

13 地域の水利用と水生生態系の保全のための 水質管理技術の開発に関する研究

研究期間：平成 28 年度～33 年度

プログラムリーダー：水環境研究グループ長 森 吉尚

研究担当グループ：水環境研究グループ（水質）、材料資源研究グループ、寒地水圏研究グループ（水環境保全）、水工研究グループ（水理）

1. 研究の必要性

様々な水質改善対策が実施されてきた現在も、社会活動に重大な影響を及ぼす新たな感染症の発生や、日用品由来の化学物質の生態影響、汽水湖等の貧酸素化、貯水池におけるアオコ・カビ臭による利水障害等の水に由来する問題が生じている。そのため、新たな規制の動向にも対応しつつ河川・湖沼等の水質管理を行うとともに、下水処理による新規規制項目への対策やモニタリング・評価技術の確立が必要である。したがって、本研究開発プログラムでは、水環境中の化学物質や病原微生物等の影響の評価手法の構築やその軽減のための処理技術を開発する。また、停滞性水域等における水利用や生態系を保全するためのモニタリング技術、予測手法を構築する。さらに、上記の開発技術やモニタリング・評価手法を活用しつつ流域全体の利水や水生生態系に対する影響を軽減し、環境の質を向上するための管理方策の提案を目指す。

2. 目標とする研究開発成果

本研究開発プログラムでは、水環境の質を向上し、地域の水利用や生活環境、水生生態系を保全していくことを目指し、個々の湖沼・ダム管理や下水道管理の技術的支援、国が実施する関連行政施策の立案や技術基準の策定に反映を目標に、以下の達成目標を設定した。

- (1) 流域の水環境を的確・迅速に把握するための影響評価、モニタリング手法の開発
- (2) 水質リスク軽減のための処理技術の開発
- (3) 停滞性水域の底層環境・流入負荷変動に着目した水質管理技術の開発

3. 研究の成果・取組

「2. 目標とする研究開発成果」に示した達成目標に関して、平成 29 年度に実施した研究の成果・取組について要約すると以下のとおりである。

(1) 流域の水環境を的確・迅速に把握するための影響評価、モニタリング手法の開発

近年、医薬品類などの微量化学物質が、使用後に、下水道を通して河川水中に流出することが明らかとなり、水生生物への影響が懸念されている。そのため、河川水環境において微量化学物質の効率的な削減対策やリスクの管理を検討する必要がある。本研究では、医薬品を対象に、河川水中の濃度変化への影響因子として底質への収着を検討した。まず、多摩川の中流域を対象に河川水と底質試料中の医薬品 6 物質を分析して各媒体中の存在実態を把握した。azithromycin、clarithromycin、levofloxacin が他の医薬品と比較して、底質に蓄積されやすいことが示された。次に、多摩川水系、淀川水系、霞ヶ浦水系の 8 地点の河川底質を用いて、溶媒のイオン強度、EDTA 濃度、pH を変化させた収着試験を行った。その結果、azithromycin と levofloxacin の底質への収着は、主に陽イオン交換反応によるものであることが明らかとなった。今後は、さらに河川中の動態の検討を進め、得られた動態パラメータを組み込んだ流域モデルによる河川水中濃度予測に取り組む。将来的には、それにより得られる情報から下水処理場での微量化学物質の削減対策やリスク評価・管理を検討していく予定である。

また、湖沼・ダム貯水池の水質改善に向け、効率的な藻類のモニタリング手法の構築が急務となっているため、並列型高速塩基配列決定装置（次世代シーケンサー）を用いた 16S rRNA 遺伝子配列に基づく菌叢モニタリングに取り組んだ。菌叢モニタリングでは、ダム湖水の菌叢は、各ダムで特徴的な菌叢を示し、水質や環境に大きく

影響を受けること、地理的要因より水温等の影響を受け変化することが示唆された。また、構成する微生物種の多様性が水質変化現象に関係していることが示唆された。つまり、異臭味やアオコ等の水質問題が生じているダムでは、多様性が比較的高い菌叢になっていた。藻類生長試験では、一部のダム湖水を用いた場合、マンガン添加により *M. aeruginosa* の生長が促進されることが明らかになった。

さらに、気候変動による気温、降水量の変化がダム貯水池の水質、濁質に与える影響についての将来的な予測に取り組んだ。本研究では、東北地方にある御所ダムの流域および貯水池を対象とした水質変動予測シミュレーションを利用し、予測シミュレーションの高度化や気候変動による影響の適応策の検討を実施した。また、貯水池への負荷量推定に際し L-Q 式等のデータが不足していることを念頭にした負荷量推定手法の高度化、USLE 式の高度化について検討を行った。その結果、濁質の沈降や融雪期の取り扱いなど多少の改善の余地はあるもののダム貯水池の SS 変化を概ね再現でき、USLE 式を用いることにより、L-Q 式で考慮できない降雨分布や降雨強度を直接的に流入 SS 負荷として反映できるため、気候変動に伴う流入 SS 変化をより適切に表現できると可能性があることが示唆された。

(2) 水質リスク軽減のための処理技術の開発

都市河川で検出される微量化学物質の中には、下水道を経由して到達したものが存在すると考えられる。河川水中に存在する微量化学物質を効率的に削減するためには、下水処理水中に存在し河川へ排出される微量化学物質の除去技術開発が必要である。H29 年度は、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸 (LAS) が残存する下水処理水を対象として微生物担体を用いた処理実験を行い処理条件 (処理時間、水温) について検討した。その結果、LAS 除去率 90%を得るのに必要な処理時間 (HRT) は約 2 時間、99%では約 4 時間と試算され、また、反応槽水温は 11℃と 21℃の場合で LAS 除去速度に大きな違いことが確認された。

また、様々なリスク要因に対応した包括的な観点に基づく評価手法の構築と放流先水利用や異常時・災害時に対応した水処理・消毒技術の開発を目的として、下水試料に適した大腸菌の測定法の評価、F 特異性 RNA Phage GI ~GIV (FRNAPH GI ~GIV) の実態調査および越流水の対策技術として雨天時活性汚泥法によるノロウイルス (Norovirus:NoV) の削減効果、活性汚泥中のタンパク質の存在量と NoV の除去効果を把握した。その結果、大腸菌の検出濃度が 10 CFU (MPN) /mL 以下と低濃度となることで変動係数 (CV) が上昇傾向を示し、試料中の大腸菌濃度の違いにより培地間で定量値に差異が生じることや、変動係数に影響を及ぼすことが明らかとなった。FRNAPH GI は活性汚泥処理による残存割合の観点から、FRNAPHGII では活性汚泥処理による NoV の除去率と相関があり、NoV の代替指標としての利用可能性が示唆された。雨天時活性汚泥法による NoV 負荷の削減効果は、反応タンク内の MLSS 濃度に依存している傾向が見られた。活性汚泥処理による NoV の除去効果に活性汚泥中のペプチド量が深く関与している可能性が示唆された。

(3) 停滞性水域の底層環境・流入負荷変動に着目した水質管理技術の開発

汽水性指標生物であるヤマトシジミ資源量保全のため、国内漁場の北限である天塩川水系(天塩川、サロベツ川、パンケ沼)を対象に調査、検討を行った。天塩川水系では塩淡二層構造で塩水遡上しており、塩淡境界標高を本川淡水流量で推定する手法を提案した。この手法による解析の結果、天塩川水系では雨量増加による河川流量の増加によって塩水環境が劣化し、シジミ漁獲量が減少していることが示唆された。流量増加に対する塩水環境の保全適応策として、棚状地形の効果について数値モデルで検討を行った。その結果、淡水の単位幅流量が減少するほど、塩水遡上が助長され、棚状地形の造成が有効であることが示唆された。

次に塩淡境界をもつ汽水湖の網走湖において、塩水層の貧酸素改善を目的に気液溶解装置(WEP)による酸素供給時の水質変化について実水域で実験的な検討を行った。その結果、現地の水に溶存酸素を約 40mg/L まで溶解可能であった。現地の貧酸素水塊には毒性物質である硫化水素が 130mg/L の高濃度で蓄積しており、酸素供給によって水中の硫化水素を固体硫黄へ酸化させる反応が優先して、硫化水素を無害化可能であることが明らかとなった。また、現地に気液溶解装置(WEP)の試験プラントを建設し、運用を開始した結果、実水域においても任意水深に酸素供給が可能であり、硫化水素の無害化が可能であることが確認された。

THE DEVELOPMENT OF WATER QUALITY MANAGEMENT AND CONTROL TECHNIQUES FOR REGIONAL WATER USE AND AQUATIC ECOSYSTEM CONSERVATION

Research Period : FY2016-2021

Program Leader : Director of Water Environment Research Group
Yoshinao MORI

Research Group : Water Environment Research Group (Water Quality Team)
Material and Resource Research Group
Cold-Region Hydraulic and Aquatic Environment Engineering Research Group
(Water Environment Engineering Team)
Hydraulic Engineering Research Group (River and Dam Hydraulic Engineering
Research Team)

Abstract : Although various improvement measures for water quality have been implemented, serious issues are still found in water environments, such as infectious diseases that influence social activities, ecological effect of chemical substances derived from products for daily use, and occurrence of algal bloom and musty odor in reservoirs. Therefore, new strategies for evaluation, monitoring and management are required to respond to these issues. In addition, it is important to apply these techniques to the basins in an integrated manner to improve environmental quality. In this R&D program, in order to respond to these challenges, we will promote researches towards achieving the following 3 goals:

- (1) Development of assessment and monitoring methods to understand the water environments of basins with accuracy and speed.
- (2) Development of adequate water treatment technology for the mitigation of water quality risks.
- (3) Development of water quality management focused on the bottom layer environment and the inflow change in stagnant water areas.

We aim to reflect these developments to the planning of the administrative measures and technical standards by the national government towards the improvement of water environmental quality, conservation of regional water use in basins, living environment and the aquatic ecosystem.

Keywords: Water environment, water quality management, water quality control techniques, aquatic ecosystem conservation, mitigation of water quality risk

13.1 流域の水環境を的確・迅速に把握するための影響評価、モニタリング手法の開発

13.1.1 公共用水域における健康・生態リスクが懸念される化学物質の制御手法に関する研究（影響が懸念される物質のモニタリングと定量的リスク評価手法の構築）

担当チーム：水環境研究グループ（水質）

研究担当者：小川文章、對馬育夫、鈴木裕識、
小森行也、花本征也

【要旨】

医薬品等の化学物質のリスクを評価・管理するためには、河川水中の挙動を明らかにする必要がある。本チームではこれまでに、河川における医薬品の濃度変化に対して、底質への収着が重要な役割を担っていることを見出したが、底質中における存在実態や底質への収着機構は明らかとなっていない。そこで本年度では、多摩川中流域における現地調査と、多摩川水系、淀川水系、霞ヶ浦水系の8地点の河川底質を用いた収着試験を実施した。その結果、azithromycin、clarithromycin、levofloxacinが河川底質に蓄積されやすいことを明らかにした。また、試験溶媒のイオン強度、EDTA濃度、pHを変化させた収着試験を行うことで、azithromycinとlevofloxacinの底質への収着は、主に陽イオン交換反応によるものであることを明らかにした。

キーワード：医薬品、河川、底質、収着、陽イオン交換反応

1. はじめに

近年、生活で使用され、下水道を通して河川水中に流出する医薬品類などの微量化学物質による河川水環境への影響が懸念されている。我が国の河川において、環境リスク初期評価により、一部の化学物質のリスクが示唆されている^{1,2)}。そのため、河川水環境において微量化学物質の効率的な削減対策やリスクの管理を検討する必要がある。このような背景のもと、本研究課題では、水生生物およびヒト健康への影響が懸念される化学物質のモニタリングと定量的リスク評価手法の構築を目的としている。

昨年度は、都市河川である多摩川流域において、医薬品既往の野外調査結果に基づいて算出した減衰速度係数と調査地点での負荷量から、調査区間に流入する負荷量および調査区間の最下流地点での負荷量に対する下水処理場への寄与率を推計し、下流地点の医薬品濃度に対して寄与率の高い下水処理場を把握した。この結果は、下水処理場の下流地点における濃度予測に繋がると考えられる。一方で、河川水中の濃度をより正確に予測するには、水中の濃度変化に影響を及ぼす因子の詳細な検討が重要となる。

本チームではこれまでも、都市河川水中の医薬品の動態を明らかにすることを目的とし、東京都の多摩

川において医薬品の現地調査を行ってきた¹⁾。また、室内実験により医薬品の分解・吸着性を明らかにし、河川における医薬品の減衰に対して、底質への収着が重要な役割を担っていることを見出した²⁾。しかし、都市河川における底質中の医薬品の蓄積実態は不明な点が多い。そこで、本年度は、現地調査により、多摩川を対象に河川水、底質中における医薬品の存在実態を把握した。また、底質への収着をモデル化するために、医薬品の底質への収着機構を明らかにする必要がある。そこで、より広範囲の河川で採取した底質を用いて医薬品の収着試験を行い、医薬品の底質への収着機構の解明を試みた。

2. 方法

2.1 現地調査

多摩川の日野橋と関戸橋において河川水と底質を採取し、医薬品6物質（azithromycin：マクロライド系抗菌剤、clarithromycin：マクロライド系抗菌剤、crotamiton：鎮痒剤、ketoprofen：解熱鎮痛剤、levofloxacin：キノロン系抗菌剤、sulfamethoxazole：サルファ剤）の分析を行った。河川水中の医薬品は、ろ過、固相抽出を行った後、高速液体クロマトグラフタンデム質量分析計（LC-MS/MS）により測定、サロゲー

ト法により定量した。底質中の医薬品は、メタノール：超純水=1：1 にアンモニアを 0.3%含めたものを溶媒とし、室温で2日間振とうして抽出した。抽出液をろ過し、ろ液をメタノールの含有割合が 5%以下となるように超純水で希釈したものを、河川水と同様の方法で分析した。

2.2 収着試験

淀川水系の桂川（羽束師橋、宮前橋）、西高瀬川、古川、多摩川水系の多摩川（日野橋、関戸橋）と浅川、霞ヶ浦水系の桜川の計 8 地点から採取した底質を用い、経済協力開発機構（OECD）の試験ガイドライン（No. 106）³⁾に準拠して、以下の手順で医薬品の収着試験を行った。底質を風乾した後、2mm のふるいにかけて、ガラス製遠沈管に入れた。超純水に塩化ナトリウムが 100mM、アジ化ナトリウムが 0.02%、医薬品が各 1 μ g/L となるように添加した。アジ化ナトリウムは試験中における医薬品の生分解を抑えるために用いた。この溶液を遠沈管に注ぎ、20°Cの暗所においてローテータで3日間攪拌した後、溶液中と底質中の医薬品の濃度を 2.1 に示した方法で分析した。底質中濃度を溶液中濃度で除したものを収着平衡定数とした。

医薬品等の化学物質の底質への収着機構には、大きく分けて、疎水性相互作用、イオン交換反応、金属錯体形成反応が考えられる。本研究では、医薬品の中でも、底質への収着性が特に高いと考えられ、生態リスクが懸念されている⁴⁾マクロライド系抗菌剤の azithromycin と levofloxacin を対象とし、収着試験の溶媒（塩化ナトリウム水溶液）の pH（6.5、11.6）、イオン強度（NaCl：100mM、10mM）、エチレンジアミン四

酢酸（EDTA）濃度（0mM、10mM）を変化させることで収着機構の解明を試みた。

3. 結果と考察

3.1 多摩川の河川水と底質における医薬品の分配

多摩川の河川水と底質における医薬品の濃度と濃度比（底質中濃度を河川水中濃度で除したもの）を表 1 に、河川水中濃度と底質中濃度をプロットしたグラフを図 1 に示す。Ketoprofen 以外の 5 物質は、両地点において河川水、底質から検出され、濃度比が定量された。Crotamiton と sulfamethoxazole は濃度比が 10 (L/kg) 未満と低く算出され、底質に収着しにくいことが示唆された。一方で、azithromycin、clarithromycin、levofloxacin は濃度比が 158~1625 (L/kg) と高く、底質に蓄積されていた。

対象とした医薬品 6 物質のうち、これまでの現地調査において多摩川で 0.10 (h⁻¹) 以上の速い速度で減衰した医薬品は、ketoprofen、azithromycin、clarithromycin、levofloxacin の 4 物質であった¹⁾。また、過去の室内実験の結果から、主な減衰要因は、ketoprofen では太陽光による光分解、azithromycin と clarithromycin では底質への収着、levofloxacin は光分解と収着の両方であることが示唆されている²⁾。以上より、本年度の調査により、底質への収着の影響が示唆されていた 3 物質が、実際に多摩川の底質に蓄積していることが明らかとなり、これまでの研究で得られていた仮説が支持された。また、多摩川ではほとんど減衰しなかった crotamiton と sulfamethoxazole は濃度比（底質/河川水）も低く、この点においてもこれまでの成果と調和した。

表1 多摩川における医薬品の河川水・底質中濃度と濃度比

	河川水中濃度 (ng/L)		底質中濃度 (ng/g-dry)		濃度比 (L/kg-dry) ¹⁾	
	日野橋	関戸橋	日野橋	関戸橋	日野橋	関戸橋
Azithromycin	102.1	54.9	89.7	89.2	879	1625
Clarithromycin	245.2	172.2	38.8	29.5	158	171
Crotamiton	390.4	390.0	2.8	2.3	7	6
Ketoprofen	N.D. ²⁾	2.1	N.D.	N.D.	N.A. ²⁾	N.A.
Levofloxacin	159.5	154.4	146.4	160.4	918	1039
Sulfamethoxazole	100.6	109.3	0.1	0.1	0.9	0.5

1: 底質中濃度を河川水中濃度で除したもの

2: N.D. (検出下限値以下)、N.A. (データなし)

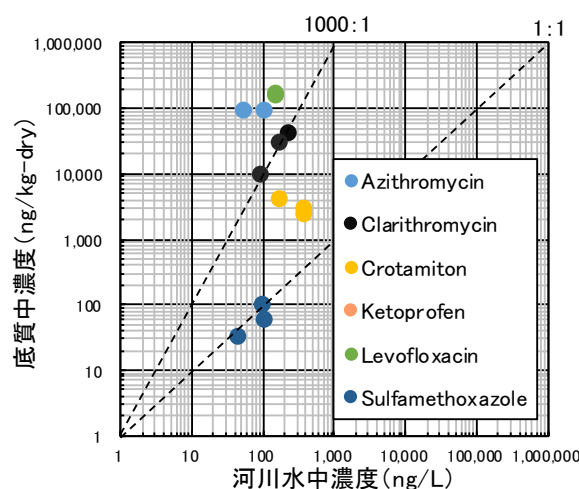


図1 6種の医薬品における河川水と底質の濃度比較

3.2 医薬品の底質への収着機構

イオン強度、EDTA濃度、pHを変化させた溶媒におけるazithromycinとlevofloxacinの底質への収着平衡定数を図2に示す。Azithromycinは分子内に2つのアミノ基を有しており、 pK_a はそれぞれ8.7と9.5であり、levofloxacinはアミノ基の pK_a が8.0、カルボキシル基の pK_a が5.5である。従って、pH=6.5の中性溶液中では、両物質ともに分子内のアミノ基が正電荷を帯びており、共存陽イオン濃度の増加により、陽イオン交換が抑制される。本実験では、ナトリウムイオン濃度の増加により医薬品の収着平衡定数が5~7倍程度低下していた(図2:溶媒AとBの比較)。また、低下の

程度を他物質の文献値と比較したところ、陽イオン交換が主な収着機構である有機化学物質に対する報告値と類似であった(図3)。従って、azithromycinとlevofloxacinに対しても、陽イオン交換が主要な収着機構であることが示された。また、EDTAは底質の負電荷サイトに吸着している交換性の金属イオンや底質の鉱物中に含有される金属元素と錯体を形成するため、医薬品の金属錯体形成反応による底質への収着を抑制する。本実験では、EDTAの添加による医薬品の収着平衡定数の変化はほとんどなかったことから(図2:溶媒BとCの比較)、金属錯体形成反応の影響は小さいと考えられた。また、pH=11.6の塩基性溶液中にお

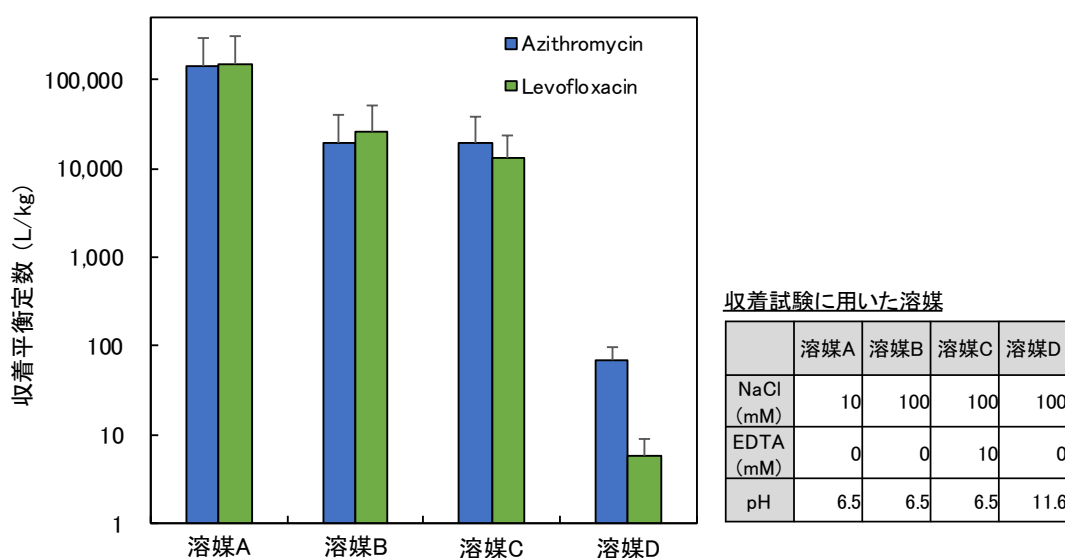


図2 各種溶媒におけるazithromycinとlevofloxacinの底質への収着平衡定数

(棒グラフとエラーバーは8カ所の河川底質における平均値と標準偏差を示す)

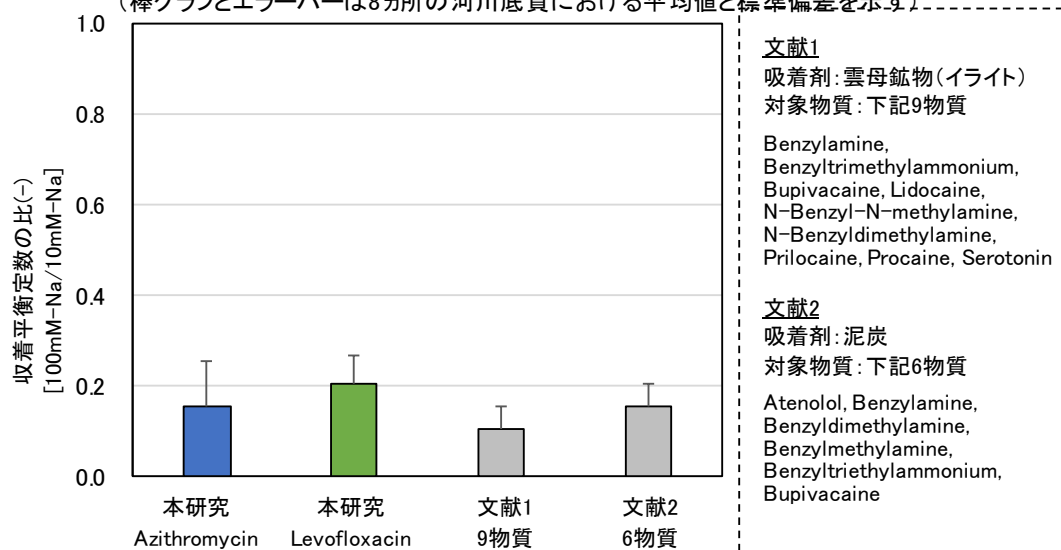


図3 Azithromycinとlevofloxacinの収着平衡定数のイオン強度依存性と報告値との比較

(文献1, 2は本文の参考文献5, 6に対応する。文献1, 2の対象物質は全てアミンであり、陽イオン交換が主な収着機構だと考えられる有機化学物質である。棒グラフとエラーバーは平均値と標準偏差を示す。)

いては、azithromycin と levofloxacin のアミノ基は帯電していないため、陽イオン交換反応は生じない。本実験では、塩基性溶液中において、医薬品の収着平衡定数が大幅に低下していたことから（図 2：溶媒 B と D の比較）、陽イオン交換反応の重要性が示され、前述の結果と調和した。塩基性溶液中（溶媒 D）においては、azithromycin は分子態、levofloxacin は陰イオンとして存在しており、疎水性相互作用や陰イオン交換の影響は小さいことが示された。

4. まとめ

現地調査により、多摩川の河川水と底質における医薬品 6 物質の存在実態を明らかにし、azithromycin、clarithromycin、levofloxacin が底質に蓄積されていることを見出した。これにより、これまでの研究において底質への収着の影響が示唆されていたこれら 3 物質が、底質に蓄積されやすいことが明らかになった。また、溶媒のイオン強度、EDTA 濃度、pH を変化させた収着試験により、対象医薬品の中でも収着性が特に高い azithromycin と levofloxacin に対して、河川底質への収着機構を検討した。その結果、これら 2 物質の底質への収着は、主に陽イオン交換反応によるものであること、疎水性相互作用や金属錯体形成反応はほとんど影響していないことが明らかになった。今後は、さらに河川中の動態の検討を進め、得られた動態パラメータを組み込んだ流域モデルによる河川水中濃度予測に取り組む。将来的には、それにより得られる情報から下水処理場での微量化学物質の削減対策やリスク評価・管理方策を検討していく予定である。

参考文献

- 1) 岡本誠一郎、小森行也、北村友一、真野浩行、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、平成 27 年度研究成果報告書、<https://www.pwri.go.jp/jpn/results/report/report-project/2015/pdf/ju-10.pdf>（2018 年 6 月確認）
- 2) 花本征也、真野浩行、南山瑞彦、多摩川と桂川における抗生物質の減衰の差異とその要因、第 51 回日本水環境学会年会、熊本、2017 年 3 月
- 3) Adsorption-desorption using a batch equilibrium method, OECD test guidelines for chemicals No. 106, 1995
- 4) Mano, H. and Okamoto, S., Preliminary ecological risk assessment of 10 PPCPs and their contributions to the toxicity of concentrated surface water on an algal species in the middle

basin of Tama River. *J. Water Environ. Technol.*, 14(6), 423-436, 2016

- 5) Droge, S.T.J and Goss, K.-U., Sorption of Organic Cations to Phyllosilicate Clay Minerals: CEC-Normalization, Salt Dependency, and the Role of Electrostatic and Hydrophobic Effects. *Environ. Sci. Technol.*, 47, 14224-14232, 2013
- 6) Droge, S.T.J and Goss, K.-U., Effect of Sodium and Calcium Cations on the Ion-Exchange Affinity of Organic Cations for Soil Organic Matter. *Environ. Sci. Technol.*, 46, 5894-5901, 2012

13.1.2 公共用水域における消毒耐性病原微生物の管理技術に関する研究（消毒耐性を有する病原微生物に対応した代替指標の提案）

担当チーム：材料資源研究グループ（資源循環担当）

研究担当者：重村浩之、諏訪守、李善太

【要旨】

社会活動に重大な影響を及ぼす新たな感染症の発生に伴い、法改正による監視強化や水循環基本計画に基づく新たな衛生微生物指標等に着眼した環境基準等の目標に関わる調査研究、合流式下水道について必要に応じた対策の実施、さらには感染症拡大を防止するなど地域に貢献できる下水道システムの構築が望まれている。

本研究は、平成 28～33 年度にかけ、①消毒耐性を有する病原微生物に対応した代替指標の提案、②公共用水域へ及ぼす越流水の影響評価と対策技術の提案、③高度処理法などによる病原微生物の不活化・除去の向上評価、④リスク要因に応じた管理技術の提案、の各項目を達成目標に掲げ実施するものである。29 年度は、上記①の達成目標に関わる調査・研究として、ふん便汚染の基本的な指標である大腸菌について、下水試料に適した測定法の提案を行うため、複数の特定酵素基質培地を利用した検出定量等に関し比較評価を行った。また、消毒耐性病原微生物に対応した代替指標の提案に関しては、比較的測定が容易かつ下水中に存在、消毒耐性を有すると考えられる F 特異性 RNA Phage GI ～GIV (FRNAPH GI ～GIV)を対象に、活性汚泥処理水の連続モニタリングを実施することで、代替指標としての利用可能性について検証した。

その結果、大腸菌の検出濃度が 10 CFU(MPN)/mL 以下と低濃度となることで変動係数(CV)が上昇傾向を示し、試料中の大腸菌濃度の違いにより培地間で定量値に差異が生じることや、変動係数に影響を及ぼすことが明らかとなった。放流水などの低濃度試料に対する改善策としては、検水量を増加させることで変動係数を低下させられ安定した定量値が得られるものと考えられた。典型的なコロニーの大腸菌の陽性率は 90～100%であり、培地が異なることで擬陽性の割合に若干の違いが生じた。FRNAPH GI は活性汚泥処理による残存割合の観点から、FRNAPHGII では活性汚泥処理によるノロウイルス(Norovirus:NoV)の除去率と相関があり、NoV の代替指標としての利用可能性が示唆された。

キーワード：大腸菌、F 特異性 RNA Phage、ノロウイルス、病原微生物

1. はじめに

グローバル化にともなう多様な感染症を含め水系感染症拡大防止に貢献できる下水道システムの構築は、社会的優先度の極めて高い課題として、評価、対策技術を早急に確立する必要がある。従来、大腸菌、一部のウイルスを指標として衛生的評価を行ってきたが、多種多様な病原微生物の出現により、検出・対策技術の評価が困難となることが予想される。分子生物学的手法の発展により、社会活動に重大な影響を及ぼす病原微生物の知見が集積されつつあり、新興感染症の病原微生物として一部のウイルスや、再興感染症として多剤耐性菌などが大きな社会問題^{1) 2)} となっているが、対策手法構築のために必要な除去・消毒感受性の体系化された研究・調査は進んでいない。公共用水域の水質管理のためには、その水質に大きな影響を及ぼす下水処理場にて、多様化する重大な感染症要因である消毒耐性病原微生物への効率的な対応を図る必要がある、包括的な観点に基づく評価手法を

構築した上で、対策手法を提案することが必要である。

本研究では、上記を踏まえ、様々なリスク要因に対応した包括的な観点に基づく評価手法の構築と、放流先水利用や異常時・災害時に対応した水処理・消毒技術の開発を目的とするものである。

29 年度は、達成目標である消毒耐性を有する病原微生物に対応した代替指標の提案に関わる調査・研究として、下水試料に適した大腸菌の測定法の評価をはじめ、FRNAPH GI ～GIV を対象に、活性汚泥処理水の連続モニタリングを実施することで、代替指標としての利用可能性について検証した。

2. 研究目的および方法

2.1 消毒耐性を有する病原微生物に対応した代替指標の提案

2.1.1 衛生的な基本指標である大腸菌の測定法の評価

特定酵素基質培地を利用することで大腸菌の検出定量

が容易となった。ふん便汚染指標として大腸菌指標が優れていることもあり、環境基準項目の1つである大腸菌群が大腸菌への変更について検討中であることから、下水処理場における放流水質の技術上の基準項目である大腸菌群に関しても検討が必要である。大腸菌数の見直しにあたっては、定量評価を行うための測定法を考慮しなければならないが、複数の特定酵素基質培地が市販され培地組成が製造元により若干異なることなど、下水試料への適用にあたっては比較検討を行う必要があると考えられる。

本項では、下水試料に適した大腸菌の測定法を考慮するために必要となるデータの取得を目的に、複数の特定酵素基質培地を利用した定量評価などに関し比較を行った。

1) 特定酵素基質培地と評価対象試料

評価対象とした特定酵素基質培地は、国内、海外メーカーから市販されている培地A~Gの7種類とした。A~F培地には寒天が含まれていることから混濁法とフィルター法にて、培地Gでは測定試料と試薬混合による発色状況の陽性数を基にしたMPN表から求める最確数法で各々定量を行った。培養温度・時間については各培地の取り扱い説明書に従った。

評価対象試料は活性汚泥法の二次処理水、二次処理水を次亜塩素酸ナトリウムで塩素消毒し、チオ硫酸ナトリウムで中和を行った試料の、計2試料とした。各培地による大腸菌の定量は、同一試料について同時測定、同一人物による操作とした。

2) 検出コロニーの同定

各培地に形成される典型的なコロニーは、基本的に大腸菌と推定されるが、疑陽性を示すことも考えられる。また、培地の違いによりコロニーなどの発色状況が異なるが、選定の判断に迷うこともある。このため、各培地によって形成された典型的なコロニーを対象に、菌種の簡易同定を行った。試料には二次処理水を用い同定における釣菌操作では、各培地による混濁法によって得られた典型コロニーを白金耳にて釣菌し、簡易同定はIDテストEB-20（日水製薬社製）を利用した。

2.1.2 代替指標としてのF特異性RNA Phageの評価

多様な病原微生物が検出される中で、各々の微生物に特化した検出対応は費用や労力の面から困難であるため、消毒耐性、存在実態、定量性（PCR法、培養法）観点から、代表的な指標を選定し評価することができれば、病原微生物の効率的な管理に資することができると考えられる。上記の観点を踏まえた代替指標の1つとしては、

大腸菌ファージの存在が挙げられる。腸管系ウイルスの代替指標としての有用性について下水中での存在実態、消毒耐性の評価例³⁾、細菌、腸管系ウイルスとの塩素消毒に対する耐性比較などに関する報告^{4) 5) 6) 7)}があり、また、ウイルス不活化手法の評価⁸⁾や下水再利用プロセスにおけるモデルウイルスとしての利用例⁹⁾がある。FRNAPHはGIからGIVの遺伝子群に分けられ、それぞれの遺伝子群は環境水中や凝集や膜処理などの水処理において耐性が異なるとの報告がなされている^{10) 11) 12)}。

本項では、大きさ（直径約20~40 nm）や構造（正二十面体）がNoVなどのヒト病原ウイルスと類似しているFRNAPH GI~GIVを対象として、活性汚泥処理による除去率を調査し、NoVとの関連性を評価することでNoVの代替指標としての利用可能性を検討した。

調査は、I下水処理場内に設置されている標準活性汚泥処理装置の流入水および処理水を平成29年5月から翌年の4月の間に17回採水した。流入水と処理水中のFRNAPHとNoVを定量し、活性汚泥処理による除去率を算出した。FRNAPH遺伝子群（GI~GIV）とNoV GI, GIIは、リアルタイムRT-qPCR法（PCR）により定量した。定量ではポリエチレングリコール沈殿法によりサンプルを濃縮した。濃縮液からの核酸抽出は、QIAamp Viral RNA Mini QIAcube Kit（QIAGEN）およびQIAcube（QIAGEN）にて抽出した。なお、ウイルス濃縮液をRNA抽出カラムに通水し遺伝子を捕捉させる際、検出感度にバラツキが生じないように抽出カラム1本あたりのSS負荷量が0.05 mg-SS以下となるようにウイルス濃縮液の通水量を調整した¹³⁾。抽出したRNAは、High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit（Thermo Fisher Scientific）を用いてRT反応を行い、cDNAを得た。この合成したcDNAをTaqMan[®]プローブを用いたPCRにより定量した。TaqMan[®]Gene Expression Master Mix（Thermo Fisher Scientific）を用いて、QuantStudio[™] 12K Flex Real-Time PCR System（Thermo Fisher Scientific）により検出した。FRNAPH遺伝子群とNoVのプライマー、TaqManプローブの配列およびアニーリング温度はWolfら¹⁴⁾のとKageyamaら¹⁵⁾報告をそれぞれ参考にした。PCRにおける検出下限値は約1000 copies/L（約3 log[copies/L]）程度となる。さらに、RNA抽出効率およびRT-qPCR阻害の影響を把握する目的でRNA抽出に用いる濃縮後のサンプルにマウスノロウイルス（MNV）高濃度液を添加して回収率を評価した⁷⁾。なお、da Silvaら¹⁶⁾は、回収率が10%を下回った場合は検出阻害が生じたと判断し、1%を下回った場合は深刻な検出阻害が生じたと判断すると報告している。本調査で

は全てのサンプルの回収率が10%を上回っており大きな検出阻害は見られなかったため、ここではPCRによる定量値において回収率による補正は行っていない。

3. 研究結果および考察

3.1 消毒耐性を有する病原微生物に対応した代替指標の提案

3.1.1 衛生学的な基本指標である大腸菌の測定法の評価

1) 特定酵素基質培地

特定酵素基質培地による定量結果を図-1 に示す。活性汚泥法の二次処理水を対象に、採水日を変えて 18 回の採水、定量 (n = 3/試料) を行った。この時の定量範囲は約 20~270 CFU/mL であった。A 培地の混積法による定量値を基準として、各培地、手法での 18 回の定量値から各々の検出濃度比を求めその平均値を整理したものである。培地 A~C では、混積法に比較してフィルター法での検出濃度比が若干低いが、培地 D~F では若干高い傾向が見られた。検出濃度比は A 培地の混積法の定量値を基準にすると、培地間、手法間による違いは 0.95~1.1 倍程度であり、大きな差異は無いものと考えられた。この時の変動係数 (CV) の推移について図-2~4 に示す。混積法の 1 部の培地で若干高い値が見られたが、各培地の混積法、

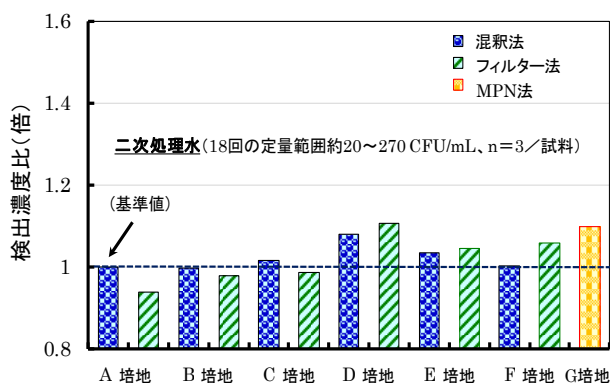


図-1 各培地・手法による大腸菌の検出濃度比

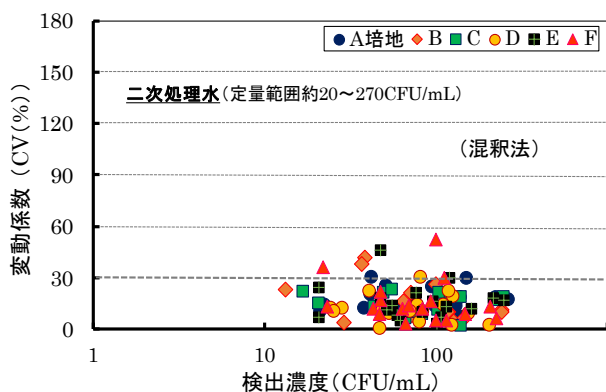


図-2 各培地による検出濃度と変動係数の関係

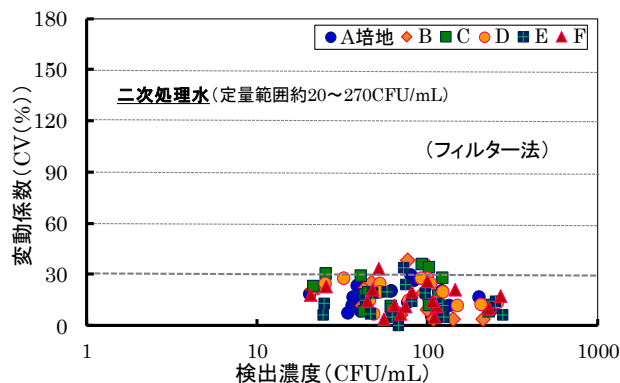


図-3 各培地による検出濃度と変動係数の関係

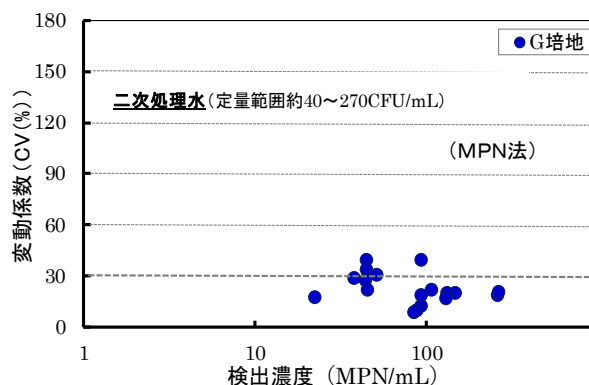


図-4 検出濃度と変動係数の関係

フィルター法、MPN 法ともに概ね 30%以内で変動係数が推移しており、検出濃度比とともに培地間、手法の違いによる大きな差異は認められなかった。

一方、放流水を想定し二次処理水を塩素消毒した試料を対象とした大腸菌の定量結果を図-5 に示す。採水日を変え 16~17 回の採水、定量 (n = 3/試料) を行った。この時の定量範囲は約 1~30 CFU/mL であった。A 培地の混積法による定量値を基準として、各培地、手法での定量値から検出濃度比を求めその平均値を整理した。A 培地の混積法の定量値を基準にすると 0.87~1.5 倍の範囲内となり、検出濃度が低くなることで培地間の検出濃度比に大きな違いが生じた。特に、G 培地の検出濃度比が大きく上昇、また、E、F 培地において混積法とフィルター法で手法が異なることで検出濃度比に違いが見られた。この時の CV の推移について図-6~8 に示す。混積法、フィルター法、MPN 法ともに大腸菌の検出濃度が 10 CFU (MPN) /mL 以下と低濃度となることで CV が上昇傾向を示しており、試料中の大腸菌濃度の違いにより培地間で定量値に差異が生じることや、変動係数に影響を及ぼすことが明らかとなった。水質基準項目に関わる測定精度において、変動係数は 10~20%とされているが、一般細菌、従属栄養、大腸菌などに関しては特に変動係数の

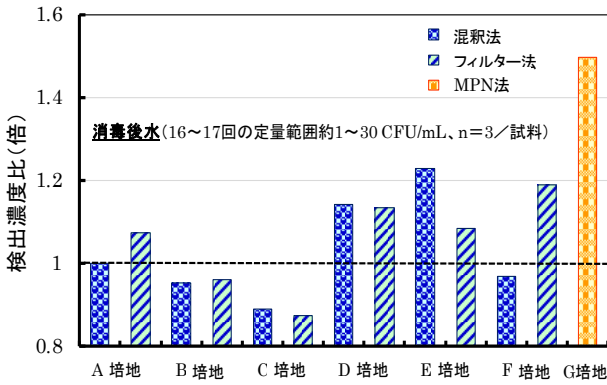


図-5 各培地・手法による大腸菌の検出濃度比

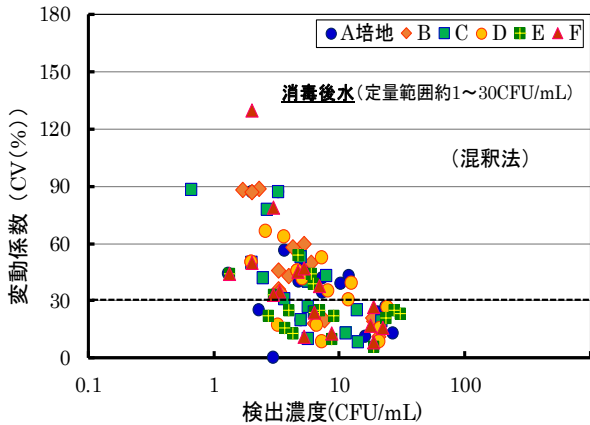


図-6 各培地による検出濃度と変動係数の関係

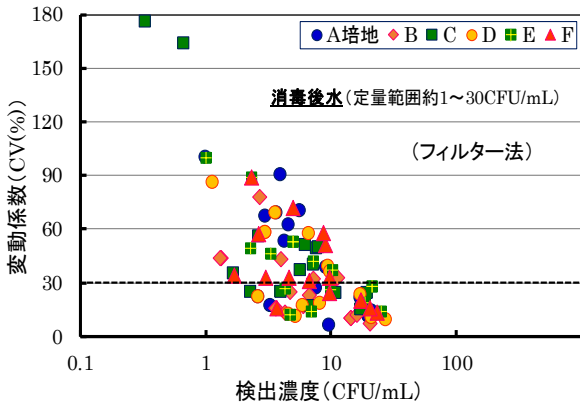


図-7 各培地による検出濃度と変動係数の関係

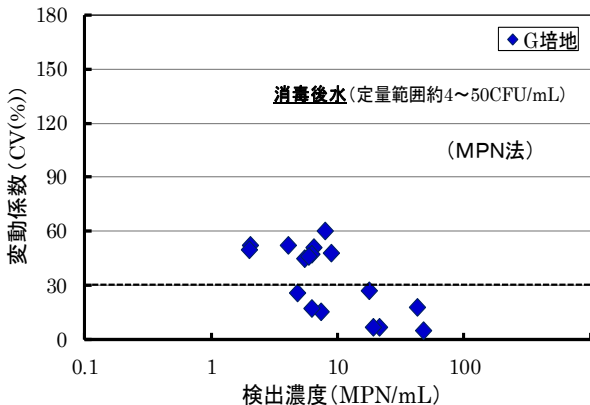


図-8 検出濃度と変動係数の関係

目安は示されていないものの、特に 10 CFU/mL 以下の試料では、CV が大幅に上昇することが明らかとなったため、安定した定量値を得るための改善策を考慮する必要があるものと考えられた。

このため、低濃度試料に対する具体的な改善策として、検水量を増加させ定量値の評価を行った。各培地・手法による評価結果を図-9~11 に示す。検水量を 1 mL から 2 mL あるいは 3 mL、MPN 法では 1 mL から 10 mL に増加させることで、全体的に CV は低下傾向を示すことが明らかとなった。この結果を基に、低濃度試料を対象に検水量を増加させた各培地・手法による比較結果を図-12 に示す。各培地間・手法の検出濃度比は 0.81~1.1 倍程度に改善され、安定した定量値が得られると考えられた。

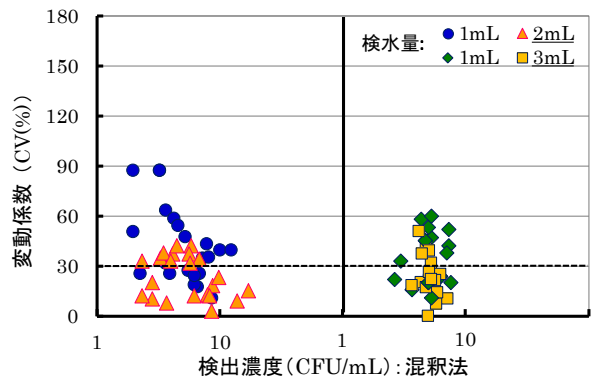


図-9 検水量の違いがCVへ及ぼす影響

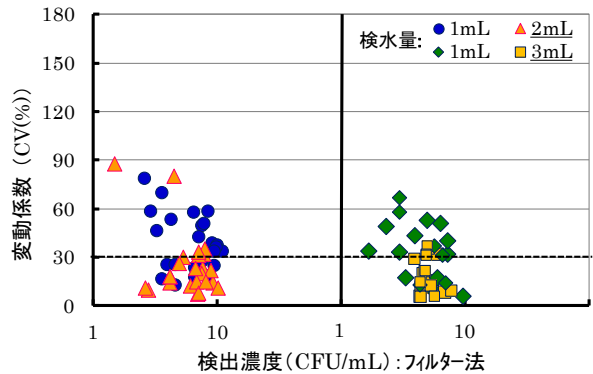


図-10 検水量の違いがCVへ及ぼす影響

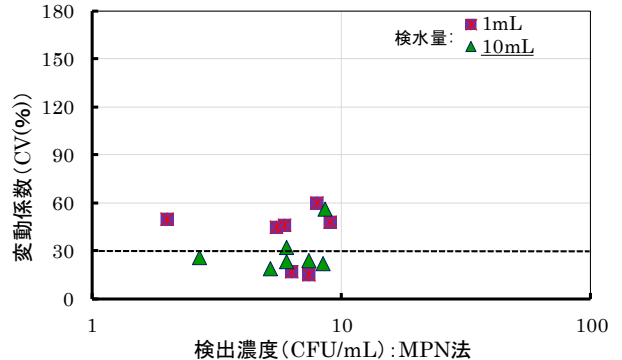


図-11 検水量の違いによる検出濃度とCVの関係

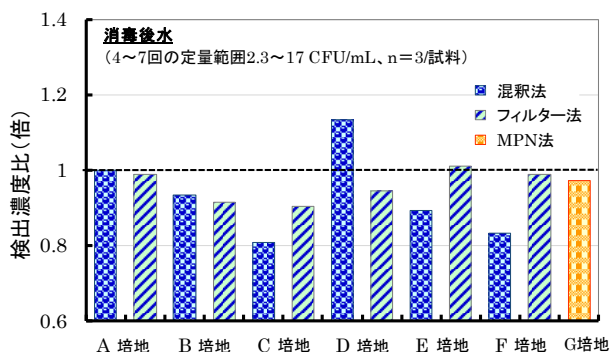


図-12 各培地・手法による検出濃度比 (CVが30%程度までのデータにおいて整理)

2) 検出コロニーの同定

各培地による検出コロニーの同定結果を表-1 に示す。各培地から得られた 20 のコロニーを対象とし、釣菌にあたっては他の大腸菌等のコロニーと重なりが無い独立したコロニーを選定した。なお、培地 G に関しては液体培地であるためコロニーを釣菌できないことから評価対象外とした。培地 A~F における典型コロニーの大腸菌 (*E.coli*) の陽性率は 90~100%であり、培地 F では典型コロニーの 10%が疑陽性を示した。各培地で疑陽性を示したコロニーの大部分は腸内細菌科に分類されている種であり、大腸菌を含めた腸内細菌の陽性率としては 95~100%であった。特定酵素基質培地を利用しても、腸内細菌の一部が疑陽性を示すとされているが¹⁷⁾、培地が異なることで疑陽性の割合に若干の違いが生じる可能性が示唆された。

表-1 各培地における検出コロニーの同定結果

培地	同定数	同定結果	<i>E.coli</i> 陽性率 (%)	腸内細菌陽性率 (%)
A	20	<i>E.coli</i> (19)、 <i>E.coli</i> ・ <i>K.ascorbata</i> 混合(1)	100	100
B	20	<i>E.coli</i> (18)、 <i>E.coli</i> ・ <i>E.hermannii</i> ・ <i>E.fergusonii</i> 混合(1)、 <i>Kryocrescens</i> (1)	95	100
C	20	<i>E.coli</i> (17)、 <i>E.coli</i> ・ <i>C.amalonicus</i> 混合(1)、 <i>E.coli</i> ・ <i>C.amalonicus</i> ・ <i>Y.frederiksenii</i> 混合(1)、不明(1)	95	95
D	20	<i>E.coli</i> (20)	100	100
E	20	<i>E.coli</i> (16)、 <i>E.coli</i> ・ <i>S.flexneri</i> 混合(1)、 <i>E.coli</i> ・ <i>S.dysenteriae</i> 混合(1)、 <i>E.coli</i> ・ <i>C.amalonicus</i> ・ <i>Y.frederiksenii</i> 混合(1)、 <i>E.hermannii</i> (1)	95	100
F	20	<i>E.coli</i> (17)、 <i>E.coli</i> ・ <i>C.amalonicus</i> ・ <i>Y.frederiksenii</i> 混合(1)、 <i>C.freundii</i> (1)、不明(1)	90	95

()内は同定株数、*E.coli*との混合同定分については、*E.coli*として評価

3.1.2 代替指標としての F 特異性 RNA Phage の評価

活性汚泥処理による FRNAPH 遺伝子群 (GI~GIV) と NoV GI, GII の除去率推移の調査結果を図-13 に示す。FRNAPH 遺伝子群の中では GIII の除去率が最も高い傾向を示し、GIV、GII、GI の順であり、GI が活性汚泥処理による残存割合が最も高かった。NoV GI と GII に関しては同程度の除去率で推移していた。全体の除去率が

ら検出下限以下の値を除外して平均値を求めたところ、FRNAPH 遺伝子群の平均除去率は、GI は 1.4 log、GII は 1.6 log、GIII は 2.5 log、GIV は 2.1 log であり、NoV GI と GII はそれぞれ 1.4 log と 1.6 log であった。FRNAPH GI は活性汚泥処理による残存割合が最も高かったため、除去率の評価の観点から FRNAPH GI を代替指標とすることで、より安全側の評価が行える可能性が示唆された。

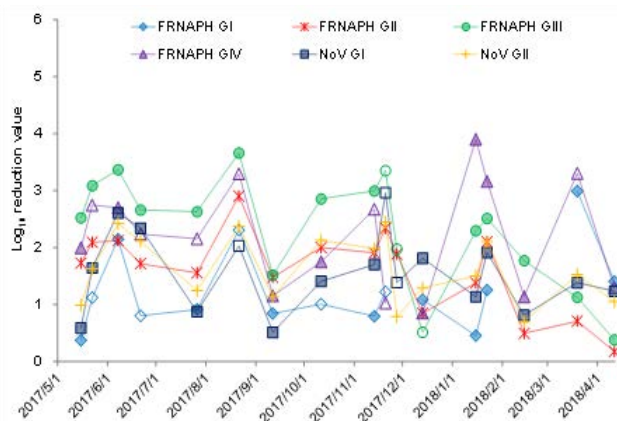


図-13 活性汚泥処理による FRNAPH と NoV の除去率の推移

さらに、FRNAPH 遺伝子群 (GI~GIV) と NoV GI, GII の除去率推移について整理した結果、FRNAPH GII, GIII と NoV GII の除去率の間に相関が見られた (図-14、15)。FRNAPH 遺伝子群の GI と GIV は主に動物の糞便由来であり、GII と GIII は人の糞便由来であることが報告されている¹⁸⁾。そのため、FRNAPH の GII, GIII は、人糞便由来である NoV と下水処理における除去機構が類似していると考えられる。

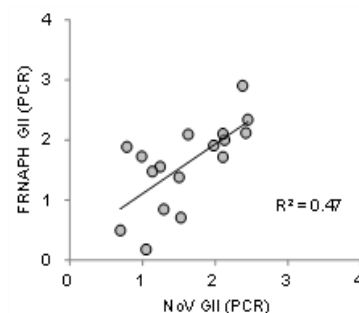


図-14 NoV GII と FRNAPH GII の除去率

特に、FRNAPH GII は NoV と平均除去率において上述のとおり有意な差がないことから、下水処理において NoV の代替指標としての利用可能性が示唆された。

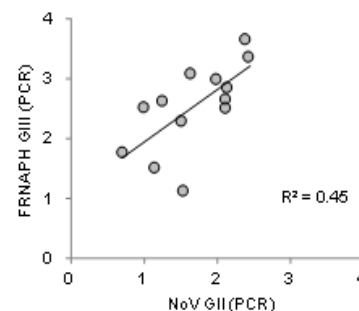


図-15 NoV GII と FRNAPH GIII の除去率

下水処理における代替指標として、安全側の評価の観点から FRNAPH GI が、NoV との関連性からは FRNAPH GII が利用できる可能性が示された。今後は、これらの FRNAPH の消毒処理での不活化効果を含めて代替指標としての利用可能性を評価する。

4. まとめ

本研究は、様々なリスク要因に対応した包括的な観点に基づく評価手法の構築と、放流先水利利用や異常時・災害時に対応した水処理・消毒技術の開発を目的とするものである。29年度は、達成目標である消毒耐性を有する病原微生物に対応した代替指標の提案に関わる調査・研究として、下水試料に適した大腸菌の測定法の評価をはじめ、FRNAPH GI~GIV を対象に、活性汚泥処理水の連続モニタリングを実施することで、代替指標としての利用可能性について検証した。以下に得られた結果を示す。

「消毒耐性を有する病原微生物に対応した代替指標の提案」

- 1) 試料中の大腸菌濃度の違いにより培地間で定量値に差異が生じることや、変動係数に影響を及ぼすことが明らかとなった。
- 2) 低濃度試料に対しては、検水量を増加させることで変動係数を低下させられ安定した定量値が得られるものと考えられた。
- 3) 典型的なコロニーの大腸菌の陽性率は 90~100%であり、培地が異なることで擬陽性の割合に若干の違いが生じた。
- 4) FRNAPH GI は活性汚泥処理による残存割合が最も高かったため、除去率の評価の観点から FRNAPH GI を代替指標とすることで、より安全側の評価が行える可能性が示唆された。
- 5) FRNAPH GII は NoV の活性汚泥処理における除去率と相関があり、平均除去率においても有意な差がなかったことから、NoV の代替指標としての利用可能性が示唆された。

参考文献

- 1) G7 伊勢志摩首脳宣言、平成 28 年 5 月 27 日。
- 2) ANTIBIOTIC RESISTANCE THREATS in the United States, 2013: <http://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013/>
- 3) 下水処理水の滅菌及び消毒に関する研究報告書 (1990)、土木研究所資料第 2859 号。
- 4) Sobsey M.D. (1989): Inactivation of Health-Related Microorganisms in Water by Disinfection Processes, *Wat. Sci. Tech.*, 21(3), 179-195.

- 5) M.C. Snead, V.P. Olivieri, K. Kawata, and C.W. Kruse (1980) The Effectiveness of Chlorine Residuals in Inactivation of Bacteria and Viruses Introduced by Post-Treatment Contamination, *Wat. Sci. Tech.*, 14, 179-195.
- 6) J.A. Tree, M.R. Adams, and D.N. Less (1997) Virus Inactivation During Disinfection of Wastewater by Chlorination and UV Irradiation and the Efficacy of F+ Bacteriophage as a Viral Indicator, *Wat. Sci. Tech.*, 35(11-12), 227-232.
- 7) S.R. Rippey and W.D. Watkins (1992) Comparative Rates of Disinfection of Microbial Indicator Organisms in Chlorinated Sewage Effluents, *Wat. Sci. Tech.*, 26 (9-11), 2185-2189.
- 8) ウイルス不活化手法の大腸菌ファージによる評価(1993)、土木学会衛生工学委員会編、環境微生物工学研究法。
- 9) 「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」に関する研究調査報告書 (2016)、土木研究所資料第 4313 号。
- 10) Hata, A. et al (2016): “Quantitative distribution of infectious F-specific RNA phage genotypes in surface waters”, *Appl. Environ. Microbiol.*, 82, pp. 4244-4252.
- 11) Lee, S. et al (2018): “Evaluation of virus reduction at a large-scale wastewater reclamation plant by detection of indigenous F-specific RNA bacteriophage genotypes”, *Environ. Technol.*, in press.
- 12) Boudaud, et al (2012): “Removal of MS2, Q β and GA bacteriophages during drinking water treatment at pilot scale”, *Water Research*, 46, pp. 2651-2664.
- 13) 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.
- 14) Wolf, S. et al (2008): “Detection and characterization of F+ RNA bacteriophages in water and shellfish: Application of a multiplex real-time reverse transcription PCR”, *J. Virol. Methods*, 149, pp. 123-128.
- 15) Kageyama, T. et al (2003): “Broadly Reactive and Highly Sensitive Assay for Norwalk-Like Viruses Based on Real-Time Quantitative Reverse Transcription-PCR”, *J. Clin. Microbiol.*, 41(4), pp. 1548-1557.
- 16) da Silva, A. K. et al (2007): “Evaluation of removal of noroviruses during wastewater treatment, using real-time reverse transcription-PCR: Different behaviors of genogroups I and II”, *Appl. Environ. Microbiol.*, 73, pp. 7891-7897.

- 17) 下水試験方法下巻、(公社) 日本下水道協会、2012 年版、pp252-253. 69 (11), pp. 6507-6514.
- 18) Cole, D. et al (2003): "Evaluation of F + RNA and DNA Coliphages as Source-Specific Indicators of Fecal Contamination in Surface Waters", *Appl. Environ. Microbiol.*,

13.1.3 底層環境に着目した停滞性水域における水環境管理技術に関する研究（簡易的な藻類定性定量方法の開発）

担当チーム：水環境研究グループ（水質）

研究担当者：小川文章、對馬育夫

【要旨】

本研究では、湖沼・ダム貯水池の水質改善に向け、並列型高速塩基配列決定装置（次世代シーケンサー）を用いた 16S rRNA 遺伝子および 18S rRNA 遺伝子配列に基づく微生物モニタリングの開発に取り組んだ。細菌叢解析においては、ダム貯水池毎に特徴的な細菌叢構成になっていることが明確となり、地理的要因より水温等の影響を受け変化することが示唆された。また、アオコやカビ臭等の水質問題が生じていないダム貯水池では、検出される細菌の種類が少ないことが示唆された。植物プランクトンに関して、いくつかの真核生物種が同定された。キーワード：湖沼・ダム貯水池、次世代シーケンサー、細菌、植物プランクトン

1. はじめに

環境負荷増大による湖沼やダム貯水池の水質の悪化が長らく問題となっている。生物多様性国家戦略に基づいて、河川・湖沼などにおける水質の改善について「豊かな生態系の確保」の視点から調査が実施されているが、湖沼における環境基準達成率は約 50%と低い水準で推移している。現在まで、流域における流入負荷の削減の取り組みや湖沼底泥の浚渫等様々な取り組みが行われているが、依然としてアオコ・カビ臭発生等の問題は解決されていない。本研究では、プログラム達成目標の一つである「流域の水環境を的確・迅速に把握するための影響評価、モニタリング手法の開発」達成のため、湖沼・ダム貯水池などの停滞性水域を主な対象とし、底層の生態系保全や底泥からの溶出物質による水質汚濁の抑制を中心に対策手法の構築を目指す。

現在、気候変動に伴い、藻類の異常増殖の発生頻度の増加が懸念されている。湖沼水質を把握する上で、藻類等の植物プランクトンを同定・定量化することは非常に重要である。藻類の中にはカビ臭物質や毒性物質を生産するものもあり、水の安全性確保の観点からも湖沼・ダム貯水池における藻類のモニタリングは非常に重要である。従来、藻類モニタリングは、光学顕微鏡を使用した検鏡による同定が行われているが、同定には熟練した技術が必要で、対応できる技術者も限られており、形態により判断しているため、形態が非常に似通った植物プランクトンは判断が困難である場合がある。さらに、厳しい財政状況や省力化の観点

からも、効率的なモニタリング手法の構築が急務となっている。したがって、本研究は DNA 塩基配列に基づく藻類モニタリング解析手法の確立を目指し、ダム貯水池水質の維持管理に有効な手法の開発に取り組んでいる。H29 年度は、ダム貯水池から深度別にサンプリングした水試料を用い、次世代シーケンサーを用いた 16S rRNA 遺伝子配列に基づき微生物分類を行い、分析方法の確認を行った。

1.2 ダム貯水池におけるカビ臭、アオコの現状

現在、国内のダム貯水池では地域に寄らず半数以上のダム貯水池でカビ臭等による異臭味障害やアオコ等による景観障害が起こっている。また、曝気装置等の水質保全施設を有しているダム貯水池においても、これらの障害が引き続き生じている箇所が少なからず存在する。

ダム貯水池において、カビ臭を引き起こす原因は、主に、①ラン藻の湖水中での増殖、②ラン藻の底泥での増殖、③放線菌の底泥での増殖/死滅があると考えられる。①では、*Anabaena* 属、*Aphanizomenon* 属が主に Geosmin を産生し、*Oscillatoria* 属や *Phormidium* 属が主に 2-MIB を産生する。②では、*Oscillatoria* 属や *Phormidium* 属が主に 2-MIB を産生する。大型の付着性ラン藻である *Phormidium Tergestinum* 等は 2-MIB を産生するとしてよく知られている。③では、放線菌の代謝により 2-MIB や Geosmin を産生する。両物質を放出する種もいれば、いずれかしか放出しない種もあり、環境因子により、産生する成分や量が異なるという報

告がある¹⁾。また、嫌気条件下では死滅し、菌体内のカビ臭物質を放出する。これら以外にも、カビそのものが増殖し、カビ臭原因物質を産生していることも考えられる。

アオコに関しては、アオコを構成する種は *Bacteria* に分類されるラン藻とその他の真核生物に分類される植物プランクトンに大別される。ラン藻では *Mycrocystis* 属、*Anabaena* 属、*Aphanizomenon* 属、*Oscillatoria* 属、*Planktothrix* 属等が原因で、植物プランクトンでは、珪藻である *Synedra* 属、*Asterionella* 属、*Cyclotella* 属、*Melosira* 属、緑藻である *Closterium* 属、*Pediastrum* 属、*Scenedesmus* 属、*Botryococcus* 属、ユーグレナ藻である *Trachelomonas* 属、*Euglena* 属、渦鞭毛藻である *Peridinium* 属、*Gymnodinium* 属、黄緑色藻である *Uroglena* 属が原因で引き起こされる。

2. 実験方法

本研究では、北海道にある4箇所のダム貯水池（Aダム、Bダム、Cダム、Dダムと表記）を対象に、次世代シーケンサー（Miseq, Illumina）を用いた16S rRNA 遺伝子配列に基づく微生物分類を行った。湖水を採取した日を表1に示す。採水はダムサイト、湖心、上流で行い、表層、中層、底層の3箇所から採取した。ダム湖水300 mLを遠心分離で50 mLにまで濃縮し、懸濁したものから Extrap Soil DNA Kit Plus ver.2(日鉄住金環境)を用いてDNAを抽出した。抽出したDNAを鋳型として真正細菌の16S rRNA 遺伝子領域を標的としたプライマー(S-D-Bact-0341-b-S-17およびS-D-Bact-0785-a-A-21)にオーバーハンガアダプター配列を付加したものを用い、PCR増幅を行った。PCR反応条件は初期変性を94°Cで30秒行った後、乖離温度を94°Cで5秒、アニーリング温度を58°Cから48°Cで1°Cずつタッチダウンで30秒、伸長温度を72°Cで30秒のサイクルを10+30サイクル行った。PCR増幅産物はAMPure XP kit(Beckman Coulter Genomics)を用いて精製した。DNAシーケンシングにはMiseq reagent Kit v3(600サイクル、Illumina)を用い、塩基配列を決定した。解析で得た各リードの塩基配列のキメラチェックはUSEARCHを用い、Operational Taxonomic Unit(OTU)-pickingおよびクラスター解析はQIIMEを用い、97%以上の相同性を持つ配列をOTUとした。各OTUの同定にはGreengenesデータベースver.13_8をリファレンスとした。また、植物プランクトンの検出には、18S rRNA 遺伝子領域を標的としたプライマーTAReuk454FWD1およびTAReukREV3を用い、16S

表1 湖水採水日と採水水深（-はサンプルなし）

	Aダム	Bダム	Cダム	Dダム
4月	-	-	-	2017/4/24
5月	2017/5/8 2017/5/24	2017/5/19	2017/5/29	2017/5/24
6月	2017/6/14	2017/6/20	2017/6/29	2017/6/7
7月	2017/7/10	2017/7/25	2017/7/24	2017/7/12
8月	2017/8/9	2017/8/15	2017/8/30	2017/8/9
9月	2017/9/11	2017/9/26	2017/9/14	2017/9/27
10月	2017/10/11	2017/10/10	2017/10/17	2017/10/11
11月	2017/11/14	2017/11/13	2017/11/14	2017/11/9
12月	2017/12/1	-	-	-
1月	2018/1/17	2018/1/17	2018/1/16	-
2月	-	-	-	2018/2/1
採水層	0.5	0.5	0.5	0.5
中層	12.7 - 23.7	3.8 - 7.5	30.7 - 42.2	10.5 - 12.8
底層	24.3 - 46.3	6.5 - 14.0	60.3 - 83.3	19.9 - 24.5
流域面積 (km ²)	239	113	104	1,662
総貯水量 (10 ⁶ ・m ³)	93	15.3	82.3	108

rRNA 遺伝子同様の方法で、ライブラリ調整を行った。

3. 結果と考察

標的とする16S rRNA 遺伝子 V3-V4 領域について、各サンプルにつき10万~30万リードの塩基配列を明らかにした。環境における種の多様性を示す α 多様性解析の結果、各ダムサンプルから検出されたOTUの合計は、BダムおよびDダムにおいて、他のダム貯水池より多く、細菌種の多様性が高いことが示された(図1上)。AダムとCダムは、比較的水質が良好なダム貯水池で特に異臭味やアオコ発生等の水質変化現象等は報告されていない。細菌種の多さも水質変化現象の兆候を捉える上で重要な因子となることが示唆された。サンプリング採取月で α 多様性を比較した場合(採取日は表1を参照)、水温が上昇する4月から月で増加し、その後、徐々に低下し、融雪水が流入し、水温が最も下がる冬季から春季にかけて、細菌種の多様性が最も低くなった(図1中)ただ、この傾向はダム貯水池毎に若干異なり、Bダムでは、5月から夏季、秋季にかけて増加していき、1月から2月の冬季でも高い多様性を保ったままであった。一方、Cダムは、年間を通じて一定で推移していた。深度別で比較した結果(採取水深は表1を参照)、表層より底層・中層で、多様性が高い結果となった。恐らく、底泥から溶出する栄養塩や微量元素を利用し増殖する細菌が存在していると思われる(図1下)。

サンプル間における細菌群集構造を比較するため行った β 多様性解析の結果について、門レベルおよび属レベルの分類結果を図2に示す。門レベルの分類で

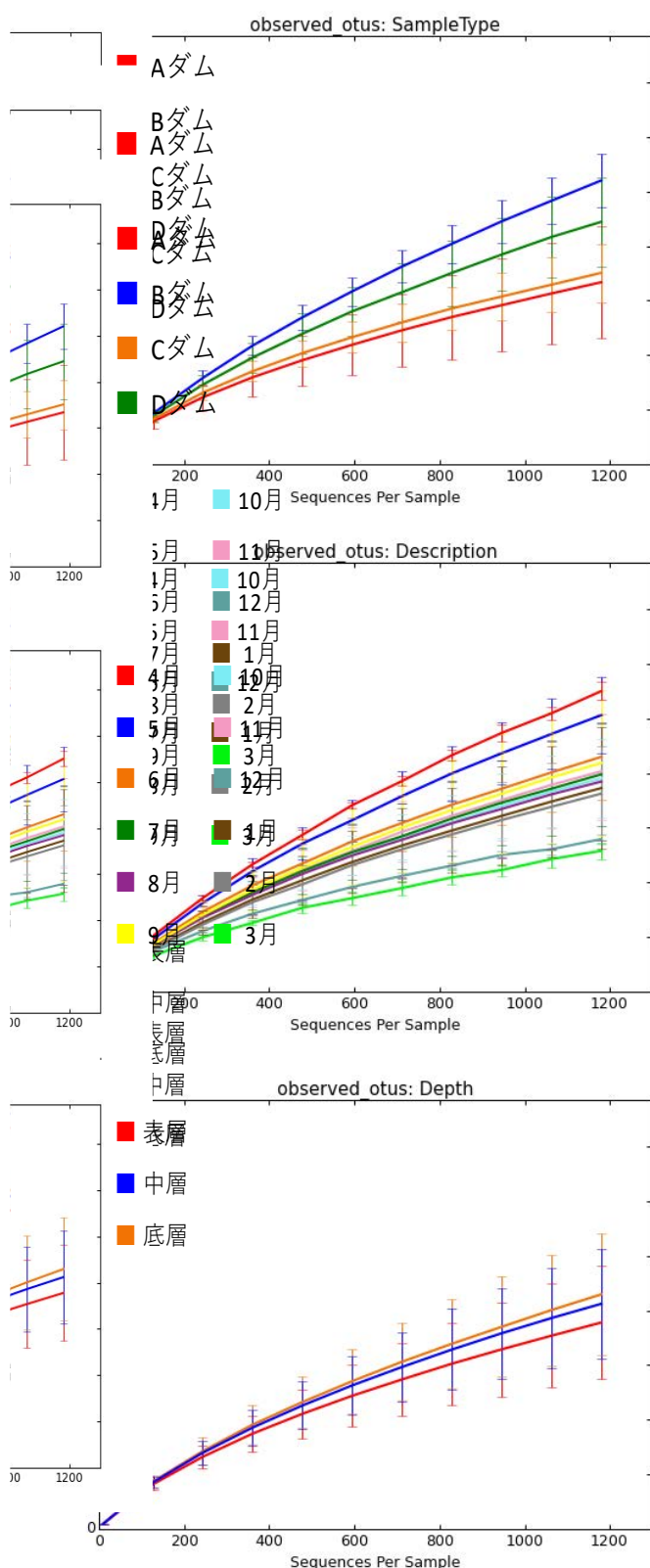


図1 α 多様性解析の結果（上：ダム別比較、中：月別比較、下：深度別比較）

は、どのダム貯水池からも Proteobacteria 門が最も多く検出された (40.5%±8.5)。Proteobacteria の中には、Betaproteobacteria 綱がほとんどのサンプルで優占し (21.0%±6.3)、次いで、Alphaproteobacteria 綱が多く検出されていた (12.0%±4.1) が、サンプルによっては、Betaproteobacteria より Alphaproteobacteria がより多く検出される場合もあった (例えば、Cダム表層部 9月-11月、中層部 2月、5月等)。また、どのダム貯水池においても、11月以降は、Gammaproteobacteria の検出割合が増加する傾向が見られ、特に、Bダムでは、Gammaproteobacteria が20%近く検出された。その中で、鉄酸化細菌として知られる *Crenothrix* 属が主に検出された。Proteobacteria 以外では、Aダム、Cダムでは、Actinobacteria 門が多く検出され、中には30%を超える月があった。Actinomycetales 目は通常、放線菌として知られているが、Actinomycetales は42科約200属で構成されており、様々な種が存在している。Aダム、Cダムで多く検出された Actinomycetales 目 ACK-M1 属や Acidimicrobiales 目 C111 属の細菌は、機能は未知で、これらの細菌がカビ臭を産生するかは不明である。AダムおよびCダムは、これまでにカビ臭等の異臭味問題が生じたことはないが、一部、下流河川内の滞留域でカビ臭が発生する等の事例もあり、これらの細菌がその要因になっている可能性もある。一方、Bダムでは、Bacteroidetes 門や Verrucomicrobia 門、Dダムでは、Cyanobacteria 門が多く検出されていたことが特徴的であった。また、Dダムにおいて多く検出された Cyanobacteria に含まれていた細菌は *Synechococcus* 属が主で、その他のアオコの原因となる藍藻類は検出されなかった。またDダムからは、植物プランクトン由来の葉緑体 DNA が多数検出された。

各サンプルについて、属レベルの菌叢構成データを用い UniFrac distance を計算し、主座標分析を行った結果を図4に示す。各サンプルの菌叢構成の類似度は各プロット間のユークリッド距離で示される。この結果、各ダムの菌叢は、それぞれまとまった群を構成し、一定の傾向を示しながら、推移した。すなわち、各ダムの菌叢は、地理的要因および水温の影響等の季節的要因を受け変化していくことが示唆された。

一方、18S rRNA 遺伝子 V4-V5 領域を標的とした菌叢解析の結果の一例を図5に示す。動植物プ

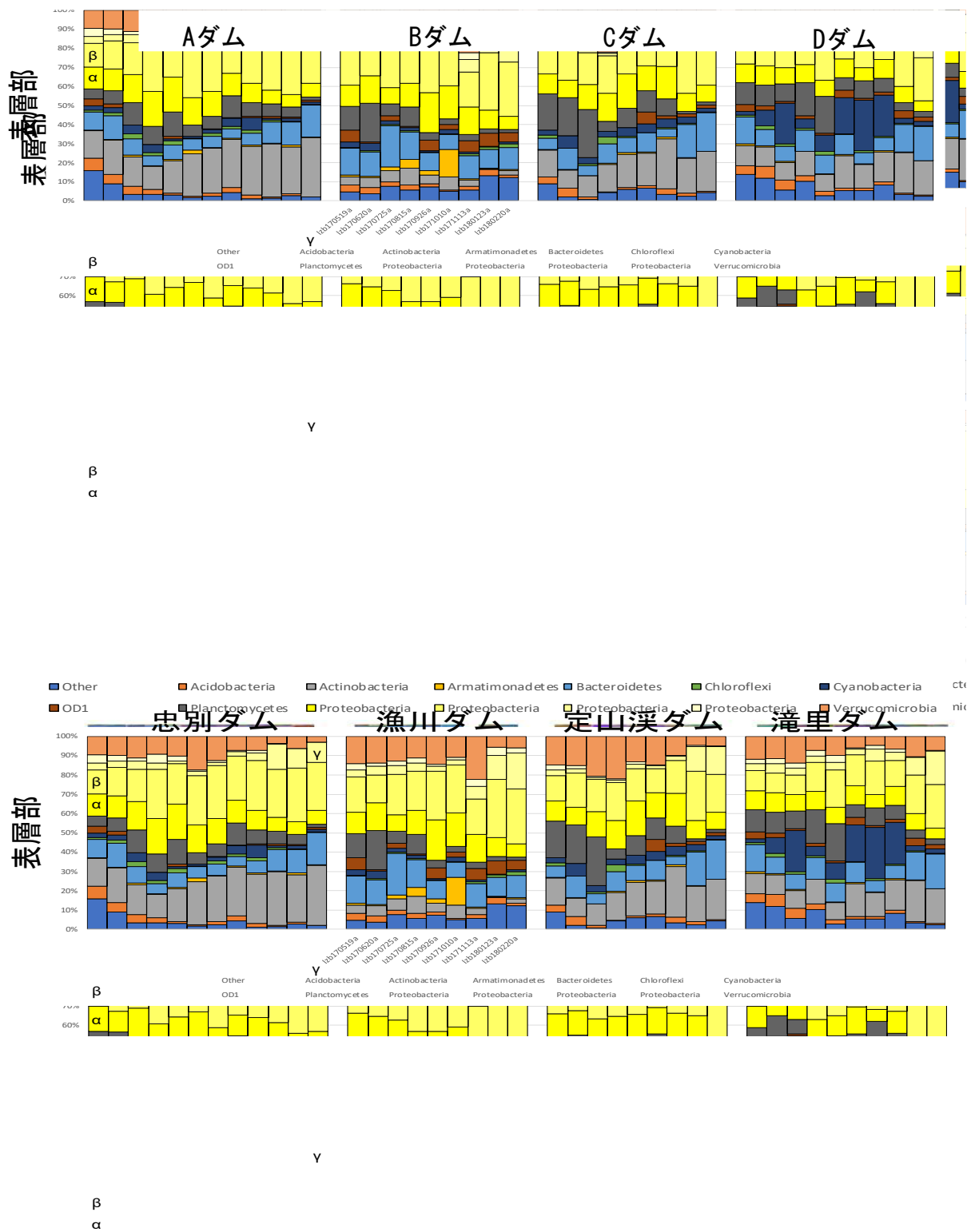


図2 β多様性解析の結果 (上: 門レベル、下: 属レベル)

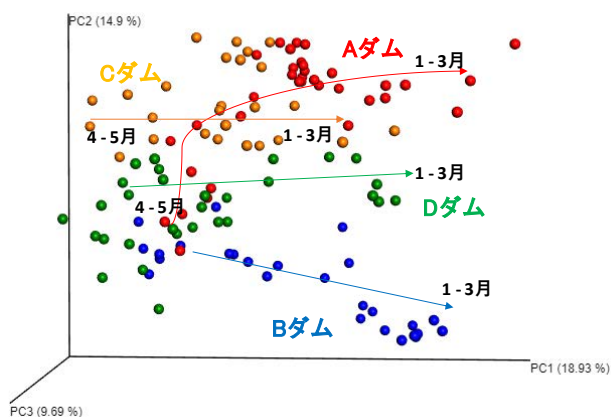


図4 各サンプルの主座標分析結果
(図中の矢印は時間的推移を示す。軸の括弧内の数字は寄与率を示す)

ランクトンにおいてもダム毎に異なる構成を示す可能性が示唆された。しかしながら、ダム貯水池で比較的多く検出されるクリプト藻綱、珪藻綱、緑藻綱は検出されなかった。これは種により DNA 抽出効率や PCR 増幅効率が異なることが要因であると考えられる。

2. 4 結論と今後の予定

本研究では、ダム貯水池からサンプリングした水試料を用い、次世代シーケンサーを用いた 16S rRNA および 18S rRNA 遺伝子配列に基づき菌叢解析を行った。その結果、採取したダム湖水では、菌叢は、地理的要因および水温等の影響を受け、変化していくことが示唆された。また、アオコやカビ臭等の水質問題が生じていないダム貯水池では、検出される細菌の種類が少ないことが示唆された。また、植物プランクトンに関しては、いくつかの種が同定された。種により DNA 抽出効率が大きく異なることから、今後は、サンプル中に含まれる DNA を網羅的に抽出するための検討を行う。また、古細菌をターゲットにするプライマーを使用することで、アンモニア酸化古細菌等のこれまで明らかにされてこなかった各細菌の微生物ループの中での機能・役割の解明についても寄与できると考えら

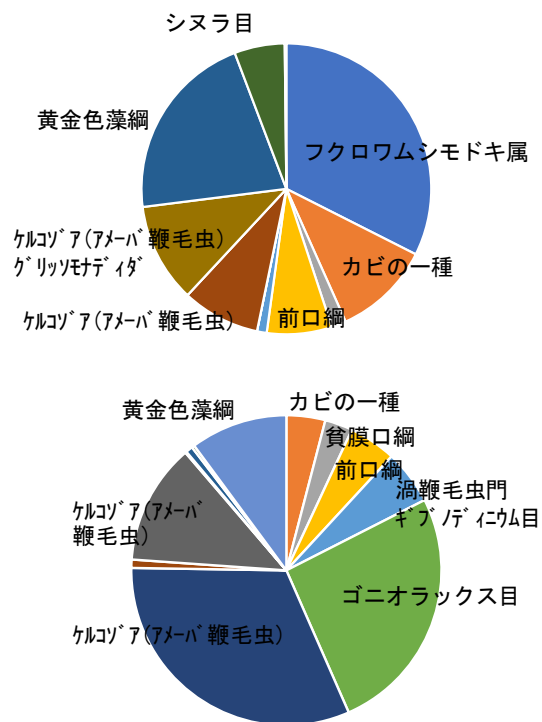


図5 検出された真核生物の例 (上: B ダム、
下: C ダム)

れる。

参考文献

- 1) 矢挽哲也、中津川誠：カビ臭による水質障害について -既往知見のレビュー-、北海道開発土木研究所月報、615号、33-43、2004年8月
- 2) Cudowski A.: Dissolved reactive manganese as a new index determining the trophic status of limnic waters. Ecol. Indic. Vol. 48, pp.721-727, 2015
- 3) Sharon S., Salomon E., Kranzler C., Lis H., Lehmann R., Georg J., Zer H., Hess W. R. & Keren N. : The hierarchy of transition metal homeostasis: Iron controls manganese accumulation in a unicellular cyanobacterium. Biochim. Biophys. Acta. Vol.1837, pp.1990-1997, 2014
- 4) 日本下水道協会：下水試験方法上巻、pp.554-562

13.1.4 気候変動による停滞性水域の熱・物質循環と水質環境への影響評価と適応策に関する研究（気候変動にともなう流域からダム貯水池・湖沼に流入する土砂量・栄養塩負荷量の変化の把握、ダム貯水池・湖沼の水質予測手法の構築と水質への影響評価）

担当チーム：水工研究グループ（水理）

研究担当者：石神孝之、櫻井寿之、中西哲

担当チーム：水環境研究グループ（水質）

研究担当者：小川文章、對馬育夫

【要旨】

本研究では、気候変動による気温、降水量の変化がダム貯水池の水質、濁質に与える影響についての将来的な予測に取り組んだ。今年度は昨年度の成果である東北地方にある御所ダムの流域および貯水池を対象とした水質変動予測シミュレーションを利用し、予測シミュレーションの高度化や気候変動による影響の適応策の検討を実施した。主な結果として、貯水池への負荷量推定に際し L-Q 式等のデータが不足していることを念頭にいた負荷量推定手法の高度化、USLE 式の高度化について検討を行った。これら流入負荷量の高度化による貯水池内の SS 流動への影響を把握するため、貯水池数値計算を実施した結果、過年度実施した結果よりも実測データを表現できた。

キーワード：地球温暖化、湖沼、貯水池、水質変動予測モデル、水質保全

1. はじめに

地球温暖化が水環境に与える影響は徐々に顕在化しており、現在における全ての温室効果ガス排出とその他の強制力因子は、今後数十年にわたる気候変動の速度及び程度に影響を及ぼすと報告されている¹⁾。そのため、温暖化影響の緩和策とともに適応策の検討が重要であり、精度の高い影響予測に基づく適応策の評価と、その実施に向けた取組が必要となっている。平成 27 年 11 月、「気候変動の影響への適応計画²⁾」が閣議決定され、これに伴い、国土交通省が「国土交通省気候変動適応計画³⁾」を公表し、実施予定の適応策について整理した。気候変動による地球温暖化が生じる場合、気温上昇に伴う表層水温の上昇、湖沼の温度分布の変化、生物反応や物理化学反応速度の変化、降雨量や降雨パターンの変化に伴う湖沼流入負荷量や水量の変化が予想されるが、気候変動に伴う湖沼の水質変化を定量的に示した研究は少ない。

これらを踏まえて本研究は以下の項目について検討を実施する。流域から湖沼に流入する栄養塩、SS などの負荷量算出の高度化、貯水池内流動モデルの高度化、簡略化および気候変動によるダム貯水池水質問題に対応する適用策について検討を行う。

今年度は、昨年度同様、東北地方に位置する御所ダ

ムにおける気候変動による気温・降水量の変化がダム貯水池の水質・濁質に与える影響について検討するとともに、ダム湖に流入する SS 等の推定の高度化について検討を行った。

2. 流入土砂量推定の精度向上

ダム貯水池に流入する SS 等の負荷量の推定には L-Q 式を用いることが多い。L-Q 式は一般的にダムに流入する流量およびその負荷量の観測データを収集し、近似曲線を算定することで求められる。そのため、L-Q 式は少ない水質観測データから負荷量を推定できる反面、過去の観測データを上回る出水時における負荷量に対しては、信頼性が低下する。

したがって、ダム貯水池の水質予測における SS の予測精度を向上するため、ダム貯水池内の堆砂測量資料やボーリング調査資料を基に L-Q 式の精度向上を検討した。

2.1 精度向上のための検討手順

SS の L-Q 式の精度向上のための検討手順を図 1 に示す。なお、再現計算期間である 1984 年～2004 年（昭和 59 年～平成 16 年）のデータを用いて検討を行った。

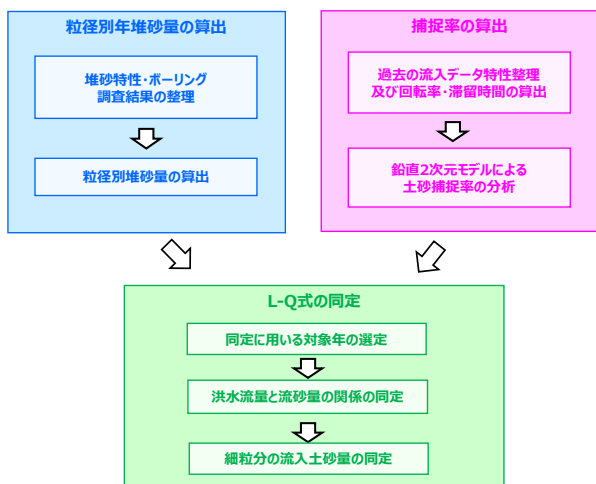


図1 堆砂量を用いたL-Q式の同定方法

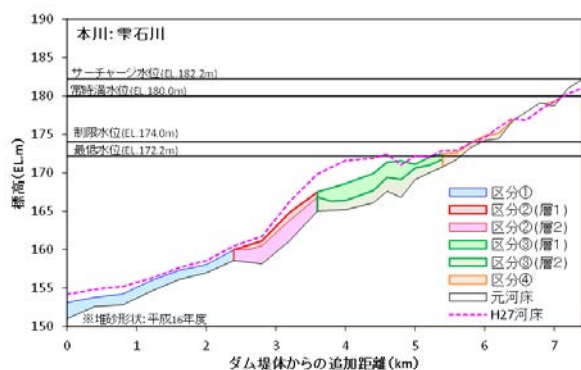


図3 本川縦断方向の粒度分布区分図

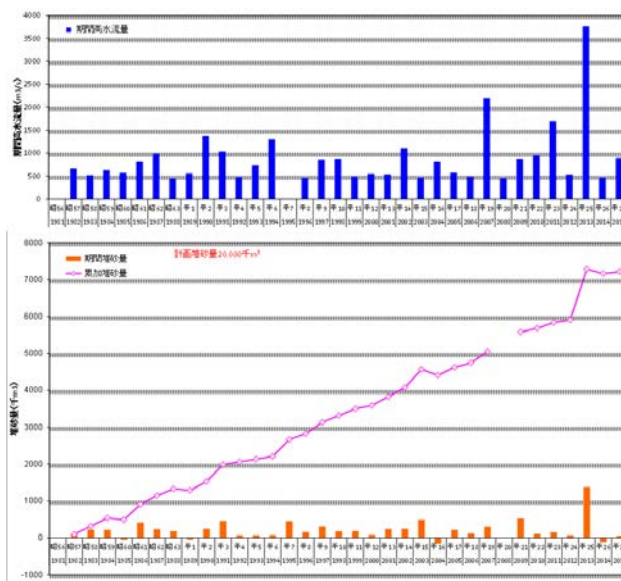


図2 御所ダムの年堆砂量と累積堆砂量の推移

表1 粒度分布区分

区分	縦断適用範囲	層1(表層)		層2(中層～底層)		備考
		代表試料	区分(深度)	代表試料	区分(深度)	
区分①	雫石川0.0～2.4k	B-1表層粒度	0～m	同左		
区分②	雫石川2.6～3.6k	B-2表層粒度	0～0.3m	B-2深層粒度	0.3～3.25m	
区分③	雫石川3.8～5.4k 南川0.0～1.0k 矢櫃川0.0～0.8k	B-3表層～中層 平均粒度	0～3.2m	B-3深層粒度	3.2～5.42m	深度の割合を同区間に適用
区分④	雫石川5.6k～7.4k	B-3深層粒度	0～m	同左		
区分⑤	南川1.2k～4.8k 矢櫃川1.0～2.0k	B-4平均粒度	0～m	同左		

2.2 粒径別年堆砂量の算出

2.2.1 堆砂特性・ボーリング調査結果の整理

御所ダムの年堆砂量と累積堆砂量の推移を図2に示し、以下に特徴をまとめる。検討対象期間における年平均堆砂量は約200千m³/年である。再現計算期間内の最大年堆砂量は、平成15年の493千m³/年である。なお、竣工～平成27年までは平成25年の1,375千m³/年であった。

御所ダムでは平成10年度にボーリング調査が貯水池内4地点で行われている。これらのデータから、縦断方向の粒度分布区分図を作成した。本川の粒度分布区分図を図3および表1に示す。

2.2.2 粒径別堆砂量の算出

(1) 粒径別年堆砂量の算出方法

本検討では、汎用性を高めるため、比較的簡易に行

える流入土砂量の推定方法を検討した。以下に概要をまとめる。

- ① ボーリング調査結果の適用範囲として、堆砂状況や調査地点の位置関係から縦断的な適用区分を設定する。また鉛直方向の区分については、ボーリング調査結果から層を設定する。
 - ② 各年度の最深河床高データと元河床断面データを用いて、元河床高からの堆積厚を各断面で計算し、各断面の堆積量を推定する。このとき①で設定した鉛直方向の粒度分布区分にも着目し、層毎の堆砂量を算出する。
 - ③ ②で算出した堆砂量と年堆砂量の差分を補正值として、各断面に割り振る（土砂収支が合うように当年の堆砂量が測量値と合うように補正をかける）。
 - ④ ①で設定した粒度分布の適用区分毎の堆砂量を算出し、粒径区分毎の年堆砂量を算出する。
- (2) 粒度分布の適用区分の設定**
ボーリング調査結果の適用範囲として、堆砂状況や

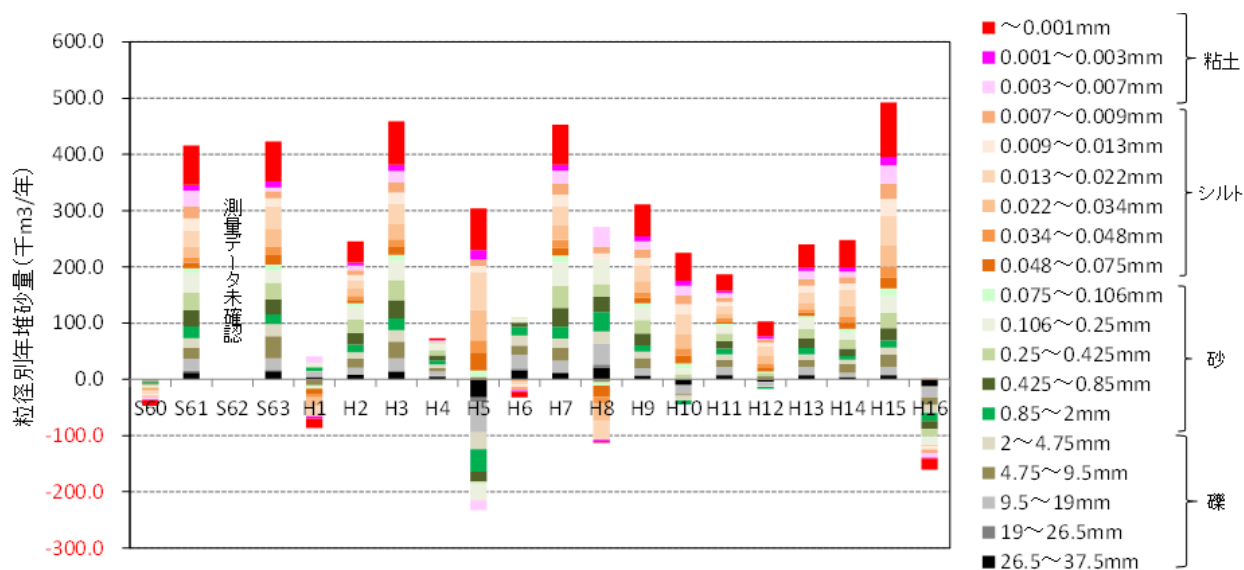


図 4 粒径別年堆砂量の算出結果

調査地点の位置関係から縦断的な適用区分を設定する。また鉛直方向の区分については、ボーリング調査結果を元に平成 10 年度（ボーリング調査年）の河床高から適用する層を設定した。また層の境界は平成 10 年度の河床高の堆積厚の割合を元に境界とする標高を設定した。

(3) 最深河床高を元にした貯水池堆砂量の算出

最深河床高を基に、貯水池堆砂量を算出した。算出方法には一般的な堆砂測量による堆砂量把握に用いられる平均断面法を適用した。

(4) 年堆砂量の補正

(3)の手法で算出した堆砂量と堆砂測量で報告されている堆砂量では誤差があることから、この誤差を実績の堆砂量と比較し、堆積縦断分布に対応させ誤差分を案分して区間毎の堆砂量を補正した。

(5) 粒径別堆砂量の算出

算出した年別・区間別の堆砂量を元に、区間毎の代表粒度分布の割合から、粒径別堆砂量を算出した。粒径別堆砂量の算出結果を図 4 に示す。S63 に関しては S62 の縦断データが確認できなかったため、S62 との 2 ヶ年の差分とした。

2.3 捕捉率の算出

御所ダムの細粒土砂成分の捕捉率を、過去の流入データおよび鉛直 2 次元モデルを用いて算出した。

ある年 i における粒径 j の年間堆砂量 $[V_{sj}]_i$ は出水 k 毎の捕捉率 γ_{jk} を用いて次式のように計算される。

$$[V_{sj}]_i = \sum_{k=1}^{n_i} \left(\gamma_{jk} \int \alpha_j Q \beta^j dt \right) \quad (1)$$

ここに n_i は土砂移動が発生する最小流量（足切り流量）以上の出水回数を表す。捕捉率 γ_{jk} の推定式は、鉛直 2 次元モデルによって 出水波形 $\cdot \alpha \cdot \beta$ の値を変化させて代表粒径別毎に作成する。なお、 α については、鈴木ら⁴⁾により γ_{jk} への影響がほとんどみられないと報告されているため、出水波形と β を変更した感度分析を行うこととした。

2.3.1 過去の流入データ特性整理

御所ダム貯水池の 1984 年～2004 年（昭和 59 年～平成 16 年）の期間における流入データを整理し出水を抽出した。

(1) 日最大流入量の整理

御所ダムでは 3 月～5 月の融雪期に貯水位を制限水位まで低下後、常時満水位まで上昇させる運用を行っている。この期間については、通常の出水とは土砂の捕捉形態が異なると考えられるため、3 月 1 日～5 月 31 日を除外し、日最大流入量を整理した。その結果、検討期間である 21 年間の日数のうち御所ダムの洪水流量である 500m³/s を越えた日数は 43 日であり 1 年間に 2 日程度の頻度で洪水が発生している。そのため、御所ダムにおける土砂の捕捉率を確認する上で抽出する出水は、洪水流量（500m³/s）の半分程度の流量規模となるピーク流量 300m³/s 以上の波形を抽出し検討を行うこととした。

(2) 出水の選定と回転率・滞留時間算出

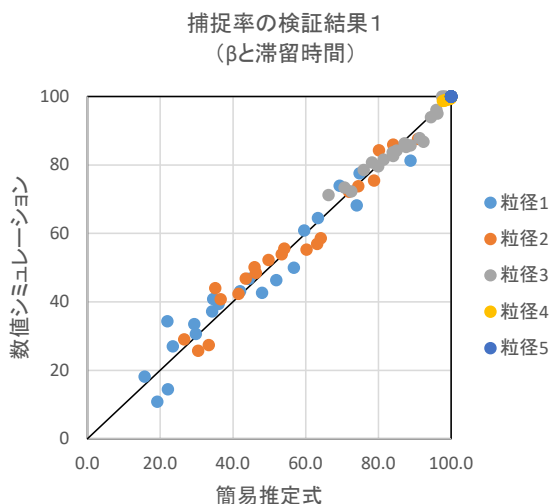


図5 簡易推定式による捕捉率の推定結果(洪水時)

ピーク流量 300m³/s 以上の出水を対象に昭和 59 年～平成 16 年の 21 年間の出水を抽出した。また、抽出した出水毎に回転率と滞留時間を算出した。抽出した 103 の出水のうち、出水規模の異なる 7 出水を水質予測にて捕捉率の算出を行うこととした。

2.3.2 鉛直 2 次元モデルによる捕捉率の算出

鉛直 2 次元モデルは平成 28 年度に作成したモデルを用いて土砂捕捉率の算出を行った。なお、本検討では生態系モデルは考慮していない。対象とする出水は日最大流量を整理して抽出した 7 出水であり、さらに代表的な融雪出水規模 3 パターンを加えた、合計 10 通りの出水条件となる。

2.3.3 捕捉率算出結果

鉛直 2 次元モデルによる捕捉率の算出結果を以下にまとめる。

- 出水規模が小さい場合には、 β の値が大きいほど捕捉率が大きくなる傾向がみられた。また、出水規模が大きい場合には、 β と捕捉率の関係性はあまり見られなかった。
- 1 出水当たりの回転率が大きいほど、捕捉率は小さくなる傾向となった。
- 平均滞留時間が大きいほど、捕捉率は大きくなる傾向となった。
- 融雪出水時の土砂捕捉率は 2 μm ～6 μm の細かい粒径のみ捕捉される結果となった。

捕捉率は滞留時間、単位洪水辺り回転率、係数 β によって変化することがわかる。そこで、これらパラ

表 2 流入土砂量式の同定結果

代表粒径 (μm)	α	β
1	2.2	2.40E-06
2	5.6	3.70E-06
3	14.2	2.30E-06
4	32.2	1.20E-06
5	71.0	5.00E-07

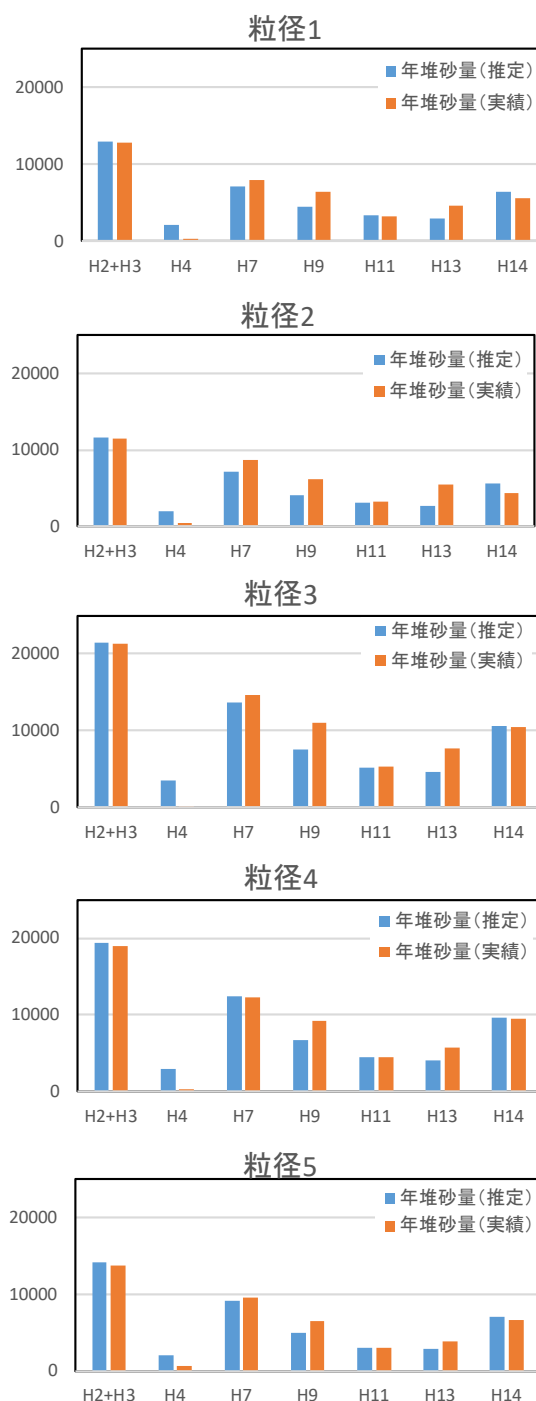


図6 粒径区分ごとの堆砂量の推定値と実績値の比較

メータを用いて代表粒径ごとに補足率の推定式を導出した。最小二乗法によって、「 β と洪水時滞留時間」、「 β と洪水時回転率」の2つのパラメータを使って捕捉率を推定した。これらの結果より、 β と滞留時間を用いた方が、数値シミュレーションによる予測結果とのバラツキが小さく、比較的よい精度で予測できたため、以降における係数 α 、 β の同定では洪水時滞留時間を用いた捕捉率推定式を用いることとした。

2. 4 L-Q 式の同定

2. 4. 1 同定に用いる対象年の選定

流入土砂量の推定は出水によって流入する土砂を推定することが目的であるため、測量誤差や水位低下による堆砂の再移動等によって粒径別年堆砂量と出水の間に相関が認められないデータが混在すると係数同定の精度が低下すると考えられる。

そこで、予め年堆砂量と各年に発生した流入量の積分値との相関性を確認し、対象年の選定を実施した結果、計 21 か年の堆砂データのうち、17 か年分のデータを L-Q 式の同定に用いた。また、流量を 10m³/s ごとに増加させて、堆砂量の計算による推定値と実績値の残差が最も小さくなる流量を足切り流量と設定した。

2. 4. 1 細粒分の流入土砂量の同定

足切り流量が 80m³/s と設定したとき、堆砂量の残差が最小となり、その時の係数 α 、 β の値を表 2 に示す。表中の代表粒径区分は表 1 の区分を踏襲している。各粒径の α 、 β は、ともに一般的に知られている数値の範囲であった。

図 6 は代表年における各粒径区分ごとの計算による推定値と実績値の比較である。計算による推定値は実績の堆砂量を良好に再現する結果となった。

2. 5 新規 L-Q 式による貯水池内濁質流動解析

新規 L-Q 式による貯水池内の SS 成分の流動の再現性を検証するため、断面 2 次元貯水池水質計算による再現計算を実施した。再現計算の計算条件は平成 28 年度に実施した計算条件を踏襲し、SS の流入条件に新規 L-Q 式を用いた計算を実施した。図 6 に計算結果を示す。図中の点は定期水質調査による SS 濃度の測定結果である。また、比較対象の為、平成 28 年度に実施した観測結果から得られた L-Q 式による計算結果を示している (図 7 下)。

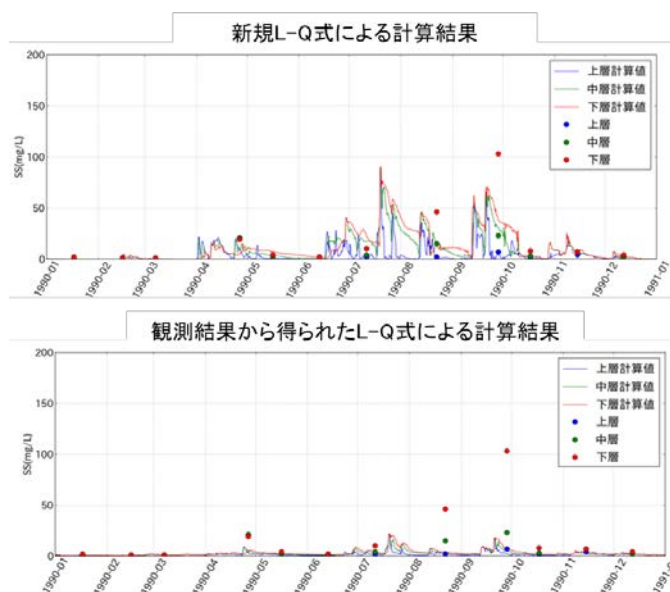


図 7 L-Q 式の違いによる貯水池内 SS 濃度分布

新規 L-Q 式を用いた計算結果は出水時に貯水池内の SS が上昇し、中層及び下層で濁水が滞留している期間が確認できる。観測結果から得られた L-Q 式による計算結果と比較して、今年度の再現計算結果は融雪期に貯水池内の SS が明確に上昇する傾向がみられた。

以上より、ダム貯水池の堆砂データやボーリングデータを使用した L-Q 式を用いることによって、出水による貯水池内の SS 成分の流動がより観測値に近い結果となった。

3. 気候変動による土砂量、栄養塩負荷量の推定

前章では、ダムに流入する SS 成分を L-Q 式として設定した。L-Q 式による流入 SS の推定手法は、比較的簡易である一方、負荷量は流量のみで決定することになり、気候変動に伴う降雨特性 (時間的変化、空間的変化等) による影響や、流域の土地利用特性等は十分反映されない可能性がある。

そこで、御所ダム流域を対象に農学分野で広く用いられる土壌流出量の経験式 (USLE 式) を用いて降雨の空間分布や降雨強度の違いを直接的に流入 SS 負荷量に反映させ、気候変動に伴う貯水池水質予測を実施し、L-Q 式による予測との違い等について検討した。

3. 1 現在と将来予測データの概要

検討に用いた気候変動モデルには、環境省が公表している RCP シナリオに基づいた地域気候モデル (MRI-NHRCM20: 水平格子間隔 20 km) を使用した。

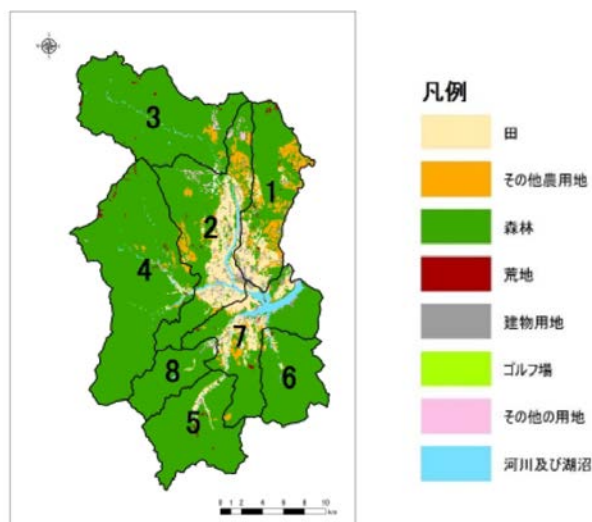


図8 御所ダム流域の流域区分と土地利用

現在気候は1984年9月～2004年8月、将来気候は2080年9月～2100年8月の期間で出力されている。本年度の検討では現在気候・将来気候（RCP4.5・RCP6.0・RCP8.5）の4シナリオについて実施した。

3.1.1 気象データ

気候変動モデルの出力結果は観測値との差異があるためバイアス補正を行った。気温については毎月に観測値とモデル出力値の差分を補正し、降水量については月別に累積分布関数を作成し補正を行った。

その他の気象条件については、風速は観測値の月平均値を使用し、湿度・日射量・雲量は降水量との関係式を作成した後、バイアス補正後の降水量を用いて作成した。

3.1.2 流入量・放流量

作成した気象データを用いて分布型流出モデルによる流出計算を行い、流入量を作成した。一方、放流量は実績のダム運用を踏まえた利水モデルを構築し設定した。

3.2 USLE 式によるダム流入負荷量の推定

USLE 式は農地を対象とした土壌流出の経験式として用いられるが⁹⁾、式中に降雨強度に関する係数 R が含まれており、ダム流域における気候変動に伴う降雨特性の変化による負荷量への影響を予測できると考えられる。

$$A = R \cdot K \cdot LS \cdot P \cdot C \quad (2)$$

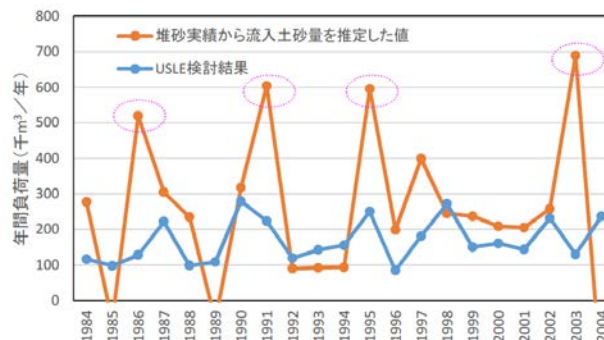


図9 USLE 式による御所ダム流域の流入土砂量推定結果

ここで、A：単位面積当たりの流出土砂量 (tf/ha)、R：降雨係数 (tf・m²/ha/h)、K：土壌係数 (h・m²)、LS：地形係数、C：作物係数、P：保全係数である。各係数の設定方法を表3に示す。なお、保全係数は土壌侵食軽減対策の効果を示す係数であり、森林・畑地等には適応せず、本検討では全て1.0とした。

USLE 式によって気候変動による将来の年間流入土砂量を推定し、最終的に水質予測に使用可能な時系列データへの変換を行った。

本研究では、ダム流域の流域情報の分布に着目し、「森林」を主とする流域と「農用地」を主とする流域が区別されるよう、8つの流域区分を設定し、流域毎にUSLE 式の係数を算定した(図8)。

USLE 式を用いて算出した御所ダム流域の流出土砂量を図9に示す。崩壊地の発生等により流入土砂量が大きくなった可能性がある年がみられる(図中赤楕円)が、1984年～2004年の堆砂実績から算定した流出土砂量の傾向を概ね良く再現することができた。

3.3 USLE 式を用いた貯水池水質再現計算

3.3.1 水質計算概要

貯水池の水質計算には、SSの輸送方程式を組み込んだ鉛直2次元モデルを使用した。

貯水池水質計算に必要な流入SSについて、USLE 式より得られた年間負荷量は土壌を対象としており砂分を含む量である。そのため、粘土・シルト分(SSを対象とした粒径)に換算する必要がある。換算方法は堆砂ボーリングデータなどをもとに、実績の粒径別流入土砂量の比率を算出した。

また、貯水池水質計算を実施するにあたり、貯水池に流入するSS濃度を、USLE 式で算出されたSSの年間負荷量から貯水池水質計算に必要な日平均負荷量に換算する必要がある。本検討で用いた換算方法は、SS負荷量は日平均流量と相関があるという仮定の基、

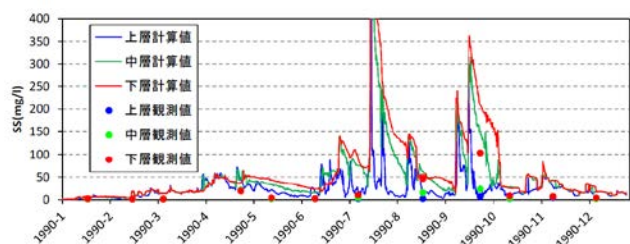


図 10 1990 年のダムサイト 3 深度の SS 濃度時系列変化

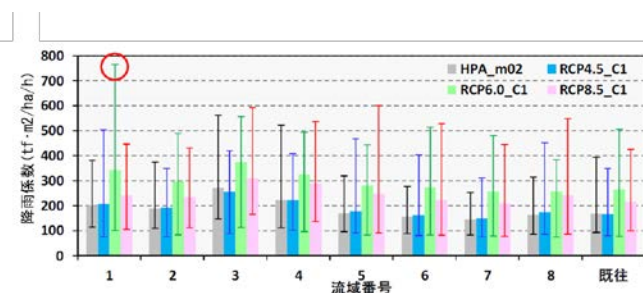


図 11 降雨係数の年平均値・年最大値・年最小値

ダム貯水池に流入する年間の日流量の総和に対する日流量の比により年間負荷量を配分した。一般的に SS の負荷量は流量の冪関数として表されるとされている。そのため、年間負荷量から日平均負荷量への変換にも、流量の冪関数を用いることが妥当である。しかし、本検討のような年間負荷量から日平均負荷量への変換に関する冪指数の検討事例はあまりない。そのため、本検討では日流量を 2 乗する方法と 3 乗する方法のそれぞれについて貯水池水質計算を実施した。その結果、流量の 2 乗で負荷量を算出する方法が、より実際の貯水池の状況を再現していると判断し、日流量の 2 乗を用いた方法を採用した。

3. 3. 2 計算結果

1984 年～2004 年の期間で年最大時間流入量 (1,375 m³/s) が発生した 1990 年のダムサイト 3 深度の SS 濃度時系列変化を図 10 に示す。8 月中旬頃をみると、出水後の貯水池 SS 濃度の観測値を比較的良く再現していた。

3. 4 気候変動を考慮した貯水池水質計算

3. 4. 1 現在気候・将来気候の USLE 係数

現在気候および将来気候の降雨データを用いて、流域毎の降雨係数を算出した結果を図 11 に示す。図 11 の赤丸をみると、流域 1 における降雨係数の年最大値が RCP6.0 で 700 を越える高い値となっている。

表 3 USLE 式の係数設定方法

項目	使用するデータ	係数の設定方法
降雨係数	・観測データ ・気候変動シナリオ	降雨の分布を考慮して、流域区分毎に降雨係数を算出する
土壌係数	国土交通省発行の 20 万分の 1 の土地分類基本調査 (土壌図)	既往文献を基に土壌係数を設定する ⁷⁾
地形係数	国土数値情報	流域区分毎に地形係数を算出する ⁸⁾
作物係数	国土数値情報	既往文献を基に作物係数を設定する ⁹⁾

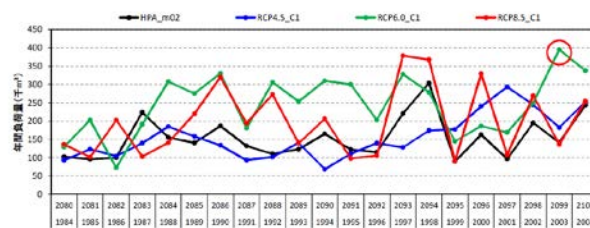


図 12 SS 年間負荷量 (上段：将来気候年，下段：現在気候年)

流域 1 は農地利用が多い流域であり、土壌流出が活発な流域となるため、多くの降雨が生じることで RCP6.0 における 2099 年は高い SS 負荷量が生じる結果となった (図 12 の赤丸)。なお、降雨係数以外の各係数については、再現計算時の係数をそのまま使用した。

3. 4. 2 気候変動を考慮した貯水池水質計算結果

降雨の空間分布に違いが見られたシナリオ RCP6.0 の計算結果を図 13 示す。比較的降雨量が多く、流入量の多い 2084 年 (青) や 2093 年 (緑) は、USLE 式および L-Q 式とともに、下層 SS の月平均濃度が 7 月、9 月でそれぞれ最大となり一致していた。

一方、USLE 式で SS 負荷量の多い結果となった 2099 年は流入量の比較的少ない年であったため、L-Q 式の計算結果では平年並の濃度となっているが、USLE 式の計算結果では 8 月の月平均 SS 濃度が 20 年間で最大となった。

次に融雪期 (3 月～5 月) をみると、USLE 式の計算結果は融雪出水の影響で、下層の SS 濃度が常に高い値となっている。これは単純に年間負荷量を流入量ベースで配分したことが原因であると考えられる。

3. 5 まとめ

検討の結果、L-Q 式では考慮できない降雨の空間分布や強度の違いを USLE 式によって直接的に SS 負荷

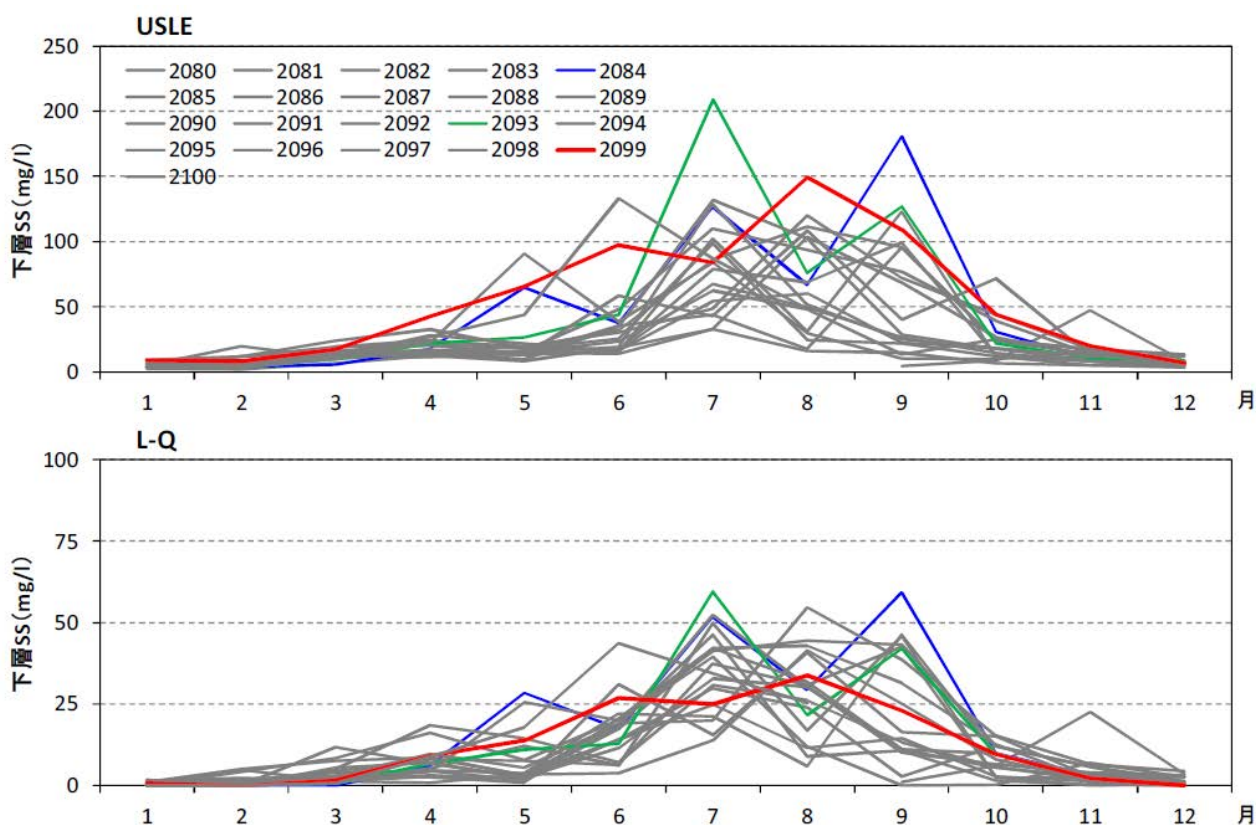


図 13 ダムサイト下層 SS 濃度の月平均値 (RCP6.0)

量に反映することで、気候変動に伴う SS 負荷量の変化をより適切に表現できる可能性を示すことができた。

また、USLE 式は水質データの観測結果が少なく、L-Q 式を作成することが困難な貯水池でも SS 負荷量を推定できる可能性があることも示された。

なお、融雪期における負荷量は、年負荷量を流量によって単純に按分すると過大となるため、融雪期の負荷量の設定方法が課題としてあげられた。

4. おわりに

気候変動により流量および流域への気候等の変化に対応できるよう、流入負荷量の高度化を、細粒土砂成分に対して実施した。主な成果は以下の通り、

- 御所ダムの粒径別堆砂実績と洪水実績の関連性から細粒土砂 (SS) の L-Q 式を同定することにより、既存の水質観測に基づく L-Q 式よりも貯水池水質計算の再現精度が向上された。
- 御所ダム・寒河江ダムの 2 ダムを対象として、降雨分布や土地利用等を小流域毎に算出し USLE 式を用いて SS の再現計算を実施した。

- 濁質の沈降や融雪期の取り扱いなど多少の改善の余地はあるものの、土地利用の異なる 2 つのダム貯水池の SS 変化を概ね再現できた。
- USLE 式では L-Q 式で考慮できない降雨分布や降雨強度を直接的に流入 SS 負荷として反映できるため、気候変動に伴う流入 SS 変化をより適切に表現できると可能性がある。

参考文献

- 1) 文部科学省, 経済産業省, 気象庁, 環境省: IPCC 第 5 次評価報告書統合報告書政策決定者向け要約 (翻訳), 2015.
- 2) 環境省: 気候変動の影響への適応計画, 2015.
- 3) <http://www.env.go.jp/press/files/jp/28593.pdf>
- 4) 鈴木伴征, 柏井条介, 吉岡喜浩: 鯖石川ダム堆砂実績を用いた粒径別流入土砂量の推定. ダム工学, 14(4), 257-269, 2004.
- 5) 鶴木啓二, 子檜山雅之: 汎用土壌流亡予測式による農業流域からの土砂流亡量予測, 寒地土木研究所月報, No.700, pp.13-19, 2011.
- 6) 農林水産省: 「土地改良事業計画指針 農地開発 (改良山成畑工) 平成 4 年 5 月」, 1992.

- 7) 今井啓, 石渡輝夫: 統計資料等を用いて整理した北海道における土壌浸食因子の地域性について, 寒地土木研究所 月報, No.640, 2011.

13.2 水質リスク軽減のための処理技術の開発

13.2.1 公共用水域における健康・生態リスクが懸念される化学物質の制御手法に関する研究

担当チーム：水環境研究グループ（水質）

研究担当者：小川文章、對馬育夫、小森行也

【要旨】

都市河川で検出される微量化学物質の中には、下水道を経由して到達したものが存在すると考えられる。河川水中に存在する微量化学物質を効率的に削減するためには、下水処理水中に存在する微量化学物質の除去技術開発が必要である。本年度は、下水処理水中の直鎖アルキルベンゼンスルホン酸（LAS）の微生物担体処理による削減に関して処理条件（水温）の検討と下水処理水中に残存する医薬品類の除去技術について検討した。

キーワード：LAS、医薬品類、微生物担体処理、微生物叢解析

1. はじめに

環境中で検出される多様な化学物質による汚染の実態や環境影響に対する関心、懸念が高まっており、安全で快適な水環境の実現・保全に向けた取り組みが求められている。

平成 25 年 3 月には直鎖アルキルベンゼンスルホン酸及びその塩（LAS）が水生生物の保全に係る水質環境基準項目として追加された。LAS は下水処理の標準活性汚泥法で 99% 以上除去¹⁾²⁾³⁾されるが、回転生物接触法、礫間接触酸化法、好気性ろ床法、接触ばっき法、高速散水ろ床法の LAS 除去率は 87%~100%³⁾であり、なかには放流水の LAS 濃度が環境基準値（河川・生物特 A：0.02mg/L）の 10 倍を超える値も観測されたところがあったとされている。LAS は、排水規制化も視野に取り扱いが検討されていることから、放流水中に存在する LAS の低減手法の検討が必要である。

また、下水には有機汚濁物質の他、微量の化学物質が含まれているが、日常生活において多く使用されている化粧品、医薬品類もその一つである。下水処理における医薬品類の除去特性については多くの調査報告⁴⁾⁵⁾⁶⁾がみられその実態が明らかになりつつある。医薬品類の中には水生生物への影響が懸念される物質もあることから、生物影響の視点で下水処理水中の医薬品類の評価⁶⁾もなされている。下水処理水又は排水中の医薬品類の処理については物理化学処理による調査報告⁷⁾¹¹⁾が多くみられるが生物処理による除去技術についての報告は少ない。

平成 29 年度は、下水処理水中に残存する LAS の微生物担体処理と下水処理水中に残存する医薬品等のスポンジ担体処理について検討を行った。なお、医薬

品等のスポンジ担体処理は（株）西原環境との共同研究により実施した。

2. 下水処理水に残存する LAS の微生物担体処理

2.1 実験方法

2.1.1 実験装置

微生物担体処理実験装置のフローを図-1 に示す。嫌気好気ろ床法の下水処理場に実験装置を設置し実験を行った。反応槽（A）は容量 5.6L の槽を 3 つ、反応槽（B）は容量 10L の槽を 4 つ連結した。

各反応槽にはポリプロピレン製の中空円筒状の微生物保持担体（4mmOD×3mmID×5mmL）を担体添加率 35%（嵩比率）で投入した。また、反応槽（B）はヒーターを投入した恒温水槽を用いて水温コントロールを可能にした。微生物保持担体は、実下水を流入水と

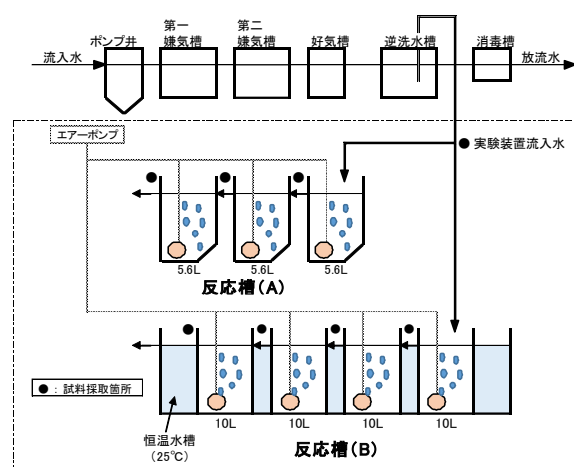


図-1 微生物担体処理実験装置のフロー

した活性汚泥処理実験プラントの二次処理水で数ヶ月間馴致したものを投入した。反応槽 (A) の流入水量は 79mL/min、反応槽 (B) の流入水量は 190mL/min とし、それぞれの反応槽全体の処理時間 (HRT) は 3 時間に設定した。実験装置流入水は、本施設の逆洗水槽の処理水を定量ポンプにより連続注入した。

2.1.2 試料採取と分析方法

試料採取は、平成 29 年 12 月～平成 30 年 1 月にかけて数回行った。試料採取はスポット採取とし、採取試料は LAS の保存性¹²⁾を考慮し分解を抑えるため直ちに氷水に浸けて冷却した。また、試料採取後、各反応槽の水温測定と流入水量の確認を行なった。

LAS の分析は、「水質汚濁に係る環境基準について (平成 26 年 11 月 17 日環境省告示第 126 号)」の付表 12 に示す方法により行った。また、有機物指標として DOC を下水試験方法-2012 年版 (公益社団法人日本下水道協会) に示す方法により分析した。

2.2 実験結果

2.2.1 形状・容量が異なる反応槽の LAS 除去特性比較

実験に用いた微生物担体処理実験装置の反応槽 (A)、反応槽 (B) は、その形状・容量が異なることから実験装置の違いによる LAS 除去特性の比較を行った。実験装置の運転開始から約 2 週間後に採取した試料の LAS 分析結果を図-2 に示す。試料採取時の反応槽水温は、反応槽 (A) が 10.4～12.2℃ (平均 11.3℃)、反応槽 (B) が、10.7～12.9℃ (平均 11.7℃) であった。図-2 に示されるように反応槽 (A)、反応槽 (B) の LAS 除去に大きな違いは見られず、HRT が長くなるに従い大きく減少した。反応槽の形状・容量が異なる反応槽 (A)、反応槽 (B) においても LAS 除去特性は同等であることが確認された。

また、有機物指標の DOC 分析結果を図-3 に示す。

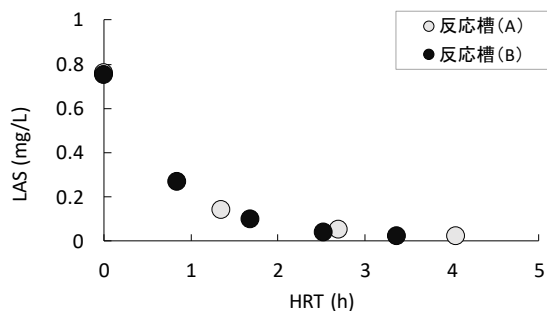


図-2 反応槽 (A)、(B) の LAS 除去特性

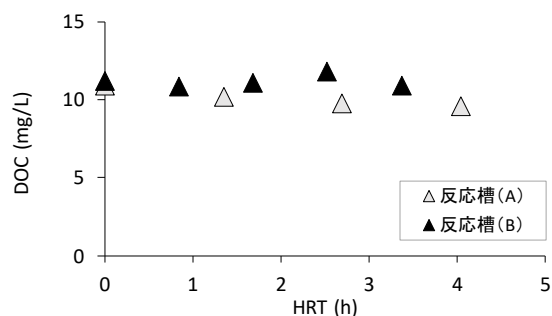


図-3 反応槽 (A)、(B) の DOC 除去特性

DOC として測定される溶解性有機物濃度に大きな変化はみられず、微生物担体処理では下水処理水に残存する有機物はほとんど除去されないことが確認された。

2.2.2 反応槽水温と LAS 除去の関係

水温コントロール無しの反応槽とヒーターを用いて水温コントロールした反応槽の LAS 除去特性を図-4 に示す。前述の 2.2.1 形状・容量が異なる反応槽の LAS 除去特性比較で得たデータも併せて図中に示した。水温コントロール無しの反応槽の水温は 10～13℃ (平均 11℃)、水温コントロールした反応槽の水温は 19～22℃ (平均 21℃) であった。実験は複数回行っており、流入水の LAS 濃度は 0.75～1.3mg/L であった。図-4 に示すように両反応槽とも約 2 時間の処理で LAS 濃度は環境基準の河川・生物特 A で設定された基準値 0.02mg/L の 10 倍濃度 (0.2mg/L) 以下となった。

また、有機物指標の DOC 分析結果を図-5 に示す。DOC 濃度は、反応槽水温が 11℃では、HRT が長くなっても大きな変化は見られないが、水温 21℃では 20% 程度の減少がみられた。反応槽水温を 21℃程度に加温することにより、下水処理水に残存する有機物を約 20%除去できることが分かった。

各調査の流入水 LAS 濃度が異なることから、それ

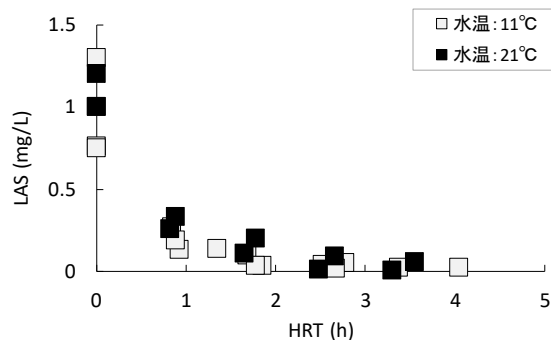


図-4 異なる反応槽水温における LAS 除去特性

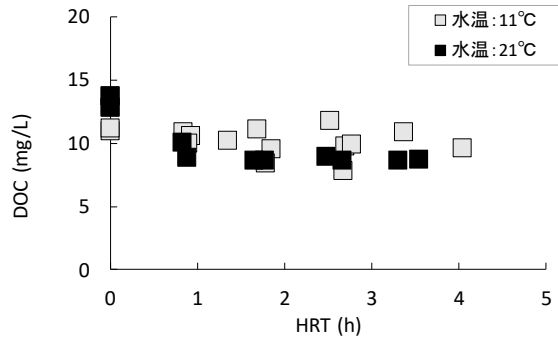


図-5 異なる反応槽水温における DOC 除去特性

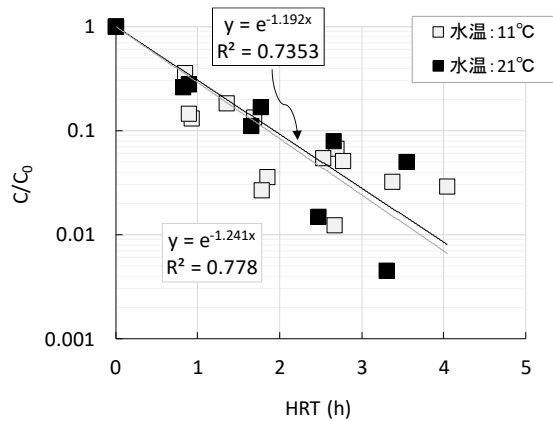


図-6 異なる反応槽水温における LAS 除去速度

ぞれの実験装置流入水の LAS 濃度を C_0 、微生物担体処理水の LAS 濃度を C として C/C_0 を算出し、HRT と C/C_0 の関係を図-6 に示す。 C/C_0 の減少が 1 次反応と仮定し反応係数 k_1 (1/h) を求めた。

バラツキが見られるものの反応槽水温 11°C で反応係数 1.19、反応槽水温 21°C で反応係数 1.24 が求められた。この関係式より、反応槽の平均水温が 11°C、21°C とともに LAS 除去率 90% を得るのに必要な処理時間 (HRT) は、約 2 時間であることが分かる。また、99% 除去には約 4 時間の処理時間が必要である。

3. 下水処理水に残存する医薬品等のスポンジ担体処理

3.1 実験方法

3.1.1 実験装置

実験装置フローを図-7 に示す。実下水を実験装置に流入させ、活性汚泥法による二次処理を行い、得られた処理水を砂ろ過装置でろ過し、ろ過水を試験原水としてスポンジ担体による高度処理実験を行った。ろ過水は曝気により担体を片旋回流で流動させる曝気流動槽 (担体添加率 40%) と、担体を槽に充満させて固

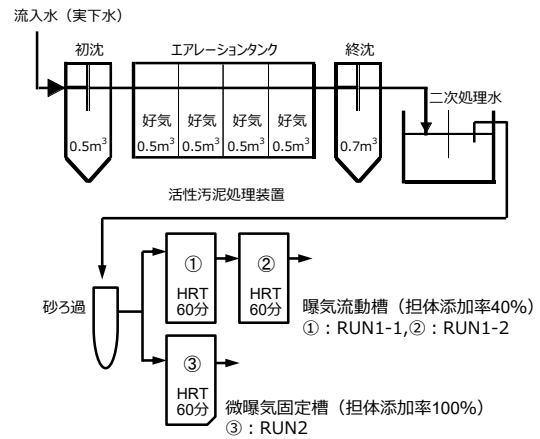


図-7 実験装置フロー

定し、微曝気を行う微曝気固定槽 (担体添加率 100%) の 2 つにそれぞれ流入させて実験した。各槽の理論滞留時間は 60 分ずつとし、曝気流動槽では滞留時間ごとの処理性を評価するため 2 槽直列として、1 槽目と 2 槽目で処理水を比較した。

3.1.2 実験条件

本試験の実験条件を表-1 に示す。本実験で使用した担体は前年度の実験¹³⁾で使用した担体を含む馴養後の担体を引き続き利用した。RUN1 は直列の 1, 2 槽目をそれぞれ RUN1-1、RUN1-2 とした。また、RUN2 の流入部付近を RUN2-1、流出部付近を RUN2-2 と区別し、運転終了時に担体を採取し、菌叢解析を行った。

表-1 実験条件

	RUN1		RUN2
	RUN1-1	RUN1-2	
試験槽種類	曝気流動槽		微曝気固定槽
試験原水	二次処理水 砂ろ過水	RUN1-1の 流出水	二次処理水 砂ろ過水
薬品添加	なし	なし	なし
担体添加率 [%]	40	40	100
HRT [分]	60	60	60
曝気状態	片旋回流	片旋回流	全面 微曝気
装置容量 [L]	8	8	6
実験期間 (サンプリング)	2017年 11~12月	2017年 11~12月	2017年 11~12月
備考	図-7中の①	図-7中の②	図-7中の③

3.1.3 菌叢解析

処理槽内の担体に付着する微生物担体の付着細菌について、16S rRNA 遺伝子配列に基づき菌叢解析を行った。採取した担体は液体窒素により凍結させ、粉

砕した後、Extrap Soil DNA Kit Plus ver.2（日鉄住金環境）を用いて DNA 抽出を行った。抽出した DNA を鋳型として真正細菌の 16S rRNA 遺伝子 V3-V4 領域を標的としたプライマーを用い、PCR 増幅を行った。PCR 増幅産物は AMPure XP kit（Beckman Coulter Genomics）を用いて精製した。DNA シーケンシングには Miseq reagent Kit v3（600 サイクル、Illumina）を用いて解析した。解析で得た各リードの塩基配列のキメラチェックは USEARCH を用い、Operational Taxonomic Unit (OTU)-picking およびクラスター解析は QIIME を用い、97%以上の相同性を持つ配列を同一 OTU とした。各 OTU の同定には Greengenes データベース ver. 13_9 をリファレンスとした。

3.2 実験結果

3.2.1 医薬品類の除去特性

各実験条件における物質ごとの除去率を表-2 に示す。RUN1 では、生物処理をさらに向上させるため RUN1-1 から 1-2 へとそれぞれ 60 分ずつ合計 120 分の HRT とし、その影響を検討した。また、RUN2 では、生物分解速度が遅いと考えられる物質の除去率をさらに向上させるため、こうした物質の除去に関わると考えられる増殖速度の遅い微生物を担体流動槽に比べ保持しやすい担体固定槽を用い、さらにこれを微曝気することによって、曝気なしの場合に比べ、より好気的な条件とすることで改善を図った。上記に加え、原水の SS 増減による処理への影響が考えられたので、原水を二次処理水のろ過水に変更した。

RUN2 で AZM と CAM の平均除去率はそれぞれ 78%、58%であり、RUN1-2 の結果のそれぞれ 25%、2.8%を上回った。しかし、TCS の平均除去率は RUN2 の 10%に対し、RUN1-1 で 39%、RUN1-2 で 53%と、曝気流動槽の HRT の 120 分が良好であった。RUN1 では HRT が長い条件で、AZM、CAM、TCS のいずれの除去率も高くなる傾向だが、RUN2 の微曝気担体固定槽と比べると、担体の流動による影響が大きい条件も考えられる

RUN1 および 2 の実験期間で各実験装置の担体を採取し、生物付着量を測定して槽内の MLSS 濃度に換算した。各実験装置の MLSS と DO 測定の結果を表-3 に示す。RUN1-1、1-2 の MLSS は同程度で平均値を RUN1 の MLSS とした。担体を流動させない RUN2 はそれらに比べ 3~4 倍程度多い MLSS であった。また、DO は各条件ともに 1mg/L 以上であり好気的な条件であっ

表-2 各実験条件における物質ごとの除去率

		RUN1-1	RUN1-2	RUN2
AZM 除去率 [%]	平均	-1.5	25	78
	範囲	(-19~8.3)	(19~35)	(73~83)
CAM 除去率 [%]	平均	-14	2.8	58
	範囲	(-25~-2)	(-2~16)	(51~63)
TCS 除去率 [%]	平均	39	53	10
	範囲	(35~48)	(47~61)	(-14~33)

表-3 各実験装置の MLSS と DO (mg/L)

	RUN1		RUN2		
	MLSS	DO	MLSS	DO (入口)	DO (出口)
2017/11/21	400	6.5	1,740	1.2	6.6
2017/12/5	950	6.6	2,960	2.9	4.4
2017/12/19	720	6.6	2,660	5.3	5.1
平均	690	6.6	2,450	3.1	5.4

た。

各物質の反応速度を図-8 に、各 RUN の平均 MLSS から求めた単位 MLSS 当りの反応速度定数を表-4 に示す。データは 2 点ではあるが、これまでの研究成果から調査対象の各物質の微生物担体処理における除去が一次反応で近似できると考えた²⁾。単位 MLSS 当りの AZM、CAM の反応速度は RUN2 が RUN3 に比べそれぞれ 3 倍、15 倍程度であり、TCS は逆に RUN1 が

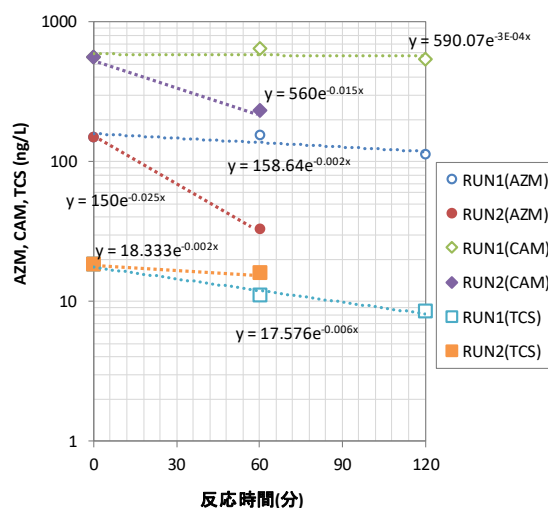


図-8 各物質の反応速度

表-4 各 RUN の単位 MLSS 当たりの反応速度定数 (ng/(g-MLSS・時))

対象物質	RUN1	RUN2
AZM	-0.17	-0.61
CAM	-0.026	-0.37
TCS	-0.52	-0.05

RUN2 の 9 倍となった。

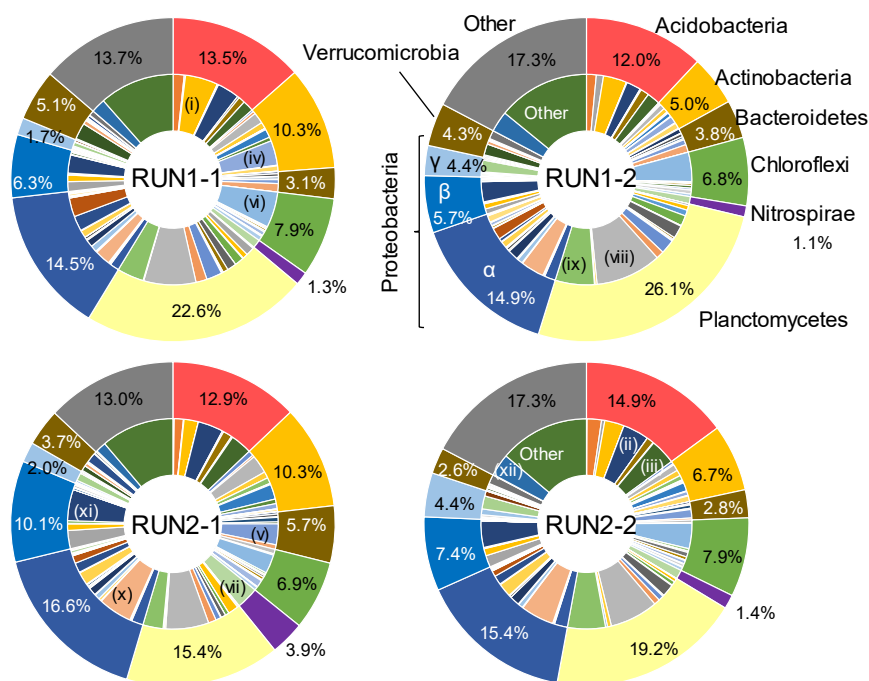
各物質の反応速度の違いについて、担体の流動に起因する担体に付着する生物の蓄積・更新が影響したのではないかと考えられる。RUN1-1 と RUN2 では同じ水質・容積負荷の流入水があるが、担体添加率 40% の RUN1-1 に比べて、100% の RUN2 は担体 1L 当たりの生物付着量が多かった。

RUN1 では担体の流動によって担体同士や水槽内壁と接触するため、生物膜が物理的に剥離し流出したと考えられる。一方、RUN2 では担体の流動がないため生物保持力が高かった。

AZM、CAM は生物による吸着と分解が進むため、分解微生物が有効に保持された RUN2 で除去効果が高かったのではないかと考えられる。TCS は生物分解よりも吸着が主な除去メカニズムといわれており、担体が流動することによって、生物が更新されると考えられる RUN1 で除去率が高かったのではないかと考えられる。したがって、AZM、CAM と TCS では生物処理のメカニズムが異なるため、それぞれに適した処理条件があることが考えられる。

3.2.2 菌叢解析

塩基配列解析の結果、各サンプルから取得した約 1 ～ 3 万リードの塩基配列から、約 1,000 個の OTU が得られ、系内に 0.1% 存在する属以上の近縁な分類ができた。図-9 に各サンプルにおける門レベルおよび属レベルの菌叢解析結果、図-10 に各サンプルの類似度をウォード法によるクラスター解析結果を示す。RUN1-1、1-2 は表-1 の実験条件の RUN1-1、1-2 を、RUN2-1、2-2 は同様に RUN2 を示すが、RUN2-1 は固定されている担体のうち、原水流入部の担体をサンプリングし、RUN2-2 は流出部の担体をサンプリングしていることを指している。担体が流動し、槽内が完全混合の RUN1 の条件に比べ、担体が固定され、押出流れに近いと考えられる RUN2 では原水流入部と流出部で菌槽に違いがある可能性を考慮した。菌叢を構成する主な門は Proteobacteria、Planctomycetes、Acidobacteria、Actinobacteria、Chloroflexi で、どの系からも比較的高い割合で検出され、また、それぞれの細菌構成も類似していたが、クラスター解析の結果、RUN1、RUN2 が別々のクラスターに分類され、2 カ月という比較的短期間の実験であったが、リアクターの運転条件が菌叢構成に大きな影響を与えていることが確認された。また、Proteobacteria の中では、



(i) Acidobacteria group 6 (mb2424), (ii) Solibacterales, (iii) Chloracidobacteria RB41 Ellin6075, (iv) *Rhodococcus* sp., (v) Chitinophagaceae, (vi) Caldilineaceae, (vii) *Nitrospira* sp., (viii) Pirellulaceae, (ix) *Planctomyces* sp., (x) Rhizobiales, (xi) Comamonadaceae, (xii) *Meiothermus* sp.

図-9 菌叢解析結果 (外側：門レベル、内側：属レベル)

RUN2 の流入部付近を RUN2-1、流出部付近を RUN2-2 と区別している。

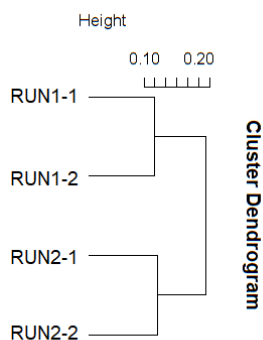


図-10 サンプル間のクラスター解析
(属レベル)

Alphaproteobacteria、Betaproteobacteria、Gammaproteobacteriaの順で検出され、RUN1では平均14.7%、6.0%、3.1%の検出割合であったのに対して、RUN2では平均16.0%、8.8%、3.2%とRUN1に比べ若干高い割合で検出された。Proteobacteriaに限ったことではないが、細菌叢の違いはRUN1とRUN2の運転条件の最も異なる部分である曝気方式に対する細菌の酸素要求性の違いによるものと思われる。属レベルの分類では、Pirellulaceae科(Planctomycetes門)に近縁な細菌が最も高く、次いで、同じくPlanctomycetes門に属するPlanctomyces sp.がどの系からも高頻度で検出され、特に、RUN1はRUN2に比べ高頻度で検出された。通常の下水処理プロセスにおける活性汚泥からはPlanctomycetes門が高頻度で検出されることは極めて稀で、優占化していた細菌は、後段処理という低BOD下における貧栄養的な環境を好む好氣的従属栄養細菌であると思われる。Planctomycetes門には嫌氣的アンモニア酸化(Anammox)細菌が含まれるが、今回、菌叢解析を行ったサンプルからは、Anammox細菌として知られるBrocadia属やScalindua属は検出されなかった。Planctomyces sp.の次に多く検出されたのは、Caldilineaceae科(Chloroflexi門)に含まれる細菌で、どの系からも3.1-6.0%の割合で検出された。一般的に、Chloroflexiは糸状性細菌で、下水処理場においてはバルキングの原因細菌とされるが、膜分離活性汚泥法等からも検出されており、難分解性有機物の分解に関与する種もいることが報告されており、本実験系においても難分解性物質の分解に関与している可能性が考えられる¹⁴⁾。また、Actinobacteria門は、RUN1、RUN2ともに、流入部付近で多く、後段では検出割合が低下した。Mycobacterium属のような多環芳香族化合物を

分解すると考えられる細菌は、医薬品のような難分解性物質の分解に寄与しているものと考えられる¹⁵⁾。Alphaproteobacteria綱Rhizobiales目に含まれる細菌も全ての系から検出された。Rhizobiales目には、紅色非硫黄光合成細菌および絶対好気性光合成細菌が含まれ、細胞が固形物に付着すると、その一端から新しい細胞が出芽状に伸びて菌糸状になるものも知られている。そのため、微生物担体から高頻度で検出されたと考えられる。未分離培養門であるDeinococcus-Thermi門に含まれるMeiothermus sp.は、RUN1-1、RUN2-1に比べ、RUN1-2、RUN2-2で、より多く検出された。Meiothermus sp.は一般に化学合成有機従属栄養細菌であるが、一部、硝酸呼吸することが知られている。

4. まとめ

4.1 下水処理水に残存するLASの微生物担体処理

- 1) LAS濃度が0.75~1.3mg/Lの流入水を微生物担体処理したところ、流入水中のLASは約2時間の処理で環境基準の河川・生物特Aで設定された基準値0.02mg/Lの10倍濃度(0.2mg/L)以下となった。
- 2) 微生物担体処理におけるLAS除去を1次反応と仮定し反応係数 k_1 (1/h)を求めたところ反応槽水温11℃は反応係数1.19、反応槽水温21℃は1.24が求められた。
- 3) 反応槽の水温が11℃、21℃の反応槽でLAS除去率90%を得るのに必要な処理時間(HRT)は約2時間、99%では約4時間であった。
- 4) 微生物担体処理における水温の影響について、反応槽水温が11℃と21℃でLAS除去特性を比較したところ、LAS除去速度に大きな違いはみられなかった。

4.2 下水処理水に残存する医薬品等のスポンジ担体処理

- 1) HRTの増加によってAZM、CAM、TCSの除去率改善がみられた。
- 2) AZM、CAMは分解菌が多く保持されると考えられるRUN2の条件で除去率が高い結果となった。
- 3) TCSは吸着が主な反応と考えられ、生物が更新されるRUN1の条件はRUN2のような担体当たりの生物付着量が多く生物の入れ替わりが少ないと考えられる条件に比べ除去率が高い結果となった。
- 4) 医薬品等の生物分解しにくい微量化学物質では、同じような好気性生物処理であっても、対象物質ごと

に適した処理条件があると考えられ、担体付着生物の SRT（固形物滞留時間）によると考えられる。

- 5) それぞれの系から採取したサンプルの菌叢解析の結果、0.1%以上の割合で検出されるリードについて、近縁な種が同定できた。各菌叢構造は互いに類似するも、それぞれの環境に適した細菌構成に変化していることが示唆された。

参考文献

- 1) 小森行也, 岡本誠一郎. 下水処理における直鎖アルキルベンゼンスルホン酸(LAS)の除去特性, 第 50 回下水道研究発表会講演集, 346-348, 2013.
- 2) H. Temmink, Bram Klapwijk, Fate of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) in activated sludge plants, *Water Research*, 38, 903-912, 2004.
- 3) 小森行也, 岡本誠一郎. 実下水処理場における直鎖アルキルベンゼンスルホン酸 (LAS)の除去特性, 第 51 回下水道研究発表会講演集, 307-309, 2014.
- 4) 小森行也, 岡安祐司, 鈴木穰. 下水処理における医薬品(92 物質)の除去特性, 45 回下水道研究発表会講演集, 91-93, 2008.
- 5) 成宮正倫, 奥田隆, 中田典秀, 山下尚之, 田中宏明, 佐藤和志, 末岡峯数, 大岩俊雄. 下水処理過程における医薬品類の存在実態と挙動, 環境工学研究論文集, 46, 175-185, 2009.
- 6) Koya Komori, Kouki Murayama, Arata Harada, Yuji Okayasu, Mizuhiko Minamiyama and Yutaka Suzuki. Occurrence of 92 Pharmaceuticals in wastewater and their environmental risk in Japan. 4th EWA/WEF/JSWA specialty conference cutting-edge technologies and best practices on sewerage globally leading 21st century, 87-90, 2012.
- 7) 香川千絵, 菊田友弥, 浦瀬太郎. 医薬品の除去に対する膜分離活性汚泥法分離膜の付加効果, 水環境学会誌, 28(3), 207-210, 2005.
- 8) 浦瀬太郎, 佐藤孝太. ナノろ過膜による医薬品の阻止特性, 水環境学会誌, 28(11), 657-662, 2005.
- 9) 尾崎博明, 池嶋規人, 深見晃司, 児戸睦尚, 松井三郎. 低圧逆浸透膜による医薬品類及び身体ケア製品由来物質 (PPCPs)の分離特性と影響因子, 環境工学研究論文集, 44, 275-282, 2007.
- 10) 金一昊, 山下尚之, 田中宏明, 田久保剛, 岩崎達行. U Vおよび UV/H₂O₂ を用いた連続処理実験での下水 2 次処理水中の PPCPs の除去特性, 環境工学研究論文集, 44, 283-290, 2007.
- 11) 谷口省吾, 尾崎博明, 山田修. 多孔質セラミックス電極を用いた排水中医薬品の電気分解処理, 環境工学研究論文集, 44, 299-305, 2007.
- 12) 中村明広, 八十島誠, 小森行也, 高菅卓三, 岡本誠一郎. 下水中 LAS の保存性, 第 23 回環境化学討論会講演要旨集, 549-550, 2014.
- 13) 金子洋輔, 對馬育夫, 南山瑞彦, 中村知弥, 大日向祐介, 山浦研二郎, 永松真一. 微生物担体による微量化学物質の処理性の検討と菌叢解析, 第 54 回下水道研究発表会講演集, 922-924, 2017.
- 14) Yuki Miura, Yoshimasa Watanabe, and Satoshi Okabe. Significance of Chloroflexi in Performance of Submerged Membrane Bioreactors (MBR) Treating Municipal Wastewater. *Environmental Science and Technology*, 41(22), 7787-7794, 2007
- 15) Ainhua Rubio-Clemente, Ricardo A. Torres-Palma, and Gustavo A. Peñuela. Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous environment by chemical treatments: A review. *Science of the Total Environment*, 478, 201-222, 2014.

13.2.2 公共用水域における消毒耐性病原微生物の管理技術に関する研究（公共用水域へ及ぼす越流水の影響評価と対策技術の提案、高度処理法などによる病原微生物の不活化・除去の向上評価）

担当チーム：材料資源研究グループ（資源循環担当）

研究担当者：重村浩之、諏訪守、李善太

【要旨】

社会活動に重大な影響を及ぼす新たな感染症の発生に伴い、法改正による監視強化や水循環基本計画に基づく新たな衛生微生物指標等に着目した環境基準等の目標に関わる調査研究、合流式下水道について必要に応じた対策の実施、さらには感染症拡大を防止するなど地域に貢献できる下水道システムの構築が望まれている。

本研究は、平成 28～33 年度にかけ、①消毒耐性を有する病原微生物に対応した代替指標の提案、②公共用水域へ及ぼす越流水の影響評価と対策技術の提案、③高度処理法などによる病原微生物の不活化・除去の向上評価、④リスク要因に応じた管理技術の提案、の各項目を達成目標に掲げ実施するものである。29 年度は、上記②、③の達成目標に関わる調査・研究として、実態調査に基づき合流式下水道越流水対策技術の 1 つである雨天時活性汚泥法のノロウイルス（Norovirus:NoV）削減効果を明らかにした。また、活性汚泥法による NoV の除去効率向上要因の解明のため、活性汚泥中のタンパク質量と NoV の除去効果を評価した。

その結果、雨天時活性汚泥法による NoV 負荷の削減効果は、反応タンク内の MLSS 濃度に依存している傾向が見られた。活性汚泥処理による NoV の除去効果に活性汚泥中のペプチド量が深く関与している可能性が示唆された。

キーワード：合流式下水道越流水、ノロウイルス、タンパク質

1. はじめに

グローバル化にともなう多様な感染症を含め水系感染症拡大防止に貢献できる下水道システムの構築は、社会的優先度の極めて高い課題として、評価、対策技術を早急に確立する必要がある。従来、大腸菌、一部のウイルスを指標として衛生学的評価を行ってきたが、多種多様な病原微生物の出現により、検出・対策技術の評価が困難となることが予想される。分子生物学的手法の発展により、社会活動に重大な影響を及ぼす病原微生物の知見が集積されつつあり、新興感染症の病原微生物として一部のウイルスや、再興感染症として多剤耐性菌などが大きな社会問題^{1) 2)} となっているが、対策手法構築のために必要な除去・消毒感受性の体系化された研究・調査は進んでいない。公共用水域の水質管理のためには、その水質に大きな影響を及ぼす下水処理場にて、多様化する重大な感染症要因である消毒耐性病原微生物への効率的な対応を図る必要があり、包括的な観点に基づく評価手法を構築した上で、対策手法を提案することが必要である。

本研究では、上記を踏まえ、様々なリスク要因に対応した包括的な観点に基づく評価手法の構築と、放流先水利用や異常時・災害時に対応した水処理・消毒技術の開発を目的とするものである。

29 年度は、達成目標である公共用水域へ及ぼす越流水

の影響評価と対策技術の提案に関わる調査・研究として、越流水の対策技術として雨天時活性汚泥法による NoV の削減効果、高度処理法などによる病原微生物の不活化・除去の向上評価に関して、活性汚泥中のタンパク質の存在量と NoV の除去効果を把握した。

2. 研究目的および方法

2.1 公共用水域へ及ぼす越流水の影響評価と対策技術の提案

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。本研究においては、越流水対策技術の 1 つである雨天時活性汚泥法による NoV の負荷削減効果を明らかにすることを目的に、H 市の下水処理場（嫌気好気法を導入：処理フローの概略は図-1）において実態調査を行った。晴天時の受け入れ可能な流入水量である 1Q 分に対し、降雨時には最大の受け入れ流入水量を 3Q とし、2Q 分の流入下水を反応タンクの後段にバイパス流入させ処理を行うことが

できる。本調査では、降雨時の雨天時活性汚泥法の運転直後から終了時まで、流入下水、初沈流出水、二次処理水を採水し NoV 濃度を測定することで、その削減効果を明らかにした。

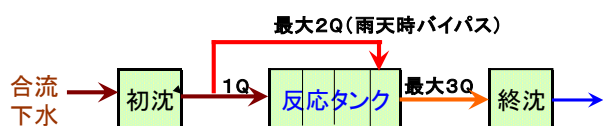


図-1 雨天時活性汚泥法の概略図

NoV の測定は、安定した定量値を得るため試料の濃縮は PEG 沈殿法とした。PEG 沈殿法により回収した沈渣を 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 RT-PCR 法により定量を行った。ウイルス遺伝子の抽出は、ウイルス濃縮液から QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN 社) の抽出カラムを用いたグアニジン法とした。抽出した RNA に微量に含まれている DNA を除去するため DNaseI 処理し、RNeasy MinElute Clean up Kit (QIAGEN 社) でウイルス RNA を精製した。上記で抽出したウイルス RNA 試料 0.5 μ g をランダムプライマー、Omniscrypt RT Kit (QIAGEN 社) を用い全量 50 μ L の系で逆転写反応を行い cDNA を作製し 5 μ L をリアルタイム PCR に供した。NV の検出に用いたプライマー、プローブおよび反応条件は、「ノロウイルスの検出法について」³⁾ 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 QuantStudio™ 12K Flex Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific) 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⁴⁾。他の水質分析項目は濁度、SS とした。

2.2 活性汚泥中のタンパク質と NoV 除去効果の関係

NoV は、活性汚泥法により 2 log 程度の除去効果が得られるが、活性汚泥法の変法である生物学的高度処理法では 3 log 程度に向上する報告がある⁵⁾。感染性胃腸炎の流行により、流入下水中の NoV 濃度が高まることから、放流先の水利用の状況によっては、下水処理場においてより高度な除去効果が必要となることも予想される。

本項では、活性汚泥法による NoV の除去効果を高めるための 1 要因を明らかにすることを目的に、吸着効果に

関与が推定される活性汚泥中のタンパク質と NoV の除去能力との関係を評価した。

処理プロセスが異なる活性汚泥を評価対象として、生物学的高度処理法を導入している I 下水処理場の A²/O 法の好気槽 (A²/O 法)、I 下水処理場内の活性汚泥処理プラントの反応タンクから活性汚泥 (標準法) を各々採取した。各々採取した活性汚泥は、静置沈殿させ上澄液などの取り除き量や流入下水を 10L 添加することで、MLSS 濃度が 500、1,000、2,000mg/L となるように 20L の反応系を 6 ケース (2 種類の活性汚泥×MLSS 濃度が 3 ケース) 作成した。この 20L の反応系を利用し回分実験として 7 時間の曝気混合後に混合液を採取、その後静置沈殿させ上澄液を採水した。回分実験から得られた上澄液については NoV と SS を測定した。NoV の測定法は上記 2.1 と同様である。タンパク質については、20mL の試料を 2,400×G、15 分間、4℃にて遠心分離を行い上澄液と沈渣に分別し、上澄液には滅菌蒸留水を加え 20mL としタンパク質測定用試料とした。沈渣からのタンパク質の抽出は抽出液を添加、超音波処理による手法を参照した⁶⁾。抽出液として 50mM りん酸緩衝液+1%SDS を 20mL になるまで添加、攪拌混合の後、10 分間の超音波処理、その後、遠心分離により上澄液と沈渣に分別、同様の操作を繰り返すことで 2 回の抽出操作を行った。最終的には、遠心分離・抽出処理後に得られた全ての上澄液をタンパク質測定用試料として Bicinchoninic Acid (BCA 法) により測定を行った⁷⁾。BCA 法における標準タンパク質としては、牛血清アルブミンを希釈して利用した。また、上澄液は透析膜により 3KDa 以下、3~10KDa 以下、10KDa 以上に分子量分画を行った後にタンパク質を測定した。

3. 研究結果および考察

3.1 公共用水域へ及ぼす越流水の影響評価と対策技術の提案

降雨時に越流水対策として雨天時活性汚泥法 (嫌気好気法) を導入している H 市下水処理場における NoV 負荷の削減効果の調査結果を図-2 に示す。これは過去に得られた調査データを加え整理した結果である。全調査時における降雨状況は、時間最大降雨量が 2.0~18.5mm、累積降雨量は 9.5~54mm であった。また、最大バイパス流量は 0.3~1.7Q であった。雨天時活性汚泥処理時における NoV 負荷の削減効果は、流入負荷量を 1 とし流入負荷量に対する処理水の負荷量比を求めたところ 0.002~0.115 であった。雨天時活性汚泥処理を実施しなかったとすると、晴天時の受け入れ可能な流入水量である 1Q

分を超過した NoV の負荷が公共用水域へ直接放流されることとなることから、雨天時活性汚泥処理により放流先河川水への負荷を大幅に低減しているものと考えられた。処理水の負荷量比に大きな違いが見られたことから、その要因を推定するため雨天時活性汚泥処理時における反応タンク内の MLSS と NoV 流出負荷の関係について、整理した結果を図-3 に示す。雨天時活性汚泥処理開始当初の反応タンク内（バイパス流入槽の前段での評価）の MLSS は約 1,500~1,700mg/L で推移していたが、NoV の流出負荷は MLSS に依存しており、MLSS を若干高めることで NoV 負荷の削減効果が高まる傾向が見られた。併せて図中に雨天時活性汚泥処理時間を記したが、3.3~13.8 時間の間で NoV 流出負荷との関連性は認められないため、処理時間の長短よりも反応タンク内の MLSS が NoV の除去性に影響を及ぼす可能性が示唆された。

一方、MLSS を若干高めることで雨天時活性汚泥処理時における処理水の SS の変動が懸念されたため、MLSS と処理水の平均 SS を整理し図-4 に示す。MLSS を高めても処理水の平均 SS 濃度は上昇傾向を示しておらず、SS の観点から処理水質へ及ぼす影響は小さいものと考えられた。

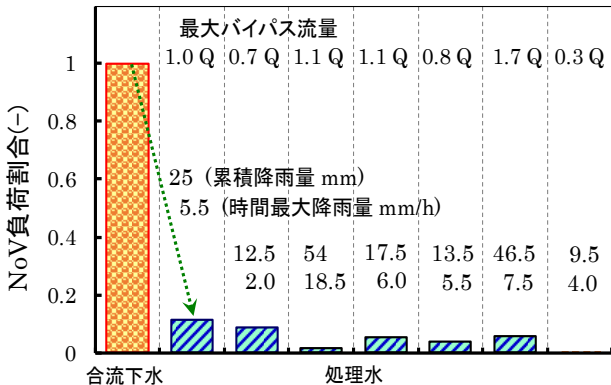


図-2 雨天時活性汚泥法によるNoV負荷の削減効果

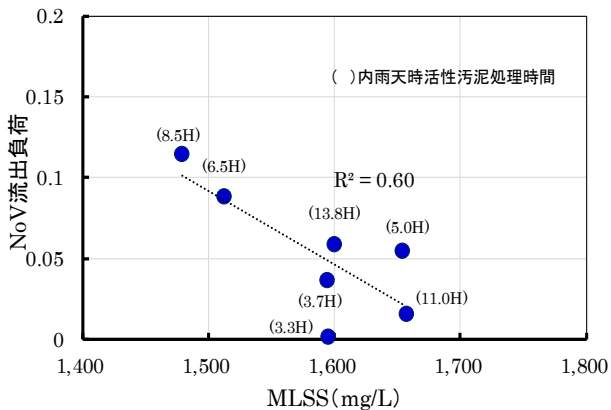


図-3 反応タンク内MLSSとNoV流出負荷との関係

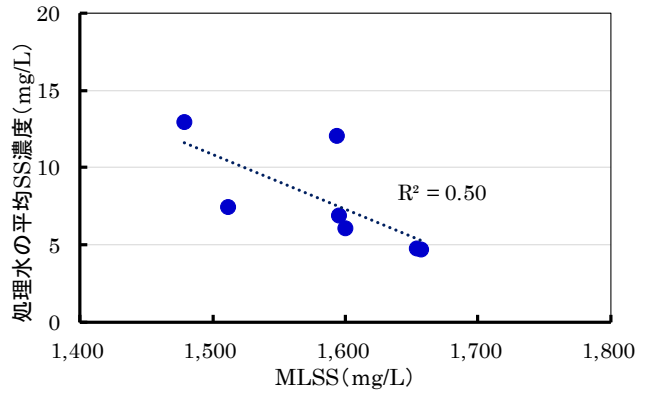


図-4 反応タンクのMLSSと処理水のSSとの関係

3.2 活性汚泥中のタンパク質と NoV 除去効果の関係

回分実験時の MLSS の測定結果を表-1 に示す。曝気混合開始から間もない1時間後において混合液の MLSS を測定したが、設定濃度に対して実際には実験 1 では若干高く、実験 2 では全体的にやや低い状況となった。曝気混合 7 時間後では回分実験開始当初の濃度と比較して若干の濃度上昇が見られたことから、実験時における活性汚泥の性状としては問題がないものと考えられた。

表-1 MLSSの測定結果

設定MLSS濃度 (mg/L)	A ² /O法 MLSS濃度			標準法 MLSS濃度			
	500	1,000	2,000	500	1,000	2,000	
実験1	曝気混合 1h	650	1,200	2,400	580	1,100	2,100
	曝気混合 7h	660	1,300	2,500	600	1,100	2,200
実験2	曝気混合 1h	670	680	1,800	410	770	1,500
	曝気混合 7h	700	730	2,000	440	840	1,600

次いで、回分実験後における混合液のタンパク質量と上澄液中の NoV 濃度との関係について図-5~7、表-2 に示す。なお、分子量分画において 10KDa 以下のものをペプチド、10KDa 以上をタンパク質として整理した。MLSS 濃度が設定濃度に対して実験 2 では低かったため、実験 1 に比較して実験 2 の上澄液の NoV 濃度が全体的に高濃度になったものと推定された。曝気混合 7 時間後における 3KDa 以下のペプチド量と上澄液の NoV 濃度との関係について図-5 に示す。ペプチド量と上澄液の NoV 濃度との間には高い相関関係があり、活性汚泥中のペプチド量の増加に伴って NoV 濃度が低くなる傾向が見られた。ペプチド量とタンパク質量を表-2 に整理したが、3KDa 以下のペプチド量は標準法に比較して A²/O 法では 3~6 倍量多かった。A²/O 法における 3KDa 以下のペプチド量が最大値 (5.8~8.0g/20L) での上澄液の NoV 濃度は $2.9 \times 10^5 \sim 3.6 \times 10^5$ copies/L、標準法の最大値 (0.92~2.1g /20L) では $6.9 \times 10^5 \sim 1.6 \times 10^6$ copies/L となっており、上澄液の NoV 濃度は A²/O 法と標準法で最大で 6 倍程度の違いが見られた。また、標準法における 3KDa

以下のペプチド量が最小値 (0.1~0.22 g/20L) での NoV 濃度は $1.7 \times 10^6 \sim 8.6 \times 10^6$ copies/L に上昇しており、A²/O 法の 3KDa 以下のペプチド量が最大値での NoV 濃度と比較して 30 倍程度高まった。

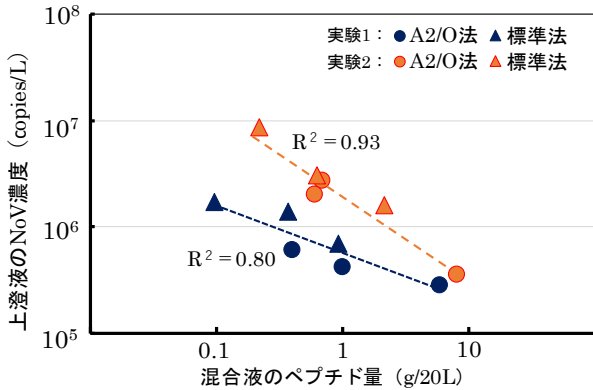


図-5 3KDa以下のペプチド量とNoV濃度の関係

図-6 には 3~10KDa 以下のペプチド量と上澄液の NoV 濃度との関係について整理した。活性汚泥中のペプチド量と上澄液の NoV 濃度との間には相関関係があり、3~10KDa 以下のペプチド量の増加に伴って NoV 濃度が低下していた。3~10KDa 以下のペプチド量は、標準法に比較して A²/O 法では 2~10 倍量多かったが、3KDa 以下のペプチド量よりも全体的には 1 オーダー程度低い状況にあった。

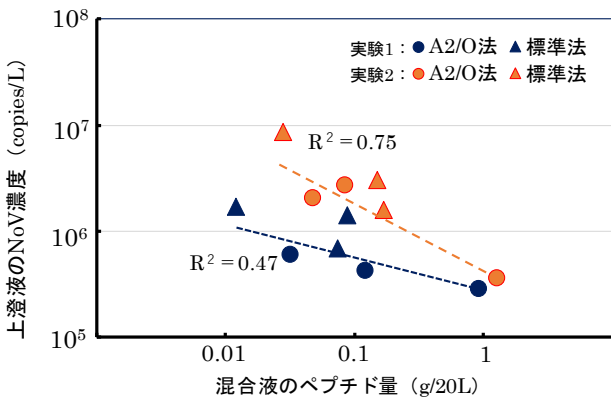


図-6 3~10KDa以下のペプチド量とNoV濃度の関係

分子量分画を 10KDa 以上としたタンパク質との関係について整理した結果を図-7 に示す。タンパク質量の増加により NoV 濃度の低下傾向が見られた。標準法に比較して A²/O 法の活性汚泥は、10 KDa 以上としたタンパク質量が 1.2~2.5 倍量多くなっていた。

A²/O 法の活性汚泥は、標準法に比較してタンパク質やペプチドの含有量が多く、特にペプチド量に大きな違いが見られた。これらの結果から、活性汚泥による NoV の吸着除去効果にペプチド量が深く関与している可能性が示唆された。

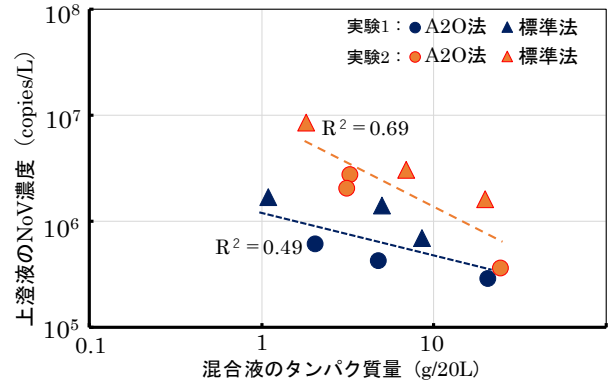


図-7 タンパク質量(10KDa以上)とNoV濃度の関係

表-2 ペプチド量とタンパク質量の比較

		実験1 (g/20L)	実験2 (g/20L)	A ² /O法/標準法の比 (最小と最大の比)
3KDa以下 (ペプチド)	A ² /O法	0.40~5.8	0.60~8.0	3~6倍
	標準法	0.10~0.92	0.22~2.1	
3-10KDa以下 (ペプチド)	A ² /O法	0.03~0.93	0.05~1.3	2~10倍
	標準法	0.01~0.09	0.03~0.17	
10KDa以上 (タンパク)	A ² /O法	2.1~21.0	3.1~24.0	1.2~2.5倍
	標準法	1.1~8.5	1.8~20.0	

4. まとめ

本研究は、様々なリスク要因に対応した包括的な観点に基づく評価手法の構築と、放流先水利用や異常時・災害時に対応した水処理・消毒技術の開発を目的とするものである。29年度は、実態調査に基づき合流式下水道越流水対策技術の1つである雨天時活性汚泥法の NoV 削減効果を明らかにした。また、活性汚泥法による NoV の除去効率向上要因の解明のため、活性汚泥中のタンパク質量と NoV の除去効果を評価した。以下に得られた結果を示す。

「公共用水域へ及ぼす越流水の影響評価と対策技術の提案」

- 雨天時活性汚泥法による NoV 負荷の削減効果は、反応タンク内の MLSS 濃度に依存している可能性が示唆された。
- 反応タンク内の MLSS を高めても処理水の SS は上昇傾向を示しておらず、SS の観点から処理水質へ及ぼす影響は小さいものと考えられた。

「高度処理法などによる病原微生物の不活化・除去の向上評価」

- 活性汚泥中のタンパク質量とペプチド量の増加に伴って、上澄液の NoV 濃度が低くなる傾向が見られた。
- A²/O 法と標準法において、活性汚泥中のペプチド量に大きな違いが見られたため、NoV の吸着除去効果にペプチド量が深く関与している可能性が示唆された。

謝辞

本研究・調査を実施するにあたり、調査対象とした H 市下水処理場、I 下水処理場の下水道管理者には特段のご配慮・ご協力を頂いた。ここに記して謝意を表します。

参考文献

- 1) G7 伊勢志摩首脳宣言、平成 28 年 5 月 27 日。
- 2) ANTIBIOTIC RESISTANCE THREATS in the United States, 2013: <http://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013/>
- 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) 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。

- 5) 諏訪守、岡本誠一郎、桜井健介 (2010) ノロウイルスの除去率に及ぼす下水処理法の影響因子、下水道協会誌論文集、47 (571)、103-111。
- 6) M. Ras, E. Girbal-Neuhauser, E. Paul, M. Sperandio, D. Lefebvre (2008), Protein extraction from activated sludge: An analytical approach, *Water Res.*, 42, pp1867-1878. 諏訪
- 7) Instruction of Pierce BCA Protein Assay Kit (Thermo Scientific).

13.3 停滞性水域の底層環境・流入負荷変動に着目した水質管理技術の開発

13.3.1 底層環境に着目した停滞性水域における水環境管理技術に関する研究（結氷する汽水湖の生物生息環境への支配要因の機構解明、結氷する汽水湖の貧酸素化予測手法の高度化）

担当チーム：寒地水圏研究グループ（水環境保全）
研究担当者：新目竜一、谷瀬敦、杉原幸樹

【要旨】

汽水性指標生物であるヤマトシジミ資源量保全のため、国内漁場の北限である天塩川水系（天塩川、サロベツ川、パンケ沼）を対象に調査、検討を行った。天塩川水系では塩淡二層構造で塩水遡上しており、塩淡境界標高を本川淡水流量で推定する手法を提案した。この手法による解析の結果、天塩川水系では雨量増加による河川流量の増加によって塩水環境が劣化し、シジミ漁獲量が減少していることが示唆された。流量増加に対する塩水環境の保全適応策として、棚状地形の効果について数値モデルで検討を行った。その結果、淡水の単位幅流量が減少するほど、塩水遡上が助長され、棚状地形の造成が有効であることが示唆された。

次に塩淡境界をもつ汽水湖の網走湖において、塩水層の貧酸素改善を目的に気液溶解装置(WEP)による酸素供給時の水質変化について実水域で実験的な検討を行った。その結果、現地の水に溶存酸素を約 40mg/L まで溶解可能であった。現地の貧酸素水塊には毒性物質である硫化水素が 130mg/L の高濃度で蓄積しており、酸素供給によって水中の硫化水素を固体硫黄へ酸化させる反応が優先して、硫化水素を無害化可能であることが明らかとなった。また、現地に気液溶解装置(WEP)の試験プラントを建設し、運用を開始した結果、実水域においても任意水深に酸素供給が可能であり、硫化水素の無害化が可能であることが確認された。

1. 河川汽水域について

ヤマトシジミ(以下シジミと略す)は我が国における重要な水産資源であるが、国内の生産量は1970年の5.6万トンピークに減少を続け、2012年では0.8万トンにまで減少し、2015年まで1万トンほどで推移している¹⁾。国内のシジミ漁場の北限である天塩川水系(天塩川、サロベツ川、パンケ沼)においても生産量が減少しており、特にパンケ沼では深刻な問題である。シジミの生息や再生産のためには、塩分濃度、水温、溶存酸素、底質粒度組成が重要であることが知られている²⁾。湖沼においてはシジミ資源量の改善を目標に様々な研究が行われている。中村ら³⁾のシジミの環境耐性や産卵条件など生態学的研究や鶴田ら⁴⁾は数値モデルによる資源量推定や産卵環境評価を報告している。一方で、天塩川の河川域では塩水遡上の実態⁵⁾については報告例があるが、シジミとの関係性は不明である。また、関口・水野⁶⁾は木曾川・揖斐川・長良川においてシジミの生息分布より浮遊幼生の着底環境を保全することが重要としているが、河川流量や塩分遡上に関して指標化には至っていない。河川域ではシジミ生息環境に対する知見が不十分であり、有効な保全策を検討するうえで課題となっている。

既往研究において天塩川⁷⁾およびサロベツ川⁸⁾の調査結果から、天塩川において塩水遡上は塩淡二層構造を有し、塩淡境界面の標高は淡水流量で推定できることがわかっている。さらに、サロベツ川の塩水遡上頻度は集水域降雨量の増加による河川流量の増加によって減少していること、シジミ漁獲量は河川流量の増加と逆相関にあることを明らかにした。これらの結果はシジミ資源量の保全策に河川流量を指標とできることを示唆している。

そこで、本研究は天塩川水系におけるシジミ資源量を回復するための対応策を検討した。本研究では塩分に着目し、好適塩分環境を保全する対応策について検討する。まず、過去10年の塩分観測結果、シジミ資源量、河川流量について関係性を整理し、一次元二層モデルによって河道形状の違いによる塩水遡上状況の変化を検討した。

2. 河川汽水域の対象流域

本研究は図-1 に示す北海道北部に位置する天塩川(流路延長 256 km、流域面積 5,590 km²)、および天塩川の支川であるサロベツ川(流路延長 85 km、流域面積 655.4 km²)、およびサロベツ川に接続するパンケ沼(水面積 3.55 km²、平均水深 1.5 m)を対象とした。

天塩川では河口から 19.4 km まで塩水が遡上することが知られており⁵⁾、この間の河床勾配は 1.5 万分の 1 ほどである。なお、塩水が遡上する区間に合流する主な支川はサロベツ川のみである。また、河口から 30 km 上流に設置されている円山(まるやま)水位・流量観測所では水位に長周期の潮位影響がみられるが、塩水の遡上は確認されていない。なお、図-1 中 KP は河口からの距離を表し、KP7.8 は河口から 7.8 km 上流であることを示す。

サロベツ川は国立公園であるサロベツ原野内を流れ、ラムサール条約に登録された湿原域も含まれる。天塩川河口から 11.8 km で合流し、合流点から 6 km 上流でオンネベツ川、12 km 上流でパンケ沼が接続している。またパンケ沼にはパンケオンネベツ川が流入している。サロベツ川の河床勾配は 5 万分の 1 以下であり、合流点から 20 km ほどまで潮汐による水位変動が確認されている。パンケ沼におけるシジミ漁獲量は 1985 年の 520 トンをピークに減少し、近年では 5 トンを下回り、2015 年からは休漁となっている。なお、本研究での観測データは著者らが観測したものに加え、国土交通省北海道開発局留萌開発建設部(以下、留萌開建)が観測したデータを整理したものである。

3. 天塩川水系における塩水遡上の特徴

3. 1 遡上形態

本研究ではシジミの再生産回復を目指し、産卵に有利となる塩分濃度に着目した。図-2 にサロベツ川での塩水遡上状況を示す。2015 年 6 月 25 日に鉛直観測機器 (JFE アレック Compact-CTD) を用いて、200 m 毎に合流点からパンケ沼までの塩分分布の観測結果である。図に示すように明瞭な二層構造を形成して塩水が遡上している。また、既往⁷⁾の観測結果(2015 年 7 月～10 月)から天塩川本川の流速分布を図-3 に示す。下層の黄～赤色部は遡上する流れを示し、塩水は明瞭な二層構造を形成することを確認している。天塩川水系では高潮時以外は潮汐周期によらず、KP3.0 より上流で二層構造が常に観測され、境界付近の塩分濃度は 40 cm 間で 1 PSU 程度から 33 PSU に変化する。なお、出水時には塩水が押し流される挙動は確認したが(図-3 青色部参照)、塩淡境界が破壊・混合する挙動は観測できていない。このように天塩川水系では本川および支川でも塩水遡上は明瞭な塩淡境界を有する弱混合型で遡上している。著者は天塩川では、KP19 ほどまで海水が遡上し、塩分濃度 30PSU を塩淡境界として境界標高は本川流量で定式化できることを報告した⁷⁾。図-4 に天塩川 KP7.8 における境界標高と円山観測所流量(以下、円山流量)の関係を示す。境界標高は淡水流量の対数型で近似でき、淡水流量が多いほど境界標高が低下する。サロベツ川合流点である KP11.8 での留萌開建によ

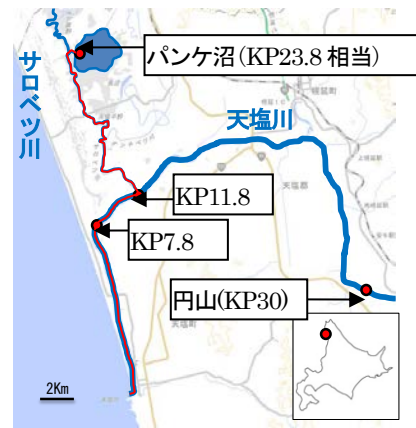


図-1 対象位置図

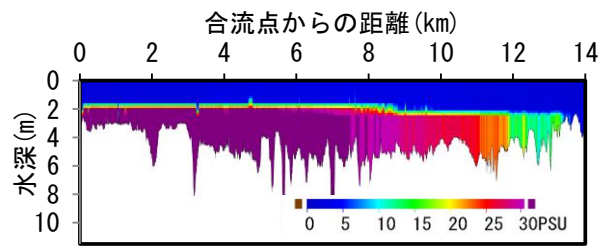


図-2 サロベツ川の塩水遡上状況(2015/6/25)

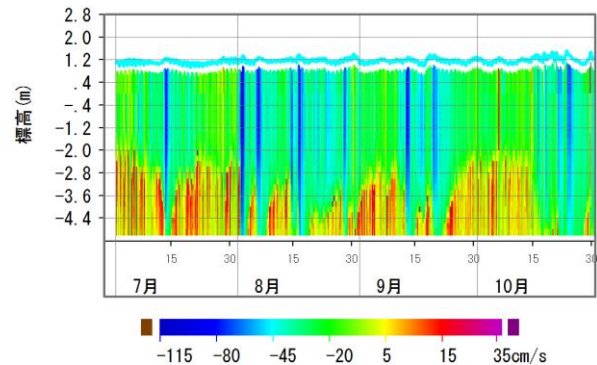


図-3 天塩川 KP7.8 流速の鉛直分布の時系列変化

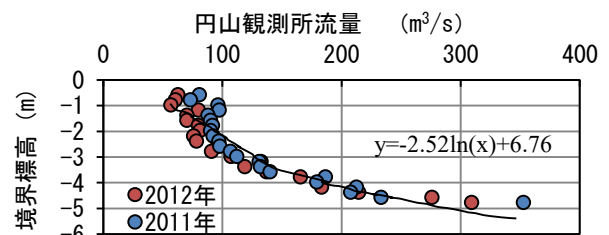


図-4 天塩川 KP7.8 の境界面標高と流量の関係

る超音波流速計の調査結果からも、塩淡境界標高は立式可能であり、境界標高の縦断推定状況を確認した。KP7.8 と KP11.8 の境界標高の推定式から両地点間の直線外挿することで縦断的な境界標高位置を推定した。2006 年 6 月 19 日に留萌開建で実施された音響測深機による密度境界の縦断観測結果と本研究での塩淡境界標高推定値は、図-5 に示すように実測値とほぼ一致した。この手法によ

り河道形状が大きく変化しないかぎり、上流1点の流量データによって縦断的な塩淡境界を推定でき、かつ過去の塩水環境データの復元が可能であることが示唆される。

3. 2 地形の特徴

次にサロベツ川に塩水が遡上するための条件を整理する。図-6に天塩川からサロベツ川、パンケ沼に至るまで(図-1中の赤線ルート)の最深河床標高の縦断面図を示す。KP11.8でサロベツ川が合流し、天塩川では標高-5.3mであるが、サロベツ川では標高-3.2mである。塩水遡上が二層流を形成する特徴からサロベツ川に塩水遡上するためには、天塩本川の塩淡境界標高が標高-3.2m以上でなければならない。また、パンケ沼入口のKP23.8相当では河床標高は-2.8mとなり、パンケ沼に塩水が遡上するには、少なくとも天塩川の塩淡境界標高-2.8m以上が必要であることが示唆される。現状の河川断面形状では塩淡境界標高-2.8m以上のためには天塩本川の淡水流量が $110\text{ m}^3/\text{s}$ 以下の条件が必要となる。

3. 3 河川流量との関係

パンケ沼の塩分値と天塩川の淡水流量(円山流量)の経年的な関係を図-7に示す。なお、塩分は冬期間結氷でデータが取得されていないため、塩分と流量は各年4月1日~11月30日までの平均値をまとめた。図より天塩川の平均流量が多いほどパンケ沼の平均塩分値が低く、平均流量が少ない年は平均塩分値が高い傾向が見られる。そこで円山流量の年平均値に対してパンケ沼の平均塩分値および年最大塩分値を図-8に示す。2013年($350\text{ m}^3/\text{s}$ の塩分最大値参考)のデータなど、やや分散が大きくなるが、平均流量が増加するほど平均塩分および最大塩分値は低下する傾向を示した。なお、サロベツ川流量についても同様の解析を行ったが、サロベツ川の流量観測点において全層逆流する場合もあり、分散がさらに大きくなる結果となるが、相関関係は不明瞭ではあるものの本川と同様の傾向を示した。

次に図-7中で特徴的な2007年と2010年について年間の変動を示す。図は円山流量およびKP11.8の塩淡境界標高(円山流量より推定)とパンケ沼の塩分値を示す。2007年(図-9)は6月1日より塩分が上昇し、7月20日に18 PSUまで上昇を続け、8月3日の降雨によって塩分値が低下するが、9月15日には19 PSUまで上昇した。このときの河川流量は6月1日より $80\text{ m}^3/\text{s}$ 程で推移し、8月3日まで目立った降雨がなく、10月まで低流量を維持した年であった。合流点に相当するKP11.8の推定境界標高をみると約-3 m以上のとき塩分が上昇傾向を示し、-3 m以下で塩分が低下していた。境界標高と塩分値の上下動は12時間~3日程度の時間差がみられるが、境界標高が-3 mを下回るとパンケ沼の塩分は速やかに低下して、淡水

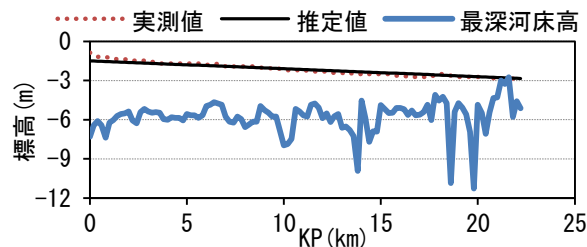


図-5 天塩川における境界面標高の縦断変化

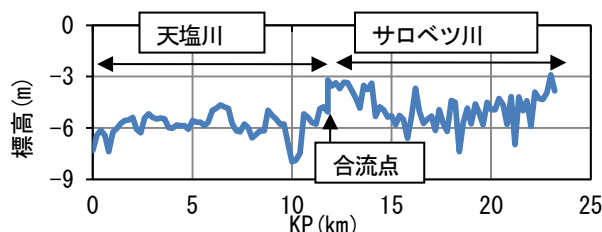


図-6 河口からパンケ沼までの河床標高縦断面図

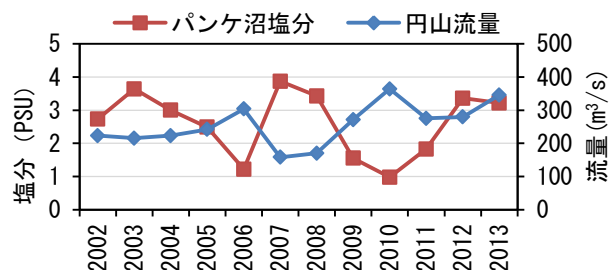


図-7 パンケ沼塩分と円山流量の平均値の変動

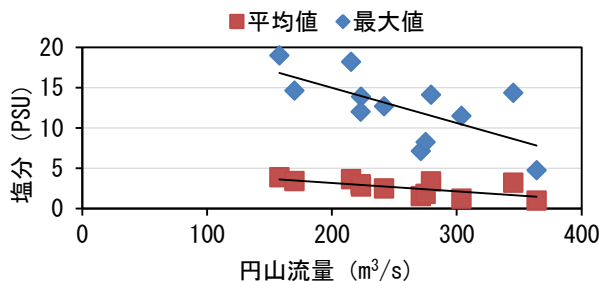


図-8 パンケ沼塩分統計値と円山流量平均値の関係

化する挙動を示していた。

次に、2010年(図-10)は融雪出水が長引いた上、6月28日に降雨があり流量は $150\text{ m}^3/\text{s}$ 以上を維持していた。7月20日に高強度の降雨があり、9月26日まで $200\text{ m}^3/\text{s}$ 前後の流量を維持していた。パンケ沼の塩分もほぼ上昇することなく、夏期でも3 PSU程までしか上昇せず、継続期間も2日ほどで塩分が低下する年であった。このときの境界標高は-3 m以上となることは2007年に比べて少なくなっていた。

これらの挙動から天塩川水系の塩水環境は円山流量によってほぼ評価可能であることが確認された。このことは本川の淡水流量によって、支川域を含めて塩分環境を推定可能であることを示している。一方で、パンケ沼で

のシジミ再生産を想定すると⁹⁾塩分濃度の上昇と高塩分濃度の継続時間の長期化が必要と考えられる。

既往研究より^{7) 8)}、パンケ沼はサロベツ川の自流淡水量が卓越するため淡水化する水理構造を有している。天塩川とサロベツ川の近年の平水流量は約 130 m³/s、30 m³/s であり、30 年前は約 100 m³/s、10 m³/s で平水流量の増加が顕著である。特に夏期の高水温期に降雨量が増加傾向であるため、サロベツ川流量の増加によって淡水化が助長され、天塩川流量の増加によって塩水遡上が抑制される傾向であることが推定される。そのためシジミ再生産が減少し、漁獲量の減少となる可能性を示唆した。サロベツ川の流量増加は塩水遡上を抑制するが、天塩川の集水域が大きいことや塩水遡上は天塩川から分流することなどから、天塩川の影響が強いと考えられる。また、図-11 にパンケ沼の年間シジミ漁獲量とサロベツ川および天塩川(円山観測所)の平均流量の関係を示す。河川流量の増加に伴い、シジミ漁獲量が減少する傾向を示している。この結果からも、天塩川水系の流量増加によって、塩分環境が劣化してシジミの再生産が抑制されていると推察される。前述のように、パンケ沼に自然に塩水遡上するには天塩川流量が 110 m³/s 以下が望ましく、降雨など流量増加の影響を効果的に低減できる方策が重要な

る。このような流量増加に対応するためには、ダムや遊水池など流量制御の手法も考えられるが、本研究では流量が 200~300 m³/s ほどでも塩淡水境界標高を上昇させられる手法の検討を行った。

4. 断面形状による塩水遡上の検討

4. 1 横断形状の変化

図-12 に天塩川 KP7.8 の 1969 年と 2007 年の横断測量成果を示す。KP7.8 の平水位は 0.3m である。1969 年の天塩川では標高-3 m 前後に棚状地形が存在し、水深が 2 m 以上ある水面幅が 2007 年より 50 m ほど広がった。このような地形的な違いは KP0~11.8 までの間に所々にみられる。棚状地形が消失した理由は不明であるが、河川改修や鋤簾漁、土砂堆積などの影響と考えられる。天塩川の塩水遡上は二層構造のため、断面形状の影響を反映した塩水遡上計算を行って、効果を検討した。

4. 2 一次元二層流モデルによる効果の試算

4. 2. 1 計算条件

本研究では棚状地形の効果を把握するため、定性的な検討を行う。採用したモデルは吉川ら¹⁰⁾の一次元二層流モデルとした。詳細は割愛するが、淡水層と塩水層の連続式と運動方程式は式(1)~(4)、摩擦勾配は式(6)、(7)である。 h [m] : 水深、 Q [m³/s] : 流量、 B [m] : 川幅、 i_0 : 河床勾配、 i_f : 摩擦勾配、 ρ : 液体密度で Knudsen 式、 f_i :

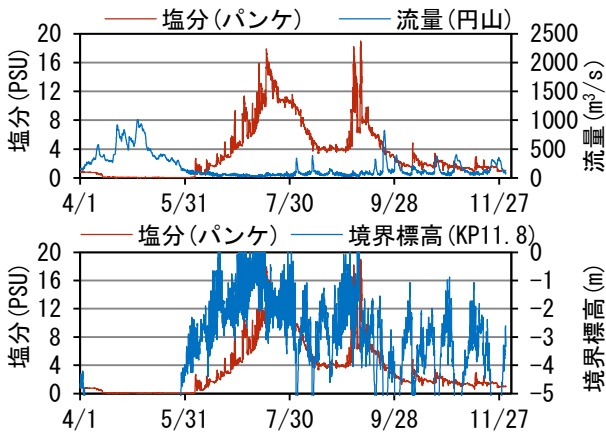


図-9 円山流量、パンケ塩分、境界標高の変化(2007)

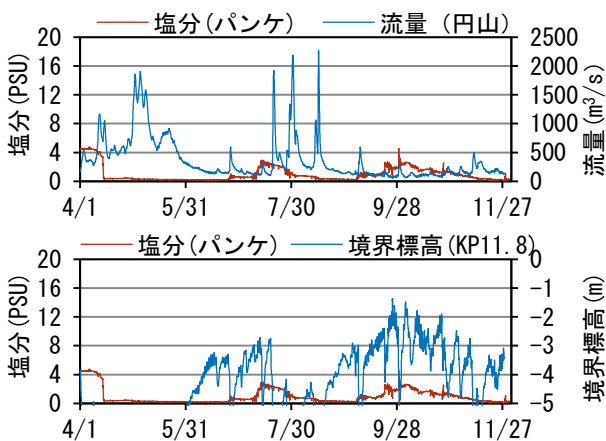


図-10 円山流量、パンケ塩分、境界標高の変化(2010)

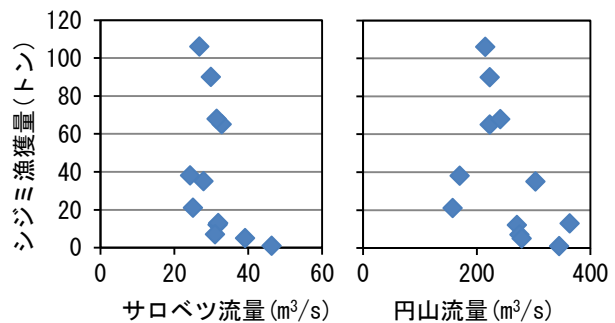


図-11 パンケ沼シジミ年漁獲量と平均流量の関係
(左：サロベツ川、右：天塩川)

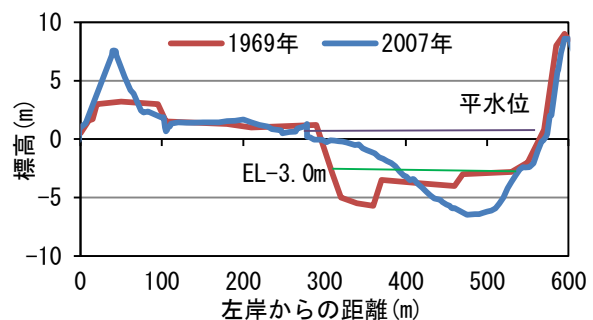


図-12 KP7.8 における横断形状の比較

界面抵抗係数でフルード数とレイノルズ数の関数である金子式、 f_b : 河床粗度抵抗係数で Manning 式で算出した。添え字 1 は淡水層、2 は塩水層を表す。

$$\frac{\partial h_1}{\partial t} + \frac{1}{B} \frac{\partial Q_1}{\partial x} = 0 \quad (1)$$

$$\frac{\partial h_2}{\partial t} + \frac{1}{B} \frac{\partial Q_2}{\partial x} = 0 \quad (2)$$

$$\frac{\partial u_1}{\partial t} + u_1 \frac{\partial u_1}{\partial x} + g \left(\frac{\partial h_1}{\partial x} + \frac{\partial h_2}{\partial x} - i_0 \right) + g i_{f1} = 0 \quad (3)$$

$$\frac{\partial u_2}{\partial t} + u_2 \frac{\partial u_2}{\partial x} + g \left(\frac{\partial (1-\varepsilon)h_1}{\partial x} + \frac{\partial h_2}{\partial x} - i_0 \right) + g i_{f2} = 0 \quad (4)$$

$$\varepsilon = \frac{\rho_2 - \rho_1}{\rho_2} \quad (5)$$

$$i_{f1} = \frac{f_i}{2gh_1} (u_1 - u_2) |u_1 - u_2| \quad (6)$$

$$i_{f2} = \frac{f_b}{2gh_2} u_2 |u_2| - \frac{f_i}{2gh_2} (1-\varepsilon)(u_1 - u_2) |u_1 - u_2| \quad (7)$$

ここで、吉川らのモデルは一次元のため淡水層と塩水層の川幅が同一である。そこで、棚状地形は図-13 に示すように淡水層の単位幅流量を考慮し、一次元の淡水流量に割り戻して設定した。ここで、棚状部の摩擦勾配、塩淡水境界が棚上となった場合の算出、棚の高さの影響など課題が多いが、淡水層の川幅による塩淡水境界標高の影響については定性的に評価できると考え、棚状部に関する摩擦勾配等は考慮しないこととした。

計算条件は塩水川幅(B_2)は 250 m、河床勾配 1 / 15000、Manning 粗度係数 0.025、矩形断面を縦断距離 26 km、全水深 6 m で水路を設定した。下流端の境界条件である潮位は実測値をもとに 0.3 ± 0.5 m の 24 時間周期の正弦波で与え、上流端の境界条件である淡水流量を単位幅流量見合いで $0.1 \sim 1 \text{ m}^2/\text{s}$ の間で試算を行った。遡上する塩水濃度は変化しないとして 33 PSU とし、淡水と塩水の水温は 15°C で一定とした。 $\Delta x = 200 \text{ m}$ 、 $\Delta t = 1 \text{ s}$ とし任意上流端流量を一定とした場合の 7 日後の出力値を結果とした。図-14 に算出結果例を示すが、図中の塩水到達距離および KP7.8 相当の塩淡水境界標高をとりまとめた。

4. 2. 2 算出結果

図-15 に単位幅流量と塩水到達距離の関係を示す。塩水到達距離は最長で 18 km に到達する。しかし単位幅流量が $0.4 \text{ m}^2/\text{s}$ で 9 km 未満となる結果となった。また、単位幅流量 $0.4 \text{ m}^2/\text{s}$ が単位幅流量に対する塩水の遡上距離の変化量の変曲点となる結果となり、水路幅 250 m では流量規模は $100 \text{ m}^3/\text{s}$ に相当する。実河川の水路幅も約 250 m であり、図-4、図-8 から淡水流量が減少するほど塩淡水境界標高が上昇することから、塩水到達距離がより伸長することが推察される。このように淡水流量が減少するほど塩水遡上が助長される傾向は一致している。

次に図-16 に KP7.8 相当の塩淡水境界標高と淡水の単位

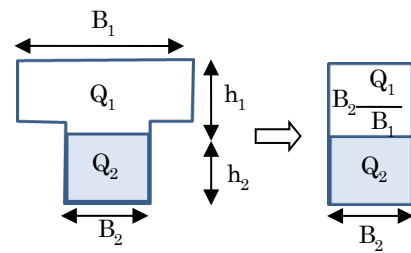


図-13 棚状地形の一次元適用模式図

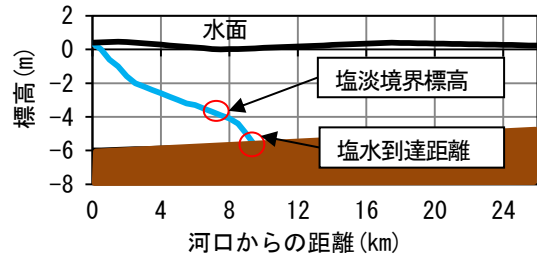


図-14 境界標高計算結果例

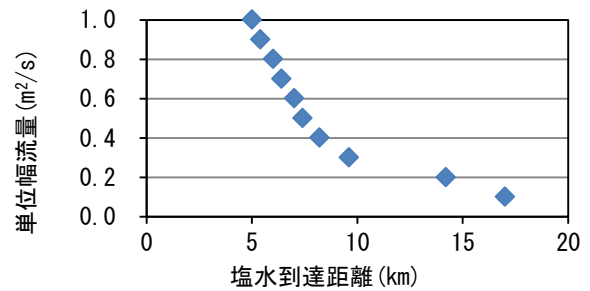


図-15 塩水到達距離と単位幅流量の関係

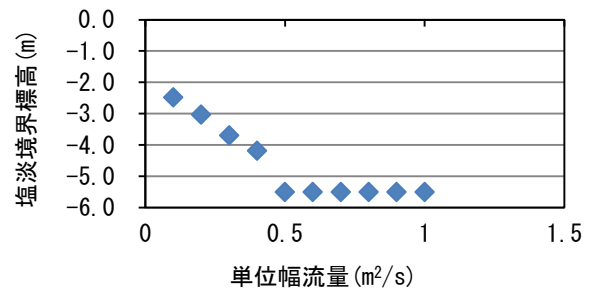


図-16 単位幅流量と塩淡水境界標高の関係

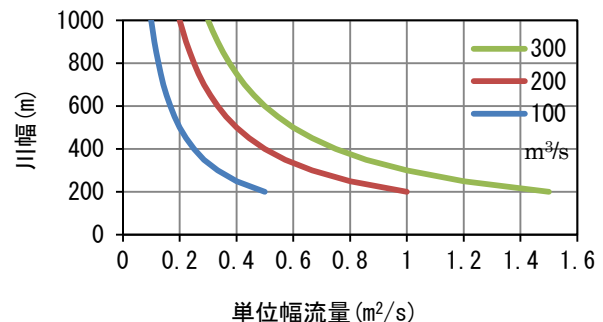


図-17 流量規模毎の単位幅流量

幅流量の関係を示す。単位幅流量が $0.4 \text{ m}^2/\text{s}$ まではKP7.8に塩水が到達しているため、境界標高が算出される。単位幅流量が $0.5 \text{ m}^2/\text{s}$ 以上では塩水が到達しないため、塩淡水境界標高は河床高になっている。このとき単位幅流量が小さいほど塩淡水境界標高が高くなる結果となった。実際の天塩川では単位幅流量 $0.4 \text{ m}^2/\text{s}$ のとき、KP7.8の塩淡水境界標高は -2.5 m 、塩水到達距離は 14 km 程であり、計算結果は塩水遡上を過小評価している。しかし、淡水流量の増加によって塩淡水境界標高が低下し、塩水到達距離が短縮するなど、定性的な挙動は概ね評価できると思われる。ここで、算出される全水深(h_1+h_2)は単位幅流量が大きいほど深くなるが、今回の計算では、流量の変化幅に対する全水深の差は 3 cm ほどであった。淡水の単位幅流量が減少すると h_1 が減少するが、補うように h_2 が増加するために塩水遡上が助長される結果となった。また、塩淡水界面の摩擦係数は淡水層のフルード数とレイノルズ数で算出している¹²⁾。単位幅流量が減少すると淡水流速も減少するため界面摩擦も減少するため、塩淡水境界標高が上昇し、全水深がほぼ変化しないと推察される。以上の結果から、塩水遡上を促進させるためには淡水の流速を減少させること、単位幅流量を減少させること、淡水川幅を拡幅することが有効であることがわかった。

4. 2. 3 塩分供給方策の検討

淡水の単位幅流量を減少させることで、塩淡水境界面標高が高くなることが示唆された。近年の降雨の増加、平水流量の増加傾向¹⁰⁾、さらに図-10の挙動からも、淡水流量 $200 \text{ m}^3/\text{s}$ 程度でも塩水が遡上可能であれば、パンケ沼の塩分濃度も産卵に適した環境を、より長期間維持できる可能性がある。そこで流量規模毎に川幅と単位幅流量の関係図を図-17に示す。図中には淡水流量が $100 \text{ m}^3/\text{s}$ 、 $200 \text{ m}^3/\text{s}$ 、 $300 \text{ m}^3/\text{s}$ の場合を示す。ここで淡水流量が $100 \text{ m}^3/\text{s}$ のときの塩淡水境界標高を淡水流量が $200 \text{ m}^3/\text{s}$ になった場合でも維持するためには、単位幅流量を $0.4 \text{ m}^2/\text{s}$ とする必要がある。このとき淡水層川幅が 500 m 必要となる。現状の断面を考慮(図-12参照)すると、高水敷を掘り下げることで対応しうる堤外空間は存在する。しかしながら、河口から縦断的に水面幅を拡幅することは現実的ではない。加えて本研究で行った計算では棚状部の水深は h_1 となるため、概念的には上流に向かい棚状部が塩淡水境界標高に沿って深くなる欠点がある。今後はより詳細に地形効果を検証する必要はあるが、単位幅流量を減少させることで、塩水遡上が促進される傾向は変化しないと考えられる。よって川幅の拡幅、棚状地形の造成は塩水遡上の促進に一定の効果があると想定される。さらに河積の増大、生物生息場としての副次的な効果も期待される。また、パンケ沼への塩水供給のため、天塩川とサロベツ川の合流部およびパンケ沼入口部の掘削も考えられる。しかし、パンケ沼の水理構造¹⁰⁾から淡水化

傾向が卓越するために、掘削により淡水化が助長されることが想定される。この点からも本川での流量増加に適応した塩水遡上促進策が重要となる。

5. 湖沼汽水域について

汽水湖は塩水と淡水が共存する特殊な環境のため、生物生息環境として重要な水域である。特に内水面漁業においてはサケ、マス、ヤマトシジミなど2014年の約3万tの漁獲量の内、汽水域の漁獲量割合は約70%を占めている¹⁾。このなかで、シジミ漁獲量は1970年の5.6万トンを一挙に減少を続け、2012年では0.7万トンにまで減少している¹⁾。シジミ漁獲量のうち約60%は北海道と青森県で漁獲されており、その漁場はいずれも結氷する汽水湖である。シジミの生息や再生産のためには、塩分濃度、水温、溶存酸素、底質粒度組成が重要であることが知られている²⁾。しかし、既往研究^{11),12),13)}においては主に夏期の挙動について検討され夏期に発達する貧酸素水塊および塩分の挙動に注目し、シジミの生息環境を評価している。加えて、ダム、湖沼、海域など停滞性水域における底層貧酸素化は漁業や水質の面で多くの問題となっている。これら底層溶存酸素は生物生息環境の保全・再生を目的として新たに環境基準に加えられている。

これまでも底層貧酸素改善を目的に多くの研究がなされ^{14),15),16)}、現地観測や貧酸素化プロセス、モデル化による数値計算などが行われている。また酸素供給等による直接的な改善に関する研究も数多く行われている。小松ら¹⁷⁾は淡水池の隔離水界において、表層水を底層に供給した場合に溶存酸素(DO)がわずかに回復し、栄養塩濃度の低下が起こることを報告している。道奥ら¹⁸⁾は、ダム貯水池でマイクロバブルによる曝気によって、DO回復と栄養塩低下、鉛直混合の促進が起こることを報告している。今井ら¹⁹⁾は高濃度酸素水製造装置によってダム貯水池で酸素供給試験を実施し、酸素供給と栄養塩濃度の低下を報告している。これらは、淡水域の酸素供給は実施可能であり、酸素を供給することで栄養塩や金属などの溶出が抑制されると結論されている。一方で、塩水が存在する、汽水湖や海域においては研究・報告例が非常に少なく、酸素供給による効果については十分な知見が得られていない。特に塩水と淡水の境界を有する汽水湖においては、曝気式の酸素供給では鉛直混合が促進され、淡水層の塩水化や富栄養化の促進となることが予想され、均一な塩分状況の水域とは異なる対応が求められる。本研究では汽水湖の網走湖を対象水域として貧酸素改善の試験を行った。網走湖での、底層貧酸素の改善を目指し、水中型気液溶解装置(WEP：特許第3849986号、松江土建(株)・土木研究所)を用いて、酸素供給時に起こる化学的变化について現地で実験を行った結果をまとめる。

6. 現地観測

6.1 対象水域

対象水域の網走湖(図-18参照)は北海道北東部に位置し、面積32.3km²、最大水深16.1m、平均水深6.1m、貯水量約2億3千万m³の海跡湖である。主な流入河川は網走川と女満別川であり、網走川が流入河川水量の約97%を占めている。平均水位はEL.0.39mであり、1971年から大きな変化はない。また、下流部では網走川を通じてオホーツク海に接続し、海水が遡上して湖内では塩水と淡水の二層構造を形成している。また、網走湖では内水面漁業が重要な産業となっており、ワカサギ、シラウオ、シジミなど国内でも有数の漁獲量である。しかし、塩水層では貧酸素化が進行し、アオコや青潮が毎年のように見られるなど、硫化水素やアンモニアなど有害物質の暴露によって度々、重大な被害が生じていた。塩水域の制御のため、塩水遡上制御を目的に下流部に可動式の塩水調整ゲートが建設されている。加えて、網走湖は例年12月～3月まで湖面が全面結氷する。なお、2016年8月17日～23日に台風7、9、11号が連続して通過し、既往最大水位(EL.2.4 m)を更新する洪水が発生した。

6.2 洪水による水質への影響

網走湖において、2016年8月17日～23日に台風7、9、11号が連続して通過し、既往最大水位(EL.2.4 m)を更新する洪水が発生した。2016年9月5日～9月12日に洪水の影響を確認するため湖内全域の任意18地点で鉛直投下式の水質計(Hydrolab社、DS5)を用いて、湖内の水質分布観測を実施した。このとき網走湖の水位はEL.0.9～1.5 mである。

図-19に縦断測線(図-18中①-②断面)のDOと塩分の鉛直水質分布を示す。図より標高-7 mに明瞭な境界を有し、上層に淡水、下層に塩水となる水塊が平面的に均一に分布しており、塩水層では無酸素状態となっていた。ここで、観測実施時は既往最大の洪水流入が起こった後であるにも関わらず、無酸素塩水が残留しており、このことは網走湖の底層塩水は現状流況では、流出や交換等が起こりづらいことを示唆している。

また、網走湖では塩淡水境界位置がEL.4～6 m(平水位で水深4～6 m)ほどで恒常的に塩淡水二層構造が存在しており、上層は淡水、下層は無酸素塩水となっている。

このため、下層の酸素改善を行うときに上昇流を伴う手法では淡水層が塩水化する問題がある。また、貧酸素塩水中は高濃度の硫化水素が含まれ、青潮等の原因となっていることから、底層水の鉛直拡散は好ましくない。そのため網走湖では、貧酸素改善においては塩水層のみの改善が要求される。矢島・増木²⁰⁾はWEPによる高濃度酸素水塊は水平方向に進行することを示しており、汽

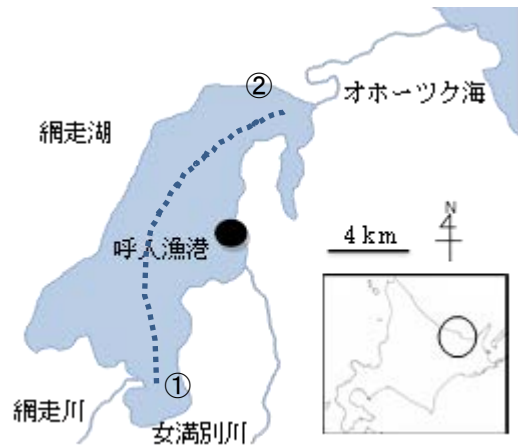


図-18 観測位置図

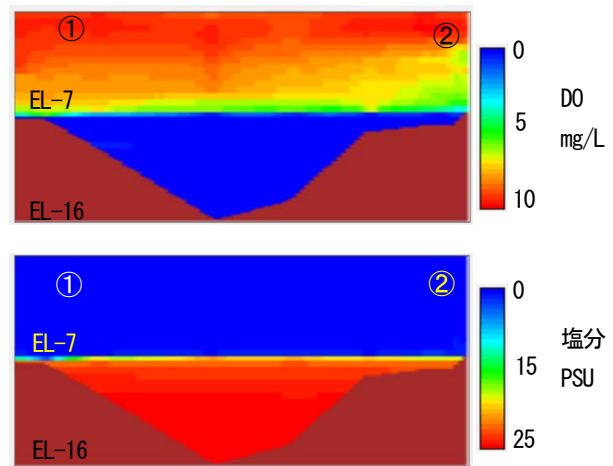


図-19 洪水後水質分布
(上: DO、下: 塩分)

水湖において塩水層のみの酸素改善には有利であると考えられる。

7. 現地実験

7.1 実験方法

呼人(ヨビト)漁港近傍でWEPを用いた酸素供給実験を実施した。図-20に現地実験の実験位置、採水位置およびAB断面図を示す。呼人漁港沖水深10 m(岸壁から約200 m西)のA地点で水深9 mより、水中ポンプで試験水を90 L採取し、安全確保のため漁港内で各種実験を船上で行う工程を繰り返して試験水を確保した。

写真-1に実験装置の全景を示す。吐出量30 L/minの小型WEPを作成し、90 Lの試験水を開放水槽内で循環させ、酸素ガス(99.5%)を1気圧条件で溶解させた。水槽内のDO、濁度、ORPの変化を水質計で1秒間隔、約3時間モニタリングした。加えて、一定時間毎にシリンジで試験水を分取し、大気に接触しないように室内に輸送して化学分析を行った。なお、原水として標高-8 mの塩水、標高-4 mの淡水を分取して、ブランクとした。

また、化学分析において、日本工業規格(JIS)に準じた

水質分析では硫化物イオンを定量できるが、硫化水素に限定できないため、菅原ら²¹⁾の手法を用いて、酢酸亜鉛固定法により硫化水素を定量した。なお、JIS 準拠により分析した水質項目は全有機炭素(TOC)、全リン(TP)、オルトリン酸態リン(PO₄)、全窒素(TN)、アンモニウム態窒素(NH₄)、亜硝酸態窒素(NO₂)、硝酸態窒素(NO₃)であり、底質分析項目は TOC、TP、TN、硫化物である。

さらに、WEP により 3 分間酸素を溶解した試験水の酸素消費速度を計測し、加えて A 地点でエクマンバージ採泥機を用いて標高-10 m の底泥を採取し、WEP により 3 時間酸素を溶解させた試験水と底泥とを接触させた場合の酸素消費速度を計測した。このとき B 地点で標高-6 m の底泥も採取して分析を行った。

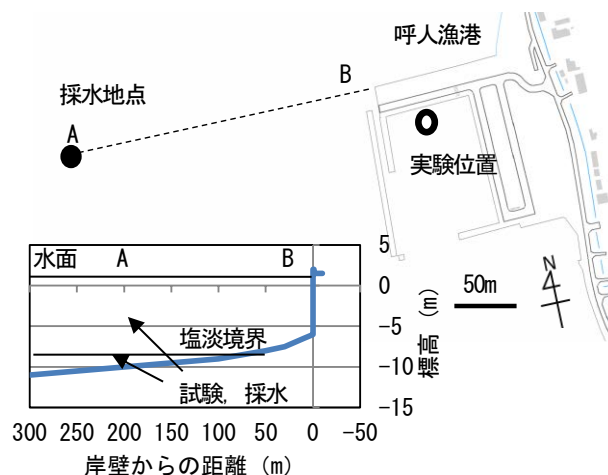


図-20 実験位置図

7. 2 実験結果

WEP による試験水への酸素供給結果を図-21 に示す。酸素供給から 10 分ほどで DO は 40 mg/L まで上昇し、50 分ほどで一旦濃度が低下した後、以降は 41 mg/L でほぼ一定値となった。実験時の試験水水温は 17°C であり、大気条件下の DO 飽和濃度は 9.3 mg/L であることから、酸素分圧がほぼ 100% で吸気した場合には最大で 46.5 mg/L ほどになることを考慮すると、WEP は 50 分ほどで試験水を飽和可能であることが確認された。

次に濁度をみると 50 分まで単調上昇し、その後一定値となった。目視による変化(写真-2 参照)として、初期の試験水は黒色半透明であったが、酸素供給直後から変色しはじめ、120 分後には完全に白濁して、微粒子状物質が確認された。対応するように ORP も 5~50 分までは -290 mV でほぼ一定値、50 分以降は上昇傾向を示し、140 分後には -10 mV となった。この間は DO が過剰に存在しても ORP は負値を示していた。これらの挙動は、複数回試行しても同様であった。また酸素濃度を変化させた場合でも変化点(図-21 中の場合は 50 分)に至るまでの時間に差が生じるものの挙動は同様であり、WEP による酸素供給時の初期変化の再現性が確認された。

表-1 に原水(淡水と塩水)、酸素供給 120 分後の試験水の水質分析結果をまとめる。表中 ND は未検出を意味する。まず、現状の網走湖の淡水と塩水の水質を比較すると、TOC は同一であるが、リンや窒素の濃度は大きく異なり、特に PO₄ と NH₄ は顕著であった。このことから有機物は塩淡によらず、均一に分布しているが、栄養塩は塩水層に高濃度に蓄積されていることがわかる。このときの DO は淡水層では 9 mg/L 程、塩水層ではゼロであった(図-19 参照)。次に酸素を供給した場合、PO₄ と NH₄ が若干濃度低下を示したが、他の項目に変化は見られなかった。特に NO₂、NO₃ は酸素を供給しても検出されなかった。次に現地で採取した底泥を直径 8 cm のアクリル管に入れ底泥を乱さないように、図-21 の実験後の試験

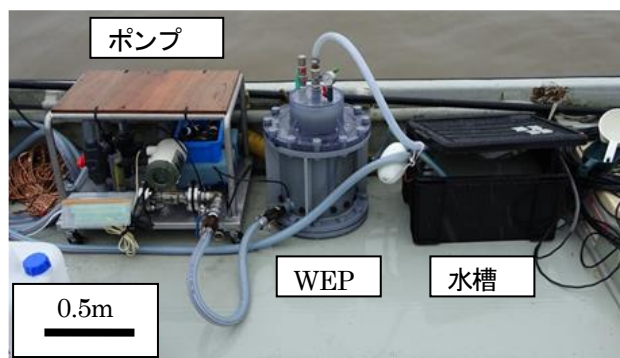


写真-1 実験装置全景

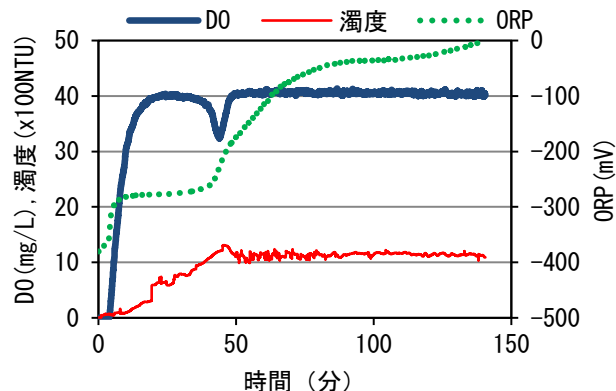


図-21 水槽中の循環酸素供給結果



写真-2 実験時の試験水の様子
(左：実験開始時、右：酸素供給 120 分後)

水を注水して 3 日間 5°C 暗条件で静置した後の試験水の分析結果をみると TOC が低下、TP、PO₄ は顕著に低下、

TN、NH₄ は上昇する結果となった。この場合も NO₂、NO₃ は検出されなかった。なお、3 日後の試験水の DO は 1 mg/L 以下となっており、白濁物質はほぼ消失していた。この結果から、試験水のみの方は酸素を供給しても有機物やリン、窒素に大きな変化は見られず、他の物質が反応していることが確認された。一方で酸素を飽和させた試験水を底泥と接触させた場合には水中のリンが急激に低下する挙動が確認され、底泥表面の酸化によって PO₄ が吸着されたと推察される。

次に酸素供給時の硫化水素の経時変化を図-22 に示す。初期試験水中には 130 mg/L の硫化水素を含有しており、酸素供給開始から直線的に減少し、50 分でゼロとなった。図-21 から酸素供給後 0~50 分の間は供給した酸素は硫化水素の酸化に使われ、硫化水素消失後に次段階の反応が起こっていることが推察される。

ここで、酸素供給によって白濁して濁度が上昇することから、酸素供給後の試験水を 0.45 μm のメンブランフィルターで濾過し、濾別された固体について蛍光 X 線分析(XRF)および X 線回折分析(XRD)を行った。XRF は日本電子製 JSX-3400RII を使用し、含有元素の定性分析を実施した。測定条件は、測定径約 10 mm、測定ライブタイムを 120 秒とし、真空条件で 2 次フィルターを使用せずに測定を行った。測定試料は、ポリエチレン製の試料容器に 6 μm 厚のポリプロピレン膜を張り、その膜上に試料片を置き測定した。XRD は PANalytical 製 Empyrean を用い、X 線回折線プロファイルの測定を実施した。測定条件は、走査ステップ 0.026°、1 ステップ走査時間を 176 秒、回転試料台を 60 rpm とし、測定範囲 3°-65°(2θ) で実施した。測定試料は粒径 10 μm 程度まで粉碎した後、ガラス製試料ホルダーに充填し、測定に供した。

XRF の結果から、白色固体は硫黄 84%、ケイ素 8%、リン 3%、鉄 1%、その他 4% で構成されることを確認した。XRD の結果から、白色固体はほぼ立方晶単純格子の硫黄で、立方晶面心格子の塩化ナトリウム、斜方晶系の硫黄が含まれることが確認された。よって酸素供給時に生成する白色固体は、ほぼ立方晶単純格子の硫黄であり、不純物として塩や土砂を含有することを確認した。

生成した固体硫黄の挙動を写真-3 に示す。酸素供給条件を変えた 3 本の試料を 10 日間静置した前後の比較である。写真中の左瓶は試験原水、中瓶は原水に 3 分酸素供給して初期 DO を 40 mg/L にした酸素一時供給のもの、右瓶は原水に 3 時間以上酸素供給して酸素飽和にしたもので、各試料は気泡が入らないよう充填して冷暗所で静置した。原水は 10 日後も変化は観察されなかった。一時供給は供給直後に固定硫黄が生成し、白濁していたが、10 日後には固体硫黄が消失して外観は原水とほぼ変わらず、やや黒色が退色していた。酸素飽和したものは充填直後に固体硫黄が分散して白濁していたが、10 日後に

表-1 水質分析結果

(mg/L)	原水 (淡水)	原水 (塩水)	酸素供給 後(塩水)	底泥接触 3日(塩水)
TOC	9.7	10	10	8.8
TP	0.12	4.3	4.3	1.3
PO ₄	0.086	4	3.8	1.1
TN	1.3	22	22	25
NH ₄	0.1	21	20	23
NO ₂	0.06	ND	ND	ND
NO ₃	0.91	ND	ND	ND

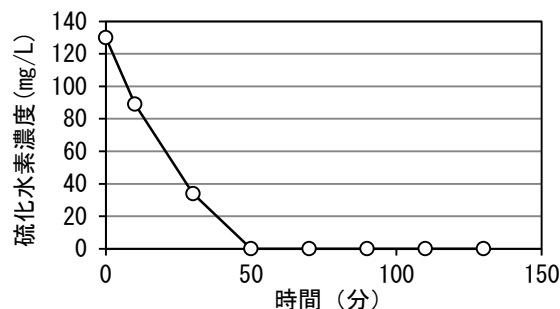


図-22 酸素供給時の硫化水素濃度変化



写真-3 固体硫黄の経時挙動

(左：実験開始時、右：静置 10 日後)

* 左瓶：原水、中瓶：酸素一時供給、右瓶：酸素飽和

表-2 底質分析結果

	TOC (mg/g)	TP (mg/g)	TN (mg/g)	硫化物 (mg/g)
EL-10m	40	1.3	5.7	2.8
EL-6m	1	0.33	0.26	ND

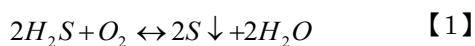
は固体が沈降し、上澄みは無色透明となっていた。このことから、生成した固体硫黄は貧酸素状態で硫化水素として再溶解すること、酸素飽和を維持することで硫黄の沈降除去が可能であることが推察される。

次に表-2 に底質分析結果をまとめる。EL-10 m は常に無酸素塩水に接触している状態で黒色ヘドロ状の底泥、EL-6 m は淡水に接触している状態で茶色泥状の底泥である。全ての項目で EL-10 m の底泥が高い値を示し、無酸素条件下において有機物の分解が進行していないことが推察される。なお、3 時間酸素供給した試験水と 3 日間接触させた後の底泥も分析を行ったが、表面からの厚さによる分取をしなかったため、EL-10 m の値とほぼ同値であった。ここで、表-1 の原水(塩水)の TP を 1 とし

TOC : TP : TN : 硫化水素の比をとると 2.3 : 1 : 5.1 : 30.2 である、同様に表-2 の EL-10 m の TOC : TP : TN : 硫化物の比は 30.7 : 1 : 4.4 : 2.2 である。両者を比較すると、リンと窒素は同様の割合であり、水-底泥間で物質構成比が維持されている。一方で TOC と硫黄成分は、TOC は底質側、硫黄成分は水側に存在比が偏っており、有機炭素は固体として底泥に保持され、硫黄成分は硫化水素として水中に溶存してことが示唆される。WEP の現地実装を考慮すると、固体硫黄の底泥沈降や有機炭素の酸化分解などが想定され、これらがどのように変化し、生物相に影響するかを明らかにすることが今後の課題となる。

7. 3 酸素供給時の変化

以上の実験から、無酸素塩水層に酸素供給を行ったときの、数分から数日の極めて初期に起こる反応は硫化水素が酸化し、固体硫黄の析出が優先することが明らかとなった。このとき硫化水素は 1 時間弱で完全に酸化され、有機物や栄養塩に明瞭な変化が見られないことがわかった。特に硝化の影響は確認されず、NH₄ の酸化は化学的過程ではないことが示唆される。また、析出した硫黄は貧酸素化にともない溶解する挙動が見られ、無酸素塩水中に酸素供給したときの反応は中間体を無視し、最終的には【1】式のように推察される。



【1】式から硫化水素の無害化には反応を右辺に偏らせることが有利であり、酸素の供給および沈殿硫黄の除去が有効と考えられる。

7. 4 酸素消費速度

次に、無酸素塩水のみの場合および底泥と接触した場合について、酸素消費速度を算出した。

図-23 に無酸素塩水に 3 分酸素供給した水のみ DO 変化および無酸素塩水に 3 時間以上酸素供給を行い酸素濃度が一定となった試験水を直径 8 cm のアクリル管を用いて底泥と接触させた場合の DO 変化を示す。

水のみの場合、初期 DO を 40 mg/L としても約 1 時間で DO がゼロとなった。この酸素消費は硫化水素の酸化によるものと思われ、【1】式からも酸素濃度に依存した可逆反応であるため、酸素消費速度は 1200 秒までの傾きを採用し、 21.2×10^{-3} mg/L/s となる。複数回試験を行い、試験水のみ酸素消費速度は 1.8 ± 0.05 g/L/day であった。

次に底泥接触させた場合の酸素消費速度は 4800 秒までの傾きから 8×10^{-4} mg/L/s となる。ここで接触面積は 48 cm²、導入水量は 1 L であり、底泥の酸素消費速度は 13.8 ± 0.52 g/m²/day であった。

この酸素消費速度より、供給した酸素量と釣り合う面

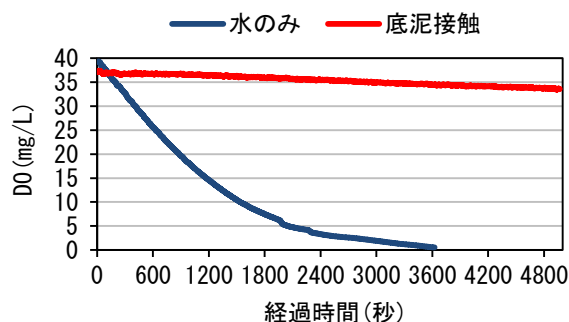


図-23 酸素消費試験結果

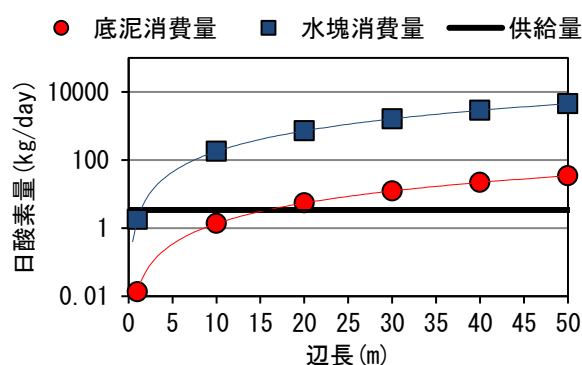


図-24 消費、供給酸素量の試算

積を概算した。1 辺が任意長さの正方形、厚さ 1m の直方体中の日当たりの酸素消費量を算出し、図-24 に示す。WEP の加給酸素量は吐出量 : 60 L/min、DO : 40 mg/L として、3.4 kg/day であり、釣り合う正方形長は水のみで 2m、底泥で 15m である。この結果は現状の底層環境に酸素供給しても水塊のみで 1 日あたり 2m 四方、底泥のみでも 15m 四方の面積で消費されてしまうことを示唆している。WEP を実装した場合にも、DO 変化を検出できる範囲が吐出点から 1 日あたり 2m 程度ずつ拡大していくと想定され、DO 改善の発現範囲が非常に小さいことが推察される。しかし継続して酸素供給を行うことで、水や底泥が酸化される、拡大速度は増加することも期待される。

8. 試験プラントの現地施工

図-20 に示す呼人漁港に WEP の試験プラントを施工した。図中 B から 160m 沖側の河床標高-8m 地点に WEP 本体を水中係留して、吐出口標高は-7.3m とした。漁港内天場先端に酸素精製機等の陸上施設を施工し、160m の電源ケーブルおよび送気パイプを水中本体に接続した。

水中本体のポンプは 60 L/min の吐出量である。写真-4 に WEP の外観および陸上施設の設置機器状況を示す。本体は 3m×3m×2m ほどの大きさで、吸入口が貧酸素水塊に常在できる標高になるよう現地で調整して施工した。陸上施設は酸素精製機、圧送機や制御盤を組み込み、冬

期の運転も考慮して凍結防止策として加熱器や気温制御の吸排気設備を付設した。

2017年9月1日より運転およびモニタリングを開始した。2017年の運転は供給酸素濃度95%、24時間連続運転とした。図-25に運転開始3日後の本体設置位置の溶存酸素の鉛直分布を示す。標高-6m以深は塩水無酸素層である。1日後は施工の影響と思われる、境界面の攪乱がみられ、標高-5m~-7mのDOはやや連続的な勾配となっているが、標高-7.3mに明瞭なDOの上昇が観測された。3日後には標高-6mに明瞭なDO躍層を有しながら、標高-7.3mに明瞭なDO上昇が観測された。このとき硫化水素の濃度を分析すると図-26に示す様にWEPで酸素供給した層を中心に底泥付近まで、硫化水素が減少していることが確認された。このように実水域においても、任意の水深に酸素供給が可能であり、硫化水素の無害化も可能であることが確認された。今後は冬期の運用、効果の範囲や継続時間等について、引き続き観測を継続していく。

9. まとめ

本研究で得られた成果を以下にまとめる。

- ・天塩川水系において本川および支川のサロベツ川を含めて、高潮時を除き、潮汐によらず塩水遡上は塩淡二層構造を有する。
- ・天塩川において任意地点における塩淡境界標高を淡水流量の対数関数形式で推定可能とした。
- ・パンケ沼への塩水供給条件は天塩川の塩淡境界標高が-2.8m以上、本川流量が110 m³/s以下である。
- ・降雨増加によって河川流量が増加傾向にあり、塩淡境界標高が低下して、パンケ沼が淡水化していることが示唆される。対応策として本川の河道形状の効果を数値計算により検討した結果、淡水の単位幅流量を減少させることで、塩水遡上を促進できることが分かった。既往の断面形状から棚状地形にすることで、淡水が棚上部を流下し、塩水遡上が促進されることが示唆された。
- ・網走湖において恒常的に無酸素塩水が滞留し、水質汚濁の要因となっていることが明らかとなった。
- ・網走湖は塩淡境界を有する水理的特徴から貧酸素改善には手法を選定する必要がある。鉛直混合を伴わない酸素供給手法としてWEPを用いることで、選択的な酸素改善が可能であり、硫化水素の無害化の可能性があることが示唆された。
- ・網走湖の無酸素塩水にWEPにより、酸素供給を行った結果、水塊中の硫化水素が酸化され、固体硫黄として析出することがわかった。酸素供給初期には硫化水素が優先して反応し、リンや窒素、有機炭素に変化は見られなかった。



写真-4 試験プラント設置状況
(左: WEP 本体, 右: 陸上施設)

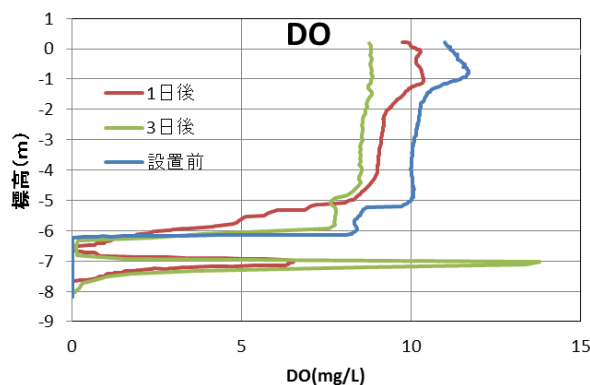


図-25 プラント運用時の実水域の水質変化

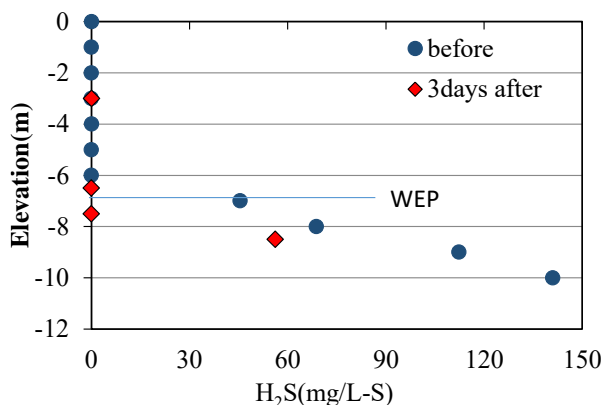


図-26 プラント運用時の硫化水素変化

- ・溶存酸素を飽和している限り、析出した硫黄は沈降除去可能であることがわかった。一方で、析出後に貧酸素化した場合は再度、硫化水素として溶解することが確認された。
- ・溶存酸素を飽和させた水塊を底泥に接触させると、水塊中のオルトリン酸態リン濃度が低下するが、アンモニウム態窒素に大きな変化は見られなかった。実水域での酸素供給時の変化を考えると、水塊中の硫化水素の酸化、底泥表面の酸化、リン酸の吸着により水質が改善されると期待される。
- ・現地に試験プラントを建設した。
- ・実水域でも酸素供給および硫化水素の無害化が確認された。

参考文献

- 1) 農林水産省：内水面漁業生産統計調査，
http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/naisui_gyosei/index.html
- 2) 中村幹雄：宍道湖におけるヤマトシジミ *Corbicula japonica* PRIME と環境との相互関係に関する生理生態学研究、島根県水産試験場研究報告 第9号、1998.
- 3) 鶴田泰士、石川忠晴、西田修三、成田舞、藤原和宏：小川原湖におけるヤマトシジミの繁殖環境について、土木学会論文集、No. 705/II-59、pp. 175-187、2002.
- 4) 安間恵、徳岡隆夫、吹田歩、西村清和：天塩川およびサロベツ川の塩水遡上、LAGUNA、No. 12、pp. 15-22、2005.
- 5) 西田修三、吉田静男：天塩川河口二層流の水利特性、海岸工学研究発表会論文集、第33巻、pp. 601-605、1986.
- 6) 関口秀夫、水野知己：木曾三川流域の汽水域の環境保全と整備方針・整備計画ーシジミ漁業の保全と絡めてー、沿岸海洋研究、第46巻、第2号、pp. 185-206、2009.
- 7) 杉原幸樹、渡邊和好、平井康幸：天塩川におけるヤマトシジミ生息環境に対する塩水遡上の影響、土木学会論文集 B1 (水工学)、Vol. 71、No. 4、I_1117-I_1122、2015.
- 8) 杉原幸樹、平井康幸：サロベツ川の水収支に基づくヤマトシジミ生息環境と流況変化の関係、土木学会論文集 G (環境)、Vol. 71、No. 5、I_79-I_86、2015.
- 9) 佐々木義隆、水野伸也、今田和史、吉田豊、守山義昭、足立伸次：天塩川水系におけるヤマトシジミの人工産卵誘発条件と産卵適期の検討、水産増殖、Vol. 56、No. 2、pp. 211-219、2008.
- 10) 吉川泰弘、阿部孝章、中津川誠、船木淳悟：河川津波による塩水遡上現象に関する研究、土木学会論文集 B2 (海岸工学)、Vol. 71、No. 2、I_403-I_408、2015.
- 11) 池永均、向山公人、大島伸介、吉本健太郎、山田正：網走湖における青潮発生に関する現地観測と数値解析の比較、土木学会論文集、No. 775/II-69、pp. 11-27、2004.
- 12) 梅田信、田中仁、小西絵里子、佐々木幹雄：十三湖における塩分と溶存酸素の変動に関する観測と解析、海岸工学論文集、第55巻、pp. 1051-1055、2008.
- 13) 西田修三、鈴木誠二、中辻啓二：外部攪乱に対する小川原湖の水質応答特性、水工学論文、第50巻、pp. 1333-1338、2006.
- 14) Paul E. Bertram Total Phosphorus and Dissolved Oxygen Trends in the Central Basin of Lake Erie, 1970-1991 Journal of Great Lakes Research Volume 19, Issue 2, 1993, Pages 224-236,
- 15) Antonopoulos, V.Z., Gianniou, S.K. : Simulation of water temperature and dissolved oxygen distribution in Lake Vegoritis, Greece, Ecological Modelling, Vol.160, No.1, pp.39-53, 2003.
- 16) Beutel, M.W., Horne, A.J. : A review of the effect of hypolimnetic oxygenation on lake and reservoir water quality, Lake and Reservoir Management, Vol.15, No.4, pp.285-297, 1999.
- 17) 小松利光、岡田知也、中村由行、中島信一、長谷部崇、藤田和夫、井芹寧：閉鎖性水域底層への表層水供給による水質改善効果、海岸工学論文集、Vol. 46、pp. 1111-1115、1999.
- 18) 道奥康治、小林憂三、青木千夏、原義晴、松尾克美：成層安定度を考慮した深層曝気の必要送気量の推算、水工学論文集、Vol. 52、pp. 1279-1284、2008.
- 19) 今井剛、村上奉行、樋口隆哉、関根雅彦：閉鎖性水域における水質環境が高濃度酸素水の底層部への拡散およびその水質改善に及ぼす影響、環境工学研究論文集、Vol. 45、pp. 121-129、2008.
- 20) 矢島啓、増木新吾：ダム湖における WEP システムから吐出される高濃度酸素水の流動メカニズム、水工学論文集、Vol. 53、pp. 1339-1344、2009.
- 21) 菅原庄吾、鮎川和泰、千賀有希子、奥村稔、清家 泰：砂泥堆積物中溶存硫化物の分析法の開発及びその現場への適用、科学研究費補助金研究成果報告書 (研究番号：19201016)、pp. 40-48、2010.