

報告書概要

①技術研究開発テーマ名	大和川水系における糞便性大腸菌群の挙動
②研究代表者	
氏名	所属・役職
松井 康人	京都大学大学院工学研究科 都市環境工学専攻・講師
③共同研究者	
氏名	所属・役職
米田 稔	京都大学大学院工学研究科 都市環境工学専攻・教授
④背景・課題	
<p>大和川本川の糞便性大腸菌群の検出数は、大半の調査地点で年平均値が1,000個/100mLを大幅に上回り、近畿管区内の主要な河川の中でも多いが、その発生原因の特定や流出機構の解明には至っていない。これらの細菌のほとんどは無害であるが、中には病原性の大腸菌や赤痢菌といった、人体に対して有害な細菌も含まれていることがわかっている。なお、公共用水域における糞便性大腸菌群の検出状況について流域単位で実体を調査した事例は少なくない（東京都、横浜市ほか）が、発生源の特定や流出機構の解明にまで至った事例は見当たらない。病原性大腸菌0-157等以外のほとんどの糞便性大腸菌群は無害であるが、検出される数が多いほど、糞便を経由して伝染する赤痢菌、サルモネラ菌などの病原菌などに感染するリスクが高くなることから、水浴場水質判定基準の中に糞便性大腸菌群数に関わる基準が設定されている。例えば、1,000個/100mLを超える水浴場は、水浴に適さないと判定される。</p> <p>糞便性大腸菌群数が多い河川では、安心して水遊びができない。子どもたちが安心して水遊びができる水環境の再生を図るためにも、糞便性大腸菌群数の削減が必要であり、発生原因の特定、流出機構の解明のための調査研究が必要である。環境省は、今後の水環境保全のあり方を検討しており、生活環境の保全に関する環境基準の指標について、人と水との安全なふれあい確保の観点から大腸菌などの衛生指標の導入を検討しており、本調査研究の必要性、方向性と整合する。</p>	
⑤技術研究開発の目的	
<p>大和川で検出される糞便性大腸菌群の主な発生源（由来）の特定、流出機構の解明を行うとともに、具体的な削減方策の検討を支援する糞便性大腸菌群に関する水質シミュレーションモデルを開発し、効果的な糞便性大腸菌群の削減方策の検討を行い、大和川本川の糞便性大腸菌群数の削減対策を推進することを目的とする。</p>	
⑥技術研究開発の内容・成果	
1. 大和川における糞便性大腸菌群数のシミュレーションモデルの開発	
1. 1 排出原単位の検討	
1) 下水処理水	
<p>大和川水系の下水処理場においては、毎月、放流水中の大腸菌群数の調査が行われている。ここでは、河川水中の下水処理水の割合が多い太子橋地点の定期水質調査時の大腸菌群数と糞便性大腸菌群数の関係を用いて下水処理水中の糞便性大腸菌群数を推定する。太子橋地点における大腸菌群数と糞便性大腸菌群数の関係を図1に示す。この回帰式と大腸菌群数の実測値から下水処理水からの大腸菌群数の排出量を求める。</p>	

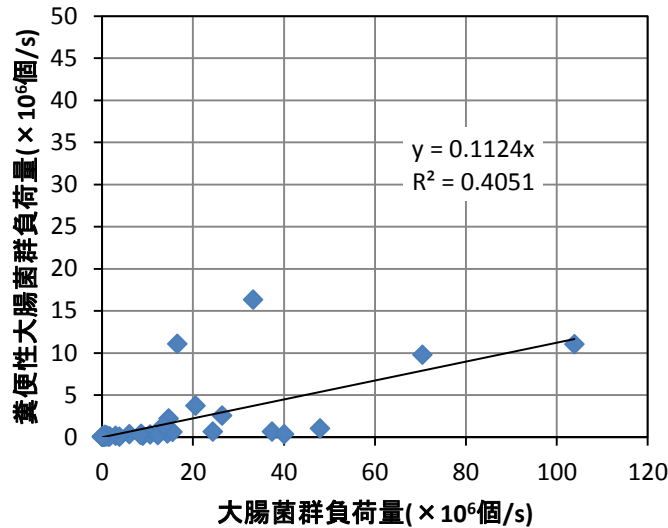


図 1 大腸菌群数と糞便性大腸菌の関係(太子橋)

2) 浄化槽

糞便性大腸菌群数

単独処理浄化槽・合併処理浄化槽の放流水中の糞便性大腸菌群数を調査した事例、および高機能合併処理浄化槽の放流水中の大腸菌を調査した事例から、大腸菌を糞便性大腸菌群として扱って求めた平均値を以下に示す。

単独処理浄化槽：765.8 個/L (11～3 月平均)

合併処理浄化槽：138.3 個/L (11～3 月平均)

高機能合併処理浄化槽：50.0 個/L (年平均)

これに、第一浄化センターおよび第二浄化センターの放流水中の糞便性大腸菌群数の季節変化の波形をもとに、浄化槽の放流水中の糞便性大腸菌群数平均値が上記の平均値と整合するように調整して、表 1 のように設定する。

表 1 タイプ別浄化槽放流水中の糞便性大腸菌群数(設定値)

	糞便性大腸菌(個/mL)												11-3月平均	年平均
	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月		
単独	985	691	862	1,787	1,349	1,724	1,824	2,341	2,122	1,000	766	525	766	1331
合併	178	125	156	323	244	311	329	423	383	181	138	95	138	240
高機能	37	26	32	67	51	65	68	88	80	38	29	20	29	50

また、浄化槽からの放流量は、以下のように設定する。

単独処理浄化槽：50 L/日/人 (流総指針(H20)単独処理浄化槽原単位)

合併処理浄化槽：260 L/日/人 (家庭汚水量原単位(流総計画))

高機能合併処理浄化槽：260 L/日/人 (家庭汚水量原単位(流総計画))

また、大和川流域の処理形態別人口は、市町村別に整理されている平成 18～24 年の値を用いて、経年変化を考慮して設定する。また、農集排、コミプラは合併処理浄化槽と同様として扱う。

3) 生活雑排水

生活雑排水には風呂からの排水も含まれ、糞便性大腸菌が含まれる可能性も考えられることから、生活雑排水中の糞便性大腸菌群数は自然由来と同様として以下の値を設定する。

生活雑排水：1 個/mL

生活雑排水量は、家庭汚水量原単位 260L/日/人(流総計画)から「流域別下水道整備総合計画調査指針

と解説(H20)」の単独浄化槽原単位 50L/日/人を差し引いた値とし、単独処理浄化槽およびくみとりの家庭から排水されるとする。

単独処理浄化槽・くみとり：212 L/日/人（生活雑排水）

単独処理浄化槽・くみとり人口としては、2）で述べた値を用いる。

4) 畜産排水

畜産排水の糞便性大腸菌群数は表 2 に示す文献値をもとに設定する。

表 2 畜産排水の糞便性大腸菌群数

種別	①	②	③	④=①×③	
	糞の排せつ量 (kg-dry/頭・日)	糞中の大腸菌数 (個/g-dry)	糞中の大腸菌数 (個/kg-dry)	大腸菌発生数 (個/頭・日)	
乳用牛	6.6	230,000	230,000,000	1,518,000,000	(平均)
肉用牛	3.8	230,000	230,000,000	874,000,000	1,196,000,000
豚	0.53	3,000,000	3,000,000,000	1,590,000,000	
鶏	0.03	1,300,000	1,300,000,000	39,000,000	

注1) ①種別の糞の排せつ量(kg/頭・日)は、農林水産省の管理記録様式の平均値を設定

注2) ②糞中の大腸菌数(個/g-dry)は文献値(金子光美「水質衛生学」,2003,技報堂出版)

注3) 数の単位「頭」について、鶏は「羽」と読みかえる

畜産頭数は、奈良県へのアンケートをもとに整理した平成 24 年時点のブロック別の値をもとに、畜産統計の平成 15～22 年の値を用いて、経年変化を考慮して設定する。なお、平成 22～23 年は平成 24 年と同様とする。

大阪府域の畜産頭数は奈良県と比較して非常に少なく、統計データも入手できないため、ゼロとする。大和川の水環境保全を図るため、大和川清流ルネッサンスⅡ、Cプロジェクト計画 2006(水環境編)、大和川水環境改善計画などを策定し、関係機関や地域住民が連携した取組を推進してきた。そうした計画策定時、畜産由来の BOD 排出負荷量を算出する際に適用する排出率(=100-除去率)(%)は、10%(0.1)を設定している。排出率の設定根拠は、家畜排せつ物の大半が農地還元されるため、肥料の流出率 0.1 と同程度であるという考えに基づくものであり、湖沼水質保全計画の排出率でも採用されている。なお、大和川流域の畜産排水対策が十分でなかった時期、大和川清流ルネッサンス 21 以前の計画(平成 6 年以前)では、畜産排水の汚濁実態を踏まえて BOD 排出率が 0.1 以上の支川が存在した。これらのことから、畜産施設からの糞便性大腸菌排出率は 10%とする。

5) 自然由来

自然由来の糞便性大腸菌群数は、六甲山系の事例および横浜市内河川の事例を参考に以下のとおりとする。

自然由来：1 個/mL

大和川の平常時の自然流出量は 2.5 億 m³/年(C プロ計画冊子)であり、それを日単位に換算する。2.5 億 m³/年を 365 日で割ると、684,932m³/日となり、約 7.9m³/s に相当する。この値は、平常時の遠里小野橋の流量の 50～60%に相当し、下水処理水等の占める割合 40%前後と比べても矛盾しない値である。流量は流域面積比で各ブロックに割り振る。

1. 2 負荷収支モデルによる再現性の確認

上記のように設定した計算条件の妥当性を、簡易な負荷収支モデルにより確認する。

1) 負荷収支モデルの概要

発生源別の糞便性大腸菌群の排出負荷量は上記のように設定し、以下に示す流達率、浄化残率を設定し、水質評価地点毎の糞便性大腸菌群の流出負荷量を算出する。モデルイメージを図 2 に示す。各水域における流下時間は、大和川水環境改善計画で策定時に構築した水質予測モデルの条件を用いる。

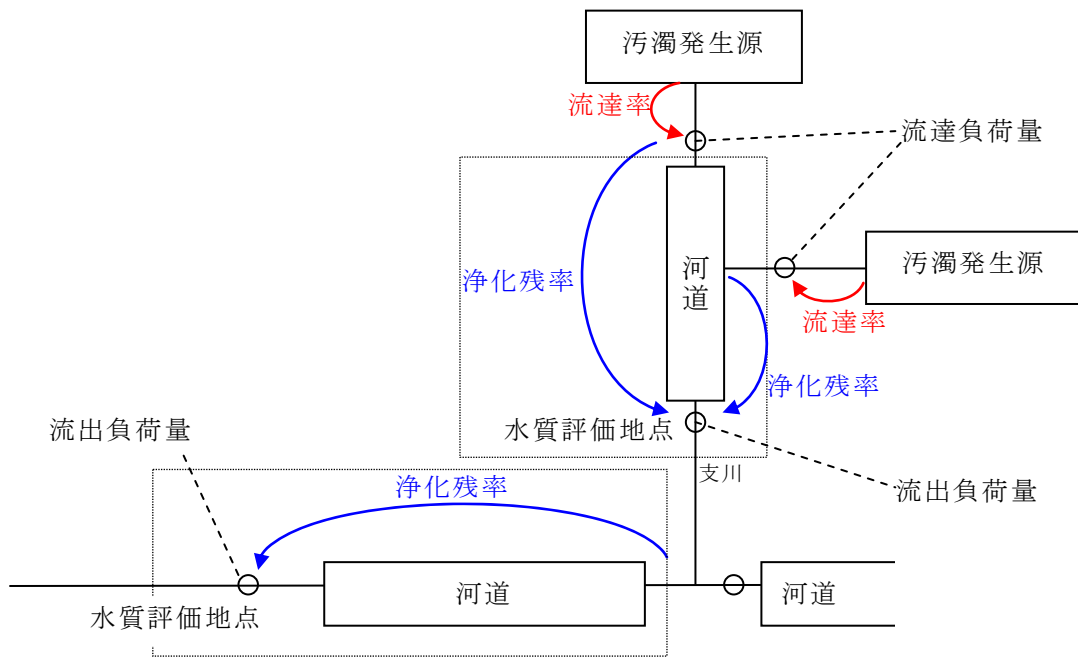


図 2 負荷収支モデルイメージ

2) 流達率

流達率は、簡易モデルにより実測値を再現できるように調整した結果、50%とする。

なお、大和川流総計画で使用している BOD の流達率は 10%であり、糞便性大腸菌群数の流達率として 50%を設定しなければならなかった原因としては、糞便性大腸菌群の排出負荷量が過小である、もしくは糞便性大腸菌群の挙動が BOD と異なる可能性もあると考えられる。特に浄化槽や畜産排水からの排出負荷量として、大腸菌数の値を持って、糞便性大腸菌群数とした仮定は、過小評価の原因となる可能性が高い。

3) 浄化残率

浄化残率は、沈降と死滅・増殖を考慮した以下の式により設定する。

$$\text{浄化残率} : \frac{C}{C_0} = \exp(k \cdot t) \quad (1)$$

$$k = \underbrace{-k_s}_{\text{沈降}} + \underbrace{k_{Rgg}}_{\text{増殖}} \cdot \theta_{Rg}^{T_w-25} - \underbrace{k_{Rgd}}_{\text{死滅}} \cdot \theta_{Rd}^{T_w-25} \quad (2)$$

ここで、 C_0 : 糞便性大腸菌群(個/mL)、 C : t 日後の糞便性大腸菌群(個/mL)、 k_s : 沈降速度係数(1/d)、 k_{Rgg} : 増殖速度係数(1/d)、 θ_{Rg} : 増殖速度温度補正係数(-)、 k_{Rgd} : 死滅速度係数(1/d)、 θ_{Rd} : 死滅速度温度補正係数(-)、 T_w : 水温(°C)、

沈降速度係数は、実測値を再現できるような値を試行計算により設定する。増殖速度、死滅速度に関するパラメータは、文献を参考に表 3 のように設定する。

表 3 浄化残率パラメータ

	k_s	k_{Rgg}	θ_{Rg}	k_{Rgd}	θ_{Rd}
	沈降速度係 数 (1/d)	増殖速度係 数 (1/d)	増殖速度温 度補正係数 (-)	死滅速度係 数 (1/d)	死滅速度温 度補正係数 (-)
設定値	1.0	1.50	1.10	0.65	1.02

4) 計算結果

平成 20 年の再現計算結果および平成 24 年の再現計算結果からは、支川下流部や本川の各地点においては、濃度レベルおよび季節変化を概ね再現できていると考えられるが、石川の新喜多橋(天見川)、大伴橋(佐備川)、千早川、梅川、円明橋(飛鳥川)などでは、計算値が実測値よりも小さくなっている。流達率を現在設定している 50%から 100%にしても負荷量が不足する状態であり、設定している排出負荷量が不足している可能性が考えられる。特に、単独処理浄化槽については、計算条件としては調査事例の大腸菌数の平均値 500~2,300 個/mL を設定しているが、同調査では 0~11,000 個/mL と大きな幅があること、腐敗方式の単独処理浄化槽では 9,100 個/mL という報告もあることなどから、単独処理浄化槽の排出負荷量を小さく設定している可能性も考えられる。

各地点の排出負荷量の大部分は下水処理場と単独処理浄化槽、合併処理浄化槽からのものであり、家畜の比率は最大 20%程度(上吐田橋)である。下水処理場の比率は平成 15 年には最大 48.1%(太子橋)であったのが、平成 24 年には 4.8%まで低下しており、単独処理浄化槽、合併処理浄化槽の比率が大きくなっている。

流出負荷量の大部分は下水処理場と単独処理浄化槽、合併処理浄化槽からのものであり、家畜の比率は最大 15%程度(上吐田橋)である。下水処理場の比率は平成 15 年には最大 54.8%(太子橋)であったのが、平成 24 年には 8.0%まで低下しており、単独処理浄化槽、合併処理浄化槽の比率が大きくなっている。下水処理場からの排水は直接河道に排出されるため、排出負荷量と比較して下水処理場の比率が大きくなっている。

1. 3 分布型モデル再現計算

1) モデル概要

ここで構築するモデルは、流量モデル、水温モデルと糞便性大腸菌群モデルから構成される。流量モデル(分布型流出モデル)で算出される水循環量を用いて、水収支及び気象条件から地表面及び地下水の水温・地温を算定する。流域から河川への流出流量及び水温から希釈混合計算により、河川各地点の水温を算定する。この流量・水温を境界条件として、大和川の糞便性大腸菌群の挙動を再現する。ここでは糞便性大腸菌群の挙動をシミュレーションするときに用いる河道物質流動モデルのみを示す。

表層モデルからの掃流性流出負荷、溶解性負荷の自浄作用による河床への吸着等を含む河床堆積物が流量の 2 乗に比例して次メッシュへ流出するものとする。また、点源負荷(下水道未整備区域の生活系・工業系負荷、畜産系負荷のすべて)、栽培管理用水負荷は溶解性負荷として河道に直接排出され、各層からの溶解性流出負荷と共に流量に応じて次メッシュへ流出するものとする。

①運動式

$$L_{RO1} = C_R \cdot Q_{RO} \quad (1)$$

②連続式

$$\frac{d(C_R \cdot A_R \cdot l)}{dt} = L_{RI1} + L_{I1} + L_p - C_R \cdot Q_{RO} - k_d \cdot C_R \cdot A_R \cdot l + L_S + L_{RD} \quad (2)$$

$$A_B \cdot \frac{dS_R}{dt} = L_{RI2} + L_{I2} + k_d \cdot C_R \cdot A_R \cdot l - L_S + L_{SD} \quad (3)$$

ここに、 L_{RO1} : 次メッシュへの流出負荷量 (g/d) C_R : 河道モデルの貯留水濃度 (g/m³)

Q_{RO} : 河道モデルの流出量 (m³/d) k_d : 河道モデルの自浄係数 (1/d)

S_R : 河床堆積物量 (g/m²) A_B : 河床面積 (m²) A_R : 河道断面積 (m²)
 l : 河道長 (m) L_{RI1} : 前メッシュからの流入負荷量 (g/d)
 L_{I1} : 流域 (各層モデル) からの流入負荷量 (g/d) = $L_{f1} + L_{f2} + L_s + L_g$
 L_p : 点源 (生活系・工業系・畜産系) 排出負荷量 (g/d) L_s : 巻き上げ負荷量 (g/d)
 L_{RD} : 死滅・増殖(水中) (g/d) L_{SD} : 死滅・増殖(堆積物) (g/d)

a) 巻き上げ

以下に示す巻き上げモデルを用いて、流速に応じて河床に堆積している糞便性大腸菌が巻き上がることをとする。

$$L_s = k_s \cdot \left(\frac{V}{V_L} - 1 \right)^m \cdot A_B$$

ここで、 k_m : 巻き上げ係数(10⁶個/m²/d)、 V : 流速(m/d)、 V_L : 限界流速(m/d)、 m : 定数

b) 増殖・死滅

○水中

$$L_{RD} = (k_{Rgg} \cdot \theta_{Rg}^{t-25} \cdot \exp(-k_{Rsp} \cdot C^{k_{Rsp}}) - k_{Rgd} \cdot \theta_{Rd}^{t-25}) \cdot C_R \cdot A_B \cdot l$$

ここで、 k_{Rgg} : 増殖速度係数(1/d)、 θ_{Rg} : 増殖速度温度補正係数(-)、 t : 水温(°C)、 k_{Rsp} : スペース効果係数、 k_{Rsp} : 補正係数、 k_{Rgd} : 死滅速度係数(1/d)、 θ_{Rd} : 死滅速度温度補正係数(-)

○河床

$$L_{SD} = (k_{Sgg} \cdot \theta_{Sg}^{t-25} \cdot \exp(-k_{Ssp} \cdot C^{k_{Ssp}}) - k_{Sgd} \cdot \theta_{Sd}^{t-25}) \cdot S_R \cdot A_B \cdot l$$

ここで、 k_{Sgg} : 増殖速度係数(1/d)、 θ_{Sg} : 増殖速度温度補正係数(-)、 t : 水温(°C)、 k_{Ssp} : スペース効果係数、 k_{Ssp} : 補正係数、 k_{Sgd} : 死滅速度係数(1/d)、 θ_{Sd} : 死滅速度温度補正係数(-)

2) 流域モデル条件

本検討では大和川流域 (1,070km²) を対象流域として流量・水温モデルを構築する。分布型モデル (グリッド型) であるため、流域モデル (表層、不飽和層、地下水層) をメッシュに分割する必要がある。大和川流域のメッシュスケールとしては、対象流域の面積、メッシュ数 (計算時間)、流域対策施設配置を考慮して 250m メッシュを採用する。対象流域は 16,176 メッシュに分割される。

流量・水温モデルを構築するために必要な入力データ、利用したデータ及び情報源を表 4 に示す。

表 4 収集資料の一覧

データ項目		情報源	ファイル名称	記録データ
流域モデル	流域界	国土数値情報	流域界、非集水域界線位置	単位流域コードに対する流域境界線の座標値 (S52 年度)
	標高	数値地図 50m メッシュ 1/2, 500 地形図	数値地図 50m メッシュ (標高)	50m メッシュ標高 (H14 年度)
	地表勾配	標高より計算	—	—
	土地利用	国土数値情報	1/10 細分区画土地利用データ	3 次メッシュの 1/10 の区画での土地利用分類コード (H18 年度)

	不飽和層	土壌分布	国土数値情報	表層地質、地形分類、土壌	3次メッシュでの土壌、表層地質分類コード (S54年度)
	地下水層	表層地質分布	国土数値情報	表層地質、地形分類、土壌	3次メッシュでの土壌、表層地質分類コード (S54年度)
河道モデル	河道	河道長	国土数値情報	流路位置	河川コードに対する河川位置線の座標値、河床標高 (S52年度)
		河道幅	1/2, 500 地形図	—	—
		河床勾配	河床標高より計算	—	—

3) 計算条件

検証計算の対象期間は、定期水質調査において糞便性大腸菌群の分析が行われている 2003 年以降で、多様な流況を含む 5 カ年を選定する。ここでは、2003 以降で渇水年である 2005 年と、豊水年である 2003 年を含む 2003～2007 年を対象年として選定する。また、出水時調査を行っている 2011 年についても検証対象年とする。

合流式下水道からの越流が生じている期間(時間)に、下水道に流入する糞便性大腸菌の負荷量が流入する計算条件を設定する。なお、糞便性大腸菌の負荷量は、一人あたりの原単位に下水道集水面積あたりの人口を乗じて算定する。

糞便性大腸菌の原単位：13, 000, 000, 000 個/人/day

表層モデル・不飽和槽モデル・地下水層モデルにおける吸着、脱着および掃流については、実態が不明確であるため、各パラメータをゼロとし、吸着、脱着および掃流は生じないものとする。

河道モデルにおける巻き上げ、沈降および死滅・増殖に関するパラメータは以下のように設定する。

巻き上げに関するパラメータは、河川水中の糞便性大腸菌の実績値を再現できるように試行計算により設定した。

表 5 巻き上げに関するパラメータ設定値

k_m : 巻き上げ係数(個/m ² /s)	1.0×10^8
V_L : 限界流速(m/s)	0.5
m : 定数	4

沈降係数は河川水中の糞便性大腸菌の実績値を再現できるように試行計算により設定した。流量が小さく、河床との接触面積が大きい区間については大きい値とした。

表 6 沈降に関するパラメータ設定値

河道メッシュ(1/day)	0.2
その他(1/day)	50

増殖速度、死滅速度に関するパラメータは、文献を参考に表のように設定する。糞便性大腸菌群の水中での生残曲線を調査した事例では、河川水の状態によって残存する糞便性大腸菌群数が異なっているが、ここでは、夏季に高く冬期に低くなる状況を再現するようにパラメータを設定する。

$$L_{RD} = (k_{Rgg} \cdot \theta_{Rg}^{t-25} \cdot \exp(-k_{Rsp} \cdot C^{k_{Rsp}}) - k_{Rgd} \cdot \theta_{Rd}^{t-25}) \cdot C_R \cdot A_B \cdot l$$

ここで、 k_{Rgg} : 増殖速度係数(1/d)、 θ_{Rg} : 増殖速度温度補正係数(-)、 t : 水温(°C)、 k_{Rsp} : スペース効果係数、 k_{Rsp} : 補正係数、 k_{Rgd} : 死滅速度係数(1/d)、 θ_{Rd} : 死滅速度温度補正係数(-)

表 7 河川水中での死滅・増殖に関するパラメータ設定値

k_{Rgg} : 増殖速度係数(1/d)	2.50
θ_{Rg} : 増殖速度温度補正係数(-)	1.04

k_{Rsp} : スペース効果係数(－)	0.5
k_{Rsp} : 補正係数(－)	0.1
k_{Rgd} : 死滅速度係数(1/d)	0.65
θ_{Rd} : 死滅速度温度補正係数(－)	1.02

河床での死滅・増殖速度については、河川水中の糞便性大腸菌の実績値を再現できるように試行計算により設定した。

$$L_{SD} = (k_{Sgg} \cdot \theta_{Sg}^{t-25} \cdot \exp(-k_{Ssp} \cdot C^{k_{Spp}}) - k_{Sgd} \cdot \theta_{Sd}^{t-25}) \cdot S_R \cdot A_B \cdot l$$

ここで、 k_{Sgg} : 増殖速度係数(1/d)、 θ_{Sg} : 増殖速度温度補正係数(－)、 t : 水温(°C)、 k_{Ssp} : スペース効果係数、 k_{Spp} : 補正係数、 k_{Sgd} : 死滅速度係数(1/d)、 θ_{Sd} : 死滅速度温度補正係数(－)

表 8 河床での死滅・増殖に関するパラメータ設定値

k_{Sgg} : 増殖速度係数(1/d)	7.2
θ_{Sg} : 増殖速度温度補正係数(－)	1.04
k_{Ssp} : スペース効果係数(－)	0.12
k_{Spp} : 補正係数(－)	0.1
k_{Sgd} : 死滅速度係数(1/d)	4.7
θ_{Sd} : 死滅速度温度補正係数(－)	1.02

4) 再現計算結果

再現検証期間(2003年～2007年、2011年)においてパラメータの同定作業を実施し、河川水位流量観測所、水質観測所の各実測データと計算結果との検証を行う。

糞便性大腸菌群の再現計算結果と負荷量比率の計算結果の例として、遠里小野橋での計算結果を図3に示す。結果として、各地点とも、年間の季節変化および経年変化を概ね表現できていると考えられる。計算では、平均的な値を再現できるようにパラメータを調整しており、下水道整備等による負荷削減効果を予測する本モデルの目的に対しては必要な精度を有していると考えられる。負荷量比率についても、簡易モデルにより算出した負荷量比率と概ね同様の値となっている。負荷収支を見ると水中、河床とも夏期は増殖が優先し、冬期は死滅が優先する。小柳橋や保橋などでは、計算上流速が大きくなるため、河床の糞便性大腸菌群数の計算値が上昇しない結果となっている。

また、2011年9月、10月出水時における再現計算結果からは、大和川全体の各地点においても、出水初期の巻き上げによる濃度上昇をおおむね表現できていると考えられる。

5) 大腸菌の削減方策の検討

既往の調査検討成果等を踏まえて、大和川流域の大腸菌の主な発生原因の特定、浄化槽種別の大腸菌排出数の差異、負荷収支の調査、削減方策の立案を行う。大和川水系大腸菌モデルを用いて、削減方策による改善効果を予測評価し、将来達成可能な目標等を検討する。

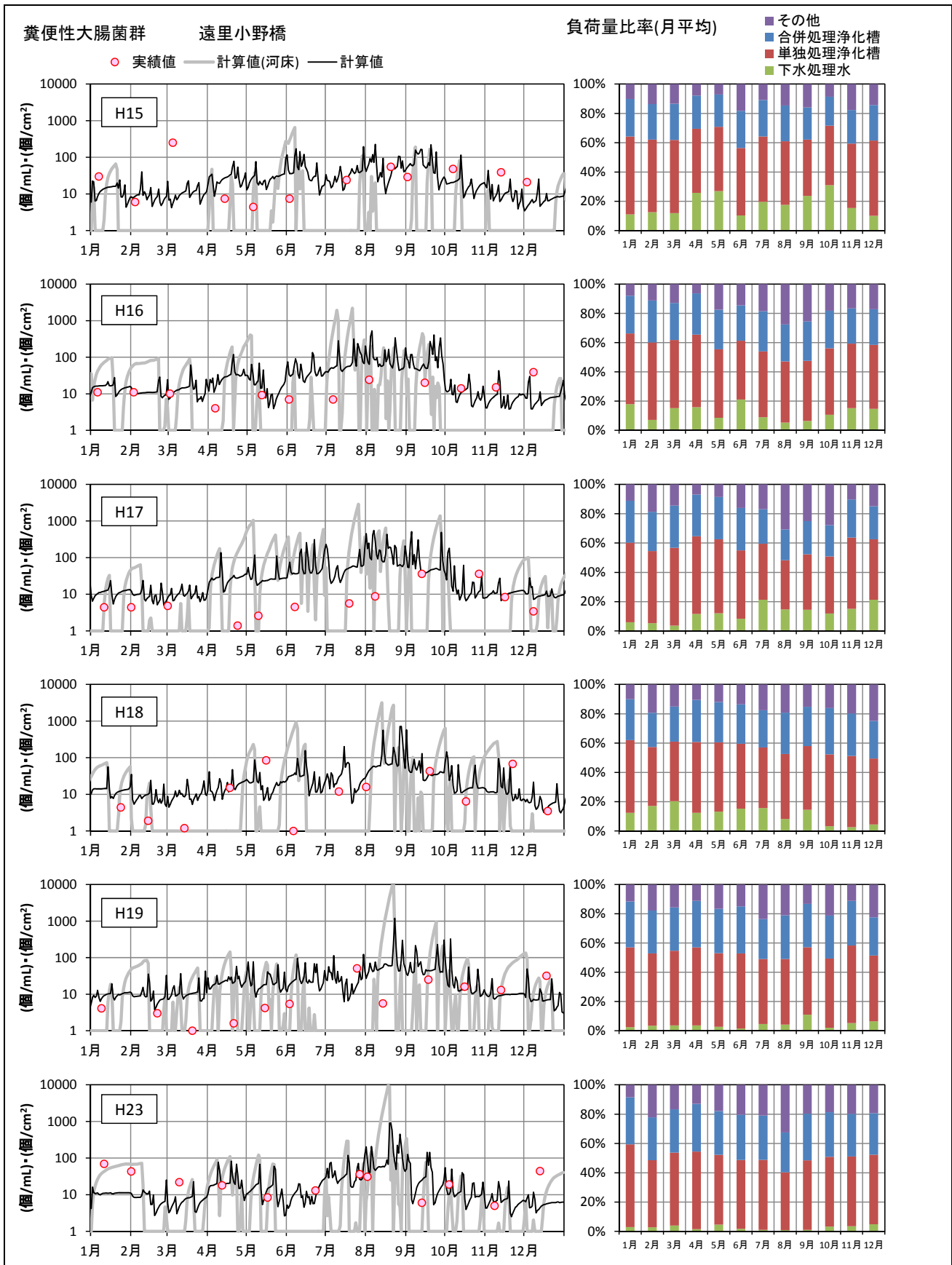


図3 糞便性大腸菌群再現計算結果 本川 遠里小野橋

a) 負荷発生要因をふまえた削減方策の検討

平成 24 年の単独処理浄化槽と合併処理浄化槽をあわせた負荷量比率は、全地点とも 80～90%と大部分を占めており、大和川において糞便性大腸菌群数を低減するためには、浄化槽由来の糞便性大腸菌群数を選らず対策が必要であり、最も効率的といえる。単独処理浄化槽と合併処理浄化槽からの人口一人当たりの負荷量は、概ね同程度である。よって、現在進めている下水道の整備を着実に進めるとともに、放流水中の濃度を極力低減できるように塩素消毒など浄化槽の適正管理を啓発することが効果的であると考えられる。

下水処理水中の大腸菌群数は塩素注入設備の改良などにより近年急激に低減しており、平成 23 年以降は最大でも 10,000 個/100mL(推定される糞便性大腸菌群数は約 1,000 個/mL)となっている。これにより、平成 24 年の下水処理水の負荷量比率は、下水処理水の影響が大きい太子橋地点や保橋でも 8～11%と低い比率となっているが、処理水中の大腸菌群数が多かった平成 15 年には 50～55%と高い比率を占めていたことから、継続して処理水中の大腸菌群数を低いレベルで管理していくことが必要である。

平成 24 年の畜産排水の糞便性大腸菌群の負荷量比率は、影響の大きい上吐田橋地点でも 10%と推定されるが、畜産排水負荷量は排出率を BOD と同様に 10%に設定している。また、負荷量の占める割合としては大きくはないが、大和川の糞便性大腸菌群数に一定程度寄与していると考えられる。このため、畜産施設からの排出負荷を極力低減できるように、畜産排水の適正管理を啓発することが必要であると考えられる。

6) 対策効果の予測評価

糞便性大腸菌群削減対策の検討ケースを表 9 に示す。

表 9 検討ケース

時点	内容	備考(条件設定方法)
平成 24 年	現況(比較対照ケース)	C プロ実績値の H24/H20 比を用いて平成 20 年の流域フレームから推定
平成 27 年	大和川水環境改善計画 目標年	大和川水環境改善計画フォローアップにおける流域フレーム
平成 32 年	第二期大和川水環境改善計画 目標年	平成 20 年→平成 27 年の流域フレームのトレンドから推定
平成 40 年	大和川流総計画の目標年	
—	単独処理浄化槽ゼロ	平成 27 年流域フレームの単独処理浄化槽人口を下水道人口に算入
—	単独+合併処理浄化槽ゼロ	平成 27 年流域フレームの単独+合併処理浄化槽人口を下水道人口に算入
—	下水道 100%	平成 27 年流域フレームの全人口を下水道人口に算入

a) 佐保川・曾我川

平成 24 年時点の糞便性大腸菌群数(8 月)が 3,000～5,000 個/100mL 程度の佐保川・曾我川においては、平成 40 年時点においても水浴場水質判定基準(水質 C)である 1,000 個/mL に達しないと予測される。1,000 個/mL 以下にするためには、単独処理浄化槽を全て下水道に接続するような対策が必要である。

b) 石川

平成 24 年時点の糞便性大腸菌群数(8 月)が 2,000 個/100mL 程度の石川においては、平成 40 年時点においては水浴場水質判定基準(水質 C)である 1,000 個/mL 程度まで低下すると予測される。石川流域は比較的合併処理浄化槽の負荷量比率が高い。

c) 本川

平成 24 年時点の糞便性大腸菌群数(8 月)が 600 個/100mL 程度の上吐田橋においては、平成 40 年時点においては水浴場水質判定基準(水質 B)である 400 個/mL に達し、水浴場水質判定基準(水質 A)である 100 個/mL も目標にできると予測される。平成 24 年時点の糞便性大腸菌群数(8 月)が 1,500～3,000 個/100mL 程度の太子橋～遠里小野橋においては、平成 40 年時点においては 1,000～2,000 個/mL 程度にな

ると予測され、水浴場水質判定基準(水質 C)である 1,000 個/mL を目標にできると考えられる。太子橋～遠里小野橋において、水浴場水質判定基準(水質 B)400 個/mL、水浴場水質判定基準(水質 A)100 個/mL を目標とする場合にはさらなる対策が必要となる。図 4 に本川下流 4 地点における糞便性大腸菌群数の予測結果(年平均)を示す。

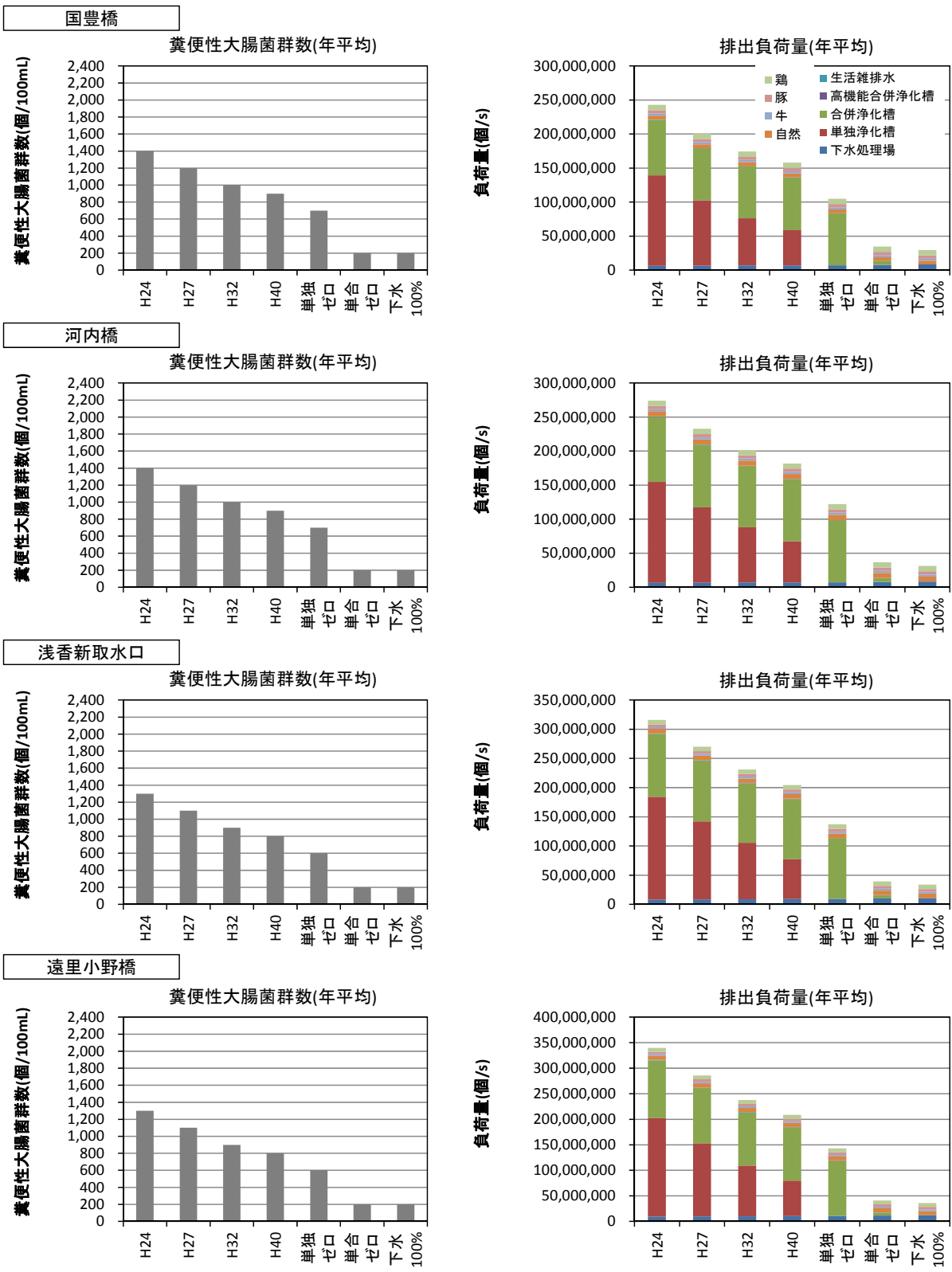


図 4 糞便性大腸菌群数の予測結果(年平均)

7) 達成可能な目標値等の検討

平成 24～40 年の糞便性大腸菌群数の予測結果を図 5 に示す。平成 24 年時点の糞便性大腸菌群数(8 月)が 3,000～5,000 個/100mL 程度の佐保川・曾我川においては、平成 40 年時点においても 3,000～4,000 個/mL であると予測される。石川および本川の中～下流(御幸大橋～遠里小野橋)では、平成 40 年時点で 1,500～2,000 個/mL 程度であると予測され、オーダー的には水浴場水質判定基準(水質 C)である 1,000 個/mL を目指せるレベルであると考えられる。太子橋においては平成 30 年頃に水浴場水質判定基準(水質 C)である 1,000 個/mL を下回ると予測される。上吐田橋においては平成 27 年頃に水浴場水質判定基準(水質 B)である 400 個/mL を下回ると予測される。

以上より、大和川における糞便性大腸菌群数の目標値(案)を以下のように設定する。ただし、平成 25 年は実態として各地点とも糞便性大腸菌群数が 1,000 個/100mL を下回り、100 個/100mL を下回る地点もみられていることから、今後の推移を注視する必要がある。

表 10 糞便性大腸菌群数 目標値(案)

	地点	目標値	目標年次
本川中流	上吐田橋	水浴場水質判定基準 可(水質 B) 400 個/100mL	平成 27 年
	太子橋	水浴場水質判定基準 可(水質 C) 1,000 個/100mL	平成 30 年
本川中～下流	御幸大橋 ～遠里小野橋	水浴場水質判定基準 可(水質 C) 1,000 個/100mL	平成 40 年

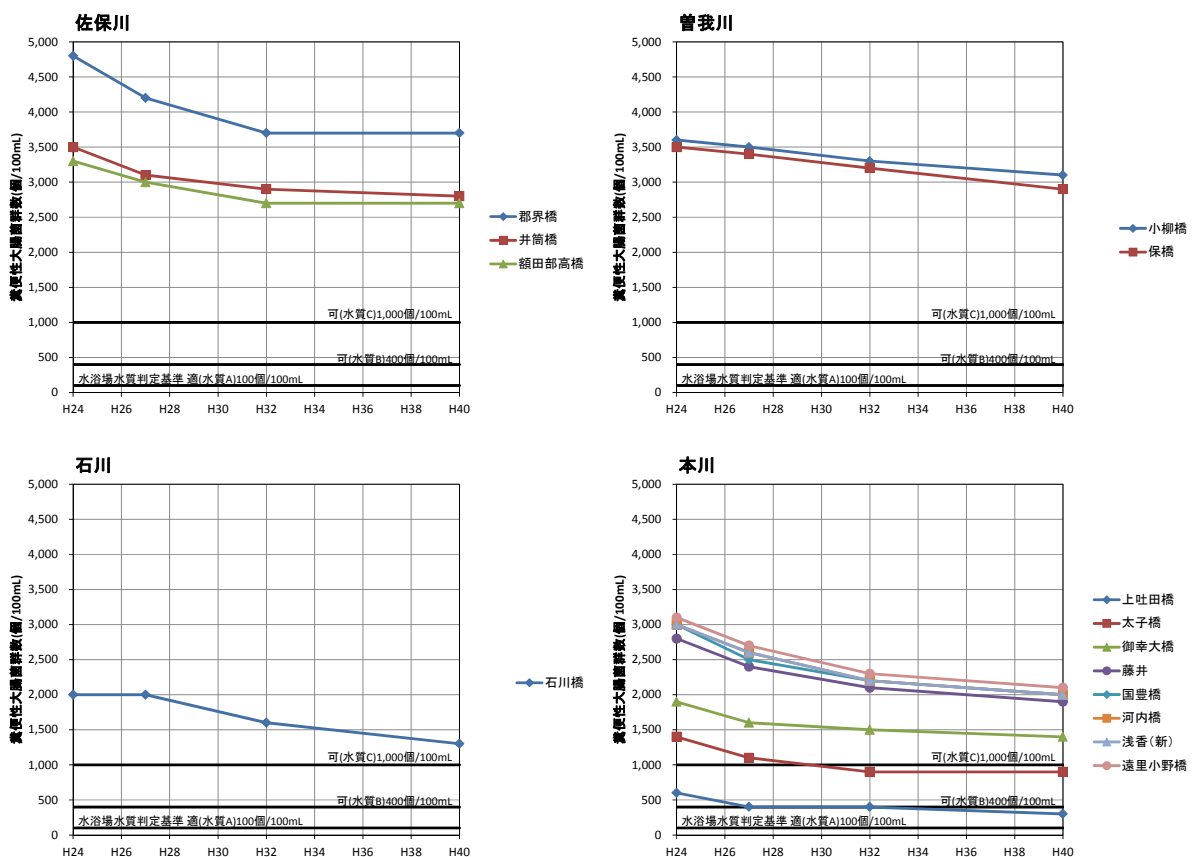


図 5 糞便性大腸菌群数の予測結果 平成 24～40 年 (8 月)

2. 河川水中大腸菌の起源推定

2. 1 大腸菌の由来動物種特異的遺伝子マーカーの特定

ここでは、起源のわかっている動物種（ヒト、ウシ、ブタ、ニワトリ）から単離した大腸菌について解析を行い、由来動物種に特異的な塩基配列である、遺伝子マーカーを特定することを目的とした。

大腸菌は約1500種類のコアゲノム（すべての大腸菌株が共通して持っているゲノム領域）上にある遺伝子を持っており、これは代表的な大腸菌 K-12 株の持つ総遺伝子数の半分以下であることがわかっている。これらのコアゲノム上には、ハウスキーピング遺伝子と呼ばれる、生存に不可欠な遺伝子などが存在している。各大腸菌株において、コアゲノム上以外の遺伝子は、株間で共通性もあるものの、全ての株には保存されていない。動物の腸内環境は種ごとに異なるため、由来動物種によって大腸菌の生存に必要なコアゲノム以外の遺伝子が異なり、逆に由来動物種が同じ大腸菌の間では、コアゲノム以外の遺伝子に共通して保存されている遺伝子が存在することが予想される。ここでは、これらコアゲノム上以外の遺伝子に着目して、次世代シーケンサー及びリアルタイム PCR といった手法を用いて、遺伝子マーカーの探索を行った。

単離保存した起源既知の大腸菌のうち、ヒト由来9株、ウシ由来3株、ブタ由来6株、ニワトリ由来6株、計24株の大腸菌を対象とし、次世代シーケンサーによる全ゲノム配列の決定を目的とする実験を行った。抽出及び精製を行った計24個のDNAサンプルの濃度を、Life Technologies (California, USA) の Qubit Fluorometer を用いて測定した。測定した濃度をもとに、それぞれのDNAサンプルの濃度が2.5 ng/ μ Lになるように、10 mM、pH 8.5 の Tris-HCl でサンプル濃度の調製を行った。サンプルは、次世代シーケンサーを用いてDNA配列の決定を行った。今回配列決定を行った大腸菌株計24株が大腸菌であるかを確かめるため、24株分のリードデータをそれぞれ、すでに全ゲノム解析が終了している大腸菌 K12 株 W3110 亜株の全長配列データに Mapping した。結果、今回配列決定したすべての株が大腸菌であると判明したが、24株のうち、ウシ由来大腸菌で2株同士が、ニワトリ由来大腸菌で2株同士が、それぞれクローンであると判明したため、その後の解析ではクローンと判断された2株については、片方の株のみを対象とした解析を行った。すなわち、以降の解析はヒト由来9株、ウシ由来2株、ブタ由来6株、ニワトリ由来5株の、合計22株を対象として行った。

本研究ではコアゲノム上以外の遺伝子に着目することで、遺伝子マーカーを特定することを目的とした。そこで、K12 株 W3110 亜株に Mapping されなかったリードを対象とした解析を行うという手法をとった。なぜなら、コアゲノムはすべての大腸菌株が保有しているゲノム領域であるため、K12 株 W3110 亜株もそれらのゲノム領域を保有しており、そのゲノムに Mapping できなかったリードデータは、コアゲノム領域外のゲノム領域から生じたデータであると仮定できるからである。そこで、22株それぞれの K12 株 W3110 亜株に Mapping できなかったリードデータについて、Assembly (リードデータから元の長い塩基配列を再構築すること) を行い、Contig (Assembly の結果生じた、1セットのリード連結断片) を作成した。その後、解析した大腸菌株間で、これらの作成した Contig 同士を対象とし、BLAST (Basic Local Alignment Search Tool の略。今回は、CLC Genomics Workbench 中の機能を指す) による検索を行った。BLAST とは、塩基配列データ同士 (今回の場合、22株分の Contig データ) において、その配列を比較し合い、類似性の高い配列を発見するプログラムである。例えばヒト特異的な遺伝子マーカー候補は、ヒト由来大腸菌株 Contig データ間のみで類似性の高い配列が発見されるが、その他の動物種由来大腸菌株では類似性の高い配列が発見されないことが予想される。このようにして、ある動物種由来大腸菌株の Contig データ間のみで類似性が高いと判断され、発見された配列を、その動物種特異的な遺伝子マーカー候補とした。

結果として、ヒト由来大腸菌特異的な遺伝子マーカーを16種、ウシ由来大腸菌特異的な遺伝子マーカーを3種、ブタ由来大腸菌特異的な遺伝子マーカーを3種、ニワトリ由来大腸菌特異的な遺伝子マーカーを9種の、計31種類の遺伝子マーカーを発見することができた。これらの遺伝子マーカーには、PM1 や ChM5、ChM7 や ChM14 など、鞭毛や繊毛に関連する遺伝子が見受けられた。これは、腸管内の環境及び細胞の性質が動物種ごとに異なり、それらの細胞との相互作用に関わる adhesin といった遺伝子に、違いが反映されたことが考えられる。

また、遺伝子マーカーの中には、他の遺伝子マーカーと、大腸菌株ごとの保有パターンが似ている、または同一のものが存在することがわかった。つまり、河川水中の大腸菌について遺伝子マーカーの保有の有無を調べる際には、上記31種類すべての遺伝子マーカーの保有の有無を検証する必要性はなく、株ごとの保有パターンが似ている遺伝子マーカーについては、その中から1つを選んで保有の有無を検証すれば良いことがわかった。したがって、以下の研究では、これら31種類の遺伝子マーカーのうち

14 種類の遺伝子マーカーを選択して、実験を行った。なお、選択した遺伝子マーカーは、HM9、HM16、HM18、HM29、CoM1、CoM2、CoM3、PM1、PM3、PM4、ChM7、ChM9、ChM13、ChM14、とした。また、これらの 14 種類の遺伝子マーカーに加え、その解析した細菌が大腸菌か確かめるために、大腸菌のハウスキーピング遺伝子から、2 種類の遺伝子を選択して (adk、trpA) プライマーを設計し、これらの遺伝子の有無についても確認した。

2. 2 大和川水系における大腸菌の起源

2011 年 8 月 2 日、2011 年 11 月 8 日、2012 年 2 月 21 日、2013 年 10 月 1 日の計 4 回、大和川において採取した河川水を解析試料とした。起源推定については、1 種類の由来動物種に特異的なマーカーのみを持っている大腸菌株 (例えばヒト由来大腸菌特異的マーカーを 2 つ持っている、といった場合) はその由来動物種起源と判断し、2 種類以上にわたる由来動物種に特異的なマーカーを持っている大腸菌株 (例えばヒト由来大腸菌特異的マーカーを 2 つ、ブタ由来大腸菌特異的マーカーを 1 つ持っている場合) については、サポートベクターマシンという識別手法を用いて起源推定を行った。

結果として得られた、大腸菌起源の分布を図 6 に示す。起源推定可能だった大腸菌株の中ではヒト由来大腸菌が最も多く、モデルによる算出結果と同様の傾向が示されたことがわかった。ただし、ウシ由来、ブタ由来、ニワトリ由来の大腸菌株も、ヒト由来ほどではないものの、存在したことがわかった。これは例えば、汚染が懸念されているカワウ由来の大腸菌株がニワトリと判別され、ペットや野生動物由来の大腸菌株がウシやブタ由来と判別された可能性が考えられる。また、遺伝子マーカーを一つも持っていない大腸菌株も見受けられたが、その理由として、大腸菌が河川水中に放流されたのち、遺伝子マーカーを失ってしまった可能性が考えられる (これらの遺伝子マーカーは由来動物種の腸管内の生存には必要ではあるが、河川水環境での生存には必要ない)。また例えば、ヒト由来の大腸菌でも 33% の大腸菌株はヒト由来特異的遺伝子マーカーを持っていないということもあり、これらの大腸菌の影響も考えられる。さらに、2 種類以上にわたる由来動物種に特異的なマーカーを持っている大腸菌株も検出され、河川水中で大腸菌株が遺伝子の交換を行っている可能性も示唆された。

いずれにせよ、ほぼすべての地点でヒト由来の大腸菌株が最も多かったことより、大和川における主要糞便汚染源はヒトであるということがわかった。

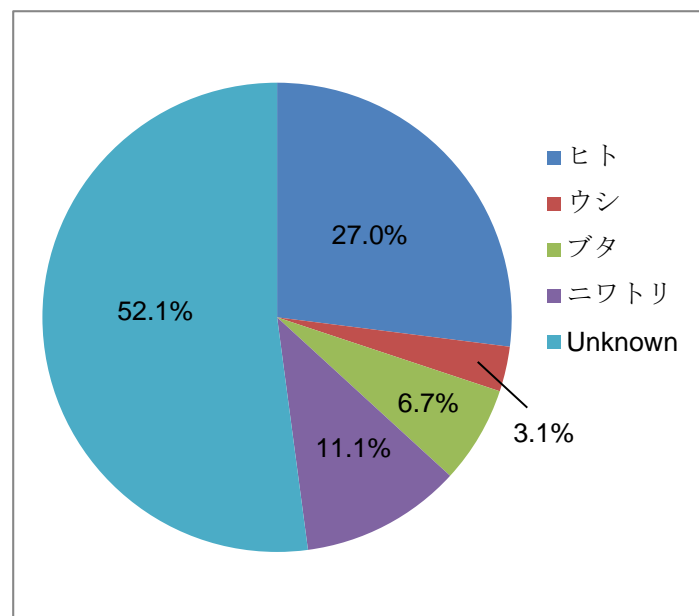


図 6 推定された大和川河川水中大腸菌の起源

⑦今後の課題・展望 (本技術研究開発で得られた成果を踏まえ、成果のさらなる発展や河川行政への活用に向けた、今後の課題・展望等を具体的に記載ください)

数値シミュレーションの結果からは、ほとんどの地点において、ヒト起源の糞便性大腸菌群数が支配的であるという結果となったが、DNA 解析による結果では、同定できたものだけを見た場合、ヒト起源

のものは約半数でしかない。この原因の一つとして考えられるのが、大腸菌と糞便性大腸菌群の違いである。数値シミュレーションにおいては糞便性大腸菌群数をシミュレーションするため、下水放流水については、大腸菌群数の測定値から糞便性大腸菌群数を推定し、一方、浄化槽や家畜由来の糞便性大腸菌群数は、大腸菌数が糞便性大腸菌群数に等しいと仮定してシミュレーションを行っている。しかし、大腸菌数と糞便性大腸菌群数が異なることは明らかであり、このことがシミュレーションにおいても、単独浄化槽からの糞便性大腸菌群の排出量が過小評価である可能性の指摘と関連している可能性がある。大腸菌群数と糞便性大腸菌偶数との関係、そして大腸菌数と糞便性大腸菌群数との関係は一定ではなく、例えば、浄化槽でも処理方式によって、消毒後処理水中の大腸菌群数に占める大腸菌数の割合が大きくことなることもデータとして示されている。これらのことから、糞便性大腸菌群数のシミュレーションにおいては、浄化槽起源と家畜起源の排出量を過小評価している可能性が考えられる。また、シミュレーションにおいては、カワウなどの野生動物の影響が十分考慮されているとはいえない。一方、DNA 解析による方法では、やはり大腸菌数と糞便性大腸菌数との関係がはっきりしないことから、解析結果が糞便性大腸菌群数の割合を反映しているとは言えない。また、まだ起源が同定できない大腸菌が約半数存在していることも、起源の割合を定量的に評価することを困難にしている。このため糞便性大腸菌群数を水質管理目標として考える場合は、今後、各起源からの大腸菌群数、糞便性大腸菌群数、大腸菌数の関係を明らかにして、数値シミュレーション結果、および DNA による起源解析結果を修正していく必要がある。しかし一方で、水遊びできる川を目指すための衛生的管理目標を設定することを考えた場合、これからは微生物の構成がはっきりしない糞便性大腸菌群数ではなく、大腸菌数で管理していく方がより信頼性の高い管理が可能となるのではないかと考えられる。すでに水道水の管理は大腸菌数で行われており、今後は河川水の管理においても大腸菌数での管理へと移行していくことが予想される。このため、今回は糞便性大腸菌群数についてシミュレーションを行ったが、次は大腸菌数についてのシミュレーションを行うことも必要と考えられる。このためには、増殖や死滅に関するパラメーターなども、大腸菌について求め直す必要がある。

以上のように本研究では、シミュレーション結果では、糞便性大腸菌群数の起源の最も大きな寄与は浄化槽であると結論し、河川水中の糞便性大腸菌群数を減らすためには、浄化槽から下水道への転換、および適正な浄化槽の管理が重要である、という結論を導いたが、DNA の解析による結果からは、大腸菌数については、家畜起源、あるいは野生動物起源の大腸菌の寄与ももっと多いのではないかと、という問題提起を行うこととなった。つまり、数値シミュレーションの結果では浄化槽からの糞便性大腸菌群数の排出量が過小評価されている可能性があることも考慮すると、ヒト起源の糞便性大腸菌群数を減らすという目標のためには、数値シミュレーションから得られた結論は正しく、また、その対策の定量的効果は過小評価されている可能性さえある。しかし、DNA による解析からは家畜排水、あるいは野生動物からの寄与を減らすことも対策として重要である可能性が示されており、今後、DNA 解析による同定割合を向上させること、および、その割合の位置による変化を明らかとすること、それらの結果と、大腸菌数でのシミュレーション結果を比較することなどによって、河川水の衛生的環境をより向上させる対策の最適案を提示していくことが可能となると考えられる。