

第 190 回雑誌会

(Jun. 11, 2014)

(1) Mechanism of chromosomal transfer of *Enterococcus faecalis* pathogenicity island, capsule, antimicrobial resistance, and other traits

Manson, J. M., Hancock, L. E. and Gilmore, M. S.

Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, **107**, 12269-12274 (2010).

Reviewed by M. Nishiyama

腸球菌 *Enterococcus faecalis* の染色体上にある病原性可動遺伝子領域 (pathogenicity island, PAI) には、腸球菌の病原性因子である腸球菌表面タンパク質 (Esp) や β 溶血毒素などの遺伝子がコードされている。PAI には、ファージの挿入や切除に関連する遺伝子やプラスミドの相同体も存在しており、これらは伝達因子 (integrative and conjugative element, ICE) として他の細菌へ水平伝播する要因であると考えられている。しかしながら、*E. faecalis* の PAI に存在する ICE の伝達は明らかとなっていない。そこで本研究では、ICE の作用による PAI の伝達を明らかにし、*E. faecalis* 染色体における遺伝子の伝達を評価した。供試菌株には、供与菌として 2 つのプラスミド (pTEF1, pTEF2, pTEF3) を有する *E. faecalis* V583 株に、テトラサイクリン耐性マーカーを PAI の 3 つの異なる位置に導入した菌株を用いた。受容菌として *E. faecalis* 標準株 (OG1RF, OG1SSp) を使用した。供与菌と受容菌の遺伝子伝達は寒天平板上で実施し、受容菌数に対する接合完了体数の割合で伝達率を評価した。また、接合完了体について、PFGE (pulsed field gel electrophoresis) 法を使用して、菌株の遺伝子型を取得した。

OG1RF 受容菌の *E. faecalis* による PAI の伝達率は、PAI 上に導入した耐性マーカーの種類に関係なく、 10^{-10} per donor であった。接合完了体として 12 株 (TC1~TC12) の遺伝子型を取得した結果、バンドパターンから 5 つのグループ (A : TC1, TC2, TC7, B : TC4, TC6, TC8, TC9, TC10, C : TC3, D : TC12, E : TC5, TC11) に分類され、そのうちの 3 株 (TC1, TC2, および TC9) から pTEF2 が確認された。次に、各 PFGE グループの接合完了体を供与菌として、受容菌に OG1SSp を用いて伝達性を評価したところ、TC3, TC4, TC5, TC7, および TC12 では PAI の伝達は確認されなかった。その一方で、TC1 と TC9 では伝達を確認され、それぞれ、 2.9×10^{-9} per donor, 2.7×10^{-9} per donor であった。さらに、pTEF1 と pTEF2 の *oriT* (接合伝達開始領域) を削除した場合には、PAI の伝達を確認されなかった。このことから、PAI の伝達は、供与菌である *E. faecalis* V583 株の染色体外部にあるプラスミド (pTEF2) によって生じることが示唆された。以上のことから、プラスミドの伝達性は、染色体における PAI の水平伝播に寄与する主要な要素であることが明らかとなった。

(2) Clay mineral distributions in surface sediments of the Liaodong Bay, Bohai Sea and surrounding river sediment: Sources and transport patterns

Yanguang, D., Jun, L., Jingtao, Z., Helong, W., Shouye, Y., Fenglong B., Daolai, Z.,
Xue, D., and Libo, W.

Continental Shelf Research, **73**, 72-82 (2014).

Reviewed by Y. Arai

中国北部の渤海に位置する遼東湾では、湾周辺の河川から多量の土砂（65.5 Mt/yr）が供給され湾内に堆積している。近年、遼東湾における堆積物の供給源に関する研究が報告されているが、湾周辺には複数の河川が存在するため、正確な供給源は明らかになっていない。さらに、湾内は複雑な海流の影響を受けるため、堆積物の輸送経路を特定することが困難である。そこで本研究では、遼東湾および湾周辺の河川を対象とし、粉末 X 線回折（XRD）分析によって、粘土鉱物の分布を明らかにした。さらに、粘土鉱物の含有率と海流の関連性から正確な供給源と輸送経路を推定した。試料は、遼東湾内の堆積物（127 試料）と、湾周辺の 7 河川（Daling, Xiaoling, Shuangtaizi, Daliao, Liugu, Luan, Fuzhou）の堆積土砂（30 試料）を採取し、合計 157 試料とした。

XRD 分析によって、遼東湾周辺の河川における堆積土砂の粘土鉱物を同定し、各鉱物の平均含有率を算出した結果、北部に位置する河川（Daling, Xiaoling）の堆積土砂は、スメクタイト（37%）が高い割合で存在した。一方の西部における河川（Liugu, Luan）の堆積土砂では、北部の河川と比較してスメクタイトの割合が非常に低く、7%であった。また、東部の河川（Fuzhou）の土砂は、他の河川と比較してイライト（61%）の含有率が高い割合で存在した。遼東湾周辺の河川と湾内における堆積土砂の各鉱物の含有率を比較した結果、遼東湾西部と北部における組成は、それぞれ南西部および北部の河川と類似していた。このことから、遼東湾西部と北部の堆積物の起源は、それぞれ南西部と北部の河川であり、西海岸に沿って北部へと流れる表層流によって輸送され、堆積すると考えられた。一方の湾南東部における各鉱物の含有率は、湾の反対側に位置する南西部の河川と類似していた。さらに、湾北東部において、イライトの含有率が 58~61%に達する場所が確認された。これらのことから、湾南東部と北東部における堆積物の供給源は、それぞれ南西部と南東部の河川であり、夏季に発生する南西から北東部に向かう反時計回りの表層流によって輸送されると推察された。以上の結果から、遼東湾の堆積物は、湾周辺の全河川から供給されているが、湾内における各地域の堆積物は別々の海流によって輸送されることが示唆された。

(3) *Salmonella* and antimicrobial resistance in animal-based agriculture river system

Palhares, J. P., Kich, J. D., Bessa, M. C., Biesus, L. L., Berno, L. G. and Triques, N. J.
Science of the Total Environment, **472**, 654-661 (2014).

Reviewed by M. Ushijima

抗菌薬に対して耐性を示す病原細菌の出現は、家畜生産の向上を目的とした抗菌薬の乱用に関係していると考えられている。サルモネラにおいても抗菌薬に対して耐性を示す菌株の存在が知られており、鶏肉、牛肉、および豚肉から検出されている。そのため、多くの研究において、薬剤耐性菌は食糧供給の過程において家畜の生産・加工現場からヒトや環境中に伝播すると報告されているが、水を介して家畜の生産・加工現場からヒトや環境中に伝播する可能性も否定できない。そこで本研究では、農場が分布しているブラジルのピニャル川上流域を対象として、サルモネラの血清型と薬剤耐性を調査した。試料は、河川水、農場で飼育されている家畜（豚と牛）のふん便、および家畜のふん便を肥料として利用している農地の土壌とした。河川水は、2006年から2010年の間に計8地点において月1回採取し、合計384試料とした。家畜のふん便と土壌は、14の農場において採取し、合計180試料とした。各試料から単離した菌株についてスライド凝集試験を行い、血清型を判定した。そして、同じ血清型を持つ菌株間の関連性を調査するために、パルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）を行った。また、河川水から単離した菌株について21種類の抗菌薬を用いた薬剤感受性試験を行った。

河川水試料の62.7%（241/384）からサルモネラが検出された。また、単位面積あたりの家畜頭数が多い河川の2地点から採取した試料では、サルモネラの検出率が、75%（36/48）、73%（35/48）であり、他の地点と比較して最も高かった。河川水から単離したサルモネラの血清型は、*Salmonella* Panama, *S. Infantis*, *S. Typhimurium*, *S. Derby* など計30種類であった。その一方で、農場から採取した試料の18%（33/180）から検出されたサルモネラの血清型は、*S. Typhimurium*, *S. Derby*, *S. Panama*, *S. Rubislaw*, *S. Oranienburg*, および *S. Livingstone* の計6種類であった。また、各試料から単離した *S. Typhimurium*, *S. Panama*, *S. Rubislaw*, および *S. Oranienburg* について PFGE を行った結果、河川水と家畜のふん便（豚と牛）から単離した *S. Typhimurium* の遺伝子型が一致した。さらに、河川水から単離したサルモネラ180株について薬剤感受性試験を行ったところ、49.5%の菌株が少なくとも1薬剤に耐性を示し、18%の菌株は3薬剤以上に耐性を示す多剤耐性株であった。以上の結果から、家畜が環境中におけるサルモネラ、さらには薬剤耐性サルモネラの汚染源となることが示唆された。

第 191 回雑誌会

(Jun. 26, 2014)

(1) 海水中におけるふん便性指標細菌の生存に及ぼす諸要因

大村 達夫

岩手大学工学部研究報告 32, 131-142 (1979).

レビュー：稲森 一差

下水道が十分に整備されていない地域では、家庭排水が不完全な処理のまま海洋に放流される場合がある。人間にとって、重要な生活の場である海洋がふん便に起因する病原細菌によって汚染された場合、魚介類や海水浴などを介して感染する可能性がある。そのため、海洋におけるふん便汚染を評価する指標として大腸菌群が用いられている。既往の研究において、大腸菌群の生存は、様々な環境要因（海水濃度、温度、有機物の欠乏等）によって変化することが報告されている。そこで本研究では、新たな指標細菌として腸球菌に着目し、ふん便性指標細菌としての有効性を検討するため、海水濃度が大腸菌群と腸球菌の生存に及ぼす影響を調査した。海水を BOD 希釈水を用いて、海水濃度を 4 段階（0%、33%、67%、100%）に変化させ、これらに生し尿を全体の 1% となるように添加し、これらを試料とした。大腸菌群数と腸球菌数は、それぞれ、乳糖ブイヨン培地と AC 培地を用いた最確数法によって測定を行った。各濃度条件において得られた結果から大腸菌群と腸球菌の生存曲線を作成し、細菌の死滅が対数的になるまでの日数 (Lag time)、増殖比（最大細菌数/初期細菌数）、および死滅速度係数（1/日）を推定した。

海水濃度を 0%、33%、67%、100% に設定した場合、大腸菌群の Lag time は、それぞれ、3 日、1 日、1 日、0 日であった。これに対して、腸球菌では、いずれの海水濃度においても Lag time が観測されなかった。大腸菌群の増殖比は、海水濃度 0% の場合、14.1 となり、その他の濃度においては、1 となった。腸球菌の増殖比は、いずれの海水濃度においても 1 であったことから、腸球菌は、海水中で増殖しないことが確認された。つぎに、各細菌の死滅速度係数を推定した結果、大腸菌群は、0%、33%、67%、100% の海水濃度において、それぞれ、0.161、0.279、0.278、0.297 であった。一方、腸球菌の死滅速度係数は、0%、33%、67%、100% の海水濃度において、それぞれ、0.137、0.196、0.190、0.116 であり、大腸菌群と比較して小さい値となった。以上の結果から、大腸菌群は、海水濃度の変化によって生存に大きく影響を受けるのに対して、腸球菌が受ける海水濃度の影響は小さいことが明らかになった。したがって、海水濃度が変化する海域や河口におけるふん便性指標細菌には、大腸菌群よりも腸球菌が優れていることが示唆された。

(2) 北東北地方の代表的な水田土壌の粘土鉱物組成

佐野 大樹, 伊藤 豊彰, 安藤 正, 南條 正巳, 斉藤 元也, 三枝 正彦
ペドロジスト **52**, 10-18 (2008).

レビュー：奥 堯史

水田土壌の粘土鉱物組成を把握することは、環境に配慮した適切な施肥・土壌管理を行う上で、極めて重要である。現在までに、北東北3県（青森県、岩手県、秋田県）における水田土壌の粘土鉱物組成は、各県の一部地域においてのみ検討されている。しかしながら、青森県東部と岩手県の水田土壌の粘土鉱物組成については、ほとんど検討されておらず、北東北地方全域における水田土壌の粘土鉱物組成の分布情報の検討は十分ではない。そこで本研究では、主要な粘土鉱物によって北東北3県の水田作土を類型区分し、各地域の分布傾向を検討した。試料は、土壌環境基礎調査重要定点166地点（青森県52地点、岩手県66地点、秋田県48地点）における水田作土の風乾細土とした。作成した定方位試料を用いて、粉末X線回折（XRD）分析を実施し、各調査定点の粘土鉱物を同定した。

青森県において、西部の津軽平野を中心にスメクタイト質と準スメクタイト質の鉱物が広く分布した。同県東部に位置する三本木原台地の黒ボク土壌は、非晶質の割合が高く、台地の間を流れる河川の沖積地では、スメクタイト質と準スメクタイト質の鉱物が確認された。岩手県では、北上川西岸の台地に位置する水田土壌において、混合型、スメクタイト質、および準スメクタイト質が分布した。また、北上川沖積地の県北から中部と胆沢川合流後の県南部では、それぞれ混合型と準スメクタイト質が分布した。同県の中央部～東部に位置する北川山地の谷底低地では、スメクタイトの少ない混合型が分布した。さらに、同県北部の黒ボク土壌は非晶質の割合が高く、青森県における三本木原台地と同様の傾向を示した。秋田県では、同県北部の米代川流域では準スメクタイト質とクロライト質が多く存在した。また、同県西部の八郎潟干拓地ではスメクタイト質が分布した。同県南東部の横手盆地では混合型、スメクタイト質、クロライト質、および中間種鉱物質が確認された。以上の結果から、3県の水田土壌は多様な粘土鉱物組成を示したことから、複数の上流地質の影響を受けていることが示唆された。したがって、今後は、本研究で明らかになった粘土鉱物組成の分布とさらに詳細な上流地質の情報をもとにこれらの関係性について検討する必要がある。

(3) リアルタイム PCR による水環境水中の糞便汚染指標細菌の定量

小倉 優大, 矢口 淳一, 小松 俊哉

水環境学会誌 36(6), 191-197 (2013).

レビュー：寺西 康太郎

大腸菌は、大腸菌群に替わる糞便汚染指標細菌として広く用いられている。しかしながら、我が国の水環境分野においては、大腸菌群が環境基準として用いられているため、糞便由来以外の大腸菌群も検出され、糞便による汚染を過大評価する可能性がある。その一方で、アメリカでは、糞便性連鎖球菌がレクリエーション用水域における糞便汚染の指標として用いられている。近年、DNA 中の特定領域を増幅することができる PCR 反応は、迅速かつ特異性の高い細菌の検出方法として期待されている。そこで本研究では、排水処理施設および水環境中における大腸菌の *uidA* 遺伝子と糞便性連鎖球菌の 23S-rRNA 遺伝子を対象とし、リアルタイム PCR 法によって、大腸菌と糞便性連鎖球菌を検出・定量する方法を検討した。大腸菌の計数は、EC-MUG 培地による Most Probable Number (MPN) 法とリアルタイム PCR 法で行った。大腸菌群と糞便性大腸菌群の計数は、MF-Endo 寒天培地および M-FC 培地によるメンブレンフィルタ (MF) 法で行った。糞便性連鎖球菌の計数は、M-E 寒天培地による MF 法とリアルタイム PCR 法で行った。排水処理施設の試料として、八戸工業高等専門学校の生活排水処理施設の曝気槽流入水、最終沈殿池流出水、および処理水を採水した。また、水環境中の試料として、青森県八戸市の新井田川、新井田川河口、白金港湾、および蕪島ビーチの 4 地点で試料を採水した。

処理水を除く排水処理施設と水環境中の試料において、リアルタイム PCR 法と MPN 法によって大腸菌の計数を行ったところ、両者の結果に高い相関関係が認められた ($R=0.799$)。また、リアルタイム PCR 法による大腸菌の計数結果は、MF 法による大腸菌群と糞便性大腸菌群の計数結果に対して、それぞれ、 $R=0.745$ 、 $R=0.798$ と、非常に高い相関関係を示した。さらに、リアルタイム PCR 法と MF 法による糞便性連鎖球菌の計数結果においても、高い相関関係が認められた ($R=0.778$)。しかしながら、処理水における大腸菌と糞便性連鎖球菌は、MPN 法と MF 法では全く検出されなかったのに対して、リアルタイム PCR 法では、 $1 \times 10^2 \sim 10^4$ 個/100 mL 検出された。以上のことから、大腸菌と糞便性連鎖球菌を対象としたリアルタイム PCR 法は、従来法に替わる迅速な計数法となる可能性が示された。その一方で、リアルタイム PCR 法は死滅した細菌の DNA も検出してしまうことから、糞便汚染を過大評価する可能性が示唆された。

第 192 回雑誌会

(Jul. 2, 2014)

(1) 畜産廃水を用いた微生物燃料電池における発電と微生物群集構造

市橋 修, 山本 希, 廣岡 佳弥子

水環境学会誌, 35,19-26 (2012)

レビュー：平井 貴大

現在、日本では家畜糞が毎年 9,000 万トン発生しており、これらを処理するためには大量のエネルギーが必要である。一方で、畜産廃水は、活性汚泥法を用いた処理に必要なエネルギーの 9.8 倍以上のエネルギーを含んでいるとの報告がある。微生物燃料電池 (Microbial Fuel Cell, MFC) は、微生物が有機物を分解した際の還元力を電気として利用するシステムであり、理論上のエネルギー効率は 70%以上と高い。これまでの MFC を用いた廃水処理における研究は、人工基質を用いた場合がほとんどである。実廃水は、人工廃水と比較して、様々な物質や微生物を含んでおり、微生物群集や相互関係が複雑になる可能性が考えられる。しかしながら、実廃水、特に畜産廃水を用いた MFC の報告例は、極めて少ない。そこで本研究では、養豚廃水と酪農廃水を用いた MFC の発電能力、有機物除去能力、および MFC 内の微生物群集構造について評価した。2 台の一槽型エアカソード MFC を用い、基質として養豚廃水 (溶解性 COD_{Cr} 26,500-39,000 mg/L) と酪農廃水 (溶解性 COD_{Cr} 740-800 mg/L) を用いた。MFC (容積 350 mL) は、20°C の恒温室内において、72 日間、回分式による連続運転を行なった。養豚廃水と酪農廃水の MFC から、1~10 日おきに、それぞれ 30 mL, 60 mL を採取し、ろ液を水質分析に供した。引き抜き分の養豚廃水と酪農廃水を MFC に注入した。各試料について、COD_{Cr}、電気伝導度、および電圧の測定を行い、最大電流密度、電流、クーロン効率を算出した。また、未ろ過の廃水を用いて PCR-DGGE による群集構造解析を行なった。さらに、ICP 発光分光分析法を用いて P, Mg, および Ca 濃度を測定した。

養豚廃水と酪農廃水の最大電力密度は、それぞれ 831 mW/m (R=10 Ω), 59 mW/m (R=200 Ω) であり、内部抵抗は、それぞれ 9 Ω, 292 Ω であった。また、養豚廃水と酪農廃水の溶解性 COD_{Cr} 除去率は、それぞれ 89%と 69%であった。さらに、COD_{Cr} 除去率を用いて算出したクーロン効率は、養豚廃水の系と酪農廃水の系においてそれぞれ 30%と 38%であった。そこで、PCR-DGGE を用いて微生物群集構造の解析した結果、養豚と酪農のアノード側においては、Acidobacteria 門と proteobacteria 門が検出された。その一方で、カソード、養豚廃水および酪農廃水からは、それぞれ Nitrospirae 門, Firmicutes 門, Firmicutes 門に属する菌種が検出された。また、養豚廃水を用いた MFC のカソード側における析出物には乾燥重量あたり P, Mg, および Ca が、それぞれ 16 % (5.17 mmol/g), 10% (4.11 mmol/g), および 6.7% (1.67 mmol/g) 含まれていた。

(2) 下水汚泥のベルトプレス脱水操作におけるカチオン性有機高分子凝集剤添加率の制御指標の検討

五十嵐 千秋, 郷田 昭一, 衛藤 正徳, 鈴木 英友
化学工学論文集 **13**(4), 392-398 (1986).

レビュー：吉田 在秀

近年、汚泥の脱水操作において、ベルトプレス型脱水機が主流となっており、カチオン性有機高分子凝集剤（以下、ポリマと称す）の使用量が増加している。ベルトプレス型脱水機の脱水性能に、最も影響を与える操作因子は、ポリマの添加率である。しかしながら、最適なポリマの添加率を決定する方法は明確にされていないため、多くのベルトプレス型脱水機では、ポリマを過剰に添加している。そこで本研究では、下水汚泥を対象として、回分式凝集脱水試験と実用規模の連続式ベルトプレス脱水試験を実施し、ポリマの添加率が汚泥の凝集および脱水特性に及ぼす影響を検討した。試料は、標準活性汚泥法によって都市下水処理場から排出された混合生汚泥とした。凝集剤は、ポリマとして最も使用されている、ポリジメチルアミノエチルメタクリレートを用いた。回分式凝集脱水試験の測定項目は、コロイド荷電量 (CC)、重力ろ過速度 (v)、フロック径 (D_f)、脱水ケーキ含水率 (MCp)、濁度 (Tu)、光透過率 (I)、凝集汚泥の CST、および重力ろ過ケーキ含水率 (MCg) とした。なお、連続式ベルトプレス脱水試験も同様の項目を測定し、凝集槽出口の凝集汚泥、重力ろ過部の分離液、重力ろ過部末端の重力ろ過ケーキ、ケーキ排出部の圧搾脱水ケーキについても測定した。

回分式凝集脱水試験におけるポリマ添加と各測定項目の関係を比較したところ、CCがゼロとなる領域では、ポリマ添加率の増加に伴う、 D_f , I, および v の増大が確認された。また、この領域で Tu, CST, およびMCpは、低い値を示した。一方、CCが正となる領域では、ポリマ添加率の増加に伴って、Tu, CST, MCp, およびMCgが上昇した。さらに、良好な凝集効果の指標となるIと v がいずれも低下し、 D_f の増大は認められなかった。したがって、CCがゼロの領域から正の領域に変化するポリマ添加率（ブレイク点）で、凝集汚泥の脱水性が最良となることがわかった。ベルトプレス脱水試験におけるポリマ添加と各測定項目の関係を比較したところ、回分式凝集脱水試験と同様の結果が得られた。以上のことから、回分式と連続式のどちらの脱水機であっても、薬注操作において、コロイド荷電量の数値がポリマ添加量の制御指標となることが明らかになった。

第 193 回雑誌会

(July 9, 2014)

(1) Sunlight inactivation of fecal indicator bacteria and bacteriophages from waste stabilization pond effluent in fresh and saline waters

Sinton, L. W., Hall, C. H., Lynch, P. A. and Davies-Colley, R. J.

Applied and Environmental Microbiology, **68**, 1122-1131 (2002).

Reviewed by M. Uno

浅海域には、下水処理場放流水に含まれる微生物が流入している。既往の研究において、海中における細菌の生存に影響を与える因子として、日光や塩分濃度が報告されている。しかしながら、日光照射による淡水・河口水中のふん便指標細菌の生存に関する情報は限られている。そこで本研究では、下水流出水を用いて日光照射による、ふん便指標細菌とバクテリオファージの不活化の動態を比較した。試料の塩分濃度は、河川水と海水を用いて3段階に調整した。河川水は、ニュージーランドを流れるリー川から採取し、海水はリトルトン港から採取した。採取後、河川水と海水を全量が300 Lとなるように、異なる3つの混合比(①河川水:海水=100:0, ② 50:50, ③ 0:100)を設定した。さらに、下水処理施設から採取した処理水を全体の10%となるように添加し、これを試料とした。試料は透明容器に入れ太陽光の下に暴露後、一定時間ごとに1000 mL採水した。なお、測定項目はふん便性大腸菌群、大腸菌、腸球菌、Somatic coliphages, およびF-RNA phagesとし、得られた測定結果から、回帰直線を作成し、直線の傾きを不活化速度係数(k_s)とした。日光を遮断した試料における、不活化速度係数は k_D とした。また、特定の波長範囲の光のみを通過することのできる光学フィルターを用いて、ふん便指標細菌とバクテリオファージの不活化に寄与する波長領域を調査した。

試料①において、日光を遮断した場合、ふん便性大腸菌群、大腸菌、腸球菌、Somatic coliphages, およびF-RNA phagesにおける k_D は、それぞれ、0.0162, 0.0171, 0.0168, 0.008, および0.014であった。一方で、日光照射した場合、ふん便性大腸菌群、大腸菌、腸球菌、Somatic coliphages, およびF-RNA phagesにおける k_s は、試料①, ②, ③の順に、ふん便性大腸菌群:0.085, 0.122, 0.205, 大腸菌:0.080, 0.119, 0.196, 腸球菌:0.227, 0.279, 0.314, Somatic coliphages:0.079, 0.129, 0.184, F-RNA phages:0.086, 0.092, 0.123であった。日光遮断した場合では、日光照射した場合と比較して、 k_D は小さかった。このことから、日光照射量と塩分濃度の増加によって、ふん便指標細菌とバクテリオファージの不活化速度係数は増加することが明らかになった。また、ふん便性大腸菌群とSomatic coliphagesの不活化は、日光中の短波長のUV-Bによる影響が大きく、腸球菌とF-RNA phagesは、広い波長領域において不活化することが示唆された。

(2) Spatial and temporal trends in estimates of nutrient and suspended sediment loads in the Ishikari River, Japan, 1985 to 2010

Duan, W., Takara, K., He, B., Luo, P., Nover, D., Yamashiki, Y.

Science of the Total Environment, **461-462**, 499-508 (2013).

Reviewed by K. Kihara

水界生態系の重要な役割を担っている表流水中の栄養塩や浮遊懸濁物質は、飲料水源の保全や環境衛生など人の健康と密接に関係している。したがって、栄養塩や浮遊懸濁物質の負荷量の推定は重要であるが、低頻度のモニタリング、データの検閲、および非定常流などの問題によって負荷量の推定は複雑化する。そこで本研究では、全窒素 (TN)、全リン (TP)、および浮遊懸濁物質 (SS) について、回帰モデルを用いて季節ごとの負荷量を推定した。調査地点は、北海道の石狩川において上流から伊納大橋、岩見沢大橋、石狩河口橋、支流河川のあかね橋、および馬追橋の計 5 地点を対象とした。栄養塩 (TN, TP) および SS 濃度と河川流量データは、国土交通省のデータベースから全調査地点のデータを取得し、合計 586 試料とした。また、Maintenance of Variance-Extension type 3 (MOVE. 3) を用いて、1985 年から 2010 年における流量の連続データを見積った。その後、回帰モデルである Load Estimator (LODEST) を算出し、栄養塩 (TN, TP) と SS 負荷量を推定した。

MOVE. 3 で見積った栄養塩 (TN, TP) および SS 濃度と流量の連続データから、石狩川 5 地点における LODEST を算出した結果、LODEST の決定係数 (R^2) は 71.86%~90.94% の範囲であり、精度が高いことが示された。このことから、全地点における栄養塩 (TN, TP) と SS 負荷量は、LODEST によって再現できることが示唆された。LODEST によって栄養塩 (TN, TP) と SS 負荷量を推定した結果、各月の日平均負荷量は、それぞれ $8.52 \times 10^3 \sim 2.00 \times 10^5$ kg/day, $3.96 \times 10^2 \sim 5.23 \times 10^4$ kg/day, および $9.21 \times 10^4 \sim 9.25 \times 10^7$ kg/day の範囲で見積られた。1985 年から 2010 年における各地点の栄養塩 (TN, TP) と SS の季節平均負荷量を比較すると、全地点は共通して春期に最大となり、春期から冬期にかけて減少する傾向を示した。春期は、雪解けの影響によって流量が増大することから、栄養塩 (TN, TP) と SS 負荷量が最大になると考えられた。したがって、石狩川における栄養塩 (TN, TP) と SS 負荷量は、流量の変動や流出パターンを考慮して推定する必要がある。

第 194 回雑誌会

(July. 16, 2014)

(1) Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry for the Discrimination of Food-Borne Microorganisms

Mazzeo, M. F., Sorrentino, A., Gaita, M., Cacace, G., Stasio, M. D., Facchiano, A.,
Comi, F., Malorni, A. and Siciliano, R. A.

Applied and Microbiology **72**(2), 1180-1189 (2006).

Reviewed by K. Niina

細菌の正確な同定方法として、生化学的手法や遺伝子学的手法などが挙げられる。しかしながら、いずれも多く多くの時間と労力が必要である。近年、レーザーイオン化飛行型質量分析装置 (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry, MALDI-TOF-MS) が開発され、細菌の分類や同定を迅速かつ正確に解析できる手法として期待されている。そこで本研究では、3つの異なる培地 (Nutrient Broth : NB 培地, Tryptone Soya Broth : TSB 培地, および Tryptone Yeast Broth : TYB 培地) に *E. coli* ATCC25922 株を接種し、異なる培養時間 (18 h, 24 h, および 48 h) で培養することによって、明瞭なスペクトルを得るための最適な培地と培養時間を検討した。また、腸内細菌科に属する細菌 (*Yersinia* 属, 4 種 ; *Escherichia* 属, 5 種 ; *Salmonella* 属, 2 種 ; *Proteus* 属, 2 種 ; *Morganella* 属, 1 種) とグラム陽性菌 (*Listeria* 属 : 5 種) について、MALDI-TOF-MS によって質量スペクトルを取得し、データベースを作成した。さらに、病原細菌の *E. coli* O157 : H7 (9 株) とその他の *E. coli* (16 株) を識別する手法を開発した。

TSB 培地で培養した *E. coli* ATCC25922 株は、多数のピーク値を示し、他の培地と比較して、シグナル/ノイズ比が最も高かった。また、培養時間の違いによるピーク値の影響は確認されなかった。このことから、菌株の最適な培養は、TSB 培地において 37°C, 24 h の条件に設定した。*Yersinia* 属の 4 種と *Proteus* 属の 2 種は、種ごとに特異的なスペクトルが確認された。その一方で、*Listeria* 属の 5 種は、全て類似したスペクトルが確認された。また、*Escherichia* 属の 5 種は、種ごとに特異的なピーク値が検出された。しかし、*E. coli* と *E. fergusonii* を比較すると、ピーク値の類似性は 80% と高かった。さらに、*E. coli* と *Salmonella* 属の 2 種は、共通のピーク値が確認された。したがって、*E. coli* と *Salmonella* 属の 2 種は、データベースを作成する上で、さらに特異的なピーク強度を解析する必要があると考えられた。病原細菌の *E. coli* O157 : H7 とその他の *E. coli* を識別した結果、*E. coli* O157 : H7 株は、質量電荷比 9,740 の位置に強いピーク値が検出されたのに対して、その他の *E. coli* 株では、検出されなかった。このことから、MALDI-TOF-MS は、病原細菌の迅速かつ正確な同定をするための手法として適用できることが示唆された。

(2) Effects of copper on early developmental stages of *Lessonia nigrescens* Bory (Phaeophyceae)

Contreras, L., Medina, H. M., Andrade, S., Oppliger, V. and Correa, A.J.
Environmental Pollution **145**, 75-83 (2007).

Reviewed by S. Hirayama

銅は、海藻にとって必要不可欠な元素であるが、高濃度では強い毒性を有する。現在までに、銅鉱山廃水の流出による生態系への影響が、世界中の沿岸域で報告されている。特に、銅鉱山廃水が慢性的に流入するチリ北部の沿岸域において、褐藻 *Lessonia nigrescens* は著しく消失し、近年では小規模な藻場を形成するのみである。そこで本研究では、銅の毒性作用が、*L. nigrescens* の初期発生段階に及ぼす影響を検討し、過剰な銅の流入と消失した *L. nigrescens* の関連性を考察した。供試生物は、採取した *L. nigrescens* の孢子嚢群、放出させた孢子、および着生後の生長体とした。試験のエンドポイントは、孢子の放出、着生、着生孢子の発芽、および幼孢子体の生長とした。各エンドポイントの暴露時間は次のとおりである：孢子の放出、0～8 時間；着生、0～48 時間；着生孢子の発芽、着生後から 48 時間；幼孢子体の生長、幼孢子体に生長後から 7 日間。ただし、放出試験と着生試験には異なる孢子を用いた。影響濃度は、孢子の放出と着生は 50% 阻害濃度 (IC₅₀) を算出し、発芽と成長は無影響濃度 (NOEC) および最小影響濃度 (LOEC) をそれぞれ算出した。

8 時間暴露後の孢子の放出数は、対照区と比較して、最低濃度の試験区 (7.9 µg/L) と最高濃度の試験区 (195.0 µg/L) で、それぞれ 54% と 12% に低下した。孢子の着生数は、8 時間の暴露時間において、すべての試験区で最大となり、その後は暴露時間の増加に伴って低下した。8 時間暴露後の孢子の着生数は、対照区と比較して、最低濃度の試験区 (7.9 µg/L) と最高濃度の試験区 (195.0 µg/L) で、それぞれ 71% と 23% であった。孢子の放出と着生に対する銅の IC₅₀ は、それぞれ 11.7 µg/L と 25.3 µg/L と見積もられた。着生から 48 時間暴露後の発芽率は、最高濃度の試験区 (195.0 µg/L) のみで有意に低下した。発芽に対する銅の NOEC と LOEC は、それぞれ 95.6 µg/L と 195.0 µg/L と算出された。7 日間暴露後の幼孢子体の生長は、43.1 µg/L 以上の試験区において、有意に低下した。孢子の生長率に対する銅の NOEC と LOEC は、それぞれ 16.3 µg/L と 43.1 µg/L となった。以上の結果から、銅は 7.9 µg/L の低濃度の暴露においても、孢子の放出と着生に影響を及ぼし、43.1 µg/L 以上の濃度では、孢子の生長に対しても影響を及ぼすことが明らかとなった。したがって、褐藻 *L. nigrescens* の銅に対する感受性は極めて高く、チリ北部の沿岸域に流入する銅は、*L. nigrescens* の消失に大きく寄与していることが示唆された。

第 195 回雑誌会

(Jul. 23, 2014)

(1) American crows as carriers of vancomycin-resistant enterococci with *vanA* gene

Oravcova, V., Zurek, L., Townsend, A., Clark, A. B., Ellis, J. C., Cizek, A and Literak, I.

Environmental Microbiology, **16**, 939-949 (2014).

Reviewed by M. Nishiyama

バンコマイシン耐性腸球菌 (vancomycin-resistant enterococci, VRE) は、グラム陽性菌の特効薬であるバンコマイシンに耐性を獲得した薬剤耐性菌である。VREの中でも、プラスミド媒介性のバンコマイシン耐性遺伝子 (*vanA*, *vanB*, *vanM*) を有するVREは、他の細菌へバンコマイシン耐性を伝播することが知られている。現在、VREの分離は臨床のみならず、野鳥や家畜からも報告されており、動物を介して環境中への拡散が懸念されている。そこで本研究では、アメリカに生息する野鳥であるアメリカガラスを対象として、*vanA*遺伝子を有するVREの拡散状況、およびその特性について調査した。試料は、アメリカの4つの州 (カリフォルニア、カンザス、ニューヨーク、マサチューセッツ) に生息するアメリカガラスからふん便を採取し、合計590試料とした。採取後、バンコマイシンを添加した腸球菌選択培地を使用して菌株を単離し、PCR法によって*vanA*遺伝子を検出した。陽性を示した菌株について、菌種同定を行った後、薬剤感受性試験ならびにPCR法によって耐性遺伝子と病原性因子を検出した。また、PFGE (pulsed-field gel electrophoresis) 法とMLST (multi-locus sequence typing) 法によって、VRE株間の疫学的関係を解析した。さらに、同一菌種内における*vanA*遺伝子の水平伝播率をfilter mating法によって評価した。なお、水平伝播率は供与菌 (D)、または受容菌 (R) の数に対する接合完了体 (T) の割合である。

アメリカガラスのふん便590試料のうち、15試料 (2.5%) から*vanA*遺伝子を保有するVREが検出された。陽性を示した15試料のうち6試料から、形態の異なる菌株が2~3株存在したため、合計22株単離した。単離菌株について菌種を同定したところ、*Enterococcus faecium*と*Enterococcus faecalis*が、それぞれ14株と8株同定された。PFGE法によって、VREの類似性を評価した結果、マサチューセッツ州のふん便試料から単離した7株の*E. faecalis*は、類似度95%以上で2つのグループに分類された。さらに、2つのグループはMLST法によって、ST179 (4株)、ST16 (3株) に分類され、2つの遺伝子型のVREが拡散していると考えられた。全単離株について、filter mating法による*vanA*遺伝子の伝達率を評価したところ、*E. faecium*と*E. faecalis*ともに高頻度で水平伝播が確認された (*E. faecium* ; 1.64×10^{-3} T/D, 1.08×10^{-2} T/R, *E. faecalis* ; 1.06×10^{-2} T/D, 1.2×10^{-2} T/R)。以上のことから、アメリカガラスのふん便には*vanA*型のVREが存在し、渡り鳥のような野鳥は環境中にVREを広範囲に拡散させる要因となる可能性が示唆された。

(2) Source discrimination of fine-grained deposits occurring on marine beaches: The Calvados beaches (eastern Bay of the Seine, France)

Dubrulle, C., Lesueur, P., Boust, D., Dugue, O., Poupinet, N., Lafite R.

Estuarine, Coastal and Shelf Science, **72**, 138-154 (2007).

Reviewed by Y. Arao

フランスのカルヴィドス海岸におけるセーヌ川河口域では、泥質状の微細粒子の堆積が問題となっている。特に、観光資源であるビーチ上では、泥質堆積物の増加が非常に深刻である。そこで本研究では、フランスのカルヴィドス海岸沿いのビーチを対象として、ビーチ上に堆積している泥質堆積物の起源を推定した。試料は、カルヴィドス海岸において7つのビーチを選定し、泥質堆積物を採取した。また、セーヌ湾の潮下帯とカルヴィドス海岸沿いの海崖において、泥炭土、シルト、および石灰岩を採取した。試料は、合計で84試料である。全試料は、粉末X線回折(XRD)分析によって粘土鉱物を同定し、各鉱物の平均含有率を算出した。また、誘導結合プラズマ発光分光(ICP-OES)分析と誘導結合プラズマ質量(ICP-MS)分析によって各元素を検出し、元素濃縮率を算出した。放射性同位体については、全試料に含まれる ^{60}Co 、 ^{137}Cs 、および ^{241}Am を対象として、各放射能濃度を測定し、 $^{60}\text{Co}/^{137}\text{Cs}$ 放射能比と $^{241}\text{Am}/^{137}\text{Cs}$ 放射能比による検討を行った。

各ビーチの汚泥堆積物における粘土鉱物の平均含有率を比較した結果、全試料の含有率は類似した傾向を示し、スメクタイトが最も高い割合で存在した。また、海崖に隣接するビーチと海崖の石灰岩についてのみ、結晶質のスメクタイトが観察された。このことから、海崖の侵食によって流出した石灰岩は、隣接するビーチに堆積することがわかった。さらに、全試料の元素濃縮率を比較したところ、重金属(Zn, Pb, およびCd)の元素濃縮率は、セーヌ川河口周辺のビーチからセーヌ湾にかけて減少し、セーヌ湾の潮下帯では最も低い値を示した。このことから、産業活動によってセーヌ川から排出された重金属を含む微細粒子は、全ビーチ上に堆積し、一部はセーヌ湾へ流出することが確認された。泥質堆積物の輸送を $^{60}\text{Co}/^{137}\text{Cs}$ 放射能比と $^{241}\text{Am}/^{137}\text{Cs}$ 放射能比で調べたところ、放射能比はイギリス海峡に最も近いビーチからセーヌ川河口周辺のビーチにかけてそれぞれ減少した。したがって、イギリス海峡の微細粒子がセーヌ川河口域へ輸送される過程において、各ビーチ上に堆積していると考えられた。以上の結果から、カルヴィドス海岸沿いのビーチ上の泥質堆積物の起源は、海岸侵食によって生じた石灰岩、セーヌ川の浮遊微細粒子、およびイギリス海峡の微細粒子であることが示唆された。

(3) Prevalence of antibiotic-resistant fecal bacteria in a river impacted by both an antibiotic production plant and urban treated discharges

Sidrach-Cardona, R., Hijosa-Valsero, M., Marti, E., Balcázar, J. L., and Becares, E. Science of the Total Environment, **488-489**, 220-227 (2014).

Reviewed by M. Ushijima

生活排水から多くの薬剤耐性菌が検出されていることが報告されている。下水処理場や産業排水処理施設からの放流水は、水環境における薬剤耐性菌の拡散に寄与している可能性がある。しかしながら、産業排水、特に製薬工場からの排水を対象とした薬剤耐性菌に関する調査は見当たらない。そこで本研究では、製薬工場（APP）の排水処理施設と下水処理場（WWTP）からの放流水が流入するスペインのベルネスガ川において、薬剤耐性を示すふん便性細菌と薬剤耐性遺伝子（*bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M}, および *bla*_{SHV}）の存在量を調査した。試料は、APP 放流水と WWTP 放流水の2試料、APP の上流（site 1）と下流（site 2）、WWTP の上流（site 3）と下流の3地点（site 4, 5, 6）において、河川水と堆積土をそれぞれ6試料採取した。各試料中のふん便性細菌として、大腸菌群、大腸菌、腸球菌、およびクロストリジウムを計数した。大腸菌群、大腸菌、および腸球菌について、APP で製造されているセファレキシリンとアモキシシリンに対する薬剤感受性試験を行った。また、大腸菌については、その他7種類の抗菌薬についても薬剤感受性試験を行った。さらに、薬剤耐性遺伝子の相対濃度は、リアルタイム PCR を用いて測定した。なお、相対濃度は、各試料における全細菌をターゲットとした 16S rRNA 遺伝子のコピー数に対する各薬剤耐性遺伝子のコピー数とした。

河川水と堆積土中の大腸菌群数、大腸菌数、および腸球菌数は、WWTPの下流（site 4）において増加した。その一方で、クロストリジウム数は、全調査地点において同程度であった。薬剤感受性試験の結果、APPの下流（site 2）において、河川水中のアモキシシリン耐性大腸菌群とセファレキシリン耐性腸球菌の割合が増加した。また、堆積土中のセファレキシリン耐性大腸菌群、アモキシシリン耐性大腸菌群、およびセファレキシリン耐性腸球菌の割合もsite 2において増加した。各試料から単離した大腸菌289株について薬剤感受性試験を行ったところ、5薬剤以上に耐性を示す大腸菌の割合は、site 3～site 6において高かった。APP放流水中の*bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M}, および*bla*_{SHV}の相対濃度は、site 1で採取した河川水中の相対濃度と比較して1～2 log高かった。また、site 4において、堆積土中の*bla*_{CTX-M}と*bla*_{SHV}の相対濃度が増加した。以上の結果から、APPと WWTPからの放流水は、環境中において薬剤耐性菌が拡散する要因となっていることが示唆された。

第 196 回雑誌会

(Jul. 30, 2014)

(1) 木津川上流の小河川におけるふん便汚染指標細菌の現状把握

上野 加寿紀, 和田 桂子, 宗宮 功, 廣谷 博史

環境技術 **42**(8), 489-495 (2013)

レビュー：稲森 一差

近年、水浴やレジャーなどのレクリエーション利用によって、河川の親水空間としての価値が再認識されている。その一方で、生活排水や畜産排水による河川水の汚染は広範にわたり、ふん便性細菌が検出されている。以前の調査において、滋賀県の木津川上流の小河川を対象としてふん便性大腸菌群数を調査したところ、最大で 10^4 個/100 mL を超える高い値を示した。そこで本研究では、ふん便汚染源の特定および現状把握を目的とし、理化学的項目（水温、pH、DO、EC、BOD、T-N、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、Cl、 $\text{NO}_3\text{-N}$ および $\text{PO}_4\text{-P}$ ）と細菌項目（大腸菌群数、ふん便性大腸菌群数、大腸菌数、および腸球菌数）の測定ならびに F-RNA フェージの群別判定によって、ふん便汚染源の特定を行った。調査地点は、木津川上流の小河川において、ふん便性大腸菌群数が高濃度で検出された宇陀川流域の黒木川流末 (St.2) と笠間川流末 (St.5)、最も低い値を示した新大東橋 (St.1) の計 3 地点とした。また、調査は、2011 年 8 月 5 日、9 月 27 日、10 月 25 日、11 月 14 日の 4 回行った。さらに、F-RNA フェージは、*Salmonella* Typhimurium WG49 を宿主として改変トリプトン寒天培地に培養し、培養後に生じたプラークによって計数した。その後、平板表面に形成されたプラークから採取した F-RNA フェージは、PCR 法を用いて血清型に分類した。

理化学的項目を測定した結果、EC、BOD、T-N、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、Cl については、いずれも St.5、St.2、St.1 の順に高い濃度を示した。 $\text{NO}_3\text{-N}$ は、St.5 において他の地点よりも約 2 倍高い値であった。また、 $\text{PO}_4\text{-P}$ は St.2 と St.5 において高く、St.1 と比較して 4.5 倍程度高い値を示した。これらのことから、St.5 は最も汚濁が進行していたと考えられた。細菌項目を測定した結果、全地点において調査対象とした細菌が検出された。St.1 における大腸菌群数、ふん便性大腸菌群数および大腸菌数は、他の地点と比較して 1 オーダー小さい値を示した。また、F-RNA フェージは、St.1、St.2 および St.5 において、それぞれ 54 PFU/100 mL、330 PFU/100 mL および 424 PFU/100 mL であった。さらに、F-RNA フェージの群別判定を行ったところ、St.1 と St.5 において、ヒト由来群 (II 型) が 86% を占めており、ヒト由来の汚染を示唆する結果となった。その一方で、St.2 では動物由来群 (I 型) が 88% を占め、ヒトよりも動物による汚染を受けていることがわかった。しかしながら、St.2 の上流には畜産農家が確認できないことから、野生動物や鳥類によって汚染されていることが示唆された。

(2) 沿岸域での土砂堆積・侵食域調査における蛍光 X 線分析の適用に関する検討

加藤 茂, 光山 英典, 岡辺 拓巳, 青木 伸一

土木学会論文集 **68(2)**, 651-655 (2012).

レビュー：奥 堯史

海岸侵食の対策には、漂砂系内における土砂量の分布および変動傾向を把握することが重要である。そこで、汀線測量や航空写真に基づく浜幅調査が実施されているが、労力やコストの点から頻繁な調査は困難である。その一方で、蛍光 X 線(XRF)分析法は、土砂の化学元素組成を比較的容易かつ短時間で分析できる。そこで本研究では、砂浜の堆積および侵食状況の評価における XRF 分析法の適用性を検討した。試料は、愛知県の伊良湖岬から静岡県の新切川までの 20 地点から、表層の海浜砂を採取した。また、海浜砂の化学元素組成は、XRF 分析法のなかでも、効率的かつ短時間で多元素同時分析が可能であるエネルギー分散型分光(EDX)分析によって測定した。EDX 分析は装置が小型であり、現地での直接計測ができる。また、周期律表上の K(原子番号 19 番)~Bi(原子番号 83 番)までのうち、気体、揮発性および強磁性物質を除く 23 元素の定量分析が可能である。

EDX 分析によって、各地点における海浜砂の化学元素組成を分析した結果、最東部の調査地点において 8 元素(Sb, Sr, Rb, Fe, Mn, Ti, Ca, K)が検出された。また、各調査地点において検出された元素数は、西部に向かって増加し、最西部の調査地点では 17 元素(Cd, Pb, Cr, As, Sb, Sn, Ag, Sr, Rb, Zn, Ni, Fe, Mn, V, Ti, Ca, K)となった。この原因として以下の 2 つが考えられる。①調査エリアでは、西向き土砂輸送が存在することから、土砂の流下に伴って特定の元素成分が輸送され、元素数が増加する。②海浜砂には、土砂供給源と報告されている天竜川に加えて、陸域の土砂が供給され、元素数が増加する。全地点において検出された 8 元素(Sb, Sr, Rb, Fe, Mn, Ti, Ca, K)の含有量と浜幅を比較したところ、Fe 元素の含有量と浜幅の増減は類似する傾向を示した。このことから、海浜砂の化学元素含有量によって、浜幅の相対的な変化を簡易に調査できると考えられた。そこで、全地点において検出された 8 元素の含有量についてクラスター分析を行った結果、浜幅の面積、侵食傾向の違いによって 3 つのクラスターに分類された。このことから、海浜砂における化学元素の含有量は、浜幅の大きさや侵食および堆積傾向に対応していることがわかった。以上の結果から、XRF 分析による化学元素組成の調査は、海浜の侵食および堆積域調査に利用可能であることが示唆された。

(3) コロニーPCR 法による MRSA および腸球菌の薬剤耐性遺伝子の迅速検出

土崎 尚史, 石川 淳, 堀田 国元

The Japanese Journal of Antibiotics 53(6), 422-429 (2000).

レビュー：寺西 康太郎

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) や腸球菌などのグラム陽性菌の PCR 法による遺伝子検出では, DNA 調製に多くの労力と時間を要するため, 多数のサンプルから遺伝子を検出することが難しい。その一方で, グラム陰性菌では, 熱水抽出上清法やコロニーから菌体を直接 PCR 反応液に添加するコロニーPCR 法などの簡略かつ迅速な PCR 法が行われている。そこで本研究では, 薬剤耐性遺伝子の存否が明らかな MRSA と腸球菌の 2 菌種を対象として, 熱水抽出上清法とコロニーPCR 法による薬剤耐性遺伝子の検出を検討した。供試菌株は, ABK (Arbekacin) 耐性菌として臨床分離された MRSA 33 株と腸球菌 10 株 (*Enterococcus faecalis* 9 株, *Enterococcus faecium* 1 株) の合計 43 株とした。プライマーは, メチシリン耐性遺伝子 (*mecA*) と ABK 耐性遺伝子 (*aac(6')/aph(2'')*) を標的遺伝子とするものを用いた。本研究で実施したすべての実験は, KOD-plus-DNA polymerase を用いた。しかしながら, 従来の PCR には Amplitaq DNA polymerase が一般的に使用されるため, Amplitaq DNA polymerase を用いたコロニーPCR も検討した。

熱水抽出上清法によって *mecA* 遺伝子の検出を行った結果, 抽出原液の $2^2 \sim 2^8$ 倍希釈菌液では *mecA* 遺伝子の増幅バンドが明瞭に検出された。しかしながら, 2 倍希釈菌液の場合には, *mecA* 遺伝子は検出されなかった。このことから, 熱水抽出上清法において, 菌量が多い場合, 明瞭な増幅バンドの検出が阻害されることがわかった。次に, *mecA* と *aac(6')/aph(2'')* の存否が明らかとなっている計 43 株を対象に, マルチプレックスプライマーを用いてコロニーPCR を行った。その結果, 大半の株について *mecA* および *aac(6')/aph(2'')* の有無と増幅バンドの有無が合致した。しかしながら, いくつかの菌株では合致しなかった。そこで, PCR 反応液に添加する菌量を変えてコロニーPCR を行ったところ, 抽出原液の 10^1 倍および 10^2 倍希釈菌液 (添加菌数: 10^4 cfu および 10^3 cfu) を用いた場合において最も明瞭な増幅バンドが観察された。このことから, コロニーPCR においても, PCR 反応液に添加する菌量が多い場合に明瞭な増幅バンドの検出が阻害されることがわかった。また, Amplitaq DNA polymerase を用いたコロニーPCR では, 標的遺伝子の増幅が不安定であった。以上の結果から, 熱水抽出上清法およびコロニーPCR を用いて再現性良く薬剤耐性遺伝子の有無を迅速に検出するためには, 菌体の添加量を適切に希釈し, 高性能な KOD-plus-DNA polymerase を用いることが重要である。

第 197 回雑誌会

(Aug. 6, 2014)

(1) Differential decay of Enterococci and *Escherichia coli* originating from two fecal pollution sources

Korajkic, A., Mcminn, B. R., Harwood, V. J., Shanks, O. C., Fout, G. S. and Ashbolt, N. J. *Applied and Environmental Microbiology*, **79**, 2488-2492 (2013).

Reviewed by M. Uno

腸球菌や大腸菌などのふん便指標細菌 (FIB) は、水環境におけるふん便汚染を評価するための指標として用いられている。既往の研究において、レクリエーション水域におけるふん便汚染の汚染源がヒトや牛であった場合、汚染源が鳥や豚であった場合と比較して胃腸疾患発症リスクは高いという報告がされている。水環境における FIB の生存に影響を与える要因として、日光、塩分濃度、および放流先の常在微生物が挙げられる。しかしながら、汚染源の変化に関する情報は限られている。そこで本研究では、異なる汚染源 (ヒトと牛) 由来の FIB (腸球菌と大腸菌) を対象として、日光・塩分・常在微生物の有無による生残性の違いを調査した。試料は、牛ふんとリン酸緩衝液を混合した上澄み液 100 mL または下水一次処理水 100 mL に、河川水または海水 100 mL を加え、全容量 200 mL とし、計 4 種類を作製した。各試料が入った透析用セルロースチューブを河川水または海水で満たした実験槽に沈め、日光の下で暴露した。なお、試料の処理方法は、①日光暴露・常在微生物有、②日光暴露・常在微生物無、③日光遮断・常在微生物有、④日光遮断・常在微生物無の計 4 種類とした。常在微生物無の試料は、河川水と海水を 2 種類のフィルター (孔径: 0.45 μm , 0.22 μm) でろ過し、常在微生物を除去して作製した。また、試料の回収は 1 日 1 回、計 7 日間とし、腸球菌数と大腸菌数を測定した。さらに、FIB の減少数 (0 日目の細菌数 - 7 日目の細菌数) について、汚染源の違いならびに処理方法の変化による 2 元配置分散分析 (ANOVA) を行った。

ANOVA の結果、淡水中における汚染源の異なる腸球菌の減少数には有意な差が認められた ($p < 0.0001$) が、処理方法の変化の間には有意な差が認められなかった ($p = 0.33$)。一方で、海水中における汚染源の異なる腸球菌の減少数には有意な差が認められなかったが ($p = 0.085$)、処理方法の変化の間には有意な差が認められた ($p < 0.0001$)。また、淡水中と海水中における汚染源の異なる大腸菌の減少数には、それぞれ有意な差が認められた ($p = 0.015$, $p < 0.0001$)。したがって、汚染源の違いによって FIB の生残性が異なることが示唆された。

(2) Land-use effects on fluxes of suspended sediment, nitrogen and phosphorus from a river catchment of the Great Barrier Reef, Australia

Hunter, M. H., Walton, S. R.

Journal of Hydrology, **356**, 131-146 (2008).

Reviewed by K. Kihara

オーストラリアのグレートバリアリーフ (GBR) では、サンゴの衰退やサンゴを捕食する生物の増加などの生態系の悪化が問題となっている。この要因として、GBR 周辺の河川上流域から流出する土砂や栄養塩の増加が考えられる。現在までに、GBR における土砂と栄養塩フラックスの定量化は、広範囲の地域や流域を対象として実施されている。しかしながら、特定の流域を対象とした、土砂と栄養塩フラックスの定量化に関する詳細な情報は得られていない。そこで本研究では、特定流域から GBR への浮遊懸濁物質と栄養塩フラックスの定量化、ならびに浮遊懸濁物質や栄養塩流出による土地利用の影響について調査した。調査は、オーストラリア北東部に位置するジョンストン流域を 5 つの地域 (熱帯雨林, バナナ農業地, サトウキビ農業地, 牧草地, 住宅地) に分類し、各地域から選定した全 16 地点において実施した。試料は、1991 年 4 月~1996 年 6 月においてモニタリング調査を実施し、降雨時の流出イベントを含む計 4069 試料を採水した。調査項目は、浮遊懸濁物質 (SS), 全窒素 (TN), 硝酸態窒素 ($\text{NO}_3\text{-N}$), 全リン (TP) とした。SS と栄養塩 (TN, TP) フラックスは、Hydrological Simulation program Fortran (HSPF) モデルを用いて推定した。なお、HSPF モデルは 1958 年~1996 年における既存の降雨量と蒸発散量データによって作成した。

HSPF モデルによって SS, TN, および TP のフラックスを算出した結果、年平均フラックスは、各年で大きく変動し、それぞれ 1.2 ± 1.1 t/ha/y, 11.4 ± 7.3 t/ha/y, および 2.2 ± 1.8 t/ha/y と見積られた。また、降雨時イベントにおいて、SS, TN, および TP の年間フラックスは、それぞれ 91%, 72%, および 84% であり、降雨時に大部分が流出した。このことから、GBR における水質管理を実施する際には、降雨などの気候変動を十分に考慮する必要があると考えられた。各地域における SS と栄養塩の流出フラックスを比較した結果、サトウキビとバナナ農業地域で高い値を示した。また、各地域から流出した $\text{NO}_3\text{-N}$ は、TN フラックスの平均 32% を占めており、特に下水道未整備地域とサトウキビおよびバナナ農業地域において極めて高い結果となった。以上の結果から、SS, TP および TN (特に $\text{NO}_3\text{-N}$) の流出を削減するためには、サトウキビとバナナ農業において、肥料管理や下水道の整備を進める必要があると考えられた。

(3) 高頻度調査に基づく河川の窒素・リン流出負荷量の評価

横田 久里子, 井上 隆信, 横川 雅成, 下山 諒, 大久保 陽子
環境科学会誌 **26**(2), 140-149 (2013).

レビュー：藤崎 大樹

我が国の湖沼や閉鎖性水域における環境基準達成率は未だ低い状態にあるが、水質悪化の実態は明らかにされておらず、具体的な対策がなされていない。また、河川から閉鎖性水域への流入汚濁負荷量は、月 1 回の定期調査に基づいて算出されており、降雨に伴い増大する汚濁負荷量は考慮されていない。そこで本研究では、愛知県東部の三河湾に流入する梅田川を対象とし、高頻度の定期調査（268 日間、1 日 1 回）と降雨時調査（37 日間、1～3 時間に 1 回）によって得られた栄養塩（窒素・リン）濃度と流量の連続データから、精度の高い負荷量を推定するための方法を検討した。連続流量データは、水位流量曲線を用いて、10 分間隔に観測した水位から見積った。また、年間流出負荷量は、全窒素（TN）と全リン（TP）を対象として、次の 8 種類の推定法から推定した：推定法 1、毎月 1 回測定した栄養塩濃度と流量から算出した 1 日当たりの負荷量を 1 ヶ月分に換算し、12 ヶ月分を合計する；推定法 2、推定法 1 における流量を連続流量データに置換し、算出する；推定法 3、268 日間、1 日 1 回測定した栄養塩濃度と流量から算出した 1 日当たりの負荷量を合計し、1 年間分に換算する；推定法 4、推定法 3 における流量を連続流量データに置換して算出する；推定法 5、推定法 4 に降雨時の栄養塩濃度と連続流量データを加えて算出する；推定法 6, 7, 8、対数法、直接法および低・高流量時に分けて求めたそれぞれの L-Q 式に連続流量データを代入して算出する。なお、高頻度の定期・降雨時調査の結果と連続流量データを用いた推定法 5 によって算出した TN と TP の年間負荷量を実測値として、他の推定法を評価した。

推定法 5 によって算出した TN と TP の年間比負荷量（年間負荷量/流域面積（t/year/km²））は、それぞれ 8.3 t/year/km² と 1.1 t/year/km² であった。降雨に伴う流量変化を考慮していない推定法 1 と 3 では、TN と TP の年間比負荷量が実測値の約 0.5 倍の値となった。降雨に伴う流量変化を考慮した推定法 2 と 4 において、TN は実測値とほぼ同等の値となったが、TP は実測値のそれぞれ 0.6 倍、0.7 倍となった。推定法 6 では、TN と TP とともに実測値の 0.9 倍となった。推定法 7 において、TN と TP はそれぞれ実測値の 0.7 倍、1.1 倍となった。推定法 8 において、TN と TP はそれぞれ実測値の 1.1 倍、1.2 倍となり、実測値と同等の値が得られた。以上のことから、降雨による流量変化を考慮した L-Q 式を用いた場合に、最も実測値に近い負荷量が得られたことから、内湾や湖沼への汚濁物質流入負荷量の算出は、降雨時調査が重要であることが明らかとなった。

第 198 回雑誌会

(Aug. 28, 2014)

(1) Evaluation of MALDI-TOF mass spectroscopy methods for determination of *Escherichia coli* pathotypes

Clark, C. G., Kruczkiewicz, P., Guan, C., McCorrister, S. J., Chong, P., Wylie, J., Caesele, P., Tabor, H. A., Snarr, P., Gilmour, M. W., Taboada, E. N., Westmacott, G. R and Siciliano, R. A.

Journal of Microbiological Methods **94**, 180-191 (2013).

Reviewed by K. Niina

血清型別や遺伝子保有の有無によって大別される病原性大腸菌は、ヒトの腸管内に感染して腹痛や下痢などの症状を引き起こす。大腸菌の病原型を解析するためには、多くの時間と労力が必要であり、病原型を迅速に識別することが求められている。近年、質量分析法の一つである Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF-MS) 法は、細菌の分類・同定を迅速かつ正確に解析できる手法として期待されている。そこで本研究では、タンパク質の抽出を行った菌株と未抽出の菌株を用いて、MALDI-TOF-MSによる同定試験の精度を評価した。また、データベースとして biotyper 2.0 を用いた。さらに、それぞれの病原型において血清型別と Multi locus sequence typing (MLST) を用いて ST 型を取得し、得られたマススペクトルとの関連性をクラスター分析によって評価した。なお、供試菌株は、腸管出血性大腸菌 (EHEC) 23 株、腸管病原性大腸菌 (EPEC) 18 株、志賀毒素産生性大腸菌 (STEC) 15 株、腸管凝集性大腸菌 (EAEC) 11 株、尿路病原性大腸菌 (UPEC) 11 株、腸管毒素原性大腸菌 (ETEC) 7 株、腸管侵入性大腸菌 (EIEC) 5 株および分散付着性大腸菌 (DAEC) 3 株とした。

タンパク質の抽出を行った菌株を同定した結果、EAEC, UPEC, EIEC, および DAEC は、大腸菌として 100% 同定された。また、ETEC, EPEC, STEC および EHEC も、それぞれ $99.3 \pm 1.6\%$, $95.8 \pm 8.5\%$, $99.2 \pm 1.8\%$, $90.8 \pm 18.5\%$ と高い同定結果を示した。さらに、EHEC, STEC, EPEC, ETEC, EAEC および UPEC に関しては、特異的なピーク値が検出された。その一方で、実際に広く行われているタンパク質未抽出の菌株を同定した結果、それぞれの菌株において、50% 未満であった。このことから、タンパク質の抽出を行うことによって、大腸菌を正確に同定できることが示唆された。それぞれの菌株から得られたマススペクトルをクラスター分析によって解析した結果、同一のクラスターに分類された菌株の血清型や ST 型は一致せず、同じ病原型においても類似度は、低かった。以上のことから、MALDI-TOF-MS を用いて異なる病原型を識別するためには、病原型固有のピーク値の存否によって識別しなければならない。

(2) Sensitivity of spore germination and germ tube elongation of *Saccharina japonica* to metal exposure

Han, T., Kong, J.-A., Kang, H.-G., Kim, S.-J., Jin, G.-S., Choi, H. and Brown. M.T.
Ecotoxicology, **20**(8), 2056-2068 (2011).

Reviewed by S. Hirayama

多様な生物の生息環境を構成する藻場は、炭酸ガスの吸収や水質浄化など地球環境を保全する上で重要な役割を担っている。近年、都市化や工業化の進んだ中心地近隣の沿岸域では、著しい水質の悪化に伴って藻場が消失している。そこで、水質の悪化を引き起こす汚染物質の沿岸生態系に及ぼす影響を評価する手法として、海産生物を用いた毒性試験が提案されている。しかしながら、海藻を供試生物として標準化された毒性試験は一部に限られている。そこで本研究では、単一の金属と排水サンプルに対する褐藻マコンブ (*Saccharina japonica*) の初期発生段階の感受性を調査し、新たな毒性試験の開発を試みた。供試生物は、マコンブの遊走子とし、養殖場から採取した成熟葉体を用いて実験室内で放出させた。試料は、単一の金属溶液として6種の試験液(カドミウム、銅、水銀、ニッケル、鉛、および亜鉛)を実験室内で調整した。また、排水サンプルとして畜産排水と工場排水を採取した。試験のエンドポイントは、遊走子の発芽と発芽管の生長とし、暴露時間は、両エンドポイントともに24時間とした。影響の判定は、半数影響濃度 (EC₅₀) を算出して評価した。

各金属溶液の発芽に対する毒性は、以下の順であった：水銀、41 µg/L；銅、120 µg/L；ニッケル、2009 µg/L；亜鉛、3024 µg/L；鉛、4760 µg/L；カドミウム、15052 µg/L。また、発芽管の生長に対する毒性は、発芽をエンドポイントとした場合と同様の順に強く、以下のとおりである：水銀、42 µg/L；銅、81 µg/L；ニッケル、1360 µg/L；亜鉛、3897 µg/L；鉛、4429 µg/L；カドミウム、7541 µg/L。マコンブの各金属に対する感受性は、他の藻類を供試生物とした既報の値と比較して、低い場合が多かった。この要因として、試験の暴露時間が24時間と短いためであると考えられた。畜産排水を対象とした毒性試験の結果、発芽と発芽管の生長に対する EC₅₀ は、それぞれ 32.02% と 5.33% であった。その一方で、工場排水では、発芽と発芽管の生長に対する EC₅₀ は、それぞれ 21.99% と 8.98% と算出された。本研究で得られた EC₅₀ から変動係数を算出したところ、4.61～37.69% であったため、試験の再現性と妥当性は高いと推定された。以上の結果から、開発した本試験法は、排水の影響を短時間に評価でき、沿岸生態系の影響評価に有効な手法の一つであることが示唆された。

第 199 回雑誌会

(Sep. 4, 2014)

(1) 接触酸化水路における衛生指標細菌の除去機構

岡田 香子, 鈴木 穰, 畑津 十四日, 天田 高白

水環境学会誌 **23**(11), 677-682 (2000).

レビュー：藤崎 大樹

近年、接触酸化水路をはじめとする自然浄化施設がさまざまな場所に設置されており、その放流水が親水目的で利用されている。接触酸化水路の浄化効果は、BOD や SS の除去だけでなく、大腸菌群に対しても高い除去率を示すことが報告されているが、その実態は解明されていない。また、接触酸化水路における衛生指標細菌の減少速度は、接触ろ材の有無や初期菌体数濃度の違いによって相違が生じるとの報告もある。しかしながら、水中からの除去機構や、除去された細菌の消長等については未解明である。そこで本研究では、接触酸化方式の実験水路を設置し、接触酸化水路内での衛生指標細菌の挙動、衛生指標細菌の SS への付着状態が水路内での挙動に与える影響、および水中と生物膜中での衛生指標細菌の増加減少速度を検討した。測定項目は、一般測定項目（水温、pH、リン、DO、SS、DOC、各態窒素、ORP）、衛生指標細菌（大腸菌群、大腸菌）、および一般細菌とした。水中に存在する細菌の状態は、SS に付着している付着状態と、単独で存在する分散状態の 2 通りが考えられる。そこで、存在状態の違いが除去率に与える影響を検討するため、ろ過実験を行った。3.14 L の塩化ビニル製円筒型の槽を直列に 6 個繋げたものを 3 系列作成し、実験水路とした。その後、以下の異なる接触ろ材を投入した：系 1、活性炭；系 2、ひも状接触ろ材；系 3、接触ろ材なし。約 2 ヶ月間の通水実験を行い、通水条件は、流量と接触酸化槽内滞留時間をそれぞれ 300 mL/min と 0.87 h とした。通水実験における採水点は、原水、第 1 槽、第 3 槽、および第 6 槽とし、採水は週 2 回の頻度で行った。

ひも状接触ろ材において、水中における衛生指標細菌の除去率は約 60~90%であった。接触ろ材の違いによる細菌除去効果を比較した結果、ひも状接触ろ材、活性炭、接触ろ材なしの順に除去率が高かった。また、接触ろ材によって水中から除去された衛生指標細菌は、生物膜や懸濁物質へ移行し、約 99%以上が不活化された。さらに、ろ過実験において、細菌の付着状態と分散状態では減少速度に差がなく、通水実験における SS 除去率と細菌除去率との間には相関は認められなかった。そのため、付着・分散状態の違いが衛生指標細菌の減少機構に与える影響は小さいと考えられた。以上のことから、接触酸化水路を活用することによって、衛生指標細菌を効果的に除去でき、処理水の放流先水域において水環境の改善が期待できる。

(2)微生物燃料電池による廃水からのリン回収に廃水中有機物濃度および外部抵抗が与える影響

廣岡 佳弥子, 市橋 修, 本山 亜友里
水環境学会誌 37(4),163-168 (2014)

レビュー：平井 貴大

微生物燃料電池 (Microbial Fuel Cell, MFC) は、微生物を利用して廃水中に含まれる有機物から電気エネルギーを回収する廃水処理技術である。廃水に含まれるリンは、環境水中に放出されると富栄養化を引き起こす要因となる。その一方で、リンは肥料の成分として代替品の存在しない貴重な資源であることから、廃水からのリンの除去・回収が重要である。既往の研究において、リンを含む廃水を 1 槽型 MFC で処理する際に、カソード上にリン酸マグネシウムアンモニウム (MAP) の結晶が析出したとの報告がある。リン析出の原因であるカソード上での pH 上昇は、カソード上で起きる酸化還元反応によって生成される OH⁻の量に影響される。また、OH⁻の量は MFC の電流量に比例する。そのため、MFC の電流増加に寄与する廃水中の有機物濃度ならびに外部抵抗の大きさは、リンの析出に影響を及ぼすと考えられている。そこで本研究では、1 槽型 MFC を用いて、廃水中の有機物濃度および外部抵抗の大きさが、カソード上でのリンの析出に与える影響を検討した。ガラスボトル (容積 300 mL) に入った人工廃水を、1 槽型 MFC (容積 70 mL) へと循環 (循環速度: 20 mL/min) するシステムを構築した。なお、基質には酢酸ナトリウムを用い、植種源として養豚廃水と水田土壌の混合物を用いた。MFC は約 90 日間運転後、酢酸ナトリウムの添加量または外部抵抗の大きさを変化させた。このとき、人工廃水は、リン酸バッファー (7.5 mL), NH₄Cl (3.75 mL), および MgCl₂ (3.75 mL) を添加した。その後、ガラスボトル内の廃水を 6~15 時間ごとにサンプリングし、リン酸, Mg, および NH₄ 濃度を測定した。

3 台の MFC において酢酸ナトリウムの添加量を 8.6 mmol/L/day, 4.3 mmol/L/day, および 2.2 mmol/L/day に設定した場合、48 時間後のリンの除去率はそれぞれ、14%, 1%, および 0%であった。また、このときの Mg の除去率はそれぞれ、19%, 9%, および 3%, NH₄ の除去率はそれぞれ、39%, 23%, および 11%であった。さらに、各 MFC の酢酸ナトリウム添加量は 8.2 mmol/L/day とし、外部抵抗を 10 Ω, 100 Ω および無限大とした場合、35 時間後のリンの除去率はそれぞれ、19%, 4% および 0%であった。したがって、カソード上での析出物量は、有機物濃度の増加と外部抵抗の減少によって増加することが明らかとなった。

第 200 回雑誌会

(Sep. 10, 2014)

(1)次世代シーケンサーを使用した環境中の細菌叢の 16S 解析およびメタゲノム解析

須田 互, 大島 健志朗

日本微生物生態学会誌 **27**(2), 63-69 (2012).

レビュー：寺西 康太郎

次世代シーケンサーとは対象とする DNA について、一度に大量の塩基配列情報を読み取る技術である。近年、次世代シーケンサー技術の進歩によって、微生物ゲノムを低コストかつ高速に解析できるようになり、ゲノム情報が蓄積されてきている。次世代シーケンサーを用いた 16S rRNA 遺伝子解析は、多くのサンプルについて網羅的解析が簡便に行えることや高精細に菌叢構造の解析ができることなどの利点を有している。ここで、解析の手順を以下に示す。まず、次世代シーケンサーを用い、多くのサンプルについて並行的に遺伝子シーケンシングを行う。シーケンシングによって取得したリードをバーコード配列によって分配し、その後塩基が正しく解読された確率を示すクオリティ値と異なる遺伝子リードの有無について、それぞれクオリティチェックとキメラチェックを実施する。次に、クラスター分析による Operational Taxonomic Units (OTUs) を作成し、データベースと比較することによって OTU の菌種帰属を行う。一般的に環境中の細菌叢の解析では、16S rRNA 遺伝子の配列が最も多く用いられている。その利点として、全ての細菌種が保持していることや大量の遺伝子配列がデータベースに蓄積されていることなどが挙げられる。従来の 16S rRNA 遺伝子解析の手法では、遺伝子の組み換え実験を必要とするため、クローニングによって偏りが生じる可能性がある。その一方で、次世代シーケンサーを用いた 16S rRNA 遺伝子解析では、クローニングを介すことなく 16S rRNA 遺伝子断片を増幅させるため、クローニングによる偏りを回避できる。

しかしながら、次世代シーケンサーを用いた 16S rRNA 遺伝子解析では、細菌叢の性質に関する情報を得ることは困難であるため、追加の解析法としてメタゲノム解析を行う必要がある。メタゲノム解析とは細菌叢から得られたゲノム DNA の遺伝子情報について、網羅的解析を行う手法である。メタゲノム解析を用いて多数の遺伝子情報を解析し、既知の機能遺伝子との相同性を求める。このことによって、細菌叢の遺伝子を機能別にカテゴライズすることが可能となる。また、既知遺伝子と相同性を示さない遺伝子は、新規の遺伝子候補として挙げられる。以上のことから、16S rRNA 遺伝子やメタゲノム解析を実施する際に、次世代シーケンサーを用いることは環境細菌叢を解析することにおいて非常に有効的である。

第 201 回雑誌会

(Sep. 18, 2014)

(1) Seasonal stability of *Cladophora*-associated *Salmonella* in Lake Michigan watersheds

Byappanahalli, M. N., Sawdey, R., Ishii, S., Shively, D. A., Ferguson, J. A., Whitman, R. L. and Sadowsky, M. J.

Water Research, **43**, 806-814 (2009).

Reviewed by M. Ushijima

Cladophora は、淡水や海水中に生育する糸状緑藻である。近年、アメリカのミシガン湖内に生育する *Cladophora* からサルモネラを含む病原細菌が検出されている。また、*Cladophora* から単離したサルモネラのゲノタイプは、全ての菌株においてほぼ同一であったと報告されている。このことから、*Cladophora* とある特異的なゲノタイプを有するサルモネラとの間に関係性があることが示唆された。しかしながら、既往の調査ではサンプル数が少なく、地理的・空間的・時間的要因に関する情報が不十分であるため、*Cladophora* とサルモネラの関係性は不明なままである。そこで本研究では、*Cladophora* 中に存在するサルモネラの空間的・時間的变化と *Cladophora* 以外に存在するサルモネラとの関係性について調査した。調査は、2005～2007 年にミシガン湖と湖に流入する河川の計 14 地点を対象とし、各調査地点から *Cladophora*、湖水、河川水、*Cladophora* と種の異なる水草 (*Potamogeton* sp.)、浜砂、および堆積土を採取した。また、最確数法を用いて *Cladophora* と湖水中のサルモネラを計数した。各試料から単離したサルモネラのゲノタイプは、Horizontal fluorophore-enhanced rep-PCR (HFERP) を用いて取得し、系統樹解析、MANOVA 分析、およびジャックナイフ分析によって菌株、年、および調査地点間の類似性を評価した。

Cladophora と湖水中のサルモネラ数はそれぞれ、0.16～89.46 MPN/g、0.002～0.017 MPN/mL であり、湖水中のサルモネラ数と比較して *Cladophora* 中のほうが高かった。このことから、湖水中のサルモネラが *Cladophora* 中で増殖、または *Cladophora* に吸着されている可能性が考えられた。HFERP によって取得したサルモネラのゲノタイプについて系統樹解析、MANOVA 分析、およびジャックナイフ分析を行った結果、*Cladophora* から単離したサルモネラの大部分は、同じ年に単離された菌株とのみ高い類似性が認められた。このことから、*Cladophora* 中のサルモネラは、時間の経過と共に変化することが示唆された。また、各調査地点において採取した *Cladophora* 由来のサルモネラは、同一または隣接する調査地点から採取した河川水、浜砂、堆積土、*Potamogeton* sp. から単離した菌株と高い類似性を示した。以上の結果から、*Cladophora* と *Cladophora* 由来のサルモネラのゲノタイプには関係性が無く、単に *Cladophora* の生育する環境によって異なったゲノタイプを有するサルモネラが *Cladophora* 中に付着していることが示唆された。

第 202 回雑誌会

(Sep. 24, 2014)

(1) Diversity of *vanA*-type vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* isolated from broilers, poultry slaughterers and hospitalized humans in Greece

Tzavaras, I., Siarkou, V. I., Zdragas, A., Kotzamanidis, C., Vafeas, G.,

Bourtzi-Hatzopoulou, E., Pournaras, S and Sofianou, D.

Journal of Antimicrobial Chemotherapy, **67**, 1811-1818 (2012).

Reviewed by M. Nishiyama

家畜の成長促進剤であるアボパルシンの使用は、バンコマイシン耐性腸球菌（vancomycin-resistant enterococci, VRE）を世界的に拡散させた要因のひとつである。現在までに、9つのタイプのVREが確認され、中でも*vanA*遺伝子を保有する*Enterococcus faecium*（VREF）は、臨床や動物から最も多く分離されている。現在、アボパルシンの使用は禁止されているが、家畜からの分離報告が後を絶たず、ヒトと家畜から分離されるVREの遺伝的関連性は明らかとなっていない。そこで本研究では、ギリシアのブロイラー生産場を対象として、ブロイラーにおけるVREの保菌率を調査し、臨床分離されたVREとの疫学的関連性を明らかにした。試料は、8つの農場からブロイラー500検体と食肉処理場に勤務するヒトのふん便50検体とした。各試料から、バンコマイシンを添加した腸球菌選択培地を使用して菌株を単離し、multiplex PCR法によって菌種同定とバンコマイシン耐性遺伝子を検出した。これらの単離株に加えて、臨床分離された63株について、薬剤感受性試験を行った。そして、VREFにおける薬剤耐性プロファイル（Antimicrobial Resistance Profile, ARPs）を作製し、VREF株間の類似性を判別分析によって評価した。さらに、PFGE（pulsed-field gel electrophoresis）法によって、異なる起源におけるVREFの遺伝的関連性について解析した。

ブロイラー500検体のうち、113検体（22.6%）からVREが検出された。また、5つの農場から*vanA*遺伝子を保有するVREが72検体（14.4%）検出され、全株が*E. faecium*と同定された。一方、食肉処理場のヒトふん便からは、14検体（28%）からVREが検出され、そのうち10検体が*E. faecium*であった。薬剤感受性試験の結果、5剤耐性以上のVREFは、臨床分離株では92.1%であったのに対し、ブロイラー分離株では54.4%であり、大きく異なった。ARPsを用いた判別分析を行ったところ、ブロイラー分離株と臨床分離株間では関係性が認められなかった。その一方で、食肉処理場のヒトふん便分離株の6株（40%）のARPsは、ブロイラー分離株と類似した。さらに、PFGE法によってVREF株の類似性を評価した結果、類似性レベル55%において、ブロイラー分離株と臨床分離株のグループに分類された。以上のことから、VREFにおいて、ブロイラー分離株と臨床分離株には疫学的関係性がなく、異なる遺伝子型のVREがギリシアには拡散していることが明らかとなった。

(2) A turbidity-based method to continuously monitor sediment, carbon and nitrogen flows in mountainous watersheds

Johanna, I. F. S., Petra, S., Thomas, H., Marc, L., Hans-Peter, P., Tran, D. V., Georg, C.
Journal of Hydrology, **513**, 45-57 (2014).

Reviewed by K. Kihara

水系の土砂輸送量のモニタリングは、流域規模の侵食過程や淡水域および海域における富栄養化等の問題を解決する上で極めて重要である。しかしながら、降雨時を含む高頻度のモニタリングは、費用等の問題から実用的でない。近年、濁度計を用いた懸濁物質濃度の連続的な測定が可能となり、SS や懸濁態リン濃度の推定に適応されているが、他の懸濁態成分に着目した例は少ない。そこで本研究では、濁度計を用いて浮遊懸濁物質 (SS) と懸濁態成分濃度を推定する手法を開発した。また、懸濁物質中の粒度構成および有機物含有量について、濁度に対する影響を評価した。調査は、2010 年~2011 年においてベトナムの北西部に位置する Chiang Khoi 流域の 4 地点を対象とし、濁度、流量および雨量のモニタリングを実施した。また、降雨イベントにおいてサンプリングを行い、濁度、浮遊懸濁物質 (SS)、懸濁態成分である懸濁態有機炭素 (POC) および懸濁態窒素 (PN) の濃度について測定した。その後、降雨イベントにおける 7 つの変数 (平均雨量、最大雨量、累積雨量、降雨継続時間、濁度、降雨イベント前の全雨量、流量) と降雨イベント前の乾燥期間の計 8 つの変数を用いて、懸濁態成分 (POC, PN) と SS 濃度を予測変数とした線形混合モデルを作成した。モデルの妥当性は 5 回のクロス検定を実施し、相関係数 (r) によって評価した。なお、懸濁物質中の粒度構成と有機物含有量は、それぞれレーザー回折法と強熱減量法によって測定した。

濁度、放流量、および雨量を変数とした線形混合モデルにおいて、懸濁態成分 (POC, PN) と SS の r は、それぞれ 0.86, 0.87, および 0.91 となり、最も高い値を示した。このことから、線形混合モデルによって、懸濁態成分と SS 濃度を再現できることがわかった。また、粒度構成と有機物含有量を変化させた懸濁物質では、濁度に有意差が認められた ($P < 0.01$)。さらに、有機物含有量の変化は、懸濁物質中の POC および PN 濃度に依存していることがわかった。したがって、濁度を PN や POC の代替として用いることは可能であると考えられた。以上の結果から、開発した線形混合モデルによって、濁度計による連続濁度データから懸濁態成分 (POC, PN) 濃度を推定できることがわかった。

第 203 回雑誌会

(Sep. 25, 2014)

(1) 鳥取県の砂丘における土壌生成 II 砂丘土壌中の粘土鉱物について

飯村 康二, 本名 俊正, 山本 定博, 岡崎 宏樹, 沖田 智, 川上 健太郎

ペドロジスト **45(2)**, 84-93 (2001).

レビュー：奥 堯史

非固結岩屑土の砂丘未熟土として分類される砂丘地の土壌は、飛砂が堆積することで形成される。その一方で、砂防林の植生や灌漑などによって砂丘が固定された場合、砂丘地において未熟な土壌形成も考えられる。既往の研究より、マツ植生下では、粒子の細粒化と粘土鉱物の生成が報告されている。しかしながら、砂丘の土壌生成に関する情報は限られている。そこで本研究では、河口に形成された鳥取県の3つの砂丘地（千代川河口東部の鳥取砂丘、天神川河口西部の北条砂丘、および日野川河口西部の弓浜砂丘）を対象として、各砂丘の未熟土に含まれる粘土鉱物を解析し、各砂丘地の土壌生成について検討した。試料は、11地点（鳥取砂丘3地点、北条砂丘6地点、弓浜砂丘2地点）の表層ならびに下層から採取した。DCB-酸性シュウ酸塩逐次処理による非晶質粘土鉱物の溶出成分量の測定、粉末X線回折（XRD）および示差熱分析による結晶質鉱物の同定を行った。

DCB-酸性シュウ酸塩逐次処理によって鳥取砂丘、北条砂丘、および弓浜砂丘の砂丘砂から Fe, Al, Si の溶出が確認され、検出された Fe, Al, Si の含有率は、土壌中における酸化物量のおよそ 10%~20%であった。また、XRD 分析の結果から、鳥取砂丘、北条砂丘、および弓浜砂丘のマツ植生下の表層土から、雲母粘土鉱物と緑泥石が主要な鉱物として同定され、その他には、パーミキュライト、カオリナイト、ギブサイト、およびス멕タイトも同定された。さらに、鳥取砂丘の下層土においても、各砂丘のマツ植生下の表層土と同様の鉱物が同定された。これらの表層と下層における鉱物は、砂丘砂を運ぶ千代川上流に分布する三郡変成岩由来の粘土鉱物が千代川によって輸送され、堆積していると考えられた。弓浜砂丘の下層土においても、鳥取砂丘のマツ植生下の表層土と比較して、少量であるが同様の粘土鉱物が同定された。このことから、日野川上流に分布する三郡変成岩が小規模に分布し、日野川によって輸送され堆積していると考えられた。その一方で、北条砂丘におけるマツ植生下の下層土および畑地からは、XRD 分析によって、珪酸、酸化鉄、および酸化アルミニウム等の結晶性粘土鉱物が少量検出されるのみであった。これは、砂丘砂を供給する天神川上流に変成岩類が分布しないためであると推定され、マツ植生下での粘土鉱物生成が考えられる。以上の結果から、各砂丘の土壌は河川からの土砂供給およびマツ植生下での粘土鉱物生成によって生成されているとわかった。

(2) し尿処理汚泥の有機高分子凝集剤処理における凝集剤の吸着と凝集汚泥の脱水性

五十嵐 千秋, 佐藤 広昭, 鈴木 英友
化学工学論文集 **12**(6), 694-700 (1986).

レビュー：吉田 在秀

近年、下水道やし尿処理施設等の普及に伴い、有機性汚泥の発生量が増大している。そこで、汚泥処理プロセスにおいて必要コストを削減するために、効果的に汚泥の脱水を行うことが望まれている。有機高分子凝集剤（ポリマ）は、脱水ケーキ含水率の低下や脱水用助剤として用いられている。しかしながら、発生する有機性汚泥を対象とした、汚泥の凝集および脱水性に関する研究例は少ない。そこで本研究では、し尿処理汚泥を対象として、数種類のポリマを用いた吸着試験ならびに凝集脱水試験を実施し、ポリマの吸着挙動が凝集汚泥の脱水性に及ぼす影響を検討した。試料は、余剰活性汚泥と硫酸ばん土による凝集沈殿汚泥の混合物であるし尿処理汚泥とした。また、凝集剤として、ポリジメチルアミノエチルメタクリレート系カチオンポリマとアニオン性のポリアクリルアミド部分加水分解物のポリマを用いた。なお、吸着試験の測定項目は、飽和吸着量 (X_w^*)、飽和荷電量 (X_c^*) とした。凝集脱水試験の測定項目は、フロック径 (D_f)、重力ろ過速度 (v)、脱水ケーキ含水比 (M)、およびコロイド荷電量 (CC) とした。

吸着試験においてポリマの分子量と各測定項目の関係を比較した結果、低分子量のポリマでは、 X_w^* と X_c^* は20時間程度で一定となったが、分子量の増加に伴い X_w^* と X_c^* は低下した。凝集脱水試験において高分子量のカチオンポリマを単独添加したところ、 CC がゼロの領域から正の領域に変化するポリマ添加率（ブレイク点）で、汚泥の脱水性が最良となった。その一方で、低分子量のカチオンポリマを一定量添加した後、高分子量のアニオンポリマを添加したところ、分離液中においてアニオンポリマが残留し、アニオンポリマのブレイク点で、汚泥の脱水性が最良となった。また、高分子量のカチオンポリマの単独添加と比較して、 CC は負となり、 D_f と v はそれぞれ増大し、 M は低下した。以上のことから、カチオンポリマを添加後に、アニオンポリマをブレイク点まで添加することで、高分子量のカチオンポリマの単独添加と比較して、し尿処理汚泥の凝集性は向上することが明らかとなった。

第 204 回雑誌会

(Oct. 1, 2014)

(1) Yangtze River sediments from source to sink traced with clay mineralogy

He, M., Zheng, H., Huang, X., Jia, J. and Li, L.

Journal of Asian Earth Sciences, **69**, 60-69 (2013).

Reviewed by Y. Arai

重鉱物や粘土鉱物は、河川堆積物の起源を追跡する指標として知られている。近年、東チベット高原を源流とする長江において、河川堆積物の輸送過程や堆積プロセスの解明に関する報告が多数あるものの、堆積土砂の粘土鉱物に焦点を置いた研究例は少ない。そこで本研究では、粉末 X 線回折 (XRD) 分析によって長江流域の粘土鉱物を同定し、粘土鉱物の含有率と結晶性から河川に堆積する土砂の起源を推定した。試料は、長江の本流と支流の 11 河川 (Yalongjiang, Daduhe, Minjiang, Jialingjiang, Wujiang, Hanjiang, Yuanjiang, Xiangjiang, Ganjiang, Dongting Lake, Poyang Lake) において、堆積土砂 (56 試料) を採取した。また、長江と同様に東チベット高原を源流とするヤルツァンポ川において、堆積土砂 (7 試料) を採取し、合計 63 試料を分析した。粘土鉱物の結晶性は、風化度の指標として有効なイライトを対象とし、算出した。なお、半値幅 (10\AA ピーク面積/ 10\AA ピーク強度) が低い値を示した場合、イライトの結晶性は高いと評価した。また、半値幅が 0.4 未満では物理的風化作用、0.4 よりも高い場合は化学的風化作用を受けていると評価した。

XRD 分析によって粘土鉱物を同定した結果、長江流域およびヤルツァンポ川における主要な粘土鉱物は、イライト、カオリナイト、スメクタイト、クロライトと同定された。長江本流とヤルツァンポ川の全試料における各粘土鉱物の平均含有率を比較したところ、両河川は類似した傾向を示し、イライトが非常に高い割合 (長江 : 69%, ヤルツァンポ川 : 78%) で存在した。このことから、長江本流およびヤルツァンポ川における堆積土砂の起源は同一であり、両河川の源流である東チベット高原の岩石と考えられた。長江上流域の支流河川 (Daduhe, Minjiang, Wujiang) では、イライトの半値幅が、それぞれ 0.4 未満であり低い値を示した。このことから、長江上流域の支流河川では、凍結による岩のひび割れや侵食など物理的風化作用の影響を強く受けた結晶性の高いイライトが、多量に産出されていると考えられた。以上の結果から、長江における堆積土砂の起源は、東チベット高原, Daduhe, Minjiang, および Wujiang の岩石であり、物理的風化作用によって生じた土砂が長江に流入し、堆積していると推定された。

(2) Dissolved organic carbon reduces the toxicity of copper to germlings of the macroalgae, *Fucus vesiculosus*

Brooks, S.J., Bolam, T., Tolhurst, L., Bassett, J., La Roche, J., Waldock, M and Barry, J. *Ecotoxicology and Environmental safety*, **70**(1), 88-98 (2008).

Reviewed by S. Hirayama

銅は、多くの水生生物に対して強い毒性を有しており、その毒性は銅の化学形態に大きく依存する。そのため、銅の化学形態を変化させる環境要因は、銅の毒性を把握するうえで極めて重要である。しかしながら、海水中での pH、溶存有機炭素 (dissolved organic carbon, DOC)、およびイオン濃度などの環境要因、ならびに銅の化学形態の関係性から銅の毒性を予測するまでには至っていない。一方で、海藻は海洋食物網の基盤を構成するため、毒性試験の供試生物に広く用いられている。そこで本研究では、銅の化学形態に及ぼす DOC の影響と、その銅の海藻 *Fucus vesiculosus* に対する毒性を検討した。毒性試験のエンドポイントは、発芽体の生長とし、0, 4, 7, 10, および 14 日目に発芽体の長さを測定した。暴露濃度は、20, 40, 80, 160, および 320 $\mu\text{g/L}$ を設定し、0, 4, 7, 10, および 14 日目に、全銅 (total copper, TCu) および化学的に不安定な銅 (labile copper, LCu) の正確な濃度を測定した。試験培地に添加する DOC (フミン酸) の濃度は、0, 0.09, 0.55, 1.65, および 2.03 mg/L の 5 段階とした。銅の影響は、0~4 日, 4~7 日, 7~10 日, および 10~14 日の相対生長率, ならびに 14 日後の TCu と LCu の EC_{50} によって判定した。

0.001 mg/L と 1.65 mg/L の異なる DOC 濃度において、TCu に対する LCu の存在率は、それぞれ 55% と 25% であり、DOC 濃度の増加によって、LCu の存在率が大きく低下した。これは、銅がフミン酸と結合して錯体を形成するためであると推察された。すべての条件で、10~14 日目の生長段階における相対成長率は低い値を示し、発芽体の生長が見られなかった。その一方で、0~4 日目までの生長段階における相対生長率は、フミン酸を添加した場合のすべての濃度区で、その後の生長段階と比較して高い値を示した。このことから、発芽体の初期段階 (0~4 日目) では栄養素を水中から摂取せず、銅の摂取も制限されている可能性が考えられた。 EC_{50} を算出した結果、0.001 mg/L の低 DOC 濃度において、発芽体の生長に対する 14 日後の TCu の EC_{50} は、40 $\mu\text{g/L}$ と見積もられた。これに対して、1.65 mg/L の高 DOC 濃度では、TCu の EC_{50} が 65 $\mu\text{g/L}$ に増加した。DOC 濃度の増加によって LCu 濃度が低下し、発芽体に対する銅の毒性が弱められたと考えられる。以上のことから、発芽体への銅の毒性は、LCu 濃度に依存することが示唆された。

第 205 回雑誌会

(Oct. 3, 2014)

(1) 海水環境における大腸菌の増殖と耐塩性誘導

石田 昭夫, 上野 友美

Microbes and Environments, **11**(3), 67-72, (1996).

レビュー：稲森 一差

河川や海水における大腸菌の存否は、水中の汚染状態を示す指標として広く用いられている。大腸菌を指標として汚染度を評価するには、大腸菌の生存状態および生存期間を周囲の環境要因と関連させて検討することが重要である。特に、非好塩性である大腸菌が海水環境中に生存するためには、高い浸透圧を有する海水の塩分に対して耐塩性を発現することが必要である。しかしながら、海水中における非好塩性細菌の生存や耐塩性誘導に関する報告例は少ない。そこで本研究では、海水の代替として人工海水 (ASW) を用いて耐塩性の発現およびその保持・消失を調査し、海水環境における大腸菌の適応と生存状態について検討した。使用菌株は、*Escherichia coli* ATCC-9637 とした。大腸菌の増殖は、4 つの異なる塩分濃度の ASW (1 倍, 1.5 倍, 2.0 倍, 2.5 倍) と純水について、それぞれ酵母エキス (1%) を添加し、合計 5 種類の培地 (ASW, ×1.5ASW, ×2.0ASW, ×2.5ASW, -ASW) において生育を評価した。耐塩性の発現には、ASW 培地と酵母エキス (1%) 添加 ASW 培地の 2 種類を用いて、大腸菌を振とう処理し耐塩性を誘導した。その後、大腸菌の増殖が確認されなかった濃度の ASW について酵母エキスを添加し、振とう培養後の菌増殖量を算出して耐塩性を評価した。耐塩性を誘導した菌体は、約 4°C で一定期間保存し、保存中の耐塩性の変化を 24 時間後の菌増殖量として算出した。

塩分が最も高い×2.5ASW 培地において、大腸菌の増殖は確認されなかった。ところが、×1.0ASW 培地では活発な増殖が確認された。そこで、酵母エキス (1%) 添加 ASW 培地と無添加の ASW 培地で振とう処理した大腸菌を×2.5ASW 培地に植菌して培養したところ、酵母エキス (1%) 添加 ASW 培地において、振とう処理した菌体のみ増殖が確認された。このことから、大腸菌の耐塩性を誘導するためには、酵母エキスが必要であると考えられた。振とう処理後、保存した菌体において耐塩性能を測定した結果、誘導された耐塩性は少なくとも 2 週間保持され、その後次第に消失する傾向を示した。耐塩性誘導後の菌体を酵母エキス無添加の ASW 培地に懸濁させて保存したところ、通常濃度の ASW では 2 週間経過後も耐塩性の低下は確認されなかった。以上の結果から、大腸菌は、酵母エキスに含まれるような有機物の存在する海水環境下において増殖が可能であり、耐塩性は海水と有機物によって誘導されることが示唆された。また、誘導された耐塩性は、有機物の無い海水中においても長期間保持されることが推定された。

(2) Sunlight mediated inactivation mechanisms of *Enterococcus faecalis* and *Escherichia coli* in clear water versus waste stabilization pond water

Khalid, K. and Kara, L. N.

Water Research, **50**, 307-317 (2014).

Reviewed by M. Uno

日光照射は、水中の病原性微生物の不活化に影響を与える因子である。既往の研究において、水中の細菌の不活化は、日光照射に伴って水中で生成する活性酸素種 (ROS), または日光中の UV-B (280~320 nm) による DNA と RNA の損傷が起因するとの報告がある。しかしながら、日光照射による細菌の不活化に関する情報は限られている。そこで本研究では、*Enterococcus faecalis* と大腸菌を対象として、日光照射における波長領域および活性酸素種である一重項酸素 ($^1\text{O}_2$) と過酸化水素 (H_2O_2) による不活化の寄与について検討した。試料は、リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) または安定酸化池流出水 (WSP) に、*E. faecalis* または大腸菌を接種し、試料中の各細菌濃度を 10^7 CFU/100 mL に調整した。実験槽に貯留した試料は、擬似日光を照射後、一定時間ごとに *E. faecalis* 数と大腸菌数を測定した。得られた測定結果から、回帰直線を作成し、直線の傾きを不活化速度係数 (k_{obs}) として算出した。なお、各細菌の不活化に寄与する波長領域を調査するために、特定の波長範囲の光のみを通過することのできる光学フィルターを用いた。

PBS 中の *E. faecalis* と大腸菌の k_{obs} は、それぞれ 2.15 と 2.08 であり、同程度であった。その一方で、WSP 中の *E. faecalis* と大腸菌の k_{obs} は、それぞれ 4.80 と 0.68 であった。WSP 中の *E. faecalis* の k_{obs} は、大腸菌と比較して約 7 倍高く、WSP 中の *E. faecalis* の不活化率は、大腸菌と比較して高かった。また、波長が 280 nm 以下の光を遮断した場合、PBS 中と WSP 中の *E. faecalis* の k_{obs} は、それぞれ 2.0 と 3.5 であった。その一方で、440 nm 以下の波長の光を遮断した場合、PBS 中と WSP 中の *E. faecalis* の k_{obs} は、それぞれ 0.2 と 1.4 であった。したがって、日光照射による、*E. faecalis* と大腸菌の不活化に寄与する波長領域は、それぞれ UV-A (320~400 nm) + 可視光線 (400~700 nm) と UV-B であることが示唆された。さらに、各細菌の k_{obs} は、試料に ROS 発生抑制剤を添加した場合、増加しなかった。その一方で、*E. faecalis* の k_{obs} は、試料に $^1\text{O}_2$ 発生抑制剤を無添加であった場合と比較して、 $^1\text{O}_2$ 発生抑制剤を添加した方が減少した。したがって、 $^1\text{O}_2$ は *E. faecalis* の不活化に寄与していることが示唆された。また、大腸菌の k_{obs} は、試料に H_2O_2 を添加することによって増加した。以上の結果から、*E. faecalis* と大腸菌の不活化に寄与する波長領域ならびに活性酸素種は、異なることが示唆された。

第 206 回雑誌会

(Oct. 10, 2014)

(1) Use of cassette-electrode microbial fuel cell for wastewater treatment

Miyahara, M., Hashimoto, K. and Watanabe, K.

Journal of Bioscience and Bioengineering, **115**(2), 176-181 (2013).

Reviewed by T. Hirai

近年、嫌気性微生物を利用し、曝気することなく排水の処理と電気エネルギーの回収が可能な技術として、微生物燃料電池 (Microbial fuel cells, MFCs) が注目されている。しかしながら、MFCs を実用化するためには、効率的な処理、安定した発電量および材料のコスト削減が課題である。そこで本研究では、MFCs の一つであるカセット電極 MFC (Cassette-electrode MFC, CE-MFC) を用いて、10 個の CE-MFC を接続したスラローム流路型 CE-MFC (Slalom-flow CE-MFC, sCE-MFC) を構築し、排水処理における CE-MFC の有用性を評価した。また、sCE-MFC において有機物除去と発電の仕組みについて解析した。容量 1 L の反応槽に sCE-MFC (アノードとカソードの合計面積、1,440 cm²) を設置し、温度 30°C 下で、外部抵抗を変化させながら 240 日間運転を行った。また、運転開始後に種種源として、水田の土壌を人工排水に 1 g 添加した。原水として、でんぷん、酵母エキス、ペプトン、植物油、および界面活性剤を含む人工排水を作成し、pH を 7.0、COD を約 500 mg/L に調製した。作成した人工排水を滞留することなく反応層内に通水し、水理的滞留時間 (Hydraulic-retention time, HRT) を 24 h (1~30 日目)、12 h (31~77 日目)、6 h (78~120 日目)、12 h (121~181 日目)、9 h (182~210 日目)、6 h (211~240 日目) の順に変更させた。また、16S rRNA 遺伝子断片の塩基配列を決定することによって、アノードバイオフィーム上に形成された微生物群集構造を解析した。

HRT を 24 h から 12 h に変更させたときに、COD 除去率は 80% から 85% に上昇した。しかし、HRT を 12 h から 6 h に変更したところ、COD 除去率は 60% まで低下した。その後、HRT を 12, 9, 6 h の順に変更させた結果、各 HRT において COD 除去率は約 80% を維持した。さらに、同じ人工排水について、活性汚泥法で処理したところ、24 時間の HRT の条件で、COD 除去率は約 80% であった。このことから、CE-MFC は排水を効率的に処理する手段として有用であることが示唆された。運転期間中に得られた最大電力密度は 150 mW/m² であり、クーロン効率は 20% と低かった。

各 HRT において、sCE-MFC のアノード上に形成された微生物群集構造を解析した結果、*Clostridium* 属細菌、*Geobacter* 属細菌、*Geothrix* 属細菌が多く検出された。したがって、*Clostridium* が人工排水中の有機化合物から電子供与体となる有機酸を生成し、*Geobacter* と *Geothrix* がその有機酸を利用して発電したと考えられた。

(2) Effects of the nuisance algae, *Cladophora*, on *Escherichia coli* at recreational beaches in Wisconsin

Erik, T. E., Colleen, M. and Gregory, T. K.

Science of the Total Environment, **404**, 10-17 (2008).

Reviewed by D. Fujisaki

アメリカのウィスコンシン州 (WI) では、水環境におけるふん便汚染を評価する指標細菌として大腸菌が用いられている。近年、WI のビーチではレクリエーション水から大腸菌が検出されており、水系感染症のリスクが高まっている。また、WI のビーチを形成する五大湖では、富栄養化に伴い、糸状藻類である *Cladophora* の繁殖が問題となっている。*Cladophora* は大腸菌の生残に寄与するとの報告があり、大腸菌がレクリエーションビーチにおいて、検出される要因の 1 つとして考えられる。しかしながら、*Cladophora* 内における大腸菌の生残や増殖に関する詳細な情報は得られていない。そこで本研究では、ビーチに存在する大腸菌の濃度と *Cladophora* の量を調査し、大腸菌と *Cladophora* の関連性について検討した。また、マット状の *Cladophora* の周囲における大腸菌濃度の空間分布についても調査した。調査は、2005 年と 2006 年の夏期において WI の 3 つのビーチ (Anclam Park, Murphy Park, Whitefish Dunes) を対象とし、定期的に大腸菌濃度および *Cladophora* 量のモニタリングを実施した。水試料は、*Cladophora* マット内から 4 試料、マット周囲 (沖側、左岸と右岸方向にそれぞれ 1 m, 5 m, 10 m 離れた地点) からそれぞれ 3 試料を水深 60 cm において採取し、計 496 試料とした。そして、大腸菌の濃度と *Cladophora* の関連性について、ANOVA 検定と線形回帰分析によって評価した。

Cladophora マット内とマット周囲の大腸菌濃度を測定した結果、マット内で最大となり、マット周囲の大腸菌濃度と比較して有意差が認められた ($p \leq 0.05$)。また、3 つのビーチにおける大腸菌濃度は、マットから離れるにつれて、減少する傾向を示した。マット周囲の各大腸菌濃度について ANOVA 検定を行ったところ、Anclam Park と Murphy Parks におけるマットから 1 m, 5 m, および 10 m 離れた地点の大腸菌濃度には、有意差は認められなかった ($p=0.709$, $p=0.872$)。さらに線形回帰分析を行った結果、3 つのビーチにおける大腸菌濃度と *Cladophora* 量の間には有意な相関関係が認められなかった。以上の結果から、*Cladophora* マットが大腸菌の生残に寄与する可能性は小さく、WI のビーチにおける藻類の蓄積が水質に及ぼす影響は小さいと考えられた。

(3) 下水処理におけるポリ硫酸第二鉄の適用と効果

西澤 正美, 松崎 尚介

PPM, 4, 32-41 (1996).

レビュー：吉田 在秀

鉄系の無機高分子凝集剤であるポリ硫酸第二鉄は、高い凝集能力を有しており、汚泥処理の脱水プロセスに用いられている。国外の下水処理では、水処理プロセスの過程で無機凝集剤を添加しているが、国内の下水処理プロセスにおいて無機凝集剤を適用した例は少ない。そこで本研究では、水処理プロセスにおける凝集剤添加活性汚泥法について、ポリ硫酸第二鉄を用いた固液分離性を検討した。試験は、分流式下水道の処理場で実施し、7分割された反応タンクの第6槽の汚泥にポリ硫酸第二鉄を添加した(39~42 mg/L)。添加期間は、1994年8月2日~1997年9月26日(RUN1)および1994年11月1日~1995年1月13日(RUN2)とした。測定項目は、汚泥容量指標(SVI)、曝気槽中の活性汚泥浮遊物(MLSS)、MLSS中の鉄蓄積量、全リン(TP)、および硫化水素とした。

MLSS中の鉄蓄積量を測定した結果、ポリ硫酸第二鉄無添加の場合では、鉄蓄積量は約5 mgFe/gSSであった。その一方で、ポリ硫酸第二鉄を添加した約2週間後の鉄蓄積量は、50~60 mgFe/gSSになった。ポリ硫酸第二鉄の添加によって鉄蓄積量は増大したが、このときの下水処理は良好であった。このことから、添加後の汚泥の性状変化によって下水処理効率は低下しないと考えられた。また、ポリ硫酸第二鉄添加前のSVIは、600以上の値であった。これに対して、ポリ硫酸第二鉄添加後のSVIは、200以下の値となったが安定するまでに約1ヶ月を要した。しかし、ポリ硫酸第二鉄の沈降性改善効果は安定しており、約1年間の連続運転において、バルキングは一度も発生しなかった。このことから、活性汚泥中の鉄含有量の増加は、SVIを低位に安定させ、バルキングの発生を未然に抑えることがわかった。さらに、放流水のTPは、ポリ硫酸第二鉄を添加した期間において、0.3 mg/L以下であった。一方の無添加の期間では、放流水のTPは、MLSS中の鉄蓄積量が30 mgFe/gSS以上の場合のみで、0.3 mg/L以下となった。したがって、リンはポリ硫酸鉄添加の通常の場合においても、活性汚泥中に蓄積された鉄とも反応していると考えられた。また、硫化水素濃度を測定したところ、鉄蓄積量の低下に伴い硫化水素が急激に発生した。したがって、汚泥中の鉄は、硫化水素と反応し、臭気を除去していると考えられた。以上の結果から、ポリ硫酸第二鉄の添加による効果は、バルキング防止、リンの除去、および臭気の除去、など多岐に及ぶことがわかった。

第 207 回雑誌会

(Oct. 14, 2014)

(1) 南部北上帯登米地域に分布する三疊系稲井層群基底部の堆積環境

堀川 英隆, 吉田 考紀

地質学雑誌 112(7), 469-477 (2006).

レビュー：奥 堯史

日本列島における三疊系の模式地として知られている南部北上山地の層序は、下部から中部を形成する稲井層群と上部を形成する皿貝層群で構成されている。稲井層群の一つである平磯層では、堆積岩類である炭酸塩ノジュールを含んだ赤色砂質泥岩の分布が知られており、その成因について多数の報告がなされている。しかしながら、赤色砂質泥岩の堆積環境についての詳細な情報は得られていない。そこで本研究では、宮城県登米市登米町の皮袋碎石場を対象とし、南部北上帯における下部三疊系の堆積相から、赤色砂質泥岩の堆積環境を推定した。試料は、皮袋碎石場から平磯層下部（約 80m 以上）の岩石を採取した。採取した岩石は岩相、堆積構造、および岩石の切断面の様子から各層に分類した。その後、赤色砂質泥岩が形成されている層について、偏光顕微鏡を用いた構成粒子の観察、蛍光 X 線（XRF）分析による化学元素組成の解析、および粉末 X 線回折（XRD）分析によって鉱物を同定した。

南部北上帯における下部三疊系の堆積相を分類した各岩相は、粒径の違いから、それぞれ異なる 2 つのユニットに分類することができた。また、赤色砂質泥岩はユニット 2 に分類されたことから、潮汐の影響を受ける堆積であると考えられた。赤色砂質泥岩の XRF 分析の結果、赤色砂質泥岩には溶解性の高いアルカリ・アルカリ土類金属が豊富に含まれており、著しい溶脱が認められなかった。このことから、溶解性の高い成分について流亡が抑制されていることが示唆され、少ない降水量あるいは地表水の蒸発による影響を受けた可能性が考えられた。また、赤色砂質泥岩に含まれる炭酸塩ノジュールは降水量に乏しく、土壤水の蒸発が盛んな地域で生成されることから、当時の気候環境は乾燥していたと考えられた。偏光顕微鏡によって、赤色砂質泥岩構成粒子を観察したところ、赤色砂質泥岩はシルトから細粒砂成分である火山ガラス、隠微晶質である赤色の塵状鉱物、雲母、石英、および斜長石が含まれることがわかった。また、赤色砂質泥岩について XRD 分析を実施した結果、石英、灰長石、緑泥石、赤鉄鉱、およびイライトが同定された。このような凝灰岩の変質によって形成される塵状の赤鉄鉱の存在から、赤色砂質泥岩の起源物質は凝灰岩であると考えられた。以上の結果から、赤色砂質泥岩は潮汐の影響を受ける乾燥した堆積環境において、凝灰岩を起源として生成したと考えられる。

(2) Patterns and persistence of antibiotic resistance in faecal indicator bacteria from freshwater recreational beaches

Alm, E. W., Zimble, D., Callahan, E and Plomaritis, E.

Journal of Applied Microbiology, **117**, 273-285 (2014).

Reviewed by M. Nishiyama

*Escherichia coli*とEnterococciは、ふん便指標細菌である一方で、ヒトに対して病原性を有している。*E. coli*の菌株間では、病原性因子の伝播が確認されており、水平伝播によって病原性や薬剤耐性の遺伝子を伝達する特性が院内感染を深刻にしている。近年、砂浜から高密度で*E. coli*とEnterococciが検出されており、砂浜環境の微生物叢の一部に適合していると考えられている。したがって、砂浜環境に適合した*E. coli*とEnterococciは、病原性細菌との間で、可動性耐性遺伝子を受け渡す仲介の役割を果たす可能性がある。そこで本研究では、淡水域の砂浜を対象として、*E. coli*とEnterococciの薬剤耐性を調査し、模擬実験によって薬剤耐性菌の生残性と薬剤耐性遺伝子の伝達性を評価した。試料は、2002年の5月から9月にかけて、アメリカのミシガン州に位置するHuron湖において、6カ所のビーチから採取した砂（144検体）と沿岸水（36検体）とした。各試料から*E. coli*とEnterococciの選択培地を使用して菌株を単離し、生化学性状試験によって菌種を同定した。*E. coli*とEnterococciと同定したそれぞれ、147株と150株について、Disk法による薬剤感受性試験を行った。その後、単離した薬剤耐性を有する*E. coli*を用いて、砂浜と淡水の環境の模擬実験を行い、*E. coli*の生残性を評価した。さらに、砂浜環境の模擬実験において、伝達性プラスミドを有する*E. coli*株を用いた伝達実験によって、砂浜における水平伝播の可能性を評価した。

単離した147株の*E. coli*のうち、19%が1剤耐性以上を示した。その一方で、Enterococciは、単離した150株のうち、1剤耐性以上を示す割合は65%であり、*E. coli*と比較して高かった。2剤耐性以上を示した多剤耐性菌の割合は、*E. coli*とEnterococciでそれぞれ、5.4%と18%であった。次に、薬剤耐性を有する*E. coli*について、砂浜と淡水の環境の模擬実験を行った結果、砂中において増殖が確認され、菌株を接種した14日後には、接種した菌数の100倍まで増加した。これに対して、淡水においては、増殖は確認されなかった。このことから、砂浜では*E. coli*が増殖し、長期間に渡って存在することが明らかとなった。さらに、*E. coli*株を用いた砂中におけるプラスミドの伝達性を評価した結果、10日から55日までの45日間で、平均で7 CFU・g⁻¹の接合完了体が検出された (Donor: 10⁵ CFU・g⁻¹, Recipient: 10⁴ CFU・g⁻¹)。以上のことから、砂浜環境においては、薬剤耐性を有する*E. coli*が長期間生残し、プラスミド性の薬剤耐性遺伝子の伝播が生じることが明らかとなった。

第 208 回雑誌会

(Oct. 21, 2014)

(1) Deposition and mixing depth on some European intertidal mudflats based on ^{210}Pb and ^{137}Cs activities

Andersen, T. J., Mikkelsen, O. A., Moller, A. L., and Pejrup, M.

Continental Shelf Research, **20**, 1569-1591 (2000).

Reviewed by Y. Arao

近年、地球温暖化に伴う海面上昇によって、塩性湿地や干潟の喪失が懸念されている。塩性湿地や干潟の維持・保全には、過去の海面上昇に伴う堆積環境の変化から、将来的な海面上昇による影響を予測することが重要である。堆積環境の解析には、様々な放射性核種を利用した堆積年代測定法が有効である。そこで本研究では、 ^{210}Pb および ^{137}Cs 堆積年代測定法によって、干潟堆積物の各放射性濃度を測定し、堆積年代および堆積速度の評価から、干潟の過去 100 年間の堆積環境を検討した。試料は、デンマークのコングシュマーク、オランダのダラード河口 (D1, D2), およびイギリスのハンバー河口 (A, B, C, D,) における計 7 地点の干潟を対象として、各地点から柱状試料 (30 cm~80 cm) を採取し、分析に供した。

^{210}Pb 放射性濃度の鉛直分布から、コングシュマークとハンバーA では、それぞれ表層 0~7 cm と表層 0~25 cm において濃度が一定値を示し、表層混合層の存在が認められた。また、両地点の表層混合層以深では、 ^{210}Pb 濃度が指数関数的に減衰し、放射性崩壊している区間が認められた。この区間において、 ^{210}Pb 放射性濃度から推定した堆積年代と ^{137}Cs 放射性濃度の鉛直分布の関係を評価したところ、両地点では 1980 年代後半と 1970 年代後半において、 ^{137}Cs 放射性濃度が急増した。このことから、コングシュマークとハンバーA において、チェルノブイリ原発事故 (1984 年) とイギリス北西部の核燃料再処理場から流失した汚染水 (1974 年~1977 年) の影響を受けた堆積層であることが確認された。さらに、この年代の堆積層について、 ^{210}Pb 放射性濃度から堆積速度を算出したところ、コングシュマークとハンバーA の堆積速度は、それぞれ 7.9 mm/yr と 8.4 mm/yr であり、1970 年~1990 年までの海面上昇速度 (1.1 mm/yr) と比較して大きかった。したがって、将来的な海面上昇によって、両地点の干潟が喪失する可能性は低いと推測された。その一方で、コングシュマークとハンバーA を除いた他の調査地点では、各放射性濃度の明瞭なピークを確認することが出来なかった。これらの地点では、潮汐による海水面の変動、生物攪乱、および浸食作用によって堆積物が強い混合を受けており、堆積環境の解析が不可能であると判断した。この問題については、今後さらに研究を進める必要があるが、 ^{210}Pb および ^{137}Cs 堆積年代測定法による干潟の堆積環境の解析は、効果的な手法であると考えられた。

(2) Antibiotic-resistant *Salmonella* and *Escherichia coli* isolates with integrons and extended-spectrum beta-lactamases in surface water and sympatric black-headed gulls

Dolejská, M., Bierošová, B., Kohoutová, L., Literák, I. and Čížek, A.

Journal of Applied Microbiology, **106**, 1941-1950 (2009).

Reviewed by M. Ushijima

ユリカモメは、水辺に巣を形成する渡り鳥である。近年、ユリカモメのふん便からサルモネラや薬剤耐性遺伝子とインテグロンを保有する大腸菌が検出されている。そのため、ふん便を介して薬剤耐性菌が環境中へ拡散する危険性がある。また、近年では、基質拡張型 β -ラクタマーゼ (ESBL) を産生する病原細菌が増加し、問題となっている。そこで本研究では、チェコ共和国の北東部に位置する Heřmanický 池の水と同一の池に生息するユリカモメを対象として、インテグロン保有・ESBL 産生薬剤耐性のサルモネラと大腸菌の存在を調査した。試料は、池の水中に設置した綿 87 検体とユリカモメ 216 検体の肛門をふき取った綿棒とした。各試料からサルモネラと大腸菌を 1 株ずつ単離し、サルモネラについて血清型とフェージタイプを同定した。単離した両菌種について、12 薬剤を用いた薬剤感受性試験を実施した。そして、1 剤耐性以上を示す菌株について、21 種類の薬剤耐性遺伝子と class 1, 2 インテグロンの保有を PCR 法によって判定した。また、class 1 インテグロンの遺伝子領域を増幅した PCR 産物の塩基配列を決定し、データベースと照合した。さらに、同一の薬剤耐性パターンと薬剤耐性遺伝子を持つ菌株について、パルスフィールドゲル電気泳動法 (PFGE) を実施した。ESBL 産生の有無は、Double-disc synergy test と PCR 法による ESBL 産生遺伝子の検出によって判定した。

池の水とユリカモメから *Salmonella* Enteritidis PT8 が共通して多く検出された。1 剤耐性以上を示す薬剤耐性サルモネラは、池の水とユリカモメからそれぞれ 2 株 (2%) , 15 株 (7%) 検出された。また、薬剤耐性大腸菌は、池の水とユリカモメからそれぞれ 14 株 (17%) , 60 株 (28%) 検出された。池の水とユリカモメから class 1 または 2 のインテグロンを保有する大腸菌が検出された。また、大腸菌単離株が保有する class 1 インテグロンの遺伝子領域についてシーケンシングを行った結果、ドイツで単離された大腸菌の保有する class 1 インテグロンと同一であった。さらに、池の水とユリカモメから単離した薬剤耐性サルモネラの PFGE 型が一致した。ESBL の産生は、ユリカモメ由来の薬剤耐性大腸菌 7 検体 (12%) においてのみ確認された。以上のことから、ユリカモメは、薬剤耐性サルモネラならびにインテグロン保有・ESBL 産生薬剤耐性大腸菌の保菌者であり、環境中に薬剤耐性菌を拡散させる可能性が示唆された。

(3) Multiple lines of evidence to identify the sources of fecal pollution at a freshwater beach in Hamilton Harbour, Lake Ontario

Edge, T. A. and Hill, S.

Water Research **41**, 3585-3594 (2007).

Reviewed by K. Niina

カナダのオンタリオ州西部に位置する Bayfront Park Beach では、ふん便細菌が高濃度で検出されており、頻繁に閉鎖されている。既往の研究から、Bayfront Park Beach の汚染起源は、都市下水であると考えられてきた。しかしながら、最近の調査において、Bayfront Park Beach における大腸菌数は、鳥によって排泄されたふん便が大きく寄与していることが示唆された。そこで本研究では、Bayfront Park Beach において、ビーチ利用の高い4~8月に週1回の大腸菌のモニタリング調査を行い、薬剤感受性試験と分子疫学的解析法である rep-PCR 法を用いて大腸菌の起源の特定を試みた。試料は、水深の異なる地点（足首高さ、ひざ高さ、水深 6 m、水深 24 m）で採取した淡水、波打ち際から 1 m 以内の地点で採取した浜砂、ビーチに排泄されていた鳥のふん便、およびビーチ周辺に位置する合流式下水道の貯水槽から採水した下水とした。また、ペットの抑留所において犬と猫からもふん便を採取した。薬剤感受性試験と rep-PCR 法によって得られた分析結果から、鳥とペットのふん便ならびに下水から単離した大腸菌のライブラリーを構築し、クラスター分析によって浜砂と淡水から単離した大腸菌との相同性を評価した。

足首高さの水深における淡水の大腸菌数は、 1.7×10^3 CFU/mL であり、他の 3 地点と比較して最も高かった。また、浜砂における大腸菌数は、 $2.5 \times 10^2 \sim 1.1 \times 10^5$ CFU/g で推移した。さらに、淡水と砂浜の大腸菌数は、8月に最も高い値を示した。鳥、下水、およびペット由来の菌株をライブラリーとし、薬剤感受性試験と rep-PCR 法を用いて、淡水および浜砂由来の菌株との相同性を分析した結果、いずれも鳥由来株と高い相同性を示した。また、淡水由来株は、海岸線から沖に向かうにつれて、下水由来株との相同性が高くなる傾向を示した。このことから、Bayfront Park Beach の浜砂と砂浜に近い淡水における大腸菌の起源は、鳥のふん便であり、淡水中では、沖に向かうにつれて下水由来株の割合が高くなることが示唆された。さらに、淡水由来の菌株は、鳥由来の菌株よりも浜砂由来の菌株と高い相同性を示した。このことから、浜砂に生残している鳥由来の大腸菌が、遺伝子変化を起こし、波浪の影響によって淡水中に移行していると考えられた。

第 209 回雑誌会

(Oct. 28, 2014)

(1) Solar radiation disinfection of drinking water at temperate latitudes: Inactivation rates for an optimized reactor configuration

Davies, C. M., Roser, D. J., Feitz, A. J. and Ashbolt, N. J.

Water Research, **43**, 643-652 (2009).

Reviewed by M. Uno

日光照射による水中の病原性微生物の不活化は、水温、濁度、色度等に大きく影響を受ける。しかしながら、濁度や色度の病原性微生物の不活化に関する知見は極めて少ない。そこで本研究では、*Enterococcus faecalis*, P22 ファージ, および *Clostridium sporogenes* を対象として、日光照射による不活化の挙動を調査し、反応槽の最適な処理条件（曝気処理、曝気処理と光触媒処理の併用）を検討した。また、得られた処理条件において、濁度、色度が消毒効果に与える影響を調査した。試料は、蒸留水に *E. faecalis* (ATCC 19433), 宿主菌として *Sallomonella enterica* Typhimurium (ATCC 19585) を用いた P22 ファージ, および *C. sporogenes* (ATCC 3584) を接種し、試料中の各細菌濃度を 10^5 CFU/mL, ファージ濃度を 10^5 PFU/mL に調整した。なお、試料の濁度と色度はそれぞれ、白陶土と河川水を用いて調整した。試料 10 L を実験槽に貯留した後、日光照射し一定時間ごとの *E. faecalis* 数, P22 ファージ数, および *C. sporogenes* 数を測定した。そして、計数結果から、各指標微生物が 90% 不活化するために必要な日光照射量 (S_{90}) を算出した。

曝気処理のみ行った場合、*E. faecalis*, P22 ファージ, および *C. sporogenes* の S_{90} はそれぞれ、 0.63 MJ/m^2 , 1.5 MJ/m^2 , および 1.9 MJ/m^2 であり、光触媒処理を併用した場合と比較して、高い消毒効果を示した。したがって、曝気処理のみの処理条件は、日光照射による病原性微生物の消毒に適していることが示唆された。また、白陶土を添加した試料 (920 NTU) に日光照射を行った場合、*E. faecalis*, P22 ファージ, および *C. sporogenes* の S_{90} はそれぞれ、 0.93 MJ/m^2 , 1.9 MJ/m^2 , および 3.1 MJ/m^2 であり、無添加試料と比較して S_{90} は約 1.5 倍高かった。しかし、白陶土を添加した試料と無添加試料における各指標微生物の減少数には有意な差が認められなかった ($p > 0.05$)。また、河川水を添加した試料 (140 PtCo units) に日光照射を行った場合、*E. faecalis*, P22 ファージ, および *C. sporogenes* の S_{90} はそれぞれ、 2.4 MJ/m^2 , 5.9 MJ/m^2 , および 2.7 MJ/m^2 であり、無添加試料と比較して S_{90} はそれぞれ、3.8 倍, 3.9 倍, および 1.4 倍高かった。河川水を添加した試料と無添加試料における *E. faecalis* および P22 ファージの減少数には有意な差が認められた ($p < 0.05$)。したがって、水中の病原性微生物の消毒効果は、濁度の影響と比較して、色度による影響が大きいことが示唆された。

(2) Identifying the sources and fate of anthropogenically impacted dissolved organic matter (DOM) in urbanized rivers

Meng, F., Huang, G., Yang, X., Li, Z., Li, J., Cao, J., Wang, Z. and Sun, L.
Water Research, **47**, 5027-5039 (2013).

Reviewed by K. Kihara

都市河川における溶存有機物 (DOM) の起源や動態の把握は、水質管理を実施する上で重要である。しかしながら、DOM 動態は微生物や光分解による変形、ならびに人為的活動に由来する DOM の流入によって複雑化する。特に、人為的活動に由来する DOM は、微生物や光による分解の影響を受けやすく、その特徴に関する情報は一部に限られている。そこで本研究では、下水処理水の流入する都市河川を対象として、人為的な影響を受ける DOM の特徴、ならびに時間的・空間的な変動について評価した。試料は、中国の Zhujiang 川における 14 地点を対象とし、夏期と冬期にそれぞれ 4 回ずつ採水し、分析に供した。測定項目は、溶存有機炭素 (DOC)、全リン (TP)、全窒素 (TN)、および 254 nm における吸光度 $SUVA_{254}$ とした。全試料は、三次元励起蛍光スペクトル (EEM) の PARAFAC 分析によって、蛍光を示す溶存有機物 (FDOM) の特徴を評価した。また、各地点において検出された DOM の成分と、7 つの異なる起源における DOM の標準試料についてクラスター分析を実施し、各地点における DOM の起源を特定した。さらに、全試料は太陽光にて 10 日間暴露し、各成分ピークの蛍光強度の変動から、DOM に対する光分解の影響について評価した。

各地点における夏期と冬期の水質を比較した結果、DOC および TP 濃度は、夏期と冬期において有意な差が認められなかった。その一方で、冬期における UV_{254} と TN 濃度は、夏期と比較して極めて高い傾向を示した。EEM の PARAFAC 分析から、各地点において、それぞれ異なる 5 つの成分ピーク (C1 と C3 : 人的由来のタンパク質, C2 と C4 : 陸域由来の腐植物質, C5 : 人的由来の腐植物質) が検出された。検出された成分ピークについてクラスター分析を実施したところ、DOM の成分ピークは下水処理水由来の有機物が大部分を占めていた。DOM に対する光分解の影響を調査した結果、太陽光に 10 日間暴露することによって、全ての成分ピークの蛍光強度が 70% ~ 80% 減少する傾向を示した。特に、C5 については、12 時間暴露した時点において蛍光強度の 80% が減少した。以上の結果から、都市河川における DOM は、下水処理水の流入による影響が大きく、人的由来の腐植物質は、光分解反応によって高い除去効果が期待できる。

第 210 回雑誌会

(Nov. 4, 2014)

(1) バイオ電池の最新動向

レビュー：平井 貴大

国内の下水と下水汚泥中には、原油換算で約 2,400,000 kL に相当するエネルギーが含まれていると試算されている。下水道施設にかかる全エネルギー消費量は、原油換算で 1,900,000 kL と推定されていることから、下水中には処理に費やされるエネルギーと同等もしくはそれ以上のエネルギーが残存していることになる。そのため、未利用の有機性資源である下水と下水汚泥からエネルギーを効率的に回収できる技術の開発が期待されている。現在、嫌気性消化によるエネルギー回収技術として、微生物を触媒として利用し、有機物の分解（下水処理）と直接発電を行うことが可能な微生物燃料電池（Microbial Fuel Cells, MFC）が注目されている。MFC に関する事例を紹介する。

(2) 宮城県内の畜産地帯を流域とする河川における薬剤耐性菌分布の実態

中尾 江里, 中野 和典, 野村 宗弘, 千葉 信男, 西村 修, 渡邊 節,
中村 朋之, 畠山 敬

環境工学研究論文集, **45**, 187-194, (2008).

レビュー：稲森 一差

抗生物質等の医薬品は、医療だけでなく畜産等の場においても使用されており、その年間使用量は、ヒトよりも畜産分野において多い。一般に、人用医薬品は排せつ物を介して放出され下水処理場または浄化槽で処理されるが、医薬品の使用形態によっては未処理のまま環境中に直接放出されている可能性がある。近年、日本の河川や環境水中から低濃度の医薬品や薬剤耐性菌が検出されており、流出した医薬品と薬剤耐性菌との関連が懸念されている。しかしながら、流出源として下水処理場や都市河川を想定した調査は多く行われているが、畜産現場を対象とした報告例は少ない。そこで本研究では、畜産地帯に流域をもつ河川における糞尿由来細菌（腸内細菌と腸球菌）と環境常在菌（一般細菌とシュードモナス属細菌）を対象として薬剤耐性試験を実施し、薬剤耐性菌の実態を調査した。試料は、宮城県内の白石川水系（12 地点）と鳴瀬川水系（9 地点）において、2007 年 10 月～12 月の期間に 2 回採取した。各細菌はそれぞれ選択培地を用いて検出し、すべての菌株について薬剤耐性試験（アンピシリン、カナマイシン、オキシテトラサイクリンおよびクロラムフェニコール、計 4 薬剤）を実施した。

白石川水系の上流域では、人畜糞尿由来細菌である腸内細菌と腸球菌は検出されなかった。このことから、白石川上流域は人為的汚染のない地点であることがわかった。その一方で、一般細菌から薬剤耐性菌が検出された。そのため、白石川上流域で検出された一般細菌の薬剤耐性菌は、細菌が本来もつ自然耐性によるものである可能性が考えられた。白石川上流から下流にかけて腸内細菌と腸球菌の薬剤耐性菌出現率は上昇傾向にあった。このことから、上流から下流の区間に家庭排水や畜産農家からの排水などが流入していることが示された。また、白石川中流・下流域では、検出されたシュードモナス属細菌の全てがオキシテトラサイクリンに耐性を示し、その中には複数の薬剤に耐性を示す菌も検出された。一方で、鳴瀬川水系では、上流域においても薬剤耐性腸内細菌が検出された。これは、鳴瀬川上流域の牧草地に堆肥として鶏糞が撒かれている影響によるものであると推察された。さらに、上流域では 3 つの薬剤に対して全てのシュードモナス属細菌が耐性を示した地点があった。このことから、河川に流出した医薬品の曝露によって感受性菌が死滅し、薬剤耐性菌が優先化したことが示唆された。

(3) Evaluation of the compartment bag test for the detection of *Escherichia coli* in water

Christine, S., Candace, M., Brittany, C. and Kate, K.

Journal of Microbiological Methods, **99**, 66-70 (2014).

Reviewed by D. Fujisaki

近年、発展途上国において、ふん便細菌に汚染された飲料水の摂取によるヒトの健康リスクが懸念されている。現在、世界保健機関（WHO）は、飲料水中におけるふん便汚染の度合いを評価する指標細菌として大腸菌を設定しており、大腸菌を含むふん便指標細菌を検出・定量する検定法がいくつか定められている。しかしながら、発展途上国においては、研究環境、技術者、および資金が不足しているため、大部分の検定法が利用できない現状にある。したがって、発展途上国における飲料水中の微生物を、簡便かつ低コストに検出する手法の開発が必要である。そこで本研究では、大腸菌の一般的な検出方法である mI 寒天培地を用いたメンブレンフィルター法と簡便かつ低コストであるコンパートメントバッグ検定（CBT）を比較し、CBT の有用性を評価した。調査は、2011 年 8 月から 2012 年 4 月の間にアメリカのアトランタにおける自然水源を対象として、汚染された水源 45 地点から水試料を採取し、計 270 試料とした。各試料を、大腸菌ブイヨン液体培地が入った容器に入れ、20 分間混合した。その後、透明なビニール袋の内部がそれぞれ 1, 3, 10, 30 および 56 mL の容量で区切られているコンパートメントバッグ内に、試料を注ぎ入れた。また、培養条件は、35°C で 18~24 時間とした。メンブレンフィルター法と CBT によって測定した大腸菌濃度（CFU/100 mL, MPN/100 mL）について、スピアマンの順位相関分析を行い、CBT の精度を評価した。また、CBT に用いた培養液から菌株を単離し、生化学的検査システムである BBL™ や Enterotube™ II を用いて大腸菌の同定を行った。

両手法を用いて測定した大腸菌濃度についてスピアマンの順位相関分析を行った結果、相関係数が $r=0.904$ （95%信頼区間, $r=0.859\sim0.950$ ）であり、有意な相関関係が認められた（ $p<0.001$ ）。また、両手法において検出された大腸菌濃度が <1 , 1~10, 11~100, および >100 MPN/100 mL or CFU/100 mL であった場合の一致率は、それぞれ 70%, 71.4%, 73.5%, および 92.8% となり、大腸菌濃度が高くなるに従って高くなる傾向を示した。Enterotube™ II によって生化学的検定を行った結果、CBT 後に単離した菌株の 100%（43 株/43 株）が大腸菌と同定された。以上の結果から、CBT は、簡便かつ低コストで大腸菌を測定することが可能であり、精度も高いことから、発展途上国において実用性があることが明らかとなった。

第 211 回雑誌会

(Nov. 11, 2014)

(1) Universal sample preparation method for characterization of bacteria by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry

Liu, H., Du, Z., Wang, J. and Yang, R.

Applied and Environmental Microbiology **73**(6), 1899-1907 (2007).

Reviewed by K. Niina

人の健康リスクの評価や感染症を未然に防ぐためには、細菌の迅速な同定が極めて重要である。質量分析の一つである Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) は、微生物の迅速な同定や病原型の異なる亜型を識別することにおいて、有益な手法として期待されている。しかしながら、細菌の前処理の方法に関しては、標準的な処理条件が確立されていない現状にある。そこで本研究では、異なる菌種を用いて、複数のサンプル処理法を作成し、良好なスペクトルを得るための最適な処理条件を検討した。また、得られた最適な処理条件を用いて、MALDI-TOF MSの細菌を識別する精度について評価した。供試菌株は、炭疽菌（1株）、ペスト菌（1株）、セパシア菌（1株）、黄色ブドウ球菌（9株）、および大腸菌（小児病院から単離された株9株、実験室の保存株1株）とした。また、マトリックス試薬として α -cyano-4-hydroxycinnamic-acid (CHCA) と 5- α -chloro-2-mecaptobenzothiazole (CMBT) を使用し、酵素処理としてリゾチームとトリプシンを用いた。

細菌の最適な前処理の条件を検討した結果、炭疽菌およびペスト菌は、それぞれクロロホルムとメタノールの混合溶液（混合比1:1）および2-プロパノールとアセトニトリルの混合溶液（混合比1:1）で処理することによって明瞭なスペクトルを取得することができた。また、CHCAは、CMBTと比較して多数のピーク値を検出し、イオン化を促進することがわかった。しかしながら、リゾチームとトリプシンを用いた場合には、ノイズが大きくなる傾向を示し、細菌の同定に悪影響を与える可能性が示唆されたため、以降の試験では使用しなかった。最適なサンプル溶媒とマトリックスを用いて、5つの菌種を分析した結果、それぞれ特異的なピーク値を検出し、菌種ごとに区別することが可能であった。また、大腸菌株を対象として、同一の菌種間で識別能力を評価した結果、質量電荷比1101, 2183, 2690, 5381, 7158, および7274において共通のピーク値が検出された。大腸菌の病院由来株は、実験室の保存株と異なり、質量電荷比が129 Daの間隔で離れている連続的なピーク値が確認され、大腸菌は菌株間で識別できる可能性が示唆された。これらのことから、MALDI-TOF MSは、細菌の前処理条件を確立することによって、菌種の同定やデータベースを構築する上で有用な手法になり得ると考えられた。

(2) Ocean acidification and seaweed reproduction: increased CO₂ ameliorates the negative effect of lowered pH on meiospore germination in the giant kelp *Macrocystis pyrifera* (Laminariales, Phaeophyceae)

Roleda, M.Y., Morris, J.N., McGraw, C.M. and Hurd, C.L.

Global Change Biology, **18**(3), 854-864 (2012).

Reviewed by S. Hirayama

海洋酸性化 (ocean acidification, OA) は、海水の pH 低下を招き、生物の生長や生殖に影響を及ぼすことが知られている。現在までに、沿岸域に生息する生物への OA による影響を調査した研究は、石灰藻等の炭酸カルシウム種が多く、沿岸域の主要な一次生産者である海藻を対象とした研究例は極めて少ない。特に、環境ストレスに対して高感受性を有する海藻の初期発生段階を対象とした研究例は見当たらない。そこで本研究では、海藻オオウキモ (*Macrocystis pyrifera*) の胞子の発芽、配偶体の生長、および配偶体の雌雄比に及ぼす pH の影響を調査した。供試生物はオオウキモとし、放出された遊走子を試験に用いた。pH 変化に伴う海藻への影響は、3つの異なる試験によって検討した。試験 1 と試験 2 では、対照区 (pH8.17~8.31), NaOH 添加 (pH8.48~8.50), および HCl 添加 (pH7.59~7.60) の 3 条件に加え、各条件に無機炭素 (DIC) として NaHCO₃ を添加した計 6 条件を設定し、5 日間暴露後の胞子の発芽率を算出した。試験 3 では、対照区 (pH8.19), わずかな OA 条件 (pH7.86), および極端な OA 条件 (pH7.61) の各条件について NaHCO₃ を添加し、7 日間暴露後の胞子の発芽率ならびに 6 週間暴露後の配偶体の生長率と雌雄比を算出した。

HCl のみを添加した場合の発芽率は、対照区と比較して、試験 1 では 10%, 試験 2 では 11% 低下した。一方で、DIC と HCl を添加した場合の発芽率は、HCl のみを添加した場合から、試験 1 では 4.2%, 試験 2 では 1.9% 増加した。また、対照区と 2 つの異なる OA 条件に pH を設定した試験 3 において、対照区とわずかな OA 条件の間で両者の発芽率に違いは見られず、極端な OA 条件においても、対照区と比較して発芽率の低下は 8.7% にとどまった。このことから、pH の低下が発芽に及ぼす影響は、DIC の添加によって緩和されることがわかった。配偶体の生長に及ぼす OA の影響を検討した結果、わずかな OA 条件と極端な OA 条件に暴露された配偶体の生長率は、対照区と比較して、それぞれ 32% と 10% 増加した。この要因として、培地内の CO₂ 濃度の増加によって、光合成が促進されたことが考えられた。さらに、試験 3 のすべての条件で、配偶体の雌雄比に違いは確認されなかった。以上の結果から、将来的な海洋酸性化による pH の低下によって、オオウキモの初期発生段階に深刻な影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

(3) 機内二液調質型遠心脱水機の実用例

久野 清人, 鈴木 和美, 井上 剛, 宮内 千里

下水道協会誌, **48**(590), 91-97 (2011).

レビュー：吉田 在秀

現在、遠心脱水機を用いた下水汚泥の脱水技術は、高分子凝集剤のみを使用する一液調質法が主流である。その一方で、難脱水汚泥の脱水には、高分子凝集剤と無機凝集剤を併用する二液調質法が用いられている。二液調質法は、汚泥供給ライン中に無機凝集剤を添加後、遠心脱水機内において高分子凝集剤を添加するのが一般的である。しかしながら、二液調質法による汚泥含水率は、一液調質法と比較して1~3%の低下に留まっている。近年、高分子凝集剤の添加後に、無機凝集剤を添加することで（機内二液調質法）、汚泥含水率が一液調質法と比較して最大で7%低下することが明らかとなった。そこで本研究では、機内二液調質法を用いた下水汚泥の脱水処理を実施し、コストや環境負荷の面から、機内二液調質法の実用性を検討した。試料は、宇都宮市川田水再生センターの混合汚泥と消化汚泥を用いた。凝集剤は、高分子凝集剤8種類（KP1200SV, MP-184Y, KP1227B, KA2379, CP401L, CP400, CP380, およびCP360）と無機凝集剤3種類（ポリ硫酸第二鉄, ポリ塩化アルミニウム, および硫酸アルミニウム）の計11種類を使用した。なお、汚泥脱水には3種類（株式会社西原環境テクノロジー製, 巴工業株式会社製, および株式会社クボタ製）の機内二液調質型遠心脱水機を使用した。測定項目は、蒸発残留物(TS), 強熱減量(VTS), 固形物回収率, および脱水汚泥含水率とした。

各脱水機を用いた混合生汚泥と消化汚泥の脱水実験を実施したところ、全試料で含水率は、凝集剤の種類および調質法に関係なく、70%以下に低下した。また、機内二液調質法における含水率の最低値は、一液調質法と比較して約7%低下した。機内二液調質法による固形物回収率は、混合生汚泥では、98%以上、消化汚泥では、97%以上を確保しており、良好な結果であった。3種類の無機凝集剤における脱水効果を比較したところ、ポリ硫酸第二鉄が最も汚泥脱水に関して優れていることがわかった。一液調質法と機内二液調質法について、コストと温室効果ガス排出量を見積った結果、機内二液調質法によるコストと温室効果ガス排出量は、一液調質法と比較して、混合汚泥についてそれぞれ約9%と約22%に低減した。また、消化汚泥のコストは、一液調質法の場合とほぼ同等であるが、温室効果ガス排出量は約28%低減された。したがって、機内二液調質法によって、一液調質法と同コストで温室効果ガスを削減できることがわかった。以上の結果から、下水汚泥の脱水への機内二液調質法の適用は実用的であると考えられた。

第 212 回雑誌会

(Nov. 25, 2014)

(1) Clay mineralogy of alluvial soils and grey degraded soils derived from the same river sediment in the Red River Delta, northern Vietnam

Nguyen, Q. H., Ho, T. L. T., Abu, Z. M. M., and Egashira, K.

Clay Science, **13**, 101-105 (2006).

Reviewed by T. Oku

ベトナム北部の紅河デルタ地方では、肥沃な沖積土壌の劣化によって形成された灰色劣化土壌が分布している。灰色劣化土壌は、カチオン交換容量が小さく、作物の生育に適さないことから、ベトナムにおける土壌問題の1つとして検討されている。これまでに、灰色劣化土壌と沖積土壌について、化学・物理的特性を評価した研究が報告されている。しかしながら、各土壌の粘土鉱物の違いに着目した研究は一部に限られている。そこで本研究では、ベトナム北部の紅河デルタ地方におけるカウ川を対象とし、灰色劣化土壌および沖積土壌について粘土鉱物を特徴付けた。試料は、土壌の表面から採取し、計8試料（灰色劣化土壌3試料、沖積土壌5試料）とした。全試料は、粉末X線回折（XRD）分析によって粘土鉱物を同定した。また、各試料について、pH、有機物含有量、および粒度分布の粘土画分を測定した。

灰色劣化土壌と沖積土壌の全試料において、明確なpHの違いは確認されなかった。その一方で、有機物含有量と粒度分布における粘土画分の平均値は、いずれも灰色劣化土壌が低い値を示した。このことから、土壌の劣化によって生じた灰色劣化土壌は、有機物含有量および粘土画分の低下に伴って生成することがわかった。XRD分析によって灰色劣化土壌および沖積土壌の鉱物を同定した結果、雲母（灰色劣化土壌：14~22%、沖積土壌：20~31%）とカオリナイト（灰色劣化土壌：33~47%、沖積土壌：32~35%）が高い割合で存在した。また、両土壌のカオリナイトの含有量は、いずれも雲母の含有量を上回る結果であった。さらに、沖積土壌からは、バーミキュライトが検出され、灰色劣化土壌からは、緑泥石-バーミキュライト混合層鉱物が検出された。雲母および緑泥石-バーミキュライト混合層鉱物は、土壌の劣化が進行することで分解され、カオリナイトおよび緑泥石が生成することが知られている。このことから、雲母およびカオリナイトの含有量を把握することによって、土壌の劣化を評価することが可能であると考えられた。以上の結果から、有機物含有量、粒度分布の粘土画分および鉱物組成は、土壌の劣化の指標として有効であると考えられた。

(2) 活性汚泥の細菌叢解析

江副 拓良, 出口 浩, 村上 孝雄

下水道協会誌 47(577), 63-71 (2010).

レビュー：寺西 康太郎

現在, 多くの下水処理場において, 微生物の集合体である活性汚泥を用いた下水処理法が採用されている。活性汚泥を採用する処理場では, 季節的な水温変化, 流入水の水質変化, および処理方式等によって微生物の生育に影響を与える要素が多く存在する。そのため, 都市下水処理の安定した運転管理において, 活性汚泥中の細菌叢の解明は極めて重要である。これまでに, 細菌量を解析する手法はいくつか開発されているが, 活性汚泥中の全ての細菌属を検出する手法については, 未だに報告がない。そこで本研究では, PCR-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) 法を用いて, 活性汚泥を構成する全ての細菌叢の検出を試みた。試料は, A 市の B 下水処理場と C 町の D 下水処理場における活性汚泥を対象とし, 2004 年 12 月から 2 年間, 月 1 回の頻度で採取した。PCR-DGGE 法によって検出した細菌の塩基配列から蛍光プローブを設計し, Fluorescence in situ hybridization (FISH) 法を用いた解析によって, 活性汚泥中の細菌について, 属レベルの相対的な細菌量を計測した。また, 細菌量を経年的に計測し, 活性汚泥中の細菌叢が時間経過に伴って変遷するか否かを調査した。

PCR-DGGE 法によって, B の処理場と D の処理場の活性汚泥中の細菌を検出した結果, それぞれ 18 種および 20 種となり, 2 つの処理場に共通する 8 種の細菌が検出され, 計 30 種の細菌が検出された。また, 30 種の細菌のうち 22 種については, B あるいは D の処理場においてのみ検出された。次に, PCR-DGGE 法によって検出された細菌 30 種に, 脱窒細菌 2 種を加えた計 32 種類の蛍光プローブを設計し, FISH 法を適用した。B と D の処理場の活性汚泥から共通して, 亜硝酸酸化細菌である *Nitrospira* 属が最も多く検出された。また, PCR-DGGE 法によって, B あるいは D の処理場においてのみ検出された 22 種の細菌を対象として, FISH 法による細菌量を計測したところ, PCR-DGGE 法において未検出であった細菌の菌量が計測された。このことから, PCR-DGGE 法では, 活性汚泥中における全細菌の検出が困難であると考えられた。さらに, B と D の処理場の活性汚泥における細菌量を月ごとに比較すると, いずれの月においても細菌量は異なり, 各細菌量の大小関係も変遷していることが明らかとなった。以上の結果から, 活性汚泥中の細菌叢を, PCR-DGGE 法と FISH 法を用いて解析することによって, 活性汚泥の状態を把握できる可能性が示唆された。

第 213 回雑誌会

(Dec. 2, 2014)

(1) Recent history of sediment dynamics in Lake Toro and applicability of ^{210}Pb dating in a highly disturbed catchment in northern Japan

Ahn, Y. S., Nakamura, F., and Chun, K., M.

Geomorphology, **114**, 284-293 (2010).

Reviewed by Y. Arao

堆積層の年代を把握することは、土砂の堆積履歴や過去の土砂動態を明らかにする上で重要である。湖沼や貯水池における過去の堆積年代の推定には、 ^{210}Pb および ^{137}Cs 放射性年代測定法が有効である。そこで本研究では、北海道の塘路湖を対象として、 ^{210}Pb 堆積年代測定法の妥当性の評価ならびに過去の土砂動態を推定し、塘路湖における土砂堆積速度と周辺の土地利用変化の関係について検討した。試料は、塘路湖東部の 7 地点 (E1~E7)、西部の 5 地点 (W1~W5)、および中部の 16 地点 (M1~M16) の計 28 地点を対象として、各地点から柱状試料を採取した。全試料は、高純度ゲルマニウム半導体検出器のガンマ線スペクトロメーターを用いて ^{210}Pb と ^{137}Cs の放射性濃度を測定した。また、 ^{137}Cs の放射性濃度から各地点の堆積速度を算出した。 ^{210}Pb の堆積年代については、堆積速度が一定の場合には CIC (constant initial ^{210}Pb concentration) モデル、堆積速度が変化する場合には CRS (constant rate of ^{210}Pb supply) モデルに従って推定した。 ^{210}Pb によって得られた堆積年代の妥当性は、 ^{137}Cs の結果との整合性から評価した。

^{137}Cs 放射性濃度の鉛直分布から、全試料において ^{137}Cs 濃度の急増する堆積層が確認された。これらの堆積層の年代は、 ^{137}Cs の年間降下量が最大となった 1963 年と推定された。 ^{210}Pb 放射性濃度の鉛直分布は、 ^{210}Pb 濃度が一定の減衰傾向を示さず、CIC モデルに適さなかった。そこで、 ^{210}Pb について CRS モデルを適用して堆積年代を推定したところ、 ^{210}Pb における堆積年代は、1963 年に相当する ^{137}Cs の堆積層とほぼ一致した。このことから、 ^{210}Pb における CRS モデルの年代測定法は、有効な手段であると考えられた。

推定した堆積年代について、三つの期間に分類し (1694~1739 年, 1739~1963 年, 1963~2006 年), 各期間の平均堆積速度を算出したところ、釧路川が流入する西部 (W1~W5) では、1963 年以降において堆積速度が大幅に増加した。また、塘路湖における堆積土砂量は、各期間において、それぞれ 1787 t/km²/yr, 1640 t/km²/yr, および 3855 t/km²/yr であり、1963~2006 年において最も多く堆積した。このことから、釧路川流域では、1960 年代以降の土地利用の変化 (森林伐採や畜産農場の拡大など) に伴って土砂生産量が増加し、塘路湖の西部では土砂堆積量が増加したと考えられた。

(2) Antibiotic resistant pathogens versus human impacts: A study from three eco-regions of the Chennai coast, southern India

Vignesh, S., Muthukumar, K. and James, R. A.

Marine Pollution Bulletin, **64**, 790-800 (2012).

Reviewed by M. Ushijima

海水や底泥、および砂浜におけるふん便指標細菌や病原細菌の存在は、水系感染症のリスクを高める危険性がある。近年では、抗菌薬の大量消費に起因して、抗菌薬に耐性を示す常在細菌や病原細菌が検出されている。薬剤耐性を示す病原細菌に感染・発症した場合、抗菌薬による治療が困難となる危険性がある。そこで本研究では、インド南部にある Chennai 市の沿岸域 3 地点 (Coovum 川の河口, S1 ; Chennai 港, S2 ; Kasimedu 漁港, S3) の海水と底泥を対象として、ふん便指標細菌と薬剤耐性菌の存在を調査した。海水と底泥は、2010 年の 3, 4, 5 月に毎月 1 回採取した。対象とする細菌は、全生菌、大腸菌群、全連鎖球菌、ビブリオ属菌、ふん便性大腸菌群、ふん便性連鎖球菌、ビブリオ・コレラ、サルモネラ、シゲラ、および緑膿菌として、各試料中の細菌数を計数した。そして、ANOVA 検定を行い、海水と底泥における各細菌数の空間的・時間的变化について評価した。また、海水と底泥から単離・同定した大腸菌、ビブリオ属菌、サルモネラ、および腸球菌について、10 種類の抗菌薬を用いて薬剤感受性試験を行った。その後、各調査地点の海水と底泥における Antibacterial resistance index (ARI) を算出し、抗菌薬による汚染の有無を評価した。

海水と底泥において、サルモネラ、シゲラ、および緑膿菌を除くその他の細菌数は、S2 で最も低く、S1 と S3 において高い値を示した。また、5 月に採取した海水中と底泥中の各細菌数は、他の月と比較して高かった。さらに、底泥中の各細菌数は、海水中と比較して高かった。各調査地点の海水と底泥における PI 比 (ふん便性大腸菌群数/ふん便性連鎖球菌数) は、全調査日において 1 以上 (6.66~14.06) であった。このことから、Chennai 市の沿岸域におけるふん便汚染は高いと考えられた。また、ANOVA 検定の結果、海水中と底泥中の両者において、シゲラと緑膿菌を除くその他の細菌数は、地点と時間によって異なることが明らかとなった。薬剤感受性試験の結果、底泥中の各細菌の薬剤耐性株の割合は、海水中と比較して高かった。S1, S2, および S3 の海水中と底泥中における ARI は、0.290~0.345 であった。抗菌薬による汚染を受けている地点の ARI は 0.2 以上を示すと報告されていることから、Chennai 市の沿岸域における抗菌薬による汚染は高いと考えられた。

(3) Pheromone-responsive conjugative vancomycin resistance plasmids in *Enterococcus faecalis* isolates from human and chicken feces

Lim, S., Tanimoto, K., Tomita, H and Ike, Y.

Applied and Environmental Microbiology, **72**, 6544-6553 (2006).

Reviewed by M. Nishiyama

VRE (vancomycin-resistant enterococci) に存在するバンコマイシン耐性遺伝子は、水平伝播によって耐性遺伝子が拡散する。*Enterococcus faecalis*には、フェロモン応答性接合伝達プラスミドが存在し、バンコマイシン耐性を含む様々な耐性遺伝子を高頻度 ($10^0 \sim 10^2$ per donor cell) で伝達することが知られている。そこで本研究では、臨床と鶏のふん便からそれぞれVREを単離し、バンコマイシンを含む多様な薬剤耐性をコードしたプラスミドについて調査した。供試菌株は、臨床分離したVRE 31株と、鶏ふんから分離したVRE 54株とした。各VRE株について薬剤感受性試験を実施した後、プラスミドDNAのフラグメントパターンを比較した。プラスミドDNAのフラグメントパターンについて解析したところ、臨床と鶏ふんから分離した*E. faecalis*から、同一のプラスミドを保有するVRE株が検出された（臨床分離株と鶏ふん分離株をそれぞれ、KV1株とKV2株とする）。その後、KV1株とKV2株のプラスミド（それぞれ、pSL1とpSL2とする）について、プラスミドの伝達実験を実施した。さらに、既存のペプチドフェロモン（性フェロモン；cAD1, cPD1, cCF10, cOB1, cAM373）を用いて、プラスミドの高頻度伝達に関わる凝集の有無を判定した。

薬剤感受性試験を実施した結果、全85株のVREはバンコマイシンを含む4薬剤以上の耐性を示し、臨床分離株と鶏ふん分離株ともに多剤耐性株が検出された。KV1株とKV2株を用いたプラスミドの伝達実験を実施した結果、バンコマイシン耐性を含む耐性遺伝子を4 h以内に 10^3 per donor cellの割合で、両株とも同一种である*E. faecalis*に伝達した。また、*E. faecalis* FA2-2株を受容菌として、性フェロモンを誘導した培養ろ液を用いた伝達実験では、両株ともに10 min以内で伝達が確認された ($>10^5$ per donor cell)。このことから、KV1株とKV2株に存在するプラスミドは、*E. faecalis* FA2-2株の性フェロモンによって高頻度で接合伝達するプラスミドであると推察された。次に、既存の性フェロモンを誘導して伝達実験を行ったところ、いずれの性フェロモンにおいても凝集は確認されず、新規の性フェロモンによってプラスミド伝達を誘導していることが示唆された。したがって、KV1株とKV2株のプラスミドであるpSL1とpSL2は、極めて類似した機能を有していることがわかった。以上のことから、ヒトと家畜間において、フェロモン応答性接合伝達プラスミドを介して、バンコマイシン耐性を含む多様な薬剤耐性が水平伝播している可能性が示唆された。

第 214 回雑誌会

(Dec. 9, 2014)

(1) The upside-down river: Reservoir, algal blooms, and tributaries affect temporal and spatial patterns in nitrogen and phosphorus in the Klamath River, USA

Oliver, A. A., Dahlgren, R. A. and Deas, M. L.

Journal of Hydrology, **519**, 164-176 (2014).

Reviewed by K. Kihara

近年、アメリカ北西部のクラマス川流域では、最上流部における水の華の発生によって、漁場の衰退が懸念されている。栄養塩濃度の増加に起因する水の華の発生は、溶存酸素の低下や pH の上昇といった複合的な水質悪化を生じさせる。そこで本研究では、栄養塩の濃度と負荷量について、止水性のよどみや流水性の流域における時間的・空間的な縦断方向の勾配を調査した。調査は、クラマス川におけるダム貯水池の上流と下流（8 地点）、支流河川（2 地点）の計 10 地点を対象とし、2010 年から 2011 年の 1 年間で実施した。試料は、月に 1 回、各地点における表層 50 cm から水試料を採取し分析に供した。分析項目は、水温、溶存酸素、pH、電気伝導度、全窒素、全有機窒素、無機態窒素、全リン、溶存反応性リン、非溶存反応性リン、藻類量（クロロフィル a およびフェオフィチン a）とした。栄養塩の負荷量は、LOADEST である Load Runner を用いて算出した。また、水文や水質状況の季節的な変動は、調査期間を異なる 4 つの季節（bloom ; 5 月～7 月, post-bloom ; 8 月～10 月, winter low ; 11 月～1 月, winter/spring high ; 2 月～4 月）に分類し、評価した。

藻類量に関して、4 つの各期間におけるクロロフィル a とフェオフィチン a の合計濃度を比較すると、bloom および post bloom 期間では、それぞれ $36.9 \pm 47.0 \mu\text{g/L}$ および $30.8 \pm 49.2 \mu\text{g/L}$ であり、高濃度で検出された。クラマス湖から湖水が直接流入する最上流地点の栄養塩濃度は、下流に向かって減少する縦断方向の変動傾向を示し、全窒素濃度において顕著であった（最上流： $1.26 \pm 0.84 \text{ mg/L}$ 、最下流： $0.37 \pm 0.12 \text{ mg/L}$ ）。各地点における年間の全窒素と全リンの負荷量を見積った結果、各地点において、全窒素負荷量はほぼ同等であり、全リン負荷量は流下に伴って増加する傾向を示した。また、4 つの各期間における負荷量を日平均負荷量として見積ると、全窒素の負荷量は、季節ごとに著しく異なる変動傾向を示した。その一方、全リン負荷量は、季節ごとの流下に伴う変動は類似した傾向を示した。このことから、窒素の濃度と負荷量は、リンと比較して、季節的な変動および縦断方向の変動傾向を強く示すことが明らかとなった。本調査によって、クラマス川流域における水の華の発生要因である栄養塩（窒素、リン）について、濃度および負荷量の時間的・空間的な動態を把握することができた。

(2) Fecal indicator bacteria are abundant in wet sand at freshwater beaches

Alm, E. W., Burke, J. and Spain, A.

Water Research, **37**, 3978-3982 (2003).

Reviewed by K. Inamori

ふん便には、腸疾患の原因となる細菌、ウイルス、および原生動物が含まれている可能性があることから、海水浴場におけるふん便汚染は、ヒトに対して危害をもたらす恐れがある。近年、アメリカ合衆国において、レクリエーション水域の水と砂との接触によるヒトの健康被害が報告されている。しかしながら、レクリエーションビーチの砂を対象としたふん便汚染のモニタリング調査は実施されておらず、砂浜中における細菌の生残性に関する報告は極めて少ない。そこで本研究では、アメリカミシガン州に位置する6つの水浴場を対象として、淡水およびビーチの砂におけるふん便指標細菌である大腸菌と腸球菌の実態を調査した。調査は、2001年7月から9月の期間において、計4回実施した。試料は、波打ち際の砂（表面から上部20 cm）と淡水を採取した。採取後、砂試料は、脱イオン蒸留水中で振とう後、上澄み液をフィルターに通水し、各選択培地（大腸菌、mTEC培地：腸球菌、mEI培地）を用いて細菌の計数を行った。

6つの水浴場における波打ち際の砂中の大腸菌数と腸球菌数は、淡水中と比較して、それぞれ、3~17倍、4~38倍高く検出された。また、各調査地点における淡水中の大腸菌数の平均は、腸球菌数と比較して、約4倍高く検出された。これに対して、砂浜中の大腸菌数と腸球菌数の平均は、同程度で検出された。このことから、砂浜中には淡水中と比較して、ふん便指標細菌が高濃度で存在し、腸球菌は大腸菌と比較して特異的に蓄積される傾向を示した。また、砂の深さの違いによる大腸菌と腸球菌の菌数を調査した結果、大腸菌と腸球菌はそれぞれ、上部0~5 cm、5~10 cmの砂から最も多く検出された。さらに、淡水と上部0~5 cmの砂から検出された大腸菌数は、相関関係が認められた ($r=0.60$)。その一方で、淡水と砂浜から検出された腸球菌数は、相関関係が認められなかった。

以上の結果から、淡水ビーチの波打ち際の砂には、ふん便指標細菌が高濃度で存在しており、砂浜中には、ヒトの健康リスクを高める病原菌が存在している可能性が示唆された。

第 215 回雑誌会

(Dec. 16, 2014)

(1) Metagenomic approaches for direct and cell culture evaluation of the virological quality of wastewater

Aw, T. G., Howe, A. and Rose, J. B.

Journal of Virological Methods, **210**, 15-21 (2014).

Reviewed by K. Teranishi

ふん便中に多量に含まれるウイルスは、細菌と比較して水環境中で長期間生残でき、下水処理システムにおいても除去され難い。そのため、指標細菌のみの測定によって、全ての病原性ウイルスの存在実態を把握することは難しい。したがって、下水中のウイルスを直接検出することは、下水処理システムの安全かつ安定的な運転管理において、極めて重要である。近年、一度に大量の遺伝子配列情報を読み取ることができる次世代シーケンシング技術が、ウイルス環境学分野に適用され始めている。そこで本研究では、未処理の下水中における多種のウイルスを検出・同定することを目的として、次世代シーケンサー (Illumina) を用いたメタゲノム解析を実施した。試料は、アメリカミシガン州における下水処理場の未処理の下水を対象とした。下水から濃縮・精製したウイルスと、濃縮・精製後に細胞培養によって単離したウイルスについて、それぞれ核酸の抽出・増幅・精製を行った。その後、各ウイルスの核酸の塩基配列を Illumina によって読み取り、既知のデータベースと照合することによって、下水中のウイルスを同定した。

下水中のウイルスと細胞培養後に単離したウイルスから、それぞれ 1,790 万と 1,310 万の遺伝子配列が読まれた。下水中からは、バクテリオファージ、ヒト、動物、および植物を宿主とするウイルスが検出された。そのうち、バクテリオファージは、下水中から検出されたウイルスの 67.2% を占めており、下水中に最も多く存在していた。さらに、バクテリオファージの宿主は、70 種類に判別でき、最も主要な宿主はブデロビブリオ属と同定され、全宿主に占める割合の 13% であった。一方で、細胞培養後に単離したウイルスからは、ヒト病原性ウイルスが最も多く検出された。そのうち、*Adenovirus*, *Enterovirus*, および *Papillomavirus* の腸管系ウイルスが 78% と高い割合を占めていた。なお、下水中のウイルスから読まれた遺伝子配列について、77.5% の大多数は既知のデータベースと照合することが出来なかった。このことから、既知のデータベースにあるウイルスゲノムについての情報は、非常に限られてることが考えられた。以上の結果から、次世代シーケンサーを用いたメタゲノム解析は、複雑な下水環境中におけるウイルスの検出と同定に適用できることが示唆された。

(2) Antimicrobial resistance of integron-harboring *Escherichia coli* isolates from clinical samples, wastewater treatment plant and river water

Koczura, R., Mokracka, J., Jabłońska, L., Gozdecka, E., Kubek, M. and Kaznowski, A.
Science of the Total Environment, **414**, 680-685 (2012).

Reviewed by D. Fujisaki

医療や農業等における薬剤の乱用によって、薬剤に耐性を示す薬剤耐性菌の発現が問題となっている。中でも、グラム陰性菌における薬剤耐性遺伝子の水平伝播の1つに *integron* が関与していると知られている。近年、下水中には、微生物や薬剤耐性遺伝子を含む *integron* が存在しており、下水処理水の放流地点は、薬剤耐性遺伝子が水平伝播するホットスポットになるとの報告がある。そこで本研究では、ポーランドのポズナンにおいて、下水処理水が流入する都市河川を対象とし、*integron* を保有する大腸菌の薬剤耐性についての影響を調査した。試料は、2008年12月から2009年9月において、都市病院の入院患者から採取した臨床試料、ならびに下水処理場（流入下水、曝気槽水、消毒前の下水処理水）と河川（上流、下流）から採取した水試料とした。各試料から単離した大腸菌について、PCRによって *integron* の保有を確認した。その後、*integron* 保有株について、11系統27種類の薬剤に対する薬剤感受性試験を実施した。また、ERIC PCRによって、*integron* を保有する大腸菌の類似性を評価した。

下水処理場（1195株）、河川上流（301株）、河川下流（322株）、および臨床検体（59株）から単離した大腸菌株のうち、それぞれ11%、6%、14%、および56%が *integron* を保有していた。このことから、臨床分離株は、河川分離株と下水処理場分離株と比較して、*integron* を保有する大腸菌株の割合が高かった。*integron* 保有大腸菌について薬剤感受性試験を実施した結果、99%（225/227株）の株が3系統以上の多剤耐性菌であった。また、*integron* 保有大腸菌が耐性を示した薬剤の系統数の中央値は、下水処理場、河川下流、および臨床検体では、7系統と同一であり、河川上流の5系統と比較して高かった。さらに、*integron* 保有大腸菌227株についてERIC PCRで解析したところ、類似レベル95%以上で13のクラスターに分類され、河川上流と河川下流、ならびに下水処理場分離株と臨床分離株が同一のクラスターに形成された。今回のERIC PCRによる解析では、下水処理放流水と河川下流分離株の遺伝子型は一致しなかった。しかしながら、*integron* 保有大腸菌が耐性を示した薬剤の系統数の中央値は、河川上流と比較して、河川下流において高かった。したがって、下水処理水の放流は、薬剤耐性遺伝子の拡散に寄与している可能性が示唆された。

第 216 回雑誌会

(Jan. 13, 2015)

(1) Conversion of activated-sludge reactors to microbial fuel cells for wastewater treatment coupled to electricity generation

Yoshizawa, T., Miyahara, M., Kouzuma, A. and Watanabe, K.

Journal of Bioscience and Bioengineering, **118**(5), 533-539 (2014).

Reviewed by T. Hirai

好気性微生物を利用した活性汚泥法は、曝気や攪拌を行う際に大量のエネルギーを使用するため、排水処理におけるエネルギー削減が重要な課題となっている。微生物燃料電池 (Microbial fuel cells, MFCs) は、電極の触媒として嫌気性微生物を用いる装置であり、バイオマス廃棄物や排水からエネルギーを回収できる利点がある。中でも、カセット電極 (cassette-electrode, CE) MFC は、排水処理に適した形状を有している。そこで本研究では、曝気装置を CE に置換し、活性汚泥を用いた CE-MFC の有用性を評価した。水理的滞留時間を 24 時間として、人工的に調製したモデル排水を容量約 1 L の活性汚泥 (Activated-sludge, AS) リアクター内へ流入させ、45 日目まで曝気を行った。その後、曝気装置と CE を置換し、135 日目まで AS-MFC による処理を行った。また、水田土壌を植種源として利用した PS (paddy-field soil) MFC も構築し、AS-MFC と同様に運転を行った。なお、AS-MFC と PS-MFC は、排水の流入口から順に、それぞれ AS1~6 と PS1~6 のそれぞれ 6 個ずつ CE を設置した。MFC の性能は、COD 除去率とデータロガーで計測した出力をもとに評価した。また、次世代シーケンサーを用いて、各 MFC のアノードバイオフィルム上の微生物群集構造を解析した。

AS-MFC と PS-MFC の COD 除去率は、いずれも約 80% を記録し、ほぼ同等の値を示した。AS-MFC と PS-MFC の最大電力密度は、いずれも 110 日目から 135 日目に約 180 mW/m² を記録した。このことから、AS-MFC と PS-MFC の有機物除去と発電の性能は、同程度であるとわかった。また、AS-MFC の発電効率は、AS3 において電力密度が最も優れていたが、PS-MFC では、PS1 において電力密度が最も優れていた。微生物群集構造解析の結果、PS-MFC には、*Geobacter*, *Geothrix* および *Clostridium* が多く存在していた。その一方で AS-MFC には、*Ignavibacteriales*, *Clostridium* および *Desulfuromonas* が多く存在しており、PS-MFC の微生物群集構造と全く異なっていた。また、各 CE-MFC において、流入口に近い CE と流出口に近い CE では異なる微生物群集構造が観察された。この結果は、人工排水中の溶存酸素や有機物の濃度が影響していると考えられた。既存の曝気槽内に CE を挿入することによって、CE-MFC による排水処理装置として運転できることが示された。

第 217 回雑誌会

(Jan. 20, 2015)

(1) Inactivation of faecal indicator microorganisms in waste stabilization ponds

: Interactions of environmental factors with sunlight

Davies-Colley, R. J., Donnison, A. M., Speed, R. J., Ross, C. M. and Nagels, J. W.

Water Research, **33**, 1220-1230 (1999).

Reviewed by M. Uno

生活排水や有機性排水の処理において、熱帯・温帯地域では自然浄化作用を利用した酸化池 (Waste stabilization ponds, WSP) が用いられている。酸化池を用いた処理を行う場合、排水中に含まれる病原性微生物の不活化は、日光照射に起因する。しかしながら、日光照射による水中の病原性微生物の不活化は、溶存酸素量、pH、浮遊物質、および溶解性物質等の環境条件によって変化すると考えられる。そこで本研究では、腸球菌、大腸菌、F-DNA フェージ、および F-RNA フェージを対象とし、日光照射による不活化に与える、溶存酸素量、pH、浮遊物質、および溶解性物質の影響を検討した。試料は、WSP 流出水と 1 次処理水の混合水とした。なお、試料中の溶存酸素飽和度 (試料水の溶存酸素量/溶存飽和酸素量) は 5 段階 (4.8%, 25%, 49%, 95%, 178%), pH は 4 段階 (8, 9, 9.5, 10) に調整し、浮遊物質除去試料は 3 種類のフィルター (孔径: 10 μm , 1.2 μm , 0.7 μm) でろ過した。浮遊物質および溶解性物質無の試料は、リン酸緩衝液と 1 次処理水の混合水とした。合計 11 試料を作成し、実験に供した。実験槽に各試料 1.8 L を貯留後、日光に暴露し、一定の日射量ごとに各指標微生物数を計数した。日光を遮断した場合も同様に行った。

各試料に日光照射を行った場合、各指標微生物の不活化率は、日光遮断した場合と比較して高かった。各指標微生物の日光不活化率に対する溶存酸素飽和度の影響を調査した結果、F-DNA フェージの不活化率は、溶存酸素飽和度の増加による違いが見られなかった。その一方で、溶存酸素飽和度を 178% と設定した試料中の腸球菌、大腸菌、および F-RNA フェージの不活化数は、溶存酸素飽和度 4.8% と設定した試料中と比較して、1~3 オーダー程度高く、溶存酸素飽和度の増加に伴って増加した。また、各指標微生物の日光不活化率に対する pH の影響を調査した結果、腸球菌、F-DNA フェージ、および F-RNA フェージの不活化率は、pH の変化による違いが見られなかった。その一方で、大腸菌の不活化率は、pH の増加に伴って増加した。また、各指標微生物の日光不活化率に対する浮遊物質および溶解性物質の存在の影響について調べた結果、腸球菌と F-RNA フェージの不活化率は、浮遊物質と溶解性物質の有無によって違いは見られた。その一方で、大腸菌と F-DNA フェージの不活化率は、違いは見られなかった。以上のことから、日光照射による不活化に影響を与える環境条件は、各指標微生物によって異なることが示唆された。

(2) Discrimination of *Escherichia coli* O157, O26 and O111 from other serovars by MALDI-TOF MS based on the *S10*-GERMS method

Ojima-Kato, T., Yamamoto, N., Suzuki, M., Fukunaga, T. and Tamura, H.

PLOS ONE 9(11), e113458 (2014).

Reviewed by K. Niina

Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) は、微生物の同定を迅速に行うことができる質量分析法である。MALDI-TOF MSによって微生物を同定する際に検出される高感度のピークは、*S10*-*spc*-*alpha*オペロンの中にコードされるリボソームタンパク質から得られる。*Pseudomonas syringae*や*Lactobacillus casei*は、*S10*-*spc*-*alpha*オペロンの中のリボソームタンパク質を用いることによって、種レベルで同定できることが報告されている。そこで本研究では、*S10*-*spc*-*alpha*オペロンに着目して、腸管出血性大腸菌を血清型別に識別する手法の開発を試みた。供試菌株は、腸管出血性大腸菌83株（O157 : 57株, O26 : 20株, O111 : 6株）とその他の大腸菌24株とした。また、全菌株における*S10*-*spc*-*alpha*オペロンのアミノ酸配列とゲノム配列を解析し、リボソームタンパク質の理論質量を算出した。MALDI-TOF MSによって得られた実測値と理論質量を比較することによって高感度で検出されるリボソームタンパク質の選択を行った。さらに、O157の識別において用いられる*HdeB*遺伝子の塩基配列を解析した。

O157株は、その他の大腸菌株と比較して、リボソームタンパク質S15とL25に対応する質量電荷比で特異的なピーク値を示した。アミノ酸配列の解析結果から、O157株は、リボソームタンパク質S15でアミノ酸残基の変異が確認された。この結果から、S15に対応する質量電荷比は、O157株のみ10138.6 から10166.6に変化することがわかった。リボソームタンパク質L25ではアミノ酸置換が確認され、質量電荷比が10694.4 から10676.4に変化した。また、*HdeB*遺伝子の解析結果から、O157株とその他の大腸菌株における*HdeB*遺伝子の開始コドンは、それぞれ（ATA）と（ATG）であり、異なることがわかった。このことから、O157株とその他の大腸菌株における質量電荷比の差異は、*HdeB*遺伝子の開始コドンの違いに起因していると考えられた。さらに、O26株とO111株は、その他の大腸菌株と比較して、質量電荷比15425.4で特異的なピーク値を示したが、血清型間で識別することはできなかった。アミノ酸配列の解析結果から、両血清型は、タンパク質結合体H-NSの中のアミノ酸に同じ変異が確認された。これらのことから、MALDI-TOF MSは、腸管出血性大腸菌を迅速かつ正確に識別することが可能であり、臨床や食品産業においても重要な手法となり得ることが明らかになった。

(3) Comparison of toxicity and release rates of Cu and Zn from anti-fouling paints leached in natural and artificial brackish seawater

Ytreberg, E., Karlsson, J. and Eklund, B.

Science of the Total Environment, **408**(12), 2459-2466 (2010).

Reviewed by S. Hirayama

船舶やボートに用いられる防汚塗料のうち、殺生物剤を含む塗料は、溶出試験を実施しなければならない。しかしながら、防汚塗料からの金属の溶出試験を汽水域条件で実施した研究例や、溶出する金属と水生生物との関連性について調査した知見は少ない。そこで本研究では、人工海水と天然海水において、異なる防汚塗料からの銅と亜鉛の溶出量を算出し、水生生物に及ぼす銅と亜鉛の毒性を評価した。両海水の塩分は、汽水域の環境を想定し、7‰とした。試験に用いた防汚塗料は、殺生物剤を含む Anti-fouling Olympic 86951 (AO), Interspeed 617 (IS), Fabi, ならびに殺生物剤を含まない Micron Eco (ME) と Mille light (ML) とした。溶出試験は 14 日間実施した。銅と亜鉛の毒性を定量的に評価するため、塩化銅と塩化亜鉛をそれぞれ溶解させた標準液を用いて毒性試験を実施した。毒性試験の供試生物には、海洋性発光細菌、海藻のイギス、甲殻類のナミミズベソコミジンコを選定した。影響濃度は、海洋性発光細菌に対する EC₅₀、イギスに対する EC₅₀ と EC₂₀、そしてナミミズベソコミジンコに対する LC₅₀ と LOEC をそれぞれ算出した。

銅の溶出量は、人工海水中では AO, IS, Fabi からそれぞれ 13, 14, 7.1 µg/cm²/d, 天然海水中ではそれぞれ 3.6, 3.2, 1.1 µg/cm²/d と見積もられた。しかしながら、両海水においても ME と ML からは銅が溶出しなかった。その一方で、亜鉛の溶出量は、人工海水中では AO, IS, Fabi, ME, ML からそれぞれ、5.6, 0.64, 10, 20, 23 µg/cm²/d, 天然海水中ではそれぞれ 2.0, 0.7, 3.0, 4.4, 8.2 µg/cm²/d と見積もられ、AO, IS, Fabi と比較して、ME と ML から高濃度に溶出した。また、両金属ともに、人工海水と比較して天然海水からの溶出量が少なかった。この要因として、天然海水の TOC 濃度が 4.7 mg/L と高かったことから、塗料表面への有機膜の形成が考えられた。次に、3 種の水生生物に対する銅と亜鉛の毒性値を算出した結果、海藻は銅に対する感受性が最も高かった。さらに、亜鉛の海洋性発光細菌の EC₅₀、イギスの EC₅₀、ナミミズベソコミジンコの LC₅₀ は、それぞれ 2000, 25, 890 µg/L であり、海藻は亜鉛に対しても感受性が最も高かった。金属の溶出量と毒性値の結果から、一般的にレジャー用ボートに使用される ME と ML は、殺生物剤を含まない塗料であるにもかかわらず、ボート活動の多い半閉鎖性海域において高濃度の亜鉛を溶出するため、亜鉛に高感受性を示す海藻のイギスに対して影響を及ぼすことが示唆された。