

## 六甲山系渓流水における大腸菌の検出状況について

竹田洋子\* 駒井幸雄 梅本 諭

### Pollution by *Escherichia coli* in stream water in Mount Rokko

Yoko TAKEDA\*, Yukio KOMAI and Satoshi UMEMOTO

Water Environment Division, Hyogo Prefectural Institute of  
Public Health and Environmental Sciences, 3-1-27 Yukihiro-cho,  
Suma-ku, Kobe, 654-0037, Japan

#### I はじめに

大腸菌群数は生活環境に関わる環境基準項目の一つであり、ふん便汚染の指標として位置づけられている。兵庫県内の環境基準の「類型あてはめ」がなされた河川における大腸菌群の検出状況（平成15年度）を見ると、水道1級および自然環境保全を利用目的としたAA類型（環境基準値：50MPN/100mL以下）の千種川、矢田川、および岸田川は、いずれも年間12回の測定のうち89～100%は環境基準値を超える状況にある。また、A類型河川（環境基準値：1000MPN/100mL以下）については、地点ごとに見た環境基準を越える検体数の割合を平均すると79%となり、B類型河川（環境基準値：5000MPN/100mL以下）では平均45%となった<sup>1)</sup>。

しかし、大腸菌群には、ヒトをはじめとした哺乳類や鳥類の大腸に生息し、ふん便汚染に直接関わる大腸菌以外の、グラム陰性桿菌である *Citrobacter* 属、*Enterobacter* 属、および *Klebsiella* 属などが含まれている。これらは土壌中にも生息しているため、大腸菌群の試験結果のみでふん便汚染を的確に評価することは難しいと指摘されている<sup>2)</sup>。

一方、水浴場水質判定基準では、大腸菌群数ではなくふん便性大腸菌群数が使われている<sup>1)</sup>。また、

水道水質基準についてみると、これまでふん便汚染指標水質項目として公共用水域の環境基準と同じく大腸菌群数が使われていたが、2004年の水道法改正において見直しがなされた。その中で、大腸菌群数はふん便汚染の指標性が低いことと、迅速・簡便な大腸菌の培養技術である特定酵素基質培地法が確立されたとの理由により、大腸菌群数に代えて大腸菌が採用されることになった<sup>3)</sup>。

こうした経緯を踏まえば、公共用水域においても水質の環境基準項目にふん便汚染の指標として大腸菌群数を用いることの妥当性を改めて議論する必要があると思われる。

そこで、兵庫県南東部に位置する六甲山系全域の渓流河川を対象に、人為的汚染を受けていないと思われる地点を選定し、大腸菌群および大腸菌についての年間を通じた調査を行い、空間的および季節的な検出状況の変動を明らかにすると共に、ふん便汚染指標としての大腸菌群と大腸菌の関係について検討したので報告する。

#### II 調査地域の概要

六甲山系（標高931m）は、兵庫県南東部に位置し神戸市、芦屋市、西宮市、宝塚市にまたがる東西約30km、南北約10kmの山地である。

六甲山系の多くは瀬戸内海国立公園の区域に指定されているが、一方でホテル、保養所、別荘が立地し、植物園、ゴルフ場、人工スキー場、キャンプ場などの各種観光施設がある。また、六甲山の南部は神戸

水質環境部

\* 別刷請求先：〒654-0037 神戸市須磨区行平町3-1-27  
兵庫県立健康環境科学研究所センター  
水質環境部 竹田洋子

市から大阪湾沿いにまたがる阪神工業地帯に接している。1970年代には、山中の諸施設からの排水による溪流河川の水質汚濁が大きな問題となった。このため、各施設の排水対策がとられ、その水質は大きく改善されている<sup>4)</sup>。

### III 調査方法

#### 1. 調査地点, 採水および分析方法

河川調査は、図1に示すように六甲山系のほぼ全域にわたる溪流河川を対象とした。その上流に人家やレジャー施設等がないことを確認し、排水等による人為的汚染の影響がないと思われる42～59地点を選定し、2003年10月～12月、2004年3月～5月、7月～8月、2005年2～3月、および5～6月の季節ごとに5回実施した。また、湧水については、図1に示す17地点を対象として2005年6月、および12月に測定した。

大腸菌群数および大腸菌数用の水試料は、滅菌ビンに直接採取し、クーラーボックスに入れ、水質分析用の水試料はポリビンに採水した。

大腸菌群数および大腸菌数の測定は、水道水質基準で用いられている特定酵素基質酵素法(MMO-MUG法)で行った。MMO-MUG法による大腸菌数の測定精度については、同時再現性を溪流河川水の5回の平行分析により検討したところ、菌数が77MPN/100mL～360MPN/100mLのところでのC.V.値が22～27%であったが、54MPN/100mLではC.V.値として9%であった。また、本調査では試料の希釈を行わなかったため、2400MPN/100mL以上については計測できなかったため、全て>2400MPN/100mLと表記した。なお、大腸菌群数と大腸菌数の定量下限値はいずれも2MPN/100mLであるため、それ以下は不検出とした。

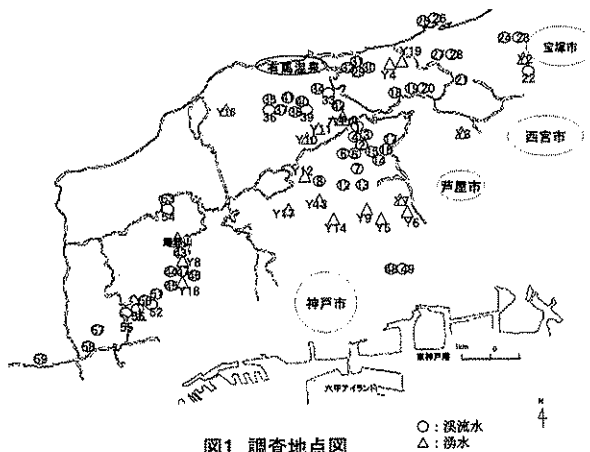


図1 調査地点図

この他、pH、EC(電気伝導率)、SS(懸濁物質)、TOC(有機体炭素)は、常法に従って測定した。

### IV 結果と考察

#### 1. 溪流河川における大腸菌群数の検出状況

全地点での大腸菌群数、大腸菌数、pH、EC、TOCおよびSSの測定値を表1-1、1-2に示す。

六甲山系の溪流河川は全て環境基準の類型指定はされていないので大腸菌群数についても環境基準は適用されない。そこで、便宜的に測定結果を、AA類型の基準(50MPN/100mL以下)、A類型(1000MPN/100mL以下)、B類型(5000MPN/100mL以下)の3区分を援用して分類した。表2に大腸菌群の検出状況をまとめて示す。

表2に示すように、大腸菌群の検出範囲は3～>2400MPN/100mLであり、すべての地点で検出され、1000MPN/100mLを越える地点も多く見られた。調査時期によって検出状況は異なり、2003年10月～12月の場合は50MPN/100mL以下の地点の割合は2%(1地点)であった。しかし、2004年7月～8月には50MPN/100mL以下の地点は見られなかった。一方、2005年2月～3月の場合には、50MPN/100mL以下の地点が71%を占めており、1000MPN/100mL以上は1地点のみであった。このように、大腸菌群数は、全体としてみると2005年2～3月はもっとも少ないが、2004年3～5月、2003年10～12月の順に多くなり、2004年7～8月は検出される地点数と大腸菌群数の値はもっとも多くなった。各時期の調査は2～3ヶ月にまたがっているものの、4回の調査時期の水温には明らかな差があり、大腸菌群数は水温の高い夏期には多く、低い冬期には少なく、春と秋はその中間的な傾向を示していた。

次に、大腸菌群の水平的な分布状況について、大腸菌群数の分布のうち、比較的検出例の多かった夏期のもを例にとり図2(2004年7月～8月)に示す。1000MPN/100mL以上の地点は、神戸市の市街地側になる南斜面と、北東部に多く見られた。また、50MPN/100mL以下の地点は、六甲山最高峰周辺に分布しており、2004年7～8月を除いた他の時期にも同様な傾向にあった。一方、2004年7～8月の場合には、全体的に検出される大腸菌群の数も多くなり、最高峰周辺でも1000MPN/100mL以上の地点が認められた。

このように、六甲山全域に存在する溪流河川の全ての調査地点において大腸菌群は年間を通して常時

検出されており、旧水道水質基準に従えば全て飲用に不適と判定されることがわかった。また、環境基準値を評価基準とした場合には、AA類型やA類型も満たさずB類型に属することになる地点が多くみられた。

神戸市では1972年から、六甲山系の住吉川等の上

流と下流の各2地点で年1～2回の水質調査を行っている。このうち清冽とされる住吉川の場合、大腸菌群数は1972年度～2004年度の32年間において不検出～220MPN/100mLであった、経年変動に一定の傾向は認められず、調査地点は異なるものの本報の結果と同様の範囲となっていた。

表1-1 全地点の測定値

河川	地点	地点番号	年/月	pH	EC mS/m	TOC mg/L	SS mg/L	大腸菌群数 MPN/100mL	大腸菌数 MPN/100mL
塩谷川	宝塚	22	03/11	6.86	14.3	0.85	0.0	2400	<2
			04/03	7.17	14.7	0.88	0.2	190	<2
			04/07	6.98	13.8	0.66	0.0	490	3.1
			05/02	6.89	14.6	0.59	0.1	21	<2
			05/05	7.18	15.5	1.67	0.0	250	<2
赤子谷右	23		03/11	7.37	10.2	1.52	21.3	2400	150
			04/03	7.75	11.5	1.16	1.1	19	<2
			04/07	7.65	10.3	1.22	2.0	410	4.1
			05/02	7.65	10.4	0.71	0.4	35	<2
			05/05	7.85	12.5	2.17	0.4	190	<2
赤子谷左	24		03/11	7.23	8.28	1.44	2.0	2000	15
			04/03	7.65	9.12	0.93	0.7	70	<2
			04/07	7.64	8.28	0.82	1.0	690	5.2
			05/02	7.54	8.37	0.65	0.9	13	<2
			05/05	7.78	9.68	1.84	0.0	110	<2
太田田川	蘆葉峽	25	03/11	7.21	9.76	2.02	0.7	1600	15
			04/03	7.36	6.66	2.63	0.8	78	<2
			04/07	7.73	11.1	1.79	0.3	340	<2
			05/02	7.53	9.38	1.09	0.2	37	<2
			05/05	7.69	11.3	2.33	0.0	220	<2
蘆葉峽東	26		04/03	7.29	5.10	1.89	0.6	330	<2
			04/07	8.17	17.1	1.36	0.2	>2400	13
			05/02	7.80	11.8	1.21	0.0	390	<2
			05/05	8.18	16.8	1.61	0.2	1300	25
			04/03	7.11	16.9	0.86	0.0	16	<2
大谷	28		04/07	7.07	16.3	0.70	0.0	870	<2
			05/02	6.53	20.4	0.53	0.3	23	<2
			05/05	7.26	21.2	0.97	0.0	130	<2
			04/03	7.77	13.6	0.85	6.3	93	<2
			04/07	7.74	12.1	0.66	0.0	>2400	<2
鹿頭谷	27		05/02	7.44	14.5	0.61	0.0	3.0	<2
			05/05	8.08	13.7	1.16	0.4	290	26
			03/11	7.36	15.3	1.20	0.8	>2400	7.5
			04/03	7.86	15.3	1.80	0.3	60	2.0
			04/07	7.70	14.8	0.85	0.0	200	2.0
逆瀬川	逆瀬川	21	05/02	7.73	16.5	0.72	0.2	44	<2
			05/05	7.86	17.2	1.92	0.0	99	<2
			03/11	7.44	10.0	1.44	0.2	2400	72
			04/03	7.80	10.9	1.30	0.0	110	4.1
			04/07	7.92	10.0	0.90	0.1	920	10
水無下滝	20		05/02	7.73	10.4	0.71	0.1	11	<2
			05/05	8.04	12.1	1.73	0.0	170	<2
			03/11	7.26	7.86	1.35	1.3	2400	<2
			04/03	7.62	7.67	1.21	0.3	110	<2
			04/07	7.82	7.98	0.85	0.2	770	<2
仁川	水無滝	19	05/02	7.56	7.66	0.60	0.3	35	<2
			05/05	7.87	8.63	1.89	0.0	310	<2
			03/11	6.93	5.45	1.45	2.4	650	11
			04/03	7.28	5.71	1.20	0.2	46	2.0
			04/07	7.23	5.02	0.83	1.0	650	<2
水無小谷	18		05/02	7.17	5.31	0.64	0.4	6.3	<2
			05/06	7.26	5.67	1.16	0.2	210	2.0
			04/03	7.64	11.5	1.74	0.0	4.1	<2
			03/11	7.41	9.14	0.89	0.0	390	<2
			04/03	7.64	9.00	1.16	0.0	12	<2
船坂谷	29		04/07	7.87	9.20	0.79	0.0	78	<2
			05/02	7.64	9.10	0.71	0.4	3.1	<2
			05/05	7.86	9.99	1.15	0.0	32	<2
			04/03	7.41	8.20	1.03	0.0	28	<2
			03/11	7.34	8.70	1.47	4.4	1100	3.1
船坂川	船坂横谷	30	04/03	7.54	8.06	1.11	0.0	27	<2
			04/07	7.71	8.61	0.64	0.0	920	<2
			05/02	7.51	8.37	0.64	0.4	18	<2
			05/05	7.73	9.49	1.01	0.0	57	<2
			03/11	7.12	7.63	0.83	0.1	>2400	28
船坂下谷	31		04/03	7.27	7.23	0.92	0.3	56	<2
			04/07	7.40	7.04	0.58	0.0	240	3.1
			05/02	7.26	7.09	0.54	0.2	42	<2
			05/05	7.40	7.22	0.94	0.0	14	<2
			04/07	7.74	11.5	0.81	0.0	730	<2
十八丁川	白水峽	32	05/02	7.65	11.2	0.64	0.1	3.1	<2
			05/05	7.68	12.3	1.68	0.0	24	<2
			03/11	7.62	11.7	1.10	0.9	920	2.0
			04/03	7.74	11.9	0.97	0.3	44	<2
			04/08	7.88	11.9	0.76	0.0	520	<2
瑞宝寺谷右	33		05/02	7.65	11.1	0.66	0.3	15	<2
			05/05	7.89	11.9	1.74	0.1	140	<2
			03/11	7.36	9.25	1.09	0.3	400	<2
			04/03	7.63	9.30	1.23	0.3	45	<2
			04/08	7.62	9.32	0.78	0.0	270	<2
有馬川	瑞宝寺谷左	34	05/02	7.55	9.14	0.62	0.4	3.0	<2
			05/05	7.67	9.84	1.74	0.0	45	<2
			03/10	6.70	4.74	1.21	2.9	980	<2
			04/03	7.04	5.32	0.86	1.1	110	<2
			04/08	7.29	4.53	0.78	0.7	820	58
魚屋道	42		05/02	7.05	4.68	0.66	0.7	190	<2
			05/05	6.94	4.54	1.05	0.1	1300	290



か、六甲最高峰周辺（魚屋道、東おたふく山、雨ヶ峠）の各地点においても検出された。大腸菌数が2～51MPN/100mL 検出された地点は、六甲山の東部と南部、あるいは南斜面と北斜面といった地理的な違いに関わらず広く分布し不検出の地点と混在していた。

このように、大腸菌の検出状況は、全地点で検出された大腸菌群とは大きく異なる状況にあった。

### 3. 大腸菌群数と大腸菌数の関係

大腸菌群数と大腸菌数の相互関係を図4に示す。図4からわかるように、大腸菌群数と大腸菌数との間には一定の関係は認められない。しかし、大腸菌群数が1000MPN/100mL 以下の場合は、大腸菌はほとんど検出されていない。大腸菌群数が1000MPN/100mL を越え2400MPN/100mL 未満の範囲では、大腸菌の不検出の地点が大部分を占めるとはいえ検出される地点もあり、さらに>2400MPN/100mL が検出された地点では、その大部分において大腸菌も検出される結果となった。

このように、A類型の環境基準値である1000MPN/100mL 以下と少ない場合における大腸菌群数の指標性は低く、ふん便汚染の有無の判定は困難であることが示唆された。また、大腸菌群と大腸菌の関係からみて大腸菌群によるふん便汚染指標としての評価を行うことには問題のあることが示された。

### 4. 湧水における大腸菌群と大腸菌の検出状況

表1-2に示すように、調査を行った各17ヶ所の湧水中の大腸菌群数は、2005年6月の場合は不検出～>2400MPN/100mL、2005年12月では不検出～650MPN/100mL であった。

この2回の調査を通じて1000MPN/100mL 以上の大腸菌群数を検出したのは吉高神社（st.Y10）の6月における1回のみであった。吉高神社の12月の結果は3.1MPN/100mL であり、2回の調査を通じて唯一大腸菌群数が不検出であった西山谷（st.Y17）について少なく、調査時期による差が極端に大きかった。しかし、他の水質項目については2回の調査結果に大きな違いは認められず、SSの測定していないが採水時に濁り等は観察されていないため、大腸菌群数がこのように多くなった原因は不明であった。

6月の調査では約半数の8地点が77MPN/100mL～350MPN/100mL の範囲にあり、7地点は50MPN/100mL 未満であり、不検出の地点は上述の西山谷のみであった。

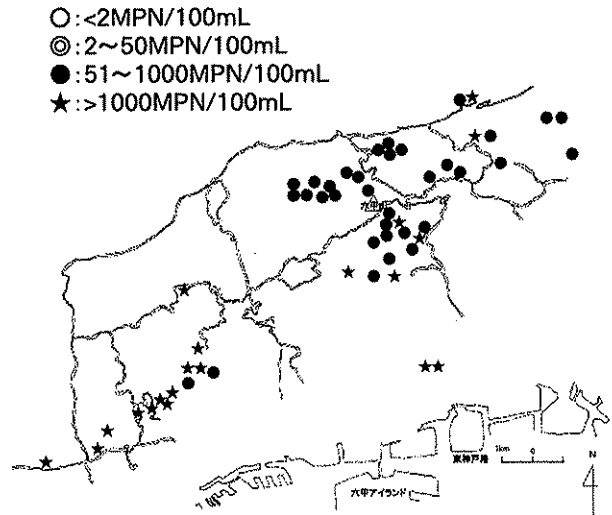


図2 2004.7~8月大腸菌群数分布

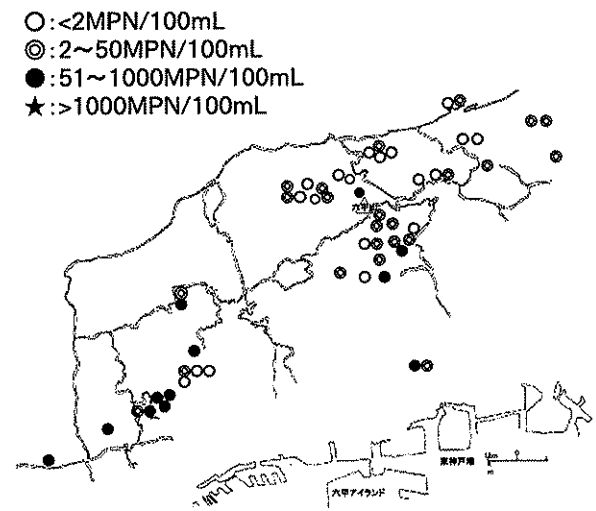


図3 2004.7~8月大腸菌数分布

表3 大腸菌の検出状況について(%)

大腸菌数 MPN/100mL	2003年 10~12月	2004年 3~5月	2004年 7~8月	2005年 2~3月	2005年 5~6月
<2	40	56	33	79	67
2~1000	60	44	67	21	33
>1000	0	0	0	0	0

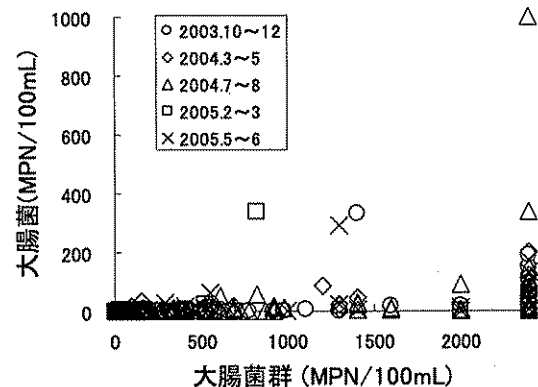


図4 大腸菌群数と大腸菌数の関係

全体としては、6月に比べて12月が値の小さい結果を示し1000MPN/100mLを越える地点はなかった。一方、石切道(st.Y12)や五助堰堤下(st.Y14)は、それぞれ650MPN/100mLと400MPN/100mLであり、6月よりも高い値を示す結果となった。

次に、大腸菌数をみると、2005年6月は13地点で不検出であり、残りの3地点(鷺林寺:Y3, 清水谷:Y19, 逢山峡:Y16)において2.0MPN/100mL~19MPN/100mLであった。2005年12月の場合は、15地点で不検出であり、塩尾寺谷(st.Y2)のみが2.0MPN/100mLとなった。

このように大部分の湧水は、季節を問わず大腸菌が検出されておらず、渓流河川水とは異なった状況にあった。なお、大腸菌が検出された湧水と渓流水の地点は一致していないため、検出された湧水とその近くの渓流河川水との関係を明らかにするには至らなかった。

#### 5. 六甲山の渓流水における大腸菌汚染の評価

大腸菌群と大腸菌は水温の高い夏期に多く水温の低い冬期には少なくなり、特に大腸菌については不検出の地点が増えていたが、逆に増加する地点もあるように一定の傾向は認められなかった。浄化槽排水や生活排水による人為的汚染があると仮定すれば、水温に対応した季節変動があるとしても全体の大腸菌群数や大腸菌数のレベルはさらに高くなると思われる。人為的汚染以外の要因が影響していると推察される。

一方、流域に全く汚濁源が無い渓流河川においても大腸菌が検出されたことは、大腸菌は「ヒトのふん便汚染指標」として用いることができないことを示している。西田ら<sup>6)</sup>や濱中ら<sup>9)</sup>はM-FC法を使った調査において、人為的汚染の認められない森林域の河川水にふん便性大腸菌が検出され、特に降雨時の高濁度時には増加することから、彼らはそのソースとして土壌細菌の可能性を示唆した。

大腸菌は、ヒト以外のほ乳類や鳥類のふん便に含まれるためヒト由来かどうかの判定は重要である。人為的な汚染の有無については、十分留意して調査地点を選定すると共に、目視ではあるが現地において周辺の状況およびハイカーのふん便の有無を確認することで影響はないと判断した。ヒト以外のほ乳類については、調査地点の流域に家畜はいないものの大型野生動物としてはイノシシが多数生息している。しかし、生息数や分布についての情報は得られておらず、その他の小動物や鳥類についての影響は

さらに不明である。

岡山ら<sup>7)</sup>は、大腸菌がヒトのみならずほ乳類や鳥類のふん便からも検出されるが現行の方法ではその区別が不可能であることから、宿主動物ごとに特異的なqPCRプライマーを設計しそれを使ったReal-Time PCR法による解析によって、ヒト、ウシ、ブタから由来する大腸菌の区別と評価の手法を開発している。この手法は、ある程度大腸菌が存在するような河川水を対象として検討をされており、その有効性が示されている。渓流水のように大腸菌数が少ない場合の適用については今後の検討課題になると思われるが、将来的にはこうした遺伝子的な手法による大腸菌汚染の評価が不可欠になると思われる。

## V まとめ

六甲山系全域の渓流河川を対象に、大腸菌群および大腸菌についての年間を通じた調査を行い、以下の結果を得た。

1. 大腸菌群の検出範囲は3~>2400MPN/100mLであり、すべての地点で検出され、水温の高い夏期には多く、低い冬期には少なく、春と秋はその中間的な傾向を示し、神戸の市街側になる南斜面と北東部に多く検出された。
2. 大腸菌数は不検出~1000MPN/100mLの範囲で変動しており、検出されなかった地点は33~79%あり、大腸菌群数と同じく水温の変動に対応した検出状況を示した。
3. 湧水の大腸菌群は1ヶ所を除いて季節に関係なく検出されたが、大腸菌については4地点(17地点中)で検出された。これらについては人為汚染以外の汚染に起因することが示唆された。
4. 大腸菌群と大腸菌の関係から大腸菌群によるふん便汚染指標としての評価を行うことに問題のあることが示され、環境基準項目としての大腸菌群についての見直しが必要であると考えられる。

## 文 献

- 1) 兵庫県：水質汚濁等に関する測定結果等。環境白書平成16年度版、資料編(CD-ROM)(2005)
- 2) 日本水道協会：糞便性指標。上水試験法(2001年版)、解説編,837(2001)
- 3) 第4回厚生科学審議会生活環境水道部会：水質基準の見直し等について。水質管理専門委員会報告(配布資料),11-17(2003.4.28)

- 4) 神戸市環境局：六甲山渓流水調査. 平成 16 年度環境水質, 107-109 (2005)
- 5) 西田継, 濱中克哉, 松本嘉孝, 藤田昌史：水文現象に駆動される源流域の大腸菌動態. 第 39 回日本水環境学会年会講演集, 26 (2005)
- 6) 濱中克哉, 芳賀弘和, 藤田昌史, 西田継：山地源流域における大腸菌と浮遊物質の流失特性. 第 40 回日本水環境学会年会講演集, 480 (2006)
- 7) 岡山紀子, Olga SAVICHTCHEVA, 伊藤司, 岡部聡：Real-Time PCR 法による新規糞便性汚染指標の開発と妥当評価. 第 39 回日本水環境学会年会講演集, 210 (2005)