

第 41 回雑誌会

(Sep 7, 2007)

英虞湾におけるエストロゲン様物質の挙動

岩崎 誠二, 加藤 進, 高橋 正昭, 木村 哲也, 粟冠 和郎, 大宮 邦雄,

松田 一成, 松井 三郎

水環境学会誌, 26, No.11, 687-692 (2003)

レビュー: 久保田 淳

三重県の英虞湾は典型的な閉鎖性水域であり、外洋と湾内海水の交換性が低い。ゆえに、汚濁物質が湾内に停滞しやすいため、水環境の悪化が懸念されている。英虞湾に流入する汚濁物質は、主として生活排水あるいは事業などの大規模な浄化槽の排水に由来すると考えられる。それらの排水に含まれる汚濁物質の中でも 17- β エストラジオール等、ヒト由来の女性ホルモン (エストロゲン) が、魚類のメス化を引き起こす恐れのあるレベルで存在していることが近年明らかになっている。そこで本研究では、英虞湾における水質及び底質のエストロゲン様物質等の挙動を解明するために、河口から湾口までの 8 地点で測定を行った。

濃縮試料を HPLC-バイオアッセイ検出法で分析したところ、エストロゲン活性の大部分は 5.2min 及び 5.4min の画分で回収された。この位置が E2 及び E1 と一致したことから、英虞湾に流入するエストロゲン様物質 (E1, E2) の大部分はし尿由来のステロイド系ホルモンであると考えられる。水質の全エストロゲン様物質は、河口で 16.6ng/L であるが、St-2 以下は湾口へ近づくにつれて徐々に濃度が減少し、St-8 では 1.0ng/L まで低減した。エストロゲン様物質の水相固相比は、St-1~3 では約 2:1, St-4 以下は 1:1 であった。低減の要因としては、海水による希釈の他、底質への移行や生物分解等が考えられる。底質試料のエストロゲン様物質は、St-1 で 24.3ng/g, St-3~7 ではその 8 分の 1 ほどであり、St-8 では 0.2ng/g まで低減した。底質試料のエストロゲン様物質と TOC との間に正の相関関係が認められた。

第 42 回雑誌会

(Sep 21, 2007)

(1)海洋における溶存有機炭素および海洋腐植様物質の海域特性に関する研究

山口 善敬, 中口 譲, 木村 宗人, 平木 敬三

日本海水学会誌, 55, 419-427 (2001).

レビュー: 鷲巣 勇士

海洋は、地球表層圏内において、地殻の次に大きな炭素貯蔵庫として考えられている。なかでも、海水中の溶存有機物 (DOM) は、海洋における炭素循環の中で、量と質の大部分を占めており、その分布・挙動の解明が求められる。本研究では、北西太平洋、インド洋、日本海およびオホーツク海を研究対象海域とし、各海域の溶存有機炭素 (DOC) 濃度の定量および海水試料中の海洋腐植様物質に代表される蛍光性有機物の 3 次元励起・蛍光スペクトルの測定を通して、地理的・物理的に異なる海域における DOC 濃度および海洋腐植様物質の分布・挙動を調査した。その結果から、海水中の DOM の生成・分解過程に関する新たな知見や DOM の全海洋における動態の把握、構成成分比の検討を行なった。

各海域の DOC 濃度は、特に水深 1000m 以深の日本海において約 $60 \mu\text{M}$ と他の海域 (約 $40 \mu\text{M}$) と比較して高濃度の DOC が検出された。日本海深層で高濃度の DOC が検出されたことは、他の海域よりも早い日本海の循環速度に起因すると考える。また、海洋表層水中では、DOM の起源とされる植物プランクトンの活動や表層水塊の安定による DOM の蓄積によって、DOC 濃度が影響を受けると考えられる。これらのことより、DOC 濃度の分布・挙動には、物理的・生物学的な要因による海域特性が存在することが明らかになった。各海域で特性があるため、DOM の全海洋における動態を把握するには広範囲での試料採水が不可欠である。

3 次元励起・蛍光スペクトルの測定の結果、各海域で同様の鉛直分布が見られた。また、日本海では、DOM 中の海洋腐植様物質の占める割合が、海水の循環速度が速いため、表層水中では深層水から頻繁に海洋腐植様物質が供給されるため高くなり、深層水中では海水年齢が若いと低くなると考えられる。DOM 中の海洋腐植様物質の構成比は、海域によって特異性のある分布を示すことが明らかになった。

(2) ウイルスに関する安全性確保のための下水再生処理法の選定方法

諏訪 守, 中村 みやこ, 鈴木 穰, 小越 眞佐司

水環境学会誌, 27, No.3, pp.199-204 (2004)

レビュー: 鈴木 孝彦

水資源のおおもとである降水量は、年平均値としては減少傾向にあり、高い頻度で渇水が発生している。このため、流量の安定している下水処理水は、特に都市域において代替水資源として重要視されており、親水・修景用水や河川維持水、水洗トイレ用水などに利用されている。しかし、これまで問題にされなかった水系病原ウイルスに関して、感染事例、存在実態、消毒耐性などについて多くの報告がされており、下水処理水の再利用にあたり、安全性を確保するための新たな対応が必要となっている。そこで、本研究では下水二次処理水中ウイルス濃度分布の実態調査、および再利用における誤摂取水量等の設定を行い、その結果をもとにウイルス感染リスクを算出し、目標感染リスクを達成するための再生処理法の選定手法を示した。

下水二次処理水の再利用において、処理水の誤摂取水量すなわちウイルス誤摂取量が多いと想定される場合には、下水の再生処理に求められるウイルス除去率は高くなり、消毒の前段で砂濾過を行うなどの方法が必要となる。水洗トイレ用水利用などのように、処理水の誤摂取水量が少ないと想定される場合には、より低い強度の消毒で目標感染リスクを満足しうる。しかしながら、誤摂取水量やその頻度については、それぞれの下水二次処理水の再利用箇所の実態によって異なると考えられることから、今後は再利用のケースごとに調査を実施し、適切な値を設定することが望ましい。さらに、目標リスクの設定方法等についての検討も必要である。

第 43 回雑誌会

(Oct 5, 2007)

(1) 下水汚泥または畜産廃棄物から製造したコンポスト中に含まれるエストロゲン及びアンドロゲンの残留と内分泌攪乱性評価

本山 充希, 古閑 豊和, 野見山 桂, 中川 修平, 松尾 英樹, 篠原 亮太
環境化学, 16, 615-626 (2006).

レビュー: 久保田 淳

下水汚泥および畜産廃棄物の処理法の改正によって、近年ではリサイクル資源としてコンポスト化する取り組みが増えている。しかしながら、コンポスト化肥料を畑に散布した際、残存したエストロゲン類が水環境中へ溶出することが予想される。また、エストロゲンの残存が予想される下水汚泥コンポスト及び畜産廃棄物コンポストについては、研究報告例は少ない。そこで本研究では、コンポスト 26 サンプル中について、エストロン(E1), 17 β -エストラジオール(E2), エストリオール(E3), エチニルエストラジオール(EE2)及びテストステロンを対象とし、性ホルモン残存量を明らかにした。さらに、酵母 Two-hybrid アッセイ法を用いてエストロゲン活性およびアンドロゲン活性について調べた。

下水汚泥コンポストについては、E1 が 30~580ng/g, E2 が最大 23ng/g, E3 が最大 4ng/g, テストステロンが最大 2100ng/g の値で検出された。EE2 は検出されなかった。また、畜産廃棄物コンポストについては E1 が 30~240ng/g, E2 は最大で 20ng/g, テストステロンが 35~270ng/g の値で検出された。E3, EE2 は検出されなかった。これらのコンポスト中の性ホルモンの残存量にはばらつきがあり、コンポストの原料や製造方法によって、残存量が変化すると考えられる。酵母 Two-hybrid アッセイの結果では、エストロゲン活性はコンポストの 21 サンプル中 13 サンプルから確認され、アンドロゲン活性は 2 サンプルで確認された。本研究結果から、一般に市販される下水または畜産廃棄物コンポスト中から性ホルモンが検出され、その半数以上にエストロゲン活性が確認された。

(2)沿岸海域における浮遊細菌類の現存量, 生菌率, 生産

長沼 毅

日本プランクトン学会報, 46, 43-49(1999).

レビュー: 川畑 勇人

海洋表層の物質循環とエネルギーにおける主要経路には, 古典的食物連鎖(植物プランクトン起点), 微生物ループ(細菌起点) および沈降フラックスがある。微生物ループの起点である浮遊細菌は, 植物プランクトンからの浸出溶存有機物などを取り込んで増殖する。さらに, 浮遊細菌は中大型動物プランクトンに摂取されることによって, 古典的食物連鎖のバックアップ経路として高い生産能力がある。一方, 地中海東部では植物プランクトン生産の85%が微生物ループに流れ, 漁業生産が低いレベルに抑えられているなど, 微生物ループは古典的食物連鎖と植物プランクトンを取り合うこともある。そこで本研究では, 微生物ループの起点である浮遊細菌の現存量・生菌率・生産などの視点から今日的課題を概説する。

海洋表層の浮遊細菌の密度は 10^8 - 10^9 cells l^{-1} であり, 現存量は狭い範囲内で変動している。この原因として, 現存量の低い方は植物プランクトン生産に依存し, 高い方は細菌捕食による制限を受けているためであると考えられる。微生物生態学においては, 生菌・死菌の割合を定量的に把握しておくことが必要であり, その新しい生死判別法として「細胞膜の健全性 integrity」を指標にする方法が用いられ始めた。この指標を用いて細菌生産を見積もる際に, 全菌数の初期値を用いるが, 全菌数の内訳(生菌・死菌)を別々に計数できるとなると, 単に全菌数の増加だけで見積もれるのかという疑問が生じる。しかしながら, 瀬戸内海と伊勢湾のサンプルについて, 全菌数ベース, 生菌数ベースの生産速度を比較したところ, はきわめて良く一致しており, 現在使われている方法で問題ないと考えられる。近年, 細菌増殖の有機物源は光合成生産だけではなく, 別の有機物源があるのではないかという疑問が話題になってきた。微生物が陸源有機物を分解することにより, 分解産物を自分の栄養源として利用し, 分解産物の一部は植物プランクトンに利用され, これが細菌への有機物を供給することにもなるだろう。この陸源有機物の分解に関与しているヤブレッツボカビ類は, 細菌捕食者よりも大型の動物に捕食され, 微生物ループにおけるエネルギー転送効率を高めている可能性があり, 意外に重要であると考えられる。

第 44 回雑誌会

(Oct 11, 2007)

(1) Short- and long-term variations of norovirus concentrations in the Meuse river during a 2-year study period

Therese, W., Peter, T., Harold, V. D. B., Willemijn, L.,

Henk, K., Thor, A. S. and Ana, M. D. R. H.

Water Research, 40, 2613-2620(2006).

Reviewed by S.Narimatsu

飲料水に使用される河川水には、ノロウイルスリスクを含む可能性がある。ノロウイルスは培養法が確立していないため、データの蓄積が難しく感染性についての知見が得られていない。そこで本研究では、河川での 1 年間のノロウイルス濃度を定量的に示すとともに、ノロウイルス濃度のピーク期間について調査した。2001 年にオランダのムーズ川を調査対象水域として、年間を通してノロウイルス濃度を測定した。採水は浄水場へ供給される貯水池への取水口で行った。ノロウイルスの測定は、RNA 抽出液を段階的に希釈して RTPCR 法で行った。また、エンテロウイルス、F-特異バクテリオファージおよび濁度についても測定した。

2001 年 1 月～4 月と 10 月～12 月の 2 つの期間にウイルス濃度と濁度の最大のピークが存在している点で共通していた。さらに 2002 年 12 月から 2003 年 1 月にかけて、ノロウイルス濃度の高かった冬期にサンプリング日数を増やして調査した。2001 年では、ノロウイルス濃度のピークと F-特異バクテリオファージ濃度、濁度のピークが一致した。これに対して、2002・2003 年の結果では一致しなかった。また、ノロウイルス濃度の冬期の最大のピークは長さや大きさの異なるいくつかのまとまりから構成されていることがわかった。最も高く測定されたノロウイルス濃度は 1700pdu/L (PCR-detectable units per litre) であった。これらの異なるピークの傾向は、大量の降雨による下水の混合・氾濫、放牧地からの流出といった気象や、採水時間の違いによる影響を受けている可能性が考えられる。

第 45 回雑誌会

(October 19, 2007)

The effect of suspended particles coated by humic acid on the toxicity of pharmaceuticals, estrogens, and phenolic compounds

Ra, J. S., Oh, Seok-Young., Lee, B. C. and Kim, S. D.

Environment International, In press (2007)

Reviewed by T. Furukawa

水環境において、河川水中に存在する浮遊懸濁物質は有機汚染物質の吸着に重要な役割を果たしている。浮遊懸濁物質は疎水性が高いため、水環境中の化学物質を容易に捕捉することができる。また、浮遊懸濁物質による化学物質の捕捉・沈降によって、水環境における化学物質の毒性を減少させることができる。そこで本研究では、河川水中の主要な有機物質であるフミン酸でコーティングした人工粒子を用いて、十種類の化学物質（薬剤四種類、エストロゲン三種類、フェノール化合物三種類）の人工粒子への吸着性を検討した。さらに、人工河川水に各化学物質と人工粒子を添加した試料と、コントロールとして人工粒子非添加の試料を同じ条件でバイオアッセイ試験を行い、化学物質の人工粒子への吸着による毒性の変化について検討した。

フェノール化合物において、オクチルフェノールとペンタクロロフェノールの浮遊懸濁物質による除去率は、それぞれ 22%と 38%であった。一方で、2,4-ジクロロフェノールは除去されなかった。薬剤では、ジクロフェナクが 11%の除去率を示したが、イブプロフェン、ゲムフィブロジルおよびトルフェナム酸は、浮遊懸濁物質に吸着しなかった。また、エストロゲン（エストロン、17 β -エストラジオールおよび 17 α -エチニルエストラジオール）はいずれの物質においても吸着による濃度減少は認められなかった。三種類の薬剤とエストロゲンが吸着されなかった一因として、官能基による極性相互作用が考えられる。バイオアッセイ試験において、浮遊懸濁物質による除去を示したオクチルフェノールとペンタクロロフェノールは、同様に急性毒性も減少した。しかしながら、他のすべて物質は、急性毒性の変化は認められず、各試料ともコントロールと同様の毒性を示した。

(2) Comparison of the efficacy of an existing versus a locally developed metabolic fingerprint database to identify non-point source of faecal contamination in a coastal lake

Ahmed, W., Tucker, J., Harper, J., Neller, R., and Katouli, M.

Water Research 40, 2339-2348 (2006).

Reviewed by H.Takahashi

環境起源からの病原細菌の特定および定量化は困難であるが、その代わりとして腸内細菌である大腸菌や腸球菌が利用されている。汚染源の特定を行うために、遺伝子型や表現型別法が用いられており、地表水中のヒトおよび動物汚染のさまざまな起源を区別するために発達してきている。さらに汚染源の情報を得るために、ヒト、ウシ、ウマなどの宿主グループに関するデータベースの更新が必要となる。更新されたデータベースは、地表水中から採取した同一の指標細菌の特徴を比較するために用いられる。しかしながら、大腸菌は、一時的および地理的で変動することが知られており、比較するデータベースが制限される可能性がある。

本研究では、現存データベースの代表性と安定性を評価し、同じ地理的エリア内での土地利用パターンと貯水池内のふん便汚染源を追跡するためのデータベースの有用性を評価した。地域データベースでは、enterococci 189 株と E.coli 245 株が、形質の相似性が高い株(生化学的表現型: BPTs)であることが確認され、その内のそれぞれ 118 株の enterococci と 137 株の E.coli は宿主グループ特有の形質を持つ BPTs(UQ-BPTs)であった。現存データベースは、10 の宿主グループから、enterococci の 295 株と E.coli の 273 株が UQ-BPTs であった。データベース外の細菌株と比較した結果、現存データベースの代表性と安定性の評価は、ヒトおよび動物の汚染源の enterococci BPTs が 62.4%, E.coli BPTs が 64.8%と高い割合で一致した。現存データベースを用いることによって、同一の地理的地域内の貯水池におけるふん便汚染源が予測できることが示唆された。

第46回雑誌会

(Oct 25, 2007)

(1) オゾンによるウイルス不活化の速度と機構

原田 宣男, 川合 生子, 神子 直之, 大垣 眞一郎

水環境学会誌, 27, pp.33-40 (2004)

レビュー: 鈴木 孝彦

今日、塩素の代替消毒手法として、オゾンが用いられるようになってきている。しかしながら、オゾンは、塩素と同様に消毒副生成物の問題の可能性や、残効性が少ない、ならびにオゾン生成に比較的多くのエネルギーを必要とするといった問題点がある。その適正な運転のためには、水中のオゾン消費物質等の消毒効果への影響機構を把握しておく必要がある。本研究は、F 特異 RNA 大腸菌ファージ Q β をモデルウイルスとして用い、培地成分等を代表的な水中共存物質として用いてウイルスに対してオゾン消毒への影響を調査し、数式化した。同時にウイルスに対する消毒効果の判定法としての PCR 法の有効性を検討した。

回分式実験において、オゾン消費物質(本研究では液体培地を使用)を含む場合において、オゾンによる F 特異 RNA 大腸菌ファージ Q β の不活化は、急激な不活化の後、不活化速度が低下した。これは Ct 値(濃度 Concentration と時間 time の積)の 1 次反応では説明できず、不活化はラジカル(不対電子を持つ原子または分子)の寄与が大きいと考えられた。連続式実験においても、オゾンによる F 特異 RNA 大腸菌ファージ Q β の不活化は、残留オゾン濃度の減少を考慮しても Ct 値では説明できない。オゾン消費物質およびラジカルスカベンジャー(本研究では重炭酸塩 NaHCO₃ を使用)は、F 特異 RNA 大腸菌ファージ Q β の不活化を阻害する。連続式オゾン暴露系において、F 特異 RNA 大腸菌ファージ Q β の不活化反応式を求めると、接触時間 t における Q β 濃度 N[PFU \cdot ml⁻¹] の変化速度は、オゾンによる不活化と、ラジカルによる不活化の和で表わすことができた。

$$-dN/dt = (k_1[O_3] \cdot [N] / [B]) + (k_2[O_3] \cdot [N] / (k_3[B] + [RS]))$$

[B]: オゾン消費物質濃度 (mg \cdot l⁻¹) k₁: 反応速度定数 [RS]: RS 濃度 (mg \cdot l⁻¹)

k₂: 反応速度定数 [O₃]: 残留オゾン濃度 (mg \cdot l⁻¹) k₃: 換算係数

また、Q β 生残率([N]/[N₀])とオゾン接触時間 t[min]の関係で求めると、

$$[N]/[N_0] = \exp(-1/2 \cdot k \cdot (k_1/[B] + k_2/(k_3[B] + [RS])) \cdot t^2)$$

[N₀]: 初期 Q β 濃度 (PFU \cdot ml⁻¹) k: 残留オゾン濃度速度定数 (mg \cdot l⁻¹ \cdot min⁻¹)

と表現できる。実験結果より各係数を求め、数値的に Q β 生残率を得ることが可能となった。また、Multiplex PCR 法は、大腸菌ファージ Q β の不活化評価手法として有効であることが明らかになった。Multiplex PCR の誤陽性に関しては、オゾン消費物質による影響は見られないが、ラジカルスカベンジャー(NaHCO₃)は陽性判定に対して著しい影響をおよぼすことがわかった。

(2)下水処理水の安全性に関わる技術基準に関する調査

南山 瑞彦, 田嶋 淳, 桜井 健介

下水道関係調査研究年次報告書集, 10, 39-44(2004).

レビュー: 川畑 勇人

近年, 下水処理水は修景・親水用水等への再利用, 河川流量の維持等その重要性が増大している。一方, 飲料水や食品を介した原虫クリプトスポリジウムによる集団感染や, ノロウイルスによる食中毒等の健康被害は, 大きな社会問題となり, 水の安全性への関心が高まってきている。それらの病原微生物が下水処理水中にも存在する可能性があるため, その対策が求められている。本研究では, 下水処理水再利用に関する新たな基準を設定するにあたり必要な知見を得るために, 下水処理水再利用の衛生的安全性に関する実態調査を実施するとともに, 原虫類への対応の観点から必要となる施設基準を検討するため, 下水処理水再利用におけるクリプトスポリジウム感染リスクの評価を行った。

大腸菌群は再生処理後に増殖する場合があったが, 大腸菌の増殖はほとんど見られなかった。下水処理水再利用のように, 再生処理後, ある程度の時間を経た後において衛生的安全性が重要となる場合には, 水環境中で増殖するものを指標細菌として採用するのは適切ではないと考えられる。したがって, 指標細菌としては, 大腸菌群よりも大腸菌の方が適切である可能性が示唆された。また, 結合残留塩素濃度を 0.3mg/L 以上保持することによって, 清浄度の劣化を端的に表現する指標である従属栄養細菌数を一定のレベルまで低減できることから, 少なくとも結合残留塩素濃度 0.3mg/L 以上の基準値の設定が適切であると示唆された。水洗用水, 散水用水および修景用水について砂ろ過施設を想定し, 親水用水について凝集沈殿と砂ろ過を組み合わせた施設を想定した場合のクリプトスポリジウム年間感染リスクは, 平常時では全ての用途において, ほぼ 10^{-4} 以下となった。これらの施設対応により, 米国環境保護庁 (USEPA) が提唱している病原微生物による目標感染リスクのレベルに対応できると考えられた。

第 47 回雑誌会
(November 2, 2007)

(1)each Sand along the California Coast Are Diffuse Sources of Fecal Bacteria to Coastal Waters

Yamahara, K., Layton, B., Santaro, A.and Boehm

Environmental Science & Technology 41, 4515-4521 (2007).

Reviewed by H.Takahashi

アメリカでは、多くのビーチにおいて遊泳禁止の事例が報告されており、その多くの原因はふん便性指標細菌(Fecal Indicator Bacteria : FIB)の基準値の超過である。微生物は、FIB を多く持っている鳥、動物のふん便などの外部の汚染源によって、ビーチの砂の中に直接収集されている可能性がある。砂の中に FIB が入ると、死滅や増殖する可能性もある。またビーチに浸水されている砂における FIB の流動性や輸送プロセスは、現在も十分に理解されていない。本研究では、カルフォルニア海岸の 55 のビーチの砂の中の FIB の偏在、砂の中の FIB 濃度の測定を行い、さらにカルフォルニア海岸の一つである Lover point (LP)における FIB と砂と海の相互関係を試験することによって、砂から海へ FIB が輸送されるかどうかの仮説を検討した。

カルフォルニア海岸を調査した 55 のビーチの砂サンプルのうち、50 のビーチ(91%)において Enterococci(ENT)が検出され、34 のビーチ(62%)において E.coli(EC)が検出された。FIB 濃度においては、ENT が 9~7200CFU/100g, EC が 8~6264CFU/100g であった。LP において、砂から海への FIB が輸送されるかどうかの仮説について、ビーチに曝け出された砂と海水で浸水された砂の ENT 濃度を比較した結果、海水で浸水された砂よりもビーチに曝け出された砂の方が高い ENT 濃度を示すことが確認された。さらに、引き潮時と満潮時の砂の中の ENT 濃度を比較した結果、満潮の間の ENT 濃度はビーチに曝け出された砂よりも海水で浸水された砂の方が低かった。したがって、ビーチに曝け出された砂が潮の上昇によって浸水した時、ENT は砂から除去および収集されたことが確認された。

(2)二重管型反応装置の硝化脱窒プロセスへの適用に関する研究

藤原 拓, 宗宮 功, 津野 洋, 奥野 芳男

土木学会論文集, 657, 23-33 (2000).

レビュー: 鷲巢 勇士

現在, 閉鎖性水域や水道水源の保全の観点から, 下水中の窒素およびリンの除去が重要とされている。また, 窒素およびリンの除去を行うにあたり, 省資源, 省エネルギー, 省コスト, 省スペースで行われることが求められてきている。一方, 二重管型反応装置は主に化学工学や発酵工学の分野において, 気液間の物質移動の促進を目的に用いられてきた。本研究では, 二重管型反応装置を硝化脱窒プロセスへ適用させることによって, 従来の生物学的窒素除去プロセスと比較して短い水理学的滞留時間 (HRT) で高い有機物と窒素除去率を得ることのできるプロセスの開発, 設計・操作因子の実験的検討, および汚泥発生量削減効果について検討する。

パイロットプラントによる団地汚水の連続処理実験を行った結果, 反応装置の適切な条件は, 有効水深 4.0m でドラフトチューブ内径の反応装置内径に対する比 (D_i/D_o) が 0.91, あるいは有効水深 6.0m で D_i/D_o が 0.19 または 0.26 であった。さらに, その反応装置において BOD-SS 負荷率 0.08~0.12kg/kg·d, HRT10.4~11.9h, MSLL 濃度 2900~3700mg/L に設定し, DO は窒素除去に最適な値に適宜調節した。この条件で生下水の連続処理を行うことによって, 82~91%の平均 TOC 除去率, 88~94%の平均アンモニア性窒素除去率, および 72~84%の平均 TN 除去率が得られた。設計因子に関しては D_i/D_o と有効水深が, 操作因子に関しては BOD-SS 負荷率と好気ゾーン比, 無酸素ゾーン比, および流入水 C/N 比が重要となることがわかった。また, 二重管型反応装置を用いた処理と標準活性汚泥法を比較すると, 発生汚泥は 28~56%削減されることがわかった。

第 48 回雑誌会

(Nov 9, 2007)

(1) 下水および河川水試料に含まれるエストロゲン様物質の検索手法の検討

中田 典秀, 東谷 忠, 宮島 潔, 小森 行也, 鈴木 穰

環境化学 16, No.3, 389-401 (2006).

レビュー: 久保田 淳

内分泌かく乱化学物質によるヒトや野生生物の内分泌系のかく乱は、新しい視点の毒性発現形態として社会的に大きな問題となり注目されている。英国の研究結果では、魚類の雌性化が発見された河川水中に強いエストロゲン様の作用を有する化学物質の存在が明らかとなっている。したがって、エストロゲン汚染の起点となる下水処理場においてエストロゲンの除去レベルをさらに向上することは、早急に解決すべき重要な課題とされている。そこで本研究では、下水処理場の流入下水、返送汚泥、放流水および河川水中に含まれるエストロゲン様物質の機器分析（液体クロマトグラム・タンデム質量分析計）、遺伝子組換え酵母を用いたバイオアッセイ（YES アッセイ）、およびカラムクロマトグラフィーによる分画手法を組み合わせたエストロゲン様作用を誘導する化学物質の同定手法について検討した。

機器分析の結果では、流入下水、返送汚泥および放流水のエストロゲン活性は、それぞれ 38, 162, および 130ng/L(E2 等量)と検出された。YES アッセイと分画によると、いずれの下水試料においても、エストロンと 17 β -エストラジオールに起因するエストロゲン活性は全体の約 90%であり、その中でも E1 の寄与は 45~87%, E2 の寄与は 7~36%となった。また、対象成分以外の成分に起因する活性が全体の約 10%存在した。河川水の YES アッセイと分画においても、下水試料と同様に、エストロンおよび 17 β -エストラジオールの高い寄与（90~96%）が確認され、河川水試料の全サンプルで E1 の寄与は 76%以上であった。

(2) Evidence for the Migration of Steroidal Estrogens through River Bed Sediments.

Labadie, P., Cundy, A. B., Stone, K., Andrews, M., Valbonesi, S. and Hill, E. M.

Environmental Science & Technology 41, 4299-4304 (2007)

Reviewed by T. Furukawa

今日の水環境において、ステロイドエストロゲンによる水生生物、さらには人間への影響について感心が高まっている。エストロゲンは中程度の疎水性物質 ($\log K_{ow} : 3.1-4.0$) であり、堆積物を用いたバッチ式の吸着実験では、エストロゲンの堆積物への吸着性は低いことがわかっている。しかしながら、河川、沿岸域、および海域における実態調査では、堆積物中からエストロゲンが検出されている。堆積物中において、好気性であればエストロゲンは比較的容易に分解される。一方で、堆積物中が嫌気性であればエストロゲンは分解され難く、堆積物中に存在し続けるため、結果的に、河川等の底生生物に影響を及ぼす可能性がある。そこで本研究では、Ditchling川とLewes川の2地点でサンプリングを行い、堆積物中におけるエストロゲンの垂直分布を測定し、堆積物表層に沈降したエストロゲンの堆積物中への移動性について検討した。

Lewes川では、E2は検出されず、E1は表層で最も高く ($0.61 \pm 0.13 \text{ ng/g-dry}$)、深くなるとともに濃度が減少した。Ditchling川においては、E2は堆積物表層で最高濃度 $0.97 \pm 0.14 \text{ ng/g-dry}$ を示し、深くなるとともに減少した。これは、E2が堆積物中において酸化され、E1に変化したためと考えられる。E1は表層から-15cmの地点で最高濃度 $28.8 \pm 6.0 \text{ ng/g-dry}$ を示し、表層よりも9倍高かった。E1濃度はE2濃度の減少とともに増加したが、-15cm地点でのE1の最高濃度はE2の酸化のみでは説明できなかった。そこで、Ditchling川の堆積物とE1を用いた吸着性試験と堆積物の物理的特性(含水率、透水係数等)の分析を行った。E1の吸着性は表層に近い堆積物の方が吸着速度が速く、吸着量も多かった。また、0~15cmと15~30cm(主に粘土層)の地層における透水係数は、それぞれ 10^{-4} m/s と $10^{-5} \sim 10^{-7} \text{ m/s}$ であり、表層が下層よりも浸透速度が速いことがわかった。このことから15~30cmの地層は、E1が浸透しにくく、表層から-15cm付近にE1が蓄積し、最高濃度を示したと推測された。

第 49 回雑誌会

(Nov 30,2007)

(1) Genetic diversity of noroviruses in raw and treated sewage water

Harold, V. D. B., Willemijn, L., Wim, V. D. P., Harry, V., Ana, M. D. R. H.

Research in Microbiology, 156, 532-540(2005).

Reviewed by S.Narimatsu

近年、下水中にノロウイルスが存在し、人間に対してリスクが生じている可能性があることが明らかになった。そこで本研究では、オランダの2つの下水処理場 (STP:Sewage Treatment Plants) でノロウイルス濃度の調査を2000年10月~2001年10月において行った。また下水処理場でのノロウイルス除去後の濃度と下水中に存在するノロウイルス種の多様性についても調査・検討を行った。生下水中のノロウイルス濃度の平均は、約 10^5 pdu/L (PCR detectable units per liter) であり、処理下水中では約 10^3 pdu/Lであった。処理方法の類似している2つの下水処理場 STP-A および STP-B での生下水と処理下水のノロウイルスの関係は次の式で表された。『処理後のノロウイルス濃度は、それぞれ平均で (処理下水濃度) $=1/10^{2.7} \times$ (生下水濃度) および (処理下水濃度) $=1/10^{2.0} \times$ (生下水濃度) にしていた。』これらの下水処理場から採水した、生下水と処理下水のサンプル合計53のうち49でノロウイルスが検出され、11の異なるウイルス種が確認された。また、1つの下水サンプルからは最大で4種のノロウイルスが確認された。特に GG I.6 Sindlesham 種および GG II.2 Melksham 種、GG II b 種が生下水および処理下水の両方で頻繁に確認された。調査期間中であった2000年および2001年のヨーロッパでは、患者からこれらの種が頻繁に検出されたことが報告されている。処理下水中のノロウイルス濃度は $10^2 \sim 10^3$ pdu/L であり、河川に放流される。河川は貝類等の成育や飲料水の生成、レクリエーション目的のために利用されており、放流水により河川が汚染され、健康リスクが生じている可能性が示唆された。また、下水中に含まれる多様なノロウイルス種によって、食物や水が汚染された場合、ノロウイルス種の遺伝子の組み換えにより感染性が高く、発病しやすいノロウイルス種が今後流行する可能性も考えられる。

(2) Laccase isolation by foam fractionation – New prospects of an old process

Diana Linke, Holger Zorn, Birte Gerken, Harun Parlar, Ralf G. Berger

Enzyme and Microbial Technology 40, 273-277 (2007).

Reviewed by T.Suzuki

泡沫分離法は、環境保護、経済性、さらに界面活性物質の分離において有効な方法である。近年、たんぱく質、微生物、浮遊物質、芳香剤、および顔料等の生物由来物質の分離への関心が高まっている。酸化酵素であるラッカーゼは、現在、バイオレメディエーションや飲料加工、ベーキングなどへの多くの利用が期待されている。ラッカーゼを含む多くの酵素は、一般的に沈殿や限外濾過、透析法後の液体クロマトグラフ法によって分離される。しかしながら、これらの酵素の分離法は時間とコストがかかり、さらに酵素の多くの活性が損失される。本研究では、十分な活性を維持したラッカーゼを、真菌培地（担子菌 *P.sapidus* の液体培地）から分離するための泡沫プロセスを確立することを目的とした。

泡を形成・安定させるための界面活性剤について、いくつかの活性剤を用いて本研究への適用性に関する実験を行なった。その結果 CTAB（カチオン性界面活性剤臭化セチルトリメチルアンモニウム）が最も適していることがわかった。純水ベースのラッカーゼ溶液を対象として、24℃、pH6.0、0.4mM CTAB、窒素泡沫量 20mL/min、泡沫時間 6 分間でラッカーゼ活性酵素の 94%の回収率が得られた。SNL 溶液（たんぱく質や糖類、無機塩類などを含む培地溶液）ベースのラッカーゼ溶液においては、泡沫分離システムのパラメータを再度調整した。その結果、24℃、pH5.4、1.2mM CTAB、窒素泡沫量 60mL/min、泡沫時間 15 分間の条件において、89%のラッカーゼ活性酵素が泡によって回収された。以上の結果を踏まえて、真菌培地の上澄み液からのラッカーゼ活性酵素の泡沫分離を行なったところ、24℃、pH5.5、0.6mM CTAB、窒素泡沫量 40mL/min、泡沫時間 30 分間において、70.4%の回収率が得られた。また、同時に活性ラッカーゼのアイソザイム（酵素と同じ働きを持つが分子構造の異なるもの）の回収も、活性染色法により確認された。これらの結果から、泡沫分離法が真菌培地からのラッカーゼ活性酵素の分離に適用できることがわかった。

第 50 回雑誌会

(Dec 7, 2007)

(1) Degradation and Behavior of Natural Steroid Hormones in Cow manure Waste during Biological Treatments and Ozone Oxidation

Ermawati, R., Morimura, S., Tang, Y., Lin, K., and Kida, K.

Journal of Bioscience and Bioengineering, 103, 27-31(2007)

Reviewed by A. Kubota

人、家畜および野生生物の糞尿から排出される天然ステロイドホルモンは通常の処理では完全には分解されず、下水処理場や家畜糞尿処理場を通じて環境中へ排出される。また、これまでの研究により、オゾン酸化では完全に天然ステロイドホルモンは分解できるものの、オゾン酸化の単一処理では経済的ではないため、生物学的処理を行った後に利用されている。そこで、本研究では天然ステロイドホルモンの効果的な処理プロセスの開発を目的として、牛糞尿排水の水質とエストロゲン活性の比較を行い、生物学的処理とオゾン酸化処理の各処理プロセスにおける天然ステロイドホルモンの分解について検討した。

嫌気性処理槽への流入水中における BOD, TOC, COD, SS および揮発性脂肪酸(VFA)の濃度はそれぞれ, 27,600mg/L, 9470mg/L, 25,800mg/L, 58.6g/L および 12,700mg/L であった。また, E2 活性等量は 200~900 μ g/L であった。生物学的処理後における BOD, TOC および天然ステロイドホルモンの除去率はそれぞれ, 90%, 84% および 99% であった。E2 活性等量は 40~100 μ g/L に低減された。また, オゾン酸化処理によって, 残存天然ステロイドホルモンは完全に除去され, 生物学的処理では低減が困難であった色度は, 約 500 度まで低減できた。

(2) Seasonal dynamics in a coastal *Vibrio* community examined by a rapid clustering method based on 16S rDNA

Maeda, T., Matsuo, Y., Furushita, M., Shiba, T.

Fisheries Science, 69, 385-394(2003).

Reviewed by : H. Kawabata

ビブリオ属細菌は海洋環境中の至るところに存在し、魚や人間の病気を引き起こす原因として注目されている。ビブリオ属細菌は種類が多く、それぞれが密接な関係にあるため、分類するには多くの時間と手間がかかる。しかしながら、現在では特異的 PCR (ポリメラーゼ連鎖反応) と RFLP (制限酵素切断片長多型) による 16S rDNA の解析によりビブリオ属細菌の迅速グルーピング法が開発され、46 種のビブリオと 8 の類縁細菌を 14 のグループに迅速に分けることができる。

本研究では、この方法を用いて、響灘の吉見湾におけるビブリオの季節変動の調査を行った。人間の病気の病原体である *V. parahaemolyticus* はグループ 2 に分類される。同様に重要な病原体である *V. splendidus biotype I* はグループ 9 に、*V. cholerae* と *V. mimicus* はグループ 10 に分類される。吉見湾の水温は 10.5℃ (1 月) から 30.0℃ (8 月) の範囲で変動し、6 月から 11 月の期間は 20 度以上の状態が続き、水温が上昇するにつれてビブリオも増加することが確認された。また、海水と堆積物の両方において、海水温度が 20℃ を超えた時にグループ 2 (*V. alginolyticus*, *V. campbellii*, *V. carchariae*, *V. harveyi*, *V. natriegens*, *V. parahaemolyticus*) が優占し、20℃ 以下では、グループ 9 (*V. lentus*, *V. splendidus biotype I*) が高い割合を占めた。また、グループ 10 (*V. cholerae*, *V. mimicus*) は検出されなかった。

第 51 回雑誌会

(Dec 14, 2007)

(1) Removal of viruses, parasitic protozoa and microbial indicators in conventional and membrane processes in a wastewater pilot plant

Ottoson, J., Hansen, A., Bjorlenius, B., Norder, H. and Stenstrom, T. A.

Water Research, 40, 1449-1457(2006).

Reviewed by S.Narimatsu

下水処理場において、処理が不十分な下水処理水の放流によって、ウイルスや細菌による人間への健康リスクが生じる可能性がある。これらの対策として、近年、下水処理法の開発が進められており、従来の凝集沈殿+砂ろ過法に加え、膜処理法が注目されている。そこで本研究では、スウェーデンの下水処理場への流入水のエンテロウイルスとノロウイルス、ジアルジアシスト (*Giardia cysts*)、クリプトストリジウムオーシスト (*Cryptosporidium oocysts*) およびもっとも一般的に用いられる糞便性指標細菌 (大腸菌, 腸球菌) の発生頻度について調査を行った。また除去率についても下水処理法別に調査・検討を行った。下水処理法は三次ろ過処理 (凝集沈殿+砂ろ過) 法, 生物膜バイオリアクター (MBR) 法, および上向き嫌気性スラッジブランケット法 (UASB ; Upflow anaerobic sludge blankets) の 2 つの処理ラインで行った。採水は流入水と各処理後それぞれ行った。

下水処理場への流入水では *Giardia cysts* とエンテロウイルスが高頻度で検出され, それぞれ平均で $10^{3.11}$ MPN/L と $10^{4.0}$ MPN/L であった。*Cryptosporidium oocysts* は 19 サンプル中 4 つ検出され, 平均で 5MPN/L であった。ノロウイルスは冬期で流入サンプル 7 つのうち 6 つ検出され, 平均で $10^{3.28}$ MPN/L であった。それ以外の期間では 15 のうち 2 サンプル検出され, 平均で 200MPN/L であった。また, 下水処理法別に除去率を調査した結果, MBR 処理法は他の 2 つの処理ラインより糞便性指標細菌の除去を効率よく行うことができた。除去率は大腸菌で 5log (99.999%) であった。エンテロウイルスとノロウイルスの除去率は, それぞれ MBR 法で 1.79log, 1.14log, 三次処理法で 1.67log, 0.95log であり, とともに除去率に大きな差は表れなかった。大腸菌と腸球菌は, 体表面吸着大腸菌フェージや亜硫酸還元細菌よりも効率良く除去できた。また, エンテロウイルスおよびノロウイルスの除去率は, 大腸菌よりも大幅に低かった。大腸菌, 腸球菌および亜硫酸還元細菌のこれら 2 つの除去率とエンテロウイルスの除去率の相関を求めた結果, $R=0.4$ でありやや低かったものの正の相関が認められた。

(2) Impact of bathers on levels of *Cryptosporidium parvum* oocysts and *Giardia lamblia* cysts in recreational beach waters

Sunderland, D., Graczyk, K, T., Tamang, L., and Breysse, N, P.

Water Research 41, 3483-3489(2007).

Reviewed by H.Takahashi

アメリカでは、リクリエーション水域による原生生物の感染報告が年々増加している。この感染報告の多くは、*Cryptosporidium* と *Giardia* が関連していることが確認された。この原生生物は世界中に分布しており、塩素処理に対する抵抗力を持つことが示唆されている。本研究では、水域における *C.parvum* オーシストと *G.lamblia* シストの濃度がリクリエーションビーチ域の遊泳者に及ぼす影響について検討した。

C.parvum オーシストと *G.lamblia* シストの平日と週末の濃度を測定した結果、週末では *C.parvum* オーシストの濃度が 2~42 オーシスト/L, *Giardia* シストの濃度が 0~33 シスト/L であった。平日では、*C.parvum* オーシストの最も高かった日の濃度が 7 オーシスト/L, *Giardia* シストの最も高かった日の濃度は 4 シスト/L であり、平日より週末の濃度の方が著しく高い濃度を示すことが確認された。さらに、リクリエーション水域の濁度は、週末が 54FAU(Formazin Attenuation Unit), 平日が 40FAU であった。遊泳者数分類スコア(0=0-1 人, 1=2-13 人, 2=14-25 人, 3=26-37 人, 4=38-49 人, 5=50-68 人の 6 つに分類)は、平日より週末の方が著しく高く、濁度と遊泳者数が関係していることが示唆された。遊泳者数と濁度と *C.parvum* オーシストと *G.lamblia* シスト濃度の関係性を直線回帰で検討した結果、*C.parvum* オーシスト濃度は遊泳者数と濁度が関係し、*G.lamblia* シスト濃度は遊泳者数に関係することが示唆された。

第 52 回雑誌会
(December 21, 2007)

Isolation of *Pseudomonas aeruginosa* from Open Ocean nad Comparison with Freshwater, Clinical, and Animal Isolates.

Khan, N. H., Ishii, Y., Kimata-Kino, N., Esaki, H., Nishino, T., Nishimura, M. and Kogure, K.

Microbial Ecology 53, 173-186 (2007)

Reviewed by T. Furukawa

緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) は、地球上や河川環境中に広く存在する病原菌であり、感染するとヒト、動物、および植物に死をもたらすこともある。緑膿菌は、外洋環境には存在しないと考えられていた。しかしながら、1995 年の太平洋、インド洋、および大西洋における調査で、48kDa のタンパク質が検出され、このタンパク質は緑膿菌の外膜であるタンパク質の Opr P であることが明らかとなった。そこで本研究では、外洋における緑膿菌の存在を明らかにし、緑膿菌の遺伝子型と表現型特性を、各起源（病院、河川、および動物）の緑膿菌分離株と比較した。また、外洋、河川、および病院の各 1 株を用いて、0.0-7.0% NaCl 水溶液中における菌株の生存性と増殖性を検討した。

水試料は河川、湾、池、および湖沼から採取し、BD Phoenix System によって、62 株（外洋 26 株）が緑膿菌として同定された。今回同定した 62 株、以前に同定した病院の 21 株と動物の 8 株の計 91 株について、パルスフィールド電気泳動法 (PFGE) による遺伝子型の比較を行った。また、遺伝子型をもとにクラスター分析によって各菌株の同類性を評価した。外洋株の遺伝子型の数は少なく、ほとんどの菌株が類似していた。一方で、ほかの菌株の遺伝子型は、起源が同一であっても類似しない傾向を示した。外洋株は、NaCl 濃度の上昇とともに増殖可能な菌の割合が増加した。河川と病院の菌株と比較して、外洋株は高い生存性を示し、塩分存在下でも増殖可能であることがわかった。すなわち、緑膿菌は外洋の環境に順応し、生存と増殖によって外洋に蓄積していることが示唆された。

第 53 回雑誌会

(Jun 13, 2008)

(1) The time-course change of nitrogenous excretion in the Kuruma shrimp *Penaeus japonicus* following nitrite exposure

Sha-Yen, Cheng., and Jiann-Chu, Chen.,
Aquatic Toxicology, 51, 443-454 (2001).

Reviewed by Y.Sagisu

亜硝酸塩は細菌によるアンモニア硝化の中間生成物であり、一般的に天然水中では極低濃度で存在している。しかしながら、循環養殖システム体系では生物フィルターが不安定であるため、亜硝酸塩が 1mM まで蓄積すると報告されている。また、亜硝酸塩は様々な種類と大きさの硬骨類に対して極低濃度で毒性を示し、その毒性は周囲の環境に大きく依存する（塩素化合物、pH、水温、塩分濃度）。さらに亜硝酸塩への 24 h 暴露した後のクルマエビは、酸素消費量とアンモニアの排泄の増加が見られ、それにしたがってエネルギー消費量の増加を示すと報告されている。そこで本研究では、クルマエビを高い亜硝酸塩濃度に暴露したときの血リンパと窒素排泄物の経時変化を検討した。

塩分濃度 30ppt の条件において、亜硝酸塩濃度を 0.002 (コントロール), 0.076, 0.362, 0.719, 1.433mM に調整した試液中にクルマエビ (12.83±1.24g) を 0h, 3h, 6h, 12h, 24, 48h 暴露させ、そのときの血リンパ中のアンモニア、尿素、亜硝酸塩と窒素排泄物について測定を行った。血リンパ中の亜硝酸塩と尿素的濃度については、亜硝酸塩濃度と暴露時間に比例して増加した。その一方、血リンパ中のアンモニア濃度は、亜硝酸塩濃度と暴露時間に反比例して減少した。また、全窒素、アンモニア態窒素、尿素態窒素および有機態窒素の排泄物の濃度は、周囲の亜硝酸塩濃度と暴露時間に比例して増加した。コントロールの条件では、エビの全窒素中のアンモニア態窒素排泄物と尿素態窒素排泄物の割合は、それぞれ 41.7-90.8%と 2.8-10.5%であった。0.076 mM または、1.433mM で 24h 暴露されたときの全窒素中に占めるアンモニア態窒素排泄物の割合は、それぞれ 10.0%から 3.8%と減少した。また、このとき尿素態窒素排泄物は、それぞれ 58.7%から 21.4%へと減少した。さらに有機態窒素排泄物では、31.3%から 74.8%と増加した。0.076mM と同程度に低い亜硝酸塩濃度に 24h 暴露した後のクルマエビは、コントロールと比較してアンモニア態窒素排泄物が 1.9 倍、尿素態窒素排泄物が 200 倍、有機態窒素排泄物が 37 倍にそれぞれ増加することがわかった。

VanA-type enterococci from humans, animals, and food: species distribution, population structure, Tn1546 typing and location, and virulence determinants

Biavasco, F., Foglia, G., Paoletti, C., Zandri, G., Magi, G., Guaglianone, E., Sundsfjord, A., Pruzzo, C., Donelli, G. and Facinelli, B.

Applied and Environmental Microbiology 73, 3307-3319 (2007)

Reviewed by T. Furukawa

グリコペプチド耐性腸球菌 (*Glycopeptide-resistant enterococci* : GRE) は、ここ 10~15 年の間で院内病原体として発生し世界的に問題となっている。1997 年にヨーロッパでは、GRE の拡散の原因とされているグリコペプチドアポパルシン (家畜の成長促進物質) の使用を禁止したにもかかわらず、病院では GRE が発生し続けた。そこで本研究では、GRE の病原クローンの拡散について検討するために、異なる宿主 (ヒト 69 株, 動物 49 株, 食料 36 株) における腸球菌の個体群の構造, Tn1546 タイプとその位置, さらには病原性の決定因子の分析を行った。

GRE の *vanA* 型分離株は, *Enterococcus faecium* 120 株, *Enterococcus faecalis* 12 株, *Enterococcus durans* 18 株, および *Enterococcus gallinarum* 4 株に分類された。さらに, パルスフィールド電気泳動法 (PFGE) において, *E. faecium* の分離株が遺伝子的に類似した 2 つのクラスター (M39, 4 株 ; M49, 13 株) に分類された。さらに, *vanA* 型分離株 105 株について, Tn1546 と病原性決定因子を分析した。Tn1546 タイプとその位置の分析によって, 105 株中 101 株が Tn1546 原型, ならびに異なる 11 種類の Tn1546 様要素, 計 12 種類に分類され, 全体の 80% の分離株が Tn1546 原型に分類された。Tn1546 タイプと GRE の起源, 種の間には有意な関連性がなかった。病原性決定因子は, ヒト (病院起源) の分離株において頻繁に検出された。また, 複数の病原性因子を持つ分離株がヒト (病院起源) と肉類の *E. faecalis* の分離株から検出され, 動物の分離株からは検出されなかった。PFGE のクラスターが多様であったこと, Tn1546 タイプの分類に特徴がなかったこと, ならびに病原性決定因子がさまざまな種から検出されたことから, すべての起源の GRE がヒトへ適応可能であることが示唆された。

第 54 回雑誌会

(Jun 20, 2008)

(1) Sourcing faecal pollution: A combination of library-independent and library-independent methods to identify human faecal pollution in non-sewered catchments

Ahmed, W., Stewart, J., Gardner, T., Powell, D., Brooks, P., Sullivan, D. and Tindale, N.
Water Research, 41, 3771-3779(2007).

Reviewed by S.Narimatsu

水域のヒトおよび動物由来の糞便汚染は人によるレクリエーションの水使用や貝類の喫食により、さまざまな病原性微生物にさらされ、健康リスクの問題を生じさせる。したがって、糞便汚染源の特定は、水質管理や、健康リスクを最小限に抑えるため必要である。そのため、微生物発生源追跡法 (microbial source tracking:MST 法) が、さまざまな水系での糞便汚染源の特定のために現在使用されている。MST 法は、library-dependent (LD) 法 (*E.coli* と *enterococci* のフィンガープリント法) と library-independent (LI) 法 (PCR によるヒト特異バイオマーカーの検出法) に分類される。しかしそれぞれの方法には欠点が存在するため、組み合わせて使用することが薦められている。そこで本研究では LD 法と LI 法を組み合わせたヒト糞便汚染の調査を行った。

対象流域は、下水道未整備地区であるオーストラリアのクイーンズランド州パインリバー市南東の 3 つの流域とした。また、調査は 2006 年 1 月～3 月と 11 月の豪雨後の 6 回行った。その結果、フィンガープリント法により 18 のサンプルから 550 の *E.coli* と 700 の *enterococci* が分離された。また、*E.coli* のフィンガープリントにより、18 のサンプル中 9 つ、また同様に *enterococci* のフィンガープリントにより 10 サンプルからヒト糞便汚染が特定された。さらに、7 つのサンプルについてバイオマーカー (生体指標) 検出のために PCR 試験を行った。その結果、5 つのサンプルでヒト特異 HF134 *Bacteroides* と *esp* バイオマーカーが検出された。また、4 サンプルで HF183 バイオマーカーが検出された。バイオマーカーの組み合わせにより 7 つのサンプルのうち 6 つでヒト糞便汚染が特定された。7 つのサンプルのうち、フィンガープリントとバイオマーカーの分析の組み合わせによって、少なくとも一つは、指標細菌かバイオマーカーが検出された。以上の結果から、LD 法と LI 法を組み合わせることによって、互いにヒト糞便汚染を検出できなかった部分を補完しあう結果が得られた。したがって、ヒト糞便汚染源を特定するためには、これら二つの方法を組み合わせて使用することがすすめられる。

(3) 新規 MIC 測定キットを用いた抗菌力の測定：培養条件の厳しい菌種とまれに検出される菌種を中心に

川上 小夜子, 斧 康雄, 加藤 涼子, 宮沢 幸久

感染症学雑誌, 72(10), pp1017-1126 (1997).

レビュー:石川 貴之

最小発育阻止濃度 (minimum inhibitory concentration : MIC) の測定は, 適切な抗菌薬療法を施行する際に必要不可欠な検査である。近年では, 測定法の種類も増え, 自動機器を使用した MIC 測定も可能となってきた。しかしながら, その適応となる菌種は, 好気性でしかも Mueller Hinton (MH) 液体培地での発育がよい菌種に限定されており, 栄養要求性の高い菌種や培養条件の厳しい菌種での MIC 測定は, 日常検査で実施されていないのが実状である。そこで本研究では, 近年, 欧米で使用され始めた Etest[®] (AB Bio disk) の簡便さに着目し, 栄養要求性や培養条件の厳しい 39 菌種 154 株の MIC を測定し, 日本化学療法学会標準法に準じた寒天平板希釈法による成績と比較し, その有用性を検討した。

抗菌薬には, ampicillin (ABPC), erythromycin (EM), clindamycin (CLDM), minocycline (MINO), vancomycin (VCM), benylpenicillin (PCG), cefotaxime (CTX), imipenem (IPM) の 8 薬剤を用い, それぞれの菌株の MIC を測定した。その結果, ほぼすべての菌種で Etest[®] と寒天平板希釈法で MIC 値が一致したが, *S.pneumoniae* 39 株, およびその他の *Streptococcus* 属 14 株に対しては VCM や EM の MIC 値が Etest[®] で \log_2 (1 管) ~ $2\log_2$ (2 管) 高く判定され, 有意な差が認められた。また, 有意差は認められなかったが, *Campylobacter* spp. 31 株, *H.pylori* 2 株に対しては IPM で 1 管低く判定され, Anaerobic bacteria 21 株に対しては, いずれの薬剤も Etest[®] でやや低めに判定される傾向を示した。このように, 一部の菌種や特定の薬剤間で Etest[®] と寒天平板希釈法で MIC 値に差が認められた。しかしながら, 全体的に両検査法で高い一致率を示したことから, 栄養要求性の高い菌種や培養条件の厳しい菌種においても簡便に MIC を測定することのできる Etest[®] は, 今後日常検査への導入が期待できる。

第 55 回雑誌会

(Jun 30, 2008)

(1) Yeast flotation viewed as the result of the interplay of supernatant composition and cell-wall hydrophobicity

deSousa, S. R., Oliveira, K. F., Souza, C. S., Kilikian, B. V. and Laluce, C.

Colloids and Surfaces, 29, pp.309-319 (2003)

Reviewed by T. Suzuki

浮上法は、細胞またはバイオ技術プロセスで生じた生成物を分離する有効な手法である。細胞と気泡の間に働く力を利用したこの分離法は、細胞表面の疎水性、さらに細胞と培地成分の蓄積した泡沫との親和力に基づいている。そこで本研究では、さまざまな酵母（菌株 FLT-01 の *Saccharomyces cerevisiae*, 菌株 CBS 4732 の *Hansenula polymorpha*, 菌株 FCFAR-250 の *Candida albicans*）と培地を対象として、培地の種類（合成培地、サブロー培地、YPD 培地）や成分の変化による酵母の浮上への影響、あるいは酵母細胞表面すなわち細胞壁の疎水性と浮上率との関連性について検討した。三種類の培地で、30℃あるいは 38℃でそれぞれ培養した三種類の酵母から採取した細胞を、それぞれの培養培地上澄みに懸濁させて、浮上率と疎水性の測定を行なった。疎水性の測定に関しては、培地成分に対する細胞壁の疎水性に加えて、標準液（0.05M のアセテートを含む液）に対する細胞壁の疎水性の測定も比較実験として行なった。

培地上澄みの成分は、細胞壁の疎水性よりも浮上率に対して重要な役割を果たしていることがわかった。酵母細胞を水で希釈した上澄みに懸濁した場合、疎水性は上がったが浮上率は低下した。また、*S. cerevisiae* あるいは *H. polymorpha* をネオペプトンを添加した上澄みに懸濁した場合、浮上率を抑制し、発生する泡の量も増加した。さらに、サブロー培地で培養した *S. cerevisiae* あるいは *H. polymorpha* を合成培地上澄みに懸濁させた場合、浮上率が回復したことが確認された。一方、*S. cerevisiae* と *C. albicans* の細胞の浮上率は、標準液に対する疎水性よりも、培地成分に対する疎水性との間に強い相関があることがわかった。しかしながら、*H. polymorpha* の細胞の浮上率は、培地成分よりも標準液に対する疎水性に関連して高い値を示した。また、培養温度が 30℃ から 38℃ に上がったとき、*C. albicans* の浮上率はかなり抑制されたが、*S. cerevisiae* と *H. polymorpha* に関しては浮上率の抑制は見られなかった。酵母細胞そのものがもたらす浮上率への影響を理解・予測することは困難であるが、培地上澄み成分が酵母の浮上の活性・抑圧を最も決定付けることがわかった。

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

Edge, T. A., Hill, S.,

Water Reseach, 41, 3585-3594(2007).

Reviewed by : H. Kawabata

浜边における糞便汚染は、そこで活動する人々の健康リスクに重要な意味を持っており、近年のオンタリオ湖のハミルトン湾にある海浜公園では、大腸菌の増加が原因でたびたび閉鎖されている。そこで、汚染源特定をするために細菌を用いたいくつかの汚染源追求方法が研究された。2004年の海水浴シーズンの毎週月曜日の朝に海水サンプルは、前浜から足首の深さ、ひざの深さと水中を歩きながら表層水を、加えて沖合150m(深さ6m)とさらに沖合のハーバー湖の中央(深さ24m)の表層水も同時に採取した。砂サンプルは、湿っている前浜の砂を滅菌したプラスチックの芯で深さ約15cmまで採取した。

大腸菌濃度は前浜の砂中の最大114,000CFU/g dry sand, 足首の深さの海水の177,000CFU/100mLとなり、これより深い地点では急激に低くなった。また、浜边を観察したところ、海岸線付近に毎週多くのカモメやガンの糞が見られた。浜边や近くの糞便汚染源から集められた大腸菌に抗菌剤耐性解析法と rep-PCR DNA フィンガープリント法を用いたところ、海水サンプルと砂サンプルの大腸菌の大部分は、鳥の糞によるものであることがわかった。さらに、前浜の砂は大腸菌を蓄積する役割も果たしており、再び海水に大腸菌汚染を広げる2次的汚染源となることが示唆された。したがって、人々の健康を守るためには、浜边の波打ち際における大腸菌の生態や生命力を理解し、浜边の管理方法を決めていくことが今後必要である。

(3) 大陸と海洋を渡り歩く細菌と遺伝子：水銀耐性細菌と水銀耐性遺伝子のグローバルな分散

松井 一彰, 成田 勝, 遠藤 銀朗

日本生態学会誌 57, pp390-397 (2007).

レビュー：田中 昭彦

近年、砂塵に付着した細菌は数千キロメートルという距離を超えて移動・拡散している事が明らかになってきた。黄砂のように細菌よりはるかに大きな粒子が数千キロメートルを移動している現実がある。そこで、地球規模で細菌細胞および遺伝子が移動・拡散している事を原核生物の「遺伝子の水平伝播」の性質を利用して世界各地で採取した土壌で調査を行った。

土壌試料は 80℃で 30 分間加熱した後、水銀を含む選択培地を用いて水銀耐性菌を分離し、PCR を用いた方法によって水銀耐性トランスポゾン（ゲノム上で転移できる塩基配列、動く遺伝子）の一種である TnMER11 型トランスポゾンの有無を確認した。その結果、水銀耐性菌として分離した 56 株のうちの 21 株が TnMER11 型のトランスポゾンを持っていた。この結果から、同一のトランスポゾンを持った同属の菌が世界各地に分散していることがわかった。また、TnMER11 型のトランスポゾンを持つ 15 株のうちの 4 株は異なる場所（イタリア・タリメント川、スイス・ライン川、ハワイ・ワイキキビーチ、日本・水俣湾）の菌にもかかわらず、同一の DR 配列（トランスポゾンの転移によりに生じる 5 塩基程度の繰り返し配列）を持っていた。このことから、同じ水銀耐性トランスポゾンを持った同属同種の菌が世界各地に分布していることがわかった。一方で、15 株のうちの 12 株がそれぞれ異なる DR 配列を持っていたことから、細菌間で同一の水銀耐性トランスポゾンが授受され、遺伝子の分散が起こっていることが示された。

第 56 回雑誌会

(July 4, 2007)

(1) AGP 試験と藻類生長阻害試験を用いた下水処理水の河川水質に対する影響評価

山下 尚之, 田中 宏明, 宮島 潔, 鈴木 穰

土木学会論文集, 62, pp191-200 (2006).

レビュー: 金丸 祐加

都市域から排出される下水処理水には、窒素、リンなどの栄養塩類が豊富に含まれるとともに、環境ホルモン物質に代表される様々な化学物質が含まれており、下水処理水の流入による放流先河川水質への影響が懸念される。特に都市河川においては、水量に占める下水処理水の割合が高く、下水処理水流入による河川水質への影響は大きい。本研究では都市河川である多摩川を研究対象とし、河川の富栄養化に対する下水処理水の影響において、マイクロプレートを用いた AGP (Algal Growth Potential) 試験と藻類生長阻害試験を実施した。両者は、それぞれ別々に実施されることが多いが、並行して行うことによって、下水処理水の河川水質への影響について、藻類の増殖促進および藻類の毒性影響という二つの面から評価した。

AGP 試験の結果、多摩川河川水の AGP は、0~163mg/L (乾燥重量: 吸光度を藻類増殖量に換算) の範囲であり、下流側で値が高くなる傾向が見られた。また、多摩川へ流入する支川については、AGP は 0~71mg/L の範囲と低い値であった。一方、下水処理水の AGP は 153~251mg/L の範囲となり、多摩川河川水および支川の AGP と比較して高い値であった。これらのことから、下水処理水の流入は、河川の富栄養化について大きな影響を持つことが示唆された。一方、藻類生長阻害試験の結果では、サンプルの濃縮操作を行わない場合には、下水処理水および河川水について藻類に対する毒性評価は観察されなかった。このことから、下水処理水の河川への流入は、水域に生息する藻類に対して顕著な毒性影響は与えないことが推察された。しかし、多摩川河川水の濃縮サンプルに関して、下水処理水流入後においては毒性影響が見られた。そのため、水域生態系に対する長期的な影響や感受性の高い生物種に対する影響について留意する必要がある。

(2) 阿蘇外輪山北麓杖立川上流域の河川水質の特徴について

松山 洋, 八木 克敏, 中山 大地, 鈴木 啓助

水文・水資源学会誌 19, pp392-400 (2006).

レビュー：川崎雄紀

阿蘇谷西部の難透水層は、地下 200m 付近にあり、これが阿蘇谷から阿蘇外輪山北麓にかけて低下しているとされている。さらに、阿蘇谷西部の地下水や河川水が SO_4^{2-} に富んでいることを考慮すると、阿蘇外輪山北麓のどこかで SO_4^{2-} に富んでいる水が湧出している可能性がある。河川の水質は、集水域の湧水の水質が反映することから、本研究では、阿蘇外輪山北麓斜面を流れる杖立川上流域の河川水について、河川が合流する手前の本流側と支流川で調査を行った。そして、 SO_4^{2-} に富んでいる水が湧出している地点を探すとともに、湯田温泉の起源についても調べた。

現地調査は 45 地点において計 3 回行った。現場では浮遊混濁物を除去するため $0.47\mu\text{m}$ のメンブランフィルターを用いて減圧濾過を行い、同時に、水温や PH, 電気伝導度を測定した。濾過河川水は、実験室に持ち帰り、主要無機イオン濃度 (Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Cl^- , SO_4^{2-} , HCO_3^-) と SiO_2 の濃度を測定した。田野原川では、 Na^+ , Cl^- の値がそれぞれ、 $17.11(\text{mg/l})$, $15.89(\text{mg/l})$ と高く、志賀瀬川でも、 $15.82(\text{mg/l})$, $13.90(\text{mg/l})$ と高かった。湯田川は、 SO_4^{2-} の値が最高で、 $37.28(\text{mg/l})$ とかなり高かった。これらは上流部の温泉から供給されていることがわかった。

SO_4^{2-} に富んでいる湯田温泉の SiO_2 濃度は、 $25\text{--}26(\text{mg/l})$ 阿蘇谷の地下水・河川水の SiO_2 濃度は $50\text{--}70(\text{mg/l})$ なことから、湯田温泉の SiO_2 濃度は明らかに低い。 SO_4^{2-} に富んだ水が阿蘇谷起源ならば、その SiO_2 濃度は阿蘇谷の地下水や河川水の SiO_2 濃度以上になるはずであることを考慮すると、湯田温泉の SO_4^{2-} に富んだ水は、阿蘇谷起源であるとはいえない。

第 57 回雑誌会

(July 11, 2008)

(1)水道原水および浄水のクリプトスポリジウム検査における PCR 法の活用

前田 順子, 宮田 雅典, 阿部 仁一朗, 木俣 勲

用水と廃水 3, 238~245 (2007)

レビュー: 平松 暁紀

クリプトスポリジウムとは, ヒトを含めた多様な動物の消化器官に寄生する原虫であり, おもに, 腹痛や水様下痢などを引き起こす。宿主体外では塩素に強い抵抗性を持つオーシストとして存在し, 少数のオーシストを摂取した場合でも発症する恐れがある。クリプトスポリジウムの検査は, 水道水の安全を確保するうえで極めて重要である。最近では, PCR(Polymerase Chain Reaction)法による病原体の検出・同定が盛んに検討されている。本研究では, 大阪市における水道原水および浄水のクリプトスポリジウム検査に, PCR 法の適用性について検討した。

その結果, PCR で用いるプライマーは原水, 浄水とも LAX A/LAX B プライマーが特異性に優れていると考えられた。そして, 原水 5ml にオーシストを添加後, 密度勾配遠心法と免疫磁気ビーズ法の併用, 浄水 10ml にオーシストを添加後, 免疫磁気ビーズ法による精製後に PCR を行えば, オーシスト 10 個を添加した検体から特異検出が可能であった。さらに, 浄水では 10ml にオーシスト 1 個を添加した検体からでも 4 割が陽性を示した。また, オーシスト 1 個を添加した PCR チューブに, 原水(各 30 μ l)または浄水(各 10ml)の精製したものを加えて PCR を行ったところ, どの検体も陽性を示した。これらのことから, オーシスト 1 個分の DNA からでも検出が可能であることがわかった。PCR 法を用いたクリプトスポリジウム検査は, 利用価値が大きいと考えられる。

(2)ベトナム・マングローブ域に造成されたエビ養殖池の水質環境

大塚 大輔, 松田 義弘, 浅野 哲美

水産工学 41, pp143-152(2004).

レビュー: 福村 剛史

ベトナムでのエビ養殖は、ベトナム最大のマングローブ面積をもつメコンデルタ地帯で盛んである。しかしながら、養殖池の造成に伴って、年間 4600ha のマングローブ樹林が消滅したといわれており、世界規模で生じているエビ養殖などによるマングローブ樹林の減少が懸念されている。本研究では、マングローブとの栽培と魚介類の養殖を組み合わせた複合型エビ養殖池の環境の実態を把握し、さらにその環境形成の機構を明らかにし、複合型養殖池の維持に役立てることを目的とした調査を行った。現地調査は、養殖池 swamp(湿地)のマングローブが皆伐された池(pond1,2,3)と、マングローブが繁茂している池 pond4 を対象とし、水位、水温、塩分、溶存酸素および光量子量を測定した。また、養殖池の周辺において、目視による付着藻類の観察も行った。

養殖池の水位は水門の閉鎖によってコントロールされており、取水や放水に対応して養殖池内の水質が大きく変化した。また、池内の環流水路部分の上層水は日射とともに高温化し、水温成層を形成するが、pond4 のマングローブ swamp では、日中の水温上昇が抑えられた。これは、マングローブの樹冠による遮光効果によるものと考えられ、swamp に繁茂するマングローブの存在は池の水温変動を安定させる働きがある。塩分濃度に関しては、pond4 が常に低かった。これは pond4 が河口から遠い位置にあり、外海との海水交換が十分に行われていないためと考えられる。また、閉鎖期の池内では、夜間は養殖生物の生存に無視できない影響を与えるほどに低酸素化するが、日中には低酸素化を解消する酸素の増大があり、植物プランクトンによる光合成活動が有効であることが分かった。付着藻類については、いずれの池にも見られなかった。しかし、養殖池の外の tidal creek の岸際には若干の紅藻アヤギヌ類や紅藻イソモカ類などが観察された。本調査によって、水質環境の実態が把握された。さらに、ここでの水質環境形成に、水門の開放によって生じる密度流や表面波・内部波など、種々の物理過程が重要な役割をしていることが示唆された。

(3)Development of a sensitive detection system for *Cryptosporidium* in environmental samples

Ramirez, N, E. and Sreevatsan, S.

Veterinary Parasitology, 136, 201-213(2006).

Reviewed by S.Narimatsu

クリプトスポリジウム (*Cryptosporidium*) はオーシスト (oocyst) の状態で存在しており、化学物質や環境の変化に対して強い抵抗を有している。そのため、さまざまな季節での生存が確認されている。ヒトへの主なオーシストの感染経路は経口感染であり、クリプトスポリジウムの種および遺伝子型の同定は、発生源の特定やリスク管理に重要である。しかしながら、サンプルからのオーシストの検出、特に土壌やふん便からの検出は難しく、分離法についての研究報告は少ない。そこで本研究では、クリプトスポリジウムの簡易的かつ高感度な検出法と同定法の発展・開発を目的とした。オーシストの回収法は、塩化ナトリウム (NaCl) 分離法とスクロース分離法の2つで行い比較を行った。サンプルは研究室で飼育している子牛の『ふん便』とローム質土壌の『土』、蒸留した『水』とし、 $10^0 \sim 10^6$ oocyst/g の異なる濃度のクリプトスポリジウムオーシストを植菌して検出した。また、DNA抽出は市販の2つのDNA抽出キットを用いて行った。検出法にはPCR・ハイブリダイゼーション法を、種の同定にはリアルタイムPCR・融解曲線分析法を用いた。また、PCR阻害物質の存在確認のためにIPC (Internal Positive Control) を用いた。

2つの方法でオーシストの回収を行った結果、スクロース分離法で10オーシストから高感度に検出された。また、PCRハイブリダイゼーション法により $10^0 \sim 10^6$ oocyst/gの異なる濃度のオーシストで検出を行った結果、検出限界は、ふん便と土で10オーシスト、水では10オーシスト未満からも検出可能であり高感度であった。IPCはすべてのサンプルにおいて陽性であり、PCR阻害影響は0%であった。各種のクリプトスポリジウムDNAは、リアルタイムPCRで検出を行い、増幅産物による融解曲線分析を行った結果、異なった融解ピークを示し、種の同定が可能であった。本研究でのスクロース回収法、およびリアルタイムPCR検出法を用いることによって、簡易的かつ安価にクリプトスポリジウムの検出が可能であった。

第 58 回雑誌会

(July 18, 2008)

(1) Molecular characterization of low-level vancomycin-resistant enterococci found in coastal water of Thermaikos Gulf, Northern Greece

Zdragas, A., Partheniou, P., Kotzamanidis, C., Psoni, L., Koutita, O., Moraitou, E., Tzanetakis, N. and Yiangou, M.

Water Research 42, 1274-1280 (2008)

Reviewed by T. Furukawa

腸球菌は環境中において生存性が高いため、古くから水環境におけるふん便汚染指標として用いられてきた。その中でも、バンコマイシンやテイコプラニン等のグリコペプチド系抗生物質に対して抵抗を示す腸球菌が、ここ 10 年間に於いて日和見性の病原菌として問題視されている。これまでの研究において、バンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) は、病院廃水の流入水、処理水、および汚泥等から検出されている。したがって、廃水処理場を通して環境中に拡散する可能性があり、同時にほかの菌種への抗生物質の耐性遺伝子が拡散する恐れがある。本研究の調査対象である Thermaikos 湾は北ギリシャの Thessaloniki 市に位置し、下水と産業排水の処理水が流入する湾である。また、農業・畜産排水によって激しく汚染された二つの河川、Axios と Aliakmon も流入するため、高いふん便汚染を受けている湾であることが考えられる。そこで、この沿岸域において海水中の VRE の存在を調査し、さらに腸球菌株の遺伝子型の多様性について解析した。

分離された 141 株のうち、グラム染色、カタラーゼ反応、およびエスクリンの加水分解による検出試験によって、121 株 (85.5%) が腸球菌と判別された。さらに、ApiStrep 試験によって *E. faecium*, 82 株; *E. faecalis*, 16 株; *E. durans*, 11 株; *E. hirae*, 8 株; *E. gallinarum*, 4 株に同定された。バンコマイシン耐性は 8.0 µg/mL 以上の濃度では検出されず、最小抑制濃度 (MIC) は 2-8 µg/mL の範囲であった。バンコマイシン耐性を示した 35 株について PFGE による分析を行ったところ、35 株すべてがそれぞれ異なる遺伝子型を示した。類似性レベルを 57% にすると、33 株が 5 つのクラスターに分類された。以上の結果から、Thermaikos 湾の VRE の菌株は、多様な遺伝子型が存在することがわかった。

(2) Ubiquity and Persistence of Escherichia coli in Midwestern Coastal Stream

Byappanahall, M., Fowler, M., Shively, D., Whitman, R.

Applied and Environmental Microbiology, 69, 4549-4555(2003).

Reviewed by : H. Kawabata

アメリカミシガン州のインディアナ砂丘の滞水砂屑と湿地帯に流れている川の入り江では、河口付近の海水浴場では大腸菌濃度が増加してきている。そこで本研究では、砂丘の入り江における大腸菌汚染源の特定を目的として調査を行った。1999年の6月から11月と2000年の2月から11月の期間において、毎週河川水の大腸菌モニタリングを行い、14地点から合計710本のサンプルを採取した。また、同時に採水地点周辺の底質と土も採取し、それぞれ大腸菌濃度を測定した。

大腸菌の検出数は、河川の底質で最も多く（約 1.8 logMPN/g）、続いて土手の底質（約 1.6 logMPN/g）、泉の周辺の底質（約 1.2 logMPN/g）、河川水（約 1 logMPN/ml）の順となった。砂丘の大腸菌濃度と海水浴場の水中の大腸菌濃度は相互関係（ $r=0.520$ ）が認められた。同様に、河川水と河川の底質、河川水中の底質と波打ち際の底質、波打ち際の底質と波打ち際から 1m の距離にある底質のそれぞれの間にも相互関係が認められた。また、大腸菌濃度は温暖な期間に高くなる傾向があるにもかかわらず、河川水の濃度は冬にも高い値（2月：114±49 CFU/100ml）を示した。これらの結果から、大腸菌は砂丘の入り江流域のいたるところに存在し、水辺の底質中の大腸菌の存在が調査地点周辺の汚染の原因となること、さらに、川に溝をつなげて湿地帯などからの排水量が増加したことも、高い大腸菌濃度が観測された原因であることが示唆された。

第 59 回雑誌会

(Jul 28, 2008)

Physical, chemical and biological characteristics of distinctive regions in paddlewheel aerated shrimp ponds

Delgado,P.C., Avnimelech,Y., McNeil,R., Bratvold,D., Browdy,C.L. and Sandifer,P.
Aquaculture, 217, 235-248 (2003).

Reviewed by Y.Sagisu

現行の集約的エビ養殖では、池岸と平行に配置された車輪式エアレーターによってエアレーションされている。このようなエアレーターの配置により、池岸に沿って比較的速い水流が発生し、その一方で、池の中央部ではとても遅い水流しか発生しない。このような状況では、流れの遅い中央部において汚泥の堆積が起りやすい。また、汚泥によるエビの成長不良、病気および死亡が、比較的水質の良い養殖池でも観察されたことが報告されている。そこで本研究では、車輪式エアレーターで発生した楕円形の水の流れを持つ3つの池（各 0.25ha）において、流速、DO、pH、汚泥、およびエビの分布の測定により、養殖池の空間的な特性を明らかにすることを目的とした。

流速、汚泥、DO、および pH の測定は、トランセクト調査（帯状に測定域を設定し測定を行う手法）を用いて池全体にわたっておこなった。その結果から作成された輪郭図から、池は二つの主要領域を持つことが示唆された。この二つの領域とは、比較的混合と通気がよくされている外域とほぼ流れがなく水がよどんでいる内域である。早朝の内域の DO は、すべての池において外域より著しく低い値となった。その一方で、午後の内域表層水の DO は、外域表層水の約 2 倍～1/2 倍の値となった。この内域表層水の幅広い変化は、内域に対してエアレーションによる水流の影響が微小であることと、影響の変化しやすい光合成と酸素要求量によって引き起こされたと考えられる。また、汚泥と有機物質の堆積量は、内域がより多くなった。さらに、トラップ調査により示されたエビの分布では、外域とくらべ内域で著しく少なくなる結果となった。これらの結果から、池の内域はエビの成長や健康のためにあまり役にはたっていないことが示唆された。

(3)アユおよび水質,堆積物組成からみた高津川の河川環境

程木 義邦, 大林 夏湖, 湊 友宏, 石賀 裕明

島根大学地球資源環境学研究報告, 26, 1-9 (2007).

レビュー: 金丸 祐加

高津川は、島根県西部に位置し益田平野を通過して日本海に注ぐ、幹川流路延長 81Km、流域面積 1,090Km²の一級河川である。最上流部の六日市町付近は谷底平野が広がり、中流域では著しく屈曲した穿入蛇行区間がみられ、高尻川や福川川、匹見川など、本川よりも標高の高い水源をもつ支流が合流する。高津川は、全国的にも清澄な河川として知られ、天然アユがのぼる 100 名川にも選定されている。しかしながら、高津川の水源となる上流域の市街地と観光地である津和野川中流域における人間活動は活発であり、下流河川の環境に影響を及ぼすと考えられる。また、島根県におけるアユの全漁獲量はピーク時の 3 分の 1 程度にまで減少しており、高津川でも同様の傾向がみられることが指摘されている。そこで高津川水系を対象として、化学分析による河川水質の評価、河川堆積物元素組成の分析、付着藻類現存量の評価、アユの消化管内容物組成の分析を行い、現在の河川環境を総合的に評価した。

高津川の全リン濃度と全窒素濃度結果では、上流から中流域において栄養塩濃度の低下がみられた。このことは支流合流による希釈や水生昆虫などのろ過食者による懸濁物の捕集、除去の効果が原因とみられる。下流域では再び全リン濃度が上昇したが、これは観光地を抱える津和野川の流入によるものとみられた。付着藻類現存量は、高津川本川において中流から下流域において低下する傾向がみられた。この現存量の低下は、栄養塩などの水質を反映していることに加えて、アユ等による捕食の影響、渓谷状の地形による付着藻類の光制限の可能性が考えられた。アユの消化管内容物については、ラン藻類の *H.janthina* が多くみられた。また、消化管内容物の元素組成分析結果から、津和野および高津川日原のサンプルで As の値が高く、内容物に含まれる付着藻類に濃縮されている可能性が示唆された。堆積物の元素組成では、高津川水系は一般的な堆積物と比較して、Fe に対して Zn と As が堆積物に濃縮されていると考えられた。

第 60 回雑誌会

(Aug 1, 2008)

(1) Real-Time PCR for Quantification of *Giardia* and *Cryptosporidium* in Environmental Water Samples and Sewage

Guy, R. A., Payment, P., Krull, U. J. and Horgen, P. A.

Applied And Environmental Microbiology, 69, pp.5178-5185 (2003)

Reviewed by T. Suzuki

Giardia と *Cryptosporidium* は胃腸炎の主な原因となる原虫であり、その感染の 90%は飲料水、河川、湖、または遊泳施設など水系感染である。しかしながら、これらの原虫の存在量は非常に少なく検出が困難なことから、検出感度の良い技術が要求される。リアルタイム PCR 法 (qPCR 法) は非常に DNA の検出感度が高く、さらに対象の個体の定量も可能とする技術である。本研究では、環境水中の *Giardia* のシストと *Cryptosporidium* のオーシストを検出するための qPCR 法におけるプライマーとプローブを開発することを目的とした。また、今回の実験では原虫として *Giardia lamblia* (*G. lamblia*) と *Cryptosporidium parvum* (*C. parvum*) を用いて研究をおこなった。

シンプレックス qPCR 法で β -giardin P241 と COWP P702 のプライマー・プローブセットを用いた場合、それぞれ *G. lamblia* と *C. parvum* が高感度で検出された。また、マルチプレックス qPCR 法で *G. lamblia* と *C. parvum* を同時に検出した場合も、シンプレックス法同様に両者とも高感度で検出することができた。これらの DNA は、DNA 抽出の段階におけるサンプルの凍結解凍や超音波処理の操作により、検出感度が高まった。下水のサンプルにおいては、Chelex 100 や PVP 360 を添加したことにより、検出を抑制する細胞間質 (有機物や無機物を含む) が除去され、DNA の検出・定量が可能になった。さらに、qPCR 法と免疫蛍光顕微鏡検査法を用いた DNA の定量値の比較実験を行なった。*G. lamblia* は二つの方法でほぼ同量の検出結果を示したが、*C. parvum* はどちらの方法でも検出されなかった。*Cryptosporidium* は *Giardia* よりもはるかに検出されにくく、時期によって検出感度にばらつきがあることが原因と考えられる。適切な抽出操作やプライマー・プローブの選定によって、qPCR 法を多様な検出に適用することで、*Giardia* と *Cryptosporidium* の分布や存在量の理解への寄与が示唆された。

(2) 三次元励起蛍光スペクトル法による霞ヶ浦湖水及び流域水中 DOM の特性評価

小松 一弘, 今井 章雄, 松重 一夫, 奈良 郁子, 川崎 伸之

水環境学会誌, 31(10), pp.261-267 (2008)

レビュー: 石川 貴之

フミン物質は、生物難分解性であり、溶存態有機物 (DOM) の漸増傾向に関わっていると考えられている。また、フミン物質は、微生物の鉄利用性やトリハロメタンの前駆物質であると言われ、湖沼の水質環境に重要な影響を与えている。そのため、フミン物質を湖沼や河川において連続的にモニタリングするための手法開発が求められている。三次元励起蛍光スペクトル (EEM) 法は、湖水や河川水に含まれる DOM のモニタリングを行う際に有用な方法であり、特に EEM 上の励起/蛍光=340/430nm 付近(ピーク 4)で検出されるピークはフミン様物質由来であるとされているため、フミン物質量を簡便にモニタリングすることができる。しかしながら、ピーク 4 がフミン物質画分のみに由来するかを研究した例はなく、十分な検証がなされていない。そこで本研究では、霞ヶ浦と霞ヶ浦に流入する河川、それらの流域水のうち、下水処理水、し尿処理水、及び生活雑排水について、EEM を作成し、それぞれの試料における特徴を評価した。さらに、XAD 樹脂分画を施して、フミンと非フミンに分画した試料の EEM を作成し、ピーク 4 がフミン画分にのみ存在し非フミン画分には存在しないかを確認した。

各試料の EEM を作成した結果、下水処理水では異なる 5 つのピークが検出され、し尿処理水ではピーク 4 のみが検出された。生活雑排水では、他の試料と異なる領域でピークが検出された。以上のように流域水の種類によって、検出されるピークに違いがあることが確認された。また、湖水、河川水ではすべての試料においてピーク 4 が検出された。次に、XAD 樹脂分画を行った後のフミンと非フミン画分の測定結果から、ピーク 4 の由来物質がどれくらいの割合で含まれるかを計算した。その結果、ピーク 4 の発現は、約 3~5 割が非フミン画分に由来することがわかった。従って、湖水や河川水に限っては、ピーク 4 をフミン様物質由来であると称するのは不適切であることが示唆された。

(3) Confirmation of putative stormwater impact on water quality at a Florida beach by microbial source tracking methods and structure of indicator organism populations

Brownell, M., Harwood, V., Kurz, R., McQuaig, S., Lukasik, S. and Scott, T.
Water Research, 41, 3747-3757(2007).

Reviewed by H.Takahashi

雨水流出は、海水中の指標細菌数の増加を引き起こす。Reeveらの研究(2004年)において、晴天時(6日間雨が降っていない状態)では大腸菌および腸球菌は貯水タンク内で高い濃度で検出され、降雨時に沿岸水域に流出することが観測された。雨水輸送システム内の堆積物は、細菌の生存に有利に働き、*E.coli* と腸球菌種は1週間あるいは月単位で、堆積物中において培養可能な状態で残存する。

本研究では、フロリダビーチの指標細菌数における雨水輸送システムの影響を、マーカーを用いた library-independent MST(microbial source tracking)法と指標細菌の BOX-PCR である library-dependent 法を用いて評価し、水および堆積物中の指標細菌数構造を調査した。降雨の間、ふん便性大腸菌および腸球菌は一定基準濃度を超過し、晴天時では、著しく低い菌数であった。さらに、降雨時および晴天時のすべての状態の下で堆積物中の指標細菌数は高かった。生活排水汚染の影響を調査するため、*E.faecium* の *esp*(Enterococcal surface protein)遺伝子と人間ポリオマウイルスの T 抗原を用いて調査した。その結果、雨水輸送システムは生活排水の影響を受けていないことが示唆された。指標細菌の個体数の多様性は、降雨時において、*E.coli* および腸球菌種ともにさまざまな種類が検出された。これに対し、晴天時には指標細菌間の高い相同性を示した。この結果から、個体数の一部についてだけが2次生息環境に生き残ることが示唆された。