

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：水道事業体におけるピコプランクトンの検査法に関する実態調査

|       |        |                           |
|-------|--------|---------------------------|
| 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 | 藤本 尚志  | 東京農業大学 応用生物科学部 教授         |
| 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 | 下ヶ橋 雅樹 | 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 | 北村 壽朗  | 神奈川県企業庁水道水質センター           |
| 研究協力者 | 荒井 活人  | 東京都水道局水質センター検査課 生物係長      |
| 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 |

#### 研究要旨

水道事業体におけるピコプランクトンの検査法に関する実態を明らかとすることを目的に、全国 17 の水道事業体を対象としたアンケート調査を実施した。水道水源および水道原水を対象にピコプランクトンの検査を実施している事業体が多かったが、約半数の事業体では沈殿池やろ過池出口の水でも検査を行っていることがわかった。検査水量は、ピコプランクトンの濃度が低くなる浄水工程の後段に行くほど多くなる傾向にあった。また、試料を固定せず、メンブレンフィルターを用いた濃縮を行い、G 励起フィルターのみで蛍光観察を行っている事業体が多いことが判明した。

#### A. 研究目的

昨年度までに実施した全国 79 の水道事業体および 239 の浄水場を対象とした生物障害に関するアンケート調査によって、浄水の濁度上昇等を引き起こすろ過漏出障害の主要な原因微生物はピコプランクトンであることが明らかとなった<sup>1)</sup>。ろ過漏出障害の対策を実施するためには、水道水源や浄水場工程水におけるピコプランクトン数を正確に把握することが重要であるが、非常に微細なピコプランクトンの検査は一般に困難であり、水道事業体間で検査法の差も大きいと予想される。

そこで本研究では、ピコプランクトンの検査法に関する実態を明らかとすることを目的に、全国の水道事業体へアンケート調査を行った。

#### B. 研究方法

昨年度までに実施した生物障害に関するアンケート調査<sup>1)</sup>や各種学会報告等によって、ピコプランクトンによるろ過漏出障害が発生していることが明らかとなった 16 の水道事業体を対象にアンケート調査を実施した。このうち、1 事業体においては 2 つの検査法を採用していたため、別々に計数することとした（計 17 事業体）。

アンケート調査項目は、検査対象試料およびその水量、固定方法、前処理方法、濃縮方法、観察方法、判定方法である。

#### C. 研究結果および D. 考察

##### 1) 検査対象試料およびその水量

表 1 に示す通り、水道水源および水道原水を対象にピコプランクトンの検査を実施している事業体が多かったが、約半数の事業体では沈殿池やろ過池出口でも監視を行っていることがわかった。また、一部の事業体で

は、配水池や排水処理工程の水の検査も実施していた。検査水量は、ピコプランクトンの濃度が低くなる浄水工程の後段に行くほど多くなる傾向にあった。

## 2) 試料の固定・前処理方法

表2に示す通り、多くの事業体で試料を固定せずに、試験を実施していることがわかった。4事業体でグルタルアルデヒドを使用した固定操作を行っているが、固定操作が計数に影響を与える可能性が近年指摘されており、適切な固定方法について検討を進めていく必要がある。

試料の前処理を実施していたのは1事業体のみであり、孔径5.0 μmのポリカーボネート製フィルターを用いてろ過を実施していた。孔径の大きいフィルターを用いたろ過を前段階で実施することで、ナノプランクトン等のピコプランクトンよりも大型のプランクトンを取り除くことが可能であり<sup>2)</sup>、観察が容易になると予想される。

## 3) 試料の濃縮方法

表3に示す通り、大部分の事業体では、メンブレンフィルターを用いた濃縮を行っていることがわかった。また、親水性PTFEフィルター、黒色ポリカーボネートフィルターを採用している事業体が多かった。

一部の事業体では、遠心沈殿法を採用し、また無濃縮でも検査を実施していた。遠心は、1,000~1,500gで20~30分と、通常のプランクトンの濃縮と同程度<sup>3)</sup>の条件で行われていた。今後、ピコプランクトンの濃縮に有効な遠心沈殿条件についても検討していく必要があると考えられる。

## 4) 試料の封入・観察方法

表4に示すとおり、水もしくはイメージンオイルを用いて封入を行っている事業体が多かったが、一部でその他の封入剤も使用していた。また、封入無で観察を行っている事業体も存在した。

顕微鏡観察時の対物レンズの倍率は、40

倍に設定している事業体が多かったが、20倍や100倍等も一部で採用されていた。蛍光観察時の励起にはG励起フィルターを使用している事業体が多かった。一方、一部の事業体ではG励起に加え、B励起でも観察を行っていたが、これはPEタイプ、PCタイプ等のピコプランクトンのタイプ分けを容易にするためであると推測される。また、観察時のピコプランクトンの判定には上水試験法記載の判定方法<sup>3)</sup>を採用している事業体が多かったが、一部でその他の判定方法<sup>4)</sup>を採用していた。

## E. 結論

水道事業体で実施されているピコプランクトンの検査法の実態を明らかにすることができた。採用されている試験法は多様であり、それぞれの有効性について今後調査していく必要があると考えられた。また、試料の固定方法等についても検討が必要である。

## G. 研究発表

### 1) 論文発表

該当なし

### 2) 学会発表

該当なし

## 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

## I. 参考文献

- 1) 秋葉道宏(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」平成 25 年度総括・分担研究報告書。
- 2) 藤本尚志，村田昌隆，大西章博，鈴木昌治，矢島修，山口茂，岸田直裕，秋葉道宏（2013）分子生物学的手法による濁度障害原因生物の解明．水道協会雑誌，**82**(5)，pp.2-10.
  - 3) 日本水道協会（2011）上水試験法 2011 年版 VI．生物編．日本水道協会，東京.
  - 4) 中村寿子（1988）落射蛍光顕微鏡を用いた生物試験 - 植物ピコプランクトン試

験の導入及び全細菌とその他のピコプランクトンとの同時試験方法の検討 - . 水道協会雑誌，**57**(7), pp.128-137.

J. 謝辞

アンケート調査の実施にあたり、ご協力いただいた水道事業体の方々に深くお礼申し上げます。

表 1 検査対象試料とその検査水量

|                  | 水源     | 原水     | 沈殿水   | ろ過水    | 配水池水     |
|------------------|--------|--------|-------|--------|----------|
| 検査事業体数*          | 13/17  | 15/17  | 7/17  | 9/17   | 2/17     |
| 最大検査水量<br>の平均値** | 11 mL  | 10 mL  | 57 mL | 210 mL | 1,000 mL |
| 最少検査水量<br>の平均値** | 4.4 mL | 3.9 mL | 38 mL | 200 mL | 1,000 mL |

\*2 事業体で排水処理工程水も測定していると回答

\*\*ピコプランクトン数に応じて適宜変更と記載した事業体も多い

表 2 試料の固定・前処理方法

| 固定方法           | 事業体数  | 前処理有無 | 事業体数  |
|----------------|-------|-------|-------|
| 無（直接観察）        | 13/17 | 有*    | 1/17  |
| グルタルアルデヒドによる固定 | 4/17  | 無     | 16/17 |

\*孔径 5.0  $\mu\text{m}$  のポリカーボネート製フィルターでろ過

表 3 試料の濃縮方法

| 濃縮法の種類    | 事業体数* | MF の種類        | 事業体数 | 遠心条件**          |
|-----------|-------|---------------|------|-----------------|
| MF 法（膜濃縮） | 15/17 | 親水性 PTFE      | 6/15 | 1,000 ~ 1,500 g |
| 遠心沈殿法     | 3/17  | 黒色ポリカーボネート    | 6/15 | 20 ~ 30 分       |
| 濃縮なし      | 2/17  | 高透明度ポリカーボネート  | 1/15 |                 |
|           |       | 黒色セルロース混合エステル | 1/15 |                 |
|           |       | セルロース混合エステル   | 1/15 |                 |

\*複数回答あり（試料の種類によって、濃縮方法が異なることがあるため）

\*\*有効回答 2 件

表 4 試料の封入・観察方法

| 封入方法      | 事業体数* | 対物レンズ<br>の倍率 | 事業体数 | 観察時の励起<br>フィルターの種類 | 事業体数 |
|-----------|-------|--------------|------|--------------------|------|
| 水         | 9/17  | × 20         | 3/17 | G 励起のみ             | 9/17 |
| イマージョンオイル | 6/17  | × 40         | 9/17 | G + B 励起           | 5/17 |
| DABCO-PBS | 1/17  | × 60         | 1/17 | G + B + U 励起       | 1/17 |
| マウントミディアム | 1/17  | × 100        | 4/17 | 明視野観察のみ            | 2/17 |
| 封入無       | 1/17  |              |      |                    |      |

\*複数回答あり