

糞便汚染指標としてのコプロスタノールに関する研究

その2. 公共用水域調査

高橋 基之

要 旨

コプロスタノールを指標とする糞便汚染調査を、埼玉県内の公共用水域21地点について行った。調査した河川のコプロスタノール濃度を環境基準の各類型別にみると、AA類型の荒川・中津川合流点前では不検出、A類型地点では、越辺川・今川橋で下水処理排水の影響を確認できた他は、 $0.1 \mu\text{g}/\ell$ 以下の微量汚染であった。B類型地点は、汚濁河川である霞川の影響を強く受けている入間川・富士見橋を除き、 $1 \mu\text{g}/\ell$ 以下の汚染であった。汚濁の進んだE類型地点では、不老川・入曽橋の $19.5 \mu\text{g}/\ell$ を最高に $1.5 \mu\text{g}/\ell$ 以上と、糞便汚染が進んでいることを確認できた。

コプロスタノール濃度と他の水質項目間の相関を求めたところ、大腸菌群数、有機汚濁指標のBOD、CODなどと良い相関を示した。

今回の結果から、コプロスタノールは、公共用水域の糞便汚染を化学的に証明する有効な指標物質であることがわかった。

1 はじめに

河川水の糞便汚染は、病原性細菌や寄生虫、ウイルスにより人に健康被害を及ぼすおそれがあることから、その監視が大変重要な意味を持つ。これまでその評価は、糞便性大腸菌をはじめとする細菌試験がほとんどで、公共用水域の環境基準についても大腸菌群数が公定法となっている。しかし、糞便汚染指標としてこれらの微生物を使うことには大きな疑問が生じている。まず河川環境中での様々な因子により細菌はその数を増減するため、糞便汚染の定量的な判断が困難なこと、さらに下水放流の際の塩素消毒により細菌が死滅し、検出できなくなることが挙げられる。特に排泄物からの腸管系ウイルスは、塩素処理などでは完全に不活化しないため、依然として水系感染の危険をはらむことが指摘されている¹⁾。

そこで新たな糞便汚染の化学的指標物質としてコプロスタノール（ $5\beta\text{-Cholestan-3}\beta\text{-ol}$ ）を使用する試みが、1967年MurtaughとBunchによる研

究²⁾以来、内湾の海水や底質³⁾、河川⁴⁾などで広く行われ、糞便汚染の履歴や汚染度を表すものとして、その指標性を十分に証明してきた。

埼玉県内の公共用水域における糞便汚染を大腸菌群数でみると、ここ数年環境基準達成率は30%前後と他の項目に比べ非常に低く、方法や基準値を再検討する必要がある。そこで県内の公共用水域21地点において、コプロスタノール濃度から糞便汚染を評価し、あわせて他の水質項目との相関を求めることとした。

2 調査方法

調査は埼玉県内公共用水域21地点について、1992年9月から10月にかけて行った。調査地点を環境基準の類型指定別に見ると、AA・1地点、A・6地点、B・6地点、C・1地点、E・6地点、無指定・1地点と、人為的汚染のない河川上流から、汚濁の進んだ都市河川まで広く対象とした。

調査項目は以下の通りである。また、分析に使用し

た試薬, 器具, コプロスタノールおよびコレステロールの測定方法などは, “その1. コプロスタノールの水溶解度” に準じた。

コプロスタノール	: GC/MS法
コレステロール	: "
水温	: JIS K 0101 7
pH	: JIS K 0102 12.1
DO	: " 32
BOD	: " 21
COD	: " 17
SS	: 環境庁告示第59号 付表 6
EC	: JIS K 0102 13
Cl ⁻	: 衛生試験法
T-N	: 環境庁告示第59号 付表 7
T-P	: 環境庁告示第59号 付表 8
MBAS	: JIS K 0102 30.1
大腸菌群数	: 最確数定量法

3 結果および考察

環境試料におけるコプロスタノールの分析で問題となるのは, 構造の類似したコレステロール (Cholest-5-en-3 β -ol), さらにコプロスタノールのエピマーであるコレスタノール (5 α -Cholestan-3 β -ol) との分離である。コレステロールはコプロスタノールの前駆物質であるが, 食物や動物脂肪にも含まれるため, これが直接糞便汚染を示唆するものではない。コレスタノールは, コレステロールの5番炭素に水素が α -配位したコプロスタノールの立体異性体であり, コレステロール中に約2%含まれている⁵⁾。これらのマススペクトルを図1に示す。また, 標準試料と河川水のGC/MSによるクロマトグラムを図2に示す。コプロスタノールとコレステロールは分子構造が類似しているため, その分離, 定量にはこれまでシリル誘導体化^{3, 4)}を必要としたが, 本法のキャピラリーGC/MSでは直接に分析が可能であった。コレスタノールはコプロスタノールとほとんど同じマススペクトルを示すが, 保持時間がコプロスタノールより約20秒長いため, 支障なく分析できた。図2の河川水は, 下水処理場排水や浄化槽排水, 生活雑排水などの流入で汚濁している新河岸川・いろは橋を例としたが, 共存物質による妨害もなく定量が可能であった。

今回調査した地点の水質測定結果を表1に示す。環

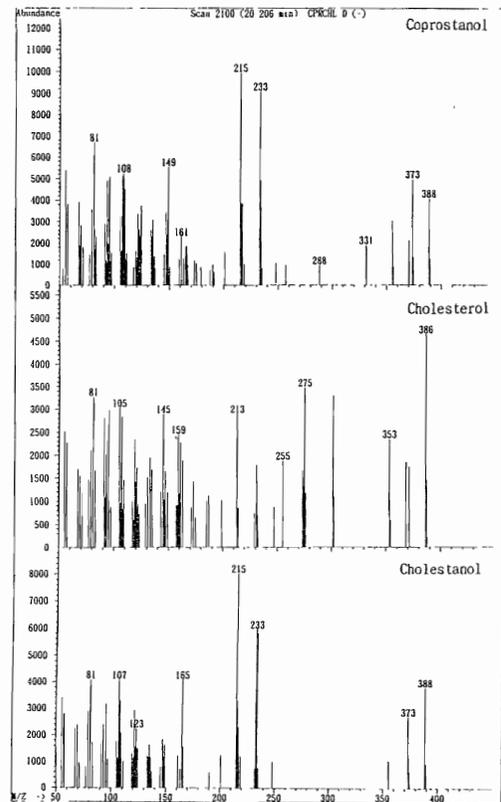


図1 ステロール類のマススペクトル

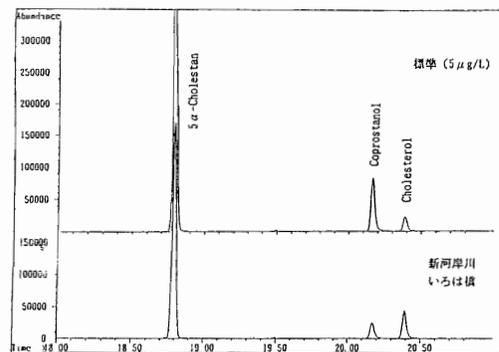


図2 標準試料と河川水のGC/MSクロマトグラム

境基準類型指定AAの荒川・中津川合流点前では、コプロスタノールは検出されなかった。大腸菌群数は、540 MPN/100mlと環境基準値50 MPN/100mlを大きく越えているが、例年達成率は50%程度で、糞便汚染よりも自然負荷による影響が大きいと考えられる。

A類型地点のコプロスタノール濃度は、越辺川・今川橋の0.4 μg/lを除き、0.1 μg/l以下であった。今川橋は約1.5km上流に下水処理場が位置するため、その排水の影響を受けていると考えられる。大腸菌群数は全地点で環境基準値1000 MPN/100mlを超過した。大腸菌群は全てが糞便由来ではないとしても、上流に浄化槽などの発生源があることを考え合わせると、コプロスタノールは検出感度の点で大腸菌群数に劣っていると思われる。

BおよびC類型地点のコプロスタノール濃度は、入

間川・富士見橋で3.8 μg/l、他は1 μg/l未満であった。富士見橋は約1 km上流で霞川が合流している。この霞川流域は下水道の整備が遅れているため、生活系の雑排水と浄化槽排水、畜産系排水の占める割合が多くなっている。今回の調査でも、類型指定されていない霞川・大和橋で13.2 μg/lの高濃度を示しており、富士見橋上流の豊水橋の値0.4 μg/lと比較すると、富士見橋の水質に相当の影響を及ぼしていることが確かめられた。

E類型では不老川・入曾橋の19.5 μg/lを最高に1.5 μg/l以上のコプロスタノールを検出した。どの地点も浄化槽排水や下水処理場排水の流入割合は多く、特に不老川流域の整備の遅れを裏付ける結果となった。

コプロスタノールと他の水質との濃度相関を求めた

表1 公共用水域調査結果

河川名	採水地点	地点番号	類型	水温℃	D ₇₅₀ MPN/100ml	D ₄₈₀ MPN/100ml	pH	DO mg/L	BOD mg/L	COD mg/L	SS mg/L	EC μS/cm	Cl mg/L	TN mg/L	TP mg/L	MBAS mg/L	Coli. MPN/100ml
荒川	中津川合流点前	11	AA	19.6	0.0	1.9	8.1	8.8	0.5	1.5	0	120	1.4	0.41	0.013	0.00	540
荒川	舞身橋	10	A	24.4	0.1	2.0	9.1	10.0	1.2	2.4	0	180	4.6	1.00	0.047	0.00	7900
入間川	給水センター前	29	A	27.2	0.0	3.0	7.8	8.2	0.8	1.7	0	160	2.4	1.00	0.041	0.00	13000
越辺川	今川橋	31	A	17.7	0.4	3.1	7.5	10.0	1.0	2.0	2	200	9.5	2.50	0.070	0.00	24000
高麗川	天神橋	35	A	27.2	0.0	1.4	8.4	8.2	0.0	1.0	0	190	3.5	1.00	0.029	0.00	1700
赤平川	赤平橋	42	A	25.9	0.0	2.0	8.9	9.0	1.1	1.9	0	190	4.9	1.20	0.055	0.00	4900
横瀬川	浪谷橋	43	A	26.1	0.1	4.4	9.1	10.0	1.1	2.4	0	210	7.8	1.20	0.069	0.00	7000
入間川	富士見橋	27	B	27.6	3.8	12.3	7.8	8.3	5.6	6.1	6	300	19.0	3.90	0.400	0.06	920000
入間川	豊水橋	28	B	26.5	0.4	4.3	7.7	7.6	1.0	2.7	0	230	6.7	2.90	0.170	0.00	92000
横川	荒川合流点前	33	B	17.1	0.2	1.3	7.8	11.0	2.6	4.7	1	210	6.0	2.20	0.051	0.08	11000
延木川	成木橋	38	B	26.3	0.0	1.7	8.2	9.1	0.0	1.8	0	270	9.5	1.40	0.058	0.00	13000
市野川	天神橋	40	B	18.0	0.5	9.5	8.2	11.0	2.7	5.8	21	360	18.0	2.90	0.200	0.03	92000
和田宮野川	吉見橋	41	B	17.3	0.2	4.8	7.6	10.0	1.3	3.7	5	330	21.0	3.20	0.250	0.01	3100
市野川	徒歩橋	39	C	18.7	0.5	6.3	7.5	7.7	2.1	5.5	9	370	27.0	3.70	0.210	0.03	
新河岸川	いろは橋	65	E	16.8	2.9	14.4	7.1	3.8	4.1	6.6	11	420	40.0	8.40	0.270	0.06	
白子川	三箇橋	67	E	16.0	3.0	8.2	7.6	5.4	13.0	11.0	8	620	91.0	8.00	0.340	0.08	
黒目川	変橋	68	E	17.0	3.6	12.1	7.4	7.0	4.5	6.4	9	340	25.0	9.10	0.480	0.04	
黒目川	都築橋地点	69	E	17.0	2.2	7.6	7.2	8.5	4.7	5.3	3	330	24.0	9.50	0.470	0.11	
柳瀬川	栄橋	70	E	18.8	1.5	8.0	7.4	6.5	5.0	8.0	3	490	52.0	12.00	1.200	0.03	
不老川	入曾橋	74	E	28.5	19.6	35.4	7.4	3.8	35.0	22.0	21	480	30.0	12.00	1.300	1.70	
霞川	大和橋	37	E	27.3	13.2	23.5	7.9	7.3	12.0	11.0	10	530	57.0	8.20	0.890	0.05	1600000

表2 公共用水域各水質項目間の単相関係数

	Coli.	MBAS	TP	TN	Cl	EC	SS	COD	BOD	DO	pH	コリス 0-1
D ₇₅₀	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
コリス	0.966217	0.8176458	0.7858802	0.6476219	0.4157647	0.5612805	0.6429943	0.9030409	0.9265740	-0.599485	-0.299501	0.9594953
pH	0.9472645	0.7787956	0.8116756	0.7304523	0.4758508	0.6472303	0.7804373	0.9199219	0.8951603	-0.662840	-0.400955	
DO	-0.232053	-0.241780	-0.467933	-0.672251	-0.458750	-0.515062	-0.385273	-0.438474	-0.327730	0.5441279		
BOD	-0.519168	-0.513597	-0.612879	-0.730454	-0.614075	-0.636020	-0.430460	-0.676210	-0.643562			
BOD	0.8657509	0.9152615	0.7668371	0.6729694	0.4814405	0.6035722	0.6755203	0.9653339				
SS	0.8824759	0.8269122	0.8412029	0.7870847	0.6231288	0.7567338	0.7670513					
EC	0.3997561	0.5811529	0.5454366	0.5587085	0.4654110	0.6542104						
Cl	0.7849287	0.3048554	0.7172579	0.8099941	0.9477764							
TN	0.8855793	0.1333645	0.5804484	0.7225403								
TP	0.8959162	0.4904054	0.8816862									
MBAS	0.9528852	0.6269620										
	0.5571195											

有意差判定 ** : 有意差 99% 以上 * : 有意差 95% 以上

ものを表2に示す。コプロスタノールはコレステロール、BOD、COD等の有機汚濁物質、さらに糞便汚染の影響を受ける大腸菌群数と良い相関を示した。大腸菌群を含む糞便由来のバクテリアとコプロスタノールは必ずしも良い相関を示さないという報告^{4) 6)}に対し、今回の調査地点においては、大腸菌群数との間に最も良い相関が見られた。その他にも、生活排水に由来する汚濁項目のMBAS、T-N、T-Pと相関が見られたが、塩素イオンとは95%以上の有意差は見られず、イオン類の総量の目安となる導伝率とも低い値となった。これらは、今回の調査対象についてのみ当てはまる結果であるが、埼玉県内の公共用水域においては、有機汚濁と糞便汚染は密接に関係していると考えられる。

今回の調査とコプロスタノールの化学的性質から、糞便汚染の指標としてコプロスタノールを用いる利点を幾つか挙げる事ができる。まず、環境中や塩素処理で変化を受けず、分解も約一週間程度と比較的ゆっくりであること、さらに硫酸添加などによる前処理で試料の保存も可能である。また、今回の方法では最短2時間で分析結果を得られることから、細菌試験よりも迅速性に優れている。

細菌試験と比較した場合、糞便汚染の検出感度が大きな問題となるが、測定が煩雑で困難とされるウイルスについて試算すると次のようになる。人は1日に平均0.2から1gのコプロスタノールを排出する⁶⁾。また腸管系ウイルスに感染した人は糞便1gあたり 10^6 粒子ものウイルスを1ヶ月以上にわたって排出し続け、人口の1割は常時感染している¹⁾。仮に一日の糞便の量を100g、コプロスタノールの排出量を1gとすれば、今回の定量下限値 $0.1 \mu\text{g}/\text{l}$ は100mlあたり1個のウイルスの検出に相当する。当然河川への流達量は沈降、分解などにより減少するが、理論的にはこのように微量の糞便汚染の検出も可能と言える。

4 まとめ

今回は、河川水域における各種の糞便由来微生物についてまで調査していないため、コプロスタノールと微生物試験の感度について比較することはできなかった。またコプロスタノールについて、疫学的な面を考

慮した理論的な水域別の管理基準値のようなものは提唱できなかった。しかし、コプロスタノールが化学試験であるということで、糞便汚染指標としての大きな利点があることを確認できた。

今回の調査結果を基に、各類型のコプロスタノール濃度目標値を示すと、AA類型では不検出、A類型では、利用目的としての水浴を考慮し公衆衛生の面から $0.1 \mu\text{g}/\text{l}$ 以下、B類型では上水道への利用もあるため $1 \mu\text{g}/\text{l}$ 以下が適当と思われる。さらに、飲料水源の河川に流入し、大きな負荷を与える下水処理場などでは排水基準を設ける必要もあると考えられる。

河川水中におけるコプロスタノールの調査は、分析操作の煩雑さと微量の検出が要求されることから、あまり一般的に行われてこなかった。しかし、分解能に優れ比較的操作の容易な四重極型GC/MSの普及から、コプロスタノールは今後様々な分野における糞便汚染調査の一手法としての活用が期待される。

おわりに、この研究を進める機会を与えて下さり、多くの助言と協力を頂いた現環境部水質保全課の針谷さゆり主任に謝意を表します。

文 献

- 1) 矢野一好：水環境におけるウイルスの実態と水処理、水道協会雑誌、62(10)、15-21、1993
- 2) J. J. Murtaugh and R. L. Bunch：Sterols as a measure of fecal pollution, J. Water Pollut. Cont. Fed., 39, 404-409, 1967
- 3) J. O. Grimalt et al.：Assessment of Fecal Sterols and Ketones as Indicators of Urban Sewage Inputs to Coastal Waters, Environ. Sci. Technol., 24, 357-363, 1990
- 4) 高尾真一：コプロスタノールを指標とした河川のし尿汚染、水質汚濁研究、7, 510-516, 1984
- 5) R. W. Walker et al.：Coprostanol as an indicator of fecal pollution, CRC Critical Review in Env. Cont., Apr., 91-112, 1982
- 6) B. J. Dutka et al.：Relationship between bacterial indicators of water pollution and fecal sterols, Water Res., 8, 1047-1055, 1974