

第 222 回雑誌会

(Jul. 7, 2015)

(1) 下水処理施設への新たな衛生学的指標導入に関する検討

山下 洋正, 重村 浩之, 藤井 都弥子, 小越 眞佐司

平成 25 年度下水道関係調査研究年次報告書集 **823**, 31-37 (2015).

レビュー: 太田 優治

現在, 我が国における水環境中の環境基準や下水道の排水基準として, 大腸菌群が用いられている。しかしながら, 大腸菌群は土壌などの自然由来の細菌も含まれることから, ふん便汚染の指標としての妥当性の低さが懸念されている。このことから, 大腸菌を大腸菌群の代替指標とするために水環境中における実態調査や新たな基準値の検討が進められている。そこで本研究では, 消毒前の下水処理水中と下水放流水中における, 大腸菌の存在実態, 季節・時間変動, および異なる計数方法を用いて細菌数への影響を調査した。また, 同一のサンプルを複数の測定機関と測定者の違いによって大腸菌数と大腸菌群数への影響を調査した。調査は, 平成 23 年度から平成 25 年度に関東地方の下水処理場を対象とし, 最確数法, 平板培養法, および疎水性格子付メンブレンフィルター (HGMP) 法を用いて大腸菌と大腸菌群を計数した。

消毒前の下水処理水中の大腸菌数と大腸菌群数は, 調査期間を通じてほぼ一定であり, 異なる計数方法による各細菌数の違いは認められなかった。その一方で, 下水放流水中の大腸菌数と大腸菌群数は, 夏季と比較して冬季において減少傾向を示したが, 異なる計数方法によって各細菌数に違いが認められた。また, 試料中の各細菌数が 10^3 (CFU/100mL, MPN/100mL) 以下であった場合, 最確数法と HGMP 法と比較して, 平板培養法では検出下限値以下となる結果が多かった。このことから, 試料中の細菌濃度が低濃度の場合, 細菌の計数方法に最確数法と HGMP 法が適していることが示唆された。測定機関および測定者の違いによる影響を調査した結果, 消毒前の下水処理水中の大腸菌数は平板培養法と HGMP 法を用いた場合, 各測定機関の測定値のオーダーは同程度であった。その一方で, 最確数法を用いた場合, ばらつきは大きい傾向を示した。このことから, 計数方法についても考慮する必要があることが示唆された。下水放流水中における大腸菌数の測定機関, 測定者による計数結果は, いずれも 10 (CFU/100 mL, MPN/100 mL) 以下であった。また, 大腸菌群数に対する大腸菌数の割合は, 下水流入水中, 下水処理水中, および下水放流水中において, それぞれ 30~40%, 20~30%, 10%以下であった。このことから, 下水の処理過程が進むにつれて, 大腸菌群数に占める大腸菌数の割合は, 低下する傾向を示した。以上の結果から, 消毒前処理水と消毒後放流水における大腸菌の存在実態, 季節・時間変動, および測定機関, 測定者のばらつきの傾向が明らかとなった。

(2)下水処理施設放流水中の残留塩素に着目した毒性同定評価

山本 裕史, 矢野 陽子, 森田 隼平, 西家 早紀, 安田 侑右, 田村 生弥
鑑迫 典久

土木学会論文集 G (環境), **69**, 375-384(2013).

レビュー：中田 光紀

現在、各施設から排出される放流水の評価・管理には、化学物質の複合的な影響が考えられていない。そのため環境省では、現行の水質環境基準や排水基準を補完するために「生物応答試験を用いた排水管理手法」の導入を検討している。しかしながら、生物応答試験を実排水に適用した例は少なく、特に短期慢性毒性試験の適用は数例に限られる。そこで本研究では、未処理の排水と前処理を施した排水について、全排水毒性 (WET) 試験法に基づいた水生生物 3 種の短期慢性毒性試験を実施した。試料は、徳島県内の公共下水道の終末処理場 (施設 A) と住宅団地の排水処理場 (施設 B, C) の 3 カ所から放流水を採水した (施設 A のみ 2 回実施)。採取した試料は、ろ過、チオ硫酸ナトリウム ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 添加、および固相抽出カラム Oasis HLB 通水の 3 条件で前処理を実施し、それぞれを試験に用いた。供試生物は、ゼブラフィッシュ、ニセネコゼミジンコ、およびムレミカヅキモとした。生物応答試験は、実施当時に環境省で検討中であった試験法に従って実施した。毒性値は、Dunnett 多重比較検定を用いて、最大無影響濃度 (NOEC) を算出した。

ゼブラフィッシュを用いた試験では、9 日間後の孵化率と仔魚致死率を算出した結果、施設 B と C の排水には毒性が認められなかった。これに対して、施設 A の排水は 1 回目と 2 回目で、仔魚致死率に対するろ過のみの試料の NOEC がそれぞれ排水濃度 5% 未満と 40% と算出され、毒性が認められた。しかしながら、2 回目の試料に $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ を添加した場合、仔魚致死率の NOEC は 80% より高いと算出され、毒性が低下した。さらに、8 日後のミジンコの致死率と産仔数を調査したミジンコ繁殖試験においても、施設 C の排水で $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 添加による毒性低下の傾向が認められた。このことから、施設 A と C から放流される排水の毒性は、残留塩素に依存しており、 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ を添加することによって残留塩素が還元処理され、無害化したと考えられた。ムレミカヅキモを用いた試験において、72 時間後の生長阻害率を求めた結果、施設 C の排水は、排水濃度 20% において、藻類の生長阻害率が 100% であった。このときの生長阻害率に対する NOEC は、20% 未満と算出された。その一方で、 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ を添加した試料では、毒性が低減し、NOEC は 80% より高いと算出された。以上の結果から、本研究で対象とした排水の毒性原因は残留塩素であり、 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ を添加することによって、その毒性を低減させることが可能となる。

(3)マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析法による火落ち菌の迅速同定

孫 麗偉, 寺本 華奈江, 鳥村 政基, 佐藤 浩昭, 田尾 博明

分析化学 **56**(3), 1071-1079 (2007).

レビュー：松脇 知典

「火落ち菌」は、*Lactobacillus* 属の乳酸菌として定義されており、清酒の貯蔵において増殖し、風味を損なう原因菌とされている。火落ち菌の同定には、16S rRNA や 23S rRNA 遺伝子の塩基配列に基づいた相同性解析を用いているが、煩雑な前処理や数日程度の解析時間が必要である。このことから、清酒の品質管理および汚染源の特定のためには、細菌を迅速かつ簡便に同定する手法の開発が望まれている。そこで本研究では、微生物菌体中に存在するリボソームタンパク質を測定するマトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析法 (MALDI-MS) を用いて、火落ち菌の迅速同定を行った。菌株は、代表的な火落ち菌として知られる *Lactobacillus* 属の乳酸菌 5 種 (*L. fructivorans*, *L. hilgardii*, *L. paracasei* subsp. *paracasei*, *L. paracasei* subsp. *tolerans*, *L. rhamnosus*) を理化学研究所から購入し、標準株としてデータベースを作成した。また実試料は、国内酒造メーカーから提供された火落ち菌とし、作成したデータベースと比較して菌種同定を行った。なお、測定範囲は、質量電荷比 6000~12000 とした。

醸造所の火落ち菌のマススペクトルとデータベースを比較すると、*L. fructivorans*, *L. hilgardii*, *L. paracasei* subsp. *paracasei*, *L. paracasei* subsp. *tolerans*, および *L. rhamnosus* において、それぞれ 1 本, 0 本, 17 本, 14 本, および 7 本の共通した質量電荷比でピークが確認された。このことから、醸造所の火落ち菌は、*L. fructivorans* および *L. hilgardii* ではないと考えられる。また、標準株として用いた、*L. paracasei* subsp. *paracasei*, *L. paracasei* subsp. *tolerans*, および *L. rhamnosus* は、質量電荷比 11100~11700 の範囲において、それぞれ質量電荷比 11231, 11321, および 11533 の異なる位置にピークを検出した。これらのバイオマーカーに着目して、醸造所から提供された火落ち菌と比較してみると、*L. paracasei* subsp. *paracasei* のバイオマーカーのみとピークが一致した。このことから、醸造所の火落ち菌は、*L. paracasei* subsp. *paracasei* であると推察された。さらに、この火落ち菌について、16S rRNA 遺伝子の塩基配列 (552bp) を解読すると、*L. paracasei* subsp. *paracasei* と *L. paracasei* subsp. *tolerans* が 100%の相同性を示し、MALDI-MS の同定結果とほぼ一致した。以上のことから、MALDI-MS による解析法は、従来の遺伝子解析法と比較して迅速であり、清酒の品質管理や汚染源の特定に有効な手段であると考えられた。