

## 15. 下水道による水環境への影響に関する調査

水循環研究グループ水質チーム 上席研究員 鈴木 穰  
主任研究員 津森 ジュン  
主任研究員 宮島 潔  
専門研究員 東谷 忠  
専門研究員 山下 尚之

### 1. はじめに

下水道の整備に伴い河川水に占める下水処理水の割合が変化し、下水処理水が放流先河川の水生生態系に与える影響が大きなものとなっている可能性がある。また、これらの整備により都市排水の排出形態が変化し河川の流量や水質そのものにも変化を及ぼしていると考えられる。特に都市域では水資源の再利用に伴い、下水処理水の河川へ占める割合は大きくなっており、再利用比率が 90%を超えるような河川も報告されている。しかしながら、こうした都市河川の実態を明らかにするための実証的調査はほとんど行われていない。

本調査では、下水道の整備が河川流域の変化に与える影響（河川水量、有機物、栄養塩類等の物質の循環等）を把握するとともに、このような変化が河川水質や水生生態系といった水環境に及ぼす影響や、下水処理水中に存在している化学物質、特に女性ホルモン作用を持つ物質（内分泌攪乱物質）が魚類を始めとした水生生物に及ぼす影響について検討するものである。

平成 16 年度は、過年度までに実施した手賀沼に流入する都市河川である大津川及び関連都市排水路における汚濁負荷量の実態調査について整理を行うとともに、下水道整備等の流域条件が水・物質循環に与える影響を検討するため、千葉県の手賀沼流入河川である大津川を対象に解析モデルの構築を試みた。

また、下水処理水が放流先河川の水質に与える影響を評価するため、藻類を用いた AGP (Algal Growth Potential) 試験を用いることとした。下水処理水の流入する都市河川を対象として過年度に適用したマイクロプレートを用いた AGP (Algal Growth Potential) 試験方法について、従来の三角フラスコを用いた試験結果と同等であるかどうかの基礎検討を行った。さらに、下水処理水のエストロゲン作用が魚類に及ぼす影響を調べるため、下水処理場に設置した水槽でメダカを用いた曝露試験を過年度に引き続き実施した。

### 2. 水量・水質の循環機構に関するモデルの構築

下水道整備等の流域条件が水・物質循環に与える影響を検討するため、千葉県の手賀沼流入河川である大津川を対象に解析モデルの構築を試みることにした。

#### 2-1 過年度に実施した実態調査の概要

解析モデルの構築に向けてシミュレーションを行う場合を想定し、過年度に大津川において実施した晴天時、雨天時調査のデータについて、整理を行った。

##### (1) 採水

採水は、晴天時及び降雨時に行い、晴天時に 5 回、降雨時に 3 回行った。

##### ①晴天時調査

晴天時調査は、24 時間連続観測とし、3 時間ピッチで手賀沼に流入する河川、排水路での採水、流量観測及び水質分析を目的として実施した。

##### ②降雨時調査

降雨時調査は、大津川本川、名戸ヶ谷排水路末流、増尾排水路末流の地点で実施した。

調査にあたっては、河川水の採取を行い、採水時に濁度の記録を行い、濁度及び水位の変化で採水サンプルを選定した。1回1地点にあたり15検体の採取を行った。

(2) 水位観測

水位観測は、水位計を大津川本川、名戸ヶ谷排水路末流、増尾排水路末流の3地点に設置して行った。観測データは、2週間に1回の頻度で回収した。

(3) 流量観測

流量観測は、水位-流量の関係を把握するため、水位計を設置している大津川本川、名戸ヶ谷排水路末流、増尾排水路末流の3地点で行った。

流量観測は、「建設省 河川砂防技術基準(案)」に準じて実施した。流量観測の断面は、水位計設置横断面で行うことを基本とし、大津川本川と増尾排水路は、流量が大きくなると河川を横断して流量観測を行うことができないため、上流側の橋上から流量観測を行った。流量観測は、「建設省河川砂防基準(案)」による流量観測によって水文データを収集した。

(4) 水質分析

(1)によって採取した河川試料についてBOD、COD、SS、大腸菌群数、糞便性大腸菌群数等の一般項目及び環境ホルモンの分析を行った。

(5) 調査期間

水位観測、流量観測及び水質調査の調査期間を表-1～表-2に示す。

表-1 調査の実施期間(水質調査)

	第1回	第2回	第3回	第4回	第5回
(晴天時調査)	平成14年 11月5日～6日	平成15年 1月20日～21日	平成15年 2月17日～18日	平成15年 3月12日～13日	平成15年 12月5日～6日
(降雨時調査) 平成15年	5月31日～6 月2日	8月8日～9日	10月21日～23日	—	—

表-2 調査の実施期間(流量観測・水位観測)

	第1回	第2回	第3回	第4回	第5回
流量観測	平成15年 3月7日	平成15年 3月28日	平成15年 4月5日	平成15年 4月19日	平成15年 5月31日
水位観測	平成15年2月15日～6月3日				

(6) 調査地点

水質調査地点及び流量観測地点をそれぞれ図-1及び表-3に示す。

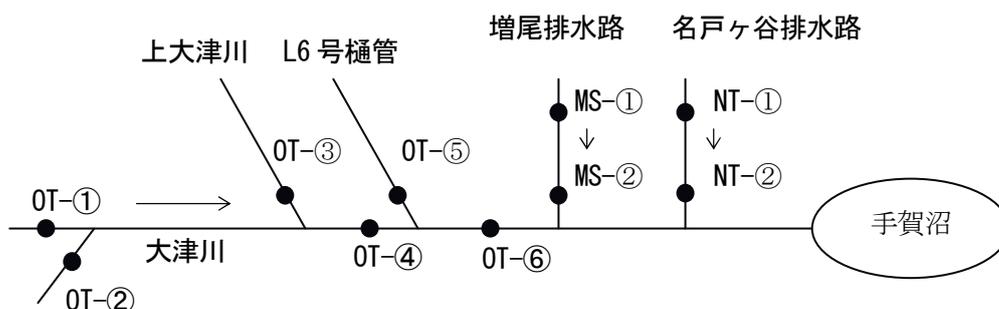


図-1 調査地点(水質調査)

表-3 流量観測・水位観測調査地点

河川	調査地点 No.	調査地点
大津川	OT⑥	末流（下橋下流）
名戸ヶ谷排水路	NT②	名戸ヶ谷排水路末流
増尾排水路	MS②	増尾排水路末流

2-2 モデルの構築

近年、下水道ネットワークを対象に不定流計算を用いた雨水流出解析モデルが広く実用化され、水質を含めたシミュレーションが可能なものが開発されており、ここでは代表的なソフトウェアの中から Wallingford 社の InfoWorks を使用することとした。流出解析モデルの構築には、様々な実測データ（流量、水質）とともに、河道情報、土地利用状況などの流域情報が必要である。InfoWorks は、下水道への適用を想定しており雨水が地表面を流れて下水管網に流入するまでを計算する「水文モデル」と、管網内での下水の挙動を計算する「水理モデル」からなる。下水管網のノード（マンホール）とリンク（管渠）によって構成され、リンクには上流端及び下流端のノード番号を振るという考え方を基本としている。雨水及び汚水は各ノードから流入することになっており、その算定に必要な土地利用や人口などの情報も同時にこのノードに入力し、別途降雨データを与えることで、吐口を含む下水管網内の任意の地点、任意の時間の時間における水量と水質を求めることが可能である。なお、今回検討対象とした流域は手賀沼流域下水道により整備され、処理水は域外放流となっているため、下水処理水の影響は全く考慮していない。

(1) モデル構築の概要

管渠網を河川に置き換えることで、浄化槽処理水を主たる排出源とする流域における流出解析モデルの構築を試みた。モデルの構築は、図-2の「管網、補完施設モデルの構築」に該当し、大津川等の河道形状の平面図、横断図の情報から作成した。

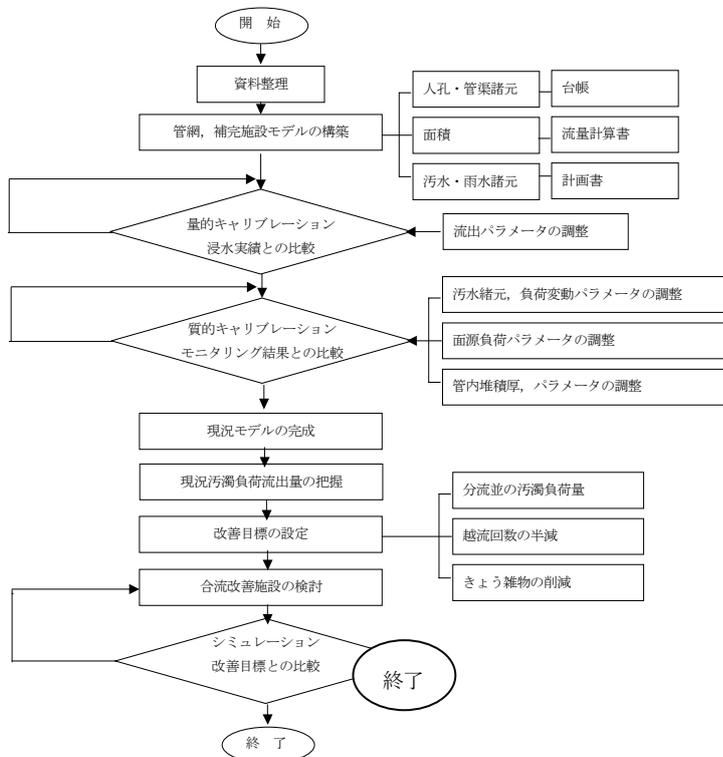


図-2 モデル構築・解析フロー

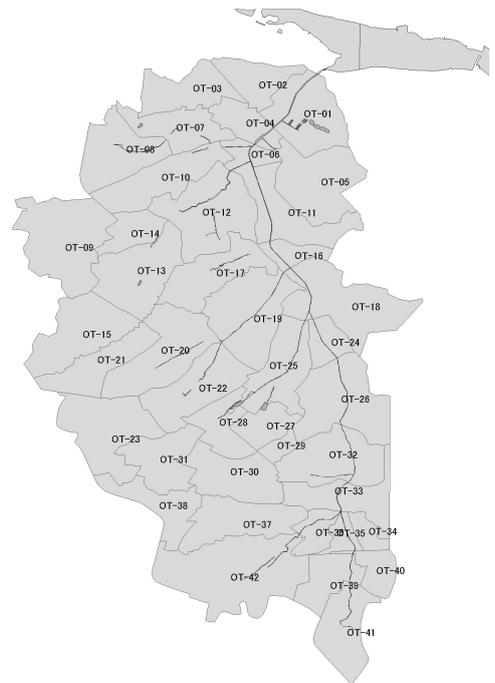


図-3 対象とした大津川流域

## (2) モデル構築に必要な基本諸元

大津川をモデル化する際、必要となる基本的な諸元は以下のものとなる。河川の地盤高、河川底高、小流域面積等は別途資料より変換入力し、(仮想)人孔の座標データは、河川形状の変化点等で任意に設定することとした。

## 2-3 まとめ

手賀沼の流入河川・大津川を対象に市販プログラムを用いた流出解析モデルの構築を試みた。今後は、流出シミュレーションを行い、流出汚濁解析に必要なパラメータについて検討することにより、実態調査の結果を再現できるようなモデルの構築を行っていく予定である。

## 3. 処理水質と生物影響との関連性の検討

水域の富栄養化の程度を測定する方法としては、AGP (Algal Growth Potential) 試験がある。これは、検水に藻類を接種して一定の条件下で培養を行い、検水の藻類増殖能力を観察するものであり、窒素・リンなどの栄養塩類を含め、検水の総合的な藻類増殖能力を測定するものである。しかしながら、AGP 試験は、機材と場所が多量に必要であり、多数のサンプルを同時に処理することが困難であるといった問題がある。本研究では、多数のサンプルを迅速に処理する手法として実施してきたマイクロプレートを用いた AGP 試験について、基礎的実験を行うことにより、本法の適用に課題があるかどうかを検討した。

### 3-1 実験方法

#### (1) マイクロプレートを用いた AGP 試験

AGP試験の供試藻類としては、藻類試験に一般的に用いられる緑藻類 *Pseudokirchneriella subcapitata* (NIES-35) を用いた。*P.subcapitata*は藻類培養用のAAP培地を用いて継代培養を行い、植え継ぎ後 4~7 日経過した対数増殖期のものを試験に用いた。試験では、継代培養を行っている *P.subcapitata*を滅菌した 15mg/L の  $\text{NaHCO}_3$  溶液で洗い、培地成分を除いた後に使用した。

AGP試験は 96 穴のマイクロプレート (Falcon社製) を用いて行った。マイクロプレートの各ウェルには、200 $\mu\text{L}$ のサンプルと 40 $\mu\text{L}$ の *P. subcapitata*の細胞懸濁液を入れ、培養温度 24 $^{\circ}\text{C}$ 、120rpmの振とう条件で培養を行った。光条件は、照度 4000Lux、12 時間明暗周期とし、藻類の初期細胞濃度は  $1 \times 10^4$  cells/mLとした。培養期間中、マイクロプレートリーダー (Wallac社、ARVO SX-1420) を用いて吸光度 (波長 450nm) を測定し、藻類増殖量をモニタリングした。藻類量がほぼ一定になった時点での藻類増殖量をAGPとした。本研究で使用したマイクロプレートリーダーは、吸光度の測定波長を自由に設定することはできず、リーダーに取付けるフィルターの設定波長に規定される。*P.subcapitata*細胞懸濁液の吸光スペクトルを測定したところ、波長 450nm付近にもピークが見られたこと、およびマイクロプレートリーダーを用いた測定においてよく使用される波長であることという理由から、測定波長は 450nmとした。

#### (2) 三角フラスコを用いた AGP 試験

マイクロプレートを用いたAGP試験との比較を行うため、公定法に準拠して、三角フラスコを用いたAGP試験を実施した。試験では、容量 100mLの三角フラスコに、40mLの試料と *P.subcapitata*細胞懸濁液を入れて、培養温度 24 $^{\circ}\text{C}$ 、90rpmの振とう条件で培養を行った。*P.subcapitata*は、滅菌した 15mg/Lの  $\text{NaHCO}_3$  溶液で洗い、培地成分を除いたものを使用した。光条件は、照度 4000Lux、12 時間明暗周期とし、藻類の初期細胞濃度は  $1 \times 10^3$  cells/mLとした。培養期間中、分光光度計 (島津製作所、紫外可視分光光度計UV-160) を用いて吸光度 (波長 750nm) を測定し、藻類増殖量の変化をモニタリングした。

### 3-2 結果および考察

#### (1) マイクロプレートおよび三角フラスコを用いた AGP 試験の比較

マイクロプレートを用いた AGP 試験の適用性を見るため、マイクロプレートおよび三角フラスコを用いた

AGP 試験の結果について比較を行った。多摩川河川水および多摩川へ流入する下水処理水のサンプルについて、マイクロプレートを用いた AGP 試験と従来から実施されてきた三角フラスコを用いた AGP 試験を同時に実施し、両者の比較を行った。その結果を図-4 に示す。

図-4 より、マイクロプレートによる AGP 試験の値は、従来の三角フラスコを用いた AGP 試験の値と高い相関関係が見られた ( $R^2=0.94$ )。このことから、マイクロプレートを用いた AGP 試験は、従来の三角フラスコを用いた方法と同様に、水域の富栄養化の程度を評価するために有用な手法であると考えられる。マイクロプレートを用いた AGP 試験は、従来から実施されている三角フラスコを用いた AGP 試験と比較して、試験に必要なサンプル量が少量で済むこと、試験の実施に必要な場所が小規模で済むことといったメリットがある。また、マイクロプレートリーダーを用いた測定を行うことにより、測定のための操作が簡便化できることから、多数のサンプルを迅速に処理する方法として有用であると考えられる。

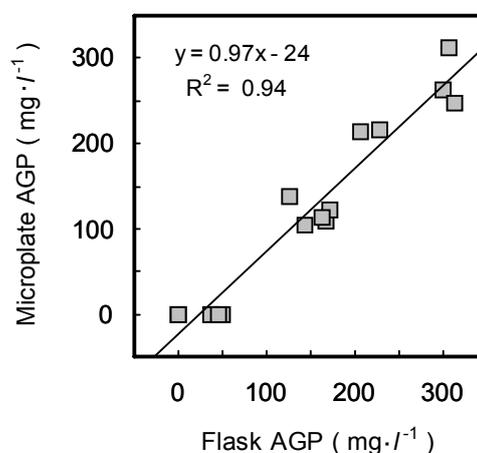


図-4 AGP 試験におけるフラスコ法とマイクロプレート法との関係

### 3-3 まとめ

本研究では、マイクロプレートを用いた AGP 試験について、その基礎的検討を行った。本研究で得られた主な結果は、以下の通りである。

- 1) マイクロプレートリーダーによる波長 450nm の吸光度と藻類細胞濃度との間には高い相関が認められ、吸光度の測定を行うことにより、藻類細胞濃度の測定を行うことが可能であることが示された。
- 2) マイクロプレートを用いた AGP 試験の適用性を見るため、マイクロプレートおよび三角フラスコを用いた AGP 試験の比較を行った。その結果、両者の間には高い相関関係が認められ、マイクロプレートを用いた AGP 試験は、三角フラスコを用いた AGP 試験と同様に有用な方法であることが示唆された。

## 4. 下水処理水による魚類曝露試験とその影響評価

土木研究所では、下水処理水のエストロゲン作用がコイに及ぼす影響の有無、およびその程度を明らかにするため、処理水への直接的なコイ曝露試験法について検討し、曝露試験を繰り返し実施してきた。さらに、魚類生理学の観点から、エストロゲン作用による魚類影響を評価する上で必要な生理学的作用について検討してきた。下水処理水にコイを曝露した結果、処理水のエストロゲン様物質の濃度に変動はみられないにも関わらず、早春に雌雄のコイを同所的に曝露した場合に限り雄コイのビテロジェニン (VTG: 雌特異的な卵黄タンパク前駆物質) 生成が認められた。この現象は、下水処理水のエストロゲン作用が直接雄の VTG 生成に関わった可能性のほか、この時期に活性化する生殖活動にともなって、雄の体内で多量に分泌されるアンドロゲン (男性ホルモン) をもとに、アロマターゼ (薬物代謝酵素の一つ) のはたらきによってエストロゲンが合成され、その結果として VTG 生成が誘導された可能性が考えられた。また、代謝酵素であるアロマターゼについては、下水処理水に曝露されたことによってこれが生成している可能性が考えられた。

そこで平成 15 年度には、試験対象魚をメダカに変更し、現場型魚類曝露試験装置を導入して、下水処理水を対象とした新たな魚類曝露試験に着手した。砂ろ過後の放流水にメダカを 2 週間曝露した結果、雄メダカの VTG 生成は認められなかったが、処理水のエストロゲン作用は雄メダカの VTG 生成が生じる可能性のあるレベルであった。

平成 16 年度は、砂ろ過後の放流水の魚類影響を検討するため、二次処理水を対象とした同様のメダカ曝露試

験を実施して、これら下水処理工程の異なる段階での試験水のエストロゲン作用とメダカへの影響を明らかにすることとした。

#### 4-1 方法

##### (1) 試験装置

メダカ曝露試験に用いる試験水槽は、新鮮な水を導水するとともに、水温、流量、日照時間等の試験条件を制御可能とする現場型魚類曝露試験システムを用いることとした。

試験条件は、環境省の実施した室内試験に合わせ、雄メダカを用いる2週間曝露試験とした。現地試験としての変更点は、餌を市販の粉末餌とし、自動給餌器を用いて与えることとした（表-4）。

##### (2) 影響指標

魚類の雌性化を判定する指標（バイオマーカー）として、コイの試験と同じく、この分野の研究では一般的な指標であるビテロジェニン（VTG）を用いることとした。なお、この測定はメダカ VTG-ELISA キット（製造：株式会社エンバイオテック・ラボラトリーズ、発売：アマシャムバイオサイエンス株式会社）を用いた。試料（希釈した肝臓抽出液）中の VTG 濃度は、二重測定した吸光度の平均値を基に標準曲線から算出した。これに肝臓抽出液の希釈倍率を乗じて、肝臓抽出液中の VTG 濃度を算出した。各 ELISA における定量範囲（Working range）は 2~64ng/mL とした。すなわち、肝臓中のビテロジェニン濃度の定量下限は、すべての曝露実験において 1ng/mg-liver weight とした。

#### 4-2 結果および考察

二次処理水および放流水にメダカを 2 週間曝露した結果、二次処理水では雄メダカ 29 匹中 7 匹

（24.1%）に VTG 生成が確認された（表-5）が、放流水では VTG 生成が認められなかった。水質の測定結果から二次処理水の E1 およびエストロゲン活性が放流水に比べて高濃度の傾向を示しており、これらが雄メダカの VTG 生成にかかわったものと考えられた。

#### 4-3 まとめ

下水処理水へのメダカ曝露試験として、現場型魚類曝露試験システムを用いた2週間曝露試験を実施した。その結果、二次処理水では雄メダカの24%にVTG生成が認められたが、放流水ではこのような現象は認められなかった。二次処理水中のエストロゲン活性が放流水のそれに比べて高いことが原因と考えられた。

#### 参考文献

- 1) 日本下水道協会 (1997) AGP 試験、下水試験方法 上巻 (1997 年版)、554-562.
- 2) 日本水質汚濁研究協会 (1982) 藻類生産潜在力調査、湖沼環境調査指針、公害対策技術同友会、193-199.

表-4 メダカ曝露試験 条件一覧

試験魚	ヒメダカ <i>Oryzias latipes</i> d-rR系統
試験個体数	雄成魚 30個体/水槽
試験期間	2週間
試験水	流水式
流量	0.5 L/min (30 L/h)
試験温度	水温 25°C
日長条件	16時間一明、8時間一暗
餌	粉末餌、一日あたり 4 回の給餌

表-5 二次処理水に曝露した雄メダカの VTG

個体No. TR0412	全長 mm	体長 mm	体重 mg	肝重量 mg	肝指数 %	VTG濃度 ng/mg-liver
SEC-001	33.5	27.8	389.7	6.5	1.7	<1.0
SEC-002	33.7	28.2	358.9	7.5	2.1	<1.0
SEC-003	30.1	24.3	310.8	5.9	1.9	ND
SEC-004	34.0	27.4	418.0	6.7	1.6	<1.0
SEC-005	33.9	27.3	435.6	8.1	1.9	<1.0
SEC-006	32.2	26.8	387.8	9.9	2.6	<1.0
SEC-007	31.0	24.5	303.2	3.7	1.2	10.8
SEC-008	33.7	27.7	408.6	5.9	1.4	<1.0
SEC-009	33.7	26.7	421.9	10.2	2.4	<1.0
SEC-010	34.7	28.3	411.4	3.7	0.9	1.5
SEC-011	33.2	26.9	375.2	7.6	2.0	<1.0
SEC-012	34.4	28.4	410.0	3.0	0.7	<1.0
SEC-013	30.9	24.7	295.2	3.9	1.3	<1.0
SEC-014	33.2	26.9	351.5	6.6	1.9	<1.0
SEC-015	31.4	25.2	318.6	7.1	2.2	2.5
SEC-016	35.0	28.5	436.6	6.8	1.6	<1.0
SEC-017	32.0	24.9	334.8	6.9	2.1	<1.0
SEC-018	31.3	25.1	348.2	8.8	2.5	<1.0
SEC-019	33.9	27.5	395.6	6.2	1.6	<1.0
SEC-020	30.2	23.7	269.6	3.1	1.1	<1.0
SEC-021	32.9	27.1	377.9	3.6	0.9	2.7
SEC-022	30.8	25.1	300.1	5.3	1.8	2.2
SEC-023	32.5	26.3	348.9	4.6	1.3	<1.0
SEC-024	33.0	26.7	406.9	4.3	1.1	<1.0
SEC-025	32.2	26.0	360.6	3.3	0.9	<1.0
SEC-026	32.0	25.5	340.9	4.4	1.3	<1.0
SEC-027	33.7	28.0	406.2	10.3	2.5	1.5
SEC-028	33.7	28.8	428.7	9.0	2.1	<1.0
SEC-029	33.3	27.7	377.8	5.1	1.3	1.4
最大	35.0	28.8	436.6	10.3	2.6	-
最小	30.1	23.7	269.6	3.0	0.7	-
平均	32.8	26.6	370.0	6.1	1.7	-
標準偏差	1.3	1.4	46.6	2.2	0.5	-

\*ND <0.5 ng/mg-liver