

平成 26 年度 公益財団法人琵琶湖・淀川水質保全機構
水質保全研究成果報告会の報告書

平成 27 年 3 月 5 日（木） 午前 10 時 00 分～

1 琵琶湖・淀川流域の流下に伴う難分解性有機窒素成分の変化に関する研究

独法) 大阪府立環境農林水産総合研究所 相子 伸之 主任研究員

琵琶湖から淀川を経て大阪湾に流入する難分解性有機窒素の流下過程の変化と季節変化を明らかにすることを目的に研究を行った。5 月、7 月、8 月に採水を行った 3 地点の全ての生分解試料から PON と DON が検出され、難分解性有機窒素が含有していることが確認された。DON は流下する過程で同程度～微増が確認された。

- ・ TOC、DOC の測定は行っているのか。
→行っている。
- ・ 生分解性試験で琵琶湖、唐橋は測定しているが、大阪湾の状況はどうであるのか。
→生分解後の結果では大阪湾の内側では琵琶湖と同じような結果が得られた。
→大阪湾の河口付近と岸側は伝法大橋とほとんど変わらない値であった。
→大阪湾の中央部では 0.1～0.2mg/L といった非常に低い値で、その中に含まれる難分解性有機窒素が半分くらいである。
- ・ 3 次元蛍光スペクトルの Peak4～6 は溶存有機物と相関があるということだが、Peak1～3 は何と対応していると考えなのか。
→今の段階では考察段階であるが、炭素との相関がある部分が Peak1～3 にあたるのではないかと考えている。
- ・ 3 次元蛍光スペクトルでの炭素とのデータの関係はどうなっているのか。
→まだ解析段階である。

2 ポータブル・マイクロ流路システムを用いた湖沼・河川環境中の病原微生物のリアルタイム・オンサイト・モニタリング

大阪大学薬学研究科 山口 進康 准教授

マイクロ流路デバイスを用いた病原微生物数の迅速・簡単・高精度なモニタリングを行うためのシステムを構築し、その動態把握を行った。その結果、蛍光活性染色剤の濃度やデバイスのデザインを改良したことにより、on-chip 染色による活性を持つ細菌数測定および全細菌数測定が可能になった。またこのシステムを使用し水環境で測定を行うと 1 時間以内に結果が得られた。

- ・ 全細菌数で測定を行っているが、ある種特定の細菌の測定は可能なのか。
→条件を改良したりすれば測定は可能ではないかと考える。
- ・ 環境水の場合では細菌の濃度が違う（細菌濃度が低いなど）場合でも応用は可能なのか。
→河川水を希釈することで検討を行った。その希釈した状態（細菌数が少ない状態）で

も違いがないことが確認できている。

- 蛍光顕微鏡と比較した際に、このデバイスで測定した値の方が小さくなっている理由。
→感度的な問題ではないかと思われる。現在使用しているものよりも高感度のカメラを使用すれば微弱なものでも検出でき、値も大きくなると考える。
- 速さはどれくらいなのか。
→流速 0.05~0.1 μ l/min ぐらいの速さで送液を行っている。
- 実際に現場に持っていた時には、どれくらいのサンプル量を用いれば検出できるのか。
→サンプル量では分からないが、ターゲットとなる細菌が 10^4 セル/ml あれば検出することは可能である。これ以下の値ならば現場で濃縮作業を行い、検出限界を超えるとモニタリングすることが可能になる。

3 淀川流域河川水からの寄生原虫の検出及び検査法の改良の取り組み

大阪府立大学大学院 生命環境科学研究科 大西 義博 准教授

近年、日本では赤痢アメーバ症が増加傾向にあるが、赤痢アメーバ原虫のシストによる原水汚染の実態調査はほとんど行われていないため実態調査を行った。また調査にあたっては検査法の改良も試みた。その結果 1 検体でクリプトスポリジウムのオーシストが検出された。ジアルジアに関しては検出されなかった。

- 今回の報告でクリプトスポリジウムの原虫は見つからなかったが、オーシストが見つかったということは、それが孵化して環境水中にでてくる可能性があるのか。
→検水中にクリプトスポリジウムのオーシストが含まれていた可能性は高い。追加実験で確認を行う。
- 上記をふまえて、現段階ではオーシストが含まれていたとは言えないのか。
→含まれていた可能性が高く、追加実験で確認を行う。追加実験としてもう一度 PCR にかけて増幅させることと、もう一つはクリプトスポリジウムにも様々な種類があり、その配列を調べる。これに関しては報告書提出までに確認を行う。
- 濃縮液を顕微鏡で数えているのか。数えているなら顕微鏡でも見つけることはできないのか。
→数えている。しかし紛らわしいものがあるため分からなかった。蛍光抗体法で 7~8 検体調べたが、これに関しても紛らわしいものがあるため現在、解析を行っている。
- この時の濃縮液は 40L のものであるか。
→ジーズ法で集めた 20L のものを使用している。

4 淀川流域における感染性病原微生物の実態把握と遊泳等による感染リスク推定モデルの構築京都大学大学院 工学研究科 浅田 安廣 助教

感染性病原微生物の存在量調査と水浴を想定した病原微生物感染リスクの推定を目的に調査を行った。その結果、各河川で感染性 *C. jejuni*、アデノウイルスが確認された。水浴を想定した感染確率を推定した結果、アデノウイルスでは濃度が高い場合 1 回の水浴で 100%

感染することが確認され、1000 人に 1 人のレベルまで感染確率を低くするためには最大で $6\log_{10}$ のウイルス制御が必要であることが分かった。

・淀川水系で病原性微生物を測定したデータと他の河川で測定されたデータで違いはあるか。

→カンピロバクターでは他の河川で測定したデータはない。1970 年代に神奈川県あたりの小河川で測定されたことはあるが、このころは下水処理場も普及していなかったため高い濃度で検出された。また海外の文献（イギリス）では 1L あたり 1~10 あたりの濃度が検出された事例が報告されている。

アデノウイルスでは感染性で測定した事例はない。ゲノムコピーでは同じくらいの濃度である。

・アデノウイルスは 1 回水浴すると、感染するということなのか。

→夏でも高い濃度の時に水浴すれば感染確率は 100% である。しかし感染したからといって発症するとは限らない。

・季節性はあるのか。

→アデノウイルスには季節性はないと言われている。カンピロバクターは夏季と冬季で濃度が高いことが確認されている。夏季は食中毒の影響が大きく、冬季は食肉処理場の影響が大きいのではないかとということが指摘されている。

・なぜ食肉処理場の影響がでてくるのか。

→カンピロバクターを専門としている衛生の方に伺ったところ、ちょうどその時期に鳥を加工する時期をかぶると聞いた。そのためこのような要因が出てきているのではないかと考える。

5 代謝物を含めた河川環境中に残留する医薬品成分の包括的な汚染実態評価
大阪薬科大学薬学部 東 剛志 助手

下水、河川水を対象に医薬品成分とその関連代謝物を対象とした高感度な同時分析法を開発し、人口密集地域を流れる都市河川における存在実態と挙動の把握を目的に研究を行った。その結果、ラボスケールでの室内バッチ実験では、河川環境中での脱抱合反応に伴い、流下過程で薬効を有する医薬品成分が新たに生成するものが存在していることが明らかになった。

・こういった物質は生物にどのような影響を与えるのかという研究事例はあるのか。

→代謝物についての生態毒性評価の事例はない。今後調査していく必要があると考えている。

・LC/MS/MS での測定を行う時の条件は。

→カラムは C18 タイプ。移動相はメタノール 0.1% ギ酸などを使用した。

・オゾン処理を行った時に新たにできた代謝物は、通常のオゾン処理を行っているときよく生成されるものなのか。

→オゾン処理の副生成物については構造を決定して定量化するのが難しい。海外では研究例はあるが、出てくるということとどれくらい出てくるかというのは別なので現在のところハッキリとは分かっていない。しかし瞬間的に生成することは分かっている。

6 3D固相濃縮を用いるPPCP微量分析法の確立と迅速・自動水質モニタリングへの展開

京都府立大学大学院 生命環境科学研究科 細矢 憲 教授

トラッピング層を構築し、疑似親水性相互作用分離層を創出し、多次元メカニズム分子鋳型を構築することを目的に調査を行った。その結果、河川水等の試料をその場で減体積することができ、動力を使用しない濃縮が可能となった。

・この研究の目的は出来るだけ多くの物質をカラムで捕まえようとするものなのか、特殊な選択的に濃縮できるようなカラムを目指したのか、どちらであるのか。

→選択的に濃縮できるカラムを目指した。

ただし、分子鋳型で選択的に捕まえたとしても、環境水で実験を行うので強い有機溶媒を用いた洗浄の過程を入れないといけない。その時にせっかく捕まえた物質が強い有機溶媒の洗浄で流れ出ていってしまう。そのために表層でとらえることのできる層が無いと、仮に選択的なものであったとしてもそこでとどまらせることができない。そのために層をいれた。

また、極性の高いものからひっぱってくるので回収率を上げるために、ある表面にイオン性のものをトラップできる層をもってこないといくら選択性があったとしても、そこまで到達しない。

一見多くのものを捕まえているように見えても、選択性を上げるためには表面の層は必要である。

・ある特定の物質を捕まえるときに、疑似のもので鋳型をつくるが、その疑似的なものは目的とした化学物質たいして簡単に作成できるのか。

→化合物を3Dで表示して、分子計算できるようなメカニズムで距離を測り、それよりも少しだけ長い距離をもったものを合成してつくる。

またダイレクト使用するとポリマーのマトリックスの中にそれが入り込み、どんなに洗浄したとしても分析で出てきてしまい分析の濃度をあげてしまう欠点がある。そのため疑似型は必須のものだと考える。

7 下水中の医薬品類の生理活性に関する研究

京都大学大学院工学研究科 附属流域圏総合環境質研究センター 井原 賢 研究員

TGF α shedding assay を適用して下水処理場放流水および放流先河川における医薬品の生理活性の有無、程度を調べることを目的とした。その結果 TGF α shedding assay によって下水から受容体特異的な活性が検出された。また下水処理場放流水の放流河川からも活性を検出、上流部に比べて下流部で高い結果となった。

・アンタゴニストが多いとアゴニストは全て遮蔽されるのか。そうならばそれを防ぐ方法はないのか。

→固相抽出の段階で分画を行えば防げるのではないかと考える。

8 琵琶湖固有魚種ホンモロコの in vitro 精子分化系を用いた化学物質の影響解析
立命館大学薬学部 高田 達之 教授

外因性内分泌攪乱物質による琵琶湖の汚染によるホンモロコなど固有魚の生殖機能への影響を調査した。本研究ではホンモロコ in vitro 精子分化培養系を用いてニトロフェノールがホンモロコの精子形成に与える影響を解明し、琵琶湖・淀川水系の水質の安全基準を設定することを試みた。その結果、in vitro 精子分化系において精原細胞から精子への分化には約 16 日間かかることが分かった。また精原細胞が大きな割合を占める非繁殖期の精巢細胞でのみニトロフェノールの影響が認められた。

・精子分化阻害はホンモロコでは確認されているのか。

→固有種での個体レベルでの実験はされていない。

・分化のスピードが速くなるのが、ホンモロコの繁殖に与える影響はどのようなものがあるのか。

→よくわからない。

・特に非繁殖期の時に影響がでるのか。

→非繁殖期から精子をつくる時期に影響があるのではないかと考える。

精子の in vitro の分化系の時に存在すると一見はやく精子がでてくるように見える現象と、ニトロフェノールが固有種の細胞レベルでの影響では 11-ケトテストステロンを抑制する現象がある。細胞レベルと細胞から精子ができる実験の 2 つを行っており、これら 2 つをどのように結びつけるのかを今後、考える必要があると考えている。

・精原細胞から精子がつけられるまでに 16 日間かかるが、これが非繁殖期に影響しているとは考えにくのではないか。

→16 日間はあくまでも実験室内で最適な条件下で分化させたことであって、自然界ではもっと時間がかかり曝露される時間は自然界の方が長い。今回の実験では短い時間の中での影響がどのようなものであるかをみてきた。

9 現地調査と数理モデルとに基づく河川流下過程における化学物質と病原微生物の減衰に関する研究

京都大学大学院工学研究科 附属流域圏総合環境質研究センター 花本 征也 研究員

底質に含有される医薬品類の分析手法の構築、医薬品類の河川水と底質中の存在実態の把握、医薬品類の河川水と底質の平衡到達度合の把握を目的に調査を行った。その結果、医薬品類 27 物質について底質含有分が精度高く分析可能となった。また、医薬品類の存在実態は地点、タイミングに関わらず概ね中央値の 0.5~2.0 倍の範囲内に含まれていた。吸

着性の高い医薬品類は河川流下過程において河川水から底質に移行するポテンシャルが高いことが分かった。

・平衡定数が高くなる理由は。

→雨天時の影響が大きいと考える。雨の日には上流から土砂やSSが運ばれてくるので。

・2日間置いている影響はあるのか。

→予備実験を行っているのでこの2日間の変化は河川水から底質への移行したものだと考えている。

・平衡到達度が低いのは河川水の濃度が一定で、平衡に達していたからであったという認識でいいのか。

→合っている。

・河川水濃度に変動（河川水濃度が高い状態）があれば、調査のような状態になることがあると思われるが、そこはどのように考えているか。

→これまでの研究をとおして河川水で短い時間で大きな変動はないと考える。

・2日で平衡に達するという仮定で実験を行っているのであれば日オーダーで変動があつて、それが反映される。それが調査日の時に、日オーダーの変動の中で水質濃度が高い時に採水を行ったので、実験のような現象があつたのではないか。

→ラボ実験で2日間で平衡達することは確認している。しかし現場でも2日間で平衡に達するかというと、時間はもう少しかかると思う。

・今回の調査（2回）で判断するのはどうか。

→条件を変えた実験を10回くらい行っており、その結果も今回と似たような傾向を示していた。

・今後、モデルを作る時に底質での化学的変化、生物学的変化をどのように組み込んでいくのか。

→まずは桂川でのモデルづくりを行う。

10 硫黄K吸収端のXANES分析法による底質環境評価法の確立

関西医科大学医学部 楠本 邦子 准教授

底質の酸化還元状態の評価法の確立を目的に実験を行った。その結果、好気条件と嫌気条件で保管した底質を解析したところ、好気状態と嫌気状態のスペクトルの特徴を得ることができた。

・底質の酸化還元状態を知りたいのは、いくつかの現象（マンガンの溶出、鉄の溶出、リンの溶出、硫化水素の発生、生物環境としてのシストが存在するかどうか）を知りたいからで、これは酸化還元電位で比較することが出来る。この研究でも同じことが出来るのか。

→ミクロな硫黄の変化を知ることは、これまでのデータではなかったことなので硫黄の変化を理解できる。しかしまだまだ検討しないといけないことがあるため、時間がかかる。

- なぜ、この調査地点を選んだのか。
 - 1つは人工的な湖岸を選び、もう一つは気象条件によりその場所でしか調査出来なかった。
- 人口的な湖岸における硫黄の特性は。
 - 還元性がきついことと、パーライトのちがひ。
- 硫黄酸化細菌は水深が深い場所と浅い場所では種類は違うが確認したか。
 - 培養したら細菌をみることは出来たが、目視では確認することは出来なかった。
- 調査する場合は水深の深い場所（水深 90m ぐらい）で行う方がいいと考える。