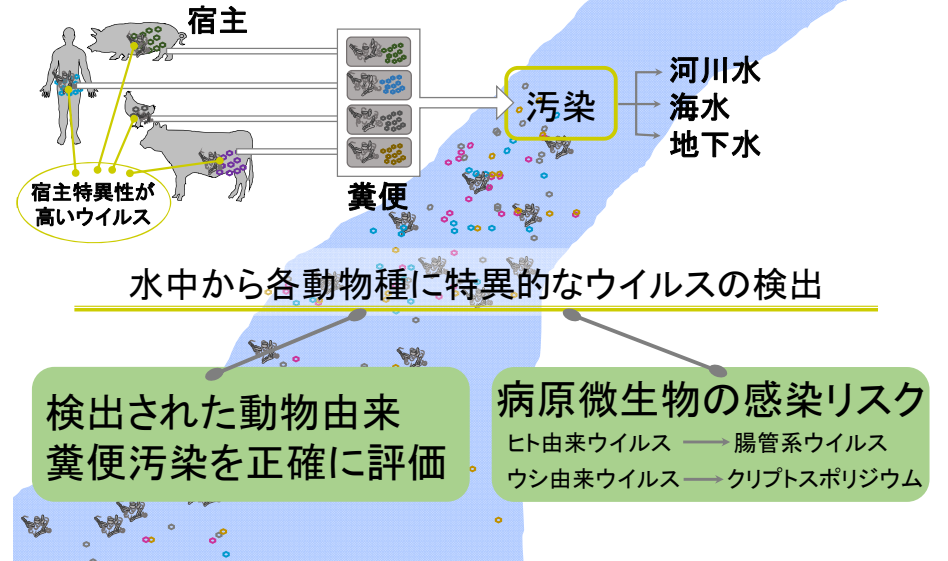


# 水質グループ (新規ウイルス指標を用いた 水質評価法の開発)

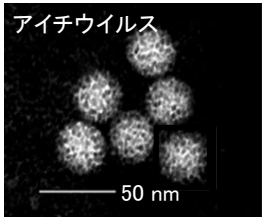
片山浩之  
稲葉愛美  
Waitou Ng  
古米弘明

## 概念図: ウイルス指標による糞便汚染起源追跡

各動物種由来ウイルスによる評価



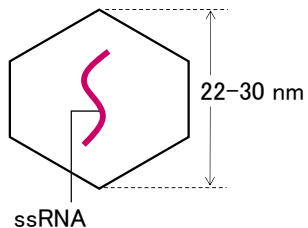
## ウイルス指標の候補1: コブウイルス属



分類: ピコルナウイルス科  
形状: 正二十面体  
遺伝子: 一本鎖RNA  
直径: 22-30 nm

代表的な腸管系ウイルスの特徴と類似(ノロウイルスなど)

種: アイチウイルス (AiV, ヒト)  
ブタコブウイルス (PkoV, ブタ)  
ウシコブウイルス (BkoV, ウシ)



## コブウイルス属のウイルス指標としての利点

環境中に大量に存在する可能性

宿主特異性が非常に高い可能性

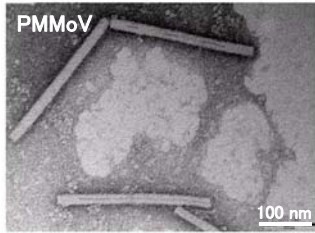
検出が容易である

糞便汚染の起源を区別することが可能

コブウイルス属は糞便汚染起源を推定する指標として有効である可能性が高い

## ウイルス指標の候補2:

### PMMoV (Pepper Mild Mottle Virus)



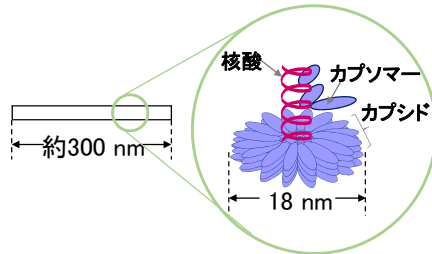
分類: トバモウイルス属

形状: らせん管状

遺伝子: 一本鎖RNA

直径: 約18 nm

長径: 約300 nm



植物ウイルス  
ヒト糞便、下水流入水、  
環境水中に最も豊富に存在

## PMMoVのウイルス指標としての可能性

ヒト糞便および水環境中に  
最も大量に存在する

糞便中のPMMoVは食物  
に由来すると考えられる

検出が容易である

ヒト糞便汚染の有無を  
評価することが可能

PMMoVはヒト糞便汚染の有無を推定する指標  
として有効である可能性が高い

但し、水環境に存在するPMMoVの由来が明らかでない

## 目的

コブウイルス属およびPMMoVによる糞便汚染源の推定

コブウイルス属およびPMMoVのウイルス指標としての有効性を評価することを目的とした、荒川流域におけるコブウイルス属およびPMMoVの定量・検出

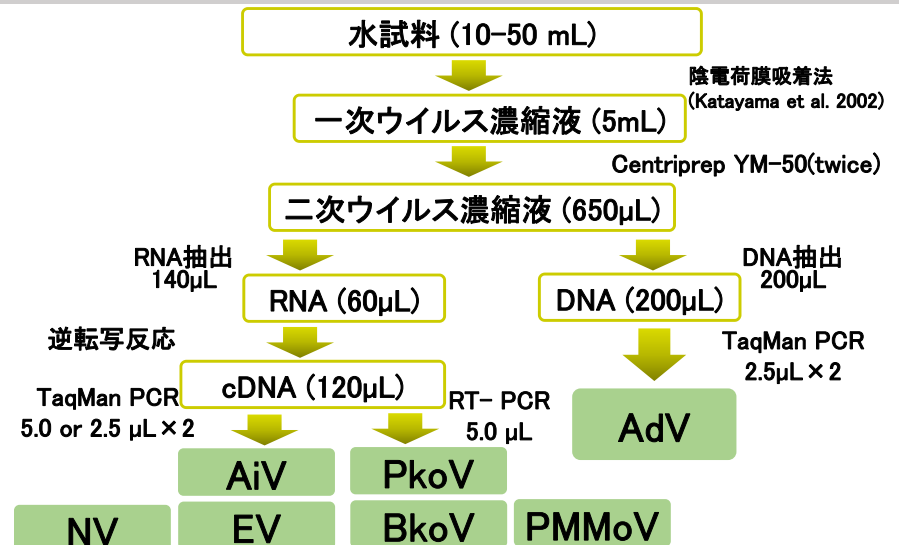
### コブウイルス属

荒川流域におけるAiVの定量、およびPKoV, BKoVの検出

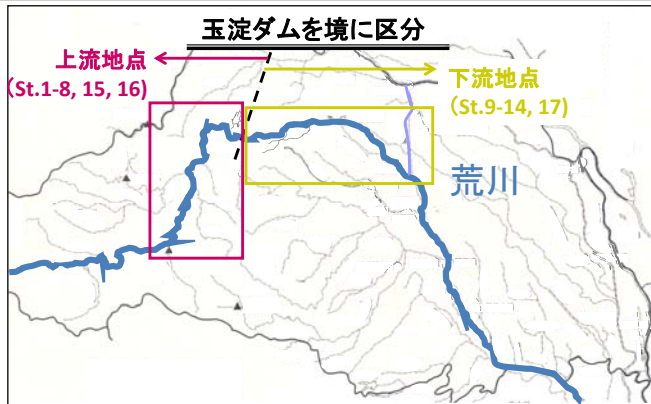
### PMMoV

荒川流域におけるPMMoVの定量  
水環境中のPMMoVの起源を推定

## ウイルスの定量・検出手順



## コブウイルス属: 試料採取



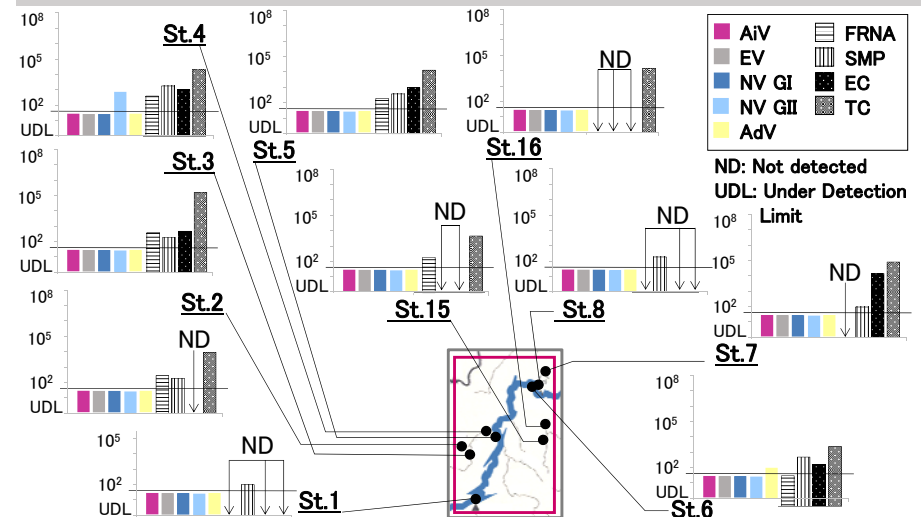
調査回数: 2回

採取試料: 河川水

調査期間: 2010年12月28日  
2011年1月19日

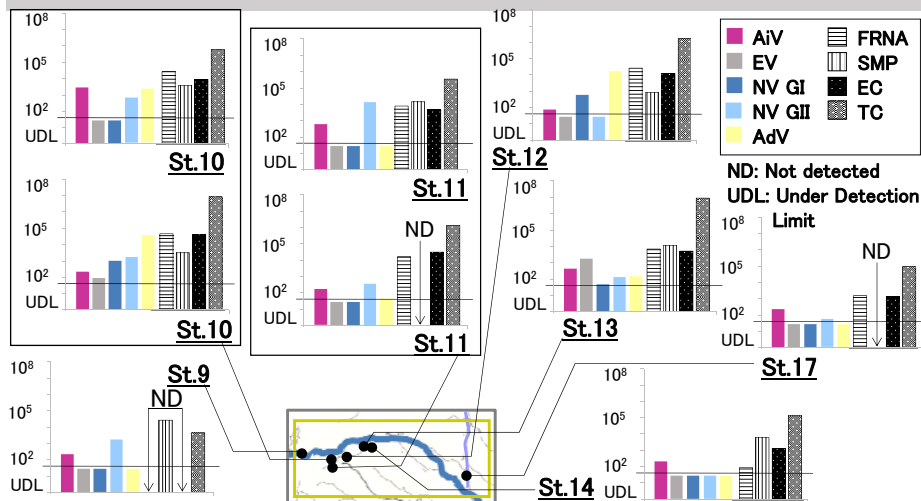
採取試料数: 合計21試料

## 上流採取地点におけるウイルスゲノムの定量結果



AiVを含めたヒト腸管系ウイルスは上流採取地点からは検出されなかった (St.4、およびSt.6を除く)

## 下流採取地点におけるウイルスゲノムの定量結果



下流採取地点においてAiVは全ての地点から安定した量で検出された  
 他の腸管系ウイルスは地点で変動していった

## まとめ

AiVは他の腸管系ウイルスと同様に、下流地点から検出された  
 AiVの濃度は、他の腸管系ウイルスに比べ低かったが、安定した量で検出された

➡ 環境水中に幅広く安定した量で存在していることが示唆された

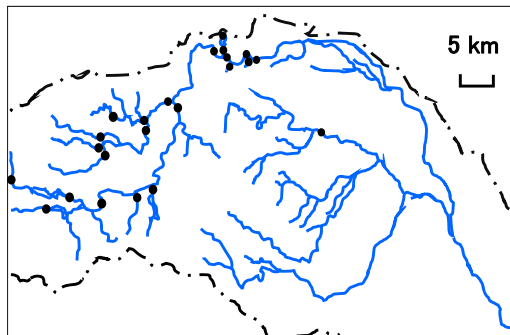
PKoVおよびBKoVがいくつかの河川水試料から検出された  
 養豚場廃水関連河川水からは、2010年12月の試料でのみPKoVが検出された  
 BKoVは検出されなかった

➡ 環境水中に検出可能な量で存在し、ブタ、ウシ糞便汚染起源を評価できる可能性

コブウイルス属は糞便汚染起源追跡のためのウイルス指標として有効である可能性が示唆された

# 荒川流域におけるPMMoVの定量

## PMMoV



● 試料採取地点

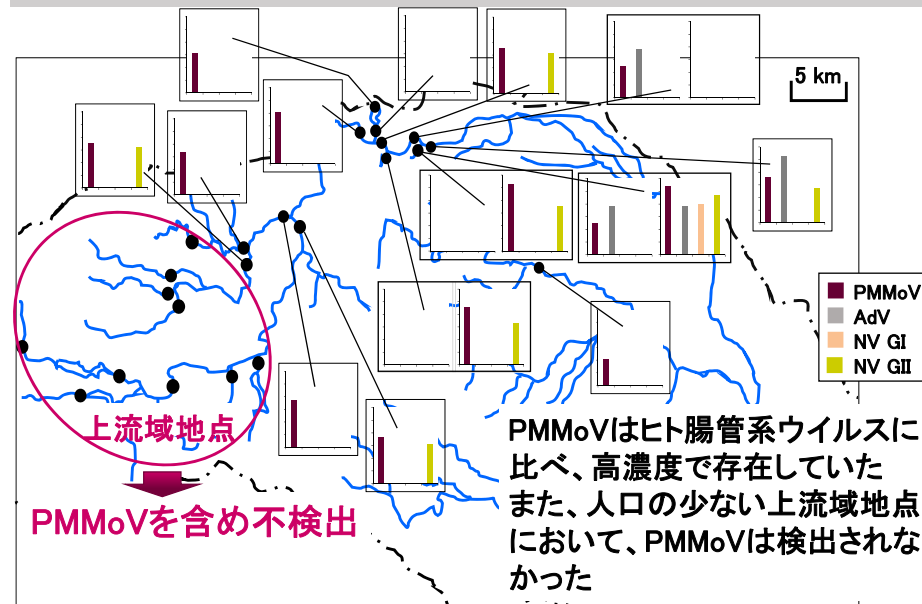
調査回数: 4回

調査期間: 2011年1月19日  
2012年10月23日  
2012年11月14日  
2012年12月17日

採取試料: 河川水

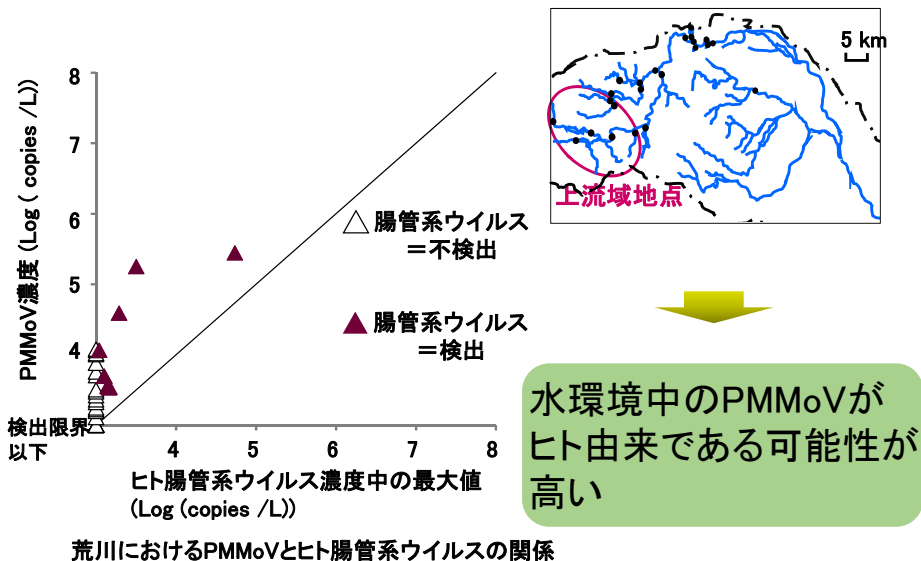
採取試料数: 合計35試料

# 荒川流域におけるPMMoVの定量結果



PMMoVはヒト腸管系ウイルスに比べ、高濃度で存在していた  
また、人口の少ない上流域地点において、PMMoVは検出されなかった

# 荒川流域におけるPMMoVの定量結果



# 水環境におけるPMMoVの起源推定



1) Zhang et al. 2006; 2) Colson et al. 2010  
3) Hamza et al., 2011; 4) Rosario et al., 2009



## 水環境におけるPMMoVの起源推定

= 生活雑排水におけるPMMoVの定量

調査回数: 2回

採取試料:

調査期間: 2012年11月14日・戸建住宅(単独浄化槽または汲み取り式便所)

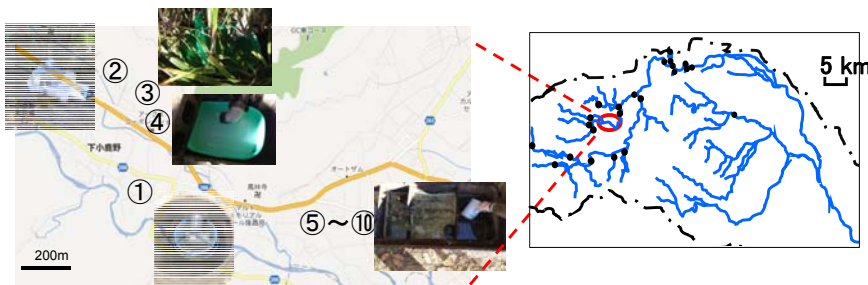
2012年12月17日 の生活排水(①~④)

対象地域: 埼玉県小鹿野町・集合住宅(単独浄化槽)の混合生活排水

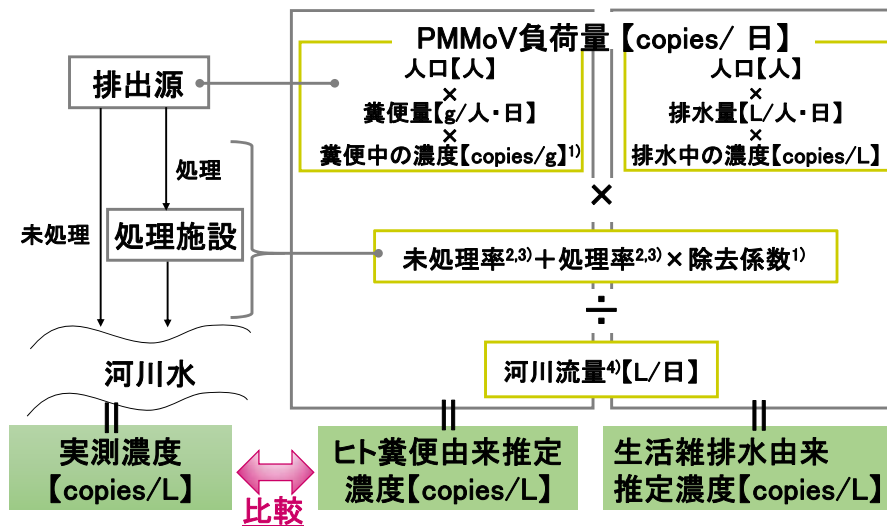
(⑤~⑩) (下水道普及率が低い)

採水方法: 2-3時間おきに1回採取

採取試料数: 合計85試料

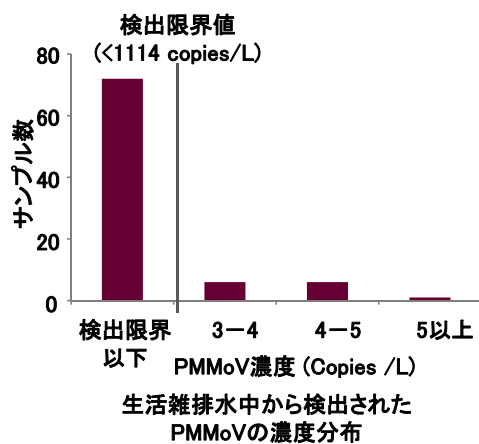


## PMMoV推定濃度の算出



1) Hamza et al., 2011; 2) 下水道普及率(日本下水道協会) 3) 浄化槽利用率(埼玉県); 4) 国土交通省水文水質データベース

## 生活雑排水におけるPMMoVの定量結果



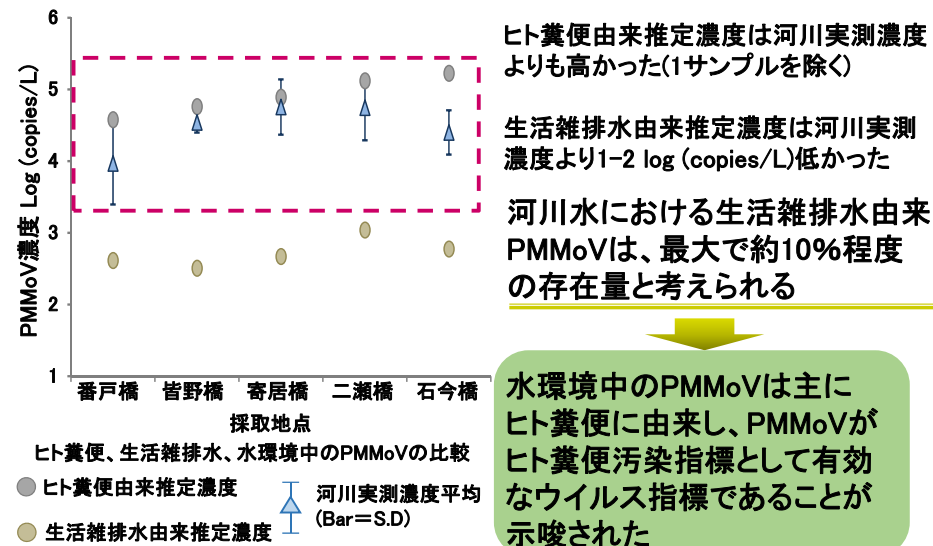
陽性サンプル数: 13/ 85 (15.3%)  
平均検出濃度:  $3.3 \times 10^3 \text{ copies /L}$   
(最大検出濃度:  $5.1 \times 10^5 \text{ copies/L}$ )

生活雑排水中のPMMoVの濃度は  
下水流入水( $1.50 \times 10^9 \sim$   
 $2.16 \times 10^{10} \text{ copies/L}$ )<sup>1,2)</sup> に比べ  
低いことが確認された

生活雑排水中のPMMoVは  
下水流入水中の主な起源  
ではないことが示唆された

1) Hamza et al., 2011; 2) Rosario et al., 2009

## ヒト糞便および生活雑排水推定濃度と河川実測濃度との比較によるPMMoVの起源推定



ヒト糞便由来推定濃度は河川実測濃度  
よりも高かった(1サンプルを除く)

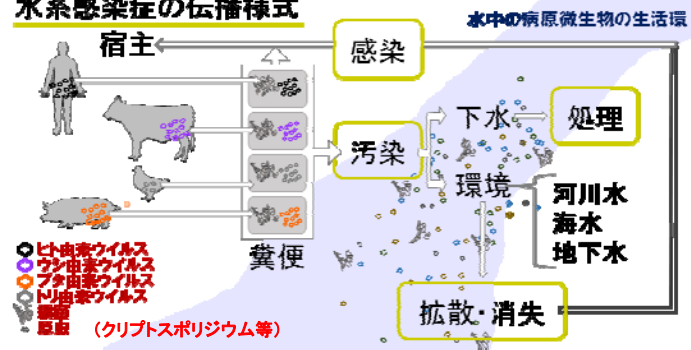
生活雑排水由来推定濃度は河川実測  
濃度より1-2 log (copies/L)低かった

河川水における生活雑排水由来  
PMMoVは、最大で約10%程度  
の存在量と考えられる

水環境中のPMMoVは主に  
ヒト糞便に由来し、PMMoVが  
ヒト糞便汚染指標として有効  
なウイルス指標であることが  
示唆された

## 研究成果の活用の方向性

### 水系感染症の伝播様式



水利用・処理において、

- ・動物ごとに糞便汚染を分けて表す指標があったら、役に立つか??
- ・大腸菌以外に、水中の病原微生物の感染リスクの評価のツールが必要??

# 水質グループ (水質変容ポテンシャル班)

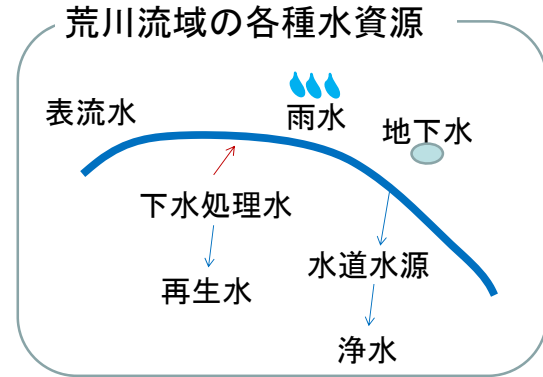
栗栖太、春日郁朗

東京大学



### ①全溶存有機物

### 荒川流域の各種水資源



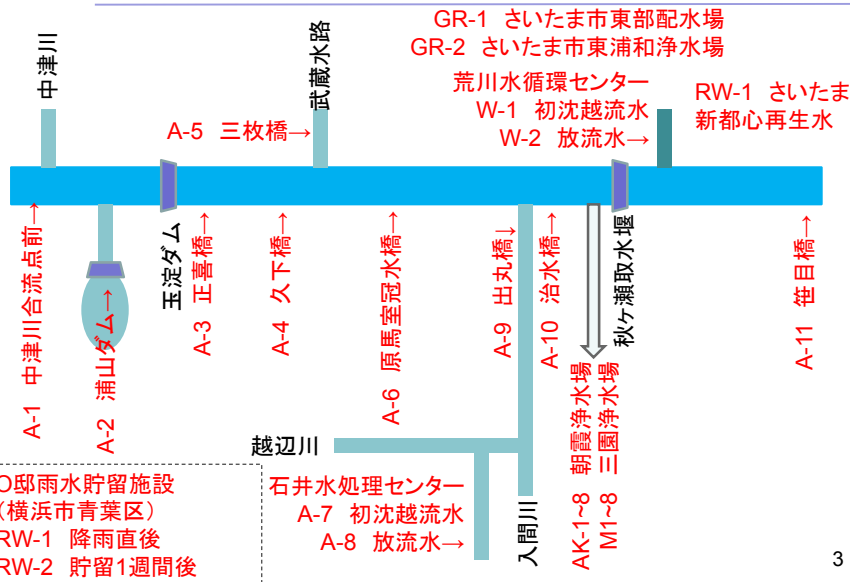
各種水資源に含まれる有機物の組成を、化合物レベルで評価

- 溶存有機物の由来は？
  - 各水資源の特徴は？
- ➔
- ✓ 水質事故への対応
  - ✓ 水質特徴に応じた水利用

### ②生分解性有機物

### ①全溶存有機物

## 採水地点

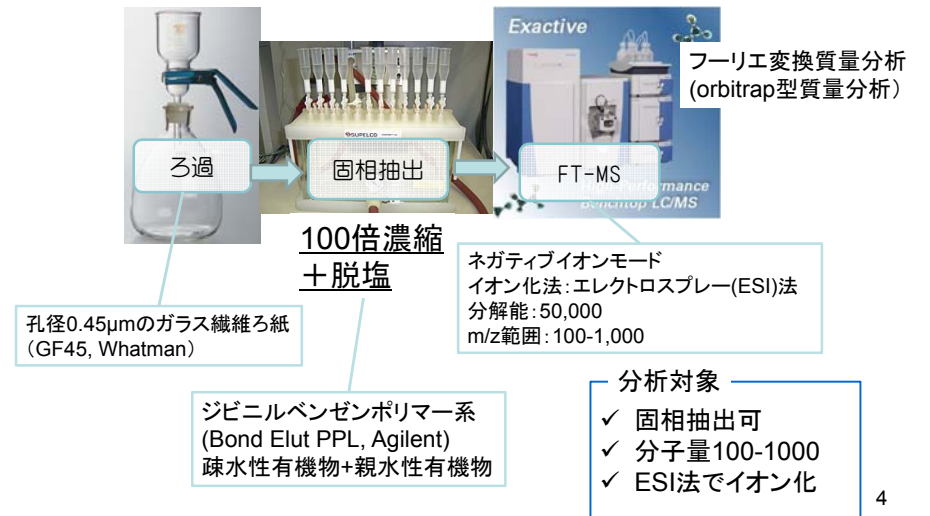


### ①全溶存有機物

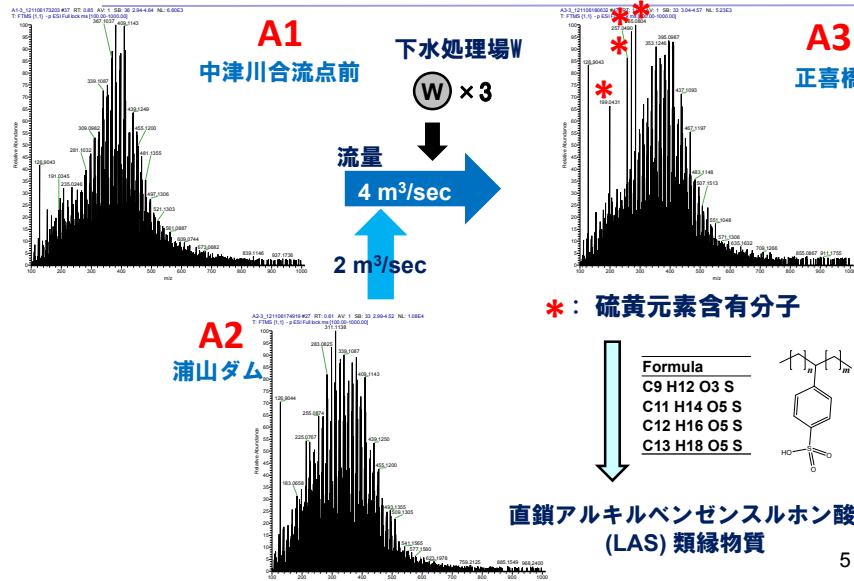
## 分析手法



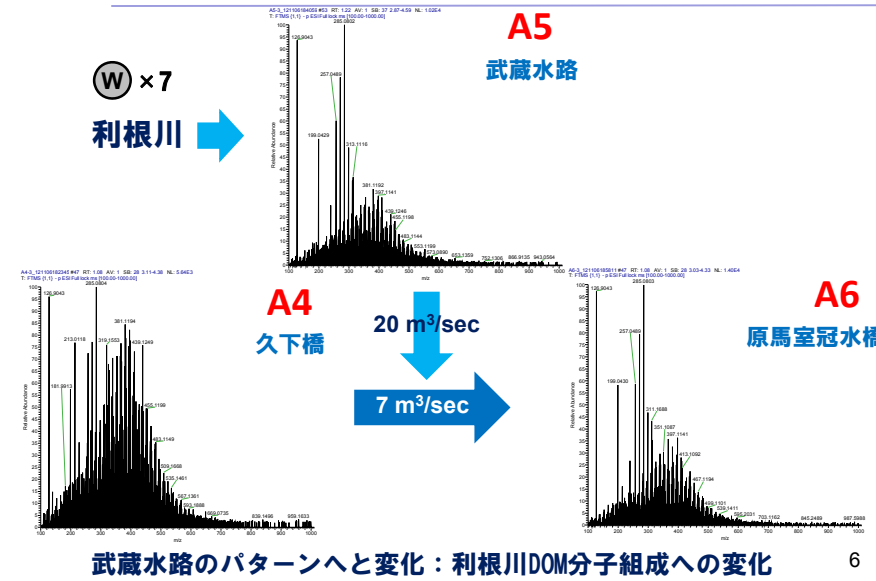
### 低分子有機物のノンターゲット分析



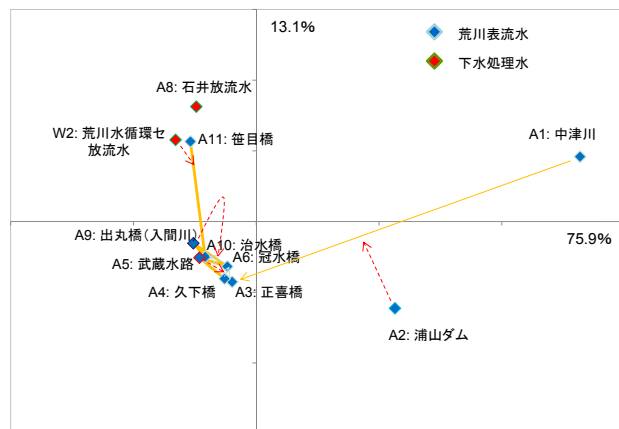
# 荒川表流水のマススペクトル(MS): 上流部



# 荒川表流水のMS: 武蔵水路の影響

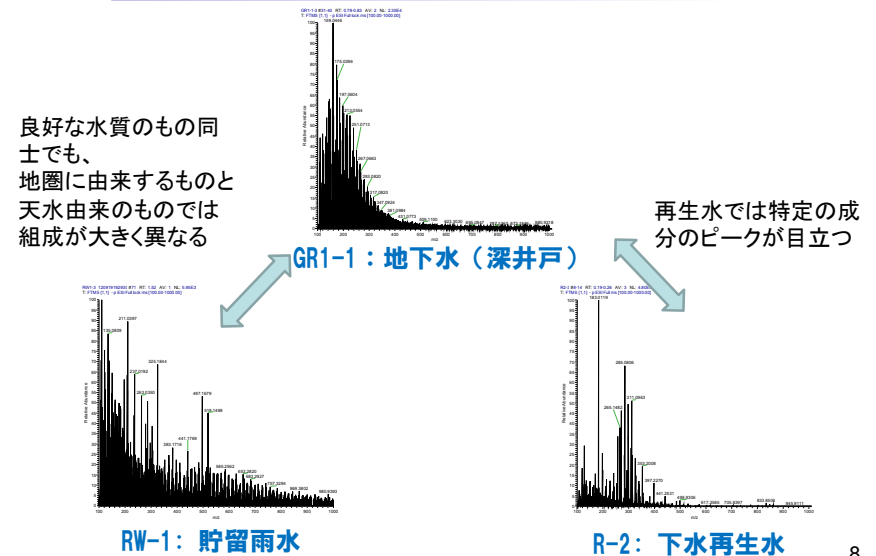


# 荒川表流水MSパターンの主成分分析



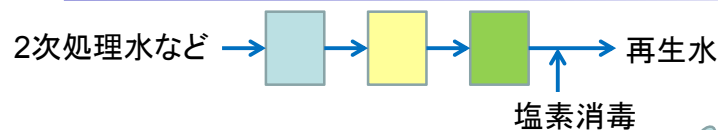
- 下水(処理水)の影響をほとんど受けていないA1中津川合流点
- A3正喜橋~A10治水橋
- A11笹目橋

# 様々な都市水資源のMS



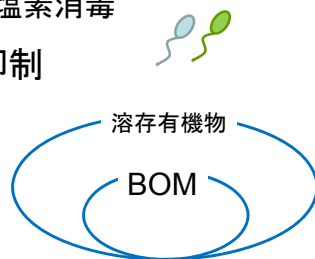


## 再生水処理と生分解性有機物(BOM)



### 再生水における微生物再増殖の抑制

- 消毒による微生物制御(残留塩素)
- 生分解性有機物(Biodegradable Organic Matter, BOM)の制御



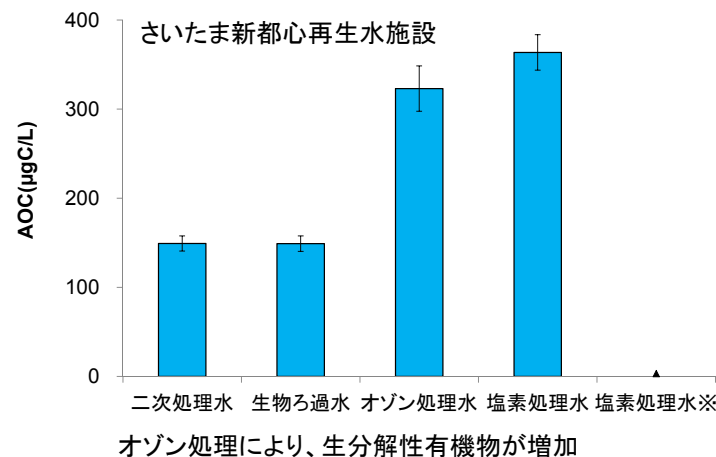
### 生分解性有機物BOMの除去/生成過程の把握

- ✓ 再増殖のポテンシャルの把握
- ✓ 再増殖低減のための方策

## 再生水処理工程におけるBOM変化

同化性有機炭素(Assimilable Organic Carbon, AOC)法

⇒微生物株を試料に植種し、増殖量からBOMを評価する方法



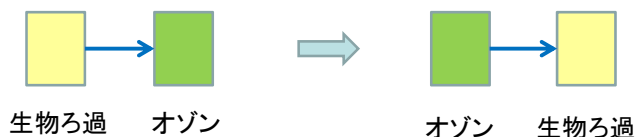
## 水質の「安定性」

微生物再増殖が起こる水 ⇔ 水質的に「不安定」な水

生分解性有機物(BOM)大  
残留塩素小

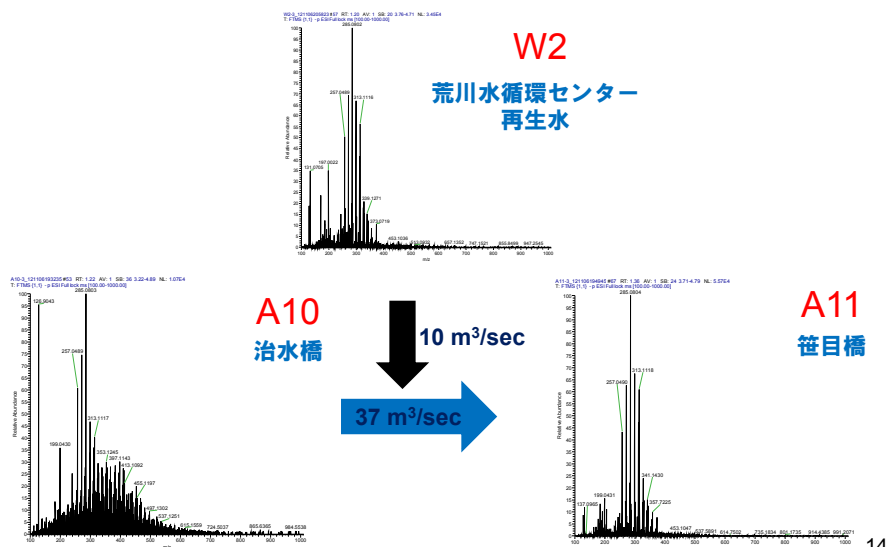
⇒ BOM量に応じた塩素注入量の設定

BOMを低減する処理法はないか？

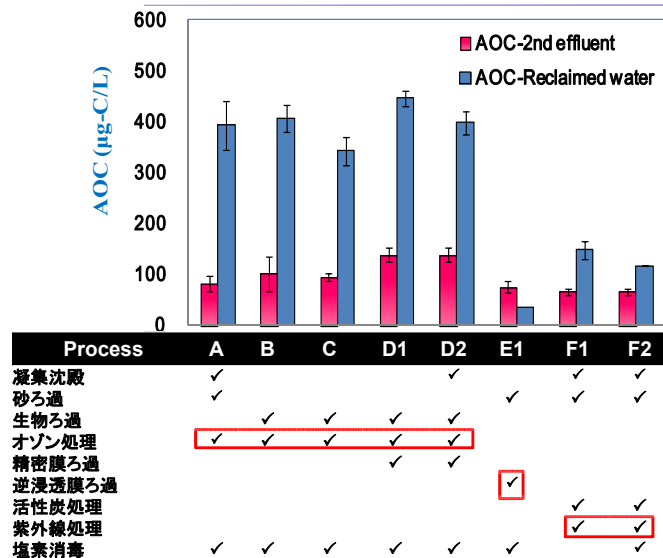


## まとめ

- 荒川の溶存有機物を化合物レベルで調べた
  - 中流域で生活排水由来の物質が確認された
  - 武蔵水路および荒川水循環センター処理水の流入の影響を大きく受けていた
- 下水再生水処理において、
  - 特にオゾン処理により生分解性有機物が増加する
  - 水質の安定性を考慮した考え方の提案

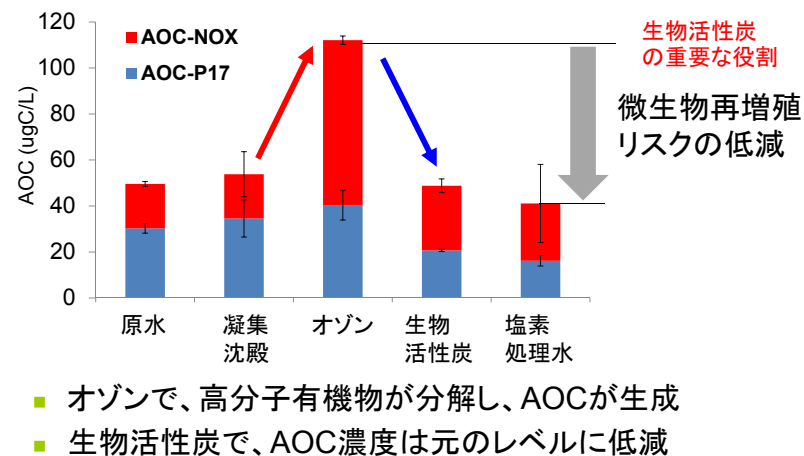


再生水処理プロセス前後のAOC



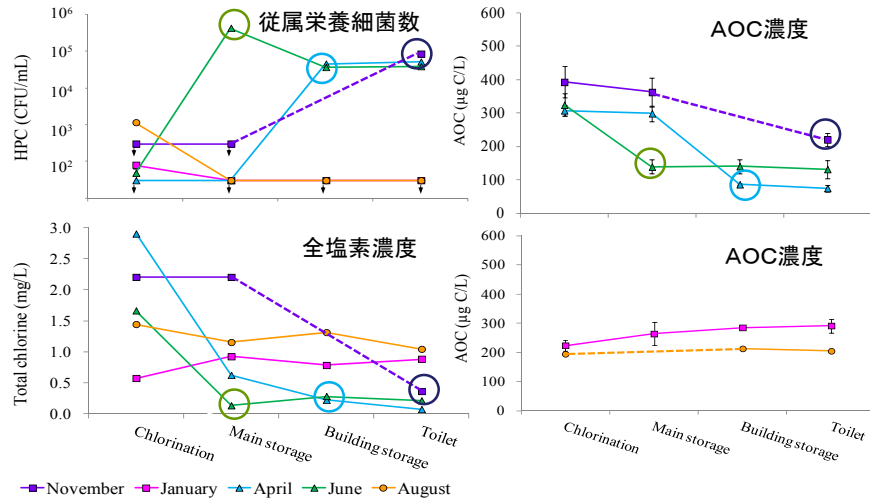
- オゾン処理のある再生水のAOCが高い
- UV処理のあるF処理場も再生水のほうがAOCが若干高い
- RO処理のあるEでは再生水のAOCは低い

高度浄水処理工程のAOC変化



- オゾンで、高分子有機物が分解し、AOCが生成
- 生物活性炭で、AOC濃度は元のレベルに低減

# 再増殖とAOC, 残留塩素(貯留による影響)



再増殖は、残留塩素が低下した時、AOCの消費を伴って起こっている

## 1: 水質変容P

# BGFによる再生水BOMの評価



**Step1 植菌**

Iso-1    Iso-2    ...    NOX

殺菌処理した試料に全11株を初期濃度が1,000cells/mLとなるように個別に添加

略称	試験菌株
Iso-1	<i>Sphingomonas yabuuchiae</i> strain W211
Iso-2	<i>Acidovorax</i> sp. CNE29
Iso-3	<i>Herminiimonas saxobidensis</i> strain AA
Iso-4	<i>Pseudomonas</i> sp. lyh1B
Iso-5	<i>Nevskia ramose</i>
Iso-6	<i>Mycobacterium</i> sp. 18GUW
Iso-7	<i>Microbacterium</i> sp. 5BCO-S1.1
Iso-8	<i>Pedobacter</i> sp. BR-9
Iso-9	<i>Riemerella</i> sp. IPDH98/90
P17	<i>Pseudomonas fluorescens</i> P17
NOX	<i>Aquaspirillum</i> sp. NOX

再生水等から単離した9株

AOC測定用の2株

**Step2 培養・菌数測定**

20°Cで10日間静置培養し、継続的に菌数を測定

フローサイトメトリー

SYBR® Green Iにより染色後、BD Accuri™ C6 フローサイトメーターを用いて菌数測定

**Step3 最大増殖量**

試料間で増殖応答を比較

Time