

変異原性試験を用いた都市水循環系の水質評価 - 道路排水の再生利用に向けて -

廃棄物・有害物管理工学研究室 真部良章
指導教官 小松俊哉 藤田昌一 姫野修司

1 はじめに

現在、日本の水道水源の約 7 割は地表水に依存している。そのため、生活排水や工業排水などによる水環境の悪化、今後予想される都市域への集中的な水需要増加に対して、地表水だけでは補えなくなるなどの問題を抱えている。都市域においては、流域圏外の水域に依存したフロー型水利用システムを用いている¹⁾ため、現地で発生する雨水や下水処理水の有効利用に多くの期待が寄せられている。そこで新規水源の中でも注目されているのが雨水やそれによって発生する道路排水などを人為的に地下に浸透させた涵養地下水である。涵養地下水を用いることによって、都市域の自力的で持続可能な水資源の確保が可能となる。しかし、水利用を想定した時点でその水質が問題となり、新規水源である涵養地下水を社会に根づかせるためには、涵養地下水の水質を理解したうえでその利用を検討することが非常に重要である。そこで、雨天時道路排水を人為的に地下へ通水させた涵養地下水の有害性を総括的に評価するため、バイオアッセイ（生物検定）法の一つである Ames 変異原性試験を用いた。また、涵養地下水の最終的な利用用途を水道原水と期待していること、より安全側での評価が求められることから、試料に意図的に塩素を添加して発生させた変異原性強度（変異原性生成能，MFP）を測定した。本研究は、雨天時道路排水及びそれを土壌へ浸透させた涵養地下水の変異原性生成能（MFP）の位置付けを全国河川水との比較によって明確にすることを目的としている。

2 実験方法

2.1 試料水中の変異原性物質の濃縮と回収

試料水中に含まれる変異原性物質は微量であるため、濃縮・回収して試験に供する必要がある。その方法は既報²⁾に従った。本研究は、吸着剤として高性能吸着樹脂である Sep-Pak Plus CSP-800（日本ウォーターズ製）を使用した。濃縮操作には定流量ポンプ（Waters 製）を使用して、通水速度 30 ml / min 条件で濃縮した。尚、濃縮倍率については、溶存有機性炭素（DOC）濃度に応じて決定した³⁾。その後、カートリッジ内に吸着された物質の回収にはメタロールポンプ（日興エンジニアリング製）を使用し、ジメチルスルホキシド（DMSO）を流速 0.15 ml / min で通水し、脱離液 2 ml をねじ口ピンに採集して、濃縮された試料の回収を完了させた。

2.2 Ames 変異原性試験

Ames 変異原性試験方法は労働省のガイドブック⁴⁾に準じて行った。代表的な変異株である *Salmonella typhimurium* TA100 株を用い、代謝活性物質 S9mix 無添加系（-S9）及び添加系（+S9）で、37℃、20 分間のプレインキュベーション法で行った。1 検体につき DMSO により溶解した試料の濃度は 50、100 μ L / plate の 2 段階（2 プレートずつ）に分注した。菌体の活性を確認するために、検体の添加量と同量の DMSO のみを添加した 4 枚のプレートを用いた陰性対照試験と、4-ニトロキノリン-1-オキシド（4NQO）による 2 枚のプレートを用いた陽性対照試験を毎回行った。各実験での復帰コロニー数を計数した結果から、試料水換算の検液添加量と復帰コロニー数との用量 作用関係を描き、回帰直線の勾配を最小二乗法で求め、濃縮前の試料 1 L に換算した正味の復帰コロニー数 [net rev./L] として変異原性の強度を表示した。さらに MR（Mutation Ratio）値、すなわち試料の復帰コロニー数の自然復帰コロニー数に対する比で表し、MR 値 < 1.4 で陰性、1.4 \leq MR 値 < 2.0 で擬陽性、2.0 \leq MR 値で陽性と判断した。

3 全国河川水調査

3.1 試料

本研究では、全国に存在する 109 の一級河川から、各地方地区より流域面積順がおおよそ均等になるように 4 河川選出した。また、モデル河川として多摩川は 3 地点（拝島橋，関戸橋，田園調布堰）からの採水を行ない，図 1 に示す合計 38 河川 42 試料を本研究対象とした。

試料の採水は，2004 年 11 月から 12 月及び 2005 年 11 月から 12 月における平日日中の強降雨時を除く時間に行ない，多摩川を除く河川においては，1 河川につき 1 地点，淡水域最下流地点で採水した。

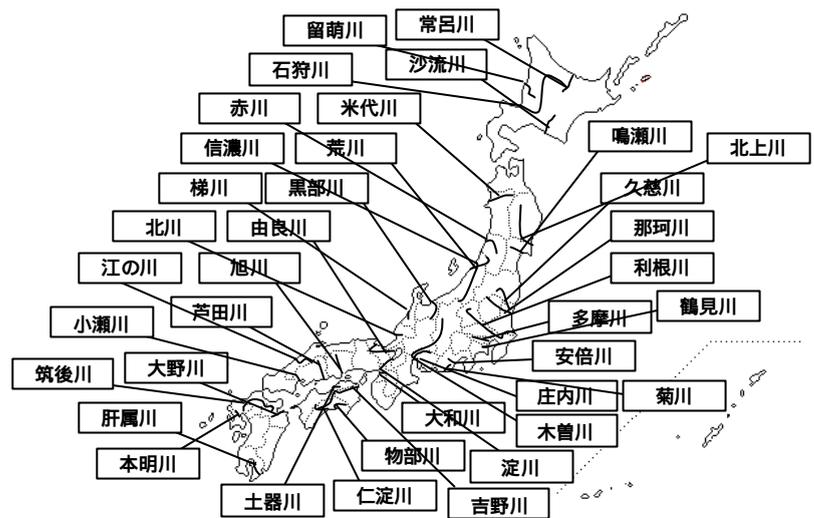


図 1 研究対象河川

3.2 結果および考察

3.2.1 全国河川水の変異原性生成能

全国河川水（38 河川 42 試料）の概況及び水質を表 1 に示す。全国河川水の全ての MFP レベルは、土器川の 210 net rev./L から庄内川の 20200 net rev./L であり、大幅な値を持つことが明らかとなった。また、WHO ができる限る対策を施した方がよいとしている発ガンリスクレベルの 10^{-5} を水道水の変異原性強度に換算した値 3000 net rev./L³⁾を 1 つの削減目標として評価した場合、約 30% の河川水がその値を超えており、全国の水道水と同等の変異原性強度 2000 net rev./L⁵⁾以下であった河川水は、33% であった。TA100-S9 における MFP 50% 値（中間値）は 2480 net rev./L、MFP 平均値は約 3800 net rev./L であり、平均値で見ると水道水として利用する場合の削減目標として考えられる 3000 net rev./L の値を上回った。しかし、代謝活性剤を添加することによりその値は 15 分の 1 以下である平均約 240 net rev./L の値まで低減されることが明らかとなった。

3.2.2 水質項目及び河川特性との相関性

各水質項目または河川特性との相関関係を表 2 に示す。MFP と各水質項目または河川特性との相関関係をみると、DOC とは強い正の相関性 ($r=0.89$)、 E_{260} とは中程度の正の相関性 ($r=0.73$)、 NH_4-N や人口密度とは弱い正の相関性が確認できた ($r=0.59$, $r=0.50$)。しかし、DOC あたりの MFP と人口密度の相関係数は、 $r=0.59$ となっており、MFP のみで比較するよりも若干強い正の相関関係が確認された。このように、人為的な影響を確認するため、人口密度やフレッシュ度などとの相関関係を調査した結果、DOC とは高い相関関係が認められないが、MFP では DOC 以上の相関性がみられ、DOC あたりの MFP でみるとさらに相関性が高くなる傾向があった。また、DOC あたりの MFP の値をみると、土器川の 110 net rev./mg から鶴見川の 2160 net rev./mg までの大幅な値を持つことがわかり、有機汚染物質の質的違いが大きいことが明らかとなった³⁾。これらのことから、溶存性有機物質中に占める変異原性前駆物質の割合は、人為的負荷の影響を強く受けると考えられる。なお、モデル河川として調査地点を 3 地点設けている多摩川については、人口密度との相関係数の算出の場合は、最下流のみを対象とし、フレッシュ度 ($(1 - \text{算出地点での既使用水量} / \text{河川流量}) \times 100\%$ と国土交通省河川局より定義) との相関係数の算出の場合は、全地点を含めて評価した。

表1 全国河川水の概況及び水質

番号	地方整備局	水系名	幹線流路延長 ⁶⁾ (km)	流域面積 ⁶⁾ (km ²)	フレッシュ度 ⁷⁾ (%)	人口密度 ⁸⁾ (人/km ²)	TA100-S9 MFP (net rev./L)	TA100+S9 MFP (net rev./L)	DOC (mg/L)	E ₂₆₀	NH ₄ -N (mg/L)	NO ₂ -N + NO ₃ -N (mg/L)	T-N (mg/L)
1	北海道	石狩川	268.0	14330	85	174.5	2840	110	2.57	0.077	0.078	0.713	1.475
2		常呂川	120.0	1930	93	73.6	11980	500	7.25	0.139	0.227	1.155	1.803
3		沙流川	104.0	1350	99	9.6	2560	N.D.	5.27	0.025	0.017	0.244	0.375
4		留萌川	44.0	270	100	103.7	1900	240	2.26	0.067	0.000	0.120	0.472
5	東北	北上川	249.0	10150	95	136.8	1120	80	2.76	0.035	0.005	0.642	1.039
6		米代川	136.0	4100	99	68.3	3430	180	2.51	0.058	0.019	0.341	0.547
7		鳴瀬川	89.0	1130	90	168.1	2860	260	4.27	0.052	0.059	0.580	0.717
8	関東	赤川	70.4	857	99	127.5	870	320	1.46	0.037	0.278	0.338	0.931
9		利根川	322.0	16840	96	720.9	2380	390	3.19	0.041	0.090	2.846	3.420
10		那珂川	150.0	3270	91	279.0	2820	260	2.58	0.014	0.020	1.489	1.584
11		久慈川	124.0	1490	97	135.6	2200	280	5.40	0.021	0.038	0.753	0.947
12		鶴見川	42.5	235	22	7829.8	9010	470	4.18	0.081	2.040	4.996	7.551
13		多摩川	138.0	1240	99	3427.4	750	120	1.66	0.017	0.011	0.923	1.337
14		多摩川			59		2690	70	2.26	0.029	0.065	2.943	3.373
15		多摩川			36		2760	N.D.	2.85	0.032	0.098	3.548	4.248
16		多摩川			99		1580	N.D.	3.65	0.006	0.025	0.915	0.958
17		多摩川			59		9240	500	6.43	0.056	0.312	6.656	7.584
18	多摩川	36			8720		630	6.55	0.049	0.180	6.377	7.042	
19	北陸	信濃川	367	11900	96	247.9	2300	170	2.93	0.100	0.043	4.996	1.167
20		荒川	73	1150	100	34.8	2090	120	1.88	0.040	0.018	0.337	0.482
21		黒部川	85	682	100	104.1	2880	400	3.56	0.022	0.028	0.313	0.400
22	中部	梯川	42	271	99	405.9	1510	260	1.57	0.039	0.018	0.457	0.837
23		木曾川	229	9100	96	186.8	2230	N.D.	2.18	0.041	0.008	0.353	0.693
24		庄内川	96	1010	69	2475.2	20200	1050	15.57	0.160	0.720	2.307	3.214
25		安倍川	51	567	90	299.8	2880	N.D.	3.40	0.060	0.003	1.235	1.284
26		菊川	28	158	98	443.0	1990	60	2.48	0.063	0.093	4.706	5.103
27		淀川	75	8240	79	1335.0	3390	40	2.55	0.030	0.053	0.951	1.594
28	近畿	由良川	146	1880	97	159.6	2400	N.D.	3.23	0.030	0.013	0.811	0.929
29		大和川	68	1070	38	2009.3	17900	580	10.06	0.078	0.777	3.523	4.754
30		北川	30	211	92	101.4	660	N.D.	2.08	0.017	0.012	0.722	1.039
31	中国	江の川	194	3900	96	51.8	860	N.D.	2.17	0.018	0.012	0.363	0.659
32		旭川	142	1810	97	185.1	1540	190	2.61	0.029	0.013	0.604	0.783
33		芦田川	86	860	95	312.8	5750	90	8.87	0.056	0.021	0.382	0.760
34		小瀬川	59	340	100	77.9	1310	10	1.53	0.020	0.012	0.294	0.578
35	四国	吉野川	194	3750	98	170.9	480	280	0.96	0.007	0.012	0.952	1.202
36		仁淀川	124	1560	97	67.3	2480	170	3.51	0.005	0.012	0.309	0.404
37		物部川	71	508	100	78.7	3100	550	4.47	0.008	0.016	0.043	0.486
38		土器川	33	140	77	250.0	210	150	1.97	0.035	0.022	0.840	1.381
39	九州	筑後川	143	2863	94	381.0	1420	190	1.73	0.020	0.157	0.818	1.210
40		大野川	107	1465	83	141.2	2740	450	6.01	0.014	0.021	1.107	1.280
41		肝属川	34	485	86	238.3	4420	620	4.63	0.025	0.260	4.478	5.068
42		本明川	21	87	100	627.4	3340	130	2.66	0.057	0.018	0.965	1.413

MR値<1.4
(独) 土木研究所 水質チーム 測定結果

表2 各水質項目または河川特性との相関係数

	MFP	DOC	E ₂₆₀	NH ₄ -N	NO ₂ -N + NO ₃ -N	T-N	MFP/DOC	人口密度 (対数値)	フレッシュ度
MFP	1.00	0.89	0.73	0.59	0.44	0.53	0.68	0.50	- 0.57
DOC		1.00	0.60	0.38	0.29	0.34	0.35	0.34	- 0.38
E ₂₆₀			1.00	0.44	0.32	0.30	0.58	0.31	- 0.28
NH ₄ -N				1.00	0.46	0.63	0.65	0.86	- 0.68
NO ₂ -N + NO ₃ -N					1.00	0.92	0.49	0.63	- 0.69
T-N						1.00	0.59	0.79	- 0.81
MFP/DOC							1.00	0.59	- 0.60
人口密度								1.00	- 0.79
フレッシュ度									1.00

p<0.01
0.01 p<0.05

表3 カラム試験用充填土壌特徴⁹⁾

番号	採取地点	住所	地質	説明
	中島中央公園	中島6丁目	礫・砂・シルト (河道及び後背湿地堆積物)	信濃川の洪水した際に堆積した土壌。 長岡市に広く分布している。
	柿地区	柿町	凝灰質砂岩・安山岩質・火山砕屑岩 (檜吉層)	長岡市大峰山一帯に分布する。 凝灰質砂岩を主とし、安山岩溶岩も見られる。 海底火山の噴出物とその周囲の堆積物。
	17号高架橋下雨水ます	美沢3丁目	礫・砂	国道17号に堆積した礫や砂が降雨とともに 排出され雨水ます内に堆積したものの。

4 道路排水の土壌カラム通水試験

4.1 試料

4.1.1 通水試料

通水試料には、実降雨より得られた長岡市内の渋海橋より採水を行った雨天時道路排水を用いることとした。採水方法は、土壌カラムの通水効果をより安全側で確認するため、汚濁物質の流出が多いファーストフラッシュを採水することとした。排水管の先に漏斗（ポリエチレン製）、その先に採水容器（20Lポリタンク）を降雨前日に設置し、降雨開始とともに現場へ行き、排水状況を確認しながら約20Lの採水を行なった。2005年12月8日に採水を行ない、降雨量は2mm/hrであり、無降雨期間は約43hrだった。

4.1.2 充填土壌

充填土壌は長岡市内より採取を行ない、地質による影響を確認するため、3種類の充填試料を選出した。充填土壌の採取地点においては、地質調査総合センター資料集の情報⁹⁾を基に決定した。充填土壌としては、長岡市内で最も広く分布している礫・砂・シルトから構成されている河道及び後背湿地堆積物、柿地区の凝灰質砂岩及び安山岩質・火山砕屑岩から構成されている檜吉層土壌、国道17号線の高架橋下に位置する雨水ます堆積土壌を選出した。採取は、2005年12月13日に行なった。充填土壌の特徴を表3に示す。

4.2 土壌カラム実験

図2に土壌カラムの概略を示す。カラムは、直径100mm（断面積：約78.5mm²）、長さ約500mmのアクリル管（空塔容積：約3930mm³）を使用した。カラム内に充填した土壌は、全ての系列において300mmの長さになるようにした。

各運転条件におけるカラムへの充填土壌、通水試料を表4に示す。室温を20℃に保ち、通水速度はローラーポンプを用いて1ml/minとし、2日に1回240ml（通水時間4hr）の通水を行なった。尚、土壌カラム連続運転期間は31日間とした。

土壌カラム流出水の分析項目としては、毎回の運転毎にpH、DOC、E₂₆₀、7日間の混合試料を用いてpH、DOC、E₂₆₀、NH₄-N、MFP（TA100-S9）の測定を行なった。RUN1、RUN2は再現性の確認を行なうため同様の条件とし、RUN5はRUN1、RUN2のBLANKとして運転を行なった。

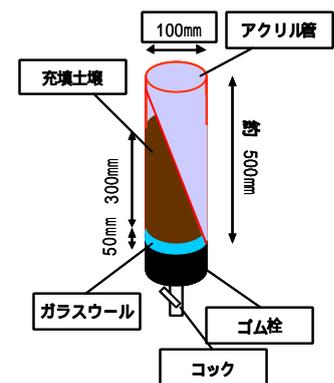


図2 土壌カラム概略図

表4 土壌カラム運転条件

	RUN1	RUN2	RUN3	RUN4	RUN5 (BLANK)
充填土壌	河道及び 後背湿地堆積物	河道及び 後背湿地堆積物	檜吉層土壌	雨水ます堆積土壌	河道及び 後背湿地堆積物
通水試料	雨天時道路排水				純水
通水速度	1 ml/min				
通水量	240 mL/2day				

4.3 結果および考察

4.3.1 連続実験結果

図3に7日間運転におけるRUN4を除く混合試料のMFPを示す。RUN4を除く全ての試料で通水試料以下のMFP値まで低減されることが明らかとなった。一方、RUN4は通水試料を約2.0倍上回るMFPを示した。この理由としては、雨水ます堆積土壌中には、道路粉塵由来のPAHsやその他の溶存性有機物質が多く混入しているため、それらが溶出したためと考えられる。また、各系列のMFPを比較すると、RUN1、RUN2は、平均値で見るとほぼ同等の値、傾向を示したことから再現性の確認ができた。さらに、それらとRUN5を比較すると、平均で1.9%以内の差であり、同様の傾向を示したことから、流出水で検出されたMFPは土壌由来のフミン質などの変異原性前駆物質が原因であることが考えられる。

図4にDOCの7日間混合試料経日変化を示す。図3同様、RUN4は運転開始から終了まで通水試料の平均値13.9 mg/Lを上回る結果となった。その他の系列をみると、運転開始時には比較的高いDOCを示したが、これは土壌中より溶出した溶存性有機物質の可能性が高いことが考えられる。しかし、それ以降は通水試料以下のDOCを示し、MFP同様、溶存性有機物質の削減作用も確認することができた。

4.3.2 全国河川水との比較

図5に全国河川水(図1)、別途測定した長岡市雨天時道路排水のMFPと累積百分率の関係性を示し、それぞれの濃度分布を表した。これより、全国河川水のMFPレベルは幅広い値を持つことがわかり、雨天時道路排水のMFPレベルは全体的にそれらを上回るため、水道水源の変異原前駆物質の原因の一つとして考えられる。本研究で行なった土壌カラム通水試料のMFP平均値とRUN1、RUN2の土壌カラム運転31日目のMFP平均値を全国河川水と相対的に評価した。その結果、土壌カラム通水試料のMFPは、約15000 net rev./Lであり、運転31日目のMFPは約1500 net rev./Lとなっており、通水試料の10分の1、全国河川水23%値程度まで低減されることが明らかとなった。

また、国内都市部の水道水の変異原性は平均1500~2000 net rev./L程度であることから、土壌カラムを通水させることにより、変異原性は水道水レベルまで低減されることが考えられた。

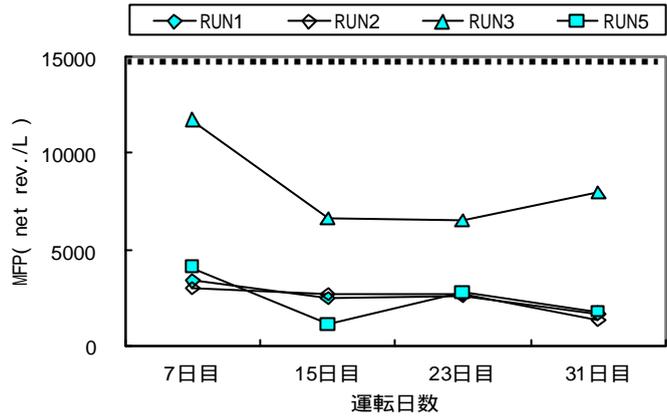


図3 MFPの混合試料経日変化 (RUN4除外)

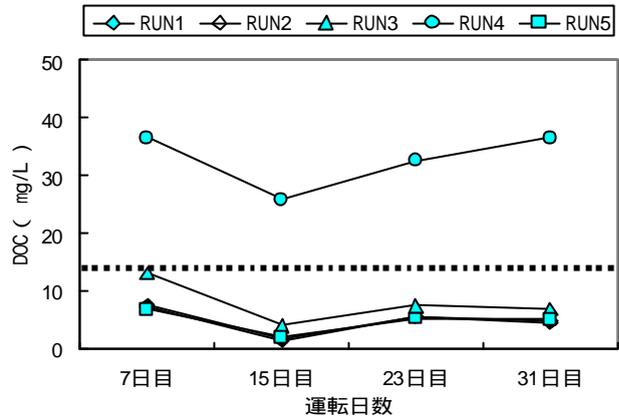


図4 DOCの混合試料経日変化

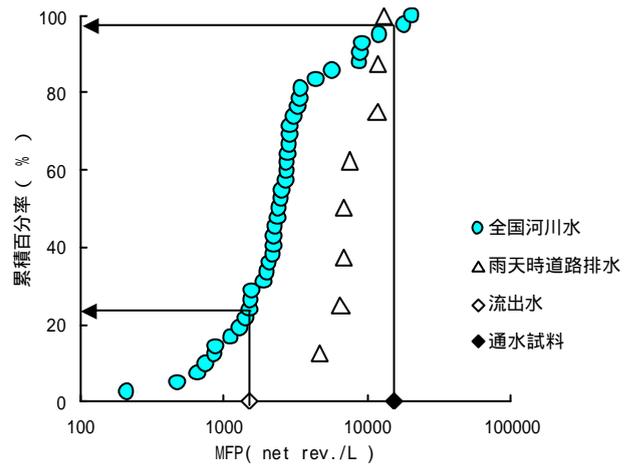


図5 MFPと累積百分率の関係

図 6 に本研究で測定を行なった全国河川水、長岡市雨天時道路排水、通水試料、RUN1、RUN2 の DOC あたりの MFP を示す。これらと比較すると、全国河川水は平均約 880 net rev./mg であり、道路排水は 1080 から 1180 net rev./mg の範囲を示し、全国河川水平平均を 20% 以上上回ることが明らかとなった。また、土壌カラム流出水は 500 から 540 net rev./mg であり、運転 31 日目では平均で 320 net rev./mg となっており、道路排水より大幅に低減、全国河川水平平均値と比較しても、2 分の 1 以下の値であることが明らかとなった。これらのことより、土壌による浸透作用は溶存性有機物質のうち特に変異原性前駆物質の除去に優れていると考えられる。

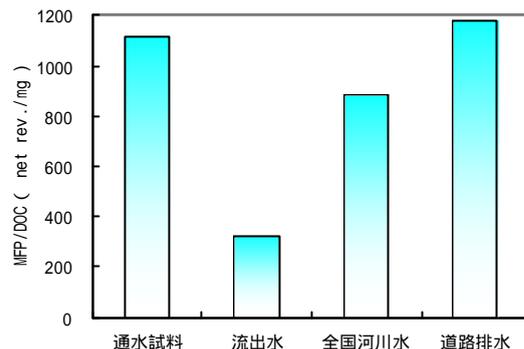


図 6 各試料における DOC あたりの MFP

5 まとめ

雨天時道路排水の MFP レベルは、全体的に高く、河川水中の変異原前駆物質の汚濁原因の一つとして考えられる。

雨天時道路排水を土壌カラムに通水させることにより MFP レベルは、全国河川水の 23% 程度まで低減された。

土壌カラムは溶存性有機物質中の変異原性前駆物質の除去に優れている可能性が示唆された。

6 今後の課題

今後、涵養地下水の実利用システムの開発を考える場合は、都心区域内による評価、土壌カラム通水試験においてもより長期的で多角的なリスク評価が必要になると考える。また、雨天時道路排水の実態を明らかにするためには、汚濁負荷量の算出、長期的な流出挙動の確認をする必要があり、さらに変異原前駆物質以外にも種々の有害性物質も存在しているため、他のバイオアッセイ法での評価、又はバイオアッセイ法と個別分析との併用などが必要であると考える。

参考文献

- 1) 古米弘明：リスク管理型の持続的流域水循環系の構築へ向けて，第 7 回日本水環境学会シンポジウム講演集，137-138，2004
- 2) 浦野鉦平ら：水道水の Ames 変異原性に関する研究 第 2 報 高性能吸着剤を用いた変異原性物質の濃縮・回収方法，水環境学会誌 Vol.17，461-469，1994
- 3) 高梨啓和：変異原性による水道水の安全性管理手法に関する研究，東京大学大学院博士論文，1999
- 4) 中央労働災害防止協会：安衛法における変異原性試験，1991
- 5) 三田美紀ら：変異原性生成能を指標とした信濃川下流域水道原水の安全性評価，長岡技術科学大学大学院修士論文，2003
- 6) 国土交通省河川局：一級河川水系別延長等 統計データ
(<http://www.mlit.go.jp/river/jiten/toukei/birn84p.html>)
- 7) 国土交通省河川局：全国の河川におけるフレッシュ度について
(http://www.mlit.go.jp/kisha/kisha04/05/051203_2_.html)
- 8) 国土交通省河川局：全国一級河川プロフィール
(http://www.mlit.go.jp/river/jiten/nihon_kawa/)
- 9) 地質調査総合センター資料集
(http://unit.aist.go.jp/igg/jp/news/tpc/2004chuetsu/d_geol_map/main.html)