

## VI 研究報告

- 1 多層レベルモデルによる霞ヶ浦の湖流解析…………… 89  
小松伸行・石井裕一
- 2 霞ヶ浦流域における蛍光性溶存態有機物 (F-DOM) の時空間的変動 …… 98  
今井清太 (筑波大学)・渡邊圭司・濱健夫 (筑波大学)
- 3 霞ヶ浦におけるカルシウム結合リンの沈降と堆積…………… 107  
小松伸行・渡邊圭司・石井裕一
- 4 霞ヶ浦湖岸水田地帯からの機械排水と自然排水による負荷の比較…………… 116  
北村立実, 黒田久雄 (茨城大学), 山本麻美子, 田淵俊雄 (農業農村工学会名誉会員)
- 5 霞ヶ浦湖岸水田地帯における用排水機場からの流出負荷の特性 …… 123  
北村立実, 黒田久雄 (茨城大学), 山本麻美子, 田淵俊雄 (農業農村工学会名誉会員)
- 6 固有脂肪酸を用いた水圏生態系におけるバクテリアの生活形態に関する研究…………… 129  
佐々木孝奈 (筑波大学)・渡邊圭司・濱健夫 (筑波大学)
- 7 茨城県内の河川におけるフェノール誘導体の実態調査…………… 136  
菅谷和寿, 山田功
- 8 ICP-MS によるヒ素の分析条件の検討…………… 144  
山田功, 菅谷和寿
- 9 不正軽油製造に伴う廃棄物中のクマリンの定量…………… 149  
菅谷和寿

## 多層レベルモデルによる霞ヶ浦の湖流解析

小松伸行<sup>※1</sup>, 石井裕一<sup>※2</sup>

Analysis of Currents in Lake Kasumigaura by the Multi-layer model

Nobuyuki KOMATSU and Yuichi ISHII

Key Words : 湖流, 吹送流, 常陸川水門, 数値シミュレーション

### 1 はじめに

湖水は物質, エネルギー, 生物を移動させる媒体であり, 湖流は湖沼環境を考えるうえで極めて重要な現象である。筆者らはこれまで, 霞ヶ浦における現地観測結果を用いた解析により, 湖流の形成・変動要因や流動特性について検討してきた<sup>1)2)</sup>。しかしながら現地観測には限界があり, 多地点における長期間連続観測であっても時間的・空間的に巨大な現象のごく一部の情

報しか得ることができない。このため, 限定された観測結果を補い湖流特性の理解を進めるうえで, 数値シミュレーションを用いた湖流解析が必要である。本研究では, 湖流特性の解明と湖内水質に関する研究での活用を目的として, すでに北浦で構築した湖流シミュレーションモデルの成果<sup>3)</sup>と西浦で新たに実施した湖流観測結果をもとに, 西浦および霞ヶ浦全域を対象とした流動解析モデルを構築した。



Fig. 1 Summary of Study Site

※<sup>1</sup> 現所属 : 茨城県農林水産部漁政課

※<sup>2</sup> 現所属 : (独) 国立環境研究所

## 2 現地観測の概要

### (1) 観測地域

霞ヶ浦は茨城県南部に位置し、西浦、北浦、外浪逆浦、北利根川、常陸川および鰐川から構成される総面積 219.9km<sup>2</sup> の湖沼である (Fig. 1)。常陸川と利根川との合流点には洪水の逆流と塩水の遡上を防ぐことを目的に常陸川水門が設置されている。このため、現在の霞ヶ浦は淡水湖となっており、水道用水、工業用水および農業用水の水源として利用されている。霞ヶ浦の大部分を占める西浦 (171.5km<sup>2</sup>) と北浦 (36.2km<sup>2</sup>) の平均水深はそれぞれ 3.4m と 4.5m であり、面積に対して水深が非常に浅い水域である。

### (2) 現地観測

観測は Fig. 1 に示す北浦 8 地点 (K1 ~ K8) で 2005 年 12 月から 2006 年 9 月に、西浦 8 地点 (N1 ~ N8) で 2007 年 11 月 ~ 2008 年 10 月に実施された。観測には超音波ドップラー流速計 (ADCP ; Nortek 製アクアドッププロファイラー NB 型 2MHz) を 8 台使用した。ADCP は動揺しないように架台に固定し、ダイバーによって湖底に設置した。センサー部の高さは湖底上約 50cm とした。ADCP の鉛直方向の分割幅は、センサー上 20cm から水面方向へ 50cm 間隔とし、各層における流向・流速の 60 秒平均値を 10 分間隔で取得するように設定した。なお、発信する音波パルス (pings) 数と層厚等から予測された誤差の理論値は 1.4cm/s であった。霞ヶ浦では風などの影響により ± 20 ~ 30cm の水位変動が生じて観測水深も変動したが、概ね湖底上 70cm から水面下 20 ~ 90cm の範囲が観測水深であった。

西浦の湖心観測所および北浦の釜谷観測所における湖上風の観測データと、潮来、鰐川および日川における河川流量データは、国土交通省関東地方整備局霞ヶ浦河川事務所および (独) 水資源機構利根川下流総合管理所から提供を受けた。

## 3 流動解析モデルの構築

### 3-1 モデルの基本構造

#### (1) 基本式

本研究で用いる数値モデルの基本構造は北浦を対象とした前報<sup>3)</sup> と基本的には同じである。ただし、密度分布は水温の関数として求めるよう

に変更した。また、鉛直渦動粘性係数  $A_v$  の計算に用いる係数  $\kappa$  は 0.08 とし、水平、鉛直の渦動拡散係数  $K_h$ ,  $K_v$  は  $A_h$ ,  $A_v$  と各々同じ値とした。水温は次式により湖面における熱収支を与え<sup>4)</sup>、移流拡散方程式により湖内の分布を計算した。

$$Q = Q_s - (Q_b + Q_c + Q_e) \quad \dots(1)$$

ここで

$$Q_s = (1 - \alpha) Q'_s \quad \dots(2)$$

$Q'_s$ : 吸収日射量  $Q'_s$ : 全日射量  $\alpha$ : 反射率

$$Q_b = 1.32 \times 10^{-12} \theta_w^4 \{0.49 - 0.066 \sqrt{e(T_a)}\} (1 - 0.65n^2) + 5.27 \times 10^{-12} \theta_w^3 (T_w - T_a) \quad \dots(3)$$

$Q_b$ : 有効長波放射量  $T_w$ : 水温  $T_a$ : 気温

$\theta_w$ : 水温の絶対温度 =  $T_w + 273$   $n$ : 雲量

$e(T_a)$ : 空気の水蒸気圧

$$Q_c = K_c + (T_w - T_a) \quad \dots(4)$$

$Q_c$ : 顕熱輸送量  $K_c$ :  $2.77 \times 10^{-4} (0.49 + 0.272W)$

$W$ : 風速

$$Q_e = \frac{1}{B} Q_c \quad B = 0.66 \frac{T_w - T_a}{e(T_w) - e(T_a)} \quad \dots(5),(6)$$

$Q_e$ : 潜熱輸送量

$e(T_w)$ : 湖面水温での飽和水蒸気圧

$e(T_a)$ : 空気の水蒸気圧

なお、熱量の単位は (cal/m<sup>2</sup> · s)、水温・気温は (°C)、絶対温度は (K)、風速は (m/s)、水蒸気圧は (mb) である。

#### (2) 境界条件

水深メッシュデータは国土地理院の湖沼図 (1:10,000) の等深図から作成した。水平方向のメッシュサイズを計算時間が過大にならないように 200 × 200m とした。

霞ヶ浦の湖流形成には風が重要であることから<sup>1)2)</sup>、湖流の計算には西浦の湖心観測所 (N7 付近) および北浦の釜谷観測所 (K6 付近) における湖上風の観測データを用いて時間変動を与えた。

また、水門操作に伴う河川流出量の変動が湖流に影響すると考えられたことから<sup>5)6)</sup>、西浦の計算には潮来における河川流量、霞ヶ浦全域の計算には日川における河川流量の時間変動を与えた。一方、主要河川からの流入量と取水量は湖流への影響が小さいことから一定値を与えるようにし、

以下のシミュレーションでは Table 1 に示す流量を与えた。

### (3) 助走期間

北浦の流動解析モデル<sup>3)</sup>では、計算開始から3～6時間の助走期間を考慮する必要があったが、同様の検討を行った結果、本モデルでは対象水域が広いため18時間の助走期間が必要と考えられた。

Table 1 Inflow / Intake rate in the model

L. Nishiura			L. Kitaura		
Number	River	Flow (m <sup>3</sup> /s)	Number	River	Flow (m <sup>3</sup> /s)
N <sub>in</sub> 1	Koise	5.10	K <sub>in</sub> 1	Tomoe	3.88
N <sub>in</sub> 2	Sonobe	2.55		Hokota	
N <sub>in</sub> 3	Kajinashi	0.58	K <sub>in</sub> 2	Futaezaku	0.22
N <sub>in</sub> 4	Hishiki	0.57	K <sub>in</sub> 3	Takeda	0.48
N <sub>in</sub> 5	Sakura	7.66	K <sub>in</sub> 4	Yamada	0.40
N <sub>in</sub> 6	Hanamuro	1.27	K <sub>in</sub> 5	Kura	0.42
N <sub>in</sub> 7	Seimei	0.85	K <sub>in</sub> 6	Gantsu	0.19
N <sub>in</sub> 8	Ichinose	0.80			
N <sub>in</sub> 9	Ono	4.04			
N <sub>in</sub> 10	Shintone	4.22			
N <sub>out</sub> 1	Kihara	-1.73	K <sub>out</sub> 1	Takei	-1.52
			K <sub>out</sub> 2	Tsumagi	-4.82

## 3-2 西浦流動解析モデル

### (1) 湖上風の空間分布

湖流のシミュレーションにおいて、風の空間的非一様性に伴う渦度の供給・生成が水平循環の再現性に影響することが指摘されている<sup>7)8)</sup>。しかしながら、霞ヶ浦においては琵琶湖や諏訪湖のような風の空間分布に関する十分な調査は実施されていない。西浦において国土交通省により湖上2地点、湖岸3地点で実施されている風の自動観測結果を解析すると、風向の空間変化は小さいものの、風速は湖上で強く周辺部で弱い傾向が認められている<sup>9)10)</sup>。また、風下側で強い傾向があり、例えば、N3における風速を見ると、東～東南東よりの風の場合には湖心(N7)よりも20%程度強くなるが、西よりの風の場合には湖心(N7)よりも20～30%程度弱い。これら風速の非一様性は、陸地と水面の表面粗度の違いと、吹送距離による影響で形成されると考えられる<sup>11)</sup>。そこで本モデルでは、国土交通省データの解析結果を基に、吹送距離0mの地点で0.5、湖心で1.0となるような風の重み係数を風向ごとに算出して各計算格子に与え、吹送距離に応じた風速変化を考慮するシミュレーションを行えるようにした。

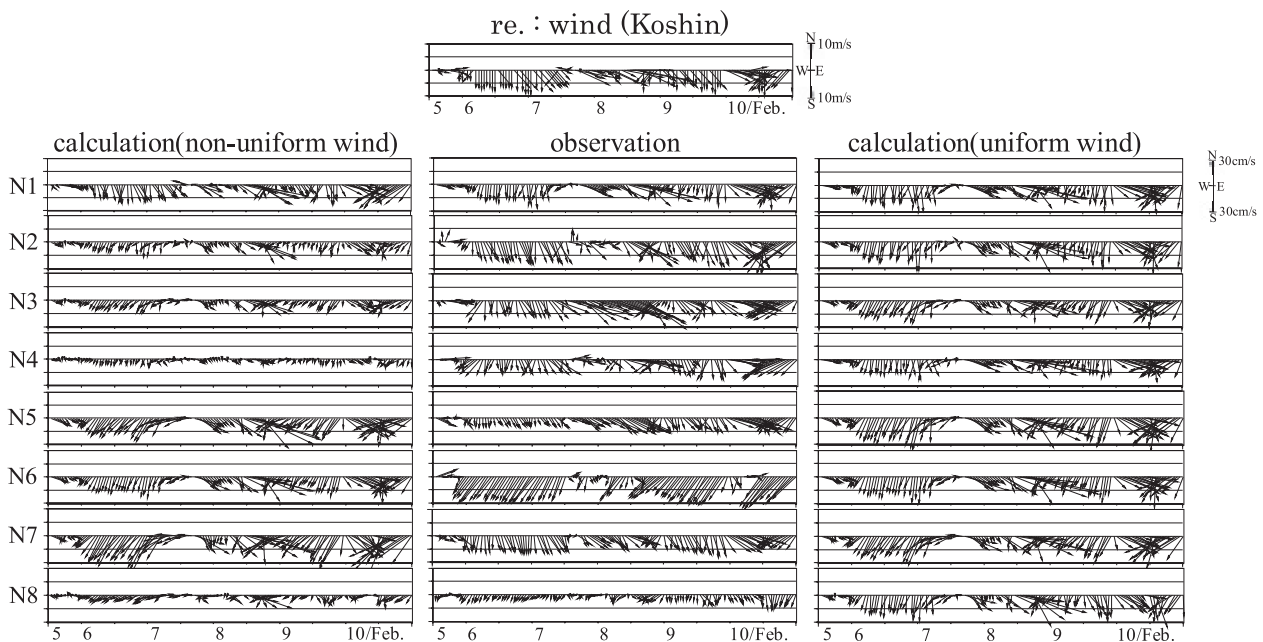


Fig.2-(1) Results of calculation and observation in the upper layer  
(5/Feb./2008 - 10/Feb./2008)

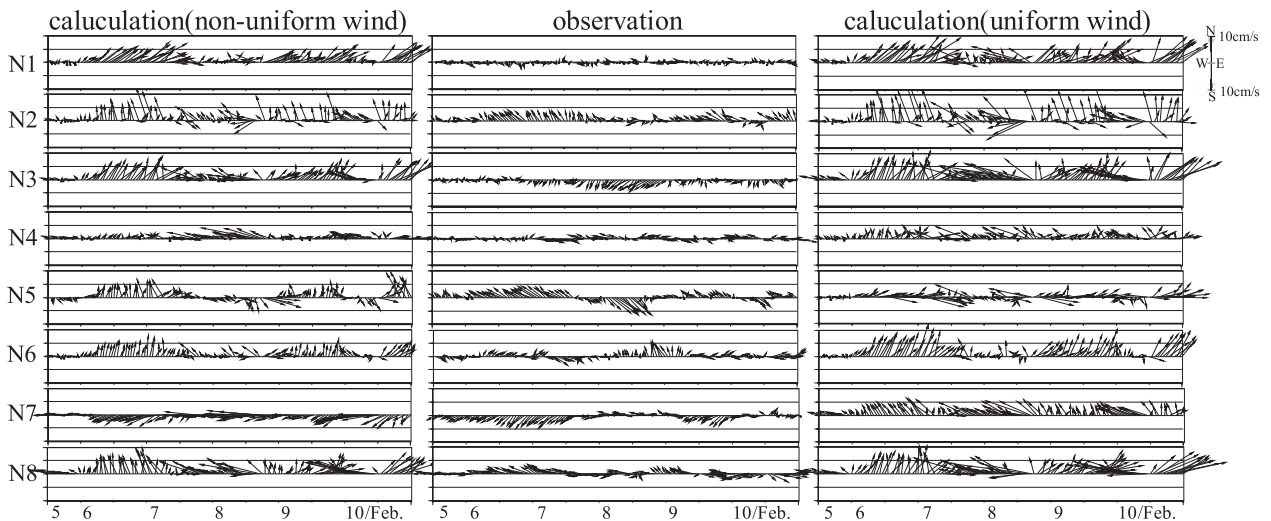


Fig.2-(2) Results of calculation and observation in the middle layer  
(5/Feb./2008 – 10/Feb./2008)

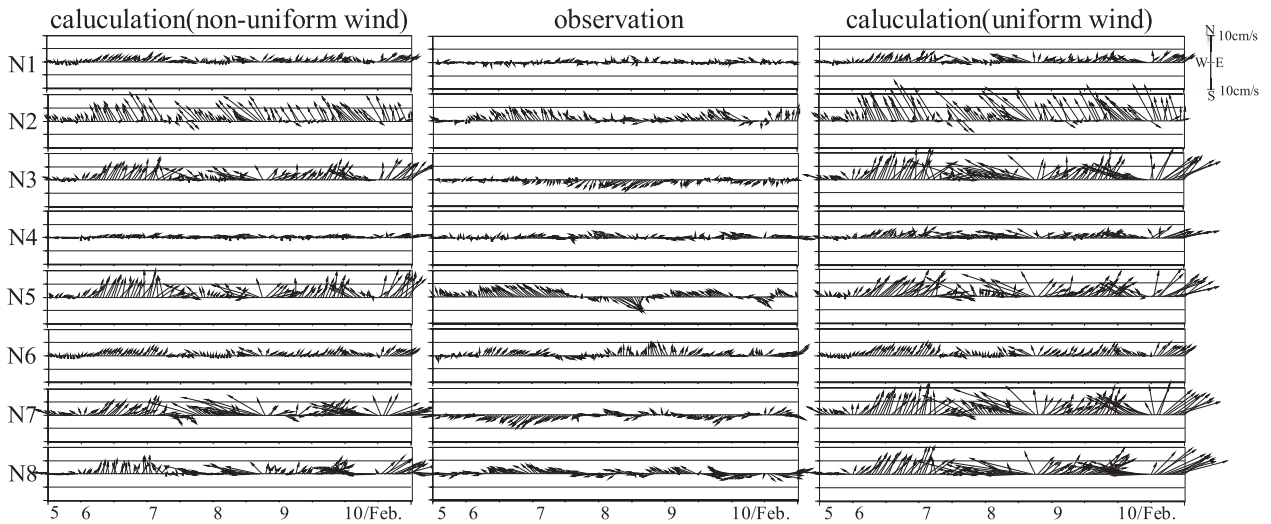


Fig.2-(3) Results of calculation and observation in the bottom layer  
(5/Feb./2008 – 10/Feb./2008)

非成層期の西浦では、北風が連吹する場合、高浜入りと呼ばれる湖北部において反時計回りの水平循環、湖央部において湖心付近を境にした左右2つの水平循環または時計回りの水平循環が形成される可能性が報告されている<sup>2)</sup>。ここでは、水平循環形成に与える風の影響を検討するため、風速分布を考慮した場合と考慮しない場合のシミュレーションを実施した。

計算結果の一例を Fig. 2 に示した。この図では1時間間隔の風や湖流のベクトル図をX軸方向にずらしながら表示しており、流向流速（あるいは風向風速）の時間変化を表している。上層における湖流 (Fig. 2-(1)) を見ると、一様風を与えた場合、8地点全てに同様な湖流が形成されてお

り、観測値のような地点ごとに少しずつ異なる流向流速を十分に再現できていない。一方、非一様な風速分布を与えたシミュレーションでは、N2～N4で流速が小さく一様風の場合よりも観測値の再現性が低下していたが、N8の流速は観測値とよく一致していた。また、中層および下層における湖流 (Fig. 2-(2),(3)) を見ると、一様風を与えた場合には上層に対する逆流傾向が強く現れており観測値の再現性があまり良くないが、風速分布を与えた場合には再現性が向上した。

Fig. 3 には、Fig. 2 で図示した計算期間のうち、北風が連吹した2月6日正午の上層と中層について、シミュレーションで得られた湖流水平分布を示した。図中の太い矢印は実測値である。

上層の結果を比べると (Fig. 3-(1)), 風速分布を与えた場合 (a) と一様風の場合 (b) の湖流水平分布は類似しているように見えるが, 風速分布を与えた場合, 風速に対応して湖周辺部の流速が湖中央部よりも小さくなっていた。中層の結果 (Fig. 3-(2)) では, 一様風を与えた場合 (b) には全域で上層と反対向きに流れる傾向があり, 水平循環は形成されなかった。一方, 風速分布を与えた場合 (a) には, 高浜入りの水平循環は見られないものの, N7 の南東側に明確な反時計回りの水平循環, 北西側に弱い時計回りの水平循環が形成された。

これらの結果から, 西浦における水平循環の形成には, これまで指摘されてきた地形の影響<sup>2)</sup> と

ともに, 湖面における非一様な風速分布が影響を与えている可能性が考えられる。ただし, 今回のモデルに組み込んだ風速分布は, 極めて少ない地点の風の観測データを参考に, 吹送距離の単純な関数を作成して与えたものであり, 現実の湖上風の空間分布をどの程度反映しているかは不明である。また, 各地点の流況や再現性は様々に変化しており, 現実の風条件は時間的にも複雑に変化していることが推察される。今後, 地形の解像度や拡散・粘性に係る各種パラメータの検討に加え, 霞ヶ浦における風分布の詳細な観測を実施し, シミュレーションにおける現実的な与え方を検討する必要がある。

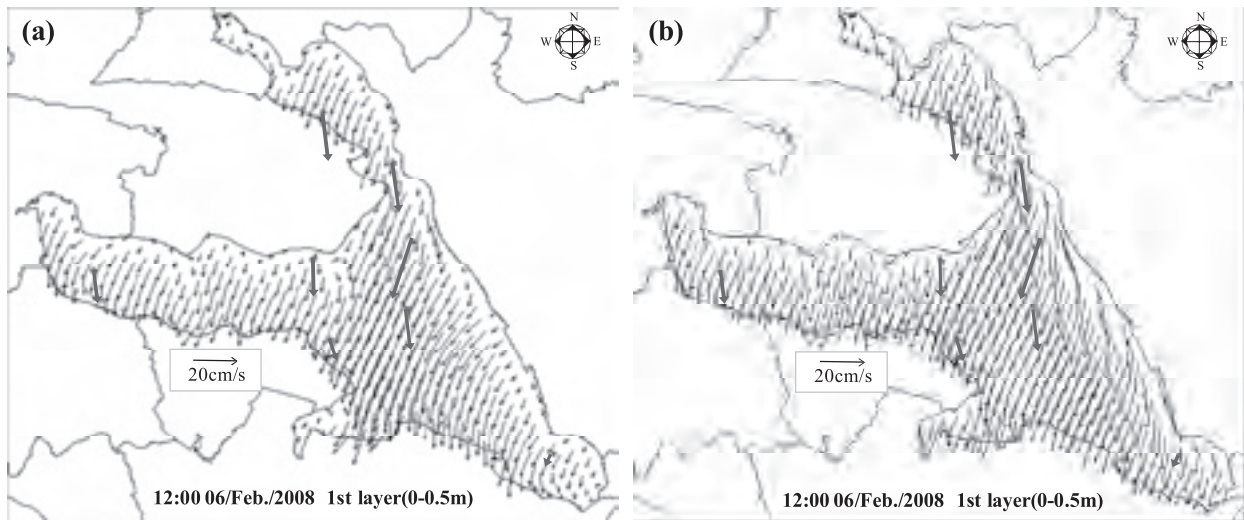


Fig.3-(1) Horizontal distribution of currents in the upper layer  
(a) non-uniform wind condition (b) uniform wind condition

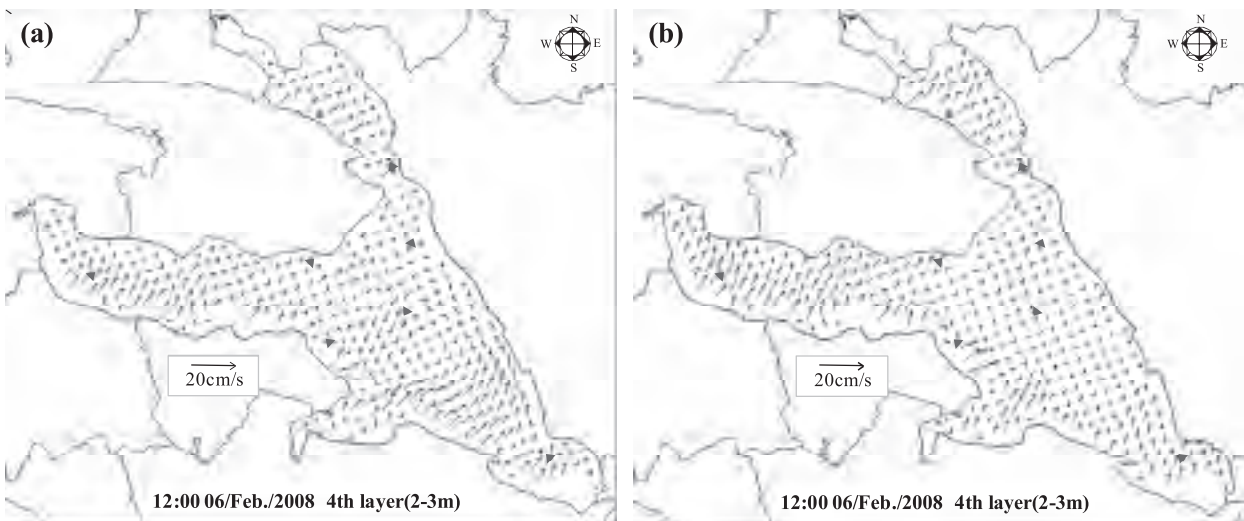


Fig.3-(2) Horizontal distribution of currents in the middle layer  
(a) non-uniform wind condition (b) uniform wind condition

## (2) 熱収支

湖面における熱収支の計算の有無が湖流のシミュレーション結果に与える影響を検討する。Fig. 4 に成層期のシミュレーション結果の一例として、2008年6月8日のN7における湖流鉛直分布の時間変化を気象条件および水温鉛直分布の観測結果とあわせて示した。ここで、水温鉛直分布は湖底における水温との水温差  $\delta T$  として、湖上風と湖流は流速の南北成分のみを北向きの流れが正值、南向きの流れを負値として示した。 $\delta T$  の時間変化 (b) を見ると、日射量の増加に伴い水面へ供給される熱により上層の水温が上昇し、風がほとんど停止した正午頃から水温成層が形成され、日射量の減少とともに弱い南風が吹いた18時頃から成層面が中・下層に向けて下降していく様子が見られた(図中、矢印)。この時の湖流の観測結果 (c) から、成層形成前には複雑に変化していた流向が、成層形成時には成層面を境界として上部で北向きの流れ、下層で南向きの2層流的な流れに変化し、18時頃からの成層面の下降にあわせて流向の境界層も下降する状況が認められた。このような水温成層と湖流との関係は夏季の霞ヶ浦で日周期的に見られ、湖内の物質輸送にも影響を与える重要な現象である<sup>12)13)</sup>。本モデルによるシミュレーション結果を見ると、流向流速の変化する水深帯が熱収支を考慮しない場合 (e) にはほとんど変化しないのに対し、熱収支を考慮した場合 (d) は時間とともに変化した。しかしながら、観測結果に見られる成層付近の顕著な流速勾配は認められず、18時以降の境界層の下降も十分に再現されていない。これは、日成層時の境界層の厚さがせいぜい数10cmでしかないのに対し、本モデルの鉛直解像度(鉛直格子サイズ1m)が不十分であること、移流拡散に係る乱流現象の取り扱いがなく日成層の連行則<sup>14)</sup>を表現できないこと等が要因である。夏季の日成層は霞ヶ浦の貧酸素水塊の動態などに密接に関係することから<sup>15)</sup>、霞ヶ浦における成層モデルの開発は今後の課題である。

### 3-3 霞ヶ浦全域流動解析モデル

#### (1) 流出河川の流量変動

日川における時間流量は常陸川水門が解放さ

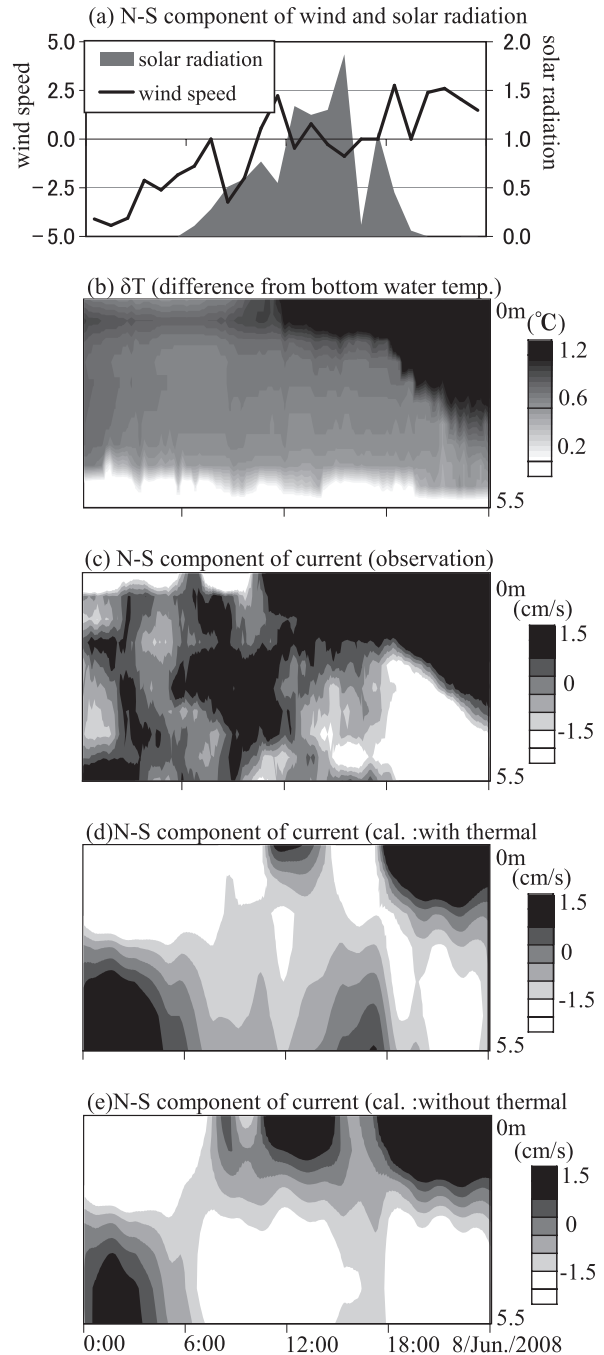


Fig.4 Depth-time variation of the water temp. and the current

れると順流となるが、閉塞時には概ね停止している。また、西浦からの流出量を示す潮来と北浦からの流出量を示す鰐川の時間流量は、水門開放時にはほぼ同量の順流となるが、閉塞直後には潮来で順流が継続する一方、鰐川で強い逆流が生じ、その後は水域間の連成振動が発生する。この現象は一次元不定流モデルで良く説明されており<sup>15)</sup>、北浦・西浦の湖流にも影響を与えて

いる<sup>56)</sup>。このため、これまでに構築した北浦流動解析モデル(以下、北浦モデル)では釜谷沖の湖上風と鰐川の時間流量の実測値を、西浦流動解析モデル(以下、西浦モデル)では湖心の湖上風と潮来の時間流量の実測値を与えて湖流のシミュレーションを行った。霞ヶ浦全域の流動解析モデル(以下、全域モデル)では、湖上風には釜谷沖および湖心の実測値を北浦と西浦に各々与えるが、流出河川の時間流量には日川における実測値のみを与える。ここで、全域モデルにおいて潮来・鰐川における時間流量の計算値と実測値が一致していれば、湖内における湖流のシミュレーション結果とその再現性は西浦モデルおよび北浦モデルと同じになると考えられる。

Fig.5に水門操作により日川の時間流量が変化する2006年1月16日16:00～1月17日10:00について、潮来・鰐川における時間流量の計算値および実測値の変動を示した。この結果、いずれの地点においても水門操作に伴う特徴的な流量変動が良く再現されていた。ここでは示さないが、この時の全域モデルによる湖流のシミュレーション結果と西浦モデルおよび北浦モデルによるシミュレーション結果を各々比較した結果、同様の結果であったことが確認された。

## (2) 水門操作による湖流への影響

霞ヶ浦の水門操作が湖内流況に与える影響は西浦よりも北浦で大きいことが推察されているが<sup>6)</sup>、ADCPを用いた現地観測結果には湖流形成要因として卓越する風の影響が含まれる。そこで、全域モデルを用いた数値シミュレーションによる水門操作の影響解析を行った。一例として、西浦で湖流観測が行われた期間のうち、密

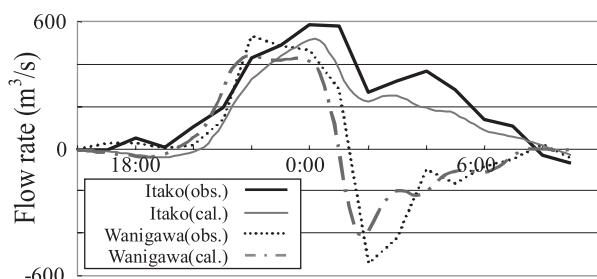


Fig.5 Time series of flow rate observed/calculated at Itako and Wnigawa.

(16:00 16/Jan.2006 – 10:00 17/Jan.2006)

度分布がほぼ一様となる非成層期である2008年2月8日を対象としたシミュレーション結果について解析する。この時の水門操作に伴う流出河川の流量変動の実測値をFig.6に示した。また、風速を常時0m/sとし河川流入出のみを外力として与えた場合の上層における湖流ベクトルの空間分布をFig.7に示した。

水門が閉鎖されており日川、潮来、鰐川のいずれの流量もほぼ0となっている8時には、それ以前にあった200m<sup>3</sup>/s未満の流量変動の影響による微弱な湖流が、西浦では周辺部に、北浦では中心部に見られた(Fig.7(a))。放水量が最大となり、潮来と鰐川の流量が西浦と北浦から流出方向に大きくなった12時には、流出河川部分だけでなく、水深の浅くなる西浦南端部と北浦南端部にも流出方向に10cm/sを超える流速が見られた(Fig.7(b))。また、河川流出の影響による湖流形成は湖内全域に及んでいるが、西浦N7の流速は0.7cm/s、北浦K6は2.7cm/sであり、北浦の流速が西浦よりも大きかった。さらに、水門が閉鎖された直後の15時には、西浦で順流が継続する一方で、北浦には放水時の流出量に匹敵する量の逆流が生じていた。湖内の流れは、西浦では全域に流出方向の湖流が形成され南端部で流速が大きく、北浦では全域に北向きの湖流が形成され特に南端部の湾曲部で流速が大きかった(Fig.7(c))。この時の西浦N7の流速は0.2cm/s、北浦K6は2.2cm/sであった。その後、20時のシミュレーション結果では、流出河川と北浦南端部の影響が残っているが、湖内の流れは全域で微弱であった(Fig.7(d))。

現地観測結果の解析<sup>6)</sup>において、北浦の湖流には水門操作の影響が明瞭に認められたが、西浦では不明瞭であった。今回のシミュレーション結果から、水門操作に伴う河川流入出によって形成された湖流の流速は、北浦では数cm/sと中・下層の観測値における平均的な流速に匹敵したが、西浦では1cm/s未満と極めて微弱であり、ADCPの誤差の理論値よりも小さくなった。これらの結果から、北浦よりも湖の表面積・容積が大きい西浦では、水門操作が流速に与える影響が小さいことが明らかとなった。



また、ここでは図示しなかったが、風の影響を考慮して行ったシミュレーション結果で得られた2008年2月8日の流速(鉛直平均値)は、12時がN7で7.6cm/s, K6で7.3cm/sであり、15時がN7で13.4cm/s, K6で16.5cm/sであった。これらの値は河川流入出のみを外力として与えた場合よりも数倍大きく、霞ヶ浦の湖流形成に

おいて河川流入出よりも吹送流が卓越することを示しており、特に西浦でその傾向が顕著であることが明らかとなった。

## 5 まとめ

本研究の成果は以下のように要約される。

(1) ADCPによる現地観測結果をもとに、風と流出河川流量変動から湖流シミュレーションを行う多層レベルモデルを構築し、西浦および霞ヶ浦全域の水平的な湖流を再現した。

(2) 西浦において、風速空間分布の非一様性を考慮したシミュレーションを実施した結果、観測結果の再現性が向上し、中・下層に水平循環が形成された。

(3) 熱収支の計算の有無により、観測結果の再現性に差は見られなかった。本モデルは霞ヶ浦における日成層の複雑な挙動を再現できないため、

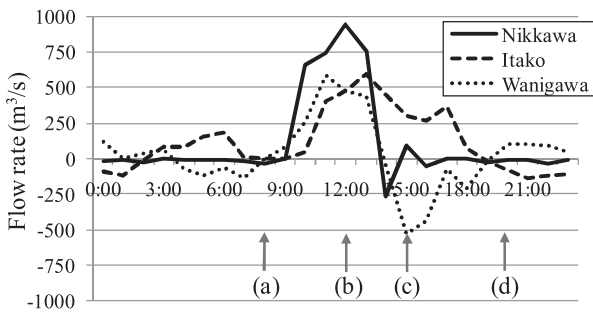


Fig.6 Time series of flow rate observed at Nikkawa, Itako and Wanigawa. (0:00-23:00 8/Feb./2008)

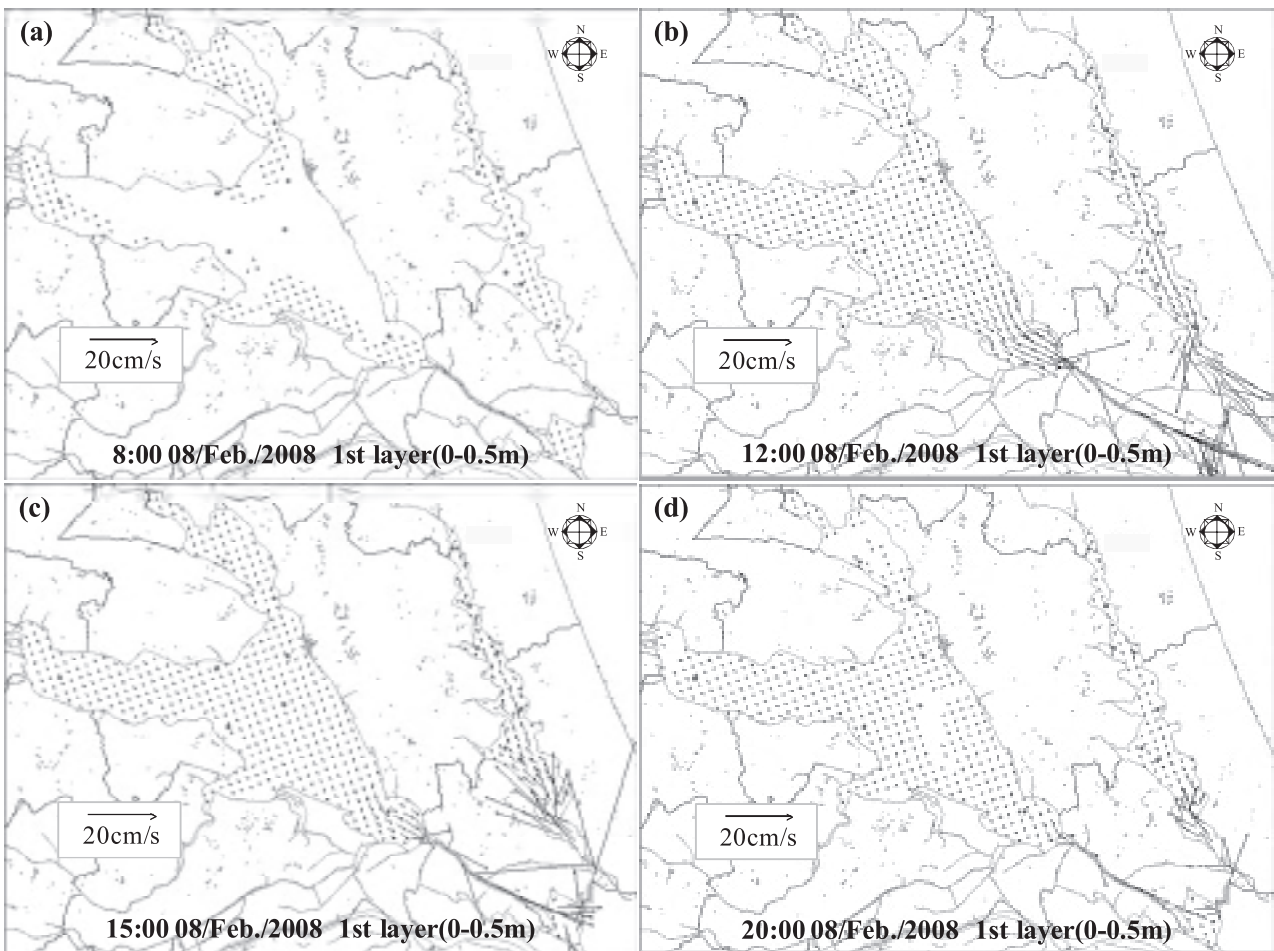


Fig.7 Horizontal distribution of currents calculated under the no-wind condition

(a) 8:00 08/Feb. /2008 (b) 12:00 08/Feb. /2008 (c) 15:00 08/Feb. /0808 (d)20:00 08/Feb./2008

See Fig. 6 for key to flow rate of (a), (b), (c) and (d)

成層境界の顕著な流速勾配は再現されなかった。

(4) 霞ヶ浦全域の湖流シミュレーションの結果から、常陸川水門の操作が湖流に与える影響が可視化され、湖の表面積・容積が大きい西浦では、水門操作が流速に与える影響が北浦と比べて小さいことが明らかとなった。また、霞ヶ浦の湖流形成において河川流入出よりも吹送流が卓越することが示され、特に西浦でその傾向が顕著であることが明らかとなった。

(5) 本研究で構築したシミュレーションモデルは、風と流出河川流量を与えて湖流を計算させるシステムとしてパーソナルコンピュータに組み込み、茨城県霞ヶ浦環境科学センター研究員以外の方々も含め、多くの方に共用して頂けるように共同実験室に整備した。

## 謝辞

本研究の実施にあたっては、多くの漁業関係者の方にご協力頂いた。また、国土交通省関東地方整備局霞ヶ浦河川事務所および(独)水資源機構利根川下流域総合管理所からは貴重な観測データを提供して頂いた。モデルの構築に関しては、客員研究員である茨城大学中曽根英雄先生および東京大学北澤大輔先生に貴重なご助言を頂くとともに、(株)パスコの矢沼隆氏らにご尽力頂いた。ここに記して感謝の意を表します。

なお、本研究は文部科学省から「特別電源所在県科学技術振興事業補助金」の交付を受けて実施された。

## 引用文献

- 1) 小松伸行, 石井裕一, 本間隆満, 渡邊圭司, 根岸正美 (2008) : EOF 解析を用いた北浦の湖流変動要因の検討, 日本陸水学雑誌, 69, 39-49.
- 2) 小松伸行, 石井裕一, 渡邊圭司, 本間隆満, 北澤大輔 (2009) : 非成層期の霞ヶ浦 (西浦・北浦) における吹送流の特性, 水工学論文集, 53, 1291-1296.
- 3) 小松伸行, 石井裕一 (2007) : 北浦湖流の数値シミュレーション, 茨城県霞ヶ浦環境科学センター年報, 2, 111-121.
- 4) 横山長之・編 (1993) : 海域環境シミュレーションー水の流れと生物ー, 白亜書房, 東京.

- 5) 小松伸行, 石井裕一, 根岸正美 (2007) : 鰐川の流量変動が北浦の流況に与える影響, 第34回土木学会関東支部技術研究発表会講演要旨, II -095.
- 6) 小松伸行, 石井裕一, 根岸正美, 北澤大輔 (2009) : 常陸川水門の開閉操作が霞ヶ浦の湖内流況に与える影響, 第36回土木学会関東支部技術研究発表会講演要旨, II -54.
- 7) Endoh, S., M. Watanabe, H. Nagata, F. Maruo, T. Kawae, C. Iguchi., and Y. Okumura (1995): Wind fields over lake Biwa and their effect on water circulation., Japan Journal Limnology, 56, 269-278.
- 8) 豊田政史, 宮原一道, 宮原裕一 (2009) : 諏訪湖において非一様風によって生じる水平循環流に関する時系列的検討, 水工学論文集, 53, 1291-1296.
- 9) 山口正隆, 畑田佳男, 田窪宏朗 (1995) : 波浪追算に基づく霞ヶ浦での波候の推定, 自然災害科学, 14, 235-245.
- 10) 小松伸行, 石井裕一 (2008) : 夏季の北浦における湖上風の観測と湖流に及ぼす影響, 茨城県霞ヶ浦環境科学センター年報, 3, 104-110.
- 11) 平山彰彦, 和氣亜紀夫 (1998) : 流況シミュレーションにおける水上風の補正, 水工学論文集, 42, 703-708.
- 12) 田中昌宏, 石川忠晴 (1989) : 日成層形成時の吹送流の特性について, 土木学会論文集, 405, 63-72.
- 13) 銭新, 西部隆宏, 石川忠晴 : 霞ヶ浦高浜入りにおける日成層形成時の湾水交換量の推定, 海岸工学論文集, 43, 1216-1220, 1996.
- 14) 田中昌宏, 石川忠晴, 小関昌信 (1990) : 浅い湖における日成層の混合モデルの開発, 土木学会論文集, 423, 91-100.
- 15) 小松伸行, 北村立実, 石井裕一, 北澤大輔 (2008) : 霞ヶ浦における貧酸素水塊の現地観測, 茨城県霞ヶ浦環境科学センター年報, 3, 83-92.
- 16) 湖沼技術研究会編 (2007) : 湖沼における水理・水質管理の技術, 6章 156-159.

## 霞ヶ浦流域における蛍光性溶存態有機物 (F-DOM) の時空間的変動

今井清太\*, 渡邊圭司, 濱 健夫\*

Spatial and temporal variation of fluorescent dissolved organic matter (F-DOM) in Kasumigaura basin

Kiyota IMAI\*, Keiji WATANABE, Takeo HAMA\*

キーワード: 蛍光性溶存態有機物, 三次元蛍光, 分子量組成

### 1 はじめに

湖水中に存在する有機物は、そのサイズにより2つの画分に大別され、濾紙上に残る有機物を懸濁態有機物 (POM: Particulate Organic Matter), 濾紙を通過し濾液に含まれる有機物を溶存態有機物 (DOM: Dissolved Organic Matter) と呼ぶ。霞ヶ浦などの富栄養湖では、高い植物プランクトン現存量を反映して、高い濃度の懸濁態有機炭素 (POC: Particulate Organic Carbon) が認められることが一般的である。一方、富栄養湖では溶存態有機炭素 (DOC: Dissolved Organic Carbon) の濃度も貧栄養湖などに比較すると高いが、富栄養化の程度による違いは、POC程は顕著ではない<sup>1)</sup>。また、霞ヶ浦におけるDOC濃度の季節的な変化を見ても、POC濃度に比べ年間変動は小さい。一方、霞ヶ浦ではDOC濃度がPOC濃度を上回る季節もしばしば認められることから、DOCは霞ヶ浦湖内の炭素循環において重要な要素と考えられる。

DOMの多くは分子構造が明確ではない物質で占められている<sup>2)</sup>。分子構造まで同定されている化合物として、大きな割合であると考えられている糖類でも、DOM全体の1割程度に過ぎないのが一般的である<sup>3)</sup>。一方で、腐植物質として定義される有機物群はDOM全体の3~4割を占めると見積もられており、比較的大きな画分である<sup>4)</sup>。この腐植物質を中心にして、DOMの多くは未だ分子構造が不明確であるが、近年この画分の化学的特性に関する検討が進められている。

その一つとして、親水性-疎水性、酸-塩基によるDOMの分画法がある<sup>5)</sup>。これは、各種樹脂への吸着性を用いて、親水性の有無、酸性-塩基性による分画を行うものである。この手法は、腐植物質の定義に従ったものであり、定性的、定量的に基準となる方法である。しかし、操作が煩雑であり、コンタミネーションの危険性が増すなど、多くの試料について適用するには適していない。

一方、有機物の中には蛍光性を発する蛍光性溶存態有機物 (F-DOM: Fluorescent DOM) が含まれる<sup>2)</sup>。腐植物質は特有の波長に蛍光を有するF-DOMで有り、他にも、タンパク質 (アミノ酸) などが含まれる。これらを合わせるとF-DOMがDOMに占める割合は大きいと考えられる<sup>6)</sup>。従って、F-DOMの挙動を知ることにより、DOM全体の動態をある程度説明できる可能性がある。また、蛍光による分析は前処理をほとんど必要とせず、ろ過を行った試料をそのまま測定に供することが可能であり、検出感度も良い<sup>6,7)</sup>。その中でも特に、三次元蛍光分析 (3D-EEMs: Three Dimension Excitation-Emission Matrices) を用いた研究例が多く報告されている。この手法により、DOMに含まれる腐植 (フミン酸, フルボ酸) 様物質やタンパク質様物質等の蛍光を有する有機物の量や性質について知ることが可能となる<sup>8)</sup>。

DOMの分子構造の相違は、その性質にも反映されることが考えられる。分子構造を分析する上で、分子サイズは最も基本的な情報の一つである<sup>9)</sup>。分子サイズの測定で多用されているサイズ排除クロマトグラフィー (HPSEC: High Performance Size Exclusion Chromatography) に、蛍光検出器を組み合わ

\*筑波大学生命環境科学研究科

せることで、F-DOMの分子量組成を測定することが可能となる<sup>10)</sup>。

霞ヶ浦に存在するDOMの生成、流入経路は多様であり、河川を通して流入する経路、湖沼内での一次生産者である植物プランクトンを起点とする経路、底泥などから溶出する経路などが主に想定される。

F-DOMの蛍光特性や分子量分布の相違からそれぞれの流入経路の寄与を求めることができれば、湖内におけるDOMの動態解明にもつながる。

本研究では、霞ヶ浦に流入する河川のうち、主要流入河川である桜川の上流から霞ヶ浦湖心にかけて、3D-EEMsおよびHPSECを用いて、F-DOMの化学的特性についての地点間変化に関する情報を得ることにより、F-DOMの起源の相違を判別することの可能性について検討を行った。さらに、湖内のF-DOMの付加要因と考えられる河川試料、植物プランクトンの分解実験により得られた試料および霞ヶ浦湖心の底泥間隙水試料について、湖内F-DOMとの比較を行い、それぞれの影響の評価を試みた。

## 2 材料と方法

### 2-1 採水地点および方法

2007年4月～2008年4月にかけて桜川上流、中下流(岩瀬, 栄利橋)で6回、湖内(土浦港, 湖心)で9回の採水を行った(図1)。また、河川、湖沼のいずれに対しても影響があるとみられる

農耕地について、桜川流域にある茨城県つくば市の水田にて、2008年5月に採水を行った。

採水は、河川については橋の上から、湖内においては船上(茨城県霞ヶ浦環境科学センター所属わかさぎ号)から、表層水をバケツで採水し、10Lもしくは20Lポリエチレンタンクで実験室へ持ち帰った。

### 2-2 DOM画分の採取

実験室に持ち帰った試水は直ちにガラス繊維濾紙(Whatman GF/F, 保持粒子径 $0.7\mu\text{m}$ )により濾過を行い、溶存態画分(ろ液)を得た。ガラス繊維濾紙は、事前に $450^{\circ}\text{C}$ で4時間の加熱処理を行ったものを使用した。濾過後、直ちに分析ができない場合は、 $4^{\circ}\text{C}$ で冷蔵保存をした。

### 2-3 分析

溶存態画分についてDOC濃度、HPSEC、3D-EEMsの測定を行った。

#### 2-3-1 DOC

ろ液画分について、1N-HClを用いて溶存態無機炭素を除去した後、全炭素計(Shimadzu, TOC-Vc)により測定を行った。

#### 2-3-2 3D-EEMs

ろ液画分について、蛍光分光光度計(Hitachi, F-4500)を用い、三次元励起-蛍光分析を行った<sup>11)</sup>。分析時にMilli-Qの測定を行い、得られた値をブランクとして各測定値から差し引いた。また、蛍光強度は $10\mu\text{g/L}$ 硫酸キニーネ- $0.1\text{N}\cdot\text{H}_2\text{SO}_4$ 溶液の $\text{Ex/Em} = 350/450$ (nm/nm)における蛍光強度を10QSUとした相対蛍光強度とした。

#### 2-3-3 HPSEC

ろ液画分について、高速液体クロマトグラフ(Shimadzu: Prominence, Pump, LC-20AD; Column oven, CTO-20A; Diode array, SPD-M20A; Fluorescence detector, RF-10A<sub>XL</sub>)を用い、以下の分析条件で分子サイズ分布の測定を行った。カラム: Shodex OHpak SB-803, 溶離液:  $0.25\text{mM Na}_2\text{HPO}_4 + 2.5\text{mM NaH}_2\text{PO}_4$ , 流速:  $0.5\text{mL min}^{-1}$ , 測定波長 $\text{Ex/Em}=320/420\text{nm}$ 。

図1 桜川および霞ヶ浦における採水地点

## 2-4 底泥間隙水および分解実験

### 2-4-1 底泥間隙水の採取

湖心において2008年4月に採泥を実施し、コアサンプルから底泥間隙水を得た<sup>12)</sup>。得られた間隙水はGF/Fで濾過を行い、ろ液画分を底泥溶出DOMとした。

### 2-4-2 微生物群集分解実験

湖心において2007年10月に採水を行い、63  $\mu\text{m}$ のメッシュを用いて動物プランクトンを除去した。この試料について、遠心分離(11000rpm [19210  $\times$  g], 30min)し、さらに沈殿物について培養液(NaCl:5g,  $\text{MgSO}_4$ :0.1g,  $\text{FeSO}_4$ :0.02g, Milli-Q:1L)による洗浄を3回繰り返すことにより、湖水2.4L分の植物プランクトン-バクテリア群集を得た。ポリカーボネート製ボトル(2L容)に、1Lの培養液と湖水1.2L分の微生物群集を懸濁させた培養試料を2本準備した。これらを、25°Cの暗条件下で、流速200ml/min.のエアレーションにより好気条件を維持しながら12日間の分解実験を嫌気状態にならないよう行った。この過程で生成したDOMを微生物群集由来DOMとした。なお、コンタミネーションの影響を調べるために、1L Milli-Qを用いて分解実験と同様の温度環境下でエアレーションを行った。また、HPSECを行う際、培養液中の無機塩類の影響を評価するためにMILLIPORE Amicon Ultra centrifugal filter device (1kDa)を用いて限外濾過による脱塩を行った。

## 3 結果

### 3-1 観測点間の比較

#### 3-1-1 DOC濃度

桜川上流域から霞ヶ浦湖心に至る5測点について得られたDOC濃度の年間平均値を図2に示す。桜川上流域から下流域、さらに霞ヶ浦に至る過程でDOC濃度は増加する傾向を示した。これらの年間平均値の差から、上流～岩瀬間で約1.2mgC L<sup>-1</sup>、栄利橋～土浦港間で約1.1mgC L<sup>-1</sup>のDOC濃度の増加がみられた。これは、年間を通して上流～岩瀬および栄利橋～土浦港の間でDOCの付加があることを示している。これらの地点間での濃度差は、各測点におけるDOC濃度の季節的な変化を考慮しても優位なものであった。

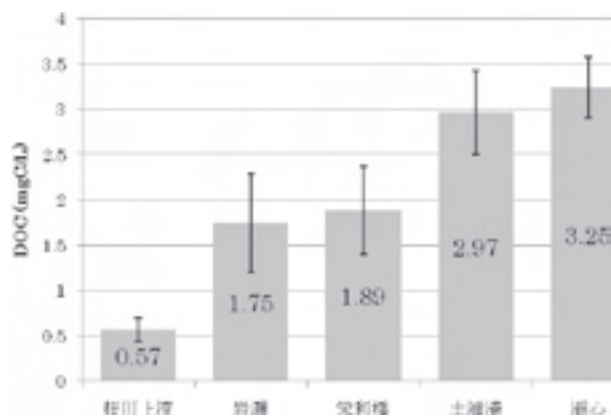


図2 桜川における3測点および霞ヶ浦における2測点におけるDOC濃度の年間平均値(桜川:n=6, 霞ヶ浦:n=9)。変動幅は標準偏差を示す。

#### 3-1-2 3D-EEMs

各測点の3D-EEMsについて、代表例として2007年9月に桜川上流、栄利橋、湖心において得られた3D-EEMを図3に示す。以下、ピーク名および物質の同定はCobleに従った<sup>8)</sup>。各地点および時期に関係なく共通して、腐植物質様蛍光ピークであるPeak A (Ex/Em=237-260/400-500 nm)およびPeak C (Ex/Em = 300-370/400-500 nm)が確認された。ほとんどの観測点について、Peak Aは特定の範囲内(Ex/Em = 237-260/400-500 nm)に複数のサブピークを持つことが示された。一方、Peak Cはタンパク質様蛍光ピークであるPeak B (Ex/Em=275/310, チロシン様蛍光ピーク)と考えられるサブピークを伴った、単独のピークとして現れた。しかし、ラマン散乱や隣接するPeak Cの影響により、Peak Bを独立したピークと確認するには至らなかった。また、上記以外の波長範囲(Ex/Em = 225-237/309-321 nm)であるが、Peak Bと認識されてきているピーク、およびPeak T (Ex/Em = 225-237/340-380nm, 275/340 nm, トリプトファン様蛍光ピーク)と考えられるピーク形状も確認された。しかし、いずれのピークもPeak A, Peak Cと比べ小さいこと、Peak AやPeak Cの影響を受けている可能性があること、ピーク位置が測点ごと、または季節ごとに一致していないこと、ピーク位置の変化に規則性があるとは考えにくいこと、等から、明確な同定には至らなかった。

ピーク形状が明確であり、腐植様蛍光として知

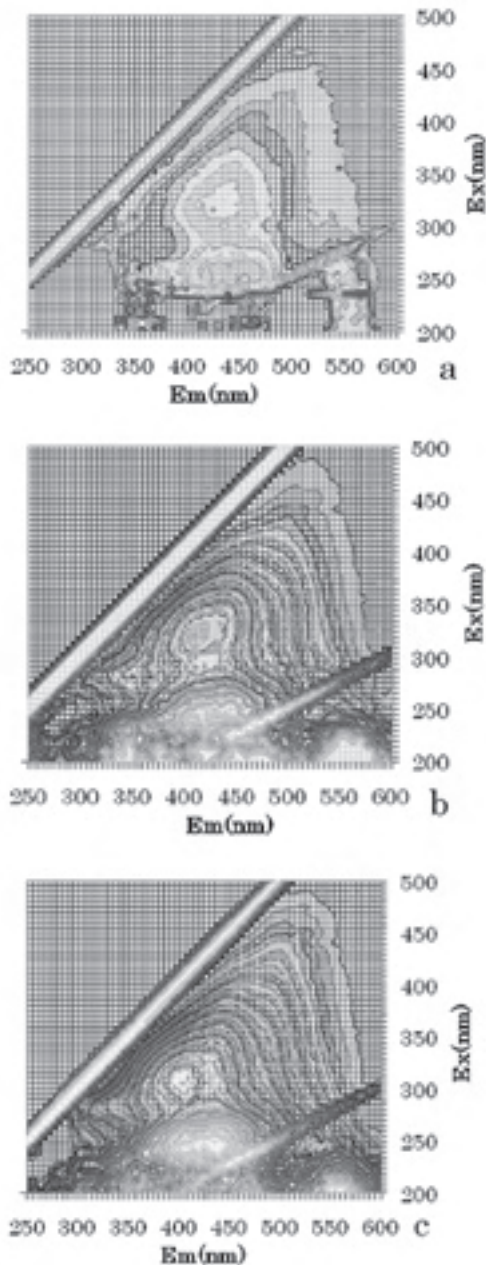


図3 各測点における2007年9月の水試料について得られた3D-EEM。a:桜川上流, b:栄利橋, c:湖心

られる Peak C について、蛍光強度の最大値を示した励起 - 蛍光波長をまとめて図4に示す。蛍光強度の最大値を示す波長は地点間で差がみられ、大まかに桜川上流、桜川中下流（岩瀬、栄利橋）、霞ヶ浦湖内（土浦港、湖心）の3グループに分けられることが示された。桜川上流では励起光波長、蛍光波長共に長波長寄りであった。桜川中下流では蛍光波長が上流に比べ短波長域に移動していた。霞ヶ浦では励起光波長、蛍光波長ともに波長域に認められた。Peak C の最大蛍光を示す波

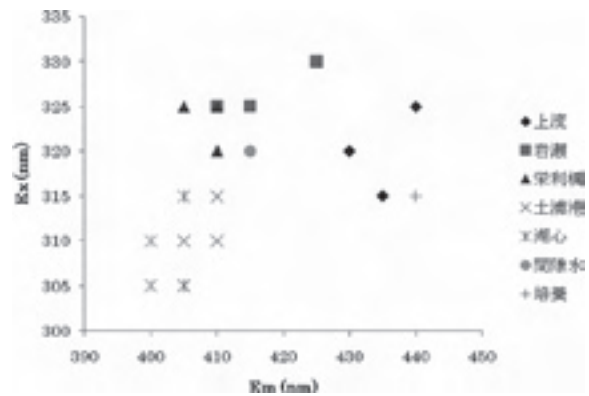


図4 Peak C の最大強度を示す励起 / 蛍光波長

長が短波長域に移ることは、河口域についての先行研究でも示唆されている<sup>8)</sup>。

単位 DOC あたりの Peak C の蛍光強度の比をとると、桜川中・下流で大きい値が得られた(図5)。一方、桜川上流では最小の値であった。霞ヶ浦においては、土浦港および湖心ともに桜川中（岩瀬）・下流域（栄利橋）より低い値であった。この結果は、桜川上流域から中流域にかけて、腐植物質領域に高い蛍光を有する有機物が負荷されること、逆に霞ヶ浦においては蛍光の低い DOM が負荷されていることを示している。

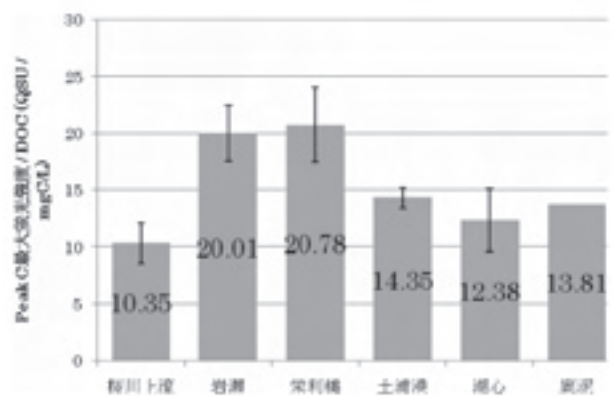


図5 各測点および底泥から採取した試料のDOC濃度に対するPeak Cの最大蛍光強度の比。底泥試料を除いて年間の平均値と標準偏差を示す

### 3-1-3 分子サイズ分布

分子サイズ分布の例として、2007年9月に桜川上流、栄利橋、湖心から採取した試料について得られたサイズ排除クロマトグラムを図6

に示す。地点および時期に関係なく共通して、3つのサイズ画分があることが示された。保持時間 (RT) が短く、分子サイズが大きいと考えられる画分から順に、H(High molecular size fraction; RT = 15.7 – 16.2 min), M(Middle molecular fraction; RT = 16.9 – 17.0 min), L(Low molecular fraction; RT = 18.1 – 18.8 min) の3画分に画分した。また、それぞれの画分が全体に占める割合の年間平均値を図7に示す。これらの比較から、桜川上流のH画分が全体の7割近くを占め、他の測点より高い特徴が認められた。しかしながら、他の4地点については顕著な差は認められなかった。岩瀬～湖心間で付加されるF-DOMの分子サイズ組成は、起源や蛍光特性の相違によらず、類似していると考えられる。

なお、ポリスチレンスルホン酸 (PSS) 標準物質による分子量決定を試みたが、800DaのPSSで保持時間が14.7 min. と、すべての画分が1kDa以下の分子量を示す一方で、後述の植物プランクトン分解実験によるDOM試料について、1kDaの限外濾過を行った際の、高分子量画分のサイズ排除クロマトグラムではすべての画分が確認された。従って、本研究ではPSS (polystyrene sulphonate standards) による分子量の見積もりと限外濾過の結果では矛盾があり、分子量の決定は困難であると判断した(データ省略)。

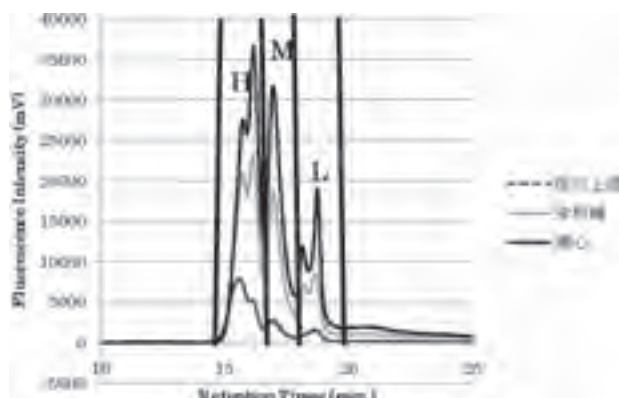


図6 2007年9月に得られた試料のサイズ排除クロマトグラム。蛍光強度は  $Ex/Em=320/420nm$  において測定

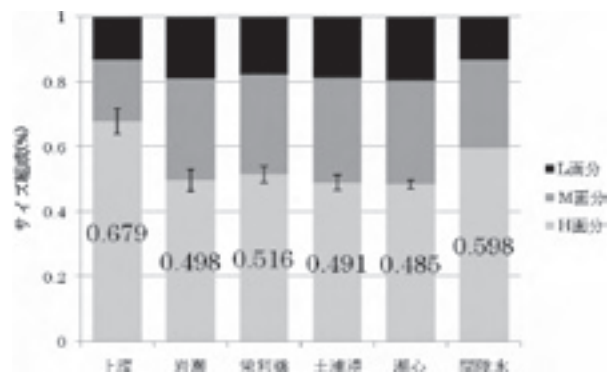


図7 各測点におけるサイズ排除クロマトグラフィーにより求めたF-DOMのサイズ組成。桜川および霞ヶ浦の試料については、年間の平均値を示す(桜川  $n=6$ , 霞ヶ浦  $n=9$ )。

### 3-2 底泥間隙水

底泥間隙水DOMの3D-EEMを図8に示す。現場での各測点と同様に、腐植様蛍光ピークであるPeak AおよびPeak Bをサブピークとして伴うPeak Cが確認された。Peak Cの最大蛍光強度を示す波長は湖内DOMの蛍光波長に比べ長波長寄りであった(図4)。底泥間隙水DOMの蛍光比は湖内DOMの蛍光比とほぼ一致しており、桜川中・下流において得られた値よりも小さいものであった(図5)。また、底泥間隙水DOMは高分子量画分であるH画分の占める割合が、湖内DOMに比べ高い値を示した。

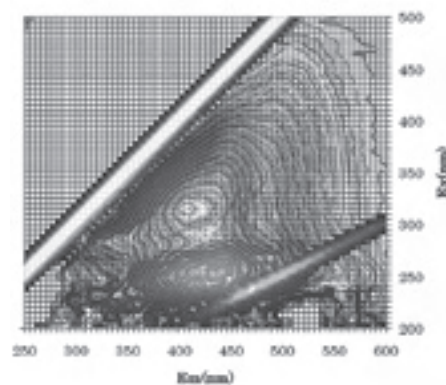


図8 霞ヶ浦湖心底泥の間隙水試料について得られた3D-EEM

### 3-3 植物プランクトン分解実験

植物プランクトンの分解実験において得られた 3D-EEM を図 9 に示す。腐植物質様蛍光ピークである Peak A および Peak C に加えてタンパク質様蛍光ピークである Peak B (Ex/Em=275/305, チロシン様蛍光ピーク) が確認された。また, Peak C の最大蛍光強度を示す波長は, 特に蛍光波長について, 湖内 DOM の波長域より長波長側に大きくシフトすることが示された。

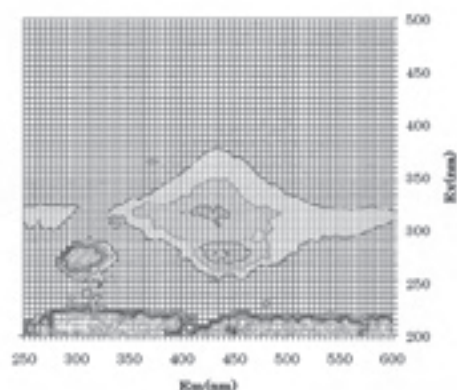


図 9 植物プランクトンの分解実験において得られた DOM 試料の 3D-EEM

## 4 考察

### 4-1 現場観測

本研究において, 河川, 特に上流と湖内の分子サイズ分布を比較すると, 上流において分子サイズの大きい DOM が多いことが示された。この傾向は, 他の地域での研究<sup>13,14)</sup>においても認められている。また, 桜川上流から中・下流にかけて, Peak C における最大蛍光波長が短波長側に移行することが認められ, この蛍光波長の移行は, 分子量組成の変化を伴っていた。同様の分子量組成と蛍光波長の関係については, 海水の腐植物質についても報告がなされている<sup>15)</sup>。さらに, 蛍光波長については, 太陽光の照射が影響を与えることが示唆されている<sup>16)</sup>。以上のことから, 本研究で示された桜川上流から中・下流にかけて, 高分子サイズ F-DOM 画分の減少および Peak C の最大蛍光波長の短波長域への移動は, 河川 F-DOM が分解あるいは変換を受けた事による可能性が考えられる。

しかし, 年間平均 DOC 濃度は河川に比べ湖

沼で高いことが示された(図 2)。DOC 濃度の増加は, 河川, 湖沼内でそれぞれ DOM が付加されていることを示唆することから, 桜川上流から霞ヶ浦にかけての蛍光特性の変化は, 河川由来の F-DOM が分解を受けたことによるものだけでなく, 桜川中・下流域や湖内において新たに生成, 付加された F-DOM の影響を反映しているものと考えられる。

一方, 分子サイズ組成からは, 桜川上流とそれ以外の 4 地点で差が認められたが, 岩瀬～湖心間では顕著な差が見られなかったことから, 河川に負荷される F-DOM の由来の違いを, 分子サイズ組成から明らかにすることはできなかった。また, DOC 濃度, Peak C の最大蛍光波長, 蛍光強度/DOC 比のいずれも河川内, 湖沼内のそれぞれで明確な差はなかったことから, 岩瀬～栄利橋間, 土浦港～湖心間で増加する有機物組成の差は微小なものであると考えられる。

### 4-2 湖内で付加される DOM の起源

河川から湖へ流入する DOM が分解, 変性を起こさずに, 湖内で生成される DOM と混合が起こると仮定することにより, 湖で付加される DOM の特性を見積もった。ここでは, 河川由来 DOC として桜川中下流(岩瀬, 栄利橋)の年間平均値, 湖内 DOC として土浦港, 湖心の年間平均値を用いた。霞ヶ浦の年間流入水量(14 億 m<sup>3</sup>)と桜川の年間流量(2.72 億 m<sup>3</sup> year<sup>-1</sup>)の関係から, 桜川由来の DOM の寄与を 19.4%と見積もり算出を行った。DOC 濃度の増加から, 湖内に存在する DOC (年間平均 3.1mgC L<sup>-1</sup>)のうち, 少なくとも 2.8mgC L<sup>-1</sup>は湖沼内で生成されるものであることが示された。また, a) Peak C の最大蛍光強度を示す波長は, 河川由来のものに比べ短波長域にある, b) 蛍光/DOC 比は河川由来のものに比べ低い(12.3), ことが示唆された。この結果を基に, 湖内で付加される DOM の起源と考えられる DOM の蛍光特性と, 想定された蛍光特性を比較することにより, 湖内で付加される DOM の支配要因に関する検討を試みた。

#### 4-2-1 底泥間隙水 DOM

底泥間隙水 DOM において, 蛍光/DOC 比は



湖内のものと良く一致していたが、Peak Cの最大蛍光波長は、蛍光波長が長波長側へずれていた。一方、分子サイズH画分の割合は、湖内DOMに比べ高い値をとっていた。このことは、底泥間隙水DOMが湖内DOMとは性質が異なることを示している。従って、河川流入を含めた他の由来をもつDOMと混合して湖内DOMを形成しているか、物理化学的もしくは生物学的な変性過程を経た上で湖内DOMの主要な由来となっている可能性がある。

F-DOMの光分解による変性の可能性については<sup>17)</sup>、本研究では実験的検討は行わなかった。しかし、一般的には、光分解による最大蛍光を示す波長の移動、蛍光強度の減少による蛍光強度/DOC比の減少<sup>18)</sup>、平均分子量の減少<sup>19)</sup>などの報告があること、生物学的分解についても蛍光強度/DOC比の減少が示唆されていることなどから<sup>13)</sup>、底泥溶出DOMが湖内DOMの特性を決定している要因である可能性は否定できない。

#### 4-2-2 植物プランクトン分解産物

本研究では植物プランクトンの分解産物について、DOC濃度、分子サイズ組成の測定が実施できなかったため、微生物群集由来DOMが湖内DOMを決定する要因として、どの程度重要であるかを評価するには至っていない。しかし、Peak Cの最大蛍光を示す波長の比較から、プランクトン分解実験により得られたDOMのPeak C位置は湖内DOMのPeak C位置より、蛍光波長が長波長側へ大きくずれることが示されている。従って、微生物群集由来DOMも直接湖沼DOMの主要な成因となっているのではなく、生成後に変性が生じている可能性が示唆された。また、バクテリアによる生成された海洋腐植物質のピーク位置が、環境条件により変化することが知られている<sup>20)</sup>。このことから、分解基質など、生育環境の違いによりピーク位置が異なることも考えられる。

#### 4-2-3 その他の重要な起源

本研究で対象とした底泥溶出、植物プランクトン分解産物以外にもいくつかF-DOMの起源として重要なプロセスが考えられる。3D-EEM

においてEx/Em = 495nm/ 515nmに下水処理場からの排水に由来する蛍光ピークが存在することが知られている<sup>21)</sup>。しかし、今回の現場観測では、このピークは確認されなかった。また、下水処理水由来DOMの湖水DOMに対する寄与は小さいことも報告されている<sup>22)</sup>。これらの報告を受けて、本研究においては下水処理場から流入するDOMについての試料採取は実施しなかった。水量においても、霞ヶ浦流域下水道事務所の公表によれば、土浦市にある霞ヶ浦浄化センターで日平均76,657m<sup>3</sup>（平成19年度）の排水を行っているが、桜川の1割にも満たない。しかし、下水処理水に特有な蛍光増白剤(FWAs)がEx/Em = 300-345nm /430nm付近に蛍光ピークを示すことが報告されており<sup>23)</sup>、下水処理場由来DOMの影響を否定しきれないことも考えられる。また、下水処理場からの排水は、一般に、生物学的分解過程を経たものであるため、そのDOMの安定性についても考慮する必要があると考えられる。

農耕地からの排水がF-DOMの組成、性質に影響を与えていることが報告されている<sup>24)</sup>。本研究において得られた水田のF-DOMの性質(DOC濃度: 5.62mgC L<sup>-1</sup>, Peak C最大波長: 310/425nm, 蛍光強度/DOC: 13.8, 分子サイズ組成: H:M:L=0.575:0.273:0.151)は、H画分の割合については湖内のF-DOMとは異なるものの、Peak C位置、蛍光強度/DOC濃度比について湖内F-DOMとよく一致している。このように、水田を含めた農耕地由来のF-DOMの湖沼への影響にも注目する必要がある。

#### 謝辞

本研究の採水の実施にあたり、茨城県霞ヶ浦環境科学センターの位田俊臣氏に御協力を賜りました。水田での採水に当たり、筑波大学生命環境科学等支援室の路川宗夫氏にご協力を賜りました。

#### 引用文献

- 1) More, A., Prieur, L. (1981): Absorption by dissolved organic matter of sea (yellow substance) in the UV and visible domains. *Limnology and Oceanography* 26, 43-53

- 2) 吉岡崇仁 (2001): 三次元蛍光測定による溶存有機物の識別 琵琶湖研究所所報 18, 49-53
- 3) 渡邊圭司, 小松伸行, 石井裕一, 根岸正美 (2008): 霞ヶ浦の溶存態有機物のキャラクター化 リゼーション 日本有機地球化学会 2008 年有機地球化学シンポジウムポスター発表
- 4) 国立環境研究所 (2004): 湖沼における有機炭素の物質収支および機能・影響の評価に関する研究 (特別研究) 国立環境研究所特別研究報告
- 5) 今井章雄, 福島武彦, 松重一夫, 井上隆信, 石橋敏昌 (1998): 琵琶湖湖水および流入河川水中の溶存有機物の分画 陸水学雑誌 59, 53-68
- 6) Hudson, N., Baker, A., Reynolds D. (2007): Fluorescence analysis of dissolved organic matter in natural, waste and polluted waters – A review *River. Research and Applications* 23.631-649
- 7) Baker, A. (2001): Fluorescence Excitation --Emission Matrix characterization of river waters impacted by a tissue mill effluent. *Environmental Science & Technology* 36, 1377-1382
- 8) Coble, P., (1996): Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission matrix spectroscopy. *Marine Chemistry* 51, 325-346
- 9) Nagao, S., Matsunaga, T., Suzuki, Y., Ueno, T., Amano, H. (2003): Characteristics of humic substances in the Kuji River waters as determined by high-performance size exclusion chromatography with fluorescence detection. *Water Research* 37, 4159-4170
- 10) Her, N., Amy, G., McKnight, D., Sohn, J., Yoon, Y. (2003): Characterization of DOM as a function of MW by fluorescence EEM and HPLC-SEC using UVA, DOC, and fluorescence detection. *Water Research* 37, 4295-4303
- 11) Mostofa, K., Yoshioka, T., Konohira, E., Tanoue, E. (2007): Photodegradation of fluorescent dissolved organic matter in river waters. *Geochemical Journal* 41, 323-331
- 12) 石井裕一, 小松伸行, 張替慧, 矢部徹, 渡邊圭司, 根岸正美, 岩崎順 (2008): 霞ヶ浦におけるコイ養殖漁場底泥中の形態別リン分布の特徴 日本水産学会誌 74, 607-614
- 13) Yoshioka, T., Mostofa, K., Konohira, E., Tanoue, E., Hayakawa, K., Takahashi, M., Ueda, S., Katsuyama, M., Khodzher, T., Bashenkhaeva, N., Korovyakova, I., Sorokovikova, L., Gorbunova, L. (2007): Distribution and characteristics of molecular size fractions of freshwater dissolved organic matter in watershed environments: its implication to degradation. *Limnology* 8, 29-44
- 14) Waiser, M., Robarts, R. (2000): Changes in composition and reactivity of allochthonous DOM in a prairie saline lake. *Limnology and Oceanography* 45, 763-774
- 15) Mopper, K., Feng, Z., Bentjen, S., Chen, R. (1996): Effects of cross-flow filtration on the absorption and fluorescence properties of seawater. *Marine Chemistry* 55, 53-74
- 16) Hayakawa, K., Sekino, T., Yoshioka, T., Maruo, M., Kumagai, M. (2003): Dissolved organic carbon and fluorescence in Lake Hovsgol: factors reducing humic content of the lake water. *Limnology* 4, 25-33
- 17) 八馬正幸, 福島武彦, 尾崎則篤, 今井章雄, 松重一夫 (2003): 光分解・生物分解の水中溶存有機物の変質とその EEM への影響 水環境学会誌 26, 507-514
- 18) Moran, M., Sheldon, W., Zepp, R. (2000): Carbon loss and optical property changes during long-term photochemical and biological degradation of estuarine dissolved organic matter. *Limnology and Oceanography* 45, 1254-1264

- 19) Helms, J., Stubbins, A., Ritchie, J., Minor, E., Kieber, D., Mopper, K. (2008): Absorption spectral slopes and slope ratios as indicators of molecular weight, source, and photobleaching of chromophoric dissolved organic matter. *Limnology and Oceanography* 53, 955-969
- 20) Skoog, A., Wedborg, M., Lara, R., Kattner, G. (2005): Spring distribution of dissolved 11 organic matter in a system encompassing the Northeast Water Polynya: Implications for 12 early-season sources and sinks. *Water Chemistry* 94, 175-188
- 21) 福島武彦, 中島俊之, 今井章雄, 松重一夫, 尾崎則篤 (2001): EEMSによる水中溶存有機物の特性解析 *水環境学会誌* 24, 686-692
- 22) 奈良郁子, 今井章雄, 松重一夫, 小松一弘, 柴田康行 (2007): 2次元炭素同位体プロットを用いた霞ヶ浦における溶存有機物の起源推定 *日本陸水学会講演要旨*
- 23) 高橋基之, 海賀伸好, 須藤隆一 (2003): 河川水中フルボ酸様有機物の蛍光励起スペクトル解析と評価 *水環境学会誌* 26, 153-158
- 24) Baker, A (2002): Fluorescence properties of some farm wastes: implications for water quality monitoring. *Water Research* 36, 189-195

## 霞ヶ浦におけるカルシウム結合リンの沈降と堆積

小松伸行<sup>※1</sup>, 渡邊圭司<sup>※2</sup> 石井裕一<sup>※2</sup>

Settling and deposition of Ca-bound phosphorus derived from feces in Lake Kasumigaura

Nobuyuki KOMATSU, Keiji WATANABE, Yuichi ISHII

Key Words : 養殖, 自家汚染, セディメントトラップ, 有機物

### 1 はじめに

霞ヶ浦では水質保全計画に基づく様々な対策が取り組まれているにも関わらず、水質は改善される傾向にない。コイの網生簀養殖に伴って湖内に直接負荷される有機排泄物も霞ヶ浦の主要な水質汚濁要因のひとつとされており、これまで改善飼料の研究<sup>1)2)</sup>や条例・指針等による適正飼育の指導等が実施されてきた。しかし、飼料の原料となる魚粉に多く含まれるリンの負荷量削減は十分に進んでおらず、その多くが糞などとして湖底に堆積すると報告されている<sup>3)</sup>。

コイヘルペスウイルス病の発生が確認<sup>4)</sup>された2003年以来休業状態にある養殖漁場内の底泥には、過剰な有機物の堆積は認められないものの、無機態リンが周囲よりも多く含有されており、特にCa結合リンが養殖に伴う有機排泄物の堆積状況を示す指標として有効であることが明らかにされている<sup>5)6)</sup>。しかしながら、養殖排泄物の湖内における挙動や水質に与える影響については、未解明な点が多く残されている。

本研究では、給餌養殖が水質に与える影響の解明に資することを目的として、湖内の網生簀養殖施設においてコイの試験飼育を行い、水質及び底質の短期的変動について調査を行った。

### 2 方法

#### 2-1 調査水域および試験飼育施設の概要

調査水域である北浦は茨城県南部に位置する富栄養湖で、湖面積36km<sup>2</sup>、平均水深4.8mの南北に細長い湖である。北浦への流入河川は巴川および鉾田川など22本あり、唯一の流出河川である鱒川は外浪逆浦・常陸利根川に接続している。常陸利根川と利根川の合流点に設置された常陸川水門により海水の遡上が遮断され、現在の

北浦は淡水湖となっており、水道用水、農業用水、工業用水の水源として利用されている。

2006年9月の第1種区画漁業権(小割式養殖業)免許では、北浦で最大521面の網生簀が設置可能であり、本研究で試験飼育を行った養殖漁場には5m×5mの網生簀20面が設置可能である。コイ養殖が自主休業となった2003年以降、当該養殖漁場では養殖コイの給餌飼育は行われておらず、漁獲された天然コイの一時畜養に一部の網生簀が使用されたのみである。また、周辺には試験飼育施設の水質・底質に直接影響を与える他の養殖施設は存在していない。(Fig. 1)。

#### 2-2 コイの試験飼育

試験飼育には網生簀1面を使用し、2008年6月12日に茨城県内水面水産試験場により作出されたKHV耐性の試験養殖用コイ706kg(546尾)を収容した。配合飼料の給餌は、コイ収容2日後の6月14日から開始され、概ね20kg/日の給餌量で11月12日まで行われた。試験飼育期間中の総給餌量は1,790kgであった。

コイの取上げは2008年10月23日から断続的に8回、150~250kgずつ行われ、2009年2月6日の取上げにより試験飼育は終了した。養殖コイの総取上量は1,660kgであった。

#### 2-3 水質・底質調査

水質および底質の定期調査を2008年4月から2009年3月までの間、月1回を基本に実施した。調査地点はコイを収容した生簀直近の1地点(K)、生簀から約250m離れた2地点(A2およびB2)および生簀から約1500m沖合にある環境基準点(釜谷沖)の4地点とした(Fig. 1)。

採水は上層(水面下50cm)と底層(湖底上50cm)から、蠕動ポンプ又はバンドーン採水器を用いて行った。同時に、水深、透明度、pH、電気伝導度(Electrical Conductivity: EC)および

※1 現所属：茨城県農林水産部漁政課

※2 現所属：(独)国立環境研究所

溶存酸素濃度 (Dissolved oxygen: DO) の現場測定を行った。採取した湖水はクーラーボックスに入れて持ち帰り、懸濁物質 (Suspended Solid: SS), COD (Chemical Oxygen Demand), 溶存態 COD (Dissolved Chemical Oxygen Demand: DCOD), 全窒素 (Total Nitrogen: TN), 硝酸性窒素 ( $\text{NO}_3\text{-N}$ ), 亜硝酸態窒素 ( $\text{NO}_2\text{-N}$ ), アンモニア態窒素 ( $\text{NH}_4\text{-N}$ ), 全リン (Total Phosphorus: TP), リン酸態リン ( $\text{PO}_4\text{-P}$ ), 全有機炭素 (Total Organic Carbon: TOC), 溶存態有機炭素 (Dissolved Organic Carbon: DOC) およびクロロフィル a (Chlorophyll a: Chl.a) の濃度を、公共用水域の水質測定計画に定められた方法に準拠して分析した。

底泥は重力式コアサンプラー又はダイバーにより、アクリルカラム (H500 ×  $\phi$  70mm) を用いて 1 地点につき 3 本ずつ採取した。採取した底泥は動揺しないようにケースに収容して実験室に持ち帰り、直上水をサイホンで静かに抜き取ってから底泥の 0 ~ 10cm を切り出し、各地点 3 本分の底泥を混合した後、底質調査方法<sup>7)</sup> に準拠した方法により含水率 (Water Content: WC), 強熱減量 (Ignition Loss: IL), COD, TN および TP を測定した。一部の試料については、分画抽出法<sup>8)</sup> により形態別リン (カルシウム結合リン: Ca-P, 溶出可能リン: Fe/Al-P, 有機態リン: Org.-P) の分析をおこなった。また、Chl.a は

100% エタノールで 24 時間抽出後、分光光度計を用いてユネスコ法<sup>9)</sup> に従って算出した。

## 2-4 沈降物調査

セディメントトラップを生簀直近 (K) と周辺 6 地点 (A1, A2, B1, B2, C1, C2) の計 7 地点に設置し、底層付近に沈降してくる物質を捕集した (Fig. 1)。同時に、湖底に設置した超音波ドップラー流速計 (ADCP; Nortek 製アクアドッププロファイラー NB 型 2MHz) を用い、流向・流速を測定した。捕集管にはアクリルカラム (H500 ×  $\phi$  70mm) を 1 地点につき 6 本使用し、波浪による係留資材の上下で巻き上げが起きないように、固定した架台によって開口部が湖底上約 70cm になるように設置した (Fig. 2)。設置期間は 2008 年 7 月 14 ~ 19 日, 2008 年 8 月 24 ~ 29 日および 2008 年 9 月 11 ~ 16 日で、設置後 5 日間で捕集管の回収を行った。設置・回収作業はダイバーが行い、作業中の捕集管開口部はゴム栓で密閉した。なお、捕集管の筒長/直径, 設置期間, 設置水深等は福島ほか<sup>10)</sup> の基準に準じた。

回収した捕集管は密閉したまま実験室に持ち帰り、冷蔵室内 (4°C) で一昼夜静置した後、直上水を抜き取り、遠心分離機 (3000rpm, 15 分) により間隙水を除去して湿重量を測定した。得られた湿試料は Ca-P, Fe/Al-P, Org.-P, TN, TOC および Chl.a を底泥と同様に分析した。

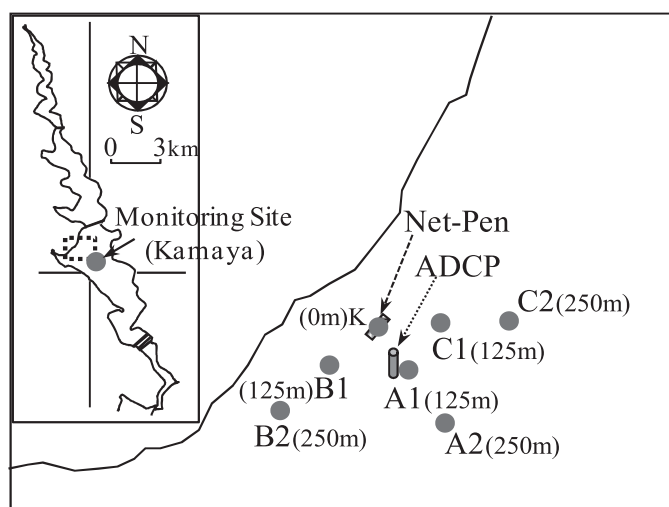


Fig. 1 Location of sampling sites

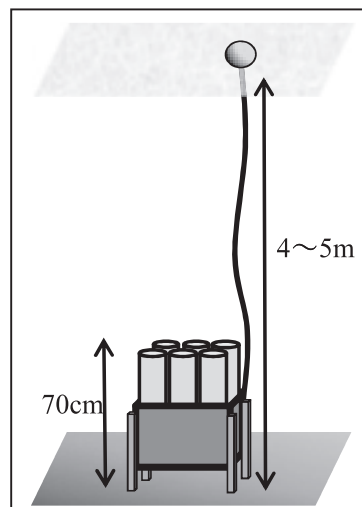


Fig. 2 Schematic drawing of sediment

### 3 結果と考察

#### 3-1 コイの試験飼育による負荷量推定

養殖コイの生産量(総取上量 1,660kg・収容量 706kg)は 954kg であり, 総給餌量は 1,790kg であるから, 熊丸・外岡<sup>3)</sup>の実験結果を用いると, 836kg の餌料に含まれる窒素 46.8kg(尿:37.1kg, 糞:9.7kg), リン 10.0kg(尿:2.0kg, 糞:8.0kg) が排泄等により湖内に負荷されたと推定され, 給餌期間は 152 日であることから, 1 日当りの負荷量は窒素 308g(尿:244g, 糞:64g), リン 66g(尿:13g, 糞:53g) となった。

#### 3-2 水質調査

調査期間中の水深, 透明度, 水温, pH, EC, SS, DO, COD, TN, TP および Chl.a の平均値を Table 1 に示した。生簀直近と養殖施設の水質平均値に環境基準点との差は認められなかった。

Fig. 3 に COD, TN, TP とそれらの溶存態成分の変動を示した。夏期には環境基準点の底層で NH<sub>4</sub>-N 濃度の上昇が見られたが養殖施設周辺ではほとんど上昇していなかった。また, 秋以降の NO<sub>3</sub>-N 濃度の上昇と夏期の PO<sub>4</sub>-P 濃度の上昇が観測されたが, 養殖施設周辺と環境基準点との間に差は認められなかった。この季節

変動は近年の霞ヶ浦では例年観測されており, NO<sub>3</sub>-N 濃度の上昇は流入した NO<sub>3</sub>-N が低水温期に湖内に残存したもので, PO<sub>4</sub>-P 濃度の上昇は高水温期に底泥から溶出したものと推察されている<sup>11)</sup>。

網生簀養殖は開放的な水域で行われるため, 池中養殖と比べて溶存酸素等の飼育環境が安定しており, 高度に集約化・効率化された生産が可能となっている。津田ほか<sup>12)</sup>による試算では魚の動きに伴う網生簀内外の湖水交換量は無風状態で 226 ~ 456m<sup>3</sup>/h と推定されており, 今回の飼育試験において尿として負荷された 244g/day の窒素量では静穏時でも 0.1mg/L に満たない濃度にまで希釈されるため, 湖内養殖施設の現地観測では水質の変化を検知できないと考えられる。以上の結果から, 尿などとして負荷される溶存態成分に対する浄化対策については, 生簀直近と非養殖漁場のいずれで実施しても効果に差はない可能性が示唆された。

#### 3-3 底質調査

底泥の WC, IL, COD, TN, TP および Chl.a の平均値を Table 2 に示した。湖岸に近い養殖施設周辺の底質で含水率が低いのに対し, 水深の深い湖中央部に位置する環境基準点は含水

Table 1 Average value of the observational data at each sampling site

		K	A2	B2	Kamaya
Depth (m)	Mean	4.7	4.6	5.4	6.5
	(Min.-Max.)	(4.0-5.2)	(3.8-6.3)	(4.9-5.6)	(6.3-6.7)
Transp. (cm)	Mean	68	67	66	68
	(Min.-Max.)	(50-85)	(50-80)	(50-80)	(50-80)
Temp. (°C)	Mean	17.7	17.7	17.5	17.3
	(Min.-Max.)	(5.6-27.5)	(5.6-27.6)	(5.7-28.1)	(5.6-27.0)
pH	Mean	8.4	8.4	8.5	8.7
	(Min.-Max.)	(6.7-9.2)	(5.5-9.2)	(7.2-9.3)	(7.6-9.6)
EC (μS/cm)	Mean	0.27	0.26	0.26	0.30
	(Min.-Max.)	(0.25-0.30)	(0.25-0.29)	(0.25-0.27)	(0.26-0.31)
SS (mg/L)	Mean	21	20	24	20
	(Min.-Max.)	(12-39)	(13-43)	(13-67)	(12-32)
DO (mg/L)	Mean	9.6	9.9	8.9	9.4
	(Min.-Max.)	(4.4-16.8)	(4.5-17.7)	(0.9-13.0)	(2.0-13.3)
COD (mg/L)	Mean	10.2	10.0	9.8	10.4
	(Min.-Max.)	(7.4-13.2)	(7.6-14.2)	(7.4-15.0)	(8.6-12.9)
TN (mg/L)	Mean	1.16	1.13	1.23	1.18
	(Min.-Max.)	(0.80-1.50)	(0.80-1.40)	(0.80-1.70)	(0.75-1.55)
TP (mg/L)	Mean	0.15	0.14	0.16	0.14
	(Min.-Max.)	(0.07-0.30)	(0.08-0.30)	(0.08-0.31)	(0.05-0.30)
Chl.a (μg/L)	Mean	67	64	65	56
	(Min.-Max.)	(14-130)	(31-130)	(32-120)	(20-133)

質の高い浮泥が多く堆積しており、有機物量の指標となる IL, COD および TN は養殖施設周辺よりも環境基準点の方が高い値を示した。養殖施設周辺の中では B2 の含水率が高く、有機物を多く含有していた。一方、TP については、生簀直近の K が最も高い値を示した。

底泥中の COD, TN, TP の推移を Fig. 4 に示した。K の COD および TN の変動は小さく調査

期間を通して環境基準点や B2 より低い値で推移した。一方、TP は K が他の地点よりも高い値で推移しており、特に飼育を開始した 6 月から 8 月には大きく値が上昇した。なお、Fig. 5 に K の粒度組成の推移を示したが、8 月以降に TP 含有量が低くなった 9,10,12,1 および 3 月には 500  $\mu$ m 以上の粗粒砂の含有率が高くなっており、単位重量当たり含有量の値に影響したと考えられる。

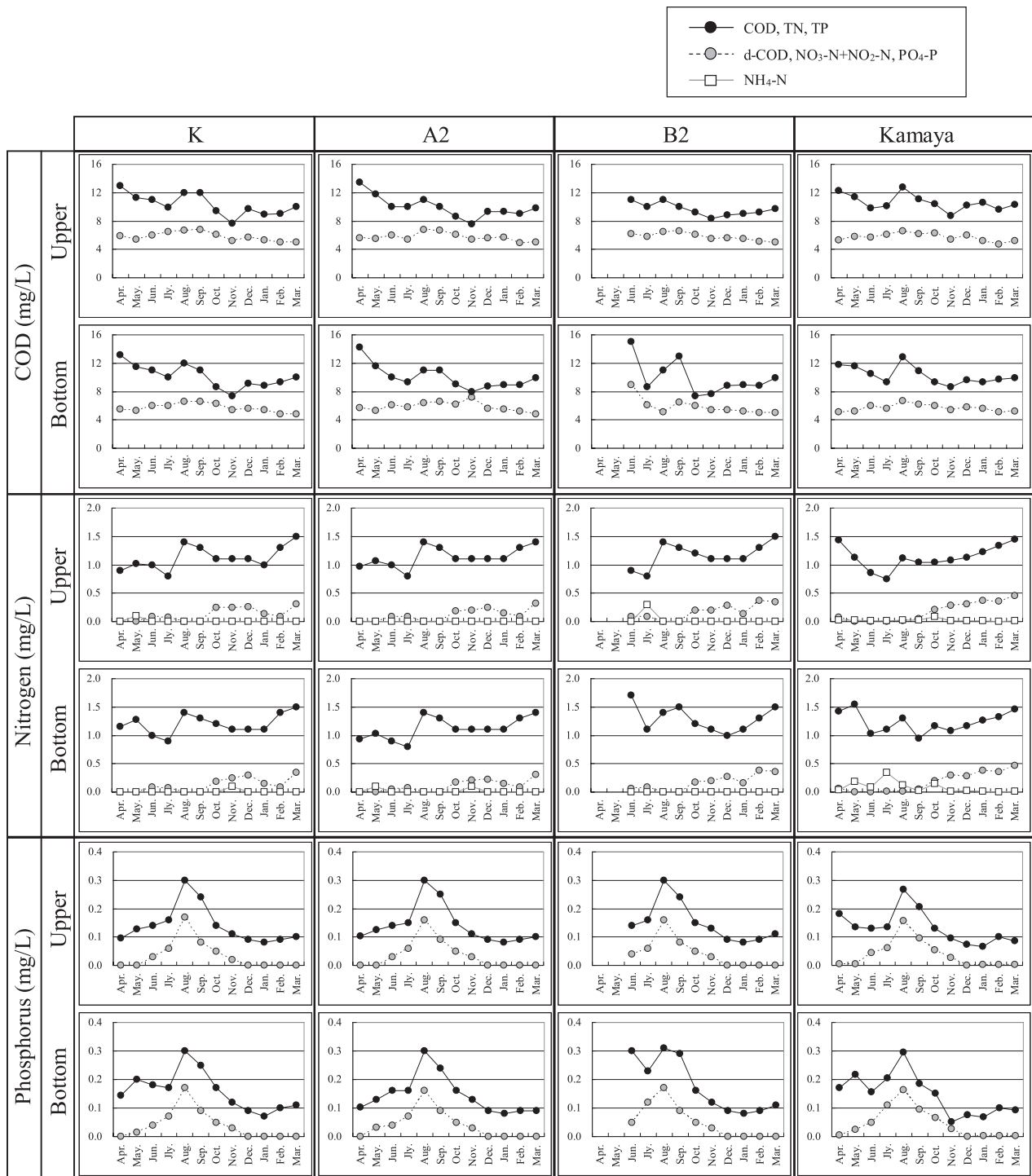


Fig. 3 Variation of COD, d-COD, TN, NO<sub>3</sub>-N+NO<sub>2</sub>-N, NH<sub>4</sub>-N, TP, and PO<sub>4</sub>-P concentrations in lake water

Table 2 Average value of the sediment data

		K	A2	B2	Kamaya
WC	Mean	35.5	30.6	54.5	80.2
(%)	(Min.-Max.)	(26.0-44.0)	(22.0-59.6)	(27.9-79.0)	(79.3-80.9)
IL	Mean	2.7	2.5	7.8	18.7
(%)	(Min.-Max.)	(1.4-3.8)	(1.1-10.9)	(1.5-16.0)	(17.3-20.1)
COD	Mean	9.8	6.8	26.6	92.8
(mg/g·dw)	(Min.-Max.)	(2.9-18.0)	(1.3-29.7)	(4.4-85.0)	(79.1-101.8)
TN	Mean	1.09	0.67	3.2	9.56
(mg/g·dw)	(Min.-Max.)	(0.09-2.00)	(0.29-2.23)	(0.16-8.16)	(9.32-9.84)
TP	Mean	6.69	0.28	0.64	1.21
(mg/g·dw)	(Min.-Max.)	(0.22-17.00)	(0.20-0.67)	(0.16-1.30)	(0.57-1.79)
Chl.a	Mean	20	13	90	—
( $\mu$ g/g·dw)	(Min.-Max.)	(11-29)	(6-23)	(11-170)	

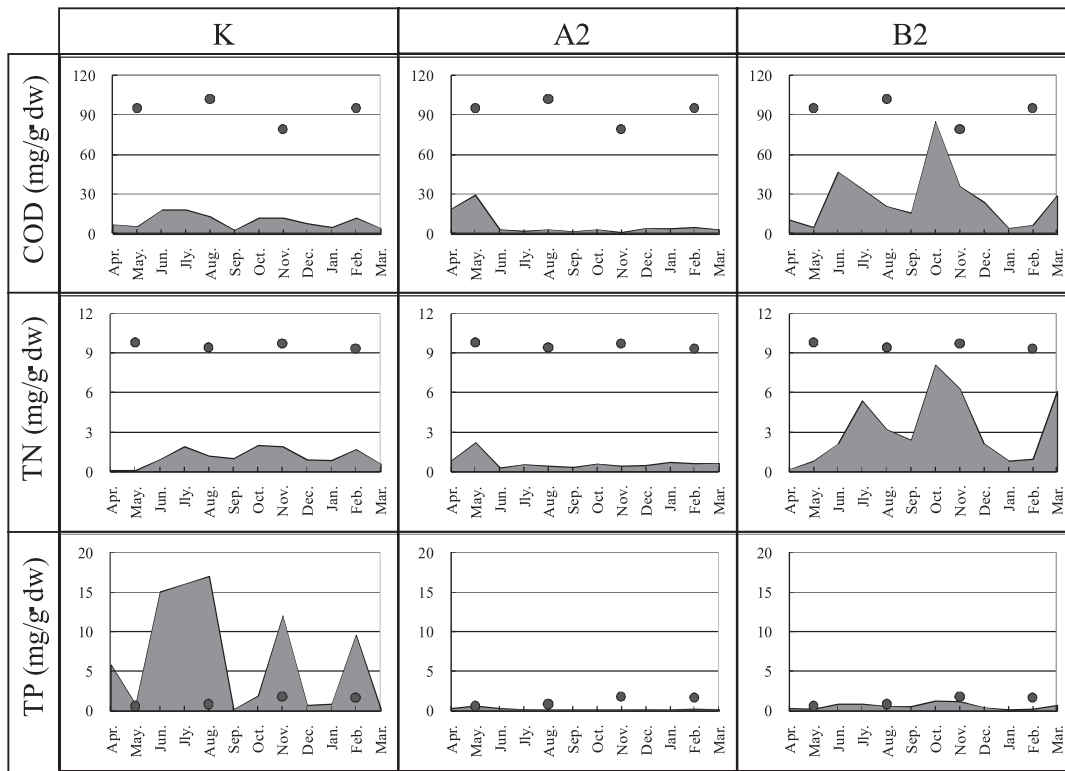


Fig.4 Variation of TP, TN, and COD contents in the sediment

(•) show the data of Kamaya

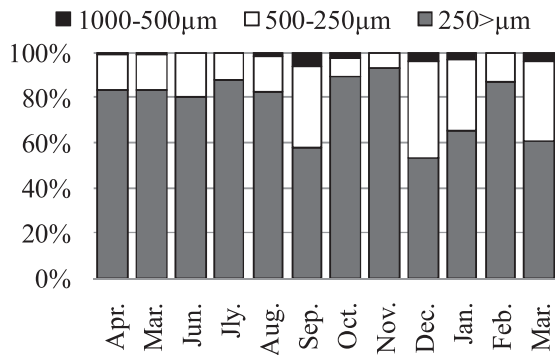


Fig. 5 Variation of grain size at K

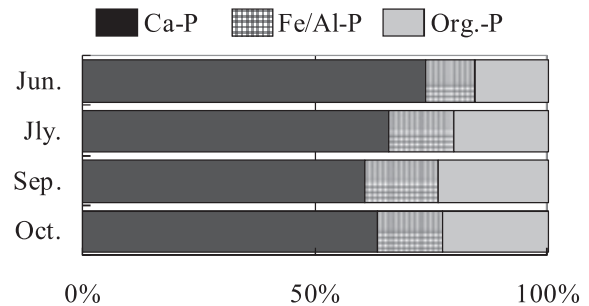


Fig. 6 Percentage composition of fractional phosphorus in sediment at K



Fig. 6に6,7,9および10月のKの底泥における形態別リンの組成を示した。無機態のリンのうち、Fe/Al-Pは還元状態で溶出可能であり、Ca-Pは溶出しないとされている<sup>13)</sup>。Kにおいて他の地点と比較して多く堆積しているリンは、その大部分がCa-Pで占められていた。北浦の底泥はCa-Pの含有量が極めて少なく、多くがOrg.-PとFe/Al-Pであることが報告されており<sup>8)</sup>、KにおけるCa-Pは、飼料中に多量に含まれるものの無胃魚であるコイが消化吸収できない魚粉由来のCa-P<sup>2)</sup>が養殖排泄物となって堆積したものと考えられる。

Fig. 7に養殖施設周辺の底泥におけるChl.aとCOD, TNおよびTPとの関係を示した。TNとCOD(Fig. 7(a)および(b))はChl.aとの間に高い相関があり、Chl.aが多いほどCOD, TNの含有量も多くなった。これに対し、Fig. 7(c)に示したChl.aとTPの間にはほとんど相関がみられなかった。しかしながら、生簀直近であるKを除いた地点(Fig. 7(d))では、Chl.aとTPとの間にCOD, TNと同様の高い相関が認められた。これらの結果から、養殖施設周辺のCODやTNおよび生簀から250m離れたA2, B2のTPは、藻類など湖内を起源とする有機物の堆積によるものであると推察され、生簀直近についてはCa-P等の養殖起源のリンにより、TPが過剰に存在したと考えられた。

### 3-4 沈降物調査

沈降物調査実施期間中の養殖施設付近の湖流測定結果をFig. 8にベクトル図で示した。各々上段のベクトル図は風の分布を表す。下段のベ

クトル図は湖底から水面まで50cm間隔の湖流分布を表しており、各層(Layer1~7)の観測水深は湖底からの距離(例えばB-0.7mは湖底上0.7m)で示している。上層の湖流の変動は風の変動に良く対応していた。7月18日や9月12日に見られるように、湖岸に向かって吹く北向きの風の場合には中層~最下層には上層と反対向きの南向きの流れが形成されるが、沖に向かって吹く南向きの風~湖岸に沿って吹く南西向きの風の場合には、全層で同じ方向に流れが形成されており、調査期間を通じて、養殖施設周辺では南~南東向きの流れが卓越していた。このため生簀から投下された沈降物は、Fig.1のA1・A2~B1・B2の方向へ流下するものと考えられた。

Fig. 9に形態別リン, TN, TOCおよびChl.aの捕集量を示した。3回の調査結果のいずれもTNとTOCの捕集量はChl.aの捕集量に対応していた。捕集量が最も多くなったのは、底質調査において堆積物中の有機物量やChl.aの含有量が多いB2であった。一方、形態別リンの捕集量は生簀直近のKで最も多く、Kを除く他の地点における形態別リンの捕集量はTN・TOCと同様にChl.aの捕集量に対応していた。

Kにおける形態別リンの組成はCa-Pの割合が31~42%であり、Fe/Al-PとOrg.-Pが各々23~40%, 29~35%と、ほぼ1/3ずつを占めた。他の地点の形態別リンの組成は卓越流向の方向に位置するA1・A2にCa-Pがわずかに見られるが、ほとんどはOrg.-PとFe/Al-Pであった。

沈降物調査では新生の沈降物のほか、再懸濁物が捕集される。Fig. 6に示した生簀直近であるKの堆積物ではCa-Pの割合が61~74%を占め

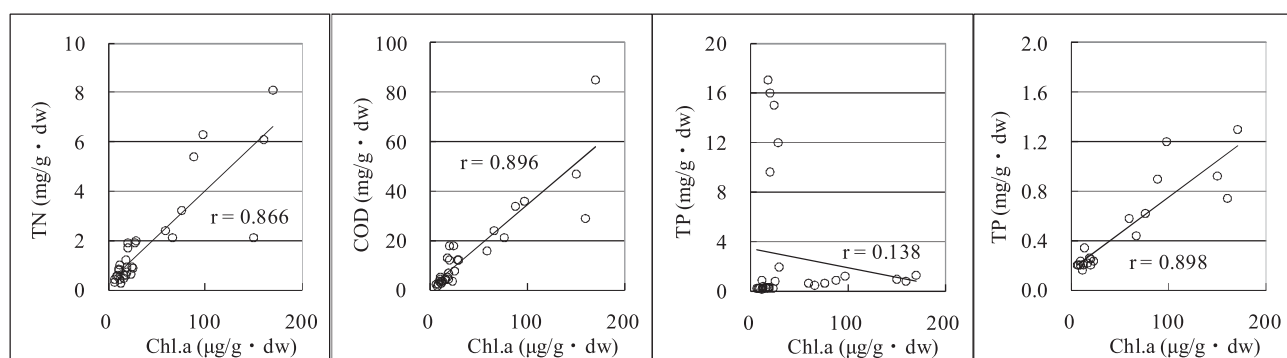


Fig. 7 Relationship between Chl.a and (a)TN, (b)COD, (c)TP, and (d)TP excluded St.K  
Solid line in graph indicates regression line. "r" shows a correlation coefficient of regression line.

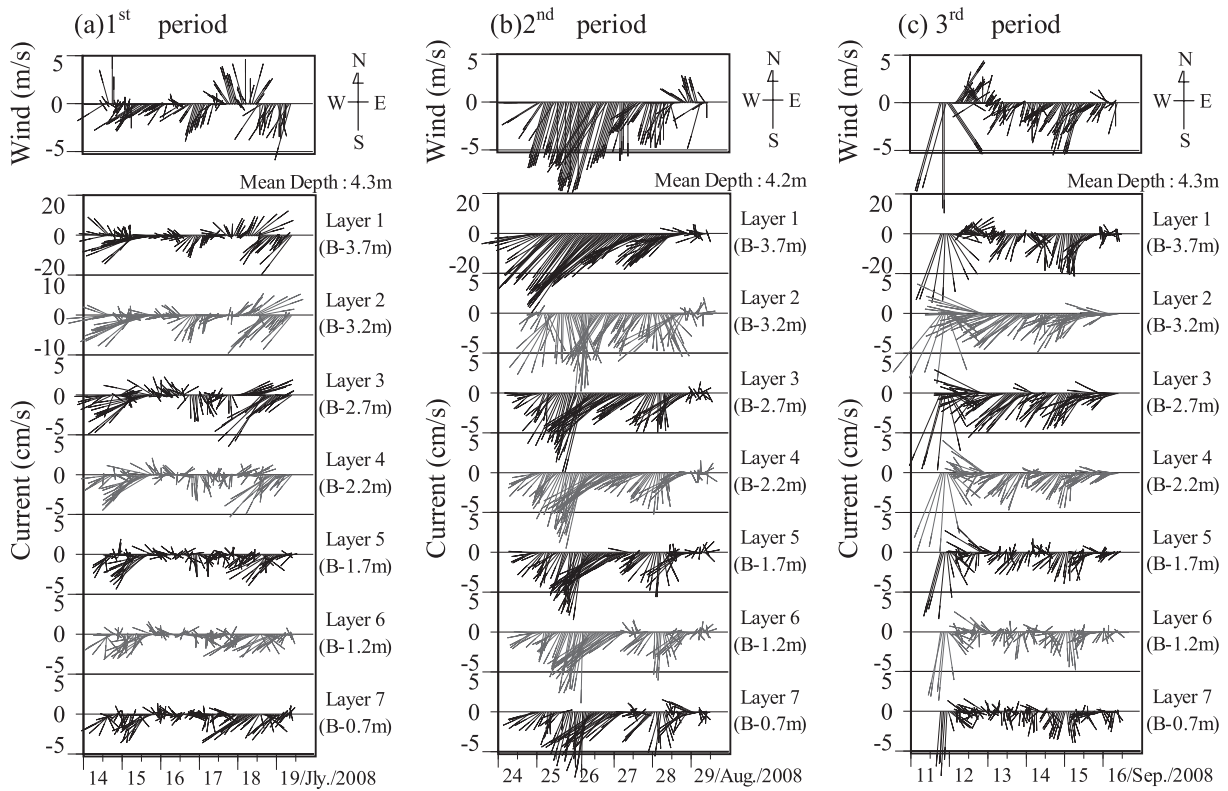
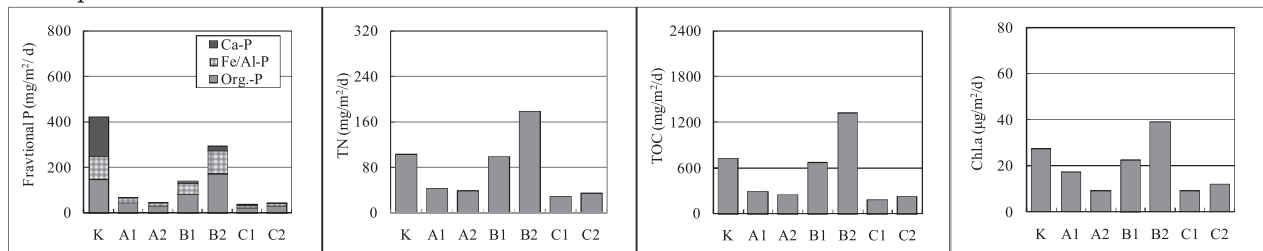
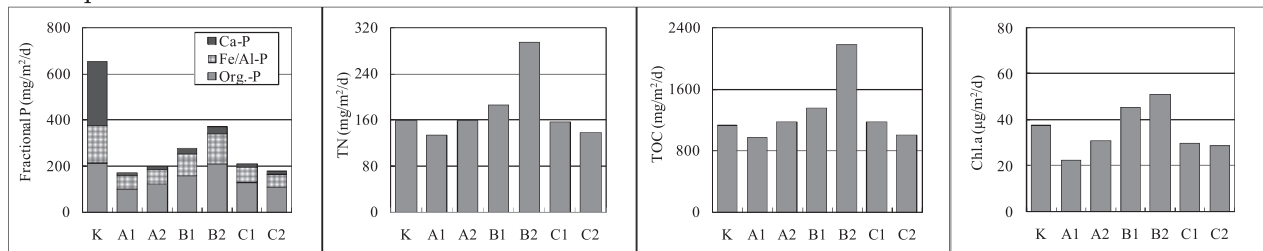


Fig. 8 Vector plots of wind and currents (a)14-19/July/2008 (b)24-29/Aug.2008 (c)11-16/Sep./2008

(a)1<sup>st</sup> period



(b)2<sup>nd</sup> period



(c)3<sup>rd</sup> period

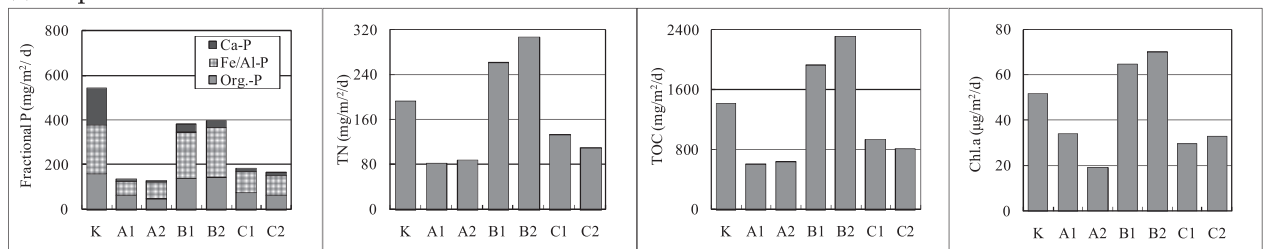


Fig. 9 Amounts of collected matter (fractional P, TN, TOC, Chl.a) by the sediment trap (a)14-19/July/2008 (b)24-29/Aug.2008 (c)11-16/Sep./2008

ていた。沈降物の形態別リンの組成は堆積物とは異っており、コイの飼料および糞に含まれる形態別リンの組成<sup>6)</sup>に近い。これらの結果から、Kでは再懸濁物、Chl.a量によって示唆される湖内起源の有機物に加え、比較的新しい養殖排泄物が捕集されたことが示唆される。堆積物においては、易分解性のOrg-Pが比較的速やかに分解され、分解・溶出しにくいCa-Pが残存することにより、その含有率が高くなるものと推察される。

また、養殖排泄物の影響は、生簀直近から125m以上離れた各地点ではほとんど認められなかった。有機物量や安定同位体、底生物などを指標とした研究により、養殖に伴う汚濁負荷は養殖漁場直近に限定されることが報告されている<sup>14)~16)</sup>。Yokoyama<sup>17)</sup>は養殖漁場の平均流速と水深との関係が自家汚染の範囲に影響することを示している。魚類の糞の沈降速度に関する報告は少ないが、例えばニジマスの糞の沈降速度は0.99~7.55cm/sであり<sup>18)</sup>、この値を用いて試験養殖施設の流速と水深から試算すると、糞は排出地点から約40m以内に落下することになる。

以上の結果から、Ca-Pを含む養殖排泄物は短期的には生簀のごく近傍に沈降・堆積すると推察され、Ca-Pなど無機態リンはその後も残存していることから、養殖施設周辺における沈降・堆積物に対する対策は、溶存態成分の浄化対策よりも効率的と考えられる。今後、堆積物中に保持された窒素・リンの回収や溶出抑制による水質改善効果を費用と併せて慎重に検討する必要がある。

#### 4 まとめ

網生簀養殖施設においてコイの試験飼育を行い、水質及び底質の短期的変動について調査を行った。得られた知見は以下のようにまとめられる。

- 1) 水質調査の結果、生簀直近であっても水質に変化は認められず、尿などとして負荷される溶存態成分に対する浄化対策については、生簀直近と非養殖漁場のいずれで実施しても効果に差はない可能性が示唆された。
- 2) 底質調査の結果、CODやTNおよび生簀から離れた地点のTPは、藻類など湖内を起源とする有機物の堆積によるものであると推察され、生簀

直近についてはCa-P等の養殖起源のリンにより、TPが過剰に存在したと考えられた。

3) 沈降物調査により、Ca-Pを含む養殖排泄物は短期的には生簀のごく近傍に沈降・堆積すると推察された。このため、生簀直近における沈降・堆積物に対する対策は、粒子態リンの回収・除去につながる可能性が示された。

#### 謝辞

本調査の実施においては、きたうら広域漁業協同組合の海老沢武美氏に多大なるご協力をいただいた。また、本稿のとりまとめにあたっては、内水面水産試験場の根本孝氏、岩崎順氏、霞ヶ浦北浦水産事務所の川野辺誠氏、吉澤貴志氏ならびに漁政課の小曾戸誠氏、半澤浩美氏から多くのご助言を頂いた。ここに記して感謝の意を表す。

#### 引用文献

- 1) Watanabe, T., T. Takeuchi, S. Satoh, K-W. Wang, T. Ida, M. Yaguchi, M. Nakada, T. Amano, S. Yoshijima, and H. Aoe(1987) : Development of Practical Carp Diets for Reduction of Total Nitrogen Loading on Water Environment., Nippon Suisan Gakkaishi, 53, 2217-2225.
- 2) 渡邊武(2002) : 低リン飼料開発試験, 茨城県内水面水産試験場研究報告, 37, 36-68.
- 3) 熊丸敦郎, 外岡健夫(1995) : コイ養殖に伴う水中溶出P負荷量について, 茨城県内水面水産試験場研究報告, 31, 30-35.
- 4) 高島葉二, 渡辺直樹, 野内孝則, 中村丈夫(2004) : 霞ヶ浦・北浦におけるコイヘルペスウイルス病の発生, 茨城県内水面水産試験場研究報告, 39, 1-8.
- 5) 石井裕一, 小松伸行, 張替慧, 矢部徹, 渡辺圭司, 根岸正実, 岩崎順(2008) : 霞ヶ浦におけるコイ養殖漁場底泥中の形態別リン分布の特徴, 日本水産学会誌, 74, 607-614.
- 6) 小松伸行, 石井裕一, 渡辺圭司, 本間隆満, 北村立実, 根岸正実, 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, 193-208.
- 7) 環境省水環境部水環境管理課(2001) : 底質調査方法, 環境省, 352p.

- 8)ISHII, Y., S. Harigae, S. Tanimoto, T. Yabe, T. Yoshida, K. Taki, N. Komatsu, K. Watanabe, M. Negishi, H. Tanimoto(2009): Spatial variation of phosphorus in bottom sediments and the potential contributions to eutrophication in shallow lakes, *Limnology*, (published on-line).
- 9) 西條八束, 三田村緒佐武 (1995) : 新編湖沼調査法, 講談社, 230p.
- 10) 福島武彦, 相崎守弘, 村岡弘爾 (1984) : 浅い湖における沈殿量の測定方法とその起源, 国立公害研究所研究報告, 51, 73-87.
- 11) 石井裕一, 小松伸行 (2006) : 霞ヶ浦における栄養塩類の時空間分布, 茨城県霞ヶ浦環境科学センター年報, 1, 98-106.
- 12) 津田勉, 浜田篤信, 鈴木紀夫 (1967) : 網生箕養鯉に関する研究-II 漁場環境の実態, 茨城県内水面水産試験場研究報告, 9, 15-21.
- 13) Rydin, S.(2000) : Potentially mobile phosphorus in Lake Erken sediment, *Water Research*, 34, 2037-2042.
- 14) Tsutsumi, H., T.Kikuchi, M. Tanaka, T. Higashi, K. Imasaka, and M. Miyazaki(1991) : Benthic faunal succession in a cove organically polluted by fish farming, *Marine Pollution Bulletin*, 23, 233-238.
- 15) Johnsen, R. I., O. Grahl-Nielsen, and B. T. Lunestad(1993) : Environmental distribution of organic waste from a marine fish farm, *Aquaculture*, 118, 229-244.
- 16) Yokoyama, H., K. Abo, and Y. Ishihi(2006) : Quantifying Aquaculture -derived Organic Matter in the Sediment in and around a Coastal Fish Farm using Stable Carbon and Nitrogen Isotope Ratios., *Aquaculture*, 254, 411-425
- 17) Yokoyama, H., M. Inoue, and K. Abo (2004) : Estimation of the assimilative capacity of fish-farm environments based on the current velocity measured by plaster balls, *Aquaculture*, 240, 233-247
- 18) 全国内水面漁業協同組合連合会 (1997) : 環境に配慮した内水面養殖をめざしてー養魚堆積物適正処理技術開発事業報告書ー, 300p

## 霞ヶ浦湖岸水田地帯からの機械排水と自然排水による負荷の比較

北村 立実, 黒田 久雄<sup>\*1</sup>, 山本 麻美子<sup>\*2</sup>, 田淵 俊雄<sup>\*3</sup>

Comparison with effluent load by pumping drainage and gravitational drainage from paddy field along Lake Kasumigaura

Tatsumi KITAMURA, Hisao KURODA, Mamiko YAMAMOTO, Toshio TABUCHI

キーワード：機械排水, 自然排水, 排出負荷量, 重み付け平均濃度

### 1 はじめに

霞ヶ浦湖岸沿いには水田が広く分布し、それらの農地排水の多くは河川や排水路を経て霞ヶ浦へ排水されたり、堤脚水路を経て用排水機場から霞ヶ浦へ排水されたりする。河川や排水路からの負荷についてはこれまで調査されており<sup>1)2)</sup>, 用排水機場からの負荷についても近年調査が実施され、灌漑期の昼間の揚水ポンプ稼働時は霞ヶ浦湖水を取水していることから流出はないが、夜間の停止時には自然流出していることが分かっている<sup>3)</sup>。そこで、茨城県では平成20年度から揚水ポンプを稼働しない夜間において機場のゲートを閉め、農地排水を堤脚水路に貯留させることで農地排水の流出を防止し、貯留した農地排水を用水として再利用する循環かんがいを実施することで霞ヶ浦への負荷削減を試みている<sup>4)</sup>。しかし、降雨状況によっては農地排水が堤脚水路から溢れてしまうため機械排水を行い強制的に霞ヶ浦に排水している。従来は、常にゲートは空いているため降雨時は自然に排水している。そこで本研究では循環かんがいを実施している用排水機場と実施していない用排水機場の2箇所を対象として同じ降雨状況の下で自然排水と機械排水の負荷調査を行うことにより機械排水による排出負荷の特徴を調査したので報告する。

### 2 調査地区と用排水機場の状況

#### 2-1 調査地区の状況

茨城県行方市の玉川地区(集水面積93ha:循環かんがい実施)の手賀玉川第1用排水機場(以下、第1用排水機場と称す)と手賀地区(集水面積50ha)の手賀玉川第2用排水機場(以下、第2用排水機場と称す)を対象とした。両者はともに同じ土地改良区であり、さらに作付けも主に水稲田で、一部で麦等の転作をしていることから土地利用も類似している。また、小さな集落が見られ、玉川地区では51戸、手賀地区では77戸であり、それらの排水も流域内から流出する(Fig. 1)。

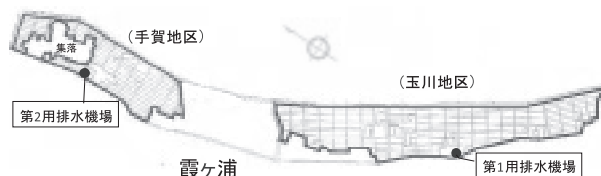


Fig. 1 調査地区概要

#### 2-2 各用排水機場の構造および排水方法

Fig. 2に第1用排水機場と第2用排水機場の構造を示す。両機場ともに敷地内に調圧水槽が設置されており、堤脚水路と霞ヶ浦を繋ぐ樋管が通っている。樋管の断面積は両者とも $2.25\text{m}^2$ である。また、調圧水槽内にはゲートが設置してある。

循環かんがいを実施している第1用排水機場ではゲートは閉じられているため、降雨時には堤脚水路から機械排水ポンプによって強制的に排水される。第1用排水機場に設置して

\*1 茨城大学農学部

\*2 現所属：県西農林事務所

\*3 農業農村工学会名誉会員

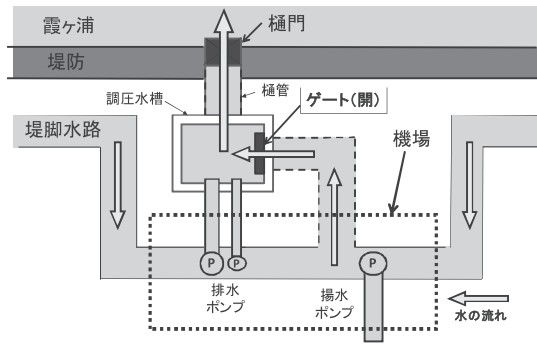
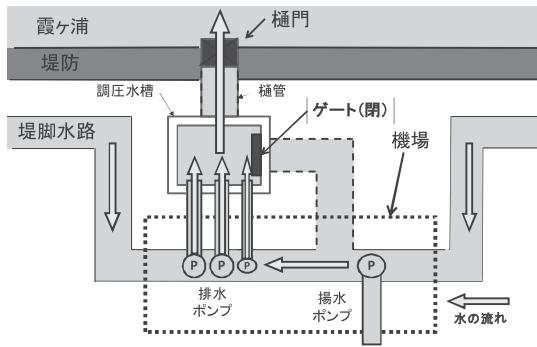


Fig. 2 第1用排水機場（上）と第2用排水機場（下）の構造

ある機械排水ポンプは常時機械排水ポンプ ( $5 \text{ m}^3 \cdot \text{min}^{-1}$ )1機と緊急機械排水ポンプ ( $45 \text{ m}^3 \cdot \text{min}^{-1}$ )2機の2種類がある。第2用排水機場ではゲートは常に空いているため、降雨時には堤脚水路から霞ヶ浦へ自然に排水される。第2用排水機場においても機械排水ポンプは設置されているが、本調査では使用されなかった。ここで、緊急機械排水ポンプで汲み出された排水を緊急機械排水、常時機械排水ポンプで汲み出された排水を常時機械排水、機械排水を行わずにゲートを開けたままの排水を自然排水とした。

### 3 調査方法

調査は  $53.5 \text{ mm} \cdot \text{d}^{-1}$  の大雨を観測した平成20年5月20日0時00分から21日10時50分にかけて行った。調圧水槽内の樋管に電磁流速計（東京計測社製 SF-5511・SFT-200-12X）を設置し、調圧水槽内に自動採水器（ISCO社製 6712FR/NR）を設置した（Fig. 3）。樋管の形状は  $1.5 \text{ m} \times 1.5 \text{ m}$  の正方形で、電磁流速計は樋管の中心に位置するように調圧水槽の底面位か

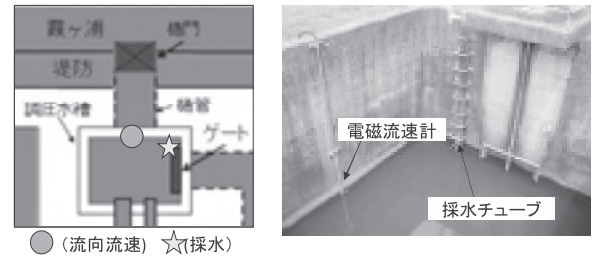


Fig. 3 機器設置の様子

ら  $0.75 \text{ m}$  の位置に設置し、自動採水機の採水チューブも水槽の底面位から  $0.75 \text{ m}$  に設置した。電磁流速計の計測は5分間隔、試水は3時間間隔で採取した。分析項目はSS, T-N, T-P, 溶存態総窒素 (DTN), 溶存態総リン (DTP), 硝酸態窒素 ( $\text{NO}_3\text{-N}$ ), 亜硝酸態窒素 ( $\text{NO}_2\text{-N}$ ), アンモニア態窒素 ( $\text{NH}_4\text{-N}$ ), リン酸態リン ( $\text{PO}_4\text{-P}$ ) とし、それぞれ JIS 法に準拠して分析した。また、測定結果を用いて懸濁態窒素 [PTN=T-N - DTN], 懸濁態リン [PTP=T-P - DTP] を算出した。降雨量は気象庁のアメダスデータ（土浦）を用いた。ポンプの稼働状況は玉造土地改良区のポンプ稼働記録簿から把握した。

## 4 結果と考察

### 4-1 比流量および水質変化

Fig. 4 に機械排水と自然排水による比流量および水質濃度の変化を示す。比流量について機械排水では、機械排水の操作として20日3時から6時の間の  $21 \text{ mm}$  の降雨の後に常時機械排水を行い、6時から9時の  $26.5 \text{ mm}$  の降雨のピーク後に緊急機械排水を実施した。その後、降雨が終わっても16時までには緊急機械排水を行い、16時以降は21日10時50分まで常時機械排水を行った。比流量の変化としては、常時機械排水直後に  $1.5 \text{ m}^3 \cdot \text{ha}^{-1} \cdot 5\text{min}^{-1}$  に増加し、緊急機械排水に切り替え後は約  $4.0 \text{ m}^3 \cdot \text{ha}^{-1} \cdot 5\text{min}^{-1}$  に急激に増加した再び常時機械排水に切り替え後は約  $0.5 \text{ m}^3 \cdot \text{ha}^{-1} \cdot 5\text{min}^{-1}$  で定常的に流出した。また、自然排水では20日3時から6時の間の  $21 \text{ mm}$  の降雨の間に比流量が増加し始め、6時から9時の  $26.5 \text{ mm}$  の降雨のピークで比流量も  $3.0 \text{ m}^3 \cdot$

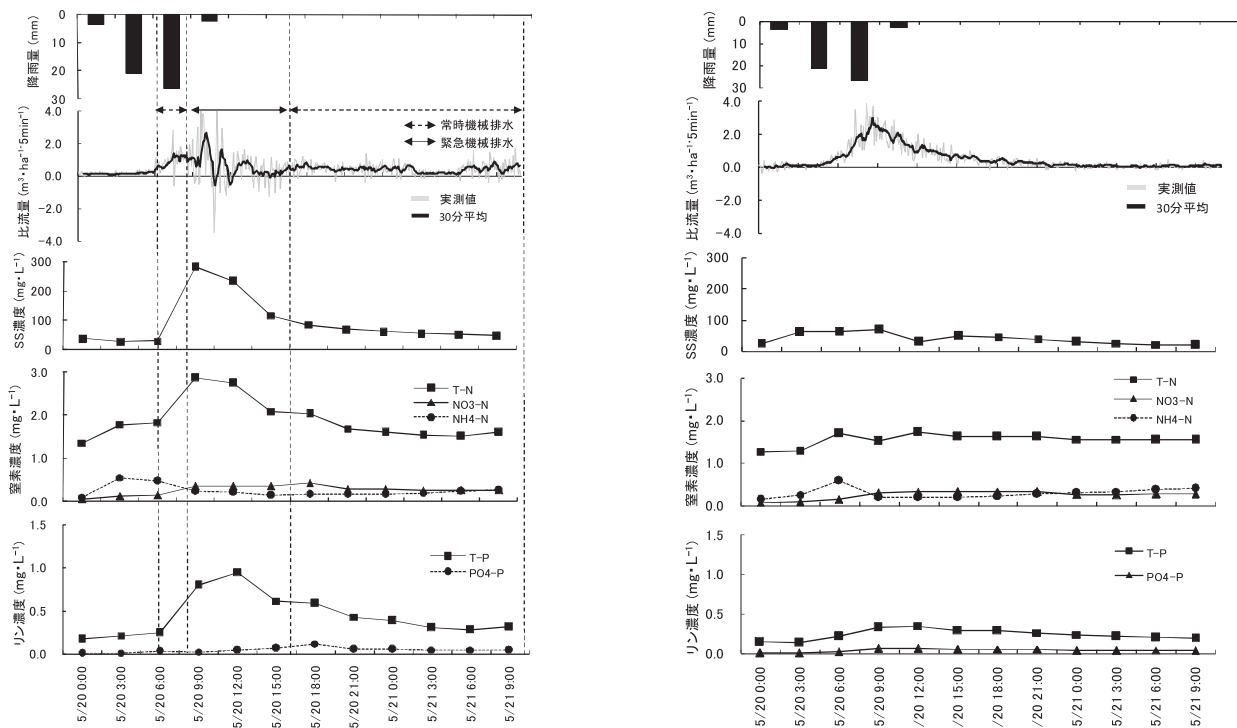


Fig. 4 機械排水（左）と自然排水（右）による比流量および水質濃度変化

$\text{ha}^{-1} \cdot 5\text{min}^{-1}$ とピークに達した。それ以降は緩やかに減少し、5月21日0時以降は $1.0 \text{ m}^3 \cdot \text{ha}^{-1} \cdot 5\text{min}^{-1}$ 未満で推移した。機械排水における総比流量は $124 \text{ m}^3 \cdot \text{ha}^{-1}$ 、自然排水における総比流量は $199 \text{ m}^3 \cdot \text{ha}^{-1}$ であり、玉川地区の方が総比流量は小さかった。

また、水質変化について、機械排水によるSS濃度では、機械排水開始前は約 $30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ であったが、緊急機械排水を実施すると $283 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ まで上昇した。常時機械排水に切り替え後も $50 \sim 80 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ で推移した。窒素濃度については、機械排水直前のT-N濃度は $1.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度は $0.11 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ であったが、緊急機械排水後はT-N濃度は $2.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ と排水前の約2倍、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度は $0.35 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ と約3倍まで大きく上昇した。その後、常時機械排水に切り替え後もT-N濃度で約 $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ と機械排水開始前より高濃度で推移した。逆に、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度は、機械排水前は $0.47 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ であったが、機械排水後は $0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ と低下した。リン濃度では、機械排水直前のT-P濃度は $0.24 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度は $0.035$

$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ であったが、緊急機械排水後はT-P濃度は $0.94 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ と排水前の4倍近く上昇した。しかし、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度は $0.040 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ と僅かに上昇した。T-P濃度は常時機械排水に切り替え後も $0.28 \sim 0.58 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ と徐々に低下するものの、機械排水前より高濃度に推移した。

自然排水では、比流量が増加する前の20日3時ではSS濃度が $62 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ であったが、ピーク時には $68 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ となり、降雨がやんだ21日0時以降は $30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 未満になった。窒素濃度では、比流量がピーク前はT-N濃度は $1.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度は $0.14 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ であったが、比流量がピーク時にはそれぞれ $1.7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.57 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ まで上昇した。 $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度は、比流量がピーク後は $0.19 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ に減少し、その後緩やかに上昇した。リン濃度では比流量が増加する前はT-Pは $0.13 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ は $0.010 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ であったが、ピーク後はT-Pは $0.35 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ は $0.068 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ まで上昇した。

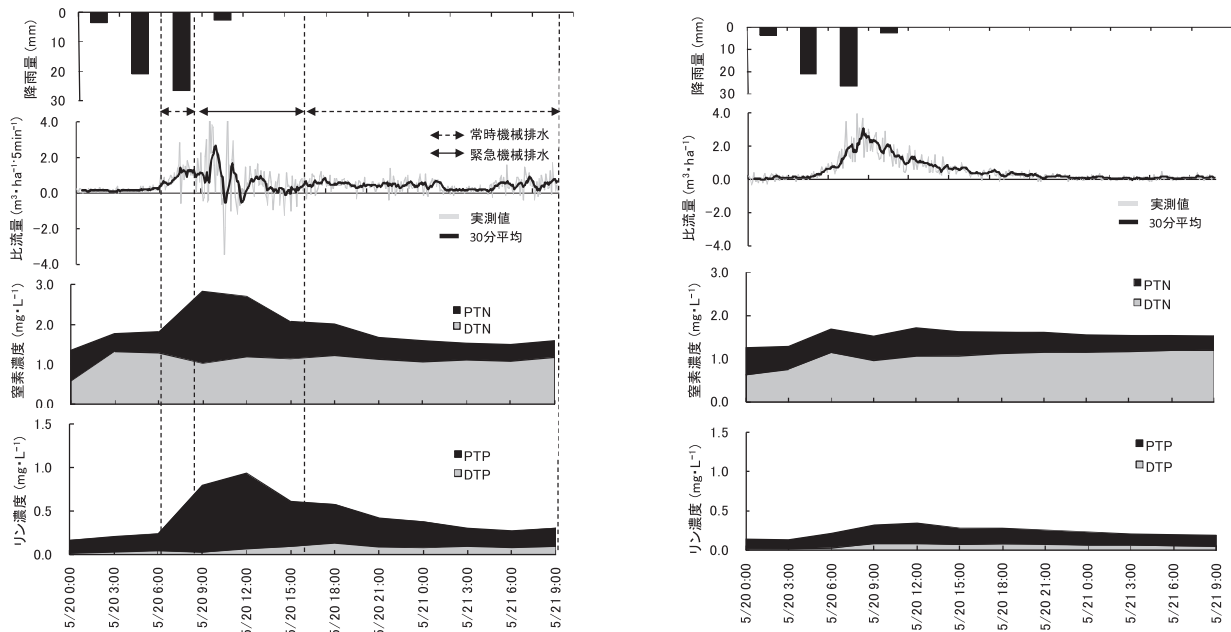


Fig. 5 機械排水（左）と自然排水（右）の窒素およびリンの懸濁態と溶存態の濃度変化

#### 4-2 機械排水および自然排水における窒素およびリンの溶存態濃度と懸濁態濃度の挙動

Fig. 5 に機械排水と自然排水の窒素およびリンの懸濁態と溶存態の濃度変化を示した。

機械排水では、DTN 濃度について機械排水開始前は  $1.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  であったが、開始後は  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  に低下し、その後も同じ濃度で推移した。しかし、PTN 濃度について排水開始前は  $0.42 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  であったが、開始後は  $1.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  と 4 倍近く上昇した。その後は約  $0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  と機械排水開始前と同程度になった。DTP 濃度は機械排水の操作に応じた変動が見られなかった。しかし PTP 濃度は  $0.15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  から  $0.87 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  と約 6 倍まで上昇し、その後約  $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  まで低下した。

自然排水では、DTN 濃度は比流量の増加に伴い  $1.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  に上昇したが、比流量がピーク後は  $0.97 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  に低下し、その後緩やかに上昇した。PTN 濃度は比流量の増加に応じた変化は見られず  $0.54 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  であったが、比流量の減少に伴い約  $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  まで低下した。また DTP 濃度は比流量の増加に伴い、 $0.022 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  から  $0.089 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  まで上昇し、緩やかに低下した。PTP 濃度についても  $0.11 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  から  $0.26 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  まで上昇し、緩やかに低

下した。

また、Table 1 に機械排水および自然排水における溶存態と懸濁態の窒素濃度およびリン濃度の平均水質について示す。溶存態の窒素濃度およびリン濃度については機械排水で平均が  $1.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.077 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  で、変動係数が 17%、46% であり、自然排水では、平均が  $1.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.064 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  で、変動係数が 16%、36% と窒素およびリンともに同様な傾向が見られるが、懸濁態の窒素濃度およびリン濃度については機械排水では平均で  $0.75 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.36 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  で、変動係数が 62% と 66% であり、自然排水では平均で  $0.48 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.18 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、変動係数が 22% と 25% で、機械排水の方が水質、変動係数ともに高かった。これらは、機械

Table 1 機械排水と自然排水における窒素およびリンの懸濁態と溶存態の濃度

		平均	標準偏差	変動係数	
		$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	%	
機械排水	溶存態	DTN	1.1	0.19	17
		DTP	0.077	0.035	46
	懸濁態	PTN	0.75	0.46	62
		PTP	0.36	0.24	66
自然排水	溶存態	DTN	1.1	0.17	16
		DTP	0.064	0.023	36
	懸濁態	PTN	0.48	0.10	22
		PTP	0.18	0.045	25



排水ポンプによって堤脚水路の泥等が巻き上げられ、排水されたことによって懸濁態の濃度が上昇したと考えられた。

#### 4-3 自然排水および機械排水における負荷の比較

Fig. 6 に機械排水および自然排水における SS, T-N および T-P の 3 時間毎の排出負荷量の変動を示す。5 分毎の流速と樋管断面積から流量を計算し、3 時間毎に合算した。それに 3 時間毎の水質をかけることで 3 時間毎の排出負荷量を算出した。ただし、21 日は 10 時 50 分まで計測したため 9 時から 10 時 50 分の合計で表すこととした。また、機械排水は 20 日 6 時まではゲートを閉じて排出していないため、それまでの排出負荷量は 0 とした。

機械排水において、SS 排出負荷量は、常時機械排水開始後は  $680 \text{ g} \cdot \text{ha}^{-1}$  であり、緊急機械排水後には  $6,200 \text{ g} \cdot \text{ha}^{-1}$  と約 10 倍に増加した。常時機械排水に切り替えた後も、 $200 \sim 1,000$

$\text{g} \cdot \text{ha}^{-1}$  で推移した。T-N 排出負荷量は、常時機械排水開始後は  $43 \text{ g} \cdot \text{ha}^{-1}$  であり、緊急機械排水後には  $62 \text{ g} \cdot \text{ha}^{-1}$  と増加したが、SS 排出負荷量と比較してその増加は小さかった。常時機械排水に切り替えた後も、 $6.5 \sim 20 \text{ g} \cdot \text{ha}^{-1}$  で推移した。T-P 排出負荷量は、常時機械排水開始後は  $5.8 \text{ g} \cdot \text{ha}^{-1}$  であり、緊急機械排水後には  $\text{g} \cdot \text{ha}^{-1}$  と約 3 倍に増加した。常時機械排水に切り替えた後も、 $1.3 \sim 6.7 \text{ g} \cdot \text{ha}^{-1}$  で推移した。

自然排水において、SS 排出負荷量は比流量が最大になる 20 日 6 時から 9 時の間に約  $4,000 \text{ g} \cdot \text{ha}^{-1}$  と最大になった。また、比流量が減少してきた 15 時には  $1,000 \text{ g} \cdot \text{ha}^{-1}$  未満になり 21 日 3 時以降は  $100 \text{ g} \cdot \text{ha}^{-1}$  未満まで減少した。T-N 排出負荷量も同様に、比流量がピーク時に  $104 \text{ g} \cdot \text{ha}^{-1}$  まで増加し、21 日 0 時以降は  $10 \text{ g} \cdot \text{ha}^{-1}$  未満に減少した。T-P 排出負荷量は比流量のピークが過ぎた 20 日 9 時から 12

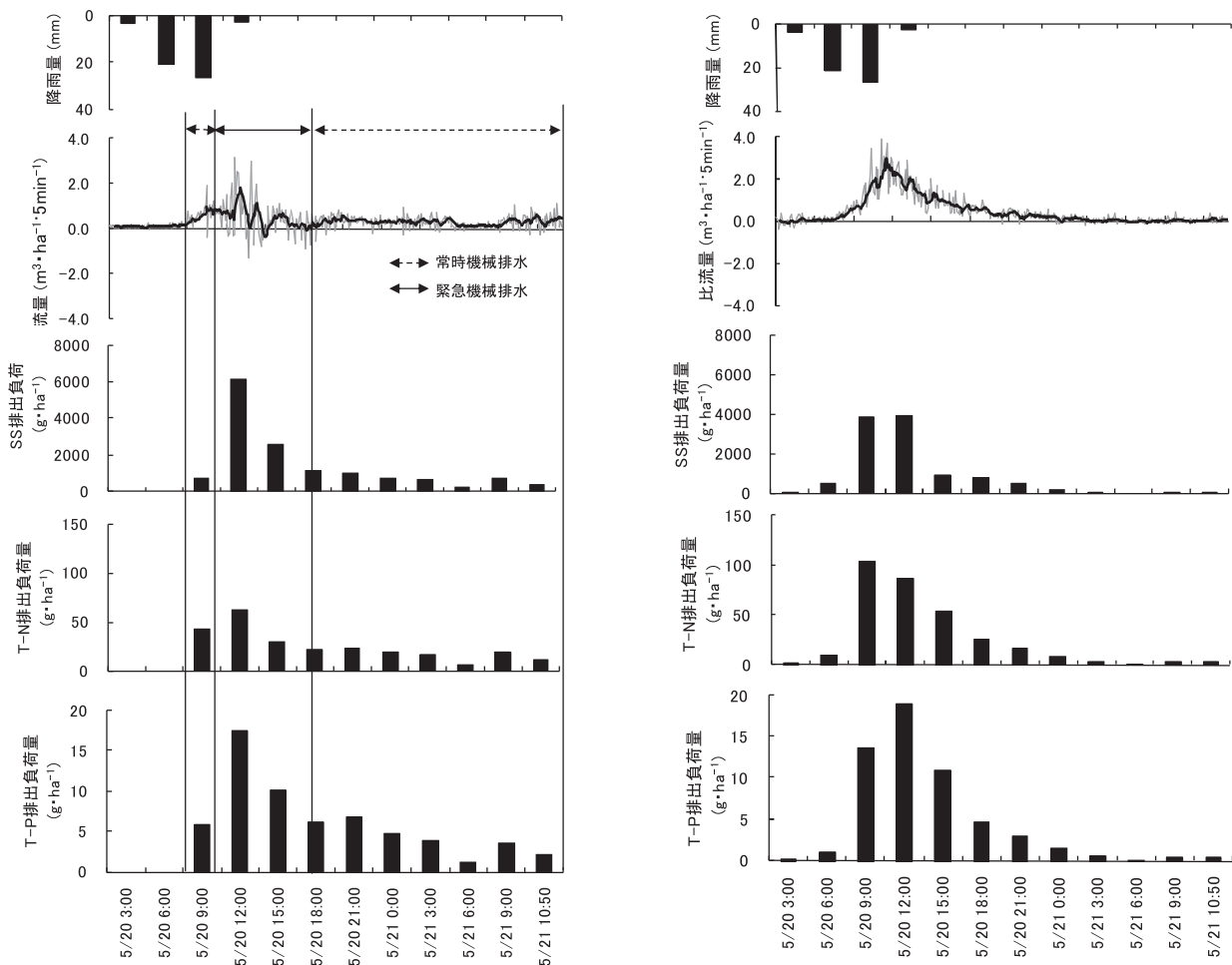


Fig. 6 機械排水（左）と自然排水（右）の排出負荷量の変化

時の間に  $19 \text{ g} \cdot \text{ha}^{-1}$  と最大となった。その後は SS および T-N と同様に減少し、 $0.5 \text{ g} \cdot \text{ha}^{-1}$  まで減少した。

自然排水と機械排水の排出負荷量の変動として、両者とも比流量がピーク時や機械排水後には大幅な増加が見られた。しかし、比流量の減少に伴う排出負荷量の変動では、機械排水の方が自然排水よりも減少傾向が小さかった。

Table 2 に自然排水と機械排水の総排出負荷量と総排出負荷量を比流量で割った重み付け平均濃度を示す。その結果、比流量は機械排水よりも自然排水の方が多かったが、総排出負荷量では機械排水においては、SS は  $14 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ 、T-N は  $0.25 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ 、T-P は  $0.062 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$  で、自然排水においては、SS は  $11 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ 、T-N は  $0.32 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ 、T-P は  $0.056 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$  と SS や T-P で比流量が小さいにも関わらず排出負荷量は大きかった。一方、T-N では自然排水の方が大きかった。これまでの研究で、降雨時の河川の流出負荷において、SS 濃度上昇に伴い、リンは懸濁態成分が大きく増加するが、窒素は大きくは増加しないことが報告されている<sup>5)</sup>。今回の結果についても、同様な現象が起こったために T-N 負荷量がそれほど大きくならなかったと考えられる。しかし、重み付け平均濃度で比較すると自然排水において、SS は  $54 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、T-N は  $1.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、T-P は  $0.28 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  であり、機械排水においては、SS は  $114 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、T-N は  $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、T-P は  $0.50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  とすべての項目で機械排水の方が高い結果となった。これらのことから、機械排水によって濃度を上昇させ、排出負荷量を増加させていることが明らかになった。

Table 2 機械排水と自然排水の総排出負荷量と重み付け平均濃度

		機械排水		自然排水
比流量		$\text{m}^3 \cdot \text{ha}^{-1}$	124	199
総排出 負荷量	SS	$\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1}$	14	11
	T-N	$\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1}$	0.25	0.32
	T-P		0.062	0.056
重み付け 平均濃度	SS		114	54
	T-N	$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	2.0	1.6
	T-P		0.50	0.28

## 5 まとめ

本調査による機械排水と自然排水の比較から機械排水の特徴について以下のことが明らかとなった。

- ・機械排水によってすべての水質が大きく上昇したが、SS 濃度や T-P 濃度は特に大きく上昇した。
- ・機械排水によって窒素およびリンの懸濁態成分が多く排出された。
- ・自然排水と比較して機械排水の方が比流量は少なかったが、SS および T-P の排出負荷量は多かった。また、重み付け平均濃度ではすべての項目で、機械排水が上回った。

これまでの研究<sup>6)</sup>においても、降雨時には水路に堆積した物質等が流出し、SS、T-N、T-P 等の濃度を上昇させ、負荷が増加することが指摘されている。本研究においても自然排水では同様な現象が見られた。しかし、機械排水は自然排水以上に負荷を増加させて排出していることから、機械排水ポンプによって水路の底泥を巻き上げながら排水していると考えられる。現に機械排水ポンプの取水口を検査した結果、取水口付近は底泥が堆積しているが、取水口の真下のみは堆積が少ない状況になっていることが分かった (Fig.7)。このようなことから、機械排水をなるべく行わずに自然排水を実施することや堤脚水路の底泥の浚渫等の水路管理、農地から濁水を出さない農作業運営を行う等の工夫が必要と考えられる。



Fig. 7 機械排水ポンプ取水口付近の底泥 (左), 取水口 (右)

## 謝辞

本研究を行うに当たり、玉造南部土地改良区の高塚氏を初めとする職員の方々、調査地区の農家の方々、茨城県鹿行農林事務所土地改良部門の職員の方々に現地調査や資料提供等、多大なるご協力をいただいた。ここに感謝の意を表す。

## 参考文献

- 1) 中田佑美, 牧山正男, 田淵俊雄 (2006) : 代かき濁水が霞ヶ浦流入河川の水質に及ぼす影響, 農業土木学会大会講演会講演要旨集, 130-131。
- 2) 田淵俊雄, 黒田久雄, 斉藤浩之, 高橋恵子, 室谷敬 (1991) : 灌漑期の農業集水域からの流出

水の水質と負荷特性一面源主体の農業集水域からの流出負荷に関する研究(Ⅱ)一, 農土論集, 154, 55-64。

- 3) 北村立実, 根岸正美, 山本麻美子, 黒田久雄, 田淵俊雄 (2009) : 灌漑期における霞ヶ浦湖岸水田地帯の水田排水再利用地区からの負荷について, 日本陸水学会第74回大会講演要旨集, p85。
- 4) 平成21年度版環境白書(2009) : 茨城県, p116 ~ p119。
- 5) 鈴木誠治, 田淵俊雄 (1984) : 農業地域小河川における流出負荷量の季節変動と年間総量について, 農土論集, 114, 33-38。
- 6) 国松孝男, 村岡浩爾 (1989) : 河川汚濁のモデル解析, 技報堂出版, pp 117-124。

# 霞ヶ浦湖岸水田地帯における用排水機場からの流出負荷の特性 — 代かき・田植え期 —

北村 立実, 黒田 久雄<sup>\*1</sup>, 山本 麻美子<sup>\*2</sup>, 田淵 俊雄<sup>\*3</sup>

Characteristics of runoff load from the irrigation and drainage pump station in paddy field along  
Lake Kasumigaura — The puddling and transplanting period —

Tatsumi KITAMURA, Mamiko YAMAMOTO, Hisao KURODA, Toshio TABUCHI

キーワード：揚水ポンプ, 用水時と停止時, 自然流出, 負荷

## 1 はじめに

霞ヶ浦湖岸沿いには水田やハス田が広く分布し、そこからの農地排水は排水路を通して霞ヶ浦へ直接流出したり、堤脚水路を経て霞ヶ浦へ流出したりしている。これまで霞ヶ浦（西浦）の湖岸水田の流出入に関する負荷量の検討等、排水路を対象とした農業集水域の収支や流出負荷の研究<sup>1)~4)</sup>が行われているが、用排水機場を中心とした詳細な研究例は無く、水管理や負荷の流出入については実態が明確ではない。そこで本研究では、代かき・田植え期を対象として、揚水ポンプ稼働時や停止時による水管理の実態を把握し、それに応じた堤脚水路と霞ヶ浦を繋ぐ樋管の流向流速や水質変化、さらに霞ヶ浦への流出負荷について調査したので報告する。

## 2 調査地区と用排水機場の状況

### 2-1 調査地区の状況

調査地区として茨城県行方市の霞ヶ浦（西浦）沿岸に位置する玉造南部土地改良区の手賀玉川第2用排水機場（以下、用排水機場と称す。）を対象とした。調査地区面積は50 haであり、図1に調査地区の概要を示した。土地利用は主に水稲田であり、一部で麦等の転作をしている。また、調査地区内に77戸の集落が見られる。本調査地区は用排水機場で唯一、霞ヶ浦と繋がっており、閉鎖的になっている。本調査地区内の代かき・田植え期は4月23日～5月10日である。

\*1 茨城大学農学部

\*2 現所属：県西農林事務所

\*3 農業農村工学会名誉会員

図1 調査地区の概要

### 2-2 用排水機場の構造

用排水機場の構造について図2に示した。堤脚水路と霞ヶ浦を繋ぐ樋管が通っており、その間に調圧水槽がある。調圧水槽内にはゲートが設置してあるが、常時開いているので堤脚水路の水と霞ヶ浦湖水の交換は両者の水位差によって行われる。機場には揚水ポンプ1機(25.68 m<sup>3</sup>/分)及び排水ポンプを2機(常時排水ポンプ：2.52 m<sup>3</sup>/分、緊急排水ポンプ：45 m<sup>3</sup>/分)設置しており、各ポンプの取水口は堤脚水路内に設置されている。

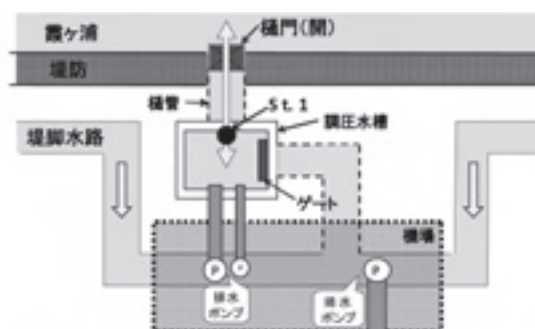


図2 用排水機場の構造

表 1 分析および算出方法一覧

ろ過操作*	分析項目	分析方法	分析機器	測定波長
	COD	過マンガン酸カリウムにおける酸素消費量		
○	DCOD	過マンガン酸カリウムにおける酸素消費量		
	PCOD	計算値: COD - DCOD		
	TN	アルカリ性ペルオキシ二硫酸カリウム分解/銅・カドミウムカラム還元/ナフチルエチレンジアミン吸光光度法	BRAN+LUBBE: Auto Analyzer	550 nm
○	DTN	アルカリ性ペルオキシ二硫酸カリウム分解/銅・カドミウムカラム還元/ナフチルエチレンジアミン吸光光度法	BRAN+LUBBE: Auto Analyzer	550 nm
	PN	計算値: TN-DTN		
○	NO <sub>x</sub> -N	銅・カドミウムカラム還元/ナフチルエチレンジアミン吸光光度法	BRAN+LUBBE: AACS-II	550 nm
	NO <sub>3</sub> -N	計算値: NO <sub>x</sub> -N - NO <sub>2</sub> -N		
○	NO <sub>2</sub> -N	ナフチルエチレンジアミン吸光光度法	BRAN+LUBBE: AACS-II	550 nm
○	NH <sub>4</sub> -N	インドフェノール青吸光光度法	BRAN+LUBBE: AACS-II	630 nm
	DON	計算値: DTN - (NO <sub>3</sub> -N+NO <sub>2</sub> -N+NH <sub>4</sub> -N)		
	TP	ペルオキシ二硫酸カリウム分解/モリブデン青[アスコルビン酸還元]吸光光度法	BRAN+LUBBE: Auto Analyzer	880 nm
○	DTP	ペルオキシ二硫酸カリウム分解/モリブデン青[アスコルビン酸還元]吸光光度法	BRAN+LUBBE: Auto Analyzer	880 nm
	PP	計算値: TP-DTP		
	DOP	計算値: DTP - PO <sub>4</sub> -P		
○	PO <sub>4</sub> -P	モリブデン青[アスコルビン酸還元]吸光光度法	BRAN+LUBBE: AACS-II	880 nm

\* GF/B(Whatman) 孔径1 μmでろ過

### 3 調査方法

調査期間は調査地区の代かき・田植え期である平成20年4月23日から5月10日の17日間とした。調圧水槽の樋管に電磁流速計(東京計測社製 SF-5511・SFT-200-12X)を、調圧水槽内に水位計(STS sensor technik sirnach社製 DL/N70)と自動採水機(ISCO社製 6712FR/NR)をそれぞれ設置した(図2: St.1)。樋管の形状は1.5 m × 1.5 mの正方形で、電磁流速計は樋管の中心に位置するように調圧水槽の底面位から0.75 mの位置に設置し、自動採水機の採水チューブも水槽の底面位から0.75 mに設置した。電磁流速計の計測は5分間隔、水位計は10分間隔で計測し、試水は3時間間隔で採取した。また、5月2日に堤脚水路の水を採水した。分析項目はpH, EC, SS, COD, 溶存態COD(DCOD), TN, TP, 溶存態総窒素(DTN), 溶存態総リン(DTP), 窒素酸化物(NO<sub>x</sub>-N), 亜硝酸態窒素(NO<sub>2</sub>-N), アンモニア態窒素(NH<sub>4</sub>-N), リン酸態リン(PO<sub>4</sub>-P)とし、それぞれJIS法に準拠して分析した。さらに、測定結果を用いて懸濁態COD(PCOD), 懸濁態窒素(PN), 懸濁態リン(PP), 溶存態有機窒素(DON), 溶存態有機リン(DOP)を算出した(表1)。降雨量は気象庁のアメダスデータ(土浦)を用いた。ポンプの稼働状況は玉造南部土地改良区のポンプ稼働記録簿から把握した。

## 4 結果及び考察

### 4-1 揚水ポンプ稼働時と停止時における流向流速

#### および水質特性

#### 4-1-1 水管理の状況

調査期間中は6時ごろに揚水ポンプを稼働させ、18時ごろに止める操作が毎日行われており、この間ゲートは開けたままで行われていた。また、4月24日、5月3日に約10mmの降雨があったが、機械排水は行われなかった。

### 4-1-2 流向流速と水位の変化

揚水ポンプの稼働に応じた流向流速や水位の変化を示す(図3)。揚水ポンプを稼働すると霞ヶ浦から汲み上げる流れとなり、流速は0.05 ~ 0.1 m・s<sup>-1</sup>であった。停止すると約0.01 m・s<sup>-1</sup>の流速で霞ヶ浦へ流出する方向になった。また、水位は樋管口(高さ1.5 m)より常に高く、ポンプの稼働に応じた水位の変化は見られなかった。このことから用水時は常に霞ヶ浦側から湖水を取水しており、停止時は堤脚水路から霞ヶ浦へ自

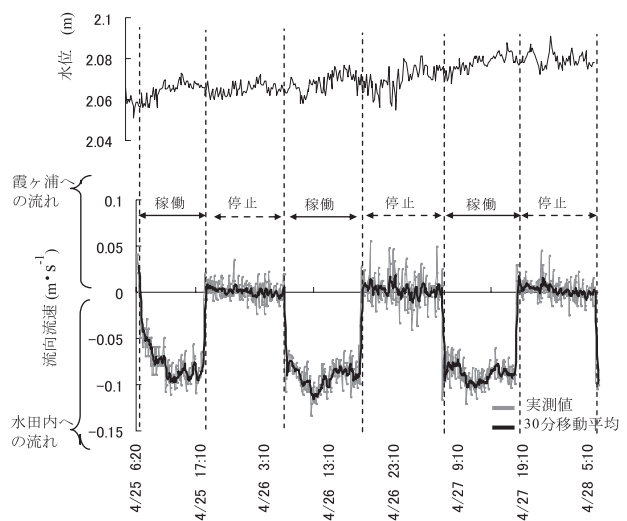


図3 揚水ポンプ稼働時と停止時の水位と流向流速の変化

然流出している流れがあることが分かった。以後、場水ポンプ停止時は自然流出時とする。

#### 4-1-3 水質変化の傾向

4月25日～28日の短期間における用水時および自然流出時の形態別水質の変化を示す(図4)。

pHでは用水時には約9と高くなるが、自然流出時は約7と低くなる傾向が見られた。

ECでは用水時には約30 mS・m<sup>-1</sup>前半であるが、

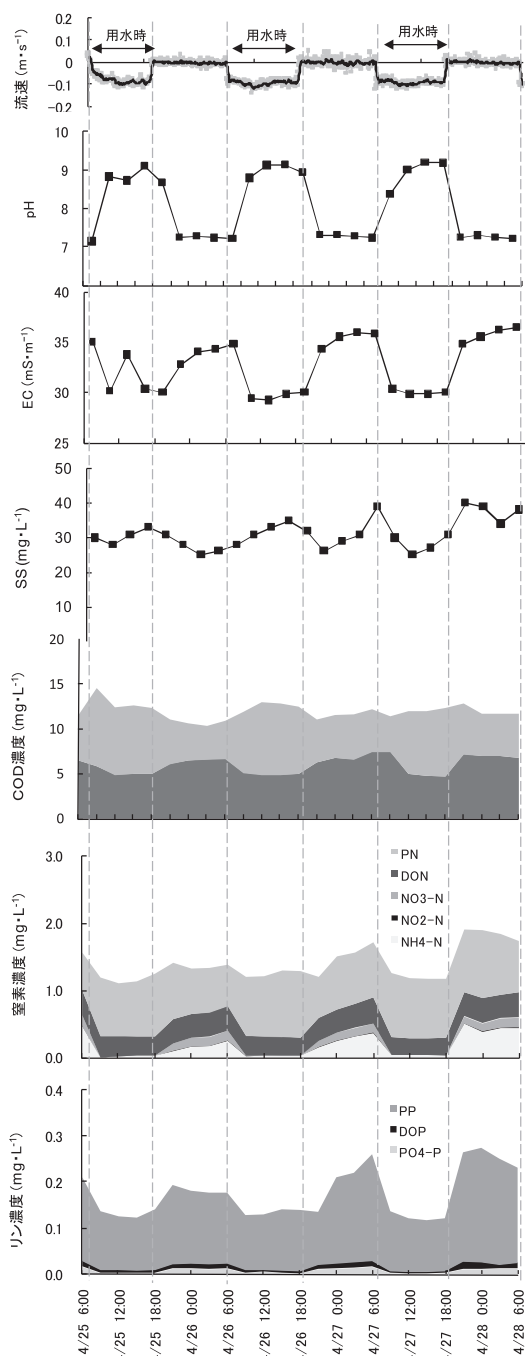


図4 用水時と自然流出時の形態別水質変化

自然流出時は約30 mS・m<sup>-1</sup>後半と高くなる傾向が見られた。

SSでは用水時と自然流出時の濃度変動に傾向は見られなかった。

CODでは用水時と自然流出時の濃度変動は見られないが、形態別に見ると用水時にDCODが低下し、自然流出時にDCODが上昇する傾向が見られた。

TNでは用水時に低下し、自然流出時に上昇する傾向が見られた。形態別で見ると、用水時はNO<sub>3</sub>-N、NO<sub>2</sub>-N、NH<sub>4</sub>-Nがほとんど検出されていないが、流出時には上昇した。

TPではTNと同様、用水時は低下し、自然流出時に上昇する傾向が見られた。形態別ではPPやPO<sub>4</sub>-Pで自然流出時に上昇した。

また、用水ポンプ停止から1時間以内では、流れが霞ヶ浦へ流出する方向であっても、水質は用水時に近い水質を示し、徐々に増加する傾向が見られた。

#### 4-2 代かき・田植え期における水質変動と流出負荷

##### 4-2-1 流量と水質変動

図5に代かき・田植え期の降雨量、流量、SS、COD、TN、TPの変動を示す。降雨は4月24日と5月3日に約10 mmの降雨量を観測した。降雨のあった日は自然流出水量が多く、用水量は少ない傾向が見られた。調査期間中の水質変動はTN、TPに関しては4月30日～5月1日にかけての自然流出時に濃度が大きく上昇していた。このときNH<sub>4</sub>-NやPO<sub>4</sub>-Pが大きく上昇しており、特にPO<sub>4</sub>-Pでは通常は0.02 mg・L<sup>-1</sup>であったものが0.05 mg・L<sup>-1</sup>～0.18 mg・L<sup>-1</sup>に大幅に上昇していた。また、用水時にはNH<sub>4</sub>-Nで0.01 mg・L<sup>-1</sup>、PO<sub>4</sub>-Pで0.002 mg・L<sup>-1</sup>と低濃度で推移した。平山ら<sup>5)</sup>は代かき後の落水で水田から肥料成分が流出することを明らかにしている。このことから自然流出時の堤脚水路の水は農地由来の栄養塩が流出したものと考えられた。

##### 4-2-2 用水時及び自然流出時の水質特性

代かき・田植え期における用水(n=50の平均)及び自然流出水(n=68の平均)のCOD、窒素、リンの水質結果を表2に示した。ポンプの運転の切り替え直後は水質が安定しないことが考えられるため、運転切り替え後1時間以上経過した

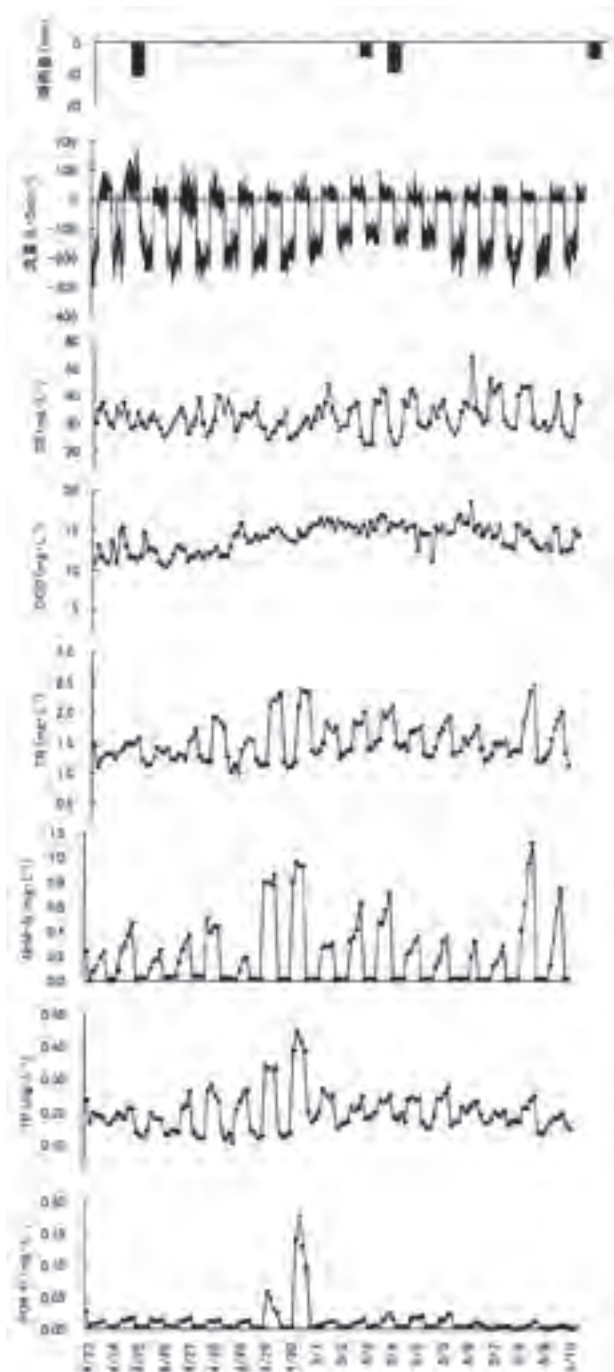


図5 代かき・田植え期の流量及び水質変動

データを抽出した。その結果、変動係数についてはpH、EC、SS、COD、TN、TPは用水時及び自然流出時ともに20%未満であり、変動は小さかった。しかしNO<sub>3</sub>-Nでは用水時は137%と大きく、自然流出時には約30%と小さかった。用水時の変動係数が大きい理由としては、検出される時とされない時で変動が大きいためであった。

表2 用水時および自然流出時の水質

用水時	平均	最大	最小	標準偏差	変動係数(%)
pH	8.9	9.4	7.9	0.38	4.3
EC mS·m <sup>-1</sup>	30.5	33.7	28.8	1.0	3.4
SS mg·L <sup>-1</sup>	34	46	24	5.6	17
COD mg·L <sup>-1</sup>	14	17	11	1.5	10
DCOD mg·L <sup>-1</sup>	5.8	7.5	4.8	0.58	10
TN mg·L <sup>-1</sup>	1.3	1.5	0.99	0.11	8.9
DTN mg·L <sup>-1</sup>	0.35	0.52	0.29	0.06	16
NO <sub>3</sub> -N mg·L <sup>-1</sup>	0.00	0.01	0.00	0.002	137
NO <sub>2</sub> -N mg·L <sup>-1</sup>	0.00	0.00	0.00	0.00	0
NH <sub>4</sub> -N mg·L <sup>-1</sup>	0.01	0.04	0.00	0.01	72
TP mg·L <sup>-1</sup>	0.15	0.20	0.12	0.023	15
DTP mg·L <sup>-1</sup>	0.014	0.045	0.007	0.007	49
PO <sub>4</sub> -P mg·L <sup>-1</sup>	0.002	0.007	0.000	0.001	57

n=50

自然流出時	平均	最大	最小	標準偏差	変動係数(%)
pH	7.3	7.7	7.1	0.10	1.3
EC mS·m <sup>-1</sup>	35.6	39.0	31.9	1.5	4.2
SS mg·L <sup>-1</sup>	30	40	22	4.1	14
COD mg·L <sup>-1</sup>	14	16	10	1.7	12
DCOD mg·L <sup>-1</sup>	8.1	11	6.1	1.2	15
TN mg·L <sup>-1</sup>	1.7	2.5	1.2	0.31	18
DTN mg·L <sup>-1</sup>	0.92	1.7	0.37	0.28	31
NO <sub>3</sub> -N mg·L <sup>-1</sup>	0.10	0.16	0.00	0.03	31
NO <sub>2</sub> -N mg·L <sup>-1</sup>	0.01	0.02	0.00	0.004	31
NH <sub>4</sub> -N mg·L <sup>-1</sup>	0.38	1.1	0.01	0.27	69
TP mg·L <sup>-1</sup>	0.24	0.45	0.14	0.059	25
DTP mg·L <sup>-1</sup>	0.038	0.18	0.018	0.029	77
PO <sub>4</sub> -P mg·L <sup>-1</sup>	0.021	0.18	0.002	0.031	152

n=68

また、自然流出時に小さくなるのは5月6日の1回のみNO<sub>3</sub>-N濃度が0.0 mg·L<sup>-1</sup>となり、残りの67回は検出され0.05 mg·L<sup>-1</sup>～0.15 mg·L<sup>-1</sup>の範囲で検出されたためであった。PO<sub>4</sub>-Pでは用水時は57%であったが、自然流出時には152%と大きくなった。自然流出時に大きくなった理由としては、4月29日と30日に0.05～0.18 mg·L<sup>-1</sup>の高濃度を示し、その他の日は0.02 mg·L<sup>-1</sup>で推移していたためであった。また、霞ヶ浦環境科学センターで実施している霞ヶ浦モニタリング結果(4月21日と5月27日の平均)から、同時期の霞ヶ浦西浦湖心のNO<sub>3</sub>-Nは0.00 mg·L<sup>-1</sup>、PO<sub>4</sub>-Pは0.002 mg·L<sup>-1</sup>であり、用水時の水質と同様な傾向を示した。

用水時、自然流出時、堤脚水路の水、および霞ヶ浦湖心の水についてそれぞれの形態別COD、窒素、リンの期間平均濃度(表3)および組成比率(図6)を示した。その結果、pHやECでは用水時と霞ヶ浦湖心、自然流出時と堤脚水路で傾向が一致した。その他の水質項目では目立った傾向は見られないが、形態別の組成比率で比較すると用水時と霞ヶ浦湖心はすべての項目において傾向がほぼ一致した。

表 3 用水時，自然流出時，堤脚水路，霞ヶ浦の期間平均水質

		用水時	自然流出時	堤脚水路	霞ヶ浦 (湖心)
pH		8.9	7.3	7.6	9.1
EC	$\text{mS}\cdot\text{m}^{-1}$	30.5	35.6	36.5	32.7
SS	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	34	30	15	20
COD	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	14	14	10	12
DCOD	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	5.8	8.1	6.0	5.4
PCOD	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	8.7	5.5	4.4	6.3
TN	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	1.3	1.7	1.1	1.1
PN	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	0.93	0.82	0.55	0.84
DON	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	0.33	0.42	0.56	0.30
NO <sub>3</sub> -N	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	0.00	0.10	0.01	0.00
NO <sub>2</sub> -N	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	0.00	0.01	0.01	0.00
NH <sub>4</sub> -N	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	0.01	0.38	0.02	0.01
TP	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	0.15	0.24	0.15	0.12
PP	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	0.14	0.20	0.12	0.11
DOP	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	0.012	0.017	0.027	0.009
PO <sub>4</sub> -P	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	0.002	0.021	0.012	0.002
		n=50	n=68	n=1	n=2

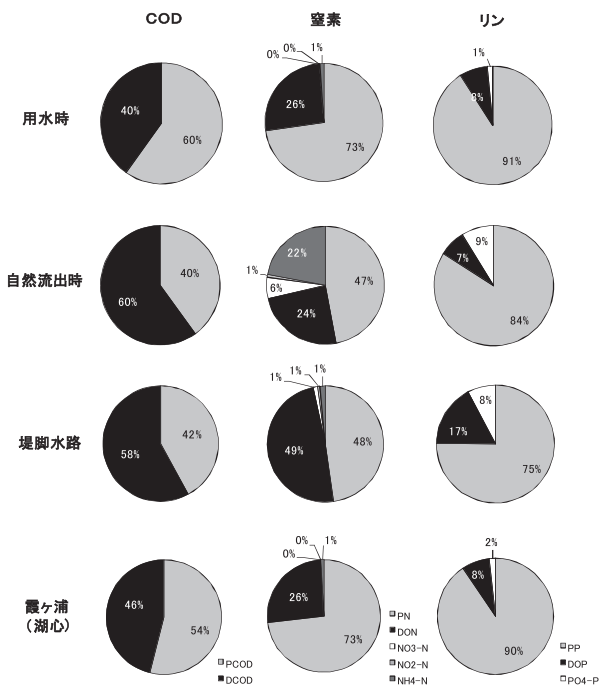


図 6 用水時，自然流出時，堤脚水路および霞ヶ浦の期間平均水質の形態別組成比率

また，自然流出時と堤脚水路の COD，リンについては，PCOD や PP の比率が堤脚水路の方が若干小さかったが，傾向は一致した。しかし，窒素については，PN の傾向は一致しているものの，自然流出時に NH<sub>4</sub>-N が 22%，DON が 24% で，堤脚水路では NH<sub>4</sub>-N が 1%，DON が 49% と異なっていた。堤脚水路の水は昼間の用水ポンプ稼働時に採水したことから，用排水機場の構造

上，堤脚水路の水と霞ヶ浦湖水を混合して用水しているため，若干湖水の影響を受けていたことが考えられた。これらの結果から，用水時は霞ヶ浦湖水であり，自然流出時は堤脚水路を経て農地排水等が自然流出していたと考えられた。

#### 4-2-3 霞ヶ浦への流出負荷

図 7 に自然流出時の霞ヶ浦への流出負荷量の日変動を示す。1 日あたりの流出負荷量は自然流出時の 5 分毎の流速，3 時間毎の水質，樋管断面積の積から 5 分毎の流出負荷量を算出し，それらを合算したものである。その結果，代かき・田植え期における流出総負荷量は COD で 3.4  $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ，T-N で 0.41  $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ，T-P で 0.056  $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  であった。流出負荷量の日変動では 4 月 24 日と 5 月 3 日に約 10mm の降雨が観測されたが，

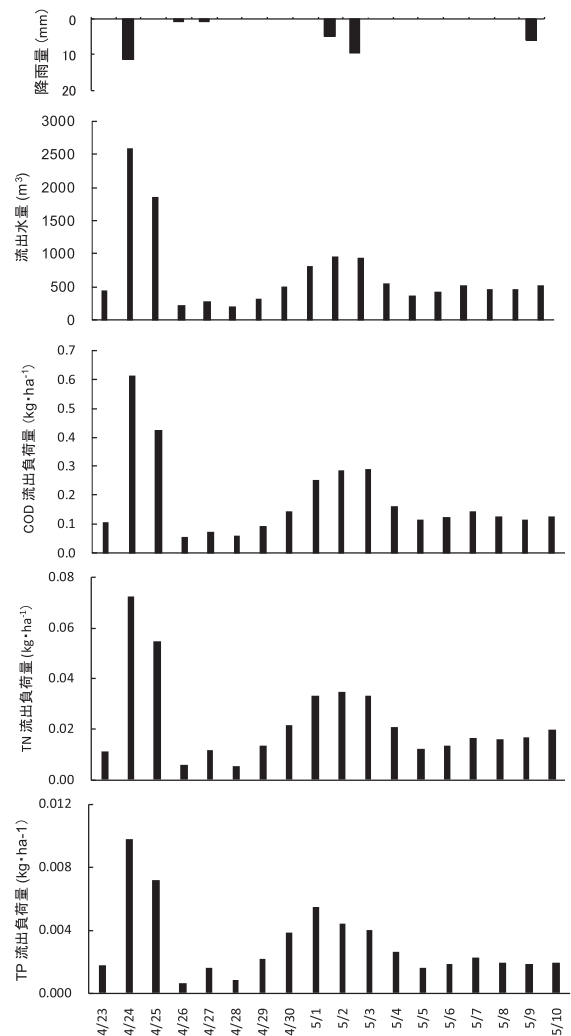


図 7 代かき・田植え期の流出負荷量の日変動



4月24日は流出水量が約3000 m<sup>3</sup>と多く、それに伴い負荷量も増加した。5月3日は流出水量が約1000 m<sup>3</sup>と少なく、負荷量も大きくは増加しなかった。これまでの研究で降雨が田面に湛水することで表土の流亡による流出負荷の抑制について考察されている<sup>6)</sup>。今回の現象についても水田の湛水状況が異なったため流出水量が異なり、負荷量に影響したと考えられる。

## 5 終わりに

今回は代かき・田植え期において機場運営に応じた樋管の流出入における水質変化や流出負荷の特徴について把握することができた。ここで、本研究で得られた知見をまとめる。

- ・用水時は常に霞ヶ浦から湖水を汲み上げる流れとなり、停止時に霞ヶ浦へ自然流出する流れが観測された。
- ・懸濁成分及びCODについては用水時と自然流出時で水質の変化は見られなかった。
- ・TN及びTPについては用水時に低下し、自然流出時に上昇する傾向が見られ、形態別では自然流出時にNH<sub>4</sub>-NやPO<sub>4</sub>-Pが上昇した。特に4月30日～5月1日にかけて大きく上昇したことから代かき落水の影響と考えられた。
- ・水質の形態別の組成比率から用水時は霞ヶ浦湖水で自然流出時は農地排水等が自然流出していたと考えられた。
- ・代かき・田植え期における霞ヶ浦への流出負荷量としてはCODで3.4 kg・ha<sup>-1</sup>、TNで0.41 kg・ha<sup>-1</sup>、TPで0.056 kg・ha<sup>-1</sup>であった。

代かき・田植え期の流出負荷を削減するために宇土ら<sup>7)</sup>は降雨時の流出や肥料成分の負荷抑制のための湛水深調整を行う等の水管理の必要性を挙げている。霞ヶ浦(西浦)湖岸の水田地帯では、今回の調査地区のように堤脚水路の水を湖水と共に用水として再利用している場合<sup>1)</sup>が多いため、施肥の節約や湛水深の調整等、水田管理によっては流出負荷をさらに削減できると考えられる。

今後は、各営農時期に伴う濃度変化や流出負荷量を把握し、さらに降雨時の負荷を調査することで灌漑期、または非灌漑期における流出負荷の特徴について検討したい。

## 謝辞

本研究を行うにあたり、玉造南部土地改良区の高塚氏を初めとする職員の方々、調査地区の農家の方々、茨城県鹿行農林事務所土地改良部門の職員の方々に現地調査や資料提供等、多大なるご協力をいただいた。ここに感謝の意を表する。

## 参考文献

- 1) 久保田治夫, 田渕俊雄, 高村義親, 鈴木誠治 (1979): 湖岸水田の水収支と物質(N, P)収支, 農業土木学会論文集, 84, 22-28。
- 2) 田渕俊雄, 黒田久雄, 稲葉昭, 川野宏明, 海老名保孝, 堀角京美 (1991): 非灌漑期の農業集水域からの流出水の窒素濃度と負荷一面源主体の農業集水域からの流出負荷に関する研究(Ⅰ)一, 農業土木学会論文集, 154, 45-54。
- 3) 田渕俊雄, 黒田久雄, 斎藤浩之, 高橋恵子, 室谷敬, 堀角京美 (1991): 非灌漑期の農業集水域からの流出水の窒素濃度と負荷一面源主体の農業集水域からの流出負荷に関する研究(Ⅱ)一, 農業土木学会論文集, 154, 55-64。
- 4) 田渕俊雄, 高村義親 (1985): 集水域からの窒素・リンの流出, 東京大学出版会, 75-120。
- 5) 平山力, 酒井一 (1985): 水田からの肥料成分の流出とその対策—第1報水田からの肥料成分の流出—, 茨城県農業試験場研究報告, 25, 133-146。
- 6) 武田育郎, 小林慎太郎, 丸山利輔, 国松孝男 (1990): 水田群からの汚濁負荷流出に関する研究(Ⅰ)降雨時における水田群からの汚濁負荷流出, 農業土木学会論文集, 147, 79-85
- 7) 宇土顕彦, 笠文彦, 大久保卓也, 中村正久 (2000): 灌漑期の水田における水量収支と栄養塩収支, 水環境学会誌, 23, 5, 298-304。

# 固有脂肪酸を用いた水圏生態系におけるバクテリアの生活形態に関する研究

佐々木 孝奈<sup>\*</sup>, 渡邊 圭司, 濱 健夫<sup>\*</sup>

Study on the life form of bacteria in aquatic environments based on the specific fatty acids

Takana SASAKI<sup>\*</sup>, Kei ji WATANABE and Takeo HAMA<sup>\*</sup>

キーワード：付着性バクテリア, 自由生活性バクテリア, 固有脂肪酸, 懸濁態有機炭素

## 1 はじめに

水圏は地球表層における主要な炭素リザーバーの1つである。このため、大気を含む地球表層における炭素循環を知るにあたり、水圏生態系の炭素動態を把握する事は重要である。バクテリアは水圏中の有機物の分解者としての役割を担い、水圏の物質循環に大きく関わっている。また、他の生物の利用が困難な溶存態有機物(DOM)をバクテリアが利用することによって、懸濁態有機物(POM)に変換され、高次栄養段階にエネルギーが供給される経路の重要性が指摘されている。

バクテリアはその生活形態から2種類に分類できる。1つは水中の有機物粒子などに付着する付着性バクテリア、2つめは水中を漂って生活する自由生活性バクテリアである。同じバクテリアでもこのような生活形態の違いによって、水圏中での働きが異なるとも言われている。そのため、炭素循環の解明にはバクテリアの現存量および活性を、生活形態毎に正確に推定することは重要な意味をもつ。しかし、バクテリアの現存量推定法として、従来用いられている顕微鏡を中心とした方法では、バクテリアが微小であるため、状況によっては大きく誤差が生ずる。そこで本研究では、バクテリアのみが有するとされる固有の脂肪酸、13-methyltetradecanoate (i15:0)と12-methyltetradecanoate (a15:0)に着目した。霞ヶ浦から採取した試料をサイズにより分画し、固有脂肪酸濃度を測定することにより、バクテリアの生活形態を推定した。さらに、培養したバクテリアの脂肪酸組成を明らかにすることにより、固有脂肪酸を用いた現存量推定法に関する検討を行った。

## 2 試料と方法

2008年4月から8月にかけて、霞ヶ浦の湖心と土浦沖(図1)から表層水を採取し、これを分析試料とした。採水後、ガラス繊維濾紙GF/F(保有粒子径0.7 $\mu$ m, Whatman社)及びAnodisc(保有粒子径0.2 $\mu$ m, Whatman社)で捕集した懸濁態有機物(POM)からFolchら<sup>1)</sup>の方法を用いて脂肪酸を抽出した。懸濁態有機炭素(POC)と脂肪酸は、それぞれ元素分析計(Fisons, EA1108)とガスクロマトグラフ(Agilent, HP 6890)により測定した。また、脂肪酸についてはガスクロマトグラフ/質量分析計(Shimadzu, QP2010 Plus)により同定した。



図1 調査地点の概要

一方、水圏から得たバクテリアの単離株(Sphingomonas sp., Citromicrobium sp., Polaromonas sp., Acidovorax sp., Limonobactor

<sup>\*</sup>筑波大学生命環境科学研究科

sp., *Pseudomonas* sp., *Actinobacterium* sp., *Microbacterium* sp.) を液体培地で、数日間培養し、増殖後、遠心分離(20000rpm, 10min)により回収し、バクテリア試料を得た。霞ヶ浦試料と同様の方法で有機炭素量と脂肪酸量を測定した。

### 3 結果および考察

#### 3-1 GF/F- およびAnodisc-POC 濃度

実験期間中の湖心および土浦沖における、GF/F (>0.7 $\mu$ m) と Anodisc (0.2<<0.7 $\mu$ m) の両画分における POC 濃度の変化を図2に示す。GF/F-POM 画分における POC 濃度の湖心および土浦沖における平均濃度は、それぞれ 6.6 ( $\pm$ 4.9) mgC/L, 6.2 ( $\pm$ 6.2) mgC/L であった。また、両者の変動は類似しており、4-7月では 7mgC 以下で推移したが、8月に 15mgC/L 近くに上昇した。これは植物プランクトンの現存量の増大を反映したものである。この濃度は、他の湖の POC 濃度の最大値が 1.7~7.4mgC/L であることを考えると<sup>2), 3), 4)</sup>, 霞ヶ浦の GF/F POC 濃度は比較的高く、高い植物プランクトンの現存量を示している。

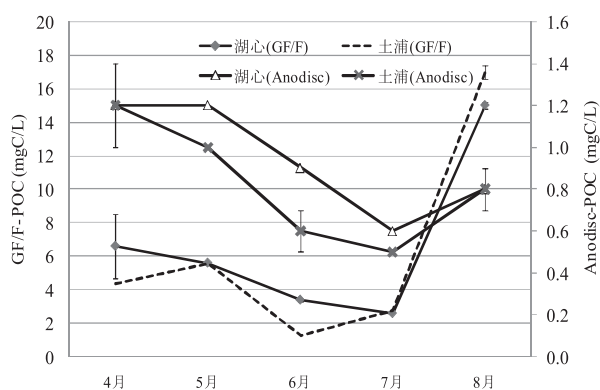


図2 湖心および土浦沖における POC 濃度  
主軸：GF/F フィルター上の POC 濃度，第二軸：Anodisc フィルター上の POC 濃度。湖心 GF/F-POC 濃度(—◆—)，土浦沖 GF/F-POC 濃度(---■---)，湖心 Anodisc-POC 濃度(—△—)，土浦沖 Anodisc-POC 濃度(---×---)を示す。

一方、Anodisc-POC 濃度は、GF/F-POC 濃度と比較してその濃度は低く、多くは 1mgC/L を下回る値であった。特に、8月においては GF/F-POC 濃度が他の月と比較して高かったのに対し、8月の Anodisc-POC 画分は顕著な上昇を示さなかった。Anodisc フィルター上には、0.2 $\mu$ m 以上、0.7 $\mu$ m 以下の粒子が捕集されているが、その主成分はデトリタスと自由生活性バクテリアであると考えられる。8月における GF/F-POC と Anodisc-POC 濃度の変化の違いは、植物プランクトン現存量増大が、直ちには微小サイズのデトリタスやバクテリア量の増大につながらないことを示している。

#### 3-2 POC 画分中のバクテリア固有脂肪酸濃度

GF/F- および Anodisc-POC 画分中のバクテリア固有脂肪酸 (i15:0+a15:0) 濃度を、それぞれ図3, 図4に示す。GF/F-POM 画分の湖心での (i15:0+a15:0) 濃度の平均値は 4.7  $\pm$  0.5  $\mu$ gC/L, 土浦沖では 7.1  $\pm$  0.8  $\mu$ gC/L であった。土浦沖で得られた6月の高い値 (20  $\mu$ gC/L) を除き、他の季節では 5  $\mu$ gC/L 前後で変動し、季節による大きな違いは認められなかった。一方、Anodisc-POM 画分中の (i15:0+a15:0) 濃度の平均値は 0.13  $\pm$  0.08  $\mu$ gC/L であり、土浦沖における Anodisc-POM 画分の平均値は 0.19  $\pm$  0.09  $\mu$ gC/L であった。8月の土浦沖を除いて、両測点における濃度変化は少なく、多くは 0.1-0.2  $\mu$ gC/L の範囲にあった。GF/F-POM 画分の (i15:0+a15:0) 濃度と Anodisc-GF/F 画分の濃度を比較すると、GF/F-POM における濃度は Anodisc-POM の 16~102 倍に相当した。

バクテリア細胞の大きさを考慮すると、GF/F フィルター上の POM 中には、主として付着性バクテリアが存在し、Anodisc フィルター上の POM 中のバクテリアには自由生活性バクテリアが存在すると考えられる<sup>5)</sup>。そのため、本実験では GF/F フィルターと Anodisc フィルターから抽出した i15:0 と a15:0 の濃度は、それぞれ付着性バクテリアおよび自由生活性バクテリアの現存量を反映していると仮定した。このため、GF/F POM 画分および Anodisc-POM 画分中の i15:0 および a15:0 の濃度を比較することにより、付着性および自由生活性バクテリアの現存量の比較が可能となる。つ

まり、霞ヶ浦においてはバクテリアの多くが付着性バクテリアにより占められ、自由生活性バクテリアが占める割合は非常に少ないことが示唆される。両生活性のバクテリア現存量に関しては、貧栄養湖では自由生活性バクテリアに対する付着性バクテリアの割合は0.2～0.5である<sup>6),7)</sup>のに対し、富栄養湖では4.4～9.0<sup>8),9)</sup>にこの報告がある。これらの知見は、富栄養湖においては、有機物粒子が多いため、粒子に付着して生活するバクテリアの割合が多くなることが考えられる。今回霞ヶ浦で得られた値は、従来よりも更に付着性バクテリアが大きな割合を占めることを示すものである。しかしながら、栄養状態の良い環境下で生育するバクテリアは細胞サイズが大きくなる傾向が知られている。このため、自由生活性バクテリアでも、部

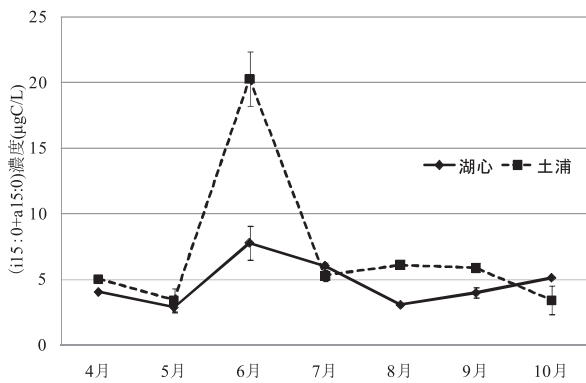


図3 GF/F-POM画分中の(i15:0+a15:0)濃度(—◆)は湖心を示し、(-◆-)は土浦沖の結果を示す。

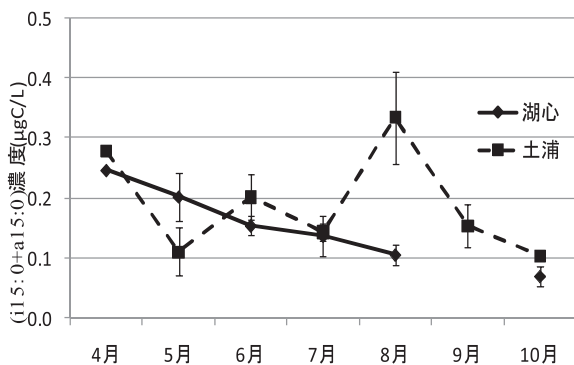


図4 Anodisc-POM画分中の(i15:0+a15:0)濃度(—◆)は湖心を示し、(-◆-)は土浦沖の結果を示す。

分的には試料分画の際に、GF/Fフィルター上に捕集されている可能性がある。これにより、自由生活性バクテリアが付着性バクテリアとして見積もられている可能性も考えられる。

### 3-3 POC中のバクテリアの現存量

POC中のバクテリア由来炭素を推定するために、バクテリアのPOC/(i15:0+a15:0)比を用いる方法について検討した。Anodisc-POM画分が主としてバクテリア細胞から成ると仮定すると、Anodisc-POCと(i15:0+a15:0)濃度には正の相関が期待される。しかしながら、霞ヶ浦で得られた結果を比較すると、両者には有意な相関関係は認められなかった( $y = 2160x + 440$ ,  $R^2 = 0.22$ ,  $n = 11$ )。バクテリアの固有脂肪酸であるi15:0とa15:0の濃度はバクテリアの現存量に依存していると考えられている<sup>10)</sup>。今回得られたPOC濃度とi15:0とa15:0の濃度の関係は、Anodiscフィルター上のPOC濃度変化はバクテリアの現存量の変化を反映していないことが示唆された。バクテリアの細胞の他に考えられる、Anodisc-POM画分中に含まれるPOCとして、植物プランクトンが放出した有機物<sup>11)</sup>や細胞残渣などのデトリタスがある。Anodisc-POM画分中のPOCがバクテリアの現存量を反映していない原因としては、このデトリタスの季節的な増減が影響しているのではないかと考えられる。このため、Anodisc-POMについて得られた

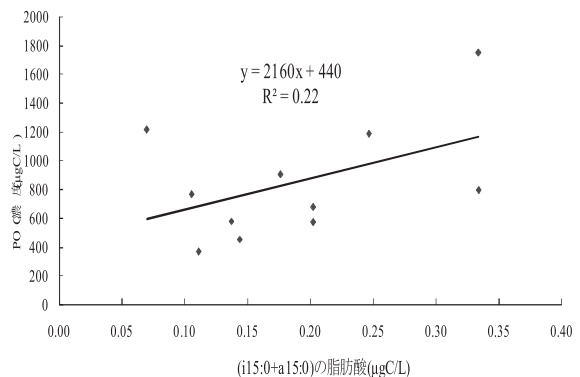


図5 Anodisc-POM画分中のPOC濃度とバクテリア固有脂肪酸の関係図

図中の直線はAnodisc-POM画分中のPOC濃度とバクテリア固有脂肪酸の割合から得られた回帰直線を示す。

(i15:0+a15:0) と POC 濃度との関係からは、バクテリア細胞の POC 量に対する固有脂肪酸量の割合の推定は不可能であった。これに代わる方法として、デトリタスを含まない、バクテリアの単離培養によって得られた試料を用いることが考えられる。単離培養のバクテリア中から i15:0 と a15:0 を抽出し、単離培養で得られたバクテリアの炭素量を測定したものと割合を算出することを試みた。

### 3-4 単離バクテリアと現存量

単離培養バクテリアから抽出した脂肪酸においてバクテリア固有とされる脂肪酸 i15:0 が検出されたのは 8 種中 3 種 (内、濃度が測定できたのは 1 種)、a15:0 が検出されたのは 8 種中 7 種 (内、濃度を検出出来たのは 4 種) という結果が得られた (表 1)。すなわち、バクテリア固有脂肪酸とされる i15:0 および a15:0 は、全てのバクテリアが保有しているとは限らないことが明らかとなった。この結果は、バクテリア固有の脂肪酸である i15:0 および a15:0 の濃度からバクテリア全体の有機炭素量を推定した場合には、これらの脂肪酸

を保有しないバクテリアの有機炭素量が欠落する事を示している。

i15:0 および a15:0 濃度から、バクテリア細胞の有機炭素を推定する研究は、近年多く行われてきている<sup>12),13),14)</sup>。自然界から採取した試料から抽出した脂肪酸には、i15:0 と a15:0 は普遍的に存在する事が予想される。実際、霞ヶ浦の POM 画分においても固有脂肪酸は年間を通じて常に存在した。しかしながら、そこに生息するバクテリアが全てこれらの固有脂肪酸を含むと仮定してバクテリアが保有する有機炭素量を推定した場合、過小評価を招くことになる。

また、自然界から採取した試料から抽出した脂肪酸には、i15:0 と a15:0 が普遍的に存在していることから、自然界に生息するバクテリアには i15:0 と a15:0 を有するバクテリアが多く存在する可能性がある。一般的に淡水湖沼においては、*Betaploteobacteria* が優占することが報告されている<sup>15)</sup>。しかし、今回の実験では、*Betaploteobacteria* において i15:0 と a15:0 を有するものと有さないものが存在した。現在、単離培養で培養できるバクテリアはごくわずかであ

表 1 単離培養バクテリアの脂肪酸濃度

濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Sphingomonas</i> sp.	<i>Citromicrobium</i> sp.	<i>Microbacterium</i> sp.	<i>Actinobacterium</i> sp.	<i>Polaromonas</i> sp.	<i>Acidovorax</i> sp.	<i>Limonobacter</i> sp.
C12:0	ND	0	ND	0	ND	ND	0	0
C14:0	7.9	1.3	3.0	100	2.8	5.9	11	13
i15:0	0.43	ND	ND	ND	△	ND	ND	△
a15:0	ND	△	0.72	△	4.5	△	1.8	0.33
C15:0	1.0	0.72	2.7	950	2.7	ND	90	ND
C16:0	120	22	13	6700	22	620	190	390
C16:1	140	1.0	6.2	3000	14	1500	760	660
C17:0	ND	0.63	3.5	ND	ND	ND	12	1.2
C18:0	9.9	21	50	1600	ND	21	12	55
C18:1	140	24	58	ND	ND	ND	ND	20
C18:2	32	1.7	62	ND	ND	ND	ND	ND
C18:3	ND	2.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C20:0	ND	1.4	8.7	ND	6.5	ND	ND	ND
C22:0	7.3	0.84	ND	ND	0.50	ND	ND	ND
C22:1	ND	ND	ND	ND	1.2	110	ND	ND
C24:0	4.2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Total	470	77	210	12000	54	2200	1100	1100

△：測定濃度不足未検出 ND (not detected)：未検出

るとされる<sup>16)</sup>。今回培養した細菌が必ずしも、自然界で優占しているとは限らないが、同じ綱(class)でも同じ組成にならないことが示され、固有脂肪酸を用いた細菌有機物の動態の解析においては、十分な注意が必要であることが明らかとなった。

また、固有脂肪酸以外の脂肪酸組成を見ても、細菌分類群の違いにより、脂肪酸組成の大きな違いが認められた(図7)。特に炭素数16の脂肪酸を主とするグループと、17および18の炭素数を主成分とするグループとに大別された。但し、植物プランクトンなどに比較的普遍的に見られる多不飽和脂肪酸の寄与は、どの細菌においても極めて小さいものであった。

### 3-5 POCと単離細菌の(i15:0+a15:0)濃度の比較

固有脂肪酸が検出された細菌のみで、単離細菌の炭素量に対するi15:0とa15:0の割合を比較したが、両者の間には相関を見いだすことは困難であった。よって、細菌では細胞全体の有機炭素量に対するi15:0とa15:0量が種毎に異なる事が明らかとなった。従来の固有脂肪酸を用いた細菌有機炭素量の推定<sup>12),13),14)</sup>では、一定の値を用いていることから、かなりの誤差をもつ情報として解釈すべきであろう。しかしながら、自然環境において生息する細菌の種組成を明らかにした上で、個々の種の(i15:0とa15:0)/POC比を用いて評価することは、実際上不可能である。自然環境下においては、同位体トレーサー法で細菌代謝産物の(i15:0とa15:0)/POC比を求め、その比と(i15:0とa15:0)濃度から、細菌現存量を推定する手法の開発などが期待される。

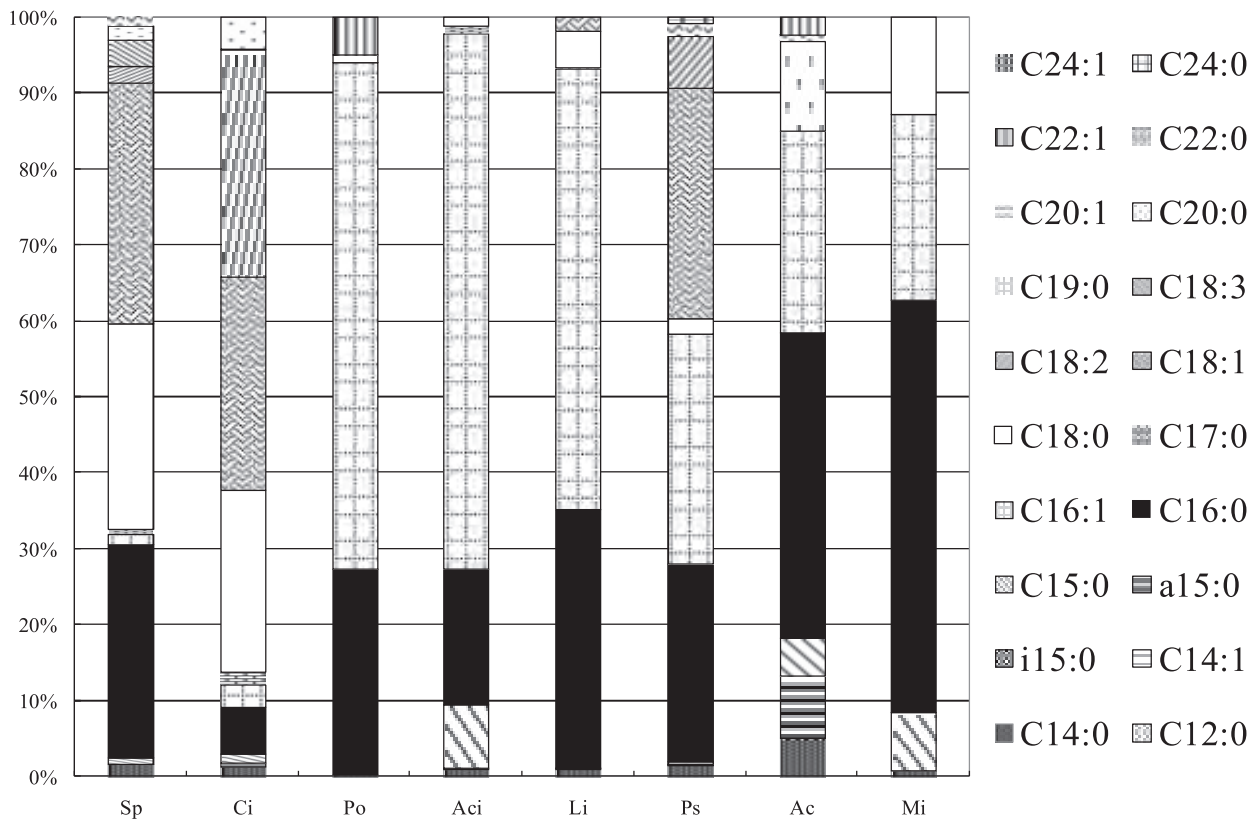


図7 各単離細菌の脂肪酸組成

各細菌の脂肪酸の総和に対する各脂肪酸の割合を示す。Sp,Ci,Po,Aci,Li,Ps,Ac,Miは順番に、*Sphingomonas* sp. (Alphaproteobacteria), *Citromicrobium* sp. (Alphaproteobacteria), *Polaromonas* sp. (Betaproteobacteria), *Acidovorax* sp. (Betaproteobacteria), *Limonobacter* sp. (Betaproteobacteria), *Pseudomonas* sp. (Gammaproteobacteria), *Actinobacterium* sp. (Actinobacteria), *Microbacterium* sp. (Actinobacteridae)を示す。

#### 4 まとめ

本研究では、正確な測定が難しいとされているバクテリアの現存量測定について、バクテリア固有脂肪酸である i15:0 と a15:0 を用いた手法により検討した。測定の結果、i15:0 と a15:0 と懸濁態有機物 (POC) の濃度には高い相関性が認められなかった。その原因として、POC に含まれるデトリタスや湖底の堆積物に含まれる有機物粒子の問題およびサンプル数の少なさ等の問題点が挙げられる。しかし、湖水の POC 画分には年間を通じ i15:0 と a15:0 が普遍的に存在していること、また湖心などの外的影響を直接受け難い地点においてはその濃度はそれほど変動しないこと、バクテリアによっては i15:0 と a15:0 を持たないものも存在するが、綱 (class) レベルの系統分類群内で見ると比較的脂肪酸組成が類似していること、などの重要な知見が得られた。

#### 謝辞

試料の採取等では、茨城県霞ヶ浦環境科学センターの職員の方々に大変お世話になりました。ここにお礼申し上げます。

#### 引用文献

- 1) Folch, J., M. Lees and G. H. Sloane-Stanley (1957). A simple method for isolation and purification total lipids from animal tissues. *J Biol Chem*, 226, 497-509.
- 2) Middelboe, M., M. Søndergaard, Y. Letarte and H. N. Borch (1995). Attached and free-living bacteria: production and polymer hydrolysis during bloom. *Microbial Ecology* 29, 231-248.
- 3) Søndergaard, M., B. Hansen and S. Markager (1995). Dynamics of dissolved organic carbon lability in a eutrophic lake. *Limnol. Oceanogr.*, 40, 46-54.
- 4) Balogh, K. V., L. Vörös, N. Tóth and M. Bokros (2003). Changes of organic matter quality along the longitudinal axis of a large shallow lake (Lake Balaton). *Hydrobiologia* 506-509.
- 5) Middelboe, M., M. Søndergaard, Y. Letarte and H. N. Borch (1995). Attached and free-living bacteria: production and polymer hydrolysis during bloom. *Microbial Ecology* 29, 231-248.
- 6) Ghiglione, J. F., G. Mevel, M. Pujo-Pay, L. Mousseau, P. Lebaron and M. Goutx (2007). Diel and seasonal variations in abundance, activity, and community structure of particle-attached and free-living bacteria in NW Mediterranean Sea. *Microbiol Ecolgy*, 54, 217-231.
- 7) Yoon, B. W. and Rosson, A. R. (1990). Improved method of enumeration of attached bacteria for study of fluctuation in the abundance of attached and free-living bacteria in response to diel variation in seawater turbidity.
- 8) Simon, M. (1987). Biomass and production of small and large free-living and attached bacteria in Lake Constance. *Limnol. Oceanogr.*, 32: 591-607.
- 9) Kapustina, L. L. (2006). Experimental study of Microcystis-associated and free-living bacteria. *Microbiology* 75. 5. 696-701
- 10) Kaneda T. (1991). Iso- and Anteiso-Fatty Acids in Bacteria: Biosynthesis, Function, and Taxonomic Significance. *Microbiological Reviews*, 288-302.
- 11) Kato, K., S. Oh, H. Yamamoto and T. Hanazato (1992). Enclosure experiment on the control mechanism of planktonic bacterial standing stock. *Ecological Research*, 7, 267-276.
- 12) Ghiglione, J. F., G. Mevel, M. Pujo-Pay, L. Mousseau, P. Lebaron and M. Goutx (2007). Diel and seasonal variations in abundance, activity, and community structure of particle-attached and free-living bacteria in NW Mediterranean Sea. *Microbiol Ecolgy*, 54, 217-231.
- 13) Van den Meersche K., J. J. Middelburg,

- K. Soetaert, P. Rijswijk, H. T. S. Boschker and C. H. R. Heip (2004). Carbon-nitrogen coupling and algal-bacterial interactions during an experimental bloom: Modeling a  $^{13}\text{C}$  tracer experiment. *Limnol. Oceanogr.*, 49, 3, 862–878.
- 14) Phillips, R. L., D. R. Zak, W. E. Holmes and D. C. White (2002). Microbial community composition and function beneath temperate trees exposed to elevated atmospheric carbon dioxide and ozone. *Oecologia*, 131, 236–244.
- 15) Nishimura, Y. and T. Nagata (2007). Alphaproteobacterial dominance in a large mesotrophic lake (Lake Biwa, Japan). *Aquatic Microbial Ecology*, 48, 231–240.
- 16) Amann, R. W. Ludwig and K. Schleifer (1995). Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiological Reviews*, 59, 143-169.



## 茨城県内の河川におけるフェノール誘導体の実態調査

菅谷和寿, 山田功\*

Monitoring of phenole derivatives on River Waters in IBARAKI Pref.

Kazuhisa SUGAYA, Isao YAMADA\*

Key words : phenole derivative, BHT, GC/MS

### 1 はじめに

置換フェノールである3,5-ジ-tert-ブチル-4-ヒドロキシトルエン(BHT)は食品や家畜飼料の鮮度, 香り, 色調を保持し, 安定化させる目的で1950年代から酸化防止剤として使用されている<sup>1)</sup>。また, 石油製品やプラスチック製品の劣化を防ぐ目的でも添加<sup>2,3)</sup>されている。

製品安全データシート(MSDS)によれば, BHTの生物分解性は4.5%程度<sup>4)</sup>で環境残留性が高いと考えられる。置換フェノール類は置換基や置換位置により様々な物性を創出できるため, 多くのBHT類縁体が生産されている。それらのMSDSには分解性や生体影響などの情報が乏しく, 環境中での挙動や生物への影響を推測するには不十分である。

また, 環境中におけるそれらの調査例も少なく, 1997年及び2001年に環境省が実施した河川水等表流水の調査結果<sup>5,6)</sup>では, BHTが $0.06 \sim 1.6 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ の範囲で検出され, 2,6-di-tert-ブチルフェノールが $0.17 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 未満で不検出, 4-tert-ブチルフェノールが $0.7 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 未満で不検出との記載が見受けられる。不検出となっている理由の一つとして, 検出下限値が高いことが挙げられる。

そこで, 試薬として入手可能であった7種類のフェノール誘導体について分析方法を検討し, 茨城県内の河川・湖沼における実態調査を実施した。また, ヒメダカに対する簡易的な急性毒性試験も行ったので併せて報告する。

## 2 実験方法

### 2.1 試薬

7種類のフェノール誘導体のうち3,5-ジ-tert-ブチル-4-ヒドロキシトルエン(BHT),

2,6-ジ-tert-ブチルフェノール(2,6-DBP), 2,4-ジ-tert-ブチルフェノール(2,4-DBP)及び2-tert-ブチル-4-メチルフェノール(BMP)は和光純薬工業製の, 2-tert-ブチルフェノール(2-BP), 4-tert-ブチルフェノール(4-BP)及び2,4-ジメチルフェノール(2,4-DMP)は関東化学製のものを用いた。これらのフェノール誘導体は, 関東化学製残留農薬試験用アセトンで $1000 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ の標準原液として調整し, 適宜希釈して用いた。

内標準物質はナフタレン-d8をアセトンに溶解し $1 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ に調整した。

### 2.2 水試料及び調査期間

調査対象は環境基準調査地点を有する33河川, 2湖沼とした(Fig.1)。調査は平成18年10月11~26日の間に実施し, 水試料は四ふっ化エチレン樹脂製内張りのキャップ付きガラスビンに採取し, 実験室まで持ち帰った。採水に用いたガラスビンは予め水で十分洗浄した後, アセトンで洗浄し乾燥させたものを使用した<sup>7)</sup>。

### 2.3 分析操作

7種類のフェノール誘導体の分析は次の手順で行った。塩酸酸性とした試料水500mLをジクロロメタン50mLで2回抽出する。ジクロロメタン層を集め硫酸ナトリウムで脱水後, 湯浴温度40°Cに保持したロータリーエバポレーターで乾固直前まで濃縮する。アセトンに転溶後, 窒素ガスを吹き付け1mLに定容したものに内標準物質20ngを添加し, GC/MSで測定した。GC/MSの測定条件をTable 1に示す。

### 2.4 急性魚毒性試験

急性魚毒性の評価は経済協力開発機構の化学品テストガイドライン(TG) 203を参考に, 0~220  $\mu\text{M}$  (添加濃度0.5~50  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )の範囲で4

\*茨城県県南県民センター

ないし 5 段階の試験濃度を設定した試験水 1L に 10 匹のヒメダカ (体長 3.5cm, 体重 0.36g) を入れ, 水温を 22°C に保ち, 溶存酸素濃度を確保するとともに, 48 時間経過後に新たに試験水を調製

し, 試験を継続した。なお, 半数致死濃度 (LC50) は 96 時間の生存率と試験濃度の関係をプロットしたグラフから, 簡易的に求めた。



Fig.1 Location of investigated 33 rivers and two lakes

### 3 結果及び考察

#### 3.1 GC/MS 測定

定量は内標準法により行い、 $5 \sim 50 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ の濃度範囲において、相関係数の自乗 ( $r^2=0.99$ ) の一次の検量線を与えた。次に7種のフェノール誘導体の検出感度を確認するため、機器検出下限値 (IDL) を求めた。方法は環境省環境保健部環境安全課が推奨する方法<sup>11)</sup>に準拠し、信号対ノイズ比が5程度となる標準液 ( $1 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) の繰り返し測定から計算により求めた。7物質のIDLは、2,4-DBPが0.55pgで、他の6物質は0.2pg未満であった。

#### 3.2 分析法の検討

既報<sup>8~10)</sup>によれば、水試料中のフェノール誘導体の分析には固相抽出カラムによる濃縮や濃縮後に誘導体化しGC/MSで測定する方法が多用されている。しかし、固相抽出カラムの本体はプラスチック製であるため、そこからのフェノール誘導体の溶出や充填されている固相の化学的安定性の付与のためにフェノール誘導体が添加されている可能性が考えられた。実際にブランク操作による試料を分析したところ、複数種の固相抽出カラムから水試料中の濃度に換算すると最低でも  $0.036 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  に相当するBMPが検出された。

そこで、今回の調査では溶媒抽出法を検討することとした。

#### 3.3 添加回収試験

蒸留水 500mL にフェノール誘導体 20ng を添加し、分析操作に従い回収率を求めた (Table 2)。7物質全てにおいて、85%以上の回収率 ( $n=2$ ) であった。しかし、2,4-DBPとBHTは110%を超える回収率であったため、操作ブランクを確認したところ、2,4-DBPとBHTがそれぞれ、 $3.1 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $4.6 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ の濃度で検出された。この値は水試料中の濃度に換算すると  $0.0062 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  及び  $0.0092 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  に相当する。ガラス器具やプラスチック製品など汚染源と考えられるものに対処し、かつ、ジクロロメタンで洗浄した蒸留水を用いても、これ以上低減することはできなかった。

Table 1 GC/MS conditions

Gas Chromatography	
Column	Ultra2 (25m*0.2mm, 0.33 $\mu$ m)
Injection temp.	220°C
Injection vol.	1 $\mu$ L
Injection mode	split less
Carrier gas	Helium
Gas flow rate	1mL $\cdot$ min <sup>-1</sup> (constant flow) 60°C (2min) $\rightarrow$ 20°C $\cdot$ min <sup>-1</sup> $\rightarrow$ 180°C $\rightarrow$ 3°C $\cdot$ min <sup>-1</sup> $\rightarrow$ 192°C $\rightarrow$ 20°C $\cdot$ min <sup>-1</sup> $\rightarrow$ 240°C
Oven temp.	180°C $\rightarrow$ 3°C $\cdot$ min <sup>-1</sup> $\rightarrow$ 192°C $\rightarrow$ 20°C $\cdot$ min <sup>-1</sup> $\rightarrow$ 240°C
Mass Spectrometry	
Ionization voltage	70eV
Ionization current	200 $\mu$ A
Ion source temp.	230°C
Interface temp.	220°C
Analysis mode	SIM

Table 2 Recovery rate of phenole derivatives : water samples

Compounds (abrev)	Recovery Rate (%) (n=2)
2,4-di-methylphenole (2,4-DMP)	90.5
2-tert-butylphenole (2-BP)	103
4-tert-butylphenole (4-BP)	101
2-tert-butyl-4-methylphenole (BMP)	96.7
2,4-di-tert-butylphenole (2,4-DBP)	123
2,6-di-tert-butylphenole (2,6-DBP)	89.0
3,5-di-tert-butyl-4-hydroxytoluene (BHT)	112

#### 3.4 定量下限値

7種のフェノール誘導体の定量下限値はブランクが検出された2,4-DBPとBHTについては、 $0.006 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.01 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ とし、残りの5物質については、IDLを元に算出し<sup>11)</sup>、 $0.001 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ とした。Table 3に定量下限値を定量イオン及び確認イオンとともに併せて示す。

Table 3 Quantification limit of phenole derivatives

Compounds (abrev)	Q ion	I ion	Quantification Limit ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )
2,4-di-methyphenole (2,4-DMP)	107	122	0.001
2-tert-butylphenole (2-BP)	107	135	0.001
4-tert-butylphenole (4-BP)	135	107	0.001
2-tert-butyl-4-methylphenole (BMP)	149	121	0.001
2,4-di-tert-butylphenole (2,4-DBP)	191	206	0.006
2,6-di-tert-butylphenole (2,6-DBP)	191	206	0.001
3,5-di-tert-butyl-4-hydroxytoluene (BHT)	205	177	0.01

### 3.5 河川水中の実態調査

本調査では2-BPは全ての試料で不検出であった。他の6物質については、BMPが2河川から最大 $0.003\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ で、2,6-DBPが4河川から最大 $0.005\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ で、4-BPが7河川から最大 $0.061\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ で、2,4-DMPが29河川、2湖沼から最大 $0.008\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ で、2,4-DBPが32河川、2湖沼から $0.006\sim 0.28\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ の範囲で、BHTが22河川、1湖沼から $0.011\sim 0.048\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ の範囲で検出された (Table 4)。

今回の調査結果は2,4-DBPの最高値 ( $0.28\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )を除けば、いずれの物質もほぼ同程度の濃度範囲と考えられる。また、環境省が実施した全国調査結果<sup>5,6)</sup>とも同程度の濃度であると考えられる。

なお、2,4-DMP、4-BP、2,4-DBP及びBHTの最大値は1河川に集中していたので、翌19年11月2日に再度、調査を実施したところ、2,4-DMPは不検出で、4-BPが $0.074\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、2,6-DBPが $0.034\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、2,4-DBPが $0.28\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、BHTが $0.10\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ の濃度で検出され、検出された物質は前年と比較し、高濃度となっていた。当該河川の上流部には化学品を製造する工場を含む工業団地があることから、それらの工場による影響も考えられる。また、定期的な調査は実施していないため、季節変動等については不明である。

Table 4 Concentration of phenole derivatives in water samples

 $(\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$ 

No.	Name of River/Lake	2, 4-DMP	2-BP	4-BP	BMP	2, 6-DBP	2, 4-DBP	BHT
1	Yamizo	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.026	0.016
2	Momiya	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.021	0.013
3	Hayato	0.002	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.017	0.020
4	Nakamaru	0.005	<0.001	0.042	<0.001	0.005	0.023	0.015
5	Hinuma	0.003	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.015	<0.01
6	Hinuma-maekawa	0.005	<0.001	<0.001	0.001	<0.001	0.011	<0.01
7	Kansei	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.006	<0.01
8	Ohya(Hokota-City)	0.005	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.009	<0.01
9	Ishikawa	0.003	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.018	0.011
10	Shimo-ohno-suiro	0.008	<0.001	0.061	<0.001	0.002	0.28	0.048
11	Miyato	0.004	<0.001	0.027	<0.001	<0.001	0.017	<0.01
12	Kuguido	0.007	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.023	0.022
13	Nishinire	0.003	<0.001	<0.001	<0.001	0.001	0.030	0.015
14	Higashinire	0.007	<0.001	0.006	<0.001	<0.001	0.018	0.013
15	Gogyou	0.003	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.025	0.017
16	Ohya(Tsikusei-City)	0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.014	<0.01
17	Nakatoori	0.007	<0.001	0.010	<0.001	<0.001	0.012	<0.01
18	Inari	0.002	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.016	0.017
19	Shin-tone	0.004	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.013	0.014
20	Ono	0.008	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.030	0.020
21	Seimei	0.004	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.019	0.029
22	Sakura(Tsuchiura-city)	0.001	<0.001	0.004	<0.001	<0.001	0.024	0.014
23	Sakai	0.006	<0.001	<0.001	0.003	0.003	0.021	0.023
24	Koise	0.002	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.017	0.027
25	Sannoh	0.004	<0.001	0.004	<0.001	<0.001	0.017	0.016
26	Sonobe	0.003	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.009	0.012
27	Kajinashi	0.002	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.027	0.024
28	Gantsu	0.005	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.016	<0.01
29	Yamada(Namegata-City)	0.003	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.010	<0.01
30	Tomoe	0.002	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.014	<0.01
31	Hokota	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.018	0.014
32	Taiyoh	0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.006	0.015
33	Maekawa	0.005	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.018	<0.01
34	Lake Hinuma	0.004	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.021	<0.01
35	Lake Ushiku	0.008	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.029	0.016

### 3.6 魚類に対する急性毒性

調査対象とした7種のフェノール誘導体の魚毒性をMSDS等により調べたところ、BHTのみメダカに対する記載があり、その半数致死濃度(LC50)値は $5.0\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot 48\text{h}^{-1}$ であった<sup>4)</sup>。そこで、今回検出されたフェノール誘導体の濃度が魚類に対し影響するのか、ヒメダカを用いた簡易的な急性毒性試験を行った。

LC50値は経済協力開発機構の化学品テストガイドライン(TG)203を参考に、1Lビーカーに試験濃度当たり10匹のヒメダカを入れ、96時間後までその生死を観察し、横軸に濃度の対数を、縦軸に生存率を取ったグラフ上から50%が生存する濃度を求めた。

7種類のフェノール誘導体のうち2,4-DBP, BMP, 2-BP及び4-BPの4種類が急性毒性を示し、LC50値は $4.38\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $2.68\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $4.44\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 及び $3.60\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ であった(Fig.2)。

なお、MSDSに魚毒性の記載のあったBHTについては魚毒性が認められなかった。この原因の詳細は不明であるが、そもそもBHTの溶解度が $0.6\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 程度であることから、MSDSの記載された数値は再検討する必要があると思われる。

河川及び湖沼から検出されたフェノール誘導体の濃度は、簡易的に求めたLC50値の1万分の1未満であり、魚類に対する影響は少ないと考えられる。

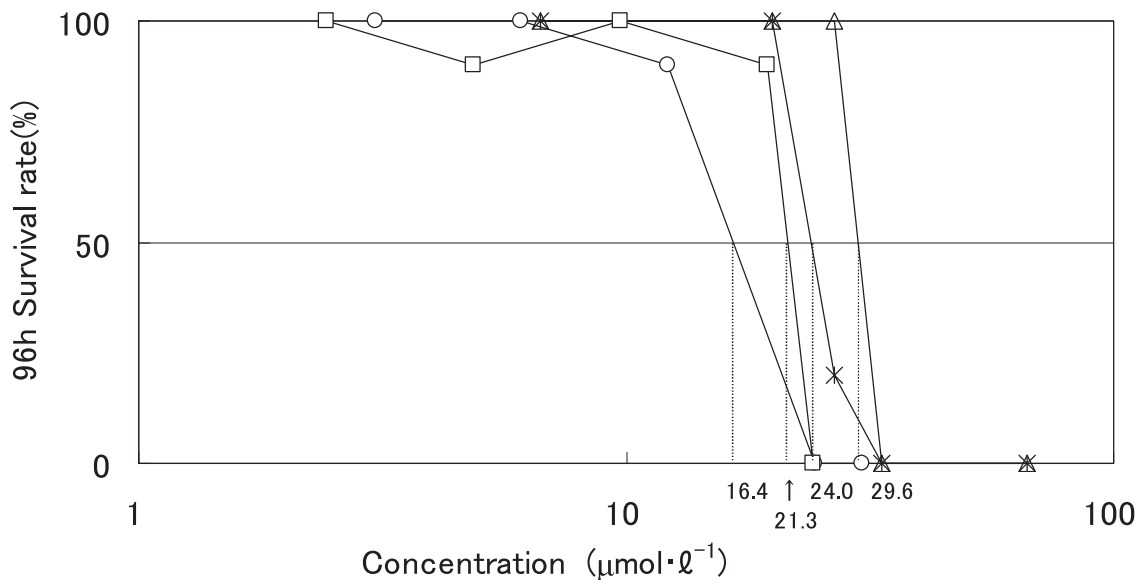


Fig.2 96-hours exposure test 4 phenole derivatives for Himeedaka.

○ : 2-tert-butyl-4-methylphenole    □ : 2,4-di-tert-butylphenole  
 ▲ : 2-tert-butylphenole            × : 4-tert-butylphenole

### 3.7 急性毒性と分子構造

急性毒性の発現は分子構造に関係すると考え、分子構造が類似する2,4-DBP, 2,6-DBP及びBHTについて比較すると、急性毒性を示した2,4-DBPは2つある水酸基のオルト位の1つがtert-ブチル基で置換され、残りのオルト位が水素であるため空間的なゆとりがある一方、BHTと2,6-DBPは水酸基のオルト位2つがtert-ブチル基に置換され、水酸基は2つのtert-ブチル基間

に埋もれている(Fig.3)。このことから急性毒性の発現のためには水酸基近傍の空間が重要であると考えられた。また、2-BPと4-BPでは、オルト位にtert-ブチル基が置換されている2-BPに比べ、パラ位にtert-ブチル基が置換されている4-BPの方が強い急性毒性を示したことから水酸基の周りの空間的ゆとりが急性毒性の強さに影響を与えていることが推察され、急性毒性の発現には生体と水酸基との関与が必要と考えられた。

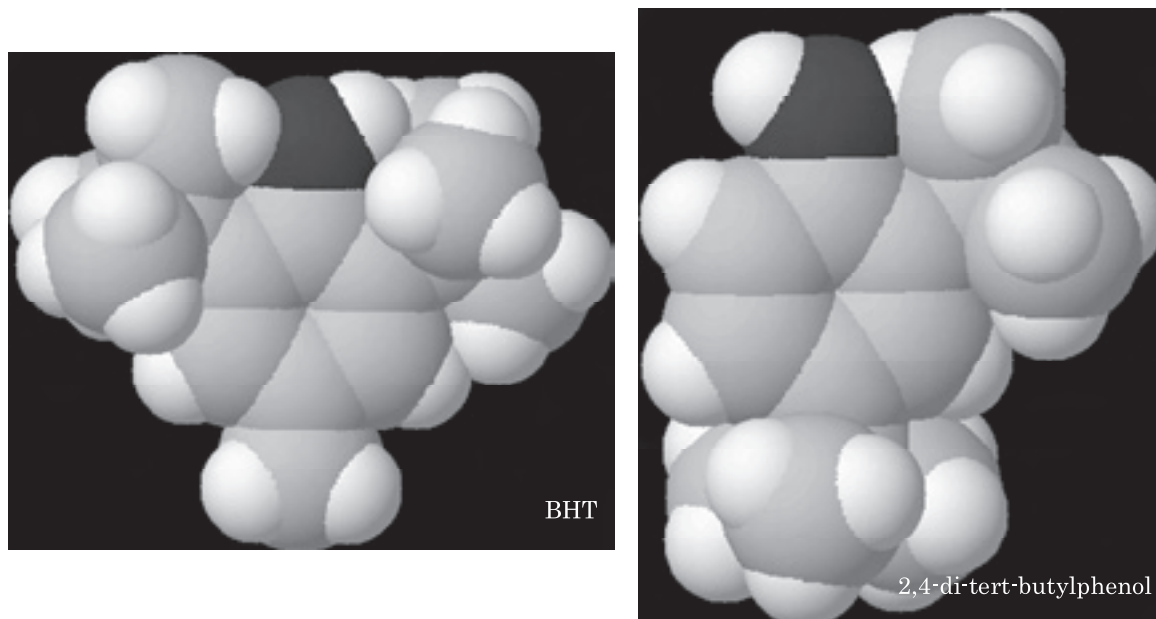


Fig.3 Structure of BHT and 2,4-di-tert-butylphenol  
 Hydrogen : white, Carbon : light gray, Oxygen : dark gray

#### 4 まとめ

7種類のフェノール誘導体の分析法を検討し、2,4-ジ-tert-ブチルフェノールとBHTはコンタミネーションため、 $0.006 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ と $0.01 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ の、その他の5物質については $0.001 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ の定量下限値で水試料を分析することができた。

この分析方法により茨城県内の33河川、2湖沼の水試料を分析したところ、2-BPを除く6物質が検出され、最大濃度はそれぞれ、BMP： $0.003 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、2,6-DBP： $0.005 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、4-BP： $0.061 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、2,4-DMP： $0.008 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、2,4-DBP： $0.28 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、BHT： $0.048 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ であった。

ヒメダカを用いた急性魚毒性試験では、2,4-DBP、BMP、2-BP及び4-BPの4種類が急性魚毒性を示し、LC50値は $4.38 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $2.68 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $4.44 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 及び $3.60 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ と求められた。

以上のことから、フェノール誘導体は水環境中に広く存在するが、魚類へ影響するような濃度レベルではないことが明らかとなった。

#### 参考文献

- 1) 食品、添加物等の規格基準(1959)厚生省告示第370号.
- 2) 環境庁環境化学物質研究会編(1988)「環境科学物質要覧」, pp222-223, ジブチルヒドロキシトルエン, 丸善, 東京.
- 3) Merck(2001) “Merck Index, 13<sup>th</sup> Ed” (洋書), Whitehouse Station.
- 4) 和光純薬工業の製品安全データシート, MSDS No.JW020739, <http://www.siyaku.com>
- 5) 環境庁環境保健部環境安全課(1998)「平成9年度 化学物質と環境」.
- 6) 環境省環境保健部環境安全課(2003)「平成14年度 化学物質と環境」.
- 7) 日本工業標準調査会審議(2006)「JIS K0450-20-10 工業用水・工場排水中のアルキルフェノール類試験方法」.
- 8) 東京都立衛生研究所(1996)「化学物質と環境 平成7年度化学物質分析法開発調査報告書」, pp90-108, 環境庁環境保健部環境安全課.
- 9) 大阪府公害監視センター(1997)「化学物質と環境 平成8年度化学物質分析法開発調査報告書」, pp58-77, 環境庁環境保健部環境安全課.
- 10) 大阪市立環境科学研究所(1999)「化学物質

と環境 平成 10 年度化学物質分析法開発調査報告書(その 1)」、pp74-112, 環境庁環境保健部環境安全課.

- 11) 環境省環境保健部環境安全課(2005)「第 24 回環境科学セミナー 化学物質実態調査の円滑な推進にむけた分析技術等のグループミーティング プログラム・講演要旨集」

- 12) 環境省環境保健部環境安全課(1998)「平成 9 年版 化学物質と環境」

- 13) 環境省環境保健部環境安全課(2003)「平成 14 年版」



## ICP-MS によるヒ素の分析条件の検討

山田 功<sup>\*</sup>, 菅谷和寿

Investigation on the analysis condition of the arsenic by ICP-MS

Isao YAMADA<sup>\*</sup>, Kazuhisa SUGAYA

キーワード: ICP-MS, As, 分子イオン干渉, Ca, 干渉抑制

### 1 はじめに

平成20年4月1日に公共用水域の水質環境基準等の測定方法<sup>1,2)</sup>が改正され、ヒ素の測定についてはICP-MSによる方法が追加された。しかし、ICP-MSによる金属類の測定においては、溶媒やキャリアーガスに起因した分子イオンによる目的元素への干渉<sup>3~8)</sup>が知られている。近年のICP-MSでは、その干渉を抑制するため、質量分析計の前でセルにメタン等の反応ガスを流し、分子イオンを除去する方法<sup>9)</sup>が採用されている。特に同位体が存在しないヒ素の測定では、質量数(*m/z*) 75のみでの検出となり、分子イオンの除去は欠かせないものとなっている<sup>10,11)</sup>。

当センターにおいて、水素化物発生原子吸光法(HG-AA)<sup>12)</sup>及びICP-MS法<sup>13)</sup>で地下水試料を測定したところ、HG-AA法では $20 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、ICP-MS法では $32.4 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ と異なる結果が得られ、ICP-MS法において干渉を受けている可能性が考えられた。

そこで、この干渉の原因究明とより干渉を抑制する測定条件の検討を行った。

## 2 方法

### 2.1 試薬

ヒ素の標準原液は関東化学製の化学分析用を精製水で適宜、希釈し検量線作成等に供した。

ヒ素測定の干渉を確認するために添加する金属塩については、NaClは和光純薬製残留農薬試験用、 $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ はキシダ化学製、その他は関東化学製特級グレードを用いた。

なお、精製水はAutopure WEX5(Milipore製)とWR600G(Milipore製)を組合せた超純水製造システムで精製したものを用いた。

### 2.2 ヒ素の測定条件

ヒ素の測定には、リアクションセルを有するパーキンエルマー製のICP-MS ELAN DRC-eと日立製の原子吸光光度計Z2000に水素化物発生装置を接続したものをを用いた。

ICP-MSによるヒ素の定量はTable 1に示す条件で、硝酸1%、内標準物質のイットリウム $10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ になるように添加し、ヒ素濃度 $20 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ の1点検量により定量した。

Table 1 Analysis condition of As by ICP-MS and HG-AA

ICP-MS	
instrument:	ELAN DRC-e(Perkin Elmer)
reaction gas:	methane( $0.5 \text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ )
RPq:	0.5N/A
nebulizer gas:	argon( $1.0 \text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ )
RF power:	1400W
HG-AA	
instrument:	Z2000+HFS-3(HITACHI)
wave length:	193.7nm

### 2.3 干渉要因の検討

ICP-MSにおける干渉は測定試料中に共存する成分により生じる。そこで、干渉を引き起こす成分を見出すため、ヒ素濃度を $20 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ に調整した精製水にTable 2に示す8種の金属塩を金属濃度が $100 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ になるように添加した試験水を2.2により測定した。

Table 2 Test compounds on interference of As analysis

Na	$\text{Na}_2\text{SO}_4$	NaCl
Mg	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	$\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$
K	$\text{K}_2\text{CO}_3$	$\text{K}_2\text{SO}_4$
Ca	$\text{CaCl}_2$	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

\*茨城県県南県民センター

## 2. 4 ICP-MS 法によるヒ素測定最適化の検討

ICP-MS 法における干渉の抑制は 2 つの部分として考えることができる。一つはイオン化に関することで主にプラズマでの分子イオンの生成を抑制すること、もう一つは生成した分子イオンを効率よく除去することである。

そこで、妨害を受けにくいヒ素の測定条件を見出すため、イオン化に関するネブライザーガス流量と RF 出力を各々  $0.9 \sim 1.1 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ ,  $1200 \sim 1600 \text{ W}$  の範囲で、分子イオンの除去に関する反応ガス流量とセル電圧 (RPq 値) を各々  $0 \sim 0.8 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ ,  $0.3 \sim 0.9 \text{ N/A}$  の範囲で、カルシウム濃度が  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  となるように  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  を添加したヒ素濃度  $20 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  の干渉検討溶液を測定し、ヒ素濃度として検出される値から干渉の様子を調べた。

## 3 結果と考察

### 3. 1 干渉要因について

Table 1 の条件による HG-AA 法と ICP-MS 法でのヒ素濃度の違いは地下水中の無機成分に起因するものと推測し、イオンクロマトグラフ (ダイオネクス ICS-2000) によりイオン類の測定をした結果、 $\text{Na}^+ : 46.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\text{K}^+ : 7.9 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\text{Mg}^{2+} : 18.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\text{Ca}^{2+} : 43.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\text{Cl}^- : 27.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\text{SO}_4^{2-} : 34.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\text{NO}_3^- : 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  未満であった。

そこで、検出されたイオン類の影響を確認するため、Table 2 に示す金属塩をヒ素濃度  $20 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  の溶液に添加した試験液を ICP-MS で測定した。そ

Table 3 detected value of  $20 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  As solution that added compound

compound name		detected value ( $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )
Na	NaCl	20.0
	$\text{Na}_2\text{SO}_4$	21.3
Mg	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	19.5
	$\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$	21.2
K	$\text{K}_2\text{CO}_3$	18.4
	$\text{K}_2\text{SO}_4$	19.1
Ca	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	36.1
	$\text{CaCl}_2$	33.7

の結果、Table 3 に示すようにカルシウム塩以外の金属塩では、ヒ素濃度は概ね最初に設定した  $20 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  程度であった。しかし、カルシウム塩を添加したものについては、いずれの試験液も  $10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  以上大きな測定値であった。

このことから、Table 1 に示す条件でのヒ素の測定はカルシウムに起因する干渉があるものと考えられ、ヒ素の質量数 ( $m/z=75$ ) と等しい分子イオンとして、 $(^{40}\text{Ca}^{35}\text{Cl})^+$  や  $(^{43}\text{Ca}^{16}\text{O}_2)^+$  を想定することができる。

そこで、カルシウムがヒ素測定に与える影響を確認するため、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  を添加しカルシウム濃度を  $1 \sim 500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  の範囲で数段階に調整したヒ素濃度  $20 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  の水溶液を Table 1 の条件で測定した (Fig.1)。カルシウム濃度が  $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  を越えたあたりから正の干渉が現れ、研究の発端となった地下水試料と同等のカルシウム濃度  $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  では  $5 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  高い  $25 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  を示した。更にカルシウム濃度が  $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  に上昇すると、約  $30 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  高い  $50 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  を示した。

同じ ICP-MS 条件下において、地下水試料は  $10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  高い値を示し、精製水中では  $5 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  高いのみであった。この差異は、地下水試料中に共存する成分により、プラズマ温度の低下とそれに伴う分子イオンの増加が起こり、反応セルの機能低下を誘発したため、見掛けのヒ素濃度の上昇につながった。

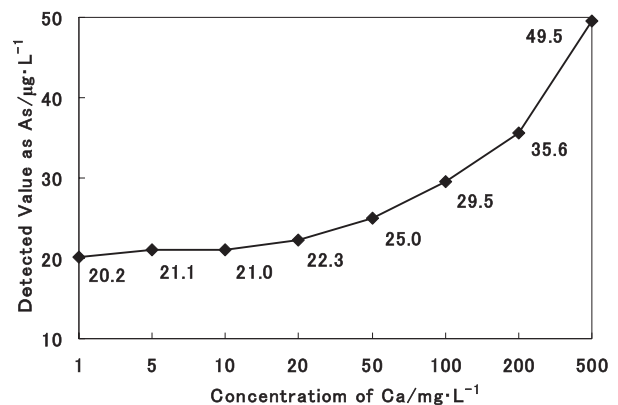


Fig.1 Interference on As quantification by Ca.

Sample solution is As concentration  $20 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  that added of  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ .

#### Instrument Condition

RF power:  $1400 \text{ W}$ , RPq value:  $0.5 \text{ N/A}$ ,  
nebulizer gas flow rate:  $1.0 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ ,  
reaction gas flow rate:  $0.5 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$

たものと推測している。

なお、ICP-MSによるヒ素の測定では干渉として $(^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl})^+$ が知られているが、 $\text{NaCl}$ 及び $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ で干渉が見られないことから、Table 1に示す条件では反応セルが有効に機能し、 $(^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl})^+$ による干渉は抑制されていたと考えられる。

### 3. 2 干渉抑制条件の検討

#### 3. 2. 1 反応セルの最適化

反応セルによる分子イオンの除去は、反応セルに供給する反応ガス流量が多いほど衝突頻度が増加し、分子イオンが除去されることとなるが、同時に目的元素も衝突することで、運動エネルギーを失い目的元素の感度の低下に繋がることから、適切な反応ガス流量の設定が必要となる。

また、反応セルには2種類の電圧が掛けられており、反応セルを粗いマスフィルターとして見立てることができる。当センターのICP-MSではそれらを $\text{RPa}$ と $\text{RPq}$ と呼び、質量検出器へ導入されるイオンの質量範囲を $\text{RPa}$ 値の増加で高質量域のイオンを、 $\text{RPq}$ 値の増加で低質量域のイオンを排除することができる。分子イオンは反応ガスと衝突し、より小さな原子あるいは分子に分解すると考えられるので、今回は $\text{RPq}$ 値について検討した。

Fig.2に干渉検討溶液を反応ガス流量0～

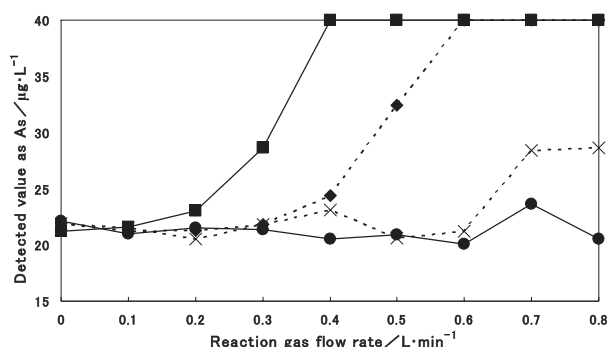


Fig.2 Correlation for As quantification of reaction gas flow rate and  $\text{RPq}$  value.

- :  $\text{RPq}$  0.3N/A, ◆ :  $\text{RPq}$  0.5N/A,
- :  $\text{RPq}$  0.7N/A, × :  $\text{RPq}$  0.9N/A.

#### Instrument Condition

nebulizer gas flow rate:  $1.0\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ ,

RF power:  $1400\text{W}$

\* When arsenic concentration is more than  $40\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , concentration assumed that it was equal with  $40\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ .

$0.8\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ の範囲で、 $\text{RPq}$ 値  $0.3\sim 0.9\text{N/A}$ の範囲で測定した場合に検出されるヒ素濃度との関係を示す。なお、ヒ素濃度として  $40\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 以上が検出された場合は、 $40\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ として示した。

$\text{RPq}$ 値が  $0.3\text{N/A}$ と低い場合は反応ガス流量の増加に従いヒ素としての検出値も上昇し、 $\text{RPq}$ 値を  $0.7\text{N/A}$ に増加させると、反応ガス流量に関わらず、ヒ素としての検出値も初期設定値の  $20\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 近傍を示すようになった。これは、 $\text{RPq}$ 値が低い場合は分子イオンと反応ガスとの衝突で生成したより小さな原子または分子の排除が十分にされないため、反応セル内で  $m/z=75$ の分子が再合成されたためと推察される。 $\text{RPq}$ 値  $0.9\text{N/A}$ では反応ガス流量が  $0.7\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ と  $0.8\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ において検出値の上昇が見られたが、詳細は不明である。

これらのことから、最適な $\text{RPq}$ 値は  $0.7\text{N/A}$ とし、以後の検討においてはこの値を用いた。

なお、最適な反応ガス流量については、分子イオンの生成量とも関係することから、プラズマの最適化の際も検討を行うこととした。

#### 3. 2. 2 プラズマの最適化

Fig.3に干渉検討溶液を反応セル電圧 $\text{RPq}$ 値  $0.7\text{N/A}$ に固定し、RF出力  $1200\sim 1600\text{W}$ 、ネブライザーガス流量  $0.9\sim 1.1\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ 、反応ガス流量  $0\sim 0.8\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ の範囲で測定した場合に検出されるヒ素濃度との関係を示す。

ネブライザーガス流量について見ると、 $0.9\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ ではRF出力値毎に検出値のバラつきが大きく、RF出力  $1400\text{W}$ と  $1600\text{W}$ においては反応ガス流量の増加に伴う検出値の上昇が見られた。 $1.0\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ と  $1.1\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ ではRF出力と反応ガス流量の変化に関わらずほぼ一定の検出値を示した。

次に、RF出力に着目すると  $1200\text{W}$ ではネブライザーガス流量が  $0.9\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ の場合に設定したヒ素濃度よりも低い値を示しているが、 $1.0\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ と  $1.1\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ の場合には所定の値が得られた。 $1400\text{W}$ ではネブライザーガス流量が  $1.1\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ の場合に所定の値を示したが、 $0.9\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ と  $1.0\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ の場合には反応ガス流量の増加とともにヒ素としての検出値も上昇した。 $1600\text{W}$ ではネブライザーガス流量が  $1.0\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ の場合に反応ガス流量に関わらず設定した  $20\mu$

$\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ を示したが、 $0.9 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ の場合には約  $3 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 程度の正の干渉を、 $1.1 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ の場合には  $2 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 程度の干渉を示した。

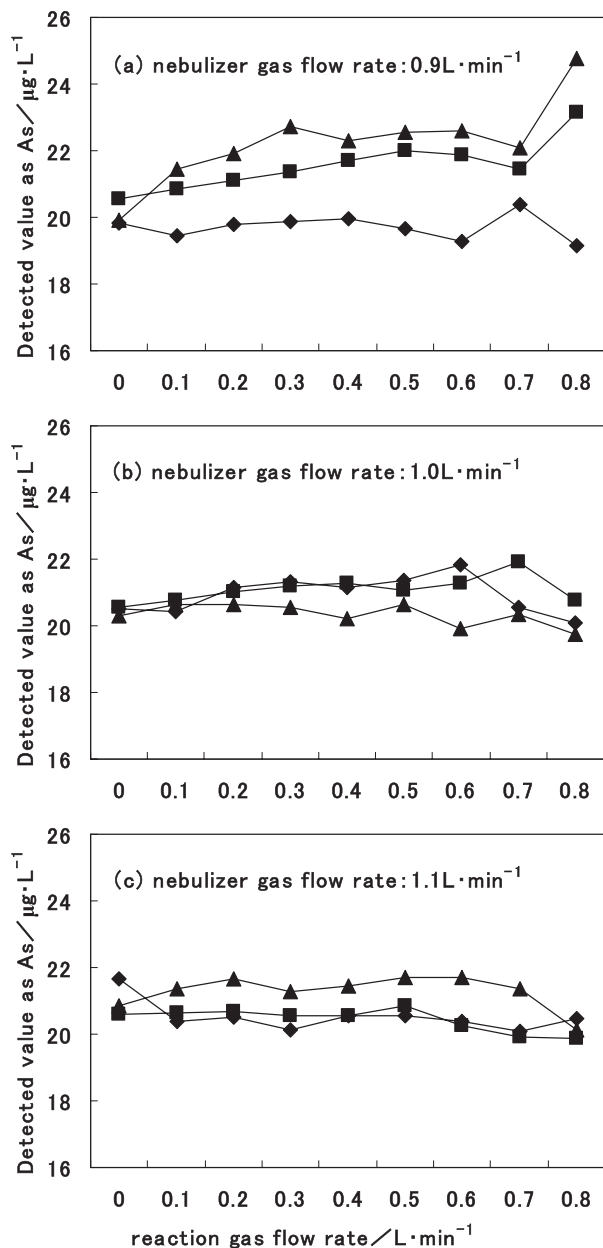


Fig.3 Correlation for As quantification of nebulizer gas flow rate and RF power.

RF power

◆ : 1200W, ■ : 1400W, ▲ : 1600W

反応ガス流量に関してはネブライザーガス流量が  $0.9 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$  の場合の RF 出力 1400 W と 1600 W において反応ガス流量の増加とともに検出値の上昇が見られたが、それ以外の RF 出力やネブライザーガス流量の場合には  $0.6 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$  以下においてほぼ一定の検出値を示した。

干渉検討溶液は  $20 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  のヒ素濃度に調製したものであるため、その値を示した測定条件はネブライザーガス流量  $1.0 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ , RF 出力 1600 W とネブライザーガス流量  $1.1 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ , RF 出力 1200 W 並びにネブライザーガス流量  $1.1 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ , RF 出力 1400 W の 3 組である。

前述の条件でヒ素の測定は可能と思われるが、ヒ素はイオン化エネルギーが  $9.7\text{eV}$  と大きいことから、良好な感度を得るためには高温のプラズマで速やかにイオン化することが求められる。イオン化しやすい金属が共存する場合には、ヒ素のイオン化が阻害され感度の低下を示すことがある。このことは、Table 3 のカリウム塩を添加した場合の測定値が  $20 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  を下回っていることから推察される。よって、ヒ素の測定には高温のプラズマが得られる RF 値の大きな条件が有効と考えられる。

これまでの結果から、最適なヒ素の測定条件は、RPq  $0.7\text{N/A}$ , RF 出力 1600 W, ネブライザーガス流量  $1.0 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ , 反応ガス  $0.1 \sim 0.6 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$  が適していると考えられる。

### 3. 2. 3 地下水試料の再分析

最適と考えられる測定条件 (RPq  $0.7\text{N/A}$ , RF 出力 1600 W, ネブライザーガス流量  $1.0 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ , 反応ガス  $0.2 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ ) で地下水試料中のヒ素を再測定した。当初の測定では  $32.4 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  と検出されたものが、再測定では  $20.6 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  と、HG-AA と同等の値を示し、共存成分による干渉を抑制することができた。

## 4 まとめ

地下水中のヒ素の測定においてカルシウムに起因する干渉が見られた。

干渉を抑制するため、反応セル電圧 RPq 値, RF 出力, ネブライザーガス流量及び反応ガス流量を最適化し、カルシウムに起因する干渉を受けずにヒ素を測定する条件を見出した。

特に、カルシウムからの干渉の抑制には反応セル電圧 RPq 値が重要な働きをしていた。

最適化した条件により地下水試料を測定した結果、水素化物発生原子吸光法と同等の測定値が得られ、地下水試料においても干渉を抑制できることを確認した。

## 参考文献

- 1) 水質汚濁に係る環境基準について(昭和46年12月28日環告59号,改正平成20年4月1日環告40号)。
- 2) 地下水の水質汚濁に係る環境基準について(平成9年3月13日環告10号,改正平成20年4月1日環告41号)。
- 3) Evans E H, Giglio J J(1993): Interference in Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. A Review., *J. Anal. At. Spectrom.*, 8, 1-18.
- 4) Shao Y, Horlick G(1991): Recognition of mass spectral interferences in inductively coupled plasma-mass spectrometry., *Appl. Spectrosc.*, 45, 143-147.
- 5) 野々瀬菜穂子(2004): ICP-MSにおけるスペクトル干渉の生成機構とその除去技術, *ぶんせき*, 186-192.
- 6) Hans Vanhoe, Jan Goossens, Luc Moens, Richard Dams(1994): Spectral Interferences Encountered in the Analysis of Biological Materials by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry., *J. Anal. At. Spectrom.*, 9, 177-185.
- 7) Marco Grotti, Cinzia Gnecco, Fabio Bonfiglioli(1999): Multivariate quantification of spectroscopic interferences caused by sodium, calcium, chlorine and sulfur in inductively coupled plasma mass spectrometry., *J. Anal. At. Spectrom.*, 14, 1171-1175.
- 8) Zhaochu Hu, Shan Gao, Shenghong Hu, Honglin Yuan, Xiaoming Liu, Yougsheng Liu(2005):  
Suppression of interferences for direct determination of arsenic in geological samples by inductively coupled plasma mass spectrometry., *J. Anal. At. Spectrom.*, 20, 1263-1269.
- 9) Baranov V I, Tanner S D(1999): A dynamic reaction cell for inductively coupled plasma mass spectrometry(ICP-DRC-MS). Part 1. The rf-field energy contribution in thermodynamics of ion-molecule reactions., 14, 1133-1142.
- 10) David E. Nixon, Kenneth R. Neubauer, Steven J. Eckdahl, John A. Butz, Mary F. Burritt(2004): Comparison of tunable bandpass reaction cell inductively coupled plasma mass spectrometry with conventional inductively coupled plasma mass spectrometry for the determination of heavy metals in whole blood and urine., *Spectrochimica Acta Part B*, 59, 1377-1387.
- 11) Marco Grotti, Roberto Frache(2007): Direct determination of arsenic in sea-water by reaction cell inductively coupled plasma mass spectrometry., *J. Anal. At. Spectrom.*, 22, 1481-1487.
- 12) JIS K 0102(2008): 61.2 水素化物発生原子吸光法
- 13) JIS K 0102(2008): 61.4 ICP 質量分析法

## 不正軽油製造に伴う廃棄物中のクマリンの定量

菅谷 和寿

Determination of Coumarin in Wastes from Unjust Light Oil Production  
Kazuhisa SUGAYA<sup>1</sup>

キーワード：クマリン，*o*-ヒドロキシけい皮酸，異性化，硫酸ピッチ，アルカリスラッジ

### 1 はじめに

不正軽油はA重油に灯油を混合し製造される。重油や灯油等の軽油周辺油種には脱税防止のため識別剤のクマリンが約  $1\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  の濃度で添加されている。

脱税目的の軽油製造の場合，A重油及び灯油に含まれるクマリンを除去するため，濃硫酸や活性白土による処理が必要となる<sup>1)~4)</sup>。濃硫酸を用いた処理を行なった際には，廃硫酸と廃炭化水素油との混合物である硫酸ピッチが生じ，それらは著しい腐食性や亜硫酸ガスなどの有毒ガスを発生し，健康または生活環境に被害を生ずるおそれがある性状を有する。また，活性白土を用いた処理を行った際には，廃炭化水素油と粉体との混合物でアルカリ性を呈するアルカリスラッジが生じ，それらは健康や生活環境に被害を生ずるおそれがある性状を有する。

正常な産業活動においても硫酸ピッチまたはアルカリスラッジ様の廃棄物が発生するが，それらがクマリンを含有しているかを調べれば，不正軽油製造に関与したものか判別することが可能と考えられる。

灯油中のクマリンは蛍光分光光度法を用いた分析方法<sup>5)</sup>が利用されている。この方法は，ドデカン，混合アルコール溶液(1-ブタノールとエタノールを4:3の容積比で混合したもの)及びアルカリ性水溶液の3種の溶媒を用い，クマリンをアルカリ性水溶液で加水分解し *cis*-*o*-ヒドロキシけい皮酸に変換した後，波長 360nm の紫外線を照射し，異性化により生成した *trans*-*o*-ヒドロキシけい皮酸の蛍光強度を測定してクマリンを定量するものである。しかし，クマリンとともに抽出されてくる蛍光物質もあるため，その影響を抑制するために添加する硝酸ナトリウム等の塩の効果<sup>6)</sup>や定性性と定量性を高めるため，複数の波長の蛍光強度を用いる多変量解析法の適用<sup>7)</sup>の検討がされているが，その適用範囲は不明な部分

もある。また，この分析法は灯油等の液体試料に対し開発されたものであるため，固体を含む試料に適用することは考慮されていない。

一方，油流出事故では，その発生源の究明のために油種の特定が求められることがある<sup>8,9)</sup>。油種の識別は含まれる鎖状炭化水素の炭素数の分布の違いによって行なっている場合が多い。しかし，環境中に流出した油は時間の経過とともに揮発や吸着等により炭素数の分布が変化してしまうこと，A重油と灯油では炭素数の分布が類似していることなどから識別は困難となっている。

そこで，A重油と灯油に含まれるクマリンに着目した油種の識別が試みられている<sup>10~13)</sup>。これらの試みでは検出法として定量・定性性の高いGC/MSを用い，主にクマリンの抽出・精製について検討を行っている。例えば，土壌や廃棄物中のクマリンを有機溶媒で抽出し，シリカゲルクロマトグラフィーで精製している<sup>10,11)</sup>。この方法では，予めカラムからクマリンの溶出位置を求めておくが，クマリンとともに一緒に抽出された物質の影響のため，クマリンの溶出位置がずれてしまうことが懸念される。もう一例は，灯油中に含まれるクマリンの定量法である三層分離溶媒抽出法<sup>5)</sup>を応用したもので，クマリンが *cis*-*o*-ヒドロキシけい皮酸となっているアルカリ水溶液を分取し，塩酸を加えクマリンを再合成後，再度有機溶媒で抽出するものである<sup>12,13)</sup>。この方法は三層分離溶媒の調整に手間を要することやA重油や模擬油汚染水からのクマリンの回収率が60~70%程度であること等改良の余地がある。

このように，不正軽油製造に関与したか判別するための硫酸ピッチやアルカリスラッジ中のクマリンの分析法あるいは環境中に流出した油種の特定のためのクマリンの分析法には確立されたものがないため，固体試料及び液体試料の両方に適用が可能と考えられるクマリンの抽出，前処

理方法を検討し、その方法により不正軽油製造によると思われる硫酸ピッチとアルカリスラッジ中のクマリンの検出を試み、良好な結果を得たので報告する。

## 2 実験

### 2.1 試薬

使用した試薬は関東化学製残留農薬試験用のジクロロメタン、ヘキサン、トルエン、tert-ブチルメチルエーテル (MTBE)、アセトン及び硫酸ナトリウムを用いた。精製水は Autopure WEX5 (Milipore 製) と WR600G (Milipore 製) を組合せた超純水製造システムで精製したものを用いた。5N-塩酸は有害金属測定用を精製水で希釈し作成した。5N-水酸化ナトリウムは窒素測定用を精製水で溶解し作成した。内標準物質 (IS) は環境分析用のナフタレン-d<sub>8</sub> をアセトンで溶解し、1mg・L<sup>-1</sup> としたものを用いた。クマリンの標準原液は関東化学製特級品をアセトンで溶解し、1,000mg・L<sup>-1</sup> とした。これを適宜、アセトンで希釈し、添加回収試験等を用いた。

### 2.2 分析方法

硫酸ピッチ等廃棄物の適量をポリプロピレン製サンプルチューブに量り取り、精製水 50mL に懸濁させ、アルカリ性になるまで水酸化ナトリウムを加え (アルカリスラッジの場合は精製水を加えるのみ)、十分振とう攪拌する。そのアルカリ性試料水を 100mL 分液ロートに移し、ジクロロメタン 10mL を加え 5 分間振とうし、ジクロロメタンに抽出される物質をジクロロメタン層とともに捨てる。残した水層を 5N-塩酸で酸性化した後、ジクロロメタン 10mL を加え 5 分間振とう抽出し、ジクロロメタン層をフラスコに分取する。更に水層にジクロロメタン 10mL を加え、抽出操作を繰り返し、ジクロロメタン層を先のフラスコに合わせ、硫酸ナトリウムで脱水後、40℃の湯浴中ロータリーエバポレーターを用いて約 1 mL まで濃縮する。アセトンに転溶後、清浄な窒素ガスを吹き付け 1 mL に定容し、内標準物質のナフタレン-d<sub>8</sub> 20ng を加え、GC/MS で測定、定量する。なお、5N-塩酸を添加するまでは分液ロート等のガラス器具はアルミ箔で覆い、室内灯を消した状態で操作した。(Fig.1)。

### 2.3 GC/MS 測定

GC/MS によるクマリンの測定は文献<sup>10)~13)</sup>を参考に Table 1 に示す条件で行った。標準物質の SIM 測定クロマトグラムを Fig. 2 に示す。クマリンは 8.74 分付近に検出された。また、内標準法による検量線は 0.1 ~ 10mg・L<sup>-1</sup> の範囲で一次の良い相関 (r<sup>2</sup>=0.999) を示した。

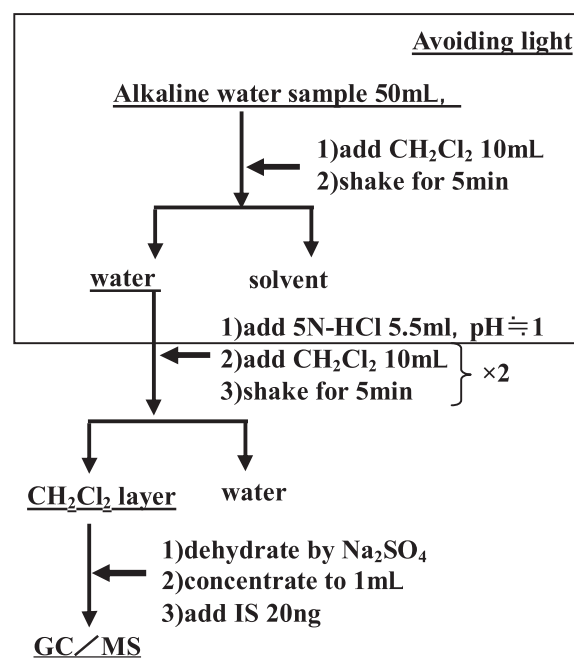


Fig.1 The procedure for the determination of coumarin in water samples

Table 1 GC/MS conditions

GC/MS	CP-3800/1200L (Varian)
Column	DB-5ms 30m×0.25mm, 0.25µm
Oven temp.	50°C (2min) → 20°C·min <sup>-1</sup> → 290°C (3min)
Injection temp.	230°C
Injection volume	1µL
Injection mode	Split less (purge on time 1min)
Carrier gas	He (constant flow 1.2mL·min <sup>-1</sup> )
Interface temp.	250°C
Ion source temp.	230°C
Ionization energy	70eV
Monitor ion (m/z)	coumarin : 146, naphthalene-d8 : 136

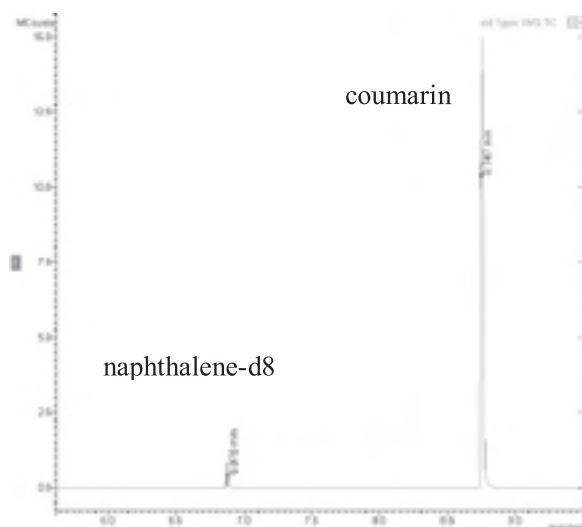


Fig.2 Chromatogram of 1mg · L<sup>-1</sup> coumarin standard solution by GC/MS

### 3 結果と考察

灯油中のクマリンはアルカリ性水との混和により、速やかに加水分解し水中に抽出される<sup>6)</sup>。固体試料中のクマリンもアルカリ性水と接触した場合には同様に水中に抽出されると考えられるので、アルカリ性の水試料からの抽出条件について検討した。

#### 3.1 抽出溶媒の検討

水層からのクマリンの抽出溶媒として塩素系溶媒のジクロロメタン、無極性のヘキサン、エーテル系のMTBE及び芳香族系のトルエンの4種類について検討した。精製水50mLにアセトンに溶解したクマリン2μgを添加し、Fig.1に示した塩酸添加以降の操作により測定・定量し、回収率を求めた(Table 2)ところ、ジクロロメタンでは99%以上の回収率が得られ、ついでトルエン75%、MTBE 65%で、ヘキサンの回収率は30%程度に止まった。この結果から、以後は抽出溶媒としてジクロロメタンを用いることとした。

Table 2 Recovery of coumarin from tested waters

Solvent	Added (μg)	Recovery(%)	n=2
Dichloromethane	2	99.1	
Hexane	2	31.7	
MTBE	2	65.1	
Toluene	2	75.5	

#### 3.2 温度の影響

近藤はアルカリ性水溶液を塩酸酸性とする際の発熱により、cis-o- ヒドロキシけい皮酸が異性化し trans-o- ヒドロキシけい皮酸になるとクマリンの再合成が妨げられると報告している<sup>12)</sup>。

そこで、2μgのクマリンを添加した50mLのアルカリ性水溶液をアイスバス、室内静置又はウォーターバスにより0℃、20℃及び40℃の水温に保持し、5N-塩酸で酸性化後、クマリンの回収を試みた。いずれの水温でも回収率は50%にも満たないものであった。回収率と水温との間に関連性が明確でないことから、回収率を低下させる要因は熱以外の影響と考えられた。

#### 3.3 光の影響

cis-o- ヒドロキシけい皮酸は波長360nmの紫外線を吸収し、trans体に変性化することが知られている<sup>6)</sup>。

そこで、アルカリ性水溶液下における紫外線の影響を検討するため、100mLのコニカルビーカーにクマリン2μgを添加した50mLのアルカリ性水溶液を入れ、0℃、20℃及び40℃の水温に保持したもの各々について、365nmに中心波長を有する紫外線を紫外線ランプ(UVP社製、UVGL-58, 定格出力6W)によりコニカルビーカーの上部から10分間照射し、5N-塩酸で酸性化後、クマリンを回収した。また、アルミ箔で遮光したクマリン2μgを添加した50mLのアルカリ性水溶液についても0℃、20℃及び40℃に保持し、5N-塩酸で酸性化後、クマリンを回収した。

Table 3 Influence of UV rays and temperatures on the recovery rate in percentage of added 2μg coumarin

Temperature	Shading (n=2)	UV irradiation (n=2)
0℃	94.2%	28.9%
20℃	97.8%	30.7%
40℃	98.3%	35.6%

UV ray irradiation for 10 min.

その結果をTable 3に示す。

遮光下におけるクマリンの回収率は酸性化時の水温に関わらず94%以上であった。また、紫外線を照射した場合の回収率は40%未満であった。



このことから、酸性化する際の水温がクマリンの回収率に与える影響は小さく、アルカリ性下での紫外線の照射がクマリンの回収率を著しく低下させることが明らかである。

次に *trans*-*o*-ヒドロキシけい皮酸 2 $\mu$ g を添加した 50mL のアルカリ性水溶液に先の紫外線ランプにより紫外線を 10 分間照射し、5N-塩酸で酸性化した水溶液からクマリンの抽出を試みたところ約 26% (n=2) の回収率が得られた。このことは、紫外線照射下のアルカリ性水溶液中では *cis* 体と *trans* 体間に平衡が存在し、今回の回収率と Table 3 の回収率から *cis* 体と *trans* 体の平衡比率は約 1 : 2 ~ 3 と見積もられた (Fig. 3)。

また、*trans*-*o*-ヒドロキシけい皮酸 2 $\mu$ g を添加した精製水に紫外線を 10 分間照射し、5N-塩酸で酸性化した水溶液から抽出を試みた場合の

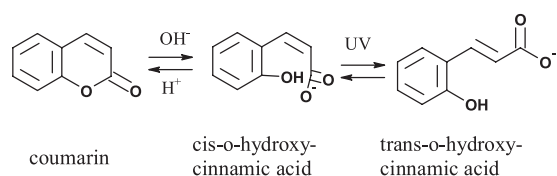


Fig.3 Reaction of coumarin to *cis*- or *trans*-*o*-hydroxycinnamic acid

クマリンの回収率は 5%程度 (n=2) であった。このことから、異性化はアルカリ性水溶液下の紫外線の照射により起こり、*o*-ヒドロキシけい皮酸からのクマリンの再合成には *cis* 体である必要性が推察された。

以上のことから、クマリンはアルカリ性水で *cis*-*o*-ヒドロキシけい皮酸に加水分解され、紫外線により *trans*-*o*-ヒドロキシけい皮酸に異性化する。加水分解した *o*-ヒドロキシけい皮酸からクマリンを再合成するためには *cis* 体である必要性があるので、廃棄物や環境試料からクマリンをアルカリ性水で抽出する際には、遮光することが必要であると考えられた。

### 3. 4 廃棄物中のクマリンの定量

茨城県内の不正軽油製造施設と思われる建屋内に放置されていた硫酸ピッチ 3 検体、アルカリスラッジ 2 検体について、クマリンの定量を試みた。

まず、検体 1g をポリプロピレン製 50mL サンプルチューブに計り取り、精製水 45mL を加える。硫酸ピッチについては水酸化ナトリウムを適量加えアルカリ性にした後、十分混和する。遠心分離により固液分離を行い、水層を遮光した状態で Fig.1 に示した手順で分析した。その結果、硫酸ピッチから 51 ~ 72mg $\cdot$ kg<sup>-1</sup> 及びアルカリスラッジから 0.16 ~ 0.43mg $\cdot$ kg<sup>-1</sup> の範囲でクマリンが検出された (Table 4)。

このように遮光下においてクマリンをアルカリ性水に *cis*-*o*-ヒドロキシけい皮酸として抽出し、水層をジクロロメタンで洗浄後、塩酸で酸性化することでクマリンを再合成したのちジクロロメタンで抽出、GC/MS で測定すれば放置された廃棄物等からクマリンを検出できることが判った。

Table 4 Coumarin concentrations in Sulfuric-Acid-pitch and Alkali-sludge samples

Sample	Concentration (mg $\cdot$ kg <sup>-1</sup> )
Sulfuric-Acid-pitch No.1	72
Sulfuric-Acid-pitch No.2	70
Sulfuric-Acid-pitch No.3	51
Alkali-sludge No.1	0.16
Alkali-sludge No.2	0.43

### 参考文献

- 1) 吉村英基, 加藤進, 広瀬和久: 不正経路製造に伴う廃棄物について, 第 16 回廃棄物学会研究発表会講演論文集, 1211-1213(2005)
- 2) 吉村英基, 加藤進, 岩崎誠二, 巽正志, 広瀬和久: 三重県における硫酸ピッチにする分析方法について, 環境技術, 35, 378-385(2006)
- 3) 加藤進, 吉村英基, 広瀬和久: 不正軽油密造に伴い排出される廃棄物 (アルカリピッチ) の分析法と性状について, 第 27 回全国都市清掃研究・事例発表会講演論文集, 93-95(2006)
- 4) 吉村英基, 加藤進, 広瀬和久, 岩崎誠二: 不正軽油密造に伴い排出される廃棄物 (アルカリピッチ) の分析法と性状について, 環境技術, 36, 365-370(2007)
- 5) 全国石油協会: 軽油識別剤標準分析方法, (1994)
- 6) 倉田 正治, 相澤 直之, 平野 治夫, 永井

- 正敏：三層分離抽出 / 蛍光分光光度法によるクマリンを含む油類の簡易識別分析, 分析化学 (Bunseki Kagaku), 52, 187-194(2003)
- 7) 三井 利幸, 肥田 宗政, 奥山 修司：多変量解析法による軽油及びA重油中のクマリンの定量, 分析化学 (Bunseki Kagaku), 47, 55-58(1998)
- 8) 劔持堅志, 荻野泰夫, 松永和義, 森忠繁, 緒方正名：油汚染時における化学成分のスクリーニング分析, 環境化学, 7, 561-576(1997)
- 9) 中牟田啓子, 福嶋かおる, 松原英隆, 神野健二：鉍物油による環境汚染時の原因究明調査法の検討, 環境化学, 11, 815-826(2001)
- 10) 藤原博一, 林隆義, 吉岡敏行, 浦山豊弘, 杉山広和, 北村雅美, 斎藤直己, 劔持堅志：環境中超微量有害化学物質の分析, 検索技術の開発に関する研究, 岡山県環境保健センター年報, 28, 53-56(2004)
- 11) 大谷仁己, 嶋田好孝：シリカカートリッジを用いた灯油中クマリンの分析, 群馬県衛生環境研究所年報, 38, 49-51(2006)
- 12) 近藤秀治：鉍物油が共存する環境水中の油種の識別法及び微量軽油識剤 (クマリン) の分析法について：北海道環境科学研究センター所報, 28, 42-48(2001)
- 13) 安田知生, 西村昭生, 田口寛, 上田彬博：土壌を通過した灯油及びA重油中のクマリン濃度の変化について, 京都府保環研年報, 49, 107-109(2004)