

土木研究所資料

平成25年度下水道関係調査研究年次報告書集

FY2013 Annual Report of Wastewater Management and Water Quality Control

平成26年12月

独立行政法人 土木研究所

Incorporated Administrative Agency  
Public Works Research Institute

Copyright © (2014) by P.W.R.I.

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

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

# 平成25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25年度に独立行政法人土木研究所において実施された下水道に関する調査研究の成果を集約して資料としてとりまとめたものである。

キーワード：下水道、下水処理、高度処理、汚泥、水質浄化、リサイクル

# 目 次

## I リサイクルチーム

		頁
1	下水道革新的技術実証事業一般化検討調査 みずみち棒を用いた重力濃縮技術の導入現状調査	(受託業務費) 1
2	下水道における水系リスク評価と制御技術に関する調査 ウイルスの感染価の推定手法に関する調査	(受託業務費) 3
3	地域バイオマスの資源管理と地域モデル構築に関する研究	(運営費交付金) 7
4	下水道を核とした資源回収・生産・利用技術に関する研究	(運営費交付金) 12
5	低炭素型水処理・バイオマス利用技術の開発に関する研究	(運営費交付金) 22
6	水環境中における病原微生物の対策技術の構築に関する研究	(運営費交付金) 28
7	開発途上国における都市排水マネジメントと技術適用に関する研究	(運営費交付金) 36
8	再生水利用の安全リスクに関する研究	(運営費交付金) 40
9	震災時の機能不全を想定した水質リスク低減手法の構築に関する研究	(運営費交付金) 48
10	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) 52
11	有効な肥料資源の保全方法と下水汚泥燃焼方法の検討	(農水省実用技術開発事業) 55

## II 水質チーム

12	下水道における最適ナリスク評価手法と対策技術の構築に向けた検討 業務	(受託業務費) 57
13	流域スケールで見た物質動態特性の把握に関する研究(2)	(運営費交付金) 63
14	土地利用や環境の変化が閉鎖性水域の水質・底質におよぼす影響に 関する研究	(運営費交付金) 70
15	水環境中における未規制化学物質の挙動と生態影響の解明	(運営費交付金) 77
16	下水処理プロセスにおける化学物質の制御技術に関する研究	(運営費交付金) 82
17	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) 88
18	水生生物に蓄積している未規制化学物質の実態の解明に関する研究	(運営費交付金) 140
19	魚類の繁殖・稚魚の生育試験による下水処理水の安全性評価に関する 研究	(運営費交付金) 146
20	微量金属を対象とした藻類抑制手法の提案	(運営費交付金) 152
21	亜酸化窒素の水環境中動態に水質が与える影響に関する研究	(運営費交付金) 155
22	レポータージーンアッセイを用いた再生水の安全性評価に関する研究	(運営費交付金) 163
23	21世紀型都市水循環系の構築のための水再生技術の開発と評価 (バイオモニタリング)	(戦略的創造研究推進事業) 169

付録	平成25年度 下水道関係刊行報告書一覧	177
----	---------------------	-----

\*受託業務費とは、国土交通省からの受託によるものである。

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

## I. リサイクルチームによる研究

# みずみち棒を用いた重力濃縮技術の 導入現状調査

リサイクルチーム 上席研究員  
主任研究員

津森 ジュン  
日高 平

## 1. はじめに

重力濃縮法は、下水処理場における汚泥処理工程として一般的な手法であり、機構・構造がシンプルで消費動力が非常に少ないという特長を有している。重力濃縮効率を向上させる「みずみち棒」(図-1)が土木研究所により開発されており、その技術資料集(案)が公表されている<sup>1)</sup>。2014年3月現在、みずみち棒は全国10市町、11カ所の下水処理場に導入されており、現場でのデータも蓄積しつつある<sup>2)</sup>。そこで、今後のみずみち棒の普及展開の一助とするために、担当者へのアンケートやヒアリングなどにより、導入効果の有無および導入現場での課題や現状について調査した。

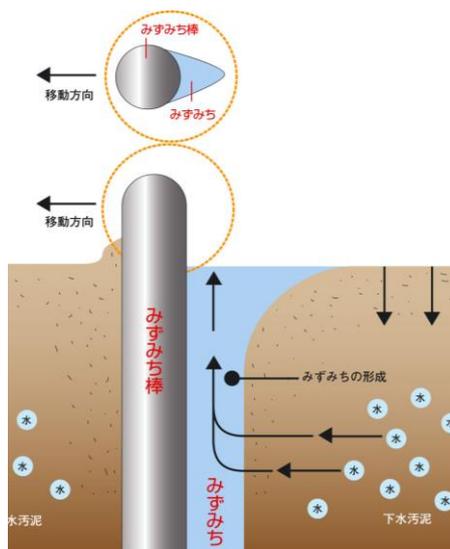


図-1 みずみち棒の効果の模式図

## 2. 本調査の成果

導入自治体10団体へのアンケート調査での、導入効果についての回答数を図-2に示す。みずみち棒導入による効果が見られているとの回答は7団体からあり、高濃度化(4件)、引抜汚泥量の削減(3件)、メタン生成の向上(1件)といった定量的な効果以外に、スカムの減少(2件)、臭気減少(1件)といった定量しにくい効果も挙げられた。小規模施設では、流入変動による影響を受けやすいものの、みずみち棒導入後には濃縮状況が安定するといった効果も挙げられた。数値化しにくい効果は曖昧になりがちだが、現場担当者からの声として多く聞かれたので、こうした効果を客観的に評価する手法の提示も今後の課題である。効果が見られない理由としては、汚泥性状が異なることおよび新規導入であることが挙げられた。

維持管理上の問題としては、ほとんどがないとの回答であったものの、し渣が絡まるので定

期的な洗浄が必要（1件）、および夏場の濃縮効率低下（1件）が挙げられた。し渣が含まれている場合は5年に1回程度の洗浄が必要であるのに対して、スクリーンで対象汚泥を処理している場合は定期的な洗浄が不要であるとのことであった。

運転管理として、みずみち棒の回転数の制御、汚泥界面の管理、投入汚泥の希釈などの工夫がなされている場合がある。濃度向上効果は、みずみち棒導入によるものだけでなく、汚泥性状の変化、運転条件の設定など現場での工夫および努力に寄るところも大きいと考えられる。一方、担当者が変わり以前の運転条件を踏襲しているという場合もあった。このような場合、汚泥性状などが変わり最適条件が変化している可能性もあり、さらなる効率化の可能性も考えられる。

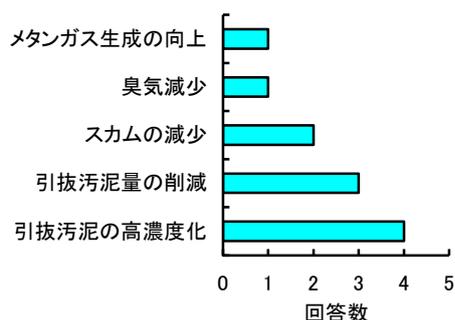


図-2 アンケート調査でのみずみち棒導入効果の回答数

#### 謝辞

本調査を行うにあたり、地方自治体関係各位の協力を得ております。ここに記して、謝意を表します。

#### 参考文献

- 1) 土木研究所リサイクルチーム：汚泥重力濃縮槽におけるみずみち棒導入に関する技術資料集（案）ver. 2.0, 2011. [http://www.pwri.go.jp/team/recycling/mizumichi\\_qa\\_ver.2.0.pdf](http://www.pwri.go.jp/team/recycling/mizumichi_qa_ver.2.0.pdf) (2014年3月31日現在)
- 2) 浅井圭介, 宮本豊尚, 日高平, 岡本誠一郎, 内田勉：みずみち棒導入による重力濃縮の効率向上, 下水道協会誌論文集, Vol. 50, No. 603, pp. 119-124, 2013.

## ウイルスの感染価の推定手法に関する調査

研究予算：受託経費（下水道事業調査費）

研究期間：平 25

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：津森ジュン、諏訪守、安井宣仁

### 【要旨】

現状においてノロウイルスの検出定量には、リアルタイム RT-PCR 法が用いられている。その濃度指標はノロウイルス遺伝子の一部を変換した DNA 断片であり、ノロウイルス遺伝子量の約 7,500bp の内、90bp 程度のみの領域を対象としているが、下水処理場で多用されている塩素消毒がノロウイルスの感染価に及ぼす影響の把握が困難な状況である。本調査は、ノロウイルスの感染価に及ぼす影響をより詳細に把握できる手法の評価を目的に、標的遺伝子の増幅域を拡張した遺伝子定量法を検証した。検証では、代替ウイルスとして MS2 ファージを利用した塩素消毒実験を行い、増幅域を拡張した標的遺伝子を RT-PCR 法により定量することで、その定量値と実際の感染価の関係を明らかにした。その上で、塩素消毒によるノロウイルスの遺伝子減少量を標的遺伝子の増幅域を拡張した RT-PCR 法で定量し、MS2 ファージの評価結果と比較することで、ノロウイルス感染価の推定手法の構築を試みた。

キーワード：塩素消毒、ノロウイルス感染価、ファージ、水系リスク

### 1. はじめに

下水道普及率の向上に伴い下水処理水量は年間 140 億  $m^3$  に及び、安定した水資源としてさらなる再利用方を構築することで有用な水資源となり得る。現在、下水処理水の再生利用を行う上での基準に関しては、再生水水質基準マニュアル（案）のもと、水質基準や施設基準等が提示されている。衛生学的な安全性を評価するため、現状では大腸菌（群）を中心に管理が行われているが、病原微生物の知見の集積により、ウイルス、原虫といった病原微生物が関与した水系リスクの課題が生じてきている。ふん便汚染としては大腸菌（群）指標を活用することで評価が可能と考えられるが、各病原微生物間で消毒耐性や存在濃度が異なるため、下水処理工程としての消毒プロセスを経た水質評価は困難となる。特に、ノロウイルスは細胞培養法による感染価の測定が不可能である課題を有することから、消毒プロセスによる水系リスクの確実な低減効果が評価できない。冬季における感染性胃腸炎の大流行に際し、感染者から排出されるノロウイルスによる水系感染症拡大が懸念されることから、下水道管理者に対し国土交通省は、処理水の消毒を適正に行うなど、終末処理場における水質管理の徹底を図るよう通達を行っている。しかしながら、消毒プロセスでのノロウイルス感染価の低減効果を評価できないことから、目標とすべき消毒レベルの設定が困難である課題が生じている。

本調査では上記の課題を踏まえ、下水処理場で多用されている塩素消毒がノロウイルスの感染価に及ぼす影響

把握を目的に、その評価手法の適用性について検証した。検証にあたっては、代替ウイルス利用による実際の感染価と比較することで、最適な感染価の推定手法の構築に向けた評価を行った。その上で、塩素消毒によるノロウイルス遺伝子減少量を標的遺伝子の増幅域の拡張に基づき評価した結果と、代替ウイルス利用による評価結果との比較により、ノロウイルス感染価の推定手法の構築を試みた。

本調査結果は、水系リスクの低減技術の適正な評価に繋がることから、放流水や再生水の水系リスク低減に資することができる。

25 年度は下記の 1)、2) の項目について実施した。

- 1) 代替ウイルス利用による評価
- 2) 塩素消毒によるノロウイルス遺伝子減少量の評価

### 2. 調査目的および方法

#### 2.1 代替ウイルス利用による評価

代替ウイルス利用による評価では、大腸菌に感染するファージ（細菌性ウイルス）の遺伝子減少量と実際の感染価の関係を明らかにし、ノロウイルス感染価の推定手法の構築に向けた評価を行う上での比較データを得ることを目的に実施した。

大腸菌ファージは人体に対し感染・病原性を発現することがなく、取り扱いや検出方法も比較的容易であることから、水系ウイルスの代替指標として利用されている。ウイルスの衛生学的な代替指標とする以外に、ふん便汚染指標や検出されたファージの種からヒトあるいは動物

由来の判定により、排出負荷源の特定手法として利用されている例がある<sup>1)</sup>。

本評価では、大腸菌ファージの1種であるMS2ファージ(NBRC 102619)を利用した。具体的評価方法は、A下水処理場の二次処理水に高濃度に調整したMS2ファージを添加し、その処理水を塩素消毒し消毒前後におけるMS2ファージの濃度(感染価)変化を重層寒天法<sup>2)</sup>にて、増幅域の拡張に応じた標的遺伝子量の変化をRT-PCR法によるMPN法(3段階希釈)にて測定を行った。MS2ファージの感染価測定および高濃度増殖のための宿主菌は、*E.coli* K12(F+)株(NBRC 106373)を利用した。RT-PCR法における増幅域を拡張するためのMS2ファージのプライマーの塩基配列は、Yasuiらの設計例<sup>3)</sup>を参考にした。また、標的遺伝子の増幅域は段階的に約100bp~1,000bpとした。

塩素消毒条件は、2Lの反応容器にてA下水処理場の活性汚泥処理水1Lに高濃度に精製したMS2ファージを添加、次亜塩素酸ナトリウム濃度を1.5、5mg-Cl/L、接触時間を20分間とし、Ct値(次亜塩素酸ナトリウム添加濃度×接触時間)を0~100mg-Cl・min/Lとした。

## 2.2 塩素消毒によるノロウイルス遺伝子減少量の評価

リアルタイムRT-PCR法によりノロウイルスの検出定量が行われているが、その濃度指標はノロウイルス遺伝子の一部を変換したDNA断片であり、ノロウイルス遺伝子量の約7,500bpの内、90bp程度を標的遺伝子としている。本評価では、ノロウイルスの感染価に及ぼす影響をより詳細に把握できる可能性の評価を目的に、標的遺伝子の増幅域を拡張した遺伝子定量法を検証した。

標的遺伝子の定量は、増幅域を段階的に約100bpから1,000bp程度に拡張したRT-PCR法によるMPN法(3段階希釈)とした。RT-PCR法におけるノロウイルスGIIのプライマーの塩基配列を表-1に示すが、GII Sydney株とGII UK株の双方が検出可能、かつその他のGII株も広く検出できるよう新たに設計したものである。GII Sydney株は、近年の感染性胃腸炎の原因ウイルス種として多くを占めているという報告<sup>4) 5)</sup>があり、また、GII UK株は、従来からの感染性胃腸炎の原因ウイルス種であることから、下水中に存在する優占種と考え対象ウイルス株として選定しているものである。

塩素消毒実験は、安定した定量値を得るため感染性胃腸炎の流行時期である2月にA下水処理場の二次処理水を採水し利用した。その処理水を塩素消毒し消毒前後に

表-1 増幅域に応じたプライマーの塩基配列  
(Sydney株とUK株が検出可能)

プライマー名称	増幅域	塩基配列
JX459908&X86557-94bp-F	94bp	5' GAG CCA ATG TTC AGRITGG ATG AG 3'
JX459908&X86557-94bp-R	94bp	5' CGA CGC CAT CTT CAT TCA CA 3'
JX459908&X86557-179bp-F	179bp	5' AYG TAA TTG ACC CCT GGA TTA G 3'
JX459908&X86557-179bp-R	179bp	5' CAC TTC AAA ACC ACC TGC AT 3'
JX459908&X86557-308bp-F	308bp	5' CACACTCCCAAAGACCCATACA 3'
JX459908&X86557-308bp-R	308bp	5' TCC ARA GCC ATA ACC TCA TTRITG AC 3'
JX459908&X86557-477bp-F	477bp	5' GGG CCA ACA AAA YGT AAT TGA CC 3'
JX459908&X86557-477bp-R	477bp	5' CGRCA GARACT GTG AAG ACA TC 3'
JX459908&X86557-676bp-F	676bp	5' GTC AAYAAT GAG GTT ATG GCT YTG GA 3'
JX459908&X86557-676bp-R	676bp	5' CCA AAG GAA TGG GGAATC TTG AAT 3'
JX459908&X86557-958bp-F	958bp	5' CACACTCCCAAAGACCCATACA 3'
JX459908&X86557-958bp-R	958bp	5' CCA AAG GAA TGG GGA ATC TTG AAT 3'

おけるノロウイルスGII遺伝子量を測定した。塩素消毒条件は、2Lの反応容器にて二次処理水に次亜塩素酸ナトリウム濃度が1.5、5mg-Cl/Lとなるよう添加し、接触時間を20分間とした。

## 3. 調査結果および考察

### 3.1 代替ウイルス利用による評価

塩素消毒によるMS2ファージの感染価の低減効果と、増幅域の拡張に応じた標的遺伝子量への影響評価結果を図-1に示す。Ct値が100mg-Cl・min/Lにおけるの不活化率は0.7logであり、Ct値を高めることで不活化効果が向上した。衛生学的指標として利用されている大腸菌の場合では、遊離塩素のCt値が0.09±0.003mg-Cl・min/L程度で3logの不活化効果が報告<sup>6)</sup>されていることから、MS2ファージは大腸菌に比較して非常に塩素消毒耐性が高いことが分かった。

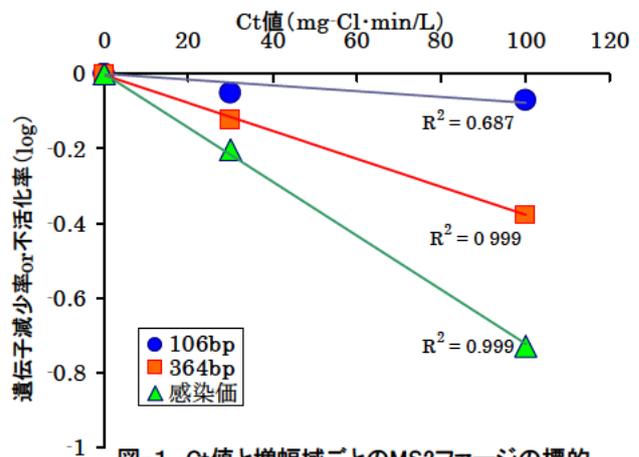


図-1 Ct値と増幅域ごとのMS2ファージの標的遺伝子減少率と不活化率

標的遺伝子の増幅域を拡張した評価では、増幅域を約100bp~1,000bpの4通りとしが、安定的な定量結果が得られたのは106bpと364bpであった。一方で増幅域を拡張させることにより遺伝子減少率が大きくなり、重層寒天法による感染価の評価結果に近づいたものとなった。従来のRT-PCR法による遺伝子の定量結果と重層寒天法

での感染価では、同一消毒条件によっても乖離した評価結果であったが、増幅域を拡張した RT-PCR 法では、実際の感染価に近づく値が得られることが確認された。標的遺伝子の増幅域を拡張した RT-PCR 法は、実際の感染価に近づく評価が得られたが、増幅域の拡張量を約 600bp, 1,000bp とした場合、安定した定量結果が得られなかった。

今後、試料の前処理・精製条件などを改善し、より増幅域を拡張した定量が行えれば、実際の感染価に近似できるものと考えられた。

### 3.2 塩素消毒によるノロウイルス遺伝子減少量の評価

標的遺伝子の増幅域を拡張した RT-PCR 法による塩素消毒前試料のノロウイルス濃度を図-2 に示す。増幅域を 94~958bp 間の 6 通りで測定を行ったが、958bp のみ定量値が得られなかった。また、増幅域の拡張量に応じて検出濃度の低下が見られ、676bp では 94bp に比較して 0.4% 程度の濃度となった。検出濃度の低下要因としては、試料中におけるウイルス遺伝子の存在形態の影響、あるいは逆転写反応の阻害、また、それらの複合要因などが推定されるが、今後、検出濃度の低下要因の詳細な解明、さらには、試料の前処理・精製条件などの改善を含めた評価が必要と考えられた。

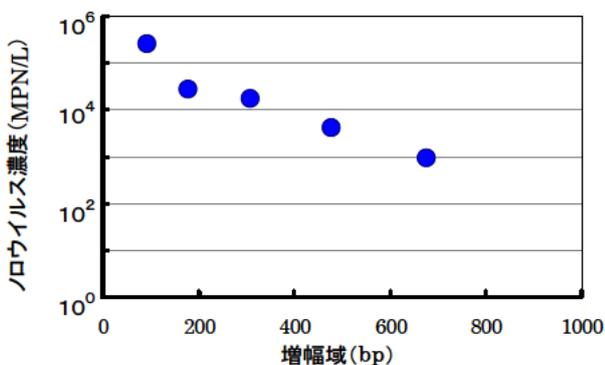


図-2 標的遺伝子の増幅域ごとのノロウイルス検出濃度

図-3 は塩素消毒による Ct 値と増幅域ごとのノロウイルス遺伝子減少率を示したものである。評価した増幅域は 94~676bp 間の 5 通りとなった。増幅域が 94bp では、Ct 値を 100mgCl・min/L と高めても遺伝子減少率は 1.0log 程度であったが、増幅域を拡張することで Ct 値の高まりとともに遺伝子の減少率は大きくなり、増幅域が 676bp において 2.0log 程度となった。上記 3.1 の代替ウイルスを利用したファージの評価結果においても増幅域を拡張した RT-PCR 法では、実際の感染価に近づく値が得られることが確認されており、ノロウイルスにおいて

も増幅域を拡大した RT-PCR 法を適用することで、塩素消毒による感染価の低減効果が評価できるものと考えられた。また、増幅域を 958bp とした結果が得られれば、実際の感染価により近似した評価となる可能性があることから、増幅域の拡張に伴う検出感度の向上は、今後の課題であると考えられた。

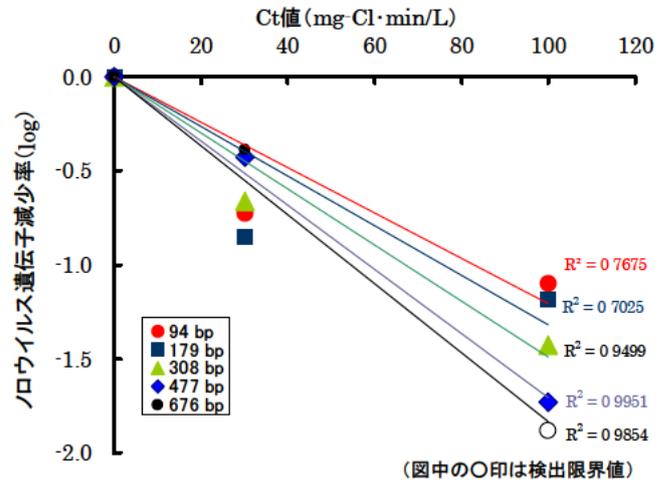


図-3 Ct値と増幅域ごとのノロウイルス遺伝子減少率

一方、既存の研究において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<sup>7)</sup>があり、ノロウイルスの不活化効果を推定するため塩素消毒によるネコカリシウイルス遺伝子減少率と実際の感染価を評価した例がある。その結果によれば、1log 程度の遺伝子減少率が得られることで感染価は 5~7log 程度低下することが報告されている<sup>8)</sup>。

従来のリアルタイム RT-PCR 法によるノロウイルスの定量法では、標的遺伝子の増幅域を約 100bp で行っており、二次処理水の塩素消毒により Ct 値を高めることでノロウイルス遺伝子への影響を評価した例がある。今回の標的遺伝子の増幅域を拡張した RT-PCR 法による結果と比較して、ノロウイルス遺伝子の減少効果は小さいが Ct 値と遺伝子減少率との関係が見出されており、一定の不活化効果が得られているとの推測しかできなかった<sup>9)</sup>。

本評価では、RT-PCR 法による標的遺伝子の増幅域を拡張することで実際の感染価に近づく値が得られたことが既存の研究結果との大きな違いである。具体には、MS2 ファージの塩素消毒による感染価と RT-PCR 法での遺伝子減少率の関係を評価したが、増幅域を拡張した RT-PCR 法では、実際の感染価に近づく値が得られることが確認された。その上でノロウイルスでも増幅域の拡張にともない塩素消毒による遺伝子減少率が高まる傾向

が示された。これまで従来のリアルタイム RT-PCR 法での遺伝子減少率により消毒による不活化効果を推定していたが、それらは過小評価である可能性が高いと考えられた。また、代替ウイルスとして MS2 フェージを用いた際、塩素消毒による不活化の傾向はノロウイルスと同様であったが、遺伝子減少率はノロウイルスで 308bp の場合約 1.5log、MS2 フェージでは 364bp で約 0.4log と大きな違いが見られた。このため、ノロウイルスと比較して MS2 フェージは塩素耐性が非常に高いことが推定されることから、適正なノロウイルスの不活化効果を評価するために、他の代替指標を利用したデータのさらなる蓄積が必要であると考えられた。

#### 4. まとめ

本調査では、下水処理場で多用されている塩素消毒がノロウイルスの感染価に及ぼす影響把握を目的に、その評価手法の適用性について検証した。検証にあたっては、代替ウイルス利用による実際の感染価と比較することで、最適な感染価の推定手法の構築に向けた評価を行った。その上で、塩素消毒によるノロウイルス遺伝子減少量を標的遺伝子の増幅域の拡張に基づき評価した結果と、代替ウイルス利用による評価結果との比較により、ノロウイルス感染価の推定手法の構築を試みた。得られた結果を以下に示す。

##### 「代替ウイルス利用による評価」

- 1) MS2 フェージの塩素消毒による評価により、標的遺伝子の増幅域を拡張した RT-PCR 法では、実際の感染価に近づく値が得られることが確認された。

##### 「塩素消毒によるノロウイルス遺伝子減少量の評価」

- 2) ノロウイルスでも標的遺伝子の増幅域の拡張にともない、塩素消毒による遺伝子減少率が高まる傾向が示された。
- 3) 標的遺伝子の増幅域の拡大量に応じて検出濃度が低下する傾向が見られた。

今後の課題として、標的遺伝子の増幅域の拡大量に応じて検出濃度が低下する傾向が見られたことから、その要因の解明が必要である。また、他の代替ウイルス利用によるデータを蓄積することで信頼性の向上を図るとともに、塩素消毒に加え導入実績が増加傾向にある紫外線消毒による評価が必要と考えられる。

#### 謝辞

本調査を実施するにあたり A 下水処理場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。

#### 参考文献

- 1) 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、平成 20 年度環境保全研究成果集。
- 2) 下水試験方法、(公社) 日本下水道協会。
- 3) Yasui N, Sakurai K, Okamoto S and Suwa M, Inactivation Evaluation Method for Norovirus by Chlorine disinfection of Sewage Treatment, 16th International Symposium on Health-Related Water Microbiology in Rotorua, 2011.
- 4) 青木里美 他(2013)、2012/2013 シーズンに検出されたノロウイルス GII.4 の分子疫学的解析、第 61 回日本ウイルス学会学術集会プログラム・抄録集、pp258.
- 5) 田中智之 他(2013)、大阪府における 2012/13 シーズンのノロウイルス集団感染の実状、第 61 回日本ウイルス学会学術集会プログラム・抄録集、pp381.
- 6) 佐野大輔、植木洋、渡部徹 (2006)、水中病原ウイルスによる水環境汚染の実態、モダンメディア、52 巻 4 号、pp.115-124.
- 7) Antimicrobials Division U.S.EPA, CONFIRMATORY VIRUCIDAL EFFECTIVENESS TEST, Using Feline Calicivirus As Surrogate for Norovirus.
- 8) 土木研究所資料第 4212 号、平成 22 年度下水道関係調査研究年次報告書集。
- 9) 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、平成 22 年度環境保全研究成果集。

## 地域バイオマスの資源管理と地域モデル構築に関する研究

研究予算：運営費交付金

研究期間：平 23～平 27

担当チーム：材料資源研究グループ（リサイクル）

研究担当者：津森ジュン、日高 平、桜井健介、  
堀尾重人、王 峰

### 【要旨】

社会資本のグリーン化に向け公共緑地で大量に発生する刈草の有望な利用方法の一つとして考えられる下水処理場での嫌気性消化技術導入に必要な基礎的知見を収集するために、刈草と下水汚泥の中温および高温混合嫌気性消化に関する連続式実験および回分式実験を行った。その結果中温条件下より高温条件下でのメタン転換率が高く、刈草のメタン転換率はVS ベースで  $0.19 \text{ L CH}_4/\text{g VS}$ ・刈草程度であることが示された。80°C程度の超高温処理を組み込むことで、20～30%程度メタン転換率の高まることが示された。また、刈草の処理シナリオの温室効果ガス排出量の算定手法を開発するため、バイオガス化シナリオのパラメーターを精査するとともに、検討処理シナリオとして野焼きを追加した。さらに、刈草の性状や発生重量の変動が計算結果に与える影響を評価した。

キーワード：刈草混合消化、高温メタン発酵、インベントリ分析、温室効果ガス

### 1. はじめに

本研究は、公共緑地等バイオマスを資源として位置づけ、恒久的に利用していくための要素技術やシステムを提示することが目的である。平成 25 年度は、提示にあたり、刈草と下水汚泥の中温および高温混合嫌気性消化実験を行うとともに、超高温処理の可能性を検討した。また、刈草の各種の処理による温室効果ガス排出量の算定手法の構築を目指し、バイオガス化シナリオのパラメーターを精査するとともに、シナリオに野焼きを追加した。さらに、刈草の性状や発生重量の変動が計算結果に与える影響を評価した。

### 2. 刈草と下水汚泥の中温および高温混合嫌気性消化に関する実験

#### 2.1 目的

公共緑地等バイオマスの有望な利用方法の一つとして下水処理場での嫌気性消化が考えられ、新潟市での検討事例も報告されている<sup>1)</sup>。刈草については、特殊な前処理を行わなくても裁断のみで、ある程度のメタン転換が期待できることが、中温（35°C）条件下での混合消化について示されており<sup>2)3)</sup>、また昨年度には高温（55°C）条件下での実験を行った<sup>4)</sup>。しかしながら、これらの知見は時期や用いた材料が異なり、同一条件下での中温および高温混合消化について、単純には比較できない。また、

メタン転換率向上のための前処理手法として、土木研究所では木質系バイオマスを対象とした蒸煮・爆砕の技術を開発してきており、その適用性が示されている<sup>5)6)</sup>ものの、200°C以上での処理となり、要するエネルギーや費用の点が課題である。一方、70～80°C程度での超高温処理を組み込むことによるメタン発酵の効率化が、廃熱の活用手段として着目されており、下水汚泥および生ごみ<sup>7)</sup>、コーヒー滓<sup>8)</sup>、生分解性プラスチック<sup>9)</sup>などの種々の有機性廃棄物の嫌気性消化への適用性が報告されている。紙ごみに対する効果も報告されている<sup>10)</sup>ことから、比較的簡単な前処理として、刈草に対する効果が期待できるものの、検討事例は報告されていない。

そこで本年度は、刈草と下水汚泥の中温および高温混合嫌気性消化実験を行い、その比較を試みた。また、80°Cでの超高温前処理の効果を、回分式実験で調査した。

#### 2.2 実験方法

##### 2.2.1 連続式実験

用いた下水汚泥および刈草の性状を表 1 に示す。下水汚泥は、汎用性を示すために昨年度とは異なる下水処理場の混合汚泥を用いた。標準活性汚泥法を採用している都市下水処理場であり、汚泥性状や嫌気性消化特性は一般的な範囲内である<sup>11)</sup>。混合汚泥の固形物（TS）濃度は2%程度であるので、実験室での遠心分離操作により、4%程度まで濃縮した。刈草は、昨年度と同様に土木研究所

内で採取し、10 mm 程度に裁断した。

連続実験の運転条件を表2に示す。中温および高温での混合消化運転を、それぞれ反応器RMおよびRTで行った。投入基質は、刈草および下水汚泥を有機物(VS)ベースで1:2の割合で混合した。植種汚泥には、昨年度から培養してきた消化汚泥を用いた。また、中温および高温での下水汚泥のみの消化運転を、それぞれ反応器RCMおよびRCTで行った。これらの反応器では、水理的滞留時間(HRT)を42 dとして、投入下水汚泥のVS負荷率をそろえた運転を設定した。基質投入および消化液の引抜操作は、平日1日1回の頻度で手動にて行った。

### 2.2.2 回分式実験

超高温処理の効果を確かめるための回分式実験を、高温条件下で行った。消化汚泥 1.89 gVS に対して、下水汚泥および刈草の混合物を、処理時間 0、1、2、3、4、および5日間80°Cで超高温処理した基質0.5 gVSを投入した。それぞれの実験は3ケースずつ行った。用いたバイアルの容積は130 mLで、消化汚泥、下水汚泥および刈草を投入後イオン交換水で100 mLにそろえた。そして、窒素ガスで3分間ヘッドスペースを置換し、恒温振とう器にて培養しながら、メタンガス発生量の経時変化を測定した。

表1 下水汚泥および刈草の性状

	単位	下水汚泥	刈草
pH	—	5.64 ± 0.05	—
TS	%	4.0 ± 0.7	29.1 ± 1.1
VS	%	3.4 ± 0.6	26.8 ± 1.1
T-CODcr	g/L	63.4 ± 9.7	—
T-CODcr	g/g-VS	—	1.36 ± 0.02
C	% (dry)	44.4 ± 0.0	42.3 ± 0.4
H	% (dry)	6.72 ± 0.38	6.10 ± 0.46
N	% (dry)	5.34 ± 0.32	1.10 ± 0.57
脂質	% (dry)	6.07 ± 0.65	2.21 ± 0.40
炭水化物	% (dry)	39.2 ± 2.1	60.9 ± 8.7
タンパク質	% (dry)	30.1 ± 0.1	7.4 ± 0.9

表2 連続式実験の設定条件

	RM	RCM	RT	RCT
HRT (d)	42	42	42	42
温度(°C)	35	35	55	55
VS負荷率(g(L-d))	1.2 ± 0.2	0.7 ± 0.2	1.2 ± 0.1	0.7 ± 0.2
草:下水汚泥(VS比)	1.2	—	1.2	—

### 2.2.3 分析方法

汚泥性状の分析は、主として下水試験方法に従って行った。なお、CODcr および有機酸は吸光光度計(DR2400、HACH)により分析し、その際にはそれぞれCODcr 試薬(HR) および有機酸試薬(TNT872)を用いた。アンモニアの分析は自動比色分析装置(TRAACS2000、BRAN LUEBBE)を用いた。CHNの分析は、元素分析計(FALSH EA1112、アムコ)を用いた。脂質はソックスレー抽出法、炭水化物はフェノール硫酸法、タンパク質はローリー法で分析した。発生ガスの分析は、3M水酸化ナトリウム水溶液を通過させることで二酸化炭素を除去し、メタンガス発生量として計量した。発生量は、連続式実験の場合ガスバックで採集し週に一回湿式ガスメータで測定し、回分式実験では水上置換で測定した。

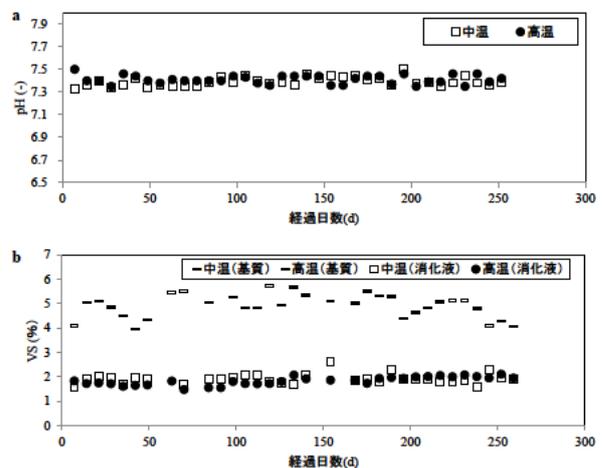


図1 連続式実験におけるpH(a)およびVS(b)の経時変化

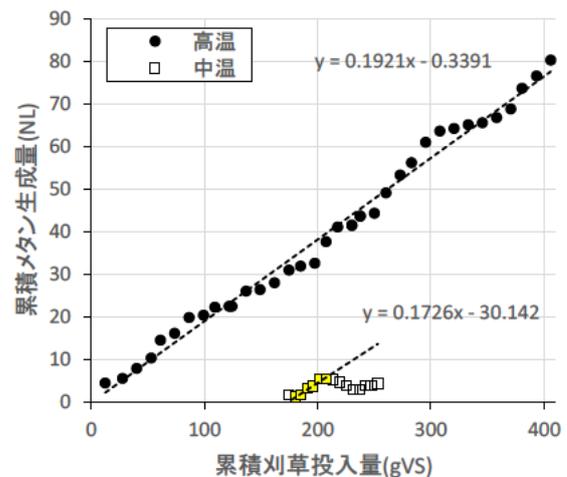


図2 連続式実験における累積投入刈草量と累積生成メタン量の関係

## 2. 3 結果および考察

### 2.3.1 連続式実験による加温温度の影響の検討

連続式実験における、pH および VS の経時変化を図 1 に示す。pH は全期間を通じて 7.3~7.5 程度で安定していた。下水汚泥および刈草の混合物の VS は 5%前後で、消化後には RM および RT いずれも 2%程度に減少した。アンモニア性窒素濃度はおおむね 1,500 mgN/L 以下であり、メタン発酵への阻害影響はなかった。有機酸濃度は RM および RT でそれぞれ 1,200 および 1,000 mgHOAc/L 程度であった。下水汚泥のみを投入した RCM および RCT での平均メタン転換率は、それぞれ 0.34 および 0.36 NL/gVS であった。

RM および RT における累積投入刈草量と累積生成メタン量の関係を図 2 に示す。刈草からのメタン生成量は、RCM もしくは RCT における下水汚泥のメタン生成量を差し引いて算出しており、この傾きが、投入刈草あたりのメタン生成量となる。RM では刈草からのメタン生成量が負の値となり、刈草の投入によりメタン生成量が減少していた。ただし、例えば 161~202 日目の期間は傾きが正の値であり、0.17 NL/gVS 程度であった。一方 RT では全期間を通じて 0.19 NL/gVS 程度であり、RM でのメタンガス発生が安定していた期間よりも、やや高かった。これは、異なる下水処理場の汚泥を用いた昨年度の結果<sup>4)</sup>と同程度である。これより、刈草を混合消化する場合、高温で運転するのが、より安定し効率がよいことが示されている。

### 2.3.2 回分式実験による超高温前処理の検討

超高温前処理の影響を調査した回分式実験における投入基質からのメタン生成量を、図 3 に示す。全体として、中温条件下よりも高温条件下でのメタン転換率が高かった。いずれの温度条件下でも、超高温処理時間を 3 日以上とした場合に、特にメタン転換率向上効果が見られ、前処理を行わない場合に比べて 20~30%程度向上した。

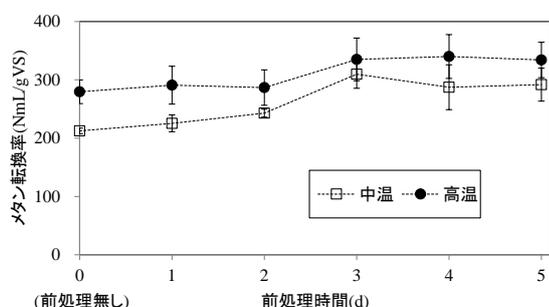


図 3 超高温処理後の回分式実験におけるメタン発生量

80℃程度の処理であれば、例えば回収したメタンによる発電で発生する排熱の活用など、従来有効活用されていなかった熱源で対応できる点で、有用な前処理になると考えられる。

## 3. 公共緑地等から発生した刈草の処理による温室効果ガス排出量の評価

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

刈草の処理による温室効果ガスの排出量は、処理方法毎に異なる。加えて、発生する刈草の性状、運搬距離などに左右される。そこで本研究では、実際に用いられている方法と今後有望と考えられるシナリオ毎の温室効果ガス排出量を定量的に評価し、管理者に適切な判断材料を与えようとするものである。

平成 25 年度は、平成 24 年度までに構築した評価手法について、バイオガス化シナリオのパラメーターを精査するとともに、シナリオに「野焼き」を追加した。また、刈草の性状や発生量の変動が計算結果に与える影響（不確実性）を評価した。

### 3. 1 開発中の評価手法の概要

目的は、公物管理者等が刈草の処理を行う際に、処理経費に加えて、地球温暖化対策の効果を定量的に考慮して、総合的に適切な処理方法を選択することである。評価対象とする機能単位は、「公共緑地1,000m<sup>2</sup>・1回除草から発生する刈草の処理」とした。ここで刈草の処理とは、河川などの公物管理のために除草し、必要に応じ中間処理（焼却や資源化）の後、廃棄または利用され最終的に安定した状態となるまでのプロセスとした。評価対象とするシナリオは、現実的な利用方法と思われる、図4の8種類とした。

### 3. 2 処理シナリオのインベントリ分析

平成25年度に実施したバイオガス化シナリオおよび野焼きシナリオのインベントリ分析方法を示す。

バイオガス化シナリオは、刈草を数cmに破碎後、下水処理場にて下水汚泥と混合して嫌気性消化し、メタンガスを回収した後、機械脱水後焼却して、焼却シナリオ中の最終処分と同様に埋め立てるものとした。消化、脱水プロセスは、中温消化、遠心脱水によるものとし、消化、脱水による電力消費量は、処理体積に比例するものと仮定し、汚泥体積と電力消費量の実測値<sup>13)</sup>から、それぞれ 7.2、5.3kWh/m<sup>3</sup>とした。刈草の比重は、文献<sup>14)</sup>を参考に

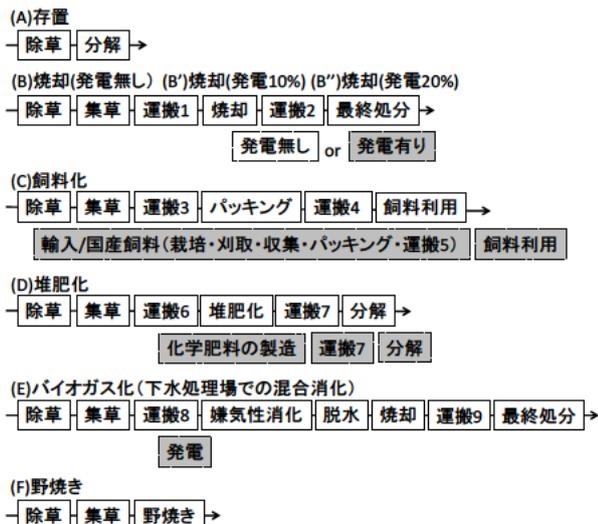


図4 温室効果ガス排出量の評価対象とする8シナリオとそれらを構成するプロセス（着色されたプロセスは、相殺する代替システムを示す）

0.22として計算した。刈草の含水率が下水汚泥と比べてかなり低いいため、脱水プロセスにおける脱水効果が期待できないことから、水分は変化しないことと仮定した。消化された刈草の焼却プロセスは、主な形式である流動床式<sup>15)</sup>とし、施設規模は、規模別施設数で最多帯<sup>15)</sup>の100t/dとした。消費電力量は、ごみ焼却のモデル<sup>16)</sup>を利用して設定した。

野焼きシナリオは、除草および集草後、現地で焼却されるものとした。焼却時のCH<sub>4</sub>、N<sub>2</sub>O転換率は、農業残渣の野焼き<sup>17)</sup>と同等とし、5 g-CH<sub>4</sub>-C/kg-C、7 g-N<sub>2</sub>O-N/kg-Nとした。ただし、刈草の焼却や分解に伴うCO<sub>2</sub>の排出は、草の成長時に吸収したCO<sub>2</sub>を還元する効果とみなせるので、IPCCガイドライン<sup>17)</sup>と同様に、温室効果は無いものとした。

### 3.3 刈草の性状と発生重量による不確実性分析

#### 3.3.1 分析方法

刈草の性状と発生重量に関するデータの変動が、刈草の処理時の温室効果ガス排出量の算定結果に与える影響について評価するため、モンテカルロ法を用いた不確実性分析を実施した。さらに、刈草の発生重量と性状に関する各変数の感度分析を行った。感度分析にあたっては、既報<sup>18)</sup>と同様に、異常値による大きな影響を避けるため、スピアマンの順位相関係数を用いて、大きな影響を与える変数を抽出した。変数は、発生重量、高位発熱量、含水率、灰分、元素の重量割合（炭素、水素、窒素、硫黄、酸素）である。各変数の分布について、発生重量は対数正規分布、その他の変数は正規分布に適合させた。変数

のデータは、土木研究所の過年度の調査結果を用いた。なお、計算には、Oracle Crystal Ball Version 11(株式会社構造計画研究所)を用いた。

#### 3.3.2 分析結果

本報では、(B')効率10%の発電機を有するごみ焼却施設による刈草の処理の結果を示す。効率10%の発電機を有するごみ焼却施設による刈草の処理(B')の不確実性分析の結果を図5に示す。2.5%値は-62.6 kg-CO<sub>2</sub>eq.であり、50%値は15.6 kg-CO<sub>2</sub>eq.であり、97.5%値は33.1 kg-CO<sub>2</sub>eq.であった。また、刈草の発生重量と性状に関する各変数の感度分析の結果を図6に示す。刈草の発生重量は、除草場所毎の変動が大きいこともあり、相関係数は-0.94と大きく、刈草の発生重量の変動が、処理時の温室効果ガス排出量の算定結果に与える影響は大きかった。実際には、河川管理者等が、刈草の発生重量について、複数の工区で発生した刈草の合計や刈草以外の樹木などとの合計のみを把握するなどして、工区毎には整理されていないケースもあるため、算定作業軽減のため、刈草の発生重量の平均値などで代表させて算定することも考えられたが、正確な温室効果ガス排出量の計算には、評価対象の刈草の発生重量を正確に把握することが重要と考えられた。

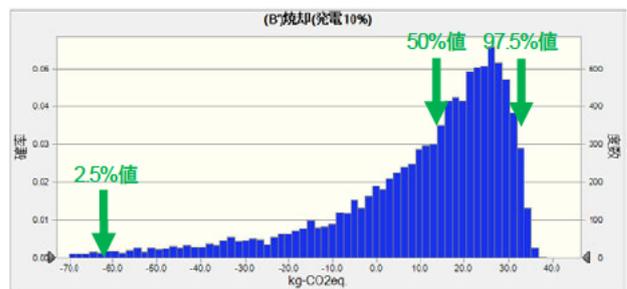


図5 刈草の性状や発生重量の変動が与える刈草の処理時の温室効果ガス排出量の不確実性（効率10%の発電機を有するごみ焼却施設による場合）

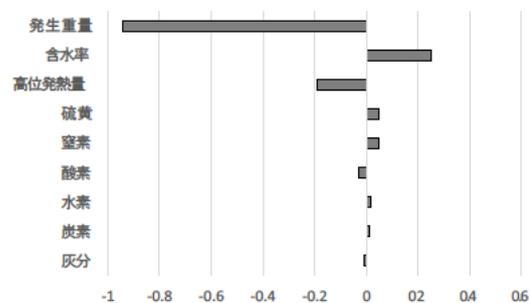


図6 刈草の性状や発生重量に関する各変数と計算された刈草の処理時の温室効果ガス排出量の順位相関係数（効率10%の発電機を有するごみ焼却施設による場合）

#### 4. まとめ

本研究では刈草に関する嫌気性消化実験及び各種処理シナリオの評価モデルの開発を行った。その結果、以下のことが明らかになった。

- 1) 刈草および下水混合汚泥を基質とした混合嫌気性消化の実験について、
  - ・連続式実験では、中温条件下より高温条件下でメタン転換率が高く、処理が安定していた。
  - ・回分式実験により、80°C程度の超高温処理を組み込むことで、メタン転換率の高まることが示された。
- 2) 新たに追加した野焼きシナリオでは、焼却時のCH<sub>4</sub>、N<sub>2</sub>O転換率を5 g-CH<sub>4</sub>-C/kg-C、7 g-N<sub>2</sub>O-N/kg-Nとした。
- 3) 開発評価モデルの不確実性分析では、いずれのシナリオでも刈草の発生重量が与える影響が大きく、正確な温室効果ガス排出量の計算には、評価対象の刈草の発生重量を正確に把握することが重要と考えられた。

#### 謝辞

汚泥採取などでお世話になりました下水処理場関係各位に謝意を表します。

#### 参考文献

- 1) 山本茂浩：新潟市における再生可能エネルギーの取組み、第50回下水道研究発表会講演集、pp.916-918、2013。
- 2) 独立行政法人土木研究所：平成21年度下水道関係調査研究年次報告書集、土木研究所資料、第4191号、2010。
- 3) 独立行政法人土木研究所：平成22年度下水道関係調査研究年次報告書集、土木研究所資料、第4212号、2011。
- 4) 独立行政法人土木研究所：平成24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4275号、2013。
- 5) 落 修一、鈴木 穰、南山 瑞彦、越智 崇：木質に蒸煮・爆砕を施すことによる木質と下水汚泥との混合・嫌気性消化法に関する研究、下水道協会誌論文集、Vol.41、No.498、pp.97-107、2004。
- 6) 落 修一、南山 瑞彦、長沢 英和、鈴木 穰：蒸煮・爆砕木質と下水汚泥とを混合・嫌気性消化した消化汚泥の処理性、下水道協会誌論文集、Vol.42、No.508、pp.111-123、2005。
- 7) 李名烈、日高平、津野洋：超高温酸発酵処理を組み込んだ生ごみおよび下水汚泥の嫌気性処理技術の開発、環境工学研究論文集、Vol.45、pp.333-339、2008。
- 8) 日高平、津野洋、西村文武、都築良太、山瀬康平、坪田潤：超高温可溶性処理を組み込んだコーヒー滓の高温膜型嫌気性消化法の開発、土木学会論文集G(環境)、Vol.67、No.7、pp.III\_293-III\_301、2011。
- 9) Feng Wang, Taira Hidaka, Hiroshi Tsuno, Jun Tsubota : Cordigestion of polylactide and kitchen garbage in hyperthermophilic and thermophilic continuous anaerobic process, Bioresource Technology, Vol.112, pp.67-74, 2012.
- 10) 大隅省二郎、坪田潤、津野洋：生ごみおよび紙の高温メタン発酵残渣に対する超高温可溶性処理の定量的評価、廃棄物資源循環学会論文誌、Vol.23、No.5、pp.224-231、2012。
- 11) 日高 平、内田 勉：下水汚泥の性状および消化特性に関する処理場毎の比較調査：土木学会論文集G(環境)、Vol.68、No.7、pp.III\_325-III\_332、2012。
- 12) 公益社団法人化学工業会、一般社団法人日本エネルギー学会編：バイオマスプロセスハンドブック、株式会社オーム社、2012。
- 13) 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、34(129)、6-15、2010。
- 14) Onoda, Y., Westoby, M., Adler, P. B., Choong, A. M., Clissold, F. J., Cornelissen, J. H., Diaz, S., Dominy, N. J., Elgart, A., Enrico, L., Fine, P. V., Howard, J. J., Jalili, A., Kitajima, K., Kurokawa, H., McArthur, C., Lucas, P. W., Markesteijn, L., Perez-Harguindeguy, N., Poorter, L., Richards, L., Santiago, L. S., Sosinski, E. E., Jr., Van Bael, S. A., Warton, D. I., Wright, I. J., Wright, S. J., Yamashita, N., Global patterns of leaf mechanical properties, Ecology letters, 14, 301-312, 2011.
- 15) 公益社団法人日本下水道協会発行：平成23年度版下水道統計、第68号、2013。
- 16) 松藤敏彦：都市ごみ処理システムの分析・計画・評価ーマテリアルフロー・LCA評価プログラムー、技報堂出版株式会社、2005。
- 17) IPCC: Reporting Instructions, Revised 1996 IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories, 1996.
- 18) 本下 晶晴、伊坪 徳宏、稲葉 敦：乗用車を事例としたLCA結果の不確実性分析、日本LCA学会誌、4(3)、260-269、2008。

## 下水道を核とした資源回収・生産・利用技術に関する研究

研究予算：運営費交付金（一般勘定）

研究期間：平 23～平 27

担当チーム：リサイクルチーム

研究担当者：津森ジュン、井上研一郎、  
日高平、桜井健介

### 【要旨】

効率的なリン回収方法の開発を目的に白金コーティングチタン電極を用いた下水脱水分離液の電気分解実験を行いヒドロキシアパタイト結晶の形でリンが回収された。有用藻類の生産・回収方法の開発を目的に 380 L 規模の屋外水槽により藻類の下水培養を行い、下水 2 次処理水のみ供給により藻類が増殖することが示された。また藻類バイオマスの嫌気性消化への利用可能性や培養藻類の活性汚泥による回収方法を検討し、初期吸着の寄与が大きいことが分かった。下水汚泥焼却灰の成分実態調査を行い流入下水中に含まれる 4 割のリンが焼却灰に移行することが示された。また肥料取締法に基づき嫌気性消化液の成分安全性評価を行い、消化液の肥料利用に関する可能性を検討した。

キーワード：電気分解、藻類培養、インベントリ整備、安全性評価

### 1. はじめに

リンは肥料用資源として欠かすことができないが、日本ではその多くを海外からの輸入に頼っている。一方、輸入価格の高騰によりリン資源の入手が困難となる場合があり、その安定した確保が求められている。下水道はリン資源を大量に保有していることから、地域の特性を踏まえ、積極的に回収し利用することが期待される。また、原子力発電所の事故による代替エネルギーの確保等の観点から、バイオマス燃料の利用が注目されている。なかでも、単位面積あたりの収穫量が高い藻類バイオマスを生産し、燃料として利用する試みが国内でも見られるようになった。下水中には栄養塩が多く含まれることから下水による藻類の生産が可能となるが、実際の下水の性状を考慮した培養に関する知見は十分に得られていない。また、下水からの効率的なリンの回収技術を確立させるためには、下水中のリンの含有特性や下水処理工程におけるリンの移行特性について全国的な統計を把握することが必須となる。さらに、下水から回収したリン資源を肥料利用するうえで安全性の担保は欠かせない。

これらの観点から電気分解による下水からの肥料資源の回収を目的とし「高濃度栄養塩含有物質からの資源回収・利用技術の開発」を行った。また、「藻類による資源生産システムの開発」では本年度は 380 L 規模の屋外水槽にスケールアップして試験を実施し、「培養藻類の嫌気性消化への利用」\*、「下水培養藻類の活性

汚泥による回収」に関する検討も行った。「下水中の有用元素のインベントリ整備」では全国の流入下水および下水汚泥焼却灰中の有用元素であるリンの含有特性について整理した。さらに「嫌気性消化液の肥料としての評価」\*を肥料取締法に基づき行い、回収資源の安全性の検討を行った。

\*「培養藻類の嫌気性消化への利用」および「嫌気性消化液の肥料としての評価」については、「低炭素型水処理・バイオマス利用技術の開発に関する研究」課題と連携し、研究を遂行した。

### 2. 高濃度栄養塩含有物質からの資源回収・利用技術の開発

輸入価格の高騰によりリン等の肥料用資源の入手が困難となる場合があり、これらの安定した確保が重要な課題となっている。5. に後述するように、日本におけるリンの輸入量に対して 42%程度に相当するリンが下水中に含まれていることから、これまでに種々の回収技術が開発されてきた<sup>1)</sup>。当チームにおいては、白金コーティングチタン電極を用いた電気分解による下水試料からのリン資源の回収方法を検討してきた。たとえば、電極に鉄<sup>2)</sup>を適用した場合、析出物としてリン酸鉄が得られる。一方、白金電極を用いた場合、電極触媒反応によりリンは下水中に多く存在するカルシウム等の元素を含む結晶として析出する<sup>3)</sup>ことが予想される。

本年度は下水処理工程において比較的リンの含有量の高い脱水分離液を対象とし、電極を挿入した容器に半連続的に下水脱水分離液を供給し、96 時間にわたり電気分解を行った。析出物の構造解析から、結晶形態を明らかにした。脱水分離液および析出物の元素含有量の定量を行い、析出物中の元素の構成や析出量を決める因子について検討した。



図 2-1 電気分解試験装置

## 2.1 方法

図 2-1 に電気分解試験装置を示す。電気分解の容器には 5 L ビーカーを用いた。電極板 4 枚を陽極と陰極を交互に配列した。電源には直流安定化電源(菊水電子工学(株)、PCM 18-5A)を用いた。実処理場より採取した脱水分離液の上澄み 5 L をビーカーに入れた。その後、電流を 5 A に設定し電流一定で 4 日間(96 時間)通電した。容器内の脱水分離液は、通電開始後 20、44、68、92 時間後の 4 回、一定量(2 L)を入れ替えた。96 時間後、通電を停止した。電極上の析出物、容器内に生成した浮遊物、沈殿物を回収し、凍結乾燥、粉碎、秤量後に元素分析と構造解析を行った。

元素分析は高周波誘導結合プラズマ発光分光分析法によった。析出物を加圧ボンベ法(MLS1200MEGA、Milestone)で硝酸により分解したのち SPS3000 (SEIKO Instruments)を用いて定量した。また、脱水分離液の上澄みの液体試料についても、硝酸による分解のち定量した。構造解析に関しては、粉末 X 線回折分析装置((株)リガク、RINT2200)により回折パターンを求め、解析ソフト(MDI JADE6)を用いて析出物中のリン酸塩結晶を同定した。

## 2.2 結果と考察

96 時間の通電を停止したのち回収した電極上の析出物、容器内の浮遊物および沈降物の元素分析を行った。結果を図 2-2 に示す。析出物の主要成分はカルシウム、マグネシウム、リンであった。浮遊物および沈降物には主要成分としてカルシウム、リンのほか、鉄

が含まれた。これらの構成元素がどのような構造で存在するかの情報を得るため、X 線回折分析を行った。結果を図 2-3 に示す。析出物中には、いくつかのシャープなピークが見られる。これらは、ヒドロキシアパタイトおよび水酸化マグネシウムに帰属される。前述のとおり、鉄電極を用いて電気分解を行った場合、リン酸鉄が生成するが、白金コーティングチタン電極を用いることにより、ヒドロキシアパタイトが電極上で合成されることが明らかとなった。水の電気分解によって、水素と酸素が発生すると同時に陰極付近の pH はアルカリ性側に、陽極付近の pH は酸性側に変化する。アルカリ側に変化した pH を利用することによりアルカリ剤の添加を必要とせず、また種晶を用いることなしに、陰極上にヒドロキシアパタイトを合成することができた。また、水酸化マグネシウムも生成した。浮遊物および沈降物にもリンが含まれるが、これらの X 線回折ピークには、ブロードなピークしか見られない。図 2-2 に示される構成元素が非結晶の状態で存在していることが考えられた。

異なる元素組成の脱水分離液を試料として同様の試験を 4 回行った。96 時間通電後の析出物の総重量および析出物中のヒドロキシアパタイトの構成元素であるカルシウムおよびリンの含有量(重量)を求めた。これらの重量を脱水分離液試料中のカルシウム濃度に対してプロットしたところ、比例関係が認められた(図 2-4)。ヒドロキシアパタイト中のカルシウムとリ

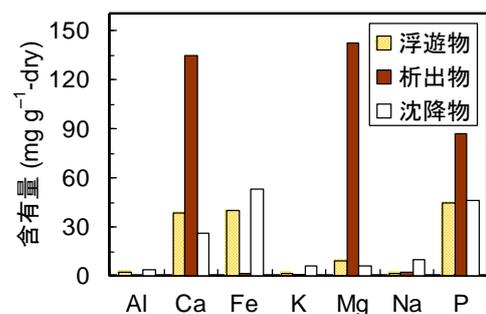


図 2-2 回収物の元素組成

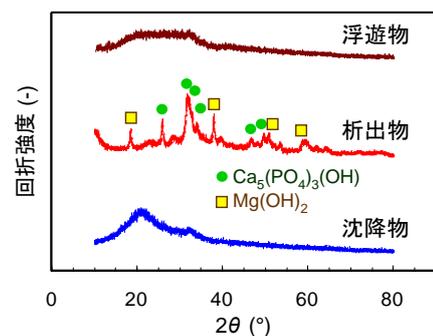


図 2-3 回収物の X 線回折

ンのモル比は 5:3、重量比で 2.2:1 である。結晶中でより多くの重量を必要とするため、リンではなくカルシウムの濃度に依存(比例)すると考えられる。

脱水分離液から析出物へのリンの移行率を求めたところ、2 割程度にとどまった。容器の容積に対する電極面積の割合や供給量の最適化を図ることにより、移行率を向上させる必要がある。

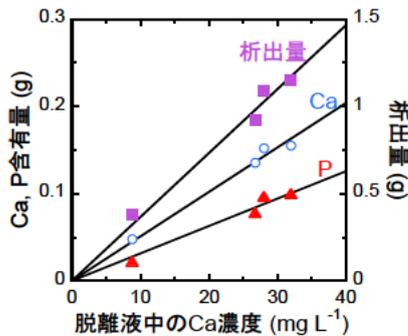


図 2-4 析出量と脱水分離液中のカルシウム濃度の関係

### 3. 藻類による資源生産システムの開発

化石燃料の枯渇や地球温暖化防止の観点から、バイオマス燃料の利用が促進されている。典型的なバイオマス燃料の原料としてサトウキビやトウモロコシ等があげられる。これらと比べ、単位面積あたりの収穫量が高く、また一般に食料と競合しないバイオマス燃料として藻類が注目されている<sup>4)</sup>。国内でも震災復興等の観点から、石巻市において燃料等の生産を目的とした藻類の培養が行われるようになった<sup>5)</sup>。

下水道事業における電力使用量は日本全体の電力使用量の約 0.7% であり、また温室効果ガスの排出量も日本全体の約 0.6% を占めている<sup>6)</sup>。これらは下水道普及率の向上に伴い、年々増加傾向にある。一方、下水道は大きなエネルギーポテンシャルを有することから、地域の特性を踏まえ、これらを積極的に利活用しエネルギー供給を促進することが求められる。

下水中にはリンや窒素等の栄養塩が含まれることから下水処理場の環境を利用した藻類の培養が期待される。しかし、実際の下水の性状を考慮した培養に関する知見は十分に得られていない。前年度までは、下水流入水および下水 2 次処理水を用い、2 L フラスコによる室内培養や 20 L タンクによる屋外培養を行い、藻類中の脂肪酸や発熱量の定量から下水培養された藻類バイオマスのエネルギー利用の可能性を示してきた<sup>7-10)</sup>。今年度はさらにスケールアップを図り、下水処理場実施設に 380 L 規模の培養水槽を設置し、下水

2 次処理水を用いた藻類の屋外培養を試みた。培養に伴う栄養塩の低減や回収した藻類の熱量等の特性といった観点から検討を行った。

### 3.1 方法

藻類の屋外培養は、国内の下水処理場実施設において平成 25 年 6 月から平成 26 年 1 月までの間に実施された。図 3-1 の写真、フロー図に示すように、容量 380 L のレースウェイ型水槽内で藻類が培養され、ここから流出する藻類の含まれる培養水は、後段側に接続された容量 32 L の凝集水槽に流入する。この培養水槽および凝集水槽を組み合わせたシステムを 2 系列設置し、培養原水の流入を 6 月 18 日に同時に開始した。培養水槽に流入させる培養原水は、独自に作製した下水 2 次処理水とした。下水処理場から供給される下水流入水を水理的滞留時間(HRT) 8 日、曝気槽容積 100 L の条件で活性汚泥処理を行い、得られた 2 次処理水を 2 台の培養水槽へ連続的に供給した。作製した 2 次処理水の水質については、後述する図 3-2 の培養時の水質の変化と併せて原水のプロットとして表示している。6 月 18 日に HRT 4 日(流入速度約 64 mL min<sup>-1</sup>) の条件で、培養原水である下水 2 次処理水の水槽への供給を開始した。ブローを用いて水槽内に空気流入を

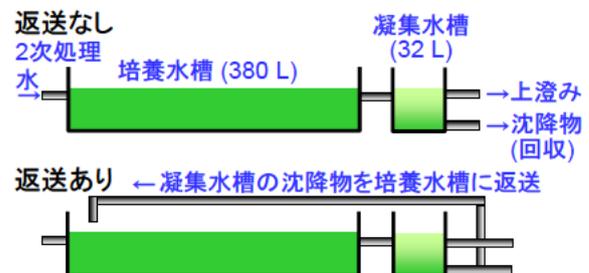


図 3-1 実処理場に設置した藻類培養・回収システムの写真(左側が返送なし、右側が返送ありの系列)およびフロー図

行い、馴致を行った。また、2系列の水槽のうち1系列において、7月24日から返送を開始した。図3-1のフロー図に示すように返送ありの系列では、凝集水槽の底部に設けられた配管から、凝集、沈降した藻類を流速約  $32 \text{ mL min}^{-1}$  (培養水槽への培養原水の流入速度の50%) で培養水槽に返送した。返送なしおよび返送ありの系列での培養特性を比較した。8月13日に両系列とも上記の空気流入を停止し、攪拌機を用いて約  $100 \text{ rpm}$  の速度で攪拌を開始し、レースウェイ型培養水槽内の水を循環させた。また、後述する藻類の培養量を考慮し、返送なしの系列では8月23日から、返送ありの系列では10月2日からHRTを4日から8日に変更した。HRTを8日としたときの培養水の流入速度は、約  $32 \text{ mL min}^{-1}$  であり、凝集水槽から培養水槽への返送速度は約  $16 \text{ mL min}^{-1}$  とした。

培養時における培養水および培養原水の水質分析は既報と同様<sup>7-10)</sup>、下水試験方法<sup>11)</sup>に基づいて行った。全リン(TP)、全窒素(TN)、溶解性全リン(DTP)、溶解性全窒素(DTN)、リン酸イオン態リン( $\text{PO}_4\text{-P}$ )、アンモニア性窒素( $\text{NH}_4\text{-N}$ )、亜硝酸性窒素( $\text{NO}_2\text{-N}$ )、および硝酸性窒素( $\text{NO}_3\text{-N}$ )の定量に関しては、連続流れ分析装置TRAACS 2000 (Bran+Luebbe)を用いた。溶解性無機炭素(DIC)および溶解有機性炭素(DOC)に関しては、TOC-5000 および ASI-5000 ((株)島津製作所)を用いて分析した。このほか、アルカリ度(OH)、浮遊物質(SS)、水温、pHを測定した。また培養水槽内の藻類種の観察を行った。検鏡により生細胞を対象に種の同定、計数を行った。計数した細胞数は  $1 \text{ mL}$  あたりの細胞数に換算した。凝集水槽底部から回収した藻類の高位発熱量の定量をJIS M 8814に基づき行った。培養期間中の平日1日につき1回、凝集水槽の底部に設けられたコックから、凝集、沈降した藻類を回収し、20Lプラスチック容器に移し、冷蔵保存した。2週間おきに、容器内の回収液の上澄みを捨て、沈降藻類の凍結乾燥、粉碎を行ったのち、ボンベ型発熱量計1013-B((株)吉田製作所)を用いて定量した。

### 3.2 結果と考察

培養期間中における2系列の培養水槽内の水、および供給される原水の水質分析結果の経時変化を図3-2に示す。6月18日にHRT4日の条件で水槽への原水の供給を開始した後、1週間程度で水槽内の水が緑色に変化し、藻類の増殖が確認された。同時に、原水に比べ培養水槽内の水の溶解性リン、溶解性窒素の値が減少した。藻類の増殖に伴い、これらの栄養塩

が消費され、藻類中に取り込まれることが示された。また、2次処理水を使用したため、窒素の多くは硝酸性窒素として存在している。藻類の株や栄養塩等を添加することなく、下水2次処理水のみ供給により藻類が増殖した。2系列の水槽のうち1系列において、7月24日から返送を開始した。8月7日の時点で返送ありの系列の方がSS(培養量)が少し増加した(原水中のSSはほぼ  $0 \text{ mg L}^{-1}$  であることから、SSは増殖した藻類の乾燥重量として考える)。8月13日に両系列とも攪拌を開始したところ、返送ありの系列は返送なしの系列に比べ、培養量が1.8倍増加し、返送なしの系列において溶解性リンの値が大きく上昇した(8月21日)。攪拌前には藻類が水槽内で不均一に増殖していたが、攪拌を行うことで水槽内の藻類存在の状態がより均一になり、培養量の少ない攪拌なしの系列ではリンの消費が低下し、また、沈降性の藻類の量が増加する傾向が見られた。このため、8月23日に返送なしの系列のHRTを8日に変更した。変更後は、再びリンの消費量が増加し、浮遊性の藻類が増加したが、返送ありの系列においても次第に培養量の減少、栄養塩の消費量の低減が見られるようになったため、10月2日にHRTを8日に変更した。HRT8日の条件であっても、特に10月30日以降は水温の低下に伴い培養量が大きく減少した。12月中旬から翌年1月まで、水の供給を停止し、回分培養を実施したが、培養量の増加は見られなかった。

培養水槽内の藻類種の同定、計数を行った結果を図3-3に示す。前年度までの、室内培養や20Lタンクによる屋外培養では、藍藻や種々の緑藻が多く観察されたが、本培養においては、緑藻であるオオキスティス科、セネデスムス科が優占した。8月の返送なしの系では、この2科の優先率は96%であったが、これを除く7~11月期のすべての系において99%を占めた。また、12月期は総細胞数が大きく減少した。返送なしの系では11月期に比べ総細胞数が1%以下に減少したが、珪藻であるニッチア科は110倍に増加した。緑藻、特にセネデスムス科の中にはバイオ燃料として有用な成分も含まれる<sup>12,13)</sup>ことから、さらなる細胞数の増加を検討する必要があると考えられる。8月の返送なしの系において細胞数が大きく減少しているが、これは前述の攪拌によるリンの消費の低下に起因しているものと考えられる。

凝集水槽から回収した藻類の高位発熱量の定量を行った。前述のとおり、凝集水槽底部からの回収物を2週間おきに乾燥させ、粉碎したのち定量した。結果

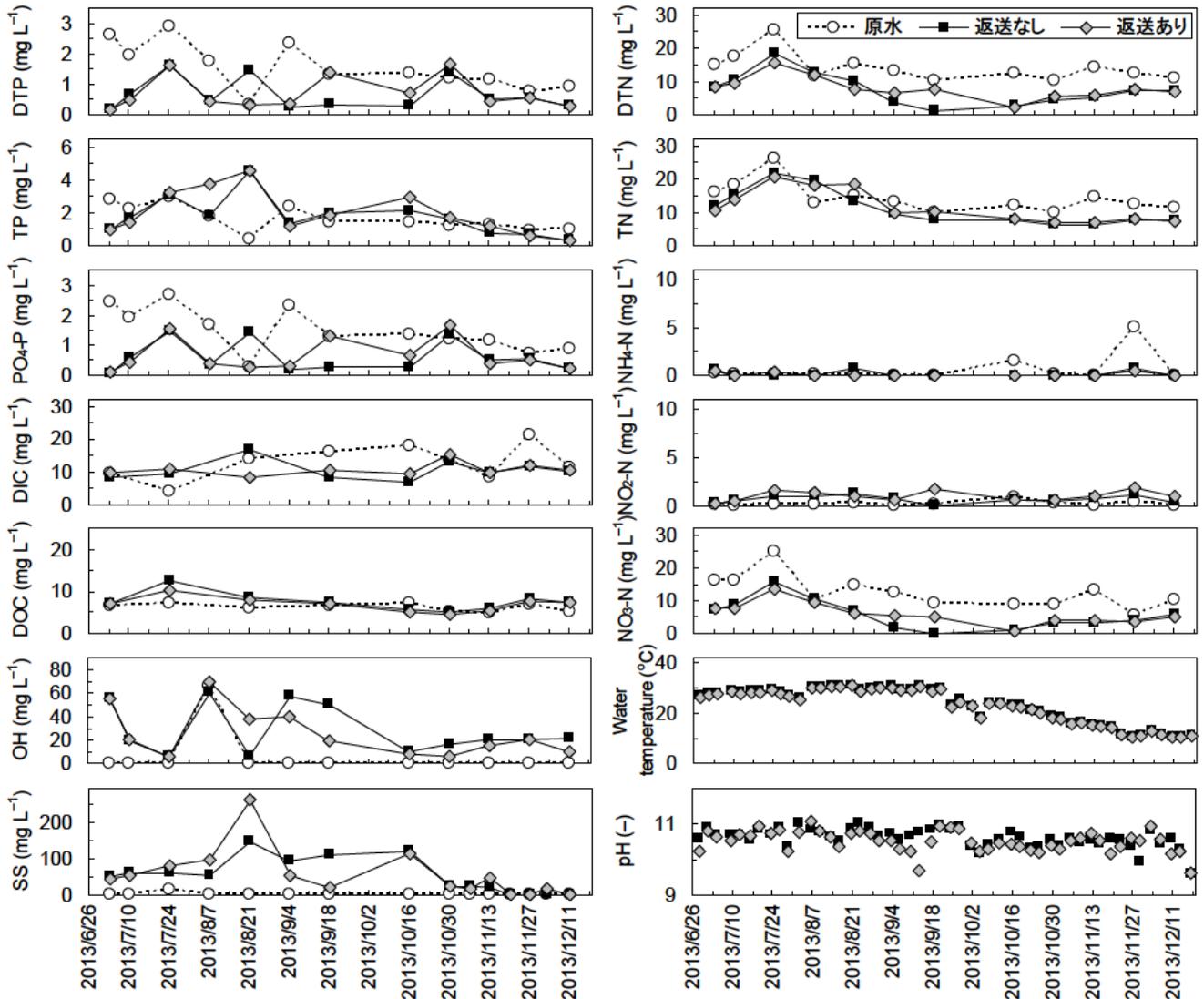


図3-2 培養期間中における培養水槽内の水・供給される原水の水質の経時変化

を図3-4に示す。7月24日から9月18日に乾燥させた藻類の定量結果の平均値(返送なし、ありでそれぞれ5回定量)を示した。さらに既報の<sup>7,9)</sup>、2Lフラスコによる室内培養藻類や20Lタンクによる屋外培養藻類の定量結果も併せて示した(いずれもHRT4日、2次処理水による培養である)。前年度までの培養と比べ、本年度の380L培養では高位発熱量が低下した。20Lタンクによる2次処理水培養では、HRTを4日から10日に長くすることにより発熱量が1.3倍増加することを報告した<sup>9)</sup>。また、2Lフラスコによる培養では、流入下水(固形分を排除した上澄み)を用いることにより25,000 kJ kg<sup>-1</sup>の高位発熱量を達成した<sup>7,9)</sup>。本年度は、培養水中の栄養塩が枯渇しない状態での培養を試みたが、発熱量は減少する結果となった。今後は、培養水の種類やその供給速度、攪拌速度といった諸条件を見直し、さらに発熱量の高い藻類の培養を検討する必要

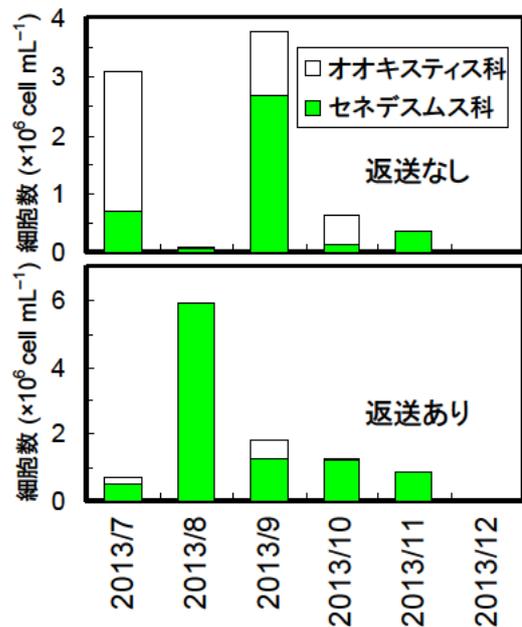


図3-3 培養水槽内の藻類

があると考えられた。さらに熱的特性とは別に、培養藻類の嫌気性消化への利用に関する検討も行った。結果は「低炭素型水処理・バイオマス利用技術の開発に関する研究」に記述されている。

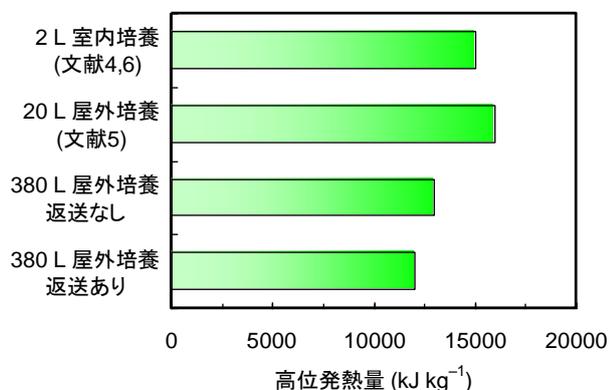


図 3-4 2次処理水培養藻類の高位発熱量

#### 4. 下水培養藻類の活性汚泥による回収

排水処理の一つに、High Rate Algal Ponds (HRAP)がある。HRAPは、滞留時間 2-8 日間、水深 0.2-1 m 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<sup>14)</sup>。HRAPによって得られた藻類は、嫌気性消化によりエネルギー化されることが検討されている<sup>15)</sup>。しかし、藻類は沈殿しにくいいため、藻類の除去効率が悪いことが、HRAPの課題の一つである。

一方で、活性汚泥は、有機物等を吸着・摂取することが知られている<sup>16)</sup>。HRAPで培養された藻類が活性汚泥により効果的に吸着・摂取され、活性汚泥と共に沈殿することにより、除去される可能性が考えられる。

そこで、本研究の目的は、HRAPと活性汚泥を組み合わせた処理方法の開発の可能性を評価するため、簡易試験により、HRAPで培養された藻類の活性汚泥による除去効果を明らかにすることである。試験では、藻類の量を示す指標としてクロロフィル a を使い、活性汚泥と HRAP 試験装置の処理水を用いたバッチ試験により、曝気時間と活性汚泥濃度の観点から、評価した。

#### 4.1 曝気時間が下水培養藻類の除去に与える影響

##### 4.1.1 試験方法

曝気時間と上澄みに残留するクロロフィル a の関係を把握するため、藻類培養液 100 mL に、活性汚泥 100

mL を混合し、ブローを用いて異なる曝気時間、曝気した後に、容量 200 mL のメスシリンダーで 30 分間静置させて上澄み 50 mL を採取し、水質を分析した。試験の様子を図 4-1 に示した。曝気時間は、10 分、30 分、2 時間、4 時間とした。藻類培養液は、HRAP(滞留時間 8 日、水深 0.2 m、容量 380 L)と沈殿池(滞留時間約 16 時間、容量約 32 L)で構成された HRAP 試験装置の処理水を用いた。そのため、処理水には、直径数十  $\mu\text{m}$  以下の沈殿しにくい藻類が多く含まれていた。HRAP には、実際の下水処理場に流入する下水を実験用の標準活性汚泥装置によって処理した 2 次処理水を供給した。活性汚泥は、同じ下水を処理している別の標準活性汚泥装置から採取し、30 分間静置した後、半分の上澄みを取り除き、約 2 倍に濃縮したものを用いた。実験は、系列毎に異なる日に HRAP 試験装置の処理水や活性汚泥を採取し、実施した。また、各系列において、対照系として、活性汚泥 100 mL の代わりにイオン交換水 100 mL を用いて、10 分間曝気した試料も同様に調査した。



図 4-1 試験の様子 (藻類培養液と活性汚泥を混合し、曝気している)

##### 4.1.2 水質分析

水質分析は採取した試料の上澄み中のクロロフィル a 濃度と濃縮活性汚泥の浮遊物質 (MLSS) を測定した。各系列に添加した濃縮活性汚泥の MLSS は表 4-1 のとおりであった。クロロフィル a の分析は、分光光度計 (島津製作所株式会社、Spectrophotometer UV-160) を用い、河川水質試験方法 (案) の三波長吸光光度法に

表 4-1 添加した濃縮活性汚泥の MLSS

系列名	MLSS(mg/L)
1	3,800
2	2,800
3	3,400

従った。MLSS は、下水試験方法の遠心分離法に基づき、測定した。

#### 4. 1. 3 結果と考察

曝気時間と上澄み中のクロロフィル a 濃度の関係を図 4-2 に示す。図中の曝気時間 0 分の点は、参考として、活性汚泥の代わりにイオン交換水を添加した試料の試験結果を示している。本試験より、HRAP 処理水と活性汚泥を混合し曝気し、静置することで、上澄み中のクロロフィル a は減少し、曝気時間が長いほど、その量は減少する傾向を示した。10 分より長く曝気した試料では、上澄み中のクロロフィル a 濃度は、曝気時間が長いほど、低かった。曝気時間 10 分から 30 分までは、それ以後に比べて、時間当たりのクロロフィル a の減少量が大きかった。なお、系列 1 の曝気時間 30 分の試料は測定しなかった。

HRAP 処理水に活性汚泥を加えて初めの 10 分間の減少量が大きい系(系列 1 と 3)と、ほぼ変わらない系(系列 2)があった。一般的な下水からの活性汚泥による有機物の除去では、接触後の短時間においてその多くが除去される現象(初期吸着)が知られている<sup>16)</sup>。例外も見られたが、藻類についても、初期吸着が生じる場合があった。

本試験より、活性汚泥により下水培養藻類を除去可能であることが明らかになり、HRAP と活性汚泥を組み合わせた方法が有用となりうることが示唆された。活性汚泥との組み合わせは、直列(HRAP の後に、活性汚泥)や並列(HRAP と異なる系の活性汚泥の活用)などの配列や曝気時間の変更など、多数の組み合わせが考えられる。本試験では、並列の活性汚泥による試験を行い、曝気時間の影響を受けることが示され、また、初期吸着現象がみられた。この結果から、一般的な標準活性汚泥法のように数時間かけた生物反応による除

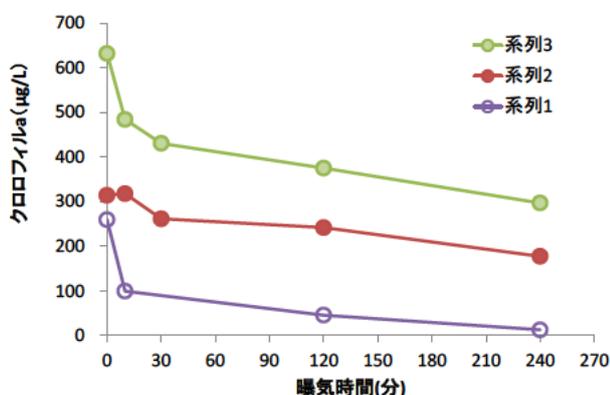


図 4-2 曝気時間と上澄み中のクロロフィル a 濃度の関係

去だけでなく、初期吸着のみを期待する活性汚泥との短時間の接触と組み合わせた方法も有用となりうることが示唆された。

#### 4. 2 活性汚泥濃度が下水培養藻類の除去に与える影響

##### 4. 2. 1 試験方法

活性汚泥濃度の違いが、下水培養藻類の除去に与える影響を調べるため、HRAP 試験装置の処理水 100 mL にイオン交換水で希釈されて濃度の異なる活性汚泥を 100 mL 添加して、マグネチックスターラーで 10 分間攪拌して 30 分間静置した後、上澄みのクロロフィル a 濃度を測定した。水質の分析方法は、前節と同様とした。活性汚泥は、前節と同様に実下水を連続的に処理している標準活性汚泥装置から採取し、約 2 倍に濃縮して使用した。添加した活性汚泥の濃度は、3,100、1,600、780、390 mg/L とした。さらに、活性汚泥 0 mg/L に相当する試料として、活性汚泥の代わりにイオン交換水 100 mL を添加し、試験した。

##### 4. 2. 2 結果と考察

結果を図 4-3 に示す。図中の MLSS が 0 mg/L の点は、活性汚泥の代わりにイオン交換水を添加した試料の試験結果を示している。HRAP 試験装置の処理水と活性汚泥の混合液中の活性汚泥濃度が高いほど、その混合液の上澄み中のクロロフィル a 濃度は低かった。除去量はおおよそ活性汚泥の量に比例することが示された。

HRAP と活性汚泥を組み合わせた方法の検討にあたり、本実験より、藻類と接触する活性汚泥量が多い方が効率的であることが示され、濃度を高くして活性汚泥を保持する方法や、濃縮された汚泥との接触を行う

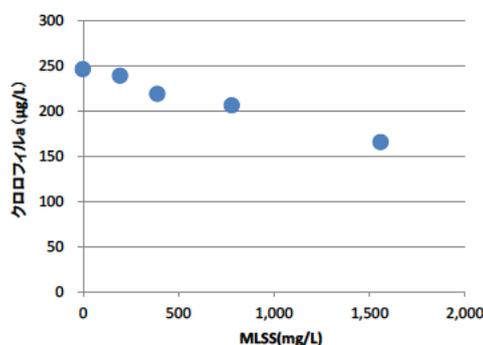


図 4-3 HRAP 試験装置の処理水と活性汚泥の混合液中の活性汚泥濃度とその混合液の曝気・静置後の上澄み中のクロロフィル a 濃度

方法などが有用となりうることが示唆された。

## 5. 下水中の有用元素のインベントリ整備

輸入価格の高騰によりリン等の肥料用資源の入手が困難となる場合があり、これらの安定した確保が重要な課題となっている。リンは下水中に多く含まれることから、本研究課題でもその回収方法について検討した結果をここまでで示した。しかし、下水中のリンの含有量や、下水処理工程において多くのリンが移行、集約されることが予想される下水汚泥焼却灰中のその含有量に関する最近の全国的な情報は少ない。

当チームでは、全国約 85 の処理場を対象にアンケート調査を行い、全国の下水汚泥焼却灰の元素組成をまとめ<sup>17)</sup>、全国の焼却灰の中にはリン鉱石中のリン含有率(27~37%-dry)<sup>18)</sup>に匹敵するものも含まれることを示した。今年度はさらに下水流入水および焼却灰中のリン含有特性について整理した。

図 5-1 には全国の下水流入水中のリン酸イオン態リン濃度のヒストグラム、図 5-2 には全国の下水汚泥焼却灰中のリン含有量(P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 換算値)のヒストグラムを示した。それらの全国平均はそれぞれ 4.47 mg/L、19.9%-dry であった。日本におけるリンの輸入量は 1 年あたり 15 万 7 千トンである<sup>19)</sup>。さらに下水道統計<sup>20)</sup>に示される全国の下水流入量および焼却灰発生量を用いて計算すると、日本全国の下水流入水に含まれるリンは、日本におけるリンの全輸入量に対して 42%(重量比)を占めることが示された。また、全国の下水汚泥焼却灰に含まれるリンは、全輸入量に対して 17%(重量比)を占めることがわかった。流入下水中に含まれる 4 割のリンが焼却灰に移行することが示された。下水中には多量のリン資源が含まれることが明らかとなるとともに、下水処理工程におけるリンの集約・移行特性をさらに検討したうえで、効率的なリンの回収技術を提示していくことが必要であると考えられた。

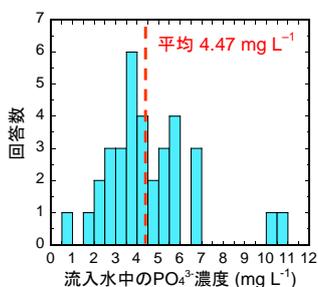


図 5-1 全国の下水流入水中のリン酸イオン態リン濃度

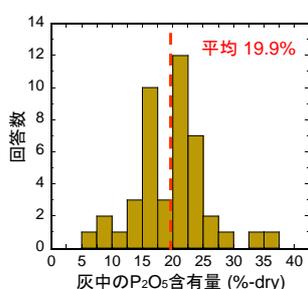


図 5-2 全国の下水汚泥焼却灰中のリン含有量(P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>換算値)

## 6. 嫌気性消化液の肥料としての評価

### 6.1 方法

「低炭素型水処理・バイオマス利用技術の開発に関する研究」で対象としている、処理場 A の消化液および反応器 1 の消化液を対象として、肥料としての評価に関する分析を、肥料取締法に基づき行った。反応器 1 からの毎日の引き抜き量は、分析に必要な量と比べて少ないので、経過日数 800 日前後の約 1 ヶ月間で引き抜いた消化汚泥を冷蔵庫(4℃)で保管しまとめて分析した。処理場 A の消化汚泥は、同時期に現場で 1 回採取したものである。基礎性状および有害成分は、昭和 48 年環境庁告示第 14 号に従い分析した。溶出試験は、昭和 48 年環境庁告示第 13 号により行った。

### 6.2 結果と考察

肥料としての基礎性状分析結果を表 6-1 に示す。%wet 単位で表示している項目については、濃縮した影響で高い値が示されている。%dry 単位で表示している項目についてはそれほど大きな差が無かった。特に有機物割合や高位発熱量はほとんど同じであり、濃縮した基質を嫌気性消化した場合でも、基礎的な性状への影響は少ないことが示されている。

肥料としての有害成分分析結果を表 6-2 に示す。一部の項目では濃縮した基質を嫌気性消化することにより高い値で検出されていた。1、2-ジクロロエタンやシアン化合物など 24 項目を測定した溶出試験でも、同様の傾向が見られた。混合汚泥の濃縮操作を行う際に、固形性成分が濃縮されるのに対して、溶解性成分は濃縮されないため、各物質の存在状態によって濃縮効率は一定でない。ただし、いずれも基準値未満であり、高濃度化した場合でも、肥料としての活用に特に問題

表 6-1 肥料としての基礎性状分析

		反応器1	処理場A
水分	%wet	94.7	98.7
窒素全量	%wet	0.637	0.197
リン酸全量	%wet	0.277	0.155
カリウム全量(加里全量)	%wet	0.025	0.018
カルシウム全量(石灰全量)	%wet	0.103	0.034
亜鉛全量	%wet	0.0044	0.0006
銅全量	%wet	0.0030	0.0007
炭素窒素比	-	7.2	6.8
灰分	%dry	22.4	24.1
pH	-	8.0	8.1
電気伝導率	mS/cm	11.9	6.5
アンモニア性窒素	%wet	0.283	0.108
硝酸性窒素	%wet	0.001未満	0.001未満
マグネシウム全量(苦土全量)	%dry	0.729	1.28
有機物	%dry	77.6	75.9
油分	%dry	0.33	0.12
高位発熱量	KJ/kg	17,900	17,900

表 6-2 肥料としての有害成分分析

		反応器1	処理場A	基準値
ヒ素全量	%dry	0.00070	0.00067	0.005
カドミウム全量	%dry	0.00012	0.00013	0.0005
水銀全量	%dry	0.0000992	0.000108	0.0002
ニッケル	%dry	0.0016	0.0005未満	0.03
クロム全量	%dry	0.0146	0.0005未満	0.05
鉛全量	%dry	0.0032	0.0023	0.01

はないことが確認できた。

## 7. まとめ

本研究では下水脱水分離液からのリン回収、下水を用いた藻類培養と回収の技術及び下水中有用元素のインベントリ分析と肥料利用の評価について検討を行った。その結果、以下のことが明らかになった。

- 1) 下水脱水分離液の白金コーティングチタン電極を用いた電気分解により、ヒドロキシアパタイトが直接合成され、肥料として使いやすい形でリンを回収することができた。また、析出物の総重量、析出物中のリンおよびカルシウムの含有量は、脱水分離液中のカルシウム濃度に依存することが明らかとなった。
- 2) 下水処理場実施に380 L規模の培養水槽を設置し、下水2次処理水を用いた藻類培養を試みた結果、藻類の株や栄養塩等を添加することなく、下水2次処理水のみでの供給により藻類が増殖し、藻類増殖に伴い、リンや窒素が消費され藻類中に取り込まれた。緑藻であるオオキスティス科、セネデスムス科が優占した。
- 3) 培養藻類の回収については、活性汚泥を用いることで除去可能であり、特に、初期吸着の寄与が大きいことが分かった。
- 4) 全国処理場を対象としたアンケート調査を実施し、流入下水中のリン及び焼却灰中のリンは、日本のリン全輸入量に対して、それぞれ42%(重量比)及び17%(重量比)を占めることがわかった。また、肥料取締法に基づき消化汚泥を分析したところ、肥料としての基準値を満たしていた。

今後は、電気分解によるリン回収では、電極面積や供給量の最適化により、回収率を向上させる必要があり、また、藻類培養については、培養水の種類やその供給速度、攪拌速度といった諸条件を見直し、藻類バイオマスをエネルギー利用するうえでの最適化を図ること、藻類回収では、汚泥への吸着の影響因子を明らかにし、初期吸着量を増やす試みが重要であると考えられた。

## 参考文献

- 1) 高岡昌輝：リン資源の現状と下水からの回収、再生と利用、34(127)、23-31、2010
- 2) 宮本彰彦、中林昭、鈴木晴彦、澄田康光、井関正博、安田昌司：鉄電解を用いた下水汚泥脱離液からのリン回収、第43回下水道研究発表会講演集、25-27、2006
- 3) 田中恒夫、小池範幸、佐藤孝志、新井忠男、平靖之：電解法による畜産排水からのリン酸塩の回収、水環境学会誌、32、79-85、2009
- 4) Yusuf Chisti: Biodiesel from microalgae, *Biotechnology Advances*, 25, 294-306, 2007
- 5) 三陸河北新報社：石巻で石油作る藻培養、石巻かほく、第9779号、1頁、平成23年9月16日
- 6) 白崎亮：汚泥エネ導入検討の契機、日本下水道新聞、第2094号、3頁、平成24年1月26日
- 7) 内田勉、岡本誠一郎、桜井健介、堀尾重人、浅井圭介、井上研一郎：下水道を核とした資源回収・生産・利用技術に関する研究、平成23年度下水道関係調査研究年次報告書集、土木研究所資料4241号、24-34、2012
- 8) 内田勉、井上研一郎、桜井健介：下水道を核とした資源回収・生産・利用技術に関する研究、平成24年度下水道関係調査研究年次報告書集、土木研究所資料4275号、9-14、2013
- 9) K. Inoue, T. Uchida, Microalgae cultured by sewage and organic constituents, *Chemosphere*, 93, 1442-1445, 2013
- 10) K. Inoue, T. Uchida, Culture of Microalgae from Sewage Effluent, *Chemical Engineering & Technology*, 36, 2169-2173, 2013
- 11) 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年版一、社団法人日本下水道協会
- 12) 彼谷邦光：微細藻類オイルの化学、*日本微生物資源学会誌*、26、1-10、2010
- 13) Luisa Gouveia, Ana Cristina Oliveira: Microalgae as a raw material for biofuels production, *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 36, 269-274, 2009
- 14) Andy Shilton: *Pond treatment technology*, IWA publishing, 2006
- 15) 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、第47回下水道研究発表会講演集、453-455、2010
- 16) 社団法人日本下水道協会発行：下水道施設計画・設計指針と解説 後編 2009年版、2009
- 17) 独立行政法人土木研究所：下水灰の有効利用に関するアンケート調査報告書、土木研究所資料 第4243号、2012
- 18) 大竹久夫編著：リン資源枯渇危機とはなにか リンはい

のちの元素、阪大リーブル [029]、2011

19) 独立行政法人石油天然ガス・金属鉱物資源機構：鉱物資源マテリアルフロー2011 45.リン (P)、405-410、2012

20) 公益社団法人日本下水道協会：下水道統計(平成 23 年度版)CD-ROM 付(第 68 号)、2013

## 低炭素型水処理・バイオマス利用技術の開発に関する研究

研究予算：運営費交付金（一般勘定）

研究期間：平 23～平 27

担当チーム：リサイクルチーム

研究担当者：津森ジュン、日高 平、王 峰

## 【要旨】

低炭素型・循環型社会の構築に向け、下水処理場に設置している嫌気性消化槽を活用した、低炭素型水処理・バイオマス利用技術を開発するため、固形物濃度（TS）10%程度まで高濃度化した下水混合汚泥を対象として嫌気性消化の連続式実験を行った。中温（35℃）条件下ではほとんどの期間で安定した処理が可能であり、一般的に現場で適用されている2～3%程度の場合と同程度の有機物（VS）除去率60%程度が、高濃度化しても2.7 kgVS/(m<sup>3</sup>・d)程度の負荷率で示された。高温条件下では、アンモニア性窒素濃度が2,000 mgN/Lを超過すると、メタン転換の阻害される傾向が示された。また下水2次処理水を用いて培養した藻類のメタン発酵特性を調査したところ、夏季培養の試料ではCODベースメタン転換率が0.56で、下水汚泥と同等であった。秋季培養の試料ではやや低下したものの、下水で培養した藻類からの下水処理場でのメタン回収の可能性が考えられた。

キーワード：メタン発酵、高濃度下水汚泥、廃棄物系バイオマス、微細藻類、アンモニア阻害

## 1. はじめに

国土交通省下水道部とりまとめデータによれば、我が国で発生する下水汚泥中の有機分総量のうち、バイオガスや汚泥燃料としてエネルギー利用されている割合は2割未満であり、より積極的な活用が求められている<sup>1)</sup>。我が国の下水処理場約2,000カ所のうち、嫌気性消化を行っている処理場数300カ所程度は、近年大きな変化がなく、特に小規模施設での採用例は少ない。

下水汚泥を含むバイオソリッドの利活用を検討するにあたっては、広域処理や共同処理など集約処理によることが効率的になる場合があることから、経済性や事業可能性を比較検討することが望ましい<sup>2)</sup>。小規模施設への展開を促進するためには、拠点となる処理場に、周辺の排水処理施設で発生する汚泥を含めて、地域の有機性廃棄物を集約することが考えられる。固定価格買取制度も始まり、消化ガス発電の導入が進みつつある<sup>1)</sup>。バイオガス発生量を確保することで、エネルギー利用効率が向上し、維持管理費用の面でも有利となる。小規模下水処理場が点在し、下水汚泥を集約して嫌気性消化することを検討する場合、下水汚泥を高濃度化することで、処理場間の運搬効率を上げることが望ましい。

汚泥処理の集約化を意図した高濃度下水汚泥のメタン発酵については、平成3年度～平成8年度に建

設省土木研究所汚泥研究室で実験的検討がなされた。中温（30℃恒温室）では固形物濃度（TS）10%程度まで、高濃度化がガス発生に及ぼす影響が少ないことが示されている<sup>3)</sup>。高温（55℃）ではTS10%程度でアンモニア性窒素濃度が4,000 mgN/L程度まで増加し、ガス発生量は通常の数%でしかなかったことが示されている<sup>4)</sup>。しかしながら、これらの研究は主として回分式実験や数ヶ月程度の連続式実験に限られており、長期的な連続実験による評価はなされていない。藤島ほか<sup>5)</sup>は、流動性を保つTS11%まで希釈した脱水汚泥を対象とした中温嫌気性消化が可能であることを報告しているものの、粘度については検討されていない。実用化には至っておらず、現場で採用されている高濃度消化はおおむねTS5%程度までである<sup>6)</sup>。

これまでは想定されていなかった生ごみなどの受入が、近年石川県珠洲市などで実現されており、状況は変わりつつある。国土交通省の下水道革新的技術実証事業（B-DASHプロジェクト）でも、有機性廃棄物受入に関する実証データが集積しつつある<sup>7)</sup>。小規模施設では周辺の排水処理施設からの汚泥も集約処理の対象となり得る。より小規模向け水処理方式であるオキシデーションディッチ法（OD）からの脱水汚泥および有機性廃棄物の混合消化の研究も始まっており<sup>8)</sup>、小規模施設への普及が今後期待

表 1 連続式実験の運転条件

反応器番号	温度	基質	Run 1	Run 2	Run 3a	Run 3b	
反応器1	35°C	処理場Aの混合汚泥	~150 mL/d	50~125 mL/d	94 mL/d	125 mL/d	←投入量
			28~d	84~34 d	45 d	34 d	←HRT
反応器2	55°C	処理場Aの混合汚泥	~100 mL/d	50 mL/d	—	—	←投入量
			42~d	84 d	—	—	←HRT
反応器3	55°C	処理場Bの混合汚泥	—	50 mL/d	—	—	←投入量
			—	84 d	—	—	←HRT
反応器4	55°C	処理場Aの混合汚泥 +ご飯	—	混合汚泥50 mL/d+ご飯5g-wet/d	—	—	←投入量
			—	76 d	—	—	←HRT
経過日数 (日)			0~112	113~425	426~599	600~832	
混合汚泥濃度設定値 (TS)			5%	7.5%	10%		

注1. 基質投入は、平日のみ

注2. 反応器3および反応器4は194日目に運転開始

できる。

また近年下水を用いて藻類を培養し、エネルギー源として活用する研究も進められている。従来は油分含有率の高い藻類種を選択的に培養することで効率的なエネルギー生産が試みられてきたものの、下水を用いる場合は意図しない藻類種が優占する可能性もある。その場合でも、嫌気性消化を行えば藻類種によらずにメタンを回収できる可能性がある<sup>10)</sup>。下水処理場にて藻類を培養し嫌気性消化槽に投入できれば、さらなるエネルギー回収量増加につながる事が期待できる。

そこで本研究では、現状で採用されている消化における一般的な下水汚泥より高濃度である TS 10% 程度でのメタン発酵特性を、長期的に調査した。TS 5%の場合に比して、体積で 1/2 程度に削減される。そして、下水で培養した藻類のメタン発酵特性を調査した。

## 2. 高濃度濃縮下水汚泥の嫌気性消化に関する研究

### 2.1 実験方法

#### 2.1.1 連続式実験

石川県大聖寺川浄化センター(処理場 A)および石川県犀川左岸浄化センター(処理場 B)の試料を用いて、有効容積 3 L の反応器を 4 系列運転した(表 1)。反応器 1 は中温で、それ以外は高温で運転した。反応器 1、反応器 2 および反応器 3 は、混合汚泥のみを投入した系で、投入基質の採取処理場が異なる。反応器 4 では混合汚泥およびご飯を混合消化した。Run 2 の 342 日目までの状況は昨年度の報告書にて報告しており、それに引き続いて運転した。混合汚泥の濃度は TS 3~4%程度であるので、実験室での

遠心分離操作により、5~10%程度まで濃縮した。一部の期間では汚泥性状が異なり設定濃度まで濃縮できなかったため、その間は投入汚泥 TS 量が同じになるように投入容積を調整して対応した。基質投入および消化液の引抜操作は平日のみ 1 日 1 回の頻度にて手動で行った。

#### 2.1.2 分析方法

投入基質や消化汚泥の分析は、基本的に下水試験方法に従って行った。なお、COD<sub>Cr</sub> の分析は HACH 社の吸光光度計 DR2400 および COD 試薬(HR)を用いた。粘度は粘度計(VISCOTESTER VT-04、リオン社)を、アンモニア性窒素は自動比色分析装置(TRAACS2000、BRAN LUEBBE 社)を用いた。見かけの除去率は、投入濃度と消化液濃度の差を投入濃度で除して算出した。高濃度で水理的滞留時間(HRT)が長いので、完全混合槽を仮定して理論的に計算される投入基質の反応器内での濃度を用いて算出した。

### 2.2 結果および考察

#### 2.2.1 連続式実験

反応器 1 における TS および VS の経時変化を図 1 に示す。投入 TS を 10%に設定した 426 日目以降、消化液の TS 濃度は徐々に増加し、750 日目頃以降 5%程度で安定した。VS 濃度も同様の傾向を示し、TS 濃度の 8 割程度で推移した。見かけの VS 除去率(図 2)は、反応器 1 で 60%程度であり、投入 TS 濃度および負荷率が最大である Run 3b を含めておおよそ一定であった。対して、高温で運転した反応器 2 および反応器 3 では 30~45%程度であった。反

応器 4 では、ご飯が完全に分解すると仮定した、下水汚泥分のみの除去率が 50%程度であった。見かけの COD<sub>Cr</sub> 除去率について、反応器 1 では、全期間を通じておおむね 50~60%程度を安定して維持した。これは、投入 TS 濃度 2~4%で運転している一般的な中温消化槽と同程度の除去効率<sup>11)</sup>であり、投入 TS 濃度を 10%程度まで増加させても、2.7 kgVS/(m<sup>3</sup>・d) 程度の負荷率で安定した運転が可能であった。

反応器 1 での有機酸濃度 (図 3) については、新しい装置に移動した直後でやや不安定であった 216 日目頃および 670~720 日目頃以外で低濃度であり、最も高濃度で検出された酢酸でもおおむね 200 mg/L 程度以下であった。有機酸が蓄積していないことから、処理の安定性が確認できた。

### 2.2.2 アンモニア性窒素の影響

反応器 1 でのアンモニア性窒素濃度 (図 4) は、投入 TS 濃度が 5%の時は 1,000 mgN/L 程度で推移し、投入 TS 濃度 7.5%の場合は 3,000 mgN/L 程度に、投入 TS 濃度 10%の場合は 3,500 mgN/L 程度に達した。ただし、250 日目以降および 650 日目以降では、減少する傾向も見られた。濃縮後の投入 TS 濃度の変化による影響に加えて、季節的な変動による影響も考えられる。中温で運転した反応器 1 では、アンモニアによる阻害影響が見られず、処理が安定していた。高温条件である反応器 2 および反応器 3 では処理が不安定であったことから、アンモニア性窒素濃度がメタン発酵を阻害していた可能性が考えられた。なお pH は、いずれも 7~8 程度であった。

アンモニア性窒素濃度と見かけの COD 除去率の関係を図 5 に示す。ここでは、処理場 A の汚泥を用いた回分式実験での値を参考にあわせて示している。中温条件である反応器 1 では、アンモニア性窒素濃度 4,000 mgN/L 程度でも COD 除去率 0.5~0.6 をおおむね維持していた。対して高温条件である反応器 2~4 では、アンモニア性窒素濃度が 2,000 mgN/L を越えると、COD 除去率の低下が見られた。

処理場 A の汚泥を単独で消化した反応器 1 および 2 の消化液の TS 濃度とアンモニア性窒素濃度の関係を図 6 に示す。中温条件と高温条件で大きな差が無く、混合汚泥の消化に伴うアンモニア性窒素の放出傾向は同様であると考えられる。一般的に高温条件下ではアンモニア阻害を受けやすいといわれており、投入基質の高濃度化の際には注意を要する。

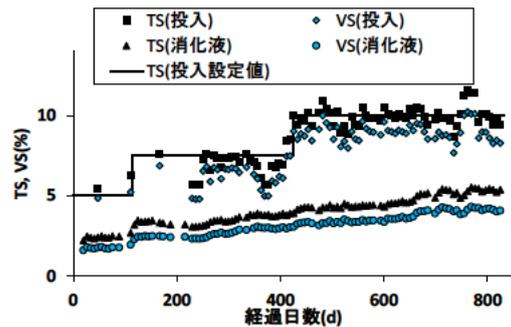


図 1 反応器 1 における TS および VS の経時変化

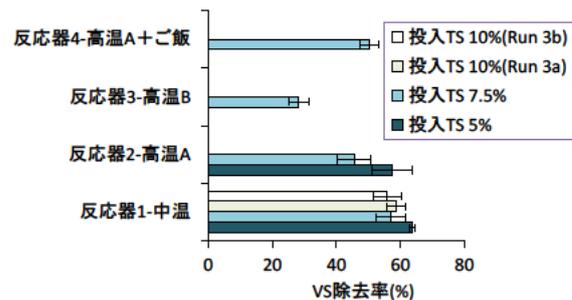


図 2 連続実験における VS 除去率

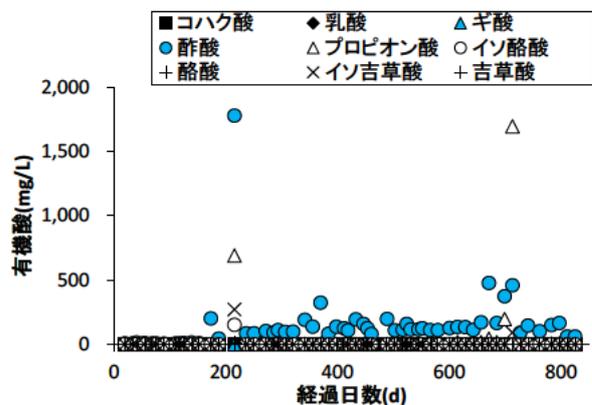


図 3 反応器 1 における有機酸濃度

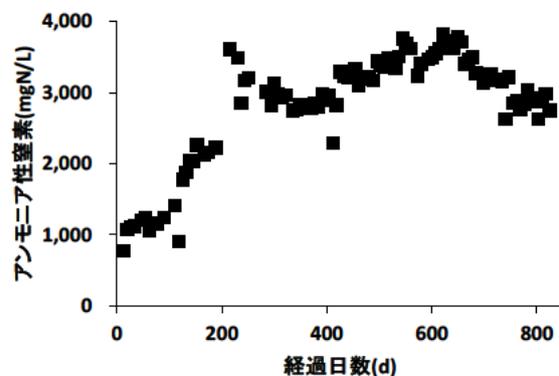


図 4 反応器 1 におけるアンモニア性窒素濃度

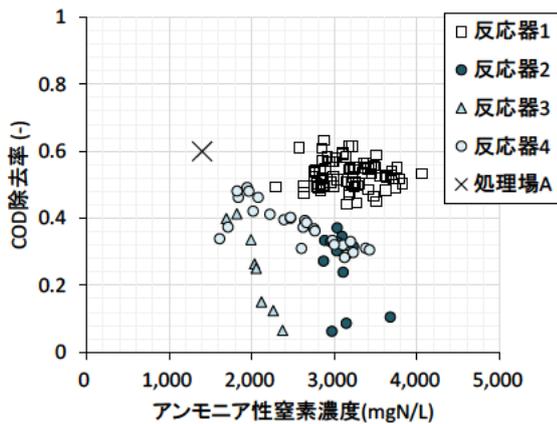


図5 アンモニア性窒素濃度とCOD除去率の関係

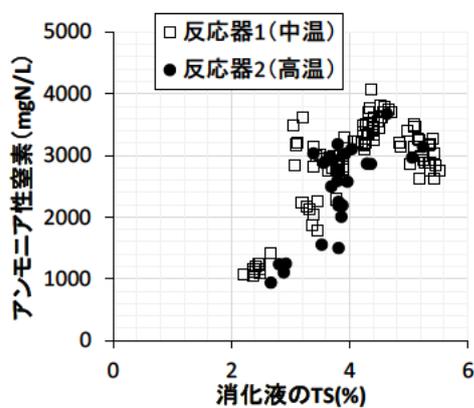


図6 消化液のTS濃度とアンモニア性窒素濃度  
の関係

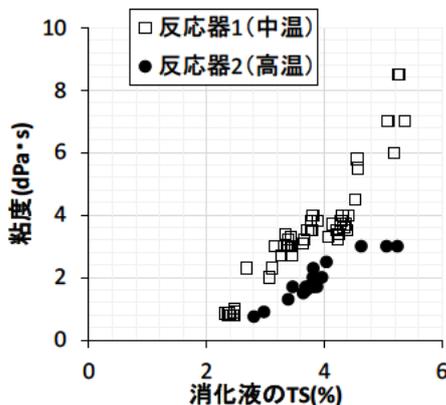


図7 消化液のTS濃度と粘度の関係

ただし、異なる処理場の下水汚泥の場合、窒素の挙動の異なる可能性が指摘されており<sup>11)</sup>、投入TSが同程度でも消化液のアンモニア性窒素濃度が低い例も報告されている<sup>12)</sup>。また種々の有機性廃棄物を混合消化した場合のアンモニア放出量の知見も示されている<sup>13)</sup>。アンモニア性窒素濃度の挙動については特に、現場毎に注意を要するものと考えられる。

## 2.2.3 粘度の影響

反応器1および2の消化液のTS濃度と粘度の関係を図7に示す。消化液のTS濃度増加に伴い、粘度が増加していた。特に中温条件下での粘度が高く、最大で8.5 dPa·sに達した。粘度の増加は消化槽内の攪拌効率に大きな影響を及ぼし、この点では、高温条件が有利である。なお、下水汚泥および生ごみの混合消化を想定した粘度5.4 dPa·sでの数値流体力学(CFD)解析では、攪拌に大きな問題が無いことが報告されている<sup>14)</sup>。

## 3. 下水で培養した藻類の嫌気性消化

### 3.1 実験方法

下水汚泥および生ごみを対象としたメタン発酵回分式実験で、種汚泥の培養基質が異なる場合にメタン発酵特性が多少異なることが報告されている<sup>15)</sup>。そこで有効容積100Lの嫌気性消化反応器を用いて、下水汚泥および下水で培養した藻類を基質とした種汚泥の培養を、事前に数ヶ月間行った。

昨年度の「下水道を核とした資源回収・生産・利用技術に関する研究」での藻類培養実験と同様の条件下で、20Lの反応器を用いて、流入下水および脱水ろ液を用いた藻類の培養を行った。培養した藻類を体積比1:1で混合した培養液および混合汚泥を体積比2:5で混合し、種汚泥の培養基質とした。藻類培養液および混合汚泥のTS濃度は、それぞれ0.05%および0.6~1.2%程度であった。

温度条件を中温(35℃)に維持していた嫌気性消化反応器内の消化汚泥<sup>13)</sup>を用いて、運転を開始した。週2回(月および木曜日;祝日がある場合は適宜変更)基質を投入し、同量の消化液を引き抜いた。HRTは、50dで運転した。ここでの主目的は消化汚泥の馴致培養であることから、特に難分解性成分との接触時間を確保するために、通常より長めに設定した運転を行った。

藻類の嫌気性消化特性を調査する回分式実験は、嫌気性反応器(容量0.5L程度)に種汚泥および基質を投入し、窒素ガスでパージして行った。実験中メタンガス生成量の経時変化を計測した。発生したバイオガスは、強アルカリ溶液を通過させることで二酸化炭素を除去し、メタンガスの生成量として計測した。種汚泥については、回分式実験開始の1週間ほど前から、基質投入を停止した状態で温度条件のみを維持し、種汚泥からのガス発生量をなるべく抑えるようにした。実験条件の設定は表2に示すと

おりであり、それぞれで種汚泥量を 400 mL とした。ここで用いた藻類は、下水 2 次処理水を用いて屋外に設置した約 380 L のレースウェイ型水槽 2 系列にて培養しており、その詳細は「下水道を核とした資源回収・生産・利用技術に関する研究」で報告している。8 月 7 日は回収藻類量が少なかったため、2 系列分を混合して用いた。基質/種汚泥の VS 比は 0.1 もしくは 0.2 に設定した。それぞれの条件下で、2 もしくは 3 組ずつの回分式実験を行った。分析方法は前章と同様である。

表 2 藻類の回分式嫌気性消化実験条件

No.	採取日	系列	基質/種汚泥のVS比
1	8月7日	2系列の混合	0.1
2	9月4日	返送あり	0.2
3	9月4日	返送なし	0.2
4	10月2日	返送あり	0.1
5	10月2日	返送なし	0.1
6	10月16日	返送あり	0.2

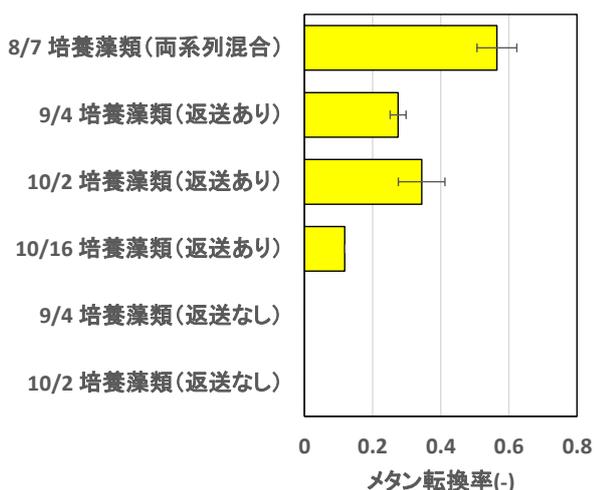


図 8 藻類の COD ベースメタン転換率

### 3.2 結果および考察

投入基質量 (gCOD) に対する生成メタン量 (gCOD) として算出した COD ベースメタン転換率を図 8 に示す。8 月 7 日の混合試料のメタン転換率は 0.56 で、一般的な下水汚泥と同程度の効率が得られた。それ以降の試料では、返送ありの系列でやや低下したものの 0.3 程度の転換率が得られたのに対して、返送なしの系列ではほとんどメタンに転換されなかった。全体としてはセネデスムス科が中心で、秋季の返送なし系列ではオオキシティス科が増加していた。培養藻類の種類により、メタン転換効率が変化する可能性が考えられる。

宮本・岡本<sup>10)</sup>は、冬季の 2 次処理水での屋外培養

藻類のメタン発酵特性を調査しており、その構成はクラミドモナス科 61% 程度およびセネデスムス科 20% 程度で、VS 除去率を 55% と報告している。また、アオコおよび下水汚泥の嫌気性消化における TOC ベース除去率が、それぞれ 40~55% および 50~60% と報告されている<sup>16)</sup>。Sialve ら<sup>17)</sup>は、脂質含有率 40% 以下の場合、脂質抽出よりも嫌気性消化が望ましいとしている。これらより、油分が少ない藻類も含めて、下水で培養した藻類からの下水処理場でのメタン回収の可能性が考えられる。

### 4. まとめ

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

1) TS 7.5~10% 程度の下水混合汚泥を対象とした嫌気性消化の連続式実験を行ったところ、

- ・中温条件下では安定した処理が可能であり、2.7 kgVS/(m<sup>3</sup>・d) 程度の負荷率で一般的な濃度の場合と同程度の VS 除去率 60% 程度が、高濃度化しても示された。
- ・中温条件下では、アンモニア性窒素濃度 4,000 mgN/L 程度でも COD 除去率 0.5~0.6 をおおむね維持していた。対して高温条件では、アンモニア性窒素濃度が 2,000 mgN/L を越えると、COD 除去率の低下が見られた。

2) 下水 2 次処理水を用いて培養した藻類のメタン発酵特性を調査したところ、

- ・夏季の試料の COD ベースメタン転換率は 0.56 で、下水汚泥と同等であった。
- ・秋季の試料では、返送ありの条件下で培養した藻類の COD ベースメタン転換率が 0.3 程度であったのに対して、返送なしの条件下で培養した藻類からは全くメタンが生成しなかった。

今後は、より高負荷条件下での実験により限界負荷率を把握するとともに、異なる処理場の試料も含めた実験により下水や汚泥性状が処理特性に及ぼす影響を調査する予定である。

### 謝辞

2 は、主として石川県他との共同研究として実施した。一部の試験試料は、ジャパンウェルネス (株) から提供頂いた。3 では、下水試料の採取などで、地方自治体および下水処理場関係者の協力を得てい

る。ここに記して、関係各位に謝意を表する。

#### 参考文献

- 1) 安陪達哉：下水汚泥資源の平成 23 年度有効利用調査結果、再生と利用, Vol.38, No.142, pp.86-88, 2014.
- 2) 国土交通省・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, pp.14-15, 2004.
- 3) 建設省土木研究所：平成 4 年度下水道関係調査研究年次報告書集, 1993.
- 4) 建設省土木研究所：平成 8 年度下水道関係調査研究年次報告書集, 1997.
- 5) 藤島繁樹, 宮原高志, 水野修, 野池達也：脱水汚泥の嫌気性消化に及ぼす固形物濃度の影響, 土木学会論文集, No.622/VII-11, pp.73-80, 1999.
- 6) 日本下水道協会：下水道統計（平成 23 年度版）（第 68 号）, 2013.
- 7) 国土交通省 国土技術政策総合研究所：B-DASH プロジェクト No.1 超高効率固液分離技術を用いたエネルギーマネジメントシステム導入ガイドライン(案), 国土技術政策総合研究所資料, No.736, 2013.
- 8) 国土交通省 国土技術政策総合研究所：B-DASH プロジェクト No.2 バイオガスを活用した効果的な再生可能エネルギー生産システム導入ガイドライン(案), 国土技術政策総合研究所資料, No.737, 2013.
- 9) 戸莉文仁, 池本良子, 中木原江利, 中出貴大, 古婷婷, 本多了: オキシデーショಂಡィッチ汚泥と廃油揚げを用いた高濃度混合嫌気性消化, 土木学会論文集 G(環境), Vol.69, No.7, pp.III\_597-III\_603, 2013.
- 10) 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, 第 47 回下水道研究発表会講演集, pp.453-455, 2010.
- 11) 日高 平, 内田 勉：下水汚泥の性状および消化特性に関する処理場毎の比較調査：土木学会論文集 G(環境), Vol.68, No.7, pp.III\_325-III\_332, 2012.
- 12) Hidaka T., Wang F., Togari T., Uchida T., Suzuki Y.: Comparative performance of mesophilic and thermophilic anaerobic digestion for high-solid sewage sludge, *Bioresource Technology*, Vol.149, pp.177-183, 2013.
- 13) 日高 平, 王 峰, 内田 勉, 鈴木 穰：回分式実験による下水汚泥と有機性廃棄物の嫌気性消化特性調査, 土木学会論文集 G(環境), Vol.69, No.7, pp.III\_605-III\_614, 2013.
- 14) 下水道技術開発プロジェクト (SPIRIT21) 委員会：下水汚泥資源化・先端技術誘導プロジェクト, グリーン・スラッジ・エネルギー技術, 下水汚泥とバイオマスの同時処理方式によるエネルギー回収技術に係る技術報告書, 2007.
- 15) 中村匡志, 鈴木昌治, 坂本勝：有機性廃棄物の混合消化に関する研究-培養汚泥と基質の違いにおける消化特性, 第 43 回下水道研究発表会講演集, pp.443-445, 2006.
- 16) 矢木修身編著：アオコの増殖及び分解に関する研究, 国立公害研究所研究報告第 92 号, 1986.
- 17) Sialve B., Bernet N., Bernard O.: Anaerobic digestion of microalgae as a necessary step to make microalgal biodiesel sustainable. *Biotechnology Advances*, Vol.27, pp.409-416, 2009.

## 水環境中における病原微生物の対策技術の構築に関する研究

研究予算：運営費交付金（一般勘定）

研究期間：平 23～平 27

担当チーム：材料資源研究グループ（リサイクル）

研究担当者：津森ジュン、諏訪守、安井宣仁

## 【要旨】

病原微生物の検出技術の高度化により、下水や環境水での汚染実態が徐々に明らかになりつつある。しかし現行の水質指標である大腸菌群では、新たな病原微生物の汚染の実態を十分に把握できないこともあり、公共用水域への各種汚染源の解明、汚染レベルや汚染源の特徴に応じた対策手法の構築が望まれている。

25年度は、下水、河川水の大腸菌を対象に、抗生物質の感受性を明らかにするとともに、対策技術の構築の一環として塩素、紫外線による消毒実験を行い抗生物質耐性大腸菌の消毒感受性を評価した。

また、ノロウイルスの検出精度・検出限界の向上を目的に、測定試料の前処理条件などがノロウイルスの定量値に及ぼす影響を評価するとともに、公共用水域への汚濁負荷源の1つと考えられる合流式下水道越流水を対象としたノロウイルスの実態調査から放流先水域への影響を把握した。

キーワード：抗生物質耐性大腸菌、ウイルス、消毒、検出感度向上、合流式下水道

## 1. はじめに

分子生物学的手法による微生物の同定・検出技術の進展により、感染症の原因究明が比較的容易となり病原微生物に関する知見が集積されてきている。殊に分離・培養が容易ではない細菌やウイルスなどの存在実態が徐々に明らかになるにつれ、これまで衛生学的水質指標とされてきた大腸菌群では、新たな病原微生物の存在実態や消毒耐性等に関し評価が困難であるという課題が明らかになっている。また、近年になっての集団感染発生や、分子生物学的手法による検出技術の進展により、新興感染症の病原微生物として原虫類や一部のウイルスが位置づけられてきている。さらに、抗生物質の利用の増加に伴い耐性を有する薬剤耐性菌が徐々に蔓延してきている状況から、特に多剤耐性菌が近年の再興感染症の一原因であるとして大きな社会問題となっている。

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

本研究では上記を踏まえ、利用形態に応じた公共用水域の安全性を確保するため、その基本となるリスク評価に資するべく、下水や水環境中における新興・再興感染症の病原微生物である原虫類、ウイルス、薬剤耐性菌の汚

染実態を解明する。汚染実態の解明とともに、対策技術として今まで明らかとなっていない生物学的高度処理法等によるこれらの病原微生物の除去要因の解明を行う。その結果を基に、汚濁負荷削減の観点から適切な水環境保全システム技術を構築するものである。

本研究で対象としている病原微生物は抗生物質耐性大腸菌、クリプトスポリジウム、ジアルジア、ノロウイルス（NV）としている。25年度は下記の1)～4)の項目について実施した。

- 1) 下水、河川水の大腸菌の抗生物質感受性評価
- 2) リスク評価のための極低濃度試料に対応した濃縮・定量技術の開発
- 3) 非点源負荷としての合流式下水道越流水が放流先水域へ及ぼす影響把握
- 4) 塩素、紫外線消毒による抗生物質耐性大腸菌の不活化評価

## 2. 研究目的および方法

## 2.1 下水、河川水の大腸菌の抗生物質感受性評価

抗生物質の利用増加や開発が繰り返され、複数の抗生物質に対して耐性を有する多剤耐性菌の存在が社会的に大きな問題となっている。殊に、複数の抗生物質に耐性を有する多剤耐性菌の1つであるスーパー耐性菌と称される細菌は、切り札とされる抗生物質に耐性を有することから、臨床分野を含め社会的にも重要な課題として対策の構築の必要性が提起されている。

一方、微生物混在系としての下水処理場においても耐性菌の実態調査は行われており、多剤耐性菌の存在<sup>1)</sup>

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

本研究課題では、スーパー耐性菌を含めた多剤耐性菌の実態把握を目的に、23~24 年度にかけ下水道へ排出される病院排水を対象に、耐性菌の存在状況について評価を行った。

25 年度は評価対象を拡げ下水、河川水について実態調査を行った。下水試料は、関東圏内にある 2 箇所の下水処理場、河川水試料は関東地方と関東以西の 8 河川を対象とし、各試料中に存在する大腸菌の抗生物質の感受性を評価した。大腸菌の検出はクロモカルト培地による平板培養法とし、検出された各々の大腸菌の典型コロニーを釣菌、その培養液を平板に固めた寒天培地上に塗布し、平板上に抗生物質の含有されたディスクを置いた。この平板を 35°C で 16~18 時間培養の後、平板上に形成された阻止円の直径を測定し耐性、感受性の判定を行った。対象抗生物質はカルバペネム系の代表的な抗生物質であるイミペネム (IPM) 以外に、アンピシリン (ABPC)、カナマイシン (KM)、ゲンタマイシン (GM)、スルフアマトキサゾール・トリメトプリム (ST)、セフジニル (CFDN)、テトラサイクリン (TC)、レボフロキサシン (LVFX) の 8 種類とした。抗生物質含有ディスクは KB ディスク (栄研化学) を利用し、感受性試験の判定基準などは KB ディスクの手引きを参照した<sup>4)</sup>。

## 2.2 リスク評価のための極低濃度試料に対応した濃縮・定量技術の開発

分子生物学的手法の進展により従来、培養が困難であった細菌やウイルスなどの定量が可能となってきている。特に、細胞培養法による評価が困難である腸管系ウイルスの定量には、リアルタイム RT-PCR 法が主に用いられている。試料の濃縮、遺伝子抽出・精製、逆転写、PCR 反応とした定量工程では最終的には μL 系の試験操作となるため、濃縮精製試料の極一部量の評価となる。評価対象とするウイルスが試料中に高濃度に存在すれば、安定した PCR 値が得られるが、環境水や高度に処理された

ウイルス低濃度試料を対象とした場合、定量値のバラツキが大きくなる可能性がある<sup>5)</sup>。また、遺伝子抽出カラムへの濃縮試料の SS 負荷量等の適正化を図る必要性があり、測定対象試料の水質性状の違いによって定量値に影響を及ぼす可能性が指摘されている<sup>6)</sup>。下水処理水の再生水利用や放流先水域における衛生的安全性のリスク評価にあたっては、極低濃度のウイルス試料を対象とすることから、安定した定量値を得るための手法を開発する必要がある。

このため、極低濃度試料に対応した濃縮・定量技術の開発を目指し、25 年度にはノロウイルス濃度が異なる試料を用い、表-1 に示す抽出 RNA の前処理条件による検出精度・限界値の向上評価を行った。

表-1 抽出RNAの前処理条件

図中標記	RNA精製工程:C(回)	逆転写反応:R(回)	キャリアRNA添加量(μg)
従来法	1	1	5.6
C1R1	1	1	4.2
?	?	?	?
C3R2	3	2	4.2

評価対象試料には、低濃度試料として河川水を、また、比較対象に活性汚泥処理水を利用した。ノロウイルスの測定は、安定した定量値を得るため試料の濃縮はポリエチレングリコール (PEG) 沈殿法とした。PEG 沈殿法では、試料中に PEG # 6000 (終濃度 8%) および NaCl (終濃度 0.4M) を添加・攪拌し完全に溶解させ、4°C で 1 夜静置の後、10,000×G で 30 分間遠心分離し沈渣を回収した。この沈渣を RNase-free 水 (遺伝子分解酵素を除去した水) に再浮遊させてウイルス濃縮液とし、濃縮液中のウイルスは、リアルタイム PCR 法により定量<sup>6)</sup>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 (RT) 0.1~1.0μg をランダムプライマー、Omniscrypt 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 10μL 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」<sup>7)</sup> 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

る抽出 RNA 量は Spectrophotometer (NanoDrop 社製) により定量した。なお、ウイルス遺伝子抽出カラムへのウイルス濃縮液の通水量は、検出濃度にバラツキが生じないように抽出カラム 1 本あたり 0.05mg-SS となるように統一した<sup>6)</sup>。

### 2.3 合流式下水道越流水の影響を受ける河川調査

下水道の普及に早くから取り組んできた一部の自治体においては、下水と雨水の排除を同一の管渠とした合流式下水道を採用している。合流式下水道では降雨時において、雨水量が増加し下水処理場において処理対応が困難になる場合には、未処理下水が公共用水域へ放流されることから、衛生学的な安全性を担保するため合流式下水道越流水の対策技術の構築が必要となる。

公共用水域に対する病原微生物の負荷源はポイント、ノンポイント負荷として様々なものが存在するが、本研究においては合流式下水道越流水をノンポイント負荷としてとらえ、これら負荷源における病原微生物としてウイルス汚染の実態を明らかにするとともに、対策手法の構築、評価を行うものである。25 年度は対策技術の構築に先立ち、ノロウイルスを対象に胃腸炎感染症の流行期 (3 月) において、降雨時における越流水が河川水へ及ぼす影響を把握した。

### 2.4 塩素、紫外線消毒による抗生物質耐性大腸菌の不活化評価

現在、多くの下水処理場では放流水質基準値の達成のため、次亜塩素酸ナトリウムなどの薬剤によって大腸菌群を不活化している。消毒による細菌類の不活化では、塩素などの薬剤が細胞膜を通じ細胞に作用するが、紫外線照射では直接的に細胞に作用する違いがある。抗生物質に対する細菌の耐性機構は多岐にわたるが<sup>9)</sup>、細胞内への薬剤浸透阻止や浸透した薬剤の排出能力を有した抗生物質耐性菌は、塩素に対しても同様な耐性機能を発現する可能性が推定される。

このため、病原微生物リスク対策技術の構築の一環として、抗生物質耐性大腸菌に対し有効な消毒法の評価を目的に塩素、紫外線消毒による不活化効果を把握した。塩素消毒実験では、A 下水処理場の二次処理水に次亜塩素酸ナトリウムを 0~4mgCl/L の範囲で添加、接触時間を 15 分間とし、チオ硫酸ナトリウムで中和を行った。紫外線消毒は、B 下水処理場の紫外線消毒施設における消毒前後水を採水した。紫外線装置は中圧タイプのもので接触時間は数秒であった。各消毒条件によって得られた試料の大腸菌の抗生物質感受性評価は、上記 2.1 と同一である。

## 3. 研究結果および考察

### 3.1 下水、河川水の大腸菌の抗生物質感受性評価

抗生物質耐性大腸菌の検出結果を図-1、2に示す。供試株数は下水試料で 588 株、河川水試料で 1,228 株とした。その内、下水試料では評価対象とした 8 剤の抗生物質に対し耐性が無いと評価された大腸菌株は 332 株であった。1 剤のみに耐性を示した株は 154 株であるが、その内 ABPC に耐性のあるものは 81 株であった。2 剤以上の抗生物質に対し耐性を示した多剤耐性大腸菌株は 102 株であり、供試株数の約 20% を占めていた。102 株の内 89 株が ABPC に耐性を示しており、多剤耐性大腸菌株の約 90% を占めていた。また、5 株が最大 5 剤に対し耐性を示した。河川水試料では、耐性が無いと評価された株は 554 株、1 剤のみに耐性を示した株は 363 株であるが、その内 ABPC に耐性のあるものは 183 株であった。多剤耐性大腸菌株は 311 株であり、供試株数の 25% を占め、311 株の内 271 株が ABPC に耐性を示しており、多剤耐性大腸菌株の約 90% を占めていたことから、下水試料と同様に多剤耐性大腸菌株の多くは ABPC に耐性を有することが明らかとなった。さらに、4 株が最大 6 剤に対し耐性を示した。

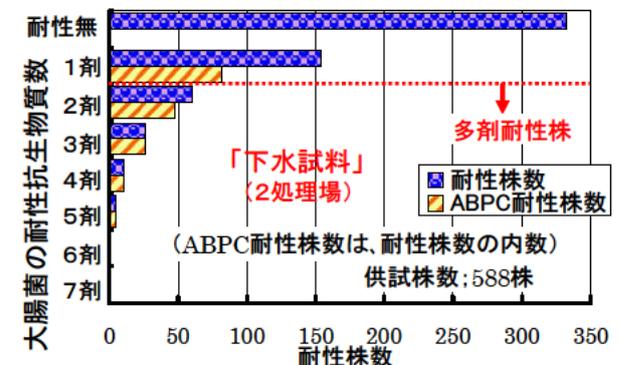


図-1 大腸菌の耐性抗生物質数ごとの検出株数

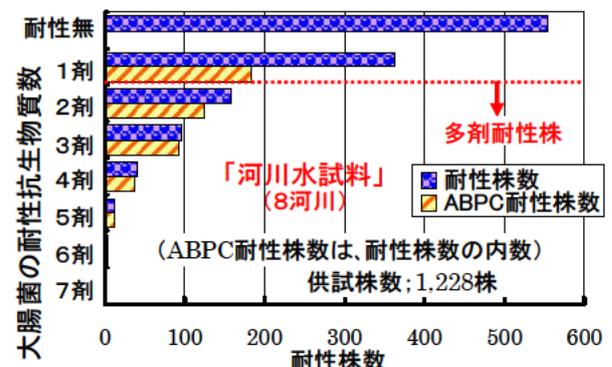


図-2 大腸菌の耐性抗生物質数ごとの検出株数

23～24 年度に実施した病院排水の評価結果と比較したものを表2 に示す。8 剤の抗生物質に対し耐性を有しない大腸菌株の割合は病院排水で約 30%、下水、河川水では約 50%であり、また、多剤耐性大腸菌株の割合は下水、河川水に比較して病院排水では約 2 倍高いことから、病院排水の管理は重要な課題であると考えられた。一方、多剤耐性大腸菌株の内 ABPC に耐性を有する株の割合は各試料間で 87～96%を占めており、大差が見られなかった。このことは、ABPC に耐性を有する大腸菌株の検出によって、多剤耐性大腸菌株の存在を把握できる可能性が高いことを示唆するものである。

表-2 各試料中の抗生物質耐性大腸菌の実態

試料	項目	供試株数	耐性無割合(%)	多剤耐性割合(%)	ABPCを含む多剤割合(%)
病院排水		722	28.0	42.1	96.1
下水試料		588	56.5	17.3	87.3
河川試料		1,228	45.1	25.3	87.1

さらに、河川水に大きな影響を及ぼすと考えられる放流水の影響有無を評価するため、同一河川の上下流ごとに耐性大腸菌株の割合を整理した。対象は8河川の内C、Dの2河川であったが、放流水の影響が無い上流試料では耐性大腸菌株の割合が約30～39%であるのに対し、下流試料は44～56%に上昇した。また、多剤耐性大腸菌株では同様に約4～11%に対し21～26%と大きく上昇しており、河川水に対して下水処理場の放流水の影響が考えられたが、特に多剤耐性大腸菌株の割合の上昇が顕著であった(図-3)。現在の下水処理場の放流水質基準は大腸菌群数 3,000 CFU/mL 以下であることから、今後、多剤耐性大腸菌の汚染防止のためには基準値の見直しを考慮する必要がある。

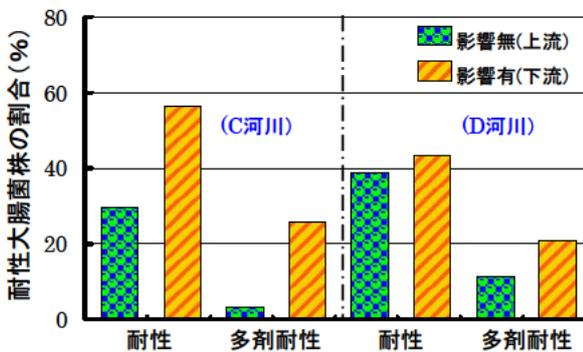


図-3 放流水の影響有無による耐性菌株の割合

図-4、5 は下水、河川水の各抗生物質に対する耐性大腸菌株の検出割合を示したものであり、下水、河川水とも ABPC に耐性を示す株が最も高く約 30～40%を占め、

次いで、TC であった。23～24 年度に実施した病院排水調査でも ABPC に耐性を示した株の検出割合が最も高く、各抗生物質に対する耐性株の検出傾向は同様であった。ABPC は 1963 年、TC は 1954 年に発売され長期間使用されており<sup>8)</sup>、時間の経過が耐性株の増加に繋がったと考えられる。現状において比較的販売量が多いとされる LVFX に関しては<sup>9)</sup>、上記 2 つの抗生物質に比較して耐性株の割合は 5～6%と高くないため、抗生物質販売量と耐性株の存在実態との関係はないようである。

一方、カルバペネム系の代表的な抗生物質の 1 つである IPM に対しては、耐性を示した大腸菌株は検出されなかった。大腸菌などの腸内細菌科でカルバペネム剤に耐性を示す株が分離された場合には、NDM-1 産生の可能性を考慮する必要があるとされているが<sup>10)</sup>、今回の下水、河川水の実態調査や 23～24 年度に実施した病院排水調査でも検出されなかったため、現状においてはスーパー耐性菌と称される細菌の存在レベルは未だ低いと推定された。

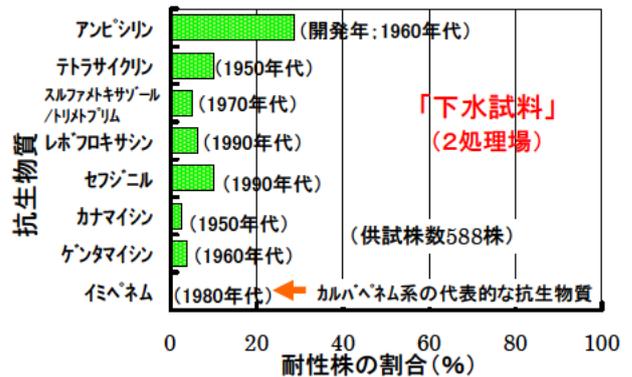


図-4 各抗生物質に対する耐性株の割合

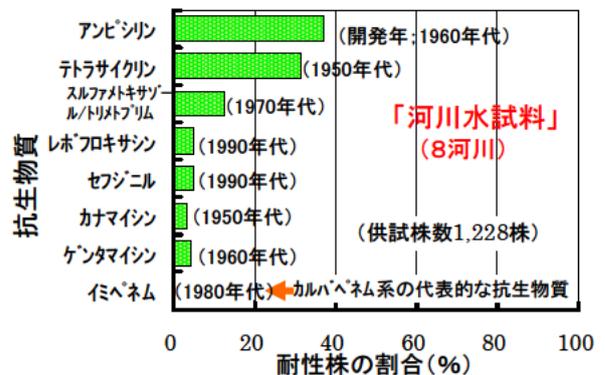


図-5 各抗生物質に対する耐性株の割合

### 3.2 リスク評価のための極低濃度試料に対応した濃縮・定量技術の開発

ノロウイルスの検出精度・検出限界の向上を目的に、河

川水、二次処理水を用い、抽出 RNA の前処理条件の違いがノロウイルス検出濃度に及ぼす影響評価を行った。23～24 年度に実施した評価では、測定試料の洗浄（希釈）や逆転写（Reverse Transcription-RT）RNA 量を変動させることによって検出濃度の向上効果が見られた。この要因としてはウイルス RNA の抽出・逆転写効率の向上によるものと推定されたことから、25 年度はより詳細に抽出 RNA の前処理条件を考慮し検出濃度に及ぼす影響を評価した。

評価結果を図-6、7 に示す。RNA 抽出時に添加するキャリア RNA 量を 5.6 から 4.2 $\mu$ g、逆転写（RT）RNA 量を 0.5 から 0.1 $\mu$ g とした条件を含め各前処理条件の適用によって、従来法で検出限界値以下（ $10^3$ copies/L レベル）であった河川水の定量において、一部定量値が得られるようになった。また、逆転写工程を 2 回とした条件では、検出時の定量値が若干高くなる傾向が見られた。さらに、逆転写（RT）RNA 量を 0.1 から 1.0 $\mu$ g とすることで 0.1 $\mu$ g に比較して検出濃度の低下が見られたが、RT 量を 10 倍としかつ定量値が得られていることから、検出限界値を 10 倍向上させる定量性の向上が見込まれた。一方、比較対象として二次処

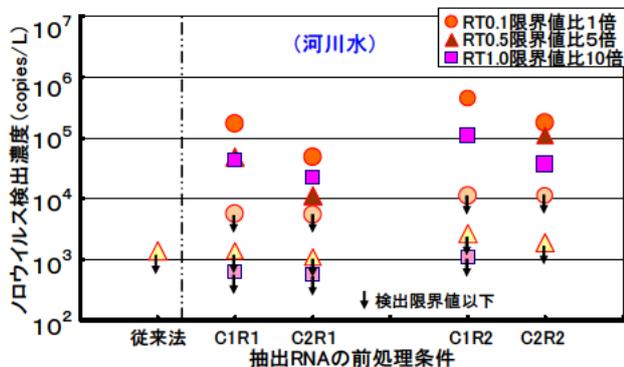


図-6 抽出RNAの前処理条件の違いによるノロウイルス検出濃度

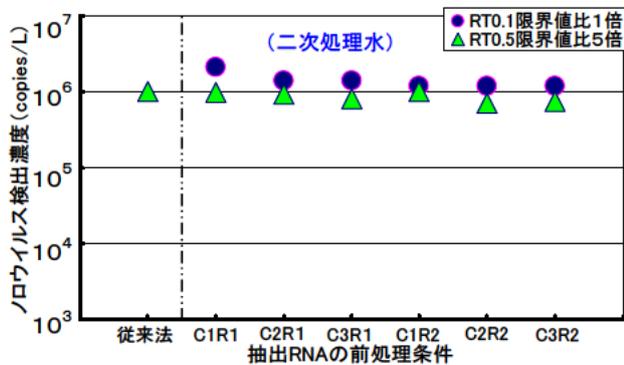


図-7 抽出RNAの前処理条件の違いによるノロウイルス検出濃度

理水を利用した評価では、各前処理条件の適用によって、従来法よりも若干の検出濃度の向上が見られたが、河川水と比較して検出濃度の向上効果に違いが見られた。

検出濃度に及ぼす影響要因としては、RNA 抽出カラムに対する濃縮試料の SS 負荷量<sup>6)</sup>、希釈した溶解性試料の評価結果から溶存物質などが推定されが、今回の評価結果では抽出・精製・逆転写工程が検出濃度に及ぼす影響因子であることが改めて確認された。低濃度の河川水では抽出 RNA の前処理条件を変更することで、定量評価の可能性は向上したが、測定試料のノロウイルス濃度や水質性状が異なることで、検出濃度の向上効果に違いが見られたため、最適手法を定める上でデータの蓄積と解析が必要である。

### 3.3 合流式下水道越流水の影響を受ける河川調査

降雨時における合流式下水道越流水の調査結果を図-8、9 に示す。図-8 は調査日における時間降雨量の推移を示したもので、時間降雨量の最大値は 6mm/h であり、河川への越流水の放流は降雨量が増加した期間の 3 時間程度であった。越流水が河川へ及ぼす影響評価結果を図-9 に示す。採水試料は流入下水、越流水、越流水放流先の河川水（越流水放流口から約 400m 下流）としたが、各試料の採水は越流水の越流開始から多少時間が経過した段階となった。採水当初のノロウイルス濃度は流入下水と越流水がほぼ同程度であり、最大濃度の  $10^7$ copies/L レベルは冬季の感染性胃腸炎流行期における流入下水のノロウイルス濃度と同レベルであったが、時間の経過とともに雨水による希釈によって濃度の低下があるものと考えられた。一方、河川水では越流水の越流開始から多少時間が経過した段階となったが、採水開始当初の  $10^5$ copies/L レベルから、最大濃度は  $10^6$ copies/L レベルにまで上昇しており、合流式下水道の越流水は公共用水域へのノロウイルス汚濁負荷源として考慮する必要があると考えられた。今後、越流水の放流前後のデータを取得することで越流水の詳細な影響評価を行う必要がある

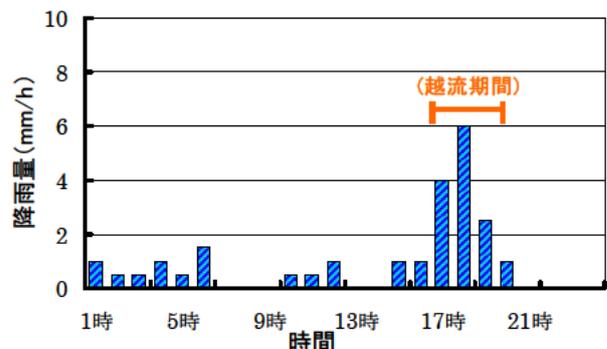


図-8 調査対象流域の降雨状況

が、今回の評価結果では流入下水と河川水のノロウイルス最大濃度は、1オーダー程度の違いしかないため、河川において極めて高濃度となることが明らかとなった。

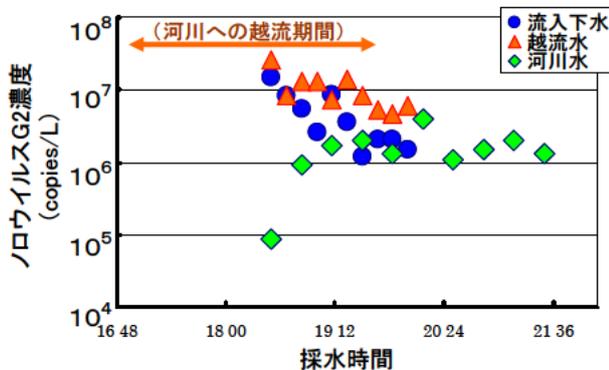


図-9 合流式下水道越流水の影響評価

次いで、各試料のノロウイルス濃度と他の水質項目としてSS、濁度との関連性について評価を行った。濁度は現地にて簡易かつ速やかに測定できることから、越流水の汚濁指標の1つとして、SSは濁度と密接に関連した項目であることから、得られたデータを基に評価を行った。評価結果を図-10、11に示す。SS、濁度とノロウイルス濃度には相関関係が見られ、対策を行う上ではSS、濁度の測定によりノロウイルスの削減効果を推測できる可能性があるものと考えられた。また、高SS・濁度試料はノロウイルス濃度が高い傾向が見られたため、降雨時初期における高SS・濁度水への適切な対応として雨水滞水池の活用や水処理技術としての3Q処理により、放流先河川水への影響を低減できると考えられた。今後、これらの合流下水道の越流水対策手法による削減効果の評価を実施する予定である。

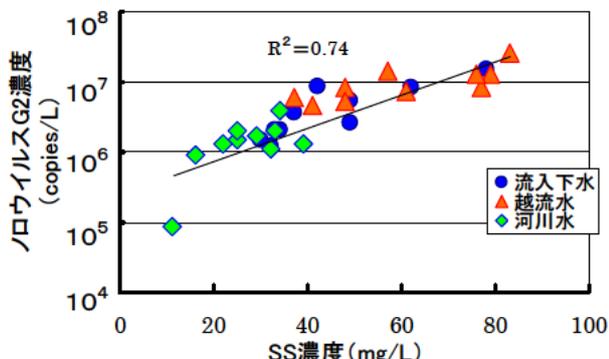


図-10 SSとノロウイルス濃度の関係

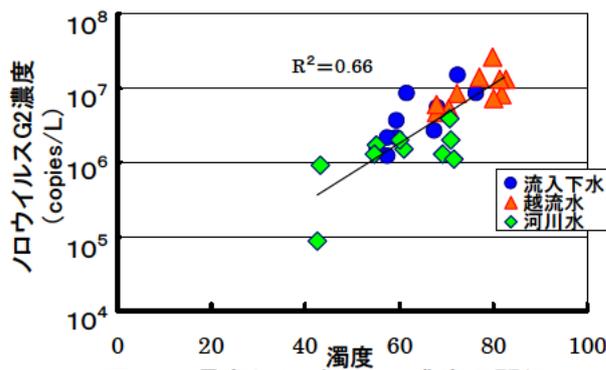


図-11 濁度とノロウイルス濃度の関係

### 3.4 塩素、紫外線消毒による抗生物質耐性大腸菌の不活化評価

抗生物質耐性大腸菌が抗生物質と同様に消毒剤に対し耐性機構を発現することが懸念されることから、塩素消毒に対する耐性評価とともに、薬剤を利用しない紫外線による不活化効果を評価した。塩素消毒による不活化評価結果を図-12に示す。抗生物質耐性大腸菌割合として、8剤の抗生物質に対し耐性を有しない0剤耐性大腸菌は塩素消毒前で約70%を占めていたが、塩素消毒後には約50%に低下した。1剤あるいは2剤以上の抗生物質に耐性を有する多剤耐性大腸菌の割合は、塩素消毒後の全てのケースにおいて上昇しており、これらの抗生物質耐性大腸菌の多くは、0剤耐性大腸菌に比較して塩素消毒耐性が高いものと考えられた。

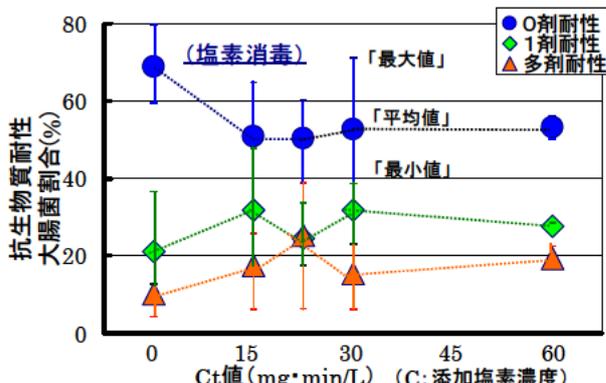


図-12 Ct値と抗生物質耐性大腸菌割合

紫外線消毒による不活化評価結果を図-13に示す。実消毒施設での正確な紫外線照射量が把握できなかったため、大腸菌の不活化率とその抗生物質耐性割合の関係を整理した。8剤の抗生物質に対し耐性を有しない0剤耐性大腸菌は紫外線消毒前で約40%を占めていたが、紫外線照射による不活化率の高まりとともに最終的には約80%にまで上昇した。1剤あるいは2剤以上の抗生物質に耐性

を有する多剤耐性大腸菌の割合は、不活化率の高まりとともに減少していることから、抗生物質耐性大腸菌は消毒法の違いによって感受性が異なる可能性が示唆された。

抗生物質耐性大腸菌が抗生物質と同様に次亜塩素酸ナトリウムに対し耐性機構を発現している可能性が示された。下水道統計<sup>11)</sup>によれば、次亜塩素酸ナトリウムによる消毒を実施している下水処理場は約 900 ヶ所あり、平均添加濃度は 2mgCl/L、平均接触時間は約 20 分間であることから Ct 値を 40mg・min/L と仮定すると、放流水質基準の達成は見込めるが、その放流水に含まれる抗生物質耐性大腸菌の割合がいく分高まっている可能性があるものと考えられた。

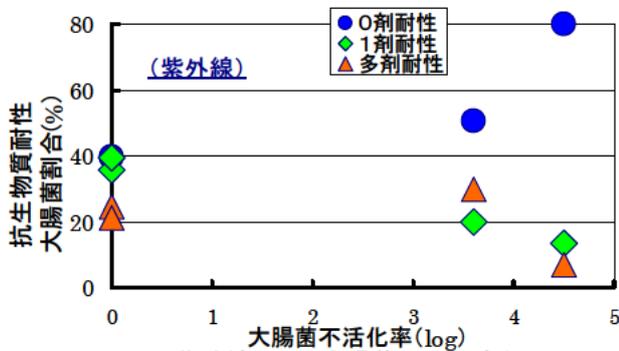


図-13 紫外線による大腸菌不活化率とその抗生物質耐性割合

#### 4. まとめ

25年度は、下水、河川水の大腸菌の抗生物質感受性評価を行うとともに、ノロウイルスを対象に極低濃度試料に対応した濃縮・定量技術の開発のため、抽出RNAの前処理条件による検出精度・限界値の向上評価を行った。また、合流式下水道越流水による放流先水域への影響を調査した。さらに、抗生物質耐性大腸菌に対し有効な消毒法の評価を目的に塩素、紫外線消毒による不活化効果を把握した。

以下に得られた結果を示す。

##### 「下水、河川水の大腸菌の抗生物質感受性評価」

- 1) 下水、河川水の多剤耐性大腸菌株はアンピシリンに耐性を有し、その割合は90%程度を占めていた。
- 2) 現状における抗生物質販売量と抗生物質耐性大腸菌の存在実態との関係は見られなかった。
- 3) 放流水の影響を受ける河川水では、多剤耐性大腸菌の割合が上昇した。
- 4) カルバペネム系の代表的な抗生物質の1つであるイミペネムに対して耐性を示した大腸菌は検出されなかつ

た。

##### 「極低濃度試料に対応した濃縮・定量技術の開発」

5) ウイルス RNA の抽出条件や精製・逆転写工程の変更によって、従来法で検出限界値以下であった河川水で定量評価の可能性が向上した。

6) 逆転写反応に利用する RNA を 10 倍量としても定量値が得られたことから、検出限界値を 10 倍向上させた定量評価の可能性を高められた。

##### 「合流式下水道越流水の影響を受ける河川調査」

7) 合流式下水道の越流水は公共用水域へのノロウイルス汚濁負荷源となる可能性が高いと考えられた。

8) SS、濁度とノロウイルス濃度には相関関係が見られ、ノロウイルス濃度の推移を把握する上で、活用できる可能性がある。

##### 「塩素、紫外線消毒による抗生物質耐性大腸菌の不活化評価」

9) 塩素消毒では Ct 値を高めることで抗生物質耐性大腸菌の割合が上昇した。

10) 紫外線消毒では不活化率の高まりとともに、抗生物質耐性大腸菌の割合が減少した。

#### 謝辞

本研究・調査を実施するにあたり、A、B 下水処理場の各下水道管理者には特段のご配慮・ご協力を頂いた。ここに記し謝意を表します。

#### 参考文献

- 1) M.Suwa, M.Ozaki, (2007), Study of the actual condition of antibiotic resistant bacteria in water environments and wastewater, 14th International Symposium on Health-Related Water Microbiology, Proceedings, pp.354-355.
- 2) 岡本誠一郎、諏訪守、桜井健介 (2011)、水環境中における病原微生物の消長に関する研究、平成 22 年度下水道関係調査研究年次報告書、土木研究所資料、第 4212 号、pp.103-111.
- 3) T.R.Walsh, J.Weeks, D.M. Livermore and M.A. Toleman (2011) Dissemination of NDM-1 positive bacteria in the New Delhi environment and its implications for human health: an environmental point prevalence study, Lancet Infect Dis., 11, 355-362.
- 4) 細菌感受性試験用、KB ディスク栄研手引き.
- 5) 諏訪守、岡本誠一郎、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) 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.
- 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) 橋本一、井上松久 (1993) 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.
- 9) 八十島誠、山下尚之、中田典秀、小森行也、鈴木穰、田中宏明 (2004) 下水処理水中に含まれるレボフロキサシン、クラリスロマイシンの分析と藻類生長への影響、水環境学会誌、27(11)、707-714.
- 10) 日本感染症学会、多剤耐性菌情報-NDM-1 および NDM-1 産生菌の特徴、<http://www.kansensho.or.jp/mrsa/100908ndm-2.html>.
- 11) (公社)日本下水道協会(2013) 平成 23 年度版下水道統計.

## 開発途上国における都市排水マネジメントと技術適用に関する研究

研究予算：運営費交付金

研究期間：平成 23～27 年

担当チーム：材料資源研究グループ (リサイクル)

研究担当者：津森ジュン、桜井健介、王 峰

## 【要旨】

下水処理に加えバイオ燃料の生産が可能な方法として開発途上国で導入が期待される High Rate Algal Ponds について培養藻類の効率的な沈殿処理技術を開発するため、下水から培養された藻類に *Moringa oleifera* の種子の水溶液(MO 溶液)を凝集剤として利用する凝集沈殿実験を行った。その結果、MO 溶液による藻類の沈降促進効果が確認された。実験条件として、pH4 と 11 の間で変化させたところ、pH5 と 6 は凝集効果が小さく、pH7 と 11 の間では、pH が低いほど効果が大きいことが示された。

キーワード：High rate algal ponds、バイオ燃料、*Moringa oleifera*、藻類、凝集、ゼータ電位

## 1. はじめに

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

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

平成 25 年度は、High Rate Algal Ponds で発生する藻類の沈降促進を目指し、下水から培養された藻類に、熱帯・亜熱帯地域に生育する *Moringa oleifera* の種子の水溶液を凝集剤として適用し、沈殿効果を調べた。

High Rate Algal Ponds (HRAP)は、滞留日数 2-8 日、水深 0.2-1m で連続的に攪拌される人工池であり、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処理方法である<sup>1)</sup>。バイオ燃料への変換のために藻類を生産する

技術が世界的に研究されており、HRAP は経済的に実施可能で、かつ、最小の環境影響でできる方法と考えられている<sup>2)</sup>。しかし、沈殿しにくい藻類の除去及び回収効率が悪いことが、HRAP の課題の一つである。

*Moringa oleifera* は、アジア、中東、アフリカの熱帯、亜熱帯地域で広く生育する樹木で、*Moringa oleifera* の種子の水溶液 (以下、MO 溶液と呼ぶ) が、数ある天然凝集剤の中でも優れた凝集作用を持つ<sup>3)</sup>ことが知られている。MO 溶液が HRAP の藻類の凝集沈殿に効果があれば、HRAP の導入が容易になると思われる。また、現在の化学凝集剤の代わりに *Moringa oleifera* の種子が利用されることになれば、化学凝集剤の生産に伴って排出される温室効果ガスの排出抑制になると思われる。

近年、*Moringa oleifera* の凝集性に関しては、いくつか報告がある。Pritchard ら<sup>4)</sup>は、開発途上国での浄水処理のための凝集性を評価し、硫酸アルミニウムや硫酸鉄には劣るが、十分な処理能を有することが報告している。Bhuptawat ら<sup>5)</sup>は、インド国の下水の処理に適用し、硫酸アルミニウムと比較しながら、下水処理への適用性を検討している。Segupta ら<sup>6)</sup>は、ガーナ国の農業かんがい水等に適用し、濁度と寄生蠕虫卵の除去に有効であることを示している。Vieira ら<sup>7)</sup>は、乳業排水に、安価に適用可能であることを報告している。しかし、藻類への適用事例は見当たらない。

そこで、本研究の目的は、MO 溶液による HRAP の藻類の凝集沈殿処理への適用可能性の評価に向けて、簡易試験により、MO 溶液による下水培養藻類の凝集沈殿効果を明らかにすることである。試験にあたり、pH の変化

がMO溶液による凝集沈殿効果に与える影響について検討を行った後に、MO溶液の添加量が藻類の凝集沈殿効果に与える影響を検討した。比較対象としてポリ塩化アルミニウム(PAC)による藻類の凝集沈殿効果も併せて試験した。また、 $\text{Ca}^{2+}$ と $\text{Mg}^{2+}$ がMO溶液と共存することで凝集能力が向上することが知られており<sup>8)</sup>、それらの下水培養藻類の凝集沈殿への影響も調査した。

## 2. 研究方法

### 2.1 下水による藻類の培養

HRAPの藻類培養液を想定し、模倣的に培養液を作成した。培養液は、静置した流入下水の上澄み5Lを容量5Lの三角フラスコに入れ、回分式で曝気およびマグネチックスターラーで1,000rpmの撹拌を行い、照明付きの恒温機内で水温24°C、照射条件は光子フラックス $150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、12h/dで2週間培養し作成した。流入下水は、処理区の一部に合流式下水道を採用している実下水処理場から晴天日(採水前の24時間の降雨量が0mm)に採取した。実験は2回に分けて行い、実験毎に流入下水を採取して培養した。

### 2.2 MO溶液の作成

MO溶液は、精製を行わず、作成が比較的容易な既報の方法<sup>9)</sup>とした。すなわち、*Moringa oleifera*の種の内部2gを1.0mol/Lの塩化ナトリウム水溶液200mLに加え、30分撹拌したのち、孔径8.0 $\mu\text{m}$ 、0.45 $\mu\text{m}$ のニトロセルロースメンブレンフィルター(ミリポア社)の順にろ過した。MO溶液のTOCを測定し、炭素量で注入量を管理した。TOC濃度は毎回やや異なり、1,300mg/L程度であった。また、MO溶液の二クロム酸カリウムによる酸素要求量(COD<sub>Cr</sub>)も測定した。MO溶液の保管中の劣化が不明であったため、溶液は作成後、2日以内に使用することとした。

### 2.3 実験方法

pHの変化がMO溶液による凝集沈殿効果に与える影響を評価するため、異なるpHでMO溶液を反応させ、凝集沈殿後の上澄みの水質を分析した。手順は、下水による藻類の培養液400mLを500mLビーカーに入れ、水酸化ナトリウム溶液または希硫酸でpH調整をした後、急速・緩速撹拌しながらMO溶液を終濃度で20mg-C/Lを添加し、pH4と11の間で反応させた。90分間静置した後、上澄み100mLを水面付近からピペットで採取した。採取した上澄みについて、残存する藻類量の指標としてクロロフィルa、藻類に限らない懸濁物量の指標として波長660nmの吸光度(以下、 $A_{660}$ と表記する)、凝集のしやすさを示す指標としてゼータ電位、凝集剤添加による変化の確認のためにpHと総アルカ

リ度を測定した。MO溶液を注入しない試料も同様に静置し、上澄みの分析をした。

次に、MO溶液の添加量が藻類の凝集沈殿効果に与える影響を評価するため、凝集剤の添加量を変化させて、凝集沈殿後の上澄みの水質を分析した。手順は、500mLビーカーに入れた下水による藻類の培養液400mLを5点用意し、急速・緩速撹拌しながら終濃度で、それぞれ、0、5、10、20、40mg-C/Lを添加し、pH調整なしで反応させた。また、PACはpH調整なしまたはpH7の条件下で、終濃度で0、1.5、3、6、12mg-Al/Lを添加し、同様に試験した。採取した試料のクロロフィルa、全COD<sub>Cr</sub>(TCOD<sub>Cr</sub>)、溶存態COD<sub>Cr</sub>(DCOD<sub>Cr</sub>)を測定した。

また、塩化カルシウムと塩化マグネシウムを添加し、 $\text{Ca}^{2+}$ と $\text{Mg}^{2+}$ 濃度をほぼ倍増させて、pH調整無しで20mg-C/LのMO溶液により凝集沈殿させ、同様に試験した。

凝集のための急速・緩速撹拌は、ジャーテスター(宮本理研工業株式会社、JMD-4E)を用い、2分間150rpm(G値:86s<sup>-1</sup>)の後、15分間30rpm(G値:7.7s<sup>-1</sup>)で撹拌した。PACは、酸化アルミニウム濃度10.0~10.6重量%のものを用いた。

### 2.4 水質分析

実験中の水質の分析の方法は、以下のとおり行った。クロロフィルaの分析は、分光光度計(島津製作所株式会社、Spectrophotometer UV-160)を用い、河川水質試験方法(案)の三波長吸光度法に従った。 $A_{660}$ は分光光度計にて光路長10mmで波長660nmの吸光度を測定した。pHおよび水温の測定にはポータブルpH計(東亜DKK株式会社、HM-30Pと31P)を使用した。ゼータ電位の測定はDelsa Nano HC(ベックマン・コールター社)と低濃度用フローセルを使用した。MO溶液のTOC分析にはTOC-5000(島津製作所株式会社)を使用した。TCOD<sub>Cr</sub>、DCOD<sub>Cr</sub>および $\text{Ca}^{2+}$ や $\text{Mg}^{2+}$ 濃度の測定は吸光度計DR3900および試薬(ともにハック社)を用いた。DCOD<sub>Cr</sub>および $\text{Ca}^{2+}$ と $\text{Mg}^{2+}$ 濃度の測定は、ガラス繊維ろ紙(ワットマン社、GF/B)のろ過試料を用いた。総アルカリ度の分析は、下水試験方法に従った。

## 3. 研究結果

### 3.1 pHがMO溶液の凝集沈殿効果に与える影響

実験原水として用いた藻類を培養した下水(MO溶液注入前)のpHは9.53、クロロフィルa濃度は3,125 $\mu\text{g/L}$ で、その試料の静置後の上澄みは1,281 $\mu\text{g/L}$ であった。異なるpH条件下でMO溶液により凝集沈殿した試料の上澄みのクロロフィルa濃度を図1に示す。図1のとおり、高いクロロフィルa濃度を示したpH5と6の条件で反応した試料の上

澄みを除いて、MO溶液により凝集沈殿した試料の上澄みは67 µg/Lから113 µg/L であり、MO溶液が沈殿を促進する効果が確認された。しかしながら、pH5と6は、それぞれ369 µg/L、259 µg/Lと高く、凝集沈殿効果が劣るpHが存在した。pH7と11の間では、pHが高いほどクロロフィルa濃度が高くなる傾向が見られた。HRAPの放流水はpH7より高くなることが多いが、夜間に重点的に凝集させる、凝集前に日陰を設けるなどの運転方法の工夫や薬品によるpH調整などにより、pH7に近付けた方が効率よく沈殿すると考えられた。なお、A<sub>660</sub>も同様に、pH5と6が高くなり、pH7と11の間では、pHが高いほどA<sub>660</sub>も高くなる傾向が見られ（図2参照）、藻類だけでなく濁質全体も同様の対策が有用と考えられた。

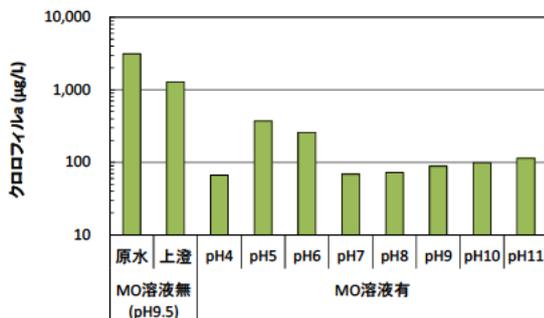


図1 異なるpH条件下で20mg-C/LのMO溶液により凝集沈殿させた試料の上澄み液のクロロフィルa濃度

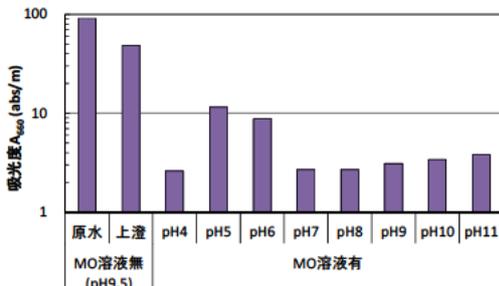


図2 異なるpH条件下で20mg-C/LのMO溶液により凝集沈殿した試料の上澄み液の吸光度A<sub>660</sub>

図3に異なるpH条件下で20mg-C/LのMO溶液により凝集沈殿した試料の上澄みのゼータ電位を示す。pH7では、最も増加し、藻類の凝集に適していると言われるゼータ電位 (-12mV) <sup>9)</sup>に達した。

なお、MO溶液の添加によるpHの低下は最大で約0.1であり、大きく変化しなかった。また、原水の総アルカリ度は96CaCO<sub>3</sub>-mg/Lであり、MO溶液による凝集後もほとんど変化が無かった。

### 3.2 MO溶液の添加量が藻類の凝集沈殿効果に与える影響

本試験で用いた藻類の培養環境下では、pHは24時間内

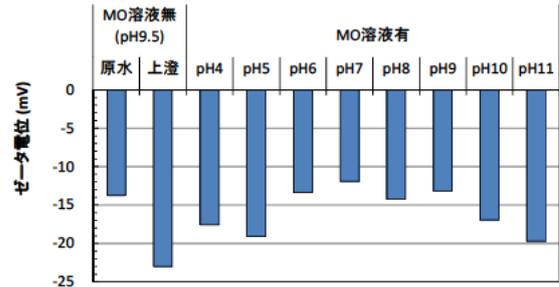


図3 異なるpH条件下で20mg-C/LのMO溶液により凝集沈殿した試料の上澄み液のゼータ電位

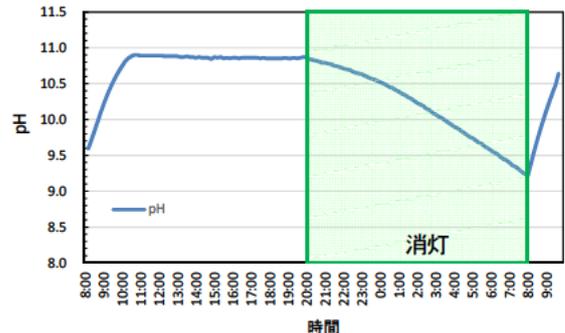


図4 照明付き恒温機による藻類の培養環境下でのpHの連続計測 (20時から8時までには消灯)

に9と11の間で変動し、消灯後12時間経過時にpHが9程度で最低になった(図4参照)。そのため、pHが最も7に近づく消灯後12時間経過時に実験原水を採取し、試験した。実験原水として用いた藻類を培養した下水のpHは9.48、クロロフィルa濃度は2,119µg/Lであった。その試料の静置後の上澄みは1,085µg/Lであった。

MO溶液(pH調整無し)またはPAC(調整無しとpH7)により凝集沈殿した試料の上澄みのクロロフィルa濃度を図5に示す。MO溶液の添加量が多い時に、クロロフィルa濃度は低下し、凝集沈殿効果の向上が見られた。5mg-C/L添加時に、凝集剤添加無しで沈殿させた時よりもさらに60%を除去し、20mg-C/L添加時には94%をさらに除去した。PACも同様に、添加量が多い時にクロロフィルa濃度は低下し、pH7に調整したところ、少ない添加量で効率よく低下した。MO溶液8mg-C/L(pH調整無し)、PAC5mg-AI/L(pH調整無し)、PAC3mg-AI/L(pH7)の添加時、クロロフィルa濃度が約400µg/Lに達し、同程度のクロロフィルaの除去効果を示した。

また、MO溶液(pH調整無し)により凝集沈殿した試料の上澄みのTCOD<sub>G</sub>とDCOD<sub>G</sub>を図6に示す。MO溶液の添加量を増やすにつれてDCOD<sub>G</sub>が増加していた。これは、MO溶液自身が持つ有機物が残留するためと思われる。MO溶液40mg-C/L(DCOD<sub>G</sub>で135mg/L)相当を添加した際、上澄みのDCOD<sub>G</sub>は、MO溶液を添加しなかった場合と比較して、

41mg/L多く、有機物添加量の30%が上澄み中に残留しているものと計算された。そのため、流出する有機物の最小化の観点からは、MO溶液の過剰な添加に配慮する必要があると思われる。

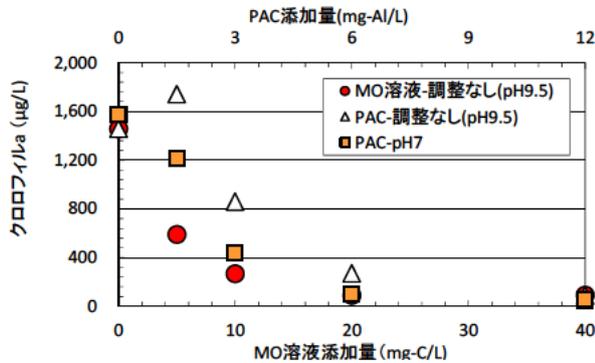


図5 MO溶液(pH調整無し)またはPAC(調整無しとpH7)により凝集沈殿した試料の上澄みのクロロフィルa濃度

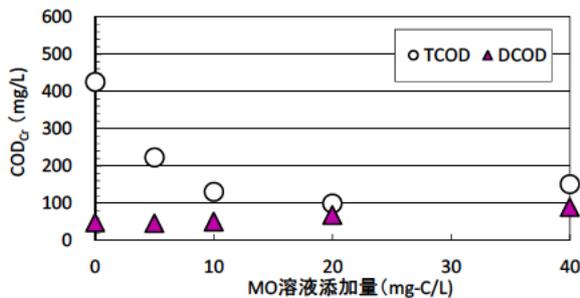


図6 MO溶液(pH調整無し)により凝集沈殿した試料の上澄みのTCODαとDCODα

### 3.3 Ca<sup>2+</sup>とMg<sup>2+</sup>濃度の変化がMO溶液による凝集沈殿効果に与える影響

pH調整無しで20mg-C/LのMO溶液で反応させた試料の上澄み中のクロロフィルa濃度は96.8µg/Lであった(図1参照)。それと比較して、Ca<sup>2+</sup>とMg<sup>2+</sup>濃度をほぼ倍増させて、同様に試験したところ、クロロフィルa濃度は65.3 µg/Lとなり、さらに低下した。本試験で用いた藻類を培養した下水は、Ca<sup>2+</sup>濃度18mg/L、Mg<sup>2+</sup>濃度2.7mg/Lであった。この結果より、凝集の対象が藻類でも、Ca<sup>2+</sup>とMg<sup>2+</sup>がMO溶液と共存することで凝集能力が向上すること確認された。開発途上国で導入する際、地域によっては、本試験で用いた原水よりCa<sup>2+</sup>とMg<sup>2+</sup>濃度が高いことが考えられ、その様な場合は、本試験で用いた原水よりも効率的に藻類が除去できる可能性があると考えられる。

## 4. まとめ

本研究では、HRAP で発生する藻類の沈殿効率を向上させるため、下水から培養された藻類に *Moringa oleifera* の種子の水溶液 (MO 溶液) を凝集剤として沈殿実験を行

った。その結果、以下のことが明らかになった。

- 1) MO溶液が下水で培養された藻類の沈殿を促進する効果が確認された。
- 2) pH4と11の間で20mg-C/LのMO溶液により藻類を凝集沈殿させたところ、pH5と6は効果が小さく、pH7と11の間では、pHが低いほど効果が大きくなった。
- 3) MO溶液 8mg-C/L(pH調整無し)、PAC 5mg-Al/L(pH調整無し)、PAC 3mg-Al/L(pH7) は同程度のクロロフィルaの凝集沈殿効果を示した。
- 4) pH調整無しの場合、添加したMO溶液のDCODαの30%が上澄み中に残留した。
- 5) Ca<sup>2+</sup>とMg<sup>2+</sup>濃度をほぼ倍増させて、MO溶液で藻類を凝集沈殿させたところ、凝集沈殿効果が向上した。

## 参考文献

- 1) Shilton, A., 2006. *Pond treatment technology*, IWA publishing.
- 2) Park, J. B. K., Craggs, R. J., Shilton, A. N., 2011. Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. *Bioresour. Technol.*, 102(1), 35-42.
- 3) Yongabi, K. A., 2010. Biocoagulants for water and waste water purification: a review, *International review of chemical engineering*, 2(3), 444-458.
- 4) Pritchard, M., Craven, T., Mkandawire, T., Edmondson, A. S., O'Neill, J. G., 2010. A comparison between *Moringa oleifera* and chemical coagulants in the purification of drinking water – An alternative sustainable solution for developing countries. *Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C*, 35(13-14), 798-805.
- 5) Bhuptawat, Hitendra, Folkard, G. K., Chaudhari, Sanjeev, 2007. Innovative physico-chemical treatment of wastewater incorporating *Moringa oleifera* seed coagulant. *Journal of Hazardous Materials*, 142(1-2), 477-482.
- 6) Sengupta, M. E., Keraita, B., Olsen, A., Boateng, O. K., Thamsborg, S. M., Palsdottir, G. R., Dalsgaard, A., 2012. Use of *Moringa oleifera* seed extracts to reduce helminth egg numbers and turbidity in irrigation water. *Water research*, 46(11), 3646-3656.
- 7) Vieira, Angelica Marquetotti Salcedo, Vieira, Marcelo F., Silva, Gabriel F., Aratijo, Álvaro A., Fagundes-Klen, Márcia R., Veit, Márcia T., Bergamasco, Rosângela, 2009. Use of *Moringa oleifera* Seed as a Natural Adsorbent for Wastewater Treatment. *Water, Air, and Soil Pollution*, 206(1-4), 273-281.
- 8) 鈴木祐麻, 新苗正和, 真田靖瑛, 2012. 天然凝集剤 *Moringa oleifera* によるカオリナイト粒子の凝集沈殿に水質が与える影響, *環境資源工学* 59, 73-80.
- 9) Parsons, S. A., and Jefferson, B., 2006. *Introduction to portable water treatment processes*, Blackwell publishing Ltd.

## 再生水利用の安全リスクに関する研究

研究予算：運営費交付金（一般勘定）

研究期間：平 21～平 25

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：津森ジュン、諏訪守、  
桜井健介、安井宣仁

### 【要旨】

本研究では、ウイルス濃度の基準値設定に際してその課題抽出や再生処理技術によるリスクの低減効果を評価することを目的に① 再生水利用促進手法のための要因分析、② 水質基準を設定するための課題抽出、③再生処理技術におけるウイルス除去効果の明確化と安全性向上を行った。その結果、再生水利用促進のためには、「個人のリスク認知」を進め、可能な限り正確でわかりやすい安全性の保証の周知徹底する手法が最も効果的である。再生水処理技術の評価においては、特に生物学高度処理水を再生水原水として使用する場合、粒子径が $1\mu\text{m}$ 以上の粒子と $0.4\mu\text{m}\sim 1\mu\text{m}$ 未満の粒子を除去してもNorovirusの残存濃度がほぼ同等であったことから、 $0.4\mu\text{m}$ 未満の微小粒子を除去することで効果的にNorovirusの除去が可能であることが見出された。

キーワード：再生水、Norovirus(NoV)、膜処理

### 1. はじめに

温暖化による気候変動等に伴い、世界的に水不足が懸念されている現在、下水処理水は安定した水資源として位置づけられる。下水再生水は渇水時にも安定的に供給が可能であり、世界的にその利用が注目されている。また、親水・修景用水等の利用も進んできている。さらに、企業におけるCSR活動の一環として下水処理水の再利用に関心が高まりつつある。一方、下水処理水におけるウイルスの知見が集積されてきており、社会的関心が高まっている中で下水処理水の再利用が行われているが、ウイルスに関する水質基準値は設定されていない。下水処理水の再利用を促進する上で衛生的安全性の担保は重要な因子であることから、ウイルス濃度の基準値を設定するための課題抽出や再生処理技術の評価が望まれている。

現在、我が国における下水処理水年間 147.1 億 $\text{m}^3$ のうち、再利用量は約 2.0 億 $\text{m}^3$ 、再生水利用率は約 1.4%と低水準<sup>1)</sup>であり、下水処理水の再利用促進が望まれる。今後、水量・水質の双方からの水環境の改善と都市内水資源の有効活用が求められている。下水処理水の再利用にあたり、特に再生水利用時における病原微生物による感染リスクの管理は重

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

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

本研究では、下水処理水の再利用を促進する上で水質性状、特にウイルス等の衛生的安全性の担保についてより踏み込んだものとするため、ウイルス濃度の基準値設定に際してその課題抽出や再生処理技術によるリスクの低減効果を評価した。既往の再生処理技術を対象に、微小懸濁物質とウイルス除去の関係に着目し、研究内容を拡張させ再生水の利用促進の向上および安全リスクの信頼度向上を図ること

を目的とし、以下の3項目について検討を行った。

- ① 再生水利用促進手法のための要因分析
- ② 水質基準を設定するための課題抽出
- ③ 再生処理技術におけるウイルス除去効果の明確化と安全性向上

## 2. 再生水利用促進のための要因分析(検討項目①)

本節においては、今後、外的要因が変化し再利用の導入を検討する際に、導入の制限となる可能性がある要因の構成要素の同定と対策について先行事例の取り組みを抽出した後、再生水利用促進のための要因分析を行なった。

再生水利用促進における阻害要因の検討のため、既往の調査から、各国の利用用途と容認度の関係をまとめた。文献<sup>4)</sup>によると、米国や豪州の事例で「反対」する回答者の割合は、ゴルフ場散水は2-7%、家庭水洗利用は3-13%、野菜への畑地灌漑は7-31%、洗濯用水利用は22-30%、シャワー用水利用は37-52%、調理への利用は55-62%、飲用利用は56-74%である。イスラエルの事例<sup>5)</sup>では、「支持」する回答者の割合は、修景利用95%、水洗利用85%、消火用水利用96%、洗濯用水利用38%、飲用利用のための地下浸透11%であった。国内<sup>6),7)</sup>では、5箇所の調査において、「支持」する回答者の割合は、水洗用水利用で約93%、修景用水で約86%、親水用水で約60%であった。図-1に各国の利用用途と再生水利用の容認度の関係を示す。

水洗用水は、いずれの地域においても、支持の割合が高く、各国間での差は小さかった。また、用途毎の接触可能性の高低と支持率の間には、相関が見られ、接触に対する不安感の寄与が伺われる。しかしながら、地域の特定の課題に取り組むための特定の提案となると、接触の程度ではなく、その目的が大きく寄与する事例も報告されている<sup>8)</sup>。

再生水利用促進においては市民の承諾が重要な要素であり、再生水利用促進のためには、「個人のリスク認知を進めることは市民の承諾を得る上で有効であることが確認され、今後の外的環境の変化により再生水利用の必要性が高まり、その必要性が行政の努力により市民へ理解が進んだ場合に、リスクコ

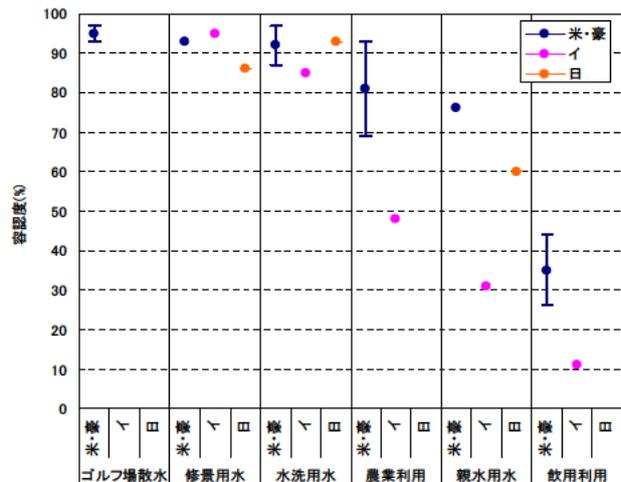


図1 各国の利用用途と容認度の関係

注)「米・豪」は、米国および豪州の事例<sup>4)</sup>、「イ」はイスラエルの事例<sup>5)</sup>、「日」は日本の事例<sup>6),7)</sup>を表す。また、「米・豪」は、100より反対度(%)を減じた値を容認度とした。

コミュニケーションなどにより可能な限り正確でわかりやすい安全性の保証が有効となると考えられた。

## 3. 水質基準を設定するための課題抽出(検討項目②)

再生水の有効利用時の包括的な安全管理手法としては、実際に現場で適用する際に必要な要件として以下の諸点を満たすことが必要である。

- ・科学的知見に基づき、想定される危害(課題)に対する安全管理を行うこと
- ・現場で容易に適用可能な手法であること。即ち、体系化、文章化(マニュアル化)された管理手法であること
- ・リスク管理計画は、地域要件に応じたカスタムメイドであっても、その策定手法は汎用的であること

上記、要件を達成するために、本研究では、食品・飲料水のリスク管理手法として推奨されているHACCP(Hazard Analysis and Critical Control Points)の考え方にに基づくリスク管理計画の適用が有効と判断し、特に微生物学的リスクの観点からリスク管理スキームの枠組みを構築した。図2に再生水の利用用途の一つとして農業用水利用を対象に、利用時の「プロセスフローダイアグラムの作成」し「課題」を抽出した結果を示す。表1に農業用水利用時のハザード・リスト例を示す。図2に表1より

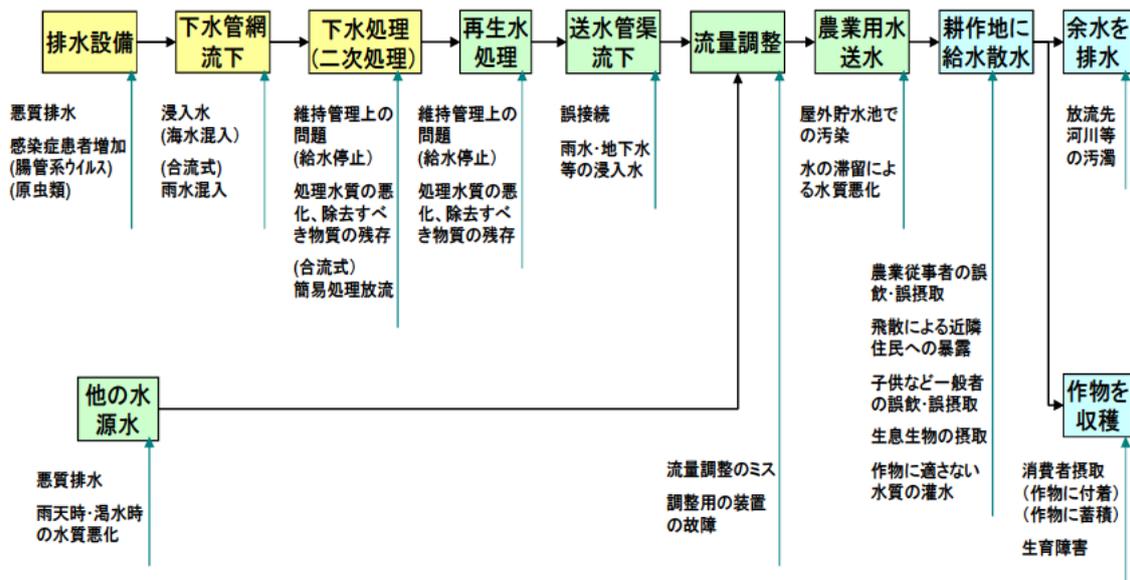


図2 農業用水利用におけるプロセスフローダイアグラムと危害要因

表1 農業用水利用 ハザード・リストの例

工程	発生が予想される危害要因	重要な危害要因か？	その根拠	予防措置	重要管理点 (CCP)か？	
排水設備	化学	悪質排水の流入	No	近年は頻度少。発生しても一時的。給水段階で対応可	事業場への誘導等	No
	生物	接続家屋等における感染者の増加	Yes	下水道管理者、再生水管理者にはコントロール不能	保健所等からの感染者情報への入手	No
下水道管網	化学	雨水混入	No	一時的。処理場への影響あり	管きよの更正、改築等	No
	生物	浸入水(塩水混入)	Yes	高濃度では稲などへの生育障害	管きよの更正、改築等	No
下水処理・再生水処理	化学	雨水混入	No	一時的。処理場への影響あり		No
	化学	水処理プロセスの不調	No	通常、一時的な現象	定期的な点検の実施、熟練管理者の養成	No
	生物	病原微生物等の流入の増加(Out break等)	Yes	対応して放流水濃度も増加するため、感染リスク増	消毒、凝集剤添加などの緊急対策、濾過の高度化	Yes
	生物	言流式下水道の雨天時未処理/簡易処理放流	Yes	高病原微生物濃度up⇒農業者等の感染要因に	消毒、凝集剤添加などの緊急対策、濾過などの整備	Yes
流量調整	物理	流量調整のミス 調整用装置の故障	Yes/No(水の混合形態による)	塩化物イオン、栄養塩類等の濃度調整が行えず、作物に影響する可能性がある	定期的点検	No
耕作地に給水	生物	農業者の誤飲・誤摂取	Yes	Norovirus高濃度期(冬期～春期)は感染リスク高	高濃度期の水処理レベル向上、他水源水利用、作業者の注意喚起	No
	生物	飛散による近隣住民への暴露	No(水稲栽培)	水稲栽培ではミスト飛散の可能性は少	飛沫を発生させないように灌水形態	No
	化学	作物に適さない水質の灌水	Yes	栽培作物によって影響は異なるが、塩化物イオン、栄養塩類濃度は作物への影響大	(対象物質により異なる)	-
作物を収穫	生物	作物に付着、消費者摂取	No(水稲栽培の場合)	コメへの病原微生物、有機物質の付着は微小、重金属等の蓄積も水由来は微小と推定	飛沫を発生させないように灌水形態	No
	化学	作物に蓄積、消費者摂取	No(水稲栽培の場合)		定期的な水質等監視	No

検討したハザードにおいて、重要となる危害要因(=課題)に対して、発生頻度、影響程度を検討、リスクレベル(管理上の重要性)から重点管理点(CCP)を特定した。

#### 4. 再生水処理技術の評価(検討項目③)

再生水処理技術として、現在主に下水二次処理水を再生水原水とし、砂ろ過+塩素、膜ろ過等の高度処理が用いられている。これらの再生水処理技術を

評価する際には、生産される再生水のウイルスの除去性を把握することで処理性能を評価する方法が挙げられる。処理性能を評価するにあたり、下水処理水中または再生水中のウイルスと粒子の関係を把握することが重要である。

下水処理水中のウイルスは、しばしば粒子に付着している場合がある<sup>9) 10)</sup>。粒子の種類によっては、化学消毒や紫外線消毒において、消毒効果を低下させることが知られている<sup>11)</sup>。また、MF膜やUF膜

のろ過処理は、粒子の補足能力が極めて高い一方で、膜の微粒子などによる目詰まりが起りやすく、膜ろ過装置の運転方法や膜の物理的洗浄や薬品による洗浄等のノウハウが重要であることが知られている<sup>12)</sup>。

そこで、平成 22 年度は、粒子とウイルスの関係の解明に向け、下水中、二次処理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を目的に検討を行った。また、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調査を行った。

平成 23 年度は、過年度の研究成果より、Norovirus (以下、NoV と記す) を対象に粒子の付着状態を把握するために、孔径の異なるフィルターを用い、粒子を分画しウイルス濃度を定量し検討を行った。

平成 24、25 年度は、平成 23 年度の結果より、1  $\mu\text{m}$  未満の粒子への除去が効率的に NoV を除去可能であると考えられたため、前処理として凝集沈殿を行い、MF 膜、UF 膜処理による NoV の除去性を検討した。

以下に平成 22～25 年度までに得られた研究成果を示す。なお、NoV の定量は文献<sup>13), 14)</sup>に準拠して Real-time PCR 法にて定量した。

#### 4. 1 下水中、二次処理水中の微小懸濁物質径の分布の測定方法の検討 (H. 22)

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<sup>15)～24)</sup>。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 10-20  $\mu\text{m}$  以下の粒子<sup>25)</sup>を指すこととし、分析機の細孔は 20  $\mu\text{m}$  (標準測定範囲 : 0.4-12  $\mu\text{m}$ ) を用いることとした。

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、0.5  $\mu\text{m}$  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。この結果より、下水処理水中の粒径区分は大半が 1  $\mu\text{m}$  未満の粒子の状態が存在していることが明らかとなった。

#### 4. 2 下水処理プラント実験 (H. 22)

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を把握するために、図 3 に示す SRT の異なる下水処理プラントの処理水中の NoV 濃度および懸濁物質の粒径分布を定量した。NoV は、孔径 20  $\mu\text{m}$  のフィルターでろ過したろ液、孔径 1  $\mu\text{m}$  のフィルターでろ過したろ液の NoV GII の濃度を定量し、粒子区分毎の NoV 濃度を把握した。表 2 にフィルターでろ過した際のノロウイルス濃度と SS 濃度、図 4 に 2 孔径 20  $\mu\text{m}$  のふるいでろ過した下水処理水の懸濁物質の粒径分布を示す。

調査結果より、0.4～1  $\mu\text{m}$  の懸濁物質の体積の合計は、系列 A の 0.045  $\text{mm}^3/\text{mL}$ 、系列 B の 0.029  $\text{mm}^3/\text{mL}$  であった。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た。SRT の違いによる NoV の濃度の差は確認されなかった。

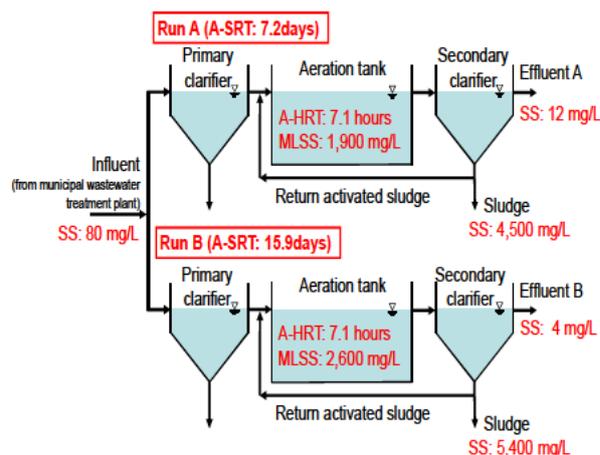


図 3 下水処理プラントの概略図

表 2 フィルターでろ過した際の NoV 濃度と SS 濃度

	Run A	Run B
SS in filtered effluents by 20 μm pore size filter (mg/L)	0.6	0.1
Norovirus genogroup 2 in filtered effluents by 1 μm pore size filter (copies/L)	$4.6 \times 10^4$	$3.2 \times 10^3$
Norovirus genogroup 2 in filtered effluents by 20 μm pore size filter (copies/L)	$1.5 \times 10^5$	$2.6 \times 10^5$

#### 4. 3 各処理水の粒度分布と粒子区分毎の NoV の存在実態 (H. 23)

処理方式が異なる処理水の微小粒子区分毎におけるウイルスの存在実態の把握を目的に、標準的な活性汚泥二次処理水と生物学的高度処理水を対象とした。二次処理水は A 下水処理場内のパイロットプラント処理水、生物学的高度処理水は A 下水処理場における生物学的高度処理 (A2/O 法、修正 Bardenpho 法、循環式硝化脱窒法) とし、凝集剤添加活性汚泥法の処理水も含めた。また処理水の採水と同時に流入下水の採水も行った。採水時期は H. 23、1 月、2 月の流域の感染胃腸炎患者報告数が多い時期とした。

一例として、図 4 に高度処理水、A2/O 法処理水の粒度分布と粒子区分毎の NoV 存在割合を示す。

流入下水、パイロットプラント処理水、凝集剤添加活性汚泥法処理水では 1 μm 以上の粒子を除去すれば、GI、GII とともに概ね 60% 程度、NoV を除去することが可能となるが、残りの 40% は 1 μm 以下の微小粒子態に存在し、特に 0.4 μm 以下に最大で

35% 程度、NoV が残存している可能性が示された。生物学的高度処理では、粒子径が 1 μm 以上の粒子と 0.4 μm ~ 1 μm 未満の粒子を除去しても NoV の残存濃度がほぼ同等であることから、0.4 μm 未満の微小粒子を除去する必要があると考えられた。よって二次処理水を再生水として利用する際、特に生物学的高度処理水を原水として使用する場合、1 μm 以上の粒子を除去するより、1 μm 以下、特に 0.4 μm 以下の微小粒子を除去する方が効果的にウイルス除去できると考えられた。

#### 4. 4 膜ろ過処理による NoV 除去性の検討 (H. 24-25)

高度処理水を原水とした場合、0.4 μm 以下の微小粒子を除去する方が効果的にウイルス除去できると考えられたため、再生処理技術として、今後、促進・発展が期待される膜処理技術に着目し、微小懸濁物質とウイルス除去との関係を明らかにすることを目的とした。

H. 23 年度の研究成果から、1 μm 未満の低粒子に約 20% 程度 NoV が残存している可能性が見出されたことから、H. 24-25 年度では MF 膜 (膜材質: ポリフッ化ビニリデン (PVDF)、公称孔径=0.45 μm、有効膜面積=120cm<sup>2</sup>)、UF 膜 (膜材質: ポリアクリロニトリル (PAN)、分画分子量=50000Da、有効膜面積=170cm<sup>2</sup>) を用いた膜処理による NoV の除去性を検討

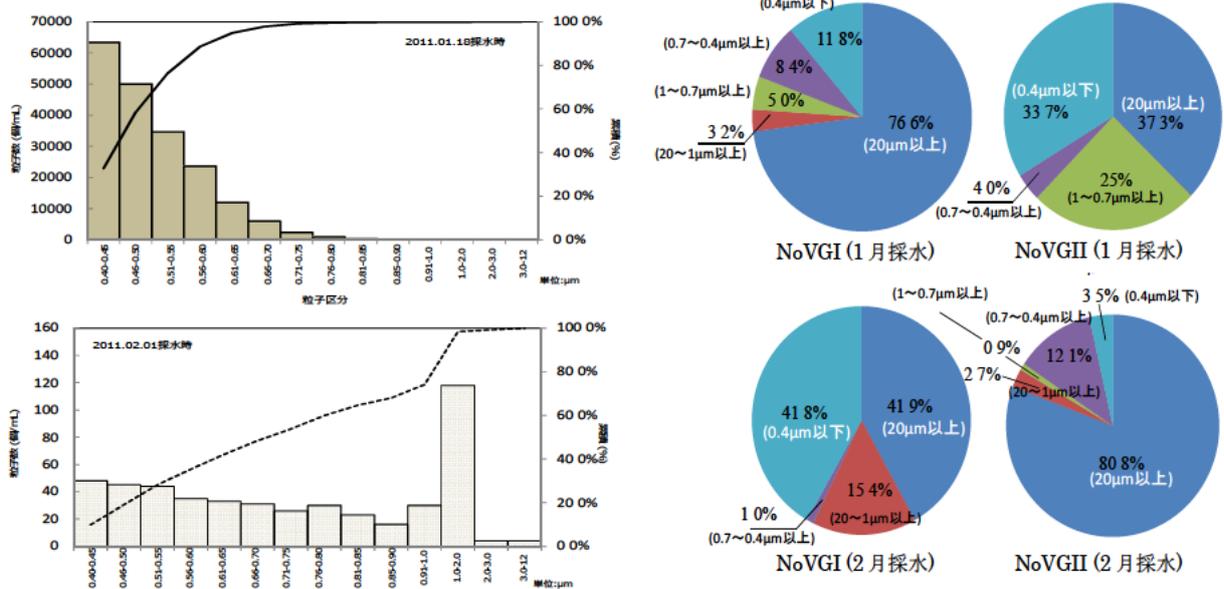


図 4 A2/O 法処理水の粒度分布と粒子区分毎の NoV 存在割合 (上段: 1 月採水、下段: 2 月採水)

した。図5に示す膜モジュール装置を用い、前処理としてポリ塩化アルミニウムによる凝集沈殿を行い、その後膜処理を行った。

#### 4.4.1 実験材料と方法

##### a) 原水

前処理および膜処理による除去効果を的確に把握するためには、原水中のNoV濃度が比較的高濃度で存在することが望ましい。そこで、本実験においては、A下水処理場の流入下水とパイロットプラントの活性汚泥を用いて疑似処理水を作成し、本実験の原水とした。疑似処理水は、流入下水16L中に活性汚泥を4L投入し、約1時間曝気を行い、活性汚泥を沈降させ、その上澄みを疑似処理水とした。作成した疑似処理水の水質は、SS=5.5 mg/L、COD<sub>cr</sub>=50 mg/L、NoVGI=2.66 × 10<sup>7</sup> (copies/L)、NoVGII=1.51 × 10<sup>6</sup> (copies/L)であった。

##### b) 前処理

前処理として、一般に市販されているポリ塩化アルミニウム(PAC)を用い、ジャーテスターにて凝集沈殿を行い、その上澄み水を膜ろ過した。PAC添加量は、アルミ濃度で約2~12mg-AL/Lになるように添加した。攪拌は、G値が約800(s<sup>-1</sup>)に設定し、急速攪拌10(s)、緩速攪拌20(min)を行い、60分間静置後の上澄み水を試験水として用いた。

##### c) 膜モジュール

実験には、MF膜とUF膜の膜材質、膜種の異なる2種類の膜を用いた。膜間差圧を調整し、ろ過水量を500mLとした。

##### d) 実験方法

公称孔径、分画分子量、材質の異なる膜モジュールを用い、前処理条件ことなる条件下で膜処理によるNoV除去性の把握を試みた。図5に示す、膜ろ過装置を用いた。実験は回分式にて行った。PAC添加のみ、PAC添加後の凝集沈殿上澄み液をMF膜、UF膜に通水し、膜処理水を得た。

##### e) 実験結果

図6に各実験条件におけるNoV除去特性を示す。PAC添加のみでは、NoVGIは、添加量を増加すると除去率が向上するが、6mg-AL/L以上の添加量を超えると除去率が低下することが確認された。一方NoVGII

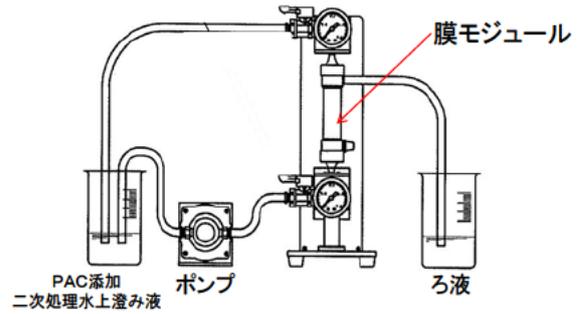
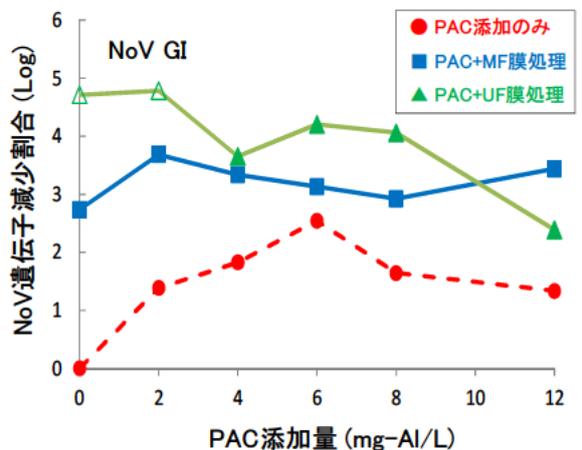
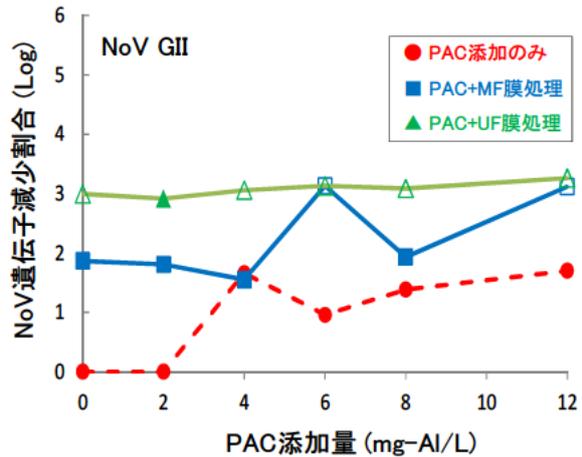


図5 膜ろ過装置



\* 図中の白抜きは、不検出データ (仮値として、Real-time PCR法にて1copy/tube検出されたと仮定)

図6 PAC添加による凝集沈殿+膜処理によるNoV遺伝子減少割合 (上段: NoVGI, 下段: NoVGII)

は、2mg-AL/Lの添加では、除去率が向上しなかったが、4mg-AL/L以上の添加で概ね2Log程度の除去が期待された。PAC添加+MF膜処理では、GI、GIIともにPAC添加量に比例してMF膜処理後のNoVの除去率が向上傾向にあるものの、GI、GIIに関してはPACのみ添加時同様に最適な添加量が存在する可能性が示

された。また、PAC 添加+UF 膜処理では、GII に関しては PAC 添加=2mg-AL/L を除き、全ての実験系で不検出であったため、PAC 添加効果を明確に判断することは出来なかった。一方、GI に関しては PAC 添加量が 4mg-AL/L 以上になると除去率が低下する傾向が確認された。

以上より、NoVGI は PAC 添加量が 0~2mg-AL/L の前処理で UF 膜処理を行うことで、4Log 以上の除去が見込まれた。NoVGII は PAC 添加量に依らず、UF 膜処理で 3Log 以上の除去が見込まれた。また MF 膜、UF 膜処理を行う場合、処理水量の増加ならびに膜処理の運転性能を低下させないため、前処理として PAC を添加する際、最適な添加量が存在することが明らかとなった。特に NoVGI の除去を考えた際は、PAC 添加量に依存して MF 膜、UF 膜での除去性が異なるため、最適 PAC 添加量の設定が重要であることが分かった。

## 5. まとめ

本研究では、下水処理水の再利用を促進する上で水質性状、特にウイルス等の衛生学的安全性の担保についてより踏み込んだものとするため、ウイルス濃度の基準値設定に際してその課題抽出や再生処理技術によるリスクの低減効果を評価した。得られた成果は以下の通りである。

- 1) 再生水利用促進においては市民の承諾が重要な要素であり、再生水利用促進のためには、「個人のリスク認知」を進めることは市民の承諾を得る上で有効手法であることが確認された。
- 2) 食品・飲料水のリスク管理手法として推奨されている HACCP(Hazard Analysis and Critical Control Points)の考え方に基づくリスク管理計画の適用が有効と判断し、特に微生物学的リスクの観点からリスク管理スキームの枠組みを構築し、リスクレベル(管理上の重要性)から重点管理点(CCP)を特定し、各プロセスで想定されるハザードに対して、リスク評価から管理手法を提案した。
- 3) 下水処理水中または再生水中のウイルスと粒子の関係を検討した結果、物学高度処理水を原

水として使用する場合、1 $\mu$ m 以上の粒子を除去するより、1 $\mu$ m 以下、特に 0.4 $\mu$ m 以下の微小粒子を除去する方が効果的にウイルス除去できると考えられた。

- 4) 再生水処理技術として、PAC 添加前処理と膜ろ過処理の組み合わせによる NoV 除去性の検討した結果、PAC 添加量に依存して MF 膜、UF 膜での除去性が異なるため、最適 PAC 添加量の設定が重要であることが分かった。

## 謝辞

本調査・検討を実施するにあたり A 下水処理場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) 社団法人日本下水道協会、平成 22 年下水道白書、日本の下水道、pp.58-61、2010。
- 2) 諏訪守、岡本誠一郎、尾崎正明、陶山明子、下水処理のノロウイルス除去効果とその検出濃度に及ぼす濃縮法の影響、下水道協会雑誌、46(512)、pp.91-101、2009。
- 3) 諏訪守、岡本誠一郎、桜井健介、下水道におけるウイルス対策手法に関する検討調査、平成 22 年度下水道関係調査研究年次報告書集、土木研究所資料、No.4191、2010。
- 4) Water Reuse: Issues, Technologies, and Applications, Metcalf & Eddy, Inc. an AECOM Company, 2007。
- 5) Eran Friedler, Ori Lahava, Hagar Jizhakib, Tali Lahav, Study of urban population attitudes towards various wastewater reuse options: Israel as a case study, Journal of Environmental Management 81 pp.360-370, 2006。
- 6) 桜井健介、田嶋淳、南山瑞彦、吉澤正宏、下水処理水の再利用における利用者意識及び水質の実態調査、第 39 回日本水環境学会年会講演集、p.421、2005。
- 7) 田中修司、白崎亮、飯田和輝、下水処理水の再利用に関わる水質基準等に関する調査研究、下水道新技術推進機構年報、2003。
- 8) William H. Bruvold, Public opinion on water reuse options, Journal WPCF, 60(1), 45-49, 1988。

- 9) Charles P. Gerba, Charles H. Stagg and Marc G. Abadie, Characterization of sewage solid-associated viruses and behavior in natural waters, *Water Research*, 12(10), 805-812, 1978.
- 10) Qinglong Wu and Wen-Tso Liu, Determination of virus abundance, diversity and distribution in a municipal wastewater treatment plant, *Water Research*, 43(4), 1101-1109, 2009.
- 11) Michael R. Templeton, Robert C. Andrews, Ron Hofmann, Particle-Associated Viruses in Water: Impacts on Disinfection Processes, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 38(3), 137-164, 2008.
- 12) 膜分離技術振興協会・膜浄水委員会監修、浄水膜（第2版）、技報堂出版、2008.
- 13) 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課、ノロウイルスの検出法について、p.24, 2007.
- 14) 陶山明子, 諏訪守, 鈴木穰, 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, pp.225-261、2006.
- 15) 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.
- 16) 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.
- 17) 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.
- 18) Dahong Li and Jerzy Ganczarczyk: Size Distribution of Activated Sludge Floccs, *Research Journal of the Water Pollution Control Federation*, 63(5), 806-814, 1991.
- 19) 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.
- 20) 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.
- 21) 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.
- 22) 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.
- 23) 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.
- 24) 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.
- 25) *Water Reuse: Issues, Technologies, and Applications*, Metcalf & Eddy, Inc. an AECOM Company, 2007.

## 震災時の機能不全を想定した水質リスク低減手法の構築に関する研究

研究予算：運営費交付金（一般勘定）

研究期間：平 25～平 28

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：津森ジュン、諏訪守、安井宣仁

## 【要旨】

東日本大震災では、沿岸部に位置する下水道施設が津波被災により機能不全に陥り、完全な復旧には長時間を要した。被災地域の他のインフラが復旧するに従い、家庭などから排出される下水が継続して下水道に流入することになるが、下水道が機能不全となった場合には、放流水質の悪化は水系感染症拡大防止に重大な影響を及ぼす。今回の震災では、被災下水処理場は沿岸部に集中したが、仮に、水道水源の上流に位置する内陸部の処理場が被災した場合には、下流域における浄水・利水施設に対し病原微生物の感染リスクが格段に高まることになるため、応急的な対応においても可能な限り水系感染リスクを低下させる手法を明らかにすることが求められている。

25年度は、段階的な復旧の初期対応として、簡易沈殿処理による衛生学的指標の大腸菌群、ノロウイルスなどの除去効果や、その除去・消毒効果向上のための凝集剤の添加効果を評価した。

キーワード：震災、機能不全、消毒、水系感染リスク

## 1. はじめに

上下水道一体となった既存の社会インフラの整備により、水系感染症拡大防止に一定の効果が担保されていたが、東日本大震災の発生に際しては、下水道が被災して機能不全に陥り、既存の水質管理システムの脆弱性が明らかとなった。機能不全となった場合には、復旧に長時間を要し、復旧段階での処理水質悪化は消毒効果に重大な影響を及ぼす。

今回の震災では、被災下水処理場は沿岸部に集中したが、仮に、水道水源上流に位置する内陸部の処理場が被災した場合には、病原微生物の感染リスクが格段に高まることになる。このため、応急的な対応により水系水質リスクを低下させる手法を明らかにすることが求められている。水系水質リスクに対する施策として、これまで、下水道施設の耐震化や平常時の河川流況を勘案した取水・排水系統の再編成などの提言がなされているが、被災による機能不全に対して感染リスクは1万倍以上に上昇すると考えられるが、それに応じたリスク管理手法は開発されていない。

本研究は、大規模災害による下水処理システムの機能不全に対して、他施策等による緊急対策の実施可能性を整理した上で、下水道において病原微生物の感染リスクを低減させる手法を構築することを目的としている。

このため、機能不全に陥った際の処理水質悪化が消毒効果に及ぼす影響評価、応急対策手法の構築、段階的復旧における課題への解決策の提案を行い、衛生学的リスク管理手法を構築するものである。また、衛生学的な指標として、これまでの評価対象である大腸菌群に加えて、塩素消毒に耐性があり集団感染発生要因となるウイルス

や原虫類を含める。

25年度は下記の1) 2) の項目について実施した。

- 1) 簡易沈殿処理による衛生学的指標の除去効果の評価
- 2) 除去・消毒効果向上のための凝集剤添加効果の評価

## 2. 研究目的および方法

## 2.1 簡易沈殿処理による衛生学的指標の除去効果の評価

東日本大震災による津波被災下水処理場では、段階的な復旧の初期対応として、導入の容易さから簡易沈殿処理の適用事例が多い。簡易沈殿処理水の水質については、通常の最初沈殿池を経た一次処理レベルと推定されるが、被災の規模や復旧の進展状況により、簡易沈殿処理の適用が長期間に及ぶ可能性があることから、沈殿池下層へ堆積する汚泥が沈殿処理水に及ぼす影響を考慮しなければならない。実際の被災下水処理場における対応では、簡易沈殿処理を長期間にわたり行うことで、沈殿池下層へ堆積した汚泥が塩素消毒効果へ影響を及ぼす可能性を指摘する報告<sup>1)</sup>がある。

25年度は、簡易沈殿処理による大腸菌群やノロウイルス、有機物などの除去効果や、継続した処理が処理水質に及ぼす影響把握を目的に、パイロットプラントを利用し評価を行った。パイロットプラントは最初沈殿池（初沈）50L、反応タンク 100L、最終沈殿池（終沈）50Lで構成されたもので、沈殿汚泥の引き抜きや反応タンクでの曝気混合は行わず流入下水を継続して流入させた。初沈から終沈までの滞留時間は16時間とした同一条件にて3系列を稼働させた。評価対象試料は、流入下水と施設滞留時間を考慮して採水した終沈越流水とした。

水質測定項目は大腸菌群の他、ノロウイルス、SS、COD<sub>Cr</sub>、NH<sub>4</sub>-Nとした。大腸菌群はデソキシコレート培地による平板培養法とした。

ノロウイルスは、ポリエチレングリコール沈殿法により試料を濃縮し、回収した沈渣を RNase-free 水（遺伝子分解酵素を除去した水）に再浮遊させてウイルス濃縮液とし、濃縮液中のウイルスは、リアルタイム PCR 法により定量<sup>2)</sup>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。抽出試料を DNaseI 処理し、RNeasy MinElute Clean up Kit (QIAGEN 社)でウイルス RNA を精製した。RNA 試料 0.5µg をランダムプライマー、Omniscrypt RT Kit (QIAGEN 社)を用い全量 100µL の系で逆転写反応を行い cDNA を作製し 10µL 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」<sup>3)</sup>に準じた。リアルタイム PCR 反応のための試薬は QuantiTect Probe PCR Kit (QIAGEN 社)を用い、リアルタイム PCR 装置は LightCycler (ロシュ・ダイアグノスティックス社)を使用した。逆転写反応に使用する抽出 RNA 量は Spectrophotometer (NanoDrop 社製)により定量した。なお、ウイルス遺伝子抽出カラムへのウイルス濃縮液の通水量は、検出濃度にバラツキが生じないように抽出カラム 1 本あたり 0.05mg-SS となるように統一した<sup>2)</sup>。

SS は下水試験方法に準拠して、また、COD<sub>Cr</sub> は HACH による比色法、NH<sub>4</sub>-N は自動比色分析装置（ビーエルテック社製 QuAAtro2-HR）により測定した。

## 2.2 除去・消毒効果向上のための凝集剤添加効果

簡易沈殿処理による処理水質は、一次処理レベルと同程度と考えられ、特に大腸菌群やノロウイルスの高度な除去効果は期待できないと推定される。また、その処理水に残存する有機物などによって消毒剤が消費される課題もある。

このため、簡易沈殿処理による病原微生物の除去および消毒効果を向上させることを目的に、凝集剤の添加効果を評価した。具体には、上記 2.1 におけるパイロットプラントの 1 系列の反応タンクに凝集剤としてポリ塩化アルミニウム (PAC) を添加した。添加濃度を 5mg-AL/L とし、無添加系列の 2 系列との比較によって大腸菌群やノロウイルスの除去効果や塩素消毒の向上割合を評価した。評価対象とした試料は、反応タンクへ PAC を添加してから約 2 週間経たものとした。また、PAC の添加・攪拌条件による影響把握のため、回分実験において流入下水を対象に無添加系と添加後の攪拌条件として、転倒混合を 1 回とした簡易攪拌および 1 分間の急速攪拌

を行い、その後 60 分間の静置沈殿後に各上澄液のノロウイルスを定量した。併せて、各処理条件で得られた上澄液試料を用いて塩素消毒実験を行った。塩素消毒条件は、次亜塩素酸ナトリウムを 0~15mg-Cl/L の範囲で添加、接触時間を 15 分間とし、チオ硫酸ナトリウムの添加により残留塩素を中和した。大腸菌群やノロウイルスの定量法は、上記 2.1 と同一であり、残留塩素の測定は DPD 法によった。

## 3. 研究結果および考察

### 3.1 簡易沈殿処理による衛生学的指標の除去効果の評価

簡易沈殿処理による大腸菌群とノロウイルスの除去効果の推移を図-1、2 に示す。なお、以下に示す沈殿処理水の大腸菌群数を含めた全ての指標は、同一条件で稼働させた 3 系列のパイロットプラントの平均値である。流入下水と簡易沈殿処理水の大腸菌群数に差がなく、平均除去率は 4%（流入と処理後で濃度が逆転の場合は 0%とした）と除去効果は期待できないことが明らかとなった。放流水質基準の大腸菌群数 3,000 CFU /mL 以下の達成には、その後の消毒対応となるが、簡易沈殿処理水であることから、通常の生物処理後に行われている塩素消毒の薬剤添加濃度よりも高めた対応とする必要があると考えられた。

ノロウイルスの濃度推移について図-2 に示す。流入下水に比較して沈殿処理水は若干の濃度低下が見られたが、

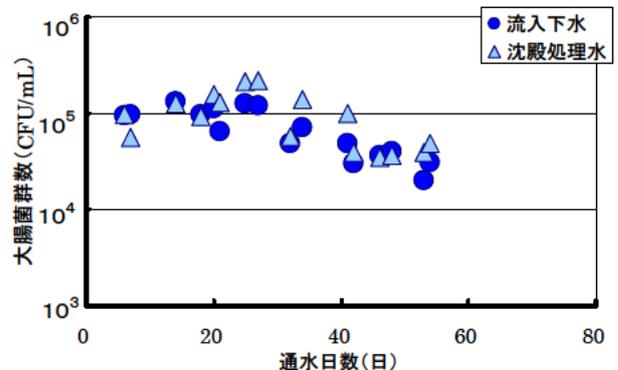


図-1 簡易沈殿処理による大腸菌群数の推移

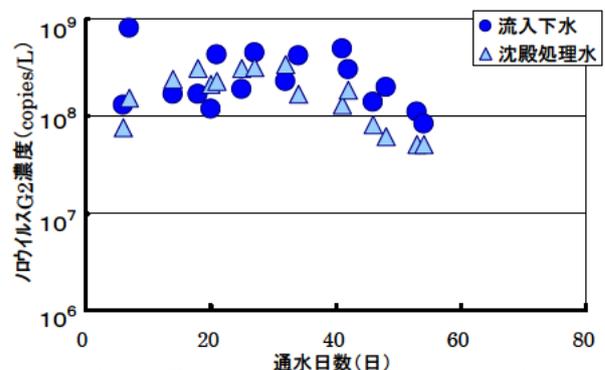


図-2 簡易沈殿処理によるノロウイルスG2濃度の推移

平均除去率は36%であり、大腸菌群よりも若干高いものの、簡易沈殿処理によって高度に安定したウイルス除去は難しいと考えられた。簡易沈殿処理による高い除去率が得られない中で、塩素消毒耐性のあるウイルスのより高度な不活化率を確保するための応急的な対応策の構築が課題として挙げられる。

次いで、SS、COD<sub>Cr</sub>、NH<sub>4</sub>-Nの濃度推移について図-3～5に示す。流入下水のSS濃度が変動しても簡易沈殿処理水のSS濃度は比較的安定しており、73%の平均除去率が得られ大腸菌群やノロウイルスよりも除去効果が高い傾向が見られた。また、有機物指標として測定したT-COD<sub>Cr</sub>は流入下水の変動状況に応じた濃度推移を示し、簡易沈殿処理による平均除去率は38%であった。

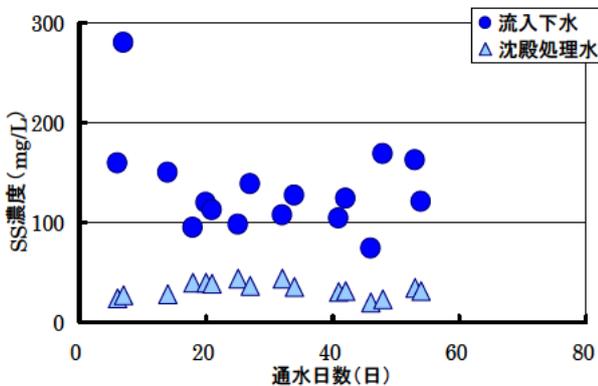


図-3 簡易沈殿処理によるSS濃度の推移

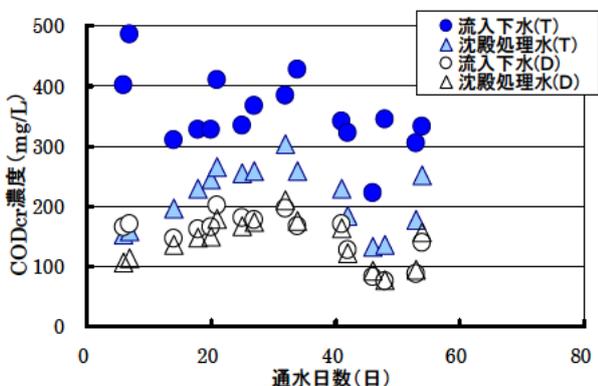


図-4 簡易沈殿処理によるCOD<sub>Cr</sub>濃度の推移

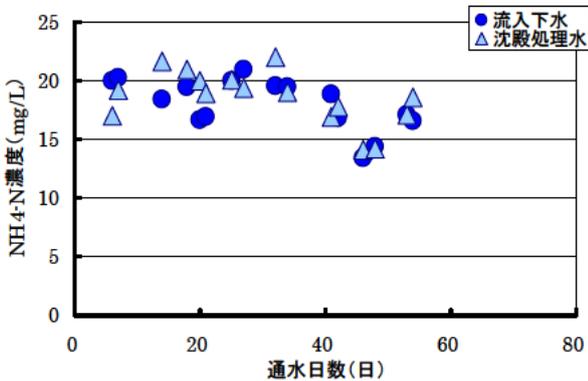


図-5 簡易沈殿処理によるNH<sub>4</sub>-N濃度の推移

D-COD<sub>Cr</sub>については、流入下水と簡易沈殿処理水の濃度に差がなく平均除去率は8%、NH<sub>4</sub>-Nも同様に3%と除去効果は低かった。

段階的な復旧の初期対応として、簡易沈殿処理の大腸菌群、ノロウイルス、SS、COD<sub>Cr</sub>、NH<sub>4</sub>-Nを指標とした導入効果を評価した。その結果、衛生学的指標としての大腸菌群、ノロウイルスの除去効果はともに低い状況であった。また、D-COD<sub>Cr</sub>、NH<sub>4</sub>-Nの除去効果も低いため、処理水に残存する溶解性有機物などは消毒剤の消費を促進し、簡易沈殿処理後の消毒への影響が懸念されることから、これらの物質の除去効果を高める工夫が必要であると考えられた。SSについては、一定の除去効果が示されたことから、沈殿池内でのフロックの形成が促進されれば、大腸菌群やノロウイルスの除去効果を高められるとともに、溶解性有機物の低減効果から消毒剤の消費抑制が図られると考えられる。

一方、簡易沈殿処理期間の違いにより、沈殿池下層への堆積汚泥が塩素消毒効果へ及ぼす影響の可能性を指摘する報告<sup>1)</sup>があるが、約60日間にわたる継続した簡易沈殿処理による処理水質はSS、D-COD<sub>Cr</sub>、NH<sub>4</sub>-Nの観点から、経目的に悪化する傾向は見られなかった。今回の調査期間中における処理水の平均水温は約10℃と低い状況であり、また、流入下水の平均SS濃度は約130mg/Lであった。流入下水のSS濃度の全国平均値<sup>4)</sup>である約300mg/Lと比較して低い状況であったことから、今後、流入負荷条件などを高めた評価が必要であると考えられた。

### 3.2 除去・消毒効果向上のための凝集剤添加効果

上記3.1の結果から、簡易沈殿処理による大腸菌群やノロウイルスの除去効果はともに低い状況であったが、SSや懸濁体の有機物では一定の除去効果が示されたことから、沈殿池内においてフロックの形成を促進すれば大腸菌群などの除去効果を高められる可能性がある。このため、簡易沈殿処理へのPACの添加がノロウイルスの除去、塩素消毒によるウイルス遺伝子へ及ぼす影響評価を行った。

評価結果を図-6に示す。PACを5mg-Al/Lを添加した系列では、簡易沈殿処理によるノロウイルスの除去効果が高まるとともに、塩素消毒による遺伝子低減効果がより向上した。しかし、PAC添加によりノロウイルスの初期濃度に違いが生じたが、次亜塩素酸ナトリウムの添加による遺伝子低減割合は無添加系と比較してほぼ同一であった。反応タンクへPACを添加したが、曝気混合を行っていないため凝集反応が不完全であることが要因の1つであると推定された。この改善策を考慮するため回分実験により、PACの添加・攪拌条件の違いによる影響を評価した。

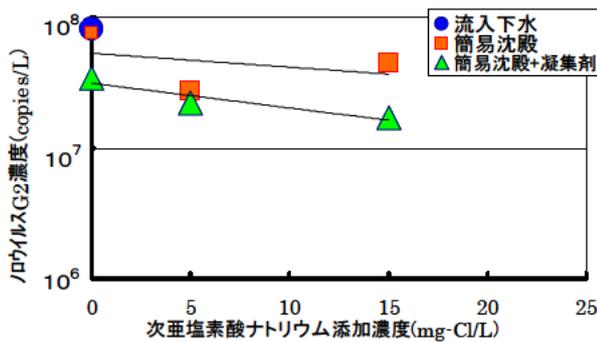


図-6 次亜塩素酸ナトリウム添加濃度に応じた各処理条件でのノロウイルスG2濃度

評価結果を図-7、8 に示す。次亜塩素酸ナトリウム添加濃度に応じた PAC の添加条件ごとのノロウイルス濃度は、流入下水と凝集剤の無添加とした60分間沈殿においてノロウイルス濃度に大差はないが、PAC を添加した簡易攪拌で若干の濃度低下が見られた。また、1分間の急速攪拌条件とした場合では、検出濃度がより低下した。

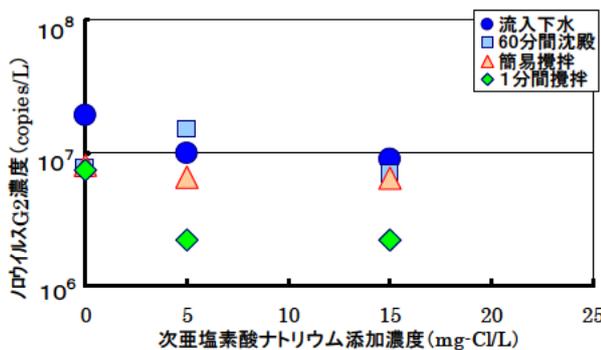


図-7 次亜塩素酸ナトリウム添加濃度に応じたPACの添加・攪拌条件ごとのノロウイルスG2濃度

大腸菌群数での評価結果では、次亜塩素酸ナトリウムの添加濃度が5mg-Cl/Lの場合、PACの添加により放流水質基準値が達成され、さらに、簡易攪拌と比較して1分間の急速攪拌条件とすることで、塩素消毒による大腸菌群の不活化効果が高まった。このため、簡易沈殿処理による凝集剤の添加にあたっては、適切な攪拌により凝集反応を促進させる必要があると考えられた。

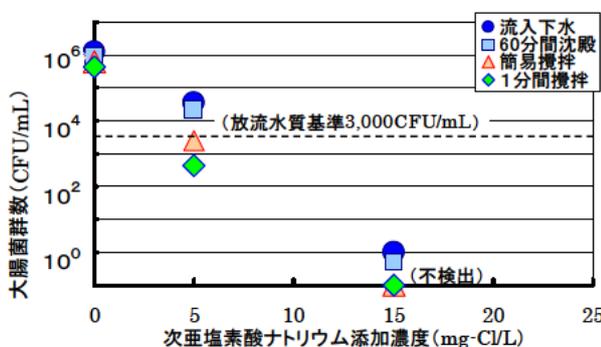


図-8 次亜塩素酸ナトリウム添加濃度に応じたPACの添加・攪拌条件ごとの大腸菌群数

一方で壊滅的な被災を受けた下水処理場では、処理機能が大きく失われている可能性があり、凝集のための攪拌効果が下水処理場で得られないことが想定される。この場合、家庭に凝集剤を配布して排水とともに流し、管渠内での攪拌力を利用して凝集を促進させるような手法について考慮する必要がある。

#### 4. まとめ

25年度は、段階的な復旧の初期対応として、簡易沈殿処理による衛生学的指標の大腸菌群、ノロウイルスなどの除去効果や、その除去・消毒効果向上のための凝集剤の添加効果を評価した。以下に得られた結果を示す。

##### 「簡易沈殿処理による衛生学的指標の除去効果の評価」

- 1) 簡易沈殿処理による大腸菌群、ノロウイルスの除去効果はともに低い状況であったが、SSについては、一定の除去効果が示された。
- 2) D-COD<sub>Cr</sub>、NH<sub>4</sub>-Nの除去効果も低いため、処理水に残存する溶解性有機物などは消毒剤の消費を促進し、簡易沈殿処理後の消毒への影響が懸念される。
- 3) 約60日間にわたる継続した簡易沈殿処理による処理水質はSS、D-COD<sub>Cr</sub>及びNH<sub>4</sub>-Nの全ての項目は、経日的に悪化する傾向は見られなかった。

##### 「除去・消毒効果向上のための凝集剤添加効果」

- 4) PACの添加により簡易沈殿処理によるノロウイルスの除去効果が高まるとともに、塩素消毒によるウイルス遺伝子の低減効果がより向上した。
- 5) 凝集剤の添加にあたっては、適切な攪拌により凝集反応を促進させる必要があると考えられた。

#### 参考文献

- 1) 諏訪守、安井宣仁、鈴木穰、岡本誠一郎、桜井健介 (2013)、津波被災下水処理場の段階的復旧対策技術による水質改善効果、下水道協会誌論文集、50(614)、111-120。
- 2) 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。
- 3) 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。
- 4) (公社)日本下水道協会 (2013) 平成23年度版下水道統計。

## 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)

研究予算：戦略的創造研究推進事業

研究期間：平 21～平 26

担当チーム：リサイクルチーム

研究担当者：鈴木穰、津森ジュン、  
諏訪守、桜井健介、安井宣仁

### 1. はじめに

本研究は、現在の都市水資源や新しい水利用システムによって生み出される水資源について、衛生学的評価を行うことを目的とし、水中の病原微生物濃度モニタリング及び水の衛生学的評価と管理手法の提案を行うこととしている。水中の病原微生物濃度モニタリングでは、遺伝子検出法を用いて腸管系ウイルスを対象とした、比較的濃度が高い未処理下水から低い再生水まで、試料特性に応じた分析方法の開発を行う。更に開発した分析方法により下水、下水処理水及び河川水等におけるウイルスの実態を把握する。また、膜処理を主とした再生処理による病原微生物の除去効果を把握する。水の衛生学的評価と管理手法の提案では、今後の利用拡大が期待される再生水利用シナリオを検討した上で、衛生学的観点からのリスク評価に関するケーススタディーを行い、評価手法を構築するとともに、運転管理、送水・供給方法等も含め考慮したリスク管理手法を提案する。

平成 25 年度は、過年度までに当研究において蓄積した再生処理パイロットプラント(沖縄)における NoV 濃度のモニタリングデータを基に、生産された再生水を農業利用、都市利用(水洗トイレ用水、芝生散水用水、親水用水)として利用した際の利用者に対する NoV 感染リスク評価を実施した。なお、NoV 感染リスク評価は、障害調整生存年数(Disability Adjusted Life Years: DALY)を指標とした定量的微生物リスク評価(Quantitative Microbial Risk Assessment: QMRA)にて検討した。

### 2. 評価対象とする再生処理技術

本研究では、当該研究にて他グループが開発中の膜処理技術を評価対象とした。膜種は材質がポリフッ化

ビニリデン、分画分子量が 150,000 Da の UF 膜である。パイロットプラントでは、原水として標準活性汚泥法による二次処理水を用い、UF 膜単独処理、凝集剤(PAC)添加前処理による PAC+UF 膜処理ならびに、追加処理として UF 膜処理の後段に UV 処理あるいは NF 膜、RO 膜を追加した、UF+UV 処理、UF+NF 膜処理、UF+RO 膜処理の計 5 つの再生処理に関して、再生水の各利用用途における NoV 感染リスク評価を実施した。なお評価方法等に関しては 1)～3) の論文にて示した手法を用いた。本稿では評価方法の詳細は割愛する。

### 3. 再生水の利用用途毎の NoV 感染リスク

リスク対象者は、農業利用では農業従事者及び消費者(生野菜摂取、加熱調理食材摂取)とし、都市利用では利用者とした。なお農業利用におけるリスク対象の消費者は、農作物に再生水が付着した状態の作物を摂取したことにより NoV に感染することを想定した。下記にリスクシナリオを示す。

#### 農業利用時

- ・再生水使用時において、再生水の送水・供給過程で NoV 濃度が減衰することを仮定。  
減衰割合は論文 1) を参照し、1 日あたり 0.2～0.5 Log/日と設定した。
- ・農業用水の供給水量は 4,200m<sup>3</sup>/日と設定
- ・送水は都市部から農業集落地域へ送水することを仮定し、送水距離は 20km と設定(送水仮定での HRT=5.5h)
- ・再生水貯留槽の容量(266m<sup>3</sup>)×2 基に設定(HRT=3h)
- ・集落毎に農業用水貯留槽を 5 基設置し、容量は 50m<sup>3</sup> と設定した。(HRT=1.5h)
- ・農業用水貯留槽から各農家までの送水における滞留時間は 0 と仮定

- ・上記仮定に基づき、NoV の濃度減衰は送水過程で 0.1~0.2Log 濃度減衰する。
- ・また、再増殖・スケール防止のため再生水貯留槽に塩素を投入することを想定し、安全側を考慮して投入した塩素の形態が全てクロラミンになるとし、供給過程で 0.1mg/L の残留塩素を確保 (CT=0.1mg/L × 600min (10h) =60mg・min/L) で 0.2Log 除去を見込むと想定した。
- ・リスク対象者への曝露形態、曝露量、曝露頻度等に関しては論文 3) を参照。

#### 都市利用時

- ・農業利用時と同様に再生水の送水・供給過程で NoV 濃度が減衰することを仮定した。
- ・再生水の供給水量は農業利用時と同様の 4,200m<sup>3</sup>/日と設定
- ・送水距離は 5km と設定 (HRT=3h)
- ・NoV の濃度減衰は送水過程で 0.04~0.1 Log 濃度減衰する。
- ・農業利用時同様に、再増殖・スケール防止のため再生水貯留槽に塩素を投入することを想定。供給過程で 0.1 Log の除去を見込むと想定した。
- ・都市利用時の曝露形態、曝露量、曝露頻度は、利用用途毎に表-1 の通りに設定した。

表-1 都市利用における再生水の用途別の曝露形態、曝露量、曝露頻度の設定

再生水の用途	曝露形態	1回あたりの曝露量 (mL/回)	曝露頻度 (回/年)
水洗トイレ	しぶきが口に入る	0.02	3
芝生散水	手についた水の間接経口摂取	0.1	20
親水(手足が浸かる場合)	手についた水の間接経口摂取	0.3	20
親水(水浴)	水遊びによる誤飲	30	8

NoV は動物感染試験、細胞培養により感染性のある NoV を培養する手法が確立されていない。そのため、NoV の感染リスクは、Real-time PCR 法にて定量した遺伝子量(コピー数)を用いた。なお、農業利用および都市利用時の双方において、再生処理として UF 膜処理、凝集沈殿+UF 膜処理、UF+NF 膜処理、UF+RO 処理は全て物理除去であるため、NoV の遺伝子減少率=感染価除去率が同等と仮定してリスク評価を検討した。UF+UV 処理においては、遺伝子量(コピー数)に加え MS2 phage 換算 NoV 推定感染価除去率を考慮した。

#### 4. NoV 感染リスク評価結果

各シナリオに基づき、1人1年あたり疫病負荷(年/人) (DALY per person per year: DALY<sub>pppy</sub>)として各処理法による再生水を利用した際の NoV 感染リスク評価結果を表-2 に示す。評価基準として、現在、世界保健機構(WHO)では、飲料水の病原微生物リスクの DALY 値を 10<sup>-6</sup> (年/人)と定めており、再生水の農業利用時においてもこれに準拠して、指針値として 10<sup>-6</sup> (年/人)を提唱している。本検討においてもこの指針値を基に評価基準を設定した。

表-2 に各利用用途における各処理技術の再生水利用可能性を示す。表-2 中の凡例において、(○)は DALY < 10<sup>-6</sup> 未満となるため現状、開発された再生処理技術の再生水を利用しても NoV 感染リスクに問題がないと判断できる処理技術を示している。(△)は、10<sup>-6</sup> < DALY < 10<sup>-5</sup> の範囲で評価された処理技術であり、再生水の供給方法の変更で対応が可能な処理技術を示している。(×)は、DALY > 10<sup>-5</sup> 以上の処理技術であり、使用においては消毒等の追加処理が必要な処理技術を示している。

ただし、本研究において試算した NoV 感染リスクは Real-time PCR 法による遺伝子定量値(コピー数)を用いているため、NoV の生存性の有無を判定することが出来ていない、言い換えれば感染性を有しない NoV も定量していることから、実際の NoV の感染性を考慮していない。従って、本研究において試算した NoV 感染リスクは、安全側の結果を示していると考えられる。

表-2 各利用用途における 再生水利用可能性

評価		評価基準
○	達成可能な処理技術	DALY<10 <sup>-6</sup>
△	再生水供給方法の変更で対応可能性有り	10 <sup>-6</sup> <DALY<10 <sup>-5</sup>
×	追加処理が必要	DALY>10 <sup>-5</sup>

	処理性能		農業用水		都市用水			
	平均 Log除去率	分散	農業従事者 (水稲栽培)	消費者 (生野菜)	水洗トイレ	芝生散水	親水 (手足)	親水 (水浴)
曝露量 曝露頻度			0.3mL/回 27.2回/年	0.1~1mL/100g 242g/日	0.02mL/回 3回/年	0.1mL/回 20回/年	0.3mL/回 20回/年	30mL/回 8回/年
二次処理水	—	—	×	×	×	×	×	×
凝集+UF	3.9Log	±0.9Log	×	○	○	×	×	×
UF+UV	3.3Log MS2 phage換算 5.0Log	±0.7Log ± 0.3Log	×	○	○	△	×	×
UF+NF	5.2Log	±0.3Log	○	○	○	○	○	×
UF+RO	6.2Log	±0.2Log	○	○	○	○	○	△

## 5. まとめ

パイロットプラントを用いて二次処理水及び4種類の再生処理施設におけるNoV濃度のデータを基に、農業利用、都市利用（水洗トイレ用水、芝生散水用水、親水用水）として下水再生水を利用した際の利用者に対するNoV感染リスク評価を実施した。評価にあたっては世界保健機構(WHO)が定める飲料水の病原微生物リスクのDALY値を10<sup>-6</sup>(年/人)を本研究におけるリスク評価基準として用い、処理方法と用途別の組み合わせで再生水としての利用可能性を試算した。

平成26年度は、これまでに得られた成果や評価結果をもとに再生水利用シナリオの精査を行うとともに、検討対象とした再生処理方法別のリスク管理手法を検討することとしている。

## 参考文献

- 1) 安井宣仁、諏訪守、桜井健介、小林憲太郎、高島寛生、農業利用を想定したUF膜処理による下水再生水の定量的微生物リスク評価：ノロウイルスを対象とした事例的研究、土木学会論文集G、Vol.69, No.7, III 647-III656, 2013年11月
- 2) Yasui N., Suwa M., Sakurai K., Tsumori J. and Suzuki Y., Scheme of Microbial Risk Assessment for using Reclaimed Water in Farmland, 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に関する国際シンポジウム、ベトナム、ダナン、2014年3月
- 3) 安井宣仁、岡本誠一郎、諏訪守、桜井健介、鈴木穰、中国と日本における環境水中のノロウイルス濃度の実態把握、第16回日本水環境学会シンポジウム、沖縄、2013年11月
- 4) 安井宣仁、諏訪守、桜井健介、鈴木穰、膜処理による下水再生水利用時の病原微生物感染リスク評価、京都大学環境衛生工学研究会、第35回シンポジウム、京都、2013年7月

## 有効な肥料資源の保全方法と下水汚泥焼却方法の検討

研究予算：農林水産省 農林水産技術会議事務局  
農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業  
研究期間：平 23～平 25  
担当チーム：リサイクルチーム  
研究担当者：津森ジュン、井上研一郎

### 【要旨】

全国の下水処理場から排出される下水灰中の元素含有量を調査したところ、ろ過式集じん灰(バグフィルタ灰、セラミックフィルタ灰)は、セレンの含有量が比較的高くなる傾向が見られた。下水汚泥を1時間程度焼却すること、下水灰の950℃による加熱・昇温を行うことによりクロムやニッケル等の高沸点重金属類の含有量が低減されることを示した。その低減量と灰の比表面積との間に相関が見られた。下水灰の有効利用に関するアンケート調査を行い、下水汚泥焼却処理方法および下水灰組成に関する全国的な統計を取りまとめ、土木研究所資料として公表した。

キーワード：下水灰、肥料、有害元素、集じん

### 1. はじめに

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

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

### 2. 研究方法

23年度は下水灰中の有用・有害成分の含有実態を把握するため、全国約85の自治体を対象にアンケート調査を実施した。24年度はその調査結果を取りまとめ、土木研究所資料<sup>1)</sup>として公表した。また、焼却プロセスにおける集じん方法と飛灰中のセレン含有量との関係を示した。さらに、下水灰の加熱・昇温による重金属の低減効果を実験的に検討し、25年度は下水汚泥を1時間程度焼却することによる低減効果も併せて検討した。低減量と灰の比表面積との関係を検討した。

### 3. 得られた成果

(1) 下水汚泥焼却プロセスにおける集じん方法と飛

灰中の元素含有量の関係を示した。ろ過式集じんではセレンの含有量が高くなる傾向が見られた。ろ材上に堆積した飛灰に排ガス中のガス態セレンが低温のため吸着することから、含有量が高くなるものと考えられる。セレンの発生量が高い地域ではサイクロンや電気集じんを適用することにより、飛灰中のセレン含有量を低減させることが可能であり、飛灰の適正な処分や資源化を図る上で有用となる情報を示した。

(2) 下水汚泥を1時間程度焼却すること、下水灰の950℃による加熱・昇温を行うことにより、クロムやニッケル等の高沸点重金属類の含有量が低減されることを示した。その低減量と灰の比表面積との間に相関が見られた。下水灰中に含有する高沸点重金属類の低減のために有効となる事象を示した。

(3) 下水灰の有効利用に関する調査結果を土木研究所資料<sup>1)</sup>として公表した。下水汚泥焼却処理方法および下水灰組成に関する全国的な統計を取りまとめた。

### 文献

1) 独立行政法人土木研究所：下水灰の有効利用に関するアンケート調査報告書、土木研究所資料第4243号、全76ページ、2012



## Ⅱ. 水質チームによる研究

# 下水道における最適なリスク評価手法と対策技術の構築に向けた検討業務

水質チーム 上 席 研 究 員 岡本 誠一郎  
 総括主任研究員 小森 行也  
 主任 研 究 員 北村 友一  
 研 究 員 真野 浩行  
 武田 文彦

「特定化学物質の環境への排出量の把握等及び管理の改善の促進に関する法律」で第一種指定化学物質として定められている物質等のうち、「下水処理過程での化学物質等の除去特性・挙動の調査」により個々の物質についてのリスク評価と、「生物応答手法を用いた下水処理水の影響評価に係る調査」によるリスク評価を行い、それらの結果を比較・検証することで、下水道における最適なリスク評価手法と対策技術の構築に向けた検討を行った。

## (1) 下水道処理過程での化学物質等の除去特性・挙動に係る調査

「特定化学物質の環境への排出量の把握等及び管理の改善の促進に関する法律」上で第一種指定化学物質として定められている化学物質のうち、ノニルフェノール (NP) とその関連物質 (NPEO、NPEC) について、実下水を用いた活性汚泥処理実験を行い、下水処理における NP、NPEO、NPEC の除去特性と下水処理過程における挙動を把握し、個々の化学物質についてリスク評価を実施した。また、実下水処理場の汚泥処理プロセス (汚泥濃縮、汚泥消化) における NP の実態把握を行った。

### ① 活性汚泥処理プロセスにおけるノニルフェノール (NP) の挙動把握

「特定化学物質の環境への排出量の把握等及び管理の改善の促進に関する法律」上で第一種指定化学物質として定められている化学物質のうち、ノニルフェノール (NP) とその関連物質について活性汚泥処理実験装置 (図-1、表-1 参照) を用いた活性汚泥処理プロセスにおける挙動把握実験を行い以下の結果を得た。

#### (a) NP 添加実験

流入下水に NP を高濃度に連続添加した活性汚泥処理実験を行い、活性汚泥の NP 馴致に関する検討を行った。実験では、NP 濃度を  $1 \mu\text{g/L}$  で連続的に添加した。

NP 添加 2 日では、終沈流出水に NP が検出されたが、NP 添加 44 日では不検出となり添加 NP は殆んど除去された。NP 添加 2 日の NP 除去率は 77%、NP 添加 44 日の NP 除去率はほぼ 100%であり、約 1 月半ではあるが、NP 連続添加により活性汚泥が NP に馴致し NP 除去

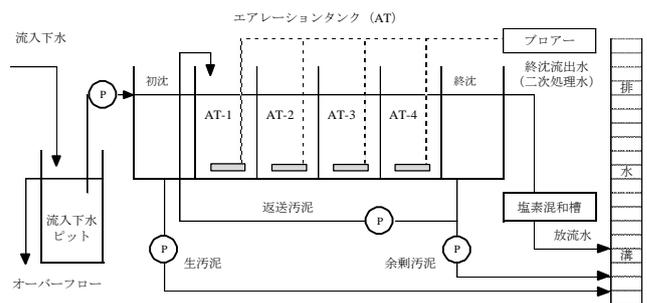


図-1 活性汚泥処理実験装置

表-1 運転条件

流入水量	6.8	m <sup>3</sup> /day
エアレーション時間	7	時間
エアレーション空気量	86	m <sup>3</sup> /day
汚泥返送率	38	%
生汚泥引抜量	100	L/day
余剰汚泥引抜量	60	L/day

率が向上した。また、エアレーションタンクにおける NP 除去速度定数  $k_1$  (1/h) を求めた。NP 添加 2 日の  $k_1$  は 0.028、NP 添加 44 日の  $k_1$  は 0.064 と除去速度が大きくなった。

実下水を流入水とする活性汚泥処理実験装置を用いて流入水に NP を連続添加する実験を行った。NP 濃度を  $1 \mu\text{g/L}$  で約 1 月半の連続実験を行ったところ、活性汚泥の NP への馴致がみられ NP 除去率が向上した。活性汚泥は NP に対し馴致することにより下水処理水の NP リスク低減に寄与できることがわかった。

#### (b) NPEO 添加実験

流入下水に NPEO を高濃度に連続添加した活性汚泥処理実験を行い、処理過程における NP 生成に関する検討を行った。実験では、NPEO 濃度を約  $8,000 \mu\text{g/L}$  で連続的に添加した。

NPEO 添加 2 日の終沈流出水の NP 濃度は  $0.99 \mu\text{g/L}$  であったが、NOEO 添加 28 日では  $21 \mu\text{g/L}$  であり、NPEO を高濃度で連続添加することにより終沈流出水に NP が残存することが確認された。NPEO から NP への変化率を、「NP 流出濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )  $\div$  (NP+NPEO+NPEC) 流入濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )  $\times$  100」として計算したところ、NPEO 添加 2 日では 0.01% であったが NPEO 添加 28 日では 0.25% に増大した。

実下水を流入水とする活性汚泥処理実験装置を用いて流入水に NPEO を連続添加する実験を行った。NPEO 濃度を約  $8,000 \mu\text{g/L}$  で約 1 月の連続実験を行ったところ、NPEO 添加当初に比べ、28 日後では終沈流出水の NP 濃度が増加し NP リスクが増大することがわかった。

## ② 実下水処理場の汚泥濃縮、汚泥消化プロセス等における NP の挙動調査

実下水処理場の汚泥濃縮槽、汚泥消化槽における NP 生成について確認調査を行った。平成 23 年度の PRTR データより流入下水中の NPEO 推計濃度が高かった 3 処理場における調査結果は以下のとおりである。

#### (a) A 処理場調査

滞留時間約 5 時間の混合汚泥ピット (A) において、NP の増加が観測された。2 月 17 日採取試料でピット排出汚泥の NP 負荷量はピット流入汚泥の NP 負荷量の 2.1 倍、2 月 26 日採取試料では 1.5 倍であった。また、滞留時間約 3 時間の混合汚泥ピット (B) においては NP の増加は観測されなかった。

#### (b) B 処理場調査

滞留時間約 21 時間の初沈濃縮槽において NP の増加が観測された。2 月 12 日採取試料で初沈濃縮槽からの排出 NP 負荷量は、流入 NP 負荷量の 1.2 倍、2 月 24 日採取試料では 1.8 倍であった。

滞留時間約 10 時間の余剰濃縮槽において NP の増加は観測されなかった。2 月 12 日採取試料は余剰濃縮槽排出汚泥の NP 負荷量は余剰濃縮槽流入負荷量の約 0.8 倍、2 月 24 日採取試料では約 0.6 倍であった。

滞留時間 29 日の消化槽において NP の増加が観測された。2 月 12 日採取試料は負荷量で 2.3 倍、2 月 24 日採取試料では 7.8 倍となっていた。

#### (c) C 処理場

滞留時間 11 時間の生汚泥貯留槽では NP の明確な増加は観測されなかった、1 月 16 日-17 日採取試料で 1.2 倍、2 月 25 日-26 日採取試料で 0.8 倍であった。

滞留時間 31 時間の濃縮汚泥混合貯留槽において NP の増加は観測されなかった。1 月 16 日-17 日採取試料で 0.9 倍、2 月 25 日-26 日採取試料で 1.0 倍であった。

汚泥輸送プロセスの混合汚泥ピット、濃縮槽、消化槽等における NP 生成について実態調査を行った以上の結果をまとめ、図-2 に示す。各汚泥ピット、濃縮槽、消化槽への流入 NP 負荷量を IN、排出 NP 負荷量を OUT とし、OUT/IN を図示した。汚泥輸送中の汚泥ピット、濃縮槽では OUT/IN が 1 を超えるケースと 1 を下回るケースがみられ、これら汚泥ピット、濃縮槽での NP 生成については明確な傾向を示すこと

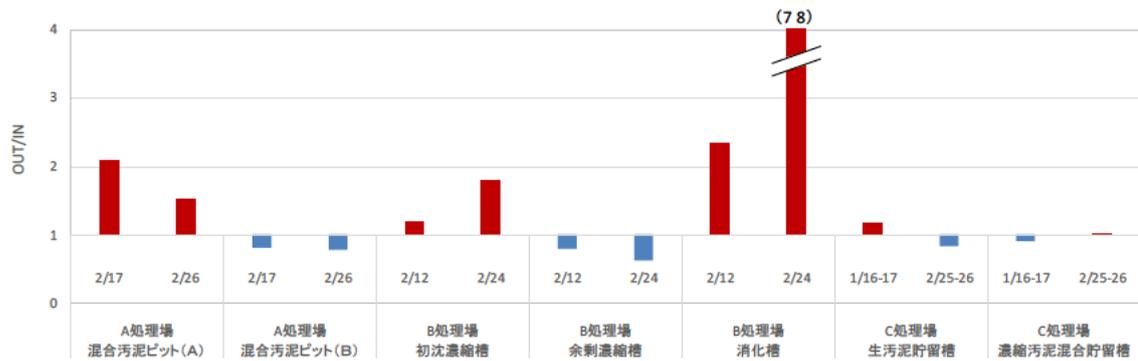


図-2 混合汚泥ピット、濃縮槽、消化槽における NP 生成

はなかったが、消化槽では2.3倍、7.8倍と2回の調査ともNPの増加が見られ、汚泥の消化プロセスにおいてNPの生成が確認された。

## (2) 生物応答手法を用いた下水処理水の影響評価に係る検討

(1)で調査した化学物質について、現在、導入が検討されている生物応答手法によるリスク評価を合わせて実施し、それらの結果を比較・検証することで、下水道における最適なリスク評価手法と対策技術の構築に向けた検討を行った。

### ① 米国における生物応答手法を用いた排水試験の運用方法

わが国でのWET試験(Whole Effluent Toxicity testing)制度および下水処理場に対する制度の運用に向けて、すでにWET試験が導入されている米国での制度の概要と運用に関する知見を収集した。特に重要な点と考えられる①米国でWET試験が導入された背景、WET試験に関する規定・政策の制定、水生生物保護に向けたWET試験の位置付けと重要性に関する情報、②WET試験における排水毒性データ収集の規定、WET試験により評価された排水毒性に対する規制の必要性の有無、③下水処理水に対するTRE(Toxicity Reduction Evaluation)による毒性低減、④WET試験で評価される

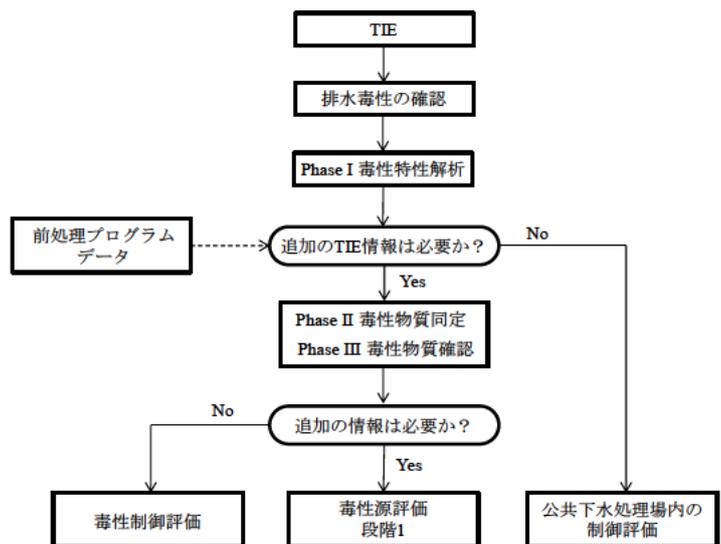


図-3 TIE(Toxicity Identification Evaluation)のフロー

毒性が規定を超過した場合などの規定不順時での行政的対応について、対応の種類と内容、どの対応を下すのか判断するのに考慮される項目、について情報を整理した。

日本においては生物応答手法を用いた排水試験の実施例はほとんどなく、今後その情報の蓄積が求められる。また、排水毒性が見られた場合の対応策として上記③のTREの実施は重要であるが、TREプロセスにおいて特に重要である、排水毒性の原因となる化学物質群を明らかにするためのTIE(Toxicity Identification Evaluation、図-3)についても併せて検討・実施することが求められると考えられ、想定される複数の影響原因物質を特定していく手法を構築するための研究を引き続き進めていくことが重要であると考えられる。

## ② 藻類・甲殻類・魚類胚仔魚を用いた生物応答試験による下水処理水の影響調査

本調査では、下水処理工程での水生生物の影響の低減効果を把握するため、流入下水、活性汚泥処理実験装置の二次処理水、放流水を対象に、藻類、ミジンコ、胚・仔魚期の魚類（メダカ、ゼブラフィッシュ）を用いた生物応答試験を行い、水生生物への影響を調査した。

### (a) 方法

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（500L）、塩素接触槽（100L）から構成されている（図-4）。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実下水処理場の生下水を、流入下水として用いた。生物反応槽は、第1槽から第4槽まで全面エアレーションを行い、標準活性汚泥法による処理を行った。塩素接触槽では、塩素混和池の流出水で遊離残留塩素濃度が 0.5mg/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。

活性汚泥処理実験装置から採取した下水試料を採水後、直ちに 0.22 μm ポアサイズのフィルターを用いて下水試料の滅菌ろ過を行った。生物応答を用いた排水試験法（検討案）に従い、ろ過試料を採水後、可能な限り、36 時間以内に生物応答試験に使用した。

藻類生長阻害試験は、藻類を下水試料に一定期間曝露し、指数増殖期における生長速度を調べ、対照区と比較することにより、藻類の増殖に対する下水試料の影響を明らかにするものである。本調査では、96 穴マイクロプレートを用いて試験を 3 回実施した。この方法は、試料量が少量で済み、一度に多くの試料を試験できるなどの利点を有する。被験生物には、生物応答を用いた排水試験法（検討案）の推奨種となっている、単細胞緑藻ムレミカヅキモ (*Pseudokirchneriella subcapitata*) (NIES-35 株) を、試験培地には AAP 培地を用いた。1 試料に対して 1 枚の 96 穴ウェルマイクロプレートを用い、2 倍希釈、5 段階（83.3%、42%、21%、10%、5.2%）、5 連、初期生物量  $1 \times 10^4$  cells/mL の試験系列を作成した。試験条件は、温度 24° C、照度 3000 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を用いて、各ウェルの吸光度（波長：450 nm）を測定した。0-72 時間の生長速度とばく露濃度の関係から、対照区と比較して統計学的に有意な低下が認められない最も高い下水試料の割合を、無影響濃度 (NOEC, No Observed Effect Concentration) として求めた。すべての試験濃度区で対照区と生長速度に有意な違いが認められない場合、もっとも高い試験濃度を NOEC とした。NOEC の算出には EcoTox-Statics Ver. 2.6d を用いた。

ミジンコを用いた試験は、ミジンコを下水試料に一定期間曝露し、ミジンコの繁殖に対する下水試料の慢性毒性を明らかにするものである。生物応答を用いた排水試験法（検討案）では、ニセネコゼミジンコ (*Ceriodaphnia dubia*) を用いた試験を行うが、本研究では、生後 24 時間以内のオオミジンコ (*Daphnia*

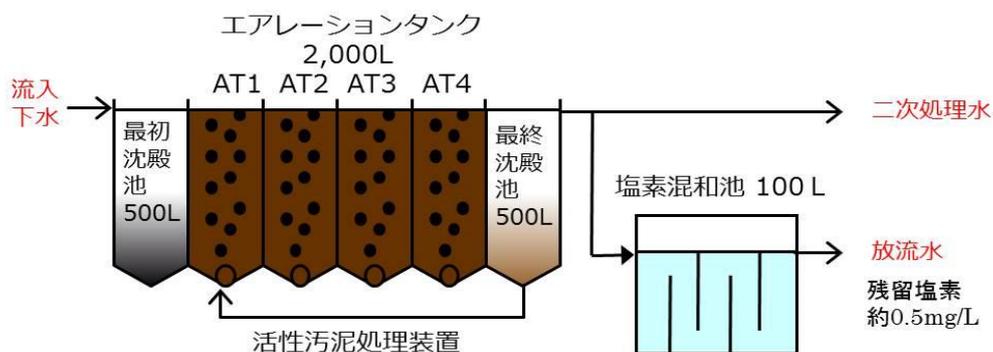


図-4 下水処理実験装置の概要

magna) を用いて 2 回実施した。1 回目の試験では、各下水試料の 80%希釈濃度およびコントロール区を用意した。2 回目の試験では、各下水試料の 5 濃度区 (80%、40%、20%、10%、5%) および対照区を用意した。各下水試料の希釈および対照区に使用する試験水として、脱塩素水道水を用いた。濃度区ごとに生後 24 時間以内の個体を 10 匹 (1 容器 1 匹) 曝露し、曝露期間を 21 日間とした。ばく露方式は半止水式 (少なくとも週 3 回、2 日または 3 日ごとに換水) とし、照明は白色蛍光灯で明期 16 時間、暗期 8 時間とした。餌としてクロレラ (*Chlorella vulgaris*) を使用し、試験個体ごとに炭素含有量で 0.15mg のクロレラを毎日与えた。曝露終了後まで、試験個体の生存と産仔数を観察し、各下水試料の濃度区ごとに累積産仔数を求めた。累積産仔数とばく露濃度の関係から、対照区と比較して統計学的に有意な低下が認められない最も高い下水試料の割合を、無影響濃度 (NOEC) として求めた。すべての試験濃度区で対照区と死亡率または累積産仔数に有意な違いが認められない場合、もっとも高い試験濃度を NOEC とした。

メダカとゼブラフィッシュを用いた魚類試験は、胚仔魚期の魚類を下水試料に一定期間曝露し、孵化率などを調べ、対照区と比較することにより、胚・仔魚期の魚類に対する下水試料の急性および亜慢性毒性を明らかにするものである。本研究では、環境省が提案している生物応答を用いた排水試験法 (検討案) に基づいて、種ごとに 3 回ずつ試験を実施した。本試験では、dr-R 系統のメダカを使用し、ばく露方式は半止水式 (少なくとも週 3 回、2 日または 3 日ごとに換水) とし、照明は白色蛍光灯で明期 16 時間、暗期 8 時間とした。エンドポイントはふ化率、生存指標 (= ふ化率×ふ化後生存率/100) とした。なお、一部の試験では脱塩素水道水で培養したメダカ受精卵が卵膜軟化症によって卵黄が卵外に排出され多くのメダカが死亡した。このため一部の試験では対応策として pH 調整蒸留水 (蒸留水に水酸化ナトリウムを加え pH7.0~8.0 とし、0.22 μm フィルターでろ過したもの) を対照区に使用した。また、曝露期間中の水換え前後に pH、水温、DO の測定を行った。

(b) 結果

表-2 に藻類の生長速度に対する NOEC を示す。流入下水の無影響濃度は 21% (約 5 倍希釈) となり、二次処理水および放流水の無影響濃度は 83.3% となった。これらの結果から、少なくとも約 4 倍希釈程度の下水処理による藻類への毒性低減効果が確認された。

表-2 藻類の生長速度に対する NOEC

下水試料名	試験開始日		
	2013/12/17	2014/1/10	2014/2/21
流入下水	21%	21%	21%
二次処理水	83.3%	83.3%	83.3%
放流水	83.3%	83.3%	83.3%

表-3 にミジンコの産仔数に対する各下水試料の NOEC を示す。1 回目の試験から、流入下水によるオオミジンコの累積産仔数への影響が考えられるが、2 回の試験ともに、二次処理水と放流水の NOEC が最大濃度である 80% となったことから、下水処理実験装置の処理により毒性影響が低減したことが考えられる。

表-3 ミジンコの累積産仔数に対する NOEC

下水試料名	試験開始日	
	2014/1/24	2014/2/14
流入下水	< 80%	80%
二次処理水	80%	80%
放流水	80%	80%

表-4 にメダカのふ化率と生存指標に対する各試料の NOEC を示す。2 回目の試験では、ふ化率と生存指標に対する流入下水の NOEC がいずれも 5% だったのに対し二次処理水で NOEC が 10% となったことから、活性汚泥処理によって毒性物質が除去されたことが明らかになった。3 回目の試験から推定された NOEC は 2 回目と同様に、流入下水に比べて二次処理水および放流水で高い値を示し、下水処理によってメダカに対する毒性を削減できることが確認できた。塩素処理水の割合を 80% とした 1 回目のメダカ試験、及びメダカ 2 回目試験における塩素処理水の生存指標に及ぼす影響を除けば、メダカのふ化率と生存指

標に対する NOEC は 10%以上となった。

表-5 にゼブラフィッシュのふ化率と生存指標に対する各試料の NOEC を示す。メダカ同様に、下水処理はゼブラフィッシュに対する影響を削減できることが明らかになった。ゼブラフィッシュのふ化率および生存指標に対する放流水の NOEC はメダカと同様に 10%以上となった。

本研究における生物応答試験の結果から、放流水が公共用水域で 10 倍あるいはそれ以上に希釈されると仮定される我が国の水

環境において、放流水による生態系への影響は無いか非常に小さいことが考えられる。しかしながら下水処理水の性質、特に毒性物質の種類や量は季節や地域においても変化すると考えられるため、今後も繰り返し毒性試験を行い、情報を蓄積することが必要であると考えられる。

### ③ メダカ遺伝子発現解析による下水処理水の安全性評価に関する調査

下水処理水の魚類影響を短期間で評価するため、流入下水、2 次処理水、塩素処理水にメダカを 96 時間曝露しエラの遺伝子発現解析から下水処理過程での魚類影響の低減効果を調査した。

その結果、流入下水に曝露したメダカエラでは、薬物代謝酵素遺伝子である P450 1 A1 遺伝子 (図-5)、薬物やホルモンに反応する炭酸脱水酵素 (ca) 遺伝子の発現強度の増加がみられた。しかし、2 次処理水では、P450 1 A1 遺伝子と炭酸脱水酵素遺伝子発現は低下しており、活性汚泥処理により薬物やホルモン作用を低減できていることがわかった。

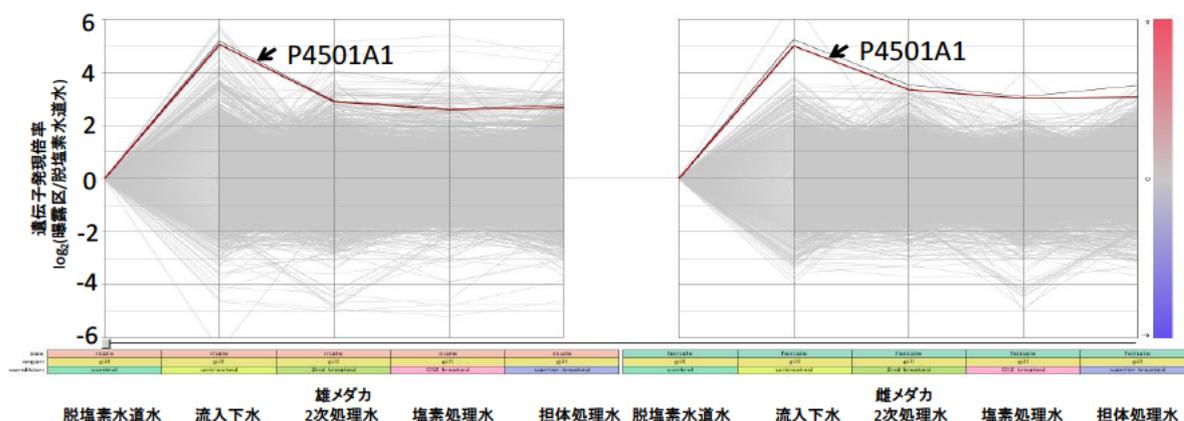


図-5 各曝露区の雄と雌メダカエラ中の P4501A1 遺伝子発現倍率

「なお、本調査研究は、国土交通省水管理・国土保全局からの受託業務費により実施されたものである。」

## 流域スケールで見た物質動態特性の把握に関する研究②

研究予算：運営交付金（一般勘定）

研究期間：平 23～平 27

担当チーム：水環境研究グループ（水質）

研究担当者：岡本誠一郎、平山孝浩、北村友一、  
對馬育夫

## 【要旨】

河川集水域からの栄養塩類の流出機構を解明するため、印旛沼流入河川である高崎川と鬼怒川支流の山川で雨天時の水と硝酸イオンの安定同位体比に着目した負荷量調査を行った。その結果、高崎川の雨天時調査において、増水時の河川水の 80% が直接流出であることが示唆され、 $\delta^{18}\text{O}\text{NO}_3$  を用いた解析から、増水時の硝酸態窒素負荷量の 0～4% が雨水由来である可能性が示唆された。また、増水時には  $\delta^{15}\text{N}\text{NO}_3$  は低下することが明らかとなり、大気由来や化学肥料等の  $\delta^{15}\text{N}\text{NO}_3$  の低い硝酸態窒素の流出割合が増加したと考えられた。

キーワード：印旛沼、山川、栄養塩、雨天時調査、安定同位体比

## 1. はじめに

近年、閉鎖性水域や河川においては、種々の対策が行われているにも関わらず栄養塩濃度は横ばい傾向にある。閉鎖性水域においては富栄養化が常態化しており、環境基準の達成率が低い。閉鎖性水域の水質を良質に保つ必要がある。水質改善のために、河川管理者によるマスタープラン策定が行われているが、発生源ごとの水域への栄養塩類の流出機構が明確でないという問題点がある。本研究は、栄養塩類の発生源別と雨天時流出機構の解明を行うことを目的としている。前年度は、河川集水域からの栄養塩類の流出実態を解明するため、印旛沼流入河川である高崎川で晴天時と雨天時の、鬼怒川支流の山川で雨天時の負荷量調査を行った。そして、地点間比較や土地利用との関係から流出特性を調査した。晴天時調査からは、集水域の畑の割合が高いほど河川水中の硝酸態窒素濃度が高くなる傾向がみられた。

近年、安定同位体比に着目した流域環境評価が盛んに行われている。安定同位体比には起源や反応履歴を示す情報が「刻印」されているためである（永田<sup>1)</sup>、2010）。例えば、 $^{14}\text{N}$  と  $^{15}\text{N}$  では化学的な反応に差異はないが、質量が異なるため、同じ温度条件下でも原子の振動数に違いが現れ、 $^{14}\text{N}$  の方がより速く振動する。したがって、 $^{14}\text{N}$  の結合は  $^{15}\text{N}$  の結合に比べ切れやすく、窒素固定され易い。また、硝化・脱窒過程では大気中へ放出され易い（和田<sup>2)</sup> 1986；酒井ら<sup>3)</sup> 1996；高津ら<sup>4)</sup> 2005）。一般的に、安定同位体の存在比はある特定の基準物質の安定同位体比に

対する千分率偏差（ $\delta$  記法）で (1) のように表される。

$$\delta^{15}\text{N}(\text{‰}) = \left( \frac{^{15}\text{N}/^{14}\text{N} \text{ 試料}}{^{15}\text{N}/^{14}\text{N} \text{ 大気}} - 1 \right) \times 1000 \quad (1)$$

基準物質と同じ安定同位体比であれば、 $\delta$  値は 0 になり、重い同位体がより多く含まれていれば正になり、軽い同位体が多ければ負となる。

図 1 に Kendall ら<sup>5)</sup> がまとめた硝酸イオンの  $\delta^{15}\text{N}$  -  $\delta^{18}\text{O}$  ダイアグラムを示す。これから以下の特徴がわかる。(i) 下水や畜産排水の処理場に由来する硝酸イオンは、窒素の安定同位体比が高い ( $\delta^{15}\text{N} = +10 \sim +20\text{‰}$ )。処理場では、アンモニアの揮発や脱窒に伴って、 $^{14}\text{N}$  が選択的に大気中に放出される。一方、処理槽内では  $^{15}\text{N}$  が「濃縮」される。(ii) 大気由来する硝酸イオンは、酸素の安定同位体比が高い ( $\delta^{18}\text{O} = +60 \sim +90\text{‰}$ )。大気中において、 $\text{O}_3$  は非常に高い  $\delta^{18}\text{O}$  値 (90～122‰) を示すため、降雨に含まれる硝酸イオンの  $\delta^{18}\text{O}$  まで影響する。(iii) 水域生態系における主要な硝酸イオンの代謝過程に伴い、同位体分別が起こる。このうち、脱窒においては、窒素と酸素の両方について、しばしば大きな同位体分別が伴うため、ある水系の中で、脱窒が活発に進行していれば、 $\delta^{15}\text{N}$  -  $\delta^{18}\text{O}$  ダイアグラム上で直線的に並んだプロットとして識別される場合がある（図 1 上の矢印）。

大手ら (2008)<sup>6)</sup> は、琵琶湖流入主要河川である野洲川と安曇川の最上流部から河口（琵琶湖への流入

地点) までの硝酸イオンの濃度と安定同位体比の流下変化を調査した。その結果、野洲川では、硝酸イオンの濃度は、上流から下流にむけて上昇傾向を示し、これとともに、 $\delta^{15}\text{N}$ も著しく上昇していたことを報告し、野洲川の中・下流域における窒素の負荷が主に排水系(農業排水を含む)であることを推察した。また、安曇川の流程では、濃度の上昇も野洲川ほどの傾向は見られなかったことから、中・下流に集中した農耕地や住宅地がないため、 $\delta^{15}\text{N}$ の高い硝酸イオンが流入しないためであると推察した。また、赤松(2010)<sup>7)</sup>は河床堆積物中の $\delta^{15}\text{N}$ について、流域内に森林しか存在しない河川ではすべての点でほぼゼロに近い値を示している一方で、都市域を流れる河川では全域で富栄養化の基準となる6%を超えていたことを報告した。

本年度は出水時の河川水の水( $\text{H}_2\text{O}$ )の酸素・水素、硝酸イオンの窒素・酸素安定同位体比に着目することにより、出水時における栄養塩類の流出機構の解明を試みた。

## 2. 調査方法

### 2.1 調査河川と水質調査地点

印旛沼流入河川の鹿島川の支流である高崎川と、鬼怒川の支流である山川を対象に、集水域の土地利用情報を整理し、栄養塩類の負荷量調査を実施した。図2は、高崎川と山川の集水域と採水調査地点である。集水域の面積は、高崎川で79km<sup>2</sup>、山川で32km<sup>2</sup>である。

高崎川の雨天時調査は、平成24年11月17日と平成25年1月18~20日に実施した。平成24年11月17日の雨天時の先行晴天日数は4日、累積降雨量は38.5mmである。降雨開始前を含め数時間おきに8回、本流のC、Gの2地点で流量観測と水質調査を行った。平成25年12月18~20日の雨天時の先行晴天日数は7日、累積降雨量は45mmであり、Iの1地点で数時間おきに流量観測と水質調査を10回行った。なお、C地点では畑の割合、I地点では、森林の割合が多い。

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

### 2.2 雨天時調査のデータの解析方法

雨天時調査の結果を解析するにあたり、高崎川は佐倉観測所、山川は下妻観測所の1時間ごとの雨量データを使用した。河川流量、雨天時河川水の各水

質成分濃度、雨水と河川水の $\delta^2\text{H}$ と $\delta^{18}\text{O}$ および硝酸イオンの $\delta^{15}\text{N}$ と $\delta^{18}\text{O}$ (以下、 $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$ 、 $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$ )は実測とした。水の安定同位体比を用いた増水時の河川水の基底流出と直接流出への分離と硝酸イオンの窒素、酸素の安定同位体比を用いた硝酸性窒素の流出挙動を解析した。なお、採取したサンプルは赤外線半導体レーザーを用いたキャビティリングダウン吸収分光法により、水の $\delta^2\text{H}$ と $\delta^{18}\text{O}$ を、脱窒菌法により硝酸イオンの $\delta^{15}\text{N}$ と $\delta^{18}\text{O}$ を測定した。

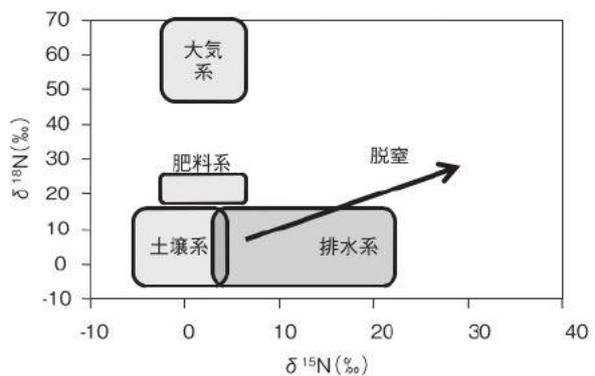
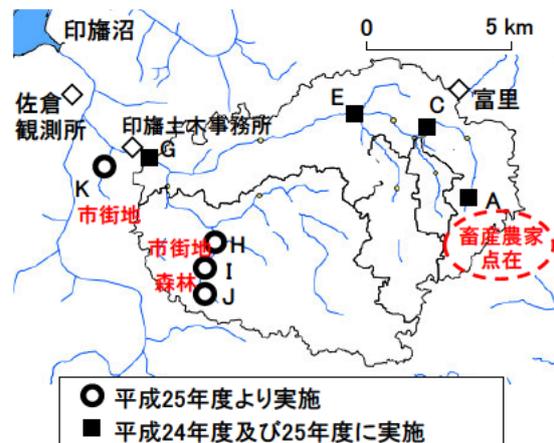


図1 硝酸イオンの $\delta^{15}\text{N}$ - $\delta^{18}\text{O}$ ダイアグラム



高崎川の集水域と調査地点



山川の集水域と調査地点

図2 調査地点

### 3. 結果と考察

#### 3.1 水の同位体比を用いた増水ピークの成分分離

図3は、平成24年11月17日の高崎川地点C、Gの河川水と雨水の $\delta^2\text{H}$ と $\delta^{18}\text{O}$ の変化である。降雨前の河川水の $\delta^2\text{H}$ は雨水より低く、降雨に伴って増加した。地点Cでは流量ピーク時には雨水より高くなった。河川水の $\delta^{18}\text{O}$ は、降雨前は雨水と近い値であり、一旦増加したあと減少し、翌日には初期の値に戻った。図4は $\delta^2\text{H}$ と $\delta^{18}\text{O}$ の関係である。河川水の $\delta^2\text{H}$ と $\delta^{18}\text{O}$ は正の相関関係を示し、16データで回帰直線を求めると、傾きは約8となった。雨水は河川水の近くにプロットされ、 $\delta^2\text{H}$ と $\delta^{18}\text{O}$ からは、河川水に占める雨水の割合の算出は難しいことがわかる。図4の点線は雨水を通る傾き8の直線である。大気中の水蒸気の蒸発と凝縮が平衡状態にあるとき、 $\delta^2\text{H}$ と $\delta^{18}\text{O}$ の比は8となることが知られており(天水線<sup>8)</sup>)、雨水データは1試料しかないが、変動する場合はこの点線に沿って変動するものと推測される。雨水のもととなった水蒸気の生成場所や生成環境を反映する指標(d:deuterium excess parameter)として、以下の式が提案されている<sup>8)</sup>。

$$d = \delta^2\text{H} - 8\delta^{18}\text{O}$$

雨水のdは、日本では夏に低く(<10‰)、冬に高い(>20‰)<sup>8)</sup>。図5は、高崎川河川水と雨水のd(deuterium excess parameter)である。本調査時の雨水試料のdは、26と高く、冬の降水の特徴を示していた。河川水のdは、降雨とともに上昇し、ピーク時でも雨水の値を下回っていることがわかる。

$\delta^2\text{H}$ と $\delta^{18}\text{O}$ を用いた洪水ハイドログラフの成分分離は、一部が雨水の値を上回ったことや、河川水の値と近いことから、正しく計算できなかった。そこで、成分分離計算にはdを用いた。降雨前のdを基底流出水、雨水のdを直接流出水の値として、この2成分の混合と仮定し、以下の式を適用した。

$$d_t = f \times d_{\text{new}} + (1-f) \times d_{\text{old}}$$

$$f = Q_{\text{new}} / Q_t$$

Q : 河川の流量

f : 混合率

d : deuterium excess parameter

添え字 t, new, old : 各時間の値、直接流出の値(雨水の値)、基底流出の値(降雨前の値)

図6は、全流量の測定値と、成分分離された基底流出、直接流出の流量およびfの変化である。基底流出流量は、降雨時に若干増加する程度であり、直

接流出流量と比較すると増加が小さかった。全流量がピークを示す22:30頃には、直接流出の割合が約80%( $f \approx 0.8$ )となった。下流側の地点Gでは、上流側の地点Cと比較して、洪水ピーク後のfの減少が遅かった。なお、平成25年12月18~20日の高崎川の調査では、増水前からの採水ができなかったため、基底と直接流出の成分分離は出来なかった。

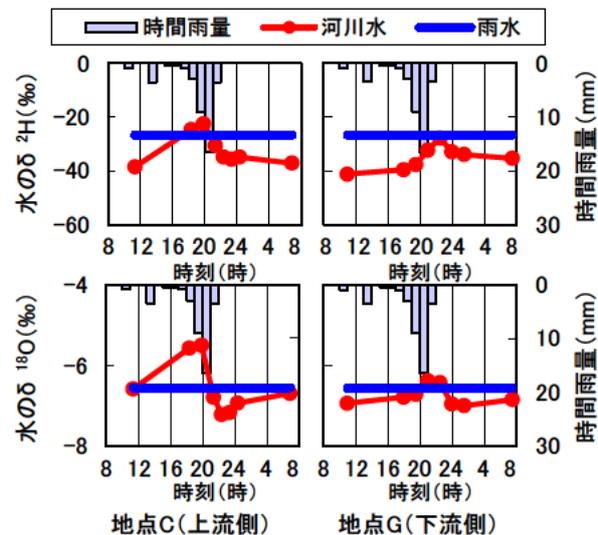


図3 雨天時の河川水の $\delta^2\text{H}$ と $\delta^{18}\text{O}$ の変化

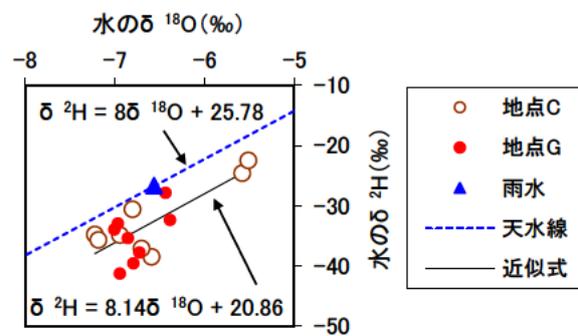


図4  $\delta^2\text{H}$ と $\delta^{18}\text{O}$ の関係

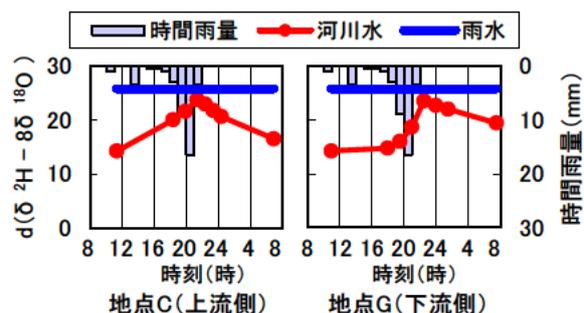


図5 雨天時の河川水のdの変化

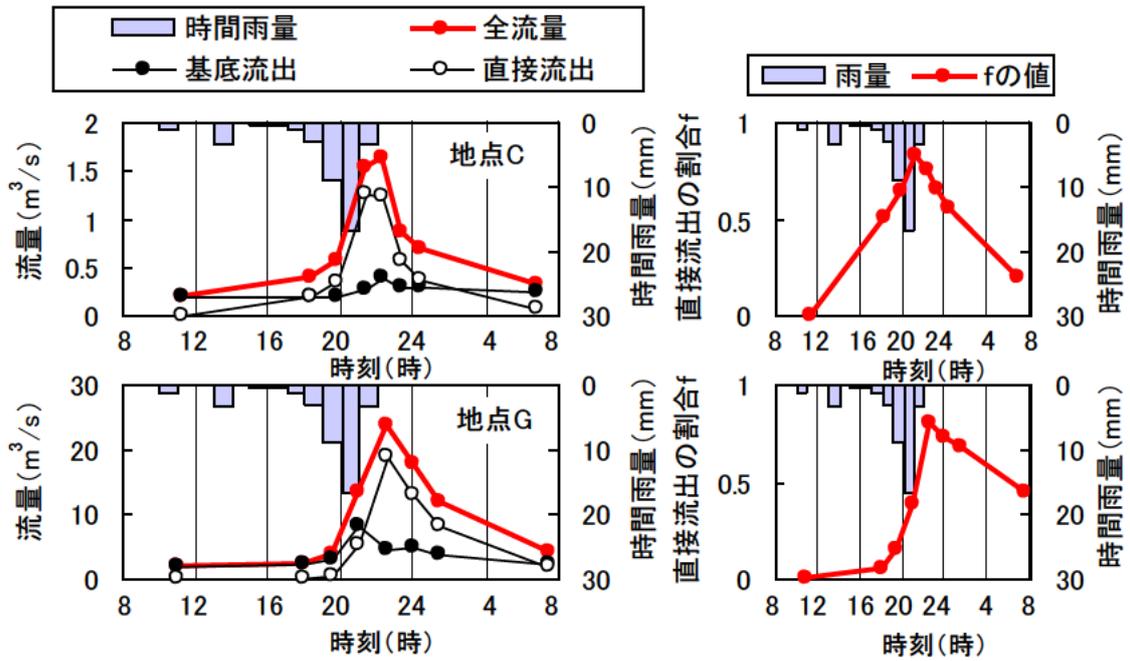


図6 全体、直接流出、基底流出の流量とfの変化

### 3.2 硝酸イオンの $\delta^{15}\text{N}$ 、 $\delta^{18}\text{O}$ による流出解析

図7は、平成24年11月17日の硝酸態窒素濃度と、 $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$ 、 $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$ の変化である。河川水では、硝酸態窒素濃度の低下に従い、 $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$ が低下し、 $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$ が上昇した。図8は、今回の雨水と河川水の $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  -  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$ ダイアグラムと起源情報<sup>9)</sup>である。雨水の $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$ は0‰、 $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$ は72‰であり、降水の範囲に含まれた。河川水は、 $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$ が6~8‰、 $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$ が1~5‰の範囲にプロットされた。この位置は、土壌由来と糞尿や畜産廃棄物由来が重複している箇所であった。この領域を拡大すると、河川水の $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$ と $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$ は、負の相関関係を示した。脱窒反応が進行するときは、同位体分別によって $\delta^{15}\text{N}$ と $\delta^{18}\text{O}$ がともに上昇し、正の相関となるから、今回の増水時の河川水中硝酸態窒素の同位体比の変化は、脱窒の進行していない硝酸態窒素の混合があったと考えられる。図8に矢印で示したように、降雨時の $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$ と $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$ の変化は単純な往復にはならず、 $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$ が上昇、 $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$ が低下した後は、先に $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$ が降雨前の値付近に戻り、その後 $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$ が降雨前の値付近に戻った。これは、大気由来と化学肥料等の $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$ の低い硝酸態窒素の流出割合が増加したためと考えられた。

図9は、地点C、Gの比流量と $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$ の関係である。 $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$ は、河川の流量に対して直線的に増加していた。そこで、雨天時の $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$ は、雨水の高い $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$ の影響を受けて変化したと仮定し、硝酸態窒

素濃度と流量から全体の負荷量を求め、以下の式で雨水由来の硝酸態窒素負荷量を推定した。

$$\delta^{18}\text{O}_t = \delta^{18}\text{O}_{\text{new}} \times f + \delta^{18}\text{O}_{\text{old}} \times (1-f)$$

この式から、

$$f = (\delta^{18}\text{O}_t - \delta^{18}\text{O}_{\text{old}}) / (\delta^{18}\text{O}_{\text{new}} - \delta^{18}\text{O}_{\text{old}})$$

$$\text{雨水由来負荷量} = f \times \text{全体の負荷量}$$

添え字 t, new, old : 河川水、雨水、降雨前

図10は、硝酸態窒素の全負荷量と、雨水由来負荷量およびその割合である。雨水由来の硝酸態窒素の負荷量の全負荷量に対する割合は、0~4%と低く、上流よりも下流で高くなる傾向がみられた。

図11は、雨水由来の硝酸態窒素負荷量を2通りの方法、すなわち前述の $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$ を用いる方法と、水のdを用いて表面流出水流量を求め、雨水の硝酸態窒素濃度を掛ける方法で求め、比較したものである。雨水由来の硝酸態窒素負荷量は、地点Cではピーク時の負荷量に差が生じたが、ピークの時間や変化の傾向は互いに類似していた。したがって、増水時の硝酸イオンの $\delta^{18}\text{O}$ の上昇は、雨水の高い $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$ の影響によるものと考えられる。硝酸イオンの $\delta^{15}\text{N}$ と $\delta^{18}\text{O}$ が、地下水と雨水の混合のみで決定されるとすると、両者は連動して変化するはずである。そこで、 $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$ から求めた混合率fと、降雨前河川水と雨水の $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$ を用いて $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$ の推定値を算出した。図12は、 $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$ の変化の推定値と実測値の比較である。雨水由来の硝酸態窒素の混合率が低いため、推定値の $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$ はほとんど低下せず、実測値と乖離した。

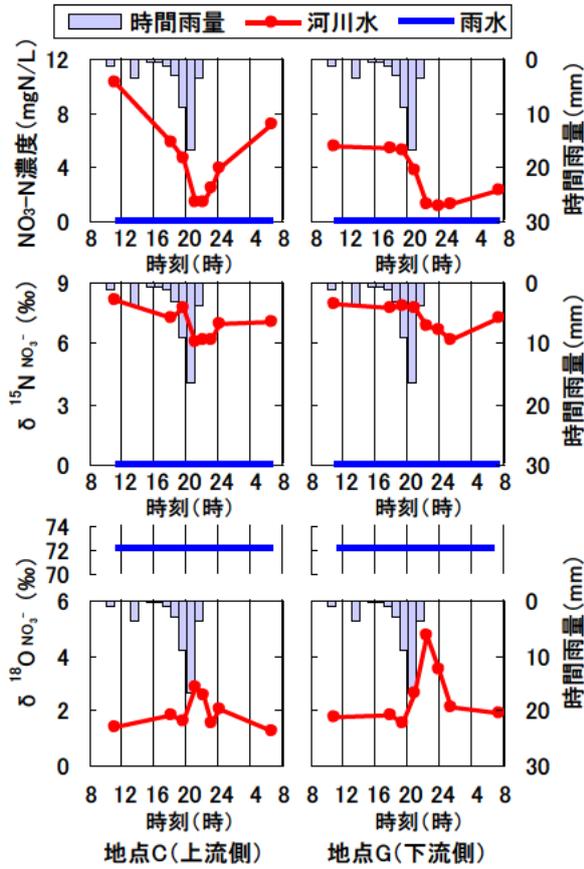


図7 雨天時の河川水のNO<sub>3</sub>-N、 $\delta^{15}\text{N NO}_3^-$ 、 $\delta^{18}\text{O NO}_3^-$ の変化

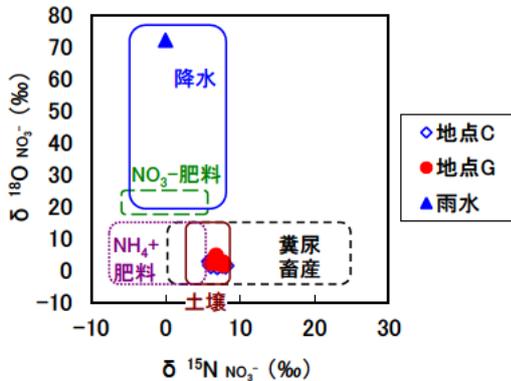


図8  $\delta^{15}\text{N}$ - $\delta^{18}\text{O}$  ダイアグラム上の河川水と降水の位置

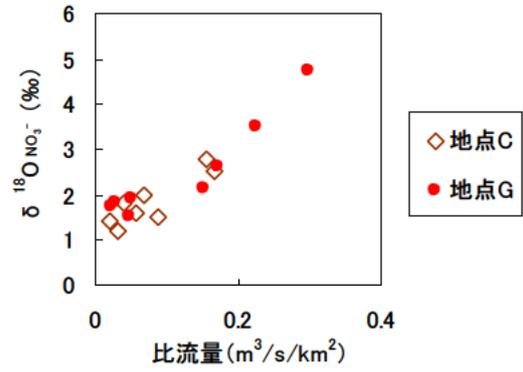


図9 比流量と $\delta^{18}\text{O NO}_3^-$ の関係

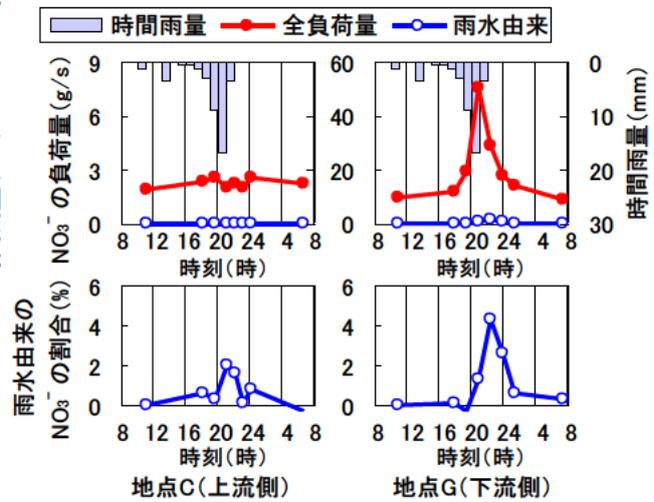


図10 NO<sub>3</sub>-Nの全負荷量と雨水由来負荷量およびその割合

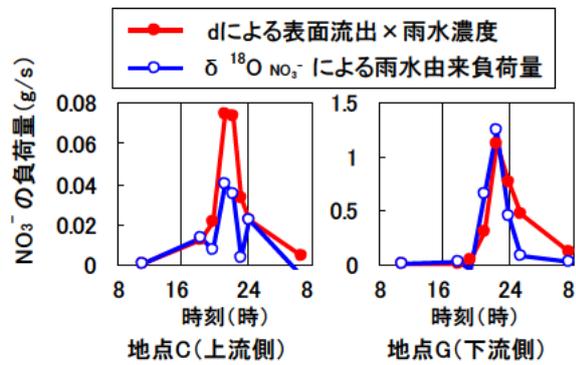


図11 雨水由来のNO<sub>3</sub>-Nの、水のdに基づく直接流出流量から求めた負荷量と、 $\delta^{18}\text{O NO}_3^-$ から求めた負荷量の比較

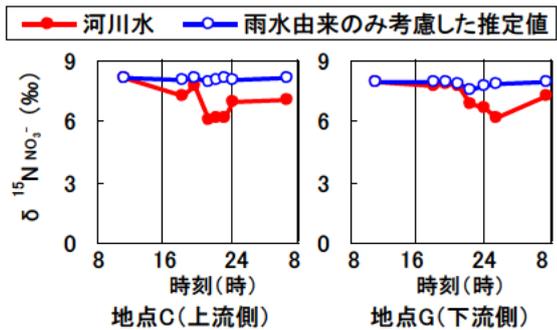
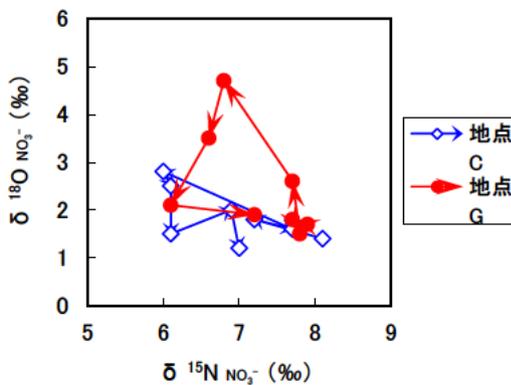


図12  $\delta^{15}\text{N NO}_3^-$ の実測値と、雨水由来のNO<sub>3</sub>-Nのみが混合したと仮定した場合の $\delta^{15}\text{N NO}_3^-$ の推定値の比較

雨天時の河川水中硝酸イオンの起源の正確な推定のためには、地下水と雨水だけでなく、他の要因を考慮する必要があることがわかる。硝酸イオンの $\delta^{15}\text{N}$ については、雨水の他に、森林渓流水<sup>10</sup>や化学肥料などが低い $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3^-}$ を示すことが報告されており、集水域の土地利用は、地点Cでは畑の割合が70%、と高いことから、増水時には化学肥料等の $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3^-}$ の低い硝酸態窒素の流出割合が増加したと考えられる。今後、森林由来や化学肥料などの $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3^-}$ の測定が必要である。

表-1は、河川水の $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3^-}$ と他の水質項目との相関係数の一覧である。図13は、 $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3^-}$ と、 $\text{K}^+/\text{Na}^+$ および溶存態Al濃度の関係である。 $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3^-}$ は、増水時に増大する項目である流量やSSとは負の相関を示した。増水時に希釈される項目である硝酸態窒素、EC、無機イオン類各種とは強い正の相関を示した。 $\text{K}^+/\text{Na}^+$ とは負の相関であった。溶存態金属類では、Bと正の、Alと負の強い相関を示した。

以上は、増水時の $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3^-}$ の低下に従って、 $\text{K}^+/\text{Na}^+$ と溶存態Al濃度が高い相関をもって増加することを意味し、増水時に流出する硝酸態窒素は、 $\text{K}^+/\text{Na}^+$ 、溶存態Alと同じ起源である可能性がある。

図14は、平成25年12月18~20日の雨天時の高崎川I地点での硝酸態窒素濃度、 $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3^-}$ 、 $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3^-}$ の変化である。本調査でも流量増加時に、硝酸態窒素濃度の低下に伴う、 $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3^-}$ の低下と $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3^-}$ の上昇が確認された。

図15は、山川の結果である。増水時の山川でも硝酸態窒素濃度の低下に伴って $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3^-}$ が低下していた。ここでは $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3^-}$ の顕著な増加は観られなかった。増水時は硝酸態窒素濃度の低下に伴う $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3^-}$ の低下は、土地利用によらず確認されたが、大気由来の硝酸態窒素の流出特性は、土地利用により異なる可能性があった。

表1  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3^-}$ と各水質項目との相関係数R

	全流量	SS	粒子態N	粒子態P	$\text{NO}_3^-$ -N	$\text{NH}_4^-$ -N	$\text{NO}_2^-$ -N	$\text{PO}_4^-$ -P
地点C	-0.83	-0.71	-0.61	-0.67	0.86	0.10	0.82	0.49
地点G	-0.63	-0.53	-0.66	-0.67	0.91	0.75	0.85	0.79
	EC	$\text{Na}^+$	$\text{K}^+$	$\text{Mg}^{2+}$	$\text{Ca}^{2+}$	$\text{Cl}^-$	$\text{SO}_4^{2-}$	$\text{K}^+/\text{Na}^+$
地点C	0.86	0.93	0.89	0.86	0.89	0.92	0.88	-0.91
地点G	0.93	0.93	0.88	0.92	0.93	0.94	0.91	-0.94
	D-Fe	D-Mn	D-Cu	D-Mo	D-B	D-Zn	D-Al	D-Ni
地点C	-0.31	-0.05	0.22	-0.36	0.89	0.17	-0.88	0.90
地点G	-0.41	0.23	-0.72	0.72	0.90	-0.15	-0.97	0.80

※ 網掛けは、危険率1%で有意

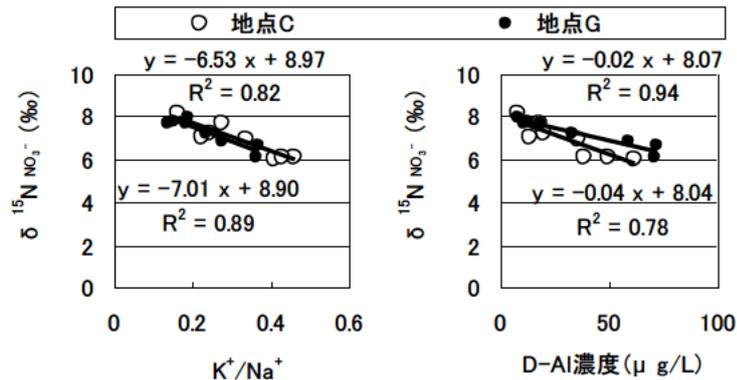


図13  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3^-}$ と $\text{K}^+/\text{Na}^+$ およびD-Al濃度との関係

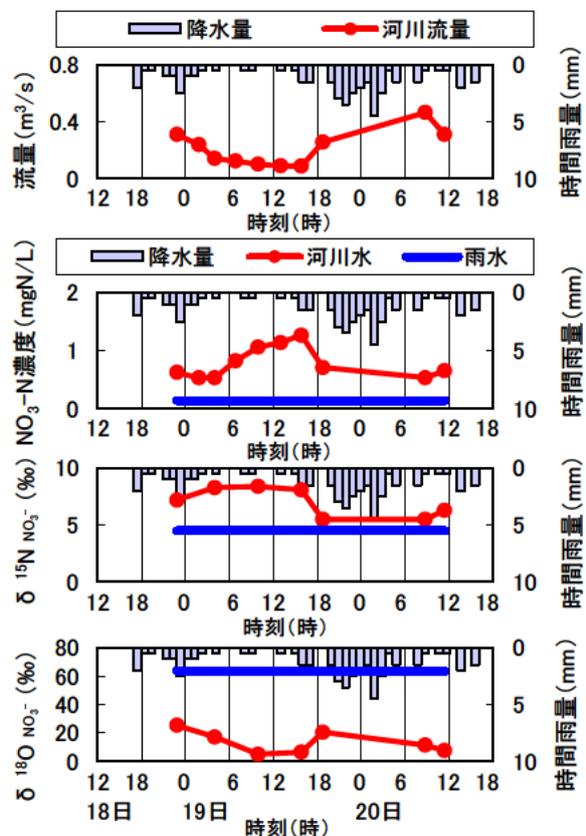


図14 高崎川地点Iの流量、 $\text{NO}_3^-$ -N濃度、 $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3^-}$ と $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3^-}$ の変化

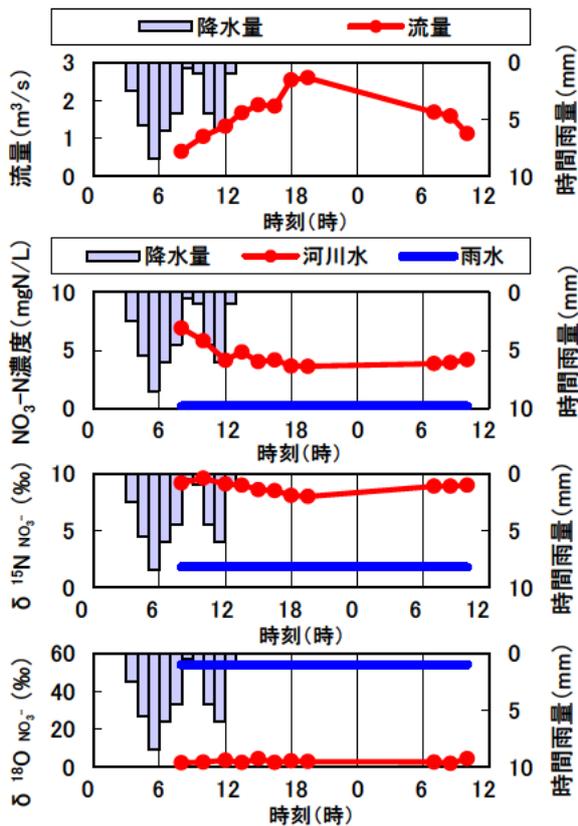


図 15 山川の流量、NO<sub>3</sub>-N 濃度、 $\delta^{15}\text{N NO}_3^-$  と  $\delta^{18}\text{O NO}_3^-$  の変化

#### 4 おわりに

印旛沼流入河川である高崎川で晴天時と雨天時の、鬼怒川支流の山川で雨天時の安定同位体比に着目した負荷量調査を行った。得られた知見を以下に示す。

- (1) 高崎川の雨天時において、水の同位体比を用いて成分分離を行ったところ、増水ピーク時の河川水の80%が直接流出であることがわかった。
- (2) 高崎川の雨天時の $\delta^{18}\text{O NO}_3^-$ を用いた解析から、増水時の硝酸態窒素負荷量の0~4%が雨水由来である可能性があった。
- (3) 畑の割合が多い高崎川の小流域では増水時に $\delta^{15}\text{N NO}_3^-$ は低下することが明らかとなった。増水時には化学肥料等の $\delta^{15}\text{N NO}_3^-$ の低い硝酸態窒素の流出割合が増加したと考えられた。

#### 参考文献

- 1) 永田 俊 (2010) 各種安定同位体を用いた流域窒素負荷の診断、地球環境 15(2)、189-194
- 2) 和田英太郎 (1986) 生物関連分野における同位体効果—生物界における安定同位体分布の変動—、RADIOISOTOPES 35、136-146
- 3) 酒井均、松久幸敬 (1996) 安定同位体地球化学、初版、東京、大学出版会
- 4) 高津文人、河口洋一、布川雅典、中村太士 (2005) 炭素、窒素安定同位体自然存在比による河川環境の評価、応用生態工学 7(2)、201-213
- 5) Kendall, C., E. M. Elliot and S. D. Wankel (2007) Tracing anthropogenic inputs of nitrogen to ecosystems. In: R. Michener and K. Lajtha, eds., Stable isotopes in ecology and environmental science. 2nd ed., Blackwell Scientific, Oxford, 375-449.
- 6) 大手信人 (2008) 大気降水物としての窒素が水源域に与える負荷、永田俊・宮島利宏 (編) 流域環境評価と安定同位体—水循環から生態系まで、京都大学学術出版会、59-69
- 7) 赤松 良久 (2010) 河床堆積物の炭素・窒素同位体比に基づく流域環境評価、土木学会水工学委員会環境水理部会研究集会  
<[http://www.jsce.or.jp/committee/hydraulic/kankyousuiri/\\_works/hop/h22/docs/08akamatsu.pdf](http://www.jsce.or.jp/committee/hydraulic/kankyousuiri/_works/hop/h22/docs/08akamatsu.pdf)>
- 8) 永田俊、宮島利宏(2008)、水の同位体比を利用した水循環の評価、「流域環境評価と安定同位体—水循環から生態系まで—」第2章、京都大学学術出版会、33-55.
- 9) 永田俊、宮島利宏(2008)、大気降水物としての窒素が水源域に与える負荷、「流域環境評価と安定同位体—水循環から生態系まで—」第3章1節、京都大学学術出版会、59-69.
- 10) 井手淳一郎(2011)、窒素・酸素安定同位体比を用いた扇状地河川における出水時の硝酸性窒素の起源推定に関する研究、河川整備基金助成事業成果報告書、助成番号:23-1211-01

## 土地利用や環境の変化が閉鎖性水域の水質・底質におよぼす影響に関する研究

研究予算：運営費交付金（一般勘定）

研究期間：平 23～平 27

担当チーム：水環境研究グループ（水質）

研究担当者：岡本誠一郎、平山孝浩、柴山慶行  
對馬育夫

### 【要旨】

霞ヶ浦では、近年再びアオコが発生するようになり、H23 には大発生した。一方で、H13 から H20 ごろまでは、発生が少ない期間が続く等、アオコ発生に寄与する湖沼環境の変化が考えられた。本研究では、気象等の環境要因や流域からの栄養塩類負荷の変化、底質の溶出量の変化等について検討した。気象等の環境要因の解析からは、H23 のアオコの大発生を説明する因子として、気温や日射だけでは説明できず、特に H22~24 の中には、H23 だけが雨量の多かったことから雨天時に流域から流入する栄養塩類がアオコ発生に影響を及ぼすことが示唆された。風向・風速の解析からは、アオコ発生の多かった年には東寄りの風が強かったことが分かり、市外地である土浦市周辺にアオコが吹き寄せられて景観障害や異臭等の苦情が生じやすかったことも分かった。また、雨天後の底質溶出試験からは雨天時に湖内に流入する栄養塩類が底質からの溶出速度に影響を与えていることが示唆された。

キーワード：霞ヶ浦、閉鎖性水域、底質、雨天時の栄養塩類負荷

### 1. はじめに

霞ヶ浦では、近年再びアオコが発生するようになり、平成 23 年には大発生した。一方で、H13 から H20 ごろまでは、発生が少ない期間が続く等、アオコ発生に寄与するなんらかの湖沼環境の変化が考えられた。アオコ発生に関わる因子としては、湖盆形態的、気象学的、水理学的、水質学的要因が挙げられる<sup>1)</sup>。平成 25 年度は、気象等の環境要因とアオコ発生の関係について検討した。また、流域からの栄養塩類負荷の変化や底質の溶出量の変化等について解析した。図 1 に湖沼で移送される物質のイメージ図を示すが、25 年度調査では、この内、流域と底質からもたらされる栄養塩類負荷の変化についてデータを収集した。さらに、雨天時に流域からもたらされる栄養塩類負荷が底質の溶出傾向にどのような変化をもたらすのかについて、溶出試験を実施して考察を行った。

### 2. 気象条件について

#### 2. 1 方法

風向・風速データについては霞ヶ浦河川事務所より提供のあったデータを用いた。霞ヶ浦西浦の湖心の自動観測所で測定したものであり、1 時間ごとに 16 方位で記録

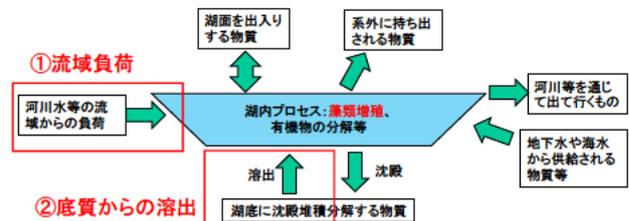


図 1 湖沼で移送される物質のイメージ図  
(湖沼技術研究会資料<sup>2)</sup> より一部改変)

されているものである。まず、風向・風速の大まかな傾向を把握するために、北 (N)、西 (W)、南 (S)、東 (E) にベクトル分解した。次に、ベクトル分解後の風速の強さごとに、1 時間あたりを 1 回として回数を積み上げた。例えば、風向が西で風速が 4m/s の観測値の場合は、W で 4m の頻度に 1 回積み上げて、風向が北西で風速が 4m の観測値のときは N に 2.8m/s の風速で 1 回積み上げ、W にも 2.8m/s の風速で 1 回積み上げた。

気温、雨量データについては、気象庁の土浦アメダスの測定結果<sup>3)</sup>を、水温については国土交通省霞ヶ浦河川事務所より提供のあった西浦湖心の表層の観測データを

用いた。藍藻類は水温 25 度付近で増殖速度がもっとも大きくなるといわれている。ここでは藍藻類が増殖すると考えられる表層の水温が高かったかどうかを判断するために、1 時間ごとの観測結果について、気温または水温が 25 度を越えたときに 25 度との差を月ごとに合計して比較した。雨量データは月ごとの合計値を年度ごとに比較した。

日射データはつくばのアメダス観測結果<sup>4)</sup>を用いた。こちらも月ごとに合計値を算出して比較した。

## 2. 2 結果

8～9 月の風速の平均値を図 2 に、風向・風速の分布を、アオコの少なかったといわれている H13～19 とアオコが多く発生したとされる H20～24 について図 3 と図 4 に、また、H23 については図 5 に示す。図 3 と図 4 については、図 5 との比較を容易にするため、年平均として図化してある。

H23 はアオコが大量発生した年であるが、図 2 によると 8～9 月の風速の平均値で特段目立った特徴は見られなかった。H13～19 と H20～24 の傾向の違いとして、東寄りの風と南寄りの風の分布傾向が挙げられる。東寄りの風では、H20～24 で 2m/s 付近のピークがなくなっている一方で 4m/s 付近で H13～19 と比較して高い傾向がある。南風では、2～4m/s において H20～24 で頻度が高くなっている。H23 の図 5 と比較するとこの傾向がさらに顕著になっていることが分かった。東風が卓越していたことは、湖内で発生したアオコが、風下にあたる土浦市付近に集積することに寄与したと考えられる。土浦市周辺は霞ヶ浦の湖岸の中でも市街化が進んでいる地域であり、景観障害やアオコの腐敗臭が漂うことで市民への影響が発生することになったと考えられる。

7 月～9 月の気象・水象データを図 6～図 9 に示した。図 6 に気温を、図 7 に水温、図 8 に雨量、図 9 には日射量を示す。

図 6 より、H22～24 は 8 月の気温が高い傾向にあったことが分かり、アオコ発生との関係が示唆された。一方で、H23 の 7～8 月では、H16 と同等であることや H22～24 で H23 は、H22 と比較して低い値となっていた。水温も同様の傾向を示しており、H23 の大発生を気温、水温だけでは説明できないことが分かった。

雨量については、H13～19 では H13 を除き、7 月の雨量が大きかった年が多い。H20～24 の範囲で比較すると H23 の 7 月は雨量が多くなっており、降雨による流域からの栄養塩類負荷がアオコ発生の一因となっている可能

性が考えられる。

最後に、日射量については、H22～24 は他の年と比較してやや高い傾向にあり、アオコ発生との関係が示唆されるが、H23 が他の年と比較して高いわけではないため、日射量だけで H23 の大発生を説明することはできないことがわかる。

以上より、H23 のアオコ大発生を説明しうる際立った気象・水象現象は確認されなかったが、気温、降雨量など藻類増殖を促進しうる要因が見出された。また、H23 には東向風が他の年より卓越していた傾向がみられ、藻類の土浦周辺への集積に寄与した可能性が考えられた。

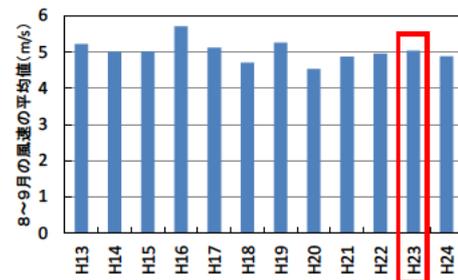


図 2 8～9 月の風速の平均値

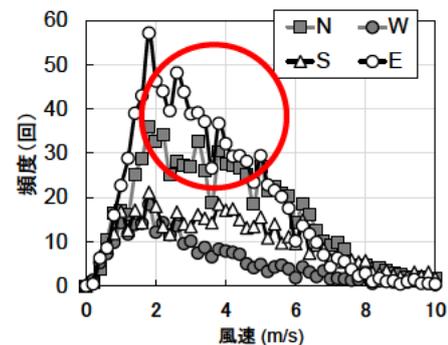


図 3 H13～19 の風向・風速の分布 (7 年平均)

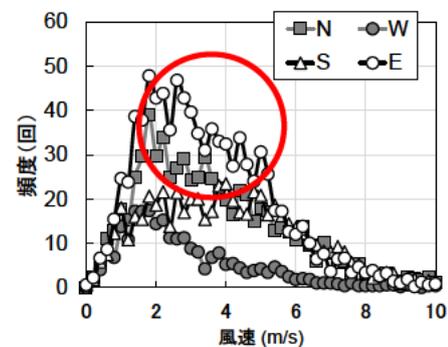


図 4 H20～24 の風向・風速の分布 (5 年平均)

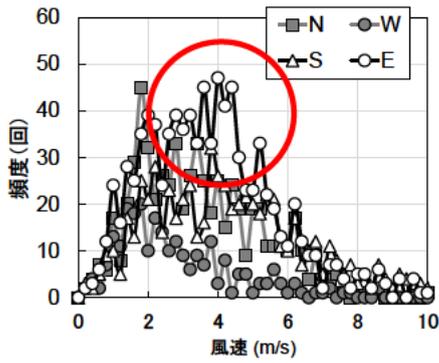


図5 H23の風向・風速の分布

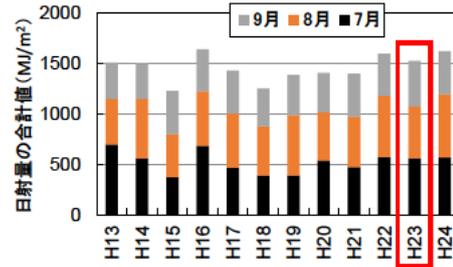


図9 年ごとの日射量の比較

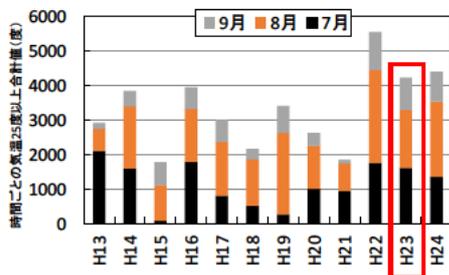


図6 年ごとの気温の比較

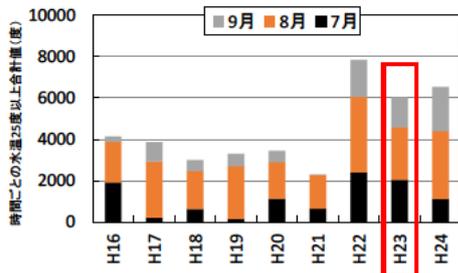


図7 年ごとの表層水温の比較

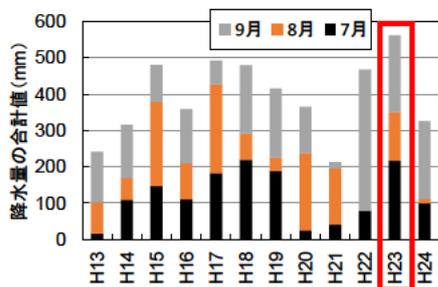


図8 年ごとの雨量の比較

データと流量データは、茨城県のホームページで公開されているH13からH23までの公共用水域の水質等測定結果<sup>9)</sup>を用いた。本測定結果には、土浦入に流入する河川として、川尻川、境川、新川、桜川、備前川、花室川、清明川の7河川のデータが示されている。表1に7河川の概要を示す。この7河川の内、川尻川は測定が2ヶ月に1回であること、新川と備前川は流量が測定の下限値を下回る月があること、さらにH23の流量で比較すると川尻川と新川、備前川は流入7河川の流入量に占める割合がそれぞれ1%以下になると考えられたため、境川、桜川、花室川、清明川の4河川を対象として流域からの栄養塩類負荷の変化を検討した。1ヶ月に1回の測定値をその月の値として、1ヶ月の時間を掛け合わせて月あたりの負荷量とした。

### 3. 1. 2 底質からの溶出について

底質の状態を把握するために、土浦入の代表地点として掛馬沖を、比較地点として湖心を選び、柱状のサンプルを用いた静置型の溶出試験を行った。内径200mmのアクリルコアを用いて、深さ30cm程度の底質を各地点で4本、合計8本採取した。直上水は採取した底層水をGFBフィルターでろ過した後、静かに流入させて、地点ごとに嫌気状態と好気状態を設定して、摂氏20度の暗条件にて実験を行った。嫌気状態は、窒素ガスで直上水を曝気してDOが1mg/L以下となるように調節し、好気状態は、空気曝気により溶存酸素濃度を調節した。底質のばらつきによる影響を抑えるために、1条件につき2本の底質を使用して実験を行った。水質分析に際しては、2本のコアから水を等量抜き取り混合して供した。溶存態の窒素やリンの分析は、実験開始から、0、1、3、5、7、10、15、20日目の水試料を用いてイオンクロマトグラフ法にて、金属成分の分析は、0、1、5、10、20日目の水試料を用いてICP/MSにより行った。測定方法は、河川水質試験方法(案)【1997年版】に従った。なお、底質の採取ならびに溶出試験は、平成25年1月に実施した。

## 3. 流域からの栄養塩類負荷と底質からの溶出の変化について

### 3. 1 方法

#### 3. 1. 1 流域からの負荷の変化について

図10に検討対象とした土浦入の水域を示す。水質

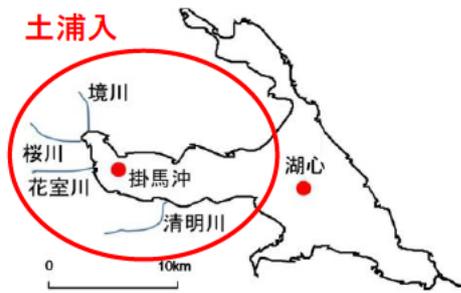


図10 対象水域の図

表1 土浦入の流入7河川

河川名	河川延長 <sup>⑧</sup> (km)	流域面積 <sup>⑨</sup> (km <sup>2</sup> )	H13-H23の年間流出量 の平均 <sup>⑩</sup> (億m <sup>3</sup> )
川尻川		15.0	
境川	1.52	19.9	0.07
新川	2.4	15.6	
桜川	63.41	350.3	1.70
備前川	3.8	41	
花室川	10.6	38.8	0.23
清明川	10.1	25.5	0.12

### 3. 2 結果

#### 3. 2. 1 流域からの負荷の変化の把握

図11と図12に、対象とした4河川について、月ごとに合計して算出した土浦入へのTN、TP流入負荷量を示す。また、算出負荷量が大きかった月数を把握するため、TNについては50(t/月)以上の月数を、TPについては、2(t/月)以上の月数をカウントして、同時に表示した。このとき、採水時に雨天の影響を強く受けていると考えられたデータがあったため、土浦アメダスにおける観測結果<sup>3)</sup>にて、測定前10日間で合計100mm以上の雨が観測されていたものについてはカウントせず、年平均の算出でも除外した。

年単位で平均したものを比較するとTNとTPとともにH18が高くなっているが、H18は比較期間中でもっとも年降水量が多かった年であり<sup>1)</sup>、その影響を受けていると考えられる。比較期間中でさらに平均するとTN、TP負荷量はそれぞれ、H13~H19で36.2(t/月)、1.44(t/月)、H20~H23で38.7(t/月)、1.63(t/月)となり、公表データに基づく概算の比較結果ではあるが、アオコの発生が再び確認されたH20以降の負荷量は大きくなっていった。

TN、TP負荷量はH22とH23で大きかった月が多く、H23のアオコの発生との関連が示唆される。一方で、アオコ発生が少なかったとされているH13からH19のTN負荷量

では、H15とH17、H19が50(t/月)以上の月がゼロとなっている等、比較的負荷量が少ない傾向にあったと考えられる。また、TP負荷量ではH14からH17で2(t/月)以上の月が少ない一方で、H18以降ではH21のような例外はあるものの、2(t/月)以上の月が多く、負荷量が多い傾向にあったと考えられる。

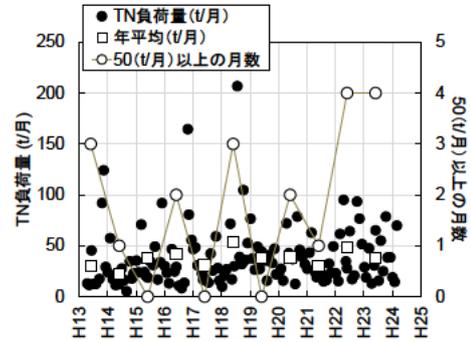


図11 TNの土浦入への負荷量

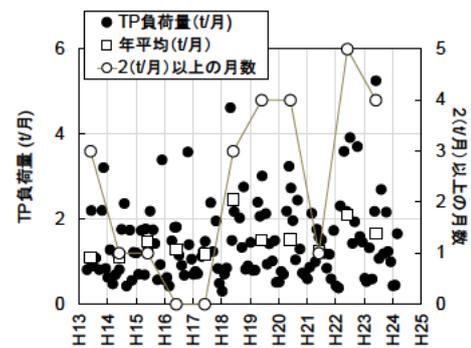


図12 TPの土浦入への負荷量

#### 3. 2. 2 底質からの溶出の変化の把握

図13~図16に、溶出試験での水質測定結果を用いて溶出速度を算出した結果を示す。溶存態リンの溶出速度については、H20に実施した西浦湖心と掛馬沖での結果<sup>7)</sup>についても比較のためにグラフに表示した。

PO<sub>4</sub>-Pの溶出は、直上水が貧酸素状態のときに底泥からの溶出により大きくなることが知られているが、H25の結果でも嫌気状態の試験結果で溶出速度が大きく、好気状態のときは嫌気状態と比較して溶出速度が小さくなっている。湖心と掛馬沖を比較すると掛馬沖で溶出速度が小さかった。掛馬沖では、霞ヶ浦の水質改善を目的とした浚渫が実施されており、一定の効果が示唆される結果となった。H20とH25の結果を比較すると、湖心と掛馬沖の両方の地点にてH25の方で溶出速度が高い結果となった。これは、流域からの負荷が底質からの溶出に影響を与えた可能性や、H23にアオコが大発生した際に堆積した有機物等が影響を与えた可能性が示唆される。霞ヶ浦

西浦の湖心ではH21以降の夏季において、底層と表層の溶存酸素の差が大きくなり、さらにH22以降では底層が貧酸素傾向にあったことが報告されている<sup>8)</sup>。溶出速度の増加に流域からの栄養塩類の負荷が寄与する割合が大きい場合は、底質の悪化と貧酸素状態が重なり、溶出が促進されるとともに、アオコ発生に影響を与えたことが考えられる。

$\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{D-Fe}$  の溶出速度も、掛馬沖よりも湖心の方が大きい結果となった。掛馬沖底質の嫌気条件では、 $\text{D-Mn}$  の溶出がほとんど生じなかったが、この原因は不明である。

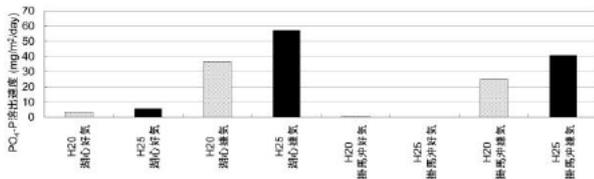


図 13  $\text{PO}_4\text{-P}$  の溶出速度

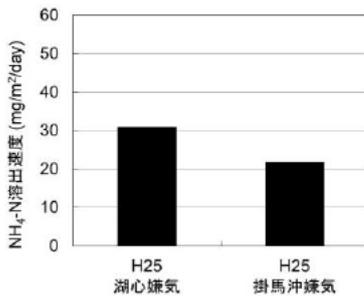


図 14  $\text{NH}_4\text{-N}$  の溶出速度

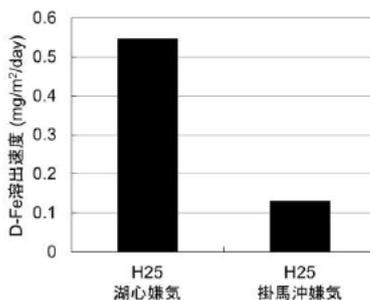


図 15  $\text{D-Fe}$  の溶出速度

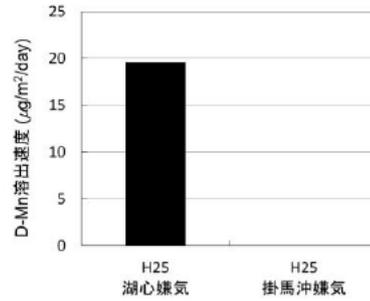


図 16  $\text{D-Mn}$  の溶出速度

#### 4. 雨天時の栄養塩類負荷が底泥からの溶出に及ぼす影響について

##### 4. 1 方法

底泥の採取は 2013 年 9 月 21 日に行った。図 17 に気象庁の土浦アメダスにおける観測結果を示すが、台風 18 号の影響により前 10 日間に合計 79.5mm の降雨が確認されている。また、台風 18 号の降雨は 8 月以降で、時間最大雨量も総雨量も多く、流域からの栄養塩類負荷も大きかったと推察される。

内径 200mm のアクリルコアを用いて、深さ 30cm 程度の底泥を湖内 3 地点にて採取した。採取地点と土浦入における主な流入河川を図 18 に示す。直上水は採取した底層水を GFB フィルターでろ過して静かに流入させた後、嫌気状態と好気状態を設定して、摂氏 30 度の暗条件にて実験を行った。嫌気状態は窒素ガスで直上水を曝気することにより DO が 1mg/L 以下となるように調節し、好気状態は空気曝気により溶存酸素濃度を調節した。溶存態の窒素やリンの分析は、実験開始から 0、1、3、5、7、10、15、20 日目の水試料を用いてイオンクロマトグラフ法にて行った。水質分析は河川水質試験方法(案)【1997 年版】に従った。

採取した泥も定量分析に供した。深さ 0~10cm の泥を混合した後、TOC、全窒素、全リン、乾燥減量、強熱減量について測定した。底質分析は、底質調査方法(平成 24 年、環境省)に従った。

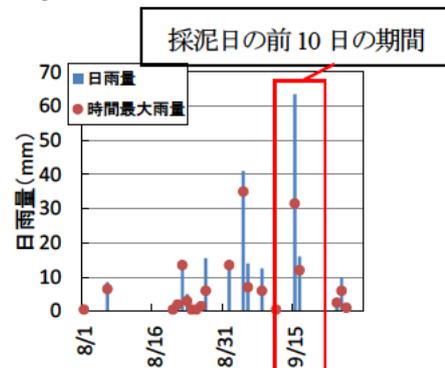


図 17 土浦アメダスにおける雨量観測結果



図18 調査地点と土浦入における流入河川

#### 4.2 結果

溶出試験を行った採泥箇所底層の状態だが、土浦港沖では、桜川の流下物と思われる流木や葉等の物質が表層に堆積しており、粒径も砂状のものが多かった。一方で湖心と掛馬沖では粒径が細かくシルト成分が多かった。

図19には硝酸態窒素の溶出速度算出結果を、図20にはアンモニア態窒素の溶出速度を算出した結果を示す。2013年の湖心好気の試料はエビの影響により、泥が乱されて値が安定しなかったため除外した。図21にはオルトリン酸態リンの算出結果を示す。これらの図には、過去に実施した溶出試験結果<sup>7)</sup>も表示した。なお、2008年と2012年の試験では摂氏20度で試験したものである。2013年の結果は、湖心から土浦市方面に向かうにつれて、溶出速度が大きくなっていることがわかる。しかし、2008年と2012年の結果は、いずれも湖心の方で溶出速度が大きくなっており、2013年の結果とは異なる傾向を示している。

表2には、底質の定量分析結果について示す。湖心が、TOC、全窒素、全リンともに一番値が高く、強熱減量も大きかった。土浦港沖で溶出速度が大きかったが、底質の分析結果からは、土浦港沖で特に底泥中に有機物や窒素、リンの含有量が多くないことがわかる。

以上より、雨天時に流域からもたらされた栄養塩類負荷あるいは土浦入奥部に頻りに観察されたアオコ様の植物プランクトンが死滅、沈降した有機物は、底層の貧酸素状態では湖心など沖合部の底泥と比較して、栄養塩類の溶出速度が高いことが示唆され、水質への影響を与えやすい可能性があることが明らかになった。

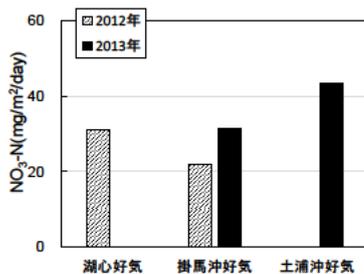


図19 NO<sub>3</sub>-Nの溶出速度

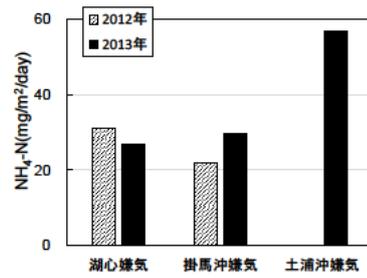


図20 NH<sub>4</sub>-Nの溶出速度

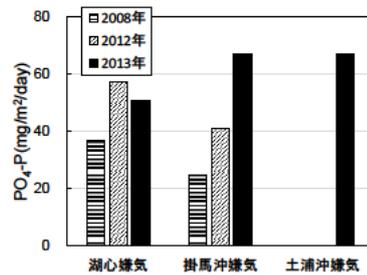


図21 PO<sub>4</sub>-Pの溶出速度

表2 深さ0~10cmの底質分析結果

測定項目	単位	2013年9月21日		
		湖心 0~10cm	掛馬沖 0~10cm	土浦沖 0~10cm
TOC	mg/g(DS)	55.40	27.85	14.20
全窒素	mg/g(DS)	7.74	3.49	1.47
全リン	mg/g(DS)	1.42	0.94	0.57
乾燥減量	%	83.81	77.55	49.83
強熱減量	%	15.62	10.17	5.04

#### 5. おわりに

平成25年度の研究より明らかになった結果を以下に示す。

1) アオコ発生が少なくなったH13以降の気象・水象データを分析した結果、H23のアオコ大発生を説明しうる際立った現象は確認されなかったが、気温、降雨量など藻類増殖を促進しうる要因が見出された。また、H23には東向風が他の年より卓越していた傾向がみられ、藻類の土浦周辺への集積に寄与した可能性が考えられた。

2) 土浦入の4流入河川について、公表データを基にTN、TPの流入負荷量を概算した結果、負荷量はH22とH23

で高かった月が多くなっていた。

3) 湖心と掛馬沖の底泥の溶出試験結果より、湖心と比較して掛馬沖で溶出速度が小さく、浚渫による一定の効果が示唆される結果となった。H20 と H25 の結果を比較すると、湖心と掛馬沖の両方の地点にて H25 の方で溶出速度が高い結果となった。

4) H25 の台風による大雨直後の採泥による底泥の溶出試験結果より、雨天時に流域からもたらされた栄養塩類負荷あるいは土浦入奥部で頻繁に観察されたアオコ様の植物プランクトンが死滅、沈降した有機物は、底層の貧酸素状態では湖心など沖合部の底泥と比較して、栄養塩類の溶出速度が高いことが示唆され、水質への影響を与えやすい可能性があることが明らかになった。

#### 参考文献

- 1) 八木正一：湖沼工学 藻類の異常発生と制御，岩佐義朗（編著），pp.366-393，山海堂，1990.
- 2) 湖沼技術研究会：湖沼における水理・水質管理の技術，2007.
- 3) 気象庁：気象統計情報 茨城県土浦アメダス，<http://www.jma.go.jp/jma/menu/report.html> アクセス日時：2013.09.23
- 4) 気象庁：気象統計情報 茨城県つくばアメダス，<http://www.jma.go.jp/jma/menu/report.html> アクセス日時：2013.09.23
- 5) 茨城県環境対策課：公共用水域の水質等測定結果，<http://www.pref.ibaraki.jp/bukyoku/seikan/kantai/water/kokyoyosuiiki.html> アクセス日時：2013.09.23
- 6) 藤田光一，伊藤弘之，小路剛志，安間智之：国土技術政策総合研究所プロジェクト研究報告 自然共生型流域圏・都市の再生 資料集（Ⅱ）水物質循環モデルを活用した水環境政策評価 ～霞ヶ浦とその流域を対象として～，国土交通省国土技術政策総合研究所，2006.
- 7) 南山瑞彦，久岡夏樹，中藺孝裕：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，pp. 218-226，土木研究所資料第 4191 号 平成 21 年度下水道関係調査研究年次報告集，2010.
- 8) 柴山慶行，鈴木穰，池田茂：霞ヶ浦における水質・環境の変化とアオコ発生の関係，p. 566，第 47 回日本水環境学会年会講演集，2013.

## 水環境中における未規制化学物質の挙動と生態影響の解明

研究予算：運営費交付金（一般勘定）

研究期間：平 23～平 27

担当チーム：水環境研究グループ（水質チーム）

研究担当者：岡本誠一郎、小森行也、北村友一、  
真野浩行

### 【要旨】

近年、医薬品などの生活に関連した未規制化学物質による水環境の微量汚染や、その生理活性に由来する水生生物への影響が懸念されており、新たな環境問題として注目されている。効果的なリスク削減対策を講じるためには、多様な化学物質について水環境中における挙動、生態系に与える影響などの解明を進めることが必要である。本研究課題では、環境リスクが比較的高いと考えられる未規制化学物質を対象として、河川流域における実態把握と環境中動態の解明を行うとともに、これらの物質が水生生態系に対して与える影響を評価することを目的とする。本年度では、多摩川を対象として医薬品類 10 物質の流下過程における流達性の調査を実施した。対象とした医薬品類のうち、アジスロマイシン、トリクロサン、ケトプロフェンは低い流達性を示した。また、化学物質排出移動量届出制度の第一種指定化学物質 5 物質について、対象河川における存在実態を調査し、生態リスク初期評価を試みたところ、2 物質について今後詳細な評価が必要と判定された。

キーワード：未規制化学物質、環境中動態、環境リスク評価、PPCPs、PRTR 制度

### 1. はじめに

化管法対象物質や医薬品類などの水質規制の対象となっていない化学物質（未規制物質）の中には、水溶性が高い物質や、下水道などを通じて処理場へ運ばれるものの処理しきれずに下水処理水を通して水環境中に排出される物質が含まれている。近年、水環境中に流出する未規制物質による水生生物への影響が懸念されており、水環境における未規制物質の効率的なリスク管理や削減対策が求められている<sup>1)</sup>。

リスク管理や低減対策を講じる上で、未規制化学物質の水環境中での存在実態の把握や挙動の解明を行うとともに、水生生物への影響の評価を行うことが必要とされる。本研究課題では、水質汚濁防止法などの規制対象外となっている化学物質、特に、生体の特定の生理的調節機能に対して作用する生理活性物質等について、水環境における環境リスクが懸念されるものを検討した上で、それらの物質を対象として水環境中での実態把握と挙動解明を行うとともに、これらの物質が水生生態系に対して与える影響を評価することを目的としている。平成 25 年度は、多摩川流域を対象として、医薬品類 10 物質の流下過程における流達性の調査を実施した。また、下水処理水の生態リスク初期評価の結果<sup>2)</sup>により生態リス

クが懸念された化学物質排出移動量届出制度（以下、PRTR 制度）の第一種指定化学物質 5 物質について、対象河川における存在実態を調査し、生態リスク初期評価を試みた。

### 2. 研究方法

#### 2. 1 対象化学物質の選定

本年度の調査では、過年度に引き続き、河川中において水生生物に対する生態リスクの懸念が指摘されている医薬品類 10 物質を調査対象とした（表-1）。

また、本年度の調査では、表-2 に示された PRTR

表-1 調査対象の医薬品類 10 物質

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

表-2 調査対象のPRTR制度第一種指定化学物質5物質

物質名	主な使用用途	PNEC (μg/L)
N, N-ジメチルドデシルアミン N-オキシド(DDNO)	家庭用洗剤、界面活性剤	0.04
ヒドラジン	ロケット燃料、プラスチック発泡剤製造用等	0.005
ヒドロキノン	写真の現像薬、染料や顔料の原料等	0.079
ピリジン	中間物、溶剤、医薬品等	0.1
ホルムアルデヒド	石炭酸系・尿素系・メラミン系合成樹脂原料等	<1

制度第一種指定化学物質5物質を対象とし、河川水中の存在実態を調査した。対象としたPRTR化学物質は、下水処理水の生態リスク初期評価により詳細な検討が必要と判断された物質である<sup>2)</sup>。環境省の化学物質の環境リスク初期評価によれば、N, N-ジメチルドデシルアミン N-オキシド (以下、DDNO) は環境中の存在実態について把握に努める必要がある物質とされている<sup>3)</sup>。化学物質の環境リスク初期評価<sup>3)</sup>または初期リスク評価書<sup>4)</sup>によれば、ヒドラジン、ヒドロキノン、ピリジン、ホルムアルデヒドは詳細なリスク評価が必要な候補とされている。

## 2.2 調査地点および調査時期

平成25年度は、多摩川流域で計11箇所の調査地点を設定し、河川水の採水、分析を行った。

多摩川は、山梨県、東京都、神奈川県を流れる多摩川水系の本川である(延長138km、流域面積:1240km<sup>2</sup>、流域人口:約380万人(H17年)<sup>5)</sup>)。代表的な都市河川であり、高度成長期の急激な流域の都市化の影響を受けて水質が悪化した。下水道整備や河川浄化施設の設置などに伴い改善が進み、近年では中流域(多摩川原橋)の水質は、BOD 2mg/L程度で推移している(2001年以降の環境基準はB類型、BOD 3mg/L)。一方で、人口増加および下水道普及率の上昇に伴い、中流域においては河川流量の5割以上を下水処理水が占めることもある。

調査地点の概要を図-1に示す。多摩川本川の調

査地点 St. T-1 から St. T-2 までの距離は約10kmである。調査回ごとに現地調査および採水を1回おこなった。スポット採水により河川水を採取した。平成25年度は、2013年9月10日と12月17日の2回調査を行った。

## 2.3 医薬品類の分析

アルミ箔で遮光したガラス瓶に満水状態で採水し、アスコルビン酸(酸化防止剤)とNa<sub>2</sub>EDTA(マトリックス元素のマスキング剤)をそれぞれ約1g/Lとなるように加え、冷蔵状態で試験室へ持ち帰った。試料中の溶存態成分について、トリクロサンは、Nakada *et al.*<sup>6)</sup>の方法を参考に抽出、濃縮、アセチル化等の前処理を行った後、GC-MSを用いて測定した。その他の物質は小西ら<sup>7)</sup>の方法を参考に抽出、濃縮等の前処理を行った後、LC-MS/MSを用いて測定した。定量は、GC-MS法、LC-MS/MS法ともに、同位体希釈法により定量した。本研究では、濃度が検出下限値以上で定量下限値未満の値を示した場合は、その値を濃度として用いた。

## 2.4 流量の推計

医薬品類の負荷量および物質収支を検討するため、一部の河川の調査地点において、「河川砂防技術基準(案)<sup>8)</sup>」に準じて流量観測を行った。多摩川流域では、全ての地点で流量を観測した。また、東京都下水道局から下水処理場からの調査日の放流量データを入手した。得られた流量データから、調査地

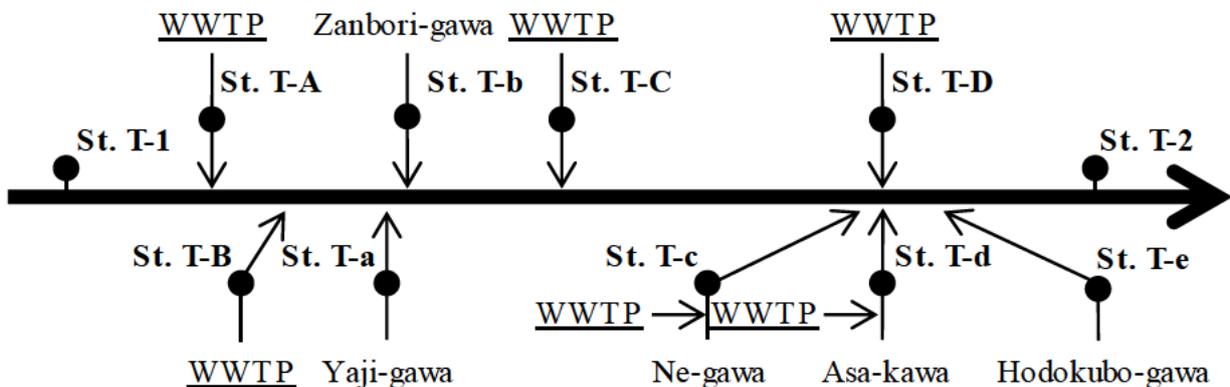


図-1 多摩川流域の調査地点

点ごとに一日当たりの流量を推計した。

調査対象とした多摩川流域での流量の収支を確認するため、St. T-2 上流地点での流量を積算し、St. T-2 での実測値と比較し、流量の収支を確認した。

## 2. 5 流達性の推計

調査対象とした河川のある一定の区間に着目し、その区間での対象化学物質の流達性を検討した。設定した区間に流入する負荷量に対する区間から流出する負荷量の割合を浄化残率と定義した。

浄化残率を推計するために、まず、調査地点ごとに医薬品類の濃度と流量の積から負荷量を推計した。多摩川流域の各地点について、調査回ごとに医薬品類の濃度と1日当たりの流量の積から1日当たりの負荷量を求めた。医薬品類濃度が検出下限値未満の場合には、検出下限値の1/2の値を用いた。

浄化残率を推計する際に、ある基準地点と、その上流側の一定範囲を対象区間として設定する必要がある。この対照区間に流入する負荷量を合計し、予測流入負荷量として設定し、この値で基準地点での負荷量を除した後に100をかけることで浄化残率を求めた。St. T-2を基準地点とし、上流地点St. T-1からSt. T-2の区間を対象区間とした。この区間での予測流入負荷量を区間に流入する調査地点の負荷量を合計して推計した。

## 2. 6 PRTR 制度第一種指定化学物質の分析

対象とするPRTR制度第一種指定化学物質の分析するために、多摩川本川の河川水を2014年1月にSt. T-2で採取した。

調査対象物質の分析を行うために、環境省により公表されている、化管法対象物質に対応する水媒体中の化学物質分析方法一覧<sup>9)</sup>に掲載されている分析手法を参考にした。DDNOは固相抽出-LC/MS/MS<sup>10)</sup>、ヒドラジンはPFBA誘導体化-GC/MS<sup>11)</sup>、ヒドロキノンはPFBC誘導体化-GC/MS<sup>12)</sup>、ピリジンは固相抽出-GC/MS<sup>13)</sup>、ホルムアルデヒドはPFBOA誘導体化-GC/MS<sup>14)</sup>により分析した。

## 2. 7 生態リスク初期評価

本研究で対象としたPRTR制度第一種指定化学物質5物質について、「化学物質の環境リスク初期評価ガイドライン(平成23年度12月版)<sup>15)</sup>」を参考に、化学物質の環境リスク初期評価<sup>3)</sup>の予測無影響濃度(Predicted No Effect Concentration: PNEC)を用いて、式1に従い、ハザード比を算出した。

$$\text{ハザード比} = \text{MEC} / \text{PNEC} \quad (\text{式1})$$

ここで、ハザード比はPNECに対する採取試料中の医薬品類濃度の実測値(Measured Environmental Concentration: MEC)の比である。化学物質の環境リスク初期評価ガイドライン<sup>15)</sup>では、ハザード比が1以上の化学物質は「詳細な評価を行う候補」、0.1以上1未満の場合は「情報収集に努める必要がある」という評価分類となっている。

## 3. 研究結果

### 3. 1 流量

夏季と冬季調査における多摩川流域の調査地点St. T-2の流量について、流量観測から求めた1日当たりの推計流量と上流の調査地点での流量の積算により求めた1日当たりの推計流量を図-2に示す。流量観測値から求めたSt. T-2での1日あたりの流量は、夏季と冬季で上流地点の積算から求めた1日あたりの流量の約0.8倍であった。流量のずれは夏季で約2割、冬季で約3割であった。夏季と冬季の調査において、流量のずれが比較的小さく、流量の収支があっていると判断し、本研究では流量の補正を行わないこととした。

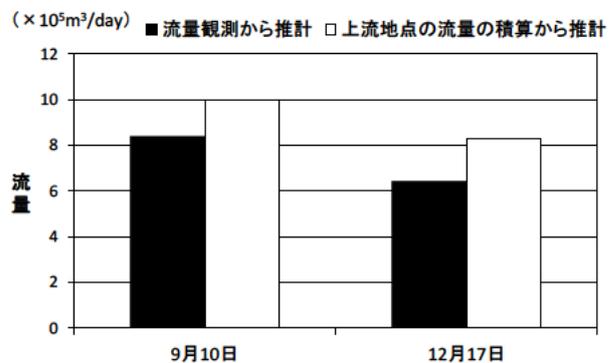


図-2 地点 St. T-2 における 1 日あたりの流量

### 3. 2 流達性

図-3に多摩川流域の調査区間における浄化残率を示す。夏季と冬季の浄化残率の平均値は、値の高い医薬品から、カフェイン、スルファメトキシサゾール、クロタミトン、ベザフィブラート、クラリスロマイシン、イブプロフェン、レボフロキサシン、アジスロマイシン、トリクロサン、ケトプロフェンの順になった。カフェイン、スルファメトキシサゾール、クロタミトンの浄化残率は2回の調査において、60%を超え、これらの物質は高い流達性を示した。一方でアジスロマイシン、トリクロサン、ケトプロフェンの浄化残率は2回の調査において、30%を下回り、低い流達性を示した。これらの物質は、

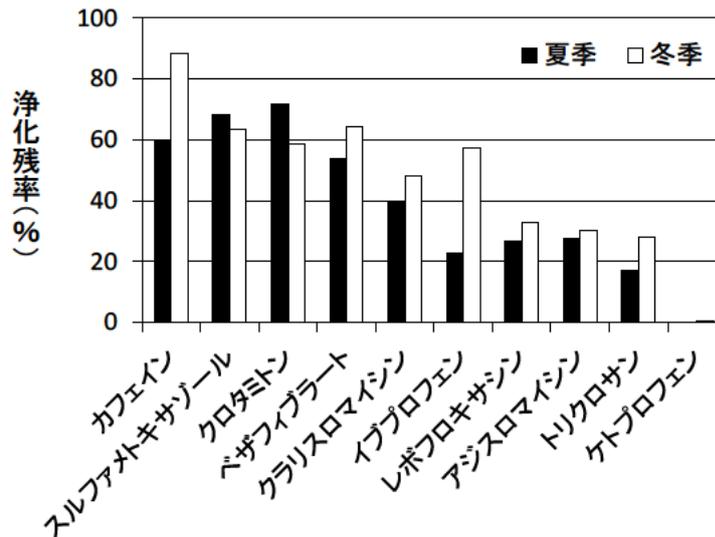


図-3 医薬品類 10 物質の浄化残率

流下過程で減衰したと考えられる。アジスロマイシンとケトプロフェンは、国内の他の河川でも低い流達性を示している<sup>16)</sup>。アジスロマイシンの減衰の要因として、底質への吸着が、ケトプロフェンの減衰の要因として、光分解が考えられている。また、トリクロサンの減衰は、米国のテキサス州の小河川において調査されている<sup>17)</sup>。下水処理場の放流口から 8km 下流において、約 80% 消失することが示されており、底質への吸着や生分解、光分解が原水の要因として考えられている。また、スルファメトキシサゾール、クロタミトン以外の 8 物質では冬季の流達性が夏季に比べて高い傾向を示した。今後、多摩川における医薬品類の流下過程での減衰や季節間での減衰の違いに係る要因を明らかにする必要がある。

### 3. 3 PRTR 制度第一種指定化学物質

表-3 に調査地点 St. T-2 における対象とした 5 物質の河川水中濃度を示す。ホルムアルデヒドの河川水中濃度は 1 $\mu\text{g/L}$  よりも高い値を示し、そのほかの 4 物質の河川水中濃度は 0.1 $\mu\text{g/L}$  未満であった。

生態リスク初期評価を試みた結果、ヒドラジンとホルムアルデヒドのハザード比が 1 以上を示した。

表-3 調査対象とした PRTR 制度第一種指定化学物質 5 物質の調査地点 St. T-2 における河川水中濃度とハザード比

化学物質名	河川水中濃度( $\mu\text{g/L}$ )	ハザード比
DDNO	0.03	0.78
ヒドラジン	0.04	7.6
ヒドロキノ	0.04	0.47
ピリジン	0.07	0.72
ホルムアルデヒド	1.40	>1.40

これらの物質は、今後詳細な評価をする必要があると判定された。また、その他の 3 物質のハザード比は 0.1 以上を示しており、今後、これらの物質に関して、河川環境中での存在実態や挙動等の情報収集に努める必要があると判定された。

### 4. まとめ

本研究では、多摩川流域を対象として、流下過程における未規制物質の流達性ととも、下水処理水において生態リスクが懸念される PRTR 制度第一種化学物質 5 物質の河川水中濃度を調査し、生態リスク初期評価を試みた。その結果、以下のことが分かった。

- 1) 河川水中での医薬品類の流達性は医薬品類で異なっていた。アジスロマイシン、トリクロサン、ケトプロフェンは低い流達性を示した。
- 2) 調査対象とした PRTR 制度第一種化学物質のうち、ホルムアルデヒドの河川水中濃度は 1 $\mu\text{g/L}$  よりも高い値を示し、そのほかの 4 物質の河川水中濃度は 0.1 $\mu\text{g/L}$  未満であった。生態リスク初期評価を試みた結果、ヒドラジンとホルムアルデヒドのハザード比が 1 以上を示した。またその他の 3 物質のハザード比は 0.1 以上を示した。

今後、医薬品類および PRTR 制度第一種指定化学物質等について、室内実験などによる物性データの収集を進めることで、未規制化学物質の流域スケールでの動態把握や生態リスク初期評価を進める予定

である。

## 参考文献

- 1) 国土交通省地域整備局下水道部：「下水道における化学物質排出量の把握と化学物質管理計画の策定等に関するガイドライン（案）」、2005
- 2) 真野浩行、村山康樹、鈴木穰、中田典秀、南山瑞彦：「PRTR情報等を活用した下水処理水中に含まれる化学物質の環境リスク初期評価」、下水道協会誌、50巻、pp. 85-92、2013年10月
- 3) 環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課環境リスク評価室：「化学物質の環境リスク初期評価」、<http://www.env.go.jp/chemi/risk/index.html>、2011.
- 4) (独) 製品評価技術基盤機構、(財) 化学物質評価研究機構：「初期リスク評価書」、<http://www.safe.nite.go.jp/risk/riskhykdl01.html>、2009
- 5) 国土交通省：「一級水系における流域等の面積、総人口、一般資産額等について」、[http://www.mlit.go.jp/river/toukei\\_chousa/kasen/ryuiki.pdf](http://www.mlit.go.jp/river/toukei_chousa/kasen/ryuiki.pdf) (2014年4月確認)
- 6) Nakada N、Tanishima T、Shinohara H、Kiri K、Takada H: “Pharmaceutical chemicals and endocrine disrupters in municipal wastewater in Tokyo and their removal during activated sludge treatment”, *Water Res.*, 40, pp. 3297-3303, 2006
- 7) 小西千絵 他：「水環境中医薬品の LC-MS/MS による一斉分析法の検討」、環境工学研究論文集、43 巻、pp. 73-82、2006 年
- 8) 建設省河川局 監修、日本河川協会編集：「建設省河川砂防技術基準（案）同解説 調査編」、技報堂出版、1997
- 9) 環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課：「化管法対象物質に対応する化学物質分析法一覧」、<https://www.env.go.jp/chemi/prtr/archive/bunseki/bunseki.html>、2011年3月
- 10) 環境省環境保健部環境安全課：「平成 15 年度化学物質分析法開発調査報告書」、2004年8月
- 11) 環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課：「平成 19 年度化学物質分析法開発調査報告書」、2008年12月
- 12) 環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課：「平成 20 年度化学物質分析法開発調査報告書」、2009年12月
- 13) 環境庁環境保健部環境安全課：「平成 9 年度化学物質分析法開発調査報告書」、1998年5月
- 14) 環境庁水質保全局水質管理課：「要調査項目等調査マニュアル（水質、底質、水生生物）」、1999年12月
- 15) 環境省環境保健部環境リスク評価室：「化学物質の環境リスク初期評価ガイドライン」、2012年12月
- 16) 花本征也 他：「流水保全水路と河川における医薬品類の減衰の比較」、環境工学研究論文集、49 巻、pp. 193-203、2012 年
- 17) Morral D、McAvoy D、Schatowitz B、Inauen J、Jacob M、Hauk A、Eckhoff W: “A field study of triclosan loss rates in river water(Cibolo Creek, TX)”, *Chemosphere*, 54, pp. 3634-3639, 2004

## 下水処理プロセスにおける化学物質の制御技術に関する研究

研究予算：運営費交付金（一般勘定）

研究期間：平 23～平 27

担当チーム：水環境研究グループ（水質）

研究担当者：岡本誠一郎、小森行也、北村友一

## 【要旨】

本研究では、社会生活の中で身近に使用されている医薬品類や PRTR 対象物質の一部に生物影響が指摘されているものがあることから、下水道を経由する化学物質等の環境インパクト低減を目的として下水処理プロセスにおけるこれら化学物質（医薬品類）及び総毒性の挙動把握とリスクを低減するための制御技術の検討を行った。

その結果、活性汚泥処理プロセスにおける医薬品類の挙動把握と処理水中に残存する医薬品の除去手法として微生物担体処理が有効であることが分かった。また、流入下水、2次処理水に曝露したメダカのマイクロアレイによる網羅的遺伝子解析から、流入下水には、ホルモン刺激、酸化ストレス、DNA 修復、再生産、外部刺激、免疫反応への様々な影響因子が存在していることがわかったが、これらの影響は、活性汚泥処理で低減していることが明らかとなった。

キーワード：医薬品、下水処理、挙動把握、担体処理、メダカ、マイクロアレイ、バイオアッセイ

## 1. はじめに

社会生活の中で身近に使用されている医薬品類や PRTR 対象物質（462 物質）については、環境分野や水道分野において実態調査が進められており、医薬品類では、クラリスロマイシン等の抗生物質の一部に生態影響が指摘されているものがある。また、PRTR 制度では、人の健康や生態系に悪影響を及ぼすおそれがある物質を（化管法）第一種指定化学物質としている。医薬品類、PRTR 対象物質の一部の物質については、既往調査により下水処理場での除去特性について明らかになっているものがあるが、多くの物質についての実態は不明である。下水道を経由する化学物質の環境影響の可能性を考慮すると調査未実施の多く化学物質についての実態解明は急務であり、早期に下水道での実態を把握するとともに、処理水中に残存する物質については新たな除去手法の開発と併せて、リスクを低減するための制御技術の開発を行う必要がある。

本研究は、①優先的に調査が必要な化学物質を選定し、その分析方法を提案する。②下水処理プロセスにおける除去特性の把握と下水処理プロセスにおける総毒性の除去特性の把握を行う。③下水処理水中に残存する化学物質と総毒性の除去手法を提案することを目的としている。

平成 25 年度は、①活性汚泥処理プロセスにおける医薬品類の挙動把握、②下水処理水中に残存する医薬品類の微生物担体処理における除去特性、③各下水処理水に曝露したメダカのマイクロアレイによる網羅的遺伝

子解析による総毒性の低減効果に関する調査を行った。

## 2. 活性汚泥処理プロセスにおける医薬品類の挙動把握

## 2. 1 医薬品類分析方法

調査対象とした医薬品類は、本研究において平成 23 年度に選定した 10 物質を対象とし、分析方法は本研究で提案した方法に従った。

アジスロマイシン(AZM)、バザフィブラート(BF)、カフェイン(CF)、クラリスロマイシン(CAM)、クロタミトン(CT)、イブプロフェン(IP)、ケトプロフェン(KP)、レボフロキサシン(LVFX)、スルファメトキサゾール(SMZ)の 9 物質は、分析前処理（抽出・濃縮・精製）の後 LC/MS/MS により分析した。また、トリクロサン(TC)は、分析前処理（抽出・濃縮・精製）の後、アセチル誘導体化を行い GC/MS で分析した。

## 2. 2 調査方法

調査は、有効水深が約 2m の最初沈殿池 (0.5m<sup>3</sup>)、エアレーションタンク (0.5m<sup>3</sup> × 4 槽)、最終沈殿池 (0.7m<sup>3</sup>) と塩素混和槽 (0.1m<sup>3</sup>)、生汚泥貯留槽 (0.15m<sup>3</sup>)、余剰汚泥貯留槽 (0.15m<sup>3</sup>) で構成される活性汚泥処理実験装置 (図-1 参照) を用いて行った。実下水処理場の流入下水をピットに受けた後、定量ポンプを用いて装置に導入した。生汚泥、余剰汚泥の引扱はタイマーコントロールによる間欠運転で行った。また、次亜塩素酸ナトリウム溶液を定量ポンプにより塩素混和槽に注入した。本装置は、流入量 6.8m<sup>3</sup>/d、

汚泥返送率約 38%、HRT 約 7 時間で運転した。

分析試料は、平成 26 年 2 月 5 日～6 日においてそれぞれ 2 時間間隔で採取した各試料を等量混合したコンポジット試料とした。採取箇所は、流入下水、初沈流出水、終沈流出水（二次処理水）、生汚泥、余剰汚泥の 5 箇所である。一般水質項目分析結果を表-1 に示す。本実験装置の BOD 除去率は 94%であり、本装置の処理水質は標準活性汚泥法の実下水処理場と同レベルであった。流入水中の  $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2+\text{NO}_3\text{-N}$  の濃度は、それぞれ 20mg/L、0.05mg/L 以下であるのに対し、二次処理水では 0.47mg/L、18mg/L で十分に硝化が進行していた。また、エアレーションタンク混合液の MLSS、余剰汚泥引き抜き量より計算した SRT は約 13 日であった。

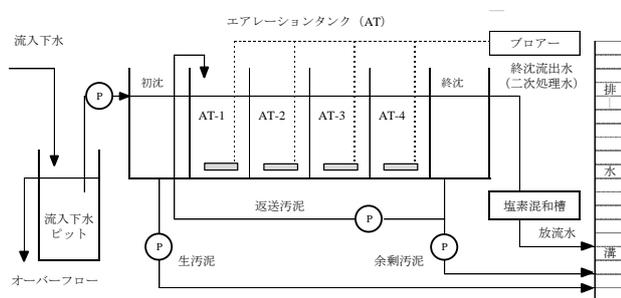


図-1 活性汚泥処理実験装置

表-1 一般水質項目分析結果 (mg/L)

	BOD	DOC	$\text{NH}_4\text{-N}$	$\text{NO}_2+\text{NO}_3\text{-N}$	TN	TP	MLSS
流入水	150	35	20	<0.05	33	3.2	-
初沈流出水	140	37	21	<0.05	31	3.2	-
終沈流出水	9.1	7.8	0.47	18	20	1.6	-
生汚泥	-	-	-	-	-	-	2,300
余剰汚泥	-	-	-	-	-	-	3,600

### 2. 3 医薬品挙動調査結果

分析対象とした医薬品類 10 物質の測定結果を表-2 に示す。本調査における流入下水の医薬品濃度は、成宮らの報告（中央値）とほぼ同程度かやや高い値を示した。

水処理プロセスの初沈での各医薬品濃度（溶存態+懸濁態）変化は、溶存態、懸濁態の双方とも検出された BF、CF、CAM、CT、KP、SMZ、TC の 7 物質についてみると、流入下水と初沈流出水の値はほぼ同じであり、滞留時間が 2 時間程度の初沈ではほとんど除去されていないことがわかる。また、生物処理反応槽のエアレーションタンクを経た二次処理水での除去率を計算すると BF、CF、KP、SMZ、TC の 5 物質は、70%以上であり活性汚泥処理で一定の除去が行われて

表-2 医薬品分析結果 (ng/L)

		本研究		既報値（中央値） <sup>1)</sup>	
		溶存態	懸濁態	溶存態	懸濁態
AZM	流入下水	310	-	279	267
	初沈流出水	360	-		
	二次処理水	270	-	40.3	
	生汚泥	320	-		
	余剰汚泥	270	-		
BF	流入下水	4,500	52	1,580	37.0
	初沈流出水	4,800	34		
	二次処理水	450	1.4	186	
	生汚泥	3,700	650		
	余剰汚泥	64	45		
CF	流入下水	46,000	280	37,900	
	初沈流出水	45,000	200		
	二次処理水	1,100	5.8	34.3	
	生汚泥	27,000	2,900		
	余剰汚泥	160	220		
CAM	流入下水	1,600	37	1,530	114
	初沈流出水	1,700	29		
	二次処理水	1,400	17	528	
	生汚泥	1,800	850		
	余剰汚泥	810	1,300		
CT	流入下水	1,700	17	1,240	53.5
	初沈流出水	1,900	16		
	二次処理水	1,800	4.4	1,080	
	生汚泥	1,500	170		
	余剰汚泥	1,400	260		
IP	流入下水	1,300	-		
	初沈流出水	1,400	-		
	二次処理水	11	<0.068		
	生汚泥	790	-		
	余剰汚泥	11	19		
KP	流入下水	950	17	1,260	27.8
	初沈流出水	850	13		
	二次処理水	240	0.84	124	
	生汚泥	930	220		
	余剰汚泥	120	93		
LVFX	流入下水	1,600	-	451	240
	初沈流出水	1,500	-		
	二次処理水	400	-	66.0	
	生汚泥	3,500	-		
	余剰汚泥	11,000	-		
SMZ	流入下水	170	2.0	176	
	初沈流出水	200	1.8		
	二次処理水	49	<0.21	90.1	
	生汚泥	200	20		
	余剰汚泥	80	17		
TC	流入下水	340	1,300		
	初沈流出水	340	1,200		
	二次処理水	69	12		
	生汚泥	210	10,000		
	余剰汚泥	97	7,600		

注：-はSurrogate物質の回収率が低いため濃度計算せず。

いた。CAM の除去率は約 13%で、活性汚泥処理による除去率は小さく、CT は流入水濃度より高い値を示した。

また、これら 7 物質について各試料の負荷量を算出し、成宮らの定義により全処理過程除去率  $R_{all}$ 、初沈汚泥移行率  $T_{raw}$ 、余剰汚泥移行率  $T_{exc}$ 、生物処理消滅率  $D$  を求めた。各医薬品の  $R_{all}$ 、 $T_{raw}$ 、 $T_{exc}$ 、 $D$  を表-3 に示す。

BF、CF、TC は、 $R_{all}$  が 90%を超え活性汚泥処理により大きく除去された。除去の内訳をみると BF、CF の  $T_{raw}$ 、 $T_{exc}$  は 2%以下と小さく汚泥引き抜きによる除去

表-3 活性汚泥処理プロセスにおける医薬品の除去(%)

	$R_{all}$	$T_{raw}$	$T_{exc}$	$D$
BF	90.3	1.6	0.02	88.7
CF	97.7	1.1	0.01	96.6
CAM	15.7	2.7	1.3	11.8
CT	-2.3	1.6	1.0	-4.9
KP	75.8	2.0	0.2	73.6
SMZ	72.3	2.1	0.6	69.6
TC	95.2	10.4	4.7	80.1

が主要な除去機構ではないことが示され、 $D$  が大きいことから生分解が主要な除去機構であることが示唆された。TC は、BF、CF と異なり  $T_{raw}$  が約 10%、 $T_{exc}$  が約 5% と汚泥引抜きによる除去が 15% 程度あることがわかった。

CAM は  $R_{all}$  が約 16% と低く活性汚泥処理による除去が困難な物質であることがわかった。また、CT は  $R_{all}$  がマイナスとなり、活性汚泥処理後に負荷量が増加する結果となった。これは、分析のパラツキが一つの原因と考えられる。

汚泥引抜きによる除去機構の理解を深めるため、溶存態と懸濁態の間での固-液分配係数<sup>1)</sup>  $K_d$  (L/kg) を算出した。常用対数値 ( $\text{Log}_{10}K_d$ ) として表-4 に示す。

$$K_d = C_s / C_w$$

ここで、 $C_w$ : 溶存態の濃度 (ng/L)

$C_s$ : 懸濁態中の濃度 (ng/kg·dry)

分配係数の算出にあたり、生汚泥、余剰汚泥の医薬品濃度は、溶存態と懸濁態の間で平衡状態に達していると仮定した。本調査により求めた  $\text{Log}K_d$  の値は、成宮ら<sup>1)</sup>の報告値とほぼ同程度であった。

また、 $\text{Log}K_d$  と引抜き汚泥中の懸濁態として除去される割合の関係を図-2 に示す。生汚泥では  $\text{Log}K_d$  が大きくなるほど引抜き汚泥による除去割合が大きくなる傾向が見られた。余剰汚泥では、BF、CF を除く 5 物質については生汚泥同様  $\text{Log}K_d$  が大きくなるほど引抜き汚泥による除去割合が大きくなる傾向が見られた。引抜き汚泥による除去割合が非常に小さいなかでの関係であるが、 $\text{Log}K_d$  と引抜き汚泥中の懸濁態として除去される割合の間に弱い関係がみられた。

### 3. 下水処理水中に残存する医薬品類の微生物担体処理における除去特性

#### 3.1 調査方法

下水処理場に流入する医薬品類の一部は下水処理に

表-4 固-液分配係数 ( $\text{Log}K_d$ )

	本研究		既報値 <sup>1)</sup>	
	生汚泥	余剰汚泥	生汚泥	余剰汚泥
BF	1.9	2.3	1.8	2.3
CF	1.7	2.6	1.2	2.7
CAM	2.3	2.6	2	2.3
CT	1.7	1.7	1.9	1.8
KP	2.0	2.3	1.8	2.3
SMZ	1.6	1.8	1.6	1.7
TC	4.3	4.3	3.3	

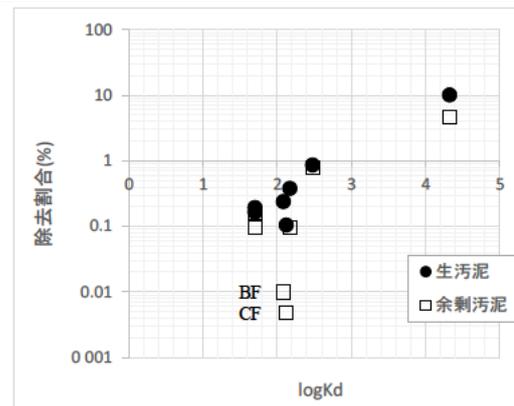


図-2  $\text{Log}K_d$  と引抜き汚泥中の懸濁態として除去される割合の関係

より除去されることが知られているが、放流水に残存する医薬品類も少なくない<sup>1)2)</sup>。また、医薬品類には藻類生長阻害、ミジンコ繁殖阻害を起こす物質があることが報告<sup>3)4)</sup>されている。

本研究では、下水処理水中に残存し藻類生長阻害又はミジンコ繁殖阻害があることが報告されている医薬品類の 4 物質 (AZM、CAM、KP、TC) を対象として、微生物担体を用いた高度処理について検討を行った。

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二次処理水を原水として実験を行った (図-3 参照)。微生物保持担体を添加した各反応槽は、容量:10L、HRT:30min、担体の嵩比率:35%である。反応槽下部よりエアレーションし、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した。運転開始から 2 ヶ月以上経過した後、担体処理実験装置の流入水及び各反応槽の処理水を採取し医薬品類を分析した。AZM、CAM、KP は、Oasis HLB を用い固相抽出した後、LC-MS/MS により分析、また、TC は、Oasis HLB を用い固相抽出した後、アセチル誘導体化し GC-MS により分析した。

#### 3.2 調査結果

担体処理実験装置流入水の BOD、COD、DOC は 2mg/L、9mg/L、7mg/L 又、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$  は 0.3mg/L、17mg/L であり通常の標準活性汚泥法の処理水と同等

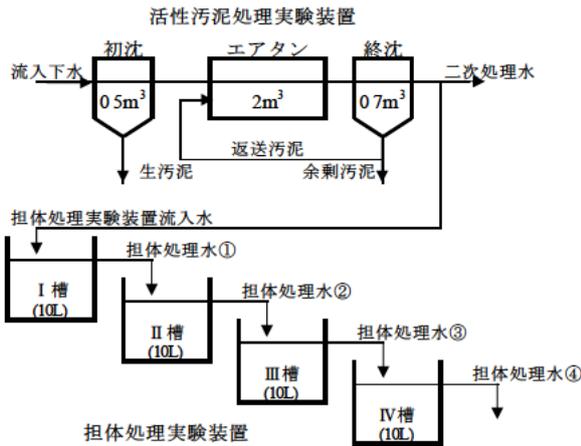


図-3 担体処理実験装置

の水質であった。

担体処理実験装置の流入水及び各反応槽処理水の医薬品類4物質の分析結果を図-4に示す。各物質とも処理が進むにつれ減少し、担体処理水④では流入水の1/5以下となった。合計HRTが2時間の担体処理水④の医薬品類除去率は、AZMが90%、CAMが81%、KPが97%、TCが82%であり、DOC除去率6%に比べ大きな値を示した。本実験で対象とした医薬品類4物質は、二次処理水に残存する有機物の中でも担体微生物により更に除去できることが確認された。

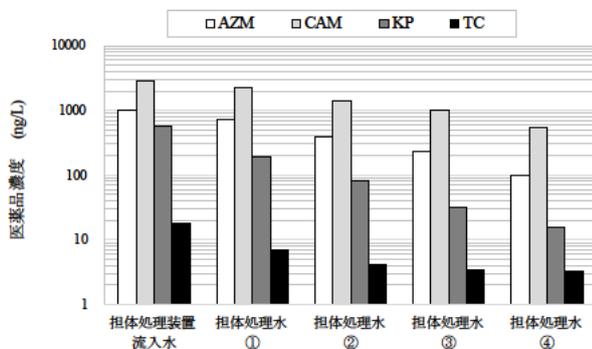


図-4 担体処理における医薬品の除去特性

#### 4. 下水処理プロセスにおける総毒性の低減効果

医薬品などの化学物質は活性汚泥処理過程で、種類によるが、ある程度除去されていることが明らかになった。しかし、個別の化学物質の濃度から生物影響を予測することは困難である。下水処理過程での生物影響評価の低減効果は、直接的なバイオアッセイから確認することも重要である。

本研究では、流入下水、2次処理水、塩素処理水に曝露したメダカについて、毒性の多角的な評価が可能と考えられているマイクロアレイによる網羅的遺伝子

発現解析<sup>6)</sup>から、下水処理過程での毒性低減効果の評価を試みた。

#### 4. 1 実験方法

都市下水を連続処理している図-1の活性汚泥実験処理装置から、平成26年10月23日～24日にかけて、流入下水、2次処理水、塩素処理水（残留総塩素0.8mg/L）を24時間連続採水し、本試料をメダカの曝露実験に供した。

メダカの曝露および遺伝子発現解析は、表-5のとおり行った。遺伝子発現解析はDFCI (Dana Farber Cancer Institute)のMedaka Gene Index (Release 8.0)のデータベースを基にe-Arrayでプローブ配列を設計したAgilent製8×60Kのカスタムアレイで行った。マイクロアレイに搭載した遺伝子の機能は、DFCIのMedaka Gene Indexサイトからは十分に得られなかったため、NCBI(National Center for Biotechnology Information)のゼブラフィッシュとヒューマンのリファレンスシーケンス(Refseq)に対してプローブの基になったメダカ配列を用いてblastxで同源性検索をかけ、メダカと同源性の高い種のRefseqIDを取得し、Gene Ontology機能情報を得た。

表-5 メダカの曝露条件と遺伝子発現解析の方法

試験魚	d-r系 雄 ヒメダカ(6～7カ月齢)	
曝露水	流入下水 2次処理水 塩素処理水 脱塩素水道水(対照区)	
	曝露匹数	9匹
	曝露水量	5L
	曝露時間	96時間
曝露方式	半死水式(1換水/日)	
設定水温	24℃	
照明	明期16時間/暗期8時間	
給餌	なし	
曝気	緩やかに曝気	
解析臓器	肝臓	
RNA抽出法	RNeasy mini kitにより1個体毎に抽出	
RNA試料の調整	同曝露区の3匹分1つに混合し、3検体で解析	
遺伝子発現解析法	マイクロアレイ法(Agilentのプロトコルに従う)	
規準化法	グローバルノーマライゼーション	
遺伝子発現の数値化	3検体の平均	

#### 4. 2 実験結果

各処理水の毒性の評価は、各毒性を反映する遺伝子群を抽出し、対照区とのピアソン相関により評価した。毒性の種類は、GO:0048545(response to steroid hormone stimulus ホルモン刺激)、GO:0006979(response to oxidative stress 酸化ストレス)、GO:0006281(DNA repair DNA修復)、

GO:0032504(multicellular organism reproduction 再生産), GO:0009410(response to xenobiotic stimulus 外部刺激), GO:0006955(immune response 免疫反応)とした。毒性の定量化は、ピアソン相関係数  $= \cos \theta$  とおける  $\theta$  ことから、 $\theta$  で行った。 $\theta$  は遺伝子発現が大きく影響されるに従い、大きい値となる。図-5～10 に各下水曝露水とその  $\theta$  の関係を示した。

図より流入下水には、様々な影響因子が存在していることがわかったが、これらの影響は、活性汚泥処理で低減していることが明らかとなった。また、塩素処理水でもその影響が増加することはない。

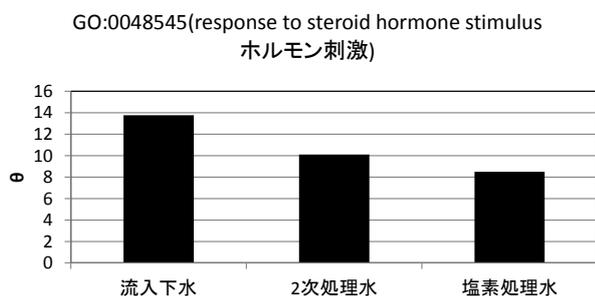


図-5 各下水試料のホルモン刺激への影響

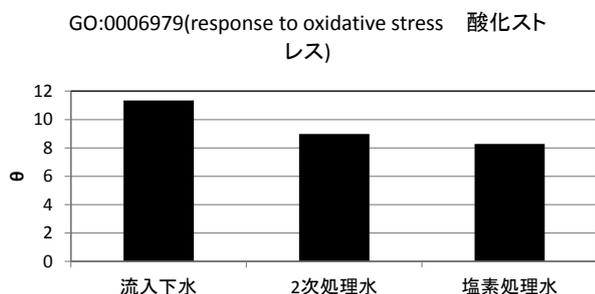


図-6 各下水試料の酸化ストレスへの影響

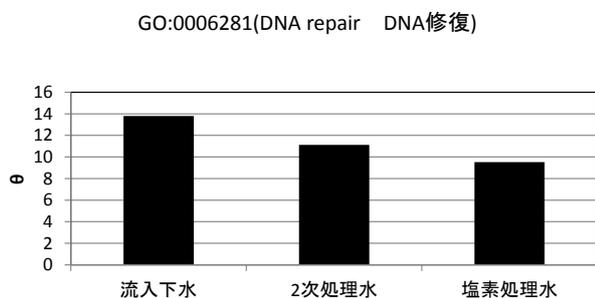


図-7 各下水試料のDNA修復への影響

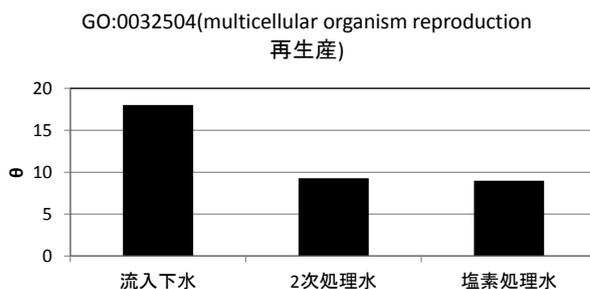


図-8 各下水試料の再生産への影響

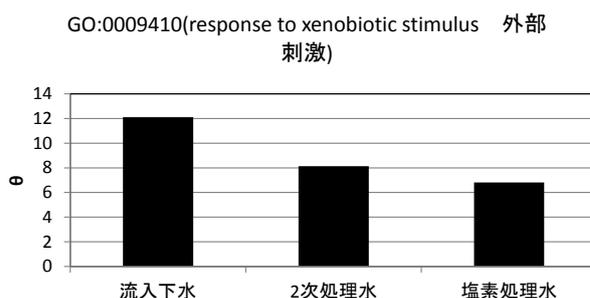


図-9 各下水試料の外部刺激への影響

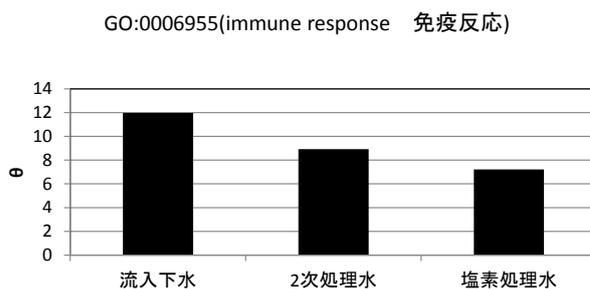


図-10 各下水試料の免疫反応への影響

## 5. まとめ

活性汚泥処理プロセスにおける医薬品類 (10 物質) の挙動把握、下水処理水に残存する医薬品類 (4 物質) の微生物担体処理における除去特性、各下水処理水に曝露したメダカのマイクロアレイによる網羅的遺伝子解析による総毒性の低減効果に関する調査を行い以下の結果を得た。

1) 10 物質中、溶存態、懸濁態から検出された 7 物質の挙動把握ができた。活性汚泥処理による各医薬品の除去率は BF、CF、KP、SMZ、TC が 70%以上、CAM が約 13%であった。CT は二次処理水中の値が流入下水濃度より高い値を示した。また、90%以上の高い除去率を示した BF、CF はその主要な除去機構が生分解であり、TC は生分解が約 80%、汚泥引抜きによる除去が約 15%であることがわかった。

2) 汚泥引抜きによる除去機構について固-液分配係数 ( $\text{Log}K_d$ ) との関係調べたところ  $\text{Log}K_d$  が大きくなるほど引抜き汚泥による除去割合が大きくなる傾向がみられた。

3) 下水処理水に残存する医薬品類4物質の微生物担体を用いた処理における除去特性を調査した。DOC 除去率に比べ調査医薬品類の除去率は大きな値となり、微生物担体処理は残存医薬品類の除去手法として有効であることが分かった。

4) 流入下水、2次処理水、塩素処理水に曝露したメダカのマイクロアレイによる網羅的遺伝子解析から流入下水には、ホルモン刺激、酸化ストレス、DNA 修復、再生産、外部刺激、免疫反応への様々な影響因子が存在していることがわかったが、これらの影響は、活性汚泥処理で低減していることが明らかとなった。また、塩素処理水でも影響が増加することはなかった。

#### 参考文献

1) 成宮他, 下水処理過程における医薬品類の存在実態

と挙動,環境工学研究論文集, 46, pp.175-185, 2009

2) 小森他, 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

3) 福永他, 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

4) A. Harada et al., Biological effects of PPCPs on aquatic lives and evaluation of river water, Water Science & Technology, Vol.58, No.8, pp.1541-1546, 2008

5) 環境省, 化学物質の生態影響試験について, <http://www.env.go.jp/chemi/sesaku/seitai.html>, 2006

6) 池田他, 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, 土木研究所資料 第 4275 号 平成 24 年度下水道関係調査研究年次報告書集, pp.119-145,2013

7) K., Kishi et al., Expression analysis of sex-specific and 17-estradiol-responsive genes in the Japanese medaka, *Oryzias latipes*, using oligonucleotide microarrays, Genomics, 88, pp.241-251, 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：岡本誠一郎、鈴木穰、北村友一

## 【要旨】

本研究では、気温と河川・湖の水質の関係を明らかにするため、過去の気象データと水質観測データを用いた統計解析、土壌、底泥溶出および藻類増殖実験、そして、湖沼モデルを用いた地球温暖化が湖沼水質に及ぼす影響の評価を行った。統計解析からは河川水の水質変化傾向、微生物の呼吸速度と水温の関係、霞ヶ浦と琵琶湖の水質の長期変化傾向と、単位水温当たりの各水質項目の変化量の関係を明らかにした。実験からは、気温の上昇と山林土壌からの栄養塩類等の溶出の関係や、水温および Fe 濃度と藻類の増殖特性の関係などを明らかにした。そして、これらの知見に基づいて簡易湖沼モデルを構築し、水温上昇と Fe 濃度低下のシナリオに対する湖沼水質の応答特性を調べた。その結果、地球温暖化が進行した将来の湖の水質は、現況と比較して、無機態窒素が増加し、藻類の増殖量が増大し、Fe 濃度が低下すると予測された。また、藻類の種構成が珪藻主体から緑藻や藍藻主体に変化することが示された。

キーワード：地球温暖化、気温、水温、霞ヶ浦、琵琶湖、藻類、生態系モデル

## 1. はじめに

### 1.1 地球温暖化の現状

近年、大気中の温室効果ガス濃度の増加による地球温暖化が問題となっている。2007年に公表された IPCC 第4次評価報告書では、気候システムの温暖化には疑う余地がないことが示された。世界平均地上気温は100年あたり0.74℃上昇しており、海面水位の上昇傾向や、雪氷面積の低下傾向が報告されてい

る<sup>1)</sup>。図1-1は、大気中二酸化炭素濃度の変化である<sup>2)</sup>。大気中二酸化炭素濃度は、日本（綾里）、ハワ

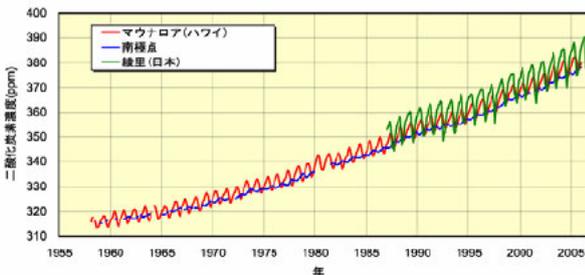


図 1-1 大気中二酸化炭素濃度の変化<sup>2)</sup>

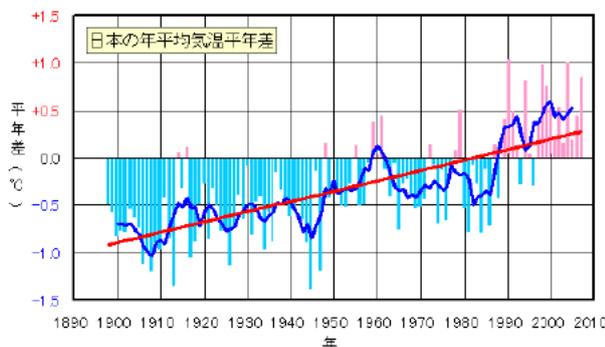


図 1-2 日本全国の平均気温の変化<sup>2)</sup>

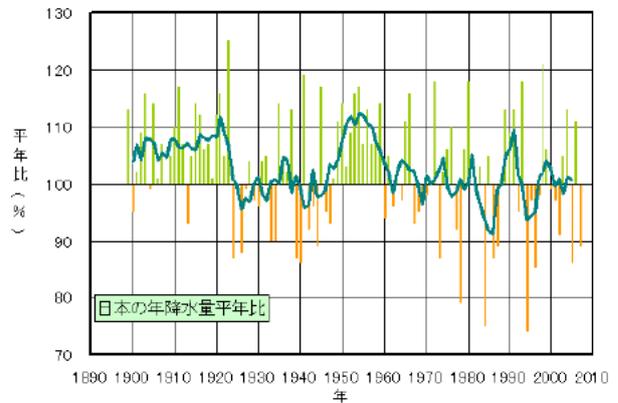


図 1-3 日本の降水量の年平均比の変化<sup>2)</sup>  
(平年値：1971～2000年の平均値)

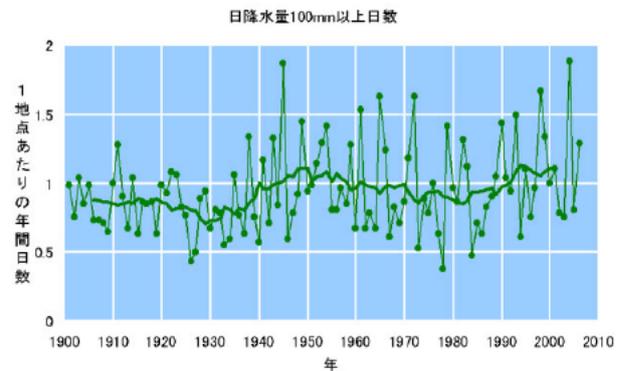


図 1-4 年降水量 100mm 以上の日数の変化<sup>2)</sup>

イ、南極のいずれの観測点でも上昇し続けている。2012年には綾里において二酸化炭素濃度の月平均値が初めて400ppmを超えた<sup>3)</sup>。図1-2は、日本全国平均気温の変化<sup>2)</sup>である。全国平均気温は100年あたり1.1℃の割合で上昇しており、年間の真夏日の日数の増加が報告されている。図1-3は、日本の年降水量の変化である。降水量については、日本では明瞭な増加または減少の傾向はみられないが、近年は、多雨の年と少雨の年の差が大きくなっている。図1-4は、日降水量100mm以上の日数の変化である。日降水量100mm以上となる大雨の日数は、増加傾向にある<sup>2)</sup>。日本の将来の気候については、IPCCの気候予測モデルによると、平均気温が今後100年間で1~5℃上昇し、多くの地域で日降水量100mm以上の大雨の日数が増加すると予測されている<sup>4)</sup>。

地球温暖化が河川や湖沼に及ぼす影響としては、気温の上昇や渇水による水質の悪化が懸念されている。河川については、日本全国の河川の水質データを用いた解析から、気温1℃あたり1.1℃の水温上昇が報告されている<sup>5)</sup>。湖沼については、琵琶湖や霞ヶ浦において気温の上昇に追従した湖水温の上昇が報告されている<sup>6),7)</sup>。また、霞ヶ浦では、CODが気温1℃あたり0.92~1.7mg/Lの割合で上昇している<sup>7)</sup>。しかし、河川や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。

## 1.2 本報告書の構成

本研究では地球温暖化が河川湖沼水質に及ぼす影響を明らかにするため、過去の気象データと水質観測データを用いた統計解析(2章)、気温と河川・湖の水質の関係を明らかにするための実験(3章)、湖沼モデルを用いた地球温暖化が湖沼水質に及ぼす影響の評価(4章)を行った。以下に各章ごとの概要を記述する。

### 2章：過去の気象データと水質観測データを用いた統計解析

気温や降水量と、河川水質について、観測データを入手し、長期変化傾向を解析した。また、微生物の呼吸速度に水温が及ぼす影響を解析した。さらに、湖面積、水深や富栄養化状況の異なる琵琶湖と霞ヶ浦について、水質の長期変化傾向と、気温や水温と

他の水質項目の関係を解析した。

### 3章：気温と河川・湖の水質の関係を明らかにするための実験

気温上昇が土壌からの無機イオン等の溶出過程に及ぼす影響を明らかにするため、森林土壌を用いた溶出実験を行った。河川水の長期的な水質変化が湖沼の藻類増殖に及ぼす影響を明らかにするため、人工河川水を用いた藻類培養実験を行った。また、湖沼の水温が底泥からの栄養塩溶出に及ぼす影響を明らかにするため、底泥溶出実験を行った。そして、大雨の日数の増加傾向を踏まえ、雨天時の河川水質の変化を調査し、河川の流量と栄養塩などの負荷量の関係を求めた。

### 4章：地球温暖化が湖沼水質に及ぼす影響の評価

3章の実験結果を基に、簡易湖沼モデルを構築し、水温上昇などのシナリオに対する湖沼水質の応答特性を調べ、地球温暖化が湖の水質に及ぼす影響を総合的に評価した。

### 参考文献

- 1) IPCC 第4次評価報告書、2007  
[http://www.ipcc.ch/publications\\_and\\_data/publications\\_and\\_data\\_reports.shtml](http://www.ipcc.ch/publications_and_data/publications_and_data_reports.shtml)
- 2) 気象庁、気候変動監視レポート2006  
<http://www.data.kishou.go.jp/climate/cpdinfo/monitor/index.html>
- 3) 気象庁、「日本の大気中の二酸化炭素濃度について」、報道発表日：平成24年5月16日  
<http://www.jma.go.jp/jma/press/1205/16a/2011CO2.html>
- 4) 文部科学省、気象庁、環境省、「温暖化の観測・予測および影響評価統合レポート『日本の気候変動とその影響』」、2009
- 5) 尾崎則篤、小野美由紀、福島武彦、原沢英夫(1999)、気象変動の河川水質に及ぼす影響に関する統計的研究、土木学会論文集、No.629/VII-12、97-109.
- 6) 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.
- 7) 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.

## 2. 過去の気象データと水質観測データを用いた統計解析

### 2.1 気温と降水量の変化

日本の平均気温は上昇傾向であるが、気象は地域による違いが大きい。そこで、茨城県の水戸気象台と、滋賀県の彦根気象台の気象観測データ<sup>1)</sup>を入手し、気温と降水量の変化状況を整理した。

図 2.1-1 は、年平均気温の経年変化である。気温は長期的に上昇傾向にあり、100 年あたりの上昇率は水戸で 1.25℃、彦根で 1.36℃である。

表 2.1-1 は、冬（12～2月）、春（3～5月）、夏（6～8月）、秋（9～11月）の平均気温の年に対する近似直線の傾きである。季節別の平均気温の傾きは、

水戸では冬と春で、彦根では春～秋で大きい。

図 2.1-2 は、年間の冬日（最低気温が 0℃未満）、夏日（最高気温が 25℃以上）、熱帯夜（最低気温が 25℃以上）の日数の変化である。水戸と彦根のどちらも、冬日の減少傾向と夏日の増加傾向がみられ、水戸よりも彦根で変化が大きい。熱帯夜は、水戸と彦根のどちらも 1950 年頃から増加傾向が続いている。

表 2.1-1 1900 年から 2012 年までの気温の季節別平均値の上昇率

	気温の上昇率(℃/年)			
	12～2月	3～5月	6～8月	9～11月
水戸	0.014	0.014	0.011	0.012
彦根	0.009	0.015	0.015	0.016

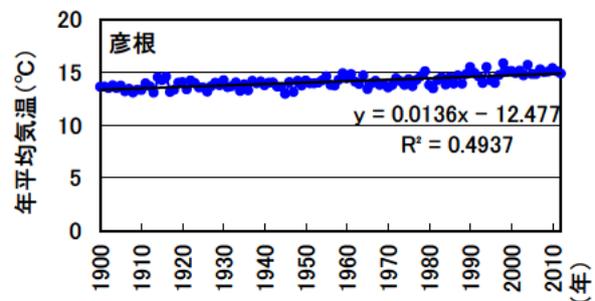
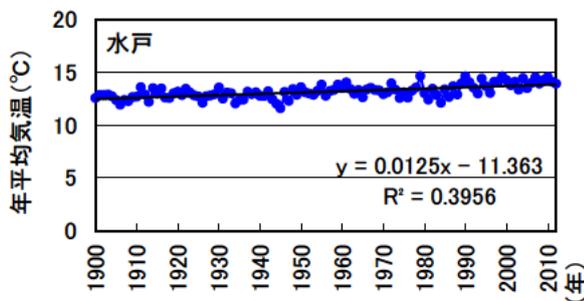


図 2.1-1 水戸気象台と彦根気象台の年平均気温の経年変化

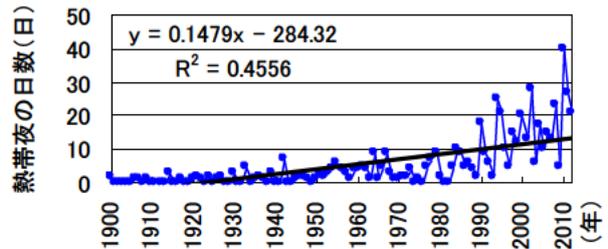
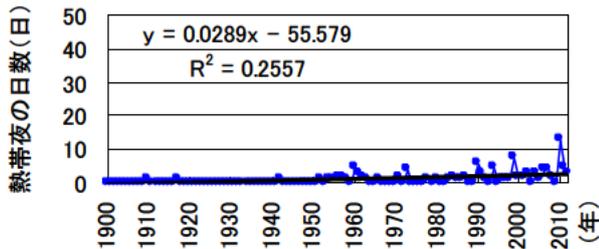
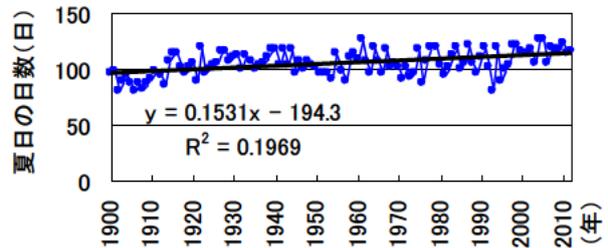
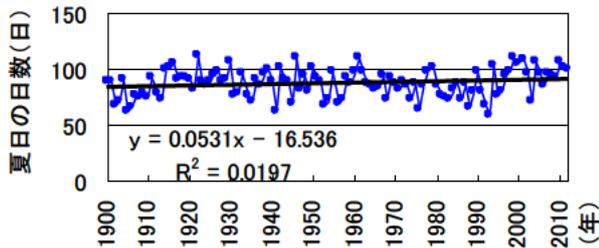
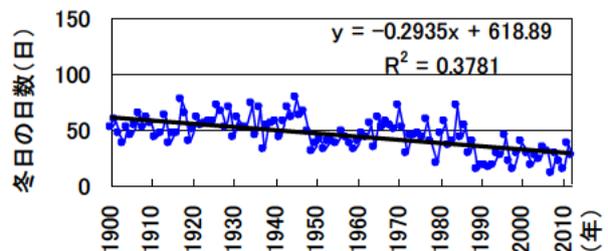
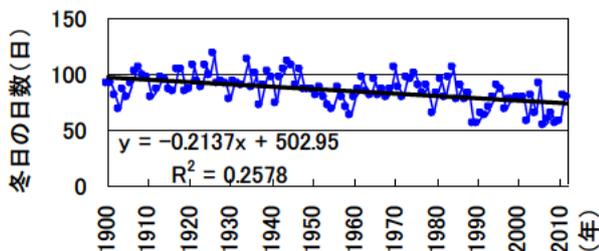


図 2.1-2 水戸気象台と彦根気象台の冬日（日最低気温 0℃未満）、夏日（日最高気温 25℃以上）、熱帯夜（夜間の最低気温 25℃以上）の年あたりの日数の変化

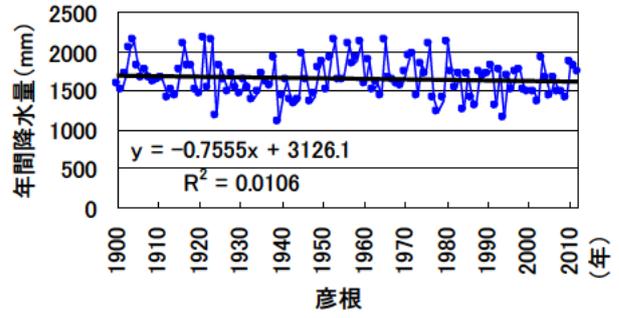
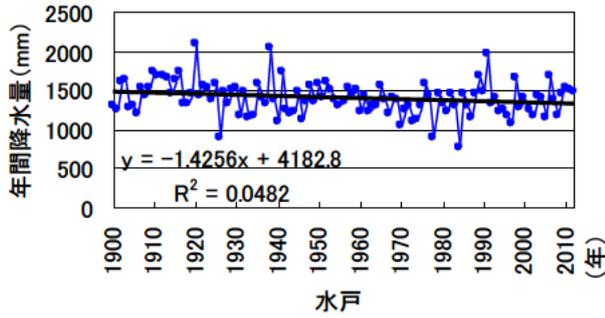


図 2.1-3 水戸気象台と彦根気象台の年間降水量の変化

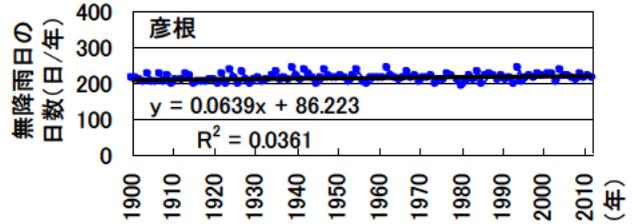
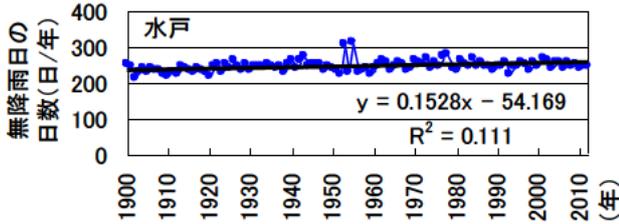


図 2.1-4 水戸気象台と彦根気象台の無降雨日数

(降水量 0.5mm 未満の日数) の変化 (太線は 11 年間の移動平均)

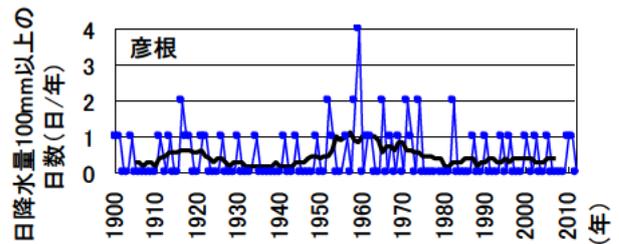
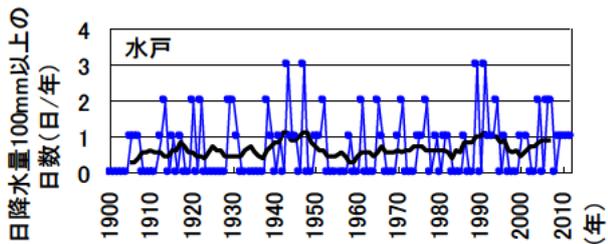


図 2.1-5 水戸気象台と彦根気象台の降水量 100mm 以上の日数の変化 (太線は 11 年間の移動平均)

図 2.1-3 は、年間降水量の経年変化である。日本全国では、近年年間降水量の変動の増大が報告されているが、水戸と彦根の気象台では明確な傾向がみられなかった。

図 2.1-4 は、無降雨日数(日降水量が 0.5mm 未満)の日数の経年変化である。また、図 2.1-5 は、降水量 100mm 以上の強い降雨の日数の経年変化である。無降雨日数は、水戸では若干増加傾向であり、彦根では変化の傾向は不明瞭である。日 100mm 以上の強い降雨の日数は、水戸では増加傾向にあるが、彦根では、1960 年頃が最大となっている。

## 2.2 河川水の水温・水質の変化

地球環境の変化は、降雨中の炭酸濃度や水温の変化を通して、土壌からの物質の溶脱速度に影響を与え、長期的に河川水質に影響することが想定される。そこで、水道統計の水質データを元に、水温、pH、硬度等の河川水質について、長期変化(36年間)の傾向を調査した。

### 2.2.1 調査方法

#### 【用いた資料】

水道統計((社)水道協会発行)の昭和 44 年度(1969 年度)版、昭和 62 年度(1987 年度)版、平成 17 年度(2005 年度)版<sup>2)-4)</sup>。

#### 【対象とした水の種類】

水道原水のうち、表流水(自流)と深井戸水。ダムの影響が無視できる表流水(自流)は、気候変化が河川水に与える影響を評価するのに適している。また、深井戸水は年間の水質変動が少ないことから、土壌からの溶出量の変化を把握するのに適していると考えられた。

#### 【対象水質項目】

水温、pH、硬度、蒸発残留物、硝酸態窒素濃度( $\text{NO}_3\text{-N}$ )、Fe 濃度、Mn 濃度、 $\text{Cl}^-$  濃度、色度。

#### 【対象とした水道原水の箇所】

昭和 44 年度から原則として年間 4 回以上の測定値があり、都市排水の影響を直接的に受けない箇所を選定した。この結果、調査対象とした水道原水は、

表 2.2-1 調査対象とした河川表流水

事業主体	浄水場番号_河川	事業主体	浄水場番号_河川
函館市	03_松倉川・汐泊川	甲府市	01_荒川
釧路市	01_釧路川	長野市	03_犀川
札幌市	01_豊平川	長野県	01_千曲川
苫小牧市	01_幌内川	愛知県	09_木曾川
青森市	01_横内川	大阪市	01_淀川
八戸市	01_馬淵川	神戸市	04_住吉川
花巻市	01_北上川・豊沢川	岡山市	01_三野
秋田市	01_雄物川	徳山市	02_東川
酒田市	01_最上川	鳴門市	01_旧吉野川
日立市	01_久慈川	高知市	01_鏡川
宇都宮市	01_大谷川	久留米市	01_筑後川
千葉県	02_江戸川	飯塚市	02_鯉田遠賀川
東京都	04_江戸川	大分市	01_大分川
東京都	08_利根・荒	宮崎市	01_大淀川
長岡市	03_信濃川	鹿児島市	15_甲突川

表 2.2-2 調査対象とした深井戸水

事業主体	浄水場番号_浄水場名	事業主体	浄水場番号_浄水場名
高崎市	08中島	富田林市	01甲田
武蔵野市	01第一	明石市	02魚住
静岡市	07下島	大和郡山市	01北郡山
豊田市	01中切	熊本市	03健軍

表流水で 30 箇所、深井戸水で 8 箇所となった（表 2.2-1、表 2.2-2）。

また、大気降下物が河川水の窒素やリン濃度に与える影響を検討するため、生活排水等の人為的汚濁負荷がほとんどない河川上流域の水質として、国土交通省河川局・ダム基本設計会議環境部会の環境レポートからダム流入水質データを収集し、長期変化の傾向を調査した。

## 2.2.2 調査結果

### 2.2.2.1 調査対象年の長期変化の中での位置付け

表 2.2-3 は、水道水質の調査対象とした 1969 年、1987 年、2005 年における、年平均気温の平年差、年降水量の平年比、大気中二酸化炭素濃度である。

表 2.2-3 調査対象年の気温、降水量、二酸化炭素濃度（平年値：1971～2000 年の平均値）

年	1969	1987	2005
気温の平年差 (°C)	-0.53	0.14	0.19
降水量の平年比 (%)	97	89	86
二酸化炭素濃度 (ppm)	328	352	383

気温については、1969 年がやや低めではあるが、長期変化のトレンドにほぼ沿う値となっており、降水量については、全般的に小雨傾向の年となっている。対象とした 3 カ年について、気象条件の顕著な偏りは認められなかったことから、この 3 カ年を調査対象とすることによって、地球環境の変化が河川水質に与える影響を評価することができる考えた。

### 2.2.2.2 河川表流水質の変化

#### 1) 水温

河川表流水の水温（年平均値、年最大値、年最低値）を 30 箇所について平均した値について、経年変化を表 2.2-4 に示す。

年平均水温は、気温の上昇傾向に伴って、上昇する傾向にある。なお、年最大水温については変化が見られず、年最低水温が上昇していることから、主に低水温域の水温上昇によって、年平均水温が上昇していると考えられる。

図 2.2-1 に平均水温分布の経年変化を、図 2.2-2 に 1969 年を基準とした場合の平均水温変化の分布を示す。

表 2.2-4 河川表流水の水温（年平均、年最大、年最低）30 箇所平均値の経年変化

年	1969	1987	2005
年平均水温 (°C)	12.5	13	13.4
年最大水温 (°C)	23.8	23.6	23.6
年最低水温 (°C)	2.9	3.9	3.6

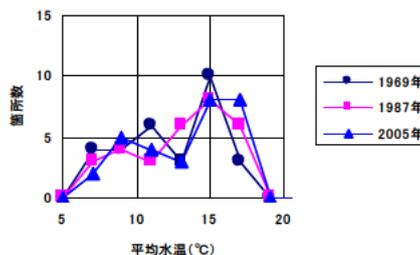


図 2.2-1 河川表流水の平均水温分布の経年変化

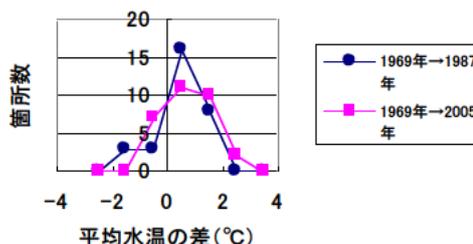


図 2.2-2 河川表流水の平均水温経年差の分布

図 2.2-1 から、平均水温は、低水温側の箇所数が減少し、高水温側の箇所数が増加していることがわかる。また、平均水温の変化は、図 2.2-2 に示すように、1969年→1987年では+0.5°C付近にピークを有する分布となっており、それが、1969年→2005年では、幾分高い値側にずれた分布となっている。

2) pH、硬度、NO<sub>3</sub>-N 濃度等

河川表流水の pH、硬度、NO<sub>3</sub>-N 濃度を 30 箇所について平均した値の経年変化を、表 2.2-5 に示す。pH および NO<sub>3</sub>-N 濃度は、経年的に上昇している。

より詳細に検討するため、都市排水の影響を比較的強く受けていると考えられる千葉県、東京都（2 河川）、大阪市の 4 河川、および、硬度が大きく他の河川と特徴が異なると考えられる飯塚市の 1 河川を除外して、経年変化を再度検討した。

表 2.2-5 河川表流水の pH、硬度、NO<sub>3</sub>-N (30 箇所平均値) の経年変化

年	1969	1987	2005
pH	7.13	7.21	7.44
硬度 (mgCaCO <sub>3</sub> /L)	39.8	42.7	42.4
NO <sub>3</sub> -N (mgN/L)	0.51	0.64	0.86

表 2.2-6 河川表流水の pH、硬度、NO<sub>3</sub>-N、Fe、Mn (25 箇所 (都市近郊等除外) 平均値) の経年変化

年	1969	1987	2005
pH	7.15	7.22	7.42
硬度 (mgCaCO <sub>3</sub> /L)	33.5	35.6	36.6
NO <sub>3</sub> -N (mgN/L)	0.38	0.51	0.68
Fe(mg/L)	0.38	0.4	0.27
Mn(mg/L)	-	0.028	0.024

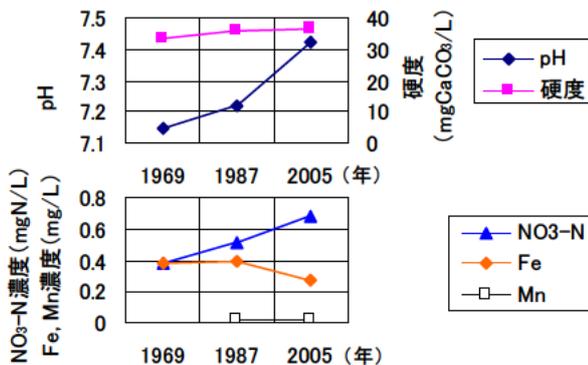


図 2.2-3 河川表流水質の経年変化

表 2.2-6 と図 2.2-3 に、5 河川を除外して 25 河川について平均した pH、硬度、NO<sub>3</sub>-N 濃度、Fe 濃度、Mn 濃度の経年変化を示す。30 河川で平均した場合と同様、pH と NO<sub>3</sub>-N 濃度が上昇しており、その一方で、pH が最も高くなった 2005 年において、鉄濃度の低下が見られる。Mn については大きな変化は見られない。

大気中の二酸化炭素濃度の増加は、水中の炭酸イオン濃度を増加させ、pH を減少させると予想されるが、水道統計データからは逆の傾向が得られた。後述する深井戸水については、NO<sub>3</sub>-N 濃度の増加が見られても pH はほとんど変化していないことから、表流水における pH 上昇の原因として、藻類による光合成の活発化が考えられる。表流水では、NO<sub>3</sub>-N 濃度の増加に加えて、水温も上昇しているため、河川内での光合成が活発化し、河川水内の炭酸水素イオンが水素イオンとともに藻類に摂取されて、pH 上昇を招いていると推察される。

NO<sub>3</sub>-N 濃度および pH の河川表流水 25 箇所分布の

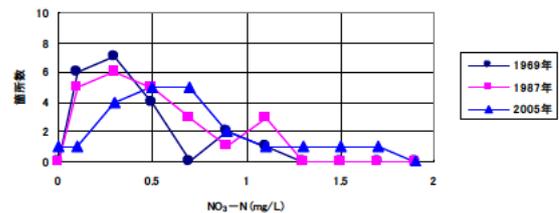


図 2.2-4 河川表流水の NO<sub>3</sub>-N 濃度分布の経年変化

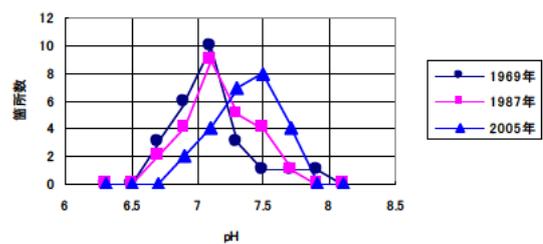


図 2.2-5 河川表流水の pH 分布の経年変化

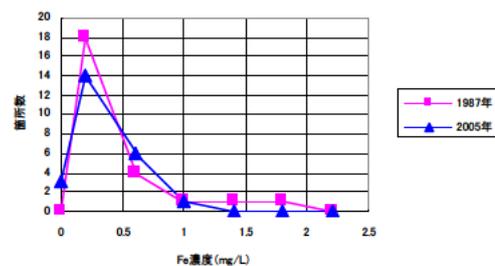


図 2.2-6 河川表流水の Fe 濃度分布の経年変化

経年変化をそれぞれ図 2.2-4 と図 2.2-5 に示す。両者の変化の傾向は、大まかに見て似通っており、pH 変化の原因として NO<sub>3</sub>-N 濃度の上昇が考えられる。

図 2.2-6 は 1987 年と 2005 年の河川表流水の Fe 濃度の分布である。Fe 濃度の分布は 2005 年に低濃度側に移動したが、これは、pH の上昇によって Fe(II) の溶存態濃度減少<sup>7)</sup>および Fe(III) への酸化速度増加<sup>8)</sup>と不溶化が生じ、また、藻類の増殖によって Fe の取り込み量が増加したためと推測される。

硬度の変化については、地域によって異なる傾向が見られたため、小林純著の「水の健康診断」においてケイ酸およびカリウム濃度の高い地域を火山岩主体の地域<sup>7)</sup>として選定し、水成岩主体の地域と区分して、硬度の変化を調査した。なお、火山岩主体として選定した箇所は、釧路市、宇都宮市、長岡市、久留米市、大分市、宮崎市、鹿児島市である。

その結果、表 2.2-7 に示すように、火山岩地域では硬度の増加が見られないのに対し、水成岩地域では硬度の増加が観察された。これは、水成岩中のカルシウム化合物等が、水中に増加した炭酸等により、より多く溶脱するようになったためと推察される。

表 2.2-7 地域ごとの河川表流水硬度の経年変化

年		1969	1987	2005
硬度 (CaCO <sub>3</sub> mg/L)	水成岩地域	29.9	33.3	33.7
	火山岩地域	44.6	39.4	42

### 2.2.2.3 地域別の河川水質変化の傾向

気象条件や地質が異なる地域ごとの水質変化の傾向をみるため、30 河川を北海道、東北、関東、中部、関西、中国・四国、九州の 7 つの地域に区分し、それぞれの地域の水質の平均値を求めた。図 2.2-7 は、1969 年を基準としたときの、各水質項目の地域別平均値の変化である。

水温は東北を除いて上昇傾向であり、中部、関西、九州で上昇が大きい。

pH はいずれの地域でも上昇傾向であり、関東と関西で上昇が大きい。九州では 1987 年から 2005 年にかけて上昇している。

NO<sub>3</sub>-N は、関東、関西、九州で上昇傾向である。中国・四国では 1987 年まで上昇していた。他の地域では NO<sub>3</sub>-N は横ばいか若干の上昇であった。

硬度は関東、中部、関西で 1987 年まで上昇し、そのうち関東では 2005 年には硬度が低下した。九州では 1987 年までに低下し、2005 年までに上昇した。東北と中国・四国では若干上昇し、北海道では若干

低下した。

Fe 濃度は中部を除いて減少傾向であった。関西、関東、北海道で減少が大きかった。

Mn 濃度は、九州、関西、北海道で減少傾向であった。

図 2.2-8 は、pH と鉄の 1969 年の値と 1969～2005 年の変化の関係である。1969 年時点で pH が 6.7～7.4

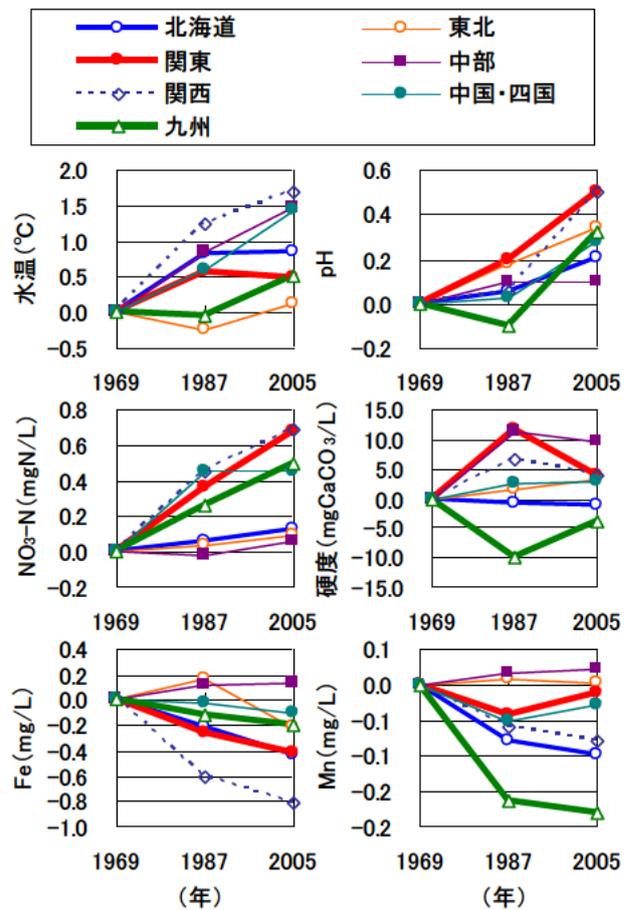


図 2.2-7 河川水質の地域別平均値の経年変化 (1969 年を 0 としたときの変化)

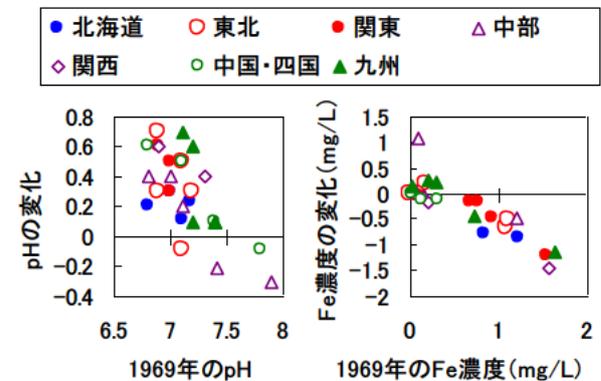


図 2.2-8 1969 年の pH、Fe 濃度に対する、1969 年から 2005 年までの pH、Fe 濃度の変化の関係

の河川では、概ね pH が上昇したが、1969 年時点で pH が 7.5 以上の 2 河川では、pH が低下していた。また、Fe 濃度が 1969 年時点で高い河川ほど、濃度の低下が大きかった。

#### 2.2.2.4 深井戸水質の変化

深井戸水質（8 箇所平均値）の経年変化を表 2.2-8 および図 2.2-9 に示す。表流水と比較して傾向が異なるのは、pH に顕著な上昇が見られないこと、NO<sub>3</sub>-N 濃度の増加が近年より大きいこと、硬度や Fe 濃度が顕著に増加していることである。Fe については、深井戸水の pH が酸性である場合、濃度比が 3 倍強と、大きな増加を示した。

上記水質変化の原因として、金属類の溶脱を促進させる炭酸や硝酸の増加が考えられるが、それぞれの酸性物質の寄与度については、今後実験等からの検討が必要である。

地下水が表流水に流出してくる地域においては、表流水の重金属濃度についても注意が必要である。鉄は、河川水の pH 上昇により濃度が低下しているが、金属についてはアルカリ側で溶解度が高くなるものも存在することから、今後、河川水の重金属濃度が上昇する可能性もある。

#### 2.2.2.5 河川上流域における水質変化

国土交通省河川局・ダム基本設計会議環境部会の環境レポートのうち、現時点で入手可能な 10 ダムに

表 2.2-8 深井戸水の水質（8 箇所平均値）の経年変化

年	1969	1987	2005
水温(°C)	17	17.8	17.6
pH	6.99	6.94	7
硬度 (CaCO <sub>3</sub> mg/L)	53.4	79.7	89.8
NO <sub>3</sub> -N (mgN/L)	-	0.53	1.02
Fe(mg/L)	0.38	0.78	0.91
Mn(mg/L)	-	0.25	0.29

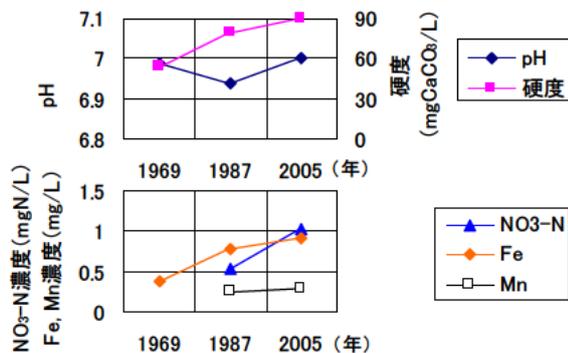


図 2.2-9 深井戸水質の経年変化

ついて、生活排水等の人為的汚濁負荷がほとんどない河川上流域の水質データを検討したところ、表 2.2-9 のように、6 ダムにおいて長期的な硝酸性窒素濃度の増加が見られた。

河川表流水の長期的変化において、25 河川の硝酸性窒素濃度の平均的増加速度が 0.008mgN/(L・年)であることから、河川上流域における硝酸性窒素濃度の増加速度は、これと同程度か大きいものがあることになる。このことは、河川表流水における硝酸性窒素濃度の増加が、農業で使用される窒素肥料といった人為的 direct 負荷だけによるのではなく、大気降下物由来の負荷の影響も無視できないことを示している。

表 2.2-9 河川上流域の硝酸性窒素濃度の変化

調査対象箇所	10
増加確認箇所	6
増加速度 (mgN / (L・年))	0.006~0.016

#### 2.2.3 まとめ

1) 河川表流水の平均水温は、気温の上昇に伴って、上昇する傾向にある。なお、年最大水温については変化が見られず、年最低水温が上昇していたことから、主に低水温域の水温上昇によって、年平均水温が上昇している。

2) 河川表流水の水質のうち、pH と NO<sub>3</sub>-N 濃度が上昇しており、硬度も上昇傾向にあった。その一方で、pH が高くなった 2005 年において、Fe 濃度の低下が見られた。

3) 硬度の上昇は水成岩地域で見られ、炭酸などの酸性物質によってカルシウム等溶脱が促進されたものと考えられた。

4) 地域別では、pH はいずれの地域でも上昇傾向であり、NO<sub>3</sub>-N 濃度は、関東、関西、九州で上昇傾向であった。硬度は関東、中部、関西で 1987 年まで上昇し、九州では 1987 年までに低下した。また、Fe 濃度が 1969 年時点で高い河川ほど、濃度の低下が大きかった。

5) 深井戸水においては、pH に顕著な変化はみられないものの、NO<sub>3</sub>-N 濃度や硬度、Fe 濃度が増加していた。

6) 生活排水等の人為的汚濁負荷がほとんどない河川上流域においても、長期的な NO<sub>3</sub>-N 濃度の増加が見られた。

### 2.3 瀬田川における呼吸速度の変化

水道原水水質の解析からは、河川水の水温が上昇していることや、pH、NO<sub>3</sub>-N 濃度の上昇や Fe 濃度の低下の傾向が示された。河川水温の上昇は、無機イオンや金属などの化学的な溶出過程のみならず、微生物の活動状態にも影響を及ぼすと考えられる。そこで、本節では、連続観測された溶存酸素 (DO) 濃度から河川水中微生物による一次生産・呼吸速度を求め、その経年変化の傾向を調査した。

#### 2.3.1 水質自動監視所

一次生産・呼吸速度の算出は、水質自動監視所で観測された溶存酸素濃度 (DO) を用いて実施した。観測所は、琵琶湖湖尻に位置する、流出河川の一つである瀬田川に設置された、唐橋流心水質自動監視所と瀬田川洗堰直上流の瀬田水質自動監視所の 2 箇所である (図 2.3-1)。観測水質項目は、水温、COD、DO、電気伝導度、pH、濁度、全窒素、全リン、アンモニア態窒素、クロロフィル a であり、1 時間ごとの数値データとして記録されている。なお、水質データの一部は、ウェブサイトで公開されている、国土交通省が管理する水質自動監視所で観測したデータを使用した (<http://www1.river.go.jp/>)。

#### 2.3.2 DO の変動

図 2.3-2 に、1987 年 8 月 1 日～7 日に瀬田水質自動監視所で観測された DO のデータを示す。図中の滑らかな曲線は 24 時間移動平均である。このデータ



図 2.3-1 瀬田川の 2 箇所の自動水質監視所の位置

をもとに、DO データと 24 時間移動平均との差分について描いたコレログラムを図 2.3-3 に示す。図 2.3-3 では明確な 24 時間周期が認められ、この差分成分の変動は、太陽光に駆動される水中微生物群集の一次生産に伴う酸素の生成に起因するものであると考えられる。

#### 2.3.3 呼吸速度と一次生産速度の計算結果

DO から微生物の呼吸速度と一次生産速度を求める計算理論は、久岡ら<sup>9)</sup>のとおりである。1987 年と 2007 年の瀬田水質自動監視所のデータのうち、毎日夜 8 時と翌朝 4 時の DO データから、水中微生物群集の呼吸速度  $r$  を求めた。計算式は、 $r = \{C(\text{夜 8 時}) - C(\text{翌朝 4 時})\} / 8$  である。ここで、 $C$  は DO (mg/L) である。このようにして計算した呼吸速度と、それぞれの時間帯の平均水温との関係を図 2.3-4 に示す。両年とも水温の上昇に伴って呼吸速度が上昇する傾向が見られ、同じ水温に対する呼吸速度は、1987 年の方が 2007 年より大きい。

年によって水温と呼吸速度の関係が異なることから、1988 年～1990 年、1994 年、1995 年、2005 年、2006 年についても毎日夜間の DO データから水中微生物群集の呼吸速度と水温の回帰式を求め、各年における水温 20℃での呼吸速度を求めた。図 2.3-5 は、水温 20℃での呼吸速度の時系列変動である。呼吸速

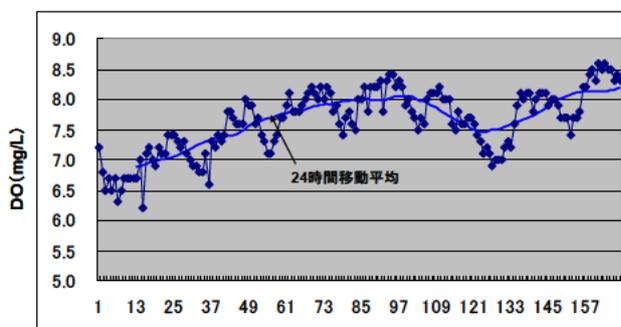


図 2.3-2 瀬田水質自動監視所で観測された DO の変動 (1987 年 8 月 1 日～7 日)

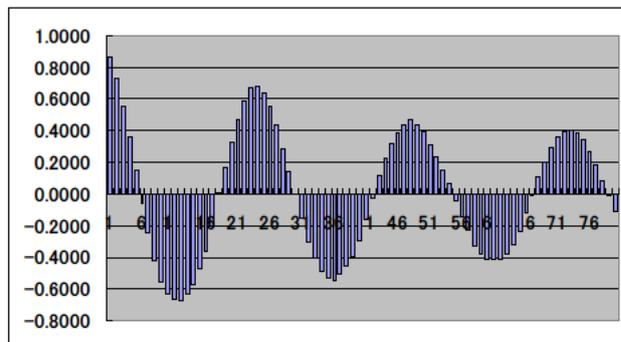


図 2.3-3 瀬田川の 2 箇所 DO とその 24 時間移動平均との差分のコレログラム

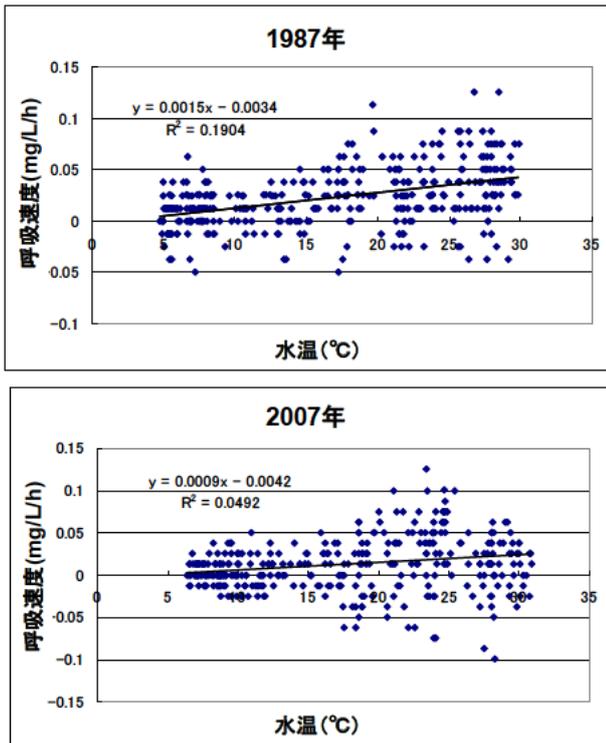


図 2.3-4 水温と微生物群集の呼吸速度の関係

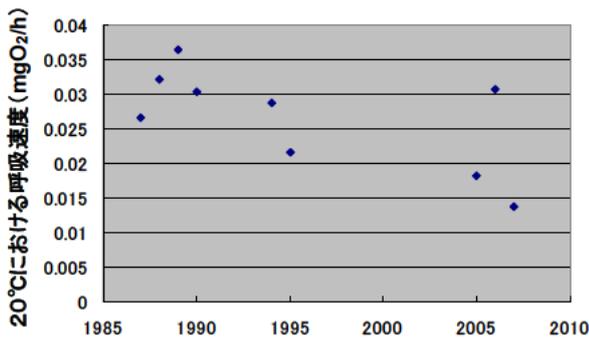
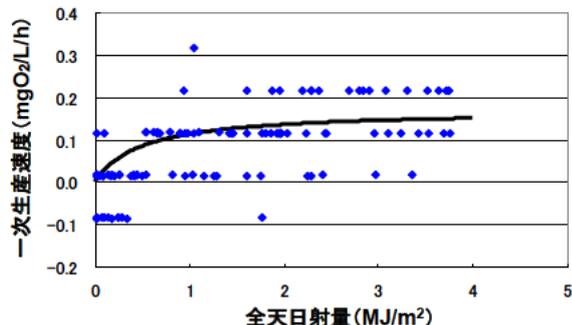


図 2.3-5 瀬田川水中微生物群集の呼吸速度の



$$PP = 0.17 \times \frac{SR}{0.5 + SR}$$

PP : 一次生産速度 (mgO<sub>2</sub>/L/h)

SR : 全天日射量 (MJ/m<sup>2</sup>)

図 2.3-6 一次生産速度と全天日射量の関係

(数式は、両者の関係を Monod 型の式で表したもの)

度は過去約 20 年間に於いて低下傾向が見られる。これは、琵琶湖南湖では近年、全窒素、全りん濃度が低下傾向であり<sup>9)</sup>、下水道普及率の向上などによって富栄養化が抑制されたためと考えられる。

2007 年 6 月 15 日、16 日、17 日、19 日、23 日、28 日、7 月 11 日の DO データから、昼間の純生産速度を計算した。また、2007 年の水温と呼吸速度の回帰式から呼吸速度を計算し、これを純生産速度に加えることによって、一次生産速度を求めた。

図 2.3-6 は、このようにして求めた一次生産速度と全天日射量との関係を示したものである。全天日射量は、彦根地方気象台の観測データを使用した。一次生産速度と全天日射量の関係は Monod 型の式で表現でき、リニアな関係ではないことがわかった。

### 2.3.4 まとめ

瀬田川に設置された水質自動監視所で観測された溶存酸素濃度 (DO) と水温のデータを活用して、微生物群集の一次生産・呼吸速度の測定を試みた。得られた知見は、以下のとおりである。

- 1) 微生物群集の呼吸速度は、水温と正の相関関係を示した。水温の上昇によって微生物群集の活性が高まったと考えられる。
- 2) 20°Cにおける微生物群集の呼吸速度は、1987 年から 2007 年にかけて減少する傾向が見られた。これは琵琶湖南湖における富栄養化の抑制によるものと考えられた。

水質自動監視所は琵琶湖や霞ヶ浦にも設置されているが、湖の DO 濃度は、波浪による再ばっ気の影響を受けやすいことや、水深方向で一様ではないことから、微生物群集の呼吸速度を求めることは困難と考えられる。

## 2.4 霞ヶ浦と琵琶湖の水温・水質の変化

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。本節では、水深の深い琵琶湖と浅い霞ヶ浦を対象に、近年の水質変化の傾向を整理し、気温の上昇と湖沼水質の関係を解析した。

### 2.4.1 解析対象データ

図 2.4-1 は霞ヶ浦と琵琶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<sup>10)</sup>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、琵琶湖環境科学センターから発表されている水質データ<sup>1)</sup>のうち、1980～2007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、琵琶湖では彦根の気象台における観測結果<sup>1)</sup>を用いた。

### 2.4.2 湖表層の水温・水質の変化状況

図2.4-2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、1980～2007年の彦根

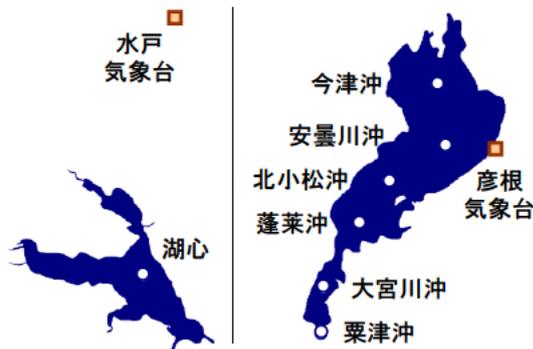


図 2.4-1 解析対象とした水質測定地点

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、気温が上昇していく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。気温が低下していく10～12月は、気温の低下とともに水温が緩やかに低下した。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の形成の影響を受け、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2.4-3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

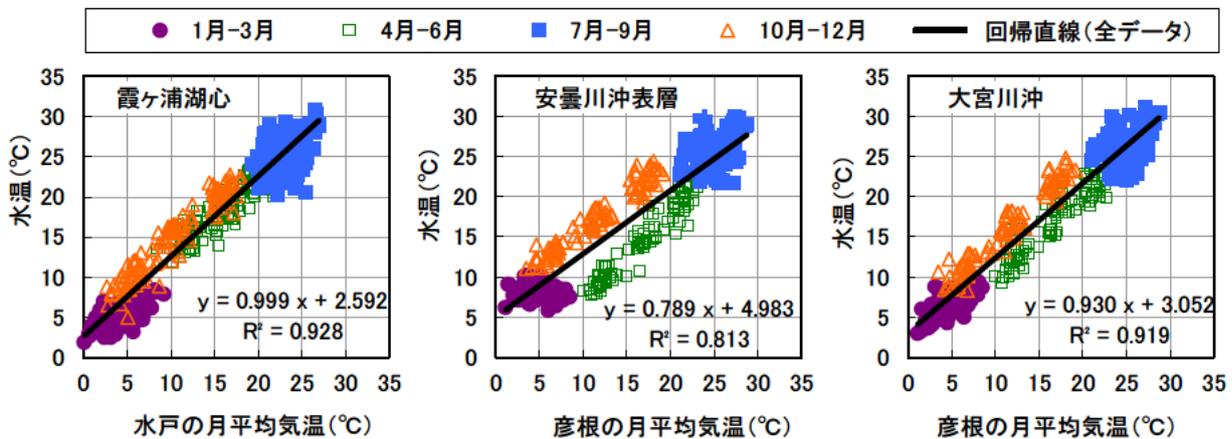


図 2.4-2 月別の気温と水温の関係

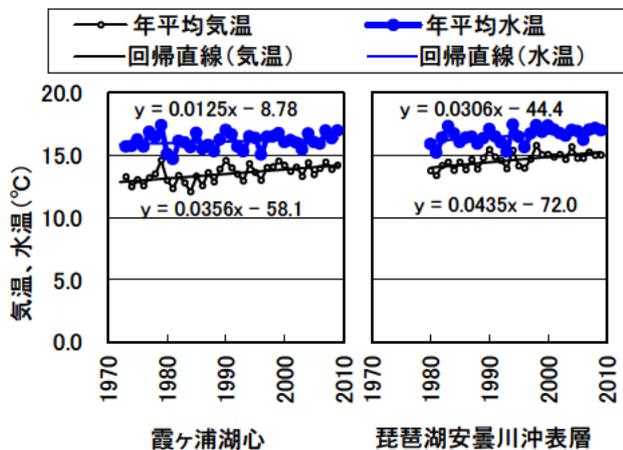


図 2.4-3 年平均気温と年平均水温の経年変化

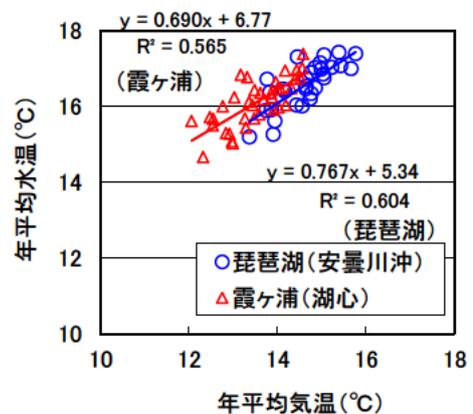


図 2.4-4 年平均気温と年平均水温の関係

水温の変化速度<sup>12)</sup> (安曇川沖で 0.028°C/年) と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 2.4-4 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。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。

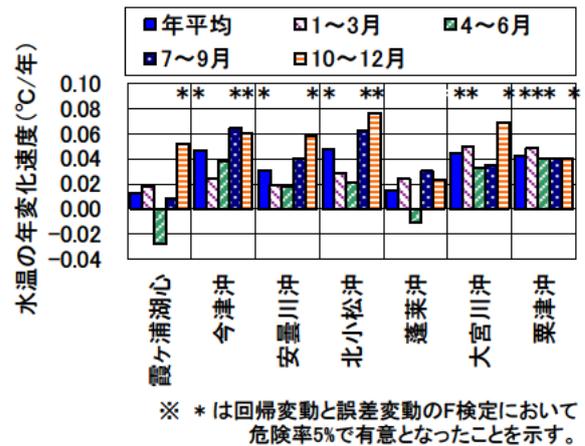


図 2.4-5 年平均および各季節の水温の年変化速度

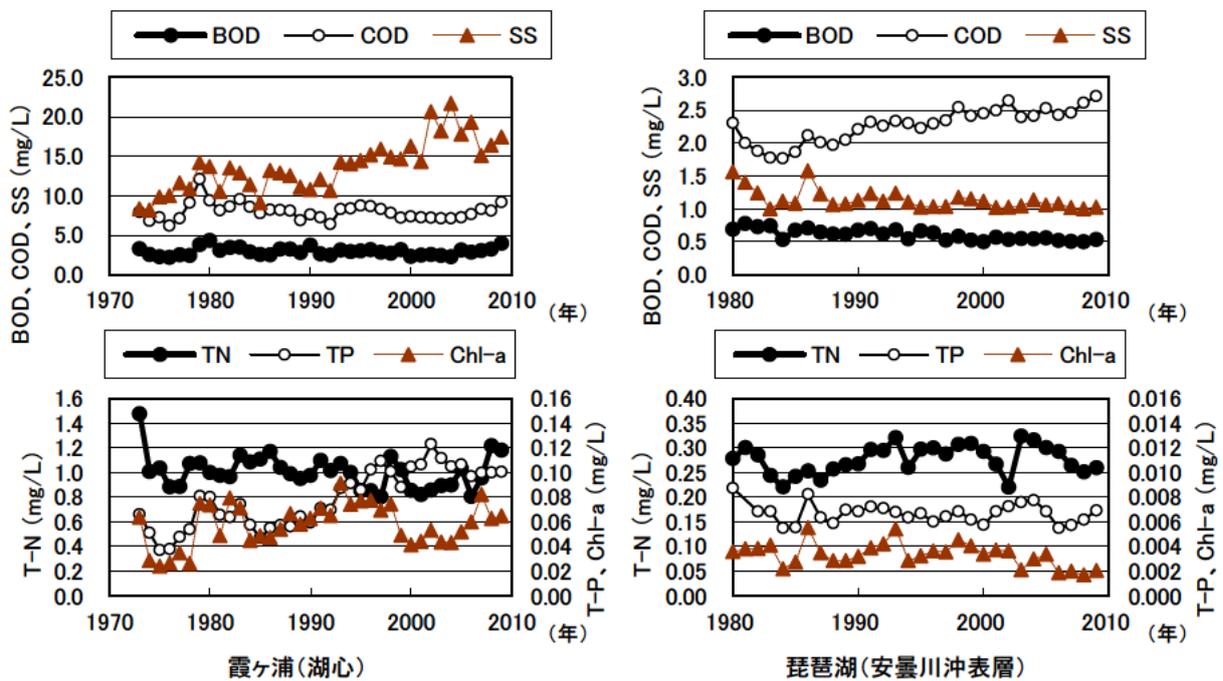


図 2.4-6 霞ヶ浦と琵琶湖の表層における主な水質項目の年平均値の経年変化

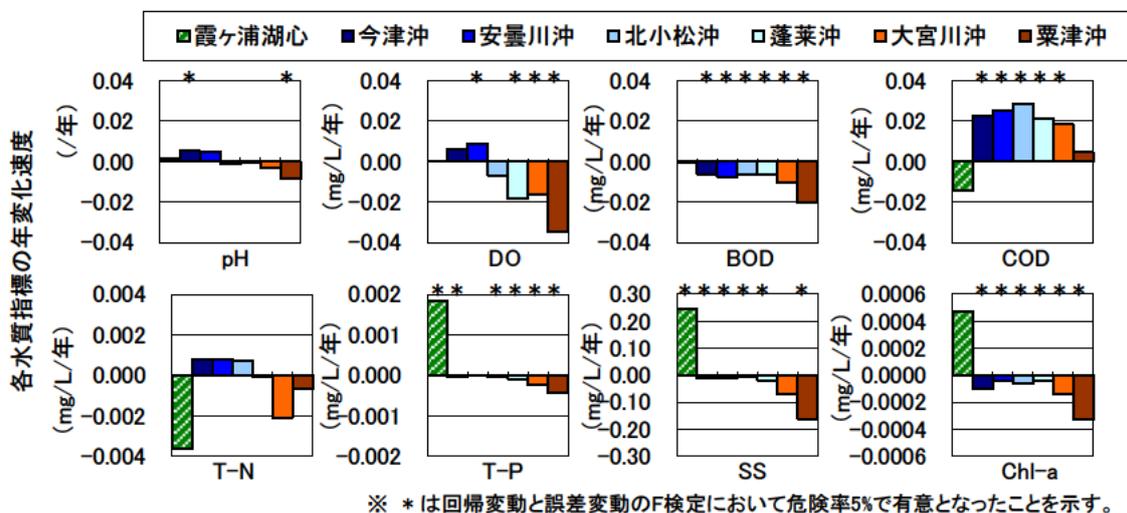


図 2.4-7 霞ヶ浦と琵琶湖の表層における主な水質項目の年平均値の年変化速度

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 2.4-5 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 2.4-6 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 2.4-7 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。水温と他の水質項目の関係を正確に解析するためには、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・水質の前年との差を求める隣接年比較法<sup>13)</sup>とした。図 2.4-8 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 の直接の相関は負、隣接年の差の相関は正となった。

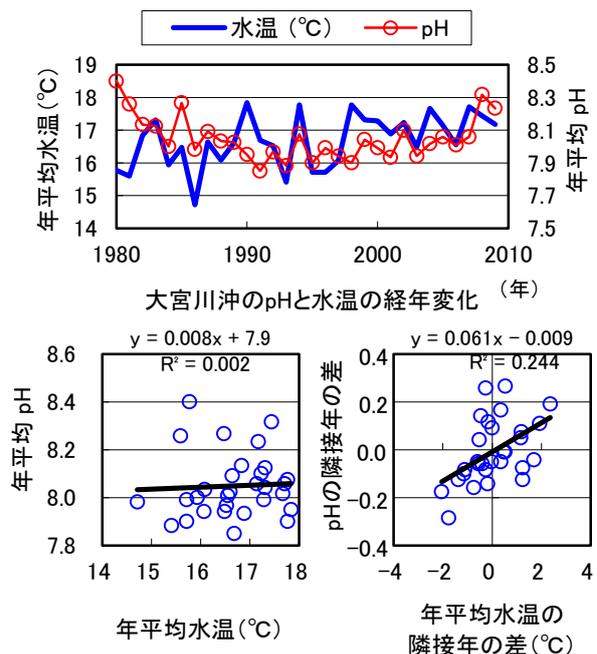


図 2.4-8 琵琶湖南湖大宮川沖における、水温と pH の経年変化、年平均水温と年平均 pH の関係、年平均水温の隣接年の差と年平均 pH の隣接年の差の関係

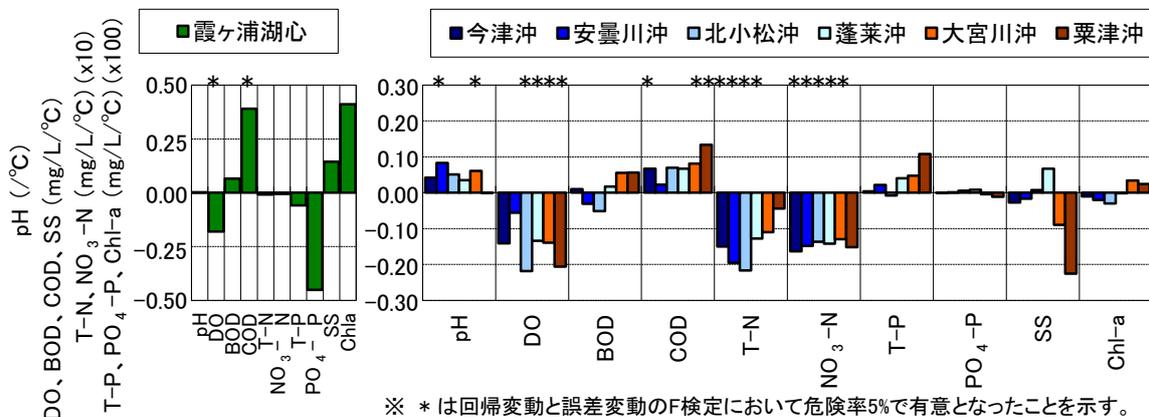


図 2.4-9 霞ヶ浦と琵琶湖表層における、水温上昇に対する主な水質項目の変化割合

年平均水温と pH の直接の相関には、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 (°C) となった。

図 2.4-9 は、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°C あたりの変化割合である。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 は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、気候変動が霞ヶ浦の水質に及ぼす影響を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、5 地点で pH が増加傾向を、6 地点で DO、T-N、NO<sub>3</sub>-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<sub>3</sub>-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、栗津沖で

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<sup>14)</sup>、水温上昇に対する Chl-a の応答も変化した可能性がある。

### 2.4.3 水深別の水温・水質の変化状況

図 2.4-10 は、今津沖の各水深の水温、DO、NO<sub>3</sub>-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。特徴的な傾向を以下に記述すると、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<sub>3</sub>-N 濃度は、表層から 10m までは、夏季の表層の藻類による NO<sub>3</sub>-N の消費を反映し、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<sub>3</sub>-N 濃度が増大していた。底層の NO<sub>3</sub>-N 濃度は、DO と関係があるこ

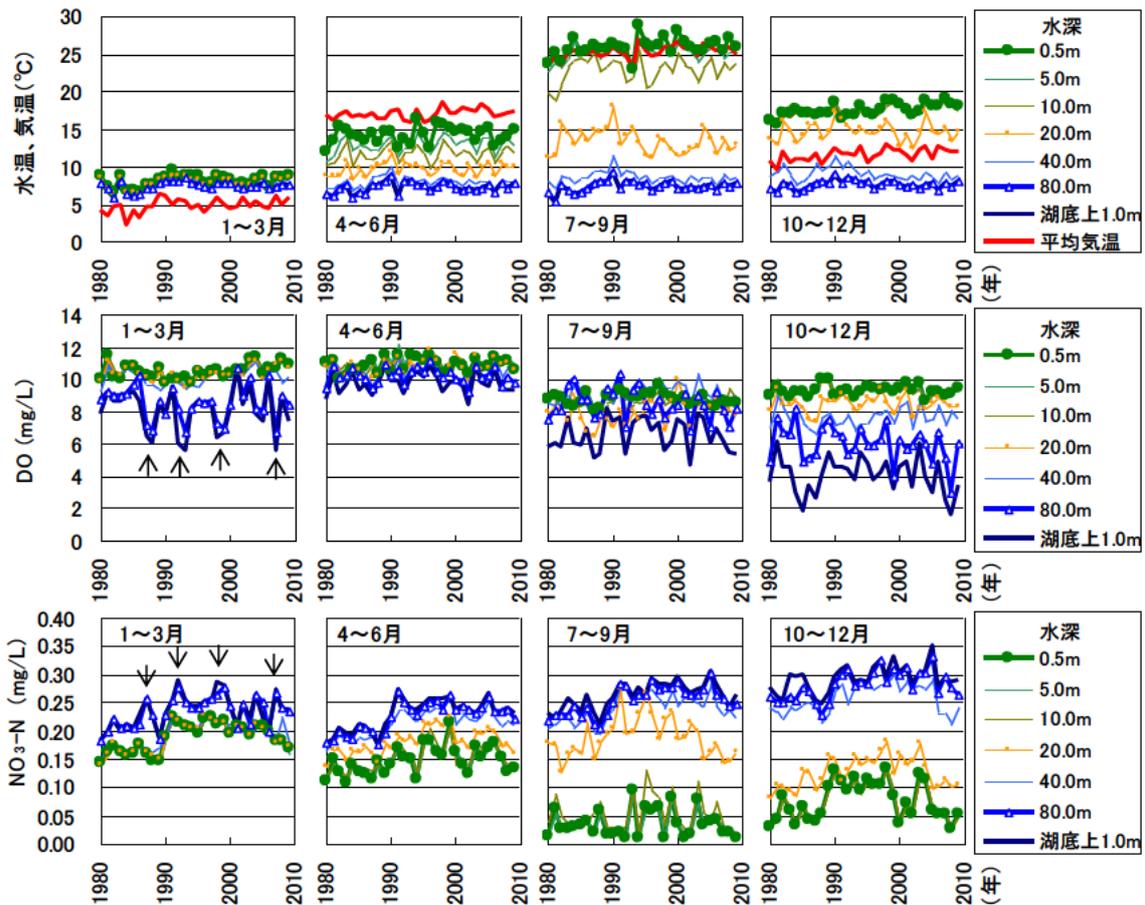


図 2.4-10 今津沖の各水深における各季節の水温、DO、NO<sub>3</sub>-N 濃度の経年変化

とがわかる。

図 2.4-11 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には相関がみられないが、年平均気温と底層の年平均水温には相関がみられた。水深 80m 地点の年平均水温の変化率は気温 1°Cあたり約 0.46°Cとなり、表層(図 2.4-4)と比較すると小さかった。図 2.4-12 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 2.4-13 は、各水深における主な水質項目の年変化速度である。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<sub>3</sub>-N 濃度と SiO<sub>2</sub> 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<sub>4</sub>-P 濃度は、水深 80m で7~9月に増加傾向を示した。COD は水深や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<sup>-</sup> 濃度は水深によらず一様な増加傾向を示した。

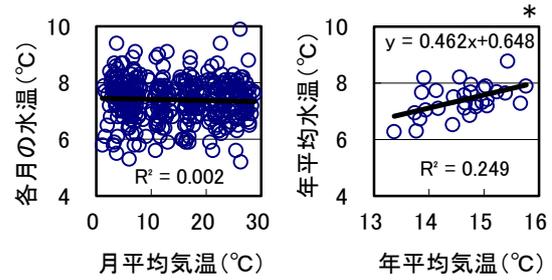
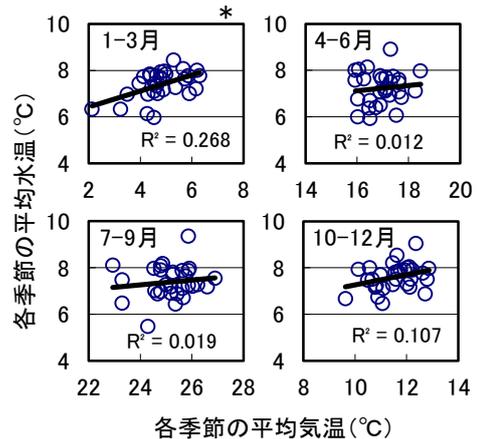
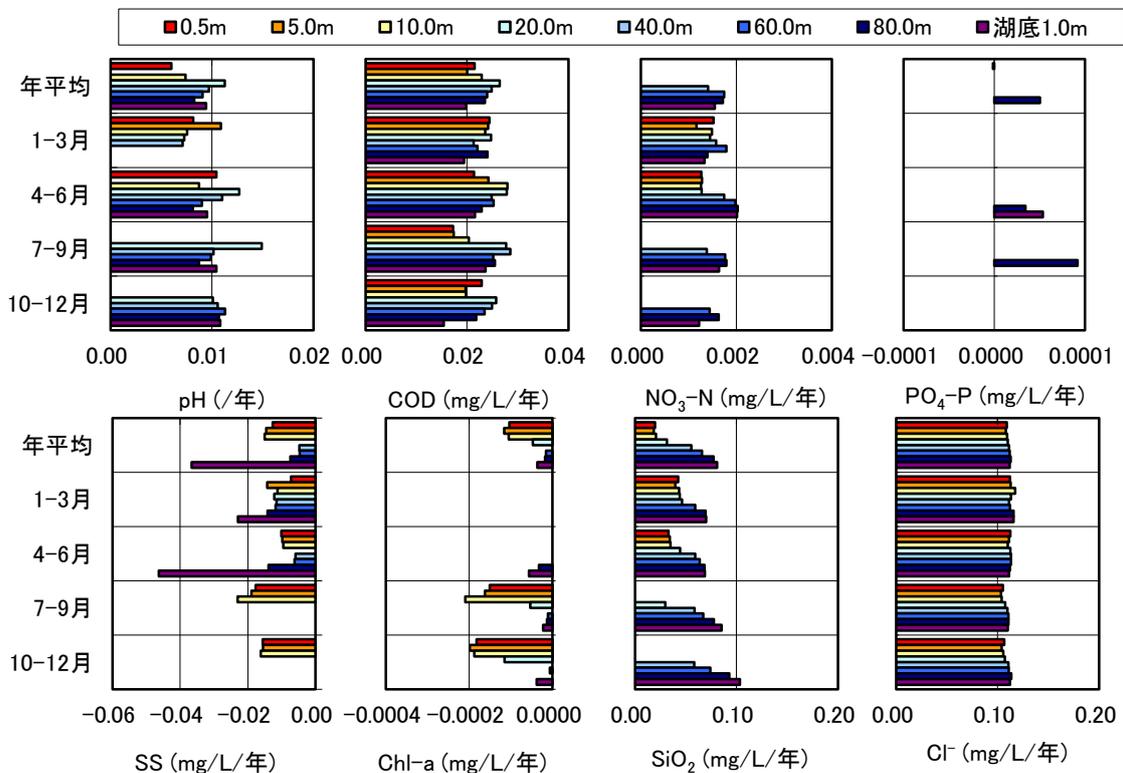


図 2.4-11 水深 80m 地点の気温と水温の関係



※ \* は有意な相関関係を示す(危険率5%)。

図 2.4-12 水深 80m 地点の季節ごとの気温と水温の関係



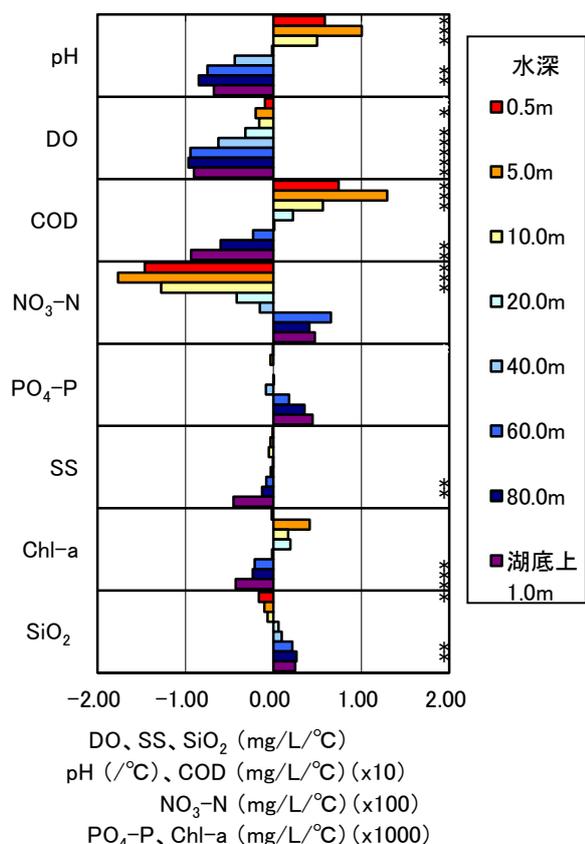
※ 回帰変動と誤差変動のF検定において危険率5%で有意となった項目のみを图示している。

図 2.4-13 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

水温変化と他の水質項目の変化の関係を解析するため、2.4.2と同様に隣接年比較法で解析した。図2.4-14は、各水深における、主な水質項目の水温1℃あたりの変化割合である。水温の上昇とともに表層では、pHとCODが増加し、NO<sub>3</sub>-N、SiO<sub>2</sub>濃度が減少した。表層0.5mにおけるCODの変化割合は+0.074mg/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<sub>2</sub>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の減少割合は水深80mが最も大きく、-0.97mg/L/℃であった。NO<sub>3</sub>-N、PO<sub>4</sub>-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



※ \* 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 2.4-14 各水深における、水温上昇に対する主な水質項目の変化割合

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。

#### 2.4.4 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、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) 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<sub>3</sub>-N濃度が減少傾向を示した。
- (5) 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。
- (6) 琵琶湖水深別の隣接年差解析では、水温の上昇とともに表層で、pHとCODが増加し、NO<sub>3</sub>-N、SiO<sub>2</sub>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<sub>2</sub>濃度が増加した。

#### 参考文献

- 1) 気象統計情報、気象庁  
<http://www.jma.go.jp/jma/menu/report.html>
- 2) (社)日本水道協会：昭和44年度水道統計、第52号、1971
- 3) (社)日本水道協会：昭和62年度水道統計、第70-2号、1989
- 4) (社)日本水道協会(ホームページ)：水道水質データベース、[http://www.jwwa.or.jp/mizu/or\\_up.html](http://www.jwwa.or.jp/mizu/or_up.html)、平成17年度
- 5) スタム&モーガン：一般水質化学(上)、共立出版

- (株)、p.176、1974
- 6)スタム&モーガン：一般水質化学（下）、共立出版  
(株)、p.500、1974
- 7)小林純：水の健康診断、岩波新書、pp.40-41;46-47、  
1971
- 8)久岡夏樹、藤木修(2009)、瀬田川水質自動監視デー  
タを用いた水中微生物群集の一次生産・呼吸速度の  
推定、学会誌「EICA」、14(2・3)、37-44.
- 9)滋賀県琵琶湖環境部環境政策課、「滋賀の環境 2012  
(平成 24 年版環境白書)」
- 10)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>
- 11)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/bkjindex.htm>
- 12)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.
- 13)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.
- 14)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.

### 3. 気温と河川・湖の水質の関係を明らかにするための実験

過去の水質データの解析から、近年、河川や湖沼において水温が上昇しており、水質が変化していることが示された。しかし、湖沼の水質は湖沼内部だけでなく流域の環境変化の影響も受けて変化している。水温の上昇に起因する水質変化と、土地利用の変化や人口増減などの要因による水質変化を分離することは困難であることから、実験から、気温や水温の変化に伴う水質の変化と藻類増殖に及ぼす影響を調査した。

#### 3.1 気温上昇が土壌からの無機イオン等の溶出に及ぼす影響

気温の上昇は、集水域から河川への栄養塩や無機イオン等の流出プロセスを変化させ、湖沼水質にも影響を及ぼすと考えられる。そこで、気温が森林土壌からの各種水質成分の溶出挙動に及ぼす影響を調査した。

##### 3.1.1 森林土壌培養 - 溶出実験の方法

土壌の採取地点は図 3.1-1 に示す山口川集水域内の森林（以下、筑波山林地）と、つくば市内に位置する土木研究所内の林地（以下、土研林地）である。筑波山林地は杉林土壌であり、土壌分類は褐色森林土壌である。土研林地は竹林土壌であり、土壌分類は黒ボク土である。

図 3.1-2 は実験条件の概要である。森林の表層付近の地温は、気温と同様季節変化を示すが、夏季は15°C~25°C程度である<sup>1)</sup>ことから、実験では15°Cと25°Cの2段階の温度条件を設定した。土壌採取日（2012/7/17）の地下10cmの地温は、土研林地は23.4°C、筑波山林地は20.7°Cであった。採土の前日に蒸留水を如雨露で50cm<sup>2</sup>の範囲に10L散布し、土壌の含水率を調整した。翌日に土壌をステンレス製スコップで表層堆積物、土壌深さ0~5cm、5~10cmの3層に分けて採取した。土壌試料はそれぞれ均一になるように混ぜ、チャック付きのポリ袋2つに分けた。また、0日目分析用土壌を1L容ポリビンに約100g、含水率等測定用土壌を磁皿に約70g（表層は約40g）分取した。

土壌は25°Cと15°Cの恒温容器に静置した。恒温容器内は暗室とし、土壌を入れた袋の口には若干隙間を空けて通気を保った。培養後10、20、41日目に袋をよく振って土壌を混ぜ、ゴム手袋と葉さじで一部を

1L容ポリビンに採取した。採取した土の重量は、10、20日目は約50g、41日目は約120gである。溶出操作は、土壌に蒸留水を重量比1対5になるように加え、120rpmで1時間回転振とうした後、懸濁液を50mL遠心管に移して3000rpmで40分間遠心分離を行い、上澄み液を得た。なお、蒸留水のpHは、雨水水質調査で年平均pHが4.6~5.5である<sup>2)</sup>ことを考慮し、使用前にあらかじめマグネティックスターラーを用いて400rpmで1時間以上攪拌して大気中のCO<sub>2</sub>を溶解させ、5付近とした。

上澄み液は、GF/Bでろ過してDOCとEEMを測定し、孔径0.45μmのメンブレンフィルターで再びろ過してNH<sub>4</sub>-N、NO<sub>3</sub>-N、PO<sub>4</sub>-P、Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Ca<sup>2+</sup>、Cl<sup>-</sup>、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>を測定した。0、41日目は孔径0.45μmのメンブレンフィルターでろ過した試料について、金属（Fe、Mn、Cu、Al、Zn、B、Mo、Ni、Co）を分析した。なお、懸濁態成分は分析していない。含水率は、0、10、20、41日目に土壌を少量磁皿に採取して60°Cで2日間乾燥し、乾燥前後の重量を測定して求めた。0日目は含水率を測定した後の土壌を乳鉢ですりつぶし、強熱減量、交換性陽イオンを測定した。交換性陽イオンは、土壌粉末2.5gと1N CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub> 50mLをポリビンにとり、120rpmで60分間攪拌し、GF/Bおよびメンブレンフィルターでろ過後、Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Ca<sup>2+</sup>を測定した。

溶出液の藻類増殖特性を把握するため、41日目にGF/Bでろ過した試料を用いて2条件でAGP試験を行った。溶出液のpHは水酸化ナトリウムで約7に調



図 3.1-1 森林土壌採取地点

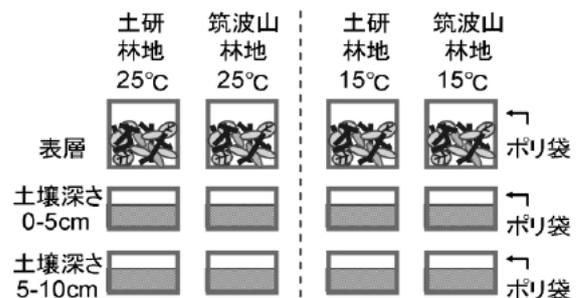


図 3.1-2 森林土壌培養 - 溶出実験の実験条件の概要

整した。条件1では、溶出液を300mL容三角フラスコに100mLとり、セレンストルムを約1100 cell/mLとなるように添加した。条件2では、溶出液を100mL容三角フラスコに49mLとり、霞ヶ浦湖水を1%添加した。培養条件は温度24°C、照度約3000 lux、明/暗=12h/12hの周期で、条件1では毎日手で振り混ぜ、条件2では90rpmの回転振とうとした。

### 3.1.2 実験結果

図3.1-3は、採取した土壌の含水率と強熱減量、強熱残留物の割合である。含水率は土研林地では35~45%、筑波山林地では32~65%であった。強熱残留物の割合は土壌深さ5-10cmで、強熱減量の割合は表層で高かった。図3.1-4は交換性陽イオンの濃度である。試料100gあたりの保持イオンの量は表層で大きく、交換性陽イオンの主要成分はCa<sup>2+</sup>、K<sup>+</sup>、Mg<sup>2+</sup>であった。

図3.1-5は、含水率と土壌溶出液のpHの変化である。どの実験条件でも含水率は41日間概ね一定であった。溶出操作に用いた蒸留水のpHは、0日目は4.5、10~41日目は約5.3であったが、土壌溶出液のpHは、土研林地表層では6.0前後、他の試料では3.5~5.0の範囲となった。pHの経目的な変化をみると、土研林地と筑波山林地のどちらも0~5cmと5~10cmの試料では低下し、表層での変化は小さかった。

図3.1-6は、乾燥土壌100gあたりのNO<sub>3</sub>-N、NH<sub>4</sub>-N、PO<sub>4</sub>-P、DOCの溶出量である。NO<sub>3</sub>-Nの

溶出量は土研林地では0~5cmで、筑波山林地では表層と0~5cmで経目的に増加した。これらの試料では、15°Cよりも25°Cの条件で増加が大きかった。5~10cmの試料は、土壌乾燥重量の80%以上が強熱残留物である無機物であり、窒素含有量が元々少なかったため、NO<sub>3</sub>-Nの溶出量が低くなったものと思われる。

NH<sub>4</sub>-Nは、NO<sub>3</sub>-Nと比較すると溶出量が小さかった。PO<sub>4</sub>-Pは、筑波山林地の表層の溶出液でのみ検出された。DOCの溶出量は、表層で大きく、5~10cmではほとんど溶出しなかった。表層の溶出量の変化は土研林地と筑波山林地のどちらも、25°Cで10日目に溶出量が増大しその後低下した。

図3.1-7は無機イオンの溶出量の変化である。Na<sup>+</sup>は、土研林地の表層と0~5cmで若干増加し、土研林地の5~10cmと筑波山林地では概ね横ばいであった。また、温度による溶出量の違いは小さかった。K<sup>+</sup>は、土研林地と筑波山林地のどちらも表層で経目的に増加した。筑波山林地の表層では15°Cよりも

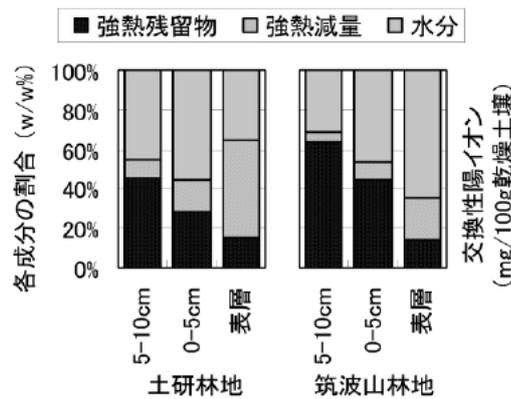


図 3.1-3 土壌試料の含有水量、強熱減量、強熱残留物の割合

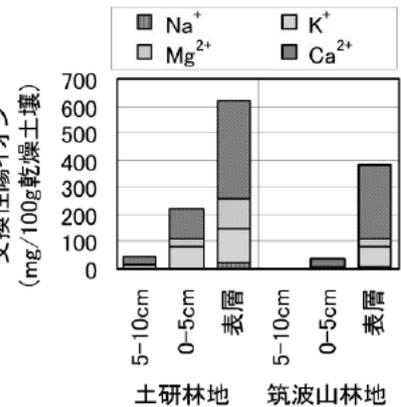


図 3.1-4 土壌試料の交換性陽イオン濃度

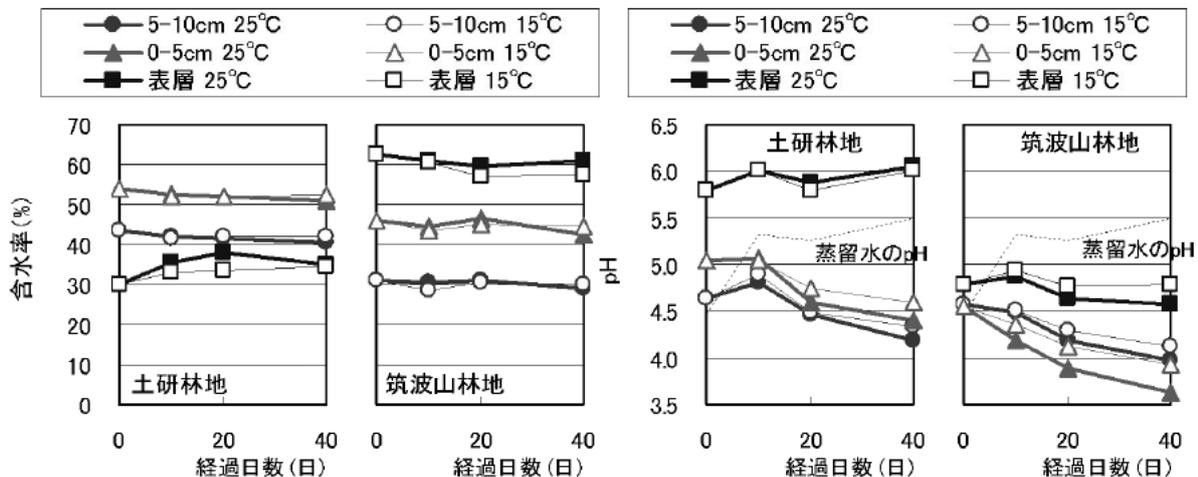


図 3.1-5 森林土壌培養 - 溶出実験における土壌の含水率と土壌溶出液のpHの変化

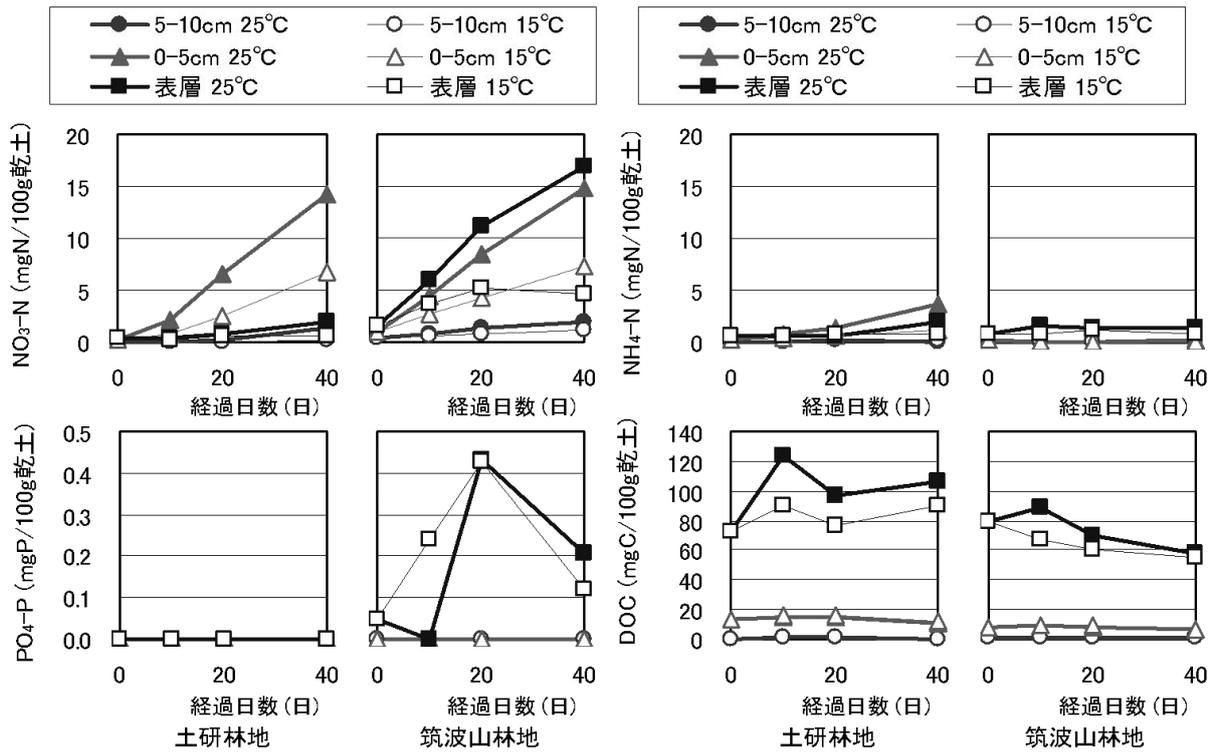


図 3.1-6 NO<sub>3</sub>-N、NH<sub>4</sub>-N、PO<sub>4</sub>-P、DOC の溶出量の変化

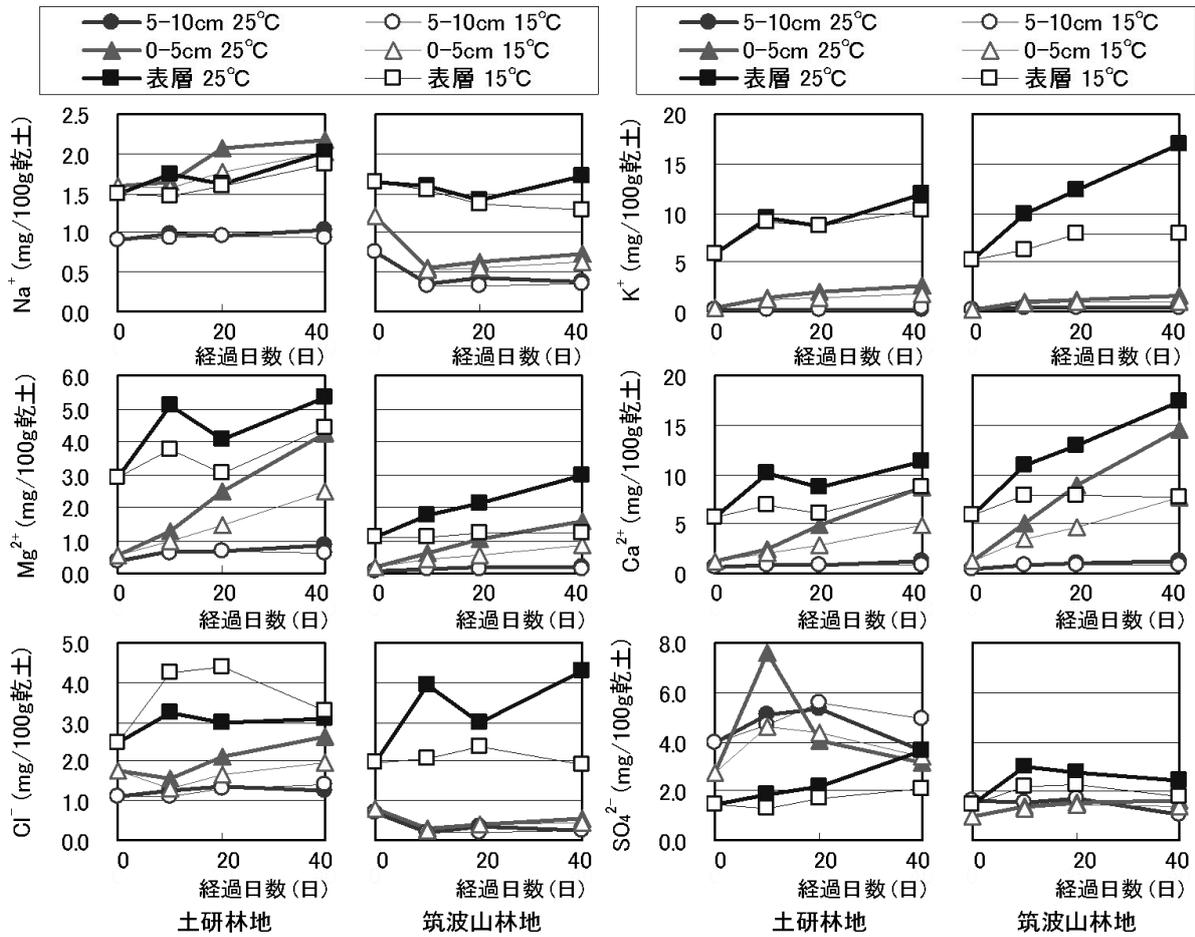


図 3.1-7 Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Ca<sup>2+</sup>、Cl<sup>-</sup>、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>の溶出量の変化

25°CでK<sup>+</sup>の溶出が大きくなった。Mg<sup>2+</sup>は土研林地表層では10日目と41日目に高くなり、0~5cmでは経日的に増加し、15°Cよりも25°Cで溶出量が大きくなっていった。筑波山林地の表層では25°Cで経日的に増加したが、15°Cでは横ばいであった。0~5cmでは15°Cよりも25°Cで増加が大きかった。Ca<sup>2+</sup>の変化はMg<sup>2+</sup>と類似しており、表層と0~5cmのどちらも、15°Cよりも25°Cで増加が大きかった。Cl<sup>-</sup>は、土研林地では表層の15°Cで、10、20日目に高くなった。表層の25°Cや0~5cm、5~10cmでは概ね横ばいであった。筑波山林地では表層の25°Cで、10日目と41日目に高くなった。SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>は、土研林地では5~10cmで溶出量が大きく、表層で溶出量が小さかった。0~5cmの25°Cでは10日目に溶出量が増大した。筑波山林地での変化は横ばいであり、採取深さや温度による溶出量の違いが小さかった。

図3.1-8は土壤溶出液のEEMの主なピーク位置の蛍光強度の変化である。どのピークも、蛍光強度は表層で高く、0~5cmと5~10cmで低かった。Peak①（タンパク質様ピーク、Ex230nm/Em300nm）は土研林地の表層では0日目に高く、経日的に減少する変化を示した。筑波山林地の表層では20日目から41日目にかけて減少した。Peak②（タンパク質様ピーク、Ex230nm/Em340nm）、Peak③（タンパク質様ピーク、Ex280nm/Em340nm）は土研林地の表層では10日目に高くなった。筑波山林地の表層では若干減少傾向がみられた。Peak④（フミン・フルボ酸様ピーク、Ex230nm/Em425nm）とPeak⑤（フミン・フルボ酸様ピーク、Ex320nm/Em425nm）は概ね横ばいであった。土研林地の表層では25°CでPeak⑤が高かった。

図3.1-9は、0日目と41日目の金属の溶出量である。Feの溶出量は、筑波山林地の表層で大きく、41日目には0日目より増加した。25°Cでは15°Cと比較すると溶出量の増加が小さかった。土研林地の表層、0~5cmと筑波山林地の0~5cmでは溶出量は小さかったが、41日目で比較すると、25°Cでは15°Cより溶出量が低くなる傾向があった。

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

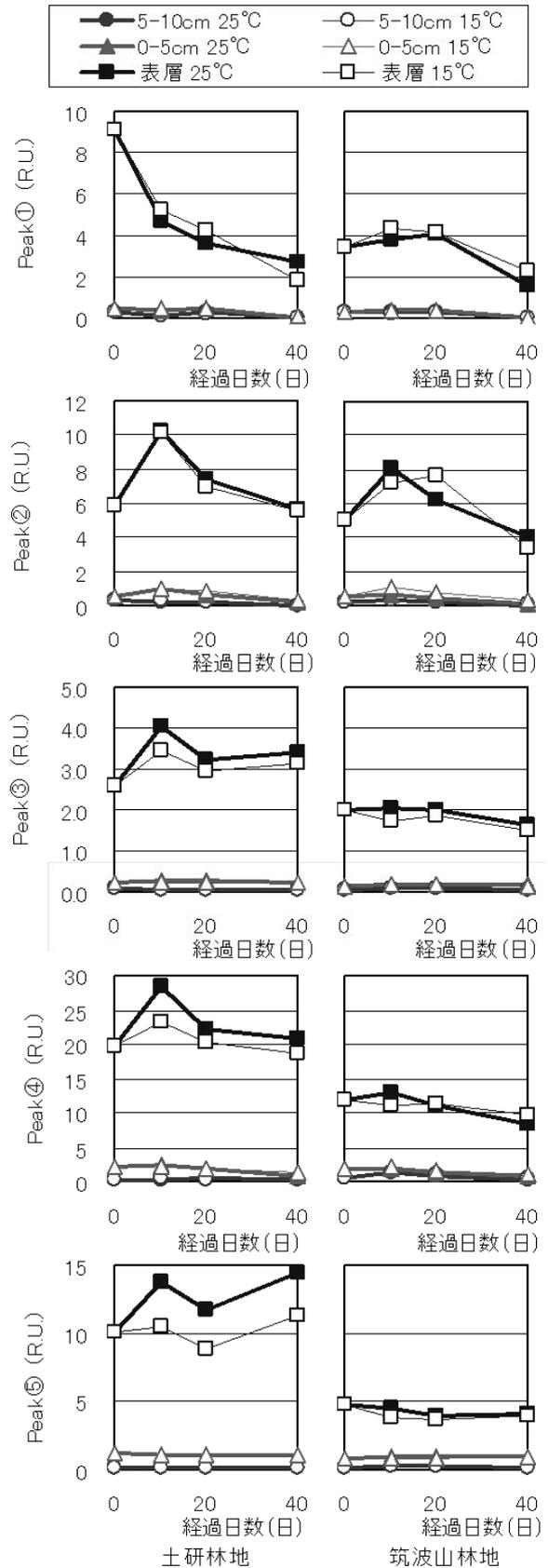


図3.1-8 土壤溶出液のEEMの主なピークの蛍光強度の変化

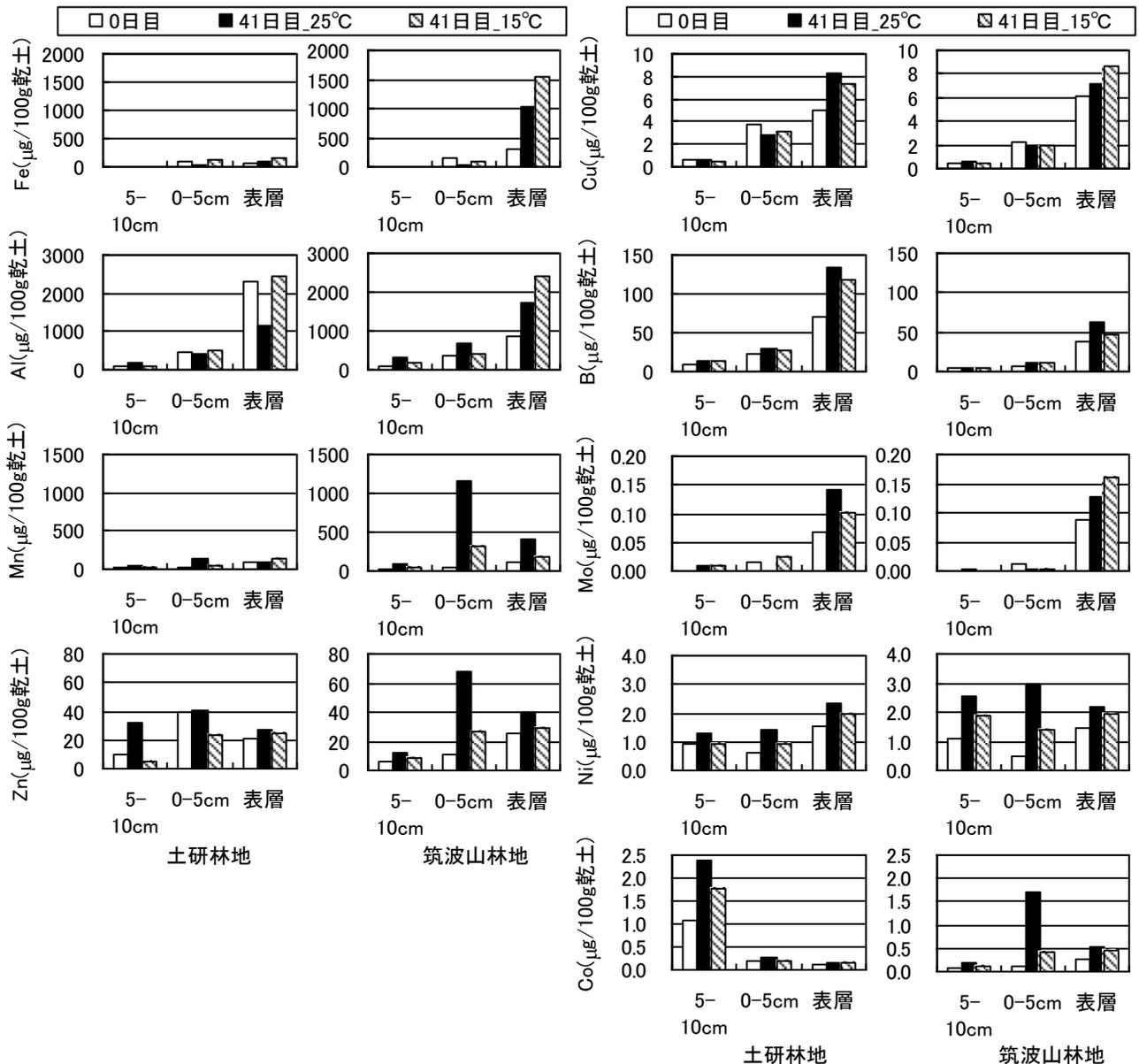


図 3.1-9 0 日目と 41 日目の 25°C および 15°C の条件における金属溶出量の比較

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

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

Cu は、土研林地の表層では 15°C よりも 25°C で溶出量の増加が大きかったが、筑波山林地の表層では 25°C は 15°C より溶出量の増加が小さかった。5~

10cm、0~5cm では顕著な変化はみられなかった。

B は、土研林地と筑波山林地のどちらも表層で溶出量が大きく、41 日目には 15°C よりも 25°C で溶出量の増加が大きかった。5~10cm、0~5cm でも 15°C より 25°C で若干大きくなっていった。

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

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

Co は、土研林地では 0、41 日目に 5~10cm で、筑波山林地では 41 日目に 0~5cm の 25°C で溶出量が大きかった。また、15°C よりも 25°C で溶出量が大き

くなる傾向がみられた。

温度による溶出挙動の変化を把握するため、25°Cでの溶出量から15°Cでの溶出量を引き、差を求めた。図3.1-10は10、20、41日目の主な水質項目の差である。pHは、土研表層を除いて、温度が高いと低くなる傾向がみられた。筑波山林地ではいずれも経過日数とともに差が増大した。NO<sub>3</sub>-Nは、どの試料も温度が高いと溶出量が増加し、経過日数とともに差が増大した。小野寺ら<sup>3)</sup>による実験でも、温度の高い条件で静置された土壌ではNO<sub>3</sub>-Nの生成量と溶出液のpHの低下量が大きくなる結果が得られている。温度が高い条件では有機態窒素の無機化と硝化反応が促進され、NO<sub>3</sub>-Nが蓄積されたと考えられ、pHの低下は、硝化反応に伴い放出される水素イオンによると考えられる。土研林地表層ではNO<sub>3</sub>-Nの溶出量が小さく差も小さかったが、これは含水率が低

いため微生物反応が抑制された可能性がある。

Na<sup>+</sup>の溶出量の温度による差は最大でも0.4(mg/100g乾燥土壌)であり、他の陽イオンと比較すると小さかった。また、経過日数による差の変化は土壌試料によって異なった。K<sup>+</sup>の溶出量の差は、筑波山林地表層で大きかった。また、土研林地と筑波山林地のいずれも、0~5cmと表層で、経過日数とともに差が増加する傾向がみられた。Mg<sup>2+</sup>とCa<sup>2+</sup>の溶出量の温度による差は、土研林地の5~10cmでは小さく、0~5cmでは経過日数とともに増加し、表層では低下した。筑波山林地では0~5cmと表層で差が大きく、経過日数とともに差が増加する傾向がみられた。SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>の溶出量は、土研林地と筑波山林地の表層で、15°Cより25°Cで大きかった。しかし、経過日数に応じた差の変化はみられなかった。土研林地の0~5cmと5~10cmでは、10日目は温度が高い条件で、

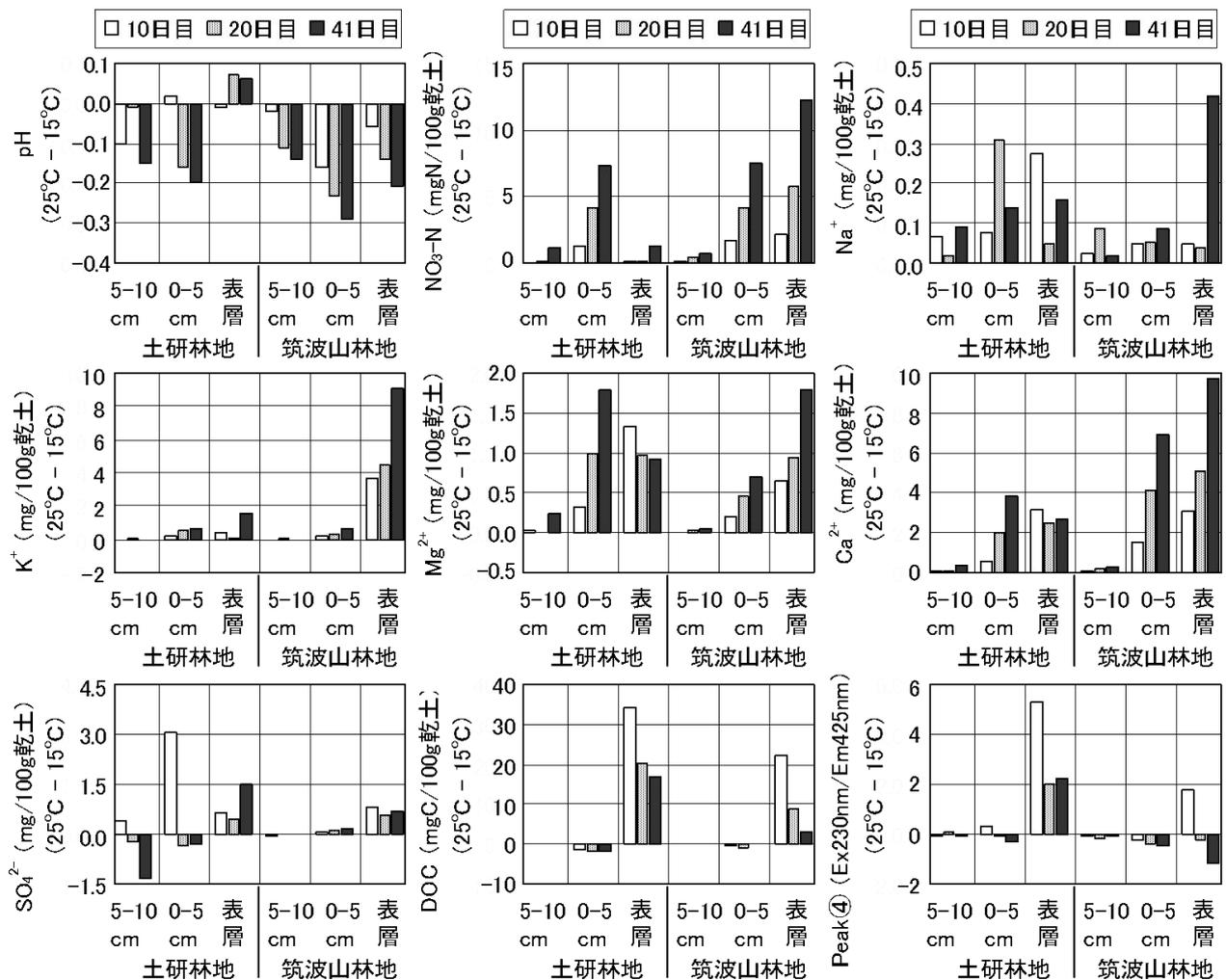


図3.1-10 pH、NO<sub>3</sub>-N、Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Ca<sup>2+</sup>、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、DOCの溶出量およびEEMのPeak④の蛍光強度の25°Cと15°Cの差の変化

20、41 日目は温度が低い条件で溶出量が大きくなった。

DOC は、土研林地と筑波山林地の表層で温度が高いと大きく、経過日数とともに差が小さくなった。EEM の Peak④ (Ex230nm/Em425nm、フルボ酸様物質) の蛍光強度は概ね DOC の差の変化と同様であった。

以上から、NO<sub>3</sub>-N、K<sup>+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Ca<sup>2+</sup>は温度が高いと溶出量が大きくなり、時間の経過によってその差が増大する傾向であった。一般に、生物反応は温度が 10℃上昇すると反応速度が 2~3 倍になるといわれている。そこで、41 日目の溶出量から 0 日目の溶出量を引き、日数で割った値を各物質の可溶化速度とみなした。そして 25℃での可溶化速度を 15℃での可溶化速度で割った比を求めた。図 3.1-11 は、NO<sub>3</sub>-N、Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Ca<sup>2+</sup>、DOC の 25℃と 15℃の可溶化速度および比である。NO<sub>3</sub>-N の可溶化速度はどの土壌試料も 25℃で高かった。土研林地の 5~10cm を除くと、可溶化速度の比は約 2~6 倍であった。土研林地の 5~10cm では 14.6 倍となったが、これは 15℃の条件で溶出量の変化が小さかったためである。

土研林地では、Na<sup>+</sup>の可溶化速度は正であり、25℃で高く、比は 1.3~3.4 であった。筑波山林地の 5~

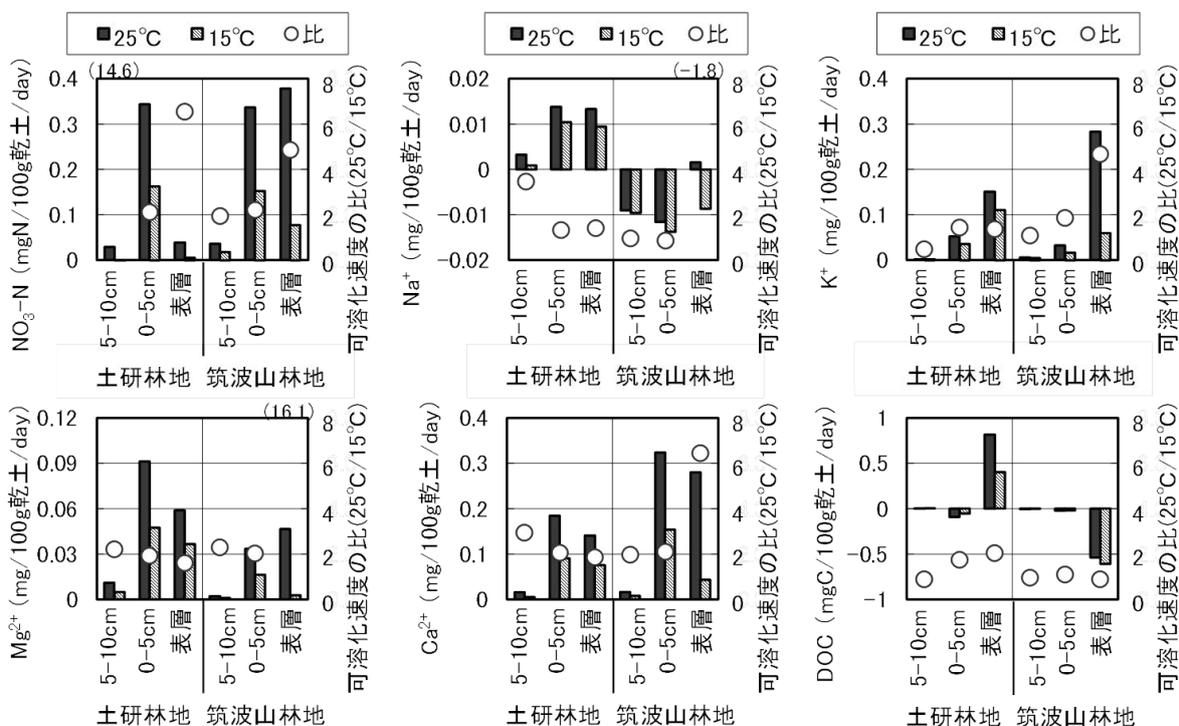
10cm、0~5cm では可溶化速度が負になった。これは、41 日目の溶出量が 0 日目より少なかったことを意味する。筑波山林地の表層では、可溶化速度は 25℃で正、15℃で負となり、比も負の値となった。温度による Na<sup>+</sup>の溶出量の変化は、土壌によって異なることがわかった。

K<sup>+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Ca<sup>2+</sup>の可溶化速度の比は、概ね 1 より大きくなった。筑波山林地の表層ではいずれも比が高かった。他の試料についてみると、10℃の温度上昇に対し Mg<sup>2+</sup>、Ca<sup>2+</sup>の可溶化速度は約 2 倍になっていた。温度が高いと、硝化反応が促進され土壌間隙水中の pH が低下するが、土壌中の Mg<sup>2+</sup>や Ca<sup>2+</sup>による緩衝作用が働く<sup>4)</sup>ため、これらの無機陽イオンが溶出すると推測される。

DOC は、土研林地の表層では、温度が高い条件で可溶化速度が高くなった。DOC の可溶化速度の比は 0.8~2.0 であった。

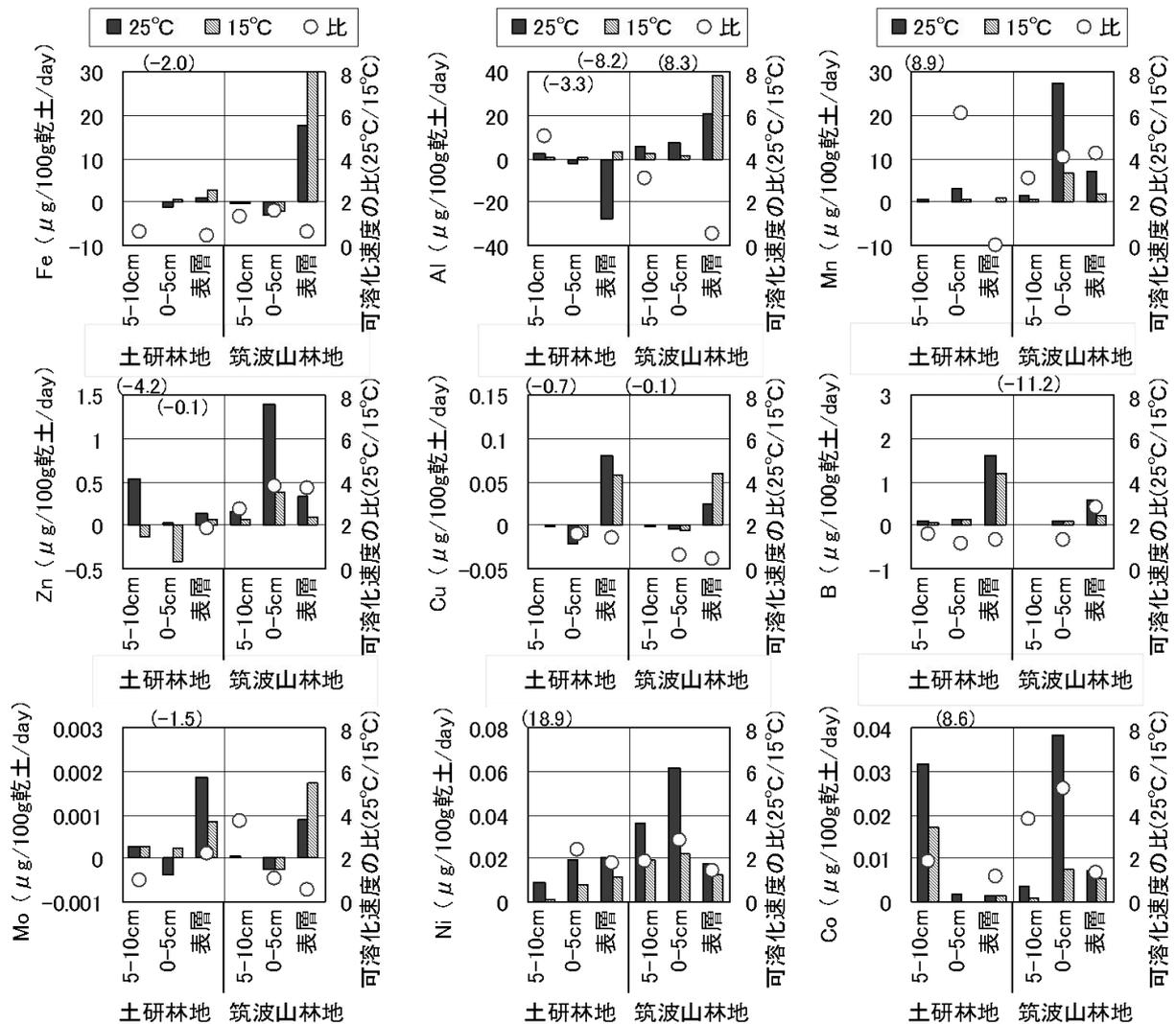
図 3.1-12 は、金属の 25℃と 15℃の可溶化速度および比である。Fe の可溶化速度は筑波山林地表層で大きかったが、比は 1 を下回った。

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



※ 比の値がグラフ内に収まらないものは、グラフ上部に括弧で値を示した。

図 3.1-11 25℃と 15℃における NO<sub>3</sub>-N、Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Ca<sup>2+</sup>、DOC の可溶化速度とその比



※ 比の値がグラフ内に収まらないものは、グラフ上部に括弧で値を示した。

図 3.1-12 25°Cと 15°Cにおける金属の可溶化速度とその比

Mn の可溶化速度は正であり、土研林地表層を除いて比が 2 以上となった。土壤中では、難溶性の 3 価と 4 価の Mn と可溶性の  $Mn^{2+}$  が平衡状態にあり、pH が 6 以上だと  $Mn^{2+}$  はほとんど溶出しな<sup>5)</sup>。土研林地の表層では、41 日目の溶出液の pH が、25°C と 15°C のどちらも約 6 であったため、Mn が溶出せず、比が低くなったと推測される。

Zn は土研林地表層と、筑波山林地の各試料で可溶化速度の比が 2 以上となった。

Cu の可溶化速度は表層で正となったが、比は 2 を下回った。

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

Mo の可溶化速度は Cu と類似しており、表層で正となった。

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

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

以上の結果から、気温の上昇によって森林土壌の pH が低下し、土壌からの  $NO_3-N$ 、 $K^+$ 、 $Mg^{2+}$ 、 $Ca^{2+}$  や Mn、Zn、B、Ni、Co の溶出量が増大する可能性が示唆された。

次に、温度の違いによって生じた土壌溶出液中の成分が藻類増殖に及ぼす影響を調べた結果を記す。図 3.1-13 は、セテナストルムを用いた AGP 試験における、各試料の 650nm 吸光度の変化である。セテナストルムは筑波山林地表層の土壌溶出液で増殖した。25°C の土壌溶出液では、22 日目まで増加が続いたが、15°C の土壌溶出液では 12 日目以降横ばいとなった。図 3.1-14 は、土浦港湖水を用いた AGP 試験

の、650nm 吸光度の変化である。セレナストルムと同様筑波山林地表面層で増加が大きく、25°Cの土壤溶出液では 18 日目まで増加が続いた。図 3.1-15 は、藻類の増加が大きかった筑波山林地表面層の土壤溶出液中に観察された藻類の個体数（群体数）に基づく構成である。図 3.1-16 は、湖水の藻類を添加した条件での主な出現藻類の顕微鏡写真である。0 日目は光学顕微鏡による分類が困難な微小藻類の割合が高かった。微小藻類は 25°C、15°Cのどちらの溶出液でも多く出現し、21 日目には 25°Cの溶出液で約 70%、15°Cの溶出液で約 50%を占めた。珪藻は、25°Cの土壤溶出液では 7 日目に高い割合となったがその後低下し、21 日目には 25°C、15°Cのどちらの溶出液でも同じ程度の割合となった。出現珪藻の種類は、主に *Cyclotella*、*Urosolenia*、*Nitzschia* であった。緑藻は、21 日目にはどちらの溶出液でも約 10%を占め、主に

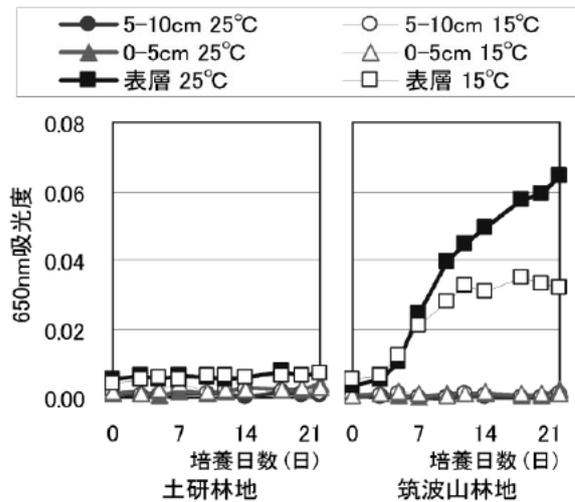


図 3.1-13 セレナストルムを用いた AGP 試験の 650nm 吸光度の変化

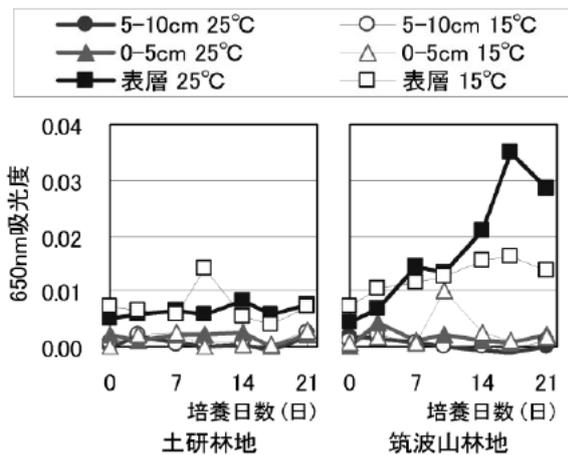


図 3.1-14 土浦港湖水を用いた AGP 試験の 650nm 吸光度の変化

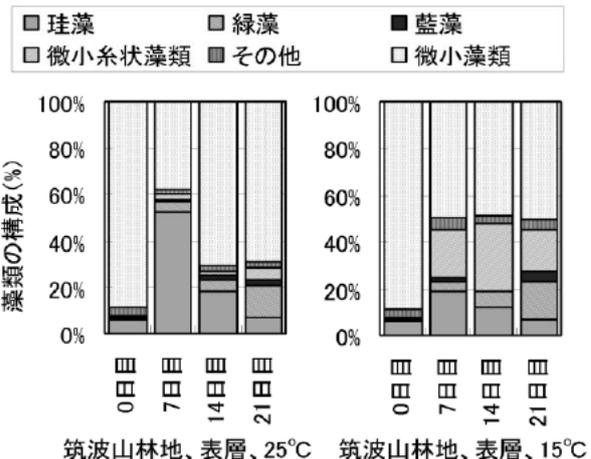


図 3.1-15 筑波山林地表面層の土壤溶出液で

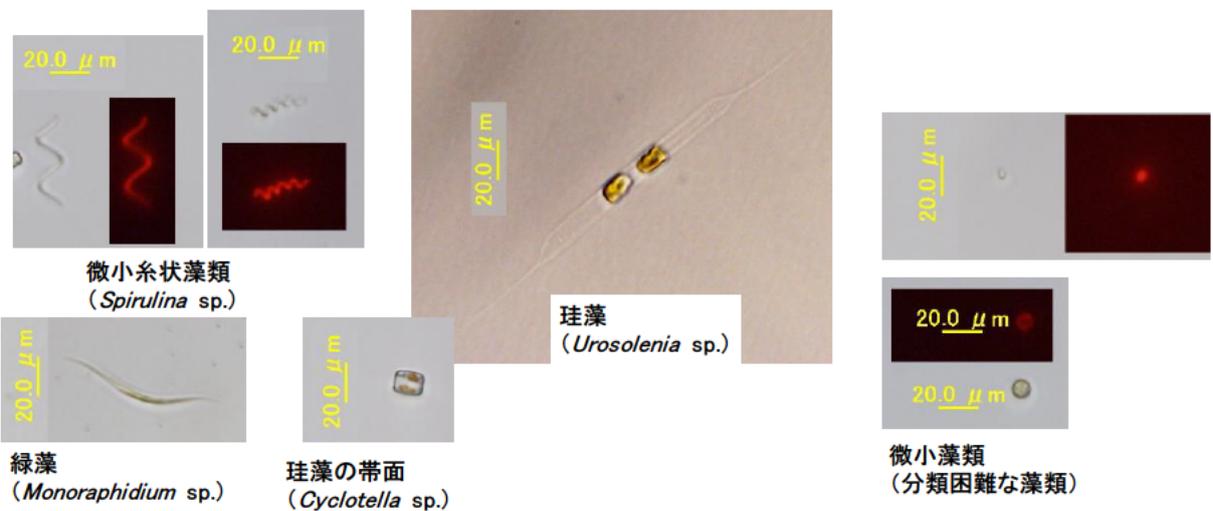


図 3.1-16 筑波山林地表面層の土壤溶出液で観察された藻類の顕微鏡写真

*Monoraphidium* がみられた。微小糸状藻類は、藍藻の *Spirulina* と考えられるらせん状の藻類で、25℃の溶出液にはあまり観察されなかったが、15℃の溶出液では約 20%程度の割合を占めた。その他の藍藻としては、割合は少ないが *Oscillatoria* や *Merismopedia* などが観察された。

以上から、筑波山林地の表層の 25℃の溶出液は他の試料と比較して藻類増殖ポテンシャルが高いことがわかった。気温の上昇と降雨によって山林表層の堆積物に由来する負荷が河川水で増大すると、下流で藻類が増殖しやすくなると推測された。

### 3.1.3 まとめ

森林土壌培養 - 溶出実験から気温に対する土壌中の金属類や有機物等の溶出挙動および溶出液の藻類増殖ポテンシャルを調査した。本研究で得られた主要な知見を以下に示す。

(1) 土壌溶出液の pH は、土壌深さ 5~10cm と 0~5cm の土壌で低下することがわかった。

(2) NO<sub>3</sub>-N の溶出量は、土壌深さ 0~5cm の土壌で増加し、山林表層でも増加することがわかった。

(3) K<sup>+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Ca<sup>2+</sup>は、温度が高い条件で溶出量が大きくなる傾向がみられた。Mg<sup>2+</sup>と Ca<sup>2+</sup>の溶出挙動は類似していた。

(4) D-Fe、D-Al は表層の 15℃で溶出量が大きかった。

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

(6) NO<sub>3</sub>-N、K<sup>+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Ca<sup>2+</sup>の可溶化速度は、25℃では 15℃の約 2 倍以上となっていた。

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

## 3.2 温度と鉄濃度が藻類増殖に及ぼす影響

2.2 の水道原水水質の解析から、河川水中の Fe 濃度が低下傾向にあることが示された。そこで、藻類

培養実験を行い、河川水の上昇と Fe 濃度低下が湖水中の藻類に及ぼす影響を調査した。

### 3.2.1 実験方法

霞ヶ浦は 2011 年 7 月に土浦港、琵琶湖は同 10 月に東岸大藪湖岸から湖水を採水し、これらの湖水に含まれる藻類を用いて藻類培養実験を行った。藻類培養培地は、Chu 培地を栄養塩濃度が河川水レベルとなるように改変し用いた。図 3.2-1 に実験条件の概要、表 3.2-1 に人工河川水の組成を示した。水温が藻類の増殖や水質に及ぼす影響を評価するため、培養温度は 18℃、21℃、24℃、27℃、30℃の 5 段階とした。人工河川水の Fe<sup>3+</sup>濃度は、河川水の Fe 濃度が 1987 年から 2005 年にかけて減少していることから、Fe 濃度と藻類増殖の関係を把握するため 0.1mgFe/L、0.2mgFe/L、0.4mgFe/L の 3 段階に設定した。霞ヶ浦の藻類培養実験での窒素とリン濃度は、2009 年度の西浦流入河川 14 河川の平均の NO<sub>3</sub>-N 濃度 (2.7mgN/L) と PO<sub>4</sub>-P 濃度 (0.034mgP/L) を参考にした。シリカの濃度は、2001~2003 年の茨城県と千葉県の水 (水道原水) の溶存 SiO<sub>2</sub> 濃度<sup>9)</sup>を参考に、7mgSi/L とした。琵琶湖の藻類培養実験での窒素とリン濃度は、2008 年 8 月の流入河川の NO<sub>3</sub>-N 濃度 (約 0.56mgN/L) と PO<sub>4</sub>-P 濃度 (約 0.025mgP/L) を参考にした。シリカの濃度は、2003 年の野洲川の溶存 SiO<sub>2</sub> 濃度<sup>7)</sup>を参考に 6mgSi/L とした。また、コントロール試料として超純水に湖水を添加して培養を行った。

藻類の培養は、各実験条件につき 1 本の 500mL 容コニカルビーカーで行った。人工河川水を 300mL 入れ、湖水を 3mL 添加し、マンボー攪拌子を入れてシリコセンで蓋をした。温度は温度勾配恒温機で各条件に合わせ、照明は蛍光灯を用いて照度約 10,000lux、明/暗=16h/8h の周期で側面から照射し、スターラーで常時攪拌し培養を行った。また、別の容器に人工河川水 100mL を取って湖水 1mL を加え、0 日目の試料とした。

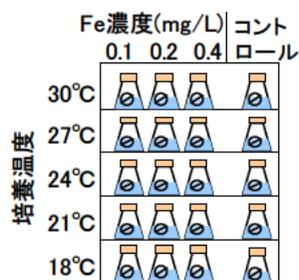


図 3.2-1 実験条件の概要

表 3.2-1 人工河川水の組成

	霞ヶ浦藻類培養実験		琵琶湖藻類培養実験		PIV金属混液組成	
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	25.3 mg	3.0mgN/L	5.1 mg	0.6mgN/L	FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O	196.0 mg
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.22 mg	0.040mgP/L	0.17 mg	0.030mgP/L	MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	36.0 mg
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	25.0 mg		25.0 mg		ZnCl <sub>2</sub>	10.5 mg
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	20.0 mg		20.0 mg		CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	1.0 mg
FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O	設定濃度に応じて添加		設定濃度に応じて添加		Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	2.5 mg
Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub> ·9H <sub>2</sub> O	70.8 mg	7.0mgSi/L	60.7 mg	6.0mgSi/L	Na <sub>2</sub> EDTA·2H <sub>2</sub> O	1000 mg
PIV金属混液(mL)	1 mL		1mL		Water	1 L
Water	1 L		1 L			

7、14、28、42 日目に藻類培養液を抜き取り、藻類と水質の分析を行った。藻類培養液は、未ろ過で pH と 650nm 吸光度を測定し、フローサイトメトリーと顕微鏡により藻類の種類と細胞数を測定した。さらに、藻類の種類と量を簡易に測定できるか否かを検討するため、藻類培養液を GF/B でろ過したろ紙を、110°Cで乾燥させた後、フーリエ変換赤外分光光度計 (FT/IR-6300 : 日本分光) により赤外スペクトルを測定 ( $550\text{cm}^{-1}\sim 4000\text{cm}^{-1}$ ) した。ろ液は、DOC と 3 次元励起蛍光スペクトル (EEMs) を測定した。EEMs は蛍光分光光度計 (F-4500 : HITACHI) を用いて測定し、得られた蛍光強度は励起波長 350nm における超純水のラマンピークの面積で割って規格化した後、試料水と同様に規格化したブランク (超純水) の蛍光強度を差し引いた。霞ヶ浦の藻類培養実験では、蒸発水量を求めて分析結果を補正した。琵琶湖藻類の培養実験では、培養中の蒸発水量が多いことがわかったため、実験期間中に 1 週間に 1~2 回蒸発水量に応じて超純水を加えることとした。

### 3.2.2 実験結果

図 3.2-2 は、霞ヶ浦と琵琶湖の藻類培養実験の各測定項目の経日変化である。クロロフィル量を反映する 650nm 吸光度 (図 3.2-2a) は、霞ヶ浦藻類培養実験では、24°C、27°C、30°Cにおいて 14 日目まで増加し、それ以降は横ばいか減少する変化をしていた。Fe0.1mg/L と Fe0.2mg/L の条件では概ね 27°Cや 30°Cよりも 18°C、21°C、24°Cで高い値となったが、Fe0.4mg/L の条件では水温による違いは小さかった。琵琶湖藻類培養実験では、0~14 日目だけでなく 28~42 日目にも増加し、27°Cや 30°Cよりも 18°C、21°C、24°Cで増加が大きかった。

図 3.2-3 は、フローサイトメトリー分析結果の一例である。藻類は、前方散乱強度 (FS) と赤色蛍光強度で区分することができ、図中 A の領域に観察された藻類はピコプランクトンを反映していると考えられる。そこで、検出されたすべての藻類の細胞数に加えて、領域 A の藻類細胞数も集計した。

藻類細胞数 (図 3.2-2b) の変化は、霞ヶ浦藻類培養実験では 7 日目までの増加が大きかった。藻類細胞数は水温が低いほど多くなる傾向を示し、同じ温度で比較すると Fe0.1mg/L の条件で多くなった。琵琶湖藻類培養実験では、Fe 濃度によって藻類細胞数の変化が異なった。Fe0.1mg/L と Fe0.2mg/L の条件では 7 日目や 14 日目に藻類細胞数が大きく増加し、

その後横ばいまたは若干減少する変化をしていた。藻類細胞数は Fe0.1、0.2mg/L の条件では 21°Cで多くなった。また、Fe0.2mg/L では 28~42 日目に 30°Cで藻類細胞数が大きく増加した。Fe0.4mg/L の 30°Cでは、28 日目まで増加し続ける変化をしていた。

領域 A の藻類細胞数 (図 3.2-2c) は、霞ヶ浦藻類培養実験では、琵琶湖藻類培養実験と比較すると増加が少なかった。琵琶湖藻類培養実験の Fe0.1mg/L の条件では 24°Cで、Fe0.2mg/L の条件では 24°Cと 30°Cで 7 日目に多くなっていた。24°Cの条件で比較すると、7 日目の領域 A の藻類細胞数は Fe0.1mg/L で最大となった。

霞ヶ浦培養実験では人工河川水の作成時に pH 調整を行わなかったため、0 日目の pH は約 9 となった。琵琶湖培養実験では人工河川水の作成時に pH 調整を行い、0 日目の pH は 6.6 となった。pH (図 3.2-2d) は、いずれの条件でも 7 日目に減少し、14 日目以降に増加する変化を示した。水温による pH の違いは小さいものの、Fe0.1mg/L の条件では 18°Cや 21°Cよりも 30°Cで高くなっていた。

コントロール試料 (超純水に湖水を加えた試料) では、藻類は増加しなかったが、DOC 濃度では 42 日目には 0.5~1mgC/L に増加していた。そこで DOC の解析にあたっては、人工河川水試料の測定結果から同じ温度のコントロール試料の測定結果を差し引いている。DOC 濃度 (図 3.2-2e) の変化は、霞ヶ浦藻類培養実験では水温によって異なった。DOC 濃度は 18°Cでは 7 日目から 42 日目まで経日的に増加したが、30°Cでは 28 日目まであまり増加せず、28 日目から 42 日目に増加した。24°Cでは Fe0.2mg/L と Fe0.4mg/L の条件で 28 日目から 42 日にかけて DOC 濃度が増加した。18°Cに着目すると、DOC 濃度は Fe0.1mg/L の条件で最も大きく増加した。琵琶

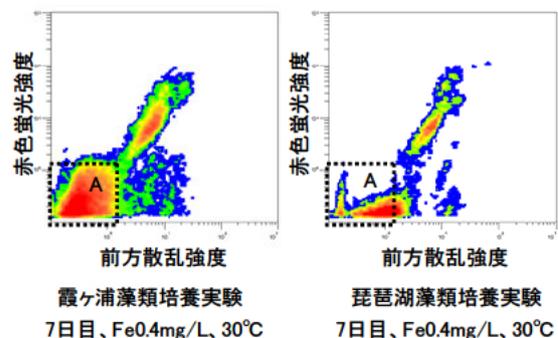
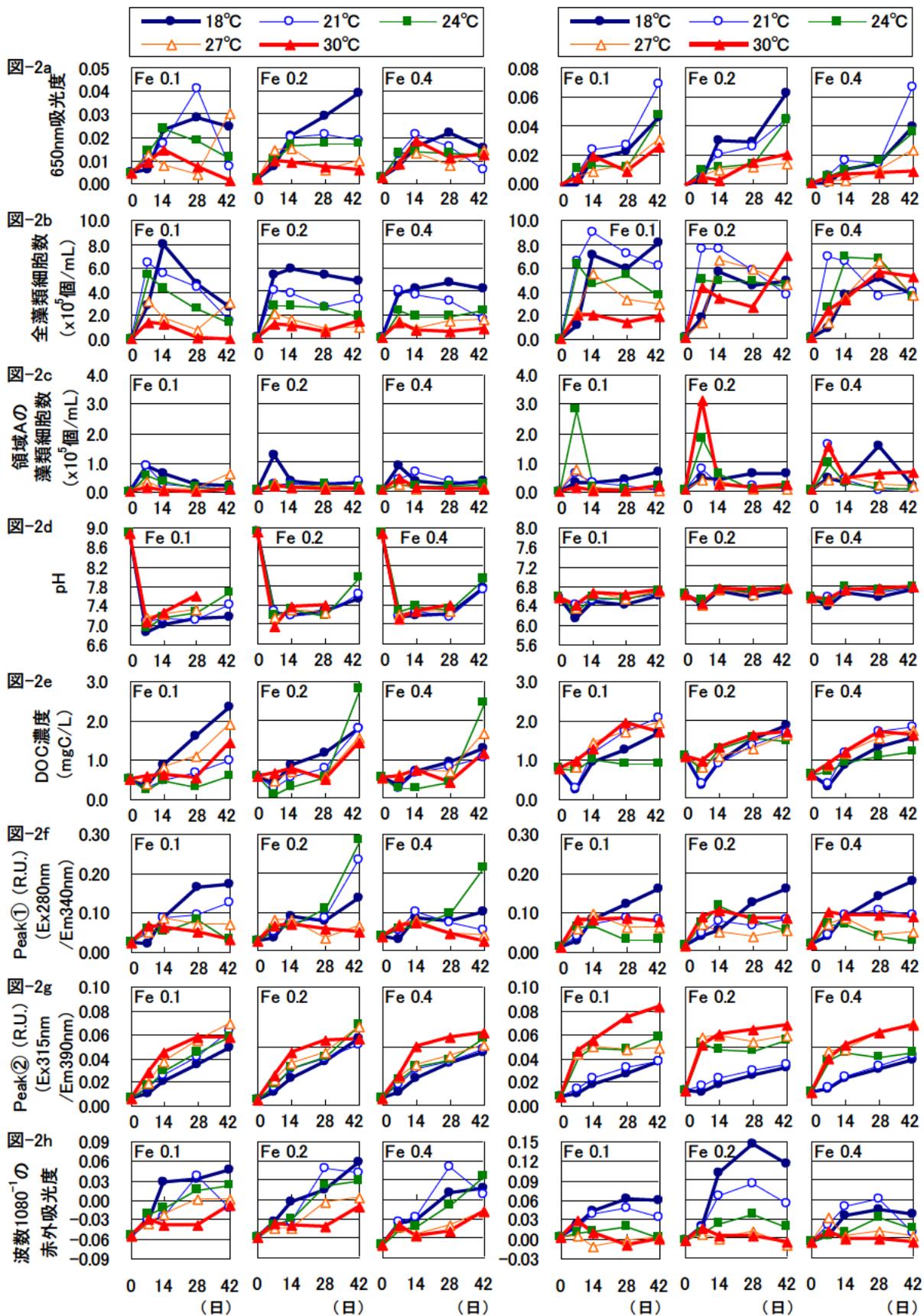


図 3.2-3 フローサイトメトリーによる藻類の分析結果の一例



霞ヶ浦藻類培養実験

琵琶湖藻類培養実験

図 3.2-2 650nm 吸光度、藻類細胞数、pH、DOC 濃度、EEMs 上の主要なピークの蛍光強度、  
1080<sup>-1</sup>cm の赤外吸光度の変化

湖藻類培養実験では、Fe0.1mg/L の 24℃の条件で横ばいとなり、他の条件では経日的に増加した。7 日目の DOC 濃度は、18℃や 21℃よりも 24℃、27℃、30℃の条件で高い値となったが、42 日目の DOC 濃度は水温によらず概ね等しかった。

図 3.2-4 は藻類培養液の EEMs の一例である。EEMs 上には 2つの主要なピークが確認された。Peak① (Ex280nm/Em340nm 付近) はタンパク質のピーク位置に近く、Peak② (Ex315nm/Em390nm 付近) は、海水中のフルボ酸のピーク位置に近い<sup>8)</sup>。Peak① (図 3.2-2f) と Peak② (図 3.2-2g) では蛍光強度の変化が異なった。Peak①は水温によって変化が異なり、18℃では経日的に増加したが、27℃や 30℃では 14 日目以降は横ばいもしくは減少した。霞ヶ浦藻類培養実験での 24℃の、Fe0.2mg/L と Fe0.4mg/L では、28 日目から 42 日目に Peak①が増加した。Peak②は、いずれの条件でも概ね経日的に増加し、水温が高いほど高くなる傾向がみられた。琵琶湖藻類培養実験では Peak②は 24℃、27℃、30℃で 7 日目までに大きく増加した。

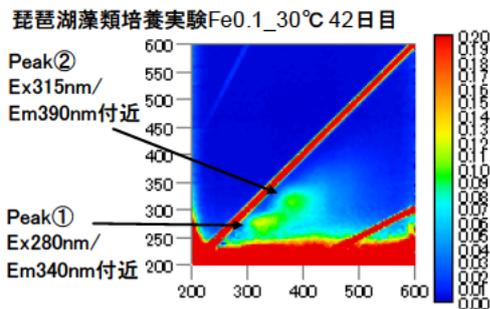


図 3.2-4 EEM スペクトルの一例

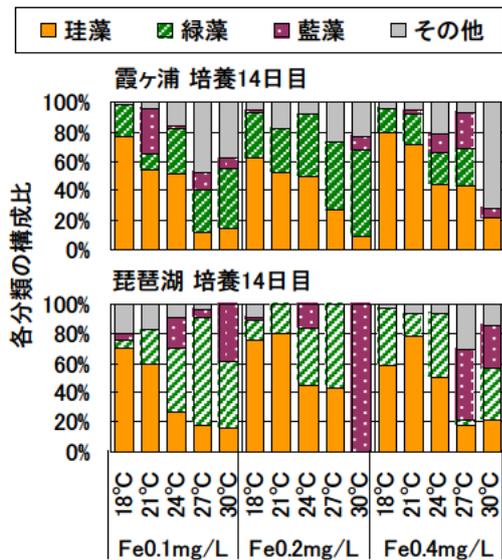


図 3.2-5 培養 14 日目の藻類の構成比

水温による藻類の種類の違いを調べるため、顕微鏡観察によって培養液中の藻類を珪藻、緑藻、藍藻、その他に分類し、それぞれの個体数 (群体を形成するものは群体数) を求めた。図 3.2-5 は、14 日目の藻類培養液中の藻類の構成比である。霞ヶ浦と琵琶湖のどちらの培養実験でも、18℃や 21℃では個体数の約 60%以上が珪藻であったが、27℃や 30℃では珪藻の割合は 10~40%となり、緑藻や藍藻の占める割合が高くなった。

図 3.2-6 はろ紙に捕捉された藻類の赤外スペクトルの一例である。霞ヶ浦と琵琶湖のどちらの藻類培養実験でも、赤外スペクトルは条件によらず類似していた。しかし、水温が低い条件では 1080cm<sup>-1</sup>付近に特徴的なピークがみられた。FT-IR のスペクトルデータベースでは、1080cm<sup>-1</sup>付近の吸収は SiO<sub>2</sub>に由来しており、本実験では珪藻殻に由来するものと推測される。図 3.2-2h は、1080cm<sup>-1</sup>の吸光度の変化である。霞ヶ浦藻類培養実験では 1080cm<sup>-1</sup>の吸光度は、

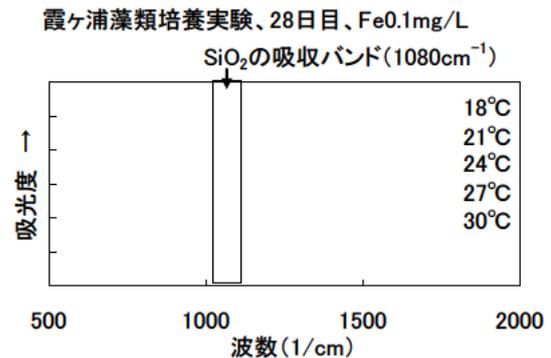


図 3.2-6 ろ紙に捕捉した藻類の赤外スペクトルの一例

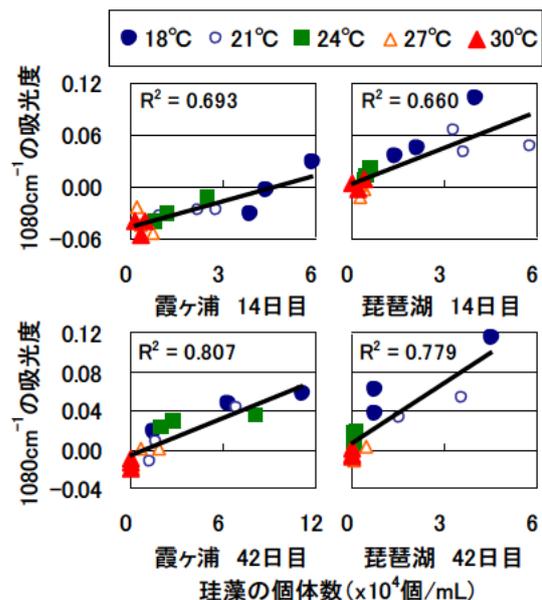


図 3.2-7 珪藻の個体数と 1080<sup>-1</sup>の吸光度の関係

18℃、21℃、24℃で増加が大きかった。琵琶湖藻類培養実験では 18℃と 21℃で増加が大きく、27℃と 30℃ではほとんど増加しなかった。図 3.2-7 は、培養 14 日目と 42 日目の珪藻の個体数と 1080cm<sup>-1</sup>の吸光度の関係である。霞ヶ浦と琵琶湖のどちらの培養実験でも、1080cm<sup>-1</sup>の吸光度は珪藻の個体数と正の相関を示した。赤外スペクトルからも、水温が高い条件では珪藻の増殖量が少なかったことが確かめられた。

### 3.2.3 水温・Fe 濃度と藻類・水質の関係

霞ヶ浦と琵琶湖のどちらの培養実験でも藻類細胞数の増加は概ね 14 日目までが大きかったことから、14 日目までを増殖期、14 日目から 42 日目までを定常期と位置づけて、水温や Fe 濃度と藻類増殖、pH、DOC 濃度との関係を解析した。

図 3.2-8 は、水温と 14 日目の pH、650nm 吸光度、DOC 濃度の関係である。pH は、霞ヶ浦藻類培養実験では、Fe0.1mg/L と Fe0.2mg/L の条件で、水温が高いほど高くなる傾向がみられた。Fe0.4mg/L の条件では 24℃で最大となった。24℃の条件で比較すると、Fe 濃度が高いほど高くなっていた。琵琶湖藻類培養実験では、Fe0.1mg/L の条件で、水温が高いほど高くなる傾向がみられた。同じ温度で比較すると、Fe0.2mg/L と Fe0.4mg/L よりも Fe0.1mg/L で低い値となった。

650nm 吸光度は、霞ヶ浦藻類培養実験では、水温による違いが小さかった。琵琶湖藻類培養実験では、Fe0.2mg/L で水温が高いほど低くなる傾向を示した。

DOC 濃度は、霞ヶ浦藻類培養実験の 24℃では、他の温度条件より低い値となった。琵琶湖藻類培養実験の Fe0.1mg/L と Fe0.2mg/L では、18℃や 21℃よりも 27℃や 30℃で高い値となった。どちらの藻類培養実験でも、Fe 濃度による DOC 濃度の違いはみられなかった。

図 3.2-9 は、水温と 28 日目の pH の関係および水温と 42 日目の 650nm 吸光度、DOC 濃度の関係である。pH は、霞ヶ浦藻類培養実験の 42 日目の試料が足りず測定できなかったため、28 日目で比較した。pH は、どちらの藻類培養実験でも概ね水温が高いほど高くなる傾向がみられた。琵琶湖藻類培養実験では、Fe0.2mg/L と Fe0.4mg/L よりも Fe0.1mg/L で低くなっていた。

650nm 吸光度は、霞ヶ浦藻類培養実験では水温による違いは小さかったが、琵琶湖藻類培養実験では、水温が高いほど低くなる傾向を示した。

DOC 濃度は、霞ヶ浦藻類培養実験の Fe0.2mg/L と Fe0.4mg/L では 24℃で高くなっていたが、Fe0.1mg/L では 24℃で低くなっていた。琵琶湖藻類培養実験では Fe 濃度による違いは小さく、24℃で低い値を示した。

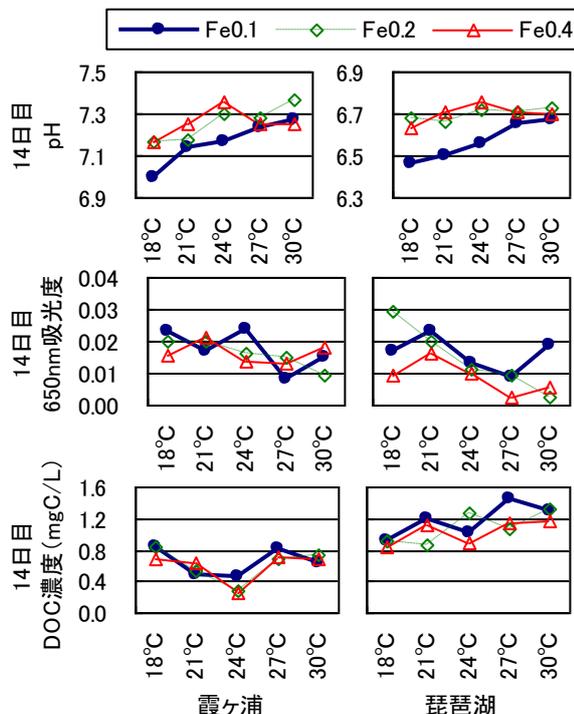


図 3.2-8 水温と、増殖期 (0~14 日目) の pH、650nm 吸光度、DOC 濃度の関係

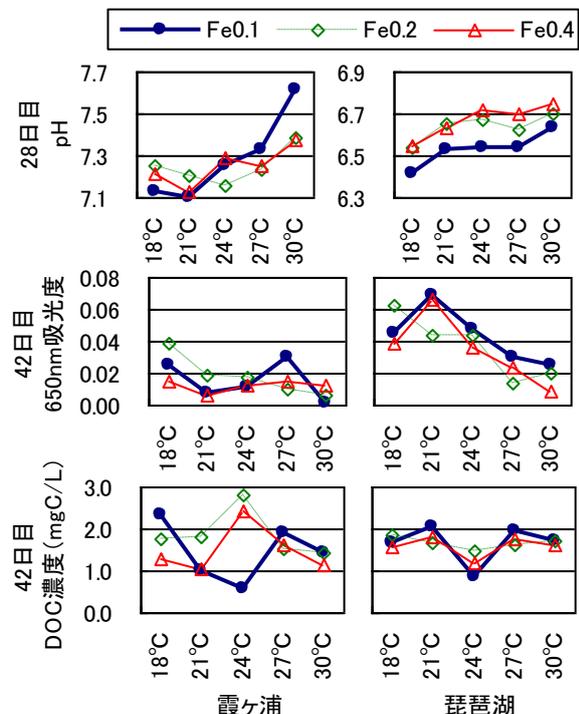


図 3.2-9 水温と、定常期 (14~28, 42 日目) の pH、650nm 吸光度、DOC 濃度の関係

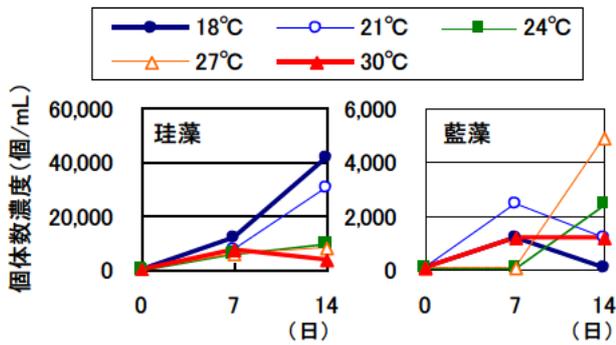


図 3.2-10 珪藻と藍藻の 14 日目までの  
個体数濃度の変化  
(霞ヶ浦藻類培養実験、Fe0.4mg/L)

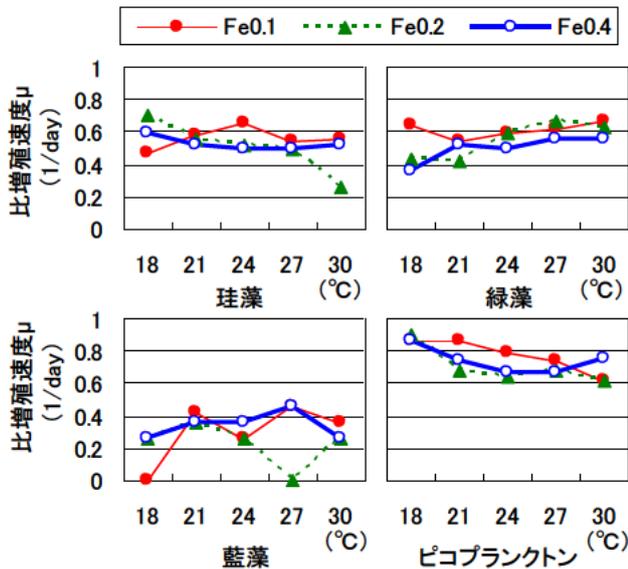


図 3.2-11 霞ヶ浦藻類培養実験の各実験条件に  
おける、各種藻類の比増殖速度

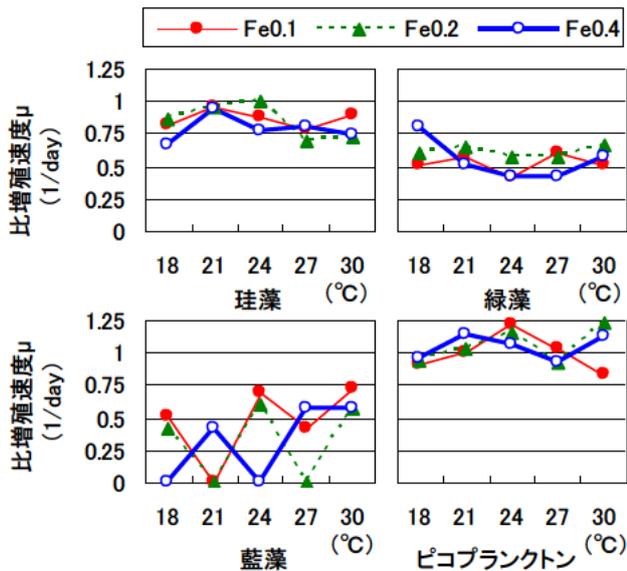


図 3.2-12 琵琶湖藻類培養実験の各実験条件に  
おける、各種藻類の比増殖速度

図 3.2-10 は、霞ヶ浦藻類培養実験の Fe0.4mg/L の条件における、0～14 日目の珪藻と藍藻の個体数の変化である。珪藻は、18℃と 21℃では 14 日目まで、24℃以上では 7 日目まで増加していた。藍藻は、温度によって増殖パターンが異なった。また、珪藻と藍藻で個体数濃度が異なっていた。そこで、培養条件の異なる藻類の増殖特性を比較するため、比増殖速度  $\mu$  を以下の一次反応式から求めた。

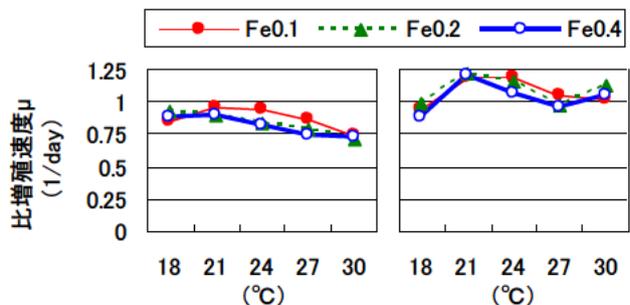
$$dX/dt = \mu \cdot X$$

X: 藻類濃度

$\mu$ : 比増殖速度 (1/day)

$\mu$  の計算にあたり、藻類の種類と培養条件によっては 0～7 日目で増殖せず、7～14 日目で増殖したケースがあったことから、0～7 日目と 7～14 日目のそれぞれについて  $\mu$  を求め、大きい方をその培養条件における値とした。図 3.2-11 は、霞ヶ浦藻類培養実験の、各種類、各培養条件における比増殖速度  $\mu$  の比較である。珪藻の  $\mu$  は、Fe0.1mg/L の条件では水温 24℃で最大となった。緑藻は、概ね水温が高い条件ほど  $\mu$  が高くなっていた。藍藻は、Fe0.4mg/L の 18～27℃の範囲では、水温とともに  $\mu$  が上昇した。Fe0.1mg/L と Fe0.2mg/L の条件では水温と  $\mu$  の関係は不明瞭であった。ピコプランクトンは、水温が高い条件ほど  $\mu$  が低くなる傾向がみられた。21～27℃の範囲では、他の Fe 濃度条件と比較して Fe0.1mg/L の条件で  $\mu$  が高かった。

図 3.2-12 は、琵琶湖藻類培養実験の、各種類、各培養条件における比増殖速度  $\mu$  の比較である。珪藻の  $\mu$  は、Fe0.1mg/L と Fe0.4mg/L の条件では水温 21℃で最大となった。Fe0.2mg/L の条件では 21℃と 24℃で高かった。緑藻は、Fe0.4mg/L の条件では 18℃と 30℃で  $\mu$  が高かった。Fe0.1mg/L と Fe0.2mg/L を同じ温度条件で比較すると、27℃を除いて Fe0.2mg/L



霞ヶ浦藻類培養実験 琵琶湖藻類培養実験  
図 3.2-13 全藻類細胞数の測定結果から求めた、  
各実験条件における比増殖速度

で高かった。藍藻は、増殖しなかった条件もあるが、全体の傾向をみると、水温が高い条件ほど $\mu$ が高くなっていった。ピコプランクトンは、Fe0.1mg/Lでは24°Cで、他のFe濃度条件では21°Cと30°Cで $\mu$ が高かった。

図3.2-13は、フローサイトメトリーによる全藻類細胞数の測定結果から求めた、各培養条件における比増殖速度 $\mu$ である。藻類の種類で分けていないことから、霞ヶ浦と琵琶湖のそれぞれの藻類群集全体の増殖挙動を表現する際に、この $\mu$ を使用できると考えられる。

藻類増殖と水質の関係を検討するため、増殖期を0、7、14日目、定常期を14、28、42日目とし、増殖期と定常期の平均藻類細胞数を求めた。図3.2-14

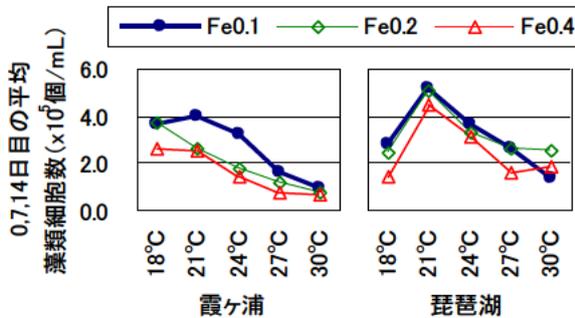


図3.2-14 増殖期と定常期における、水温と藻類細胞数の関係

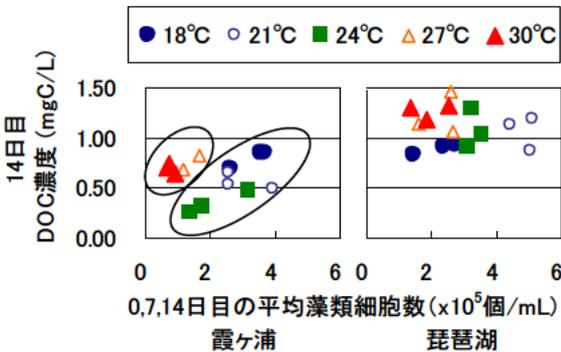


図3.2-15 増殖期の藻類細胞数とDOC濃度の関係

は、増殖期と定常期の水温と藻類細胞数の関係である。増殖期の平均藻類細胞数は、霞ヶ浦藻類培養実験では、水温が高いほど低下する傾向がみられた。同じ水温では、Fe0.1mg/Lの条件で最大となった。琵琶湖藻類培養実験では21°Cから30°Cにかけて低下する傾向がみられた。定常期の平均藻類細胞数は、霞ヶ浦藻類培養実験では水温が高いほど低下した。琵琶湖藻類培養実験でもFe0.1mg/Lの条件では水温が高いほど低下する傾向がみられた。

図3.2-15は、増殖期の平均藻類細胞数と14日目のDOC濃度の関係を散布図で示したものである。全体で見ると藻類細胞数とDOC濃度の間には正の相関がみられる。霞ヶ浦藻類培養実験では概ね18°C、21°C、24°Cのグループと27°C、30°Cのグループに分

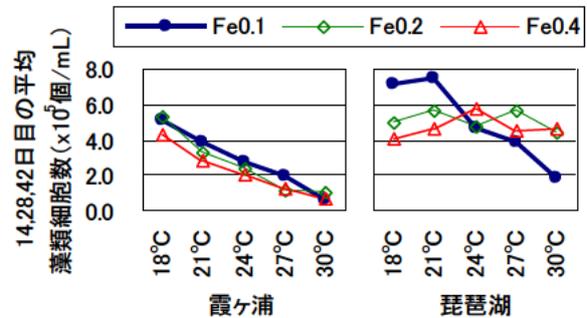


図3.2-16 定常期の藻類細胞数とDOC濃度の関係

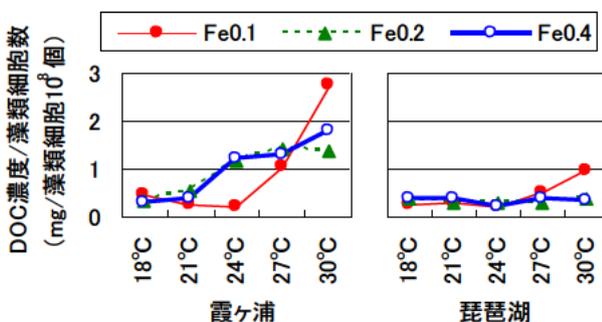


図3.2-17 定常期におけるDOC/藻類現存量 (14、28、42日目の藻類細胞数の平均値で42日目のDOCを割った値)

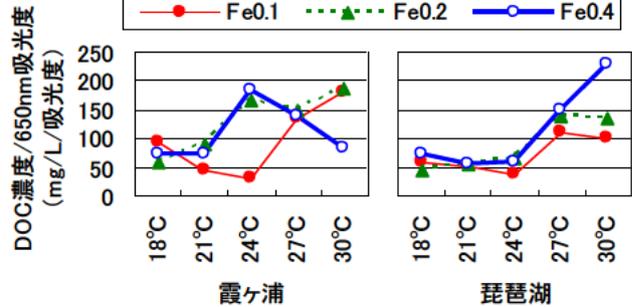


図3.2-18 定常期におけるDOC/藻類現存量 (14、28、42日目の650nm吸光度の平均値で42日目のDOCを割った値)

かれていた。琵琶湖藻類培養実験でも、27℃と30℃は近い位置にプロットされていた。また、27℃や30℃では、藻類細胞数が少ないにもかかわらず14日目のDOC濃度は他の温度条件と同じくらいの値であった。従って、27℃や30℃では18℃や21℃と比較すると単位藻類当たりのDOC濃度の増加が大きいと推察される。27℃や30℃では珪藻があまり増殖せず、緑藻や藍藻が主であったことから、水温によって増殖する藻類の種類が変わると、藻類細胞数とDOCの増加量の関係も変化すると考えられる。

図3.2-16は定常期の平均藻類細胞数と42日目のDOC濃度の関係を散布図で示したものである。霞ヶ浦藻類培養実験では、概ね2つのグループに分かれた。24℃ではFe濃度によってプロット位置が異なり、Fe0.1mg/Lは18℃と21℃のグループに入っていた。琵琶湖藻類培養実験では特徴的な関係はみられなかった。

図3.2-17は、42日目のDOC濃度を、定常期の平均藻類細胞数で割った値である。また、図3.2-18は同様に、定常期の650nm吸光度の平均値で割った値である。これらの値は、藻類の分解時に放出されるDOCの量の目安となると考えられる。平均藻類細胞数で割ったDOC濃度は、霞ヶ浦藻類培養実験では、水温が高い条件ほど高くなったが、琵琶湖藻類培養実験では、Fe0.1mg/Lの30℃の条件を除いてほぼ一定であった。650nm吸光度で割ったDOC濃度で見ると、霞ヶ浦藻類培養実験のFe0.4mg/Lの条件では、他のFe濃度条件と異なり、水温24℃で最大となった。琵琶湖藻類培養実験では、18~24℃と比較して27、30℃で高い値となった。

#### 3.2.4 まとめ

地球温暖化に伴う湖水水温の上昇による藻類の増殖特性の変化と、それが湖水水質に及ぼす間接的な影響を評価するため、霞ヶ浦と琵琶湖の藻類を対象に藻類培養実験を行い、水温およびFe濃度の変化が藻類と水質に及ぼす影響を調査した。本実験で得られた主要な知見を以下に示す。

(1) 霞ヶ浦と琵琶湖のどちらの藻類培養実験でも、藻類細胞数は、概ね水温が高いほど少なくなる傾向がみられた。

(2) 顕微鏡観察や赤外スペクトルから、27℃や30℃では18℃や21℃と比較して珪藻が少なく、緑藻や藍藻の割合が高かった。

(3) 琵琶湖藻類培養実験ではFe0.1mg/Lの24℃や

Fe0.2mg/Lの24℃および30℃の条件で7日目にピコプランクトンと考えられる藻類が増殖した。

(4) pHは、水温による違いは小さいものの、概ね水温が高いほど高くなる傾向がみられた。

(5) 藻類細胞数とDOC濃度の関係は、霞ヶ浦藻類培養実験では正の相関がみられた。27℃と30℃では他の温度と比較すると単位藻類当たりのDOC濃度の増加が大きかった。

(6) 藻類培養液のEEMs上にはタンパク質様物質と考えられるPeak①(Ex280nm/Em340nm)と、フルボ酸様物質と考えられるPeak②(Ex315nm/Em390nm)がみられた。Peak②のピーク強度は経日的に増加し、水温が高いほど強くなる傾向がみられた。

(7) Fe濃度が低いほど藻類細胞数が多くなる傾向がみられたが、水質への影響は明確には確認されなかった。

(8) 珪藻、緑藻、藍藻、ピコプランクトンのそれぞれについて、水温とFe濃度の条件ごとに、比増殖速度を算出した。比増殖速度は、霞ヶ浦藻類培養実験では緑藻、琵琶湖藻類培養実験では藍藻で、水温が高いほど高くなる傾向がみられた。

以上の結果から、湖水水温が上昇すると、藻類細胞数は減少するが緑藻や藍藻の割合が増加し、それに伴って湖水のpHが上昇すること、また、DOC濃度は顕著には変わらないが有機物の性状が変化することが示唆された。

### 3.3 水温と底泥からの栄養塩等の溶出の関係

琵琶湖の水深別の水質の、隣接年比較法による解析から、水温の上昇は、琵琶湖底層のDOを低下させ、底泥から溶出する栄養塩の量を増大させる可能性があることがわかった。霞ヶ浦北浦においても、湖底のDOが気温の高い夏季に低下することが報告されている<sup>9)</sup>。そこで、水温が底泥からの栄養塩の溶出挙動に及ぼす影響を調査した。

#### 3.3.1 実験方法

霞ヶ浦湖心から、湖底0~10cmの深さで採取された底泥を用いて溶出実験を行った。表3.3-1は、実験条件である。温度は10、20、30℃の3条件とし、それぞれの温度で嫌気と好気の条件を設定した。250mlねじロビンを分析回数分用意し、底泥を約50gずつ入れた。嫌気条件では、あらかじめN<sub>2</sub>ガスをばっ気してDO濃度を低下させた蒸留水を注ぎ、満水にして密封した。好気条件では、蒸留水で満水にし

表 3.3-1 底泥溶出実験の実験条件

温度条件	嫌気/好気	水質分析	AGP試験
30℃	嫌気	0,5,10,20日目	10,20日目
	好気	0,5,10,20日目	10,20日目
20℃	嫌気	0,5,10,20日目	10,20日目
	好気	0,5,10,20日目	10,20日目
10℃	嫌気	0,5,10,20日目	10,20日目
	好気	0,5,10,20日目	10,20日目

た後、分析日までエアープンプによるばっ気を続け、飽和 DO 濃度に保った。好気条件では蒸発が進んだため、2~3 日ごとに超純水を加えて満水にした。

0、5、10、20 日目にピンを取り出し、水質分析を行った。DO、pH を測定後、GF/B ろ紙でろ過して NH<sub>4</sub>-N、NO<sub>2</sub>-N、NO<sub>3</sub>-N、PO<sub>4</sub>-P、DOC を測定し、孔径 0.45 μm のメンブレンフィルターでろ過して溶存態金属を測定した。金属測定項目は、Fe、Al、Mn、Zn、Cu、B、Mo、Ni、Co、Se である。

底泥からの溶出成分の違いが藻類の増殖に及ぼす影響を検討するため、10 日目と 20 日目の溶出液を用いて AGP 試験を行った。培養容器は 300mL 容三角フラスコとし、溶出液 100mL を孔径 0.45 μm のメンブレンフィルターでろ過して注いだ。供試藻類はセレナストルムを用いた。下水試験方法に準じて、あらかじめ AAP 培地で増殖させ、対数増殖期の藻類培養液をとり、15mg/L の NaHCO<sub>3</sub> で藻体を洗浄し、初期細胞密度が約 1000 個/mL となるように植種を行い、シリコセンで蓋をした。培養温度は 24℃とし、照明は蛍光灯を用い、側面から明暗 12h/12h、約 5000lux で照射した。回転振とう器を用いて 90rpm で攪拌した。2~3 日に 1 回、650nm 吸光度をマイクロプレートリーダーで測定し、増殖状況をモニタリングした。最大増殖に達したことを確認後、藻類細胞密度と SS を測定した。

### 3.3.2 実験結果

図 3.3-1 は、底泥溶出実験の DO 濃度と pH の変化である。DO 濃度は、嫌気条件では、5 日目には 0.7mg/L 以下となり、10 日目以降は 0.2~0.4mg/L の範囲であった。好気条件では、温度による飽和 DO 濃度の違いを反映し、10℃の条件で DO 濃度が高かった。

pH は、嫌気条件では、5 日目以降は 6~6.5 の範囲であり、温度による違いは小さかった。好気条件では、5.5~7 の範囲で変動したが、温度による違いは小さかった。

図 3.3-2 は、底泥溶出実験の NH<sub>4</sub>-N、NO<sub>2</sub>-N、NO<sub>3</sub>-N、

PO<sub>4</sub>-P、DOC の濃度の変化である。

NH<sub>4</sub>-N 濃度は、嫌気条件の 30℃でもっとも増加が大きかった。20℃では 10 日目から 20 日目にかけて減少した。好気条件ではほとんど増加しなかった。

NO<sub>2</sub>-N 濃度は、嫌気条件の 0~5 日目に増加したが、20 日目までには低下した。また、10℃や 20℃と比較して 30℃で増加が大きかった。好気条件ではほとんど増加しなかった。

NO<sub>3</sub>-N 濃度は、嫌気条件の 20℃の条件で、10~20 日目にかけて増加した。他の温度では増加しなかった。好気条件では、30℃で大きく増加した。

PO<sub>4</sub>-P 濃度は、嫌気条件では、30℃で大きく増加した。嫌気条件の 10℃と 20℃や好気条件ではほとんど増加しなかった。

DOC 濃度は、嫌気条件では、30℃でもっとも増加が大きかった。好気条件では 5 日目以降は概ね横ばいであった。

図 3.3-3 は、溶存態金属濃度の変化である。Fe 濃度は、PO<sub>4</sub>-P 濃度と同様、嫌気条件の 30℃で増加し、他の条件ではほとんど増加しなかった。

Mn 濃度は、好気条件よりも嫌気条件で増加が大きかった。嫌気条件で温度による違いをみると、10 日目までは、温度が高いほど高くなっていったが、20 日目には 30℃と 20℃で横ばいとなった。

Zn 濃度は、嫌気条件では 20℃と 10℃で 10 日目まで増加した。30℃では増加しなかった。好気条件では 30℃で 10 日目から 20 日目にかけて増加した。

Al 濃度と Cu 濃度は嫌気条件と好気条件のどちらもあまり増加しなかった。

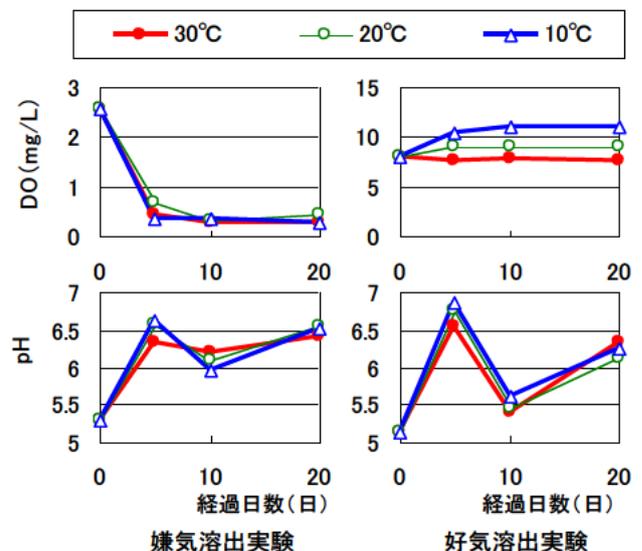


図 3.3-1 底泥溶出実験の DO と pH の変化

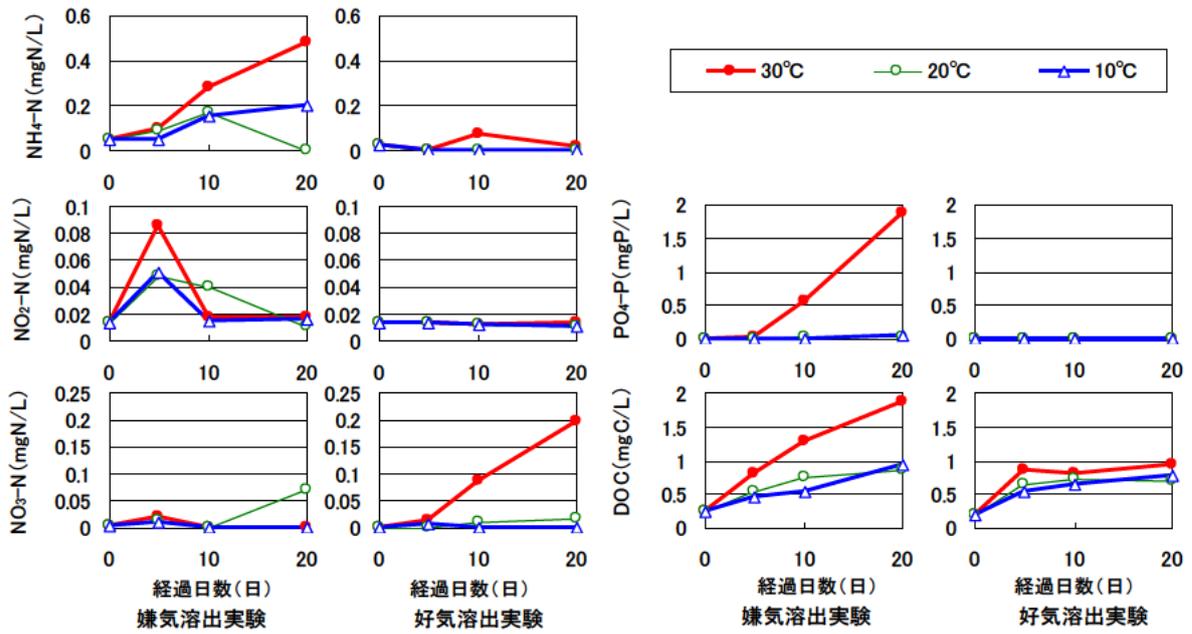


図 3.3-2 底泥溶出実験の  $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 、 $\text{DOC}$  濃度の変化

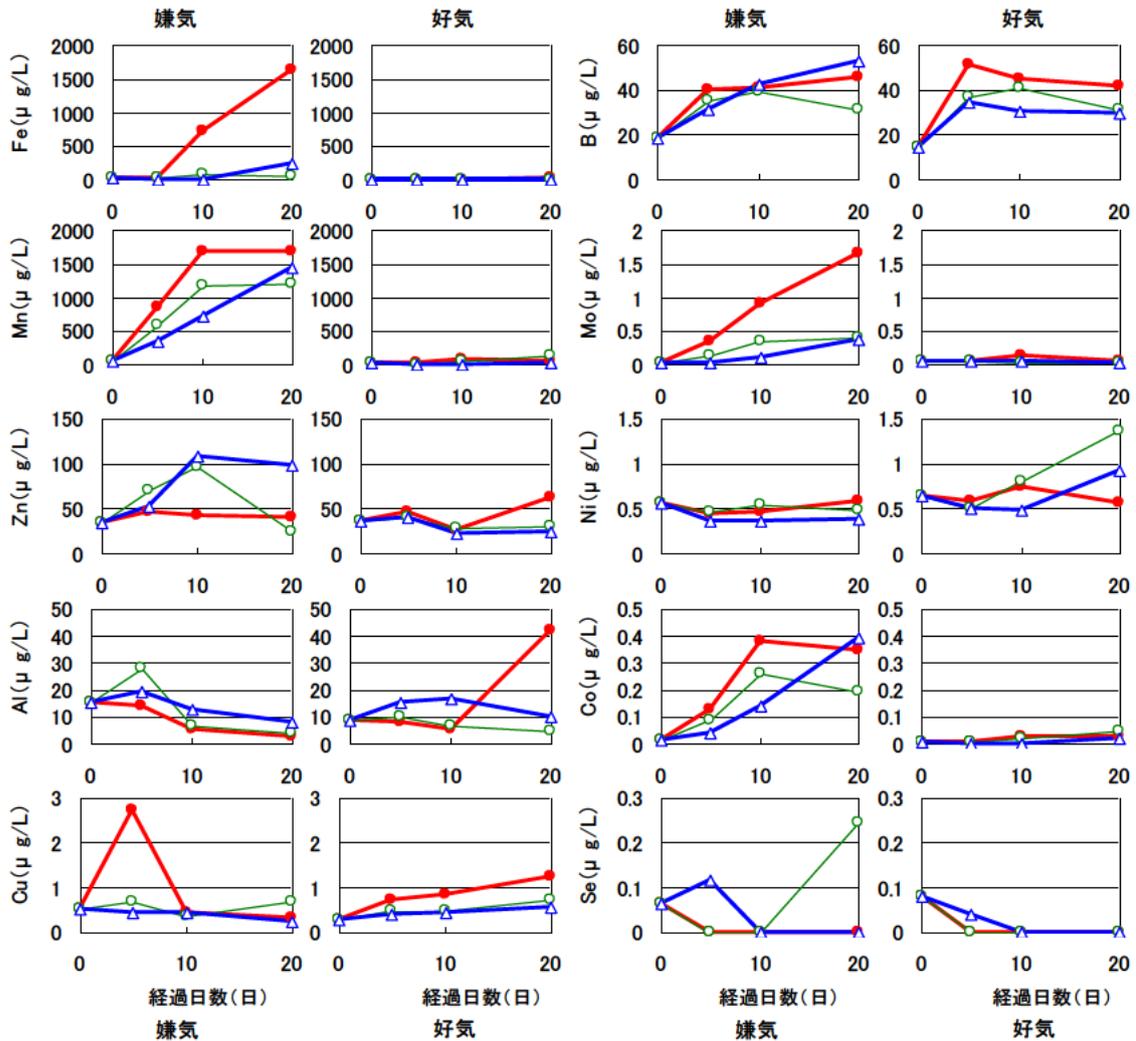


図 3.3-3 底泥溶出実験の溶存態金属濃度の変化

B 濃度は嫌気条件では 10℃で 20 日目まで増加した。他の条件では 5 日目以降は横ばいであった。

Mo 濃度は、嫌気条件の 30℃で増加が大きかった。

Ni 濃度は、好気条件の 20℃で増加が大きかった。

Co 濃度は、Mn 濃度と同様嫌気条件で増加が大きく、20℃と 30℃では 10 日目から 20 日目にかけて横ばいとなった。

Se はほとんどの試料で検出できず、変化は不明であった。

### 3.3.3 水温と底泥からの溶出速度の関係

底泥からの栄養塩や金属の溶出特性と水温の関係を調べるため、各水質項目の底泥からの単位面積あたりの溶出速度を求めた。0～5 日目は DO が安定していないため、5～10 日目と 10～20 日目のデータで解析を行った。1 日あたりの各水質成分の濃度の変化率を算出し、ねじ口瓶内の蒸留水の量を掛け、ねじ口瓶の断面積で割って、単位面積・1 日あたりの溶出速度を求めた。

図 3.3-4 は、NH<sub>4</sub>-N、NO<sub>2</sub>-N、NO<sub>3</sub>-N、PO<sub>4</sub>-P、DOC の溶出速度である。濃度が減少して溶出速度が負になった条件は除外してある。

嫌気溶出実験の溶出速度は、NH<sub>4</sub>-N は水温が高いほど高くなる傾向がみられ、30℃の条件の 5-10 日目で 2.5mgN/m<sup>2</sup>・day であった。

NO<sub>2</sub>-N はほぼ 0 であり、NO<sub>3</sub>-N は 20℃の条件でのみ溶出した。

PO<sub>4</sub>-P は、30℃の条件で 8.1～9.0mgP/m<sup>2</sup>・day と高い値を示した。10℃と 20℃の条件では約 0.3mgP/m<sup>2</sup>・day と低かった。

DOC は、10℃と 20℃の条件では 0.7～2.9mgC/m<sup>2</sup>・day、30℃の条件では 4.0～6.6mgC/m<sup>2</sup>・day であった。

好気溶出実験の溶出速度は、NH<sub>4</sub>-N と NO<sub>3</sub>-N はいずれも 30℃の条件で高くなった。NO<sub>2</sub>-N は嫌気溶出実験と同様ほぼ 0 であった。

PO<sub>4</sub>-P は、最大で 0.04mgP/m<sup>2</sup>・day であり、嫌気溶出実験と比較して低かった。

DOC は、0.84～1.4mgC/m<sup>2</sup>・day の範囲であり、温度が高いほど低くなる傾向がみられた。温度が高い条件では溶出した有機物が分解し、見掛けの溶出速度が下がったと考えられる。

図 3.3-5 は、Fe と Mn の溶出速度である。Fe の溶出速度は、嫌気溶出実験の 30℃の条件で高く、6.2～9.2mg/m<sup>2</sup>・day であった。好気溶出実験では嫌気溶出実験と比較すると低い値であった。

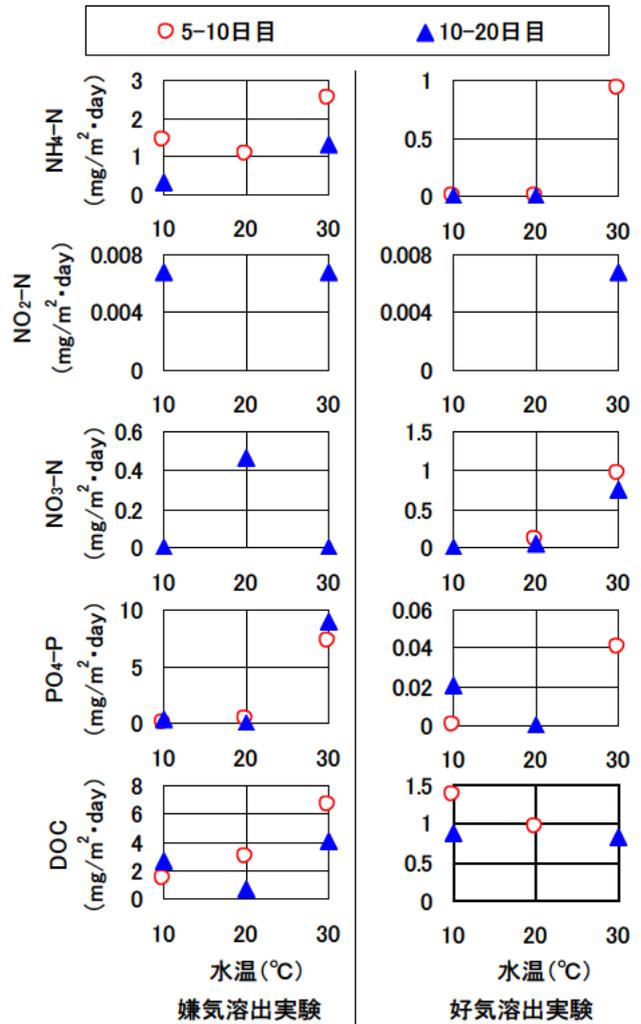


図 3.3-4 嫌気と好気の場合における、底泥からの NH<sub>4</sub>-N、NO<sub>2</sub>-N、NO<sub>3</sub>-N、PO<sub>4</sub>-P、DOC の溶出速度

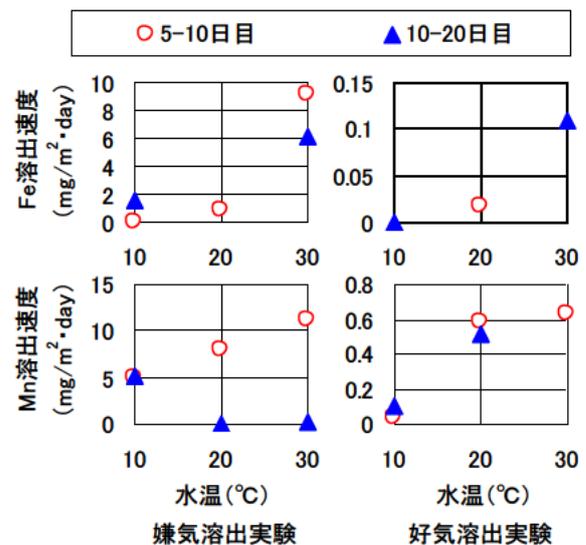


図 3.3-5 嫌気と好気の場合における、底泥からの Fe と Mn の溶出速度

Mn の溶出速度は、嫌気条件では、5-10 日目で見ると水温に対して直線的に上昇し、30℃では  $11.0\text{mg/m}^2\cdot\text{day}$  となった。しかし、10-20 日目で見ると、20℃と 30℃でほぼ 0 になっていた。好気条件では 5-10 日目と 10-20 日目のいずれも低かった。

以上から、水温が高く、湖底が嫌気的な環境になると、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 、DOC、溶存態 Fe および Mn の溶出が増大すると考えられる。

### 3.3.4 水温と底泥溶出液の藻類増殖特性の関係

図 3.3-6 は、10 日目と 20 日目の底泥溶出液を用いた AGP 試験における、650nm 吸光度による藻類増殖のモニタリング結果である。10 日目と 20 日目のどちらの試験でも、吸光度は、嫌気条件の 30℃で培養後 10 日目までに顕著に増加した。

図 3.3-7 は、藻類培養終了時の各試料の細胞数密度と藻体濃度 (SS の濃度) である。細胞数密度と藻

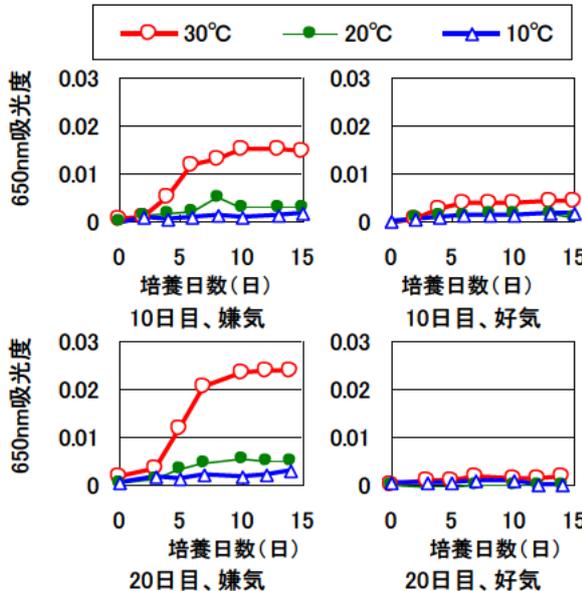


図 3.3-6 650nm 吸光度による藻類の増殖状況

体濃度のいずれも、嫌気条件の 30℃で最大となった。嫌気条件と好気条件のどちらも、温度が高いほど藻類の増殖が大きくなっていった。藻体濃度を、20 日目の嫌気条件について比較すると、30℃は、20℃の 4.1 倍であった。増殖が大きかった嫌気条件の 30℃についてみると、藻体濃度は 10 日目よりも 20 日目で大きかった。

図 3.3-8 は、AGP 試験に供した 10 日目と 20 日目の溶出液の、D-N 濃度 ( $\text{NH}_4\text{-N}+\text{NO}_2\text{-N}+\text{NO}_3\text{-N}$ ) および N と P の物質量の比である。D-N 濃度は好気条件の 20℃と 10℃では他の試料と比較して低い。藻類の細胞の元素構成比はレッドフィールド比と呼ばれ、 $\text{C}:\text{N}:\text{P}=106:16:1$  とされている。10 日目の嫌気条件の 30℃と、20 日目の嫌気条件では N/P が 16 を下回っている。これらの試料の増殖の制限因子は、リンではなかったと考えられる。図 3.3-9 は、溶出

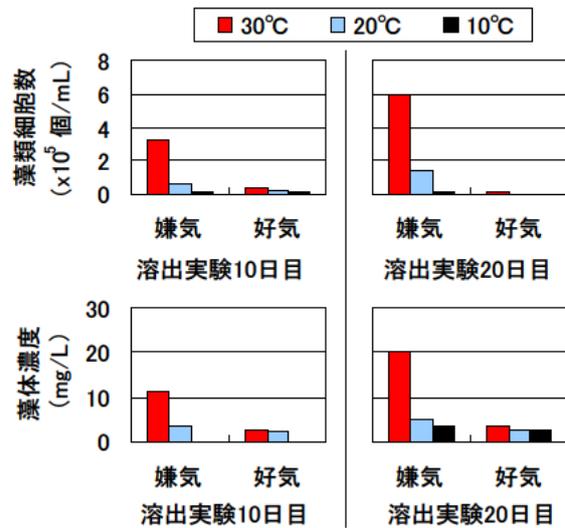
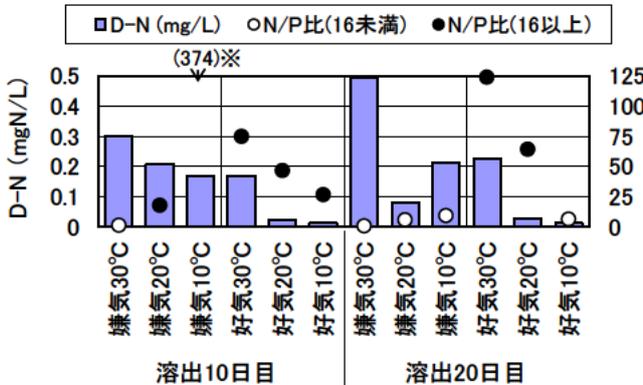


図 3.3-7 AGP 試験終了時の藻類細胞数と SS 濃度



※嫌気、10 度の条件の溶出 10 日目の N/P 比は、グラフ内に収まらないため、括弧内に値を表記した。

図 3.3-8 底泥溶出液の D-N 濃度 ( $\text{NH}_4\text{-N}+\text{NO}_2\text{-N}+\text{NO}_3\text{-N}$ ) と N/P 比

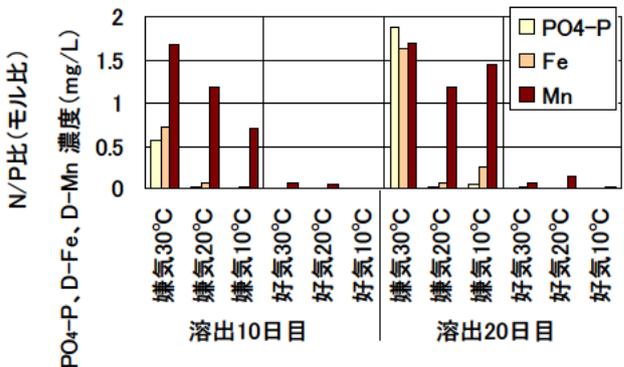


図 3.3-9 底泥溶出液の  $\text{PO}_4\text{-P}$  および溶存態 Fe、Mn 濃度

液の  $\text{PO}_4\text{-P}$ 、 $\text{D-Fe}$ 、 $\text{D-Mn}$  の濃度である。嫌気条件の  $30^\circ\text{C}$  では、他の条件と比較して  $\text{PO}_4\text{-P}$  と  $\text{Fe}$  の溶出が大きかった。

### 3.3.5 まとめ

霞ヶ浦の底泥を用いて異なる温度、嫌気・好気条件で溶出実験を行った。各水質成分の溶出速度を算出するとともに、溶出液の藻類増殖能を AGP 試験で測定した。得られた知見を以下に示す。

- (1) 嫌気溶出実験では  $\text{NH}_4\text{-N}$  の溶出速度は、水温が高いほど高くなる傾向がみられた。
- (2) 好気溶出実験では、 $\text{NH}_4\text{-N}$  と  $\text{NO}_3\text{-N}$  の溶出速度はいずれも  $30^\circ\text{C}$  で高くなった。
- (3)  $\text{PO}_4\text{-P}$  の溶出速度は、嫌気条件の  $30^\circ\text{C}$  で高く、好気条件では低かった。
- (4)  $\text{DOC}$  の溶出速度は、嫌気条件では温度が高いほど高く、好気条件では温度が高いほど低くなった。
- (5)  $\text{Fe}$  と  $\text{Mn}$  はいずれも嫌気条件で温度が高いほど溶出速度が高くなった。
- (6) AGP 試験の結果、嫌気の  $30^\circ\text{C}$  の条件で藻類が大きく増殖した。培養終了時の藻体濃度は、 $30^\circ\text{C}$  では  $20^\circ\text{C}$  の 4.1 倍となった。

## 3.4 雨天時河川水の藻類増殖特性

近年の日本における、降雨強度の増加傾向を踏まえ、雨天時の河川水の水質とその藻類増殖特性を観測した。そして、降雨強度の増加が湖水中の藻類増殖に及ぼす影響を考察した。

### 3.4.1 調査・実験方法

調査河川は、印旛沼流入河川である高崎川であった。図 3.4-1 は、高崎川の集水域と採水地点である。採水地点は、河川上流側であり、集水域内では畑が多い。図 3.4-2 は、採水日の時間雨量と河川流量の変化である。先行晴天日数は 4 日、累積降雨量は  $38.5\text{mm}$  であった。降雨のピークは 20 時頃、流量の



図 3.4-1 高崎川の集水域と雨天時調査の採水地点

ピークは 21 時頃であった。河川水は降雨開始時を含め 8 回 (図 3.4-2 ①~⑧) 採水した。

河川水水質の分析項目は、 $\text{SS}$ 、 $\text{VSS}$ 、 $\text{T-N}$ 、 $\text{T-P}$ 、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 、 $\text{DOC}$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$  および金属である。金属分析項目は、粒子態と溶存態の  $\text{Fe}$ 、 $\text{Al}$ 、 $\text{Mn}$ 、 $\text{Zn}$ 、 $\text{Cu}$ 、 $\text{B}$ 、 $\text{Mo}$ 、 $\text{Ni}$ 、 $\text{Co}$ 、 $\text{Se}$  である。

AGP 試験は、孔径  $0.45\ \mu\text{m}$  のメンブレンフィルターでろ過した河川水を三角フラスコに  $100\text{mL}$  とり、3.3.1 と同様にセレナストルムを接種して培養した。

### 3.4.2 結果

図 3.4-3 は、各試料の  $650\text{nm}$  吸光度の変化である。⑥、⑦回目に採水した試料で増殖が大きかった。

図 3.4-4 は、培養終了時の藻体濃度の時系列変化である。藻体濃度は、降雨前から降雨のピークである 20 時頃にかけて減少し、その後増加して 24 時頃に最大となり、翌朝には降雨前と同程度まで低下した。藻体濃度のピークは流量のピーク (21 時頃) とは重ならず、より後ろにずれた。

図 3.4-5 は、 $\text{T-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{T-P}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 、 $\text{K}^+$  濃度と  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  および  $\text{D-Fe}$ 、 $\text{D-Mn}$  濃度の変化である。 $\text{T-N}$  濃度と  $\text{NO}_3\text{-N}$  濃度は、藻体濃度が増加する 20~24 時にかけて低下していた。 $\text{NO}_3\text{-N}$  濃度は、最も低い時でも  $1.3\text{mgN/L}$  であり、藻類増殖の制限要因ではなかったと考えられる。

$\text{T-P}$  濃度のピークは 21 時頃であった。 $\text{PO}_4\text{-P}$  濃度は、 $0.03\sim 0.1$  の範囲で変動し、翌朝に低下した。20 時までの試料では藻類があまり増殖しなかったが、この時間は  $\text{PO}_4\text{-P}$  が十分存在していたと考えられる。翌朝の試料で藻類が増殖しなかったのは、 $\text{PO}_4\text{-P}$  が制限要因となっていた可能性がある。

$\text{K}^+$  濃度は 21 時頃に低下していた。 $\text{K}^+/\text{Na}^+$  は畜産排水の指標であり、22 時頃に高くなっていた。

$\text{D-Fe}$  濃度は開始時から 24 時まで概ね横ばいであり、その後上昇した。 $\text{D-Mn}$  濃度は 22 時までは低く、その後増加し、翌朝に最大となった。降雨前から 20 時までは、 $\text{Mn}$  が制限要因となっていた可能性がある。

図 3.4-6 は、各試料の藻体濃度に流量を掛け、藻類増殖量を負荷量ベースで表したものである。21 時頃に流量が増大したため、藻類増殖量も 21 時頃に最大となっている。図 3.4-6 から、台形公式で藻類増殖量と時間を掛け合わせて合計したところ、調査時間内に流出した栄養塩によって増殖可能な藻類の量

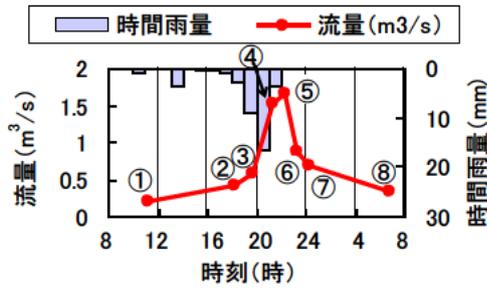


図 3.4-2 雨天時調査時の降水量と河川流量の変化

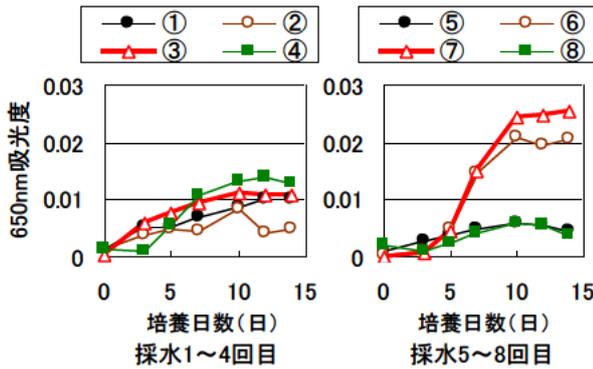


図 3.4-3 650nm 吸光度による藻類の増殖状況

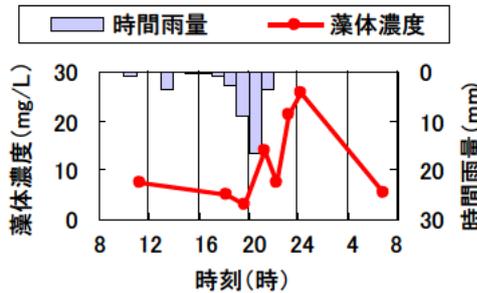


図 3.4-4 培養終了時の藻体濃度の時系列変化

は、512kgであった。

図 3.4-7 は、流量と藻類増殖量の関係である。流量  $Q$  と負荷量  $L$  の関係は、 $L=aQ^b$  で表されることから、流量と藻類増殖量についても同様に係数  $a$ 、 $b$  を求めた。直線性はよいとはいえないが、雨天時の河川水が持つ藻類増殖能の変化を示す式として使用できるものと考えられる。

### 3.4.3 まとめ

地球温暖化による降雨パターンの変化を踏まえ、印旛沼流入河川の高崎川を対象に、雨天時の河川水の水質と藻類増殖能の変化を調査した。得られた知見を以下に示す。

(1) 培養終了時の藻体濃度を時系列でみると、藻体濃度のピークは、降水量のピークより後ろに出現した。

(2) 高崎川では、降雨前には  $\text{NO}_3\text{-N}$  濃度と  $\text{PO}_4\text{-P}$

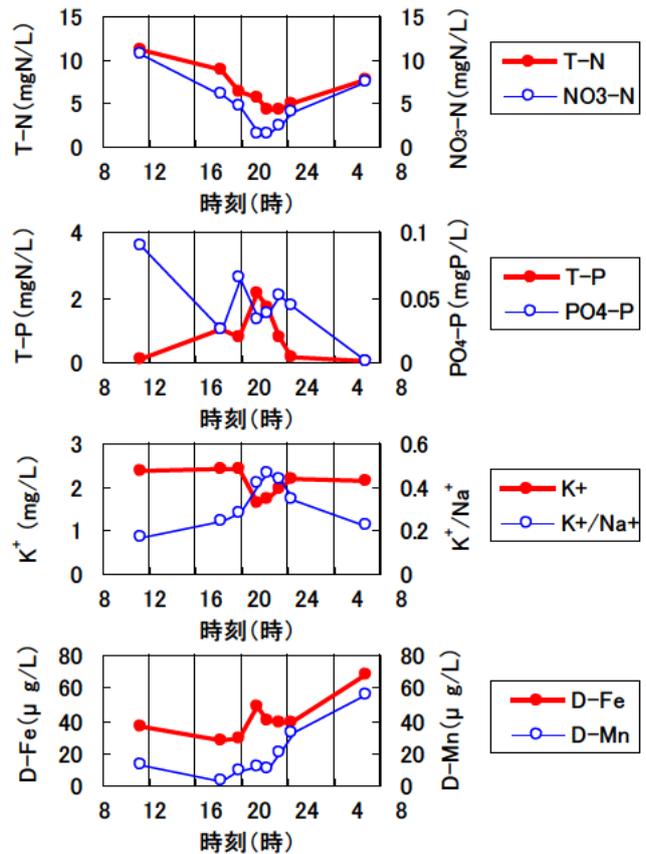


図 3.4-5 雨天時河川水の T-N、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、T-P、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{K}^+/\text{Na}^+$ 、D-Fe、D-Mn の時系列変化

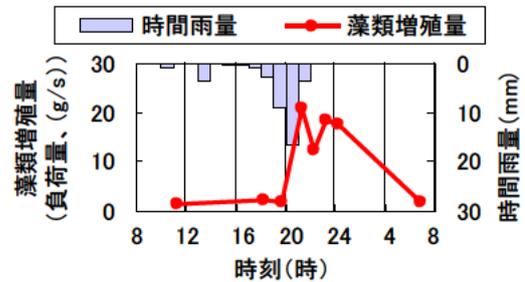


図 3.4-6 負荷量ベースで表した藻類増殖量の変化

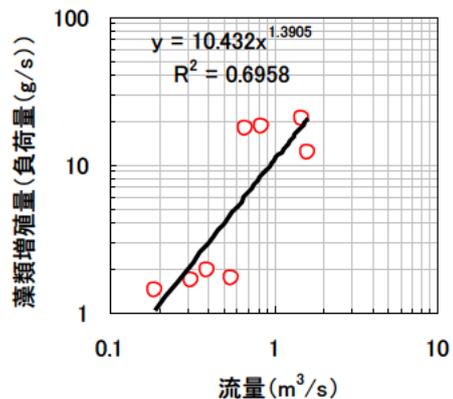


図 3.4-7 流量と藻類増殖量の関係

濃度の両方が高かったにもかかわらず藻類があまり増殖しなかったが、これは D-Mn 濃度が低かったためと推測された。

(3) 流量と藻体濃度を掛けて藻類増殖量を求め、雨天時の河川水が持つ藻類増殖能の変化を L-Q 式で表現した。

#### 参考文献

- 1) 縄田孝彦、土屋十圀、保坂香(2006)、異なる森林土壌における CO<sub>2</sub> ガス濃度の時間的・空間的変動特性、水工学論文集、50、469-474.
- 2) 伊藤優子、加藤正樹(2003)、関東地方の都市近郊平地林における降水中の成分濃度と負荷量—森林総合研究所構内における降水の観測結果—、森林総合研究所研究報告、2(3)、149-155.
- 3) 小野寺真一、加藤正樹(1997)、森林土壌中の溶質移動に及ぼす冷夏および猛暑の影響、陸水学雑誌、58、45-59.
- 4) 津野洋、宗宮功、西村文武、小島岳晴(1997)、酸性雨による土壌溶出水の水質特性とその藻類増殖に及ぼす影響に関する研究、水環境学会誌、20(4)、246-253.
- 5) 土壌養分測定法委員会(2002)「土壌養分分析法」、株式会社養賢堂、333-351.
- 6) 河川環境管理財団(2007)、河川整備基金自主研究事業「河川におけるケイ酸など無機溶存物質の流出機構に関する研究」報告書、河川環境管理財団、個別研究編 1-45.
- 7) 三田村緒佐武、丸尾雅啓、後藤直成(2005)、河川・湖沼におけるシリカ循環の生物地球化学過程に関する研究、環境省地球環境研究総合推進費終了研究成果報告書；D-3「グローバル水循環系のリン・窒素負荷増大とシリカ減少による海洋環境変質に関する研究」、環境省地球環境局研究調査室、27-42.
- 8) 福島武彦、中島俊之、今井章雄、松重一夫、尾崎則篤(2001)、EEMS による水中溶存有機物の特性解析、水環境学会誌、24(10)、686-692.
- 9) 鈴木穰、久岡夏樹、中菌孝裕(2008)、底質の酸素条件が藻類増殖に与える影響に関する調査、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、161-168.

#### 4. 地球温暖化が湖沼水質に及ぼす影響の評価

3 章より、気温の上昇にしたがって湖の水温が上昇すると、藻類の増殖速度や底泥からの栄養塩溶出速度などが変化することが明らかとなった。本章では、これまでに得られた知見に基づいて地球温暖化が水質に及ぼす影響を予測した。

##### 4.1 水温と水質の関係に基づく将来水質の推定

###### 4.1.1 湖水質の推定

表 4.1-1 は、霞ヶ浦と琵琶湖の年平均水温の上昇率と、霞ヶ浦と琵琶湖の過去の水質データの隣接年比較法による解析から得られた、単位水温当たりの水質の変化量である。図 2.4-9 の内容に加えて T-Fe と T-Mn についての数値を掲載した。

湖の集水域の人口や土地利用などが変化せず、降雨変動パターンも一定であると仮定し、表 4.1-1 から将来の水質を推定した結果を表 4.1-2 に示す。現在の水温と水質は、1990～2009 年の平均値とした。

霞ヶ浦では 100 年後の COD と Chl-a 濃度は現在の 1.1 倍に増加し、PO<sub>4</sub>-P 濃度と T-Fe 濃度が減少すると予測された。琵琶湖今津沖表層では、DO 濃度と T-N、NO<sub>3</sub>-N 濃度の低下、そして COD と T-Fe 濃度の上昇が予

測された。琵琶湖今津沖水深 80m では、DO 濃度と飽和度がいずれも低下し、PO<sub>4</sub>-P 濃度が上昇、Chl-a 濃度と T-Fe 濃度が低下すると予測された。大宮川沖表層では、T-N、NO<sub>3</sub>-N 濃度の低下と COD の上昇が予測された。

水温の上昇は、微生物の呼吸速度を増大させることから（図 2.3-4）、DO の低下につながると思われる。しかし、霞ヶ浦と琵琶湖表層のいずれも、DO は過飽和（約 105%）のまま変化しないと予測されたことから、湖の表層では、水温が上昇しても藻類の光合成による酸素供給量が他の微生物による酸素消費量を上回ったままであると考えられる。一方今

表 4.1-1 霞ヶ浦と琵琶湖の年平均水温の上昇率と、単位水温当たりの水質の変化量

項目	霞ヶ浦湖心	琵琶湖北湖今津沖表層	琵琶湖北湖今津沖水深80m	琵琶湖南湖大宮川沖表層
水温上昇率(°C/年)	0.012 -	0.047 **	0.016 -	0.044 **
水温1°C上昇時の水質の変化量				
pH	0.0018 -	0.0420 -	-0.0851 **	0.0609 **
DO(mg/L)	-0.1797 *	-0.1411 -	-0.9658 **	-0.1391 **
T-N(mgN/L)	-0.0008 -	-0.0150 *	-0.0008 -	-0.0110 -
NO <sub>3</sub> -N(mg/L)	-0.0005 -	-0.0163 **	0.0041 -	-0.0130 **
T-P(mg/L)	-0.0006 -	0.0000 -	0.0000 -	0.0005 -
PO <sub>4</sub> -P(mg/L)	-0.0045 -	0.0000 -	0.0004 -	0.0000 -
COD(mg/L)	0.3897 *	0.0667 **	-0.0602 *	0.0809 *
Chl-a(μg/L)	4.1007 -	-0.1001 -	-0.2344 **	0.3363 -
T-Fe(mg/L)	-0.0297 -	0.0028 -	-0.0017 -	NoData
T-Mn(mg/L)	NoData	-0.0008 -	0.0029 -	NoData

※回帰分析の検定結果 \* : p < 0.05、\*\* : p < 0.01

表 4.1-2 水温と水質の関係を用いた、霞ヶ浦と琵琶湖の 100 年後の水温・水質の推定値

	霞ヶ浦湖心			琵琶湖								
	湖心			今津沖表層			今津沖80m			南湖大宮川沖		
	現在	100年後推定値	比率	現在	100年後推定値	比率	現在	100年後推定値	比率	現在	100年後推定値	比率
水温(°C)	16.2	17.5	1.1	16.6	21.2	1.3	7.6	9.1	1.2	16.9	21.4	1.3
DO(mg/L)	10.0	9.7	1.0	9.9	9.3	0.9	8.2	6.7	0.8	9.8	9.2	0.9
DO飽和度(%)	105	105	1.0	105	107	1.0	71	60	0.8	105	107	1.0
T-N(mgN/L)	0.966	0.965	1.0	0.288	0.219	0.8	0.377	0.376	1.0	0.335	0.287	0.9
NO <sub>3</sub> -N(mg/L)	0.175	0.174	1.0	0.120	0.045	0.4	0.262	0.269	1.0	0.110	0.052	0.5
T-P(mg/L)	0.096	0.095	1.0	0.007	0.007	1.0	0.009	0.009	1.0	0.018	0.020	1.1
PO <sub>4</sub> -P(mg/L)	0.011	0.005	0.5	0.003	0.003	1.0	0.006	0.006	1.1	0.003	0.003	0.9
COD(mg/L)	7.7	8.2	1.1	2.4	2.7	1.1	1.9	1.8	1.0	3.0	3.4	1.1
Chl-a(μg/L)	62.8	68.0	1.1	3.5	3.0	0.9	0.8	0.4	0.5	6.1	7.6	1.2
T-Fe(mg/L)	0.344	0.307	0.9	0.022	0.035	1.6	0.021	0.018	0.9	Nodata		

※100 年後水質の現在に対する比率が 0.95 未満の箇所は網掛け、1.05 以上の箇所は網掛け+太字で示した。

津沖水深 80m では DO 飽和度の低下が予測されたことから、水温の上昇によって湖の底層への酸素供給量が不足し、嫌気的な環境に変化する可能性がある。

#### 4.1.2 河川水質の推定

2.2の河川水水質の解析からは、河川水水温が1987年から2005年にかけて0.022℃/年の割合で上昇したことがわかったが、水温1℃あたりの河川水質の変化率を求めることは困難であった。そこで、気温の上昇によって土壌からの栄養塩などの溶出特性が変化し、その結果河川水質が変化すると考え、3.1の森林土壌培養-溶出実験の結果を用いて河川水質の将来の変化の傾向を推定することとした。

表4.1-3は、図3.1-11および図3.1-12の値の一部を抜粋したものであり、筑波山林土壌のNO<sub>3</sub>-NとMnの可溶化速度と比および温度係数である。温度係数は、温度(T)と可溶化速度(R)の関係を以下の式で表現したときの係数である。

$$R(T) = R(T_0) \times \theta^{(T-T_0)}$$

R(T), R(T<sub>0</sub>) : T℃, T<sub>0</sub>℃における可溶化速度

θ : 温度係数

土壌でのNO<sub>3</sub>-NとMnの可溶化速度と、河川水中の濃度が比例すると仮定し、河川水の将来の濃度を、水温上昇率と温度係数を用いて計算した。表4.1-4は、水温の現況値を表2.2-6の1987年の値、上昇率

表 4.1-3 筑波山林土壌のNO<sub>3</sub>-NとMnの可溶化速度と比および温度係数

NO <sub>3</sub> -N	可溶化速度 (mg/100g乾土/day)		速度の比 Q <sub>10</sub>	温度係数 θ
	25℃	15℃		
5-10cm	0.036	0.019	1.93	1.07
0-5cm	0.336	0.153	2.20	1.08
表層堆積物	0.378	0.078	4.85	1.17
Mn	可溶化速度 (μg/100g乾土/day)		速度の比 Q <sub>10</sub>	温度係数 θ
	25℃	15℃		
5-10cm	1.59	0.51	3.09	1.12
0-5cm	27.47	6.82	4.03	1.15
表層堆積物	7.26	1.73	4.21	1.15

表 4.1-4 温度係数に基づく100年後の河川水のNO<sub>3</sub>-N濃度とMn濃度の推定

	現在	100年後 推定値	比率
水温(℃)	13.0	15.2	1.17
NO <sub>3</sub> -N(mgN/L)	0.51	0.59	1.16
Mn(mg/L)	0.028	0.036	1.29

を0.022℃/年としたときの、NO<sub>3</sub>-N濃度とMn濃度の計算結果である。100年後には、河川水のNO<sub>3</sub>-N濃度は現況値の1.16倍に、Mn濃度は1.29倍に上昇すると推定された。

Fe濃度については、土壌溶出実験では溶出量が增大しなかったことから、2.2に記した水道原水水質から推定した。図4.1-1は、Fe濃度の変化の推定結果である。表2.2-6から、Fe濃度は1987年から2005年にかけて0.0072mg/L/年の割合で減少したが、現在値を0.40mg/Lとして直線的に減少させた場合、56年目でFe濃度が0mg/Lとなった。そこで、現在値を0.40mg/Lとして年に対して指数関数的に減少すると仮定した。その結果、100年後には0.045mg/Lになると推定された。

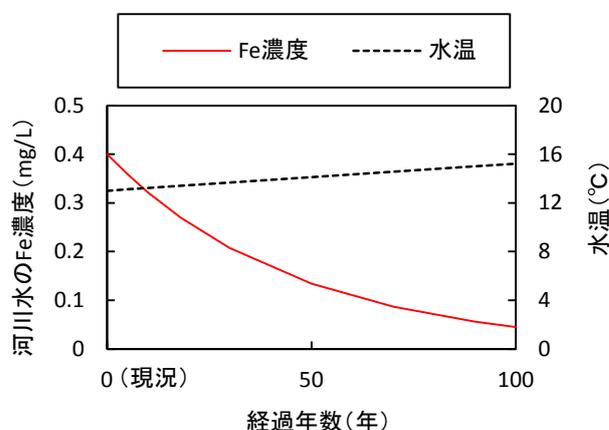


図 4.1-1 水道原水水質データに基づく将来の河川水のFe濃度の推定

## 4.2 簡易モデルによる地球温暖化が湖の水質に及ぼす影響の予測

地球温暖化が湖の水質に及ぼす影響要因は様々である。例えば水温の上昇は、蒸発散、湖水の鉛直循環、藻類の増殖特性、有機物の無機化、底泥からの栄養塩溶出などに影響を及ぼし、連鎖的に他の要因にも影響を及ぼすと考えられる。そこで、仮想的な湖を考え、生物反応を主とする簡易なモデルを構築し、地球温暖化が進行した場合の湖の水質の変化を予測した。

### 4.2.1 概要

図4.2-1は、本研究での湖のモデルの全体構造である。地球温暖化に対する湖水水質の応答特性を把握することを目的とし、湖全体を完全混合モデルで表現した。湖内部の諸生物反応は、植物プランクトンまでを考慮した生態系モデルで表した。水質成分

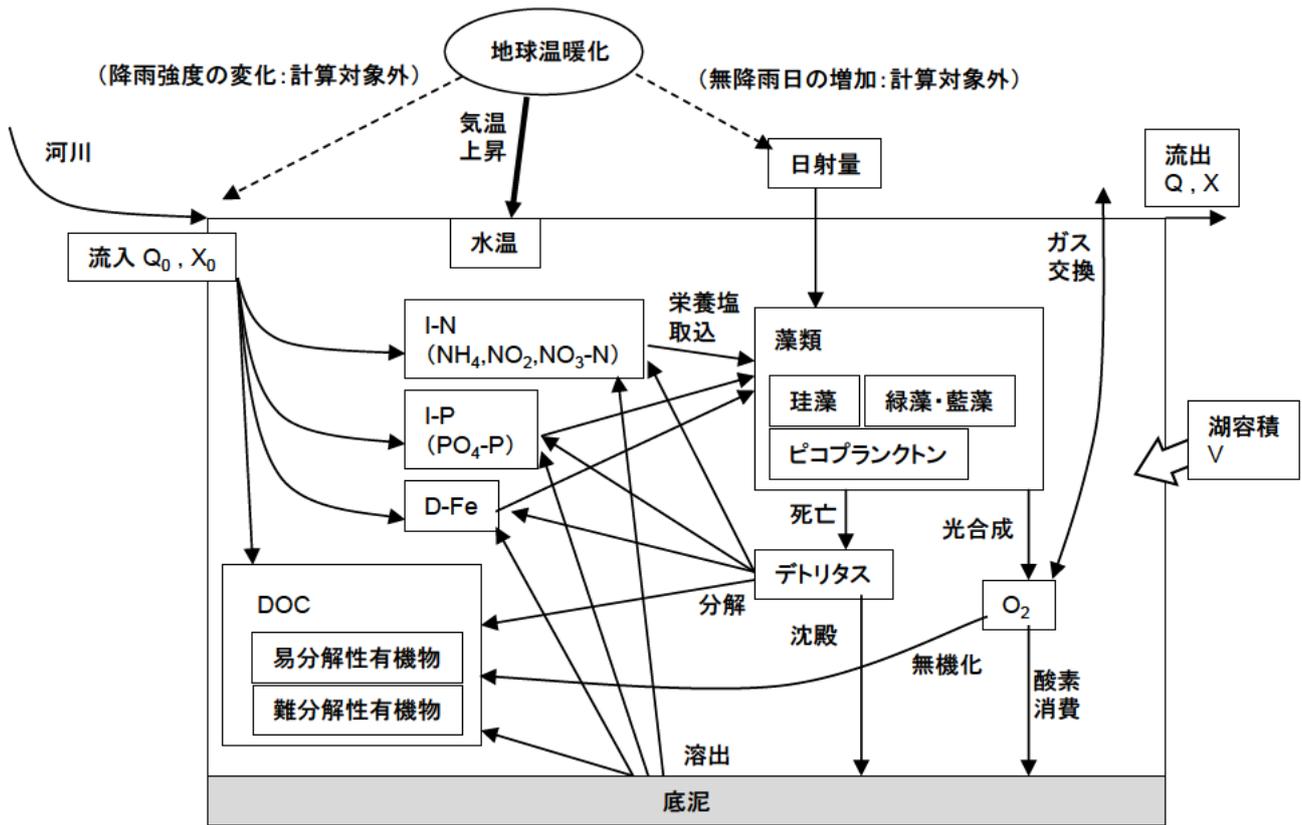


図 4.2-1 湖のモデルの全体構造

は、水温と DO のほか、無機態窒素 I-N、無機態リン I-P、溶存態鉄 D-Fe、DOC を計算対象とした。さらに、藻類の種構成と、DOC に占める難分解性 DOC の割合も考慮した。藻類は I-N、I-P、D-Fe を取り込んで増殖し、死亡時はデトリタスに変化し、デトリタスは沈降して系外に除去されるか、分解して DOC、I-N、I-P、D-Fe を放出するものとした。底泥の反応は、DO の消費と各種溶存態成分の溶出のみとし、デトリタスの巻き上げや底泥微生物による栄養塩吸収などは考えないこととした。地球温暖化の影響としては、長期的な河川水質の変化と水温の上昇のみを考慮し、日射量は変わらないものとした。

#### 4.2.2 反応式とパラメーター

完全混合モデルの物質収支式は以下の式で表現される。

$$\frac{dX}{dt} = \frac{Q_0 X_0 - QX}{V} + R$$

ここで、X：物質濃度

Q：流出流量

X<sub>0</sub>：流入水中の物質濃度

Q<sub>0</sub>：流入流量

V：容積

R：反応項

表 4.2-1～表 4.2-3 に、本モデルの目的変数、入力変数、反応項を構成する各種反応の速度式を示す。藻類の増殖速度は Monod 型の式を、デトリタスの分解や DOC の無機化は一次反応式を基本としている。表 4.2-4 は、計算に関わるパラメーターの一覧である。湖の諸元は、鉛直方向に常に混合している湖として霞ヶ浦を想定し、平均水深を 4m、湖面積を 220km<sup>2</sup>とした。パラメーターの一部は 3 章の実験結果に基づいて決定した。以下にモデルパラメーターの設定方法を記す。

##### 1) 藻類の最大比増殖速度

表 4.2-5 は、藻類の最大比増殖速度の設定値である。最大比増殖速度は、図 3.2-13 に示す霞ヶ浦藻類培養実験で得た比増殖速度に基づき、水温と Fe 濃度の違いに応じて変化させた。

##### 2) 藻類の炭素、窒素、リン、Fe の含有量

表 4.2-6 は、単位量の藻類が含有する炭素量の設定値である。炭素含有量は、図 3.2-17 に示す霞ヶ浦藻類培養実験で得た、定常期の藻類細胞数と DOC 濃度の関係に基づき、水温と Fe 濃度の違いに応じて

表 4.2-1 モデルの目的変数

変数名	記号	単位
藻類細胞数	M	$\times 10^6$ 個/mL
デトリタス粒子濃度	D	$\times 10^6$ 個/mL
有機物濃度	C	mgC/L
無機態N濃度	IN	mgN/L
無機態P濃度	IP	mgP/L
溶解性Fe濃度	Fe	mg/L
溶存酸素濃度	O <sub>2</sub>	mg/L

表 4.2-2 モデルの入力変数

入力変数名	記号	単位	
水温	T	°C	
日射量	I	cal/cm <sup>2</sup> ・day	
河川水水質	DOC	C <sub>0</sub>	mgC/L
	IN	IN <sub>0</sub>	mgN/L
	IP	IP <sub>0</sub>	mgP/L
	Fe	Fe <sub>0</sub>	mg/L

表 4.2-3 各種の反応の速度式

反応過程	反応速度式	単位
藻類の増殖	$R_1 = \mu_M(T, Fe) \cdot \frac{IN}{(k_N + IN)} \cdot \frac{IP}{(k_P + IP)} \cdot F(I) \cdot M$ <p>日射量の影響の関数F(I) <math>\begin{cases} I &gt; I_{OPT} \rightarrow F(I) = 1 \\ I &lt; I_{OPT} \rightarrow F(I) = I / I_{OPT} \end{cases}</math></p>	個/mL・day
藻類の自己分解	$R_2 = k_M \cdot M$	個/mL・day
デトリタスの分解	$R_3 = k_D \cdot D \cdot \theta^{(T-20)}$	個/mL・day
有機物の無機化	$R_4 = k_C \cdot C \cdot \theta^{(T-20)}$	mg/L・day
デトリタスの沈降	$R_5 = S \cdot D$	個/mL・day
大気とのガス交換	$R_6 = k_L \cdot (O_2^* - O_2) \cdot A / V$ <p>O<sub>2</sub>* : 飽和溶存酸素濃度</p>	mg/L・day

表 4.2-4 モデルパラメーターと設定値の一覧

記号	単位	説明	値	参考元
<b>湖の形状</b>				
V	m <sup>3</sup>	湖沼容積	880・10 <sup>6</sup>	霞ヶ浦西浦諸元
A	m <sup>2</sup>	湖沼表面積	220・10 <sup>6</sup>	
H	m	水深	4	
Q <sub>0</sub> およびQ	m <sup>3</sup> /day	河川水流量	2644704	H17年の西浦流入河川流量の合計
	day	滞留時間	332.7	
<b>藻類増殖反応</b>				
$\mu_M(T, Fe)$	1/day	最大比増殖速度	温度とFe濃度で変化	実験値
K <sub>N</sub>	mg/L	半飽和定数、窒素	0.1	文献値 <sup>1)</sup>
K <sub>P</sub>	mg/L	半飽和定数、リン	0.01	文献値 <sup>1)</sup>
I <sub>OPT</sub>	cal/cm <sup>2</sup> ・day	最適日射量	250	文献値 <sup>1)</sup>
<b>分解、無機化</b>				
k <sub>M</sub>	1/day	藻類の自己分解定数	0.05	文献値 <sup>1)</sup>
k <sub>D</sub>	1/day	デトリタスの可溶化速度定数	0.04	文献値 <sup>1)</sup>
k <sub>C</sub>	1/day	無機化速度定数	0.00622	実験値 <sup>3)</sup>
$\theta$	—	温度定数	1.003	文献値 <sup>1)</sup>
	°C	温度定数の基準温度	20	文献値 <sup>1)</sup>
k <sub>NOM</sub>	1/day	難分解性有機物の無機化速度定数	0.00127	実験値 <sup>3)</sup>
<b>難分解性有機物の割合</b>				
O <sub>M</sub>	—	藻類由来	0.4	実験値
O <sub>R</sub>	—	河川水由来	0.8	実験値 <sup>3)</sup>
O <sub>S</sub>	—	底泥由来	1	便宜的に1とした

表 4.2-4 モデルパラメーターと設定値の一覧 (続き)

記号	単位	説明	値	参考元
粒子の沈降				
S	1/day	沈降係数	0.5	文献値 <sup>1)</sup>
湖面におけるガス交換				
k <sub>L</sub>	m/day	酸素移動係数	3	文献値 <sup>1)</sup>
底泥からの溶出				
rX(T)	mg/m <sup>2</sup> ・day	底泥からの溶出速度 X : DOC、IN、IP、Fe	温度で変化	実験値
rO <sub>2</sub>	mg/m <sup>2</sup> ・day	底泥の酸素消費速度	1000	文献値 <sup>2)</sup>
収率や単位換算のための係数				
Y <sub>MC</sub>	mgC/個	藻類の炭素含有率	温度とFe濃度で変化	実験値
Y <sub>CDO</sub>	mg/mgC	DOCの無機化に要する酸素量	2.664	有機物の組成式をCH <sub>2</sub> Oとして計算

表 4.2-5 藻類の最大比増殖速度

水温(°C)	最大比増殖速度(1/day)		
	D-Fe濃度(mg/L)		
	0.1以下	0.2	0.4以上
18以下	0.844	0.931	0.883
21	0.959	0.894	0.893
24	0.935	0.834	0.817
27	0.857	0.795	0.743
30以上	0.744	0.714	0.730

表 4.2-6 藻類の炭素含有量

水温(°C)	藻類の炭素含有量(mgC/細胞数10 <sup>9</sup> 個)		
	D-Fe濃度(mg/L)		
	0.1以下	0.2	0.4以上
18以下	4.56	3.31	2.96
21	2.55	5.57	3.73
24	2.11	11.82	12.09
27	10.23	14.25	12.98
30以上	27.53	13.93	17.76

表 4.2-7 藻類の元素組成<sup>4)</sup>

(レッドフィールド比)

元素	mol比	質量比 (mg/1000mgC)
C	106	1000
N	16	176.0
P	1	24.3
Fe	0.001	0.0439

表 4.2-8 水温と Fe 濃度に応じた藻類の構成比

D-Fe濃度 (mg/L)	水温 (°C)	藻類の構成比(%)		
		ピコプランクトン	珪藻	藍藻・緑藻など
0.1以下	18以下	8.1	71.3	20.6
	21	4.8	51.5	43.8
	24	9.0	47.0	44.0
	27	6.8	11.0	82.2
	30以上	5.0	14.2	80.7
0.2	18以下	5.4	58.6	36.1
	21	4.8	50.4	44.8
	24	6.3	46.8	46.9
	27	8.2	25.0	66.8
	30以上	8.6	8.3	83.1
0.4以上	18以下	7.2	73.3	19.5
	21	17.1	59.2	23.7
	24	7.3	41.2	51.5
	27	6.1	41.1	52.8
	30以上	13.7	18.5	67.8

表 4.2-9 湖の底泥からの I-N、I-P、DOC、Fe の溶出速度

湖水水温が25°C以上のときは、嫌気の値					湖水水温が25°C未満のときは、好気の値				
嫌気溶出実験の溶出速度 (mg/m <sup>2</sup> ・day)					好気溶出実験の溶出速度 (mg/m <sup>2</sup> ・day)				
水温(°C)	I-N	I-P	DOC	D-Fe	水温(°C)	I-N	I-P	DOC	D-Fe
30以上	1.917	8.091	5.308	7.710	30以上	1.788	0.041	0.838	0.109
20	1.522	0.180	1.843	0.848	20	0.085	0.000	0.956	0.017
10以下	0.873	0.347	2.016	0.816	10以下	0.000	0.010	1.121	0.000

変化させた。また、表 4.2-7 に示す藻類の元素組成 (Fe を含めたレッドフィールド比)<sup>4)</sup>に基づき、炭素含有量から窒素、リン、Fe の含有量を計算した。

### 3) 温度および Fe 濃度と、藻類の種構成の関係

表 4.2-8 は、藻類の種構成の設定値である。藻類の種構成は、霞ヶ浦藻類培養実験の 14 日目の種構成に基づき、温度と Fe 濃度に応じて変化させた。ピコプランクトンの割合は、図 3.2-3 に示すフローサイトメトリーによる領域 A の細胞数から求めた。珪藻の割合は、フローサイトメトリーによる全藻類細胞数からピコプランクトンの細胞数を引き、図 3.2-5 の珪藻の割合を掛けて求めた。藍藻、緑藻、その他の藻類は区別せず、藍藻・緑藻などとして計算した。

### 4) 底泥からの I-N、I-P、D-Fe、DOC の溶出速度

表 4.2-9 は、底泥からの I-N、I-P、D-Fe、DOC の溶出速度の設定値である。溶出速度は、図 3.3-4 と図 3.3-5 に示す底泥溶出実験の結果に基づき設定した。水温 25℃以上のときは嫌気溶出実験、水温 25℃未満のときは好気溶出実験の溶出速度を適用した。

### 5) 難分解性有機物の割合と、DOC の無機化速度

河川水の DOC 濃度に占める難分解性有機物の割合は、2009 年の夏と冬に霞ヶ浦流入河川を対象に実施した、98 日間の有機物分解実験の結果<sup>3)</sup>に基づき、77.0%とした。藻類由来の DOC 濃度に占める難分解性有機物の割合は、2010 年 9 月に実施した、培地による藻類培養液の有機物分解実験の結果に基づき、38.6%とした。また、有機物の無機化速度定数は、98 日間の有機物分解実験<sup>3)</sup>に基づき設定した。

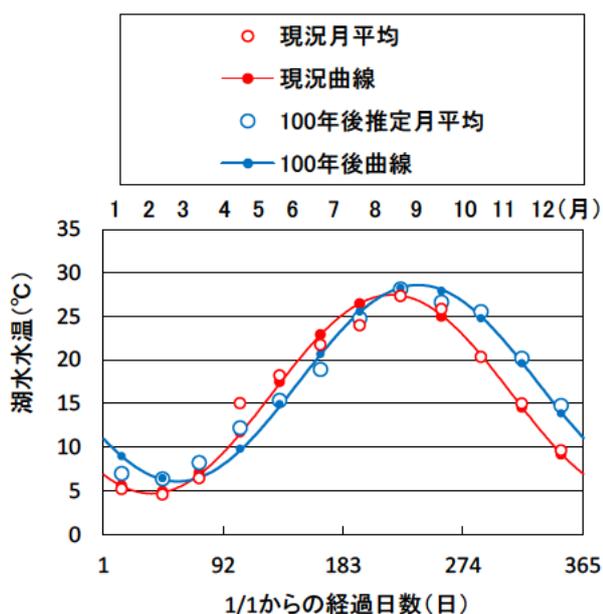


図 4.2-2 現況と 100 年後の水温の設定曲線

モデルの入力変数は、長期的な河川水質の変化と水温の上昇を考慮して設定した。以下に入力変数の設定方法を記す。

### 1) 水温

図 4.2-2 は、現況の霞ヶ浦の水温の経月変化、100 年後の水温の経月変化の推定値と、それぞれに対応させた正弦関数の波形である。水温の入力値は、季節変動を正弦関数で表現し、その係数については地球温暖化を考慮して長期的に変化させて与えた。

### 2) 日射量

日射量は、津野ら<sup>1)</sup>の方法に従い、6 月に最大、12 月に最小となる正弦関数で与えた。長期的な変化はないものとした。

### 3) 河川水の I-N、I-P、DOC 濃度

河川水の I-N、I-P、DOC 濃度は、2009 年 4 月から 2010 年 3 月にかけて実施された西浦に流入する 14 河川の水質調査結果<sup>3)</sup>に基づき、図 4.2-3 に示す経月変化を設定した。I-N 濃度については、経月変化のパターンは一定のまま長期的に年平均値を変化させた。I-P、DOC の年平均値は長期的に一定とした。

I-N 濃度の年平均値の長期的な変化は、図 4.2-3 から求めた年平均値 (2.74mgN/L) を初期値とし、河川水水温の長期的な上昇率を、表 2.2-4 から 0.022℃/年とし、表 4.1-4 の NO<sub>3</sub>-N の温度係数を用いて計算した。

### 4) 河川水の Fe 濃度

河川水の Fe 濃度は、図 4.1-1 に示したのと同じく、初期値 0.4mg/L で、年に対して指数関数で減少するように設定した。Fe 濃度の季節変化は設定していない。

### 5) 初期条件

表 4.2-10 は、計算開始時の湖水の各水質項目の値である。湖の水質の初期条件は、過去の調査結果を

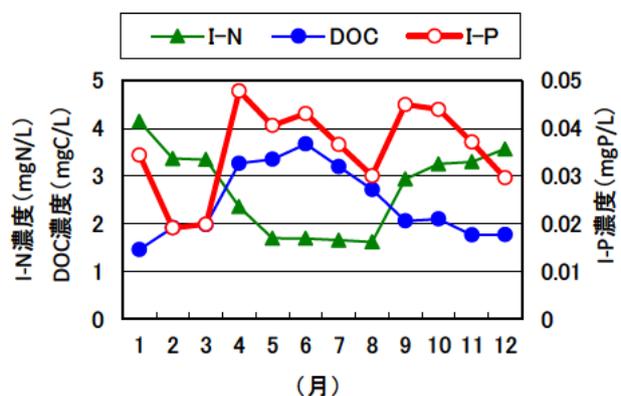


図 4.2-3 河川水水質の季節変化

参考に設定した。湖の初期の藻類の構成比は、表 4.2-8 に基づき設定した。

### 4.2.3 モデル計算結果

図 4.2-4 は、5 年目までの藻類細胞数と I-N 濃度の経日変化である。藻類細胞数濃度は、初期値を  $0.4 \times 10^6$  個/mL に設定したが、1 年目の 7 月までに低下した。2 年目以降は 1 年周期で変化した。I-N 濃度は、初期値を約 0.2mg/L に設定したが増加し、5 年目は 1.3~2.2mgN/L の範囲で変化した。藻類細胞数の高

い夏には、I-N 濃度が低下していることがわかる。

I-N 濃度の初期の変化から、モデルが一定の季節変動パターンに収束するまでに 4 年かかったと考えられる。そこで、地球温暖化が湖の水質に及ぼす影響の予測は、5 年目を基準年 (0 年目) として 100 年間を対象に計算することとした。

図 4.2-5 は、水温、DO、I-N 濃度、I-P 濃度の年平均値の変化である。DO の年平均値は、水温の上昇に従って低下した。I-N 濃度は増加傾向、I-P 濃度は減少傾向であった。100 年後の流入河川水の I-N、I-P 濃度は 3.2mgN/L、0.036mgP/L であり、湖水中濃度は河川水中濃度より低くなった。

図 4.2-6 は、DOC 濃度、D-Fe 濃度、藻類細胞数の年平均値の変化である。DOC 濃度は若干増加し、D-Fe 濃度は減少した。100 年後の流入河川水の D-Fe の濃度は約 0.04mg/L であり、湖水の D-Fe 濃度は河川水より高くなった。

藻類細胞数は、始めは約 4 万個/mL で推移し、約 60 年後から増加に転じた。

図 4.2-7 は、藻類の構成の変化である。藻類の構成は、基準年 (0 年目) は珪藻が約 50% を占めているが、100 年後は約 30% に低下し、藍藻・緑藻などの割合が高くなった。

図 4.2-8 は、DOC に占める難分解性有機物の割合の変化である。難分解性有機物の割合は、約 85% でほぼ横ばいであった。

表 4.2-10 湖水質の初期値

項目	値	単位	設定方法	
藻類細胞数	0.416	$\times 10^6$ 個/mL	2009年の湖心の平均値	
デトリタス濃度	0	$\times 10^6$ 個/mL	便宜的に0とした	
DOC濃度	5.10	mgC/L	霞ヶ浦湖心の 1980年1月の値	
I-N濃度	0.175	mgN/L		
I-P濃度	0.003	mgP/L		
D-Fe濃度	0.040	mg/L		
DO濃度	11.6	mg/L		
難分解性DOCの割合	0.93	-	有機物分解実験結果 <sup>3)</sup>	
藻類の 構成比	ピコプランクトン	8.10	%	表4.2-8から設定 (水温18°C、Fe0.4mg/L)
	珪藻	71.31	%	
	藍藻・緑藻など	20.59	%	

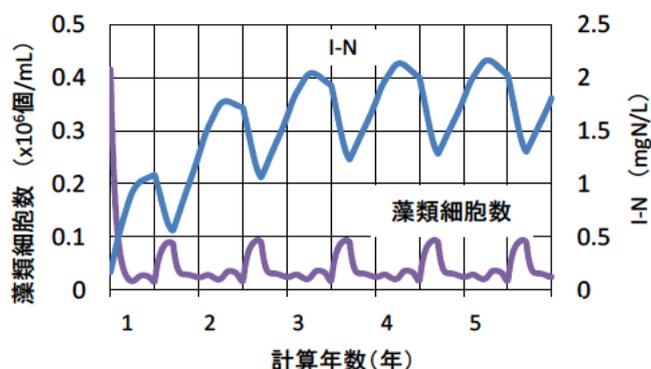


図 4.2-4 藻類細胞数と I-N 濃度の最初の 5 年間の変化

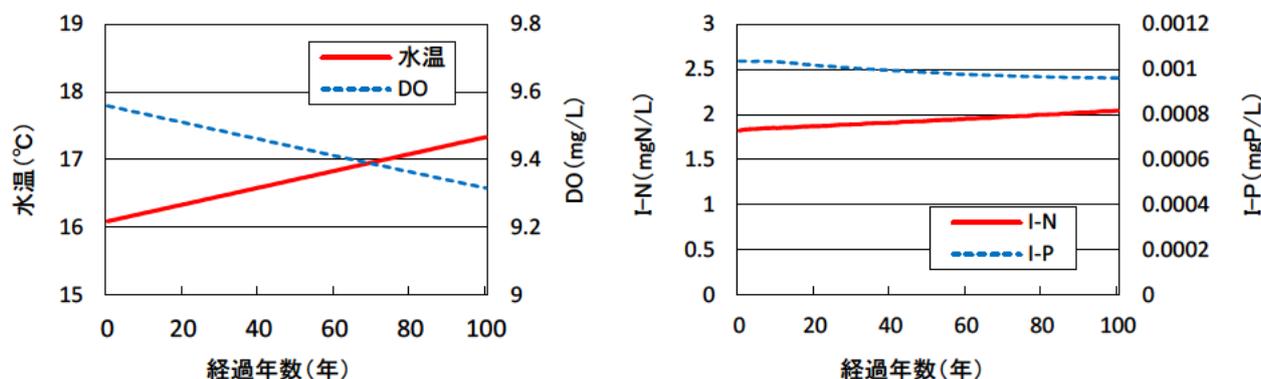


図 4.2-5 水温、DO 濃度、I-N 濃度、I-P 濃度の年平均値の 100 年後までの変化

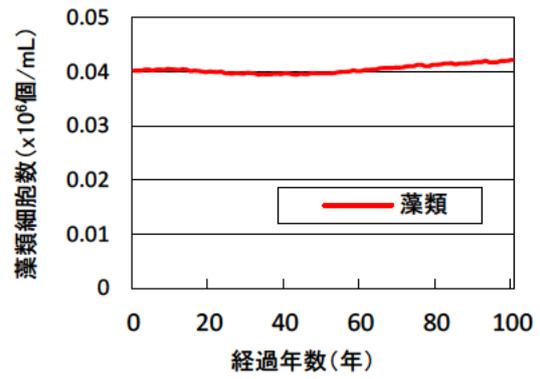
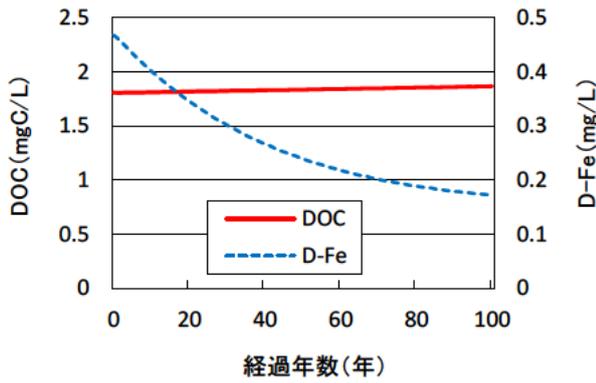


図 4.2-6 DOC 濃度、D-Fe 濃度、藻類細胞数の年平均値の 100 年後までの変化

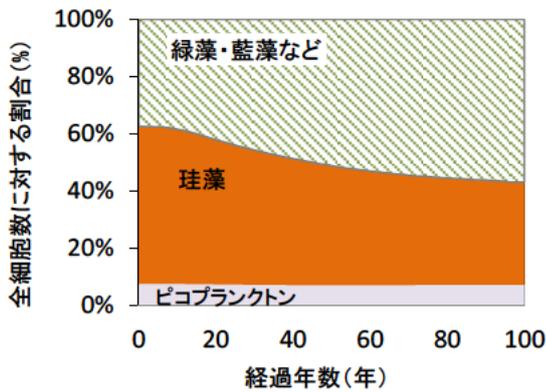


図 4.2-7 100 年間の藻類の構成比の変化

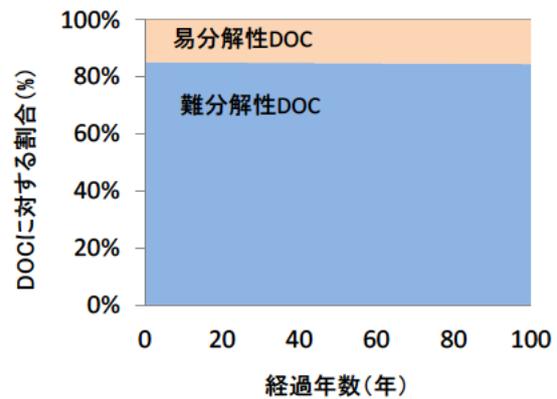


図 4.2-8 100 年間の DOC に占める 難分解性有機物の割合の変化

図 4.2-9 は、0 年目、50 年後、100 年後における、水温と DO の 1 年間の経日変化である。水温は、設定どおり 10～12 月の上昇が大きい。DO は水温が高い夏季に低下する変化となっており、10～12 月は水温の上昇に応じて長期的に低下している。

図 4.2-10 は、0 年目、50 年後、100 年後における I-N、I-P、DOC、D-Fe 濃度と各種藻類の細胞数の、1 年間の経日変化である。

I-N 濃度は、どの時期も長期的に上昇傾向であるが、7～9 月の上昇率が大きい。これは、水温が高い

と底泥からの I-N の溶出速度が上昇するためと考えられる。

I-P 濃度は、1 月頃と 7 月の始めにピークを示す経日変化をしている。7 月の鋭いピークは、夏の高温で底泥からの I-P の溶出が増大した後、速やかに藻類に吸収されて濃度が減少したためと考えられる。1 月頃のピークは、夏に増加した藻類が分解したためと考えられる。

DOC 濃度は、河川水は 6 月に最大となるように設定したが、湖水では 10 月頃に最大となっている。長

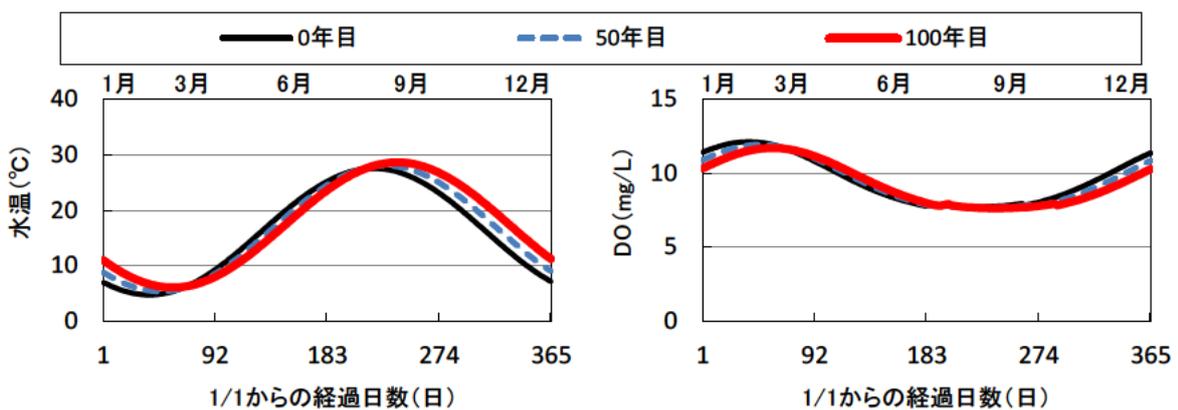


図 4.2-9 水温と DO の 0、50、100 年目の季節変化パターン

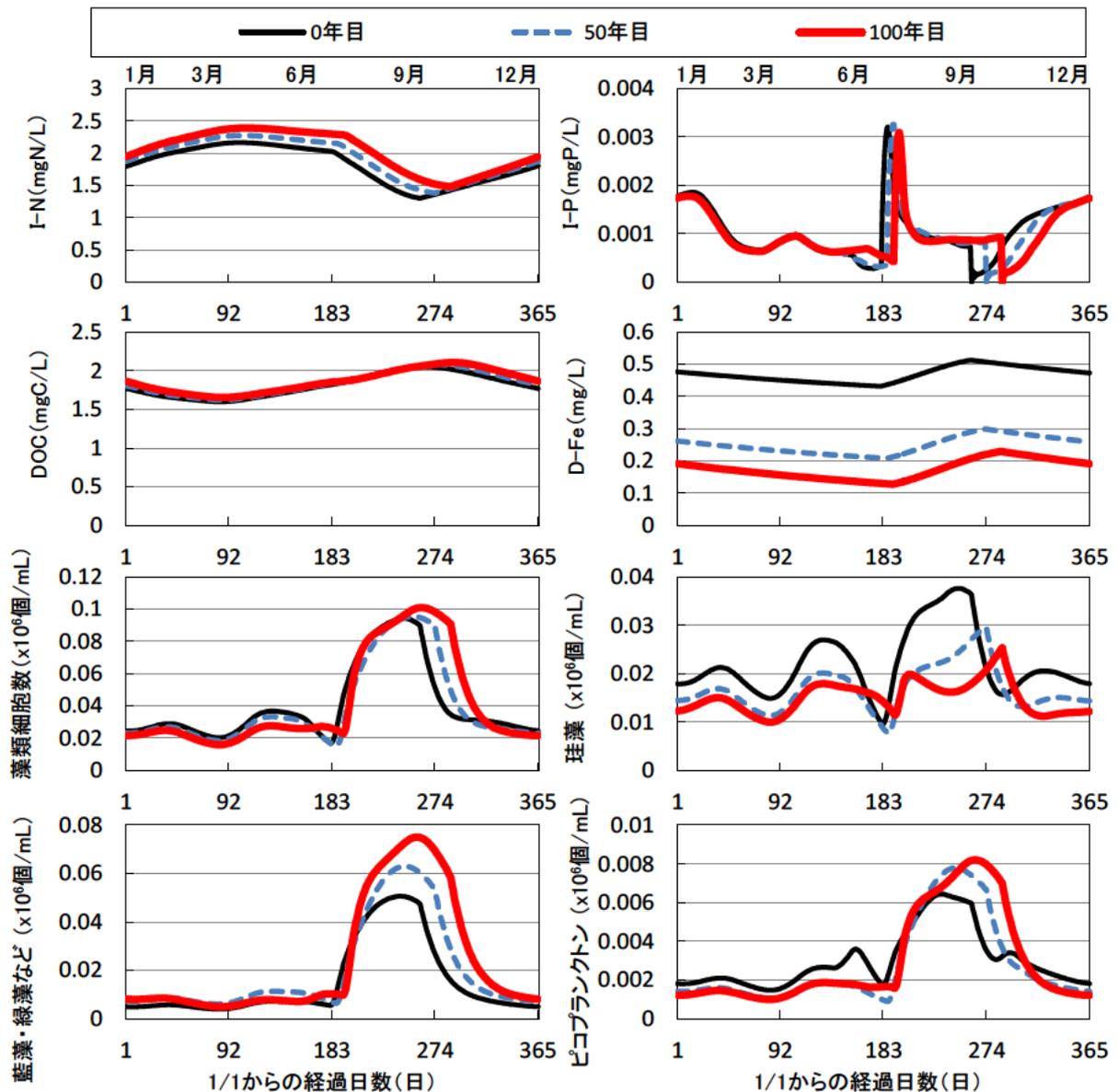


図 4.2-10 I-N、I-P、DOC、D-Fe 濃度、藻類細胞数、各種藻類の 0、50、100 年目の季節変化パターン

期的な変化は小さいが、10～12月には増加傾向である。

Fe 濃度は、7～9月に増加し、残りの期間は減少する変化をしている。また、長期的に顕著な低下傾向がみられる。0年目と100年目の濃度差は約0.3mg/Lであり、河川水で設定した低下幅と等しい。したがって河川水中の Fe 濃度の長期的な減少は、湖内の Fe 濃度の減少を引き起こすと推測される。

藻類細胞数は、夏の7～9月に最大となった。2月と5月にも若干増加がみられた。100年後には、夏のピークの開始時期は変わらないが、終了時期が9月から10月に変わり、ピーク時の細胞数が増加した。

珪藻は、1年間のうちほとんどの時期で、長期的な減少傾向を示した。0年目は夏のピークがみられたが、100年後にはみられなくなった。

表 4.2-11 1年間のうちの、高水温期間と、藻類増殖ピーク期間の日数

	1年間のうちの日数	
	高水温期間 (25℃以上)	藻類増殖ピーク期間 ( $0.04 \times 10^6$ 個以上)
0年目	79	90
50年目	88	99
100年目	97	113
100年間で 増加した日数	18	23

藍藻・緑藻などと、ピコプランクトンは、夏の7～9月に増大する変化をしており、100年後にはピークが高くなり、藻類細胞数の高い期間が長くなっていった。

表 4.2-12 モデルから予測される、湖の 100 年間の水温・水質の変化

		基準年	100年後	1年あたり 変化率	比率 100年後/基準年
水温	(°C)	16.1	17.3	0.0125	1.08
DO	(mg/L)	9.56	9.32	-0.0024	0.97
I-N	(mgN/L)	1.82	2.04	0.0021	1.12
I-P	(mgP/L)	0.0010	0.0010	0.0000	0.93
D-Fe	(mg/L)	0.47	0.17	-0.0028	0.37
DOC	(mgC/L)	1.81	1.87	0.0006	1.03
藻類細胞数	( $\times 10^3$ 個/mL)	40.24	42.29	0.0250	1.05
珪藻	( $\times 10^3$ 個/mL)	22.17	15.20	-0.0752	0.69
藍藻・緑藻など	( $\times 10^3$ 個/mL)	15.05	24.05	0.0995	1.60
ピコプランクトン	( $\times 10^3$ 個/mL)	3.02	3.04	0.0007	1.01

※100 年後水質の現在に対する比率が 0.95 未満の箇所は網掛け、1.05 以上の箇所は網掛け+太字で示した。

表 4.2-11 は、1 年間のうちの高水温期間と藻類増殖ピークの期間の日数である。高水温期間は水温 25°C 以上、藻類増殖ピーク期間は細胞数で  $0.04 \times 10^6$  個/mL 以上とした。100 年間の高水温期間の増加にともなって、藻類増殖ピークの期間も長くなっている。また、藻類増殖ピークの期間は 100 年間で 23 日長くなっており、高水温期間の増加日数より多い。地球温暖化による水温の上昇は、夏の藻類ブルーム発生期間の長期化につながると考えられる。

表 4.2-12 は、各水質項目の基準年と 100 年後の年平均値と、変化率および比である。本モデルからは、100 年後は水温、I-N 濃度、藻類細胞数および藍藻・緑藻などの細胞数が増大する一方、I-P 濃度、D-Fe 濃度、珪藻の細胞数が減少すると予測された。DOC 濃度はあまり変化しない結果となった。藻類細胞数の増加という予測結果は、表 4.1-2 における霞ヶ浦や琵琶湖南湖の Chl-a の増加と対応していた。

### 4.3 まとめ

地球温暖化が進行した将来の河川・湖の水質を、単純に水温と水質の相関関係から、そして簡易な湖モデルから予測した。得られた知見を以下に記す。

隣接年比較法による水温と水質の関係からは、

- 1) 霞ヶ浦では 100 年後の COD と Chl-a 濃度は現在の 1.1 倍に増加し、PO<sub>4</sub>-P 濃度と T-Fe 濃度が減少すると予測された。
- 2) 100 年後は、琵琶湖今津沖表層では、DO 濃度と T-N、NO<sub>3</sub>-N 濃度の低下、そして COD と T-Fe 濃度の上昇が予測された。琵琶湖今津沖水深 80m では、DO 濃度と飽和度がいずれも低下し、PO<sub>4</sub>-P 濃度が上昇、Chl-a 濃度と T-Fe 濃度が低下すると予測された。

森林土壌培養-溶出実験の結果からは、

- 3) 100 年後には、河川水の NO<sub>3</sub>-N 濃度は現況値の 1.16 倍に、Mn 濃度は 1.29 倍に上昇すると推定された。

簡易湖モデルによる将来水質の計算結果からは、

- 4) 年平均水質の長期的な変化は、I-N 濃度は増加、I-P 濃度は減少、DOC 濃度は若干増加、D-Fe 濃度は減少すると予測された。

- 5) 藻類細胞数は、約 60 年後から増加に転じ、100 年後の藻類の構成は、珪藻の割合が約 30%に低下し、藍藻・緑藻などの割合が高くなった。

- 6) 現況と 100 年後の水質の季節変化を比較すると、100 年後は、夏季の藻類細胞数が増加し、藻類細胞数の高い期間が長くなった。

### 参考文献

- 1) 津野洋、宗宮功、西村文武、都市水利用・循環システムへの影響評価及び対策に関する研究、環境庁企画調査局地球環境部環境保全対策課研究調査室、地球環境研究総合推進費平成 4 年度終了研究成果報告集、288-300.
- 2) 佐藤研三、花木啓祐、松尾友矩、地球温暖化による湖沼水質のモデルによる評価、土木学会地球環境シンポジウム講演集、Vol.3(1995)、299-306.
- 3) 南山瑞彦、北村友一、日下部武敏、鈴木穰、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、土木研究所資料第 4191 号、227-283、2010.
- 4) 財団法人海と渚環境美化・油濁対策機構、平成 23 年度漁場環境・生物多様性保全にかかる漁民の森づくり活動等調査報告

(<http://www.umitonagisa.or.jp/pdf/23syokujyuhoukouku20130227.pdf>) .

## 5. おわりに

本研究では地球温暖化が河川湖沼水質に及ぼす影響を明らかにするため、過去の気象データと水質観測データを用いた統計解析 (2 章)、気温と河川・湖の水質の関係を明らかにするための実験 (3 章)、湖沼モデルを用いた地球温暖化が湖沼水質に及ぼす影響の評価 (4 章) を行った。以下に各章ごとの主な知見を記述する。

2 章：過去の気象データと水質観測データを用いた統計解析

河川水質の長期的な水温、 $\text{NO}_3\text{-N}$  濃度などの上昇傾向と Fe 濃度の低下傾向を明らかにした。また、水温の上昇は河川水中微生物の呼吸速度を上昇させることを示した。さらに、湖面積、水深や富栄養化状況の異なる琵琶湖と霞ヶ浦について、水質の長期変化傾向と、水温  $1^\circ\text{C}$  上昇当たりの水質項目の変化量の関係を明らかにした。

3 章：気温と河川・湖の水質の関係を明らかにするための実験

気温の上昇は、山林土壌からの  $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mn}$ 、 $\text{Zn}$  などの可溶化を促進することを示した。次に、人工河川水を用いた藻類培養実験から、水温の上昇と Fe 濃度の低下が藻類の種類や比増殖速度に影響

を及ぼすことを示した。次に、湖の水温の上昇が底泥からの無機態窒素、無機態リン、DOC、Fe、Mn の溶出速度を上昇させることを示した。そして、大雨の日数の増加傾向を踏まえ、雨天時の河川水質の変化を調査し、河川の流量と栄養塩などの負荷量の関係を求めた。

4 章：湖沼モデルを用いた地球温暖化が湖沼水質に及ぼす影響の評価

3 章の実験結果を基に、簡易湖沼モデルを構築し、水温上昇と Fe 濃度低下のシナリオに対する湖沼水質の応答特性を調べた。100 年間の水質計算の結果、I-N は長期的に増加し、D-Fe は減少すると予測された。藻類細胞数は、約 60 年後から増加に転じ、100 年後の藻類の構成は、珪藻の割合が約 30%に低下し、藍藻・緑藻などの割合が高くなると予測された。そして、現況と 100 年後の水質の季節変化を比較すると、100 年後は、夏季の藻類細胞数が増加し、藻類細胞数の高い期間が長くなった。

表 5-1 は、本研究で得られた地球温暖化が河川湖沼水質に及ぼす影響を整理したものである。気温の上昇は、湖水水質を形成する様々な要因に影響を及ぼすが、総じて COD の増加や藻類の増殖など、環境基準達成を困難にする方向に水質が変化するものと考えられた。

表 5-1 地球温暖化が河川湖沼水質に及ぼす影響のまとめ

気候変動	直接的な影響	将来起こりうる変化
気温の上昇	湖水水温の上昇 (第2章4節)	
		河川水の鉄濃度の低下傾向 (第2章2節)
		微生物による呼吸速度の上昇 (第2章3節)
		湖表層におけるDO濃度の減少、CODの増加 (第2章4節)
		湖底のDO濃度の減少 (第2章4節)
		藻類の比増殖速度の変化 (第3章2節)
		湖底からのI-N、I-P、DOC、Fe、Mnの溶出速度の上昇 (第3章3節)
		夏の藻類の増殖期間の長期化 (第4章2節)
		珪藻主体から、緑藻などが主体の藻類種構成に遷移 (第4章2節)
		山林土壌からの栄養塩や金属類の溶出特性の変化 (第3章1節)
集中豪雨の頻度の増加		河川水中 $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度の上昇 (第2章2節、第2章1節)
	雨天時流出負荷の増大	
		雨天時流出水による湖水中藻類の増殖量の増大 (第3章4節)

## 水生生物に蓄積している未規制化学物質の実態の解明に関する研究

研究予算：運営費交付金（一般勘定）

研究期間：平 23～平 25

担当チーム：水質チーム

研究担当者：岡本誠一郎、小森行也、北村友一

### 【要旨】

河川・湖沼等の水環境においてその存在が明らかになり水生生物への影響が懸念されている未規制化学物質の医薬品類については生物濃縮に関する知見は少ないことから、本研究ではその実態を明らかにするため、広く一般細菌に対する殺菌剤として石鹼、シャンプー等に含有されているトリクロサンをモデル物質として、魚類（メダカ、ゼブラフィッシュ等）への濃縮実態について調査した。

その結果、下水処理水を用いた調査によりトリクロサンの生物濃縮係数（BCF）は、メダカで 100～1,380、ゼブラフィッシュで 600～1,590 であり、また、実河川での調査によりヤマメが 360～700、モロコが 650 であった。

キーワード：生物濃縮、魚類、医薬品、トリクロサン

### 1. はじめに

現在、河川・湖沼においては環境基準が設定され、BOD、COD、重金属、有機塩素化合物、農薬等を指標とした水質管理が行われているが、河川・湖沼に棲息する水生生物への蓄積という視点でみると不明な点が多く、十分な水質管理が行われているか明確になっていない。また、近年、河川・湖沼等の水環境において医薬品等の水質規制の対象となっていない化学物質（未規制化学物質）の一部が水生生態系に影響を与えていることが明らかになってきている。これまで、重金属等の規制物質については生物濃縮についての知見は見られるものの、医薬品等の未規制化学物質の生物濃縮に関する知見は少ない。水質（濃度）測定では検出されない物質であっても、生物濃縮により検出可能となる物質も考えられることから、生物濃縮による指標を加えた総合的な水質管理が必要である。

本研究は、水生生態系への影響が懸念されている医薬品類のなかから、広く一般細菌に対する殺菌剤として使用され、石鹼、シャンプー、歯磨き等に含有されている医薬部外品のトリクロサンをモデル物質として、水系食物連鎖における高次消費者の魚類への濃縮実態について検討した。

### 2. 研究方法

#### 2. 1 生体試料中のトリクロサンの分析

生物試料（魚類）の分析前処理（抽出・精製）及び測定は、既往研究・調査報告等<sup>1)~8)</sup>を参考に行った。抽出方法は、超音波抽出、高速溶媒抽出の2方法、精製方法はフロリジル、GPCの2方法について予備検討を行い、それぞれ回収率の高かった超音波抽出とフロリジル精製による方法とした（図-1 参照）。また、抽出・精製後の測定はGC-MSにより行った。GC-MSの測定条件を表-1に示す。本条件による検出下限値は 2.72ng/g-wet であった。生物試料（魚類）のトリクロサン分析は、スズキの食肉部位を用い、トリクロサンの添加回収試験（n=5）を行った。

#### 2. 2 トリクロサンの水生生物濃縮実態

##### 1) 下水処理水に曝露したメダカにおけるトリクロサンの蓄積と生物濃縮

本調査で用いた下水処理実験処理装置と流水式メダカ曝露水槽の配置を図-2に示す。下水処理実験装置は、最初沈殿池（500L）、活性汚泥処理槽（500L×4槽）、最終沈殿池（700L）、塩素混和池（100L）、担体処理槽（10L×4槽）から構成されている。流入下水は、主に生活排水が流入する実下水処理場の生下水を用

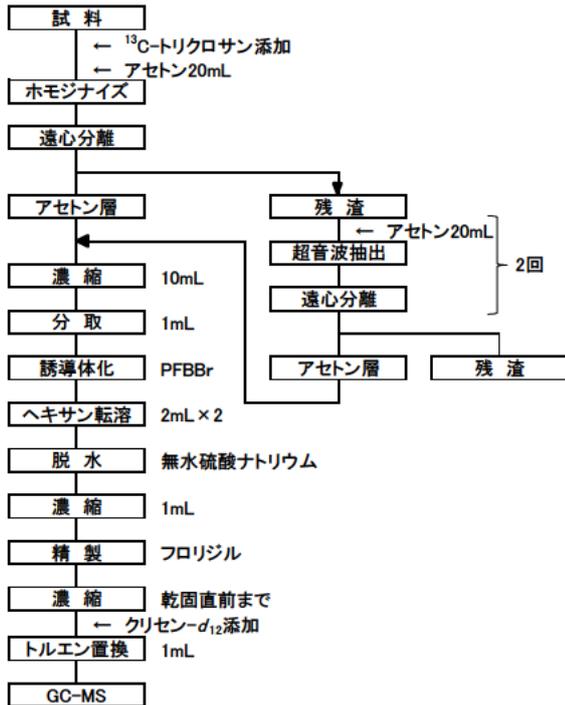


図-1 生体試料のトリクロロサン分析フロー

表-1 GC-MS の測定条件

GC条件		MS条件	
カラム	DB-17ms	イオン化方法	EI法
昇温条件	100°C(1min)→10°C/min →300°C(5min)	イオン化電圧	70eV
注入方法	スプリットレス	インターフェイス温度	280°C
注入口温度	270°C	イオン源温度	260°C
注入量	2μ L	検出モード	SIM
キャリアーガス	ヘリウム	定量イオン(m/z)	254
		確認イオン(m/z)	468

いた。活性汚泥槽は、第1槽から第4槽まで全面エアレーションを行う、活性汚泥法による処理とした。水理学的滞留時間(HRT)は7時間程度である。塩素混和池では、塩素接触時間30分程度で、塩素混和池の流出水で遊離残留塩素濃度が約0.1mg/Lとなるように、次亜塩素酸ナトリウム溶液を連続注入した。担体処理槽は、微生物が自然発生的に保持されたポリプロピレン製円筒担体(φ5mm,長さ5mm,厚さ1mm)が充填され、水理学的滞留時間2時間で二次処理水を処理した。メダカの曝露水は、二次処理水、二次処理水を塩素消毒した水(塩素消毒水)、二次処理水を担体処理した水(担体処理水)とし、対照区は脱塩素水道水とした。なお、各曝露水槽中の曝露水の溶存態トリクロロサン濃度を月1回測定した。

メダカの曝露は流水式とし、表-2の条件で行った。81日間の曝露終了後、各処理区で4~5匹を1匹毎に

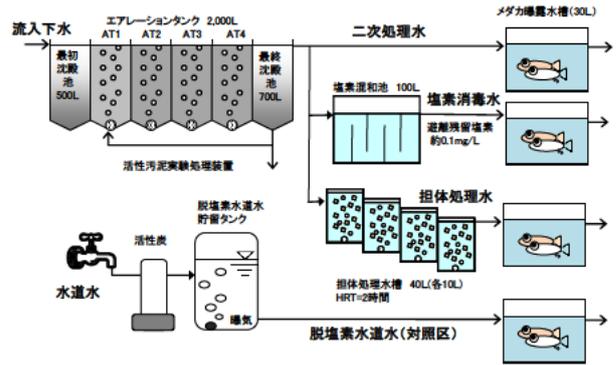


図-2 流水式メダカ曝露水槽

表-2 メダカ曝露条件

試験期間	H24.10.8~H24.12.28(81日間)
試験魚	d-rR系ヒメダカ(6~7カ月齢)
曝露匹数	(雄12匹+雌12匹)/曝露区
曝露方式	流水式
曝露水	脱塩素水道水(対照区) 二次処理水 塩素処理水 担体処理水
換水率	約5換水/日
水温	26°C(ヒータ制御)
照明	明期16時間/暗期8時間
給餌	飽食量 おとひめB2 4回/日(9:00,12:00,16:00,19:00)
曝気	あり

トリクロロサン分析に供した。卵の採卵は、曝露終了後6日前から始め、2日分を1検体とし、3検体分を採卵した。採卵の際は、受精卵と未受精卵に分けて採卵し、それぞれをトリクロロサン分析に供した。なお、生物試料(魚類)のトリクロロサン分析は、本研究で提案した方法(図-1)により行った。また、各処理水のトリクロロサン分析は、宝輪ら<sup>8)</sup>の方法を参考に抽出・濃縮・誘導体化等の前処理を行った後、GC/MSを用いて測定する方法とした。

## 2) 魚類種によるトリクロロサンの生物濃縮特性

ヒメダカ、ゼブラフィッシュの2魚種について実下水を流入水とする前述の活性汚泥処理実験装置の二次処理水(100%)と活性炭を通した脱塩素水道水で2倍に希釈した二次処理水(50%)、4倍に希釈した二次処理水(25%)、脱塩素水道水(Control)の4水槽で約2ヶ月間曝露した(図-3参照)。水温が23.7~29.0°C、平均25.4°Cの実験1(高水温期)と水温13.9~15.4°C、平均14.8°Cの実験2(低水温期)の2回実施した(図-4参照)。

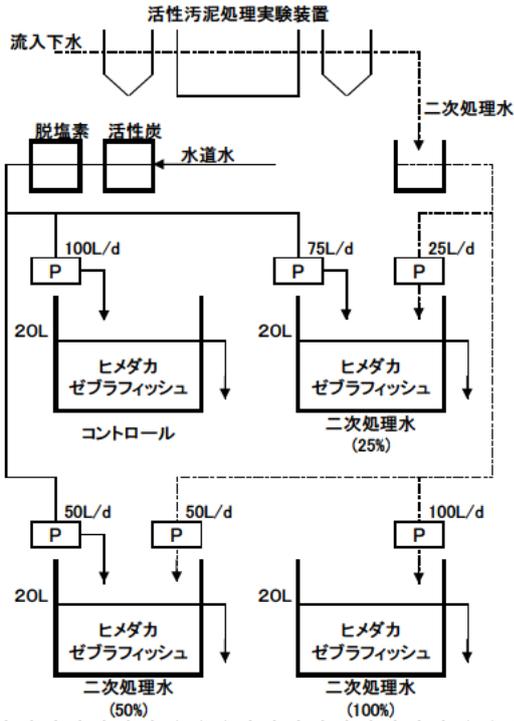


図-3 ヒメダカ、ゼブラフィッシュ曝露水槽

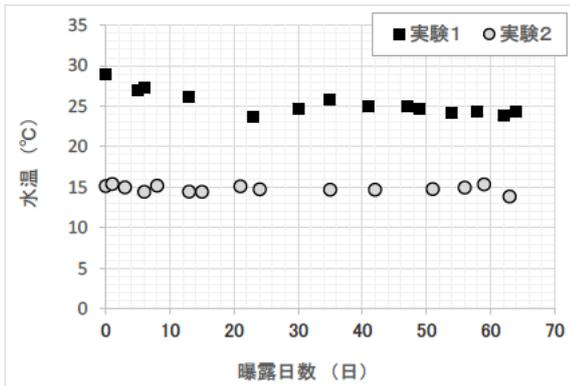


図-4 曝露水槽の水温変化

各曝露水槽は流水式とし換水率（約5換水/日）で行った。約2ヶ月間の曝露終了後、各水槽のヒメダカ2尾、ゼブラフィッシュ2尾のトリクロサン分析（GC/MS）と曝露期間中に数回各水槽のトリクロサン濃度を測定した。

生物試料（魚類）のトリクロサン分析は、図-1の方法を一部変更して行った。夾雑物質による妨害を軽減するため、フロリジル精製における第二画分の溶出を5%酢酸エチル/ヘキサンからジクロロメタン/ヘキサンに変更して行った。本法による装置検出下限値は0.22 ng/mL、試料量換算下限値は試料量1 g-wetで0.43 ng/g-wet、0.3 g-wetで1.5 ng/g-wetであった。また、n=3で再現性試験を行った結果、トリ

クロサンの平均回収率は102%、サロゲートの平均回収率は81%であり、それぞれのばらつき（CV）は0.66%、4.2%と良好な結果であった。また、水試料のトリクロサン分析は、宝輪ら<sup>3)</sup>の方法を参考に行った。ろ過試料にトリクロサン-<sup>13</sup>C<sub>12</sub>を加え Oasis HLBを用い固相抽出した後、アセチル誘導体化しGC/MSにより分析した。

### 3) 実河川に生息する魚のトリクロサン濃縮実態

関東地方を流れる渡良瀬川の三国橋付近と小貝川の文巻橋付近において数種類の魚を捕獲してトリクロサン分析を行った。魚の捕獲は、魚種の特定はせず小型の魚を数種類捕獲することとした。渡良瀬川の三国橋、小貝川の文巻橋の2地点は、過年度に実施した全国河川の医薬品調査で他の地点に比べ比較的医薬品濃度が高い地点である。魚捕獲と平行して河川水中のトリクロサン分析を行った。

## 3. 研究結果

### 3.1 生体試料中のトリクロサンの分析

抽出の予備検討は、超音波洗浄器（発振周波数：44KHz、超音波：320W、抽出時間：10分）による方法と高速溶媒抽出装置（抽出温度：100°C、抽出圧力：1500psi）による方法について各3試料行った。抽出操作における平均回収率は、超音波抽出が95.7%、高速溶媒抽出が77.4%であった。また、精製の予備検討は、フロリジルカートリッジ（Sep-Pak Plus Florisil）にトリクロサンを付加した後、ヘキサン5mLの後に30%酢酸エチル/ヘキサン溶液10mLで溶出する方法とGPCによるトリクロサンの溶出が認められたフラクションを分析対象とする方法について各3試料行った。精製操作における平均回収率は、フロリジルが100%、GPCが89.5%であった。

以上の予備検討に基づき生物試料（魚類）を用いた分析確認は、図-1に示す分析フローに従いスズキの食肉部位を用いた添加回収試験（n=5）で評価した。添加回収試験は、スズキの食肉部位5gを遠沈管にはかりとり、トリクロサン100ngを添加して行った。GC-MSによる定量では、トリクロサン（PFB化体）のマスペクトルを基に定量イオンをm/z 252、確認イオンをm/z 254に設定した。生物試料（魚類）の前

表-3 添加回収試験結果

	操作BL	無添加試料	試料1	試料2	試料3	試料4	試料5
試料量 (g-wet)	—	5.0	5.1	5.0	5.1	5.0	5.0
添加量 (ng)	—	0	100	100	100	100	100
測定値 (ng/g-wet)	<2.7	<2.7	13.9	14.9	16.1	16.4	17.2
回収率 (%)	—	—	70.7	74.3	82.5	82.2	86.5

処理試料では、定量イオン ( $m/z$  252) のトリクロサン (PFB 化体) ピークが生物試料由来と考えられる妨害の影響を受け過大評価された。このため、確認イオンとしていた  $m/z$  254 を定量イオンに変更し、新たに  $m/z$  468 を確認イオンとすることでトリクロサン (PFB 化体) ピークを得ることができた。スズキを用いた添加回収試験の結果を表-3 に示す。試験の結果、添加した試料からは平均 79.2% (CV8.2%) の回収が確認され、前処理全体を通じて、生物試料 (魚類) への適用が可能であると考えられた。

### 3. 2 トリクロサンの水生生物濃縮実態

#### 1) 下水処理水に曝露したメダカにおけるトリクロサンの蓄積と生物濃縮

曝露期間中の各曝露水槽水中のトリクロサン濃度を図-5 に示す。各曝露区の水中トリクロサン濃度は一定ではなかったが、水中トリクロサン濃度は、二次処理水で高いことがわかる。曝露中・後半は、塩素消毒水、担体処理水のトリクロサン濃度は近い値となっていた。図-6 に各曝露区の曝露終了後のメダカ生体中トリクロサン濃度を示す。二次処理水曝露区で雄、雌メダカともトリクロサン濃度が高くなった。

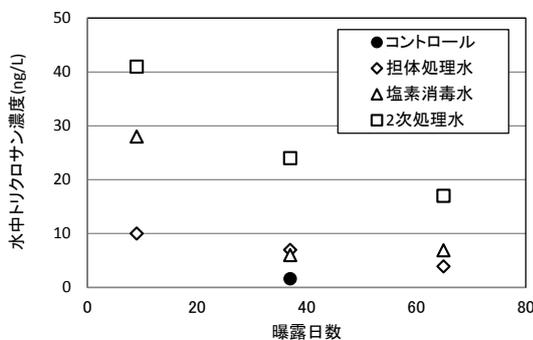


図-5 各曝露水のトリクロサン濃度

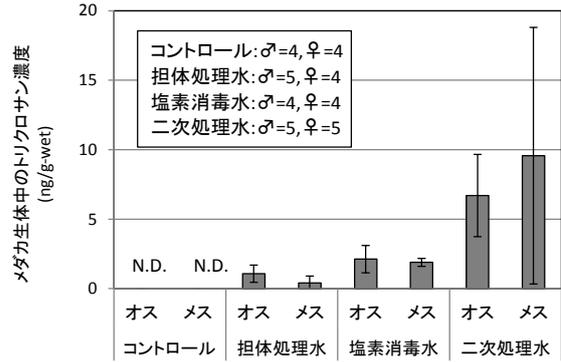


図-6 各曝露区の生体中のトリクロサン濃度 (エラーバー：標準偏差)

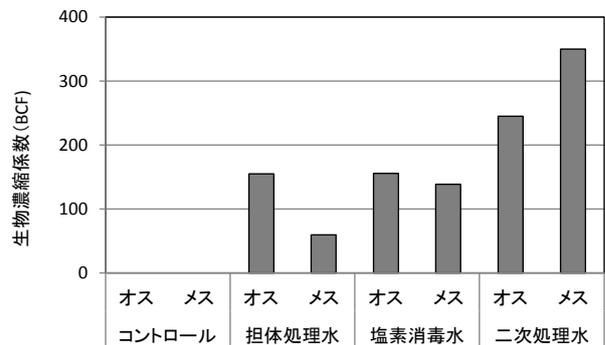


図-7 各曝露区のトリクロサン BCF

担体処理区での生体中のトリクロサン濃度は低かった。図-7 は、各曝露区の水中トリクロサン濃度と生体中トリクロサン濃度の平均値を用い、雄、雌毎に式 (1) から生物濃縮係数(BCF)を算出した結果である。

$$\text{生物濃縮係数(BCF)} = \frac{\text{生体中トリクロサン濃度 (ng/kg-wet)}}{\text{水中トリクロサン濃度(ng/L)}} \cdot (1)$$

トリクロサンの BCF は、メダカ雌の場合二次処理水 (約 350 倍)、塩素消毒水 (約 150 倍)、担体処理水 (約 100 倍) であり、100~350 倍となった。この値はトリクロサン純物質でのコイの濃縮試験結果で得られた BCF (2.7~469)<sup>9)</sup> と概ね同等の値であった。

卵中のトリクロサンは、各処理水曝露区の未受精卵で検出され、その濃度は、担体処理水、塩素処理水、二次処理水の順で高くなった。また、二次処理水曝露区では受精卵でも検出された (図-8 参照)。

以上の結果から、トリクロサン濃度が低減された担体処理水に曝露したメダカ生体中のトリクロサン

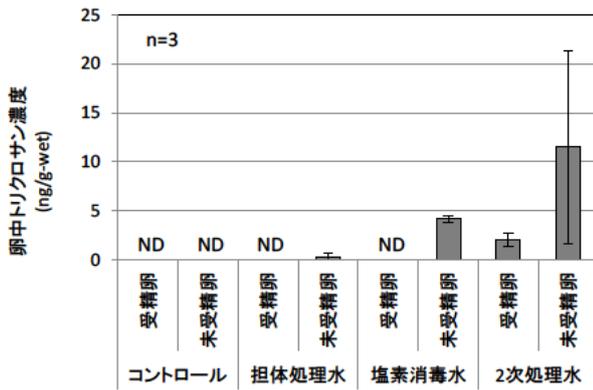


図-8 各曝露水の卵中のトリクロロサン濃度  
(エラーバー：標準偏差)

濃度は二次処理水に比べ低いことから、担体処理によりメダカ体内蓄積および卵中濃度を低下できることがわかった。

## 2) 魚類種によるトリクロロサンの生物濃縮特性

曝露期間中の各水槽のトリクロロサン濃度は、二次処理水(100%)が 29~66ng/L(平均 44ng/L)、二次処理水(50%)が 12~36ng/L(平均 24ng/L)、二次処理水(25%)が 6.3~21ng/L(平均 13ng/L)であった。また、曝露終了後のヒメダカとゼブラフィッシュのトリクロロサン濃度と各曝露水槽のトリクロロサン濃度を用い前述の(1)式から生物濃縮係数(BCF)を算出し、その結果を図-9に示す。

トリクロロサンのBCFは、二次処理水(25%)曝露区・高水温期のヒメダカが平均1,290、ゼブラフィッシュが平均1,230で低水温期のヒメダカが平均980、ゼブラフィッシュが平均750であった。二次処理水(50%)曝露区では、高水温期のヒメダカが平均1,090、ゼブラフィッシュが平均600で低水温期のヒメダカが平均1,380、ゼブラフィッシュが平均1,590であった。二次処理水(100%)曝露区では、高水温期のヒメダカが平均680、ゼブラフィッシュが平均800で低水温期のヒメダカが平均1,210、ゼブラフィッシュが平均930であった。ヒメダカのBCFは680~1,380、ゼブラフィッシュのBCFは600~1,590であり、コイ<sup>9)</sup>のBCF(2.7~469)に比べ少し高い値を示した。

本調査により得られたデータを低水温期と高水温期に分け、曝露水温とヒメダカ、ゼブラフィッシュのBCFの関係について検討したところ、曝露水温と

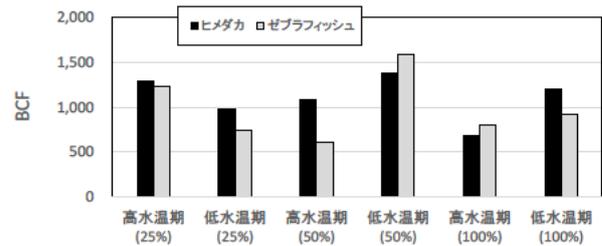


図-9 各曝露水槽における生物濃縮係数(BCF)

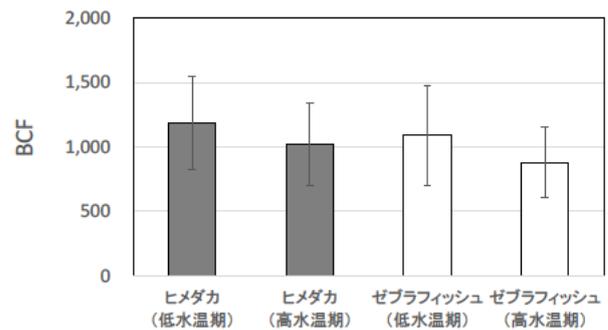


図-10 曝露水温とBCFの関係  
(エラーバー：標準偏差)

BCFには有意な違いは見られなかった(図-10)。また、ヒメダカ、ゼブラフィッシュの肥満度(F)を次式(2)より求め、肥満度とBCFの関係を図-11に示す。弱い相関であるがヒメダカ、ゼブラフィッシュとも測定個体の肥満度が大きくなるに従いBCFが、小さくなる傾向がみられた。

$$F = W / L^3 \times 1000 \quad \dots (2)$$

ここに、F：肥満度、W：体重(g)、L：体長(cm)

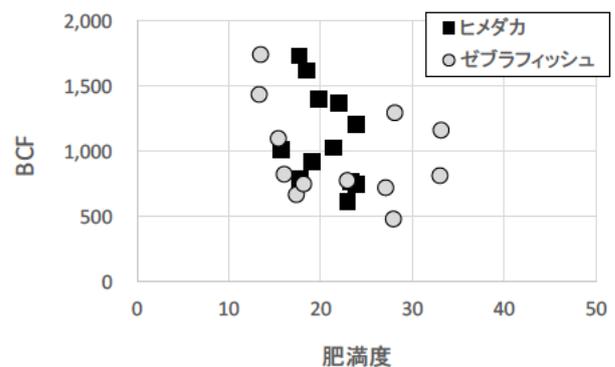


図-11 肥満度とBCFの関係

## 3) 実河川に生息する魚のトリクロロサン濃縮実態

渡良瀬川の三国橋、小貝川の文巻橋付近で捕獲した魚は11尾であり、体長5cm~13cmの小魚である(表-4参照)。捕獲魚のトリクロロサン濃度を捕獲地点

の河川水濃度と合わせて表-4に示した。全11尾中、渡良瀬川で捕獲したヤマメ、小貝川で捕獲したヤマメ、モロコの3尾からトリクロサンが検出された。他の9個体は検出下限値以下であった。トリクロサンが検出された3尾について(1)式からBCFを求めた。渡良瀬川で捕獲したヤマメは360、小貝川で捕獲したヤマメは700、モロコは650であり、コイのBCF(2.7~469)<sup>9)</sup>と同等の値であった。

表-4 実河川に生息する魚のトリクロサン濃縮実態

	トリクロサン濃度		BCF	
	河川水 (ng/L)	生体(魚)試料 (ng/g-wet)		
渡良瀬川 (三国橋)	74	ヤマメ (9cm, 9g)	26	360
		モロコ (9cm, 9g)	<0.39	—
小貝川 (文巻橋)	22	ヤマメ-1 (9cm, 11g)	15	700
		ヤマメ-2 (8cm, 8g)	<0.40	—
		モロコ-1 (7cm, 6g)	<0.38	—
		モロコ-2 (7cm, 3g)	14	650
		クチボソ-1 (5cm, 1g)	<0.33	—
		クチボソ-2 (5cm, 1g)	<0.31	—
		フナ-1 (7cm, 11g)	<0.42	—
		フナ-2 (7cm, 10g)	<0.40	—
オイカワ (13cm, 23g)	<0.41	—		

#### 4. まとめ

本研究により得られた結果を以下に示す。

1) 水生生物(魚類)試料のトリクロサン分析の前処理(抽出・精製)について検討し、超音波抽出・フロリジル精製の後、GC-MSによる測定方法を提案した。本方法による添加回収率は、スズキの食肉部位を用いた確認試験(n=5)により、平均回収率79.2%、CV8.2%が得られ、本方法は魚類試料への適用が可能であると考えられた。

2) 二次処理水、塩素消毒水、担体処理水にメダカを曝露し、メダカ生体中のトリクロサン分析からトリクロサンはメダカに蓄積することがわかった。そのBCFは100~350倍であった。また、卵中のトリクロサン分析により卵への移行も確認された。トリクロサン濃度が低減された担体処理水に曝露したメダカ生体中のトリクロサン濃度は二次処理水に比べ

低いことから、担体処理によりメダカ体内蓄積および卵中濃度を低下できることがわかった。

3) 魚類種(ヒメダカ、ゼブラフィッシュ)によるトリクロサンの生物濃縮特性について検討した結果、ヒメダカのBCFは680~1,380、ゼブラフィッシュのBCFは600~1,590であり、これら2種の魚種間では大きく異なることはなかった。また、曝露水温によりBCFには違いがみられなかった。

4) 渡良瀬川、小貝川の2河川において実河川に生息する魚のトリクロサン濃縮実態を調査した。捕獲魚全11尾中、トリクロサンが検出された3尾のBCFを求めたところ、渡良瀬川で捕獲したヤマメが360、小貝川で捕獲したヤマメが700、モロコが650であった。

#### 参考文献

- 1) 田中宏明「河川水中で見出される医薬品の底質汚染の実態と生物影響に関する研究」平成19年度河川整備基金助成事業報告書、平成20年6月
- 2) 高田秀重ほか「東京湾におけるトリクロサン類の分布と動態」第20回環境化学討論会講演要旨集、2011
- 3) 環境省、要調査項目等調査マニュアル(水質、底質、水生生物)、平成15年
- 4) 吉岡敏行ほか「環境中超微量有害化学物質の分析・検索技術の開発に関する研究」岡山県環境保健センター年報、2007
- 5) 亀田豊「化粧品及び高分子製品由来の紫外線吸収剤の水環境中の汚染状況」第18回環境化学討論会講演要旨集、2009
- 6) 篠原竜一ほか「二枚貝を用いたアジア沿岸域の紫外線吸収剤汚染モニタリング」第17回環境化学討論会講演要旨集、2008
- 7) 松原英理子ほか「下水試料中医薬品のGC-MS(LRMS, MS/MS, HRMS)による分析検討」第20回環境化学討論会講演要旨集、2011
- 8) 宝輪勲ほか「GC-MSによる水環境中のPPCPs一斉分析法の基礎的検討」第16回環境化学討論会講演要旨集、2007
- 9) 環境省、化学物質の環境リスク評価第7巻(<http://www.env.go.jp/chemi/report/h21-01/>)

## 魚類の繁殖・稚魚の生育試験による下水処理水の安全性評価に関する研究

研究予算：運営費交付金（一般勘定）

研究期間：平 23～平 25

担当チーム：水環境研究グループ（水質）

研究担当者：岡本誠一郎、小森行也、北村友一

### 【要旨】

下水処理水が魚類の繁殖、仔稚魚の成長に与える影響を明らかにするため、活性汚泥2次処理水、塩素処理水、担体処理水にメダカ成魚をペアで曝露し産卵数と孵化率を、さらに、メダカ仔稚魚をそれに曝露し体長、体重などを調査した。産卵実験から、受精卵数は、塩素処理水曝露区で脱塩素水道水曝露区（コントロール）より若干低下する傾向を示したが、2次処理水では増加、担体処理水は同程度となり、下水処理水曝露による顕著な悪影響はみられなかった。孵化実験では、2次処理水曝露区の孵化率が12.2%と悪化したが、塩素処理水での孵化率は82%とコントロールの86%と近い結果を示した。担体処理水曝露区の孵化率は49%であった。仔稚魚の成長は、2次処理水、塩素処理水曝露区で若干の阻害が観察された。

キーワード：下水処理水、メダカ、産卵数、受精率、稚魚、生長阻害

### 1. はじめに

「科学技術に関する基本政策について」に対する答申、総合科学技術会議、H22.12.24では、人の健康保護や生態系の保全に向けて、大気、水、土壌における環境汚染物質の有害性やリスクの評価、その管理及び対策に関する研究を推進することが位置づけられている。近年、水生生物に影響を与える恐れのある未規制化学物質が下水処理水中に検出され、さらに、河川水に占める下水処理水の割合が高くなっている河川もあることから、水生生物に対する影響が懸念されている。水生生物の中で、魚類は、水生生物の代表種、経済生物でもあり、下水処理水が魚類に与える影響を把握する必要がある。魚類影響は、生態系保全を考慮すると、繁殖（産卵数、孵化率、稚魚の生長など）に関する項目で評価すべきであるが、下水処理水の魚類繁殖への影響評価法はまとめられていないこと、さらに、試験に長期間かつ手間を要すことから、下水処理水が魚類の繁殖に与える影響についての知見が得られていないのが現状である。

本研究では、下水処理水の魚類繁殖への影響を解明するため、メダカを試験魚とし、下水処理水がメダカの産卵、孵化、仔稚魚の成長に及ぼす影響を調査した。

### 2. 実験方法

#### 2.1 実験方法の概要

本実験では、処理レベルの異なる3種類の下水処理水に雄・雌ペアでメダカ成魚の曝露を行い、産卵数、孵化率を調査した。これ加えて、下水処理水曝露履歴のない親から得られた孵化仔魚を下水処理水中で成長させ、その成長阻害の調査を行った。

#### 2.2 下水処理実験装置の運転

下水処理実験装置の概要とメダカ曝露水槽の関係を図-1に示す。下水処理実験装置は、最初沈殿池（500L）、エアレーションタンク（500L×4槽）、最終沈殿池（700L）、塩素接触槽（100L）、担体処理水槽（10L×4）から構成されている。

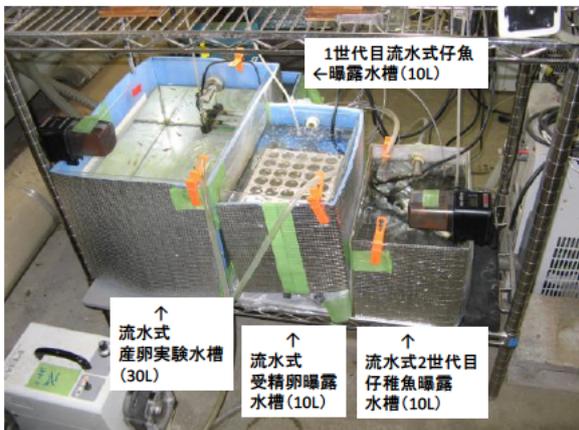
流入下水は、分流式下水道として整備され主に生活排水が流入する下水処理場の生下水を用いた。エアレーションタンクでは、第1槽から第4槽まで全面エアレーションを行う標準活性汚泥法による処理を行った。水理的滞留時間（HRT）は7時間となるように流入水量を制御した。塩素混和池では、その流出水で遊離残留塩素濃度が0.1mg/L程度となるように、次亜塩素酸ナトリウム溶液を連続注入した。担体処理槽は、微生物が自然発生的に保持されたポリプロピレン製円筒担体（φ5mm、長さ5mm、厚さ1mm）が充填され、水理的滞留時間2時間で2次処理水

を処理した。メダカの曝露水は、上記の2次処理水、塩素処理水、担体処理水とし、コントロール(対照区)を脱塩素水道水として、流水式でメダカ成魚、受精卵、仔稚魚の曝露実験を行った。

### 2.3 メダカの曝露条件

メダカの曝露は、写-1,2に示した流水式曝露実験装置を使用した。メダカの曝露水槽は、各曝露区で3つ用意し、1つを産卵実験用(30L)、1つを受精卵曝露用(10L)、1つを仔稚魚曝露用(10L)とした。コントロールは、水道水を活性炭処理後、連続曝気した脱塩素水道水とした。メダカの曝露スケジュールを図-2に示す。産卵実験は、6~7か月齢の成魚を用い、約3カ月弱の間、産卵数調査を行った。この間3回の孵化実験を行った。仔稚魚成長実験は、土木研究所内において脱塩素水道水で継代飼育しているメダカから得られた孵化仔魚を約5カ月間、各下水処理水に曝露し、各曝露区で成長を比較した。産卵実験では、毎日、受精卵と未受精卵を区別し計数した。産卵、仔稚魚成長実験終了後は、全長、体長、体重を測定し肥満度を、続いて、肝臓、生殖腺を取り出し重量の測定を行い、肝臓重量指数、生殖腺重量指数を次式で算出した。

- 肥満度 (体重(g)/全長(cm)<sup>3</sup>×1000)
- 肝臓重量指数 (肝重量(g)/体重(g)×100)
- 生殖腺重量指数 (生殖腺重量(g)/体重(g)×100)



写-1 流水式メダカ曝露水槽

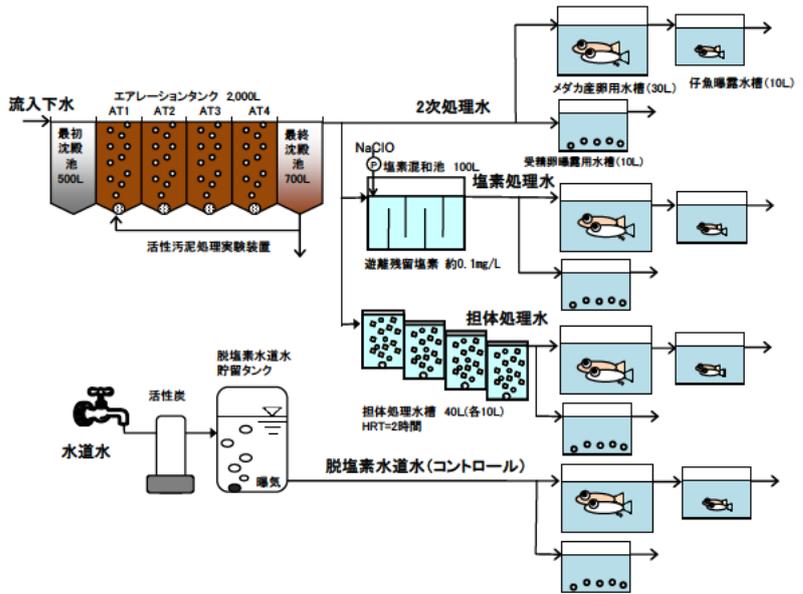


図-1 下水処理実験装置と流水式メダカ曝露装置の概要

産卵・  
孵化実験

成魚産卵実験  
2012/10/8~12/28(3カ月弱)  
12ペア  
観察項目:産卵数  
→  
孵化実験  
3回実施(20日/回) 60または90粒/曝露区/試験  
観察項目:孵化率、死亡率、孵化日数

仔稚魚成長実験

仔稚魚生長実験  
下水曝露履歴の無い親から得た  
孵化仔魚を使用  
2012/10/9~2013/2/28(5カ月)  
孵化仔魚:孵化後1~2日20匹投入  
観察項目:体長、体重など

図-2 メダカ曝露実験のスケジュール



受精卵個別曝露方式  
(説明:1穴の上下をステンレス製メッシュとその周囲をガラス短管により隔離し、受精卵を1つひとつを流水式で曝露することが可能)  
1台で30個の受精卵曝露が可能)



流水式受精卵曝露水槽  
(説明:スターラーと曝気で曝露水を攪拌)

写-2 流水式受精卵曝露装置

## 2.4 水質分析

各曝露水の性状を把握するため、産卵実験用水槽を代表とし、水温、pH、DO、電気伝導度、DOC、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、残留塩素濃度の分析を1~3回/周で行った。

pHは7程度、DOは $5\text{mgO}_2/\text{L}$ に維持されていた。電気伝導度は、下水処理水曝露区で $60(\text{ms}/\text{m})$ 、DOCは、 $4\sim 5\text{mg}/\text{L}$ 、 $\text{NH}_4\text{-N}$ は概ね $0.2\text{mg}/\text{L}$ 以下、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度は $10\sim 20\text{mg}/\text{L}$ であり、2次処理水、塩素処理水、担体処理水で顕著な違いはみられなかった。塩素混和地出口での残留塩素の平均値は、全塩素で $0.46\text{mg}/\text{L}$ 、遊離で $0.07\text{mg}/\text{L}$ であったが、塩素処理水曝露水槽内の残留塩素の平均値は、全塩素で $0.12\text{mg}/\text{L}$ 、遊離塩素は $0.03\text{mg}/\text{L}$ と低下していた。

## 3. 実験結果

### 3.1 水質分析の結果

図-3 に全曝露期間中の各産卵実験用曝露水槽内の水質分析の結果を示す。各曝露水の水温は約 $26^\circ\text{C}$ 、

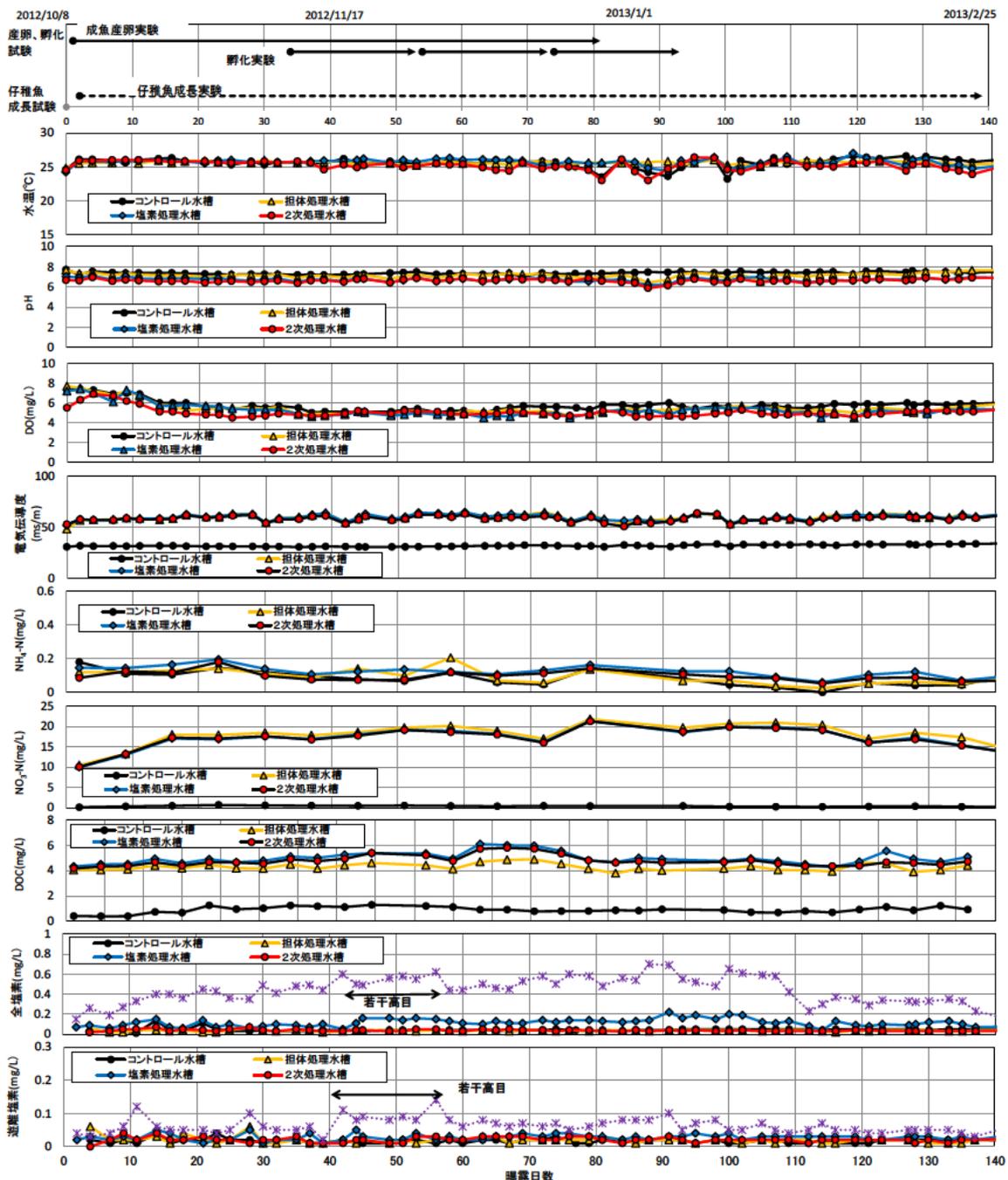


図-3 各曝露水槽の水質分析結果

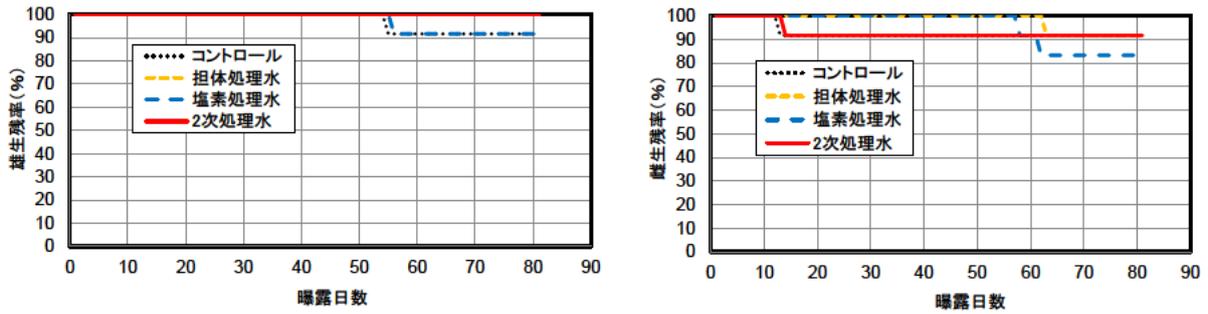


図-4 成魚産卵実験での雄と雌メダカの生残率

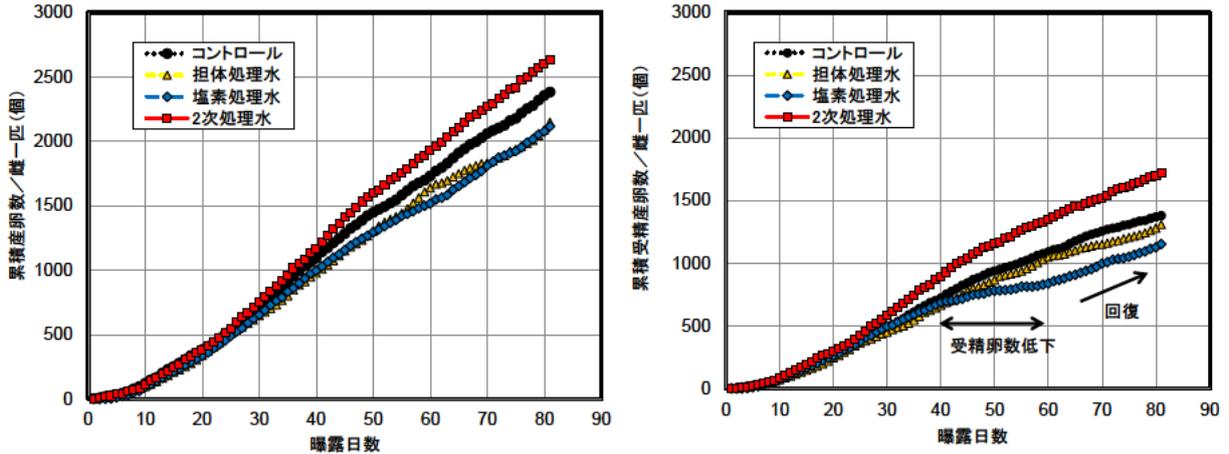


図-5 成魚産卵実験での雌1匹あたりの累積産卵数と受精卵数の経過日変化

### 3.2 成魚産卵実験の結果

図-4 にメダカ成魚の産卵実験中の雄と雌メダカの生残率を示した。曝露期間中は各水槽で死亡個体がみられた。死亡個体数は、コントロールで1匹(♂)、2次処理水1匹(♀)、塩素処理水3匹(♂1、♀2)、担体処理水で1匹(♀)程度であり、全ての曝露区で曝露期間中80%以上のメダカが生残していた。

図-5に雌1匹当たりの累積産卵数と累積受精卵数を示す。2次処理水曝露区の産卵数、受精卵数とも、コントロールよりも増加した。原因は不明であるが、2次処理水は活性汚泥の微細フロックが他の処理水よりも多く含まれていたため、これが餌源となり産卵数が増加した可能性がある。塩素と担体処理水曝露区の産卵数は同程度でコントロールより低かった。塩素処理水曝露区では、図-3のとおり、残留塩素濃度が高目となった40~60日目に受精卵数が低下する傾向がみられたが、残留塩素濃度の低下とともに累積受精卵数の傾きは回復した。担体処理水曝露区の受精卵数は、概ねコントロールと同等であった。曝露終了後の全長、体長、体重、肝臓、生殖線重量指数、肥満度を図-6に示す。肝臓重量指数は、雌メダカで塩素処理水、2次処理水曝露区でコントロールより有意に増加していた。

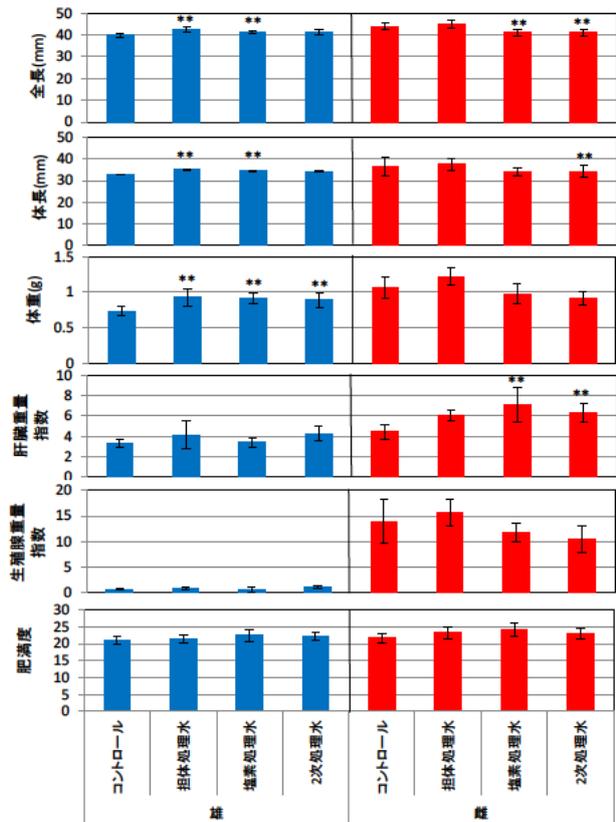


図-6 成魚産卵実験終了時の全長、体長、体重肝臓・生殖線重量指数、肥満度

エラーバー：標準偏差、\*\*は1%有意

残留塩素濃度の高い時期でも産卵は観察されたが、受精卵数が若干低下する傾向であったことから、放流先に魚類の繁殖場があり、河川水の希釈が期待できない場合は、塩素の添加量は必要最小限が望ましいと考えられる。

### 3.3 孵化実験の結果

図-7に成魚産卵実験で得られた受精卵を用いた3回の孵化実験の結果を示す。2次処理水曝露区の3回の平均孵化率は12.2%と低かった。担体処理水曝露区では、2次処理水曝露区より改善がみられたものの3回の平均孵化率は49.3%であった。塩素処理水曝露区の孵化率はコントロール(86.7%)に近く、3回の平均孵化率は82.4%が得られた。孵化日数は、2次処理水と担体処理水曝露区で短縮される傾向を示した。コントロールと塩素処理水曝露区の孵化日

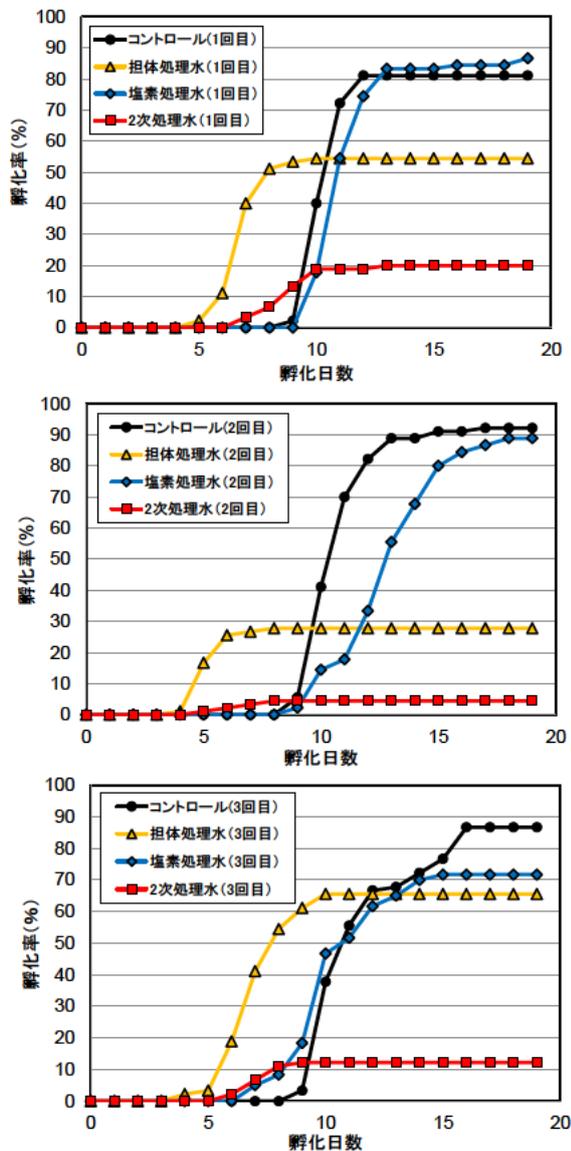


図-7 孵化実験の結果

数は0~12日であるのに対し、2次処理水や担体処理水曝露区の孵化日数が約5~8日となった。また、2次処理水や担体処理水曝露区では5日目以降に死亡する個体が多かった。

塩素処理水曝露区では、コントロールと同等の孵化率、孵化日数が得られたことから、塩素は、メカニズムは明らかでないが、2次処理水に含まれる胚毒性を緩和できることが明らかとなった。

### 3.4 仔稚魚成長実験の結果

図-8に仔稚魚の成長実験終了後の生残した個体(2次処理水7匹、担体処理水9匹、塩素処理水11匹、コントロール13匹)の全長、体長、体重、肝臓・生殖腺重量指数、肥満度の結果を雌雄別に示した。2次処理水と塩素処理水では、コントロールより全長、体長、体重が有意に低下する傾向が観察された。

今回の実験からは、生長阻害の原因が2次処理水にあったのか、塩素処理水にあったのかは、明らかではない。今後、2次処理水で成長阻害が生じた原因と、担体処理水とその後段で塩素処理を行うなどの実験から塩素の成長阻害の検証が必要である。

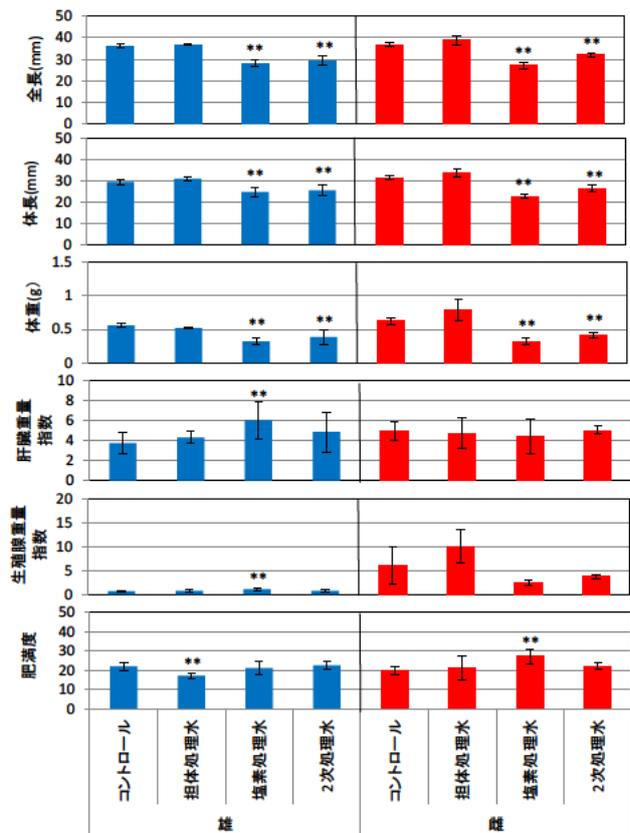


図-8 仔稚魚成長試験終了時の全長、体長、体重  
肝臓・生殖腺重量指数、肥満度  
エラーバー：標準偏差、\*\*は1%有意

#### 4. おわりに

下水処理水が魚類の繁殖に与える影響を明らかにするため、メダカを用いて活性汚泥2次処理水、塩素処理水、担体処理水に成魚ペアメダカ、仔稚魚を曝露し、産卵数、孵化率、仔稚魚の成長を調査した。

本研究で得られた知見を以下に述べる。

##### 1. 成魚産卵実験から

- 1-1) 2次処理水曝露区は、コントロールより産卵数、受精卵数が増加した。
- 1-2) 塩素処理水曝露区は、塩素濃度が高くなると受精卵数が低下したが、塩素濃度の低下とともに受精卵数の回復がみられた。
- 1-3) 担体処理水曝露区の受精卵数は、コントロールと同等の結果となった。

##### 2. 孵化実験から、

- 2-1) 2次処理、担体処理水、塩素処理水曝露区の孵化率は、それぞれ 12.2%、49.3%、82.4%となった。
- 2-2) 孵化日数は、2次処理水と担体処理水曝露区で約 5~8 日と、短縮される傾向を示した。2次処理水や担体処理水では 5 日目以降に死亡する個体が多かった。
- 2-3) 塩素処理水曝露区では、コントロールと同等の孵化日数、孵化率が得られた。

##### 3. 仔稚魚の成長試験から

- 3-1) 塩素処理水と2次処理水では、コントロールより全長、体長、体重が低下する傾向が観察された。

今後は、多世代試験から下水処理水の魚類生態影響を評価していく予定である。

## 微量金属を対象とした藻類抑制手法の提案

水質チーム	上席研究員	岡本誠一郎
	主任研究員	平山 孝浩
	研究員	柴山 慶行

### 1. 目的

ダム湖や湖沼等の閉鎖性水域において、藍藻類が異常増殖してアオコ状態になる現象に対して、曝気装置の適用等の対策が行われるが、アオコ発生の抑制に対しては効果が不十分な事例がみられる。

(独) 土木研究所における既往の研究で、底層の貧酸素化に伴って底質から溶出してきたマンガンの濃度を低減させることによって、アオコの抑制が可能であることを明らかにしている<sup>1)</sup>。本研究では、水質チームで開発した水中の溶存マンガン濃度を選択的に低減できる処理手法を用いた装置(担体処理装置)を、底層が貧酸素化してアオコが発生する閉鎖性水域の底層に適用して、水域内の藻類抑制に対する効果を調べた。

### 2. 実験方法

実験は、霞ヶ浦(西浦)の中でも特に閉鎖性の高い土浦市内の船だまりで実施した。この実験水域は底泥の有機物含有量が高く、夏季には水が滞留して底層が貧酸素化するとともに、藍藻類が異常発生しやすい水域となっている。

図1に実験概念図を示す。直径1.2mの蛇腹状風管を用いて、水面側には浮きを取り付け、底泥側にはステンレスの枠を取り付けて底泥内に枠がささるように設置して隔離水塊を設けた。風管No.1には、担体処理装置を底層付近(水導入部が底泥から30cmの位置)に設置して、他方の風管No.2は比較のための対照系とした。なお、風管には水面下1.5mの位置に、周囲の水位変化に風管内の水位が追随できるように、直径5cm程度の水位調整用の穴を開けている。

図2に、担体処理装置の概要を示す。陸上に設置したエアークンプレッサーから空気が送気され、アクリル状の筒の下部から曝気され、筒内に上昇流をつくるとともに、底層付近に循環流をつくる。筒内

には、微生物固定化担体が封入された籠が入っており、エアレーションによって、担体上には、自然発生的にマンガン酸化細菌を含む生物膜が生じる。底泥から溶出してきたマンガンはこの生物膜により酸化されて底層に水質改善層が作られることになる。

平成25年6月24日に装置一式を設置して担体処理装置の運転を開始した。装置の運転開始以降、1週間に1回または2回の頻度で、多項目水質計(堀場製作所、U-50シリーズ)を用いた鉛直方向の現地水質測定を行うとともに、風管内の表層(水面下0.5m)、下層(2.5m)の水を水質分析のために採水し、各層のChl.-a(単波長吸光光度法)、金属類(ICP-MS)、リンと窒素(栄養塩自動分析装置)について測定した。また、風管による隔離水塊の周辺の底泥を7月初旬に柱状採泥器を用いて採取し、深さ30cmまでを混合して定量分析に供した。担体上の付着物についても実験終了後に回収して圧力容器法による酸分解を実施し、含有金属成分について定量した。水質分析については、河川水質試験方法(案)【1997年版】を、底質や担体上の付着物については、底質調査方法(平成24年、環境省)に従った。なお、現地観測と採水は、10~11時頃に実施した。

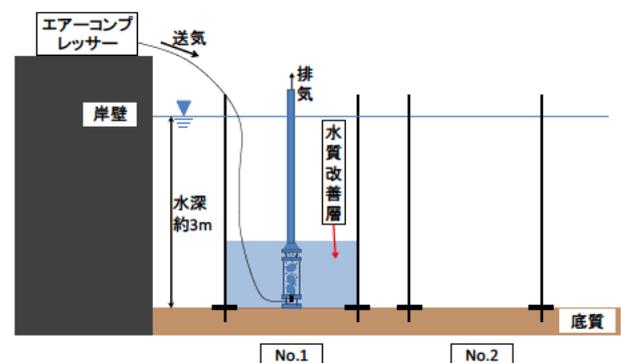


図1 実験概念図

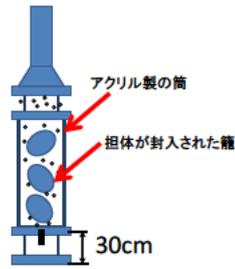


図2 担体処理装置

### 3. 実験結果

図3に実験期間中の気温を示す。データは気象庁土浦アメダスの日平均気温である。平成25年の夏季は、7月初旬の気温の高い期間の後、7月末まで天候が不順な時期が続いたが、7月末から8月にかけて気温が高い状態が続き天候が安定していた。

下層 DO、D-Mn、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 、 $(\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-)\text{-N}$  の表層と底層の経日変化を図4～図7に示す。対照系である No.2 では、天候が安定するにつれて、下層 DO が低下しており、7月末以降で底層がほぼ嫌気化しているが、一方で No.1 では、装置のエアレーションの効果もあり、底層は好気状態が保たれていた。

$\text{PO}_4\text{-P}$  は、下層 DO が低下する7月中旬以降に No.2 の底層で増加しており、底層の貧酸素化による底泥からの溶出と考えられる。No.1 では濃度が低くなっているのは、好気状態が保たれているためと考えられる。表層では、No.1、No.2 とともに概ね  $0.01\text{mg/L}$  以下で低く推移しており、表層の藻類に摂取されて値が低くなっていたと考えられる。

D-Mn は、No.2 の底層で7月23日に特に高濃度となっていた。Mn についても底泥から溶出していたと考えられる。一方で、8月以降は、No.1、No.2 とともに、底層と表層で濃度は低下していた。

底質と担体上の付着物の分析結果を表1に示す。担体上の付着物の金属成分はマンガンが鉄より多くなっており、底質の成分とは異なることから、担体上の生物膜の働きによって、溶存態マンガンが懸濁化して担体上に付着していたと考えられる。

8月以降、隔離水塊内の D-Mn 濃度が低下しているが、No.1 では、底層のマンガン濃度は担体処理装置によって D-Mn が懸濁化して担体に付着、あるいは沈降することによって濃度が低下したと考えられる。

一方で No.2 では底層の貧酸素化によって底質からマンガンの溶出が生じていたが、その後濃度が低下した。藍藻類は日間に鉛直方向に移動することによって、栄養塩類が枯渇しがちな表層以外の栄養塩類を摂取して増殖することが知られている<sup>2)</sup>。こうした挙動を考慮すると、No.2 では D-Mn が藻類に摂取されることにより、濃度が低下して枯渇状態になっていたと考えられる。

表層の Chl.a の推移を図8に示す。天候が安定してきた7月末以降で No.1 の方が、No.2 と比較して低く推移しており、No.1 において藻類量が抑制されていることが確認された。なお、実験期間中の藻類種であるが、No.1、No.2 とともに7月2日の分析では珪藻類が優先していたが、7月23日の分析以降では、アナベナやフォルミディウム、ミクロキスティスが優先しており、藍藻類が主体になっていた。

以上より、本実験における藻類増殖の制限因子について考察する。 $\text{PO}_4\text{-P}$  濃度は、実験期間を通じて表層では低濃度となっており、表層では枯渇傾向にあったと考えられる。このため藻類がリンを摂取するためには、底層から摂取する必要があるが、No.1 の底層は曝気の影響で低い値となっており、No.1 では制限因子となっていた可能性がある。窒素はいずれの風管でも高い値を維持しており、制限因子となっていたとは考えられない。マンガン濃度は、No.1 と No.2 の底層でともに低い値となっており、二つの風管において制限因子となっていたことが示唆されるが、No.1 では、担体処理により溶存態のマンガン濃度が低下していたと推定されることから、No.1 の藻類増殖の抑制には担体処理装置によるマンガンの除去が効いていた可能性が高い。以上より、No.1 では

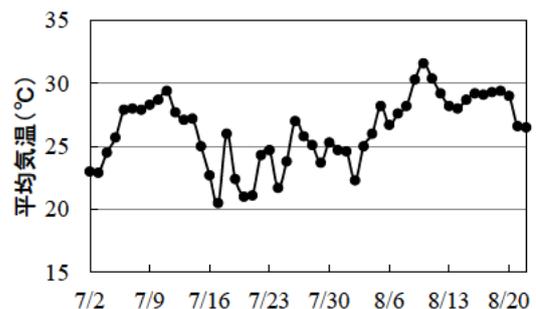


図3 土浦アメダスの日平均気温の推移

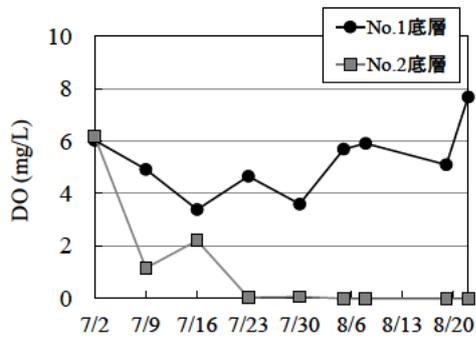


図4 下層 DO の推移

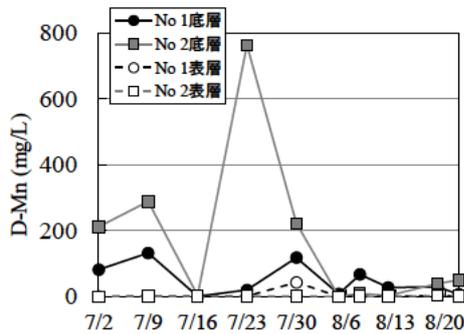


図5 D-Mn の推移

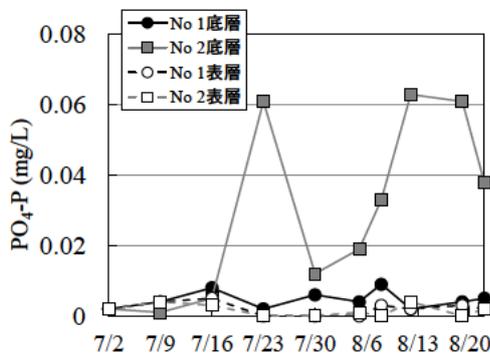


図6 PO<sub>4</sub>-P の推移

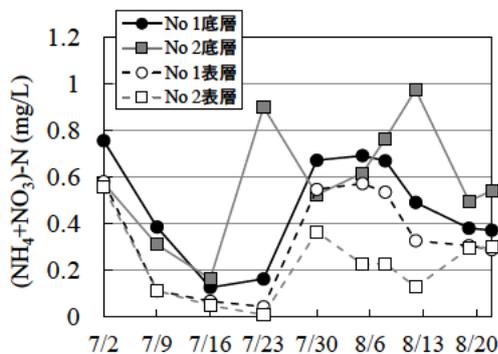


図7 (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>+NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)-N の推移

表1 周辺土壌と担体上の金属成分

金属	底質(0~30cm 深) mg/kg(DS)	担体上の付着物 (担体1個あたりに換算) mg/kg(DS)
Mn	1,162.41	2,400.74
Fe	62,294.41	718.60

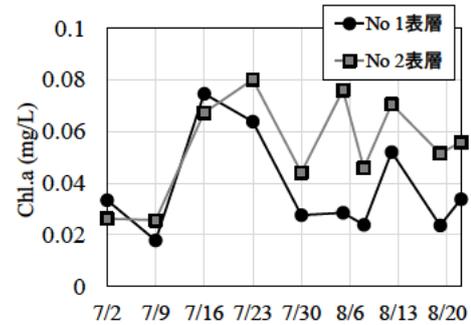


図8 表層の Chl.a 量の経日変化

リンとマンガンが、No.2 ではマンガン濃度が制限因子であったと考えられる。また、本実験で用いた担体処理装置は、水塊中の藍藻類の増殖抑制に効果があったと考えられる。

#### 4. おわりに

隔離水塊をつくり、底層に曝気とマンガン濃度の低下を同時に行える装置を導入して、藻類増殖に及ぼす影響を調査した。その結果、本装置を導入することで、底層のリンとマンガン濃度を低下し、藻類発生を抑制することが可能であることが確認された。

#### 参考文献

- 1) 鈴木穰、柴山慶行、増木信吾、戸島邦哲：ダム貯水池の底層水質改善による表層藻類の抑制、p. 17, 第48回日本水環境学会年会講演集, 2014.
- 2) アレキサンダー・J・ホーン他著、手塚泰彦訳：陸水学、PP.249-251、京都大学学術出版会、1999

## 亜酸化窒素の水環境中動態に水質が与える影響に関する研究

研究予算：運営費交付金（一般勘定）

研究期間：平 23～平 25

担当チーム：水環境研究グループ（水質）

研究担当者：岡本誠一郎、北村友一、對馬育夫

### 【要旨】

河川や湖沼における  $N_2O$  の生成実態を解明するため、霞ヶ浦・印旛沼流域の一部および下水処理場放流水流入河川を対象に通年調査を行った。さらに、 $N_2O$  の生成に及ぼす影響要因を解明するため、霞ヶ浦底泥と河川水、下水処理水を用いた回分式の  $N_2O$  生成実験を行った。実態調査から集水域に家畜や畑地が多い河川では溶存  $N_2O$  濃度が著しく高いことを確認した。 $N_2O$  生成実験からは、 $N_2O$  生成には底泥が関与しており、 $NO_3-N$  濃度が高い条件ほど生成量が大きくなった。 $NH_4-N$  濃度が高い条件では生成しなかったことから、 $N_2O$  の生成は硝化過程よりも脱窒過程で大きいことがわかった。また、脱窒反応の最初の 24 時間は  $N_2O$  の生成速度が高いが、蓄積した  $N_2O$  はその後還元されることがわかった。

キーワード：亜酸化窒素、河川・湖沼、実態調査、回分試験、硝化・脱窒反応

### 1. はじめに

温室効果ガスである亜酸化窒素 ( $N_2O$ ) は、発生量そのものは地球全体から排出される全温室効果ガス量のうち、わずか 0.03% と小さいが、二酸化炭素の約 300 倍の温室効果能を有することから、温室効果係数を考慮した発生割合では、全体の 7.9% を占めると見積もられている (図 1)<sup>1)</sup>。また、 $N_2O$  は、紫外線により分解を受け、一酸化窒素を生成するため、成層圏におけるオゾン層破壊の一因にもなっている。このことから、地球温暖化防止のため人為的に発生する  $N_2O$  発生量の削減が大きな課題となっている。発生する  $N_2O$  のうち、約 60% は自然植生土壌や海洋など自然由来から、残りは農業や河川・湖沼、下水処理場から発生していることが報告され<sup>2)</sup> (図 2)、アンモニア性窒素 ( $NH_4-N$ ) が亜硝酸性窒素 ( $NO_2-N$ ) に酸化される過程 (硝化反応) および  $NO_2-N$  が  $N_2$  ガスに還元される過程 (脱窒反応) で生成されることが既往の研究により明らかにされている (図 3)<sup>3,5)</sup>。しかし、各所における正確な  $N_2O$  量の把握、詳細な発生メカニズム等、不明な点が多く、明確な対応策が講じられていない。したがって、本研究では、河川から発生する  $N_2O$  に着目し実態調査を行い、流域の土地利用や季節変動の観点から、河川における  $N_2O$  の挙動を解析した。また、水環境中からの  $N_2O$  の生成要因を解明するため、実験室において、下水処理水や底泥を用いた  $N_2O$  生成実験を行った。

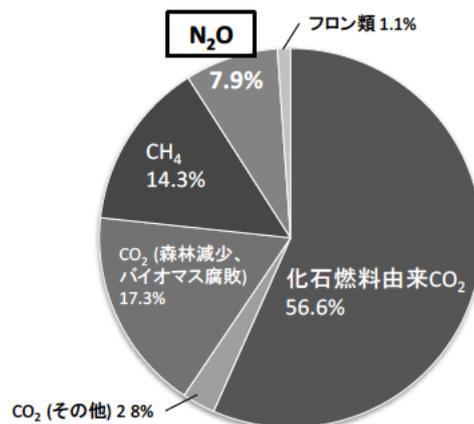


図 1 人為起源の温室効果ガスの総排出に占めるガスの種類別の割合 (CO<sub>2</sub> 換算)

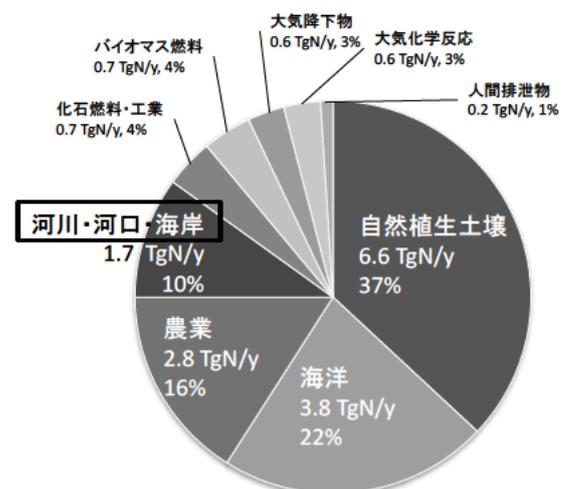


図 2 地球全体における  $N_2O$  発生源の内訳

## 2. N<sub>2</sub>O 実態調査

### 2.1 対象箇所および現場作業

実態調査は霞ヶ浦流域および印旛沼流域の一部、また A 市下水処理放流河川を対象に行った。対象箇所と調査時期を表 1 に示す。調査時、現地では DO、pH、水温、電気伝導度 (EC) および流量を測定するとともに、試料を水質分析用に 300 mL のガラス容器に採水し実験室へ持ち帰った。また、溶存 N<sub>2</sub>O 測定用に、現地で容量 22 mL のバイアルに 10 mL 注ぎ入れ、微生物不活性化用ヒビテン液 (グルコン酸クロルヘキシジン 5% 含有、住友製薬) を 333 μL 添加し、プチルゴムセプタムとアルミシールで密閉した。また、銚田川支流では、ガス態 N<sub>2</sub>O 量測定のため、自作のガス捕集器 (図 4) を用い、水面にチャンパーを一定時間設置後、チャンパー内のガスをポンプで吸引した。

### 2.2 分析

表 2 は、HS-GC-MS の分析条件である。採取したガスおよび液体試料は、ヘッドスペース法 (温度 35°C、恒温時間 60 分) により、ガスクロマトグラフ-質量分析計 (SHIMADZU GCMS-QP2010) を用い、測定を行った。ガスクロマトグラフ-質量分析計では、導入部 150°C、インターフェイス温度 220°C およびイオン源温度 200°C、カラム温度を 35°C (3.5 分) → 40°C/分 → 200°C (2.4 分) に設定し、TC-BOND Q (内径 0.32mm、長さ 30m、膜厚 10 μm、GL サイエンス社) のカラムを用いた。キャリアガスは、高純度 He (99.9995%) を使用した。NH<sub>4</sub>-N、NO<sub>2</sub>-N、NO<sub>3</sub>-N、PO<sub>4</sub>-P はオートアナライザー (Bran Luebbe、TRAACS2000) により測定した。

表 1 調査対象箇所

霞ヶ浦流域			印旛沼流域	A市
桜川	銚田川	北浦	高崎川	下水処理水 および 放流河川
2地点	4地点	3地点	8地点	6地点
2012年10月～2014年2月			2014年1月	2013年10月 および 2014年1月

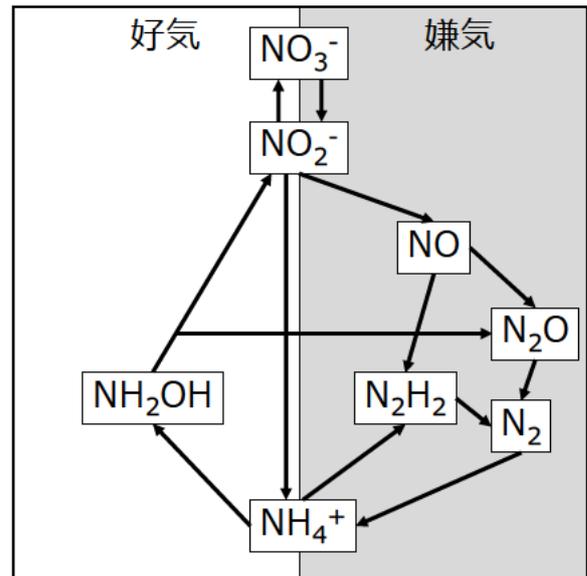


図 3 水中での主要な窒素代謝経路

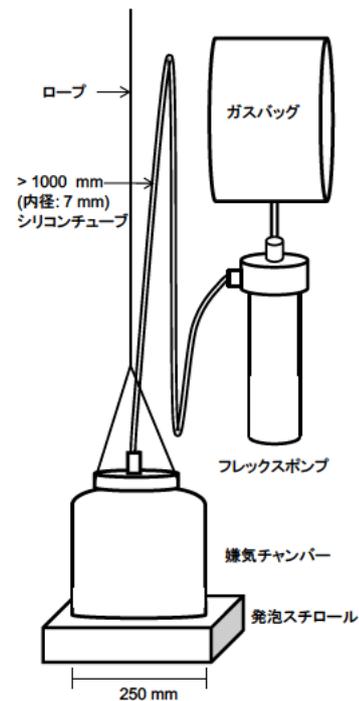


図 4 ガス捕集器

表 2 HS-GC-MS 分析条件

HS部 (使用機器: PerkinElmer TurboMatrix 40)		GC-MS部 (使用機器: GCMS-2010)	
カラムヘッド圧	: 40 kPa	使用カラム	: TC-BOND Q, 0.32mm × 30m, 10 μm
ヘッドスペースモード	: コンスタント	カラムオープン温度	: 35°C (3min) → 10°C/min → 150°C (5min)
HSバイアル保温温度	: 65°C	キャリアガス	: ヘリウム
HSバイアル保温時間	: 5 min	インターフェイス温度	: 220°C
HSバイアル加圧時間	: 0.3 min	イオン源温度	: 200°C
HSガス注入時間	: 0.05 min	イオン化法	: EI法
ニードル引き上げ時間	: 0.5 min	測定モード	: SIM
ニードル温度	: 150°C	測定イオン	: m/z 30
トランスファーライン温度	: 150°C	検出器電圧	: 1.5 kV
		エミッション電流	: 150 μA
		インターバル時間	: 0.50 sec

## 2.3 調査結果

### 2.3.1 霞ヶ浦流域および印旛沼流域における晴天時の溶存N<sub>2</sub>O調査

図5に霞ヶ浦流域で行った溶存N<sub>2</sub>O調査地点を、図6、図7に調査結果を示す。対象とした地点は筑波山溪流である山口川（桜川上流）と合流先である桜川の下流、北浦3地点および北浦流入河川である銚田川4地点とである。

山口川のNO<sub>3</sub>-N濃度は調査期間中0.74-1.36 mg-N/L（平均0.91 mg-N/L）と、渓流水の全国平均0.4 mg-N/L<sup>6)</sup>に比べ2-3倍高かった。筑波山の窒素飽和が懸念されていることから、恐らく森林土からの流出によるものと考えられる<sup>7)</sup>。N<sub>2</sub>Oは春季から夏季にかけては検出下限値以下であったが、秋季から冬季にかけて低濃度域で検出された(0.25-0.41 μg-N/L)。一方、桜川下流では、上流の山口川と比べ、ほとんどの月で各溶存窒素濃度を上回った。桜川下流流域には、水田が多く存在し、営農状況により河川に排出される窒素負荷は大きく異なるが、夏季にはNO<sub>3</sub>-Nが減少し、山口川のNO<sub>3</sub>-N濃度を下回る傾向が観察された。また、溶存N<sub>2</sub>Oの挙動は山口川と同様に秋季から冬季にかけて上昇した。夏季には脱窒反応が卓越し、NO<sub>3</sub>-NおよびN<sub>2</sub>O濃度が減少するが、冬季の水温低下による脱窒反応速度の鈍化が溶存N<sub>2</sub>O濃度増加を誘導した可能性が考えられる。なお、調査期間中のN<sub>2</sub>Oの最大値は2014年2月の0.57 μg-N/Lで、これは後述する銚田川や高崎川の場合に比べ、かなり低い値であった。

北浦では、銚田川河口に近い地点では溶存N<sub>2</sub>Oが高く、遠ざかるにつれて減少する傾向が観察された。また、山口川、桜川同様、秋季から冬季にかけてN<sub>2</sub>Oが増加する傾向が観察された。



図5 調査地点(霞ヶ浦流域)

\*山口川の採取地点は省略

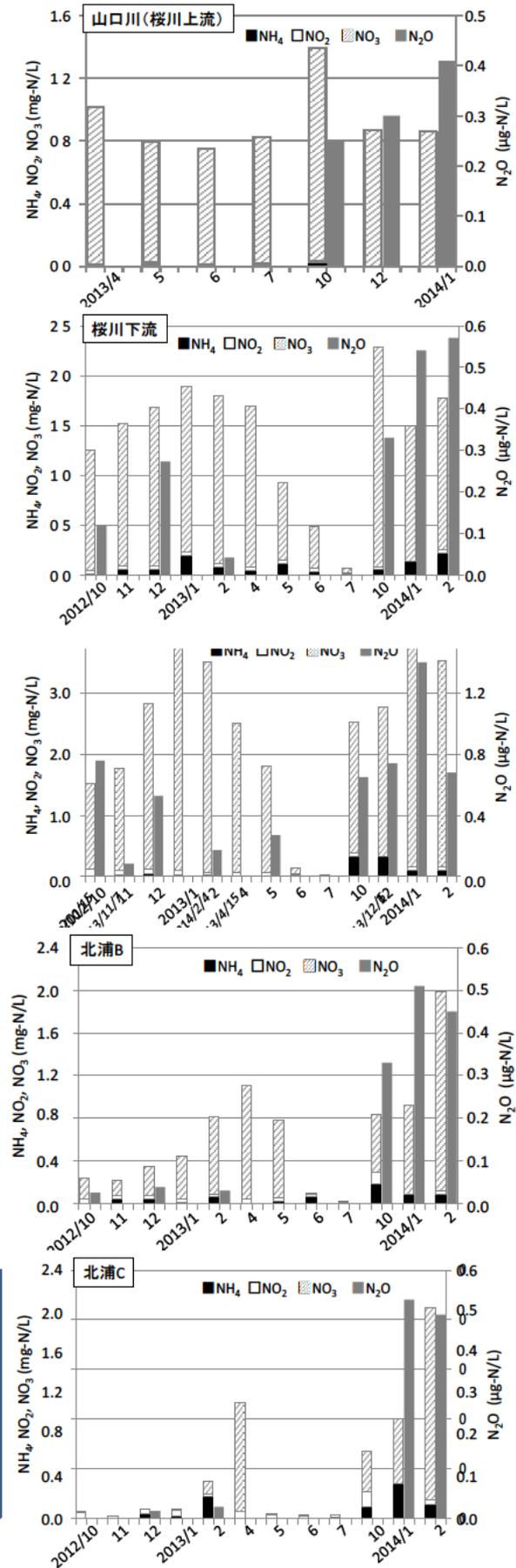


図6 調査結果(霞ヶ浦流域)

銚田川の調査では、支流Aで $N_2O$ が最大 $92 \mu\text{g-N/L}$  (算術平均  $56.6 \mu\text{g-N/L}$ ) と顕著に高く、月ごとに変動が大きい、最小となった2014年6月時の調査でも  $25 \mu\text{g-N/L}$  と非常に大きい値となっていた。糸川らの行った東京都内の河川調査では<sup>8)</sup>、概ね  $8\text{--}23 \mu\text{g-N/L}$  であったことから、銚田川支流Aでは非常に高濃度の $N_2O$ が含まれていることが示された。また、 $NH_4\text{-N}$ が最大  $14.6$  (平均  $3.1$ )  $\text{mg-N/L}$ 、 $NO_2\text{-N}$ が最大  $9.3$  ( $2.3$ )  $\text{mg-N/L}$ 、 $NO_3\text{-N}$ が最大  $22.1$  ( $17.9$ )  $\text{mg-N/L}$  と、他の河川水質に比べ極端に高い傾向が見られた。松森らの報告では<sup>9)</sup>、霞ヶ浦流入主要河川の年平均全窒素濃度は  $1\text{--}8 \text{mg/L}$  と報告され、その中でも銚田川は、調査した24河川のうち最も窒素濃度の増加が確認された河川である(1972年から32年間のデータを使用)ことから、銚田川の水質悪化が高濃度の $N_2O$  および流入先である北浦の水質に大きな影響を与えていることが示唆される。一方、支流Aの近くを流れる支流Bでは、支流Aとは対照的に高濃度の溶存 $N_2O$  およびその他の溶存窒素は検出されず、銚田川上流とほぼ同程度の濃度だった。支流Aの上流には養豚場があることから、養豚由来の窒素成分が畑地を介して混入している可能性が考えられ、河川中で硝化もしくは脱窒反応により $N_2O$ が高濃度に生じている可能性がある。したがって、河川から放出される $N_2O$ 量を正しく評価するためには、銚田川支流Aのような極めて高濃度の $N_2O$ が生成される地点も考慮に入れる必要がある。また、銚田川上流と下流の水質を比較すると、銚田川支流A以外の他の支流からの窒素負荷の影響を受けていることが推察される。北浦の水質改善のためには、銚田川の水質改善が課題であり、各支流を詳細に調査することで面源負荷を抑制する対策を講じる、あるいは銚田川河川水を北浦に流入させる前に窒素を減少させるような対策が必要であると考えられる。

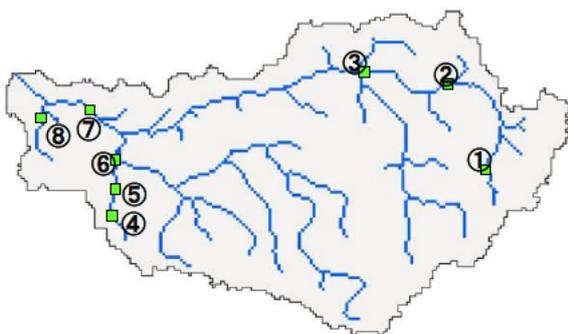


図8 調査地点(印旛沼高崎川)

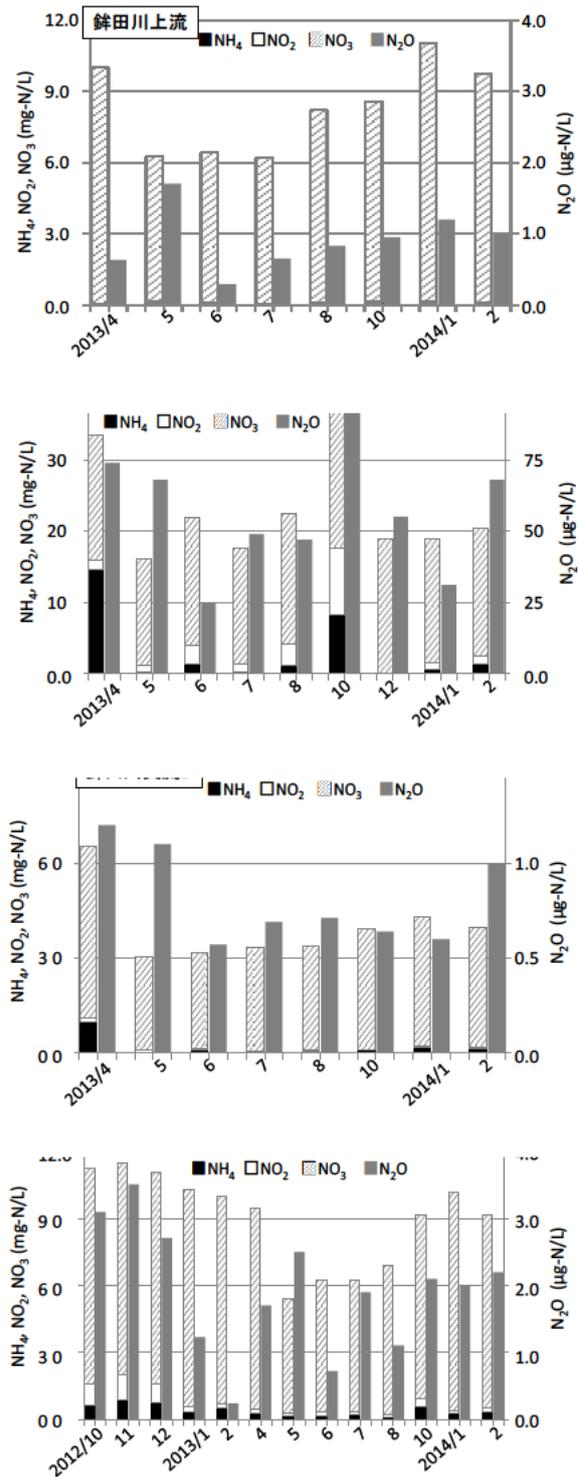


図7 調査結果(銚田川)

一方、銚田川同様に畜産の影響を受けていると考えられる印旛沼流域高崎川の調査(図8および図9)においても、上流の畜産が多い地域(①-③)では、銚田川の支流A同様、比較的高濃度の溶存 $N_2O$ が検出された。また、森林の影響を大きく受けている地点(⑤-⑦)では、 $NH_4-N$ 、 $NO_2-N$ 、 $NO_3-N$ はほとんど検出されなかったが、 $N_2O$ は0.8-1.9  $\mu g-N/L$ と検出された。

### 2.3.2 銚田川における $N_2O$ 排出量調査

図10に銚田川で行った $N_2O$ 発生量の調査結果を示す。なお、調査期間中4時間の溶存 $N_2O$ 濃度は平均 $43.5 \pm 1.0 \mu g-N_2O/L$ であった。チャンパー内の $N_2O$ 濃度を単位体積当たり、および、単位面積当たりの平均発生量に換算すると、それぞれ $4.8 \mu g-N_2O/m^2/h$ 、 $27.7 \mu g-N_2O/L/h$ であった。支流Aでは溶存 $N_2O$ は比較的速やかに大気中に放出されていることが示唆された。下水処理場では流入下水1Lに対して $N_2O$ が160  $\mu g$ 排出されると試算されることから<sup>10)</sup>、河川における $N_2O$ 排出量も決して無視できない値であることが示唆された。

### 2.3.3 銚田川における雨天時の溶存 $N_2O$ 調査

図11に銚田川支流Aにおける雨天時の溶存 $N_2O$ 濃度およびフラックスの経時変化を示す。晴天時に行った2014年2月の調査では、 $NH_4-N$ が1.4  $mg-N/L$ 、 $NO_2-N$ が1.1  $mg-N/L$ 、 $NO_3-N$ が17.8  $mg-N/L$ 、 $N_2O$ が86.0  $\mu g-N_2O/L$ だったのに対し、降雨時は降雨の影響で河川水が希釈されているにもかかわらず、 $NH_4-N$ や $N_2O$ の濃度上昇が確認され、それぞれの増減ピークはほぼ一致し、降雨が止んだ4時間後の午前9時には $N_2O$ が89.0  $\mu g-N_2O/L$ と晴天時の値に戻った。一方、各フラックスを比較した場合は、ピークは降雨とほぼ一致し、平水時の数倍の負荷量になっていることが示された。増水時に河川中で検出された溶存 $N_2O$ が増水時の河川で生成されたものか、周辺の土壤中で生成されたものかは今回の調査からはわからなかったが、 $NH_4-N$ や $NO_3-N$ 等の溶存窒素の挙動とほぼ一致することから、河川の $N_2O$ は雨天時に畑地等を介して河川に流入する溶存窒素成分に大きく影響を受けることが示唆された。また、午前1時から5時までの間、 $NO_3-N$ 濃度の減少が確認された。河川底質の有機物の巻き上げにより、脱窒が生じ、 $NO_3-N$ を消費し、 $NO_3-N$ 濃度低下後は、亜硝酸脱窒もしくはヒドロキシルアミンの酸化により $N_2O$ が生じたものと考えられる。

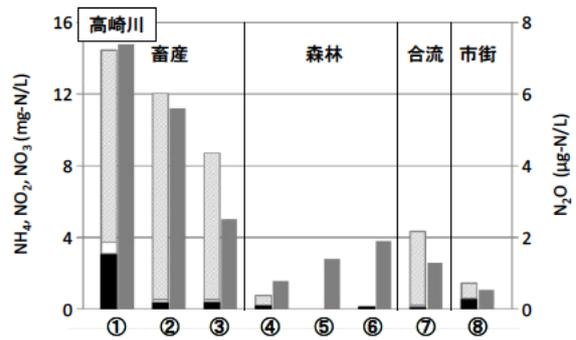


図9 調査結果(印旛沼高崎川)

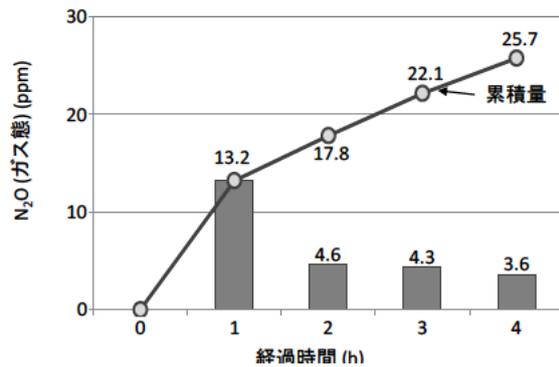


図10 ガス態 $N_2O$ 発生量

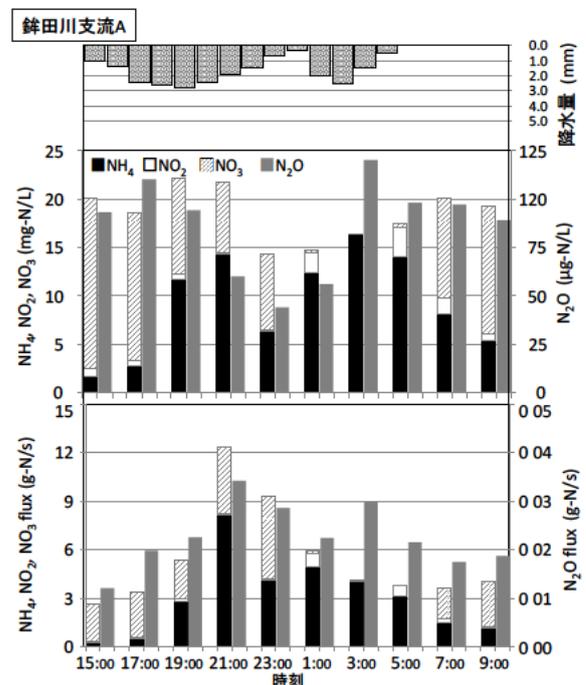


図11 銚田川支流Aにおける雨天時の溶存 $N_2O$ 濃度およびフラックスの経時変化

### 2.3.4 下水処理水放流先における晴天時の溶存 N<sub>2</sub>O 調査

図 12 に高濃度アンモニアの高速処理を実験的に行っているA市下水処理場の放流河川先の模式図を、図 13 に N<sub>2</sub>O 調査の結果を示す。放流口 1 から約 100 m 上流の水質は、N<sub>2</sub>O が 0.8 μg-N<sub>2</sub>O/L だったのに対し、放流口 1 付近では、102.5 μg-N<sub>2</sub>O/L と高い値であった。過去の報告によると通常の下水処理水の N<sub>2</sub>O 濃度は 0-350 μg-N<sub>2</sub>O/L<sup>11)</sup> であることから、比較的高い値であることがわかる。また、放流口 1 から 300 m 下流 (図中の中流) では 6.4 μg-N<sub>2</sub>O/L、放流口 2 から 150 m 下流 (図中の下流) では、1.6 μg-N<sub>2</sub>O/L と低下した。他の支流と合流する地点 (図中の最下流) では、3.0 μg-N<sub>2</sub>O/L とわずかに増加した。このことから、高濃度の N<sub>2</sub>O が放流されたとしても、この河川の場合、速やかに希釈され (希釈倍率はおよそ 20-30 倍)、下水処理水中の溶存 N<sub>2</sub>O が河川水質に与える影響は少ないと考えられる。むしろ、支流との合流地点で N<sub>2</sub>O 濃度が上昇していることから、この河川の場合、河川底質から発生する N<sub>2</sub>O の方が影響は大きいと考えられる。また河川中の溶存 N<sub>2</sub>O が直接大気放出される割合や脱窒分解反応により水中で N<sub>2</sub> まで還元されるかについて、今後、検討が必要である。

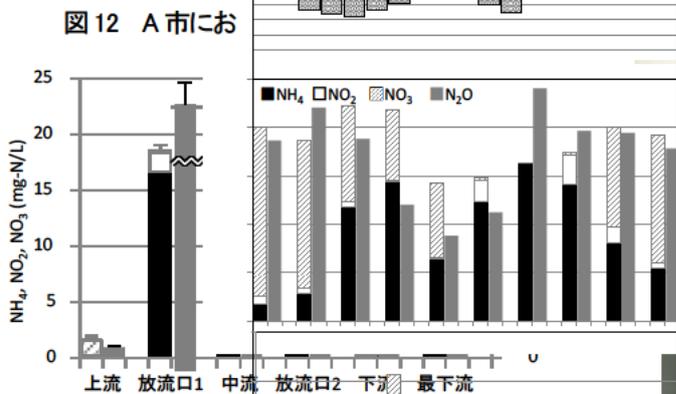
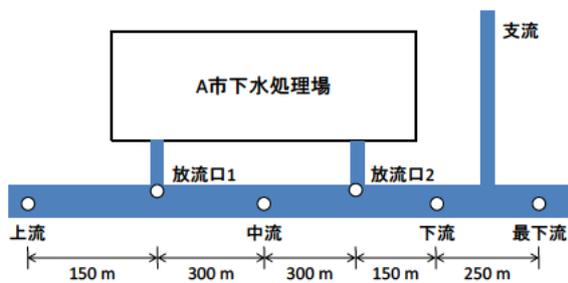


図 13 A 市における調査結果

### 3 室内実験

#### 3.1 実験方法

下水処理水には NH<sub>4</sub>-N や NO<sub>3</sub>-N が含まれる場合があり、下水処理水が湖沼に放流あるいは流入した場合、そこで N<sub>2</sub>O が生成している可能性がある。そこで、下水処理水が放流される湖沼での N<sub>2</sub>O の生成・還元挙動の一端を明らかにするため、室内実験で NO<sub>3</sub>-N が多く含まれる下水処理水と湖底泥を二層で静置し、溶存 N<sub>2</sub>O の生成・還元挙動をマイクロセンサーにより連続モニタリングした。

写真 1-3 にマイクロセンサーによる溶存 N<sub>2</sub>O の測定様子を示した。N<sub>2</sub>O マイクロセンサーには溶存 N<sub>2</sub>O 濃度をリアルタイムで測定できる Unisense 製を使用した。容器は 50 mL バイアルを用い、霞ヶ浦底泥 6 g の上に実下水処理水または蒸留水を満水に注ぎ、穴を開けたプチルゴム栓をはめ、センサーの先端を試料水中に挿入し、ゴム栓との間に空隙がないようにした状態で溶存 N<sub>2</sub>O の連続測定を行った。シグナル強度値は 5 秒間隔で自動記録し、測定開始日に作成した検量線で溶存 N<sub>2</sub>O 濃度に換算した。装置一式は 20°C に設定した恒温器に設置した。測定期間は、N<sub>2</sub>O が検出されなくなるまでとし、その期間は 11 日間であった。N<sub>2</sub>O 生成と底泥の有無の関係を把握しておくことも重要となるため、N<sub>2</sub>O センサーによる測定は行わなかったが、下水処理水のみを入れた (底

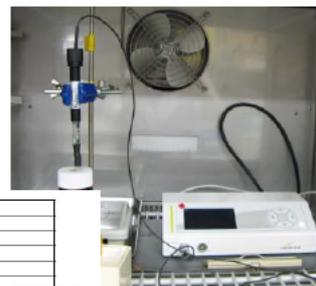


写真2 センサーの先端による連続測定の実景



写真3 センサー挿入部

泥はなし) バイアルも恒温器内に設置した。

バイアル内で硝化、脱窒のどちらが優先しているかを判断するため、実験開始時と終了時に、下水処理水の DO、pH、NH<sub>4</sub>-N、NO<sub>2</sub>-N、NO<sub>3</sub>-N、PO<sub>4</sub>-P、DOC 濃度を測定した。

### 3.2 実験結果

図 14 は、11 日間の N<sub>2</sub>O 濃度の変化である。N<sub>2</sub>O 濃度は開始から約 3 時間は横ばいであった。その後、24 時間目までに急増した。2 日目に一旦増加が緩やかになったが、3 日目以降再び増加し、5 日目に最大値に達した。6 日目以降は、10 日目まで概ね一定の速度で減少し、11 日目に 0 μgN/L となった。

図 15 は、N<sub>2</sub>O 連続測定前後の下水処理水中の NO<sub>3</sub>-N、NO<sub>2</sub>-N、NH<sub>4</sub>-N、DO、PO<sub>4</sub>-P、DOC 濃度である。底泥ありの条件では実験前後で NO<sub>3</sub>-N 濃度は 99.5% 減少し、DO も減少していた。底泥なしの条件では NO<sub>3</sub>-N は変化していないことから、底泥が脱窒

を促進していることがわかる。湖底泥に下水処理水を加えた本実験での溶存 N<sub>2</sub>O は脱窒過程で生成され、NO<sub>2</sub>-N の蓄積がみられないことから大部分は N<sub>2</sub> まで脱窒されたものと考えられる。なお、DO の連続モニタリングは行っていないため、どの時点でゼロ付近になったか明らかではない

連続測定の結果から見かけの N<sub>2</sub>O の生成・還元速度を以下の手順で計算した。溶存 N<sub>2</sub>O 濃度データを 1 時間間隔で抽出し、各時間とその前後 2 時間の濃度値に最小 2 乗法で直線を当てはめて傾きを計算し、各時間の濃度の平均変化率とした。そして、濃度の平均変化率に試料水量を掛け、底泥重量で割り、1 時間あたりの見かけの N<sub>2</sub>O の生成・還元速度を求めた。図 16 は、N<sub>2</sub>O の見かけの生成・還元速度である。N<sub>2</sub>O の生成速度は 0~1 日目に高く、13 時間目に最大となった。今回の培養実験では、4~5 日目にも N<sub>2</sub>O の生成速度が高

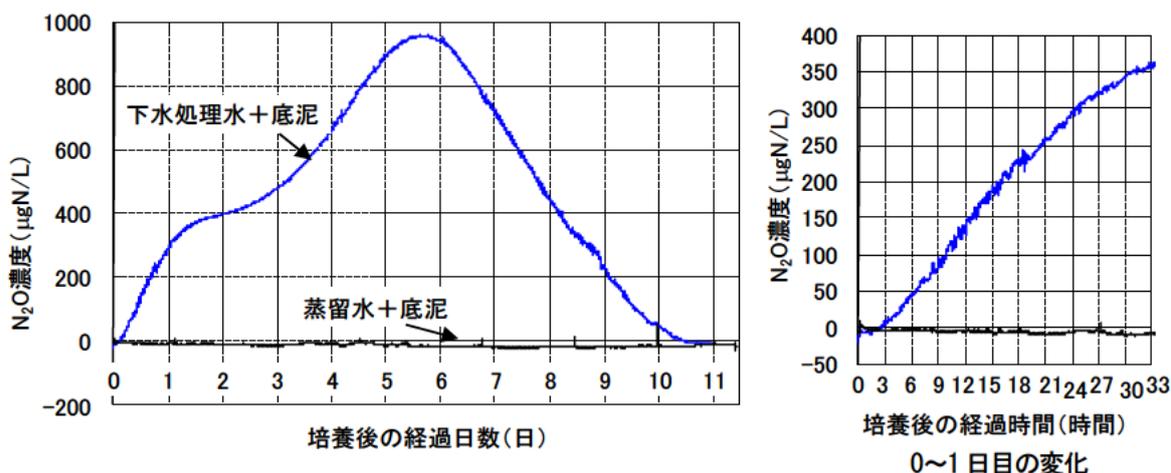


図 14 培養中の溶存 N<sub>2</sub>O 濃度の変化

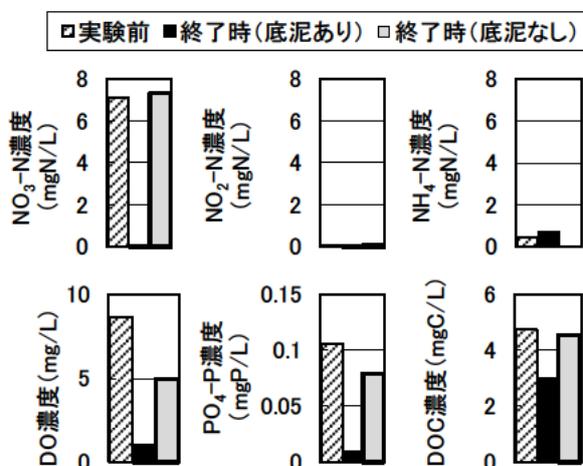


図 15 底泥に下水処理水を加えた試料の実験前後の NO<sub>3</sub>-N、NO<sub>2</sub>-N、NH<sub>4</sub>-N、DO、PO<sub>4</sub>-P、DOC 濃度

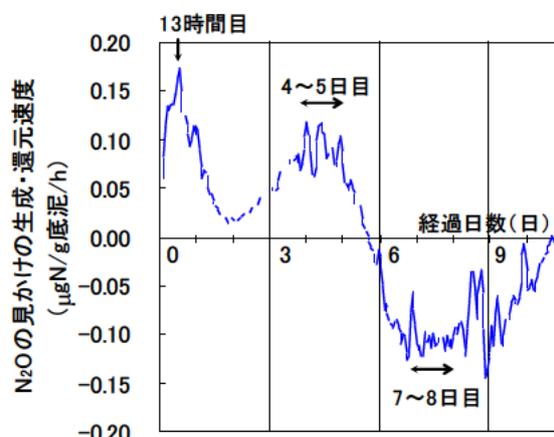


図 16 底泥に下水処理水を加えた試料における、N<sub>2</sub>O の見かけの生成・分解速度

くなったが、この原因は明らかでない。

N<sub>2</sub>Oの還元は、見かけ上5-6日目に始まっていることがわかる。7-8日目は、見かけのN<sub>2</sub>Oの還元速度は概ね一定であった。

今回の実験は、密閉系で嫌気雰囲気下での実験であったことから、脱窒過程でのN<sub>2</sub>Oの生成・還元をモニタリングしていたと考えられる。本実験結果から、湖底泥上層が嫌氣的な状態になった場合、溶存N<sub>2</sub>Oが生成される可能性がある。一方で、脱窒も同時に進行することから滞留時間の長い湖では溶存N<sub>2</sub>Oは未検出になるものと考えられる。ただし、水温が低く脱窒が抑制される場合は、溶存態N<sub>2</sub>Oは検出されると推察された。

#### 4. おわりに

1) 様々な特徴を持つ河川・湖沼において、溶存N<sub>2</sub>Oの通年調査を行った。その結果、集水域に家畜や畑地が多い河川では、比較的高濃度のN<sub>2</sub>Oが検出された(晴天時での最大;92 µgN/L)。その他の地域では、夏季には検出下限値(0.25 µgN/L)以下になることが多く、秋季から冬季にかけて若干増加する傾向が観察された。

2) 集水域に家畜や畑地が多い河川では、雨天時に溶存N<sub>2</sub>O濃度が増加することが確認された(86 µgN/L → 120 µgN/L)。これは、雨天時に土壌から流出する窒素成分に由来するものであると推察された。

3) 高濃度アンモニアの高速処理を実施している下水処理場からは比較的高濃度のN<sub>2</sub>O(約100 µgN/L)が検出された。しかしながら、放流後、速やかに希釈されることから、下水処理水中の溶存N<sub>2</sub>Oが河川水質に与える影響は少ないと考えられた。

4) NO<sub>3</sub>-Nが多く含まれる下水処理水と湖底泥を二層で静置し、溶存N<sub>2</sub>Oの生成・還元挙動をマイクロセンサーにより連続測定した実験結果から、湖底泥上層が嫌氣的な状態になった場合、溶存N<sub>2</sub>Oが生成される可能性があった。

#### 参考文献

- 1) Bates, B. C., et al., (2008) Climate Change and Water (Technical Paper of the Intergovernmental Panel on Climate Change). IPCC Secretariat.
- 2) Colliver B. and Stephenson T. (2000) Production of nitrogen oxide and dinitrogen oxide by autotrophic nitrifiers. *Biotechnology advances*, 18, 219-232.
- 3) Law, Y., Ye, L., Pan, Y., and Yuan, Z. (2012) Nitrous oxide emissions from wastewater treatment processes.

*Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 367, 1265-1277.

- 4) 花木啓祐、中村剛雄、松雄友矩、糸川浩紀 (2000)、都市下水の硝化脱窒過程での亜酸化窒素の発生、*水環境学会誌*, 23(12), 803-810.
- 5) Muneoki YOH (1990) Experimental examination on nitrous oxide accumulation during nitrification in a freshwater lake, *Japanese Journal of Limnology*, 51(4), 237-248.
- 6) 木平英一、新藤純子、吉岡崇仁、戸田任重 (2006)、わが国の渓流水質の広域調査、*日本水文学会誌*, 36, 145-149.
- 7) 渡邊未来 (2009)、空から降る金属、*生物工学会誌 バイオメディア*, 87, 109.
- 8) 糸川浩紀、花木啓祐、松尾友矩 (1993)、都市河川における一酸化二窒素の変化に関する調査、*環境工学研究フォーラム講演集*, 30, 118-120.
- 9) 松森堅治、板橋直 (2009)、霞ヶ浦流域の主要河川の窒素濃度変化とその要因解明、*農村工学研究所技報*, 210, 61-73.
- 10) 下水道における地球温暖化防止対策検討委員会 (2009) 下水道における地球温暖化防止推進計画策定の手引き、国土交通省
- 11) 對馬育夫、松橋学、宮本綾子、原田一郎 (2014)、平成24年度下水道関係調査研究年次報告書集、*国土技術政策総合研究所資料*, 773, 45-52.

## レポータージーンアッセイを用いた再生水の安全性評価に関する研究

研究予算：運営費交付金（一般勘定）

研究期間：平 25～平 27

担当チーム：水環境研究グループ（水質）

研究担当者：岡本誠一郎、北村友一

### 【要旨】

実下水試料を用いて、レポータージーンアッセイの下水試料への適用性の検討とレポータージーンアッセイとメダカの遺伝子発現解析との比較を行った。その結果、流入下水試料でメダカとヒトのエストロゲンレセプターの転写活性が認められた。メダカエストロゲン様活性値は、活性汚泥処理過程で90%程度低減することがわかった。メダカ肝臓のエストロゲン応答遺伝子発現も同様の結果を示したことから、下水試料のエストロゲン様活性の検出は、レポータージーンアッセイから可能であることがわかった。

キーワード：レポータージーンアッセイ、メダカ、下水処理水、遺伝子発現解析、

### 1. はじめに

下水処理水は水資源であり、気候変動による水不足や環境保全への対策として、下水再生水の利用拡大が求められている。そのためには、再生水の安全性評価法の検討、実態、リスク評価に関する研究の推進が必要である。これまで、下水処理水の魚類に対する影響は、魚の下水処理水への直接曝露試験から調査されてきた。その結果、下水処理水中に女性ホルモンが残存している場合、魚類に雌性化影響を与えることが明らかになってきた。下水処理水への直接曝露法は説得力があり有用な方法であるが、試験魚の準備やマーカー蛋白質や遺伝子発現を指標とした場合は、と殺が必要となり、モニタリングへの利用、動物愛護の観点から必ずしも適していない。

ここ数年、女性ホルモン、男性ホルモン、甲状腺ホルモン様活性などが試験管内で評価できるレポータージーンアッセイが開発され、環境水を対象とした試験系として有望であると考えられる。

レポータージーンアッセイを下水処理水の安全性評価として利用するためには、下水試料への適用方法（濃縮方法、固相抽出条件）の最適化や実験動物の応答との関係の解明が必要となる。

本年度は、実下水試料を用いて、レポータージーンアッセイの下水試料への適用性の検討とレポータージーンアッセイとメダカの遺伝子発現解析との比較を行うこととした。

### 2. 実験方法

#### 2.1 下水処理実験装置の運転

下水処理実験装置の概要を図-1に示す。下水処理実験装置は、最初沈殿池（500L）、生物反応槽（500L×4槽）、最終沈殿池（700L）、塩素接触槽（100L）から構成されている。

流入下水は、分流式下水道として整備され主に生活排水が流入する下水処理場の生下水を用いた。生物反応槽は、第1槽から第4槽まで全面エアレーションを行う、標準活性汚泥法による処理を行った。水学的滞留時間（HRT）は、7時間となるように流入水量を制御した。塩素処理槽では、塩素接触槽の流出水で遊離残留塩素濃度が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。流入下水、2次処理水、塩素処理水の24時間コンポジット採水を行い、本試料をレポータージーンアッセイとメダカ曝露実験に供した。

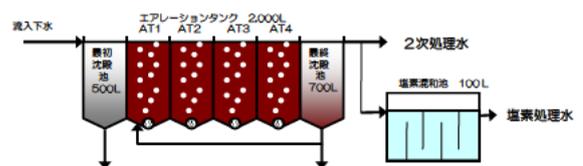


図-1 下水処理装置の概要

#### 2.2 固相抽出方法

レポータージーンアッセイから下水処理水の転写

表-1 固相抽出条件決定に参考にした文献

○; アゴニスト、●; アンタゴニスト

No	著者	文献タイトル	出版年	雑誌名	巻号	ページ	濃縮対象			
							エストロゲン	アンドロゲン	甲状腺ホルモン	その他
1	LA Kirk <i>et al.</i>	Changes in estrogenic and androgenic activities at different stages of treatment in wastewater treatment works	2002	Environ Toxicol Chem	21(5)	972-979	○	○		
2	A Ishihara <i>et al.</i>	In vitro thyroid hormone-disrupting activity in effluents and surface waters in Thailand	2009	Environ Toxicol Chem	28(3)	586-594	-	-	○ ●	-
3	D Staltera <i>et al.</i>	Ozonation and activated carbon treatment of sewage effluents: Removal of endocrine activity and cytotoxicity	2011	Water Res	45	1015-1024	○ ●	○ ●	-	○
4	田中ら	淀川水系環境水を対象とした生物多様性の視点からの生理活性の評価	2011	河川整備基金 助成事業成果報告書	22-	1211- 025	○	-	-	-

活性を定量化する場合、試料を濃縮し希釈系列を作成する必要がある。そこで、表-1の文献1)~4)を基に、以下の固相抽出条件に決定した。

#### (1) 固相の種類

文献1~4では、C18またはOasis HLBが使用されている。Oasis HLBは親水性基と親油基を併せ持つ逆相充填剤であり、C18よりも幅広い化合物の回収に適していると考えられることからOasis HLBに決定した。

固相種類：Oasis HLB Vac cartridge (Waters社製)

カートリッジ容量：6 cc

充填剤重量：500 mg

充填剤粒径：60 μm

#### (2) コンディショニング

コンディショニングは溶出に用いる溶媒で洗浄した。エストロゲン、アンドロゲンはメタノールで溶出でき、文献2では甲状腺ホルモン様物質が回収された画分がジクロロメタン/メタノール(1:1)であったため、以下の溶媒に決定した。

① ジクロロメタン/メタノール(1:1) 10 mL

② メタノール 10 mL

③ 純水 20 mL

#### (3) 通水

文献4を基に、以下の条件で下水試料を通水する方法に決定した。

通水量：1 L

通水速度：10 mL/min

#### (4) 脱水

吸引および遠心分離(3,500 rpm, 5 min)により

脱水する方法に決定した。

#### (5) 溶出

文献2および4を基に、以下の順に各溶媒を通液し溶出する方法に決定した。

① メタノール 10 mL

② ジクロロメタン/メタノール(1:1) 10 mL

#### (6) 乾固

窒素気流を吹き付け、40℃に加熱しながら乾固させる方法に決定した。溶媒をレポータージーンアッセイで使用するジメチルスルフォキシド(DMSO)に転換するために、メタノールおよびジクロロメタンを揮発させて除去した。乾固させた後、DMSO 50 μLで再溶解させ、メタノール画分とジクロロメタン/メタノール画分のDMSO溶液を混合し、10,000倍濃縮試料100 μLを調製した。

### 2.3 レポータージーンアッセイ方法

図-2にレポータージーンアッセイの操作の概要を示す。

#### (1) 受容体の種類

検出するホルモン様活性は、ヒトとメダカの女性ホルモンと甲状腺ホルモン様活性とし、以下の受容体を用いた。

・メダカエストロゲンレセプターα

・ヒトエストロゲンレセプターα

・メダカ甲状腺ホルモンβ

・ヒト甲状腺ホルモンβ

リファレンス物質には、女性ホルモンには、17βエストラジオール(E2)と甲状腺ホルモンには、ト

リヨードサイロニン(T3)とした。

## (2) 細胞の播種

96 穴マイクロプレートにヒト胎児腎臓由来の HEK293 細胞を  $1.4 \times 10^4$  cells/well となるよう播種し、24 時間培養した。

## (3) ベクターの細胞導入

メダカのエストロゲンレセプター (ER)  $\alpha$  を発現するベクター、ER 応答エレメントをホタルルシフェラーゼ遺伝子の上流に組み込んだベクター ERE-TK-Luc および恒常的にウミシイタケルシフェラーゼが発現する内部標準ベクター pRL-TK-RLuc を導入した。導入試薬は FuGENE 6 (プロメガ社) を用いた。

## (4) リファレンス物質および被験試料の添加

ベクターの導入 4 時間後にリファレンス物質および被験試料を 10 倍希釈段階で添加した。このとき、DMSO の最終濃度は 0.1% とした。また、DMSO を最終濃度 0.1% で添加する陰性対照区を設けた。

## (5) 発光強度の測定

リファレンス物質および被験試料の添加後、CO<sub>2</sub> インキュベータ内で 40 時間静置培養した。培養完了後、細胞を溶解し、基質を添加してホタル及びウミシイタケルシフェリンの発光強度を Dual-Luciferase Assay System (プロメガ社) を用いてルミノメーターで測定し、相対発光強度 (ホタル/ウミシイタケ) を算出した。

## (6) 転写活性化倍率の算出

被験試料の濃度区の相対発光強度を、陰性対照区の相対発光強度の平均値で除した転写活性化倍率を算出した。

## 2.4 メダカの曝露実験

レポータージーンアッセイの試料と同時に採水した流入下水、二次処理水、塩素処理水、脱塩素水道水 (対照区) の 4 試料をメダカ曝露実験に供した。

メダカの曝露容器には容量 3L 強のガラス水槽を用い、これに各曝露水 3L を入れ、6 匹の雄メダカを半止水式 (1 日に 1 回、曝露水を交換) で 96 時間曝露した。曝露後、メダカを水槽から取り出して氷冷麻酔し、RNAlater® (RNA の分解を抑える試薬) 中で肝臓の摘出を行った。摘出した肝臓は、RNAlater 入りの 1.5mL マイクロチューブに一匹毎に浸け、RNA

表-2 メダカの曝露条件

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時間コンボジット採水)
曝露水	脱塩素水道水(コントロール) 流入水 二次処理水 塩素処理水
曝露時間	96時間(4日間)
曝露条件	半止水式(1換水/日)
曝露匹数	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)
遺伝子解析機器	肝臓

レポータージーンアッセイの原理 (Dual-Luciferase® Reporter Assay System(プロメガ社)使用)

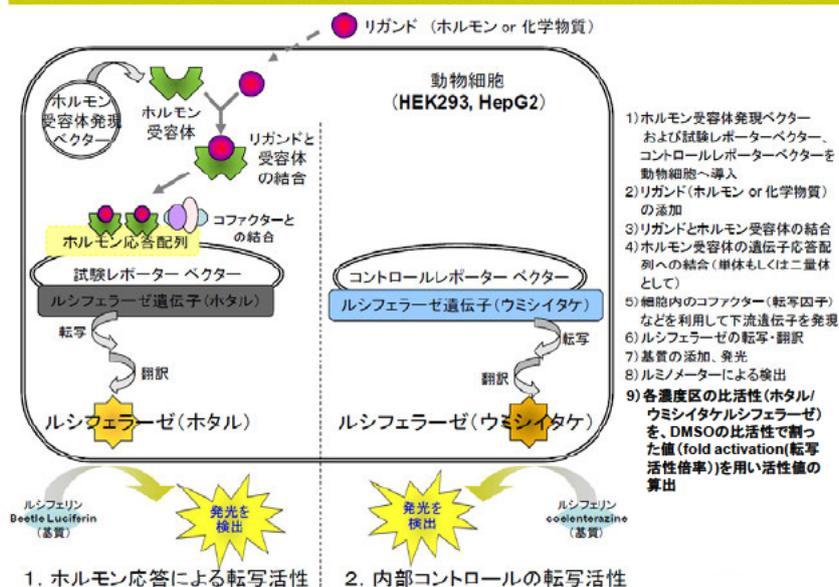


図-2 レポータージーンアッセイの概要

抽出まで-30℃冷凍庫に保存した。表-2 にメダカの曝露条件を示した。

肝臓からのRNA抽出は、RNeasy® Mini Kit (QIAGEN社製) を用いて、1 個体毎に肝臓から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) を用いて、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、各下水試料曝露区について、脱

塩素水道水 (コントロール) に対するエストロゲン応答遺伝子 (vitellogenin1, 2, choriogenin H, Hminor, L-SF) の発現比を算出した。

## 2.5 水質分析

曝露水の性状を把握するため、各曝露水槽の水温、pH、残留塩素濃度、CODMn、SS、NH<sub>4</sub>-N、T-N、T-Pの分析を行った。

## 3. 実験結果

### 3.1 曝露水質分析の結果

一般水質項目の分析結果を、表-3、4 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<sub>4</sub>-N、T-N、T-Pはコンポジット試料の値で

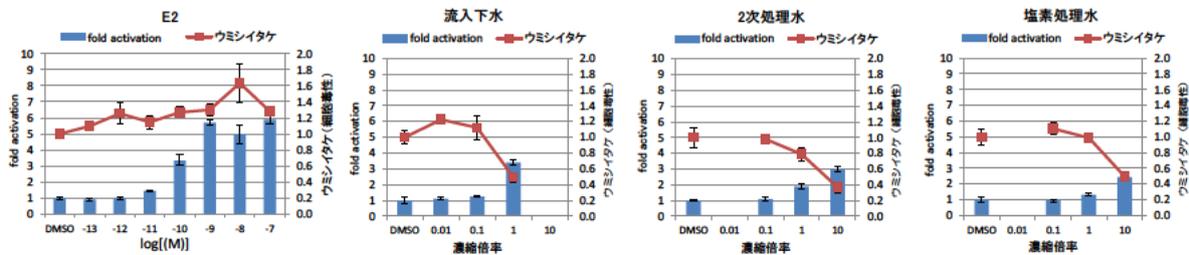


図-3 メダカエストロゲンレセプター $\alpha$ を組み込んだレポーター遺伝子アッセイの結果

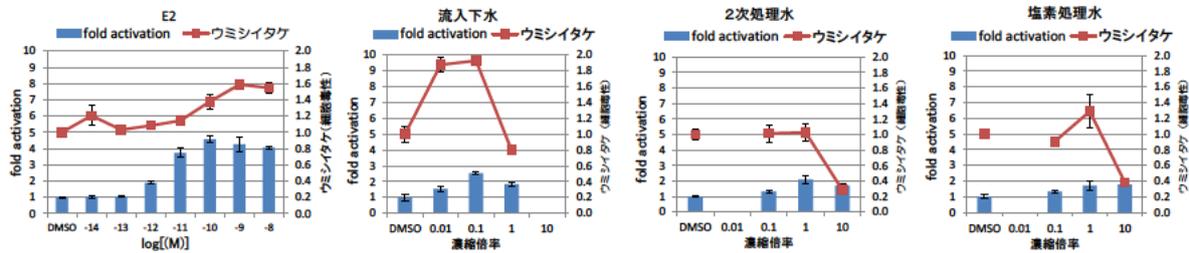


図-4 ヒトエストロゲンレセプター $\alpha$ を組み込んだレポーター遺伝子アッセイの結果

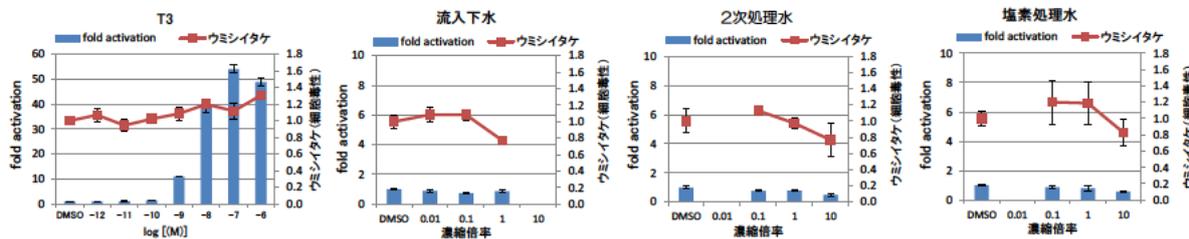


図-5 メダカ甲状腺ホルモンレセプター $\beta$ を組み込んだレポーター遺伝子アッセイの結果

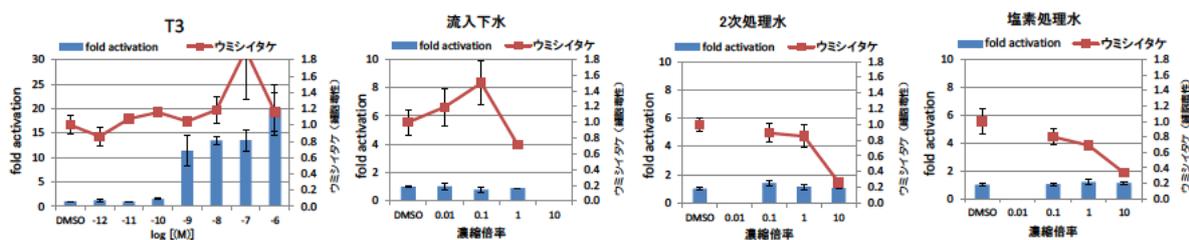


図-6 ヒトメダカ甲状腺ホルモンレセプター $\beta$ を組み込んだレポーター遺伝子アッセイの結果

ある。活性汚泥処理による COD<sub>Mn</sub> 除去率は 78%、T-N 除去率は 45%、T-P 除去率は 55%であった。

表-3 採水時の水質

	Water	pH	Residual Chlorine	
	Temp. [°C]	[ ]	Free [mg/L]	Total [mg/L]
流入下水	16.5 - 18.0	6.1 - 6.9	--	--
2次処理水	14.7 - 16.7	6.3 - 6.8	--	--
塩素処理水	14.5 - 15.8	6.4 - 6.7	0.07 - 0.50	0.53 - 0.82

表-4 コンポット試料の水質

	SS	COD <sub>Mn</sub>	NH <sub>4</sub> -N	T-N	T-P
	[mg/L]	[mg/L]	[mg/L]	[mg/L]	[mg/L]
流入下水	78	54	21	31	3.1
2次処理水	8	12	11	17	1.4
塩素処理水	7	13	11	17	1.5

### 3.2 レポータージーンアッセイの結果

図-3は、E2、流入下水、2次処理水、塩素処理水のメダカエストロゲンレセプターを組み込んだレポータージーンアッセイの結果である。流入下水では、10倍濃度で細胞が死滅した。また、流入下水は1倍濃度、2次処理水、塩素処理水は10倍濃度でウミシイタケの蛍光強度が低下しており、細胞毒性があったと考えられるが、これらの試料で fold activation が上昇しており転写活性が認められた。

図-4は、ヒトエストロゲンレセプターの結果である。流入下水は1倍濃度、2次処理水、塩素処理水は10倍濃度でウミシイタケの蛍光強度が低下した。流入下水では0.1倍、2次処理水、塩素処理水では、1倍以上で転写活性が認められた。

図-5はメダカ甲状腺ホルモン、図-6はヒト甲状腺ホルモン受容体を組み込んだレポータージーンアッセイの結果である。メダカ、ヒトとも甲状腺ホルモンレセプターに対する転写活性は認められなかった。

メダカとヒトエストロゲンレセプターのレポータージーンアッセイ結果から E2 等量の算出を以下のとおり行った。流入下水は希釈倍率 0.1 を、2次処理水、塩素処理水は希釈倍率 1 の fold activation 値を用いて、同等の fold activation 値を示す E2 濃度を、E2 のグラフから算出した。各下水試料のエストロゲン様活性値を図-7に示す。流入下水でメダカ、ヒトのエストロゲン活性値が高く、メダカとヒトでは、メダカのエストロゲン様活性値が高くなることわかった。このエストロゲン様活性は、活性汚泥処理過程で 90% (メダカ)、95% (ヒト) 低下することがわかった。

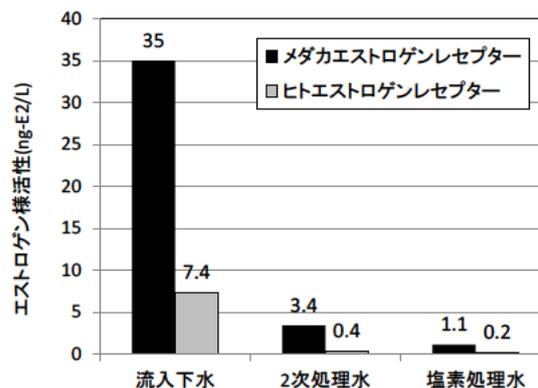


図-7 流入下水、2次処理水、塩素処理水のエストロゲン様活性値

### 3.3 メダカ遺伝子発現解析の結果

図-8、9に、流入下水、2次処理水、塩素処理水に曝露した雄メダカの肝臓のビテロゲニン、コリオゲニン遺伝子の発現倍率を示す。ビテロゲニン、コリオゲニンはエストロゲン応答遺伝子で曝露水にエストロゲン様物質が含まれていると発現が上昇する。エストロゲン応答遺伝子の種類によって遺伝子発現倍率は異なるものの、流入下水曝露区でビテロゲニン、コリオゲニン遺伝子の発現が高くなっていることがわかる。2次処理水では、これらの遺伝子発現は2倍以下まで低下しており、活性汚泥処理過程でエストロゲン様物質が除去されたことがわかる。この結果を図-7に示したレポータージーンアッセイの結果と同様の傾向となっていることから、レポータージーンアッセイから下水処理水のエストロゲン活性の評価は可能であることがわかった。

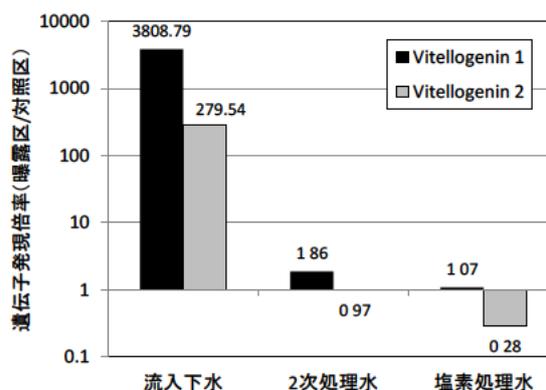


図-8 流入下水、2次処理水、塩素処理水のメダカ肝臓のビテロゲニン遺伝子発現結果

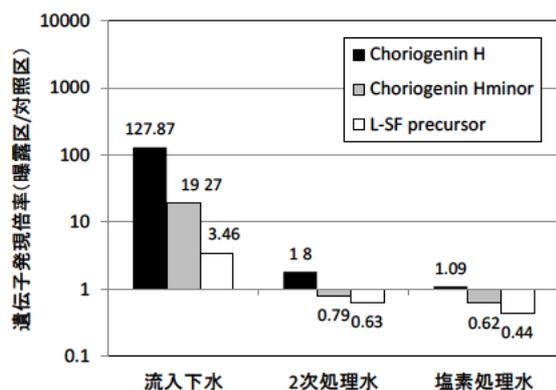


図-9 流入下水、2次処理水、塩素処理水のメダカ肝臓のコリオゲニン遺伝子発現結果

#### 4. おわりに

実下水試料を用いて、レポータージーンアッセイの下水試料への適用性の検討とレポータージーンアッセイとメダカの遺伝子発現解析との比較を行った。その結果、流入下水でメダカとヒトのエストロゲンレセプターの転写活性が認められた。メダカのエストロゲン様活性値は、ヒトよりも高くなる結果となった。メダカのエストロゲン様活性値は活性汚泥処理過程で90%程度低減することがわかった。

メダカ肝臓のエストロゲン応答遺伝子発現もレポータージーンアッセイと同様の結果を示したことから、下水試料のエストロゲン様活性の検出と評価はレポータージーンアッセイから可能であることがわかった。

今後は、レポータージーンアッセイによる下水中の男性ホルモン様物質や、抗女性、抗男性、抗甲状腺ホルモン様物質の存在実態や活性汚泥処理での除去効果をメダカの曝露実験と合わせて調査していく予定である。

## 21 世紀型都市水循環系の構築のための水再生技術の開発と評価（バイオモニタリング）

研究予算：戦略的創造研究推進事業（CREST）

担当チーム：材料資源・水環境研究グループ（水質）

研究担当者：鈴木 穰、岡本誠一郎、北村友一、

真野浩行、武田文彦

### 1. はじめに

現在の都市の一過性の水循環システムでは、人口の集中化、都市開発事業などにより都市の水資源の不足が予測されることから、量・質的に安全・安心な「新たな水利用システム」の開発を行う必要がある<sup>1)</sup>。下水処理水は都市における安定した水資源であり、その活用を進めることにより水不足が緩和できると期待されている。下水処理水を水資源とした「新たな水利用システム」の構築のためには、再利用水の水質リスクを利用用途別に評価し、効率的にリスクを制御する手法を開発することが重要となる。

水質チームは、再利用水のバイオモニタリングによる安全性評価を担っている。バイオモニタリングは、メダカと藻類を水生生物のモデルとし、メダカではDNAマイクロアレイによる遺伝子発現解析、藻類では生長阻害により、下水処理水の水生生物への毒性の実態解明および下水再利用プロセスでの毒性低減効果を明らかにすることを目的としている。

平成25年度は、平成23年度に作成したメダカマイクロアレイを用いて、二次処理水に膜ろ過などの追加処理を行った高度処理水と河川水のバイオモニタリングを実施した。本報告書では、メダカの遺伝子発現解析の結果を報告する。

表1 試料の一覧および実験実施時期

区分	試料名	実験時期
関東河川	T川(上流・中流・下流)	2013/2,9,12
	A川(上流・中流・下流)	2013/2
	S川(上流・下流)	2013/1
	霞ヶ浦(表層・底層)	2013/1
沖縄河川	A川	2013/8, 2014/1
	H川	2013/8, 2014/1
	N川	2013/8, 2014/1
	K地下ダム	2013/8, 2014/1
	Y地下ダム	2013/8, 2014/1
下水処理・再生水	①二次処理水	2013/3,6,8, 2014/1
	②凝集UF膜ろ過	2013/3,6,8, 2014/1
	③UF膜ろ過	2013/3,6,8, 2014/1
	④UF+UV処理	2013/3,6,8, 2014/1
	⑤UF+NF膜ろ過	2013/3,6,8, 2014/1
	⑥UF+RO膜ろ過	2013/3,6,8, 2014/1

### 2. 実験方法

#### 2.1 メダカ曝露実験

平成25年に運転した下水処理水再利用システム（膜ろ過システム）から生産された再生水と河川水をメダカに曝露し、メダカの遺伝子発現解析結果を用いて、生物影響の相対評価を試みた。表1は、メダカ曝露実験に用いた再生水、河川水の一覧

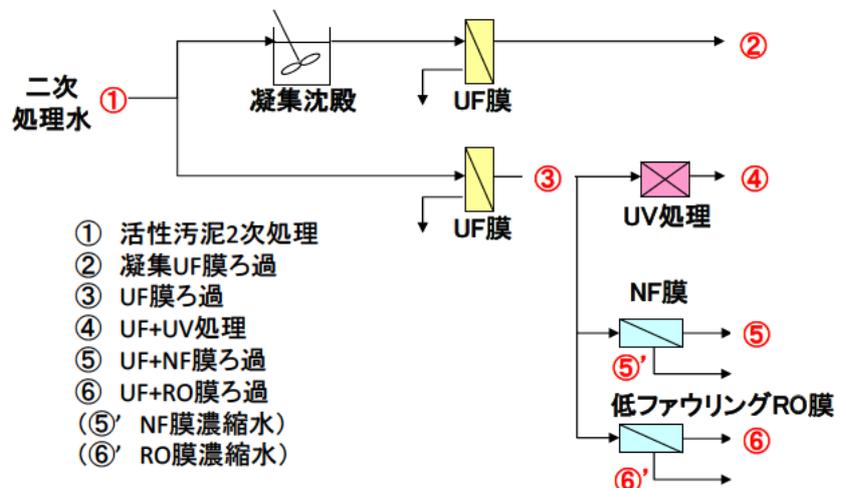


図1 膜ろ過システムの処理工程

である。河川水は、関東ではT川、S川、A川の3河川と霞ヶ浦、沖縄では5河川で採水した。なお、T川、A川の中流以降には下水処理水が含まれている。膜ろ過システムは、図1に示した活性汚泥二次処理水を原水とした凝集UF膜、UF膜、UF+UV処理、UF+NF膜、UF+RO膜処理である。採水は、各処理工程からスポットで行った。

メダカの曝露実験は、24年度と同様、雄メダカを用いた96時間の半止水式で行った。メダカの遺伝子発現解析部位は肝臓とした。いずれの実験でも脱塩素水道水を対照区とした。試料間の比較を可能とするため、得られたシグナル値はグローバルノーマライゼーションと対数変換 (Log<sub>2</sub>) を行って解析に使用した。

## 2.2 遺伝子発現解析方法

平成24年度はエストロゲン応答遺伝子の発現変動を調査したが、少数のマーカー遺伝子を用いる解析手法では生物影響の一部しか評価できない。そこで、25年度はGene Ontology (GO) に基づく機能遺伝子群を用いた解析を行った。初めに、マイクロアレイに搭載したメダカの遺伝子配列と相同性の高いzebrafishとhumanのタンパク質配列情報をBlastx検索で取得し、ZfinとUniprot-GOAのデータベースに基づきそれぞれに対応するGO情報を得た。そして、各メダカ遺伝子についてzebrafishとhumanのうちより相同性が高い種のGO情報を、その遺伝子の機能情報として使用した。マイクロアレイに搭載されたプローブのうちGeneSymbolが同一のものは、シグナル値の高さや変動幅と発現変動した試料数を勘案して代表遺伝子を選択した。最終的にBiologicalProcessに関する機能情報が得られた代表遺伝子の数は16,484個であった。機能遺伝子群を使用した試料間比較の方法には、ユークリッド距離 (以下、距離L) を用いた。抽出した機能遺伝子群の中で、対照区と曝露区でシグナル値がバックグラウンドよりも統計的に有意に高いことを示すIsWellAboveBGフラグがいずれも1の遺伝子を用いて以下の式により距離を算出した。

$$L = \sqrt{\sum_{i=1}^n (y_i - x_i)^2}$$

$x_i, y_i$  : 対照区および曝露区のシグナル強度

図2は、対照区と曝露区のスキャッタープロットの例である。距離Lの計算に使用した遺伝子 (バックグラウンドを上回る遺伝子) は着色して示した。距離Lは、曝露区の遺伝子発現パターンの対照区との差異の大きさを反映しているが、遺伝子発現強度の上下を示す指標ではないことに注意する必要がある。

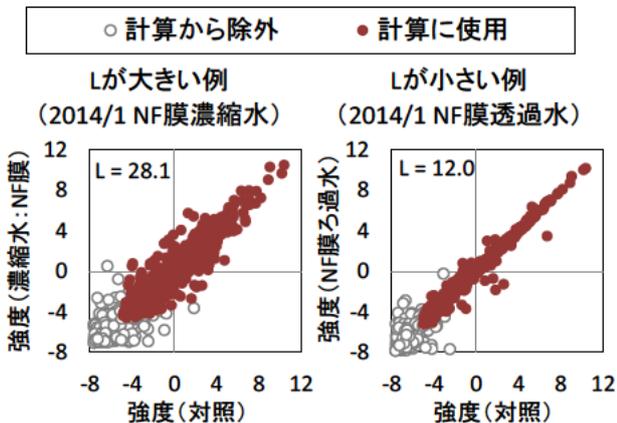


図2 距離Lの算出例

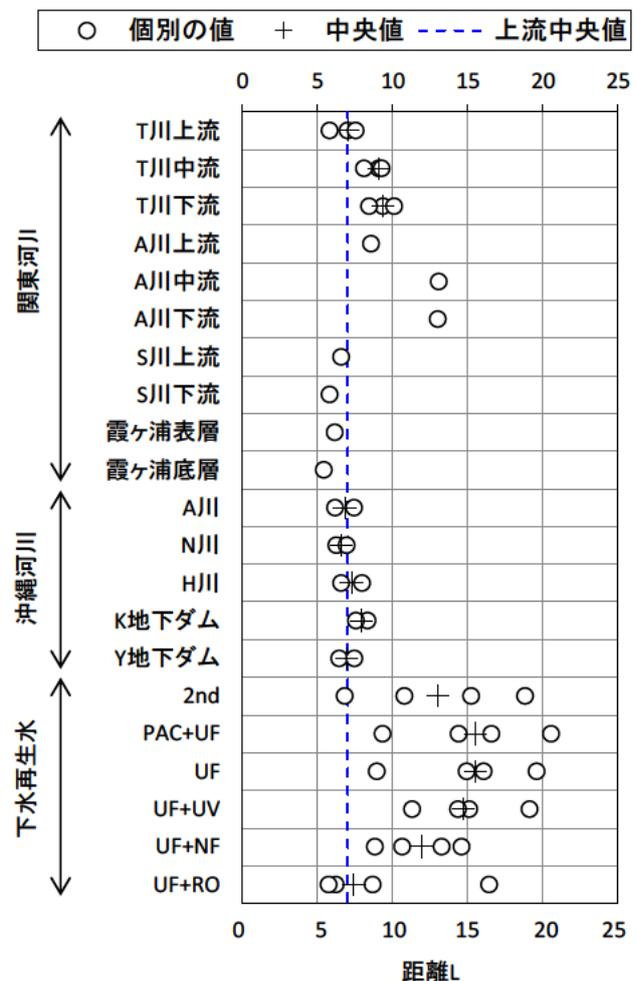


図3 距離Lの比較 reproduction(GO:0000003)

### 3. 実験結果

図-3は、reproduction(GO:0000003)関連の機能を有する遺伝子群を用いて算出された距離Lである。これは511遺伝子からなり、コリオゲニンなどの雄魚の雌性化と関連する遺伝子を含む。河川上流の代表値として、T川上流3回とS川上流、A川上流を合わせた5試料の中央値を算出すると、7.0となった。霞ヶ浦湖水は、河川上流より小さいことから、生物影響は小さいと考えられた。A川では中流と下流で高かった。沖縄河川は河川上流と近い値となった。下水再生水は採水時期による変化が大きかった。処理工程でみると、UF > UF+NF > UF+RO と処理の高度化に応じて低下し、UF+RO 処理水の中央値は河川上流に近い値であった。

図4は、response to xenobiotic stimulus(GO:0009410)関連の機能を有する遺伝子群を用いて算出された距離Lである。これは生体外異物に応答する遺伝子群で、99遺伝子からなり薬物代謝酵素 CYP1A などを含む。河川上流5試料の中央値は3.8となった。T川の中流と下流の中央値は、河川上流に比べて大きく増大することはなかった。A川では上流と下流で高かった。沖縄河川は、地下ダムで高いものがあった。下水再生水は、中央値でみると PAC+UF 処理水が最大であり、UF+NF 処理水が河川上流に最も近かった。

図5は、response to oxidative stress(GO:0006979)関連の機能を有する遺伝子群を用いた距離Lである。これは131遺伝子からなり、酸化ストレスのマーカー遺伝子として知られる glutathione peroxidase (GPX)

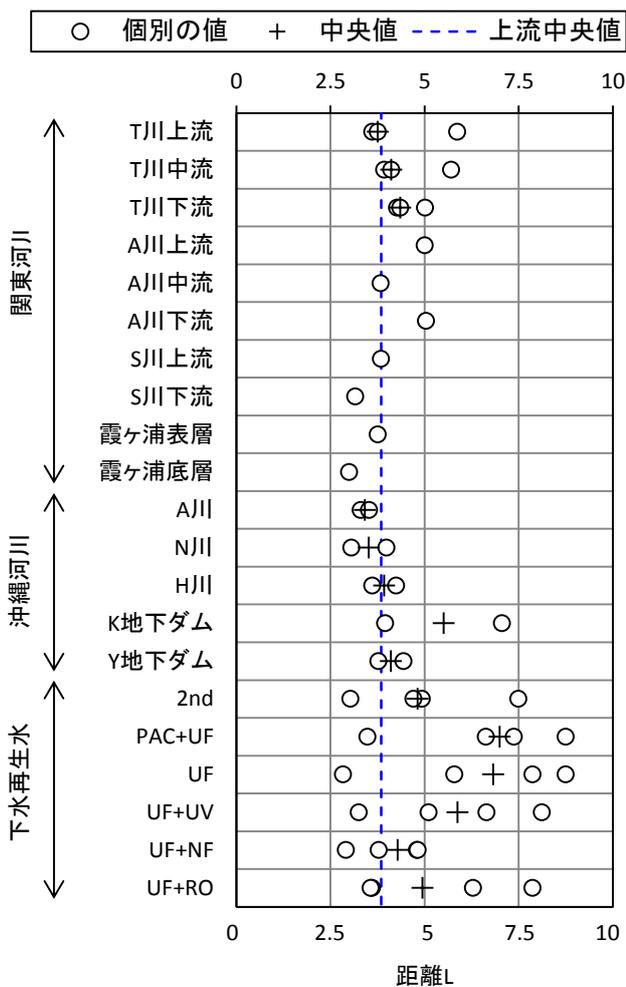


図4 距離Lの比較

response to xenobiotic stimulus(GO:0009410)

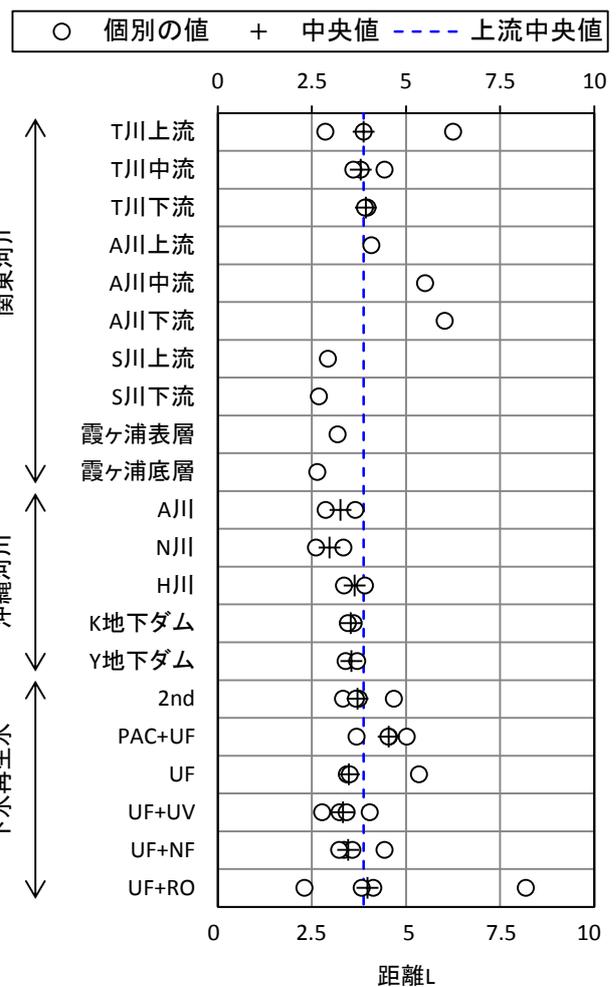


図5 距離Lの比較

response to oxidative stress(GO:0006979)

などを含む。河川上流中央値は 3.9 で、A 川では下流側ほど高くなる傾向がみられた。沖縄河川は河川上流より低い値であった。二次処理水の中央値は河川上流に近い値であり、PAC+UF 処理水では二次処理水と比較して高くなる傾向がみられた。UF+RO 処理水は採水時期による変化が大きかった。

図 6 は、DNA repair(GO:0006281) 関連の機能を有する遺伝子群を用いた距離 L である。これは DNA 修復反応に関わる遺伝子群であり、マイクロアレイには 346 遺伝子が搭載されている。河川上流中央値は 4.7 となった。A 川は T 川と比較して高かった。下水再生水の中央値は、PAC+UF 処理水で最も高い値となった。UF+NF 処理水は二次処理水に近い値となった。

図 7 は、apoptosis(GO:0006915) 関連の機能を有する遺伝子群を用いた距離 L である。これはプログラム細胞死に関与する遺伝子群であり、マイクロアレイには 946 遺伝子が搭載されている。河川上流中央値は 10.9 となった。A 川は T 川と比較して高かった。沖縄河川は河川上流に近い値となった。下水再生水の中央値は PAC+UF と UF+RO 処理水で高くなっていった。二次処理水と UF+NF 処理水は河川上流に近い値であった。

図 8 は、growth(GO:0040007) 関連の遺伝子群による距離 L である。組織分化や細胞増殖を調節する遺伝子群であり、マイクロアレイには 512 遺伝子が搭載されている。河川上流の中央値は 8.6 となった。A 川では下流で高い値となった。沖縄河川は中央値でみると河川上流に近い値となった。下水再生水は採水時期による変化が大きかったが、中央値でみると、二次処理水、PAC+UF、UF 処理水で高く、UF+NF、UF+RO 処理水は河

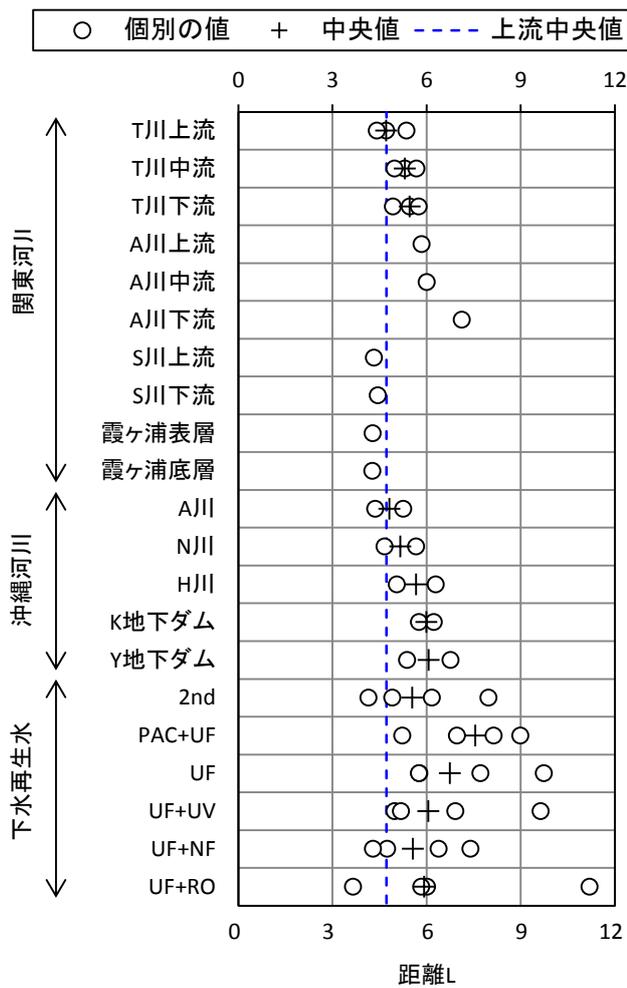


図 6 距離 L の比較 DNA repair(GO:0006281)

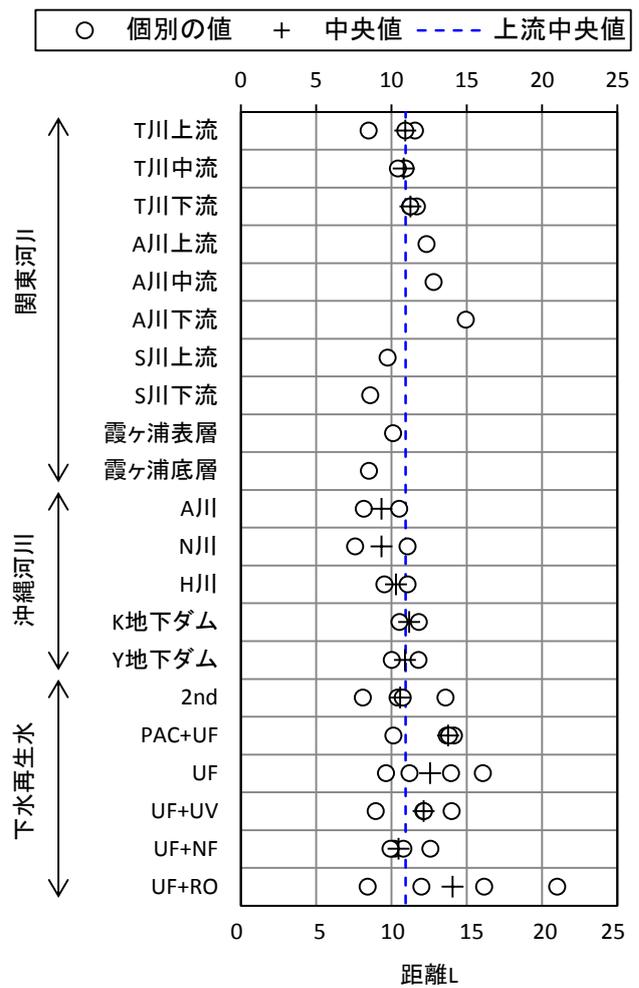


図 7 距離 L の比較 apoptosis(GO:0006915)

川上流に近い値となった。

図9は、immune response (GO:0006955) 関連の機能を有する遺伝子群を用いた距離Lである。これは免疫反応に関わる遺伝子群であり、マイクロアレイには873遺伝子が搭載されている。河川上流の中央値は10.6となった。A川では下流側で高くなっていった。下水再生水は中央値でみるといずれも河川上流より高くなっていった。また、二次処理水よりもPAC+UF、UF、UF+UV処理水で高くなる傾向がみられた。

距離Lは、計算に用いる遺伝子数によって値のレンジが異なることから、生物影響を遺伝子数によらずに比較できるようにするため、各試料の距離の中央値を河川水への人為的影響が比較的少ないと考えられる河川上流での距離の中央値で割って比を求めた。表2は、主要なGOについて、T川上流、中流、下流、下水再生水の距離比を示したものである。1.0は、その機能についての遺伝子発現パターンの曝露区と対照区（脱塩素水道水）との差異が河川上流と同程度であることを示す。reproductionの下位分類では、sexual reproductionとfemale gamete generationは、二次処理水で高く、UF+RO処理水で低下する傾向がみられた。一方、male gamete generationは河川上流に近い値であった。response to chemical stimulusの下位分類では、response to nutrientはPAC+UF、UF+NF、UF+RO処理水で高かった。response to hormone stimulusはPAC+UF、UF処理水で高く、UF+NF、UF+RO処理水で低下した。response to metal ionは他の処理条件と比較すると、UF+NF処理水で低かった。response to oxidative stressとその下位分類は、いずれの処理条件でも河川上流と概ね等しかった。DNA damage response, signal transductionは、p53遺伝子などを含む機

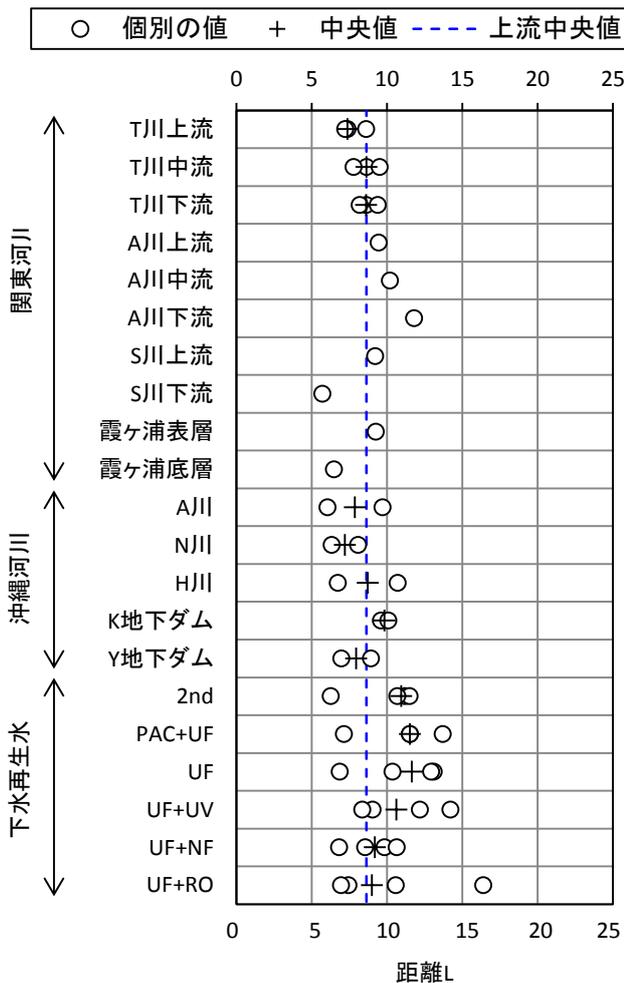


図8 距離Lの比較 growth(GO:0040007)

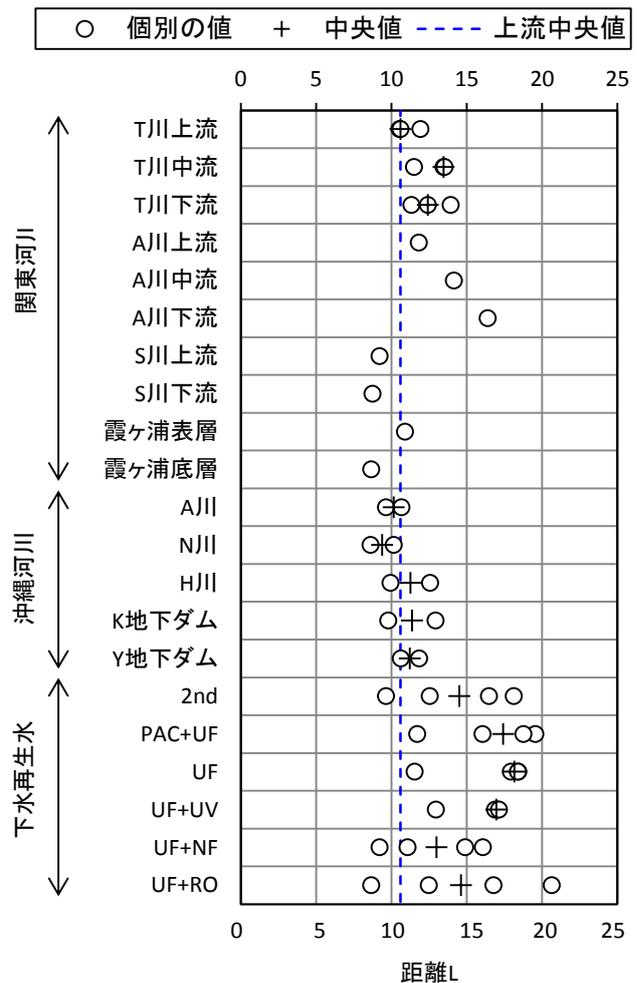


図9 距離Lの比較

immune response(GO:0006955)

能遺伝子群であり、いずれの処理条件でも河川上流より高かった。Apoptosis の下位分類である caspase activation は、いずれの処理条件でも河川上流と概ね等しかった。Immune response の下位分類では、2nd、PAC+UF、UF、UF+UV、UF+NF 処理水で adaptive immune response (獲得免疫) が河川上流より高い値となり、UF+RO 処理水で低下する傾向がみられた。Metabolic process の下位分類では、aromatic compound metabolic process や lipid metabolic process が PAC+UF 処理水で高い値を示した。機能遺伝子群を用いて対照区 (脱塩素水道水) からの遺伝子発現パターンの差異を距離として数値化し、さらに河川上流水との相対的な比較を行うことで、生物への影響の程度を機能ごとに数値化でき評価できることがわかった。

表 2 主要な GO についての距離比の一覧 (河川上流の距離の中央値を 1 としたときの、T 川および下水再生水の中央値)

※1.2 以上は橙、1.5 以上は赤で示した。

上位分類	機能分類	遺伝子数	T 川			下水再生水					
			上流	中流	下流	2nd	PAC+UF	UF	UF+UV	UF+NF	UF+RO
reproduction	reproduction	511	1.0	1.3	1.3	1.9	2.2	2.2	2.1	1.7	1.1
	sexual reproduction	317	1.0	1.4	1.3	2.1	2.5	2.5	2.4	1.9	1.1
	female gamete generation	57	1.0	1.7	1.6	2.2	3.1	3.0	2.8	1.9	1.4
	male gamete generation	190	1.0	0.9	1.1	1.0	1.3	1.1	0.9	0.9	1.2
response to chemical stimulus	response to chemical stimulus	1375	1.0	1.0	1.1	1.1	1.3	1.2	1.2	1.1	1.2
	response to nutrient	63	1.0	0.9	1.5	1.2	1.5	1.3	1.3	1.5	1.6
	response to hormone stimulus	334	1.0	1.1	1.2	1.4	1.8	1.8	1.6	1.3	1.4
	response to xenobiotic stimulus	99	1.0	1.1	1.1	1.3	1.8	1.8	1.5	1.1	1.3
	response to organic substance	791	0.9	1.0	1.1	1.3	1.5	1.5	1.4	1.1	1.3
response to oxidative stress	response to metal ion	116	1.0	1.6	1.4	1.6	1.7	1.7	1.7	1.3	1.9
	response to oxidative stress	131	1.0	1.0	1.0	1.0	1.2	0.9	0.9	0.9	1.0
	response to reactive oxygen species	62	1.0	0.9	1.0	0.9	1.1	0.8	0.8	0.8	1.0
response to DNA damage stimulus	response to hydrogen peroxide	46	1.1	0.8	0.8	1.0	1.1	0.8	0.8	0.9	1.0
	response to DNA damage stimulus	489	1.0	1.1	1.1	1.1	1.6	1.4	1.3	1.2	1.4
	DNA repair	346	1.0	1.1	1.2	1.2	1.6	1.4	1.3	1.2	1.3
apoptosis	DNA damage response, signal transduction	120	1.0	1.3	1.0	1.2	1.4	1.4	1.2	1.3	1.3
	apoptosis	946	1.0	1.0	1.0	1.0	1.3	1.1	1.1	1.0	1.3
immune response	caspase activation	42	1.0	1.0	1.0	0.8	1.0	0.9	0.9	0.8	0.7
	immune response	873	1.0	1.3	1.2	1.4	1.6	1.7	1.6	1.2	1.4
	adaptive immune response	58	1.0	1.5	1.4	2.4	3.3	3.3	3.4	2.1	1.4
metabolic process	innate immune response	359	1.0	1.1	1.2	1.0	1.2	1.2	1.2	1.0	1.3
	aromatic compound metabolic process	1388	1.0	1.1	1.1	1.3	1.7	1.5	1.4	1.2	1.3
	lipid metabolic process	778	1.0	1.2	1.2	1.3	1.6	1.5	1.3	1.1	1.4
	carbohydrate metabolic process	615	0.9	1.1	1.2	1.1	1.4	1.3	1.2	1.2	1.3
growth	vitamin metabolic process	116	0.9	1.1	1.1	0.9	1.1	0.9	0.9	1.1	1.2
	growth	512	0.9	1.0	1.0	1.3	1.3	1.4	1.2	1.1	1.0
	regulation of growth	285	0.9	1.0	1.1	1.4	1.7	1.6	1.6	1.3	1.2

#### 4. 本年度の研究のまとめ

本年度は、雄メダカの様々な機能遺伝子群に着目した遺伝子発現解析から、膜ろ過システム処理水の生物影響の、距離を指標とした河川水に対する相対評価を行い、以下のことを明らかにした。

- ① 機能遺伝子群を用いた解析手法によって、マイクロアレイの測定結果をもとに生物影響の程度を機能ごとに数値化でき評価できることがわかった。
- ② reproduction 関連遺伝子群による生物影響評価では、UF+RO 処理により、河川上流と同程度まで影響を低減できた
- ③ response to xenobiotic stimulus 関連遺伝子群による生物影響評価では、UF+NF 処理で河川上流と同程度まで低減された。
- ④ Response to oxidative stress 関連遺伝子群による生物影響評価では、河川水と処理水で大きな違いはみられなかった。

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の構築のための水再生技術の開発と評価」の一環により実施されたものであり、土研水質担当分をまとめたものである。

#### 【参考文献】

- 1) 田中宏明、21 世紀都市代謝系としての下水道への期待（2009）新都市、Vol.63、No.9、pp.16-22



付録 平成 25 年度 下水道関係刊行報告書一覧

高速散水ろ床法を採用した下水処理場の運転に関する資料集

土木研究所資料 第 4264 号 平成 25 年 5 月

材料資源研究グループ リサイクルチーム

**【要旨】**

高速散水ろ床法は国内では平成 22 年度時点で 3 か所しか存在せず、それらは減少傾向にある。それらの下水処理場が廃止されると国内で蓄えられた運転実績・知見・ノウハウに関する情報を再び集めるのは困難になると予想される。そのため、本報告書では、現時点でそれらの情報を収集し、とりまとめた。水量、流入水および放流水の水質、汚泥性状などに関するデータなどを示した。また、維持管理の実態を示した。得られたデータから放流水質への寄与因子について解析し、放流水の透視度と浮遊物質(SS)は、水温と強い相関を示した。

キーワード：散水ろ床、放流水、水温、透視度、SS

---

土 木 研 究 所 資 料  
TECHNICAL NOTE of PWRI  
No.4294          December 2014

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