

下水中溶存有機物・細菌に着目した 水質分析による雨天時浸入水発生箇所と 規模の推定

助成研究期間：2024年10月1日～2025年9月30日

中屋佑紀¹・北林里佳子²・佐藤久³

¹ 北海道大学大学院工学研究院・助教

² 北海道大学大学院工学院・修士課程学生

³ 北海道大学大学院工学研究院・教授

本研究は、雨天や融雪水の発生により分流式下水道へ浸入する水（雨天時浸入水）の発生区域および浸入経路を特定できる効果的な調査技術の開発を目的とする。特に、従来の流量の連続測定に基づく浸入水規模の調査とは異なる、下水の水質を解析する新たな調査技術の開発を目標とした。雨天時浸入水を模擬するために、道路排水や土壤溶出液などの試料と、それらと下水処理場の流入下水の混合液を用いて溶存有機物の分析を実施した。具体的には、励起蛍光マトリクス分光法による水質分析と、これまでの研究で取得した励起蛍光マトリクススペクトルを用いた PARAFAC 解析を行った。加えて、下水中の細菌を用いた雨天時浸入水のソーストラッキングを行うことを目的として、世代シーケンサー（NGS）を用いたアンプリコンシーケンス解析を実施した。本研究の成果により、水質解析を基盤とした雨天時浸入水の調査技術の有効性が確認された。

1. 背景

下水道は、生活排水や雨水を人間の生活圏から速やかに隔離する重要なインフラである。下水道には分流式下水道と合流式下水道の2方式がある。分流式下水道は、汚水と雨水を別の管に導入するため、処理施設の容量削減や汚水流出防止といった利点を持つ。しかし、近年、施設の老朽化や地震による被災、高強度降雨の頻発により、分流式下水道を採用する地方公共団体においても、降雨時の浸入水が原因で汚水管の溢水や逆流といった問題が発生している。このような背景から、雨天時浸入水の影響が深刻化する前に、浸入水の発生区域や原因を特定し、効果的かつ効率的な対策を講じる必要性が高まっている。

従来の浸入水調査フローは、まず流量調査などを実施して浸入水の多い区域を絞り込み、その後、カメラなどを用いて発生原因や箇所を特定し、最終的に対策実施の判断を行うという流れである¹。しかし、雨天時浸入水の発生原因には誤接続や管の接続不良など多岐にわたる要因が存在し、これ

らを特定するには膨大な時間が必要である。さらに、流量を処理区内の複数箇所で測定する必要があるため、調査費用が多額となる点も大きな課題である。加えて、発生箇所が地下にあることが多く、カメラでの調査が困難なケースも少なくない。

そこで本研究では、下水の水質に着目し溶存有機物と細菌群集構造を分析することで、雨天時浸入水の発生区域および浸入経路の絞り込みを可能にする技術を開発することとした。

溶存有機物の分析では、特に蛍光成分に着目し励起蛍光マトリクス（EEM）分光法を使用した。EEMスペクトルは励起波長、蛍光波長、蛍光強度の3つの情報を3次元にプロットしたものであり、溶存有機物に含まれる蛍光成分のすべてを網羅できる。短時間で容易に再現性の良い測定ができ、起源や性質の異なる数種のピークを検出することができる。蛍光分析で検出されうるのは溶存有機物に含まれる成分のうち蛍光性の有機物であり、具体的には芳香族アミノ酸や溶存腐植物質の成分が挙げられる。河川水中溶存有機物の蛍光分析では、特にタンパク質様物質や溶存腐植物質の分析

が行われている².

EEM は蛍光特性の異なる様々なピーク成分が混在しているため、単純に特定のピーク位置の蛍光強度を比較するピークピッキング法では、EEM の情報を十分に活用することができない。Parallel factor (PARAFAC) 解析は多変量解析の1種であり、2003年に初めて環境中のEEMの解析に用いられ、大きな可能性が示された³。EEM-PARAFACでは、EEMをn個の独立した成分に分解し、類似したスペクトルを持つ蛍光体のグループに分けて定量する。この手法はCSO発生時の河川中の下水由来成分の検出に用いられた例もあり⁴、同様に下水成分を対象とする本研究においても有効な手法であると考えられる。

2. 方法

(1) 試料

本研究では、A市内の4つの下水処理場（分流式下水道のみを受け入れるTB処理場および合流式下水道を受け入れるSO処理場、分流式のエリアと合流式のエリアが混在しているSH、TY処理場）から採取した流入下水を使用した。さらに、雨天時における浸入水を模擬した試料として、マンホールなどから直接浸入することを想定した雨天時の道路排水、みずたまり、融雪水、地下から浸入することを想定した土壤溶出液、屋上雨水管からの誤接続を想定した屋根からの排水を使用した。土壤溶出液は北海道大学内で採取した土200gに純水500mLを混合し作成した。加えて、これらの模擬浸入水と流入下水を1:1の比率で混合し、雨天時に浸入水が流入した下水を再現したサンプルを作成した。使用したサンプルは合計167サンプルであり、これらを溶存有機物の分析に用いた。

(2) 溶存有機物の分析

試料中の溶存有機物に対して、溶存有機炭素(DOC)濃度、EEMスペクトル、紫外可視スペクトルの3つの測定を行った。

溶存有機物の3つの測定にあたり、前処理としてろ過を行った。ろ過にはガラス纖維ろ紙(Whatman, 0.7 μm, GF/F:マッフル炉を用いて450 °Cで4時間以上加熱)を用い、吸引ろ過装置で行った。ろ過の前には、超純水をガラス纖維ろ紙に3回通し洗浄を行った。ろ過はサンプリング後、24時間以内に行いポリエチレンボトルで4°Cの冷蔵庫内に保存した。

EEMスペクトルの測定にはNanoLog(HORIBA, Japan)を使用し、測定は室温で行った。装置は15分以上暖機した。1cm石英角セルを用い、セル内に気泡が入らないよう注意した。測定条件は励起波長(Excitation, Ex.) 250~550 nm, 蛍光波

長(Emission, Em.) 250~600 nm, サンプリング間隔は励起波長5 nm, 蛍光波長2 nmで測定した⁵。スリット幅は、励起側、蛍光側ともに5 nmとした。

紫外可視分光測定にはV630(Jasco, Japan)を使用した。紫外可視スペクトルはEEMスペクトルの内部消光補正に用いた。装置は1時間以上暖機した。測定条件は開始波長1100 nm, 終了波長200 nm, データ間隔1 nm, 走査速度400 nm/min, フィルタ切換モードstepとし、ベースライン測定はSample側 Reference側ともに超純水で行い、Sample側のセルを試料入り角セルに入れ替えてからスペクトル測定を行った。測定後240 nmの吸光度を直ちに確認し、Abs = 1を超えている場合には超純水による希釈を行った。希釈したサンプルについては紫外可視分光測定、3D-EEM測定と同じ希釈倍率のサンプルを用いて行い、EEM補正²を行った後、希釈倍率をかけて正しい蛍光強度データを得た。

PARAFAC解析には、MATLAB(R2019b version)にdrEEM toolbox(ver:0.6.5)を用いて行った。測定したEEMスペクトルは短波長側ではノイズがひどく、長波長側には蛍光がほとんどないため、Ex. < 250 nm, Em. > 570 nmをカットした。また、PARAFAC解析の障害となるため、レイリー散乱部分をカットした。

DOCはTOC-L(SHIMADZU, Japan)で測定した。この装置では、まず試料にあらかじめ酸を加えて酸性にし、通期処理を行うことでIC(無機体炭素)を除去する。ICを除去した試料のTC(全炭素)を680°C燃焼触媒酸化により発生した二酸化炭素の赤外線ガス分析により定量し、NPOC(不揮発性有機炭素量)を求める。ろ過後の試料水について曝気時間1分30秒で、1サンプルにつき3-5回測定を行い、平均値を測定値とした。測定には40mLバイアルを用い、1回の測定では150 μLの試料を用いた。

(3) 細菌の分析

ガラス纖維ろ紙(Whatman, 0.7 μm, GF/F)を用いて、DNA抽出を行った。ろ紙は試料を50 mL通過させた後、遠沈管に入れて-30°Cで保管した。DNAの抽出は、DNeasy PowerWater Kit(QIAGEN)を用いて行った。抽出したDNAは、分注して-30°Cで保管した。

浸入水の有無により下水の細菌群集構造が変化するかどうかを明らかにするために、次世代シーケンサー(NGS: Next-Generation Sequencer)を用いたアンプリコンシーケンス解析(対象領域は16S rRNA遺伝子のV3-V4領域)を行った。対象領域は、Bakt_341F(CCTACGGNGGCWGCAG), Bakt_805R(GACTACHVGGGTATCTAATCC)プライマー

セット⁶を用いて 1st PCR で増幅した。1st PCR 反応条件は、初期変性：94 °C, 5 分, 変性：94 °C, 30 秒, アニーリング：60~58 °C, 30 秒 (10 サイクル毎に 1 °C 下げた), 伸長：72 °C, 30 秒, 変性から伸長まで合計 30 サイクル行った後, 最終伸長：72 °C, 5 分とした。反応液は Ex Taq Hot Start Version (TaKaRa) を 0.1 μL, 10 μM のフォワードおよびリバースプライマーをそれぞれ 0.4 μL, 20 mM の Ex Taq Buffer (Mg²⁺ plus) (TaKaRa) を 2 μL, 2.5 mM の dNTP Mixture を 1.6 μL, Nuclease free water を 14.5 μL, Template を 1 μL の合計 20 μL とした。増幅産物のサイズは 2 % (w/v) アガロースゲルを用いて, 100 V で 30 分の電気泳動を行い, 確認した。増幅産物は, QIAquick PCR purification kit (QIAGEN) を用いて精製した。その後, 1st PCR プライマーおよびサンプルを認識するインデックスを含む 2nd PCR により増幅を行った。2nd PCR の反応条件は, 初期変性：94 °C, 2 分, 変性：94 °C, 30 秒, アニーリング：60 °C, 30 秒, 伸長：72 °C, 30 秒, 変性から伸長まで合計 8 サイクル行った後, 最終伸長：72 °C, 5 分とした。反応液は Ex Taq Hot Start Version (TaKaRa) を 0.1 μL, 10 μM のフォワードおよびリバースプライマーをそれぞれ 0.4 μL, 20 mM の Ex Taq Buffer (Mg²⁺ plus) (TaKaRa) を 2 μL, 2.5 mM の dNTP Mixture を 1.6 μL, Nuclease free water を 12.5 μL, Template を 3 μL の合計 20 μL とした。2nd PCR 産物についても 1st PCR と同様に電気泳動で確認を行い, 精製した。精製した増幅産物は MiSeq (Illumina 社) を用いて塩基配列を決定した。決定された遺伝子の塩基配列は, QIIME 2 ver. 2021. 4 を用いて解析を行った⁷。クオリティトリミング, プライマー配列の除去, ペアエンドアセンブリ, キメラチェックは DADA2⁸を用いて処理した。DADA2 による処理後, vsearch ソフトウェア⁹を用いて 97 % 以上の相同性で配列を Operational Taxonomic Units (OTU) にクラスタリングした。系統アノテーションは SILVA database version 13815 上の classify-sklearn を使用して行った。

3. 結果と考察

(1) 流入下水量

本研究を行うにあたって, 研究対象とした北海道内の A 市の分流式下水道, 合流式下水道について, 流入下水量の調査を行った。

合流式下水道のある SH 处理場では, 雨水と汚水をひとつの管で流しているため, 降雨量に伴って流入下水量が増加した。また, A 市においては冬季は降雪があるため流入下水量が増加せず, 春季は降雨だけでなく融雪水の影響を受けて流入下

水量が増加していた。

分流式下水道の TB 处理場では, 雨水と汚水を別々の管で流し, 雨水をそのまま河川に流しているため, 汚水のみが下水処理場に流入していることが想定されている。しかし, 実際には SH 处理場と同様に降雨, 融雪の影響を受けて流入下水量が増加している様子が確認された。

(2) 溶存有機物

a) 道路排水

道路排水は A 市内の高速道路の排水管と, 一般道の側溝 2 箇所の合計 3 箇所でサンプリングを行った。測定した EEM スペクトルの一例を図 1 に示す。

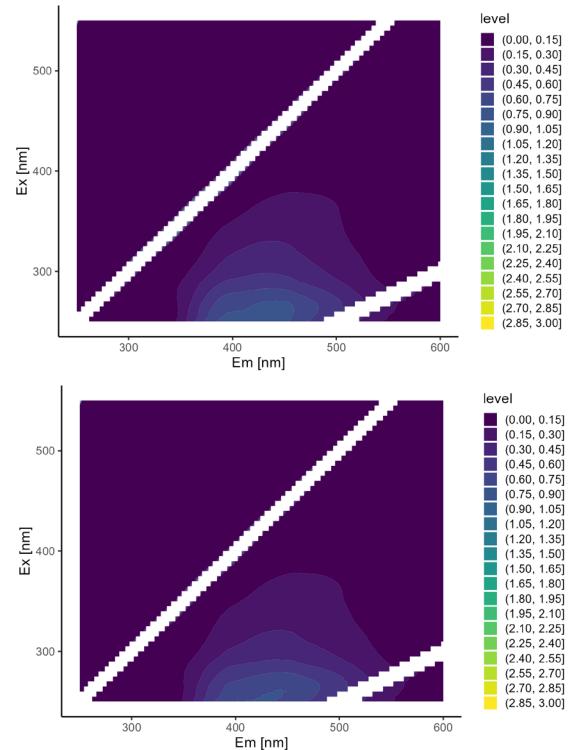


図-1 高速道路排水の EEM スペクトル

道路排水の EEM スペクトルは, 採水日や採水場所に関わらず, 励起波長 250 nm, 蛍光波長 440 nm 付近に 1 つのピークが見られた。これは先行研究で Peak A と呼ばれている陸域由来腐植物質様成分由来のピークに近い¹⁰。また, ピーク位置には差が出なかったものの, 2024/7/24 に採水したサンプルの蛍光強度は 2024/7/29 に採水を行ったサンプルの約 30 倍となった。これは, 2024/7/24 が約 2 週間ぶりの降雨かつ降水量 5 mm/day であったのに対して, 2024/7/29 は前日に 76 mm/day, 当日に 52 mm/day の強い雨が降っていたことが原因であると考えられる。

これらのことから, 励起波長 250 nm, 蛍光波長 440 nm 付近のピークは道路排水のマーカーとして利用できる可能性が示唆された。また, 晴天が続

いた後の雨の日の下水には、このピーク成分が検出できる可能性が高いと考えられる。

b) みずたまり

みずたまり水は A 市内の複数箇所で採水を行った。測定した EEM スペクトルの一例を図 2 に示す。

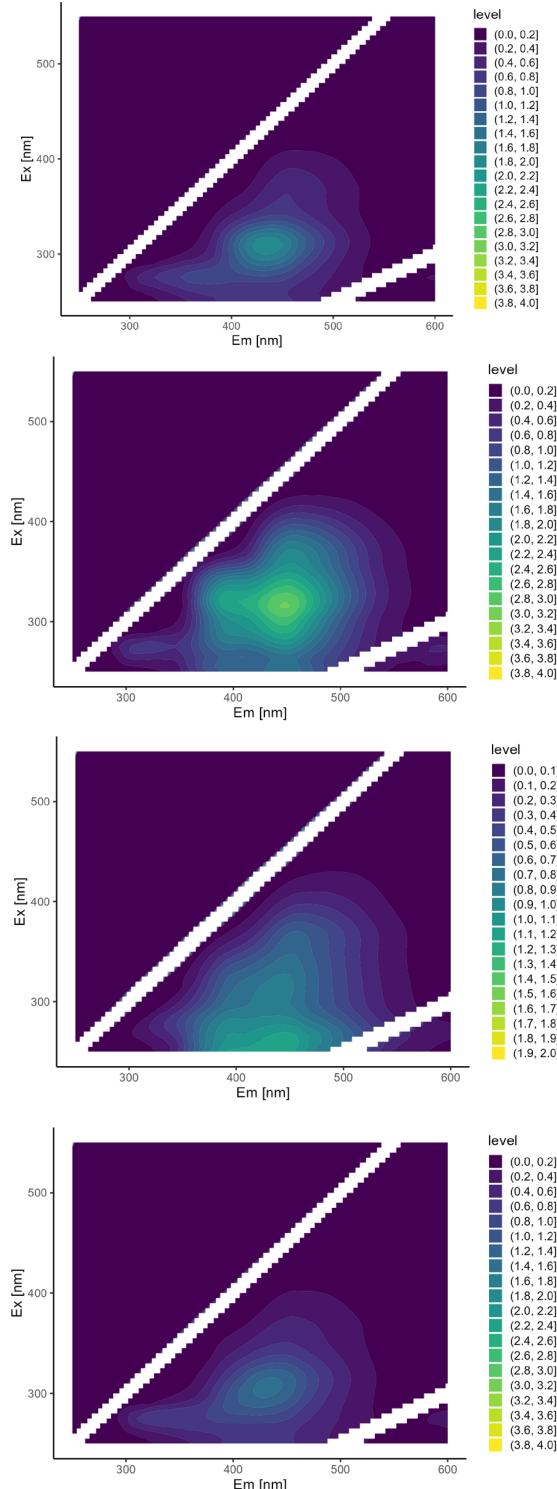


図-2 みずたまり水の EEM スペクトル

みずたまり水の EEM スペクトルは、採水日ごとに特徴が見られた。2023/11/21に採水した3地点

の EEM スペクトルは励起波長 310 nm, 蛍光波長 440 nm 付近に高いピークが見られた。一方で 2024/3/18 に採水した2地点の EEM スペクトルは道路排水と同じ励起波長 250 nm, 蛍光波長 440 nm 付近に高いピークが見られた。また、どちらの採水日においても、みずたまりの EEM には励起波長 275 nm 付近にタンパク質様物質由来と考えられるピーク¹⁰が見られた。このピークは、道路排水の EEM スペクトルには見られなかったものである。

採水当時の降雨状況を調査した結果、2023/11/21に採水したみずたまりは前日に雨が降り1日経過したもの、2024/3/18に採水したみずたまりは4日前から雨が降り続いている中採水したものであった。この結果と道路排水の EEM スペクトルから、雨が降り道路上を流れた雨水は励起波長 250 nm, 蛍光波長 440 nm 付近に蛍光ピークを持ち、時間経過とともに励起波長 310 nm, 蛍光波長 440 nm 付近のピークや励起波長 275 nm 付近のタンパク質様物質由来のピークが見られるようになるとと考えられる。時間経過とともに現れるピークに関しては、雨天時浸入水として汚水管に流入する可能性は低いため、励起波長 250 nm, 蛍光波長 440 nm 付近のピークが道路を経由してマンホールや污水樹の蓋穴から流入している浸入水のマーカーになるとと考えられる。

c) 融雪水

融雪水の EEM スペクトルを得るために、北海道

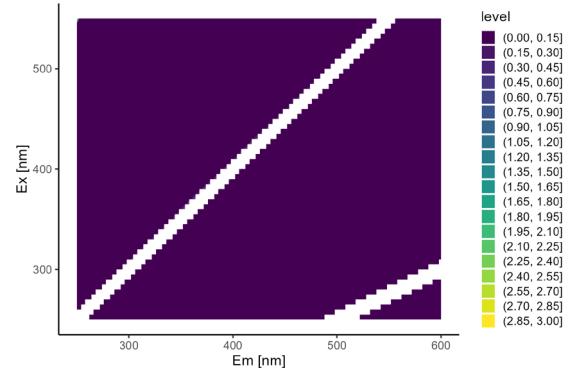


図-3 融雪水の EEM スペクトル

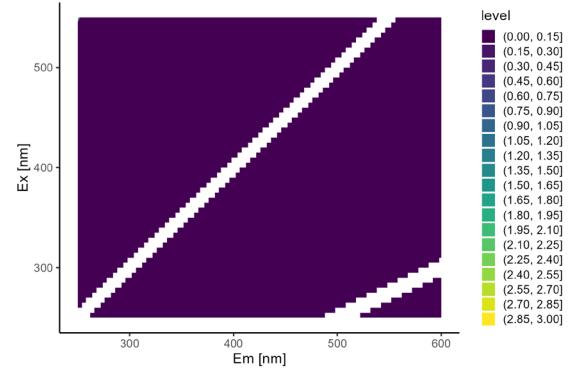


図-4 屋根からの排水の EEM スペクトル

大学構内に積もった雪（新雪）をポリエチレンボトルに回収し、実験室内で融かし、ろ過した後 EEM スペクトルを測定した。

融雪水の EEM スペクトル（図 3）には、蛍光強度が 0.05 RU を超える蛍光ピークは見られなかった。このことから、融雪水が浸入する過程で蛍光性の溶存有機物を取得しなかった場合、浸入水には特定の蛍光ピークなどは見られず、単純に生活排水由来の成分の希釈という形で EEM スペクトルに現れると考えられる。

d) 屋根からの排水

雨水管の汚水管への誤接続を想定し、雨天時に A 市内の駐車場の屋根から伸びる雨水管から屋根排水の採水を行った。測定結果を図 4 に示す。

屋根を経由した雨水の EEM スペクトルからも、融雪水と同様に蛍光強度が 0.05 RU を超える蛍光ピークは見られなかった。

この結果から、道路排水に含まれる蛍光成分の原因是、飛来して屋根や道路などの場所を問わず地表に到達するものよりも、道路上に主に存在する交通由来のものの影響が大きいと考えられた。また、汚水管の誤接続は単純な希釈として EEM スペクトルに現れる可能性が高いことが分かった。しかし、採水日は前日から強い雨が降り続いていたため、雨の降りはじめであれば飛来等が原因の蛍光成分のファーストフラッシュによる影響を観察できる可能性がある。

e) 土壤溶出液

北海道大学構内で色味の異なる 4 地点の土壤を採取し、土壤溶出液の作成を行った。EEM スペクトルの一例を図 5 に示す。

土壤溶出液の EEM スペクトルは、励起波長 265 nm、蛍光波長 450 nm 付近に高いピークが見られた。このピークは道路排水のピークと比べて少し位置が異なっているが、先行研究で Peak A と呼ばれている陸域由来腐植物質様成分によるピークに近い¹⁰。また、励起波長 320 nm、蛍光波長 440 nm 付近にもピークが見られた。これは Peak C と呼ばれている陸域由来腐植物質様成分であると考えられる。この 2 つの成分は土壤を経由した浸入水のマーカーになる可能性がある。

f) 地下水

地下水の試料として、北海道大学工学部パワーセンターで雑用水原水を採水した。測定した EEM スペクトルの一例を図 6 に示す。

地下水の EEM スペクトルのピーク位置は、土壤溶出液のそれに近く、蛍光強度の低いピークが観察された。しかし、この井戸水の採水地点は下水道が存在している高さよりもかなり深いため、下

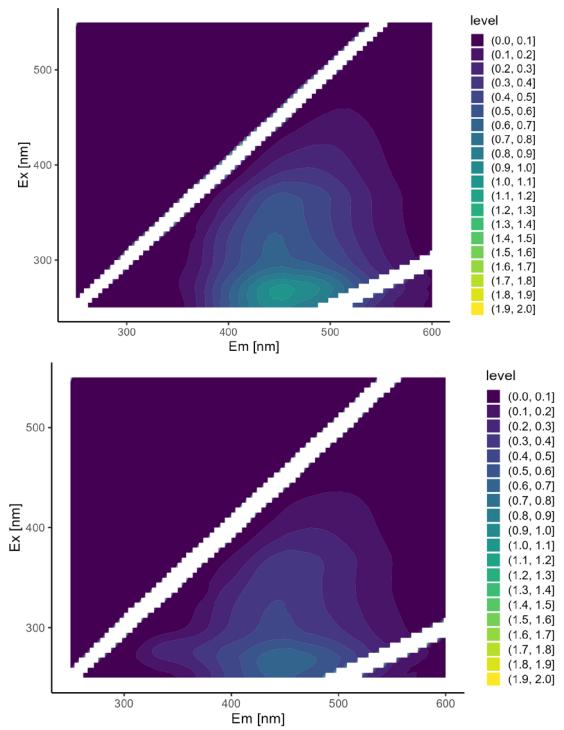


図-5 土壤溶出液の EEM スペクトル

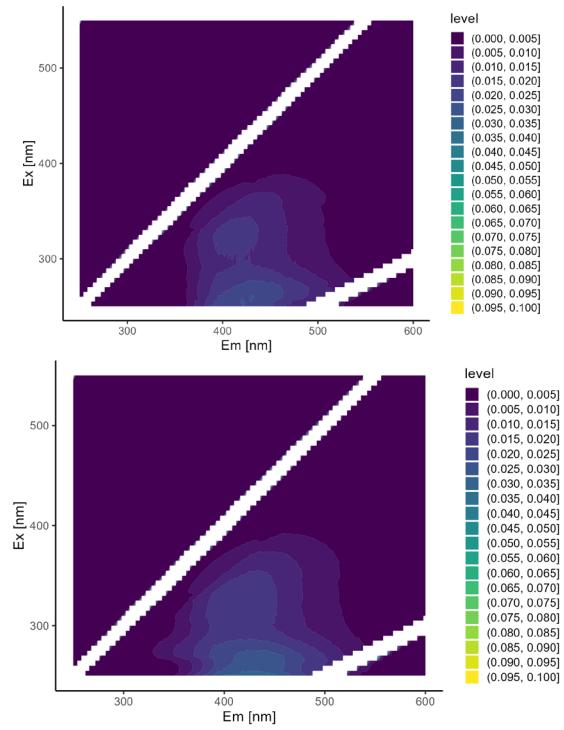


図-6 地下水の EEM スペクトル

水道が埋設されている高さで採水を行えば、より強い蛍光強度を観察できる可能性がある。本研究では下水道が設置されているような深度の地下水を入手することはできなかったが、土壤溶出液を地下水様の試料と見做すこととする。

g) 流入下水

積雪期で浸入水がほとんど混入していないと考えられる下水のEEMスペクトルを図7に示す。

下水のEEMスペクトルからは、励起波長275 nmのPeak Tに近い成分と励起波長320 nm、蛍光波長440 nm付近のPeak C成分が観察された。Peak T成分はタンパク質様物質（トリプトファン）由来の蛍光成分¹⁰で、未処理下水に顕著に出ることが知られている¹¹。したがって、Peak TとPeak Cは生活排水由来の蛍光成分であり、これらのピー

クの蛍光強度の低下は浸入水による下水の希釀に対応すると予想される。また、模擬浸入水（道路排水、みずたまり、土壤溶出液）にはPeak Aに近い成分が多く含まれていたため、雨天時と融雪期の下水にPeak A成分が観察された場合、道路や水たまりや土壤に存在する蛍光成分を巻き込んだ水が浸入したことを示すと考えられる。

雨天時と融雪期の下水のEEMスペクトル測定（図8,9）の結果、多くの試料のEEMスペクトル

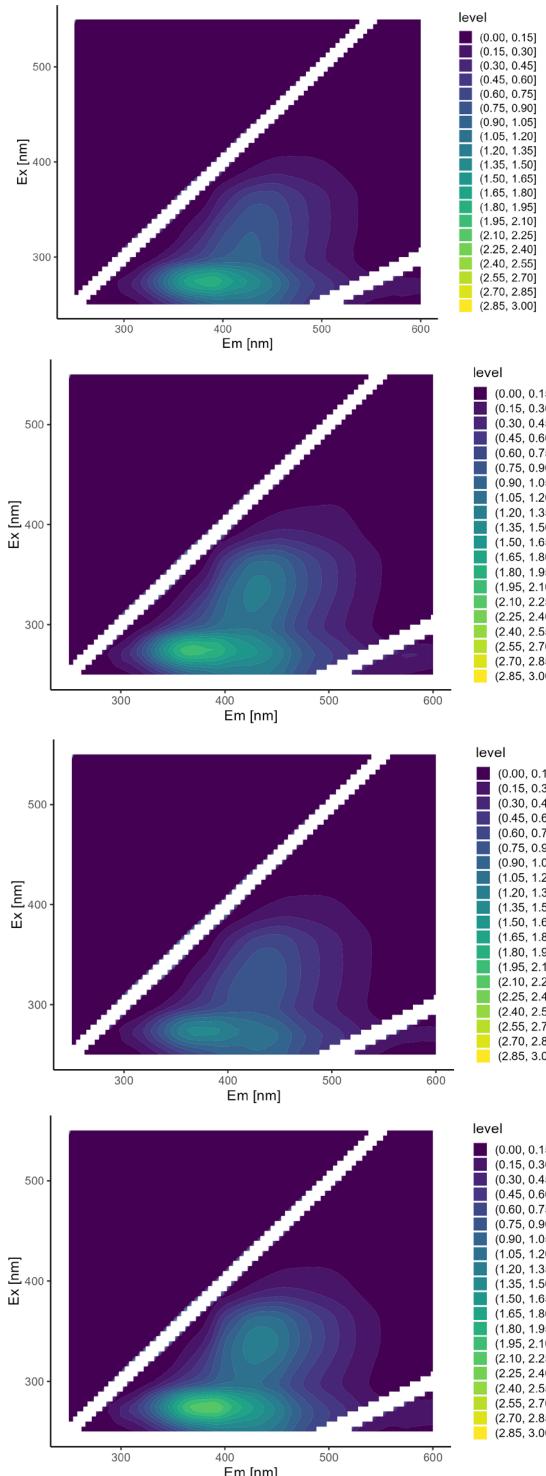


図-7 積雪期下水のEEMスペクトル

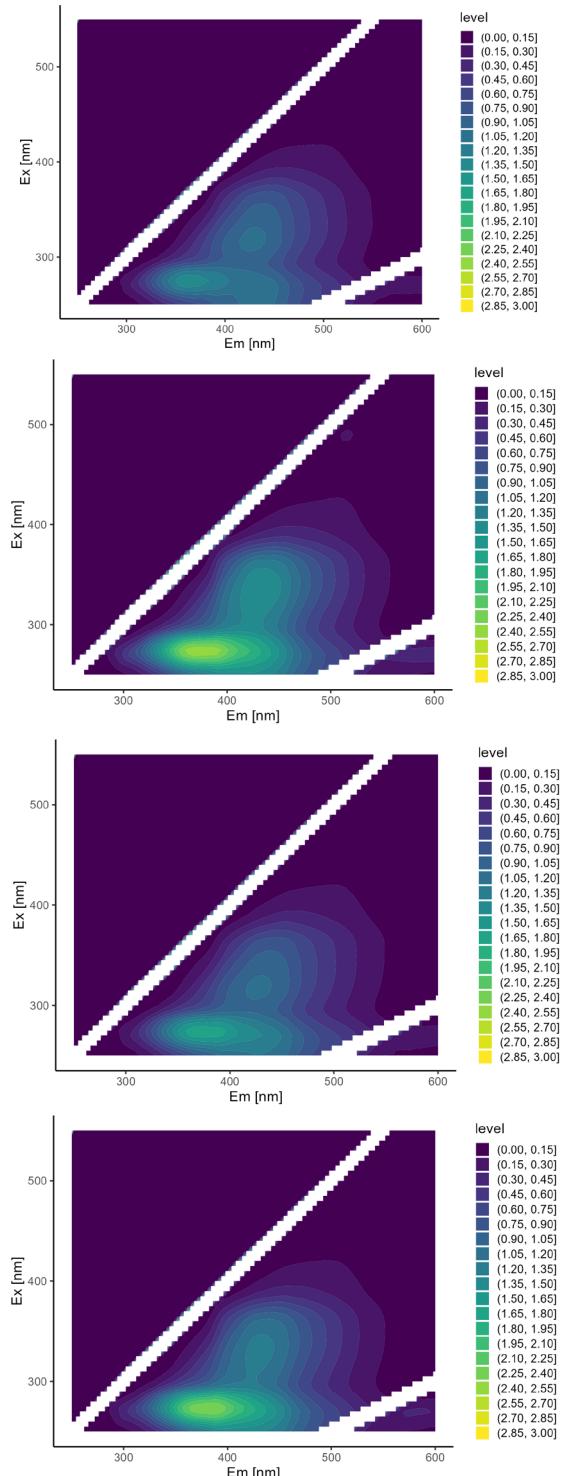


図-8 雨天時下水のEEMスペクトル

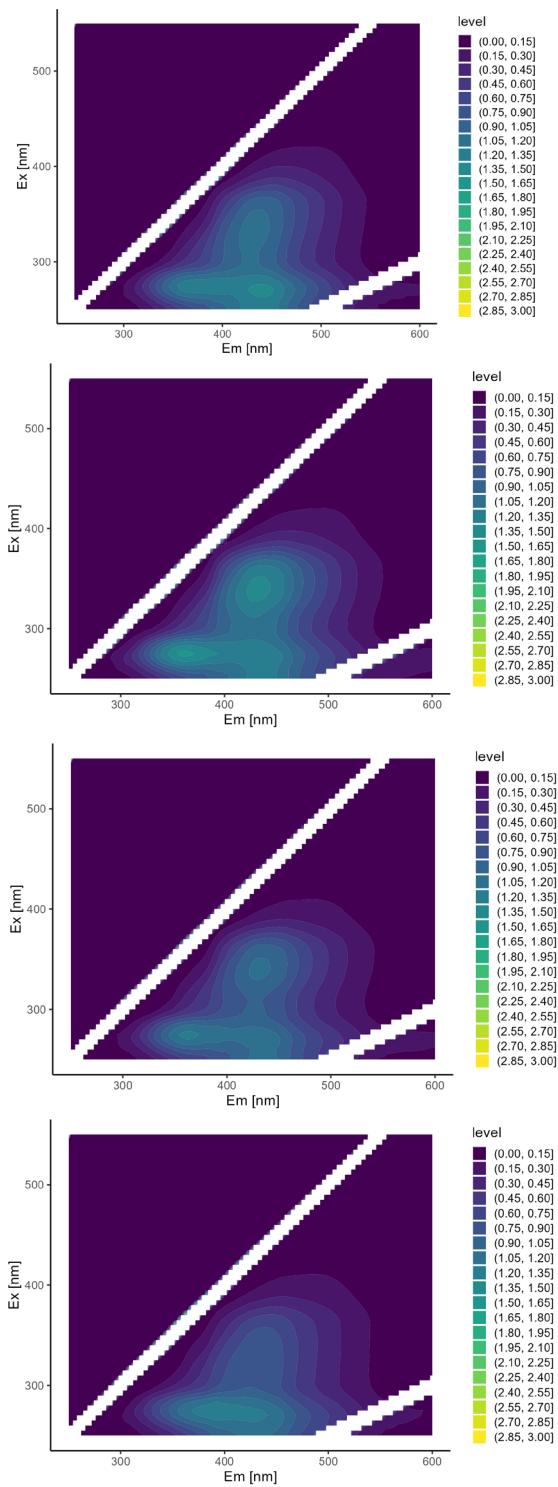


図-9 融雪期下水のEEMスペクトル

でPeak T, Peak Cの蛍光強度が晴天時の流入下水のものより低くなっていることが確認された。しかし、注目していたPeak A位置(励起波長260 nm, 蛍光波長400~460 nm)についてはPeak Tの蛍光ピークの影響を受けてしまって不明瞭であったため、Peak Aの蛍光強度を確認することはできなかった。

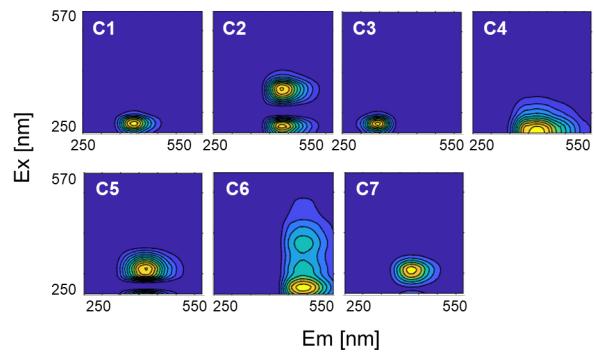


図-10 EEM-PARAFACで分離された7つのピーク成分

h) PARAFAC 解析

ピーク強度のみでは、ピークの重なりが原因で雨天時浸入水の浸入経路の推定に繋がると考えられる Peak A の蛍光強度を確認することができなかつた。そこで、EEMスペクトルを複数の蛍光成分に分解する多変量解析手法である EEM-PARAFAC 法を導入した。

167 サンプルのうち、みずたまり (2023/11/21 に採水したもの)、融雪水、屋根からの排水を除外し PARAFAC 解析を実施した。この理由は、蛍光強度が非常に小さかったため、標準化を行った際にノイズの影響を大きく受けてしまったからである。また、みずたまり試料を除外した理由は、PARAFAC により分離した7つの成分では説明できない EEMスペクトルであったからである。

EEM-PARAFAC で分離された7つのピーク成分を図 10 に示す。タンパク質様物質由来の成分として励起波長 275 nm 付近に C1 および C3 が分離され、Peak C に近い成分として C2, C5, C7 が得られた。さらに、Peak A に近い成分として C4 および C6 が抽出された。

試料の種類ごとの7つの成分の蛍光強度の平均値を図 11 に示す。道路排水試料については採水日で蛍光強度の高さが大きく異なったため 2024/7/29 に採水したサンプルの平均値を示している。

前述のように、EEMスペクトルのピーク強度に着目すると下水から Peak A をはっきりと確認することはできなかつたが、EEM-PARAFAC 法では Peak A に近い C4, C6 成分を分離・定量することができた。また、模擬浸入水である道路排水試料では C4 成分の割合が非常に高く、土壤溶出液試料では C2, C4, C6 成分の割合が高かつた。模擬浸入水試料の蛍光強度より、道路排水試料では C4 成分の割合が非常に高く、土壤溶出液試料では C2, C4, C6 成分の割合が高かつたことから、浸入水の浸入経路の特定には特定の1つの成分だけに注目するのではなく、7つの成分を総合的に評価する必要があると考えられた。

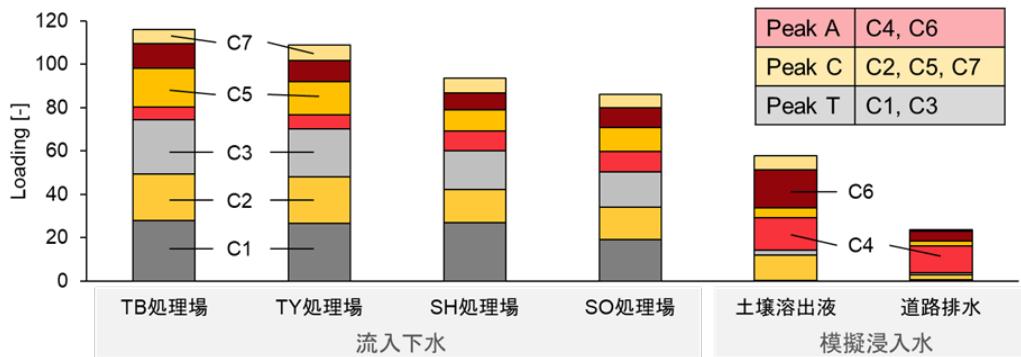


図-11 試料ごとの蛍光強度の平均値

そこで、EEM-PARAFACの結果を総合的に評価するためにPCA解析を行った。PCA解析に使用した試料は、下水（SH処理場、SO処理場）、模擬浸入水（道路排水、土壤溶出液）、下水と模擬浸入水の混合液である。PCA解析に用いた変数はEEM-PARAFACで分離した7つの成分とした。PCAプロットを図12に示す。ここで、流入下水量比とは、処理場ごとに総流入下水量の差が大きいため、晴天日の総流入下水量の平均値を1として比率で表現した。降雨量はveganパッケージのenvfitという関数を用いてフィッティングを行った^{12,13}。

PCA解析の結果、C1、C2、C3、C5成分のバイプロットは、PCAプロット上で流入下水量比のバイプロットとは反対側に配置された。このことから、これら4成分は浸入水の増加に伴い希釈される生活排水由来成分であることが示唆された。一方で、C4、C6成分は流入下水量比の増加方向にプロットされており、浸入水に由来する成分であることが示唆された。

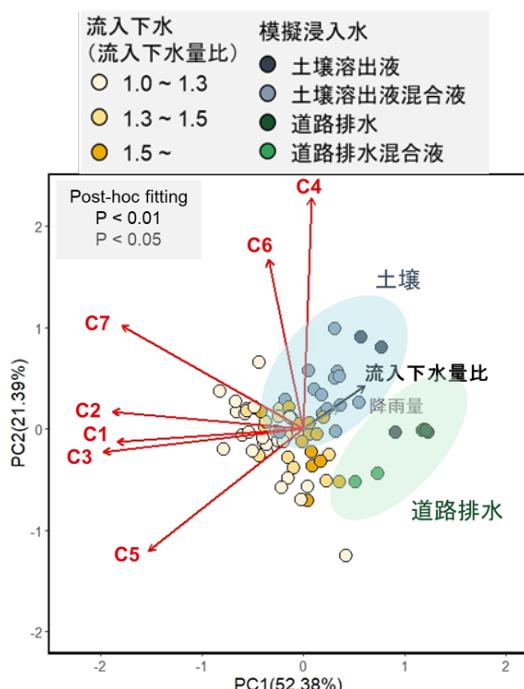


図-12 EEM-PARAFAC解析の結果を用いたPCA解析

また、土壤溶出液試料とその混合液のプロットと、道路排水試料とその混合液のプロットはPCAダイアグラム上で異なる位置にプロットされた。このことから、EEM-PARAFACの結果をPCA解析等の解析手法を用いて総合的な評価をすることで、下水中の雨天時浸入水が土壤由来（浸透地下水）であるか道路排水由来であるか推定できる可能性が示唆された。

(3) 細菌群集構造

アンプリコンシーケンス解析には、道路排水試料と下水試料を用いた。土壤溶出液試料については、抽出したDNA量が不十分であったため、解析から除外した。それぞれの試料中の微生物群の大きな傾向を確認するために、門レベルの細菌叢の調査を行った（図13）。

存在割合が全ての試料で5%未満となった門については、othersにまとめた。道路排水試料では、*Proteobacteria*, *Actinobacteriota*が優占していた。また、流入下水試料では、*Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidota*, *Campylobacterota*が優占していた。このうち、道路排水で優占しており、流入下水試料にはあまり含まれなかった*Actinobacteriota*に注目した。*Actinobacteriota*が5%以上存在した流入下水試料8個のうち、6個の試料は採水日当日、または前日に降雨があったことが分かった。

次に、より詳細な解析を目的として、科レベルの細菌叢の調査を行ったが、道路排水のマーカーとなるような細菌を発見することはできなかった。

4. 結論

融雪水の下水管への浸入は、下水中の生活排水由来成分であるPeak T・Peak Cを希釈することが分かった。この性質を利用すれば、下水のEEM測定から浸入水の有無を知ることが可能になり、雨天時に処理区内の複数箇所で採水・測定を行いPeak T・Peak Cの蛍光強度を比較することで、浸

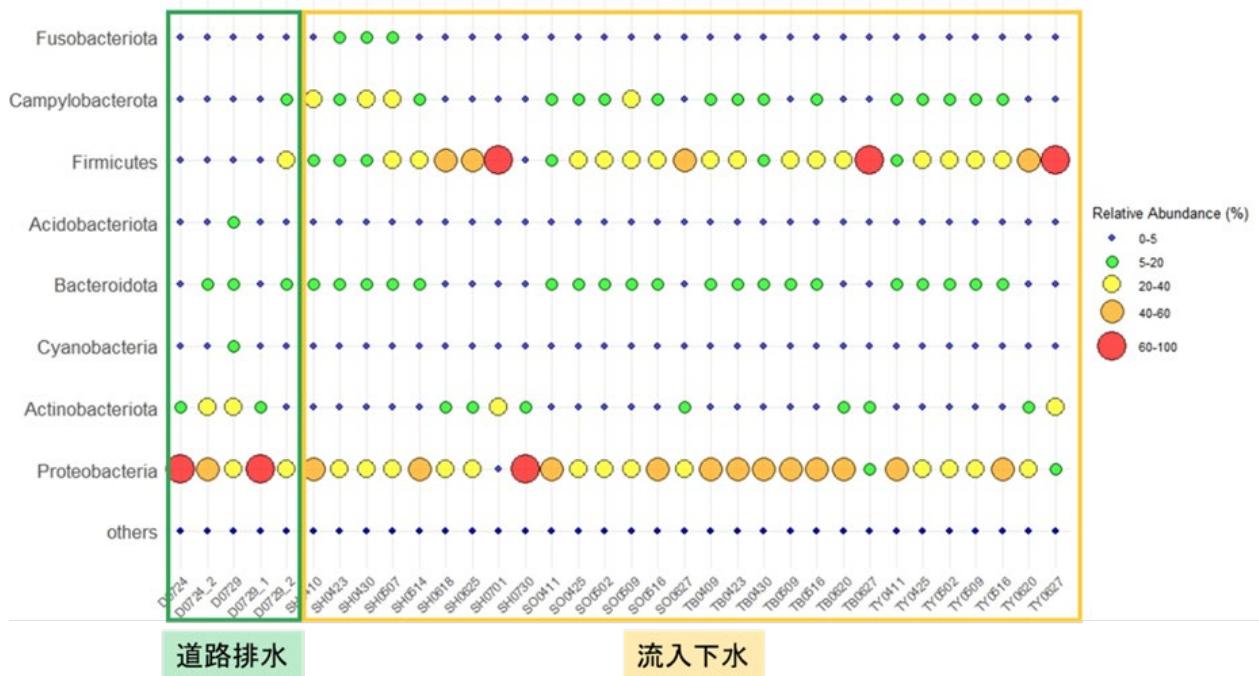


図-13 道路排水と流入下水試料中の細菌叢 (門)

入水の多い区域の絞り込みが可能になると期待される。また、模擬浸入水のEEMスペクトル測定より、浸入水に特有のピークを発見したが、流入下水のEEMスペクトルでは下水由来のピークが顕著であり、浸入水由来のピークは不明瞭で定量的に観測することはできなかった。しかし、EEM-PARAFAC法により蛍光成分を分離し、さらにPARAFACスコアをPCA解析により総合的に評価することで、下水中の雨天時浸入水が土壤由来（浸透地下水）であるか道路排水由来であるか推定できる可能性が示唆された。このことから、EEM-PARAFAC解析は雨天時浸入水発生箇所と規模の推定に有効であることが分かった。今後は、実際に浸入水の原因が絞り込まれている下水道でマンホールからの面的な採水を行い手法の有効性を確かめる他、細菌群集構造についても検討を継続する。

謝辞：本研究は、一般財団法人建設物価調査会による助成を受けて実施されました（研究助成番号第 2024-4 号）。研究にあたり各自治体、北海道大学大学院工学研究院技術職員の谷内翔様、セルスペクト株式会社の平野麗子様、産業技術総合研究所の黒田恭平博士、神戸大学大学院農学研究科の木田森丸先生、北海道大学工学部水環境保全工学研究室の Mohamed Shayan 博士はじめ研究室メンバーに多大なご協力をいただきました。ここに記して深く感謝の意を表します。

参考文献

1) 国土交通省 水管理・国土保全局 下水道部 デジタル技術を活用した雨天時浸入水調査技術一覧

(2023). https://www.mlit.go.jp/mizukokudo/sewerage/mizukokudo_sewer-age Tk_000639.html (2025-02-18)

- 2) 真家永光 (2009) 近年の腐植物質分析法の展開 : 1. 三次元蛍光分析. 日本土壤肥料学雑誌, 80(4), 419-426.
- 3) Stedmon, C. A., Markager, S., Bro, R. (2003) Tracing dissolved organic matter in aquatic environments using a new approach to fluorescence spectroscopy. Marine Chemistry. 82(3-4), 239-254.
- 4) YAMAGUCHI, T., YAMASHITA, N., TANAKA, H. (2018) EEM-PARAFAC による河川水中の溶存態有機物の動態へ及ぼす雨天時都市下水の影響検討. 土木学会論文集 G (環境), 74(7), III_275-III_284.
- 5) IKEDA, K., KAKIMOTO, T. (2018) 河川水質モニタリングへの EEM-PARAFAC 法の適用に関する基礎的検討 : BOD の推測. 土木学会論文集 G (環境). 74(7), III_265-III_274.
- 6) Herlemann, D. P. R., Labrenz, M., Jürgens, K., Bertilsson, S., Wanek, J. J., Andersson, A. F. (2011) Transitions in bacterial communities along the 2000 km salinity gradient of the Baltic Sea. The ISME Journal, 5(10), 1571-1579.
- 7) Bolyen, E., Rideout, J., Dillon, M., et al. (2019) Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. Nature biotechnology, 37(8), 852-857.
- 8) Callahan, B. J., Mcmurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Johnson, A. J. A., Holmes, S. P.

(2016) DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature methods*, 13(7), 581-583.

- 9) Rognes, T., Flouri, T., Nichols, B., Quince, C., Mahé, F. (2016) VSEARCH: A versatile open source tool for metagenomics. *PeerJ*, 4, e2584.
- 10) Coble, P.G. (1996) Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation–emission matrix spectroscopy. *Marine Chemistry*, 51(4), 325-346.
- 11) Hudson, N., Baker, A., Reynolds, D. (2007) Fluorescence analysis of dissolved organic matter in natural, waste and polluted waters—a review. *River Research and Applications*, 23(6), 631-649.
- 12) Sugino, K.Y., Ma, T., Paneth, N., Comstock, S.S. (2021) Effect of environmental exposures on the gut microbiota from early infancy to two years of age. *Microorganisms*, 9(10), 2140.
- 13) Smith, A. J. H., Potvin, L. R., Lilleskov, E. A. (2015) Fertility-dependent effects of ectomycorrhizal fungal communities on white spruce seedling nutrition. *Mycorrhiza*, 25(8), 649-662.