

博 士 論 文

常呂川水系における
ふん便性大腸菌群の由来および汚濁位置の
簡便な推定方法の開発に関する研究

2023 年 3 月

工 藤 祥 久

目次

1. 序論	1
1.1. 研究の背景と目的.....	2
1.2. 本論文の構成.....	3
参考文献.....	5
2. 常呂川流域の公表値を活用した水系暴露解析モデルによるふん便性大腸菌群の由来別汚濁の推計	6
2.1. 緒言.....	7
2.2. 方法.....	8
2.2.1. 概要.....	8
2.2.2. 使用したソフトウェア.....	8
2.2.3. 使用したデータ.....	9
2.2.4. 常呂川水系水質調査の解析.....	10
2.2.5. 流量推計値の検証.....	12
2.2.6. パラメータの設定値.....	12
2.2.7. 常呂川流域における fc 汚濁負荷.....	13
2.3. 結果および考察.....	16
2.3.1. 常呂川水系水質調査の解析.....	16
2.3.2. 常呂川流域における fc 汚濁負荷.....	18
2.3.3. AIST-SHANEL による推計値の検証.....	19
2.3.4. 汚濁由来ごとの fc 濃度への寄与.....	27
2.4. まとめ.....	30
参考文献.....	31
3. 実験によるふん便性大腸菌群の由来および河川水中半減期の推定	34
3.1. 抗生物質に対するふん便性大腸菌群の薬剤感受性を用いた汚濁由来の推定 ...	35
3.1.1. 概要.....	35
3.1.2. 方法.....	35
3.1.3. 結果と考察.....	43
3.1.4. 薬剤感受性を用いた汚濁由来推定実験のまとめ.....	56
3.2. 太陽光暴露によるふん便性大腸菌群の河川水半減期推定.....	57
3.2.1. 概要.....	57
3.2.2. 方法.....	57
3.2.3. 結果と考察.....	59
3.2.4. 太陽光暴露によるふん便性大腸菌群の河川水半減期推定実験のまとめ....	64
参考文献.....	65
4. 結論	66
4.1. 研究成果の総括.....	67
4.2. 今後の課題と展望.....	68
5. 謝辞	69

1. 序論

1.1. 研究の背景と目的

常呂川は、北海道東部に位置する北見地域の1市2町を流下し、オホーツク海に注ぐ幹川流路延長120 km、流域面積1,930 km²を有するオホーツク管内最大の一級河川である。流域の土地利用は山林等が約82%と最も多く、次いで農用地が約16%、宅地等の市街地が約2%の順となっている¹⁾。流域の主要産業は第一次産業であり、流域全体で酪農業および畑作のほか、下流域ではサケ・マス、常呂川が注ぐオホーツク海沿岸部ではホタテ貝の増養殖事業が盛んである。また、上流域にはエゾシカ、キタキツネ等の多くの野生動物が生息し、流域人口約13万8千人のおよそ6割にあたる8万人強が、中流域に位置する北見市の人口集中地区20 km²に居住している²⁾。同地域は、年間降水量が800 mm程度と国内最少であるため、道内の他の一級河川と比較すると常呂川の比流量は少なく、汚濁負荷が濃度に反映されやすい。BODや大腸菌群数の項目において環境基準値を超過する測定値がしばしば観測されるほか、病原性微生物やウイルスの存在指標である「ふん便性大腸菌群 (fecal coliform, 以下 fc とする)」が、水浴場の水質の判定基準である1,000 個 100 mL⁻¹を大きく超過して検出されることもある³⁾。

こうしたことから常呂川は、これまで道内で最も汚濁が進んだ河川の一つとされ、流域住民の生活環境や一次産業への影響が強く懸念されてきた。

常呂川流域におけるふん便汚染源としては、野生動物のほか、家畜排せつ物およびこれを原料とする堆肥、ヒトの活動などが推測される。流域自治体では畑地での野積みや素掘り貯留等による家畜排せつ物の不適切な管理が主要な汚濁源と考え、これらの適正化を推進すべく、1992年より酪農経営体への啓発事業や水質モニタリング調査などに継続して取り組んできた。

他方、1996年に埼玉県越生町で、水道を介した寄生性原虫クリプトスポリジウムによる集団感染が発生した。クリプトスポリジウムはヒトのほかウシ、ブタの消化管内で増殖することが知られ、家畜排せつ物と水質汚濁や感染症との関わりが懸念されることなどを受け、国では家畜排せつ物の管理の適正化及び利用の促進に関する法律（以下、家畜排せつ物法とする）を施行し、酪農経営体に対して堆肥舎等の恒久的な施設整備を伴う家畜排せつ物の適正な管理を義務付けた。家畜排せつ物法の施行以降、常呂川の水質は大きく改善されたが、現在もなお水浴場の水質の判定基準の数十倍の濃度で fc が検出されることがある。

以上のことから、同流域において迅速かつ効果的な水環境保全対策を講じるため、常呂川のふん便汚染由来や排出源の簡便な推定法確立が強く求められている。

本研究では、常呂川の fc 汚濁由来や排出源の簡便な推定法確立を目的とする。

1.2. 本論文の構成

本研究では、産業技術総合研究所が開発した化学物質を対象とする水系暴露解析モデルを応用し、常呂川の通常時における fc 流下モデルの構築を行った。また、モデルを用いた推計の妥当性を評価するために、2 種類の実験を行った。まず、fc の由来によって薬剤感受性に差異が存在することを利用し、常呂川中流域における支配的な fc 由来を推計した。また、常呂川河川水中における fc の死滅あるいは不活化に大きく影響する太陽光暴露と fc の死滅あるいは不活化速度を実験から求め、fc の河川水半減期を求めた。

以下、各章のタイトルとその概要について示す。

第 1 章 序論

ここでは、常呂川水系の水質等にかかる現状と流域の取組経過、ふん便汚染対策の困難さなどについて述べ、本研究の目的を示す。

第 2 章 常呂川流域の公表値を活用した水系暴露解析モデルによるふん便性大腸菌群の由来別汚濁の推計

河川における fc を評価対象とした汚濁解析モデルを確立するためには、流域ごとに異なる fc 汚濁の由来や負荷の位置、量について、点および面汚濁源それぞれに定義する必要がある。

また、国外で報告されている fc 流下モデルについては、時間分解能や精度の面で改善が必要とされている⁴⁾。

一方、化学物質排出の位置や量については、特定化学物質の環境への排出量の把握等及び管理の改善の促進に関する法律に基づく事業者からの報告や統計資料により、比較的詳細に把握されているものの、国内外で報告されている化学物質を評価対象とした汚濁解析モデルの多くは、濃度予測の不完全性が指摘⁵⁾されている。

こうした中、国立研究開発法人産業技術総合研究所（英文略称：AIST. 以下、産総研とする）により、産総研－水系暴露解析モデル（national institute of Advanced Industrial Science and Technology- Standardized Hydrology-based Assessment tool for chemical Exposure Load, 以下 AIST-SHANEL とする）が開発された。AIST-SHANEL は、国内の河川流域における化学物質の暴露評価と対策評価のためのモデルとして、時空間的な化学物質濃度を推定し、化学物質の点および面汚濁に起因する河川流域内の水質が評価できるモデルとされている⁶⁾。

本研究では、国などが公開する統計 GIS データなどを用いて、同流域における fc 汚濁

由来ごとの排出位置および排出量のほか、環境中での fc の動態を考慮し、各種パラメータの設定値を適切に定義することで、AIST-SHANEL の fc 流下モデルへの応用を試みた。これにより得られた同流域の時空間的な fc 濃度推計値と公表値や実測値との比較により、通常時における常呂川 fc 流下モデルの妥当性を評価し、常呂川の任意の地点における fc 汚濁由来の割合を示すとともに、汚濁源となり得る地域の推定について示唆した。

第3章 実験によるふん便性大腸菌群の由来および河川水中半減期の推定

第3章では、第2章で推計した任意地点におけるふん便性大腸菌群の由来推定および河川水中半減期について、実験により求めることでシミュレーション結果の妥当性を評価した。

【抗生物質に対するふん便性大腸菌群の薬剤感受性を用いた汚濁由来の推定】

抗菌性物質は、現代の医療において重要な役割を果たしており、感染症の治療や手術時の感染予防などにより、患者の予後の改善に大きく寄与している⁷⁾。このほか、家畜の感染症治療や飼料が含有する栄養成分の有効な利用の促進などを目的に使用されている。国（農林水産省）では、抗菌性物質によるヒトの健康と獣医療に対するリスクの評価および管理の基礎資料とすべく、主要な抗菌性物質に対する家畜由来耐性菌の動向等について継続して調査している。大腸菌についてはアンピシリン（以下、ABPC とする）など 12 薬剤を対象に調査され、肥育牛由来菌ではテトラサイクリン（以下、TC とする）への耐性が高いことが報告されている⁸⁾。筆者らは家畜動物およびヒト由来 fc と野生動物由来 fc では、抗菌性物質への感受性（耐性）に差異があることに着目し、河川水中の fc における耐性菌群の存在割合から、排出由来の推定について検討した。

【太陽光暴露によるふん便性大腸菌群の河川水中半減期推定】

環境水中に放出された fc は様々なストレスを受け、不活化し、死滅に至る。各種ストレスの寄与率は河川により異なる。これまで筆者らは、環境水中の fc 濃度に影響するとされる原生動物による捕食、太陽光への暴露、水温の変化などの環境因子が、常呂川水系の河川水中 fc 濃度に与える影響について検討し、水深等も勘案した結果、常呂川水系における fc 死滅の支配的環境因子は太陽光への暴露と結論付けた⁹⁾。

本研究では、太陽光暴露実験により fc の死滅あるいは不活化に要する時間から、fc の死滅速度（河川水中半減期）を求めた。

第4章 結論

第2章および第3章を通じた結論と今後の課題等について示す。

参考文献

- 1) 国土交通省北海道開発局網走開発建設部：常呂川の概要＜河川の特徴＞
”<<https://www.hkd.mlit.go.jp/ab/tisui/icrceh0000005re0-att/icrceh0000005rgp.pdf>>, (accessed 2022-8-5).
- 2) 国土交通省水管理・国土保全局：日本の川-北海道-常呂川
”<https://www.mlit.go.jp/river/toukei_chousa/kasen/jiten/nihon_kawa/0102_tokoro/0102_tokoro_00.html>, (accessed 2022-8-5).
- 3) 国土交通省北海道開発局小樽開発建設部：尻別川水系河川整備計画第2回流域委員会資料” <<https://www.hkd.mlit.go.jp/ot/koumu/vu2tjq0000000u1e-att/a8pgkh00000004rv.pdf>>, (accessed 2022-8-5).
- 4) F.L. Hellweger: *Water Science & Technology*, 56(6), pp.39–46(2007).
- 5) Tohru Nishioka, Yuichi Iwasaki, Yuriko Ishikawa, Masayuki Yamane, Osamu Morita, Hiroshi Honda: *Integrated Environmental Assessment and Management*, Volume 15(5), pp. 750–759 (2019).
- 6) Yuriko Ishikawa, Michihiro Murata, Tomoya Kawaguchi: *Journal of Cleaner Production*, 239(1) 118027(2019).
- 7) 厚生労働省：抗菌性物質製剤に係る安定供給確保を図るための取組方針 “
<<https://www.mhlw.go.jp/content/001039660.pdf>>, (accessed 2023-1-31).
- 8) 農林水産省動物医薬品検査所：平成 27 年度家畜由来細菌の抗菌性物質感受性実態調査結果”<<https://www.maff.go.jp/nval/yakuzai/pdf/h27cyousakekkagaiyou.pdf>>, (accessed 2022-8-5).
- 9) 工藤祥久：化学系学協会北海道支部 2015 年冬季研究発表会要旨集，87(2015).

2. 常呂川流域の公表値を活用した水系暴露解析 モデルによるふん便性大腸菌群の由来別汚濁 の推計

2.1. 緒言

環境水におけるふん便汚染の指標として、ふん便性大腸菌群数 (fc) が水浴場の水質の判定基準に設定されている¹⁾。親水利用を介したリスク管理のため fc のモニタリングが重要であり、国では 2002 年以降、継続的に一級河川の fc を測定してきた²⁾。モニタリングによって蓄積されたデータを基に、流域における汚濁負荷の状況をモデル化することができれば、ふん便汚染を個々の河川の全域にわたって推定することが可能となる。なお、環境基本法においては、よりの確にふん便汚染を捉えることができる指標として大腸菌 (E. Coli) 数を 2022 年 4 月から生活環境項目環境基準に設定することとされた。大腸菌数に関するデータが蓄積されることでより正確なふん便汚染の原因が明らかにされていくものと期待されるが、現時点において公表されているふん便性大腸菌群数の蓄積されたデータを用いて流域の汚濁負荷推定を行うことが重要である。

ふん便汚染のモデル化について Sowah らは、米国 Georgia 州 Clouds 流域において Soil and Water Assessment Tool (以下、SWAT とする) モデルを用いて河川水中の fc 濃度をシミュレーションしている³⁾。また、Im らは米国 Virginia 州 Polecat 流域において、下水処理場を点源として、ウシ等の河川への直接のアクセス、牧草地へ散布された家畜ふん尿、野生動物の活動、浄化槽排水を非点源として設定し、Hydrological Simulation Program- Fortran (以下、HSPF とする) モデルに適用した⁴⁾。このほか、欧米においては多数のモデル化の事例が報告されている⁵⁾。

一方、国内の河川は急流が多いことに加えて流路延長も短く、細菌類が比較的短時間で海域まで到達することからモデルの検証が難しい。また、多くの河川においては汚濁の由来や負荷量に密接に関係する土地利用が複雑化しているため、パラメータや原単位などの設定も難しい。その中で、北海道東部に位置する常呂川水系は、流域の約 82 % が山林、16 % が農地であり⁶⁾、大部分がおおむね単一の土地利用となっている。また、流域人口約 13 万 8 千人のおよそ 6 割にあたる 8 万人強が中流域に位置する北見市の人口集中地区 20 km² に居住し⁷⁾、酪農家は郊外地域に点在している。このような土地利用形態は fc の流下モデルの構築を考えた場合、同一の土地利用が連続するエリアごとに汚濁由来が限定できる点で有利であり、常呂川水系は fc 汚濁に係る原単位や由来ごとの寄与の検討に適した流域であると考えられる。

本研究は、一般に公開されている統計データおよび地理情報のみを用い、通常時における常呂川の水質を定義し、常呂川への fc 負荷を汚濁由来ごとに定量化することを目的とする。これにより、水浴不適となる 1,000 個 100 mL⁻¹ を大きく超過する高濃度の fc 検出時の汚濁由来や位置などの簡便な推定法の可能性を示す。

2.2. 方法

2.2.1. 概要

まず、(1)これまでに蓄積された fc 濃度のデータから解析に用いるデータ群の抽出を行い、次に(2)流域における汚濁源の定義と汚濁負荷量を推計した。そのうえで(3)水系暴露解析モデルに応用するために各種パラメータの設置値を調整したのちに計算を行い、(4)計算値から汚濁由来ごとの寄与を評価した。

(1) 河川の水質は、河川流量の変動や、流域の汚濁水の排出状況によって大きく変化する。特にふん便性大腸菌群など細菌類の濃度は、時に数桁単位で変動することが知られている。水質汚濁に係る環境基準のうち、生活環境の保全に係る項目は、公共用水域が通常の状態において測定することとされている。本研究では、常呂川水系の各観測所における過去の fc 濃度のデータについて統計処理を行うことにより、通常の状態における fc 濃度を定義することとした。

(2) 次に流域の fc 汚濁に寄与し得る山林由来、家畜動物由来、農地（堆肥）由来、ヒト居住地由来それぞれの fc 負荷原単位について、文献や実測データから推計した。また、これらの汚濁負荷源に関する地理情報について、地理情報システム（以下、GIS とする）を用いて整理し、流域内に汚濁負荷を割り振った。

(3) この fc 汚濁負荷量を用いて、化学物質を対象とした水系暴露解析モデルに応用し、河川水中 fc 濃度を推計した。なお、当該モデルは化学物質を対象としたモデルであることから、fc の推定に適したパラメータの設定値について検討した。

(4) これにより導かれた計算結果より、観測所ごとに寄与し得る汚濁由来の割合について推計した。

2.2.2. 使用したソフトウェア

国等が公表している複数の統計データとそれぞれの集計単位である小地域等の境界線データを統合することで fc 排出源の位置および負荷量を推計するために、ArcGIS ver10 (ESRI ジャパン (株)) を用いた。

fc 排出源の位置と負荷量を基に河川水中 fc 濃度を推計するために、国立研究開発法人産業技術総合研究所（英文略称：AIST. 以下、産総研とする）が、国内の河川流域における化学物質の暴露評価と対策評価のために開発した産総研－水系暴露解析モデル（national institute of Advanced Industrial Science and Technology-Standardized Hydrology-based Assessment tool for chemical Exposure Load, 以下 AIST-SHANEL とする）Ver3.0（3次メッシュ級水系版）を用いた⁸⁾。AIST-SHANEL は推計対象年および前年の気象デー

タ、化学物質の排出位置（緯度，経度）および年間排出量，基本的な物性値（蒸気圧，分子量，水溶解度，有機炭素水分配係数，半減期など）を入力することにより，1 km メッシュ単位の月ごとの河川流量，化学物質の河川水中濃度などが推計できる。

2.2.3. 使用したデータ

GIS および AIST-SHANEL に使用したデータおよび参照した流域の水質データを以下に挙げる。

森林面積，その他の農用地面積，建物用地面積に基づいて各 1 km メッシュの土地利用割合に応じた汚濁負荷を配置するために，土地利用 3 次メッシュデータ⁹⁾（以下，土地利用 3 次メッシュとする）を使用した。

常呂川流域を小流域ごとに評価するために，流域メッシュデータ¹⁰⁾を使用した。これは降水が流れ込む領域を 100 m メッシュごとに整理した GIS 境界線データである。常呂川流域は 175 の小流域により構成され，ふん便汚染を小流域単位で議論することを可能とする。

家畜飼養農家 1 戸あたりのウシの飼養頭数を推計するために，農林業センサス¹¹⁾と GIS 境界線データを利用した。

地域ごとの人口密度を推計するために，国勢調査結果¹²⁾と GIS 境界線データを利用した。

AIST-SHANEL で推計される常呂川水系の流量には紋別，網走，帯広の 3 か所の気象観測所のデータが使用される。推計対象年および前年における 3 か所の気象データである日別の現地気圧および気温，蒸気圧，日照時間，風速，降水量，最深積雪を気象庁ホームページから入手した¹³⁾。

fc 濃度は，常呂川本流の流入口峰映，金比羅橋，若松橋，忠志橋，上川沿の 5 観測所，支流については無加川の常盤橋観測所における公表値を水文水質データベース¹⁴⁾から入手した。また，常呂川水系環境保全対策協議会（以下，常呂川協議会とする）水質調査結果報告書¹⁵⁾から，常呂川本流の置戸市街下流，支流訓子府川の新田橋，支流仁頃川の川口橋で計測された fc 濃度を利用した。常呂川水系の流域図および本研究で参照した水質調査の実施個所を Fig. 2-1 に示す。

なお，2004 年 11 月 1 日に家畜排せつ物法が完全施行されたことにより¹⁶⁾，施行前後で家畜排せつ物の適正処理の状況は大きく異なる。本研究では家畜排せつ物法の完全施行後となる 2006 年 1 月から 2015 年 12 月までの 10 年間分のデータを統計処理の対象とした。

常呂川の月平均流量は、上常呂、北見、忠志橋、上川沿の4流量観測所における日流量年表の月平均値として水文水質データベースの2006年1月から2015年12月の公表値を参照した。

国勢調査および農林業センサスは5年ごと（西暦の末尾が0および5の年）に実施されており、土地利用3次メッシュは、2006年以降、2009年、2014年、2016年と不定期に更新されている。本研究では、最も多くのデータをそろえることが可能であった2010年を解析の対象年とし、当該年度に実施された統計データを参照した。なお、土地利用3次メッシュについては、最も近接した2009年のデータを用いた。

2.2.4. 常呂川水系水質調査の解析

2.2.4.1. 通常の状態におけるfc濃度範囲の検討

河川の水質は、河川流量の変動や、流域の汚濁水の排出状況によって変化する。特にふん便性大腸菌群など細菌類の濃度は、ときに桁違いに変動することが知られている。水質汚濁に係る環境基準のうち生活環境の保全に係る項目は、公共用水域が通常の状態において測定することとされている¹⁷⁾。本研究では、常呂川水系の各観測所における過去のfc濃度のデータについて統計処理を行うことにより、通常の状態におけるfc濃度を定義した。観測所ごとの2006年1月～2015年12月におけるfc実測値を統計的に評価することとし、複数のデータのバラツキ具合の簡易比較に適するとされる箱ひげ図を用いた。

2.2.4.2. 小流域ごとの特性分析

流域メッシュにより得られる常呂川水系の175の小流域について、常呂川本流および主要な支流である無加川、訓子府川、仁頃川に設置された水質観測所等を起点として、GISを用いて10流域に分け、流域面積のほか、流域ごとの人口、家畜飼養頭数、土地利用状況などを整理し、それぞれ汚濁源となり得る要因について考察した。

常呂川水系における流域ごとの基本情報をTable 2-1に示す。

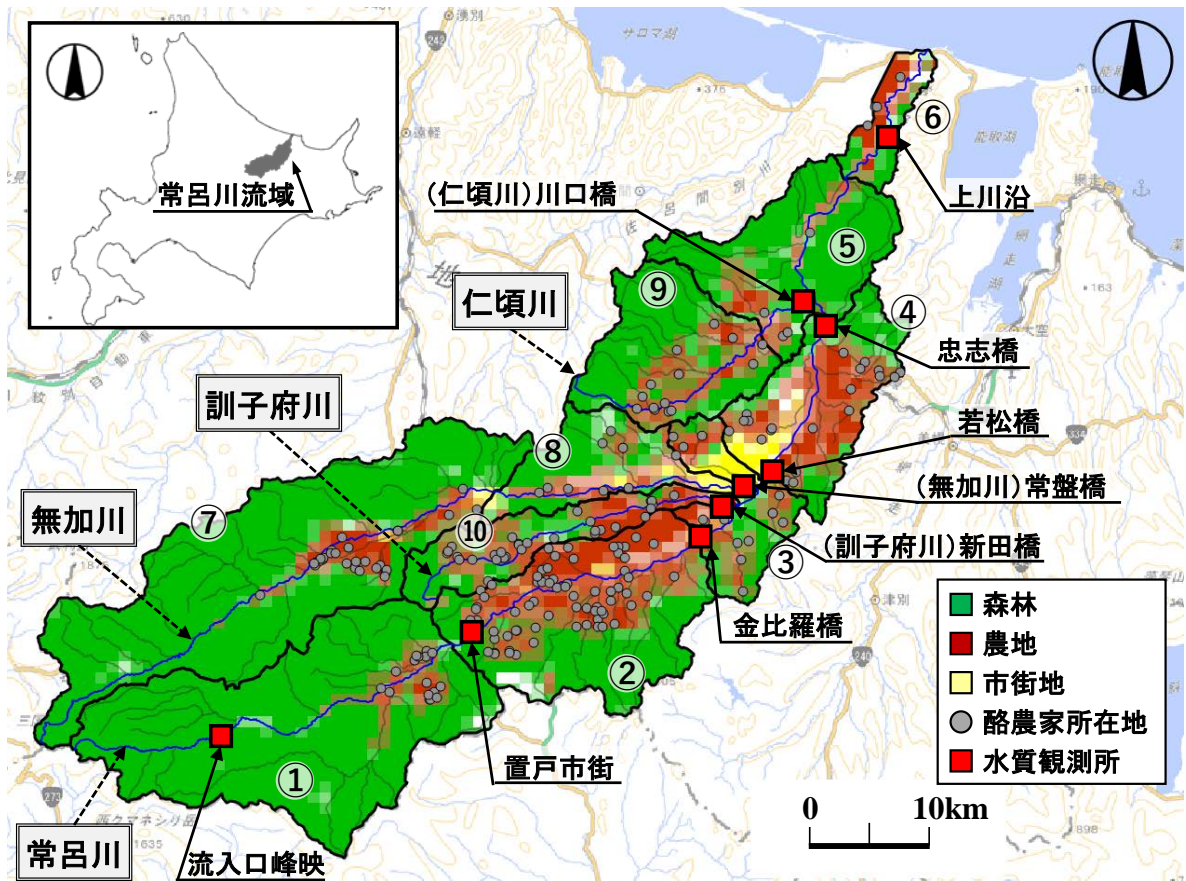


Fig.2-1 常呂川流域と水質観測所の模式図

Table 2-1 常呂川水系における流域ごとの基本情報

河川名	流域番号	流域面積 / km ²	流域人口		ウシ / 頭		土地利用割合 / %		
			人口密度 / 人 km ⁻²	(人口密度 / 人 km ⁻²)	飼養密度 / 頭 km ⁻²	(飼養密度 / 頭 km ⁻²)	森林	農地	建物用地
常呂川	1	416	902	(2.2)	1,768	(4.2)	93.0	4.5	0.2
	2	254	8,136	(32.1)	7,285	(28.7)	53.0	37.4	1.7
	3	84	43,268	(513.6)	1,2126	(14.4)	46.9	30.0	13.7
	4	152	43,943	(289.2)	1,795	(11.8)	37.0	37.2	8.5
	5	174	373	(2.2)	353	(2.0)	83.2	11.2	0.2
	6	43	3,914	(91.6)	321	(7.5)	39.7	38.0	2.3
無加川	7	446	5,338	(12.0)	2,191	(4.9)	88.9	7.8	0.7
	8	101	22,994	(227.7)	333	(3.3)	55.8	19.5	9.4
仁頃川	9	158	4,559	(46.8)	1,322	(8.4)	51.0	38.5	2.6
訓子府川	10	97	597	(3.8)	3,544	(36.4)	76.0	19.6	0.7

流域番号は Fig. 2-1 における丸数字と同一である。

2.2.5. 流量推計値の検証

AIST-SHANEL は気象データ等により流量を推計する流出解析モデル、化学物質の排出量を推計し 1 km メッシュごとに配置する排出量推計モデル、対象物質の物性値に基づく動態解析から濃度を解析する物質動態解析モデルの 3 つのサブモデルにより構成されている¹⁸⁾。したがって、最終的なアウトプットである濃度の推計に影響する流量の推計値が妥当であるかを検証する必要がある。2006 年 1 月から 2015 年 12 月における常呂川の流量について、AIST-SHANEL による推計値と上常呂、北見、忠志橋、上川沿の 4 流量観測所における公表値を比較し、流量推計の妥当性を検討した。

2.2.6. パラメータの設定値

AIST-SHANEL では、化学物質が環境中へ排出量される年当たりの重量 (kg 年^{-1}) を設定することにより、河川水濃度や河川底泥濃度などが月平均値 (mg m^{-3}) として推計される。本研究では AIST-SHANEL を用いて fc 濃度を推計するために重量の単位を fc の個数として取り扱うこととし、fc 排出量 1 個を 1 mg、推計結果として得られる 1 mg m^{-3} は、fc 濃度 1 個 m^{-3} に相当するものと定義した。

また、AIST-SHANEL では、解析する物質ごとに蒸気圧、分子量など 9 種類の物性値についての設定が必要である。AIST-SHANEL を fc 濃度の推計に応用するため、化学物質の物性値に相当する数値について、本研究ではパラメータの設定値と呼称し、以下の通り検討した。なお、AIST-SHANEL においては水温が 20°C における分解速度の入力を基本とし、気温データにより推定される水温に応じて分解速度が調整される。第 3 章で述べるように、常呂川河川水中 fc の死滅速度を支配する環境因子は、太陽光の暴露であると考えられることから、本研究では温度依存性に関する設定は適用しないこととした。

AIST-SHANEL には、テストデータとして、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩についての 9 種類のパラメータの設定値があらかじめ入力（以下、デフォルト値とする）されており、ユーザーが推計対象の化学物質の物性に応じて値を書き換えて使用する仕様となっている。

初めに、フガシティーモデル¹⁹⁾ およびコンパーメントモデル²⁰⁾ の概念に基づき、fc の環境中における動態に矛盾しないパラメータの設定値の範囲について検討を行った。

次に、これら 9 種類のパラメータの設定値が推計結果にどのように影響するかを検証した。

加えて、全てのパラメータの設定値を固定し、全メッシュの汚濁負荷のみを増減することで、推計結果にどのように影響するかを検証した。

有機炭素水分配係数 K_{oc} (Lkg^{-1}) と河川水半減期 (日) については、パラメータの設定値が推計結果に大きな影響を与えることがわかった。有機炭素水分配係数は、物質動態解析において土壌や底質粒子と水の間での分配平衡定数を設定するために用いられる¹⁸⁾。河川水半減期 (日) は、短くなるにつれて fc 推計濃度が低くなり、長くなるに従って濃度が上昇する。本研究では fc 濃度推計値が 2.2.4.1 で求めた各観測所における通常時の fc 濃度に最も近接する河川水半減期 (日) を求めた。

2.2.7. 常呂川流域における fc 汚濁負荷

常呂川流域の土地利用状況から、 fc 由来については野生動物を主な汚濁源とする山林由来の負荷、動物性堆肥の施肥に伴う農地からの負荷、ヒトの活動による市街地からの負荷、家畜動物の飼養場所からの負荷の 4 種類とした。家畜動物の飼養場所以外は非点源として扱い、土地利用形態などにより負荷に寄与し得る区域を定義した。

土地利用 3 次メッシュにおける森林を山林由来による汚濁区域、その他の農用地を動物性堆肥が施肥される区域とし、それぞれの面積と fc の排出量が比例するものとした。ヒト居住地由来の fc 排出量は、国勢調査における町丁字別の人口と土地利用 3 次メッシュの建物用地の割合から区域ごとの人口密度を求め、ヒト 1 人あたりの排出原単位を乗ずることにより決定した。また、生活雑排水由来の fc 排出量は、推計対象年度における各市町の生活排水未処理人口を上記の人口密度に応じて区域ごとに案分し、原単位を乗ずることにより決定した。

土地利用や家畜動物の飼養頭数などに関しては、国の機関等が公表している GIS データ (2.2.3 に示す土地利用 3 次メッシュ⁹⁾ をはじめとする集計単位ごとの地図データおよび面積、頭数等の統計データ^{10),11),12)} を入手し、GIS により fc 汚濁の位置および排出量を以下のとおり推計した。

2.2.7.1. 山林由来の fc 汚濁負荷

人為的汚染が少ない源流域においてもふん便性大腸菌群が検出されている²¹⁾。常呂川の源流域の水質観測点である流入口峰映でも $10^0 \sim 10^2$ 個 $100 mL^{-1}$ の fc が検出される。この水質観測点における fc 濃度の公表値と AIST-SHANEL による fc 濃度の推計値が一致するように山林由来の fc 汚濁負荷量を設定した。

2.2.7.2. 家畜動物由来の fc 汚濁負荷

北海道において発生する家畜排せつ物の約 9 割がウシから排出され²²⁾、そのほぼ全量が農地還元されている²³⁾。したがって、常呂川流域において汚濁負荷の対象とする家畜動物は乳用牛および肉用牛とした。ウシのふん中の fc 量については文献値より 2.3×10^5

個 g^{-1} を原単位とした²⁴⁾。ウシの種別や生育状況によりふんの排出量等は異なる²⁵⁾。乳用牛および肉用牛 1 頭あたりの年間 fc 排出量をそれぞれ、 2.8×10^{12} 個 頭⁻¹ 年⁻¹、 1.5×10^{12} 個 頭⁻¹ 年⁻¹とした。

次に、酪農経営体の位置を、市販の住宅地図²⁶⁻³⁰⁾において牧場の表記がある建物、インターネット上の地図サイトの航空写真等³¹⁾からウシの放牧あるいは牛舎等の施設が確認された地点とし、その緯度経度を求めた。さらに経営体ごとの飼養頭数は、農林業センサスから得た農業集落ごとの乳用牛および肉用牛の飼養頭数を集落内の経営体数で均等に案分して求めた。

北海道の家畜排せつ物の年間発生量は 2014 年に 1.9×10^7 t であり、家畜排せつ物の利用形態の現状 (2008 年～2011 年) から²²⁾、ウシ由来排せつ物の利用形態の内訳を推計した (Table 2-2)。ふん排出量の 3% が放牧場に未処理のまま排出されており、各酪農経営体で飼養されるウシの頭数に応じた fc 負荷量を当該経営体の位置に配置し、家畜動物由来の fc 汚濁負荷とした。

Table 2-2 ウシのふん尿利用形態の内訳

利用形態	利用率 / %	
	ふん	尿
堆肥	91	—
尿散布	—	34
スラリー	6	42
放牧	3	19
その他	1	5

2014 年における北海道内の年間ふん尿発生量 1.9×10^7 t.

2.2.7.3. 農地 (堆肥) 由来の fc 汚濁負荷

牛ふん中に含まれるふん便性大腸菌群は、堆肥舎での切り替えし方式による堆肥化により、12 週間後には初期濃度の 1/1,000 程度に減少することが報告されている³²⁾。また、連続投入式により処理されるスラリー中の大腸菌は 6 ヶ月後に 1/100 程度減少することが報告されている³³⁾。これらのことから、農地に還元される時点での堆肥およびスラリー中の fc 数はふん排出時から、それぞれ 1/1,000、1/100 に減少するものとした。

堆肥およびスラリー中の年間 fc 総量を流域の総農地面積で除することにより、農地面積当たりの fc 投入量を求めた。次に土地利用 3 次メッシュの農地面積に比例して fc の汚濁負荷を配分し、重心座標に配置した。

2.2.7.4. ヒト居住地由来の fc 汚濁負荷

一般的にヒト居住地に由来する fc の排出源としては、し尿のほか生活雑排水が想定される。常呂川流域の自治体では下水道等の整備が進んでおり、流域人口の大部分が集中する北見市では 2012 年 3 月末現在、下水道普及率が 94.17 %、水洗化率が 97.68 %となっている³⁴⁾。一方で分流式下水道における雨水排水のファーストフラッシュは、BOD や SS が晴天時の値よりもかなり高い可能性が指摘されている³⁵⁾。また、路面上の堆積物中には道路縁石 1 mile あたり 10^9 個以上の大腸菌を含むとされる報告もある³⁶⁾。こうしたことから、常呂川へ負荷を及ぼすヒト居住地由来 fc の汚濁源は、下水道を経由せずに公共用水域に排出される生活雑排水と道路端の堆積物や愛玩動物の排せつ、ごみ集積所のオムツなどに起因する市街地からの面的な汚濁と仮定した。

まず、生活雑排水による fc 汚濁負荷は、国勢調査における町丁字ごとの人口および境界線データと土地利用 3 次メッシュにおける建物用地面積および境界線データを GIS により処理し、人口密度の情報を持つ境界線データ（ポリゴン）を新たに作成した。常呂川流域を構成する 1 市 2 町の生活排水未処理人口を資料より参照し³⁷⁾、ポリゴンごとの生活排水未処理人口として案分した。生活排水未処理人口 1 人当たりの生活雑排水中の fc 排出量は、文献より 1.3×10^8 個 $\text{人}^{-1} \text{日}^{-1}$ とし³⁸⁾、ポリゴンごとの生活排水未処理人口を乗じて fc 排出量を求め、ポリゴンの重心に fc の排出負荷として配置した。

次に、市街地の面的な汚濁については人口密度と相関を持つものと仮定した。ヒト 1 人日あたりの BOD、窒素およびリン排出量は、それぞれ $43.5 \text{ g 人}^{-1} \text{日}^{-1}$ 、 $10 \text{ g 人}^{-1} \text{日}^{-1}$ 、 $1 \text{ g 人}^{-1} \text{日}^{-1}$ 程度とされている³⁹⁾。また、市街地からの汚濁負荷の調査結果より⁴⁰⁾、人口密度（ 人 km^{-2} ）と BOD、窒素およびリンの負荷原単位（ $\text{kg km}^{-2} \text{年}^{-1}$ ）を用いて、ヒト 1 人日あたりの負荷として求めたところ、それぞれの平均値は、 $4 \text{ g 人}^{-1} \text{日}^{-1}$ 、 $0.4 \text{ g 人}^{-1} \text{日}^{-1}$ 、 $0.06 \text{ g 人}^{-1} \text{日}^{-1}$ となった。これは、ヒトが 1 日に排出する量の 4~10 % に相当し、これらの平均は 6.7% であった。このことから、fc についてもヒトが 1 日に排出する量の 6.7% が市街地の面的汚濁として寄与しているものとした。

ヒトの大便中の fc は 1.3×10^7 個 g^{-1} とされ²⁴⁾、また日本人の大便排出量は約 $200 \text{ g 人}^{-1} \text{日}^{-1}$ であることから⁴¹⁾、fc 負荷原単位は 1.8×10^8 個 $\text{人}^{-1} \text{日}^{-1}$ とした。この原単位をポリゴンの人口に乗じるとともに、ポリゴンの重心に fc の排出負荷を配置した。

2.3. 結果および考察

2.3.1. 常呂川水系水質調査の解析

2.3.1.1. 通常時の fc 濃度範囲の検討結果

2006 年 1 月から 2015 年 12 月に得られた常呂川水系各水質観測所の fc 濃度のほとんどは 300 個 100mL^{-1} 以下であったが、ときおり 10,000 個 100mL^{-1} を超える値も含まれていた。そこで、通常時の値を定義するために箱ひげ図によるデータ処理を行った (Fig. 2-2)。箱の上端の第 3 四分位 (75 パーセントイル) から、下端の第 1 四分位 (25 パーセントイル) までの長さ (四分位範囲, interquartile range 以下 IQR とする) が、データのバラツキの指標とされる⁴²⁾。また、箱の上下で IQR の 1.5 倍以上離れたデータは異常値 (外れ値) として扱われる。

このことから、常呂川の各地点における通常時の fc 濃度は IQR の範囲とし、箱の上側の外れ値の境界点は最上流部の峰映で 30 個 100mL^{-1} と最も少なく、忠志橋で 678 個 100mL^{-1} と最も高かった。常呂川本流では流下するにしたがって fc 濃度は上昇し、環境基準点である忠志橋で極大値を取り、その後減少した。

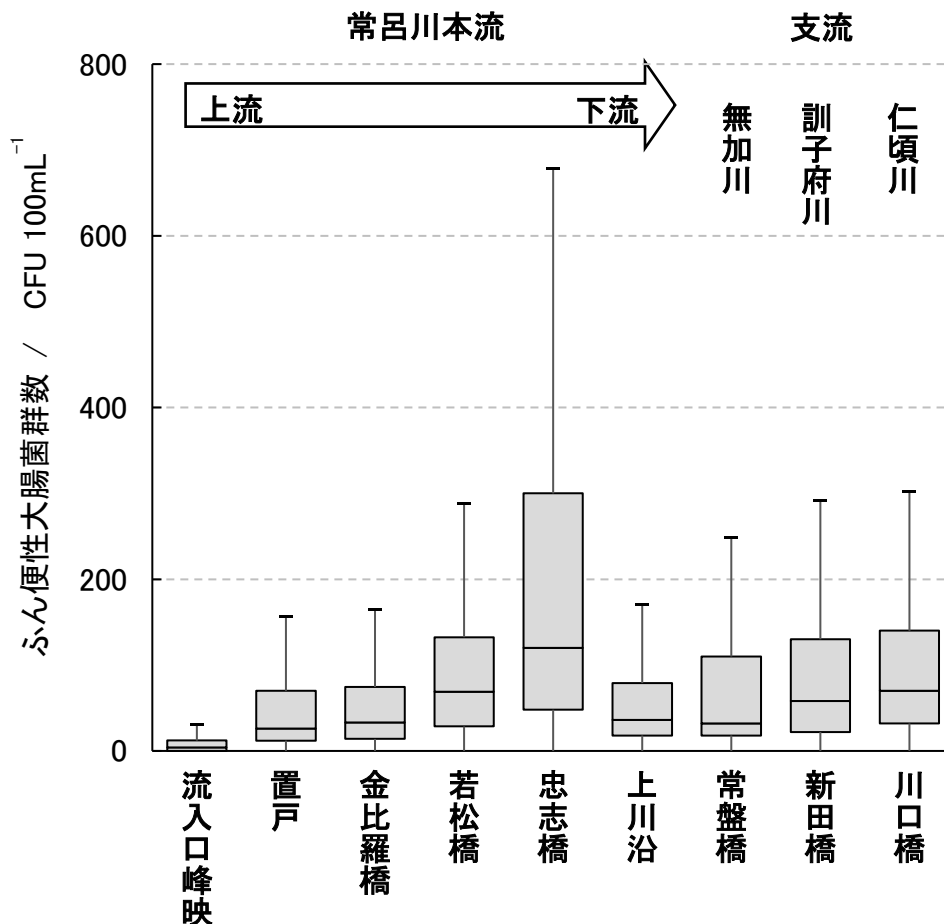


Fig. 2-2 常呂川水系各観測所における fc 濃度の箱ひげ図 (2006 ~2015 年)

2.3.1.2. 小流域ごとの特性

2.3.1.2.1. 常呂川本流

常呂川本流の置戸上流域 (Fig.2-1①) は、ほぼすべてが森林であり、下流域でわずかに市街地と農地がみられる。区間全体での 2010 年の牛の飼養密度は約 4 頭 km^2 と見積もられ、常呂川流域全体では少ない地域である。しかし、酪農家の半数以上が常呂川に近接しており、この区間の主な汚濁負荷は、家畜によるものと考えられる。

置戸市街下流から金比羅橋 (Fig. 2-1②) の区間では、常呂川の北側を中心に広く農地が広がる。また、常呂川の南側には支流沿いに酪農家が立地し、2010 年の牛の飼養密度は約 29 頭 km^2 と多く、堆肥および家畜による負荷が大きな割合を占めていると考えられる区間である。

金比羅橋から若松橋 (Fig. 2-1③) の区間では、若松橋の北西側に位置する市街地に流域人口の約 32 % が密集している。また、2010 年における牛の飼養密度も約 14 頭 km^2 と比較的多いことから、ヒトの活動が主な汚濁負荷源であると同時に家畜の飼養場所からの負荷も一定程度存在する区間であると考えられる。なお、若松橋観測所の直上流で最大支流の無加川と訓子府川が合流する。

若松橋から忠志橋 (Fig. 2-1④) の区間では、若松橋の直下には市街地が、それ以降は常呂川沿いに農地が広がる。2010 年における牛の飼養密度は約 12 頭 km^2 であるが、酪農家は下流域に集中していることから、上流域ではヒトの活動による汚濁負荷、中流以降では農地 (堆肥) 由来の汚濁負荷、さらに下流域で家畜動物由来の負荷が加わるという複雑な汚濁機構が考えられる。

忠志橋から上川沿 (Fig. 2-1⑤) は酪農家は少なく、2010 年におけるウシの飼養密度は約 2 頭 km^2 と流域で最も少ない区間である。また、土地利用の大部分が森林のため、山林由来の汚濁負荷が主と考えられる。なお、忠志橋の下流で仁頃川が合流する。

上川沿から河口 (Fig. 2-1⑥) は、上川沿下流の左岸側に広く農地が広がることから、農地 (堆肥) 由来の汚濁負荷が大きい区間である。また文献⁴³⁾によると、2010 年当時における常呂自治区の生活排水処理率は 6 割程度であり、市街地における生活排水未処理人口も一定の負荷を与えていたものと考えられる。

2.3.1.2.2. 支流無加川

最上流から留辺蘂流量観測所 (Fig. 2-1⑦) までの区間の上流域では、ほぼ全ての土地利用が森林であるが、中流域に農地と酪農家が密集しており、下流域の一部で市街地がみられる。中流域での堆肥と家畜による汚濁負荷に、下流域でヒトの活動による汚濁負荷が加わるものと考えられる。

留辺蘂から常盤橋 (Fig. 2-1⑧) は、上流部から中流部にかけての農地はわずかであり、2010 年の牛の飼養密度は約 3 頭 km^2 であることから汚濁源が少ない区間であると考えられるが、最下流部分で北見市の市街地を通過するため、常呂川への合流直前にヒトの活動による汚濁負荷の影響を受けると考えられる。

2.3.1.2.3. 支流仁頃川

この流域 (Fig. 2-1⑨) の大部分は森林であるが、上流域に酪農家が密集するとともに、河川に近接した農地利用がみられることから、家畜動物由来と農地（堆肥）由来の汚濁負荷の影響を受けていると考える。

2.3.1.2.4. 支流訓子府川

訓子府川流域 (Fig. 2-1⑩) の全体に酪農家が密集しており、2010 年における牛の飼養密度は約 36 頭 km^2 と流域で最も多いことから、家畜動物由来の汚濁負荷を強く受ける流域であると考えられる。また、中流域以降では農地利用がみられ、堆肥の負荷が上積みされていると考えられる。

2.3.2. 常呂川流域における fc 汚濁負荷

2.3.2.1. 山林由来の fc 汚濁負荷推計結果

AIST-SHANEL は、推計対象年月およびメッシュ番号が同一であれば、当該メッシュにおける流量は一定であり、汚濁負荷設定量と推計濃度値には比例関係がみられる。すなわち、任意の推計濃度を導く汚濁負荷量を求めることが可能である。

そこで、山林由来負荷原単位（個 $\text{km}^2 \text{年}^{-1}$ ）と土地利用 3 次メッシュの森林面積を乗じた値をメッシュの重心に配置し、河川水半減期を 6~72h の範囲で変化させ、AIST-SHANEL で fc 濃度を計算した。その際、河川水半減期を変化させながら求めた計算結果が、全体の平均的な汚濁を示す 2006 年から 2015 年の中央値、または季節変動を表していると考えられる 2010 年各月の実測値に合致するように山林由来負荷原単位を求めた。原単位の範囲は、通常時においては、最大で 9.8×10^{11} 個 $\text{km}^2 \text{年}^{-1}$ 、最小は 8.1×10^{10} 個 $\text{km}^2 \text{年}^{-1}$ となり、実測値との合致でもこの範囲内の負荷量であった。一方、複数の流域水文モデルを用いて fc 濃度の予測を行った報告における山林由来 fc の原単位⁴⁴⁾ は、HSPF では、 5.3×10^{12} 個 $\text{km}^2 \text{年}^{-1}$ 、SWAT では、 8.1×10^{13} 個 $\text{km}^2 \text{年}^{-1}$ であった。文献値における原単位は、本研究の推計値より 1~2 桁大きいのが、fc の消長に影響を与えると考えられる平均気温、流出の頻度や速度に寄与し得る降水量などの気象条件、fc の生存時間に影響をおよぼす山林由来汚濁負荷の河川までの到達時間など、常呂川流域との相違点によるものと考えられる。

2.3.2.2. 家畜動物由来の fc 汚濁負荷推計結果

2017 年 11 月に実施した調査により、常呂川流域を構成する 1 市 2 町において、232 経営体の存在を確認できた。離農した酪農経営体所在地を遡って調査することは困難であることから、推計対象年に関わらず経営体数は 232 とした。2010 年における経営体 1 戸あたりのウシ飼養頭数は、18 頭～630 頭であった。ウシ由来の fc 汚濁負荷は、酪農家ごとの飼養頭数に依存し、 $1.3 \times 10^{12} \sim 4.4 \times 10^{13}$ 個 戸⁻¹ 年⁻¹ の範囲にあると推計された。

2.3.2.3. 農地（堆肥）由来の fc 汚濁負荷推計結果

2010 年には、流域全体で乳牛、肉牛あわせて約 22,000 頭が飼養されており、年間に農地に還元された堆肥やスラリー中の fc 総量を 7.7×10^{13} 個 年⁻¹ と見積もった。これを土地利用 3 次メッシュの農地面積 355 km² で除し、農地面積当たりの fc 汚濁負荷量を 2.1×10^{11} 個 km² 年⁻¹ と推計した。

2.3.2.4. ヒト居住地由来の fc 汚濁負荷推計結果

ヒトの活動に起因するヒト居住地由来の fc 汚濁負荷は人口密度に比例し、2010 年において流域人口の約 86% を占める北見市北見自治区の負荷量が最も多く、同自治区全体では、およそ 7×10^{15} 個 年⁻¹ と見積もられ、面積あたりでは 1.7×10^{13} 個 km² 年⁻¹ となった。北見市の他の自治区および訓子府町、置戸町はいずれも 1～2 桁小さい $4.2 \times 10^{11} \sim 2.1 \times 10^{12}$ 個 km² 年⁻¹ であった。

未水洗化率は、北見市北見自治区が 2.6 % 程度であり、北見市の他の自治区および訓子府町、置戸町では、18～35 % であった。人口規模と未水洗化率から推計した生活雑排水由来の fc 汚濁負荷についても北見市北見自治区が最も大きく、同自治区全体で 1.4×10^{14} 個 年⁻¹ と見積もられた。面積あたりでは 3.3×10^{11} 個 km² 年⁻¹ となり、訓子府町が 2.7×10^{11} 個 km² 年⁻¹、北見市端野自治区が 1.2×10^{11} 個 km² 年⁻¹ であった。北見市の他の自治区および置戸町はいずれも 1 桁小さい $5.4 \sim 8.6 \times 10^{10}$ 個 km² 年⁻¹ であった。

2.3.3. AIST-SHANEL による推計値の検証

2.3.3.1. 流量推計結果

AIST-SHANEL では推計値と公表値の比が 1/2 ～ 2、いわゆる factor2 の範囲であれば、おおむね良好な推計値とされている⁴⁵⁾。流量の推計値と公表値の比について、積雪期（1 月～3 月、12 月）と非積雪期（4 月～11 月）に分けて比較した。積雪期の推計値はほぼ一定の値を示しており、下流ほど推計値と公表値の乖離が大きかった。一方、非積雪期の推計値は気象条件の変化によって増減しており、約 7 割のデータが factor2 の範囲にあった。（Fig.2-3）

常呂川水系において水浴不適となるような高濃度の fc が検出されるのは主に夏季であることと水辺に人が集まる季節を重ね合わせると、河川水中 fc 濃度の予測が求められるのは非積雪期であり、積雪期は検討の対象外とすることとした。

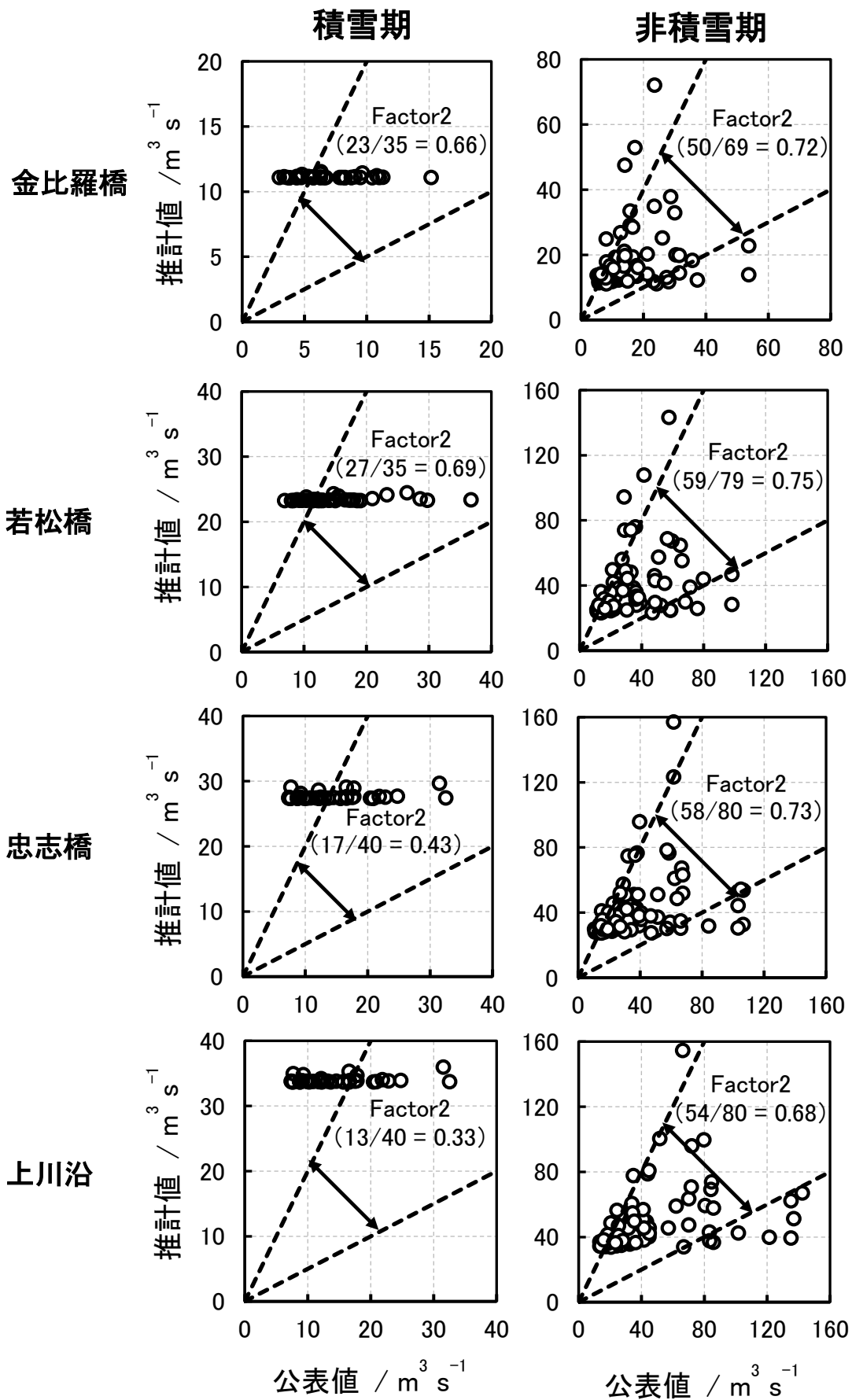


Fig. 2-3 AIST-SHANEL による観測所ごとの流量推計値と公表値の比較

2.3.3.2. 環境中における fc の挙動などを考慮したパラメータの設定値の検討

AIST-SHANEL では計算に先立って 9 種類の物性値（蒸気圧，分子量，水溶解度，土壤液相半減期，土壤固相半減期，河川底泥液相半減期，河川底泥固相半減期，有機炭素水分配係数，河川水半減期）を設定する必要がある．化学物質におけるこれらの物性値は既知のものがほとんどであるが，本研究が扱う細菌に対しては物性値に相当する数値が存在しないことから，仮説に基づき設定する必要がある．これらの設定値は，計算結果に影響を与える変数であることから，本研究ではパラメータの設定値と呼称することとした．各パラメータの設定値は， fc の環境中における挙動と矛盾しないことが必要であり，化学物質と異なり大気中に揮散しない点，また，水中に溶解せずに粒子状で移動する点に留意し，以下の通り設定した．

2.3.3.2.1. 蒸気圧，分子量および水溶解度の設定

これら 3 つのパラメータの設定値については，気相と水相の分配に影響する⁴⁵⁾．気相および水相における化学物質濃度が平衡状態にある場合，気相の化学物質濃度 C_A (mol m^{-3}) は，(2-1) 式に基づき，蒸気圧 P (Pa) と絶対温度 T (K) により決定される²⁰⁾．ここで， R は気体定数 ($\text{Pa m}^3 \text{K}^{-1} \text{mol}^{-1}$)， n は気相内の物質量 (mol)， V は気相の体積 (m^3) を表す．

$$C_A = \frac{n}{V} = \frac{P}{RT} \quad (2-1)$$

水相の化学物質濃度 C_W (mol m^{-3}) は (2-2) 式に基づき，分子量 Mr (g mol^{-1}) および水溶解度 S (g m^{-3}) により決定される²⁰⁾．

$$C_W = \frac{S}{Mr} \quad (2-2)$$

また，分配係数 K_A は， C_A と C_W の比として (2-3) 式のように表される²⁰⁾．

$$K_A = \frac{C_A}{C_W} \quad (2-3)$$

ここで，この概念を fc に適用した場合，以下の関係性が成り立つものと仮定した．

まず， fc は揮散せず全量が水相内に存在することから，(2-1) 式において， $C_A \doteq 0$ となる．従って， C_A を決定する因子のうち，蒸気圧については $P \doteq 0$ が導かれる．非揮発物質の蒸気圧の目安は 10^7Pa 程度とされており⁴⁶⁾，これより小さな値とする必要があるが，デフォルト値は， 10^{-13}Pa のオーダーであるため，蒸気圧についてはデフォルト値を採用した．次に (2-3) 式において， $C_A \doteq 0$ であるため， C_W が C_A に対して十分に大きければ，常に $K_A \doteq 0$ が成り立つことから， C_W は任意の値で構わないこととなる．従って (2-2) 式より， C_W を決定する

分子量 M_r および水溶解度 S も同様であると考え、デフォルト値を採用することとした。

2.3.3.2.2. 土壌液相半減期および土壌固相半減期の設定

環境中における fc の消長は、気象条件をはじめとする様々な因子により変動するものと考えられる。大友は、土壌に散布した牛ふん尿スラリーに由来する大腸菌が、6日間で乾土 1g あたり、 1.2×10^5 CFU から 2.5×10^4 CFU に減少したことを報告しており⁴⁷⁾、この結果から、土壌中における大腸菌の半減期をおよそ 2.3 日と見積もった。また、土壌に大腸菌を摂取した別の実験において、最短でも 28 日の生存を確認したことも報告しており、実環境の土壌中における大腸菌の半減期は、数日から数十日の範囲にあるものと推測した。これより、デフォルト値である 14 日を採用することとした。

2.3.3.2.3. 河川底泥液相半減期および河川底泥固相半減期の設定

中野は、鹿追町内の酪農家周辺における河川底泥中の大腸菌群について、 $10^5 \sim 10^6$ 個 g^{-1} から 2 か月間で 10^4 個 g^{-1} に減少したことを報告している⁴⁸⁾。ここから、河川底泥中の大腸菌群の半減期は 9~18 日程度であるものと推計した。土壌中における半減期と同様に実環境中では変動があることを考慮し、デフォルト値である 22 日を採用することとした。

2.3.3.2.4. 有機炭素水分配係数の設定

常呂川水系における河川水中と底質中の fc 濃度の関係を示すデータを公表値から得ることができなかったことから、河川水 fc 濃度が常呂川水系とおおむね一致 (約 $10^2 \sim 10^{3.4}$ 個 100 mL^{-1}) する大和川水系大和川における底泥中の fc 濃度を引用した⁴⁹⁾。大和川の流速が常呂川の平均流速 (0.5 m s^{-1}) に最も近い $0.30 \sim 0.35 \text{ m s}^{-1}$ の範囲にある 2 組の実測値を参照した⁵⁰⁾。河川水中と河川底泥中の fc 濃度がそれぞれ 500 個 100 mL^{-1} と 20 個 g^{-1} 、3,000 個 100 mL^{-1} と 40 個 g^{-1} であったことから、この比におおむね一致する有機炭素水分配係数として本研究では $K_{oc} = 20 \text{ L kg}^{-1}$ を用いることとした。

2.3.3.2.5. 河川水半減期の設定

増殖に適さない環境に放出された微生物の数は減少する。時間 $t=0$, $t=t$ における細菌数をそれぞれ N_0 , N_t , 細菌数の減少速度定数を K とすると、細菌数と時間 t の関係は (2-4) 式により示される⁵¹⁾。

$$N_t = N_0 10^{-Kt} \quad (2-4)$$

ふん便性大腸菌群数の減少速度係数 K (日^{-1}) は、汚染された河川、湖沼において $0.4 \sim 1.5 \text{ 日}^{-1}$ 、きれいな河川、湖沼では $0.1 \sim 0.3 \text{ 日}^{-1}$ とされている⁵¹⁾。(2-4) 式において、 $N_t = 1/2 N_0$ を満たす t (日) が半減期である。 K の範囲が $0.1 \sim 1.5 \text{ 日}^{-1}$ のとき、 t の範囲は $0.2 \sim 3.0 \text{ 日}$ となり、実河川におけるふん便性大腸菌群数の半減期はおおむね $5 \sim 72 \text{ h}$ の範囲にあるといえる。

2.2.7 で定義した 2010 年における由来ごとの汚濁負荷量を AIST-SHANEL に与え、河川水半減期を 6~72 h の間で変動させて計算を行った。なお、山林由来の汚濁負荷量は最上流の流入峰映における箱ひげ図の中央値または実測値と合致するように河川水半減期ごとに調整した。また、2.3.3.1 で述べたように 1~3 月および 12 月の積雪期については検討対象から除外し、4 月から 11 月の計算結果について評価した。河川水半減期ごとに求められた 5 つの由来の河川水中 fc 濃度を合算し、観測地点および月別の総 fc 濃度を推計した。2010 年 5 月の各観測点における実測値と河川水半減期ごとの推計値、さらに 2006 年から 2015 年における観測地点ごとの箱ひげ図を重ねたものを Fig.2-4 に示す。

全体の平均的な汚濁を示す 2006 年から 2015 年の箱ひげ図の中央値、または季節変動を表していると考えられる 2010 年各月の実測値に合致するような河川水半減期を求めた。推計値が中央値に最も近くなる半減期を中央値最適半減期と呼び、実測値に最も近くなる半減期を実測値最適半減期と呼ぶ。Fig.2-4 に示す 5 月の推計では、中央値最適半減期は 24h、実測値最適半減期は 6 h であった。2010 年 4 月および 6~11 月についても中央値最適半減期および実測値最適半減期を求めたところ、中央値最適半減期は 4 月が 24 h、6~11 月についてはすべて 12 h であり、おおむね一定していた。一方、実測値最適半減期は 6~48 h までの様々な値を示し、常呂川の平均的な全体像について推計する場合は中央値半減期を、採水地点ごとの実測をもとに高精度で推計を行う場合は、様々な影響を受け刻々と変化する実測値最適半減期を用いることが適切であると判断した。

常呂川水系においては、中央値最適半減期が 12~24 h、実測値最適半減期は、6~48 h となり、いずれも文献値と一致していることから⁵¹⁾、河川水半減期の設定値は妥当であると判断した。

支流についても、おおむね中央値と合致する推計結果が得られたが、新田橋（訓子府川）では推計値が、やや過大となる傾向がみられた。AIST-SHANEL（3 次メッシュ一級水系版）は、推計対象を一級河川としており、二級水系など小規模河川の濃度推計には適さないとされている⁵²⁾。訓子府川は、AIST-SHANEL による月別の平均推計流量（新田橋）が 2~3 m³s⁻¹ 程度と少なく、また流域面積は 97 km² であり、他の支流と比較して狭いことから、1 km メッシュという空間解像度の影響により差異が生じたものと考えられる。

2.3.3.3. パラメータの設定値および汚濁負荷量が濃度推計値におよぼす影響

パラメータの設定値の計算結果への影響を評価するために、常呂川流域を構成する全ての 1 km メッシュの重心座標に同量の負荷（1×10⁹ kg 年⁻¹）を与え、各パラメータの設

定値をデフォルト値、デフォルト値の 1/10 倍および 10 倍と変動させたとき、常呂川本流の金比羅橋、若松橋、忠志橋、上川沿の 4 観測所を含む 1 km メッシュにおける河川水濃度 (mg m^{-3}) の推計結果におよぼす影響を比較した。

デフォルト値において得られた河川水濃度を 1 とし、パラメータの設定値を 1/10 倍または 10 倍としたとき、忠志橋で得られた河川水濃度の比を Table 2-3 に示す。計算結果を大きく変化させたのは有機炭素水分配係数および河川水半減期であり、これら 2 つのパラメータの設定値については最適化が必要であるが、他の 7 個のパラメータの設定値については計算結果への影響は十分に小さく、デフォルト値を用いて差し支えないものと判断した。なお、これらの関係は、他の観測所でも同様であった。

次に、汚濁負荷量が計算結果に与える影響について評価した。パラメータの設定値をデフォルト値とし、全メッシュの汚濁負荷を $1 \times 10^9 \text{ kg 年}^{-1}$ およびその 10^3 倍または 10^3 倍として、4 観測所における濃度の推計値を求めた。同年同月の計算により得られた値はいずれの観測所でも汚濁負荷量に比例した結果であった。この結果から、汚濁源が山林由来単独と考えられる峰映においては、AIST-SHANEL の計算結果が 2006 年から 2015 年の統計処理した全体の平均的な値と考えられる中央値、または季節変動を反映した 2010 年各月の実測値に一致するように山林由来 f_c 負荷量を調整することが可能である。

Table 2-3 忠志橋におけるパラメータの設定値の計算結果への影響

パラメータ名	デフォルト値	河川水中濃度推計値の比		
		デフォルト $\times 10^{-1}$	デフォルト	デフォルト $\times 10^1$
蒸気圧 / Pa	3.05×10^{-13}	1	1	1
分子量 / g mol^{-1}	3.48×10^2	0.78	1	1.08
水溶解度 / g m^{-3}	2.00×10^5	1	1	1
有機炭素水分配係数 Koc / L kg^{-1}	2.78×10^2	3.00	1	0.08
土壌固相半減期 / d	14	1	1	1
土壌液相半減期 / d	14	1	1	1
河川水半減期 / d	0.75	6.96×10^{-3}	1	6.25
河川底泥固相半減期 / d	22	0.97	1	1.01
河川底泥液相半減期 / d	22	1.00	1	1.00

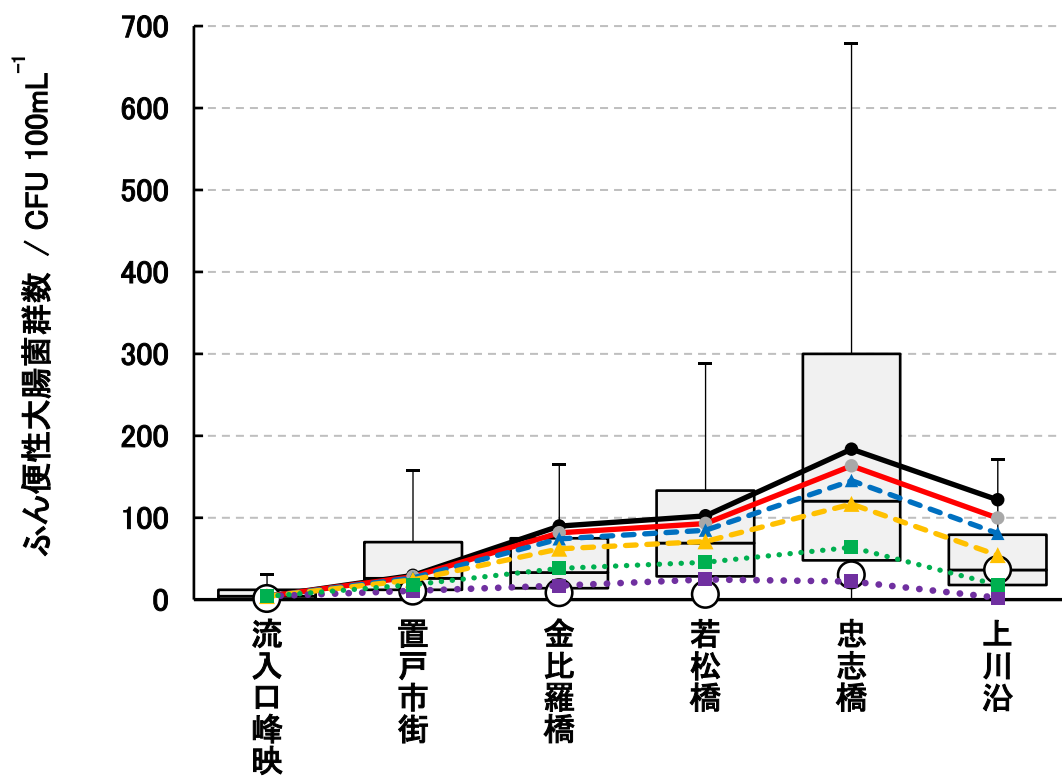


Fig.2-4 常呂川本流における箱ひげ図（2006～2015年）と河川水半減期設定値が推計値に及ぼす影響

fc の河川水中半減期設定値： ● 72h, ● 48h, ▲ 36h, ▲ 24h,
 ■ 12h, ■ 6h.

○ ; 2010年5月における実測値.

2.3.4. 汚濁由来ごとの fc 濃度への寄与

前述した山林由来，家畜動物由来，農地（堆肥）由来，ヒト居住地の市街地由来および生活雑排水由来の汚濁負荷を配置し，中央値最適半減期 24 h と実測値最適半減期 6 h を使って推計した 2010 年 5 月の常呂川本流における汚濁源ごとの fc 濃度を求めた．観測点ごとの汚濁源の寄与率を Fig.2-5 に示す．

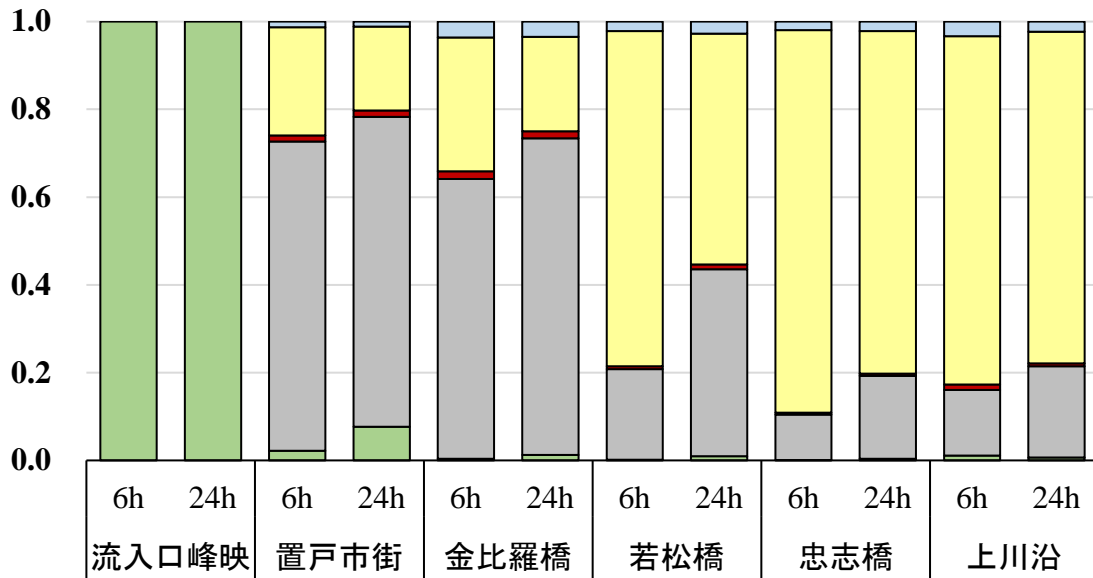


Fig.2-5 常呂川本流における半減期設定値が由来別汚濁負荷の割合に及ぼす影響（2010年5月）

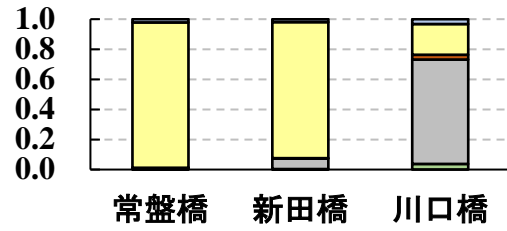
汚濁由来：■ 野生動物，■ 家畜動物，■ 農地（堆肥），■ 市街地，
■ 生活雑排水．

常呂川本流では，流下に伴う土地利用の変化が反映され，最上流の峰映では山林由来 fc が負荷のすべてであったが，中流域にかけて家畜動物由来 fc が加わり，北見市街地を通過した後はヒト居住地の市街地由来 fc の割合が大部分を占めるパターンがみられた．また，河川水半減期が長くなるに従って，中流域の家畜動物由来 fc が下流域まで残存する傾向がみられ，とくに若松橋と忠志橋において顕著であった．

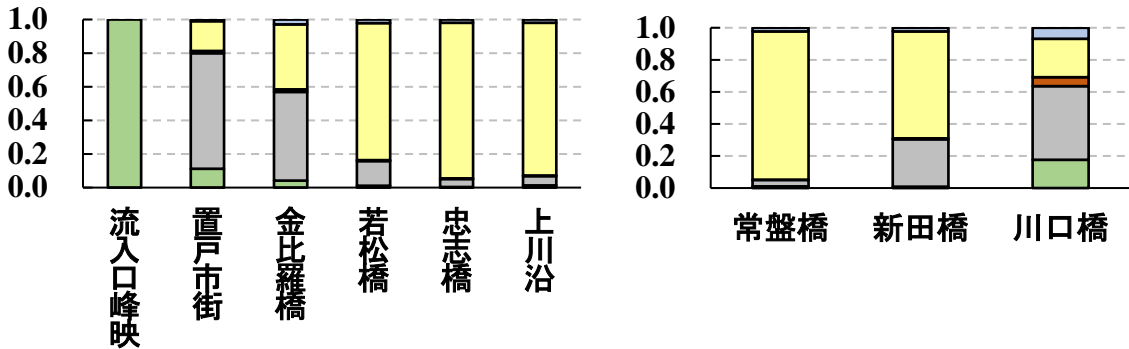
2010 年において，すべての観測所の実測値を得ることができたのは 1，3 月を除く奇数月であった．上記の手順と同様に中央値最適半減期を使って，同年 7，9，11 月における本流および，5，7，9，11 月における支流について推計を行い，汚濁源ごとの寄与率を求めた (Fig.2-6)．支流では，無加川（常盤橋）が本流の若松橋以降と同様に，市街地由来 fc の占める割合が大きく，常呂川合流直前の北見市街地を流下する際に汚濁負荷の多くを受けていることが推測できる．訓子府川についてはヒト居住地由来に加えて家畜

動物由来 fc の割合が高く，上流域の家畜動物由来の負荷を受けて流下したあと，常呂川合流直前の北見市街地より市街地由来の fc が上乘せされているものと推測される．仁頃川については，家畜動物由来 fc が約 5 割を占め，山林由来，ヒト居住地市街地由来がそれぞれ 2 割程度を占めており，本流や他の支流と比較して市街地の影響が少ない流域である．

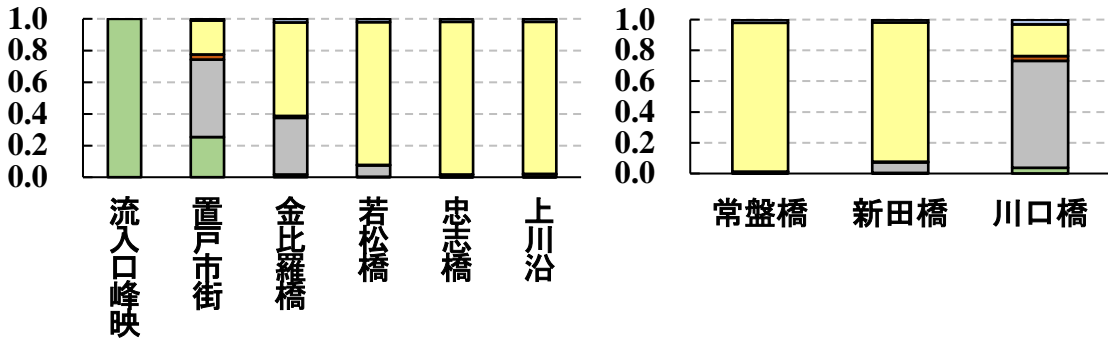
5月 中央値最適半減期:24h▲



7月 中央値最適半減期:12h■



9月 中央値最適半減期:12h■



11月 中央値最適半減期:12h■

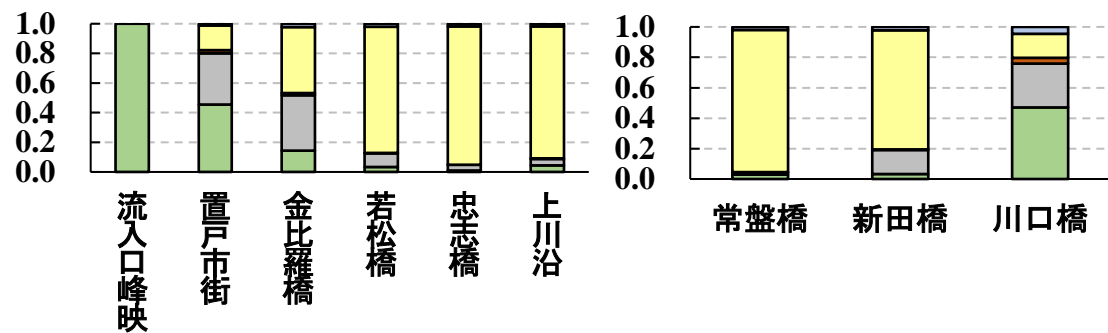


Fig.2-6 2010年における由来別汚濁負荷の推定割合 (本流7~11月, 支流5~11月)

汚濁由来: ■ 野生動物, ■ 家畜動物, ■ 農地 (堆肥), ■ 市街地, ■ 生活雑排水.

2.4. まとめ

過去の水質データを統計処理することにより、常呂川の通常時の fc 濃度を定義することができた。

常呂川流域における fc の汚濁負荷について、由来ごとの負荷量と位置を設定し、妥当な推計値を得ることが出来た。ヒト居住地からの負荷は、生活排水未処理人口や建物用地面積当たりの人口密度により異なり、市街地由来が $4.2 \times 10^{11} \sim 1.7 \times 10^{13}$ 個 $\text{km}^2 \text{年}^{-1}$ 、生活雑排水由来が $5.4 \times 10^{10} \sim 3.3 \times 10^{11}$ 個 $\text{km}^2 \text{年}^{-1}$ と見積もることができた。

山林由来は季節によって異なり、 $8.1 \times 10^{10} \sim 9.8 \times 10^{11}$ 個 $\text{km}^2 \text{年}^{-1}$ 、農地（堆肥）由来は 2.1×10^{11} 個 $\text{km}^2 \text{年}^{-1}$ 、家畜動物由来は酪農家の飼養頭数に依存し、 $1.3 \times 10^{12} \sim 4.4 \times 10^{13}$ 個 $\text{戸}^{-1} \text{年}^{-1}$ であった。

また、4月から11月の常呂川河川水中における fc の河川水半減期の範囲は、6～48 h であることを示唆した。

これらにより、常呂川の通常時における汚濁負荷量と汚濁源ごとに寄与している割合を求めることができた。

参考文献

- 1) 環境庁水質保全局：”「水浴場の水質の判定基準」の改正と「快適な水浴場のためのガイドライン」の策定について” <<https://www.env.go.jp/press/442.html>>, (accessed 2022-8-5).
- 2) 国土交通省水管理・国土保全局河川環境課：”【詳細版】平成25年全国一級河川の水質現況”<https://www.mlit.go.jp/river/toukei_chousa/kankyo/kankyousuisitu/pdf/h25_suisitu/02_syo_usai.pdf>, (accessed 2022-8-5).
- 3) Robert A. Sowah, Kenneth Bradshaw, Blake Snyder, David Spidle, Marirosa Molina :Science of the Total Environment, 746, 140669(2020).
- 4) Sangjun Im, Kevin M. Brannan, Saied Mostaghimi, Jaepil Cho :Journal of Environmental Science and Health Part A-Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering, 39, 663(2004).
- 5) A. de Brauwere, N. K. Ouattara, P. Servais :Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 44, 2380(2014).
- 6) 国土交通省北海道開発局網走開発建設部：”常呂川の概要<河川の特徴>”<<https://www.hkd.mlit.go.jp/ab/tisui/icrceh0000005re0-att/icrceh0000005rgp.pdf>>, (accessed 2022-8-5).
- 7) 北見市都市建設部都市計画課：”北見市都市計画マスタープラン(2020年3月)”<https://www.city.kitami.lg.jp/common/img/content/content_20210412_165811.pdf>, (accessed 2022-8-5).
- 8) 石川百合子, 川口智哉, 東野晴行：水環境学会誌, 40, 199(2017).
- 9) 国土交通省：”国土数値情報ダウンロード 国土数値情報 土地利用3次メッシュデータ”<<https://nlftp.mlit.go.jp/ksj/gml/datalist/KsjTmplt-L03-a.html>>, (accessed 2022-8-5).
- 10) 国土交通省：”国土数値情報ダウンロード 国土数値情報流域メッシュデータ”<<https://nlftp.mlit.go.jp/ksj/gml/datalist/KsjTmplt-W07.html>>, (accessed 2022-8-5).
- 11) 総務省統計局：”農林業センサス”<<https://www.e-stat.go.jp/gis/statmap-search?page=1&type=1&toukeiCode=00500209>>, (accessed 2022-8-5).
- 12) 総務省統計局：”国勢調査”<<https://www.e-stat.go.jp/gis/statmap-search?page=1&type=1&toukeiCode=00200521>>, (accessed 2022-8-5).
- 13) 気象庁：”過去の気象データダウンロード”<<http://www.data.jma.go.jp/gmd/risk/obsdl/index.php>>, (accessed 2022-8-5).
- 14) 国土交通省水管理・国土保全局：”水文水質データベース”, <<http://www1.river.go.jp/>>, (accessed 2022-8-5).
- 15) 北見市市民環境部：”常呂川水系水質調査報告書”<<https://www.city.kitami.lg.jp/administration/life/detail.php?content=5788>>, (accessed 2022-8-5).
- 16) 農林水産省畜産局畜産振興課：”家畜排せつ物法管理基準と施行状況”<https://www.maff.go.jp/j/chikusan/kankyo/taisaku/t_mondai/04_zyokyo/>, (accessed 2022-8-5).
- 17) 環境庁：昭和46年12月28日環境庁告示第59号，”水質汚濁に係る環境基準”(1971).
- 18) 石川百合子, 東海明宏：水環境学会誌, 29, 797(2006).
- 19) 平成14年度第2回内分泌かく乱化学物質問題検討会資料2-5 参考資料：
”<https://www.env.go.jp/chemi/end/speed98/commi_98/kento1402/mat02-5c.pdf> (accessed 2022-8-5).
- 20) 渡辺信久：廃棄物資源循環学会誌, 24, 153(2013).
- 21) 中央環境審議会水環境部会生活環境項目基準専門委員会：”生活環境項目環境基準

- における大腸菌群数について”, <<https://www.env.go.jp/council/09water/y0916-9/mat02.pdf>>, (accessed 2022-8-5).
- 22) 北海道農政部生産振興局畜産振興課：“北海道家畜排せつ物利用促進計画（平成 28 年 3 月）”(2016).
- 23) 橋正喜：“北海道の畜産環境対策をめぐる情勢”<https://www.leio.or.jp/pub_train/publication/tkj/tkj52/tkj52-2.pdf>, (accessed 2022-8-5).
- 24) 金子光美：“水質衛生学”，p.470(1996)，(技報堂出版).
- 25) 農研機構農村工学研究所：“地域バイオマスの賦存量を把握するための基礎データ一覧（2010.10.12 版）”(2010).
- 26) ゼンリン：“ゼンリン住宅地図 B4 判 北見市 [北見] 16.10”(2016)，(ゼンリン).
- 27) ゼンリン：“ゼンリン住宅地図 B4 判 北見市 [端野] 14.11”(2014)，(ゼンリン).
- 28) ゼンリン：“ゼンリン住宅地図 B4 判 北見市 [留辺蘂] 14.11”(2014)，(ゼンリン).
- 29) ゼンリン：“ゼンリン住宅地図 B4 判 北見市 [常呂] 14.11”(2014)，(ゼンリン).
- 30) ゼンリン：“ゼンリン住宅地図 '13 常呂郡訓子府町・置戸町”(2013)，(ゼンリン).
- 31) Google：“Googlemap”<<https://www.google.co.jp/maps/>>, (accessed 2022-8-5).
- 32) 埼玉さやか，小滝正勝，宇田川 浩一：“家畜ふん堆肥化過程における大腸菌の消長”<<https://agriknowledge.affrc.go.jp/RN/2030730263.pdf>>, (accessed 2022-8-5).
- 33) 北海道立総合研究機構 農業研究本部：“乳牛ふん尿の処理・利用過程における大腸菌の動態と低減技術”<<https://www.hro.or.jp/list/agricultural/center/kenkyuseika/gaiyosho/h16gaiyo/2004223.htm>>, (accessed 2022-8-5).
- 34) 北見市上下水道局：“【抜粋】下水道事業のあゆみ・概要”<https://www.city.kitami.lg.jp/common/img/content/content_20210625_170152.pdf>, (accessed 2022-8-5).
- 35) 伊藤俊美：“下水道実務講座 2 下水道計画”，p.222(1984)，(山海堂).
- 36) 伊藤俊美：“下水道実務講座 2 下水道計画”，p.212(1984)，(山海堂).
- 37) 北見市，訓子府町，置戸町：“北見地域循環型社会形成推進地域計画”<https://www.env.go.jp/recycle/waste/3r_network/5_region/project_list/01_hokkaido/12_kitami_h24.pdf>, (accessed 2022-8-5).
- 38) 上野加寿紀，和田桂子，宗宮功，廣谷 博史：環境技術，42，489(2013).
- 39) 横浜市環境創造局下水道施設部下水道水質課：“下水道と河川の F A Q”<<https://www.city.yokohama.lg.jp/kurashi/machizukuri-kankyo/kasengesuido/gesuido/gesuidofaq/suishitsu/004.html>>, (accessed 2022-8-5).
- 40) 国土交通省水管理・国土保全局下水道部：“流域別下水道整備総合計画調査指針と解説（平成 27 年 1 月）”<<https://www.mlit.go.jp/common/001065300.pdf>>, (accessed 2022-8-5).
- 41) 神奈川県衛生研究所：“うんちっておもしろい”<https://www.pref.kanagawa.jp/sys/eiken/014_kids/14_infection_013.htm>, (accessed 2022-8-5).
- 42) 総務省統計局：“データサイエンス・スクール中級者向けテキスト”<<https://www.stat.go.jp/dss/getting/pdf/mid.pdf>>, (accessed 2022-8-5) .
- 43) 北見市市民環境部廃棄物対策課：“北見市一般廃棄物処理基本計画（平成 21 年 3 月策定）”<https://www.city.kitami.lg.jp/common/img/content/content_20210611_101709.pdf>, (accessed 2022-8-5).
- 44) D.A.Chin, D.Sakura-Lemessy, D.D.Bosch, P.A.Gay : American society of agricultural and biological engineers, 52, 145(2009).
- 45) 石川百合子，川口智哉，東野晴行：水環境学会誌，35，65(2012).

- 46) 小倉勇：“化学物質の環境中動態を理解する：マルチメディアモデルの概要と利用” <<https://staff.aist.go.jp/i-ogura/presentation2005-3.pdf>>, (accessed 2022-8-5).
- 47) 大友量：土と微生物, 62, 55 (2008).
- 48) 中野益男：帯広畜産大学後援会報告, 13, 45 (1985).
- 49) 守谷将史, 小林義和, 柳井信一, 澤田育則, 森井裕：“河川底質中の糞便性大腸菌群数の変動特性”<https://committees.jsce.or.jp/hydraulic02/system/files/12_moriya.pdf>, (accessed 2022-8-5).
- 50) 国土交通省北海道開発局網走開発建設部：“常呂川水系水環境改善緊急行動計画（常呂川水系清流ルネッサンスII）に係わる技術資料”<<https://www.hkd.mlit.go.jp/ab/tisui/v6dkjr0000000ao0-att/icrceh000000af2z.pdf>>, (accessed 2022-8-5).
- 51) 中西弘, 浮田正夫, 石川宗孝：土木学会論文集, 345, 141(1984).
- 52) 石川百合子：“河川流域の化学物質リスク評価のための濃度予測モデルの開発と活用”<<https://www.nite.go.jp/data/000101400.pdf>>, (accessed 2022-8-5).

3. 実験によるふん便性大腸菌群の由来および 河川水中半減期の推定

3.1. 抗生物質に対するふん便性大腸菌群の薬剤感受性を用いた汚濁由来の推定

3.1.1. 概要

抗菌性物質は、家畜の感染症治療や飼料が含有する栄養成分の有効な利用の促進などを目的に使用されている。国（農林水産省）では、抗菌性物質によるヒトの健康と獣医療に対するリスクの評価および管理の基礎資料とすべく、主要な抗菌性物質に対する家畜由来耐性菌の動向等について継続して調査しており、大腸菌についてはアンピシリン（ABPC）など 12 薬剤を対象に調査され、肥育牛由来大腸菌ではテトラサイクリン（TC）への耐性が高いことが報告されている¹⁾。

筆者らは、家畜動物およびヒトに由来する fc と野生動物由来 fc では、抗菌性物質への感受性（耐性）に差異があることを見出した²⁾。第 3 章 1 節では、これを活用し、河川水中の fc における耐性菌の存在割合から、排出由来の推定について検討した。

3.1.2. 方法

3.1.2.1. 使用したふん便性大腸菌群試料

野生動物以外の人為的な汚濁の影響を受けないと考えられる常呂川源流域で採取した fc を上流由来とする。野生動物のほか、家畜動物やヒトなど様々な汚濁由来に起因すると考えられる北見大橋で採取した fc を中流由来とし、北見市浄化センターにおける流入下水から採取し、ほとんどがヒトに由来すると考えられる fc を下水由来とする。また、乳用牛のふんから採取した fc をウシ由来とした。

これらの fc 試料は、EC 培地を用いて選択培養した後、凍結保存を行い実験の都度、再培養して使用した。

3.1.2.1.1. 上流由来 fc

常呂川本流の最上流部に位置する流入口峰映（以下、峰映とする）および峰映周辺の支流において、2016 年 5 月 17 日から 2020 年 3 月 17 日の間に計 32 回採水を実施し、fc 試料を得た。

3.1.2.1.2. 中流由来 fc

北見大橋において、2013 年 8 月 19 日から 2017 年 1 月 10 日の間、13 回採水を実施し、fc 試料を得た。

このほか、北見大橋において、天候の異なる 3 日間に採水を実施し、fc 試料を得た。採水前数日間にわたって晴天であった 2017 年 10 月 11 日では、午前中は 7 時 30 分、8 時 30 分の 2 回、午後は正午から 5 時まで 1 時間おきの 6 回、合計 8 回の採水を行った。採水の三日前に 110 mm の降雪があった 2017 年 11 月 7 日については、午前 8 時から午

後 5 時まで、1 時間おきに計 10 回採水を行った。採水 3 日前から降雨が続き、河川の濁度が高い 2017 年 9 月 15 日には、午前 8 時から午後 5 時まで、1 時間おきに計 10 回採水を行った。

3.1.2.1.3. 下水由来 fc

2016 年 10 月 19 日から同年 12 月 8 日まで、北見市浄化センター（下水道終末処理場）の流入原水を計 8 回採水し、fc 試料を得た。

3.1.2.1.4. ウシ由来 fc

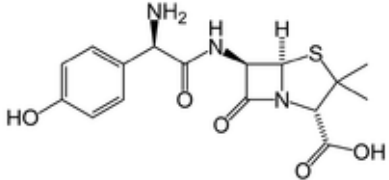
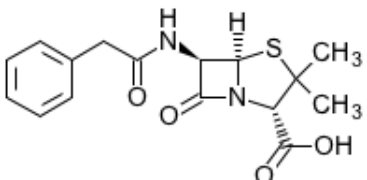
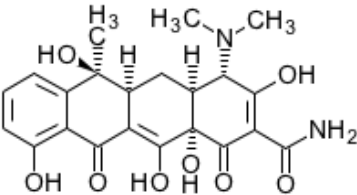
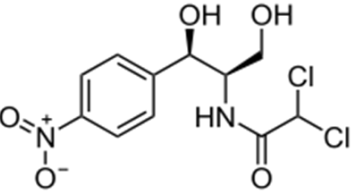
2020 年 3 月 2 日、常呂川流域の酪農家 8 軒において、メスの乳用牛のふんを採取し、fc 試料を得た。

3.1.2.2. 使用した薬剤

3.1.2.2.1. 抗生物質

βラクタム系のうち、ペニシリン系では、アモキシシリン（富士フィルム和光純薬工業 生化学用 以下 AMPC とする）およびベンジルペニシリン（富士フィルム和光純薬工業 生化学用、以下 PCG とする）、テトラサイクリン系では、オキシテトラサイクリン（富士フィルム和光純薬工業 生化学用、以下 OTC とする）、クロラムフェニコール系では、クロラムフェニコール（富士フィルム和光純薬工業 分子生物学用、以下 CP とする）を用いた（Table 3-1-1）。

Table 3-1-1 本研究に用いた抗生物質

名称	アモキシシリン (AMPC)	ベンジルペニシリン(PCG)
系	βラクタム系・ペニシリン系	βラクタム系・ペニシリン系
作用機序	細胞壁合成阻害	細胞壁合成阻害
性質	殺菌性, 時間依存性	殺菌性, 時間依存性
化学式	$C_{16}H_{19}N_3O_5S$	$C_{16}H_{18}N_2O_4S$
構造式		
名称	オキシテトラサイクリン(OTC)	クロラムフェニコール(CP)
系	テトラサイクリン系	クロラムフェニコール系
作用機序	タンパク質合成阻害	タンパク質合成阻害
性質	静菌性, 濃度依存性	静菌性, 濃度依存性
化学式	$C_{21}H_{24}N_2O_9$	$C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$
構造式		

3.1.2.2.2. 培地等

EC 培地は、大腸菌群のうち、 $44.5\pm 0.2^{\circ}\text{C}$ で 24 ± 2 時間培養したとき、乳糖を分解し、気体を発生するものをふん便性大腸菌群として選択培養する際に用いた。

LB(Luria-Bertani)培地は、細菌用富栄養培地の一種であり、特に一般細菌や腸内細菌の培養に用いられることが多い。本研究では、標準菌や EC 培地を用いて選択培養した fc を再培養する際に用いた。

ミューラーヒントン寒天培地は、抗菌薬感受性試験の阻害を最小限にするよう保証されており、薬剤感受性検査法に関する国際標準機関である Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI, 米国)が規定する薬剤感受性試験に用いた。

トリコロール培地は、E-coli の持つ特異酵素 β -グルクロニターゼによる加水分解と酸化反応、大腸菌群の乳糖分解酵素 β -ガラクトシターゼによる加水分解と酸化反応を利用し、E-coli と大腸菌群の同時検出に用いられるものであり、発現した集落が青～青紫色の場合は E-coli、赤～紫色の場合は大腸菌群と判別した。

このほか、薬剤暴露実験時に fc が代謝をし、かつ増殖しないように調製したグルコース-塩化ナトリウム (Glc-NaCl) 溶液を用いた。

これら培地の調整等に用いた試薬を Table 3-1-2 に、培地の調整方法等を Table 3-1-3 にそれぞれ示す。

Table 3-1-2 使用した試薬類の一覧

用途	試薬の名称 (メーカー名)
EC 培地調製	ハイポリペプトン (日本製薬株式会社) ラクトース (富士フイルム和光純薬工業) 胆汁酸塩(富士フイルム和光純薬工業) リン酸水素二カリウム (富士フイルム和光純薬工業) リン酸二水素カリウム (富士フイルム和光純薬工業) 塩化ナトリウム (富士フイルム和光純薬工業)
LB 培地調整	BactoTM Tryptone (富士フイルム和光純薬工業) 粉末酵母エキス (富士フイルム和光純薬工業) 塩化ナトリウム (富士フイルム和光純薬工業)
ミューラーヒントン 寒天培地	パールコア®ミューラーヒントン S 寒天培地 (栄研化学株式会社)
トリコロール培地	Pro-media アガートリコロール (ELMEX)
Glc-NaCl 溶液	D(+)-グルコース (富士フイルム和光純薬工業)
グリセロールストック	グリセリン (富士フイルム和光純薬工業)
CP 調製	エタノール(99.5) (富士フイルム和光純薬工業)
殺菌消毒	消毒用エタノール B 液 IP(健栄製薬株式会社)

Table 3-1-3 培地の調整方法

培地等名称	調整方法等
EC 培地	1,000 mL デュラン瓶にポリペプトン (20.0 g), ラクトース (5.0 g), 胆汁酸塩 (1.5 g), リン酸水素二カリウム (4.0 g), リン酸二水素カリウム (1.5 g), 塩化ナトリウム (5.0 g) を取り, イオン交換水で全量を 1,000 mL とし, オートクレーブを用いて高温高圧滅菌(121°C, 15 min) ののちにクリーンベンチ内で UV 殺菌しながら放冷する.
LB 培地	1,000 mL デュラン瓶にトリプトン (10.0 g), 酵母エキス (5.0 g), 塩化ナトリウム (10.0 g) を取り, イオン交換水で全量を 1,000 mL とし, オートクレーブを用いて高温高圧滅菌(121°C, 15 min)ののちにクリーンベンチ内で UV 殺菌しながら放冷する.
ミューラー ヒントン 寒天培地	感受性試験用パールコア®ミューラーヒントン S 寒天培地の 1,000 mL あたりの組成は, エキス類 (2.0 g), カザミノ酸 (17.5 g), 可溶性デンプン (1.5 g), 寒天 (17.0 g) であり, pH が 7.3±0.1 となるよう調整されている. 200mL ビーカーに攪拌子, パールコアミューラーヒントン S 寒天培地 (7.6 g) を取り, イオン交換水で全量を 200 mL とし, ビーカー上部をアルミホイルで二重に蓋をしたのち, オートクレーブを用いて高温高圧滅菌(121°C, 15 min). スターラーで攪拌しながら, ウォーターバス 50°C で保温, 分注する.
トリコロール 培地	Pro-media アガートリコロールの 1,000 mL あたりの組成は, ペプトン (10.0 g), 塩化ナトリウム (5.0 g), リン酸二水素ナトリウム (2.2 g), リン酸水素二ナトリウム (2.7 g), ピルビン酸ナトリウム (1.0 g), 硝酸カリウム (1.0 g), L-トリプトファン (1.0g), D-ソルビトール (1.0 g), ラウリル硫酸ナトリウム(0.2g), 硝酸カリウム(1.0g), 寒天 (15.0 g), X-GLUC(0.1g), Magenta-GAL(0.1g) であり, pH7.0±0.2 となるよう調整されている. 200 mL ビーカーに攪拌子, Pro-media アガートリコロール(ELMEX) 7.86 g を取り, イオン交換水で全量を 200 mL とし, ビーカー上部をアルミホイルで二重に蓋をしたのち, オートクレーブを用いて高温高圧滅菌(121 °C, 15 min). スターラーで攪拌しながら, ウォーターバス 50 °C で保温, 分注する.
Glc-NaCl 溶液	1,000 mL デュラン瓶にグルコース (20.0 g), 塩化ナトリウム (5.0 g) を取り, イオン交換水で全量を 1,000 mL とし, オートクレーブを用いて高温高圧滅菌(121 °C, 15 min)ののちにクリーンベンチ内で UV 殺菌しながら放冷する.
抗生物質溶液	20 mL メスフラスコに抗生物質 (0.02 g) を取り, イオン交換水 10 mL 程度を加え, 超音波洗浄機を用いて溶解後にイオン交換水で全量を 20 mL とすることで, 1 mg mL ⁻¹ 抗生物質溶液を調整した. なお, CP は疎水性であるため, イオン交換水の代わりにエタノール(99.5)を用いた.

3.1.2.3. 装置等

実験に用いた装置類について Table 3-1-4 に示す

Table 3-1-4 実験に用いた装置類の一覧

用途	名称, 型式等
ふん便性大腸菌群の培養	定温乾燥機 DV600 (ヤマト科学株式会社)
	定温乾燥機 DX301 (ヤマト科学株式会社)
	ラボキューブ恒温槽 ICL300B (ヤマト科学株式会社)
	Bio Shaker BR-21FP (タイテック株式会社)
植菌操作	クリーンベンチ(殺菌灯付) CT-600 UVAD (AS ONE)
	クリーンベンチ(殺菌灯付) CT-600N-UV (AS ONE)
	コンパクトクリーンブース TY-33N 型 (AS ONE)
	アスピレーター
	吸引ろ過装置 (ADVANTEC)
	メンブレンフィルター (ADVANTEC)
滅菌処理	殺菌線消毒ロッカー (AS ONE)
	ラボ用オートクレーブ LBS-325 (TOMY)
	消毒用エタノール B 液 IP (健栄製薬株式会社)
吸光度測定	U-2000A 形ダブルビーム分光光度計 (日立製作所)
濁度測定	高感度 濁度計 TR-55 (笠原理化工業株式会社)
電気導電率測定	導電率計 WA-2017SDJ (株式会社佐藤商事)
その他	THERMO BATH(ウォーターバス) THB-3 (IWAKI)
	ブラソニック卓上超音波洗浄器 5510J-MT (ヤマト科学株式会社)

3.1.2.4. ふん便性大腸菌群試料の保存および定量方法

3.1.2.4.1. グリセロールストックによるふん便性大腸菌群試料の長期保存

大腸菌株の長期保存を目的として以下の手順によりグリセロールストックを行った。250 mL デュラン瓶に EC 培地 (倍濃度 100 mL), 河川水試料 (100 mL) を取り, 恒温槽中において, 44.5 °C で 24 h 培養する (soln.1)。次に 50 mL ビーカーにグリセリン (40 mL), 滅菌水 (10 mL) を取り, オートクレーブを用いて高温高圧滅菌(121°C, 15 min)した 80 %グリセロール (100 µL) および soln.1 (900 µL) を 1.5 mL マイクロチューブに分取し, 十分に攪拌したのち, -45 °C で冷凍保存した。

なお, fc 濃度が低い河川水の場合は, メンブレンフィルターを用いて適当量集菌し, 河川水試料 (100 mL) と集菌済みフィルターをデュラン瓶の内部に入れて培養を行った。

3.1.2.4.2. 吸光光度計によるふん便性大腸菌群濃度の調整

LB 培地を用いた培養液中の fc 濃度 (CFU 100 mL⁻¹) と 600 (nm) における吸光度に比例関係がみられることから³⁾, 吸光光度計を用いて培養液のおおむねの fc 濃度を調整した。

3.1.2.4.3. メンブレンフィルター法を用いた集菌

環境省が定める水浴場の水質判定基準において示されるメンブレンフィルター法 (M-FC 法)⁴⁾に従った。

3.1.2.5. 薬剤感受性試験

3.1.2.5.1. 平板塗抹法

高温高圧滅菌処理したトリコロール培地に抗菌性物質を規定濃度となるように加え、滅菌シャーレ (φ90 mm×15 mm) に分注する。ここに LB 培地で培養した fc を約 1.0×10² CFU 100 mL⁻¹ となるように希釈し、100 μL ずつ二領域に滴下、塗布する。恒温槽において 37 °C で 18~24 h 培養した後に発現したコロニーを計測する。

なお、分解能向上試験時には、fc をおおむね 1.0×10⁵ CFU 100 mL⁻¹ となるように調整し、塗抹した。

3.1.2.5.2. CLSI 法

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) に準拠した寒天平板希釈法⁵⁾により、最小発育阻止濃度 (Minimum Inhibitory Concentration; MIC) を決定した。

3.1.3. 結果と考察

3.1.3.1. 上流由来および中流由来, ヒト(下水)由来ふん便性大腸菌群の生存率実験

3.1.3.1.1. 実験条件の検討

筆者らがこれまでに実施してきた平板塗抹法による薬剤感受性試験においては, 上流由来および中流由来, ヒト(下水)由来を明確に判別する手法の確立には至らなかった。しかしながら, AMPC 濃度が $8 \mu\text{g mL}^{-1}$ において, 由来ごとの fc の生存率にわずかな差異が確認できており, 評価に用いる fc 濃度の上昇を図ることにより, ごくわずかに含まれる低感受性 fc の検出が可能になるものと考えた。

そこで本研究では, 平板塗抹法の実験条件について, 従前の手法から分解能を向上させ, 環境水由来試料中ふん便性大腸菌群の薬剤感受性を評価した。実験条件について Table 3-1-5 に示す。

Table 3-1-5 分解能向上による平板塗抹法の実験条件

	従前方法	分解能向上
薬剤濃度 / $\mu\text{g mL}^{-1}$	0~8	8~32
fc 濃度 / CFU $100 \mu\text{L}^{-1}$	ca. 1.0×10^2	ca. 1.0×10^5

3.1.3.1.2. AMPCによる上流および中流，ヒト由来ふん便性大腸菌群の生存率実験

分解能を向上した生存率確認試験結果を Fig. 3-1-1 に示す。fc 生存率を対数で評価し、相加平均値および標準偏差を求めた。プロットが由来ごとの fc 生存率，エラーバーが標準偏差を示す。AMPC 濃度 $8\sim 32 \mu\text{g mL}^{-1}$ の暴露により，上流由来 fc (8 検体) は全て死滅した。ヒト (下水) 由来 fc (4 検体) の生存率は $3\sim 51\%$ ，濃度ごとの平均値は $12\sim 17\%$ ，標準偏差は $17\sim 20\%$ であった。中流由来 fc (13 検体) の生存率は $0\sim 15\%$ ，濃度ごとの平均生存率はいずれも 0.001% ，標準偏差は $1\sim 4\%$ と大きなバラツキがみられた。上流由来は人為的な汚濁の影響がない地域において採取した試料であるため，野生動物に由来する fc が支配的であり，野生動物由来 fc は， $8 \mu\text{g mL}^{-1}$ 以上の濃度の AMPC へ暴露した際に死滅する感受性が高い細菌からなるものと考えられる。下水試料においては，ヒト由来の fc が支配的である。由来構成が未知である fc について， $8 \mu\text{g mL}^{-1}$ 以上の濃度の AMPC へ暴露した際に 1% 程度以上の生存が確認される場合には，ヒト由来 fc が支配的であると考慮される。

一方で，中流由来は様々な汚濁源からの fc が混在しているため，生存率にバラツキが生じたものと考えられる。このうち，AMPC 濃度 $8 \mu\text{g mL}^{-1}$ の条件で生存率がそれぞれ 2.6% ， 11% であった 2 検体については，ヒト由来 fc が支配的であったと考えられる。それ以外の検体については，野生動物由来または家畜動物由来のいずれかが支配的であったと考えられ，本実験によりヒト由来 fc とそれ以外に由来する fc についての判別が，おおむね可能であることを示唆した。

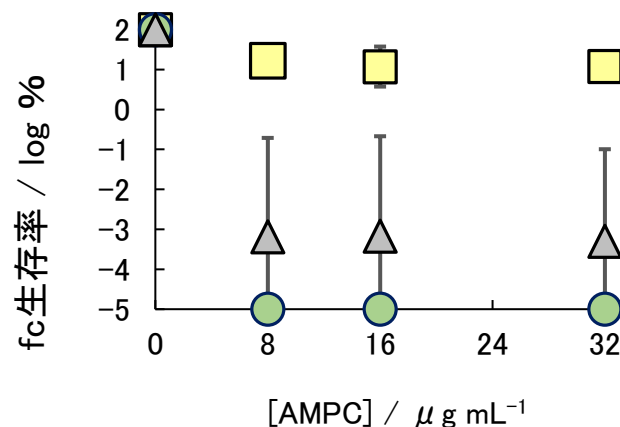


Fig. 3-1-1 分解能を向上させた AMPC によるふん便性大腸菌群の生存率

fc の由来 : ● 上流 (n=8), ▲ 中流 (n=13), □ 下水 (n=4)

3.1.3.2. 上流由来およびウシ由来ふん便性大腸菌群の生存率実験

常呂川において検出される fc は、土地利用条件などから、おおよそ野生動物、ヒト、家畜動物のいずれかに由来するものと考えられる。3.1.3.1 において、ヒト由来とそれ以外に由来する fc の判別について示唆した。

ここでは、野生動物由来と家畜動物由来 fc の判別法について、上流水から得た fc 試料とウシ由来の fc 試料を用い、判別の可能性について検討を行った。

AMPC を用いた判別法では、由来により生存率に差異が見られたもの、分解能を上げる必要があったことから、AMPC と同系統（βラクタム系、ペニシリン系）ながら、殺菌力が抑えられたベンジルペニシリン（PCG）を使用し、平板塗抹法により実験を行った。また、時間依存性の殺菌剤である PCG に加えて、濃度依存性の静菌剤であるクロラムフェニコール（CP）およびオキシテトラサイクリン（OTC）を用いて同様の実験を行った。

3.1.3.2.1. PCG による上流由来およびウシ由来ふん便性大腸菌群の生存率実験

PCG 含有固体培地を用いた平板塗抹法による上流由来 fc とウシ由来 fc の生存率試験結果を Fig. 3-1-2 に示す。PCG 濃度は、 $16 \mu\text{g mL}^{-1}$ または $20 \mu\text{g mL}^{-1}$ とした。 $20 \mu\text{g mL}^{-1}$ の PCG 濃度において、上流由来の 11 菌株全てが 20% 以下の生存率であった。ウシ由来の 8 菌株のうち、生存率が 80% となった 1 菌株については上流由来 fc と判別が可能であると考えられるが、実河川試料に幅広く適用することは困難であるとする。

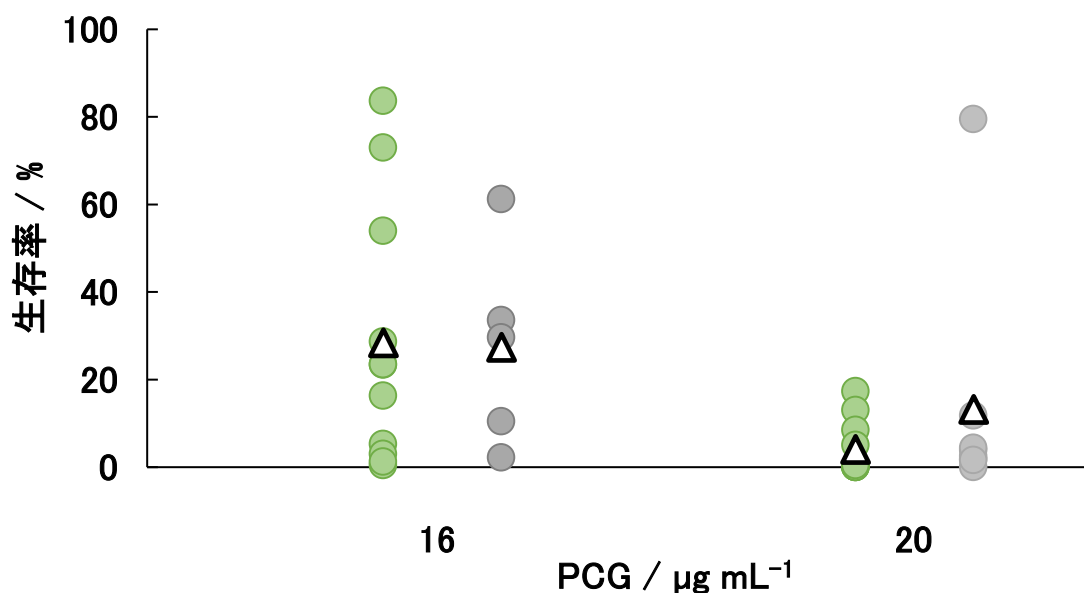


Fig. 3-1-2 上流由来 fc とウシ由来 fc の抗生物質添加時の生存率 (PCG)

fc の由来 : ● 上流由来, ● ウシ由来. △ ; 平均値.

3.1.3.2.2. CPによる上流由来およびウシ由来ふん便性大腸菌群の生存率実験

3.0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ のCP含有固体培地を用いた平板塗抹法により、上流由来fcとウシ由来fcの生存率試験を行った。上流由来fcの生存率は0~100%と幅広い分布がみられ、平均の生存率は65%であった。また、ウシ由来fcの生存率は55~84%であり、平均の生存率は81%程度であった。平均では両者に16%程度の差が見られたが、上流由来fcの生存率は幅広く分布していることから、実河川試料においてウシ由来fcとの明確な判別は困難であると考ええる。

3.1.3.2.3. OTCによる上流由来およびウシ由来ふん便性大腸菌群の生存率実験

1.5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ のOTC含有固体培地を用いた平板塗抹法による上流由来fcとウシ由来fcの生存率試験を実施したところ、上流由来とウシ由来のfcの生存率の平均値には、20%程度の差が見られた。しかしながら、CPと同様に上流由来fcの生存率は幅広く分布しており、実河川試料においてウシ由来fcとの明確な判別は困難であると考ええる。

3.1.3.2.4. 抗生物質単剤による生存率実験結果のまとめ

PCG, CP, OTCをそれぞれ単体で用いた生存率実験結果からは、上流由来とウシ由来fcを明確に判別することは困難であると考えられる。

特に上流水由来試料においては、生存率のバラツキが大きかった。実環境においては様々な野生動物に由来するfcが混入しており、動物種のほか、同種であっても個体ごとに薬剤耐性に差異が存在することなどが影響しているものと考えられる。

3.1.3.3. 複数の抗生物質の組合せによるふん便性大腸菌群の生存実験

抗生物質単剤では、上流由来とウシ由来 fc を明確に判別することは困難であったことから、複数の抗生物質を組合せた実験を実施した。

3.1.3.3.1. 2 剤組み合わせによる薬剤感受性評価

CLSI 法を用い最小発育阻止濃度 (MIC) により薬剤感受性を評価した。

コロニーの判別は以下の 3 種類とした。コロニーが発現したもの (薬効がなかったもの) を「○」、コロニーが斑点状で不鮮明であり増殖が抑制されたものを「△」、コロニーが発現しなかったもの (薬効が認められたもの) を「×」と評価した。使用する抗生物質は PCG, CP, OTC の 3 種類を用い、このうち 2 種類を組合せ実験を行った。Table 3-1-6 に抗生物質の組合せごと、濃度ごとの上流由来およびウシ由来 fc のコロニーの発現状況を示す。PCG と OTC の組合せにおいて、それぞれの濃度を $12 \mu\text{g mL}^{-1}$ および $1.5 \mu\text{g mL}^{-1}$ とすることで、上流とウシ由来の fc がおおむね判別可能であることが示唆された。

しかしながら、上流由来の菌株の 1 つ (20190626No.4) について、抑制されたコロニーが確認されたことから、より明確に判別を行うために、この菌株のコロニーが発現しない条件について再検討を行うこととした。

Table 3-1-6 抗生物質の組合せごと、濃度ごとのコロニーの発現状況 (2 剤使用)

fc 由来 (試料名称)	CP:OTC $\mu\text{g mL}^{-1}$		PCG:CP $\mu\text{g mL}^{-1}$		PCG:OTC $\mu\text{g mL}^{-1}$	
	3.0:1.5	1.5:3.0	12:1.5	6.0:3.0	12:1.5	6.0:3.0
	上流由来 (20200317No.1)	×	×	×	×	×
上流由来 (20200317No.2)	×	×	△	△	×	×
上流由来 (20190626 峰映)	△	○	△	○	×	○
上流由来 (20190626No.2)	×	×	×	×	×	×
上流由来 (20190626No.4)	△	△	×	△	△	△
上流由来 (20190625No.2)	×	×	△	△	×	×
上流由来 (20190625No.4)	×	×	△	△	×	△
ウシ由来 (①)	△	△	△	△	△	△
ウシ由来 (②)	△	△	×	△	△	○
ウシ由来 (③)	△	△	△	△	○	○
ウシ由来 (④)	×	△	○	×	△	△
ウシ由来 (⑤)	○	○	○	○	○	○
ウシ由来 (⑥)	○	○	○	○	○	○
ウシ由来 (⑦)	△	○	×	×	○	○
ウシ由来 (⑧)	△	○	△	△	△	○

3.1.3.3.2. 3 剤組み合わせによる薬剤感受性評価

2 剤組合せ実験において、上流由来 fc のうち、いずれの条件でも死滅しなかった 20190626No.4 の菌株およびウシ由来 fc 8 検体について、3 種類の抗生物質の組合せ実験によるコロニー発現の有無を確認した。結果について Table 3-1-7 に示す。PCG, OTC, CP の組み合わせにおいて、それぞれの濃度が $16\ \mu\text{g mL}^{-1}$, $2.0\ \mu\text{g mL}^{-1}$, $2.0\ \mu\text{g mL}^{-1}$ とすることで、上流由来 (20190626No.4) については発現が認められなかったが、ウシ由来の fc のコロニー発現数も大幅に減少したため、本法により上流とウシ由来の fc を明確に判別することは困難であると判断した。

Table 3-1-7 抗生物質の組合せごと、濃度ごとのコロニーの発現状況 (3 剤使用)

fc 由来 (試料名称)	PCG:CP:OTC $\mu\text{g mL}^{-1}$					
	8.0:1.0:1.0		12:1.5:1.5		16:2.0:2.0	
上流由来 (20190626No.4)	△	△	△	△	△	×
ウシ由来 (①)	△	△	△	△	×	×
ウシ由来 (②)	×	△	×	×	×	×
ウシ由来 (③)	△	△	△	△	×	×
ウシ由来 (④)	△	△	△	△	×	×
ウシ由来 (⑤)	○	○	○	○	○	○
ウシ由来 (⑥)	○	○	○	○	○	○
ウシ由来 (⑦)	○	○	○	○	×	×
ウシ由来 (⑧)	○	○	△	△	△	△

3.1.3.3.3. 2 剤組み合わせによる薬剤感受性の再評価

3.1.3.3.1 で得られた結果を踏まえ、PCG, OTC の濃度について、より最適な条件を検討するため、上流由来 fc のサンプル数を増やすとともに濃度条件を追加し、実験を行った。結果について Table 3-1-8 に示す。

PCG が $12\ \mu\text{g mL}^{-1}$, OTC が $3.0\ \mu\text{g mL}^{-1}$ の条件において、上流由来の菌株のコロニー発現数が最少となった。また、この条件において全てのウシ由来 fc のコロニー発現が確認できたことから、これを上流由来およびウシ由来 fc 判別の最適条件とした。

Table 3-1-8 PCG と OTC の組合せによる濃度ごとのコロニーの発現状況

fc 由来 (試料名称)	PCG:OTC $\mu\text{g mL}^{-1}$		
	12:1.5	16:1.5	12:3.0
上流由来 (20200317No.1)	×	×	×
上流由来 (20200317No.2)	×	×	×
上流由来 (20190626 峰映)	×	×	×
上流由来 (20190626No.2)	×	×	×
上流由来 (20190626No.4)	△	△	△
上流由来 (20190625No.2)	×	×	×
上流由来 (20190625No.4)	×	×	×
上流由来 (20190625 峰映)	×	×	×
上流由来 (20190522No.1)	×	×	×
上流由来 (20190522No.2)	×	×	×
上流由来 (20190522No.3)	×	×	×
上流由来 (20161013 家の沢)	×	×	×
上流由来 (20161013 出会い)	×	×	×
上流由来 (20161013No.6)	×	×	×
上流由来 (20160517 上流 1)	×	×	×
上流由来 (20160517 上流 2)	×	×	×
上流由来 (20160517 上流 3)	×	×	×
上流由来 (20200705 常呂川上流 X)	△	△	×
ウシ由来 (①)	△	△	△
ウシ由来 (②)	△	×	△
ウシ由来 (③)	○	△	○
ウシ由来 (④)	△	△	△
ウシ由来 (⑤)	○	○	○
ウシ由来 (⑥)	○	○	○
ウシ由来 (⑦)	○	△	○
ウシ由来 (⑧)	△	△	△

3.1.3.4. 常呂川の実試料における汚濁由来の推定

3.1.3.1 では、AMPC を用いることによりヒト由来の fc とそれ以外に由来する fc の判別の可能性を示唆した。また、3.1.3.3 では、2 種類の抗生物質（PCG, OTC）を組合わせて使用することで、野生動物由来 fc およびウシ由来 fc の判別が、おおむね可能であることを示唆した。

これら 2 つの方法を組合わせることで、河川試料中の野生動物由来の fc、ウシ由来の fc、ヒト由来の fc についての判別を試みた。

3.1.3.4.1. 使用したふん便性大腸菌群試料

若松橋のおよそ 2 km 下流、忠志橋の上流およそ 13 km に位置する北見大橋において、天候の異なる 3 日間に採水を実施し、fc 試料を得た。

当該試料については、野生動物、ヒト、家畜動物など様々な由来の fc が混在していると考えられる。

採水前数日間にわたって晴天であった 2017 年 10 月 7 日に得た試料を用いた実験を A、採水の三日前に降雪があった 2017 年 11 月 9 日に得た試料を用いた実験を B、採水 3 日前から降雨が続き、河川の濁度が高い 2017 年 9 月 15 日に得た試料を用いた実験を C とする。

北見大橋の fc 濃度実測値が、2.3.1.1 で求めた 2006 年から 2015 年の若松橋における第一四分位 ($29 \text{ CFU } 100 \text{ mL}^{-1}$) を下限、忠志橋における第三四分位 ($180 \text{ CFU } 100 \text{ mL}^{-1}$) を上限とする範囲内に存在する場合は、常呂川の通常の状態であるものと判断した。

3.1.3.4.2. 晴天時における時間別の由来推計 (A)

A の条件における fc 濃度の経時変化と各種薬剤を用いた fc の生存率について、Fig.3-1-3 に示す。左縦軸と棒の高さが河川の fc 濃度(CFU 100 mL⁻¹)、黒色のプロットが AMPC 実験による fc の生存率を示す。また、棒グラフの色は、AMPC 実験においてヒト由来と判別された場合に黄色とし、PCG と OTC 組合せ実験においてコロニーの発現あるいは抑制されたコロニーの発現があった場合は、ウシ由来が支配的であることを表す灰色、コロニーの発現がなかった場合には、野生動物由来 fc が支配的であることを示す緑色とした。

Fig.3-1-3 に示すとおり、fc 濃度は 19~90 CFU 100 mL⁻¹ の範囲であり、概ね常呂川の通常時と考えられる値を示し、水浴場の水質の判定基準を大きく下回る良好な水質であった。AMPC 実験により、ヒト由来と中流由来における生存率の閾値は 1 % 程度であったことから、12,13,16,17 時においてはヒト由来 fc が支配的であると考えられる。

AMPC 実験による fc の生存率が低い時間帯のうち、PCG と OTC 組合せ実験によりコロニーの発現が確認された 7 時 30 分、8 時 30 分、14 時についてはウシ由来 fc が支配的であると考えられ、コロニーの発現がなかった 15 時については、野生動物由来 fc などの高感受性 fc の影響によるものと考えられる。

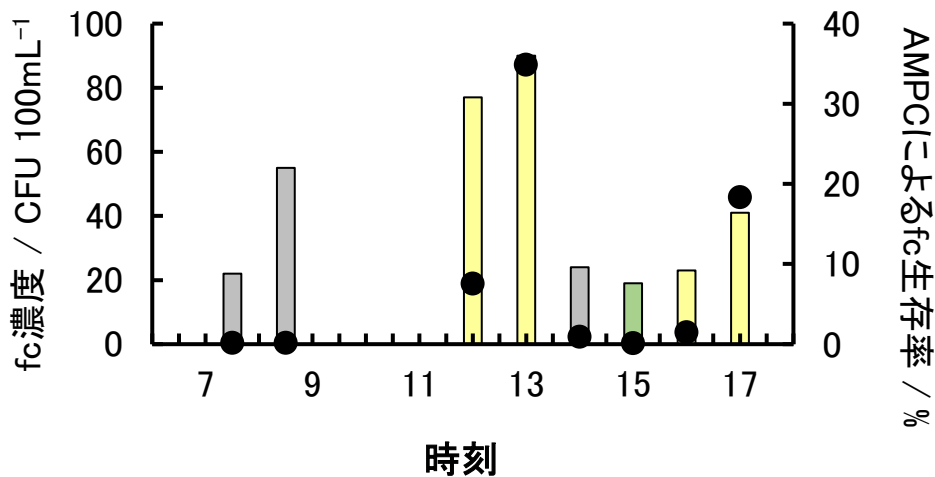


Fig. 3-1-3 晴天時における薬剤ごとの時間別の河川水中 fc の生存率の推移

- ; AMPC コロニー発現率. □ ; AMPC コロニー発現 (ヒト由来).
- ; PCG+OTC コロニー発現 (ウシ由来).
- ; PCG+OTC コロニー不発現 (野生動物由来).

3.1.3.4.3. 融雪水影響時における時間別の由来推計 (B)

B の条件における fc 濃度の経時変化と各種薬剤を用いた fc の生存率について、Fig.3-1-4 に示す。河川水 fc 濃度は、8 時 (530 CFU 100 mL⁻¹) から 10 時 (380 CFU 100 mL⁻¹) までは、常呂川の通常を上回る値を示したが、11 時以降は 96~176 CFU 100 mL⁻¹ の範囲であった。また、忠志橋における採水当日の流量は、21~27 m³ s⁻¹ の範囲で変動しており、2017 年における忠志橋の年平均流量 25.61 m³ s⁻¹ とほぼ同量であったことから⁶⁾、11 時から 17 時については、常呂川の通常の状態であるものと判断した。

AMPC 実験での fc 生存率は、12 時および 14 時を除き 1% を上回っており、ヒト由来 fc が支配的であったと考えられる。AMPC 実験による fc の生存率が低い時間帯のうち、PCG と OTC 組合わせ実験によりコロニーの発現が確認された 12 時についてはウシ由来 fc が支配的であると考えられ、コロニーの発現がなかった 14 時については、野生動物由来 fc などの高感受性 fc の影響によるものと考えられる。

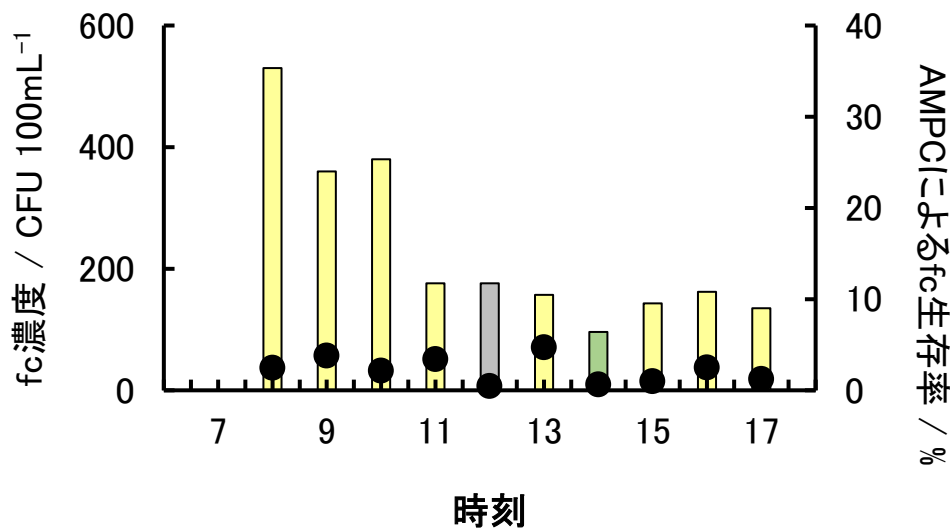


Fig.3-1-4 融雪水影響時における薬剤ごとの時間別の河川水中 fc の生存率の推移

- ; AMPC コロニー発現率. □ ; AMPC コロニー発現 (ヒト由来).
- ; PCG+OTC コロニー発現 (ウシ由来).
- ; PCG+OTC コロニー不発現 (野生動物由来).

3.1.3.4.4. 降水時における時間別の由来推計 (C)

C の条件における fc 濃度の経時変化と各種薬剤を用いた fc の生存率について、Fig.3-1-5 に示す。忠志橋における採水当日の流量は、 $30\sim 44\text{ m}^3\text{ s}^{-1}$ の範囲で変動しており、前日の流量のほぼ 2 倍であった⁶⁾。河川水の導電率は B の条件とほぼ同程度の $138\sim 159\text{ }\mu\text{S cm}^{-1}$ であったが、7 時における濁度は A および B の条件の 10 倍以上となる 146 であり、その後 17 時の 30 まで漸減するものの、終日高い値を示した。fc 濃度については、水浴場の水質の判定基準を大幅に上回る $3,900\sim 12,200\text{ CFU }100\text{ mL}^{-1}$ であり、常呂川の通常時ではない状態であるものと判断した。

AMPC 実験では、すべての時刻において fc 生存率が 8% を上回ったため、ヒトに由来する人為的な汚濁が支配的だと考えられる。

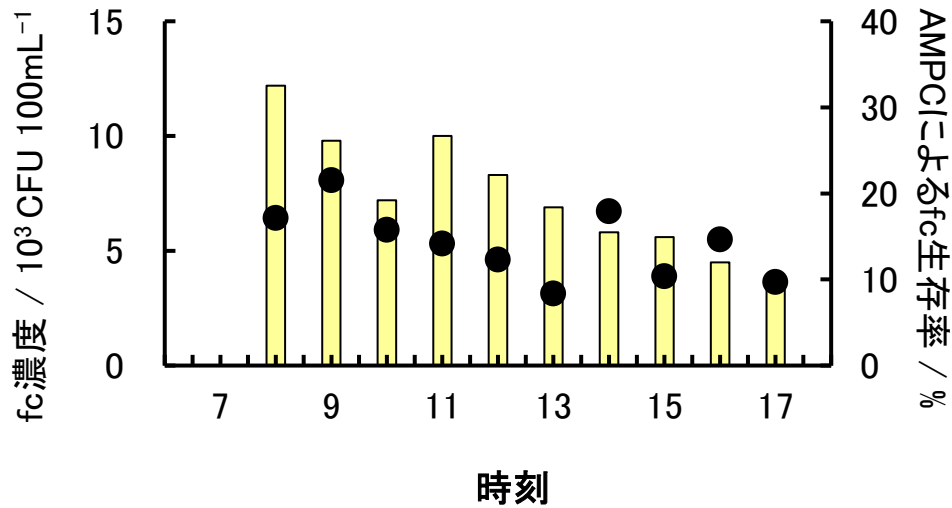


Fig.3-1-5 降水時における薬剤ごとの時間別の河川水中 fc の生存率の推移

● ; AMPC コロニー発現率. □ ; AMPC コロニー発現 (ヒト由来).

3.1.3.5. 実験と AIST-SHANEL による由来ごとの寄与の割合の比較

薬剤感受性を用いた汚濁由来推定実験について、常呂川の通常状態であると考えられる A の条件および B の条件のうち 11 時以降について、由来ごとの fc 濃度合算値を全データの fc 濃度の合計値で除することにより由来別の寄与を推計した。A および B の実験は、それぞれ 10 月、11 月に実施しており、比較に用いた AIST-SHANEL による推計値は、2.3.4 において中央値最適半減期 (12h) を用いて求めた 10 月、11 月の推計値とした (Fig.3-1-6)。

薬剤感受性実験、AIST-SHANEL による推計のいずれにおいても 6~9 割程度を占めるヒト由来 fc が支配的な汚濁源であり、ウシ由来が 1~3 割程度であった。

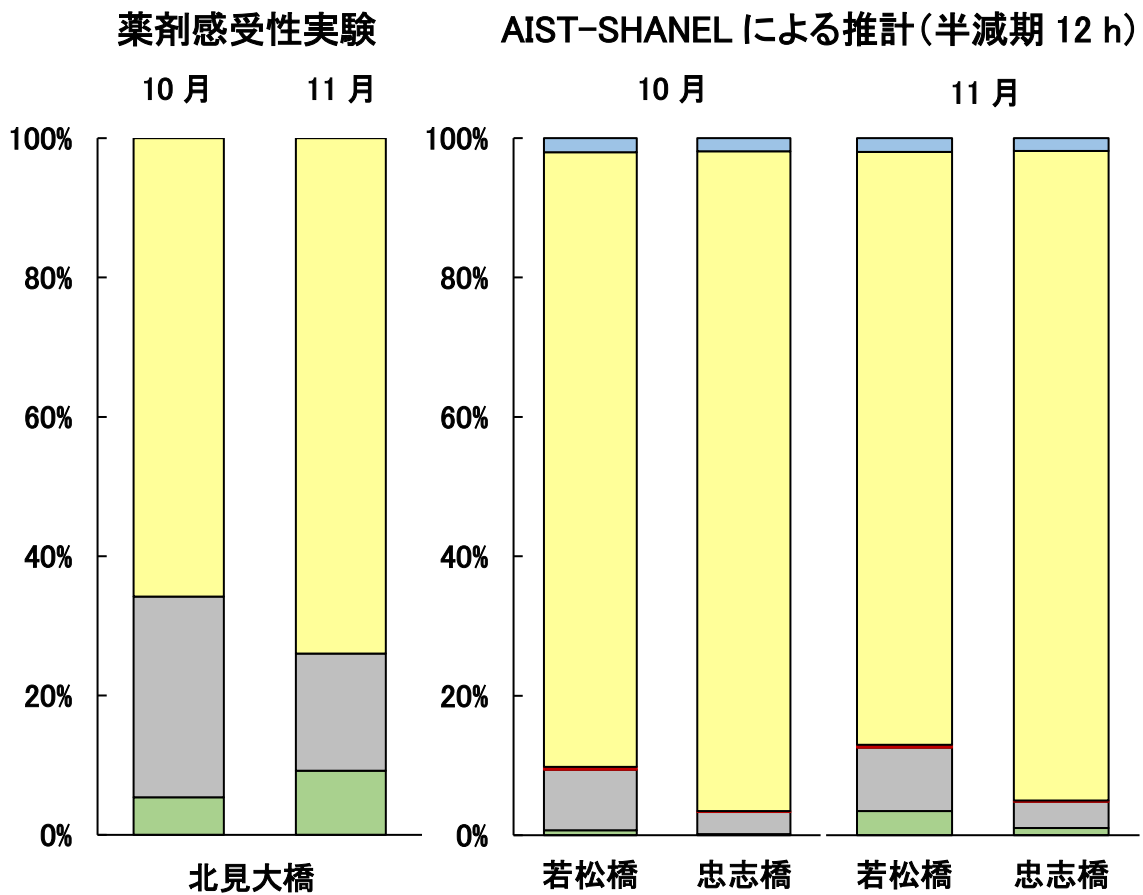


Fig.3-1-6 薬剤感受性実験と AIST-SHANEL による由来ごとの寄与の割合の比較

汚濁由来：■野生動物，■家畜動物，■農地（堆肥），■市街地，
■生活雑排水。

3.1.4. 薬剤感受性を用いた汚濁由来推定実験のまとめ

抗生物質に対するふん便性大腸菌群の薬剤感受性は由来により異なり、アモキシシリン (AMPC) を用いた実験では、従前の方法から分解能を上げることで、ヒト由来 fc とそれ以外に由来する fc の生存率に明確な差異が観測された。

また、ベンジルペニシリン (PCG) およびオキシテトラサイクリン (OTC) を組合わせた実験から、上流由来とウシ由来 fc の判別の可能性を示唆した。

様々な由来が混在している常呂川中流域を評価対象として、全く天候が異なる 3 日の試料を用いた実験により、支配的な汚濁源を推定することができた。

これにより、常呂川中流域の北見大橋では、野生動物、家畜動物、ヒトに由来するふん便性大腸菌群が混在しているものの、通常の状態においては、おおむねヒト由来が支配的であることを示唆した。これは、第 2 章の AIST-SHANEL を用いた中流域（若松橋および忠志橋）における由来の推計を支持する。

3.2. 太陽光暴露によるふん便性大腸菌群の河川水半減期推定

3.2.1. 概要

環境水中に放出されたふん便性大腸菌群は様々なストレスを受け、不活化し、死滅に至る。各種ストレスの寄与率は河川により異なる。環境水中の fc 濃度は、原生動物による捕食、水温の変化、太陽光への暴露などの環境因子の影響を受けるとされる。常呂川は 1,390 km² と国内の 1 級河川 109 水系において 32 位となる流域面積を有する⁷⁾。しかし、低水比流量は 99 位⁸⁾であり、流域面積あたりの流量は非常に少ない。また、流程の 2/3 において水深が 0.5 m 程度と浅い。筆者らは、ビーカーレベルにおける fc の死滅あるいは不活化については、太陽光の照射が支配的であることを報告してきた⁹⁾。第 3 章 2 節では、第 2 章において水系暴露解析モデルを用いて推計した、ふん便性大腸菌群の河川水半減期 ($T_{1/2}$) について、太陽光暴露実験から求めた。

3.2.2. 方法

3.2.2.1. 使用したふん便性大腸菌群試料

野生動物のほか、家畜動物やヒトなど様々な汚濁由来に起因すると考えられる北見大橋で採取した fc を EC 培地を用いて選択培養した後、凍結保存を行い実験の都度、再培養して使用した。

3.2.2.2. 培地

3.1.2.2.2 に示した EC 培地、LB 培地およびトリコロール培地を用いた。

3.2.2.3. 装置等

実験に用いた装置類について Table 3-2-1 に示す

Table 3-2-1 実験に用いた装置類の一覧

用途	名称, 型式等
滅菌処理	定温乾燥機 DO600FA (AS ONE)
	高圧蒸気滅菌器 KTS-2322 (アルプ)
	滅菌灯付き保管庫 DM-5 (AS ONE)
ふん便性大腸菌群の培養	定温乾燥機 DX301 (ヤマト科学株式会社)
	定温乾燥機 DO600FA (AS ONE)
	Bio Shaker BR-21FP (タイテック株式会社)
培地調整	高圧蒸気滅菌器 KTS-2322 (アルプ)
	THERMO BATH (ウォーターバス) THB-3 (IWAKI)
	MAGNETIC STIRRER (スターラー) HS-50D (AS ONE)
	クリーンベンチ TY-33N (AS ONE)
植菌操作	クリーンベンチ TY-33N (AS ONE)
吸光度測定	U-2000A 形ダブルビーム分光光度計 (日立製作所)
濁度測定	高感度 濁度計 TR-55 (笠原理化学工業株式会社)
電気導電率測定	導電率計 WA-2017SDJ (株式会社佐藤商事)
太陽光強度測定	紫外線強度, 太陽光強度 SD カード記録計(株式会社佐藤商事)
太陽光暴露実験	ステンレス管 (φ 115 mm×450 mm, 600 mm, 900 mm)

3.2.2.4. 太陽光暴露実験

3.2.2.4.1. 実験概要

2019年7月8日から同年10月3日の間、述べ12回実験を実施した。それぞれの実験は、いずれも南中時刻に開始した。上部が開放されている円柱型のステンレス製管を fc 試料を含む試料水で満たし、太陽光暴露を行った。太陽光暴露中は、ステンレス管上部から太陽光線が入射し続けるよう地面との傾き等を適宜調整する。任意の時間ごとに試料水を採取し、トリコロール培地に植菌して培養後、コロニー計数を行う。

3.2.2.4.2. 実験操作

LB 培地により再培養した常呂川由来の fc 試料について、fc 濃度が 100 個 $100\mu\text{L}^{-1}$ 程度となるように常呂川河川水または滅菌水で希釈し、試料水とした。長さ 600 mm のステンレス管には滅菌水を用いた試料水を、450 mm および 900 mm のステンレス管には、実験当日に常呂川で採水した河川水を用いた試料水で太陽光暴露を行った。実験中は太陽光が充分に入射するよう太陽高度や方角等を考慮し、台車の位置等を調整した(Fig.3-2-1)。実験中は太陽光(SP)強度記録計を用いて紫外線(UV)強度を計測した。



Fig.3-2-1 太陽光暴露実験装置

3.2.2.4.3. 実験における水深の算出

実験時においては、試料水を満たしたステンレス管の底面まで太陽光が暴露されるよう、太陽高度に応じてステンレス管を傾けた。この時、地面とステンレス管がなす角度が θ (°)、管の全長が L_n (m)において、水深は $L_n \times \sin \theta$ (m)とした。太陽高度は計算¹⁰⁾から求めた。また、太陽高度は刻々と変化するため暴露実験中の平均水深を実験時水深とした。

3.2.2.4.4. サンプルング方法

太陽光に暴露する試料水から、任意の時間ごとにマイクロピペットを用いて採水する。採水した試験水はマイクロチューブに保管し、平板塗抹を行うまで暗所で遮光保管する。サンプルング時刻等が判別できるよう、マイクロチューブには経過時間などを記載する。

3.2.2.4.5. ふん便性大腸菌群数の計測

トリコロール培地にサンプルングした試料水を 100 μ L ずつ塗抹し、恒温槽において 37 °C で 18~24 h 培養した後に発現したコロニーを計測する。

3.2.3. 結果と考察

3.2.3.1. 太陽光について

3.2.3.1.1. 波長と殺菌作用について

地表に到達する太陽光スペクトルは、280 nm から 920 nm の波長域とされており、波長の短い光ほど殺菌能力は高い。殺菌能の相対値を 400 nm で 1 とすると、280 nm では 4,725、922 nm では 0 となる¹¹⁾。このうち、380~780 nm の波長の光を可視光といい、可視光より波長の短い光を紫外線、波長の長い光を赤外線としている。紫外線は、太陽光

全体に占める割合は 5～6 %と小さいが殺菌作用は大きい。可視光は、太陽光全体に占める割合は大きい殺菌作用は小さい (Fig.3-2-2)。

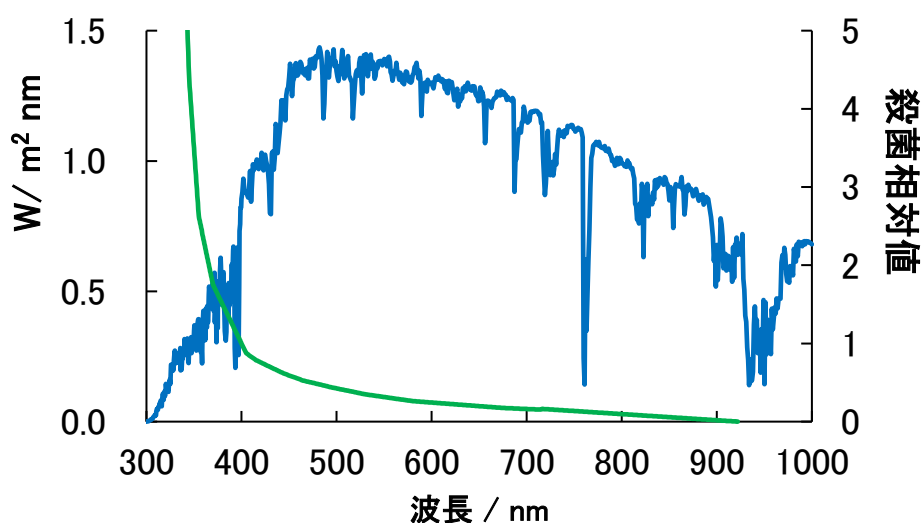


Fig.3-2-2 太陽光スペクトルと殺菌相対値

— ; 42° における太陽光スペクトル.

— ; 殺菌相対値.

3.2.3.1.2. 殺菌線量の換算について

太陽光暴露中に計測した紫外線 (UV) 強度と太陽光 (SP) 強度から、紫外線および可視光線それぞれの殺菌強度 ($W m^{-2}$) を求めた。紫外線の殺菌強度を殺菌 UV、可視光線の殺菌強度を殺菌 vis とする。この殺菌強度に半減期 ($T_{1/2}/sec$) を乗じることで、fc の半致死量に相当する殺菌線量 ($J m^{-2}$) を求めた。

殺菌強度の換算には、以下の式¹²⁾を用いた。

$$\text{殺菌 UV } (W m^{-2}) = 0.0471 (\text{UV 強度})^2 + 3.0715 (\text{UV 強度}) - 1.9612$$

$$\text{殺菌 vis } (W m^{-2}) = 9 \times 10^{-6} \times (\text{vis 強度})^2 + 0.1889 (\text{vis 強度}) - 7.3707$$

$$\text{殺菌強度 } (W m^{-2}) = \text{殺菌 UV} + \text{殺菌 vis}$$

ここで、UV 強度 ($W m^{-2}$) とは、280～400 nm における強度を指し、SP 強度 ($W m^{-2}$) とは、280～4,000 nm における強度を指す。また、vis 強度とは、SP 強度から UV 強度を減じたものを指す。

3.2.3.2. 河川水半減期の算出

3.2.3.2.1. 太陽光暴露実験による河川水半減期の算出

平板塗抹法より、太陽光暴露時間ごとの試料水中の fc 濃度を求め、縦軸に生残率の対数、横軸に時間をとってプロットした。fc の光殺菌による不活化では、上方で肩があり下方に行くに従って、直線となる関係が得られることが知られている¹³⁾。本研究では、この肩の部分、すなわち fc 濃度の変化が見られない一定の時間を遅延時間と呼ぶ。

遅延時間後に得られる回帰直線より、生存率が 50% まで減少するのに要した太陽光暴露時間を算出し、これを河川水半減期 ($T_{1/2}$) とした (Fig. 3-2-3)。

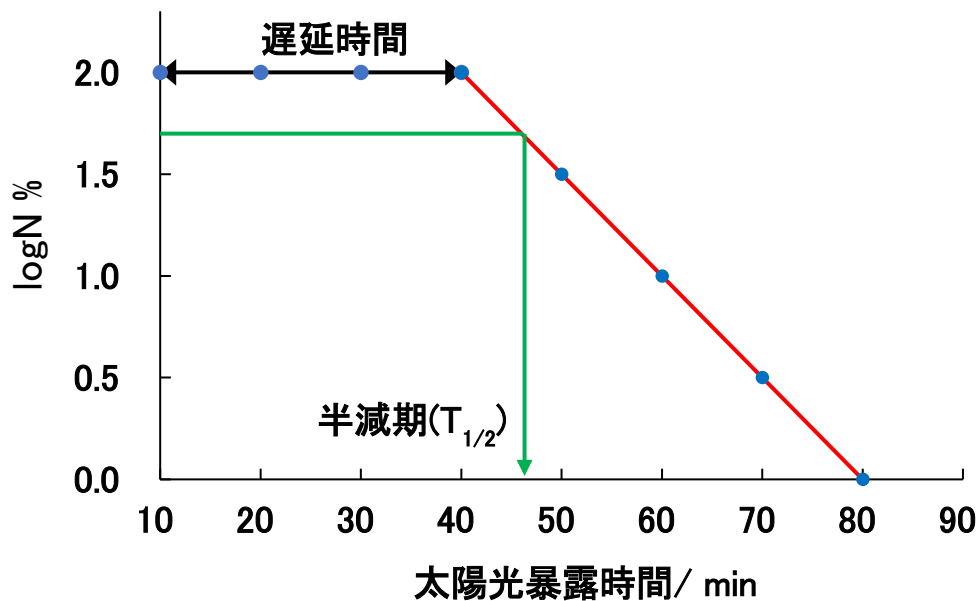


Fig. 3-2-3 太陽光暴露による fc 濃度変化の挙動

3.2.3.2.2. 常呂川河川中における半減期の推定

太陽光暴露実験から求めた半減期データは、実験日によって太陽高度が異なるため水深が不均一である。常呂川本流は流程のおよそ 2/3 の水深が 0.5 m であり、以下の通り常呂川河川水中の半減期を推定した。

これまでに実施した太陽光暴露実験で得られた水深ごとの実験データについて、縦軸に半減期 (s)、横軸に水深 (m) の相関図として整理し、これより水深 0.5 m における半減期を推定した。

3.2.3.2.3. 河川水半減期および半致死殺菌線量の季節変動

水深 0.5 m における半減期推定値と fc が半致死する殺菌線量 ($E_{1/2}$) についての季節変動について、Fig. 3-2-4 に示す。マーカーの色が太陽光暴露前における初期 fc 濃度を、形

が試料水に用いた常呂川河川水の濁度を示している。試料水 100 μL 中における f_c の個数が 130 CFU 以上のものを赤色、30 CFU より多く 130 CFU 未満を緑色、30 CFU 以下を青で示した。河川水の濁度について、10 以下のものを○、10 を超えるものを□で示した。水深 0.5 m における河川水中半減期は、7 月から 11 月にかけて長くなる傾向がみられ、南中高度と反比例の関係にあることが示唆された。

また、試料水の初期の f_c 濃度が高いほど半減期が長くなり、低濃度になるに従って半減期が短くなる傾向がみられた。 f_c の半致死に必要な殺菌線量にも同様の傾向がみられた。濁度 10 を超える常呂川河川水を試料水として用いた場合、半減期は長くなり、必要となる殺菌線量も多くなる傾向がみられた。また、河川水に変えて滅菌水で同様の手順で行った実験では、滅菌水の方が半減期が短くなり、濁度のほか、河川水中の溶存物質などが太陽光の減衰に寄与していることが示唆された。

3.2.3.2.4. 日平均の河川水半減期の推定

河川水半減期には季節変動がみられ、太陽高度の影響を受ける。2019 年 8 月 15 日における太陽高度の日変動を Fig.3-2-5 に示す。青色のプロットが時刻ごとの太陽高度である。当日の南中時刻に開始した太陽光への暴露試験における半減期の実測値は、3 h であった。太陽高度と半減期には反比例の関係性がみられたことから、当日の南中における太陽高度(60.2°)と半減期の逆数(0.33 h^{-1})とは比例関係にあり、この比は他の時刻においても一定であると仮定した。太陽高度の日変動を計算¹⁰⁾より求め、南中時刻における太陽高度と半減期の逆数の比を用いて、日の出から日の入りまでの半減期を赤色でプロットし、夜間も含めた 1 日当たりの半減期の逆数 0.12 h^{-1} を求めた (Fig. 3-2-5)。これにより、日平均の半減期を約 8.3 h とした。

暴露試験を実施した時間帯の日照率は、ほぼ 1.0 であった。2006 年～2015 年の 8 月において、北見市に最も近接する気象台である網走の日照率¹⁴⁾が 0.30～0.45 であることを考慮すると、日平均の半減期は約 18～28 h の範囲を変動すると推定した。

本実験で求めた河川水半減期の範囲は 1～3 h であった。2019 年 8 月 15 日と同様の手順により太陽高度の変化および 2006 年～2015 年の非積雪期における日照率¹⁴⁾ (0.21～0.59) を勘案すると、実験で得られた日平均の河川水半減期 ($T_{1/2}$) は約 5～39 h の範囲となった。

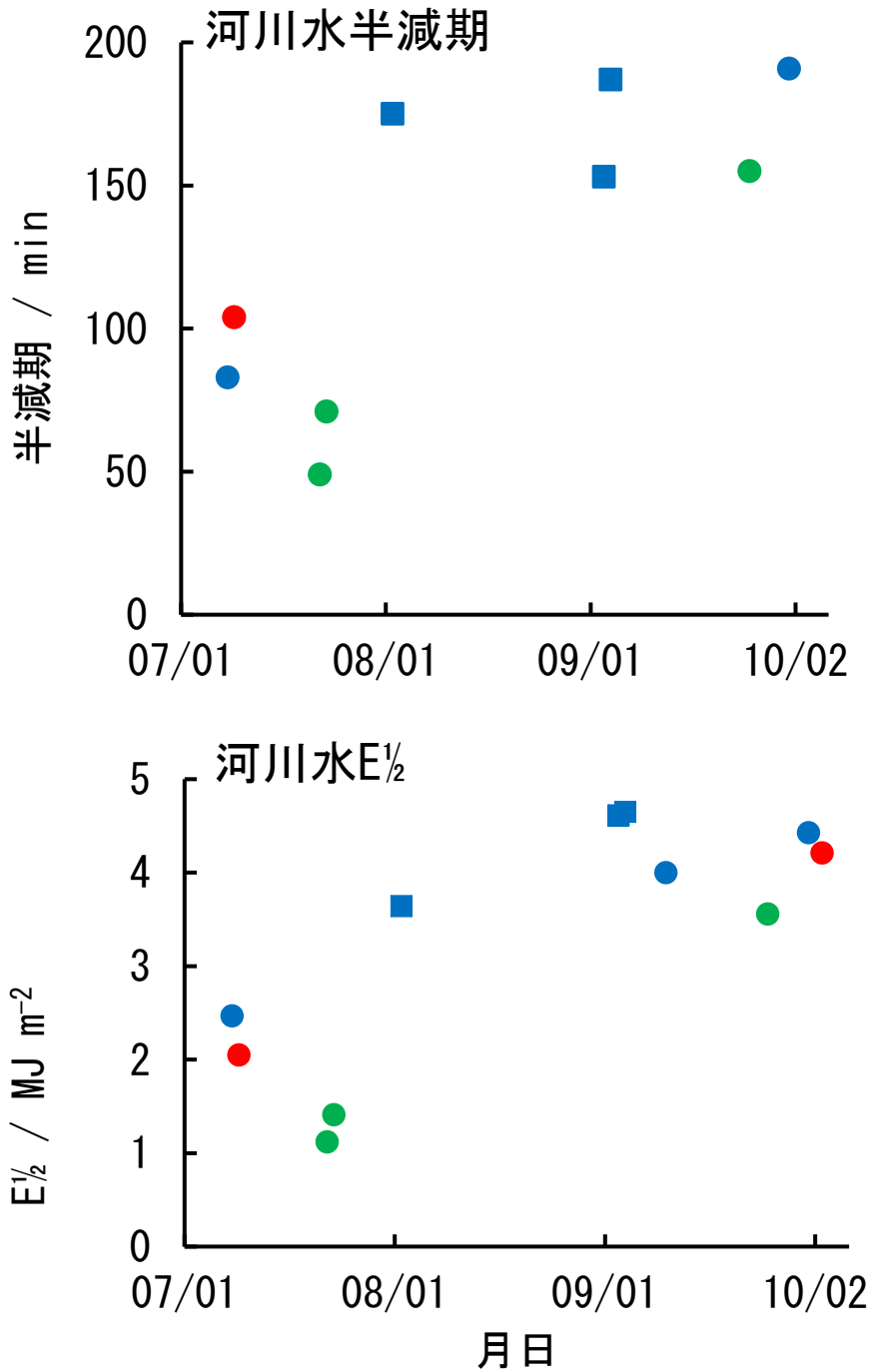


Fig. 3-2-4 水深 0.5 m における河川水半減期と殺菌線量の季節変動

初期 fc 濃度 / cfu 100 μ L⁻¹ : ● 30 以下, ● 30 を超え 130 未満,
● 130 以上.

試料水濁度 : ○ 10 以下, □ 10 を超える.

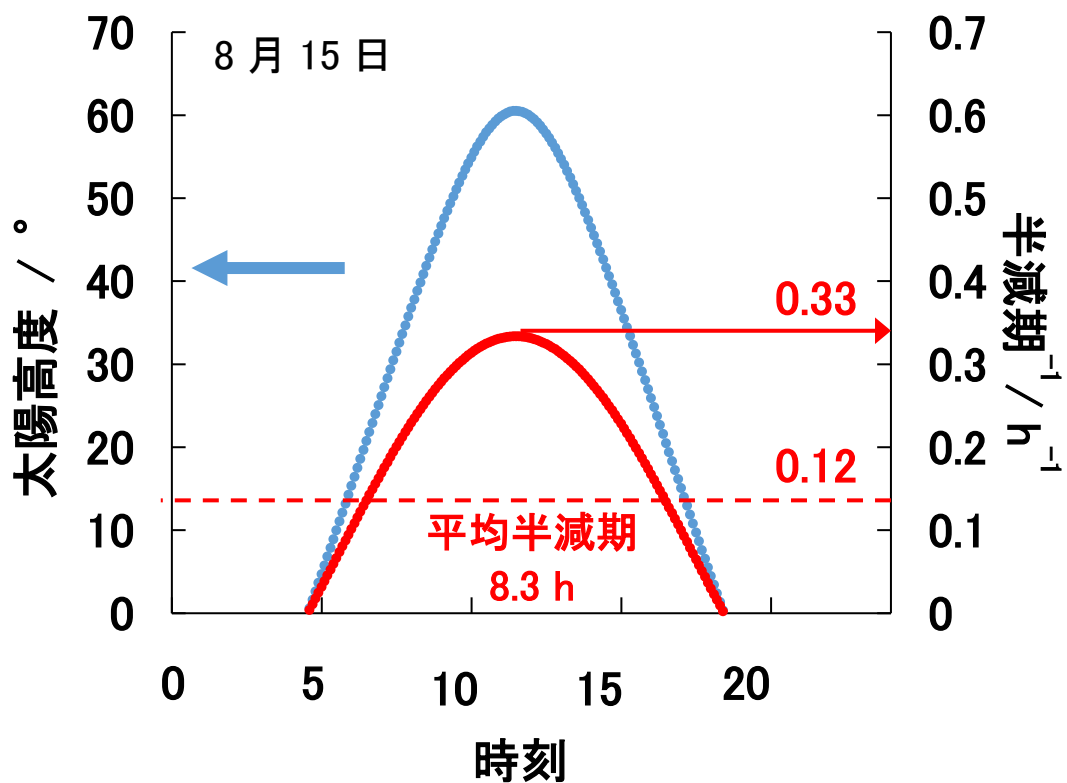


Fig. 3-2-5 太陽高度と河川水半減期の日平均値推定の概念

3.2.4. 太陽光暴露によるふん便性大腸菌群の河川水半減期推定実験のまとめ

河川水中における fc の死滅あるいは不活化の速度は、太陽光による殺菌線量の暴露の影響を強く受ける。殺菌線量は気象条件などのほか、太陽高度に依存する。本研究では、太陽高度の変動を計算で求めるとともに、太陽光暴露実験により、常呂川流域の大部分を占める水深 0.5 m におけるふん便性大腸菌群の河川水中半減期は、おおよそ 5~39 h の範囲で変動するものと推定することができた。

なお、この値については、第 2 章で AIST-SHANEL を用い求めた中央値最適半減期 (12~24 h)、実測値最適半減期 (6~48 h) に照らし、おおむね一致しており、2 章の結論の妥当性について補強することができた。

参考文献

- 1) 農林水産省動物医薬品検査所：平成 27 年度家畜由来細菌の抗菌性物質感受性実態調査結果”<<https://www.maff.go.jp/nval/yakuzai/pdf/h27cyousakekkagaiyou.pdf>>, (accessed 2022-8-5).
- 2) 近藤恵文：化学系学協会北海道支部 2015 年冬季研究発表会要旨集, 84(2015).
- 3) 市橋拓真：北見工業大学工学部マテリアル工学科卒業論文, (2011).
- 4) 環境省水・大気環境局水環境課調査係：平成 26 年度水浴に供される公共用水域の水質調査結果の報告方法等について（別紙の別添 1）, (2014).
- 5) Clinical and Laboratory Standards Institute : Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals (M31hA2), Wayne, PA (2002).
- 6) 国土交通省水質水文データベース：常呂川（忠志橋）流況表”<<http://www1.river.go.jp/>>, (accessed 2022-9-15).
- 7) 国土交通省：一級河川の流路延長等”<https://www.mlit.go.jp/river/toukei_chousa/kasen/jiten/toukei/birn88p.html>, (accessed 2022-9-15).
- 8) 国土交通省：一級河川の流況（平成 12 年）.”<https://www.mlit.go.jp/river/toukei_chousa/kasen/jiten/toukei/birn96p.html>, (accessed 2022-9-15).
- 9) 工藤祥久：化学系学協会北海道支部 2015 年冬季研究発表会要旨集, 87(2015).
- 10) 中川清隆：太陽方位・高度・大気外日射量の計算”<http://www.es.ris.ac.jp/~nakagawa/met_cal/solar.html p>, (accessed 2022-9-15).
- 11) 菊地長四朗：照明学会雑誌, 第 58 巻第 4 号, 143–146 (1974) .
- 12) 山本陽平, 北見工業大学修士論文, (2017)
- 13) 大瀧雅寛：紫外線照射による水中病原微生物の不活化 Inactivation of water pathogenic microorganisms by Ultraviolet irradiation” <<http://www.eng.ocha.ac.jp/enveng/pdf/v1n2.pdf>>, (accessed 2022-9-15).
- 14) 気象庁：”過去の気象データ・ダウンロード”<<https://www.data.jma.go.jp/gmd/risk/obsdl/index.php>>, (accessed 2022-9-15).

4. 結論

4.1. 研究成果の総括

実際の水質調査では各地点における採水がすべて同一の流塊を捉えているとは限らないことから、異常な値が観測されても上流側の影響を正確に評価することができない。

本研究で求められた手法を用いることで、各観測所において異常な値が検出された場合に、原因となる汚濁の由来や場所が簡便に推定できるものとする。

以下、本研究で得られた成果を章ごとにまとめ、記載する。

第1章では、本研究の背景として常呂川における水質保全の課題を以下のとおり記載した。

- 年間降水量が 800 mm 程度と国内最少であるため、道内の他の一級河川と比較すると常呂川の比流量は少なく、汚濁負荷が濃度に反映されやすい特徴を有する。
- ふん便汚染の指標となるふん便性大腸菌群が、しばしば水浴場の水質の判定基準を大きく超えて検出されるが、野生動物、家畜動物、農地（堆肥）、ヒトの活動などの多様な汚濁由来が広範囲に存在していることから、汚濁機構の解明には至っていない。

第2章で得られた成果を以下に列挙する。

- これまでに蓄積された観測データを統計処理することにより、常呂川の通常の状態におけるふん便性大腸菌群濃度を定義できた。
- 化学物質を対象とした水系暴露解析モデル AIST-SHANEL をふん便性大腸菌群流下モデルとして応用するために重要なパラメータである河川水半減期などを得ることができた。
- 国等の統計資料や GIS データなどの一般に入手可能なデータを用い、常呂川流域におけるふん便性大腸菌群汚濁に寄与し得る由来ごとの汚濁量および位置について定義した。
- これらの汚濁負荷量やパラメータを用い、AIST-SHANEL による常呂川水中のふん便性大腸菌群濃度について推計し、任意の地点における汚濁由来の割合を求めることができた。

第3章では、ふん便性大腸菌群の由来ごとに抗生物質への感受性の差異を利用した由来判別方法の確立を検討した。これにより、常呂川中流域における支配的な由来を時刻別に野生動物、家畜動物、ヒトに分類することができた。

また、太陽高度の変動を計算で求めるとともに、太陽光暴露実験により、常呂川流域の大部分を占める水深 0.5 m におけるふん便性大腸菌の河川水中半減期は、おおよそ 5~39 h の範囲で変動するものと推定することができた。これらにより、2 章で得られたふん便性大腸菌群の常呂川中流域における由来推定および河川水半減期の妥当性を補強することができた。

4.2. 今後の課題と展望

AIST-SHANEL を用いたシミュレーションでは、2010 年を推計対象としたが、今後、2015 年および 2020 年を加えることで、由来ごとの汚濁負荷量の推定精度を一層向上させられるものとする。

抗生物質に対する薬剤感受性を用いたふん便性大腸菌群の判別では、分解能を上げることにより、由来ごとの fc 生存率のわずかな差異を可視化できた。今後は、2 剤組合せ実験において分解能を向上させることにより、一層の由来判別の進展が期待できる。

太陽光暴露実験において、河川水中の濁度が河川水半減期に影響を与えている可能性が示唆された。今後は、濁度と半減期との関係性の一般化に取り組む必要があるものと考えている。また、本研究に進展により、実環境における殺菌太陽光線量と河川流速から汚濁源を推定する方法の確立が期待できる。

同一の土地利用が連続しており、エリアごとの汚濁由来が比較的限定しやすいという常呂川水系の特性を活用し、ふん便性大腸菌群汚濁に係る原単位を得るとともに由来ごとの寄与を示唆した本研究結果は、常呂川のみならず他の河川における汚濁解析への応用にも先鞭をつけたものとする。これにより、財政状況がひっ迫し、マンパワー不足に悩む地方自治体の水環境保全にかかる取組の効率化と省力化が進むことを期待する。

5. 謝辭

長年にわたりご指導賜りました大津 直史先生、宇都 正幸先生に衷心より御礼と感謝を申し上げます。博士後期課程単位取得退学後も変わらぬサポートを頂戴できたおかげで、本論文をまとめることが出来ました。

また、論文審査において副査をお勤め頂いた早川 博先生、南 尚嗣先生、菅野 亨先生、霜鳥 慈岳先生からは、貴重なご提言を賜り、本論文の質を高めることが出来たものと感謝いたします。

併せて、実験に協力してくれた研究室の大学院生および学部生のお名前を列挙し、感謝の意を表します。大倉慎介さん、齋藤剣さん、望月雄太さん、山本陽平さん、田中隆二さん、納所令さん、本当にありがとうございました。

なお、本論文は、様々な機関のご協力により執筆することが出来ました。

国立研究開発法人産業技術総合研究所により開発された AIST-SHANEL Ver.3.0 を使用させて頂くにあたり、同研究所安全科学研究部門 石川 百合子先生より、ソフトウェアのご恵与とご助言を賜りました。

国土交通省北海道開発局網走開発建設部北見河川事務所より、常呂川流程における水深データについてご提供いただきました。

北見市上下水道局浄化センターより、流入下水試料の採取にご協力いただきました。

ここで、各機関の皆様にお礼申し上げます。

最後に、学位取得を応援してくれた妻、長男、長女、母に感謝いたします。

工藤 祥久