験を実施することで、pH の影響を詳細評価するものである。カラム通水試験は、溶出挙動の時間変化を抑えることを目的に、試料を充填したカラムに連続通水するものである。シリアルバッチ試験は、溶出液の採取・新たな溶媒の添加を繰り返すものであり、カラム通水試験の簡易代替法として開発が期待されている。廃棄物資源循環学会によると、これら 4 試験のうち、環境最大溶出可能量試験については、試験方法が概ね承認され、他試験とは異なり精度評価についても完了した、とされている。事実、廃棄物資源循環学会が公表している環境最大溶出可能量試験解説（案）[14]によると、産廃・一廃溶融スラグ、銅スラグ、高炉スラグ、一廃焼却飛灰、下水汚泥焼却灰、フライアッシュ、再生採石等については試験の適用結果が示されている。ただ、本業務で対象としている下水汚泥焼成レンガには適用されていないのが現状である。

３．２　物理特性への影響評価

当研究所では、複数都市の下水汚泥溶融スラグを粗骨材として用いたコンクリートの長期暴露を５年以上、複数都市の下水汚泥焼却灰を用いた下水汚泥焼成レンガの長期暴露を１０年以上継続しているが、このような複数都市由来の試料を用いた長期暴露試験は国内では他に事例がなく、得られる成果は非常に貴重なものとなっている。本業務の対象は下水汚泥焼成レンガではあるが、レンガについてはこれまでの暴露期間中特に測定を行ってはいない。一方、コンクリートについては継続して物理特性に関する測定を実施してきており、このような長期暴露試験においては、継続して測定を行うことが重要であること、及びその成果はレンガの長期的な安全性を議論する際にも活用できることから、長期暴露中のコンクリート・レンガ双方について測定を実施した。

３．２．１　方法

（1）　下水汚泥溶融スラグを粗骨材として用いたコンクリート

先述したように、当研究所では、複数都市の下水汚泥溶融スラグを粗骨材として用いたコンクリートの長期暴露試験を実施している。まず、各コンクリートの生産条件や暴露環境等の詳細について述べる。

溶融スラグについては、京都府鳥羽下水処理場の結晶化スラグ、滋賀県湖南中部浄化センターの空冷スラグ、長野県諏訪湖流域下水道豊田終末処理場の徐冷スラグの 3 種類を用い、表３．２．１のようにそれぞれ 3 パターンの配合率で粗骨材として用い、重さ約 2.5kg、一辺約 10cm のコンクリート供試体を作成した。なお、滋賀県のスラグは使用する凝集剤の種類により、石灰系及び高分子系に分類されている。

表３．２．１　各スラグの配合率

	京都	滋賀		長野	
①	置換率 0%	石灰系スラグ＋普通セメント	置換率 50%	スラグ 15mm	置換率 50%
②	置換率 50%	石灰系スラグ＋高炉セメント	置換率 30%	スラグ 15mm	置換率 70%
③	置換率 100%	高分子系スラグ＋普通セメント	置換率 50%	スラグ 20mm	置換率 50%

その後、2002 年 8~11 月に、標準養生（水中養生）・暖地屋内・暖地屋外・寒地屋外の 4 箇所でコンクリートの暴露試験を開始した。寒地は新潟県青海町、暖地及び水中養生は千葉県佐倉市である。そして 5 年間の暴露試験終了後、土研側で試験体を引き受け、暖地の試験体については土研構内に設置し、寒地の試験体については、北海道美々暴露試験場に設置することで、現在まで暴露試験を継続している。

供試体数は、N=3 で試験を実施していることから、3(都市)×3(配合率)×4(暴露箇所)×3(N) = 108 個であり、一暴露箇所当たり 27 個となっている。各供試体には、表３．２．２～３．２．４のように ID を割り振っている。

表３．２．２　京都市の溶融スラグを用いたコンクリートの ID

養生場所	標準養生			暖地						寒地		
				屋内			屋外			屋外		
配合	0%	50%	100%	0%	50%	100%	0%	50%	100%	0%	50%	100%
ID	K-1 ～ K-15	K-16 ～ K-30	K-31 ～ K-45	K-46 ～ K-60	K-61 ～ K-75	K-76 ～ K-90	K-91 ～ K-105	K-106 ～ K-120	K-121 ～ K-135	K-136 ～ K-150	K-151 ～ K-165	K-166 ～ K-180

表３．２．３　滋賀県の溶融スラグを用いたコンクリートの ID

養生場所	標準養生			暖地						寒地		
				屋内			屋外			屋外		
配合	石灰 -50%- N	石灰 -30%- B	高分子 -50%- N	石灰 -50%- N	石灰 -30%- B	高分子 -50%- N	石灰 -50%- N	石灰 -30%- B	高分子 -50%- N	石灰 -50%- N	石灰 -30%- B	高分子 -50%- N
ID	S-1 ～ S-15	S-16 ～ S-30	S-31 ～ S-45	S-46 ～ S-60	S-61 ～ S-75	S-76 ～ S-90	S-91 ～ S-105	S-106 ～ S-120	S-121 ～ S-135	S-136 ～ S-150	S-151 ～ S-165	S-166 ～ S-180

表３．２．４　長野県の溶融スラグを用いたコンクリートの ID

養生場所	標準養生			暖地						寒地		
				屋内			屋外			屋外		
配合	15mm- 50%	15mm- 70%	20mm- 50%	15mm- 50%	15mm- 70%	20mm- 50%	15mm- 50%	15mm- 70%	20mm- 50%	15mm- 50%	15mm- 70%	20mm- 50%
ID	N-1 ～ N-15	N-16 ～ N-30	N-31 ～ N-45	N-46 ～ N-60	N-61 ～ N-75	N-76 ～ N-90	N-91 ～ N-105	N-106 ～ N-120	N-121 ～ N-135	N-136 ～ N-150	N-151 ～ N-165	N-166 ～ N-180

これらのコンクリート供試体について、表面観察（写真撮影）、重量、超音波パルス伝達速度の測定を行った。超音波パルス伝達速度については、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。そして測定結果と過年度の結果を比較することで、変化の傾向について考察を行った。

（2） 下水汚泥焼成レンガ

当研究所では、複数都市の下水汚泥焼却灰を用いた下水汚泥焼成レンガ及びインターロッキングブロックの暴露試験を 10 年以上に渡り実施している。焼成レンガについては、埼玉県、東京都、岐阜県、名古屋市、インターロッキングブロックについては、神戸市（溶融スラグ）、富山県、滋賀県の処理場の下水汚泥焼却灰を用いている。暴露試験は、図３．２．１の断面図に示すように、約 5cm の砂層の上に厚さ 5~6cm の建設資材を敷設する形で実施している。また、これらとは別に、それぞれ無暴露のレンガ等を屋内において保管している。今回は、これらのうち、埼玉県の下水汚泥焼却灰を用いた下水汚泥焼成レンガ（長期暴露及び無暴露のもの）を対象に、表面観察（写真撮影）を行った。また、別途、比較のため、横浜市において港北水再生センター内の歩道で長期間使用されていた下水汚泥焼成レンガを入手し、同様に測定を行った。重量については、過去のデータが存在せず、重量変化に関する考察ができないことから、測定は行わなかった。

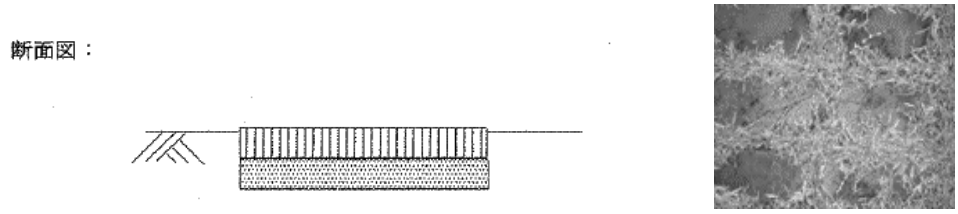


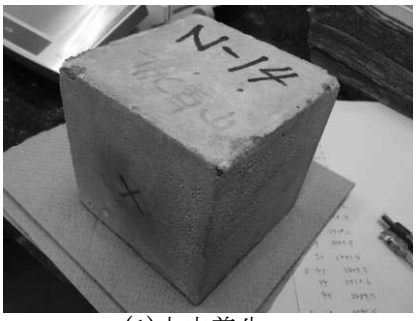
図３．２．１　下水汚泥焼成レンガの暴露状況

３．２．２　結果

（1）下水汚泥溶融スラグを粗骨材として用いたコンクリート

① 表面観察

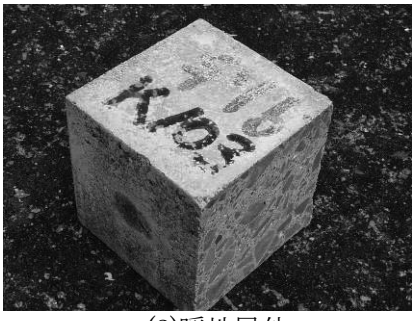
2008 年 10 月の測定結果[15]によれば、いずれの供試体にもポップアウトを確認することはできなかったとのことであるが、今回も結果は同様であった。各供試体の表面状態について、代表的なものを図３．２．１に示す。



(1)水中養生



(2)暖地屋内



(3)暖地屋外

図３．２．１　各供試体の表面状態

② 重量

結果を図 3.2.2~3.2.5 に示す。2008 年の測定結果と比較すると、水中養生及び屋外の供試体は全て重量が増加しており、これは水分を吸収したことによるものと考えられる。屋内については、2 供試体を除いて全ての供試体の重量が減少しており、乾燥により供試体中の水分が減少したことによるものと考えられる。

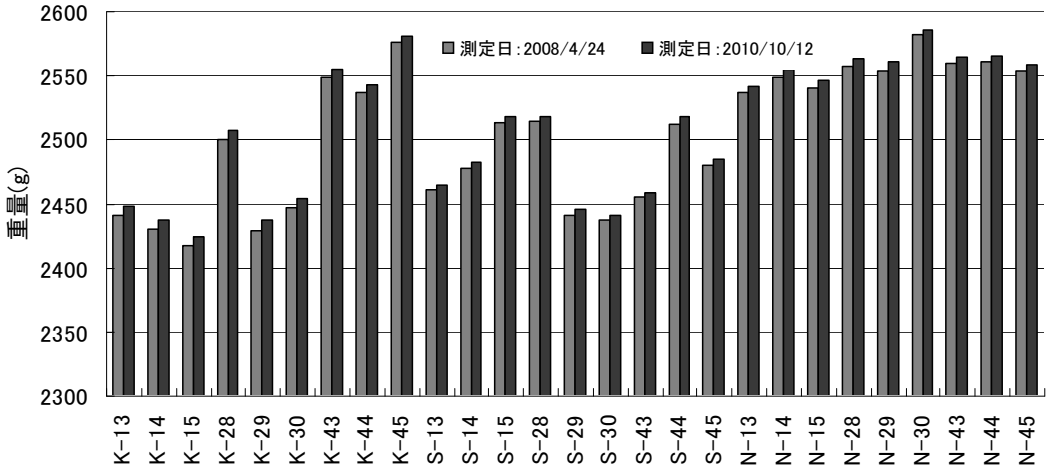


図３．２．２　供試体（水中養生）の重量変化

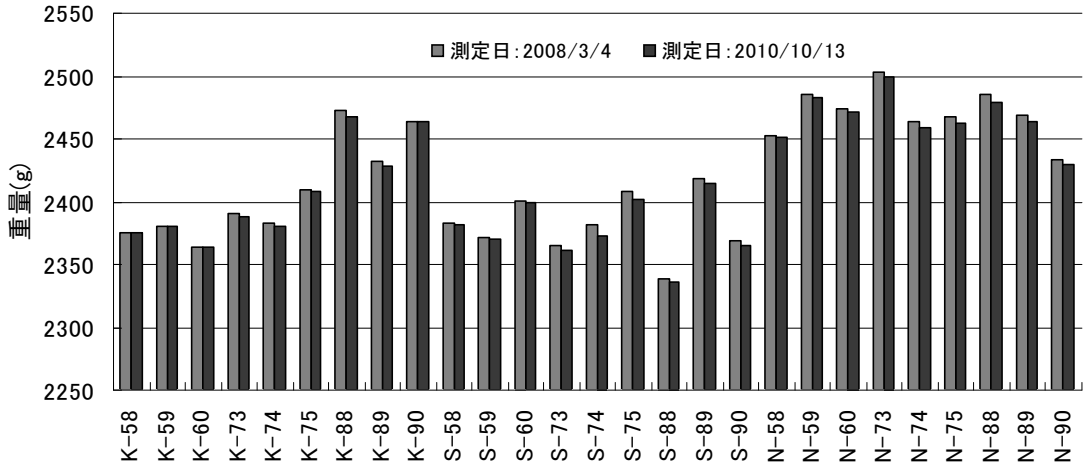


図３．２．３　供試体（暖地屋内）の重量変化

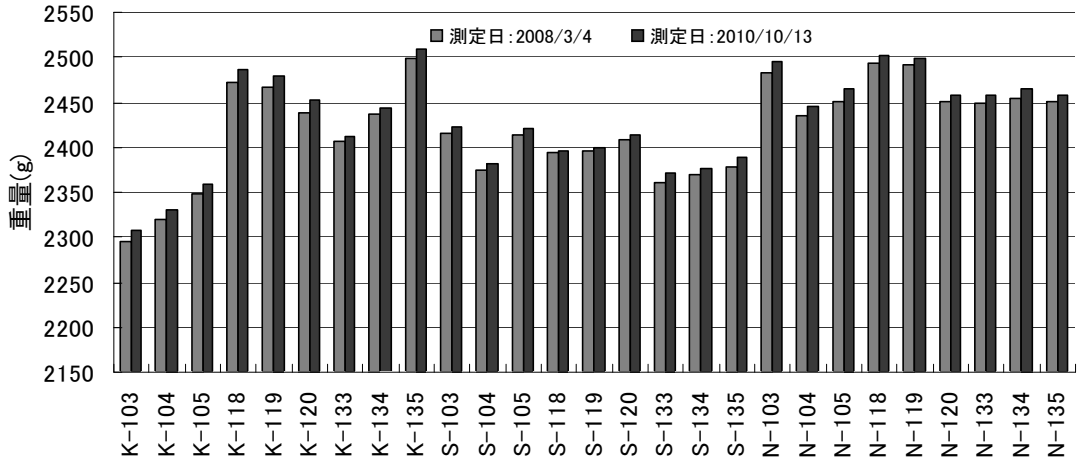


図３．２．４　供試体（暖地屋外）の重量変化

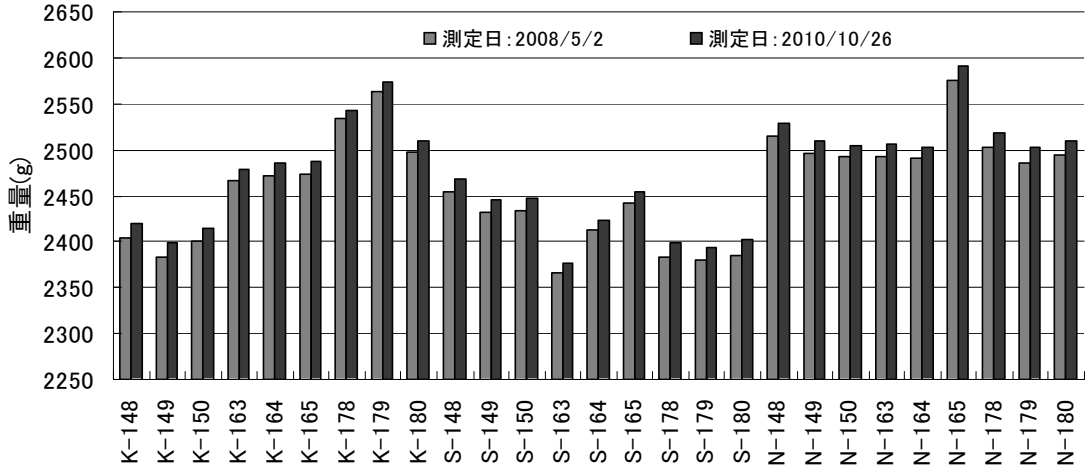


図３．２．５　供試体（寒地屋外）の重量変化

③　超音波パルス伝達速度

結果を図 3.2.6~3.2.9 に、集計結果を表 3.2.5 に示す。一般的に、伝達速度が速いほどコンクリートの品質は良いと言われるが、暖地・寒地で暴露した供試体は、全て 2008 年と比較して伝達速度が遅くなっていた。コンクリート中の水分が減少すると伝達速度は遅くなることが知られており、これは、乾燥により含水率が低下したことによるものと思われる。水中養生の供試体は、供試体によってばらつきはあったが、平均すると 2008 年と比較して伝達速度が速くなっており、乾燥の影響を受けないことから品質悪化が見られないものと推察される。

表３．２．５　超音波伝達速度の平均値（単位：km/s）

	水中養生	暖地屋内	暖地屋外	寒地屋外
2008 年	4.48	4.17	4.26	4.43
2010 年	4.51	2.84	2.81	2.81

また、超音波伝達速度からコンクリートの品質を判断する際には、表 3.2.6 に示した判断基準[16]を用いるのが通例である。この基準によれば、水中養生の供試体は品質良で変化はないが、暖地・寒地の供試体については、品質良から不良へと変化している。超音波伝達速度は、あくまでコンクリートの品質を判断する際の一つの指標に過ぎないが、コンクリート用溶融スラグ骨材に関する JIS マニュアルにおいても、長期的な耐久性が課題とされていることから、今後も継続して測定を行い、状況変化を把握するとともに、測定項目を増加し、より多角的な評価を行うことで最終的な結論を導く必要がある。

表３．２．６　超音波伝達速度とコンクリートの品質

品質	超音波伝達速度(km/s)
優	4.57～
良	3.66～4.57
やや良	3.05～3.66
不良	2.13～3.05
不可	～2.13

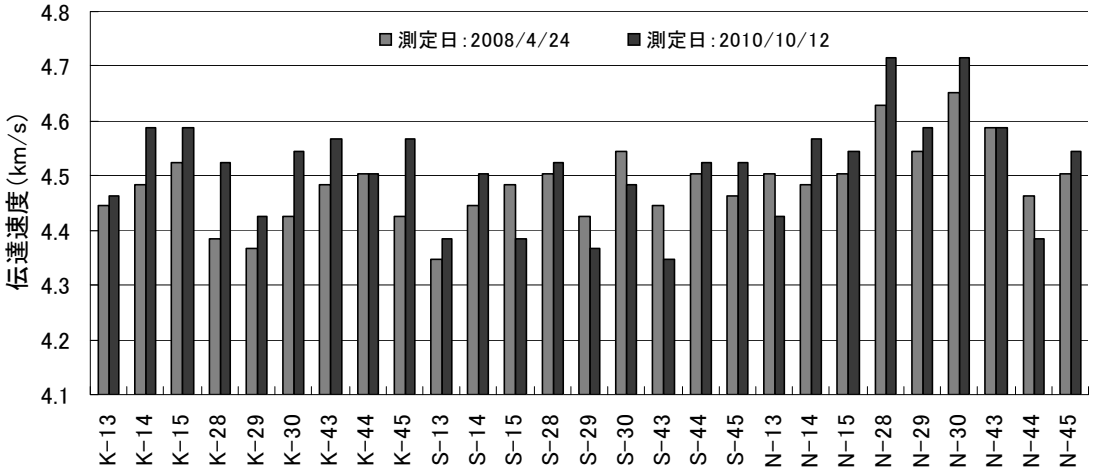


図３．２．６　供試体（水中養生）の超音波伝達速度変化

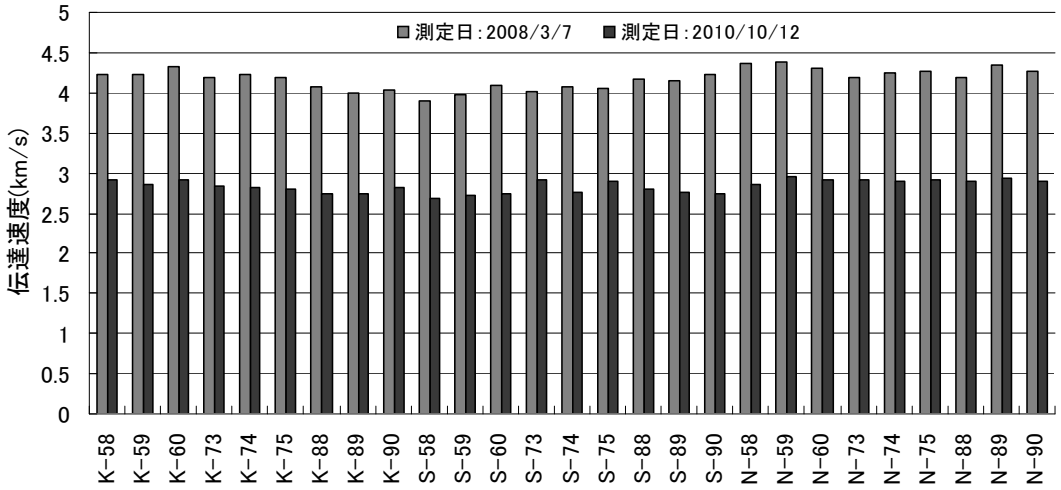


図３．２．７　供試体（暖地屋内）の超音波伝達速度変化

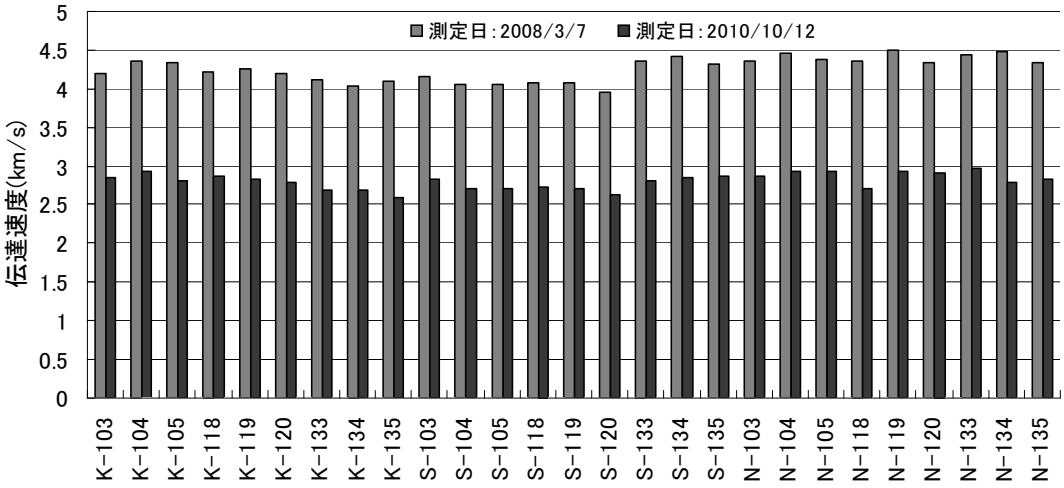


図３．２．８　供試体（暖地屋外）の超音波伝達速度変化

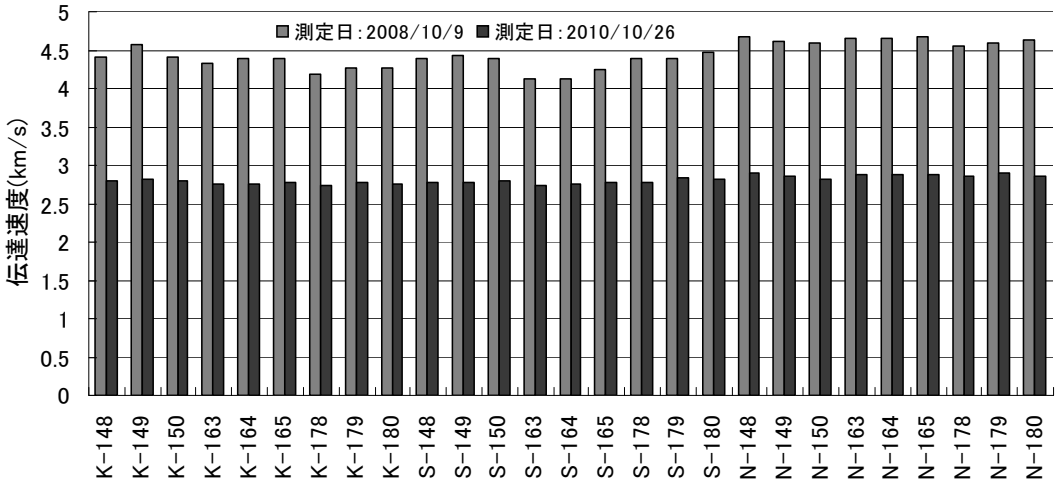
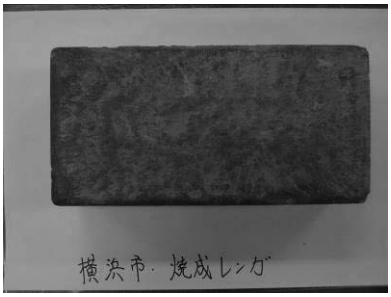


図３．２．９　供試体（寒地屋外）の超音波伝達速度変化

（２）下水汚泥焼成レンガ

① 表面観察

写真撮影による表面観察を行ったところ、結果は図３．２．１０のようになった。長期暴露した検体では、土などの汚れが付着していたが、目立った欠損はなかった。



長期暴露（横浜市）



無暴露（横浜市）



長期暴露（土研）



無暴露（土研）

図３．２．１０　各レンガの表面状態

３．３　重金属溶出特性への影響評価

３．１で述べたように、廃棄物資源循環学会において、多様な暴露環境条件や暴露期間に対応した環境影響の評価方法として、環境最大溶出可能量試験などの特性化試験の規格化が検討されている。特に最大溶出可能量試験については、適用事例も多く、精度評価も完了した、とされている。ただ、下水汚泥焼成レンガへの適用事例は存在しないことから、本業務内で検討を行い、規格化を検討する上で有用な材料とすることとした。また、長期暴露を想定し最大限安全側に立った試験を適用することで、従来型の環告 46・19 号試験との試験結果の比較を行い、別途長期暴露したレンガ及び無暴露のレンガの試験結果の比較を行うことで、レンガの長期暴露が重金属の溶出特性に与える影響について考察を行った。

３．３．１　方法

各試験における分析検体数を整理すると、表３．３．１のようになる。まず、無暴露の検体（土研：3 検体、横浜：1 検体）について、環告 46 号・19 号試験を実施し、同じく無暴露の検体（土研：3 検体、横浜：3 検体）について、最大溶出可能量試験を実施することで、両試験結果の比較を行い、両試験の違いについて考察する。

また、長期暴露の検体（土研：3 検体、横浜：2 検体）について環告 46 号・19 号試験を実施し、前述した無暴露の検体（土研：3 検体、横浜：1 検体）に関する環告 46 号・19 号試験結果と比較することで、長期暴露及び無暴露の検体間での結果の比較を行い、長期暴露の影響について考察する。

表３．３．１　各試験における各レンガの分析検体数

	長期暴露（土研）	無暴露（土研）	長期暴露（横浜）	無暴露（横浜）
環告 46 号・19 号試験	3	3	2	1
最大溶出可能量試験		3		3

（１）　環告 46 号試験

以下の手順で検液を作成し、Si を除く PRTR 対象重金属 30 元素について、当所が所有する高周波誘導結合プラズマ質量分析装置（X7CCT）及び高周波誘導結合プラズマ発光分析装置（Optima3000）を用いて分析を行った。

① 試料の作成

採取したレンガを風乾し、中小礫、木片等を除き、土塊、団粒を粗砕した後、非金属製の 2mm の目のふるいを通過させて得た土壌を十分混合した。

② 試料液の調製

試料（単位ｇ）と溶媒（純水に塩酸を加え、水素イオン濃度指数が 5.8 以上 6.3 以下となるようにしたもの）（単位 ml）とを重量体積比 10%の割合で混合し、かつ、その混合液が 500ml 以上となるようにした。

③ 溶出

調製した試料液を常温（おおむね 20℃）常圧（おおむね 1 気圧）で振とう機（あらかじめ振とう回数を毎分約 200 回に、振とう幅を 4cm 以上 5cm 以下に調整したもの）を用いて、6 時間連続して振とうした。

④ 検液の作成

①から③の操作を行って得られた試料液を 10 分から 30 分程度静置後、毎分約 3,000 回転で 20 分間遠心分離した後の上澄み液を孔径 0.45μm のメンブランフィルターでろ過してろ液を取り、定量に必要な量を正確に計り取って、これを検液とした。

（2）環告 19 号試験

以下の手順で検液を作成し、Si を除く PRTR 対象重金属 30 元素について、当所が所有する高周波誘導結合プラズマ質量分析装置（X7CCT）及び高周波誘導結合プラズマ発光分析装置（Optima3000）を用いて分析を行った。

① 試料の作成

採取した土壌を風乾し、中小礫、木片等を除き、土塊、団粒を粗砕した後、非金属製の 2mm のふるいを通過させて得た試料を十分混合した。

② 試料液の調製

試料 6g 以上を量り採り、試料（単位 g）と溶媒（純水に塩酸を加え塩酸が 1mol/l となるようにしたもの）（単位 ml）とを重量体積比 3%の割合で混合した。

③ 溶出

調製した試料液を室温（おおむね 25℃）常圧（おおむね 1 気圧）で振とう機（あらかじめ振とう回数を毎分約 200 回に、振とう幅を 4cm 以上 5cm 以下に調整したもの）を用いて、2 時間連続して振とうした。振とう容器は、ポリエチレン製容器又は測定の対象とする物質が吸着若しくは溶出しない容器であって、溶媒の 1.5 倍以上の容積を持つものを用いた。

④ 検液の作成

③の振とうにより得られた試料液を 10 分から 30 分程度静置後、必要に応じ遠心分離し、上澄み液を孔径 0.45 μm のメンブランフィルターでろ過してろ液を採り、定量に必要な量を正確に量り採って、これを検液とした。

（3）環境最大溶出可能量試験[9]

図３．３．１に示す手順で検液を作成し、環告 46 号試験と同様に元素分析を行った。試験操作は「酸系列」、「アルカリ系列」の 2 系列から成り、1 つの系列では、分取した 1 つの試験画分に対して溶媒の混合と分離を 2 回行った（1 回目、2 回目をそれぞれステップ 1、ステップ 2 と呼ぶ）。最終的に、1 系列につき 2 検液、合計 4 検液を得た。

試料は、粒径 1250 μm 以下に微粉砕したものを用い、試験は 20℃で行った。各ステップ開始の際の液固比は 50 L/kg とした。各ステップで得られる各検液はそれぞれ適切に保存し、目的とする無機成分の溶出濃度を測定した。環境最大溶出可能量（mg/kg-dry）は、系列ごとに、ステップ 1 とステップ 2 の合計値（mg/kg）として表した。

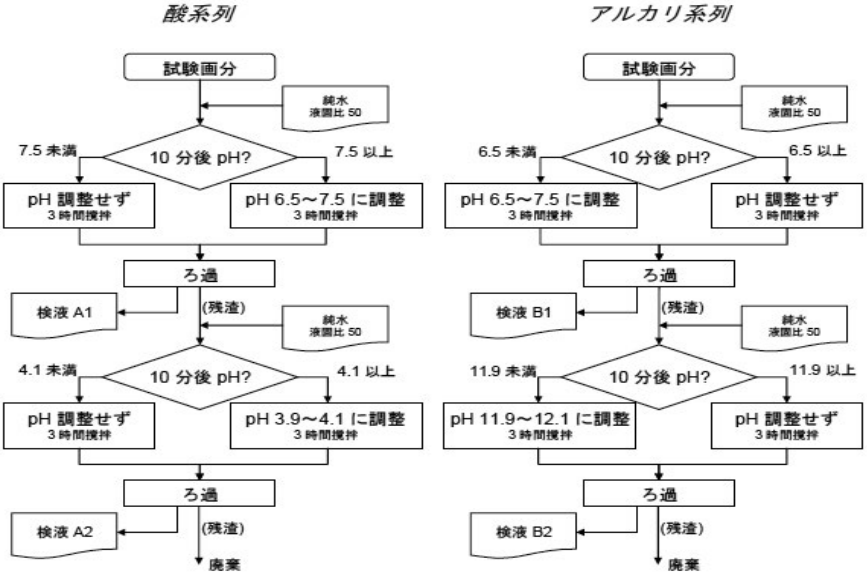


図３．３．１　試験操作の流れ

以下、各系列からの検液作成方法の概要について述べる。なお、実験には、図３．３．２のような攪拌容器、攪拌装置を用いた。

① 酸系列

ステップ 1

試料と純水を混合し直ちに攪拌を開始した。攪拌開始から懸濁液の pH を常時観測した。10 分後から 3 時間経過するまでの間､懸濁液の pH が 7.5 を越えた場合は硝酸を滴下して pH を 6.5 以上 7.5 以下の範囲内となるように常時調整し、3 時間撹拌を継続した。3 時間経過後、固液分離を行った。

ステップ 2

ステップ 1 の残渣と純水を混合し直ちに攪拌を開始した。攪拌開始から懸濁液の pH を常時観測した。10 分後から 3 時間経過するまでの間、懸濁液の pH が 4.1 を越えた場合は硝酸を滴下して pH を 3.9 以上 4.1 以下の範囲内となるように常時調整し、pH が 4.1 以下の場合は pH の調整は行わずに、3 時間撹拌を継続した。3 時間経過後、固液分離を行った。

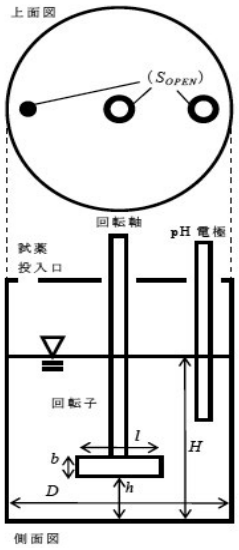
② アルカリ系列

ステップ 1

試料と純水を混合し直ちに攪拌を開始した。攪拌開始から懸濁液の pH を常時観測した。10 分後から 3 時間経過するまでの間､懸濁液の pH が 6.5 未満となった場合は水酸化ナトリウム溶液を滴下して pH を 6.5 以上 7.5 以下の範囲内となるように常時調整し、3 時間撹拌を継続した。6.5 以上の場合は pH の調整は行わずに、3 時間撹拌を継続した。3 時間経過後、固液分離を行った。

ステップ 2

ステップ 1 の残渣と純水を混合し直ちに攪拌を開始した。攪拌開始から懸濁液の pH を常時観測した。10 分後から 3 時間経過するまでの間、懸濁液の pH が 11.9 未満となった場合は水酸化ナトリウム溶液を滴下して pH を 11.9 以上 12.1 以下の範囲内となるように常時調整し、pH が 11.9 以上の場合は pH の調整は行わずに、3 時間撹拌を継続した。3 時間経過後、固液分離を行った。



D：容器内径 （mm）
H：初期液面高さ （mm）
h：底面から回転子下端までの高さ （mm）
l：回転子長さ （mm）
b：回転子高さ （mm）
S_{OPEN}：上面の開口面積率 （%）

$90 \leqq D \leqq 120$
$h \leqq 20$
（マグネチックスターラーの場合、$h = b$）
$0.4 \leqq l/D \leqq 0.6$
$8 \leqq b \leqq 15$ （棒状）
$10 \leqq b \leqq 20$ （半月状）
$1 \leqq S_{OPEN} \leqq 5$

図３．３．２ 攪拌容器、攪拌装置の概要

３．３．２　結果

（１）　環告 46 号試験

各元素の溶出挙動を整理したところ、図３．３．３のようになった。同一の区分で検体が複数存在するものについては、平均値を記載した。結果、P,Al,Cr,Mn,Fe,Cu,Zn,Ag,Sn,Pb については、横浜市・土研の双方の検体で、長期暴露した検体の溶出量が無暴露の検体の溶出量を上回っていた。特に、P は 2~2.5mg/l 程度、Al,Fe,Cu,Zn,Pb はμg/l のオーダーで、1~2 桁ほど長期暴露の検体が上回っていた。また、土壌環境基準が定められている As,Se,Cd,Pb について基準値との比較を行ったところ、全ての元素について、オーダーで 2 桁基準値を下回っていた。

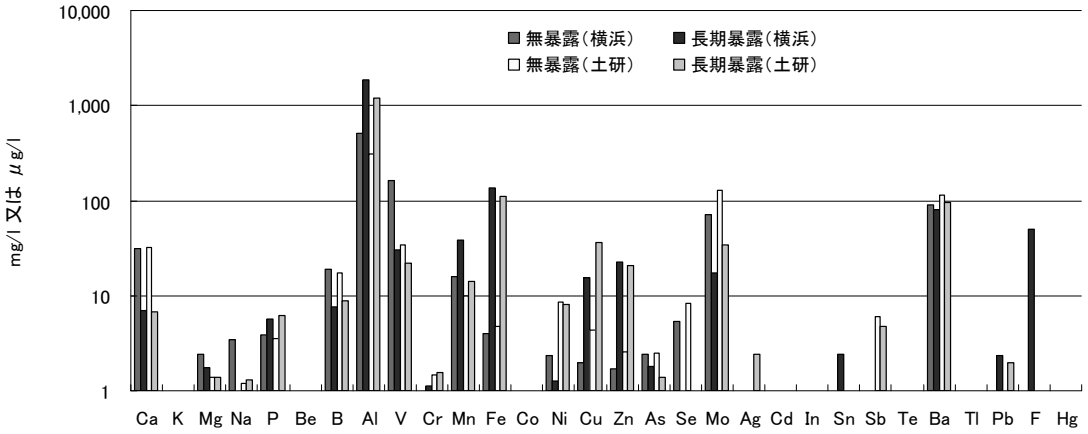


図３．３．３　環告 46 号試験における各元素の溶出挙動
（K,Be,Co,Cd,In,Te,Tl,F,Hg 及び Na,Cr,Se,Ag,Sn,Sb,Pb の一部については
定量下限値未満）
（単位は、Ca,K,Mg,Na,P については mg/l、その他の元素については μg/l）

（２）環告 19 号試験

各元素の溶出挙動を整理したところ、図３．３．４のようになった。同一の区分で検体が複数存在するものについては、平均値を記載した。結果、Al,Fe,Na,Zn,Ba については、横浜市・土研の双方の検体で、長期暴露した検体の溶出量が無暴露の検体の溶出量を上回っていたが、Na については長期暴露した 3 検体中 2 検体は無暴露の検体の溶出量を下回っており、1 検体の溶出量が他の 2 検体の溶出量の 2 倍程度と特異的な値を示していた。従って、Al,Fe,Zn については環告 46 号試験と同様の傾向となった。また、V,Mn,Co,In,Sn については、横浜市・土研のどちらかの検体で長期暴露した検体の溶出量が無暴露の検体の溶出量を上回っていた。

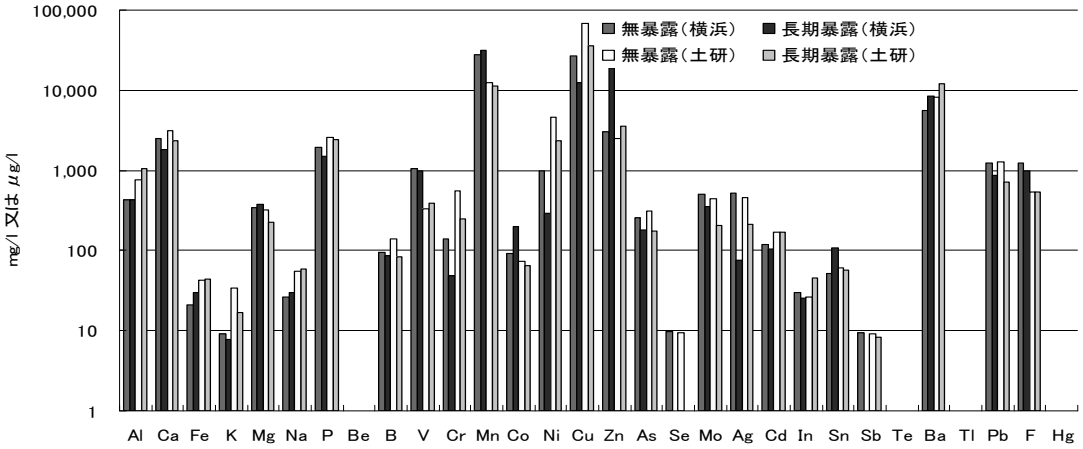


図３．３．４　環告 19 号試験における各元素の溶出挙動

（Be,Te,Tl,Hg については定量下限値未満）

（単位は、Al,Ca,Fe,K,Mg,Na,P については mg/l、その他については μg/l）

（３）最大溶出可能量試験

各元素の溶出挙動を整理したところ、図３．３．５～３．３．８のようになった。酸・アルカリ系列に分かれるため、系列別及び土研・横浜市の試料別に整理して示した。STEP1 は中性領域、STEP2 は酸性及びアルカリ性領域の pH での溶出であるが、特にアルカリ系列については、中性領域での溶出が大部分を占めていた。また、ほとんどの元素について、酸系列の方が溶出量が大きかった。

環境最大溶出可能量試験方法[9]によると、酸及びアルカリ系列における溶出量のうち、大きい値を採用するとのことであるので、そのように最終的な溶出量を決定した後、単位を mg/kg-試料に換算し、環告 46 号の試験結果との比較を行ったところ、全ての元素について環告 46 号の試験結果を上回っており、元素によって開きはあるが、オーダーで 1~3 桁の差があった。

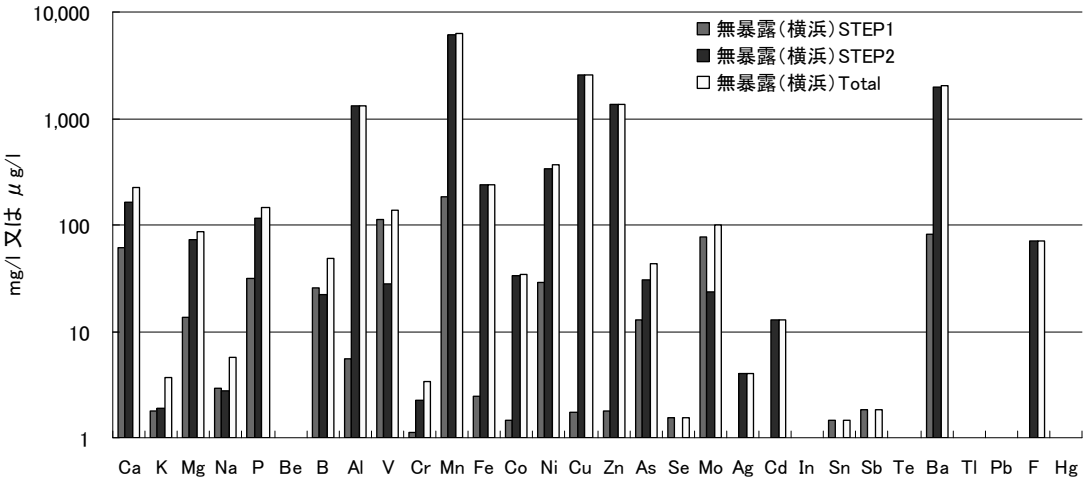


図３．３．５　最大溶出可能量試験（酸系列・横浜市試料）における各元素の溶出挙動

（Be,In,Te,Tl,Pb,Hg については定量下限値未満）

（単位は、Ca,K,Mg,Na,P については mg/l、その他については μg/l）

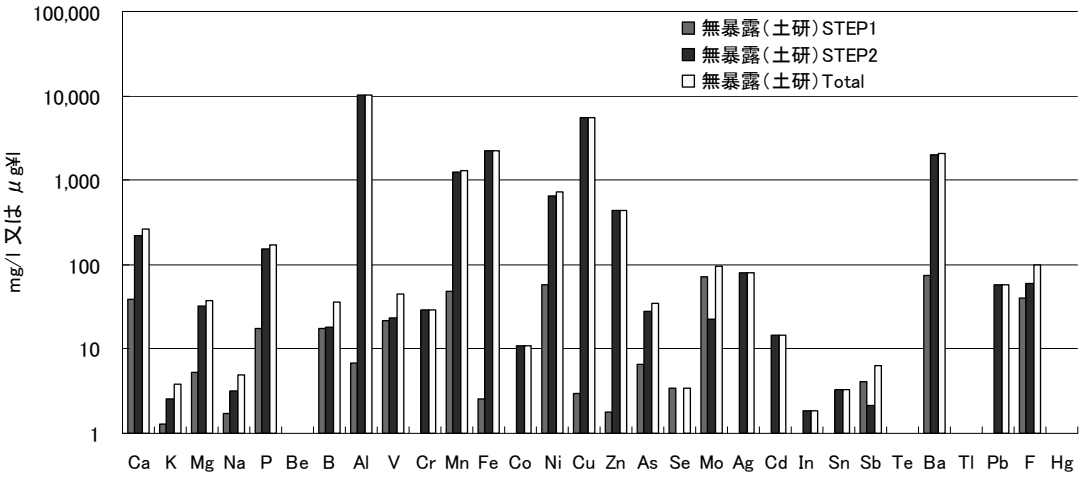


図３．３．６　最大溶出可能量試験（酸系列・土研試料）における各元素の溶出挙動

(Be,Te,Tl,Hg については定量下限値未満)

（単位は、Ca,K,Mg,Na,P については mg/l、その他については μg/l）

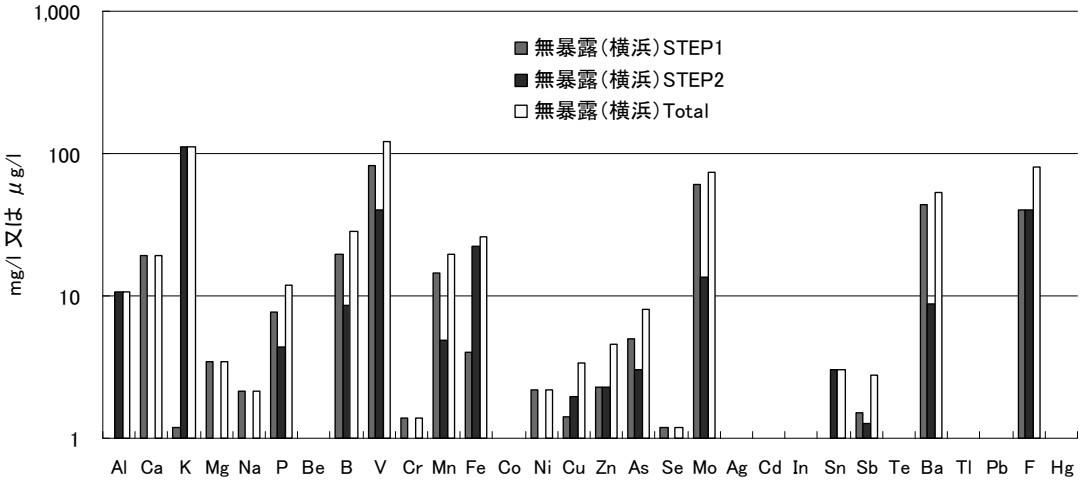


図３．３．７　最大溶出可能量試験（アルカリ系列・横浜市試料）における各元素の溶出挙動

(Be,Co,Ag,Cd,In,Te,Tl,Pb,Hg については定量下限値未満)

（単位は、Al,Ca,K,Mg,Na,P については mg/l、その他については μg/l）

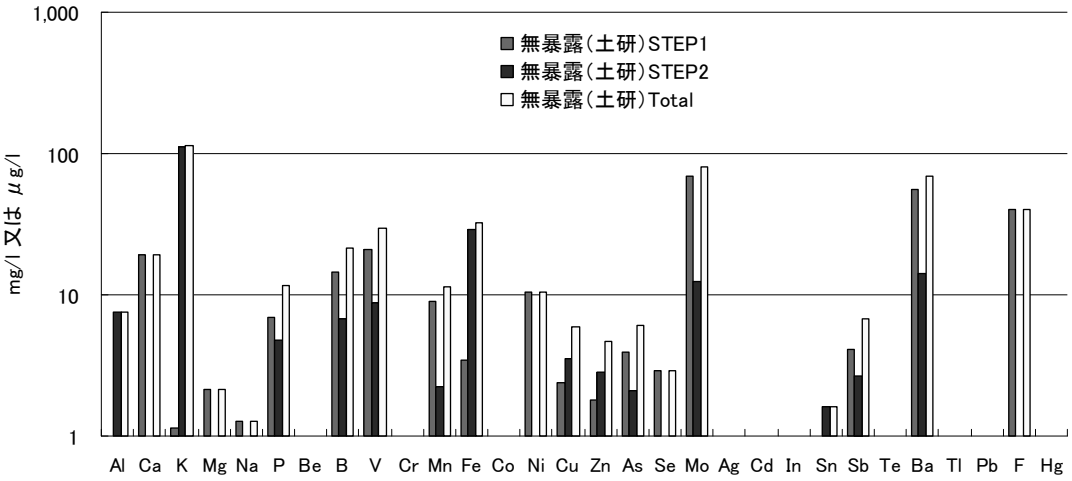


図３．３．８　最大溶出可能量試験（アルカリ系列・土研試料）における各元素の溶出挙動
（Be,Cr,Co,Ag,Cd,In,Te,Tl,Pb,Hg については定量下限値未満）
（単位は、Al,Ca,K,Mg,Na,P については mg/l、その他については μg/l）

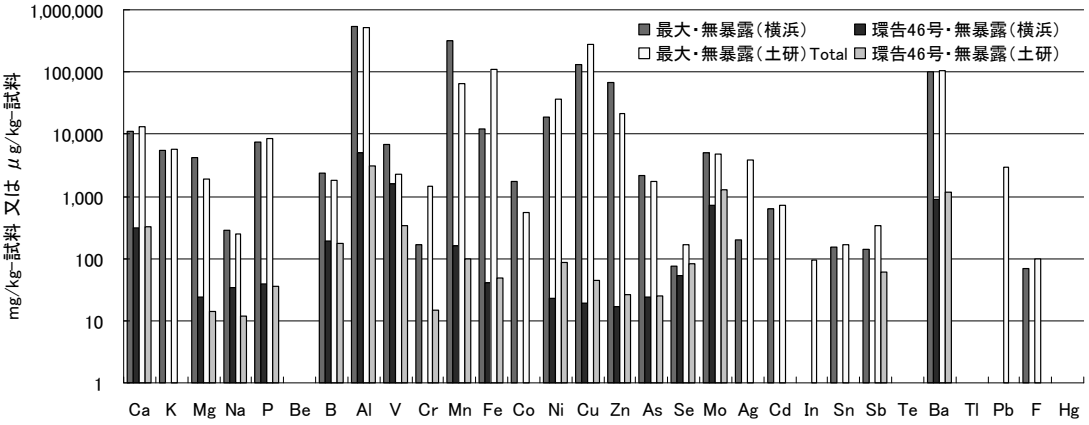


図３．３．９　最大溶出可能量試験結果と環告 46 号試験結果の比較
（単位は、Ca,K,Mg,Na,P については mg/kg-試料、その他については μg/kg-試料）

（４）考察

①　無暴露と長期暴露した検体間の比較

環告 46 号試験の結果より、長期暴露により溶出量が増加する元素も見られたことから、一つの可能性として、大気や土壌など、何らかの媒体を介して外部から重金属の混入があったことが予想されるが、その場合、P の増加が見られたことや暴露状況を考慮すると、大気由来ではなく、土壌由来であると思われる。また、長期暴露により材質が劣化し、溶出がし易くなったことも考えられるが、以上は全て推測に過ぎない。以上の推測を確認するためには、レンガのみを分析対象とするのではなく、例えば図３．２．１に示したレンガ下部の砂層を含め分析を行う必要があると思われる。

②　環境最大溶出可能量試験結果について（環告 46 号試験との比較など）

図３.３.５～３.３.８のように得られた試験結果の評価方法については、環境最大溶出可能量試験解説（案）[14)]

においても議論が必要とされているが、素案として、表３．３．３に示すような土壌環境基準の 10 倍値までは許容することが検討されている。例えば土壌環境基準値そのものを基準値とすることは過剰に安全な考え方であるため、再生材を土壌へ環境負荷物質を排出するものとして位置付ければ、水質環境基準と排水基準の関係と同様に、10 倍値まで許容することは十分に可能性があるとされている。

表３．３．３　土壌環境基準 10 倍値

	水質環境基準	排水基準	土壌環境基準	土壌環境基準 10 倍値（案）
	mg/L	mg/L	mg/L (mg/kg 換算)	mg/kg
対応関係	－	水質環境基準の 10 倍値	水質環境基準と同じ溶出濃度値(mg/L)。液固比 10 L/kg を乗じて mg/kg に換算	土壌環境基準の 10 倍値（mg/kg 換算）
Cd	0.01	0.1	0.01 (0.1)*	1
Pb	0.01	0.1	0.01 (0.1)	1
Cr(VI)	0.05	0.5	0.05 (0.5)	5
As	0.01	0.1	0.01 (0.1)*	1
T-Hg	0.0005	0.005	0.0005 (0.005)	0.05
Se	0.01	0.1	0.01 (0.1)	1
F	0.8	8 (海域 15)	0.8 (8)	80
B	1	10 (海域 230)	1 (10)	100

*農用地は別規定

以上の基準（案）を、試行的に本試験結果に適用したところ、表３．３．４のようになった。基準項目のうち、今回分析を行った Cd,Pb,As,Se を対象としている。表３．３．４には横浜市・土研の双方の検体に関する結果を示したが、横浜市の検体に関する試験結果は、n=1 での試験結果であり、ばらつきを考慮したものではないため、n=3 で試験を実施した土研の検体に関する試験結果を参考とするのが適当と思われる。

そこで、土研の検体に関する試験結果について見てみると、4 元素中 2 元素において基準（案）を上回っていた。これは、環告 46 号試験結果が、表３．３．５に示す通り、4 元素ともオーダーで 2~3 桁程度土壌環境基準値を下回っていたのとは対照的であり、環境最大溶出可能量試験はかなり安全側の試験で、厳しい結果が出ることが分かった。

ちなみに、参考に、他の再生材の基準（案）適合状況について、解説（案）[14]に記載されている試験結果を参考に調査したところ、表３．３．６のようになった。結果、他の再生材についても、基準（案）を超過しているものが多く見られた。

表３．３．４　基準（案）の適用結果

	無暴露（横浜）	無暴露（土研）	基準（案）
Cd	0.642	0.717	1.00
Pb	0.00	2.90	1.00
As	2.17	1.71	1.00
Se	0.0771	0.170	1.00

表３．３．５　環告４６号試験結果の土壌環境基準への適合状況

	無暴露（横浜）	長期暴露（横浜）	無暴露（土研）	長期暴露（土研）	土壌環境基準
Cd	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	1.00
Pb	<0.001	0.002	<0.001	0.002	1.00
As	0.002	0.002	0.002	0.001	1.00
Se	0.005	<0.001	0.008	<0.001	1.00

表３．３．６　各種再生材の基準（案）適合状況（黄色部分は基準（案）超過）

	基準（案）	産廃溶融スラグ(一廃及び建設系廃棄物が主原料)	銅スラグ	一般廃棄物焼却飛灰	フライアッシュ	産廃溶融スラグ（自動車シュレッダーダストを主原料）	一廃溶融スラグ	高炉スラグ	下水汚泥焼却灰
Cd	1	<0.1	0.26	34	<1	0.18	<0.005	<0.005	0.7
Pb	1	0.35	1.1	183	<10	11	0.009	0.01	0.53
As	1	<0.1	3.7	9.5	3.6	1.5	0.039	0.14	15

４．下水汚泥再生材のリン資源としての利用可能性評価

４．１　ク溶性・水溶性リン等含有量調査

下水汚泥焼成レンガをリン資源のストックとしておき、実際に活用することを想定した際、具体的な使途としては、リン肥料の代替とすることが考えられる。従って、リン肥料としてどの程度のポテンシャルを有しているか、把握しておく必要がある。リン肥料に係る規格には、ク溶性リン酸（以下、「ク溶性リン」とする）及び水溶性リン酸（以下、「水溶性リン」とする）の含有率が規定されており、これらはリン肥料としての性能の指標であると言える。ちなみに、前者は即効性のリン酸、後者は遅効性のリン酸であると言われる。当所では既に、下水汚泥焼成レンガの原料である下水汚泥焼却灰について、全リン及びク溶性・水溶性リン含有量の測定を実施しており、焼却灰の種類によっては、化成肥料等の規格を満足することが分かっている[17]。従って、下水汚泥焼成レンガについても同様の傾向が見られるか確認するため、ク溶性・水溶性リン等の含有量調査を行った。

４．１．１　方法

肥料分析法に準拠し、以下の流れで測定を行った。なお、対象とした試料は、表３．３．１に記載した環告 46 号試験に用いたものと同様である。

（１）　全リン

分析試料 2.5~5g をトールビーカーに正確にとり、塩酸約 30ml 及び硝酸約 10ml を加えて約 30 分間煮沸し、放冷後水を加えて正確に 250~500ml とし乾燥ろ紙でろ過した。

（２）　ク溶性リン

分析試料 1g を 250ml のメスフラスコに正確にとり、30℃のクエン酸液 150ml を加え 1 分間 30~40 回回転の振り混ぜ機で 1 時間振り混ぜたのち（浸出中は 30℃に保った）、速やかに常温に戻し標線まで水を加えて直ちに乾燥ろ紙でろ過した。

（３）　水溶性リン

分析試料 5g を 500ml のメスフラスコに正確にとり、水約 400ml を加え 1 分間 30~40 回回転の振り混ぜ機で 30 分間振り混ぜたのち、標線まで水を加えて直ちに乾燥ろ紙でろ過した。

（４）　定量

試料の一定量（Ｐとして 4~13mg または$Ｐ_{2}Ｏ_{5}$として 10~30mg）を 300ml 容のトールビーカーに正確にとり、硝酸 5ml を加え、更に水で約 80ml に希釈して時計皿で覆い約 3 分間煮沸したのち、時計皿及びビーカーの内壁を水で洗い、更に水を加えて約 100ml とした。直ちにキモシアク液約 50ml を加えて 60~65℃の水浴中で時々かき混ぜながら 15 分間加熱したのち、更に時々かき混ぜながら室温まで放冷した。次にあらかじめ 220±5℃で乾燥して重さを正確に量った、るつぼ形ガラスろ過器（1G4）または目皿を除きガラス繊維ろ紙（例えば東洋ろ紙ＧＡ－１００）を敷いたグーチるつぼで沈殿をろ過した。水で 3 回デカントしたのち、沈殿をことごとくろ過器中に移し、更に水で 7~8 回洗浄した。これを 220±5℃（通風下）で 30 分間乾燥したのち、シリカゲルデシケーター中で室温まで放冷し（1.5~2 時間）、リンモリブデン酸キノリニウム〔$(Ｃ_{9}Ｈ_{7}ＮＨ)_{3}ＰＯ_{4}・１２ＭｏＯ_{3}$〕として重さを正確に量った。

４．１．２　結果

表４．１．１に結果を示す。同一の区分で検体が複数存在するものについては、平均値を記載した。無暴露及び長期暴露の試料の結果の比較から、暴露の有無は特に下水汚泥焼成レンガ中のリン酸含有率に影響を与えないことが示唆された。また、得られた結果について、既存の汚泥焼却灰の分析結果[17]と比較すると、汚泥焼却灰よりも良好な結果を示しており、全ての試料について、化成肥料の規格[18]を満足していた。これより、汚泥焼却灰から焼成レンガを製造する過程では、焼却灰中のリン酸はほとんどそのままレンガ中に保持されていると思われる。また、既存の焼却灰の分析結果と比較して結果が良好であった理由としては、レンガの原料である焼却灰のリン酸含有率がそもそも高かったことが考えられ、焼却灰の種類によって値にかなりの差があることが示唆された。今後は、差を生じた原因について詳細に検討を行っていく必要がある。

表４．１．１　各試料の形態別リン酸含有率（平均値）（単位：%）

	全リン	ク溶性リン	水溶性リン
無暴露（横浜）	30	17	0.25
長期暴露（横浜）	28	13	0.23
無暴露（土研）	44	13	0.21
長期暴露（土研）	45	12	0.26
汚泥焼却灰（比較）	26	5.5	0.020

４．２　下水汚泥再生材の製造・流通実態調査

下水汚泥焼成レンガのリン資源としての利用可能性を評価するためには、４．１のような成分分析と併せ、現時点でどの程度の量がどのような形態で利用され、ストックとして存在するのか把握する必要がある。また、下水道からのリン回収を検討する上では、どの程度のリンが回収不可能な形で存在するかも把握する必要があることから、レンガ以外の建設資材等の用途についても、製造・流通実態の調査を行った。また、広く下水道からの資源回収の検討材料とする観点から、下水中有用金属に関する実態調査を行った。

４．２．１　製造（ストック）量

（１）方法

平成元年～平成 20 年度の下水道統計を用い、公共・流域下水道に分ける形で、各年度の下水汚泥からの各有効利用製品の製造量を調査し、これらの総和をとることで、各製品のストック量について整理した。下水道統計における有効利用製品の用途の区分は、発行年度により形式が異なるため、用途の区分については、最新年度である平成 18 年度版～平成 20 年度版の用途の区分である、肥料、土壌改良材、人工土壌、埋立覆土、土壌改良材、埋戻し材、コンクリート二次製品、セメント原料、骨材、路盤材、アスファルトフィラー、試験用、建設資材利用その他、燃料化等、レンガ、陶磁器原料、タイル、インターロッキングブロック、透水性ブロック、その他、の区分を採用した。そしてこの区分に他の年度の区分を当てはめることで、表４．２．１に示す通り分類を行った。ここでは、これらの製品の耐用年数は 20 年以上と仮定して試算を行った。また、別途、埋立処分量について、陸上・海面埋立に分ける形で、各年度の値を調査した。

表４．２．１　有効利用製品の用途の分類

用途	平成元年度版	平成2年度版	平成3年度版	平成4年度版	平成5年度版	平成6年度版	平成7年度版	平成8年度版	平成9年度版	平成10年度版	平成11年度版	平成12年度版	平成13年度版	平成14年度版	平成15年度版	平成16年度版	平成17年度版	平成18年度版	平成19年度版	平成20年度版
肥料	コンポスト パーク堆肥原料 肉起肥料 公園敷肥 場内樹木肥料 場内緑草肥料 植栽堆肥 堆肥 特殊肥料 肥料 肥料化 肥料配合用	コンポスト コンポスト原料 パーク堆肥原料 肉説肥料 樹木肥料 場内樹木肥料 場内緑草肥料 植栽堆肥 堆肥 特殊肥料 肥料 肥料化 肥料配合用	コンポスト コンポスト原料 パーク堆肥原料 肉説肥料 肥植肥料 造木樹木肥料 造木緑草肥料 堆肥 特殊肥料 肥料 肥料の原料 肥料化	コンポスト コンポスト化 コンポスト原料 パーク堆肥原料 肉説改良 肉説肥料 樹木肥料 場内樹木肥料 場内緑草肥料 堆肥 特殊肥料 肥料 肥料化 肥料の原料 肥料化	コンポスト 汚泥堆肥 山林肥料 場内樹木肥料 場内緑草肥料 植栽堆肥 堆肥 特殊肥料 肥料 肥料化	コンポスト 汚泥堆肥 山林肥料 場内樹木肥料 植栽堆肥 堆肥 特殊肥料 肥料 肥料化	樹木肥料 肥料	肥料	肥料	肥料	肥料	コンポスト原料 コンポスト混合 植栽堆肥 堆肥 肥料	コンポスト コンポスト原料 植栽堆肥 堆肥 肥料	コンポスト原料 ニンポスト混合 植栽堆肥 堆肥 肥料	コンポスト 試験堆肥 堆肥 肥料 肥料原料	コンポスト原料 堆肥 植生盛土堆肥 肥料 肥料原料 有機肥料	肥料	肥料	肥料	肥料	肥料
土壌改良材	土壌改良 土壌改良材	土壌改良 土壌改良材 土壌改良資材	改良土プラント 土壌改良 土壌改良材 土壌改良資材	土壌改良 土壌改良材	土壌改良 土壌改良材	土壌改良材	土壌改良材	土壌改良材	土壌改良材	土壌改良材	土壌改良材	土壌改良材	土壌改良材	土壌改良材	土壌改良材 土壌改良資材	土壌改良材 土壌地改良材	土壌改良材	土壌改良材	土壌改良材	土壌改良材
人工土壌								地化基盤材	緑化基盤材	緑化基盤材	緑化基盤材	緑化基盤材	緑化基盤材	緑化基盤材	緑化基盤材	緑化基盤材	緑化基盤材	人工土壌	人工土壌	人工土壌
埋立盛土	埋立地盛土	埋立地盛土	埋立地盛土 地地盛り	埋立地盛土	埋立地盛土		陸上埋立		埋立 埋め盛土十砂・財栄	埋立 埋め盛土十砂	埋立 盛土材 埋め盛土十砂	埋立 盛土材 埋め盛土十砂	埋立 盛土材 埋め盛土十砂	埋立 盛土材 埋め盛土十砂	埋立 盛土材 埋め盛土十砂	埋立 盛土材 埋め盛土十砂	埋立盛土 埋め立て盛土	埋立盛土 埋め立て盛土	埋立盛土 埋め立て盛土	埋立盛土 埋め立て盛土
土質改良材							土質改良材		土質改良材	土質改良材	土質改良材	土質改良材	土質改良材	土質改良材	土質改良材	土質改良材	土質改良材 消災用土質改良材	土質改良材	土質改良材	土質改良材
凍結抑制							凍結抑制材	凍結抑制材	凍結抑制材	凍結抑制材	凍結抑制材	凍結抑制材	凍結抑制材	凍結抑制材	凍結抑制材	凍結抑制材	凍結抑制材	凍結抑制材	凍結抑制材	凍結抑制材
コンクリート二次製品					二次製品	二次製品 コンクリート	コンクリート二次製品	コンクリート二次製品	コンクリート二次製品	コンクリート二次製品	コンクリート二次製品	コンクリート二次製品	コンクリート二次製品	コンクリート二次製品	コンクリート二次製品	コンクリート二次製品	コンクリート二次製品	コンクリート二次製品	コンクリート二次製品	コンクリート二次製品
セメント原料	セメント生成原料	セメント原料 セメント成生原料	セメント原料 セメント成生原料	セメント化実験 セメント原料 セメント抵抗化 セメント材料	セメント材料	セメント原料 セメント材	セメント原料	セメント原料	セメント原料	セメント原料	セメント原料	セメント原料 セメント材料	セメント原料	セメント原料 セメント剤原料	セメント原料 セメント材料	セメント原料 セメント材料	セメント原料 セメント材料	セメント原料	セメント原料	セメント原料
骨材	骨材	骨材					骨材	骨材	骨材	骨材	骨材	骨材	骨材	骨材	コンクリート骨材 骨材	アスファルト骨材 コンクリート骨材 骨材	アスファルト骨材 コンクリート骨材 骨材 再生骨材	コンクリート骨材 軽量骨材	骨材	骨材	骨材
路盤材	路盤材	路盤材	路盤材		一般用路盤材 下層路盤材	下層路盤材	路盤材	路盤材		路盤材	路盤材	路盤材	路盤材 路盤材	道路盛土材 路盤材 路盤材原料	再生路盤材 路盤材 路盤材原料	路盤材 路盤材		路盤材	路盤材	路盤材
アスファルトフィラー							アスファルトフィラー	ダムアルフトフィラー 実験所		アスファルトフィラー アスファルト混和	アスファルト混加 フィラー	アスファルト混加材 フィラー	アスファルト アスファルトフィラー アスファルト混合材	アスファルト アスファルトフィラー	アスファルトフィラー	アスファルトフィラー アスファルト骨材	アスファルトフィラー	アスファルトフィラー	アスファルトフィラー	アスファルトフィラー
試験用			国道研究	試作 土壌改良試験		試験用	研究 分子試料 研究用 試験研究材料 試験調査 実験用	研究試験 試験調査 試験用 実験	化学工業用原料実 試実験 研究試験 研究用 事業開発用	化学工業用原料実 試実験 研究用 試験調査 調査用	化学工業用原料実 試実験 分子資料 研究用 試験調査用 調査用	研究用 試験調査用	試験用薬品 調査用	研究分析生・香材 研究分土壌改良材 試験調香 試験調査用 試験分 見積もり試験用 仮設ボルト	研究試験 試験用 実験用 調査研究用 調査用 見積もり試験用	試験用	試験用	試験用	試験用	試験用
建設資材利用その他	建設資材	建設資材 建築資材	建設資材 建設資材他 建築資材	建設資材 建設資材他 建築資材	建設資材 建設資材他 建築資材	建設資材 建築資材	建築基礎材								建設資材 土木資材	建設資材 建設資材等 土木資材	建設資材 建設資材等 土木資材 土木改良等	建設資材	建設資材利用その他	建設資材利用その他	建設資材利用その他
脱酸化等			汚泥脱酸他	汚泥脱酸他	汚泥脱酸	汚泥脱酸 酸酸化	脱酸ガス	汚泥脱酸 脱酸ガス 脱酸の原料 脱酸化	脱酸ガス	脱酸	脱酸	脱酸化 補助脱酸	脱酸	加硬ペレット等脱酸 脱酸 脱硫用フィラーの他	固結化脱酸 脱酸脱酸	脱酸化等		脱酸化等	脱酸化等
レンガ			レンガ レンガ製造	レンガ レンガ製造	レンガ製造 焼成レンガ	レンガ 焼成レンガ	レンガ レンガ製造	レンガ	レンガ	レンガ	レンガ	レンガ	レンガ	レンガ	レンガ	レンガ	焼成レンガ	レンガ(焼成)		
陶磁器原料	陶管材料	陶管材料					陶磁器原料	陶磁器原料	陶磁器原料	陶磁器原料	陶磁器原料	陶磁器原料	陶磁器原料	陶磁器原料	陶磁器原料	陶磁器原料 焼水性陶管原料	陶磁器原料 焼水性陶管原料		陶磁器原料	陶磁器原料
タイル		タイルブロック		壁面タイル用			タイル	タイル	タイル	タイル	タイル	タイル	タイル	タイル	タイル タイル原料	タイル	タイル	タイル		
インター ロッキングブロック			インター ロッキング	インター ロッキング	インター ロッキング												インターロッキングブロック	インターロッキングブロック		
透水性ブロック			透水性ブロック	ブロック 透水性ブロック	ブロック 透水性ブロック	ブロック ブロック製品 集成ブロック 透水性ブロック	ブロック	ブロック	ブロック	ブロック	ブロック	ブロック	ブロック	ブロック	ブロック	ブロック ブロック(試験用)	ブロック	透水性ブロック	透水性ブロック	透水性ブロック	透水性ブロック
その他	でんぷん工場 公共緑地 場内緑地 場内緑地へ 緑地 整地用 造地盛元、コンポスト等に 緑地整元 緑地整用 緑農地 緑農地造元 緑農地利用	でんぷん工場 一部農地還元 公共緑地 場内緑地へ 場内緑地 場内緑地還元 緑地地 整地用 農地還元 農地利用 緑地還元 緑農地 緑農地還元 緑農地利用	でんぷん工場 一部農地還元 公共緑地他 公共緑地等 畜内外公有地 畜内緑地還元 緑地地 整地用 農地還元 農地利用 緑地還元 緑農地 緑農地還元 緑農地利用	でんぷん工場 だ場農地還元 公共緑地他 公共緑地等 場内外公有地 場内外公有地 場内処分 緑地地 整地用 造地用 農地還元 農地還元予定 緑農利用 緑地還元 緑農地 緑農地還元 緑農地利用	でんぷん工場 の跡地利用 公共緑地等 場内緑地 場内緑化 場内緑地 整地用 造地用 農地還元 農地緑地還元 緑農地利用 緑地還元 緑農地 緑農地還元 緑農地利用	でんぷん工場 その他 でんぷん工場跡地利 畜産用地 公共緑地等 場内緑地等 畜産園 場内農場用地 場内緑地 人工造土 整地用 農地還元 緑農地還元 緑農地 緑農地還元 緑農地利用	サンプル提供 その他 でんぷん工場跡地利 ドロマイト代用剤 畜産用地 化学工業用原料 造園造成工事 緑地還元	クリーンデュエット その他 ドロマイト代用剤 園芸用 園芸用地 化学工業用原料 造園工事 緑地還元	クリーンデュエット ドロマイト代用剤 園芸用 園芸用地 化学工業用原料 造園工事 緑地還元	その他 汚泥処理 汚染土 ドロマイト代用剤 園芸用地 化学工業用原料 造園工事 緑地還元	クリーンデュエット ワークス治試剤 その他 金属分離・回収 微生物担体 溶融 緑地還元	コークス冶試剤 その他 鉄鋼 製鉄用原燃料 炭 炭化 緑地還元	クリーンデュエット ワークス治試剤 その他 鉄鋼 製鉄原料 製鉄用保温材 製鉄用保温材 製鉄用保温材

（2）結果

まず、下水汚泥の有効利用量そのものについて見てみると、図４．２．１の通りほぼ一定の割合で増加しており、平成 20 年度と平成元年度を比較すると、4.3 倍になっている。また、近年は流域下水道の有効利用量の伸びが公共下水道と比較して大きいことも見て取れる。なお、有効利用量は、汚泥の含水率を用いて DS ベースで算出しているが、平成 17 年度については、含水率のデータの記載がなかったため、欠損する形で示してある。

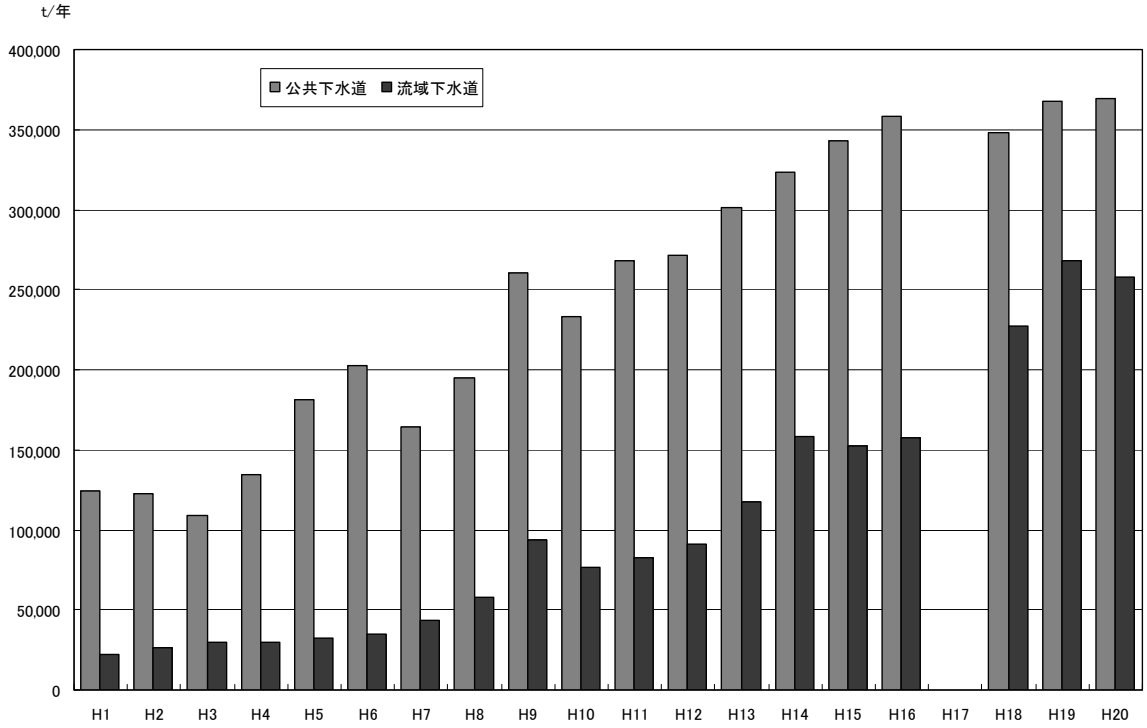


図４．２．１　事業別の汚泥有効利用量の経年変化

続いて、表４．２．１に示した各用途のうち、比較的製造量の大きかった肥料、セメント原料、土壌改良材、埋立覆土、埋戻し材、及び本業務で対象としているレンガについて、製造量の経年変化を図４．２．２～４．２．７に整理した。肥料については、H16 年度頃まで製造量は増加傾向を示していたが、近年停滞している。土壌改良材、埋戻し材、下水汚泥焼成レンガは平成９年度頃に製造のピークとなり、以降減少しているが、特に下水汚泥焼成レンガは減少傾向が顕著であり、現在では生産が行われていない。一方、セメント原料については、他の建設資材とは異なりほぼ一貫して増加傾向を示しており、建設資材利用の中心を担っていることが分かる。

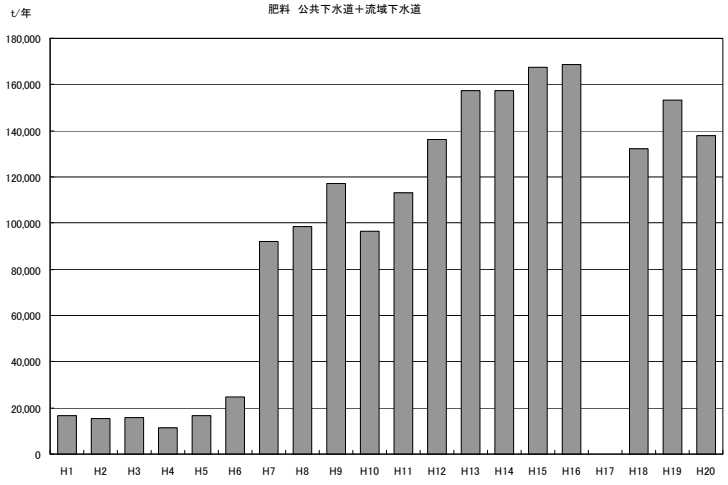


図４．２．２　肥料製造量の経年変化

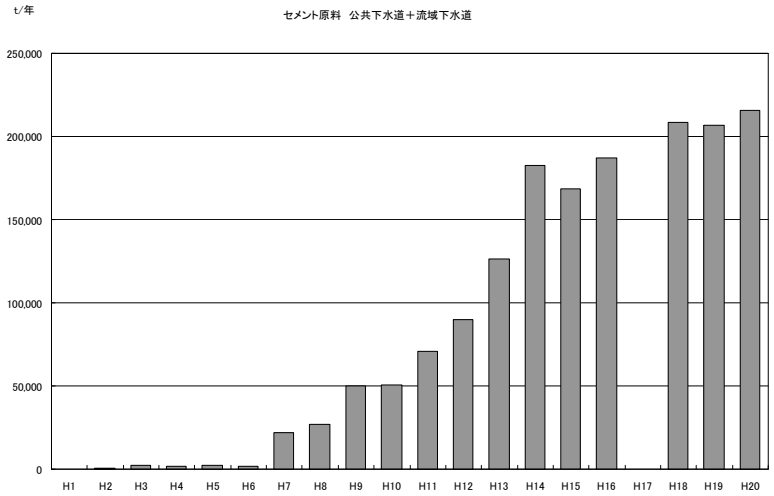


図４．２．３　セメント原料製造量の経年変化

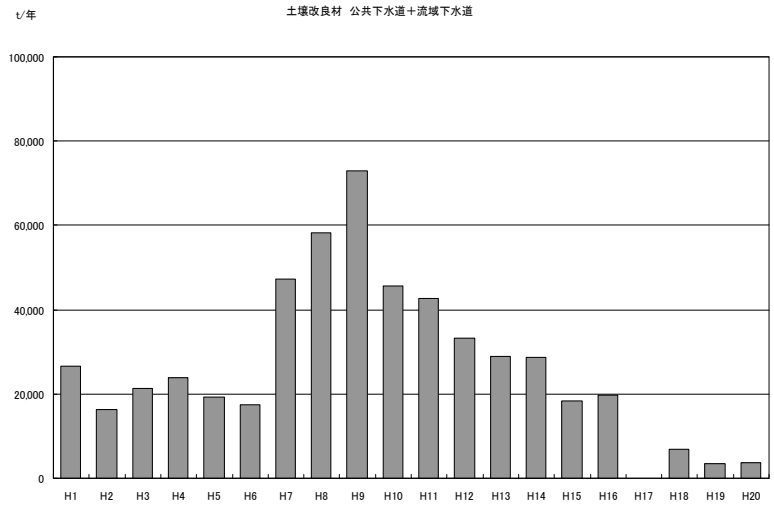


図４．２．４　土壌改良材製造量の経年変化

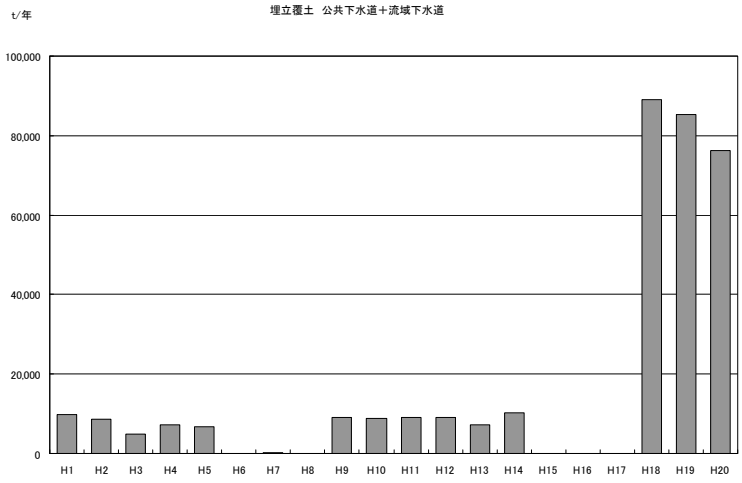


図４．２．５　埋立覆土製造量の経年変化

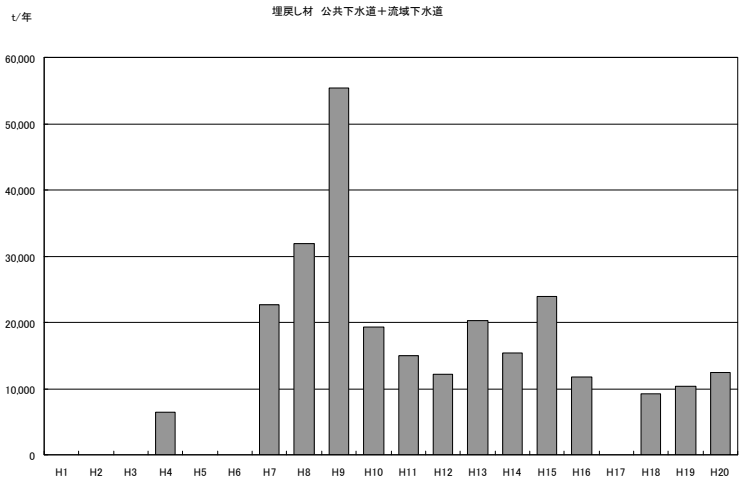


図４．２．６　埋戻し材製造量の経年変化

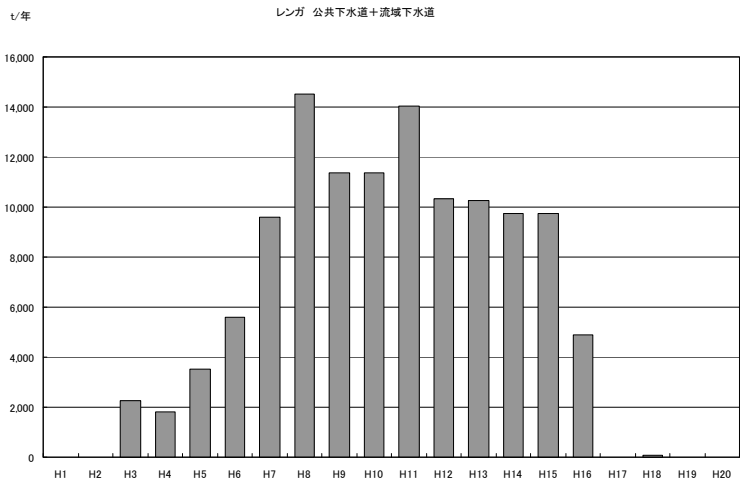


図４．２．７　下水汚泥焼成レンガ製造量の経年変化

また、各々の有効利用製品の製造量を平成元年度～平成 20 年度の 20 年分足し合わせ、ストック量を算出した。図４．２．８にストック量の構成を示す。大部分が肥料、或いはセメント原料であり、両者で全体の５割を占めている。土壌改良材、埋立覆土、埋戻し材についても、製造量は減少傾向にはあるが、ストック量で見ると 5%前後の割合を占めている。また、レンガについては 2%とやや値が小さくなっている。ちなみに、レンガの製造のピークであった平成 8 年度について、用途別有効利用割合を見てみると、図４．２．９のようになる。ここではレンガの製造割合は 6%とやや大きくなっており、土壌改良材、埋戻し材等の建築資材が大きな割合を占めていることが分かる。

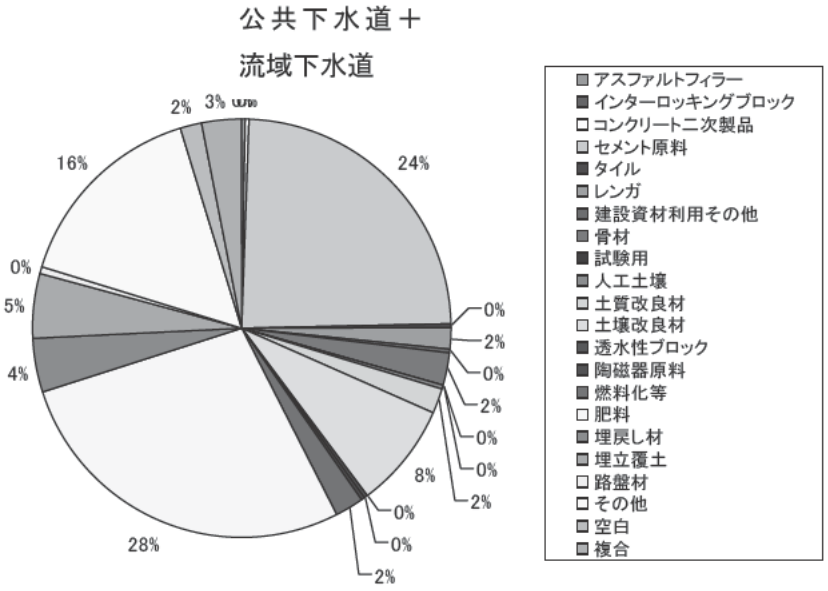


図４．２．８　有効利用製品ストック量の構成

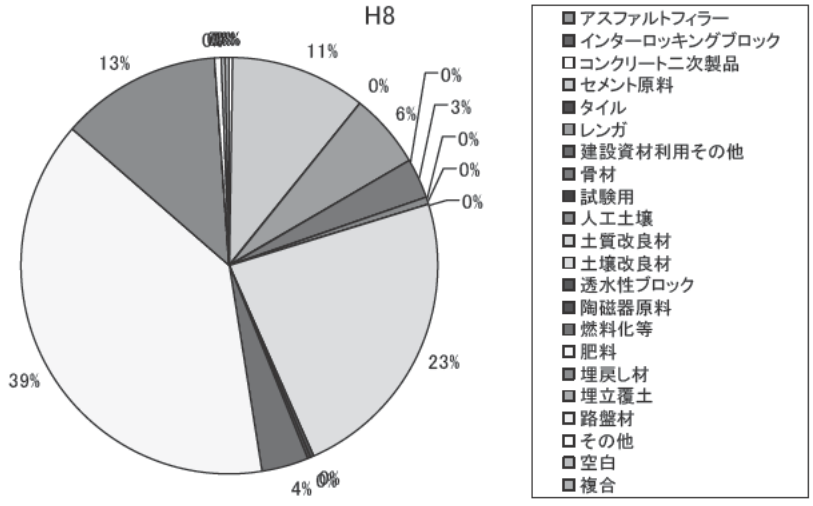


図４．２．９　下水汚泥の用途別有効利用割合（平成 8 年度：下水汚泥焼成レンガ製造ピーク時）（公共下水道＋流域下水道）

続いて、図４．２．１０に陸上・海面別埋立量の経年変化を示した。近年下水汚泥のリサイクル率が向上するのに伴い、埋立量は減少している。図より、特に陸上埋立の減少量が大きいことが分かる。

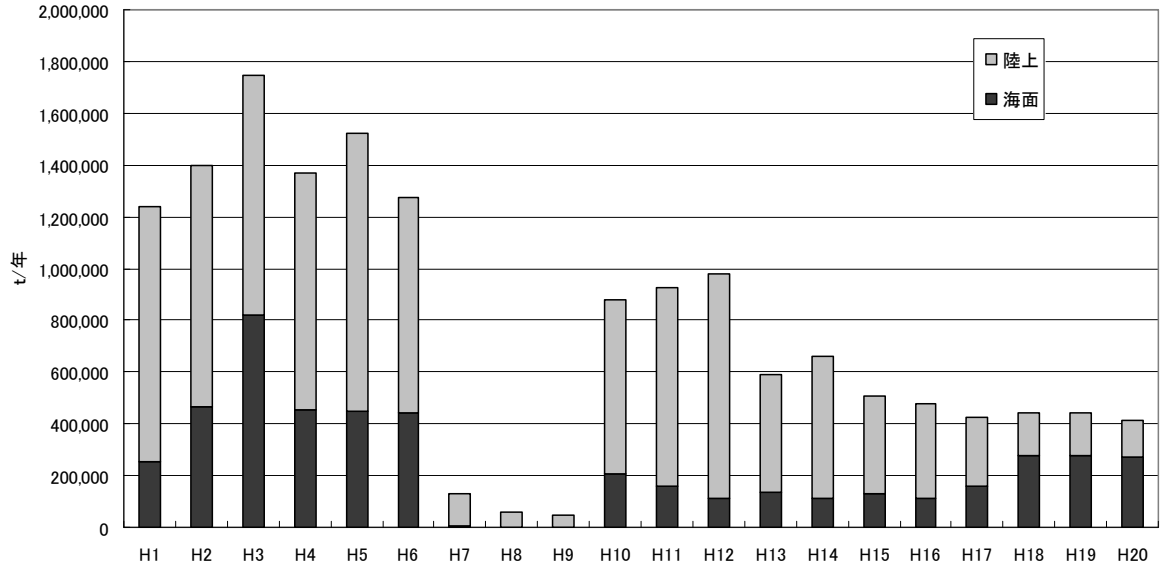


図４．２．１０　陸上・海面別埋立量の経年変化

４．２．２　流通実態

（１）方法

「下水汚泥リサイクル資材一覧」[19]を基に、表４．２．１に示した下水汚泥有効利用製品のうち、特に建設資材の流通先について、その流通経路（公共事業、民間向けなど）、及び流通経路別利用割合を整理した。

（２）結果

まず、製造元が公共の場合、流通先は公共が 80%と最も多く、続いて民間、協会の順に多かった。また、用途としては、図４．２．１１に示すように、土質改良材が最も多く、続いてレンガ、燃料化等の順に多かった。

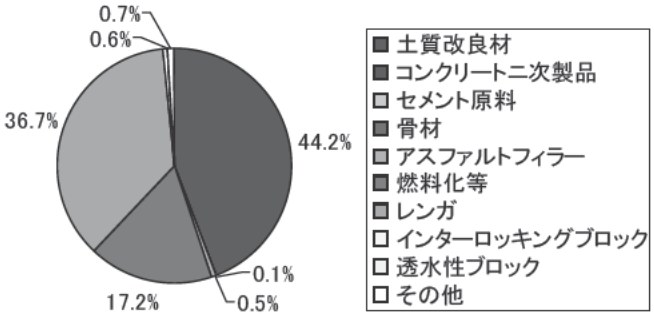


図４．２．１１　製造元が公共の場合の下水汚泥有効利用製品の用途

製造元が民間の場合、流通先は不明のものがほぼ 100%を占めていた。用途としては、図４．２．１２に示すように、セメント原料がほぼ全てを占めていた。

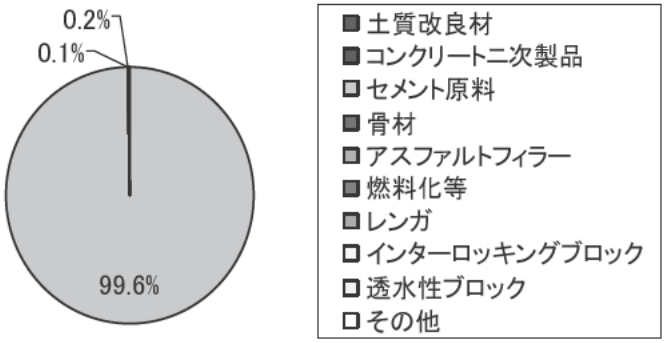


図４．２．１２　製造元が民間の場合の下水汚泥有効利用製品の用途

また、公共・民間をまとめると図４．２．１３のようになり、民間によるセメント原料生産が大部分を占めていることが分かる。レンガは 2.4%程度であり、建設資材の中で見ても割合として大きくはない。

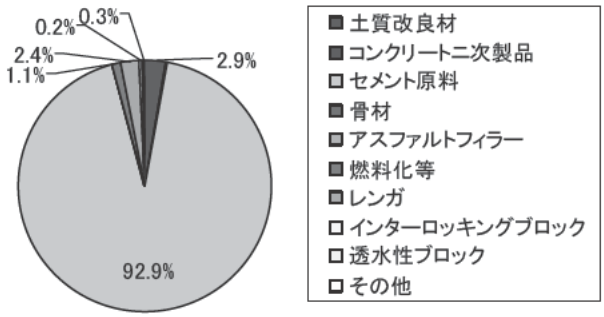


図４．２．１３　下水汚泥有効利用製品の用途

レンガの流通経路に限定して見てみると、図４．２．１４のようになり、ほとんど全てについて製造元が公共であり、流通先も公共となっている。過去2、3年の具体的な流通先及び流通量は表４．２．２の通りであり、国内製品としては岐阜市のハイカラレンガ、京都市のエコ・京レンガ、大阪府狭山市のアシュレンが存在する。岐阜市は全量を公共用に利用しており、生産量全体の約 9 割を占めている。京都市は一部を大阪ガス向けに販売しているが、残りは全量公共用であり、大阪府狭山市は一部を公共用に利用しているほか、希望者に対して広く販売も行っている。

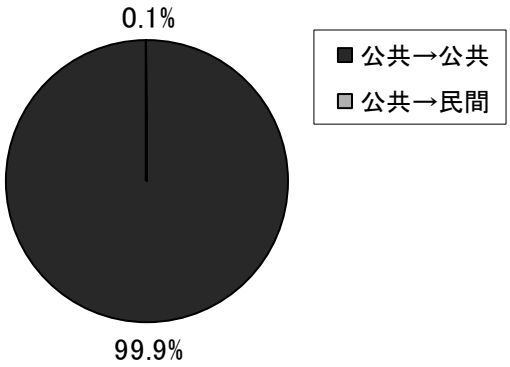


図４．２．１４　下水汚泥焼成レンガの流通経路

表４．２．２　下水汚泥焼成レンガの製造元及び流通先

年度	製造元	流通先	製品名称	数量	単位
H18	岐阜市	岐阜市	ハイカラレンガ	72,400	個
H18	岐阜市	岐阜市	ハイカラレンガ	112,000	個
H18	岐阜市	岐阜市	ハイカラレンガ	2,130	個
H18	岐阜市	岐阜市	ハイカラレンガ	110,000	個
H17	岐阜市	岐阜市	ハイカラレンガ	56,100	個
H19	岐阜市	岐阜市	ハイカラレンガ	44	個
H19	岐阜市	岐阜市	ハイカラレンガ	22	個
H19	岐阜市	岐阜市	ハイカラレンガ	44	個
H19	岐阜市	岐阜市	ハイカラレンガ	7	個
H18	岐阜市	岐阜市	ハイカラレンガ	87	個
H18	京都市	京都府（流域下水道事務所）流域下水道事務所	エコ・京レンガ	29,878	個
H18	京都市	大阪ガス	エコ・京レンガ	401	個
H18	京都市	京都市	エコ・京レンガ	1,015	個
H18	京都市	亀岡市	エコ・京レンガ	442	個
H18	京都市	京都市	エコ・京レンガ	2,266	個
H19	大阪府狭山市	狭山市及び不特定多数	アシュレン	6,000	個

４．２．３　下水中有用金属の存在実態

（１）方法

独立行政法人石油天然ガス・金属鉱物資源機構（JOGMEC）が公表している「鉱物資源マテリアルフロー」を元に、希少金属（レアメタル）の輸入量及び各用途（各産業）での使用量を、金属種別に整理した。また、別途、環境省が公設している「PRTR データの概要」を調査することで、過去 5 年間の各産業由来の PRTR 対象物質の下水への流入量を整理した。最終的に、両者の結果を統合することで、各希少金属に関するマテリアルフローを作成し、輸入量のうち、何%が下水中に流入しているかを把握した。

（２）結果

PRTR において指定されているレアメタルは、ベリリウム、ボロン（ホウ素）、バナジウム、クロム、マンガン、コバルト、ニッケル、セレン、モリブデン、インジウム、アンチモン、テルル、バリウム、タリウムの 14 種であった。但し、インジウム、テルル、タリウムは PRTR では第 2 種指定であり、「PRTR データの概要」には記載が無いことから、本調査の対象外とした。

以上 11 元素の下水道への流入量を整理すると、図４．２．１５のようになった。総流入量が減少傾向にあるのは、金属類のリサイクル率が上昇傾向にあるためと考えられる。元素別に見ると、ほう素及びその化合物、ニッケル化合物、バリウム及びその水溶性化合物の順に流入量が多くなっている。

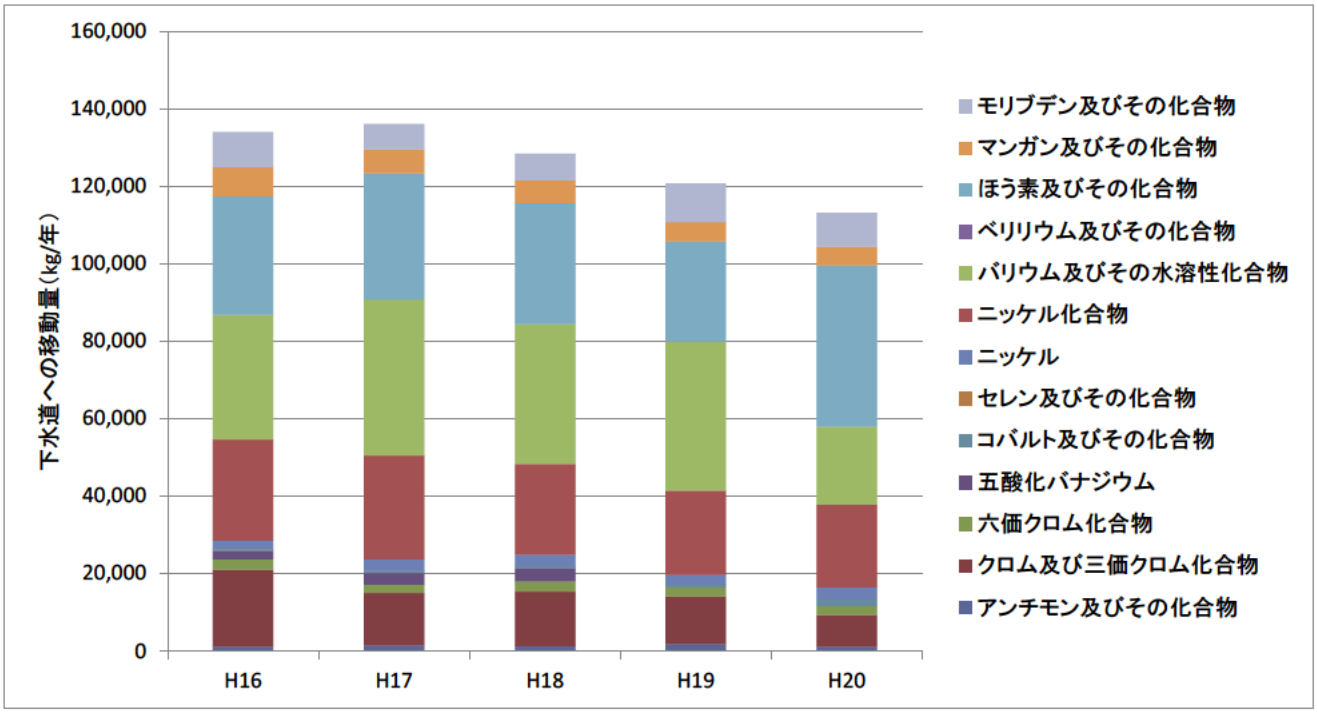


図４．２．１５　下水道への各金属の流入量

続いて、下水道への金属流入量を産業別に整理した結果を図４．２．１６に示す。産業別に見ると、化学工業からの排出が突出しており、次いで金属製品製造業、繊維工業、電気機械器具製造業からの排出が多くなっている。

また、図４．２．１５より、各元素の輸入量に占める下水への流入量の割合を整理した。各元素の化合物の具体的な形態が不明であるため、化合物重量に関する詳細な議論は難しいが、クロム、ニッケルの値が大きく、それぞれ2.59%、1.18%であった。その他の元素については、0.5%～0.005%であり、元素によって値に幅があった。

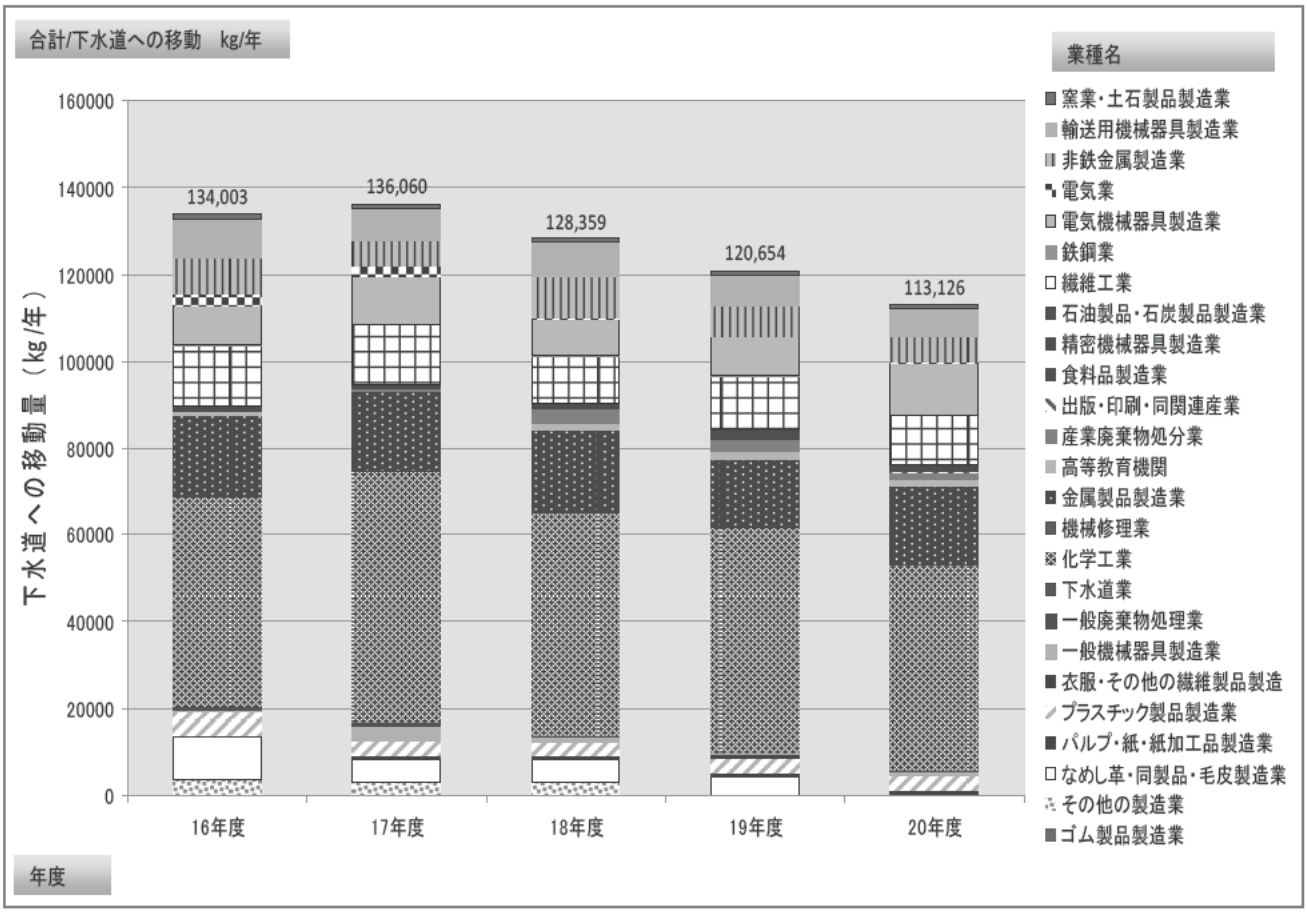


図４．２．１６　下水道への金属流入量（業種別）

４．３　リン資源としての利用可能性評価

表４．１．１の分析結果及びレンガのストック量（67,150t-DS）より、表４．３．１のようにレンガ中の形態別リン資源のストック量を整理した。これより、全リンで、18,000~30,000t-DS 程度のストック量があることが分かる。ちなみに、リン鉱石の年間輸入量は、2009 年時点で 479,139t であり、リン鉱石中のリン酸含有率が 38%であることを考えると、リン酸としての年間輸入量は、182,073t となる。従って、レンガ中のリン資源のストック量は、年間輸入量の約 10~16%となる。図４．２．８に示した通り、下水汚泥有効利用製品の大半は、肥料或いはセメント原料であるが、肥料は有機質肥料であるためリン含有量は少なく、セメンと原料についても、リン含有量が大きい可能性はあるが、回収不可能であるため、実質的にリン資源のストックとしては意味を為さない。従って、輸入量に占める割合から見ても、レンガはリン資源のストックとして有望であると言える。

実際にリン資源として利用することを想定した場合、現在使用しているものを回収することになるが、図４．３．４に示すように公共用に使用されているものが多く、使用先を特定しやすいこともメリットの一つである。回収したレンガは、表４．１．１の分析結果を見る限り、特に加工することもなく、そのまま優秀なリン肥料として利用可能であることが示唆されるが、今後は簡易な栽培試験等により、肥効性を検討していくことも必要と思われる。

表４．３．１　レンガ中の形態別リン資源ストック量（単位：t-DS）

	全リン	ク溶性リン	水溶性リン
無暴露（横浜）	20,145	11,416	168
長期暴露（横浜）	18,802	8,730	154
無暴露（土研）	29,546	8,730	141
長期暴露（土研）	30,218	8,058	175

５．まとめ

下水汚泥再生材の一種である下水汚泥焼成レンガについて、長期的にリン資源のストックとして利用することを想定し、リン資源としての利用可能性評価を行うことを目的に、それに必要となる長期的な安全性評価や成分分析、製造量（ストック量）・流通実態の把握を行った。本検討の結果、以下の事項が明らかとなった。

A. 下水汚泥再生材の長期暴露時の安全性について

(1) 長期暴露中の下水汚泥溶融スラグを粗骨材として用いたコンクリートについて、物理特性の変化を調査したところ、暖地・寒地で暴露した供試体は超音波伝達速度が低下しており、超音波伝達速度の観点からは品質が良から不良へと変化していた。

(2) 長期暴露中の下水汚泥焼成レンガについて、環告 46 号・19 号試験を適用したところ、特に環告 46 号試験について、長期暴露に伴い溶出量が増加する元素が見られたが、全て土壌環境基準は満足していた。また、廃棄物学会で規格化が検討されている最大溶出可能量試験を適用したところ、提唱されている基準（案）を上回っている元素も見られ同試験はかなり安全側の試験であり、厳しい結果が得られることが分かった。

B．下水汚泥再生材のリン資源としての利用可能性について

(3) 下水汚泥焼成レンガ中の全リン、ク溶性リン、水溶性リン含有率の分析を実施したところ、全リンで 28~45%、ク溶性リンで 12~17%の含有率であり、いずれも化成肥料の規格を満足していた。

(4) 下水汚泥有効利用製品の過去 20 年のストック量について整理したところ、肥料・セメンと原料の両者で全体の 5 割を占めており、下水汚泥焼成レンガは全体の 2%程度に相当する 67,150t-DS のストック量であった。

(5) 下水汚泥再生材（建設資材のみ対象）の流通実態について調査したところ、民間によるセメント原料生産が大半を占めており、下水汚泥焼成レンガについては、公共による生産・公共による利用がほぼ 100%を占めていた。

(6) 以上の結果より、下水汚泥焼成レンガ中のリン酸のストック量を推定すると、年間のリン酸輸入量の 10~16%程度を占めていた。他の下水汚泥再生材からのリン酸回収が比較的困難であること、下水汚泥焼成レンガは流通先の特定が容易であること等も考慮すると、リン資源としての利用可能性は非常に大きいと言える。

参考資料

1) 財務省貿易統計　http://www.customs.go.jp/toukei/info/index.htm
2) 佐藤和明：わが国の食料生産、貿易量の窒素・リン収支と下水道の関係、再生と利用、vol.33、No.122、pp.82-88、2009.
3) 宮本豊尚、岡本誠一郎、落修一：安定的リン資源確保のための下水道における資源化モデル
4) 平成 3 年環境庁告示第 46 号「土壌の汚染に係る環境基準について」付表
5) JIS K 0058「スラグ類の化学物質試験方法」
6) 平成 15 年環境省告示第 19 号「土壌含有量調査に係る測定方法を定める件」別表
7) 日本下水道協会 HP　http://www.jswa.jp/05_arekore/data-room/05/riyou/data.html
8) 国土交通省　資源のみちの実現に向けて報告書　平成 19 年 3 月
9) 廃棄物資源循環学会規格（原案）　再生製品等に含まれる無機物質を対象とする酸性及びアルカリ性環境における最大溶出可能量試験方法
10) 廃棄物資源循環学会規格（原案）　再生製品等に含まれる無機物質を対象とする連続調整方式による pH 依存性試験方法
11) 廃棄物資源循環学会規格（原案）　再生製品等に含まれる無機物質を対象とする試薬初期添加方式による pH 依存性試験方法
12) 廃棄物資源循環学会規格（原案）　再生製品等に含まれる無機物質を対象とする上向流カラム通水試験方法
13) 廃棄物資源循環学会規格（原案）　再生製品等に含まれる無機物質を対象とするシリアルバッチ試験方法
14) 廃棄物資源循環学会　JSMCWM-0101　環境最大溶出可能量試験解説（案）
15) 岡本誠一郎、宮本豊尚、山下洋正：再生材の特性を活かした利用技術の開発に関する研究、土木研究所資料平成 20 年度下水道関係調査研究年次報告書集、pp68-70、2008.
16) 社団法人日本コンクリート工学協会：コンクリートハンドブック、pp525.
17) 岡本誠一郎、宮本豊尚、山下洋正：下水中の栄養塩を活用した資源回収・生産システムに関する研究、土木研究所資料平成 21 年度下水道関係調査研究年次報告書集（掲載予定）
18) 農林水産省：肥料取締法に基づき普通肥料の公定規格を定める等の件、http://www.famic.go.jp/ffis/fert/kokuji/60k0284.htm.
19) 社団法人日本下水道協会　下水汚泥資源利用協議会：下水汚泥リサイクル資材一覧、平成 19,20 年度

流域規模での水・物質循環管理支援モデルに関する研究

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：リサイクルチーム
研究担当者：尾崎正明、岡本誠一郎、山下洋正、
岸田秀、新井小百合

〖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及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、河川水及び都市排水の調査を行った。更に詳細な溶解性鉄(D-Fe)及び溶解性ケイ素(D-Si)の化学種分析法の検討を行うため前処理方法の検討を行った。また、生物による必須元素の実際の消費特性を把握するため、藻類培養試験を行い、窒素、リン、鉄、ケイ素の消費状況を確認するとともに、各元素の消費速度を把握した。

その結果、河川、湖沼、下水処理場のD-Fe及びD-Si共に季節変動の明確な傾向は見られなかった。濃度が高い処理場を除き下水処理水中のD-Fe濃度は、放流水中濃度は河川中濃度の半分以下であることが多かったが、放流水中のD-Si濃度は河川水中濃度と同レベルであった。調査結果をレッドフィールド比で検討すると、河川・湖沼水中では、窒素・リンと比較してD-Feは相対的に不足する可能性は低いが、D-SiはD-Nと比較して相対的に不足する傾向があった。しかし、霞ヶ浦に生息する淡水藻類を対象とした藻類試験による各元素の消費率から推定すると、2006～2007年の調査結果からレッドフィールド比に対してD-Fe、D-Si濃度が下回った全ての河川水で、溶解性リン(D-P)が最も不足傾向になりやすいと推定され、D-Fe及びD-Siの相対的不足が発生する可能性も低いと考えられた。

キーワード：溶解性鉄(D-Fe)、溶解性ケイ素(D-Si)、河川、都市排水、藻類

1. はじめに

近年、流域での開発により溶解性鉄D-Fe（フミン鉄）や溶解性ケイ素 D-Si（シリカ）等の必須元素の河川への供給が減少し、河川や海の生態系に影響を及ぼすとの報告[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D-Fe及びD-Siの挙動を把握するため、D-Fe及びD-Si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、河川水を用いた生物影響試験を行った。

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

2. 研究方法

2. 1 都市河川流域におけるD-Fe及びD-Siの存在実態

(1)調査対象物質と分析方法

調査対象物質は、D-Fe及びD-Si（イオン状シリカ）とした。また、D-N及びD-Pについても同時に調査した。

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

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

必須元素が藻類等に利用される際の比率（レッドフィールド比）は、モル比でC:N:P:Si:Fe=106:16:1:16～50:10^{-3}～10^{-4}程度とされており、必須元素の存在比率の変動は生物バランスに影響を与える。従って、D-FeやD-Siについて

論じる際には、絶対濃度のみならず窒素やリンとの存在比率についても把握する必要がある。

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

(2)調査対象流域

河川水及び都市排水の調査対象は、以下の通りである。

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

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

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

2. 2 化学種分析法の開発

水試料中の D-Fe 及び D-Si 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(D-Fe)

D-Fe について、平成 20 年度は、GPC（ゲル浸透クロマトグラフィー）による分画を行い、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）により測定する分析方法を開発した。

本方法の利点としては、前処理がろ過のみであり鉄の存在形態に及ぼす影響が少ないこと、連続的なクロマトデータが得られて詳細な分子量分布が把握できること等が挙げられた。一方、課題としては、RI（示差屈折率）や UV（紫外線吸光度）のピークと DOC 濃度（フミン物質等の有機物の指標），Fe 濃度が対応しないことが多く，ピーク位置の物質の性状が不明であったこと、また、GPC 分画後に ICP-MS による Fe 測定（ICP-MS）を行うためには，10 回程度分取を行う必要があり，時間・労力がかかったこと等が挙げられた。

これらの課題への対応方策として、平成 21 度は、フミン物質の化学的特性（疎水性酸）を利用したイオン交換樹脂による分画と、フミン物質の物理的特性（分子量サイズ）を利用したメンブレンフィルターによる分画について検討した。

具体的には、フミン標準物質（Aldrich 社製）について、非イオン性樹脂を用いた分画を行い、疎水性・親水性、酸性・塩基性の化学的特性に応じて分離した。また、メンブレンフィルターを用いた分画を行い、分子量に応じて分離した。

分画した試料は、紫外線吸光度（UV）および溶解性有機炭素濃度（DOC）を測定するとともに、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。

1） 非イオン性樹脂による分画

非イオン性樹脂（DAX-8，Supelco 社製）を用いて溶解性有機物の分画を行った。DAX-8 はアクリル系でマクロ構造を有する樹脂であり、予備洗浄を行って使用した。

(a) 洗浄

洗浄方法として、約 20mL の樹脂を 100mL の PP 製容器に移し、0.1M NaOH に一晩浸漬した。この操作を連続 5 日間行った。その後、さらに、超純水、0.1M HCl、超純水、メタノール、アセトニトリル、メタノール、超純水の順に各 50mL×2 回の浸漬洗浄を行った。

(b) 分画

このように洗浄した非イオン性樹脂を用いて図 2.2-1 に示す手順で分析を行った。

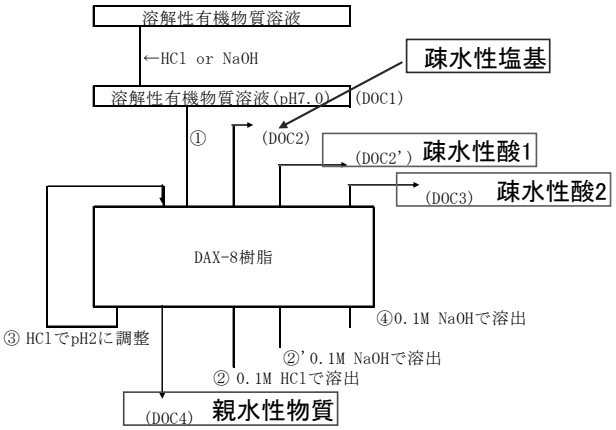


図 2.2-1 非イオン性樹脂による溶解性有機物の分画

①あらかじめ pH7 に調整した溶解性有機物質溶液(DOC1)を通液した。通液後の樹脂に対し、②0.1M HCl で溶出して分取（DOC2：疎水性塩基）、②’0.1M NaOH で溶出して分取した(DOC2'：疎水性酸 1)。③樹脂通過液（①）を HCl で pH2 に調整してから、再び樹脂に通

液して通過液を分取した(DOC4：親水性物質)。④通液後の樹脂に対して、0.1M NaOH で溶出して溶出液を分取した(DOC3：疎水性酸2)。

本方法は、文献例を参考に一部改変したものである。使用する樹脂を XAD-7 から DAX-8 に変更し（製造中止のため)、操作手順に②’を追加している（疎水性酸を 2 種類に区別するため)。

2) メンブレンフィルターによる分画

分画分子量(MWCO)100,000 のメンブレンフィルター（Vivaspin 20，Sartorius 社製）を用いて，溶解性有機物の分画を行った。メンブレンフィルターは予備洗浄を行って使用した。

(a) 洗浄

メンブレンフィルターに希硝酸溶液 20mL を通水し，さらにミリ Q 水 (超純水) 20mL を通水して洗浄した。

(b) 分画

溶解性有機物質溶液 20mL をメンブレンフィルターに通水し，通過液を分取した。

3) ICP-MS による測定

分取した試料について,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(D-Si)

D-Si について、平成 20 年度は、非シリカベースのイオン交換樹脂カラムを用いた固相抽出によるシリカイオンの分離濃縮の前処理と FAB-MS（高速原子衝突質量分析）を組み合わせた、D-Si 分析方法を開発した。

本方法の利点としては、前処理でシリカイオン（溶解性無機ケイ素の主体）の濃度を高めるとともに、妨害イオン（他の陽イオン・陰イオン）を低減できることが挙げられた。

一方、課題としては、FAB-MS 測定において、イオン交換樹脂からの溶出に用いる NaOH 由来のピークが、シリカイオンのピーク出現位置にかぶるため妨害となることが挙げられた。また、イオン交換樹脂の交換容量の制約により、溶出液のシリカイオン濃度に上限があり、FAB-MS 測定に適したシリカイオン濃度まで濃縮できない場合があること、シリカイオン／NaOH 濃度比を高くできないこと等が挙げられた。

これらの課題への対応方策として、今年度は、イオン交換樹脂によるシリカイオンの分離濃縮後に、さらにエバポレーターで蒸発濃縮して、シリカイオン濃度を高める方法を検討することとした。しかしこの場合、蒸発濃縮により NaOH 濃度も同様に高まってしまうことから、イオン交換樹脂からの溶出に用いる NaOH 溶液濃度を低くして、シリカイオン／NaOH 濃度比を高める方法についても検討した。具体的には、D-Si 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行った。詳細な分析手順は次の通りである。

1) イオン交換樹脂による精製・濃縮

イオン交換樹脂（MC-1，MA-1，MA-2，GL サイエンス製）を用いて溶解性有機物の分画を行った。イオン交換樹脂は予備洗浄を行って使用した。

(a) 洗浄

イオン交換樹脂カラムは，メタノール 10mL×2 回，0.1molHCl（陽イオンカラムの場合）または 0.1molNaOH（陰イオンカラムの場合）10mL の順番で洗浄し，超純水で置換した。非シリカベースの樹脂であるため、樹脂由来の D-Si の溶出は問題とならなかった。

(b) 精製・濃縮

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）でろ過した試料を次の通り 3 種類のカラムで処理し、D-Si の精製・濃縮を行った。

実際の濃縮倍率は約 40 倍であったが、低濃度の試料の場合は通液量を増やすことで濃縮倍率を高くすることが原理的には可能であった。イオン交換樹脂の単位体積あたりで吸着可能な最大のイオン量（飽和量）は決まっており、保持されたイオンを効果的に溶出するためには樹脂体積の 2 倍程度の溶出液量が必要であることから、溶出液の D-Si 濃度には上限が存在した。

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

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

（ⅲ）強陰イオン交換樹脂カラム (MA-1) に通過させ､D-Si をカラムに吸着させ､水酸化ナトリウム(NaOH)水溶液で溶出した。溶出に用いる NaOH 溶液の濃度（通常は 1M）を変化させて最適な条件を検討した。

2) ロータリーエバポレーターによる蒸発濃縮

イオン交換樹脂からの溶出液約 4mL をロータリーエバポレーターにて蒸発濃縮させ, 約 1mL の濃縮液を得た(濃縮倍率 4 倍程度)。濃縮しない試料も別途作成して、比較を行った。

3) FAB-MS による質量分析

精製・濃縮した D-Si 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。

4) 検討条件

精製・濃縮に影響を及ぼす制御因子について検討するために、表 2.2-1 に示した通り、精製・濃縮方法については 2 水準（イオン交換樹脂による分離濃縮、同左＋エバポレーター蒸発濃縮）、イオン交換樹脂に保持した D-Si の溶出に用いる NaOH 溶液濃度については 3 水準（低濃度：0.1M、中濃度：0.25M、高濃度：1M）を設定し、操作ブランク（バックグラウンド）との比較のために Si 濃度も 2 水準（0mg/L：超純水、15mg/L：標準試料）を設定して、合計 3 因子について実験を行った。これらの条件を，表 2.2-2 に示す通り実験に割り付けて検討した。

表 2.2-1 D-Si の精製・濃縮の制御因子

No.	因子	A	B
1	精製・濃縮方法	イオン交換樹脂のみ	イオン交換樹脂→ロータリーエバポレーター濃縮
2	イオン交換溶出のNaOH濃度	0.1M	0.25M
3	Si濃度	0 mg/L	15 mg/L

表 2.2-2 D-Si の精製・濃縮の制御因子

	因子		
	濃縮精製方法	NaOH濃度	Si濃度
Run No.	1	2	3
1	A	A	A
2	A	A	B
3	A	B	A
4	A	B	B
5	A	C	A
6	A	C	B
7	B	A	A
8	B	A	B
9	B	B	A
10	B	B	B
11	B	C	A
12	B	C	B
13	G + 0.1M NaOH blank		
14	G + 0.25M NaOH blank		
15	G + 1M NaOH blank		
16	G blank		

G: グリセリン，blank：ブランク試料，
測定溶液／グリセリン体積比=1/5

(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 D-Fe 及び全鉄（T-Fe）を測定し、ICP-AES（誘導結合プラズマ発光分光分析）により 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 必須元素の生物利用特性の検討

D-Fe・D-Si の化学種の違いを考慮した河川への影響について把握するため、河川中の生態系の底辺となる藻類が、河川中の D-Fe・D-Si へ及ぼす影響について検討するため、河川水を用いた藻類増殖実験を行った。

(1)対象河川の選定

実験に用いた河川水は、平成 18 年度及び平成 19 年度の流域調査において、茨城県霞ヶ浦流域で D-Si が多く検出された小美玉市の園部川・園部大橋（図 2.3-1）において採取した。採取日は平成 23 年 1 月 6 日に行った。河川水採取時、水温、pH、DO を測定した。表 2.3-1 に結果を示す。

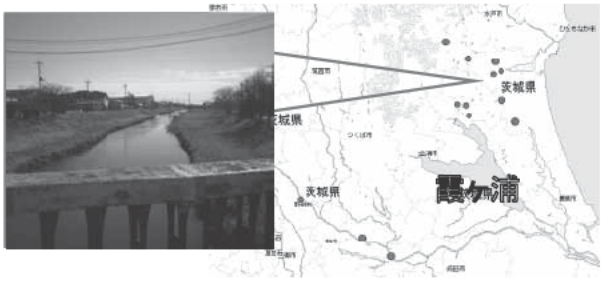


図 2.3-1 園部川・園部大橋位置図

表 2.3-1 河川水測定結果

天候	晴れ	pH	5.64	電導度	23.9ms/m
気温	8.6℃	DO	10.8mg/L	濁度	49.5
水温	12.0℃	ORP	201	流量	2.21m3/s

(2)対象藻類の選定

今回の実験で用いた淡水藻類を表 2.3-2 に示す。今回使用した藻類は鉄を多量に吸着する藍藻類及び糸状藍藻類[6]と、シリカを多量に要求する珪藻類[7]であり、近年霞ヶ浦流域に存在する藻類として、それぞれ 1 種類ずつ選定し、独立行政法人国立環境研究所微生物系統保存施設より分譲された藻類を AGP 試験方法等[8]を参考に数ヶ月培養し、増殖させたものを実験に用いた。

表 2.3-2 実験に用いた淡水藻類

種類	藻類の種類
N-44	Microcystis aeruginosa (Kutzing) Lemmermann（藍藻類：ミクロキスティス）
N-803	Cyclotella meneghiniana Kutzing（珪藻類：キクロティア）
N-204	Planktothrix agardhii (Gomont) Anagnostidis et Komárek（糸状藍藻類：プランクトスリクス）

(3) 実験方法

採取した河川水は速やかに前処理操作をおこなった。前処理方法は、オートクレーブを用いて 121℃、15 分間の高圧蒸気滅菌を行い、放冷後、pH を測定し、pH が変動しているときは、河川水の測定値に 1mol/L 塩酸・1mol/L 水酸化ナトリウムを用いて調整した。その後、それぞれ鉄及びシリカを表 2.3-3 に示す濃度となる様に、試薬を用いて添加して試験水とした。

表 2.3-3　添加物質と添加量

	添加濃度(mg/l)	試薬
鉄	2.7	塩化鉄(Ⅲ)6水和物
シリカ	14.0	メタけい酸ナトリウム9水和物

pH 調整が終わった河川水を 1 L の三角フラスコに分取、3 種類の藻類を添加して、実験試料水とした。実験の条件は、表 2.3-4 に示すとおりであり、各条件を 0 日目、10 日目、20 日目の 3 つずつ作成した。試験期間は 20 日間とし、0 日目、10 日目、20 日目の 3 回試料を分取して、分析を行った。期間中毎日目視による藻類の色と群の状況、繁茂状況等の確認を行った。実験条件（室温 20 度、照度 4500luX、明暗サイクル 12L-12D）とした。藻類添加濃度は、 1 L 当り 200 万個となる様に添加した。

表 2.3-4　実験条件詳細

No.	添加藻類	添加物質濃度
1	藍藻類(N－44)	鉄(2.7mg/l)
2	藍藻類(N－44)	無し
3	糸状藍藻類(N－204)	鉄(2.7mg/l)
4	糸状藍藻類(N－204)	無し
5	珪藻類 (N－803)	鉄(2.7mg/l)
6	珪藻類 (N－803)	シリカ(14.0mg/l)
7	珪藻類 (N－803)	無し

3．結果及び考察

3. 1　都市河川流域における D-Fe・D-Si の存在実態

(1) D-Fe・D-Si の存在状況

下水処理場の放流水中の D-Fe の濃度は、年間平均値として、鶴見川流域の 5 処理場で 18～66μg/L であり、1 ヶ所の処理場のみ他処理場の 3 倍程度の濃度であった。多摩川流域の 8 処理場では 20～32μg/L であった。年間の変動係数(各季節 1 回で計 4 回測定)はそれぞれ 3.7～15%、8～21%であり、季節変動の明確な傾向は見られなかった。1 年間の調査結果より、季節ごとの河川水中の D-Fe の濃度について図 3.1-1 に示す（河川については各 3 ヶ月の平均濃度)。また、鶴見川および多摩川の調査地点を図 3.1-2 に示し，D-Fe の年間濃度変化を図 3.1-3 に、河川水中の D-Fe 濃度と D-N・D-P 濃度との比率を図 3.1-4 に示した。

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

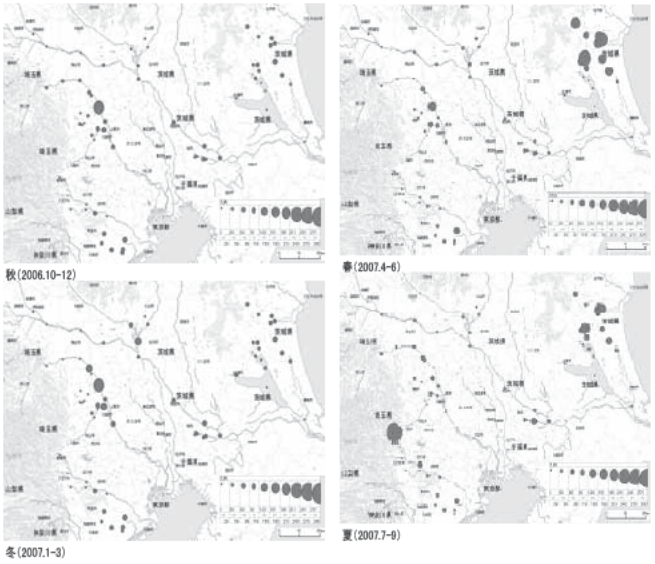


図 3.1-1　季節毎の河川水中の D-Fe 濃度
(2006.10～2007.9、秋・冬・春・夏、単位 μg/L)

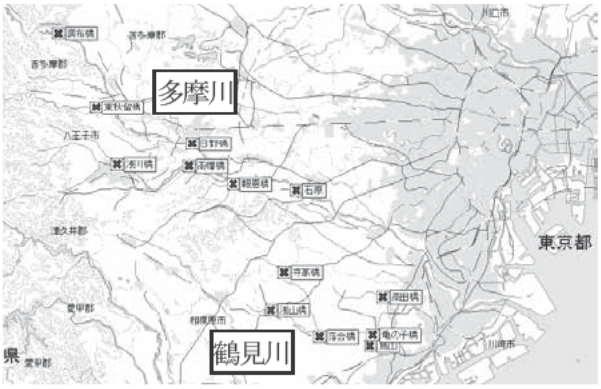


図 3.1-2　鶴見川および多摩川の調査地点

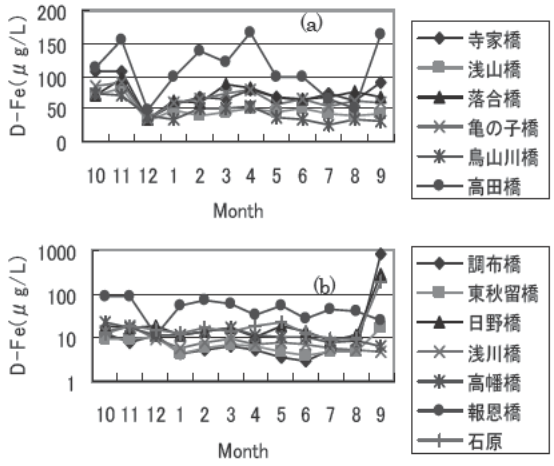


図 3.1-3　鶴見川及び多摩川の河川水中の D-Fe 濃度の年間挙動（a:鶴見川 6 地点、b:多摩川 7 地点、多摩川は 9 月の濃度が高いため縦軸を対数値で示した）

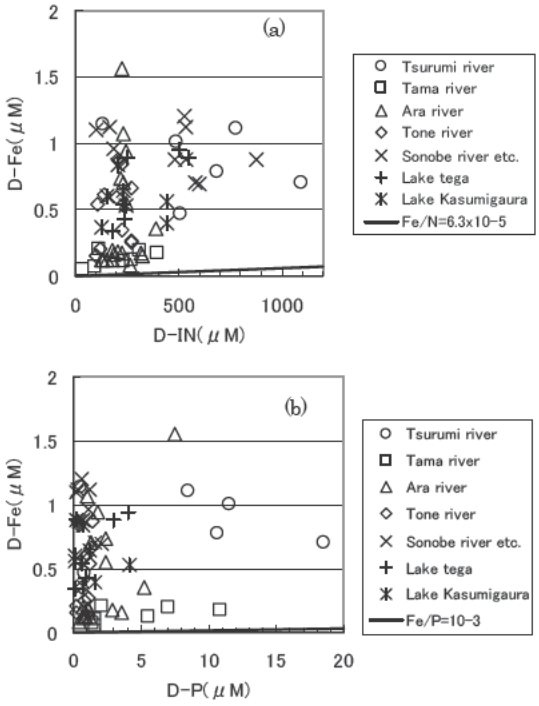


図 3.1-4　河川水中の D-Fe 濃度と D-N･D-P 濃度との比率（a:Fe/N、b:Fe/P）

1 年間の調査結果より、季節ごとの河川水中の D-Si の濃度について図 3.1-5 に示す（河川については各 3 ヶ月の平均濃度）。また、鶴見川および多摩川の年間濃度変化を図 3.1-6 に示す。多摩川について、上述の D-Fe と同様に、9 月の調布橋で増加していた。

下水処理水中の D-Fe 濃度については、濃度が高い 1 処理場を除き、放流水中濃度は河川中濃度の半分以下であることが多かった。鶴見川・多摩川の D-Fe 濃度は冬期及び夏期にやや低下する傾向であった。この一因として、下水処理場放流水中の D-Fe 濃度は晴天時の河川中濃度の平均約 45～104μg /L の半分以下程度の場合が多く、河川流量が低下して下水処理水の占める割合が増加する冬期や夏期に河川水中濃度が低下する可能性が考えられた。

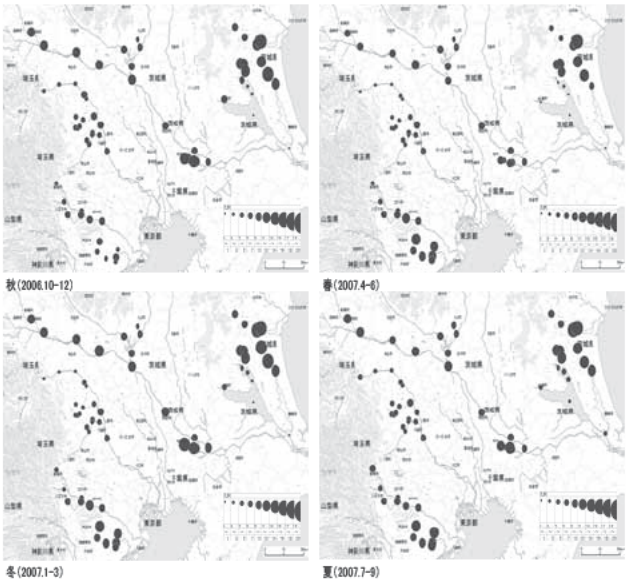


図 3.1-5　季節毎の河川水中の D-Si 濃度（2006.10～2007.9、秋・冬・春・夏、単位 mg/L）

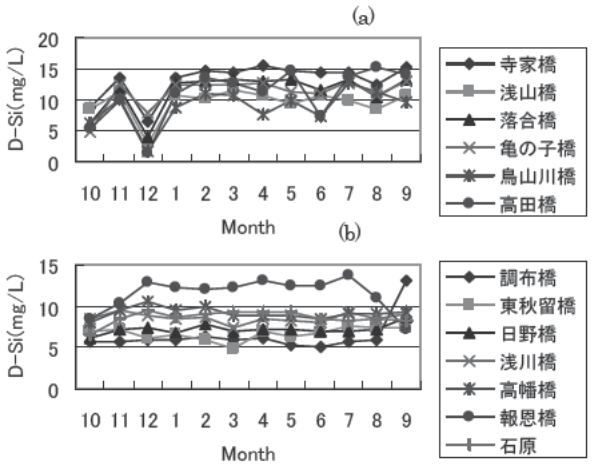


図 3.1-6　鶴見川及び多摩川の河川水中の D-Si 濃度の年間挙動（a:鶴見川 6 地点、b:多摩川 7 地点）

(2)都市河川流域における必須元素の分布特性

多摩川について、夏期の平均値が多摩川上流（調布橋）で高濃度となっているのは、9 月の調査の 7 日前及び 1～3 日前に上流域で降雨があった影響と考えられ（累加雨量が御岳で 22mm、小河内で 14mm）、7 月及び 8 月濃度がいずれも 5μg/L 程度であったのに対して、9 月濃度は

844μg/L と急増していた。一方、中流域の支流の浅川では、浅川橋において上流部の降雨（累加雨量が美山で 14mm）の影響は全く見られず、7～9 月濃度はそれぞれ 5μg/L 程度であった。

従って、上流域では降雨に伴い D-Fe が河川に供給されているのに対して、開発が進んでいる八王子市付近の中流域では降雨があっても D-Fe が河川に供給されておらず、流域特性の違いによって降雨による D-Fe の流出特性が著しく異なっていると考えられた。D-Fe と D-N・D-P のモル比率 Fe/N、Fe/P について、各地点の年間最低値を図 3.1-4 に示す。Fe/N 及び Fe/P は、全地点でそれぞれレッドフィールド比 $6.3x10^{-5}$～$6.3x10^{-6}$ の 5 倍以上、$1.0x10^{-3}$ の 13 倍以上であった。よって、河川・湖沼水中では、D-Fe は D-N・D-P と比較して相対的に不足する可能性は低いと考えられた。

多摩川について、上述の D-Fe と同様に、9 月の調布橋で増加しており、上流域の降雨により D-Si が河川に供給されているものと考えられる。

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

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

特に、鶴見川と多摩川で低い傾向がみられたため、それぞれ主要な数地点について、Si/N 及び Si/P の年間変化を図 3.1-8 及び図 3.1-9 にそれぞれ示す。鶴見川では，上流の寺家で Si/N が最も高く、落合橋、亀の子橋と流下するに従い Si/N が低下し、亀の子橋では 1 年のほとんど期間 Si/N が 1 を下回っていることが分かる。また、多摩川でも、上流の調布橋で Si/N が最も高く、流下して下水処理場放流水が流入した日野橋、石原と流下するに従い Si/N が低下し、石原では 1 年のほとんど期間 Si/N が 1 を下回っていることが分かる。Si/P についても両河川で同様の傾向があり、下流の亀の子橋および石原で Si/P が低下して 20～80 程度の値となっている。

以上より、河川・湖沼水中では、D-Si は D-N・D-P と比較して相対的に不足する傾向があり、特に都市排水の影響を大きく受けている鶴見川及び多摩川の下流では 1 年のほとんどの期間で相対的に不足していると考えられた。この原因としては、都市排水の流入による D-N・D-P の増加が考えられた。。

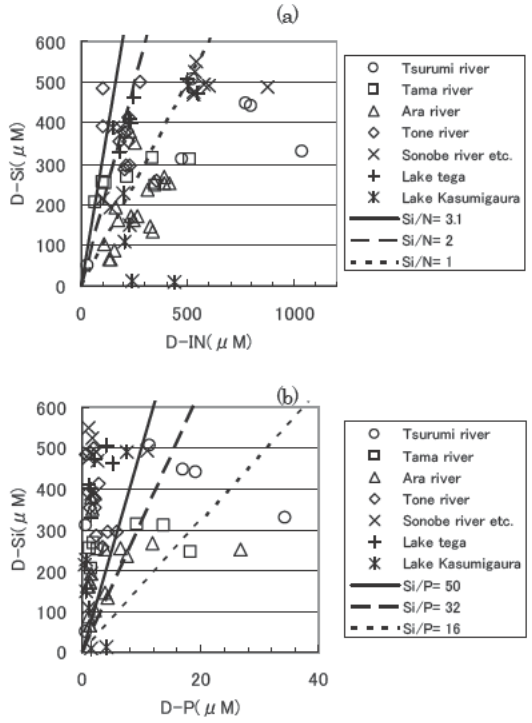


図 3.1-7　河川水中の D-Si 濃度と D-N・D-P 濃度との比率（a：Si/N、b：Si/P）

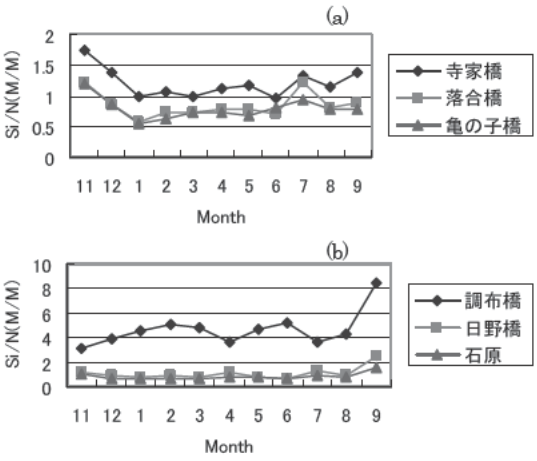


図 3.1-8　鶴見川及び多摩川の Si/N の年間変化
（a：鶴見川 3 地点、b：多摩川 3 地点）

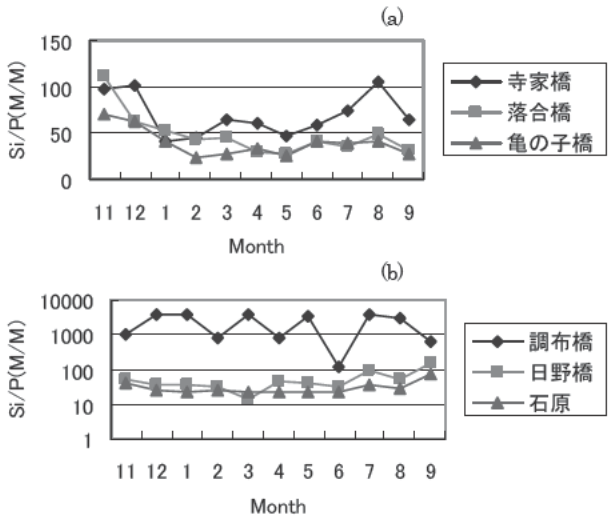


図 3.1-9　鶴見川及び多摩川の Si/P の年間変化
(a:鶴見川 3 地点、b:多摩川 3 地点、多摩川は縦軸の範囲が大であるため対数値で示した)

3. 2　化学種分析法の開発

(1) D-Fe の化学種分析

D-Fe の分画方法の検討のため、フミン標準物質を用いて、非イオン性樹脂を用いた 2 通りの分画を行い、疎水性・親水性、酸性・塩基性の化学的特性に応じて分離した。

各分画の D-Fe 濃度を図 3.2-1 に示し、DOC 濃度を図 3.2-2 に示した。

結果、D-Fe 及び有機炭素の存在割合が、方法 1（pH2 で通液・NaOH 溶出）と方法 2（pH7 で通液・NaOH 溶出＋方法 1）とでは異なっていた。鉄及び有機炭素ともに、方法 1 では疎水性塩基＜＜疎水性酸＜親水性物質であったが、方法 2 では疎水性塩基＜＜親水性物質＜疎水性酸 1+2 であり、方法 2 では親水性物質がより少なく、疎水性酸が多くなっていた。疎水性塩基がきわめて少ないことは共通した傾向であった。

方法 2 では疎水性酸を 2 通りに区別している点が、方法 1 と異なる。pH7 で通液後に NaOH で溶出した疎水性酸 1 と、その後に pH2 で再度通液してから NaOH で溶出した疎水性酸 2 をあわせると、方法 1 で得られた疎水性酸と一致すると想定したが、D-Fe 及び有機炭素のどちらの場合も一致せず、疎水性酸（方法 1）＜疎水性酸（1＋2）であった。方法 2 では疎水性酸の割合が増えた分、親水性物質の割合が減っている傾向が見られた。その理由としては、pH7 で通液して吸着された物質が NaOH で一度溶出されることで、樹脂の吸着能力が回復し、pH2 で通液した際に、より多くの物質を吸着することが可能となったためと考えられた。その結果、最後まで樹脂に吸着されずに親水性物質とみなされる成分が減少したものと推測された。

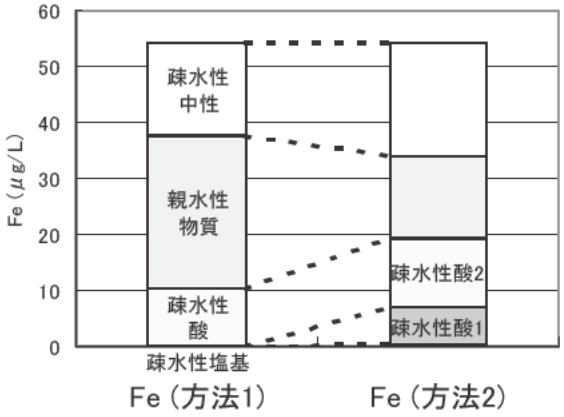


図 3.2-1 D-Fe の非イオン性樹脂による分画
(試料はフミン標準物質)

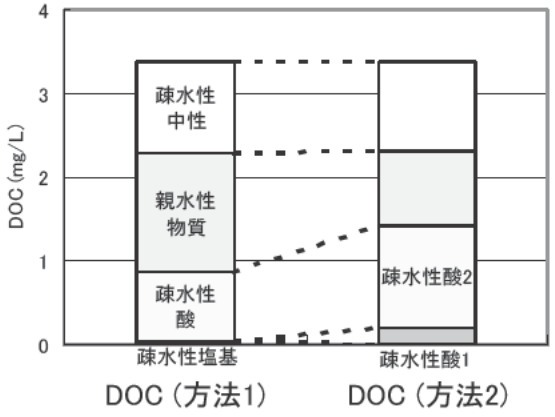


図 3.2-2 溶解性有機炭素の非イオン性樹脂による分画
(試料はフミン標準物質)

各分画の D-Fe と有機炭素の濃度比（Fe/DOC）の比較を図 3.2-3 に示した。ここで、疎水性塩基については存在量がきわめて小さいため誤差の影響が大きいと考えて計算対象としなかった。

同図より、疎水性酸 2、親水性物質及び疎水性中性物質の分画では、Fe/DOC はほぼ同等であり、方法 1 と方法 2 では類似の物質が分画されているものと考えられた。疎水性酸 1 は疎水性酸 2 よりも Fe/DOC が約 3 倍高くなっており、pH7 で吸着して NaOH で溶出する疎水性酸 1 は、有機物あたりの鉄の存在量が大であった。

pH7 で吸着する物質は、pH2 でも吸着するはずであり、方法 1 の疎水性酸（図では疎水性酸 2 の位置）にも疎水性酸 1 に相当する物質が含まれているはずであるが、疎水性酸 1 の存在量が疎水性酸 2 よりかなり小さいため、

全体としては疎水性酸2に近い特性が見られていた。

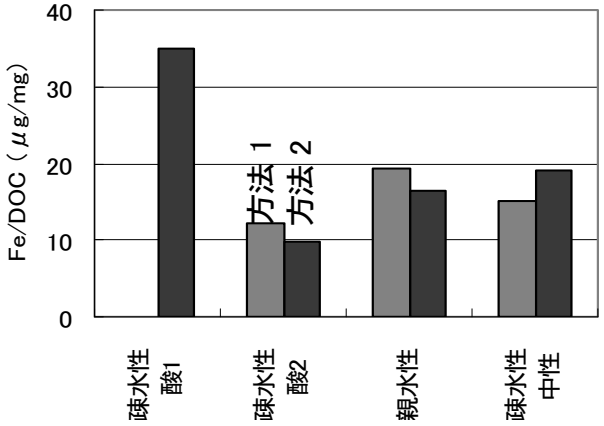


図3.2-3 D-Fe／DOCの分画による違い
（方法1の疎水性酸2は疎水性酸全体を指す）

以上より、D-Feが溶解性有機物質と結合した複合体について、主として次の3種類に分類することができた。

(ⅰ)疎水性酸1－pH7でDAX-8に吸着し，NaOHで溶出（弱酸性物質か）

(ⅱ)疎水性酸2－pH7では吸着しないがpH2でDAX-8に吸着し，NaOHで溶出（強酸性物質か）

(ⅲ)親水性物質－pH条件によらずDAX-8に吸着しない

D-Feの存在比率では(ⅱ)＞(ⅲ)＞(ⅰ)であったが、D-Fe/DOC比では(ⅰ)が最大であったことから、有機物あたりの鉄含有量は疎水性酸1が最大ということになる。

またメンブレンフィルターによる分子量分画では、分画分子量（MWCO）100,000を用いた場合、D-Fe及び有機炭素のほとんどが通過液中に存在していた。従って、分子量で分画するためには、より分画分子量が小さいフィルターを使用する必要があると考えられた。

今後は、河川水試料等の環境試料について、同様の分画を行ってその特性を把握するとともに、生物利用可能性についても検討を行う必要がある。

(2) D-Siの化学種分析

D-SiのFAB-MS分析における前処理方法の改良のため、D-Siの標準試料（試薬）を用いて、濃縮・精製方法（イオン交換樹脂による分離濃縮、同左＋エバポレーター蒸発濃縮、の2水準）及びイオン交換樹脂に保持したD-Siの溶出に用いるNaOH溶液濃度（低濃度：0.1M、中濃度：0.25M、高濃度：1M、の3水準）の2種類の制御因子について最適化検討を行った。

それぞれの条件で前処理した試料のFAB-MSによる測定結果の例として、m/z=299（$Si_3(OH)_2O_7Na_3$ -）付近を図3.2-4に、m/z=321（$Si_3(OH)O_8Na_4$ -）付近を図3.2-5にそれぞれ示した。

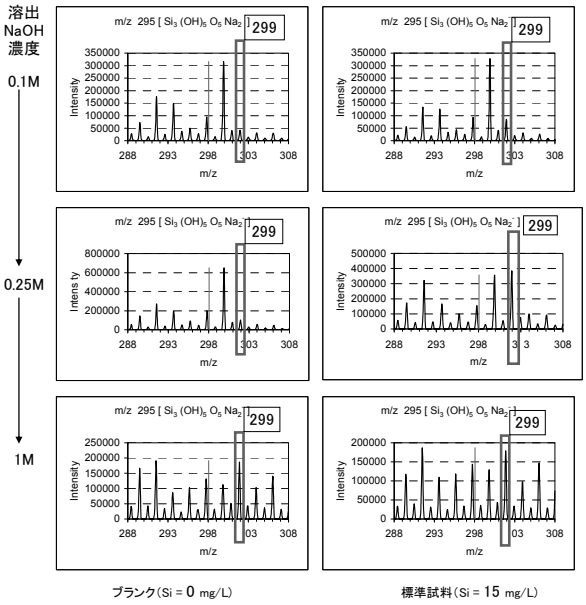


図3.2-4 D-Siの FAB-MS測定の前処理方法検討結果(m/z=299付近、試料はシリカ標準試料))

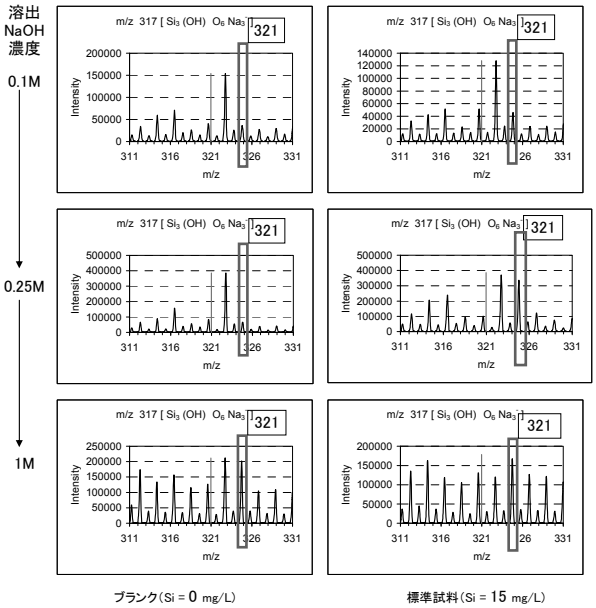


図3.2-5 D-Siの FAB-MS測定の前処理方法検討結果(m/z=321付近、試料はシリカ標準試料))

濃縮・精製方法については、イオン交換樹脂のみによる場合よりも、エバポレーター蒸発濃縮を組み合わせた方が、強度が大で明瞭なピークが得られる傾向であった。これは、蒸発濃縮の追加により、試料中のD-Siが十分に濃縮されて、FAB-MS測定に適した濃度（ターゲット上のグリセリンとの混合溶液状態で0.4g/L程度）なっているためと考えられた。

イオン交換樹脂に保持したD-Siの溶出に用いるNaOH溶液濃度については、低濃度（0.1M）ではピーク強度が低すぎる場合が多く、D-Siの溶出が不十分と考えられた。高濃度（1M）では、D-Siのピーク強度は十分大であったが、超純水のブランク試料（Si濃度0mg/L）の場合でもNaOH由来のピークが強く、試料由来のD-Siのピークとの分別が困難な場合があった。特に蒸発濃縮との組み合わせでは、NaOHが高濃度となりすぎて、試料由来のピークが見いだせなかった。

中濃度（0.25M）では、D-Siのピーク強度が十分に大であり、蒸発濃縮と組み合わせた場合でも、NaOHが高濃度となり過ぎず、試料由来のD-Siのピークをとらえることができた。

以上より、D-SiのFAB-MS測定の前処理方法としては、濃縮・精製方法として、イオン交換樹脂による分離濃縮＋エバポレーター蒸発濃縮を用い、イオン交換樹脂に保持したD-Siの溶出に用いるNaOH溶液濃度は0.25M程度が適切であると考えられた。

また、河川水を用いた藻類実験で上記の方法で測定したところ、存在しうると考えられるシリカ化学種[5]の中で3種類は増減の傾向があったことが確認できた。この結果を表3.2-1に示す。今回はこの他にも22種類のシリカ化学種についても検討したが増減の傾向は見られなかった。また、藻類に鉄又はシリカを添加した系についても何も添加しなかった系と同様の結果となる傾向が見られた。

表3.2-1　藻類試験により変化したシリカ化学種

経過日数	試料名	monomer	tetramer(3)	
		117	161	373
	河川水		○	○
0	藍藻類・添加物無し	△	○	○
10		○	○	○
20		○	○	○
0	糸状藍藻類・添加物無し		○	○
10		○	○	○
20		○		○
0	珪藻類・添加物無し		○	○
10		○	○	○
20				

△：intensity=概ね5,000以上、○：intensity=概ね10,000以上

単量体の $Si(OH)_2O_2Na^-$（分子量117）は当初河川水でも検出されなかったが、藍藻類及び糸状藍藻類の増加により増加する傾向が見られた。珪藻では10日目に増加したが20日目に減少した。

3．3　必須元素の生物利用特性の検討

(1)藻類増加量

今回の藻類試験において藻類の増殖を確認するため試験溶液中に含まれるクロロフィル量を測定した。今回の試験では珪藻類も用いているため、クロロフィルaとクロロフィルcの合計量で変化を確認した。藻類試験におけるクロロフィル量の変化を図3.3-1に示す。

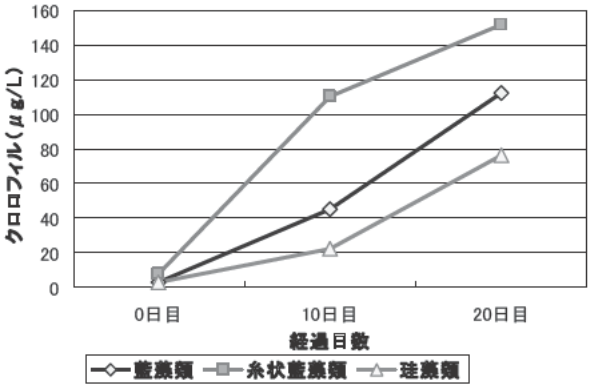


図3.3-1　藻類試験におけるクロロフィル量の変化

図3.3-1より、クロロフィル量は糸状藍藻類、藍藻類、珪藻類の順で増加した。今回珪藻類の増殖が他の2種類と比較して小さかったのは、高栄養塩濃度下において珪藻類（Cyclotella）は15℃で著しい増殖傾向を示す[8]が、今回の試験では室温20℃で実験を行ったため増殖が抑制されたと考えられる。また、鉄又はシリカを添加した系には何も添加しない系に比べてクロロフィル量の増加がほぼ等しいか若干小さくなり、河川水中に含まれる以上の鉄及びシリカは藻類の増殖に必要ないと考えられる。

今回20日間の実験で増加したクロロフィル量を藻類増加量とみなした。その結果、藍藻類：113.87μg/L、糸状藍藻類：145.48μg/L、珪藻類：84.09μg/Lとなった。

(2) D-Fe消費量

今回の藻類試験において藻類によるD-Feの消費を確認するため、試験溶液中に含まれるD-Fe濃度をICP-MSを用いて測定した。藻類試験におけるD-Fe濃度の変化を図3.3-2に示す。

図3.3-2より、D-Fe濃度は3種類とも減少した。鉄を多量に吸着することが分かっている藍藻類及び糸状藍藻類と同様に珪藻類でもD-Feが消費されていた。また、鉄を添加した系には何も添加しない系に比べてD-Fe濃度の減少量はほぼ等しく、河川水中に含まれる以上の鉄は河川水で藻類増殖時のD-Fe量の変化に影響を及ぼさないと

考えられる。

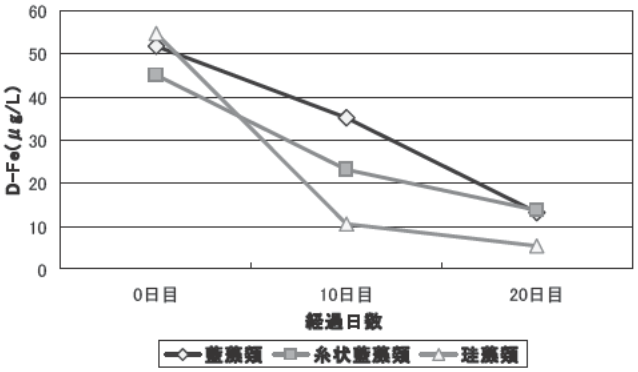


図 3.3-2　藻類試験における D-Fe 濃度の変化

(3) D-Si 消費量

今回の藻類試験において藻類による D-Si の消費を確認するため、試験溶液中に含まれる D-Si 濃度を ICP-AES を用いて測定した。藻類試験における D-Si 濃度の変化を図 3.3-3 に示す。

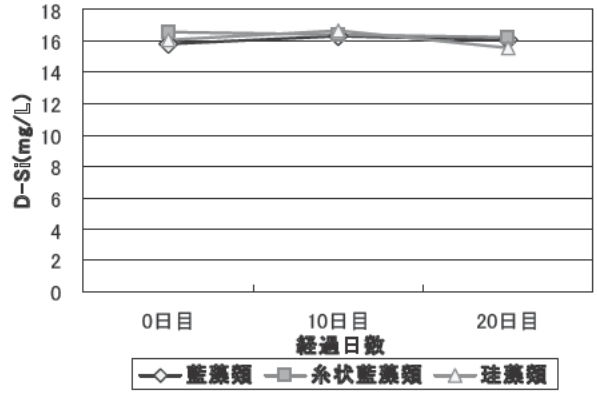


図 3.3-3　藻類試験における D-Si 濃度の変化

図 3.3-3 より、D-Si 濃度は D-Fe、D-N 等他の元素と比較すると 3 種類とも変化量は非常に小さかった。しかし、微量な変化を見ると、表 3.2-1 の $Si(OH)_2O_2Na^-$ と $Si(OH)_2O_2Na^-$ を合わせた濃度と同じ傾向であった。また、シリカを添加した系には何も添加しない系に比べて D-Si 濃度の減少量はほぼ等しく、河川水中に含まれる以上のシリカは河川水中の D-Si 量の変化に影響を及ぼさないと考えられる。

(4) D-N 消費量

今回の藻類試験において藻類による D-N の消費を確認するため、試験溶液中に含まれるアンモニア性窒素、硝酸性窒素、亜硝酸性窒素を測定した。藻類試験におけるアンモニア性窒素濃度の変化を図 3.3-4 に、硝酸性窒素濃度の変化を図 3.3-5 に示す。なお、今回測定した結果では亜硝酸性窒素量は全て微量でありほとんど変化が見られなかった。

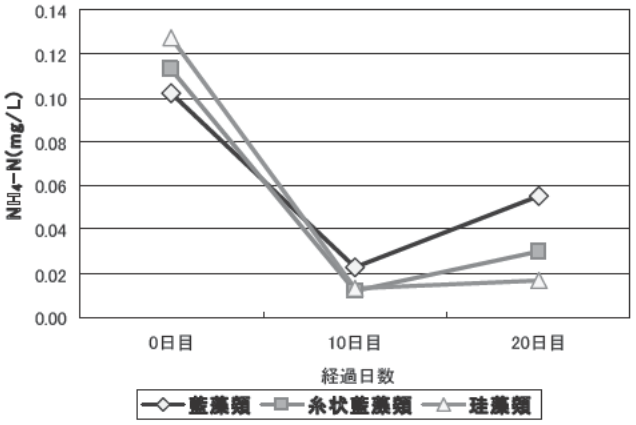


図 3.3-4　藻類試験におけるアンモニア性窒素濃度の変化

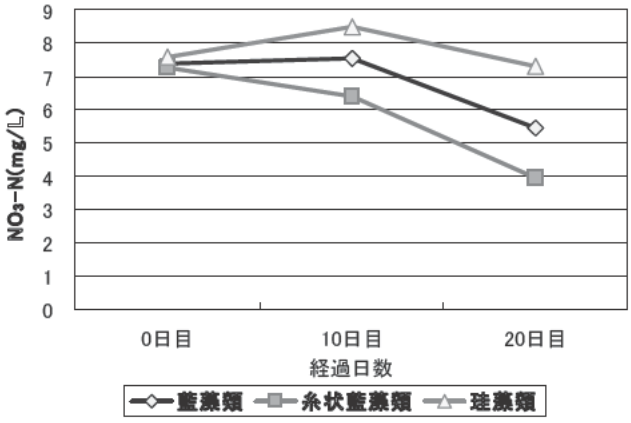


図 3.3-5　藻類試験における硝酸性窒素濃度の変化

一般的に藻類は窒素源としてアンモニウムイオン、硝酸イオン、亜硝酸イオンは皆利用可能だが、アンモニウムイオンは硝酸イオンより優先される[9]。図 3.3-4 よりアンモニウムイオンは 3 種類とも 10 日目までに消費され、10 日目以降は硝酸イオンが消費されており、これらの変化は藻類の消費傾向を反映したものだと考えられる。これは、鉄又はシリカを添加した系でも同様の傾向が見られた。

(5) D-P 消費量

今回の藻類試験において藻類による D-P の消費を確認するため、試験溶液中に含まれるオルトリン酸濃度を測定した。藻類試験における D-P 濃度の変化を図 3.3-7 に示す。一般的に藻類は有機態のリンも利用できるが、オルトリンイオンは藻類にとって唯一の無機態のリン源である[9]。図 3.3-7 より、藻類の増加により 3 種類ともほぼ全量消費された。

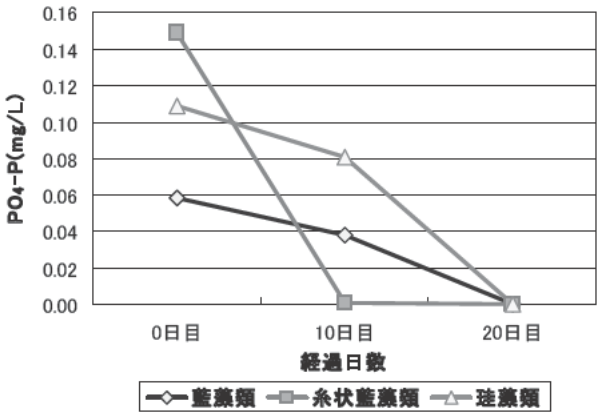


図 3.3-7　藻類試験における D-P 濃度の変化

(6)藻類試験結果による元素消費量の推定

(1)～(5)の試験結果を元に 20 日間での対象元素消費量及び元素消費率を算出する。更に、平成 18 年度秋から平成 19 年度夏まで調査した河川の測定結果を、元素消費率から律速となる元素の推定を行った。手順は以下のとおりである。

①藻類試験結果の各藻類のクロロフィル増加量に対する対象元素(D-N、D-P、D-Fe、D-Si)の減少量を算定し、元素消費率とした。なお、元素消費率は 20 日間の対象元素減少量を 20 日間のクロロフィル増加量で割った値とした。藻類ごとの計算結果を表 3.3-1 に示す。負の値になっている項目は藻類の増殖に伴い増加した元素である。

表 3.3-1　20 日間での元素消費量及び元素消費速度

	藍藻類		糸状藍藻類		珪藻類	
	減少量 (mg/L)	元素消費率	減少量 (mg/L)	元素消費率	減少量 (mg/L)	元素消費率
D-Fe	0.039	0.34	0.031	0.22	0.049	0.59
D-Si	-0.23	-1.99	0.38	2.58	0.54	6.39
D-N	0.63	5.51	2.24	15.40	-0.74	-8.74
D-P	0.15	1.32	0.15	1.04	0.11	1.35

②レッドフィールド比に対して 2006 年～2007 年の間に調査した中で D-Fe、D-Si 濃度が下回った河川を対象に、①で算出した消費率を実測した河川水の対象元素の数値に元素消費率で割って計算し、対象元素の中で最も数値の低い元素を藻類の増殖に伴って不足する元素（律速となる元素）として、D-N、D-P、D-Fe、D-Si の元素間で比較した。なお、レッドフィールド比に対して D-N、D-P 濃度が下回った河川は D-Fe では該当箇所がなく、D-Si については図 3.3-8 の青く着色された範囲を対象とした。

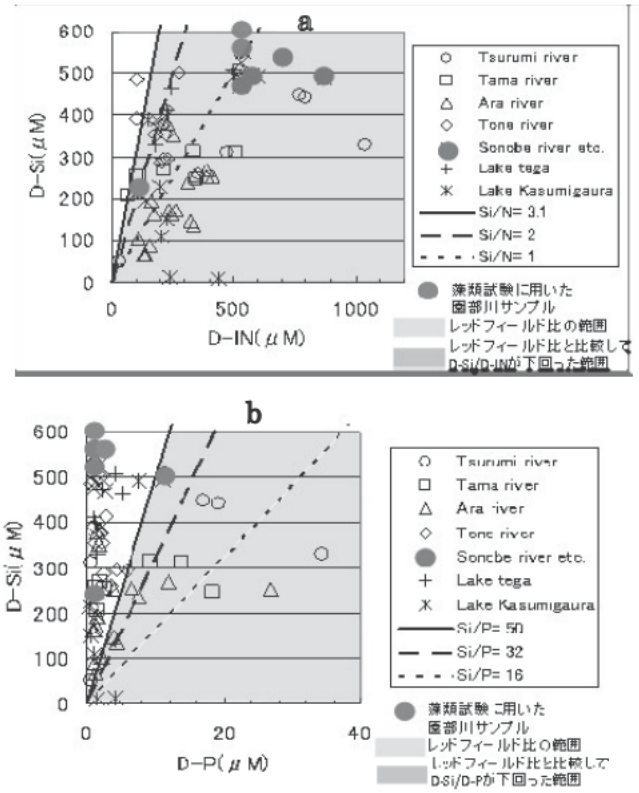


図 3.3-8　河川水中の D-Si 濃度と D-N・D-P 濃度との比率（a：Si/N、b：Si/P）

この結果、季節変動も含め対象となった全ての河川で、②の計算値が 1 番小さい値となったのは D-P(PO_4^--P)だったと推定された。D-P(PO_4^--P)の計算値は D-Fe、D-Si の計算値と比較して 10～100 のオーダーで小さかったため、藻類増殖による河川水中の D-Fe 及び D-Si の不足の可能性は低いと考えられた。

霞ヶ浦に生息する淡水藻類を対象とした藻類試験による各元素の消費率から推定すると、レッドフィールド比に対して 2006 年～2007 年の間に調査した中で D-Fe、D-Si 濃度が下回った全河川で PO_4^{-}P が最も不足傾向になりやすいと考えられる。これは、3.1(2)の河川調査から検討した結果とも合致した。一方、この藻類試験結果では D-Si の消費率は他の元素と比べて低く、3.1(2)で懸念された D-Si の相対的不足が発生する傾向は確認されなかった。

(7)河川中の D-Fe 及び D-Si が不足した場合の対策

3.3(6)より、霞ヶ浦に生息する淡水藻類を対象とした藻類試験による各元素の消費率から推定すると、D-Si の相対的不足が発生する傾向は確認されなかった。何らかの影響により河川及び湖沼中の D-Fe 及び D-Si の不足した場合の対策を考えた。

ケイ酸は降雨が地山内部にしみこむ際に供給され、この水が湧水等として流出することにより、河川へD-Siが供給される。河川水へ供給されるケイ酸の濃度は流域を構成する岩石のケイ酸の溶け出しやすさ、降水量等様々な影響を受ける[10]。河川中のD-Siが不足した場合、詳細な対策は、その土地の地域特性等様々な要因があるため、地域に適した対応が必要となるが、現在浸水対策や地下水かん養などで部分的に行われている雨水浸透が有効だと考えられる。一方、鉄は落ち葉や腐葉土に微量の栄養物質として含まれる[11]が、鉄の分析による起源域推定は困難でよくわかっていない[12]ので、D-Feは河川水起源となる物質の特定と、河川への供給のメカニズムを明らかにし、対策を考える必要がある。

4. まとめ

本研究では、都市河川流域におけるD-Fe及びD-Siの挙動を把握するための検討を行った。その結果、以下のことが明らかになった。

1) 河川、湖沼、下水処理場のD-Fe及びD-Siそれぞれ季節変動の明確な傾向は見られなかった。
2) 下水処理水中のD-Fe濃度については、濃度が高い処理場を除き、放流水中濃度は河川中濃度の半分以下であることが多かった。放流水中のD-Si濃度は河川水中濃度と同レベルであった。
3) レッドフィールド比で検討すると、河川・湖沼水中では、D-N・D-Pと比較してD-Feは相対的に不足する可能性は低いが、D-SiはD-Nと比較して相対的に不足する傾向があった。(D-Pとの比較では不足の可能性は低かった) 特に都市排水の影響を大きく受けている鶴見川及び多摩川の下流では1年のほとんどの期間で相対的に不足していると考えられた。
4) 霞ヶ浦に生息する淡水藻類を対象とした藻類試験による各元素の消費率から推定すると、レッドフィールド比に対して2006年～2007年の間に調査した中でD-Fe、D-Si濃度が下回った全ての河川水で、D-P(PO_4^{-}-P)が最も不足傾向になりやすいと推定され、D-Fe及びD-Siの相対的不足が発生する可能性も低いと考えられた。流域の状況によって水域のD-Siが不足した場合には雨水浸透などの対策を検討する必要も考えられる。

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, Vol.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(2), pp.1241-1250.
6) 永井孝志、今井章雄、松重一夫、福島武彦：霞ヶ浦における藍藻類の増殖に対する溶存有機物の影響の評価、第39回日本水環境学会年会講演集（平成17年）、p467、2005
7) 林 到映：河川におけるSiの動態と付着藻類に及ぼす影響に関する研究、2008、東北大学博士論文
8) 関谷卓見、竹谷公貴、天野佳正、町田基:藍藻類Microcystis aeruginosaと珪藻類Cyclotella sp.の増殖に及ぼすN/P比及び温度の影響、水環境学会誌，33，pp. 175-179，2010
9) W.M.ダーリー：藻類の生理生態学、pp49-.50、培風館、1987
10) 財団法人河川環境管理財団：河川におけるケイ酸等無機溶存物質の流出機構に関する研究、pp2-1～2-5、2007
11) 水産庁漁港漁場整備部・林野庁森林整備部・国土交通省河川局：森・川・海のつながりを重視した豊かな漁場海域環境創出方策検討調査報告書、p138、2002
12) 関宰：森林-河川-海洋の物質循環系に関する地球化学的研究、2006、COE21研究成果報告書

8.3 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】

公共用水域の安全性確保のため、病原微生物の消長や汚染源を明らかにし、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。本研究では、平成 18～22 年度にかけ、微生物混在系における耐性遺伝子伝播特性や薬剤（抗生物質）耐性菌の消長と消毒耐性の評価、分子生物学的手法を活用した感染能力を有する病原微生物の検出法の検討、ノロウイルス感染能力推定手法の開発について、各項目を達成目標に掲げ実施した。

その結果、下水処理水における抗生物質耐性菌の多剤耐性株の割合は、流入下水に比較して上昇するが、多剤耐性株の約 90%はアンピシリンに耐性を示した。これらの耐性株からは複数のプラスミド性耐性遺伝子が検出されたため、耐性菌の消長に大きな影響を及ぼしている可能性が明らかとなった。抗生物質耐性大腸菌株の塩素消毒による不活化では、耐性を有しない大腸菌株と比較して接触時間、添加濃度の若干量の増加で対応が可能なレベルであった。環境水等における抗生物質耐性菌の汚染実態の解明とともに、適正な消毒を実施することで下水処理場における制御の可能性を示した。

分子生物学的手法を活用した感染能力を有する病原微生物の検出法では、FISH 法によるクリプトスポリジウムの感染能力を評価した。FISH 法の活用により実験動物や細胞培養法と比較して安価、簡易、迅速な評価を行える可能性を示した。

ノロウイルスに関しては、濃縮、抽出、逆転写等の影響要因を解明することで、検出濃度を向上させるための最適な測定条件を提案した。また、塩素、紫外線消毒によるネコカリシウイルスの遺伝子残存率と生残率の関係をノロウイルスに適用し、ノロウイルス遺伝子残存率から不活化効果を推定する手法の提案を行った。

キーワード：抗生物質耐性大腸菌、プラスミド性遺伝子、クリプトスポリジウム、FISH 法、ノロウイルス、リアルタイム RT－PCR 法

1．はじめに

近年、クリプトスポリジウム、ノロウイルス（*NV*）、薬剤（抗生物質）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、水環境中での抗生物質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 NV に関しては、現在のところ培養法による不活化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（Real-time Polymerase Chain Reaction method）を活用した不活化判定手法を検討した。

本研究で研究対象としている病原微生物は抗生物質耐性大腸菌、クリプトスポリジウム、ウイルスは NV とした。22 年度は本研究課題の最終年度にあたるため、18 年度から実施した以下に示す各研究項目について得られた成果を取りまとめた。

1） 微生物混在系における耐性遺伝子伝播特性および耐性菌の消長と消毒耐性の評価
2） 分子生物学的手法を活用した感染能力を有する病原微生物の検出法の検討
3） ノロウイルス感染能力推定手法の開発

2．研究目的および方法

2．1 微生物混在系における耐性遺伝子伝播特性および

耐性菌の消長と消毒耐性の評価

２．１．１　耐性遺伝子の保有状況

17 年度までの調査結果から下水、河川水試料中の抗生物質耐性大腸菌は、アンピシリン（ABPC）やテトラサイクリン（TC）に耐性を示す株が最も多く検出されることが明らかとなっている。グラム陰性桿菌では ABPC などの耐性遺伝子のほとんどが R プラスミド上にあるとされることから[1)]、活性汚泥処理後の多剤耐性大腸菌の割合増加や水環境中における多剤耐性大腸菌の存在は、R プラスミドによる耐性遺伝子の伝達が一因であるものと推定された。このため、耐性遺伝子の保有状況を把握することを目的に、下水、河川水試料から得られた大腸菌株を対象に、その保有状況も含め定性分析を行った。

具体には、ABPC に耐性を示した株が多いことから、β-ラクタマーゼ関連の耐性遺伝子の検出を主に、blaTEM、blaSHV、blaCMY、blaCTX のプラスミド性耐性遺伝子、その他にも ampC の染色体上耐性遺伝子の定性を行った。菌株を 400μL の RNase-free 水に懸濁させ 100℃、15 分間煮沸することで遺伝子の抽出を行った。4℃、3 分間冷却させた後 13,000rpm・5 分間遠心処理しその上澄液中の耐性遺伝子を検出した。検出のためのプライマーやプローブは既存の報告例[2) 3) 4) 5)]を各々参照するとともに、遺伝子検出のためのリアルタイム PCR 装置は LightCycler（ﾛｼｭ･ﾀﾞｲﾔｸﾞﾉｽﾃｨｯｸｽ社）を使用した。

２．１．２　微生物混在系における多剤耐性株割合の変化

微生物混在系における多剤耐性株割合の変化では、家庭排水が主な負荷である B、D 下水処理場、病院排水が主である E 下水処理場を対象に、流入下水と処理水の耐性大腸菌株の耐性割合を各々比較することで評価を行った。抗生物質の耐性を把握するための感受性試験では ABPC、TC、レボフロキサシン（LVFX）、セフジニル（CFDN）、カナマイシン(KM)、スルファメトキサゾール･トリメトプリム（ST）、ゲンタマイシン（GM）、イミペネム（IPM）の 8 種類とした。抗生物質含有ディスクは KB ディスク（栄研化学）を利用し、感受性試験の判定基準などは KB ディスクの手引きを参照した[6)]。

２．１．３　抗生物質耐性大腸菌の下水処理水中での消長

環境水中に放出された大腸菌の抗生物質耐性については、環境条件や細菌が保有する耐性遺伝子などの有無により、その消長に影響を及ぼしている可能性が推測される。このため、その消長に及ぼす影響の把握を目的に、抗生物質に対する感受性の異なる大腸菌を利用し、下水処理水中での耐性の変化を室内実験により把握した。

実験は D 下水処理場の二次処理水を対象とした感受性試験から検出した大腸菌を利用した。8 種類の抗生物質に対して耐性の無い株、ABPC 耐性株、また ABPC を含め 3 剤の抗生物質に耐性を示した多剤耐性株である。0.22μm のフィルターでろ過を行った二次処理水中に各々の株を添加、20℃の恒温室内に放置し、1、7 日間後に採水し大腸菌の測定を行った。そのコロニーの感受性試験結果を基に耐性の変化について把握した。

２．１．４　塩素消毒耐性の評価

人畜由来汚濁負荷の影響を受ける下水･河川試料では抗生物質耐性大腸菌が存在するが、下水処理過程での活性汚泥処理や消毒プロセスを経ることで、その濃度は大幅に低下する。活性汚泥処理による除去では大腸菌の除去にも限界があることから、これを安全なレベルに低減するには、最終的には消毒により不活化を図る必要がある。このため、下水処理場で採用例の多い塩素消毒による抗生物質耐性大腸菌の消毒耐性を把握することを目的に、下水、河川水試料から得られた 0～6 剤の抗生物質に耐性を示した大腸菌株の不活化実験を行った。併せて、比較のため感受性試験での精度管理用の大腸菌株 ATCC25922、35218 株を利用し、各々の塩素消毒耐性を明らかにすることで、下水処理場における対応の可能性を評価した。ここでは、各大腸菌株の塩素消毒耐性の比較を行うことから消毒条件の統一を図るため、各大腸菌株の培養を行い一定量に増殖させた後、遠心分離を行い上澄液を除去し沈渣として回収した菌株を生理食塩水に懸濁させ塩素消毒実験に供した。次亜塩素酸ナトリウムの添加濃度は0～0.35mg／L、接触時間を 15 分間とした。

２．２　分子生物学的手法を活用した感染能力を有する病原微生物の検出法の検討

２．２．１　FISH 法によるクリプトスポリジウムの感染能力の評価

分子生物学的手法を活用した感染能力を有する病原微生物の検出法では、FISH 法によるクリプトスポリジウムの感染能力を評価した。消毒によるクリプトスポリジウムの不活化効果を判定するためには、マウスによる実験動物法や細胞培養法による評価手法が用いられている。これらの手法により評価が進展しているが、実験動物や細胞培養の利用は操作の煩雑性や検出感度等の課題もあり、その適用は限定されたものとなっている。ここでは、分子生物学的手法の適用による感染能力判定手法の検討を目的としており、オーシストの塩素消毒等の不活化割合を FISH 法（Fluorescence in situ hybridization method）により評価を行い、細胞培養法で得られた基礎

データと比較することで適用の可能性を検討した。表－1にはFISH法で用いたDNAプローブの特性[7)]を示す。FISH法の染色と併せ、オーシスト検出のためにイージーステインの蛍光抗体染色とDAPI染色を行った。

比較のため行った細胞培養法による塩素消毒の不活化評価では、ショ糖密度勾配遠心法により精製を行ったオーシストに有効塩素濃度が20mg/Lとなるように次亜塩素酸ナトリウムを添加し、1～2時間接触させた後、チオ硫酸ナトリウムにて中和した。中和した試料は感染性評価のため、Intestine407細胞に接種した。接種後24時間培養を行った後、オーシストの増加が認められたものを陽性としMPN表にあてはめ、オーシスト数を求め不活化割合を算出した。

なお、実験には*Cryptosporidium parvum* HNJ-1株を利用した。

表－1 FISH法によるDNAプローブの特性

プローブ	塩基配列(5'－3')	特異性	文献
Cry1	CGGTTATCCATGTAAGTAAAG	C.parvum	7)

２．３ NV感染能力推定手法の開発

２．３．１ NVの検出濃度に及ぼす影響要因の解明

下水試料等からNVを検出する上で、検出濃度に及ぼす影響要因を解明するため、濃縮法、遺伝子抽出、逆転写反応、PCR実測値の各項目に着目し評価を行うことで、最適な測定条件の確立を目指した。

まず、NVの検出濃度の向上を目的として、水質性状の異なる試料を対象にPEGの最適添加濃度や逆転写反応に利用する抽出RNA量の最適化を検討した。

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

さらに、リアルタイムRT-PCR法によるNV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[8)]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、NV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。

２．３．２ 消毒によるネコカリシウイルス（FCV）とNV遺伝子量の減少およびFCVの不活化効果

NV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、感染能力の有無を判定できない課題がある。衛生学的安全性確保の観点から下水処理水の再利用水質基準等マニュアルが策定[9)]され水質基準等が提示されているが、上記課題もあり、NV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法を活用してNV不活化判定手法を検討する。検討にあたっては、NV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[10)]があることから、NV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、NVとFCVの塩素、紫外線実験による遺伝子減少量の関係を評価した。また、消毒によるFCVの遺伝子減少量と生残率を明らかにすることで、NVの不活化効果を推定した。

FCVの不活化評価では、ネコ腎臓細胞（CRFK細胞）により増殖させたFCV：F9株を用いた。細胞培養液の影響を取り除くため超高速遠心処理(140,000G、3時間)にてウイルスを精製した。このウイルス精製液に紫外線（UV波長254nm）を照射し、CRFK細胞にてウイルス培養を行い細胞変性によりプラークを計数し不活化割合を把握した。また、塩素消毒の実験条件ではウイルス精製液に次亜塩素酸ナトリウムを高濃度添加と低濃度添加の2ケースとし、接触時間を高濃度添加ケースでは15～30秒、低濃度添加ケースでは15分間とした。チオ硫酸ナトリウムにて中和を行った後、CRFK細胞の細胞変性によりプラークを計数した。FCV遺伝子の定量は、遺伝子の抽出、精製、逆転写反応の後、リアルタイムRT-PCR法により行った。FCVの検出に用いたプライマーは、Erwin Duizerらの方法[11)]に準じた。

実下水中のNVを用いた消毒実験では、流入下水中から陰電荷膜法により濃縮･分離したNVを紫外線照射、塩素消毒を行った後、リアルタイムRT-PCR法によってウイルス濃度を定量した。NVの検出に用いたプライマー、プローブおよび反応条件は、「ノロウイルスの検出法に

ついて」[12]に準じた。リアルタイム PCR 装置は LightCycler（ﾛｼｭ･ﾀﾞｲﾔｸﾞﾉｽﾃｨｯｸｽ社）を使用した。

３．研究結果および考察

３．１微生物混在系における耐性遺伝子伝播特性および耐性菌の消長と消毒耐性の評価結果

３．１．１　耐性遺伝子の保有状況

下水、河川水試料から得られた大腸菌株を対象とした耐性遺伝子の保有状況について表－2 に示す。下水試料から採取した大腸菌株は上記 2.1 の 8 剤の抗生物質に対しての耐性の有無に関わらず、全ての株でプラスミド性の耐性遺伝子、また染色体上の耐性遺伝子が検出された。ABPC は β-ラクタム系抗菌薬の一種であるため、β ラクタマーゼ関連の耐性遺伝子が検出されることは、ABPC に対して耐性を示す大腸菌が河川水･下水試料ともに多く存在していることを裏付けた結果となったと推定される。また、8 種類の抗生物質を対象とした感受性試験で耐性を示さなかった株でも耐性遺伝子を保有していることから、これらの株は 8 種類以外の他の抗生物質に対して耐性を示す可能性があるものと考えられた。今回、耐性遺伝子の定性に供した株は限られたものではあるが、全ての株で耐性遺伝子を保有していたことから、水環境中での薬剤耐性菌の汚染やその拡大を防止するには、各種排水処理施設での消毒の徹底を図る必要があるものと考えられた。

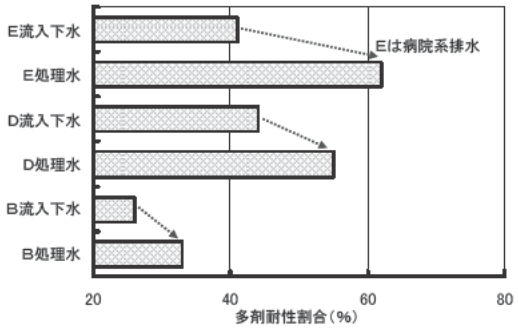
表－2　耐性遺伝子の保有状況

	流入下水 0剤耐性	流入下水 4剤耐性	二次処理水 1剤耐性	二次処理水 4剤耐性	二次処理水 6剤耐性
bla SHV	－	－	－	－	－
bla TEM	＋	＋	＋	＋	＋
bla CTX	－	－	－	－	＋
bla CMY	＋	－	－	－	－
Amp C	＋	＋	＋	＋	＋

陽性＋　陰性－

３．１．２　微生物混在系における多剤耐性株割合の変化

次いで、微生物混在系における多剤耐性株の割合の変化について図－1 に示す。処理場毎に耐性菌に占める多剤耐性株の割合は若干異なるが、B、D、E 下水処理場とも流入下水に比較して処理水の多剤耐性株の割合が上昇していた。特に、E 下水処理場の処理水については、耐性菌に占める多剤耐性株の割合は 60%以上であり、病院系排水を処理する下水処理場は、多剤耐性株の生成に大きな影響を及ぼす可能性があると考えられた。上記、耐性遺伝子の保有状況では、試験に供した全ての株において耐性遺伝子が検出されたことから、処理水における多剤耐性株の割合の上昇は、耐性遺伝子の伝播が 1 つの要因であると考えられた。微生物混在系において、耐性遺伝子の伝播により多剤耐性株の割合が上昇すると考えられたことから、下水処理場等においては抗生物質耐性菌の拡散を防止する上で消毒の徹底を講じなければならないであろう。



図－1　多剤耐性株割合の変化

３．１．３　抗生物質耐性大腸菌の下水処理水中での消長

下水処理水中における各種耐性株の感受性の変化について表－3 に示す。8 種類の抗生物質に対する感受性試験結果から得られた各種耐性株として、無耐性株は 4 株（16～18 コロニー）、ABPC 耐性株は 3 株（12～15 コロニー）、3 剤耐性株は 2 株（6～7 コロニー）、を用いて各々評価を行った。8 種類の抗生物質に対して耐性を示さない無耐性株については、その感受性に変化はなかった。しかし、ABPC のみに耐性を示した株では、二次処理水に添加してから 1、7 日後とも耐性を示さなくなった。これに対し、ABPC、TC、ST あるいは、ABPC、TC、KM の 3 剤に耐性を示した多剤耐性大腸菌は 1、7 日後ともに耐性を維持しており、多剤耐性株であるか否かの違いにより抗生物質に対する感受性に変化が見られた。二次処理水から採取した大腸菌を利用し、採水日は異なるが同じ二次処理水に添加し実験を行っており、抗生物質の濃度の変化は少ないため、その影響が感受性の変化に関与することはないと推定される。

表－3　各種耐性菌株の感受性の変化

		感受性試験結果	1日目	7日目
無耐性株	No. 1	－	（0／5）	（0／5）
	No. 2	－	（0／3）	（0／5）
	No. 3	－	（0／5）	（0／3）
	No. 4	－	（0／5）	（0／3）
ABPC耐性株	No. 1	ABPC耐性	（0／5）	（0／5）
	No. 2	ABPC耐性	（0／5）	（0／4）
	No. 3	ABPC耐性	（0／5）	（0／3）
3剤耐性株	No. 1	ABPC、TC、ST耐性	（2／2）	（4／4）
	No. 2	ABPC、TC、KM耐性	（4／4）	（3／3）

（　）内上段：耐性コロニー数、下段：供試コロニー数

３．１．４　塩素消毒耐性の評価

塩素消毒による抗生物質耐性大腸菌株の不活化結果について図－2 に示す。下水試料から採取した大腸菌株と薬剤感受性試験の精度管理に利用している大腸菌株（純粋株）を用いた結果である。図－2 は Ct 値と各大腸菌株の生残率の関係から回帰式を求め、3log 不活化のために必要な Ct 値を算出したものである。3log 不活化のための Ct 値は 0 剤耐性株では 4.0、5.2mg･min/L、6 剤耐性株では 5.7mg･min/L 必要であり、6 剤耐性株は 0 剤耐性株に比較して若干ではあるが塩素消毒耐性が大きい傾向が見られた。0 剤耐性株（純粋・野生大腸菌株）を基準とすると、6 剤耐性株を 3log 不活化させるために必要な Ct 値は 1.1～1.4 倍量が必要であると見込まれたが、接触時間や塩素の添加濃度を若干量増加させることで、下水処理場において対応が可能なレベルと考えられた。これらの結果から、塩素消毒による Ct 値を高めることで二次処理水中の多剤耐性大腸菌株を不活化させられる可能性が示された。

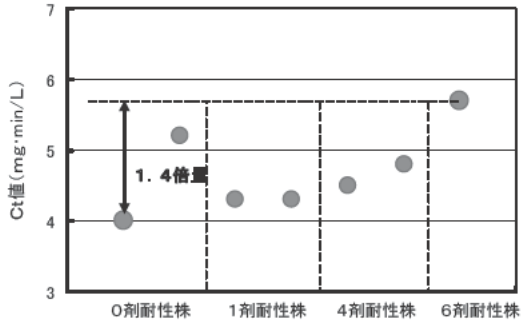
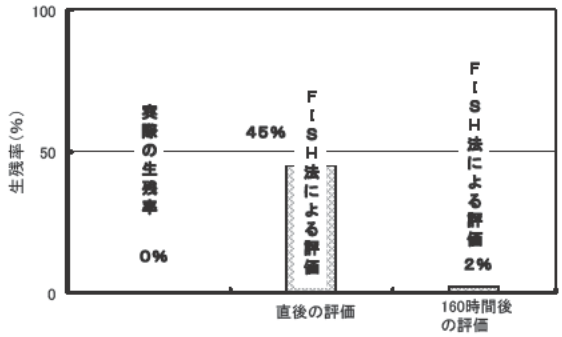


図-2 塩素消毒による3log不活化のためのCt値

３．２　分子生物学的手法を活用した感染能力を有する病原微生物の検出法の検討

３．２．１　FISH 法によるクリプトスポリジウムの感染能力の評価

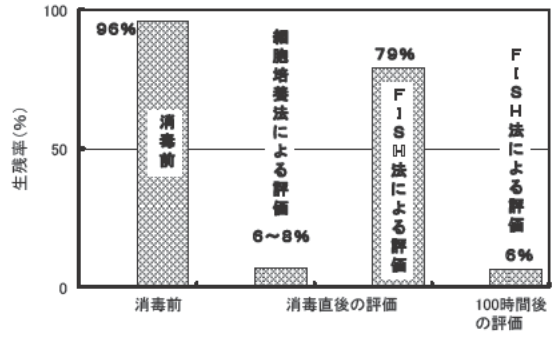
FISH 法によるクリプトスポリジウムの感染能力評価結果を図－3、4 に示す。図－3 はクリプトスポリジウムを完全不活化させた場合の評価として熱処理を行ったものである。各々の評価において、クリプトスポリジウムの蛍光像を約 100～300oocyst 観察した結果である。100℃･5 分間の熱処理を行ったことから、実際の生存率は 0%であるが、熱処理を行った直後における FISH 法の評価では、蛍光像の観察結果から見かけ上の生残率は 45%となり、実際の生残率とは乖離したものとなった。しかし、160 時間経過後に染色を行った評価では、蛍光状況から見かけ上の生残率が 2%となり、実際の生残率に極めて近似した値が得られた。



図－3　FISH法による生残率の評価（熱処理）

次いで、塩素消毒による生残率の評価結果を図－4 に示す。クリプトスポリジウムの蛍光像を約 50～250oocyst 観察した結果である。塩素消毒前の生残率は 96%と評価され、ほぼ全てのオーシストが感染能力を有しているものと考えられた。塩素消毒における Ct 値が 1,200～2,400mg･min/L の場合では、細胞培養法による評価で生残率は 6～8%であり、既存の報告値[13) 14)]とほぼ一致するものであった。FISH 法による消毒直後の評価では蛍光状況から見かけ上の生残率が 79%となり、細胞培養法の生残率と比較して乖離した値となった。しかし、100 時間経過後に染色を行った評価では、蛍光状況から生残率が 6%となり細胞培養法で得られた生残率とほぼ同一な結果が得られた。一定の時間を経過させることで、FISH 法は細胞培養法とほぼ同一な生残率の評価の可能性が示されたが、その要因については、標的遺伝子が細胞の不活化後に分解するとの報告[15)]もあるが研究事例も少ないことから、今後、解明する必要があると考えられた。

これらの実験結果から FISH 法では、不活化処理後に一定の時間を経過させることで適正な評価の可能性が示された。今後、上記要因の詳細な解明が必要ではあるが、FISH 法の適用により実験動物法や細胞培養法と比較して安価、簡易、迅速な評価が行える可能性が示された。

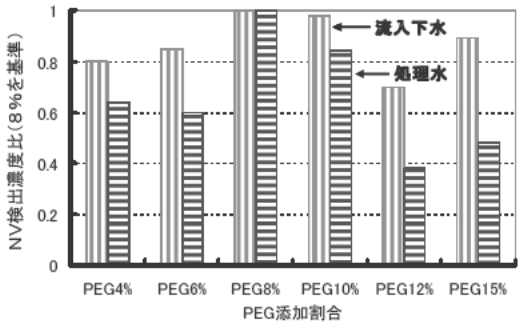


図－4　FISH法による生残率の評価（塩素消毒）

３．３ NV 感染能力推定手法の開発

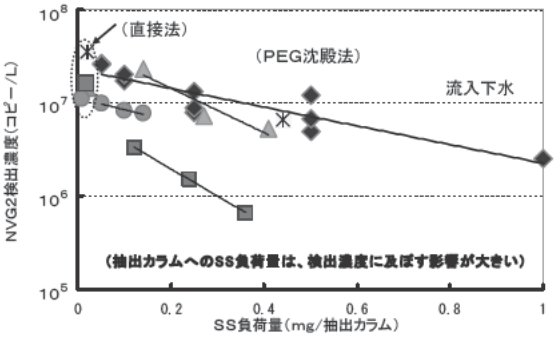
３．３．１ NV の検出濃度に及ぼす影響要因の解明

PEG 沈殿法による PEG 添加濃度の最適化の検討結果を図－5 に示す。流入下水、処理水とも終濃度の 8%で NVG2 の検出濃度比が最大となった。次いで 10%、6%の順となっており、水質性状として SS 濃度などの異なる試料でも同様な傾向が見られた。カキの中腸腺からの検出では 12%とすることで回収量が高いとの報告[2] もあり若干の違いがあった。検討対象試料が水と中腸線であり、試料の性状が異なるため若干の違いが現れたものと推定される。よって、通常の水試料を PEG 沈法で濃縮を行う際には、終濃度を 8%とすることで NV の検出濃度が最大になると考えられた。



図－5 PEG添加割合毎の検出濃度比

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



図－6 抽出カラムへのSS負荷量がNV検出濃度に及ぼす影響

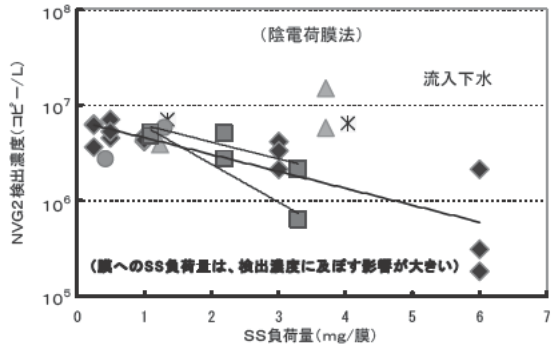
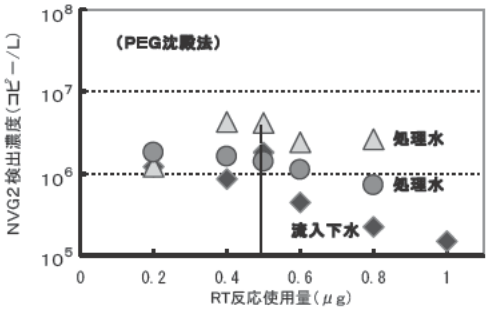


図-7 陰電荷膜へのSS負荷量がNV検出濃度に及ぼす影響

図－8 は、逆転写反応に用いる抽出 RNA 量の最適化の検討結果である。流入下水、処理水を PEG 沈殿法により濃縮した試料から抽出した RNA を 0.2～1.0μg の範囲内で逆転写反応させ cDNA を作成し、リアルタイム RT－PCR 法により NV 濃度を測定したものである。ほぼ全てのケースで逆転写反応に用いる抽出 RNA 量を 0.5μg とすることで最大検出濃度が得られた。一般に酵素反応は基質濃度の増加とともに反応速度が増加する

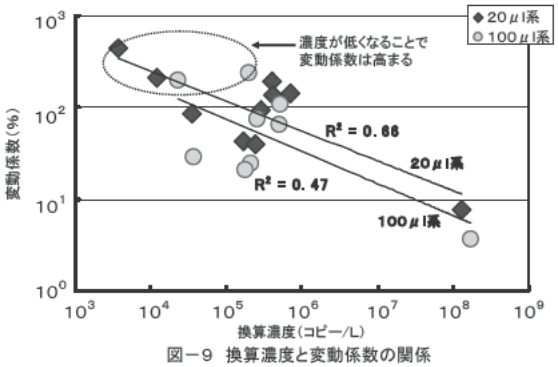


図－8 RT反応使用量の違いによる検出濃度

が、基質濃度が過剰になると反応速度は平衡に達し減少する。逆転写反応も逆転写酵素による酵素反応であるため同様の傾向を示したものと考えられた。なお、流入下水と処理水で検出濃度に逆転が生じているが、これは試料の採水日が異なるためである。

図－9 は試料中の NV 濃度が異なることで定量値へ及ぼす影響を実下水・河川水を用いて、多重測定により評価した結果である。n＝20（同一試料の同時・多重測定）において、今回の実験範囲内における PCR 実測平均値から求めた換算濃度と変動係数には相関関係が見られ、PCR 反応容量が 20μL 系と 100μL 系では同一試料での換算濃度に大差はないものの、全体的に 100μL 系では変動係数が低下する傾向が明らかとなった。同一試料を 20μL と 100μL 系で同時・多重測定を行うことで、変動係数などに及ぼす影響を評価したが、20μL を 100μL 系に変更することで PCR の実測値は高まるため、変動係数の低下に一定の効果があり、安定した定量値が得られることが明らかとなった。また、低濃度試料においては PCR の実測値の変動係数が大きくなるため、特に、極低濃度試料では PCR の実測値において N.D.の評価となる可能性が高まる。このため、極低濃度試料の測定においては極力分析水量を多くするための多重測定等の概念を取り入れることが必要と考えられた。多重測定を行うことで分析水量が増加するため検出限界値の低濃度化に繋がることから、N.D.と評価されたデータの信頼性が向上すると考えられる。

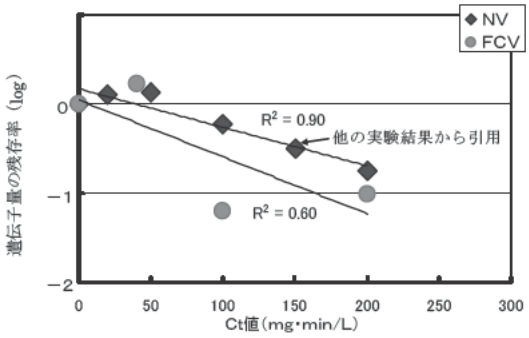
以上のことから、試料中のウイルス濃度が極めて低い環境水や消毒後処理水を測定する場合には、PCR の反応容量を増加、あるいは多重測定により分析水量を増加させ、安定した PCR 実測値を得る必要がある。



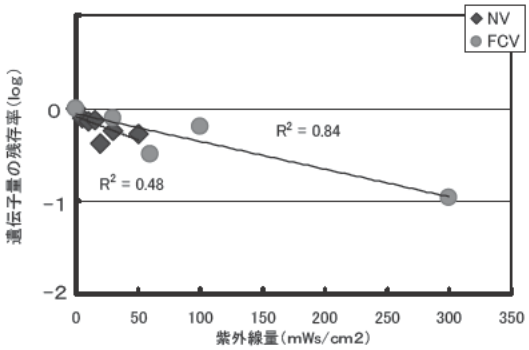
図－9 換算濃度と変動係数の関係

3．3．2 消毒によるネコカリシウイルス（FCV）と NV 遺伝子量の減少および FCV の不活化効果

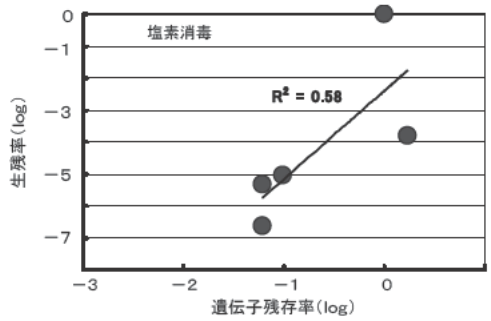
塩素、紫外線消毒による NV と FCV 遺伝子量の残存率の評価結果を図－10（一部、他の実験結果[16]を含む）、11 に示す。塩素消毒による Ct 値や紫外線照射量を高めることで、FCV の遺伝子量は減少傾向を示しており、Ct 値や紫外線照射量と遺伝子残存率には相関関係が見られ、消毒により NV と FCV の遺伝子の定量値が減少することが確認された。さらに、FCV の遺伝子残存率と生残率の関係について整理したものを図－12、13 に示すが、塩素消毒での Ct 値は 0～200mg・min/L、紫外線消毒では 0～60mWs/cm^{2}の範囲内のものである。遺伝子量の残存率と生残率の評価においては、Ct 値や紫外線照射量に若干の違いがあるとともに、データ数は限定されるが、ともに相関関係が示されており、1log 程度の遺伝子残存率となれば生残率は 5～7log 程度低下することが明らかとなった。FCV の不活化実験では、3log の不活化に必要な塩素消毒の Ct 値は 40～50mg・min/L、紫外線照射量においては 20mWs/cm^{2}程度であった（図－14、15）。同様の実験例でもほぼ同じ結果が得られている[17)18)]。塩素消毒の Ct 値や紫外線照射量を高めることで FCV の不活化効果が確認されたが、同じく代替指標としてのマウスノロウイルスを用いた塩素消毒の不活化評価結果では、Ct 値が 2mg・min./L 程度で 4log 以上との報告例がある[19)]。また、他の腸管系ウイルスとしてエコーウイルス、コクサッキーウイルス、ポリオウイルス、アデノウイルスを 3log 不活化させるための紫外線照射量は 20.5～27mW



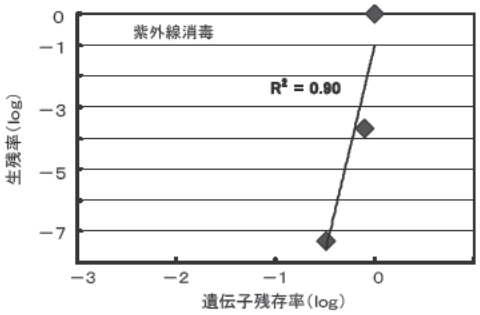
図－１０ 塩素消毒によるNVとFCV遺伝子残存率の関係



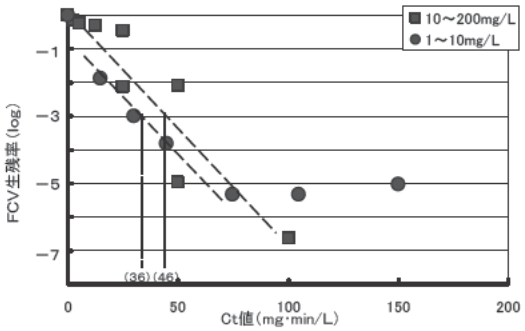
図－１１ 紫外線照射量とNV、FCV遺伝子残存率の関係



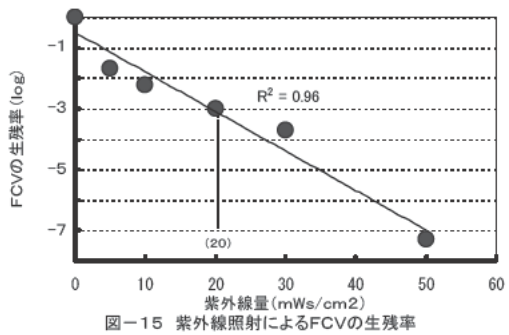
図－12 FCVの遺伝子残存率と生残率の関係



図－13 FCVの遺伝子残存率と生残率の関係



図－14 塩素消毒のCt値とFCVの生残率



図－15 紫外線照射によるFCVの生残率

s/cm^2、アデノウイルスは 119mWs/cm^{2}と報告されている[20]。このため、これら FCV や腸管系ウイルスの紫外線耐性はアデノウイルスを除けばほぼ同レベルであると推定される。

以上のことから、塩素、紫外線消毒により NV と FCV の遺伝子の定量値に影響を及ぼすことが確認されたことや、類似あるいは他の腸管系ウイルスの不活化評価事例から勘案すると NV の消毒耐性は、それら他のウイルスと大きく異なることは無いと推定される。この推定に基づけば、FCV の遺伝子残存率と生残率の関係から NV の不活化効果を推定することが可能である。一方、FCV や腸管系ウイルスの不活化効果を把握するためには、細胞培養法による評価となるため、大腸菌により培養が容易なファージを利用した評価手法についても検討する必要があろう。

4．まとめ

本研究では、平成 18～22 年度にかけ、微生物混在系における耐性遺伝子伝播特性や薬剤（抗生物質）耐性菌の消長と消毒耐性の評価、分子生物学的手法を活用した感染能力を有する病原微生物の検出法の検討、ノロウイルス感染能力推定手法の開発について、各項目を達成目標に掲げ実施した。以下に得られた結果を示す。

1）試験に供した全ての大腸菌株において耐性遺伝子が検出されたことから、処理水における多剤耐性株の割合の上昇は、耐性遺伝子の伝播が 1 つの要因であると考えられた。

2）二次処理水に添加した大腸菌株は、多剤耐性株であるか否かの違いにより抗生物質に対する感受性に変化が見られた。

3）塩素消毒による Ct 値を高めることで二次処理水中の多剤耐性大腸菌株を不活化させられる可能性が示されたが、水環境中での薬剤耐性菌の汚染やその拡大を防止するには、各種排水処理施設での消毒の徹底を図る必要があるものと考えられた。

4）FISH 法を適用することで、実験動物法や細胞培養法と比較して安価、簡易、迅速なクリプトスポリジウムの不活化評価が行える可能性が示された。

6）下水試料等から NV を検出する上で、検出濃度に及ぼす影響要因として濃縮法、遺伝子抽出、逆転写反応、PCR 実測値の各項目に着目し評価を行うことで、最適な測定条件を確立した。また、低濃度域試料に対応した検出手法を提案した。

7）FCV の遺伝子残存率と生残率の関係を NV に適用し、NV 遺伝子残存率から NV の不活化効果を推定する手法を提案した。

参考文献

1) 橋本一、井上松久編、病原菌の薬剤耐性、機構の解明とその対策、学会出版センター

2) Y.Messai, T.Benhassine, M.Naim, G.Paul and R.bakour

(2006) Prevalence of ß-lactams resistance among *Escherichia coli* Clinical isolates from a hospital in Algiers, Rev Esp Quimioterap, 19(2),144-151.

3) S.Corvec, N.Caroff, E.Espaze, J.Marraillac, H.Drugeon, A.Reynaud (2003) Comparison of two RT-PCR methods for quantifying *ampC* specific transcripts in *Escherichia coli* strains, FEMS Microbiology Letters, 228, 187-191.

4) C.RANDEGGER, H.HACHLER (2001) Real-Time PCR and Melting Curve Analysis for Reliable and Rapid Detection of SHV Extended-Spectrumß-Lactamases, ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, 1730-1736.

5) S.zhao, et al. (2003) Characterization of *Salmonella enterica* Serotype Newport Isolated from Humans and Food Animals, JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, 5366-5371.

6) 細菌感受性試験用、KB ディスク栄研手引き.

7) G.Vesey, N.Ashbolt, E.Fricker, D.Deere, K, Williams, D.Veal A and M.Dorsch (1998) The use of a ribosomal RNA targeted oligonucleotide probe for fluorescent labeling of viable Cryptosporidium parvum oocysts, J.Appl.Microbiol,85(3),429-440.

8) 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.

9) 国土交通省地域整備局下水道部・国土交通省国土技術政策総合研究所（2005）、下水処理水の再利用水質基準等マニュアル.

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

11) Duizer E, et al. (2004) Inactivation of caliciviruses, Applied and Environmental Microbiology, 70(8), 4538-4543.

12) 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.

13) (社) 日本水道協会、クリプトスポリジウムー解説と試験方法ー

14) (社) 日本水環境学会、第 51 回日本水環境学会セミナー(2000)、病原性微生物による水系感染症の現状と対策、講演要旨集.

15) 橋本温、森田重光、平田強 (2009)、FISH 法-蛍光抗体染色法を併用したクリプトスポリジウムの判別の容易化、水環境学会誌 32(5),267-272.

16) 平成 22 年度 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報告書（2011）、独立行政法人土木研究所.

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

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

19) 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.

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

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：リサイクルチーム
研究担当者：尾崎正明、岡本誠一郎、山下洋正、岸田秀、新井小百合、佐藤一行

〖要旨〗

本研究では、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を開発することを目的とした。発酵廃水の性状及び発生形態について調査を行い、UASB と後段好気処理、さらに嫌気性消化槽を組み合わせたシステムについて、実下水を用いた連続運転を行い処理性能とともに、砂ろ過による高度後処理の適用性について評価した。

その結果、発酵廃水・下水混合液の嫌気処理技術については想定される pH の変動やフェノールの流入に対応可能であり、UASB-嫌気性消化(AD)-活性汚泥処理(AS)システムは、夏季にはメタンガスの回収及び BOD の除去が確認できた。DHS 後段処理に砂ろ過を追加した場合は、低水温期に悪化した処理水に対しては砂ろ過の BOD 削減効果は限定的であり、運転条件の変更など他の対策の併用が必要であった。

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技術を開発する。

2. 研究方法

2. 1 発酵廃水・下水の混合排水処理の基礎技術の開発

(1)処理影響物質に対する処理の安定性

水処理に影響を与える可能性のある水質の下水として、下水道法等の法令の許容範囲で想定して、酸性排水（pH7.4 より pH5.0 へ段階的に低下）、アルカリ性（pH7.4 より pH9.1 へ段階的に上昇）、フェノール性排水(フェノール 5mg/L）がそれぞれ流入した場合の水処理安定性について、ラボスケールの実験装置（UASB 容量約 16L、DHS スポンジ容量約 4L）を用いて 20℃条件下で人工下水による連続運転を行い、実験的検討を行った。

(2)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及び UASB 汚泥発生量の制御に関する検討のため、UASB-DHS システム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。

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（Run0）の予備運転後に、36～109 日目（Run1）の運転を行い、110 日目以降（Run2）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. 2 発酵排水・下水の混合嫌気処理及び後処理の検討

UASB-DHS 砂ろ過システムの小規模パイロットプラント実験装置を製作して下水処理場に設置し、実下水を用いて自然の気温条件下で連続運転を行い、低水温、高負荷による処理性能低下時において、砂ろ過の追加による処理水質安定化の可能性について検討した。実験装置を図 2.2-1 に示す。

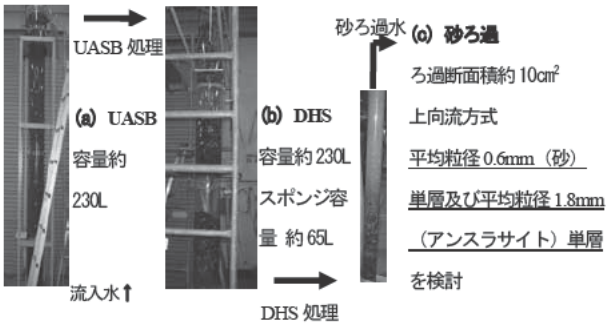


図 2.2-1　UASB-DHS-砂ろ過システム実験装置

2. 3　発酵廃水・下水の混合排水処理の実用化技術の開発

(1)実験方法

発酵廃水と下水一次処理水を UASB で共同嫌気処理する UASB-嫌気性消化(AD)システムの後段に好気処理の活性汚泥法(AS)を組み合わせる UASB-AD-AS システムの開発を行った。

実験は、実験系列（UASB-AD-AS）及び対照系列（標準活性汚泥法、AS）を各 1 系列ずつ用いて行った。対照系列では、標準活性汚泥法として最初沈殿池、エアレーションタンク、最終沈殿池を設置した。

実験系列では、最初沈殿池を設置せず、実験プラント（UASB 容量約 230L、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 8 週間運転した。負荷を等しく(HRT12 時間)し気温のみの差を確認するため、平成 22 年度に夏季に 1 ヶ月、冬季に 3 ヶ月同様に実験を行った。実験プラントの概要は図 2.3-1 に示すとおりである。

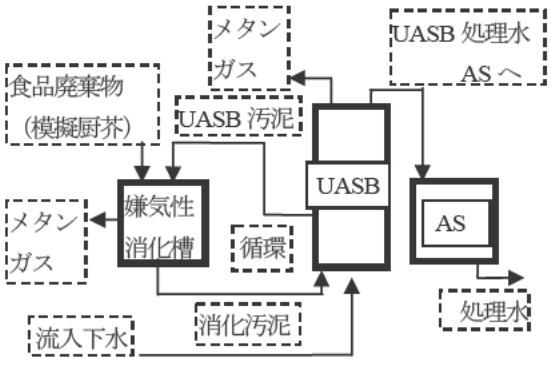


図-2.3-1　UASB-AD-AS システムの概要

最終沈殿池の余剰汚泥は消化槽に投入した。嫌気性消化槽に投入する余剰有機物として、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。

なお、平成 21 年度は流入下水の有機物濃度が低すぎたため、別途用意した生汚泥を連続的に混合して、実験に適した流入下水濃度に調整してから、実験系列及び対照系列に流入させた。

(2)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、ガス発生量及び CH_4 濃度等の分析を、下水試験方法に則って行った。

2. 4　処理方式のフィージビリティ・スタディー

(1)UASB-DHS システムの小規模処理場への適用性

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及び燃料費の割合を「平成 18 年度版下水道統計（(社)日本下水道協会）」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、汚泥発生量及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可能性を検討した。

(2)余剰有機物と都市排水の共同処理のコスト・エネルギー効率分析

余剰有機物と下水汚泥の共同処理技術のフィージビリティスタディ(FS)として、エネルギー効率及び経済性の観点から検討を行った。検討の基本条件は前年度と同様であり、下水汚泥の嫌気性消化施設及び下水処理施設については国土交通省等の資料[2),3)]を、食品廃棄物のメタン発酵施設については環境省資料[5)]をそれぞれ参照した。各資料の費用関数等の前提条件が異なっているため、FS に適用可能な部分を抽出した。

3. 結果及び考察

3. 1　発酵廃水・下水の混合排水処理の基礎技術の開発

(1)処理影響物質に対する処理の安定性

図 3.1-1 に示す通り、酸性側で pH5.0 まで、アルカリ性側で pH9.1 までのいずれの流入水質の場合も処理に深刻な影響は見られなかった。UASB の COD 除去率がやや低下した場合でも後段の DHS において十分な処理が行われ、トータルの処理性能に影響はなく、砂ろ過も不要であっ

た。また、フェノール性排水（フェノール 5mg/L）の流入による影響実験の結果については、排水の流入による処理影響はほとんど見られなかった。産業排水処理分野ではより高濃度のフェノールを含む排水の嫌気処理が実施されているが、それらは十分な馴致期間の確保あるいはフェノール処理に適した微生物の選択的利用等により実施されているのに対して、本実験では特にフェノールに馴致していない通常の下水生物処理においてフェノール性排水が突発的に流入した場合に、処理に深刻な影響が起こらないかを確認するためのものであったが、5mg/L 程度は許容範囲であると考えられた。

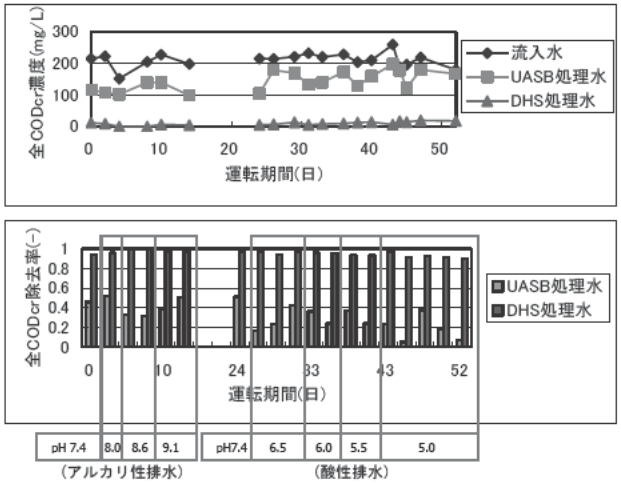
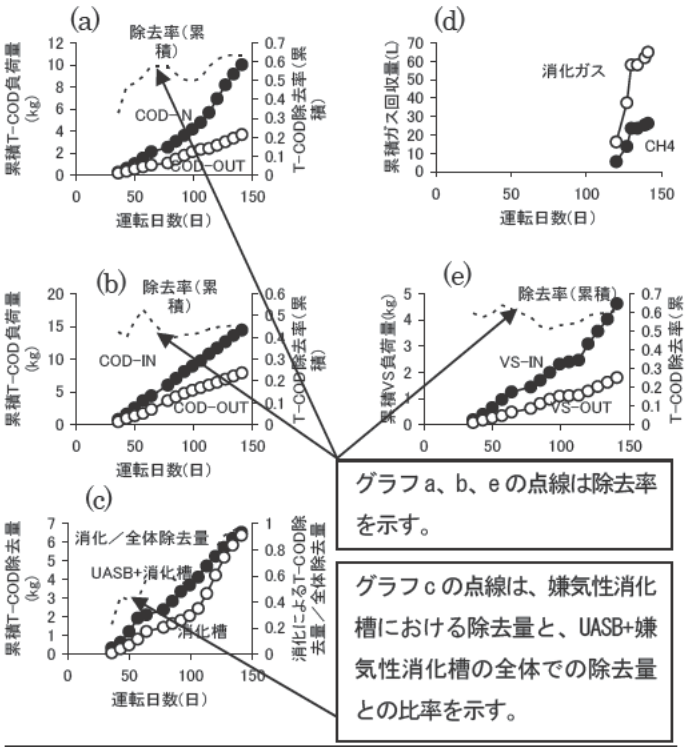


図 3.1-1　アルカリ性及び酸性排水の処理影響評価実験の結果



凡例は、COD-IN・COD-OUT：T-COD（全 CODcr）の累積流入量・流出量(kg)、VS-IN・VS-OUT：VS の累積流入量・流出量(kg)。グラフは、a:嫌気性消化槽 COD 除去、b:UASB+嫌気性消化槽 COD 除去、c:全体（UASB+嫌気性消化槽）に占める嫌気性消化槽 COD 除去割合、d:消化ガス回収量、e:嫌気性消化槽 VS 除去

図 3.1-2　高度処理対応型システムの UASB＋嫌気性消化槽部分における有機物処理特性

(2)嫌気処理におけるエネルギー回収効率の向上実験

運転が安定した Run1 及び Run2 について、T-COD（全 CODcr）、VS の除去及びメタンガス回収の状況を図 3.1-2 に、COD 物質収支を図 3.1-3 にそれぞれ示した。

水処理は、いずれの条件でも問題がなかった。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。

Run1 の UASB 汚泥循環率 0.5%、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 に汚泥が蓄積された。

Run2 で汚泥循環率を 2 倍にすると、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 汚泥が減少し、UASB＋嫌気性消化槽全体の COD 除去のほとんどが嫌気性消化槽でなされていた。

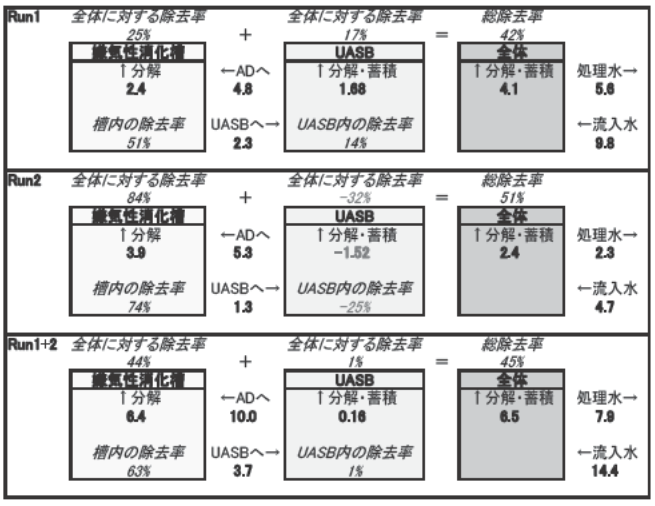


図 3.1-3　高度処理対応型システムの UASB＋嫌気性消化槽部分における有機物収支（全 CODcr(kg)及び除去率）

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%）及び嫌気性消化槽の SRT

（20 日）の間には、次の関係式（式 3.1-1）が成立する。

$$\frac{\text{UASBのHRT}}{\text{嫌気性消化汚泥のSRT}} \times \frac{\text{嫌気性消化槽の容積比}}{\text{汚泥循環率}} = 1 \quad \text{(式3.1-1)}$$

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。

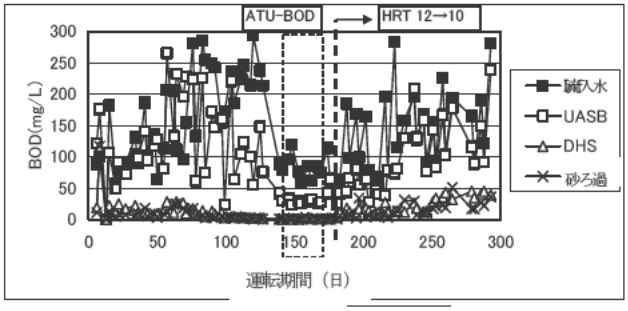
循環率が過大になると、UASB 汚泥が減少しすぎて水処理に影響が発生するおそれがあるとともに、汚泥循環等に要するエネルギーの増大を招くことから、流入水質、HRT、汚泥性状等を考慮して循環率を適切に設定することが重要である。

以上より、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であろう。

3. 2　発酵排水・下水の混合嫌気処理及び後処理の検討

処理水質の図 3.2-1 より、夏期の運転期間（7 月～9 月、88～176 日目）は高水温（流入水平均 25.9℃）かつ低負荷（HRT12 時間）の好条件であったため、UASB-DHS 処理水は常に BOD10mg/L 以下で BOD 除去率は平均 95%以上あり、砂ろ過（粒径 0.6mm）は不要であった。

冬期の運転期間（12 月～1 月、242～299 日目）は低水温（流入水平均 17.4℃）かつ高負荷（HRT10 時間）で夏期より悪条件に設定したため、UASB-DHS 処理水質は悪化し、砂ろ過（粒径 1.8mm）後でもほとんど常に BOD15mg/L 以上となった。DHS 処理水中の有機汚濁は溶解性の割合が高くなったため（全 CODcr の約 80%が溶解性）、砂ろ過では十分に除去されず、UASB-DHS-砂ろ過システムの BOD 除去率は 85%程度に低下した。SS は 40mg/L 以下に常に制御できたものの、BOD 除去についての砂ろ過の効果は限定的であった。



ATU-BOD で示す区間の BOD は、N-BOD を除外して C-BOD のみを測定した値である

図 3.2-1　UASB-DHS-砂ろ過システムの処理水質（BOD）

砂ろ過のろ材の違いの影響については、夏期が粒径 0.6mm の砂、冬期が粒径 1.8mm のアンスラサイトで単純比較は難しいが、冬期の DHS 処理水の水質悪化により、粒径 1.8mm でも砂ろ過ろ層の閉塞・圧力損失の急増等によるトラブルがしばしば発生しており、粒径が小さいとさらに閉塞しやすくなることから、可能な範囲で粒径が大きめのろ剤を選んだ方が運転管理が容易になると考えられた。

3. 3　発酵廃水・下水の混合排水処理の実用化技術の開発

(1)UASB-AD-AS システムの基礎検討

発酵廃水と下水一次処理水を UASB で共同嫌気処理する UASB-AD システムの後段に好気処理の活性汚泥法を組み合わせる UASB-AD-AS システムの検討を行った結果を以下に示す。

UASB での水処理について、T-BOD、T-COD 及び SS の経時変化を図 3.3-1～3.3-3 に示した。

主要な結果は以下の通りである。

①実験開始初期（day7～day14）には、実験系列（UASB-AD-AS）で、前段 UASB の流出汚泥（流入下水 SS のうち UASB で捕捉されなかったもの及び UASB の汚泥層から流出したもの）が後段 AS のエアレーションタンクで沈降して嫌気的性状を呈していた。沈降していた汚泥は、曝気強度を上げることにより、再度浮遊状態とすることができた。本実験のエアレーションタンクは、曝気撹拌方式であり、好気処理と同等の曝気強度では活性汚泥が沈降してしまっていたことから、UASB 流出汚泥は好気処理の活性汚泥と比較して沈降しやすいものと考えられた。

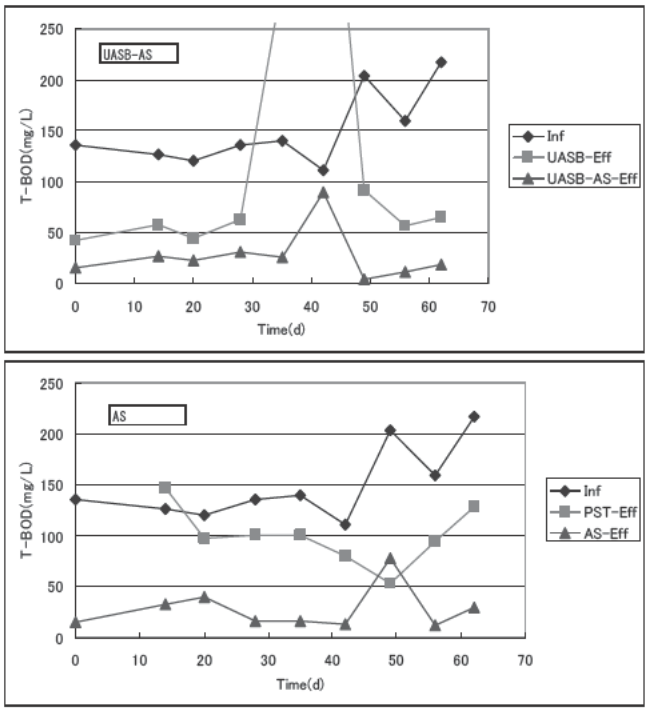


図 3.3-1　UASB-AD-AS システムの T-BOD 処理特性
（上図：実験系列（UASB-AD-AS）、Inf：流入下水、UASB-Eff：UASB 処理水、UASB-AS-Eff：AS 処理水、
下図：対照系列（AS）、Inf：流入下水、PST-Eff：最初沈殿池処理水、AS-Eff：AS 処理水、
上図の day35、day42 の UASB 処理水の値はそれぞれ 300mg/L、520mg/L）

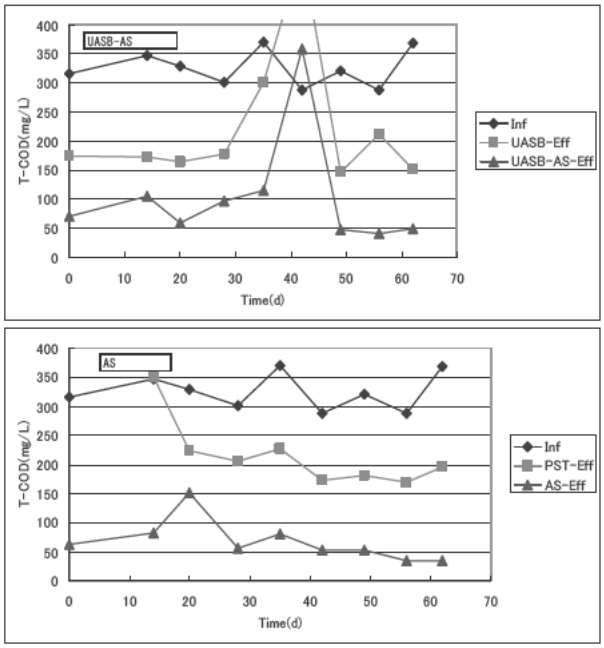


図 3.3-2　UASB-AD-AS システムの T-COD 処理特性
（図の凡例等については図 3.3-1 と同様、上図の day42 の UASB 処理水の値は 530mg/L）

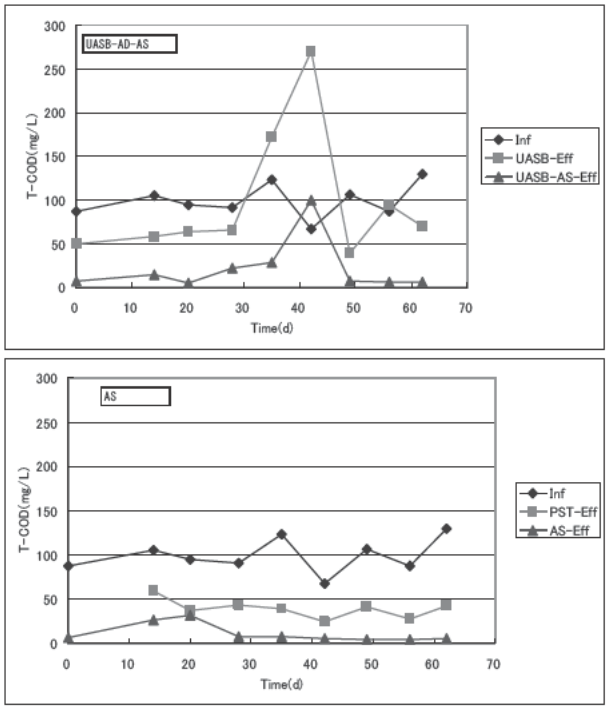


図 3.3-3　UASB-AD-AS システムの SS 処理特性
（図の凡例等については図 3.3-1 と同様）

②UASB からの汚泥流出量が一時的に増えて、AS に過大な負荷を与えて処理水質が悪化する場合が見られた。UASB の汚泥量が多く汚泥界面が上昇していたため、突発的な流出が起きていた可能性が考えられた。従って、UASB 汚泥量を適正に制御して AS への汚泥流出を抑制することにより、処理水質を安定化できる可能性が考えられた。

③これにより、実験系列（UASB-AD-AS）のエアレーションタンクに流入して沈降する UASB 汚泥を抑制し、活性汚泥の浮遊状態を保つのに必要な曝気量を対照系列（AS）よりも削減することで、本来の目的である消費エネルギーの削減ができ、UASB 導入のメリットが発揮できる可能性が考えられた。

④実験装置の不具合（最終沈殿池の動作不良）により、対照系列（AS）で T-BOD が 15mg/L を超えることが多く、標準活性汚泥法の一般的な水質とならなかったことから、実験系列（UASB-AD-AS）の処理水質を対照系列と比較して処理性能を検証することはできなかったが、実験装置の性能の範囲内では、実験系列（UASB-AD-AS）と対照系列（AS）の処理水質は大きな差は見られなかった。ただし、UASB からの汚泥の流出が大となった際には UASB-AD-AS システムの処理水質も悪化したため、UASB 汚泥の適正な制御が必要と考えられた。

(2)UASB-AD-AS システムの温度要因の検討

UASB での水処理について、T-BOD、メタンガス発生量及びエネルギー効率の経時変化を図 3.3-4～3.3-6 に示した。なお、発生電力量は次の関係式（式 3.3-1）が成立する。ここで、今回は下水汚泥からのメタン発酵のため、メタン発熱量=37,180(kJ/m3)、発電効率=0.25、電力換算=3600(kJ/kWh)を用いた[6)]。

発生電力量(kWh/d)=

$$\frac{\text{メタンガス発生量}(Nm^3)\times\text{メタン発熱量}(kJ/m^3)\times\text{発電効率}}{\text{電力換算}(kJ/kWh)}$$

・・・（式 3.3-1）

図3.3-4 より、夏季・冬季共に流入水質の変動が大きかったが、夏季の運転期間（6 月）は高水温（平均気温 24.0℃）であったため、UASB 出口水はほとんど BOD30mg/L 以下で BOD 除去率は平均 78%であった。冬季の運転期間（12 月～2 月）は低水温（平均気温 14.0℃）で夏季より悪条件になったため、UASB 処理水質は悪化し、ほとんど BOD100mg/L 以上となった。UASB の働きは夏季のほうが良好であったといえる。しかし、系列全体で比較すると実験系列・対照系列共に冬季の処理水の方が最終沈殿池が十分に機能して BOD は良好であった。なお、実験系列には夏季・冬季共に流入水中有機物負荷の約 15%相当の食品廃棄物＋下水汚泥（最初沈殿池）を消化槽に投入しており、実験系列の UASB 処理水が対照系列の処理水よりも BOD の値が小さいかほぼ等しくなっていた。系列全体で比較すると、夏季・冬季問わず BOD の除去に関しては UASB-AD-AS システムが対照系よりも BOD の除去量が高かったことが確認できた。

図 3.3-5 より、夏季、冬季共に 35℃の恒温条件で運転していた嫌気性消化槽から発生するメタンガス量は平均 20%弱であったが、外気温の影響を大きく受ける UASB から発生するメタンガス量は、高水温期（平均気温 24.0℃）は常に 35NL 以上で、低水温期（平均気温 14.0℃）にはほとんど発生しなかった。ガス発生量全体で比較すると UASB-AD-AS システム全体でのメタンガス発生量は UASB での発生が大きいため、高水温期は低水温期に比べて平均で約 3 培程度発生量が大きいことが確認できた。夏季と冬季の UASB の界面を比較しても、夏季の界面高さはずっと当初の界面高さとほとんど変わらなかったが、冬季は実験を進めるごとに 5m の UASB 容器からあふれることはなかったが、界面高さが上昇した。これは水温の低い冬季では UASB 中の汚泥に含まれる有機物がほとんど分解せず蓄積したためと考えられた。

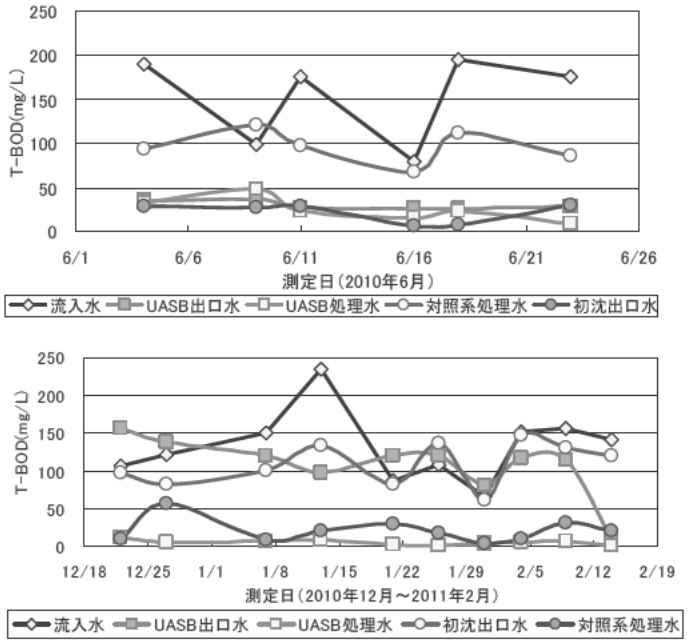


図 3.3-4　UASB-AD-AS システムの T-BOD 処理特性
（上図：夏季測定結果、下図：冬季測定結果
UASB 出口水：UASB 出口直後の水質
UASB 処理水：UASB、AS 後の水質）

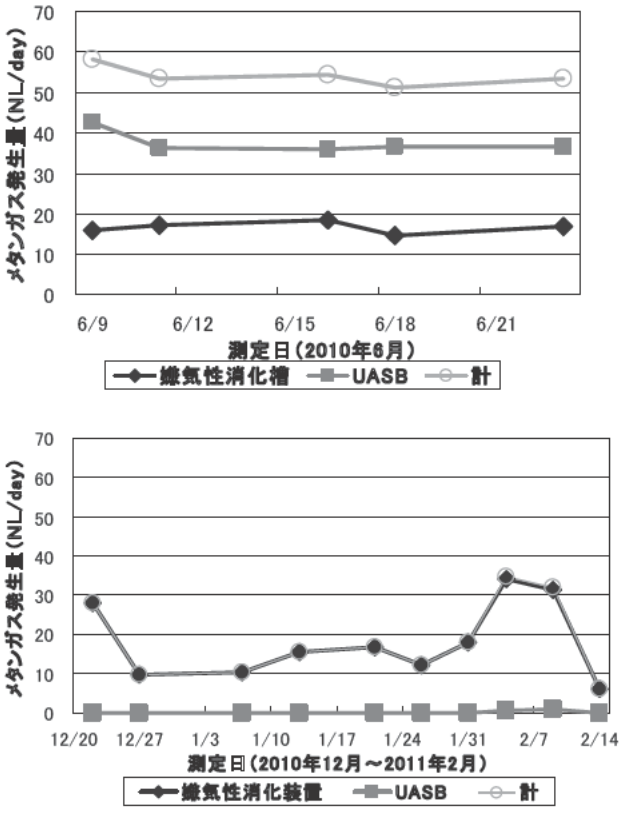


図 3.3-5　UASB-AD-AS システムのメタンガス発生量
（上図：夏季測定結果、下図：冬季測定結果）

3. 4　処理方式のフィージビリティ・スタディー

(1)UASB-DHS システムの小規模処理場への適用性

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及びエネルギー費の割合は維持管理費の約 25%であった。よって、UASB-DHS システムにより、エネルギー消費量及び汚泥発生量を 70%削減が見込めることから [8]、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 3.4-1 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、処理場の建設費及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 3.4-1 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 3.4-1　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、文献 [4] より）

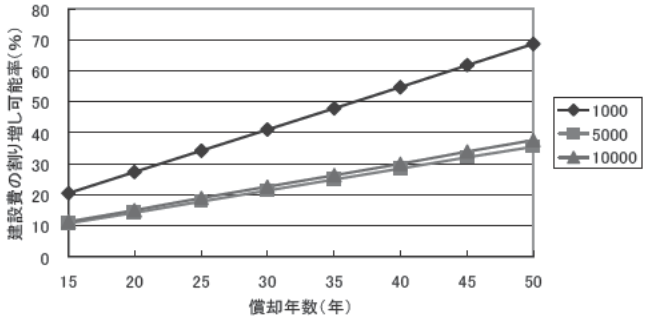


図 3.4-1　小規模下水道を想定したケーススタディにおける償却年数と建設費の関係

(2)余剰有機物と都市排水の共同処理のコスト・エネルギー効率分析

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

①エネルギー効率

嫌気処理・後段好気処理(活性汚泥処理以外の方式)を用いた発酵廃水処理における消費エネルギーは、無曝気・省エネルギー型次世代水資源循環技術の開発(NEDO 事業)で実証された結果をもとに標準活性汚泥法を用いた場合の 30%（70%減）[9]と設定し、メタン発酵によるエネルギー回収とあわせてエネルギー効率を検討した。流入下水量約 $60\times10^3 m^3$/d で下水汚泥 1,000t/d(TS1%換算)、食品廃棄物 20t/d(TS20%)を共同メタン発酵している場合を想定し、発酵廃水（脱水ろ液等として返流）の処理水量を 1040m^3/d と想定した場合、標準活性汚泥法では、曝気及び汚泥返送ポンプ等のエネルギー消費により約 18MWh/d の電力消費が水処理過程で必要となり、嫌気処理・高度後処理では 30%の約 5 5MWh/d の電力消費となる。一方、消化ガス発生量は 4,800Nm^3/d（CH_4 換算）と算出され、消化ガス発電の効率を 2.6KWh/ CH_4 Nm^3 とすると、発電によるエネルギー回収は約 12.4MWh/d であることから、嫌気処理・高度後処理を用いた発酵廃水処理に必要な電力約 5.4Mwh/d の約 2.3 倍に相当するエネルギーが消化ガス発電により自給可能であることが分かる。発酵廃水処理に標準活性汚泥法を用いた場合のエネルギー自給率は、AS プロセスの電力消費量が大きいことから、約 68%に止まっている。嫌気処理・後段好気処理(活性汚泥処理以外の方式)を用いることによりエネルギー自給率を約 4 倍に高めることが可能となり、エネルギー効率を大幅に向上させられることが分かる。

②経済性

余剰有機物として食品廃棄物をメタン発酵する場合と下水汚泥を嫌気性消化する場合を対象として、それぞれ単独で実施する場合と混合して共同メタン発酵を実施する場合の費用について検討した。発酵廃水処理は嫌気処理・高度後処理を用いるものとして、建設費は既往の活性汚泥法と同等と設定し、維持管理費のうち、電力費（燃料費）が 30%（70%減）になるとして費用の算出を行った。

検討条件は以下の通りである。食品廃棄物の単独メタン発酵の場合は、含水率 80%で収集し、前処理後に TS10%でメタン発酵し、ガス発電するものとした。発酵廃水は脱水し、固形分は埋め立て処分、排水は前処理後に下水道へ放流するものとした。施設規模としては、20t/d 及び 50t/d 処理（TS20%）の 2 通りの費用試算値 [5]を用いた。

下水汚泥の単独メタン発酵（嫌気性消化）の場合は、消化汚泥は脱水・埋め立て処分、返流水は下水処理場で処理するものとした。施設規模は、下水汚泥 1,000t/d 及び

5,000t/d 処理（TS1%換算）の 2 通りを想定した。

下水汚泥と食品廃棄物を混合して共同メタン発酵する場合は、表 3.4-2 に示す Case1～4 について、下水処理及び汚泥処理の費用関数をベースにして、食品廃棄物の受け入れによる処理量が増加するものとして試算した。

表 3.4-2 下水汚泥と食品廃棄物の共同メタン発酵の条件

	下水汚泥 (t/d, TS1%換算)	食品廃棄物 (t/d, TS20%)	食品廃棄物割合 (TSベース%)
Case1	1,000	50	50.0
Case2	1,000	20	28.6
Case3	5,000	50	16.7
Case4	5,000	20	7.4

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

年費用の試算結果は図 3.4-2 に示すとおりであり、Case2～4 では全シナリオで共同メタン発酵による費用削減効果が得られたが、Case1 ではシナリオ(c)以外では単独処理より割高となった。

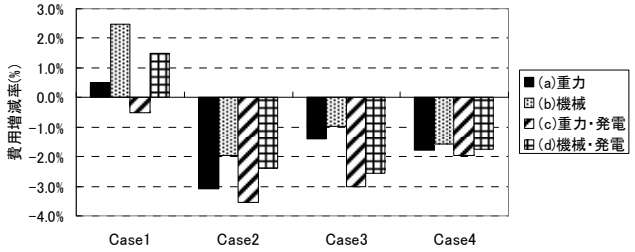


図 3.4-2 嫌気処理導入時の各シナリオの費用増減率（単独発酵ー排水嫌気処理をベース）

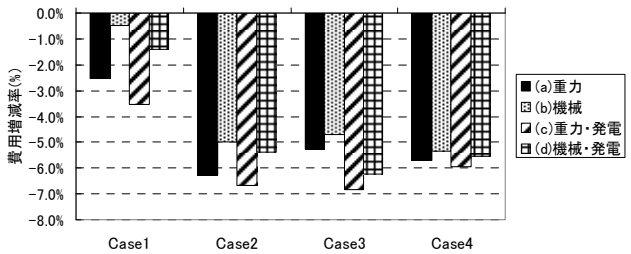


図 3.4-3 嫌気処理導入時の各シナリオの費用増減率（単独発酵ー排水標準法処理をベース）

この理由としては、食品廃棄物単独でのメタン発酵（TS10%程度）と比較して下水汚泥と混合する場合は低濃度（TS2～4%程度）となり容積効率が低下すること、食品廃棄物の混合割合が増えるほど影響が大になること、Case1 は下水汚泥の嫌気性消化施設としては中規模であるが Case3、4 よりは規模が小さく食品廃棄物の追加によるコスト増加率が高いこと等が考えられる。食品廃棄物の割合が高い場合でも共同処理による費用削減効果を得るためには、下水汚泥の嫌気性消化濃度を高める等の効率化が必要と考えられた。

また、発酵廃水処理に標準活性汚泥法を用いた場合について前年度に検討した結果と比較すると、嫌気処理・高度後処理を用いた方が全ての Case で経済性が向上していることが分かる。これは主として維持管理費（電力費・燃料費）の削減による効果と考えられる。

4. まとめ

本研究では、発酵廃水の性状及び発生形態について調査を行い、発酵廃水・下水共同処理技術、嫌気処理水の高度後処理技術を開発するため、UASB と嫌気性消化槽を組み合わせたシステムについて検討を行った。その結果、以下のことがわかった。

1) 処理に阻害をもたらすおそれのある水質への適応性調査では、下水で想定される pH5.0～9.1 の変動及びフェノール 5mg/L の流入に対応可能であった。低水温時の汚泥発生量抑制・エネルギー回収促進の検討では、嫌気性消化槽と汚泥循環させることで、汚泥発生量を抑制しエネルギー回収を促進できる可能性が示された。

2) DHS 後段処理に更に砂ろ過を追加した場合の適用性調査では、高水温期の処理水質は良好で安定、砂ろ過は不要だった。低水温期に処理水質を悪化させて、処理水中に溶解性有機物が多くなった場合の試験では、砂ろ過の BOD 削減効果は限定的であり、運転条件の変更など他の対策の併用が必要であった。

3) UASB-AD-AS システムに対して、夏季はメタンガスの発生及び BOD の除去が確認できたが、冬季は水温の低下のため、UASB のメタンガスの発生量及び BOD 除去量が著しく減少した。

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) 国土交通省都市・地域整備局下水道部：バイオソリッド利活用基本計画策定マニュアル，（社）日本下水道協会，2004.3

4) （社）日本下水道協会：効率的な汚泥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
5) 環境省：生ごみ等の３Ｒ・処理に関する検討会資料，2006
6) NEDO：新エネルギーガイドブック 2008、2008.3
7) Microbial activity in a combined UASB-activated sludge reactor system, J.S. Huang et al. Chemosphere, 61, pp.1032-1041, 2005
8) 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集、pp71-75、2007
9) 「無曝気・省エネルギー型次世代水資源循環技術の開発」事後評価報告書，http://www nedo.go.jp/content/100096827.pdf, http://www nedo go.jp/content/100096828.pdf

戦-9. LCA からみた公共緑地等バイオマスの資源利用システムに関する研究

研究予算：運営費交付金
研究期間：平 21～平 25
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、桜井健介、堀尾重人

【要旨】
地球温暖化対策等の観点から河川敷や道路植栽等の公共緑地等バイオマス利用の $LCCO_2$ による評価手法を確立し、それを踏まえ持続可能な保全・管理技術やシステムを開発する必要がある。$LCCO_2$ 評価手法の試行のため、草木廃材を特徴に基づき分類し、「除草・剪定」、「集草・収集」、「積込・運搬」の各プロセスの詳細を決定した。
キーワード：LCA、公共緑地、バイオマス、法面緑化、温室効果ガス

1. はじめに

「京都議定書目標達成計画」[1]では、2008 年から 2012 年の第 1 約束期間において、京都議定書の 6%削減約束を確実に達成することが求められている。加えて、平成 21 年 12 月には、2013 年以降の地球温暖化対策の国際枠組み（ポスト京都議定書）が協議された国連気候変動枠組み条約締約国会議(COP15）が開催され、「コペンハーゲン合意」[2]に留意することが決定された[3]。同合意では、世界全体としての長期目標として産業化以前からの気温上昇を 2 度以内に抑えることの他、附属書 I 国（先進国）は 2020 年の削減目標を、2010 年 1 月 31 日までに記載事項を提出すること等を含んでおり、日本は、削減目標を、「90 年比で言えば 25%削減、ただし、すべての主要国による公平かつ実効性のある国際枠組みの構築及び意欲的な目標の合意を前提とする」[4, 5]としている。また、2010 年 11 月 29 日から 12 月 10 日までメキシコのカンクンにおいて開催された COP16（気候変動枠組条約第 16 回締約国会議）、CMP6（京都議定書第 6 回締約国会合）が開催され、COP では、「コペンハーゲン合意」に基づく、2013 年以降の国際的な法的枠組みの基礎になり得る、包括的でバランスの取れた決定が採択された。その一部として、同合意の下に先進国及び途上国が提出した排出削減目標等を国連の文書としてまとめた上で、これらの目標等を COP として留意することとなった。これにより、我が国が目指す、全ての主要排出国が参加する公平かつ実効的な国際枠組みの構築に向けて交渉を前進させることとなった[6]。しかし、2008 年度における日本の温室効果ガスの総排出量は 12 億 8,600 万 t-CO2 であり、2007 年度の排出量に比べ 6.4%減少したものの、依然として京都議定書の基準年総排出量を 1.6%上回っている[7]。

また、「バイオマス・ニッポン総合戦略」[8]において、地球温暖化の防止、循環型社会の形成、競争力のある新たな戦略点産業の育成などの観点からエネルギーや製品としてバイオマスを総合的に最大限利活用し、持続的に発展可能な社会をできる限り早期に実現することが強く求められている。

一方で、道路、河川、公園、ダムなどの管理のため、毎年定期的に広大な緑地の雑草の除草や多くの樹木の剪定、流木の回収などが行われている。例えば、全国の道路緑化樹木の本数は、2007 年時点で、高木 667 万本、中低木 16,153 万本が存在している[9]。国土交通省の 109 国道事務所、102 河川事務所、17 公園事務所、25 ダム事務所に対して実施したアンケート結果によればこれらの刈草は、熱量換算すると 3.1PJ/年、剪定枝葉は 0.17PJ/年相当と推算されている[10]。また、国内の 199 ダムからは、概算で 230TJ/年相当の流木が発生している[11]。一般に、バイオマスは広く、薄く存在している上、水分含有量が多い、かさばる等の扱いづらいという特性のために収集が困難であることが、十分に活用されていない原因の一つである[8]。しかし、道路、河川、公園、ダムなどの管理で発生するバイオマス（以下、公共緑地等バイオマスと呼ぶ）は、日ごろより草木が除草・剪定され、収集されており、比較的利用しやすいバイオマスと考えられ、有効利用が期待される。

そこで、本研究では、公共緑地等バイオマスを資源として位置づけ、恒久的に利用していくための保全・管理技術やシステムを提示することを目的とする。提示にあたっては、$LCCO_2$ による公共緑地等バイオマス利用の評価手法を確立し、それを踏まえ、公共緑地等バイオマス

の資源管理手法の提案することを目標とする。

2. 公共緑地等バイオマスの有効利用および処分時の $LCCO_2$ 評価の試行

$LCCO_2$ による公共緑地等バイオマス利用の評価手法の確立のため、公共緑地等バイオマスの有効利用または処分方法の各種シナリオについて $LCCO_2$ を試算する。平成 21 年度は、公共緑地の草木廃材の発生及び利用・処分の現状について調査し、$LCCO_2$ 評価の目的および調査範囲の設定を行った。対象とするシステムは、除草される時点の刈草が安定的に処分されるまででとした。このシステムを「除草・剪定」、「集草・収集」、「積込・運搬」、「利用及び処分」の 4 つのプロセスに区切ることとした。「利用及び処分」は、表-1 とした。現状で使われている清掃工場および堆肥化施設、バイオマスボイラー保有施設に加え、今後利用される可能性のある開発中の方法 2 種（石炭火力発電所[12),13),14)]、下水処理場[15),16)]）とした。各システムの境界は、図-1～5 のとおり設定した。

平成 22 年度は、草木廃材を特徴に基づき分類し、「除草・剪定」、「集草・収集」、「積込・運搬」の各プロセスの詳細を決定した。

表-1　設定した利用及び処分方法

記号	搬送先	バイオマス変換方法	発生する有用物
A	清掃工場	燃焼	（無し）
B	ボイラー保有施設	燃焼	熱
C	石炭火力発電所	燃焼	電気
D	下水処理場	メタン発酵	メタンガス
E	堆肥化施設	堆肥化	堆肥

＊清掃工場は、発電および熱利用施設を持つ場合を想定し、それらは場内での必要エネルギーを補うのにのみ使われ、場外で利用可能なエネルギーは無いことから、発生する有用物は無しとした。

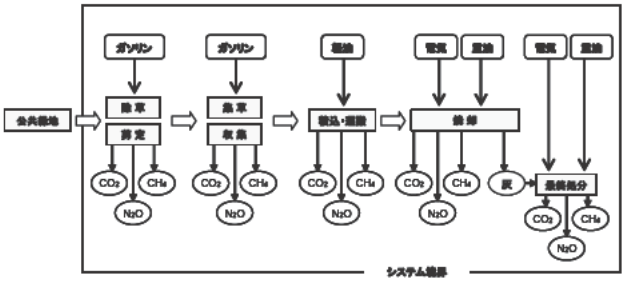


図-1 システム A（清掃工場）の境界

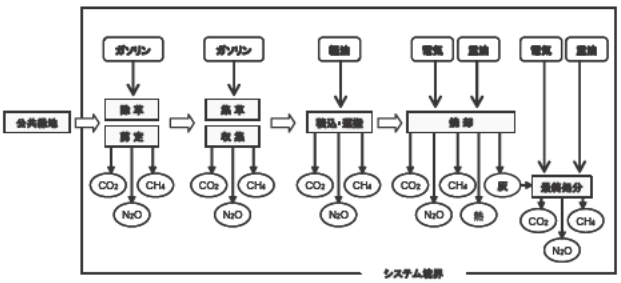


図-2　システム B（ボイラー保有施設）の境界

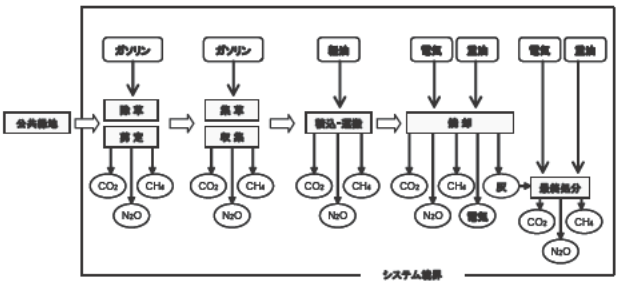


図-3　システム C（石炭火力発電所）の境界

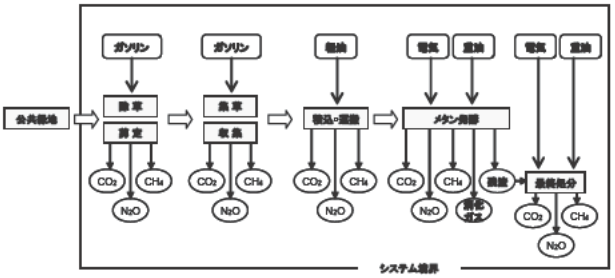


図-4　システム D（下水処理場）の境界

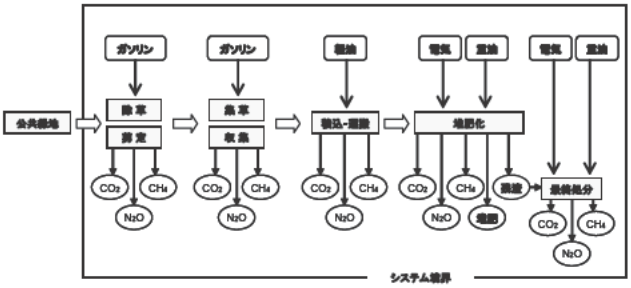


図-5　システム E（堆肥化施設）の境界

2. 1　草木廃材の分類

草木廃材は、それらの含水率や熱量の差異から、草本類と木本類に分けることとした。草本類は、「即日回収した刈草」、「2 日以上乾燥させて回収した刈草」で分類することとした。剪定枝は、道路事業からの発生が主であり、乾燥を行う場所の確保が困難であり、乾燥されないと考えられるため、即日収集のみとした。それぞれの含水率及び強熱減量は文献[19),20)]のデータより、表-2 のとおり計算された。なお、刈草の値は、文献[19)]では河川事業

で発生した草木廃材の値が採取されたが、河川事業で発生する草木廃材のほとんどが草本類であるため、上記の値を用いることとした。また、刈草（2 日以上乾燥）の値は、数日間存置させるなどして乾燥後に回収させた場合の値を用いることとした。

表-2　各草木廃材の含水率および強熱減量

施工場所	含水率 (%-全重量)	強熱減量 (%-乾燥重量)	参考文献
刈草（即日回収）	58.6±20.3	88.8±4.4	15)
刈草（2日以上乾燥）	26.6±19.1		
剪定枝	60.9±5.7	89.8±6.2	16)

＊表中の数値は、平均値±標準偏差を示す。

2. 2　『除草・剪定』、『集草・収集』、『積込・運搬』プロセスの種類

草本類の「除草」は、文献[19),20),21)]を参考にすることとし、「道路」、「河川」、「公園」に分けることとした。除草の方法は、文献[19),20)]より、表-3 の方法がありうる。なお、飛び石防護とは、道路脇除草の際、除草時に小石やビンなどの異物が飛び散る場合があるので、これを防止するためシートやベニヤ板で飛散防止対策を行ない、人や車等に当たらないよう対策することである。

表-3　各施工場所における除草方法の種類

施工場所	除草の種類
道路	人力
	肩掛式（飛び石防護有り）
	肩掛式（飛び石防護無し）
河川	ハンドガイド式（刈幅150cm）
	人力
	肩掛式
	ハンドガイド式（刈幅95cm）
	ハンドガイド式（刈幅150cm）
	大型自走機（ロングリーチ式）
	遠隔操縦式（刈幅120cm）
	遠隔操縦式（刈幅185cm）
	大型自走機（履帯式）
公園	人力
	肩掛式
	ハンドガイド式（刈幅95cm）
	ハンドガイド式（刈幅150cm）

木本類の「剪定」は、同様に、「道路」、「河川」、「公園」に分けることとした。樹木の分類、選定方法の剪定の方法は、文献[18),19)]より、表-4 の方法がありうる。なお、樹木の種類の玉物とは樹木数本を寄植して、球形に仕立てているものである。

表-4　各施工場所における樹木の種類と剪定方法の種類

施工場所	樹木の種類	除草の種類
道路	高木	人力
	中低木 単独物	人力
	中低木 寄植え	人力
河川	高木	人力
	中低木 単独物	人力
	中低木 寄植え	人力
公園	高中木 基本剪定	人力
	高中木 軽剪定	人力
	低木 寄植	人力
		機械刈（バリカン式刈込機1.2ps）
	低木 玉物	人力
	生垣	人力
		機械刈（バリカン式刈込機1.2ps）

草本類の「集草」については、文献[19),20)]より、「道路」、「河川」、「公園」のいずれも「人力」および「集草機ハンドガイド式（集草幅 160cm）」があった。また、木本類の「収集」については、「剪定」を含めて取り扱われていた。

「積込」については、草本類・木本類の区別は無く、人力として取り扱われていた。「運搬」については、文献[19),21)]より、表-5 の種類が取り扱われていた。

表-5　各施工場所における運搬の種類

施工場所	運搬の種類
道路	トラック2t
	パッカー車4m^3
道路	トラック2t
	パッカー車8m^3
公園	トラック2t

「除草・剪定」、「集草・収集」、「積込・運搬」については、以上の方法を基に原単位を設定することとした。さらに、「利用及び処分」については、既存モデルの比較及び精査、実施設ヒアリングを行った。今後は、「利用及び処分」についても原単位を作成し、フィールドを設定し、評価の試行を実施する予定である。

参考文献

1) 京都議定書目標達成計画、閣議決定、平成 17 年 4 月 28 日 策定、平成 20 年 3 月 28 日全部改定

2) UNFCCC, Copenhagen Accord , http://unfccc.int/resource/docs/2009/cop15/eng/l07.pdf

3) 環境省、報道発表資料「気候変動枠組条約第 15 回締約国会議（COP15）及び京都議定書第 5 回締約国会合（COP/MOP5）の結果について（お知らせ）」、平成 21 年 12 月 21 日、http://www.env.go.jp/press/press.php?serial=11933

4) UNFCCC, Appendix I - Quantified economy wide emissions targets for 2020, http://unfccc.int/files/meetings/application/pdf/japancphaccord_app1.pdf

5) 環境省、報道発表資料「コペンハーゲン合意への賛同・排出削減目標の提出について（お知らせ）」、平成 22 年 1 月 26 日、http://www.env.go.jp/press/press.php?serial=12036

6）環境省報道発表資料　気候変動枠組条約第 16 回締約国会議（COP 16）及び京都議定書第 6 回締約国会合（COP/MOP6）の結果について（お知らせ）平成 22 年 12 月 13 日　http://www.env.go.jp/press/press.php?serial=13255

7) 環境省 HP　2008 年度（平成 20 年度）の温室効果ガス排出量（確定値）について http://www.env go.jp/earth/ondanka/ghg/2008ghg.pdf

8) バイオマス・ニッポン総合戦略、平成 18 年 3 月 31 日閣議決定

9) 国土交通省国土技術政策総合研究所：わが国の街路樹　IV、国土技術政策総合研究所資料　No.506、2009.

10) 独立行政法人土木研究所：公共事業由来バイオマスの資源化・利用技術に関する研究、平成 20 年度下水道関係調査研究年次報告書集、土木研究所資料 4157 号、2009.

11) 牧孝憲、高橋正人、落修一、三宅且仁、尾崎正明：全国のダム流木発生量調査、土木学会論文集 G、Vol.63 No.1、22-29、2007.1.

12) 関肖、一般国道 298 号（東京外かく環状道路）環境施設帯緑地の維持管理について、平成 21 年度国土交通省国土技術研究会、2009.

13) 杉谷敏夫、吉良雅治、大木良典、RPS 法（新エネ利用促進法）への当社の取組み、三菱重工技報,Vol.40,No.4,2003.

14) 財団法人地球環境産業技術研究機構東京中央研究室、木質系バイオマスの石炭火力発電所への混燃技術の開発、2005.

15) 落 修一、尾崎 正明、干草と下水汚泥の中温・混合嫌気性消化法、土木学会論文集、Vol.2005,No.804,VII-37,2005.

16) 落修一、南山瑞彦、鈴木穣、越智崇：木質に蒸煮・爆砕を施すことによる木質と下水汚泥との混合・嫌気性消化法に関する研究,下水道協会誌、vol.41、No.498、pp 97-107、2004

17) 独立行政法人土木研究所: 公共緑地・樹木の管理に由来する草木系バイオマスデータ集、土木研究所資料第 4145 号、2009.

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

19) 財団法人日本建設情報総合センター：土木工事標準積算基準書（河川・道路編）、財団法人建設物価調査会発行、2009

20) 公園緑地維持管理研究会：公園・緑地の維持管理と積算、財団法人経済調査会発行、1991

21) 風間伸造:造園修景積算マニュアル、財団法人建設物価調査会発行、1993

戦-10 下水中の栄養塩を活用した資源回収・生産システムに関する研究

研究予算：運営費交付金
研究期間：平 21～平 25
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、桜井健介、
堀尾重人、佐藤一行

【要旨】
下水処理場の環境を利用した資源回収・生産手法の確立に向け、「効果的な栄養塩分離技術の開発」、「電気分解による下水汚泥からの有用資源回収」、「下水汚泥焼却灰施肥時の長期的な安全性評価」、「下水中の栄養塩を活用した藻類の培養」、「藻類を用いたメタン発酵の可能性の検討」を行った。「下水中の栄養塩を活用した藻類の培養」では、下水処理水のみを藻類培養に用いたところ、藻類の培養が可能で、種が流速や培養日数により異なることが確認された。また、「電気分解による下水汚泥からの有用資源回収」では、濃度の異なる汚泥に生成物に与える影響を調査した。「藻類を用いたメタン発酵の可能性の検討」では、下水処理水で培養された藻類が下水汚泥とともにメタン発酵がすることが確認された。
キーワード：下水処理、栄養塩、電解処理法、肥料化、藻類培養

1. はじめに

世界的な食料増産・バイオマス生産のため、肥料用鉱石が戦略物資と産出国で位置づけられ、安定的な肥料の確保が食料安全保障と関連して国家的な課題となってきている。下水汚泥中には食品残渣並びにその代謝物として高濃度の栄養塩が存在しており、これらを回収して資源利用する手法を検討する必要がある。また、下水処理水中の低濃度の栄養塩についても、除去することで放流先の公共水域の水質改善につながることから、極力有効利用することが望ましいと考えられる。さらに、利用の際には、安全性を確認する方法も必要である。これらの達成に向け、平成 22 年度は、「効果的な栄養塩分離技術の開発」、「電気分解による下水汚泥からの有用資源回収」、「下水汚泥焼却灰施肥時の長期的な安全性評価」、「下水中の栄養塩を活用した藻類の培養」、「藻類を用いたメタン発酵の可能性の検討」を行った。

2. 効果的な栄養塩の分離技術開発

下水処理場において水処理系プロセスから除去された汚泥は有機分が多く含まれ、エネルギー資源としての価値が見直されてきている。また、汚泥中にはリン等の栄養塩が豊富に含まれている。汚泥処理プロセスは濃縮、消化、脱水、焼却等の各工程を経て汚泥の減量化や資源化を行っていくプロセスである。濃縮は汚泥処理プロセスの始めに位置するため、濃縮の効率化によって汚泥処理設備規模の縮減や運転経費の低減が可能となる。そこで、重力濃縮槽の機能改善技術である「みずみち棒」のさらなる効果向上に資するため、重力濃縮槽における濃縮濃度向上の機構に関する実験を行った[1)]。

2. 1 実験方法

実験は重力濃縮槽内で汚泥が沈降していく状況を把握するために小型の水槽を使用して行った回分試験とみずみち棒の効果を確認するために大型の水槽で行った回分試験の 2 通り行った。

図 2.1 に φ167mm 実験水槽を示す。汚泥が沈降していく状況を把握するための実験は φ167mm 深さ 300mm の水槽に汚泥を 250mm の深さまで投入し、20℃の恒温室で回分試験を行った。みずみち棒は φ18×1 本、0.86min^{-1} という条件で運転した。供試汚泥は実際の下水処理場から採取してきた OD 法の余剰汚泥（TS≒20g/L）を水道水で希釈し、濃度の調整をした。沈降の様子は 10 分毎にデジタルカメラの自動撮影により記録した。汚泥濃度は、ピペットを使用して各高さの汚泥を採取し、下水試験方法に基づいて TS を測定した。

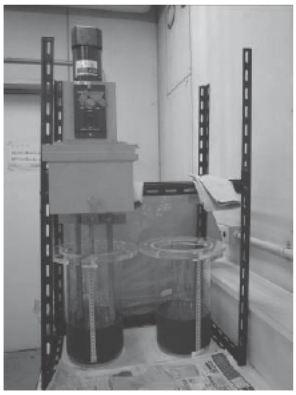


図 2.1　φ167mm 実験水槽



図 2.2　φ600mm 実験水槽

図 2.2 に φ600mm 実験水槽を示す。みずみち棒の効果を確認する実験は平成 22 年 7～8 月にかけて土木研究所内の水質実験施設で行った。みずみち棒は φ18、32mm、0.05～1min^{-1} の間の条件で運転した。供試汚泥は OD 法の余剰汚泥（TS≒20g/L）を実際の処理場から採取し水道水で希釈して濃度の調整をした。汚泥を充分に攪拌した後、24hr の回分試験で沈降の様子を 30 分毎にデジタルカメラの自動撮影により記録した。底部の汚泥濃度計測は水槽側面の引き抜き栓から汚泥を引き抜き、下水試験方法に基づいて TS を計測した。

2. 2　結果

2. 2. 1　初期汚泥濃度と初期沈降速度

φ167mm の実験水槽を用いた初期汚泥濃度の違いによる沈降曲線を図 2.3 に、初期沈降速度と初期汚泥濃度を図2.4 に示す。初期汚泥濃度 4.7g/L、6.4g/L、8.8g/L の場合を比較すると、初期汚泥濃度が高いほど沈降は遅く、初期汚泥濃度が低いほど沈降は速くなった。初期沈降速度の算出は沈降曲線から等速沈降が終了したと確認できる時間までの回帰直線を算出し、その傾きを初期沈降速度とした。初期濃度が低くなるに従い初期沈降速度は速くなることが

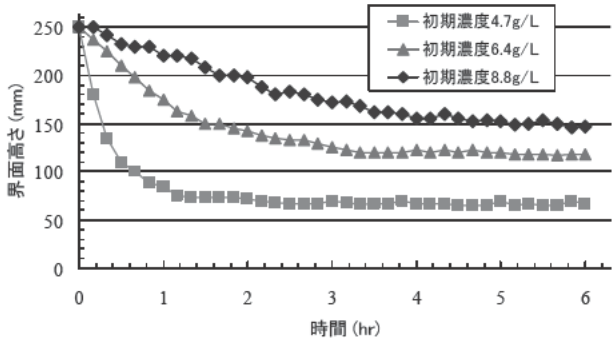


図 2.3　初期汚泥濃度の違いによる沈降曲線

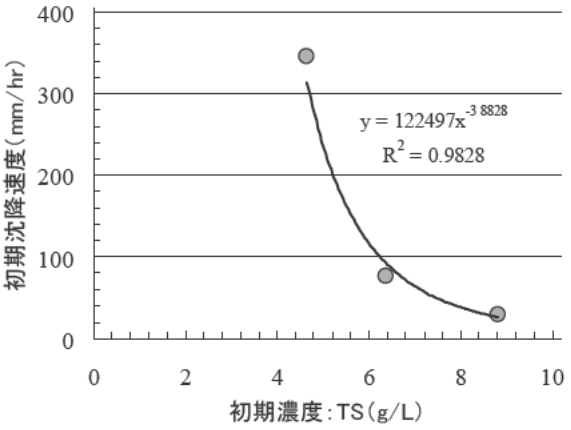


図 2.4　初期沈降速度と初期汚泥濃度

確認できた。また、初期沈降速度は初期濃度の累乗で近似出来ることが示された。

2. 2. 2　汚泥層内の濃度分布

φ167mm の実験水槽で初期汚泥濃度 6.28g/L の場合について、図 2.5 に 24hr 回分試験における沈降曲線、図 2.6 に各経過時間の界面高さと汚泥濃度を示す。沈降曲線の結果から 1hr 後には等速沈降はほぼ終了しており、3hr 以降界面高さはほとんど低下していない。汚泥層内の濃度分布は、0hr 時に 6.28g/L で均一であった濃度分布が 3hr 後には上澄水と沈澱した汚泥に分かれ界面付近の汚泥濃度が 7.1g/L、底部汚泥濃度は 12.6g/L であった。6hr 後には界面付近の汚泥濃度が 8.4g/L、底部汚泥濃度は 13.9g/L となり、24hr 後には界面付近濃度が 9.7g/L、底部の汚泥濃度は 14.2g/L となった。

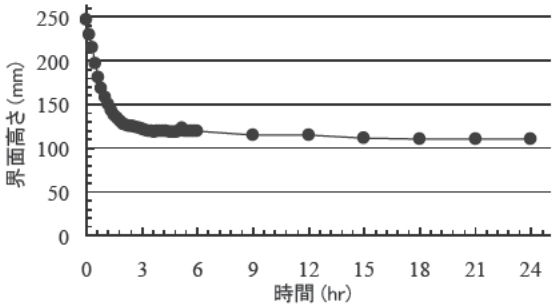


図 2.5　24hr 回分試験における沈降曲線

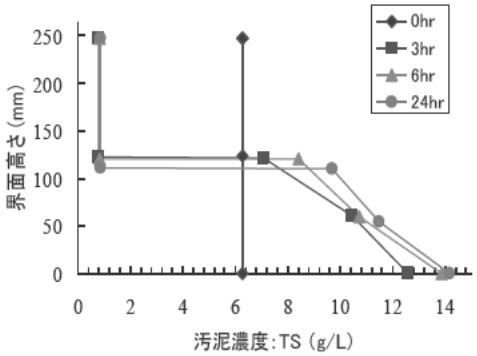


図 2.6　各経過時間の汚泥層内の汚泥分布

2. 2. 3　みずみち棒の効果

みずみち棒の存在に伴う沈降曲線と底部濃度の変化を比較するため、φ600mm の水槽で実験を行った。図 2.7 に初期汚泥濃度 4.0g/L の場合の沈降曲線と底部汚泥濃度、図 2.8 に初期汚泥濃度 10g/L の場合の沈降曲線と底部汚泥濃度を示す。初期汚泥濃度 4.0g/L では、実験開始直後から汚泥界面高さの沈降速度が速く、みずみち棒ありの方が棒なしに比べてわずかに沈降速度が早かった。沈降は 10hr 程度で落ち着き、実験開始 24hr ではどちらも 17cm となった。底部汚泥濃度は実験開始から 6hr まではみずみち棒ありの方が濃度が高く 17g/L を示したが、その後濃度は低下した。初期汚泥濃度 10g/L では、汚泥界面高さの沈降速度が遅く、棒なしの場合は界面低下がごくわずかであるが、みずみち棒ありの場合はみずみち棒なしに比べて沈降速度が速かった。底部汚泥濃度もみずみち棒なしの場合は変化がごくわずかであるのに対して、みずみち棒ありの場合はみずみち棒なしに比べて底部汚泥濃度は高く、界面高さと底部汚泥濃度が同じような変化を示した。

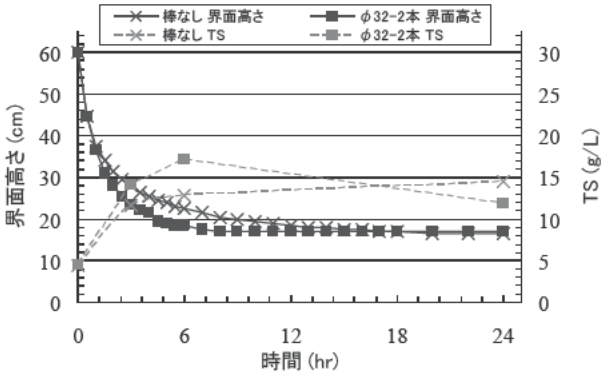


図 2.7　沈降曲線と底部濃度（初期汚泥濃度 4.0g/L）

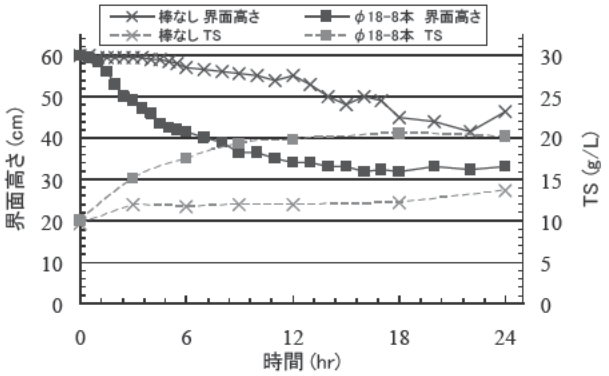


図 2.8　沈降曲線と底部濃度（初期汚泥濃度 10g/L）

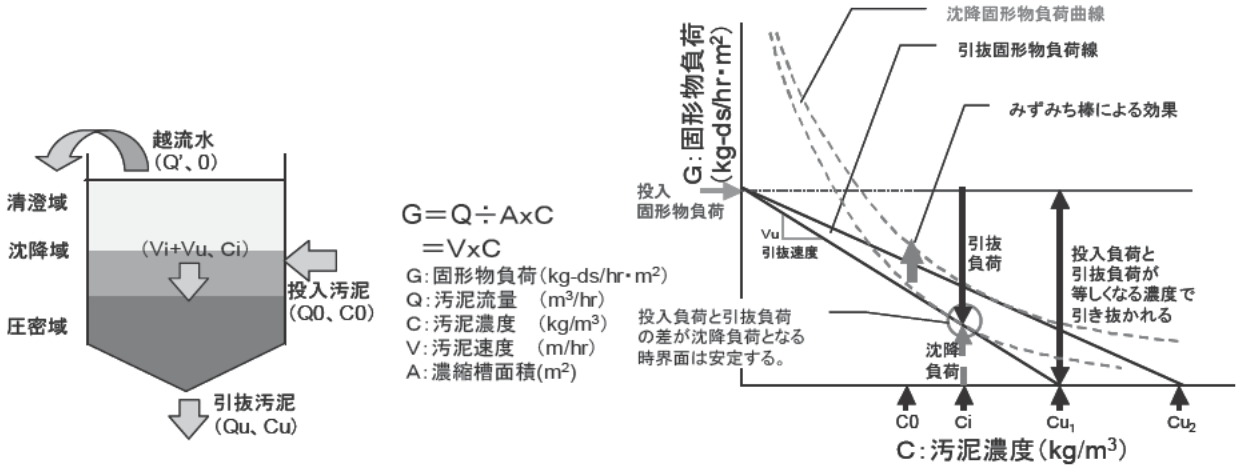


図 2.9　重力濃縮槽における固形物流量線図 [2)をもとに作成]

2. 2. 4　Coe-Clevenger の計算方法の準用

実験で得た結果から、重力濃縮槽における濃縮濃度を推測するため Coe-Clevenger(コークレベンガー)の計算方法を準用した。

図 2.9 に重力濃縮槽における固形物流量線図を示す[2)]。濃縮槽において固形物負荷は汚泥の濃縮条件を決定する上で重要な因子である。固形物の限界負荷を検討する方法として Coe-Clevenger の計算方法が提案されている[3)]。本計算では、①投入した固形物は越流することなくすべて底部から引抜かれる、②濃縮槽の水面積は水深にかかわらず一定で、固形物の移動速度は汚泥自体の沈降速度 Vi と底部からの汚泥引抜きによる時間によって変化しない移動速度 Vu(制御可能な操作因子)によって移動する、③投入固形物負荷は連続して一定量を供給する、という仮定を行っている。

沈降固形物負荷と引抜固形物負荷の和が投入固形物負荷を越えると汚泥界面が低下し、逆に沈降と引抜の和が投入を下回ると汚泥界面が上昇して汚泥が溢流する。汚泥界面を維持するためには沈降と引抜の和が投入とつりあうことが必要となる。

沈降の効果が期待できない濃縮槽底部では、一定量の連続投入負荷(G)と一定の流量 Vu での汚泥引抜を仮定すると、界面を維持するためには投入固形物負荷と引抜固形物負荷が等しくなる引抜濃度は Cu= G/Vu となる。計算上は引抜速度を遅くするほど引抜汚泥濃度が濃くなるが、実際にはある引抜速度以下にすると汚泥界面が上昇し汚泥が溢流するため、引抜負荷曲線と接する場合に極限状態における引抜濃度 Cu_1 が求まる。既往の回分試験結果から、みずみち棒は初期沈降速度を大幅に改善することが分かっていることから[4)]、回分実験における初期沈降速度が連続投入されている重力濃縮槽の沈降速度と同等と考えられれば、みずみち棒の導入によって沈降固形物曲線が上方へ移動するため、引抜速度を遅くすることが可能となり引抜濃度を Cu_1 から Cu_2 へ高める事ができるといえる。

図2.10にみずみち棒による固形物負荷の改善効率を示す。初期沈降速度から算出した沈降に伴う固形物負荷（沈降負荷）を計算し、棒無しのケースを×印、φ18 のみずみち棒 4 本のケースを△、φ32 のみずみち棒 4 本のケースを○で示すと、棒無しのケースに比べてみずみち棒ありのケースの方の沈降負荷が高くなっており、汚泥濃度が濃いほどみずみち棒によって沈降負荷を高める効果が大きい結果となった。

図2.11に実験結果から得られた固形物負荷を示す。実験結果から得られた初期沈降速度に初期汚泥濃度を掛けた値が固形物負荷となり○印で示す沈降固形物負荷曲線が得られる。また、φ167mm の実験水槽で初期汚泥濃度 6.28g/L の場合における沈降固形物負荷を十印で示しており、ほぼ沈降固形物曲線上に位置している。△印は濃度分布を調べた時の 24hr 後の汚泥濃度を表し、界面付近濃度が 9.7g/L、底部の汚泥濃度は 14.2g/L となっていた。

一方、実験用の汚泥を採取した施設の運転状況は投入汚泥濃度が 6.7g/L、引抜汚泥濃度が 18g/L、投入固形物負荷が 1.4kg-ds/m²・hr、汚泥層厚が約 2m で

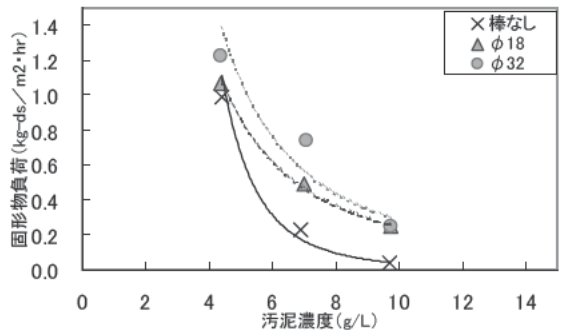


図 2.10　みずみち棒による固形物負荷の改善効果

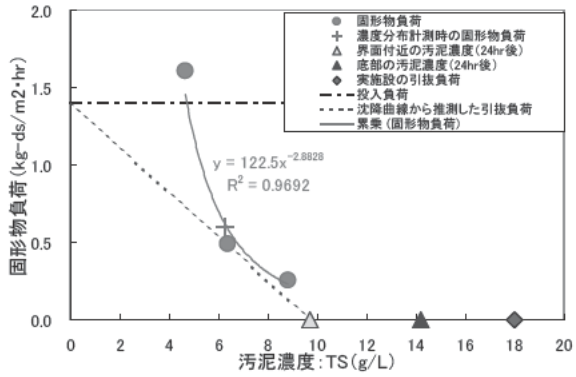


図 2.11　実験結果から得られた固形物負荷

あった。そこで、投入固形物負荷が 1.4kg-ds/m^2・hr で実験により得られた沈降固形物負荷に接する引抜負荷線から引抜濃度を求めると約 10g/L となった。この値は回分実験における 24hr 後の界面付近の汚泥濃度とほぼ同等であった。また、実験時の底部汚泥濃度、実施設の引抜汚泥濃度はさらに高くなっていた。

2．3　考察

本研究では、みずみち棒の導入により初期沈降速度が増加したことによる固形物負荷の増加が、引抜汚泥の汚泥濃度に及ぼす影響についての検討を行った。

図2.12は実験結果を実施設に適用した場合に考えられるみずみち棒による濃縮汚泥濃度向上の機構を示した固形物負荷の概念図である。固形物負荷線図では、濃縮汚泥の引抜濃度は固形物負荷曲線と引抜線から推定できることが報告されている[2、3]。投入負荷が一定で変化せず、界面高さが一定になるよう引抜量を制御している重力濃縮槽を想定した場合、みずみち棒を導入することにより、引抜速度を遅くできる（すなわち図中の点線のように直線の傾きがなだらかにする）ことによって、引抜濃度を高めることが表現できると考えられた。

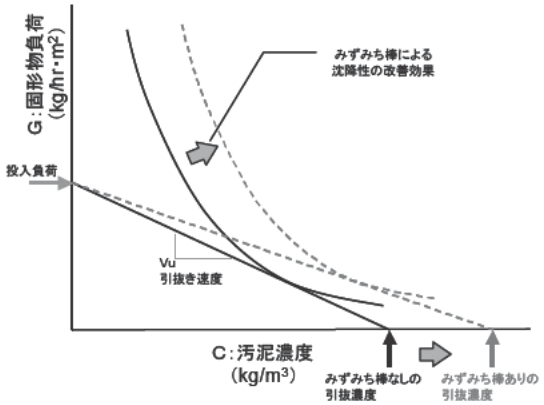


図 2.12　みずみち棒による濃縮汚泥濃度向上の機構

2．4　まとめ

本実験により以下の事項が明らかになった。

1)　回分式の汚泥沈降実験の結果、初期濃度が低くなるに従い初期沈降速度は速くなり、またみずみち棒の存在により初期沈降速度が向上している。

2)　引抜汚泥濃度を予測するために Coe-Clevenger の計算方法を準用したことによって、みずみち棒による初期沈降速度の向上によって沈降固形物負荷が上昇し、その結果汚泥濃度が増加することが推定された。

3)　Coe-Clevenger の計算方法を準用したことによって、汚泥濃度を増加させるには引抜速度を遅くすることが有効であると考えられた。今後は引抜量の制御や、汚泥の腐敗等の影響について検討を行う必要がある。

参考文献

1)佐藤一行、宮本豊尚、桜井健介、浅井圭介、岡本誠一郎、重力濃縮槽の汚泥濃度を向上させる手法、下水道研究発表会講演集 48, 830-832, 2011

2)永持雅之、森孝志、清水一弥、西崎柱造、重力濃縮槽の機能調査、大阪市下水道局業務研究論文集１５周年記念、pp365-375、1987

3)土木学会、水理公式集、pp419-420、平成 11 年度版

4)北村友一、落修一、渡部春樹、下水汚泥の重力濃縮におけるピケットフェンスの効果、土木学会第 50 回年次学術講演会、pp1234-1235、平成 7 年 9 月

3. 電気分解による下水汚泥からの有用資源回収

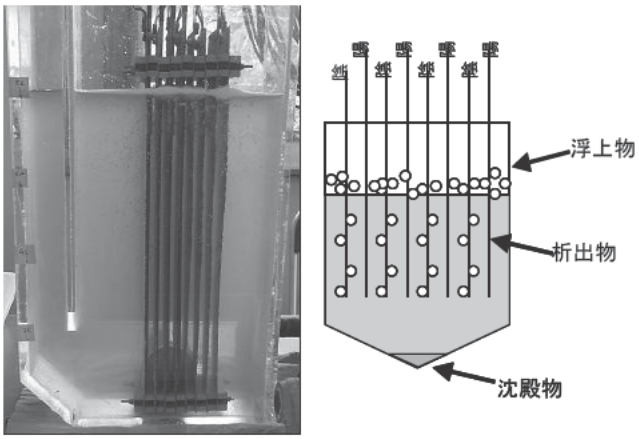
本研究では下水処理場に集約されている栄養塩類を可能な限り多量で、かつ、資源として利用しやすい形で回収することを目的としている。処理場のマテリアルフロー中で比較的高濃度にリンを含有している消化汚泥や消化汚泥の脱水分離液から電解処理によってリン等の回収物の組成と量を調べる。また、電解の阻害要因としてSSの影響を調べる。

3. 1 実験方法

図3.1に回分試験装置、表3.1に実験条件を示す。実験は容量 8L の角型水槽に試液を各実験条件で投入し、チタン母材に白金メッキを施したメッシュ状の電極を陰極４枚、陽極４枚を交互に1cm間隔で配置した。電極一枚あたりの接水部面積は幅 8cm×水深 33.5cm で陰極、陽極とも有効面積は 268cm^2 である。定容量直流電源装置（菊水電子工業製 PAS40-27）にて直流電源を流し、24hr回分試験を行った。

消化汚泥、消化汚泥脱水分離液は実下水処理場より採取し、case2、case3、case4 は水質水文実験棟で前処理を行った。なおcase3はcase2の上澄みとcase4の汚泥を50%づつ混ぜ合わせたものである。

図3.2に回分試験時の採取試料を示す。実験中のサンプルの採取はピペットで水面下2cm付近の液を採取した。実験終了後のサンプルは、電解によって発生する細かい気泡によって水槽上部に浮上した泡状の物質を浮上物として回収した。沈殿物は水槽内の上部の液を捨てた後、底部に沈澱している残水とともに回収した。析出物は電極を取り出し、実験に使用した液を捨てた後、水槽内にイオン水を満たし逆電圧（リバース）をかけて電極に析出している物質を電極からはがした。その後、底部に沈んでいる析出物を沈殿物と同様の方法で回収した。



（左）写真　　（右）概略図

図3.1　回分試験装置

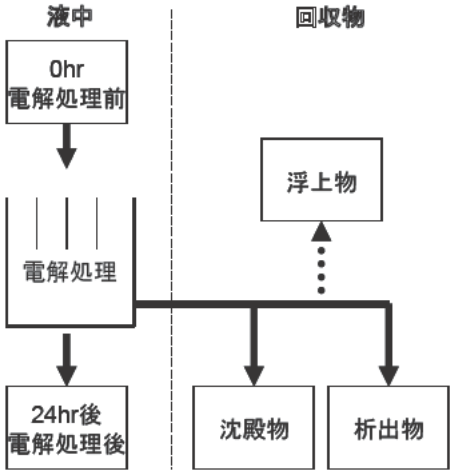


図3.2　回分試験時の採取試料

表3.1　実験条件

	試料	前処理	電解条件			初期条件 (mg/L)						
			時間	電圧	電流	TS	VS	SS	TOC	T-P	D-T-P	PO^4-P
case1	消化汚泥 脱水分離液	―	24hr	定電圧 4.5V	5.5 ↓ 6.1A	800	160	42	61	63	68	68
case2	消化汚泥 （上澄み）	遠心分離 2000min^{-1} 20分	24hr	3.14 ↓ 3.98V	定電流 4.0A	1584	864	410	273	93	98	82
case3	消化汚泥	SS濃度 調整	24hr	3.03 ↓ 4.00V	定電流 4.0A	5638	1926	4475	296	219	76.2	74
case4	消化汚泥	ダイレクト	24hr	3.06 ↓ 4.02V	定電流 4.0A	9544	6496	9425	174	318	84	81

3. 2　分析方法

採取した試料の分析は、実験前後の液相の SS、TS、VS、金属類（Al、Ca、Fe、K、Mg、Na、P）の分析を行った。金属類については粒子保持能（保持効率 98%）2.7μm のガラス繊維ろ紙(GF/D, Whatman 社)でろ過した溶解性の試料も分析し、実験後の回収物については金属類の分析と炭素、水素、窒素分析を行った。

SS、TS、VS の測定方法は下水試験方法に準拠し、金属類の分析は ICP 発光分光分析法（パーキンエルマージャパン社、Optima3000）を用い、回収物は凍結乾燥等による乾燥の後、加圧ボンベ法で分解後分析を行い、液体の試料は硝酸による分解の後分析を行った。炭素、水素、窒素の分析は CHN 分析計（アムコ社、FLASHEA1112）を用いて分析を行った。

3. 3　結果・考察

3. 3. 1　消化汚泥への適用

図3.3に実験前後の液相に含まれる金属類を示す。電解法によって栄養塩類の回収をする際の SS との関係を調べるため、消化汚泥で SS が薄い case2（SS410mg/L）、濃い case4（SS9425mg/L）、その中間の case3（SS4475mg/L）について比較を行った。

実験前後の溶解性金属類について、リン、マグネシウム、カルシウムは 3 ケースとも低下を示し除去されていることがわかったが、カリウムはほとんど除去されていなかった。リン濃度は SS によらず 0hr では 70mg/L 程度で一定で、0hr でのリン濃度と 24hr でのリン濃度の差であるリンの低下量は SS が高いほど多くなっていた。

一方、実験前後の液相に含まれる金属類の全量について、case2（SS410mg/L）、case3（SS4475mg/L）

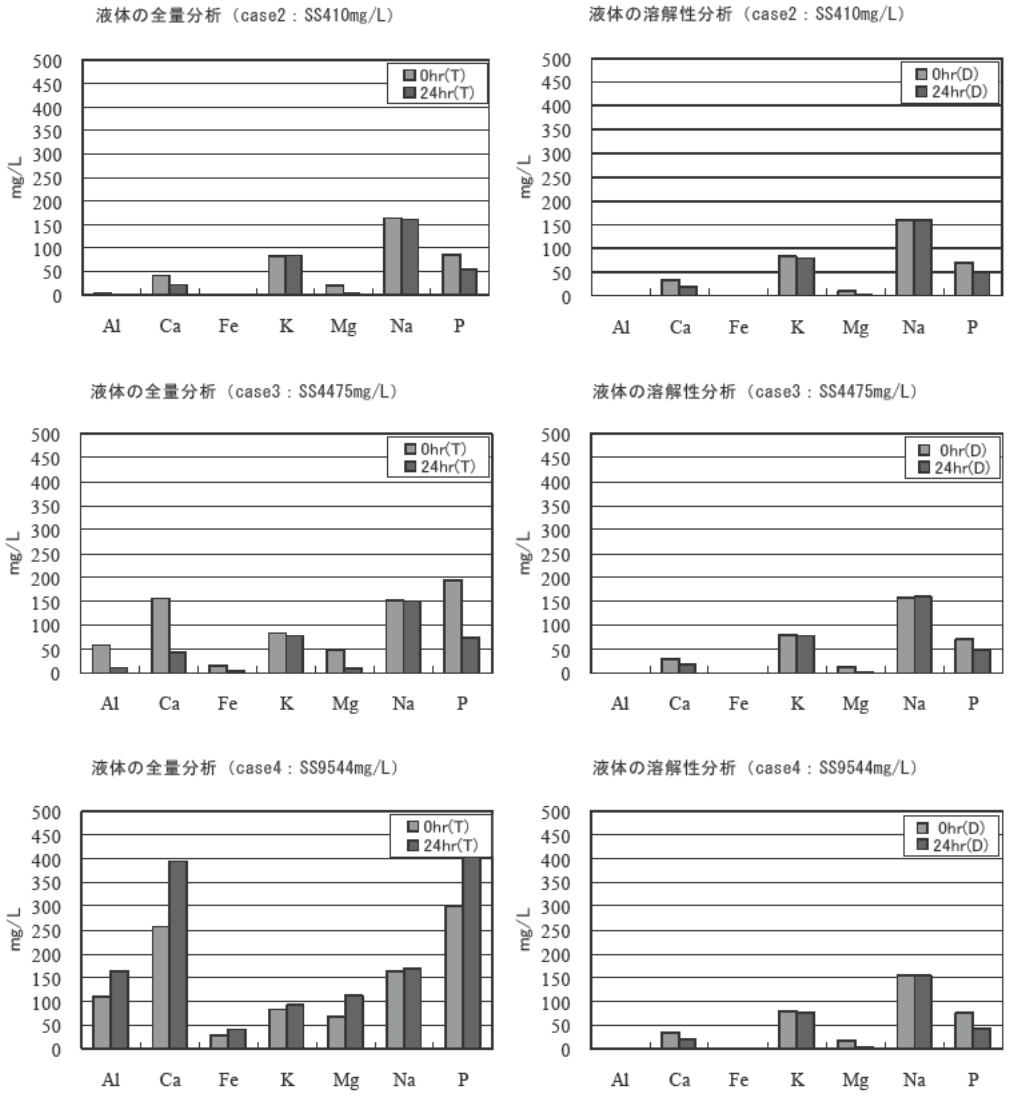


図 3.3　実験前後の液相に含まれる金属類

は低下を示しており除去されていることがわかった。しかしそれに対し、case4（SS9425mg/L）では、リン、マグネシウム、カルシウム、カリウムだけでなく、すべての金属類が増加を示していた。実験前後の TS を比較すると、case3（SS4475mg/L）の TS は 0hr で 5638mg/L、24hr 後に 1740mg/L で 31%の減少であり、case4（SS9425mg/L）の TS は 0hr で 9544mg/L、24hr 後に 15882mg/L で 166%の増加であった。全リン濃度は SS が高いほど固形分に含まれるリンの量が多くなるため、濃度の値は高くなっていた。

図 3.4 に初期全リン濃度と溶解性リン除去率を示す。実験前 0hr の溶解性リン濃度から、液相からのリン除去率を計算したところ、SS が低いほど除去率は低く、SS が高いほど除去率は高い値となった。実験前後で液相からの溶解性のリン除去率は、浮遊物質による阻害を確認することは出来なかった。

図 3.5 に実験後の回収物に含まれる金属類を示す。case2 では沈殿物においてリン、マグネシウムの割合の高い回収物を得ることができ、その全リン濃度は 190mg/g-dry でリン鉱石と同等であった。一方、case3、case4 での回収物は全リン濃度は 30mg/g-dry 前後であり、今回使用した消化汚泥そのものの T-P が 31mg/g-dry であったことと、回収した時の様子からほとんどが汚泥であった考えられる。

カリウムは沈殿物中に含まれるが消化汚泥そのものの全カリウム 9mg/g-dry と同等かそれ以下だった。析出物からはほとんど検出できなかった。

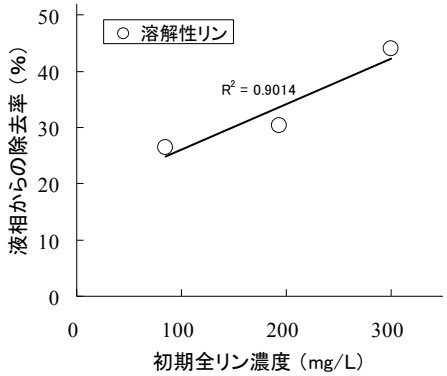


図 3.4　初期全リン濃度と溶解性リン除去率

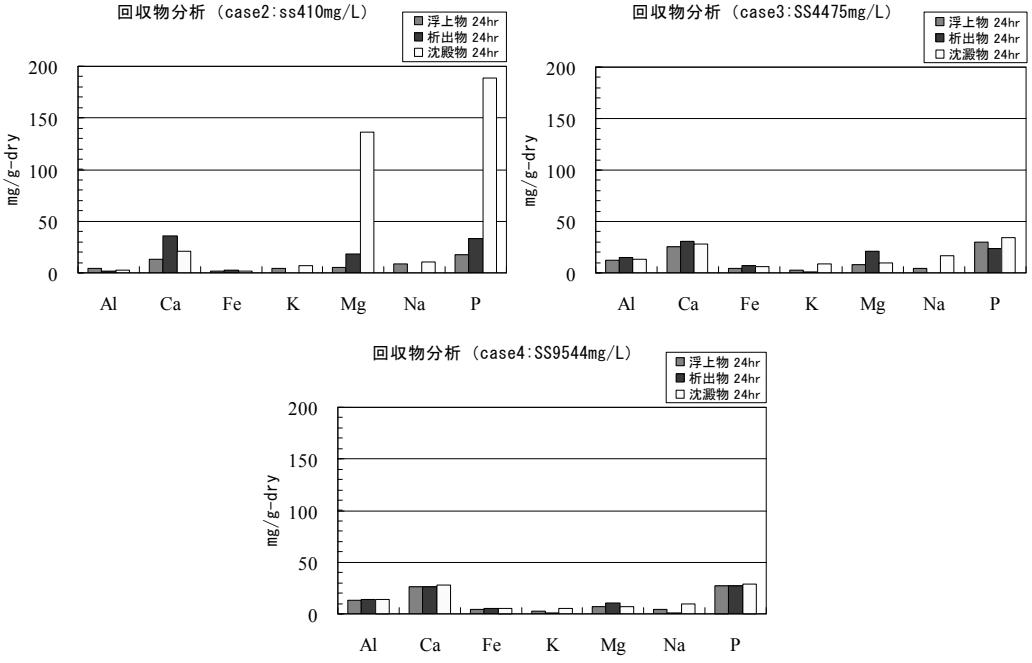


図 3.5　実験後の回収物に含まれる金属類

リンは、case2 の沈殿物では高濃度のリン化合物を回収できたが、それ以外ではほとんどが汚泥と同等のリン濃度であった。浮上物は電解に伴って発生した微小な気泡によって汚泥が浮上濃縮したもので、電解の作用を受けていないためほとんどが汚泥と考えられる。析出物は電解によって汚泥中物質が電極に析出あるいは付着したものである。それにもかかわらず、T-P が小さいのは陰極で析出したリン化合物に比べ陽極に付着している汚泥が大半を占めるためだと考えられる。一方、沈殿物の SS410mg/L だけが T-P が高いのは、陰極で析出した析出物が気泡の作用などによって、成長する前に電極からはがれ、沈澱しているものと想定される。SS が高いと沈殿物のほとんどが沈降した汚泥となり、T-P が低くなっていると想定される。

3. 3. 2　脱水分離液への適用

図 3.6 に電解前後の液相の溶解性金属類分析を示す。case1 の溶解性のリンが多く含まれ SS が少ない脱水分離液で電解をした場合の回収物を調べる実験を行った。

液中の T-P は実験開始時 65mg/L だったものが実験終了後 55mg/L に減少し除去率は 15%であった。一方、マグネシウムは 7.2mg/L から 1.4mg/L まで減少し除去率は 81%、Ca は 28.5mg/L から 7.8mg/L まで減少し除去率は 73%であった。

また、液相から除去した元素の割合はマグネシウムやカルシウムが多いため MAP や HAP を回収できたと想定される。初期状態におけるマグネシウムとリンの重量比率は Mg/P＝7.17/65.02＝0.11、モル比は 0.14 であった。

図3.7に電解後の回収物に含まれる金属類を示す。沈殿物、析出物ともにリンの含有量が高い物質を回収することができた。また、沈殿物はマグネシウムとカルシウムが同程度なのに対し、析出物はカルシウムの割合が高くなっていた。

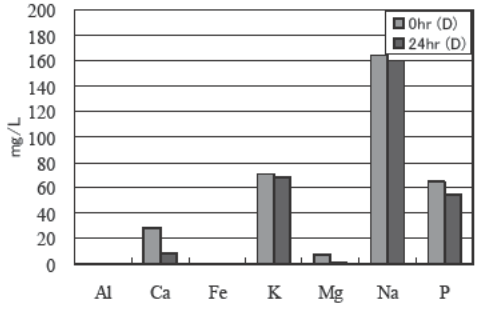


図 3. 6　電解前後の液相の溶解性金属類分析

金属類の分析結果と CHN の分析結果から、図 3.8 に消化汚泥脱水分離液を電解したときの回収物組成を示す。沈殿物は Mg が多いことから MAP 主体、リバースによって回収した析出物は Ca が多いことから HAp 主体と想定され、畜産排水処理水での研究結果と同様[1)]の結果となった。

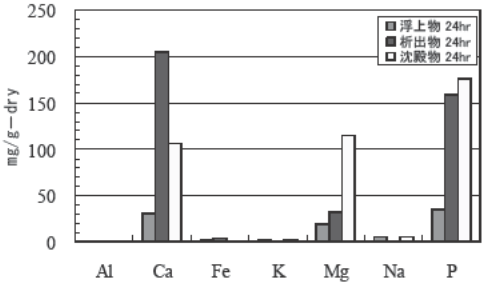
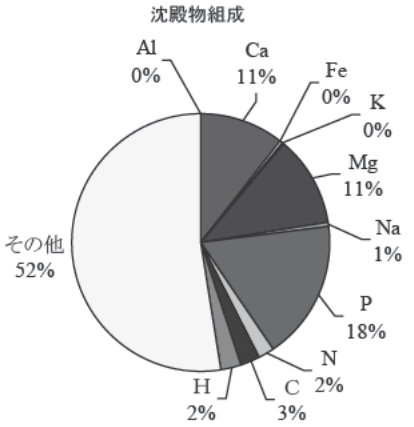


図 3. 7　電解後の回収物に含まれる金属類



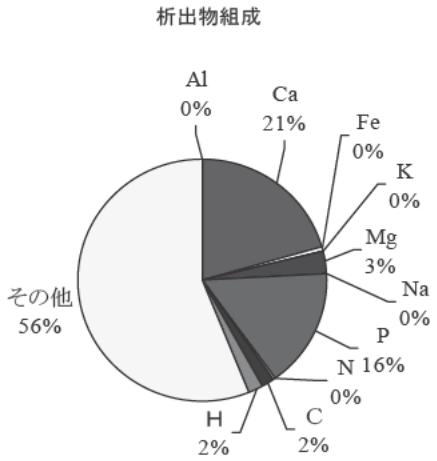


図 3. 8　消化汚泥脱水分離液を
電解したときの回収物組成

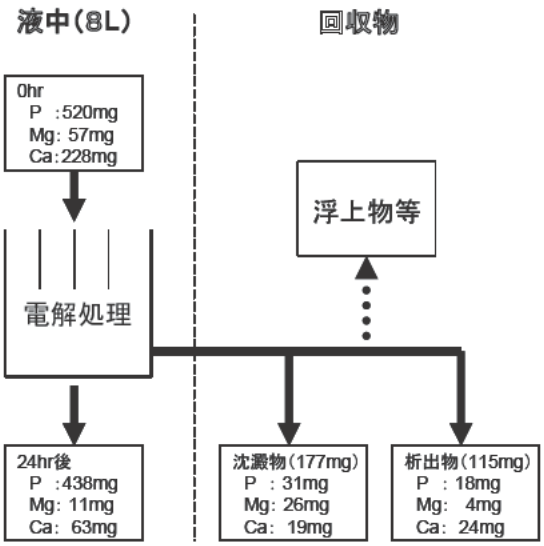


図 3.9　回収物の収支

3. 3. 3　栄養塩類の収支

図 3.9 に回収物の収支を示す。回収物は沈殿物が 177mg、析出物が 115mg 得られた。8L の液中に 520mg あったリンから沈殿物に 31mg、析出物に 18mg、合計 49mg のリンを回収し、回収率は 9.4%（=49/520）であった。合計の収支で未回収となっているものは浮上物中へ移行したもの、析出物を回収した際のリバース液中に残ったもの、リバースで落としきれずに電極に残ったものが考えられる。

3. 4　まとめ

本実験により以下の事項が明らかになった。

1) 消化汚泥を電解する場合、液相から溶解性のリンの除去をする際、高 SS であっても除去の阻害は確認されなかった。
2) 消化汚泥を電解する場合、陽極に汚泥の付着が見られた。電解晶析物を回収するには、それらと分離して回収する方法が必要であると考えられた。
3) SS の影響が少ない消化汚泥を遠心分離した上澄みを使用した SS が 410mg/L の試料（case2）を電解した結果、リン鉱石と同等のリン濃度の化合物が回収できた。その成分はカルシウムより、マグネシウムが多かった。
4) 消化汚泥の脱水分離液を電解した結果、沈殿物にマグネシウムが多く、析出物にカルシウムが多く含まれていた。

参考文献

1) 田中恒夫、小池範幸、佐藤孝志、新井忠男、平靖之、電解法による畜産排水からのリン酸塩の回収、水環境学会誌、Vol.32、No.2、pp.79-85、2009

4. 下水汚泥焼却灰施肥時の長期的な安全性評価

下水汚泥焼却灰の肥料資源化を検討する上で、長期的な安全性の評価は不可欠である。ここでは、下水汚泥焼却灰が農地還元される場合を想定し、下水汚泥焼却灰を混合した各種土壌に対するライシメーター試験を実施し、降雨に伴うライシメーターからの浸出水を分析することで、実環境に近い状況下において、長期的な金属類の流出状況を把握し、焼却灰中各種元素の挙動に関する考察を行った。

4.1 方法

図 4.1 のような 4 つのライシメーター内に、表 4.1 の条件で各種土壌及び下水汚泥焼却灰を充填し、それぞれの土壌(及び焼却灰混合物)の成分分析を実施した上で、降雨に伴う金属類の流出試験を実施した。試験には、北海道長万部町に設置していた過給式流動炉により平成 22 年度に生産された下水汚泥焼却灰を用いた。吸着性の異なる土壌間での流出状況の比較を行う観点から、実際の農地から黒ボク土及び水田土の二種類の土壌を採取し、試験に用いた。一般的に、黒ボク土は、活性アルミニウムによりリン酸を固定化し、また、保水性や透水性が高い [1]。分析項目は浸出水量、pH、EC、SS、T-N、金属類とし、金属類は二週間に 1 回程度、その他の項目については降雨ごとに分析を行った。試験は 12 月から開始し、現在も継続中である。

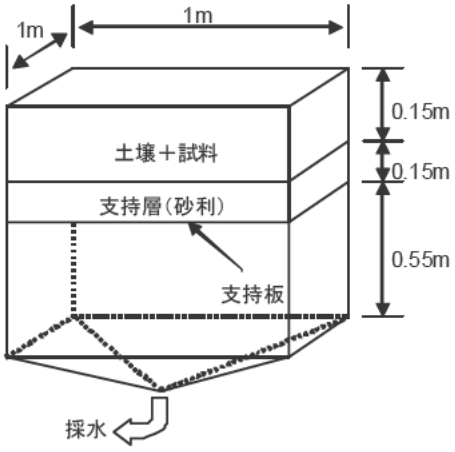


図 4.1　ライシメーター模式図

表 4.1　土壌及び焼却灰の投入条件

	No.1	No.2	No.3	No.4
試料	黒ボク土	水田土	黒ボク土＋焼却灰	水田土＋焼却灰
投入量	150L	150L	100+50L	100+50L

4.2 結果

4.2.1 総流出量

試験開始時に実施した土壌及び焼却灰混合物の成分分析結果を図 4.2 に示す。ほとんどの元素について、焼却灰を混入した系の方が含有量が大きくなっているが、Al, Fe については同等或いは土壌単独の系の方が含有量が大きくなっており、土壌中に豊富に含まれる成分であることが分かる。

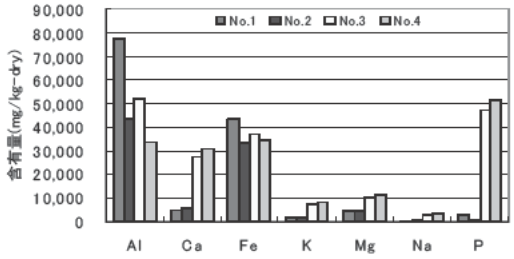


図 4.2　試験開始時に実施した土壌及び焼却灰混合物の成分分析結果

また、試験期間中の金属類の総流出量を図 4.3 に示す。焼却灰が投入された両方の系(No.3 および 4)の浸出水の Ca, K, Mg, Na, B, Zn, Se, Mo, Cd, Te, Ti の濃度は、焼却灰が投入されていない両方の系(No.1 および 2)の浸出水と比べて、いずれも高かった。ただし、これらの濃度の差はごくわずかな物もあり、焼却灰による影響であるかどうかは今後、調査を重ねて解析する予定である。また、これら以外の元素については、土壌の吸着性による差の影響も考えられ、同じく、調査を重ねて解析する予定である。

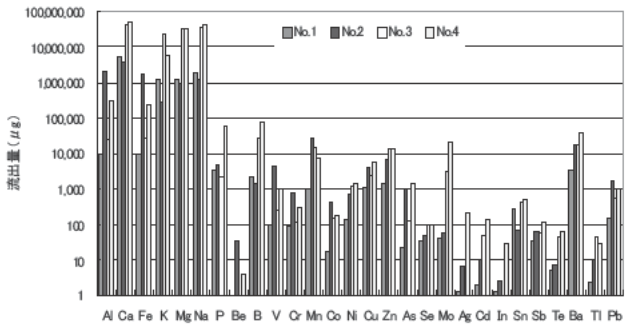


図 4.3　ライシメーター浸出水の各元素の総流出量

4.2.2 流出量の時間変化

各元素の流出量の時間変化を整理したところ、流出の傾向は、表 4.2 に示す通り、凡そ 4 グループに大別できた。図 4.4～4.7 に各グループの代表的な元素の流出

表 4.2　流出傾向の分類

Group1	Group2	Group3	Group4
4系列全てで流出量は極めて低レベルにまで減少	未だ一定量流出している系が存在（総流出量は、No.2＞No.4）	未だ一定量流出している系が存在（総流出量は、No.2＜No.4）	未だNo.3,4において一定量が流出
Ag,Cd,Cu,In,P,Se,Sn,Zn	Al,Co,Cr,Fe,Mn,Pb,V	As,Ba,Ni,Sb	B,Ca,K,Mg,Mo,Na,Te,Tl

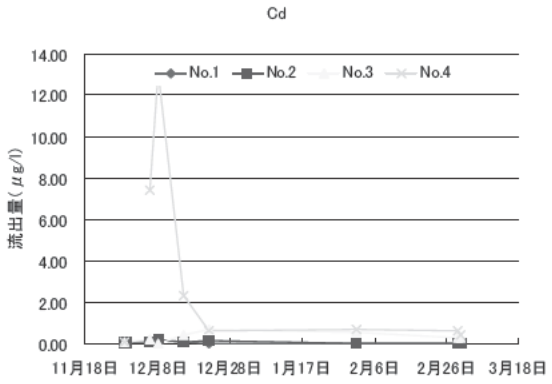


図 4.4　Cd(Group1)の流出量の時間変化

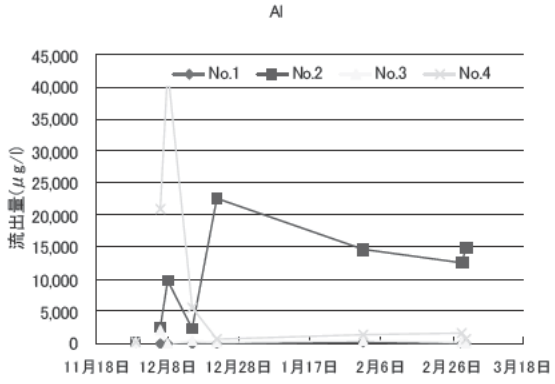


図 4.5　Al(Group2)の流出量の時間変化

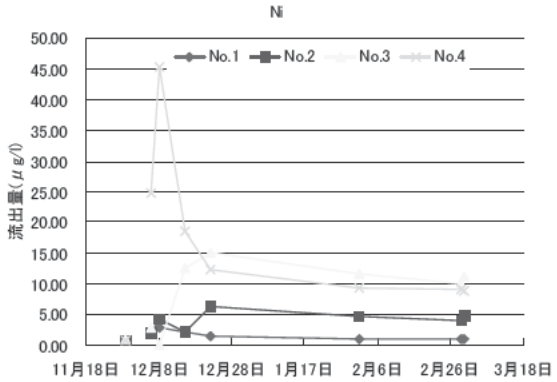


図 4.5　Ni(Group3)の流出量の時間変化

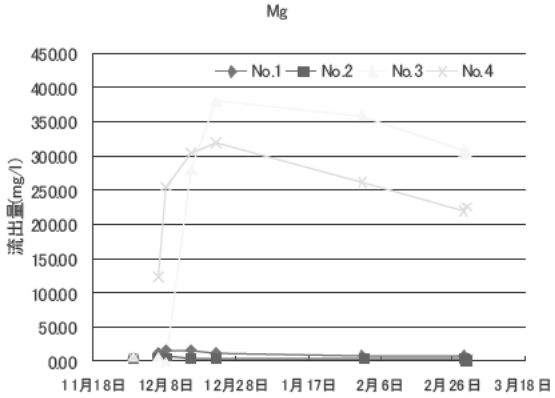


図 4.7　Mg(Group4)の流出量の時間変化

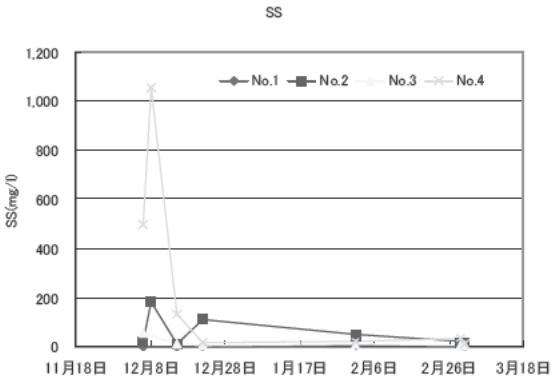


図 4.8　SS の時間変化

量の時間変化を示す。また、参考に流出液の SS の時間変化についても図 4.8 に同様に示す。なお、11 月 29 日の試験開始時には、土壌及び焼却灰を投入しない状態で一度通水し、金属類の測定を行っている。

図 4.4～4.7 より、全体を通して、水田土に焼却灰を混入した No.4 は、含有量の多寡によらず、初期に大きな流出のピークが見られ、その後、Group1～3 については流出量が急激に減少する結果となった。No.3 については、同様に焼却灰が混入されているが、Group4 を除いて No.4 とは大きく流出傾向が異なっており、総じて流出量は小さくなった。これは、前述した通り、黒ボク土の吸着力が強いことが影響していると思われ、金属類の流出傾向は土壌種によって大きく左右されることが本実験においても確認された。また、Group4 では例外的に No.3 と No.4 の流出量が同程度となっているが、Group4 の元素にはアルカリ金属・アルカリ土類金属が多く含まれており、4.2.3 において後述するような現象が関係している可能性が高いと考えられた。

また、Group2 の元素については、No.2 が No.4 よりも総流出量が大きくなっており、特徴的であった。図 4.2 に示した Al, Fe に代表されるように、土壌中の含有量が大きい元素であることも一因と思われるが、No.2 と No.4 の総流出量は、最大でオーダー1 桁程度離れており、含有量以外の要素が影響している可能性がある。

図 4.8 には流出液の SS の時間変化を示したが、流出液中の金属類は、大きく SS 粒子（1μm 以上の浮遊物）、コロイド粒子（1μm 以下の浮遊物）（文献）、土壌及び焼却灰からの溶出液、の 3 種類の形態で存在しており、図の結果は、SS 粒子の影響度を判断する際の材料となり得る。なお、SS 粒子の寄与に関する定量的な考察は 4.2.3 にて行う。図より、No.4 については、Group1～3 と類似の流出傾向を示しており、焼却灰中の金属類は、主に SS 粒子の形で流出している可能性が高いと言える。ただ一方で、SS の値が極めて低レベルまで減少しているのに対し、Group3, 4 の元素については未だにある程度の流出が見られることから、これらの元素については、一定時間経過後は、主にコロイド粒子及び溶出液の形で流出しているものと思われた。コロイド粒子及び溶出液の形で流出していると思われる Group3, 4 の元素は、実際の農地において流出しやすいことが推測され、特に注目すべき元素であると思われた。

4.2.3 流出量の構成

No.2 及び No.4 の各元素について、金属類含有量、SS 濃度、総流出量を元に、図 4.9 及び図 4.10 の通り、SS 粒子由来、及びコロイド粒子・溶出液由来の流出量をそれぞれ推定した。

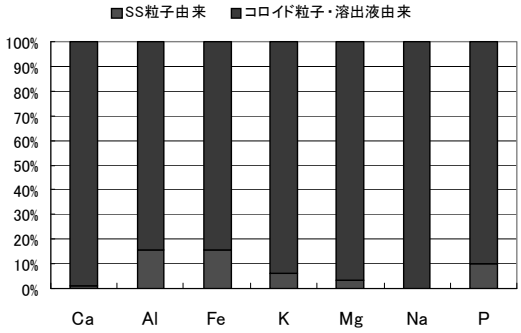


図 4.9 各元素の流出量の構成（No.2）

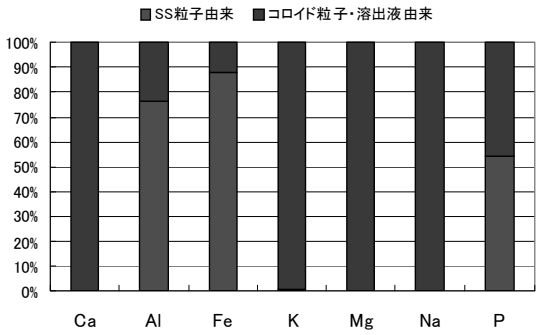


図 4.10 各元素の流出量の構成（No.4）

先述した通り、Al, Fe 等の元素は、No.2 の総流出量が No.4 よりも大きくなっているが、図より、No.2 はコロイド粒子・溶出液由来のものが多く、No.4 は SS 粒子由来のものが多かった。従って、焼却灰を大量に混入させることで、何らかの作用が働き、土壌由来のコロイド粒子・溶出液の流出が抑制された可能性がある。

また、No.4 では Al, Fe, P といった元素については SS 粒子由来の流出が大部分を占めているが、Ca, K, Mg, Na についてはコロイド粒子・溶出液由来の流出が圧倒的に大きくなっており、No.2 についても、程度の差はあるが、No.4 と同様の傾向となった。

また、焼却灰を混入した No.4 では、これらの元素の溶出液由来の流出量が極めて大きくなっており、焼却灰を混入したことで何らかの作用が働き、イオンの置換が促進された可能性がある。同様の現象は、No.3 においても見られることから、土壌種には無関係の作用であると思われる。

今後は、以上の未解明なメカニズムについて検討

を行うと共に、今回の試験では、焼却灰の混入量を極端に大きく設定していることから、適切なレベルに低減した場合、同様の現象が見られるかどうか確認する必要がある。

4.2.4　環告 46 号試験結果との比較

本試験における下水汚泥焼却灰からの金属類流出量のレベルを評価するため、下水汚泥焼却灰に対する環告 46 号試験結果との比較を行った。同試験は土壌環境基準に定められたものであり、今回、下水汚泥焼却灰の農地への施肥を想定していることから、比較対象としては適切であると思われる。本試験における流出量は、No.4 の流出のピークである 12 月 6 日の流出量を用いた。比較結果は図 4.11 の通りであった。

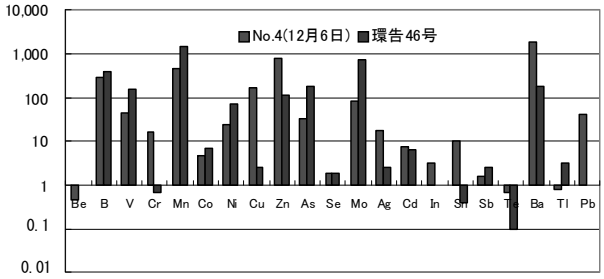


図 4.11　環告 46 号試験との比較
（Al, Fe など土壌からの流出量が非常に大きく、環告 46 号の試験結果を上回っている元素は除く）

結果、一部の元素で環告 46 号の試験結果を上回る結果となった。原因の一つとして、本試験では、溶出液のみならず、SS 粒子やコロイド粒子由来の金属類についても測定していることが挙げられた。特に、前述した通り、試験開始当初は、ほとんどが SS 粒子の流出によるものと思われた。従って、実際の農地においても、SS 粒子の流出の可能性があるかどうかがポイントであり、仮に流出するのであれば、それを含んだ状態で評価することに問題は無いと思われた。また、環告 46 号試験では蒸留水を用いて溶出を行ったのに対し、本試験では若干酸性側と思われる降雨により流出を行ったことも原因と思われるが、実環境を再現した試験という観点から見れば、やはり問題は無いと思われた。

4.2　まとめ

下水汚泥焼却灰を混合した各種土壌に対するライシメーター試験を実施し、降雨に伴うライシメーターからの浸出水を分析することで、以下の事項が明らかとなった。

1)焼却灰が投入された両方の系の浸出水の Ca, K, Mg, Na, B, Zn, Se, Mo, Cd, Te, Ti の濃度は、焼却灰が投入されていない両方の系の浸出水と比べて、いずれも高かった。ただし、これらの濃度の差はごくわずかな物もあり、焼却灰による影響であるかどうかは今後、調査を重ねて解析する予定である。

2)各元素の流出量の時間変化を整理したところ、流出の傾向は、4 グループに大別できた。

3) 水田土(No.2)及び水田土＋焼却灰(No.4)の各元素について、金属類含有量、SS 濃度、総流出量を元に、SS 粒子由来、及びコロイド粒子・溶出液由来の流出量がそれぞれ推定したところ、No.2 はコロイド粒子・溶出液由来のものが多く、No.4 は SS 粒子由来のものが多かった。

4) 実雨水による浸出水と環告 46 号試験による溶出水を比較したところ、一部の元素で環告 46 号の試験結果を上回った。

参考文献

1)浅海重夫編、大学テキスト土壌地理学、古今書院発行、2001.

5. 下水中の栄養塩を活用した藻類の培養

水質改善の遅れている三大湾や湖沼等の閉鎖性水域において、窒素・リンの流入負荷を削減することで富栄養化を解消し、赤潮・青潮やアオコの発生を抑制するなど、公共用水域のより一層の水質改善を進めることが求められている[1)]。

下水道事業は大量の温室効果ガスを排出している事業であり、普及の促進、高度処理化、合流改善の推進等により、今後も温室効果ガス排出量の増加が見込まれる事業である。このため、下水道事業においても積極的に地球温暖化対策に取り組むことが求められている[2)]。

一方で、従来のバイオディーゼル原料（Jatropha や Coconut など）に比べて単位面積当たりの収穫量が 10 倍以上[3)]で、食料に競合しない新世代型の藻類からのバイオディーゼル[4)]が注目されている。従来、石炭火力発電所から排出された CO_2 を用いて、ポンド内の高脂質含量の藻類からのバイオディーゼルを生産する研究プログラムが実施されてきた[5)]。当時としては石油系ディーゼル燃料と比べて高コストであることが課題として挙げられている。また、藻類を排水処理プロセス及び燃料元として使うことが経済的観点などから有利であることが指摘されている[5),6),7)]。さらに、藻類を利用することによって排水処理に、栄養塩除去[7),8)]、重金属除去[8)]、工業汚染物質除去[8)]を付加する事も期待されている。

排水処理の一つに、High Rate Algal Ponds (HRAPs) がある。HRAPs は、滞留時間 2-8 日間、水深 0.2-1m で継続的に攪拌されたポンドであり、藻類の光合成による酸素供給によって、排水中の溶解性有機物が従属栄養細菌によって好気分解するのを促進する方法である[9)]。この HRAPs は現在、経済的に実施可能で、かつ、最小の環境影響でバイオ燃料への変換のために藻類を生産することができる唯一の方法と考えられている[10)]。また、藻類の収穫量の最適化には、CO_2 添加、藻類種の制御、捕食生物や寄生生物、生物凝集に関する知見が必要であるが、HRAPs におけるこれらの情報が不足していると考えられている[10)]。

HRAPs の屋外試験がニュージーランドで夏に行なわれており、表面積 31.8m^2、水深 0.3m、容量 8m^3 のポンドにて、表面流速 0.15m/s、CO_2 添加、滞留日数 4 日および 8 日で運転したところ、藻類平均生産量 16.7g/m^2/day および 9.0 g/m^2/day、沈殿池における回収率は、それぞれ、69%、83%が報告されている。この 2 池の藻類優占種は、*Scenedesmus sp*、*Microactinium sp*、*Pediastrum sp*、*Ankistrodesmus sp* であった[11)]。

これら状況を参考に、藻類による下水処理の高度化を検討する。高度化方策として、下水の藻類による生物処理（二次処理）への代替や二次処理水のさらなる付加処理、汚泥濃縮や脱水の分離液および汚泥消化の脱離液の栄養塩除去などが考えられるが、本研究では、国内における導入可能性の観点および藻類の繁殖性の容易さから、まず二次処理水のさらなる付加処理について実現可能性を評価することとした。

5.1 下水処理水を用いた回分式藻類培養実験

下水処理水中に含まれる藻類胞子および栄養塩などによる、下水処理水単体が持つ藻類繁殖能力の把握、培養条件（流速、日数）の差異による生物種の違い、増殖速度を確認するため、下水処理水のみによる回分式の藻類培養実験を行なった。

5.1.1 実験方法

下水処理場に流入する下水を二次処理(反応槽容量:0.5m^3、反応槽 HRT:8hour)した処理水を 2L 三角フラスコ 4 個に 2L ずつ入れ、各フラスコを人工気象器（株式会社日本医化器械製作所）内で、表-5.1 に示した 4 条件にて培養した。実験に用いた培養液は、下水処理水にまれに流出する大型の粒子の影響を実験から除外するため、1 時間静置後の上澄みを用いることとし、COD_{cr}:28.6mg/L、SS:8.5mg/L であった。攪拌はマグネッチックスターラーおよび回転子を利用した。

培養前後のクロロフィル a および b、全りん(TP)、溶解性全りん(DTP)、全窒素(TN)、溶解性全窒素(DTN)、りん酸イオン態りん(PO_4-P)、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)、無機性炭素(IC)、有機性炭素(TOC)を分析した。また、培養後の試料について、藻類の同定を行なった。クロロフィル a および b は、河川試験方法（案）[12)]に準拠することとし、全りんおよび全窒素は、前処理として下水試験方法[13)]の全窒素分析の銅・カドミウムカラム還元法における水酸化ナトリウムーペルオキソ二硫酸カリウム溶液で 120℃30 分間加熱分解した。連続流れ分析装置(TRAACS 2000、BRAN+LUEBBE 社)を用いて分析を行なった。ただし、クロロフィルおよび溶解性サンプルの分析は、粒子保持能（保持効率 98%）2.7 μm のガラス繊維ろ

紙(GF/D, Whatman 社)のろ液を用いた。無機性炭素および有機性炭素の分析には、TOC-5000 及び ASI-5000 (Shimadzu corporation）を用いた。光量子束密度は、ポータブル光量子束密度計(Quantum Meter QMSW-SS, Apogee Instruments, Inc.)を用いてフラスコの設置場所の中心点で測定した。藻類の同定は、平成 18 年度河川水辺の国勢調査マニュアル [14]に準拠し藻類の同定を行なった。藻類の同定方法の詳細は次項に示した。

表-5.1 実験条件

項目	培養温度	照明点灯時間	光量子束密度	培養日数	攪拌の有無
単位	℃	時間/日	μ mol m^{-2} s^{-1}	日	－
RUN-1	24	12	78	7	無し
RUN-2					有り
RUN-3				18	無し
RUN-4					有り

5.1.1 藻類の同定方法

①濃縮は静置沈殿法にて行なった。試料を 24～36 時間以上静置沈殿させ、試料の約 2/3 の上澄みをサイホンで除去し、残りを試料容器の約 1/3 容量の容器に移し入れる。以上の操作を沈殿管に入る量（50～100mL）まで順次行なう。沈殿管に試料を入れ 24～36 時間以上静置した後、最終的に 20mL になるようにアスピレーターで上澄みを除去し濃縮した。
②濃縮した試水を十分に攪拌した後、オートピペッターを用いて 0.1mL サブサンプルを採取した。
③採取したサブサンプルを 0.5mm 間隔の界線入りスライドガラス上に乗せ、18×24mm のカバーガラスをサブサンプルに被せた。
④100～400 倍率の正立顕微鏡にて検鏡を行い、生細胞を対象に文献 [15)~22)]を用いて種の同定を行った。計数は、界線に沿って顕微鏡下で種毎に細胞数、群体数（糸状体）をカウントした。カバーガラスのかかった範囲を分割して行うが、偏りがないように計数した。分析結果表には出現した種をそれぞれの出現割合と計数値を示した。なお珪藻綱の観察は、殻の形態が観察し易いように以下の方法でプレパラートを作成し 1000 倍率にて観察を行なった。0.1mL サブサンプルを乗せたカバーガラス（18×18mm）を電熱線コンロで 2 時間くらい熱する。マイクロスライドガラス(大きさ 76×26mm 厚さ 0.9～1.2mm)に封入剤（Mountmedia、和光純薬㈱）を 1 滴程度乗せ、熱したカバーガラスの表面（試料が乗っていた面）が封入剤に接するように被せた。

5.2 実験結果

実験の状況を写真-5.1～5.4 に示した。ほぼ無色透明の下水処理水が培養 7 日目には鮮やかな緑色になり、藻類そのものや栄養源を供給することなく増殖することが確認された。ただし、予備実験（データ非掲載）の際と比べて着色速度は遅く、下水処理水の違いによって増殖速度に差異が生じるものと考えられる。また、攪拌が無い場合には、底部のみが緑色に変化した。



写真-5.1 培養 0 日目



写真-5.2 培養 3 日目



写真-5.3　**培養 7 日目（左**:RUN-1、**右** RUN-2）



写真-5.4　**培養** 18 **日目（左**:RUN-3、**右** RUN-4）**（ただし撮影前の運搬により内容物が若干乱れている）**

培養に用いた下水処理水と各実験条件で培養された下水処理水の水質分析結果を表-5.2 に示した。培養の前後では、溶解性全りんは 98%(RUN-3)、95%(RUN-4)低下し、溶解性全窒素は、53%(RUN-3)、48%(RUN-4)低下し、藻類によるものと考えられる栄養塩除去の可能性が示された。クロロフィル a および b は培養によって増加した。培養 7 日目のサンプル(RUN-1,2)は、攪拌の有無による差異が生じていたが、培養 18 日目のサンプル(RUN-3,4)は、その差異は見られなかった。また、溶解性全りんは、培養 7 日目にはあまり減少しなかったが、培養 18 日目にはほとんど失われていた。典型的には、生物は重量で 7:1 の N:P 比を必要とされており [23]、18 日目時点で失われていた溶解性全窒素:溶解性全りんは概ね一致しており、りんが藻類の増殖を制限しているものと考えられた。

各実験条件で培養された下水処理水中の藻類同定結果を表-5.3 に示した。各条件での優占種は、RUN-1～4 において、それぞれ、*Chlamydomonas sp.* (写真-5.5), *Chlorolobion braunii* (写真-5.6), Chlorococcaceae (写真-5.7), Chlorococcaceae (写真-5.8)であり、いずれも緑藻網であった。培養 7 日目(RUN-1,2)においては、藍藻網および珪藻網がわずかながら検出されたが、培養 18 日目(RUN-3,4)においては、それらがほとんど検出されず、観察された藻類の種類が少なかった。以上のとおり、培養条件（流速、日数）の差異により生物種が異なっていた。また、観察された細胞数は、培養 7 日目、18 日目で差はあまり無かったが、クロロフィル a および b の差異と傾向が異なっており、今後の検討が必要と考えられた。

表-5.2　**培養に用いた下水処理水と各実験条件で培養された下水処理水の水質分析結果**

項目	クロロフィルa	クロロフィルb	TP	DTP	TN	DTN	PO_4-P	NH_4-N	NO_2-N	NO_3-N	IC	TOC
単位	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L
培養前	0.4	0.2	1.18	1.01	14.0	12.9	0.94	4.1	0.5	12.3	16.9	9.8
RUN-1	73.9	13.7	*	*	*	*	0.81	2.9	0.5	7.0	13.4	8.3
RUN-2	31.4	8.2	*	*	*	*	0.89	3.5	0.6	6.8	14.6	7.8
RUN-3	594.	182.	1.01	0.02	12.8	6.1	<0.02	0.2	0.3	4.4	7.9	9.8
RUN-4	585.	187.	0.98	0.05	12.1	6.7	<0.02	0.1	0.3	3.9	5.9	9.4

アスタリスク(*)は測定しなかった項目を示す。

"<0.02"は、測定値が定量下限値以下であったことを示す。

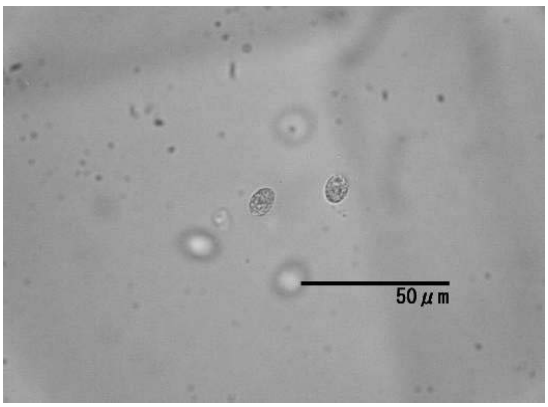


写真-5.5 RUN-1 で優占した *Chlamydomonas sp.*

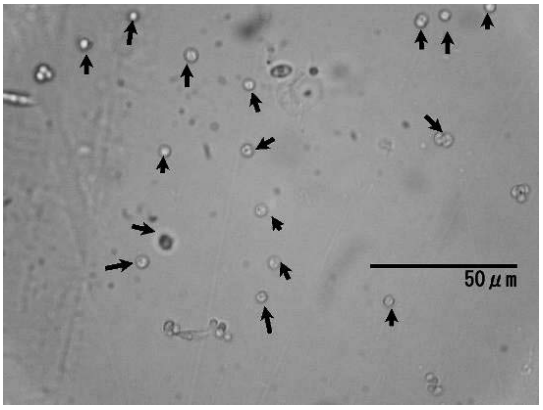


写真-5.7 RUN-3 で優占した Chlorococcaceae

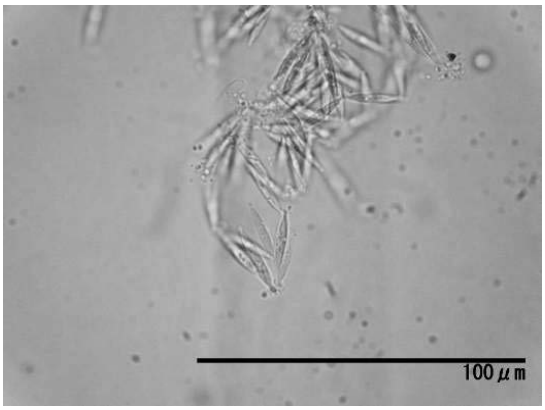


写真-5.6 RUN-2 で優占した *Chlorolobion braunii*

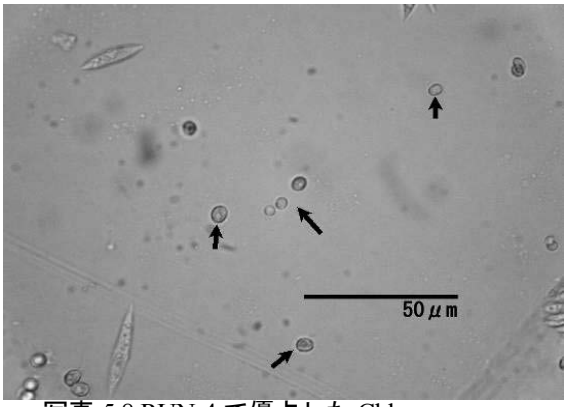


写真-5.8 RUN-4 で優占した Chlorococcaceae

表-5.3　各実験条件で培養された下水処理水中の藻類同定結果

No	門	綱	目	科	種名	RUN-1		RUN-2		RUN-3		RUN-4		参照
						%	計数値	%	計数値	%	計数値	%	計数値	文献
1	藍色植物門	藍藻綱	ネンジュモ目	ユレモ科	*Oscillatoria* sp *	0 1	1	0 2	2			0 1	1	(15),(19)
2	不等毛植物門	珪藻綱	中心目	タラシオシラ科	*Cyclotella meneghiniana*	0 1	1	0 2	2					(21),(22)
3	不等毛植物門	珪藻綱	中心目	タラシオシラ科	*Stephanodiscus* sp	0 2	2	0 4	4					(21),(22)
4	不等毛植物門	珪藻綱	羽状目	ディアトマ科	*Fragilaria tenera*	0 6	6	0 6	6					(21),(22)
5	不等毛植物門	珪藻綱	羽状目	ナビクラ科	*Gomphonema parvulum*	0 1	1	0 1	1					(21),(22)
6	不等毛植物門	珪藻綱	羽状目	ナビクラ科	*Navicula minima*			0 1	1					(21),(22)
7	不等毛植物門	珪藻綱	羽状目	ナビクラ科	*Pinnularia gibba*	0 2	2							(21),(22)
8	不等毛植物門	珪藻綱	羽状目	ニッチア科	*Nitzschia acicularis*			0 2	2					(21),(22)
9	不等毛植物門	珪藻綱	羽状目	ニッチア科	*Nitzschia amphibia*									(21),(22)
10	不等毛植物門	珪藻綱	羽状目	ニッチア科	*Nitzschia palea*									(21),(22)
11	緑色植物門	緑藻綱	オオヒゲマワリ目	クラミドモナス科	*Chlamydomonas* sp	58 5	600	9 2	90	1 6	14	2 8	30	(15),(20)
12	緑色植物門	緑藻綱	クロロコックム目	クロロコックム科	Chlorococcaceae	3 9	40	16 4	160	56 6	510	33 2	360	(15),(18)
13	緑色植物門	緑藻綱	クロロコックム目	クロロコックム科	*Tetraedron caudatum*			0 4	4	0 1	1			(15)
14	緑色植物門	緑藻綱	クロロコックム目	オオキスティス科	*Ankistrodesmus falcatus* var *falcatus*	0 8	8	3 3	32	0 4	4	0 6	6	(15)
15	緑色植物門	緑藻綱	クロロコックム目	オオキスティス科	*Chlorolobion braunii*	1 8	18	53 3	520	2 7	24	22 1	240	(18)
16	緑色植物門	緑藻綱	クロロコックム目	オオキスティス科	*Monoraphidium minutum*	0 2	2							(15)
17	緑色植物門	緑藻綱	クロロコックム目	セネデスムス科	*Scenedesmus acutus*	14 4	148	8 2	80	13 0	117	18 8	204	(15)
18	緑色植物門	緑藻綱	クロロコックム目	セネデスムス科	*Scenedesmus quadricauda*	7 8	80			22 3	201	15 5	168	(15)
19	緑色植物門	緑藻綱	クロロコックム目	セネデスムス科	*Scenedesmus spinosus*									(15)
20	緑色植物門	緑藻綱	クロロコックム目	セネデスムス科	*Scenedesmus* sp	3 1	32	1 6	16	1 3	12			(15)
21	緑色植物門	緑藻綱	クロロコックム目	セネデスムス科	*Tetradesmus wisconsinensis*			1 6	16					(15)
22	緑色植物門	緑藻綱	ヒビミドロ目	ヒビミドロ科	*Klebsormidium* sp	8 2	84	4 1	40	2 0	18	4 6	50	(15)
23	緑色植物門	緑藻綱	ヒビミドロ目	ヒビミドロ科	*Ulothrix* sp							2 4	26	(15),(16)
					合計	100 0	1025	100 0	976	100 0	901	100 0	1085	
					種類数	15		16		9		9		

アスタリスク(*)を付した種は群体数（糸状体）を計数した。

5.2 下水処理水を用いた半連続式藻類培養実験

5.2.1 実験方法

下水処理場に流入する下水を二次処理(反応槽容量:0.5m^3、反応槽 HRT:8hour)した処理水を攪拌器付セルカルチャーフラスコに 2.7L 入れ、マグネッチックスターラーで攪拌しながら培養した。水理学的滞留時間が 4 日程度となるように、ポンプで下水処理水を 1 日に 1 度 0.7L 程度を投入し、オーバーフロー水が排出された。下水処理水は、4℃の冷蔵状態で保存し、1 週間ごとに新たなものに取り替えた。培養温度は 20℃、1 日当たりの点灯時間は 12 時間、光量子束密度 32 μ mol m^{-2} s^{-1} で培養した。フラスコ内部に空気をポンプで 0.5L/min で送風した。実験に用いた培養液は、下水処理水にまれに流出する大型の粒子の影響を実験から除外するため、1 時間静置後の上澄みを用いることとし、COD_{cr}:28.6mg/L、SS:8.5mg/L であった。培養前後のクロロフィル a および b、全りん(TP)、溶解性全りん(DTP)、全窒素(TN)、溶解性全窒素(DTN)、りん酸イオン態りん(PO_4-P)、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)、無機性炭素(IC)、有機性炭素(TOC)を分析した。分析方法は、前節と同じとした。

5.2.2 実験結果

実験の状況を写真-5.9～5.10、半連続式反応槽の原水および処理水の水質を表-5.4、半連続式反応槽中の藻類同定結果を表-5.5 に示した。運転を始めて安定期に入った頃(12 日目)には、既に緑色に染まっていた。水質は前節の回分式試験と同様に、溶解性全りんおよび溶解性全窒素が減少した。反応槽中のクロロフィル a の濃度は、既報[11]と比べて 1/20 程度であり、さらなる向上が可能と考えられた。藻類は、*Scenedesmus* 科が 96%を占め、単一科の有占が可能であることが示された（写真-5.11）。

Scenedesmus acutus の一種である *Scenedesmus obliquus* (*Scenedesmus* var. *actus* の synonym[15])は、従前研究が多くあり、通常の緑藻の構成成分中の脂質含量が 15-17%である[24]ところ、平常時は 12.7%[25]や 17.7%[26]であるが、貧窒素状態で 43%まで向上することが報告されている[25]。脂質の成分構成は、リノール酸や不飽和脂肪酸が高いことから、バイオディーゼルの生産に適した種と考えられている[26]。また、人工下水中の *Scenedesmus obliquus* の培養によって pH9-10 程度の高 pH 及びエアレーションによってアンモニアストリッピングが発生することも確認されている[27]。高密度の *Scenedesmus* 科を用いて、数時間のうちに下水処理水中のりん酸イオン態りん、アンモニア性窒素を 100%除去可能であることが報告されている[28]。*Scenedesmus incrassatulus* により、人工下水中の重金属（クロム、銅、カドミウム）が除去可能であることが報告されている[29]。これらの特性から *Scenedesmus* 科を用いて下水処理を高度化することは有望であると考えられた。



写真-5.9　半連続式反応槽の様子（実験 0 日目）

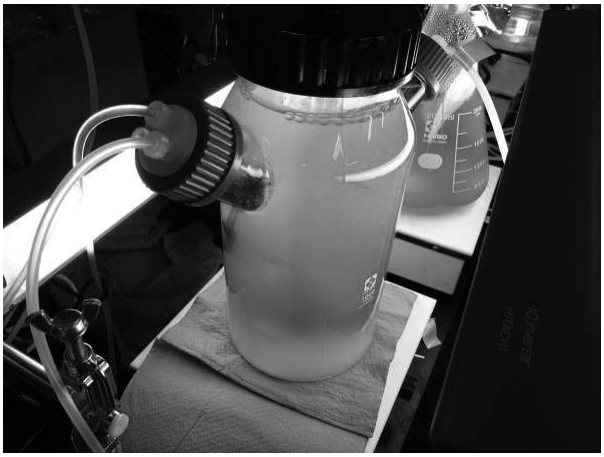


写真-5.10　半連続式反応槽の様子（実験 18 日目）

表-5.4　半連続式反応槽の原水および処理水の水質

項目	クロロフィルa	クロロフィルb	TP	DTP	TN	DTN	PO_4-P	NH_4-N	NO_2-N	NO_3-N	IC	TOC
単位	μg/L	μg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L
原水初旧採取	0.4	0.2	1.2	1.0	14.0	12.9	0.94	4.1	0.5	12.3	16.9	9.8
原水中間旧採取	*	*	0.9	0.9	8.6	6.6	0.81	2.9	0.5	7.0	14.9	6.1
半連続式処理水	234.	79.	1.3	0.04	12.6	4.1	<0.02	0.2	0.3	2.0	7.1	10.9

アスタリスク(*)は測定しなかった項目を示す。
"<0.02"は、測定値が定量下限値以下であったことを示す。

表-5.5 半連続式反応槽中の藻類同定結果

No.	門	綱	目	科	種名	半連続処理 %	半連続処理 計数値	参照文献
1	藍色植物門	藍藻綱	ネンジュモ目	ユレモ科	*Oscillatoria* sp.*			(15),(19)
2	不等毛植物門	珪藻綱	中心目	タラシオシラ科	*Cyclotella meneghiniana*			(21),(22)
3	不等毛植物門	珪藻綱	中心目	タラシオシラ科	*Stephanodiscus* sp.			(21),(22)
4	不等毛植物門	珪藻綱	羽状目	ディアトマ科	*Fragilaria tenera*			(21),(22)
5	不等毛植物門	珪藻綱	羽状目	ナビクラ科	*Gomphonema parvulum*			(21),(22)
6	不等毛植物門	珪藻綱	羽状目	ナビクラ科	*Navicula minima*			(21),(22)
7	不等毛植物門	珪藻綱	羽状目	ナビクラ科	*Pinnularia gibba*			(21),(22)
8	不等毛植物門	珪藻綱	羽状目	ニッチア科	*Nitzschia acicularis*			(21),(22)
9	不等毛植物門	珪藻綱	羽状目	ニッチア科	*Nitzschia amphibia*	0.1	1	(21),(22)
10	不等毛植物門	珪藻綱	羽状目	ニッチア科	*Nitzschia palea*	0.2	2	(21),(22)
11	緑色植物門	緑藻綱	オオヒゲマワリ目	クラミドモナス科	*Chlamydomonas* sp.			(15),(20)
12	緑色植物門	緑藻綱	クロロコックム目	クロロコックム科	Chlorococcaceae	2.5	27	(15),(18)
13	緑色植物門	緑藻綱	クロロコックム目	クロロコックム科	*Tetraedron caudatum*			(15)
14	緑色植物門	緑藻綱	クロロコックム目	オオキスティス科	*Ankistrodesmus falcatus* var.*falcatus*	0.7	8	(15)
15	緑色植物門	緑藻綱	クロロコックム目	オオキスティス科	*Chlorolobion braunii*	0.8	9	(18)
16	緑色植物門	緑藻綱	クロロコックム目	オオキスティス科	*Monoraphidium minutum*			(15)
17	緑色植物門	緑藻綱	クロロコックム目	セネデスムス科	*Scenedesmus acutus*	66.2	711	(15)
18	緑色植物門	緑藻綱	クロロコックム目	セネデスムス科	*Scenedesmus quadricauda*	28.5	306	(15)
19	緑色植物門	緑藻綱	クロロコックム目	セネデスムス科	*Scenedesmus spinosus*	0.4	4	(15)
20	緑色植物門	緑藻綱	クロロコックム目	セネデスムス科	*Scenedesmus* sp.	0.6	6	(15)
21	緑色植物門	緑藻綱	クロロコックム目	セネデスムス科	*Tetradesmus wisconsinensis*			(15)
22	緑色植物門	緑藻綱	ヒビミドロ目	ヒビミドロ科	*Klebsormidium* sp.			(15)
23	緑色植物門	緑藻綱	ヒビミドロ目	ヒビミドロ科	*Ulothrix* sp.			(15),(16)
					合計	100.0	1074	
					種類数	9		

アスタリスク(*)は測定しなかった項目を示す。

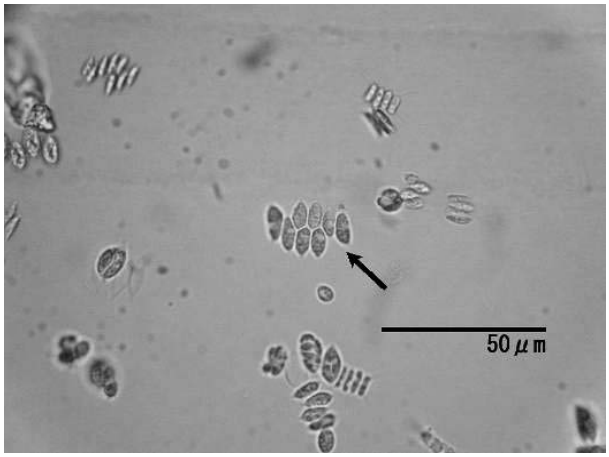


写真-5.11　半連続式反応槽で優占した *Scenedesmus acutus*

5．3　まとめ

本調査より以下の事項が明らかになった。

1) 回分式試験の結果から、ほぼ無色透明の下水処理水が培養 7 日目には鮮やかな緑色になり、藻類そのものや栄養源を供給することなく増殖することが確認された。ただし、下水処理水の違いによって増殖速度に差異が生じた。

2) 回分式試験の結果から、培養の前後では、溶解性全りんは 98%(攪拌無し)、95%(攪拌有り)低下し、溶解性全窒素は、53%(攪拌無し)、48%(攪拌有り)低下し、藻類によるものと考えられる栄養塩除去の可能性が示された。

3) 回分式試験の結果から、培養 7 日目のサンプルは、攪拌の有無により増殖した生物種に差異が生じていたが、培養 18 日目のサンプルは、その差異は見られなかった。

4) 回分式試験の結果から、溶解性全りんは、培養 7 日目にはあまり減少しなかったが、培養 18 日目にはほとんど失われていた。

5) 典型的には、生物は重量で 7:1 の N:P 比を必要とされているが、回分式試験の結果から、18

日目時点で失われていた溶解性全窒素:溶解性全りんは概ねこの比率と一致していた。また、本実験条件ではりんが藻類の増殖を制限しているものと考えられた。

6) 回分式試験の結果から、培養条件（流速、日数）の差異により生物種が異なっていた。

7) 半連続式試験の結果から、溶解性全りんおよび溶解性全窒素が減少した。

8) 半連続式試験の結果から、藻類は、*Scenedesmus* 科が 96%を占め、単一科の優占が可能であることが示された。

9) 半連続式試験の結果から、*Scenedesmus* 科を用いて下水処理を高度化することは有望であると考えられた。

参考文献

1) 社会資本整備重点計画、平成 21 年 3 月 31 日閣議決定、http://www mlit g o jp/common/000038075 pdf

2) 下水道における地球温暖化防止対策検討委員会、下水道における地球温暖化防止推進計画策定の手引き、平成 21 年 3 月、http://www mlit go jp/comm on/000036176 pdf

3) Peer M Schenk, Skye R Thomas-Hall, Evan Stephens, Ute C Marx, Jan H Mussgnug, Clemens Posten, Olaf Kruse and Ben Hankamer Second Ge neration Biofuels: High-Efficiency Microalgae for Biodiesel Production BioEn ergy Research 1(1), pp 20-43, 2008

4) Yusuf Chisti Biodiesel from microalgae Biotechnology Advances, 25(3), pp 294-306,2007

5) National Renewable Energy Laboratory A Look Back at the U S Depart ment of Energy's Aquatic Species Program: Biodiesel from Algae NREL/TP-580-24190, http://www nrel gov/docs/legosti/fy98/24190 pdf

6) Bei Wang, Yanqun Li, Nan Wu and Christopher Q Lan CO2 bio-mitigat ion using microalgae Applied Microbiology and Biotechnology, 79(5), pp 707 -718, 2008

7) Jon K Pittman, Andrew P Dean, Olumayowa Osundeko The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources Bioresource Technology, 102(1), pp 17-25,2011

8) Luz E de-Bashan, Yoav Bashan Immobilized microalgae for removing po llutants: Review of practical aspects Bioresource Technology, 101(6), pp 1611 -1627, 2010

9) Pond treatment technology Edited by Andy Shilton, IWA publishing, 2006 ISBN: 9781843390206

10) J B K Park, R J Craggs, A N Shilton Wastewater treatment high rate al gal ponds for biofuel production Bioresource Technology, 102(1), 35-42, 201 1

11) J B K Park and R J Craggs Wastewater treatment and algal production in high rate algal ponds with carbon dioxide addition Water Science and Techn ology, 61(3):633-639, 2010

12) 建設省河川局（監修）、河川水質試験方法（案）[1997 年版]、技報堂出版

13) 建設省都市局下水道部・厚生省生活衛生局水道環境部（監修）、下水試験方法 上巻 -1997 年版-、社団法人下水道協会

14) 平成 18 年度河川水辺の国勢調査マニュアル 基本調査編【ダム湖版】 V 動植物プランクトン調査編 http://www4 river go jp/system/DownLoad/H 18_Chousamanual_dam/06pura pdf

15) 廣瀬弘幸・山岸高旺（編）、日本淡水藻図鑑、株式会社内田老鶴圃、19 77.

16) 社団法人日本水道協会（編）、日本の水道生物－写真と解説－、社団法人日本水道協会、1993.

17) 小島貞男・須藤隆一・千原光雄編（編）、環境微生物図鑑、株式会社講談社、1995.

18) 千原光雄（編著）、藻類多様性の生物学、株式会社内田老鶴圃、1997.

19) 渡辺眞之（著）、日本アオコ大図鑑、株式会社誠文堂新光社、2007.

20) 水野寿彦・高橋永治（編）、日本淡水動物プランクトン検索図説、東海大学出版会、1991.

21) 渡辺仁治（編著）、淡水珪藻生態図鑑、株式会社内田老鶴圃、2005.

22) 小林弘・出井雅彦・南雲保・真山茂樹・長田敬五（著）、小林弘珪藻図鑑 第 1 巻、株式会社内田老鶴圃、2006.

23) アレキサンダー・J・ホーン、チャールス・R・ゴールドマン著、陸水学、京都大学学術出版会、1999.

24) 彼谷邦光、微細藻類オイルの化学、日本微生物資源学会誌、26(1)、pp.1-10、2010.

25) Shovon Mandal and Nirupama Mallick. Microalga Scenedesmus obliquus as a potential source for biodiesel production. Applied Microbiology and Biotechnology, 84(2), pp.281-291, 2009.

26) Luisa Gouveia and Ana Cristina Oliveira, Microalgae as a raw material for biofuels production, Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 36(2), pp 269-274, 2009.

27) Domenico Voltolina, Beatriz Cordero, Mario Nieves, Lilia P. Soto. Growth of Scenedesmus sp. in artificial wastewater. Bioresource Technology, 68(3), 265-268, 1999.

28) Endong Zhang, Bing Wang, Qihua Wang, Shubiao Zhang, Budiao Zhao. Ammonia-nitrogen and orthophosphate removal by immobilized Scenedesmus sp. isolated from municipal wastewater for potential use in tertiary treatment. Bioresource Technology, 99(9), 3787-3793, 2008.

29) J. M. Pena-Castro, F. Martinez-Jeronimo, F. Esparza-Garcia, R. O. Canizares-Villanueva. Heavy metals removal by the microalga Sc enedesmus incrassatulus in continuous cultures. Bioresource Technol ogy, 94(2), 219-222, 2004.

6. 藻類を用いたメタン発酵の可能性の検討[1)]

下水処理により汚水中の有機物や栄養塩類の除去が行われた処理水は、放流先の基準を満足した状態で公共用水域に放流されている。しかしながら、処理水中に含まれている微量の塩類を栄養として藻類が最終沈殿池や修景用水路で繁茂することが報告されており、藻の繁茂を防ぐための研究がなされている[2),3)]。

処理水中に繁茂する藻類を下水処理場から得られる資源として活用する可能性について探るため、メタン発酵の可能性について検討を行った。

6.1 実験方法

2009 年 10 月中旬から、A 処理場内に設置した図-6.1 に示す水路に、二次処理水を 200L/day で連続して供給した。期間中の二次処理水の代表的な水質項目は図-6.2 のとおりであった。約 3 ヶ月間後に、プランクトンネットを用いて発生した藻類を回収した。ほぼ同時期に採取した藻類は表-6.1 に示すように、*Chlamydomonas sp.*をはじめとした緑藻が支配的であった。得られた藻を、遠心分離機（KOKUSAN H-80F）で 20 分間 3,000rpm の条件で濃縮を行い、図-6.3 に示す濃縮藻類を得た。濃縮藻類の基本的な性質については表-6.2 のとおりであった。

次に濃縮した藻類を用いて、消化実験を行った。B 処理場の消化汚泥と表-6.3 に示す割合で混合し、720ml のバイアル瓶にブチルゴムとアルミ栓で密栓を行い、2 週間にわたり 35℃に保たれた恒温室で静置した。攪拌は一日に一回程度、手動により実施した。実験期間中、気相の分析として、発生ガス量、発生ガスの CH_4・CO2・N2 濃度分析(島津製作所 GC-2014ATF)、液相の分析として、pH、TS/VS(下水試験法)、有機酸(DIONEX IC20 Ion Chromatograph)、NH4-N(ブラン・ルーベ社製 TRAACS2000)を実施した。発生ガス量の測定方法には、シリンジを用いてバイアル瓶の内部の圧力が大気圧になるまで引き抜いたガス量から計算して求めた。

気相の測定時期については表-6.3 のとおりである。液相の諸項目については、開始時と 13 日後に pH、TS/VS、有機酸、NH4-N について測定を行った。中間の 5 日目にシリンジにより 40mL ほど引抜き、pH、有機酸、NH4-N について分析を行った。

藻類の可溶化処理は、TS4.5%に調整した試料をポリエチレン瓶に封入し、瓶ごと 50℃の恒温水槽に 24 時間温浴することで行った。

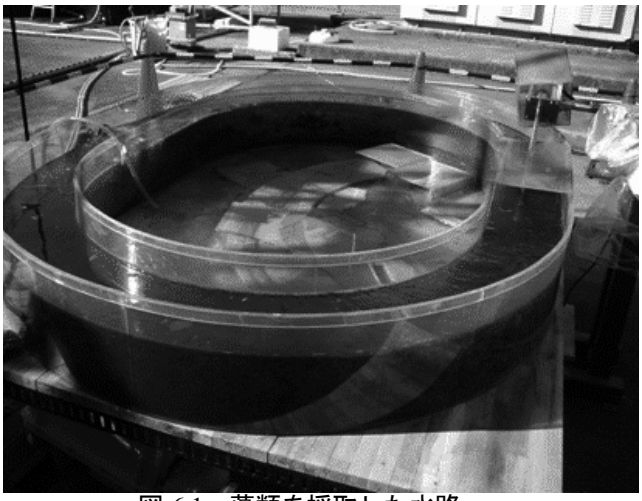


図-6.1 藻類を採取した水路

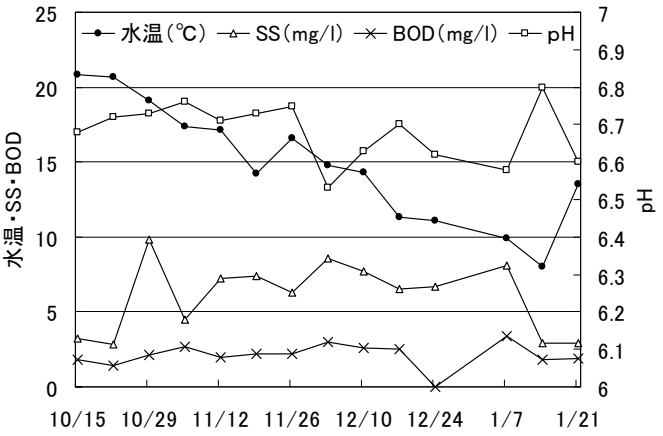


図-6.2 藻発生期間中の二次処理水の変動

表-6.1 水路で発生した藻類の細胞数分析結果 単位：%

No.	門	綱	目	科	種名	割合
1	藍色植物	藍藻	ネンジュモ	ユレモ	*Oscillatoria limnetica* *	1.6
2					*Oscillatoria* sp.*	0.1
3	不等毛植物	珪藻	中心	タラシオシラ	*Cyclotella meneghiniana*	0.2
4			羽状	ディアトマ	*Fragilaria* sp.	5.4
5				ナビクラ	*Gomphonema parvulum*	0.2
6					*Navicula minima*	2.6
7					*Navicula saprophila*	0.3
8					*Navicula subminuscula*	0.9
9					*Navicula* sp.	0.1
10				ニッチア	*Nitzschia amphibia*	0.2
11					*Nitzschia frustulum*	0.3
12	緑色植物	緑藻	オオヒゲマワリ	クラミドモナス	*Chlamydomonas* sp.	61.4
13			クロロコックム	オオキスティス	*Ankistrodesmus falcatus*	0.9
14			クロオコックム	セネデスムス	*Scenedesmus acutus*	19.9
15					*Scenedesmus quadricauda*	1.0
16					*Scenedesmus spinosus*	0.2
17					*Scenedesmus* spp.	4.7
					種類数	17
					合計	100.0

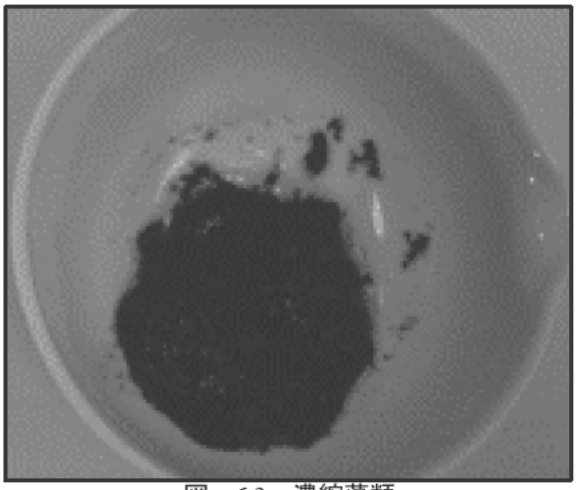
注1) アスタリスク(*)を付した種は糸状体数を計数した。

注2) *Chlamydomonas* sp. は非運動細胞（パルメラ・ステージ）

表-6.2　濃縮藻類の性状

濃縮藻類のTS,VS	
TS(g/L)	89.1
VS(g/L)	63.4
VS/TS	0.71

TSの組成	
C（%）	36.3
H（%）	5.5
N（%）	6.1
C/N	5.9



図－6.3　濃縮藻類

表-6.3　消化実験の実験条件

No.		配合比	ガス測定 *
1	消化汚泥のみ（対照系）		10h 24h 48h 164h 284h 306h
2	濃縮汚泥＋消化汚泥	TS比 1:2	10h 24h 48h 62h 82h 164h 284h 306h
3-1	濃縮藻類＋消化汚泥	TS比 1:1	10h 24h 48h 62h 82h 164h 284h 306h
3-2	濃縮藻類(可溶化)＋消化汚泥	TS比 1:1	10h 24h 48h 62h 82h 164h 284h 306h

＊無印はガス量のみ測定、下線はガス量とガス組成を測定

6.2　結果・考察

濃縮藻類を投入した系も濃縮汚泥と同様に順調に発酵が進んでおり、酸敗やアンモニア阻害等の問題は発生しなかった。pH は、藻類・濃縮汚泥の基質投入を行った系では実験開始時には 7 程度であったが 13 日後には 7.5 となり、基質を投入していない対照系と同じ値を示した。有機酸は、実験開始時には可溶化処理を行っていない藻類で約 400mg/L、可溶化処理を行ったものでは 1800mg/L 程度測定されており、加温による可溶化の効果が認められる(図-6.4)。吉草酸を除き 5 日目には消費されており、いずれの系でも 13 日後の有機酸は合計しても 10mg/L 以下であった(図-6.5)。

実験結果から、各基質単独での分解率は表-6.4 に示す結果となった。今回の実験結果では濃縮藻類の分解率は、汚泥の 7 割程度であった。可溶化処理をすることで分解率は悪くなっているが、これは実験開始時の時点ですでに分解が進んでいたため、見かけ上分解率が悪くなっていると考えられる。

藻類をメタン発酵することで得られたバイオガスの組成は、概ね CH_4：CO_2＝65：35 となり、下水汚泥の消化ガスとほぼ同等のガス組成となっていた。

投入 VS あたりのガス総発生量は 290 ml/g-VS(可溶化なし)、250 ml/g-VS(可溶化)であった。初期の配合比が異なる濃縮汚泥 270 ml/g-VS と比べて大きな違いがなく、消化汚泥から発生するガス量はわずかであることから、濃縮藻類のガス発生倍率は概ね濃縮汚泥の 7 割程度であると推察される。

ガス発生量の経時変化では、藻類では実験開始から 62 時間後まではガスがほぼ一定量発生し続けていた(図-6.6)。濃縮汚泥では 10-24h 後にピークを迎えており、藻類は汚泥と比べてガス化に時間を要する傾向が見られた。

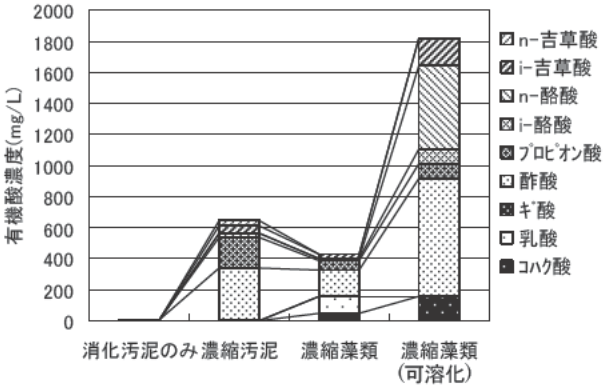


図-6.4　実験開始時の有機酸濃度

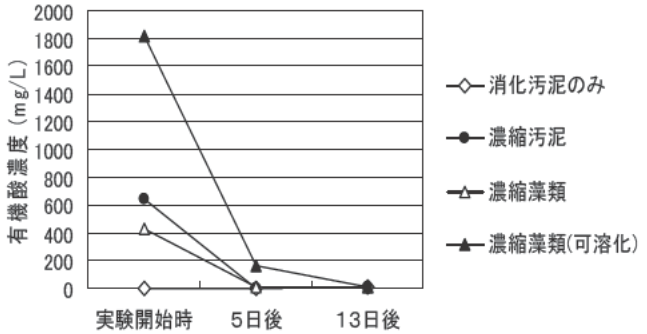


図-6.5　有機酸の推移

※ここでいう有機酸とは、ギ酸･酢酸･プロピオン酸･酪酸･吉草酸･乳酸･コハク酸の合計値をさす。

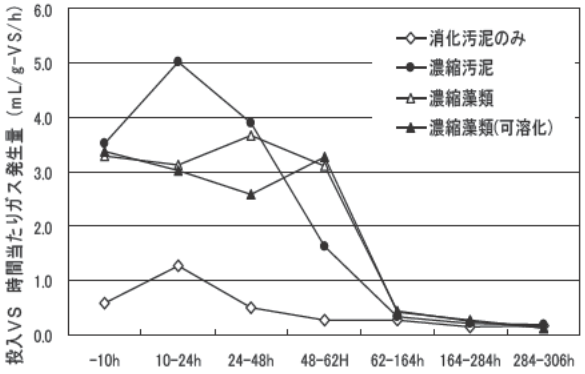


図-6.6　投入 VS 単位時間当たりガスの発生量の推移

表-6.4　各基質の分解率

（単位：%）

	TS分解率	VS分解率
消化汚泥	5.9	8.5
濃縮汚泥	67.2	72.4
濃縮藻類	41.0	54.7
濃縮藻類（可溶化）	33.4	43.4

6.3 まとめ

本調査の結果、以下の事項が明らかとなった。

1) 二次処理水を流した水路に繁茂する藻類を資源として積極的に活用するために、メタン発酵について検討を行ったところ問題なく発酵が進んでいた。
2) VS 分解率やガスの発生倍率は濃縮汚泥の 7 割程度であり、・ガス量も濃縮汚泥と同程度であるが、ガス化に時間を要していた。得られたバイオガスはメタン濃度が 65%程度であり、一般的な下水汚泥を消化した場合と同等の組成であった。また、温水による可溶化を試みたところ、有機酸の生成等に効果が確認された。
3) 本研究により、処理場が持つ資産を使って、消化槽の負荷量を調整する可能性が見出された。例えば冬季に藻類を栽培し消化槽に投入することで、消化槽の加温に必要とする消化ガスの発生量を増加させるといった利用方法も考えられる。

参考文献

1) 宮本 豊尚、岡本 誠一郎：藻類を用いたメタン発酵の可能性検討、下水道研究発表会講演集 47, 453-455, 2010
2) 岡安祐司、南山瑞彦、鈴木穣：微生物固定化担体を用いた、下水再生水放流水路における付着藻類の増殖を抑制する技術の開発、第 46 回環境工学研究フォーラム講演集、pp.16-18、2009
3) 秋葉誠、富田雅昭：最終沈殿池越流樋部の防藻対策、下水道協会誌、Vol.22、No.257、pp.62-69、1985

再生水利用の安全リスクに関する研究

リサイクルチーム　上席研究員　岡本誠一郎
主任研究員　諏訪　守
研　究　員　桜井　健介
専門研究員　安井　宣仁

１．はじめに

平成 18 年度における全国の下水処理場の処理水量は年間 142.9 億 m^3 に達している。下水処理水は、都市内における貴重な水資源であり、下水処理場の場外に送水され、工業用水、修景揚水等として年間 1.94 億 m^3 の利用があるが、その割合は、処理水量全体の 1.4%に過ぎない [1)]。一方、内閣府が行なった世論調査 [2)]では、水の有効利用を図るため、一度使った水を処理した水や雨水など、水道水と比較して低水質の水が、さまざまな施設の水洗トイレや散水などに活用されているが、このような水を使うことについてどう思うか聞いたところ、「使いたい」とする者の割合が 86.4%となっている。同調査で「行政に力を入れてほしいこと」では、「水辺環境の整備」や「水の再利用の促進」が平成 13 年の前回調査に比べ増加するなど、水辺環境や水の再利用に対する要請が強くなっている。また、下水処理水の利用の促進に向けて、再生水の安全性の評価と制御方法の開発などが求められている [3)]。本研究では、平成 21～24 年度において、再生水利用促進のための要因分析の上、水質基準を設定するための課題抽出および再生処理技術の評価を行うものとし、平成 22 年度は再生処理技術の評価を実施した。なお、本調査における再生水の利用とは、下水処理水の利用と同義である。

２．再生処理技術の評価

２．１　下水中の懸濁物質径の測定

粒子とウイルスの関係の解明に向け、下水中の懸濁物質の粒径の分布を全体と微小な懸濁物質に分けて把握することとした。

２．２　下水中の微小懸濁物質径の分布の測定方法の検討

微小懸濁物質径の分布の把握には、電気的検知帯法(Electrical sensing zone method, ISO 13319, Multisizer 4.0, Beckman Coulter, Inc.）を用いた。本法は、懸濁物質の電気抵抗を利用し、分析試料中の粒子 1 個ずつの体積を測定し、球形に換算した粒子径ごとの粒子数を出力する方法である。なお、本方法は、下水や環境水中への検証・適用実績が多数報告されている [4)~13)]。本報告において、微小懸濁物質とは、生物処理に大きく影響を受けるとされている 10-20μm 以下の粒子 [14)]を指すこととし、分析機の細孔は 20μm（標準測定範囲：0.4-12μm）を用いることとした。

平成 21 年度は、下水中の微小懸濁物質径の分布の測定における定量範囲の検討のため、粒子径ごとの粒子数の変動係数を求め、変動係数が 0.1 以下となるのは、分析試料あたりの平均粒子数が、流入下水は 14.8-17.2 個以上の試料、二次処理水は 11.3-35.5 個以上の試料であった。また、本調査における分析試料は、大きな粒子径ほど粒子数が少ない傾向にあり、それら平均粒子数を満たすのは、流入下水においては、粒子径が 1.237-1.376μm 以下の時であり、二次処理水においては、粒子径が 0.798-1.271μm 以下の時であった。

(1) 1μm 以下の径の懸濁物質の測定精度の確認

1) 方法

本法の 1μm 以下の径の懸濁物質の測定精度の確認のため、超純水および下水処理水に標準物質（表-1 参照）を添加し、24 時間以内に測定した。下水処理水は、下水を実験的に二次処理した水を採取し二時間静置の上、上

澄みを用いた。

表-1　実験に利用した標準物質

	Composition	Density (g/cm^3)	Certified Mean Diameter(μm)	Lot#	
標準物質 1	Silica	1.83	0.49±0.02	37296	Thermo SCIENTIFIC
標準物質 2	Polystyrene	1.05	0.496±0.0081	37564	Thermo SCIENTIFIC

2) 結果

下水処理水と標準物質(Silica および Polystyrene)添加試料の粒径分布の測定結果を図-1、2 に示した。標準物質が添加された試料の測定された粒子の体積は、超純水に添加された Polystyrene が標準物質よりも大きいピーク径で発生し、下水処理水を用いた場合などのそれ以外については、0.5μm もしくはそれより幾分大きい範囲でピークが検出された。また、超純水と下水処理水の標準物質(Silica および Polystyrene)添加試料の直径 1～12μm 懸濁物質総体積を表-2、3 に示した。標準物質(Silica および Polystyrene)は、計算上、0.01mL の添加によって、それぞれ 0.11mm^3/mL および 0.10mm^3/mL 程度増加すると考えられたが、実際には、1/5 および 2/5 程度であり、過小な評価となった。ピーク値は概ね合致したものの、近年のレビュー[13]で、0.6μm 以下の径で電気ノイズの影響を受けるなどの測定上の課題が指摘されるなどしており、これらのデータの測定精度は今後検証する必要がある。

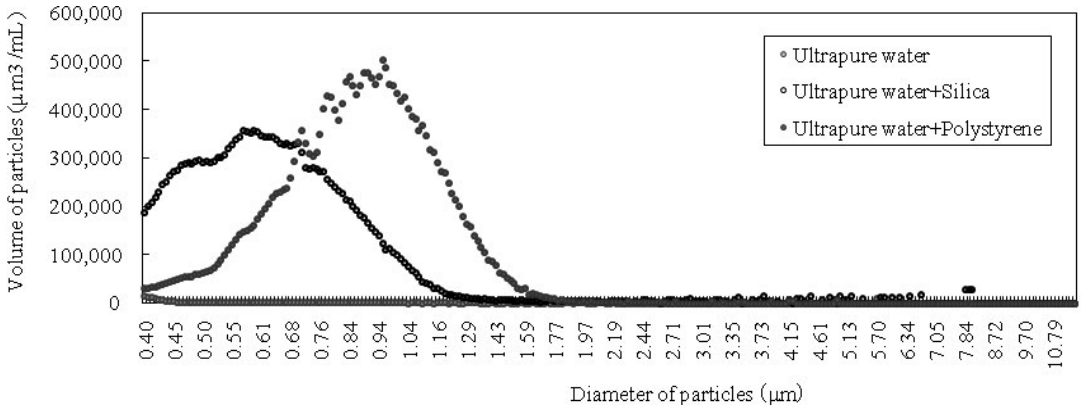


図-1　超純水と標準物質(Silica および Polystyrene)添加試料の粒径分布

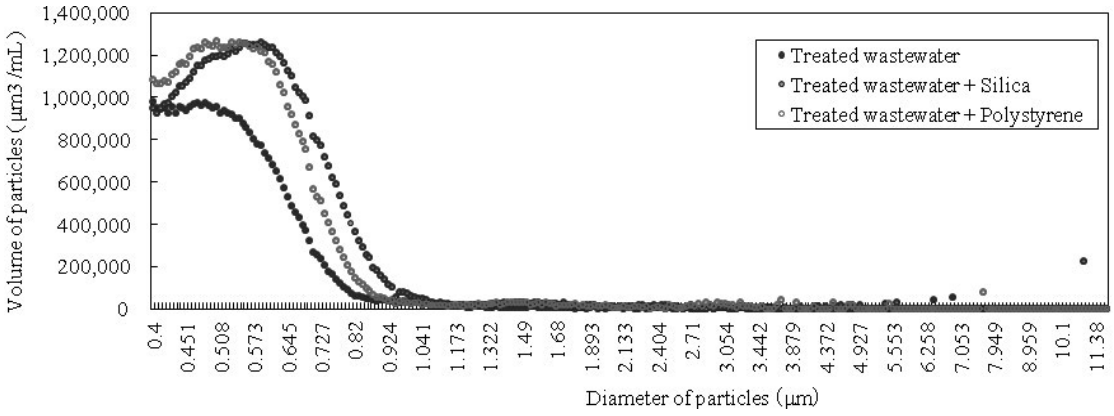


図-2　下水処理水と標準物質(Silica および Polystyrene)添加試料の粒径分布

表-2　超純水と標準物質(Silica および Polystyrene)添加試料の直径 1～12μm 懸濁物質総体積

	超純水添加量(mL)	標準物質溶液添加量(mL)	1-12μm懸濁物質総体積(mm^3/mL)
超純水	1.00	0.00	0.001
超純水+Silica	0.99	0.01	0.020
超純水+Polystyrene	0.99	0.01	0.024

表-3　下水処理水と標準物質(Silica および Polystyrene)添加試料の直径 1～12μm 懸濁物質総体積

	下水処理水添加量(mL)	標準物質溶液添加量(mL)	1-12μm 懸濁物質総体積(mm^3/mL)
下水処理水	1.00	0.00	0.037
下水処理水+Silica	0.99	0.01	0.058
下水処理水+Polystyrene	0.99	0.01	0.083

(2) 保管による影響

1) 方法

下水中の微小懸濁物質径の分布の測定において、分析までに時間を要する場合を想定し、保管による影響を調査した。分析対象試料は、下水処理水を用いた。下水処理水は、採取後 6 時間以内に分析した。保管条件は、冷蔵(4℃)および冷凍(-20℃)で 14 日間とした。

2) 結果

測定結果を図-2 に示した。冷蔵で保管された下水処理水は、保管される前の下水処理水に比べて、1μm 程度の大きさの粒子の体積が小さく、0.4-0.5μm の粒子の体積がやや大きかった。0.4-12μm の懸濁物質の体積の合計は、冷蔵で保管された下水処理水は、保管される前の下水処理水に比べて、105%であり、精度よく測定された。一方で、冷凍で保管された試料は、保管される前の下水処理水に比べて、直径 0.8μm 以下の懸濁物質の体積が小さくなっていた。0.4-12μm の懸濁物質の体積の合計は、冷蔵で保管された下水処理水は、保管される前の下水処理水に比べて、47%であった。

以上から懸濁物質を 2 週間程度保管する際には、冷蔵が望ましいが 1μm 程度の懸濁物質については、過小評価をする可能性を考慮する必要があると考えられた。

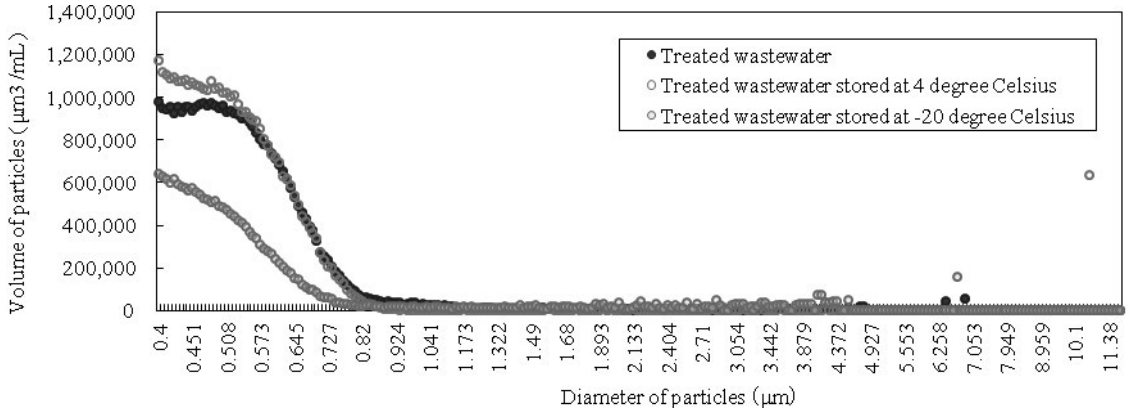


図-2　下水処理水と冷蔵(4℃)および冷凍(-20℃)で保管された下水処理水の測定結果

２．３　下水処理における微小懸濁物質とウイルスの除去

下水処理における微小懸濁物質の除去に関する実態とウイルスの除去の実態を把握することにより、下水処理場における効果的なウイルスの除去方法の開発に資することが期待される。そこで、平成 22 年度は、同一の実下水を用いた下水処理プラントにおける懸濁物質とウイルスの除去の実態について調査した。

(1) 方法

表-2 の条件で運転された下水処理プラント A, B において、2011 年 1～2 月に、流入下水およびそれぞれの処理水を採取した。採取後、最終沈殿池等において重力によって沈殿可能と思われる粒子の影響を取り除くため 2 時間静置し、上済みを採取することとした。流入下水は一度のみ測定した。下水処理プラントは、標準活性汚泥法で運転されている。浮遊物質、ノロウイルス濃度を測定した。また、2 月 2 日の試料のみ２．２で確認した電気的検知帯法によって微小粒子の粒径分布を測定した。

ノロウイルス濃度は、採取した処理水を孔径 20μm のふるい、孔径 1μm のガラス繊維ろ紙、孔径 0.4μm のガラス繊維ろ紙でろ過し、それぞれのろ過水およびろ過前の試料水を分析した。ノロウイルスは、Norovirus genogroup 2 (NoV G2)を対象とし、分析方法は、文献[15]に従った。すなわち、試料にポリエチレングリコール及び塩化ナトリウムを加え、一晩静置後、10,000g にて遠心し、沈さより RNA を抽出し、精製の後、リアルタイム RT-PCR 法により定量した。安定した定量値を得られると報告されているリアルタイム PCR 反応チューブあたり 10 コピー[16]以下の試料も検出され、それら同様に取り扱うこととした。

浮遊物質は、採取した処理水を孔径 20μm のふるいおよびろ過前の試料水の 2 種類を分析した。浮遊物質は下水試験方法[17]に従った。

表-2　下水処理プラントの運転条件

下水処理プラント	A-HRT (hour)	曝気槽 SS 濃度 (mg/L)	引抜汚泥 SS 濃度(mg/L)	A-SRT (day)
系列 A	7.1	1,900	4,500	7.2
系列 B	7.1	2,600	5,400	15.9

*値は運転期間中の平均値を示す。

(2) 結果

図-3、4 に、流入下水のノロウイルス濃度および SS 濃度を示した。NoV G2 濃度のグラフ中のエラーバーは、PCR 反応管 2 本で測定した際の最大値と最小値を示している。なお、エラーバーがないものは、PCR 反応管 2 本のうち、1 本が検出されないなどした場合を示している。図-5～12 に、流入下水の NoV G2 濃度および SS 濃度を示した。また、図-13 に、孔径 20μm のふるいでろ過した下水処理水（2 月 2 日採取）の懸濁物質の粒径分布を示す。0.4～1μm の懸濁物質の体積の合計は、系列 A の 0.045 mm^3/mL、系列 B の 0.029 mm^3/mL であった。また、1～12μm の懸濁物質の体積の合計は 0.046 mm^3/mL、系列 B の 0.030 mm^3/mL であった。

既往の報告[14]から、SRT が長くなると、微小懸濁物質の除去性が向上することが推測され、2 月 2 日の試料（図-8、13 参照）からは、その傾向が見られた。また、その際、ろ過無しの下水処理水では、系列 B において、ノロウイルス濃度が系列 A より少なく、微小粒子の除去性の向上によってノロウイルス濃度が減少している可能性が考えられた。しかしながら、本実験系では SV30 が 20-30%程度になる時期があるなどして、水処理系が安定しにくかったこともあり、2 月 2 日の試料以外では、SRT と微小粒子の挙動の明確な差異は見られなかった。

また、ノロウイルス濃度は、リアルタイム PCR 反応チューブあたりのコピー数が低い場合に、測定値の変動係数が大きくなったり、粒子の大きさや性状によって回収率が変化したりすることが考えられることから、本実験

結果についても注意が必要である。定量的な解析に用いるに足る信頼性を持っていない可能性があり、本実験の結果からは明確な傾向が見いだせなかった。

比較的精度よく分析されたと思われる流入下水（上澄み、1 月 4 日採取）、下水処理水（1 月 14 日採取）の系列 A、下水処理水（2 月 21 日採取）の系列 A の NoV G2 の各形態の割合を図-14、15、 16 に示す。

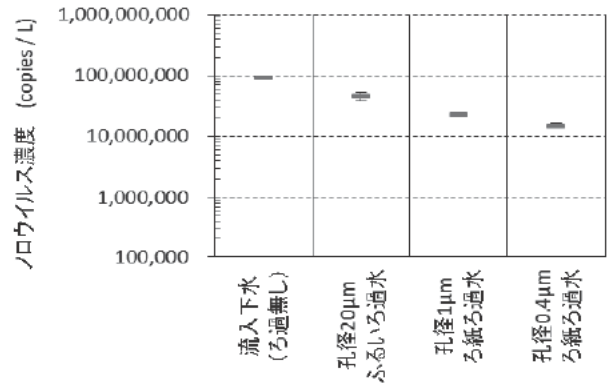


図-3 流入下水（上澄み、1 月 4 日採取）中の各形態での NoV G2 濃度

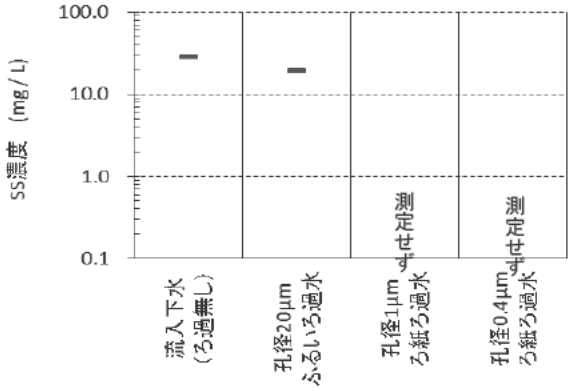


図-4 流入下水（上澄み、1 月 4 日採取）中の各形態での SS 濃度

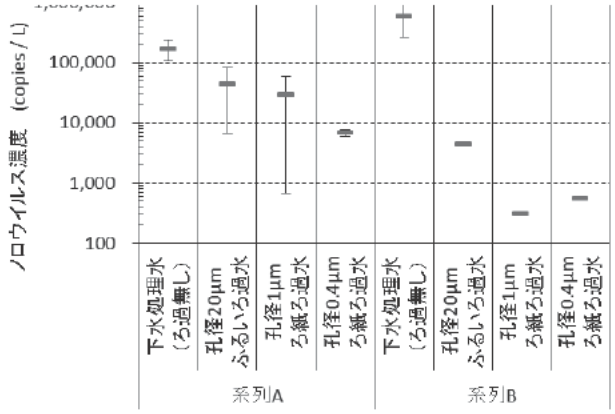


図-5 下水処理水（1 月 14 日採取）中の各形態での NoV G2 濃度

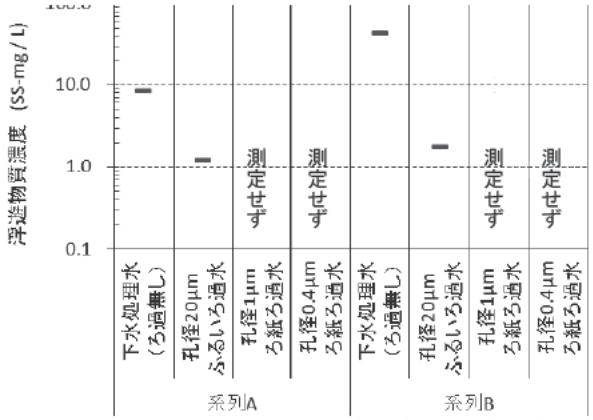


図-6 下水処理水（1 月 14 日採取）中の各形態での SS 濃度

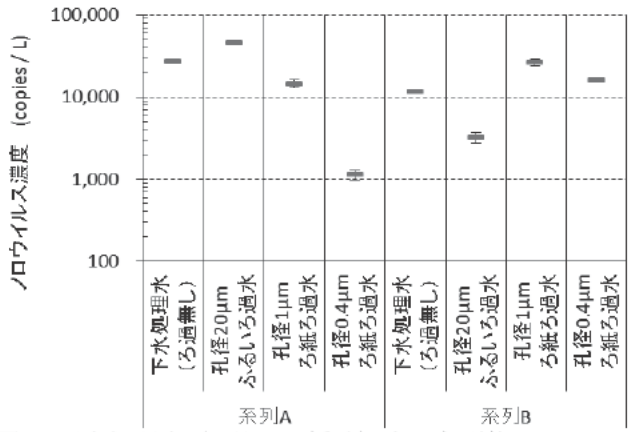


図-7 下水処理水（2 月 2 日採取）中の各形態での NoV G2 濃度

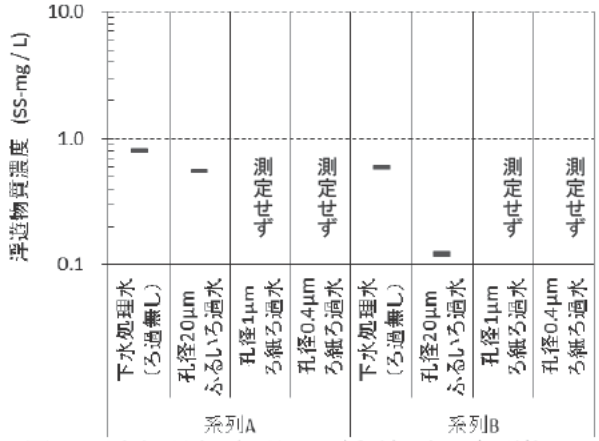


図-8 下水処理水（2 月 2 日採取）中の各形態での SS 濃度

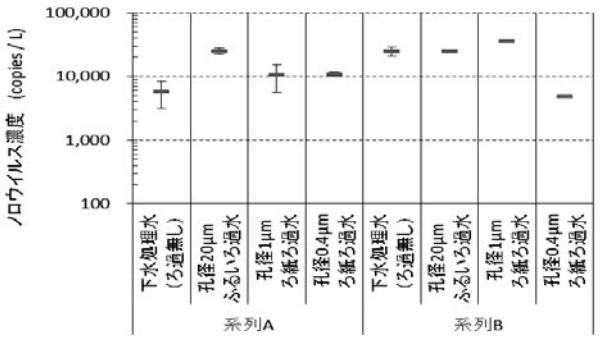


図-9 下水処理水（2 月 7 日採取）中の各形態での NoV G2 濃度

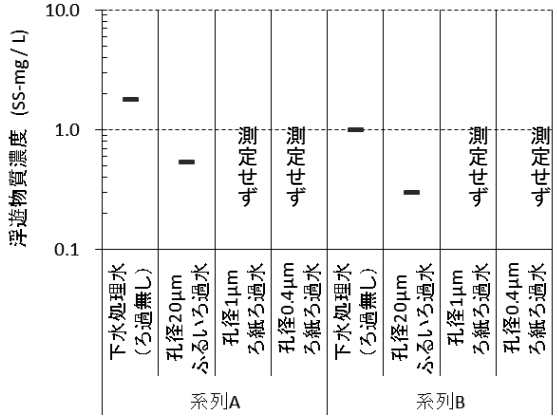


図-10 下水処理水（2 月 7 日採取）中の各形態での SS 濃度

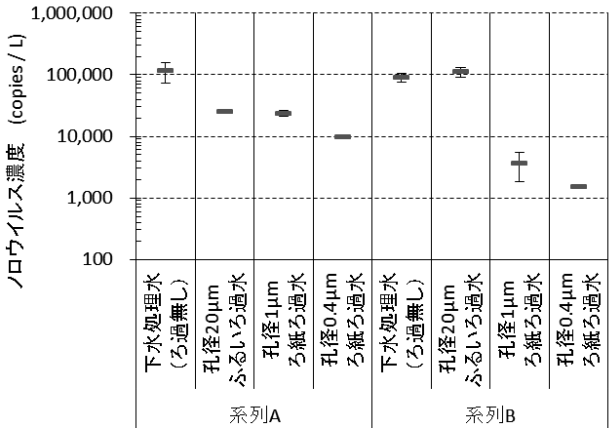


図-11 下水処理水（2 月 21 日採取）中の各形態での NoV G2 濃度

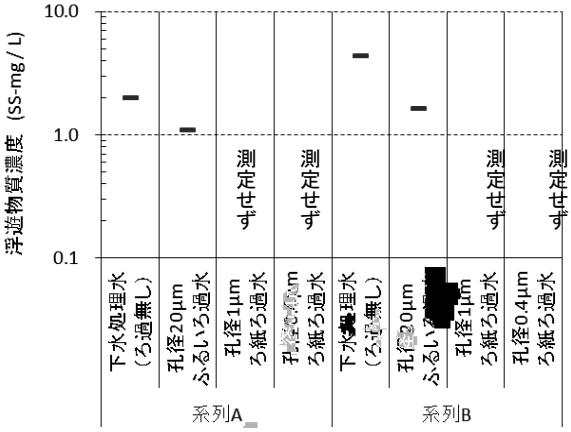


図-12 下水処理水（2 月 21 日採取）中の各形態での SS 濃度

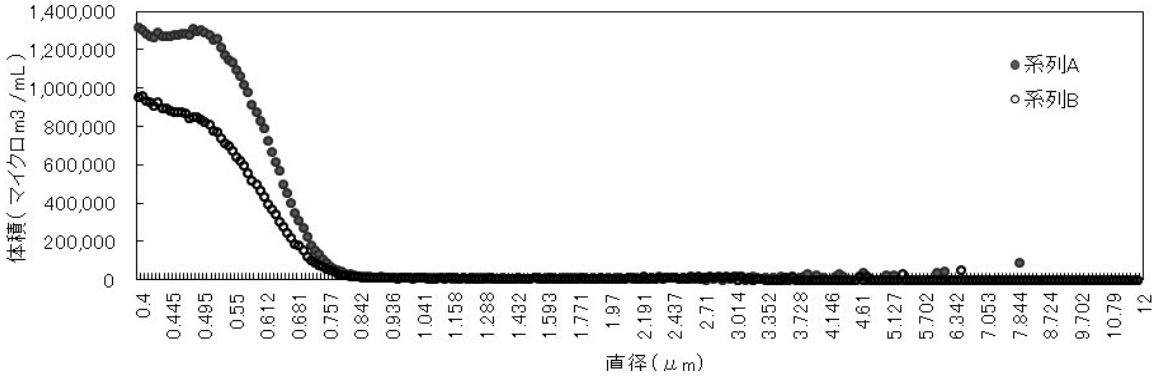


図-13 孔径 20μm のふるいでろ過した下水処理水（2 月 2 日採取）の懸濁物質の粒径分布

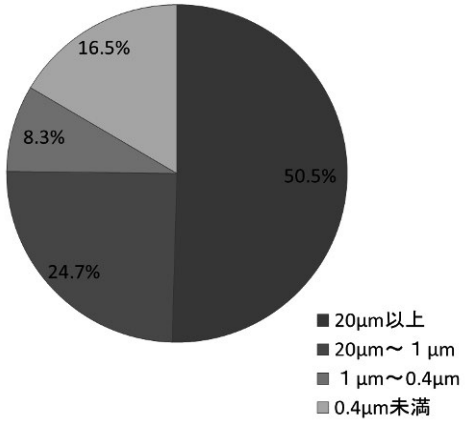


図-14 流入下水（上澄み、1 月 4 日採取）の測定値から
推測された各粒子に付着した NoV G2 の内訳

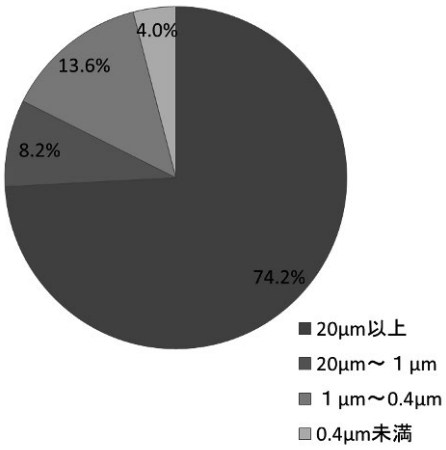


図-15 系列 A の下水処理水（1 月 14 日採取）の測定値
から推測された各粒子に付着した NoV G2 の内訳

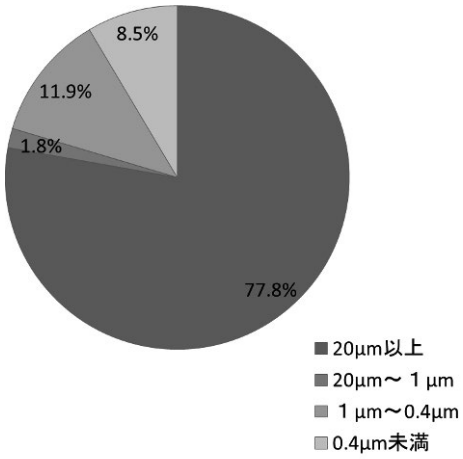


図-16 系列 A の下水処理水（2 月 21 日採取）の測定値
から推測された各粒子に付着した NoV G2 の内訳

３． まとめ

本調査の結果、以下の事項が明らかとなった。

1) 下水処理水および超純水に標準物質(Silica および Polystyrene)を添加し、電気的検知帯法の測定精度を確認したところ、下水処理水に標準物質を添加した際には、0.5μm もしくはそれより幾分大きい範囲でピークが検出された。

2) 下水処理水および超純水に標準物質を添加し、電気的検知帯法の測定精度を確認したところ、直径 1～12μm 懸濁物質総体積は、標準物質より 1/5 および 2/5 程度であり、過小な評価となった。

3) 下水処理水を 14 日間保管した際の、電気的検知帯法の測定精度への影響を確認したところ、冷蔵で保管された下水処理水は、保管される前の下水処理水に比べて、1μm 程度の大きさの粒子の体積が小さく、0.4-0.5μm の粒子の体積がやや大きい傾向があるものの懸濁物質の総体積は、保管前の 105%であり、精度よく測定された。一方で、冷凍で保管された下水処理水は、直径 0.8μm 以下の懸濁物質の体積が小さくなっていた。0.4-12μm の懸濁物質の体積の合計は、冷蔵で保管された下水処理水は、保管される前の下水処理水に比べて、47%であった。

4) 下水処理プラントでの実験より、SRT が長い系が、短い系に比べて微小懸濁物質の除去性が高い場合があった。

参考文献

1) 社団法人日本下水道協会、平成 20 年下水道白書　日本の下水道、2008.

2) 内閣府大臣官房政府広報室、水に関する世論調査、2008.

3) 下水処理水の再利用のあり方を考える懇談会報告書､新たな社会的異議を踏まえた再生水利用の促進に向けて、2009.

4) P.H.Walker, K.D.Woodyer, J.Hutka, Particle-size measurements by Coulter Counter of very small deposits and low suspended sediment concentrations in streams, Journal of Sedimentary Research, 44(3), 673-679, 1974.

5) John G. Harfield, R. Tony Wharton, Roy W. Lines, Response of the Coulter Counter® Model ZM to Spheres, Particle characterization, 1(1-4), 32-36,1984.

6) Erdogan Ozturgut, J. William Lavelle, New method of wet density and settling velocity determination for wastewater effluent, Environ. Sci. Technol., 18 (12), pp 947–952, 1984.

7) Dahong Li and Jerzy Ganczarczyk: Size Distribution of Activated Sludge Flocs, Research Journal of the Water Pollution Control Federation, 63(5), 806-814, 1991.

8) G. H. McTainsh, A. W. Lynch, R. Hales, Particle-size analysis of aeolian dusts, soils and sediments in very small quantities using a Coulter Multisizer, Earth Surface Processes and Landforms, 22, 13, 1207-1216,1997.

9) M. Cristina Bonferoni, Cristina Ciocca, Henk G. Merkus, Carla Caramella, Proposals of a procedure for mass recovery of standard materials: Comparison between two electrical sensing zone instruments, Particle & Particle Systems Characterization, 15(4), 174-179, 1998.

10) Yves Plancherel, James P. Cowen, Towards measuring particle-associated fecal indicator bacteria in tropical streams, Water Research, Volume 41, Issue 7, April 2007, Pages 1501-1515, ISSN 0043-1354, DOI: 10.1016/j.watres.2006.12.021.

11) Jeffrey A. Nason, Desmond F. Lawler, Particle size distribution dynamics during precipitative softening: Declining solution composition, Water Research, Volume 43, Issue 2, February 2009, Pages 303-312, ISSN 0043-1354, DOI: 10.1016/j.watres.2008.10.017.

12) Jeffrey A. Nason, Desmond F. Lawler, Particle size distribution dynamics during precipitative softening: Constant solution composition, Water Research, Volume 42, Issue 14, August 2008, Pages 3667-3676, ISSN 0043-1354, DOI: 10.1016/j.watres.2008.05.016.

13) 飯田健次郎:液中粒子数濃度の計測および校正技術に関する調査研究, 産総研計量標準報告 8(2), 213-243, 2011.

14) Water Reuse: Issues, Technologies, and Applications, Metcalf & Eddy, Inc. an AECOM Company, 2007.

15) 諏訪守、尾崎正明、岡本誠一郎、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、46(561)、91-101、2009.

16) 陶山明子、諏訪守、鈴木穣、尾崎正明、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、第 43 巻、255-261、2006.

17) 建設省都市局下水道部・厚生省生活衛生局水道環境部監修、社団法人日本下水道協会発行、下水試験方法　上巻　-1997 年版-

バイオマス発酵残さの緑農地還元における微量有害物質のリスク評価に関する研究

研究予算：運営費交付金
研究期間：平 22～平 24
担当チーム:材料資源研究グループ(リサイクル)
研究担当者：岡本誠一郎、新井小百合、堀尾重人

【要旨】
近年、刈草、食品廃棄物、畜産廃棄物等のバイオマスを下水処理場に集約し、資源エネルギー利用を行う事例が増加している。これらの混合メタン発酵によるエネルギー回収後の残さの緑農地還元の際に、そこに含有する微量有害物質の影響が懸念されることから、適切なリスク評価手法の構築が必要である。22 年度は研究の初年度として、下水汚泥の緑農地還元の形態、動向等について、統計資料をもとに整理するとともに、既往の下水汚泥分析結果から含有する重金属の状況等を整理した。
キーワード：バイオマス発酵残さ、緑農地利用、コンポスト、重金属

1. はじめに

近年、刈草、食品廃棄物、畜産廃棄物等のバイオマスを下水処理場に集約して、既存の下水処理施設や下水汚泥等の資源を活用しながら、混合処理、利活用を行う事例が急速に増加しつつある。これらの取り組みは、石川県珠洲市、富山県黒部市、北海道北広島市など、大都市部よりもむしろ地方都市が先行して事業化に取り組まれる傾向にあり、混合したバイオマスは下水汚泥と一体的にメタン発酵してエネルギー回収を行い、発生する発酵残さはコンポスト化したり、乾燥したりして、緑農地に還元されるケースが多く見られる。

今後はこうした事業形態が増加すると考えられるが、この際に、発生する大量の発酵残さを効率的かつ安全に有効利用していくことが重要となる。発酵残さには,有機物質および窒素・リン等が豊富に含まれており、これらを活用して緑農地へ還元することは有効な方法であるが、一方で、これらの発酵残さに重金属等の有害元素が多く含有した場合、その汚泥等の利用阻害となるばかりで無く、下水汚泥再生資源全体のイメージダウンにもつながりかねない。さらに近年は、内分泌かく乱物質や医薬品類などの新規微量化学物質が下水処理場へ流入していることや、畜産業においても抗生物質が多用されている結果、これらの物質が排せつ物等を経由して、環境中にも流出していることなどが明らかになっており、下水汚泥や畜産廃棄物由来の微量有害物質によるリスクについて懸念が示されることがある。こうしたことから、下水汚泥や廃棄物系バイオマスの緑農地への還元を積極的に推進するためには、そのリスク評価手法を確立し、適切な利用方法を選択することが不可欠である。

そこで本研究では、バイオマス発酵残さ中の有害物質の存在量を把握した上で、土壌汚染に関するリスク評価手法を参考に、農作物等への移行に関する検討を行い、緑農地還元におけるリスク評価手法を構築することを目的としている。平成 22 年度は本研究の初年度として、対象とするバイオマスの中心となる下水汚泥について、近年の緑農地利用の動向を統計資料を基に把握するとともに、主として利用に供されている利用形態の汚泥について、土木研究所リサイクルチームにおける既往の分析結果をもとに、重金属等の含有状況を整理した。

2. 下水汚泥の緑農地利用の実態

近年の下水汚泥に関する緑農地還元の状況を把握するため、国土交通省より入手可能であった過去 8 年間（平成 15 年度データは入手不能）の下水汚泥有効利用に関する調査資料[1)]をもとに、利用形態の経年変化、主要な利用形態について整理した。

この結果、平成 13 年度から平成 21 年度における緑農地利用量は 277 千トン-DS／年から 316 千トン-DS／年と約 14%増加していた。平成 13～18 年度は漸増しており、近年は横ばい傾向となっている。利用状況は、肥料が 87%でこの比率は平成 13 年度からほぼ変化がない。次いで土壌改良材が 13%（H21 年度）で、その他人工土壌となっている。利用形態を見ると、コンポストによる利用が最も多く、全体量の約 78%となっている。次いで乾燥汚泥が約 10%、脱水汚泥が約 8%となり、これらで全体の 96%を占めている（表-1）。肥料、土壌改良材ともにコンポストによる利用の割合が高いが、それ以外では、肥料では乾燥汚泥が、土壌改良材では焼却灰の割合がやや高くなっている（図-1,2）。

表-１　下水汚泥の緑農地への利用状況と利用形態（平成21年度）

最終利用又は処分状況		発　生　量　(DS-ｔ／年)							平成21年度
		液状汚泥	脱水汚泥	コンポスト	乾燥汚泥	炭化汚泥	焼却灰	溶融スラグ	計
緑農地	肥料	285	18,527	222,917	30,004	1,005	840	0	273,577
	土壌改良材	0	6,168	23,666	378	974	8,512	1,152	40,849
	人工土壌	0	357	922	344	0	0	0	1,622
合　計		285	25,052	247,505	30,725	1,979	9,351	1,152	316,049

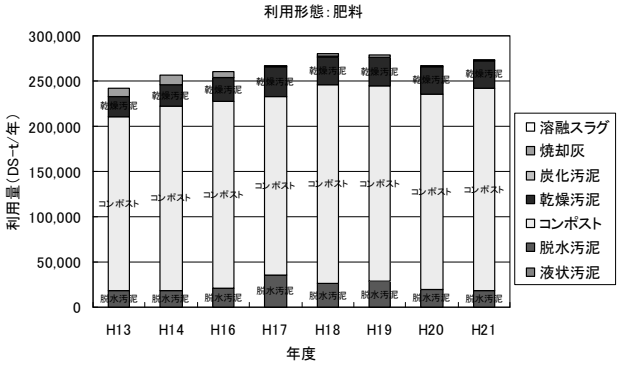


図-１　緑農地への利用形態の経年変化（肥料）

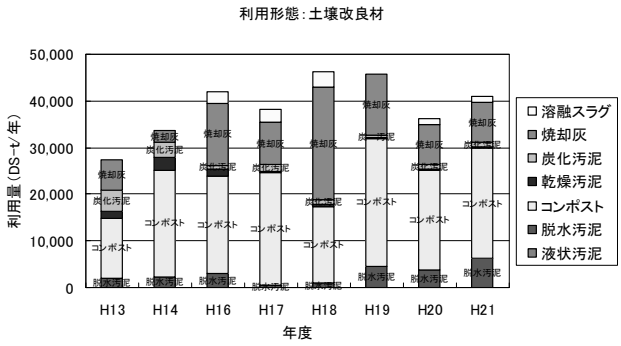


図-２　緑農地への利用形態の経年変化（土壌改良材）

肥料、土壌改良材以外の利用形態では、炭化汚泥が漸増傾向、焼却灰は微減傾向となっていたが、いずれも全体に占める量は少ない。こうした傾向から、下水汚泥などを中心とするバイオマス発酵残渣の緑農地利用においては、当面、微量有害物質のリスク評価の際に考慮すべき利用形態としては、コンポスト、乾燥汚泥、脱水汚泥とすることが現実的であり、今後、炭化物の緑農地還元の増加傾向が継続する場合には考慮を検討すべきと判断された。

3. 下水汚泥中の重金属類の含有状況

近年の下水汚泥に関する緑農地還元の概況を把握するため、(独) 土木研究所で過年度に下水汚泥の成分分析を行ったデータベース[2]をもとに、2.で主要な利用形態として抽出されたコンポスト、乾燥汚泥、脱水汚泥について、肥料取締法の普通肥料の基準値が規定されているカドミウム、鉛、水銀、ヒ素、クロム、ニッケルの６元素を対象に、含有量の状況を整理した。

コンポストの場合、原料汚泥の選定や他の有機質資材との混合等により所定の品質管理が行われていると考えられる。サンプル数が少ないため参考扱いであるが、肥料取締法の規格値を超過しているデータは１サンプルのニッケルのみであり、その他は規格値を下回っていた（図-３）。これらのデータは、既往の報告値[3]と比較すると、

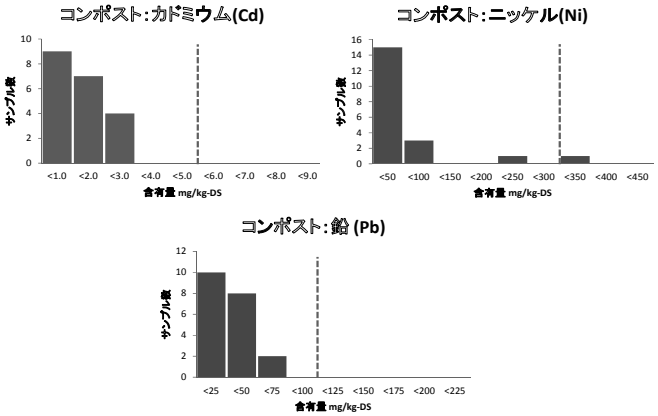


図-３　コンポスト中の主な重金属類の含有量分布の例
（点線は肥料取締法に基づく普通肥料の規格値）

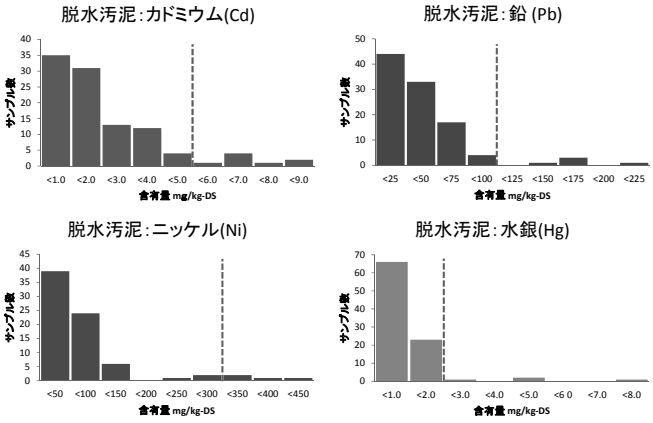


図-４　脱水汚泥中の主な重金属類の含有量分布の例
（点線は肥料取締法に基づく普通肥料の規格値）

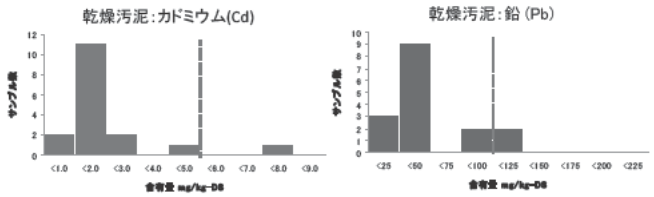


図-５　乾燥汚泥中の主な重金属類の含有量分布の例

（点線は肥料取締法に基づく普通肥料の規格値）

［乾燥汚泥は他にHgで１検体の規格値超過があったが、それ以外の検査項目では規格値以下となっていた。］

重金属濃度はやや低い傾向にあった。脱水汚泥については、サンプルに緑農地利用以外の用途に利用されている汚泥も含まれており、分析結果にばらつきが見られる。カドミウム、ニッケルでやや規格値を超過している検体の率が高くなっていた（Cd：7.8%、Ni：5.3%）。こうした実態からも、下水汚泥の緑農地利用に際しては原料汚泥の品質管理が必要であり、緑農地への還元に適した汚泥を選択する必要がある。近年は事業場排水中の重金属濃度も低下傾向にあり、下水中の重金属の由来が食物、水道水など多岐に渡ると考えられることから[4]その管理も困難であるが、病院、医院等への地道な働きかけによる重金属濃度の低減事例なども報告されており[5]、こうした取り組みも参考にしながら原料汚泥の品質管理を図ることが重要であると考えられる。

なお、亜鉛については、農用地における土壌中の重金属等の蓄積防止に係る管理基準について（昭和59年11月8日環境庁水質保全局長通達）において、暫定基準が定められているが、これについては植物の有害濃度を元に定められておらず[6]基準に対する議論も多いことから、ここでは考察の対象外とした。

4. 今後の検討課題

下水汚泥等の有機性物質に関する微量有害物質のリスク評価に関する研究は、今後、既往の知見が比較的豊富な重金属から、既往知見の少ない微量化学物質等に対象を移行していく予定である。これまでの土木研究所リサイクルチームにおける研究においても、下水汚泥に関して表-２に示すような分析を行っており、今後はこれらの結果も活用しながら、図-６に示すようなリスク評価の枠組みを構築していく予定である。

なお、本研究課題については、平成23年度以降、土木研究所プロジェクト研究「再生可能エネルギーや廃棄物系バイオマス由来肥料の利活用技術・地域への導入技術の研究」の一環として実施することとなった。

表-２　リサイクルチームにおける既往の分析事例

（微量化学物質等）

	水試料	下水汚泥	コンポスト
農薬			42種[9]
医薬品・日用品(PPCPs)	111種[7]	58種[8]	60種[8]
香料・化粧品	25種[7]		25種[8]

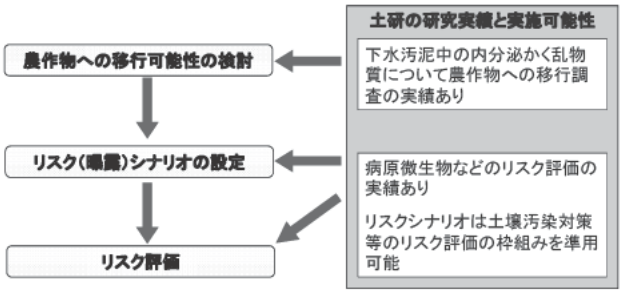


図-６　発酵残さ等に関するリスク評価検討の流れ

参考文献

1) 国土交通省資料（平成13,14,16～21年度）

2) (独)土木研究所リサイクルチーム、下水汚泥成分分析データ集、2008

3) 尾崎保夫、汚泥コンポスト等有機物資材の農地・緑地利用の現状と課題、再生と利用、Vol.34,No.127,p.125、(社)日本下水道協会、2010、(原出典は、日本土壌肥料学会、再利用資源土壌還元影響調査に係わる総合解析調査,1988)

4) 間渕弘幸、下水汚泥肥料中の重金属に係る安全性についての一考察、再生と利用、Vol.33.No.125.pp,33-35、(社)日本下水道協会、2009

5) 奥出晃一、「農地・緑地利用について」～「汚泥コンポスト」普及促進への取組～、再生と利用、Vol.34, No.128, p.40、(社)日本下水道協会、2010

6) 茅野充男、下水汚泥の亜鉛許容濃度について、再生と利用、Vol.33,No.125,pp.40-43、(社)日本下水道協会、2009

7) 岡本誠一郎、山下洋正、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、平成20年度下水道関係調査研究年次報告書集、土木研究所資料第4157号、pp.79-99、(独)土木研究所、2009

8) 岡本誠一郎、山下洋正、下水汚泥の有効利用における美容化学物質の存在実態および挙動、平成20年度下水道関係調査研究年次報告書集、土木研究所資料第4157号、pp.3

0-37、(独) 土木研究所、2009
9) 岡本誠一郎、落修一、山下洋正、宮本豊尚、桜井健介、公共事業由来バイオマスの資源化・利用技術に関する研究、平成 20 年度下水道関係調査研究年次報告書集、土木研究所資料第 4157 号、pp.41-42、(独) 土木研究所、2009

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

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
専門研究員　安井　宣仁

１．はじめに

現在の都市における水利用システムは大量取水，大量排水の「一過型」であるといえ，今後予想される水資源の量的不足と質的悪化に対応するためにも「新たな水利用システム」の開発を行う必要がある[1)]。下水処理水の再利用に関しては，特に処理工程における腸管系ウイルスの挙動が重要であるが，これらは十分に把握されていない[2)]。腸管系ウイルスの中でも，近年，感染症が多発しているノロウイルス（以下，NoV という）が評価対象ウイルスの 1 つとして挙げられる。本研究では新しい水利用技術において，安全，安心な利用システムの構築に資するよう遺伝子解析を中心とした手法で，病原性微生物である腸管系ウイルスを対象に定量を行い，開発される水処理技術の安全性評価を行う。H22 年度は今後利用用途の拡大が期待される下水処理水の再利用における，病原微生物の衛生学的評価を念頭に，NoV を対象に遺伝子検出方法におけるウイルス低濃度試料への検出限界向上のための前処理方法を検討し実施した。また，再生水を利用している実処理施設ならびに環境水中の NoV の挙動を把握し，病原微生物によるリスク評価の考え方を取りまとめた。

２．ウイルス低濃度試料の定量手法の確立

本研究ではウイルスの定量は遺伝子検出を中心に，主に水系感染症として毎年，感染者が報告されている NoV を対象とした。現況では NoV は，動物試験，細胞培養による NoV の感染価を直接的に定量する手法が確立されておらず[3)]，遺伝子検出による定量が主に用いらている[4)]。NoV の遺伝子検出には，RT-PCR (Reverse transcript polymerize chain reaction)法または Real-time RT-PCR 法が一般的に用いられており，厚生労働省より「ノロウイルスの検出法」として定量手法が確立している。また，陶山ら[5)]の研究成果によれば，下水試料から NoV の遺伝子を検出する手法が既に確立されている。しかしながら，再生水などの比較的ウイルス低濃度試料では，存在するウイルス量が少ないことから，既存の PCR 法を用いた定量では検出に限界がある。そこで，本節ではウイルス低濃度試料における前処理方法を検討し，Real-time PCR 法による NoV の検出限界を向上することを目的とした。

2.1 SS 付着の影響

既報[6)]の下水試料における最適化された定量手法に加え，検出限界の向上を目的にビーズ粉砕処理による前処理を行い Real-time PCR により NoV を定量した。

(1) 実験方法と材料

試験水は，NoV が通年検出される A 処理場の流入下水を試料水とし，ウイルス低濃度試料として河川水（A 川，B 川），湖沼水（C 湖，D 湖）の環境水も用いた。以下に NoV 定量方法を示す。

・濃縮方法　：試験水の濃縮方法は，PEG 沈殿法[6)]とし，濃縮水量は試料の SS 濃度により 10mL～1000mL とした。
・RNA 抽出　：濃縮後試料を QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN 社)を用い抽出を行った。
・DNase 処理：抽出試料中に含まれる微量の DNA を除去するために，DNase 処理を行った。
・Clean-up　: RNeasy MinElute Cleanup Kit (QIAGEN)により RNA を精製した。
・逆転写反応：精製した RNA 試料 0.5μg を omniscript RT Kit (QIAGEN)と Random Primer(Promega)を用い
　　全量 20μL の系で逆転写を行い，cDNA 溶液を得た。

・Real-time PCR 反応：得られた cDNA，2μL を LightCycler 2.0（Roshe Diagbistucs 社製）に供し，controlDNA を用いた検量線から NoV のコピー数を算出した。なお，使用したプライマー，プローブは文献[4),7)]に示されたものを使用した。

上記手順が既報の NoV 定量方法（以下，通知法[7)]と記す）である。

ビーズ粉砕処理による前処理方法

RNA の前処理方法として，FastRNA® Pro Soil-Direct Kit（MP-Biomedicals）に添付されている RNApro Soil Lysis Solution および Lysing Matrix E tube（ビーズ入りチューブ）を用い，濃縮後試料をチューブに供し粉砕処理を行った（図 1 参照）。粉砕後試料（ビーズ粉砕工程）は通知法に基づき NoV の定量を行い，粉砕無し（通常工程）と NoV 定量値を比較した。

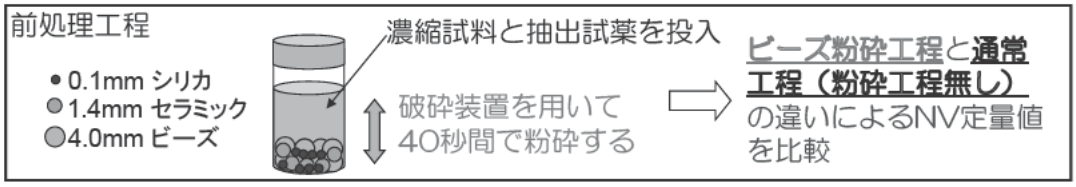


図 1 ビーズ粉砕処理による前処理工程

(2) 結果と考察

ビーズ粉砕処理の有無による NoV 検出濃度の測定結果について図 2 に示す。流入下水はビーズ粉砕の前処理を行うことで，通常工程と比較して NoVG1 は定量値が約 3.6 倍増加し検出限界が向上したが NoVG2 では顕著な効果が確認されなかった。環境水ではビーズ粉砕処理を行っても NoVG1，NoVG2 とも定量値に顕著な増加が確認されなかった。これは，流入下水などの比較的 SS 濃度が高い試料の場合には，ビーズ粉砕の前処理を行うことで SS に付着したウイルスの分離効率が高まるが，環境水などは SS 濃度が流入下水よりも低濃度であることから，検出濃度に差が現れたものと推定された。なお NoVG1 と NoVG2 の検出限界の違いについては，今後の検討課題である。

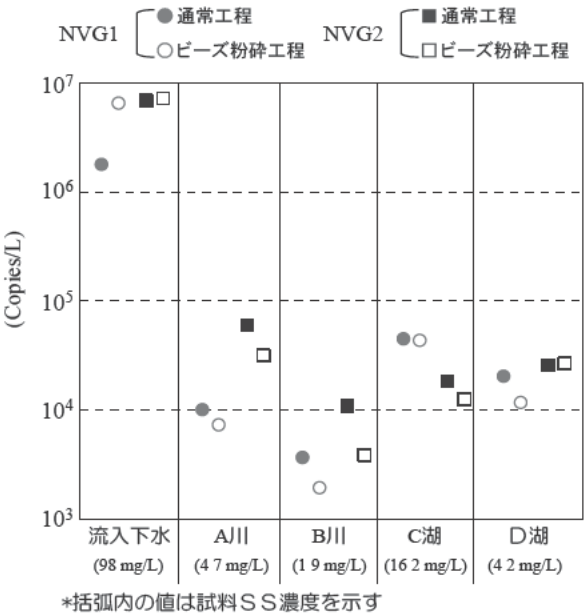


図 2 ビーズ粉砕処理の有無による NoV 検出限界の違い

2.2 リアルタイム PCR 反応量の変化による検出限界の影響

既存の Real-time PCR 定量法では，一般的に全量を 20μL で行っているが，本節では Real-time PCR に供する量を通常の 20μL 系から 100μL 系へ拡張し，NoV 定量値を検討した。

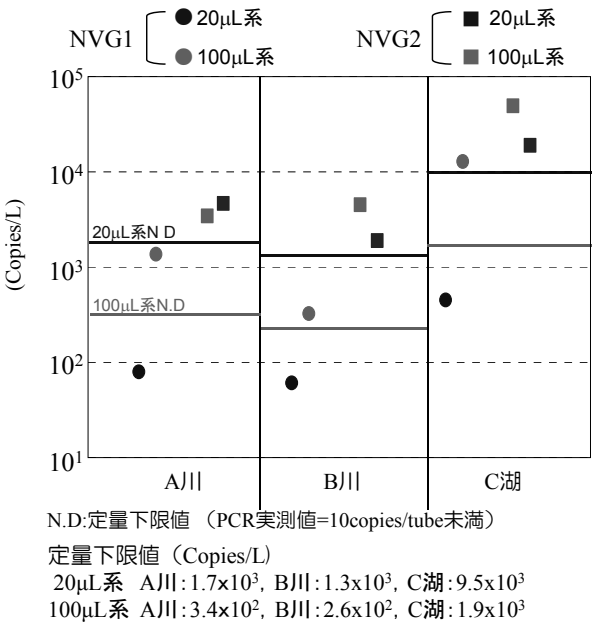
(1) 実験方法と材料

試験水は 7 月に採水した A，B 河川水，C 湖沼水を用いた．これらの試料は，20μL の PCR 反応系における通知法による測定で，全て NoVG1 が定量下限値以下(10copies/tube 未満)となった試料である。

これらの試料を，Real-time PCR に供する量を通常の 2μL から 10μL に増加させ，PCR 反応容量を 20μL 系から 100μL 系に変更させた。なお，濃縮，RNA 抽出等の工程はすべて通知法に基づいて行った。

(2) 結果と考察

図 3 に NoV の定量結果を示す。20μL 系では NoVG1 はすべての試料で定量下限値以下（PCR 実測値が 10copies/20μL 以下）であったが 100μL 系に拡張することで約 30～60copies/100μL となり検出限界が 3～5 倍程度向上した。NoVG2 は双方の反応系で検出され, 20μL 系から 100μＬ系にリアルタイム PCR 反応量を増やしても定量値に顕著な差が確認されなかった。このことから比較的低濃度試料の測定においては，100μＬ系とすることで定量値が得やすくなるものと考えられた。また，通常の Real-time PCR 反応量の 20μL 系で定量下限値となる試料に対して，反応量を 100μL 系にすることで定量下限値を小さくできることから，不検出と評価されたデータの信頼性の向上に繋がるものと考えられた。



N.D:定量下限値 （PCR実測値=10copies/tube未満）

定量下限値（Copies/L）

20μL系 A川:1.7x10^3, B川:1.3x10^3, C湖:9.5x10^3

100μL系 A川:3.4x10^2, B川:2.6x10^2, C湖:1.9x10^3

図 3 20μL 系と 100μL 系での NoV 検出濃度

2.3 微生物添加処理における検出率向上の検討

本検討では試料中に添加した微生物へのウイルス付着効果により濃縮効率を高め，検出限界向上の有無を評価した。

(1) 予備実験

予備実験として，試験水には，NoV が存在し，かつ原生動物や他の微生物が影響しない状態の水が必要となるため，流入下水を 0.2μm のメンブレンフィルターでろ過した試料を用いた。使用微生物種は文献 [8]で用いられた *Klebsiella oxytoca* 株(ATCC 13182 株), 環境水中にも多く存在する *Pseudomonas aeruginosa* 株(ATCC 10145 株)とした。予め 24 時間培養させた純菌株の高濃度溶液 0.55mL を 550mL の試料に投入し 24 時間培養後，通知法に基づき NoV を定量した。各微生物の培養温度は *Klebsiella* 株が 37℃，*Pseudomonas* 株は 30℃とした。また，比較対照としての微生物未添加試料では 4℃，30℃，37℃で 24 時間保存後に NoV の定量を行った。微生物投入時ならびに 24 時間培養後の微生物濃度は寒天培地を利用した平板培地法にて測定を行った。

微生物添加および未添加試料の NoV 定量値の差を把握するために 1 検体 5 回測定し，統計的手法により有意差を判定した。

(2) 予備実験の結果

微生物投入時の各微生物濃度は，*Klebsiella* が 1.4×10^5(CFU/mL)，*Pseudomonas* が 6.0×10^5(CFU/mL)，24 時間後の濃度は *Klebsiella* が 4.5×10^6(CFU/mL)，*Pseudomonas* が 3.5×10^6(CFU/mL)であったことから，24 時間培養で微生物が増殖していることが確認された。また使用した流入下水の NoVG1，NoVG2 の濃度は 4.2×10^5(copies/L)，2.8×10^5(copies/L)であった。

図 4 に NoVG1，NoVG2 の濃度を示す。図中のプロットは 5 回測定の平均値を示している。各々の検出濃度に有意な差があるか統計的手法により判定を行った。まず，微生物の培養温度がウイルスの定量値に与える影響を把握するため，4～37℃，24 時間で保存した試料（微生物未添加試料）のウイルス濃度を測定した。Kruskal-Wallis 検定（ノンパラメトリック法）により，有意水準 5%で NoVG1（統計量 H=12.5>5.78，P<0.05），NoVG2（統計量 H=9.98>5.78，P<0.05）の双方とも差が認められた。従って，保存温度の違いにより NoVG1，NoVG2 の定量値に影響を及ぼすことが示唆された。 次に微生物添加試料と未添加試料との差を統計的手法により評価した。一般的

に微生物等の分析を行う際，採水後直ちに分析が行えない場合，試料を 4℃で保存するため，4℃保存した微生物未添加試料のデータと比較した。Mann-Whitney 検定（ノンパラメトリック法）により，*Pseudomonas* を添加した試料の場合，有意水準 5%(統計量 U=0<2，p<0.05) で NoV 定量値に差があることが示唆され，検出限界向上の有効な前処理になりうる可能性があるものと考えられた。*Klebsiella* を添加した試料では，有意水準 5%（統計量 U=5>2，P>=0.05）であり，微生物未添加試料と比較し NoV 定量値に差がないと考えられた。

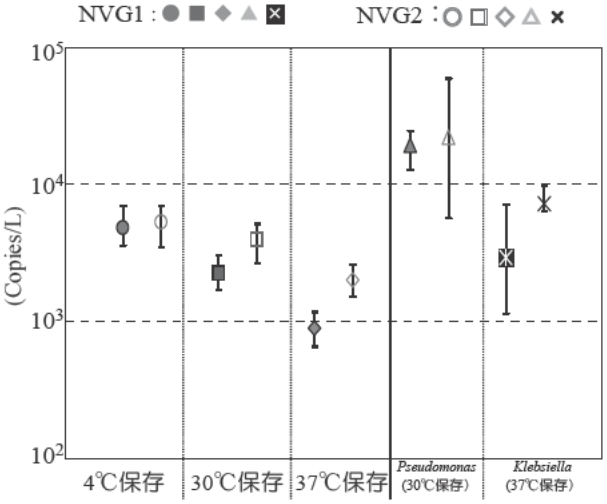


図 4 微生物未添加・添加時の NoV 検出濃度変化

(3) 微生物添加前処理実験

予備実験の結果より，前処理として *Pseudomonas* を用いた場合，微生物添加後 24 時間の培養で NoVG1，NoVG2 ともに検出率の向上が確認された。この結果より，前処理方法をより簡便にするため，前処理方法を一部改訂し，保存時間，初期投入微生物濃度の影響を検討した。使用微生物は予備実験で効果が確認された *Pseudomonas* 株を用いた。

(3-1) 実験方法

実験方法は，予備実験とほぼ同様の手順であるが，濃縮方法を一部変更した。予備実験では試料に微生物を添加後 24 時間培養し，その後，PEG 沈殿法にて濃縮を行ったが，より簡便性を求め，あらかじめ試験水にポリエチレングリコール(PEG#6000)と塩化ナトリウムを規定量添加し，そこへ 24 時間培養した高濃度の微生物溶液を所定濃度添加し，所定時間，温度で培養を行った。その他 NoV の定量方法は予備実験同様に通知法に基づいて行った。ただし，Real-time PCR の定量では，より安定した NoV のコピー数を得るために全量 100μL 系にて検出を行った。

(3-2) 実験条件

実験条件を表 1 に示す。実験条件は通知法（濃縮は PEG 沈殿法として 4℃24 時間静置）ならびに Reference として，微生物未添加試料と微生物添加試料とを比較した。Real-time PCR による定量は 1 検体 5 回測定を行った。試験水は A 下水処理場の二次処理水を用いた。試験水の一般細菌濃度は 1.5×10^5(CFU/mL)であった。表中の Reference は微生物未添加処理（前処理なし）の実験条件を示している。

表 1 実験条件

Run No.	Test volume (mL)	Cultivation temperature (℃)	Retention or incubation time (hour)	Added volume of *Pseudomonas* stock solution (mL)	Initial *Pseudomonas* concentration of sample (CFU/mL)	Concentration of sample after cultivation (CFU/mL)
Specified method[a]	500	4	24	0	0	0
Reference 1		30	1			
Reference 2			2			
Reference 3			4			
Reference 4			6			
Reference 5			24			
1	500	30	1	0.5	2.4×10^5	1.4×10^5
2			1	5.0	3.3×10^6	2.7×10^6
3			2	0.5	3.0×10^5	1.8×10^5
4			2	5.0	3.3×10^6	4.5×10^6
5			4	0.5	8.0×10^5	6.7×10^5
6			4	5.0	7.5×10^6	1.4×10^7
7			6	0.5	2.6×10^5	6.0×10^5
8			6	5.0	2.8×10^6	1.9×10^7
9			24	0.5	2.0×10^5	3.5×10^6
10			24	5.0	3.5×10^6	3.3×10^7

(3-3) 解析方法 [9), 10)]

NoV の定量値は, ControlDNA による検量線より算出し，濃縮倍率を考慮した換算コピー数とした。各実験条件における定量値は PASW 統計解析ソフト（v.18, Polar Engineering and Consulting）および Excel 2010 (32-bit, Microsoft)を用い，統計解析を行った。通知法と各実験条件を比較するために，Krusikal-Wills 検定を行い，各条件で有意な差が確認された場合，Steel's 検定による多重測定により，各実験条件間での NoV 定量値の差を検定した。

(3-4) 実験結果と考察

微生物未添加試料における保存時間・温度の影響

微生物添加試料による前処理効果を的確に把握するために，まず微生物未添加試料において，通知法による 4℃ 24 時間静置条件とその他の微生物未添加試料における条件，保存時間の違いによる NoV 定量値を比較検討した。図 5 に NoVG1，図 6 に NoVG2 の通知法と比較した微生物未添加試料の結果を示す。

各実験条件において，有意な差を把握するために，通知法と NoV コピー数は Kruskal-Wallis 検定により比較した。有意な差が確認された場合，Steel's 検定による多重比較を行った。

Kruskal-Wallis 検定の結果，NoVG1 は 5%有意水準で統計的に有意な差($P=0.036 < 0.05$)が確認された。Steel's 検定による多重比較の結果，通知法と Reference-5 (30℃で 24 時間保存)　との間に統計的に有意な差（統計値=2.61 > 臨界値=2.21）が確認された。微生物未添加の場合においても PEG 沈殿法を通知法に基づく 4℃24 時間保存時よりも，30℃24 時間保存した場合，コピー数が平均値で約 3.5 倍増加したため，NoVG1 の検出率が向上しており，回収率が増加したと考えられた。この現象は，試験水中に予め存在する一般細菌が 24 時間 30℃で保存されたことで増殖し，その増殖過程で NoVG1 と吸着したことで，PEG 沈殿による回収率が向上した可能性が考えられた。一方，NoVG2 はすべての実験条件で統計的な有意な差が確認されなかった ($P=0.091 > 0.05$) 。このことから，NoVG1 と NoVG2 ではウイルス粒子の吸着特性が異なる可能性が考えられた。

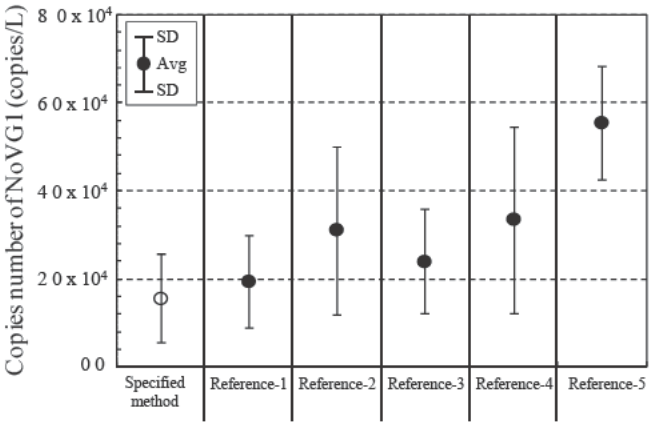


図 5 微生物未添加試料における保存時間・温度変化による NoVG1 のコピー数の比較

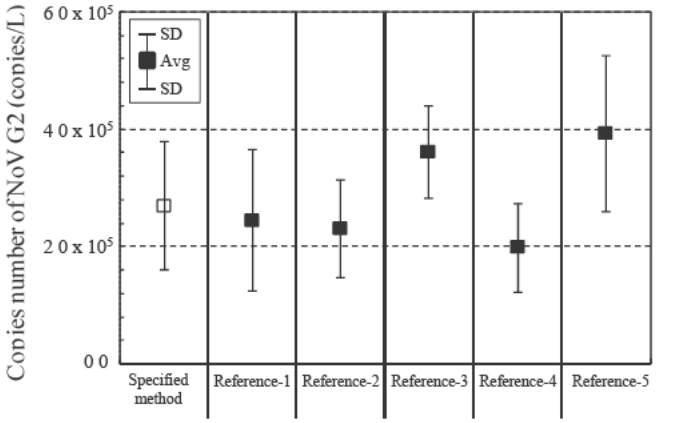


図 6 微生物未添加試料における保存時間・温度変化による NoVG2 のコピー数の比較

微生物添加前処理における NoV 定量値の検討

微生物添加前処理における，NoV 定量値の比較を図 7, 8 に示す。微生物未添加試料で検討した方法と同様に微生物添加試料と通知法とを統計学的手法によって比較検討した。なお NoVG1 は Reference-5 において通知法と有意な差が確認されたので，その結果も含めて検討を行った。

解析の結果，NoVG1($P=1.4\times10^{-6} < 0.05$)と NoVG2($P=4.0\times10^{-5} < 0.05$)ともに各実験条件において 5%有意水準で有意な差が確認さられたので，各条件どうしを比較するため多重比較を行った。その結果，NoVG1 は，通知法と比較して有意な差が RUN7 (30℃で 6 時間培養, 初期 *Pseudomonas* 濃度=2.6×10^5 (CFU/mL))と RUN 9 (30℃で 24 時間培養, 初期 *Pseudomonas* 濃度=2.0×10^5 (CFU/mL))で確認された。しかしながら, Reference-5 (微生物未添加試料, 30℃で 24 時間保存)と RUN 7，RUN9 を比較すると，有意な差がなかった。よって，NoVG1 においては微生物添加による前処理に効果がなかったと判断した。一方, NoVG2 に関しては通知法と比較して RUN 5 (30℃で 4 時間培養, 初期 *Pseudomonas* 濃度=8.0×10^5 (CFU/mL))のみが 5%有意水準で有意な差が確認された（統計値=2.61 > 臨界値=2.21）。この結果に関しては，NoVG2 粒子が，*Pseudomonas* が増加する過程において吸着され，結果として回収

率が増加したため，検出率が向上したと考えられた。しかしながら，4 時間以上培養するとコピー数が減少する傾向が確認された。これは 4 時間以上培養することで，*Pseudomonas* の対数増殖期が頭打ちとなり，一度ウイルス粒子が吸着した微生物が不活化したことで，結果として回収率が減少したと推察された。また，初期微生物添加濃度を約 10 倍に増やした場合は，すべての実験条件で定量値の増加が確認できなかった。これは，初期添加濃度が多すぎることで，PEG 沈殿法による回収率は向上すると考えられるが，その後の RNA 抽出工程で微生物濃度が多すぎることで RNA 抽出効率が低下したためではないかと考えられた。さらに微生物添加前処理による検出限界の違いとしては，VBP (ウイルス結合タンパク質)の影響が考えられた [11]。VBP は微生物の外側のエンベロープ表面に存在し，ウイルス粒子を吸着するタンパク質である [11]。よって，NoVBP (ノロウイルス―結合タンパク質)が *Pseudomonas* に存在し，NoVBP が微生物増殖過程において NoV の吸着を促進したため NoV の回収率が向上し，結果として検出限界が向上したと考えられた。

以上の事から，*Pseudomonas* を前処理としてサンプルに添加し，30℃で 4 時間培養すれば，NoVG2 に関しては回収率が改善し，Real-time PCR における検出限界が改善する可能性が示せた。

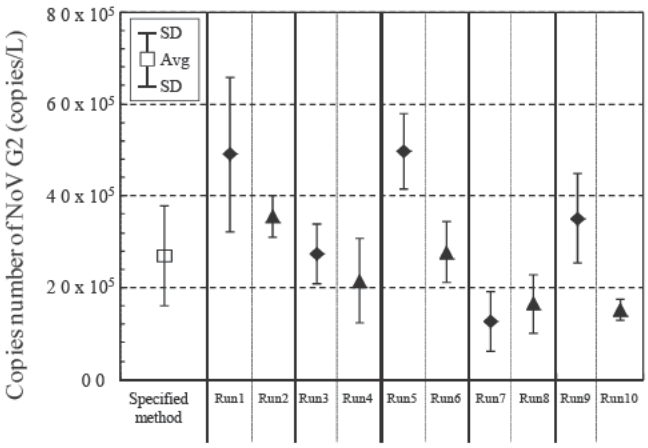


図 7 微生物添加試料における NoVG1 のコピー数の比較

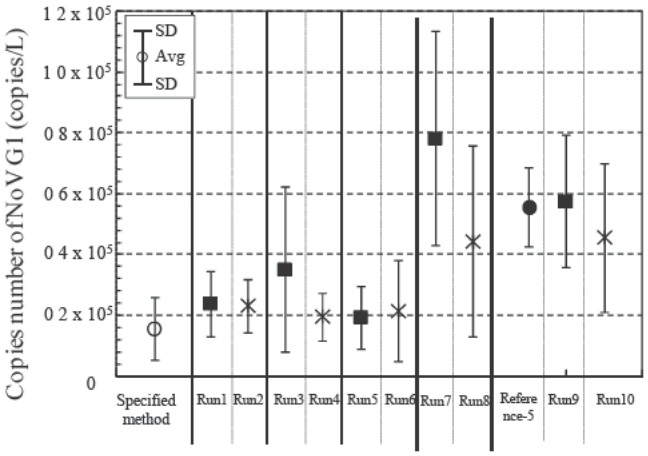


図 8 微生物添加試料における NoVG2 のコピー数の比較

2.4 まとめ

本検討では，Real-time PCR による NoV 定量おいて検出限界を改善するために微生物添加処理を行い，その効果の影響を検討した。その結果以下の事項が明らかとなった。

- 微生物未添加処理では，NoVG1 のみ 24 時間 30℃の保存で検出限界が改善した。
- 微生物添加処理では，NoVG1 は前処理の効果が確認されなかった。NoVG2 では *Pseudomonas* を前処理としてサンプルに添加し，30℃で 4 時間培養すれば，回収率が改善し，Real-time PCR における検出限界が改善する可能性が示せた。
- 微生物添加処理における NoVG1 と NoVG2 の挙動の違いは，添加した *Psdudomonas* に存在する NoVBP の吸着特性が異なるためだと考えられた。

3． 環境水・下水中のウイルス存在実態の把握

本調査は，下水を処理して再生水として供給している施設および環境水中を対象に以下の 3 点について検討することを目的に調査を行った。

- 種々の流域特性が異なる水域でのウイルス存在実態を把握すること
- 再生水の処理レベルの間接的な目安を検討すること
- ウイルス以外にも他の共同研究者が多様な物質の測定をしており，これらのデータベースの一部としてデータを取得すること

3.1 調査施設・地点の選定

調査施設は下水処理水を農業利用として再利用している施設A，主にトイレ用水や散水用水として再利用水を用いている施設Bとした。環境水は主に関東圏を中心に類型指定されている河川ならびに下水処理水が混入する河川，河川情報が比較的簡便に調べることが可能な河川とした。調査河川を表 2 に示す。

また，図 9，10 に利根川水系（桃ノ木川，荒砥川，粕川）ならびに多摩川での調査地点を示す。

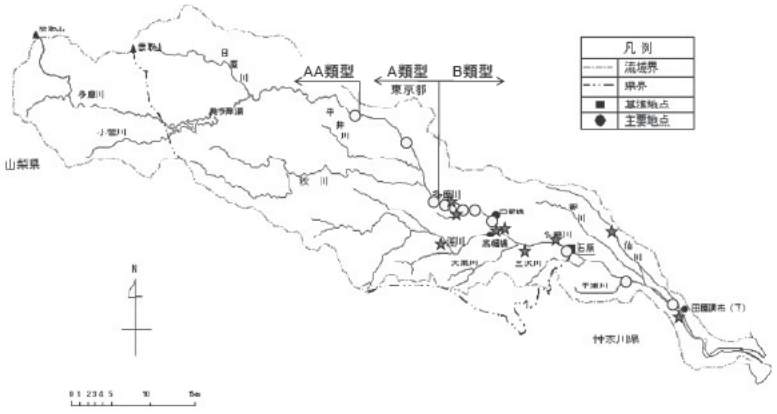
表 2 調査河川

都道府県	河川名	調査期間	備考
愛知県	矢作川下流	2010 年 6 月，7 月，2011 年 2 月	類型指定河川　(A 類型)
	油ヶ淵（湖沼）		C 類型湖沼
	逢妻男川		類型指定河川（D 類型）
群馬県（利根川水系）	桃ノ木川	2010 年 9 月，12 月	類型指定河川　(B 類型)
	荒砥川		類型指定河川　(A 類型)
	粕川		類型指定河川　(A 類型)
群馬県（利根川水系）	鮎川	2010 年 12 月	類型指定なし
	秋山川下流		類型指定河川　(C 類型)
	温井川		類型指定なし
東京都	多摩川	2010 年 11 月， 2011 年 1 月，6 月	上流～下流 （計 11 地点：2010 年 11 月，2011 年 1 月） （4 地点:2011 年 6 月）



：採水ポイント

図 9 利根川水系の採水地点



：採水ポイント★：下水処理場

（上流～下流まで各 11 地点）

図 10 多摩川採水地点

3.2 調査方法

調査方法として，NoV 非流行期（主に夏場：6 月～10 月），流行期（主に冬場：11 月～3 月）に河川水を 10L～20 L 採水を行い，24 時間以内に 4℃で保管し，逐次 NoV の定量を行った。NoV 定量は通知法に基づいて行ったが，全量 20 μL 系で不検出であったデータは全量 100 μL 系で再定量した。NoV 以外にも一般水質として，多項目水質

計(DR2400,HACH 社製)を用い CoD_{Cr}, T-N, T-P, NH_4-N, NO_3-N, PO_4-P, NO_2-N を測定した。また，クロモカルト寒天培地を用い大腸菌，BGLB 培地を用い大腸菌群を定量した。SS 濃度の測定は下水試験法に基づき，孔径 1μm のガラス繊維ろ紙を用い定量した。

3.3 調査結果

図 11,12 に実施設 A，B の一般水質データおよび NoV 定量データを示す。施設 A では 2010 年 10 月，11 月に採水を行った。施設 B は 2011 年 2 月 23 日および 28 日に採水を行ったが採水日が近いことから 23 日と 28 日のデータの平均値とした。施設 A では，二次処理水を直接，塩素消毒を行い，再利用水としている。一般水質の結果から再生水の大腸菌ならびに大腸菌群は二次処理水よりも減少していることが確認され塩素消毒の効果が確認できたが，NoV は二次処理水と再生水でコピー数に大きな差は確認されなかった。また NoVG2 は NoVG1 より約 10 倍のコピー数で，一般的な標準活性汚泥法を採用している施設と概ね同様の傾向を示していた。

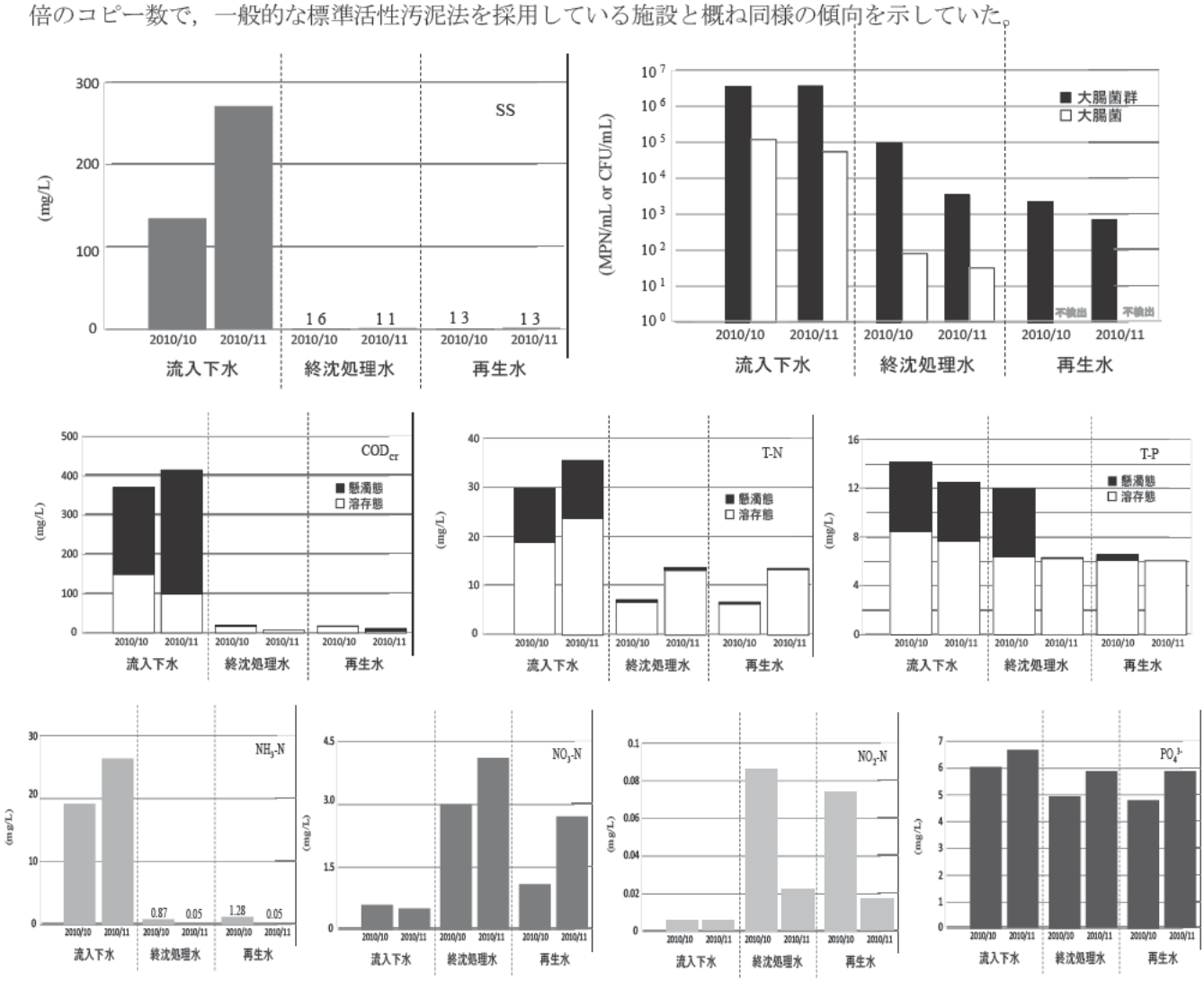


図 11 (a) 施設 A の一般水質および NoV 定量データ (採水日：2010 年 10 月，11 月)

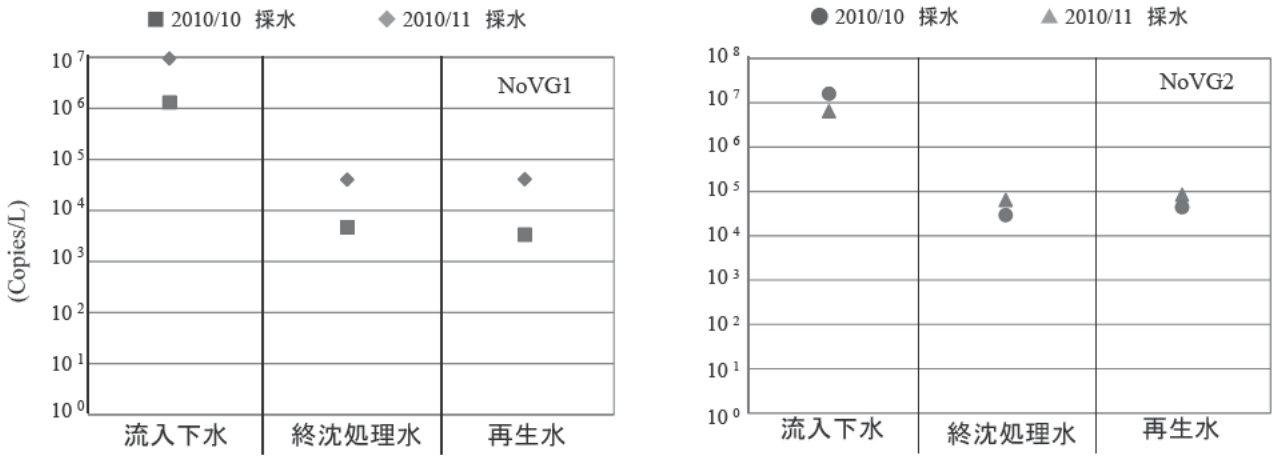


図 11 (b) 施設 A の一般水質および NoV 定量データ (採水日：2010 年 10 月，11 月)

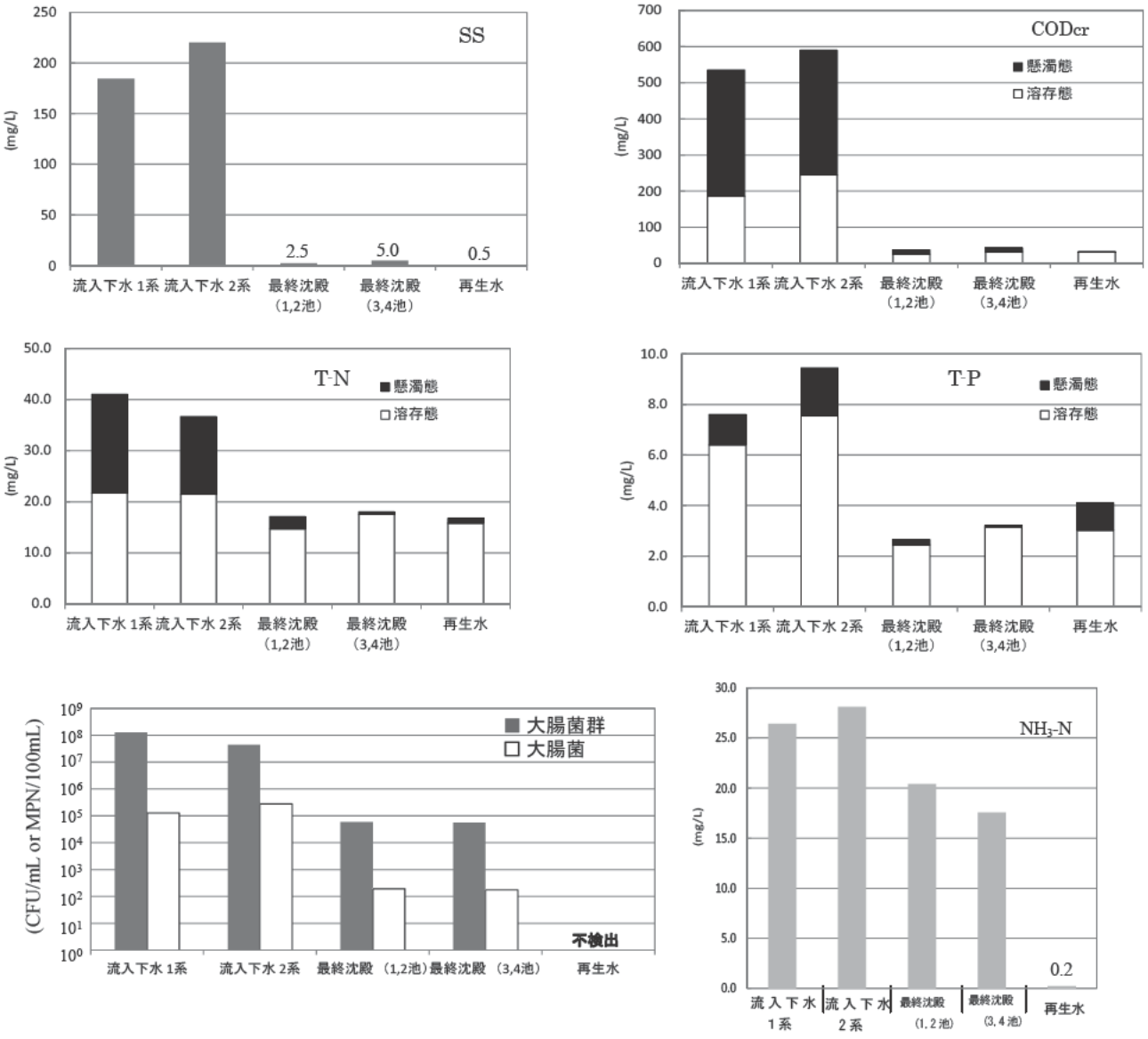


図 12 (a) 施設 B の一般水質 (採水日：2011 年 2 月)

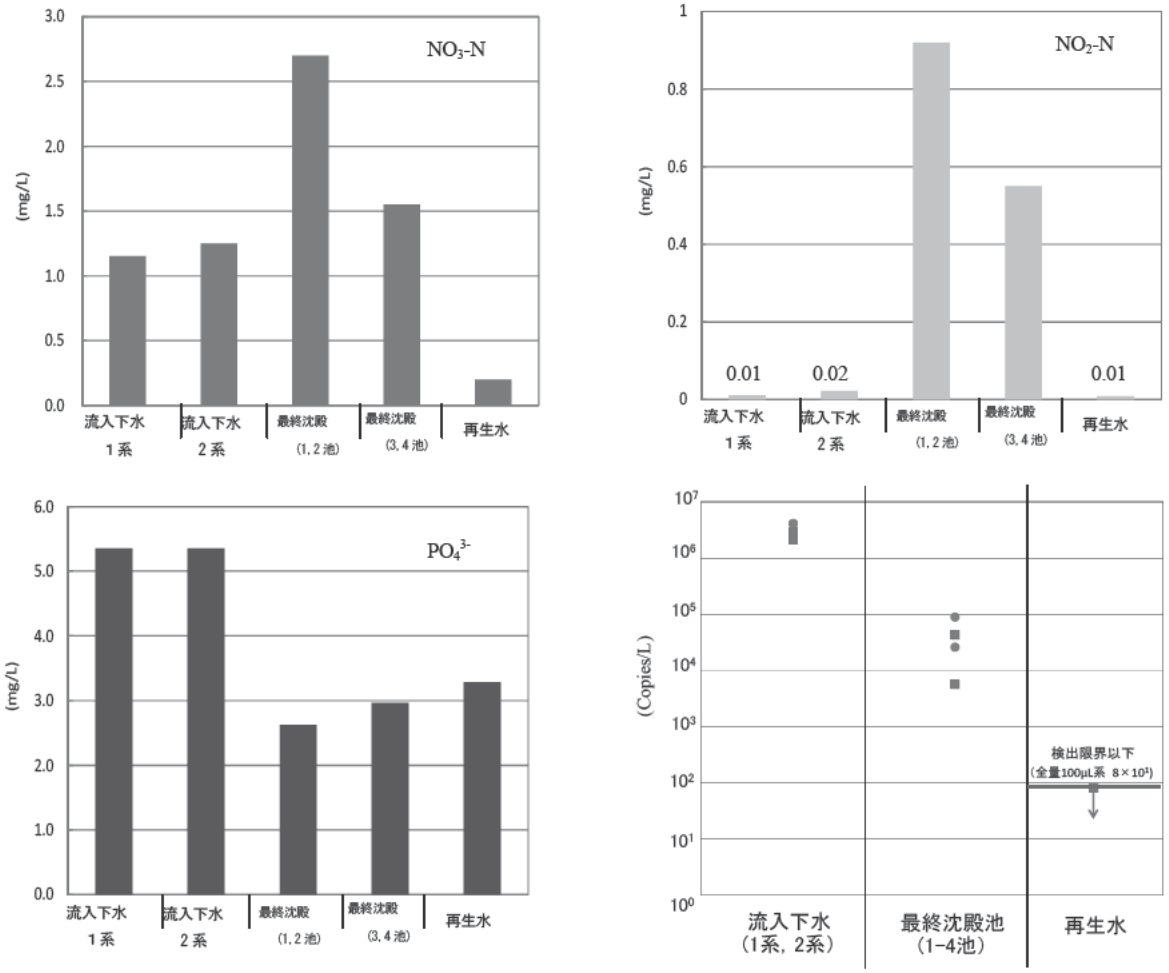


図 12 (b) 施設 B の NV 定量データ（採水日：2011 年 2 月）

施設 B については再生水処理として，生物処理→オゾン処理→塩素処理を行っていることから，再生水で大幅にアンモニア濃度が減少していた。また，施設 A よりも大腸菌，大腸菌群ともに大きな値となっているが，再生水は，大腸菌，大腸菌群ともに不検出であった。また施設 B の NoV は G1，G2 ともに施設 A とは異なり流入下水，最終沈殿池（二次処理水）ともにほぼ同等のコピー数であった。再生水は NoVG1，NoVG2 ともに検出限界値以下(1copies/tube 未満=80copies/L 未満)であった。施設 B ではかなり高品質な再生水が送水されていると思われた。

図 13～16 に環境水の一般水質データおよび NoV 定量データを示す。図 13 の愛知県の類型指定されている河川，湖沼の結果より，栄養塩類は類型通り A 類型に指定されている矢作川下流の水質が良い結果であった。調査期間の 2010 年 6 月，7 月，2011 年 2 月において，愛知県感染症情報より，豊田市の感染性胃腸炎の定点あたりの報告数はそれぞれ，52 人，27 人，63 人であった [12]。河川においては NoVG1，G2 ともに感染性胃腸炎の定点あたりの報告数と合致する結果となっておらず，季節変動（流行期，非流行期）で明確な差が確認されなかった。油ヶ淵は調査期間中で，G1，G2 ともコピー数に大きな変動は確認されなかった。これは湖沼の滞留時間が不明だが，水の循環頻度が河川よりも小さいため，変動が小さかったと考えられた。

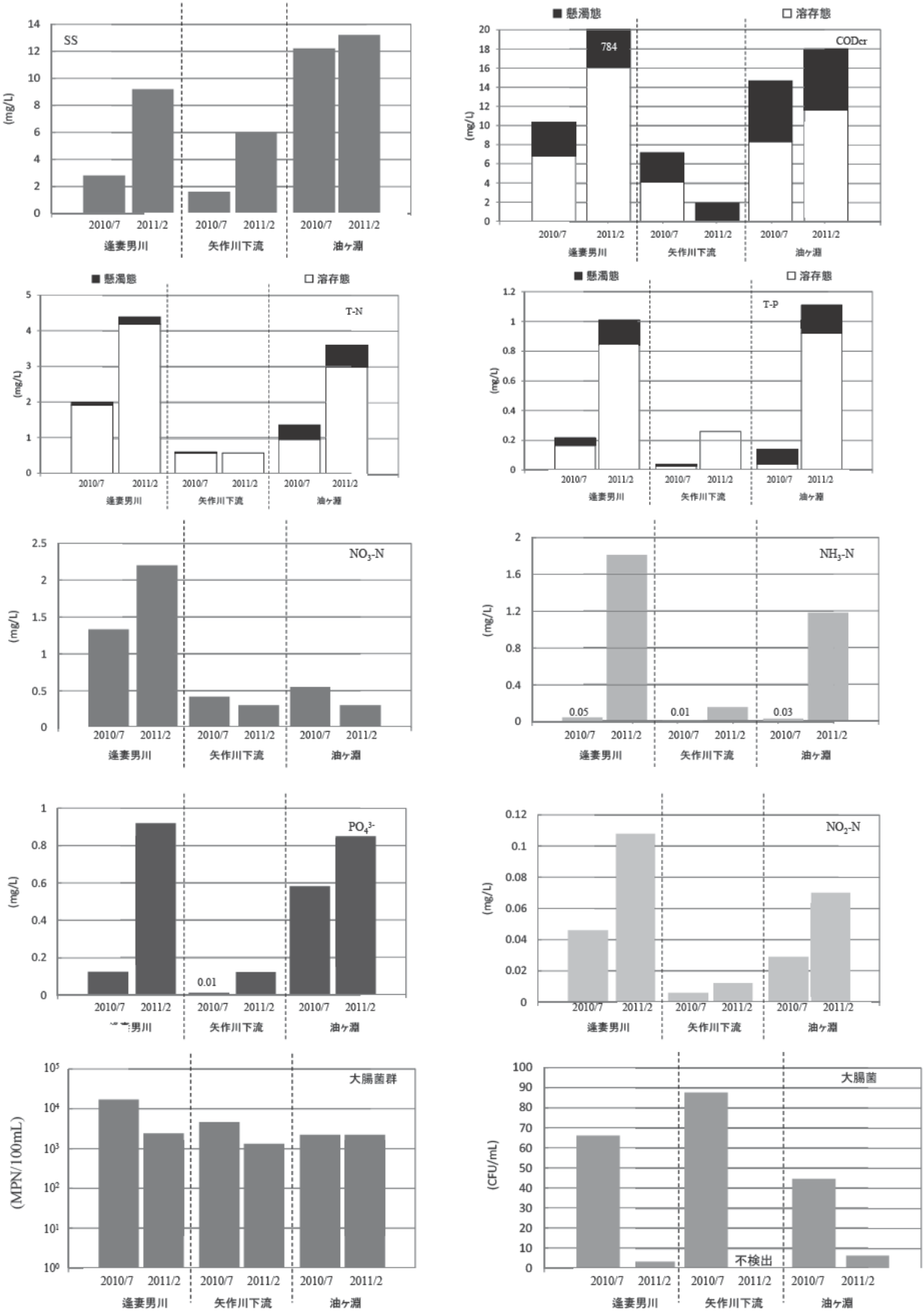


図 13(a) 環境水（愛知県：逢妻男川，矢作川下流，油ヶ淵）の一般水質および NoV 定量データ
(採水日：2010 年 6 月，7 月，2011 年 2 月）*2010 年 6 月の一般水質データは未測定

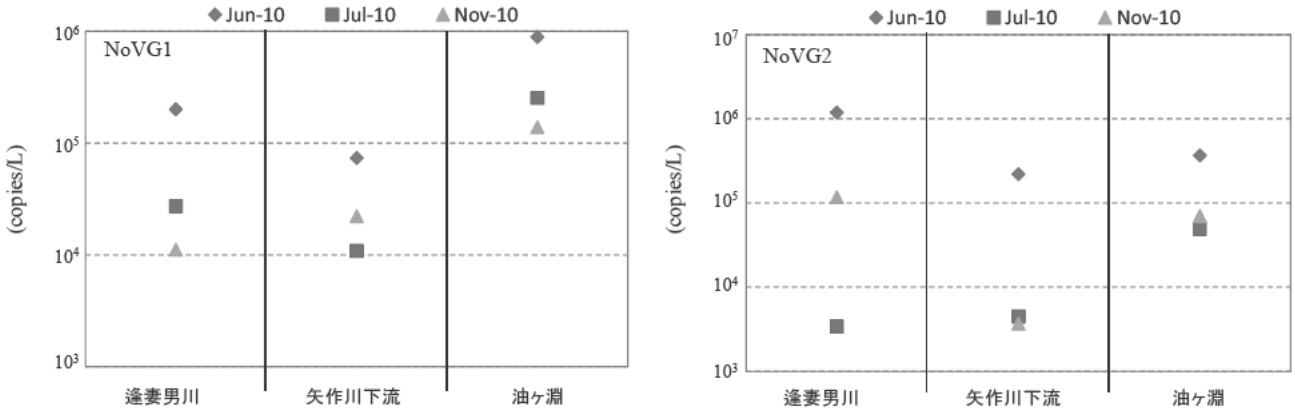


図 13(b) 環境水（愛知県：逢妻男川，矢作川下流，油ヶ淵）の一般水質および NoV 定量データ
(採水日：2010 年 6 月，7 月，2011 年 2 月）*2010 年 6 月の一般水質データは未測定

図 14 に桃ノ木川，荒砥川，粕川（利根川水系）の一般水質および NoV の定量データを示す。図 14 より各地点ともに冬場（12 月）の方が 9 月よりも一般水質の値が全体的に高い傾向が確認された。冬場は河川水量が減少し水質データに影響を及ぼしたと考えられた。

NoV 定量データより，桃ノ木川を除き，冬場に NoVG1，G2 ともにコピー数が増加していた。群馬県全体の感染性胃腸炎の定点あたりの報告数は 2010 年 9 月が 3.3 人，12 月が 23.1 人 [13]と増加していることから，12 月は流行期であったと考えられ, 調査した期間においても 9 月よりも冬場の 12 月に NoV のコピー数が増加している確認された。図 15 に鮎川，秋山川下流，温井川（利根川水系）の一般水質および NoV 定量データを示す。図 14 より一般水質データならびに NoV 定量値は同時期の桃ノ木川，荒砥川，粕川（利根川水系）よりも値が低いことが確認された。

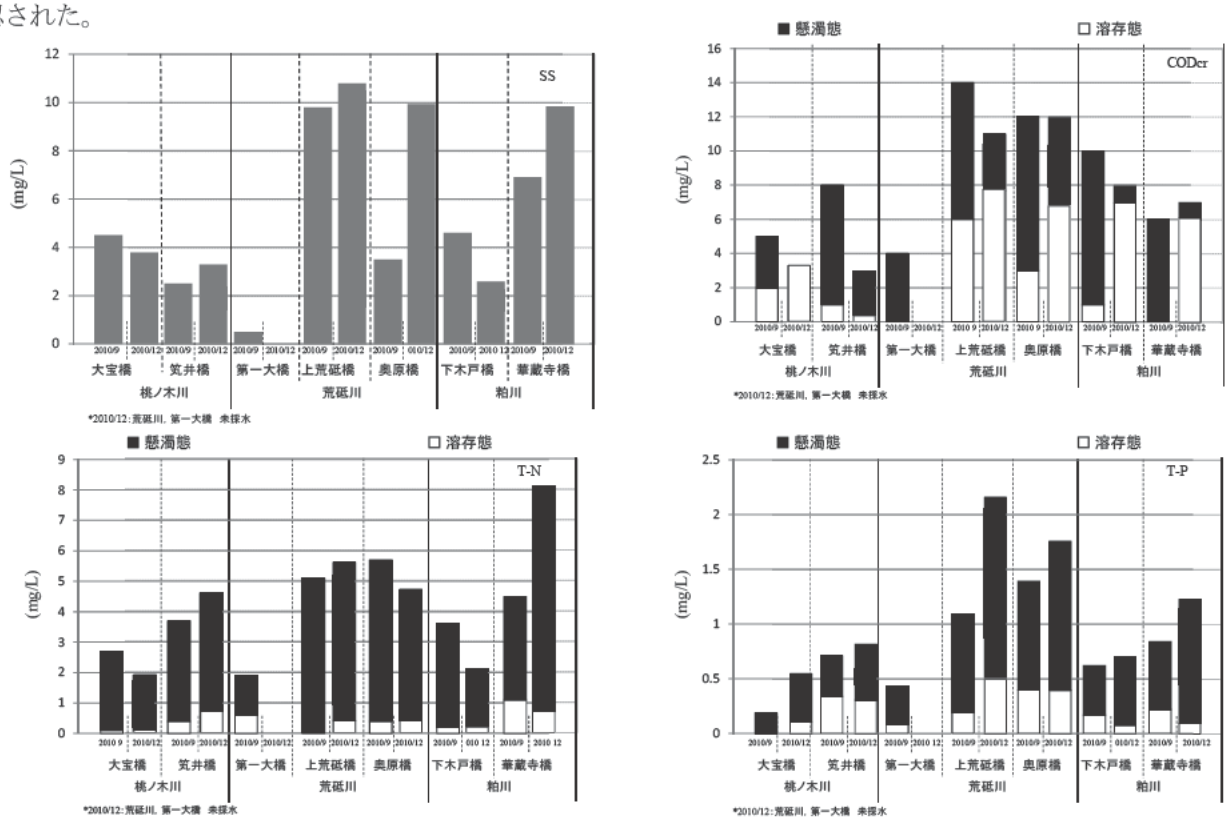


図 14 (a) 桃ノ木川，荒砥川，粕川（利根川水系）の一般水質データ　（採水日：2010 年 9 月，12 月）

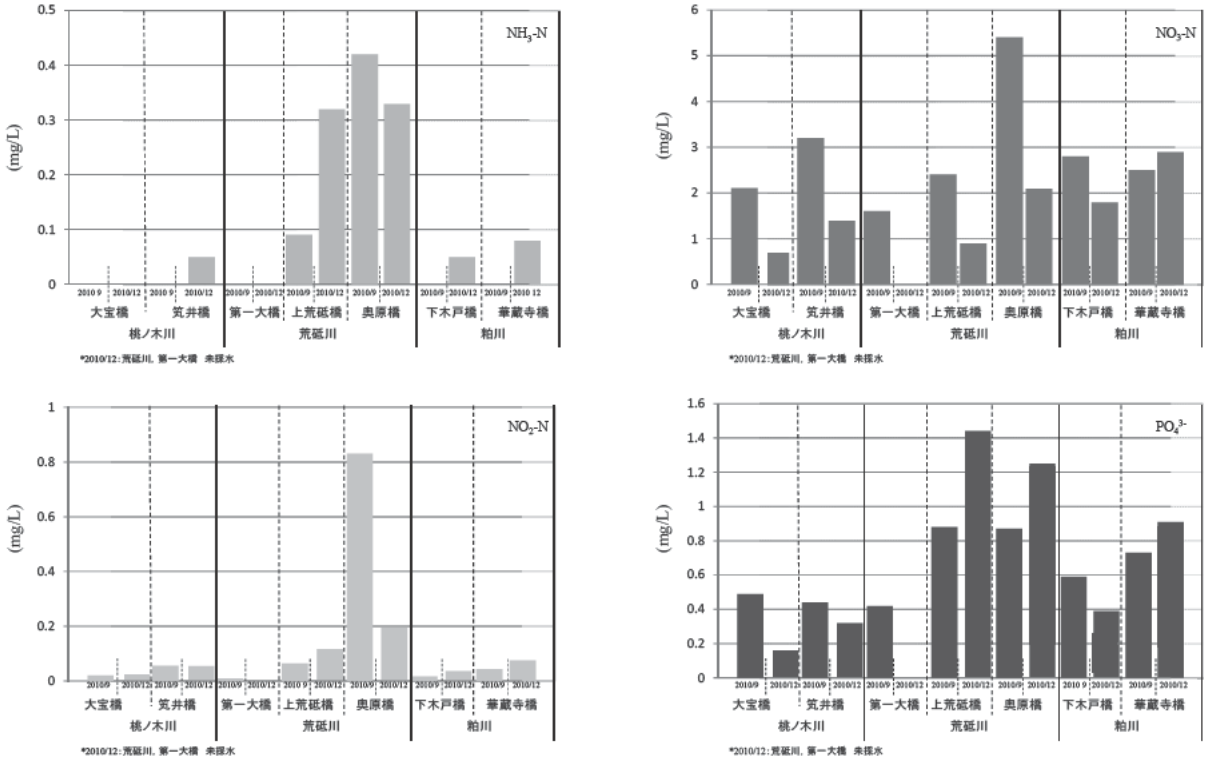


図 14 (b) 桃ノ木川，荒砥川，粕川（利根川水系）の一般水質データ　（採水日：2010 年 9 月，12 月）

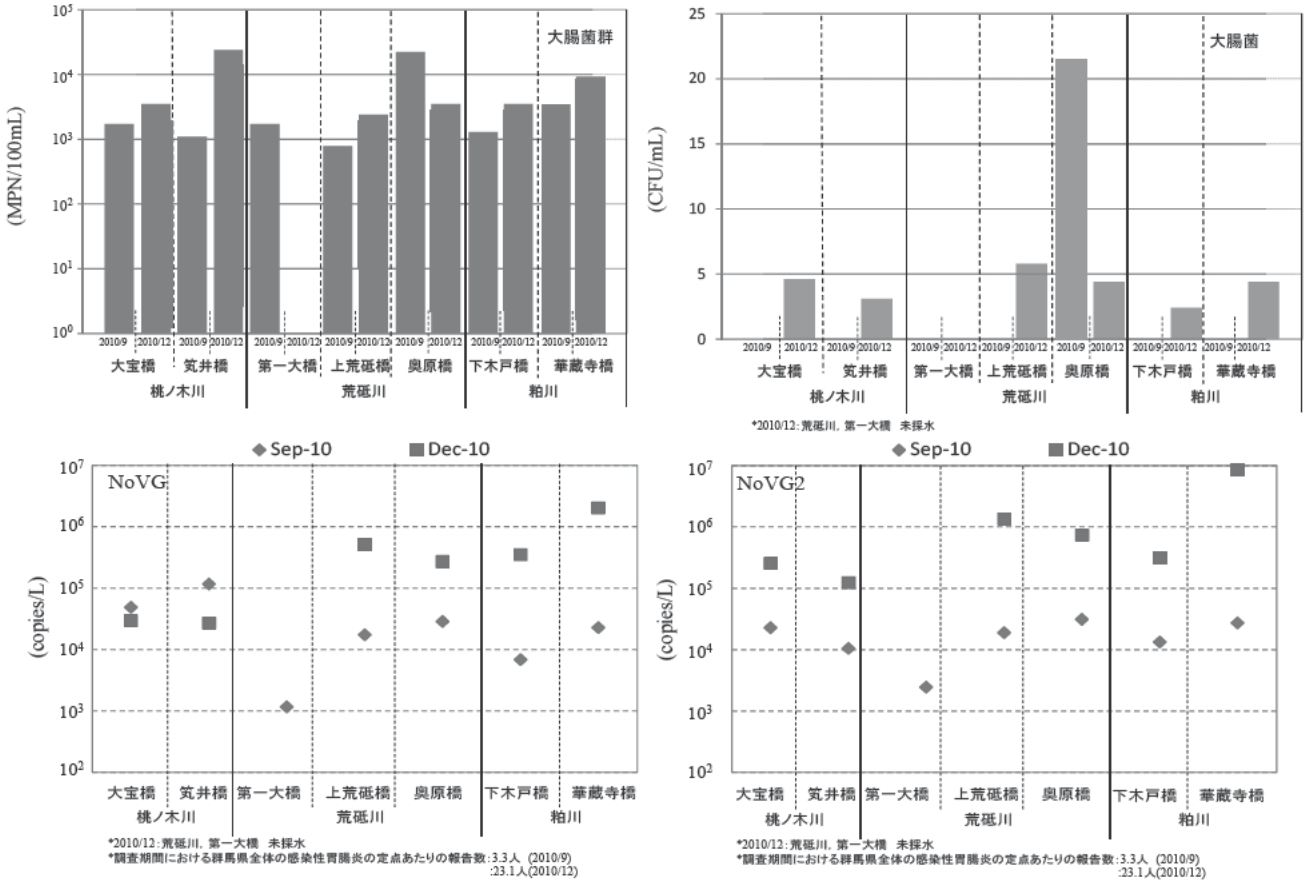


図 14 (C) 桃ノ木川，荒砥川，粕川（利根川水系）の大腸菌，大腸菌群，NoV 定量データ
（採水日：2010 年 9 月，12 月）

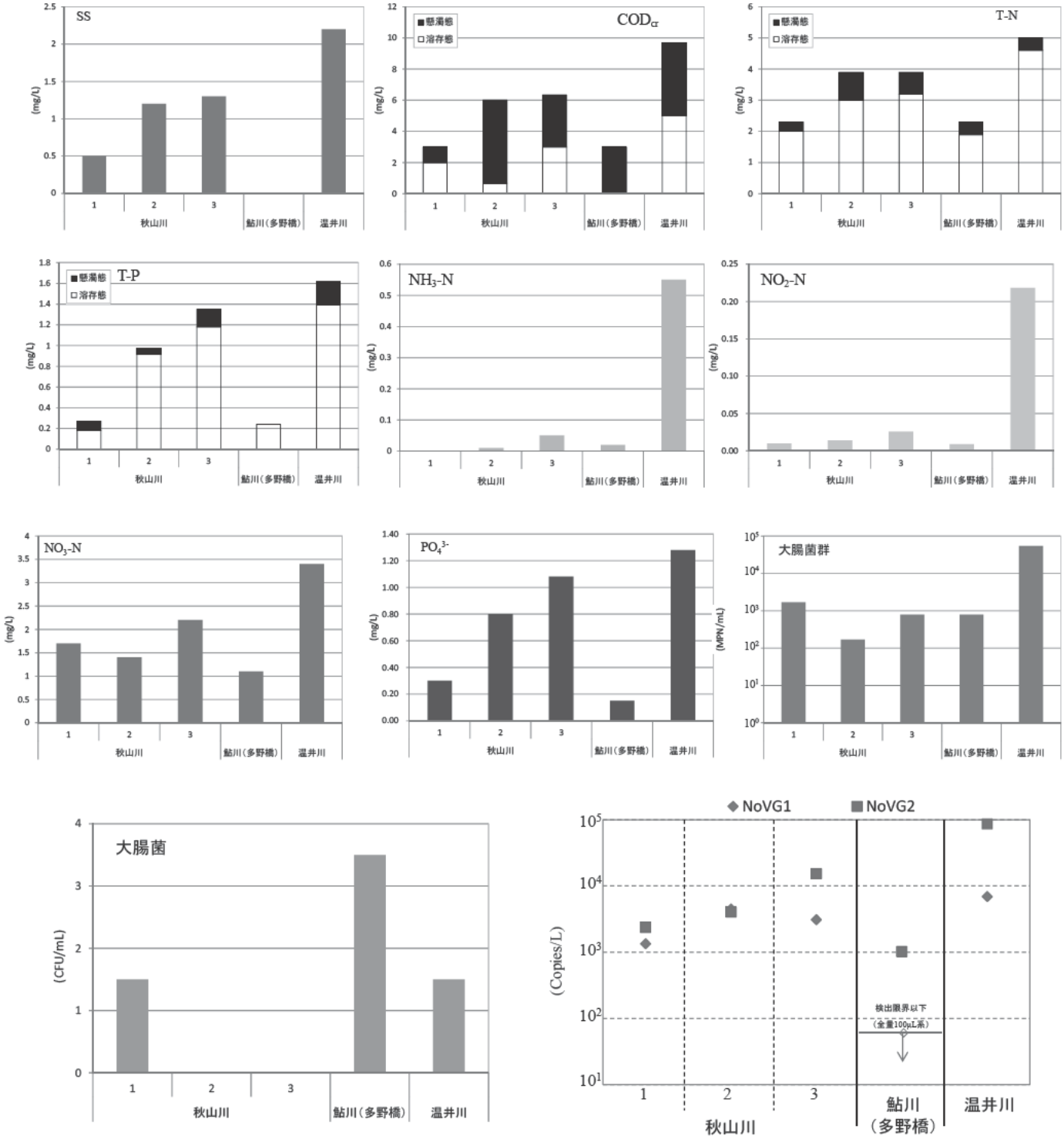


図 15 鮎川，秋山川下流，温井川（利根川水系）の一般水質および NoV 定量データ　（採水日：2010 年 12 月）

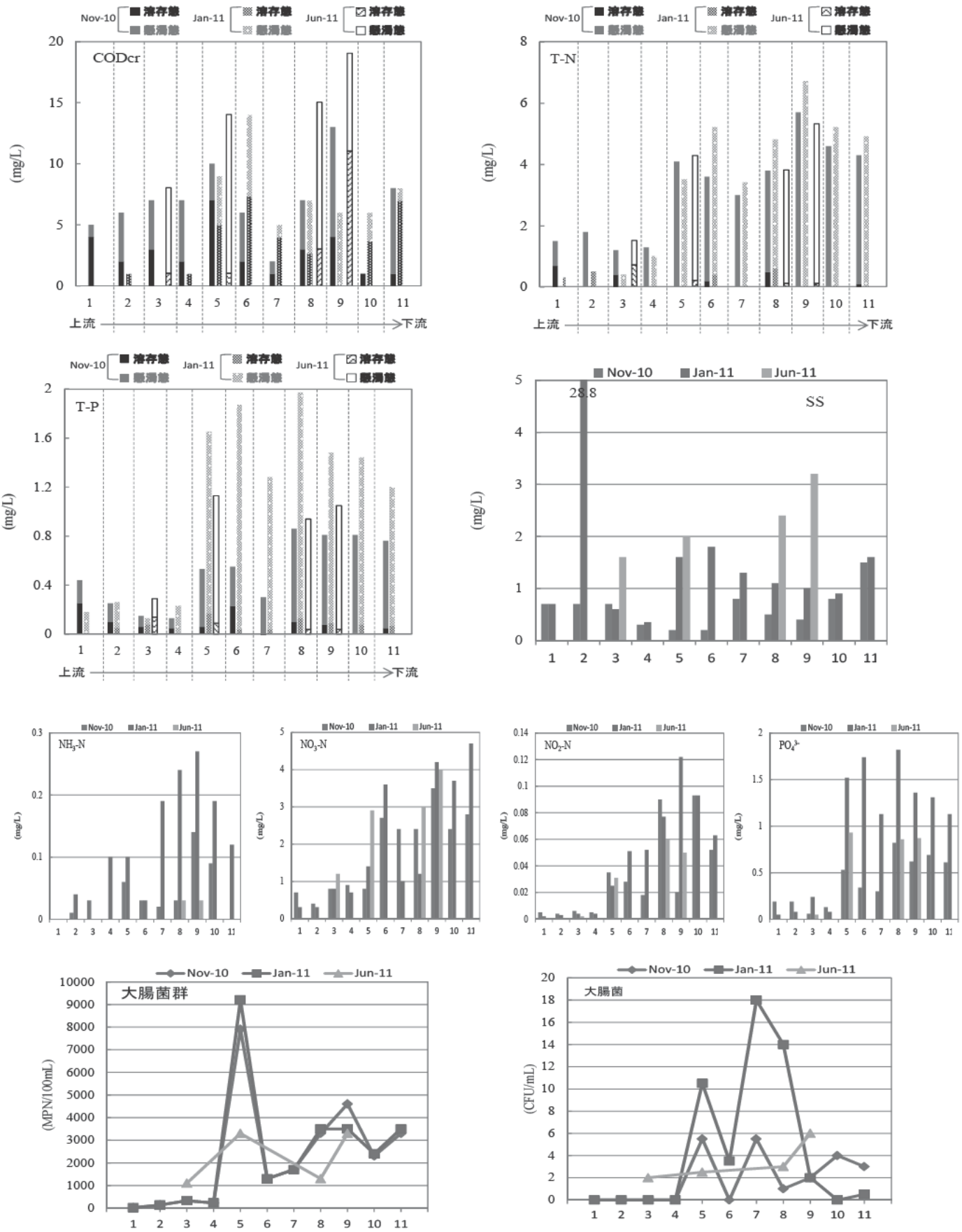


図 16(a) 多摩川の一般水質データおよび NoV 定量データ (採水日：2010 年 11 月，2011 年 1 月，6 月)

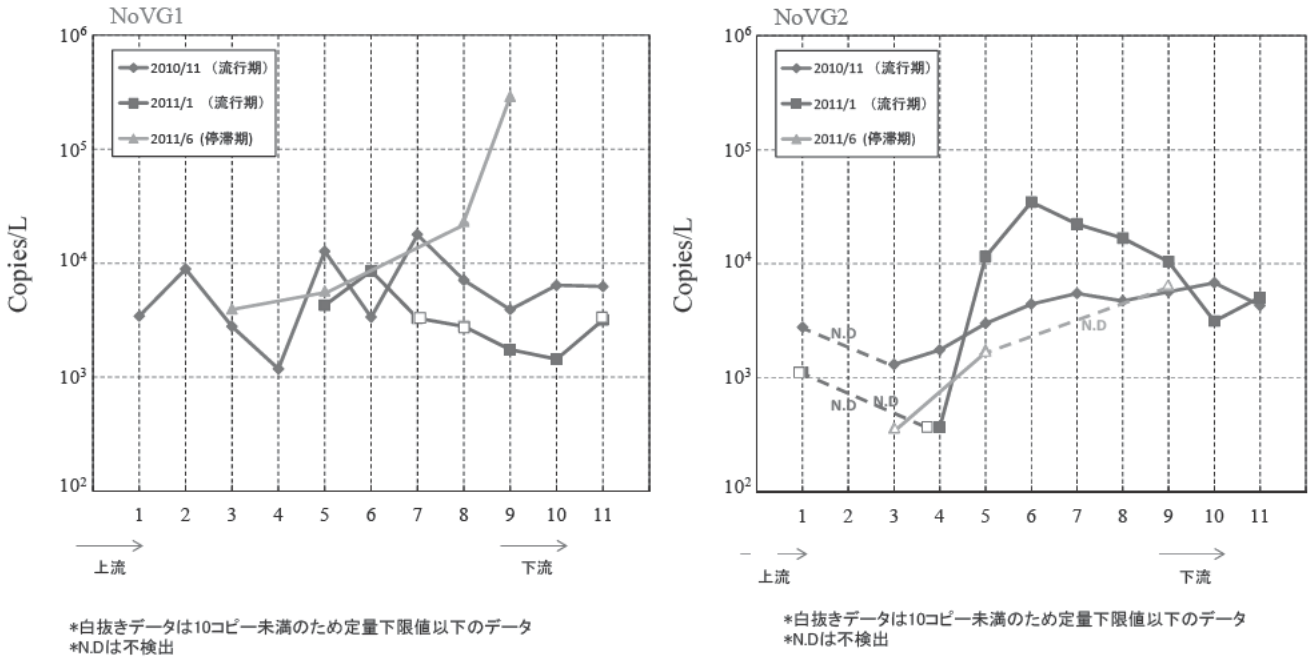


図 16 (b) 多摩川の一般水質データおよび NoV 定量データ (採水日：2010 年 11 月，2011 年 1 月，6 月)

図 16 に多摩川の調査地点の一般水質および NoV 定量データを示す。なお、採水地点 5，6，9 は直前に下水処理場があり，処理水が河川に混入している。また調査地点 9 は 5 つの下水処理場の処理水が混入した地点となっている。(図 10 参照)。一般水質のデータより下水処理水の混入直後の採水地点では下水の影響により各測定項目値が増加している傾向が確認された。NoV 定量データより，NoVG1 は季節変動による遺伝子数の変動に傾向は確認できず，2010 年 11 月，2 月は，各地点とも 10^3copies/L~10^4copies/L 程度で推移していた。一方 NoVG2 は下水処理水混入後の地点 4 以降で大幅の定量値の増加が確認された。さらに 6 月よりも冬場の 11 月，2 月の値が大きく，季節変動による定量値の違いも確認された。以上より，NoVG2 は NoVG1 と異なり，下水処理水の流入による濃度増加が顕著に表れていた。今後は，調査地点の流域情報を整理し，より詳細にデータの解析を行っていく予定である。

3.4 まとめ

環境水・下水中のウイルス，主にノロウイルスを対象にその存在実態を把握した結果，以下の事項が明となった。

- 再生水として塩素処理のみを行っている施設 A では，大腸菌，大腸菌群は比較的不活化されていたが，遺伝子検出による NoV は G1，G2 ともにほとんど不活化されていない状態であった。
- 一方，再生水処理が高度化されている施設 B（生物処理→オゾン処理→塩素処理）では，施設 A と異なり，NoV の不活化が NoVG1，G2 ともに 3Log 以上であった。
- 環境水の調査結果より，特に利根が水系の桃ノ木川，荒砥川，粕川は，県内の感染性胃腸炎の定点報告数と合致し，報告者数が増加した 12 月に NoV の定量値も増加した。一方で，多摩川を除く他の河川では定点報告者数と合致したような結果は確認されなかった。
- また多摩川の調査結果より，NoVG2 に関しては上流～下流に従い NoV の濃度が増加する傾向があり，下水処理水の混入による濃度増加が顕著に表れていた。一方，NoVG1 は下水混入の影響，季節変動による影響はほとんど確認されなかった。
- 今後は，調査地点の流域情報を整理し，より詳細にデータの解析を行っていく予定である。

４．再生水の衛生学的リスク評価の構築

4.1　はじめに

再生水の衛生学的評価を行う上で，健康影響を及ぼす病原微生物のリスク評価を行う必要がある。近年，再生水の衛生学的リスク評価においては，オーストラリアの再生水利用基準で障害調整生存年数（DALYs）の考え方が使われてきている[14]。DALYs は，集団の健康状態を表す尺度で，特定の疾病かリスク要因による負荷の指標であり，年間感染リスクとは異なり，急性の健康影響だけではなく慢性の効果も説明できるため，罹患率と死亡率を含めた健康影響を比較するための重要な手段となる[15]。

国内では再生水の利用が工業用水，修景用水等として年間 1.94 億 m^3 の利用があるが，その割合は，処理水量全体の 1.4%に過ぎないなど[16]，場外での使用量が非常に少なく，用途も修景用水，河川維持用水などの割合が多く，農業，工業等への利用は限定されている。そこで，本節では今後利用用途の拡大が期待される再利用水の病原微生物に対するリスク評価の考え方について検討した。

4.2　利用用途・曝露シナリオの設定

本検討にあたり，今後利用拡大が期待される，再生水の利用用途および曝露シナリオを分類化し，病原微生物によるリスク評価手法を構築することを目指した。表 3 に利用用途および曝露シナリオを示す。

表 3 再生水の利用用途と想定される曝露シナリオの設定

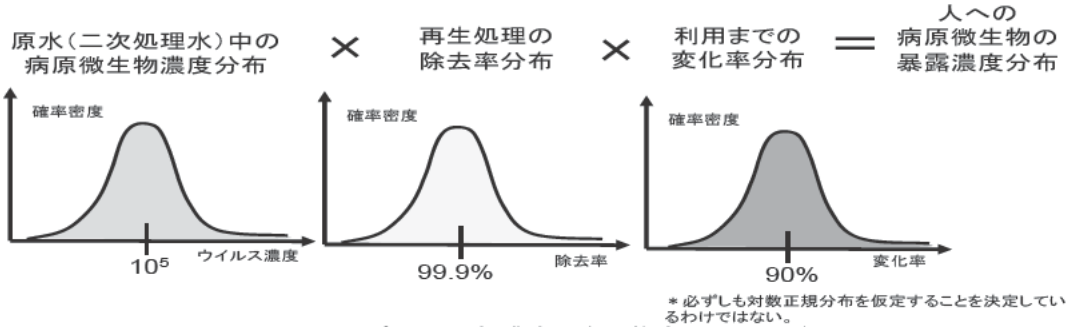
利用用途	主な用途		健康リスクの検討対象者		想定されるリスク
農業利用	米	→	・作物消費者	→	・作物の病原微生物による汚染（消費者）
	葉物(生食)		・農業従事者		・根を経由した処理水や土壌からの農作物への蓄積(消費者)
	葉物(加工)		・作物加工流通関係者		・作業中における間接摂取(農業従事者，近隣住居者)
	根菜類(地下栽培)				・加工段階での間接摂取(流通関係者)
	根菜類(地上栽培)		・農業(農地)近隣住居者		・作物の種別，作物の接触度合いによるリスクが異なる(従事者，消費者，近隣住居者，流通関係者)
親水利用	水浴	→	・管理従事者 ・不特定多数(子供を含む)	→	・水遊びにおける誤飲（不特定多数） ・手について水の間接経口摂取(管理従事者，不特定多数)
修景利用	池・湖	→	・管理従事者，施設等利用者	→	・しぶき等による間接経口摂取(施設利用者，管理従事者)
	噴水・滝		・不特定多数(子供を含む)		・子供による誤飲摂取
散水利用	散水(芝生，庭等)	→	・作業従事者，近隣住民 ・選手	→	・スプリンクラー散水等による間接経口摂取(近隣住民，作業従事者，選手，不特定多数) ・子供による誤飲摂取
	ゴルフ場・野球場・サッカー場		・不特定多数(散水方法による)		・一般人の接近による間接摂取（不特定多数）

利用用途	主な用途		健康リスクの検討対象者		想定されるリスク
河川維持利用		→	・近隣住民 ・不特定多数(釣り人や川遊び等に訪れた人)	→	・子供による誤飲摂取 ・非意図的な間接経口摂取
工業利用	冷却塔	→	・工業従事者 ・最終製品利用者 ・工場近隣住民	→	・エアロゾルによる皮膚等への間接摂取(工業従事者，工場近隣住民) ・製品利用者の皮膚等への間接摂取
	商用(洗濯・洗車)				
水洗トイレ用水	トイレ用水	→	・利用者 ・管理従事者	→	・しぶき等による間接経口摂取(利用者，管理従事者)
間接的飲用利用	地下水涵養(浸透水) 貯水池・配水池(水道水への一部利用)	→	・飲用目的の場合には飲用者	→	・飲用者による摂取
その他	防塵用水 融雪用水 灌漑用水 消火用水	→	・各用途利用者 ・各用途の作業従事者	→	・作業従事者への使用時の飛沫による間接摂取 ・利用者，作業従事者以外の不特定者への飛沫による間接摂取

再生水の利用用途として，農業利用，親水利用，修景利用，散水利用，河川維持利用，工業利用，水洗トイレ利用，間接的引用，その他の計 9 分類に区分した。利用用途毎に主な用途を設定し，健康リスクの検討対象ならびに想定される曝露シナリオの概略を整理した。

4.3　DALYs の計算

図 17，18 に病原微生物のリスク評価手法についての考え方を示す。DALYs を計算する前に，対象となる再生水の病原微生物濃度を把握する必要がある。まず，図 15 に示したように対象とする水処理システムにおいて，原水となる二次処理水のウイルスの濃度変動および再生水処理（処理方式により除去率が異なる）の除去率の変動ならびに図 18 に従い利用までの変化率分布の変動から再生水の濃度変動を算出する。設定したリスクシナリオに対して年間感染リスクを算出し，特定の疾病かリスク要因による負荷（DALYS/人・年）を算出する。



＊必ずしも対数正規分布を仮定することを決定しているわけではない。

図 17 暴露水の病原微生物濃度分布の推定のイメージ

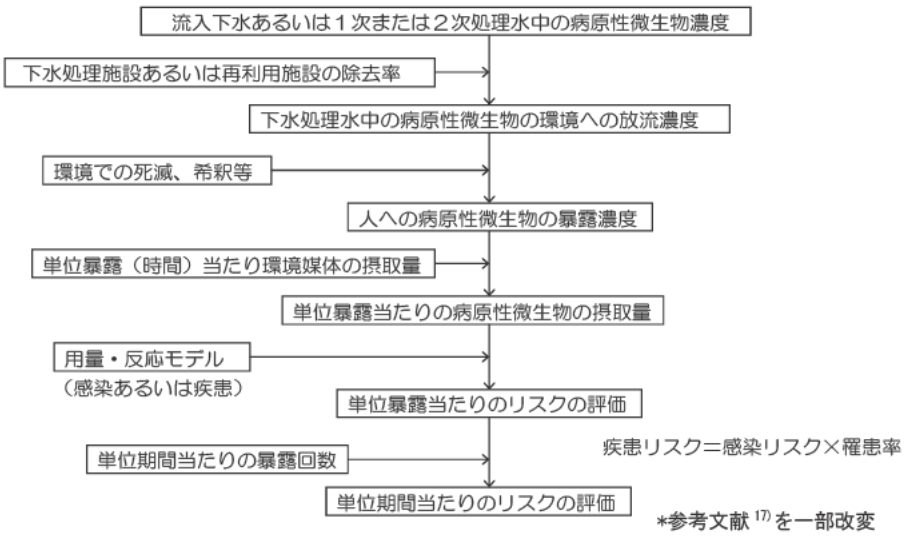


図 18 下水処理水や再利用水における病原性微生物感染リスクを決める手順

4.4 リスク評価（トライアル）

リスク評価のトライアルとして設定したリスクシナリオを表 4 に示す。リスクシナリオを設定しパイロットプラント（膜処理）におけるモニタリングデータを用い，対象病原微生物としてノロウイルスとし，DALYs によるリスクの試算を試みた。リスクシナリオとしてパイロットプラントの膜処理水を 100%農業用水として利用した場合に対象者が，間接的にこの水を誤飲することによって NoV に感染することを想定した。下記に計算方法を示す。

① 原水（二次処理水）濃度の実測値を基に対数正規分布を仮定 。（図 19）
② 除去率の実測値を基に正規分布を仮定パイロットプラントの除去率から正規分布を仮定 。（図 20）
③ ①と②より決定した濃度分布から再生水の濃度分布を算出する。（図 21）
ただし，利用までの変化はないと仮定した。
④ 年間感染リスクを算出する際, 対象とする病原微生物の用量･反応関係式が必要となるが, 本検討では, ID_{50}=100 or 10（ウイルスを 100 個 or10 個摂取すると 50%の人が感染する）と仮定 [18] し，式(1)で示す用量反応関係式より感染確率を算出した。
⑤ 再生水の濃度分布（図 19）と式(2)を用い，モンテカルロシミュレーション 10000 回の試行で DALYs を算出した。（図 22，23）

$$P_{inf}(D) = 1 - exp(-\lambda D) \quad (1)$$

$P_{inf}(D)$:感染確率，$\lambda = -\dfrac{\ln 0.5}{ID_{50}}$，$D$:摂取ウイルス量，$ID_{50}$: 50%の人が感染するウイルス量

$$DALY_{pppy} = P_{inf}(D) \times R_{inf} \times DB \quad (2)$$

$DALY_{pppy}$:DALYs per person per year．１人１年あたり疾病負荷（DALY/人・年）

R_{inf}:Ration of illness /infection，発症確率 ここでは 0.8 とした [19]

DB:Disease Burden，疾病負荷（年）[20]

DALY(4%) = {YDL(障害生存年数＝390)+YLL(損失生存年数=55)}×0.96

DB=DALY(4%)/(発生者数=470,000)=9.0×10^{-4}

表 4　リスクシナリオ

利用用途	主な用途	対象者	対象ウイルス	曝露形態	誤摂取量－頻度
農業利用	水稲栽培 電照菊栽培	農業従事者	NoV(G1+G2)	間接経口摂取	0.3mL / 1 作業－27.2 日*1 0.1mL / 1 作業－20 回/年*2

*1 農業経営指標（長野県）より使用頻度を決定

*2 高度処理会議，ウイルスの安全性からみた下水処理水の再生処理法検討マニュアル（案）より決定

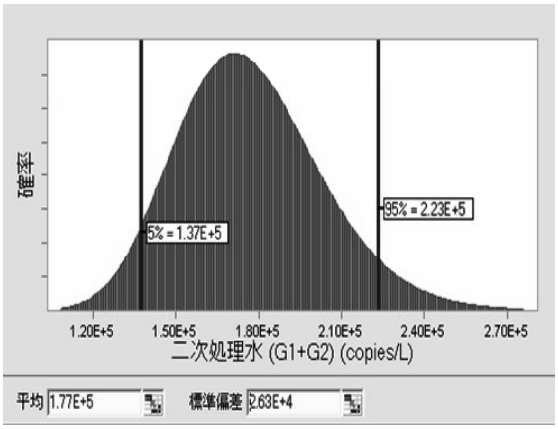


図 19 原水（二次処理水）の NoV（G1+G2）コピー数分布

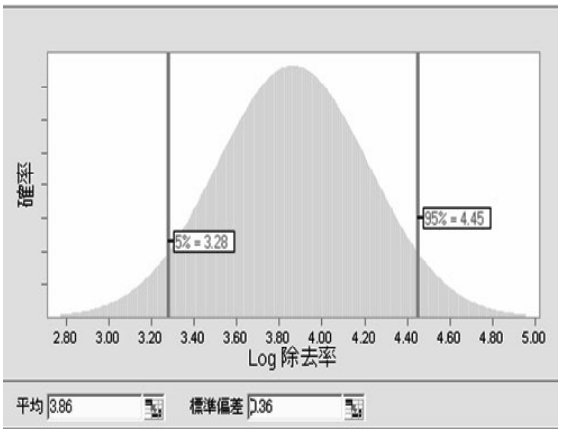


図 20　Log 除去率の分布

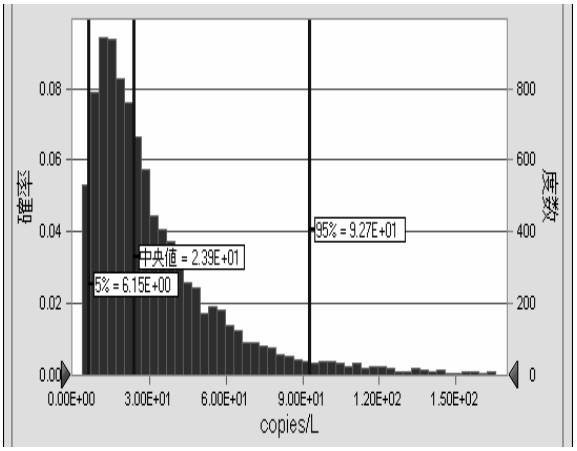


図 21　膜処理水（再生水）濃度分布

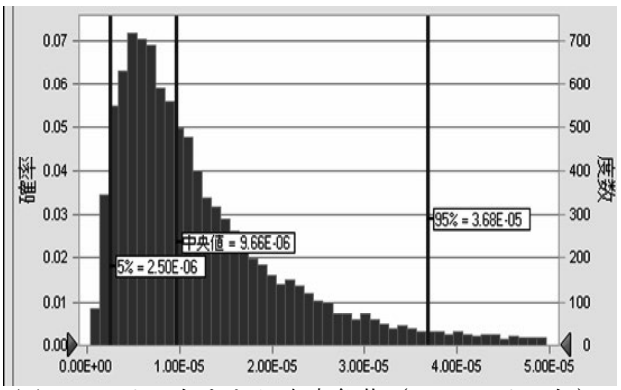


図 22　1 人 1 年あたり疫病負荷（DALYs/人・年）
（水稲栽培：ID_{50}=10）

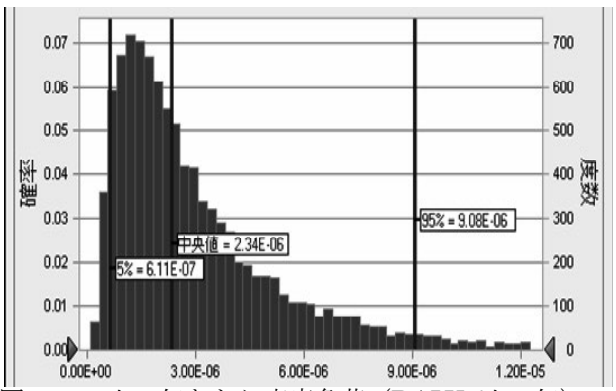


図 23　1 人 1 年あたり疫病負荷（DALYs/人・年）
（電照菊栽培：ID_{50}=10）

図 19，図 20 の分布の掛け算より，再生水の濃度分布を算出（図 21）し，図 21 の再生水の濃度分布から DALYs を算出した。図 22，23 に一例として ID_{50}=10 を仮定した場合の水稲栽培，電照菊栽培の DALYs の結果を示す。表 4 のシナリオより DALYs を算出した結果を表 5 に示す。試算結果より，電照菊栽培の場合，ID_{50}=100 と仮定すれば，Australian guidelines for water recycling (AGWR)の許容リスク=10^{-6}（DALYS/人・年）を達成できた。ただし，注意事項として，本検討では原水（二次処理水）の季節変動や使用時期等を考慮せずにトライアルとして DALYs を試算した。今後はより信頼性を向上させる為，データ数の蓄積ならびに使用形態等を考慮し，リスク評価を行うことが必要である。

表 5 DALYs の試算結果

利用用途	対象者	曝露形態	1回の作業あたりの摂取量	摂取頻度（日/年）	95%値 DALYs (DALYs/人・年）	
					ID_{50}=10	ID_{50}=100
農業利用（水田:水稲栽培）	農業従事者	間接経口摂取	0.3 mL	27.2	3.68×10^{-5}	3.77×10^{-6}
農業利用（電照菊）			0.1 mL	20	9.31×10^{-6}	9.36×10^{-7}

5. まとめ

本調査の結果，以下の事項が明らかとなった。

1) ビーズ粉砕処理による前処理方法を検討した結果，SS が高濃度の流入下水ではビーズ粉砕による NoV 定量値が増加する効果が確認されたが，SS 低濃度試料では粉砕処理による NoV 定量値（検出限界向上）に効果が確認できなかった。
2) Real-time PCR の反応量を通常の 20 μL 系から 100 μL 系に拡張することで，通常の Real-time PCR 反応量の 20μL 系で定量下限値となる試料に対して，反応量を 100μL 系にすることで定量下限値を小さくできることから，不検出と評価されたデータの信頼性の向上に繋がるものと考えられる。
3) 微生物添加前処理により NoV 検出限界向上の検討より以下の事項が明となった。
   - 微生物未添加処理では，NoVG1 のみ 24 時間 30℃の保存で検出限界が改善した。
   - 微生物添加処理では，NoVG1 は前処理の効果が確認されなかった。NoVG2 では *Pseudomonas* を前処理としてサンプルに添加し，30℃で 4 時間培養すれば，回収率が改善し，Real-time PCR における検出限界が改善する可能性が示せた。
   - 微生物添加処理における NoVG1 と NoVG2 の挙動の違いは，添加した *Psdudomonas* に存在する NoVBP の吸着特性が異なるためだと考えられた。
4) 環境水・下水中のウイルス，主にノロウイルスを対象にその存在実態を把握した結果，以下の事項が明となった。
   - 再生水として塩素処理のみを行っている施設 A では，大腸菌，大腸菌群は比較的不活化されていたが，遺伝子検出による NoV は，NoVG1，G2 ともに遺伝子はほとんど不活化されていない状態であった。
   - 一方，再生水処理が高度化されている施設 B（生物処理→オゾン処理→塩素処理）では，施設 A と異なり，NoV の不活化が NoVG1，G2 ともに 3Log 以上であった。
   - 環境水の調査結果より，特に利根が水系の桃ノ木川，荒砥川，粕川は，県内の感染性胃腸炎の定点報告数と合致し，報告者数が増加した 12 月に NoV の定量値も増加した。一方で，多摩川を除く他の河川では定点報告者数と合致したような結果は確認されなかった。

- また多摩川の調査結果より，NoVG2 に関しては上流～下流に従い NoV の濃度が増加する傾向があり，下水処理水の混入による濃度増加が顕著に表れていた。一方，NoVG1 は下水流入の影響，季節変動による影響が確認されなかった。

5) リスク評価のトライアルとして本研究におけるパイロットプラントのデータを基に DALYs の試算を行った結果, 農業利用－電照菊栽培を想定した場合, 電照菊栽培の場合, ID_{50}=100 と仮定すれば, Australian guidelines for water recycling (AGWR)の許容リスク=10^{-6}（DALYS/人・年）を達成できた。ただし，注意事項として，本検討では原水（二次処理水）の季節変動や使用時期等を考慮せずにトライアルとして DALYs を試算した。

本研究は独立行政法人科学技術振興機構(JST)，CREST 戦略的創造研究推進事業「21 世紀型都市水循環系構築のための水再生技術の開発評価」の一環により実施されたものであり，土研リサイクル担当分をまとめたものである。

【参考文献】

1) 田中弘明，21世紀都市代謝系としての下水道への期待（2009）新都市，Vol.63，No.9，pp.16-22
2) 下水道におけるウイルス対策に関する調査委員会報告書（2010）
3) 片山和彦（2004）感染発症動向調査週報，国立感染症研究所，第11号
4) Kageyama T., Kojima M., Shinohara M., Uchida K., Fukushi S., Hoshino F.B., Takeda N., and Katayama K. (2003) Broadly Reactive and Highly Sensitive Assay for Norwalk-Like Viruses Based on Real-Time Quantitative Reverse Transcription-PCR, Journal of Clinical Microbiology, Vol.41,No.4, pp.1548-1557
5) 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，土木学会，第43巻，pp.255-261
6) 諏訪守，岡本誠一郎，桜井健介（2010）ノロウイルスの除去率に及ぼす下水処理法の影響因子，下水道協会誌，日本下水道協会，vol.47，No.571, pp.103-111
7) 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
8) 福田伸治，桑山勝，高尾信一，島津幸枝，宮崎佳都夫（2004）最確数法を用いたカキのノロウイルスの遺伝子の定量，広島県保健環境センター研究報告，No.12，pp.33-36
9) 石村貞夫，謝承秦，久保田基夫（2009）SPSSによる医学・歯学・薬学のための統計解析，東京図書，pp 8-69
10) 酒井麻衣子（2004）SPSS完全活用法データの入力と加工，東京図書，pp 54-78
11) Sano, D., Matsuo, T., Omura, T., 2004. Virus-binding proteins recovered from bacterial culture derived from activated sludge by affinity chromatography assay using a viral capsid peptide. Appl. Environ. Microbiol. 70, pp 3434-3442
12) 愛知県感染症情報（2010年〔平成22年〕週報），http://www.pref.aichi.jp/eiseiken/2f/survei/survei2010 html
13) 群馬県，2010年のデータ及び週報PDF，http://www.pref.gunma.jp/02/p07110060 html
14) Australian Guidelines for Water Recycling Stormwater Harvesting and Reuse (July 2009), National Water Quality Management Strategy Document, No 23, pp 57, 116
http://www.ephc.gov.au/sites/default/files/WQ_AGWR_GL__Stormwater_Harvesting_and_Reuse_Final_200907.pdf
15) 監訳委員会（2010），水再生利用学 –持続可能社会を支える水マネジメント，技報堂出版，pp 146
16) 社団法人日本下水道協会 (2008)，平成20年下水道白書 日本の下水道
17) 田中宏明 (2001), 水質学的安全性と信頼性を考慮した下水処理機能の計画に関する研究, 京都大学，pp 44
http://repository kulib kyoto-u.ac.jp/dspace/bitstream/2433/77898/1/D_Tanaka_Hiroaki.pdf
18) Yoshifumi Masago, Hiroyuki Katayama, Toru Watanabe, Eiji Haramoto, Atsushi Hashimoto, Tatsuo Omura, Tsuyoshi Hirata, and Shinichiro Ohgaki, 2006, Quantitative Risk Assessment of Noroviruses in Drinking Water Based on Qualitative Data in Japan, Environ. Sci. Technol., 40 (23), pp 7428–7433
19) Mara, D., Sleigh, A. (2010), Estimation of norovirus and Ascaris infection risks to urban farmers in developing countries using wastewater for crop irrigation, Journal of Water and Health, pp.572-576
20) Kemmeren, J.M., Mangen, M.J.J., van Duynhoven, Y.T.H.P., Havelaar, A.H. (2006), Priority setting of foodborne pathogens, RIVM report 2006, p.68

循環型社会ビジョン実現に向けた技術システムの評価モデル構築と資源効率・環境効率の予測評価　～　下水汚泥の循環技術システム ～

研究予算：循環型社会形成推進科学研究費補助金
研究期間：平 20～平 22
担当チーム：材料資源研究グループ（リサイクル）
研究担当者：岡本誠一郎、堀尾重人

1. はじめに

これまでに 21 世紀環境立国戦略、循環基本計画見直し等、循環型社会づくりの方向性が提示され、その社会ビジョンが描出されたが、具体的なシステム設計やその意義の明確化は今後の作業であり、ビジョン実現のための技術的なシステム設計と効果の予測が必要となっている。このため、本研究を包含するプロジェクトにおいては、主要な循環資源として、廃棄物系バイオマス(木質系バイオマス、家畜糞尿、下水汚泥、食品廃棄物)、プラスチック系、土石系、金属系の循環資源を対象として、モノの特性に応じた空間スケール(循環圏)の中で実現可能な循環技術システムを設計し、その評価モデルを構築し、さらにその実現効果を予測評価することにより、近未来ビジョンへの転換の意義を定量的に明らかにすることを目的としている。ここでは、本研究プロジェクトのうち、下水汚泥の循環技術システムに関する研究（平成 20 年度～22 年度成果）を取りまとめた。

2. 研究方法

主要な循環資源として取り上げた上記の物質について、まず近未来(2030 年を想定)の循環資源の発生と循環利用に影響する要因を抽出整理し、フィッシュボーン図により構造化し、これに基づき近未来の循環資源ビジョンを物質毎に提示した。

次に、各ビジョンについて、二つのシナリオ（社会シナリオとして、技術重視／ライフスタイル重視、対策シナリオとして、エネルギー回収重視／マテリアルリサイクル重視）を設定した。循環資源の発生量の予測を行うための基礎データを文献およびヒアリング等により収集するとともに、構成する技術プロセスに関する物質／エネルギーフロー、コストに関するデータを集積した。これらのデータを用いて、シナリオ毎に、循環資源の発生量、温室効果ガス排出量を推定し、コストも含めて評価した。

3. 下水汚泥循環資源システムのビジョン

(1)下水汚泥の発生と利用への影響要因

国内の下水汚泥発生量は、下水道の普及拡大に伴い次第に増加しており、その量は乾燥重量ベースで 221 万トン／年（2008 年度）となっている。これまで、埋立処分地の逼迫に対応するため、下水汚泥の減量化や有効利用の取り組みが進められているが、近年は燃料化等のエネルギー利用技術の導入も進められている。

近未来の下水汚泥循環資源の発生と利用に影響する要因について、有識者ヒアリング等をもとに、網羅的に抽出して構造化を行った。発生側の主な要因としては、排水処理の普及拡大および処理の高度化、汚泥排出量・処分量の抑制、処理施設の効率的な運用等が抽

出され、需要側の要因としては、他のバイオマス資源との連携、各種資源の市場動向、資源としての特性、CO2 排出削減等が抽出された（図 1）。

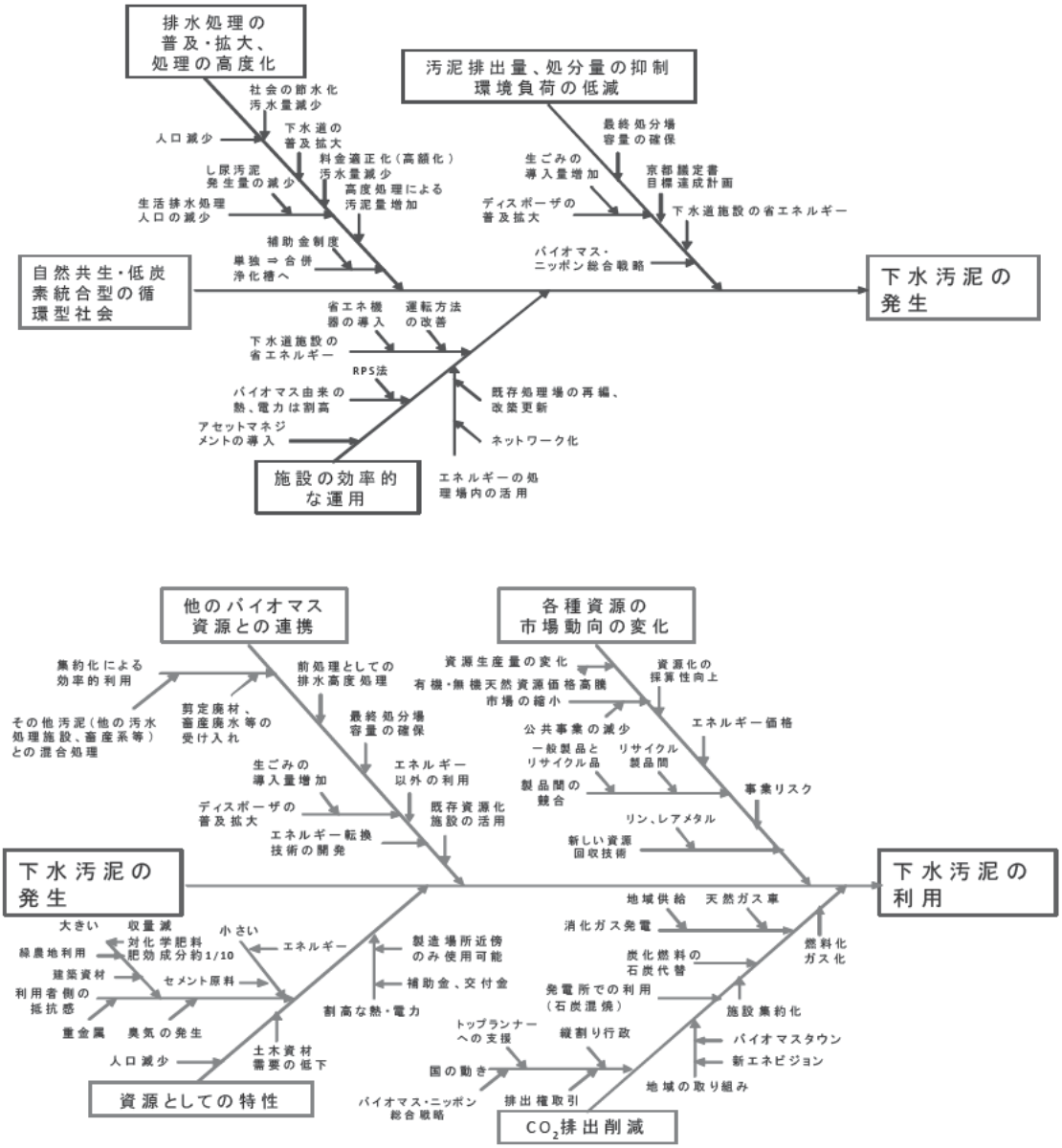


図 1　下水汚泥に関する特性要因図（フィッシュボーン図）

(2) 下水汚泥等発生量の推計と考察（全国）

下水汚泥等発生量の推定は、下水道、農業集落排水、コミニティプラント、合併処理浄化槽による生活排水対策が概ね終了する年次別に、既存の統計資料等 [1),2),3),4),5),6)]をもとに、①2020 年概成シナリオ、②2030 年概成シナリオ、の 2 ケースについて推計を行った。汚泥発生量の推計は、次頁に示す仮定を適用して、各汚水処理施設の発生汚泥量を算定している。算定基準年次(2007 年)から概成年次(2020 年または 2030 年)までの汚水処理施設の整

備は単純に一定ペースで行われると仮定しており、インフラ投資動向等の考慮は行っていない。

全国ベースの 2020 年及び 2030 年概成シナリオによる発生汚泥量の算定結果を図 2 に示す。

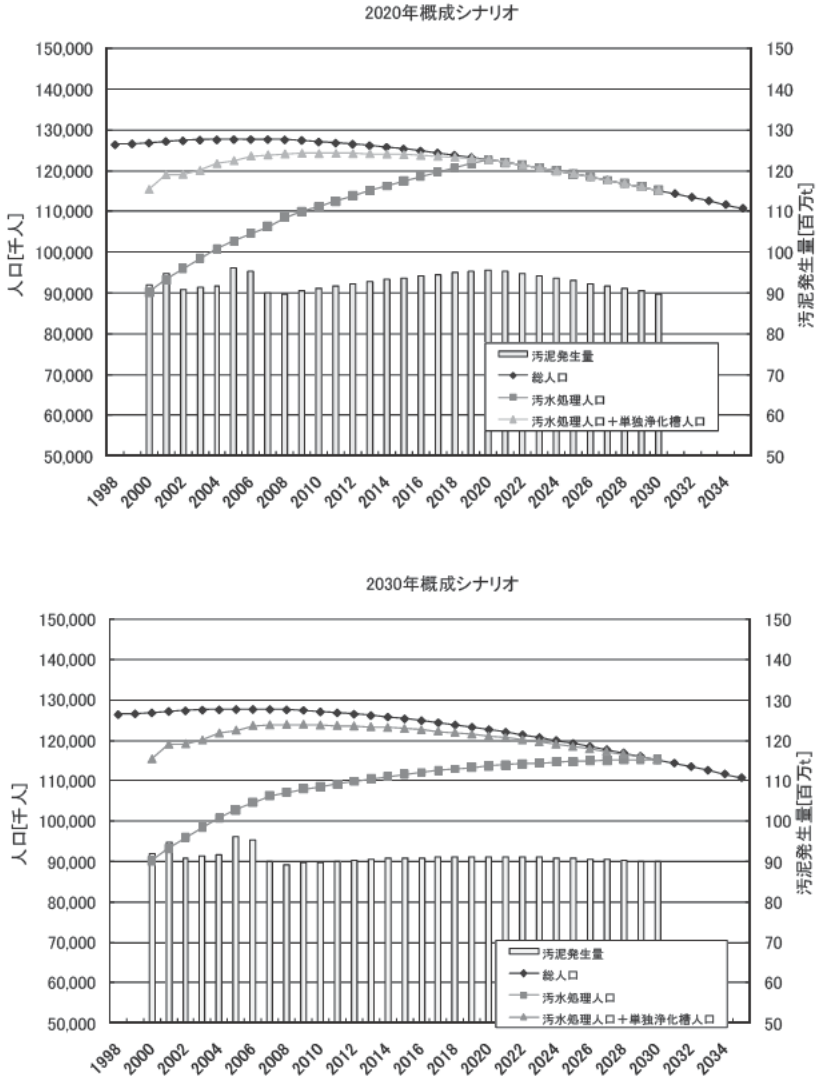


図 2　下水汚泥等の発生量予測（上図：2020 年施設概成、下図：2030 年施設概成）

（上図のデータは、2007 年まで（単独浄化槽のみ 2006 年まで）は実績値である）

2020（2030）年概成シナリオにおける汚泥発生量推計上の仮定

①普及率
○汚水処理人口の普及率は 2020(2030)年に 100%となると仮定。
○2007 年から 2020(2030)年まで汚水処理人口普及率が直線近似となるように、2008～2019(2029)年の普及率を仮定。
②汚水処理人口
○①で仮定した普及率から汚水処理人口を算出。
○下水道、集排、コミプラ、浄化槽の各処理人口は、2007 年の比率を固定して汚水処理人口を按分。
○合併処理浄化槽と単独し尿浄化槽
2020(2030)年には単独槽が 0 になると仮定。2007 年の単独槽と合併槽の比率から、2020(2030)年の比率まで、直線近似となるように 2008～2019(2029)年の比率を仮定。上記で按分した浄化槽処理人口を、各年の単独・浄化槽比率で按分。
③下水処理水量
○2007 年の下水処理水量原単位を算出し、この原単位と各年の下水道処理人口から下水道処理水量を算出。
④下水汚泥発生量
○2007 年の下水汚泥発生量原単位を算出し、この原単位と各年の下水道処理人口から下水汚泥発生量を算出。
⑤浄化槽汚泥発生量
○2007 年の合併槽及び単独槽の汚泥発生量原単位をそれぞれ算出し、この原単位と各年の合併槽及び単独槽処理人口から汚泥発生量を算出。

わが国はすでに本格的な人口減少社会に突入しており、地域の条件に応じて下水道、浄化槽等の整備が進んでも、ある時点では処理水量や発生汚泥量は頭打ちとなり、以後は次第に減少傾向に転ずることが予想される。2020 年概成と 2030 年概成の各シナリオでは、整備スピードの違いから、概成までの期間に処理人口に差が生じる。例えば 2020 年時点には汚水処理人口に約 900 万人の開きが発生し、最も乖離が大きくなる。推定した発生汚泥量も、この汚水処理人口の違いに対応して、発生ピーク年次とピーク発生量にそれぞれ違いが生じる結果となった。2020 年概成シナリオでは、整備が概成する 2020 年度に汚泥発生量のピークを向かえ、その後は汚水処理人口（＝総人口）の減少に対応して汚泥発生量も減少傾向に転じる。一方、2030 年概成シナリオでは、同じく 2020 年ころに緩やかに汚泥発生量がピークとなるが、その量は現状(2007 年)とそれほど大きな違いはない。下水道事業主体である地方公共団体の厳しい財政状況等を考慮すれば、今後の整備動向は 2030 年概成に近い傾向を示すと考えられる。

(3) 下水汚泥等発生量の推計と考察（地域別）

全国ベースの推計結果の違いからも理解できるように、汚泥発生量の動向は、汚水処理施設の整備状況と処理区域内人口の動向により大きく左右される。この状況を地域別に把握するために、都道府県別の人口予測結果等をもとに県別の汚泥発生量を予測した。人口動態、汚水処理施設整備水準は概ね次の 4 つのパターンに分類されるが、このうち①と③の典型例である北海道と徳島県の汚泥量推計結果（いずれも 2030 年概成シナリオの試算結果）を図 3、図 4 に示す。

① 人口減少、高普及率 …… 北海道 （汚水処理人口普及率 93.1%(2008)）
② 人口横ばい、高普及率
③ 人口減少、低普及率 …… 徳島県 （ 同 45.8%）
④ 人口横ばい、普及途上

これらの結果から、上記のパターンの違いによって、基準年(2007 年)以降の汚泥発生量の推移は大きく異なることが明らかである。既に汚水処理施設が高普及の場合であれば、汚泥発生量は必然的に地域の人口動態に影響される傾向となる。一方、低普及あるいは整備途上の場合は、整備が概成するまでの間は汚泥発生量が急速に増加するが、整備概成後は人口動態に支配されることとなる。このため、人口減少地域の場合は、より慎重な施設整備や、他分野バイオマスの受入れなどの施設の有効利用方策が検討されるべきである。

また、地方部など人口減少が顕著で、比較的下水道の普及が早かった都市では、下水汚泥処理施設に余裕が生ずる可能性が高いことから、生ゴミ等の他のバイオマスを受入れるポテンシャルが高いと考えられる。

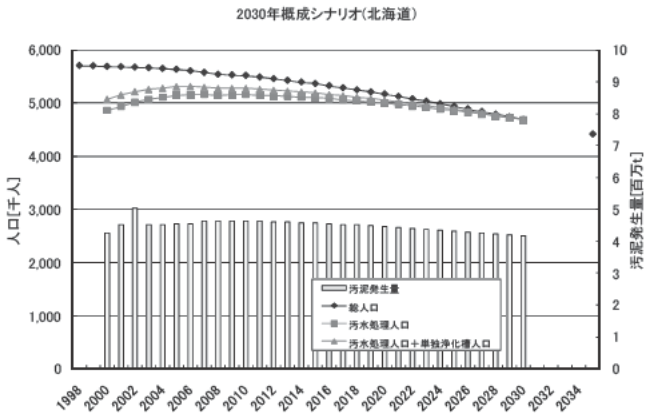


図 3 人口減少・高普及ケース(北海道)

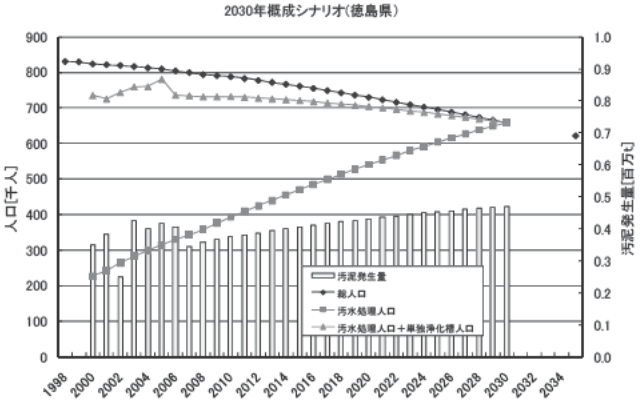


図 4 人口横ばい・減少・低普及ケース(徳島県)

（上図のデータは、各シナリオとも 2007 年まで（単独浄化槽のみ 2006 年まで）は実測値である）

4. 下水汚泥循環ビジョンを支える技術システム

3(1)における分析結果をもとに、今後の循環ビジョンを支える主要な技術システムとして、現在実施されているセメント化等の建設資材利用、コンポスト等の緑農地利用、嫌気性消化（メタン発酵）によるバイオガス利用等に加えて、①下水汚泥と他バイオマスの混合メタン発酵、②下水汚泥の燃料化（炭化、乾燥）、③下水汚泥と草木廃材の混合焼却、の 3 技術を選定した。

2030 年時点における下水汚泥の循環ビジョンシナリオとして、以下の二つのシナリオを設定した。

シナリオ A（技術重視・エネルギー回収重視）

・家庭食品廃棄物の一部をディスポーザー普及により下水道に受け入れ
・現行の焼却処理やセメント原料化の一部が燃料化に移行すると想定（表 2,3 参照）

シナリオ B（ライフスタイル重視・マテリアルリサイクル重視）

・家庭食品廃棄物の一部を車両で下水処理場に搬入・混合処理

・現行の焼却処理やセメント原料化の一部が燃料化に移行すると想定（表 2,3 参照）

その他、シナリオ A,B 共通として、以下の条件を設定した。

・公共施設由来の木質廃棄物を汚泥焼却の補助燃料として使用する

・生活排水対策は 2030 年度に概ね完成する（3(2)の 2030 年概成シナリオ）

これらの仮定は、既に全国の下水道普及率が 7 割を超え、汚泥の有効利用率も 7 割を超えるなかで、今後の地方公共団体の財政状況などを勘案すれば、基本的には既存の下水処理施設を活用しながら施設の機能改善や資源利用施設の追加投資が行われ、現況の下水汚泥利用方式や処理プロセスが大幅に変化する可能性は少ないという前提で設定しており、具体的な 2030 年における下水汚泥の利用と、これに対応した処理プロセスは、表 2~3 の通り設定した。なお、表 3 中の現況の各処理方式割合については、下水道統計 [7]に記載されている汚泥処理量及び処理方法データを元に、代表的な処理方式の組み合わせを整理し、汚泥処理方法と利用・処分方法を関連づけ、全国ベースでの割合を整理することで算出した。

表 1 シナリオ毎の下水汚泥の発生及び他バイオマス受入のフロー

シナリオ	プロセス		バイオマス		発生量	備考
	種類	存在地域	種類	発生地域	(千t/年-wet)	
A	汚泥燃料化、バイオガス化に重点	都市	下水汚泥	都市	73,750	
			家庭食廃	都市	5,473	ディスポーザ経由
		農村	下水汚泥	農村	6,947	
		山間	下水汚泥	山間	9,868	
B	緑農地利用、リン資源回収に重点 建設資材利用も維持	都市	下水汚泥	都市	74,308	
			家庭食廃	都市	10,248	車両回収
		農村	下水汚泥	農村	7,596	
		山間	下水汚泥	山間	11,557	

表 2 2030 年における下水汚泥利用状況

用途	現況(%)	シナリオA (広域・エネルギー優先)	シナリオB (地域・マテリアル優先)
緑農地利用	14.5	微減 10%	増加(農村部)20%
建設資材(セメント化)	38.5	減少 25%	微減 30%
建設資材(セメント化以外)	22.7	現況維持 25%	現況維持 25%
燃料化	0.7	大幅増 35%	増加 15%
埋立	23.2	若干残存 5%	残存(リン回収)10%
その他	0.5	ー	ー

表 3 2030 年における処理方式

処理方式	現況 (%)	有効利用・処分方法との対応関係	シナリオA (%)	シナリオB (%)
焼却	54.1	埋立、建材化(セメント、その他)	35	40
炭化	0.3	全量燃料化	30	10
乾燥	5.6	燃料化、一部緑農地	8	10
脱水	40	セメント化、緑農地	27	40
消化	37	(他の処理と並立)	50	40

また、2030 年時点における下水汚泥発生量は、他のバイオマスシナリオとの整合を考慮し、NIES モデルによる試算値を用いて GHG の排出量算定を行っている。なお、NIES モデル試算値は表 1 に示すとおりであり、これは図 2 に示した 2030 年概成シナリオの予測値とほぼ同様の発生量となっている。

さらに、シナリオ A（広域処理・利活用、エネルギー利用優先)、シナリオ B（地域処理・利活用、マテリアル利用優先）に対応した 2030 年時点での有効利用状況を設定し、これと下水汚泥処理方法を現況と同様に関連付けた。その上で、汚泥処理プロセスで排出される温室効果ガス（GHG）等を算定し、GHG 削減効果を評価した。

5. ケーススタディによる定量的分析結果

(1)温室効果ガス排出量

以上で設定したシナリオ A,B に基づき、下水汚泥処理プロセスで排出される温室効果ガス（GHG）及び汚泥有効利用により得られる再生可能エネルギー量を算定し、循環型システムの構築による GHG 削減効果の算定とコスト分析を行った。その算定フローは図 5 に示す通りであり、具体的な算定方法は以下の通りである。

① 汚泥処理プロセスエネルギー収支モデルの整備

処理施設の容量計算の際に用いられる計算式をベースにした汚泥処理プロセスエネルギー収支モデルを別途構築し、本モデルを活用して試算を行った。各汚泥処理プロセスには、対応する CO_2 排出原単位式 [8]が組み込まれており、処理水量及び濃縮汚泥量を入力することで、各処理プロセスにおける汚泥量・濃度が決定され、CO_2 排出量の算出が可能である。但し、乾燥工程については、モデルに組み込まれていないため、別途、下水道統計に記載されている乾燥機の燃料消費量を元に、CO_2 排出原単位を算定した。

② 各処理方式における CO_2 排出量の算定

国内で採用されている代表的な処理方式（例：濃縮→消化→脱水→焼却）を設定し、下水道統計から算出した 1 プラント当たり平均処理水量、及び表 3.4.1 に示した汚泥発生量より算出した 1 プラント当たり平均濃縮汚泥量をモデルにインプットすることで、処理過程での燃料・電力消費量を算出し、最終的に CO_2 排出原単位、プラント数、平均稼動日数を乗じることで、その処理方式における CO_2 排出量を推定した。その処理方式を採用してい

るプラント数については、表 3 の値を利用して算出した。以上の作業を、代表的な処理方式全てに適用した。

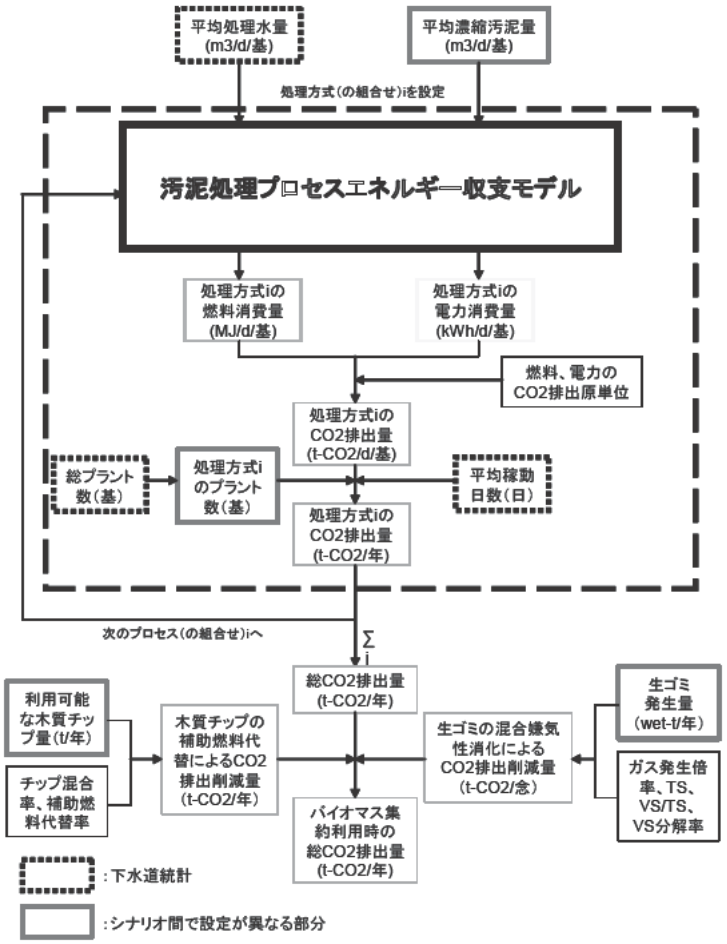
③ 全国ベースでの汚泥処理過程における CO_2 排出量の算定

②で得られた CO_2 排出量の総和をとることで、全国ベースでの汚泥処理過程における CO_2 排出量を推定した。

④ バイオマス集約利用時の汚泥処理過程における CO_2 排出量の算定

表 1 に示した生ゴミ発生量、生ゴミからのガス発生倍率(981.0L/kg-分解 VS)、TS(15%)、VS/TS(0.9)、VS 分解率(80%)を元に、生ゴミの嫌気性消化による消化ガス発生量を算出した。また、混焼に利用可能な木質チップ量、チップ混合率(脱水汚泥 wet-t 当たり 6.65%[8])、補助燃料削減率(70%[8])より、木質チップ混焼時の補助燃料削減量を算出した。混焼に利用可能な木質チップ量については、公共緑地で発生した剪定枝（全国の発生量の推定は、直轄事業としての管理量[9] の 3 倍相当と仮定）のうち、1/3 がエネルギー利用され、更に 1/2 が下水汚泥焼却炉に投入されるものとした。最終的に、③の推定結果と併せることで、バイオマス集約利用時の汚泥処理過程における CO_2 排出量を推定した。

以上より、現状、2030 年において対策なしのケース（BAU シナリオ）、及びシナリオ A,B の CO2 排出量を比較すると、図 6 の通りになる。



仮定

① バウンダリの設定

汚泥の有効利用（セメント、堆肥、燃料利用等）時の GHG 排出については、評価が複雑となり、また、処理場外での排出となるため、考慮しないものとし、評価対象は、汚泥濃縮、消化、脱水、乾燥、焼却、炭化とした。また、同様の理由から、炭化物から得られる熱量についても考慮しないものとした。

表 3.4.1 より、対策無しの場合と比較して、シナリオ A,B ではセメント化・埋立が減少し、燃料化が増加することから、上記のバウンダリ設定方法は、シナリオ A,B の GHG 削減量を少なめに評価する方向となる。

② 消化ガス利用

発生した消化ガスは、加温用の燃料(A 重油)代替とした上で、余剰分についても焼却プロセスの熱源等として有効利用するものとした。

図 5 各シナリオにおける CO2 排出量算定フロー

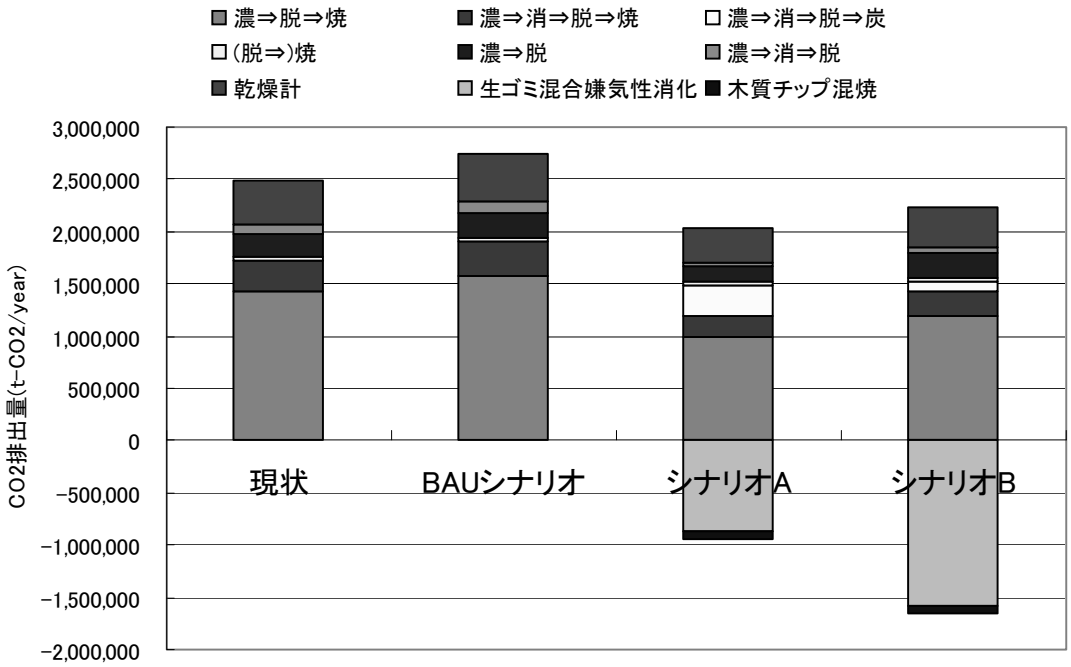


図 6 各シナリオにおける CO2 排出量の試算結果

（「乾燥計」は、乾燥プロセスを採用している処理場を対象とし、
乾燥以外も含めた汚泥処理プロセス全体の CO2 排出量を記載している）

この結果、表 4 に示す通り、現状と比較して、シナリオ A では年間約 139 万トン-CO2、シナリオ B では約 190 万トン-CO2 が削減され、2030 年において対策なしのケース（汚泥利用状況や処理方式の構成比は現況どおり。下水汚泥量のみ 2030 年予測値に変化した場合）と比較して、シナリオ A では年間約 165 万トン-CO_2、シナリオ B では約 216 万トン-CO_2 が削減される結果となった（全国の合計値）。GHG 抑制に特に大きな影響を及ぼした要因は、食品廃棄物の受け入れによるバイオガス生成とその利用によるものだった。

表 4 現状及び BAU シナリオと比較したシナリオ A,B の CO2 削減量（単位：t-CO2/年）

	現状との比較	BAUシナリオとの比較
シナリオA	1,386,995	1,649,548
シナリオB	1,900,761	2,163,314

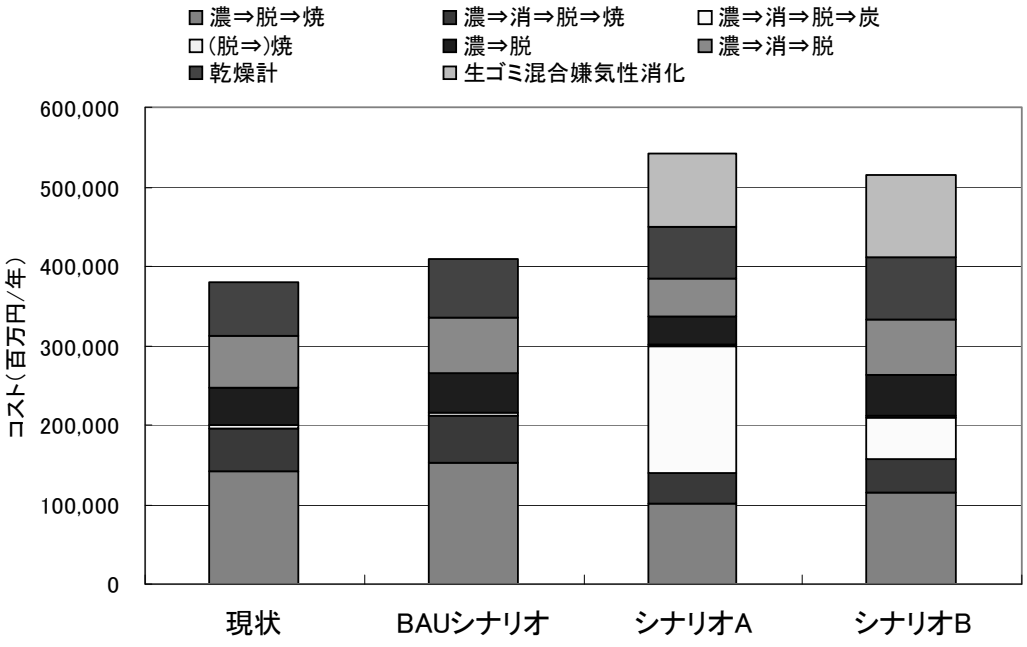
(2)コスト分析

(1)と同様に、現状、BAU シナリオ、シナリオ A,B について、処理方式別に、費用関数[10),11)]を元にコスト分析を行った。コストには、建設費、運転経費、補修費、人件費が含まれている。また、シナリオ A,B については、消化施設を有する全ての処理場で生ゴミの受

入れを行うと仮定し、それに伴い発生する施設建設・運転に要するコストについても考慮した。結果を図 7 に示す。表 3 に示した処理方式の割合の変化に対応する形で、シナリオによってコストが変化していることが分かる。また、表 5 より、生ゴミの受け入れに伴う汚泥量増加や新規施設の建設の影響から、シナリオ A,B では、現状や BAU シナリオと比較して、コストが 1,000～1,600 億円程度大きくなる結果となった。これは、BAU シナリオでの年間の下水汚泥処理コスト（建設費、運転経費、補修費、人件費が含まれる）のそれぞれ約 32%（シナリオ A)、約 26%（シナリオ B）に該当する。但しこれらのコストは現状のコスト分析により推計しているものであり、今後の普及展開によりコストは大幅に変化（基本的には低減）すると考えられるので、注意を要する。

図 7 から分かるように、コスト増加要因のほとんどは食品廃棄物の受け入れに起因するものであるが、ここでは食品廃棄物の収集・処理に対するコスト縮減効果は見込んでおらず、コスト増加要因のみをカウントしているので注意が必要である。

現在、下水汚泥消化施設は比較的低負荷で運転されている施設が多いこと、さらに 3(3)で検討したように、今後は下水汚泥処理施設に他のバイオマスを受け入れるポテンシャルが高まることが想定される。このため、今回は処理量の増加分は全て施設の新設で対応すると仮定して試算を行ったが、既存施設の有効活用によってさらに効率的な処理・利用システムの構築が可能と考えられる。



（「乾燥計」は、乾燥プロセスを採用している処理場を対象とし、乾燥以外も含めた汚泥処理プロセス全体のコストを記載している）
（本試算結果には、食品廃棄物の収集・処理に対するコスト縮減効果は見込んでいない）

図 7 各シナリオにおけるコストの試算結果

表 5 現状及び BAU シナリオと比較したシナリオ A,B のコスト増加量（単位：百万円/年）

	現状との比較	BAUシナリオとの比較
シナリオA	160,744	132,023
シナリオB	134,382	105,662

（本試算結果には、食品廃棄物の収集・処理に対するコスト縮減効果は見込んでいない）

6. まとめ（下水汚泥）

近未来の循環ビジョンを支える技術システムとして、現在実施されているセメント化等の建設資材利用、コンポスト等の緑農地利用、嫌気性消化（メタン発酵）によるバイオガス利用等に加えて、下水道に係る政策動向や技術開発動向を踏まえ、①下水汚泥と他バイオマスの混合メタン発酵、②下水汚泥の燃料化（炭化、乾燥）、③下水汚泥と草木廃材の混合焼却、の３技術を選定した。

下水汚泥等（浄化槽等汚泥を含む）の将来発生量について、将来人口予測と過去の下水汚泥、浄化槽等汚泥の発生量トレンドをもとに推計を行った。汚水処理施設整備の進展が異なる２つのシナリオ(2020 年および 2030 年整備概成)について推計した結果、早期整備の場合は汚泥のピーク発生量はより多くなる傾向となり、２つのシナリオでは最大で処理人口約 900 万人相当の汚泥量の差が生ずることが明らかになった。また地域別に見ると、地域人口の動態、地域の汚水処理施設整備レベルの差異によって、これらの傾向はさらに顕著となることから、今後、人口減少地域等では他のバイオマス受け入れ・共同処理による利活用のポテンシャルが高いと予想された。

近未来の循環ビジョンシナリオとして、選定した３技術について、技術①については、家庭食品廃棄物の一部がディスポーザー普及により下水道に受け入れ（シナリオ A)、家庭食廃の一部を車両で下水処理場に搬入・混合処理（シナリオ B）の二つのシナリオを設定した。②については、現行の焼却処理やセメント原料化の一部が燃料化に移行すると想定した。③では、公共施設由来の木質廃棄物を補助燃料として使用する（シナリオ A,B）こととした。設定したシナリオ A,B に基づき、下水汚泥処理プロセスで排出される温室効果ガス（GHG）及び汚泥有効利用により得られる再生可能エネルギー量を算定し、循環型システムの構築による GHG 削減効果の算定とコスト分析を行った。この結果、2030 年において対策なしのケース（汚泥利用状況や処理方式の構成比は現況どおり。下水汚泥量のみ 2030 年人口予測値に対応して変化した場合)と比較して、シナリオ A では年間約 165 万トン-CO_2、シナリオ B では約 216 万トン-CO_2 が削減される結果となった（全国の合計値)。GHG 抑制に特に大きな影響を及ぼした要因は、食品廃棄物の受け入れによるバイオガス生成とその利用によるものだった。また、この際のコスト変動は、下水道施設側の新設・改築によるコスト増加だけをカウントすると、対策なしのケースと比較してシナリオ A では年間の汚泥処理コストの約 32%増、シナリオ B では約 26%増となった（但し、今後の普及展開に伴い、試算上の仮定よりコスト低減の可能性があるので注意を要する)。増額要因のほとんどが食品廃棄物の受け入れによるものであった。

Acknowledgement

本研究は、環境省循環型社会形成推進科学研究費補助金による研究プロジェクト「循環型社会ビジョン実現に向けた技術システムの評価モデル構築と資源効率・環境効率の予測評価」（K2021,K2155,K22069）の一環として行われたものである。

この研究プロジェクトは、(独)国立環境研究所循環型社会・廃棄物研究センター 大迫政浩センター長（H23.10.1 現在）を研究代表として、(独)国立環境研究所、(独)土木研究所、(独)産業技術総合研究所、(独)農業・食品産業技術総合研究機構畜産草地研究所、九州大学大学院、(財)廃棄物研究財団、(財)日本環境衛生センター、(株)エックス都市研究所の共同で、平成 20 年度～平成 22 年度に実施された。(独)土木研究所では、材料資源研究グループリサイクルチームの岡本誠一郎、堀尾重人（H22）、山下洋正（現・国土交通省）（H20~H21）が研究を担当した。

参考文献

1) 国土交通省都市・地域整備局下水道部（建設省都市局下水道部）、下水道事業関係予算概要（平成 12 年度～平成 21 年度）
2) 下水道統計行政編（平成 10 年度～19 年度版）、社団法人日本下水道協会編
3) 総務省統計局、平成 17 年国勢調査
http://www.stat.go.jp/data/kokusei/2005/index.htm
4) 国立社会保障・人口問題研究所：日本の都道府県別将来推計人口（平成 19 年 5 月推計）
http://www.ipss.go.jp/pp-fuken/j/fuken2007/t-page.asp
5) 農林水産省、国土交通省、環境省報道発表資料、汚水処理人口普及状況について（平成 12 年度～平成 20 年度）
http://www.env.go.jp/recycle/jokaso/data/population/population.html
6) 環境省：環境統計集（平成 11 年度～平成 19 年度）
http://www.env.go.jp/doc/toukei/contents/
7) (社)日本下水道協会、平成 20 年度版下水道統計
8) 惣田訓、池道彦：処理規模を考慮した様々な下水汚泥処理システムのエネルギー消費量の比較評価、再生と利用、Vol.34、No.129、pp.6-15、2010
9) 独立行政法人土木研究所、平成 20 年度下水道関係調査研究年次報告書集、土木研究所資料第 4157 号、2009
10) 国土交通省都市・地域整備局下水道部、(社)日本下水道協会、バイオソリッド利活用基本計画（下水汚泥処理総合計画）策定マニュアル、平成 16 年 3 月
11) (財)下水道新技術推進機構、下水処理場へのバイオマス（生ゴミ等）受け入れの手引き、2010 年 3 月

Ⅱ．水質チームによる研究

下水道における生理活性物質の実態把握と制御に関する調査

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

【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。本調査は、下水処理場におけるエストロゲン類の効果的な除去方法の検討や医薬品類の実態・挙動把握と除去手法、さらに、下水処理レベルが魚類雌性化に及ぼす影響について調査を行ったものである。

キーワード：医薬品、挙動把握、実態把握、魚類雌性化

１．　はじめに

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（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が、医薬品類の中には、生物処理による除去が困難であり、下水処理水中に残存する物質も少なくない。

本調査は、下水処理場におけるエストロゲン類の効果的な除去方法の検討や医薬品類の実態・挙動把握と除去手法、さらに、下水処理レベルが魚類雌性化に及ぼす影響について調査を行った。

２．　エストロゲン類の除去方法の開発

２．１　目的

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

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

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

水質チームの既往の研究結果[7)~10)]では、下水処理工程の後段部分における酸化還元状態の管理方法が、エストロゲン類の除去効率に大きな影響を与えることが示されていることから、下水処理工程の後段に好気条件の生物膜法を追加することで効率的なエストロゲン類の除去を試みた。

2.2 実験方法

2.2.1 連続実験

連続実験の概要を図-2.1 に示す。連続実験は通年に渡り実施し、茨城県霞ヶ浦流域下水道湖北処理場の実流入下水を、実験施設室内に設置した標準活性汚泥法実験プラントに導入し、二次処理水を得た。二次処理水の一部は、微生物保持担体が添加された反応槽に連続的に導入し、下部から曝気を行い、担体表面に自然発生した生物膜により好気処理を行った。さらに好気処理水を沈殿池に導入し、余剰生物膜の固液分離を行い、高度処理水を得た。

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

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

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

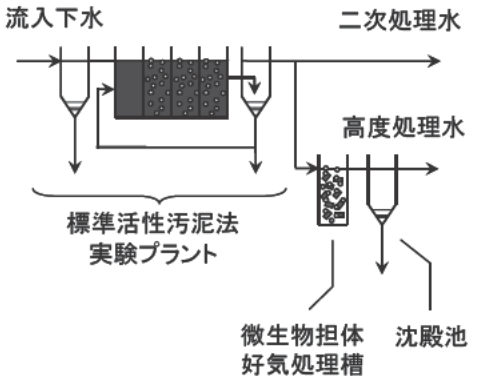


図-2.1　連続実験の概要

2.2.2 水質分析

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

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

E2, E1, EE2 は、固相抽出－液体クロマトグラフ質量分析法[11]により測定した。測定条件、検出下限値、標準物質の添加回収率などの詳細は文献[12]のとおりである。

2.3 実験結果

図-2.2、-2.3、-2.4、-2.5 に連続実験期間中に測定された、流入下水、二次処理水、高度処理水の SS、DOC、NH_4^+-N、NO_3^--N の各濃度の経日変化を示す。なお、実験期間中の標準活性汚泥法プラントのエアレーションタンクの MLSS 濃度は 1500～2000mg/L の間を推移した。標準活性汚泥法実験プラントでは、硝化は高水温期（8 月～10 月中旬）のみ観察された。一方、微生物担体好気処理槽を通過した高度処理水では、年間を通じて NH_4^+-N はほとんど観測されず、ほぼ完全な硝化が進行していた。NO_2^--N 濃度は二次処理水で 1mgN/L を超える値が 1 回、0.5mg～1.0mgN/L の値が 5 回観測されたが、高度処理水では 0.5mg/L を超える値は観測されず、低い濃度に抑えられていた。図-2.6 に連続実験期間中に測定された、流入下水、二次処理水、高度処理水の D-PO_4^{3-}-P 濃度の経日変化を示す。硝化が進行した高水温期に 0.5mg/L を超える高い濃度が観測されることがあったが、その他の時期はおおむね 0.2mg/L 以下であり、安定した生物脱リンが達成されていた。

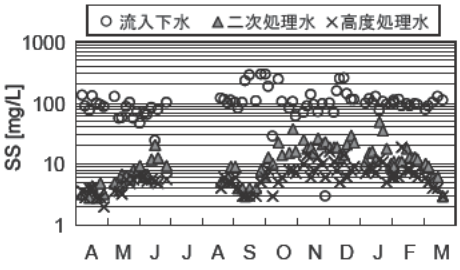


図-2.2　浮遊物質濃度の経日変化

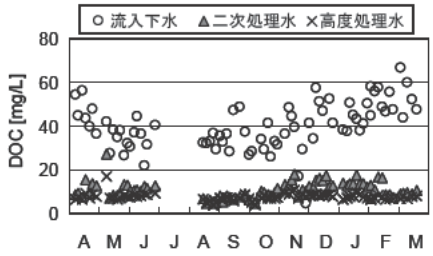


図-2.3　溶解性有機炭素濃度の経日変化

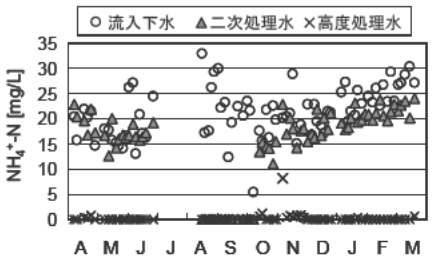


図-2.4 アンモニア性窒素濃度の経日変化

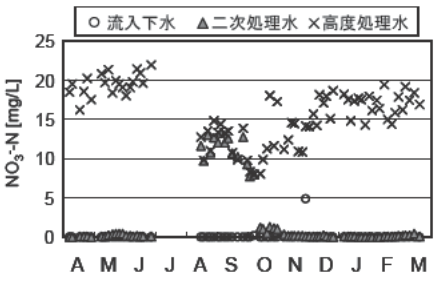


図-2.5　硝酸性窒素濃度の経日変化

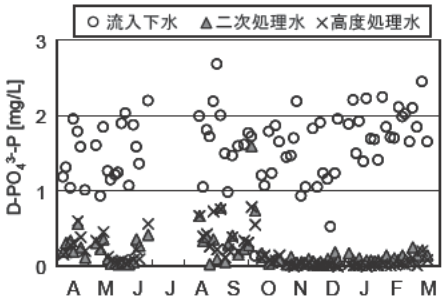


図-2.6　オルトリン酸態リン濃度の経日変化

図-2.7、-2.8 に連続実験期間中に測定された、流入下水、二次処理水、高度処理水の溶解性 17β-エストラジオール（D-E2）溶解性エストロン（D-E1）の各濃度の経日変化を示す。図中には、各試料分析時に検討した検出下限値（実線）、定量下限値（点線）を合わせて示した。検出下限値以下の測定結果が得られた場合には検出下限値を、検出下限値以上定量下限値以下の測定結果が得られた場合には測定結果を白抜きで示した。

図-2.9、-2.10 に D-E2、D-E1 の測定結果の累積頻度を示す。D-E2 は、流入下水では 15 回の測定中 13 回、定量下限値以上の測定結果（3.9～22.2ng/L）が得られたが、二次処理水、高度処理水では定量下限値以上の測定結果は得られず、高度処理導入による除去効率の改善効果を確認することはできなかった。

一方、D-E1 は、流入下水ではすべての試料中から定量下限値以上の濃度で測定結果（17.6～32.3ng/L）が得られ、二次処理水では 15 回の測定中 11 回、定量下限値以上の測定結果（中央値 4.4ng/L、最大値 14.1ng/L）が得られた。高度処理水では 15 回中 2 回定量下限値以上の測定結果が得られ、それぞれ 3.2ng/L、3.4ng/L であり、高度処理導入による除去効率の改善を確認できた。また、高度処理水の測定結果は、英国環境保護庁が提案している予測無影響濃度（PNEC）値 3-5ng/L と同程度以下であった。

溶解性 17α-エチニルエストラジオール（D-EE2）は、検出下限値は 0.6ng/L 程度の精度で分析を行ったが、流入下水、二次処理水、高度処理水のいずれの試料においても検出されなかった。

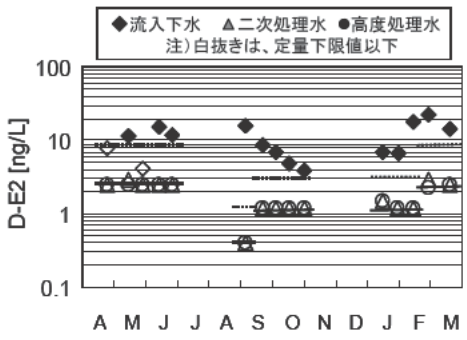


図-2.7　溶解性 17β-エストラジオール濃度の経日変化

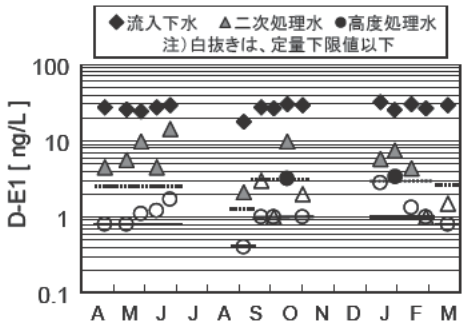


図-2.8　溶解性エストロン濃度の経日変化

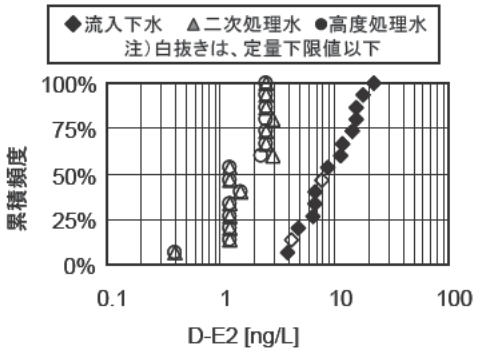


図-2.9　溶解性 17・-エストラジオール濃度の頻度分布

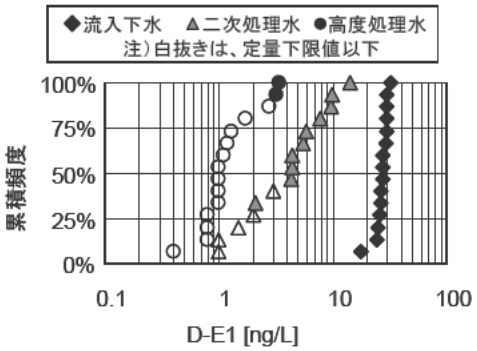


図-2.10　溶解性エストロン濃度の頻度分布

2.4　考察

図-2.11、-2.12 に D-E2、D-E1 の各処理工程における実態を示す。流入下水と一次処理水の濃度分布を比較すると大きな差はなく、最初沈殿池での変化はほとんど無いと考えられる。一次処理水と AT-1（エアレーションタンク第１槽（嫌気条件））流出水を比較すると、濃度が大きく上昇する場合が見られ、嫌気条件下で D-E2、D-E1 が増加する機構の存在が考えられる。AT-1 流出水と AT-4 流出水を比較すると濃度が大きく減少しており、好気条件下で水中から除去されていた。

D-E1 濃度については、DO 供給の行われていない最終沈殿池を通過すると D-E1 濃度がわずかに増加する傾向が見られた。さらに、曝気の行われている微生物担体好気処理槽を通過すると D-E1 濃度が顕著に小さくなった。図-2.13 には、二次処理水、高度処理水中の DO 濃度と D-E1 濃度の関係を整理した。

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

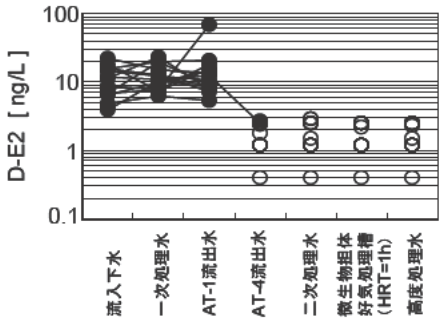


図-2.11　溶解性 17β-エストラジオール濃度の分布

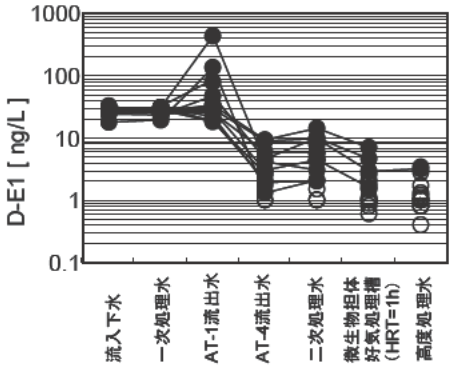


図-2.12　溶解性エストロン濃度の分布

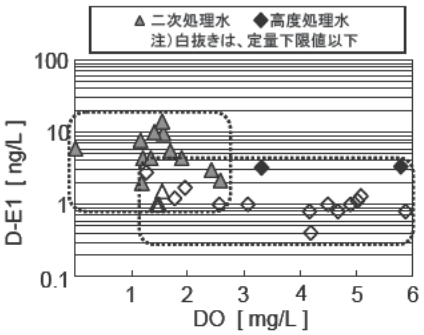


図-2.13　溶存酸素濃度と溶解性エストロン濃度の関係

2.5　まとめ

下水処理工程の後段に好気条件の生物膜法を追加することで効率的なエストロゲン類の除去を試みたところ、D-E1 を効率的に除去するためには、十分な DO 供給により、最終工程における DO 濃度の低下を防ぐように管理することが重要であることが分かった。

３．医薬品の存在実態・挙動把握

3.1　下水道における医薬品の存在実態

3.1.1　目的

本調査は、16 処理場において医薬品（92 物質）の下水処理場での実態把握調査を行い、関心が持たれているこれら医薬品に対する下水処理場での除去の可能性（除去特性）について調査を行ったものである。

3.1.2　調査方法

（１）　調査対象医薬品

人・動物用医薬品から解熱鎮痛剤、解熱鎮痛消炎剤、不整脈用剤、気管支拡張剤、鎮痛・消炎剤、抗てんかん剤、殺菌剤、抗生物質、高脂血症用剤、合成抗菌剤、寄生虫用剤、防虫剤、鎮暈剤等 92 物質（表-3.1）を調査対象医薬品とした。選定した医薬品は，薬事工業生産動態統計年報[13]で生産量が多く一般的に用いられていると考えられる医薬品に我が国でこれまで検出例のある物質を加えたものである。

（２）　分析方法

調査対象医薬品 92 物質の分析方法（一斉分析）は、小西ら[14]、小森ら[5]の方法に変更を加え以下に示す前処理方法、測定方法に従い分析し絶対検量線法により定量した。

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

（３）　調査処理場の概要

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

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

3.1.3　調査結果

16 処理場の流入水及び放流水の医薬品（92 物質）調査結果を集計し、最小値、25%値、中央値、75%値、最大値を求めた。流入水の結果を 75%値の高い順に並べ図-3.1 に示した。放流水の結果は流入水と同じ順に並べ図-3.2 に示した。

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

流入水及び放流水の中央値が検出下限値以上の 62 物質について下水処理による医薬品の除去率を求めた（表-3.2）。除去率が 100%の acetaminophen（解熱鎮痛消炎剤）、prednisolone（副腎ホルモン剤）、caffeine（強心剤）の 3 物質を含む 16 物質が除去率 80%以上、60%以上 80%未満は 15 物質、40%以上 60%未満は 6 物質、10%以上 40%未満は 8 物質であった。また、除去率が-10%から 10%で下水処理により殆ど除去されない物質は 4 物質あった。除去率が大きくマイナスとなり下水処理を受けることによって検出されるようになった医薬品が 12 物質あった。なかでも carbamazepine（抗てんかん剤）、ethenzamide（解熱鎮痛消炎剤）、oleandmycin（抗生物質）の 3 物質は、除去率が-100%を超えており流入水に比べ放流水では約 2 倍の値を示した。一般に流入水は夾雑物を多く含み分析を妨害することが知られているが、carbamazepine、ethenzamide、oleandmycin 等の除去率が大きくマイナスとなっている 12 物質については、夾雑物が流入水試料の定量に影響したと考えることもできる。また、生体内で抱合体を形成していたものが下水処理を受け脱抱合したことも考えられる。

表-3.1　調査対象医薬品（92 物質）

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

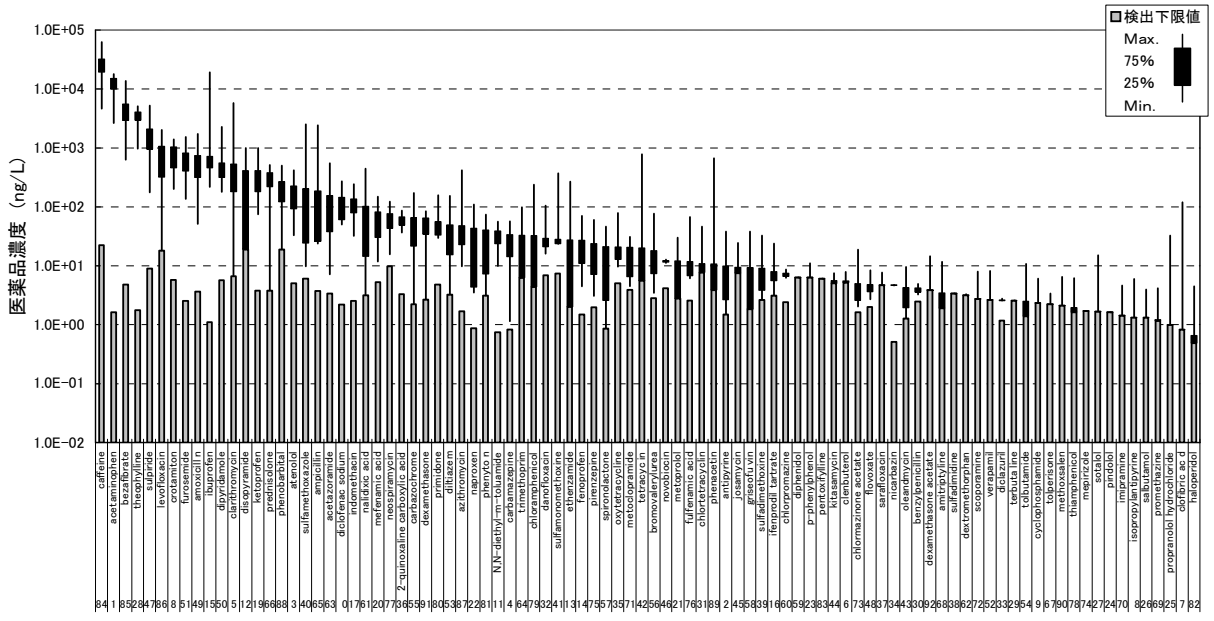


図-3.1　流入水における医薬品調査結果

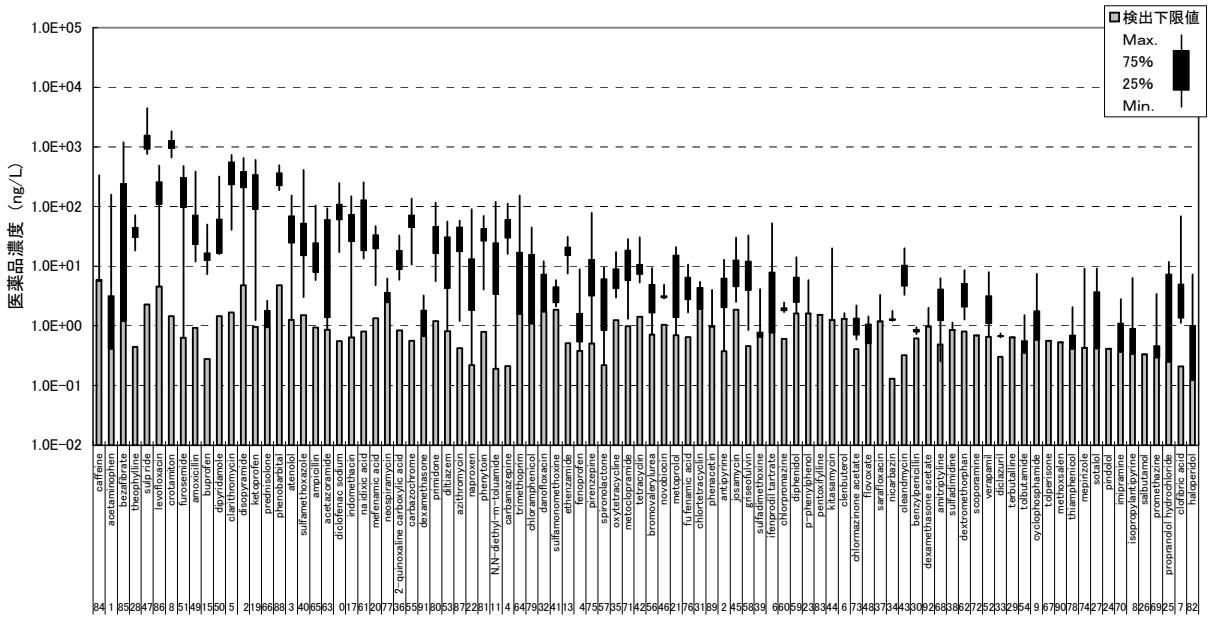


図-3.2　放流水における医薬品調査結果

表-3.2　下水処理における医薬品除去率

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

下水処理方式の違いによる除去特性を把握するため処理方式を標準活性汚泥法（n=7）、OD 法（n=4）、その他（n=5）の 3 つに分類し、流入水濃度と放流水濃度の関係を図-3.3 に示した。流入水又は放流水のいずれか一方が ND のデータは除いた。個々のプロットは各医薬品に対応する。図-3.3 では処理方式による際だった傾向は見られないことから、医薬品除去において処理方式の違いは認められなかった。

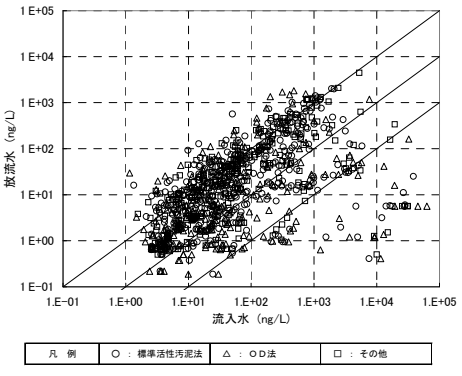


図-3.3　処理方式による医薬品除去特性

3.1.4　まとめ

調査した 92 物質中、流入水から 86 物質、放流水から 85 物質が検出された。また、流入水及び放流水の中央値が検出下限値以上の 62 物質について除去率を求めたと

ころ、除去率100%のacetaminophen、rednisolone、caffeineを含む16物質が除去率80%以上、60%以上80%未満は15物質、40%以上60%未満は6物質、10%以上40%未満は8物質であった。また、除去率が0%から10%で下水処理により殆ど除去されない物質は3物質あった。除去率がマイナスとなり下水処理を受けることによって検出されるようになった医薬品が14物質あった。

3.2 下水処理過程における医薬品の除去特性・挙動把握

3.2.1 目的

本調査では，生産量が多く一般的に用いられているものであり、また、水生生物に対する生態リスクが大きい可能性が指摘されている医薬品 10 物質について下水処理プロセスの処理条件（SRT）が下水処理過程における除去特性・挙動に与える影響の把握を目的とした。

3.2.2 調査方法

(1) 対象医薬品

調査対象医薬品等は，表-3.3 に示す 10 物質とした。これらの医薬品は，薬事工業生産動態統計年報[13]で生産量が 1 トン以上と多く一般的に用いられているものであり、また、水生生物に対する生態リスクが大きい可能性が指摘されている物質[15),16)]である。

表-3.3 調査対象医薬品

物 質 名	用 途
Azithromycin（アジスロマイシン）	抗生物質
Bezafibrate（ベザフィブラート）	高脂血症用剤
Caffein（カフェイン）	強心剤
Clarithromycin（クラリスロマイシン）	抗生物質
Crotamiton（クロタミトン）	鎮痒剤
Ibuprofen（イブプロフェン）	解熱鎮痛消炎剤
Ketoprofen（ケトプロフェン）	解熱鎮痛消炎剤
Levofloxacin（レボフロキサシン）	合成抗菌剤
Sulfamethoxazole（スルファメトキサゾール）	サルファ剤
Triclosan（トリクロサン）	殺菌剤

(2) 医薬品分析方法

調査対象医薬品10物質の分析は，LC/MS/MSによる一斉分析（9物質）と、GC/MSによる分析（トリクロサン）により実施した。

LC/MS/MSによる一斉分析は、小西ら[14)]の方法を参考に抽出・濃縮等の前処理を行った後、LC-MS/MSを用いて測定し標準添加法により定量した。また、GC/MSによるトリクロサン分析は、宝輪ら[17)]の方法を参考に抽出・濃縮・誘導体化等の前処理を行った後、GC/MSを用いて測定し標準添加法により定量した。

(3) 活性汚泥処理実験装置の概要

調査に用いた活性汚泥処理実験装置は、有効水深 2mの最初沈殿池（0.5㎥）、エアレーションタンク（0.5㎥ × 4槽）、最終沈殿池（0.7m³）と塩素混和槽（0.1m³）、生汚泥貯留槽（0.15m³）、余剰汚泥貯留槽（0.15m3）構成されており、同じ仕様の装置が２系列、並列設置されている（以下、Ⅰ系、Ⅱ系という）。概要を図-3.4に示す。

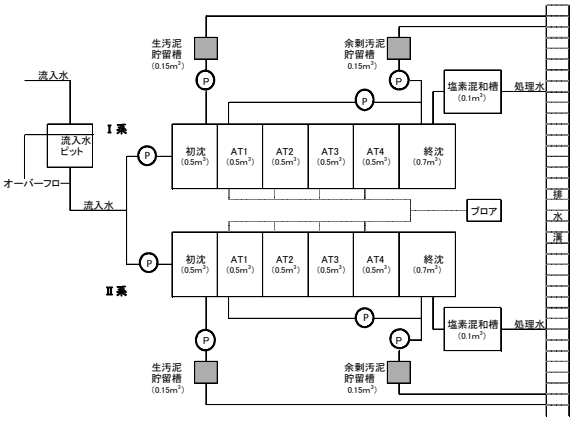


図-3.4 実験装置（概要）

(4) 活性汚泥処理実験装置の運転

活性汚泥処理実験装置は、実下水を流入水とし平成22年8月25日より運転を行った。Ⅰ系のSTRは5～7日、Ⅱ系のSRTは15～20日を設定目標として運転した。

運転開始から約3ヶ月が経過した平成22年11月25日～平成23年1月28日の運転管理状況を表-3.43、表-3.5に示した。

11/25のエアレーションタンク（第4槽：AT4）の水温は16.7℃であったが、1/28では14.2℃まで下がっていた。この間のエアレーションタンク第4槽(AT4)のMLSS（平均）はⅠ系 1,840 mg/L、Ⅱ系2,860 mg/Lで、SRTはⅠ系が7日、Ⅱ系が21日であった。SS除去率はⅠ系が84%、Ⅱ系が92%、BOD除去率はⅠ系が77%、Ⅱ系が90%、T-N除去率はⅠ系が46%、Ⅱ系が57%、T-P除去率はⅠ系が48%、Ⅱ系が73%であった。また、硝化率はⅠ系が78%、Ⅱ系が85%であった。

表-3.4 実験装置の運転管理状況・水質（平均、mg/L）

	流入水	初沈流出水		終沈流出水	
		Ⅰ系	Ⅱ系	Ⅰ系	Ⅱ系
SS	116	97	152	18	8.9
DOC	40	39	39	9.4	6.9
COD_{Mn}	54	45	58	15	9.0
BOD	146	127	154	34	14
NH4-N	18	17	18	2.7	1.5
NOx-N	0.08	0.14	0.10	9.2	8.3
NO2-N	0.06	0.07	0.06	0.48	0.38
T-N	28	25	29	15	12

表-3.5　実験装置の運転管理状況・汚泥（平均、mg/L）

	AT4混合液		返送汚泥	
	Ⅰ系	Ⅱ系	Ⅰ系	Ⅱ系
MLSS	1,840	2,860	4,780	6,850
MLVSS	1,610	2,500	4,220	6,030
	余剰汚泥		生汚泥	
	Ⅰ系	Ⅱ系	Ⅰ系	Ⅱ系
MLSS	4,600	5,350	1,470	1,980
MLVSS	－	－	1,330	1,810

(5) 活性汚泥処理プロセスにおける医薬品の挙動

前述したとおり、実験装置を数ヶ月運転した後，医薬品挙動調査試料の採取を行った。試料採取は2月1日～2日、24時間の通日試験を行った。採取試料は、流入水、初沈流出水（Ⅰ系・Ⅱ系）、AT1～AT4混合液（各Ⅰ系・Ⅱ系）、終沈流出水（Ⅰ系・Ⅱ系）、塩素混和槽流出水（Ⅰ系・Ⅱ系）、生汚泥（Ⅰ系・Ⅱ系）、余剰汚泥（Ⅰ系・Ⅱ系）とし、2時間間隔で採取した。採取試料はそれぞれを等量混合しコンポジット試料を作製した。コンポジット試料は医薬品分析の他、SS、DOC、COD、BOD、窒素（N）、MLSS等の分析を行った。

3.2.3　調査結果

(1) 水質分析結果（一般項目）

調査試料の水温、pH、透視度、残留塩素を表-3.6、SS、D-TOC、COD、BOD、窒素、MLSS、MLVSSを表-3.7、表-3.8に示した。

表-3.6　調査試料の水質分析結果（現場測定）

試料名		水温 [℃]	pH [－]	透視度 [cm]	残留塩素 Free [mg/L]	残留塩素 Total [mg/L]
流入水		16.5～18.0	6.1～6.9	－	－	－
Ⅰ系	初沈流出水	16.2～16.7	6.5～6.7	－	－	－
	終沈流出水	14.7～16.7	6.3～6.8	36～45	－	－
	塩素混和槽流出水	14.5～15.8	6.4～6.7	－	0.07～0.50	0.53～0.82
Ⅱ系	初沈流出水	16.3～16.7	6.6～6.9	－	－	－
	終沈流出水	14.5～16.2	6.3～6.7	>100	－	－
	塩素混和槽流出水	14.4～15.9	6.4～6.7	－	0.11～0.69	0.22～0.91

表-3.7　調査試料の水質分析結果（一般項目）

試料名		SS [mg/l]		D-TOC [mg/l]		CODMn D [mg/l]	CODMn T [mg/l]	BOD D [mg/l]	BOD T [mg/l]
流入水		80	76	38	39	36	54	68	119
Ⅰ系	初沈流出水	77	75	41	39	35	51	73	117
	終沈流出水	8.6	8.0	8.5	8.6	9.6	11.8	0.7	28
	塩素混和槽流出水	7.0	7.4	8.0	8.4	10.0	12.8	－	15.5
Ⅱ系	初沈流出水	85.0	81.2	40.4	36.0	34.3	57.1	68	139
	終沈流出水	3.0	2.8	6.0	6.0	6.3	6.8	0.1	3.3
	塩素混和槽流出水	2.0	2.2	5.9	6.0	6.3	6.5	－	15.9
試料名		NH4-N [mg/l]		NO2-N [mg/l]		NO3+NO2-N [mg/l]		T-N [mg/l]	
流入水		21	21	0.03	0.02	0.03	0.03	31	31
Ⅰ系	初沈流出水	21	21	0.03	0.03	0.03	0.03	29	30
	終沈流出水	11	11	0.33	0.37	4.1	4.2	17	17
	塩素混和槽流出水	11	11	0.25	0.32	3.9	4.2	15	18
Ⅱ系	初沈流出水	21	21	0.03	0.03	0.02	0.02	30	30
	終沈流出水	10	10	0.18	0.16	4.1	4.0	15	15
	塩素混和槽流出水	10	10	0.15	0.11	4.1	4.0	16	15

表-3.8　調査試料の汚泥分析結果

試料名		MLSS [mg/l]	MLVSS [mg/l]	MLSS [mg/l]	MLVSS [mg/l]
Ⅰ系	生汚泥	258	232	256	222
	余剰汚泥	4,214	3,746	4,108	3,656
	エアレーションタンク混合液	1,802	1,588	1,792	1,588
Ⅱ系	生汚泥	452	414	382	336
	余剰汚泥	5,832	5,182	5,966	5,214
	エアレーションタンク混合液	2,530	2,268	2,490	2,192

流入水の水温は16.5～18.0℃、終沈流出水の水温は14.5～16.7℃であった。流入水のpHは6.1～6.9、終沈流出水のpHは6.3～6.8であった。終沈流出水の透視度は、Ⅰ系36～45cm、Ⅱ系は100cm以上であった。塩素混和槽流出水の残留塩素(Total)は、Ⅰ系0.53～0.82mg/L、Ⅱ系0.22～0.91mg/Lであった。また、エアレーションタンク（AT4）のMLSSはⅠ系1,800 mg/L、Ⅱ系2,510 mg/Lであった。SS除去率はⅠ系が89%、Ⅱ系が96%、BOD除去率はⅠ系が76%、Ⅱ系が97%、DOC除去率は、Ⅰ系が78%、Ⅱ系が85%、COD除去率は、Ⅰ系が78%、Ⅱ系が87%、T-N除去率はⅠ系が45%、Ⅱ系が52%、T-P除去率はⅠ系が55%、Ⅱ系が74%であった。

SS、MLSSと流入水量、汚泥返送率よりSSのフラックスを求め図-3.5に示した。Ⅰ系列、Ⅱ系列のSSは、エアレーションタンク内の量と返送汚泥としてエアレーションタンクに戻っている（移動）量がほぼ同じである。また、図-3.6に流入SS量を100%とした場合の各処理プロセス、各汚泥のフラックスを百分率で示した。図-3.6より、Ⅰ系、Ⅱ系ともSS収支はとらえられていたことがわかる。

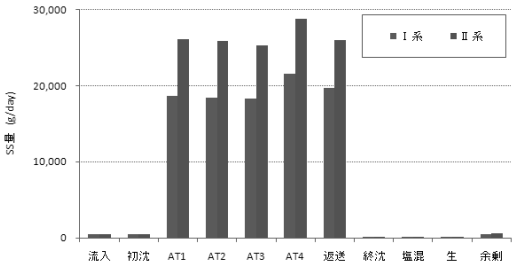


図-3.5　活性汚泥処理プロセスにおけるSS収支

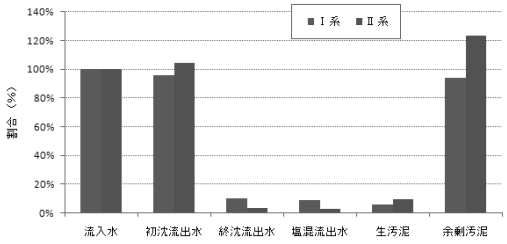


図-3.6　流入SS量を100%とした場合の汚泥フラックス割合

(2) 医薬品分析結果

活性汚泥処理プロセスにおける医薬品の挙動調査試料の医薬品分析結果を表-3.9 に示した。表-3.9 では検出下限値（LOD）未満の N.D.は「0」と表示し、LOD 以上で定量下限値（LOQ）未満の Tr は、その検出された数値とした。

アジスロマイシン、ベザフィブラート、カフェイン、クロタミトン、イブプロフェン、ケトプロフェン、レボフロキサシン、スルファメトキサゾールの８物質は、流入水、初沈流出水、終沈流出水、塩素混和槽流出水の多くの試料において懸濁態試料からは検出されず LOD 未満、LOQ 未満であった。また、これらの８物質は SS 濃度の高い汚泥試料においても懸濁態試料から LOD 未満、LOQ 未満のものがみられた。また、クラリスロマイシン、トリクロサンの2物質は溶存態、懸濁態から検出された。

活性汚泥処理プロセスでの医薬品除去特性を把握するため、流入水と二次処理水の医薬品結果から除去率を算出し、その結果を表-3.10、図-3.7 に示した。本実験では、Ⅰ系の SRT は 7 日、Ⅱ系の SRT は 21 日であったが、両実験系において除去率に大きな違いは見られなかった。流入水中の濃度に比べ二次処理水中の濃度が高く、計算上の除去率がマイナスの値となったものもがみられた。

アジスロマイシン、クロタミトン、ケトプロフェンの３物質は、活性汚泥処理による除去率は 16%以下又はマイナスの値を示し、生物処理による除去が難しい物質であることが分かった。クラリスロマイシンは、21～37%、スルファメトキサゾールは、31～48%、レボフロキサシンは、51～61%とやや活性汚泥処理による除去が困難である物質であることが分かった。ベザフィブラートはⅠ系で除去率が 49%となったが、Ⅱ系の調査では 704%の除去率であり比較的活性汚泥処理により除去され易い物質であるといえる。カフェインは、除去率 99%以上、イブプロフェンは 89%以上、トリクロサンは 84%以上と高い除去率を示し活性汚泥処理による除去が容易な物質であることが分かった。

アジスロマイシンは、成宮ら[18]による 5 処理場（6 処理プロセス）での調査結果の溶存態濃度の中央値から算出した除去率は 86%となったが、八十島ら[19]が報告している実下水を用いた活性汚泥処理実験装置での測定結果では除去率は 18%となった。本調査結果同様、生物処理による除去が困難な結果と比較的良好な除去(除去率 86%)が行われている結果が報告されているが、調査処理場の処理条件また実験条件が異なることからアジスロマイシンの生物処理による除去特性の評価については更に詳細な調査が必要である。

クロタミトンは、成宮ら[18]による調査結果の溶存態濃度の中央値から算出した除去率でも 13%と低い値であり活性汚泥処理による除去が困難な物質に分類することができる。

ケトプロフェンは、成宮ら[18]による調査結果の溶存態濃度の中央値から算出した除去率は 90%、また、小林ら[20]が行った A2O 法と凝集剤添加ステップ AO 法を有する処理場における下水処理場での除去率は 87%であり、本調査結果の活性汚泥処理による除去率 10%以下（又は、マイナス）とは大きく異なっている。既報告の調査処理場の処理条件と本実験条件が異なることからケトプロフェンの生物処理による除去特性の評価については更に詳細な調査が必要である。

クラリスロマイシン、スルファメトキサゾールは、成宮ら[18]による調査結果の溶存態濃度の中央値から算出した除去率でもそれぞれ 65%、49%であり、本実験結果の除去率 21～37%、31～48%と併せて考えると活性汚泥処理による除去がやや困難な物質に分類することができる。レボフロキサシンは、成宮ら[18]による調査結果では 85%であるが、本実験では 51～61%であった。活性汚泥処理による除去がやや容易な物質に分類することができる。

ベザフィブラート、カフェイン、イブプロフェンの 3 物質は、成宮ら[18]による調査結果の溶存態濃度から算出した除去率はそれぞれ 88%、99%以上、98%以上、また、小林ら[20]の調査結果ではそれぞれ 97%、100%、＞89%であり、本実験結果のベザフィブラート除去率 70～84%、カフェイン除去率 99%以上、イブプロフェン除去率 89%以上と併せて考えると活性汚泥処理による除去が容易な物質に分類することができる。

トリクロサンは、成宮ら[18]による調査結果の溶存態濃度から算出した除去率 74%以上と本実験結果の除去率 84%以上と併せて考えると活性汚泥処理による除去が容易な物質に分類することができる。

以上の結果から、活性汚泥処理による除去特性を表-3.11 に示す 4 つに分類することができる。クロタミトンは困難物質(除去率 20%未満)、クラリスロマイシン、スルファメトキサゾールの 2 物質はやや困難物質（除去率 20%以上、50%未満）、レボフロキサシンはやや容易物質（除去率 50%以上、805 未満）、容易物質(除去率 80%以上)である。また、アジスロマイシン、ケトプロフェンの 2 物質は本調査結果と既往の調査結果が異なることから詳細な調査が必要な物質とした。

表-3.9　医薬品分析結果　(ng/L)

			流入水	初沈流出水	AT1	AT2	AT3	AT4	返送汚泥	終沈流出水	塩混流出水	生汚泥	余剰汚泥
ｱｼﾞｽﾛﾏｲｼﾝ	Ⅰ系	溶存態	330	350	240	170	190	230	200	280	360	280	200
		懸濁態	0	0	88	58	49	86	1,800	0	0	0	1,800
	Ⅱ系	溶存態	330	270	300	350	340	360	220	310	270	270	220
		懸濁態	0	0	55	62	33	59	1,000	0	4	0	1,000
ﾍﾞｻﾞﾌｨﾌﾞﾗｰﾄ	Ⅰ系	溶存態	3,700	3,900	2,100	1,800	1,400	980	620	1,900	1,900	4,100	620
		懸濁態	0	0	460	400	370	300	340	0	0	0	340
	Ⅱ系	溶存態	3,700	4,600	1,500	1,200	770	550	260	1,100	900	4,300	260
		懸濁態	0	0	450	360	270	240	230	0	0	0	230
ｶﾌｪｲﾝ	Ⅰ系	溶存態	50,000	47,000	15,000	4,100	440	110	170	120	100	46,000	170
		懸濁態	0	68	1,200	610	420	420	760	0	0	170	760
	Ⅱ系	溶存態	50,000	50,000	14,000	7,300	450	0	130	85	76	50,000	130
		懸濁態	0	61	1,600	1,000	530	450	1,000	0	0	310	1,000
ｸﾗﾘｽﾛﾏｲｼﾝ	Ⅰ系	溶存態	1,300	1,300	760	860	990	920	820	1,000	1,100	1,600	820
		懸濁態	44	51	830	760	680	710	1,200	35	33	160	1,200
	Ⅱ系	溶存態	1,300	1,400	890	1,000	1,000	1,100	840	830	820	1,600	840
		懸濁態	44	46	690	750	640	540	1,000	38	45	130	1,000
ｸﾛﾀﾐﾄﾝ	Ⅰ系	溶存態	1,100	1,200	1,400	1,300	1,400	1,300	1,200	1,200	1,200	1,200	1,200
		懸濁態	2	3	110	150	170	170	220	1	1	9	220
	Ⅱ系	溶存態	1,100	1,200	1,100	1,400	1,300	1,300	1,400	1,200	1,100	1,200	1,400
		懸濁態	2	3	140	200	190	220	280	1	1	7	280
ｲﾌﾞﾌﾟﾛﾌｪﾝ	Ⅰ系	溶存態	1,300	1,300	310	210	97	59	41	130	140	1,200	41
		懸濁態	7	14	280	160	90	58	79	0	0	29	79
	Ⅱ系	溶存態	1,300	1,300	260	190	54	17	10	39	46	1,300	10
		懸濁態	7	0	320	190	69	26	65	0	0	43	65
ｹﾄﾌﾟﾛﾌｪﾝ	Ⅰ系	溶存態	890	850	570	580	550	500	360	870	870	880	360
		懸濁態	0	0	180	170	170	200	250	0	0	0	250
	Ⅱ系	溶存態	890	910	580	620	580	480	340	830	840	870	340
		懸濁態	0	0	230	240	250	240	310	0	0	0	310
ﾚﾎﾞﾌﾛｷｻｼﾝ	Ⅰ系	溶存態	1,800	1,700	8,400	7,800	8,100	7,500	11,000	750	770	1,600	11,000
		懸濁態	0	0	4,600	7,500	4,800	5,000	4,600	0	0	0	4,600
	Ⅱ系	溶存態	1,800	1,700	15,000	16,000	16,000	15,000	19,000	700	690	2,100	19,000
		懸濁態	0	0	3,500	5,700	6,100	8,000	9,800	0	0	0	9,800
ｽﾙﾌｧﾒﾄｷｻｿﾞｰﾙ	Ⅰ系	溶存態	400	390	350	210	140	130	150	230	210	330	150
		懸濁態	0	0	73	0	80	57	88	0	0	0	88
	Ⅱ系	溶存態	400	340	240	250	180	210	200	280	230	330	200
		懸濁態	0	0	52	58	79	100	98	0	0	0	98
ﾄﾘｸﾛｻﾝ	Ⅰ系	溶存態	1,500	1,300	1,100	1,000	1,100	1,100	980	320	320	1,700	980
		懸濁態	2,200	1,900	13,000	12,000	12,000	12,000	23,000	81	83	2,900	23,000
	Ⅱ系	溶存態	1,500	1,400	1,300	1,200	1,200	1,500	1,400	450	430	1,600	1,400
		懸濁態	2,200	1,800	22,000	22,000	22,000	20,000	43,000	46	49	3,200	43,000

表-3.10　活性汚泥処理における医薬品除去率　(%)

	ｱｼﾞｽﾛﾏｲｼﾝ	ﾍﾞｻﾞﾌｨﾌﾞﾗｰﾄ	ｶﾌｪｲﾝ	ｸﾗﾘｽﾛﾏｲｼﾝ	ｸﾛﾀﾐﾄﾝ	ｲﾌﾞﾌﾟﾛﾌｪﾝ	ｹﾄﾌﾟﾛﾌｪﾝ	ﾚﾎﾞﾌﾛｷｻｼﾝ	ｽﾙﾌｧﾒﾄｷｻｿﾞｰﾙ	ﾄﾘｸﾛｻﾝ
Ⅰ系	15.3	49.1	99.8	21.0	-3.8	89.6	1.7	57.9	44.1	89.0
Ⅱ系	6.8	70.2	99.8	37.4	-7.6	96.9	6.8	60.7	30.8	87.7

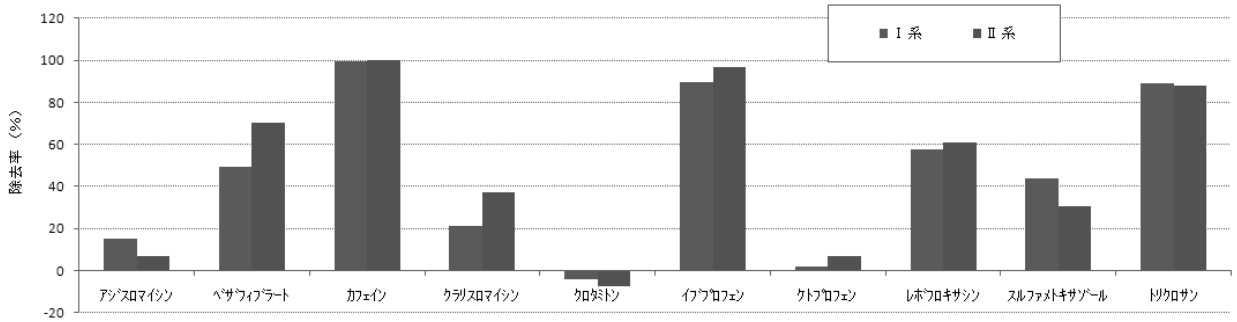


図-3.7　活性汚泥処理における医薬品除去率

表-3.11　活性汚泥処理における医薬品の除去特性の分類

分類　（除去率）	医薬品名
困難　（20%未満）	クロタミトン
やや困難　（20%以上、50%未満）	クラリスロマイシン スルファメトキサゾール
やや容易　（50%以上、80%未満）	レボフロキサシン
容易　（80%以上）	ベザフィブラート カフェイン イブプロフェン トリクロサン
詳細調査が必要	アジスロマイシン ケトプロフェン

(3)　活性汚泥処理プロセスにおける医薬品の挙動

①　アジスロマイシン

流入水、初沈流出水、AT１、AT2、AT3、AT４、終沈流出水、塩素混和槽流出水の各水処理工程におけるアジスロマイシン濃度と生汚泥、余剰汚泥、返送汚泥中のアジスロマイシン濃度を懸濁態、溶存態別に分析した結果を図-3.8 に示した。また、流入水量、汚泥返送率より各水処理工程、各汚泥におけるアジスロマイシンのフラックスを求め図-3.9 に示した。図-3.8、図-3.9 に示すとおり SRT の異なるⅠ系とⅡ系で大きな違いはみられない。流入水から塩素混和槽流出水までの各水処理工程における溶存態の濃度は、268～361ng/L であり、大きく異なることはなかった。八十島ら[19]は、実験プラントでの調査結果としてアジスロマイシンの溶存態濃度が流入下水 219ng/L、最初沈殿池流出水 189ng/L、AT 129～206ng/L、二次処理水 206ng/L と報告している。本調査結果同様、活性汚泥処理による濃度減少はみられない。図-3.9 に示すとおりアジスロマイシンの流入水フラックスと終沈フラックス、塩混フラックスはほぼ同じであり、アジスロマイシンは活性汚泥処理により除去されていないことがわかる。また、アジスロマイシンの流入量を 100%として各処理プロセス、汚泥のフラックス割合を示した図-3.10 からも活性汚泥処理により除去されていないことがわかる。

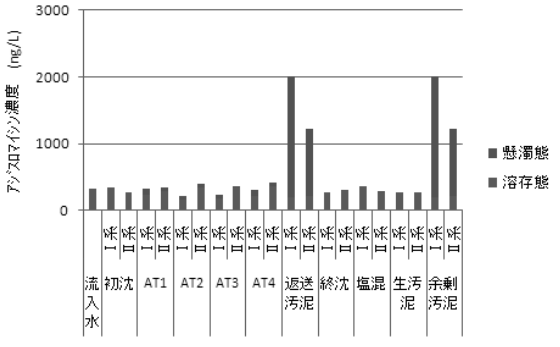


図-3.8　アジスロマイシン分析結果

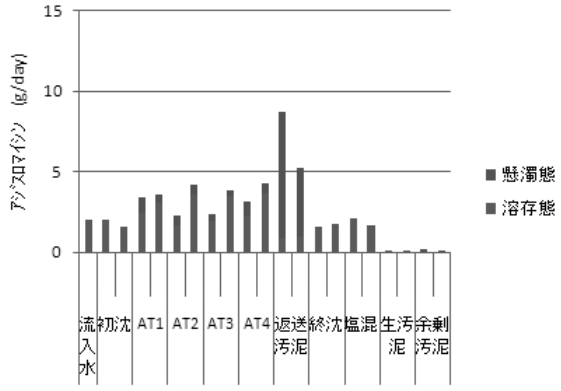


図-3.9　アジスロマイシンのフラックス

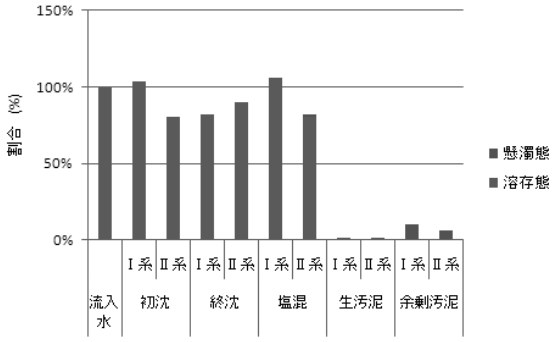


図-3.10　アジスロマイシン流入量を 100%とした場合のフラックス割合

②　ベザフィブラート

流入水、初沈流出水、AT１、AT2、AT3、AT４、終沈流出水、塩素混和槽流出水の各水処理工程におけるベザフィブラート濃度と生汚泥、余剰汚泥、返送汚泥中のベザフィブラート濃度を懸濁態、溶存態別に分析した結果を図-3.11 に示した。また、流入水量、汚泥返送率より各水処理工程、各汚泥におけるベザフィブラートのフラックスを求め図-3.12 に示した。図-3.11、図-3.12 に示すとおり SRT の異なるⅠ系とⅡ系で大きな違いはみられない。各水処理工程における溶存態の濃度は、初沈流出水は流入水とほぼ同じ値であるがエアレーションタンク内で処理が進むにつれ減少している。ベザフィブラート流入量を 100%とした場合のフラックス割合を示した図-3.13 より、生汚泥、余剰汚泥として引き抜かれる割合がほぼ 0%であることからベザフィブラートは活性汚泥処理プロセスで一部分解しているものと考えられる。

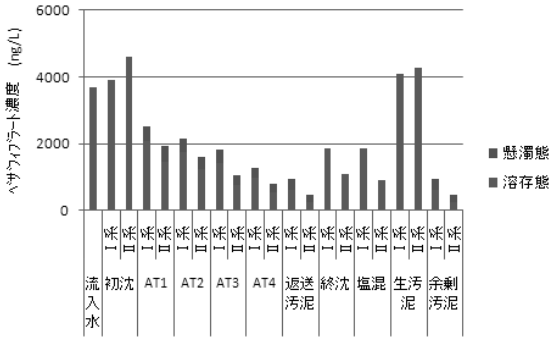


図-3.11　ベザフィブラート分析結果

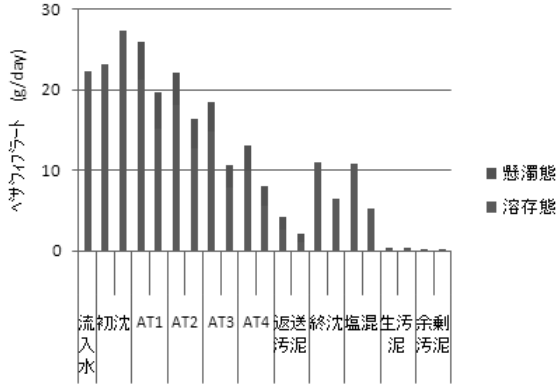


図-3.12　ベザフィブラートのフラックス

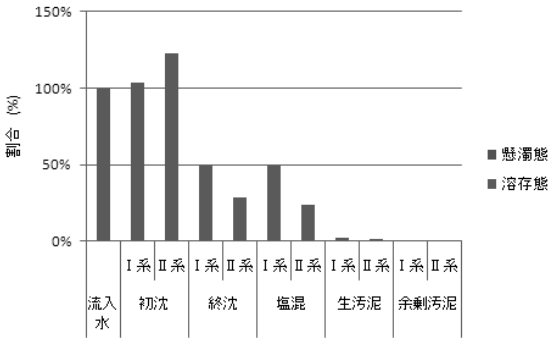


図-3.13　ベザフィブラート流入量を 100%とした場合のフラックス割合

③　カフェイン

流入水、初沈流出水、AT1、AT2、AT3、AT4、終沈流出水、塩素混和槽流出水の各水処理工程におけるカフェイン濃度と生汚泥、余剰汚泥、返送汚泥中のカフェイン濃度を懸濁態、溶存態別に分析した結果を図-3.14 に示した。また、流入水量、汚泥返送率より各水処理工程、各汚泥におけるカフェインのフラックスを求め図-3.15 に示した。図-3.14、図-3.15 に示すとおり SRT の異なるⅠ系とⅡ系で大きな違いはみられない。各水処理工程における溶存態の濃度は、初沈流出水は流入水とほぼ同じ値であるがエアレーションタンク内で大きく減少している。エアレーション時間が約 6 時間の AT3 では流入水中濃度の約 1/50 の値となった。カフェイン流入量を 100%とした場合のフラックス割合を示した図 3.16 より、生汚泥、余剰汚泥として引き抜かれる割合がほぼ 0%であることからカフェインは活性汚泥処理プロセスで分解しているものと考えられる。

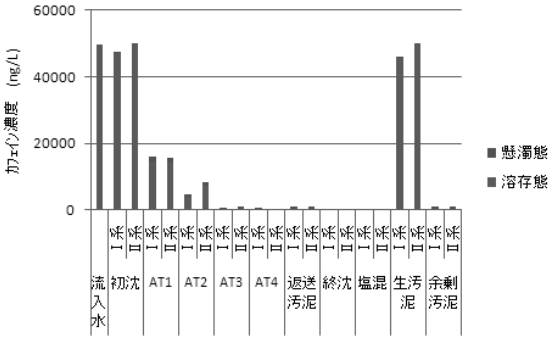


図-3.14　カフェイン分析結果

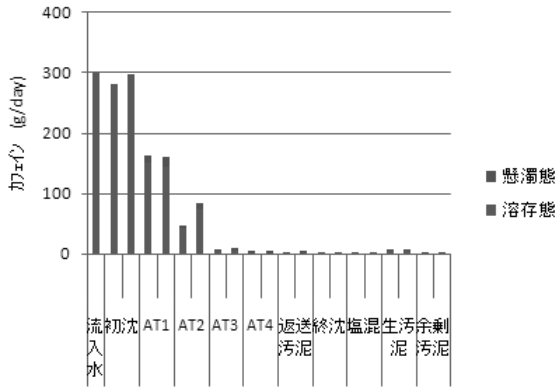


図-3.15　カフェインのフラックス

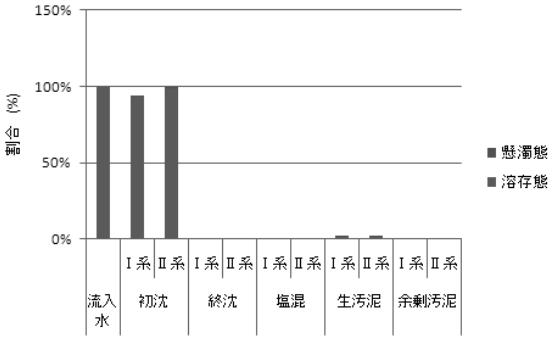


図-3.16　カフェイン流入量を 100%とした場合のフラックス割合

④ クラリスロマイシン

流入水、初沈流出水、AT１、AT2、AT3、AT４、終沈流出水、塩素混和槽流出水の各水処理工程におけるクラリスロマイシン濃度と生汚泥、余剰汚泥、返送汚泥中のクラリスロマイシン濃度を懸濁態、溶存態別に分析した結果を図-3.17 に示した。また、流入水量、汚泥返送率より各水処理工程、各汚泥におけるクラリスロマイシンのフラックスを求め図-3.18 に示した。図-3.17、図-3.18 に示すとおり SRT の異なるⅠ系とⅡ系で大きな違いはみられない。図-3.18 に示すとおりクラリスロマイシンの流入水フラックスと初沈フラックスはほぼ同じ値であり、沈殿除去されていないことがわかる。また、終沈フラックスは流入フラックスの 65%程度を示している。クラリスロマイシン流入量を 100%とした場合のフラックス割合を示した図-3.19 より、生汚泥、余剰汚泥として引き抜かれる割合がほぼ O%であることからクラリスロマイシンは活性汚泥処理プロセスで一部分解しているものと考えられる。

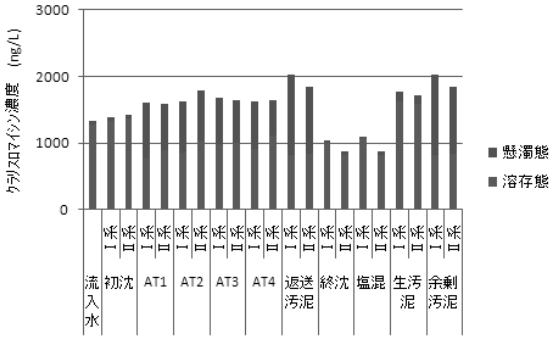


図-3.17　クラリスロマイシン分析結果

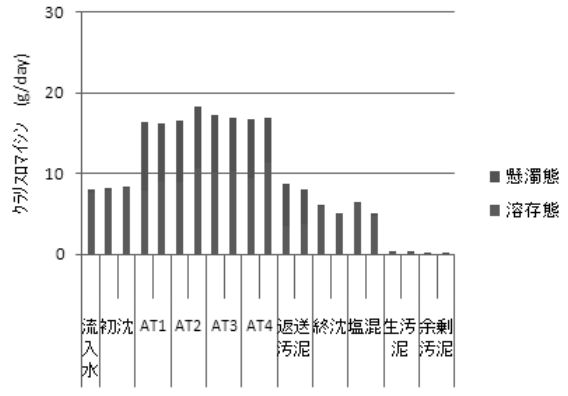


図-3.18　クラリスロマイシンのフラックス

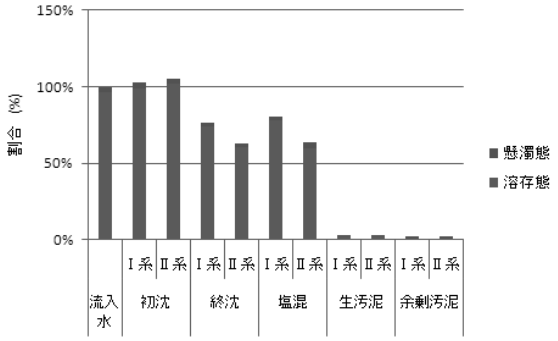


図-3.19　クラリスロマイシン流入量を 100%とした場合のフラックス割合

⑤ クロタミトン

流入水、初沈流出水、AT１、AT2、AT3、AT４、終沈流出水、塩素混和槽流出水の各水処理工程におけるクロタミトン濃度と生汚泥、余剰汚泥、返送汚泥中のクロタミトン濃度を懸濁態、溶存態別に分析した結果を図-3.20 に示した。また、流入水量、汚泥返送率より各水処理工程、各汚泥におけるクロタミトンのフラックスを求め図-3.21 に示した。図-3.20、図-3.21 に示すとおり SRT の異なるⅠ系とⅡ系で大きな違いはみられない。図-3.21 に示すとおりクロタミトンの流入水フラックスと終沈フラックス、塩混フラックスはほぼ同じであり、クロタミトンは活性汚泥処理により除去されていないことがわかる。また、クロタミトンの流入量を 100%として各処理プロセス、汚泥のフラックス割合を示した図-3.22 からも活性汚泥処理により除去されていないことがわかる。

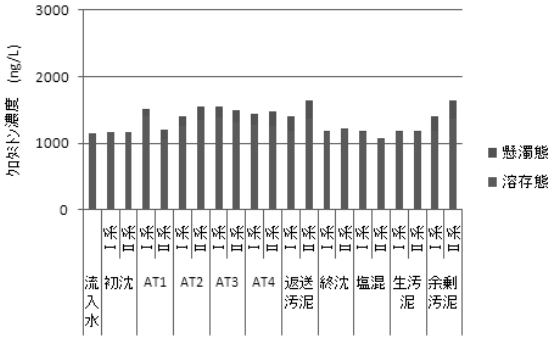


図-3.20　クロタミトン分析結果

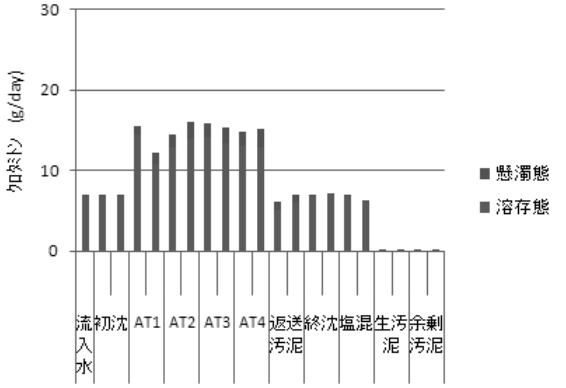


図-3.21　クロタミトンのフラックス

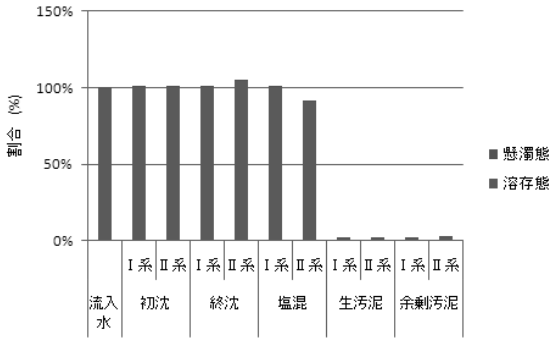


図-3.22　クロタミトン流入量を 100%とした場合の
フラックス割合

⑥ イブプロフェン

流入水、初沈流出水、AT１、AT2、AT3、AT４、終沈流出水、塩素混和槽流出水の各水処理工程におけるイブプロフェン濃度と生汚泥、余剰汚泥、返送汚泥中のイブプロフェン濃度を懸濁態、溶存態別に分析した結果を図-3.23 に示した。また、流入水量、汚泥返送率より各水処理工程、各汚泥におけるイブプロフェンのフラックスを求め図-3.24 に示した。図-3.23、図-3.24 に示すとおり SRT の異なるⅠ系とⅡ系で大きな違いはみられない。各水処理工程における溶存態の濃度は、初沈流出水は流入水とほぼ同じ値であるがエアレーションタンク内で大きく減少している。イブプロフェン流入量を 100%とした場合のフラックス割合を示した図-3.25 より、生汚泥、余剰汚泥として引き抜かれる割合がほぼ 0%であることからイブプロフェンは活性汚泥処理プロセスで分解しているものと考えられる。

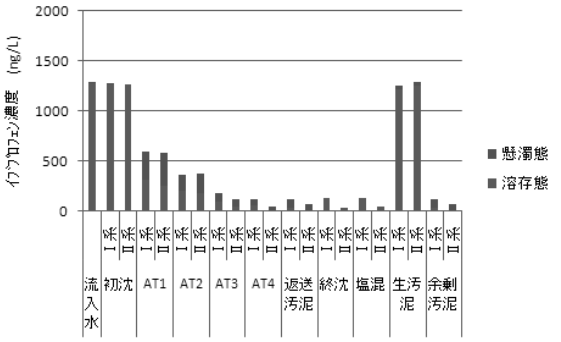


図-3.23　イブプロフェン分析結果

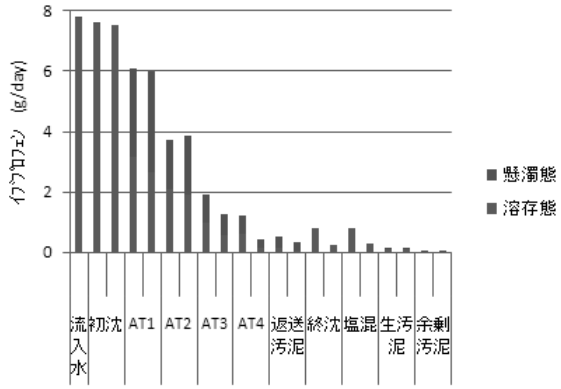


図-3.24　イブプロフェンのフラックス

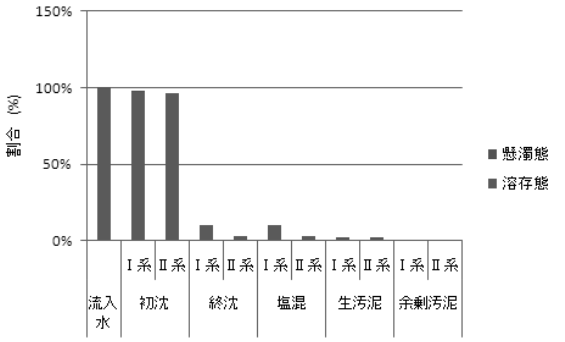


図-3.25　イブプロフェン流入量を 100%とした場合の
フラックス割合

⑦ ケトプロフェン

流入水、初沈流出水、AT１、AT2、AT3、AT４、終沈流出水、塩素混和槽流出水の各水処理工程におけるケトプロフェン濃度と生汚泥、余剰汚泥、返送汚泥中のケトプロフェン濃度を懸濁態、溶存態別に分析した結果を図-3.26 に示した。また、流入水量、汚泥返送率より各水処理工程、各汚泥におけるケトプロフェンのフラックスを求め図-3.27 に示した。図-3.26、図-3.27 に示すとおり SRT の異なるⅠ系とⅡ系で大きな違いはみられない。図-3.27 に示すとおりケトプロフェンの流入水フラックスと終沈

フラックス、塩混フラックスはほぼ同じであり、ケトプロフェンは活性汚泥処理により除去されていないことがわかる。また、ケトプロフェンの流入量を 100%として各処理プロセス、汚泥のフラックス割合を示した図-3.28からも活性汚泥処理により除去されていないことがわかる。

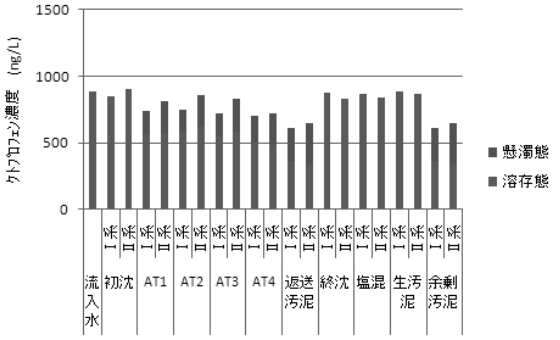


図-3.26　ケトプロフェン分析結果

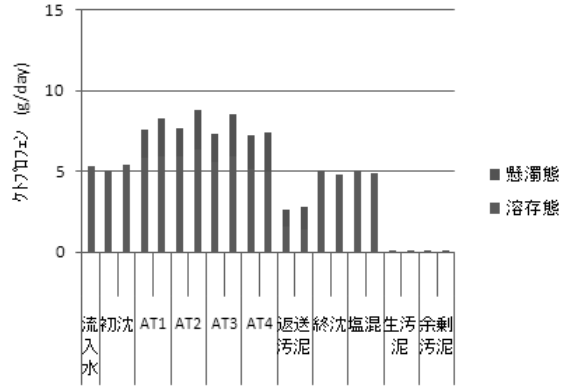


図-3.27　ケトプロフェンのフラックス

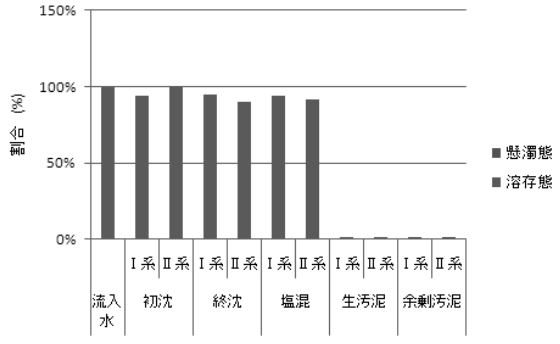


図-3.28　ケトプロフェン流入量を 100%とした場合のフラックス割合

⑧　レボフロキサシン

流入水、初沈流出水、AT１、AT2、AT3、AT４、終沈流出水、塩素混和槽流出水の各水処理工程におけるレボフロキサシン濃度と生汚泥、余剰汚泥、返送汚泥中のレボフロキサシン濃度を懸濁態、溶存態別に分析した結果を図-3.29 に示した。また、流入水量、汚泥返送率より各水処理工程、各汚泥におけるレボフロキサシンのフラックスを求め図-3.30 に示した。

レボフロキサシン流入量を 100%とした場合のフラックス割合を示した図-3.31 より、生汚泥として引き抜かれる割合はほぼ 0%であるが、余剰汚泥として引き抜かれる量が 20～50%あった。レボフロキサシンの活性汚泥処理プロセスでの除去（約 60%）は、余剰汚泥引き抜き量も大きく寄与していることがうかがえる。

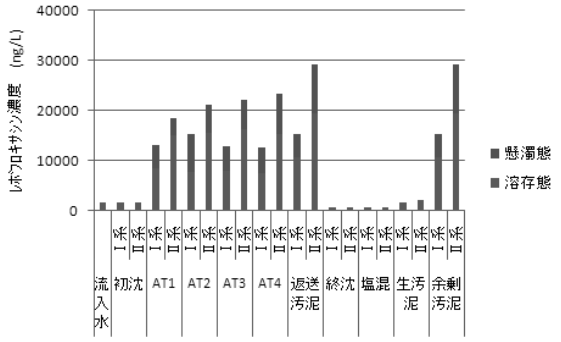


図-3.29　レボフロキサシン分析結果

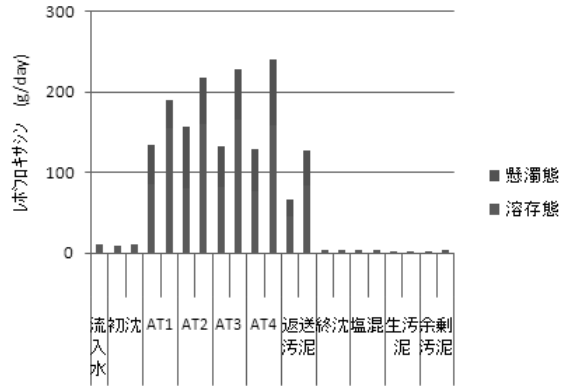


図-3.30　レボフロキサシンのフラックス

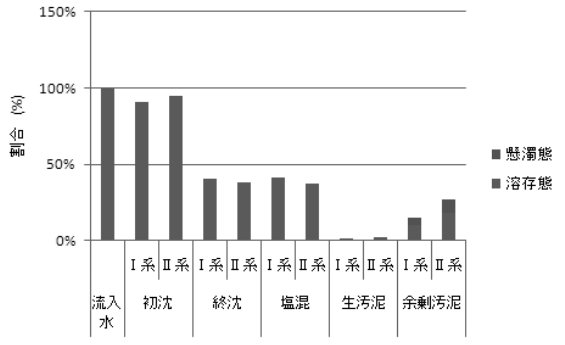


図-3.31　レボフロキサシン流入量を 100%とした場合のフラックス割合

⑨ スルファメトキサゾール

流入水、初沈流出水、AT１、AT2、AT3、AT４、終沈流出水、塩素混和槽流出水の各水処理工程におけるスルファメトキサゾール濃度と生汚泥、余剰汚泥、返送汚泥中のスルファメトキサゾール濃度を懸濁態、溶存態別に分析した結果を図-3.32 に示した。また、流入水量、汚泥返送率より各水処理工程、各汚泥におけるスルファメトキサゾールのフラックスを求め図-3.33 に示した。図-3.32、図-3.33 に示すとおり SRT の異なるⅠ系とⅡ系で大きな違いはみられない。図-3.33 に示すとおり流入水フラックスと初沈フラックスはほぼ同じ値であり、沈殿除去されていないことがわかる。また、終沈フラックスは流入フラックスの 55%程度を示している。スルファメトキサゾール流入量を 100%とした場合のフラックス割合を示した図-3.34 より、生汚泥、余剰汚泥として引き抜かれる割合がほぼ O%であることからスルファメトキサゾールは活性汚泥処理プロセスで一部分解しているものと考えられる。

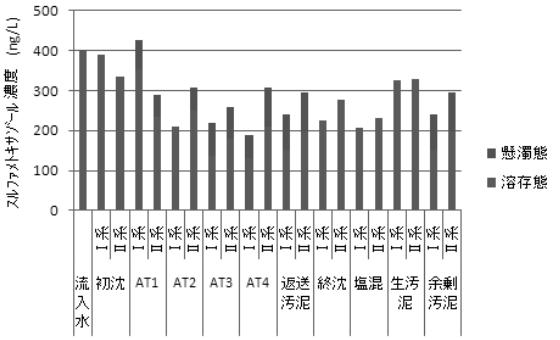


図-3.32　スルファメトキサゾール分析結果

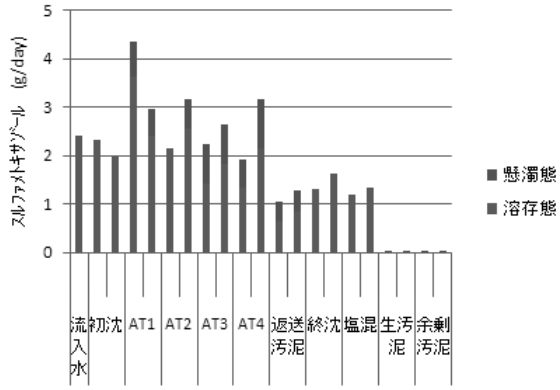


図-3.33　スルファメトキサゾールのフラックス

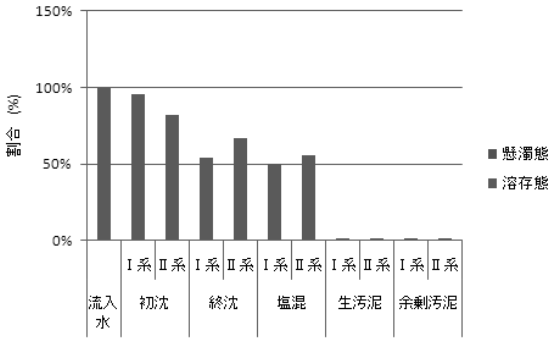


図-3.34　スルファメトキサゾール流入量を 100%とした場合のフラックス割合

⑩ トリクロサン

流入水、初沈流出水、AT１、AT2、AT3、AT４、終沈流出水、塩素混和槽流出水の各水処理工程におけるトリクロサン濃度と生汚泥、余剰汚泥、返送汚泥中のトリクロサン濃度を懸濁態、溶存態別に分析した結果を図-3.35 に示した。また、流入水量、汚泥返送率より各水処理工程、各汚泥におけるトリクロサンのフラックスを求め図-3.36 に示した。図-3.36 よりトリクロサンは汚泥中に存在しエアレーションタンク内を循環していることが分かる。エアレーションタンク内では SRT が異なるⅠ系とⅡ系で明確な違いがみられるが、MLSS 濃度の違いによるものである。トリクロサン流入量を 100%とした場合のフラックス割合を示した図-3.37 より、流入するトリクロサンは溶存態より懸濁態の割合が少し大きいことがわかる。流入水フラックスと初沈フラックスはほぼ同じ値であり、沈殿除去されていないか終沈流出水では流入水の 1/5～1/10 に減少している。また、図-3.37 より、生汚泥として引き抜かれる割合はほぼ O%であるが、余剰汚泥として引き抜かれる量が 10～40%あった。トリクロサンの活性汚泥処理プロセスでの除去（85～90%）は、余剰汚泥引き抜き量も大きく寄与していることがうかがえる。

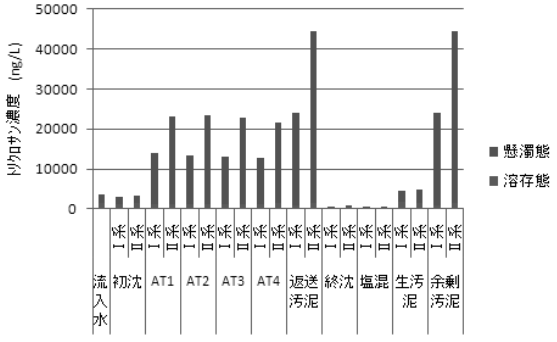


図-3.35　トリクロサン分析結果

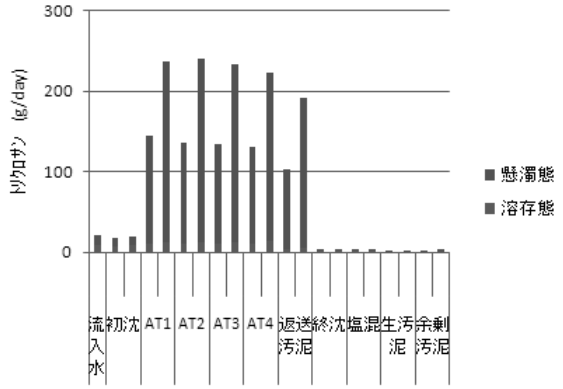


図-3.36　トリクロサンのフラックス

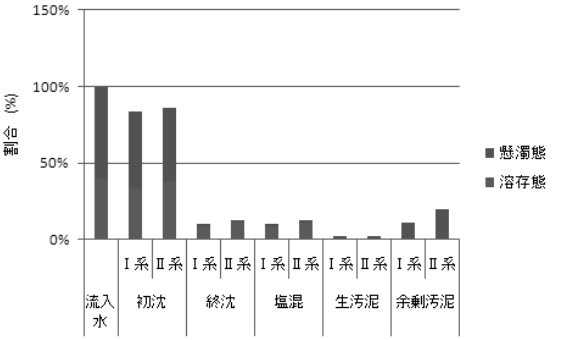


図-3.37　トリクロサン流入量を 100%とした場合の
フラックス割合

3.2.4 まとめ

下水処理プロセスの処理条件（SRT）が医薬品等の化学物質の下水処理過程における除去特性・挙動に与える影響の把握を行い以下の結果を得た。

生産量が多く一般的に用いられているもの、また、水生生物に対する生態リスクが大きい可能性が指摘されている医薬品（10 物質）について実下水を用いた活性汚泥処理実験を行った。活性汚泥処理実験装置の SRT は 7 日と 21 日であったが、活性汚泥処理プロセスにおける調査医薬品の除去率は両実験系において違いはみられなかった。

調査医薬品（10 物質）の活性汚泥処理での除去特性については、既往の調査結果とも併せて考え 4 つに分類した。

クロタミトンは困難物質(除去率 20%未満)、クラリスロマイシン、スルファメトキサゾールの 2 物質はやや困難物質（除去率 20%以上、50%未満）、レボフロキサシンはやや容易物質（除去率 50%以上、80%未満）、ベザフィブラート、カフェイン、イブプロフェン、トリクロサンの 4 物質は容易物質(除去率 80%以上)である。また、アジスロマイシン、ケトプロフェンの 2 物質については、本調査結果と既往の調査結果がことなることから詳細な調査が必要な物質とした。

活性汚泥処理プロセスにおける除去が容易と分類した 4 物質のうちベザフィブラート、カフェイン、イブプロフェンの 3 物質は、初沈では除去されないがエアレーションタンクで大きく減少していた。余剰汚泥、生汚泥引き抜きによる除去量はほぼ 0%であることから、活性汚泥処理による除去のほとんどは分解除去によるものと考えられた。また、トリクロサンは前述の 3 物質同様、初沈では除去されていない。エアレーションタンクの汚泥中に多く存在しており、余剰汚泥引き抜きにより 10%～40%が除去されていた。トリクロサンの除去は、活性汚泥処理による分解除去と汚泥引き抜きによる除去によるものと考えられた。

活性汚泥処理プロセスにおける除去がやや容易とやや困難に分類したレボフロキサシン、クラリスロマイシン、スルファメトキサゾールの 3 物質は、いずれも初沈での除去はみられなかった。また、生汚泥、余剰汚泥引き抜きによる除去量はほぼ 0%であることから活性汚泥処理による分解除去によるものと考えられた。

４．下水処理水中に残存する医薬品の除去手法の検討

4.1　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手法の検討

4.1.1　目的

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探るため、微生物保持担体による処理方法について検討した。

4.1.2　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-4.1 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。

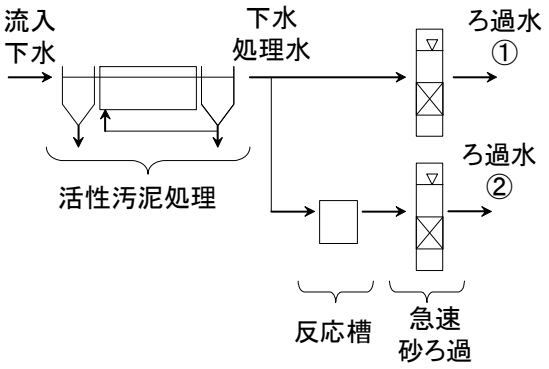


図-4.1 下水処理水中に残存する医薬品の除去率向上手法の検討用実験装置の概要

4.1.3　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-4.1 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-4.1 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-4.2 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-4.2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。

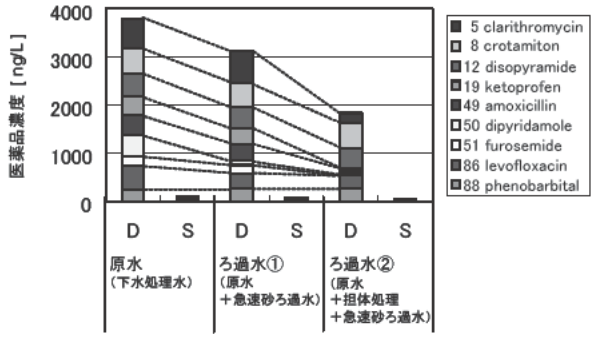


図-4.2 医薬品分析結果

4.1.4 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。

4.2 下水処理水中の医薬品類の塩素処理工程における除去特性

4.2.1 目的

近年、我が国においても医薬品類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ている。河川、湖沼などに生息する生物への影響を配慮し、下水処理水中に残留する医薬品類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処理・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が、医薬品類の中には、生物処理による除去が困難であり、下水処理水中に残存する物質も少なくない。そこで、本調査では、下水処理の生物処理プロセスを経た後の下水処理水に対して化学的手法である塩素処理を適用し、下水処理水中に残存する医薬品類の除去率を向上させる手法を検討した。

4.2.2 実験方法

（1）下水処理水への塩素処理の適用における医薬品の挙動把握調査

下水処理水の塩素処理実験は、2009年5月13日に、茨城県霞ヶ浦流域下水道霞ヶ浦浄化センター内に設置されている土木研究所の湖北総合実験施設で実施した。湖北総合実験施設へは、霞ヶ浦浄化センターの処理水に対して急速砂ろ過法を施された高度処理水が導入されており、塩素処理実験には、この高度処理水を用いた。
まず、容量2Lのポリエチレン製容器を11個準備し、各容器に、高度処理水を9分目程度まで均等に注水した。

これらのうち、3個には、有効塩素濃度が2.5mg/Lになるように、3個には有効塩素濃度が5.0mg/Lになるように、3個には有効塩素濃度が7.5mg/Lになるように次亜塩素酸ナトリウム溶液（有効塩素濃度5.0%）を添加した。残りの2個には、次亜塩素酸ナトリウム溶液は添加しなかった。

次亜塩素酸ナトリウムを添加した後、高度処理水で総ての容器を満たした後、栓をし、実験を開始した。

次に、次亜塩素酸ナトリウム溶液を添加しなかった2個の容器のうち、1個を直ちに開封し、曝気ブロアを装着したエアストーンを容器内に入れ、15分間曝気を行い、曝気終了後の試料を、試料1（ブランク 塩素無添加 0分）とした。

表-4.2 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		
				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	%
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-4.2 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

実験開始15分後には、有効塩素濃度が2.5mg/L、5.0mg/L、7.5mg/Lになるように設定した容器の中から各1個を開封し、曝気ブロアを装着したエアストーンを容器内に入れ、15分間曝気を行い、曝気終了後の試料をそれぞれ試料2（塩素2.5mg/L 15分間）、試料3（塩素 5.0mg/L 15分間）、試料4（塩素7.5mg/L 15分間）とした。

実験開始30分後にも同様に、有効塩素濃度が2.5mg/L、5.0mg/L、7.5mg//L になるように設定した容器の中から各1個を開封し、曝気ブロアを装着したエアストーンを容器内に入れ、15分間曝気を行い、曝気終了後の試料をそれぞれ試料5（塩素2.5mg/L 30分間）、試料6（塩素5.0mg/L 30分間）、試料7（塩素7.5mg/L 30分間）とした。

実験開始60分後には、次亜塩素酸ナトリウム溶液を添加しなかった容器、有効塩素濃度が2.5mg/L、5.0mg/L、7.5mg//Lになるように設定した残りの容器を開封し、ブロアを装着したエアストーンを容器内に入れ、15分間曝気を行い、曝気終了後の試料を、試料8（ブランク 塩素無添加 60分）、試料9（塩素 2.5mg/L 30分間）、試料10（塩素 5.0mg/L 30分間）、試料11（塩素7.5mg/L 30分間）とした。

（2）水質分析

高度処理水および試料1～11の試料水について、浮遊物質（SS）、溶解性有機炭素（DOC）、全窒素（T-N）、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）、全りん（T-P）、オルトりん酸態りん（PO_4^{3-}-N）の各濃度および色度を測定した。また、調査対象医薬品類は表-4.3に示す94物質とした。これらのうち、92物質を固相抽出－液体クロマトグラフ質量分析法[5),14)]により分析した。これらのうちNo.1～No.92は、薬事工業生産動態統計年報で生産量が1トン以上と多く一般的に用いられていると考えられる医薬品の他、我が国でこれまで検出例のある物質である。これらは、解熱鎮痛消炎剤、利尿剤、神経系用剤、抗生物質、不整脈用剤、高脂血症用剤、抗不安剤、強心剤、抗てんかん剤、止血剤、混合ホルモン、気管支拡張剤等であり、使用対象は人用、動物用、両用である。また、抗菌剤のtriclosan(No.93)、thymol(No.94)の2物質は固相抽出―ガスクロマトグラフ質量分析法[21)]により分析した。

4.2.3　実験結果

高度処理水中の浮遊物質（SS）濃度は1mg/L未満、全窒素（T-N）濃度は6.4mg/L、全りん（T-P）濃度は0.09mg/Lであった。なお、遊離塩素の消費に関連する溶解性有機物やアンモニア性窒素（NH_4^+-N）はそれぞれ、溶解性有機炭素（DOC）濃度が3.9mg/L、アンモニア性窒素（NH_4^+-N）濃度が0.03mg/Lであった。また、色度は20.5度であった。試料1～11に関しては、色度以外の項目については有意な変化は見られなかった。

色度は、図-4.3 に示すように、有効塩素濃度が 2.5mg/L になるように設定した場合には、15 分後の試料で 10 度程度に、30 分後以降の試料で 5 度程度にまで低下していた。また、有効塩素濃度が 5.0mg/L、7.5mg/L になるように設定した場合には、15 分後以降の試料で 2 度程度にまで低下していた。

医薬品類の測定結果は、分析対象とした 94 物質のうち、No.6、No.23、No.24、No.26、No.32、No.33、No.34、No.37、No.38、No.39、No.41、No.54、No.62、No.72、No.74、No.77、No.83、No.89、No.90 および No.92 の計 20 物質は，いずれの試料からも検出されなかった。高度処理水中の、分析対象とした医薬品類 94 物質の総濃度は 5,933ng/L であった。なお、積算に当たっては、検出下限値未満の場合は 0 を、検出下限値以上、定量下限値未満の場合には測定値を用いた。

試料 1～11 中の医薬品類 94 物質の総濃度を図-4.4 に最も高濃度で検出された消化性潰瘍用剤の sulpiride（No.47）の濃度を図-4.5 に、環境リスク初期評価で懸念されている[22]clarithromycin(No.6)、triclosan（No.93）の濃度をそれぞれ図-4.6、図-4.7 に示す。なお、高度処理水と試料1の測定結果はほとんど差がなかった。総濃度、sulpiride（No.47）、clarithromycin(No.6)については、有効塩素濃度が 2.5mg/L の場合より、5.0mg/L の場合の方が、除去率は高くなったが、5.0mg/L の場合と 7.5mg/L の場合を比較すると、大きな差がみられなかった。triclosan（No.93）の場合は、有効塩素濃度が 2.5mg/L 以上の範囲では除去率に差はなかった。接触時間について見てみると、有効塩素濃度が 2.5mg/L、5.0mg/L、7.5mg/L のいずれの場合も、15 分、30 分、60 分の接触時間を設定した系列間では大きな差がみられず、接触時間を 15 分間以上の任意の時間に設定しても除去率へは影響を与えないことがわかった。

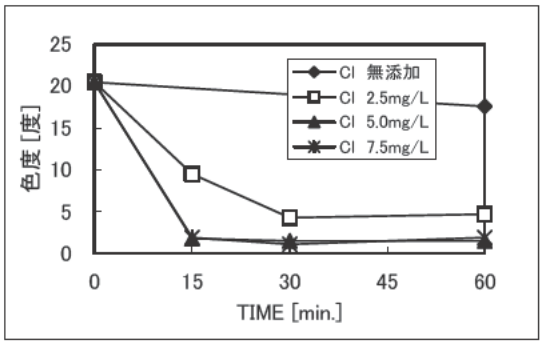


図-4.3　塩素処理実験試験水の色度

4.2.4　まとめと今後の課題

下水処理の生物処理プロセスを経た後の下水処理水に対して、化学的手法である塩素処理を適用し、下水処理水中に残存する医薬品類の除去率を向上させる手法を検討した。

有効塩素濃度を 2.5mg/L、5.0mg/L、7.5mg/L の 3 段階に、接触時間を 15 分、30 分、60 分の 3 段階に設定し、計 9 系列の条件下における、医薬品等の化学物質の除去特性を検討した。

分析対象とした医薬品類 94 物質の総濃度でみた除去率は、有効塩素濃度が 2.5mg/L の場合より、5.0mg/L の場合の方が高くなったが、5.0mg/L の場合と 7.5mg/L の場合を比較すると、大きな差がみられなかった。また、接触時間について見てみると、有効塩素濃度が 2.5mg/L 以上の場合には、接触時間を 15 分間以上の任意の時間に設定しても、医薬品類 94 物質の総濃度でみた除去率は影響を受けないことがわかった。

今後は、医薬品等の環境リスク評価結果を参考にして、除去すべき医薬品等を絞り込み、絞り込まれた医薬品等の下水処理水で達成すべきレベルを把握し、下水処理場で達成すべき目標を設定することが必要であると考えられる。さらに、それに照らした場合に、今回の検討で得られた塩素処理による医薬品等の除去特性が、目標を満足するものであるか、否かを判定した上で、有効塩素濃度、接触時間の最適化を検討する必要があると考えられる。なお、最適化の検討にあたっては、塩素処理に伴い発生する副生成物の有害性にも配慮した検討が必要であろう。

表-4.3　調査対象医薬品類リスト

1. acetaminophen	20. mefenamic acid	38. sulfadimidine	58. griseofulvin	77. neospiramycin
2. antipyrine	21. metoprolol	39. sulfadimethoxine	59. diphenidol	78. thiamphenicol
3. atenolol	22. naproxen	40. sulfamethoxazzole	60. chlorpromazine	79. chloramphenicol
4. carbamazepine	23. p-phenylphenol	41. sulfamethoxazole	61. nalidixic acid	80. primidone
5. clarithromycin	24. pindolol	42. tetracycline	62. dextromethorphan	81. phenytoin
6. clenbuterol	25. propranolol	43. oleandmycin	63. acetazoramide	82. haloperidol
7. clofibric acid	hydrochloride	44. kitasamycin	64. trimethoprim	83. pentoxifylline
8. crotamiton	26. salbutamol	45. josamycin	65. ampicillin	84. caffeine
9. cyclophosphamide	27. sotalol	46. novobiocin	66. prednisolone	85. bezafibrate
10.diclofenac sodium	28. theophylline	47. sulpiride	67. tolperisone	86. levofloxacin
11. N,N-diethyl-	29. terbutalline	48. flavoxate	68. amitriptyline	87. azithromycin
m-toluamide	30. benzylpenicilln	49. amoxicillin	69. promethazine	88. phenobarbital
12. disopyramide	31. chlortetracycline	50. dipyridamole	70. imipramine	89. phenacetin
13. ethenzamide	32. danofloxacin	51. furosemide	71. metoclopramide	90. methox salen
14. fenoprefen	33. diclazuril	52. verapamil	72. scoporamine	91. dexamethsasone
15. ibuprofen	34. nicarbazin	53. diltiazem	73. chlormazinnone	92. dexamethasone
16. ifenprodil tartrate	35. oxytetracycline	54. tolbutamide	acetate	acetate
17. indomethacin	36. 2-quinoxalic	55. carbazochrome	74. mepirizole	93. triclosan
18. isopropylantipyrine	carboxylic acid	56. bromovalerylurea	75. pirenzepine	94. thymol
19. ketoprofen	37. sarafloxacin	57. spironolactone	76. fulfenamic acid	

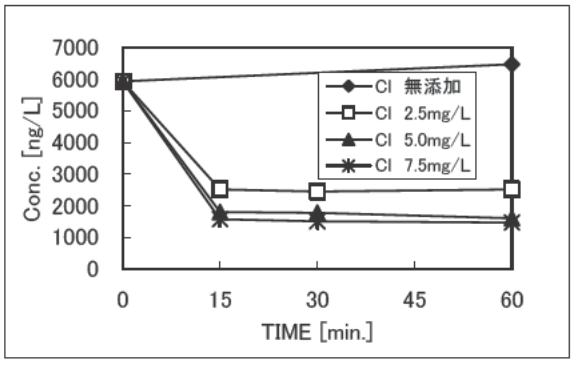


図-4.4　塩素処理実験における PPCPs 総濃度

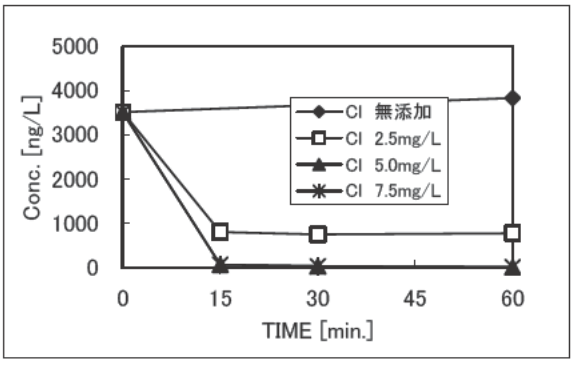


図-4.5　塩素添加実験における sulpiride 濃度

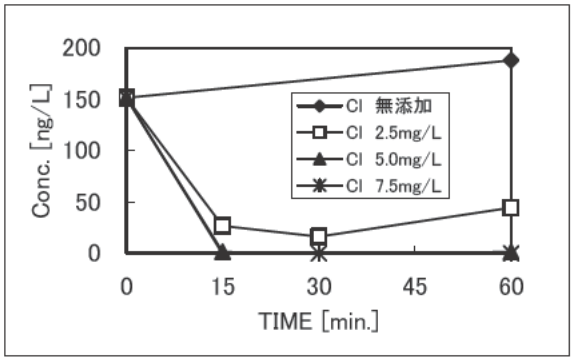


図-4.6　塩素処理実験における clarithromycin 濃度

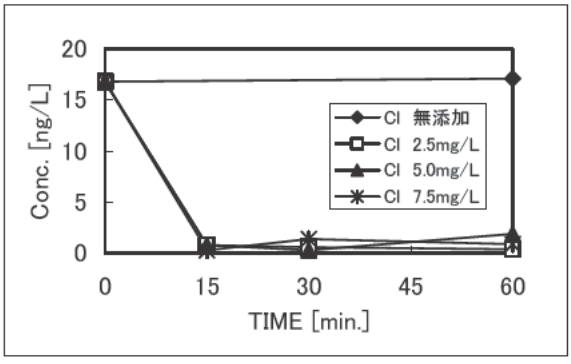


図-4.7　塩素処理実験における triclosan 濃度

5. 下水処理レベルが魚類雌性化に及ぼす影響

5.1 目的

ビテロゲニン(VTG)タンパク誘導や精巣卵が生じた雄魚が一部の河川で発見されて以来、その原因物質の同定、処理技術開発、作用メカニズム解明などの研究が続けられている。これまでの研究から、下水処理水中に残存しているエストロゲン(E1、E2、EE2)が主な原因と考えられるが、下水処理方法と魚類影響の関係については、あまり調べられていない。そこで、下水処理レベルの異なる 3 種類の処理法を選定し、得られた処理水にメダカ成魚と仔魚を曝露し、肝臓中 VTG タンパク量、エストロゲン応答遺伝子発現量、精巣卵形成の有無を調べ、下水処理レベルが魚類の雌性化に及ぼす影響について調査した。

5.2 実験方法

曝露試験：図-5.1 に示した活性汚泥実験装置から得られた活性汚泥処理水の砂ろ過水(AS)、活性汚泥処理水の流動型担体処理水(ASC)、高負荷運転の活性汚泥処理水(h-AS)を用い、図-5.2 のスケジュールで、表-5.1 の曝露条件で試験を行った。

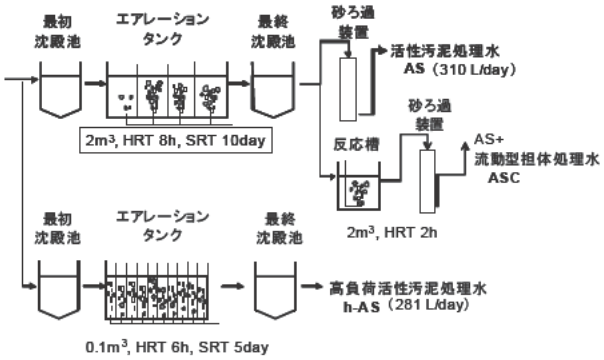


図-5.1　活性汚泥処理実験装置の概要

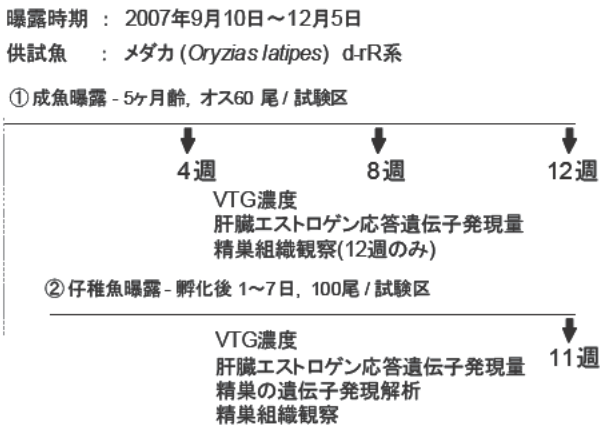


図-5.2　試験のスケジュール

表-5.1 曝露条件

供試魚	成魚　雄メダカ(d-rR系 *Oryzias latipes*)　5ヶ月齢
	仔魚　メダカ(d-rR系 *Oryzias latipes*)　雄雌混在　1～7日齢
試験方式	流水式
換水率	約4回/day
水温	24℃±2℃
照明	16h明・8h暗
給餌	配合飼料　3回/日

水質測定：各曝露水の pH、DO、COD、無機態窒素濃度(AS, ASC のみ) を 3 回/週、組み換え酵母法によるエストロゲン様活性値を 1 回/週測定した。

VTG タンパク濃度測定：成魚は各条件 10-12 匹ずつ、稚魚は各条件 5 匹ずつ、肝臓を摘出し、ELISA 法で測定した。

遺伝子発現量測定：成魚は各条件 5-12 匹ずつ、稚魚は 5 匹ずつ、RNAlater(Ambion)中で肝臓、生殖腺を摘出後、RNA 抽出、逆転写を行い、リアルタイム PCR 法で、肝臓中の VTG(Ⅰ、Ⅱ)、コリオゲニン(CHG(H、Hminor、L))、エストロゲンレセプター遺伝子発現量、および生長した雄稚魚の精巣の網羅的遺伝子発現量をマイクロアレイ（CERI メダカマイクロアレイ）で測定した。

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

5.3 実験結果

水質：各曝露水の pH は、平均で 6.8、DO は 6(mgO_2/L)付近に維持されていた。図-5.3～5.5 は、各処理水質の性状を示したものであるが、装置の不具合や流入下水の水温低下によって、長期間にわたり、安定した処理はできなかった。

エストロゲン様活性値：曝露期間中のエストロゲン様活性値は、図-5.6 に示すとおり、h-AS における値が高く変動も大きかった。AS は 5 週目に一時期高い濃度が測定されたものの、全般的に低い値で推移していた。ASC は、コンスタントに 1ng-E2/L 未満の低い濃度が達成されていた。

曝露メダカの死亡率：図-5.7, 図-5.8 は、本試験期間中の成魚と稚魚メダカの累積死亡率である。本試験での成魚、稚魚とも h-AS 死亡率が高く、曝露終了時点において成魚で約 60%、稚魚で約 80%に達した。処理性能が悪化した時期に死亡数が増加する傾向であった。

VTG タンパク濃度：図-5.9, 図-5.10 に成魚と稚魚の肝臓中 VTG タンパク濃度の経日変化を示す。成魚はエストロゲン様活性値の高かった h-AS において、4,12 週目に高い VTG 濃度が観察されたが、AS および ASC では、VTG

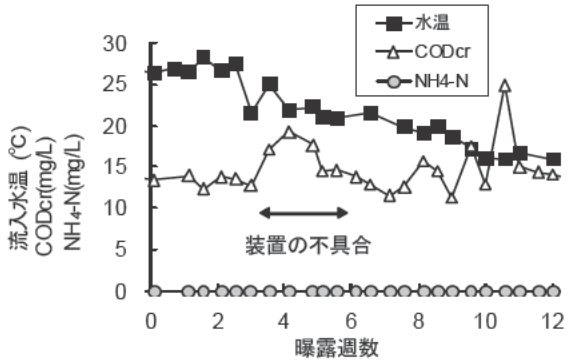


図-5.3　ASC 処理水の性状

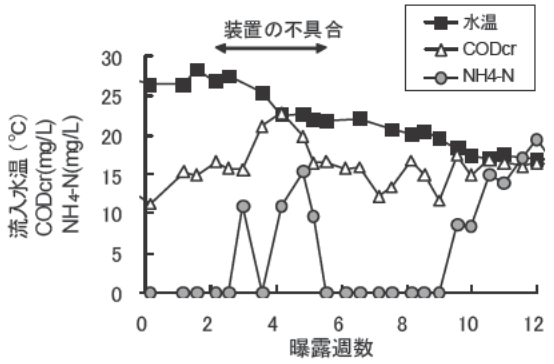


図-5.4　AS 処理水の性状

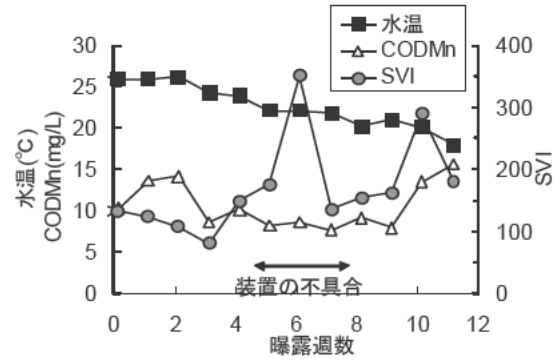


図-5.5　h-AS 処理水と汚泥性状

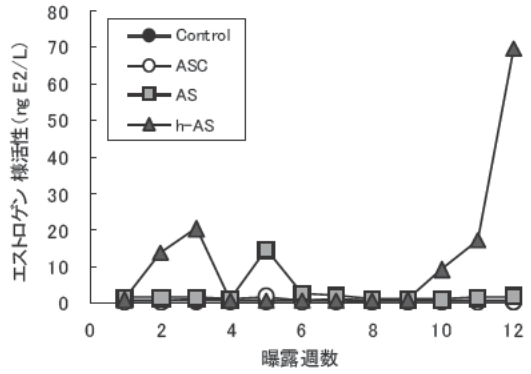


図-5.6　各処理水のエストロゲン様活性値

濃度の上昇はみられなかった。成長した雄稚魚の VTG 濃度は、h-AS 曝露区で上昇したが、AS 曝露区、ASC 曝露区ではみられなかった。

エストロゲン応答遺伝子発現量：図-5.11,図-5.12 は、成魚と稚魚の肝臓中 VTG I 遺伝子発現量である。成魚の VTG I 遺伝子は h-AS において増加し、AS においても 12 週目に増加がみられた。一方、ASC においては、コントロールと同程度であり、発現が抑えられていた。VTG I 以外の遺伝子では、ChgH が 12 週目の AS、h-AS 曝露区で対照区の 3 倍程度高くなったが、VTG I 遺伝子のように顕著に増加したものはなかった。稚魚の VTG I 遺伝子は、サンプル数が少なく、有意差は認められなかったが h-AS、ASC で上昇する傾向を示した。

成魚・稚魚の精巣卵：表-5.2, 表-5.3 に成魚と稚魚の精巣組織の観察結果を示す。成魚ではいずれの曝露条件でも精巣卵は観察されなかった。稚魚では、h-AS 曝露区で生存、成長した稚魚精巣に、精巣卵（5 尾中 1 尾）、および生殖細胞包嚢の減少等（5 尾中 4 尾）が観察された。AS には軽度の生殖細胞の退行（5 尾中 1 尾）が観察され、ASC には精巣異常は観察されなかった。

稚魚精巣の遺伝子発現解析：稚魚精巣のマイクロアレイによる遺伝子発現解析から、対照区と比較して h-AS 曝露区で発現比が 2 倍以上であった遺伝子を抽出し、その中から配偶子形成に関わる遺伝子を調べた（表-5.4）ところ、ビテロゲニン（Vitellogenin I, II）、コリオゲニン（Choriogenin H, Hminor, L-SF）、ZPC といった卵黄、卵膜関連遺伝子があった。ASC 曝露区ではこれらの遺伝子発現強度は、対照区と同程度であり、ASC は、遺伝子レベルで影響が抑えられていることがわかった。

以上のように、流動型担体処理による高度処理を行うことによって、エストロゲン濃度を低下させ、下水処理水の雄メダカへの雌性化影響を防止することが可能であった。h-AS は故意に処理能を悪化させたものであるが、下水処理水中にエストロゲン類が高濃度で残存し、仔魚期に曝露された場合に、精巣で卵形成関連遺伝子の発現および組織の異常が生じる可能性も示された。

5.4　まとめ

流動型担体処理による高度処理水にメダカを曝露したところ、ビテロゲニンタンパク、エストロゲン応答遺伝子の誘導および精巣卵は観察されず、本高度処理によって、下水処理水の魚類雌性化影響を防止できることが明らかになった。

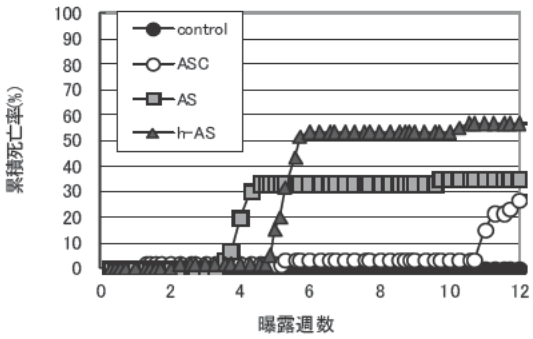


図-5.7　各曝露区の成魚の累積死亡率

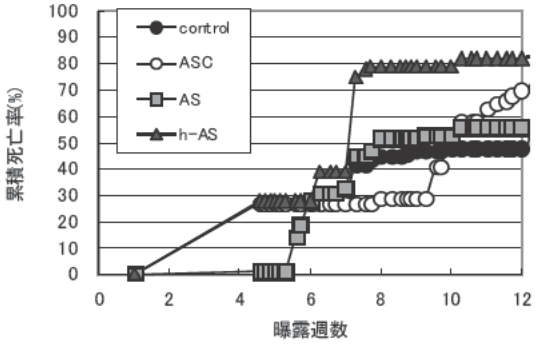


図-5.8　各曝露区の稚魚の累積死亡率

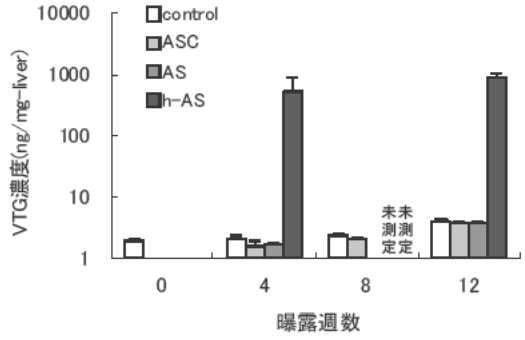


図-5.9　各曝露区の成魚 VTG タンパク濃度

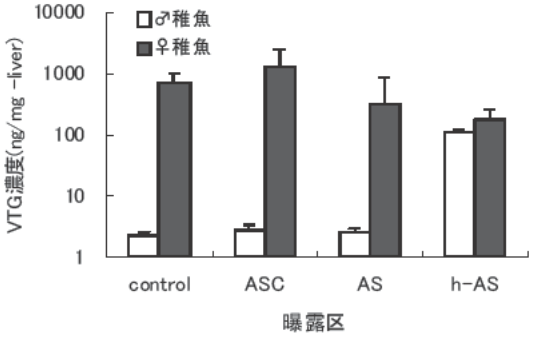


図-5.10　各曝露区の稚魚 VTG タンパク濃度

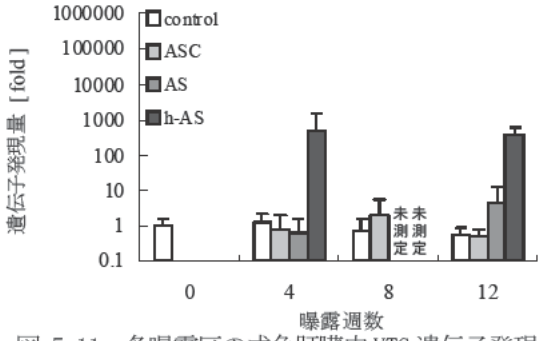


図-5.11　各曝露区の成魚肝臓中 VTG 遺伝子発現量

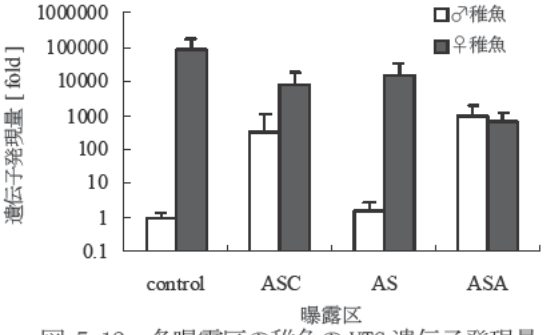


図-5.12　各曝露区の稚魚の VTG 遺伝子発現量

表-5.2　成魚の精巣組織観察結果

	個体数	精巣卵	その他の所見
対照	5	なし	RG:1
ASC	5	なし	なし
AS	5	なし	なし
h-AS	5	なし	RG:1

RG: Regression of Germ Cell (軽度の生殖細胞の退行)

表-5.3　稚魚の精巣組織観察結果

	個体数	精巣卵	その他の所見
対照	5	なし	なし
ASC	5	なし	なし
AS	5	なし	RG + IC : 1
h-AS	5	1	IC + DG : 2
			IC : 2

RG: Regression of Germ Cell (軽度の生殖細胞の退行)
IC: Increase of Connective Tissue (軽度の結合組織の増殖
DG: Decrease of Germ Cell Cyst (生殖細胞包嚢の減少)

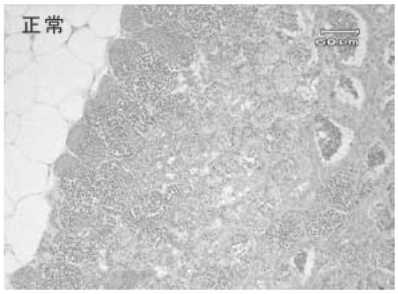


写真-5.1　対照区の稚魚の精巣

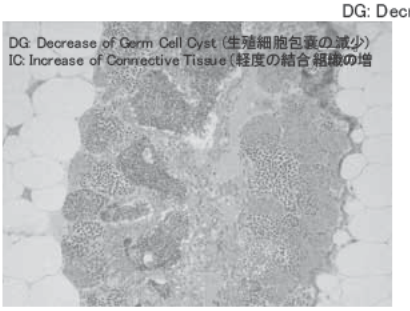


写真-5.2　h-AS 区の稚魚の精巣

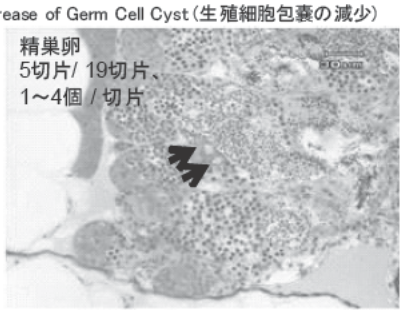


写真-5.3　h-AS 区の稚魚の精巣

表-5.4　h-AS 曝露区でのみ発現増加した配偶子形成等に関係する遺伝子

Probe Name	ASC/ Control	AS/ Control	h-AS/ Control	Tentative Annotation
TC56202	0.9	1.0	**31.7**	Vitellogenin 1, partial (10%)
TC54239	1.1	0.9	**31.2**	Choriogenin L (Fragment), partial (45%)
TC56226	0.6	1.7	**24.9**	Vitellogenin 1, partial (12%)
TC59433	0.6	1.0	**24.8**	Vitellogenin 1, partial (10%)
TC58422	1.3	1.7	**21.1**	Vitellogenin 1, partial (16%)
TC59032	0.6	0.4	**19.1**	L-SF precursor (Choriogenin L), partial (44%)
TC59419	1.1	1.2	**10.1**	Phosvitinless vitellogenin, partial (86%)
TC53637	1.2	1.4	**9.7**	L-SF precursor (Choriogenin L), partial (39%)
TC56827	0.9	2.1	**8.6**	L-SF precursor (Choriogenin L), partial (35%)
TC57172	1.2	0.5	**7.4**	Choriogenin Hminor, partial (34%)
TC50671	1.5	1.5	**4.3**	Vitellogenin II, partial (30%)
TC47994	0.4	1.0	**3.6**	Vitellogenin 1, partial (12%)
TC55384	0.6	1.6	**3.6**	L-SF precursor (Choriogenin L), partial (46%)
TC60747	1.0	1.5	**3.5**	Choriogenin Hminor (Fragment), partial (21%)
TC43355	1.3	1.9	**3.3**	ZPC domain containing protein 2 (Fragment), complete
TC56382	0.9	1.1	**3.0**	Vitellogenin 1, partial (16%)
TC43331	1.9	1.8	**2.7**	Gonadotropin-releasing hormone receptor 1, complete
TC43318	0.9	0.8	**2.6**	ZPC5, complete
TC43477	1.6	0.7	**2.6**	ZPC domain containing protein 2 (Fragment), partial (89%)
TC43474	1.1	1.4	**2.5**	Alveolin, complete
TC55876	1.1	1.2	**2.5**	Choriogenin Hminor, partial (29%)
TC60398	1.2	1.9	**2.4**	Choriolysin H 1 , partial (70%)
TC62549	2.3	1.5	**2.3**	Vitellogenin 1, partial (10%)
NP418605	1.1	1.3	**2.3**	androgen receptor
TC47998	1.5	1.3	**2.3**	Vitellogenin II, partial (22%)
NP418561	1.1	1.8	**2.2**	choriogenin H-related protein
TC57917	1.5	1.2	**2.1**	Vitellogenin 1, partial (12%)
NP423661	1.4	1.9	**2.1**	estrogen receptor beta
TC54906	1.1	1.8	**2.1**	Anti-muellerian hormone, complete
BJ001302	1.3	1.9	**2.0**	P1-protamine {Sus scrofa}, partial (57%)
TC59558	1.5	1.8	**2.0**	Progonadoliberin-1 precursor , complete

VTG:11個

CHG, L-SF, ZP:12個

ホルモン、
レセプター:5個

その他:3個

AMH; 精子形成の進行を抑える

6. まとめ

下水処理場におけるエストロゲン類の効果的な除去方法、医薬品類の実態・挙動把握と除去手法、下水処理レベルが魚類雌性化に及ぼす影響について調査・検討を行い以下の結果を得た。

(1)下水処理工程の後段に好気条件の生物膜法を追加することで効率的なエストロゲン類の除去を試みたところ、D-E1 を効率的に除去するためには、十分な DO 供給により、最終工程における DO 濃度の低下を防ぐように管理することが重要であることが分かった。

(2)下水処理場において医薬品の存在実態調査したところ、調査した 92 物質中、流入水から 86 物質、放流水から 85 物質が検出された。また、流入水及び放流水の中央値が検出下限値以上の 62 物質について除去率を求めたところ、除去率 100%の acetaminophen、rednisolone、caffeine を含む 16 物質が除去率 80%以上、60%以上 80%未満は 15 物質、40%以上 60%未満は 6 物質、10%以上 40%未満は 8 物質であった。また、除去率が 0%から 10%で下水処理により殆ど除去されない物質は 3 物質あった。除去率がマイナスとなり下水処理を受けることによって検出されるようになった医薬品が 14 物質あった。

(3)一般的に用いら、また、水生生物に対する生態リスクが大きい可能性が指摘されている医薬品（10 物質）について SRT の違い（7 日と 21 日）による医薬品除去特性の把握調査を行ったところ、SRT の違い（7 日と 21 日）による医薬品除去率の違いはみられなかった。また、活性汚泥処理における調査医薬品の除去特性は以下のとおりであった。クロタミトンは除去率 20%未満、クラリスロマイシン、スルファメトキサゾールの 2 物質は去率 20%以上で 50%未満、レボフロキサシンは除去率 50%以上、80%未満、ベザフィブラート、カフェイン、イブプロフェン、トリクロサンの 4 物質は除去率 80%以上であった。また、アジスロマイシン、ケトプロフェンの 2 物質については、本調査結果と既往の調査結果がことなることから詳細な調査が必要な物質とした。

(4)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。

(5)下水処理の生物処理プロセスを経た後の下水処理水に対して、化学的手法である塩素処理を適用し、下水処理水中に残存する医薬品類の除去率を向上させる手法を検討した。分析対象とした医薬品類 94 物質の総濃度でみた除去率は、有効塩素濃度が 2.5mg/L の場合より、5.0mg/L の場合の方が高くなったが、5.0mg/L の場合と 7.5mg/L の場合を比較すると、大きな差がみられなかった。また、接触時間について見てみると、有効塩素濃度が 2.5mg/L 以上の場合には、接触時間を 15 分間以上の任意の時間に設定しても、医薬品類 94 物質の総濃度でみた除去率は影響を受けないことがわかった。

(6)下水処理レベルと魚類雌性化の関係を把握するため、流動型担体処理による高度処理水にメダカを曝露したところ、ビテロゲニンタンパク、エストロゲン応答遺伝子の誘導および精巣卵は観察されず、本高度処理によって、下水処理水の魚類雌性化影響を防止できることが明らかになった。

＝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，44，307-312.
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) 岡安祐司，小森行也，鈴木穣，下水処理工程におけるエストロゲン関連物質の変化に与える DO 濃度の影響，第 42 回下水道研究発表会講演集，pp.64-66, 2005
8) 岡安祐司，小森行也，鈴木穣，活性汚泥処理におけるエストロゲンの挙動について，第 40 回日本水環境学会年会講演集, pp.247, 2006
9) 岡安祐司，中田典秀，小森行也，鈴木穣，活性汚泥処理の運転条件とエストロゲンの挙動の関係について，第 43 回下水道研究発表会講演集，pp.64-66, 2006
10) 岡安祐司、小森行也、鈴木穣(2007) 活性汚泥処理における嫌気条件下のエストロゲンの挙動について、第 41 回日本水環境学会年会講演集、pp.464
11) 日本下水道協会(2002) 下水試験方法（追補暫定版）－2002 年版－、pp.275-299
12) Koya Komori et al., Analysis and Occurrence of Estrogen in Wastewater in Japan, Water Science & Technology (50) 5, 93-100, 2004
13) 厚生労働省医政局編集，薬事工業生産動態統計年報，じほう （2004）
14) 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
15) 福永彩，山下尚之，田中宏明（2006）藻類生長阻害試験を用いた医薬品の毒性評価，環境工学研究論文集，43, 57-63
16) 南山瑞彦，小森行也，北村友一，村山康樹 (2010) 生理活性物質の水環境中での挙動と生態影響の評価方法に関する研究，土木研究所資料第 4191 号，180-189
17) 宝輪勲、宮崎沙頼、小西千絵、中田典秀、小森行也、田中宏明 (2007) GC-MS による水環境中の PPCP s 一斉分析法の基礎的検討、第 16 回環境化学討論会講演要旨集、pp.774-775
18) 成宮正倫，奥田隆，中田典秀，山下尚之，田中宏明，佐藤和志，末岡峯数，大岩俊雄：下水処理過程における医薬品の存在実態と動態，環境工学研究論文集，46, 175-185 (2009)
19) 八十島誠，小林義和，中田典秀，小森行也，鈴木穣，田中宏明 (2005) 下水処理場における人用抗生物質の挙動，環境工学研究論文集，42, 357-368
20) 小林義和，奥田隆，山下尚之，田中宏明，田中周平，藤井滋穂，小西千絵，宝輪薫 (2006) 都市下水の高度処理システムにおける医薬品の動態，環境工学研究論文集，43, 65-72

21) N. Nakada et al.(2006) Pharmaceuticals chemicals and endoocrine disrupters in municipal wastewater in Tokyo and their removal during activated sludge treatment, Water Research, 40, pp.3297-3303
22) A. Harada et al.,(2008) Biological effects of PPCPs on aquatic lives and evaluation of river waters affected by different wastewater treatment levels, Water Science & Technology, 58(8), pp.1541-1546

下水道における微量化学物質の安全性評価に関する調査

研究予算：受託（下水道事業調査費）
担当チーム：水環境研究グループ（水質）
研究担当者：南山 瑞彦、小森 行也、北村 友一
村山 康樹、朴 昶範

1 はじめに

近年、医薬品類や生活ケア用品（PPCPs）をはじめとする、水環境中の微量化学物質に関する研究、報告が多くなされるようになり、下水処理水中にも多種の化学物質が微量ながら存在していることが明らかになってきている。下水処理水による人や水生生態系への影響を未然に防止し、健全な水環境を確保するためには、従来からの個別物質規制に加え、多様な化学物質を総合的に管理、規制することが必要となると考えられる。このような状況のなか、生物応答を利用した排水管理手法（Whole Effluent Toxicity：WET 手法）が欧米を中心に導入されており、わが国においても検討が行われている[1)]。

本調査では、処理条件の異なる2系列の活性汚泥処理実験装置を用いて実下水の処理実験を行い、流入下水、生物反応槽混合液、二次処理水及び塩素消毒水を対象に、藻類生長阻害試験、魚類遺伝子発現解析試験の2種類のバイオアッセイを実施し、影響評価を試みた。併せて、過去の調査において水生生物に対する生態リスクが指摘されている医薬品類を対象に定量分析を実施し、生態リスク評価を試みた。

2 調査方法

2.1 活性汚泥処理実験実験装置

2.1.1 実験装置

本調査で用いた活性汚泥処理実験装置は、最初沈殿池（500L）、生物反応槽（500L×4槽）、最終沈殿池（700L）、塩素接触槽（100L）から構成されており、同じ仕様の装置が2系列、並列設置されている（以下、I系、II系という）。概要を図2.1に示す。

2.1.2 運転概要

本調査では、分流式下水道として整備され主に生活排水が流入する下水処理場の生下水を、流入下水として用いた。また、生物反応槽は、第1槽から第4槽まで全面エアレーションを行い、標準活性汚泥法による処理を行った。

水理学的滞留時間（HRT）がI系、II系ともに7時間程度となるように流入水量を制御し、また、汚泥滞留時間（SRT）がI系で7日程度、II系で20日程度を目標に、流入水量、余剰汚泥引抜量の管理を行った。塩素接触槽では、I系、II系ともに接触槽の流出水で総残留塩素濃度が0.1mg/L程度となるように、次亜塩素酸ナトリウム溶液を連続注入した。

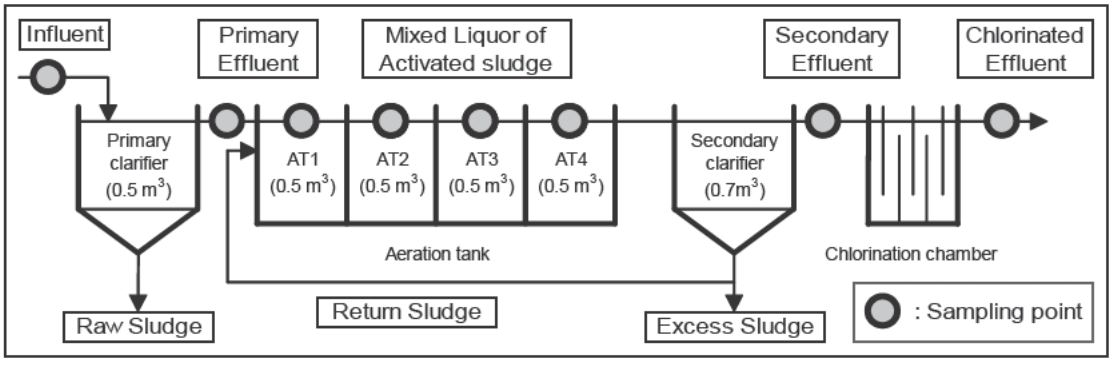


図2.1 活性汚泥処理実験装置の概要

表2.1　分析対象とした医薬品類10物質

物質名		CAS No.	主な効用
Azithromycin	アジスロマイシン	83905-01-5	マクロライド系抗生物質
Bezafibrate	ベザフィブラート	41859-67-0	高脂血症治療薬
Caffeine	無水カフェイン	58-08-2	中枢興奮・強心・利尿剤
Clarithromycin	クラリスロマイシン	81103-11-9	マクロライド系抗生物質
Crotamiton	クロタミトン	483-63-6	かゆみ止め軟膏
Ibuprofen	イブプロフェン	15687-27-1	消炎・鎮痛・解熱剤
Ketoprofen	ケトプロフェン	22071-15-4	消炎・鎮痛・解熱剤
Levofloxacin	レボフロキサシン	100986-85-4	フルオロキノロン系合成抗菌剤
Sulfamethoxazole	スルファメトキサゾール	723-46-6	サルファ剤（感染症治療薬）
Triclosan	トリクロサン	3380-34-5	殺菌剤

2.1.3　試料の採水

本調査では、流入下水、最初沈殿池流出水（以下、沈殿下水という。）、生物反応槽第1槽～第4槽の混合液（以下、混合液-1～混合液-4という。）、最終沈殿池流出水（以下、二次処理水という。）、塩素接触槽流出水（以下、塩素処理水という。）を対象とした。

調査は、2011年2月1日～2月2日（第1回調査）、及び2011年2月8日～2月9日（第2回調査）の2回実施した。試料は2時間間隔で12回の採水を行った後、等量混合を行い24時間のコンポジット試料とした。

2.1.4　水質分析

本調査では、過去の知見[2),3),4)]を基に、水生生物に対する生態リスクが大きい可能性が指摘されている医薬品類を選定し、LC/MS/MS法及びGC/MS法による定量分析を行った[5)]。対象は、表2.1に示す10物質である。

また、処理の状況を把握するための一般水質項目として、浮遊物質量（SS, MLSS）、有機汚濁指標（BOD, CODMn, DOC）、各態栄養塩濃度（NH_4-N, NO_2-N, NO_3-N, T-N, PO_4-P, T-P）の分析を行った[5)]。

2.1.5　藻類生長阻害試験

藻類を供試生物とし、ばく露期間中の増殖速度に対する阻害を観察する「藻類生長阻害試験」は、経済協力機構（OECD）によって標準化されており[6)]、「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律」（化審法）における生態毒性試験法としても規定されている。本調査では、藻類生長阻害試験に広く用いられている淡水性の単細胞緑藻ムレミカヅキモ（*Pseudokirchneriella subcapitata*，NIES-35株）を供試生物とした。

（1）試料の前処理

下水や下水処理水では、一般に栄養塩類の濃度が高く、また処理水では生態毒性の程度が比較的小さいことからことから、処理に伴う生態影響の変化を適切に評価、検討することは困難である。そこで本研究では、医薬品類などの溶解性有機物質に由来する毒性に注目し、吸着樹脂を用いた固相抽出・濃縮法により試料中の有機物質などを濃縮した後、試験に供した。

コンポジット採水試料（流入下水及び沈殿下水；250mL、混合液-1～4；500mL、二次処理水及び塩素処理水；1000mL）をガラス繊維ろ紙(Whatman 社、GF/B)で濾過し、固相カートリッジ(Waters 社製、OASIS-HLB)に通水した後、メタノールで溶出した溶出液を乾固し、100 μL のジメチルスルホキシド(DMSO)に再溶解することで濃縮試料を得た。各試験では、この濃縮試料を適宜希釈して用いた。

（2）ばく露実験と毒性値の算出

濃度調整した試料について、Yamashita ら[7)]の方法を参考に、96 ウェルマイクロプレートを培養容器とする手法を適用し、温度 24℃、照度 4000Lux、振とう速度 120rpm の条件下、サンプルの段階希釈系列（公比 2）中でばく露試験を行った。ばく露期間中は、24 時間毎にマイクロプレートリーダー

(Perkin Elmer 社、ARVO SX-1420）を用いて各ウェルの吸光度（450nm）を測定し、細胞濃度に換算して生長速度を算出した。

ばく露開始後 72 時間の生長速度とばく露濃度の関係から、日本環境毒性学会から無料配布されているソフトウェア ECOTOX-STATICS Ver2.6d [8] を用い、半数影響濃度（EC_{50}）を求めた。

2.1.6 魚類遺伝子発現解析試験

化審法や農薬取締法など生態リスク評価において広く用いられているメダカ（*Oryzias latipes*）を供試生物とした。メダカの生体影響の評価法の選定にあたっては、これまでの研究から、下水処理水にばく露したメダカの急性毒性（生死による判定）は観察されず、急性毒性では下水処理工程の生体影響低減効果は評価できないことから、本調査では生体反応をより高感度で検出可能な遺伝子発現解析により下水処理過程での生体毒性低減効果の評価を試みた。

（1）ばく露実験と毒性値の算出

遺伝子発現解析では、第 1 回調査（2011 年 2 月 1 日～2 月 2 日）時の、流入下水、二次処理水（I 系／II 系）、塩素処理水（I 系／II 系）の 5 試料を対象とした。

メダカのばく露容器には容量 3L 強のガラス水槽を用い、これにばく露水 3L を入れ、6 匹の雄メダカを半止水式（1 日に 1 回、ばく露水を交換）で 96 時間ばく露した。各ばく露水について、ばく露開始前後の pH、DO、電気伝導度、塩素濃度を測定した。ばく露期間中は、行動および外観の観察を行い異常個体、死亡個体の有無を確認した。ばく露 96 時間後、メダカを取り出して氷冷麻酔し、全長、体長、魚体重を測定した後、RNAlater®（RNA の分解を抑える試薬）中で肝臓と精巣の摘出を行った。摘出した肝臓と精巣は、予め重量を測定してある RNAlater®入りの 1.5mL マイクロチューブに一匹毎に浸けた。各臓器を入れた 1.5ml チューブの重量を測定した後、RNA 抽出まで-30°C 冷凍庫に保存した。

表 2.2 にメダカのばく露条件を示す。

表2.2　メダカばく露実験の条件

試験魚	d-rR系雄メダカ（4－5ヵ月）
採水日時	2011年2月1日～2011年2月2日 （2時間間隔、24時間コンポジット採水）
ばく露水	脱塩素水道水（コントロール） 流入水 二次処理水（I系、II系） 塩素処理水（I系、II系）
ばく露時間	96時間（4日間）
ばく露条件	半止水式（1換水/日）
ばく露匹数	6匹／曝露区
照明	明期16時間／暗期8時間
給餌	なし
エアレーション	あり（微エアレーション）
遺伝子解析臓器	肝臓、精巣

（2）RNA抽出と遺伝子発現解析の方法

各臓器からの RNA 抽出は、RNeasy® Mini Kit（QIAGEN 社製）を用いて、1 個体毎に肝臓と精巣から RNA の抽出を行った。その後、6 匹の RNA の一部を 1 試料に混合し、メダカ DNA マイクロアレイ（メダカの公共データベース DFCI から約 4 万のターゲットを搭載したもの。ただし本実験で使用したマイクロアレイは、1 遺伝子 1 プローブの対応となってはいない。）を用いて、網羅的遺伝子発現解析を行った。

マイクロアレイの試験操作および解析法はアジレント社のマニュアル（遺伝子発現解析プロトコル（1 色法）Ver5.7 Quick Amp Labeling kit）に従った。各組織での遺伝子発現強度を数値化するためにグローバルノーマライズ（全遺伝子発現強度の 75%値を 1 として標準化）を行い、各下水試料ばく露区について、脱塩素水道水（コントロール）に対する各遺伝子の発現比を算出し、下水試料ばく露による変動遺伝子を抽出した。

3　結果と考察

3.1　水質分析の結果

3.1.1　一般水質項目

一般水質項目の分析結果の一部を、表3.1及び表3.2に示す。水温、pH、残留塩素濃度は試料採水時の値の範囲、SS、CODMn、NH_4-N、T-N、T-Pはコンポジット試料の値である。

第1回、第2回を通じて、I系、II系ともに、冬季における標準活性汚泥法の処理水として概ね一般的な水質であった。CODMn除去率はI系（第1回：78%、第2回：

表3.1　一般水質項目（第1回調査；2月1日～2月2日）

		Water	pH	Residual Chlorine		SS	COD_{Mn}	NH_4-N	T-N	T-P
		Temp. [°C]	[-]	Free [mg/L]	Total [mg/L]	[mg/L]	[mg/L]	[mg/L]	[mg/L]	[mg/L]
Raw Sewage		16.5 - 18.0	6.1 - 6.9	--	--	78	54.	21	31	3.1
Ⅰ系	Settled sewage	16.2 - 16.7	6.5 - 6.7	--	--	76	51.	21	30	3.1
	Mixed Liqour (AT4)	14.9 - 15.5	6.3 - 6.6	--	--	1800	--	--	--	--
	Secondary Effluent	14.7 - 16.7	6.3 - 6.8	--	--	8	12.	11	17	1.4
	Chlorined Effluent	14.5 - 15.8	6.4 - 6.7	0.07 - 0.50	0.53 - 0.82	7	13.	11	17	1.5
Ⅱ系	Settled sewage	16.3 - 16.7	6.6 - 6.9	--	--	83	57.	21	30	3.1
	Mixed Liqour (AT4)	14.8 - 15.3	6.2 - 6.6	--	--	2500	--	--	--	--
	Secondary Effluent	14.5 - 16.2	6.3 - 6.7	--	--	3	6.8	10	15	0.8
	Chlorined Effluent	14.4 - 15.9	6.4 - 6.7	0.11 - 0.69	0.22 - 0.91	2	6.5	10	16	0.8

表3.2　一般水質項目（第2回調査；2月8日～2月9日）

		Water	pH	Residual Chlorine		SS	COD_{Mn}	NH_4-N	T-N	T-P
		Temp. [°C]	[-]	Free [mg/L]	Total [mg/L]	[mg/L]	[mg/L]	[mg/L]	[mg/L]	[mg/L]
Raw Sewage		16.1 - 17.5	7.2 - 7.4	--	--	82	96.	21.	29	2.6
Ⅰ系	Settled sewage	16.0 - 17.1	7.1 - 7.4	--	--	80	97.	21.	30	2.7
	Mixed Liqour (AT4)	15.7 - 17.0	6.2 - 7.1	--	--	1950	--	--	--	--
	Secondary Effluent	15.1 - 15.6	6.8 - 7.3	--	--	7	17.	4.9	16	1.2
	Chlorined Effluent	15.0 - 15.6	6.8 - 7.2	0.03 - 0.07	0.07 - 0.18	7	17.	4.9	16	1.2
Ⅱ系	Settled sewage	16.2 - 17.0	7.1 - 7.4	--	--	100	98.	21.	32	2.9
	Mixed Liqour (AT4)	15.6 - 17.2	6.2 - 7.0	--	--	2080	--	--	--	--
	Secondary Effluent	15.1 - 15.7	6.9 - 7.3	--	--	7	15.	9.6	14	0.2
	Chlorined Effluent	15.0 - 15.5	6.9 - 7.3	0.02 - 0.08	0.04 - 0.32	14	18.	9.5	15	0.4

82%、以下同様の順）、II系（87%、84%）、T-N除去率はI系（45%、45%）、II系（52%、52%）とほぼ同程度であった。一方、T-P除去率は、I系（55%、54%）に比べてII系（74%、92%）のほうが高かったが、これは比較的高いMLSS濃度により生物反応槽内に部分的な嫌気ー好気的環境が形成されていたものと考えられる。また、残留塩素濃度はI系、II系ともに、第1回調査に比べて第2回調査時のほうが低い傾向が見られた。第2回調査時にはSSやCODMnなどの値が高かったことから、これらにより消費されたものと考えられる。

3.1.2　医薬品類

医薬品類10物質について、コンポジット試料中の溶存態濃度の分析結果を、表3.3及び表3.4に示す。

個々の分析対象物質について挙動を見ると、I系とII系について各2調査回、延べ4実験系の何れにおいても、分析対象の各物質はそれぞれ同様の挙動を示していた。ばっ気沈殿処理工程（沈殿下水→二次処理水）における除去をみると、除去率は物質により大きく異なっており、4実験系の平均値で、最大はCaffeineの99.8%、最小はCrotamitonの-12.9%であった（図3.1）。一方、最初沈殿池（流入下水→沈殿下水）、塩素接触槽（二次処理水→塩素処理水）では、10物質とも、大きな濃度の変化は見られなかった。

3.1.3　対象物質の生態リスク評価

各試料中の溶存態医薬品類10物質について、土木研究所における過去の研究[4]で把握された水生生物に対する予測無影響濃度を基に、「化学物質の環境リスク初期評価ガイドライン（平成22年1月版）」[9]に準じてハザード比を算出した（式3.1）。

$$HQ = MEC / PNEC \qquad (式\ 3.1)$$

ここで、ハザード比HQは、生物に対して影響を及ぼ

表3.3　医薬品類10物質の溶存態濃度（第1回調査；2月1日～2月2日）

(ng/L)

		Azithro-mycin	Bezafibrate	Caffeine	Clarithro-mycin	Crotamiton	Ibuprofen	Ketoprofen	Levoflo-xacin	Sulfametho-xazole	Triclosan
Raw Sewage		230	4,630	51,400	1,220	775	1,220	940	1,430	321	1,440
Ⅰ系	Settled sewage	266	3,680	47,900	1,290	822	1,230	928	1,280	341	1,390
	ML-AT1	254	1,810	17,800	825	967	371	651	9,960	290	987
	ML-AT2	242	1,320	1,760	988	1,160	140	573	11,200	205	998
	ML-AT3	240	824	*248	904	1,100	42 1	532	11,300	*130	1,030
	ML-AT4	270	582	n d	918	1,090	*21 6	495	9,180	*132	2,260
	Secondary Effl.	310	857	71 7	888	996	44	863	648	167	255
	Chlorined Effl.	276	855	45 8	975	1,000	43 1	865	667	155	251
Ⅱ系	Settled sewage	325	3,730	53,200	1,370	791	1,220	859	1,590	347	1,340
	ML-AT1	397	1,700	19,900	1,010	890	346	719	11,600	351	1,150
	ML-AT2	397	1,170	10,500	998	1,140	248	668	10,700	196	1,390
	ML-AT3	308	795	961	1,000	1,180	50 1	672	12,100	212	1,370
	ML-AT4	310	652	*300	869	1,000	*21 6	671	12,600	*141	1,410
	Secondary Effl.	274	758	121	823	983	34 4	1,080	702	204	484
	Chlorined Effl.	277	780	120	814	1,000	37	1,030	978	172	480

*は定量下限値未満、n.d.は不検出

表3.4　医薬品類10物質の溶存態濃度（第2回調査；2月8日～2月9日）

(ng/L)

		Azithro-mycin	Bezafibrate	Caffeine	Clarithro-mycin	Crotamiton	buprofen	Ketoprofen	Levoflo-xacin	Sulfametho-xazole	Triclosan
Raw Sewage		328	3,680	49,600	1,280	1,130	1,280	888	1,790	402	1,450
Ⅰ系	Settled sewage	346	3,900	47,100	1,340	1,150	1,270	846	1,650	389	1,260
	ML-AT1	244	2,060	14,700	764	1,400	310	568	8,420	352	1,060
	ML-AT2	165	1,760	4,060	863	1,260	207	580	7,800	211	1,040
	ML-AT3	185	1,440	442	992	1,380	97 2	545	8,100	*138	1,060
	ML-AT4	225	978	*110	919	1,270	58 8	504	7,520	*131	1,110
	Secondary Effl.	278	1,870	120	1,010	1,170	134	872	753	225	322
	Chlorined Effl.	361	1,870	103	1,070	1,170	139	866	766	207	323
Ⅱ系	Settled sewage	268	4,590	49,700	1,380	1,160	1,260	907	1,730	335	1,430
	ML-AT1	299	1,470	14,100	891	1,060	259	579	15,100	236	1,260
	ML-AT2	347	1,240	7,270	1,040	1,360	188	619	15,600	251	1,240
	ML-AT3	340	774	452	1,010	1,310	53 6	582	16,200	180	1,230
	ML-AT4	359	550	n d	1,110	1,260	*17 2	482	15,400	209	1,450
	Secondary Effl.	306	1,100	85	830	1,210	39 3	828	703	278	450
	Chlorined Effl.	274	901	75 6	823	1,060	46 3	841	686	230	430

*は定量下限値未満、n.d.は不検出

さないと予想される濃度PNEC（Predicted no-effect concentration）に対する試料中の対象物質の濃度MEC（Measured environmental concentration）の比であり、HQが1以上の場合には、水生生物に対する影響が懸念されることを意味する。ガイドラインでは、1≦HQの場合「詳細な評価を行う候補と考えられる」、0.1≦HQ＜1の場合「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。

結果を図3.2に示す。本調査で対象とした10物質はいずれも過去の研究において生態リスクの懸念が指摘されている物質であり、本調査においても、流入水では10物質全て、処理水中ではBezafibrate、Caffeine、Ibuprofenを除く7物質で、HQが0.1を上回っていた。特に、Azithromycin、Clarithromycin、Triclosanの3物質で

は、処理水においてもHQが1を大きく上回っており、水生生物に対する影響が懸念される。流入水と処理水を比較した場合、濃度の低減に併せて生態リスクも低減されているものの、生態系保全の観点からは、より高度な除去技術が必要となる可能性も考えられる。

3.1.4 まとめと今後の課題

水生生物に対する環境リスクの可能性が指摘されている医薬品類を選定し、SRTの異なる条件で運転された活性汚泥処理実験装置から得られた下水試料を対象に定量分析を行い、生態リスク評価を行った。本調査で得られた知見は以下のとおりである。

1) 調査対象とした医薬品類１０物質の除去率に対して、本調査で検討したSRTの差が及ぼす影響は小さかった。
2) 通常の下水処理場で行われている注入率・接触時間における塩素消毒では、医薬品類の除去効果は小さいことが確認された。
3) 医薬品類の除去率は、物質により大きく異なることが確認された。CaffeineやIbuprofenなどは標準活性汚泥法によりほぼ完全に除去されていた一方で、CrotamitonやKetoprofen等のように、ほとんど除去されない物質もあった。
4) 生態リスク評価を行った結果、処理水中において

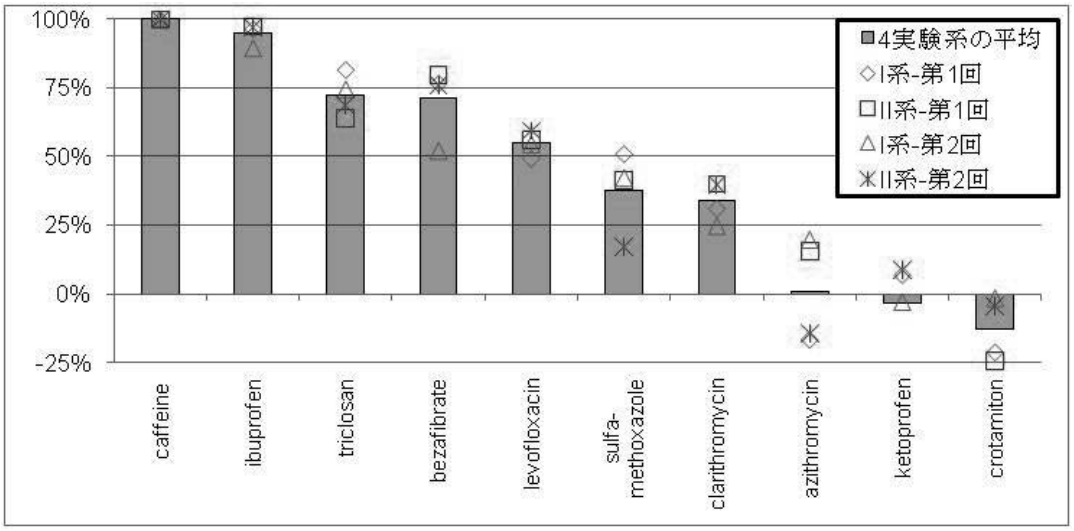


図3.1 ばっ気沈殿処理工程における溶存態医薬品類の除去率

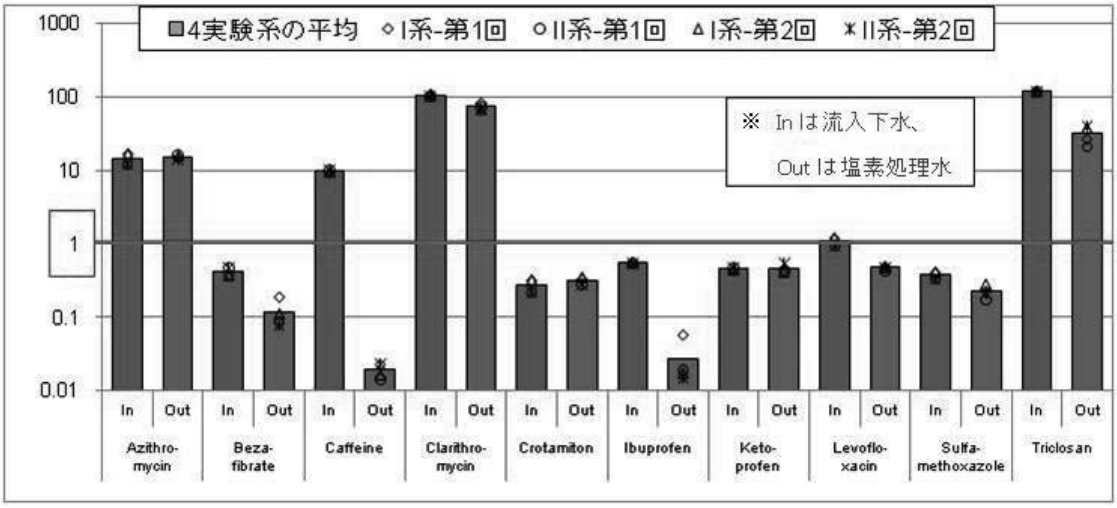


図3.2 流入下水及び塩素処理水中における対象物質のハザード比の比較

もハザード比が0.1以上となる物質があり、特にAzithromycin、Clarithromycin、Triclosanの3物質では1を大きく上回っていた。これら3物質はいずれも抗生物質又は殺菌剤であり、下水処理水が生態系に与える影響を考える上では、これらの物質に注目する必要が高いと考えられる。

水環境中における生理活性物質の挙動に関しては、これまでも精力的に調査が行われてきているが、医薬品類の水生生物に対する毒性情報、特に魚類や甲殻類に対する慢性毒性に関する知見は依然として不足していることから、本調査で用いた無影響濃度においては大きな安全係数が適用されている。このことは安全側に立ったリスク評価であるといえるが、一方ではリスクを過大に評価している可能性もある。適切かつ効率的な対策を図るためにも、引き続き、実態・挙動の調査と併せて毒性情報の収集・整理を進め、より詳細な評価を行うことが必要である。

3.2 藻類生長阻害試験

3.2.1 下水試料の生態毒性

各試料について、医薬品類の分析と同様に、吸着樹脂を用いた固相抽出・濃縮法により分画濃縮を行った上で、藻類生長阻害試験により各試料の半数影響濃度（EC_{50}）及び最大無影響濃度（NOEC）を求めた。さらに、その逆数を取ることで毒性単位TUを算出した（TUa＝1／EC_{50}、TUc＝1／NOEC）。TUaは急性影響の、TUcは慢性影響の視点からみた試料の毒性の強さであり、値が大きいほど毒性が強いことを意味する。

結果を、図3.3に示す。4実験系の何れにおいても、沈殿下水→反応槽混合液-1のステップで毒性が大きく低下していることから、流入下水中において強い生態毒性を示す物質または多くの生態毒性物質が、活性汚泥との接触により、速やかに水相から除去されることが確認された。生物反応槽における時間経過（混合液-1→混合液-4）に伴う毒性の変化は小さいことから、藻類に対する毒性という観点からは、初期吸着の寄与が大きいと考えられる。

一方、反応槽混合液-1→二次処理水のステップにおいて、毒性の増加が見られた。この原因は本調査の結果のみからは不明であるが、試料中のSSの影響や、最終沈殿池における再溶出なども考えられ、今後さらなる検討を行う必要があると考えられる。また、本調査の条件においては、塩素消毒工程（二次処理水→塩素処理水）における毒性の増減は明確には見られなかった。

3.2.2 医薬品類の生態リスク評価との比較

下水の示す生態毒性に対する医薬品類の寄与を検討するため、各試料について3.1.3で求めた調査対象物質のハザード比の合計値（Σ(HQ)）を算出し、3.2.1で求めた毒性単位TUとの比較を行った。ここでハザード比HQは、予測無影響濃度PNECを用いて算出されているため、情報量に応じた安全係数（本調査で用いたPNECの場合100または1000）を内包した値となっていることから、TUについても同様に安全係数を適用した値TU_{AF}を算出して比較に用いた。HQは個別物質の毒性についての、TU_{AF}は試料の全毒性についての予測無影響濃度に対するばく露濃度の比であり、値が大きいほど生態リスク又は毒性が大きいことを示す無次元の値である。

また3.1.2では、内部標準法により前処理工程での回収率などを補正した医薬品類の定量値を示したが、バイオアッセイ試料の前処理においては同様の補正を行うことは出来ない。そこで、回収率補正を行わない絶対検量線法による定量値に基づくハザード比HQ_{ACM}も算出して、併せて比較を行った。結果を図3.4に示す。

絶対検量線法による定量値に基づくハザード比Σ

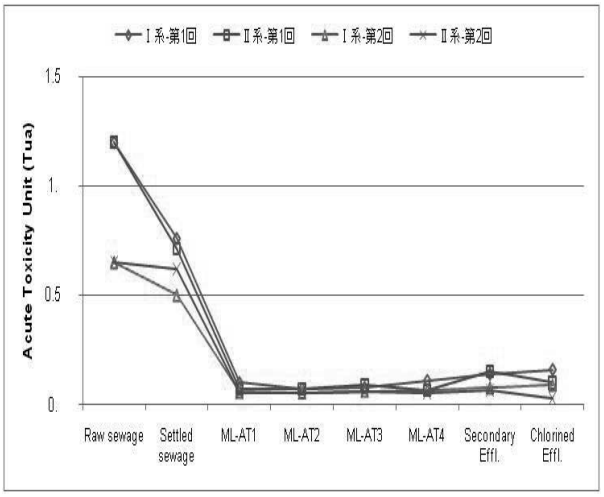


図3.3 処理工程における藻類生長阻害影響の変化

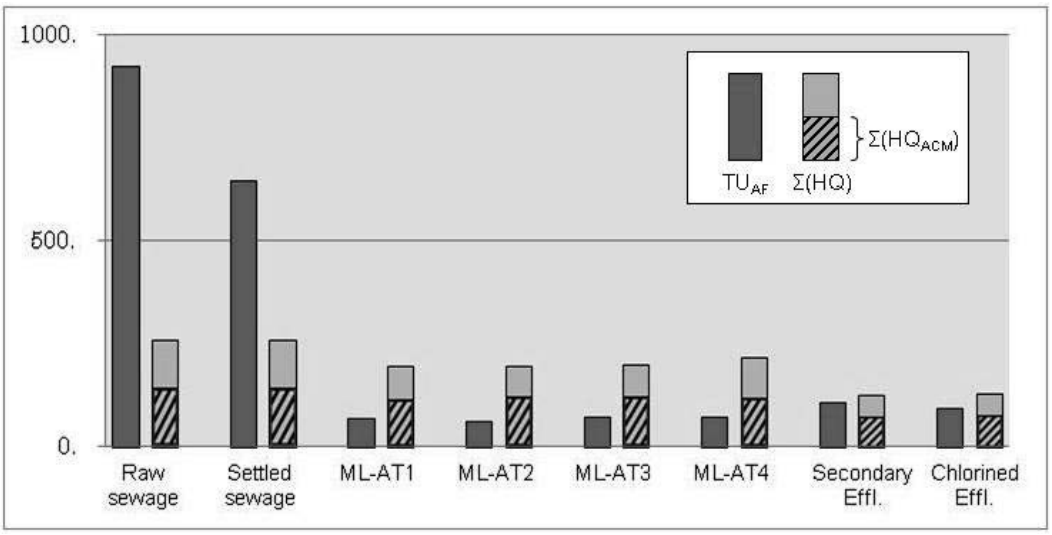


図3.4　各試料中のハザード比Σ(HQ)、$\Sigma(HQ_{ACM})$と毒性TU_{AF}の比較

(HQ_{ACM})は、内部標準法による定量値に基づくハザード比Σ(HQ)と比較して、56~62%の値であった。これは前処理工程での回収率などを反映しているものと考えられ、同様の前処理を行った生態毒性試験においても、毒性物質、特に本調査で対象とした医薬品類の回収率は同程度である可能性がある。

医薬品類のハザード比、及びバイオアッセイにより求めた毒性は、いずれも流入水に比べて処理水では低下しているがその挙動には差が見られ、毒性単位TUAFが活性汚泥処理により大きくかつ速やかに低減されているのに対して、医薬品類のハザード比の低減の程度はTUAFに比べて小さい。その結果、TU_{AF}に対するΣ(HQ)及び$\Sigma(HQ_{ACM})$の比は、流入下水ではそれぞれ28%と16%であるのに対して、塩素処理水ではそれぞれ136%と79%と、その寄与率は約5倍大きい。

以上の結果から、本調査で検討した条件下での標準活性汚泥処理では医薬品類、特に今回対象とした抗生物質等の生態リスクを十分低減することは困難であると考えられる。また、処理水において、全毒性に基づく生態リスクに対して医薬品類の生態リスクが占める割合が大きいことから、下水処理水の生態影響を検討する上では、今回調査対象とした医薬品類の存在実態、挙動に注目する必要が示された。

3.2.3　まとめと今後の課題

SRTの異なる条件で運転された活性汚泥処理実験装置から得られた下水試料を対象に、藻類生長阻害試験により生態毒性を把握し、さらに医薬品類の定量分析に基づく生態リスクとの比較を行った。本調査で得られた知見は以下のとおりである。

1) 藻類に対する毒性は、標準活性汚泥法による処理で大きく低減されることが確認された。
2) 特に、生物反応槽の初期における毒性低下が顕著であることから、下水の水相における生態毒性の低減については、初期吸着の寄与が大きい可能性が考えられる。
3) 本調査の条件においては、SRTの差が生態毒性の低減に及ぼす影響は小さかった。また、塩素消毒工程（二次処理水→塩素処理水）における毒性の増減も見られなかった。
4) 処理水においては、生物処理による除去率が比較的小さく、生態毒性の強い医薬品類の寄与が相対的に大きいことが示された。

標準活性汚泥処理によって、下水の生態毒性が大きく低減されることが確認された一方で、生物処理後の処理水では微量生理活性物質の生態リスクに対する寄与が大きい可能性が示された。今後、下水処理水の生態影響をより低減するためには、これらの物質に対する対策、処理手法などが必要となる可能性がある。

3.3 魚類遺伝子発現解析試験

3.3.1 ばく露試料の水質

ばく露試料の水温、pH、DO、電気伝導度、塩素濃度の測定結果を表3.5に示す。ばく露実験期間中の水温は、全ての試験区で23.5～25.0°Cの範囲内であり、概ね24.0°Cが維持された。pHは、全ての試験区で7.0 ～ 7.5付近であった。DOは、流入下水区で平均6.3mg/Lと低くなったものの、飽和溶存酸素濃度の約70%には達していた。電気伝導度は、脱塩素水道水と下水試料で異なり、下水試料の方が約2倍高かった。塩素濃度は、塩素処理水（II系）が塩素処理水（I系）より5倍程度高くなっていた。

3.3.2 肥満度（CF）、肝重量指数（HSI）、生殖腺重量指数（GSI）

全ての試験区で、死亡個体、行動および外観に異常が観られた個体はなかった。各試験区の肥満度（CF）、肝重量指数（HSI）と生殖腺重量指数（GSI）を図3.5に示す。肥満度（CF）、肝重量指数（HSI）と生殖腺重量指数（GSI）については、 脱塩素水道水（コントロール）と各下水試料ばく露区間で有意な差はみられなかった。

3.3.3 肝臓における遺伝子の発現変動

（1）下水試料ばく露による発現変動遺伝子の抽出

各ばく露区の雄メダカの肝臓中の遺伝子発現強度を、DNA マイクロアレイを用いて網羅的に測定し、コントロール区と各ばく露区の遺伝子発現強度の違いから、各下水試料による変動遺伝子を抽出した。

図 3.6 は、変動遺伝子の抽出に使用したコントロール区と各下水試料ばく露区の肝臓中の各遺伝子発現強度のスキャッタプロットである。図中の黒プロットは、流入下水ばく露区で発現強度が増加したものであり、卵母細胞発達に係わる遺伝子（vitellogenin；卵黄前駆タンパク質、卵膜たんぱ

表3.5 ばく露試料の水質分析結果

	脱塩素水道水（コントロール）	流入下水	I系（SRT: 短）		II系（SRT: 長）	
			二次処理水	塩素処理水	二次処理水	塩素処理水
水温 [°C]	24.0 ± 0.9	24.3 ± 0.5	24.3 ± 0.5	24.4 ± 0.6	24.2 ± 0.6	24.1 ± 0.4
pH [-]	7.2 ± 0.3	7.7 ± 0.4	7.3 ± 0.3	7.4 ± 0.3	7.4 ± 0.3	7.4 ± 0.3
DO [mg/L]	7.4 ± 0.8	6.3 ± 0.6	7.2 ± 1.0	7.6 ± 1.2	7.8 ± 1.2	6.9 ± 1.6
電気伝導度 [mS/cm]	0.29 ± 0.00	0.59 ± 0.04	0.58 ± 0.01	0.57 ± 0.02	0.57 ± 0.02	0.58 ± 0.03
全残留塩素 [mg/L]	-	-	-	0.04	-	0.21

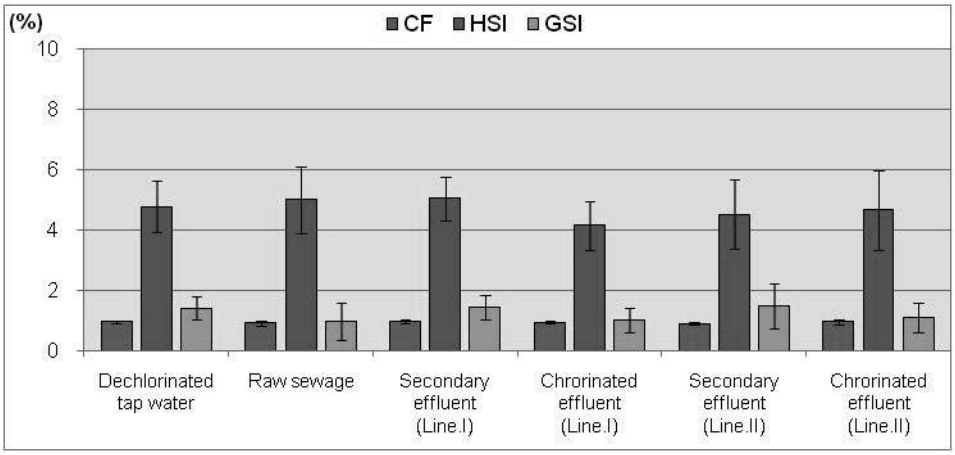


図3.5 各ばく露区の肥満度（CF）、肝重量指数（HSI）、生殖腺重量指数（GSI）

く質；choriogenin）が多く観られた。流入下水、二次処理水（II 系）、塩素処理水（II 系）ばく露区では、コントロール区に比べて発現強度が大きく増加する遺伝子が多く観られた。一方、二次処理水（I 系）、塩素処理水（I 系）にばく露されたメダカの各遺伝子発現強度は、コントロール区と概ね同等の遺伝子発現強度になっていた。

(2) 抽出された変動遺伝子の発現強度

各ばく露区の各遺伝子発現強度をノーマライズ（全遺伝子発現強度の 75%値を 1 として標準化）した後、発現強度を算出した。図 3.7 は、(1) で

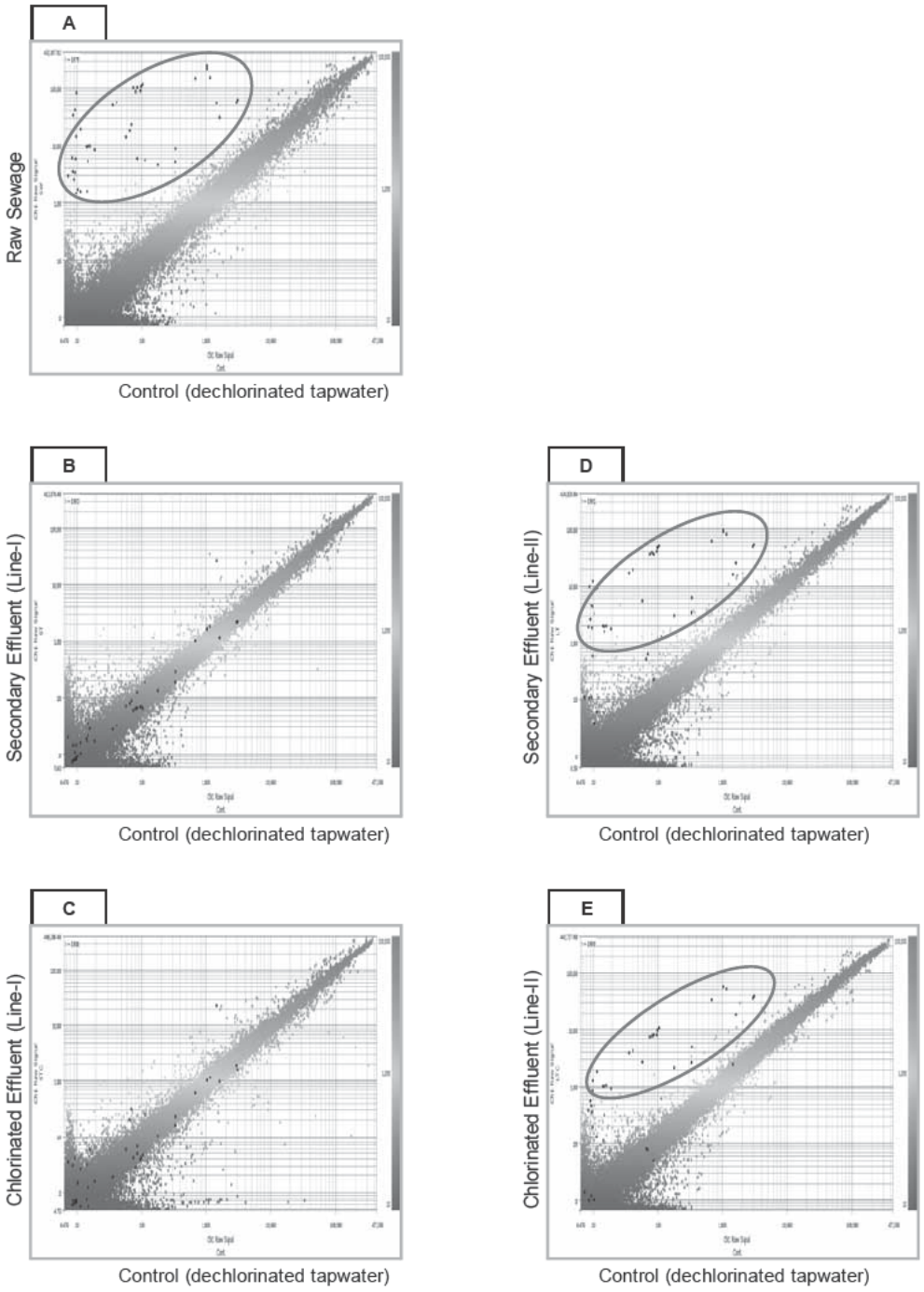


図3.6　脱塩素水道水と各ばく露区の雄メダカ肝臓中の遺伝子発現強度の関係
（A; 流入下水、B; 二次処理水（I系）、C; 塩素処理水（I系）、D; 二次処理水（II系）、E; 塩素処理水（II系））

抽出した遺伝子を Vitellogenin、Choriogenin、Embryonic beta globin（ヘモグロビンを構成するタンパク質の 1 つで、酸素の運搬・貯蔵に関与する。）、Undefined genes（未同定遺伝子）に分類し、各遺伝子群の発現強度を平均したものである。また、図 3.8 は、これらの遺伝子について発現倍率（コントロールばく露区の遺伝子発現を 1 とした比）で整理したものである。コントロールと比べると、流入下水、二次処理水（II 系）、塩素処理水（II 系）にばく露したメダカの肝臓で、Vitellogenin、Choriogenin 遺伝子の発現強度が顕著に高くなっており、これらの処理条件では、女性ホルモン様作用の影響が存在することがわかった。Vitellogenin、Choriogenin 遺伝子の発現強度が、I 系処理水（SRT 約 5 日）より、II 系処理水（SRT 約 15 日）で高くなった原因については、現時点では不明であるが、活性汚泥が嫌気状態になるとエストロゲン様活性が上昇するとの報告[10]もあり、長 SRT の最終沈殿池では活性汚泥の一部が嫌気状態になっていた可能性も考えられる。各ばく露区の雄メダカの肝臓中の遺伝子発現強度を、DNA マイクロアレイを用いて網羅的に測定し、コントロール区と各ばく露区の遺伝子発現強度の違いから、各下水試料による変動遺伝子を抽出した。

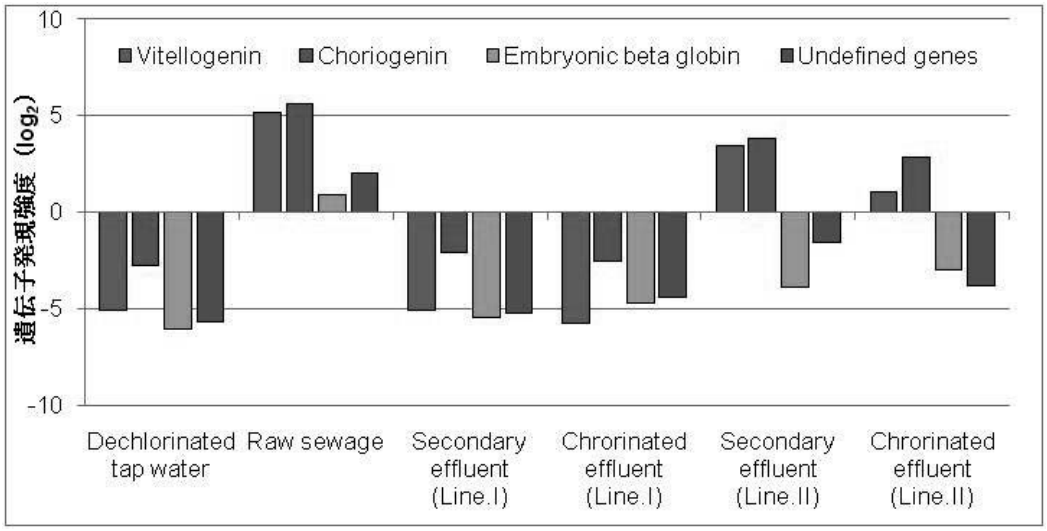


図3.7　各ばく露区のメダカ肝臓中での変動遺伝子の発現強度

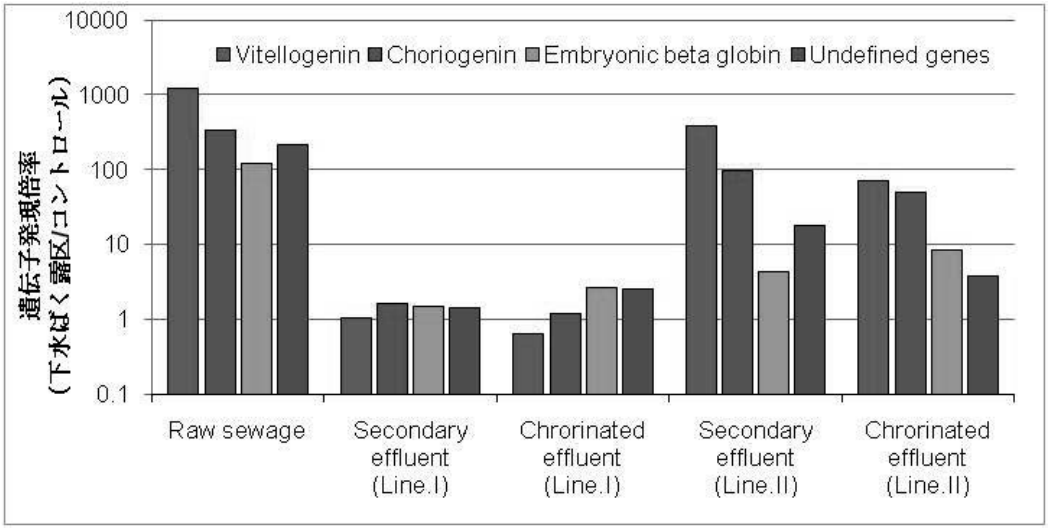


図3.8　各ばく露区のメダカ肝臓中での変動遺伝子の発現倍率

3.3.4　精巣における遺伝子の発現変動

（1）抽出された変動遺伝子の発現強度

雄メダカの精巣での各遺伝子発現強度を 3.3.3 の（1）同様に整理し、下水試料ばく露による変動遺伝子の抽出を行った。図 3.9 は、コントロール区に対する各下水試料ばく露区の遺伝子発現強度のスキャッタプロットである。精巣では、いずれの下水試料ばく露によっても、発現強度が上昇する遺伝子が少ないことがわかった。一方で、流入下水、二次処理水（II 系）、塩素処理水（II 系）ばく露区では、Ca2+結合タンパク質である Parvalbumin 遺伝子などで、コントロール区に比べ

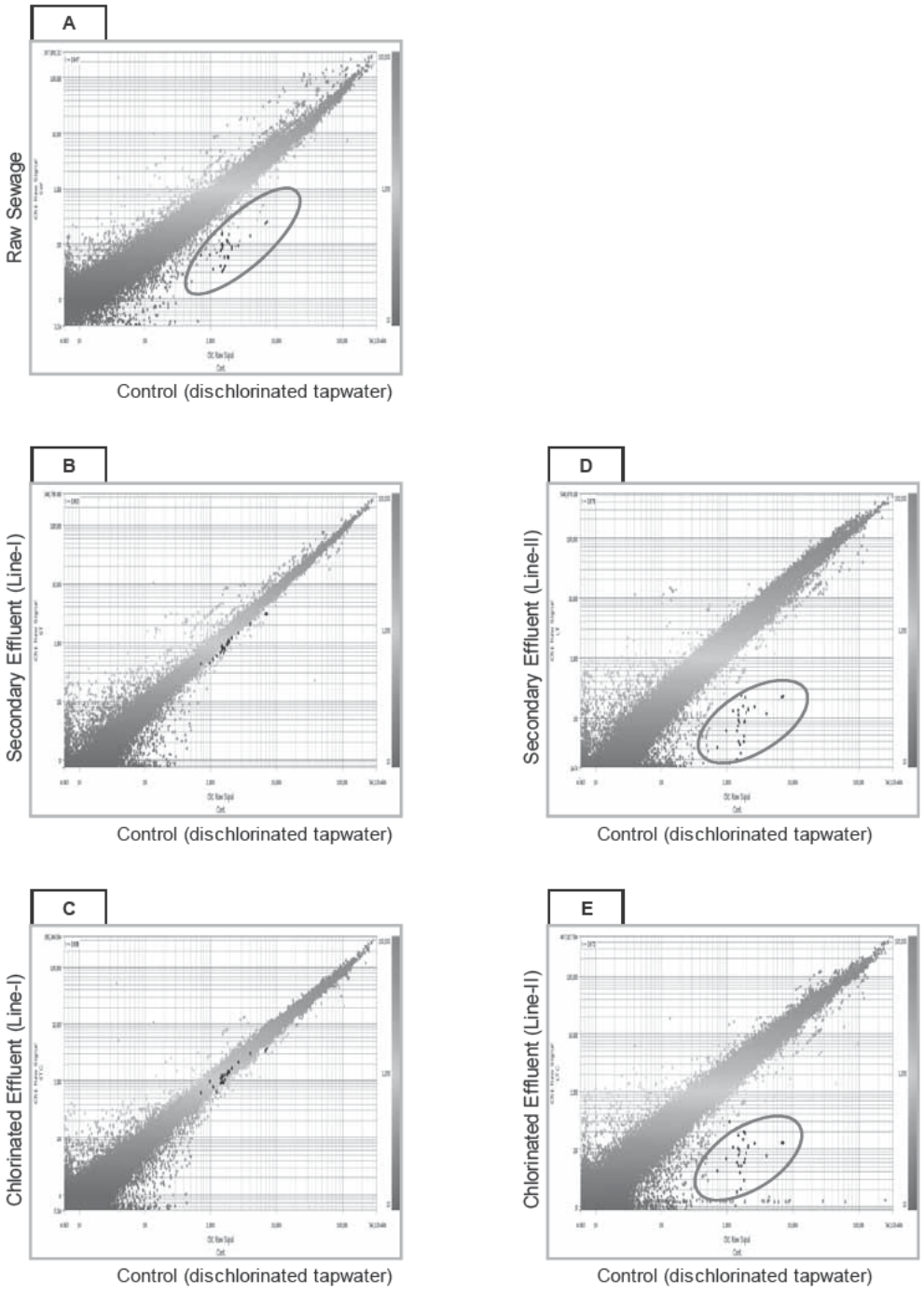


図3.9　脱塩素水道水と各ばく露区の雄メダカ精巣中の遺伝子発現強度の関係

（A; 流入下水、B; 二次処理水（I系）、C; 塩素処理水（I系）、D; 二次処理水（II系）、E; 塩素処理水（II系））

て発現強度の減少が観られた。二次処理水（I 系）、塩素処理水（I 系）にばく露されたメダカでは、コントロール区と概ね同等の遺伝子発現強度となっていた。

（2）抽出された変動遺伝子の発現強度

各ばく露区の精巣での遺伝子発現強度の数値化は、3.3.3 の（2）同様に処理した。結果を図 3.10 に示す。図 3.10 は、各抽出遺伝子を Parvalbumin と Undefined genes（未同定遺伝子）に分類し、各遺伝子発現強度の平均値で示している。流入下水、二次処理水（II 系）、塩素処理水（II 系）にばく露された雄メダカの精巣では、Parvalbumin 遺伝子の発現強度が低下することがわかった。これらのばく露区では、他に未同定遺伝子の発現強度も低下していた。一方で、二次処理水（I 系）、塩素処理水（I 系）のばく露区の精巣におけるこれらの遺伝子発現強度は、コントロール区と概ね同等であった。精巣で抽出されたこれらの遺伝子は、肝臓での遺伝子発現と同様に、短 SRT の条件（I 系処理水）に比べて、長 SRT の条件（II 系処理水）で影響が強く表れる結果となった。また、精巣で抽出されたこれらの遺伝子は、肝臓で抽出された vitellogenin や choriogenin などのエストロゲン応答遺伝子発現と連動した挙動を示す可能性があった。

3.3.5　まとめと今後の課題

下水処理過程における生体毒性の低減効果を把握するため、流入下水、及びSRTの異なる2系列の活性汚泥処理実験装置の二次処理水、塩素消毒水を対象に、メダカのばく露実験を行い、遺伝子レベルでの生体影響の低減効果を調査した。本調査で得られた知見は以下のとおりである。

1) 流入下水にばく露したメダカ肝臓では、卵母細胞発達に係わる遺伝子（vitellogenin；卵黄前駆タンパク質、卵膜たんぱく質；choriogenin）の発現強度の増加がみられたことから、流入下水のメダカに対する影響としては、エストロゲン作用が大きいことがわかった。
2) 流入下水と二次処理水、塩素処理水との比較から、活性汚泥処理によりエストロゲン作用を低減できることがわかった。
3) 短SRTの系列（I系、約5日）と長SRTの系列（II系、約15日）では、二次処理水、塩素処理水にばく露したメダカの肝臓における、vitellogenin やchoriogenin遺伝子の発現強度増加に差異がみられたことから、活性汚泥処理の運転条件によってエストロゲン作用の低減効果は異なると考えられた。
4) 肝臓でvitellogeninやchoriogenin遺伝子の発現強度が増加したばく露区では、精巣のCa2+結合タンパク質であるParvalbumin遺伝子の発現が抑制されていた。

今回の調査では、二次処理水、塩素処理水においても遺伝子発現への影響が現れる場合もあったことから、今後、より詳細な運転条件と生体影響の関係に着目していく必要がある。また、遺伝子発現から生態影響を予測するためには、遺伝子発現と表現系（組織の異常や産卵数、受精率）との関係について、データを蓄積していくことが重要である。

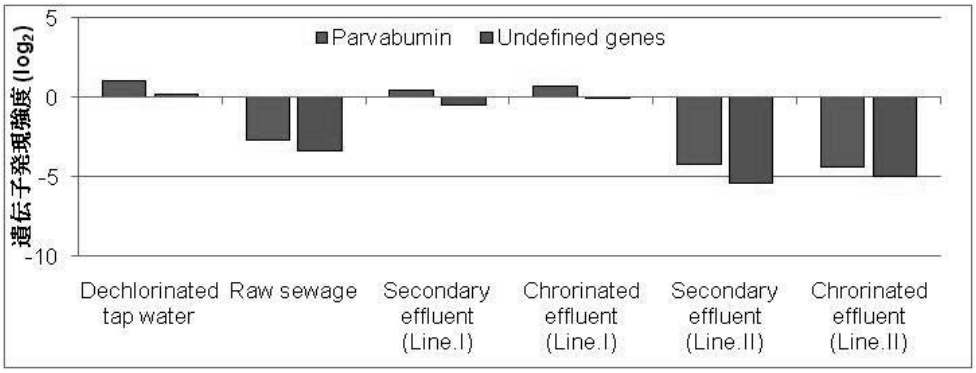


図3.10　各ばく露区のメダカ精巣中での変動遺伝子の発現強度

4 まとめ

本調査では、処理条件の異なる 2 系列の活性汚泥処理実験装置を用いて実下水の処理実験を行い、流入下水、生物反応槽混合液、二次処理水及び塩素消毒水を対象に、藻類生長阻害試験、魚類遺伝子発現解析試験の 2 種類のバイオアッセイを実施し、影響評価を試みた。併せて、過去の調査において水生生物に対する生態リスクが指摘されている医薬品類を対象に定量分析を実施し、生態リスク評価を試みた。

本調査で得られた主な知見は以下のとおりである。

1) 標準活性汚泥処理による医薬品類の除去率は、物質により大きく異なることが確認された。CaffeineやIbuprofenなどは標準活性汚泥法によりほぼ完全に除去されていた一方で、CrotamitonやKetoprofen等のように、ほとんど除去されない物質もあった。
2) 藻類に対する毒性は、標準活性汚泥処理で大きく低減され、特に生物反応槽の初期における毒性低下が顕著であった。
3) 通常の下水処理場で行われている注入率・接触時間における塩素消毒では、医薬品類の除去効果は小さかった。また、毒性の増減もみられなかった。
4) メダカ肝臓における、卵母細胞発達に係わる遺伝子（vitellogenin等）の発現強度から、流入下水ではエストロゲン作用の影響が大きく、活性汚泥処理により作用を低減できることがわかった。
5) 医薬品類10物質の除去率、及び下水の生態毒性低減に対して、本調査で検討したSRTの差（7日程度/20日程度）が及ぼす影響は小さかった。
6) 一方、メダカの肝臓におけるvitellogenin等の遺伝子発現強度には、短SRTの系列と長SRTの系列で差異がみられたことから、活性汚泥処理によるエストロゲン作用の低減効果は、運転条件によって異なると考えられた。
7) 医薬品類10物質について生態リスク評価を行った結果、処理水中においてもハザード比が0.1以上となる物質があり、特に抗生物質Azithromycin、Clarithromycin、殺菌剤Triclosanの3物質では1を大きく上回った。

参考文献

1) 独立行政法人国立環境研究所 : バイオアッセイによって環境をはかる－持続可能な生態系を目指して，*環境儀*，No.**38**（2010）
2) 福永彩 他：藻類生長阻害試験を用いた医薬品の毒性評価，*環境工学研究論文集*，**43**，pp.57-63（2006）
3) 南山瑞彦 他：下水道における微量化学物質の安全性評価に関する調査，平成 21 年度下水道関係調査研究年次報告書集，*土木研究所資料*，No.**4191**，pp.168-179（2010）
4) 南山瑞彦 他：生理活性物質の水環境中での挙動と生態影響の評価手法に関する研究，平成 21 年度下水道関係調査研究年次報告書集，*土木研究所資料*，No.**4191**，pp.180-189（2010）
5) 国土交通省　都市・地域整備局　下水道部：下水道における微量化学物質の安全性評価に関する調査報告書（2011）
6) OECD: Guidelines for the Testing of Chemicals. Guideline 201. Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test (2006)
7) Yamashita, N. *et al*.: Effects of antibacterial agents, levofloxacin and clarithromycin, on aquatic organisms, *Water. Sci. Technol.*, **53**, pp.65-72 (2006)
8) 吉岡義正： Ecotox-Statics ver.2 x，*環境毒性学会誌*，**4**(2)，p.113（2001）
9) 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 22 年 1 月版)，pp.19-25（2010）
10) 岡安祐司 他：活性汚泥処理における嫌気条件下のエストロゲンの挙動について，*第 41 回日本水環境学会年会講演集*，p.464（2007）

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：南山瑞彦、小森行也、北村友一、村山康樹
鈴木穣、北村清明

【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。本研究では、医薬品等の生理活性物質の分析法を開発し、水環境中での実態把握と挙動解明を行うとともに、これらの物質が水生生態系に対して与える影響の評価手法を提案することを目的とした。
キーワード：環境リスク、医薬品、分析法、実態把握、バイオアッセイ、生態影響評価

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、様々な生物種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。

2. 医薬品分析方法の開発

2. 1 医薬品 95 種類の一斉分析法の開発

2.1.1 目的

医薬品は、「低濃度」かつ「特異的」に作用することから、極低濃度の長期的ばく露による水生生物や人間への影響が懸念されはじめている。医薬品は日常的に処方され、服用後、主としてし尿排水として下水道を経由し、下水道で除去されないものは環境中に排出される。本研では、数多くある医薬品のなかから 95 種類を選定し一斉分析法の開発を行った。なお、本一斉分析法の開発は、環境省・環境技術開発費の「水環境に見出される医薬品の排出段階における物理化学処理」に関する研究との連携において行った。

2.1.2 対象医薬品（95 種類）

研究対象医薬品等は、薬事工業生産動態統計年報[1)]で生産量が多く一般的に用いられていると考えられる医薬品に、我が国でこれまで検出例のある物質を加えたものであり、表 2.1 に示す 95 物質とした。これらの医薬品は、解熱鎮痛消炎剤、利尿剤、神経系用剤、抗生物質、不整脈用剤、高脂血症用剤等であり、使用対象は人用、動物用、両用である。

2.1.3 分析方法（標準添加法）

調査対象医薬品等 95 物質の分析は、小西ら[2)]の方法（1 点標準添加法）を標準添加法に変更して行った。変更後の分析フローを図 2.1 に示す。

試料の分析前処理を以下に示す。先ず、試料（約 1500 mL）をガラス繊維ろ紙（Whatman 社製 GF/F、粒子保持能 0.7 μm）を用いてろ過した。ろ液を 200 mL に 6 分割した後、2 つは標準物質無添加、残りの 4 つに各分析対象物質（標準物質）を添加した。各標準物質の添加量は試料換算濃度でα ng/L、β ng/L、

γ ng/L、δ ng/L の 4 段階である。標準物質の具体的な添加量は、これまで検出報告がある物質についてはこれらの値を参考とし、報告例のない物質は検出下限値をベースに決定した。α は検出下限値、β は検出下限値の 2 倍、γ は検出下限値の 10 倍、δ は検出下限値の 20 倍とした。

標準物質無添加試料（2 試料）、標準物質添加試料（4 試料）を、予めメタノール 5 mL と希塩酸 10 mL でコンディショニングした固相カートリッジ（Waters 社製 Oasis HLB Plus）に通水し、希塩酸で洗浄した後、吸引と遠心分離により固相カートリッジを脱水し、メタノール 5 mL で溶出した。メタノール溶出液を濃縮乾固した後、アセトニトリル/水（0.1%ギ酸含有）に再溶解し、遠心分離の上澄み液を LC-MS/MS の測定検液とした。LC-MS/MS の測定条件を表 2.2 に示した。MS/MS のイオン化方式は、エレクトロンスプレーイオン化（ESI）とした。分離カラムは、測定対象物質のイオン化極性（Positive、Negative）により異なる。MS/MS 測定に必要なイオン化極性、測定イオンおよびコリジョンエネルギーは、予め希釈した各単品標準溶液を用いて決定した。

2.1.4 検出下限値、定量下限値

調査対象物質の混合標準溶液を LC-MS/MS により繰返し測定（n=5）を行い、その再現性から装置の検出下限値、定量下限値を設定した。測定した混合標準溶液の各物質濃度は、0.1、0.25、0.5、1、5、10、

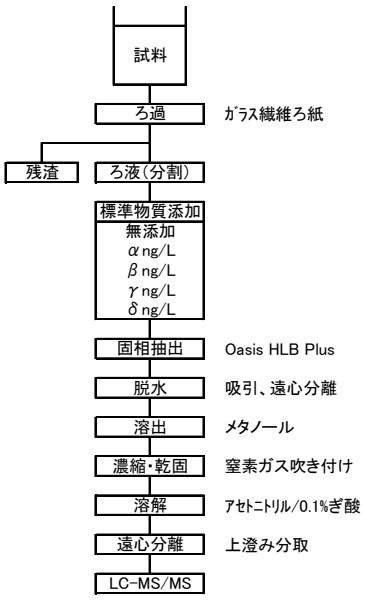


図 2.1　分析フロー

表 2.1　調査対象医薬品（95 種類）

No.	医薬品名	使用対象	用　途
1	acetaminophen	人用	解熱鎮痛消炎剤
2	acetazolamide	人用	利尿剤
3	amitriptyline	人用	神経系用剤
4	amoxicillin	両用	抗生物質
5	ampicillin	両用	抗生物質
6	antipyrine	人用	解熱鎮痛消炎剤
7	atenolol	人用	不整脈用剤
8	azithromycin	人用	抗生物質
9	benzylpenicillin	両用	抗生物質
10	bezafibrate	人用	高脂血症用剤
11	bromovalerylurea	人用	抗不安剤
12	caffeine	人用	強心剤
13	carbamazepine	人用	抗てんかん剤
14	carbazochrome	人用	止血剤
15	chloramphenicol	両用	抗生物質
16	chlormadinone acetate	両用	混合ホルモン
17	chlorpromazine	両用	神経系用剤
18	chlortetracyclin	両用	抗生物質
19	citicoline	人用	他の循環器官用薬
20	clarithromycin	人用	抗生物質
21	clenbuterol	両用	気管支拡張剤
22	clofibric acid	人用	ｸﾛﾌｨﾌﾞﾗｰﾄの代謝物
23	crotamiton	人用	鎮痛,鎮痒,収れん,消炎剤
24	cyclophosphamide	人用	抗悪性腫瘍用薬
25	danofloxacin	動物用	抗生物質
26	dextromethorphan	人用	鎮咳剤
27	diclazuril	動物用	抗コクシジウム剤
28	diclofenac sodium	人用	鎮痛,鎮痒,収れん,消炎剤
29	diltiazem	人用	血管拡張剤
30	diphenidol	人用	鎮暈剤
31	dipyridamole	人用	血管拡張剤
32	disopyramide	人用	不整脈用剤
33	erythromycin	両用	抗生物質
34	ethenzamide	人用	解熱鎮痛消炎剤
35	fenoprofen	人用	解熱鎮痛剤
36	flovoxate	人用	他の泌尿生殖器官,肛門用薬
37	fulfenamic acid	人用	解熱鎮痛消炎剤
38	furosemide	人用	利尿剤
39	gemfibrozil	人用	高脂血症用剤
40	griseofulvin	両用	主にカビ作用剤
41	haloperidol	人用	神経系用剤
42	ibuprofen	人用	解熱鎮痛消炎剤
43	ifenprodil tartrate	人用	他の循環器官用薬
44	imipramine	人用	神経系用剤
45	indomethacin	人用	解熱鎮痛消炎剤
46	isopropylantipyrine	人用	解熱鎮痛消炎剤
47	josamycin	両用	抗生物質
48	ketoprofen	両用	解熱鎮痛消炎剤
49	kitasamycin	両用	抗生物質
50	mefenamic acid	人用	解熱鎮痛消炎剤
51	mepirizole	人用	解熱鎮痛消炎剤
52	methoxsalen	人用	他の外皮用剤
53	metoclopramide	両用	他の消化器官用薬
54	metoprolol	人用	降圧剤
55	N,N-diethyl-m-toluamide	人用	昆虫忌避剤
56	nalidixic acid	両用	合成抗菌剤
57	naproxen	両用	解熱鎮痛消炎剤
58	neospiramycin	動物用	抗生物質
59	norfloxacin	両用	合成抗菌剤
60	novobiocin	動物用	抗生物質
61	ofloxacin	両用	合成抗菌剤
62	oleandmycin	動物用	抗生物質
63	oxytetracycline	両用	抗生物質
64	pentoxifylline	人用	血管拡張剤
65	phenacetin	人用	解熱鎮痛消炎剤
66	phenobarbital	人用	催眠鎮静剤,抗不安剤
67	p-phenylphenol	人用	殺菌剤
68	phenytoin	人用	抗てんかん剤
69	pindolol	人用	不整脈用剤
70	pirenzepine	人用	消化性潰瘍用剤
71	prednisolone	両用	副腎ホルモン剤
72	primidone	人用	抗てんかん剤
73	promethazine	両用	抗ヒスタミン剤
74	propranolol hydrochloride	人用	不整脈用剤
75	2-quinoxalinecarboxylic acid	動物用	ｶﾙﾊﾞﾄﾞｯｸｽの代謝物
76	salbutamol	両用	気管支拡張剤
77	sarafloxacin	動物用	抗生物質
78	scoporamine	人用	鎮けい剤
79	sotalol	人用	不整脈用剤
80	spiramycin	動物用	抗生物質
81	spironolactone	人用	利尿剤
82	sulfadimethoxine	動物用	ｻﾙﾌｧ剤
83	sulfadimidine	動物用	ｻﾙﾌｧ剤
84	sulfamethoxazole	両用	他の化学療法剤
85	sulfamonomethoxine	動物用	ｻﾙﾌｧ剤
86	sulpiride	人用	消化性潰瘍用剤
87	terbutalline	人用	気管支拡張剤
88	tetracyclin	両用	抗生物質
89	theophylline	人用	気管支拡張剤
90	thiamphenicol	両用	合成抗菌剤
91	tilmicosin	動物用	抗生物質
92	tolbutamide	両用	糖尿病用剤
93	tolperisone	人用	鎮けい剤
94	trimethoprim	両用	合成抗菌剤
95	verapamil	人用	血管拡張剤

表 2.2　LC-MS/MS 測定条件

	Positive		Negative	
HPLC	Agilent1100			
移動相 A	超純水（0.1%ぎ酸含有）		超純水（1mM酢酸アンモニウム含有）	
移動相 B	アセトニトリル（0.1%ぎ酸含有）		アセトニトリル	
グラジエント	時間	B (%)	時間	B (%)
	0	4	0	7
	12	95	13	95
	18	95	13.1	7
	18.1	4	21	7
	24	4		
カラム	Atlantis T3 C18, 2.1×100mm, 3 m		Hypersil GOLD, 2.1×100, 3 m	
カラム温度	40℃		40℃	
注入量	5 L		5 L	
MS/MS	Thermo Quantum Discovery MAX			
Spray Voltage	4,500		4,000	
Sheath gas	30		20	
Aux gas	5		10	
Capillary temperature	320		320	

25 pg/μL の 7 段階である。測定した混合標準溶液の 5 回繰返し測定において、目的成分ピークが判別できかつ再現性が良い（CV で 20%以下）最低濃度の標準偏差（σ）の 3 倍を検出下限値とし、10 倍を定量下限値とした。検出下限値、定量下限値の算出に用いた標準溶液の濃度は定量下限値の約 0.4 倍～4 倍であった。本研究では試料前処理の段階で 200 倍濃縮となることから、試料の検出下限値と定量下限値はここで得た値の 200 分の 1 となる。

具体的には、神経系用剤の amitriptyline、不整脈用剤の atenolol 等、試料濃度に換算した検出下限値が 0.1 を超え 1.0 ng/L 以下の医薬品が 30 物質、解熱鎮痛消炎剤の acetaminophen、抗生物質の amoxicillin 等、1.0 を超え 10 ng/L 以下の医薬品が 53 物質、利尿剤の acetazolamide、抗生物質の ampicillin 等、10 ng/L を超える医薬品が 12 物質であった。

2.2　抗ウィルス剤タミフルとその代謝物の下水試料中の分析

2.2.1　目的

タミフル（Oseltamivir phosphate: OP、図-2.2）は A 型及び B 型インフルエンザウィルス感染症に対する抗インフルエンザウィルス剤であり、服用後、肝臓のエステラーゼにより加水分解され、Oseltamivir carboxylate（OC、図-2.3）に代謝される。また、服用された OP の約 7 割は尿中から排泄され[3]、下水等を通じて河川水中へ放出される。一方、昨今の世界的なインフルエンザの大流行により、OP 使用量が増加しており、それに伴う水質汚染問題が社会的関心事となっている。しかしながら、下水中の OP や OC を対象とした調査例は極めて少ない。この理由の一つとして、分析法開発の遅れが指摘される。

このため、本研究では、下水中の OP と OC の LC-MS/MS による高精度分析法の検討を行った。本検討は、（独）土木研究所と（株）島津テクノリサーチの「共同研究」で実施した。

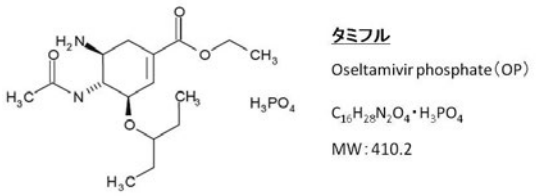


図 2.2　Oseltamivir phosphate (OP)



図 2.3　Oseltamivir carboxylate (OC)

2.2.2　方法

OP の標準物質には APAC Pharmaceutical 製の Oseltamivir phosphate を、OC には Sigma-Aldrich 製の Oseltamivir acid hydrate を使用した。

前処理方法は、採水した試料（100 mL）をガラス繊維ろ紙でろ過し、固相カートリッジ（Waters 社製 Oasis HLB）による固相抽出を行った。メタノールで溶出後、5 mL に定容し、2.5 mL を分取して、ENVI-Carb（SUPELCO）による精製後、1 mL に定容

したものを測定用試料とした。分析フローの抽出操作を図 2.4、精製操作を図 2.5 に示す。

抽出・精製液の測定条件は以下のとおりとした。液体クロマトグラフは Prominence（島津製作所）、質量分析計は API 3200（Applied Biosystems）、イオン化法は ESI-Positive を採用し、OP は[M-H3PO4+H]+、OC は[M+H]+ をプリカーサーイオンとして選定し、それぞれ定量イオンは、OP: 313.2 /225.0、OC: 285.2 /138.0 とした。カラムは Synergi 4u MAX-RP（2.0×150 mm、phenomenex）、移動相には 0.1%ギ酸水溶液とメタノールを使用して、グラジエント条件で測定を行った。

実試料を用いた添加回収試験は、標準活性汚泥法で運転している活性汚泥処理実験装置の流入水を 2009 年 7 月に採水したものを用いた。

2.2.3 結果と考察

検量線は OP、OC ともに r^2=0.999 と良好な直線性が得られた（表 2.3）。装置検出下限値（IDL）については、試料換算値で OP: 0.34 ng/L、OC: 0.29 ng/L であり、ばらつき（CV）も極めて小さかった（表 2.4）。採水した流入水に、20 ng/L となるように標準物質を添加して行った添加回収試験（n=5）からも、平均回収率：80%、CV：5%以下と良好な結果が得られた（表 2.5）。従って本研究で開発した分析法は、下水中の OP、OC の定量分析に適用可能であることが確認された。また、OP、OC 各標準物質のメタノール溶液のクロマトグラムを図 2.6、図 2.7 に示す。OP: 0.1 ng/mL、OC: 0.05 ng/mL の濃度で S/N 比が 5 以上であり、分離が確認されている。

2.2.4 今後の展開と課題

表 2.3　OP と OC の検量線

化合物	検量線範囲 (ng/mL)	r^2
タミフル（OP）	0 05-5	0 999
タミフル代謝物（OC）	0 05-5	0 999

表 2.4　OP と OC の装置検出下限値（IDL）

化合物	注入液濃度 (ng/mL)	IDL (ng/mL)	IDL試料換算値 (ng/L)	CV (%)
タミフル（OP）	0 1	0 017	0 34	4 3
タミフル代謝物（OC）	0 05	0 015	0 29	6 6

※IDL=t(n-1,0 05)× σ_{n-1}×2

表 2.5　添加回収試験結果（流入水、n=5）

化合物	試料	添加濃度 (ng/L)	検出濃度 (ng/L)	回収率 (%)	CV (%)
タミフル（OP）	下水（流入水）	20	16	80	4 1
タミフル代謝物（OC）		20	16	80	2 6

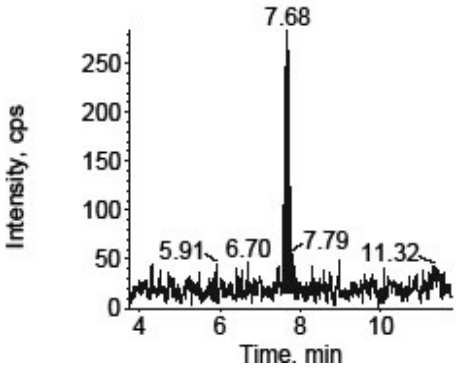


図 2.6　OP 標準液のクロマトグラム

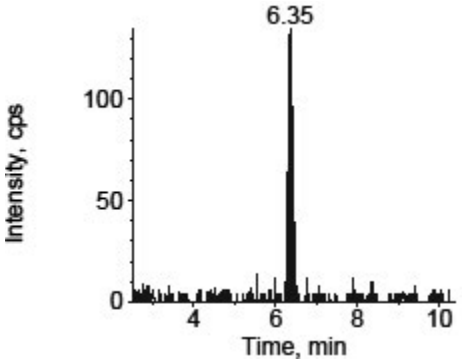


図 2.7　OC 標準液のクロマトグラム



図 2.4　抽出操作

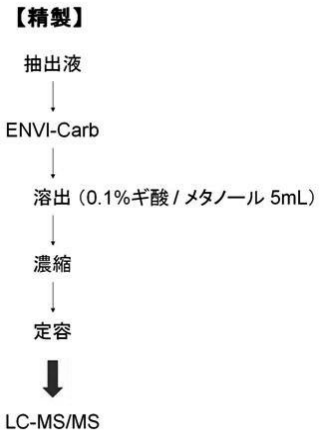


図 2.5　精製操作

本研究において抗ウィルス剤の分析法開発を行った。分析装置の検出下限値は試料換算濃度で OP が 0.34 ng/L、OC が 0.29 ng/L であった。また、流入下水を用いた添加回収試験の結果、OP、OC とも 80%の回収率が得られ下水試料への適用が可能である。今後は、本分析法を用い水環境中の OP、OC の実態把握を実施していく必要がある。また、他の抗ウィルス剤についても分析法の検討・開発を継続する必要がある。

2. 3　抗真菌薬、抗ウィルス薬の分析

2.3.1　目的

水環境中に存在する医薬品類による水生生物等への影響が懸念されている中で、抗真菌薬は真核細胞の増殖を抑制する作用をもつこと、また、抗ウィルス薬も抗細菌薬とは異なった作用機構を持つことから公共用水域の生態系に影響を及ぼす可能性が否定できない。本研究では抗真菌薬 2 種と抗ウィルス薬 1 種を対象として LC-MS/MS 法による同時分析方法の検討を行うことを目的とした。本検討は、(独) 土木研究所と帝人エコ・サイエンス（株）の「共同研究」で実施した。

2.3.2　対象物質及び分析方法

分析対象物質は、抗真菌薬の Fluconazole と Itraconazole、抗ウィルス薬の Aciclovir の 3 物質とした。以下に示す前処理後 LC-MS/MS による同時分析する方法とした。

1)　水質試料前処理

試料 200 mL を GF/B ろ紙でろ過し、SS 分は少量（<5 mL）のメタノールで超音波抽出してろ液に合わせた。ろ液にそれぞれのサロゲート物質各 10 ng 量を添加し、速やかに Oasis MCX カートリッジを用い 10 mL/min で固相抽出した。カートリッジは使用前にメタノール、濃アンモニア水/メタノール (5/95)、ギ酸/水（2/98）及び精製水の順で、各 10 mL を用いて洗浄し使用した。固相抽出後、ギ酸/水（2/98）約 5 mL で洗浄した後、 間隙水を除いてから更にメタノール約 5 mL でカートリッジを洗浄した。次に濃アンモニア水/メタノール（5/95）の約 6 mL で測定成分を溶出する。溶出液は窒素ガス吹き付けで約 0.2 mL 程度に濃縮後、メタノール/アセトニトリル (1/1) の約 1 mL を加え溶解（超音波）し、NH2 カートリッジに負荷し同溶媒の約 5 mL で溶出した。この溶出液を再び窒素ガス吹き付けで約 0.2 mL 程度まで濃縮し、メタノール/アセトニトリル/水 (1/1/1) で 1 mL に定容し LC-MS/MS 測定液とした。

2)　汚泥試料前処理

遠心分離で分離した汚泥試料約 2 g(固形物濃度既知）を 50 mL の遠沈管に秤取し、サロゲート成分各 50 ng を添加混合し、メタノール 20 mL で超音波抽出（20 min)、遠心分離で抽出液を分離した。この抽出を 2 回繰り返した。抽出液は GF/B ろ紙でろ過した後、メタノールで 50 mL に定容、このうち 10 mL を分取し精製水で約 500 mL に希釈してから直ちに Oasis MCX カートリッジで固相抽出し、以下水試料と同様に処理した。

3)　測定条件

LC-MS/MS による測定条件を以下に示す。LC カラムは、Zorbax Extend-C18（2.1φ×150 mm)、Mobile Phase は、A 液：10mM-NH_3 aq.、B 液：10mM-NH_3/CH_3CN を用いたグラジエント分析である（A/B=8/2 (5 min) – 5 min - 1/9 (15min))。また、流速は 0.14 mL/min とした。MS/MS のイオン化法は、ESI-Positive ion とし、SRM により測定した。各測定物質の測定イオンは、表 2.6 のとおりである。

2.3.3　結果と考察

下水試料中の抗真菌薬、抗ウィルス薬 3 種について LC-MS/MS 法による測定方法を検討し、カチオン交換基を付与した Oasis MCX カートリッジによる固相抽出と NH_2 カートリッジによる精製法で測定した。Aciclovir は逆相系カラムへの保持が弱く、また、マトリックスによるイオン化率の影響を受け易いため、Itraconazole は水への溶解度が低く不安定なため、それぞれサロゲート物質を用いて回収率（イオン化率）を補正して測定した。

本分析法における検出下限値を表 2.7 に示した。

表 2.6　測定イオン一覧

測定物質	m / z
Fluconazole	307.1 > 238.1
Fluconazole-d_4	311.1 > 242.1
Itraconazole	705.2 > 392.2
Itraconazole-d_5	710.2 > 397.2
Aciclovir	226.0 > 152.0
Aciclovir-d_4	230.0 > 152.0

表 2.7　検出下限値

測定物質	下水試料 (ng/L)	汚泥試料 (ng/g-wet)
Fluconazole	0.2	0.10
Itraconazole	0.1	0.05
Aciclovir	0.1	0.05

2.3.4 今後の展開と課題

本研究において抗真菌薬、抗ウィルス薬の分析法開発を行った。下水試料の検出下限値は試料換算濃度で 0.1 ~ 0.2 ng/L、汚泥試料の検出下限値は湿重量当たり 0.05 ~ 0.1 ng/g-wet であった。今後は、下水試料を含む環境水中の実態についての調査継続が必要である。

2. 4 抗生物質の分析

2.4.1 目的

本研究では、比較的新しい抗生物質を対象とした分析方法の検討を目的とした。本検討は、(独) 土木研究所とムラタ計測器サービス (株) の「共同研究」で実施した。

2.4.2 対象物質及び分析方法

分析対象は抗生物質の Linezolid、Mupirocin、Meropenem、Cefcapene pivoxil とした。

前処理方法については、固相抽出における溶出溶媒の検討、塩析効果の検討、及び定容溶媒の検討を行った。

測定は、カラムに ODS、移動相にメタノールと超純水を用いたグラジエント溶離法で HPLC 分離を行い、ESI-positive でイオン化して MS/MS 測定した。

2.4.3 結果と考察

1) 固相抽出における溶出溶媒の検討

溶出溶媒にメタノール、アセトン、ジクロロメタン、酢酸エチル、アセトン : ジクロロメタン＝1 : 1、アセトン : メタノール＝1 : 1 を用いて、それぞれ回収率を確認した。Linezolid はすべての溶媒で良好な結果が得られたものの、Meropenem はジクロロメタン、酢酸エチル及びアセトン : ジクロロメタンではほとんど溶出されず、アセトン 6 mL でも溶出が不十分であった。すべての物質において回収率が 80 ~ 120%と良好な結果が得られたのはメタノール及びアセトン : メタノール=1 : 1 であった。

2) 固相抽出における塩析効果の検討

純水における添加回収試験を実施したところ、Meropenem の回収率は 59%であった。その要因として、Meropenem の親水性が比較的高いことから固相充填剤に十分に吸着できていない事が考えられた。そこで通水前の試料に塩化ナトリウム 6 g を添加し、塩析効果による回収率への影響を確認したところ、回収率が 93%となり、改善が確認できた。また、他の 3 化合物に対する塩化ナトリウムの影響は見られなかった。

3) 定容溶媒の検討

本測定法において連続測定を実施した結果、Cefcapene pivoxil においてのみ、明らかな感度低下が確認された。そこで定容溶媒にぎ酸を 0.05%添加した標準液と無添加の標準液を連続で交互に測定し、挙動を確認した。ぎ酸を添加しない系では、Cefcapene pivoxil の感度が徐々に減少し、約 26 時間後に半分にまで減少したのに対し、ぎ酸を添加した系では少なくとも 26 時間までは減少傾向はみられなかった。このことから、感度低下は化合物自身の安定性の問題であり、ぎ酸の添加が有効であることがわかった。他の化合物については、Meropenem の感度が、ぎ酸を添加した系で約 20%減少した他は、26 時間以内では明らかな増減傾向は確認されなかった。

4) 装置検出下限値 (IDL) の算出

標準液を 7 回繰返し測定して得られた標準偏差に *t* 値 (危険率片側 5%) と 2 を乗じた値を IDL として算出した。Linezolid、Mupirocin、Meropenem、Cefcapene pivoxil の IDL はそれぞれ、0.38、16、1.5 及び 1.3 pg であった。

5) 実試料への適用

本法を純水、河川水及び下水処理場二次処理水に適用し添加回収試験を実施した。この際固相抽出において、塩析効果を活用し、溶出溶媒には濃縮時間が短いアセトン : メタノール＝1 : 1 を用いた。図 2.8 に標準液とこれと同濃度となるように標準を添加した二次処理水のクロマトグラムを示した。上から順に Linezolid、Mupirocin、Meropenem、Cefcapene pivoxil であり、濃度は両試料ともにそれぞれ試料換算で 0.5、0.02、0.1 及び 0.5 μg/l である。

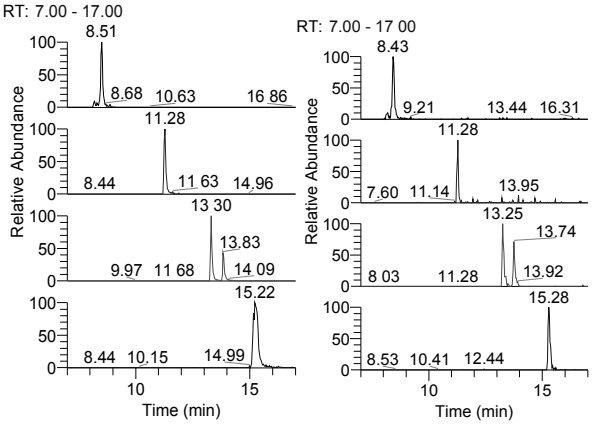


図 2.8 クロマトグラム
(左図 : 標準液、右図 : 二次処理水)

純水における回収率は 76 ~ 108%と良好な結果が得られたが、河川水においては 17～66%、二次処理水においては 11～56%と低回収率を示し、純水と実試料に違いがみられた。この際、定量方法は対象成分の抽出時における損失やイオン化抑制等を補正しない絶対検量線法を用いており、実試料中の夾雑成分が引き起こすイオン化抑制による損失が低回収率となる大きな要因と考えられた。そこでこれを補正するために、得られた測定液を分取し、濃度が段階的になるように標準液を添加して、標準添加法による定量を行った。その結果、河川水においては 90～122%、二次処理水においては 76～118%と回収率の改善が見られた。

2.4.4 今後の展開と課題

本分析法の実試料への適用において、絶対検量線法から抽出液への標準添加法に定量方法を変更することで、測定時の損失を補正することができた。しかし夾雑成分が引き起こすイオン化抑制の問題は残ったままであり、より操作の簡便な絶対検量線法の適用も踏まえて、夾雑成分を除去する前処理法の検討が今後の課題としてあげられる。

3. 水環境中での医薬品実態把握

3. 1 医薬品 95 物質の実態把握

3.1.1 目的

人が使用する医薬品は、体内で代謝された後排泄物とともに排出され主に下水道を経由して水環境に排出されると考えられるが、下水道未整備区域にあっては、浄化槽等を経由し河川等の水環境に排出される。また、家畜に使用される医薬品は、排水処理施設等を経由するものもあると考えられるが、一部は直接水環境に排出される。環境水中の医薬品の実態把握については多くの研究が進められているが、未だ十分解明されたとはいえない。そこで本研究では、95 物質の医薬品を一斉分析する方法を用いて、畜産業を含む農村地域や下水道普及状況の異なる都市域において医薬品の存在状況を把握することとした。

3.1.2 調査方法

調査は、茨城県の霞ヶ浦（北浦）に流入する鉾田川、千葉県の手賀沼に流入する大津川においてそれぞれ 2 つの支川（水路）で調査を実施した。各調査地点の集水面積は、①5.4 km^2、②3.94 km^2、③4.1 km^2、④4.6 km^2 である。

図 3.1 に示すとおり、地点①、地点②の集水域の

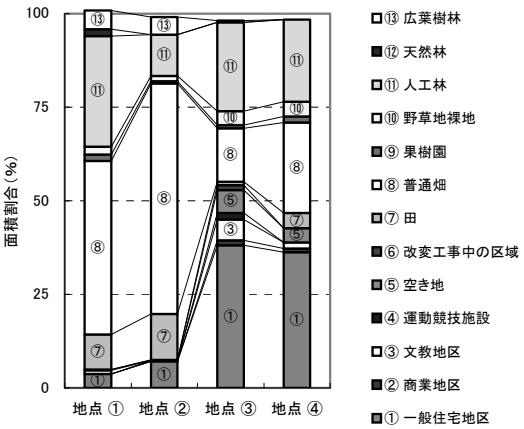


図 3.1 各調査地点集水域の土地利用状況

土地利用状況は、田、畑、人口林、広葉樹林が 90%を占める農村地域である。なお、地点①の集水域には養豚場が存在する。地点③、地点④は、一般住宅地区が 36%、38%の他、文教地区、空き地、畑、野草地裸地、人口林が 54%、56%を占める都市域である。また、地点①、地点②は下水道未整備、地点③は下水道普及率 74%、地点④は下水道普及率 31%である（下水道普及率：2002 年）が、下水処理場は本流域の外に位置している。

3.1.3 調査結果と考察

調査医薬品 95 物質中、図 3.2 に示す 47 物質が地点①、②、③、④のいずれかの試料において検出された。検出濃度範囲は diltiazem の 0.2 ng/L から caffeine の 4800 ng/L であった。地点①では人用 11 物質、動物用 2 物質、両用 5 物質の計 18 物質、地点②では人用 7 物質、両用 1 物質の計 8 物質、地点③では人用 20 物質、両用 4 物質の計 24 物質、地点④では人用 34 物質、動物用 1 物質、両用 10 物質の計 45 物質が検出された。

農村地域の小河川では、都市域の小河川に比べ検出医薬品数が少なく、それらの検出濃度も低いことが確認された。また、動物用医薬品 2 物質（サルファ剤）が検出された地点①では、集水域に養豚場があることを現地踏査で確認した。サルファ剤は豚に寄生する原虫の駆除に使用される医薬品である。

都市域の小河川では、より下水道が普及し、家庭からの排水が下水道において収集されて他の流域に移送されている地点③の方が、地点④に比べ検出医薬品数が少なく、また各検出濃度も低い傾向が見られた。

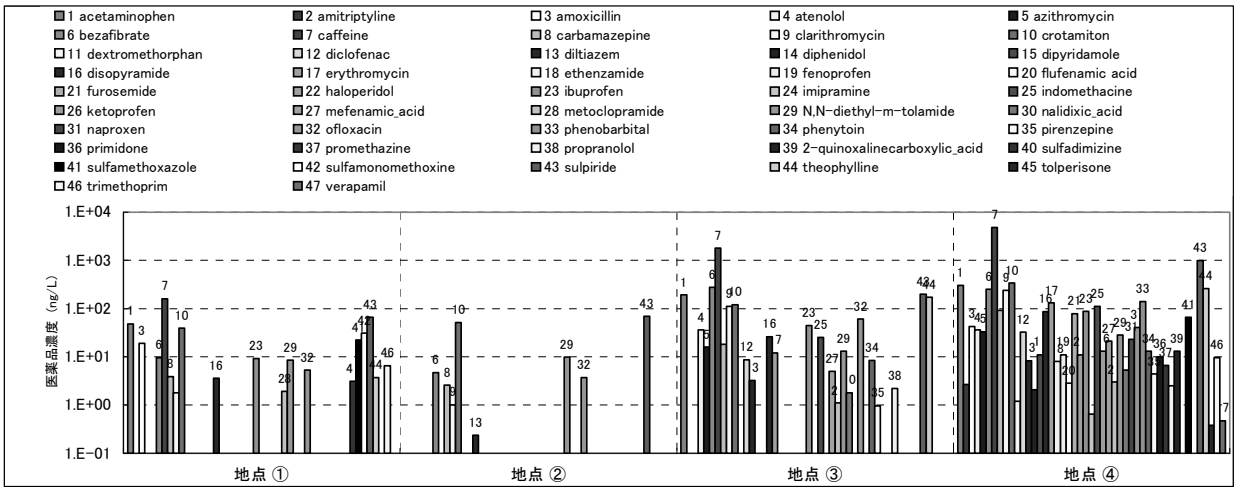


図 3.2　医薬品調査結果（図中の数字は医薬品番号）

3.1.4　まとめ

本調査では、95 物質の医薬品を一斉分析する方法を用いて、畜産業を含む農村地域や下水道普及状況の異なる都市域において、晴天時に検出される医薬品類の種類及び濃度レベル概略を把握した。雨天時に河川流量が増加した時の医薬品流出状況については、0 及び 3. 3 で述べる。

3. 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

3.2.1　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[4),5),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。

3.2.2　対象医薬品（95 種類）及び分析方法

研究対象医薬品は、解熱鎮痛消炎剤、利尿剤、神経系用剤、抗生物質、不整脈用剤、高脂血症用剤、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（表 2.1 参照）。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、2.1.3 の分析方法と同じく標準添加法により行った。

3.2.3　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-3.3）。大津川は、河川延長約 12.5 km、流域面積約 37 km^2 の小河川である。各調査地点の集水面積は、St.1 は 4.4 km^2、St.2 は 4.2 km^2、St.3 は 5.9 km^2、St.4 は 4.1 km^2、St.5 は 2.4 km^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-3.4 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。

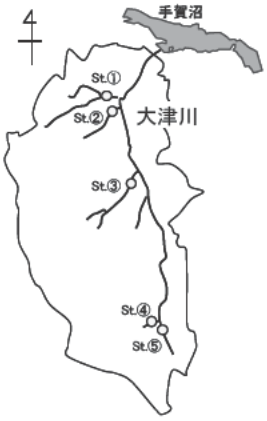


図 3.3　調査地点

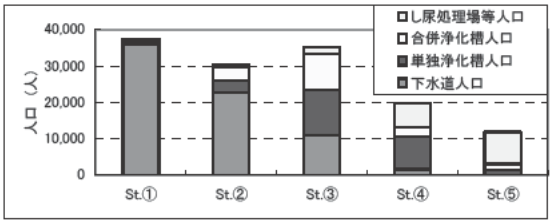


図 3.4　各調査地点集水域の生活排水処理人口

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 0 mm 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 1 g/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、NH_4-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。

3.2.4　調査結果と考察

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、分析所に持ち帰り行った一般水質項目の分析結果を表 3.1 に示した。冬期の調査であり水温は 11 ~ 13°C 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 ~ 15 mg/L を示していたが St.4、St.5 では 3.4 mg/L、2.3 mg/L であり、St.1 ~ St.3 に比べ低い値であった。DOC、NH_4-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。

表 3.1　水質分析結果（一般項目）

試料採取地点 (Time)	St ① (13 00)	St ② (13:30)	St ③ (11:30)	St ④ (11 00)	St ⑤ (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

DO、DOC、NH_4-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）　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 3.2 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 45 物質、St.5 では 50 物質が検出された。表 3.2 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。

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医薬品 54 物質について、既報 [6]における利根川本川及び複数の下水処理場放流水の存在濃度と比較する（表 3.2）。利根川本川との比較では、調査地点別に報告値のある 34 物質についてみると、報告値の最大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あるいは低いレベル、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。

一方、下水処理場放流水との比較では、下水処理

表 3.2　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

場での除去率の高い Acetaminophen[10]、Caffeine[10]、Ibuprofen8)の 3 物質が St.3、St.4、St.5 において報告値の最大値を上回った以外は、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 における上記 3 物質の濃度は、下水処理場放流水の 2 倍以上の値であり、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 Crotamiton8)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-Quinoxaline carboxylic acid は豚赤痢の治療薬等[12]として用いられてきた合成抗菌剤（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。

3） 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 3.3 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 3.3 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。、他の医薬品も同様の傾向を示していた。

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、表 3.4 および図 3.5 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。

表 3.3　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

表 3.4　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

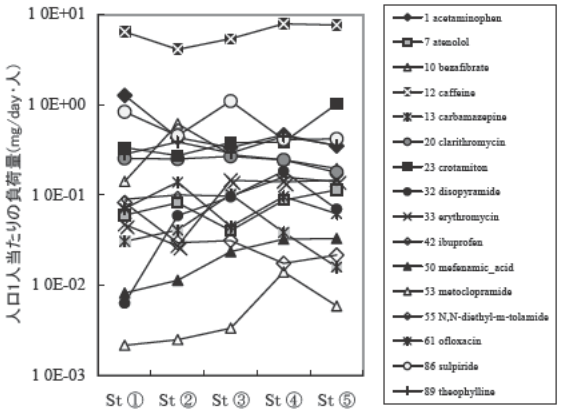


図 3.5　人口 1 人当たりの医薬品負荷量

晴天時、雨天時の農村地域小河川における医薬品の存在実態

3.2.5 目的

新たな微量化学物質汚染として注目されている医薬品類の環境水中の存在実態については多くの調査報告がみられる。しかしながら、晴天時の調査報告がほとんどであり雨天時の流出状況については情報が不足している。本研究では農村地域の小河川において晴天時と雨天時に医薬品類の実態把握調査を行いその流出実態の比較を行った。

3.2.6 対象医薬品及び分析方法

調査対象とした医薬品類は、Acetaminophen、Amoxicillin、Azithromycin、Caffeine、Chlortetracycline、Clarithromycin、*N*,*N*-diethyl-*m*-toluamide (DEET)、Oxytetracycline、Sulfamethoxazole、Sulfamonomethoxine、Tetracycline、Theophylline、Trimethoprim の 13 物質である。医薬品類の分析方法は、小西ら[2)]の方法を参考に抽出・濃縮等の前処理を行った後、LC/MS/MS を用いて測定し絶対検量線法により定量した。

3.2.7 調査方法

調査地点は、既に報告[5)]した霞ヶ浦・北浦に流入する鉾田川の支川（St.3、St.5）とした。調査地域の土地利用状況は、田、畑、人口林、広葉樹林が 90%を占める農村地域であり、各地点の集水面積はそれぞれ 5.4 km^2、3.9 km^2 である。調査は 2008 年 5 月～10 月の晴天時に 6 回、雨天時に 4 回、SS、BOD、COD、DOC、NH_4-N の分析用試料、医薬品類分析用試料の採取と試料採取時の流量観測を行った。

3.2.8 調査結果と考察

晴天時試料採取時の流量は、St.3 は 0.06 ～ 0.10 m^3/sec（平均 0.08 m^3/sec）、St.5 は 0.01 ～ 0.11 m^3/sec（平均 0.07 m^3/sec）であった。また、雨天時試料は降雨（降雨量：17～27 mm）の途中で試料採取を行った。試料採取時の流量は、St.3 は 0.12～0.26 m^3/sec（平均 0.16 m^3/sec）、St.5 は 0.19～0.34 m^3/sec（平均 0.25 m^3/sec）であり、晴天時の 2 倍（St.3）、3.6 倍（St.5）であった。

晴天時、雨天時に採取した試料は持ち帰った後、SS、BOD、COD、DOC、NH_4-N の 5 項目について分析を行った。その平均値を図 3.6 に示す。多くの測定項目の濃度は、晴天時に比べ雨天時に高い値を示した。St.3 では SS（8.5 倍）、BOD（5.3 倍）、COD（4.5 倍）、DOC（1.7 倍）、NH_4-N（5.3 倍）であった。また、St.5 では SS（7.9 倍）、BOD（1.7 倍）、COD（2.0 倍）、DOC（0.7 倍）、NH_4-N（1.2 倍）であった。

これらの結果から、St.3 は St.5 に比べ雨天時における有機性汚濁物質の流出が顕著である。集水域に、降雨により流出しやすい有機性物質の汚濁源が存在することが示される。

晴天時、雨天時の医薬品類分析結果（平均値）を表 3.5 に示す。平均値の算出にあたり実測値が検出下限値以下のものについては 0（ゼロ）として扱った。また、晴天時と雨天時の医薬品類濃度を比較するため雨天時／晴天時の濃度比を算出した結果を、図 3.7 に示す。

雨天時／晴天時の濃度比は、St.3 では、人用医薬品 6 物質（Acetaminophen、Azithromycin、Caffeine、Clarithromycin、*N*,*N*-diethyl-m-toluamide、Theophylline）で 0.6～2.3 を、人・動物両用医薬品 6 物質（Amoxicillin、Chlortetracycline、Oxytetracycline、Sulfamethoxazole、Tetracycline、Trimethoprim）で 3.2～39、動物用医薬品の Sulfamonomethoxine で 0.6 を

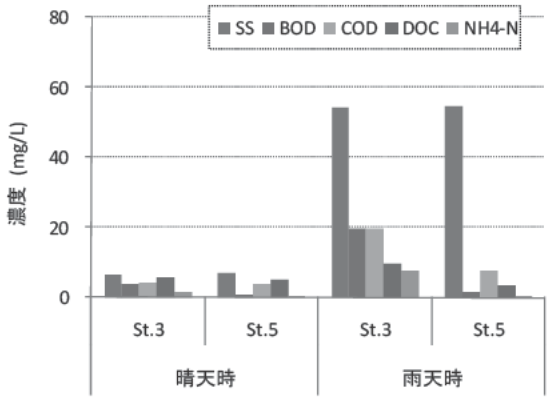


図 3.6　一般水質項目分析結果(平均値)

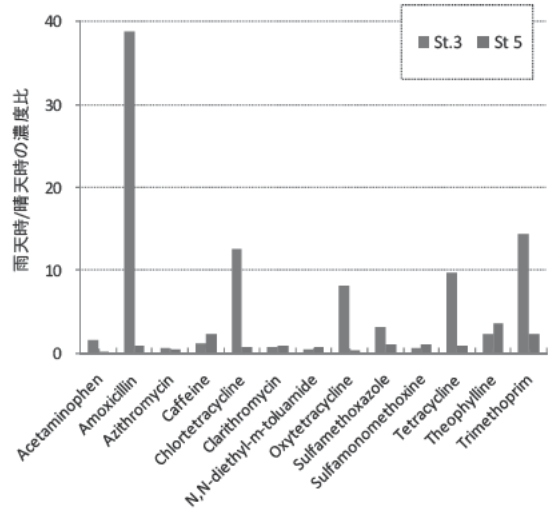


図 3.7　晴天時と雨天時の医薬品類濃度比較

表 3.5　晴天時・雨天時の医薬品類分析結果(平均値)

物質名	検出下限値 (ng/L)	St.3		St.5	
		晴天時	雨天時	晴天時	雨天時
Acetaminophen	0.4	2.9	4.6	1.4	0.1
Amoxicillin	0.9	17	650	3.8	3.4
Azithromycin	0.4	1.2	0.7	1.2	0.6
Caffeine	5.7	52	61	13	32
Chlortetracycline	1.9	42	530	6.1	4.7
Clarithromycin	1.7	17	12	15	13
N,N-diethyl-m-toluamide	0.2	3.0	1.3	1.4	1.1
Oxytetracycline	1.3	16	130	7.4	3.0
Sulfamethoxazole	1.5	7.1	23	0.8	0.8
Sulfamonomethoxine	1.8	8.4	5.3	0.9	0.9
Tetracycline	1.4	8.9	86	4.8	4.5
Theophylline	0.5	1.4	3.1	0.2	0.6
Trimethoprim	1.6	0.8	12	0.4	0.8

示した。人用医薬品 6 物質と動物用医薬品 1 物質の雨天時／晴天時の濃度比は、ほぼ 0.5～2 の範囲であり晴天時、雨天時において大きな濃度変動は見られなかったが、人・動物両用医薬品 6 物質は 3 倍以上と雨天時において濃度上昇が著しく、なかでも Amoxicillin 、 Chlortetracycline 、 Oxytetracycline 、 Tetracycline、Trimethoprim の 5 物質は、約 10 倍あるいはそれ以上と大きな濃度上昇が見られた。前述した有機性汚濁物質同様、集水域に降雨により流出しやすい医薬品類が存在することが示された。集水域内を現地踏査したところ、いくつか養豚場の存在が確認されたが、これらが負荷源の一つである可能性がある。

St.5 では多くの物質において雨天時／晴天時の濃度比は 0.4～3.6 の範囲であり雨天時における大幅な濃度上昇は見られなかった。逆に Acetaminophen では晴天時の 1/10 以下を示したが、雨による希釈が一因と考えられる。

3.2.9　今後の展開と課題

晴天時と雨天時に医薬品類の実態把握調査を行いその流出特性を比較した。雨天時において晴天時の 10 倍あるいはそれ以上の濃度で流出する医薬品類がみられ、水環境中における医薬品類調査における雨天時調査の重要性が明らかになった。今後は、降雨による流出負荷量の把握など、更に詳しい調査を実施する予定である。

3. 3　晴天時、雨天時の都市域小河川における医薬品類の存在実態

3.3.1　目的

近年、医薬品等 PPCPs の水環境汚染に関する調査・研究が数多く見られ、その汚染実態が明らかになりつつある。しかしながら、多くは晴天時の調査であり雨天時の実態については十分な情報が得られていない。本研究では、都市域の小河川において晴天時と雨天時に医薬品の実態把握調査を行いその流出実態の比較を行った。

3.3.2　対象医薬品及び分析方法

調査対象とした医薬品は、解熱鎮痛消炎剤、抗生物質等の人用医薬品 17 物質とした。医薬品（懸濁態+溶存態）の分析方法は、小西ら 2)の方法を参考に抽出・濃縮等の前処理を行った後、LC-MS/MS を用いて測定し絶対検量線法により定量した。

3.3.3　調査方法

調査地点は、千葉県手賀沼に流入する大津川の支川 2 ヶ所（St.①、St.②）とした。各調査地点の集水面積は、St.①4.1 km^2、St.②4.6 km^2 である。St.①、St.②の集水域の土地利用は、それぞれ一般住宅地区が 36%、38%、文教地区、空き地、人口林等が 54%、56%を占める都市域である。また、下水道普及率は、74%、31%である。調査は、2008 年 7 月～12 月の晴天時に 6 回、雨天時に 4 回行った。SS、BOD、COD、DOC、NH_4-N 分析用試料、医薬品分析用試料の採取と試料採取時に流量観測を行った。

3.3.4　調査結果と考察

晴天時の平均流量は、St.① 0.09 m^3/sec、St.② 0.23 m^3/sec、また、雨天時の平均流量は、St.① 0.24 m^3/sec、St.② 0.42 m^3/sec であり、晴天時の 2.7 倍（St.①）、1.8 倍（St.②）であった。SS、BOD、COD、DOC、NH_4-N の分析結果を図 3.8 に示す。各項目の雨天時／晴天時の濃度比は、St.①では SS（18 倍）、BOD（2.6 倍）、COD（1.9 倍）、NH_4-N（1.5 倍）、また、St.②では SS（7.7 倍）、BOD（2.8 倍）、COD（2.2 倍）、NH_4-N（1.7 倍）であった。一方、DOC は St.①、St.②とも 0.8 倍であり、晴天時に比べ雨天時に低い値

を示した。降雨により希釈されたものと考えられる。

晴天時、雨天時の医薬品分析結果を表 3.6、雨天時／晴天時の濃度比を図 3.9 に示す。既報[14]の農村地域の小河川において行った同様の調査では、特定の汚濁源が原因と思われる流出により雨天時に晴天時の 10 倍以上の濃度で検出される医薬品が見られたが、本調査の都市域の小河川では調査医薬品 17 物質中多くの医薬品濃度は、雨天時おいても晴天時とほぼ同じ値を示し、diclofenac sodium、dipyridamole、furosemide の 3 物質が雨天時において晴天時の 2～3 倍の値を示した。これら 3 物質の負荷源として特定の施設の存在が見あたらないことから、今後更に詳しい調査が必要である。

3.3.5 まとめと今後の展開

都市域の小河川において晴天時と雨天時に医薬品の実態把握調査を行いその流出実態の比較を行ったところ、調査医薬品 17 物質中多くの医薬品濃度は、雨天時おいても晴天時とほぼ同じ値を示し、3 物質が雨天時において晴天時の 2～3 倍の値を示した。今後は、雨天時における医薬品流出特性についても詳細な調査が必要である。

3.4 湖沼流入河川の医薬品負荷量と湖沼内の医薬品濃度の関係

3.4.1 目的

本研究では、湖沼に流入する河川と湖沼内の医薬品の医薬品濃度の関係把握を目的とし、実態調査を実施した。

3.4.2 試料採取地点

試料の採取地点は、面積 36 km^2 の湖沼内で 3 ヶ所とその流入河川 24 ヶ所、合計 27 ヶ所で試料を採取した（図 3.10）。2010 年 1 月 19 日に試料のスポット採取と流量観測を行った。試料採取時の流量を図 3.10 の（　）内に示した。

3.4.3 調査対象物質および分析方法

調査対象医薬品は、解熱鎮痛消炎剤、抗生物質等の 8 物質（表-3.7 参照）で、分析は、既報[15),16)]と同じ抽出・濃縮等の前処理後、LC-MS/MS を用いて測定し絶対検量線法により定量した。

3.4.4 調査結果と考察

各地点における医薬品 8 物質の分析結果から、crotamiton を例として各流入河川水の濃度と負荷量を図 3.11、図 3.12 に示す。流入河川水の濃度は、流入河川⑨が最も高く 160 ng/L で、次に追加調査地点の E が 110 ng/L であった。しかし負荷量では、①が最も大きく 110 μg/s、次に、②17 μg/s、⑨16 μg/s で

表 3.6　晴天時、雨天時の医薬品分析結果
（平均値、ng/L）

物質名	検出下限値	St.①		St.②	
		晴天時	雨天時	晴天時	雨天時
Acetaminophen	0.4	100	100	89	75
Azithromycin	0.4	5.1	4.9	8.5	6.9
Bezafibrate	1.2	96	41	55	38
Caffeine	5.7	680	910	1500	1400
Carbamazepine	0.2	4.2	2.9	43	39
Clarithromycin	1.7	54	50	92	79
Crotamiton	1.5	36	30	120	87
Diclofenac sodium	0.6	3.8	9.6	11	14
Dipyridamole	1.5	10	23	11	39
Furosemide	0.6	4.5	13	7.6	17
Ibuprofen	0.3	12	15	24	24
Indomethacin	0.7	11	6.6	40	26
N,N-diethyl-m-toluamide	0.2	71	100	230	130
Phenobarbital	4.8	9.3	10	99	91
Phenytoin	0.8	2.7	3.2	7.1	5.9
Sulpiride	2.3	65	43	580	500
Theophylline	0.5	43	41	47	44

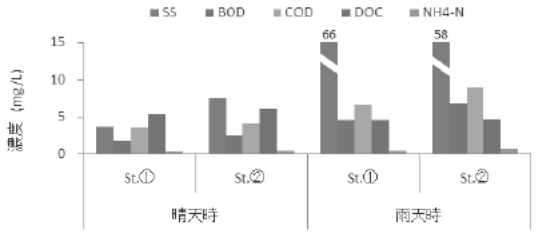


図 3.8　一般水質項目分析結果（平均値）

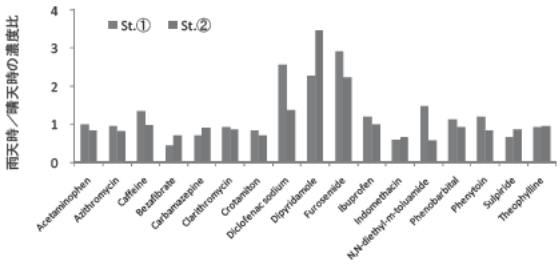


図 3.9　晴天時と雨天時の医薬品濃度比較

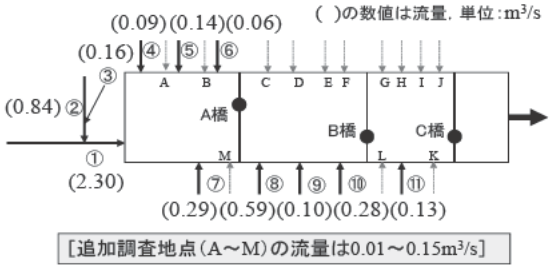


図 3.10　試料採取地点と流入河川の流量

あり、この 3 河川で全体負荷量の概ね 70%を占めていた。また、調査流入河川の負荷量から流入平均濃度を算出し、湖沼内 3 地点の濃度とともに、図 3.13 に示した。負荷量から算出した平均濃度 32 ng/L に対し湖沼内の濃度は、A 橋（20 ng/L）、B 橋（10 ng/L）、C 橋（14 ng/L）であり、湖沼内での減少がみられた。

他の 7 物質についても負荷量から平均濃度を算出し、湖沼内濃度と合わせ表 3.7 に示した。Crotamiton と同様の傾向を示すものの他、Theophylline、*N*,*N*-diethyl-m-toluamide 等、負荷量から求めた平均濃度（計算値）に比べ湖沼内の濃度が高い傾向を示すものもあり、晴天時の河川流入負荷だけでは湖沼流入負荷全体の把握が困難であることが示された。

3.4.5 まとめと今後の展開

湖沼流入河川の医薬品負荷量から算出した流入河川の平均濃度と湖沼内の医薬品濃度を比較したところ、負荷量から求めた平均濃度に比べ湖沼内の濃度が高い傾向を示すものもみられ、晴天時の河川流入負荷だけでは湖沼流入負荷全体の把握が困難であることが示された。今後は、雨天時の流入負荷も合わせて調査し考察する必要がある。

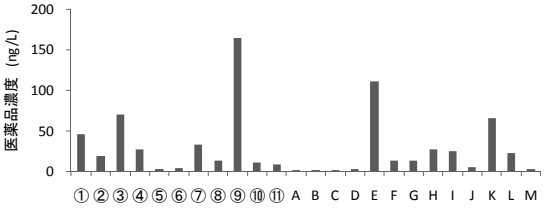


図 3.11 各試料の Crotamiton 濃度

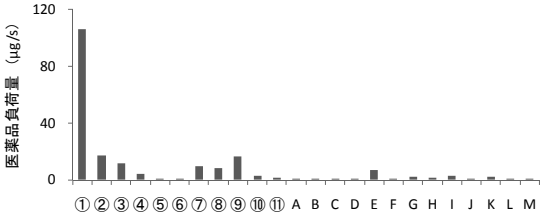


図 3.12 各試料の Crotamiton 負荷量

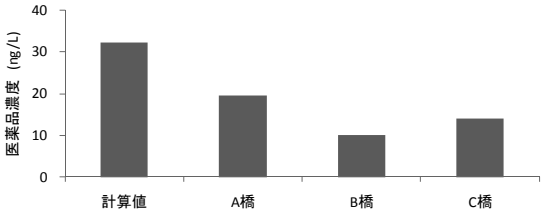


図 3.13 流入負荷から算出した Crotamiton 濃度と湖内濃度

表 3.7 負荷量から求めた濃度と実測値（ng/L）

物質名	計算値	A橋	B橋	C橋
Clarithromycin	4.6	N.D.	N.D.	N.D.
Crotamiton	32	20	10	14
N,N-diethyl-m-toluamide	3.2	3.6	5.8	8.2
Indomethacin	3.2	0.5	N.D.	N.D.
Theophylline	7.5	8.5	6.7	9.2
Amoxicillin	0.7	15	N.D.	22
Griseofulvin	0.2	0.3	0.4	0.4
Caffeine	154	91	30	52

4. 水環境における医薬品類の生態影響評価

4.1 目的

近年、水環境中に存在する微量汚染物質、特にその使用目的から生理活性を有する医薬品類について、水生生態系に対する影響が懸念されている。しかし、水生生物に対する医薬品類の影響については、十分明らかにされていない。

本研究では、生態リスク評価の検討に資することを目的として、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、複数種の水生生物を用いてバイオアッセイを実施し、生態毒性データを把握した。さらに、国内外の報告と併せて医薬品類の生態毒性情報を整理し、水環境中の存在実態と比較することで環境リスク初期評価を行った。

4.2 医薬品類のバイオアッセイ

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、51 物質を選定した。

各医薬品類について、working solution として 10000 mg/L の DMSO 溶液を調製した後、適宜希釈して試験に用いた。各試験においては、ばく露溶液中の DMSO 濃度が 0.1%を超えないように最大ばく露濃度を 10mg/L 以下に設定し、公比 2 で等比級数的に希釈した試験系列を作成して試験を行った。各試験系において、DMSO の無影響濃度が 0.1%以上であることを、事前試験により確認している。

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* を使用する市販の試験システム Microtox®（Strategic Diagnostics, Inc.）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ルに従い、ばく露時間 5 分及び 15 分における半数影響濃度（EC_{50}）を附属

の計算ソフトにより求めた。

4.2.2 藻類による試験

96 ウェルマイクロプレートを培養容器とし、吸光度から細胞濃度を求める Harada *et al.*[17]の手法を参考に、藻類生長阻害試験を行った。被験生物には、OECD 化学品テストガイドライン No.201[18]の推奨種となっている、単細胞緑藻 *Pseudokirchneriella subcapitata*（NIES-35 株）を、試験培地には AAP 培地[18]を用いた。1 試料に対して 1 枚の 96 ウェルマイクロプレート（Falcon 96-well Microtest™ Plate, Tissue-culture treated, flat bottom; Becton Dickinson, Inc.）を用い、2 倍希釈 10 段階 5 連、初期生物量 1×10^4 cells/mL の試験系列を作成した。試験条件は、温度 24°C、照度 4000 Lux、振とう速度 120 rpm とし、24 時間毎にマイクロプレートリーダー（WALLAC ARVO SX-1420, Perkin Elmer, Inc.）を用いて、各ウェルの吸光度（波長：450 nm）を測定した。毒性値の算出には EcoTox-Statics Ver.2.6d[19]を用い、0-72 時間の生長速度とばく露濃度の関係から、probit 法により EC_{50} 及び最大無影響濃度（NOEC）を求めた。

4.2.3 甲殻類による試験

供試生物としてオオミジンコ *Daphnia magna* を使用する市販の毒性試験キット DAPHTOXKIT F™ magna（MicroBioTests Inc.）を用いて、ミジンコ急性遊泳阻害試験を行った。試験は添付のプロトコルに従い、孵化後 24 時間以内の *D. magna*（20 個体/各試験区）を試験溶液にばく露し、24 時間毎に遊泳阻害個体数を観察して、48 時間後の試料濃度と阻害率の関係から EC_{50} を求めた。

4.2.4 両生類による試験

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[20]を一部改変して 24 ウェルマイクロプレートでばく露する方法で行った。胞胚期になった胚を 24°C で 96 時間ばく露し、死亡及び奇形について観察した。本試験においては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（LC_{50}）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、ばく露後 24 時間毎に吸光度を測定し、吸光度から個体数を求める方法で行った。0-72 時間の個体数の変化から増殖阻害率を計算して、ばく露濃度との関係から EC_{50} 及び NOEC を求めた。

4.2.6 結果

各バイオアッセイにより得られた結果を、表 4.1 に示す。51 物質中、*P. subcapitata* では 36 物質、*V. fischeri* では 28 物質、*T. pyriformis* では 25 物質、*X. laevis* では 16 物質、*D. magna* では 12 物質について、毒性値（EC_{50}、LC_{50} または NOEC）が算出され、藻類生長阻害試験における検出率が最も高い結果となった。また、医薬品類に対する各生物種の感受性の比較においても、抗生物質や殺菌剤を中心に、*P. subcapitata* に対して最も強い毒性を示す物質が多く見られたことから、医薬品類の水生生物に対する生態影響を検討するうえで、藻類生長阻害試験がスクリーニング的に活用できる可能性が示された。ただし、各生物種に対する毒性の分布は物質により異なり、他の生物種に対して最も強い毒性を示した医薬品類もあることから、生態系に対する医薬品類の影響を詳細に検討する際には、複数の生物種を用いた試験を行う必要があると考えられる。

4.3 予測無影響濃度（PNEC）の算出

4. 2 で把握した毒性情報に加えて、医薬品類の生態毒性情報について文献調査を行い、医薬品類 122 物質について、藻類、甲殻類、魚類などの水生生物に対する毒性情報を得た。得られた医薬品類の生態毒性に基づき、環境中の生物に対して有害な影響を及ぼさないと予想される濃度である、予測無影響濃度（Predicted No Effect Concentration: PNEC）を算出した。PNEC の算出方法については、「化学物質の環境リスク初期評価ガイドライン」[21]を参考に、藻類、甲殻類、魚類の生物群ごとに急性毒性値および慢性毒性値のそれぞれについて整理した上で、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適用して算出された 2 つの値のうち小さい方の値を当該物質の PNEC とした。

結果を表 4.2 に示す。PNEC の値は 0.002 μg/L ~ 2500μg/L と広い範囲を示した。特に抗生物質・合成抗菌剤は、Amoxicillin（0.0022 μg/L）や Spiramycin（0.005 μg/L）をはじめ多くの物質で低い値の PNEC となり、その他、殺菌剤の Triclosan（0.002 μg/L）や Triclocarban（0.017 μg/L）、非選択性 β 遮断剤の Propranolol（0.01 μg/L）、抗うつ剤の Sertraline（0.012 μg/L）等も低い PNEC となった。

表 4.1　本研究で実施した医薬品類 51 物質の生態毒性試験結果

	V. fisheri Microtox® 15min	*P. subcapitata* grow th inh bition 72 or 96hr		*D. magna* immobility 48hr	*X. laevis* FETAX 96hr	*T. pyriformis* grow th inh bition 72hr	
	EC50	EC50	NOEC	EC50	LC50	EC50	NOEC
Acetazoramide	n.e.	1.4	0.52	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Amitripthline	1200.	0.19	0.041	1.3	3.5	3.1	1.3
Atenolol	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Azithromycin	n.e.	0.019	0.0052	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Bezafibrate	n.e.	n.e.	1.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Bromisoval	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	--	--	--
Caffeine	320.	15.	0.52	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Carbamazepine	56.	49.	0.52	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Chloramphenicol	n.e.	0.21	0.041	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Chlorpromazine	1.7	0.27	0.024	22.	1.9	1.	0.16
Clarithromycin	n.e.	0.012	0.0052	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Crotamiton	95.	3.5	2.1	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
DEET	49.	4.1	0.52	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Dexamethasone	560.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Dextromethorphan	82.	0.58	0.016	12.	n.e.	84.	2.5
Diclofenac	22.	5.	0.52	n.e.	n.e.	5.3	0.31
Diltiazem	n.e.	4.5	0.52	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Diphenidol	180.	0.75	0.041	n.e.	n.e.	39.	2.5
Dipyridamole	n.e.	10.	1.6	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Disopyramide	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	--	--	--
Ethenzamide	24.	3.7	2.1	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Fenoprofen	11.	5.7	2.1	n.e.	n.e.	17.	5.
Flufenamic acid	14.	1.1	0.14	4.1	6.3	1.4	0.31
Furosemide	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Haloperidol	18.	0.41	<1.6E-2	6.3	3.6	4.	0.63
Ibuprofen	12.	2.3	0.52	n.e.	n.e.	4.1	0.63
Ifenprodil	n.e.	5.9	0.31	n.e.	--	--	--
Imipramine	9.	0.15	0.024	4.9	3.5	4.1	1.3
Indometacin	13.	100.	8.3	n.e.	--	--	--
Ketoprofen	23.	2.	1.	2.8	n.e.	n.e.	n.e.
Levofloxacin	n.e.	1.5	0.26	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Mefenamic acid	27.	5.4	2.1	n.e.	5.2	1.1	0.039
Metoclopramide	n.e.	7.7	1.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Nalidixic acid	n.e.	n.e.	n.e.	9.3	n.e.	n.e.	n.e.
Naproxen	17.	3.7	0.52	n.e.	n.e.	8.9	0.31
Novobiocin	56.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Phenytoin	92.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	21.	5.
Pirenzepine	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Primidone	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Promethazine	12.	0.32	0.041	4.3	2.7	4.	0.63
Quinoxaline -2-carboxylic acid	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Sotalol	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Sulfamethoxazole	n.e.	0.98	0.31	n.e.	--	--	--
Sulpiride	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Thiamphenicol	50.	14.	8.3	n.e.	--	--	--
Thymol	2.1	1.7	0.52	6.1	n.e.	9.9	0.31
Tolbutamide	1.6	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Tolperisone	56.	0.63	0.041	4.	18.	16.	5.
Triclosan	0.53	0.012	0.0083	0.26	0.82	0.63	0.25
Trimethoprim	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	--	--	--
Verapamil	n.e.	3.3	0.39	n.e.	n.e.	8.8	0.31

-- は試験未実施を、n.eは試験範囲で影響が見られなかったことを意味する。

表 4.2　水生生物に対する医薬品類の予測無影響濃度（PNEC）

	CAS No.	主な薬効・用途	生態毒性データの有無						PNEC(ug/L)
			Algae		Crustacea		Fish		
			acute	chlonic	acute	chlonic	acute	chlonic	
Acetazolamide	59-66-5	緑内障治療薬	O	O	(O)	X	X	X	1.4
Amitriptyline	50-48-6	精神賦活薬	O	O	O	X	X	X	0.19
Amoxicillin	26787-78-0	ペニシリン系抗菌薬	O	O	(O)	X	X	X	0.0022
Ampicillin	69-53-4	ペニシリン系抗菌薬	O	O	(O)	X	X	X	31.
Aspirin	50-78-2	抗血栓薬，鎮痛薬	O	X	O	X	X	X	88.1
Atenolol	29122-68-7	ベータ遮断薬	O	(O)	O	X	(O)	X	> 100.
Azithromycin	83905-01-5	マクロライド系抗菌薬	O	O	(O)	X	X	X	0.019
Benzylpenicillin	61-33-6	ペニシリン系抗菌薬	O	O	X	X	X	X	0.006
Bezaf brate	41859-67-0	脂質修飾剤	(O)	O	O	X	X	X	10.
Bromisoval	496-67-3	精神抑制薬	(O)	(O)	(O)	X	X	X	> 100.
Caffeine	58-08-2	精神賦活薬	O	O	(O)	X	X	X	5.2
Carbadox	6804-07-5	合成抗菌剤	O	O	X	X	X	X	1.6
Carbamazepine	298-46-4	抗てんかん薬	O	O	O	X	O	X	5.2
Cefazolin sodium	27164-46-1	セフェム系抗菌薬	(O)	O	X	X	X	X	500.
Ceftiofur	80370-57-6	セフェム系抗菌薬	O	O	X	X	X	X	36.
Chloramphenicol	56-75-7	アンフェニコール系抗菌薬	O	O	(O)	X	X	X	0.21
Chlorpromazine	50-53-3	精神抑制薬	O	O	O	X	X	X	0.24
Chlortetracycline	57-62-5	テトラサイクリン系抗菌薬	O	O	O	X	O	X	0.02
Cimetidine	51481-61-9	胃酸抑制薬	X	X	O	X	(O)	X	379.9
Ciprofloxacin	85721-33-1	フルオロキノロン系抗菌薬	O	O	(O)	X	X	(O)	0.017
Citalopram	59729-33-8	精神賦活薬	X	X	O	O	X	X	3.9
Clarithromycin	81103-11-9	マクロライド系抗菌薬	O	O	O	O	(O)	X	0.02
Clenbuterol	37148-27-9	閉塞性気道障害用薬	O	O	X	X	X	X	1.6
Clinafloxacin	105956-97-6	フルオロキノロン系抗菌薬	O	X	(O)	X	X	O	0.103
Clofibrate	637-07-0	脂質修飾剤	X	X	X	X	O	X	0.89
Clofibric acid	882-09-7	Clofibrate等代謝物	O	O	O	O	O	X	6.4
Crotamiton	483-63-6	鎮痒剤	O	O	(O)	X	X	X	3.5
Cyclophosphamide	50-18-0	抗悪性腫瘍薬	(O)	O	X	O	X	X	> 100.
Dexamethasone	50-02-2	副腎皮質ステロイド	(O)	(O)	(O)	X	X	X	0.
Dextromethorphan	125-71-3	鎮咳剤	O	O	O	X	X	X	0.16
Diclofenac	15307-86-5	抗炎症及び抗リウマチ製剤	O	O	O	O	X	X	5.
Diethyltoluamide	134-62-3	外部寄生虫忌避剤	O	O	O	X	O	X	5.2
Dihydrostreptomycin	128-46-1	アミノグルコシド系抗菌薬	O	(O)	X	X	X	X	0.
Diltiazem	42399-41-7	カルシウムチャネル遮断薬	O	O	O	X	O	X	5.2
Diphenidol	972-02-1	鎮暈剤	O	O	(O)	X	X	X	0.41
Dipyridamole	58-32-2	抗血栓薬	O	O	(O)	X	X	X	10.
Disopyramide	3737-09-5	心疾患治療	O	O	(O)	X	(O)	X	63.
Doxycycline	564-25-0	テトラサイクリン系抗菌薬	O	O	X	X	X	X	0.2
Enrofloxacin	93106-60-6	動物用合成抗菌剤	O	O	O	O	O	(O)	0.49
Erythromycin	114-07-8	マクロライド系抗菌薬	O	O	O	X	(O)	X	0.103
Ethenzamide	938-73-8	鎮痛薬	O	O	(O)	X	X	X	3.7
Fenof brate	49562-28-9	脂質修飾剤	O	O	O	X	X	X	19.84
Fenoprofen	31879-05-7	抗炎症及び抗リウマチ製剤	O	O	(O)	X	X	X	5.7
Florfenicol	73231-34-2	動物用合成抗菌剤	O	X	X	X	X	X	6.06
Fluconazole	86386-73-4	全身用抗真菌薬	X	X	(O)	X	(O)	X	> 100.
Flufenamic acid	530-78-9	抗炎症及び抗リウマチ製剤	O	O	O	X	X	X	1.1
Flumequine	42835-25-6	フルオロキノロン系抗菌薬	O	X	(O)	X	X	(O)	0.159
Fluoxetine	54910-89-3	精神賦活薬	O	X	O	O	O	X	0.24
Fluvoxamine	54739-18-3	精神賦活薬	O	X	O	O	X	X	0.84
Furosemide	54-31-9	利尿薬	(O)	(O)	(O)	X	X	X	0.
Gemfibrozil	25812-30-0	脂質修飾剤	O	O	O	X	X	X	15.19
Haloperidol	52-86-8	精神抑制薬	O	O	O	X	X	X	0.16

O；毒性値データあり，(O)；範囲で示された毒性値データあり，X；毒性値データなし

表 4.2　水生生物に対する医薬品類の予測無影響濃度（PNEC）（続き）

	CAS No.	主な薬効・用途	生態毒性データの有無						PNEC(ug/L)
			Algae		Crustacea		Fish		
			acute	chlonic	acute	chlonic	acute	chlonic	
buprofen	15687-27-1	抗炎症及び抗リウマチ製剤	O	O	O	X	O	X	130.
Ifenprodil	23210-56-2	末梢血管拡張薬	O	O	O	X	O	X	0.39
Imipramine	50-49-7	精神賦活薬	O	O	O	X	X	X	0.15
Indometacin	53-86-1	抗炎症及び抗リウマチ製剤	O	O	O	X	O	X	83.
Iopromide	73334-07-3	造影剤	(O)	X	(O)	X	(O)	X	> 1000.
Ketoprofen	22071-15-4	抗炎症及び抗リウマチ製剤	O	O	O	X	X	X	0.16
Levofloxacin	100986-85-4	フルオロキノロン系抗菌薬	O	O	(O)	O	(O)	(O)	0.079
Lincomycin	154-21-2	リンコサミド系抗菌薬	O	O	O	X	(O)	X	0.078
Lomefloxacin	98079-51-7	フルオロキノロン系抗菌薬	O	X	(O)	X	X	(O)	0.186
Mefenamic acid	61-68-7	抗炎症及び抗リウマチ製剤	O	O	O	X	O	X	21.
Metformin	657-24-9	血糖値降下薬	(O)	X	O	X	X	X	64.
Methotrexate	59-05-2	抗悪性腫瘍薬，免疫抑制薬	O	X	X	X	O	X	85.
Metoclopramide	364-62-5	機能的胃腸疾患用薬	O	O	(O)	X	X	X	7.7
Metoprolol	51384-51-1	ベータ遮断薬	O	O	O	X	(O)	X	3.1
Metronidazole	99616-64-5	抗菌薬，抗原虫薬	X	X	X	O	X	X	2500.
Nadolol	42200-33-9	ベータ遮断薬、非選択型	X	X	(O)	X	(O)	X	> 100.
Nalidixic acid	389-08-2	キノロン系抗菌薬	(O)	(O)	O	X	X	X	9.3
Naproxen	22204-53-1	抗炎症及び抗リウマチ製剤	O	O	O	X	X	X	3.7
Neomycin	1404-04-2	アミノグルコシド系抗菌薬	X	X	O	O	O	X	0.3
Nicarbazin	330-95-0	動物用抗原虫剤	O	O	X	X	X	X	1.6
Nizatidine	76963-41-2	H2受容体拮抗薬	X	X	O	X	X	X	1000.
Norfloxacin	70458-96-7	精神賦活薬	O	O	X	X	X	X	10.4
Novobiocin	303-81-1	動物用抗生物質	(O)	(O)	(O)	X	X	X	> 10.
Ofloxacin	82419-36-1	フルオロキノロン系抗菌薬	O	X	O	X	(O)	(O)	0.21
Oxolinic acid	14698-29-4	動物用合成抗菌剤	O	X	O	O	X	X	0.18
Oxytetracycline	79-57-2	テトラサイクリン系抗菌薬	O	O	O	X	O	X	1.6
Paracetamol	103-90-2	鎮痛薬	O	(O)	O	X	O	X	301.
Paroxetin	61869-08-7	精神賦活薬	X	X	O	O	X	X	0.51
Phenazone	60-80-0	鎮痛薬	(O)	O	(O)	O	(O)	X	100.
Phenobarbital	50-06-6	抗てんかん薬	(O)	O	(O)	O	(O)	X	310.
Phenytoin	57-41-0	抗てんかん薬	(O)	(O)	(O)	X	X	X	> 10.
Pirenzepine	28797-61-7	胃酸抑制薬	(O)	(O)	(O)	X	X	X	> 10.
Primidone	125-33-7	抗てんかん薬	(O)	(O)	(O)	X	X	X	> 10.
Promethazine	60-87-7	抗ヒスタミン剤	O	O	O	X	X	X	0.32
Propranolol	525-66-6	ベータ遮断薬	O	O	O	O	O	X	0.01
Propyphenazone	479-92-5	鎮痛薬	O	O	X	X	X	X	5.2
Quinoxaline -2-carboxylic acid	879-65-2	Carbadox 代謝物	O	O	(O)	X	X	X	32.
Roxithromycin	80214-83-1	マクロライド系抗菌薬	O	O	X	X	X	X	0.047
Salicylic acid	69-72-7	抗真菌薬，抗炎症薬	(O)	X	O	X	O	X	370.
Sarafloxacin	98105-99-8	キノロン系合成抗菌剤	O	X	X	X	X	X	16.
Sertraline	79617-96-2	精神賦活薬	O	O	O	O	X	X	0.0121
Simvastatin	79902-63-9	脂質修飾剤	O	X	O	X	O	X	11.8
Sotalol	3930-20-9	ベータ遮断薬	(O)	(O)	(O)	X	X	X	> 10.
Spiramycin	8025-81-8	マクロライド系抗菌薬	O	X	X	X	X	X	0.005
Streptomycin	57-92-1	アミノグルコシド系抗菌薬	X	X	O	X	X	X	540.
Sulfachlorpyridazine	80-32-0	スルホンアミド系抗菌薬	O	O	O	X	O	X	0.78
Sulfadiazine	68-35-9	スルホンアミド系抗菌薬	O	(O)	O	X	X	X	0.135
Sulfadimethoxine	122-11-2	スルホンアミド系抗菌薬	O	O	O	X	(O)	X	5.29
Sulfadimidine	57-68-1	スルホンアミド系抗菌薬	O	O	O	(O)	(O)	X	6.3
Sulfaguanidine	57-67-0	スルホンアミド系抗菌薬	X	X	O	X	X	X	3.86
Sulfamerazine	127-79-7	スルホンアミド系抗菌薬	O	O	O	X	(O)	X	0.78
Sulfamethizol	144-82-1	スルホンアミド系抗菌薬	O	O	X	X	X	X	1.8

O；毒性値データあり，(O)；範囲で示された毒性値データあり，X；毒性値データなし

表 4.2　水生生物に対する医薬品類の予測無影響濃度（PNEC）（続き）

	CAS No.	主な薬効・用途	生態毒性データの有無 Algae acute	Algae chlonic	Crustacea acute	Crustacea chlonic	Fish acute	Fish chlonic	PNEC(ug/L)
Sulfamethoxazole	723-46-6	スルホンアミド系抗菌薬	O	O	O	X	O	X	1.6
Sulfamonomethoxine	1220-83-3	スルホンアミド系抗菌薬	O	O	X	X	X	X	0.57
Sulfaquinoxaline	59-40-5	スルホンアミド系抗菌薬	X	X	O	X	X	X	131.
Sulfathiazole	72-14-0	スルホンアミド系抗菌薬	O	O	O	O	(O)	X	7.8
Sulpiride	15676-16-1	精神抑制薬	(O)	(O)	(O)	X	X	X	> 10.
Tamoxifen	10540-29-1	抗エストロゲン薬	X	X	O	X	X	X	0.4
Tetracycline	60-54-8	テトラサイクリン系抗菌薬	O	O	X	X	X	X	0.09
Theophylline	58-55-9	気管支拡張剤	(O)	O	X	X	X	X	> 100.
Thiamphenicol	15318-45-3	アンフェニコール系抗菌薬	O	O	(O)	X	X	X	2.
Thymol	89-83-8	医薬品保存剤	O	O	O	O	O	X	5.2
To butamide	64-77-7	血糖値降下薬	(O)	(O)	(O)	X	X	X	> 10.
Tolperisone	728-88-1	筋弛緩薬	O	O	O	X	X	X	0.41
Triclocarban	101-20-2	殺菌剤	O	(O)	X	X	X	X	0.017
Triclosan	3380-34-5	殺菌剤	O	O	O	X	O	X	0.002
Trimethoprim	738-70-5	抗菌剤	O	O	O	O	(O)	X	60.
Tylosin	1401-69-0	マクロライド系抗生物質	O	O	O	O	X	X	0.034
Vancomycin	1404-90-6	グリコペプチド系抗菌薬	(O)	O	X	X	X	X	7.8
Verapamil	52-53-9	カルシウムチャネル遮断薬	O	O	(O)	X	X	X	3.3

O；毒性値データあり，(O)；範囲で示された毒性値データあり，X；毒性値データなし

4.4　河川における医薬品類の生態リスク評価

4. 3 で PNEC を整理した医薬品類について、ガイドライン[21]を参考に、ハザード比（Hazard Quotient: HQ）を計算し、生態リスク評価を行った。

$$HQ = MEC / PNEC$$

HQ: Hazard Quotient
MEC: Measured Environmental Concentration
PNEC: Predicted No Effect Concentration

環境中濃度（MEC）には、本研究で把握してきた河川中濃度（大津川[22]、鉾田川 5)、多摩川（未発表））、及び文献値（利根川流域 6)）の最大値を用いた。ガイドライン[21]では、HQ が 1 以上の場合は「詳細な評価を行う候補と考えられる」、0.1 以上 1 未満の場合は「情報収集に努める必要があると考えられる」という評価分類になっている。本検討においては、66 物質について HQ が算出され、HQ≥10 が 3 物質（Amoxicillin、Clarithromycin、Triclosan）、10>HQ≥1 が 4 物質（Azithromycin、Caffeine、Chlortetracycline、Erythromycin）、1>HQ≥0.1 が 6 物質（Crotamiton、Ketoprofen、Levofloxacin、Propranolol、Sulfamethoxazole、Sulfamonomethoxine）、その他 53 物質は 0.1 未満であった。HQ が 0.1 以上であった 13 物質を、図 4.1 に示す。特に、殺菌薬の Triclosan（HQ=68）、抗生物質の Amoxicillin（HQ=50）、Clarithromycin（HQ=14）は、HQ が 10 以上と大きく、生態影響が懸念される。また、HQ が 0.1 以上となった 13 物質の薬効用途は、Caffeine（興奮剤、強心剤）、Crotamiton（鎮痒剤）、Ketoprofen（抗炎症剤）、Propranolol（非選択性 β 遮断剤）、Triclosan（殺菌薬）、その他 8 物質が抗生物質、合成抗菌剤である。

これらの医薬品類については、水環境中での生態リスクを詳細に評価するため、存在実態・挙動の調査をより進める必要がある。

4.5　まとめと今後の課題

本研究では、医薬品類の生態影響について、複数種を用いたバイオアッセイを行うとともに、文献調

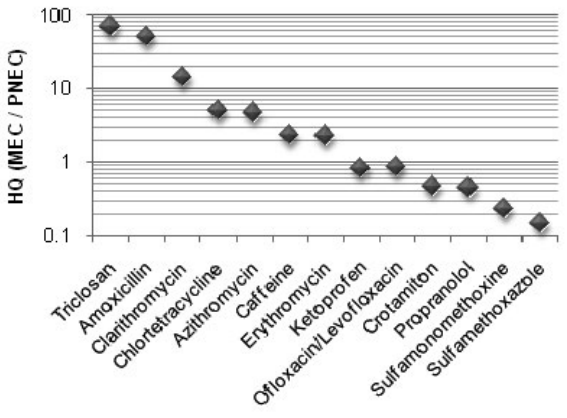


図 4.1　河川における医薬品類のハザード比

査を行い、生態毒性データの収集を行い、122 物質について予測無影響濃度 PNEC を算出した。その結果、医薬品類の中には、水生生物に対して毒性を示す物質が含まれており、中でも、Amoxicillin や Spiramycin など多くの抗生物質、合成抗菌剤や、Triclosan、Triclocarban 等の殺菌剤は、PNEC が 0.01 μg/L 程度と強い毒性を示すことが確認された。また、複数の生物種の中で藻類に対して特に強い毒性を示す医薬品が多く見られたことから、医薬品類の水生生物に対する生態影響を検討する際のスクリーニングとして、藻類生長阻害試験が活用できる可能性が示された。

また、医薬品類の河川中濃度と PNEC を用いて生態リスク初期評価を行った結果、7 物質でハザード比 HQ が 1 以上となり、「詳細な評価を行う候補と考えられる」と判定された。特に、抗生物質の Amoxicillin、Clarithromycin、殺菌薬の Triclosan は HQ が 10 以上と大きな値を示した。1>HQ≥0.1 となった 6 物質を含め、水環境中での存在実態・挙動の調査を進め、より詳細な生態リスク評価を行う必要があると考えられる。

また、各生物種の感受性については、藻類に対して強い毒性を示す物質が多く見られたことから、医薬品類の水生生物に対する生態影響を検討するうえで、藻類生長阻害試験がスクリーニング的に活用できる可能性が示された。ただし、生態系に対する医薬品類の影響を詳細に検討する際には、複数の生物種を用いた試験を行う必要があると考えられる。

一方、魚類に対する毒性情報は、試験実施の困難さや生命倫理の観点等から依然として少なく、特に慢性的な影響に関する知見は極めて限られている。今後は、分子生命学的手法の活用などにより、この分野の知見を充実させることが必要だと考えられる。また、今回毒性情報を整理できた物質は、数千種類以上存在する医薬品類の一部に過ぎない。これら膨大な種類の医薬品類全てについて、バイオアッセイを実施して水生生物に対する生態毒性を把握することは現実的ではないことから、医薬品類のように様々な作用機序を持つ物質に適用可能な、スクリーニング手法や毒性予測手法の開発が求められる。

5. バイオアッセイによる環境水の生態影響評価

5. 1 目的

水環境中では、多種の医薬品類が同時に存在しているのに加え、内分泌かく乱物質、界面活性剤、重金属など、様々な生理活性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合せで長期間ばく露されており、そ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、バイオアッセイにより毒性を評価するとともに、医薬品類による影響について検討を行った。

5. 2 調査地点

関東地方及び四国地方の複数の河川及び小水路に調査地点を 54 地点設定し、各地点から 1～3 回、延べ 97 試料を採取した。これらの調査地点には、未処理生活排水や畜産施設の排水、下水処理水等、異なる負荷源の影響を受ける地点が含まれている。

5. 3 調査方法

5.3.1 バイオアッセイ

本検討では、4. 2 で述べたバイオアッセイのうち、多くの医薬品類に対して高い感受性を示した藻類生長阻害試験（4.2.2）を行った。

わが国の河川においては、生態毒性は比較的低い地点が多く、短期間のバイオアッセイにおいて明らかな影響が検出されることは少ない。また、特に藻類生長阻害試験においては、河川水中に存在する窒素やりん等の栄養塩類の濃度が、毒性値に影響することが知られており[23]、毒性がマスキングされてしまう可能性がある。本研究においても、前処理を行わない場合に、有意な影響を示した試料は無かった。

そこで本検討では、固相抽出による前処理を行った。この手法により、対象が固相に吸着、脱離される物質群に限定されるものの、原水より濃縮された状態でのばく露が可能となり、通常では明確にならない毒性を検出することが可能となる。固相カートリッジには、OASIS® HLB Plus（Waters Corp.）を使用し、GF/B（Whatman, Inc.）で濾過した 1000 mL 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 100 μL の DMSO に再溶解することで濃縮試料（原水の 10000 倍濃度）を得た。濃縮試料は、ばく露溶液中の DMSO 濃度が 0.1%を超えないように最大ばく露濃度を原水の 10 倍以下に設定し、公比 2 で等比級数的に希釈した試験系列を作成して試験を行った。

5.3.2 藻類に対する毒性と水質の比較

生長阻害が検出された試料について、毒性単位（Toxicity Unit: $TU=1/EC_{50}$）と水質及び医薬品類の生態リスクとの比較を行った。TU は、毒性が強いほど値が大きくなる。また、医薬品類については、4. 4

で HQ が 0.1 以上と評価された 13 物質のうち、分析を行った 10 物質（Amoxicillin、Erythromycin、Propranolol 以外）を対象に総リスクを評価した。本検討においては、各物質のハザード比 HQ の和（Σ*HQ*）を医薬品 10 物質の総リスクとみなした。さらに、バイオアッセイで用いた生物種の *P. subcapitata* に対する EC_{50} の値を用いて、アセスメント係数を含まない評価値（Σ(*MEC*/EC_{50})）も算出した。Σ(*MEC*/EC_{50})は、、*P. subcapitata* の半数生長阻害濃度に対するばく露マージン（MOE: Margin of Exposure）の逆数にあたる。

5.4　結果

試験を行った 97 試料のうち、生長阻害が検出されたのは 25 試料（検出率 26%）であり、EC_{50} の値は河川水原水に対する濃縮倍率として 3.8 倍～55.7 倍（TU: 0.018～0.26）の範囲であった。TU が 0.1 以上と比較的高かった 5 試料は、何れも終末処理場の放流口や再生水を用いた水路など、下水処理水の影響の大きな地点で、冬季に採水した試料であった。また、生長阻害が検出された 25 試料の Σ*HQ* の値は、1.0～29 の範囲であった。

有機物量の指標である溶解性有機炭素（DOC）と毒性単位（TU）の比較を図 5.1 に、Σ*HQ* と TU の比較を図 5.2 に、Σ(*MEC*/EC_{50})と TU の比較を図 5.に、それぞれ示す。TU と DOC の間には、強い正の相関（$r = 0.78$）が見られるのに対して、TU と Σ*HQ* の相関は弱かった（それぞれ、$r = -0.30$、$r = -0.34$）。

これらの結果から、今回調査対象とした河川においては、一部で、藻類に対する弱い毒性が見られたが、それらに対する医薬品類の寄与は小さく、他の有機化合物が影響していたものと考えられる。医薬品類のハザード比は最大 29 と大きな値であったが、この値は 10 ～ 1000 倍のアセスメント係数を包有しているものであり、少なくとも *P. subcapitata* に対して、個体群レベルで影響する濃度ではなかったと考えられる。ただし、実際の環境中には、*P. subcapitata* より感受性が高い生物種が存在する可能性について留意する必要がある。なお、水生生物に対する生態リスクが懸念される有機物としては、「化学物質の環境リスク初期評価[24]」や「初期リスク評価書[25]」において、ノニルフェノールや LAS などが、詳細な評価を行う候補としてあげられている。

5.5　まとめと今後の展開

本研究では、関東地方及び四国地方の複数の河川及び小水路の河川水を対象に、固相抽出による前処理を行った後、藻類生長阻害試験を実施した。97 試料中、25 試料で生長阻害が検出されたが、EC_{50} の値は 3.8 倍～55.7 倍であり、1 倍未満の毒性が検出された試料はなかった。藻類に対する毒性の強さを、水質及び医薬品類の生態リスク（ハザード比）と比較した結果、DOC の間には強い正の相関が見られたのに対して、医薬品類ハザード比との相関は弱いことから、本研究で対象とした河川水が示す毒性に対する医薬品類の寄与は小さかったと考えられる。

今後は、多様な種類の生理活性物質が共存する試料の全毒性、総影響について、特に長期影響の視点から評価する手法の検討が必要である。また、医薬品類を含めた生理活性物質の存在が水生生物、生態系にどのような影響を与えているかについて、実際の水環境中に生息している生物、形成されている生態系の視点からも把握、評価する手法の開発が必要と考えられる。

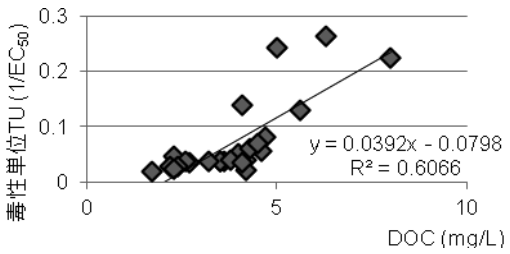


図 5.1　藻類生長阻害試験における毒性と DOC との比較

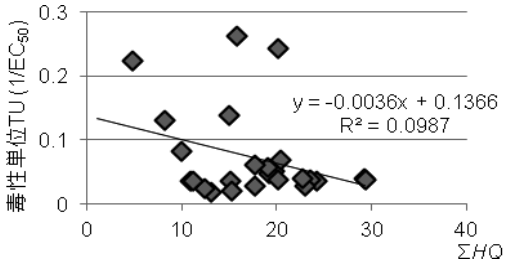


図 5.2　藻類生長阻害試験における毒性と医薬品類 10 物質の Σ*HQ* との比較

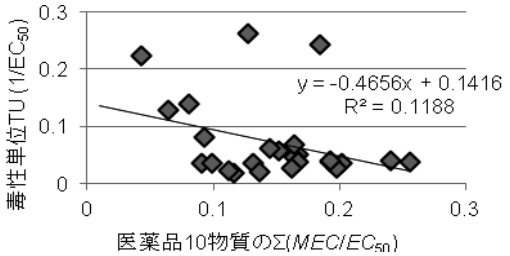


図 5.3　藻類生長阻害試験における毒性と医薬品類 10 物質の Σ(MEC/EC_{50})との比較

6. 都市河川水の魚類生態影響の評価

6.1 目的

近年、国際的に生態系保全が強く求められるようになってきており、河川管理者には、河川の水生生態の保全と管理が求められている。水生生物の中で、特に魚類は、水生生物の代表種、経済生物であり、その存在は水質浄化の効果が直接的に実感できるため、魚類の生態保全のために、河川中の生理活性物質の魚類への影響について、把握する必要がある。

そこで、都市河川水でメダカを飼育する連続ばく露試験を行って、従来法（生死や行動異常の判定）よりも高感度な遺伝子レベルで魚類影響を把握するとともに、河川水の生理活性物質等の測定を同時に行い、都市河川の魚類への生態影響と生理活性物質についての知見を得ることを目的とした。

6.2 方法

6.2.1 供試魚類と影響評価法

ばく露試験には、土木研究所の実験室で継代飼育しているメダカ（d-rR 系統）を用いた。メダカを用いた理由は、魚類のモデル生物であり、遺伝子情報が充実していること、小型で飼育が容易なことによる。d-rR 系統は、遺伝的に雄が橙色、雌が白色であるため、雌雄の識別が容易である。

影響評価法は、河川水に一定期間雄メダカを流水式でばく露した後、メダカを解剖し、肝臓、エラ、精巣から RNA 抽出後、マイクロアレイ（エコジェノミクス社製メダカアレイ EG750）による網羅的遺伝子発現解析とリアルタイム PCR による変動遺伝子を中心とした定量解析を行った。

6.2.2 河川水の分析対象物質

河川水の分析は、栄養塩類の他、金属類、組み換え酵母によるエストロゲン様活性値および医薬品類について 1 回／週の分析を行った。医薬品類は 2. 1 に記載した方法で分析した。

6.2.3 河川水ばく露実験

河川水ばく露実験は、関東地方都市部の河川の水質観測所に、流水式メダカばく露水槽を設置して、既報[26]と同様の方法で実施した。図 6.1 にばく露水槽の設置位置を示す。この水質観測所の地点の上流側には下水処理場が 8 つ存在しており、河川の流量に占める下水処理水の割合は、50%程度である。ばく露試験では、雄メダカ 35 匹を使用し、比較対照試験として脱塩素水道水でのばく露試験も行った。ばく露期間は 7、14、21 日間とし、平成 20 年 1 月に実施した。

6.3 結果と考察

6.3.1 河川水質分析結果

表 6.1 は、ばく露期間中の河川水の栄養塩類（NO_3-N、PO_4-P）濃度と、対照区の平均濃度より 2 倍以上となった金属類とその濃度である。これらの中で、Fe、Al、Zn の濃度が、対象区より顕著に高く、15 μg/L 以上であった。なお、Zn 濃度は測定期間を通じて河川の環境基準値の 0.03 mg/L（30 μg/L）を下回っていた。

表 6.2 は河川水のエストロゲン物質の濃度とエストロゲン様活性、及び医薬品類の濃度である。エストロゲン様活性は、概ね 10 ~30 ng/L の範囲と、河川水としては比較的高い濃度であった。また、エストロゲン類の濃度は、ばく露初期に高く、ばく露期間中に低下する傾向であった。一方、医薬品類については、ばく露期間中に大きな濃度変動は見られなかった（図 6.2）。



図 6.1 都市河川の調査地点

表 6.1 河川水中の栄養塩と金属濃度

		対照区	曝露区			
		平均値	0日目	7日目	14日目	21日目
NO_3-N	[mg/L]	0.2	7.5	7.5	8.3	9.0
PO_4-P	[mg/L]	0.04	0.4	0.5	0.5	0.5
K	[mg/L]	5.3	10.1	12.7	10.9	12.0
Mn	[μg/L]	n.d.	24.8	3.1	3.5	2.6
Ni	[μg/L]	n.d.	2.8	3.3	3.0	3.3
Fe	[μg/L]	3.4	34.9	32.4	49.8	33.0
Al	[μg/L]	7.0	35.1	50.8	45.2	36.6
Zn	[μg/L]	3.2	19.0	17.8	17.3	19.6
Li	[μg/L]	0.7	2.6	3.3	2.9	2.6
Cu	[μg/L]	2.0	4.8	6.0	6.2	6.4
Cr	[μg/L]	n.d.	0.6	n.d.	n.d.	n.d.
Mo	[μg/L]	0.8	1.9	1.9	2.5	2.2
As	[μg/L]	n.d.	0.6	0.7	0.6	0.6

6.3.2 メダカ遺伝子の発現解析の結果

ばく露後 7、14、21 日目のマイクロアレイ解析による変動遺伝子の抽出結果を、肝臓、精巣、エラについて、それぞれ図 6.3、図 6.4、図 6.5 に示す。図中の遺伝子は、遺伝子発現倍率が対照区の 2 倍以上または 1/2 以下（$p<0.05$）となった遺伝子であり、ばく露期間毎の対照区との倍率で示している。

肝臓では、ばく露 7 日目にビテロゲニン（Vtg I）、コリオゲニン（Chg H、Chg H minor、Chg L）遺伝子の上昇が顕著であった。これらは、卵形成に関わるエストロゲン応答遺伝子であり、河川水の E1（エストロン）や、エストロゲン様活性値の変化と同様の傾向を示していることがわかる。ばく露初期の魚類影響は、エストロゲン作用が大きいことがわかる。また、ばく露 21 日目では、エストロゲン応答遺伝子の低下とともに薬物代謝関連遺伝子の増加がみられ、代謝が影響を受けていることがわかる。

精巣では、7 日目において対照区より遺伝子発現強度が低下する遺伝子が多くみられた。低下した遺伝子の中には、免疫関連や精子形成に関わる遺伝子があり、精巣が悪影響を受けていることがわかる。精子形成関連遺伝子の発現比は、河川水のエストゲン様活性値が低下すると、対照区に近くなっていることから、エストロゲンの影響を受けていた可能性がある。21 日目に遺伝子発現強度が低下している機能不明遺伝子もみられた。

エラでは外因性の薬物代謝関連遺伝子である P450 1A1 遺伝子の発現強度が高くなっていた。P450 1A1 は多環芳香族炭化水素によって誘導することが知られている[27]。P450 1A1 を誘導した化学物質は不明であるが、河川水中に P450 1A1 誘導物質が存在していたと考えられる。ばく露 7 日目には、浸透圧調整、DNA 合成、細胞周期関連遺伝子に変動がみられた。ばく露 21 日では、これらの遺伝子発現の変動幅は、小さくなる傾向を示した。

図 6.6 は、リアルタイム PCR 法で、主に肝臓のエストロゲン応答遺伝子、エラの薬物代謝遺伝子を中心に遺伝子発現を確認した結果である。解析遺伝子は、エストロゲン応答遺伝子（Vtg I、Vtg II、Chg H、Chg H minor、Chg L、ERα）、重金属応答遺伝子（metalotionein）、ガン抑制遺伝子（P53）、薬物代謝遺伝子（P450 1A1）である。リアルタイム PCR 法でも、ばく露 7 日目で肝臓の Vtg、Chg 遺伝子の発現強度が強く、エラで P450 1A1 が高くなっていることが確認できた。

表 6.2　河川水中の医薬品類等の濃度

濃度[ng/L]

生理活性物質名		対照区	曝露区			
		平均値	0日目	7日目	14日目	21日目
E1（ エストロン ）	女性 ホルモン	n.d.	26.1	19.5	11.0	11.1
E2（ 17βエストラジオール ）	女性 ホルモン	n.d.	2.6	2.4	1.7	1.6
E3（ エストリオール ）	女性 ホルモン	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
EE2（ エニチルエストラジオール	合成女性 ホルモン	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
エストロゲン　様活性		0.2	32.8	25.3	12.9	14.0
sulpiride	消化性潰瘍用剤	−	1012.9	1099.5	879.4	1200.0
crotamiton	鎮痛 ,鎮痒 ,収れん ,消炎剤	−	629.6	645.5	452.3	653.6
clarithromycin	抗生物質	−	195.3	214.2	173.5	235.3
caffeine	強心剤	−	92.9	100.0	468.3	107.4
phenobarbital	催眠鎮静剤 ,抗不安剤	−	150.2	159.3	193.4	162.4
disopyramide	不整脈用剤	−	103.9	119.2	90.9	124.3
bezafibrate	高脂血症用剤	−	81.5	76.3	101.1	74.2
amoxicillin	抗生物質	−	67.0	68.9	76.3	105.7
levofloxacin		−	71.3	96.8	56.2	86.0
indomethacin	解熱鎮痛消炎剤	−	67.0	70.9	48.1	68.9
furosemide	利尿剤	−	67.6	64.3	54.9	66.7
ketoprofen	解熱鎮痛消炎剤	−	86.3	53.4	38.8	53.8
diclofenac sodium	鎮痛 ,鎮痒 ,収れん ,消炎剤	−	43.7	47.6	37.5	50.0
acetazoramide	利尿剤	−	36.0	40.5	34.5	41.1
carbamazepine	抗てんかん 剤	−	38.2	39.5	32.8	38.5
atenolol	不整脈用剤	−	28.0	33.6	35.0	50.5
theophylline	気管支拡張剤	−	31.9	27.0	51.8	33.5
sulfamethoxazole	他の化学療法剤	−	35.0	36.1	30.1	34.6
ethenzamide	解熱鎮痛消炎剤	−	14.6	78.5	19.2	14.4
primidone	抗てんかん 剤	−	27.6	34.1	27.2	35.4
phenytoin	抗てんかん 剤	−	20.6	21.3	17.0	20.9
azithromycin	抗生物質	−	18.3	22.2	17.2	21.9
carbazochrome	止血剤	−	17.4	17.9	16.2	25.9
mefenamic acid	解熱鎮痛消炎剤	−	17.8	18.2	14.4	19.1
diltiazem	合成抗菌剤	−	17.1	17.1	15.1	19.0
clofibric acid	解熱鎮痛消炎剤	−	16.1	19.1	14.3	17.5
nalidixic acid	血管拡張剤	−	19.0	14.5	14.6	14.0
acetaminophen	解熱鎮痛消炎剤	−	7.1	7.6	40.6	5.4
N,N-diethyl-m-toluamide	昆虫忌避剤	−	12.6	13.1	12.4	14.1
2-quinoxaline carboxylic acid	合成抗菌剤（ カルバドックスの代謝物 ）	−	9.7	10.6	9.4	12.8
ampicillin	抗生物質	−	11.0	9.1	9.7	11.9
naproxen	解熱鎮痛消炎剤	−	12.5	9.9	6.6	12.1
oxytetracycline	抗生物質	−	n.d.	19.3	5.9	4.6
ibuprofen	解熱鎮痛消炎剤	−	8.4	7.2	11.1	7.0
trimethoprim	合成抗菌剤	−	7.9	9.1	7.2	8.7
dipyridamole	血管拡張剤	−	9.0	7.5	6.9	6.6
tetracyclin	抗生物質	−	7.0	5.6	6.6	7.5
metoprolol	降圧剤	−	5.6	7.1	4.9	6.2
griseofulvin	主にカビ 作用剤	−	5.6	5.2	5.0	7.7
bromovalerylurea	抗不安剤	−	6.7	4.4	5.1	4.1
metoclopramide	他の消化器官用薬	−	5.1	4.4	3.7	4.6
chloramphenicol	抗生物質	−	n.d.	4.2	n.d.	n.d.
mepirizole	不整脈用剤	−	n.d.	4.1	n.d.	n.d.
propranolol hydrochloride	解熱鎮痛消炎剤	−	4.1	3.8	3.2	4.1
pirenzepine	消化性潰瘍用剤	−	3.1	3.7	2.3	3.0
antipyrine	解熱鎮痛消炎剤	−	3.5	2.3	2.7	2.9
spironolactone	利尿剤	−	2.6	5.5	1.3	1.7
fulfenamic acid	他の泌尿生殖器官 ,肛門用薬	−	2.3	2.4	n.d.	2.4
flovoxate	解熱鎮痛消炎剤	−	2.4	2.4	2.3	2.3
thiamphenicol	合成抗菌剤	−	n.d.	n.d.	n.d.	2.0
amitriptyline	神経系用剤	−	2.0	1.8	1.9	2.1
isopropylantipyrine	解熱鎮痛消炎剤	−	1.8	1.4	2.5	2.1
sotalol	不整脈用剤	−	n.d.	1.5	1.4	1.5
nicarbazin		−	1.3	1.2	1.2	1.1
haloperidol	神経系用剤	−	1.1	1.2	0.6	0.9
-:未測定		医薬品総濃度	3139	3391	3164	3514

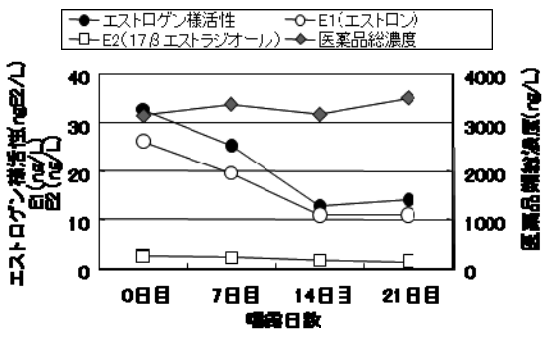


図 6.2　エストロゲン類と医薬品類総濃度の変動

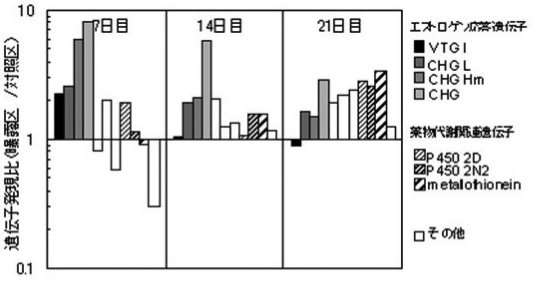


図 6.3　マイクロアレイによる
肝臓の遺伝子発現解析結果

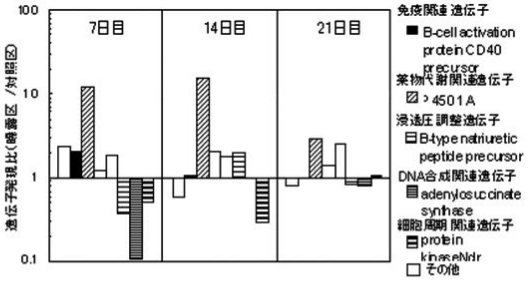


図 6.5　マイクロアレイによる
エラの遺伝子発現解析結果

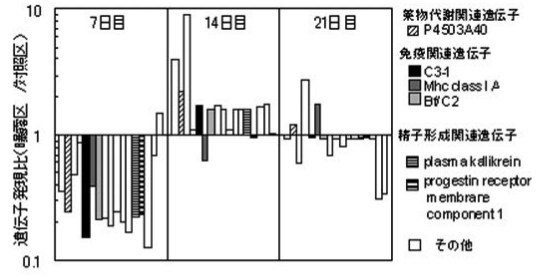


図 6.4　マイクロアレイによる
精巣の遺伝子発現解析結果

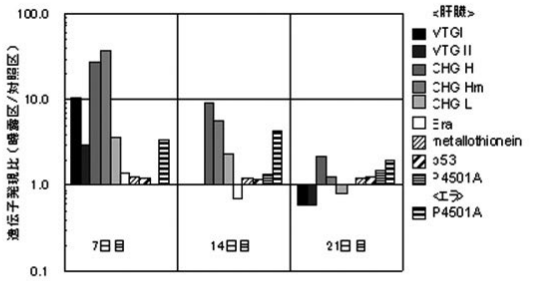


図 6.6　リアルタイム PCR 法による
遺伝子発現解析結果

魚類影響を河川水中の様々な生理活性物質の機器分析の結果から予測することは困難であり、魚類影響の評価はバイオアッセイが有効である。本研究で試みた遺伝子発現を指標とした生物影響評価法は、高感度で、多角的に生体影響を評価できる可能性がある。本実験で発現変動がみられた遺伝子については、雄魚の雌性化、精子形成能、免疫機能の低下などの生体影響のバイオマーカーとして利用できる可能性がある。今後、これらの遺伝子の詳細な機能情報を収集し、個体レベルでみられる生体反応との関連を把握する必要がある。

6. 4　まとめ

メダカの流水式ばく露実験から都市河川水の魚類影響について遺伝子レベルでの評価を試みたところ、臓器毎の遺伝子発現の変化から、多角的な魚類影響を評価できることがわかった。肝臓ではエストロゲン作用や薬物代謝能への影響、精巣では精子形成能への影響、エラからは外因性の薬物代謝物質（P450 1A1）の検出が可能であった。今回実験を行った都市河川水は、エストロゲン作用や、外因性の薬物代謝物質を含んでいることが示された。

7.　まとめ

医薬品分析法については、生産量が多い医薬品や国内で検出例のある医薬品など 95 物質を選定して、その一斉分析法を開発し、水環境中における存在実態、挙動の把握に適用した。

また、抗インフルエンザウィルス剤の Oseltamivir phosphate（タミフル）、及びその活性代謝物 Oseltamivir carboxylate の分析法（下水試料の検出下限値は試料換算濃度で 0.34 ng/L 及び 0.29 ng/L）、ならびに、抗真菌薬 Fluconazole と Itraconazole、抗ウィルス薬 Aciclovir の分析法（下水試料の検出下限値は試料換算濃度で 0.1 ~ 0.2 ng/L、汚泥試料の検出下限値は湿重量当たり 0.05 ~ 0.1 ng/g-wet）をそれぞれ開発した。これらの医薬品については、今後、下水を含めた水環境中実態の調査継続が必要である。

さらに、抗生物質の Linezolid、Mupirocin、Meropenem、Cefcapene pivoxil の分析法開発を行った。本分析法の実試料への適用において、絶対検量線法から抽出液への標準添加法に定量方法を変更することで、測定時の損失を補正することができた。しかし夾雑成分が引き起こすイオン化抑制の問題は残ったままであり、より操作の簡便な絶対検量線法の適用も踏まえて、夾雑成分を除去する前処理法の検討

が今後の課題としてあげられる。

水環境中での実態把握、挙動解明については、開発した 95 物質の一斉分析法を用いて、畜産業を含む農村地域や下水道普及状況の異なる都市域などの河川において実態調査を行った。人為汚染が小さい地点では検出される医薬品数が少なく、かつ濃度も低い、人為汚染が強い地点では、検出される医薬品数が多くかつ濃度も高いという傾向がみられた。また、合成抗菌剤などの動物用医薬品が検出された地点の集水域には養豚場や鶏舎、動物病院などの存在が確認され、これらが排出源となっている可能性が考えられた。下水処理場放流水との比較では、多くの物質は放流水を下回る濃度であったが、下水処理場での除去率の高い Caffeine など数物質は、未処理排水や処理レベルの低い排水の占める割合が高い地点において、下水処理場放流水の 2 倍以上の値を示す場合が見られた。また、逆に下水処理場での除去がほとんど見られない Crotamiton についても、下水処理水と同レベルで検出される地点があった。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。さらに、試料採取時に観測した流量から排出負荷量を求め、人口一人当たりの排出負荷量を推計した。

また、晴天時と雨天時に医薬品の実態把握調査を行いその流出実態の比較を行った。都市域の小河川においては、調査医薬品 17 物質中多くの医薬品濃度は、雨天時においても晴天時とほぼ同じ値を示し、3 物質は晴天時の 2～3 倍の値を示した。一方、農村地域の小河川においては、地点によって、晴天時の 10 倍以上と大きな濃度上昇を示す物質が見られた。有機性汚濁物質等と同様に、集水域に降雨により流出しやすい医薬品類が存在することが示され、水環境中における医薬品類調査における雨天時調査の重要性が明らかになった。今後、降雨による流出負荷量の把握など、より詳細な調査を行う必要がある。

また、湖沼流入河川の医薬品負荷量から算出した流入河川の平均濃度と湖沼内の医薬品濃度を比較したところ、負荷量から求めた平均濃度に比べ湖沼内の濃度が高い傾向を示すものもみられ、晴天時の河川流入負荷だけでは湖沼流入負荷全体の把握が困難であることが示された。今後は、雨天時の流入負荷も合わせて調査し考察する必要がある。

医薬品類の生態影響については、5 生物種を用いたバイオアッセイを行うとともに、文献調査を行い、生態毒性データの収集を行い、122 物質について予測無影響濃度 PNEC を算出した。複数の生物種の中で藻類に対して特に強い毒性を示す医薬品が多く見られたことから、医薬品類の水生生物に対する生態影響を検討する際のスクリーニングとして、藻類生長阻害試験が活用できると考えられる。

さらに、医薬品類の河川中濃度と、算出した PNEC を用いて生態リスク初期評価を行った結果、抗生物質の Amoxicillin、Clarithromycin、殺菌薬の Triclosan でハザード比 HQ が 10 以上と大きな値を示すなど、7 物質で HQ が 1 以上となり、「詳細な評価を行う候補と考えられる」と判定された。これらの物質については、水環境中での存在実態・挙動の調査を進め、より詳細な生態リスク評価を行う必要があると考えられる。また、複数の生物種の中で藻類に対して特に強い毒性を示す医薬品が多く見られたことから、医薬品類の水生生物に対する生態影響を検討する際のスクリーニングとして、藻類生長阻害試験が活用できる可能性が示された。

環境水の生物影響評価については、複数の河川及び小水路の河川水を対象に、固相抽出による前処理を行った後、藻類生長阻害試験を実施した。約 1/4 の試料で生長阻害が検出されたが、EC_{50} の値は 3.8 倍～55.7 倍であり、1 倍未満の毒性が検出された試料はなかった。また、藻類に対する毒性の強さを、水質及び医薬品類の生態リスク（ハザード比）と比較した結果、DOC の間には強い正の相関が見られたのに対して、医薬品類ハザード比との相関は弱いことから、本研究で対象とした河川水が示す毒性に対する医薬品類の寄与は小さく、医薬品類以外の生理活性物質の影響が大きかったと考えられた。

さらに、メダカの流水式ばく露実験から都市河川水の魚類影響について遺伝子レベルでの評価を試みたところ、臓器毎の遺伝子発現の変化から、多角的な魚類影響を評価できることがわかった。肝臓ではエストロゲン作用や薬物代謝能への影響、精巣では精子形成能への影響、エラからは外因性の薬物代謝物質（P450 1A1）の検出が可能であった。

参考文献

1) 厚生労働省医政局：*薬事工業生産動態統計年報*，平成 **14** 年，じほう，2003

2) 小西千絵，宝輪勲，中田典秀，小森行也，鈴木穣，田中宏明：水環境中 PPCPs の LC-MS/MS による一斉分析法の検討，*環境工学研究論文集*，**43**，pp.73-82，2006

3) 中外製薬株式会社：*医薬品インタビューフォーム*，タミフルカプセル 75・タミフルドライシロップ 3%（オセルタミビルリン酸塩製剤），改訂第 24 版，p.53，2010
4) 清野敦子，古荘早苗，益永茂樹：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.685-691，2004
5) 小森行也，岡安祐司，鈴木穣：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.37-44，2007
6) Nakada, N., Komori, K., Suzuki, Y., Konishi, C., Houwa, I. and Tanaka, H.: Occurrence of 70 pharmaceutical and personal care products in Tone River basin in Japan, *Water Sci. Technol.*, **56**, pp.133-140, 2007
7) Clara, M., Strem, B. and Kreuzi nger, N.: Carbamazepine as a possible anthropogenic marker in the aquatic environment: investigations on the behaviour of Carbamazepine in wastewater treatment and during groundwater infiltration, *Water Res.*, **38**, 947-954, 2004
8) Nakada, N., Tanishima, T., Shinohara, H., Kiri, K. and Takada, H.: Pharmaceutical chemical and endocrine disrupters in municipal wastewater in Tokyo and their removal during activated sludge treatment, *Water Res.*, **40**, 3297-3303, 2006
9) Buerge, I. J., Poiger, T., Muller, M. D. and Buser, H. R.: Caffeine, an anthropogenic marker for wastewater contamination of surface waters, *Environ. Sci. Technol.*, **37**, pp.691-700, 2003
10) 小森行也，岡安祐司，鈴木穣：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*，pp.91-93，2008
11) 岡見吉郎：*クリロビッツ抗生物質論*，p.169，学会出版センター，1978
12) 厚生労働省：キノキサリン-2-カルボン酸，*食品衛生検査指針 動物用医薬品・飼料添加物編 2003*，pp.131-135，（社）日本食品衛生協会，2003
13) 動物医薬品協同組合：動物医薬品副作用等情報集，http://www.nval.go.jp/vet-cop/index htm，（2011 年 3 月時点）
14) 小森行也，鈴木穣，南山瑞彦：晴天時、雨天時の小河川における医薬品類の存在実態，*第 **19** 回環境化学討論会講演要旨集*，p.146，2010
15) 小森行也，鈴木穣：湖沼とその流入河川における医薬品存在実態，*第 **11** 回日本水環境学会シンポジウム講演集*，p.146，2008
16) 小森行也，鈴木穣：湖沼流入河川の医薬品負荷量と湖沼内医薬品濃度の関係，*第 **12** 回日本水環境学会シンポジウム講演集*，p.98，2009
17) Harada, A., Komori, K., Nakada, N., Kitamura, K. and Suzuki, Y.: Biological effects of PPCPs on aquatic lives and evaluation of river waters affected by different wastewater treatment levels, *Water Sci. Technol.*, 58, 1541-1546, 2008
18) OECD: *Test No. 201: Alga, Growth Inhibition Test*, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2: Effects on Biotic Systems, OECD Publishing, 2006
19) 吉岡義正：Ecotox-Statics ver.2 x，*環境毒性学会誌*，**4**(2)，p.113，2001
20) ASTM: *Standard Guide for Conducting the Frog Embryo Teratogenesis Assay-Xenopus (FETAX)*, ASTM Standard E1439-98(2004), West Conshohocken, 2004
21) 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 22 年 1 月版，2010
22) 小森行也，鈴木穣：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と生態リスク初期評価，*水環境学会誌*，**32**，pp.133-138，2009
23) 野見山晴美，中原亜紀子，水落敏朗：ミジンコおよび藻類を用いた市内河川水のバイオアッセイ（2005），*平成 17 年度福岡市保健環境研究所報*，**31**，pp.57-64，2006
24) 環境省：環境リスク初期評価実施物質一覧（第 1 巻～第 9 巻），化学物質の環境リスク評価，第 9 巻，http://www.env.go.jp/chemi/report/h23-01/index html，（2011 年 3 月時点）
25) 独立行政法人製品評価技術基盤機構：化学物質初期リスク評価書，生態リスクに関する評価結果一覧，http://www.safe nite.go.jp/risk/riskhykdl01 html，（2011 年 3 月時点）
26) Higashitani, T., Miyajima, K., Nakada, N., Yasojima, M., Tanaka H. and Suzuki Y.: Development of on-site fish exposure system placed in water quality monitoring stations along a river, *Water Sci. Technol.*, **52**(12), pp.275-282, 2005
27) 大村恒雄，石村巽，藤井義明：*P450 の分子生物学*，p.176，講談社，2003

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：南山瑞彦、平山孝浩、久岡夏樹

【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）の解明を行った。また、生活系、畜産系の汚濁排出量が多いと考えられる流域を対象として、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、トレーサー物質と溶解性栄養塩類の流出負荷量と比流量の関係を整理した。さらに、水位連続観測による流量の連続把握を行い、比流量と流出負荷量の関係を用いて、流域からの栄養塩類の雨天時を含めた流達負荷量を計算した結果、これまでの原単位法による総排出負荷量計算結果と異なり、さらなる排出・流達機構の解明が必要と考えられた。
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・りん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りん流出・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 22 年度調査の内容

2.1 過年度および平成 22 年度の調査内容

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。

そこで、平成 21～22 年度には、平成 20 年度に引き

続き、利根川水系鬼怒川の支川である山川を対象として、雨天時も含めて、トレーサー物質および栄養塩類の流出実態を調査するとともに、水位連続観測による流量の連続把握を行い、総流出負荷量の算定を行った。

2.2. 山川における平成22年度の水質調査

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^+）および栄養塩類（K^+、T-N、NH_4^+-N、NO_2^--N、NO_3^--N、T-P、D-PO_4^{3-}-P）の実態調査を実施した。また、あわせて、有機性汚濁の指標であるSS、DOCについても実態調査を実施した。採水は図-1に示す4箇所で、平成22年5月下旬～平成22年10月の間、各箇所週1回程度の頻度で、主に晴天時（ただし、5月、6月、9月の各1回は雨天時）の日中に実施した。

ここでは、山川流域の下流末端に位置する関戸橋における調査結果を図-2～5に示す（ただし、T-PとSSは、3回の雨天時データを含めていない）。なお、山川流域では、4月～9月の間、水稲栽培が実施され、この期間には、吉田用水や霞ヶ浦用水から潅漑用水が供給されており、ここでは、潅漑用水中の水質も合わせて調査した。また、中流域で流量観測が実施されている山川モデル橋においても、同様に調査を行った。

図-2のNa^+濃度およびK^+濃度を見ると、調査期間を通じて、大きな変動は見られなかった。

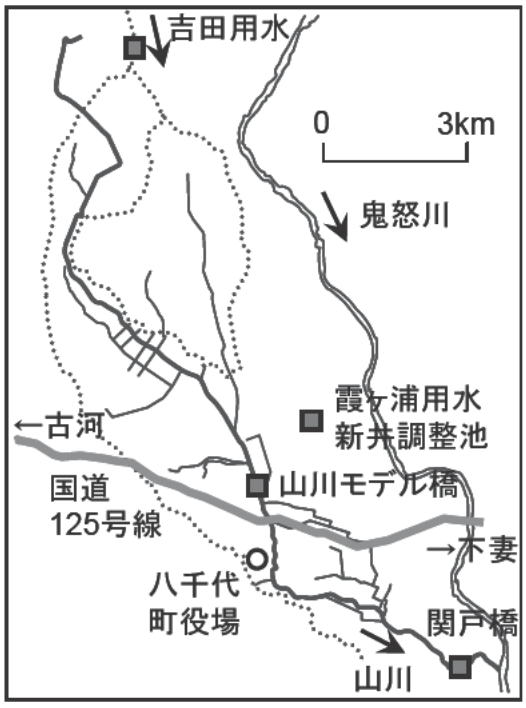


図-1　山川流域採水地点

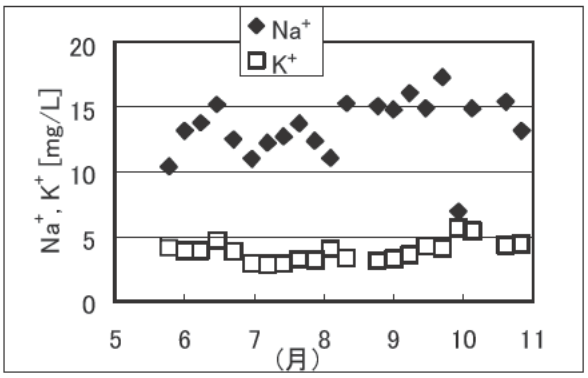


図-2　山川関戸橋におけるNa^+とK^+濃度

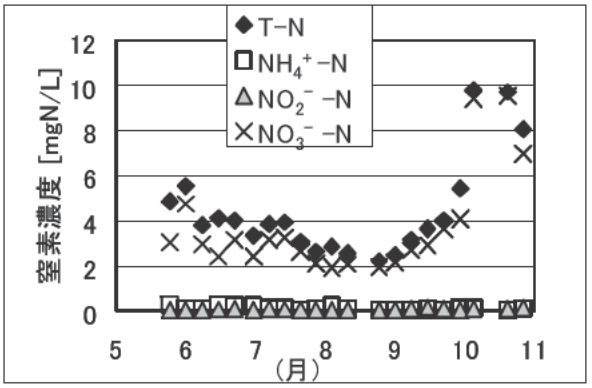


図-3　山川関戸橋における窒素濃度

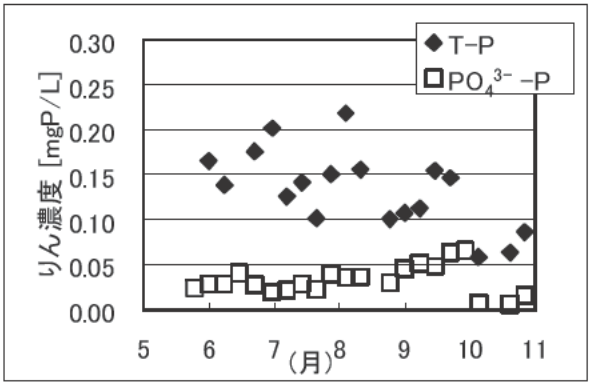


図-4　山川関戸橋におけるりん濃度

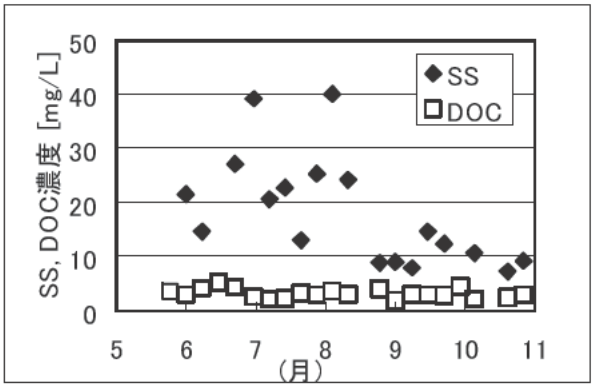


図-5　山川関戸橋における有機性汚濁指標

図-3 の窒素濃度の変動を見ると、10 月の非潅漑期には高い濃度となったが、その他は、それに比べ低いレベルを維持した。

図-4 のりん濃度のこの期間の変動を見ると、T-P 濃度に関しては、5 月～8 月が高く、9 月～10 月が低い傾向が見られた。オルトりん酸態りん（PO_4^{3-} -P）濃度に関しては、この期間を通じて大きな変動は見られなかった。

図-5 の有機性汚濁指標のこの期間の変動を見ると、SS 濃度に関しては、5 月～8 月の潅漑期が高く、一方、非潅漑期には低い傾向が見られた。溶解性有機性炭素（DOC）濃度に関しては、年間を通じて大きな変動は見られなかった。

以上の傾向は、平成 21 年度の年間の結果[1]とほぼ同様の傾向であった。

過年度実施した、山川関戸橋における水位と流量の関係を把握する調査結果に基づき、採水時に水位を記録することで、採水時の流量を把握した。

図-5 に晴天時の比流量とナトリウムイオン負荷量・カリウムイオン負荷量の関係を示す。なお、ここでは、平成 21 年度の晴天時のデータと平成 22 年度の晴天時のデータをあわせて解析した。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-1 のように求められ、比較的よい相関が得られた。

表-1 比流量と負荷量(Na^+ ,K^+)の関係

項目	a	b	r^2
Na^+	5.28	0.64	0.74
K^+	1.40	0.63	0.56

さらに同様に、比流量と、全窒素（T-N）、溶解性窒素（D-N）、全りん（T-P）、溶解性りん（D-P）、浮遊物質（SS）、溶解性有機炭素（DOC）のそれぞれの負荷量の関係を整理した結果、表-2 のようにまとめられた。

全りん（T-P）、溶解性りん（D-P）、浮遊物質（SS）、溶解性有機炭素（DOC）に関しては、一定の相関が見られたが、全窒素（T-N）、溶解性窒素（D-N）に関しては、相関が見られなかった。全窒素の L-Q 関係を図上にプロットしてみると、2 つのグループに分かれている傾向が見られた(図-6)。5 月～9 月を一つのグループ（これを「潅漑期」という）、10 月～4 月をもう一つのグループ（これを「非潅漑期」という）として、窒素のデータを 2 つのグループに分けて整理した結果、表-3 の通りとなった。潅漑期・非潅漑期ともに一定の相関が見られた。

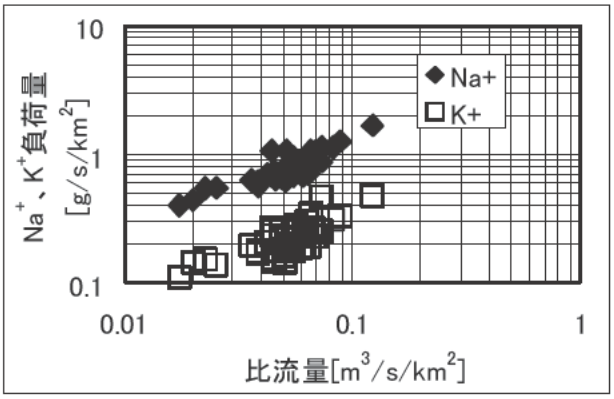


図-5 比流量とNa$^+$,K$^+$負荷量の関係

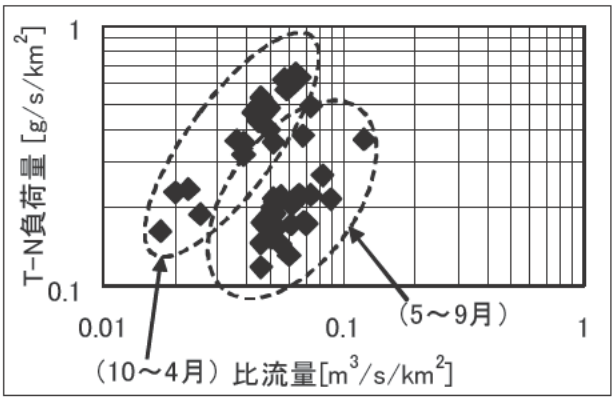


図-6 比流量とT-N負荷量の関係

表-2 比流量と負荷量(N,P,SS,DOC)の関係

項目	a	b	r^2
T-N	0.43	0.16	0.014
D-N	0.34	0.13	0.0077
T-P	0.23	1.24	0.43
D-P	0.22	1.78	0.37
SS	217	2.04	0.36
DOC	2.63	0.96	0.47

表-3 期間別の比流量と負荷量(N)の関係

期間	項目	a	b	r^2
5～9 月 潅漑期	T-N	1.46	0.71	0.31
	D-N	1.03	0.64	0.26
10～4 月 非潅漑期	T-N	8.44	0.96	0.87
	D-N	8.32	0.99	0.85

2.3 山川における総流達負荷量

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、山川関戸橋における全窒素・全りんの総流達負荷量を試算した。

山川関戸橋において圧力式水位計を用いて、水位を平成 21 年 6 月から平成 23 年 1 月まで 10 分おきに連続測定した。ただし、平成 21 年 9 月に約 23 日間、平成 22 年 6 月から 7 月に約 41 日間の欠測期間があった。過年度実施した水位と流量の関係を把握する調査結果に基づき、1 時間平均の水位を流量に換算して、流達負荷量計算に用いた。

比流量と負荷量の関係

$$L = aQ^b$$

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

を用い到達負荷量を計算した。定数 a, b は、晴天時には 2.2 で求められた定数を、雨天時には過年度の雨天時における調査結果 [1]を適用した。ただし、晴天時とは、関戸橋における比流量が 0.15 [m^3/s/km^2]未満の時、雨天時とはそれ以上の時とした。また、全窒素では、潅漑期・非潅漑期別の定数を用いた。計算に用いた定数を表-4 に示す。

表-4 計算に用いた定数（比流量と負荷量の関係）

項目	晴天時 雨天時	時期	a	b
全窒素	晴天時	潅漑期	1.46	0.71
		非潅漑期	8.44	0.96
	雨天時	―	4.30	1.10
全りん	晴天時	―	0.23	1.24
	雨天時	―	1.06	1.88

表-5 流達負荷量等の計算結果

	全窒素 (t/year)	全りん (t/year)	備考
比流量と負荷量の関係を用いた流達負荷量	350	11	
過年度の原単位法による総排出負荷量 [2]	120	13	原単位；第 5 期霞ヶ浦の湖沼水質保全計画

到達負荷量の計算結果を、過年度における原単位法による排出負荷量の計算結果 [2]とあわせて、表-5 に示す。全窒素に関しては、流達負荷量が総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。また、全りんに関しては、流達負荷量が総排出負荷量と概ね同程度であった。

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 21～22 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、晴天時および雨天時のトレーサー物質及び溶解性栄養塩類の流出実態を調査した。

さらに、水位連続観測による流量の連続把握を行い、比流量と流出負荷量の関係を用いて、流域からの栄養塩類の雨天時を含めた流達負荷量を計算した結果、これまでの原単位法による総排出負荷量計算結果と異なり、さらなる排出・流達機構の解明が必要と考えられた。

参考文献:

1) 平成 21 年度下水道関係調査研究年次報告書集、土木研究所資料第 4191 号、pp.190-197、2010

2) 平成 20 年度下水道関係調査研究年次報告書集、土木研究所資料第 4157 号、pp.144-151、2009

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：南山瑞彦、平山孝浩、北村友一、村山康樹
鈴木穣、北村清明

【要旨】
本研究課題では、都市水環境における生態系の確保に寄与する水質評価手法の提案を目的に、都市河川を対象として、通常の水質項目に加えて、微量化学物質等の水質測定やバイオアッセイによる水生生物への影響評価を行い、水質特性のグルーピングを行った。また、河川中に形成された水生生物相を併せて調査し、水質特性との関係を解明した。さらに、本研究等で得られた成果を応用して、都市における水資源としての利用が期待されている下水処理水の、修景用水利用における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、統計解析、バイオアッセイ、藻類増殖抑制

1. はじめに

近年、下水道普及率の向上等により、都市部の河川水質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ず、水生生態系の保全を考慮した水質改善が求められている。

国土交通省は、平成 17 年に、住民や利水者の河川水質に対する要望の多様化と増加に対応する事を目的に、「今後の河川水質管理の指標について（案）」をとりまとめた（平成 21 年改訂[1)]）。同案では、「豊かな生態系の確保」という視点を取り入れ、その評価指標として、アンモニア態窒素（NH_4-N）や溶存酸素（DO）、水生生物の生息（指標種による簡易評価）等の項目を提示している。また、平成 15 年度には、水生生物の保全に係る環境基準が新たに設定され、亜鉛が環境基準項目に、クロロホルム、フェノール、ホルムアルデヒドの 3 物質が要監視項目に指定された。ノニルフェノール、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸（LAS）他数物質についても検討が進められている[2)]。

しかし、水環境中の生態系に対しては、上記以外にも、微量汚染物質を含めた多種多様な物質が影響を与えていると考えられることから、生態影響を対象とした水質評価指標の開発が求められている。

本研究課題では、流域状況や汚水処理状況の異なる複数の都市河川を対象として、一般的な水質項目に加えて、微量化学物質等の水質測定やバイオアッセイによる水生生物への影響評価を行い、水質特性の把握を行った。また併せて、調査地点の底生生物相（藻類、底生動物）を調査し、水質特性と水生生物との関係について検討した。

さらに、本研究等で得られた成果を応用し、都市における水資源としての利用が期待されている下水処理水に対して好気条件での微生物保持担体処理を行う事で、放流先水路における付着藻類増殖を抑制する手法を検討した。

2. 河川における調査

2. 1 調査方法

2.1.1 調査地点及び調査時期

本研究では、関東地方の利根川水系、多摩川水系及び四国地方の津田川水系の河川及び小水路に、計 66 箇所の調査地点を設定し、各地点において 1~3 回、延べ 131 試料の採水を行った。調査地点には、都市河川上流の山間部、農村地域、下水道整備途上の都市域、下水処理水が流量の過半を占める地域、下水処理水のみが流れるせせらぎ等、多様な水質の地点を選定した。底生生物試料の採取を行うため、原則として、水深が比較的浅く流速が確保されている地点を調査地点とした。

調査は、平成 19 年～22 年の、主に晩夏から初春にかけての時期に行った。

2.1.2 水質分析

調査地点、調査時期により測定項目が異なるが、最大で、水質一般指標 16 項目、及び金属類 30 元素、医薬品類 56 物質について、分析を行った。

1） 一般指標項目

水質一般指標として、水温、pH、溶存酸素濃度（DO）、電気伝導度（EC）、全残留塩素（TRC）、遊離残留塩素（FRC）、懸濁物質（SS）、生物化学的酸素要求量（BOD）、化学的酸素要求量（COD_{Mn}）、溶解性有機炭素（DOC）、全窒素（T-N）、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）、全りん（T-N）、りん酸態りん（PO_4-P）を分析した。

水温、DO、電気伝導度、全残留塩素は、調査地点において、携帯型水質測定器を用いて測定した。その他の項目は、ガラス瓶、またはポリビンに満水状態で採水し、冷蔵状態で試験室へ持ち帰った後、「下水試験方法[3]」に準じた方法で分析を行った。DOCの測定には全有機炭素計（TOC-5000A,（株）島津製作所）を、各態窒素・りんの測定には、連続流れ分析装置（TRAACS800, Bran+Luebbe, Inc）をそれぞれ用いた。

2） 金属類等

Li、Be、B、Al、Na、Mg、K、Ca、V、Cr、Mn、Fe、Co、Ni、Cu、Zn、As、Se、Sr、Mo、Ag、Cd、In、Sn、Sb、Te、Ba、Tl、Pb、U の 30 元素を対象に分析を行った。

試料は、ポリビンに採水して氷冷状態で分析室へ輸送し、硝酸を添加した後、分析まで冷暗所に保管した。Na、Mg、K、Ca の 4 元素は誘導結合プラズマ発光分析（ICP-AES）法により、誘導結合プラズマ質量分析（ICP-MS）法により、一斉分析を行った。使用機器は、Optima3000（Perkin-Elmer）及び X7/CCT（THERMO® Electron）である。

3） 医薬品類

我が国において水環境での検出例が報告されている医薬品類を中心に 56 物質を選定し、その溶存態成分について分析を行った。対象物質には、解熱鎮痛薬、神経系作用薬、循環器薬、消化器薬、抗菌薬、動物用医薬品等様々な薬理作用の医薬品類が含まれている。

Thymol、Triclosan の 2 物質は、Nakada *et al.*[4]の方法を参考に抽出、濃縮、アセチル化等の前処理を行った後、GC-MS を用いて測定し、絶対検量線法または同位体希釈法により定量した。その他の 54 物質は小西ら[5]の方法を参考に抽出、濃縮等の前処理を行った後、LC-MS/MS を用いて測定し絶対検量線法により定量した。

2.1.3 バイオアッセイ

近年、内分泌かく乱物質や医薬品類等、水環境中に存在する様々な生理活性物質について、水生生態系に対する影響が懸念されているが、水生生物に対する影響については、十分明らかにされていない。また、環境中においては、多種多様な生理活性物質が共存していることから、そ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、バイオアッセイにより、その全毒性評価を試みた。

1） 前処理方法

わが国の河川においては、生態毒性は比較的低い地点が多く、短期間のバイオアッセイにおいて明らかな影響が検出されることは少ない。また、特に藻類生長阻害試験においては、河川水中に存在する窒素やりん等の栄養塩類の濃度が、毒性値に影響することが知られており[6]、毒性がマスキングされてしまう可能性がある。本研究においても、前処理を行わない場合に、有意な影響を示した試料は無かった。

そこで本検討では、前処理として固相抽出による分画濃縮を行った。これにより、評価対象が固相に吸着、脱離される物質群に限定されるものの、原水より濃縮された状態でのばく露が可能となり、通常では明確にならない毒性を検出することが可能となる。固相カートリッジには、OASIS® HLB Plus Extraction Cartridge（Waters Corp.）を使用し、GF/B（Whatman, Inc.）で濾過した 1000 mL 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 100 μL の DMSO に再溶解することで濃縮試料（原水の 10000 倍濃度）を得た。濃縮試料は、ばく露溶液中の DMSO 濃度が 0.5%を超えないように最大ばく露濃度を原水の 50 倍以下に設定し、公比 2 で等比級数的に希釈した試験系列を作成して試験を行った。なお、各試験系における DMSO の最大無影響濃度（NOEC）が 0.5%以上であることを、事前試験により確認している。

2） 細菌による試験

海洋性発光細菌 *Vibrio fischeri* を供試生物として使用する、市販の生体毒性試験システム Microtox®（Strategic Diagnostics, Inc.）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評価した。試験は、システムに添付された急性毒性試験のプロトコルに従って行い、ばく露時間 5 分における半数影響濃度（EC_{50}）を、附属の計算ソフトにより求めた。

3） 藻類による試験

96 ウェルマイクロプレートを培養容器とし、吸光度から細胞濃度を求める Harada *et al.*[7]の手法を参考に、藻類生長阻害試験（Algal Growth Inhibition Test; AGIT）を行った。被験生物には、OECD 化学品テストガイドライン No.201[8]の推奨種となっている、単細胞緑藻 *Pseudokirchneriella subcapitata*（NIES-35 株）を、試験培地には AAP 培地 8[8]を用いた。1 試料に対して 1 枚の 96 ウェルマイクロプレート（Falcon 96-well Microtest™ Plate, Tissue-culture treated, flat bottom; Becton Dickinson, Inc.）を用い、2 倍希釈 10 段階 5 連、初期生物量 1×10^4 cells/mL の試験系列を作成した。試験条件は、温度 24°C、照度 4000 Lux、振とう速度 120 rpm とし、24 時間毎にマイクロプレートリーダー（WALLAC ARVO SX-1420, Perkin Elmer, Inc.）を用いて、各ウェルの吸光度（波長 : 450 nm）を測定した。毒性値の算出には EcoTox-Statics Ver.2.6d[9]を用い、0-72 時間の生長速度とばく露濃度の関係から、probit 法により EC_{50} を求めた。

2.1.4 生物調査

本研究では、河床の付着藻類および大型底生動物を対象に、生物相の調査を行った。付着藻類は一次生産者として、水生昆虫をはじめとする底生動物は一次消費者として、ともに河川生態系における重要な機能を担っている。

1） 付着藻類

水中から採取した石（径 10 ~ 30 cm 程度）の表面に 5 × 5 cm の方形枠を当て、枠の範囲にある付着物をブラシで擦り取ることで、分析試料の採取を行った。この操作を 1 地点について 5 回行い、計 125 cm^2 分を採取、混合した後、その半分量（62.5 cm^2 分）を用いて種の定量分析を行い、残りの半分量を用いてクロロフィル類（Chlorophyll-*a*/*b*/*c*, Pheophytin-*a*）の分析を行った。種の定量分析用試料は、現地にてホルマリン（約 5% (v/v)）固定を行って分析室へ輸送し、光学顕微鏡下で出現種の同定および計数を行った。クロロフィル分析用試料は、冷蔵状態で分析室へ輸送した後、「河川水質試験方法（案）[10]」に従ってクロロフィル類の定量を行った。

2） 底生動物

「河川水辺の国勢調査基本調査マニュアル［河川版］[11]」を参考に試料の採取を実施した。

調査地点の河床に 25 × 25 cm 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 4 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。分析用試料は、現地にてホルマリン（約 5%（v/v））固定を行い、分析室へ輸送した後、出現種の同定および計数を行った。

表 2.1 一般水質指標の分析結果概要

	Max.	Min.	Median
pH	9.4	6.5	7.7
DO (mg/L)	16.2	1.2	10.8
EC (mS/m)	78	8.1	28
TRC (mg/L)	0.83	<0.05	<0.05
FRC (mg/L)	0.46	<0.05	<0.05
SS (mg/L)	22	<1	2
BOD_5 (mg/L)	25	<0.5	1.4
COD_{Mn} (mg/L)	6.8	1.1	3.9
DOC (mg/L)	12	0.2	2.7
T-N (mg/L)	20	0.6	3.9
NH_4-N (mg/L)	11	<0.05	0.06
NO_2-N (mg/L)	1.1	<0.020	0.060
NO_3-N (mg/L)	16	0.24	3.2
T-P (mg/L)	2.1	<0.020	0.13
PO_4-P (mg/L)	1.8	<0.025	0.089

2. 2 調査結果

2.2.1 水質分析

1） 一般指標項目

一般指標項目の測定結果の概要について、表 2.1 に示す。各項目とも広い範囲の値を示し、清澄な地点から汚濁の進んだ地点まで、様々な水質条件の河川が含まれていたことが示された。

2） 金属類等

対象とした 30 元素のうち、Be、Ag、Cd、In、Te、Tl、U はいずれの地点においても検出されなかった。他の 23 元素について、分析結果の概要を表 2.2 及び表 2.3 に示す。各元素の検出率は、B、Al、Na、Mg、Ca、Fe、Zn、Sr、Ba の 9 元素が 100%、Li、K、Mn、Cu が 80%以上、V が約 50%、その他 9 元素は 30%未満であった。また、水生生物保全の観点から環境

表 2.2　金属等元素の分析結果概要（1）

(mg/L)

	Max.	Min.	Average	Median
Na	31	2.7	16	16
Mg	8.1	1.1	4.2	4.4
K	12	<1.0	5.1	5.1
Ca	39	12	23	22
Hardness ($mg\text{-}CaCO_3/L$)	130	34	75	73

表 2.3　金属等元素の分析結果概要（2）

(μg/L)

	detected / tested	Max.	Min.	Median
Li	71 / 94	53	<1.0	1.7
B	109 / 109	220	5.4	34
Al	109 / 109	890	1.7	22
V	56 / 109	13	<1.0	<1.0
Cr	10 / 109	22	<1.0	<1.0
Mn	103 / 109	130	<1.0	6.6
Fe	109 /109	520	4.7	33
Co	7 / 109	13	<1.0	<1.0
Ni	46 / 109	42	<1.0	<1.0
Cu	90 / 109	12	<1.0	2.0
Zn	109 / 109	120	1.3	8.1
As	12 / 109	2.6	<1.0	<1.0
Se	2 / 109	5.8	<1.0	<1.0
Sr	49 / 49	230	37	90
Mo	29 / 109	18	<1.0	<1.0
Sn	6 / 109	1.2	<1.0	<1.0
Sb	4 / 109	1.5	<1.0	<1.0
Ba	109 / 109	34	1.5	7.9
Pb	1 / 109	1.0	<1.0	<1.0

基準値が設定されている Zn については、淡水域における基準値（30μg/L）を超過している地点も見られた（109 検体中 6 検体）。

3） 医薬品類

対象とした医薬品類 56 物質のうち、Ampicillin、Chlorpromazine、Dexamethasone acetate、Mefenamic acid、Novobiocin、Tolbutamide、Tolperisone は、全ての調査地点において、定量下限値未満であった。他の 49 物質について、分析結果の概要を表 2.4 に示す。検出率は Disopyramide（100%）、Crotamiton（95%）、Caffeine（92%）、DEET（91%）、Fenoprofen（89%）

表 2.4　医薬品類の分析結果概要

(ng/L)

	detected / tested	Max.	Min.	Med.
Acetazolamide	23/104	16	<0.17	0.6
Amitriptyline	26/104	1.5	<0.077	<0.098
Atenolol	15/44	37	<0.25	<0.51
Azithromycin	82/104	40	<0.062	0.55
Bezaf brate	79/104	300	<0.25	6.1
Caffeine	104/104	1700	1.6	70
Carbamazepine	90/104	49	<0.042	1.1
Chloramphenicol	16/104	4.6	<0.12	0.27
Chlortetracycline	16/60	420	<1.1	<1.1
Clarithromycin	89/104	150	<0.92	5.3
Crotamiton	104/104	710	0.3	22
Dexamethasone	38/44	1.6	<0.13	0.5
Dextromethorphan	28/104	4.3	<0.097	<0.16
Diclofenac	91/104	150	<0.11	1.8
Diethytoluamide	104/104	54	0.4	3.2
Diltiazem	50/104	13	<0.12	<0.33
Diphenidol	39/104	9.9	<0.12	<0.36
Dipyridamole	36/104	3.8	<0.29	1.4
Disopyramide	60/60	130	0.3	5.1
Ethenzamide	17/44	9.7	<0.1	<0.21
Fenoprofen	44/44	1.8	0.2	1.0
Flufenamic acid	7/44	7.6	<0.13	<0.14
Furosemide	62/104	96	<0.13	0.70
Haloperidol	16/104	0.70	<0.025	<0.28
Ibuprofen	47/104	47	<0.055	<1.7
Ifenprodil tartrate	44/60	1.9	<0.049	0.15
Imipramine	23/104	0.9	<0.073	<0.1
Ketoprofen	84/104	140	<0.2	1.2
Levofloxacin	75/104	500	<0.91	3.9
Metoclopramide	5/44	5.4	1.4	0.21
Nalidixic acid	25/44	74	<0.17	0.37
Naproxen	48/104	13	<0.045	<0.11
Oxytetracycline	35/60	660	<1.4	2.1
Paracetamol	39/60	22	<0.89	1.3
Phenytoin	34/44	61	<0.16	1.5
Pirenzepine	10/44	18	<0.10	<0.20
Primidone	56/104	43	<0.25	1.3
Promethazine	54/104	0.7	<0.059	0.10
2-QCA	34/44	18	<0.17	1.6
Sotalol	1/44	1.4	<0.10	<0.20
Sulfamethoxazole	51/60	37	<0.30	9.3
Sulfamonomethoxine	47/60	59	<0.30	0.76
Sulpiride	100/104	2700	<0.45	11
Tetracycline	22/60	37	<5.8	<5.8
Theophylline	56/60	14	<0.25	2.6
Thymol	5/44	24	<0.66	<1.3
Triclosan	69/104	100	<4.7	9.4
Trimethoprim	51/60	19	<0.22	3.4
Verapamil	7/44	2.0	<0.17	<0.27

等が高く、その他、60~80%未満が 12 物質、40~60%未満が 6 物質、20~40%未満が 13 物質、20%未満が 13 物質であった。濃度については、Sulpiride（最大値 2700 ng/L、中央値 11 ng/L）、Caffeine（最大値 1700 ng/L、中央値 70 ng/L）、Crotamiton（最大値 710 ng/L、中央値 22 ng/L）等が高い値を示した。また、検出率の低い Oxytetracycline（検出率 28%、最大値 660 ng/L）や Tetracycline（検出率 10%、最大値 420 ng/L）についても高い濃度を示す地点がみられ、これらの物質では、地点特異的な負荷の存在が伺われた。

2.2.2 バイオアッセイ

海洋性発光細菌 *V. fischeri* に対する発光阻害をエンドポイントとしたバイオアッセイ（Microtox®試験）、および単細胞緑藻 *P. subcapitata* に対する生長阻害をエンドポイントとしたバイオアッセイ（藻類生長阻害試験）の結果について、概要を表 2.5 に示す。また、2 種類のバイオアッセイによる検出条件の比較を表 2.6 に、検出された毒性の強さの比較を図 2.1 に示す。毒性の強さの指標として、EC_{50} の逆数（毒性単位 Acute Toxicity Unit; TUa）を算出して用いた。

半数阻害濃度（EC_{50}）が最大ばく露濃度の 5000%倍（原試料に対する濃縮倍率として 50 倍）を上回ったのは、Microtox®試験では 109 試料中 15 試料（14%）、藻類生長阻害試験では 112 試料中 29 試料（27%）であり、Microtox®試験に比べて藻類生長阻害試験の方が、検出率が高かった。また、図 2.1 からも、Microtox®試験に比べて藻類生長阻害試験の方が、感受性が高い（毒性が強く評価される）傾向が見られる。しかし、その関係は明確ではなく、Microtox®試験では毒性が検出されたが藻類生長阻害試験では検出されなかった試料（15 試料中 6 試料；40%）、逆に藻類生長阻害試験では毒性が検出されたが Microtox®試験では検出されなかった試料（31 試料中 22 試料；71%）も多く見られた。一方の試験でのみ比較的高い毒性が検出される試料もあったことから、河川水が異なる生物種に与える影響の強さは一様ではなく、水生生態系に対する影響を評価する上で、複数のアッセイ系を用いる重要性が確認された。

2.2.3 生物相調査

1） 付着藻類

本研究では、55 地点で延べ 113 回の調査を行い、189 タクサの付着藻類が確認された。うち、珪藻類が 163 タクサ、緑藻類が 14 タクサ、藍藻類が 8 タクサ、紅藻類が 2 タクサ、褐藻類、黄金藻類が各 1 タクサである。出現頻度では、クサビケイソウ属 *Gomphonema parvulum*（79%）、ツメケイソウ属 *Achnanthes lanceolata*（77%）、コメツブケイソウ属 *Cocconeis placentula*（76%）、フネケイソウ属 *Navicula gregaria*（71%）が多くの地点で普遍的に見られた。その他、出現頻度 50~70%未満であったのが 9 タクサ、30~50%未満が 12 タクサ、10~30%未満が 36 タクサ、10%未満が 128 タクサであった。

地点別の集約指標として、出現タクサ数、細胞密度、クロロフィル濃度、Shannon-Wiener の多様度指数 H'（数式 2.1）、Simpson の多様度指数 $1-D$（数式 2.2）、珪藻群集に基づく有機汚濁指数 DAIpo(Diatom

表 2.5 バイオアッセイの結果概要（EC_{50} [%]）

	detected / tested	Min.	Max.
Microtox	15 / 109	630	>5000
AGI test	31 / 114	120	>5000

*detected: EC_{50}<5000%

表 2.6 2 種類のバイオアッセイによる毒性の検出状況（n=109）

		Microtox	
		detected	n.d.
AGI test	detected	9	6
	n.d.	22	72

*n.d: not detected (EC_{50}>5000%)

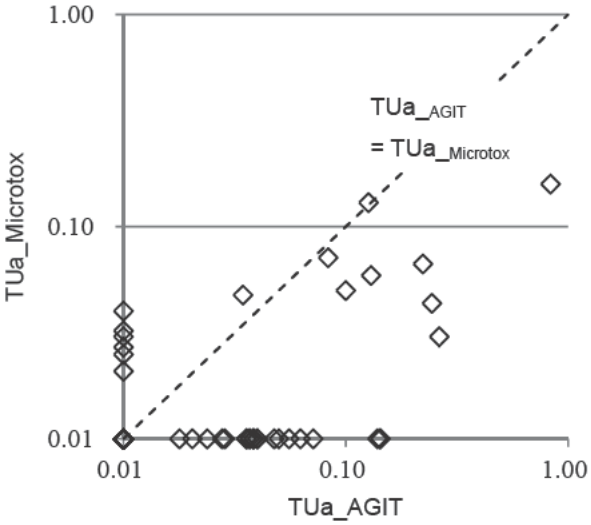


図 2.1 2 種類のバイオアッセイにより検出された毒性の強さ（n=109）

Assemblage Index to organic water pollution)[12]について整理した結果を表 2.7 に示す。各指数は、調査地点によって大きな幅を示しており、本研究の調査地点には、付着藻類の生物相の点で多様な地点が含まれていたと考えられる。

2） 底生動物

本研究では、51 地点で延べ 108 回の調査を行い、246 タクサの底生動物が確認された。うち 187 タクサを昆虫綱が占め、その内訳は、ハエ目 63、カゲロウ目 40、トビケラ目 39、コウチュウ目 18、カワゲラ目 16、トンボ目 8、カメムシ目、ヘビトンボ目、チョウ目が各 1 であった。昆虫綱以外の出現タクサ数は、軟甲綱が 7、クモ綱が 3、環形動物門（ミミズ綱、ヒル綱）が 25、軟体動物門（腹足綱、二枚貝綱）が 13、扁形動物門が 4、苔虫動物門が 3、海綿動物門が 2，紐型動物門、線形動物門が各 1 であった。

タクサ別の出現頻度では、ミズムシ *Asellus hilgendorfi hilgendorfi* が最も多くの地点（出現頻度 63%）で確認され、H コカゲロウ *Tenuibaetis* sp. H、シロタニガワカゲロウ *Ecdyonurus yoshidae*、アカマダラカゲロウ *Uracanthella punctisetae*、ウルマーシマトビケラ *Hydropsyche orientalis*、モンユスリカ亜科（Tanipodinae）の各タクサが、半数以上の調査地点で確認された。その他、出現頻度 25~50%未満であったのが 13 タクサ、10~25%未満が 44 タクサ、5~10%未満が 47 タクサ、5%未満が 136 タクサであった。

また、地点別の出現タクサ数、個体密度、湿重量、Shannon-Wiener の多様度指数 *H'*、Simpson の多様度指数 1−*D*、EPT 指数（E：カゲロウ目、P：カワゲラ目、T：トビケラ目の種数の和）、EPT 割合（EPT 種の個体数／全個体数）、スコア法[13]による平均スコア ASPT について整理した。結果を表 2.8 に示す。各指数は、付着藻類同様に調査地点によって大きな幅を示し、底生動物の観点からも多様な生物相の地点が含まれていたといえる。

2.2.4 統計解析

各水質項目、バイオアッセイによる生態毒性、現地生物相の調査結果を用いて統計解析を行い、各調査地点の水質特性や、水質が水生生態系に与えている影響等について検討した。解析は、R Version 2.12.1～2.14.0（R Foundation for Statistical Computing）を用いて行った。

1） 水質項目の主成分分析

各調査地点における様々な水質項目において、各項目間には相互に強い相関があるため、主成分分析により変数の集約を行った。測定頻度を考慮し、一般指標 9 項目、金属等元素 19 項目、医薬品類 28 項目の計 55 項目、96 地点のデータを用いた。検出下限値以下のデータについては検出下限値の 1/2 で代用し、pH 以外の項目については対数変換を行った後、正規化した。結果を表 2.9 に示す。

$$H' = 1 - \sum_{i=1}^{S} p_i \ln p_i \qquad \text{数式 2.1}$$

$$1 - D = 1 - \sum_{i=1}^{S} p_i^2 \qquad \text{数式 2.2}$$

表 2.7　付着藻類調査結果概要（n=113）

	Max.	Min.	Median
Number of Taxa	48	6	22
Cell density (cells/mm^2)	4.8×10^6	1.6×10	1.1×10^4
Chl.*a* (μg/cm^2)	78	8.1	28
Shannon-Wiener's diversity index (*H'*)	1.25	0.00	0.60
Simpson's diversity index (1-*D*)	0.93	0.00	0.57
DAIPo	95.4	9.7	56.6

表 2.8　底生動物調査結果概要（n=108）

	Max.	Min.	Median
Number of Taxa	58	3	21
Population density (individuals/m^2)	8.0×10^4	6.0×10	2.0×10^3
Biomass(wet-g/m^2)	9.5×10^4	7.1×10	1.1×10^4
Shannon-Wiener's diversity index (*H'*)	1.31	0.01	0.94
Simpson's diversity index (1-*D*)	0.95	0.01	0.80
EPT index	31	0	10
EPT ratio (%)	95	0	44
ASPT	8.00	6.09	1.00

表 2.9　水質項目の主成分分析

	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8	PC9
Eigenvalue	20.76	7.17	6.90	2.71	1.80	1.59	1.42	1.27	1.12
Cumulative contribution	0.38	0.51	0.63	0.68	0.72	0.74	0.77	0.79	0.81
Pearson product-moment correlation coefficient with original items (plain: P<0.05, bold: P<0.01)									
General Items									
pH	**-0.39**			**-0.58**				**-0.27**	
DO		0.24	**0.36**	**-0.56**	**0.35**				-0.21
EC	**0.76**		**-0.37**			-0.21			
TRC	0.20	**-0.48**		**0.29**	**-0.27**			**-0.33**	**-0.42**
DOC	**0.69**		**-0.28**				**-0.39**		
NH4_N	**0.38**		**-0.42**	**-0.50**	-0.23		**-0.28**		
NO2_N	**0.53**	-0.24	**-0.43**	**-0.38**		-0.22			
NO3_N	**0.72**	**-0.38**	-0.24						-0.25
PO4_P	**0.81**	-0.23							
Elementals									
Be		**0.52**	**-0.78**						
B	**0.53**	**-0.43**	**-0.44**						**-0.33**
Al		**-0.90**							
V		**-0.70**	**-0.28**					0.23	
Cr	**0.43**		**-0.43**		**0.57**				
Mn	**0.42**	**-0.61**			**-0.31**		-0.24		0.21
Fe		**-0.82**	-0.21						0.24
Co	**0.36**		**-0.73**		**0.27**			-0.21	
Ni	**0.67**	**-0.32**		0.24	**0.27**		-0.25		
Cu	**0.77**		**-0.36**						
Zn	**0.69**		**-0.45**					-0.21	
As		**-0.71**	0.22						
Se	**0.47**		**-0.30**		**0.46**				
Mo	**0.69**			**0.50**			**-0.30**		
Cd		**0.53**	**-0.74**						
Sn	-0.21	**0.33**	**-0.52**		-0.22	**0.61**			
Sb		**0.63**	**-0.29**			**0.46**			
Ba			**-0.49**			**0.55**		0.23	**-0.36**
Pb	**0.37**		**-0.55**					**-0.50**	**0.27**
PPCPs									
Acetazolamide	**0.59**		**0.29**	**0.33**	-0.21		**-0.40**		
Amitriptyline	**0.80**	**0.39**	**0.27**						
Azithromycin	**0.85**	**0.34**							
Bezafibrate	**0.85**			-0.22					
Caffeine	**0.31**	**-0.52**	-0.25	**-0.56**					
Carbamazepine	**0.85**		0.20				**0.27**		
Chloramphenicol	**0.57**		**0.52**					-0.26	
Chlorpromazine		**0.40**	**-0.64**		**-0.29**	-0.23			
Clarithromycin	**0.92**	0.24					0.22		
Crotamiton	**0.91**								
Dextromethorphan	**0.80**	**0.46**	0.22						
Diclofenac	**0.92**	0.23							
Diethyltoluamide	**0.71**	-0.26		0.26			**0.37**		
Diltiazem	**0.90**	0.21	**0.29**						
Diphenidol	**0.68**	**0.63**							
Dipyridamole	**0.37**			**-0.45**	**-0.34**				
Furosemide	**0.87**								
Haloperidol	**0.44**	**-0.32**	**0.66**				-0.21		
Ibuprofen	**0.75**			**-0.34**					
Imipramine	**0.77**	**0.34**	**0.33**		-0.21				
Ketoprofen	**0.70**				-0.26			**-0.31**	**-0.28**
Levofloxacin	**0.85**		**0.39**						
Naproxen	**0.74**		**0.34**		0.25				
Primidone	**0.83**		**0.28**						
Promethazine	**0.32**	**0.62**	**-0.42**		**-0.31**	-0.24			
Sulpiride	**0.93**		0.23						
Triclosan	**0.72**		**0.45**						

固有値が 1 以上の合成変数(主成分)は 9 つ作成され、この 9 変数の寄与率の合計は 81%であった。この中で、第 1 主成分（PC1）は、有機汚濁や栄養塩類を含む多くの水質項目と高い相関があることから、一般的な水質汚濁の状況を指標している変数だと考えられた。また、医薬品類等の生活関連微量化学物質（PPCPs）に関してもほとんどの物質が PC1 と正の相関を示した。これらの多くは、一般家庭等から排出され、一部が下水道等を経由した後、水環境に放出される化学物質である。本研究の調査地点には、汚濁負荷に対する生活系の寄与が比較的高いと考えられる都市河川が多く含まれていることから、有機汚濁や栄養塩類等と PPCPs との間で存在実態に類似性が見られたものと考えられる。一方で、金属等の元素に関しては。

2） 水質項目とバイオアッセイ結果の相関

1）で分析した水質項目の主成分（PC1～PC9）と、バイオアッセイの結果（Microtox®、藻類生長阻害試験）との相関解析を行った。バイオアッセイの結果については、TUa（EC_{50} の逆数）を用いた。検出下限値未満のデータの比率が大きいことから、検出下限値以下のデータを検出下限値の 1/2 で代用した後、Spearman の順位相関係数を求めた。結果を表 2.10 に示す。

Microtox®では、PC1、PC3、PC5 及び PC8 との間の相関が有意（P <0.05）となったが、相関係数の絶対値は 0.28～0.38 と大きくなかった。一方、藻類生長阻害試験では、PC1 及び PC3 との間に有意な正の相関（P <0.05）が見られ、特に PC1 とは強い相関を示した（ρ＝0.74）。PC1 は、分析対象とした多くの水質項目と高い相関があるが、バイオアッセイに供した試料は OASIS® HLB Plus により固相抽出を行った試料であることから、試料中の溶解性有機成分が藻類に対する毒性を示したものと考えられた。TUa_{AGIT} と DOC 及び主成分分析に用いた PPCPs 28 物質（表 2.9 を参照）との間の相関解析を行った結果、Caffeine と Chlorpromazine を除く項目と有意な正の相関が見られ、11 物質では相関係数が 0.7 を上回った。この中には、藻類に対して強い毒性を示すことが報告されている抗生物質の Clarithromycin[14,15,16,17,18]や Levofloxacin[14,15,18,19]等も含まれており、これらの物質（群）による影響が考えられたが、各 PPCPs 間での相関が強いため、原因物質を特定することは出来なかった。

表 2.10　水質とバイオアッセイとの相関

(μg/L)

	Microtox®		AGIT	
	ρ	*P*-value	ρ	*P*-value
PC1	**0.28**	**0.007**	**0.74**	**0.000**
PC2	0.10	0.362	0.18	0.075
PC3	**-0.38**	**0.000**	**0.23**	**0.023**
PC4	-0.15	0.155	0.12	0.251
PC5	**-0.30**	**0.003**	-0.14	0.187
PC6	-0.08	0.430	0.08	0.421
PC7	-0.19	0.078	0.03	0.754
PC8	**0.28**	**0.008**	0.13	0.209
PC9	0.16	0.131	0.08	0.418

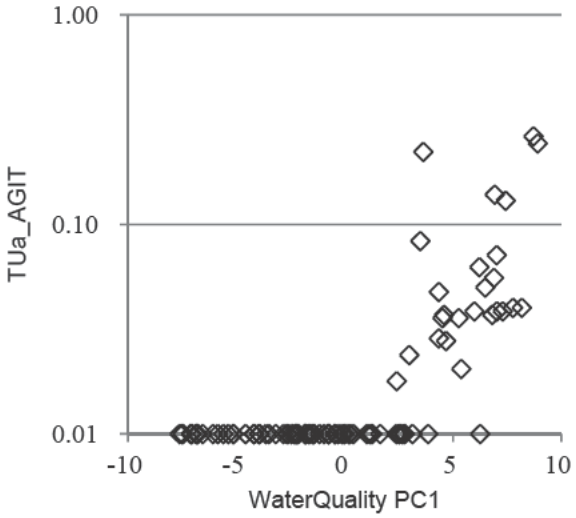


図 2.2　水質と藻類生長阻害試験の毒性値の関係

3） PPCPs の生態リスクとバイオアッセイの比較

河川水中に存在する微量汚染物質が、環境中の水生生物に対してどの程度の影響を与えているかを検討するため、水質分析の結果から予想される生態リスク評価値と、バイオアッセイによる毒性値との比較を行った。本研究でバイオアッセイに供した試料は、OASIS® HLB Plus により固相抽出を行った試料であり、主に溶解性有機成分が毒性因子となっていると考えられることから、PPCPs を対象にリスク評価を行った。また、環境試料からの毒性値の検出状況及び対象物質に関する毒性値の情報量の観点から、本検討では藻類に対する生長阻害影響について評価することとした。評価は、河川水中から検出された

表 2.11　水質主成分と底生生物相との相関

	Principal Components of Water Quality								
	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8	PC9
Periphyton community									
No. of taxa				**-0.58**			-0.25		
Cell density				**-0.33**			-0.28		
Chl-a		**0.42**					**-0.35**		
Simpson's 1-D				**-0.38**					
Shannon's H'				**-0.41**					
DAIpo	**-0.47**								
Macro invertebrate community									
No. of taxa	**-0.32**	**0.55**			0.25			**-0.47**	
Individual density		**0.35**				**-0.33**		**-0.43**	
Wet Weight	-0.25			**-0.46**	0.24	-0.26		**-0.40**	
Simpson's 1-D	**-0.34**							**-0.32**	
Shannon's H'	**-0.34**	**0.31**			0.24			**-0.39**	
EPT index	**-0.50**	**0.38**			**0.32**			**-0.34**	
EPT ratio	**-0.31**	**-0.49**					**0.32**		
ASPT	**-0.51**		0.26				0.29	-0.24	

plain; P <0.05, bold; P <0.01

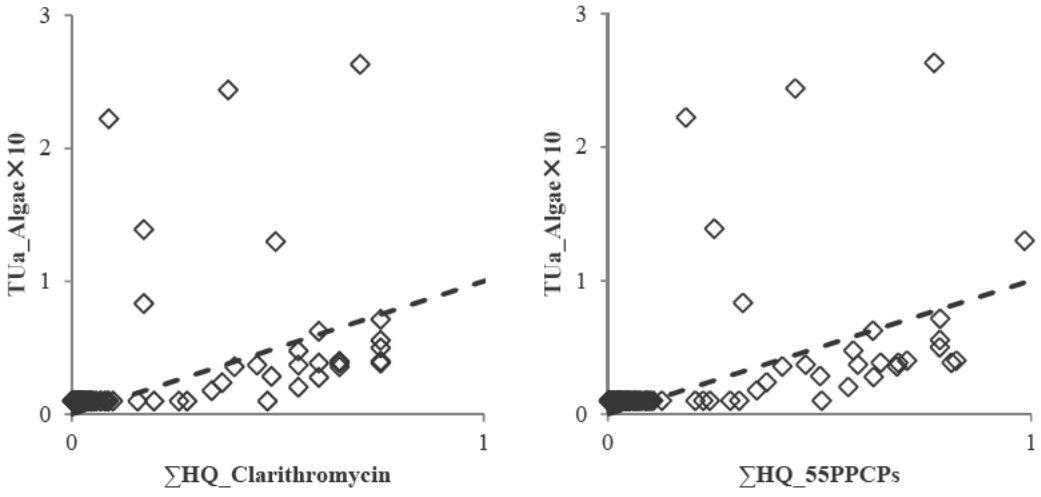


図 2.3　藻類生長阻害試験による毒性値(TUa)と PPCPs のリスク評価値（HQ）の比較
（左：Clarithromycin、右：PPCPs55 物質の和）

PPCPs の濃度（Measured Environmental Concentration; MEC）を、対象物質の藻類生長阻害毒性値（EC_{50} または NOEC）で除することにより、ハザード比（HQ）を算出した。本研究で対象とした PPCPs に関しては Dexamethasone acetate を除く 55 物質について、他の研究課題において実施した毒性試験及び文献調査により、毒性値が把握されている。（詳細は、本報告書の 14「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」に記載。）本検討では、同じ生物種（緑藻 *P. subcapitata*）を用いたバイオアッセイ結果との比較を行うことから、生物種間及び試験室/実環境間の不確実係数は適用せず、急性毒性/慢性毒性間にのみ係数 10 を適用した。ハザード比が 1 を上回った場合、その試料には *P.subcapitata* に対して慢性毒性値（NOEC）が検出される濃度レベルの PPCPs が存在していることを意味する。

対象としたPPCPsの測定を行った104地点において、環境中濃度から算出したハザード比が1を上回った物質はなかったが、抗生物質の Clarithromycin（30地点、HQの最大値0.20）と Chlortetracyclin（1地点、最大値0.21）、及び殺菌剤の Triclosan（2地点、最大値0.45）の3物質ではハザード比が0.1を上回る地点があった。特に Clarithromycin は、検出頻度だけでなく、ハザード比が 0.1 以上となった地点の割合も高く、実環境中での生態影響について特に詳細な検討が必要な物質であると考えられる。

また、PPCPs55物質のハザード比の和（$\sum HQ_{55PPCPs}$）についても、1 を上回った地点はなかったものの、34地点で0.1を上回り、最大値は0.99であった。藍藻類等を中心に *P. subcapitata* よりも感受性の高い（PPCPsに対する耐性の弱い）藻類種も存在することから、河川中に存在するPPCPsが藻類の群衆構造に影響を及ぼしている可能性は否定できず、今後は、より詳細な調査、検討が必要である。

さらに、上記で算出した Clarithromycin のハザード比（$HQ_{Clarithromycin}$）及びPPCPs 55物質のハザード比の和（$\sum HQ_{55PPCPs}$）と、藻類生長阻害試験により算出した河川水の毒性単位 TUa_{algae} との比較を行った。ここで、TUa_{algae} は急性毒性値を基に算出されていることから、リスク評価の不確実係数と同様に10をかけた値を比較に用いた。結果を図 2.3 に示す。多くの試料において、Clarithromycinの検出濃度から予測された毒性は、バイオアッセイで検出された毒性値とほぼ同程度かやや強い程度であった。また、55物質の和に関してもその大半が Clarithromycin の寄与で占められていることもあり、同様の結果となった。このことから、都市河川の河川水が持つ生体毒性に対して Clarithromycin 等の抗生物質の寄与は大きいことが予想される。また一方で、PPCPsの存在濃度から予測されるよりも強い毒性を示す試料も見られた（図中、点線の左上）。予測値を大きく上回る6試料のうち4試料は、下水処理場の放流直下や下水処理再生水のみが流れるせせらぎ等下水処理水寄与の大きい地点であり、他の2地点はコミュニティープラントや浄化槽の影響の大きい地点であった。研究対象とした水質項目に関しては他の地点と比べて大きな差異は見られなかったが、生活排水処理水中に何らかの毒性因子が含まれていた可能性が考えられる。

これらの結果からも、水生生態系に対するリスクを適切に把握、管理するために個別物質の分析とバイオアッセイ等による全毒性評価を組み合わせて行う事の重要性が示された。

4） 水質項目と底生生物相との相関

現地の底生生物相（付着藻類、底生動物）の指標として、2.2.3 で整理した集約指標を用い、水質項目の主成分（PC1～PC9）との相関解析を行った。付着藻類の細胞密度とクロロフィル濃度、底生動物の個体密度と湿重量については対数変換したデータを用いた。結果を**表** 2.11 に示す。付着藻類の集約指標と底生動物の集約指標とでは、水質主成分との相関関係に差が見られた。

付着藻類では、有機汚濁指標である DAIpo のみが PC1 との間に負の相関を示した。PC1 は DOC を含めた多くの水質項目と正の相関を示す主成分であり、一般的な水質汚濁の程度を代表していると考えられることから、本研究で行った調査の範囲においてもDAIpo が適切に河川の汚濁状況を指標していることが示された。一方、タクサ数、細胞密度、多様度指数（1−*D*、*H'*）は、PC4 と負の相関を示した。PC4 は、pH、DO、NH_4-N、Caffeine 等と負の相関を示す水質主成分である。NH_4-N や Caffeine は生物処理により比較的容易に除去される物質であり、pH や DO との関係を踏まえると、PC4 は下水処理水等、生物処理された排水の影響を表していると考えられる。従って、生物処理された後の下水処理水等であっても、付着藻類の生物群集に対して負の影響を及ぼしている可能性が示唆される。

底生動物においては、多くの集約指標が PC1 及び PC8 と負の相関を示した。PC1 は、上記の通り一般的な汚濁を代表していると考えられる主成分であり、底生動物の生物相は、種数、多様度、現存量等様々な面で水質汚濁の影響を受けている可能性がある。また、PC8 は、残留塩素や Ketoprofen[20]等環境中での減衰が比較的早い物質と負の相関を示す主成分であることから、下水処理水等の都市排水の流入地点からの近さを指標していると考えられる。従って、これらの排水の流入は、場合によっては水温や流速等の物理的影響も含めて、底生動物群衆に大きな影響を与えている一方で、その影響は流下に伴い減少している可能性が示唆される。一方、PC2 に対して正の相関を示す指標が多く見られた。PC2 は、金属類を中心に比較的多くの水質項目と相関を示す水質主成分であるが、正の相関は示す項目、負の相関を示す項目のいずれもあり、明確に特徴付けることが出来なかった。

これらの結果から、都市河川の水質はそこに生息する水生生物に対して影響を与えていることが改めて確認された。実環境中の水生生態系は多様な水質項目に加えて環境要因によっても影響を受けていると考えられるが、DOC 等で指標可能な水質汚濁や、下水処理場の放流水等の打規模な都市排水の流入等の寄与が大きい可能性が示唆された。

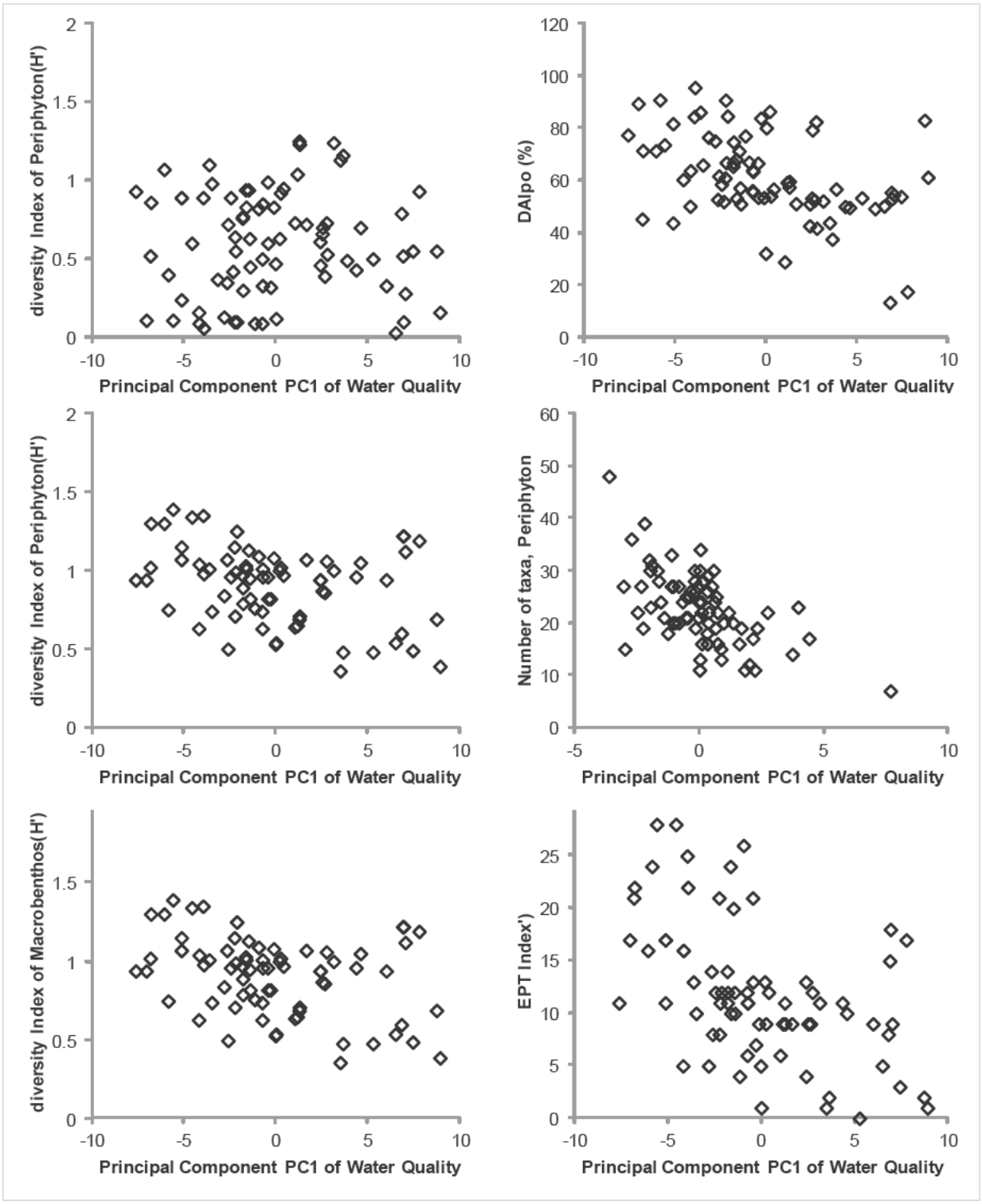


図 2.4　底生生物相と水質との相関

左上：主成分 1－付着藻類の多様度指数(H')　右上：主成分 1－付着藻類の DAIpo
左中：主成分 4－付着藻類の多様度指数(H')　右中：主成分 4－付着藻類の出現タクサ数
左下：主成分 1－底生動物の多様度指数(H')　右下：主成分 1－底生動物の EPT 指数

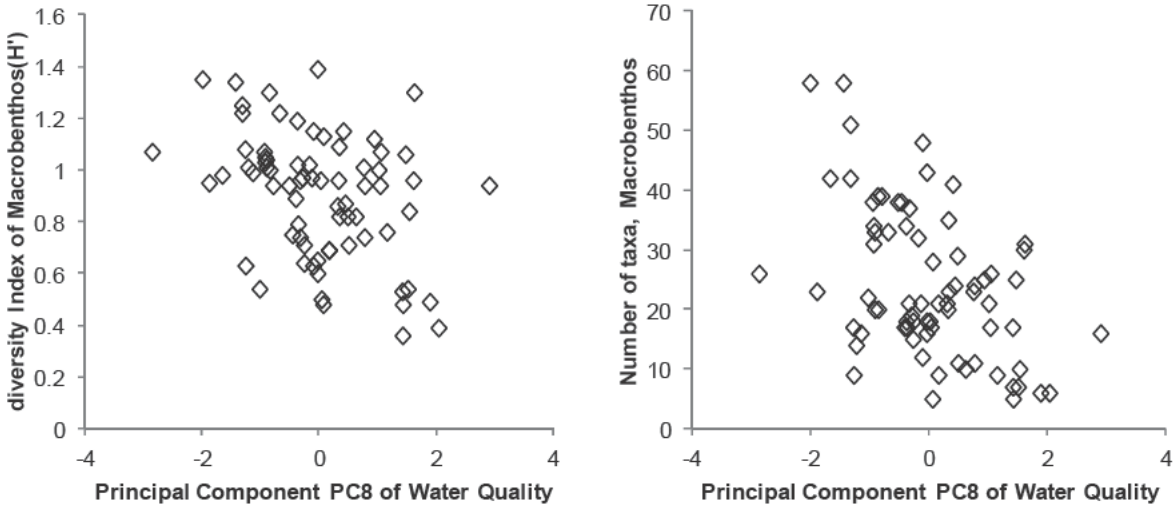


図 2.4　底生生物相と水質との相関（続き）

左：主成分 8－底生動物の多様度指数(*H'*)　　右下：主成分 8－底生動物の出現タクサ数

3.　下水処理水の高度処理による藻類増殖抑制

3. 1　　研究方法

3.1.1　担体処理実験

担体処理連続実験は、夏季の 7 月初旬より開始し 9 月第 2 週目までの約 2 ヶ月間実施した。図 3-1 に示すように、凝集剤添加循環式硝化脱窒法および急速砂ろ過法により処理された茨城県霞ヶ浦流域下水道事務所霞ヶ浦浄化センターの下水処理水を、微生物保持担体(JFE エンジニアリング株式会社製 Bio-Tube、ポリプロピレンを基材とした中空円筒状の固体、$4mm^{OD}\times3mm^{ID}\times5mm^{L}$)が添加された円筒形の反応槽(大阪水交株式会社製、材質ポリエチレン、内径 64cm、有効水深 87cm、有効容量 0.28 m^3、水理学的滞留時間(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。なお、反応槽における担体添加率は 30%とした。さらに、反応槽流出水は下向流式急速砂ろ過装置(内径 10cm、アンスラサイト層厚 62.5cm、砂層厚 37.5cm、ろ過速度= 300m/日)を通過させ、余剰生物膜を分離除去し担体処理水を得た。下向流式急速砂ろ過装置の洗浄は、担体処理水を用いて、3 時間に 1 回の頻度で、1m/分の速度で、2 分間/回、逆流洗浄した。

水質測定は、微生物保持担体上の生物膜の馴致期間として 1 ヶ月程度確保した後、8 月上旬から実施した。週 1 回の頻度で、下水処理水および担体処理水について、現地にて、水温、pH、溶存酸素(DO)濃度を観測するとともに、スポット採水試料中の浮

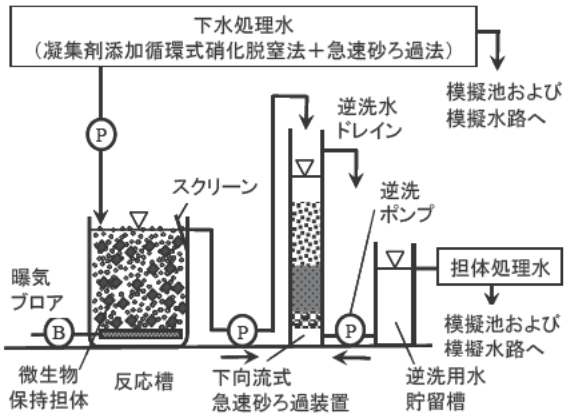


図 3-1　担体処理実験の概要

遊物質(SS)、有機性浮遊物質(VSS)、溶解性有機性炭素(DOC)、総窒素(T-N)、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)、総りん(T-P)、オルトりん酸態りん(PO_4^{3-}-P)の各濃度を測定した。また、2 週間に 1 回の頻度で、スポット採水試料中の総鉄(T-Fe)、総マンガン(T-Mn)の測定を実施した。

3.1.2　模擬水路実験

担体処理実験における微生物保持担体上の生物膜の馴致期間として 1 ヶ月程度確保した後、8 月上旬から、霞ヶ浦浄化センターの下水処理水と、**3.1.1** で述べた担体処理実験で得られた担体処理水を、それぞれ、屋外に設置された同一形状の循環式試験水路(塩化ビニール製、長さ 400cm、幅 10cm)に通水し、水深 8cm、流速 15cm/sec になるように流量を調整し

た。また、水路および循環配管内水の水理学的滞留時間(HRT)は約 22 分となるように設定した。また、水路上に発生する付着藻類等の固形物の状況を把握するために、実験開始時に水路内の壁面および底面に 9cm×9cm×0.5cm の素焼き板を三面張り状に敷き詰めた。

水質測定は、週 1 回の頻度で、下水処理水および担体処理水を通水した模擬水路の表層水について、現地にて、水温、pH、溶存酸素(DO)濃度を観測するとともに、右岸側、底面、左岸側の素焼き板を各 3 枚ずつ採取し、素焼き板表面上の固形物をポリエチレン製歯ブラシにて掻き取り、純水に転溶し、5L にメスアップ、均質化した後の水試料中の SS、VSS、T-N、T-P、Chl.-*a* の各濃度を測定し、素焼き板の単位面積当たりの付着物量として整理した。なお、採取した素焼き板の後には、新たな素焼き板を補充して設置した。また、試料採取は 14:00 に実施した。

3. 2　実験結果

3.2.1　担体処理実験

表 3-1 に、実験期間中の霞ヶ浦浄化センターの下水処理水、担体処理水の水質測定結果を示す。下水処理水に比べて、微生物保持担体による好気性生物膜処理および急速砂ろ過処理を行った担体処理水では、曝気による、酸素と炭酸ガスの交換による pH、DO の上昇がみられた。また、他の富栄養化関連項目については大きな差が見られない一方、T-Fe 濃度はわずかに、また、T-Mn 濃度は大きく低下していた。反応槽前後の Mn の形態は、担体上のマンガン酸化細菌等の活動により、溶解性から懸濁態へ変化しており、それが、後段の急速砂ろ過装置でろ過され、除去されていると考えられる。

3.2.2　模擬水路実験

表 3-2 に、実験期間中の霞ヶ浦浄化センターの下水処理水を通水した模擬水路と、担体処理水を通水した模擬水路の水質測定結果を示す。

下水処理水を通水した模擬水路では、実験期間を通じて壁面から糸状藻類が繁茂し、水路の水面上を覆う光景が見られたが、担体処理水を通水した模擬水路では、糸状藻類の繁茂は顕著に抑えられていた。水質測定結果を比較すると、固形物量や藻類の現存量を表す、SS、VSS、 T-N、T-P、Chl.-*a* について 1.6～2 倍の差が見られた。

表 3-1　担体処理実験における水質測定結果
(SS 以降は平均値)

項目	単位	下水処理水	担体処理水
水温	°C	26.4～27.3	25.7～28.1
pH	—	7.1～7.2	8.0～8.2
DO	mg/L	2.7～3.4	4.9～6.8
SS	mg/L	1.2	1.0
VSS	mg/L	0.9	0.5
DOC	mg/L	3.6	3.7
T-N	mg/L	5.8	6.0
NH_4^+ -N	mg/L	0.1	0.0
NO_2^- -N	mg/L	0.0	0.0
NO_3^- -N	mg/L	4.7	4.7
T-P	mg/L	0.19	0.19
PO_4^{3-}-P	mg/L	0.15	0.16
T-Fe	μg/L	24.1	20.0
T-Mn	μg/L	7.2	0.4

表 3-2　模擬水路実験における水質測定結果
(SS 以降は平均値)

項目	単位	下水処理水を通水した模擬水路	担体処理水を通水した模擬水路
水温	°C	27.7～35.1	28.1～35.2
pH	—	7.6～9.7	8.3～10.0
DO	mg/L	5.5～8.1	7.0～8.5
SS	g/m^2	76.6	37.6
VSS	g/m^2	45.0	19.5
T-N	g/m^2	2.6	1.4
T-P	g/m^2	0.35	0.21
Chl. *a*	mg/m^2	505	298

表 3-3　藻類、下水処理水、担体処理水中の P、Mn の組成

項目	クロレラ	アオコ	下水処理水	担体処理水
T-P	1.7%	0.89%	0.19 mg/L	0.19 mg/L
T-Mn	69±5 mg/kg	39±3 mg/kg	7.2 μg/L	0.4 μg/L
T-P/T-Mn	246	228	26	475

3.3 考察

ここでは、担体処理水を通水した模擬水路で、藻類の増殖が抑制される要因について考察する。

Chetelat ら[21]が、カナダの南オンタリオと西ケベックの 13 河川について夏場に藻類量と藻類群集に及ぼす栄養塩類濃度と流速の影響を検討した結果によると、藻類量は T-P 濃度と強い相関があり、0.006～0.082mg/L の範囲において T-P 濃度と正の相関があることが示されている。本研究で使用した霞ヶ浦浄化センターの下水処理水および担体処理水では、T-P 濃度は通常の下水処理水に比べて低減されてはいたが、そのレベルは 0.2mg/L 程度であり、T-P 濃度が藻類増殖の律速になっているとは考えられない。

そこで、担体処理水において特徴的に低減されている T-Mn に注目する。**表** 3-3 は国立環境研究所[22]が販売している環境標準試料のクロレラ及びアオコの T-P、T-Mn の含有率と、下水処理水、担体処理水中の T-P、T-Mn の濃度を示したものである。クロレラとアオコのデータから、T-P/T-Mn が 228～246 を上回る場合には、T-Mn が水中での藻類増殖の制限因子になると考えられる。実際の模擬池や模擬水路では多種多様な藻類が出現しており、一概にクロレラとアオコのみのデータを以て判断することは難しいが、本研究で得られた担体処理水中の T-P/T-Mn は 475 であり、T-Mn が藻類増殖の制限因子となっている可能性が高いと考えられる。

4. まとめ

本研究課題では、流域状況や汚水処理状況の異なる複数の都市河川、延 100 地点以上を対象として、微量化学物質等のも含めた水質分析や、バイオアッセイによる水生生物への影響評価を行い、水質特性の把握を試みた。また併せて、調査地点の底生生物相（藻類、底生動物）を調査し、水質特性と水生生物との関係について検討した。さらに、下水再生水を、修景用水や親水用水として水路等に利用した際に、付着藻類が増殖する事例が報告されており、この原因として、下水再生水の水質や水路における諸条件(水温、水深、流速等)の影響が考えられていることから、本研究では水質に焦点を当て、下水再生水放流先の池や水路における付着藻類増殖を低減することを目的とした調査を行った。本研究で得られた主な知見は以下のとおりである。

（1）多様な水質項目について分析を行い、主成分分析を行った結果、本研究で対象とした都市河川等においては、重金属や医薬品類等の微量汚染物質も、有機物や栄養塩類等の一般的な汚濁指標と類似した存在実態を示していることが確認された。

（2）河川水を対象に、Microtox®試験及び藻類生長阻害試験の 2 種類のバイオアッセイ手法により、総体的な毒性評価を試みた。河川水を直接試験した場合には毒性が検出された試料はなかったため、固相抽出カートリッジによる濃縮を行いアッセイに供した結果、Microtox®試験では 14%、藻類生長阻害試験では 27%の試料から毒性値（EC_{50}＜5000%；現試料に対する濃縮倍率 50 倍）が検出された。

（3）両試験系間での比較では、藻類生長阻害試験のほうが検出率、感受性ともに高い傾向が見られたものの、その関係は明確ではなく、一方の試験でのみ比較的高い毒性が検出される試料もあったことから、河川水が水生生態系に与える影響を評価するためには、複数の生物種を用いてアッセイを行う重要性が確認された。

（4）水質分析で検出された濃度から各試料中における PPCPs の藻類に対するハザード比を算出した結果、本研究の範囲では、抗生物質 Clarithromycin、Chlortetracyclin、殺菌剤の Triclosan 等で比較的高いハザード比が見られた。特に Clarithromycin はハザード比が 0.1 を超える試料が多く見られたことから、都市水環境において、特に注意すべき PPCPs の一つであると考えられる。

（5）上記で算出した Clarithromycin のハザード比と、藻類生長阻害試験から算出された毒性値とを比較すると、良く整合していることが確認されたことから都市河川水の藻類に対する生態毒性において Clarithromycin 等の抗生物質の寄与は大きいことが予想される。一方で、PPCPs の存在濃度から予測されるよりも強い毒性を示す試料も見られたことから、水生生態系に対する化学物質のリスクを適切に把握、管理するためには、個別物質の分析とバイオアッセイ等による全毒性評価を組み合わせて行う事の重要性が示された。

（6）河川中の底生生物相に対する水質の影響について、統計手法を用いた検討を行った結果、本研究で調査対象とした都市河川等（概ね BOD 1~5mg/L 程度)の範囲においても、汚濁耐性の低い種を中心に、水質の影響を受けていることが確認された。また、付着藻類と底生動物群集とでは、異なる水質項目の影響を受けている傾向も見られた。

（7）付着藻類では、珪藻類の汚濁耐性に基づく有機

汚濁指標 DAIpo が水質汚濁全般を指標する水質主成分との間に負の相関を示した。一方、タクサ数、細胞密度、多様度指数は、生物処理された都市排水の影響を指標していると考えられる水質主成分との相関を示したことから、生物処理後であっても下水処理水等の都市排水が、付着藻類の生物群集に対して負の影響を及ぼしている可能性が示唆された。

（8）底生動物においては、多くの集約指標が DAIpo と同様に水質汚濁全般を指標する水質主成分との間に負の相関を示した。加えて、残留塩素や鎮痛消炎剤 Ketoprofen 等、環境中での減衰が比較的速い物質との負の相関があることから、都市排水の流入は、水質以外の要因も含め、底生動物群衆に対して大きな影響を与えていることが確認された一方で、その影響は流下に伴い減少している可能性も示唆された。

（9）凝集剤添加硝化脱窒法により T-N 濃度が 6mg/L 以下、T-P 濃度が 0.2mg/L 以下程度にまで低減された下水処理水に対して、さらに結合法微生物固定化担体を添加した反応槽における好気処理および急速砂ろ過を行うことにより、有機物や微量金属の酸化・不溶化除去を行い、下水処理水放流先の水路付着藻類増殖を低減することを試みた。下水処理水および担体処理を付加した処理水を、屋外模擬水路に連続的に通水した結果、担体処理を付加することにより、付着藻類増殖が抑制されることが確認された。また、藻類増殖の制限因子は、担体処理により効率的に除去される T-Mn であると考えられた。

参考文献

1) 国土交通省河川局河川環境課：「今後の河川水質管理の指標について（案）」の改訂について，http://www mlit.go.jp/common/000046619.pdf（2011 年 3 月時点）

2) 中央環境審議会水環境部会：水生生物の保全に係る水質環境基準の項目追加等に係る検討事項について，水生生物保全環境基準専門委員会（第 1 回），資料 **4**，http://www.env.go.jp/council/09water/y094-08b html（2011 年 3 月時点）

3) 建設省都市局下水道部，厚生省生活衛生局水道環境部：*下水試験方法 1997 年版*，社団法人日本下水道協会，1997

4) Nakada, N. *et al.*: Pharmaceutical chemicals and endocrine disrupters in municipal wastewater in Tokyo and their removal during activated sludge treatment, *Water Res.*, **40**, pp.3297-3303, 2006

5) 小西千絵ら：水環境中医薬品の LC-MS/MS による一斉分析法の検討，*環境工学研究論文集*，**43**，pp.73-82，2006

6) 野見山晴美ら：ミジンコおよび藻類を用いた市内河川水のバイオアッセイ（2005），*平成 17 年度福岡市保健環境研究所報*，**31**，pp.57-64，2006

7) Harada, A. *et al.*: Biological effects of PPCPs on aquatic lives and evaluation of river waters affected by different wastewater treatment levels, *Water Sci. Technol.*, 58, 1541-1546, 2008

8) OECD: *Test No. 201: Alga, Growth Inhibition Test*, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2: Effects on Biotic Systems, OECD Publishing, 2006

9) 吉岡義正：Ecotox-Statics ver.2.x，*環境毒性学会誌*，**4**(2)，p.113，2001

10) 建設省河川局 監修：河川水質試験方法（案）1997 年版 試験方法編，pp.916-928，1997

11) 国土交通省河川局河川環境課：III 底生動物調査編，平成 18 年度版 河川水辺の国勢調査基本調査マニュアル［河川版］，http://www3 river.go.jp/system/manual htm（2011 年 3 月時点）

12) 渡辺仁治：淡水珪藻生態図鑑 群集解析に基づく汚濁指数 DAIpo，pH 耐性能、2005

13) 緒方健、谷田一三：水生昆虫から河川環境を判定する--日本版平均スコア法の紹介，*昆虫と自然*，**41**(8)，pp.20-23，2006

14) 南山瑞彦ら：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，*土木研究所資料*，**4157**，pp.131-413，2009

15) 福永彩ら：藻類生長阻害試験を用いた医薬品の毒性評価，環境工学研究論文集，**43**，pp.57-63，2006

16) Yang, L.H. *et al.*: Growth-inhibiting effects of 12 antibacterial agents and their mixtures on the freshwater microalga *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Environ. Toxicol. Chem.*, **27**(5), pp.1201-1208, 2008

17) Isidori, M. *et al.*: Toxic and genotoxic evaluation of six antibiotics on non-target organisms, *Sci. Total Environ.*, **346**(1-3), pp.87-98, 2005

18) Yamashita, N. *et al.*: Effects of antibacterial agents, levrofoxacin and clarithromycin, on aquatic organisms, *Water Sci. Technol.*, **53**(11), pp.65-72, 2006

19) Robinson, A.A.: Toxicity of fluoroquinolone antibiotics to aquatic organisms, *Environ. Toxicol. Chem.*, **24**(2), pp.423-430, 2005
20) 花本征也ら：都市河川における医薬品類の減衰，*環境工学論文集*，**48**(7)，pp.III_179-III_185，2011
21) J. Chetelat, F.R. Pick, A. Morin and P.B. Hamilton: Periphyton biomass and community composition in rivers of different nutrient status, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **56**, pp.560-569, 1999
22) 国立環境研究所：http://www nies.go.jp/labo/crm/index html

湖水中の藻類生産有機物の性状と挙動に関する研究

研究予算：運営費交付金（一般勘定）
研究期間：平 20～平 22
担当チーム：水環境研究グループ（水質）
研究担当者：南山瑞彦、北村友一

【要旨】
湖の有機物汚濁の発生源は、外部由来と内部由来に分けられ、外部由来の有機物の負荷量は流域内での下水道整備などにより減少しているものの、湖内の有機物汚濁は改善されていないのが現状である。湖水で増殖する藻類は、内部由来の有機物汚濁の発生源の一つであるが、湖水中の藻類と溶存有機物との関連については明らかでない。そこで、本研究は、湖の藻類と溶存有機物の実態調査や藻類培養実験から、藻類生産溶存有機物の質・量的特性や湖内での生産・分解挙動の解明を目的とした。霞ヶ浦と琵琶湖で行った実態調査では、藻類が増殖した月の湖水の三次元励起蛍光スペクトル（EEMs）上の Peak①（Ex 220～230nm/Em 300～345nm）、Peak②（Ex 275～280nm/Em 315～345nm）の蛍光強度が高くなっていた。藻類培地を用いた藻類培養実験では、藻類の増殖とともに DOC 濃度と Peak①、Peak②の蛍光強度が増加することがわかり、Peak①、Peak②は藻類生産有機物のマーカーになると考えられた。また、流入河川水の藻類生産溶存有機物の生成能を評価するための藻類培養実験を提案し、実河川水を用いた藻類培養実験から、湖内での藻類の増加は、DOC と Peak①、Peak②の蛍光強度の増加を生じることを示した。さらに、HPLC と質量分析計の測定から、Peak①を反映する物質は疎水性物質であり、*m/z* 350 を中心とする質量分布を持つことがわかった。
キーワード：藻類、有機物、蛍光分析、琵琶湖、霞ヶ浦

1. はじめに

湖の有機物汚濁の発生源は、外部由来（陸域からの流入）と内部由来（湖内の藻類による生産、湖底泥からの回帰）に分けられる。外部由来の有機物の負荷量は流域内での下水道整備などにより減少しているものの、湖の有機物汚濁は改善されていないのが現状である。湖水中の有機物の存在実態・発生源・消長を解明するため、有機物の質・量や挙動に関して様々な研究が行われてきており[1),2),3)]、湖水中には溶存態有機物が多いことが明らかとなってきたものの、その発生源や挙動については不明な点も多い。特に、湖内での生産のうち、湖水中の藻類と溶存有機物との関連については明らかでない。そこで、本研究は藻類と溶存有機物の関係に焦点を当て、藻類生産溶存有機物の質・量的特性や湖内での挙動を明らかにすることを目的とした。

本研究では、はじめに、藻類と溶存有機物の関係を把握するため、霞ヶ浦と琵琶湖を調査対象とし、湖水中の藻類群集と溶存有機物の質・量的関係の実態調査を行った。次に、藻類と溶存有機物の関係を検証するため、藻類培地と実河川水を用いて実湖水から採取した藻類の実験室内での培養・分解実験を行い、藻類生産溶存有機物の質・量的特性や生産・分解挙動を調査した。さらに、藻類生産溶存有機物の質的特性を把握するため、実態調査や培養実験から得られた試料を高速液体クロマトグラフ（HPLC）および質量分析計を用いて分析し、藻類生産溶存有機物の極性（疎水性・親水性）や質量分布特性を明らかにした。

2. 湖水の藻類と溶存有機物の実態調査

2.1 調査方法

実態調査は、霞ヶ浦と琵琶湖で実施した。霞ヶ浦、



図 2-1　採水地点（霞ヶ浦）　　図 2-2　採水地点（琵琶湖）

琵琶湖の採水地点を図 2-1、図 2-2 に示す。霞ヶ浦では、平成 20 年 4 月から 21 年 3 月まで月 1 回、西浦の湖心と北浦の釜谷沖の表層の湖水を採水した。琵琶湖では、平成 21 年 5 月から 22 年 3 月まで月 1 回、安曇川沖で水深別（0.5, 5, 10, 20, 50, 約 60m（底面上 1.5m））に湖水を採水した。水質分析項目は、フローサイトメトリーによる藻類群集の測定[4),5)]、全有機炭素（TOC（霞ヶ浦のみ））、孔径 1μm のガラス繊維ろ紙でろ過した湖水の溶存有機炭素（DOC）、NH_4-N、NO_2-N 、NO_3-N 、PO_4-P である。さらに、湖水の溶存有機物の質的特性を把握するため 3 次元励起・蛍光スペクトル（EEMs）の測定を行った。EEMs は蛍光分光光度計（F-4500 : HITACHI）を用いて測定した。スキャン範囲は励起波長（Ex）、蛍光波長（Em）とも 200～600nm とした。得られた蛍光強度は励起波長 350nm における超純水のラマンピークの面積で割って規格化した。その後規格化した試料の蛍光強度から試料水と同様に規格化したブランク（超純水）の蛍光強度を差し引き、EEMs を得た。

2.2 調査結果

図 2-3 は、H20 年 9 月の霞ヶ浦西浦と北浦の湖水中の藻類のフローサイトメトリーによる分析結果と分取した藻類の一例を示したものである。本図は細胞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 1 個 1 個の藻類をプロットしたものに、プロットが集中する各領域の代表的な藻類の写真（G 励起による蛍光像も含む）を示したものである。図 2-4 は、H20 年 9 月の西浦湖水の EEMs であり、スペクトル上で概ね 4 つのピーク（Peak①、Peak②、Peak③、Peak④）が確認された。各ピークは次の範囲で（Peak①は Ex 220～230nm（励起波長）/Em 300～345nm（蛍光波長）、Peak②は Ex 275～280nm/Em 315～345nm、Peak③は Ex 225～235nm/Em 410～440nm、Peak④は Ex 310～320nm/Em 410～430nm）、高い蛍光

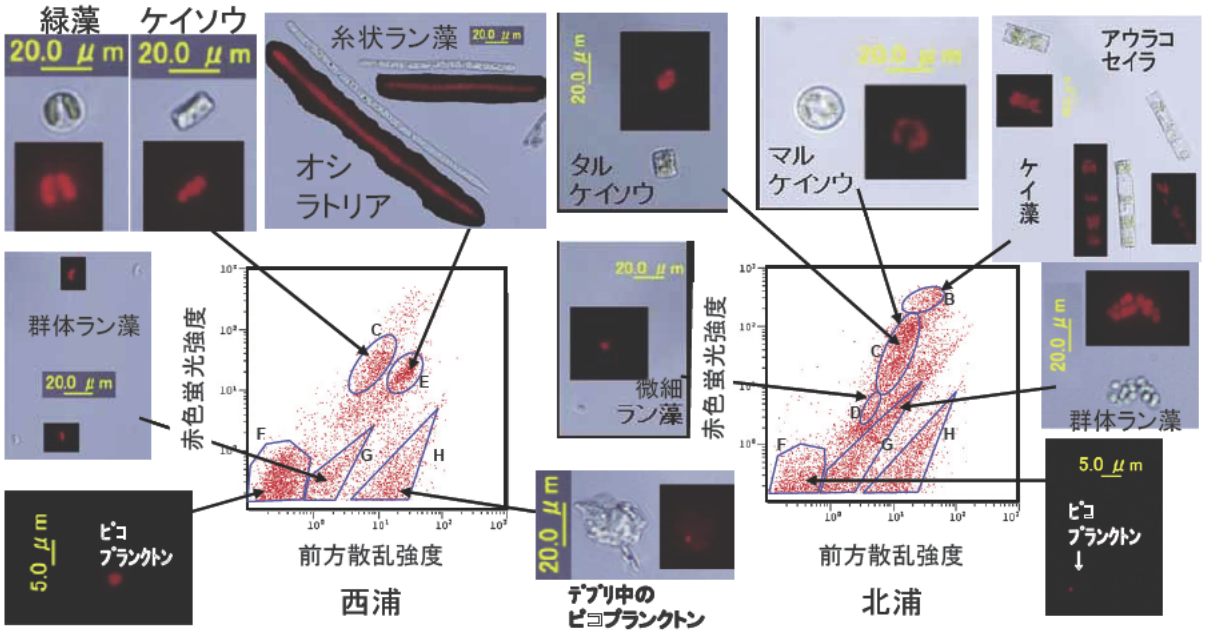


図 2-3　H20 年 9 月の霞ヶ浦西浦と北浦の湖水中の藻類のフローサイトメトリーによる分析結果

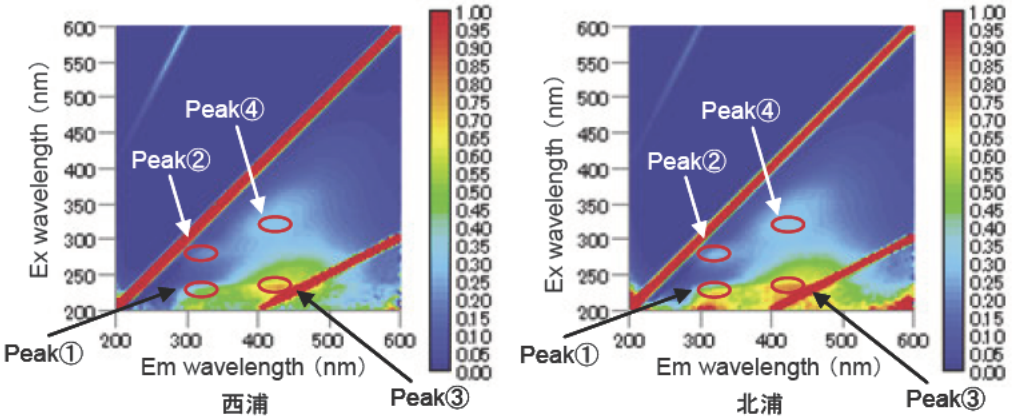


図 2-4　H20 年 9 月の霞ヶ浦西浦と北浦の EEMs

強度を示した。図 2-5 は、西浦と北浦の TOC、DOC、各藻類濃度、各ピークの蛍光強度の経月変化である。蛍光強度の励起・蛍光波長は Peak①は、Ex 230nm/Em 340nm、Peak②は、Ex 280nm/Em 340nm、Peak③は、Ex 230nm/Em 425nm、Peak④は、Ex 320nm/Em 425nm である。全有機炭素（TOC）のうち、5～7 割が溶存態（DOC）であり、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 濃度の変動の傾向は、藻類濃度と概ね類似していたが、DOC 濃度は概ね一年を通して一定であることがわかった。藻類が増殖した

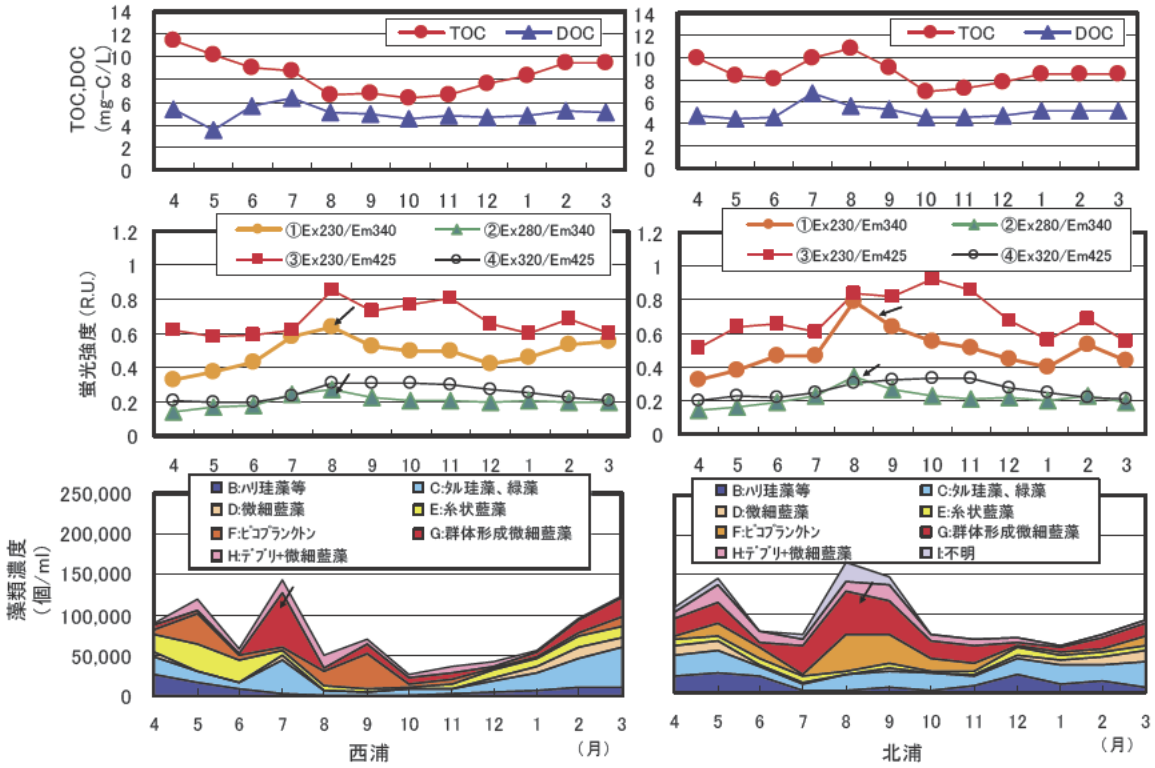


図 2-5　西浦と北浦の TOC、DOC、各藻類濃度、各蛍光強度の経月変化

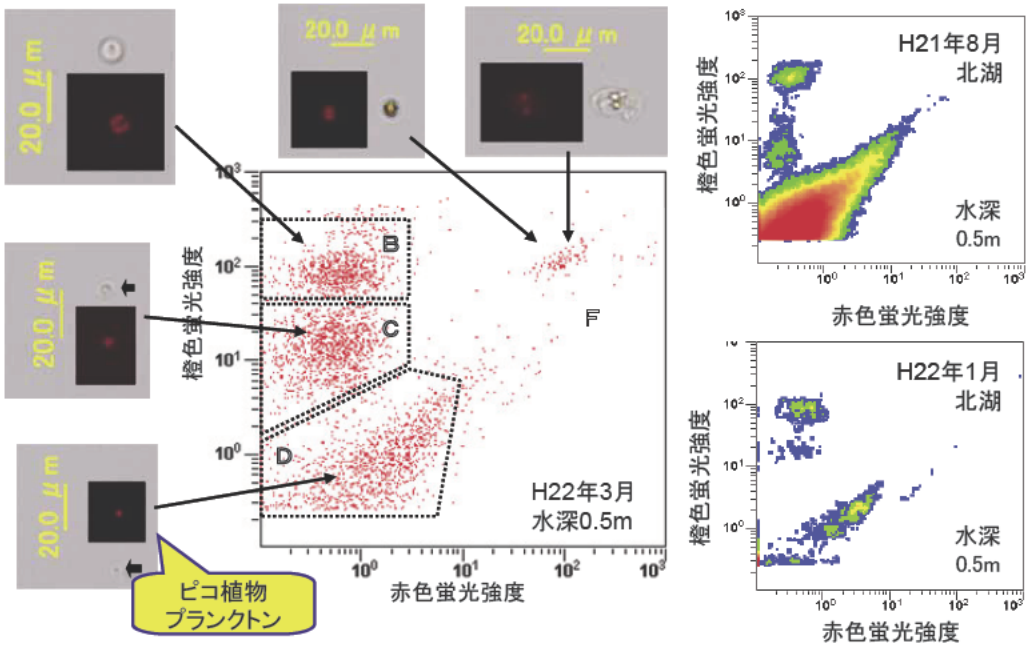


図 2-6　琵琶湖の藻類のフローサイトメトリーによる分析結果

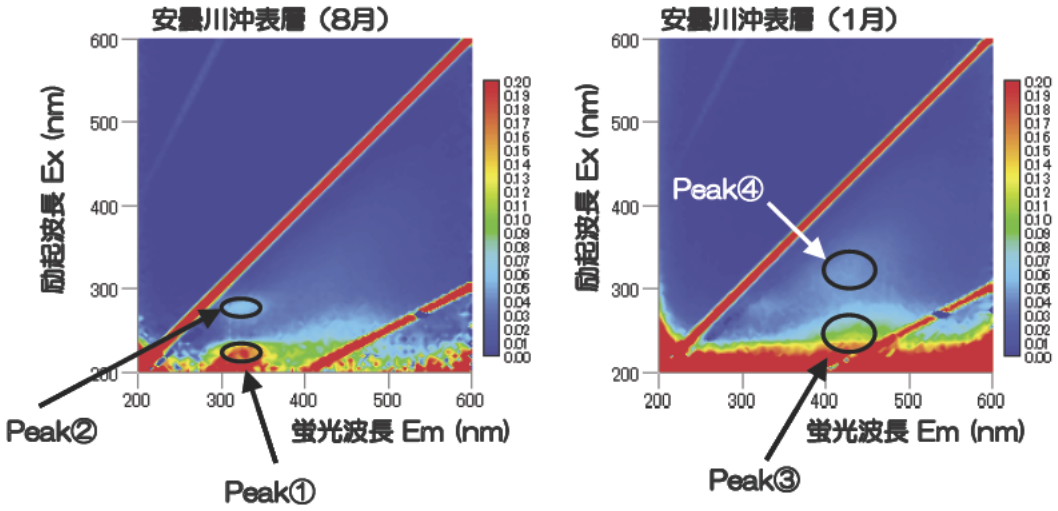


図 2-7　H21 年 8 月と H22 年 1 月の安曇川沖 0.5m の湖水の EEMs

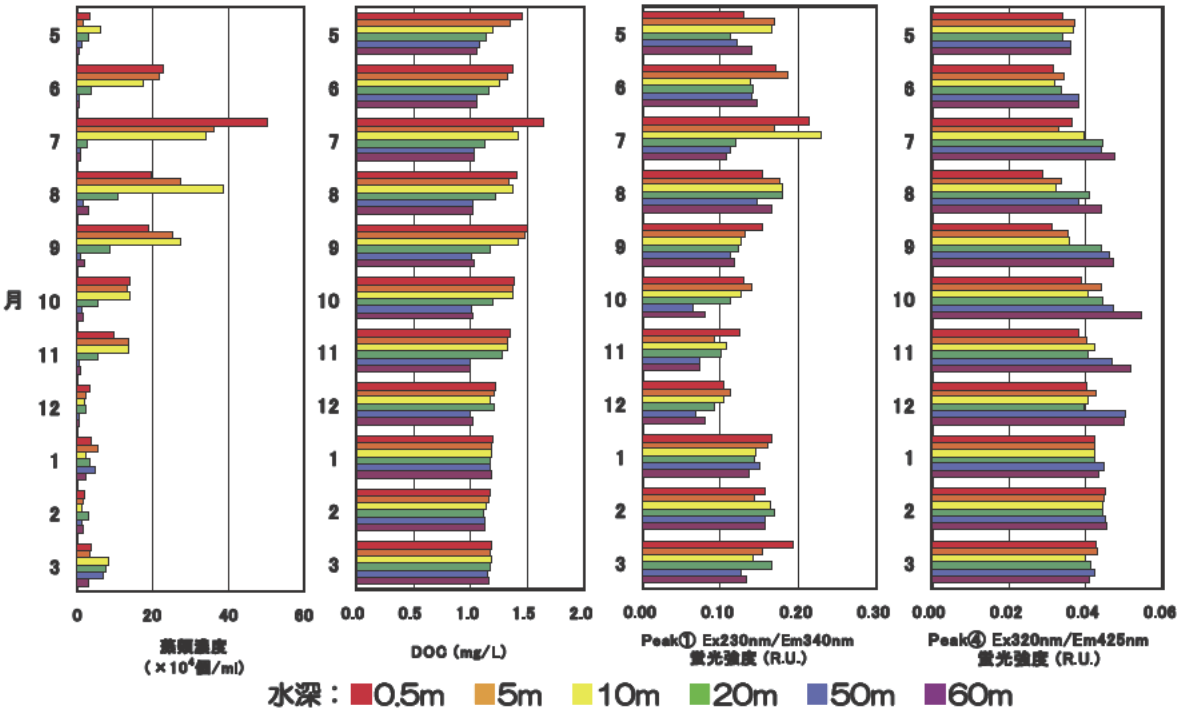


図 2-8　琵琶湖安曇川沖の水深別の藻類濃度、DOC 濃度、EEMs 上の Peak①（Ex230nm/Em340nm）と Peak④（Ex320nm/Em425nm）の蛍光強度の経月変化

表 2-1　湖水の EEMs 上で観察された主要なピークの帰属

Chen et al. による分類表[6)]

ピークの位置	分類	湖水で観察されたピークとその範囲
Ex230nm/Em300nm	タンパク質様（チロシン）	Peak①：Ex 220～230nm/Em 300～345nm
Ex230nm/Em340nm	タンパク質様（トリプトファン）	Peak①：Ex 220～230nm/Em 300～345nm
Ex280nm/Em340nm	タンパク質様	Peak②：Ex 275～280nm/Em 315～345nm
Ex230nm/Em425nm	フルボ酸様	Peak③：Ex 225～235nm/Em 410～440nm
Ex320nm/Em425nm	フルボ酸様	Peak④：Ex 310～320nm/Em 410～430nm

月（西浦では7月、北浦では8月）から1ヶ月程度はPeak①、Peak②の蛍光強度が上昇しており、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。Peak①、Peak②の蛍光強度は、群体形成微細藻類の増加した月以降に強くなる傾向がみられることから、微細藻類に関係する有機物である可能性が考えられた。

図2-6は、H22年3月の安曇川沖0.5mのフローサイトメトリーの測定結果と藻類の写真、8月と1月の安曇川沖 0.5m のフローサイトメトリーの測定結果である。琵琶湖の藻類は、小型の球形の植物プランクトンが特徴的であり、夏季の表層でピコ植物プランクトンが増大することがわかった。

図2-7は、H21年8月とH22年1月の安曇川沖0.5mの湖水の EEMs である。 霞ヶ浦湖水と同様の位置にピークが観察された。8月の表層湖水ではPeak①、Peak②が強くなっていた。

図2-8は、琵琶湖北湖水深別の藻類濃度、DOC濃度、EEMs 上のPeak①（Ex 230nm/Em 340nm）、Peak④（Ex 320nm/Em 425nm）の各蛍光強度の経月変化である。藻類濃度は、6 月以降、水深 0.5m から 20mの範囲で増加し、7 月で最も高くなり、冬季に向かって低下していくことがわかった。DOC 濃度は、5 月から 12 月の間、水深0.5 m で高く、水深が増すに従い低下する傾向を示した。水深0.5 m では7 月のDOC 濃度が最も高くなった。1～3 月のDOC 濃度は、水深によらず一定となった。Peak①の蛍光強度の季節変化をみると、水深別では、特に7 月の水深0.5m から 10m で蛍光強度が高くなることがわかった。

表2-1 はChen et al.[6]による、EEMs 上のピークの分類である。湖水のEEMs 上のPeak①は、タンパク質様物質を反映するピーク位置（Ex230nm/Em300nm、Ex230nm/Em340nm）と対応している。琵琶湖では藻類濃度が高い時期にDOC 濃度とPeak①の蛍光強度が高くなる傾向がみられることから、琵琶湖北湖の夏季の表層での植物プランクトンの増加は、DOC 濃度の増加要因となっており、その中でもPeak①の蛍光ピークを示す有機物（タンパク質様物質）が増加している可能性があった。

2.3 まとめ

霞ヶ浦と琵琶湖の実態調査から、湖水中の藻類群集と溶存有機物の質・量的関係を把握した。得られた知見を以下に示す。

霞ヶ浦では、

(1) TOC 濃度の変動の傾向は、藻類濃度と概ね類似したが、DOC 濃度は概ね一年を通して一定であった。全有機炭素（TOC）のうち、5～7 割が溶存態（DOC）であり、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。

(2) EEMs 上の Peak①（Ex 220～230nm/Em 300～345nm）、Peak②（Ex 275～280nm/Em 315～345nm）の蛍光強度は、群体形成微細藻類が多いときに増加する傾向がみられた。

琵琶湖では、

(3) 琵琶湖北湖の夏季の表層での植物プランクトンの増加は、DOC 濃度の増加要因となっており、その中でもPeak①の蛍光ピークを示す有機物（タンパク質様物質）が増加している可能性があった。

3. 藻類培地による藻類生産有機物の特性調査

湖水中の藻類と溶存有機物の関係を明らかにするため、藻類培養実験による検証を試みた。藻類生産溶存有機物は、藻類の増殖過程で生じるものと、藻類の分解過程で生じるものに分けられると考えられる。そこで、藻類培地を用いた藻類培養実験と分解実験から、藻類と溶存有機物の関係を調査した。

3.1 実験方法１（藻類の増殖と溶存有機物の質・量の関係）

3.1.1 供試藻類

図 3-1 および表 3-1 に示す 4 種類の藻類群を用いて藻類培養実験を行った。4 種類の藻類群は以下のとおり採取した。平成 21 年 8 月に採水した霞ヶ浦西浦の湖水にフローサイトメトリー法[4]を適用し、約 5μm の微細な植物プランクトンが主体の A、オシラトリア属の糸状藍藻が主体の B を得た。また H21 年 8 月 5 日にアオコが発生した土浦港の湖水を採取して培養したものを C とした。C には複数の種が混在し、実験開始時には緑色べん毛虫が優占していた。8 月に採水した琵琶湖の湖水にフローサイトメトリー法を適用し、ピコ植物プランクトン（0.2～2μm）主体の D を得た。

3.1.2 藻類培地

本実験での藻類培地は藻類の増殖にともなう溶存有機物の質・量の関係を調査するため、有機物をほとんど含まない Chu 培地[7]とした。培地の組成を表 3-2 に示す。採取した藻類はそれぞれ Chu 培地で培養し、試験に供するまでほぼ毎週新しい培地への植継を行った。

3.1.3 実験操作

実験は H21 年 9 月 23 日から 10 月 9 日までの 16 日間実施した。培養容器としては 300mL の三角フラスコを用い、200mL の培地を入れ、0.5mL の藻類培養液を

加えて培養した。培養温度は24℃とし、16/8時間の明暗周期で白色蛍光灯を側面より照射（照度5600 lux）し、80rpmで振とう培養を行った。

藻類培養液の採取は0,2,4,6,8,10,12,16 日目に実施した。試料は各培養フラスコからマイクロピペットで約13mLずつ抜き取り、0.45 μmのシリンジフィルターでろ過し、測定まで凍結保存した。ろ過以降の操作ブランクとしてそれぞれの試料の採取日に超純水を0.45μm のシリンジフィルターでろ過して凍結保存した。藻類濃度は藻類培養液の650nmの吸光度をマイクロプレートリーダーで測定した。ろ過試料の分析項目はDOCとEEMsである。EEMsは2.1と同様に測定、規格化した後、藻類培養液のEEMsから操作ブランクのEEMsを差し引いた。

3.2 実験方法２（藻類の分解と溶存有機物の質・量の関係）

藻類の分解と溶存有機物の質・量の関係を調べるため、藻類培養後の培養液を用いて56日間の分解実験を行った。対象藻類は3.1.1と同じくChu培地で培養した藻類A,B,C,Dである。藻類培養液は分解実験開始1週間前から500mL容三角フラスコを用いて330mLのChu培地で培養したものを実験に供した。藻類培養液は、ろ過処理無しで3本の300mL容三角フラスコに100mLずつ分注し、後の水質分析で必要となる水量を確保するため超純水を20mL加えて液量を120mLとし、GF/Bでろ過した湖水（霞ヶ浦の藻類A,B,Cには霞ヶ浦湖水、琵琶湖の藻類Dには琵琶湖湖水）を1.2mL添加した。三角フラスコは、シリコセンでフタをして電子天秤で重量を測定後、アルミホイルで包んで遮光した。分解の条件は20℃、暗所とし、1週間に3回約5秒間の撹拌を行った。

分解実験開始後14,56日目にDOCとEEMsを3.1項と同様にして測定した。なお、DOCとEEMsの測定結果は試料の蒸発分の補正を行った。

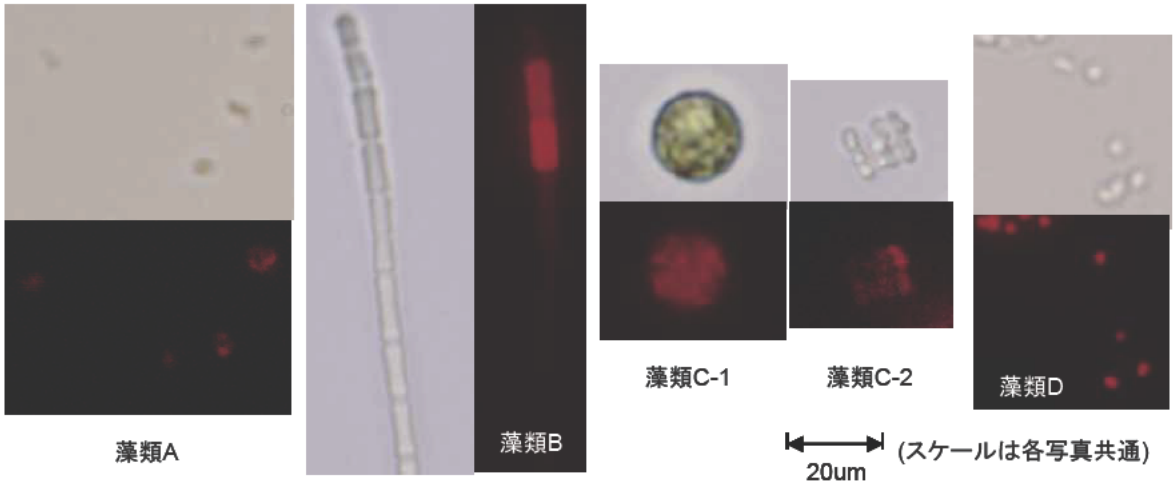


図3-1　実験に使用した藻類の顕微鏡写真

表3-1　実験に使用した藻類の一覧

試料名	流域	試料の準備方法	主要構成藻類
藻類A	霞ヶ浦	フローサイトメトリー法により分離	微細なラン藻
藻類B	霞ヶ浦	フローサイトメトリー法により分離	オシラトリア属のラン藻
藻類C	霞ヶ浦	アオコの発生した湖水から培養	緑色べん毛虫など
藻類D	琵琶湖	フローサイトメトリー法により分離	ピコプランクトン(0.2-2um)

表3-2　藻類培養培地の組成

Chu培地組成[7]		PIV金属混液組成	
$Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	0.05757g	$FeCl_3.6H_2O$	0.196g
K_2HPO_4	0.02g	$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	0.036g
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.025g	$ZnCl_2$	0.0105g
Na_2CO_3	0.02g	$CoCl_2.6H_2O$	0.001g
$FeCl_3.6H_2O$	0.0013g	$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	0.0025g
PIV金属混液	1000 μL	$Na_2EDTA \cdot 2H_2O$	1.0g
water	1L	water	1L

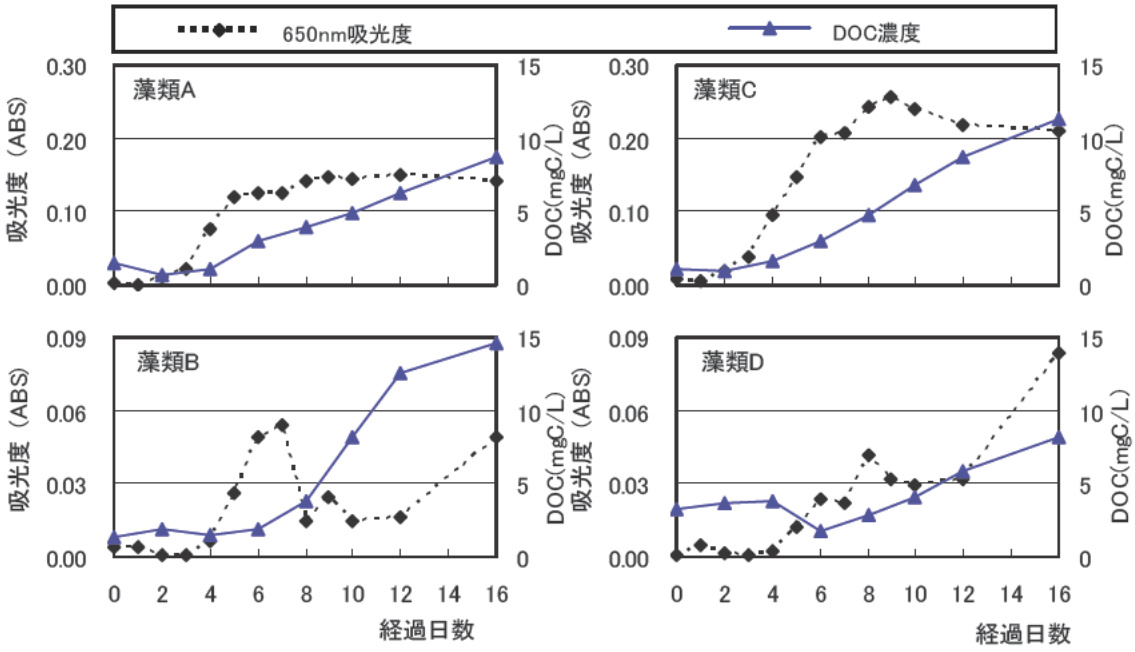


図 3-2　藻類増殖曲線と藻類培養液の DOC 濃度の変化

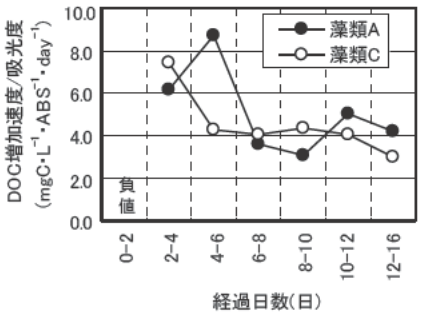


図 3-3　単位藻体濃度あたりの
DOC 増加速度

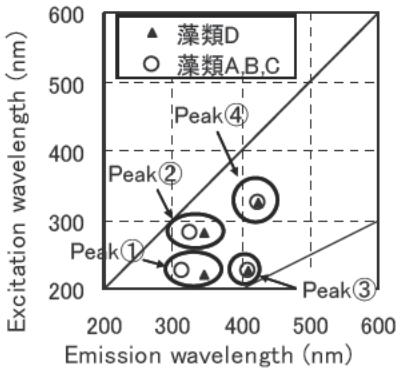


図 3-4　藻類培養液の
主なピークの位置

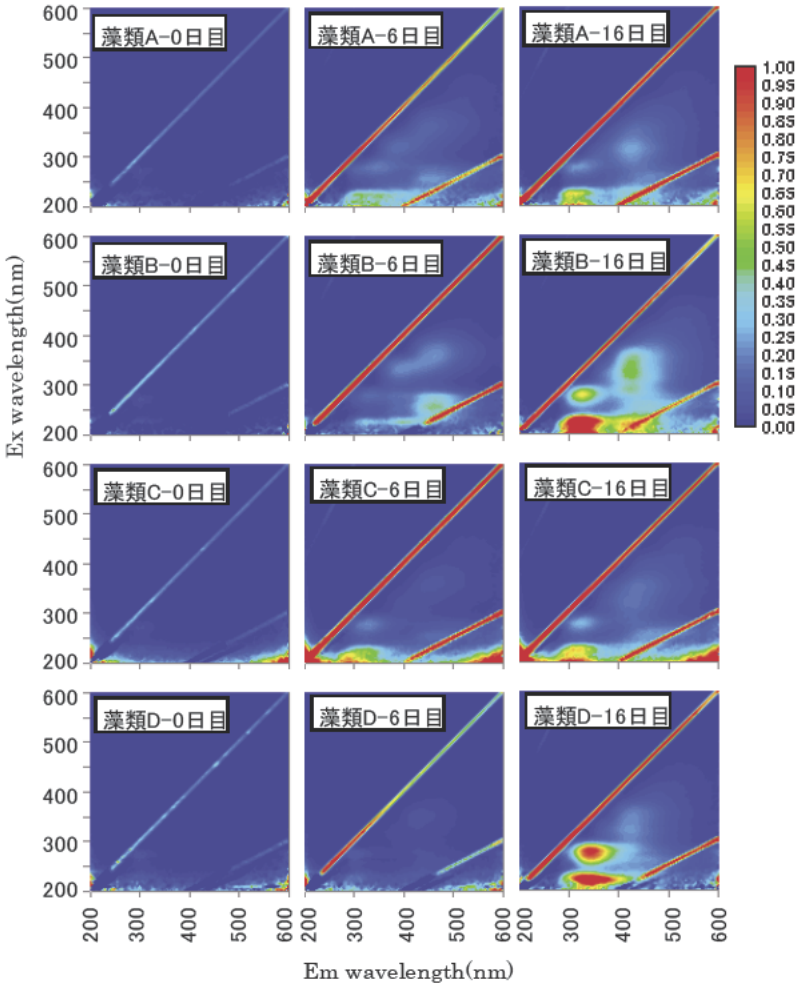


図 3-5　藻類培養 0, 6, 16 日目の藻類培養液の EEMs

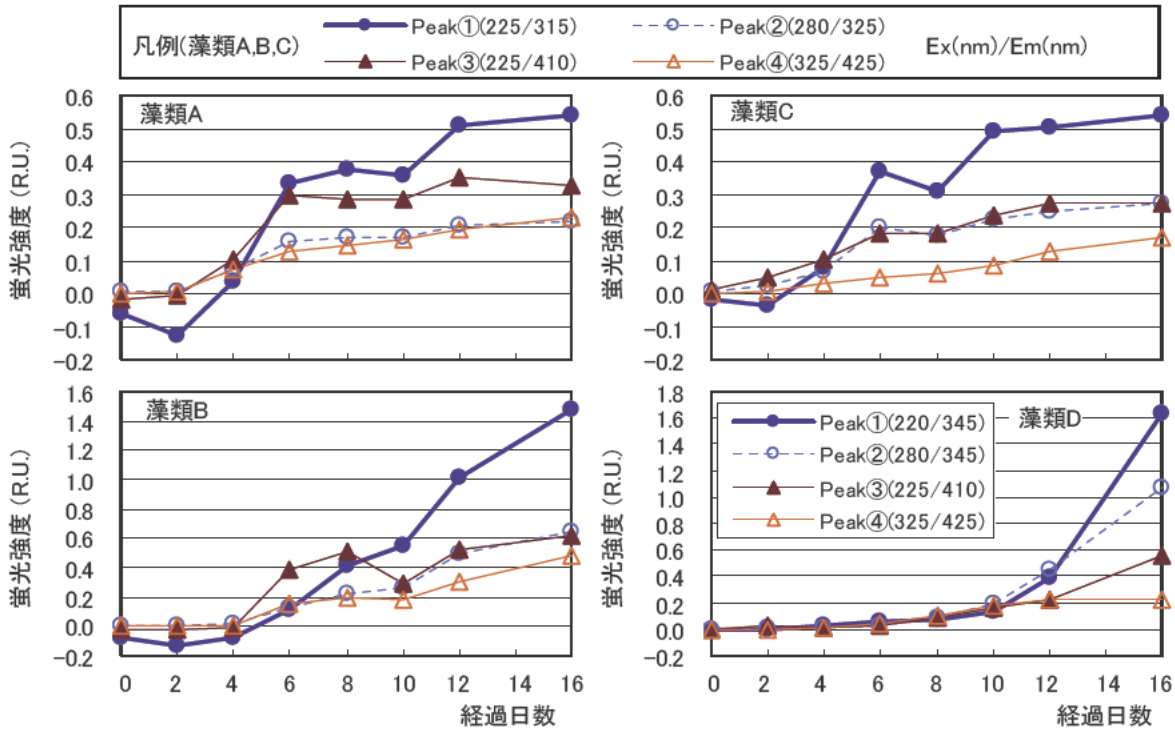


図 3-6　藻類培養実験の各ピーク位置の蛍光強度の変化

3.3　実験結果１（藻類の増殖と溶存有機物の質・量の関係）

図 3-2 は各藻類の増殖曲線と、操作 Blank を差し引いた藻類培養液の DOC 濃度の変化である。どの藻類も 3 日目から 6 日目に藻類濃度が増加し始めた。藻類 B では藻類が群体を形成し分散しなくなったため 8 日目以降に減少する結果となった。藻類 D では 12 日目から 16 日目にかけて増加した。藻類 A,B,C については概ね 3 日目から 8 日目までが増殖期、8 日目以降が定常期となっていた。

DOC 濃度の増加は藻類の増殖とともに始まり、藻類の増殖が止まってからも増加し続けることがわかった。16 日目の DOC 濃度から 0 日目の DOC 濃度を引いて DOC の増加量を求めると、藻類 A,B,C,D それぞれ 7.3、13.2、10.2、4.9 mgC/L となった。図 3-3 は、藻類 A,C について経過日間ごとの藻類濃度あたりの DOC 増加速度を求めたものであり、培養初期で高くなる傾向がみられた。

図 3-4 は、藻類培養液で確認された EEMs 上の主なピークの位置である。図 3-5 は藻類培養 0、6、16 日目の各試料の EEMs である。藻類培養 16 日目の EEMs にみられる主なピークは、タンパク質様物質を反映する Peak①、Peak②とフルボ酸様物質を反映する Peak③、Peak④の 4 つであった。藻類 A,B,C の主要なピークは Peak①（Ex 225nm/Em 315nm）、Peak②（Ex 280nm/Em 325nm）であった。藻類 D では、Peak①は、若干ピークの位置が異なり、Ex 220nm/Em 345nm、Peak②は、Ex 280nm/Em 345nm であった。Peak③（Ex 225nm/Em 410nm ）は藻類 A,B で観察された。Peak④（Ex 320nm/Em 425nm）は各藻類に共通して観察され、藻類 B ではこの蛍光強度が他の藻類より高くなっていた。

図 3-6 はこれらのピーク位置における蛍光強度の変化である。蛍光強度の増加は 4～8 日目から始まり、藻類の種類や EEMs のピーク位置によって増加パターンに違いがみられた。蛍光強度が最も大きく増加したのは、藻類 A,B,C,D のいずれも Peak①であった。このピークの蛍光強度の変化は藻類濃度の増加パターンと類似していた。

3.4　実験結果２（藻類の分解と溶存有機物の質・量の関係）

図 3-7 は各藻類の分解実験期間の DOC 濃度の変化である。0 日目の DOC 濃度は藻類 A,B,C,D それぞれ 3.2、4.5、2.6、13.9 mgC/L であった。0 日目から 14 日目までの DOC 濃度の変化をみると、藻類 A,B,D では減少していた。56 日目には藻類 A と藻類 C の DOC 濃度は 0 日目より高い値となり、藻類 C では 2.9mgC/L 増加しており、藻類の分解過程においても溶存有機物が生じることがわかった。

図 3-8 は各藻類の分解 0,14,56 日目の EEMs である。

図 3-9 は分解実験期間中の各ピークの蛍光強度の変化である。0 日目から 56 日目までの各ピーク位置の蛍光強度の変化をみると、分解開始後 56 日目に DOC 濃度が増加した藻類 A では Peak①、Peak②の蛍光強度が大きく増加した。DOC 濃度が顕著に増加した藻類 C では Peak③、Peak④の蛍光強度が増加していた。DOC 濃度が若干減少した藻類 B では Peak①、Peak②、Peak③の蛍光強度が減少傾向を示した。DOC 濃度が大きく減少した藻類 D では Peak①と Peak②の蛍光強度が減少していた。

藻類培養液を用いた分解実験では、試料によって DOC 濃度が増加する場合や減少する場合があり、藻類の分解にともなう DOC 濃度の変化や質的特性は、藻類の種類によって大きく異なることが明らかとなった。

3.5 まとめ

藻類培地を用いた藻類培養実験と分解実験から、藻類と溶存有機物の関係を調査した。得られた知見を以下に示す。

(1) 藻類培養実験から、藻類の増殖とともに DOC 濃度が増加し、増殖が止まってからも DOC 濃度は増加し続けることがわかった。

(2) 藻類培養実験において EEMs 上の蛍光強度が最も大きく増加したのは、Peak①（藻類 A,B,C では Ex 225nm/Em 315nm、藻類 D では Ex 220nm/Em 345nm）であった。このピークの蛍光強度の変化は藻類濃度の増加パターンと類似していた。

(3) 藻類培養液を用いた分解実験では、試料によって DOC 濃度が増加する場合や減少する場合があり、藻類の分解にともなう DOC 濃度の変化や質的特性は、藻類の種類によって大きく異なることが明らかとなった。

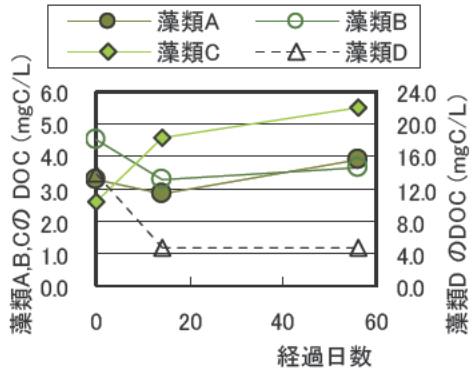


図 3-7　分解実験期間中の各藻類の DOC 濃度の変化

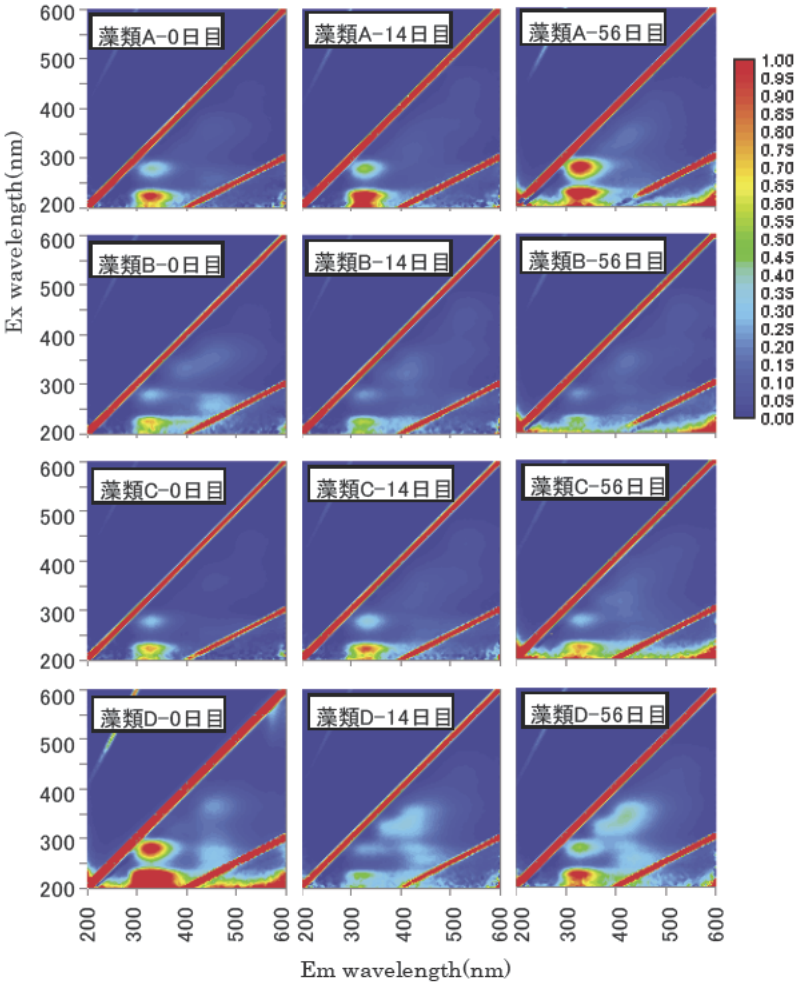


図 3-8　分解実験 0, 14, 56 日目の藻類培養液の EEMs

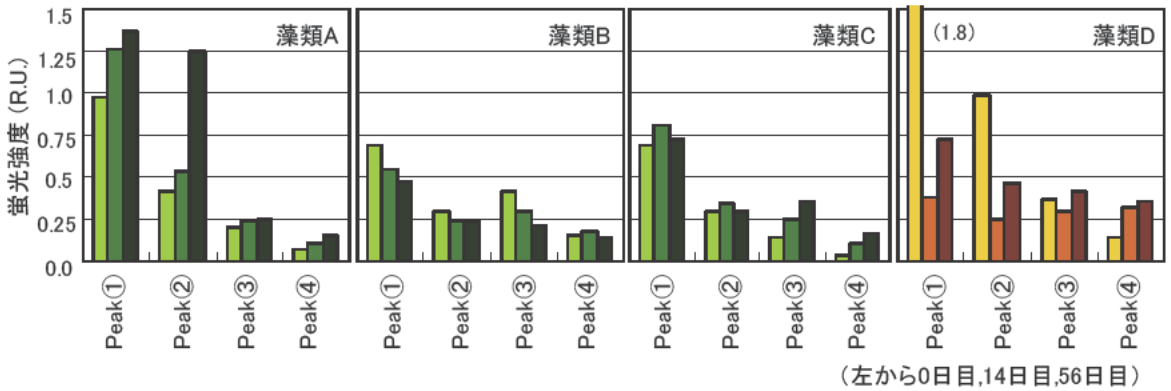


図 3-9　各藻類の分解実験期間中の蛍光強度の変化

4. 実河川水による藻類生産有機物の特性調査

藻類培地による藻類培養実験から、藻類の増加や分解にともないDOC濃度が増加することや、培地中のタンパク質様物質が増加することが明らかとなった。しかし、実湖水の栄養塩の濃度は藻類培地より低濃度であり、また藻類は多種類の混合系であり、藻類培地で増殖した藻類が生産する有機物の質・量的特性は実際の湖水とは異なる可能性もある。より実際の湖水環境に近い条件での検証も必要と考えられる。

また、湖水の有機物汚濁を低減させるための流域対策の優先順位を決定するためには、各流入河川水の藻類増殖能と同時に溶存有機物生成能の評価も必要である。そこで、より実際の湖水環境に近い条件での藻類由来有機物の生産・分解挙動を把握するための実験方法を提案し、実河川水を用いて、提案した藻類の培養・分解実験を行った。

4.1 実験方法

4.1.1 調査河川

調査流域は霞ヶ浦流域とし、図4-1に河川水の採水地点を示した。河川の選定にあたっては、流域の土地利用が異なるように河川を選定した。選定した河川は桜川（流域面積最大）、新利根川（水田60%[8]）、小野川（森林、市街地、農地が等分[8]）、花室川（市街地が半分[8]）、鉾田川（畜産系排水を含む）である。植種は、河川水採水時期の土浦港の湖水とした。

4.1.2 藻類培養・分解試験の操作

試験方法には、河川水に含まれている溶存有機物の生物分解性を評価する試験（約100日間の暗条件での分解試験（以下、暗分解実験））、河川水の藻類の増殖と分解に伴う溶存有機物の生成能を評価する試験（14日間の明条件での藻類培養試験後、約100日間の暗分解試験（以下、藻類培養後暗分解実験））、河川水の長期的な藻類の増殖と溶存有機物の生成能を評価する試験（約100日間の明条件での藻類培養試験（以下、藻類培養実験））を提案した。表4-1は実験の実施時期と内容である。H22年5、7、9月に5つの河川水試料に対し、暗分解実験、藻類培養後暗分解実験、藻類培養実験を行った。また、5月は超純水、7月と9月はChu培地も比較のため試験水に加えた。表4-2は、各試験の水質分析までの経過日数である。

暗分解実験では300mL容三角フラスコを分析回数分用意し、それぞれに河川水試料120mLを分注した。GF/Bろ紙でろ過した湖水1.2mLを植種し、栄養塩としてBOD試験に用いられるA,B,C,D液[9]を各0.12mL添加した。0日目以外の三角フラスコはシリコセンでフタをしてアルミホイルで包んで遮光した。分解の条件は20℃、暗所とし、一週間に3回約5秒間の撹拌を行った。各分析日に三角フラスコ1本を取り出し、水質分析を行った。

藻類培養後暗分解実験では、ガラス製のL字型藻類培養フラスコを用い河川水試料400mLに湖水4mLを植種して培養した。培養14日目に試料をよく撹拌しながら300mL容三角フラスコに100mLずつ分注し、A,B,C,D液を各0.1mL添加した。分解0日目以外の試料はアルミホイルで包んで遮光し暗分解を行った。暗分解の実施条件は前記と同様である。各分析日に三角



図4-1 河川水の採水地点

表4-1 実験条件の一覧

		実施した実験項目		
時期	試料名	暗分解実験	藻類培養後暗分解実験	藻類培養実験
5月（代掻き期）	桜川	○	○	○
	新利根川	○	○	○
	小野川	○	○	○
	花室川	○	○	○
	鉾田川	○	○	○
	MilliQ	○	－	○
7月	桜川	○	○	○
	新利根川	○	○	○
	小野川	○	○	○
	花室川	○	○	○
	鉾田川	○	○	○
	Chu培地	－	○	○
9月（雨天時）	桜川	○	○	○
	新利根川	○	○	○
	小野川	○	○	○
	花室川	○	○	○
	鉾田川	○	○	○
	Chu培地	－	○	○

表4-2 水質分析までの経過日数の一覧

（日目）

時期	暗分解実験	藻類培養後暗分解実験※）	藻類培養実験
5月	0,14,36,56,98	0,14,50,70,112	0,3,6,9,12,56,98
7月	0,14,28,56,98	0,14,42,70,112	0,3,6,9,15,21,28,56,98
9月	0,32,56,98	0,14,46,70,112	0,3,6,10,21,32,56,98

※）0日目から14日目は明条件、14日目から112日目は暗条件

フラスコ 1 本を取り出し、650nm 吸光度の測定と水質分析を行った。

藻類培養実験はガラス製の L 字型藻類培養フラスコを用い、400mL の河川水を入れ、4mL の湖水を植種した。培養温度は 24℃とし、16/8 時間の明暗周期で白色蛍光灯を底面より照射（照度 10,000lux）し、振とう培養を行った。各分析日にホールピペットで培養液を約 35mL ずつ抜き取り、650nm 吸光度の測定と水質分析を行った。

水質分析項目は、GF/B ろ紙でろ過した試料の DOC と EEMs である。

4.2 実験結果

図 4-2 は、超純水と Chu 培地を用いた藻類培養実験の 650nm 吸光度、DOC 濃度、各蛍光強度の経日変化である。図 4-3 は Chu 培地による藻類培養 98 日目の EEMs である。

超純水に湖水を植種した試料では藻類が増殖しないこと、98 日間の培養後の DOC 濃度の増加は約 0.2mgC/L に留まり、溶存有機物の増加もほとんどないことを確認した。Chu 培地を用いた藻類培養実験では、培養時間の経過に従って 650nm 吸光度と DOC 濃度が増加し、98 日目の DOC 濃度は 25.8mgC/L となった。藻類培養 98 日目には、EEMs 上に 4 つのピークが観察され、その位置は、Peak① : Ex 230nm/Em 325nm、Peak② : Ex 280nm/Em 325nm、Peak③ : Ex 230nm/Em 425nm、Peak④ : Ex 320nm/Em 425nm であった。これらのピーク位置について蛍光強度の変化をみると、Peak①と Peak②の蛍光強度は 9 日目まで増加した後一旦減少したが、Peak③と Peak④の蛍光強度は時間とともに増加した。藻類培養後暗分解実験では、DOC 濃度、Peak①、Peak②が暗条件下で減少したが、Peak③、Peak④は減少傾向を示さず、藻類生産溶存有機物のうち Peak③、Peak④を反映する物質は生物分解を受けにくいものと考えられた。

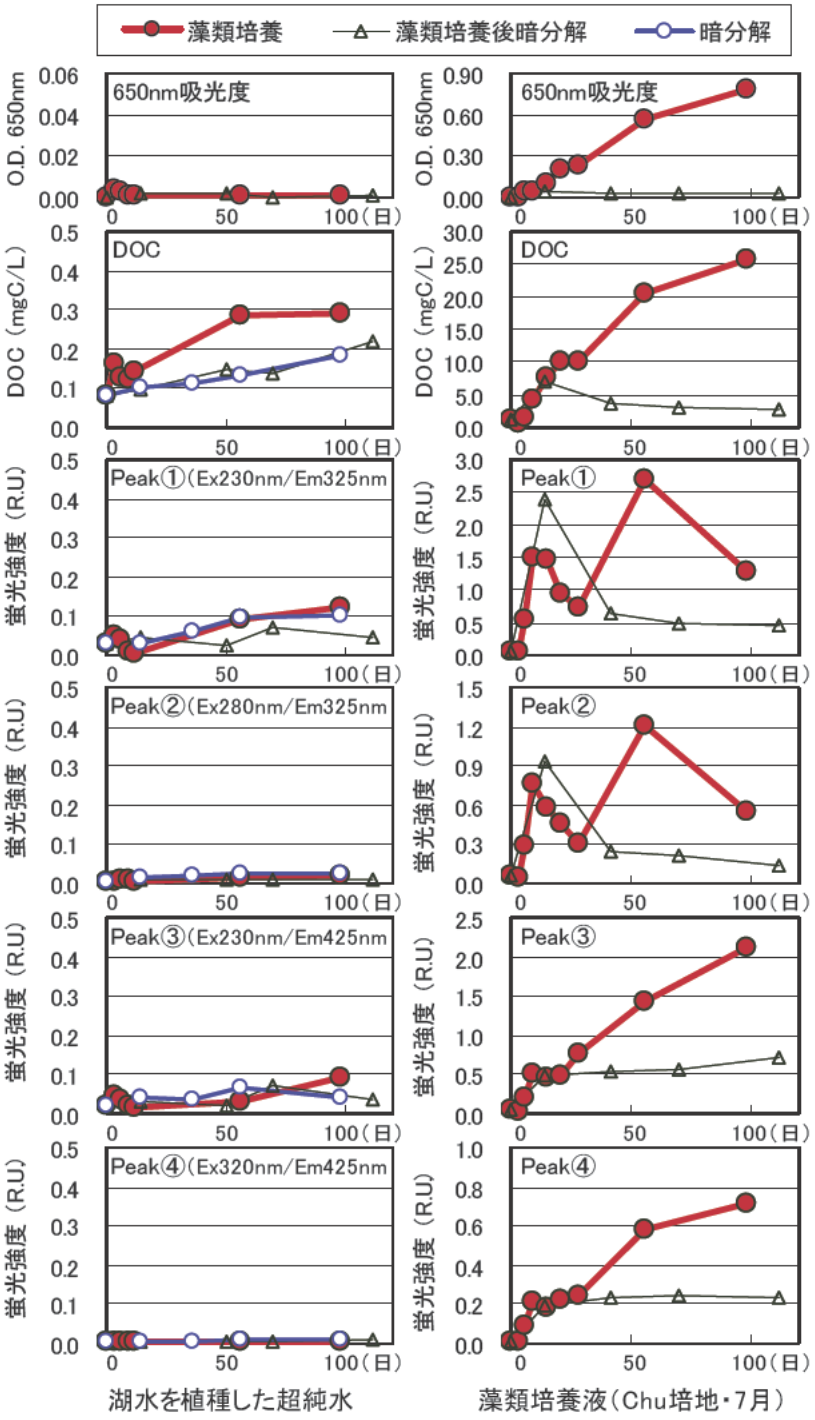


図 4-2　暗分解実験、藻類培養後暗分解実験、藻類培養実験の結果
（超純水、Chu 培地）

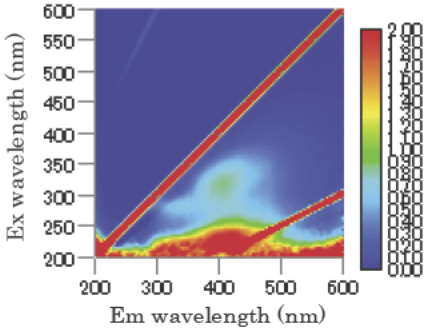


図 4-3　藻類培養 98 日目の Chu 培地の EEMs

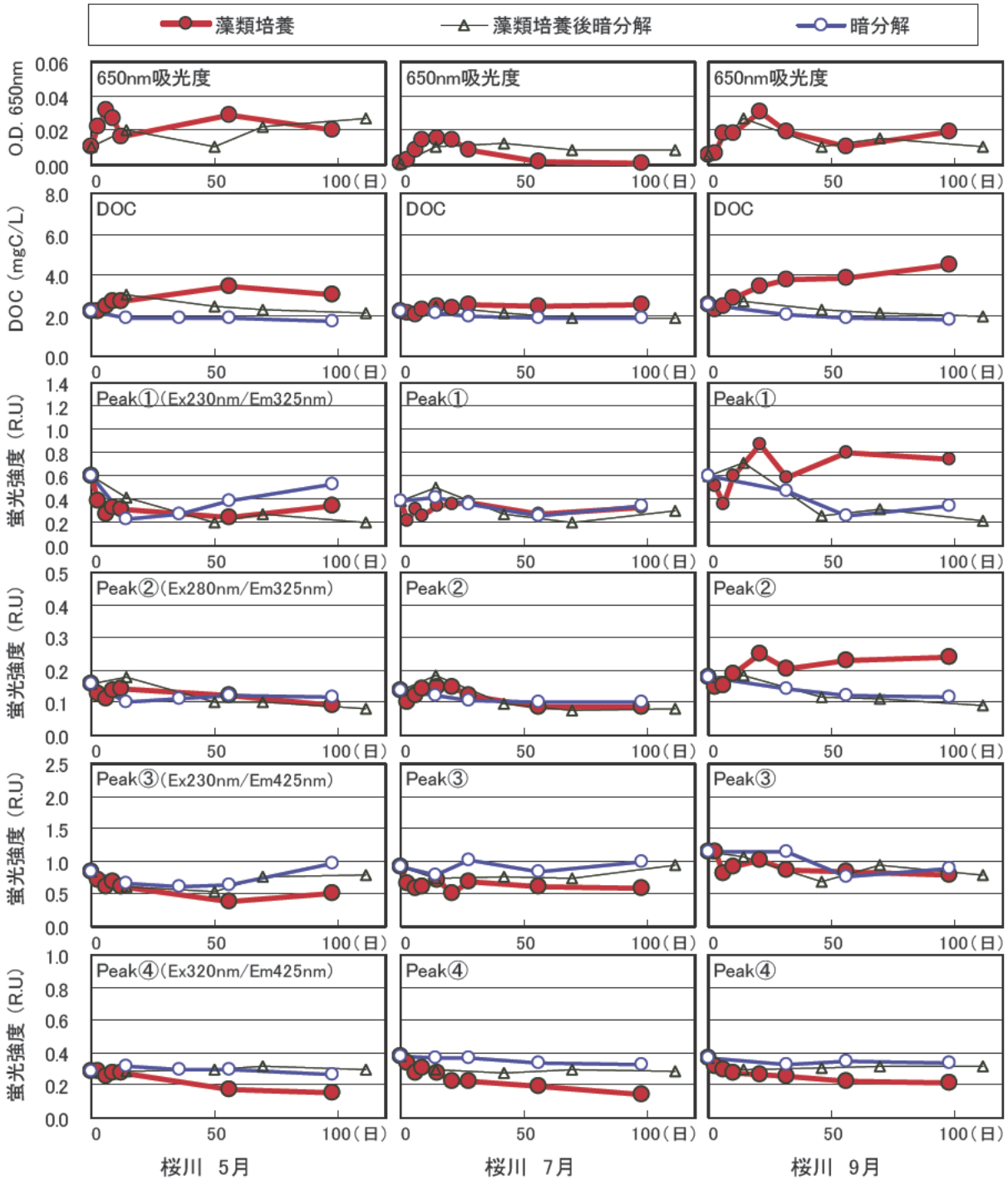


図4−4 a 暗分解実験、藻類培養後暗分解実験、藻類培養実験の結果（桜川）

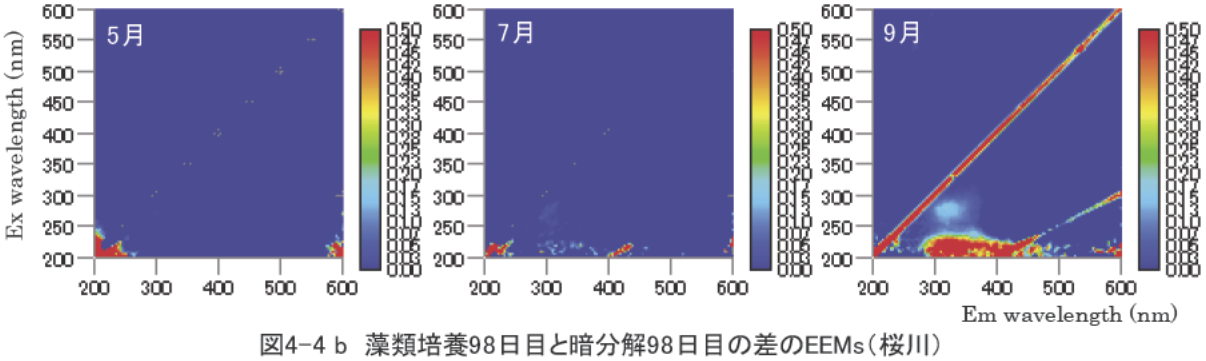


図4−4 b 藻類培養98日目と暗分解98日目の差のEEMs（桜川）

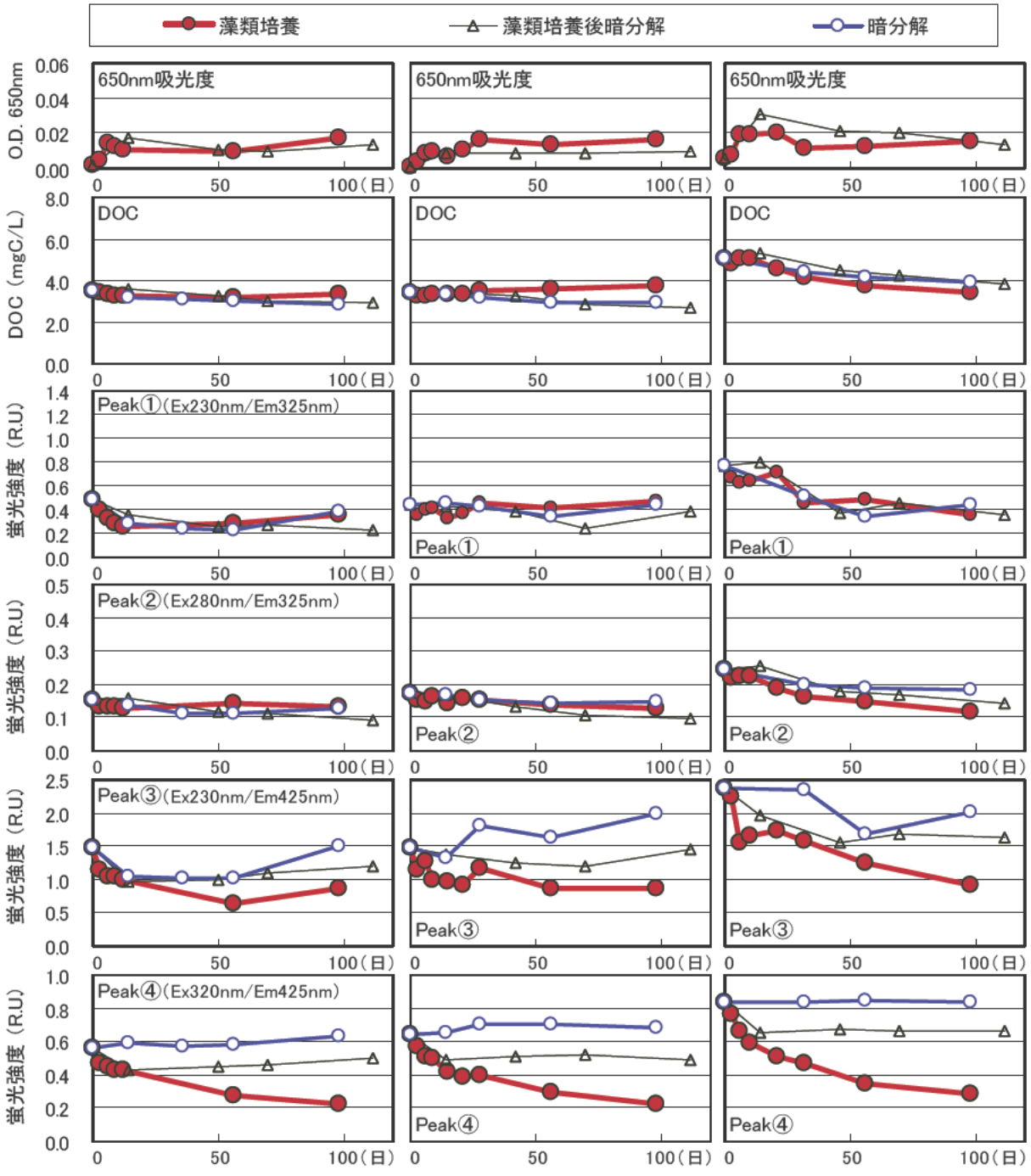


図4-5 a　暗分解実験、藻類培養後暗分解実験、藻類培養実験の結果（新利根川）

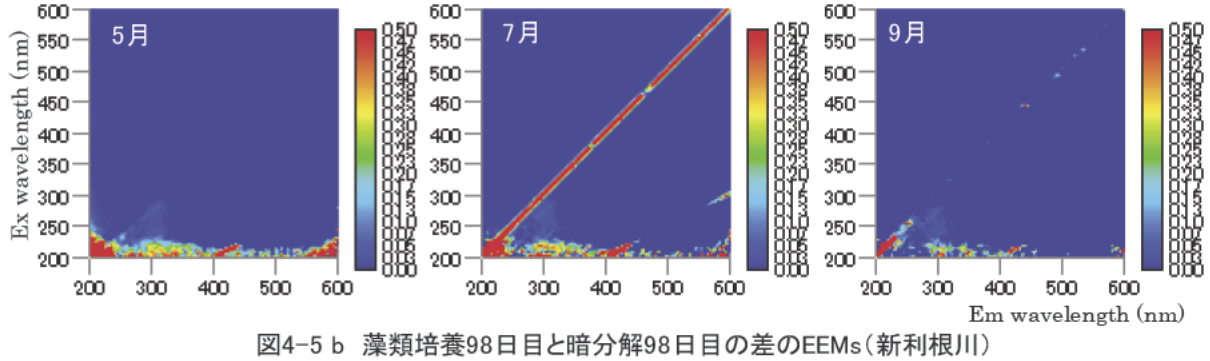


図4-5 b　藻類培養98日目と暗分解98日目の差のEEMs（新利根川）

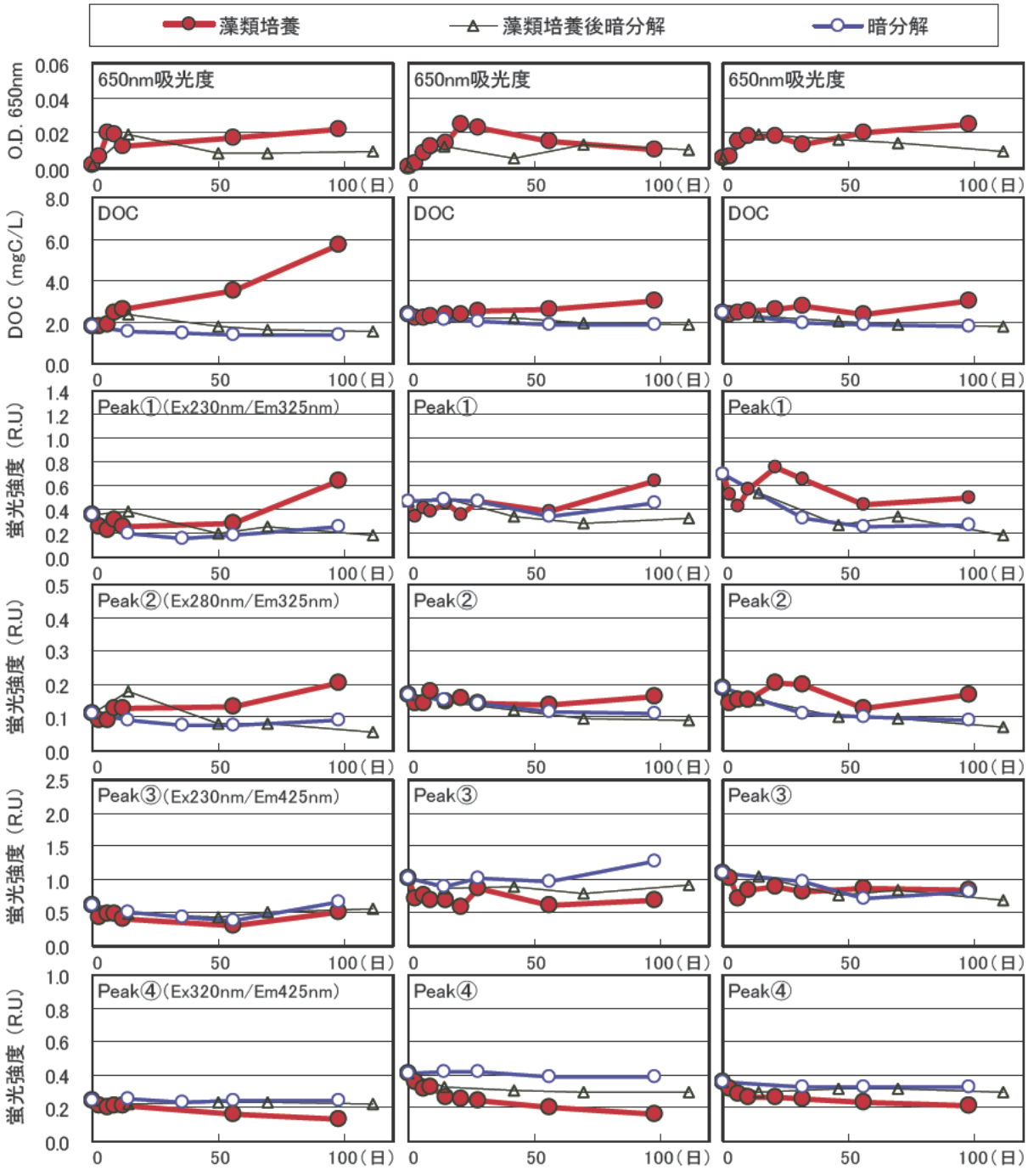


図4−6 a 暗分解実験、藻類培養後暗分解実験、藻類培養実験の結果（小野川）

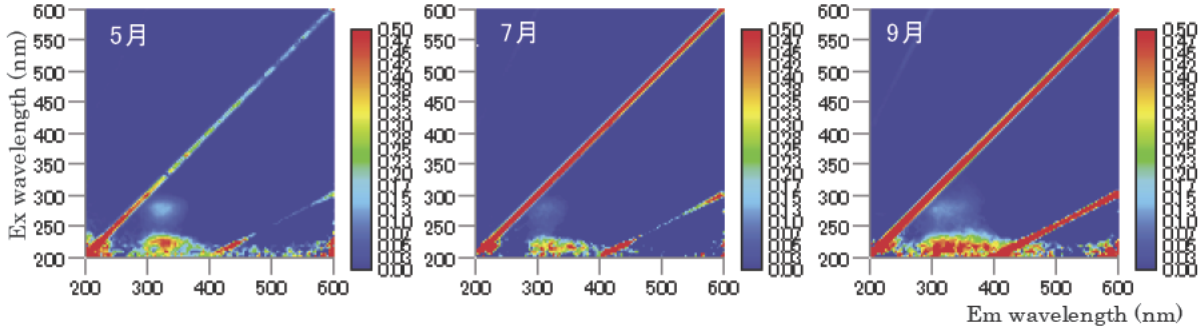


図4−6 b 藻類培養98日目と暗分解98日目の差のEEMs（小野川）

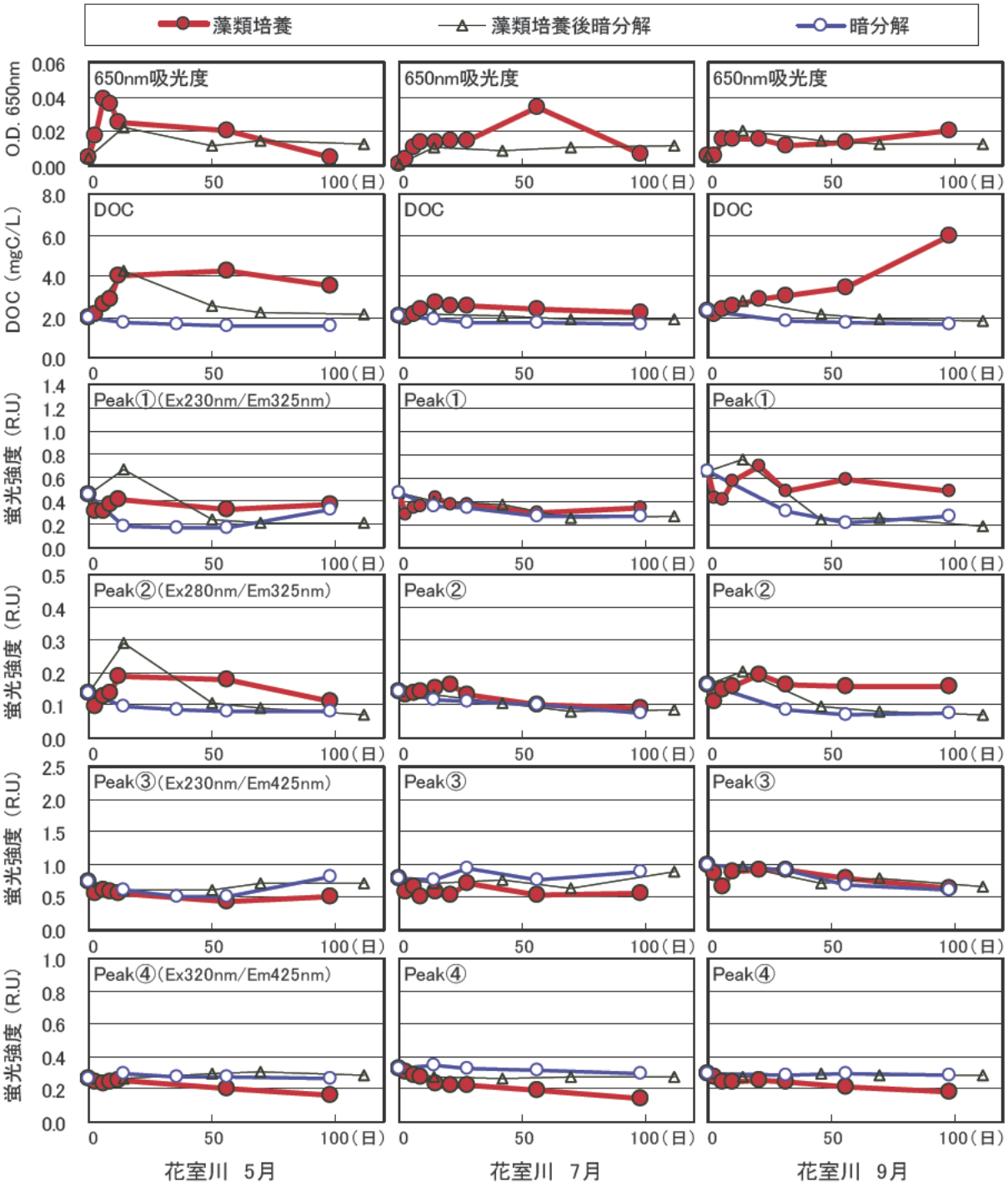


図4-7 a 暗分解実験、藻類培養後暗分解実験、藻類培養実験の結果(花室川)

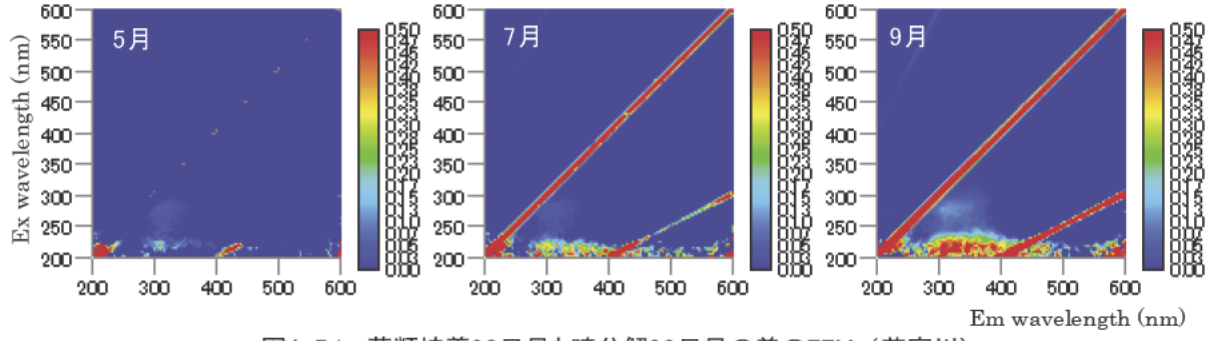


図4-7 b 藻類培養98日目と暗分解98日目の差のEEMs(花室川)

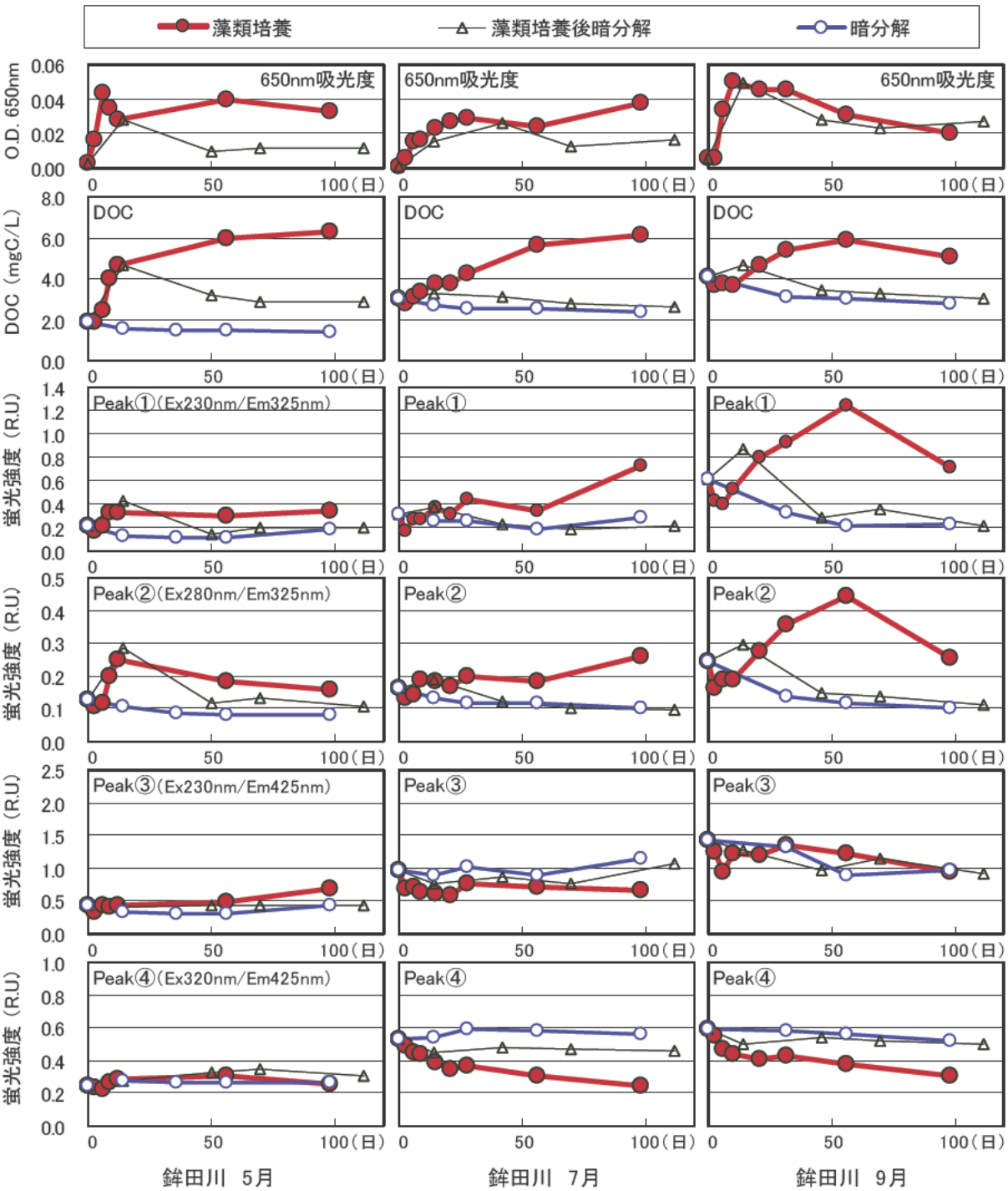


図4-8 a　暗分解実験、藻類培養後暗分解実験、藻類培養実験の結果（鉾田川）

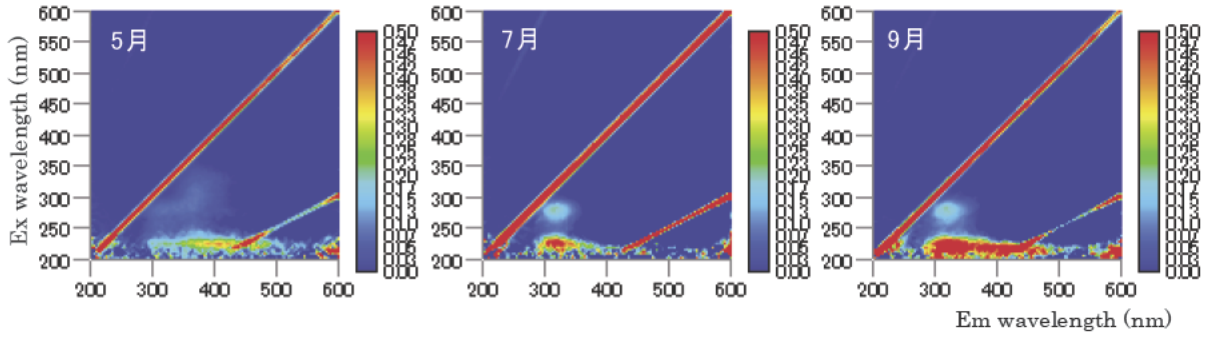


図4-8 b　藻類培養98日目と暗分解98日目の差のEEMs（鉾田川）

図 4-4a～図 4-8a は各河川水試料における、650nm 吸光度、DOC 濃度および各ピーク位置の蛍光強度の変化である。図 4-4b～図 4-8b は各河川水試料における、藻類培養後 98 日目の EEMs から暗分解 98 日目の EEMs を引いた差の EEMs である。

藻類培養実験では 650nm 吸光度はいずれの試料でも増加した。650nm はクロロフィルの吸収波長であり、藻類濃度を反映している。650nm 吸光度が大きく増加した試料は、花室川（5、7 月）、鉾田川（5、7、9 月）であった。新利根川ではいずれの時期も 650nm 吸光度の増加量は小さかった。5、7、9 月のいずれも畜産系排水を含む鉾田川で藻類が大きく増加したことから、鉾田川は一年を通じて藻類増殖能が高いと推察される。桜川では、代掻き時期（5 月）や通常期（7 月）より、雨天時（9 月）に藻類増殖能が高くなることがわかった。代掻き時期（5 月）は、いずれの河川水でも 6 日目までの藻類の増加が大きかったことから、代掻き時期の河川水は、湖水中の藻類の増加に直ちに寄与する可能性がある。河川水の藻類増殖能は流域の土地利用・季節・降雨によって異なり、特に、畜産系排水を含む河川では藻類増殖能が大きくなると考えられた。

藻類培養実験の DOC 濃度の増加パターンは河川や採水時期によって異なった。新利根川以外の河川では 650nm 吸光度の増加が止まってからも DOC 濃度が増加する傾向がみられた。これは、一旦増殖した藻類の分解過程で生成された DOC と考えられる。花室川と鉾田川では、代掻き時期（5 月）の DOC 濃度は、通常期や雨天時と異なり 12 日目までに大きく増加した。小野川（5 月）、花室川（9 月）では 56 日目から 98 日目にかけて、藻類濃度が横ばいであったにもかかわらず DOC 濃度が大きく増加した。湖内で藻類が増殖すると、増殖した月だけではなくその後 1～3 ヶ月間、湖水中で藻類生産有機物が増加する可能性がある。

暗分解実験の河川水の DOC 濃度は 98 日目までに 15～32%減少した。一方、藻類培養実験では新利根川（5、9 月）以外の河川水で 98 日目までに DOC 濃度が増加した。藻類培養実験で 98 日目の DOC 濃度が 0 日目より 2 倍以上に増加した試料は、小野川（5 月）、花室川（5、9 月）、鉾田川（5、7 月）であった。DOC 濃度の増加量が最大の河川水は、鉾田川（5 月）であった。鉾田川の藻類生産有機物の生成能は代掻き時期（5 月）により高くなることがわかった。桜川、小野川、花室川でも、藻類生産有機物の生成能は通常期（7 月）よりも代掻き時期（5 月）に高くなっていた。桜川と花室川は雨天時（9 月）にも藻類生産有機物の生成能が高くなった。藻類生産有機物の生成能は土地利用や季節・降雨によって異なることがわかった。

図 4-9 は各河川水の NH_4-N、NO_2-N、NO_3-N、PO_4-P 濃度である。鉾田川は他の河川水と比較して NO_3-N 、PO_4-P 濃度が高かった。NO_3-N 、PO_4-P 濃度は藻類の増殖能、藻類生産有機物の生成能と関係があることがわかる。一方で、桜川（9 月）、小野川（5 月）、花室川（9 月）の DOC 濃度の増加量は大きかったにもかかわらず、NO_3-N 、PO_4-P 濃度は比較的低かった。

藻類培養実験では、EEMs 上の Peak①、Peak②のピークの蛍光強度はどの試料も概ね 6 日目までに減少したが、9 日目以降の変化は増加する場合や減少する場合があり、河川や採水時期によって異なった。DOC の増加が大きかった試料のうち、桜川（9 月）と花室川（9 月）では Peak①、Peak②の蛍光強度は DOC 濃度の変化とは異なり、21 日目に最大となった。小野川（5 月）と鉾田川（7 月）では 56 日目から 98 日目にかけて DOC 濃度とともに Peak①、Peak②の蛍光強度が増加した。DOC が最も大きく増加した鉾田川（5 月）では、Peak①、Peak②の蛍光強度の増加は 7 月や 9 月より小さかった。 3 章の藻類培地を用いた実験より藻類の種類によって EEMs が異なったことから、河川や季節によって増殖した藻類が異なり、Peak①、Peak②のパターンも異なった可能性がある。

暗分解実験と藻類培養実験を比較すると、雨天時（9 月）の暗分解実験では Peak①、Peak②の蛍光強度が大きく減少していた。雨天時（9 月）の藻類培養実験では Peak①、Peak②の蛍光強度は桜川、鉾田川で増加し、小野川、花室川で概ね横ばいとなった。雨天時（9 月）の実験から、河川水由来の Peak①、Peak②の分解による減少よりも、藻類由来の Peak①、Peak②の増加が大きいことがわかる。

藻類培養実験では Peak③、Peak④の蛍光強度は鉾田川（5 月）で若干増加していたが、他の河川水試料では Peak③、Peak④の蛍光強度は減少し、暗分解のみを行った実験より低い値となる傾向がみられた。藻類培養実験では光分解により Peak③、Peak④の蛍光強度が減少した可能性も考えられた。

藻類培養後暗分解実験では、DOC 濃度は、どの試料でも暗分解期間に減少した。EEMs についてみると、藻類培養期間に Peak①、Peak②の蛍光強度が増加した試料は桜川（9 月）や花室川（5 月）、鉾田川（5、7、9 月）であった。これらの試料の Peak①、Peak②の蛍光強度は暗分解開始後約 1 ヶ月で減少し、0 日目の値を下回った。藻類生産溶存有機物のうち Peak①、Peak②

を示す物質は生物分解を受けやすいものと考えられた。Peak③、Peak④の蛍光強度は暗分解期間中、概ね横ばいとなった。Peak③、Peak④は、生物難分解性であることがわかる。

藻類培養後 98 日目の EEMs から暗分解 98 日目の EEMs を引いた差の EEMs では、小野川、花室川、鉾田川（いずれも 5、7、9 月）と桜川（9 月）で Peak①と Peak②の 2 つのピークがみられた。Peak①は、Ex 230nm/Em 325nm、Peak②は、Ex 280nm/Em 325nm が高くなっていた。

藻類培養実験では、河川水に含まれていた溶存有機物の分解と藻類由来の溶存有機物の蓄積・分解が同時に起きていたと考えられる。そこで、河川水に含まれていた溶存有機物の分解は暗分解実験の結果に等しいとみなして藻類由来の溶存有機物の量的特性の把握を試みた。すなわち、藻類由来の DOC 濃度は、藻類培養 98 日目または藻類培養後暗分解 98 日目の DOC 濃度から暗分解 98 日目の DOC 濃度を差し引くことにより求めた。図 4-10 は 98 日目について河川水由来と藻類由来の DOC 濃度を示したものである。藻類培養実験では、98 日目の藻類由来の DOC 濃度は、多くの河川水で、河川水由来の DOC 濃度の減少量を上回った。DOC に占める藻類由来 DOC の割合が多くなった河川水は、小野川（5 月）、花室川（9 月）、鉾田川（5、7 月）であり、これらの試料の藻類培養 98 日目の DOC 濃度は、暗分解 98 日目の 2～3 倍に増加していた。

藻類培養後暗分解実験の DOC 濃度を、同じ河川水で比較すると、5 月の藻類由来の DOC 濃度は 7 月や 9 月よりも高くなっていた。藻類由来の DOC の増加によって 0 日目よりも DOC 濃度が高くなった試料は、花室川（5 月）と鉾田川（5 月）であった。

図 4-10 の河川水由来と藻類由来の DOC 濃度を実際の湖水の DOC 濃度と比較するため、西浦に流入する桜川、新利根川、小野川、花室川について、各河川の

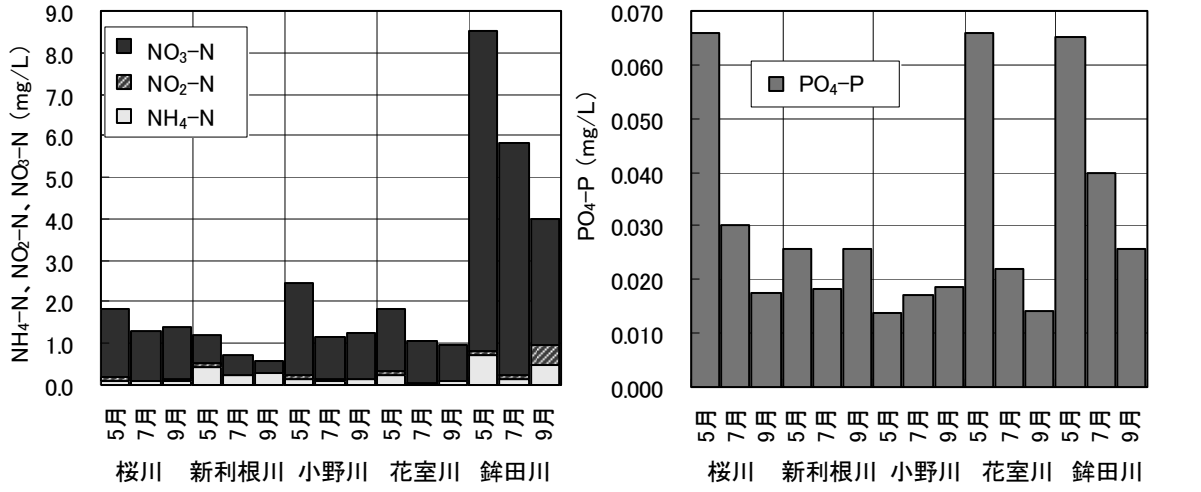


図 4-9　河川水試料の窒素およびリン濃度

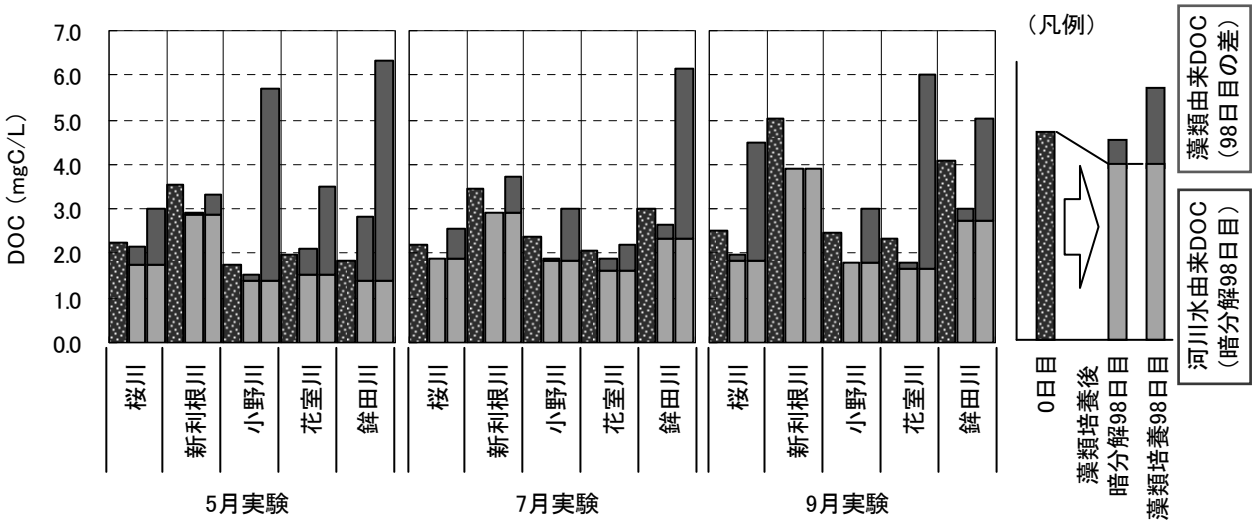


図 4-10　0 日目と 98 日目の藻類由来 DOC と河川水由来 DOC の比較

年平均流量（H17 データ）と、7 月の実験における各河川の 0 日目、暗分解 98 日目、藻類培養 98 日目の DOC 濃度から、DOC の負荷量を概算した。そして、負荷量の合計を流量の合計で割って、4 河川からの DOC の平均負荷濃度を求めた。図 4-11 は各河川の DOC の平均負荷濃度と西浦湖心の DOC 濃度の比較である。陸域から流入する外部由来の溶存有機物は、分解によって 98 日間で約 17%減少した。しかし、98 日目の河川の DOC の平均負荷濃度は、藻類由来の溶存有機物が増加したため、湖水の DOC 濃度に近い値を示す結果となった。

DOC 濃度の異なる試料間で溶存有機物の質的特性を比較するため、各ピークの蛍光強度を DOC 濃度で割って規格化した（FI/DOC）。図 4-12 は 9 月実験で藻類由来の DOC 濃度の増加が大きかった鉾田川と、ほとんど増加しなかった新利根川について 0 日目、藻類培養実験 98 日目、暗分解実験 98 日目の FI/DOC をレーダーチャートに示したものである。同図 4-12 には、Chu 培地の藻類培養実験 98 日目の FI/DOC も示している。鉾田川で、藻類培養実験 98 日目と 0 日目を比較すると Peak③、Peak④の FI/DOC が減少し、Peak①、Peak②には変化はみられない。レーダーチャートの形状は Chu 培地の藻類培養実験 98 日目と近い形状になった。新利根川では藻類培養実験 98 日目には Peak①、Peak③、Peak④の FI/DOC が減少したが、レーダーチャートの形状は 0 日目と同様 Peak③が突出した形状となった。鉾田川、新利根川とも暗分解実験 98 日目の各 FI/DOC を 0 日目と比較すると Peak①は減少し、Peak④は増加する傾向がみられた。藻類の増殖した河川と増殖しなかった河川では、FI/DOC のレーダーチャートの形状が異なっており、この形状をもとにした湖水の溶存有機物の簡易比較が可能であると考えられた。

4.3 まとめ

実際の湖環境に近い条件での藻類生産有機物の質・量的特性を把握するため実河川水を用いて藻類培養・分解実験を行った。以下に主要な知見を示す。

(1) 河川水を用いて暗分解実験、藻類培養後暗分解実験、藻類培養実験を行うことで、藻類増殖能と同時に藻類生産溶存有機物の生成能の評価が行えることがわかった。

(2) 藻類培養実験の 98 日目は、多くの河川水で、藻類由来の DOC 濃度の増加量が河川水由来の DOC 濃度の減少量を上回った。

(3) 藻類培養実験では、特に畜産系排水を含む鉾田川で藻類と DOC が大きく増加した。河川水の藻類増殖能、藻類生産有機物生成能は流域の土地利用・季節・降雨によって異なることがわかった。

(4) 藻類培養実験では、650nm 吸光度の増加が止まってからも DOC 濃度が増加する傾向がみられた。

(5) 河川の藻類増殖能や藻類生産有機物の生成能は、

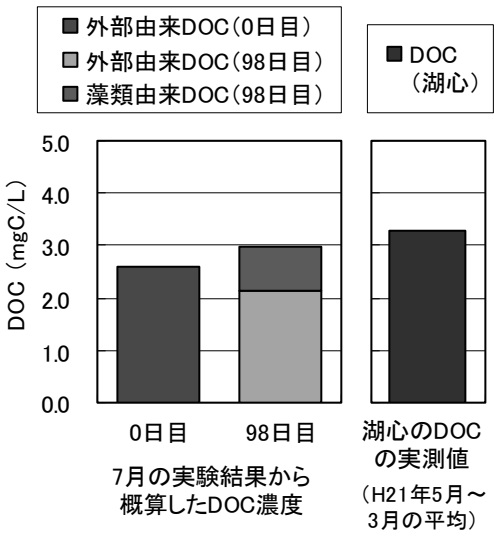


図 4-11　河川の平均負荷 DOC 濃度と湖水の DOC 濃度の比較

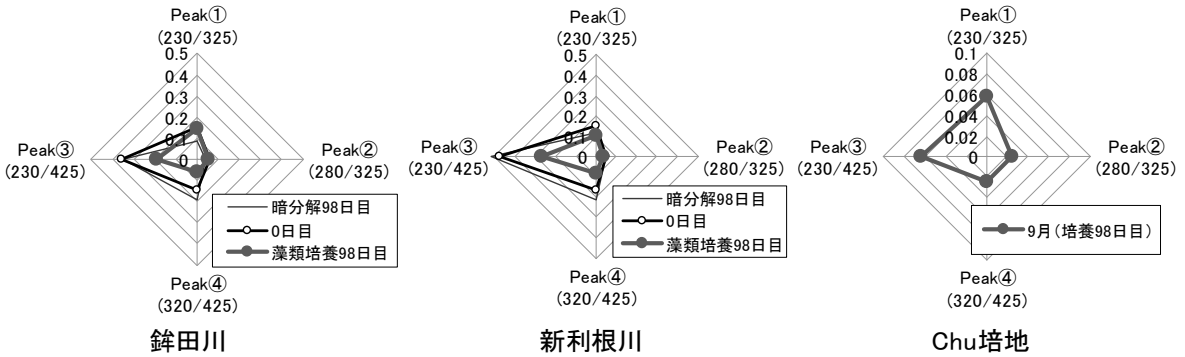


図 4-12　0 日目と 98 日目の FI/DOC の比較（9 月実験）

NO_3-N 、PO_4-P 濃度と関係があることがわかった。しかし、NO_3-N 、PO_4-P 濃度が比較的低くても藻類生産有機物の生成能が高い河川水もあった。

(6) 藻類培養 98 日目と暗分解 98 日目の差の EEMs には Peak①、Peak②がみられた。

(7) 藻類培養後暗分解実験から、EEMs 上の Peak①、Peak②は生物分解を受けやすく、Peak③、Peak④は生物難分解性であることがわかった。

(8)藻類の増殖した河川と、増殖しなかった河川では、FI/DOC のレーダーチャートの形状が異なり、この形状をもとにした湖水の溶存有機物の簡易比較が可能と考えられた。

5. HPLC、質量分析による藻類生産有機物の性状調査

DOC や EEMs を指標とした藻類培地と実河川水を用いた藻類培養・分解実験により、藻類生産溶存有機物の生産・分解挙動の概要が明らかとなった。しかし、EEMs は様々な藻類生産有機物が混合された状態での評価であり、藻類生産有機物の性状（極性や質量分布）は明らかにできない。藻類生産有機物の分画法を確立し、質量スペクトルを得ることによって、HPLC 分画-TOC による炭素ベース、HPLC 分画-毒性試験による毒性ベースでの評価が可能となり、さらに、質量スペクトルからは、藻類マーカー分子が抽出できる可能性がある。そこで、藻類生産溶存有機物について、HPLC による極性（親水性・疎水性）に基づく分画特性、続いて質量分析計による分子量分布を調査した。

5.1 分析方法

5.1.1 分析試料

分析試料は、霞ヶ浦麻生沖と琵琶湖安曇川沖の表層水（H21 年 8 月採水）、H22 年 8 月に実施した藻類培地による琵琶湖の藻類培養実験試料、同年 9 月に実施した霞ヶ浦の藻類培地と実河川水による藻類培養実験試料である。

湖水試料は GF/B ろ紙でろ過し、凍結乾燥して分析まで冷暗所で保存した。2mL チューブに凍結乾燥試料約 5mg を入れ、超純水：アセトニトリル=3:1 の溶液 1.5mL を加えて 5 分間撹拌後 15,000rpm で 5 分間遠心分離を行い、上澄水を分析に供した。藻類培養実験試料は GF/B ろ紙でろ過後、分析に供した。

5.1.2 分析条件

表 5-1 は HPLC の分析条件である。本研究では疎水性と親水性の有機物を分離するため、アミノプロピルカラムを使用したグラジエント分析を行った。検出器には蛍光検出器と質量分析計を用いた。蛍光検出器では、EEMs で様々なピークが確認された励起波長 230nm で 280～600nm の蛍光スペクトルを取得した。表 5-2 は質量分析計の分析条件である。 イオン化方式は ESI であり、正負両イオンで質量スペクトルをスキャンモードで測定した。

5.2 結果

図 5-1 は Chu 培地による琵琶湖と霞ヶ浦の藻類培養試料の DOC 濃度および EEMs 上の Peak①と Peak③の蛍光強度の変化である。どちらの実験においても 98 日間の藻類培養で DOC 濃度と Peak①、Peak③の蛍光強度が増大した。

図 5-2 は上記実験の 0,32,56,98 日目の試料の HPLC 分析結果であり、保持時間と蛍光強度の関係を三次元スペクトルで示したものである。藻類培養時間の経過にともない、Peak-A（RT:1min 付近）、Peak-B（RT:11min 付近）、Peak-C（RT:17min 付近）のピーク強度が増大した。各ピークの保持時間は、藻類の種類によらず概ね同じであったが、蛍光波長のピーク位置は異なっていた。藻類培養 98 日目でみると、Peak-A のピーク位置は霞ヶ浦藻類では Em 390nm 付近、琵琶湖藻類では Em 325nm 付近にあった。Peak-B のピーク位置は霞ヶ浦藻類では Em 325nm と Em 390nm 付近にあり、琵琶湖藻類では Em 325nm 付近にあった。Peak-C のピーク

表 5-1 HPLC 分析条件

- 機　器　名：Agilent 1100
- 移　動　相：A液 超純水
  　　：B液 アセトニトリル
- グラジエント分析条件
  　0min - 3min ： B液 95%
  　3min - 15min ： B液 95% → B液 30%
  　15min - 50min ： B液 30%
- カ　ラ　ム：Mightysil NH_2カラム（2.0mm I.D.×150mm 5μm、KANTO CHEMICAL CO.,Inc.）
- カラム温度：40℃
- 注　入　量：100μL（湖水試料は50μL）
- 流　　速：0.5mL/min

表 5-2　質量分析条件

・Ionization mode	：API-ES
・Polarity	：正、負
・Mass range	：100 - 1,450
・Fragmentor	：70 V
・Gas temp.	：350℃
・Drying Gas	：10.0 L/min
・Neb. Press.	：30 psig
・Cap. Vol.(+)	：4,000 V
・Cap. Vol.(-)	：3,500 V

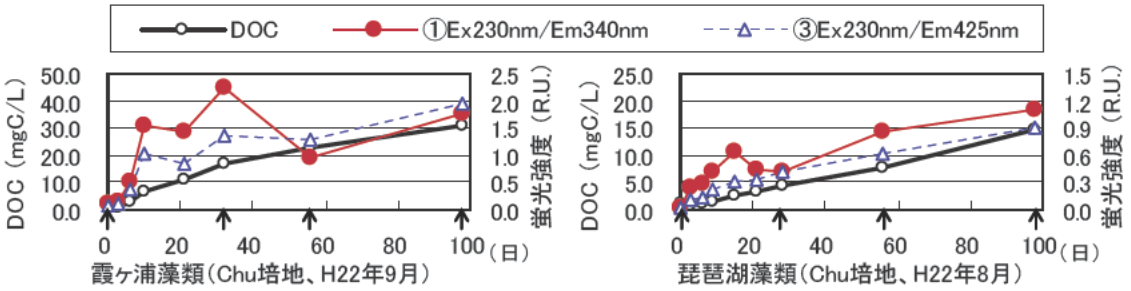


図5−1　藻類培養実験のDOCと蛍光強度の変化

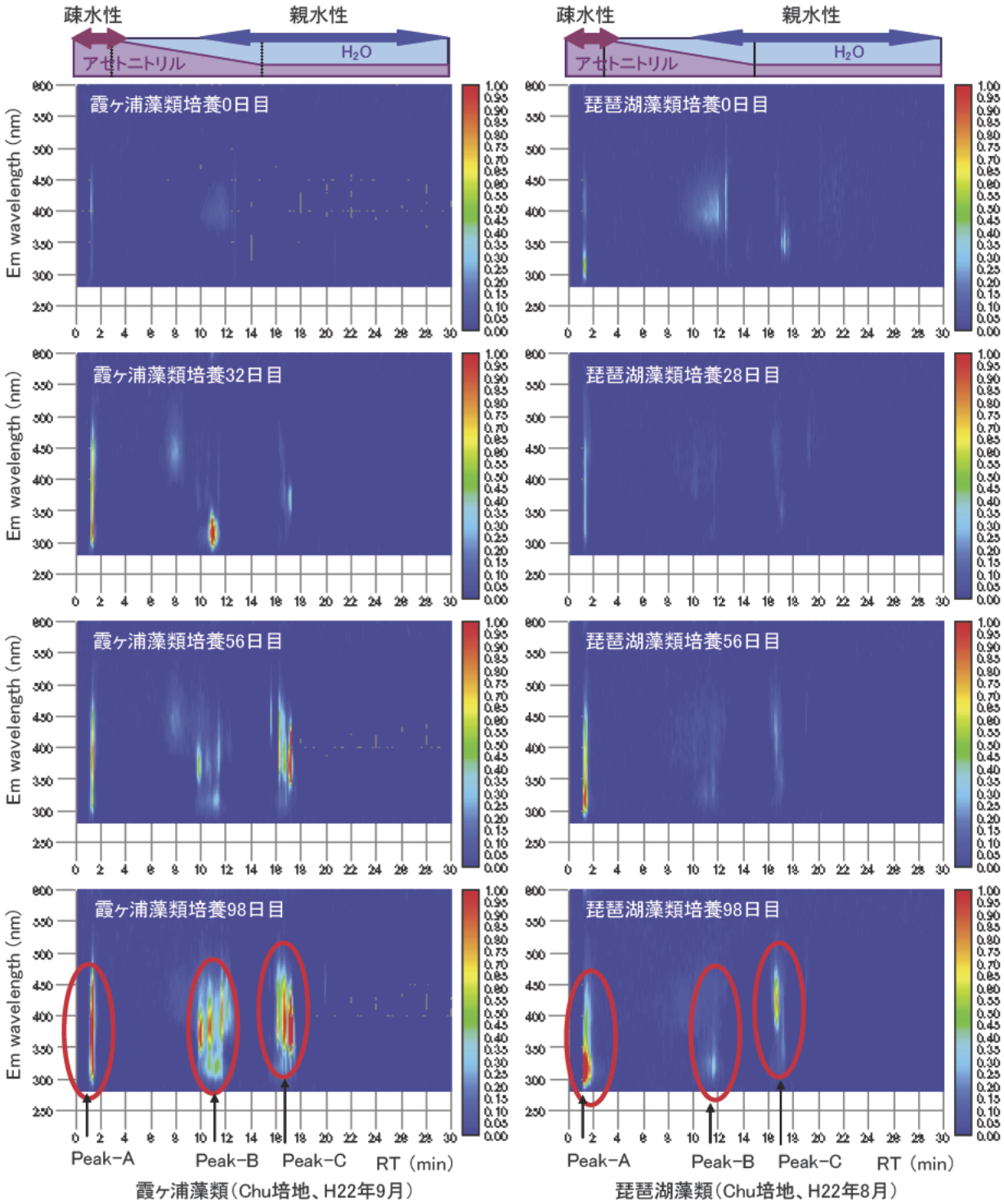
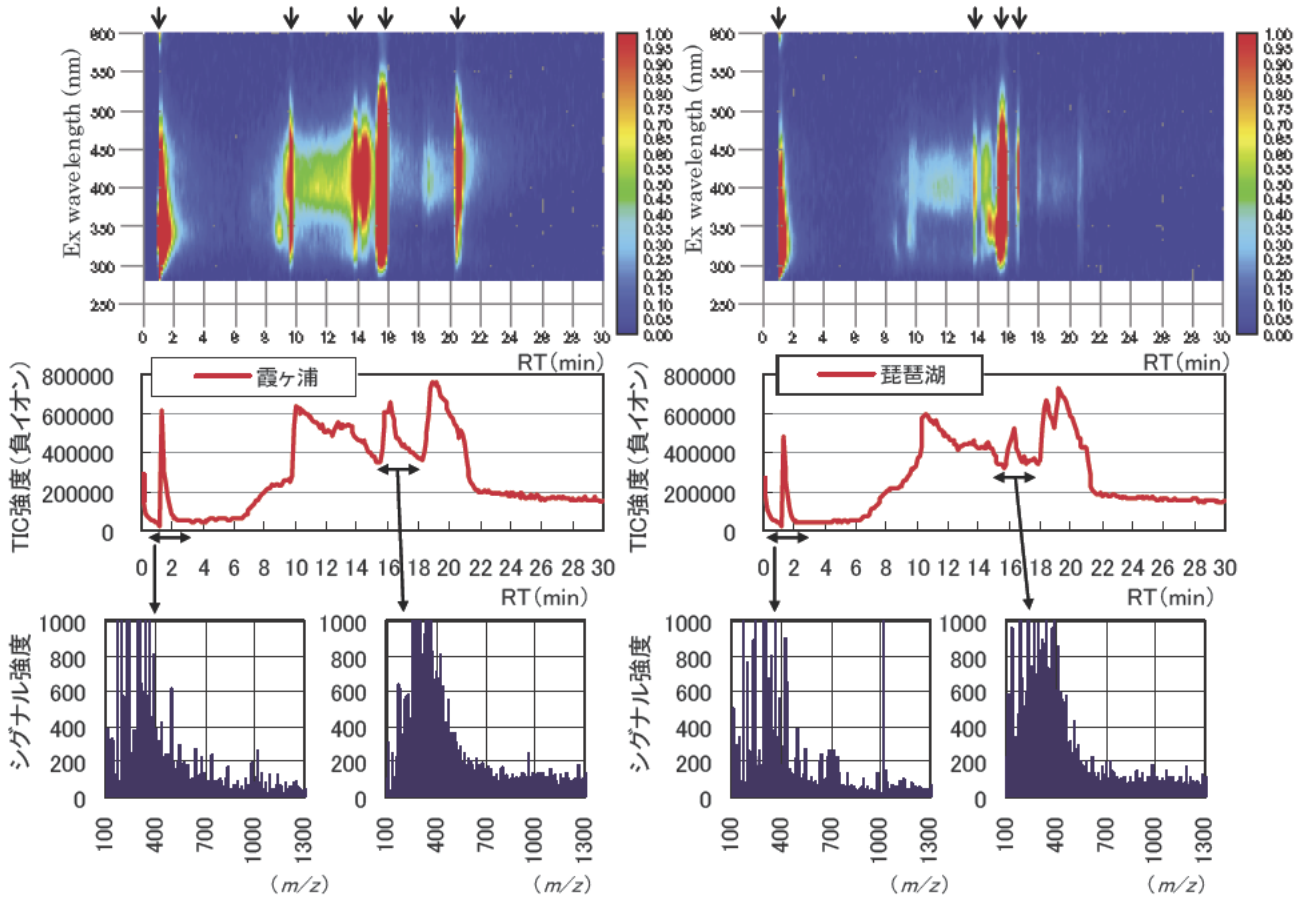


図5−2　霞ヶ浦と琵琶湖の藻類培養液のHPLC分析における蛍光シグナルの変化



霞ヶ浦（西浦麻生沖、H21年8月）　　琵琶湖（安曇川沖表層、H21年8月）

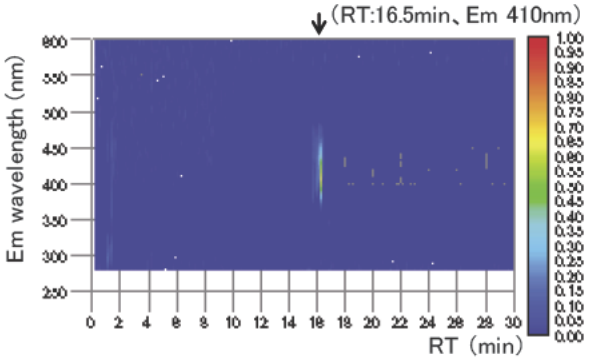
図 5-3　霞ヶ浦湖水と琵琶湖湖水の蛍光シグナル、TIC および質量分布

位置は霞ヶ浦藻類では Em 375nm 付近、琵琶湖藻類では Em 425nm 付近にあった。.

藻類培養 98 日目では、Em 340nm のシグナル強度が最大となる保持時間は 1min 付近（Peak-A）であった。従って藻類培養液の EEMs 上で Ex 230nm/Em 340nm 付近に観察された Peak①は、主に Peak-A に相当する疎水性の物質であると考えられた。藻類は疎水性物質と親水性物質を生産していることがわかった。

図 5-3 は H21 年 8 月の霞ヶ浦湖水と琵琶湖湖水の HPLC 分析で得られた三次元蛍光シグナルと、質量分析で得られたトータルイオンクロマト（TIC）である。図 5-3 には保持時間 1min 付近、16min 付近のピークの *m/z* 分布を合わせて示した。

霞ヶ浦湖水の主な蛍光ピーク位置は RT:1min、RT:10min、RT:14min、RT:16min、RT:21min 付近であった。琵琶湖湖水の主なピーク位置は RT:1min、RT:14min、RT:16min、RT:17min 付近であった。霞ヶ浦湖水と琵琶湖湖水のどちらも蛍光シグナルが最大となるピークは RT:1min 付近にあり、Em340nm 付近の強度が高くなっていた。蛍光シグナルが 2 番目に高いピークは RT:16min 付近のピークであり、霞ヶ浦湖水と琵琶湖湖水のどちらも Em425nm 付近が高く、Em340nm 付近に



※）国際腐植物質学会のスワニー川フルボ酸試料を超純水に溶解し分析に供した（10mg/L）。

図 5-4　河川水由来のフルボ酸の蛍光シグナル

も小さなピークがみられた。負イオンモードの質量分析から得られた TIC でも RT:1min 付近と RT:16min 付近にピークがみられ、これらのピークの質量スペクトルは *m/z* 350 を中心に分布していた。湖水の RT:1min 付近と RT:16min 付近のピークは藻類培養液の Peak-A、Peak-C と対応しているとみられ（図 5-2 参照）、これらは藻類生産有機物である可能性がある。ただし、Peak-C の RT には河川由来のフルボ酸様ピークも表れる（図 5-4）ことから、Peak-A が藻類マーカーにふさわしいと考えられる。

図 5-5 は 9 月の鉾田川と新利根川の河川水を用いた藻類培養実験試料の HPLC 分析結果であり、三次元蛍光シグナルと Em 340nm のクロマトグラムである。Em 340nm についてみると、藻類の増殖が大きかった鉾田川では Peak-A（RT:1min 付近）のピーク高さが増大していた。藻類があまり増殖しなかった新利根川では Peak-A の高さは大きく変わらないことがわかる。図 5-6 は各河川の Peak-A のピーク面積を藻類培養 0 日目と藻類培養 98 日目で比較したものである。98 日間の藻類培養で DOC 濃度が増加していた桜川、花室川、鉾田川で Peak-A の面積が増加した。実河川水を用いた藻類培養実験からも、Peak-A の増加が確認され、

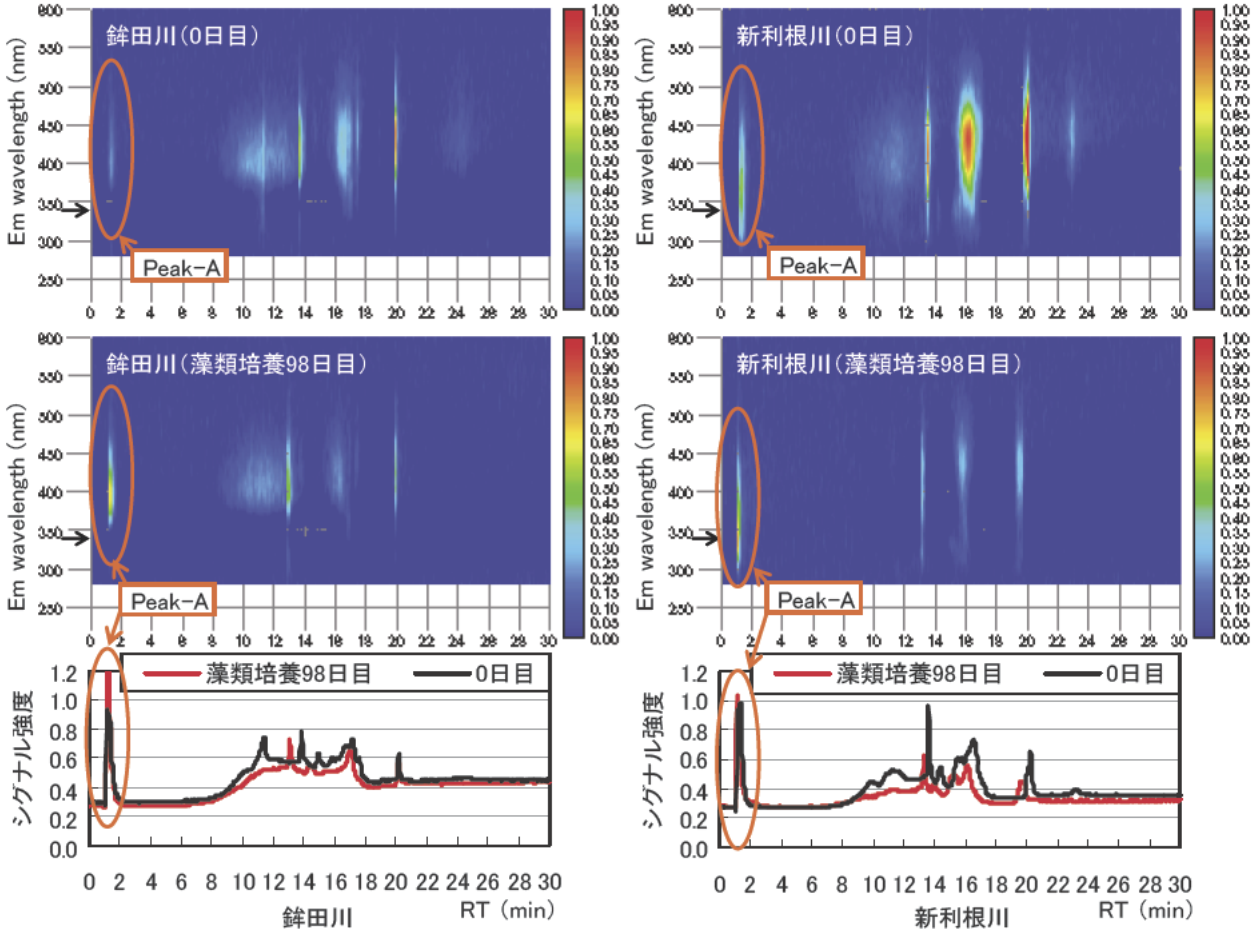


図 5-5　鉾田川と新利根川の、0 日目と藻類培養 98 日目のスペクトルおよび Ex230nm/Em340nm の蛍光シグナルのクロマトグラム

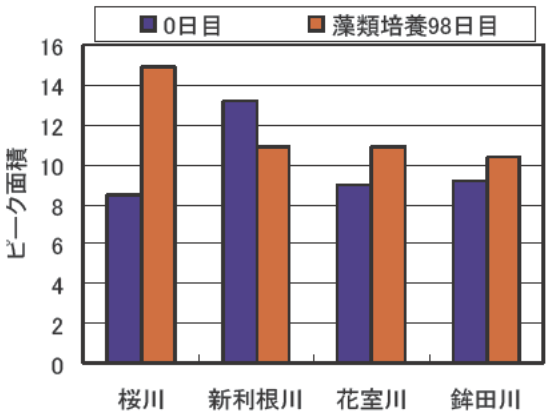


図 5-6　藻類培養 0 日目と藻類培養 98 日目の Peak-A（RT:1min 付近のピーク）の面積の比較（9 月の藻類培養実験）

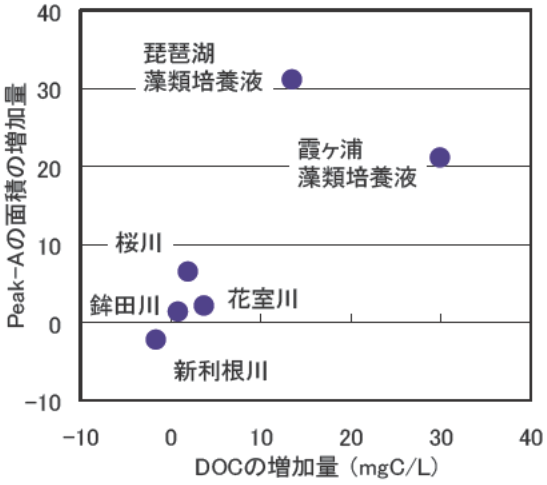


図 5-7　藻類培養 0 日目と藻類培養 98 日目の DOC 濃度の増加量と Peak-A の面積の増加量の関係

Peak-A の増加分は藻類に由来していると考えられた。

図 5-7 は藻類培養 0 日目と藻類培養 98 日目の DOC 濃度の増加量と、Peak-A のピーク面積の増加量の関係を示したものである。DOC 濃度と Peak-A のピーク面積の増加量の間には正の相関がみられた。また、琵琶湖と霞ヶ浦の藻類培養液でプロットの位置が異なったことから、藻類の種類によって DOC 濃度と Peak-A のピーク面積の関係も異なる可能性がある。本研究で行った藻類生産有機物の分画法は、HPLC 分画-TOC、HPLC 分画-毒性試験に応用できるものと考えられる。

5.3 まとめ

藻類生産溶存有機物の極性（疎水性・親水性）や質量分布を把握するため、霞ヶ浦と琵琶湖の湖水試料と藻類培地や実河川水を用いた藻類培養実験試料を HPLC と質量分析計で測定した。以下に主要な結果を示す。

(1) Chu 培地で培養した藻類培養液を HPLC-蛍光分析した結果、藻類生産溶存有機物は、アミノプロピルカラムにより、極性に基づき分画できることがわかった。藻類生産溶存有機物の疎水性画分と親水性画分の蛍光ピーク位置は、藻類によって異なった。

(2) 疎水性物質は Ex230nm に対し、Em 340nm 付近にピークを示し、藻類培養液の EEMs 上で Ex 230nm/Em 340nm 付近に観察された Peak①は、疎水性物質であると考えられた。

(3) 霞ヶ浦湖水と琵琶湖湖水のどちらも蛍光シグナルが最大となるピークは疎水性域（RT:1min 付近）にあり、Em 340nm 付近が最も高くなっていた。蛍光シグナルが 2 番目に高いピークは親水性域（RT:16min 付近）にあった。

(4) 湖水の RT:1min 付近と RT:16min 付近の質量スペクトルはいずれも *m/z* 350 を中心に分布していた。

(5) 実河川水を用いた 98 日間の藻類培養で DOC 濃度が増加した河川水では、疎水性域（RT:1min 付近）の Em340nm のピーク面積が増加した。実河川水を用いた藻類培養実験からも、EEMs 上の Peak①（Ex 230nm/Em 340nm 付近）は、藻類由来の疎水性物質であると考えられ、Peak①は、藻類由来有機物のマーカーになる可能性があった。

6. おわりに

湖水の有機物汚濁低減のためには、有機物の発生源を明らかにすることが重要である。湖水中の藻類は有機物の発生源の一つであるが、藻類と溶存有機物の関係は明らかでない。本研究では、藻類と溶存有機物の関係、藻類生産溶存有機物の質的特性、生産・分解挙動を明らかにするため、はじめに霞ヶ浦と琵琶湖で実態調査を行い、湖水中の藻類と溶存有機物の関係を把握した。次に、藻類培地による藻類培養実験と藻類培養液の分解実験から藻類の増殖・分解と溶存有機物の関係を検証した。また、実河川水の藻類生産有機物の生成能を評価する手法を提案し、実河川水による藻類培養・分解実験を行い、藻類生産有機物の生成能を明らかにした。さらに、HPLC と質量分析計により藻類生産有機物の極性（親水性・疎水性）や質量分布を調査した。以下に本研究で得られた主要な知見を示す。

(1) 霞ヶ浦の実態調査では、EEMs 上の Peak①（Ex 220～230nm/Em 300～345nm）、Peak②（Ex 275～280nm/Em 315～345nm）の蛍光強度は、群体形成微細藻類が多いときに増加する傾向がみられた。

(2) 琵琶湖の実態調査では、表層で藻類濃度が高い時期に DOC 濃度と EEMs 上の Peak①の蛍光強度が高くなる傾向がみられた。夏季の琵琶湖北湖表層での藻類の増加は、DOC 濃度の増加要因となっており、その中でもタンパク質様物質が増加している可能性があった。

(3) 藻類培地を用いた培養実験では、藻類の増殖とともに DOC 濃度が増加することが明らかとなった。藻類培養液において EEMs 上で蛍光強度が最も大きく増加したのは、Peak①（藻類 A、B、C では Ex 225nm/Em 315nm、藻類 D では Ex 220nm/Em 345nm）であった。

(4) 藻類培養液を用いた分解実験では、試料によって DOC 濃度が増加する場合や減少する場合があり、藻類の分解にともなう DOC 濃度の変化や質的特性は、藻類の種類によって大きく異なることが明らかとなった。

(5) 河川水を用いて暗分解実験、藻類培養後暗分解実験、藻類培養実験を行うことで、藻類増殖能と同時に藻類生産溶存有機物の生成能の評価が行えることがわかった。

(6) 藻類培養実験の 98 日目は、多くの河川水で、藻類由来の DOC 濃度の増加量が河川水由来の DOC 濃度の減少量を上回った。

(7) 藻類培養実験では、特に畜産系排水を含む鉾田川で藻類と DOC が大きく増加した。河川水の藻類増殖能、藻類生産有機物生成能は流域の土地利用・季節・降雨によって異なることがわかった。

(8) 藻類培養実験では、650nm 吸光度の増加が止まってからも DOC 濃度が増加する傾向がみられた。

(9) 河川の藻類増殖能や藻類生産有機物の生成能は、NO_3-N 、PO_4-P 濃度と関係があることがわかった。しかし、NO_3-N 、PO_4-P 濃度が比較的低くても藻類生産

有機物の生成能が高い河川水もあった。

（10）藻類培養 98 日目と暗分解 98 日目の差の EEMs には Peak①、Peak②がみられた。

（11）藻類培養後暗分解実験から、EEMs 上の Peak①、Peak②は生物分解を受けやすく、Peak③、Peak④は生物難分解性であることがわかった。

（12）藻類の増殖した河川と、増殖しなかった河川では、FI/DOC のレーダーチャートの形状が異なっており、この形状をもとにした湖水の溶存有機物の簡易比較が可能と考えられた。

（13）Chu 培地で培養した藻類培養液を HPLC-蛍光分析した結果、藻類生産有機物は、アミノプロピルカラムにより極性に基づき分画できることがわかり、藻類生産有機物には、疎水性と親水性の物質が含まれることがわかった。

（14）藻類生産有機物の疎水性画分は Ex230nm に対し、Em 340nm 付近にピークを示し、藻類培養液の EEMs 上で Ex 230nm/Em 340nm 付近に観察された Peak①は、疎水性物質であると考えられた。

（15）霞ヶ浦湖水と琵琶湖湖水のどちらも蛍光シグナルが最大となるピークは疎水性域（RT:1min 付近）にあり、Em 340nm 付近が最も高くなっていた。蛍光シグナルが 2 番目に高いピークは親水性域（RT:16min 付近）にあった。

（16）湖水の RT:1min 付近と RT:16min 付近の質量スペクトルはいずれも *m/z* 350 を中心に分布していた。

（17）実河川水を用いた 98 日間の藻類培養で DOC 濃度が増加した河川水では、疎水性域の Em340nm のピーク面積が増加した。実河川水を用いた藻類培養実験からも、EEMs の Peak①（Ex 230nm/Em 340nm 付近）は、藻類由来の疎水性物質であると考えられた。

（18）EEMs 上の Peak①は藻類生産溶存有機物のマーカーになる可能性がある。

参考文献

1) 福島武彦、中島俊之、今井章雄、松重一夫、尾崎則篤(2001)、EEMS による水中溶存有機物の特性解析、水環境学会誌、24、686-692.
2) 今井章雄、松重一夫(2004)、湖沼における有機炭素の物質収支および機能・影響の評価に関する研究、国立環境研究所特別研究報告、SR-62
3) 南山瑞彦、北村友一、日下部武敏、鈴木穣(2009)、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、平成 21 年度下水道関係調査研究年次報告書集、土木研究所資料 No.4191、227-283.
4) 北村友一、鈴木穣(2009)、フローサイトメトリーによる湖水中の植物プランクトン群集の測定、第 46 回環境工学フォーラム講演集、13、15.
5) 北村友一、南山瑞彦(2010)、フローサイトメトリーによる琵琶湖の微細植物プランクトン群集の測定、第 22 回環境システム制御学会、13-16.
6) Chen, W., Westerhoff, P., Leenheer, J.A., Booksh, K. (2003) Fluorescence excitation-emission matrix regional integration to qualify spectra for dissolved organic matter. Environmental Science and Technology, 37 (24), 5701-5710.
7) 大村達夫、海田輝之、相沢治郎、小松佳幸、石崎正志、大沼正郎(1991)、バッチ培養における Chlorella vulgaris および Microcystis aeruginosa の細胞外代謝不揮発性有機酸の培養液中への蓄積、水質汚濁研究、14(9)、615-623.
8) 石井裕一、北村立実、渡邊圭司、小松伸行、天野佳正、矢部徹(2009)、河川の水質形成と集水域の土地利用形態との関係、水環境学会誌、32(3)、139-146.
9) 日本下水道協会(1997)、下水試験方法　上巻、138-139.

謝辞

琵琶湖および霞ヶ浦における採水は、国土交通省近畿地方整備局琵琶湖河川事務所および関東地方整備局霞ヶ浦河川事務所の協力を得て実施された。ここに記して、深く感謝の意を表します。

微量金属を対象としたダム湖富栄養化対策技術の開発

研究予算：運営費交付金（一般勘定）
研究期間：平 19～平 22
担当チーム：水質チーム
研究担当者：南山　瑞彦、久岡　夏樹

【要旨】
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貯水池の底層は貧酸素状態となり、底泥から金属類などの溶出が増加し、貯水池の水質に悪影響を及ぼす。このため、水温躍層を破壊することなく効果的に底層の溶存酸素(DO)濃度を広範囲にわたり回復させることを目的として、高濃度酸素水供給装置を用いて検討を行った。また、高濃度酸素水供給による底層の微量金属類濃度の低減についても検討を行った。その結果、水温躍層下の溶存酸素濃度は飽和状態以上にまで上昇し、微量金属濃度を低減させることが出来た。また、高濃度酸素水供給装置の稼働開始時期や運転条件について検討し、ダム湖底層の貧酸素状態を改善し、微量金属濃度を低減させるための運転方法を提案した。
キーワード：高濃度酸素、溶出抑制、鉄、貯水池、底泥

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が貧酸素状態となる。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、水平方向への拡散が不十分である点や、吐き出し高さの変更が困難である点などが課題としてあげられる[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である。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るため、底層の DO 改善がされにくいことに加え、躍層破壊による底層水の浮上や底泥の巻き上げといった課題[3)]がある。水温躍層が破壊されると、底層の貧酸素化で底泥から溶出した栄養塩類が表層へ供給されるためアオコの原因となったり、雨天時にダム貯水池へ流入した土砂などが貯水池全体にいきわたり、濁水の長期化を引き起こしたりと問題が生じるため、水温躍層を破壊しない対策が必要だと考えられる[5)]。このため、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、高濃度酸素水供給装置を開発した。

本研究では、顕著な貧酸素化と金属の溶出が見られるダム貯水池に高濃度酸素水供給装置を適用し、水温躍層を保持しつつ底層の酸素濃度が広範囲に上昇させることが可能かどうかの検証を行うとともに、金属濃度の低減に関する検討を行った。

2. 実験装置

本研究に用いた高濃度酸素水供給装置を**図-1** に示す。装置は大きく分けて酸素発生装置と気液溶解装置の２つの装置によって構成される。

(1)　水圧を利用した酸素溶解

酸素溶解部である気液溶解装置は、装置の内部と外部を遮断せず、装置内外で水圧が一致するような構造とした。これにより、装置を設置した水深の水圧を利用して酸素を溶解させることができるため、

吐出後の発泡を伴わない効率的な高濃度酸素水の供給が可能である。また、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）ものを使用した。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)　上昇流の抑制

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し、水温躍層を破壊することなく高濃度酸素水を供給するような構造とした。吐出後に気泡が生じないため、それによる上昇流や底泥の巻上げが抑制される。

(3)　気液溶解装置の上下移動

気液溶解装置に接続されたワイヤーをウインチで操作することで、吐出部の位置を上下させることができるような構造とした。これにより、任意の水深に高濃度酸素水を供給することが可能である。

3. 酸素供給による微量金属削減効果の評価

3.1　実験方法

ダムの堤体付近に高濃度酸素水供給装置を設置し、定期的に装置設置地点付近、およびダム堤体から上流へ向かって100mおきに10地点観測地点を設け、DO濃度等の水質測定、および採水を行い、実験室へ持ち帰ってから栄養塩類、微量金属類等の濃度測定を行った。

3.2　結果と考察

装置設置地点のダム湖底層のDO濃度は、実験開始直後から上昇し、実験期間中常に過飽和な状態を維持していた。装置設置地点から500m上流の地点においても貧酸素状態が改善されており、広範囲にわたって高濃度酸素水供給による効果があることが確認された(**図-2**)。実験開始前から形成し始めていた水温躍層は装置の稼働にかかわらず維持されており、水温躍層を破壊することなく高濃度酸素水の供給が行われていたことが確認された(**図-3**)。

溶存態鉄(D-Fe)と溶存態マンガン(D-Mn)の濃度経時変化を**図-4、5**に示す。装置稼動後しばらくは底層のD-Fe、D-Mn濃度が低く保たれていたが、6月に大きく上昇した。これは、4月下旬から5月上旬にかけて大量発生した藻類の死骸が沈殿し、その死骸から溶出したことや、死骸分解の際に底泥内の酸素が消費され、その際に底泥に含まれていた微量金属類が還元され溶出したことが推察される。その他の影響としては、降雨による撹乱の影響が考えられるが、はっきりとした原因は特定できなかった。濃度上昇後D-Feはすぐに低減したが、D-Mnはしばらく高い値を保っており、9月、11月にも濃度の上昇が確認された。これは、マンガンが中性付近のpHでは化学的に酸化されにくいことによると考えられる。

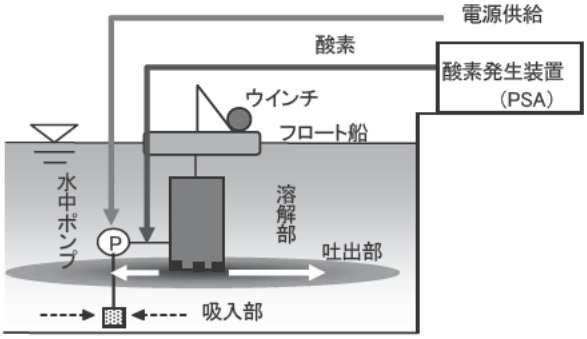


図-1　高濃度酸素水供給装置

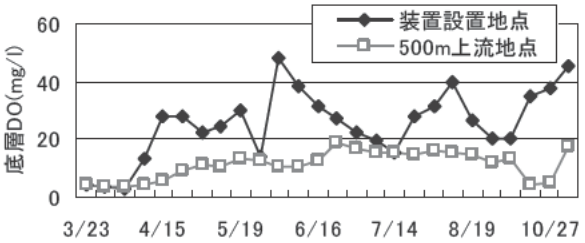


図-2　地点別底層溶存酸素濃度

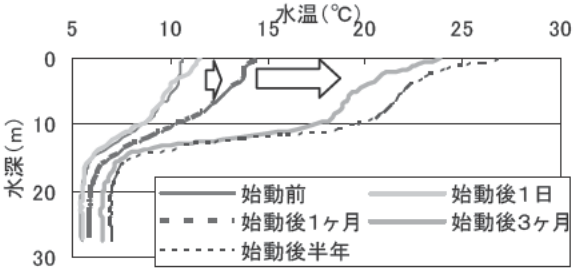


図-3　装置設置地点の水温鉛直分布

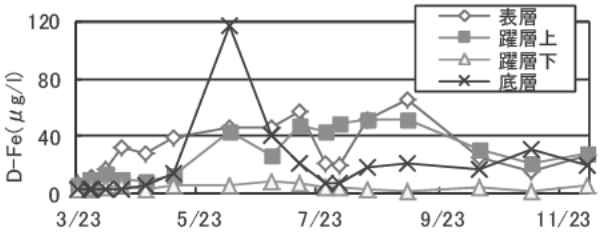


図-4　D-Fe濃度の経時変化

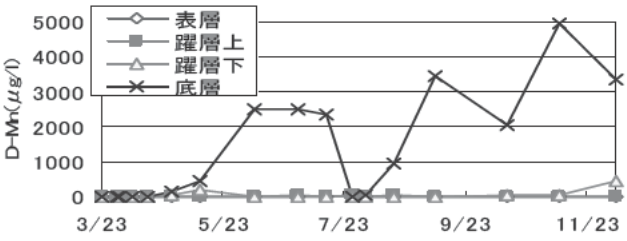


図-5　D-Mn濃度の経時変化

4.　運転方法の改善による対策システムの提案

4.1　実験方法

ダムの堤体から 130m 上流側に高濃度酸素水供給装置を設置し、6 月 22 日から 7 月 19 日までは酸素を用いて、7 月 20 日から実験終了までは空気を用いて高濃度酸素水の供給を行った。また、高濃度酸素水生成時に発生する余剰空気を、水温躍層を破壊しない程度に水中に放出した。高濃度酸素水の供給による効果を把握するため、定期的に装置設置地点付近、およびダム堤体から上流へ向かって 100m おきに 10 地点観測地点を設け、DO 濃度等の水質測定、および採水を行い、実験室へ持ち帰ってから栄養塩類、微量金属類等の濃度測定を行った。

4.2　結果と考察

4.2.1　水温

実験開始前から形成し始めていた水温躍層は装置の稼働にかかわらず維持されており、水温躍層を破壊することなく高濃度酸素水の供給が行われていたことが確認された（図-6）。

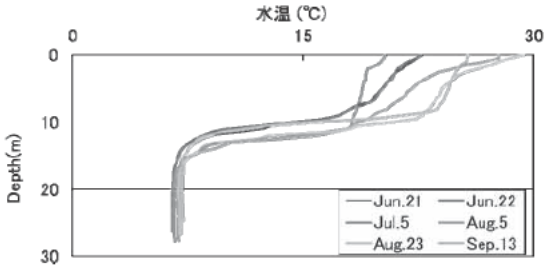


図-6 装置設置地点の水温鉛直分布

4.2.2　DO濃度

酸素を用いて実験を行った2009年度と、空気を用いて実験を行った2010年度の、装置設置地点のダム湖底層におけるDO濃度を比較すると、供給する高濃度酸素水の酸素濃度の違いによる底層DO濃度の差はみられるものの、どちらも実験開始直後から上昇した（図-7）。しかし、酸素を用いた実験では実験期間中常に過飽和な状態を維持していたのに対し、空気を用いた実験では高濃度酸素水の供給を続けていたにもかかわらず、底層の貧酸素化が確認された。

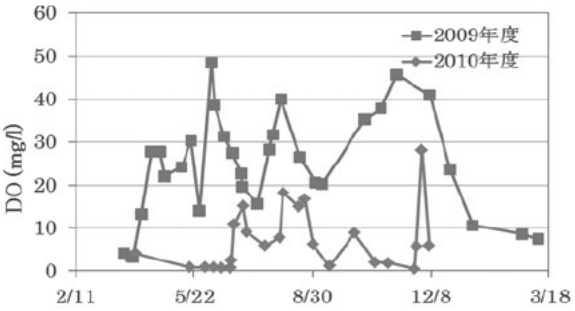


図-7　DO濃度の経時変化（装置設置地点）

装置設置地点から500m上流の地点（No.5）における酸素濃度を比較すると、酸素濃度の上昇が確認された2009年度に対し、2010年度は酸素濃度の上昇は確認されなかった。空気を用いての実験では広範囲にわたっての効果は確認されなかった（図-8）。

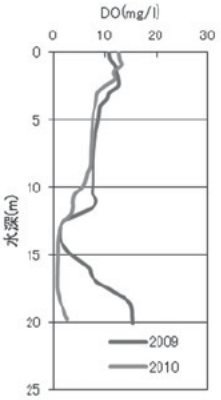


図-8　DO 濃度

4.2.3　金属濃度

溶存態鉄（D-Fe）、溶存態ヒ素（D-As）の濃度経時変化を図-9、図-10に示す。

D-Feは、装置稼動後常に表層と底層の濃度が同等程度であり、底泥からの溶出が抑制されていた（図-9）。

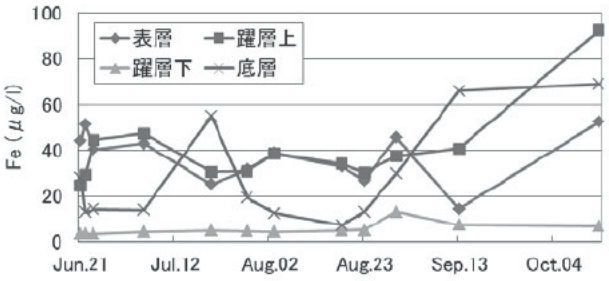


図-9　D-Te濃度の経時変化（装置設置地点）

D-AsもD-Feと同様に、装置稼動後常に表層と底層の濃度が同等程度であり、底泥からの溶出が抑制されていた（図-10）。

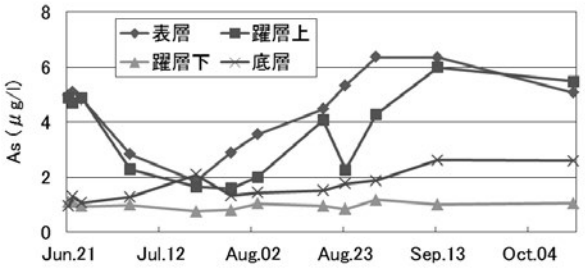


図-10 D-As濃度の経時変化（装置設置地点）

5. まとめ

高濃度酸素水供給装置を用いてダム湖底層に高濃度酸素水を供給した結果、水温躍層を維持したままダム湖底層の貧酸素状態が広範囲にわたり改善された。また、底層のD-Fe、D-Mn濃度の低下が確認された。しかし、底層で高い酸素濃度を保っていたにも係わらず微量金属濃度の上昇が見られたことから、貧酸素状態の改善だけでは底層の微量金属濃度を低く保つことは難しいことがわかった。

また、空気を用いて生成した高濃度酸素水をダム湖の低層へ供給した結果、水温躍層を維持したままダム湖底層のDO濃度を上昇させることができたが、酸素を用いて生成した高濃度酸素水を供給した実験系よりDO濃度は低く、拡散範囲も狭かった。しかし、底層のD-Fe、D-As濃度が表層と同程度に抑制されていることが確認された。

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 (2008)

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) 田作光良、檜枝俊輔：日吉ダムにおける冷濁水対策の取組み、平成19 年度近畿地方整備局研究発表会論文集、調査・計画・設計部門Ⅱ、No. 3、pp. 1 - 4

閉鎖性水域の貧酸素化に及ぼす陸域負荷の影響と対策手法に関する研究

水環境研究グループ　水質チーム　上席研究員　南山瑞彦
研　究　員　久岡夏樹
専門研究員　秋元さおり
材料地盤研究グループ　グループ長　鈴木　穣

1．はじめに

湖沼中の物質循環において、湖内底泥からの溶出は重要な要素である。これまで窒素、リンの底泥からの溶出は調査されてきたが[1]、金属に関する知見は少ないのが現状である。金属類も窒素、リン同様藻類にとって重要な栄養素であると同時に、健康被害の原因ともなる注目すべき物質である。本研究では、愛知県に位置する汽水湖油ヶ淵を対象に、金属の底泥からの溶出を調査した。

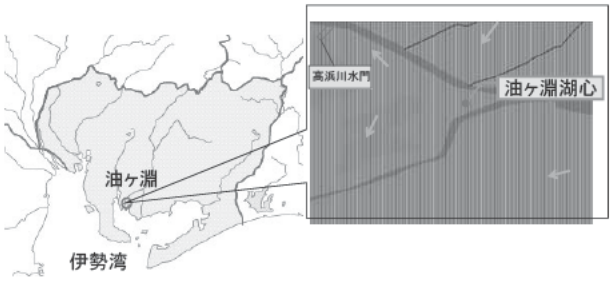


図-1　調査地点

2．実験概要

油ヶ淵湖心にて、平成22年8月に柱状採泥器で採泥を行った。調査地点を図-1に示す。採取した底泥試料の表層15cmのみを残し、GF/B（1.0μm）にてろ過した湖沼水または湖沼水と海水との混合水を、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℃、暗条件で溶出試験を行った。実験条件を表-1に示す。条件①～③では、DOコントローラを使用して底泥直上水の溶存酸素濃度（DO）を一定に保持した。条件④～⑦では湖沼水と海水を混合して塩分濃度を0.2%、0.5%に調製し、それぞれ好気条件、嫌気条件で溶出試験を行った。試験開始から0.5、12、24、48、77、97、120、168、236時間後に底泥直上水を採取し、孔径1μmのGF/Bでろ過後、孔径0.45μmのPTFE濾紙でろ過し、金属分析を行った。溶出試験とは別に、採取した底泥試料の表層0～2cmを遠心分離し、上澄みを孔径1μmのGF/Bでろ過後、孔径0.45μmのPTFE濾紙でろ過し、金属分析を行った。Fe、Mn、Zn、 Al、CuについてはICP-MSで測定を行い、Ca、K、Mg、Na、P、SiについてはICP－AESで測定を行った。

表-1　実験条件

条件 No.	DO (mg/L)	塩分 (%)
①	2	0
②	4	0
③	6	0
④	0	0.2
⑤	0	0.5
⑥	8	0.2
⑦	8	0.5

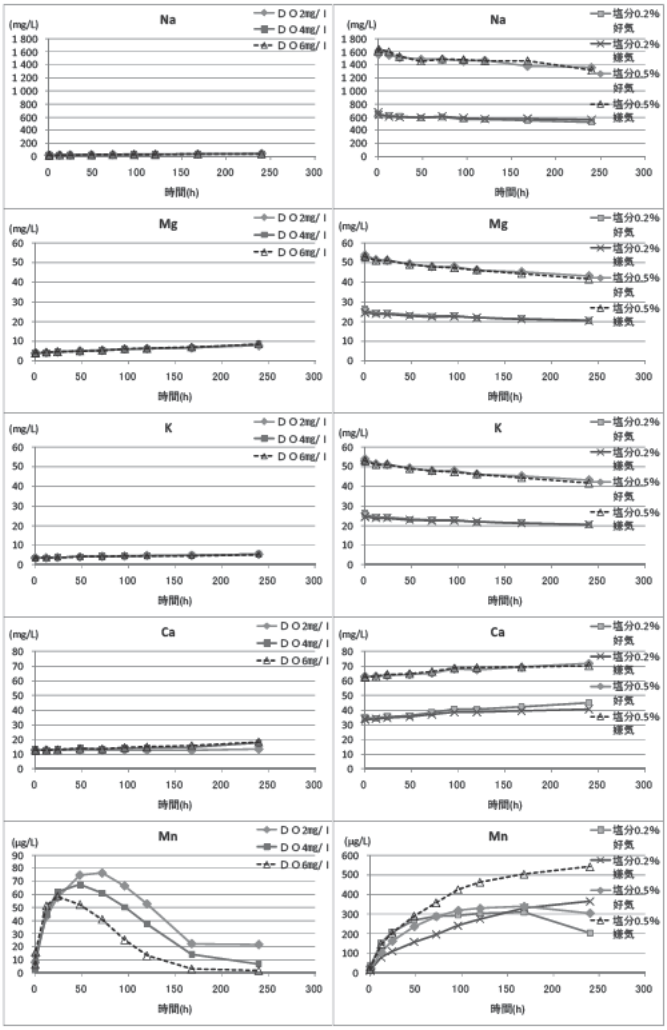
表-2　間隙水分析結

Fe(μg/L)	51
Mn(μg/L)	792
Zn(μg/L)	97
Al(μg/L)	82
As(μg/L)	6
Cu(μg/L)	<1
Ca(mg/L)	39
K(mg/L)	21
Mg(mg/L)	37.6
Na(mg/L)	351
P(mg/L)	<0.2

3．結果と考察

溶出試験の結果を図-2に示す。アルカリ金属、アルカリ土類金属であるNa、Mg、K、Caは条件①～③では時間経過とともに濃度が高くなり、④～⑦ではNa、Mg、K濃度は減少し、Caは増加した。Mnについては条件①～③では実験開始から24時間～72時間後に濃度が最大になり、その後低下した。表-2より、間隙水の濃度が底泥直上水の濃度よりもかなり高いことから、実験開始直後、還元状態にある底泥間隙水からMn^{2+}が拡散し、Mn濃度が上昇したが、その後DOが高いほど短い反応時間で、マンガン酸化細菌による酸化[2]により沈殿したと考えられる。条件④～⑦では条件①～③の4～9倍のMn

濃度となった。嫌気条件下では濃度が上昇し続けたが、好気条件下では 168 時間後をピークに減少し、条件①～③と比較するとピークが遅れた。これは、塩分によりマンガン酸化細菌の活性が阻害されたため[2]と考えられる。



4．まとめ

底泥からの金属溶出を調査した結果、Na、Mg、K、Ca はほぼ同様の挙動を示した。Mn に関しては、塩水下において、一度濃度が上昇した後下降し、底泥間隙水からの拡散と、マンガン酸化細菌による酸化が示唆された。また、底泥直上水が塩水の場合、淡水の場合と比較すると 4～9 倍の Mn 濃度となり、塩分によるマンガン酸化細菌の活性阻害が原因と思われる濃度ピークの遅れがみられた。このことから、汽水湖の底泥付近における Mn の挙動に関しては溶存酸素濃度とともに塩分濃度が重要な要素であることが明らかになった。

なお、本調査研究は、一般研究により実施されたものである。

参考文献

1)中薗孝裕ら,汽水湖(油ヶ淵)における底泥からの溶出特性に関する研究,第 44 回日本水環境学会年会講演集 p.252,2010

2)金井豊ら,自然環境中のマンガン酸化細菌の特性とその影響予測に関する一考察 , 地質調査研究報告, vol.57, p.1-15, 2006

地球環境の変化が河川湖沼水質に及ぼす影響の評価に関する研究

研究予算：運営費交付金（一般）
研究期間：平 21～平 25
担当チーム：水環境研究グループ（水質）
研究担当者：南山瑞彦、平山孝浩、北村友一

【要旨】
大気中の温室効果ガス濃度の上昇が引き起こす気候変動は、気温の上昇に伴う物理・生態環境の変化を通じて河川や湖沼の水質に影響を及ぼすことが懸念される。本研究は地球環境の変化が河川、湖沼水質に及ぼす影響を評価することを目的としている。2010 年度は、霞ヶ浦と琵琶湖の既存の水質調査結果をもとに、約 30 年間の気温と水質の変化の傾向を解析した。その結果、湖水表層の水温は気温と強い相関を示した。年平均水温も年平均気温に応じて変化しており、長期的な気温の上昇によって湖水の水温も上昇することが示唆された。年平均水温は霞ヶ浦では 0.012℃/年、琵琶湖では 0.031℃/年で上昇していることが明らかとなった。
キーワード：地球温暖化、気温、水温、琵琶湖、霞ヶ浦

1. はじめに

近年、大気中の温室効果ガス濃度の上昇によって、気温の上昇に起因する気候変動が問題化している。日本においても、平均気温が 1898 年以降 100 年あたり約 1.1℃の割合で上昇している [1]。これまでに、琵琶湖や霞ヶ浦において気温の上昇に追随した湖水温の上昇が報告されている [2,3]。気温の上昇は、物理・生態環境の変化を通じて河川や湖沼の水質に影響を及ぼすことが懸念される。各地の水道原水について、水温、pH、NO_3-N 濃度の上昇と鉄濃度の低下が報告されている [4]。しかし、湖沼の水質に対する影響要因は、気温の他、流域の人口増加、土地利用の変化、下水道の整備など様々なものがあり、気候変動と水質の関係を解明するのは困難であり、その関係は必ずしも明らかでない。

地球環境の変化が湖沼水質に及ぼす影響を明らかにするためには、はじめに、これまでに蓄積された基礎データを詳細に解析する必要がある。2010 年度は、既存の湖水質調査結果をもとに、約 30 年間の気温と水質の変化の傾向を解析し、既存データの解析から明らかにできることを整理した。

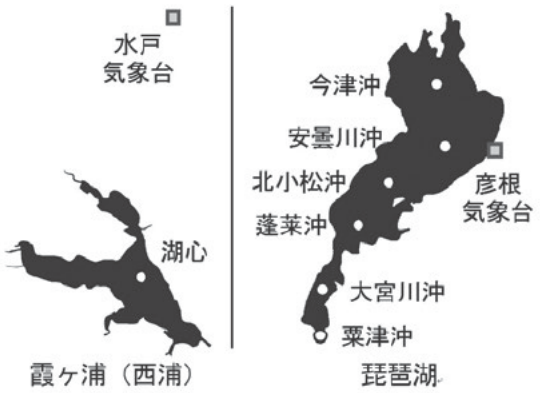


図 2-1　解析対象地点

2. 解析対象データ

2010 年度は、 霞ヶ浦と琵琶湖を対象として解析を行った。図 2-1 は各湖の水質データの解析対象地点である。霞ヶ浦の水質は、霞ヶ浦河川事務所から発表されている水質データ [5]のうち、1973～2009 年の西浦湖心表層のデータを用いた。琵琶湖の水質は、琵琶湖環境科学研究センターから発表されている水質データ [6] のうち、1980～2009 年の琵琶湖表層 6 地点のデータおよび今津沖の水深別データを用いた。気象データは霞ヶ浦では水戸、琵琶湖では彦根気象台における観測結果 [7]を用いた。データの統計解析は Microsoft® Excel2002 を用いて行った。

3. 解析結果

3.1　湖表層の水温・水質の変化状況

図 3-1 は 1973～2009 年の水戸の月平均気温と霞ヶ浦湖心の各月の水温の関係、1980～2009 年の彦根の月平均気温と琵琶湖安曇川沖、大宮川沖の各月の表層水温の関係である。霞ヶ浦と琵琶湖のどちらも、湖水表層の水温は気温と強い相関を示し、気温が 1℃上昇すると水温も約 1℃上昇することがわかる。水深が 60m 近くある琵琶湖安曇川沖では、経月的に気温が上昇する 4～6 月は、気温が 10℃以上から、水温が急上昇する傾向を示した。経月的に気温が低下する 10～12 月は、気

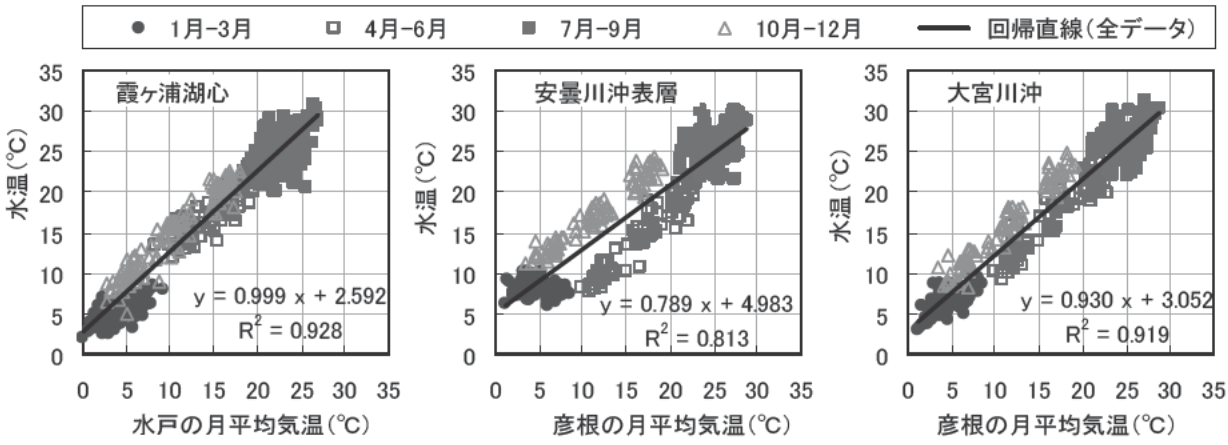


図 3-1　月別の気温と水温の関係

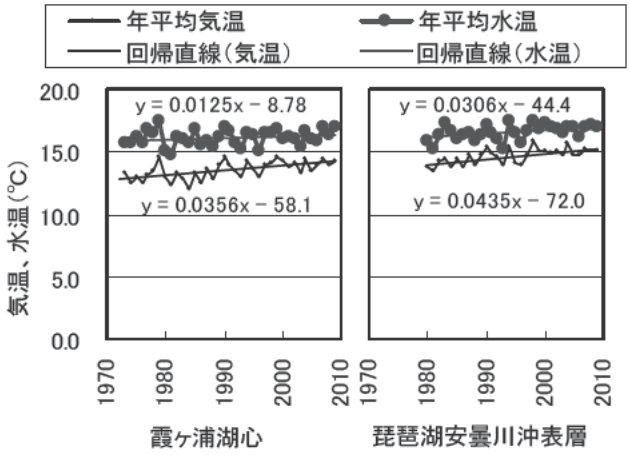


図 3-2　年平均気温と年平均水温の経年変化

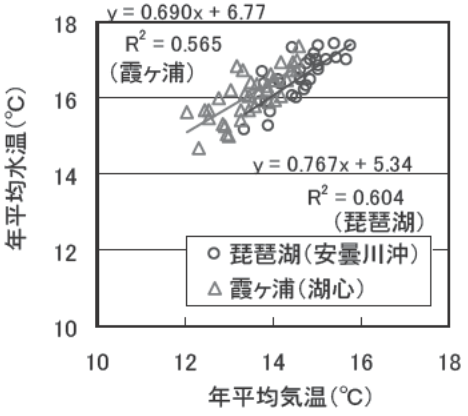
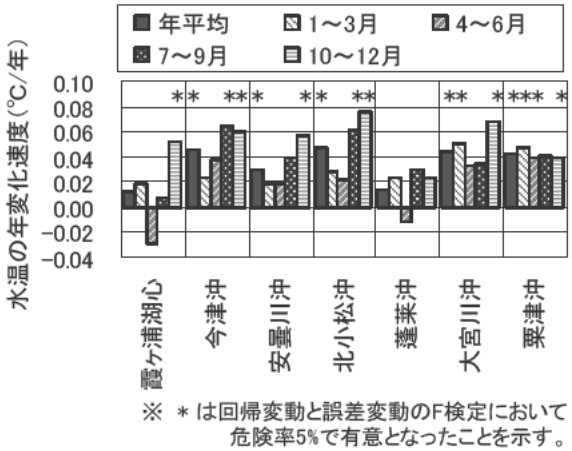


図 3-3　年平均気温と年平均水温の関係



※ ＊は回帰変動と誤差変動のF検定において危険率5%で有意となったことを示す。

図 3-4　年平均および各季節の水温の年変化速度

温の低下とともに水温が低下した。水深の浅い霞ヶ浦と琵琶湖南湖ではこのような現象はみられないことから、安曇川沖表層の水温は水温躍層形成の影響を受け、水温躍層形成前は水温の上昇が小さく、水温躍層形成後に水温の上昇が大きくなると考えられた。

図 3-2 は、霞ヶ浦湖心と琵琶湖安曇川沖表層の年平均気温と年平均水温の経年変化である。霞ヶ浦と琵琶湖のどちらも、年平均水温は若干の上昇傾向を示した。年平均水温の変化速度を回帰直線の傾きから求めると、霞ヶ浦は 0.012℃/年、琵琶湖は 0.031℃/年となった。琵琶湖については、中室らによる表層水温の変化速度 [2]（安曇川沖で 0.028℃/年）と概ね同様の結果が得られた。年平均水温の変化速度は、年平均気温の変化速度と比較すると小さいことがわかった。図 3-3 は、霞ヶ浦湖心と琵琶湖安曇川沖表層の年平均気温と年平均水温の関係である。無相関の検定では、どちらも危険率 1%で有意な相関を示した。湖水表層の年平均水温は年平均気温に応じて変化しており、長期的な気温上昇によって湖水の水温も上昇すると考えられる。

季節ごとの水温変化状況を把握するため、1～3 月、4～6 月、7～9 月、10～12 月に分けて水温の平均値を求め、経年に対する回帰直線の傾きを算出した。そして、回帰変動と誤差変動を用いた F 検定から変動傾向が統計的に有意か否かを危険率 5%で判定した。図 3-4 は、霞ヶ浦と琵琶湖表層 6 地点における、各季節の平均水温の年変化速度である。霞ヶ浦では 10～12 月の平

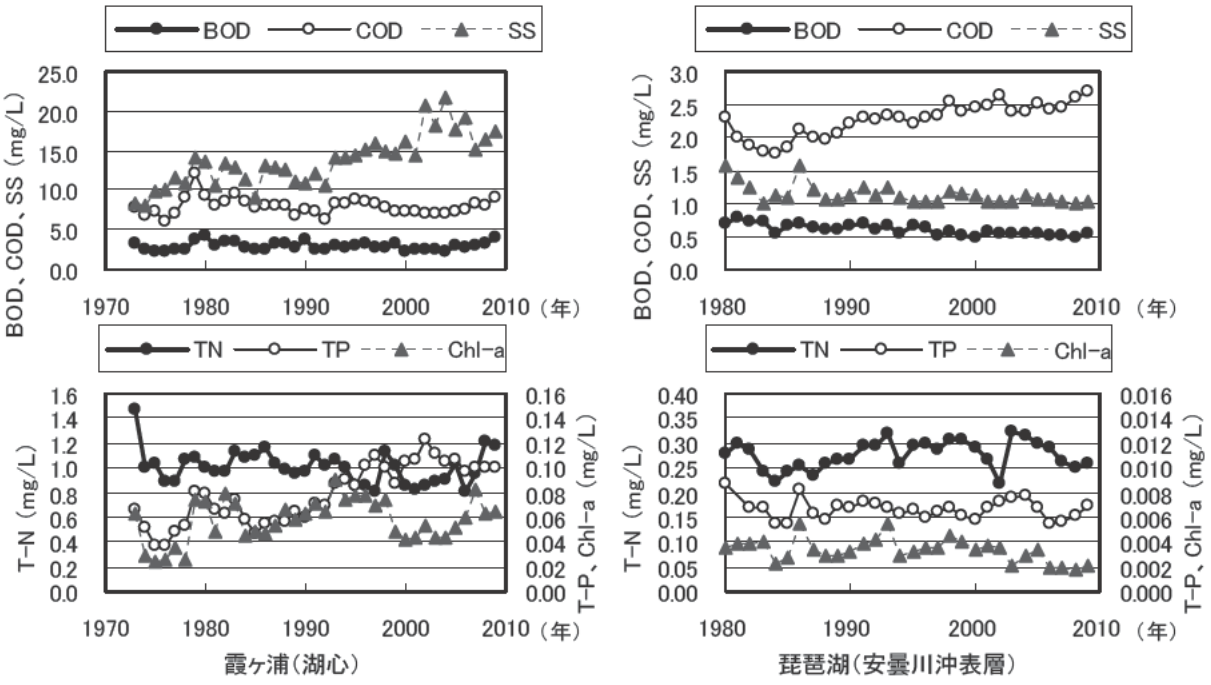


図 3-5　霞ヶ浦と琵琶湖の表層における主な水質項目の年平均値の経年変化

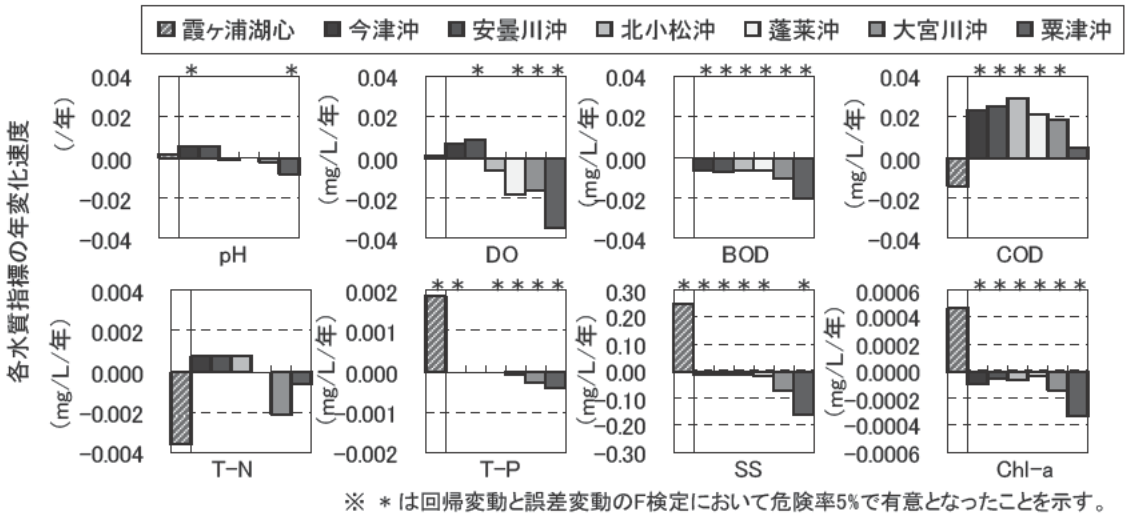


図 3-6　霞ヶ浦と琵琶湖の表層における主な水質項目の年平均値の年変化速度

均水温の変化速度が他の季節と比較すると大きく、0.052℃/年であった。琵琶湖では、表層 5 地点で年平均水温の増加傾向が統計的に有意となったことから、表層全域で水温が増加していると考えられた。季節ごとの平均水温の増加速度は地点によって異なり、琵琶湖の北湖では、今津沖、安曇川沖、北小松沖で 7～9 月と 10～12 月の平均水温の増加速度が他の時期と比較して大きかった。南湖の大宮川沖では、1～3 月と 10～12 月の平均水温の増加速度が他の時期より大きかった。

図 3-5 は、霞ヶ浦湖心と琵琶湖安曇川沖の主な水質項目の年平均値の経年変化である。霞ヶ浦湖心では SS、T-P が増加し、BOD、COD は横ばいであった。Chl-a は 1998～2004 年頃に一時減少したが、全体としては年々増加傾向であった。琵琶湖では、SS、BOD が減少し、COD が増加した。

図 3-6 は、一次回帰分析で求めた、霞ヶ浦湖心および琵琶湖表層 6 地点の主な水質項目の年平均値の年変化速度である。統計的に有意と判定されたものに着目すると、霞ヶ浦では T-P と SS が増加傾向を示した。琵琶湖表層全域では、BOD、SS、Chl-a の減少と COD の増加がみられた。地点別で違いがみられた項目をみると、pH、DO、T-P は、南湖に向かって低下傾向を示した。

湖水の水温の変化は、物理・生態環境を変化させ、

水質に影響を及ぼすと考えられるが、水温と他の水質項目の関係を正確に解析するためには、流域の人口増加や下水道普及率の向上などの流域環境の長期的変化が水質に及ぼす影響を排除する必要がある。そこで、解析法は、年ごとに年平均水温・水質について前年との差を求める隣接年比較法[3]とした。図 3-7 は、一例として、琵琶湖南湖大宮川沖における、水温と pH の経年変化、年平均水温と年平均 pH の関係、年平均水温の隣接年の差と年平均 pH の隣接年の差の関係を示したものである。年平均水温と年平均 pH の間には相関はみられないが、隣接年の差では正の相関がみられた。年平均水温と pH の相関には、南湖の pH の長期的な減少傾向が強く反映され、水温と pH の関係が明確でないことがわかる。隣接年の差では、水温と pH の関係が明確になることがわかる。水温に対する pH の変化割合を 1 次回帰直線の傾きとして求めると、+0.06（/℃）となる。

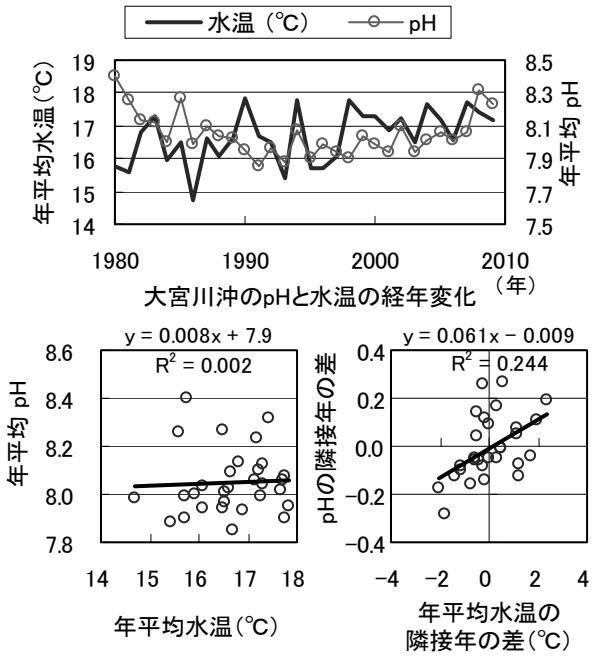


図 3-7　琵琶湖南湖大宮川沖における、水温と pH の経年変化、年平均水温と年平均 pH の関係、年平均水温の隣接年の差と年平均 pH の隣接年の差の関係

図 3-8 は、隣接年比較法により算出した霞ヶ浦湖心と琵琶湖表層 6 地点の主な水質項目の水温 1℃あたりの変化値である。霞ヶ浦では、水温と DO、COD が危険率 5%で有意な相関を示した。BOD、SS、Chl-a の相関は良くないものの水温に対し上昇傾向であった。DO と COD 以外の項目は水温に対して統計的に有意な相関を示さなかったことから、地球温暖化が霞ヶ浦の水質に及ぼす影響を湖水温のみから評価することは困難と考えられた。琵琶湖では、2 地点で pH が増加傾向を、4 地点で DO、T-N、5 地点で NO_3-N 濃度が減少傾向を示した。DO の減少は、水温の上昇が飽和 DO 濃度を低下させたため、pH の増加と NO_3-N 濃度の減少は、水温の上昇によって表層の藻類の増殖が促進されたためと考えられる。COD は今津沖、大宮川沖、粟津沖で有意な増加傾向を示した。Chl-a は有意な変化を示さなかったが、琵琶湖では出現する藻類の種類が変化したため[8]、水温上昇に対する Chl-a の応答も変化した可能性がある。

3.2　水深別の水温・水質の変化状況

図 3-9 は、今津沖の各水深の水温、DO、NO_3-N 濃度の各季節（1～3 月、4～6 月、7～9 月、10～12 月）の平均値の変化である。特徴的な傾向を記述すると、水温は、今津沖では 1～3 月に、湖水の循環のため水深によらず一定になった。7～9 月の夏季の底層の水温は 1～3 月と概ね等しかった。DO は、水深 80m と湖底 1.0m で 4～6 月に最も高く、7 月から 12 月にかけて減少する変化をしていた。NO_3-N 濃度は、表層から 10m までは、夏季の表層の藻類による NO_3-N の消費を反映し、

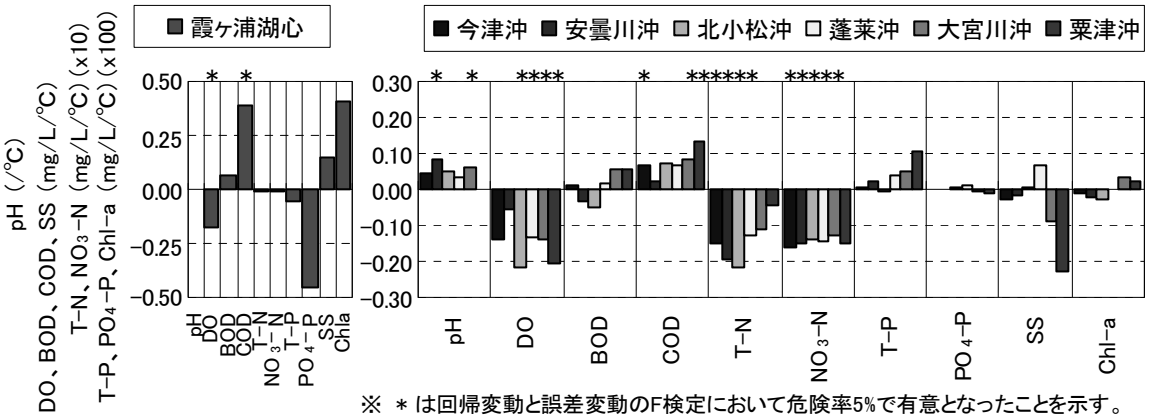


図 3-8　霞ヶ浦と琵琶湖表層における水温上昇に対する主な水質項目の変化値

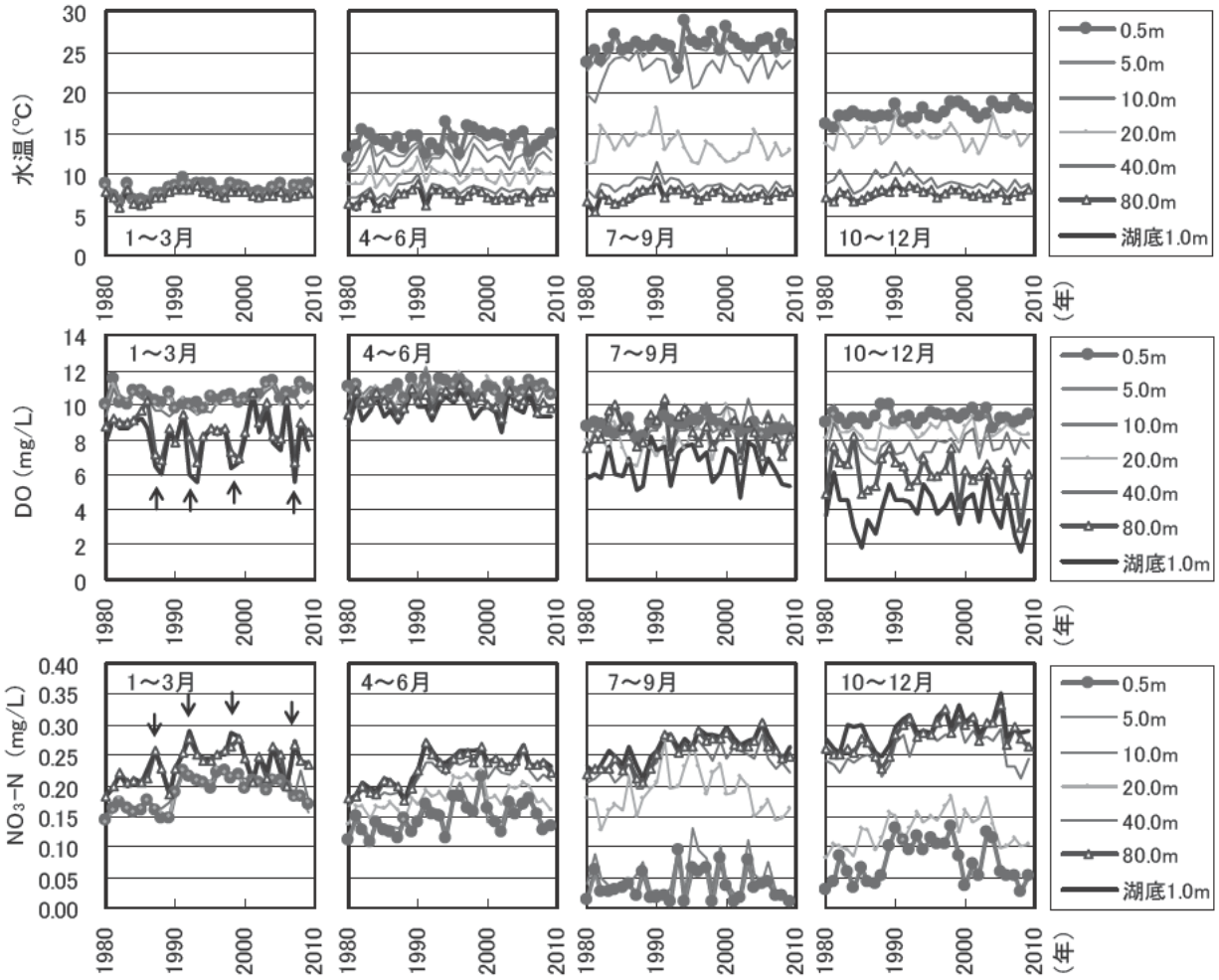


図 3-9　今津沖の各水深における各季節の水温、DO、NO_3-N 濃度の経年変化

7～9 月に減少していた。1～3 月の水質の経年変化に着目すると、水深 80m と湖底 1.0m の DO が 1988 年、1993 年、1998 年、2007 年に大きく低下し、それに伴い NO_3-N 濃度が増大していた。底層での NO_3-N の発生源は、底泥からの溶出と考えられ、その溶出量は、底層 DO と関係があることがわかる。

図 3-10 は、彦根の月平均気温と今津沖の水深 80m における各月の水温の関係、年平均気温と年平均水温の関係である。月単位での気温と底層の水温では相関がみられないが、年平均気温と底層の年平均水温では R^2 の増加がみられた。水深 80m 地点の年平均水温の変化率は気温 1℃あたり約 0.46℃となり、表層（図 3-3）と比較すると小さかった。図 3-11 は、水深 80m における季節ごとの平均気温と平均水温の関係である。平均気温と平均水温の相関が最も高い季節は 1～3 月であり、冬季の気温が底層の水温に影響していると考えられた。

図 3-12 は、各水深における主な水質項目の年変化速度である。DO は、いづれの水深でも増減の傾向がみ

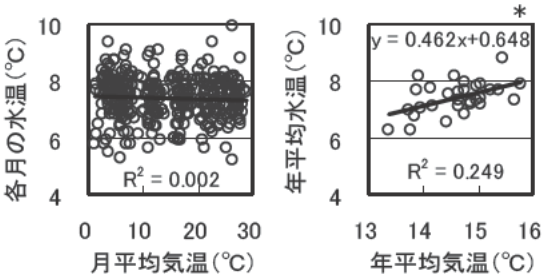
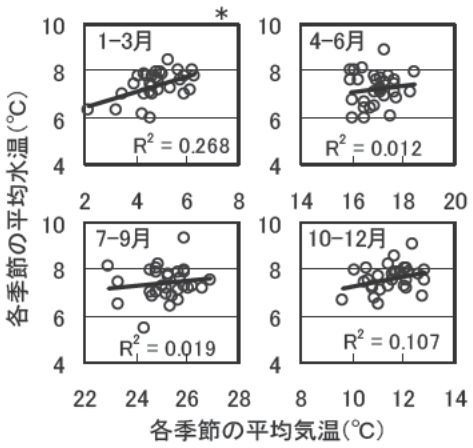
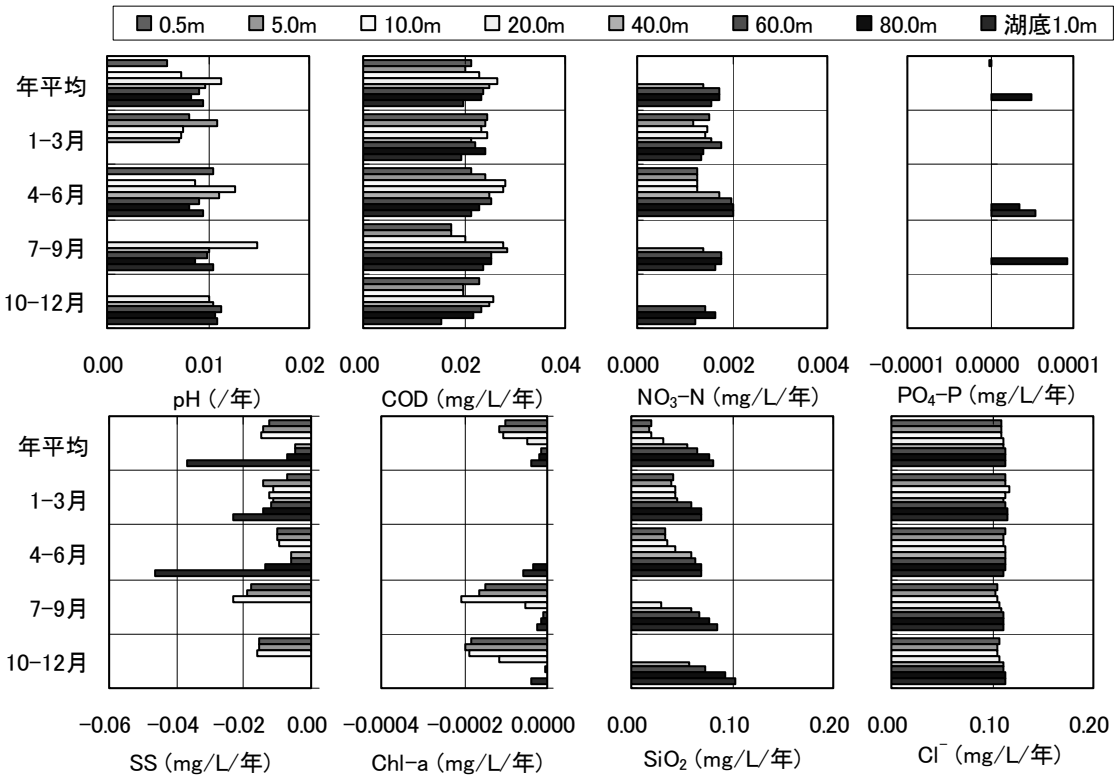


図 3-10　水深 80m 地点の気温と水温の関係



※＊は有意な相関関係を示す（危険率5%）。

図 3-11　水深 80m 地点の季節ごとの気温と水温の関係



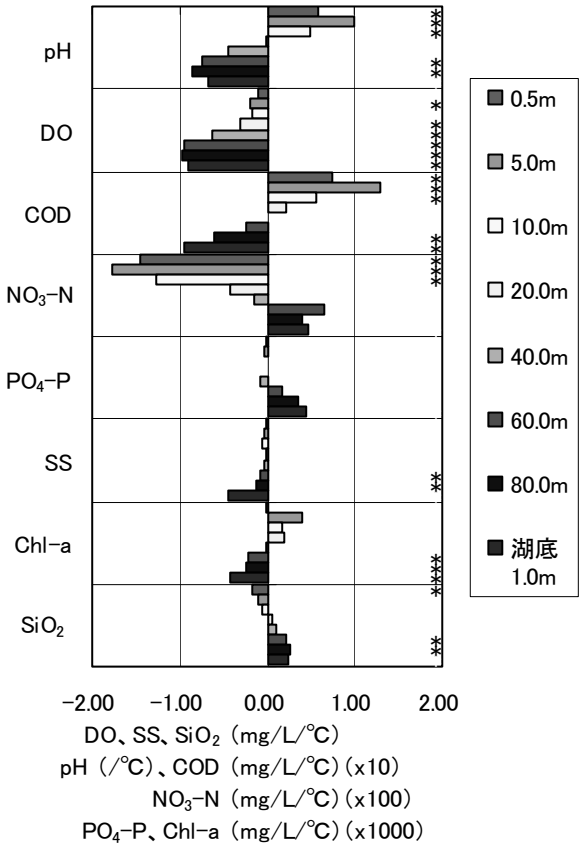
※ 回帰変動と誤差変動のF検定において危険率5%で有意となった項目のみを図示している。

図 3-12 各水深における主な水質項目の年平均値と各季節平均値の年変化速度

られなかった。pH は 1～3 月は表層側で、7～9 月と 10～12 月は底層側で増加傾向がみられた。NO_3-N 濃度と SiO_2 濃度は、7～9 月と 10～12 月に底層側で増加傾向を示した。また、PO_4-P 濃度は、水深 80m で 7～9 月に増加傾向を示した。COD は季節によらず増加傾向を示し、特に水深 20～60m の範囲での増加が大きかった。SS と Chl-a は表層で減少傾向を示しており、琵琶湖の表層は大型浮遊藻類が増殖しにくい湖水環境に変化した可能性がある。Cl^- 濃度は水深によらず一様な増加傾向を示した。

水温変化と他の水質項目の変化の関係を解析するため、3.1 と同様に隣接年比較法で解析した。図 3-13 は、各水深における、主な水質項目の水温 1℃あたりの変化値である。水温の上昇とともに表層では、pH と COD が増加し、NO_3-N、SiO_2 濃度が減少した。表層 0.5m における COD の変化割合は+0.074 mg/L/℃であった。表層では水温の上昇によって藻類による一次生産が増加していると考えられた。Chl-a は、水温との相関は良くないものの、表層 0.5m よりも、5～20m で増加が大きかった。

底層では、水温の上昇とともに pH、DO、COD、SS、Chl-a が減少し、SiO_2 濃度が増加した。DO は、水深 20m 以上で水温上昇に対して有意な減少を示した。DO の



※ ＊は回帰変動と誤差変動のF検定において危険率5%で有意となったことを示す。

図 3-13 各水深における水温上昇に対する主な水質項目の変化値

減少割合は水深 80m が最も大きく、 −0.97mg/L/℃であった。NO_3-N、PO_4-P 濃度は、水温との相関は良くないものの、水温上昇とともに底層側で増加した。気温の上昇によって琵琶湖の水温が上昇すると、水深 20m 以上で DO が減少し、底泥からの栄養塩の溶出が増加すると考えられる。

水温の上昇は藻類の量・種類を変化させ、栄養塩消費や有機物生産を通じて間接的に水質に影響を及ぼすと考えられる。しかし、既存の水質データの解析からこうした複合的な影響を抽出するのは困難である。水温の変化が湖水質に及ぼす影響については、例えば、温度勾配をかけた条件での藻類培養実験のような、単純化した実験での検証も必要と考えられる。

4. まとめ

気候変動が湖沼水質に及ぼす影響を明らかにするため、2010 年度は霞ヶ浦と琵琶湖の既存の水質調査結果をもとに、約 30 年間の気温と水質変化の傾向を解析した。主要な知見を以下に示す。

(1) 湖水表層の水温は気温と強い相関を示し、気温が 1℃上昇すると水温も約 1℃上昇した。

(2) 霞ヶ浦と琵琶湖の年平均水温はそれぞれ 0.012℃/年、0.031℃/年で上昇していた。

(3) 琵琶湖では、表層 5 地点で年平均水温の増加傾向が統計的に有意となったことから、表層全域で水温が増加傾向にあると考えられた。

(4) 各水質項目の経年変化は、霞ヶ浦では SS、 T-P、Chl-a が増加傾向を示した。琵琶湖では表層全域で SS、Chl-a、BOD が減少傾向、COD が増加傾向を示した。

(5) 隣接年の差から、水温の上昇に対する水質の変化を解析すると、霞ヶ浦では COD が増加傾向、DO が減少傾向を示した。琵琶湖の表層では、pH が増加傾向、DO と NO_3-N 濃度が減少傾向を示した。

(6) 琵琶湖の今津沖の水深 80m 地点の年平均水温は、年平均気温と正の相関を示し、特に冬季の気温に影響されると推察された。

(7) 今津沖の水深別の各水質項目の経年変化は、pH と NO_3-N、SiO_2 の濃度が 7〜9 月と 10〜12 月に底層側で増加傾向を示した。SS と Chl-a は表層で減少傾向を示した。

(8) 隣接年の差の解析では、水温の上昇とともに表層で、pH と COD が増加し、NO_3-N、SiO_2 濃度が減少した。底層では、水温の上昇とともに pH、DO、COD、SS、Chl-a が減少し、SiO_2 濃度が増加した。

参考文献・資料

1) 文部科学省、気象庁、環境省(2009)、温暖化の観測・予測及び影響評価レポート「日本の気候変動とその影響」.

2) 中室克彦、奥野智史、前澤希、坂崎文俊、田口寛、福永勲、西海暢展、加賀城直哉、服部幸和(2008)、琵琶湖における水温上昇の実態把握とその要因解析、水環境学会誌、31、713-718.

3) 福島武彦、上西弘晃、松重一夫、原沢英夫(1998)、浅い富栄養湖の水質に及ぼす気象の影響、水環境学会誌、21、180-187.

4) 鈴木穣(2007)、地球環境の変化が河川水質に与える影響の基礎的検討.

5) 水質調査データ、国土交通省関東地方整備局 霞ヶ浦河川事務所
http://www ktr mlit.go.jp/kasumi/suisitu/suishitsu htm

6) 水質モニタリング調査結果、滋賀県琵琶湖環境科学研究センター
http://www.lberi.jp/root/jp/22db/bkjhindex htm

7) 気象統計情報、気象庁
http://www.jma.go.jp/jma/menu/report html

8) 一瀬諭、藤原直樹、古田世子、池田将平、岸本直之(2010)、琵琶湖におけるプランクトン等の長期変動解析について―植物プランクトン― 、滋賀県琵琶湖環境科学研究センター研究報告書第 6 号.

水生生物の生体反応を用いた下水処理水の毒性評価に関する研究

研究予算：運営費交付金（一般勘定）
研究期間：平 22～平 24
担当チーム：水環境研究グループ（水質）
研究担当者：南山瑞彦、北村友一、村山康樹、朴　昶範

【要旨】
メダカの遺伝子発現プロファイルの変化から下水処理水に含まれている毒性を評価するためには、作用機序の異なる様々な化学物質のメダカの曝露実験から、陽性対照として化学物質毎の遺伝子発現プロファイルを得る必要がある。本年度は、遺伝子発現プロファイルを得るために必要となるメダカマイクロアレイの設計を行った。次に作成したメダカマイクロアレイを用いてエストロン、トリクロサン、NDMA に曝露したメダカの遺伝子発現解析を臓器別に行った。解析臓器は、肝臓、エラ、精巣、脳とし、各化学物質について各臓器の遺伝子発現プロファイルを取得した。
キーワード：メダカ、マイクロアレイ、エストロン、トリクロサン、NDMA

1. はじめに

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

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

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

本年度は、遺伝子発現解析に必要なメダカマイクロアレイの設計と作成を行った。さらに、メダカの遺伝子発現の変化から下水処理水に含まれている毒性を評価するためには、作用機序が異なる様々な化学物質でのメダカの曝露実験から、陽性対照として化学物質毎の遺伝子発現プロファイルを得る必要がある。そこで、作成したマイクロアレイにより作用機序が異なると考えられる 3 種類の化学物質に曝露したメダカの遺伝子発現解析を行った。

2. マイクロアレイ搭載遺伝子の設計

2.1 使用マイクロアレイの選定

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

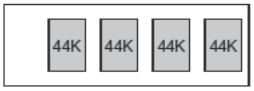


図-1 44K マイクロアレイ

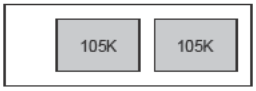


図-2 105K マイクロアレイ

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

2.2 マイクロアレイ搭載遺伝子の抽出条件

DFCI Medaka Gene Index Releas8.0 に登録されている遺伝子は、68,425 あり、その中から、44K マイクロアレイと 105K マイクロアレイに搭載する遺伝子を以下に示す優先順位に従い選択した。

2.2.1 44K マイクロアレイ搭載遺伝子の抽出

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

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

2.2.2 105K マイクロアレイ搭載遺伝子の抽出

105K マイクロアレイは、遺伝子を選抜せずに DFCI Medaka Gene Index Releas8.0 に登録されている遺伝子のほぼ全てが搭載可能であり、さらに、搭載遺伝子に余裕がある。そこで、105K フォーマットは、「1) TC(Tentative consensus)から始まる ID があるもの。」の条件に該当する遺伝子のプローブを 2 回(duplicate)で搭載した。

2.3 マイクロアレイに搭載するプローブの設計

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

Probe Length: 60bp
Probes per Target: 1
Probe Orientation: Sence
Design Options: Best Probe Methodology, Design with 3' Bias
Target File Details: Upload in FASTA Format
Transcriptome Details: Select Agilent-Provided Transcriptome (by Species)

2.4. マイクロアレイの設計結果

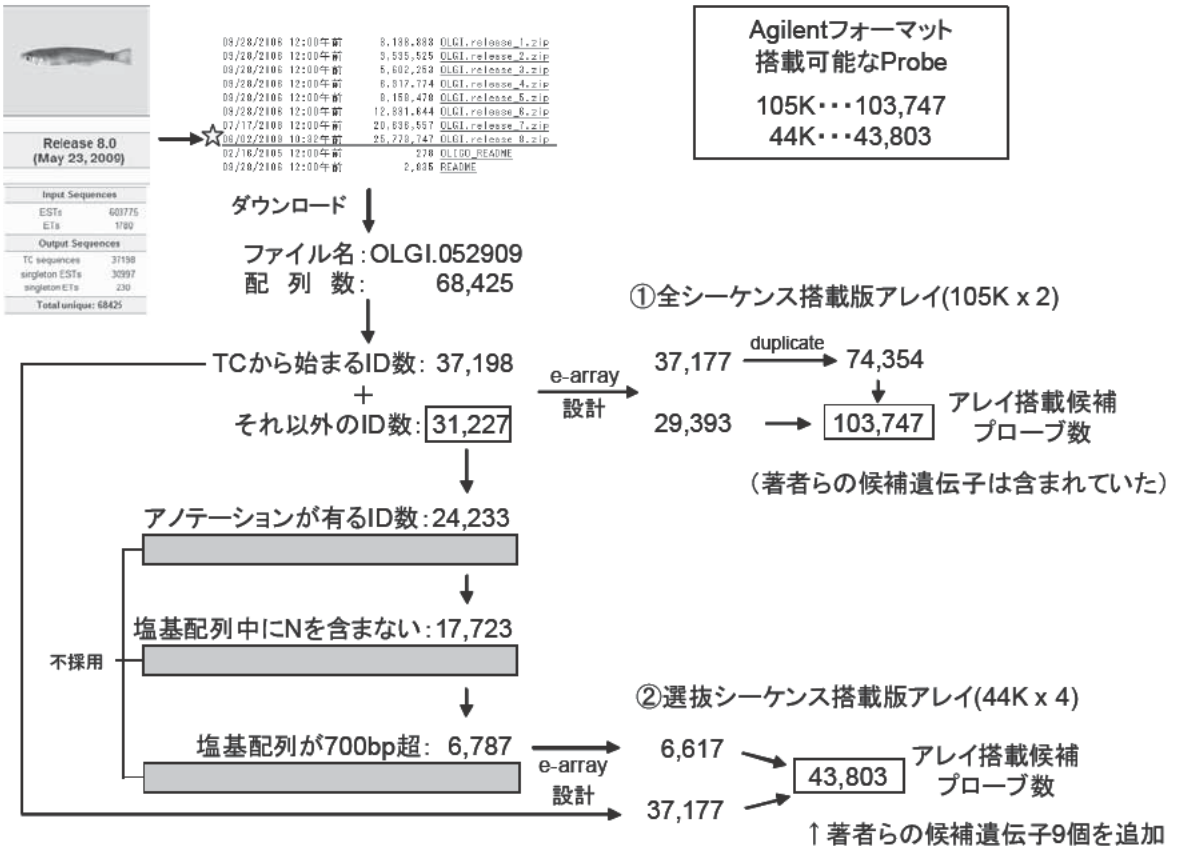


図-3 メダカアレイ搭載プローブの選定手順と結果

44K と 105K マイクロアレイに搭載する遺伝子の抽出結果を図-3 と表-1 に示した。表-1 には、研究目的と研究費に応じてマイクロアレイを選択できるように、データベース登録遺伝子数に対する搭載遺伝子数とカバー率さらに１検体あたりのコストも記載した。

表-1　メダカマイクロアレイの設計結果

抽出条件	44K アレイ	105K アレイ
TC から始まる ID	37,177 個	37,177×2 個
TC から始まる ID 以外の ID	6,617 個	29,393 個
著者らの ID	9 個	17 個
搭載遺伝子数/全遺伝子数	(43,803/68,425 =0.64)	(66,587/68,425 =0.97)
カバー率	64%	97%
1 検体当たり価格	27,300 円	54,600 円

3. マイクロアレイによる化学物質に曝露したメダカの網羅的遺伝子発現プロファイルの取得

マイクロアレイによるメダカの遺伝子発現プロファイルの変化から、下水処理水に含まれている毒性物質を予測するためには、作用機序の異なる様々な化学物質のメダカの曝露試験を行い、メダカの遺伝子発現のプロファイルを得る必要がある。

本年度は、下水試料中に含まれ、水生生物への影響が懸念されているエストロン（女性ホルモン）、N-ニトロソジメチルアミン：NDMA（発がん性物質）、トリクロサン（殺菌剤）を曝露物質とした。

3.1　曝露実験の方法

曝露条件は表-2 のとおりである。各化学物質の曝露濃度は、下水試料で検出されるレベルの 3 段階とした。概ね、高濃度区が流入下水、中濃度区が 2 次処理水、低濃度が高度処理水レベルとなっている。

曝露時間は、急性毒性試験で使用される 96 時間以内とし、最適曝露時間を決定するための基礎情報を得るために、3、24、96 時間の 3 条件とした。なお、対照区には脱塩素水道水を使用した。

マイクロアレイは、より網羅的に検出できる 105K を使用することが望ましいが、予算の制約上 44K を使用することとした。

表-2　メダカの曝露条件の一覧

曝露方式	： 半止水式
曝露濃度	：エストロン　2、 20、 200 (ng/L)
	NDMA　10、100、1000 (ng/L)
	トリクロサン 50、 500、 5000 (ng/L)
水　温	： 24±1 ℃
曝露期間	： 3、24 および 96 時間
供試生物	： d-rR 系メダカ雄魚（3～9 カ月齢）
供試生物数	： 8 個体／曝露区
照　明	： 明期 16 時間／暗期 8 時間
給　餌	： なし
エアレーション	： 緩やかに曝気
遺伝子発現解析臓器	： 肝臓、エラ、精巣、脳
使用マイクロアレイ	：44K

3.2　曝露実験の操作

エストロン（2、20、200 ng/L の 3 濃度区）、NDMA（10、100、1、000 ng/L の 3 濃度区）、トリクロサン（50、500、5,000 ng/L の 3 濃度区）を添加した脱塩素水道水で、3～9 カ月齢の d-rR 系メダカの雄魚を曝露し、曝露開始時および曝露開始から 3、24、96 時間後に、各試験区 6 個体ずつ、RNAlater 中で肝臓、エラ、精巣、脳を摘出した。摘出した臓器は 1 個体毎に RNAlater に浸漬し、RNA 抽出まで-20℃で保存した。

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

3.3　遺伝子発現解析の方法

遺伝子発現解析は、Genespring GX 11.0 および Microsoft EXCEL 2007 を使用した。はじめに、曝露時間および臓器毎にアレイ間ノーマライズ（75%値で規格化）を行うと同時に GeneSpring flag（“P”（Present）、”M”（Marginal）、”A”（Absent））を全てのプローブのシグナル値に対し付加した。ここで、“P”は最も信頼性の高いと判定、“M”は“P”の次に信頼性が高いと判定、”A”は、バックグラウンド以下と判定されたものである。

ノーマライズされた各プローブのシグナル値を用いて、脱塩素水道水区に対する各曝露区の発現比（log2 ratio）を算出し、P もしくは M フラグにデータを絞り込み、スキャッタープロットの作成と表-3 の 4 条件で発現変動した遺伝子を抽出した。さらに、データ間の類似性を調べるために、発現比（log2

ratio)を用いて、全データと臓器毎の2 種類に分けて階層的クラスタリング行った。

表-3　発現変動遺伝子の抽出条件

① 2 検体で共通してP もしくはM フラグを示す：脱塩素水道水区に対して曝露区で 2 倍以上の発現上昇

② ON 型；脱塩素水道水区でA フラグを示すものの、曝露区で P もしくは M フラグを示す：脱塩素水道水区に対して曝露区で 4 倍以上の発現上昇

③ 2 検体で共通してP もしくはM フラグを示す：脱塩素水道水区に対して曝露区で 0.5 倍以下の発現減少

④ OFF 型；脱塩素水道水区でP もしくはM フラグを示すものの、曝露区でA フラグを示す：脱塩素水道水区に対して曝露区で 0.25 倍以下の発現減少

3.4　遺伝子発現解析結果

(1) 発現比の算出及び変動遺伝子の抽出結果

表-3の4種類の条件に沿って変動遺伝子群を抽出し、プローブ数をカウントした肝臓での結果を表-3に示す(エラ、精巣、脳は割愛)。共通プローブ数はエストロン曝露区で25,051～30,705、トリクロサン曝露区で26,951～30,219、NDMA 曝露区で28,109～30,689 であった。また、発現上昇したプローブ数は、エストロン曝露区で587～1,810、トリクロサン曝露区で579～1,463、NDMA 曝露区で465～1,796 となり、トリクロサンの24 時間、96 時間曝露区で濃度依存的な増加を示した。また、エストロンの 24 時間曝露区で濃度依存的な数の減少はみられたものの、全体的に濃度や曝露時間に応じた数の変化はほとんどみられなかった。発現減少したプローブ数はエストロン曝露区で599～987、トリクロサン曝露区で581～2,241、NDMA 曝露区で 439～1,278 となり、トリクロサンの3,24,96 時間曝露区で濃度依存的な数の増加がみられた。

同様にエラで P または M フラグを示した共通プローブ数は、エストロン曝露区で 31,827～34,685、トリクロサン曝露区で 34,129～35,537、NDMA 曝露区で 31,620～35,661 となり、その数は肝臓より多かった。また、発現上昇したプローブ数は、エストロン曝露区で 412～1,033、トリクロサン曝露区で224～1,195、NDMA 曝露区で421～950 となり、エストロンの3、24、96 時間曝露区、NDMA の3 時間そして 96 時間曝露区のそれぞれで濃度依存的な増加がみられた。発現減少したプローブ数はエストロン曝露区で612～2,622、トリクロサン曝露区で173～832、NDMA 曝露区で 396～1,255 となり、トリクロサンの24 時間曝露区、NDMA の3 時間そして96 時

表-4　共通プローブ数と変動遺伝子数(肝臓)

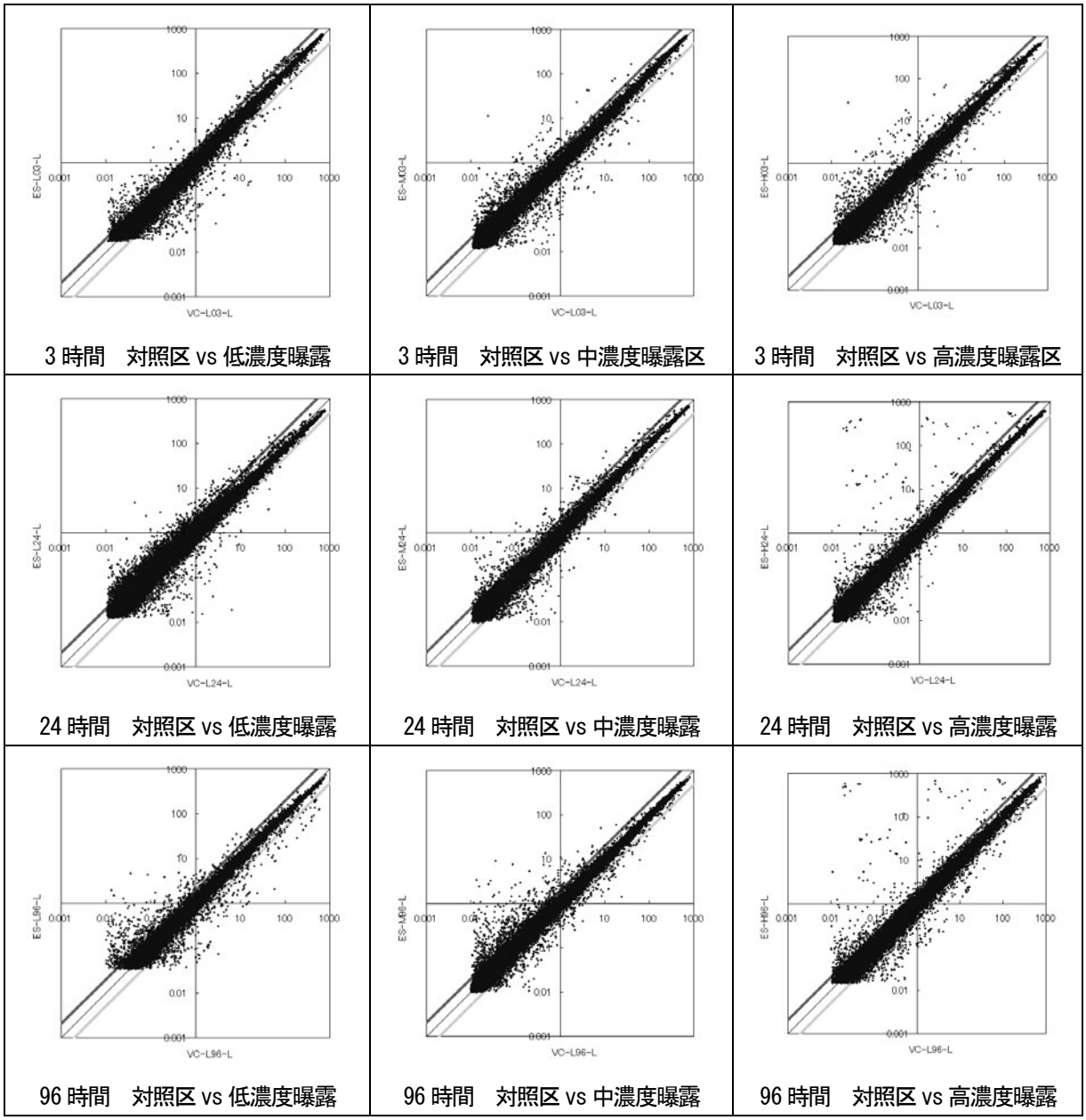
物質名	曝露時間	#	組み合わせ	共通プローブ数	UP			Down		
					2倍以上	ON型	合計	0.5倍以下	OFF型	合計
エストロン	3	1	VC-03-L vs ES-L03-L	28,125	500	262	762	487	373	860
		2	VC-03-L vs ES-M03-L	29,594	482	228	710	388	235	623
		3	VC-03-L vs ES-H03-L	29,454	537	268	805	530	328	858
	24	4	VC-24-L vs ES-L24-L	29,860	1,477	333	1,810	463	368	831
		5	VC-24-L vs ES-M24-L	30,456	353	243	596	429	289	718
		6	VC-24-L vs ES-H24-L	30,705	367	220	587	350	259	609
	96	7	VC-96-L vs ES-L96-L	25,051	537	213	750	407	196	603
		8	VC-96-L vs ES-M96-L	30,284	757	430	1,187	413	186	599
		9	VC-96-L vs ES-H96-L	28,513	461	280	741	713	274	987
トリクロサン	3	10	VC-03-L vs TR-L03-L	29,334	434	237	671	564	389	953
		11	VC-03-L vs TR-M03-L	29,473	950	513	1,463	1,242	317	1,559
		12	VC-03-L vs TR-H03-L	27,525	631	223	854	1,191	458	1,649
	24	13	VC-24-L vs TR-L24-L	29,107	398	181	579	845	527	1,372
		14	VC-24-L vs TR-M24-L	28,938	363	252	615	1,033	461	1,494
		15	VC-24-L vs TR-H24-L	27,525	622	190	812	2,326	1,049	3,375
	96	16	VC-96-L vs TR-L96-L	30,219	603	340	943	389	192	581
		17	VC-96-L vs TR-M96-L	28,835	839	372	1,211	1,206	358	1,564
		18	VC-96-L vs TR-H96-L	26,951	1,137	296	1,433	1,747	494	2,241
NDMA	3	10	VC-03-L vs ND-L03-L	28,179	472	231	703	866	287	1,153
		11	VC-03-L vs ND-M03-L	28,491	1,030	403	1,433	576	276	852
		12	VC-03-L vs ND-H03-L	28,272	802	383	1,185	831	447	1,278
	24	13	VC-24-L vs ND-L24-L	30,263	473	155	628	720	313	1,033
		14	VC-24-L vs ND-M24-L	28,822	358	215	573	426	321	747
		15	VC-24-L vs ND-H24-L	29,148	650	261	911	604	471	1,075
	96	16	VC-96-L vs ND-L96-L	30,689	301	312	613	307	132	439
		17	VC-96-L vs ND-M96-L	28,930	1,353	443	1,796	766	259	1,025
		18	VC-96-L vs ND-H96-L	28,109	302	163	465	543	314	857

VC(コントロール)-曝露時間-L(肝臓)
ES(エストロン),TR(トリクロサン),NDMA(ND)-L(低濃度),M(中濃度),H(高濃度)曝露時間-L(肝臓)

間曝露のそれぞれで濃度依存的な増加がみられた。

同様に精巣で P または M フラグを示した共通プローブ数は、エストロン曝露区で 34,258～35,598、トリクロサン曝露区で 33,718～35,596、NDMA 曝露区で 33,366～35,445 となり、その数は肝臓より多く、エラと同程度であった。また、発現上昇したプローブ数は、エストロン曝露区で215～958、トリクロサン曝露区で 239～2,559、NDMA 曝露区で 184～1,090 となり、トリクロサンの 24 時間曝露区そして NDMA の 24 時間曝露区で濃度依存的な増加がみられ、エストロンの3 時間曝露区とトリクロサンの 24 時間曝露区で濃度依存的な減少がみられた。発現減少したプローブ数はエストロン曝露区で 705～1,153、トリクロサン曝露区で274～936、NDMA 曝露区で286～1,079 となり、エストロンの3 時間と24 時間曝露で濃度依存的な増加がみられ、トリクロサンの 24 時間そして 96 時間曝露区で濃度依存的な減少がみられた。

同様に脳でPまたはMフラグを示した共通プローブ数は、エストロン曝露区で31,328～33,492、トリクロサン曝露区で 25,220～33,426、NDMA 曝露区で24,279～28,806 となり、最小値と最大値の差が大きい傾向にあり、　特にトリクロサン曝露区で顕著であった。また、発現上昇したプローブ数は、エスト



3 時間　対照区 vs 低濃度曝露　　3 時間　対照区 vs 中濃度曝露区　　3 時間　対照区 vs 高濃度曝露区

24 時間　対照区 vs 低濃度曝露　　24 時間　対照区 vs 中濃度曝露　　24 時間　対照区 vs 高濃度曝露

96 時間　対照区 vs 低濃度曝露　　96 時間　対照区 vs 中濃度曝露　　96 時間　対照区 vs 高濃度曝露

図-4　対照区に対するエストロン曝露後の遺伝子発現強度のスキャッタープロット（肝臓）
赤線：2 倍、青線：0.5 倍

ロン曝露区で 345～1,042、トリクロサン曝露区で 509～1,815、NDMA 曝露区で 469～1,345 となり、NDMA の 96 時間曝露区で濃度依存的な増加がみられた。発現減少したプローブ数はエストロン曝露区で 197～807、トリクロサン曝露区で 123～612、NDMA 曝露区で 91～530 となり、トリクロサンの 3 時間曝露区で濃度依存的な増加がみられ、NDMA の 24 そして 96 時間曝露区で濃度依存的な減少がみられた。

次に、2 検体間で共通して P もしくは M フラグを示したプローブのシグナル値を用いて、各組合せにおける脱塩素水道水区に対する各曝露区のスキャッタープロットを作成した。エストロン曝露区での肝臓のスキャッタープロット結果を図-4 に示す（エラ、精巣、脳は割愛）。その結果、肝臓ではエストロン高濃度曝露区において曝露時間に応じて変動幅が大きくなる傾向がみられたものの、トリクロサンと NDMA

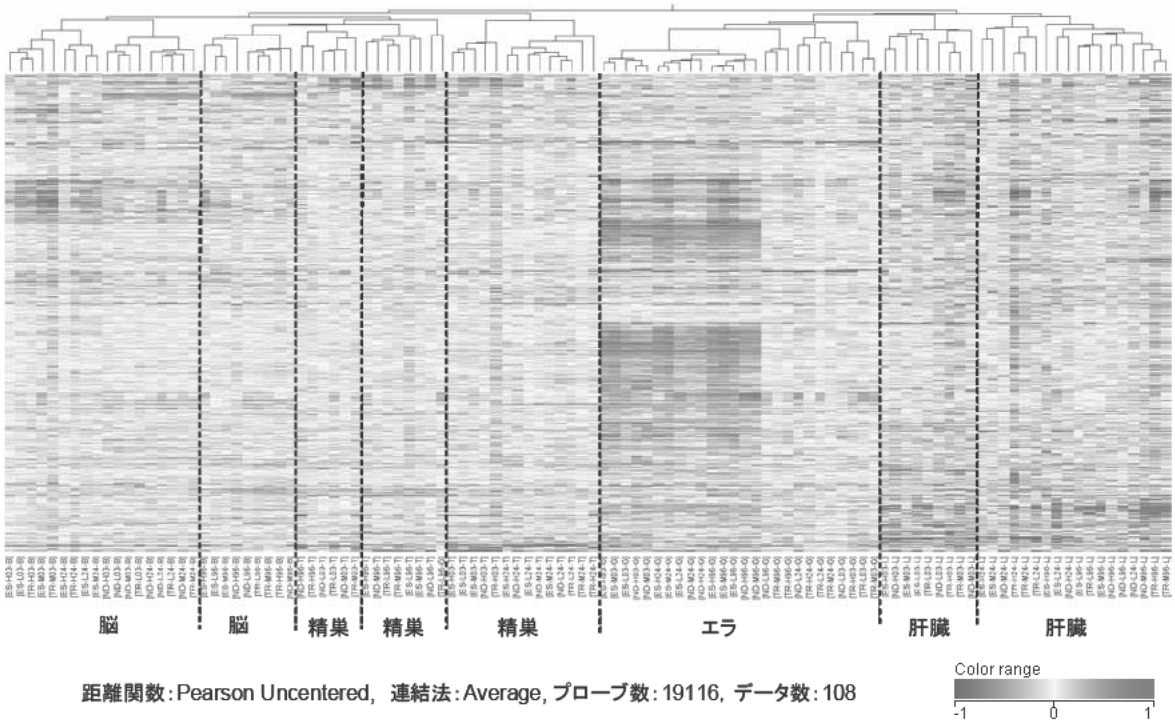


図-5　クラスタリングによる全データの遺伝子発現プロファイルの比較

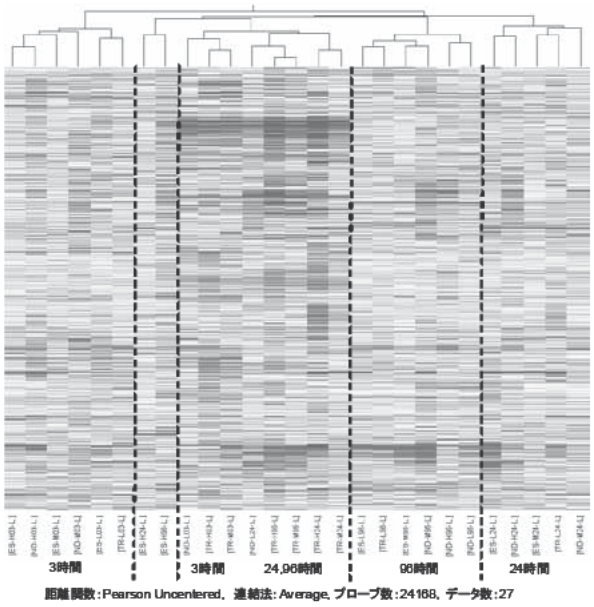


図-6　肝臓の遺伝子発現プロファイルの比較

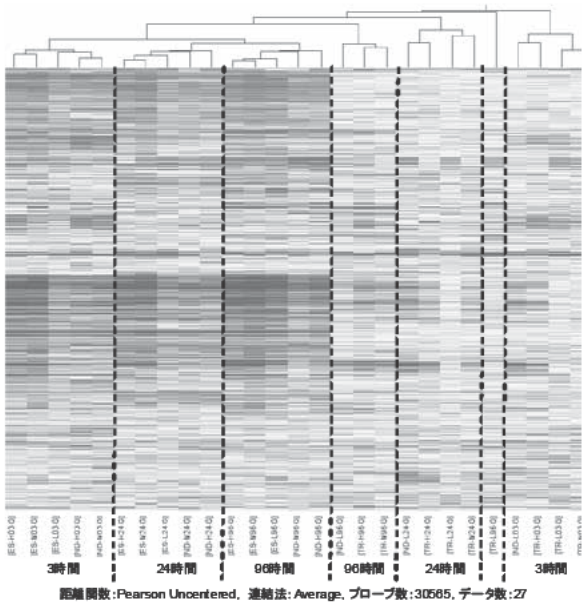


図-7　エラの遺伝子発現プロファイルの比較

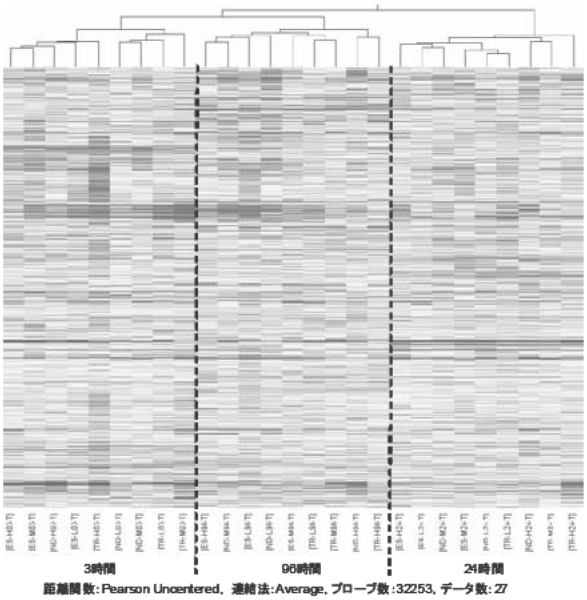


図-8　精巣の遺伝子発現プロファイルの比較

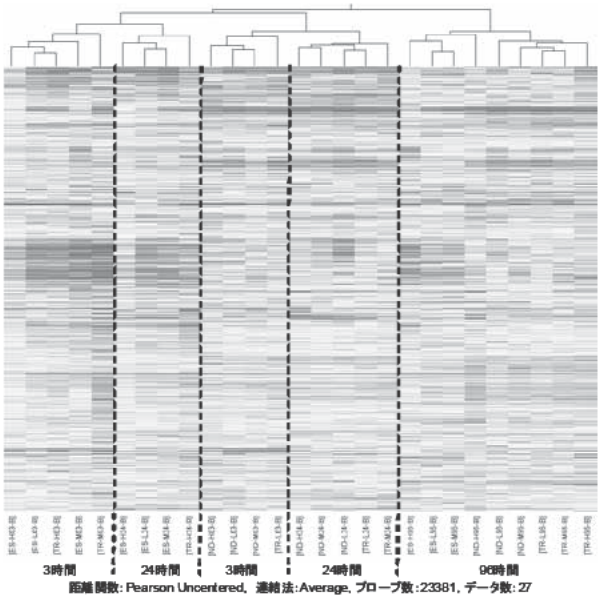


図-9　脳の遺伝子発現プロファイルの比較

ではその傾向はそれほど顕著ではなかった。エラでは、3 物質ともに曝露時間及び濃度に依存した変化は乏しかった。精巣では、全体的に濃度依存的な変化は乏しかった。脳でも全体的に濃度依存的な変化は乏しかったののの、トリクロサンの 24 時間曝露区と NDMA の 96 時間曝露区で濃度依存的な発現変動幅の増加がみられた。

(2)：データ間の遺伝子発現プロファイルの比較

全体の遺伝子発現プロファイルの類似性を把握するために、全ファイル(3 物質×3 濃度×4 臓器×3 時点＝108 ファイル)を用いた階層的クラスタリングを実施した。解析対象プローブセットとしては、脱塩素水道水区も含めた全データで共通して P もしくはM フラグを示した19,116 プローブを用いた。クラスター解析の条件は、Pearson Uncentered を用い、連結法にはAverage 法を用いた。クラスター解析の結果を図-5 に示した。

図-5 より、全体的に臓器の種類に応じて大きなクラスターに分類されており、物質の種類や曝露時間で小さなクラスターを形成していることがわかった。その中でエラだけが、解析に供した全データが一つの大きなクラスターを形成しており、これはエラでは発現変動幅の大きな遺伝子区が他の臓器に比べて数多く含まれていたことが主な要因と考えられた。これらの結果から、全体的に臓器ごとで発現パターンの傾向が異なることが明らかとなったため、引き続き、臓器毎に分割して階層的クラスタリングを実施した。

脱塩素水道水区も含めた肝臓データで共通して P もしくは M フラグを示したプローブを調べたところ、24,168 プローブであった。そこで、この24,168 プローブを用い、肝臓で得られた発現比データを用いて階層的クラスタリングを実施したところ、全体的に曝露時間に応じてクラスターが形成され、物質の種類がそのクラスターの中に包含される傾向を示した（図-6)。

エストロンに関しては 3 時間曝露区が一つのクラスター内に含まれたものの、24 時間及び96 時間曝露区では高濃度区だけが他の物質区とは別のクラスターを形成した。

トリクロサンは 3～96 時間の 3 時点全てで中濃度と高濃度が同一のクラスターに分類されたことから、これら2 濃度は類似した変動パターンを示すことがわかった。

NDMA は 3 時間及び 24 時間の低濃度区の変動幅が比較的大きかったことから、トリクロロサンの中濃度及び高濃度と近い位置に分類されたものの、その他のデータでは全体的な発現変動が小さかったため、曝露用量や時間にあまり依存性がなく、他の物質と混合したクラスターを形成した。

同様にエラデータで共通して P もしくは M フラグを示したプローブ数は 30,565 プローブを用い、エラで得られた発現比データを用いて階層的クラスタリングを実施した。その結果、発現変動が大きい

データで構成された大きな一つのクラスターと、あまり変動していないデータで構成された複数のクラスターに分類された（図-7）。発現変動が大きい大クラスターはエストロンの低、中、及び高濃度区とNDMA の中及び高濃度区が含まれており、さらに曝露時間に分かれ37 たクラスターを形成していた。このことからエストロンの低～高濃度区と NDMA の中～高濃度区は曝露時間に応じて非常に類似した発現パターンを示すことがわかった。トリクロロサンは全体的に大きな発現変動を示しておらず、曝露時間に応じて一つのクラスターを形成する傾向にあった。このことから、トリクロロサン曝露後のエラでは濃度依存的な変化が乏しいことがわかった。

同様に精巣データ（30 ファイル）で共通して P もしくはMフラグを示したプローブ数は32,253プローブを用い、精巣で得られた発現比データ（27 ファイル）を用いて階層的クラスタリングを実施したところ、曝露時間に応じて3 つの大きなクラスターを形成した（図-8）。また、各クラスターは物質の種類や曝露濃度では分類されておらず、各処理区が混在する傾向にあった。このことから物質曝露後の精巣では、曝露時間で類似した発現プロファイルを示すものの、物質の種類や濃度にはあまり依存していないことがわかった。

同様に脳データ（30 ファイル）で共通して P もしくはM フラグを示したプローブ数は23,381 プローブを用い、脳で得られた発現比データ（27 ファイル）を用いて階層的クラスタリングを実施したところ、全体的に時点毎にクラスターを形成する傾向を示した（図-9）。3 時間及び 24 時間曝露では、エストロンの低～高濃度区とトリクロロサンの高濃度区が、NDMA の低～高濃度区とトリクロロサンの低濃度区がそれぞれ別のクラスターを形成した。96 時間曝露では3 物質が一つの大きなクラスターを形成し、エストロンと NDMA が近くに分類された。このことから、曝露初期（3～24 時間）では、エストロン（とトリクロロサンの高濃度区）、NDMA（とトリクロサンの低濃度区）は別のクラスターを形成したものの、96 時間ではエストロンと NDMA を含め、3 物質とも全体的な発現パターンが類似してくることがわかった。

4. おわりに

下水処理水の水生生物への影響評価手法へ遺伝子発現解析技術を適用するために必要なメダカマイクロアレイの設計と作成を行った。さらに、作成したマイクロアレイにより作用機序が異なる3 種類の化学物質に曝露したメダカの遺伝子発現プロファイルを得た。

マイクロアレイの設計では、最新のデータベース情報を用い、全シーケンス搭載版アレイ（105K）と選抜シーケンス搭載アレイ（44K）をの 2 種類のアレイを設計することができた。44K アレイは1 検体当たりの価格を2 万7 千円に抑えることができ、解析サンプル数が多い場合、コスト縮減に貢献できる。

作成した44K マイクロアレイにより、女性ホルモン（エストロン）、発がん性物質（NDMA）、殺菌剤（トリクロサン）に曝露したメダカの曝露時間（3, 24、96 時間）ごと、臓器（肝臓、エラ、精巣、脳）ごとの遺伝子発現プロファイルを得ることができた。これらの遺伝子発現プロファイルは、下水処理水に曝露したメダカの遺伝子発現の陽性対照として利用するものとなる。

5. 今後の予定

マイクロアレイの設計については、発現変動遺伝子から、メダカへの毒性の種類を予測するため、搭載遺伝子のアノテーション情報を充実していく予定である。

実下水処理水に曝露したメダカの遺伝子発現プロファイルを取得し、遺伝子発現プロファイルを比較する予定である。

Ⅲ．リサイクルチーム・水質チーム共同研究

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

材料地盤研究グループ　鈴木　穣
水環境研究グループ　水質チーム　南山　瑞彦
小森　行也
材料地盤研究グループ　リサイクルチーム　岡本誠一郎
諏訪　守
桜井　健介

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ろ過処理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。

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求められている。

２．研究目的

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ている。

なお、本研究は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。

３．研究計画

３．１　公共用水域の人畜由来汚染指標の選定と測定

大腸菌、原虫、ウイルス等微生物、排泄物由来化学物質等からマーカーとなる項目の情報収集を行うとともに、国内の水源等を対象に汚染指標項目の実態調査により汚染状況を把握し、代表性、特異性、安定性、操作性等を考慮し、水道水源を中心とする公共用水域の人畜由来汚染指標グループを確立する。

３．２　各水源の汚染源の調査

汚染源となりうる特定施設等の負荷を推測する。また、当該指標のパターンにより水源の汚染プロファイルを作成するとともに、下水処理水、畜産排水、未処理水等の寄与率を推定する。

３．３ 浄水処理、排水処理によるリスク削減効果の推定

代表的な感染微生物を例として、DALY 等の健康影響リスクの推定を行い、リスク削減効果の把握を行う。

３．４ 病原微生物管理の観点から見た流域リスク管理手法の提案

実態調査、汚染源調査、処理等によるリスク削減効果の推定を踏まえ、病原微生物管理の観点から見た効率的な流域管理手法の提案を行う。

４．研究内容

４．１　土木研究所が行う研究

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流入実態と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。このため、活性汚泥処理、高度処理、消毒などのプロセスにおいて、指標病原微生物の実態や消長について調査を行うとともに、水域における汚濁源推定のために、化学物質マーカーの測定を行った。

指標病原微生物の実態や消長把握では、20～22 年度にかけ公共用水域において下水処理水の流入による指標微生物および化学物質マーカーの変化とそれらの相互関係を把握するため、ある河川を対象に下水処理水の流入前後および下水処理場の流入下水、放流水を対象に調査を行った。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とともに、ヒト由来の生活系排水の負荷が存在すると考えられる。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 11,000～13,000m^3/日で推移、消毒方式は次亜塩素酸ナトリウムによる塩素消毒法である。調査は各年度に若干違いがあるが 11 月～2 月の間の晴天時（平水位時）に行った。調査では 4 時間毎の 24 時間採水を行うことで、各試料の濃度と浄化センターにおける除去率の日間変動を把握した。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である。また、22 年度には比較評価のため A 河川とは流域が異なる B、C 河川についても調査を行った。B 河川の流域ではブタの畜産が行われており、C 河川は浄化槽排水負荷の割合が高い特徴を有している。さらに、塩素消毒によるノロウイルスの不活化効果を推定するため、H 処理場の二次処理水、A、C 河川水を利用し、CT 値の違いがウイルス遺伝子の検出濃度に及ぼす影響を評価した。次亜塩素酸ナトリウムの添加濃度は 1～10mg/L とし、接触時間の 20 分間を経た後、チオ硫酸ナトリウムで中和を行い分析に供した。

４．２　調査対象とした指標微生物、化学物質マーカーとその測定法

４．２．１　指標微生物

本研究で対象とした指標微生物は大腸菌、クリプトスポリジウム、ジアルジア、ノロウイルスＧⅠ群（ＧⅠ）、ＧⅡ群（ＧⅡ）である。各々の指標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～2L、その他の試料は 20～100L とした。

ウイルスの濃縮はポリエチレングリコール（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報告されている[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 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。

４．２．２　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。各化学物質マーカーの測定法を以下に示す。

ステロール類の分析操作は Isobe et al.[3]、Nakada et al.[4] を、カフェインは小西他[5]、小森他[6] を参照した。

（１）ステロール類の分析（溶解性成分）

(ａ) Surrogate の添加

分析操作における回収率補正のため、ろ液に Surrogate を添加した。Surrogate にはステロール Label 化体(コレステロール-d6)のメタノール溶液を使用し、マイクロシリンジにて添加した。添加量は過去の水質調査結果を参考とし、コレステロール Label 化体を 500 ng とした。

(ｂ) 固相抽出

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 および MilliQ 水 15 mL（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 MilliQ 水で洗い(約 20 mL × 2 回, 通水 10 mL/min)、次いで、MilliQ 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 容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 5 分間遠心(3000 rpm＝1692×G)し、次いで窒素吹き付け装置で 90 分間窒素気流下(室温)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 10 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 容ねじ蓋付きガラス沈澱管にて受けた。

(ｃ) 分画精製

分画精製カートリッジには Waters 社の Sep-PaK Plus Sillica (充填量 690 mg)を使用した。溶出装置にはエキストラクションマニホールドを用い、設置したカートリッジの上に 10 mL 容注射筒を溶液リザーバーとして取り付けることによって分画精製操作を行った。カートリッジは分画精製直前にヘキサン 20 mL(最初 10 mL はプランジャーによる加圧、最後 10 mL は自然滴下)でコンディショニングしたものを使用した。分画精製画分は以下の通りとした。

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

いずれの画分液量も 10 mL 容メスシリンダーで量りとり、ガラス製パスツールピペットを用いてカートリッジに負荷した。また画分からの溶出は自然滴下とした。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。分画操作は以下の通りに行った。

カートリッジ(Oasis HLB Plus 6 cc)メタノール溶出液を窒素気流下(恒温槽 30℃)で穏やかに濃縮、乾固し、第 1 画分用溶液 0.5 mL で沈澱管内壁を洗い、洗液をカートリッジにのせた。これを計 5 回繰り返し、残り 2.5 mL を直接カートリッジにのせて計 5 mL を流した。なお洗液をリザーバーにのせる際は、前にのせた液がカートリッジに負荷したことを確認してから行った。この第 1 画分溶出液は廃棄した。第 2 画分用溶液 5 mL はそのままカートリッジにのせた。この第 2 画分溶出液は廃棄した。第 3 画分用溶液 0.5 mL で沈澱管内壁を洗い、洗液をカートリッジにのせた。これを計 5 回繰り返し、残り 7.5 mL を直接カートリッジにのせて計 10 mL を流した。なお洗液をのせる際は、前にのせた液がカートリッジに負荷したことを確認してから行った。溶出液は 10 mL 容ねじ蓋付きガラス沈澱管にて受け、アセチル誘導体化の処理直前まで-30℃ で保管した。

(ｄ) アセチル誘導体化

本分析に用いたガスクロマトグラフ用カラム(J&W Scientific 社, HP-5MS)は低極性カラムゆえ、高極性のエストロゲン類およびステロール類の測定の際に、感度が十分得られない可能性がある。そこでエストロゲン類およびステロール類をアセチル誘導体化(アセチル基の導入)することによって、極性を下げる処理を行った。アセチル誘導体化の操作方法を以下の通りに行った。第 3 画分溶出液を窒素気流下で穏やかに濃縮し、ジクロロメタン：アセトン(7 : 3)混合液(第 3 画分用溶液に同じ)を用いて沈澱管内壁を洗い(約 0.2 mL×5 回洗浄)、全量を 2 mL 容バイアルに移し入れた(バイアル本体;ガラス製、セプタム;PTFE/Silicone 製)。

2 mL 容量バイアル内の試料を窒素気流下で乾固直前まで穏やかに濃縮し、そこにマイクロシリンジを用いてピリジン 100 µL と無水酢酸 100 µL をこの順序で添加した。これを室温にて 20 時間静置し、アセチル誘導体化反応を進めた。

(ｅ) アセチル誘導体化物の精製・脱水

アセチル誘導体化物の精製・脱水には、パスツールピペット(144 mm)に石英ウールをつめ、その上に無水硫酸ナトリウムを約 8 cm（＝約 3g）つめたカラムを使用した。カラムはあらかじめヘキサンを流して洗浄したものを用い、精製･脱水操作は自然滴下で行った。本操作で使用した溶液(塩酸、ヘキサン)は 10 mL 容メスシリンダーで量り、ガラス製パスツールピペットで扱った。精製･脱水の操作方法は以下の通りに行った。さきのアセチル誘導体化物に 4 mol/L 塩酸 0.5 mL を加え、アセチル誘導体化反応を停止させた。次いで、ヘキサンを加え、バイアルの蓋を閉め、手で上下左右に 30 秒間激しく振盪した後、1 分間遠心(3000 rpm＝1692×G)し、試料をヘキサン相(上層)と水相 (下層)に分離させた。ヘキサン相をパスツールピペットでとり、無水硫酸ナトリウムカラムに通して溶出液を 10 mL 容ねじ蓋付きガラス沈澱管に受けた。この操作を計 5 回行った（ヘキサン添加量は 4 回目まで 0.3 mL 、5 回目は 0.5 mL)後、カラムにヘキサンを直接加えてカラムを洗浄し、最終溶出量を約 4 mL とした。

(ｆ) GC/MS 測定用試料の調整

アセチル誘導体化物 (さきのヘキサン相溶液)を窒素気流下で濃縮乾固し、50 µg/L ペリレン-d12 イソオクタン溶液を IIS としてマイクロシリンジにて加え、GC/MS の測定用試料とした。ただし、IIS 定容量は試料濃度に合わせて適宜変更した。試料は GC/MS 測定直前まで-30℃ で保管した。

（2）ステロール類の分析（懸濁態試料）

(ａ) 凍結乾燥

-30℃にて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。

(ｂ) Surrogate の添加と超音波抽出

ろ紙を 100 mL 容量ビーカーに入れ、Surrogate を添加した。Surrogate の種類および添加量は溶存態試料のそれと同じにした。メタノールをろ紙が浸るまで加え、超音波洗浄器(周波数 28 kHz)で 15 分間超音波抽出し、抽出液を別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 で 15 分、ジクロロメタンで 15 分間超音波抽出し、抽出液をそれぞれ、さきのビーカーに集めた。

(c) 抽出液のろ過

抽出液にはろ紙繊維等の残渣が含まれており、以後の分画精製カートリッジにおいて詰まりの原因となるため、抽出液を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/B 25 mm Ø, 粒子保持能 1.0 μm)にてろ過を行った。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。ろ過の操作方法は以下の通りに行った。さきのろ紙抽出液をパスツールピペットで 20 mL 容量の注射筒にのせ、プランジャーでゆっくりと加圧ろ過した。次いでメタノール 5 mL をのせ、プランジャーで加圧し、ホルダーおよびろ紙を洗浄した。ろ液は 100 mL 容ナス型フラスコで受けた。

(d) 分画精製

100 mL 容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、溶存態試料の分画精製操作以下と同様な操作を行った。すなわち、Waters 社, Sep-PaK Plus Sillica カートリッジに、フラスコ内壁の洗液(第 1 画分用溶液)をのせ、分画精製を進めた。

（3）カフェインの分析

(a) 前処理方法

試料（約 200～500mL）をガラス繊維ろ紙（Whatman 社製 GF/F，粒子保持能 0.7μm）を用いてろ過した。ろ液は, 予めメタノール 5mL と希塩酸 10mL でコンディショニングした固相カートリッジ(Waters 社製 Oasis HLB Plus）に通水し、希塩酸で洗浄した後、吸引と遠心分離により固相カートリッジを脱水し、メタノール 5mL で溶出した。メタノール溶出液を濃縮乾固した後、アセトニトリル/水（0.1%ギ酸含有）に再溶解し、遠心分離の上澄み液を LC-MS/MS 測定検液とした。ろ紙上の残渣は、メタノールで超音波抽出し、抽出したメタノール溶液を濃縮乾固した後、アセトニトリル/水（0.1%ギ酸含有）に再溶解し、遠心分離の上澄み液を LC-MS/MS 測定検液とした。

(b) 測定方法

上記前処理による測定検液を LC-MS/MS を用いて測定した。LC-MS/MS 測定条件、MS/MS 測定に必要なイオン化極性（Positive, Negative）、測定イオンおよびコリジョンエネルギーは、予め希釈した各単品標準溶液を用いて決定した。

５．調査結果と考察

５．１　下水試料と河川水試料の指標微生物の実態

指標微生物の調査結果を表－1～3 に示す。試料採取は 4 時間間隔の 24 時間採水あるいは、スポット採水とした。処理水等の採水は流入下水の採水時間から施設滞留時間を考慮した。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･不活化されていたが、放流水と河川水の残留塩素濃度の違いが反映されているようであり、放流水は不検出（N.D.）～9.0cfu/mL であるのに対し上流河川水は数 cfu～200cfu/mL と大きな違いが見られた。なお、放流先河川水量に占める放流水の割合は各年度の平均値で 22～45%となり、3 ヶ年の平均値では 30%であった。

流入下水のクリプトスポリジウムは 1 検体から検出され、その濃度は 5.0oocyst/L であったが、放流水は全て不検出であり検出限界値（分析試料中に 1 oocyst が存在した時の濃度）を 0.01～0.05 oocyst/L としたが検出には至らなかった。下水試料にオーシストが存在していても、これらの濃度レベル以下と推定され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)]でも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、流入下水や放流水の検出濃度･割合が高まると報告されている[8)]。このため、下水処理水のク

リプトスポリジウム対策については、国土交通省から下水道管理者等に周知がなされ、そのリスクへ対応するため下水道管理者は下水処理水の水系リスク管理計画を策定し、放流先の実態等に基づき算出した放流水のオーシスト基準値を超えた場合には、凝集剤の添加や紫外線、オゾン等の必要な対策を講ずることとしている[9)]。なお、下水処理過程におけるクリプトスポリジウムの除去率は活性汚泥処理法で 2log、凝集剤の添加により除去率は3log 向上、流入下水の凝集沈殿法は凝集剤の添加濃度に応じて、1～3log の除去率が得られるとの報告がある[10)]。

放流先の河川水については、A 河川水上下流から 0.42～0.46oocysts/L 検出されたため、上流域においてヒトあるいは家畜からの負荷が存在していることが明らかとなった。前述のとおり、我が国の下水処理場や関東圏内の河川水では、平常時においてクリプトスポリジウムの検出濃度・割合は海外との調査例と比較して低いとの報告もあるが[7)]、上流河川水からはクリプトスポリジウムが最大で 0.46oocysts/L 検出されたことから、排出負荷源を究明し対策を講ずる必要があると考えられた。流域においてブタの畜産が行われている B 河川水では不検出であったが、流域において同様に畜産が行われている河川水からは、降雨に伴う汚濁負荷上昇時において測定試料の全てからオーシストの検出が報告されている[11)]。このため、非定常時の調査による評価も今後必要であると考えられた。

ジアルジアは流入下水の 3 試料から検出され、その濃度は 0.5～5.0 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シストの検出濃度は N.D.あるいは 0.05 cysts/L であった。その他の河川水試料では全て不検出であり、ジアルジアの汚染レベルは低いものと考えられた。

表-１　大腸菌の実態調査結果（20－22年度）

試料＼項目	最小検出濃度(cfu/mL)	最大検出濃度(cfu/mL)	平均残留塩素遊離(mg/L)	平均残留塩素結合(mg/L)	試料採水方法、年月
流入下水	1.2E+04	2.1E+05	－	－	24時間採水;(H21,2月･H22,1月、H23,1月)、スポット採水;H21,11月、H23,2月)
放流水	ＮＤ	9.0E+00	0.03	0.29	
A河川上流	3.5E+00	2.0E+02	0.01以下	0.03	
A河川下流	8.0E+00	1.3E+02	0.01	0.05	

表-２　原虫類の実態調査結果（20－22年度）

項目＼試料	クリプトスポリジウム				ジアルジア				検出限界値範囲(oocysts/L)	試料採水方法、年月
	検体数	検出検体数	検出割合(%)	検出濃度(oocyst/L)	検体数	検出検体数	検出割合(%)	検出濃度(cyst/L)		
流入下水	10	1	10	**5.0**	10	3	30	**0.5－5.0**	0.5－5.0	24時間採水;(H21,2月)、スポット採水;H21,11月、H22,2月、H23,1月2月下流河川除く)
放流水	10	0	0	－	10	1	10	**0.05**	0.01－0.05	
A河川上流	15	1	7	**0.42**	15	0	0	－	0.01－0.05	
A河川下流	8	1	13	**0.46**	8	0	0	－	0.01－0.05	
B河川	1	0	0	－	1	0	0	－	0.05	スポット採水;H23,2月

表-３　ノロウイルスの実態調査結果（20－22年度）

試料＼項目	NVGⅡ最小検出濃度(copies/L)	NVGⅡ最大検出濃度(copies/L)	NVGⅠ最小検出濃度(copies/L)	検出限界値(copies/L)	NVGⅠ最大検出濃度(copies/L)	試料採水方法、年月
流入下水	**2.1E+06**	**5.2E+08**	ＮＤ	9.9E+04	**2.4E+07**	24時間採水;(H21,2月･H22,1月、H23,1月)、スポット採水;H21,11月、H23,2月下流河川除く)
放流水	**8.6E+03**	**5.3E+06**	ＮＤ	3.1E+03	**3.9E+06**	
A河川上流	**5.2E+04**	**1.4E+06**	ＮＤ	6.8E+03	**3.8E+05**	
A河川下流	**4.2E+04**	**1.9E+06**	ＮＤ	6.1E+03	**3.8E+05**	
B河川	**5.3E+04**	**6.1E+04**	ＮＤ	5.2E+03	－	スポット採水;H22,12月H23,2月
C河川	－	**3.6E+06**	－	－	**6.2E+05**	スポット採水;H23,2月

ノロウイルスについては、GⅡの検出濃度は流入下水で 10^6～10^8copies/L レベル、放流水および放流先 A 河川水で 10^4～10^6copies/L レベル、GⅠでは最大検出濃度は流入下水で 10^7copies/L レベル、放流水、A 河川水では 10^5～10^6copies/L レベルで推移していた。一部の試料で GⅠが不検出であったが、その時の検出限界値は流入下水で 9.9×10^4copies/L、放流水では 3.1×10^3copies/L と計算されノロウイルスが存在していても、それらの濃度以下であるものと推定された。検出限界値は 20μL の PCR 反応 tube あたり 1copy と仮定し各々換算濃度を算出した。なお、PCR 反応 tube あたりの実測値が 10 copies 以下の場合には多重測定での変動係数が 100%を超え、測定値のバラツキが大きくなるとの報告があるが[12)]、ほぼ全ての試料で GⅡの実測値は 10 copies よりも高かった。

流入下水、放流水およびその放流先のA河川水では、最大、最小検出濃度で2～3オーダー程度の違いが見られたが、最小検出濃度が得られた調査時期は11月中旬であるのに対し、それ以外では1～2月に調査を実施していることから、季節が異なることでノロウイルスの検出濃度に違いがあることが明らかとなった。また、A河川上流試料からも放流水と同レベルノロウイルスが検出されたことから、河川上流域においても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。流域が異なる畜産系の負荷が推定されるB河川水では、ノロウイルスの検出濃度はGⅡが10^4copies/Lレベルであり、C河川水の検出濃度と比較すると2オーダー程度の違いが見られた。C河川水の流域は浄化槽等の排水負荷が主であることからヒトからの負荷が大きいものと考えられたが、河川流域の負荷源が異なることでノロウイルスの検出状況に違いがあることが明らかとなった。

５．２ ノロウイルス濃度と胃腸炎患者数との関連

毎冬季にはノロウイルスの検出報告数が増加する傾向が見られる[13)]。それに伴い胃腸炎患者数が冬季には増加しており、その全てがノロウイルスに起因するものとは限らないが、大多数を占めるものと推定される。このため、秋季(11月)と冬季（1月）に調査を行った21年度のデータを基に、流入下水のノロウイルス濃度と胃腸炎患者数との関連性を評価した。本調査対象市内（下水処理区域外も含む）とその県内の当該衛生研究所がホームページ上で公表している胃腸炎患者数データを基に、各定点あたりの胃腸炎患者数の推移を整理し図－1に示す。定点あたりの胃腸炎患者数の動向は、対象市内、県内、全国で同様な傾向が示されているが、対象市内については他と比較して低く推移していた。全体的には、初夏から初冬にかけ胃腸炎患者数が少なく、冬季から春季に多くなる傾向が見られた。11月の調査時点における対象市内での胃腸炎患者数は1人以下/定点と少ない状態で推移していたが、流入下水のGⅡ濃度は10^6copies/Lであった。胃腸炎患者が極少数であっても流入下水からノロウイルスが検出されることは、感染しても発症していない不顕性感染者からの排出があるものと推定された。しかし、1月では対象市内の胃腸炎患者数が上昇傾向に転じ、定点あたりの患者数は数人レベルで推移していた。この時の流入下水のGⅡ濃度は10^8copies/Lレベルに上昇していることから、胃腸炎患者数と流入下水のノロウイルス濃度には密接な関係があることが明らかとなった。また、上流河川水でも11月に比較して1月では、GⅡ、GⅠともに検出濃度が上昇したことから、河川上流域における人為的汚染の可能性が示された。下水道の普及割合や普及地域内の胃腸炎患者の存在状況によっても異なるが、胃腸炎患者数が冬季において上昇傾向に転じると流入下水のノロウイルス濃度が上昇することが明らかとなった。

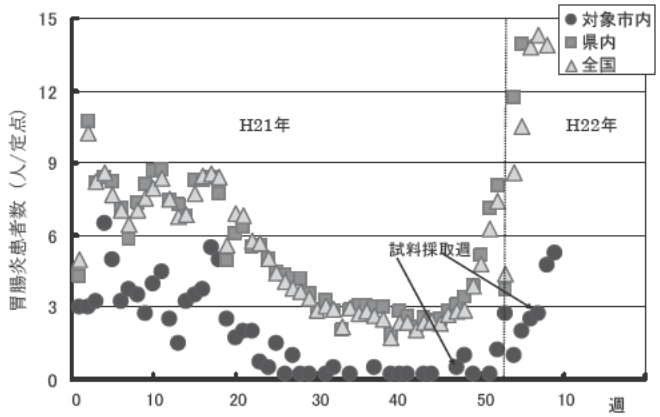


図-１　定点あたりの胃腸炎患者数の推移

５．３ 日間変動調査

ノロウイルス濃度の日間変動調査結果を図－2、3に示す。下水試料のノロウイルス濃度は流入下水でGⅠ、GⅡともに1オーダー程度の変動が見られた。最大検出濃度に対する平均濃度の割合は流入下水で30～60%程度、放流水では50～70%であり、流入下水の平均濃度は最大検出濃度の40%程度、放流水では同様に60%程度であることが明らかとなった。放流水は流入下水と比較すると若干変動幅は小さい。また、調査年度によって流入下

水 GⅡの最大検出濃度が 1 オーダー程度の違いが見られ、流入下水の濃度上昇に伴い放流水や同じ流域内に存在する A 上下流河川水のノロウイルス濃度も同様に上昇していることから、流域内における胃腸炎患者数の影響が反映されているものと推定されるが、GⅠについては調査年度が異なっても最大検出濃度に大きな違いは見られなかった。放流先の A 上下流河川水でも 1 オーダー程度の日間変動が見られたが、最大検出濃度に対する平均濃度の割合は放流水と同様で 60%程度となった。また、下流河川水のノロウイルス濃度は放流水が流入しても大幅な上昇は見られなかった。

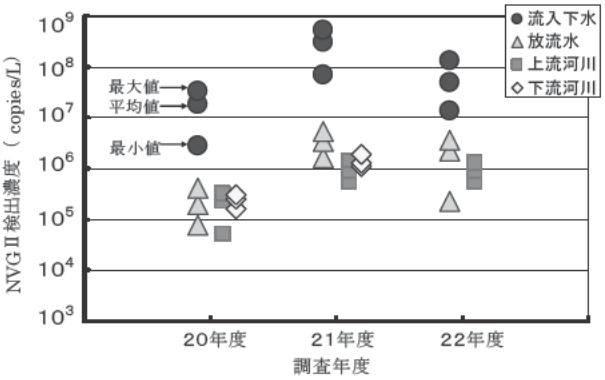


図-2　NVGⅡ濃度の日間変動状況

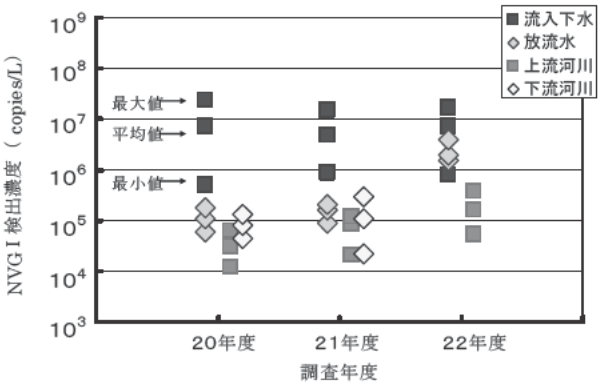
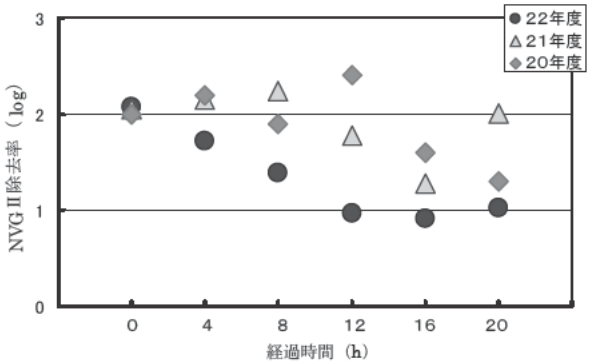
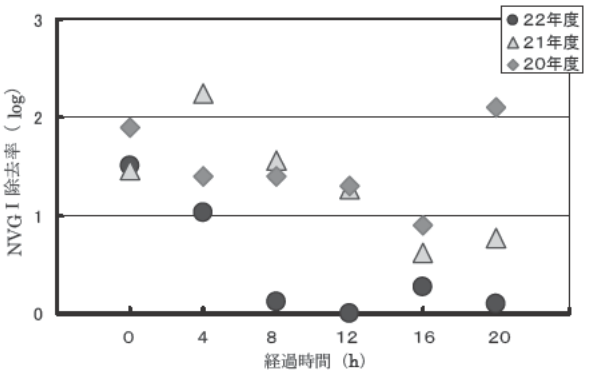


図-3　NVGⅠ濃度の日間変動状況

次いで、図－4、5 には上記の日間変動調査結果から算出した除去率を整理した。活性汚泥処理法によるノロウイルスの除去率は GⅡが 0.9～2.4log、GⅠは 0～2.2log であり、最大で 1 オーダー以上の日間変動が見られた。しかし、最小の除去率が算出された時に利用した流入下水の検出濃度は、日間変動の中で GⅠ、GⅡともに最小の値であり最大検出濃度に対する割合は GⅠでは 2～6%（平均 4%）、同様に GⅡでは 13～22%（平均 17%）であった。このため、低い除去率が得られた要因の 1 つは、流入下水の濃度変動により見かけ上低くなる可能性のあることが推定された。また、各年度の調査結果から得られた除去率を表－4 に示すが、24 時間採水の評価では GⅡが 1.4～1.9log、GⅠが 0.5～1.5log、スポット採水では GⅡが 2.2～2.4log、GⅠが 1.8log であり、全体的に GⅡに比較して GⅠの除去率が低かった。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、GⅠは 0.6～1.6log、GⅡが 1.1～2.1log 程度であり GⅠの除去率が低いとの報告[1)]もある。活性汚泥細菌から分離されたノロウイルス吸着タンパク質の特性を評価した研究事例では、GII. 4 と GI. 1 の間で、そのタンパク質に対する吸着能力の差があることが報告されている[14)]。遺伝子群の違いにより外殻タンパク質のアミノ酸組成が異なると考えられるため、除去率に差が生じたものと推定された。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[15)～17)]によると 1～3log 程度という報告があるが、同一の濃縮法およびカラムへの SS 負荷量を考慮した測定による調査では、標準活性汚泥法の除去率は GⅡが 1.9log、GⅠが 1.4～1.6log、生物学的高度処理法では GⅡが 3log 程度であり[12)]、標準活性汚泥法での調査結果とほぼ一致した値であったが、22 年度の除去率では一部に低い値が見られた。直接の原因は不明であるが、他の水質項目との関連として放流水の SS 濃度とノロウイルス濃度･除去率の関係を整理し図－6、7 に示す。図中の回分実験の値は、H 下水処理場の反応タンクから活性汚泥を 20L 採取し、汚泥を沈降させ 10L の上澄液を除去した後、10L の流入下水を沈降汚泥に添加し 8 時間の曝気混合を行い 1 時間の静置沈殿時間を経て、その上澄液のノロウイルスを定量した結果である。H 下水処理場では 2 つの水処理系統があることから、二次処理水の SS 濃度が低い系統の反応タンクの活性汚泥を利用し回分実験を行った。除去率の算出にあたっては、活性汚泥と同量の流入下水を添加したことから、流入下水のノロウイルス濃度の 1/2 を初期濃度と仮定した。放流水（上澄液）の SS 濃度とノロウイルス濃度･除去率には相関関係が見られ、SS 濃度が低く水処理状況が良好であればノロウイルス濃度も低くなり除去率は高まった。回分実験による評価では、上澄液の SS 濃度が低くノロウイルス除去率も高いことから、実験に利用した活性汚泥のノロウイルス除去能



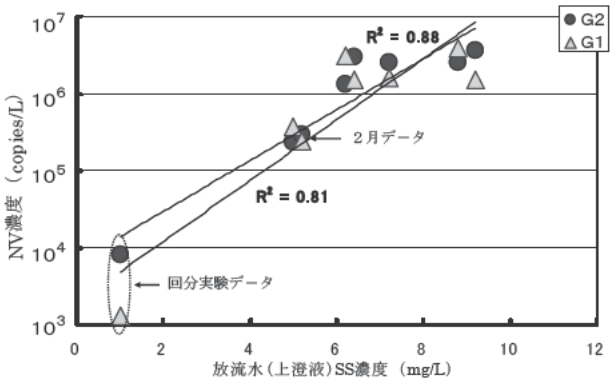
図－4　NVGⅡ除去率の日間変動の推移



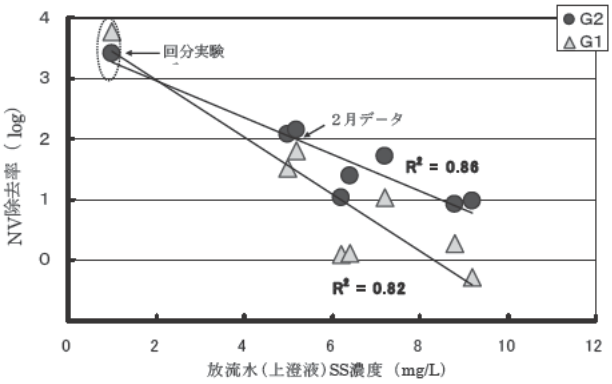
図－5　NVGⅠ除去率の日間変動の推移

表－4　ノロウイルスの除去率

年度＼項目	24時間採水のGⅡ平均除去率(log)	スポット採水のGⅡ除去率(log)	24時間採水のGⅠ平均除去率(log)	スポット採水のGⅠ除去率(log)
20年度	1.9	－	1.5	－
21年度	1.9	2.4	1.3	－
22年度	1.4	2.2	0.5	1.8



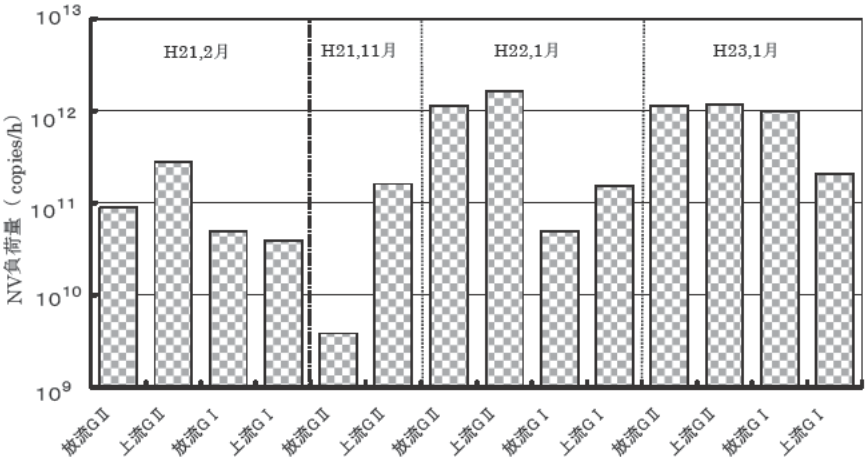
図－6　放流水（上澄液）SS濃度とNV濃度の関係



図－7　放流水（上澄液）SS濃度とNV除去率の関係

力には問題がないと推定されたことから、別系統の水処理状況がノロウイルスの除去に影響を及ぼしている可能性が示された。

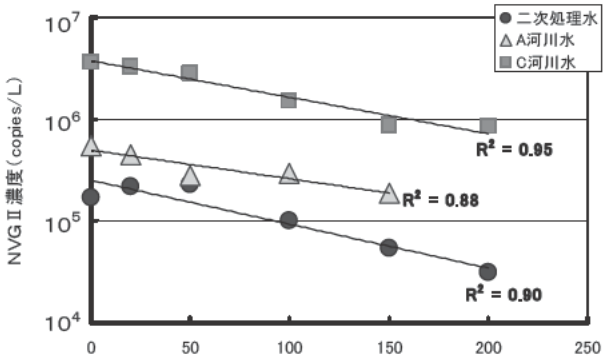
放流先河川水のノロウイルスの検出濃度は上流、下流試料ともGⅡで10^5～10^6copies/Lレベル、GⅠで10^4～10^5copies/Lレベルであり、放流水の流入により下流河川水試料の大幅な濃度上昇は見られなかったが、公共用水域に対する放流水の影響評価のため、各水量と濃度からノロウイルス負荷量を算出し図－8に示す。11月のデータは1試料のみの評価であることや、1部の河川水試料でSS濃度の上昇のため定量結果が得られなかったことから、時間あたりの負荷量として各々比較を行った。H23年1月のGⅠデータを除けば、放流先上流河川水のノロウイルス負荷量は放流水に比較して高いか同程度であることから、浄化槽などからのヒト由来の負荷がある可能性が示された。このため、下水処理場においてノロウイルスが除去されることにより、放流先河川水の検出濃度や負荷量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。また、公共用水域における感染リスクの低減には、下水道のみならず他の施策との連携が必要であることが明らかとなった。



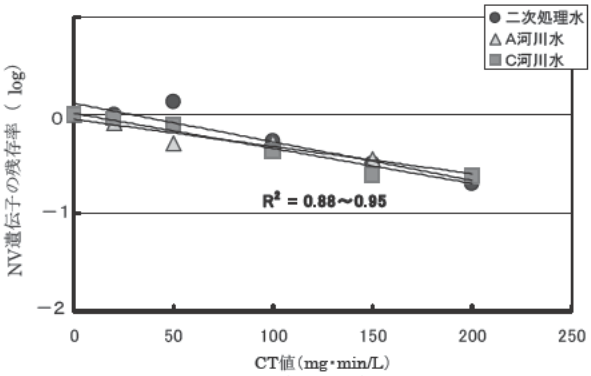
図−８　放流水と上流河川水のNV負荷量

５．４ 塩素消毒によるウイルス遺伝子への影響

塩素消毒によるノロウイルスの不活化効果を推定するため、H 下水処理場二次処理水、A、C 河川水を利用し、CT 値の違いがウイルス遺伝子の検出濃度に及ぼす影響を評価した。次亜塩素酸ナトリウムの添加濃度は 1～10mg/L とし、接触時間の 20 分間を経た後、チオ硫酸ナトリウムで中和を行い分析に供した。評価結果を図−9、10 に示す。試料毎でノロウイルスの検出濃度に最大で 1 オーダー以上の違いが見られ、H 下水処理場の二次処理水が最も低レベルであった。CT 値を高めることでウイルス遺伝子量は減少しており、消毒により一定の不活化効果が得られているものと考えられた。

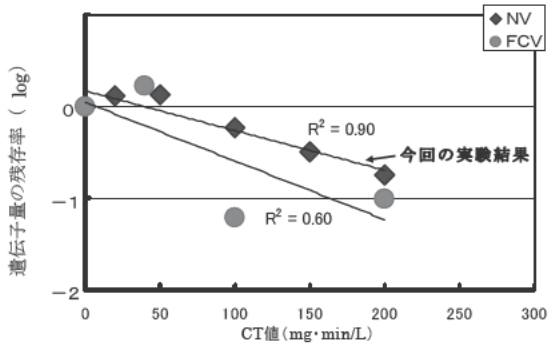


図−９　CT値とNVGⅡ濃度の関係

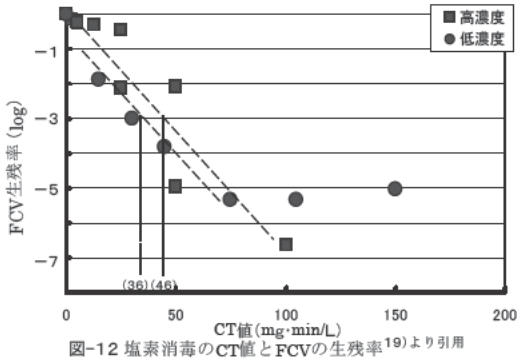


図−１０　CT値と遺伝子残存率の関係

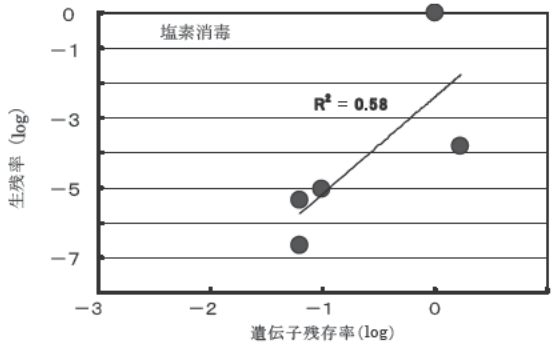
一方、ノロウイルスは細胞培養法などにより増殖させられないため、感染能力の有無を判定できない課題があり、ノロウイルス代替指標としてネコカリシウイルスの適用に関しての提案[18]などがある。図−11 は今回の二次処理水を利用した塩素消毒によるノロウイルスの遺伝子減少量と、他の報告例[19]で示されたネコカリシウイルス（FCV）の遺伝子減少量を整理したものであり、CT 値を高めることでともに遺伝子量の減少効果が認められている。また、図−12 はネコカリシウイルスを用い CT 値とその生残性の関係について示したものであり、50mg･min/L 程度の CT 値を確保することで 3log 以上の不活化率が得られている。その時のネコカリシウイルス遺伝子残存率と生残率の関係を図−13 に示すが、遺伝子量の減少効果が認められることで、それ以上の高い不活化効果が得られている[19]。本調査で得られた各種試料の塩素消毒実験により、ノロウイルス遺伝子量の減少効果が認められたことから、下水処理場における消毒の徹底はノロウイルスの高い不活化効果が期待できるものと推定された。しかし、浄化槽排水等の影響を受ける A、C 河川水では、塩素消毒実験時に利用した原水において残留塩素濃度が検出されなかったことから、ウイルスの不活化効果は低いものと推定される。



図−11 CT値と遺伝子残存率の関係[19]より一部引用



図−12 塩素消毒のCT値とFCVの生残率[19]より引用



図−13 FCVの遺伝子残存率と生残率の関係[19]より引用

５．５ 化学物質マーカー

化学物質マーカーの調査結果を表−5〜8 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 種とし溶存態と懸濁態とした。流入下水の総ステロール類濃度は 490,000ng/L〜980,000ng/L、放流水は 12,000ng/L〜25,000ng/L であり、下水処理による総ステロール類の除去率は 98%であった。また、各試料のステロール類組成から、下水試料のステロール類組成は Cholesterol、Coprostanol、Sitosterol の 3 物質が主体であり、流入下水では検出された総ステロール類の 80〜90%程度、放流水では 70%程度を占めていた。

A 河川水の総ステロール類濃度は、9,000ng/L〜15,000ng/L 程度であった。既存の調査研究例[20]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）より全体的に若干低いことから、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）と考えられた。また、ステロール類の構成割合は放流水と類似しており、Cholesterol、Coprostanol、Sitosterol の 3 物質が 70%程度を占めていた。B、C 河川水の総ステロール類濃度については、41,000ng/L、36,000ng/L であり下水道が普及していない流域であることが推定された。

糞便汚染指標として提案されている Coprostanol /Cholesterol 比[21) 22) 23)]について整理を行ったが、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 0.84〜0.95 と高い値であるが、水域における畜産排水の負荷を示す指標：e/baCOP [epicoprostanol/(coprostanol+cholestanol)]では、0.01〜0.03 と低い値を示した。放流水では b/baCOP は 0.53〜0.77、e/baCOP は 0.06〜0.13 を示した。A 河川水の b/baCOP は 0.44〜0.63、e/baCOP は 0.11〜0.21 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たが、放流水に比べ b/baCOP が若干低く、e/baCOP が若干高いことから、畜産排水の混入も推察された。また、B 河川水でも e/baCOP が高いことから畜産排水の影響を、C 河川水では b/baCOP と e/baCOP がともに放流水と近似した値であることから、処理を受けた生活排水が流れているものと考えられた。

化学物質マーカーの 1 種である Caffeine については、人為汚染のマーカーとして提案されている[24)]。流入下水濃度は 23,000ng/L～54,000ng/L、放流水では定量下限値（19ng/L）～4,200ng/L 程度であり、H 下水処理場における除去率は一部のデータを除けば 99.9%以上と高度に除去されていた。Caffeine はステロール類同様、未処理の流入下水に高濃度に含まれているが活性汚泥処理によりほとんどが除去される。このことから、未処理排水

表−5　化学物質マーカーの測定結果（流入下水）

項目＼採水日	H21、2月	H21、11月	H22、1月	H23、1月	H23、2月
	24時間採水の平均値	スポット採水の値	スポット採水の値	スポット採水の値	スポット採水の値
Coprostanone	1,294	2,245	3,703	1,882	1,586
Coprostanol	184,687	73,448	149,455	151,268	181,269
Epicoprostanol	1,275	2,447	3,270	2,187	1,961
Cholesterol	286,479	208,291	299,998	509,993	526,181
Cholestanol	8,750	14,483	18,410	23,576	17,163
Campesterol	32,131	65,251	88,114	85,021	68,672
Stigmasterol	18,449	21,723	29,862	29,165	27,488
Sitosterol	74,086	90,040	138,617	152,004	143,798
Fucosterol	6,032	5,067	7,239	6,728	5,312
Stigmastanol	5,479	8,325	10,521	12,525	9,050
Total Sterol	**618,662**	**491,321**	**749,189**	**974,351**	**982,481**
b/baCOP	**0.95**	**0.84**	**0.89**	**0.87**	**0.91**
e/baCOP	**0.01**	**0.03**	**0.02**	**0.01**	**0.01**
Caffein	**22,759**	**28,591**	**23,448**	**53,577**	**45,982**

b/baCOP、e/baCOP以外の値はng/L

表−6　化学物質マーカーの測定結果（放流水）

項目＼採水日	H21、2月	H21、11月	H22、1月	H23、1月	H23、2月
	24時間採水の平均値	スポット採水の値	スポット採水の値	スポット採水の値	スポット採水の値
Coprostanone	324	210	339	74	85
Coprostanol	1,396	1,590	3,438	1,791	1,541
Epicoprostanol	157	307	361	196	264
Cholesterol	5,682	5,068	6,500	10,884	8,067
Cholestanol	645	723	1,038	1,609	1,182
Campesterol	1,031	937	1,624	2,119	1,513
Stigmasterol	1,385	1,041	1,175	1,891	1,420
Sitosterol	2,066	1,661	4,757	4,823	2,812
Fucosterol	388	379	548	645	530
Stigmastanol	246	496	640	566	528
Total Sterol	**13,319**	**12,414**	**20,419**	**24,524**	**17,856**
b/baCOP	**0.68**	**0.69**	**0.77**	**0.53**	**0.57**
e/baCOP	**0.08**	**0.13**	**0.08**	**0.06**	**0.10**
Caffein	**232**	**19**	**4,235**	**19**	**47**

b/baCOP、e/baCOP以外の値はng/L

表−7　化学物質マーカーの測定結果（上流A河川水）

項目＼採水日	H21、2月	H21、11月	H22、1月	H23、1月	H23、2月
	24時間採水の平均値	スポット採水の値	スポット採水の値	スポット採水の値	スポット採水の値
Coprostanone	341	151	205	64	70
Coprostanol	611	748	1,558	851	997
Epicoprostanol	146	283	416	205	192
Cholesterol	5,182	3,512	5,806	7,593	5,505
Cholestanol	646	614	904	1,070	823
Campesterol	947	850	1,201	1,233	1,026
Stigmasterol	771	722	1,132	969	1,134
Sitosterol	1,642	1,355	2,272	2,630	2,280
Fucosterol	258	295	584	324	287
Stigmastanol	312	442	687	636	443
Total Sterol	**10,857**	**8,973**	**14,766**	**15,510**	**12,686**
b/baCOP	**0.49**	**0.55**	**0.63**	**0.44**	**0.55**
e/baCOP	**0.12**	**0.21**	**0.17**	**0.11**	**0.11**
Caffein	**1,570**	**377**	**1,244**	**3,857**	**3,366**

b/baCOP、e/baCOP以外の値はng/L

表−8　化学物質マーカーの測定結果（下流A河川水、B、C河川水）

項目＼採水日	H21、2月	H21、11月	H22、1月	H23、2月**B河川**	H23、2月**C河川**
	24時間採水の平均値	スポット採水の値	スポット採水の値	スポット採水の値	スポット採水の値
Coprostanone	307	260	184	74	181
Coprostanol	689	948	1,771	3,134	2,477
Epicoprostanol	156	386	378	580	211
Cholesterol	5,142	4,136	5,339	3,313	20,521
Cholestanol	604	725	830	1,846	1,954
Campesterol	889	1,025	1,077	1,972	2,470
Stigmasterol	858	993	970	21,429	1,457
Sitosterol	1,641	1,646	1,983	4,546	5,327
Fucosterol	254	391	500	1,374	344
Stigmastanol	285	604	568	2,425	598
Total Sterol	**10,824**	**11,114**	**13,600**	**40,620**	**35,539**
b/baCOP	**0.53**	**0.57**	**0.68**	**0.63**	**0.56**
e/baCOP	**0.12**	**0.23**	**0.15**	**0.12**	**0.05**
Caffein	**1,108**	**245**	**1,549**	**326**	**12,571**

b/baCOP、e/baCOP以外の値はng/L

混入の有無を定性的に判断することが可能と考えられる。A 河川水の Caffeine 濃度は 380ng/L～3,900ng/L であり、放流水と比較して全体的に高い値を示しており、未処理排水の混入があることが示唆された。B 河川水では 330ng/L であり人為汚染は少ないが、C 河川水では 13,000ng/L であることから、未処理排水の混入があることが強く示された。これら化学物質マーカーの調査結果から、河川流域等に存在する負荷源の推定を行えることが明らかとなった。

６　まとめ

20～22 年度にかけ公共用水域において下水処理水の流入による指標微生物および化学物質マーカーの変化とそれらの相互関係を把握するため、ある河川を対象に下水処理水の流入前後および下水処理場の流入下水、放流水を対象に調査を行った。また、22 年度には比較評価のため上記河川とは流域が異なる河川についても調査を行った。さらに、塩素消毒によるノロウイルスの不活化効果を推定するため、二次処理水や河川水を利用し、CT 値の違いがウイルス遺伝子の検出濃度に及ぼす影響を評価した。調査結果を以下に示す。

1) 調査対象とした下水試料のクリプトスポリジウム、ジアルジアの汚染レベルは低い状況であった。
2) 下水処理場の上(下)流河川水からクリプトスポリジウムが最大で 0.46oocysts/L 検出されたことから、排出負荷源を究明し対策を講ずる必要があると考えられた。
3) 冬季では秋季と比較すると下水、河川水試料のノロウイルス検出濃度は 2～3 オーダー程度上昇することが明らかとなった。
4) 調査対象流域内における胃腸炎患者数と流入下水のノロウイルス濃度には密接な関係があることが明らかとなった。また、胃腸炎患者数の増加に伴い放流水放流先上流河川水でも検出濃度が上昇していることから、河川上流域における人為的汚染の可能性が示された。
5) 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。
6) 下水処理場においてノロウイルスが除去されることにより、放流先河川水の検出濃度や負荷量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。
7) 公共用水域における感染リスクの低減には、下水道のみならず他の施策との連携が必要であることが明らかとなった。
8) 流入下水や河川水のノロウイルス濃度は胃腸炎患者数の影響を受けるため、下水処理場における流入・流出濃度や放流水が河川水へ及ぼす影響などの適切な評価を行う上で、季節・時間・流量などの変動要因の考慮が重要であることが明らかとなった。
9) 河川流域の負荷源が異なることでノロウイルスの検出状況に違いがあることが明らかとなった。
10) 処理水および河川水を用いた塩素消毒実験により、各試料中のノロウイルス遺伝子量の減少効果が認められたことから、下水処理場における消毒の徹底はノロウイルスの高い不活化効果が期待できるものと推定された。
11) 塩素消毒実験時に利用した浄化槽排水等の影響を受ける河川水は、実験当初に残留塩素濃度が検出されなかったことから、ノロウイルスの不活化効果は低いものと推定された。
12) 化学物質マーカーの調査結果から、河川流域等に存在する負荷源の推定を行えることが明らかとなった。

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。ここに記して謝意を表する。

なお、本調査研究は、環境省からの受託業務費により実施したものである。

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 Res., 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, Environ. Sci. Technol, 36: 4497-4507.

5) 小西千恵他. 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, 43:73-82.

6) 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(2/3):37-44.

7) Suwa, M. and Y. Suzuki. 2001. Occurrence of *Cryptosporidium* in Japan and countermeasures in wastewater treatment plant. Water Sci. Technol. 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. 44:151-160.

9) 国土交通省都市･地域整備局下水道部監修、日本の下水道（平成 15 年）.

10) 諏訪守､鈴木穣.2002.下水処理のクリプトスポリジウム除去効果およびその向上方策､下水道協会誌論文集､39(474): 135-144.

11) 諏訪守、鈴木穣.1999. 汚濁負荷上昇時の河川における原虫類調査、第 2 回日本水環境学会シンポジウム講演集.

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

13) 国立感染症研究所感染症情報センター病原微生物検出情報.

14) 和田圭史、今井崇博、佐野大輔、大村達夫. 2007. 活性汚泥細菌から分離されたノロウイルス吸着タンパク質（Norovirus-Binding Proteines：NoVBPs）の特性評価. 水環境学会誌. 30: 731-736.

15) 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.

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

17) Laverick et al. 2004. Quantitative RT-PCR for the enumeration of noroviruses (Norwalk-like viruses) in water and sewage. Lett. Appl. Microbiol. 39: 127-136.

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

19) 水環境中における病原微生物の消長.2010. 土木研究所資料第 4191 号.

20) 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. p.61-1～61-31.

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

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

23) Laurel J. Standley et al. 2000. Molecular tracers of organic matter sources to surface water resources. Environ. Sci. Technol. 34: 3124-3130.

24) Ignaz J. Buerge et al. 2003. Caffeine, an anthropogenic marker for wastewater contamination of surface waters. Environ. Sci. Technol. 37:691-700.

付録　平成 22 年度　下水道関係刊行報告書一覧

下水汚泥の高効率発酵システムの開発に関する共同研究報告書

共同研究報告書　第 410 号　平成 22 年 10 月
独立行政法人土木研究所
国立大学法人東北大学
株式会社タクマ

要旨

本報告書は、平成 18 年度～21 年度に土木研究所、国立大学法人東北大学、株式会社タクマとの間で実施した共同研究の成果である。本研究では、大幅なエネルギーを投入することなく下水汚泥の有機物分解率が 65%以上の高効率な発酵システムを確立することを目的とし、ラボ実験による微生物反応、発酵槽の最適化とフィージビリティスタディを行った。その結果、汚泥の高濃度化と温度フェーズ消化プロセスを組み合わせた高濃度高効率発酵システムにより目標の有機物分解率を達成し、経済性の向上および CO_2 の削減効果も確認された。

キーワード：下水汚泥、高効率メタン発酵、フィージビリティスタディ、エネルギー生産

土 木 研 究 所 資 料
TECHNICAL NOTE of PWRI
No.4212 November 2011
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