

1) 特許取得

該当なし

2) 実用新案登録

該当なし

3) その他

該当なし

I. 参考文献

- 1) 秋葉道宏, 高梨啓和, 下ヶ橋雅樹 (2014) 厚生労働科学研究費補助金 (健康安全・危機管理対策総合研究事業)水道システムにおける生物障害の実態把握とその低減対策に関する研究分担研究報告書.
- 2) 経済産業省・国土交通省 (2007) 物流分野の二酸化炭素排出量に関する算定方法ガイドライン ( <http://www.greenpartnership.jp/pdf/co2/co2brochure.pdf>) (2015年2月時点).
- 3) 東京大学空間情報科学研究センター CSVアドレスマッチングサービス (<http://newspat.csis.u-tokyo.ac.jp/geocode/>) (2015年2月時点).
- 4) 檜垣史彦, 水谷 誠, 土谷和之, 小池淳司, 上田孝行 (2008) 準動学的 SCGE モデルによる国際物流需要予測および港湾整備の便益評価, 運輸政策研究, Vol.10(4), pp.21-32.
- 5) 水道技術研究センター (2010) 浄水技術ガイドライン 2010. 水道技術研究センター, 東京, 340 pp.
- 6) 日本水道協会 (1988) 高度浄水施設導入ガイドライン. 日本水道協会, 東京, 67pp.
- 7) 水道技術研究センター (2010) 環境影響低減化浄水技術開発研究 (e-Water) ガイドライン集. 水道技術研究センター, 東京, 402pp.
- 8) 日本水道協会 (2010) 平成 22 年度水道統計施設・業務編. 日本水道協会, 東京.
- 9) 日本水道協会 (2010) 水道統計要覧 (平成 22 年度). 日本水道協会, 東京.

水道水中浮遊生物粒子の  
リアルタイム測定法の基礎および実証研究

研究代表者	秋葉 道宏
研究分担者	岸田 直裕
研究協力者	田中 和明
研究協力者	藤瀬 大輝
研究協力者	高橋 威一郎

厚生労働科学研究費補助金（健康安全・危機管理対策総合研究事業）  
「水道システムにおける生物障害の実態把握とその低減対策に関する研究」  
分担研究報告書

研究課題：水道水中浮遊生物粒子のリアルタイム測定法の基礎および実証研究

研究代表者 秋葉 道宏 国立保健医療科学院 統括研究官  
研究分担者 岸田 直裕 国立保健医療科学院 主任研究官  
研究協力者 田中 和明 国立保健医療科学院 客員研究員  
研究協力者 藤瀬 大輝 川崎市上下水道局水管理センター水道水質課 技術職員  
研究協力者 高橋 威一郎 大分市水道局管理部浄水課水質管理室 主査

研究要旨

これまで測定困難であった浄水中のピコプランクトンの計測について、高感度で測定可能な技術が開発された。本研究は、その技術の有効性と、浄水処理工程におけるピコプランクトンのモニタリングへの適用および濁度管理への応用の可能性について検討し、以下の知見が得られた。

生物粒子計数器は、ピコプランクトン濃度 100 から 10,000 細胞/ml の範囲で良好に測定できることを確認した。残留塩素や濁質のある浄水において、ピコプランクトンの自家蛍光の強度低下は確認されたが、計測値への影響はみられなかった。

川崎市長沢浄水場の実証実験では、ろ過水の連続測定を行い、浄水工程の水質データや薬品注入との関係性を解析し、二段凝集処理では、非生物粒子より生物粒子の除去率が低いことを突き止めた。桐生市本宿浄水場の実証実験では、粒径が比較的大きく低蛍光強度領域にピコプランクトンの分布がある事を突き止め、生物障害の主要な原因であることが確かめられた。大分市水道局では、原水の生物粒子計測のために生物粒子計数器が使われ、フィルターろ過による前処理方法の検討を行い、夾雑物の多い試料の測定方法の精度向上が図られた。

A. 研究目的

浄水施設における生物障害を類別すると、凝集沈殿障害、ろ過閉塞障害、漏出障害、異臭味障害、その他の生物障害が挙げられる。その中で、凝集沈殿障害および漏出障害の原因の一つにピコプランクトンが関与している。

ピコプランクトンは、細胞径が 0.2~2  $\mu$  m の微細な植物プランクトンであり、我が国ではダム湖等を水源とする浄水場でろ過池から漏出し濁度障害が発生し問題となっている。現在、水源や原水では、ピコプランクトンが持つクロロフィルの自家蛍光を利用して、蛍光顕微鏡観察で確認しているが、浄

水等の塩素処理された水では、自家蛍光が退色または蛍光を発しなくなることから、粘土粒子と生物粒子の判別が困難な場合が多くあり、浄水等の濁度上昇時に原因を特定することが困難である。

これらの問題の解決策として、光源に高出力のレーザを用い、塩素処理で退色した微少な蛍光を高感度に検出できる生物粒子計数器が開発された(図 1)。本報は同装置を用いたピコプランクトン測定の実用性を検証することを目的とした。

B. 研究方法

1) 生物粒子計数器

生物粒子計数器は、ピコプランクトンが持

つ自家蛍光物質クロロフィルに着目し、この蛍光を検出することによって生物粒子とその他の粒子を識別し計数することができる。染色等の前処理が必要ないため簡便で、リアルタイムに結果を得ることができる。また、従来法の蛍光顕微鏡法に比べ計数結果の再現性が良い。

また、蛍光検出感度を高くすることで、塩素処理後の自家蛍光強度が低下したピコプランクトンでも判別し計数することが期待できる。

### 1-1) 測定原理

図1に本測定装置の測定原理図を示す。ピコプランクトンが持つクロロフィルに吸収される波長の光を照射し、フローセル中を流れる粒子(ピコプランクトンおよび濁度粒子)からの散乱光およびクロロフィルからの蛍光を計測する。この結果から、ピコプランクトンかその他の粒子かを識別し、それぞれの個数がリアルタイムで出力される。

光源はレーザを用いてフローセルに照射され、フローセル内に流れている粒子が通過すると散乱光および蛍光を発生する。これらの光を散乱光検出部と、蛍光検出部でそれぞれ測定する。図2、3に示すように、散乱光信号からは粒径および個数の情報が得られ、蛍光信号からは粒子の自家蛍光の強さが得られる。散乱光信号と蛍光信号が同時に検出される粒子が生物粒子となる。

### 1-2) 測定方法

試料は、適切な希釈をした後に泡立えないように慎重にビーカーに注入し、機器専用のクリーンブースに静置した。測定は、機器のインレットから伸びたチューブを試料に挿入し、シリンジポンプを用いて流速10 ml/minで機器へ試料を導入し、散乱光粒子数および蛍光粒子数を計数した(図4)。

## C. 研究結果およびD. 考察

### 1) 生物粒子計数器の水道への適用

#### 1-1) 生物粒子計数器の計測限界について

試料にピコプランクトン(*Synechococcus* sp. NIES-947株)培養液を使用し、ピコプランクトンが発する蛍光を生物粒子計数器で検出が可能であることを確かめ、従来の蛍光顕微鏡法と比較をした。

ピコプランクトン培養液を純水(milli-Q水)で希釈し、3種類の濃度の試料(約100 cells/ml、約1,000 cells/ml、約10,000 cells/ml)を作成した。生物粒子計数器では、それぞれの試料について5 mlを測定し、光散乱相当径で0.2から1.0  $\mu\text{m}$ 以上の大きさと判別された粒子について、それぞれ蛍光の大きさと個数を計測した。蛍光顕微鏡測定試料は、生物粒子計数器で測定した試料を、孔径0.45  $\mu\text{m}$ のフィルターでろ過し、直ちに蛍光顕微鏡で観察を行った。

生物粒子計数器と蛍光顕微鏡法の計数値の平均値はほぼ一致しており(表1)、蛍光顕微鏡法の計数値のばらつきと比べて、生物粒子計数器の計数値のばらつきは小さかった。これらの結果より、生物粒子計数器は純水中のピコプランクトンを検出していると考えられる。試料濃度が約1,000から10,000 cells/mlの範囲では、蛍光顕微鏡法により生物粒子計数器の評価および検証を行うことが可能であるが、100 cells/ml程度の低い濃度では蛍光顕微鏡法による評価は難しく、生物粒子計数器の計数性能を評価するにはさらなる検討が必要である。

### 1-2) 浄水場工程水への適用

ピコプランクトン培養液を純水と浄水にそれぞれ添加した試料の蛍光粒子数を生物粒子計数器で計測した。蛍光強度の分布に大きな変化が見られたが、蛍光粒子の総数はおよそ1,000個/mlの単位で純水と浄水に差が見られなかった(表2)。この結果より、生物粒子計数器は、浄水場浄水でのピコプランクトンのモニタリングへ適用可能である事が示唆される一方、蛍光強度分布の変化はろ過水中に含まれる残留塩素の影響が考えられた(図5)。

### 1-3) 塩素処理の影響

ピコプランクトン培養液を純水で希釈した試料を作成し、次亜塩素酸ナトリウム1 mg/Lの添加直後から1時間の間の蛍光粒子数の変化を生物粒子計数器及び蛍光顕微鏡法で計測した。生物粒子計数器では蛍光粒子の総数に変化は見られなかったが、蛍光強度の分布に大きな変化が見られた(図6, 7)。一方、蛍光顕微鏡法では、1時間後にほとんど計数されなかった。この結果、これまで蛍

光顕微鏡で検出できなかった蛍光についても高感度で検出されていることが確認された。

## 2) 川崎市長沢浄水場での実証実験

### 2-1) 平成24年度実証実験

川崎市長沢浄水場で生物粒子計数器の有用性と浄水管理への応用を検証した。

平成24年度は9月10日から12月7日に川崎市長沢浄水場の急速ろ過池26号池採水地点に設置した。

浄水場で管理用に連続測定されている、濁度、薬品注入率、pH値、残留塩素等の水質データとの関連性を解析した。

散光強度、蛍光強度の散布図上で粒子はいくつかのグループに分かれていた。非蛍光粒子数と濁度の変動に同様の傾向を示したが、低い強度の蛍光を発する粒子グループは、濁度相当値(総粒子表面積)とは違う傾向を示しており(図8)、生物粒子計数器で計測される蛍光粒子特有の特徴は、新たな濁質の指標として有用性があるものと期待される。

### 2-2) 平成25年度実証実験

平成25年度も同様に川崎市長沢浄水場で実証実験の継続を行ったが、当年度より新設された沈澱池およびろ過池の稼働に伴い設置場所が、新施設ろ過池に移設され、5月22日から翌年2月21日にかけて連続測定が行われた。

蛍光粒子は日周変動を示し、およそ4時頃に最も高くその後は徐々に減少し18時~20時頃に最も低い計測数であった。これは、水源のダム放流から取水、浄水処理の流達時間と関係している。

蛍光粒子の粒径別長期変動について詳述する。粒径 $0.5\sim 0.8\mu\text{m}$ の蛍光粒子は、6月下旬から徐々に増加し、7月上旬~中旬にかけてピークがあり蛍光強度が小さいところほど多く計測されていた(図9)。その後の7月下旬に増加しており、浄水場の処理状況から後PAC処理停止をした時期と一致した。

粒径 $0.8\sim 1.0\mu\text{m}$ の蛍光粒子は、粒径 $0.5\sim 0.8\mu\text{m}$ の蛍光粒子に比べて7月下旬からの増加数は少ないが、蛍光強度が高い領域と低い領域で多く検出していた(図10)。また8月中旬に急激に減少しているが、これも後PAC処理の影響と考えられる。

粒径 $1.0\sim 2.0\mu\text{m}$ の蛍光粒子は、蛍光強度が小さい領域で粒径 $0.8\sim 1.0\mu\text{m}$ とほぼ同様なピークを持っていた(図11)。

粒径 $2.0\mu\text{m}$ 以上の蛍光粒子の特徴的な傾向は、6月下旬の蛍光強度が小さい領域での増加が見られた(図12)。

これらの長期変動結果から、前年度実証実験で類別された蛍光粒子分布グループが、時期により出現傾向が異なることがわかり、その特徴から4つの類型に分けられた(図13)。

- 1 蛍光強度が大きく、粒子径が小さい粒子群と、蛍光強度が小さく、粒子径が大きい粒子群に分かれる(粒径別散布図ではL字型)。
- 2 蛍光強度が大きく、粒子径が小さい(粒径別散布図ではI字型)。
- 3 蛍光強度が小さく、粒子径が大きい(粒径別散布図では一字型)。
- 4 全体的に蛍光強度が小さい(粒径別散布図では粒子が少なく特徴的な型はみられない)。

生物粒子計数器の計測値を浄水処理の管理へ応用可能かどうか検討するため、総粒子数、総蛍光粒子および総蛍光粒子の出現率(%)と薬品注入などの浄水場運転状況を比較検討した。

図14に示すように、実証実験期間中に総蛍光粒子出現率には3回のピークがあり、7月下旬に1回目で、約40%に達した。8月下旬に、2回目のピークを迎えるが約35%程度であった。3回目は、10月中旬で、2回目に比べてさらに低く約28%ほどであった。7月と8月のピークは、後PAC注入および停止時期と一致し、二段凝集処理により総粒子数が激減し生物粒子の割合が比較して大きくなった現象であり、同処理による生物粒子の除去性が他の粒子より悪いことを示唆している。また、後PAC注入停止後直ちに生物粒子数が増加するのに対し、総粒子数の増加は生物粒子数に比べて緩やかであった。これらの現象は、蛍光顕微鏡法より高感度にピコプランクトンの動態を観測できるようになったことで得られた、二段凝集処理の機構解明に向けた新たな発見であり、ろ過水濁度低減に向けた重要な指標であると考えている。

## 3) 桐生市元宿浄水場での実証実験

桐生市では、草木ダムに由来すると思われる、ピコプランクトンについて、流入する浄

水場ろ過水中の動向を、生物粒子計数器での測定可能性について検討し、平成 25 年 4 月 15 日から 9 月 30 日にかけて、元宿浄水場ろ過池に設置され連続運転を行った。

この試験では、試料はろ過池の下流地点（ろ過水）から採取した。この採水点には既に高感度濁度計が設置されており、この既設濁度計への採水チューブから分岐させて本装置へ試料水を導入した。

測定では、ポリスチレン球形粒子（PSL）相当径で  $0.5 \mu\text{m}$  以上の粒子について、その散乱光強度と蛍光強度を測定し、1 回の測定で 10 ml（1 分間）計数した。これを 20 分間隔で長期間繰り返して測定を行った。

桐生市元宿浄水場のろ過水中の自家蛍光を持つ植物性ピコプランクトンについて、日周変動があり、通常処理時においては 16 時頃に最も出現数が少なかった（図 15）。

ピコプランクトンの出現数は、各粒径とも、ほとんどが蛍光強度の弱い領域で検出された。

ろ過水中のピコプランクトンは、蛍光強度が小さい粒子の出現数が多かった。実験期間中の変動推移は、出現数の差はあるが、全ての粒径から見ると、1 回目のピークは 5 月中旬にかけて、2 回目のピークは 7 月下旬、3 回目のピークは 8 月上旬、4 回目は 8 月中旬にあった（図 16）。個別に見ると  $0.5 \sim 0.8 \mu\text{m}$  では、全てのピーク変動があった。 $0.8 \sim 1.0 \mu\text{m}$ 、 $1.0 \sim 2.0 \mu\text{m}$  での粒径では 3 回のピークがあった。2  $\mu\text{m}$  以上については、3 回目のピークのみ顕著に表れた。

元宿浄水場ろ過水中の蛍光・非蛍光粒子径別散布図から 4 つの類型に分けられた（図 17）。

1 粒径  $0.5 \sim 0.8 \mu\text{m}$  では、非蛍光粒子の出現数が蛍光粒子数を上回るが、 $0.8 \sim 2.0 \mu\text{m}$  以上では蛍光粒子出現数が多くなる。

2 粒径  $0.5 \sim 1.0 \mu\text{m}$  までは 1 と同様であるが、 $2.0 \mu\text{m}$  以上のみ非蛍光粒子の出現数が上回る

3 全ての粒径において、非蛍光粒子の出現数が上回る。

4 粒径  $0.5 \sim 0.8 \mu\text{m}$  では、1 と同じ傾向を示すが、 $0.8 \sim 2.0 \mu\text{m}$  以上では、非蛍光粒子数と蛍光粒子数の差は無いが、同様な数値を示す。

しかしながら、この類型分類は、川崎市での実証実験とは全く異なる特徴を示してお

り、ピコプランクトン発生傾向を分類するためには、さらなるデータ収集と解析が必要である。

原水・沈殿水のピコプランクトンの測定に関するデータは収集できなかったが、水資源機構草木ダム管理事務所の資料から推測すると、今回の実証実験での、生物粒子計数器測定値の値と絶対数は異なるが、草木ダム放流水でのピコプランクトンの増加・減衰の傾向が類似していることから、生物粒子計数器によるピコプランクトンの監視は、浄水処理における濁度管理にとって有効な手段であると考えている。

#### 4) 水道原水への適用に向けた前処理方法の検討（大分市水道局の取組み）

##### 4-1) 前処理ろ過によるフィルター閉塞の検証

原水のピコプランクトン計測時に必要な 10 mL 程度の検液を、フィルター閉塞を起さずに調製できるか検証するため、原水（濁度 5.4 度）を 25 mL 刻みで 75 mL まで 3 段階に分けて前処理ろ過後、生物粒子計数器にて計測し、蛍光粒子数の推移を検証した。ろ過量増加に伴う粒子数の減少は確認されず（図 18）、ろ過後のフィルター表面の明視野観察においても閉塞は見られなかった（図 19）。また、ろ孔以外の部分に残存した微粒子の G 励起観察では、ピコプランクトンは殆ど確認されなかった。

##### 4-2) 前処理ろ過の有無による G 励起観察時の検鏡視野の差異

無処理の試料と前処理ろ過後の検液における、G 励起観察時の検鏡視野を比較した。無処理の試料の観察では、珪藻類等による蛍光が強く、ピコプランクトンの計測が困難であったが、前処理ろ過後の検液の観察では、バックグラウンドの暗黒領域が広くなり、微小かつ微弱な蛍光粒子の視認性が向上したため、ピコプランクトンの計測が容易となった（図 20）。

##### 4-3) 蛍光顕微鏡と生物粒子計数器 によるピコプランクトン計測値の比較

検液中のピコプランクトンを蛍光顕微鏡

と生物粒子計数器により計測し検証したところ、相関が認められた(図21)。また、同一試料を用いて前処理ろ過を5回併行し、各検液中のピコプランクトンを蛍光顕微鏡と生物粒子計数器にて計測したところ、双方ともCV値は5%以下であり、前処理ろ過の作業間誤差が低いことが確認された。

#### 4-4) まとめ

前処理ろ過では、原水のピコプランクトン計測に必要な検液量を十分に調製でき、またこの検液により、計測が容易なG 励起観察視野を作成できた。蛍光顕微鏡と生物粒子計数器による検液中のピコプランクトンの計測結果から、双方の相関が認められ、また前処理ろ過の作業間誤差も低いことが確認できた。今回検証した前処理ろ過は、ピコプランクトンに起因するろ過水濁度上昇障害の未然防止及び障害発生時の迅速対応に資するものとする。

#### E. 結論

本研究より生物粒子計数器を用いることで水道における浄水工程水中のピコプランクトン、特にこれまで測定が難しかった塩素処理後の試料の測定が可能となり、連続運転実証実験から浄水場での利用も可能である事が示された。また、得られたデータは、ろ過水濁度に影響を及ぼす二段凝集処理の効果を詳細に捉えることができ、効率的な処理方法の検討につながっていくことが期待される。

本報告では示していないが、本機器は蛍光微粒子を迅速に計数する装置であり、ピコプ

ランクトン以外の粒子への適用についても発展していける可能性があり、今後の検討課題と考えている。

#### G. 研究発表

##### 1) 論文発表

該当なし

##### 2) 学会発表

(1) 藤瀬大輝, 田中和明, 岸田直裕, 秋葉道宏. 浄水場濁度管理におけるピコプランクトンカウンターの実用性評価. 日本水道協会全国水道研究発表会. 2013年10月; 郡山.

(2) 高橋威一郎, 河野博幸, 高瀬勝教, 田村智美, 馬見塚守, 岐津英明. 原水中のピコプランクトンに関する計測方法— 蛍光顕微鏡の観察条件及び前処理ろ過の検討 —. 日本水道協会全国水道研究発表会. 2014年10月; 名古屋.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む。)

##### 1) 特許取得

該当なし

##### 2) 実用新案登録

該当なし

##### 3) その他

該当なし

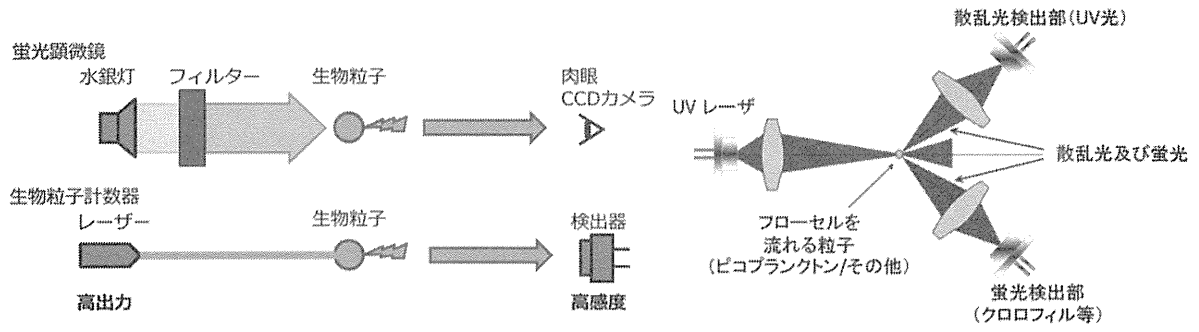


図1 蛍光顕微鏡と生物粒子計数器の測定原理

図2 検出部構造 (模式図)

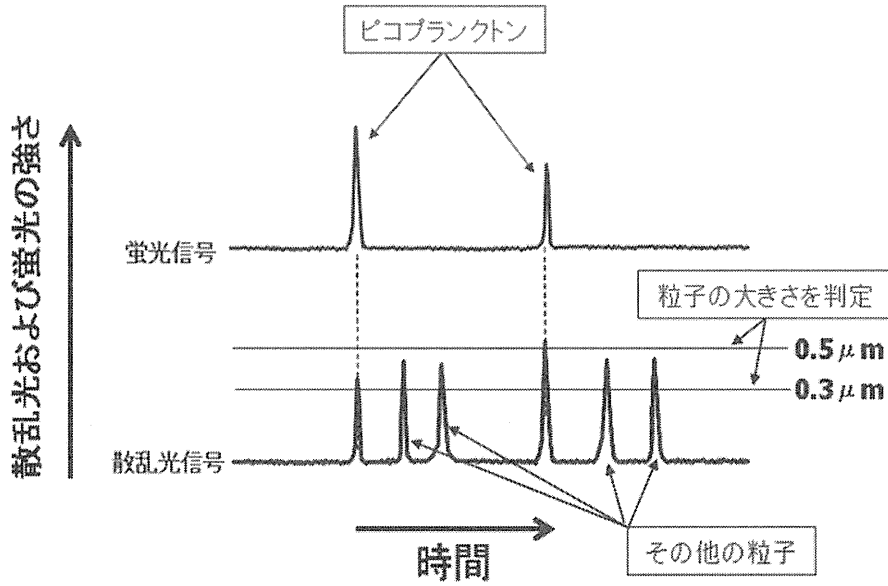


図3 ピコプランクトンとその他粒子の判別および粒子の大きさの判定方法

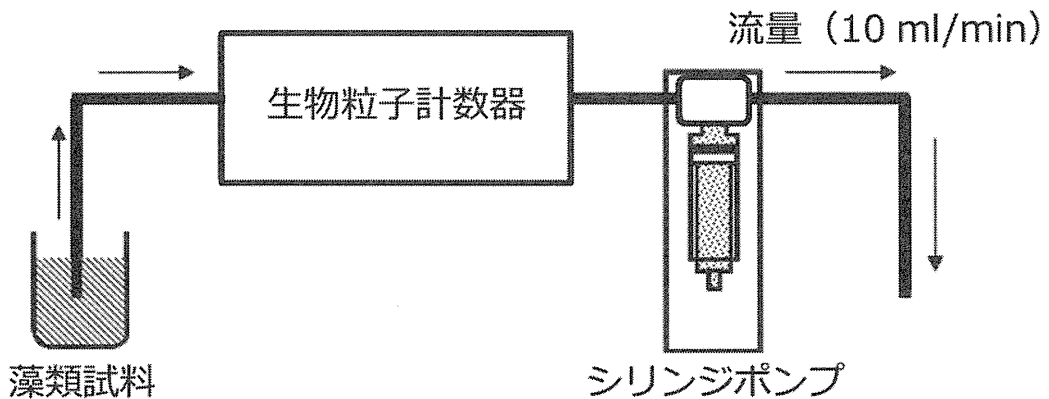


図4 生物粒子計数器測定系流路図



表1 各生物粒子数試料の測定平均値と変動係数 (n=7)

	生物粒子 計数器	蛍光 顕微鏡	比率 (%)
10000	14112	15936	89
1000	1271	1029	124
100	116	287	40

試料濃度、生物粒子計数器、蛍光顕微鏡の単位cells/ml

表2 浄水及び純水(milli-Q水)の測定平均値の比較

	蛍光数		比率(%)		蛍光数		比率(%)
	浄水	milli-Q水			浄水	milli-Q水	
0.2	3981	4305	89	0.2	368	270	80
0.4	9141	8643	103	0.4	749	505	102
0.6	1113	805	131	0.6	121	49	127
0.8	462	311	124	0.8	90	20	72
total	14698	14063	101	total	1328	845	96
	蛍光数		比率(%)		蛍光数		比率(%)
	浄水	milli-Q水			浄水	milli-Q水	
0.2	1136	1094	90	0.2	184	75	42
0.4	2485	2123	106	0.4	350	153	75
0.6	325	203	132	0.6	67	15	55
0.8	162	85	102	0.8	81	5	106
total	4109	3505	102	total	681	248	65

浄水の値は、ピコプランクトンを添加した試料の計測値から浄水中の計測値(blank)を減産した値  
試料粒径は $\mu\text{m}$ 、蛍光数はcells/ml

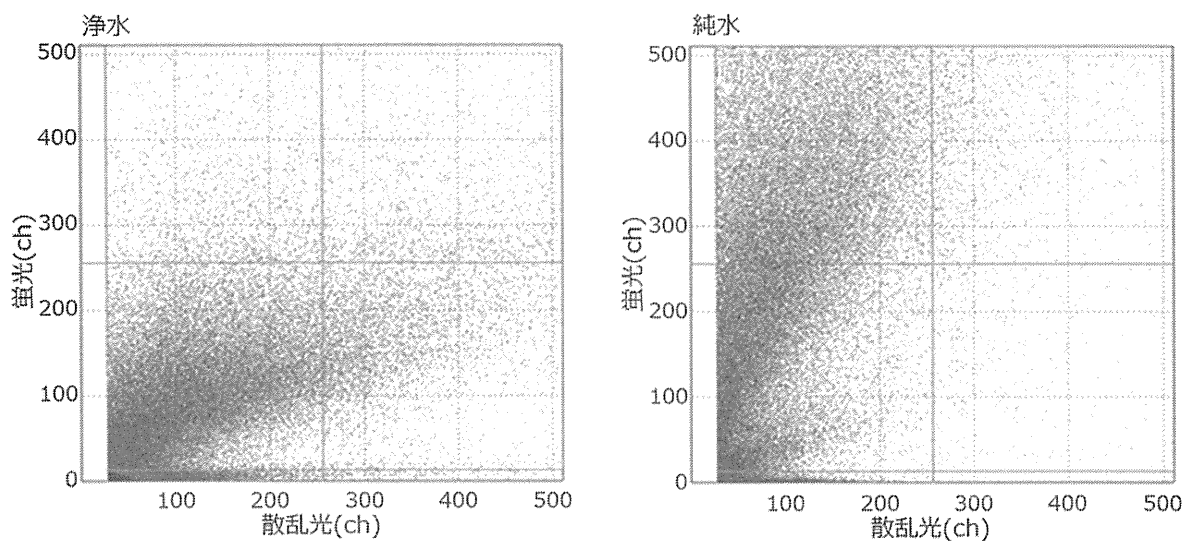


図5 浄水及び純水(milli-Q水)の蛍光散布図

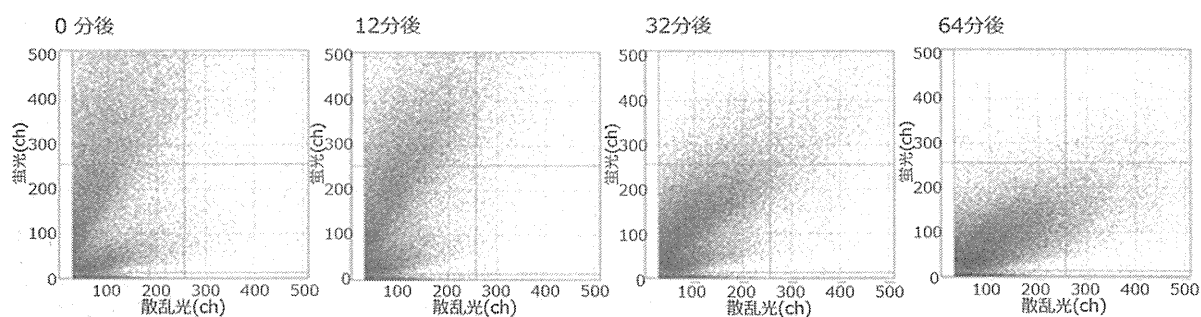


図6 次亜塩素酸ナトリウム添加後の経時変化 (蛍光散布図)

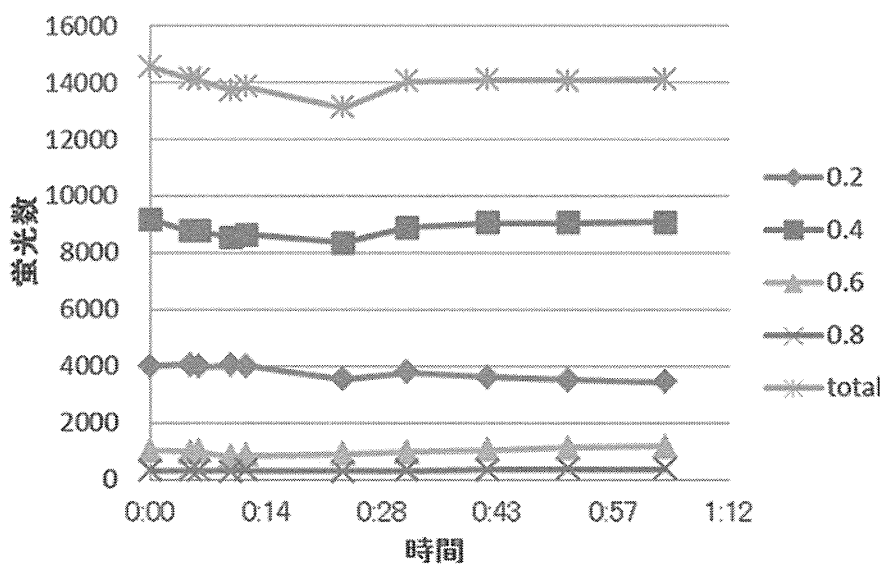


図7 次亜塩素酸ナトリウム添加後の経時変化 (粒径別蛍光数)

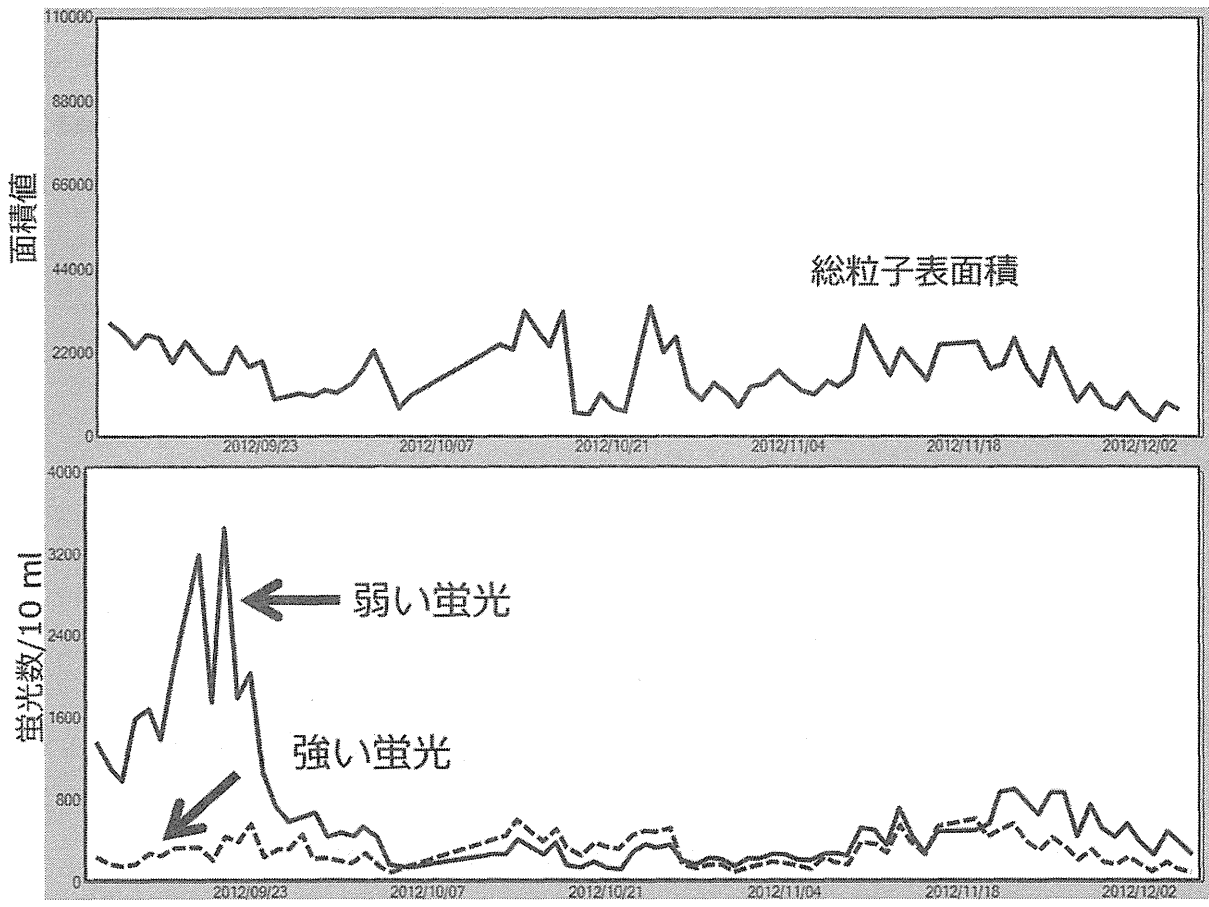


図8 平成24年度日平均値の長期変動

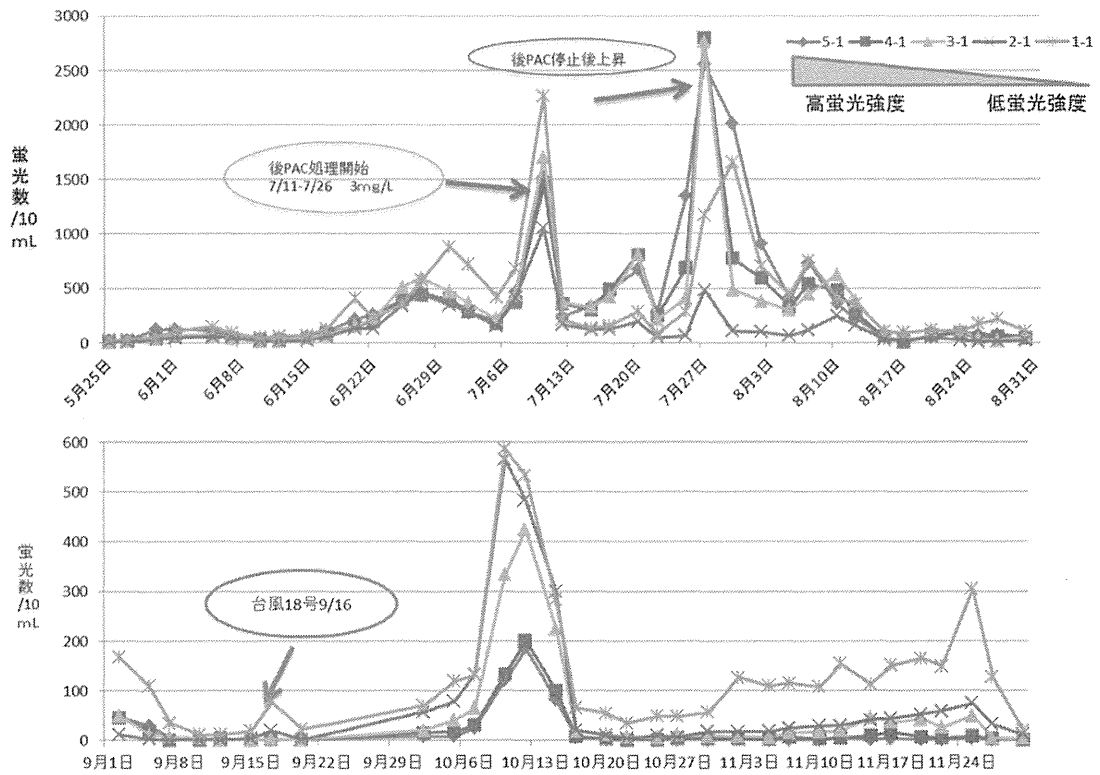


図9 0.5~0.8 μmの粒径範囲内の蛍光粒子の蛍光強度別変動 (蛍光数/10mL)

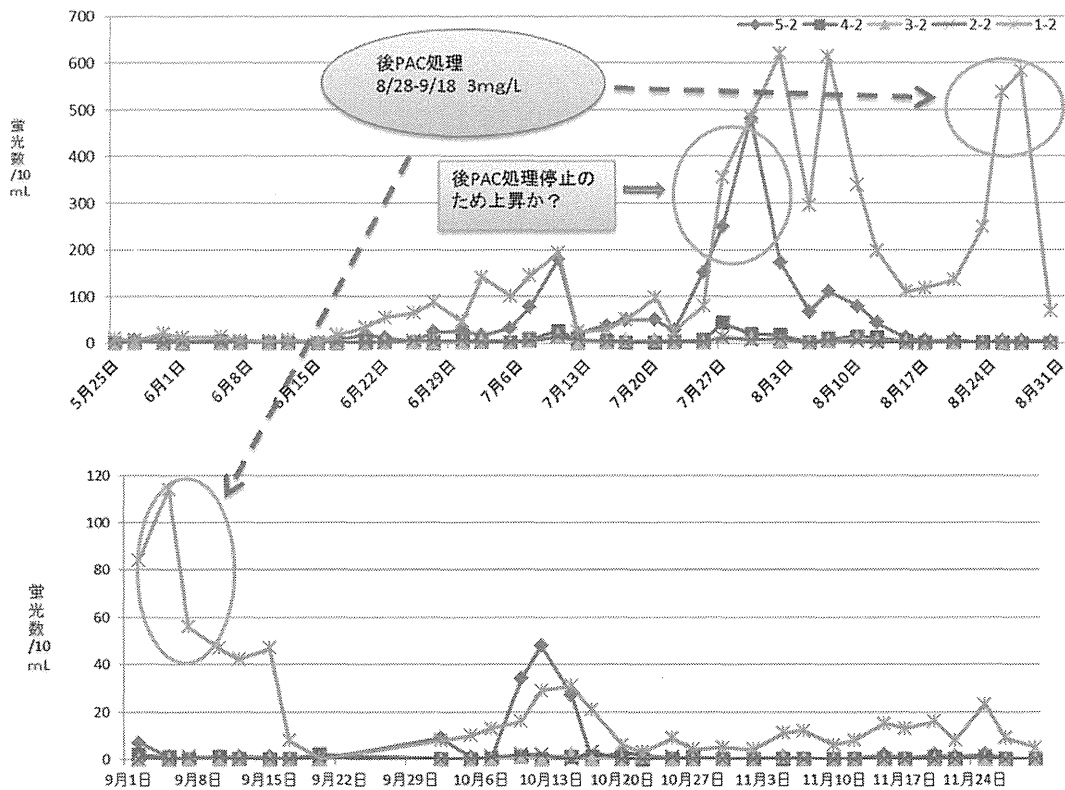


図10 0.8~1.0 μmの粒径範囲内の蛍光粒子の蛍光強度別変動 (蛍光数/10mL)

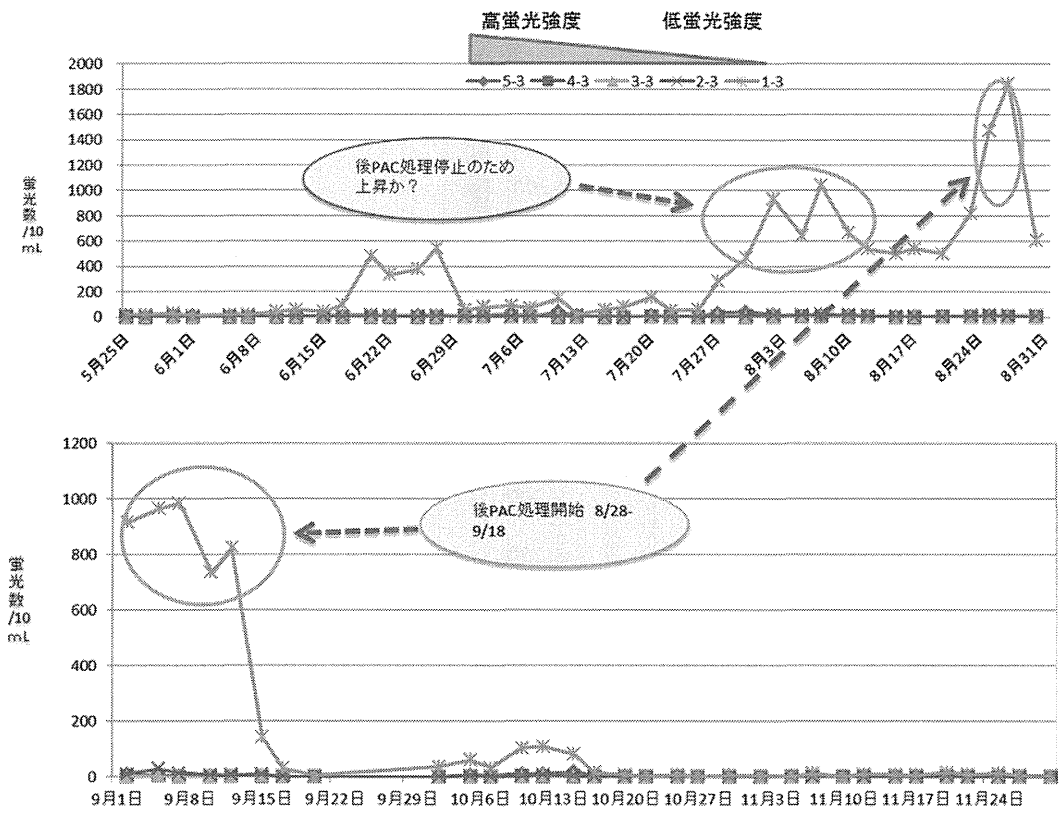


図11 1.0~2.0 μmの粒径範囲内の蛍光粒子の蛍光強度別変動 (蛍光数/10mL)

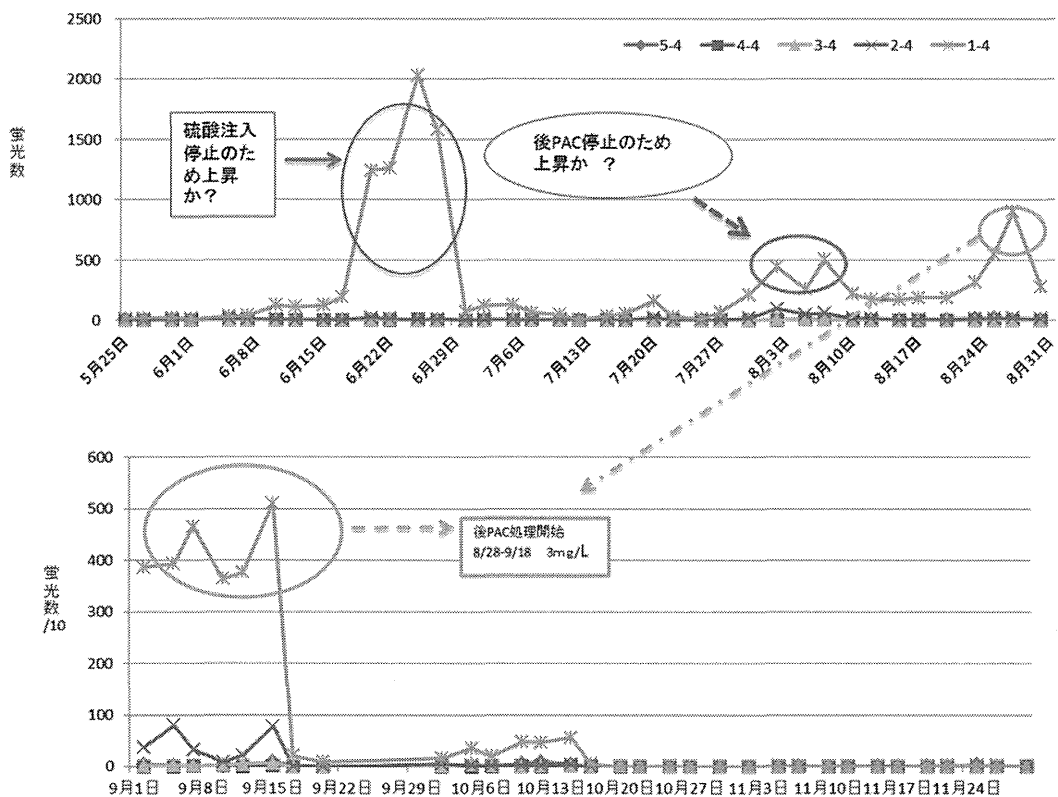


図12 2.0 μm~の粒径範囲内の蛍光粒子の蛍光強度別変動 (蛍光数/10mL)

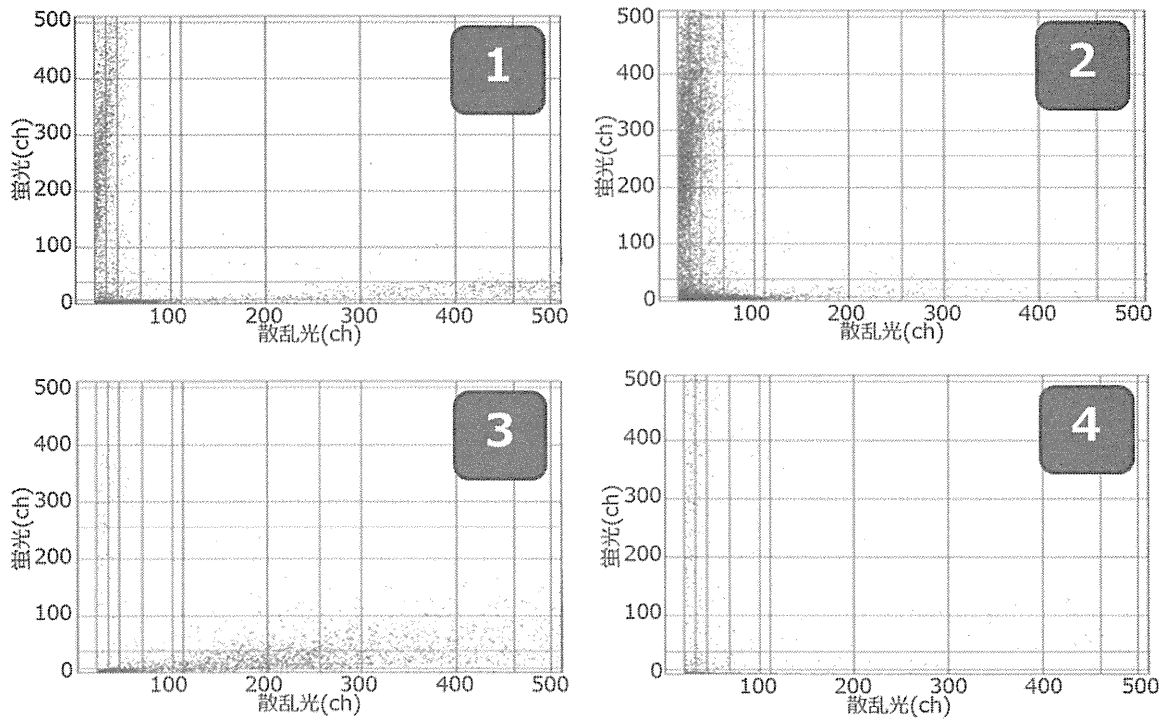


図13 川崎市のピコプランクトン出現傾向による4類型

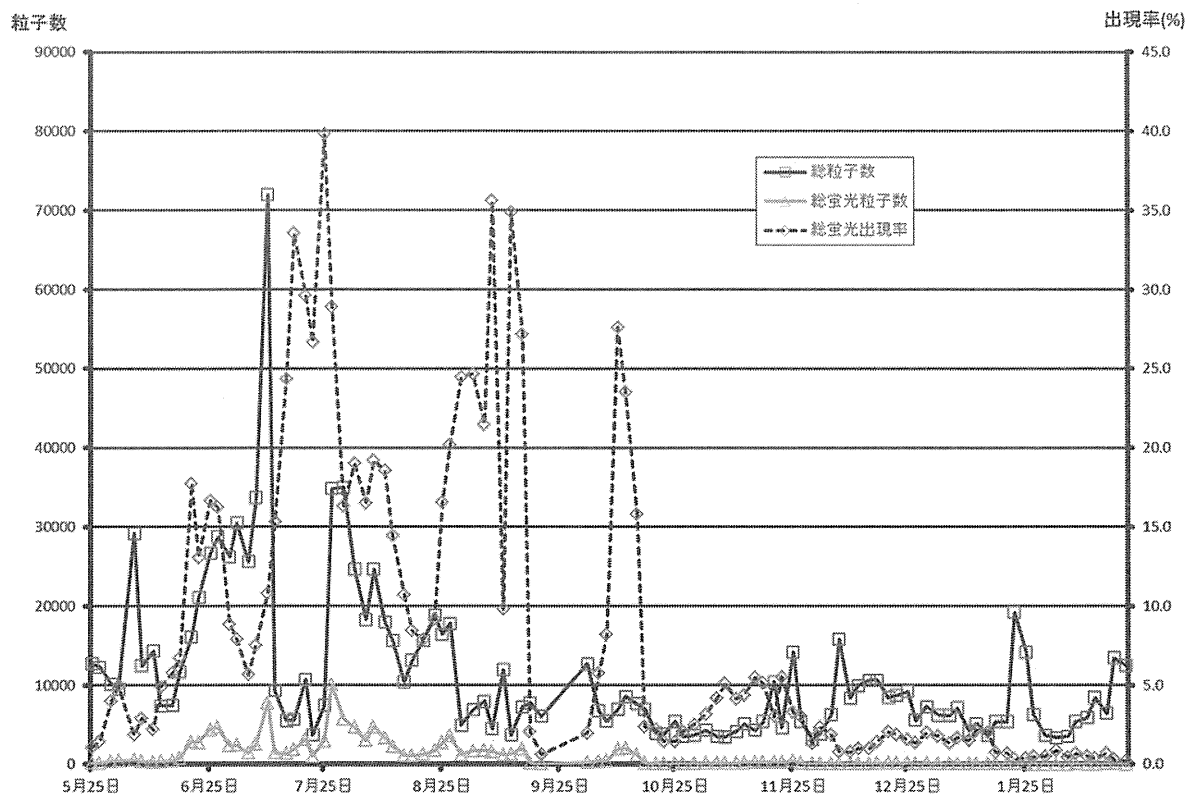


図14 総粒子数、総蛍光粒子および総蛍光粒子の出現率

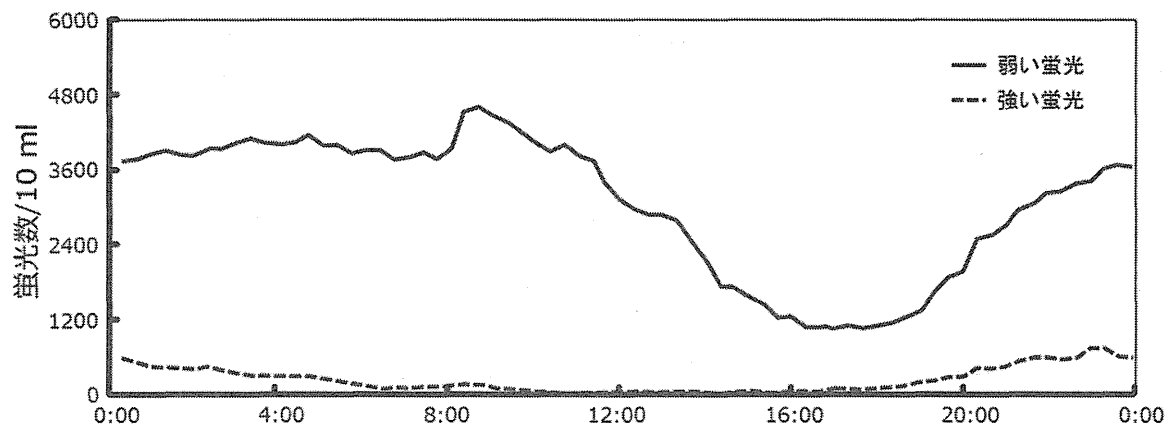


図15 本宿浄水場の日周変動

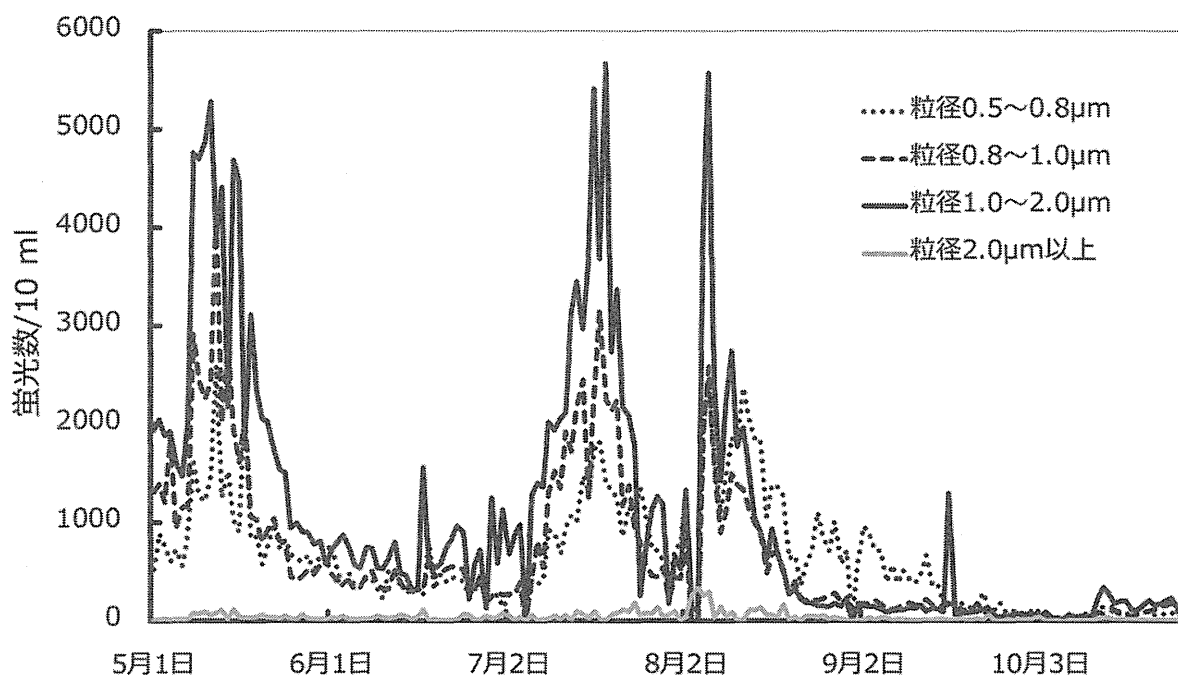


図16 本宿浄水場の長期変動

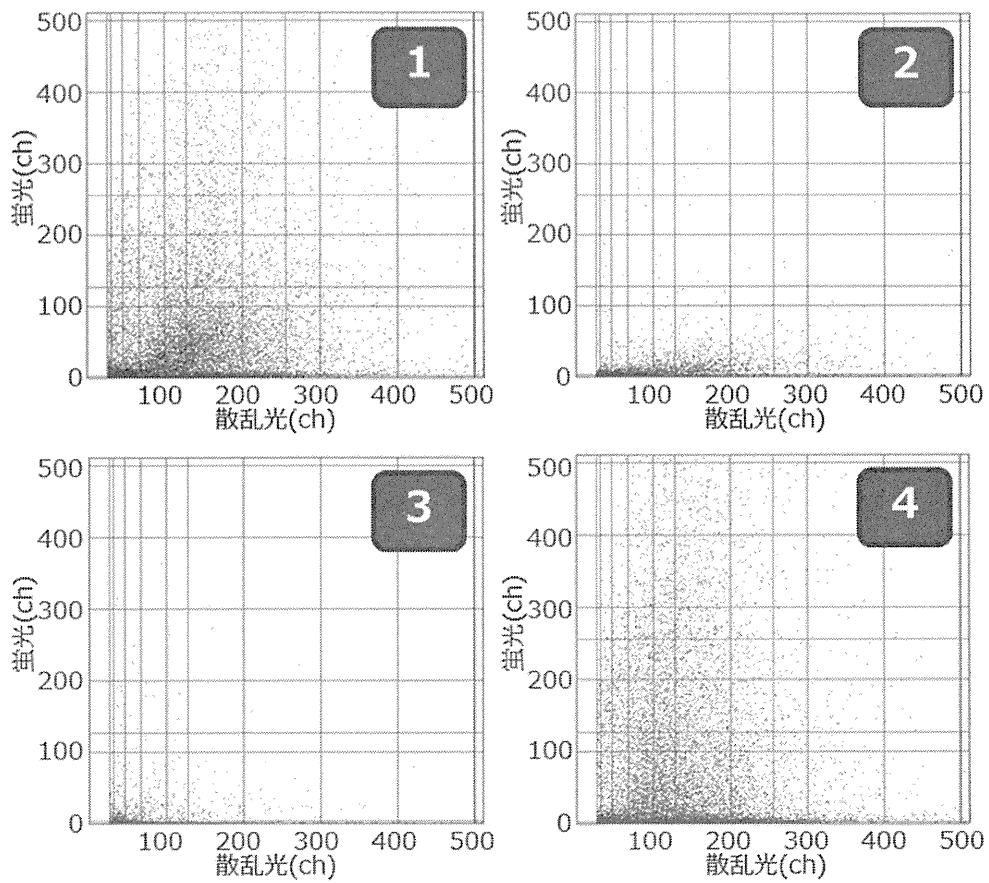


図17 桐生市のピコプランクトン出現傾向による4類型



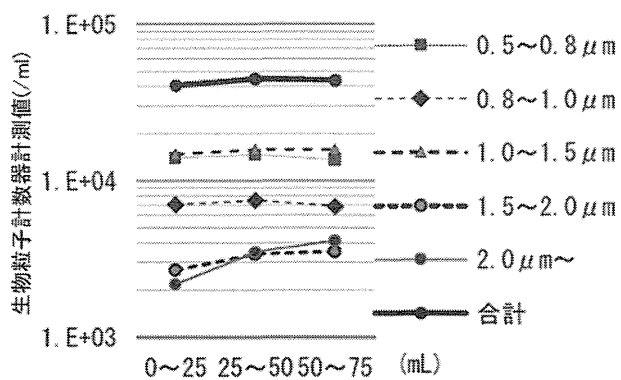


図18 25 mL 毎のろ過による蛍光粒子数推移

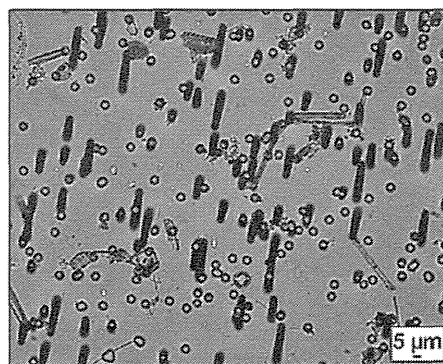
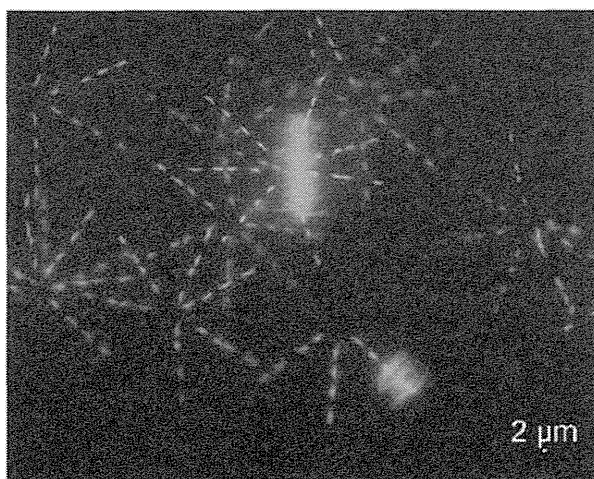
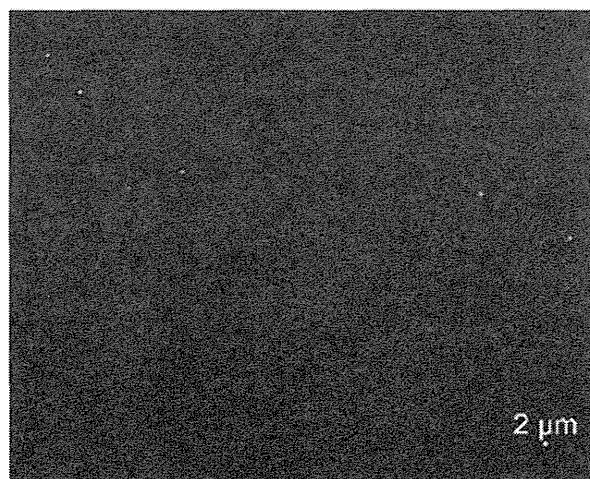


図19 ろ過後のフィルター表面



無処理の試料



前処理ろ過後の検液

(G 励起観察時に撮影した画像をグレースケール化している。)

図20 前処理、無処理試料の蛍光顕微鏡観察像

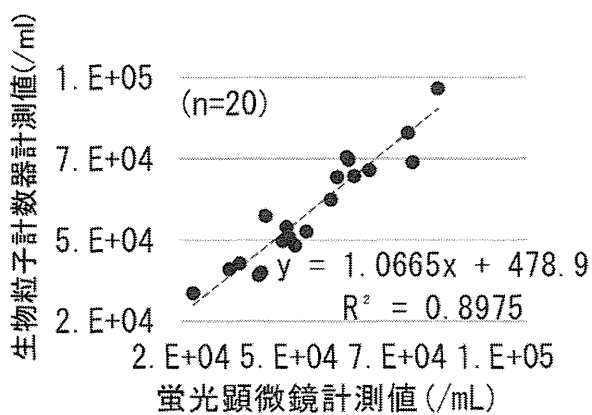


図21 計測値の相関

相模川本川における障害生物の繁殖事例

研究代表者	秋葉 道宏
研究協力者	北村 壽朗
	渡邊 洋大
	岩谷 梓

厚生労働科学研究費補助金（健康安全・危機管理対策総合研究事業）  
「水道システムにおける生物障害の実態把握とその低減対策に関する研究」  
分担研究報告書

研究課題：相模川本川における障害生物の繁殖事例

研究代表者 秋葉 道宏 国立保健医療科学院  
研究協力者 北村 壽朗 神奈川県企業庁水道水質センター  
渡邊 洋大 神奈川県企業庁水道水質センター  
岩谷 梓 神奈川県企業庁水道水質センター

研究要旨

相模川下流域における生物障害は、通常上流の相模湖及び津久井湖で繁殖した障害生物の流下が原因であることが多い。2013年春季に、湖沼性ろ過閉塞障害生物の *Synedra acus* が湖沼下流の相模川中流域にある磯辺頭首工で繁殖した事例が観察された。また、春季～夏季には、河川由来とみられるかび臭物質（2-MIB）の濃度上昇が観察された。これらを受けて、2014年に相模川本川における今後の障害生物繁殖の可能性を調べるために、本川の生物障害調査を実施した。その結果、本川中流域の磯辺頭首工の湾処（わんど）部や堰堤部、河床の泥表面において障害生物の繁殖が観察され、生物障害の監視上注意が必要であることが示された。

A. 研究目的

相模川は、富士山麓を水源とする全長109km、流域面積1,680km<sup>2</sup>の一級河川である。河口から約50km上流に位置する相模湖及び相模湖の下流10kmに位置する津久井湖は神奈川県営水道の主な水源である（図1）。

神奈川県営水道（以下、「神奈川県水」とする）は、県内12市6町、神奈川県民の約31%を占める279万人に水道水を供給している。このうち、河口から6.5kmに位置する寒川浄水場は11市4町、126万人に送水する浄水能力75万m<sup>3</sup>/日の神奈川県水最大の浄水場である。

寒川浄水場原水における生物障害の変遷を見ると、1960年～1992年は、大型珪藻類によるろ過閉塞障害、1992年以降は藍藻類の *Anabaena* が産生したジェオスミンによるかび臭障害、同じく1992年以降は小型の球形緑藻類（当時は *Dictyosphaerium* とされた）によるろ過漏出障害が記録されている<sup>1)</sup>。これらは全て上流の相模湖及び津久井湖で繁殖した藻類の流下による生物障害事例であ

った。

これ以外の障害事例としては、2004年に宮ヶ瀬湖で発生した *Uroglena* sp.による異臭味障害事例（生ぐさ臭、臭気物質名未確認）が記録されている。

2013年5月13日に、寒川浄水場原水中において湖沼性（浮遊性）ろ過閉塞障害生物である *Synedra acus* の細胞数の増加が観察された。15日に、上流湖沼の相模湖、津久井湖では *S. acus* が繁殖していないことが判明し、繁殖地点を特定するために相模川本川の調査を行った。この結果、相模川中流域の磯辺頭首工が繁殖地点と特定された。

相模川本川で湖沼性の大型珪藻類が繁殖した事例は初めてであったことから、2014年2月～7月に磯部頭首工の生物調査を実施した。

また、2013年の春季～夏季には、相模湖、津久井湖でかび臭産生生物が繁殖していないにも関わらず、本川でかび臭物質（2-MIB）濃度が高くなる現象が観察された<sup>2)</sup>。相模川下流域におけるかび臭障害事例は、これまで

は上流の相模湖や津久井湖で発生した *Anabaena* が産生するジェオスミンの流下によるものが主であったことから、2014 年冬季から夏季にかけて、相模川本川における着生藻類及び付着藻類の調査を実施した。

今回の調査により、相模川本川における障害生物の繁殖状況及び今後の繁殖の可能性について、若干の知見が得られたので報告する。

## B. 研究方法

### 1) 磯部頭首工に関する障害生物調査

#### 1-1) 2013 年の *S. acus* 繁殖事例調査

##### 1-1-1) 繁殖地点調査

2013 年 5 月 13 日に寒川浄水場原水中の *S. acus* 細胞数が 44 細胞/mL まで増加した。繁殖地点を特定するために、5 月 23 日にかけて本川の生物調査を実施した。

調査地点を図 1 に示す。調査は、昭和橋、磯部頭首工、座架依橋、あゆみ橋で実施し、採水は川岸からステンレス製バケツにより行った。

障害生物試験については、採水した試料を必要に応じて 10% グルタルアルデヒド溶液 (25v/v%) で固定し、標準計数板法、枠付き界線スライド法またはメンブランフィルター法を適宜使用して、光学顕微鏡 (ZEISS, Axio Imager2) 200~400 倍で観察し計数した。

##### 1-1-2) 繁殖時の AGP 試験

*S. acus* の細胞数が 13000 細胞/mL であった 2013 年 5 月 22 日の磯部頭首工右岸湾処部 (川の本流と繋がっているが、河川構造物などに囲まれて池のようになっている地形) の表層水を採取し、フィルター (GF/C, Whatman) でろ過後、オートクレーブで高圧蒸気滅菌し、200mL を滅菌済み三角フラスコに移した。同日の湾処部表層水からピペット法で単離した<sup>3)</sup> *S. acus* を植種して 31 日間培養し、AGP 試験 (藻類増殖の潜在能力試験) を行った<sup>4)</sup> (20°C、光量子束密度 38 $\mu$ mol/m<sup>2</sup>/s、明暗周期 12 時間)。実験の対照には CSi 培地

(珪藻用培地) を用い、同様の操作を行った。

培養開始時と、培養後 3、6、10、13、17、20、24、31 日目に *S. acus* 細胞数の計数を行った。生物試験は、1-1-1) と同様に行った。

##### 1-2) 磯部頭首工における障害生物繁殖状況調査

2014 年 2 月 26 日から 7 月 23 日にかけて、昭和橋、磯部頭首工右岸側湾処部表層 (以下「磯部右岸表層」とする) 及び底層 (以下「磯部右岸底層」とする)、座架依橋において、気温、水温、pH 値、溶存酸素 (以下「DO」とする) 濃度、クロロフィル a (以下「Chla」とする) 濃度、リン酸態リン (PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P) 濃度、障害生物の調査を行った。理化学項目の測定方法は上水試験方法 (2011 年版) に従い<sup>4)</sup>、生物試験は 1-1-1) と同様に行った。

##### 1-3) 藻類培養実験

###### 1-3-1) リン酸態リン濃度の違いによる *S. acus* の増殖特性

2013 年 5 月 22 日に磯部右岸表層で繁殖した *S. acus* をピペット法で分離し、CSi 培地を入れた 250mL 三角フラスコで予備培養し、単藻培養状態 (細菌類は含まれるが、藻類としては一種のみ生育している状態) にした。細胞を洗浄するために、培養液 15mL を遠沈管に移し、3000rpm で 5 分間遠心分離を行った後、パスツールピペットで上澄み液を抜き、精製水を加えて再懸濁させ、再び遠心分離を行う工程を 5 回繰り返した。*S. acus* が細胞内に取り込んでいる栄養塩の影響を除去するために、20°C、暗所で 2 日間飢餓培養を行った。飢餓培養後、20mL ねじ口試験管を用いて、リン酸態リンを 0、0.01、0.02、0.04、0.08mg/L となるように調製した CSi 培地に *S. acus* を移し、39 日間培養を行った (20°C、光量子束密度 38 $\mu$ mol/m<sup>2</sup>/s、明暗周期 12 時間)。培養開始時と、培養後 6、12、15、20、28、39 日目に *S. acus* 細胞数の計数を行った。生物試験は、1-1-1) と同様に行った。