



水質保全研究助成の成果のまとめ (平成 29年度～令和 2年度)

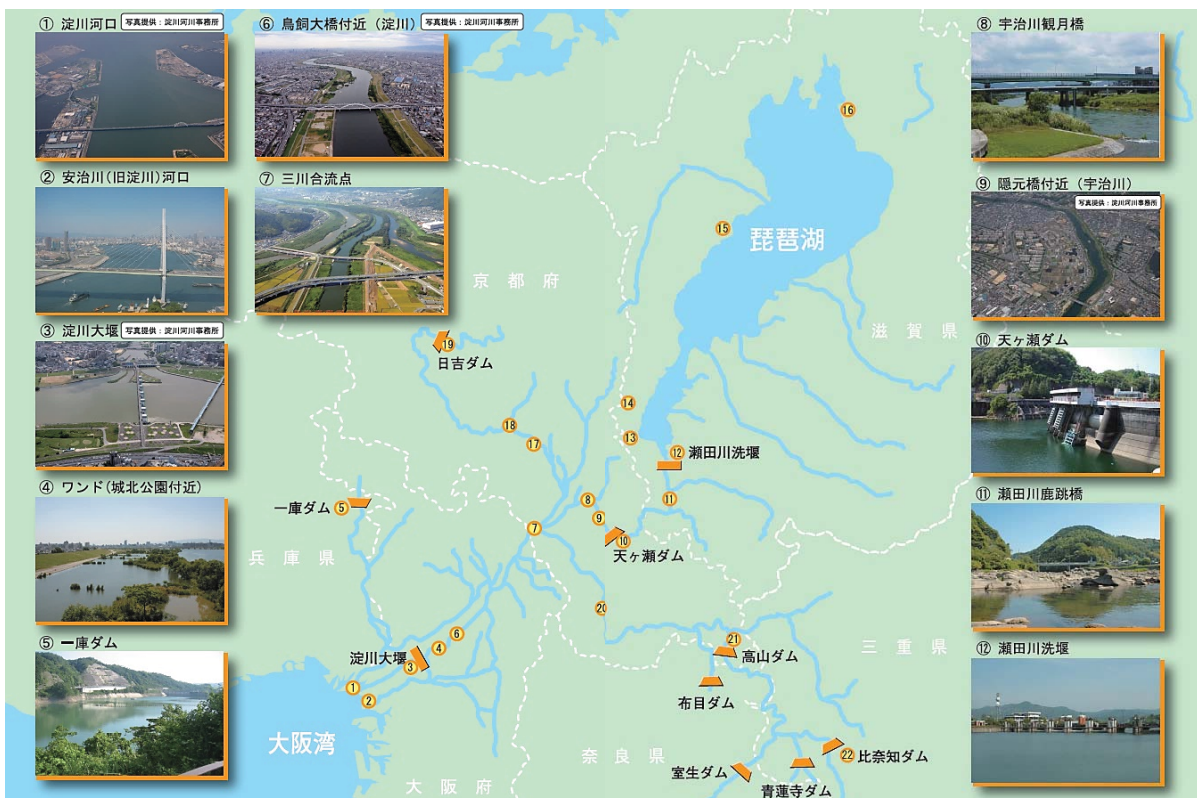
(公財)琵琶湖・淀川水質保全機構 琵琶湖・淀川水質浄化研究所
調査研究部 研究員

類家 翔

1. 平成28年度までの助成テーマの概要
2. 新たな富栄養化の課題・視点や異臭味の発生に関する調査研究
3. 安全で安心な水のための健康リスクに関する調査研究①～⑧
4. 流域水環境管理のための水質指標に関する調査研究①～③
5. 助成テーマから見る水質保全課題の変遷①～②
6. 総括

琵琶湖・淀川流域

多府県にまたがっており、問題が広範囲に広がる



※BYQ水環境レポート(令和元年度)より引用

1. 平成28年度までの助成テーマの概要

- 地球温暖化の水質への影響
- 難分解性有機物質(流域内動態等)
- 難分解性有機汚染物質(POPs)
- 医薬品および日用化学品(PPCPs)
- 病原微生物
- 環境基準(水生生物保全項目)と内分泌かく乱化学物質(環境ホルモン)
- 琵琶湖の底質環境
- ノンポイント汚濁
- 新規的下水・排水処理技術 等々

地球温暖化による硝酸性窒素負荷の上昇、難分解性有機物の測定法や挙動の解明、医薬品類・難分解性有機汚染物質・病原微生物・内分泌かく乱物質等の測定法の確立および琵琶湖・淀川水系における存在濃度等の実態、それらの影響や挙動メカニズム等が明らかにされた。また、大気降下物や交通によるノンポイント汚濁負荷等も提示され、難分解性有機物の除去に効果的なオゾン／過酸化水素処理や触媒分解法といった新しい水処理法も検討されており、今後の関連する環境施策の推進に資する情報や知見が示された。

平成29年度以降について

- 新たな富栄養化の課題・視点や異臭味の発生に関する調査研究
- 安全で安心な水のための健康リスクに関する調査研究
- 流域水環境管理のための水質指標に関する調査研究

2. 新たな富栄養化の課題・視点や異臭味の発生に関する調査研究

『湖沼における細菌由来溶存有機物の寄与：

鏡像異性体バイオマーカーを用いた定量法の確立』

琵琶湖環境科学研究センター 山口 保彦 (H30-H31(R1))

《背景》

琵琶湖では過去数十年間、BODや栄養塩類濃度は減少傾向にある一方、CODは高止まりしている。この原因として、難分解性有機物(難分解性DOC)の蓄積が考えられる。現在、海洋では細菌による難分解性DOCの生産(微生物炭素ポンプ)が重要視されており、湖沼等の陸域環境においても影響が予想される。しかし、現状では分析方法の検討も含め、データが少ない。

《目的》

琵琶湖を対象に、DOC生産における細菌寄与度の測定方法の改良および実際の寄与度の推定

《成果》

初年度は、細菌のD-アミノ酸生産に関する性質を利用してGC-MSを用いたD-アミノ酸分析に関する諸条件が最適化され、分析方法が確立された。また、琵琶湖北湖では深層の難分解性DOCのうち、30-40 %が細菌由来であると推定され、微生物炭素ポンプによる影響の大きさが示唆された。

次年度は、細菌由来DOMの生分解や流入河川を經由した琵琶湖への流入の影響について検討がなされ、細菌由来DOMは湖水DOM全体と比較して生分解性が高く、細菌による放出と分解を介したDOMの再利用が活発に起きていることが示唆された。一方、流入河川水DOMは湖水中の難分解性成分に寄与している可能性が示唆された。

3. 流域水環境管理のための水質指標に関する調査研究①

『琵琶湖・淀川水系における環境汚染物質ビスフェノールAの溶存量と
脳神経系に対する影響の相関的比較研究』
関西大学化学生命工学部 下家 浩二 氏 (H29)

《背景》

内分泌攪乱物質（環境ホルモン）による汚染は、特に生殖細胞や組織に作用する内
性ホルモンの機能の阻害を引き起こすことが知られている。中でも、難分解性で水溶性の
ビスフェノールA(BPA)は、食品缶詰内面の防蝕塗料やポリカーボネート製の食器・容器
等の原料として日常製品に幅広く利用されているが、生殖組織などへの影響に関する既
往報告が多い。一方、他の動物実験よりBPA暴露による胎児期における神経系への影響
が懸念されているため、大脳皮質神経細胞に対する影響も懸念される。

《目的》

BPAの大脳皮質神経細胞に与える形態的変化および分子機構の解析によるBPAの
新たな影響の解明

《成果》

先行研究結果と同様、BPAがモデル神経細胞の細胞死を誘発することが示された。ま
た、形態的変化の解析から、BPAは大脳皮質神経細胞に対して軸索伸長抑制作用を有
することが分かった。更に、分子マーカーの変動の結果も合わせると、BPAは神経細胞の
成熟化へ向かう発達を抑制することが明らかとなった。この抑制作用における細胞内機構
について検討したところ、成熟神経細胞への分化抑制に関与する遺伝子発現の影響が示
唆された。

3. 流域水環境管理のための水質指標に関する調査研究②

『琵琶湖における微生物群集の増殖解析』
京都大学大学院工学研究科 日下部 武敏 (H29～H30)

《背景》

湖沼は閉鎖性が高く、富栄養化や汚濁・汚染の影響が長期に亘り継続するため、水質
改善には多大な時間とコストが必要となる。琵琶湖のように大きく深い湖の水質形成メカ
ニズムは複雑であり、不明な点が多い。特に、生物間相互作用における微生物ループ、
微生物炭素ポンプおよびウイルスの関与の解明は極めて重要であるが、それには水環
境中での増殖活性を正しく評価する必要がある。評価手法としては細胞内における新規
DNAの合成を指標とするチミジン法やBrdU法が挙げられるが、これらは放射性同位体の
使用や細胞変性を伴う前処理等の課題が存在する。

《目的》

EdU(5-Ethynyl-2'-deoxyuridine)を用いた微生物の群集レベルおよび細胞レベ
ルでの増殖解析手法の開発

《成果》

初年度は分析に必要なEdU濃度と培養時間の検討を行った。また、使用するメンブレン等
の素材の影響も明らかとなった。その結果、新規DNA合成量を指標とする細菌増殖活性の
検出、定量が可能となり、琵琶湖北湖の細菌炭素生産速度も大まかに推定された。

次年度は検出時の蛍光量から新規DNA合成量を算出し、種々の既往値を考慮して琵琶湖
北湖の細菌群集の増殖活性を評価した。その結果、年間細菌二次生産量は 80.9 ug-
C/L/year と推定された。今後はセルソーターや次世代シーケンサーを活用することで、難
分解性溶存有機物の生産を担う細菌種の究明が期待される。

3. 流域水環境管理のための水質指標に関する調査研究③

『琵琶湖底質-湖水間における溶存有機物生産機能の新規評価法の検討』
京都工芸繊維大学 布施 泰朗 (R2)

《背景》

琵琶湖の底層は近年、北湖で全層循環が確認されなかった等、長期間にわたって低酸素状態が継続している。この影響により、底質から溶出されやすいとされるマンガンの底層での濃度上昇、栄養塩類(全りん)等の増加、水深 85 m以深のみでの砒素の検出等が報告されている。また、全層循環が確認されなかった年は底層水温が高いまま春を迎えているため、底質有機物の分解の速度へ影響等、温度上昇と底層 DO の低下が底質湖水間の物質循環に何らかの影響を及ぼすことが推測される。

《目的》

琵琶湖北湖の底質からの化学物質の溶出等に与えるDOや水温等の影響の解明

《成果》

2019年6月～2020年7月まで4回、琵琶湖北湖の湖水および底質コアを採取し、各試料に対して1か月半～2か月のカラム実験をインキュベーター内で行った。窒素・酸素・二酸化炭素ガスにより pH を 7 に調整しつつ、DO を 0・1.0・2.6 mg/Lに制御した。温度は基本的に 7 °Cで制御したが、4回目の採取試料は温度変化の影響も解析するために10 °Cとした。

結果として、底質から供給(回帰)される溶存有機物(DOM)は、現在の水温上昇では深刻な影響を与えず、DOMの溶出挙動は底質表面状態(沈降粒子)による影響を受けることが分かった。また、EGA分析法により底質中有機物の変化を捕える手がかりが得られた。懸濁態粒子中リンの挙動についてはWD-XRF分析法による迅速定量法が提案され、クロロフィル aおよび他成分も組み合わせた起源解析法も提案された。

4. 安全で安心な水のための健康リスクに関する調査研究①

『淀川水系に棲息する自由生活性アメーバを宿主とするレジオネラ属菌に関する研究』
『淀川水系に生息するレジオネラ属菌と宿主となる自由生活性アメーバに関する研究』
独法) 大阪健康安全基盤研究所 枝川 亜希子 (H29-H30)

《背景》

近年、水道水系においてレジオネラ属細菌が原因の呼吸器感染症が問題化している。しかし、水道関連の検査項目にレジオネラ属は含まれておらず、通常の培養法では増殖しない等の課題が存在する。また、環境中に広く生息する自由生活性アメーバは病原細菌類の増殖に関与するが、生息状況に関する知見は非常に少ない。

《目的》

淀川水系を対象としたレジオネラおよびその宿主となるアメーバ、アメーバを宿主とするレジオネラの分布実態の解明

《成果》

初年度は、淀川試料について検討したところ、レジオネラは培養法で検出されなかったが、リアルタイムPCR法ではすべての試料が陽性となった。よって、検出法により検出感度が異なることが分かった。また、かつPCR法では死菌等の影響も含まれる等、課題が見いだされた。更に、アメーバが生息すると、レジオネラも多くなる傾向が見られた。アメーバは62.5 %が陽性となり、レジオネラの宿主となる種も複数検出された。

次年度は、前年度の課題に対して、アメーバ共培養法を行ったところ、培養法で不検出の試料において、アメーバ内でのみ増殖生息することができるレジオネラ培養不能菌種が存在することが明らかとなった。また、昨年度に検出されたアメーバを詳細に検討した結果、人に角膜潰瘍炎を引き起こす原因となる *Acanthamoeba lenticulate* であった。

4. 安全で安心な水のための健康リスクに関する調査研究②

『淀川流域におけるアデノウイルス血清型の網羅的探索
に基づいた水系感染による健康影響の推定』

京都大学大学院工学研究科 都市衛生工学分野 浅田 安廣 (H29)

《背景》

淀川水系には下水処理施設と浄水処理施設が混在しており、放流された下水処理水が水道原水に混入している。よって、下水由来の多くの病原微生物が高濃度で存在している可能性があり、水遊び・遊泳・飲用等に与える微生物学的な安全性評価が必要である。

H28年度助成において、淀川水系にはアデノウイルスF群が恒常的に高濃度で存在していた。アデノウイルスは浄水処理への耐性を有しており、血清型ごとにヒトへの健康影響が異なるため、その存在実態の把握とリスク評価が必要である。

《目的》

淀川水系を対象とした、アデノウイルス血清型の存在実態の解明および水道水飲用を想定した健康成果目標達成に必要な処理の検討

《成果》

次世代シーケンサーによる分析法を検討し、前処理方法を確立した。また、その分析法により、淀川水系ではアデノウイルスC群(呼吸器感染症・咽頭結膜熱(プール熱))、D群(流行性角結膜炎)、F群(胃腸炎)およびG群(胃腸炎)の存在が確認されたが、他の血清型と比較してF群が高頻度に検出された。これらアデノウイルスに対して塩素消毒の効果は示されているが、極めて安全に配慮した条件において健康成果目標に基づく要求処理能を推定したところ、安全性確保のためにはオゾン処理、促進酸化処理等が必要になる可能性が示された。

4. 安全で安心な水のための健康リスクに関する調査研究③

『全有機ハロゲン化合物の水環境中における存在実態調査と
淡水藻類を用いた生態リスク評価』

京都大学大学院地球環境学堂 鈴木 裕識 (H29)

《背景》

有機フッ素化合物においてPFOSやPFOA等のペルフルオロ化合物類(PFCs)は水環境中に幅広く存在するが、難分解性・高蓄積性・毒性等の面から、U.S.EPAは2016年に新たな指針を示した。しかし、PFCsには前駆体が存在しており、更にPFCs以外の有機フッ素化合物類の存在も報告されている。H28年度助成では全有機ハロゲン(TOX)分析手法を用いた全有機フッ素化合物類(TOF)の分析手法の開発を行い、琵琶湖・淀川流域を調査した結果、PFCs以外の有機フッ素化合物はPFCsの約10倍存在していることが確認された。よって、これらPFCs以外の有機フッ素化合物等に関する詳細な検討が必要であった。

《目的》

琵琶湖・淀川水系におけるPFCs以外の有機フッ素化合物等の全有機ハロゲン化合物に着目した実態およびムレミカヅキモを用いた生態リスク影響の解明

《成果》

水中の様々な有機ハロゲン化合物の実態が明らかになり、PFOS・PFOAについては減少傾向にあった。一方、有機フッ素化合物の内、PFCs以外のものの存在割合が高く、未知の有機ハロゲン化合物等の存在が示唆された。

生態リスクについては個別の化合物の各々の検証は極めて困難なため、WET法(Whole effluent toxicity)としてムレミカヅキモを用いて生長阻害試験を行ったところ、河川水では生長阻害が確認され、特にハロゲン化された物質は元物質と比較して生長阻害率が高い傾向が認められた。

4. 安全で安心な水のための健康リスクに関する調査研究④

『水道水源における消毒副生成物前駆物質の特定と生成特性の把握』

京都大学大学院工学研究科 小坂 浩司 (H30)

《背景》

日本の浄水処理工程で行われる塩素処理は衛生的安全性の確保において極めて重要であるが、反面、トリハロメタン類やハロ酢酸等の発がん性が指摘される副生成物を生ずることも知られている。この中で、ハロ酢酸についてはH27年に水道水質基準値が強化されたが、その中でもトリクロロ酢酸(TCAA)は基準値が厳しくなり、多くの水道事業者はTCAA副生成の抑制に苦慮している。さらに、植物プランクトンの中でも広く環境中に存在するラフィド藻類が多い水域では、TCAA等のハロ酢酸生成能が高くなることが明らかとなってきた。つまり、ラフィド藻類がハロ酢酸生成の原因物質を生産している可能性が考えられるが、その原因物質は未解明である。

《目的》

ラフィド藻類に由来する未知のTCAA前駆物質の特定

《成果》

ラフィド藻類発生時のダム湖水を検討した結果、極めて親水性の高い物質のTCAA生成能が最も高いことが分かった。そこで、親水性物質を分析可能なHILICカラムを用いてより詳細な検討を行ったところ、前駆物質は単一の物質あるいは類似の物理化学的性質を持つ複数の物質であること、TCAA生成能が高い化合物群には芳香族化合物が存在すること、それらの化合物がカルボキシル基(-COOH)等を持つがアミノ基(-NH₂)等を持たないこと等が推定された。以上より、完全な特定には至らなかったが、フェノール類かつカルボキシル基等を有している物質、元素組成としてC₆H₃F₆N₄O₄Pの化合物と推定された。

4. 安全で安心な水のための健康リスクに関する調査研究⑤

『消毒副生成物前駆体としての琵琶湖・淀川水系における

超親水性溶存有機物の存在実態』

京都大学大学院工学研究科 越後 信哉 (H31 (R1))

《背景》

日本の浄水処理における塩素消毒に由来する副生成物の中で、ハロ酢酸(HAAs)はトリハロメタンに次いで検出頻度・濃度が高い。しかし、生成機構・前駆体物質についての情報が少ないというのが現状である。また、H27年の水道水質基準値引き下げにより、HAAs管理の重要性が改めて浮き彫りとなった。HAAsの中でも、大幅な基準値の引き下げが行われたトリクロロ酢酸(TCAA)については、過去の研究より非常に親水性の高い化合物が極めて高いTCAA生成能を有することが分かったため、より詳細な検討が必要である。

《目的》

環境水中の非常に親水性が高い溶存有機物(超親水性溶存有機物:超親水性DOMs)の特性の解明

《成果》

琵琶湖・淀川水系の試料を対象に検討したところ、超親水性DOMsの量は全DOMs中約20%程度であり、季節変動は認められなかった。また、この超親水性DOMsについて、特性が既知の複数の化合物との比較を行ったところ、窒素、硫黄、リン原子を有する可能性が示唆された。また、これらの原子は官能基に由来していたため、幾つかの固相抽出を用いて酸性官能基を有するものと塩基性官能基を有するものに分離して分析を行ったところ、両性物質である可能性等が示唆された。

4. 安全で安心な水のための健康リスクに関する調査研究⑥

『臨床領域で対策が求められている薬剤耐性菌の河川環境中における動態』
大阪薬科大学大学院薬学研究科 東 剛志 (H31 (R1))

《背景》

近年、琵琶湖・淀川水系をはじめ、**薬剤耐性菌に起因する水環境汚染が問題化しており、実態の把握および適切な水処理技術の開発が求められている**。しかし、水環境中の薬剤耐性菌の実態や挙動については未だ知見が限られており、不明な点も多い。

《目的》

淀川水系の人口が集中する都市河川における**薬剤耐性菌の存在実態および太陽光による光照射実験を基にした河川流下過程における不活化効果の評価**

《成果》

淀川試料について検討したところ、**河川および排水中から各種薬剤耐性菌が検出された**。下水処理場流入水についても分析したところ、存在する**薬剤耐性菌については水処理工程で大部分が消毒・不活化されていることが分かったが、一部は河川に放流される傾向にあった**。また、**オゾン処理等の高度処理が対策技術として効果的であること**、水環境中に存在する**薬剤耐性菌については太陽光による不活化効果の寄与が大きく、その要因として紫外線領域の波長の光が不活化に効果的であることが明らかになった**。

4. 安全で安心な水のための健康リスクに関する調査研究⑦

『淀川流域における残留移動性有機化合物ジフェニルグアニジン (DPG) の存在実態－環境水中DPG分析法の確立と濃度分布の把握』
大阪市立環境科学研究センター 市原 真紀子 (R2)

《背景》

近年、**環境中への残留性や高極性により上水・下水除去が困難であるという点から、残留移動性有機化合物(PMOCs)が注目されている**。中でも**ジフェニルグアニジン(DPG)はタイヤ等のゴム製品に用いられる加硫促進剤として広く用いられているが、難分解性かつ水生生物に対する急性毒性も報告されており、環境水中における存在実態の把握が急務である**。しかしながら、**環境水試料を対象としたDPG測定法は未確立である**。

《目的》

淀川流域のDPG濃度分布の把握に向けた環境水試料中のDPG測定法の確立

《成果》

検討の結果、**液体クロマトグラフィーの分離カラムには親水性相互作用カラムであるHILICカラムが有効なこと、前処理手法にはミックスモード系の逆相-弱陽イオン交換系カラム(Oasis-WCX-Plus、Waters)が有効なこと、DPG以外のグアニジン系化合物も同時に分析する場合はシアノグアニジン(CG)用として活性炭系カラム (Sep-Pak AC2 Plus、Waters) が有効なこと、クリーンアップ操作は回収率の低下を引き起こすこと、分析用超純水はメーカーによってはCGが混入している場合があること等が明らかとなった**。また、暫定的調査として淀川水系試料を分析したところ、**全試料からDPGとCGが検出され、特に桂川のCGは高濃度であり、処理場放流水(CG:10,000 ng/L)由来であったことが報告された**。

4. 安全で安心な水のための健康リスクに関する調査研究⑧

『淀川水系における各種ふん便汚染源追跡指標 (微生物遺伝子マーカー) の調査』
独法) 大阪健康安全基盤研究所 肥塚 利江 (R2)

《背景》

琵琶湖・淀川水系をはじめ、河川におけるふん便汚染源の推定は重要であるが、現行の大腸菌や大腸菌群の分析方法では汚染源の特定は難しい。近年、腸内細菌・腸内ウイルスの各種微生物遺伝子マーカーをふん便汚染源の指標として利用し、下水処理場や浄化槽処理水、動物飼育施設の廃水、野生動物の排泄物等、ヒトをふくめ種々の動物由来のふん便汚染源の推定が試みられている。しかし、これらの遺伝子マーカーは食性や生理活性により左右されるため、流域特性等に大きく左右される可能性がある。

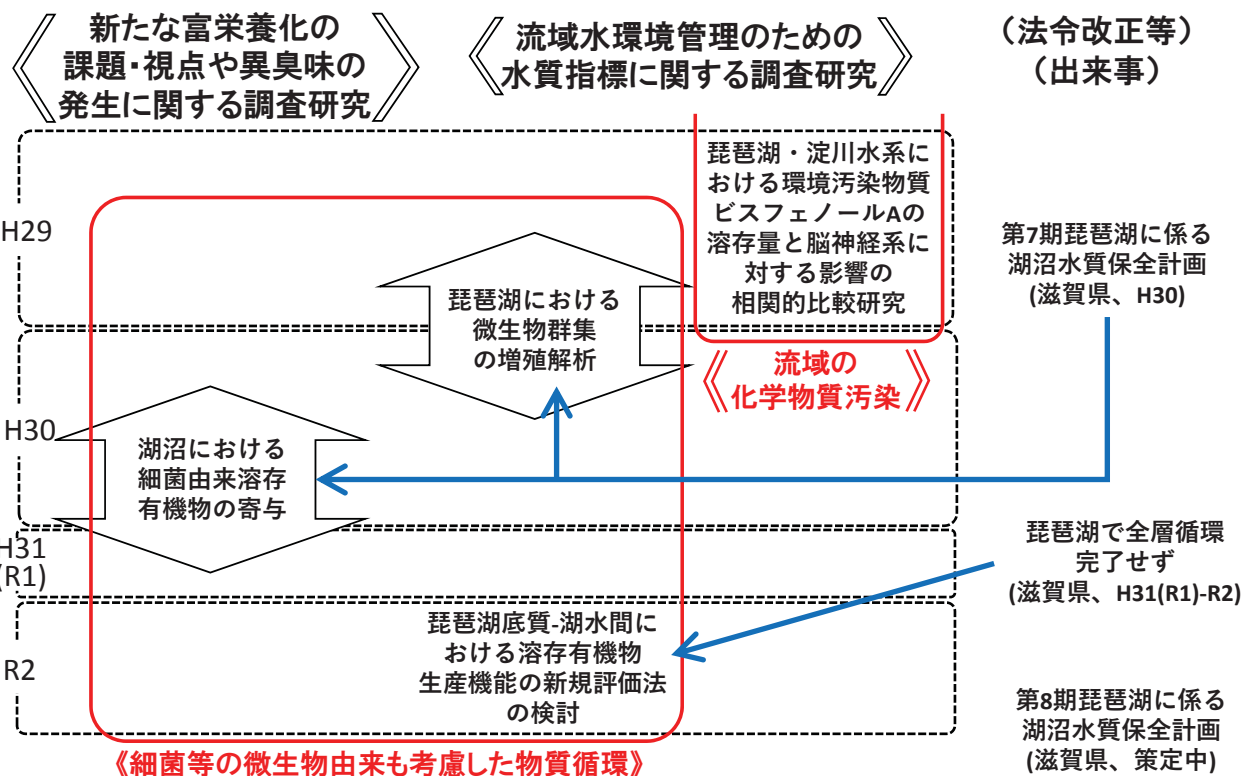
《目的》

微生物遺伝子マーカーのふん便汚染源指標としての有用性の検証および琵琶湖・淀川水系におけるふん便汚染源の推定

《成果》

浄化槽整備状況等の情報が揃っている猪名川支川上流をモデル地域として、ヒト用(細菌系・ウイルス系)、反芻動物用(細菌系)、ブタ用(細菌系)、全ふん便用(細菌系)マーカーの有用性を検討したところ、ブタ用マーカーはイノシシ用として使用できなかったが、ヒト用・反芻動物用マーカーは使用可能であった。また、同地域における浄化槽処理水流入前の上流におけるふん便汚染は動物由来、流入以降はヒト由来の影響が大きいと考えられた。モデル地域における結果を基に淀川の調査を行ったところ、猪名川支川上流域に比べて検出値が大きく、汚染源としてはヒト由来のものが大きいと考えられた。

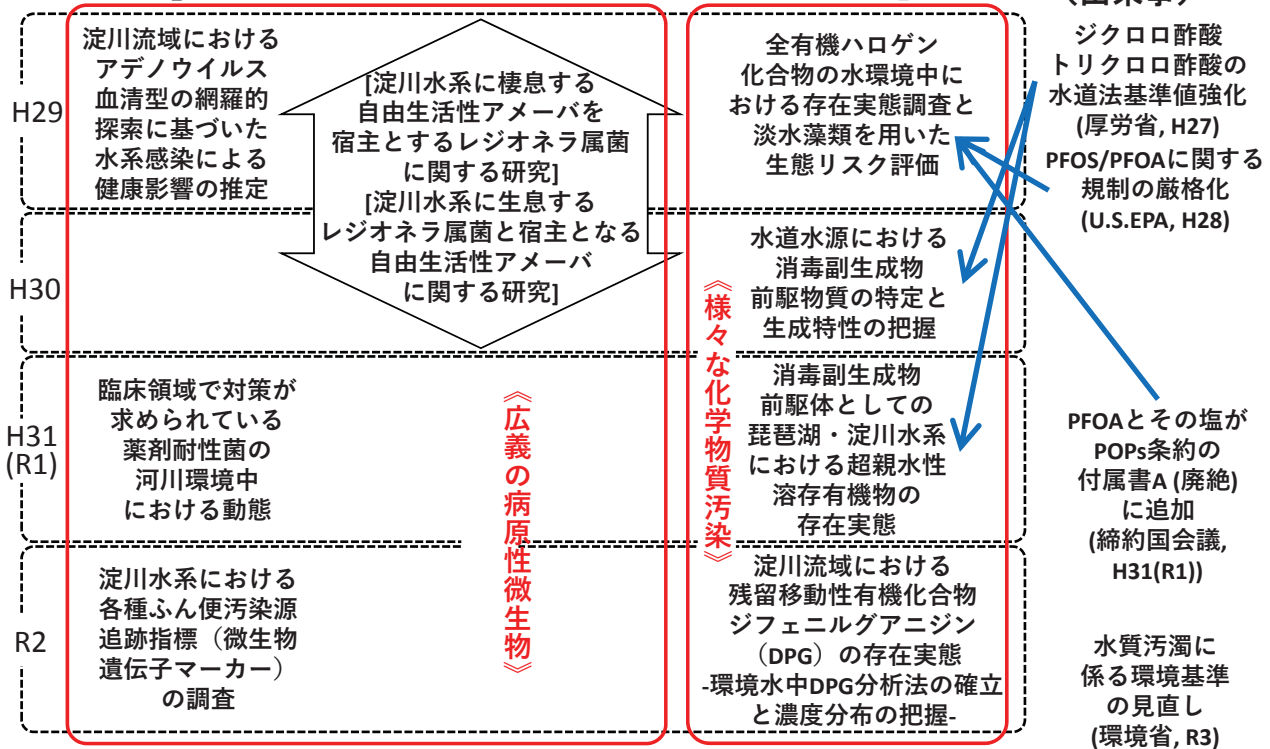
5. 助成テーマから見る水質保全課題の変遷①



琵琶湖を中心とした閉鎖性水域の計画策定にも深く関わってくる成果が得られている

5. 助成テーマから見る水質保全課題の変遷②

《流域水環境管理のための水質指標に関する調査研究》



日本や世界の動向にも即した、流域の様々な病原性生物・化学物質汚染問題が研究された

6. 総括

H29年～R2年度における助成研究成果から、細菌群集の活性、湖沼底層の低DOや水温等が有機物循環に与える影響、ウイルスや呼吸器疾患原因細菌、薬剤耐性菌、ヒトを含む様々な動物由来のふん便汚染といった病原性微生物、各種有機フッ素化合物や水道消毒副生成物のハロ酢酸生成に関わる超親水性有機化合物の存在、残留移動性有機化合物等の実態など、琵琶湖・淀川流域の有機物を中心とした物質循環および病原性微生物・化学物質等の様々な汚染状態について、非常に多くの新規的な知見が明らかとなった。

流域の物質循環に関する詳細なメカニズムの解明は、近年問題が顕在化している貧栄養化問題にも深く関わる項目であり、漁獲量に与える影響を考慮すれば、市民生活の豊かさに直結する問題である。また、病原性微生物や化学物質の汚染については、上水利用や親水活動のような河川利用等の面において極めて重大な問題である。一方、テーマによっては科研費等で研究が継続されている様子が見受けられており、当機構の水質保全研究助成が新規的課題研究の推進の一助としても有効に活用されている。

今回の総括からも明らかなように、助成研究成果から、琵琶湖・淀川流域に存在する様々な課題が浮かび上がってきた。これらは研究を行われた方々の努力の成果であり、深く謝意を示すとともに、今後の研究発展および自治体による実務や施策において、これらの成果が広く活用され、市民生活の安全・安心の向上が図られることを切に願うものである。

なお、本講演内容は研究成果報告書に基づき簡略的にまとめたものであり、参考や引用にあたっては（公財）琵琶湖・淀川水質保全機構のホームページに掲載されている研究成果報告書をお読みいただきたく存じます。

ご清聴ありがとうございました。