

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26年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 秋葉道宏
(国立保健医療科学院)

平成27(2015)年 3月

目 次

研究班の構成

・ 総括研究報告書

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

秋葉 道宏

・ 分担研究報告書

1．国内の浄水場における近年の生物障害の発生傾向

秋葉 道宏、岸田 直裕、下ヶ橋雅樹

2．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

秋葉 道宏、藤本 尚志、岸田 直裕、下ヶ橋雅樹

田中 和明、北村 壽朗、荒井 活人、藤瀬 大輝

3．分子生物学的手法によるろ過漏出障害の原因生物の評価

秋葉 道宏、藤本 尚志

4．生物障害を起こさないための浄水処理技術の開発

秋葉 道宏、西村 修

5．水源貯水池における障害生物の発生実態解明

秋葉 道宏、清水和哉

6．生物障害に対応した省エネルギー型水道システムの開発

秋葉 道宏、高梨 啓和、下ヶ橋雅樹

7．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

秋葉 道宏、岸田 直裕、田中 和明、藤瀬、大輝高橋 威一郎

8．相模川本川における障害生物の繁殖事例

秋葉 道宏、北村 壽朗、渡邊 洋大、岩谷 梓

・ 研究成果の刊行に関する一覧表

研究班の構成

研究代表者

国立保健医療科学院統括研究官 秋 葉 道 宏

研究分担者

東北大学東北大学大学院工学研究科教授 西 村 修
東京農業大学応用生物科学部醸造科学科教授 藤 本 尚 志
鹿児島大学大学院理工学研究科准教授 高 梨 啓 和
国立保健医療科学院生活環境研究部主任研究官 岸 田 直 裕
東洋大学生命科学部応用生物科学科講師 清 水 和 哉

研究協力者

神奈川県企業庁水道水質センター微生物課長 北 村 壽 朗
東京都水道局水質センター検査課生物係長 荒 井 活 人
川崎市上下水道局水管理センター水道水質課技術職員 藤 瀬 大 輝
神戸市水道局事業部水質試験所技術職員 清 水 武 俊
大分市水道局管理部浄水課水質管理室主査 高 橋 威 一 郎
独立行政法人水資源機構環境室水環境課長 太 田 志 津 子
独立行政法人水資源機構環境室水環境課参事役 今 本 博 臣
国立保健医療科学院国際協力研究部主任研究官 下ヶ橋 雅 樹
国立保健医療科学院客員研究員 田 中 和 明
国立保健医療科学院研究生 田 中 太 一

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）
総括研究報告書

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

研究代表者 秋葉 道宏 国立保健医療科学院 統括研究官

研究要旨

本研究では、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手法の提案を目的とした調査研究を実施した。

近年の生物障害の発生傾向を明らかとすることを目的に、昨年度までに実施した国内広範囲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結果と、約10年前に実施された同様の調査結果を比較した。その結果、約10年前の調査と比べ、特に北海道・東北、関東地方において生物障害の発生が増加していた。また、障害の種類別に見ると、異臭味障害、ろ過漏出障害が増加し、ろ過閉塞障害が減少していた。異臭味障害の中でも、*Uroglena* 属による生ぐさ臭による障害が増加していることがわかった。

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。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。

クローン解析および次世代シーケンサー解析により、ろ過漏出障害を引き起こすピコプランクトンの生物相解析を行った。浄水場原水では *Synechococcus* sp. 0BB26S03 に近縁なクローンの割合が大きく、ろ過水では *Synechococcus* sp. MH305 に近縁なクローンの割合が大きくなる傾向があり、*Synechococcus* 属の種類によって処理工程における除去特性が異なる可能性が示唆された。次世代シーケンサーを用いた16S rRNA 遺伝子アンプリコン解析により、浄水場工程水において従属栄養細菌である Proteobacteria 門の割合が高く、濁度への寄与が大きいことが示唆された。また原水、沈澱水に比較してろ過水のほうが *Synechococcus* 属の割合が高まる傾向にあり、*Synechococcus* 属の砂ろ過による除去率が低いことが示唆された。

凝集沈殿・ろ過工程におけるピコプランクトンの除去特性について検討した。ピコプランクトンを凝集沈澱処理するためには、粘土粒子等に比べて比重が小さく沈澱除去が困難であること、また粘土粒子等に比べてより多くの凝集剤注入量を必要とし、結果としてフロックの再分散を生じる可能性が高いことから、ろ過処理前に適切な凝集剤注入量によってろ過除去可能なフロックを形成する凝集ろ過法は、ピコプランクトンの除去には極めて合理的であると考えられた。

水質年報等のパブリックデータを解析した結果、水道原水中のカビ臭原因物質が水道水質基準値を超えた浄水場は増加傾向にあり、南日本から関東北部地域までの分布であったが、2 ng/L を超えた浄水場は全国に分布していた。近年、関東北部以北における水道水質基準値を超えるカビ臭発生報告がなされてきていることから、水道水質基準値を超えるカビ臭発生が北上していくと推測された。

生物障害の発生に伴って間接的に変化するエネルギー消費量などを明らかにすること、また、粒状活性炭処理プロセスの導入などの生物障害に対する恒久的対策の有効性を示すこと等を目的とした検討を行った。その結果、生物障害の発生に伴い増加す

る二酸化炭素排出量の全国値が全国の浄水場で消費された二酸化炭素排出量に占める割合は0.81%であると推算された。また、シナリオ分析の結果、今後、生物障害の発生頻度の上昇や発生する臭気物質濃度の上昇により粉末活性炭の注入日数や注入率が上昇した場合には、粒状炭処理プロセスなどを導入することの有効性が明らかとなった。

生物粒子計数器の有効性と、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た。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。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。

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。

研究分担者

西村 修	東北大学東北大学大学院 工学研究科 教授
藤本尚志	東京農業大学 応用生物科学部 醸造科学科 教授
高梨啓和	鹿児島大学大学院 理工学研究科 准教授
岸田直裕	国立保健医療科学院 生活環境研究部水管理研究領域 主任研究官
清水和哉	東洋大学 生命科学部 応用生物科学科 講師

A . 研究目的

水道システムに危害を及ぼす生物には、病原微生物のほか、飲料水の異臭味や着濁原因となる生物、浄水処理を阻害する生物等（以降、障害生物）が存在する。障害生物が水道システムに及ぼす危害は「生物障害」と呼ばれている。研究分担者らが実施した予備調査によって、一部の浄水場では、生物障害の発生により薬剤・電力使用量が増加し、浄水処理コストが著しく増加することが明らかになっており、生物障害が水道システムに及ぼす影響は無視できない。しかしながら、健康に直接影響を及ぼす化学物質等のリスクと比較して、生物障害のリスクに関

しては、その実態把握やリスク低減に関する検討が遅れているのが現状である。

そこで本研究では、東日本大震災により、浄水処理に使用する薬剤が逼迫し、電力使用量の削減が強く求められている状況も鑑み、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手法の提案を目的とした。

B . 研究方法

1) 国内の浄水場における近年の生物障害の発生傾向

近年の生物障害の発生傾向を明らかにすることを目的に、昨年度までに実施した国内広範囲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結果と、約 10 年前に実施された同様の調査結果を比較した。

2) 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

全国 17 の水道事業体を対象としたピコプランクトンの検査法に関するアンケート調査を実施した。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。

3) 分子生物学的手法によるろ過漏出障害の原因生物の解明

相模湖を水源とする川崎市上下水道局長沢浄水場の各工程水を対象とし、継続してクロージング法を用いてピコプランクトンの生物相について解析するとともに、次世代シーケンシングによる 16S rRNA 遺伝子アンプリコン解析を用いて詳細な評価を行った。

4) 生物障害を起こさないための浄水処理技術の開発

培養したピコ植物プランクトンを懸濁させた原水を用いてラボスケールの凝集ろ過処理実験、および凝集沈澱ろ過処理実験を行い、二段凝集処理の効果を検査した。

5) 水源貯水池における障害生物の発生実態解明

パブリックデータとして公表されている水道統計や水質年報から、生物障害発生の地理的分布を解析し、障害生物の発生実態を把握した。

6) 生物障害に対応した省エネルギー型水道システムの開発

昨年度までに構築した、地理情報システムを用いた浄水薬品の輸送による二酸化炭素排出量の推算方法を用いて、生物障害の発生に伴い間接的に増加する二酸化炭素排出量を推算した。また、粉末活性炭処理プロセス、粒状炭処理プロセス、膜ろ過プロセスおよびオゾン処理プロセスを組み合わせるなどの 5 種類のシナリオを設定して、イニシャルコストとランニングコストを推算してシナリオ分析を行い、これらのプロセスの導入による恒久的対策の有効性を検討した。

7) 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

室内実験では、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かを確認、従来の蛍光顕微鏡法と比較をした。さらに、川崎市長沢浄水場および桐生市元宿浄水場にて実証実験を行った。

8) 相模川本川における障害生物の繁殖事例

相模川本川中流域の磯辺頭首工の湾処 (わんど) 部や堰堤部、河床の泥表面におけるカビ臭原因物質産生藻類等の障害生物の繁殖状況等を調査した。

C. 研究結果および D. 考察

1) 国内の浄水場における近年の生物障害の発生傾向

約 10 年前の調査と比較して、本調査においては、北海道・東北地方、関東地方において生物障害の発生件数が特に多かったことから、比較的高緯度の低水温地域において生物障害の発生が増加傾向にあると推測された。本調査期間中の夏期は高気温であったため、主要な障害生物であり、高水温を好むシアノバクテリア (藍藻類) が、このような地域の水道水源において増殖しやすかったことが、生物障害発生増加の原因の一つであると示唆された。今後の気候変動によって、生物障害の発生がさらに増加するおそれもあり、気候変動への適応策に関する検討を進めていくことが重要である。

2) 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

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。

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。

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。

3) 分子生物学的手法によるろ過漏出障害

の原因生物の解明

クローニング解析により *Synechococcus* 属の組成を比べたところ、原水では *Synechococcus* sp. 0BB26S03 に近縁なクローンの割合、検出頻度が多いことが明らかとなった。沈澱水では *Synechococcus* sp. 0BB26S03 に加えて Uncultured *Synechococcus* sp. clone LS51、*Synechococcus* sp. MW6B4、*Synechococcus* sp. MH305 に近縁なクローンの検出頻度が高く、多くの *Synechococcus* 属の種類が検出されることが明らかとなった。ろ過水では *Synechococcus* sp. 0BB26S03 に近縁なクローンおよび *Synechococcus* sp. MH305 に近縁なクローンの割合および検出頻度が高いことが明らかとなった。2013年6月~9月の原水・沈澱水において PC-type である *Synechococcus* sp. 0BB26S03 に近縁なクローンの割合が多いが、ろ過水では PE-type である *Synechococcus* sp. MH305 等に近縁なクローンの割合が多く、*Synechococcus* 属の種類によってろ過池における除去特性が異なる可能性が示唆された。

次世代シーケンス解析では、工程水において Proteobacteria 門、Actinobacteria 門、Bacteroidetes 門といった従属栄養細菌の割合が大きく、80~100%を占めた。ろ過水に占める Proteobacteria 門の割合が高く、濁度への寄与が大きいことが示唆された。2013年8月、10月、11月は原水、沈澱水と比較してろ過水のほうが Cyanobacteria 門の割合が高まった。この時、Cyanobacteria 門に占める *Synechococcus* 属の割合は 95%であり、*Synechococcus* 属の砂ろ過による除去率が低いことが示唆された。

4) 生物障害を起こさないための浄水処理技術の開発

ピコ植物プランクトンのような粒径の極めて小さい植物プランクトンに対して 5 mg-PAC/L の凝集剤を注入した凝集沈澱ろ過法において、粒径 200 μ m 超にピークをもち、10 μ m 以下のフロックがほとんど存在しないフロックを形成することが

可能であり、このようなフロックは沈澱によっては 50%程度しか除去できないものの、ろ過によってほぼ完全に除去できることが明らかになった。しかし、凝集剤注入量がより少ない 2 mg-PAC/L の場合、濁度は完全には除去されずろ過漏出が生じた。一方、凝集剤注入量がより多い 10 mg-PAC/L の場合、ろ過水の濁度は 0 度となったものの、ろ過閉塞が生じた。さらに、ろ過水へのアルミニウムの漏出という観点から、最適凝集剤注入量より高い場合も低い場合もアルミニウム濃度が高まることが示唆された。

5) 水源貯水池における障害生物の発生実態解明

水道原水中の 2-MIB 濃度が 10 ng/L を超えた浄水場は、南日本から関東北部地域までとなっているが、平成 23 年度に青森県において初めて 2-MIB 濃度が 10 ng/L を超えたことが報告されている。水道原水中の 2-MIB 濃度が 2 ng/L を超えた浄水場は、すでに北海道まで至り、全国的に分布している。ジェオスミンにおいても、水道原水濃度が 10 ng/L を超えている浄水場のほとんどが南日本から関東の北部地域までとなっているが、年度によっては、東北地域を越えて北海道で検出された。従って、2-MIB とジェオスミンのどちらにおいても水道原水濃度が 2 ng/L を超えた浄水場は、全国に分布していた。北海道に着目すると、高頻度の年度では、平成 17 年度および平成 18 年度のおよそ 10 倍高い頻度で発生していることがわかった。高頻度化の傾向は、多くの県においても同様であった。以上から、微生物のカビ臭原因物質産生の引き金を刺激する環境因子が顕在化すると、平成 23 年度の青森県で観測された様に水道原水の濃度が突発的に 10 ng/L を超えることがありと推測され、水道原水濃度が 10 ng/L を超える浄水場の分布が北上していくと推測された。水道水質基準値を超えるカビ臭発生は、突発的に起こる事が多いことから、カビ臭原因物質産生に關与する引き金を明らかにし、カビ臭発生予測手法

の確立が希求される。

6) 生物障害に対応した省エネルギー型水道システムの開発

生物障害の発生に伴う間接的な二酸化炭素排出変化量は、全国で 35,186 t-CO₂/年が増加することが明らかとなった。この値は、浄水処理による二酸化炭素排出量の年間値の 0.81 % である。以上により、今後、生物障害の発生頻度や発生期間、臭気物質濃度が上昇した場合には、対策が望まれる。

シナリオ解析を実施した結果、平均送水量 500,000 m³/日の規模の浄水場において、粉末活性炭の平均注入率が 27 mg/L 以上になると、粒状炭処理プロセスを導入した方がコスト面で有利になることが明らかとなった。

7) 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

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、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。また、塩素処理後の試料のモニタリングに適用した結果、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できることが確認された。

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た。その結果、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。この現象は、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られる。

本宿浄水場の実証実験では、ピコプランクトンの発生傾向が長沢浄水場と異なっており、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明らかとした。

8) 相模川本川における障害生物の繁殖事例

本川中流域の磯辺頭首工の湾処（わんど）部では障害生物として湖沼性珪藻類の *Cyclotella* spp.、*Synedra acus*、*Asterionella formosa* が繁殖することが明らかとなった。*S. acus* は低濃度のリン酸態リン濃度でも繁殖が可能で、磯部頭首工湾処部において、これらの3種のなかで優位に増殖し、今後も増殖する可能性が示唆された。また、本川河床の泥や磯部頭首工湾処で越流が起きているときの堰堤部コンクリート壁において、カビ臭原因物質を産生する着生藻類や付着藻類が分離され、カビ臭障害の原因のひとつとなる可能性が示唆された。着生藻類を含む泥や付着藻類のマットについては、障害生物を単離して調査を行う手法に加えて、障害生物が混在する泥やマットとして取り扱い、カビ臭障害への影響を評価する方法も重要と考えられた。

E . 結論

1) 生物障害に関するアンケート調査結果を比較することで、我が国の浄水場における生物障害の発生傾向を明らかとすることができた。高緯度地域でも生物障害が発生する傾向にあり、これまで以上に生物障害対策を進めていく必要があると考えられた。

2) 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とすることができた。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。

3) 長沢浄水場ろ過水から *Synechococcus* sp. 0BB26S03、*Synechococcus* sp. MH305 に近縁なクローンが検出され、主要なろ過漏出障害の原因生物である可能性が示唆された。次世代シーケンサーによる 16S rRNA 遺伝子アンプリコン解析によりろ過水に占める Proteobacteria 門の割合が高く、濁度への寄与が大きいことが示唆された。

次世代シーケンサーにより水道水源

の微生物群集構造を門レベルから属レベルまで定量的に評価することが可能であった。水域ごとに優占する *Synechococcus* 属の種が異なり、様々な種の *Synechococcus* 属がろ過漏出障害の原因となる可能性が示唆された。

4) ピコ植物プランクトンのように、凝集沈澱処理において多量の凝集剤注入量を必要とする懸濁物質の除去には、ろ過の前に凝集剤を添加する凝集ろ過法が合理的な処理法である。ただし、凝集剤注入量が少ない場合粒径 $10\ \mu\text{m}$ 以下のフロックが形成され、凝集剤注入量が多い場合フロックの再分散により一部が粒径 $10\ \mu\text{m}$ 以下となることから、最適な凝集剤注入量によってフロック径を $10\ \mu\text{m}$ 以上に保つことが肝要である。

5) 水道水質基準値を超えるカビ臭発生が東北地方および北海道へと北上していくことが推測された。生物障害は、地域によらず、今後も高頻度で発生する傾向が続くことが予想された。水道システムにおける生物障害の対策は、環境化学的知見のみならず生物・生態学的知見に立脚することが極めて重要であると結論した。

6) 生物障害の発生頻度の上昇や発生する臭気物質濃度が上昇した場合には、生物障害の発生に伴うエネルギー消費量、および二酸化炭素排出量の増加が問題になる可能性があることがわかった。また、生物障害の対策として現在最も広く実施されている粉末活性炭の注入に代えて、粒状活性炭処理プロセスなどの導入が運用コスト面で有効になるケースを、シナリオ解析を通じて明らかとした。

7) 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。

8) ダム・湖沼等の閉鎖性水域だけでなく、河川においても湾処部や川床底泥、コンクリート堰堤等では障害生物が繁殖する可能性があり、生物障害の監視上注意が必要である。

F．健康危険情報
なし

G．研究発表

1. 論文発表

- 1) Fujimoto N, Matsuo E, Murata M, Nomura K, Ohnishi A, Suzuki M, Enmoto K, Yamaguchi S, Yanagibashi Y, Kishida N, Akiba M. Evaluation of the small-eukaryote community composition in a mesotrophic lake by sequencing the 18S rRNA genes. *Jpn J Water Treat Biol* 2014;50(2):85-94.
- 2) Kishida N, Sagehashi M, Takanashi H, Fujimoto N, Akiba M. Nationwide survey of organism-related off-flavor problems in Japanese drinking water treatment plants (2010-2012). *J Water Supply Res T* (in press).
- 3) 岸田直裕．アオコによる利水障害の実態．*水環境学会誌* 2014;37(5): 175-8.

2. 学会発表

- 1) 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．日本水道協会平成 26 年度全国会議 2014 年 10 月；名古屋．同講演集．p. 530-1．
- 2) 藤本尚志，大西章博，鈴木昌治，藤瀬大輝，岸田直裕，秋葉道宏．クローニング法および次世代シーケンサーによるろ過漏出障害原因生物の評価．日本水道協会平成 26 年度全国会議；2014 年 10 月；名古屋．同講演集．p. 540-1．
- 3) 岩谷梓，渡邊洋大，北村壽朗．相模川本川滞留域における障害生物の繁殖事

例．平成 26 年度日本水道協会関東地方支部水質研究発表会；2014 年 11 月；東京．同講演集．p.29-31．

- 4) 安齋英悟，千葉信男，秋葉道宏，西村修．ピコ植物プランクトンに対する凝集ろ過法の効果．日本水処理生物学会第 51 回大会；2014 年 11 月；甲府．日本水処理生物学会誌別巻第 34 号．p.12．
- 5) 渡邊英梨香，藤本尚志，大西章博，鈴木昌治，藤瀬大輝，岸田直裕，秋葉道宏．分子生物学的手法による浄水場処理工程水のピコシアノバクテリア生物相の評価．第 49 回日本水環境学会年会；2015 年 3 月；金沢．同講演集（印刷中）．
- 6) 下ヶ橋雅樹，高梨啓和，秋葉道宏．浄水処理プロセスにおける生物障害のエネルギー環境負荷．化学工学会第 80 年会；2015 年 3 月．同講演要旨集（印刷中）．

H．知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

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：国内の浄水場における近年の生物障害の発生傾向

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 下ヶ橋 雅樹 国立保健医療科学院 主任研究官

研究要旨

近年の生物障害の発生傾向を明らかとすることを目的に、昨年度までに実施した国内広範囲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結果と、約 10 年前に実施された同様の調査結果を比較した。その結果、約 10 年前の調査と比べ、特に北海道・東北、関東地方において生物障害の発生が増加していた。また、障害の種類別に見ると、異臭味障害、ろ過漏出障害が増加し、ろ過閉塞障害が減少していた。異臭味障害の中でも、*Uroglena* 属による生ぐさ臭による障害が増加していることがわかった。

A. 研究目的

水道システムに危害を及ぼす生物には、病原微生物のほか、飲料水の異臭味や着濁原因となる生物、浄水処理を阻害する生物等（以降、障害生物）が存在する。障害生物が水道システムに及ぼす危害は「生物障害」と呼ばれている。研究分担者らが実施した予備調査によって、一部の浄水場では、生物障害の発生により薬剤・電力使用量が増加し、浄水処理コストが著しく増加することが明らかになっており、生物障害が水道システムに及ぼす影響は無視できない。しかしながら、健康に直接影響を及ぼす化学物質等のリスクと比較して、生物障害のリスクに関しては、その実態把握やリスク低減に関する検討が遅れているのが現状である。

本年度は、近年の生物障害の発生傾向を明らかとすることを目的に、昨年度までに実施した国内広範囲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結果¹⁾と、約 10 年前に実施された同様の調査結果²⁾を比較した。

B. 研究方法

表 1 に約 10 年前に実施された調査と本研

究で実施された調査の概要を示す。どちらも 2 年間に調査対象としている。本研究の調査対象水道事業体数は約 10 年前の調査に比べ僅かに少ないが、無視できる程度の差と考えられた。また本研究では、約 10 年前の調査を参考に対象事業体を選定しており、選定によって生じる差は大きくないと推測された。約 10 年前の調査期間と比べ、本調査期間の平均気温は若干高く、特に夏期において高気温であった。

約 10 年前の調査と本調査において、地域別の報告事例数、生物障害の種類別の報告事例数を比較した。また、報告事例の多かった異臭味障害については、臭気の種類や原因生物の比較も実施した。約 10 年前の調査における報告事例数の詳細な集計方法は文献²⁾に記載されていなかったため、過去の調査担当者にヒアリング調査を実施し、本調査の集計でも可能な限り集計方法を近づけたが、完全に一致させることは困難であり、必ずしも正確な比較となっていないことに注意が必要である。また、集計方法の統一によって、前年度までの報告書¹⁾に記載されている事例数とは異なる値となっていることにも注意する必要がある。

C. 研究結果および D. 考察

1) 地域別の生物障害の発生傾向

図 1 に、地域別の生物障害の報告事例数の比較を示す。約 10 年前の調査と比較して、本調査においては、北海道・東北地方、関東地方において生物障害の発生件数が特に多かったことから、比較的高緯度の低水温地域において生物障害の発生が増加傾向にあると推測された。表 1 に示した通り、本調査期間中の夏期は高気温であったため、主要な障害生物であり、高水温を好むシアノバクテリア（藍藻類）が、このような地域の水道水源において増殖しやすかったことが、生物障害発生増加の原因の一つであると示唆された。今後の気候変動によって、生物障害の発生がさらに増加するおそれもあり、気候変動への適応策に関する検討を進めていくことが重要である。

2) 種類別の生物障害の発生傾向

図 2 に、種類別の生物障害の報告事例数の比較を示す。約 10 年前の調査と比較して、異臭味障害、ろ過漏出障害が増加し、ろ過閉塞障害は減少していた。

異臭味障害が増加した理由の一つに、平成 16 年に実施された水道水質基準等の改正が挙げられる。水道水質基準として、カビ臭原因物質であるジェオスミン、2-MIB が追加されるとともに、水質管理目標設定項目に臭気強度 (TON) が設定されたことで、以前よりも異臭味問題が顕在化しやすくなったと推測される。また、夏季の高気温 (水温) の影響で、異臭味障害の主要な原因生物であるシアノバクテリアが水道水源で増殖しやすくなったことも理由の一つであると示唆された。

ろ過漏出障害が増加した主な理由は、浄水場 (ろ過池) における濁度管理が以前よりも厳格化されているためであると考えられる。平成 19 年より従来の暫定指針が廃止され、「水道におけるクリプトスポリジウム等対策指針」が適用されたが、地表水を水源とし、

原水に指標菌が検出される浄水場では、ろ過池の濁度を 0.1 度以下に維持することが求められている。

ろ過閉塞障害が減少した主な理由は、複層ろ過等の対策手法が普及したためであると推測された。実際に、昨年度までに実施したアンケート調査¹⁾においても、過去 10 年間にろ過池の複層化を実施したと回答した水道事業体が一部存在している。

3) 異臭味障害の発生傾向

図 3 に、異臭味障害報告事例における臭気の種類を示すが、約 10 年前の調査と比較して、本調査では生ぐさ臭による異臭味障害の発生が多かった。また、図 4 に障害生物別の異臭味障害報告事例数の比較を示すが、約 10 年前の調査と比較して、本調査では *Anabaena* 属による障害が減少し、*Uroglena* 属による障害が増加していた。*Uroglena* 属は生ぐさ臭を発する障害生物として知られており、*Uroglena* 属による生ぐさ臭の被害が近年増えていると推測された。本研究では生ぐさ臭による異臭味障害が増加した原因を明らかとすることはできなかったが、カビ臭に加えて生ぐさ臭による異臭味障害にも今後注意を払っていく必要があると考えられた。

E. 結論

生物障害に関するアンケート調査結果を比較することで、我が国の浄水場における生物障害の発生傾向を明らかとすることができた。高緯度地域でも生物障害が発生する傾向にあり、これまで以上に生物障害対策を進めていく必要性があると考えられた。

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) 日本水道協会(2006)生物障害を起こさないための浄水処理の手引き。日本水道協会, 東京。

3) 気象庁(2015)日本の月平均気温偏差()
http://www.data.jma.go.jp/cpdinfo/temp/list/mon_jpn.html (Accessed 2015/02/24).

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者、日本水道協会関係者の方々に深くお礼申し上げます。

表1 調査の概要

	約10年前の調査 ²⁾	本調査 ¹⁾
調査対象期間	H13.4~15.3(約10年前の2年間)	H22.10~H24.9(最近の2年間)
対象事業者数*	81	79
対象浄水場数	記載なし	239
平均気温の偏差**	+0.15(7-9月:+0.30)	+0.20(7-9月:+0.68)
合計報告事例数***	186	272

*事業統合等による変更を除いて79事業者は同一であることから、対象事業者による差は僅かと思われる。

**1981~2010年の30年平均値を基準値とした時の偏差(日本の平均、気象庁HP³⁾)

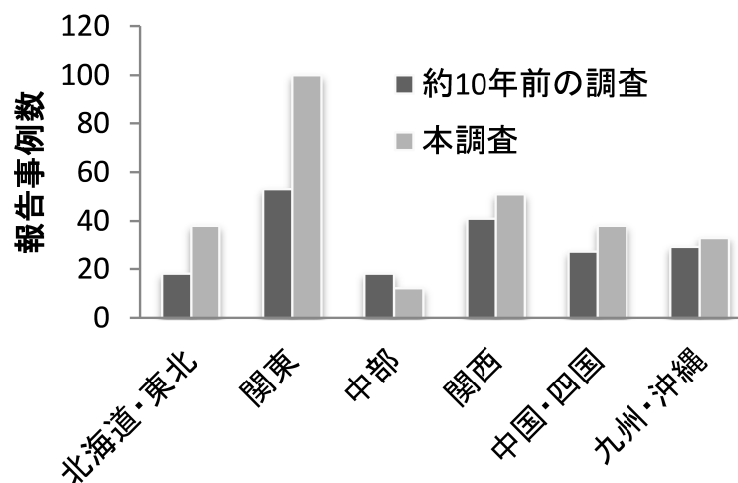


図1 地域別の生物障害の報告事例数の比較

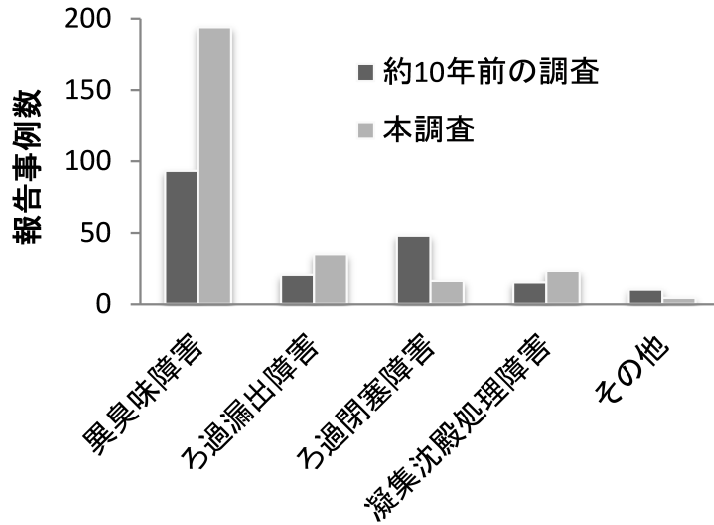


図2 生物障害の種類別の報告事例数の比較
 (注：約10年前の凝集沈殿処理障害の調査期間は1年半であり、2年間実施したと仮定すると、本調査の報告事例数と同程度となると予想される。)

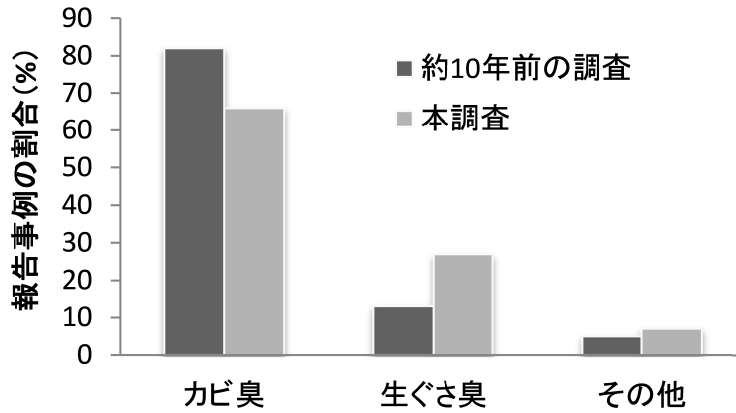


図3 臭気の種類別の比較

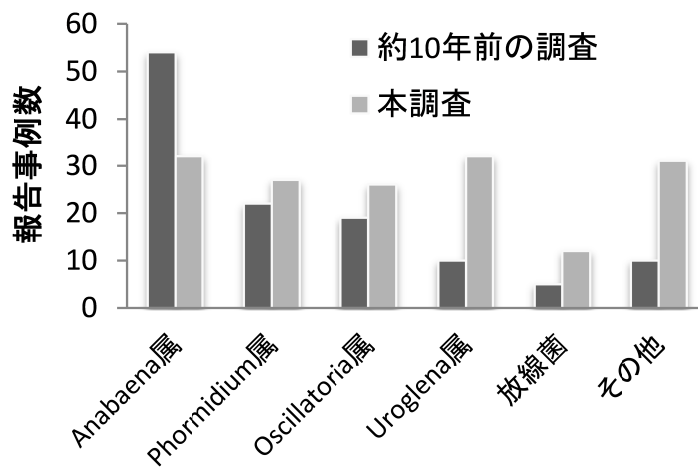


図3 障害生物別の異臭味障害報告事例数

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¹⁾。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¹⁾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た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²⁾、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³⁾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ジョ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³⁾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⁴⁾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とすることができた。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者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 の平均値**	11 mL	10 mL	57 mL	210 mL	1,000 mL
最少検査水量 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 μm 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 20 ~ 30 分
遠心沈殿法	3/17	黒色ポリカーボネート	6/15	
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 の倍率	事業体数	観察時の励起 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
イメージンオイル	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
マウントメディアム	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

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：分子生物学的手法によるろ過漏出障害の原因生物の評価

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

研究要旨

ピコプランクトンとは大きさが 0.2~2 μm のプランクトンであり、水源において細胞数が高まると、浄水場においてろ過池の出口の濁度を 0.1 度以下に維持することが困難になる。これまで分子生物学的手法（クローニング）により浄水場におけるろ過漏出障害原因生物の調査を行い、複数の系統に位置づけられるピコシアノバクテリアのクローンおよび緑藻綱 *Mychonastes homosphaera* に近縁なクローンが検出され、これらの微生物がろ過漏出障害の原因となる可能性が示唆された。しかしながらろ過水の生物相データが不足しており、また、クローニングにより生物相を完全に評価できていない可能性が示唆された。そこで本研究課題ではさらに知見を集積するとともに次世代シーケンサーによる詳細な生物相の評価手法の確立を行った。2 年間の調査により長沢浄水場ろ過水では、藍藻綱 *Synechococcus* sp. 0BB26S03 に近縁なクローンおよび *Synechococcus* sp. MH305 に近縁なクローンの検出頻度および割合が多く、主要なろ過漏出障害の原因生物である可能性が示唆された。原水では *Synechococcus* sp. 0BB26S03 に近縁なクローンの割合が大きく、ろ過水では *Synechococcus* sp. MH305 に近縁なクローンの割合が大きくなる傾向があり、*Synechococcus* 属の種類によって処理工程における除去特性が異なる可能性が示唆された。次世代シーケンサーを用いた 16S rRNA 遺伝子アンプリコン解析により長沢浄水場工程水において Proteobacteria 門、Actinobacteria 門、Bacteroidetes 門といった従属栄養細菌の割合が大きく、80~100%を占めた。原水、沈澱水と比較してろ過水のほうが *Synechococcus* 属の割合が高まる傾向にあり、*Synechococcus* 属の砂ろ過による除去率が低いことが示唆された。ろ過水に占める Proteobacteria 門の割合が高く、濁度への寄与が大きいことが示唆された。次世代シーケンサーを用いた 16S rRNA 遺伝子アンプリコン解析により水道水源の微生物群集構造を門レベルから属レベルまで定量的に評価することが可能であった。水域ごとに優占する *Synechococcus* 属の種が異なり、様々な *Synechococcus* 属の種がろ過漏出障害の原因となる可能性が示唆された。

A. 研究目的

近年、湖沼・貯水池を水源とする浄水場においてピコプランクトンによるろ過漏出障害が発生し問題となっている。平成 19 年に厚生労働省が水道事業に対して義務付けた「水道におけるクリプトスポリジウム等対策指針」において、クリプトスポリジウム等による汚染の対応措置として、リスク判断がレベル 4(クリプトスポリジウム等による汚染のおそれが高い)またはレベル 3(クリプトスポリジウム等による汚染のおそれがある)の場合、ろ過池またはろ過膜の出口の濁度を 0.1 度以下に維持することが可能なろ過設備(急速ろ過、緩速ろ過、膜ろ過等)を整備することが義務付けられている。しかしながらピコプランクトンによるろ過漏出障害が発生すると、この対策指針に従って濁度 0.1 度以下に維持することが困難になり、浄水場では対応に苦慮している。この問題となるピコプランクトンとは 0.2~2 μm の大きさの

プランクトンを指し *Synechococcus* 属等の藍藻類と真核生物に属するものが含まれる。ピコプランクトンはこれまで落射蛍光顕微鏡による観察における蛍光の色調により 3 グループに分けて検討されているが、ろ過池から漏出する種に関する知見が不足しているのが現状である。これまで、分子生物学的手法により浄水場工程水を調査し、複数の系統に位置づけられるピコシアノバクテリアのクローンおよび緑藻綱 *Mychonastes homosphaera* に近縁なクローンが検出され、これらの微生物がろ過漏出障害の原因となる可能性が示唆された。しかしながらろ過水まで解析できたことが少なく、ろ過水の生物相が多様であり、クローニングにより生物相を完全に評価できていない可能性が示唆された。そこで本研究課題ではピコプランクトン対策に関する基礎的知見を得ることを目的として、相模湖を水源とする川崎市上下水道局長沢浄水場の各工程水を対象とし、

継続して分子生物学的手法を用いてピコプランクトンの生物相について解析するとともに、次世代シーケンスによる 16S rRNA 遺伝子アンプリコン解析を用いて詳細な評価を行った。

B. 研究方法

B-1 供試試料

2012年3月27日、4月17日、5月24日、6月19日、7月18日、9月19日、10月17日、11月22日、2013年1月23日、2月20日、3月19日、4月17日、5月22日、6月21日、7月17日、8月21日、9月18日、10月16日、11月20日、12月18日に川崎市上下水道局長沢浄水場着水井、凝集沈澱池、急速砂ろ過池より採水した試料を用いた。

次世代シーケンサーによる水道水源の群集構造解析には以下の試料を用いた。群馬県草木ダム堰堤直上流の表層より、2012年7月2日、8月21日、10月23日に採水した試料、宮ヶ瀬湖ダム中央の表層より2012年、8月1日、9月5日、2013年4月17日、5月8日、6月5日に採水した試料、江戸川矢切取水場より、2012年8月7日、2013年5月29日に採水した試料、茨城県鰐川より2012年6月13日、2013年4月23日、5月29日に採水した試料を用いた。鰐川は霞ヶ浦(北浦)から流れる河川である。

B-2 細胞数測定方法

試料中の細胞数に応じて適量(25~300ml)を、孔径0.2 μ mメンブレンフィルターを用いて吸引ろ過を行った。ろ過したフィルターについて落射蛍光顕微鏡のB励起、G励起で20視野それぞれ写真を撮影し、PE-type、PC-type、CH-typeの細胞数を計測した。

B-3 クローニングによる生物相の解析

ピコシアノバクテリアのクローニングはIvanikovaら¹⁾に従って行った。ナノプランクトンの除去を目的として試料を孔径3 μ mもしくは5 μ mのメンブレンフィルターを用いて吸引ろ過を行い、前処理を行った後、そのろ液を孔径0.2 μ mのポリカーボネート製メンブレンフィルターを用いて吸引ろ過し集菌を行った。集菌したフィルターを裁断して50ml容ファルコンチューブに回収した。CTAB(Cetyltrimethyl ammonium bromide)法により遺伝子の抽出を行った。アガロースゲル電気泳動によりゲノムDNAの確認を行った後PCRに供した。16S rRNA 遺伝子のPCRには106Fおよび789Rのプライマーペアを用いて行った。PCR終了後、アガロースゲル電気泳動によりPCR産物の確認を行い、切り出したゲルをQIAquick Gel Extraction Kit(QIAGEN社)を用いてゲル精製を行った。精製したPCR産物を用いてTOPO TA Cloning Kitによりクローニングを行った。コロニーPCRにより挿入部分の遺伝子を増幅し、RFLP

法により、グルーピングを行った。これに基づいて目視でグループ分けを行い、各グループについて塩基配列の解析を行った。クローンの塩基配列約600塩基の前半100塩基、後半100塩基についてFASTAサーチを行い、近縁種が一致するか確認を行った。一致しないものはキメラとした。その後、アライメントを行い決定した塩基配列を基に相同性検索を行った。

B-4 ピコシアノバクテリアの分離

分離・培養にはシクロヘキシミドを添加したCB培地を用いた。CB培地10mlを試験管に分注しオートクレーブにより滅菌した。孔径5 μ mメンブレンフィルターを用いて試料をろ過した。そのろ過液のピコシアノバクテリア細胞数を10 cells/mlになるまで希釈し、各試験管に0.1ml、0.2ml、0.3ml添加した。培養は1,500 lx、20 $^{\circ}$ Cの恒温器で行った。

B-5 次世代シーケンサーによる群集構造解析

真正細菌の16S rRNA 遺伝子の特異的に増幅させるプライマー515F、806Rを用いてTailed PCRを行った。増幅を確認した後、精製、濃度調整を行い、Illumina社のMiSeqによりアンプリコンシーケンシングを行った。得られた塩基配列はQIIMEを利用して解析を行った。宮ヶ瀬湖以外の試料において、Cyanobacteria門のリード数に真核藻類の葉緑体遺伝子のリード数も含まれる。

C. 研究結果およびD. 考察

C-1 長沢浄水場工程水の生物相評価

1) 細胞数の推移

長沢浄水場の原水においてPE-typeおよびPC-typeのピコシアノバクテリアが観察された。400 cells/ml以下を検出限界以下とした。PE-typeは2012年は春季から秋季に高まり最大5000 cells/mlであった(図1)。2012年は春季に高まった。PC-typeは夏季に細胞数が高まる傾向が見られ最大3400 cells/mlであった。この期間におけるろ過水の濁度は0.01~0.03の間で推移した。

2) クローニングによる評価

2012年は原水、沈澱水はすべての試料でクローニングに成功したが、ろ過水については3月と10月のみ成功した。2013年は3月の沈澱水、2013年4、5月のろ過水においてPCRによる増幅が見られなかったがそれ以外の試料ではクローニングに成功した。

工程水において*Synechococcus*属は75塩基配列が検出され、配列間の相同性が99%以上の場合、同一のOTU(Operational Taxonomic Unit)としたところ8 OTUsに分けられた(表1、図2)。2012年3~6月の原水において真核藻類の葉緑体に含まれる遺伝子が多く検出された。7月~11月の原水において本研究のターゲットではないVerrucomicrobia門の細菌が多く検出され、

Synechococcus 属系統の生物相を正確に評価できなかった。そのため 2013 年は Verrucomicrobia 門の検出を抑えるため、PCR のアニーリング温度を 65 に設定して行った。2013 年は PE-type の細胞数が多い 4 月、5 月は PE-type である *Synechococcus* sp. MW6B4 や Uncultured *Synechococcus* sp. clone LS51 に近縁なクローンが検出され、PC-type の細胞数が多い 7 月、8 月は PC-type である *Synechococcus* sp. 0BB26S03 が検出され、顕微鏡観察結果と遺伝子解析結果の間に整合性が見られた。沈澱水は原水に比べ *Synechococcus* 属の割合が増加し、*Synechococcus* 属の凝集沈澱処理による除去率が低いことが示唆された。沈澱水は原水に比べ細菌の検出割合が減少し、前塩素処理・凝集沈澱処理により細菌が減少していることが明らかとなった。

Synechococcus 属の組成を比べたところ、原水では *Synechococcus* sp. 0BB26S03 に近縁なクローンの割合、検出頻度が多いことが明らかとなった。沈澱水では *Synechococcus* sp. 0BB26S03 に加えて Uncultured *Synechococcus* sp. clone LS51、*Synechococcus* sp. MW6B4、*Synechococcus* sp. MH305 に近縁なクローンの検出頻度が高く、多くの *Synechococcus* 属の種類が検出されることが明らかとなった。ろ過水では *Synechococcus* sp. 0BB26S03 に近縁なクローンおよび *Synechococcus* sp. MH305 に近縁なクローンの割合および検出頻度が高いことが明らかとなった。2013 年 6 月～9 月の原水・沈澱水において PC-type である *Synechococcus* sp. 0BB26S03 に近縁なクローンの割合が多いが、ろ過水では PE-type である *Synechococcus* sp. MH305 等に近縁なクローンの割合が多く、*Synechococcus* 属の種類によつてろ過池における除去特性が異なる可能性が示唆された。

3) 次世代シーケンサーによる評価

2012 年 3、10 月および 2013 年の試料について評価したところ、総リード数は 13 万～29 万であった。工程水において Proteobacteria 門、Actinobacteria 門、Bacteroidetes 門といった従属栄養細菌の割合が大きく、80～100%を占めた(図 3～9)。Proteobacteria 門の割合が最も高く 36%～100%を占めた。2013 年 8 月(データは示していない)、10 月、11 月は原水、沈澱水に比較してろ過水のほうが Cyanobacteria 門の割合が高まった。この時、Cyanobacteria 門に占める *Synechococcus* 属の割合は 95%であり、*Synechococcus* 属の砂ろ過による除去率が低いことが示唆された。*Synechococcus* 属のリード数が多かった 2013 年 8 月、10 月、11 月のろ過水についてクローニングによる生物相と比較したところ、一致が見られ、次世代シーケンサーによるアンプリコン解析によりクローニング結果を裏付けることができた。各試料において

ろ過水に占める Proteobacteria 門の割合が高く、濁度への寄与が大きいことが示唆された。

4) 分離・培養

2013 年 8 月の原水より一株 (N-1)、10 月の原水より一株 (N-2)、9 月の沈澱水より一株 (N-3) の計 3 株のピコシアノバクテリアの分離に成功した(写真 1～3)。N-1 株、N-2 株は PC-type の桿菌であった。N-3 株は PE-type の桿菌であった。分離株の遺伝子解析の結果、N-1 株は *Synechococcus* sp. 0BB26S03、N-2 株は *Synechococcus* sp. PS721、N-3 株は Uncultured *Synechococcus* sp. clone LS51 に近縁なピコシアノバクテリアであることが明らかとなった。N-3 株は未培養の系統に位置する *Synechococcus* 属であることが明らかとなった。N-1 株、N-3 株の分離はクローニング結果を裏付けるものと考えられた。

C-2 次世代シーケンサーによる水源における真正細菌群集構造の評価

1) 草木湖

1 試料あたりのリード数は 16 万リードから 20 万リードであった。各門のリード数の割合を評価したところ Proteobacteria 門のリード数は各月において 43～60%であり主要な微生物群であることが明らかとなった(図 10)。Cyanobacteria 門のリード数は細胞数が $10^5 \sim 2 \times 10^5$ cells/ml と高い 7、8 月は 20%を占めたが、 4×10^4 cells/ml と低下した 10 月は 1%となった。Cyanobacteria 門に占める *Synechococcus* 属の割合は 70%以上であり、細胞数の高い 7、8 月は約 90%となった。*Synechococcus* 属について種レベルで評価すると、細胞数が高い 7、8 月は *Synechococcus* sp. MH305 の割合が高く 90%以上を占めた(図 11)。細胞数が低下した 10 月は *Synechococcus* sp. PS721 が約 60%を占め、季節によって *Synechococcus* 属の種組成が変化することが明らかとなった。

2) 宮ヶ瀬湖

2012 年 8、9 月、2013 年 4～6 月の 1 試料あたりのリード数は 13 万リードから 22 万リードであった。各門のリード数の割合を評価したところ、Actinobacteria 門、Proteobacteria 門のリード数が多く合計で 66～86%を占め、主要な微生物群であることが明らかとなった(図 12)。Cyanobacteria 門は 0.5%～8%の間で推移した。Cyanobacteria 門に占める *Synechococcus* 属の割合は 97～100%であった。次世代シーケンサーにより検出された *Synechococcus* 属について配列間の相同性が 99%以上の場合、同一の OTU としたところ 12 OTUs に分けられた(表 2)。各試料に共通して *Synechococcus* sp. MW6B4 に近縁な OTU のリード数の割合が高く 29～80%を占めた。また、*Synechococcus* sp. MH301 といったクローニングでは検出できなかった存在割合の低い種も各試料で検出できた。

3) 江戸川

1 試料あたりのリード数は2012年8月は13万4千リード、2013年5月は23万3千リードであった。Proteobacteria 門の占める割合が大きくそれぞれ44%、91%を占めた(図13)。ピコシアノバクテリアの細胞数が 10^5 cells/ml を超えていた2012年8月においてもCyanobacteria 門のリード数は1%程度と低かった。これは下水処理場の放流水が流入し、従属栄養の細菌数が多いことが原因として考えられた。シアノバクテリア門のうち、真核藻類の葉緑体に含まれる遺伝子のリード数が3割程度を占めており、*Synechococcus* 属の系統が6~7割を占めていた。*Synechococcus* 属の種組成として2012年8月は*Synechococcus* sp. PS721 が71%、2013年5月は*Synechococcus* sp. 0BB26S03 が68%を占めていた(図14)。*Synechococcus* sp. PS721 は琵琶湖からの分離株、*Synechococcus* sp. 0BB26S03 はイタリア Bubano Basin からの分離株である。

4) 鰯川

1 試料あたりのリード数は16万9千リードから18万7千リードであった。Actinobacteria 門、Bacteroidetes 門、Cyanobacteria 門、Proteobacteria 門のリード数は各月において10%以上であり、主要な微生物群であることが明らかとなった(図15)。Cyanobacteria 門は2013年4月、5月において30%以上と高く推移した。

Cyanobacteria 門の総リード数に占める、真核藻類の葉緑体に含まれる遺伝子のリード数の割合は2012年6月、2013年4月、5月においてそれぞれ、33%、61%、42%であり、2013年4月に高かった。このとき、珪藻綱 *Nitzschia* 属、*Synedra* 属、*Aulacoseira* 属、*Skeletonema* 属、クリプト藻綱 *Cryptomonas* 属、渦鞭毛藻綱 *Dinophysis* 属の葉緑体に含まれる遺伝子に近縁な塩基配列のリード数が多かった。Cyanobacteria 門について目レベルで評価すると、2012年6月、2013年5月はSynechococcales 目のリード数が多く、それぞれ、89%、68%であった(図16)。富栄養貯水池においてピコ植物プランクトンが植物プランクトン総量に占める割合は10%以下と小さいと報告されているが²⁾、本水域では、シアノバクテリアに限ってみると、割合が高い時期もあることが明らかとなった。2013年4月はNostocales 目が54%、Pseudanabaenales 目が25%を占めた。Nostocales 目として *Aphanizomenon flos-aquae* NIES81、Pseudanabaenales 目として、*Pseudanabaena* sp. PCC7402 に近縁な塩基配列のリード数がほとんどを占めた。2013年4月は2-MIB濃度が240 ng/l と他の月よりも高く、*Pseudanabaena* sp. PCC7402 に近縁な藻類が2-MIBの原因となっていると推察された。

Synechococcus 属としては、*Synechococcus* sp. PCC7009 および *Synechococcus* sp. PS680 が主要で

あった(図17)。Synechococcales 目のリード数が多い2012年6月、2013年5月は*Synechococcus* sp. PCC7009 に近縁な塩基配列のリード数がそれぞれ42%、60%を占めた。*Synechococcus* sp. PCC7009 はピコシアノバクテリアのPC(Phycocyanin rich)typeである³⁾。

E. 結論

長沢浄水場ろ過水から *Synechococcus* sp. 0BB26S03、*Synechococcus* sp. MH305 に近縁なクローンは検出され、主要なる過漏出障害の原因生物である可能性が示唆された。次世代シーケンサーによる16S rRNA 遺伝子アンプリコン解析によりろ過水に占めるProteobacteria 門の割合が高く、濁度への寄与が大きいことが示唆された。

次世代シーケンサーにより水道水源の微生物群集構造を門レベルから属レベルまで定量的に評価することが可能であった。水域ごとに優占する *Synechococcus* 属の種が異なり、様々な種 *Synechococcus* 属がろ過漏出障害の原因となる可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1) 論文発表

(1) 藤本尚志, 村田昌隆, 大西章博, 鈴木昌治, 矢島修, 岸田直裕, 秋葉道宏 (2013) 分子生物学的手法による浄水場における濁度障害原因生物の解明、水道協会雑誌, 82(5), pp.2-10.

(2) Fujimoto N., Matsuo E., Murata M., Nomura K., Ohnishi A., Suzuki M., Enmoto K., Yamaguchi S., Yanagibashi Y., Kishida N. and Akiba M., Evaluation of the Small-Eukaryote Community Composition in a Mesotrophic Lake by Sequencing the 18S rRNA Genes, Japanese Journal of Water Treatment Biology, 2014, 50(2), pp. 85-94.

2) 学会発表

(1) 横山友紀, 藤本尚志, 大西章博, 鈴木昌治, 蘭 勝司, 岸田直裕, 秋葉道宏. 分子生物学的手法による宮ヶ瀬湖におけるピコシアノバクテリア群集構造の季節変化の解析. 第47回日本水環境学会年会; 2013年3月; 大阪. 同講演集 pp. 14.

(2) 石原匠, 藤本尚志, 大西章博, 鈴木昌治, 山口 茂, 岸田直裕, 秋葉道宏. 分子生物学的手法による草木湖における真核ピコプランクトンの生物相の解析. 第47回日本水環境学会年会; 2013年3月; 大阪. 同講演集 pp. 664.

(3) 大谷将太郎, 藤本尚志, 大西章博, 鈴木昌治, 山口 茂, 岸田直裕, 秋葉道宏. 分子生物学的手法による草木湖におけるピコシアノバクテリア群集構造解析. 第47回日本水環境学会年会; 2013

年 3 月；大阪．同講演集 pp. 665.

(4) 藤本尚志，藤瀬大輝，岸田直裕，秋葉道宏．分子生物学的手法によるろ過漏出障害の原因生物の評価．平成 25 年度全国会議(水道研究発表会)；2013 年 10 月；郡山．同講演集 pp. 530-531.

(5) 水野恵伍，藤本尚志，大西章博，鈴木昌治，岸田直裕，秋葉道宏，野田尚宏，松倉智子，関口勇地．クローニングおよび次世代シーケンサーによる宮ヶ瀬湖のピコシアノバクテリア群集構造解析．第 48 回日本水環境学会年会；2014 年 3 月；仙台．同講演集 pp. 620.

(6) 藤本尚志，大西章博，鈴木昌治，岸田直裕，秋葉道宏，村田直樹，本山信行，野田尚宏，松倉智子，関口勇地．次世代シーケンサーによる鱒川の植物プランクトン生物相の評価．第 48 回日本水環境学会年会；2014 年 3 月；仙台．同講演集 pp. 245 .

(7) 福田真美子，藤本尚志，大西章博，鈴木昌治，村田直樹，本山信行，岸田直裕，秋葉道宏．分子生物学的手法による鱒川の植物プランクトン生物相の評価．第 48 回日本水環境学会年会；2014 年 3 月；仙台．同講演集 pp. 619 .

(8) 遠藤沙紀，藤本尚志，大西章博，鈴木昌治，藤瀬大輝，岸田直裕，秋葉道宏．分子生物学的手法による浄水場におけるろ過漏出障害原因生物の評価．第 48 回日本水環境学会年会；2014 年 3 月；仙台．同講演集 pp. 630 .

(9) 小高千裕，藤本尚志，大西章博，鈴木昌治，

藤瀬大輝，岸田直裕，秋葉道宏．分子生物学的手法による相模湖のピコシアノバクテリア生物相の評価．第 48 回日本水環境学会年会；2014 年 3 月；仙台．同講演集 pp. 618 .

(10) 藤本尚志，大西章博，鈴木昌治，藤瀬大輝，岸田直裕，秋葉道宏．クローニング法および次世代シーケンサーによるろ過漏出障害原因生物の評価．平成 26 年度全国会議(水道研究発表会)；2014 年 10 月；名古屋．同講演集 pp. 540-541.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む。) 該当なし

I. 参考文献

1) Ivanikova, N. V., Popels, L. C., McKay, R. M. L., Bullerjahn, G. S., Lake Superior supports novel clusters of cyanobacterial picoplankton, *Applied and Environmental Microbiology*, 73, 4055-4065 (2007).

2) 一柳淳一、千葉信男、後藤光亀、須藤隆一：水源貯水池における植物ピコプランクトンの出現実態、*水環境学会誌*, 20, 29-35(1997).

3) Crosbie, N. D., Pöckl, M., Weisse, T., Dispersal and Phylogenetic Diversity of Nonmarine Picocyanobacteria, Inferred from 16S rRNA Gene and *cpcBA*-Intergenic Spacer Sequence Analyses, *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 5716-5721 (2003).

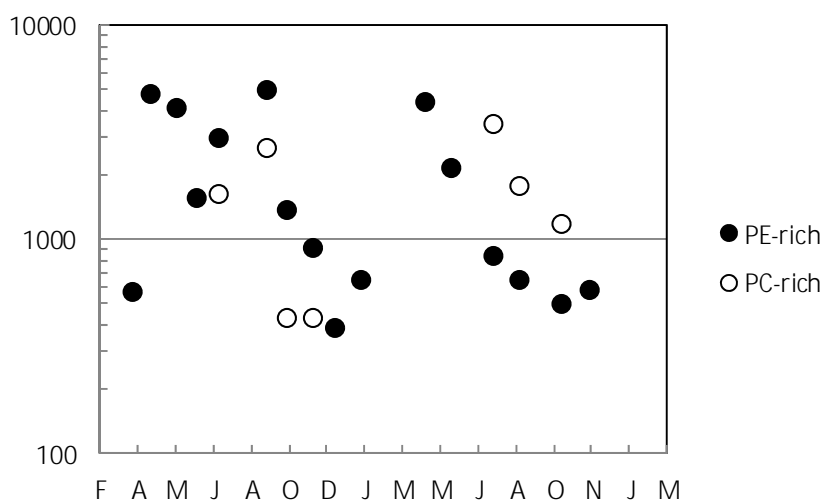


図 1 長沢浄水場原水のピコシアノバクテリア細胞数の推移 (2012 年、2013 年)

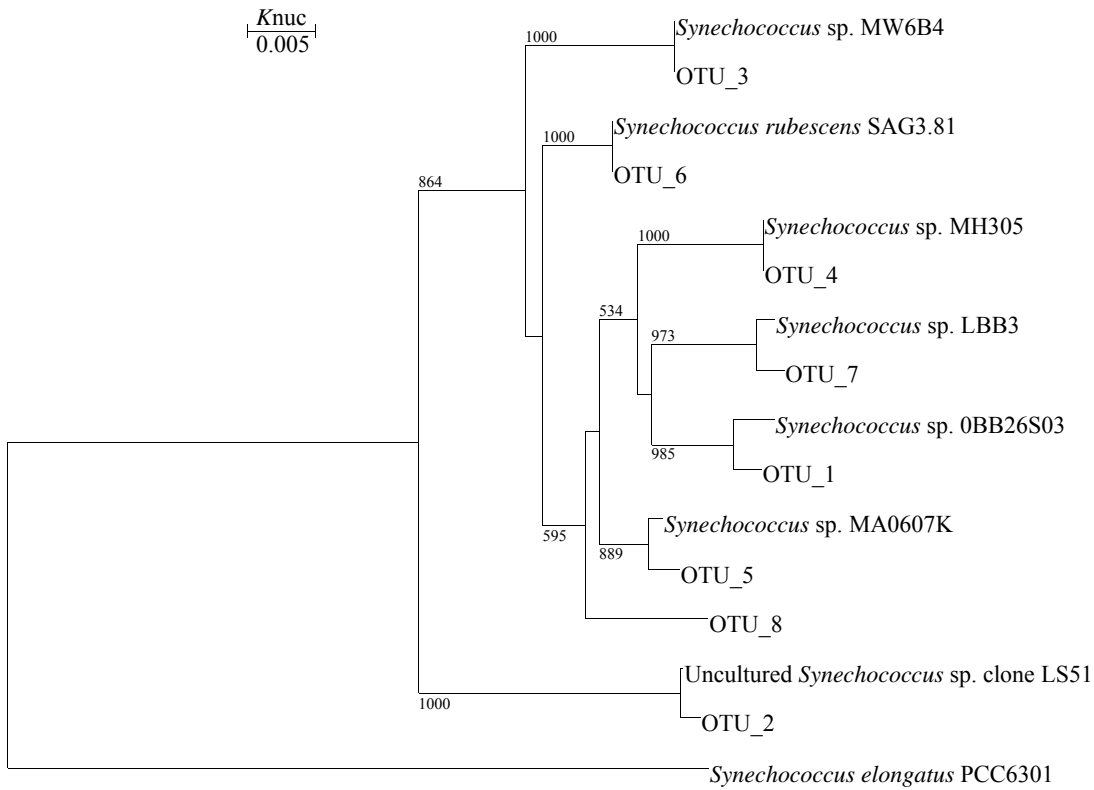


図2 長沢浄水場工程水から検出された OTU および分離株の 16S rRNA 遺伝子に基づく系統樹、約 580 塩基に基づいて作成、 \square : PE-type \square : PC-type

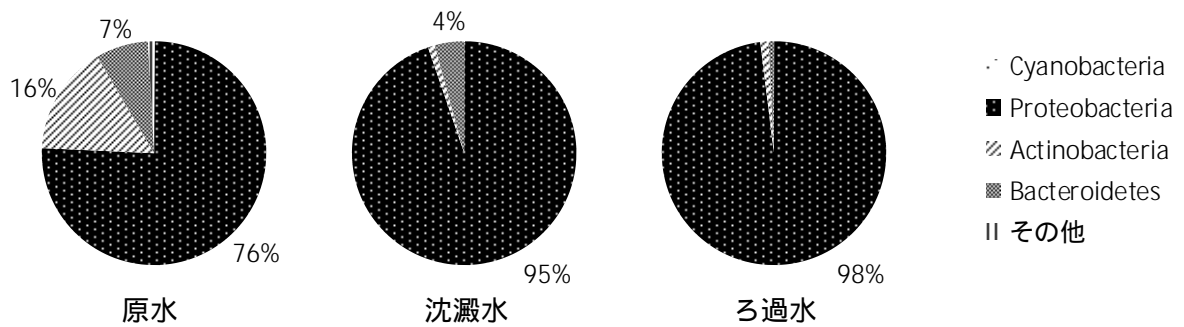


図3 長沢浄水場工程水の 16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンスによる真正細菌の門レベルの組成 (2012 年 10 月)

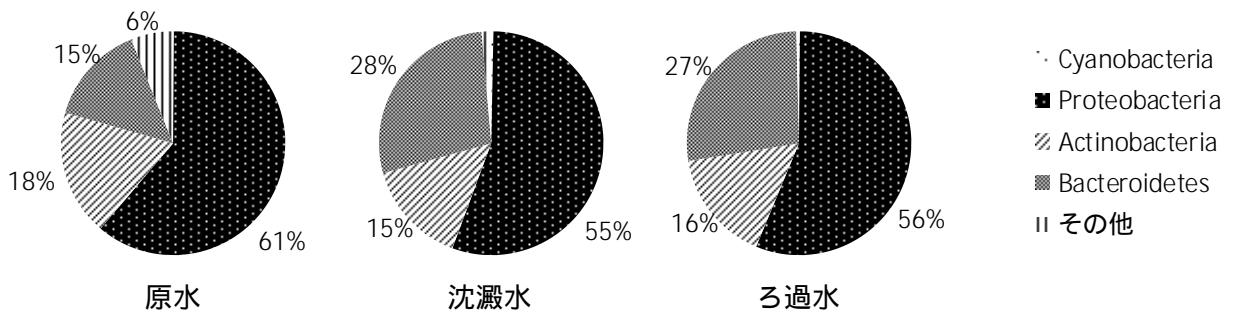


図4 長沢浄水場工程水の 16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンスによる真正細菌の門レベルの組成 (2013 年 2 月)

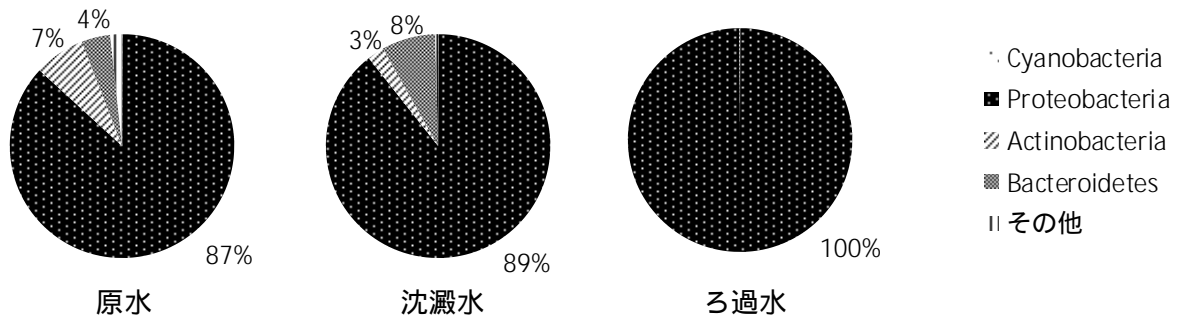


図5 長沢浄水場工程水の16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンスによる真正細菌の門レベルの組成 (2013年6月)

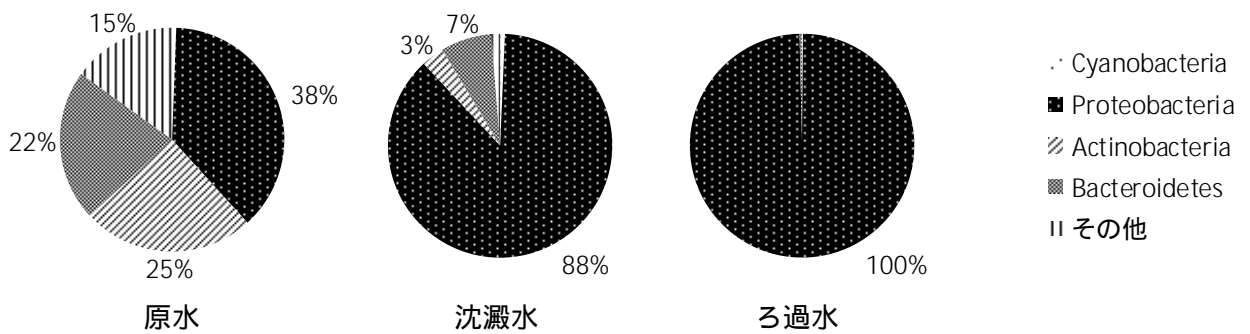


図6 長沢浄水場工程水の16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンスによる真正細菌の門レベルの組成 (2013年7月)

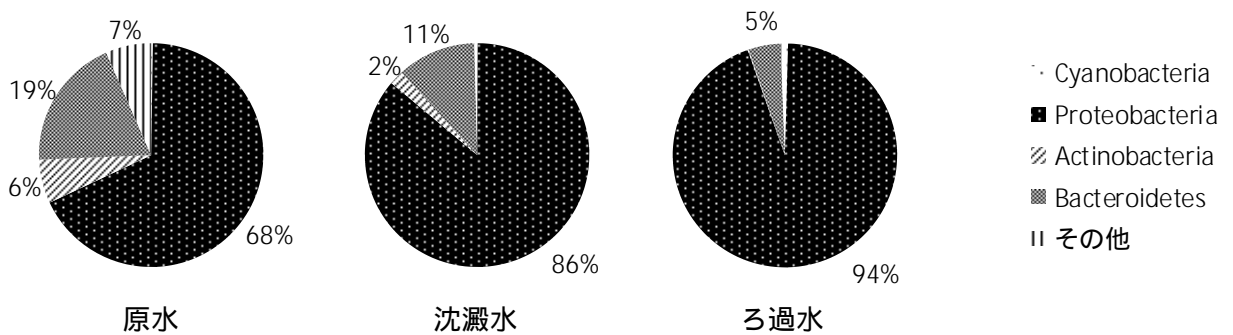


図7 長沢浄水場工程水の16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンスによる真正細菌の門レベルの組成 (2013年9月)

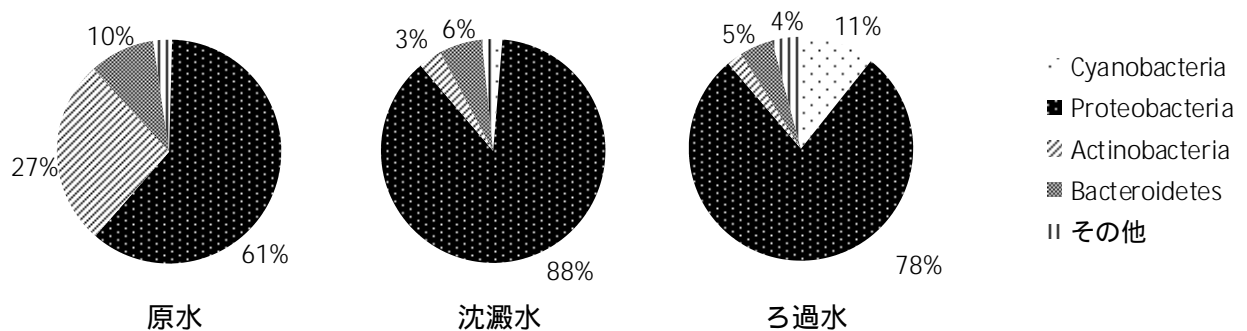


図8 長沢浄水場工程水の16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンスによる真正細菌の門レベルの組成 (2013年10月)

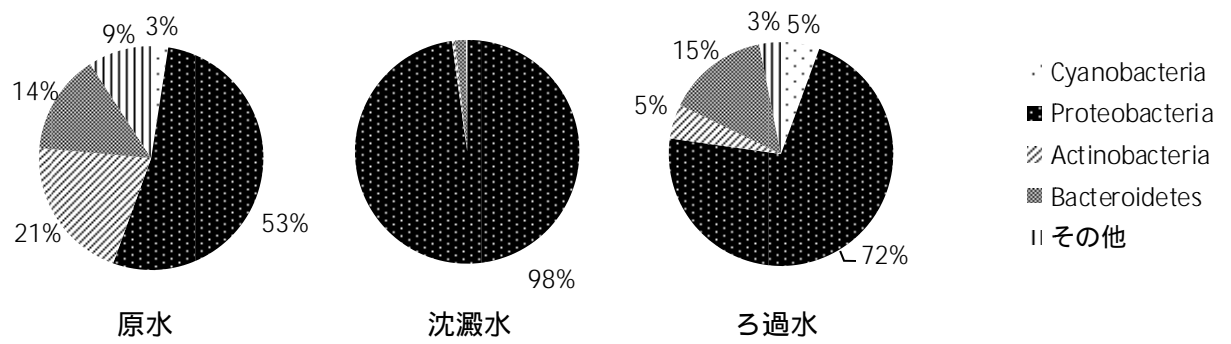


図9 長沢浄水場工程水の16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンスによる真正細菌の門レベルの組成 (2013年11月)

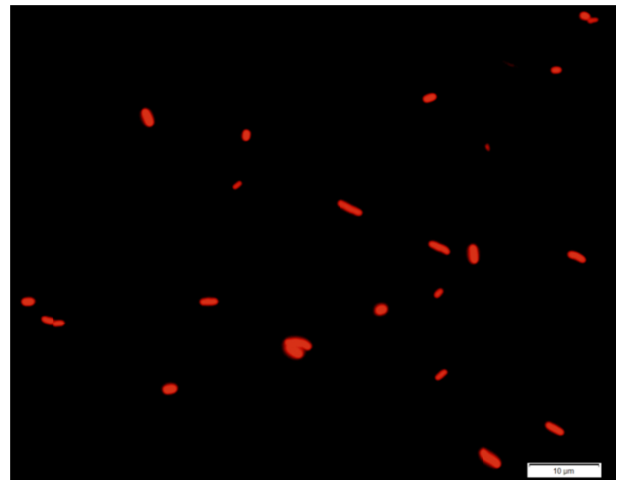
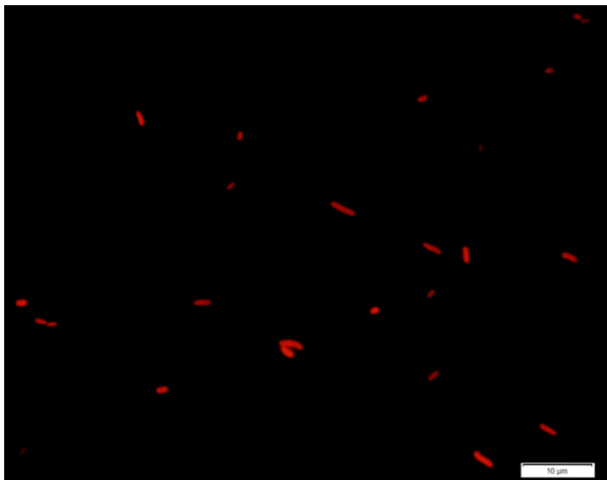


写真1 長沢浄水場原水から分離した N-1 株の落射蛍光顕微鏡写真 (左:B 励起、右 G 励起、バーは 10 μ m)

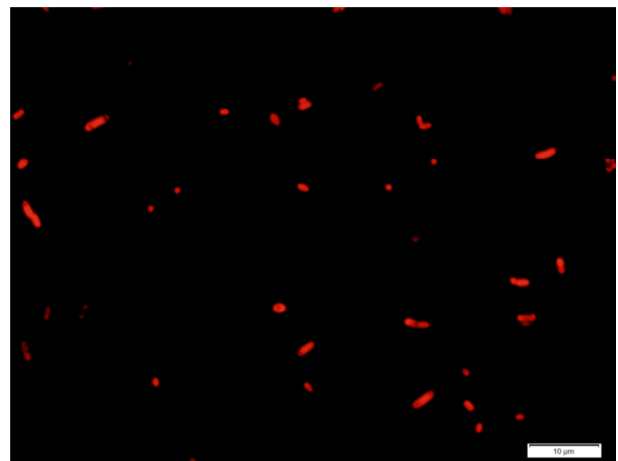
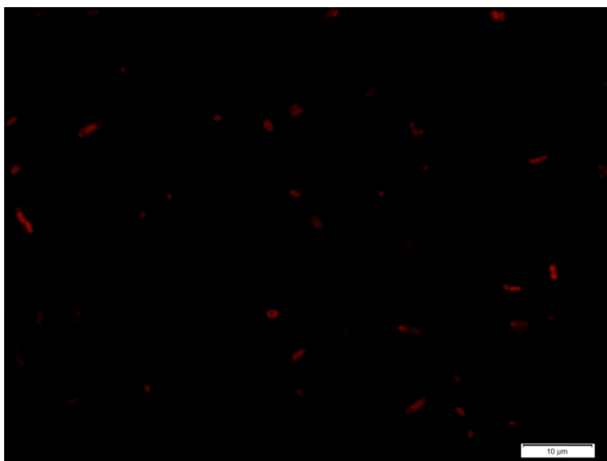


写真2 長沢浄水場原水から分離した N-2 株の落射蛍光顕微鏡写真 (左:B 励起、右 G 励起、バーは 10 μ m)

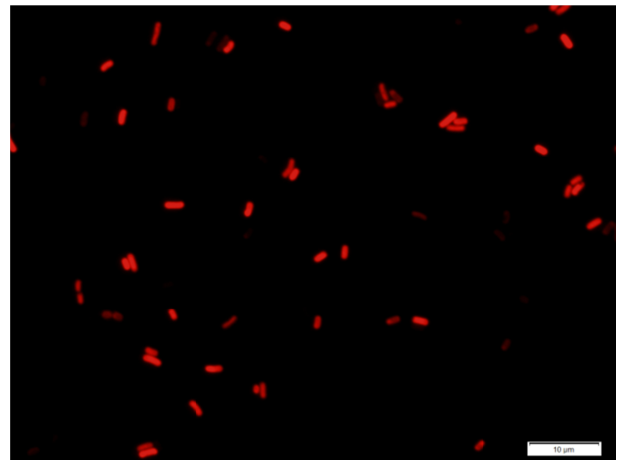
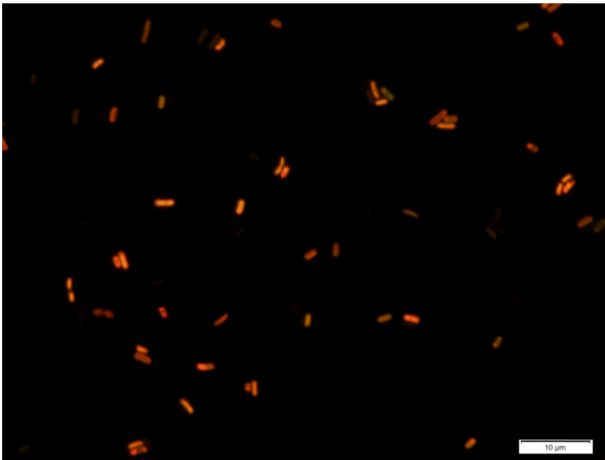


写真3 長沢浄水場沈澱水から分離した N-3 株の落射蛍光顕微鏡写真
(左:B 励起、右 G 励起、バーは 10 μ m)

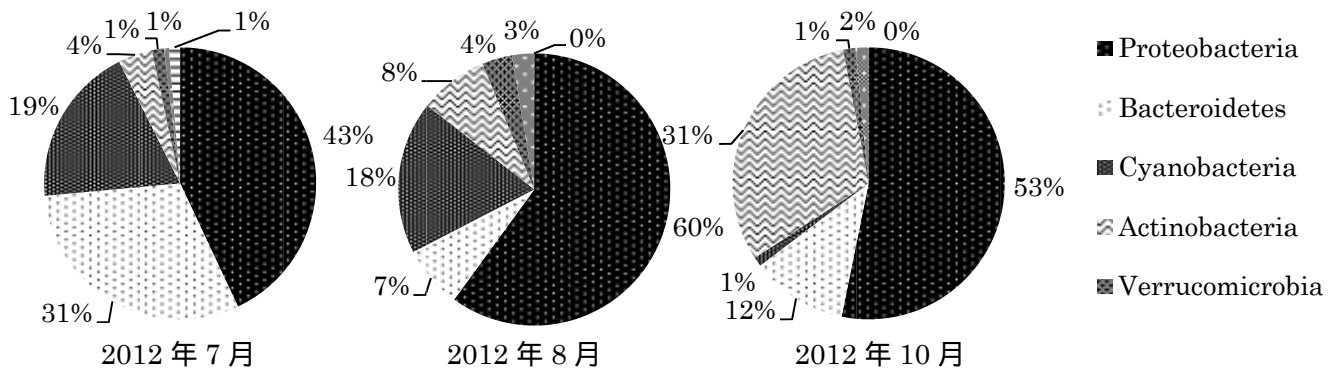


図10 草木湖の 16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンスによる真正細菌の門レベルの組成

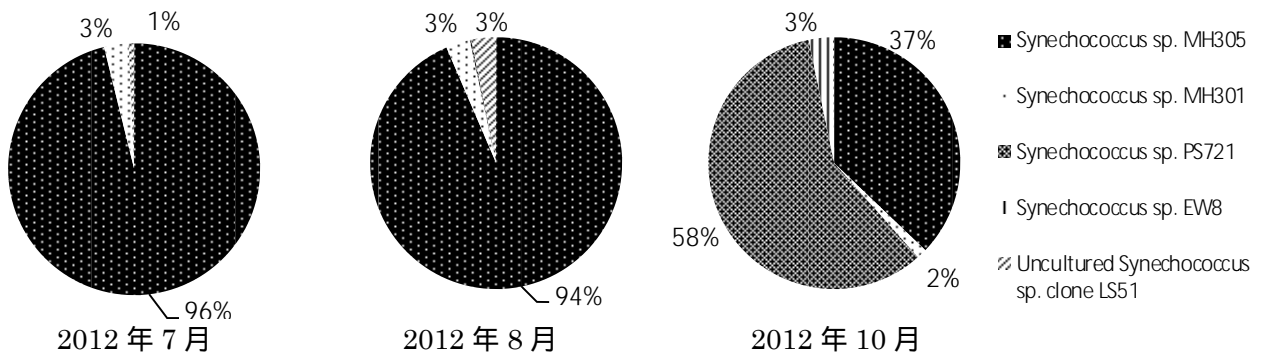


図11 草木湖の 16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンスによる *Synechococcus* 属の組成

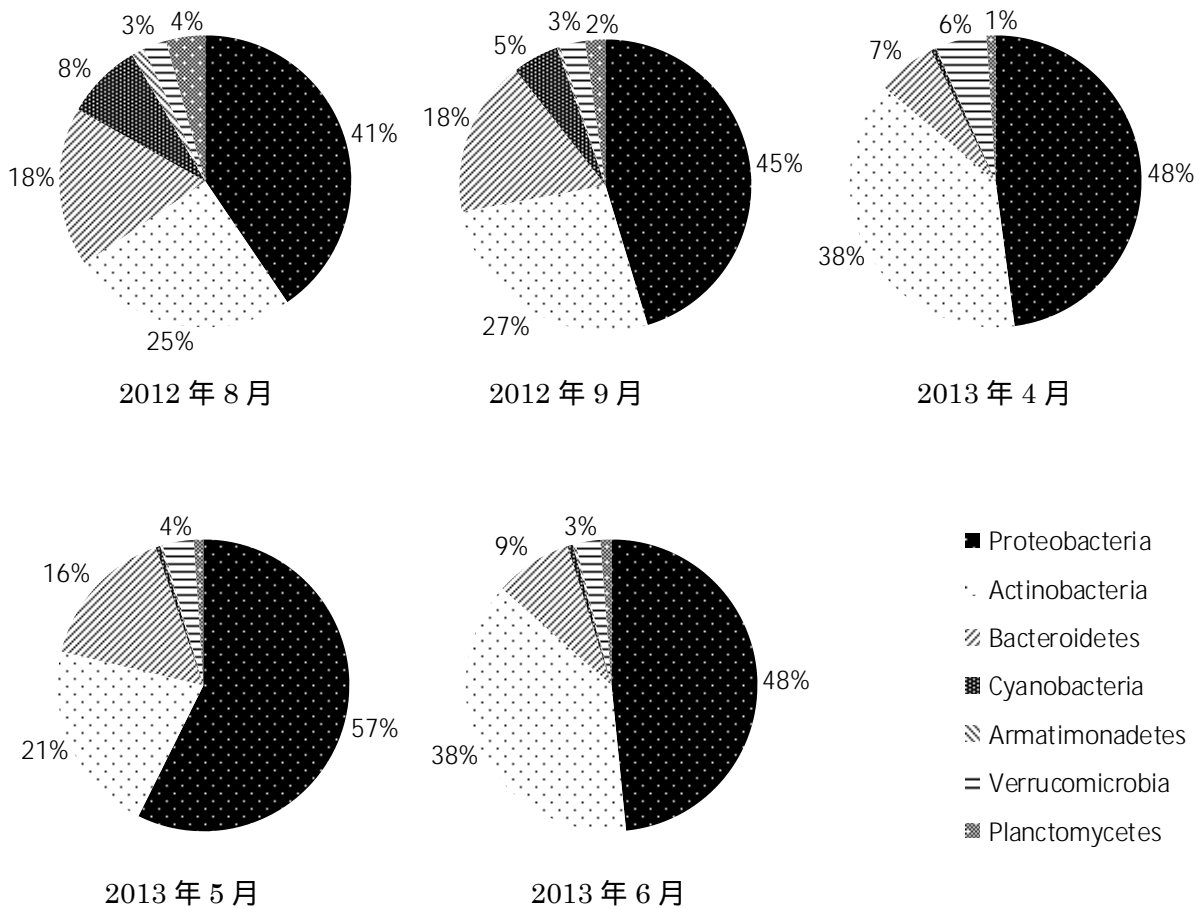


図 12 宮ヶ瀬湖の 16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンスによる真正細菌の門レベルの組成

表 2 宮ヶ瀬湖の 16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンスによる *Synechococcus* 属の OTU とその各月におけるリード数

OTU	Closest Relative	Identity(%)	2012		2013		
			Aug	Sep	Apr	May	Jun
LM_otu_1	<i>Synechococcus</i> sp. MW6B4	100	11510	3064	502	501	609
LM_otu_2	<i>Synechococcus rubescens</i> SAG 3.81	96	109	359	103	88	17
LM_otu_3	<i>Synechococcus rubescens</i> SAG 3.81	100	4276	107	27	88	61
LM_otu_4	<i>Synechococcus</i> sp. MH305	100	469	195	219	64	22
LM_otu_5	<i>Synechococcus</i> sp. MH305	97.2	91	4360	3	91	1
LM_otu_6	<i>Synechococcus</i> sp. PCC7918	99.2	96	2118	0	32	0
LM_otu_7	<i>Synechococcus</i> sp. MA0607K	99.6	275	104	0	1	0
LM_otu_8	<i>Synechococcus</i> sp. LBG2	99.6	4	192	0	3	0
LM_otu_9	<i>Synechococcus</i> sp. MH301	100	17	0	35	6	53
LM_otu_10	<i>Synechococcus</i> sp. PS721	100	130	36	0	1	0
LM_otu_11	<i>Synechococcus</i> sp. PCC7920	99.2	38	0	0	0	0
LM_otu_12	<i>Synechococcus</i> sp. 0BB22S0	99.2	7	0	0	0	0

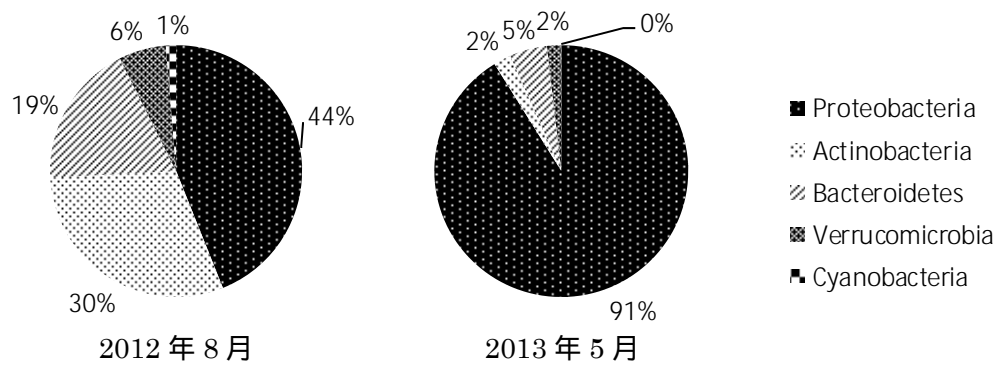


図 13 江戸川の 16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンスによる真正細菌の門レベルの組成

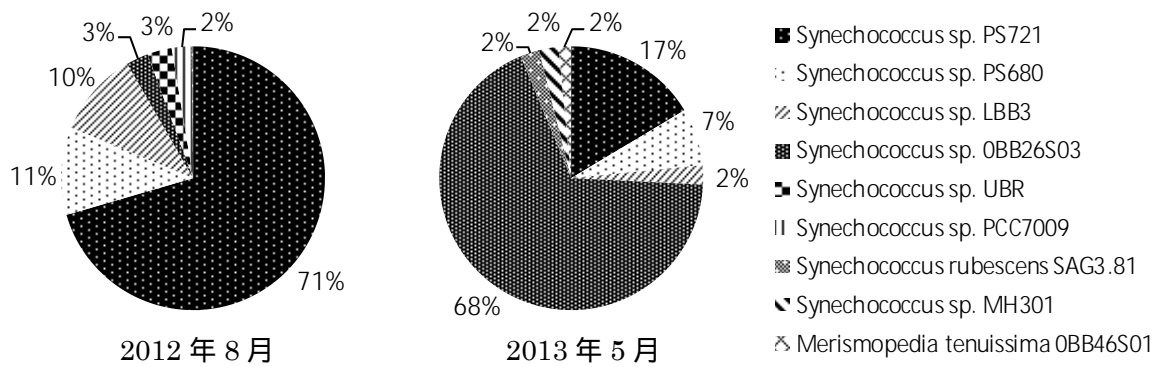


図 14 江戸川の 16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンスによる *Synechococcus* 属の組成

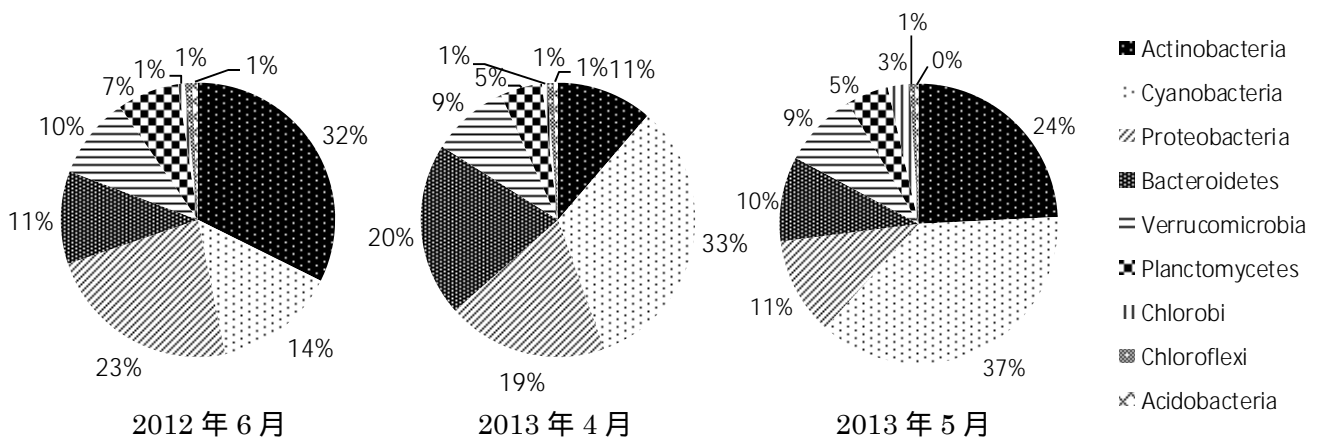


図 15 鰐川の 16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンスによる真正細菌の門レベルの組成

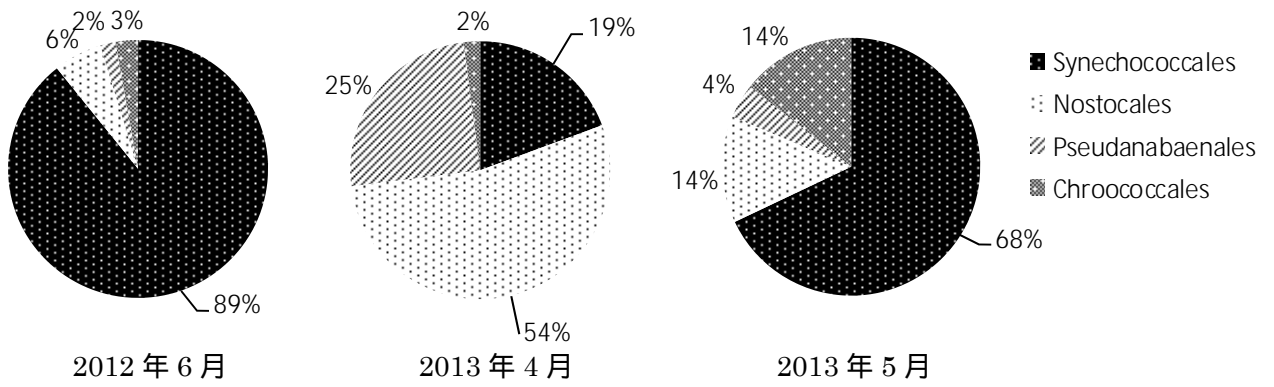


図 16 鱈川の 16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンスによる Cyanobacteria 門の組成

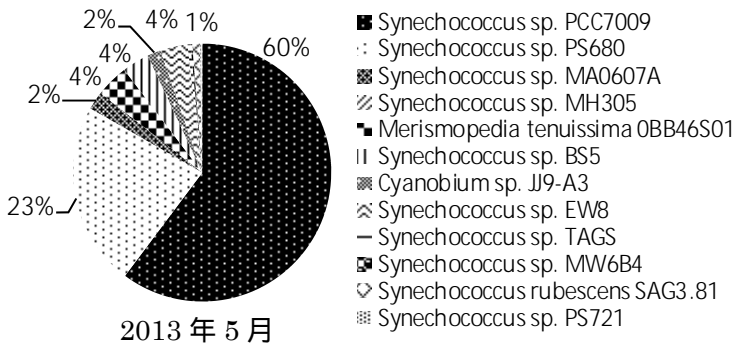
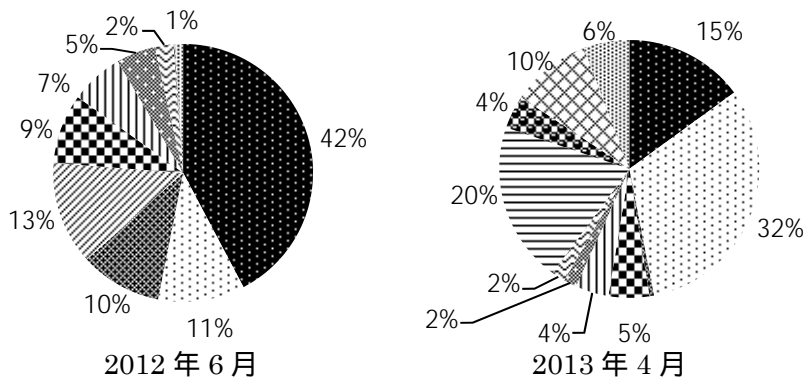


図 17 鱈川の 16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンスによる *Synechococcus* 属の組成

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：生物障害を起こさないための浄水処理技術の開発

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 西村 修 東北大学大学院工学研究科教授

研究要旨

本年度は、ピコ植物プランクトンによるろ過障害、濁度障害の問題への対応策として、浄水現場にて二段凝集が最もよく行われていることに鑑み、二段凝集の処理メカニズムの解明を目的に、培養したピコ植物プランクトンを懸濁させた原水を用いてラボスケールの凝集ろ過処理実験、および凝集沈澱ろ過処理実験を行い、二段凝集処理の効果を解析した。

その結果、ピコ植物プランクトンのような粒径の極めて小さい植物プランクトンに対して 5 mg-PAC/L の凝集剤を注入した凝集沈澱ろ過法において、粒径 200 μm 超にピークをもち、10 μm 以下のフロックがほとんど存在しないフロックを形成することが可能であり、このようなフロックは沈澱によっては 50% 程度しか除去できないものの、ろ過によってほぼ完全に除去できることが明らかになった。

しかし、凝集剤注入量がより少ない 2 mg-PAC/L の場合、濁度は完全には除去されずろ過漏出が生じた。一方、凝集剤注入量がより多い 10 mg-PAC/L の場合、ろ過水の濁度は 0 度となったものの、ろ過閉塞が生じた。さらに、ろ過水へのアルミニウムの漏出という観点から、最適凝集剤注入量より高い場合も低い場合もアルミニウム濃度が高まることが示唆された。

ピコ植物プランクトンを凝集沈澱処理するためには、粘土粒子等に比べて比重が小さく沈澱除去が困難であること、また粘土粒子等に比べてより多くの凝集剤注入量を必要とし、結果としてフロックの再分散を生じる可能性が高いことから、ろ過処理前に適切な凝集剤注入量によってろ過除去可能なフロックを形成する凝集ろ過法は、ピコ植物プランクトンの除去には極めて合理的であると言える。

A. 研究目的

近年、湖沼、ダム貯水池を水源とする浄水場でピコ植物プランクトンによるろ過障害、濁度障害が問題となっている。この対応策として現場では二段凝集が最もよく行われている¹⁾。二段凝集とは通常の凝集沈澱処理に加え、ろ過池直前で再度凝集剤を添加する方法である。しかし、二段凝集操作の効果に関する知見は経験的な要素が多く、メカニズムや最適な処理条件に関する報告は少ない。

そこで本研究では、二段凝集の処理メカニ

ズムの解明を目的に、培養したピコ植物プランクトンを懸濁させた原水を用いてラボスケールの凝集ろ過処理実験、および凝集沈澱ろ過処理実験を行い、二段凝集処理の効果を解析した。

B. 研究方法

1) ピコ植物プランクトン懸濁液の作成

ピコ植物プランクトンは(独)国立環境研究所 NIES-1348 の *Synechococcus* sp. を使用した。CB 培地にて温度条件 25 ± 1 、光

条件 $18 \mu\text{mol photons/m}^2/\text{sec}$ 、12-h light/12-h dark で培養を行った。

草木ダム堰堤上流の表層水を分析したところ Cyanobacteria 門が $1 \times 10^5 \sim 2 \times 10^5$ cells/mL 検出され、そのうち *Synechococcus* 属が 90% だったという報告を参考に¹⁾、培養した *Synechococcus* sp. を活性炭を通した水道水で 1×10^5 cells/mL の細胞数になるよう希釈し (濁度は 2 度程度) これを曝気攪拌したものを原水として使用した。

2) 凝集剤

ポリ塩化アルミニウム (PAC) を所定の濃度で用いた。

3) ゼータ電位の測定

ゼータ電位の測定には Micro-Electrophoresis Apparatus Mk II (Rank Brothers, UK) を用いた。室温 20 ± 1 、80mV の条件で、Smoluchowski 式によって計算してゼータ電位を得た。

4) 粒径分布の測定

粒径は日機装社の粒度分光計 Microtrac HRA 9320-X100 を用いて測定した。全体を 100% としたときのある粒径の出現割合を頻度として表した。

5) アルミニウム濃度の測定

処理水に残留するアルミニウム濃度の測定は Thermo Scientific 社製 ICP-AES iCAP6500 を用いて行った。

6) 凝集ろ過実験

原水に凝集剤を注入した直後、ろ過を行う凝集ろ過法の実験は図 1 に示す装置を用いて以下の通り行なった。

ろ過には直径 3 cm、高さ 100 cm の円筒を使用した。ろ過速度が 100 m/d の急速ろ過になるよう流量は 50 mL/min に調整した。このろ過筒に有効径 0.5 mm、均等係数 1.5 の砂を高さ 50 cm 部分まで充填した。そして、ろ材の表層から深さ 5、15、30 cm の位置の水頭を測定できるようにマノメーターを設置した。

凝集剤の注入条件は 0、2、5、10 mg-PAC/L の 4 条件であり、攪拌は行わず、ろ過層上部の水を貯留する空間で原水と凝集剤を混合

した。

実験は 1 回毎に逆流洗浄を行った。1 回のろ過継続時間は 2 時間とし、15 分毎にろ水をサンプリングして濁度、損失水頭を測定した。ろ層に流入する粒子のゼータ電位は、凝集剤を添加した後の水をサンプリングして測定した。

7) 凝集沈澱ろ過実験

日本水道協会がまとめた「水道施設基準解説」を参考に、急速攪拌槽、フロック形成槽、沈澱槽を作成した。また、本実験には凝集ろ過実験で使用したろ過筒を使用した。概要を図 2 に示す。

ろ過速度が 100 m/d の急速ろ過になるよう流量は 50 mL/min に調整し、この流量で急速攪拌を約 7 分、緩速攪拌を約 30 分、沈澱を約 1 時間となるように各槽を設計した。

急速攪拌槽は直径 7cm、高さ 20cm の円筒であり、高さ 10cm の位置から水を流出させた。凝集剤、および原水はポンプを用いて流量を調整し、急速攪拌槽中の円筒の流入口の上部から注入し、下部のスターラーで攪拌されるようにした。攪拌にはスターラーを使用した。G 値は 100 s^{-1} に設定した。

フロック形成槽は縦 9cm、横 15cm、高さ 10cm の直方体である。急速攪拌槽からの処理水は阻流板によりフロック形成槽の下部でプロペラ攪拌機により満遍なく攪拌されるようにした。G 値は 18 s^{-1} に設定した。

沈澱槽は縦 9cm、横 40cm、高さ 10cm の直方体である。フロック形成槽と接続しており、フロック形成槽の処理水が越流して流れ込むようにした。またフロック形成槽と同様に阻流板を使用した。

急速攪拌槽における凝集剤濃度は 2、5、10 mg-PAC/L に設定した。実験は 1 回毎に逆流洗浄を行った。1 回のろ過継続時間は 3 時間とし、30 分毎にろ水、1 時間毎に沈澱処理水をサンプリングした。測定項目は濁度、粒径分布、ゼータ電位とした。

C. 研究結果および D. 考察

1) 凝集ろ過実験

凝集ろ過法の濁度処理能力を図3に示す。凝集剤を添加しない系では原水の濁度2.2度に対してろ過水の濁度は1.9度と14%の濁度が除去されるにとどまった。

これに対して凝集剤を添加した系では、ろ過漏出が起こった2mg-PAC/Lでも原水濁度2.3度からろ過水濁度0.3度と87%以上除去されていた。さらにこの系でも1時間を過ぎてからの濁度は0度(検出下限値未満、以降同様)となった。

一方、凝集剤注入量5、10mg-PAC/Lの場合は、初期より一貫してろ過水濁度が0度であった。

凝集ろ過法における総損失水頭の経時変化を図4に示す。2時間目の総損失水頭は2mg-PAC/Lで1.2cm、5mg-PAC/Lで4.7cm、10mg-PAC/Lで19.3cmであり、凝集剤濃度を高くするにつれて総損失水頭が顕著に上昇した。図5に、凝集ろ過法の2時間後の損失水頭の鉛直分布を示す。凝集剤濃度の増加に対し、表層での損失水頭は急激に上がり、10mg-PAC/Lの系ではろ層表面でろ過閉塞を引き起こしたことが分かる。

表1には各凝集剤注入量においてろ層に流入するフロックのゼータ電位を示した。ピコ植物プランクトンのゼータ電位が約-30(mV)であるのに対して、凝集剤注入量が増加するにつれて荷電中和が生じたが、10mg-PAC/Lでも-15(mV)であり、良好な凝集に必要な荷電中和領域である-5~+5(mV)²⁾には達しなかった。

本研究結果から、ピコ植物プランクトンの除去にろ過直前の凝集剤添加が有効であることが確認された。また、わずかにろ過漏出が起こった2mg-PAC/Lでも1時後には濁度がほぼ0となっており、時間とともにフロックの捕捉能力が向上したことが伺われる。

海老江ら³⁾は、PACをろ過装置に流した場合、ろ層上部5cmでアルミニウムが50%抑留されたことを明らかにしているが、ろ過直前に添加した凝集剤がろ層表面に抑留され、フロックを捕捉する能力を高めたために、2mg-PAC/Lの系で時間経過とともにフロッ

ク捕捉能力が高まったと考えられる。

2) 凝集沈澱ろ過実験

凝集沈澱ろ過法における沈澱処理水の濁度の経時変化を図6(a)に、ろ過処理水の濁度の経時変化を図6(b)に示す。凝集剤注入量2mg-PAC/Lの場合1.6度弱の濁度、凝集剤注入量5、10mg-PAC/Lの場合1度強の濁度でろ過筒へ流入していた。しかし、ろ過処理によって2mg-PAC/Lの系を除き濁度は0度となった。2mg-PAC/Lの系においては、0.5hの時のみ濁度が0.2度程度であり、「クリプトスポリジウム等対策指針」において求められている0.1度未満を達成していなかったが、それ以降は0.1度未満を達成していた。

凝集沈澱ろ過法における総損失水頭の経時変化を図7に示す。凝集沈澱ろ過法では、実験終了時の3時間目の総損失水頭は2mg-PAC/Lで1cm、5mg-PAC/Lで1.6cm、10mg-PAC/Lで4.6cmであった。凝集剤濃度を上げると総損失水頭も増加するが、凝集ろ過実験で見られた急激な総損失水頭の増加は見られず、処理が良好に継続したことが分かる。

2時間目の総損失水頭を凝集沈澱ろ過法と凝集ろ過法で比較すると、2mg-PAC/Lで2倍、5mg-PAC/Lで5倍、10mg-PAC/Lで9倍、凝集ろ過法の総損失水頭が大きかった。

ろ過漏出が起こった2mg-PAC/L系の粒径分布を図8に示す。ここで、縦軸の頻度は粒子全体の個数に対する各粒径の粒子の出現頻度を示す(各ラインで示される頻度の総和(面積)は100%として示している)。沈澱槽で沈降するフロック(沈澱物)と浮遊するフロック(浮遊物)の粒径を比較すると、沈澱物には浮遊物よりやや大き目の100 μ m以上のフロックが存在し、一方浮遊物は10 μ m以下の比較的小さなフロックが存在した。この差が沈澱によって除去されたフロックの特徴を表している。すなわち図6に示したように凝集沈澱ろ過法において凝集沈澱処理によって濁度が2.2度から1.6度に低下したが、この結果は粒径100 μ m以上のフロックが除去されたことによるものと見ることが

できる。しかし、ろ過漏出した粒径の大きさは沈澱物、浮遊物におけるフロック粒径分布とは異なり、 $4.2\ \mu\text{m}$ にピークが検出された。図8にはピコ植物プランクトンそのものの粒径分布も示したが、それは $1\ \mu\text{m}$ 程度にピークを有する粒径分布をもっている。したがって、ろ過漏出したピコ植物プランクトンは未凝集ではなく微小なフロックを形成していたことがわかるが、凝集沈澱、さらにはろ過で除去されるフロックよりも小さいフロックであると言える。

表2には、凝集沈澱ろ過処理水中に検出されたアルミニウム量を示す。水道水をベースに原水を作成したが、それは 0.04mg-Al/L 程度のアルミニウムを含んでいた。これに対して凝集剤注入量2、5、 10mg-PAC/L の条件では、それぞれ 0.12 、 0.01 、 0.18mg-Al/L のアルミニウムが検出された。 2mg-PAC/L では濁度が0度にはならず、フロックのろ過漏出が起きていた。これによってアルミニウム濃度の上昇が生じたと考えられる。一方、 10mg-PAC/L では濁度は0度であったが、より高いアルミニウム濃度が検出されたのは、凝集剤がピコ植物プランクトンおよび砂と反応せずにそのまま漏出した可能性が考えられる。

3) 二段凝集の効果

図9には、ピコ植物プランクトン懸濁液の急速攪拌後の粒径分布に及ぼす凝集剤注入量の影響を示す。2から 5mg-PAC/L へと凝集剤注入量増加させると、粒径のピークは 105 から $228\ \mu\text{m}$ へと増加した。しかし、 10mg-PAC/L まで増加させると、一部の再分散が起こり、 $5.5\ \mu\text{m}$ にも粒径のピークが表れた。丹保ら⁴⁾は、水酸化アルミニウム重合物の量が過剰に存在するとフロック径は大きくなることを明らかにしているが、本実験でも同様の現象が確認された。

以上の結果をふまえて、二段凝集の効果を考察する。

最適凝集剤注入量は凝集沈澱による濁度の除去性を指標として、ジャーテストによって決定されることが一般的である。すなわち、

凝集剤添加によってゼータ電位を $-5\sim+5$ (mV)の荷電中和領域に調整し、より大きなフロックが形成される条件を整えることが、沈澱除去率を高める条件である。しかし、植物プランクトンを荷電中和するためには、粘土鉱物等と比較してより多くの凝集剤注入量を必要とするため⁵⁾、本研究で明らかになったように凝集剤注入量の増加によって一部が再分散する可能性が高い。

一方で、本研究で明らかになったように、ピコ植物プランクトンのような粒径の極めて小さい植物プランクトンに対して $5\ \text{mg-PAC/L}$ 程度の凝集剤を注入することで、粒径 $200\ \mu\text{m}$ 超にピークをもち、 $10\ \mu\text{m}$ 以下のフロックがほとんど存在しないフロックを形成することが可能である。ただし、これも本実験で明らかにしたように、粒径 $100\ \mu\text{m}$ 超のフロックは沈澱除去できたものの、それ以下の粒径の沈澱除去性は悪く、濁度としては除去率が50%程度であった。これにはピコ植物プランクトンの比重も関係すると思われる。すなわち粘土粒子等の比重2.6程度に比べて植物プランクトンの比重は1に近く、沈澱させるためにはより大きなフロックを形成させる必要がある。

一方で、ろ過による粒径 $100\ \mu\text{m}$ 以下のフロックの除去効率は極めて高く、ろ過漏出したフロックの粒径分布が $4.2\ \mu\text{m}$ にピークをもち、 $10\ \mu\text{m}$ 以上のフロックがほとんど存在しないことを考えると、粒径 $10\ \mu\text{m}$ 以上のフロックを形成する凝集条件が、凝集ろ過では重要と考えられる。

このような凝集条件は、ゼータ電位で示される荷電中和領域からははずれており、凝集剤の注入量が低い場合は $10\ \mu\text{m}$ 以下のフロックが形成され、また高い凝集剤注入量においてもフロックの一部が再分散して $10\ \mu\text{m}$ 以下となるため、最適な凝集剤注入量を保つことが重要である。

さらに、ろ過水へのアルミニウムの漏出という観点からも、最適凝集剤注入量より高い場合も低い場合もアルミニウム濃度が高まることが示唆された。

また、総損失水頭の急激な上昇、すなわちろ過閉塞の観点からは、過剰な凝集剤注入量が問題であることも示された。

以上をふまえると、ろ過処理前に適切な凝集剤注入量によってろ過除去可能なフロックを形成する凝集ろ過法は、ピコ植物プランクトンの除去には極めて合理的であると言える。

E. 結論

ピコ植物プランクトンのように、凝集沈澱処理において多量の凝集剤注入量を必要とする懸濁物質の除去には、ろ過の前に凝集剤を添加する凝集ろ過法が合理的な処理法である。ただし、凝集剤注入量が少ない場合粒径 10 μm 以下のフロックが形成され、凝集剤注入量が多い場合フロックの再分散により一部が粒径 10 μm 以下となることから、最適な凝集剤注入量によってフロック径を 10 μm 以上に保つことが肝要である。

G. 研究発表

1) 論文発表
該当なし

2) 学会発表

(1)安齋英悟、AKTAS Tugrul Selami、西村修、藤本尚志、岸田直裕、秋葉道宏、LEE Shunhwa、ピコ植物プランクトンの凝集特性に関する基礎的研究、第 48 回日本水環境学会年会、2014 年

(2)安齋英悟、千葉信男、秋葉道宏、西村修、ピコ植物プランクトンに対する凝集ろ過法の効果、日本水処理生物学会、2014 年

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：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：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
- 2) Anthony Anable *et al.*: Chem, & Met. Eng. 45、No.5、1938
- 3) 海老江邦雄ら：PAC 被覆砂ろ過による濁質の高効率分離に関する基礎的研究、土木学会第 55 回年次学術講演会、2000
- 4) 丹保憲仁ら：フロック形成におよぼす凝集条件について、衛生工学、16、pp.37-47、1968
- 5) 秋葉道宏ら：Chlorella sp.の細胞内外有機物質の凝集阻害に関する基礎的研究、水道協会雑誌、60(2)、pp.2-10、1991

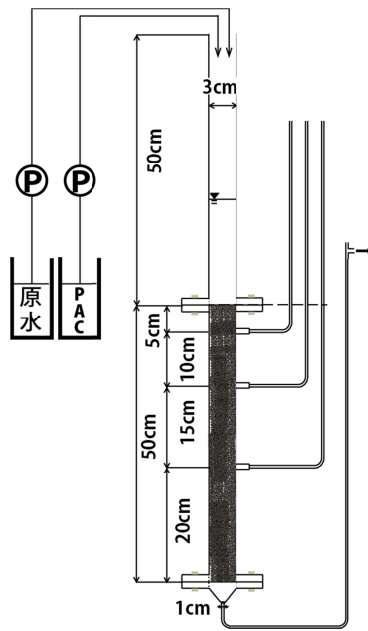


図1 凝集ろ過実験装置概要
 流量：50mL/min
 ろ過速度：100m/日

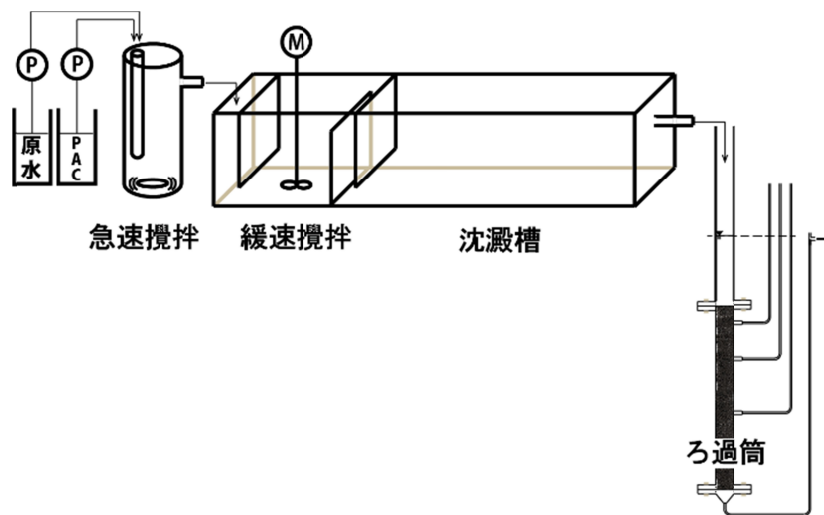


図2 凝集沈澱ろ過実験装置概要
 流量：50mL/min
 急速攪拌：G 値 $100s^{-1}$ 、7 分
 緩速攪拌：G 値 $18s^{-1}$ 、30 分
 沈澱：1 時間

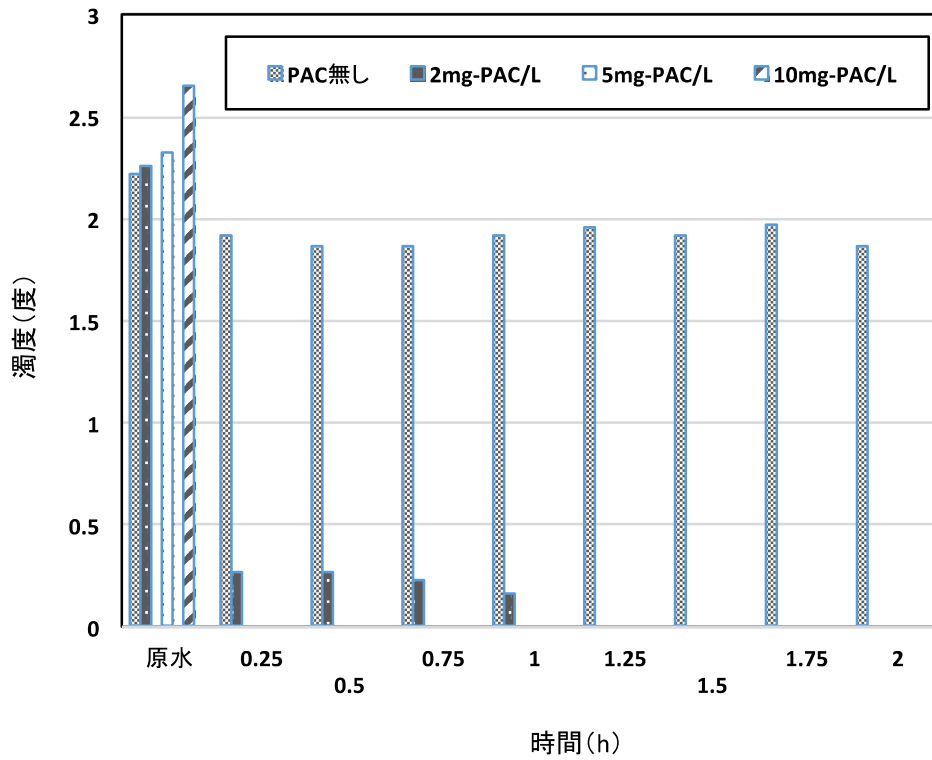


図3 ピコ植物プランクトン懸濁液の凝集ろ過における処理水濁度の経時変化

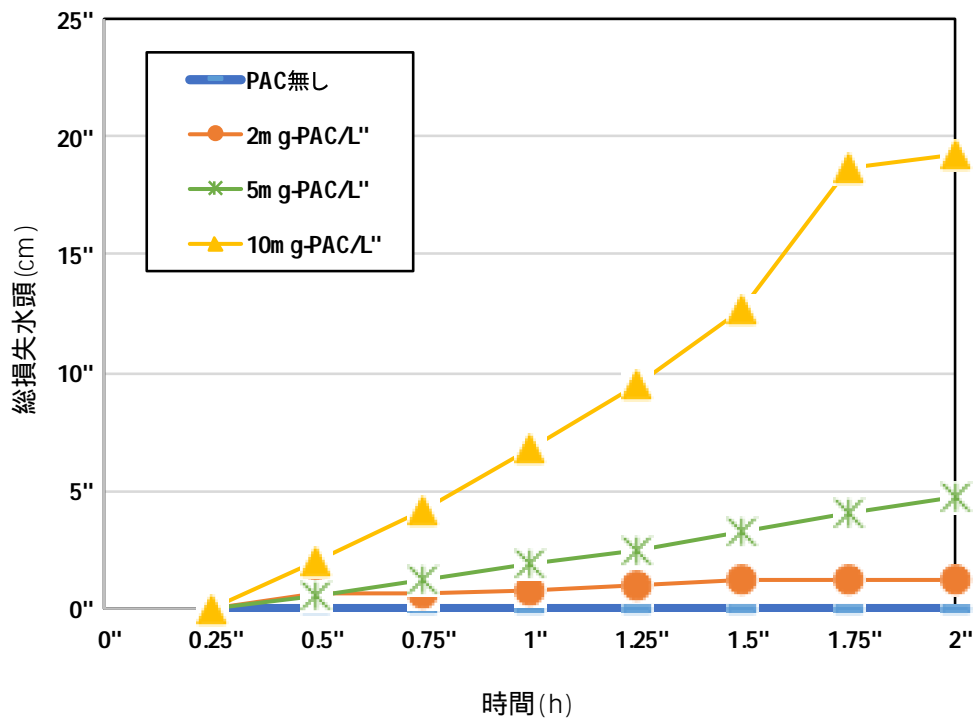


図4 ピコ植物プランクトン懸濁液の凝集ろ過における総損失水頭の経時変化

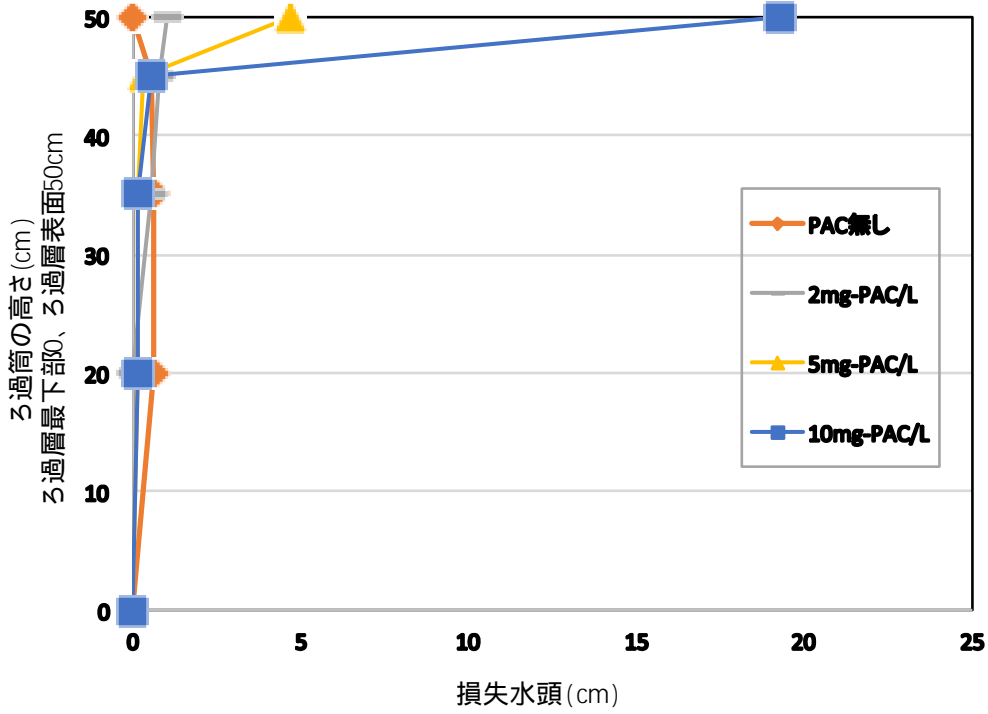


図5 ピコ植物プランクトン懸濁液の凝集ろ過における損失水頭の鉛直分布（2時間後）

表1 ピコ植物プランクトン懸濁液の凝集ろ過における凝集剤注入量とゼータ電位の関係

凝集剤注入量 (mg-PAC/L)	0(原水)	2	5	10
ゼータ電位(mV)	-29.3	-26.8	-21.7	-15.1

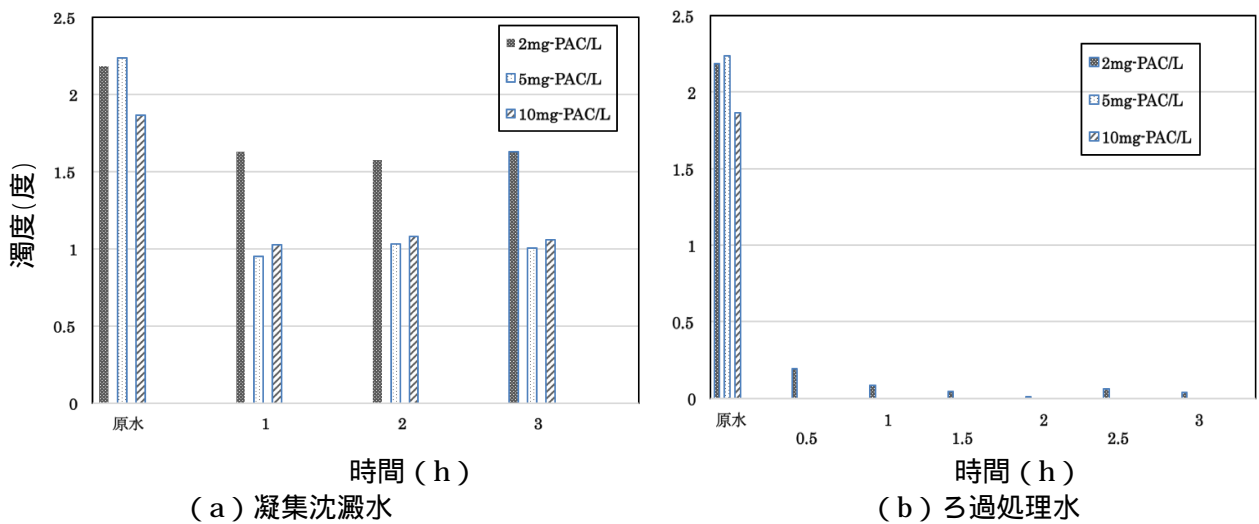


図6 ピコ植物プランクトン懸濁液の凝集沈澱ろ過における処理水濁度の経時変化

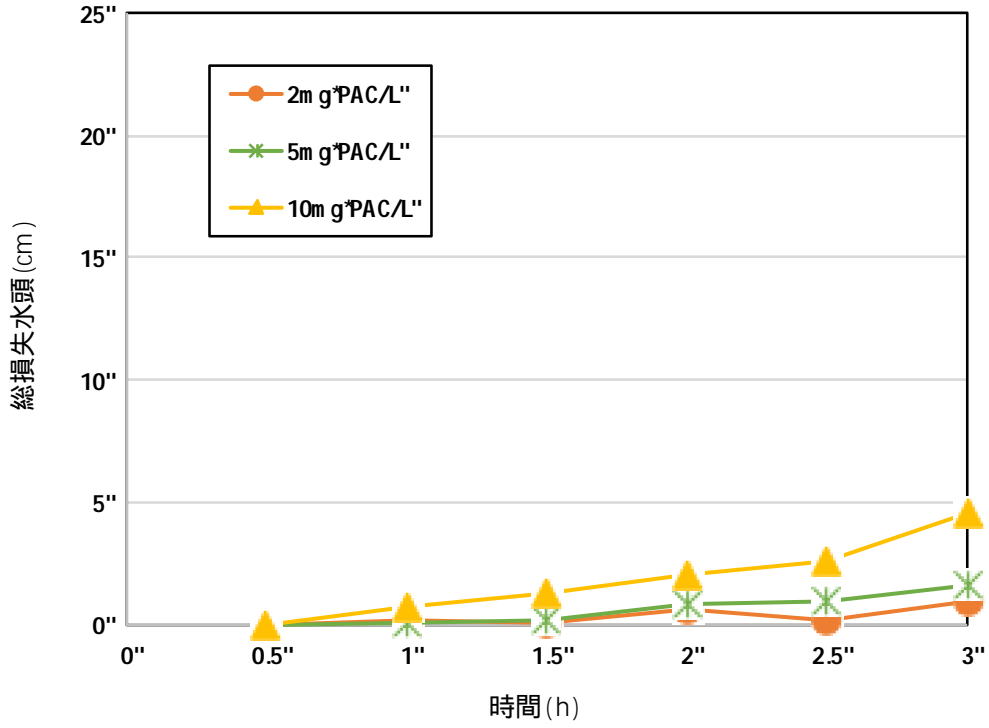


図7 ピコ植物プランクトン懸濁液の凝集沈殿ろ過における総損失水頭の経時変化

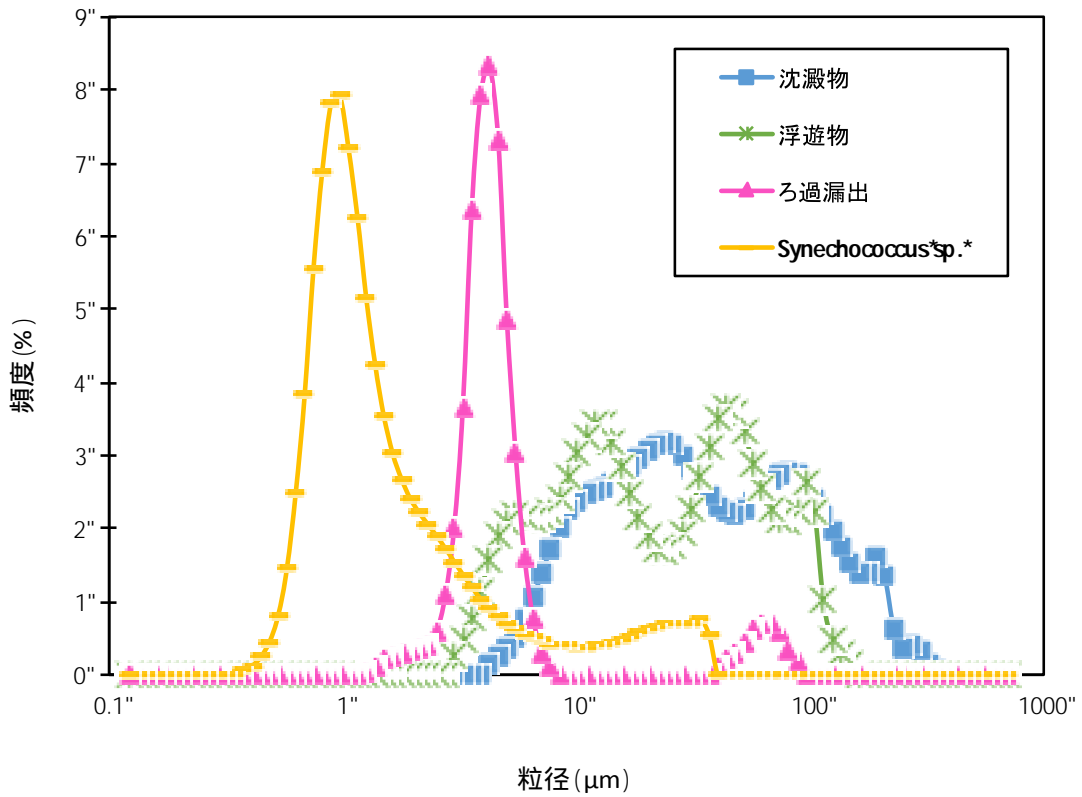


図8 ピコ植物プランクトン懸濁液の凝集沈殿ろ過過程における粒径分布の変化 (2 mg-PAC/L)

表2 ピコ植物プランクトン懸濁液の凝集沈澱ろ過における
処理水中のアルミニウム濃度

	2mg-PAC/L	5mg-PAC/L	10mg-PAC/L
原水	0.04	0.04	0.03
ろ水	0.12	0.01	0.18

Al(mg-Al/L)

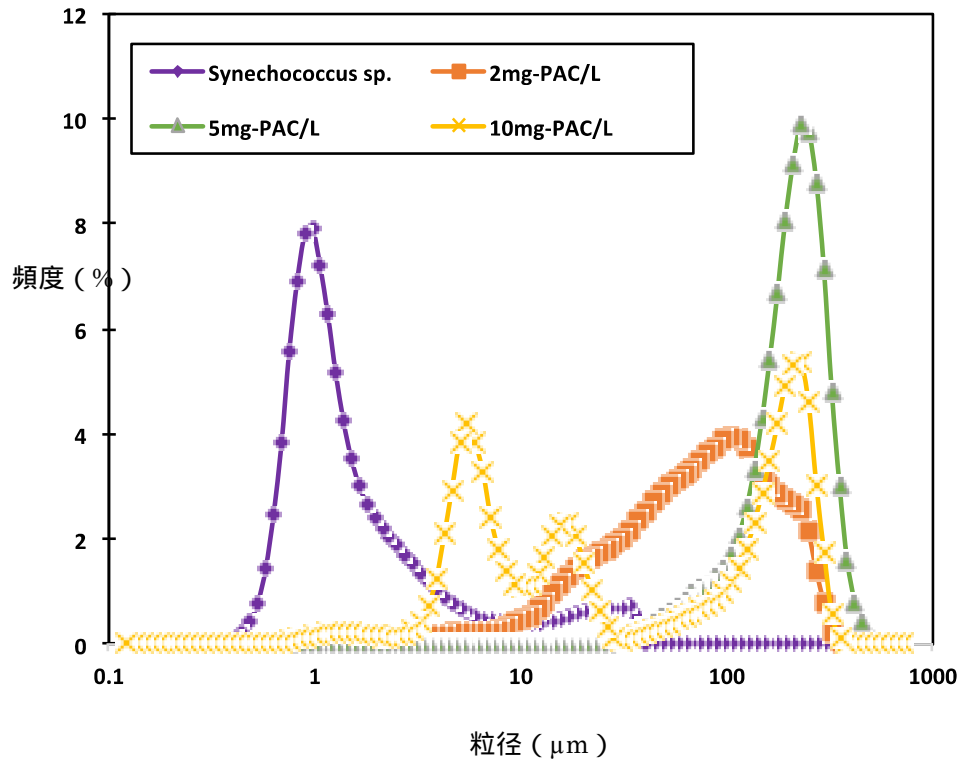


図9 ピコ植物プランクトン懸濁液の急速攪拌後の粒径分布に及ぼす凝集剤注入量の影響

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：水源貯水池における障害生物の発生実態解明

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 清水 和哉 東洋大学 生命科学部 応用生物科学科 講師

研究要旨

水道システムにおいて、気候変動による環境因子の変動や水温の上昇によって、水道障害物質が、水道水質基準値を突発的かつ持続的に超える事例が発生することや障害生物が異常増殖することが危惧されている。そこで、水質年報等のパブリックデータから、生物障害の分布の変動を把握することを目的とした。その結果、かび臭物質の水道水質基準値 0.00001 mg/L (10 ng/L) を超えた水道原水は増加傾向にあり、南日本から関東北部地域までの分布であったが、2 ng/L を超える水道原水は全国に分布していた。近年、関東北部以北における水道水質基準値を超えるかび臭発生報告がなされてきていることから、水道水質基準値を超えるかび臭発生が北上していくと推測された。水道統計から得た粉末活性炭の年間使用量とかび臭発生頻度は正の相関関係にあり、粉末活性炭の年間使用量は増加傾向にあることがわかった。異常増殖した植物プランクトンの属・種は、N/P 比と関係があることが確認された。

A. 研究目的

我が国の水道水源のほとんどが、表流水であるため、水道水源の水質は気候変動に影響を受けやすい。そのため気候変動による環境因子の変動や気温上昇に伴う水温の上昇は、水環境生態系を構成する微生物群集構造に影響を与えるとともに微生物の水道障害物質産生の引き金を刺激し、水道水質基準値を突発的かつ持続的に超えることや障害生物が異常増殖することが危惧されている。そこで、水質年報等のパブリックデータから、生物障害の分布の変動を把握することを目的とした。

B. 研究方法

パブリックデータとして公表されている水道統計¹⁾⁻¹⁰⁾や水質年報¹¹⁾⁻²¹⁾から、生物障害発生分布を解析し、障害生物の発生実態を把握した。水資源機構の管理水源の水質年報は、植物プランクトンの異常発生の状況が記

載されているため、異常増殖した植物プランクトンが異なる水源の水質を比較解析した。対象とした生物障害は、水道統計においては、かび臭物質（2-メチルイソボルネオール（2-MIB）、ジェオスミン）とし、水質年報からは植物プランクトンの異常増殖の発生状況とした。かび臭発生分布は、水道水質基準値が 0.00001 mg/L (10 ng/L) 以下と設定されていること、2 ng/L 程度までヒトが感知できることが報告されている²²⁾ことから、水道原水のかび臭物質濃度が、それぞれの濃度を超えた陽性回数(検出数)を解析した。また、水道統計に記載されている粉末活性炭や粒状活性炭、凝集剤の年間使用量の変動を解析した。

C. 研究結果および D. 考察

1) かび臭発生の実態把握

国内外において気候変動に伴う温暖化は、水道障害生物の異常増殖の発生頻度の上昇

および非発生地域が発生地域となるリスクが高まるという報告が多くなされている²³⁾⁻²⁵⁾。日本水道協会が発行している水道統計から得たかび臭物質の検査回数（陽性回数）から検出データを解析すると、平成 19 年度以降においてかび臭物質の発生頻度が上昇していることがわかった（図 1）。水道原水中の 2-MIB 濃度が 10 ng/L を超えた浄水場は、南日本から関東北部地域までとなっているが、平成 23 年度に青森県において初めて 2-MIB 濃度が、10 ng/L を超えたことが報告されている。水道原水中の 2-MIB 濃度が 2 ng/L を超えた浄水場は、すでに北海道まで至り、全国的に分布している。ジェオスミンにおいても、水道原水濃度が 10 ng/L を超えている浄水場のほとんどが南日本から関東の北部地域までとなっているが、年度によっては、東北地域を越えて北海道で検出された。従って、2-MIB とジェオスミンのどちらにおいても水道原水濃度が 2 ng/L を超えた浄水場は、全国に分布していた。北海道においては、昭和 26 年から平成 21 年の年平均気温を比較すると、気温が約 1°C 上昇していたことが報告されている²⁶⁾。北海道に着目すると、高頻度の年度では、平成 17 年度および平成 18 年度のおよそ 10 倍高い頻度で発生していることがわかった。高頻度化の傾向は、多くの県においても同様であった。以上から、かび臭物質産生微生物のかび臭物質産生の引き金を刺激する環境因子が顕在化すると、平成 23 年度の青森県で観測された様に水道原水のかび臭物質濃度が突発的に 10 ng/L を超えることがあると推測され、かび臭物質濃度が 10 ng/L を超える水道原水の分布が北上していくと推測された。水道水質基準値を超えるかび臭発生は、突発的に起こる事が多いことから、かび臭物質産生に關与する引き金を明らかにし、かび臭発生予測手法の確立が希求される。

2) 浄水処理薬品の年間使用量の変動

水道統計から浄水処理に用いる薬品の使用量を解析したところ、高度浄水処理法に用いる粉末活性炭の年間使用量は増加傾向に

あり、平成 24 年度において水道用水供給事業と上水道事業の合計で、19524.68 t であった。粒状活性炭においては、年間補充使用量は若干増加したものの、年間再生使用量は減少傾向にあることがわかった（図 2）。一方、凝集剤は平成 2 年度から平成 17 年度まで増加傾向にあったが、平成 23 年度および平成 24 年度は、平成 17 年度よりも少ない年間使用量であった。従って、粉末活性炭の年間使用量とかび臭発生の増加が正の相関関係にあることがわかった。以上から、かび臭発生が頻発する傾向が継続するに伴い、粉末活性炭の年間使用量が増加し続けると推測され、浄水処理コスト面からも、水源現場で実施可能なかび臭発生抑制手法の構築が期待される。

3) 植物プランクトンと水質との関係

植物プランクトンの異常増殖は、水温や窒素およびリンが関連していると広く知られている。原核生物である藍藻類によるアオコが広く知られているが、同様に真核生物である藻類による淡水赤潮も水道障害生物として大きな問題となっている。植物プランクトンの発生状況を水資源機構が公表している水質年報から解析すると、平成 15 年度から平成 25 年度までの期間において、生物障害を引き起こす植物プランクトンの異常発生が毎年報告されており、アオコのみならず淡水赤潮が決まった水源において頻発していた。淡水赤潮の主な原因生物は、*Peradinium bipes* であったが、一部水源においては、生ぐさ臭の原因生物である *Uroglena* sp. も観察された。淡水赤潮は全国的に分布しているが、水資源機構の管理水源に限定すると淡水赤潮発生水源は、吉野川水系に多くみられた。淡水赤潮の発生水源の例として吉野川水系である早明浦ダム、アオコの発生水源の例として利根川・荒川水系である霞ヶ浦として、それぞれ総窒素（TN）および総リン（TP）それらの比（TN/TP 比）を比較解析した。TN および TP は霞ヶ浦の方が高い値を示したが、TN/TP 比は低い値を示した。N/P 比が、植物プランクトンの優占に關連するという報告と同様となった²³⁾。近年の霞ヶ浦の TN/TP 比が、平成 15 年度および平成 16 年度の早明浦ダムの値と同程度を示す時期もあったが、淡水赤潮の発生は記載されていなかった。つまり、TN/TP 比や水温のみならず、植物プラ

ンクトン相を含む微生物群集構造の違いが、異常増殖する植物プランクトンの属・種に影響を与えたと考えられた。水道システムにおける生物障害への対応を強固とする生物障害原因生物群の異常増殖や障害物質の発生予測手法の確立のために、窒素やリンといった環境化学的調査データの継続的取得のみならず、顕微鏡観察や分子生物学的解析による生物種の同定・定量データの継続的取得が必須である。加えて、障害生物の代謝制御系のうち、障害物質産生に関与する引き金の機構解明および障害生物の異常増殖に関連する微生物群集構造等に立脚した種間相互作用の解明が重要である。

E. 結論

水道障害生物は、特定の汚濁源を有しない場合においても細胞密度が極めて低いながらも水環境中に生息していることが知られている。特に、かび臭物質産生原因となる放線菌は、底質中に広く分布している。室内実験研究から気候変動による様々な環境因子の変動や温暖化の進行に伴う水温上昇によって、植物プランクトンの異常増殖やかび臭物質等の二次代謝産物の産生が活発化することが考えられている。本研究結果から、水道水質基準値を超えるかび臭発生が東北地方および北海道へと北上していくことが推測された。水道障害生物である植物プランクトンの発生については、異常増殖が確認された生物が、規模に関わらず、ほぼ毎年継続的に観測されることがわかった。また水道障害は、地域によらず、今後も高頻度で発生する傾向が続くことが予想された。以上から、水道システムにおける生物障害の対策は、環境化学的知見のみならず生物・生態学的知見に立脚することが極めて重要であると結論した。

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

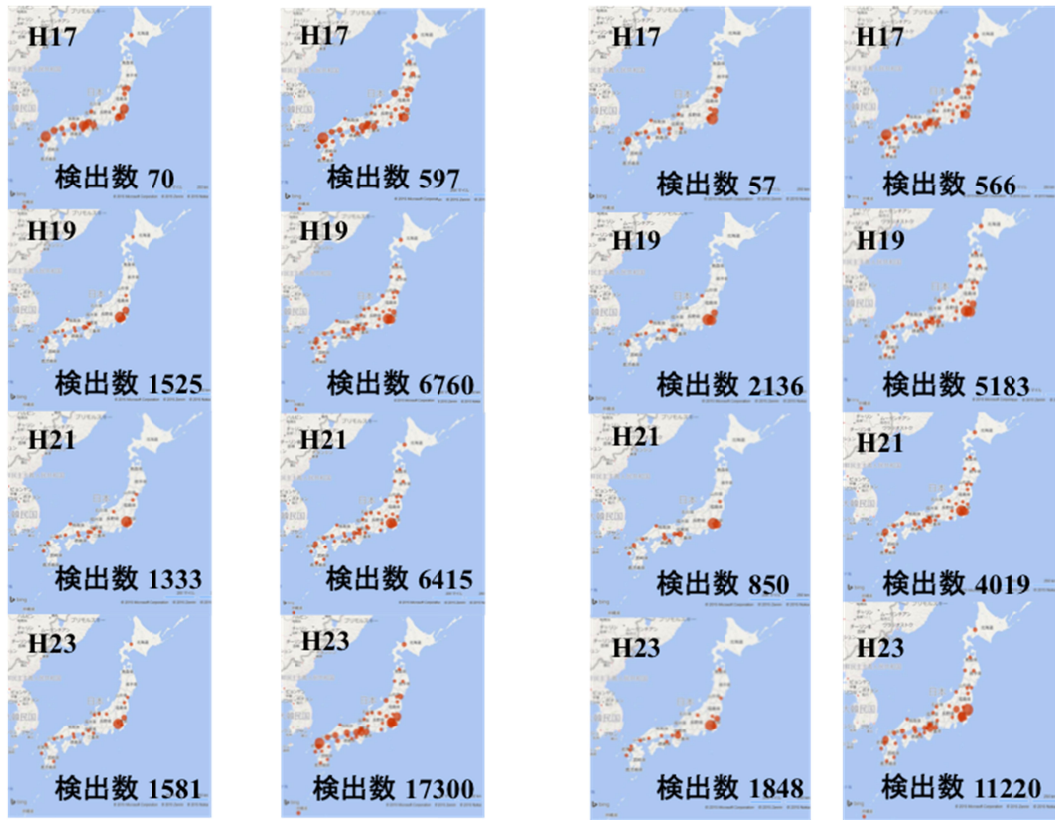
I. 参考文献

- 1) 日本水道協会 (1990) 平成 2 年度水道統計 施設・業務編 . 日本水道協会, 東京.
- 2) 日本水道協会 (1995) 平成 7 年度水道統計 施設・業務編 . 日本水道協会, 東京.
- 4) 日本水道協会 (2000) 平成 12 年度水道統計 施設・業務編 . 日本水道協会, 東京.
- 5) 日本水道協会 (2005) 平成 17 年度水道統計 施設・業務編 . 日本水道協会, 東京.
- 6) 日本水道協会 (2005) 平成 17 年度水道統計 水質編 . 日本水道協会, 東京.
- 7) 日本水道協会 (2011) 平成 23 年度水道統計 施設・業務編 . 日本水道協会, 東京.
- 8) 日本水道協会 (2011) 平成 23 年度水道統計 水質編 . 日本水道協会, 東京.
- 9) 日本水道協会 (2012) 平成 24 年度水道統計 施設・業務編 . 日本水道協会, 東京.
- 10) 日本水道協会 (2012) 平成 24 年度水道統計 水質編 . 日本水道協会, 東京.
- 11) 水資源機構 (2003) 平成 15 年水質年報. 水資源機構, 埼玉.
- 12) 水資源機構 (2004) 平成 16 年水質年報. 水資源機構, 埼玉.
- 13) 水資源機構 (2005) 平成 17 年水質年報. 水資源機構, 埼玉.
- 14) 水資源機構 (2006) 平成 18 年水質年報. 水資源機構, 埼玉.
- 15) 水資源機構 (2007) 平成 19 年水質年報. 水資源機構, 埼玉.

- 16) 水資源機構 (2008) 平成 20 年水質年報.
水資源機構, 埼玉.
- 17) 水資源機構 (2009) 平成 21 年水質年報.
水資源機構, 埼玉.
- 18) 水資源機構 (2010) 平成 22 年水質年報.
水資源機構, 埼玉.
- 19) 水資源機構 (2011) 平成 23 年水質年報.
水資源機構, 埼玉.
- 20) 水資源機構 (2012) 平成 24 年水質年報.
水資源機構, 埼玉.
- 21) 水資源機構 (2013) 平成 25 年水質年報.
水資源機構, 埼玉.
- 22) Young W.F., Horth H., Crane R., Ogden T.,
and Arnott M. (1996) Taste and odour
threshold concentrations of potential
potable water contaminants. *Water
Research* 30(2), pp.331-340.
- 23) 藤本尚志, 福島武彦, 稲森悠平, 須藤隆
一 (1995) 全国湖沼データの解析による
藍藻類の優占化と環境因子との関係.
水環境学会誌, 18(11), pp. 901-908.
- 24) Paerl W. H. and Huisman J. (2008) Blooms
like it hot. *Science* 320, p. 57
- 25) Paerl W. H. and Paul J. V. (2012) Climate
Change: links to global expansion of
harmful cyanobacteria. *Water Research*
46(5), pp. 1349-1363.
- 26) 気象庁札幌管区气象台、函館海洋气象台
(2010) 北海道における気候と海洋の変
動. 気象庁札幌管区气象台, 北海道.

J. 謝辞

本研究を展開するにあたり、資料の提供ならびに適切なるご助言を賜った、国立保健医療科学院田中和明氏、水資源機構ダム事業本部太田志津子氏に対し深甚なる謝意を表する。



原水ジェオスミン濃度 10 ng/L超
原水ジェオスミン濃度 2 ng/L超

原水2-MIB濃度 10 ng/L超

原水2-MIB濃度 2 ng/L超

(a) ジェオスミン濃度の動態と分布

(b) 2-MIB 濃度の動態と分布

図 1 水道原水におけるかび臭物質濃度の動態と分布

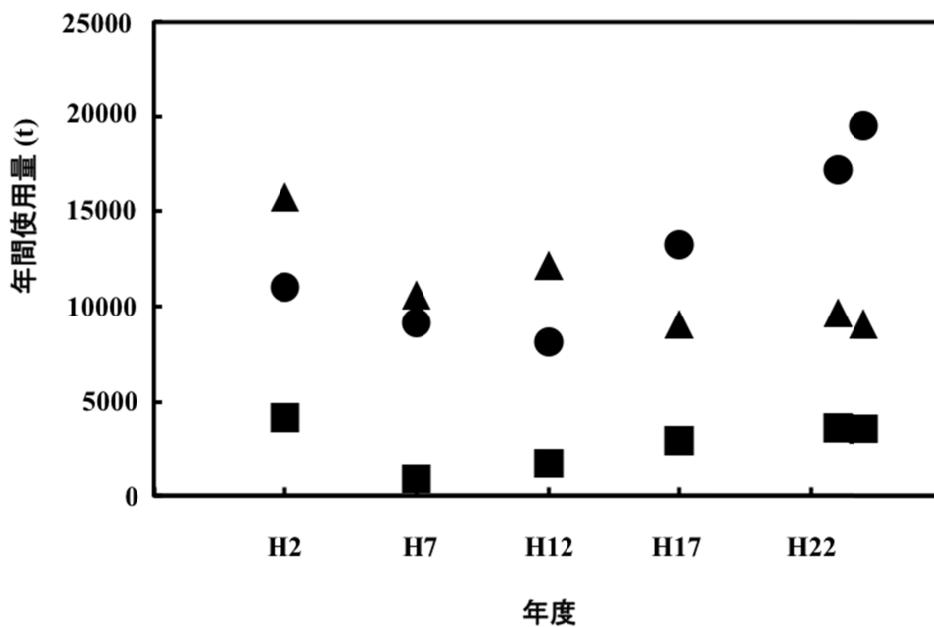


図 2 粉末活性炭および粒状活性炭の年間使用量の変動

○ は粉末活性炭年間使用量、△ は粒状活性炭の年間再生使用量、□ は粒状活性炭の年間補充使用量を示す。

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：生物障害に対応した省エネルギー型水道システムの開発

研究代表者 秋葉 道宏 国立保健医療科学院 統括研究官
分担研究者 高梨 啓和 鹿児島大学大学院理工学研究科 准教授
研究協力者 下ヶ橋 雅樹 国立保健医療科学院 主任研究官

研究要旨

本研究では、災害発生が浄水薬品の確保に影響を及ぼしている状況などを明らかにすること、生物障害の発生に伴って間接的に変化するエネルギー消費量などを明らかにすること、また、粒状活性炭処理プロセスの導入などの生物障害に対する恒久的対策の有効性を示すことなどを目的とした。本年度は、昨年度までに構築した、地理情報システムを用いた浄水薬品の輸送による二酸化炭素排出量の推算方法を用いて、生物障害の発生に伴い間接的に増加する二酸化炭素排出量を推算した。また、粉末活性炭処理プロセス、粒状炭処理プロセス、膜ろ過プロセスおよびオゾン処理プロセスを組み合わせるなどの5種類のシナリオを設定して、イニシャルコストとランニングコストを推算してシナリオ分析を行い、これらのプロセスの導入による恒久的対策の有効性を検討した。

生物障害の発生に伴い増加する二酸化炭素排出量の全国値を推算した結果、全国の浄水場で消費された二酸化炭素排出量に占める割合は0.81%であった。また、シナリオ分析の結果、今後、生物障害の発生頻度の上昇や発生する臭気物質濃度の上昇により粉末活性炭の注入日数や注入率が上昇した場合には、粒状炭処理プロセスなどを導入することの有効性が明らかとなった。

A. 研究目的

本研究では、災害発生が浄水薬品の確保に影響を及ぼしている状況や災害発生に対する対策マニュアルの整備状況を明らかにすること、浄水薬品工場の所在地等を集約して災害等の発生に備えること、生物障害の発生に伴って間接的に変化する電力消費量および二酸化炭素排出量を、浄水薬品の製造工程と輸送工程を対象として明らかにすること、また、粒状活性炭処理プロセスの導入などの生物障害に対する恒久的対策の有効性を示すことを目的とした。

本年度は、昨年度に集約した浄水薬品工場等の情報を再確認し、また、事業者等が利用する際の利便性を高めた。さらに、昨年度までに構築した、浄水薬品の輸送に伴う二酸化炭素排出量の推算方法を用いて、生物障害の発生に伴い間接的に増加する二酸化炭素排出変化量を実際に推算した。また、未解析であった一部の浄水場を対象に、電

力消費変化量および二酸化炭素排出変化量を推算した。さらに、粉末活性炭処理プロセス、粒状炭処理プロセス、膜ろ過プロセスおよびオゾン処理プロセスを組み合わせるなどの5種類のシナリオを設定して、イニシャルコストとランニングコストを推算してシナリオ分析を行い、これらのプロセスの導入による恒久的対策の有効性を検討した。

B. 研究方法

一昨年度実施したアンケート調査の結果を再確認し、昨年度集約した浄水薬品の製造工場または代理店（以下、薬品工場等）の情報に誤りがないことを確認した。再確認した結果を、事業者等が利用する際の利便性を高めるために、浄水薬品毎に絞り込んで表示することができるようにMicrosoft Excel（Microsoft社）上にてプログラムを作成した。

また、生物障害の発生に伴って使用量が増加した浄水薬品を輸送する際の二酸化炭素排出量を推算した。推算は、生物障害の発生に伴って使用量が増加した浄水薬品量¹⁾を輸送する際に排出される二酸化炭素量を、改良トンキロ法²⁾を用いて式(1)により行った。浄水薬品は、軽油を使用した10トントラックで輸送し、往路は積載率100%、復路は積載率10%(空荷)と仮定した。また、改良トンキロ法燃料使用原単位として、軽油を燃料とした小型・普通貨物車の輸送トンキロ当たりの燃料使用量を、積載率10%のときに0.222 L/(t・km)、積載率100%のときに0.0342 L/(t・km)とした²⁾。軽油の単位発熱量を38.2 GJ/kL、排出係数を0.0187 t-C/GJとした²⁾。

式(1)における浄水薬品の輸送距離は、地理情報システム(Geographic Information System: GIS)を用いて推算した。すなわち、東京大学空間情報科学研究センターのCSVアドレスマッチングサービス³⁾を使用して、アンケート調査によって集約された各種住所の緯度経度情報を取得し、Arc GIS(ESRI ジャパン、東京)によりシェープファイルに変換した。また、国土数値情報の道路データ(SHP・GML)を用いて、Arc GISによりネットワークデータセットを作成した。これらのGISデータを用いて、浄水薬品の輸送距離を推算した。

解析対象となった浄水場と浄水薬品工場等の組み合わせは、643件であった。対象浄水場が複数の薬品工場等から浄水薬品を調達していた場合は、すべての薬品工場等の解析を行い、結果を平均した。

輸送にかかる二酸化炭素排出変化量 [t-CO₂] = 輸送トンキロ[t・km] × 改良トンキロ法燃料使用

$$\text{原単位 [L/t・km]} \times 1/1,000 \times \text{単位発熱量[GJ/kL]} \times \text{排出係数 [t-C/GJ]} \times 44/12 \quad \dots (1)$$

アンケート調査において、関東地域および中部地域の事業者より、国外の工場からの粉末活性炭の輸入が報告された。このため、当該事業者が所轄する浄水場の中で生物障害の発生が報告されている浄水場を対象に、粉末活性炭の海上輸送に伴う二酸化炭素排出量を推算した。

当該事業者の一部では、粉末活性炭を国内外の複数の薬品工場から確保していた。このため、式(2)により、生物障害発生に伴う、海上輸送による粉末活性炭の輸入量を求めた。

$$\text{海上輸送による粉末活性炭の輸入量 [g]} = (\text{障害時の粉末活性炭注入率} - \text{平常時の粉末活性炭注入率}) [\text{g/m}^3] \times \text{平均送水量} [\text{m}^3/\text{日}] \times \text{障害発生日数} [\text{日}] \times \text{国外の工場数} \div \text{国内外の工場数} \quad \dots (2)$$

算出した輸入量より、式(3)を用いて、海上輸送による二酸化炭素排出量を算出した。その際、積出港は上海、積込港は東京、生物障害の発生による粉末活性炭の増加分を一度に輸送すると仮定した。上海-東京の港湾間距離は、檜垣ら⁴⁾の港湾間距離を参考にした。参考にした港湾間距離を表1に示す。船舶の二酸化炭素排出原単位は、39 g-CO₂/t・kmとした。

$$\text{海上輸送による二酸化炭素排出変化量} [\text{g-CO}_2] = \text{海上輸送による粉末活性炭の輸入量} [\text{g}] \times 10^{-6} \times \text{港湾間距離} [\text{シー・マイル}] \times 1.852 [\text{km}] \times 39 [\text{g-CO}_2/\text{t} \cdot \text{km}] \quad \dots (3)$$

表1 浄水薬品の海上輸送距離の解析に用いた港湾間距離⁴⁾

(単位: シー・マイル)

代表港湾	東京	名古屋	神戸	博多	上海	釜山	高雄	シンガポール	ロッテルダム	ロサンゼルス
東京	0	224	371	625	1054	681	1361	2918	11292	4862
名古屋	224	0	238	489	921	548	1228	2791	11165	4992
神戸	371	238	0	303	771	362	1131	2694	11068	5139
博多	625	489	303	0	490	115	901	2481	10855	5256
上海	1054	921	771	490	0	478	603	2183	10557	5704
釜山	681	548	362	115	478	0	913	2492	10761	5253
高雄	1361	1228	1131	901	603	913	0	1611	9985	6115
シンガポール	2918	2791	2694	2481	2183	2492	1611	0	8373	10180
ロッテルダム	11292	11165	11068	10855	10557	10761	9985	8373	0	7806
ロサンゼルス	4862	4992	5139	5256	5704	5253	6115	10180	7806	0

(注) 釜山-ロッテルダム、シンガポール-ニューヨークについては航路距離データが得られなかったため、それぞれ釜山-リバプール、シンガポール-ニューヨークで代用した。

式(1)～(3)に供したデータは、アンケート調査結果から得られた水道事業体のデータなので、全国のすべての浄水場を対象とした場合の値(以下、全国値)を推算する必要がある。全国値の推算は、アンケート調査により求めた結果の合計値を、調査したすべての浄水場の1日平均送水量の合計値と、全国に立地するすべての浄水場の1日平均給水量の合計値の比で除す(割り戻し計算を行う)ことによって行った。本研究でアンケート調査を実施して回答を得た浄水場の一日平均送水量(平成22年10月～24年9月)に対する全国の一日平均給水量(平成22年度)の占める割合は46.4%であった。

未解析であった一部の浄水場を対象に、生物障害の発生に伴い変化する電力消費量を推算した。推算は、昨年度と同様に行った¹⁾。

さらに、生物障害の発生に対する対策として、現在最も広く実施されている粉末活性炭の注入による処理を今後も継続する場合(シナリオ1)、粉末活性炭の注入に代わり粒状活性炭処理プロセスを導入する場合(シナリオ2)、オゾン処理プロセスと粒状活性炭処理プロセスを導入する場合(シナリオ3)、粒状活性炭処理プロセスと膜ろ過プロセスを導入する場合(シナリオ4)、オゾン処理プロセス、粒状活性炭処理プロセス、膜ろ過プロセスを導入する場合(シナリオ5)について、既存の情報をもとにイニシャルコストとランニングコストの合計値(以下、浄水処理コスト)を算出した。

各シナリオの浄水処理コストの算出は、財団法人水道技術研究センターが発行している浄水技術ガイドライン2010⁵⁾に基づいて行った。同ガイドラインでは、様々な浄水処理プロセスのイニシャルコスト及びランニングコストの相対比率が記載されている。このため、式(4)、(5)により、各シナリオのイニシャルコスト及びランニングコストを算出した。

各シナリオのイニシャルコスト[円] = (粒状活性炭処理プロセス + 膜ろ過処理プロセス)のイニシャルコスト[円] × 各シナリオのイニシャルコストの相対比率 ÷ (粒状活性炭処理 + 膜ろ過処理プロセス)の相対比率 ……(4)

各シナリオのランニングコスト[円/年] = (粒状活

性炭処理プロセス + 膜ろ過処理プロセス)のランニングコスト[円/年] × 各シナリオの相対比率 ÷ (粒状活性炭処理プロセス + 膜ろ過処理プロセス)の相対比率 ……(5)

式(4)および(5)における(粒状活性炭処理プロセス + 膜ろ過処理プロセス)のイニシャルコスト及びランニングコストは、文献^{6, 7)}に基づき算出した。式(4)、(5)より算出したイニシャルコスト及びランニングコストを合計し、浄水処理コストとして算出した。

粉末活性炭処理プロセスのランニングコストは、生物障害が発生したときの粉末活性炭の平均注入率と生物障害の発生日数に依存する。そこで、アンケート調査の結果からこれらの数字を求めたところ、生物障害が発生したときの粉末活性炭の平均注入率は6.07 mg/L、粉末活性炭の平均注入日数は45日/年であった。また、粉末活性炭の購入価格は、文献⁶⁾より500円/kgと仮定し、式(6)に基づき年間ランニングコストを推算した。

粉末活性炭処理プロセスの年間ランニングコスト[円] = 粉末活性炭の購入価格[円/kg]の粉末活性炭注入率[Dry mg/L] × 10⁻³ × 平均送水量[m³/日] × 粉末活性炭の平均注入日数[日] ……(6)

イニシャルコストとランニングコストを算出する際の浄水場の平均送水量は、小規模の浄水場から、大規模の浄水場まで偏りなくシナリオ分析を行うため、5,000～500,000 m³/日とした。

浄水場の運転期間を30年と仮定して、設備機器の耐用年数から同ガイドラインに基づいて16年目に更新を行うこととした。機器の更新費用は、粉末活性炭処理プロセスを含むシナリオ1では、溶解槽などの機器が占める割合が高いため、同ガイドラインに基づいて粉末活性炭のイニシャルコストの80%とした。また、粒状活性炭処理プロセスを含むシナリオ2～5では、吸着池などの構造物がイニシャルコストに占める割合が高いため、同ガイドラインに基づいて粒状活性炭処理のイニシャルコストの60%とした。

C. 研究結果及びD. 考察

1) エネルギー消費変化量の推算

1-1) 輸送距離の解析

昨年度に構築した方法で、浄水薬品の輸送による二酸化炭素排出量を推算した。その結果、浄水場と薬品工場等の組み合わせによっては、浄水薬品の輸送経路の解析ができない事例が生じた。

解析が不可能だったのは、1) 浄水薬品の輸送に海上輸送を含む場合、2) 薬品工場等の所在地を特定できなかった場合、3) 薬品工場等から浄水場までの道路データが分断されており、経路の探索が行えなかった場合、4) 薬品工場等の所在地が国外であった場合であった。これらのうち、1) 浄水薬品の輸送に海上輸送を含む場合については、薬品工場等の最寄りの港および浄水場の最寄りの港の間の距離を解析し、陸上輸送のみを解析した。2) 薬品工場等の所在地を特定できなかった場合は、解析ができなかった。3) 薬品工場等から浄水場までの道路データが分断されており、経路の探索が行えなかった場合は、技術的にはデータの修正が可能であったが、修正しなければならないデータ量および範囲が膨大であったため、すべての道路データを修正するのは困難であった。このため、本研究では解析しなかった。4) 薬品工場等の所在地が国外であった場合については、海上輸送と国内輸送の両方について解析を行い、海上輸送がどの程度寄与するのかを検討した。

その結果、距離の解析対象となった浄水場と浄水薬品工場等の組み合わせ 643 件中、40 件 (6.2%) が薬品工場等から浄水場までの道路データが分断されており経路の探索が行えず、8 件 (1.2%) が薬品工場等の所在地を特定できず、12 件 (1.9%) が薬品工場等の所在地が国外であったために解析が行えず、残りの 583 件 (90.7%) の組み合わせについて浄水薬品の国内輸送距離を解析することができた。

本研究におけるアンケート調査結果において、国外から粉末活性炭を輸入していたのは関東地方と中部地方の事業体のみであった。このうち中部地方の事業体については、輸入元の国名・地域名が不明であったため、解析が不可能であった。解析が可能であった事業体において、生物障害の発生に伴って使用量が増加した粉末活性炭の量は 452.5 t/年であった。同事業体は、国内の 4 企業からと国外の 2 企業から粉末活性炭を購入してい

た。このため、式(2)および(3)に基づき海上輸送による二酸化炭素排出変化量を算出した結果、34.5 t-CO₂/年の増加となった。この増加量を全国値に割り戻すと、74.4 t-CO₂/年の増加となった。本研究における海上輸送による二酸化炭素排出量が小さな値になったのは、アンケート調査において回答された企業(工場)の所在地が国内であった場合には海上輸送を考慮しなかったことが一因と考えられる。すなわち、アンケート調査において回答された企業(工場)の所在地が国内であっても、生産場所が国外である場合が含まれている可能性があり、そのような場合の海上輸送による二酸化炭素排出量は算出されておらず、数値の解釈のうえでの考慮が必要である。

1-2) 輸送に伴う二酸化炭素排出変化量の推算

輸送による二酸化炭素排出変化量を地域ごとに取りまとめ、表 2 に示す。表 2 に示したように、輸送による二酸化炭素排出変化量は地域によって異なり、0.3~281.1 t-CO₂/年と 935 倍異なった。中部地域の二酸化炭素変化排出量が小さいのは、生物障害の発生が報告された浄水場が 3 件と少ないことが理由と考えられる。また、関西地方のように薬品の輸送距離が短いため二酸化炭素排出量が小さくなるケースも見られた。

また、未解析であった 6 カ所の浄水場のアンケート調査結果を解析した。6 カ所のうち、生物障害が発生していたのは 3 カ所であった。障害の内訳は、すべて異臭味障害であり、発生回数は 11 回であった。未解析のデータを解析することによって増加した間接的な電力消費量は、中国・四国地方で 24 MWh/年であった。昨年度推算した 8,026 MWh/年に加算すると、図 1 に示す結果となり、全国で 8,158 MWh/年が増加したと推算された。この値は、平成 22 年度に全国の浄水場で消費された電力量⁸⁾の 0.11%であった。

表 2 輸送に伴う二酸化炭素排出量 (t-CO₂/年)

地 域	排出量
北海道・東北	104.3
関 東	281.1
中 部	0.3
関 西	44.1
中国・四国	127.6
九州・沖縄	15.2
全 国	572.5

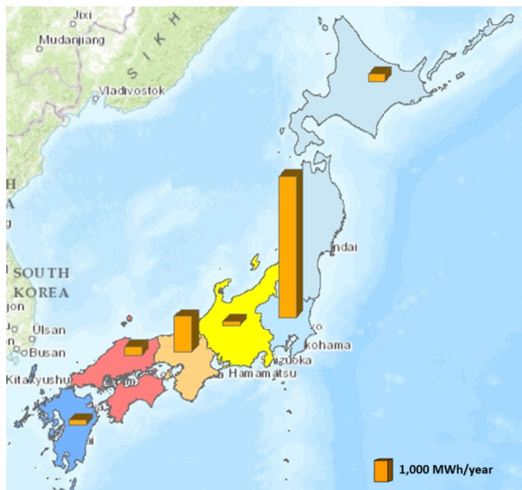


図1 生物障害発生による間接的な電力消費量

未解析のデータを解析することによって増加した間接的な二酸化炭素排出量は、196 t-CO₂/年であった。昨年度推算した 34,026 t-CO₂/年に加算すると、全国で 34,614 t-CO₂/年が増加したと推算された。この値は、平成 22 年度に全国の浄水場で排出された二酸化炭素排出量⁹⁾の 0.80%であった。

1 - 3) 間接的な二酸化炭素排出変化量に対する浄水薬品の輸送の影響

浄水薬品の製造および輸送に伴う二酸化炭素排出変化量をそれぞれ推算することができたので、両者が占める割合を求めて図2に示す。図2に示したように、ほとんどの地域において、間接的な二酸化炭素排出変化量に占める輸送の割合は5%以下であった。北海道・東北地方は、他の

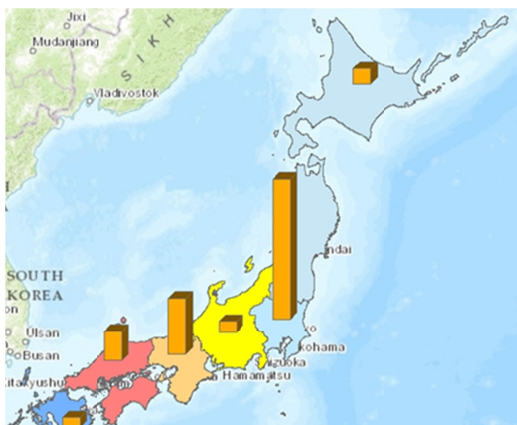


図3 生物障害発生に伴う間接的な二酸化炭素排出量

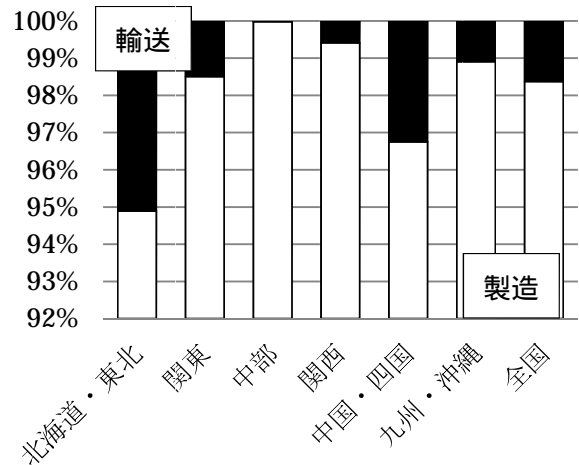


図2 間接的な二酸化炭素排出量に占める製造と輸送の割合

地域と比較して輸送の割合が高く推算された。これは、他の地域と比較して浄水薬品の輸送距離が長いことが原因と考えられる。

生物障害の発生に伴う間接的な二酸化炭素排出変化量は、図3に示す結果となり、地域によって 1,385 ~ 18,826 t-CO₂/年と 14 倍異なった。また、全国で 35,186 t-CO₂/年が増加することが明らかとなった。この値は、浄水処理による二酸化炭素排出量の年間値⁹⁾の 0.81%である。以上により、間接的な二酸化炭素排出量を推算できた。今後、生物障害の発生頻度や発生期間、臭気物質濃度が上昇した場合には、対策が望まれる。

2) 高度浄水処理プロセスの有効性

アンケート調査の結果、急速ろ過を導入している浄水場は 239 件中 172 件であり、同プロセスが日本で広く普及しているプロセスであった。また、多くの浄水場より、生物障害に対応するために粉末活性炭を投入したと回答が寄せられた。シナリオ 2~5 と一致するシナリオ 1 の粉末活性炭の注入率を、浄水場の平均送水量毎に求めた。算出結果を図4に示す。図4に示したとおり、平均送水量 500,000 m³/日の規模の浄水場において、粉末活性炭の平均注入率が、27 mg/L 以上になると、シナリオ 2 の対策を施した方がコスト面で有利になることが明らかとなった。一方で、アンケート調査の結果から求めた現状の粉末活性炭の平均注入率は 6.07 mg/L であった。

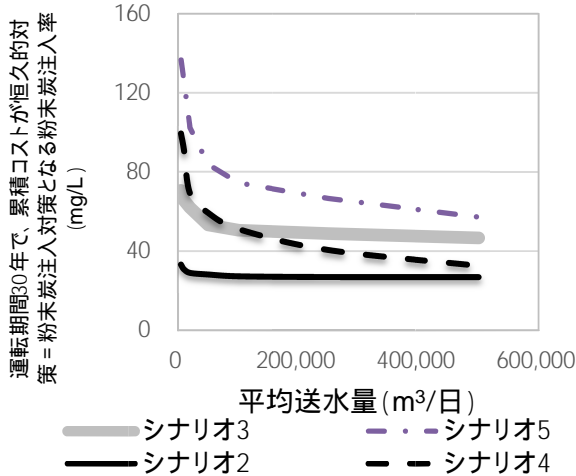


図4 恒久的対策の有効性

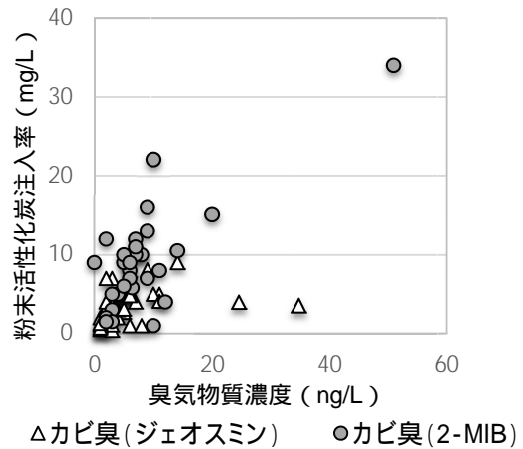


図5 粉末活性炭注入率の調査結果

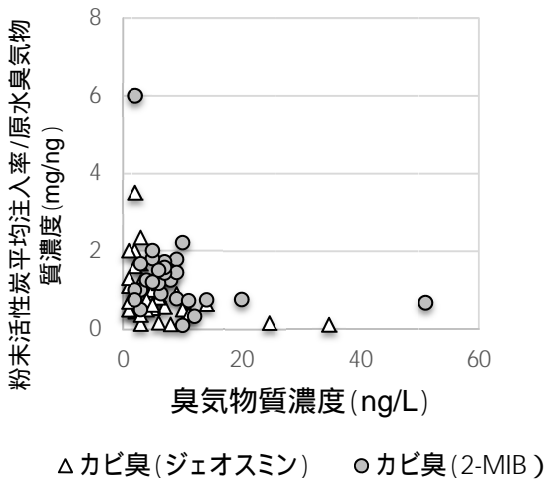


図6 臭気物質濃度あたりの粉末活性炭注入率

また、原水中のジェオスミンと2-メチルイソボルネオール（以下、2-MIB）の臭気物質濃度と粉末活性炭の注入率の関係を求めた。その結果を図5に示す。アンケート調査の結果、報告された2-MIBとジェオスミンの濃度は、それぞれ2～350 ng/L、1～120 ng/Lの範囲であった。この際の粉末活性炭注入率は、報告されている範囲で1～34 mg/L、0.4～9.0 mg/Lであった。一部の浄水場においては、臭気物質濃度は報告されているが、粉末活性炭注入率が報告されていない場合があった。臭気物質濃度あたりの粉末活性炭の注入率を算出した。その結果を図6に示す。2-MIBでは0.10～6.0 mg/ng、ジェオスミンでは0.10～3.5 mg/ngであった。臭気物質濃度あたりの粉末活性炭注入率がジェオスミンで35.0倍、2-MIBで60.0倍異なる原因として、浄水場によって使用する粉末活性炭の吸着能の違いや吸着時間の違いが考えられ、改善の余地

がうかがえる。また、活性炭への臭気物質の吸着等温線の研究結果を見ると、活性炭に対する吸着性は、一般的に2-MIBの方が低い¹⁰⁾。しかし、アンケート調査の結果から求めた臭気物質濃度当たりの粉末活性炭注入率に大きな差は認められなかった。

E. 結論

今後、生物障害の発生頻度の上昇や発生する臭気物質濃度が上昇した場合には、生物障害の発生に伴うエネルギー消費量、および二酸化炭素排出量の増加が問題になる可能性がある。本年度は、集約された浄水薬品調達に関する情報を整理しつつ、事業者等の利用を想定して、そのデータ参照の利便性を高めた。また、生物障害対策としての浄水薬品輸送に伴う二酸化炭素排出変化量を行った。さらに、生物障害の対策として、現在最も広く実施されている粉末活性炭の注入に代えて、粒状活性炭処理プロセスなどの導入が運用コスト面で有効になるケースを、シナリオ解析を通じて明らかとした。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1) 論文発表

該当なし

2) 学会発表

(1) 下ヶ橋雅樹, 高梨啓和, 秋葉道宏. 浄水処理

プロセスにおける生物障害のエネルギー環境
負荷．化学工学会第 80 年会；2015 年 3 月 21
日．同講演要旨集、I314.

技術センター，pp.29-31.

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，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.
- 10) 滋賀県東北部工業技術センター（2006）研究報告書 平成 18 年度．滋賀県東北部工業

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 μm 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小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て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 μm 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。蛍光顕微鏡測定を試料は、生物粒子計数器で測定した試料を、孔径0.45 μm 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

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。

散乱光強度、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時頃が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0.5~0.8 μm 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0.8~1.0 μm の蛍光粒子は、粒径0.5~0.8 μm 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1.0~2.0 μm の蛍光粒子は、蛍光強度が小さい領域で粒径0.8~1.0 μm とほぼ同様なピークを持っていた(図11)。

粒径2.0 μm 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こ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きける可能性があり、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实用性評価 . 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

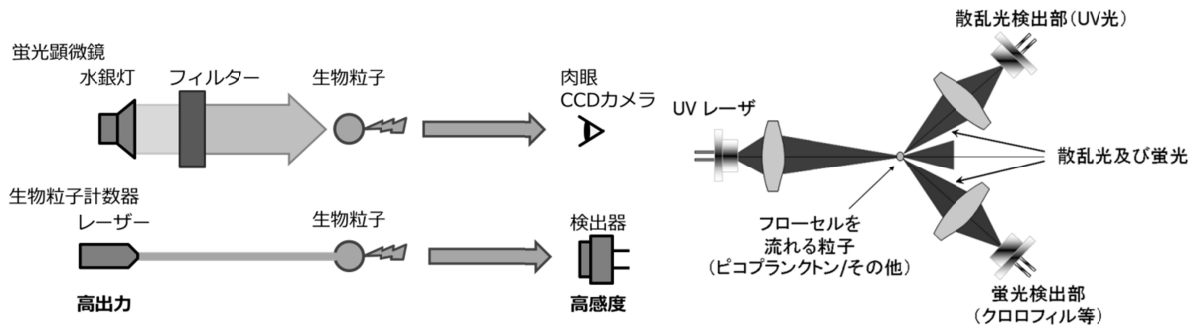


図1 蛍光顕微鏡と生物粒子計数器の測定原理

図2 検出部構造 (模式図)

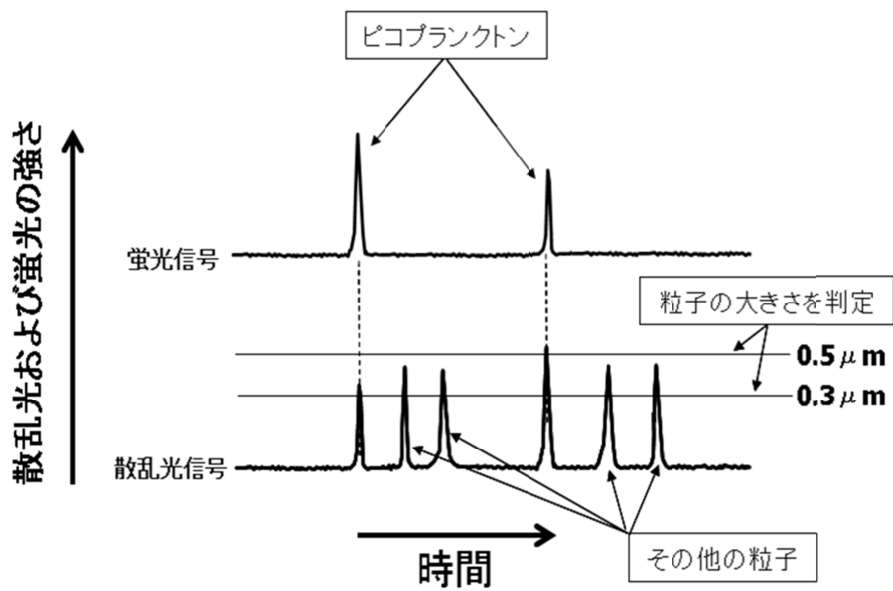


図3 ピコプランクトンとその他粒子の判別および粒子の大きさの判定方法

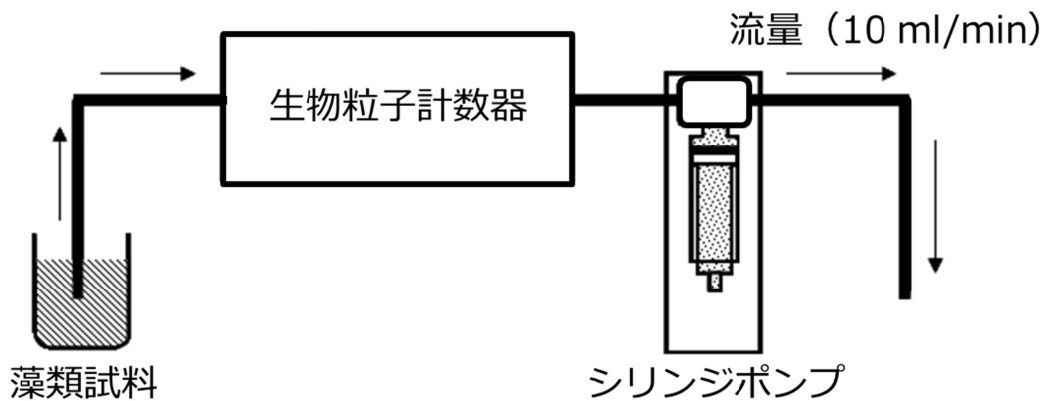


図4 生物粒子計数器測定系流路図

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				蛍光数		
	浄水	milli-Q水	比率(%)		浄水	milli-Q水	比率(%)
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				蛍光数		
	浄水	milli-Q水	比率(%)		浄水	milli-Q水	比率(%)
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 μm 、蛍光数はcells/ml

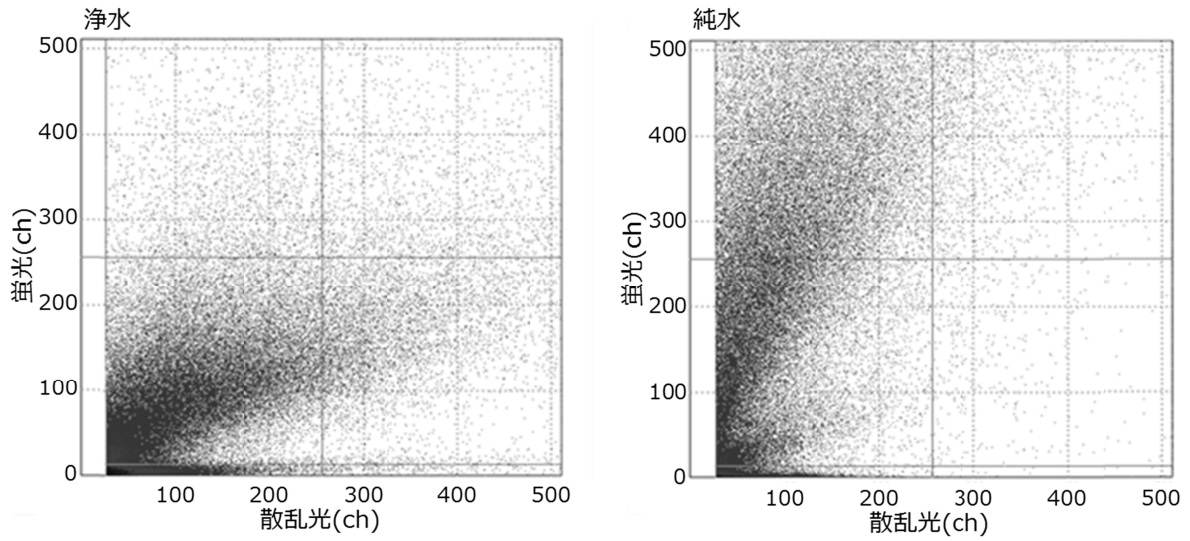


図5 浄水及び純水(milli-Q水)の蛍光散布図

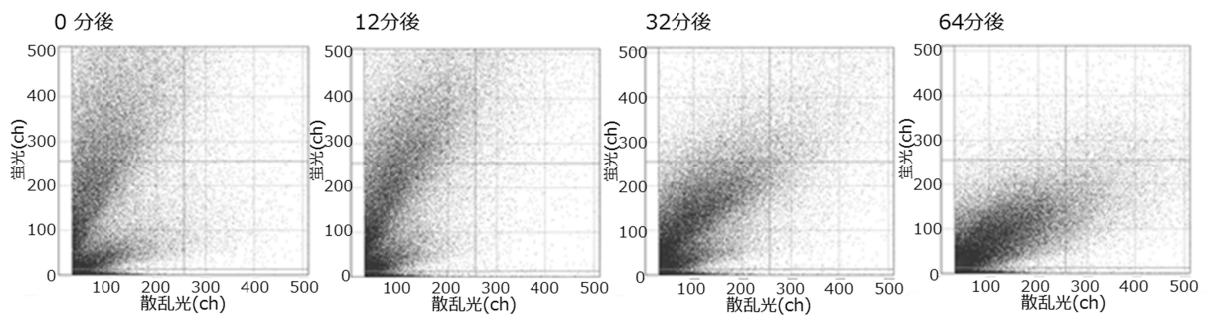


図6 次亜塩素酸ナトリウム添加後の経時変化(蛍光散布図)

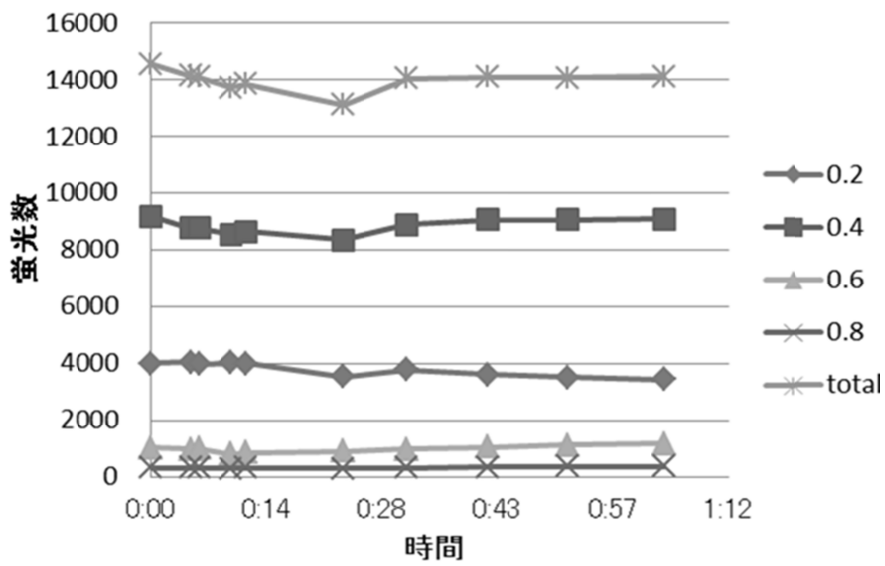


図7 次亜塩素酸ナトリウム添加後の経時変化(粒径別蛍光数)

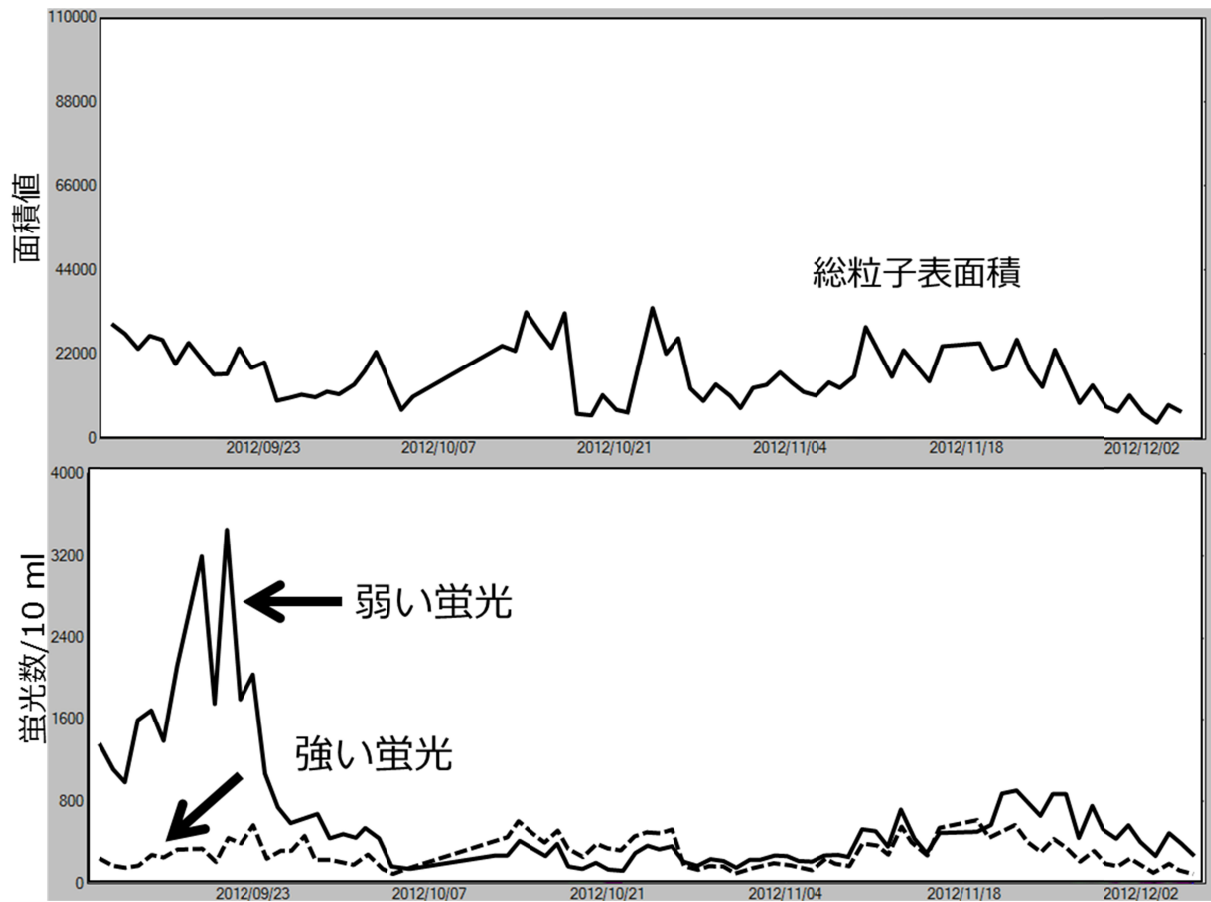


図8 平成24年度日平均値の長期変動

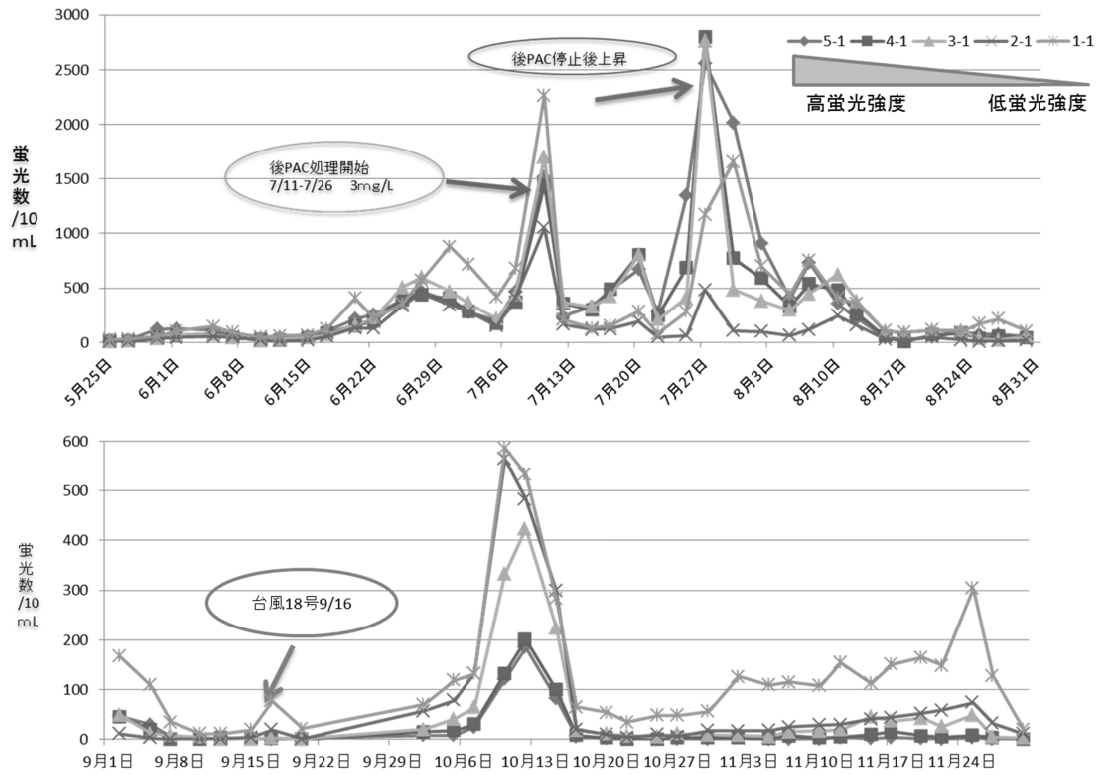


図9 0.5~0.8 μmの粒径範囲内の蛍光粒子の蛍光強度別変動 (蛍光数/10mL)

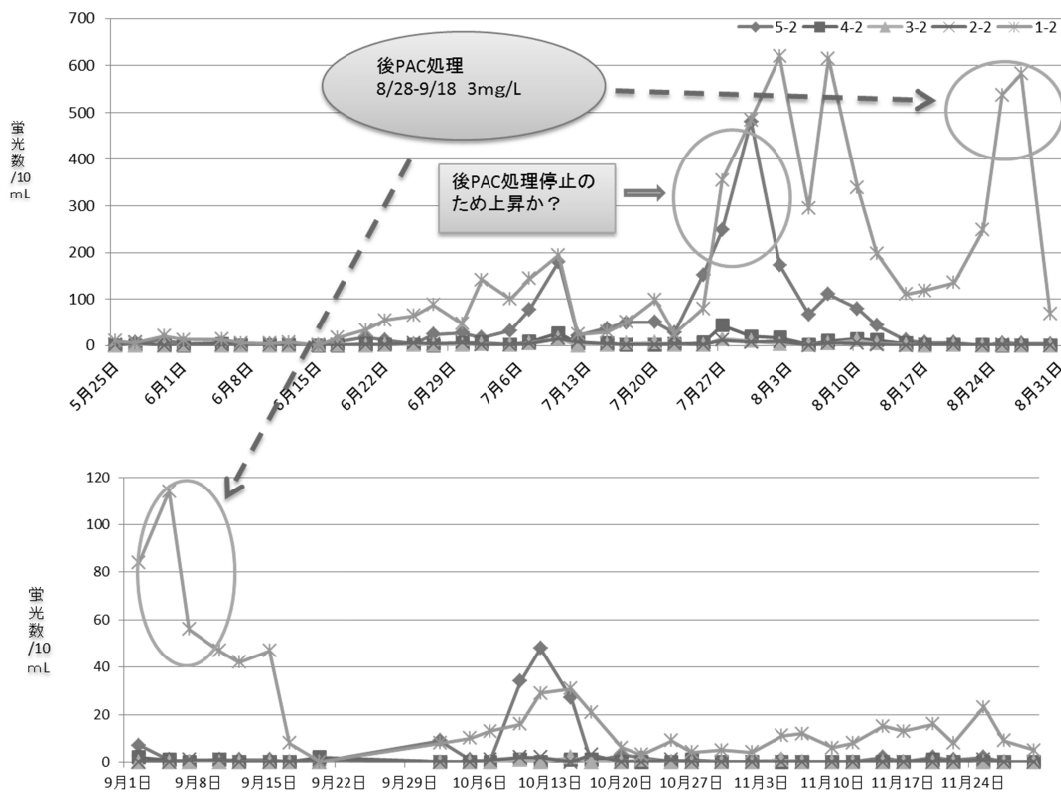


図10 0.8~1.0 μmの粒径範囲内の蛍光粒子の蛍光強度別変動 (蛍光数/10mL)

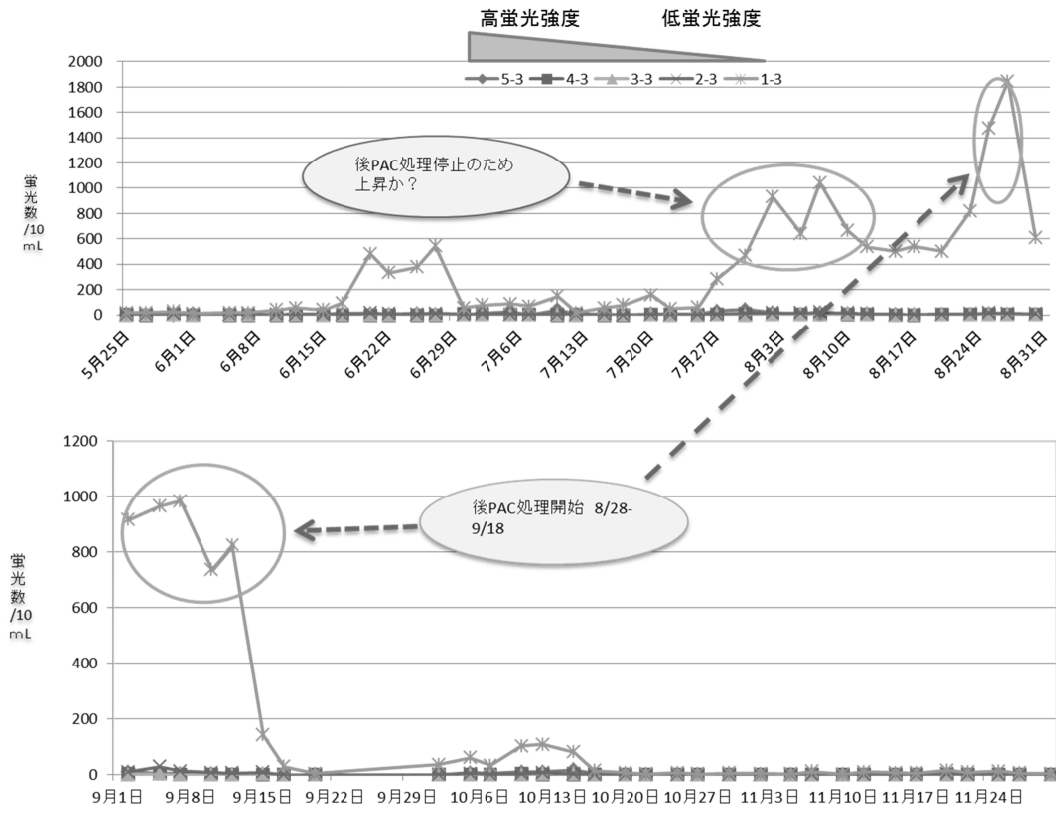


図11 1.0~2.0 μm の粒径範囲内の蛍光粒子の蛍光強度別変動（蛍光数/10mL）

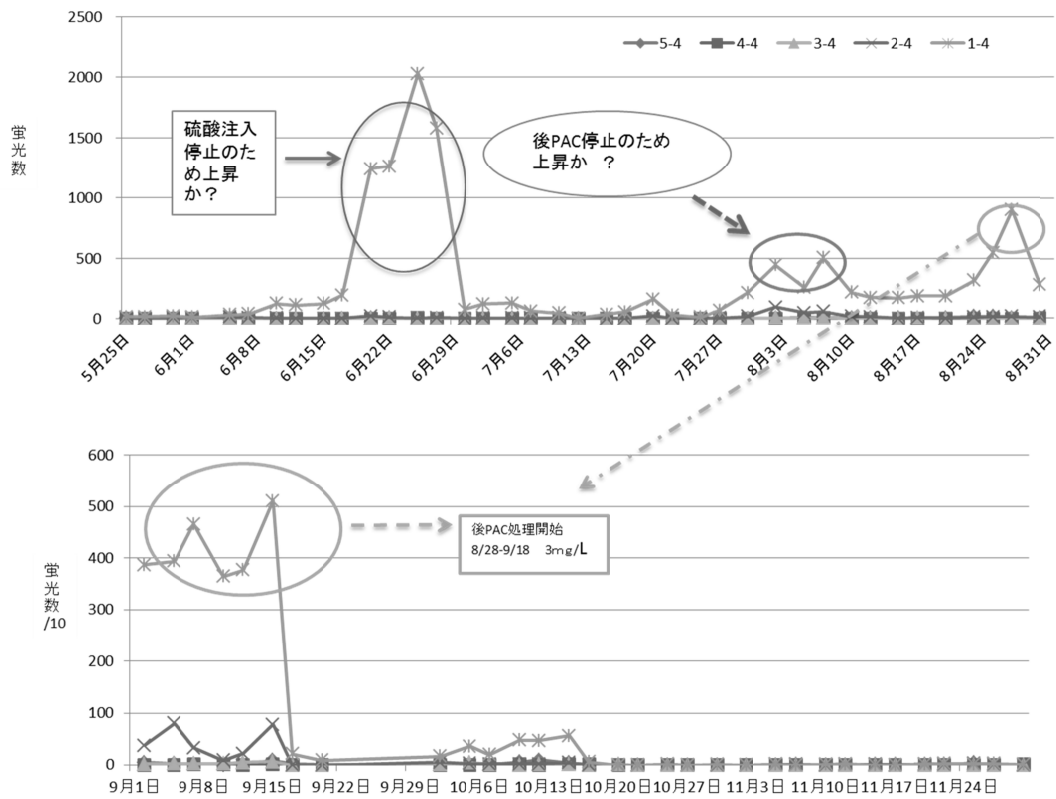


図12 2.0 μm ~の粒径範囲内の蛍光粒子の蛍光強度別変動（蛍光数/10mL）

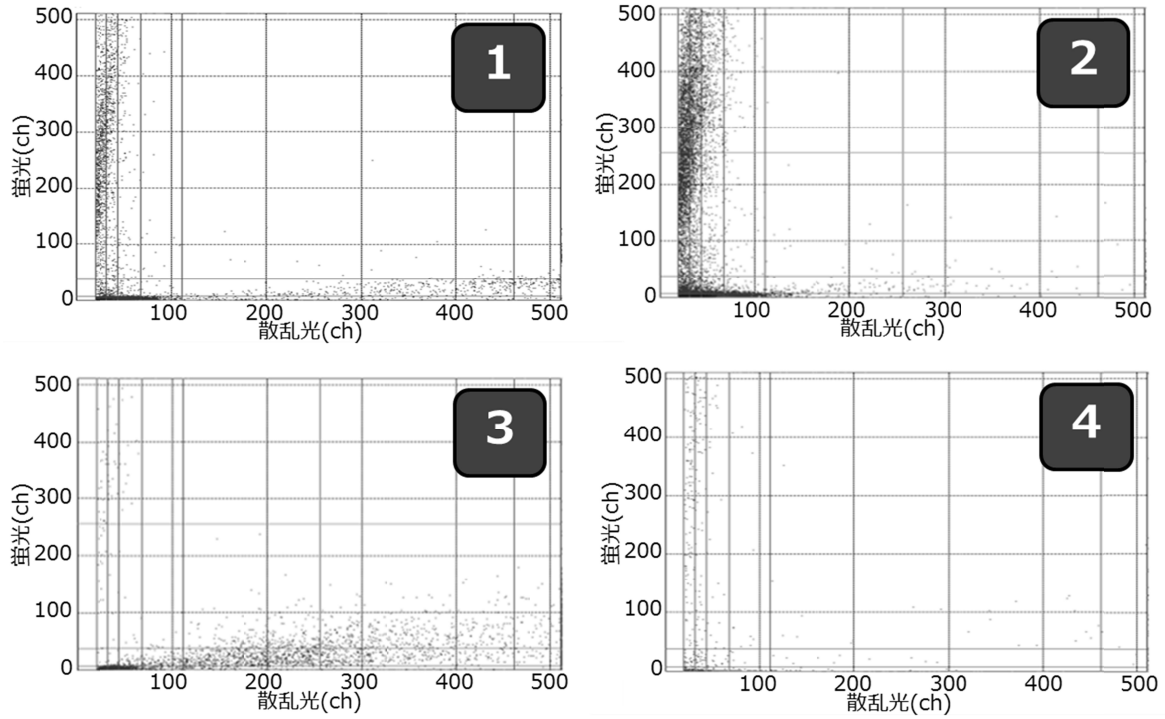


図13 川崎市のピコプランクトン出現傾向による4類型

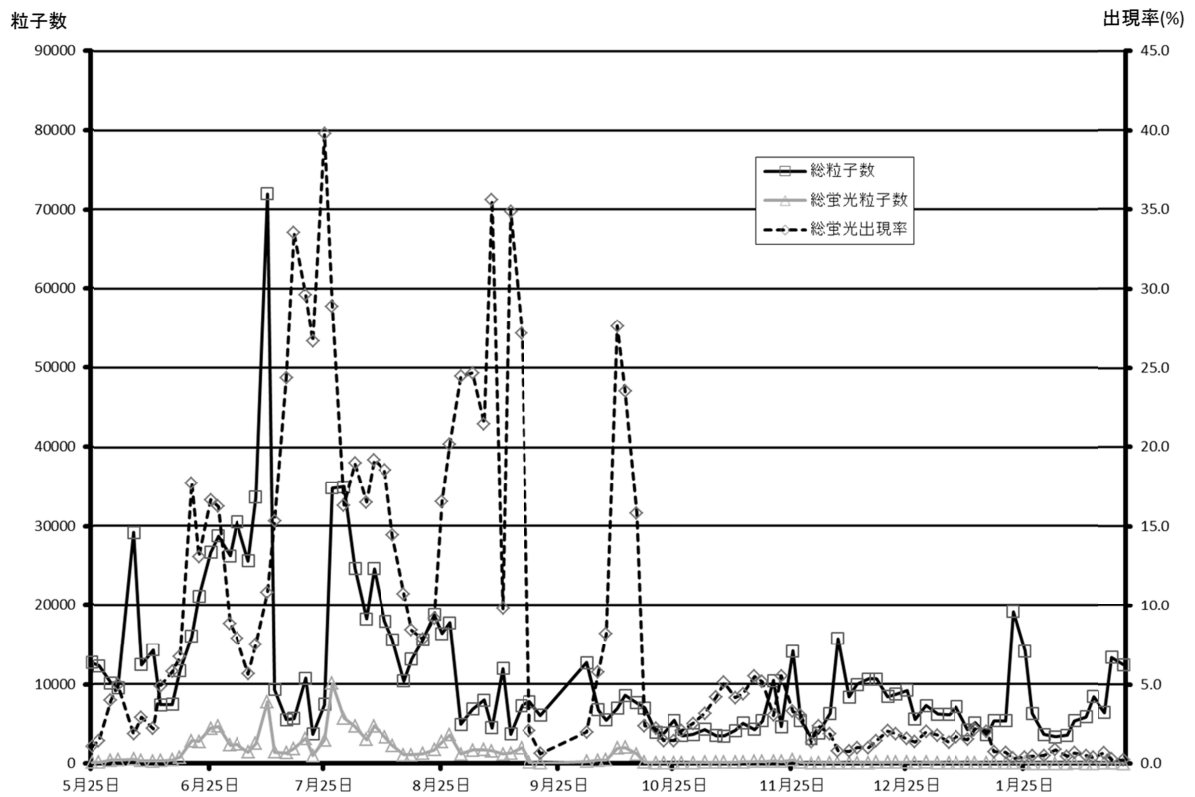


図14 総粒子数、総蛍光粒子および総蛍光粒子の出現率

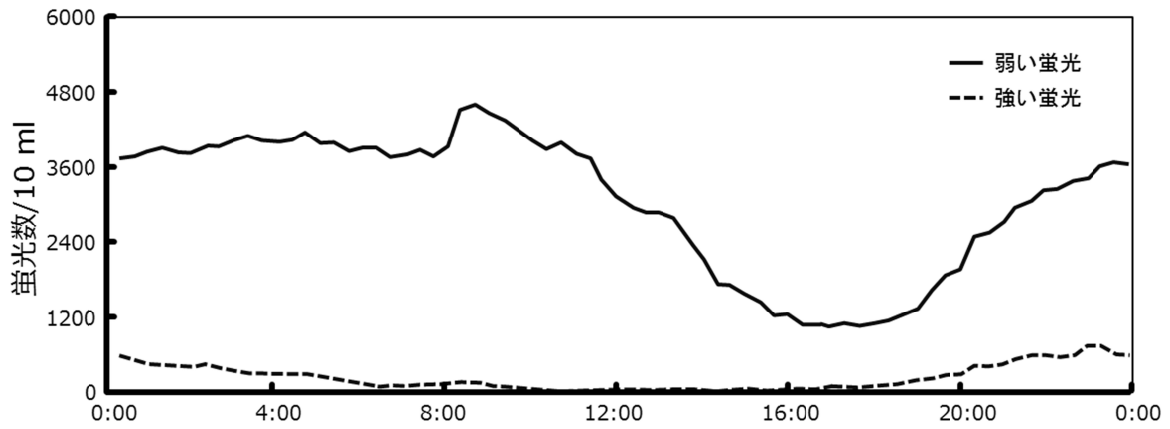


図15 本宿浄水場の日周変動

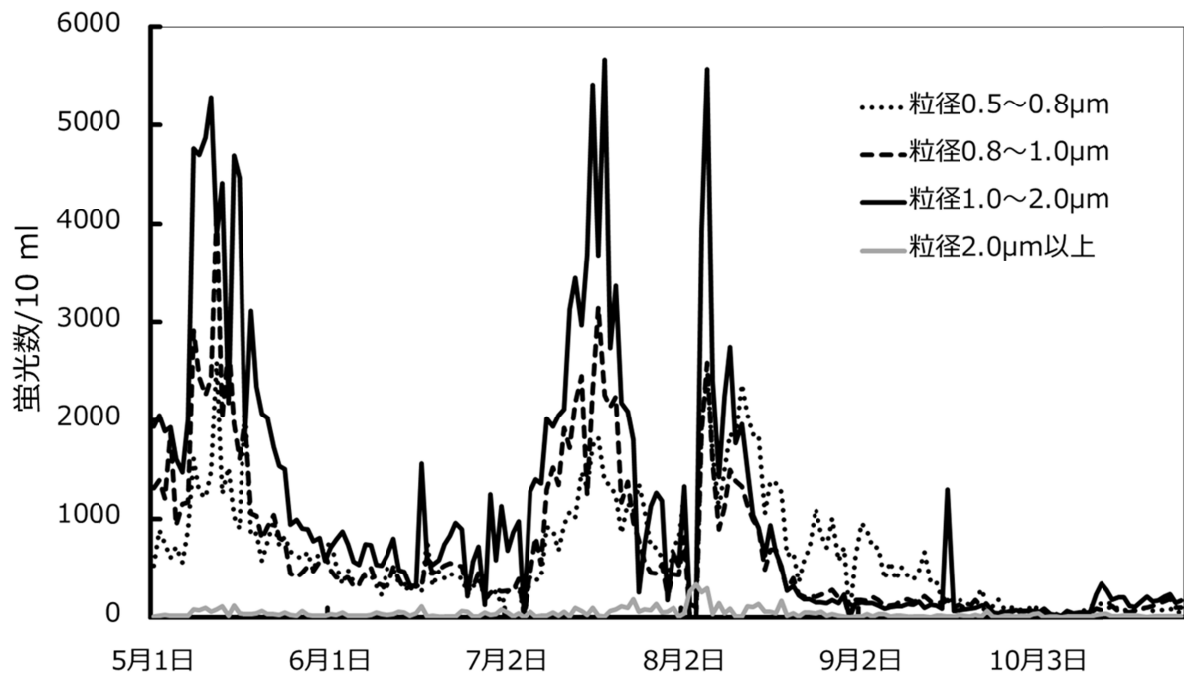


図16 本宿浄水場の長期変動

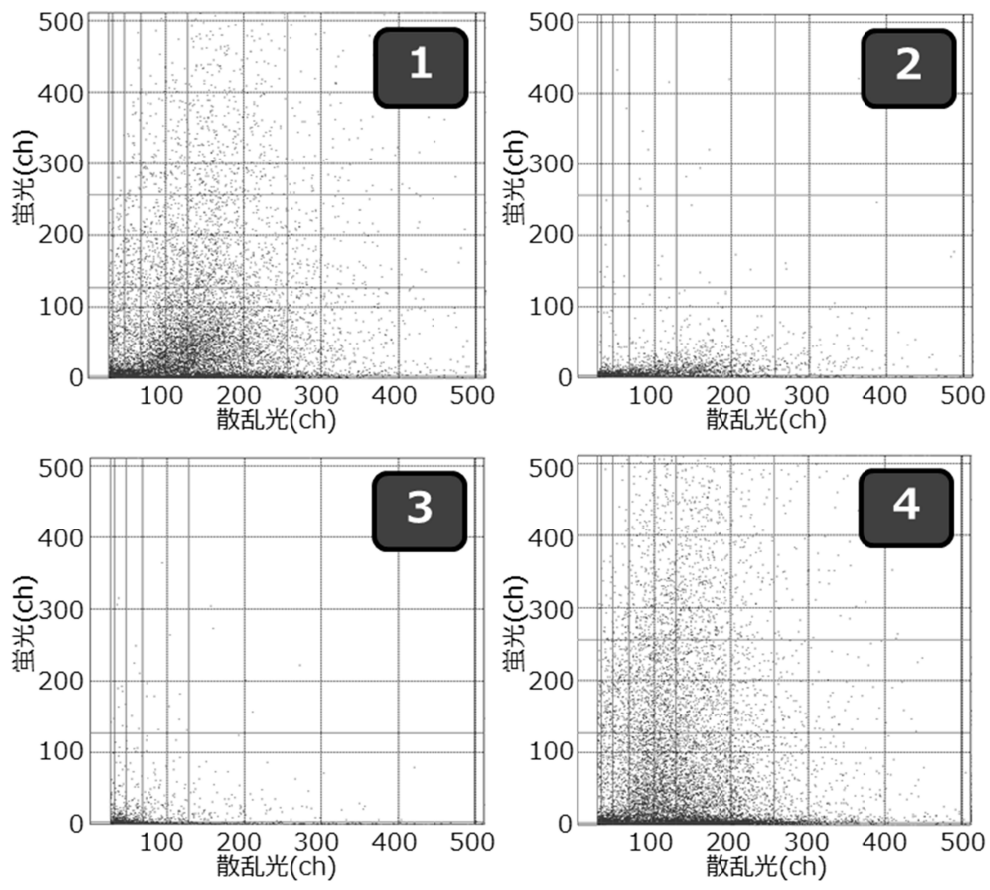


図17 桐生市のピコプランクトン出現傾向による4類型

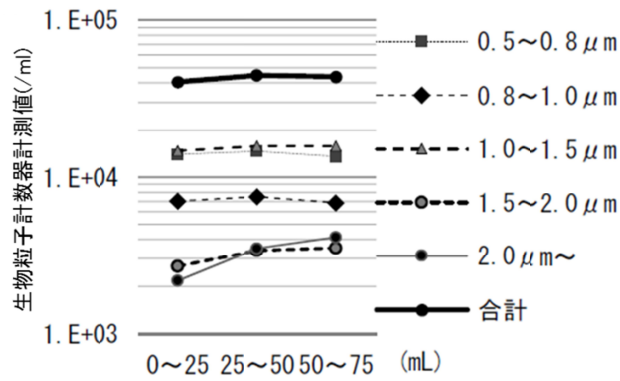


図 18 25 mL 毎のろ過による蛍光粒子数推移

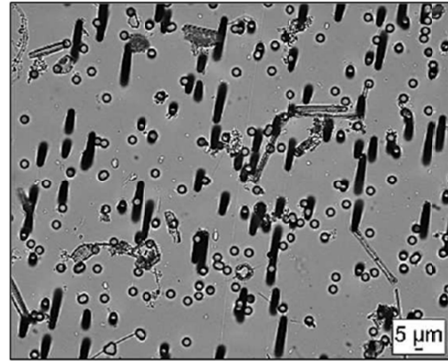
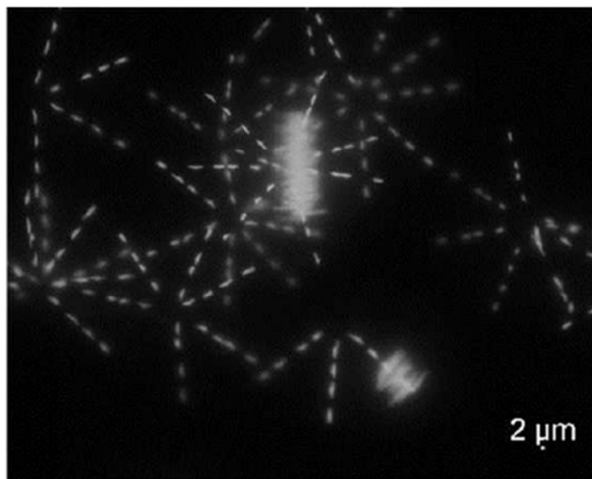
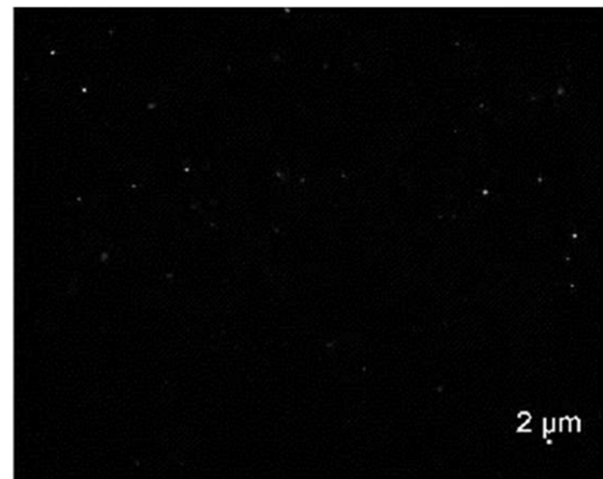


図 19 ろ過後のフィルター表面



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

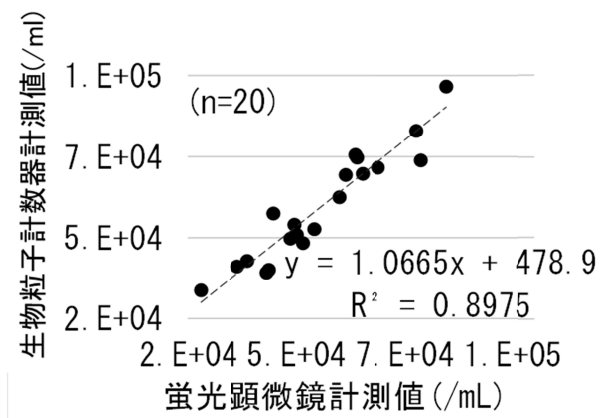


図 21 計測値の相関

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 1,680km² 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 m³/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¹⁾。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²⁾。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³⁾*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⁴⁾(20℃、光量子束密度38 μ mol/m²/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(PO₄³⁻-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⁴⁾、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、パスト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℃、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℃、光量子束密度38 μ mol/m²/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。

1 - 3 - 2) 静置および振とう培養による障害生物の増殖特性

2014 年 3 月 5 日に磯部右岸表層で採取した試料 50mL に、CSi 培地を加えて 500mL に調製した。調整試料 200mL を 2 本の 500mL 平底フラスコに移し、各々 27 日間静置及び振とう培養を行った。培養開始時と、培養後 1、5、12、20、27 日目に、繁殖した障害生物の *Cyclotella* spp.、*S. acus*、*Asterionella formosa* 細胞数の計数を行い、相対的な増殖能を比較した (15、光量子束密度 $38\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 、明暗周期 12 時間、振とう速度 80rpm)。生物試験は、1 - 1 - 1) と同様に行った。

2) 相模川本川における着生、付着藻類の調査

2 - 1) 相模川河床における着生藻類調査

2014 年 1 月 31 日に昭和橋の底泥を河川水と共に採取し、1 L ガラス瓶に入れて予備培養を行った (15、光量子束密度 $38\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 、明暗周期 12 時間)。60 日後、かび臭を感知するとともに泥表面および試料中に藍藻類の繁殖が確認されたため、分離・培養を試みた。

採取した泥と河川水の一部を耐熱びんに入れて高圧蒸気滅菌を行った後 (121、30 分) 放冷、静置した。24 穴マイクロプレートの 6 ウェルに上澄みの滅菌河川水 0.5mL を、別の 6 ウェルに滅菌した泥と河川水を混合した試料 0.5mL を、それぞれ滅菌済みチップを用いてマイクロピペットで分注した。全てのウェルに 0.5mL の CT 培地 (藍藻類用培地) を加えて培養用の培地とした。各々のウェルに予備培養試料で繁殖した藍藻類を植種し、1 - 3 - 2) と同じ培養条件で、静置及び振とう培養を行った。

10 日間培養後、倒立顕微鏡 (NIKON, TM-300) 400 倍でマイクロプレートを直接検鏡した。

2 - 2) 磯部頭首工堰堤部における付着藻類調査

2014 年 6 月 18 日の磯部頭首工の調査時に、堰堤の越流部に藍色～緑色の付着藻類群集のマットが観察された。マットは調査期間の終わりの 7 月 23 日まで観察された。

7 月 2 日にマットを剥がして密閉容器に入れて持ち帰り、付着藻類の調査を行った。種組成の確認と分類は、1 - 1 - 1) の光学顕微鏡を用いて行った。

採取した藻類のマットを 1cm×1cm に切り出し、ろ紙で水分を吸収した後に精製水を入れた 50mL 試験管に移し、20 静置培養及び 15 振とう培養を行った。培養のはじめと 6 日間培養後に、上水試験方法に基づきかび臭物質を測定した。

C. 研究結果および D. 考察

1) 磯部頭首工に関する障害生物繁殖調査

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において *S. acus* 細胞数の増加が確認された。

ここで使用した *S. acus* の学名は、水道分野で使われているものとした。*S. acus* の学名については藻類分類学の分野では種名や記載の変更が何回も行われている。国内の参考図書やホームページにおいても、渡辺らは *S. acus* の種名を採用しているが形態的な記載が異なり⁵⁾、小林らは *Ulnaria acus* を採用し⁶⁾、辻らは新規種名として *Ulnaria japonica* を提唱する等⁷⁾、様々な記載がある。ここでは、「日本の水道生物」に基づいて *S. acus* の呼称を使用した⁸⁾。

2013 年 4 月～6 月の寒川浄水場原水における水温と *S. acus* 細胞数の推移を図 2 に示す。*S. acus* は、5 月 13 日に 44 細胞/mL が観察されたが、5 月 15 日の上流の相模湖、津久井湖では繁殖していないことが確認された。5 月 17 日に行った河川調査では、昭和橋で 1 細胞/mL、あゆみ橋で 120

細胞/mL が検出され、この区間での繁殖、特に宮ヶ瀬湖の影響が疑われた。しかし、5月21日に座架依橋を調査したところ、*S. acus* は290細胞/mLであり、宮ヶ瀬湖の影響は否定された。

5月23日に、磯部頭首工調査を行った。磯部頭首工は相模原市磯部に位置する農業用水を最大11.85m³/s取水するために築造された取水堰である⁹⁾。右岸側から左岸側に向かって水を堰き止める堰堤部が伸び、左岸側が農業用水の取水口があり、本川に繋がっている。

5月23日に確認された*S. acus*細胞数は、堰堤にせき止められた右岸湾処部で13000細胞/mL、堰堤中央付近で10000細胞/mL、堰堤左岸寄りの本川に流れ込む地点で120細胞/mLであった(図3)。湾処部では、堰堤からの越流は見られず、堰堤にせき止められた湾処部で繁殖した*S. acus*が、本川の合流部で水流により引き込まれながら流下していたと考えられる。

*S. acus*は寒川浄水場原水において、5月17日に最大値330細胞/mLに達したが、浄水場における過閉塞障害は発生しなかった。この理由として、繁殖した*S. acus*の殻長が160~190μmとそれほど大型ではなかったこと、寒川浄水場第3浄水場では過去の障害事例からアンスラサイトを敷設していたことが考えられた。

相模川本川湾処部において障害生物の繁殖が観察された事例は初めてである。現在、神奈川県環境衛生部では、相模川本川の5箇所において定期的な水質試験を行っているが、磯部頭首工は含まれていない¹⁰⁾。障害生物の繁殖状況によっては、降雨等による急な出水の際に、下流で生物障害が発生することも危惧されたため、2014年にも、磯部頭首工における障害生物調査を実施することとした。

1 - 1 - 2) 繁殖時のAGP試験

2013年の繁殖事例において、*S. acus*が13000細胞/mLであった5月22日の磯部右岸表層水は、繁殖した*S. acus*による消費のため、栄養塩類が減少していたと考えられた。当日の磯部右岸表層水を用いて、今後の*S. acus*繁殖の可能性を調べるために、試料をGF/Cでろ過後に高圧蒸気滅菌してAGP試験を行った。結果として、ろ過・滅菌を行った磯部右岸表層水(以下「磯部ろ過水」とする)における最大増殖細胞数は50000細胞/mLで、CSi培地におけるその70%に達し、*S. acus*は5月22日の1mLあたり13000細胞/mLから更に増殖が可能な状態であったことが明らかとなった(図4)。また、磯部ろ過水では、対数増殖期後の定常期が長く、培養期間中に死滅期に至らなかったが、CSi培地では定常期が短く、死滅期に移行する現象が観察された。原因として、CSi培地で*S. acus*は最大71000細胞/mLまで達したが、非常に高密度の生物繁殖による光量の減少や増殖阻害物質の放出等が定常期や死滅期への移行の引き金となったことが考えられたが¹¹⁾、特定はできなかった。

障害生物が繁殖した際に、繁殖が継続するか否かは浄水処理にとっても有益な情報である。珪藻類の繁殖に必要な栄養塩としては、窒素化合物、リン酸化合物、珪酸が重要であるとされているが¹²⁾、障害発生時にこれらの項目の消長を詳細に調べるのは難しく、特に溶性ケイ酸については通常測定していないことから急な測定は困難である。AGP試験は簡易的に障害生物の増殖の可能性を推定できる手法として有用であると考えられた。

1 - 2) 磯部頭首工における障害生物繁殖状況調査

2014年に、磯部頭首工において、前年の*S. acus*繁殖の検証と今後の障害生物繁殖の可能性を調べるため、障害生物繁殖状況調査を行った。

調査期間における磯部頭首工の流況は、2月26日は完全に本川と分離した浅いため池状態(図5-1、2)、3月5日~5月14日は本川と繋がった湾処で、堰堤からの越流が無い状態(図6-1、2)、5月21日~7月23日は湾処で、堰堤から越流している状態(図7-1、2)であった(表1)。また、磯部右岸底層の深度は、堰堤からの越流が無い湾処状態で水面から94cmであった。

調査期間における水温の変化を図8に示す。磯部右岸表層及び底層に比べて上流の昭和橋と下流の座架依橋の水温差は小さく(0.2~0.6)、本川の水温は昭和橋と座架依橋の間でそれほど大きな

差がないと考えられた。一方、磯部右岸表層の水温は、昭和橋、座架依橋より 1.5～5.2 高く、磯部右岸表層が本川とは異なる水温状態にあることが示唆された。一方、磯部右岸表層と底層の水温には 0.4～1.9 の差が存在し、4、6、7月に顕著であった。表層と底層は完全に均一な状態ではないと考えられ、藻類の繁殖にも影響する可能性が示唆された。

リン酸態リン濃度は、昭和橋と座架依橋で 0.03～0.05mg/L であり、本川では安定して存在していることが示され、昭和橋が座架依橋より高い傾向が見られた(図9)。一方、磯部右岸表層及び底層では本川と比べて変動が大きく、本川と顕著な水質の差が認められた。

DO 濃度は、昭和橋と座架依橋でそれぞれ 9.1～12.7、8.8～12.7mg/L であり、大きな差は認められなかった(図10)。一方、磯部右岸表層では、9.7～13.8mg/L で、本川より若干高い傾向が見られ、6月以降顕著であった。磯部右岸底層は表層と同様な傾向を示したが、3月19日、6月18日の DO 濃度は表層より低く、特に6月18日には 2.9mg/L の濃度差が認められ、測定期間における最低値(7.6mg/L)を記録した。

pH 値は、昭和橋では安定していたが、磯部右岸表層及び底層、座架依橋では変動が大きかった(図11)。特に磯部右岸表層では pH 値は 7.9～9.2 と高く推移していた。

Chla 濃度は、磯部右岸表層において常に昭和橋及び座架依橋より高い値を示した。このことから、磯部右岸では藻類の繁殖が顕著であることが認められた(図12)。

調査期間に磯部右岸で繁殖が確認された主な障害生物は、湖沼性大型珪藻類の *Cyclotella* spp.、*S. acus*、*Asterionella formosa* であった。これらの生物の繁殖状況を図13～15に示す。*Cyclotella* spp. はため池状態の2月26日、湾処状態の4月16日、湾処で堰堤から越流していた7月23日のいずれの状態でも繁殖のピークが認められ(図13)、Chla 濃度や溶存酸素、pH 値と変動の傾向が一致していた。ただし、堰堤からの越流が始まった5月21日～6月18日の期間は減少傾向であった。一方、*S. acus* は4月30日から6月4日にかけて繁殖が認められ(図14)、増殖が顕著な時期は越流開始時期と一致していた(5月21日)。*A. formosa* は、湾処状態が始まった3月12日に磯部右岸表層で増殖のピークが確認された後は、顕著な増殖は無く、本川の昭和橋、座架依橋と比べて極端な差は無かった(図15)。

リン酸態リン濃度と生物の関係を考察すると、4月12日から6月4日にかけてはリン酸態リン濃度は 0 mg/L であり、生物の繁殖によりリン酸態リンが枯渇している状態と考えられた。この期間、当初増殖していた *Cyclotella* spp. は変動しながらも減少傾向に転じたが(図13)、*S. acus* はリン酸態リンが枯渇しているにも関わらず、4月30日から6月4日にかけて繁殖が認められた(図14)。

6月11日には、磯部右岸表層でリン酸態リン濃度が一時的に高い値を示した。降水量のデータ(日本気象協会)によれば¹³⁾、6月5日～7日に相模原市で264mmの降雨があり、上流域山ダム(津久井湖)でもゲート放流が行われており、このことが原因と推察された。このリン酸態リンは速やかに消失したが、供給されたリン酸態リンが、6月18日のChla量の増加及び7月23日にかけての *Cyclotella* spp. の繁殖に関与したと考えられる。

以上より磯部右岸は、ため池状態、湾処状態、堰堤からの越流のある湾処状態と3つの状態を取り、本川とは異なる環境で水質にも差が見られることが示された。障害生物としては、*Cyclotella* spp.、*S. acus*、*A. formosa* の3種が観察され、それぞれの状態で *Cyclotella* spp. が優占しやすいことが示唆された。ただし、リン酸態リンが少ない状況でも *S. acus* は繁殖できることが示唆され、今後も注意が必要であることが明らかとなった。

2014年の調査における *S. acus* の磯辺頭首工右岸での最大繁殖量は、大発生をした2013年に比べて少なかった。2013年は、城山ダム上流域において4月中旬以降夏にかけてまとまった降雨が無く、流況が非常に安定していた¹⁴⁾。2013年5月の降水量は過去10年間の平均の1/3、2014年の1/2以下と少なく、このことが原因のひとつと推定された。

1 - 3 - 1) リン酸態リン濃度の違いによる増殖特性

S. acus の増殖特性を明らかにするために、相模川水系で藻類の制限要因になる代表的な栄養塩であるリン酸態リン濃度を¹⁵⁾、0 ~ 0.08mg/L に変化させた CT 培地を作成し、増殖速度の比較を行った。リン酸態リン濃度の違いによる *S. acus* の最大増殖細胞数の変化を図 16 に示す。

単藻培養した *S. acus* は、細胞内にリンを取り込んでいると考えられたため、精製水で 5 回洗浄した後で 2 日間の飢餓培養を行ったが、リン酸態リン濃度 0 mg/L の培地でも増殖が認められ、*S. acus* の最大増殖細胞数は 6800 細胞/mL であった。リン酸態リン濃度 0.02mg/L で 11000mg/L、0.04mg/L で 49000mg/L で、それ以上の濃度では最大増殖細胞数に大きな差は見られなかった。

珪藻類は、体内にリン酸を蓄積することが知られており¹²⁾、本実験では 2 日間の飢餓培養を試みたが、*S. acus* の細胞内にはまだ利用可能なリンが残存し増殖が可能であったと考えられた。環境中にリンが無く、生体内のリンを消費している状態と、環境中に豊富にあるリンを使用している状態とでは、増殖速度に違いが生じると考えられるが、AGP 試験による最大増殖能は、藻類の増殖に影響を与えるリン酸態リン濃度の評価には有効な手法と考えられる。今回の実験においては、飢餓培養の期間を長くすることで、リンに関する要求量がより明らかにできたと考えられた。本実験において、最大増殖細胞数は、0 と 0.01mg/L、0.01 と 0.02mg/L 以上の間で明らかな差が認められた。

珪藻類が必要とするリン酸態リン濃度については、0.15mg/L で生育可能、61mg/L 以上で成長障害を受け、この濃度は藻類全体から見ると中程度よりやや高い要求度との報告がある¹²⁾。一方、*S. acus* の栄養塩要求については、0.005mg/L で不十分で、0.05mg/L で良好であったとの報告もある¹⁶⁾。ただし、報告の *S. acus* は培養時に星型の群体を形成したとあるため、今回出現した種とは異なる可能性がある。今回の実験で、*S. acus* の増殖に十分なリン酸態リン濃度は 0.02mg/L 以上と見積もられ、*S. acus* は低いリン酸態リン濃度で増殖できることが明らかとなった。

1 - 3 - 2) 静置および振とう培養による増殖特性

2014 年 3 月 5 日に、磯部頭首工で繁殖する 3 種類の障害生物を含む磯部表層水を採取し、CSi 培地で 1/10 に希釈した後、静置および振とう培養を行って *Cyclotella* spp.、*S. acus*、*Astrionella formosa* の培養方式の違いによる相対的な増殖特性を調べた(図 17)。初期の細胞数は、*Cyclotella* spp.、*S. acus*、*A. formosa*、それぞれ、130、22、11 細胞/mL であった。*Cyclotella* spp. は、静置培養では培養 5 日目に、振とう培養では 12 日目に増殖のピークを迎え、その後減少した。*A. formosa* と *S. acus* は、静置培養では 12 日に、振とう培養では 20 日にピークを迎え、その後減少した。最終的に培養 25 日目までには *Cyclotella* spp. 及び *A. formosa* は死滅したが、*S. acus* は定常期の状態で生存していた。この優占種の遷移は磯部頭首工右岸における藻類の増殖状況と一致しており、*S. acus* が他の 2 種との競合の中で、最後まで生残することが示唆された。また、3 種類とも静置培養より振とう培養の方が増殖細胞数が相対的に大きくなることが示された。特に *S. acus* では、培養 25 日目の生残細胞数は、振とう培養 (5700 細胞/mL) が静置培養 (1100 細胞/mL) の約 5 倍であり、湖沼性の珪藻類でも緩やかな振とう培養条件においては、増殖能が高くなることが示された。磯部頭首工で *S. acus* が繁殖した時期は、越流が始まった時期に一致したが、越流による水の動きの活発化も *S. acus* の増殖に有利に働いた可能性がある。なお、珪藻類は強光を嫌うため、ガス胞を持つアオコ形成藍藻類のように表層に特異的に分布せず、表層を避けて水塊に広く分布するため、越流による消失は顕著でなく、継続的に増殖できたと考えられた。

以上より、磯部頭首工では時期によって優占種が異なるが、ため池状態、湾処状態、堰堤からの越流がある湾処状態のいずれでも障害生物が繁殖し、特に *S. acus* については、低いリン酸態リン濃度でも繁殖すること、他の競合藻類との競争に優位な傾向があることから、磯部頭首工で今後も繁殖する可能性があることが示唆された。

2) 相模川本川における付着、着生藍藻類の繁殖

2 - 1) 相模川河床における着生藻類調査

着生藻類は、付着藻類ほど強固に基物と結びついておらず、近年ダム湖において湖岸の泥の表面で繁殖し、かび臭問題に影響を与えていることが指摘されている¹⁷⁾。2014年1月31日に採取した昭和橋の泥を予備培養した試料を用いて、滅菌した泥にCT培地を添加した試料と滅菌河川水にCT培地を添加した試料について、静置及び振とう培養を行った結果、泥を含む培地で、*Phormidium tenue* 様の藍藻類が観察された。なお、現在の藍藻類の分類体系では、水道分野で使用している学名の *Phormidium tenue* に相当する藍藻類は *Leptolyngbya tenuis* または *Pseudoanabaena limnetica* 等を指すとされるが^{17) 18)}、ここでは「日本の水道生物」に従って⁸⁾、*Phormidium tenue* 様の藍藻類の呼称を使用する。

プレートを用いた培養実験の結果、静置培養した泥を含むウェルではかび臭を感知したが、振とう培養した泥を含むウェル及び両方の培養をした泥を含まないウェルではかび臭を感知しなかった。泥を含む静置培養したウェルのかび臭産生藻類を単離するために、懸濁後にCT寒天培地に画線培養したところ、茶色いコロニーが形成され、釣菌して液体CT培地に移したところ、かび臭を感知する茶色の藍藻類が繁殖した(図18-1、図18-2、図18-3)。一方、泥を含まない静置培養したウェルの壁面には藻類が繁殖しており、ウェルを良く洗浄して液体CT培地に移して静置培養したところ、かび臭を感知しない緑色の藍藻類が繁殖した(図19)。培養1ヵ月後の茶色の株は糸状体として4.1mm/mLの現存量で、このときの2-MIB濃度は110ng/mL、ジェオスミン濃度は240ng/mLであった。また、緑色の藍藻類は、現存量が13.2mm/mLで、2-MIB濃度は3ng/mL、ジェオスミン濃度は2ng/mLであった。顕微鏡観察では、茶色の藍藻類は細胞の長さとの幅の比が緑色の藍藻類より相対的に小さく、細胞と細胞の間のくびれが大きい特徴があった。

以上より、本川中の泥の中には藍藻類が存在しており、静置や振とう等の培養条件やCT寒天培地や液体CT培地等の培地条件、泥の有無等で適した種が繁殖すると考えられた。実験では、茶色と緑色の2種類の*P. tenue* 様藍藻類が分離できた。これらの藍藻類は、ピペット法で単離を試みたが、最終的には培養液から2-MIBとジェオスミンの2種類のかび臭物質が検出され、単離には至らなかったと考えられた。培養液中に、他の藻類は観察されないと同定したが、顕微鏡下で分類し難い*P. tenue* 様藻類が混在しているか、他のかび臭を産生する放線菌等が混在しているかは不明であった。

相模川岸辺の底泥表面には、着生藻類を含む生物群集が存在し、条件によってはかび臭を産生する可能性があることが示唆された。

2 - 2) 磯部頭首工堰堤部における付着藻類調査

磯部頭首工堰堤越流部のコンクリート壁では、6月18日以降継続してかび臭を産生する付着生物群集のマットが観察された(図20-1、20-2)。マットには、顕微鏡下で*Phormidium autumnale* を優占種とする藍藻群集が認められた(図21)。1cm×1cmに切り出したマットを20静置培養と15振とう培養の2つの条件で6日間培養してかび臭産性能を調べたところ、20培養では2-MIBが50.3ng/cm²/day、ジェオスミンが15.8ng/cm²/dayであり、2-MIB:ジェオスミンの比は3.2:1であった。一方、夏季の水温より低い15の振とう培養では、2-MIBが14.0ng/cm²/day、ジェオスミンが47.0ng/cm²/dayであり、2-MIB:ジェオスミンの比は1:3.4で全く逆の値であった。実験には隣り合った付着藻類のマットを使用したか、大きさが正確に1cm²には調整できず、厚みも異なり(図22-1、22-2) 定量的な誤差が大きいと考えられた。ただし、マット自身の種組成や現存量の違いだけでなく、培養温度や培養条件によってもかび臭産生能に大きな違いが生じる可能性が示唆された。

かび臭問題の多くは湖沼で発生することが多く、原因生物は*Anabaena* 属や*Phormidium* 属の1種~数種であり、特定できる場合が多い。このため、かび臭産生種を調査する場合、試料を顕微鏡で観察し、はっきりしない場合は分離・培養の手法を用いて原因生物を特定する手法が用いられてき

た。河川においても、かび臭物質の濃度が高い場合には特定の付着藻類が原因となることが考えられるが、10ng/L 程度以下のかび臭物質が長期間に渡って検出されるような場合には、特定の生物が繁殖しているのではなく、様々な原因生物が複合的に関与している可能性も考えられる。

今回の調査で、相模川本川でかび臭を産生する藍藻類の存在が確認されたが、ひとつは柔らかな泥の表面や植物体の表面等で繁殖する着生藻類であり、もうひとつは石やコンクリートで繁殖する付着藻類であった。着生藻類については、培養により単藻状態にできたと考えられたが、かび臭物質を測定すると 2-MIB とジェオスミンの両方が検出され、培養液中には分離した藻類の他にもかび臭を産生する生物が存在していた可能性が示唆された。

一方、付着藻類のマットの中にも 2-MIB を産生する代表的な藍藻類が存在していたが、かび臭物質としてはジェオスミンも検出された。同一地点で採取した隣接するマットを用いて、条件を変えて培養を行ったところ、2-MIB とジェオスミンの比率や産生能に大きな違いが見られた。

以上より、相模川の川床の泥やコンクリート護岸等においてはかび臭を産生する着生藻類及び付着藻類群集が存在し、環境に応じて 2-MIB やジェオスミンを産生していると考えられた。河川におけるかび臭産生藻類の調査においては、湖沼における分離・培養後にかび臭産生藻類を特定する方法ではなく、着生及び付着生物群集が作る混合群集としての泥やマットについてかび臭産生能を調査する等の異なるアプローチが必要と考えられる。

相模川水系の生物障害は、上流の相模湖、津久井湖で繁殖した障害生物の流下による事例が多かったが、本川での繁殖は、上流湖沼での繁殖情報が得られないこと、障害が発生してから浄水場までの距離が短いことから、今後も注意が必要と考えられる。

E. 結論

2013 年 5 月、湖沼性ろ過閉塞障害生物の *S. acus* が、相模川本川中流域の磯部頭首工で繁殖する事例が観察された。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、相模川本川における障害生物繁殖の可能性に着目し、2014 年に本川の生物障害調査を実施した。その結果、本川中流域の磯部頭首工の湾処（わんど）部では障害生物として湖沼性珪藻類の *Cyclotella* spp.、*Synedra acus*、*Asterionella formosa* が繁殖することが明らかとなった。*S. acus* は低濃度のリン酸態リン濃度でも繁殖が可能で、磯部頭首工湾処部において、これらの 3 種のなかで優位に増殖し、今後も増殖する可能性が示唆された。

また、本川河床の泥や磯部頭首工湾処で越流が起きているときの堰堤部コンクリート壁において、かび臭物質を産生する着生藻類や付着藻類が分離され、かび臭障害の原因のひとつとなる可能性が示唆された。

着生藻類を含む泥や付着藻類のマットについては、障害生物を単離して調査を行う手法に加えて、障害生物が混在する泥やマットとして取り扱い、かび臭障害への影響を評価する方法も重要と考えられた。

相模川本川の湾処部や川床底泥、コンクリート堰堤等では障害生物が繁殖する可能性があり、生物障害の監視上注意が必要である。

G. 研究発表

1) 論文発表

該当なし

2) 学会発表

(1)岩谷梓，渡邊洋大，北村壽朗．相模川本川滞留域における障害生物の繁殖事例．平成 26 年度日本水道協会関東地方支部水質研究発表会．2014 年 11 月；東京．同講演集．pp．29-31．

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) 県営水道の水質（1969～2013）第1集～第35集，神奈川県企業庁.
- 2) 相模川・酒匂川水質概況（2013）相模川・酒匂川水質協議会，p.61.
- 3) 西澤一俊，千原光男（1979）藻類研究法．共立出版，pp.181-183, 229-230.
- 4) 日本水道協会（2011）上水試験法 2011年版．日本水道協会，東京.
- 5) 渡辺仁治（2005）淡水珪藻生態図鑑，内田老鶴圃，p.109.
- 6) 小林弘（2006）小林弘珪藻図鑑，内田老鶴圃，p.83.
- 7) 国立科学博物館（2015）ダム湖の植物プランクトン，（<http://www.kahaku.go.jp/research/db/botany/dam/>）.
- 8) 日本の水道生物（2008）日本水道協会.
- 9) 相模川流域誌編纂委員会（2010），相模川流域誌本編〔中〕，国土交通省関東地方整備局京浜河川事務所.
- 10) 神奈川県環境科学センター，平成24年度神奈川県公共用水域及び地下水の水質測定結果，神奈川県環境科学センター.
- 11) 秋山優，有賀祐勝，坂本充，横浜康継（1986）藻類の生態，内田老鶴圃，pp.29-36，239.
- 12) 巖佐耕三（1976）珪藻の生物学，東京大学出版会，pp.43-55.
- 13) 日本気象協会（2014）過去天気情報，（<http://www.tenki.jp/past/2014/>）.
- 14) 神奈川の水がめ，相模川水系別降水量（2015）神奈川県企業庁，（http://kanagawa-dam.jp/web_data/rainfall_s.html）
- 15) 齊藤昭二，有賀祐勝（1994）津久井湖における植物プランクトンの季節的消長と環境要因との関係，水道協会誌，第63巻第4号，pp.62-79.
- 16) 青木稔，瀬戸義正，建部修，中村一誠（1990）ろ過障害生物 *S.acus* の増殖特性-AGP試験による増殖特性の検討 - . 日本水道協会誌，第59巻第3号，pp.20-29.
- 17) 小澤和也，木村文宣（2013）貯水池浅場上の底泥がカビ臭現象に与える影響に関する調査研究，平成24年度 水源地環境技術研究所 所報，pp.3-9.
- 18) 木村康文，小泉健一（2014）釜房ダムにおける異臭味対策について，ダム技術，323，pp.42-46.



図1 調査地点

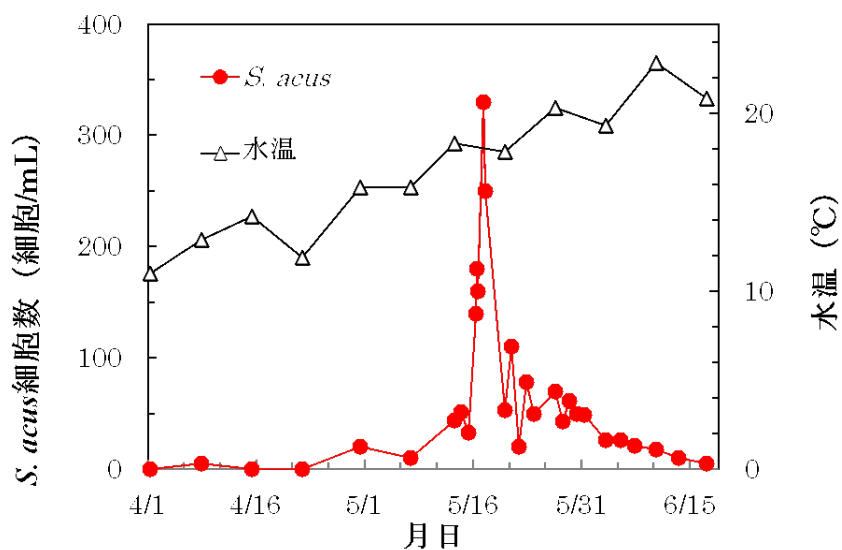


図2 寒川浄水場原水における*S. acus*細胞数と水温の推移

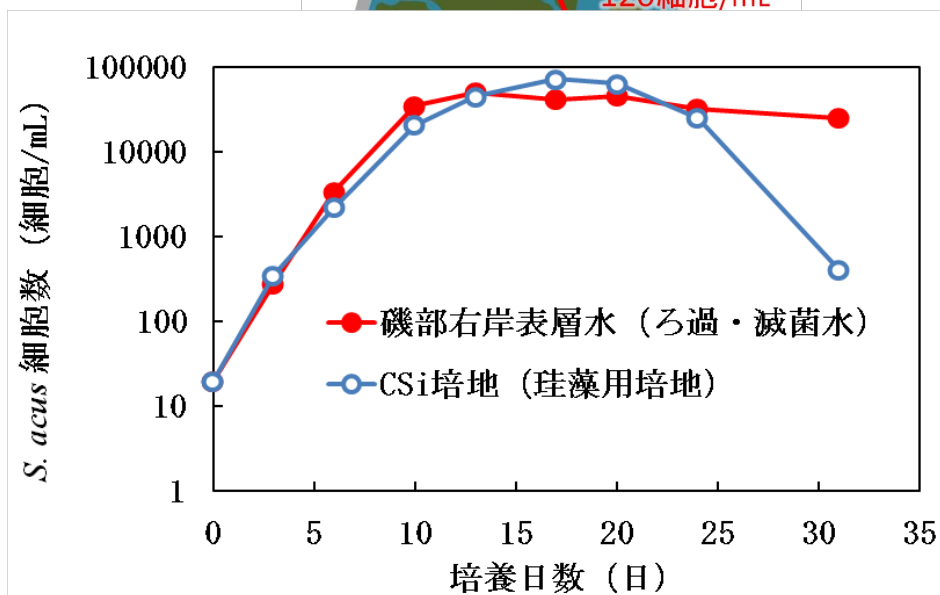
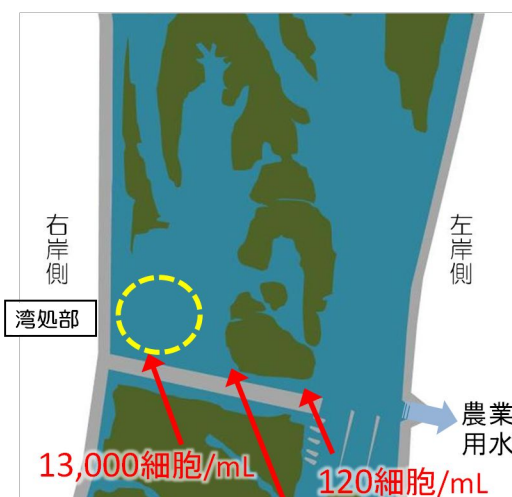


図4 *S. acus*繁殖時の磯部頭首工試料を用いたAGP試験



図 5-1 2014年2月26日の磯部頭首工
右岸写真



図 5-2 2014年2月26日の磯部頭首工
写真

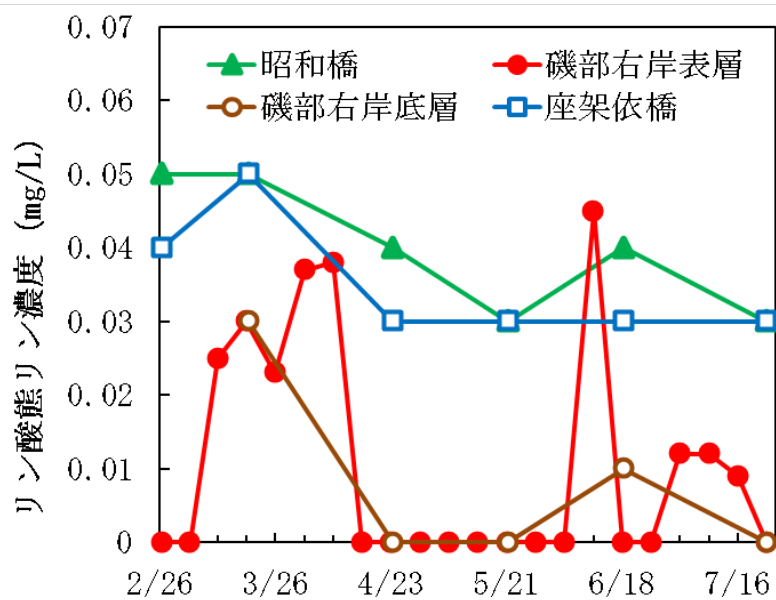


図 6-1 2014年3月26日の磯部頭首工
右岸写真



図 6-2 2014年3月26日の磯部頭首工
写真





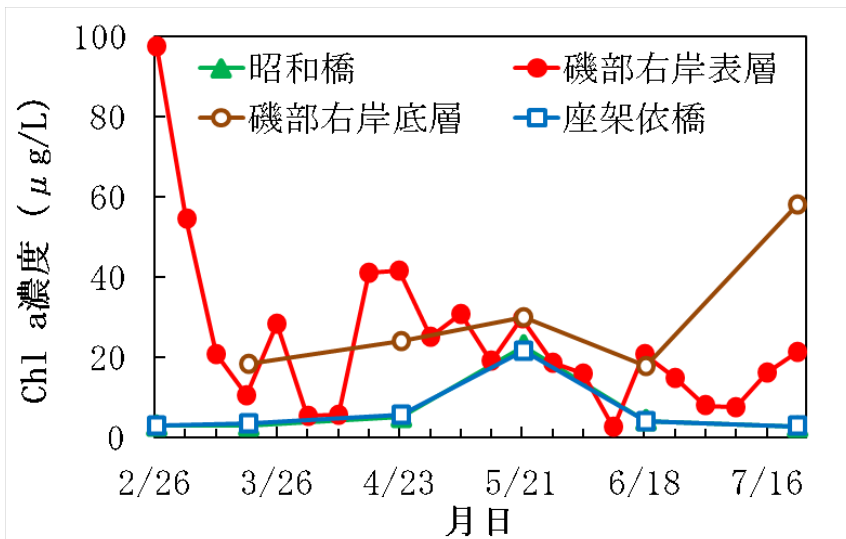


図12 各調査地点におけるChl a濃度の推移

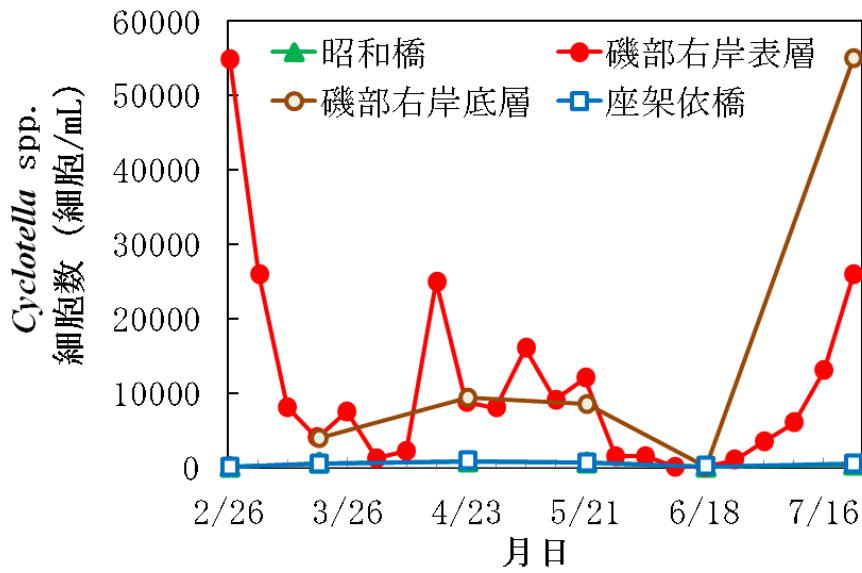


図13 各調査地点における*Cyclotella* spp. 細胞数の推移

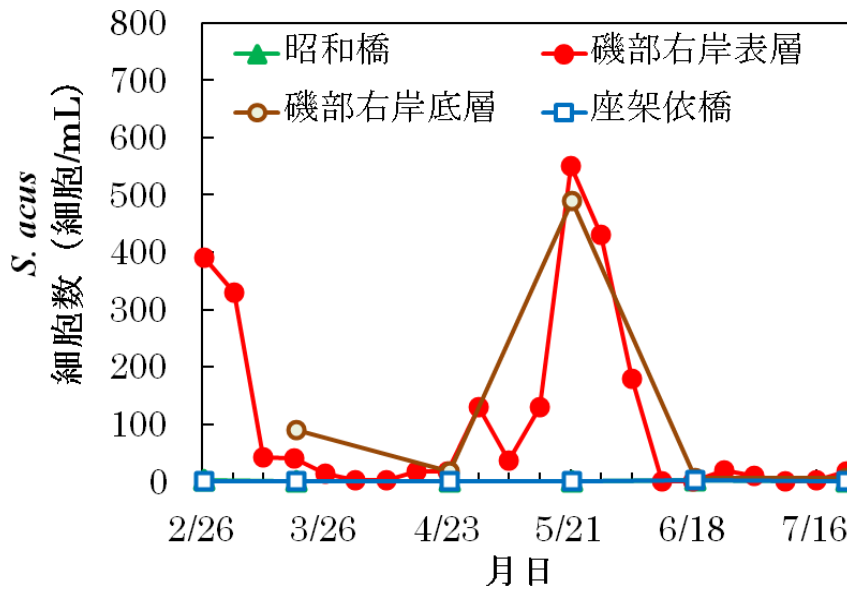


図14 各調査地点における*S. acus* 細胞数の推移

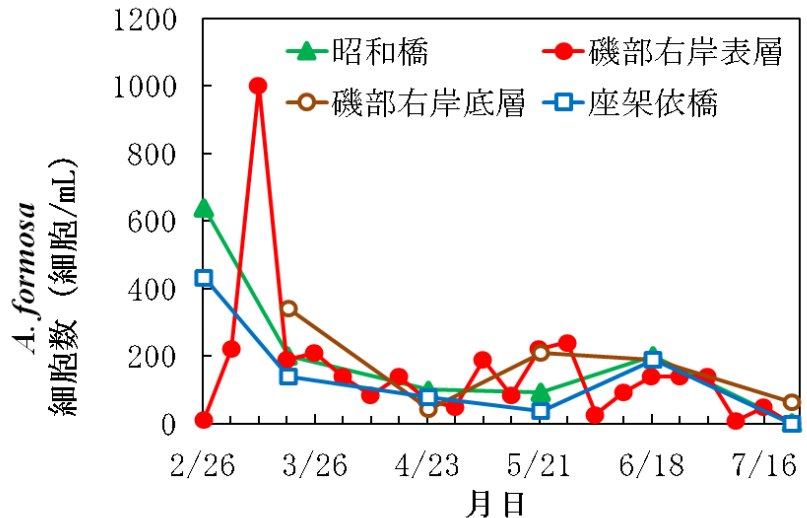


図15 各調査地点における*A. formosa*細胞数の推移

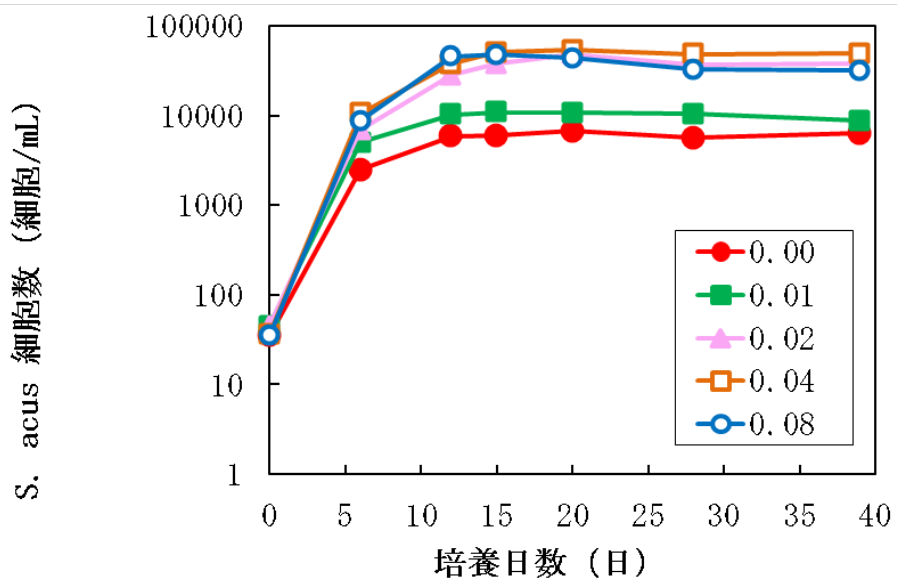


図16 リン酸態リン濃度 (mg/L) の違いによる *S. acus* 最大増殖細胞数の変化

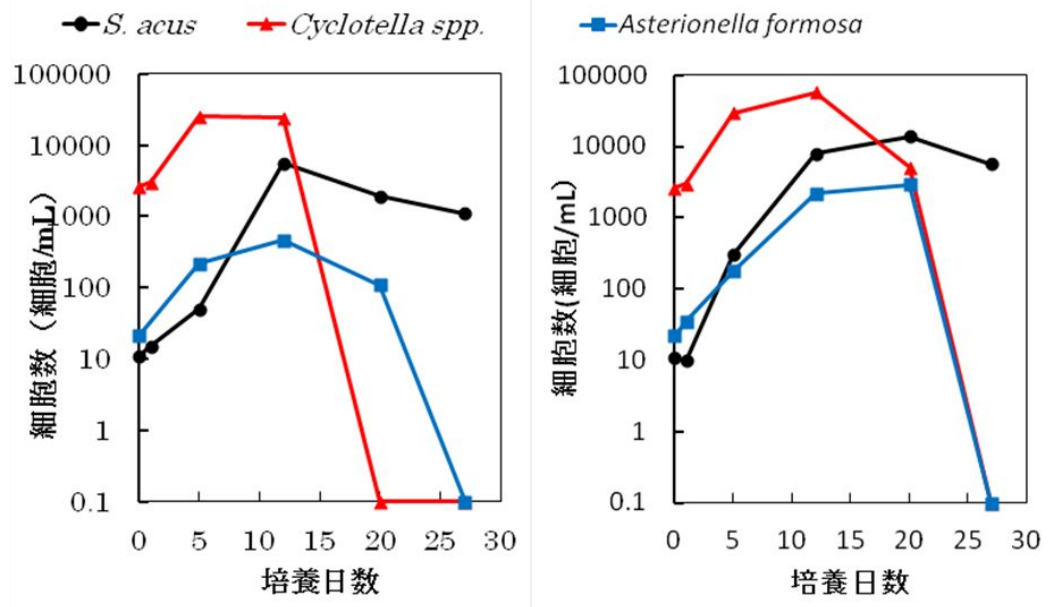


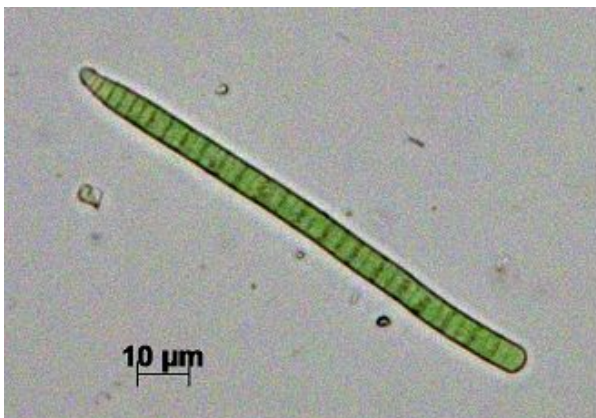
図17 磯部表層水の障害生物3種の静置培養 (左) と振とう培養 (右) による増殖特性の比較



図 18-1 画線培養により形成された藍藻類のコロニー①



図 18-2 画線培養により形成された藍藻類のコロニー②



研究成果の刊行に関する一覧表

1. 論文発表

- 1) Fujimoto N, Matsuo E, Murata M, Nomura K, Ohnishi A, Suzuki M, Enmoto K, Yamaguchi S, Yanagibashi Y, Kishida N, Akiba M. Evaluation of the small-eukaryote community composition in a mesotrophic lake by sequencing the 18S rRNA genes. *Jpn J Water Treat Biol* 2014;50(2):85-94.
- 2) Kishida N, Sagehashi M, Takanashi H, Fujimoto N, Akiba M. Nationwide survey of organism-related off-flavor problems in Japanese drinking water treatment plants (2010–2012). *J Water Supply Res T* (in press).
- 3) 岸田直裕 . アオコによる利水障害の実態 . *水環境学会誌* 2014;37(5): 175-8.

2. 学会発表

- 1) 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過程の検討 . 日本水道協会平成 26 年度全国会議 . 2014 年 10 月 ; 名古屋 . 同講演集 . p. 530-1 .
- 2) 藤本尚志, 大西章博, 鈴木昌治, 藤瀬大輝, 岸田直裕, 秋葉道宏 . クローニング法および次世代シーケンサーによるろ過漏出障害原因生物の評価 . 日本水道協会平成 26 年度全国会議 ; 2014 年 10 月 ; 名古屋 . 同講演集 . p. 540-1 .
- 3) 岩谷梓, 渡邊洋大, 北村壽朗 . 相模川本川滞留域における障害生物の繁殖事例 . 平成 26 年度日本水道協会関東地方支部水質研究発表会 ; 2014 年 11 月 ; 東京 . 同講演集 . p.29-31 .
- 4) 安斎英悟, 千葉信男, 秋葉道宏, 西村修 . ピコ植物プランクトンに対する凝集ろ過法の効果 . 日本水処理生物学会第 51 回大会 ; 2014 年 11 月 ; 甲府 . 日本水処理生物学会誌別巻第 34 号 . p.12 .
- 5) 渡邊英梨香, 藤本尚志, 大西章博, 鈴木昌治, 藤瀬大輝, 岸田直裕, 秋葉道宏 . 分子生物学的手法による浄水場処理工程水のピコシアノバクテリア生物相の評価 . 第 49 回日本水環境学会年会 ; 2015 年 3 月 ; 金沢 . 同講演集 (印刷中) .
- 6) 下ヶ橋雅樹, 高梨啓和, 秋葉道宏 . 浄水処理プロセスにおける生物障害のエネルギー環境負荷 . 化学工学会第 80 年会 ; 2015 年 3 月 . 同講演要旨集 (印刷中) .