

# 下水処理排水が河川生態系の化学量論と代謝に及ぼす影響

宮原裕一<sup>1</sup>, 中城由佳里<sup>2</sup>, 平林公男<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>信州大学山岳科学研究所, <sup>2</sup>信州大学理学部, <sup>3</sup>信州大学繊維学部

Effects of Sewage Treatment Water on Stoichiometry and Metabolism of River Ecosystem

Y. Miyabara<sup>1</sup>, Y. Nakajo<sup>2</sup> & K. Hirabayashi<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Institute of Mountain Science, <sup>2</sup>Faculty of Science, <sup>3</sup>Faculty of Textile Science and Technology, Shinshu University

キーワード：下水処理排水，化学量論，代謝，付着藻

Keywords: Sewage treatment water, Stoichiometry, Metabolism, Periphyton

## 1. はじめに

近年，下水道の普及にともない多量の下水処理排水が公共の水域に放流されている。下水処理排水には有機物とともに無機化された栄養塩が多く含まれ，水域の富栄養化を促進する。また，下水処理水の殺菌のため塩素処理が行われ，残留塩素による生物への影響も危惧される。このような水域における環境保全や水資源の活用のためには，放流された下水処理排水が河川生態系にどのような影響を及ぼすのかを把握し，適切な対処を行うことが大切である。

河川生態系の多くは，陸上起源の外来性有機物質に依存した腐食連鎖によって機能している。日本の河川生態系では，河畔が開け，河床にまで十分な光が届く河川環境である瀬が多く，付着藻類群落が発達し，その光合成によって生産された有機物質を基盤とした生食連鎖の存在も無視できない。付着藻類は，トビケラ，カワゲラ，カゲロウなどの水生昆虫やそれを捕食する魚類の直接・間接的な餌資源として重要な役割を担っている（内田ほか，2013）。

生物の被食-補食関係を考える上で，近年では生態化学量論の視点を導入して，河川水中や生物体内での炭素（C），窒素（N），リン（P）の比率（C:N:P比）など複数の元素の化学量バランスが検討されている。河川をはじめとする淡水生態系では，生産者である付着藻類のC:N:P比は，水中の溶存態窒素・溶存態リンなどの栄養塩量や光合成活性などにより大きく変化する。一方，水生昆虫などの消費者ではC:N:P比の恒常性が高く，比較的一定に保たれている。よって，生産者の化学量の不均衡が，消費者の成長や再生産を制限する要因となる（土居・片野，2012）。

本研究では下水処理排水が河川生態系へ及

ぼす影響として，生産者である付着藻類の「化学量論（C:N:P:Si比）」と「生態系代謝（光合成・呼吸速度）」について調査を行った。調査場所は，上田終末処理場の排水が放流されている千曲川中流部とした。

## 2. 実験方法

### 2-1 試料採取と分析方法

千曲川中流部（上田市）において，河川水および河床の付着物を採取した。上田終末処理場（標準活性汚泥法で処理，現在の処理能力は平均31,000 m<sup>3</sup>/日，処理人口は約6万人）からの下水処理排水が流入している場所，その上流に位置する常田，下流に位置する下塩尻の3箇所で試料を採取した（図1）。



図1 千曲川における試料採取地点 (Google earth)

河川水は持ち帰り後，直ちにガラス繊維ろ紙（Whatman：GF/C）で濾過し，溶存態有機炭素（DOC），溶存態全窒素（DTN），溶存態無機窒素（アンモニア態窒素：NH<sub>4</sub>-N，亜硝酸態窒素：NO<sub>2</sub>-N，硝酸態窒素：NO<sub>3</sub>-N），溶存態全リン（DTP），

溶存態ケイ素 (DSi), 残留塩素の測定に供した. DOC は有機炭素計 (島津製作所: TOC-L), 溶存態無機窒素は, イオンクロマトグラフ (Dionex 社: IVS-1500) を用い測定し, DTN, DTP および DSi は, 吸光光度法で測定した. さらに, 残留塩素についても, ハンナ社製 HI 761 を用い測定を行った.

付着物は, 河床よりこぶし大の石を持ち帰り, 表面の付着物をプラスチック製のブラシでこすり落とし, 目開き 250  $\mu\text{m}$  のステンレス製ふるいを通し, 小石や水生昆虫を取り除いたものを試料とした. 付着物の懸濁液について, 常法に従い懸濁物濃度, 強熱減量濃度, クロロフィル a (Chl. a) 濃度を求め, それぞれの単位面積あたりの付着物量を算出した. また, 凍結乾燥試料については, メノウ製乳鉢ですりつぶし均一にした後, 元素分析計 (Thermo Quest: Flash EA1112) で, 炭素・窒素含量を求めた. さらに, 小松らの方法に従い, リンの連続抽出を行い, 吸光光度法でリン含量を求めた. また, 中嶋らの方法に従い, ケイ素の抽出を行い, 吸光光度法でケイ素含量も求めた.

## 2-2 下水処理排水が付着藻類の代謝に及ぼす影響

### 2-2-1 培養実験

下水処理排水の付着藻類の代謝 (純生産・呼吸) への影響を見るため, 下水処理排水の影響が少ない常田と下水処理排水の影響が大きい下塩尻の水と付着藻類を組み合わせ培養し, 培養時の酸素濃度の変化を観察した. ここでは, 河川水も付着物も常田のものを No. 1 処理区, 河川水が常田, 付着物が下塩尻のものを No. 2 処理区, 河川水が下塩尻, 付着物が常田のものを No. 3 処理区, 河川水も付着物も下塩尻のものを No. 4 処理区とした. 各処理区とも, 付着物を河川水中に懸濁させ, ステンレス製の金網片 (2cm $\times$ 10cm) を 2 枚入れた容量 700ml のガラス瓶に注ぎ, 空気が入らないように溶存酸素ロガー (Onset 社: U26-001) をビン開口部に固定した. 回転子を用い内部を攪拌しながら, 培養器中 (三洋電機: MLR-350) でのべ 3 日間培養した. この間, 1000 から 7000 lux の光量で LED を点灯 (2 時間)・消灯 (6 時間) し, これを 2 回繰り返した. この培養実験は 3 回異なる時期に行ったが, ここでは 2018 年 1 月に採取した試料の結果を示す. このとき, 塩化物イオン濃度から下塩尻では下水処理排水の混合割合は 90%と推定された.

さらに, 2018 年 12 月に採取した常田の付着物に, 常田の河川水と下水処理排水との割合を変えて同様の培養実験を行った. 常田の水のみを入れたものを No. 1' 処理区とし, 下水処理排

水の割合を 20%としたものを No. 2' 処理区, 下水処理排水の割合を 40%としたものを No. 3' 処理区, 下水処理排水の割合を 90%としたものを No. 4' 処理区とし, 上記と同じ条件で培養した.

### 2-2-2 純生産速度と呼吸速度の算出

純生産速度 (同化率) は, 1 時間あたりに付着藻類が行った光合成量として求めた. 培養時, LED を照射したときの 1 時間あたりの溶存酸素濃度の増加を, 培養ビン内の藻類量である Chl. a 濃度で除して,  $\mu\text{g-O}_2/\mu\text{g-Chl. a/h}$  として純生産速度を求めた. この実験では光量を 4 段階としたため, 各処理区の純生産速度の最大値どうしを比較した.

呼吸速度は, 1 時間あたりに付着藻類や微生物が行った呼吸量として求めた. こちらは LED 消灯時, 1 時間あたりの溶存酸素濃度の低下を, 培養ビン内の Chl. a 濃度で除して,  $\mu\text{g-O}_2/\mu\text{g-Chl. a/h}$  として呼吸速度を求めた.

### 2-2-3 硝化細菌数の計数

硝化細菌とは, アンモニアを亜硝酸に酸化させるアンモニア酸化細菌と亜硝酸を硝酸に酸化させる亜硝酸硝化細菌のことを指す. ここでは, 常田と下塩尻の付着物と下水処理排水について計数を行った.

アンモニア酸化細菌の培養には, 諏訪 L 培地を用いた (諏訪ほか, 1991). 一方, 硝酸酸化細菌の培養には土壌微生物実験法培地を用いた (鈴木ほか, 1996). それぞれの培地を滅菌し, 付着物もしくは処理排水を希釈し, MPN5 本法で算出した. 詳細は, 既報の通りであるが, 25 $^{\circ}\text{C}$  (静置) で 5 週間培養し, 基質とした  $\text{NH}_4\text{-N}$ ,  $\text{NO}_2\text{-N}$  の残存の有無を, それぞれインドフェノール法と BR 法で確認し, 陽性・陰性の判定を行い, Taylor の経験則 (微生物研究法懇談会, 1975) に従い, 菌数を求めた.

## 3. 結果と考察

### 3-1 下水処理排水が付着藻類の化学量論に及ぼす影響

千曲川で採取した河川および付着藻類について, 炭素・窒素・リン・ケイ素濃度を測定し, その量比についても評価を行った.

下水処理排水流入地点の上流に位置する常田と, 下流に位置する下塩尻の河川水を比較すると, DOC 濃度は常田で平均 1.11 mg-C/L, 下塩尻では平均 3.95 mg-C/L と, 下流で約 3.6 倍高くなっていた. DTN 濃度は常田で平均 1.44 mg-N/L, 下塩尻で平均 11.07 mg-N/L と, 下流で約 7.7 倍高くなっていた. DTP 濃度は常田で平均 0.06 mg-P/L, 下塩尻では平均 0.51 mg-P/L

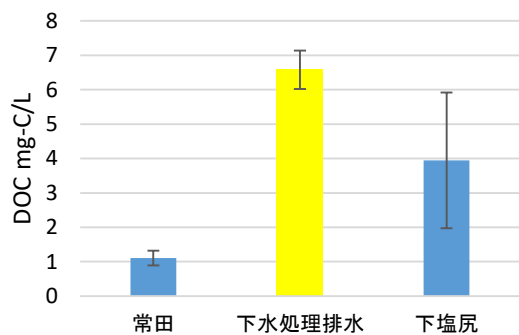


図2 河川水中の溶存有機炭素濃度 (平均±SD)

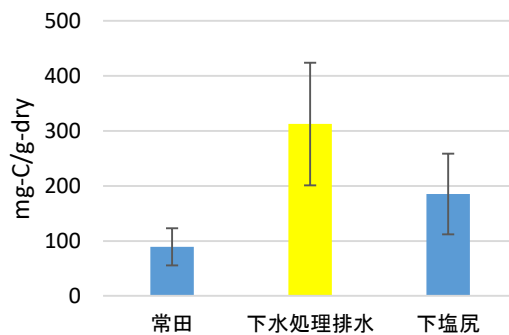


図6 付着物中の炭素含量 (平均±SD)

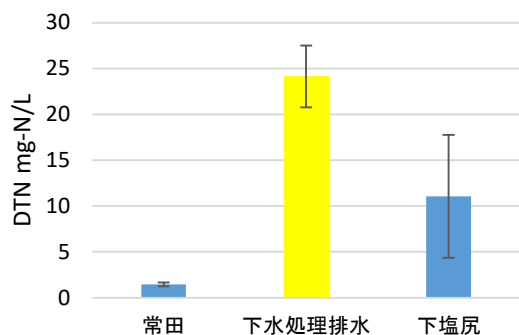


図3 河川水中の溶存全窒素濃度 (平均±SD)

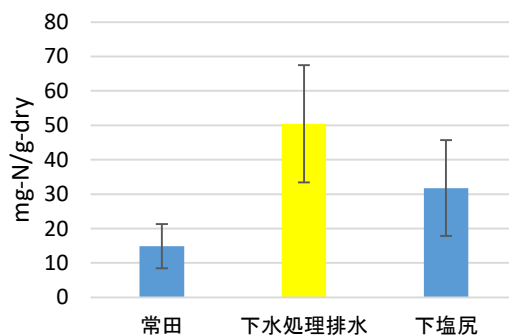


図7 付着物中の窒素含量 (平均±SD)

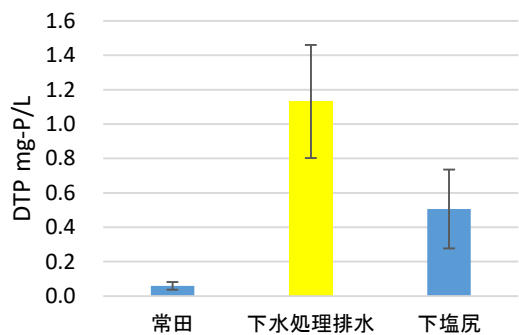


図4 河川水中の溶存全リン濃度 (平均±SD)

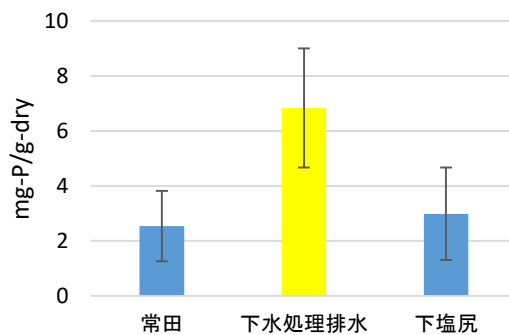


図8 付着物中のリン含量 (平均±SD)

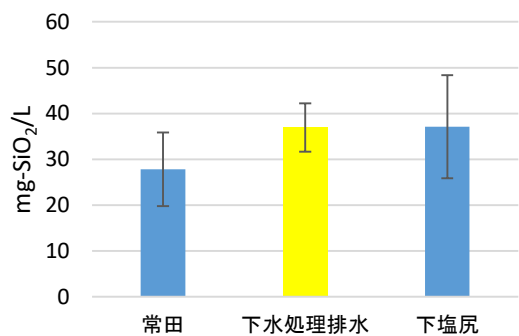


図5 河川水中の溶存ケイ素濃度 (平均±SD)

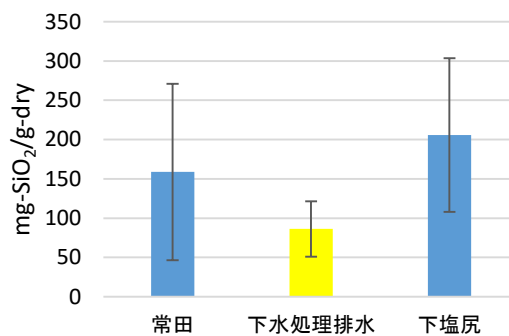


図9 付着物中のケイ素含量 (平均±SD)

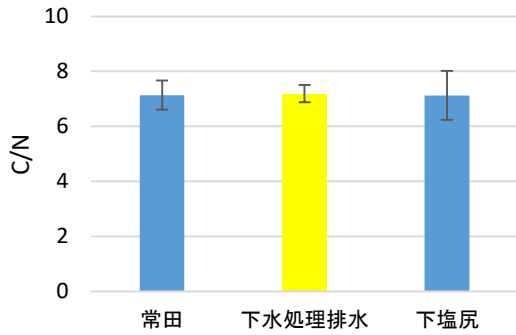


図 10 付着物の炭素/窒素モル比 (平均±SD)

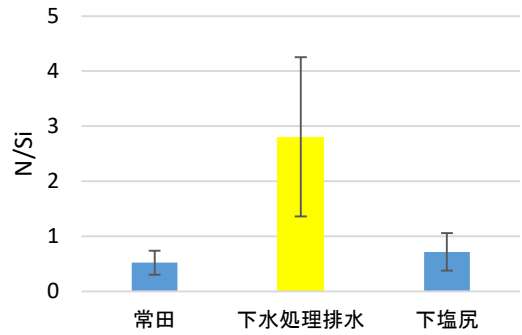


図 14 付着物の窒素/ケイ素モル比 (平均±SD)

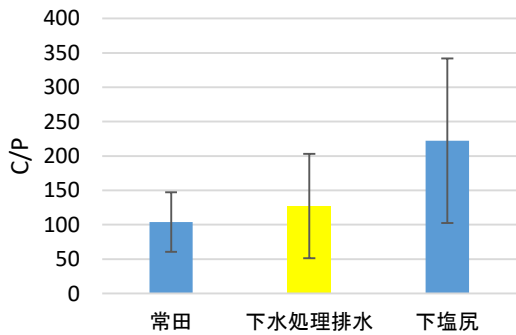


図 11 付着物の炭素/リンモル比 (平均±SD)

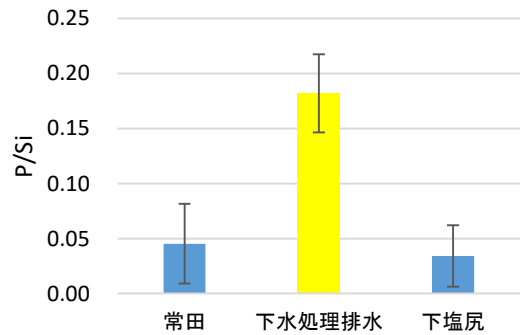


図 15 付着物のリン/ケイ素モル比 (平均±SD)

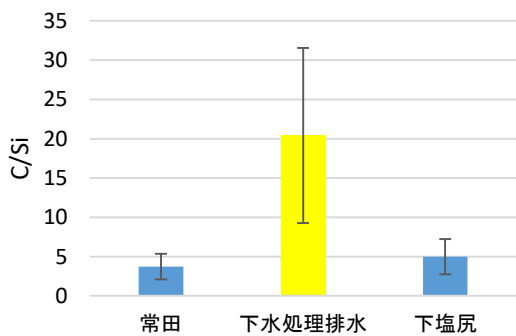


図 12 付着物の炭素/ケイ素モル比 (平均±SD)

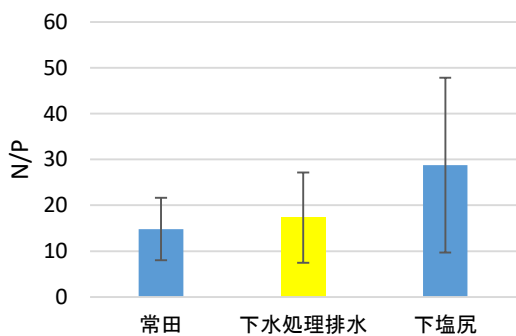


図 13 付着物の窒素/リンモル比 (平均±SD)

と、下流で約 8.5 倍高くなっていた。DSi 濃度は常田で平均 27.8 mg-SiO<sub>2</sub>/L、下塩尻で平均 37.1 mg-SiO<sub>2</sub>/L と、下流で約 1.3 倍高くなっていた(図 2 から 5)。これらより、下水処理排水の流入により、河川水中の炭素・窒素・リン濃度が上昇することが確認された。

一方、付着物についてみると、その炭素含量は常田で平均 89.2 mg-C/g、下塩尻で平均 185.4mg-C/g と、下流で約 2.1 倍高くなっていた。窒素含量は常田で平均 14.9 mg-N/g、下塩尻で平均 31.8 mg-N/g と、下流で約 2.1 倍高くなっていた。リン含量は常田で平均 2.54 mg-P/g、下塩尻では平均 2.99 mg-P/g と、下流で約 1.2 倍高くなっていた。Si 含量は常田で平均 159 mg-SiO<sub>2</sub>/g、下塩尻で平均 206 mg-SiO<sub>2</sub>/g と、下流で約 1.3 倍高くなっていた(図 6 から 9)。これらより、下水処理排水の流入により、付着物中の炭素・窒素含量が顕著に上昇することが確認された。これら元素は付着物中の生物由来の有機物化合物と考えられる。

次いで、常田と下塩尻の付着物の元素比(いずれもモル比)を求め、図 10 から 15 に示した。C/N 比は常田で 7.14、下塩尻で 7.13 と差が見られなかった(図 10)。一方、C/P 比は常田で 104、下塩尻で 197 と、下流で約 1.9 倍高くなっていた(図 11)。C/Si 比は常田で 3.72、下塩尻で 4.99 と、下流で約 1.3 倍高くなっていた(図 12)。N/P 比

は常田で 14.8, 下塩尻で 28.8 と, 下流で約 2 倍高くなっていた (図 13). N/Si 比は常田で 0.52, 下塩尻で 0.71 と, 下流で約 1.4 倍高くなっていた (図 14). P/Si 比は常田で 0.045, 下塩尻で 0.034 と上流の常田の方が約 1.3 倍高くなっていた (図 15). 以上より, 下水処理排水は付着物の C/N 比には影響を及ぼさなかったが C/P 比を大きく上昇させることが示された. 付着藻類の C/P 比が高いと, それを餌とする水生昆虫にとっては炭素含量に比してリン含量の少ない質の悪い餌となる (土居・片野, 2012).

また, 植物プランクトンのレッドフィールド比 (C:N:P=106:16:1) と, これら付着物の元素比を比較してみると, 常田の付着物は, レッドフィールド比とほぼ同等であったのに対し, 下塩尻の付着物は炭素や窒素に比べリン含量が少なく, 下塩尻はリン制限にあることが示唆された. しかし, 河川水中の N/P 比は, 常田で 61.4, 下塩尻で 45.8 と, 両地点ともリン制限下にあると言え, 数値だけを見ると常田の方がより強いリン制限下にあることになる. 後述するが, 常田で検出された溶解態窒素は主に NO<sub>3</sub>-N であったのに対し, 下塩尻では NH<sub>4</sub>-N が主であったため, これら溶解態窒素の形態による生物利用性の相違が, 付着物の N/P 比に反映されているのかもしれない.

また, 常田と下塩尻では付着物の N/Si 比と P/Si 比に大きな差は見られなかったが, 下水処理排水放流地点の付着物の N/Si 比と P/Si 比は常田や下塩尻よりも高くなっていた (図 14, 15). 下水処理排水の N/Si 比と P/Si 比も高く, 下水処理排水放流地点ではケイ素制限下にあることが示唆された. そのため, 下水処理排水放流地点の付着物中には, Si を必要とする珪藻の割合が少なくなっている可能性が高い. 事実, 図 9 に示す通り下水処理水放流地点では付着物の Si 含有量が少ない. また, 付着物の Chl. c/Chl. a 比を算出したところ, 常田では 0.29, 下水処理排水放流地点では 0.22, 下塩尻では 0.37 と, 下水処理排水放流地点では珪藻が持つとされる Chl. c の割合が低かった. また, 下水処理排水放流地点の付着物の色が, 多地点と比べ異なることも写真から確認でき, いずれも矛盾しない. さらに, 下水処理排水は河川水と比べ水温が高いため, 相対的に至適水温が低い珪藻類の増殖が抑制されていることも, その原因と考えられた.

### 3-2 下水処理排水が付着藻類の代謝に及ぼす影響

#### 3-2-1 光合成速度に及ぼす影響

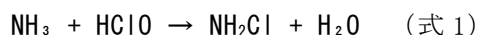
下水処理排水の影響を受けていない常田と影響を受けている下塩尻の河川水と付着藻類を組み合わせて培養したときの光合成速度を観察した. ここでは, 藻類量 (Chl. a 量) あたりの最大純生

産速度 (同化率) で評価を行った.

常田の付着物を下塩尻の河川水中で培養した No.3 処理区のみ, 培養後半で付着藻類の同化率が低下した (図 16). 一方, 常田の付着藻類を常田の河川水中で培養した No.1 処理区では, 培養後半で同化率が低下しなかったため, No.3 処理区の同化率の低下は下塩尻の水質によるものであり, 下水処理排水が付着藻類の同化率を低下させたと考えられた. 一方, 下塩尻の付着物を下塩尻の河川水中で培養した No.4 処理区では, このような同化率の低下は観察されず, 下塩尻の付着藻類は何らかの耐性を有していると考えられた.

そこで, 常田の付着藻類を用い, 下水処理水の混合率を変え, 同様な培養実験を行ったところ, 下水処理排水の混合率が 40%を超える (No.3' 及び No.4' 処理区) と, 明らかに付着藻類の同化率が低下することが確認され (図 17), 先の実験結果を支持するとともに, 下水処理水中の何らかの成分が付着藻類に作用していると考えられた.

一般に, 下水処理水の殺菌のため, 塩素消毒が行われている. 実際に, 下水処理排水中の全塩素濃度を測定したところ 0.137 mg/L 検出され, 全塩素は下流の下塩尻でも残存していることが確認された. 塩素消毒に用いられる次亜塩素酸は強い殺菌性を有するだけでなく, 下水処理排水に含まれるアンモニア態窒素 (NH<sub>4</sub>-N) と反応してモノクロラミン (NH<sub>2</sub>Cl) を生成することが知られている (式 1). 米国環境保護庁 (USEPA) の提示した淡水生物による排水の影響試験法に示されている緑藻 *Selenastrum capricornutum* Prinz を用いた増殖阻害試験を行なうと, モノクロラミンの濃度が 0.011 mg-Cl<sub>2</sub>/L を超えると緑藻の増殖が阻害され, モノクロラミンの濃度が上昇するほど緑藻の増殖阻害率も上昇することが示されている (鈴木ほか, 1996).



そこで, 下水処理排水と常田と下塩尻の河川水中の NH<sub>4</sub>-N 濃度を測定したところ, 下水処理排水中には平均 16.3 mg-N/L もの NH<sub>4</sub>-N が含まれており, 下塩尻でも 6.2 mg-N/L の NH<sub>4</sub>-N が検出され, 河川水中にモノクロラミンが存在していることが強く示唆され, 培養実験で見られた光合成速度の低下はモノクロラミンによる可能性がある.

#### 3-2-2 呼吸速度に及ぼす影響

下水処理排水の影響を受けていない常田と影響を受けている下塩尻の河川水と付着藻類を組み合わせて培養したときの呼吸速度を観察した. ここでは, 藻類量 (Chl. a 量) あたりの呼吸速度を用いて比較を行った. 下塩尻の付着物を下塩尻の河川水中で培養した No.4 処理区の呼吸速度は,

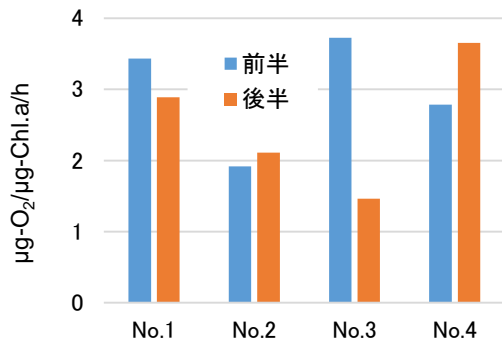


図 16 各処理区の最大純生産速度

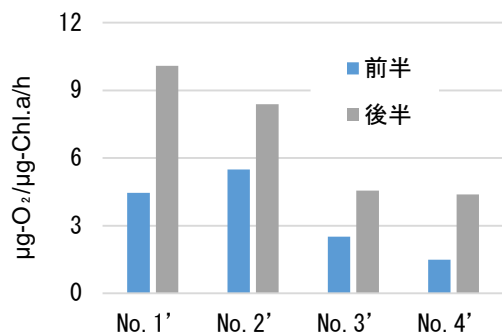


図 17 各処理区の最大純生産速度

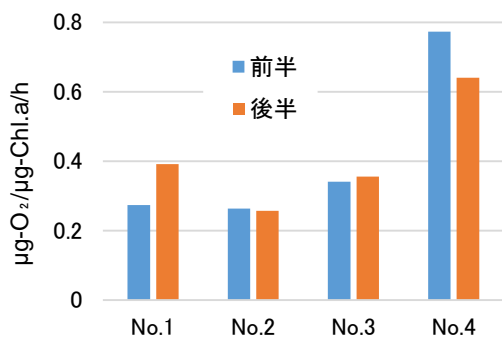


図 18 各処理区の呼吸速度の変化

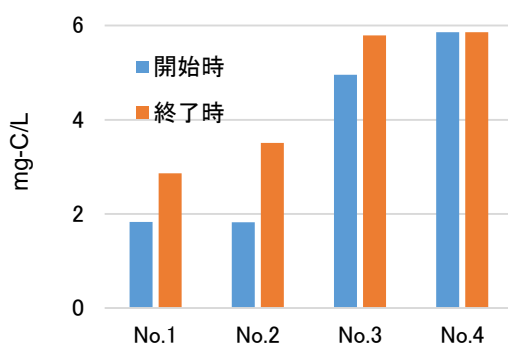


図 19 培養前後の溶存態有機炭素濃度の変化

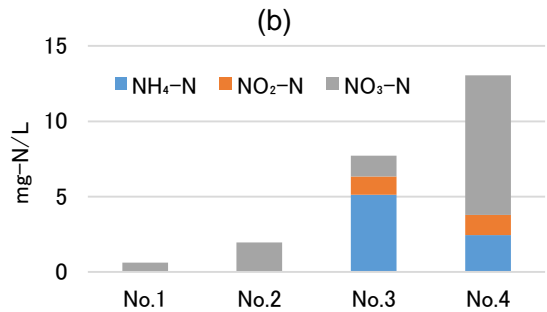
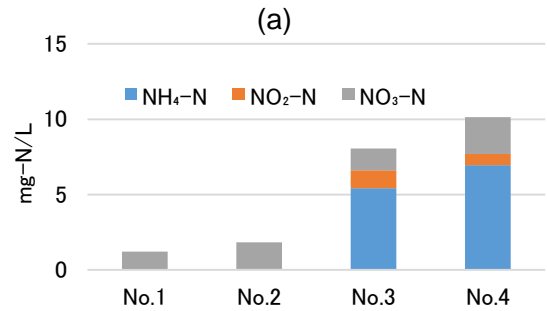
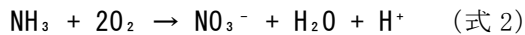


図 20 培養前後の溶存態無機窒素の変化  
(a) 培養前, (b) 培養後

培養の前半後半とも、他の処理区より高かった (図 18)。一方、常田の付着藻類を用い、下水処理水の混合率を変え、同様な培養実験を行ったところ、呼吸速度は下水処理水の混合率に影響されなかったため、上記の呼吸速度の相違は下塩尻の付着物に原因があると考えられた。

そこで、培養前後の水質を比較すると、DOC 濃度は開始時と終了時で差が見られなかった。(図 19) よって、水中の有機物量は上記 No. 4 処理区の呼吸速度が大きいことと関係がないと考えられた。また、培養前後の付着物の強熱減量を比較すると、No. 4 処理区のみで増加が確認され、他の処理区では減少していた。ここでの強熱減量は、付着物中の有機物含量の目安となる。一方、培養前後の付着物の Chl. a 量を比較すると、すべての処理区で減少しており、No. 4 処理区で観察された強熱減量の増加は、藻類ではなく細菌類の増加が原因と考えられた。

次に、培養前後の溶存態無機窒素濃度を比較すると、下水処理水由来と思われる NH<sub>4</sub>-N が、No. 3 と No. 4 処理区から検出され、No. 3 処理区では培養後も NH<sub>4</sub>-N が多く残存していた。一方、No. 4 処理区では、培養後に NH<sub>4</sub>-N が減少し、NO<sub>3</sub>-N が増加していることが確認された (図 20)。この変化から、下塩尻の付着物中には NH<sub>4</sub>-N を NO<sub>3</sub>-N に酸化する硝化細菌が存在していることが示唆された (式 2)。



No. 4 処理区での呼吸速度が高いことの原因として、硝化細菌の存在が示唆されたため、付着物中の硝化細菌数を計数することとした。硝化細菌にはアンモニア酸化細菌と亜硝酸硝化細菌があるため、ここではどちらも対象とし、MPN法で計数した。また、比較のため常田の付着物についても同様にアンモニア酸化細菌と亜硝酸酸化細菌の計数を行った。

2018年11月15日に採取した下塩尻の付着物中のアンモニア酸化細菌数は、 $2.4 \times 10^4$  MPN/mg以上であった。一方、同日の常田の付着物中のアンモニア酸化細菌数は $9.2 \times 10^3$  MPN/mgであった。また、下塩尻の付着物中の亜硝酸酸化細菌数は $2.4 \times 10^4$  MPN/mg以上であった。一方、常田の付着物中の亜硝酸酸化細菌数は $5.8 \times 10^2$  MPN/mgであった。培養実験で顕著な硝化が観察された試料（2018年1月19日採取）とは異なり、また、希釈した試料全てが陽性となり正確な菌数も求められなかったが、下塩尻の付着物にはアンモニア酸化細菌、亜硝酸酸化細菌ともに多く含まれていることが確認された。さらに、下水処理排水中からはアンモニア酸化細菌が検出されず、亜硝酸酸化細菌数が220 MPN/mlと、付着物に比べるとその数が少なかったことから、アンモニアを高濃度に含む下水処理排水が流入することで、下塩尻で硝化細菌が増殖していると考えられた。

#### 4. まとめ

下水処理排水は付着物のC/P比を上昇させ、その消費者である水生昆虫にとって質の悪い餌を創出していることが示唆された。また、局所的ではあるが、下水処理排水放流地点では、ケイ素制限が生じ珪藻の増殖が妨げられていることが示唆された。

下水処理排水が付着藻類の同化率を低下させることが確認され、その要因のひとつとして、下水処理排水に含まれるアンモニアと次亜塩素酸から生成するモノクロラミンの影響が考えられた。

下水処理排水が流入する場所には硝化細菌が多く存在しており、硝化の過程で酸素が消費されやすくなることが示唆された。硝化が活発に行われ溶存酸素濃度が低下すると、水生昆虫などにとって住みにくい環境になると予想された。

これら下水処理排水による河川生態系への影響は、河川流量が減少し河川水に対する下水処理排水の混合割合が高まる冬季において顕著になると考えられた。

#### 5. 引用文献

内田朝子・大八木麻希・加藤元海・中西正己, 2013, 矢作川の生態系を支える付着藻類の栄養状態, 陸水学

雑誌, 74(2), 63-72.

小松伸行・石井裕一・渡邊圭司・本間隆満・北村立見実・根岸正美・岩崎順, 2009, 富栄養化した霞ヶ浦の堆積物に養殖の痕跡を残すリンの形態と分布, 陸水学雑誌, 69(3), 193-208.

鈴木祥広・森下玲子・丸山俊郎, 1996, 淡水産植物プランクトンの増殖阻害試験によるモノクロラミンと塩素殺菌下水処理水の毒性評価, 水環境学会誌, 19(11), 861-870.

諏訪裕一・豊原大樹・岡田達治・漆川芳国, 1991, 膜分離活性汚泥法における硝化活性に対する窒素負荷増加の影響, 水質汚濁研究, 14(4), 261-265.

中嶋さやか・井関和夫, 2006, 沿岸域における生物起源ケイ素の分析手法の検討と春季周防灘における分布, J. Grad. Sch. Biosp. Sci., Hiroshima Univ., 45, 21-29.

微生物研究法懇談会, 1975, 微生物学実験法, 講談社, 213-217.

土居秀幸・片野泉, 2012, 9章 河川の被食-捕食関係と食物網構造, 淡水生態学のフロンティア, 共立出版株式会社, 98-107.

(原稿受付 2019.3.6)