

200738011B

厚生労働科学研究費補助金

地域健康危機管理研究事業

残留塩素に依存しない
水道の水質管理手法に関する研究

平成17～19年度 総合研究報告書

平成20年3月

主任研究者 国包章一（国立保健医療科学院）

目 次

| | |
|---------------------------|-------|
| 研究班の構成 | 1 |
| I. 総合研究報告書 | 3 |
| 残留塩素に依存しない水道の水質管理手法に関する研究 | |
| | 国包 章一 |
| II. 研究成果の刊行に関する一覧表 | 23 |
| III. 研究成果の刊行物・別刷 | 27 |

研 究 班 の 構 成

主任研究者

国立保健医療科学院水道工学部長

国 包 章 一

分担研究者

京都大学大学院工学研究科教授

伊 藤 禎 彦

お茶の水女子大学大学院人間文化創成科学研究科准教授

大 瀧 雅 寛

国立保健医療科学院水道工学部

生活衛生適正技術開発主任研究官

島 崎 大

県立広島大学生命環境学部教授

西 村 和 之

北海道大学大学院工学研究科教授

船 水 尚 行

研究協力者

京都大学大学院工学研究科

石 川 卓

北海道大学大学院工学研究科

伊 藤 竜 生

国立保健医療科学院水道工学部

岩 田 和 隆

京都大学大学院工学研究科

大河内 由美子

京都大学大学院工学研究科

小 寺 恵 介

国立保健医療科学院水道工学部

春 日 郁 朗

国立保健医療科学院水道工学部

高 井 正 子

京都大学大学院工学研究科

高 橋 恭 介

北海道大学大学院工学研究科

野 口 友 寛

厚生労働科学研究費補助金

地域健康危機管理研究事業

残留塩素に依存しない
水道の水質管理手法に関する研究

平成17～19年度 総合研究報告書

平成20年3月

主任研究者 国包章一（国立保健医療科学院）

厚生労働科学研究費補助金（地域健康危機管理研究事業）
総合研究報告書

残留塩素に依存しない水道の水質管理手法に関する研究

主任研究者 国包章一 国立保健医療科学院水道工学部長

研究要旨 わが国の水道では塩素消毒と残留塩素保持が義務づけられているが、これらは消毒副生成物の生成に伴う健康リスク増大やカルキ臭の発生に伴う快適性喪失の原因となっており、国民の水道水に対する不安や不信感の要因ともなっている。本研究は、水道水の安全性および快適性のさらなる向上を目的として、わが国の水道の現状と最新の知見に照らして残留塩素保持の意義を再検討し、残留塩素に依存しない水道水質管理のあり方を明らかにすることを目的として実施した。基礎情報として、諸外国の水道における消毒及び給配水水質管理の状況、病原微生物による水道水源等の汚染と感染事例、および、消毒技術による微生物損傷性や塩素代替技術の管理手法に関する文献調査を実施し取りまとめた。日本国内の浄水系をシミュレーションするための類型化、残留塩素に依存しない系において懸念される、配水管網や給水系内における微生物の再増殖のシミュレーション法、および、病原微生物と消毒副生成物による健康リスクの推算とその DALY 値を用いた比較方法を確立し、消毒剤の残留効果が無い場合を想定した健康影響リスク推算を行った。また、クロロ酢酸類および SRNOM 塩素処理生成物の *in vitro* バイオアッセイの結果と慢性毒性試験結果（文献値）から、SRNOM の塩素処理により生成する TOX の毒性は、ジクロロ酢酸と同程度かより強いことが判明した。一般的な水道水の TOX 値は、ジクロロ酢酸の水道水質基準値の 4～5 倍であり、TOX を指標とした消毒副生成物リスクの総括的評価の重要性が示唆された。水道水中のエンドトキシンの塩素処理を含めた浄水処理プロセスによる除去等につき検討し、遊離エンドトキシン比率という指標を用いることにより、微生物再増殖が進んだ試料を選別することができることを示した。また、消毒を目的とした二酸化塩素処理において接触時間や添加濃度が不十分な場合には、AOC が増加する可能性があることを明らかにした。給配水過程での重要な水質指標である従属栄養細菌数につき、BrdU 標識 DNA 合成量を指標とすることにより、7 日後に得られる R2A 平板培養数を 36 時間程度で予想可能であることを示し、感度の面からも水道水に適用可能であることを確認した。塩素、紫外線、オゾンおよび二酸化塩素を用いた消毒における大腸菌の損傷作用機構を検討し、これらの各々が病原細菌に与える損傷レベルを推定した。塩素は CT 値によって損傷レベルが異なり、オゾンは pH の影響を大きく受けた。紫外線照射装置の不活化効率を測定するための生物線量計として、原水中の一般細菌をそのまま用いる方法を新しく提案した。配水過程における微生物再増殖につき室内実験を行い、付着微生物量が 2～3 週間で定常状態に達すること、定常状態における付着微生物量や細菌種は水中の残留塩素濃度レベルや壁面の材質および粗度に応じて異なること、付着微生物量は残留塩素濃度の一時的な上昇によって急減するが、その濃度が元のレベルに戻ると速やかに回復すること等を明らかにした。オゾン-活性炭処理を導入している浄水場を対象として、原水および活性炭表面に付着している真正細菌や真核生物の群集構造を比較し、活性炭表面上に類似した微生物群集構造が形成されていることを示した。以上の成果をふまえて、給配水過程において水道水の水質を良好な状態に保つための条件、ならびに、このことに関する今後の検討課題につき明らかにした。

| | | |
|-------|------|-------------------------------|
| 分担研究者 | 伊藤禎彦 | 京都大学大学院工学研究科教授 |
| | 大瀧雅寛 | お茶の水女子大学大学院人間文化研究科准教授 |
| | 島崎 大 | 国立保健医療科学院水道工学部生活衛生適正技術開発主任研究官 |
| | 西村和之 | 県立広島大学生命環境学部教授 |
| | 船水尚行 | 北海道大学大学院工学研究科教授 |

A. 研究目的

水道における塩素消毒と残留塩素の保持は、トリハロメタン等消毒副生成物の生成に伴う健康リスクの増大や、カルキ臭の発生に伴う快適性の喪失をもたらすことが問題であり、また、先に水道水の汚染に起因して集団感染事故をもたらした原虫クリプトスポリジウムは、通常の条件では塩素消毒による不活化が全く期待できないこともよく知られている。本研究では、今日の水道における残留塩素保持の意義と必要性を、わが国の水道の現状と最新の知見に照らして再検討し、残留塩素に依存しない新しい水道水質管理のあり方を明らかにすることにより、水道水の安全性及び快適性のより一層の向上を図ることを目的とした。

B. 研究方法

1. 残留塩素に依存しない水道の水質管理手法に関する文献調査

本研究の基礎として、諸外国の水道における消毒及び給配水水質管理の状況、病原微生物による水道水源等の汚染および感染事例、ならびに、消毒技術による微生物損傷性および塩素代替技術の管理手法に関する文献調査を実施し、文献レビューとして取りまとめた。

2. 給配水過程における健康リスクに関する検討

健康リスクを評価すべき対象を定め、これらの浄水場および給配水系での変化を記述するモデルの構築を行った。対象としては病原微生物と消毒副生成物を取り上げた。病原微生物については、水や食品に関連する感染症の実態を調査した。消毒副生成物については、分担研究者伊藤らの研究結果を参考にした。給水栓における対象物質の濃度分布に影響を与える要因として、(a)原水水質、(b)処理効率、(c)配水管網の規模・構造、(d)高架水槽を取り上げ、日本の実情にあわせたシミュレーションを行うための数値を水道統計より定めた。モデル中のパラメータの値を決定するため、分担研究者島崎らが実施した、アニュラーリアクターを用いた配水管網内微生物再増殖実験結果との照合を行った。最後にこれらのモデルを用い、病原微生物と消毒副生成物に関する健康リスクを推算した。

3. 消毒副生成物による健康リスクの総括的評価および塩素処理と免疫毒性の関連に関する検討

(1) 消毒副生成物による健康リスクの総括的評価に関する検討

クロロ酢酸類の慢性毒性試験について文献考察を行った。また、クロロ酢酸類および Suwannee River Natural Organic Matter (SRNOM) 塩素処理水中の全有機ハロゲン化合物 (TOX) を対象として、染色体異常試験、2 段階形質転換試験および非 2 段階形質転換試験を実施した。文献考察の成果と実施した *in vitro* バイオアッセイ結果との相関性を利用して、SRNOM 塩素処理水の毒性推定を試みた。

(2) 塩素処理と免疫毒性との関連性に関する検討

① 浄水処理過程におけるエンドトキシンの除去特性および毒性の変化

近畿地方の高度浄水処理施設を対象として採水調査を行い、プロセス毎のエンドトキシン除去特性とその形態変化を調べた。また、ヒト表皮角化細胞を用いて *E. coli* 由来の精製 LPS による細胞毒性試験を行った。さらに、水道水および前述の浄水場から採取した水試料の分画・濃縮を行い、各画分の細胞毒性試験を同様に行った。

② 再増殖微生物に対する迅速検出法の検討

京都市内の給水栓水 (40 地点) を対象とした採水調査を実施し、従属栄養細菌数 (HPC) およびエンドトキシン濃度、同化性有機炭素 (AOC) 濃度の実態を調べた。また、チオ硫酸ナトリウムにより残留塩素を中和した試料を 20°C で保存し、1 日後、7 日後の HPC とエンドトキシン濃度の関係を調べた。さらに、ハロゲン化 DNA アナログとして 5-ブromo-2'-デオキシウリジン (BrdU) を添加した R2A 液体培地を用いて、数段階の微生物濃度に設定したモデル微生物 (*Pseudomonas fluorescens* P17) を 5 時間培養し、マイクロプレート上に固定化した後に細胞壁消化-DNase 処理を行い、細胞内に取り込まれた BrdU をペルオキシダーゼ標識抗体を用いて検出した。ペルオキシダーゼ基質には ABTS を使用した。

4. 給配水過程における健康リスクと消毒技術に関する検討

(1) 水道水源における健康影響微生物量の把握

旧庄原市部の水道水源である一級河川江の川水系に属する西城川は、広島県北東部を流れる比較的清浄な河川であるが、流域は酪農地帯であり家畜排泄物等の混入が認められる。このことから、平成

17年12月から平成20年2月の間に採水と採泥を実施し、クリプトスポリジウム・オーシスト、レジオネラ属菌及び*Ba. Cereus*（セレウス菌）や腸管系微生物等について実態調査を行った。微生物の検出は、上水試験方法に準拠するとともにPCR法を活用した検出法を用いて行った。

(2) 二酸化塩素処理による不活化条件の検討

残留塩素に依存しない水道システムでは、感染性微生物に対する安全性が確保できる消毒処理が上水施設において実施されるとともに、配水管網内での微生物汚染に関する対策も考慮されなければならない。配水管網内での微生物汚染は、供給水中のAOC濃度の低減によりある程度は抑えることが可能となる。これらのことから、浄水場おける消毒技術として導入が見込まれる二酸化塩素処理に着目し、過去の微生物汚染の原因微生物として検出頻度の高い*Salmonella enterica*と耐塩素性のレジオネラ菌について不活化条件を調べた。

(3) AOCと消毒剤との反応性に関する検討

消毒に用いる塩素剤や二酸化塩素は、AOC等の有機物の低減にも効果が望めることから、微生物除去に必要な処理条件におけるAOC濃度の変化についてKooijらの定法に準拠して調べた。

5. 消毒技術に関する検討（消毒代替技術間の消毒機構の比較及びそれら代替技術の管理手法の開発）

(1) 各消毒法における大腸菌の損傷レベルの比較

病原細菌の代替細菌として大腸菌を用いた。塩素、紫外線、オゾンおよび二酸化塩素による不活化処理を大腸菌（NBRC3301）に施し、その濃度変化を異なる培地により計測した。用いた培地はタンパク質の代謝能力をもつ大腸菌が増殖できる非選択培地（以下、TSA）、デスオキシコーレート酸によるグラム陽性菌の増殖抑制による選択性をもつ培地（以下、DESO）、乳酸代謝酵素であるβグルクローゼ生成の検出による選択性を持つ培地（以下、C-EC）である。これらの培地により計測される不活化率の違いが、大腸菌に与える損傷レベルを示唆するものと考えた。またオゾン処理に関しては、大腸菌細胞をDAPI/PI染色液で染色し、細胞膜の活性を顕微鏡観察によって調べ、培養結果から推定される損傷レベルとの整合性を検証した。

(2) 紫外線消毒装置の運転管理手法の提案

紫外線装置の消毒効率を測定する方法として、紫外線耐性が既知の培養微生物を投入して、その不活化率から照射線量を測定する生物線量計による方法が用いられている。しかし、この方法は、装置を現場に設置する前の検証方法として用いられるが、現場で運転中に用いることはできない。そこで原水中に元々存在する微生物を生物線量計として利用する方法を検討した。埼玉県寄居市の地下水を対象とし、土着の一般細菌の紫外線耐性を回分式装置にて検証した。また流通装置において適用し、既存の生物線量計の結果と比較した。

6. 配水管路内における微生物再増殖制御に関する検討

水道の配水システムを模擬した生物膜モニタリング装置（アニューラリアクター）を用い、①残留塩素濃度、②消毒剤の種類、③配水管材質、および、④配水管表面粗度の条件が配水管路内における微生物再増殖性に及ぼす影響につき実験的検討を行った。上記①では、チオ硫酸ナトリウムあるいは次亜塩素酸ナトリウムを水道水に添加し、各システムの遊離塩素濃度がそれぞれ0.0～0.5mg/L前後となるように調整した。上記②では、各システムとも残留塩素を除去した水道水を通水して生物膜を形成させた後、次亜塩素酸ナトリウム、二酸化塩素およびEDTA（生物膜を構成するカルシウムのキレート剤として）を各0.5mg/Lとなるよう添加した。上記③では、鋳鉄、ステンレスおよびコンクリートを試験片として用いた。上記④では、表面粗度の異なる磨りガラス2種類および通常のガラスを試験片として用い、試験片の表面粗度を3段階に設定した。

各実験ともに、流入水、流出水および試験片表面に付着した微生物を定期的に採取し、一般細菌数と従属栄養細菌数を測定した。一部の実験においては、グラム染色法およびAPIキット（日本ビオメリュー株式会社）による細菌種の分類と同定を行った。

7. 水道水における微量有機物および再増殖微生物の特性評価

高度浄水処理の1つであるオゾン-生物活性炭処理では、特に、易分解性有機物を生物学的作用によって除去することが可能であるため、配水管路内における微生物再増殖を抑制する効果が期待されている。ここでは、どのような微生物群集が活性炭表面に構築されているのか遺伝子レベルから明らか

にし、各地の浄水場間の特徴や原水中の微生物群集構造との差異の評価を試みた。オゾン-活性炭処理を浄水処理に導入している全国7箇所の浄水場(A~G)を対象とし、原水、活性炭を採取した。また微生物群集構造の解析には、真正細菌の16S ribosomal RNA 遺伝子(16S rDNA)、および真核生物の18S ribosomal RNA 遺伝子(18S rDNA)を対象としたPCR-クローニング法及び末端制限酵素断片長多型法(Terminal-Restriction Fragment Length Polymorphism法:T-RFLP法)を採用した。活性炭に付着した細菌数(全菌数)の計数は、蛍光顕微鏡を用いて行った。

8. 給配水過程において水道水の水質を良好な状態に保つための条件に関する検討

以上の成果をふまえ、給配水過程において水道水の水質を良好な状態に保つための必要条件につき検討した。

(倫理面への配慮)

人体試料を用いた実験や動物実験等、倫理上問題となるような実験や調査は行っていない。

C. 研究結果

1. 残留塩素に依存しない水道の水質管理手法に関する文献調査

諸外国の水道における消毒および微生物制御に関する基準値、また、残留消毒剤や消毒副生成物に関する水質管理の状況につき概観および比較を行った。病原微生物による水道水源等の汚染および感染事例では、水道水、飲料水、汚染事故、感染症、食中毒あるいは、waterborne disease, outbreak, infectious disease 等のキーワードにより病原性微生物による水道水汚染に関する文献を整理した。また、消毒による微生物損傷性および塩素代替技術の管理手法については、最新の科学的知見から、各消毒技術間の微生物損傷程度の比較や紫外線消毒のモニタリング手法、および、各種ウイルスの紫外線処理における感受性を取りまとめた。

2. 給配水過程における健康リスクに関する検討

(1) 対象物質の選定

病原微生物：国立感染症研究所のデータをもとに、日本における感染症の事例、ならびに水系感染症の事例を調査し、検討対象微生物の選定を試みた。水や食品に関連する14の感染症について感染の報告数または患者数を調査し、現在入手可能なDALY値で重み付けをした結果、本検討ではカンピロバクター、クリプトスポリジウムおよびノロウイルスを対象とすることとした。

消毒副生成物：分担研究者伊藤らの塩素処理水に対する染色体異常試験と形質転換試験結果をもとに、水中有機物濃度→TOX濃度→ジクロロ酢酸の毒性との関連付け→発がんリスク推算という経路による消毒副生成物の発がんリスクの推定法を用意した。

(2) 原水水質+処理系+消毒系+配水池+配水管網+給水系のモデル

入手可能な水質データの中から、有機物の指標として過マンガン酸カリウム消費量、病原微生物の指標として大腸菌群数をとりあげ、統計データをもとに処理系における除去効率とその変動特性を定めた。管網についてはMunavalliら(2004)のモデルを用いた。配水池、高架水槽についても管網モデルを修正したものを作成した。シミュレーションではBDOCの値を用いることから、過マンガン酸カリウム消費量とTOC、そしてDOCとBDOCのおおよその関係をこれまでの測定結果より求めた。

(3) シミュレーション対象の類型化

水道統計にある浄水量、大腸菌群数、過マンガン酸カリウム消費量を指標とした主成分分析により、シミュレーション対象の規模を3種類に分類した。類型化されたシステム、原水水質変動特性は表1のように整理された。

(4) モデルの検証

モデル検証では、分担研究者島崎らによるアンユラーリアクター流出水中の従属栄養細菌濃度を主に検討した。はじめに、残留塩素レベル(なし、0.1mg/L、0.5mg/L)の場合について計算結果と実測結果の比較を行った。残留塩素が存在しない場合の菌数のオーダー(10^5 レベル)は、大きなパラメータ値の変更なしに計算することができた。ただし、実測では約10日程度で菌数がある程度定常値に達しているのに対し、計算では1日間で定常に達するという結果であった。次に、残留塩素が存在する場合については、従属栄養細菌に対する塩素の影響を大きく見積もらないと、実測結果を表現するこ

表 1 シミュレーション対象の類型化

| 類型 | 主要処理方式 | 平均浄水量 M ³ /day | 原水水質変動特性 (上段: 平均値, 下段: 標準偏差) | |
|-----|--------|------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| | | | 過マンガン酸消費量 | 大腸菌群数 |
| I | 急速ろ過 | 40,000 | 平均: $10^{1.09}$ 標準偏差: $10^{0.31}$ | 平均: $10^{4.36}$ 標準偏差: $10^{0.65}$ |
| II | 急速ろ過 | 3,000 | 平均: $10^{0.61}$ 標準偏差: $10^{0.35}$ | 平均: $10^{1.95}$ 標準偏差: $10^{1.85}$ |
| III | 消毒のみ | 1,300 | 平均: $10^{-0.25}$ 標準偏差: $10^{0.38}$ | 平均: $10^{-1.43}$ 標準偏差: $10^{1.15}$ |

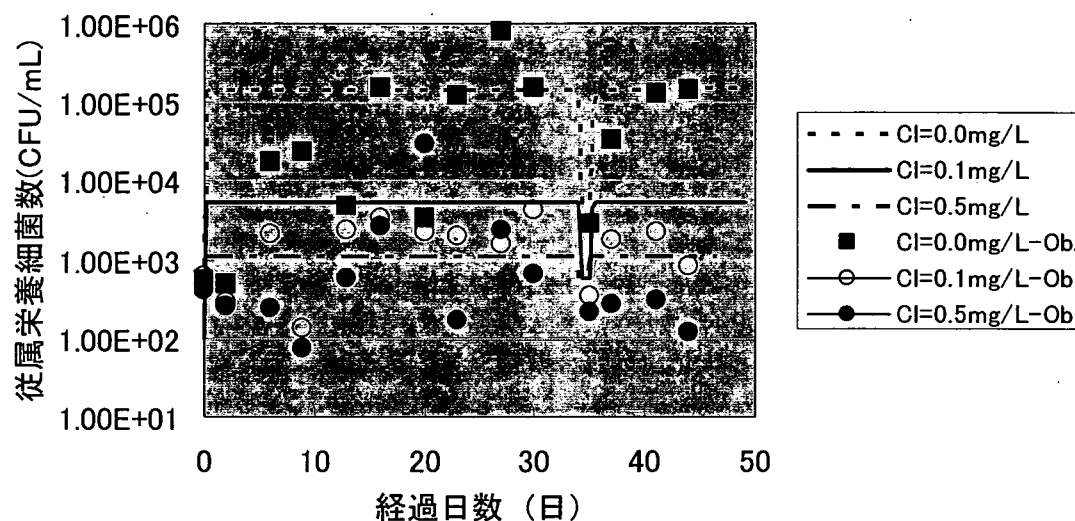


図 1 アニューラーリアクター実測結果と計算結果の比較

とができなかった。また、実験で一部の期間に塩素濃度を増加させた場合の応答は計算可能であった (図 1)。

(5) 健康リスクシミュレーション

消毒剤の残留効果が無い場合を対象にシミュレーションを行った。パイプや高架水槽壁面付着微生物量の経日変化を計算した結果、壁面微生物量は約 1 週間程度で安定することがわかった。また、その微生物量は現状の原水水質 (それにとまう浄水水質) の差に大きく影響されない結果であった。配水管網内の有機物濃度、微生物濃度の空間分布の計算結果より、管網の中流域で有機物が消費され、かつ、微生物濃度が最大となることが示された。

3. 消毒副生成物による健康リスクの総括的評価および塩素処理と免疫毒性の関連に関する検討

(1) 消毒副生成物による健康リスクの総括的評価に関する検討

SRNOM 塩素処理水およびクロロ酢酸類の染色体異常誘発性試験により求めた D20 値、形質転換試験により求めた形質転換率 0.1 超過濃度に対して、文献考察により得られた慢性毒性試験結果をそれぞれプロットした。その結果を表 2 に示す。SRNOM 塩素処理水の染色体異常誘発性はジクロロ酢酸と同程度、形質転換誘発性では二段階試験でクロロ酢酸とジクロロ酢酸の間、非二段階試験ではクロロ酢酸より強いという結果となった。総じて、SRNOM 塩素処理水の毒性はトリクロロ酢酸よりも強く、ジクロロ酢酸またはクロロ酢酸と同程度といえる。そこで、SRNOM 塩素処理水の毒性をジクロロ酢酸と同程度と仮定し、ジクロロ酢酸の現行の水道水質基準値 (0.04mg/L) に対応する TOX 値を算出したところ、22 $\mu\text{g/L}$ となった。また、米国 EPA で現在進められている消毒処理水の総括的な毒性評価プロジェクトの枠組みを示した (図 2)。

表 2 SRNOM 塩素処理水の毒性の相対評価

| | 染色体異常誘発性 D20値 (mg Cl/L) | 形質転換誘発性 | |
|---------------|----------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | | 二段階試験 | 非二段階試験 |
| | | 誘発率0.1超過濃度 (mg Cl/L) | 誘発率0.1超過濃度 (mg Cl/L) |
| クロロ酢酸 (MCA) | 12 | 0.21 | 6.0 |
| ジクロロ酢酸 (DCA) | 25 | 8.3 | 36 |
| トリクロロ酢酸 (TCA) | 110 | 79 | 550 |
| SRNOM塩素処理水 | 33 | 0.83 | 0.71 |

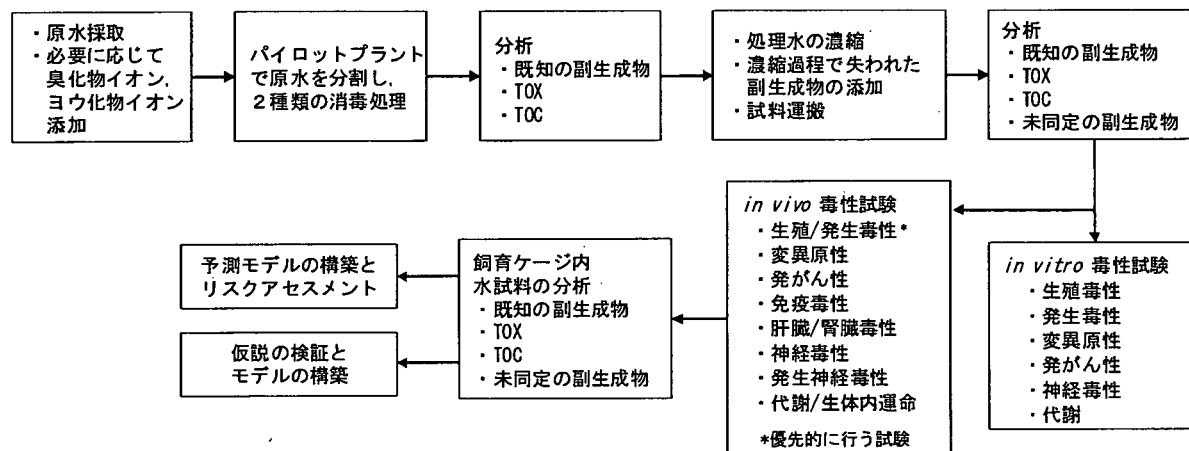


図 2 米国 EPA における消毒処理水の毒性評価フロー

(2) 塩素処理と免疫毒性との関連性に関する検討

① 浄水処理過程におけるエンドトキシンの除去特性および毒性の変化

図 3 に示すように、エンドトキシンは急速ろ過プロセスにおいて良好に除去されるものの、活性炭処理ではむしろ増大し、高度浄水処理水中でも約 10 EU/mL の濃度で残存した。また、オゾン処理後や塩素消毒後の試料では遊離エンドトキシンの存在割合が増加することがわかった。一方、ヒト表皮角化細胞を用いた細胞毒性試験結果からは、エンドトキシンを含む高分子有機物画分に強い細胞毒性が確認された。なお、浄水処理によりこの毒性は確実に低減するものの、活性炭処理後においてもなお大腸菌由来精製 LPS を上回る細胞毒性が確認された (図 4)。

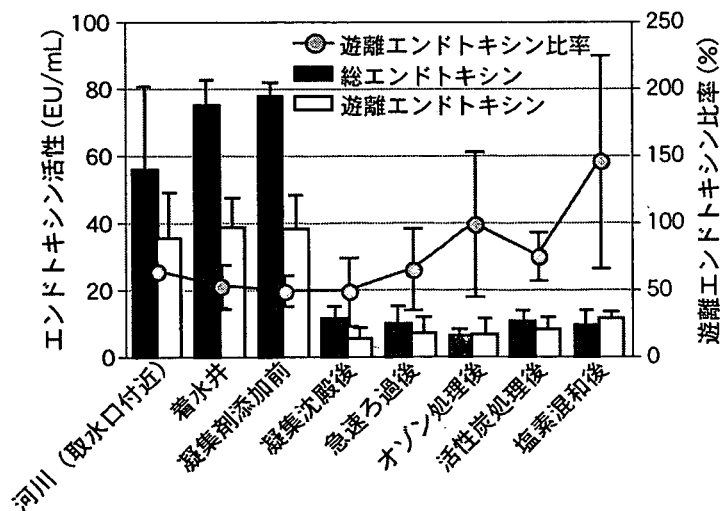


図 3 浄水処理過程におけるエンドトキシンの挙動

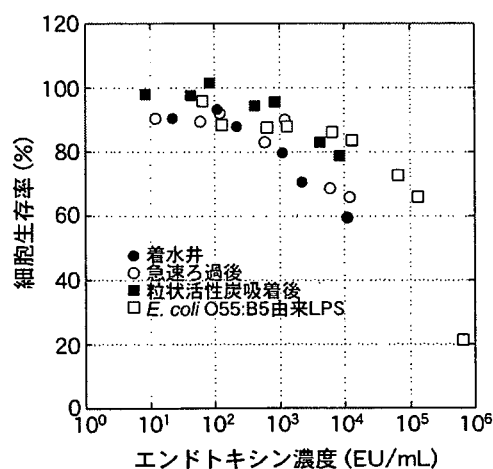


図 4 高分子有機物画分の細胞毒性試験

②再増殖微生物に対する迅速検出法の検討

給水栓水を対象とした調査の結果、AOC濃度は $59.8 \pm 15.6 \mu\text{g/L}$ であり、40地点中29地点で $50 \mu\text{g/L}$ より高い値を示した。採水直後の遊離エンドトキシン比率 (=遊離エンドトキシン/総エンドトキシン) は $101 \pm 15\%$ であった。一方、残留塩素を中和した25試料のうち6試料で7日後の従属栄養細菌数が顕著に増加し、図5に示すように遊離エンドトキシン比率が $23.1 \pm 13.1\%$ と著しく低下した。残留塩素を除去した水道水を用いたアニュラーリアクター連続通水試験においても、微生物再増殖の結果として水中の浮遊従属栄養細菌数が $5 \times 10^3 \text{ cfu/mL}$ を超えた場合に遊離エンドトキシン比率が70%未満に低下することが示された(図6)。さらに、5時間培養後の *P. fluorescens* P17 の BrdU 標識 DNA 量は、R2A 平板培地を用いた計数結果の対数値に比例することを確認した(図7)。

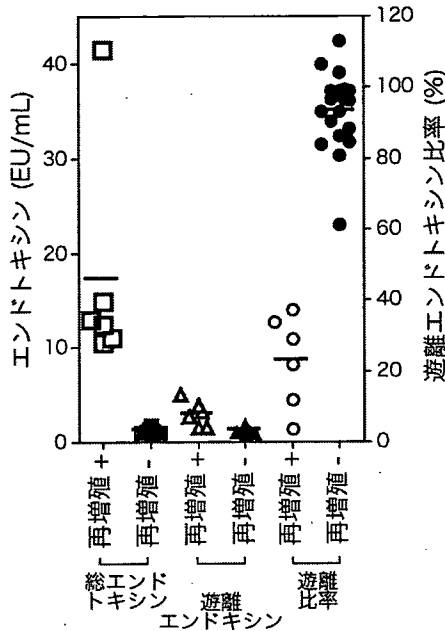


図5 微生物再増殖によるエンドトキシン変化(回分試験)

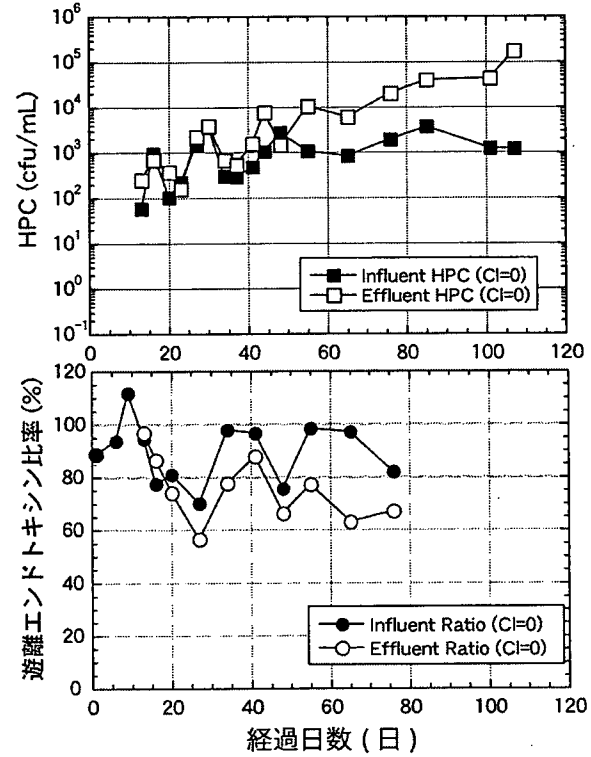


図6 連続通水試験における流出水中のエンドトキシン変化

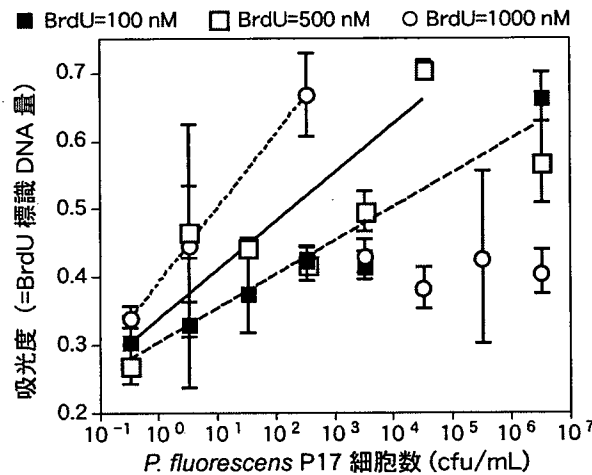


図7 BrdU 法によるモデル微生物細胞数と吸光度の関係

4. 給配水過程における健康リスクと消毒技術に関する検討

(1) 水道水源における健康影響微生物量の把握

主として冬季に計8回の採水等を行い、西城川水系における健康影響微生物量の把握を行った。クリプトスポリジウム・オーシストは、1回約100Lの河川水を採取して中空糸膜による濃縮の後に、シ

ヨ糖沈殿法と磁気ビーズ法を併用した精製を行うことにより、最大5個のオーシストがPCR法を活用したRNA検出法により検出された。これらの試料について別途 *hsp70* をターゲットとしたPCRによりホモロジー解析を行った結果では、ヒト型またはウシ型との相同性が認められた(表3)。

一方、レジオネラ菌に関しては、コロニーカウント法でもリアルタイムPCR法でも明確な陽性判定は認められなかった。また、セレウス菌等に関しては、腸内細菌群やビブリオ菌群を検出する反応系において陽性となったが、セレウス菌は検出されなかった。

表3 水道水源におけるクリプトスポリジウムの存在数および同定結果

| 検出法 | | 地点 | | 2007/10/6 | | | | |
|--------------|------|---------------------|----|-----------|---------------------|----------------------------|-----|-----|
| | | | | 河川水量 | 底泥サンプル量 | | | |
| | | | | | 80L | 5g | 10g | 50g |
| RNA法 | 比和川橋 | 0個 | 0個 | 0個 | 0個 | 0個 | | |
| | 富士湧橋 | 1個 | 0個 | 0個 | 0個 | 3個 | | |
| 顕微鏡観察法 | 比和川橋 | 0個 | 0個 | 0個 | 0個 | 0個 | | |
| | 富士湧橋 | 0個 | 0個 | 0個 | 0個 | 0個 | | |
| HSP70による同定結果 | 比和川橋 | — | — | — | — | — | | |
| | 富士湧橋 | <i>C.parvum</i> ウシ型 | — | — | <i>C.parvum</i> ウシ型 | <i>C.parvum</i> ウシ型 ヒト型 | | |
| 検出法 | | 地点 | | 2008/2/5 | | | | |
| | | | | 河川水量 | 底泥サンプル量 | | | |
| | | | | | 73L | 5g | 10g | 50g |
| RNA法 | 比和川橋 | 0個 | 0個 | 0個 | 0個 | 1個 | | |
| | 富士湧橋 | 5個 | 0個 | 0個 | 1個 | 3個 | | |
| 顕微鏡観察法 | 比和川橋 | 0個 | 0個 | 0個 | 0個 | 0個 | | |
| | 富士湧橋 | 1個 | 0個 | 0個 | 0個 | 0.5個 | | |

(2) 二酸化塩素処理による不活化条件の検討

紫外線照射やオゾン処理による不活化実験により、菌数計測に用いられる培地の特性により消毒効果の判定結果に違いが生じる可能性が示されていることから、非常に広範囲の微生物の培養が可能な Tryptic Soy Agar (TSA 培地) とグラム陽性微生物の生育が抑制されるデスオキシコーレート寒天培地を用い、二酸化塩素処理による *S. enterica* の不活化実験を行った。比較のために次亜塩素酸による塩素処理実験も合わせて実施した。消毒剤濃度条件を 0.1、0.14、0.24mg/L、処理時間を 0~3 分の範囲で消毒処理を行い、プレートカウント法により残存率を求め、99%不活化に要する消毒剤濃度と処理時間の関係を求めた。99%不活化に要する CT 値は、デスオキシコーレート寒天培地とコンパクトドライ SL では同じ傾向を示す一方、TSA 培地による計数結果は、デスオキシコーレート寒天培地よりも高い計数値を示した。TSA 培地による計数値とデスオキシコーレート寒天培地による計数値との差がデスオキシコーレート酸による阻害を受けた微生物数を表すと考えると、二酸化塩素や次亜塩素酸ナトリウムにより最大 1桁程度の微生物数がデスオキシコーレート酸耐性を失うものと考えられた。また、処理実験から求めた 99%不活化に要する CT 値は、デスオキシコーレート寒天培地による評価結果の方が TSA 培地による評価結果よりも小さくなる傾向にあると同時に、二酸化塩素処理の方が次亜塩素酸処理よりも 1桁程度大きい値となった。

(3) AOC と消毒剤との反応性に関する検討

平均 TOC 濃度 8.9mg/L の採水日の異なる生活排水処理水について、塩素と二酸化塩素として各々 1~5mg/L となるように次亜塩素酸ナトリウム溶液と二酸化塩素溶液を加えて 0~60 秒間の処理を行い、生活排水処理水と消毒剤が反応した場合の AOC 濃度の変化を検討した。処理前後の AOC の濃度比 AOC/AOC₀ は、消毒剤に係わらず一度増加した後に一定になる傾向を示し、一度増加する処理時間は消毒剤や濃度に係わらず同じであったが、増加幅は二酸化塩素の方が大きく、より低い消毒剤濃度で大きな増加を示す傾向にあった。

5. 消毒技術に関する検討 (消毒代替技術間の消毒機構の比較及びそれら代替技術の管理手法の開発)

(1) 各消毒法における大腸菌の損傷レベルの比較

図8に塩素および紫外線処理における選択培地 (DESO) と非選択培地 (TSA) で測定された大腸菌の不活化率の相関を示す。点線は両測定方法が、同結果となることを意味するが、ほぼ全てのデータが点線より下部に位置する。これは選択培地の選択性によって増殖が出来ないが、普通寒天では増殖出来るというような亜致死的損傷を示すと考える。図9は、オゾンおよび二酸化塩素処理における大腸菌濃度変化を、一次反応とみなして速度定数で比較したものである。オゾンは主に DESO 培地の選択性による増殖阻害を受けやすい状態となったことがわかる。二酸化塩素はオゾンと異なり、C-EC 培地の選択性による増殖阻害を受けやすい状態となっており、オゾン、二酸化塩素は、異なる作用機構によって大腸菌に影響を及ぼしたことがわかる。図10に、オゾン処理における大腸菌濃度変化を、培地法と DAPI/PI 染色法で測定した結果を示した。DAPI/PI 染色法による不活化率判定は、DESO 培地の判定結果と同様の挙動を示すことがわかった。

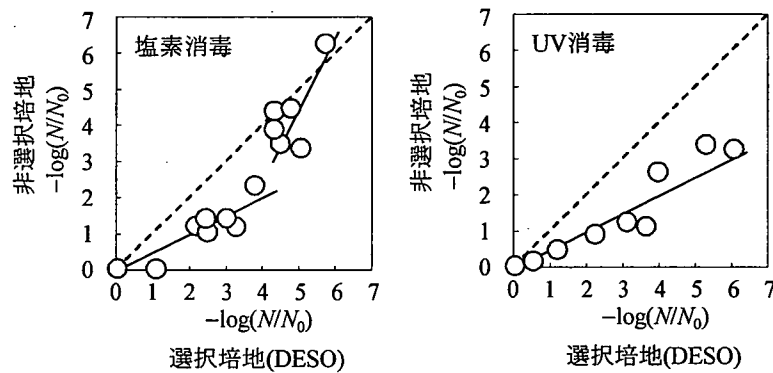


図8 異なる培地によって測定される不活化率の相関

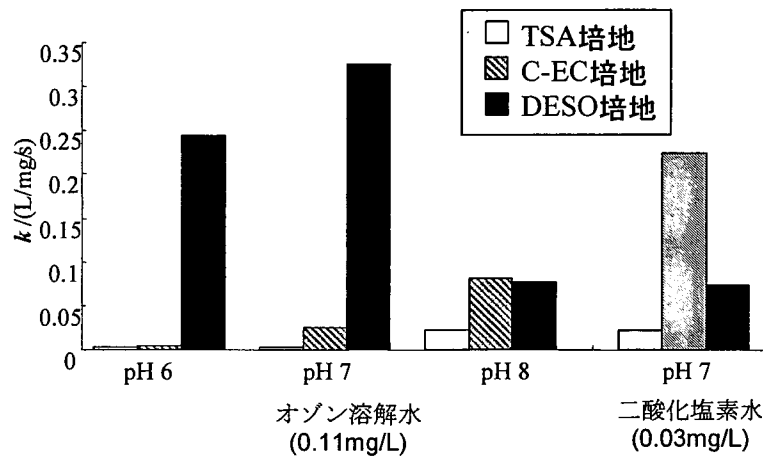


図9 オゾンおよび二酸化塩素による大腸菌不活化速度定数の比較

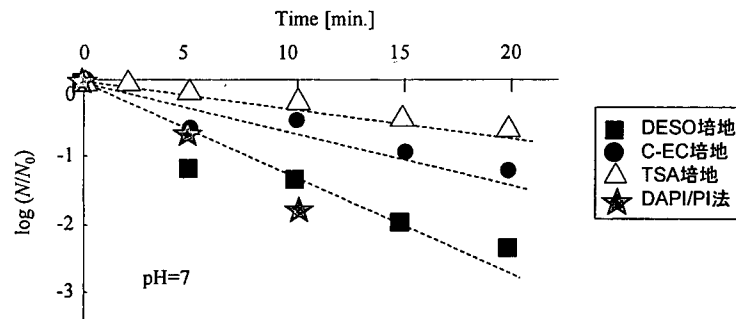


図10 DAPI/PI 法および複数培地法にて測定したオゾン曝気による大腸菌数の変化 (pH 7)

(2) 紫外線消毒装置の運転管理手法の提案

複数日にわたって地下水一般細菌の紫外線耐性を回分式試験によって計測した結果、異なる採水日においてもほぼ同一の不活化傾向を示し、かつ2段階の一次反応式で表すことができることがわかり、線量計として使用できる可能性が示唆された(図11)。また流水式装置において異なる4つの流量条件にて、生物線量計による線量測定データを40~60点採り、各データの標準偏差を求めたところ、流量条件による違いは見られなかった。

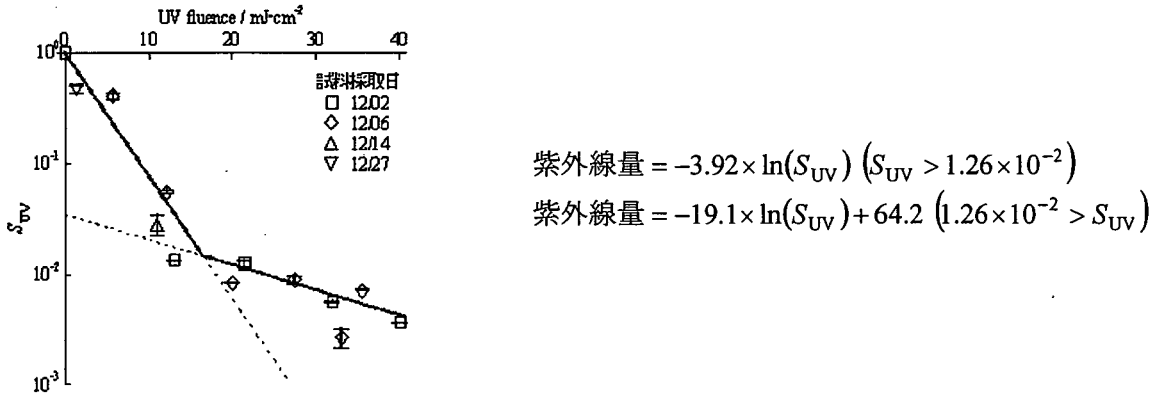


図11 回分式UV照射装置における一般細菌の不活化と回帰式

6. 配水管路内における微生物再増殖制御に関する検討

遊離塩素濃度を3段階(0.0mg/L、0.1mg/L、0.5mg/L)に設定した場合の試験片表面の一般細菌密度および従属栄養細菌密度を図12および図13に示す、塩素濃度が高いほど微生物の再増殖が抑制されたが、管内面に付着する生物膜や流出水中の微生物濃度は、いずれの塩素濃度においても、通水開始当初は増加していくものの15~20日程度で定常状態となり、それ以降は増加しなかった。定常期における従属栄養細菌の付着量は、残留塩素濃度0.0mg/Lの場合に比べて、0.1mg/Lでは2桁程度、0.5mg/Lでは3桁程度抑制され、定常期における従属栄養細菌の流出水中濃度は、残留塩素濃度0.0mg/Lの場合に比べて、0.1mg/L、0.5mg/Lともに2桁程度抑制された。また、微生物の付着量および流出水中の微生物濃度が定常に達した後、有効塩素濃度を1.0~1.2mg/Lとして1日間通水したことにより、いずれの遊離塩素濃度の場合も微生物の付着量および流出水中の微生物濃度は一時的に減少したが、その後5日前後で残留塩素濃度を高める前の数値前後まで回復した。

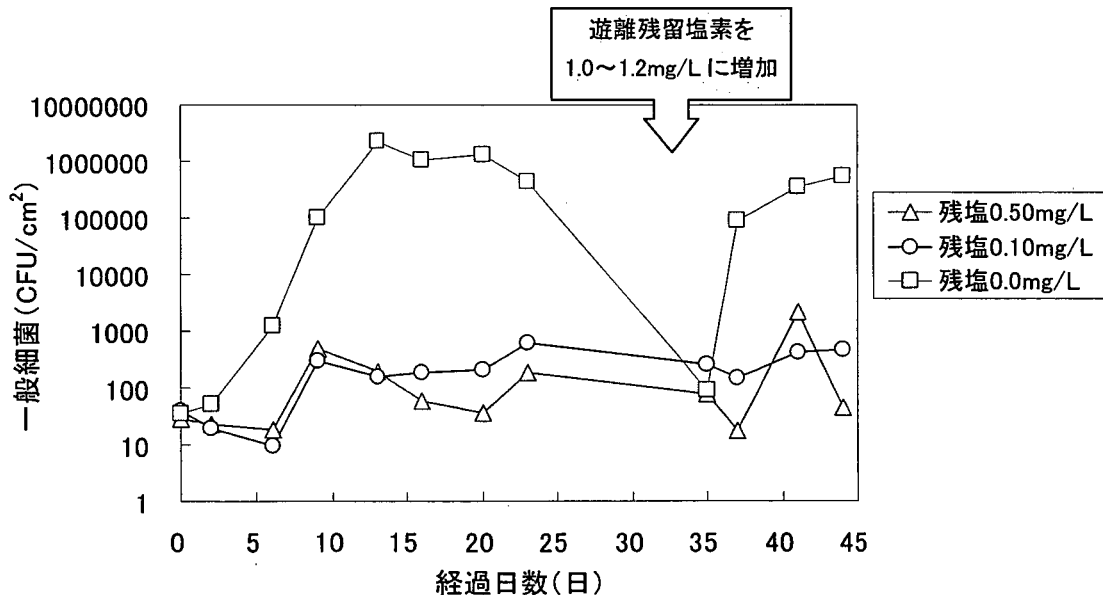


図12 異なる残塩濃度における試験片表面の一般細菌密度の推移

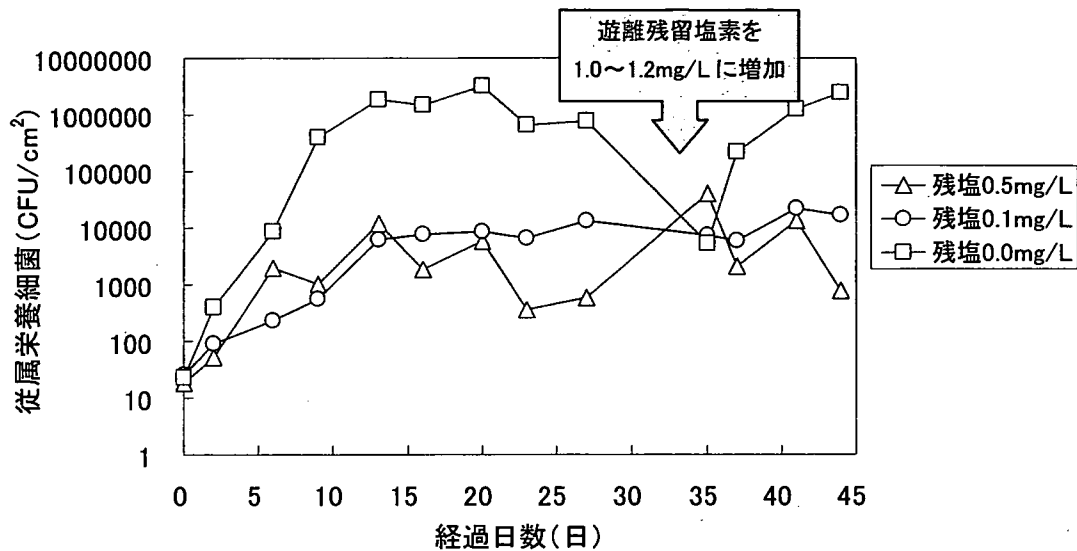


図 13 異なる残塩濃度における試験片表面の従属栄養細菌密度の推移

消毒剤の種類による影響として、残留塩素無しの水道を3週間通水し生物膜が十分に形成されたリアクター内に、次亜塩素酸ナトリウム、二酸化塩素溶液、EDTAを各0.5mg/L添加したところ、二酸化塩素の方が次亜塩素酸ナトリウムよりも強い消毒効果を示した。EDTAの添加による生物膜の剥離は見られなかった。配水管の材質を変えた実験では、残留塩素無しの水道を連続通水した場合の試験片表面上の細菌数は、材質が铸铁の場合に多く、定常期の一般細菌数および従属栄養細菌数はともに他の材質（ステンレスおよびコンクリート）よりも1桁前後増大した。一方、流出水中の細菌数はいずれも同程度であった。配水管の表面粗度については、ガラス製の試験片を加工して表面粗度を3段階（すりガラス2種類と普通のガラス）に設定し、残留塩素なしで通水したところ、生物膜の形成速度は表面が細かい程速くなった。付着した微生物濃度は普通の平滑なガラスと比較すると、表面が細かいすりガラスは2桁、粗いすりガラスは1桁大きくなった。試験片表面上の細菌群は、材質や次亜の添加による影響を受け、グラム染色陽性菌および陰性菌の割合（図14）や、同定された細菌種について相違が見られた。

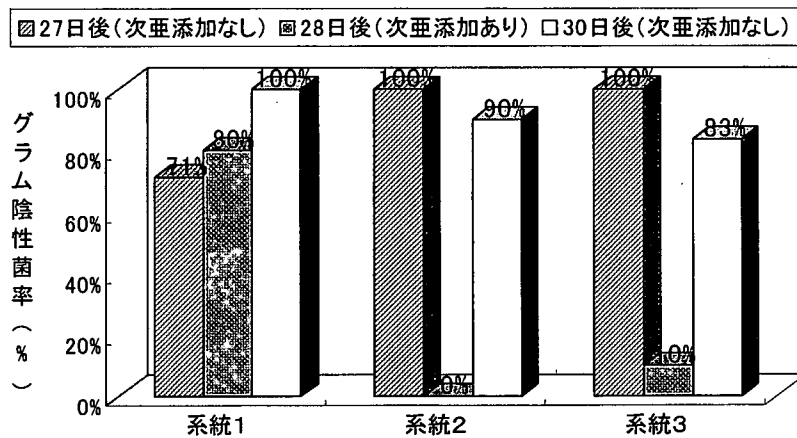


図 14 次亜塩素酸ナトリウム添加有無におけるグラム陰性菌率の変化

7. 水道水における微量有機物および再増殖微生物の特性評価

オゾン-活性炭処理を導入している全国7箇所の浄水場の活性炭試料の付着細菌数を評価したところ、浄水場によらずほぼ $10^8 \sim 10^9$ cells/g (湿重量)の細菌が付着していた。また、浄水場A、Bでは、逆洗工程によって全菌数はそれぞれ36%、64%に減少した。浄水場Bの原水、活性炭試料からクローンライブラリーを構築した。16S rDNAの解析の結果、原水では藍藻類に近縁なクローンが優占していたのに対して、活性炭では β -Proteobacteria、Acidobacteria、Planctomycetesなどに近縁なクローン

が優占していた (図 15)。一方、18S rDNA の解析では、原水では真核藻類に近縁なクローンが優占していたのに対して、活性炭からは原生動物 *Cercomonas* や、後生動物 *Chaetonotus* に近縁なクローンが得られた。16S rDNA、18S rDNA を対象として、原水、活性炭、生物接触酸化装置担体の真正細菌群集、真核生物群集を T-RFLP 法によって解析した。

8. 給配水過程において水道水の水質を良好な状態に保つための条件に関する検討
給配水過程において水道水の水質を良好な状態に保つためには、①浄水処理における消毒が十分であること、②配水水質並びに配水システム (特に管路) の内面が良好な状態に保たれていて、腐食や生物再増殖による水質悪化が問題とならないこと、③配水過程における外部からの再汚染のおそれがないこと、④給水栓水の定期的な水質検査などが適切に行われていること等が重要な条件となるものと考えられた。また、これらに関連して今後検討すべき課題を明らかにした。

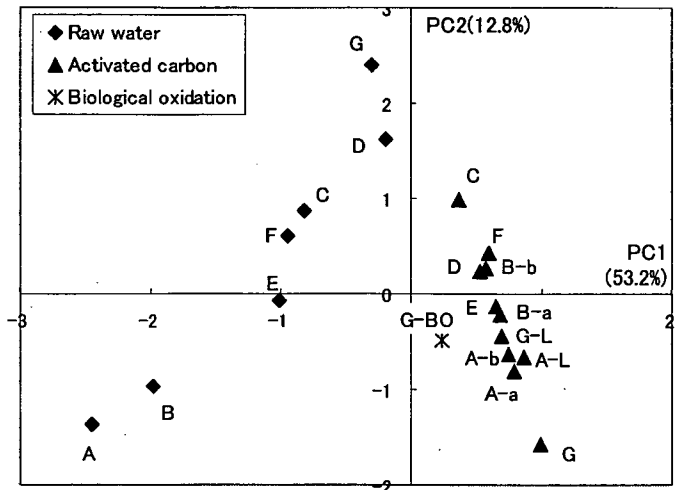


図 15 主成分分析による T-RFLP パターンの比較 (真正細菌：16S rDNA)

D. 考察

1. 残留塩素に依存しない水道の水質管理手法に関する文献調査

諸外国の水道における残留消毒剤や消毒副生成物に関する水質管理について、対照的であるアメリカとオランダを比較したところ、共に消毒副生成物については重要な問題と位置づけられているが、オランダは消毒副生成物対策として消毒剤の残留をやめ、配水管内の微生物再増殖を制御することで飲料水の安全性を確保するアプローチを行っている。一方アメリカは、配水システム老朽化の現状から消毒剤の残留をやめることはリスクが大きいと考え、遊離塩素より副生成物の心配の少ないクロロミンを採用する方向にある。

飲料水を原因とする感染性微生物による発症事例は、現在でも発生しつづけており、クリプトスポリジウム等の塩素耐性微生物の場合を除き、維持管理上の不備等といった人為的なミスと最終バリアーである消毒操作の不備が重なることにより引き起こされる場合が多いことを示した。従って、残留消毒剤に依存しない水道を実現するためには、維持管理ミスを極力無くすと同時に、「管理ミスによる汚染事故は必ず起こる」ことを前提にした、最終バリアーとしての代替消毒手法についての検討が必須であると考えられる。

2. 給配水過程における健康リスクに関する検討

消毒剤の残留効果が無い場合を対象にシミュレーションを行った。パイプや高架水槽壁面付着微生物量の経日変化を計算した結果、壁面微生物量は約 1 週間程度で安定することがわかった。また、その微生物量は現状の原水水質 (それにとまなう浄水水質) の差に大きく影響されない結果であった。配水管網内の有機物濃度、微生物濃度の空間分布の計算結果より、管網の中流域で有機物が消費され、かつ、微生物濃度が最大となることが示された。次に、病原性微生物に関する現状のリスク推算を行った。計算では、50 年間の DALY の期待値を算出し、WHO の許容値 (10^{-6} DALY/人/年) と推算結果を比較した。その結果、カンピロバクター、ノロウイルス、クリプトスポリジウムのすべてにおいて許容値内であった。浄水中 TOC 濃度の推算値 (平均値で類型 I: 2.0mg/L、類型 II: 1.2mg/L、類型 III: 0.7mg/L) をもとに、TOX 濃度を計算し、ジクロロ酢酸と同程度の発がん性を有すると仮定 (slope factor: 5×10^{-2} per mg/kg-day) して年間の発ガンリスクを計算した。次に発ガンに関する DALY 値を 10 年 per case とおいて計算したところ、WHO による上記の許容値を超える結果となった (表 4)。このため、消毒副生成物によるリスク評価については、今後の更なる精査の上で結論を得る必要があると判断された。

表 4 消毒副生成物による健康リスクおよび DALY 値とクリプトスポリジウムによる DALY 値の比較

| 類型 | 浄水の平均 TOC(mg/L) | 消毒副生成物による年間発ガンリスク | 消毒副生成物による DALY (/人/年) | クリプトによる DALY (/人/年) |
|-----|-----------------|----------------------|-----------------------|----------------------|
| I | 2.03 | 2.8×10^{-4} | 3.1×10^{-3} | 5.6×10^{-7} |
| II | 1.23 | 1.7×10^{-4} | 1.9×10^{-3} | 6.3×10^{-8} |
| III | 0.71 | 9.7×10^{-5} | 1.1×10^{-3} | 2.5×10^{-9} |

3. 消毒副生成物によるリスクの総括的評価および塩素処理と免疫毒性の関連に関する検討

(1) 消毒副生成物によるリスクの総括的評価に関する検討

一般的な水道水の TOX 生成量は 80~100 $\mu\text{gCl/L}$ である。ジクロロ酢酸基準値に相当する TOX 値が 22 $\mu\text{g/L}$ であることから、水質基準の設定リスクレベル 10^{-5} に照らして考えると、TOX は現状の 1/4 から 1/5 しか許容できないことになり、TOX を指標とした消毒副生成物リスクの総括的評価の重要性が改めて認識されたといえる。

(2) 塩素処理と免疫毒性との関連性に関する検討

実浄水場試料では、塩素消毒後やオゾン処理後といった微生物が不活化された条件では、遊離エンドトキシン比率が増大し、HPC が検出される試料では低下したことから、遊離エンドトキシン比率は微生物再増殖のモニタリングに適した指標と予想された。給水栓水を対象とした調査でも、再増殖が進んだ試料(塩素中和後 7 日)ではその有効性が確認されたが、再増殖初期(塩素中和後 1 日)では遊離エンドトキシン比率による再増殖判定は困難である。一方、モデル微生物増殖に伴い新たに合成される DNA の BrdU 標識により、36 時間程度で増殖微生物数の予想が可能となり、検出下限も 0.1 cfu/mL 相当であったことから、迅速かつ高感度な再増殖モニタリング方法になりうると期待される。水道水中の微生物再増殖の検出条件の検討を進める必要がある。

4. 給配水過程における健康リスクと消毒技術に関する検討

(1) 水道水源における健康影響微生物量の把握

文献値および過去の調査事例から、我が国における牛糞由来のクリプトスポリジウム・オーシスト負荷は、 $1.0 \sim 1.9 \times 10^9$ 個/頭程度であると算定されることから、 $7.5 \times 10^{11} \sim 2.0 \times 10^{12}$ 個が流域に負荷されたと推定されるクリプトスポリジウム・オーシストが、 $7.1 \times 10^{-5} \sim 2.7 \times 10^{-5}$ 程度希釈されて採水点まで到達したものと推計された。一方、本調査より、水源河川水中のクリプトスポリジウム・オーシスト濃度を 5 個/100L と仮定すると、この水を直接飲用した場合の感染確率は年間 14.2% となり、浄水場に求められる除去性能は 99.9% 除去を満たす処理技術となる。

(2) 二酸化塩素処理による不活化条件の検討

デソキシコーレート寒天培地で *S. enterica* の不活性化を評価した場合、大腸菌で示唆されていることと同様に消毒効果を過大に評価する可能性があると考えられた。また、低濃度の二酸化塩素処理では、塩素消毒よりも大きな CT 値によるプロセス制御が必要であると判断された。二酸化塩素処理では、塩素処理と比較して接触時間がより大きく影響する可能性があることを示していた。

(3) AOC と消毒剤との反応性に関する検討

水道水が生活排水に汚染された場合を想定して、二酸化塩素が生活排水中に存在する有機物に及ぼす影響を検討した。得られた結果は、十分な接触時間や添加濃度が得られない場合には、二酸化塩素処理により AOC が増加する可能性があることを示唆していた。これらの結果は、配水水質の管理目標値を設定する上で基礎となる情報を提供するものである。

5. 消毒技術に関する検討(消毒代替技術間の消毒機構の比較及びそれら代替技術の管理手法の開発)

(1) 各消毒法における大腸菌の損傷レベルの比較

異なる培地による大腸菌数の違いおよび DAPI/PI 染色法による測定結果の違いによって、各消毒技術による大腸菌への作用機構が推定された(表 5)。それによれば、塩素は高濃度では致死的な損傷割合が高くなるが、低濃度では細胞壁の変性による亜致死的な損傷の割合が高くなること、オゾンにおいては低 pH から中性付近では主に細胞壁の変性による亜致死的な損傷割合が高いが、高 pH では致死的な損傷の割合が高くなることと推察された。また二酸化塩素においては、亜致死的な損傷割合が高

いものの、その損傷部位は細胞膜ではなく、細胞内の酵素生成能に及びやすいと推察された。

表5 各消毒法による大腸菌への推定損傷メカニズム

| 消毒プロセス | 反応主体 | 推定される主な損傷の対象 | 備考 |
|------------------|-----------|--------------|------------|
| 塩素 (高濃度) | 次亜塩素酸イオン | 代謝能の失活 | |
| (低濃度) | | 細胞壁の変性 | DESOによる誤陰性 |
| UV | 254nm 光 | 核酸の変性 | DESOによる誤陰性 |
| オゾン水 | オゾン | 細胞壁の変性 | DESOによる誤陰性 |
| | オゾン, ラジカル | 代謝能失活 | |
| オゾン曝気 (酸性～アルカリ性) | 気相中オゾン | 細胞壁の変性 | DESOによる誤陰性 |
| 二酸化塩素 | 二酸化塩素 | 酵素生成能失活 | C-ECによる誤陰性 |

(2) 紫外線消毒装置の運転管理手法の提案

既存の生物線量計（大腸菌ファージQβ）による線量測定の結果と、一般細菌による線量測定の結果を比較したところ、一般細菌とは高線量域にてその乖離が甚だしい。その理由としては高線量域では、処理後の一般細菌濃度の正確値を得るには低すぎたという点などが挙げられる。装置内の線量分布の偏りについて考察したところ、線量測定データは流量条件が異なっても同じ標準偏差を示した。統計学的な解析（中心極限定理）を応用すれば、データ集団の母集団、すなわち流水式装置のもつ線量分布の標準偏差も流量によって異なることが推定された。即ち、異なる流量条件における装置の与える紫外線線量分布の標準偏差がほぼ等しいことが実験によって測定できることが示された。

6. 配水管路内における微生物再増殖制御に関する検討

試験片上の細菌付着密度は、残留塩素が高濃度であるほど低下した。また、二酸化塩素の方が次亜塩素酸ナトリウムよりも消毒効果が高かった。一時的な残留塩素濃度の上昇に対して、残留塩素なしの系で増殖した生物膜の感受性は高く、大幅に細菌密度が低下した。一方、残留塩素が元々存在する系ではほとんど影響は見られず、塩素濃度の変動に対する耐性を持つことが示された。表面粗度および材質については、試験片の表面粗度が細かいほど細菌の増殖速度は速くなり、また定常期における細菌密度も高まった。各試験片の表面積の相違や、表面近傍での水流による剪断応力の相違により差が生じたと考えられる。一方、流出水中の細菌濃度は材質や表面粗度の影響を受けず、いずれも同程度であった。異なる残留塩素濃度および通水期間による消毒効果を比較したところ、短期間であっても高濃度の残留塩素で消毒を行った場合に、細菌密度がより大きく低下した。再び残留塩素を消去すると一般細菌数、従属栄養細菌数ともに速やかに回復したが、透明ガラス片の場合のみ回復に数日から一週間程度の遅れが生じることが観察され、消毒剤の通水による生物膜制御に有利となる可能性が示唆された。

7. 水道水における微量有機物および再増殖微生物の特性評価

オゾン-活性炭処理を導入している全国7箇所の浄水場の活性炭試料の付着細菌数を評価したところ、浄水場によらずほぼ $10^8 \sim 10^9$ cells/g (湿重量)の細菌が付着していた。また、浄水場A、Bでは、逆洗工程によって全菌数はそれぞれ36%、64%に減少した。逆洗工程は定期的に繰り返されていることを考えると、付着細菌数は逆洗サイクルに合わせて大きく変動していることが推察された。16S rDNA、18S rDNAを対象として、原水、活性炭、生物接触酸化装置担体の真正細菌群集、真核生物群集をT-RFLP法によって解析した。その結果、16S rDNA、18S rDNAともに、原水試料の微生物群集構造は地点間によるばらつきが大きいものの、活性炭試料では浄水場間の差異は比較的小さく、類似した微生物群集が構築されている傾向が示された。また、18S rDNAの解析結果からは、流動床上向流による活性炭処理が、真核生物群集の定着や多様性に大きな影響を及ぼす可能性があることが示唆された。

8. 給配水過程において水道水の水質を良好な状態に保つための条件に関する検討

上で明らかにした給配水過程において水道水の水質を良好な状態に保つための条件は、残留塩素に依存しない水道を実現するための必要条件でもある。これらの点に関する定量的な検討が、今後の研究における重要な課題となるであろう。

E. 結論

わが国の水道水の安全性は、塩素消毒によって確保されていると言っても過言ではない。水道における塩素消毒は、水系感染症の予防に大きな役割を果たしている。水道水の安全確保におけるこのような塩素消毒の効果は、もとより正当に評価されるべきである。しかしながら、水道における塩素消毒には、以前から指摘されているように、副生成物の生成を初めとして、水道水の安全性や快適性の面でいくつかの問題点があることも事実である。本研究は、これらの問題点を見据えつつ、現状における水道水の安全性を客観的・科学的に評価するとともに、塩素消毒や残留塩素の確保だけに依存しない新しい水道の水質管理のあり方につき模索を行ったものである。本研究による成果の概要は以下のとおりである。

- (1) 諸外国の水道における消毒及び給配水水質管理の状況、病原微生物による水道水源等の汚染と感染事例、消毒技術による微生物損傷性や塩素代替技術の管理手法に関する文献調査を実施し取りまとめた。
- (2) 日本国内の浄水系をシミュレーションするための類型化、残留塩素に依存しない系において懸念される、配水管網や給水系内における微生物の再増殖のシミュレーション法、および、病原微生物と消毒副生成物による健康リスクの推算とその DALY 値を用いた比較方法を確立し、消毒剤の残留効果が無い場合を想定した健康影響リスク推算を行い、その適用性を確認した。
- (3) *In vitro* バイオアッセイ結果と慢性毒性試験結果（文献値）から、代表的な水中天然由来有機物の塩素処理により生成する TOX の毒性は、ジクロロ酢酸と同程度かより強いことを示した。一般的な水道水の TOX 値は、ジクロロ酢酸の水道水質基準値を TOX に換算した値より 4~5 倍高いことなど、TOX を指標とした消毒副生成物リスクの総括的評価の重要性を提示した。
- (4) 塩素処理を含めた浄水処理の各過程における水中のエンドトキシンの変動、並びに、その細胞毒性との関係を明らかにした。高度浄水処理後にもエンドトキシンは残存しており、遊離エンドトキシン比率という指標を用いて微生物再増殖が進んだ試料を選別可能であった。
- (5) 従属栄養細菌数の測定において BrdU 標識 DNA 合成量を指標とすることにより、36 時間程度で予想可能であることを示し、感度の面からも水道水に適用可能であることを確認した。
- (6) 酪農地域におけるクリプトスポリジウム等病原微生物の河川流出量を調査して、定量的に明らかにした。
- (7) 水中の有機物と二酸化塩素との反応において、接触時間や二酸化塩素添加量が十分でない場合には、AOC が増加する可能性があることを明らかにした。
- (8) 塩素、紫外線、オゾンおよび二酸化塩素処理における大腸菌への損傷作用機構を検討することによって、各消毒方法が病原細菌に与える損傷レベルを推定した。塩素は CT 値によって損傷レベルが異なり、オゾンは pH の影響を大きく受けた。また致死的な損傷を与える処理レベルは、デスオキシコーレート培地による測定では過大評価となる可能性を示唆した。
- (9) 紫外線照射装置の不活化効率を運転中に測定する方法として一般細菌を生物線量計として用いる方法を提案した。高照量条件において測定誤差が生じており、要因として一般細菌中に含まれる紫外線耐性菌の存在が想定された。
- (10) 配水過程における微生物再増殖につき室内実験を行い、付着微生物量が 2~3 週間で定常状態に達すること、定常状態における付着微生物量や細菌種は、水中の残留塩素濃度レベルや壁面の材質および粗度に応じて異なること、付着微生物量は残留塩素濃度の一時的な上昇によって急減するが、その濃度が元のレベルに戻ると速やかに回復することなどを明らかにした。
- (11) オゾン-活性炭処理を導入している 7 箇所の浄水場を対象として、原水、活性炭表面に付着している真正細菌、真核生物の群集構造を T-RFLP 法によって比較した。原水中の微生物群集構造は浄水場間のばらつきが見られたが、活性炭表面上の微生物群集構造は、一部に例外はあるものの浄水場間の差異は小さく、類似した群集構造が形成されていることが示唆された。
- (12) 以上の成果をふまえて、給配水過程において水道水の水質を良好な状態に保つための条件、並び

に、このことに関する今後の検討課題につき明らかにした。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Itoh, S., Nakano, A., and Araki, T. (2006) Reevaluation of the toxicity of chlorinated water and the usefulness of MX as an index, *Journal of Water and Health*, 4, pp. 523-531
- 2) 廣戸裕子, 大瀧雅寛 (2006) 流水式紫外線照射装置における一般細菌を用いた生物線量計の実用性, *用水と廃水*, Vol. 48, No. 11, pp. 989-993.
- 3) Itoh, S., Murakami, H., Fukuhara, M., and Nakano, A. (2007) Limitations of chlorine dioxide as an alternative disinfectant in comparison with chlorine from the viewpoint of mutagenicity, *Journal of Water Supply: Research and Technology-AQUA*, 56 (2), pp. 95-104
- 4) I. Kasuga, D. Shimazaki and S. Kunikane (2007) Influence of backwashing on the microbial community in a biofilm developed on biological activated carbon used in a drinking water treatment plant, *Water Science & Technology*, 55(8-9), 173-180.
- 5) 大河内由美子, 石川卓, 高橋恭介, 伊藤禎彦 (2007) 水環境におけるエンドトキシンの変動要因と浄水処理過程におけるエンドトキシン除去特性, *環境工学研究論文集*, 44, pp. 247-253
- 6) 春日郁朗, 島崎大, 国包章一 (2008) 分子生物学的手法を用いた細菌群集構造解析による従属栄養細菌の指標性の評価 - 生物活性炭を対象として -, *水道協会雑誌*, 77(5) (掲載予定)
- 7) Hiroto Y, Otaki M. Effect of design for double cylinder tubular UV reactor on disinfection, *Journal of Water Supply: Research and Technology-AQUA* (投稿中)

2. 学会発表

- 1) 窪華奈子, 大瀧雅寛 (2005) 不活化した大腸菌の損傷に関する研究, 第 42 回環境工学フォーラム講演集, 75-78.
- 2) 大河内由美子, 高橋恭介, 小寺恵介, 伊藤禎彦 (2006) 環境水中のエンドトキシン存在形態に関する研究, 第 40 回日本水環境学会年会講演集, 276.
- 3) 廣戸裕子, 大瀧雅寛 (2006) 流水式 UV 装置における生物線量計としての一般細菌の妥当性, 第 40 回日本水環境学会年会講演集, 426.
- 4) 春日 郁朗, 島崎 大, 国包 章一 (2006) オゾン-活性炭処理における活性炭表面付着微生物群集の分子生物学的手法による解析, 第 57 回全国水道研究発表会講演集, 264-265.
- 5) 大河内由美子, 高橋恭介, 小寺恵介, 伊藤禎彦 (2006) 環境水中のエンドトキシン検出と塩素処理による微生物細胞からの生成評価, 京都大学環境衛生工学研究会第 28 回シンポジウム講演論文集, 181-184.
- 6) I. Kasuga, D. Shimazaki and S. Kunikane (2006) Influence of Backwashing on the Microbial Community in a Biofilm Developed on Biological Activated Carbon Used in a Drinking Water Treatment Plant, *Proceedings of IWA-specialist conference Biofilm Systems VI*, 217-226.
- 7) 高橋恭介, 小林憲太郎, 大河内由美子, 伊藤禎彦 (2007) 表皮角化細胞を用いた水中エンドトキシンの毒性評価, 第 41 回日本水環境学会年会講演集, 213.
- 8) 西村和之, 国包章一 (2007) 流出クリプトスポリジウム・オーシスト量算出のための予備的調査, 第 58 回全国水道研究発表会講演集, 606-607.
- 9) 春日 郁朗, 島崎 大, 国包 章一 (2007) 培養法と分子生物学的手法による生物活性炭槽内の従属栄養細菌の評価, 第 58 回全国水道研究発表会講演集, 614-615.
- 10) 高井正子, 島崎 大, 国包 章一 (2007) 配水過程における微生物再増殖に及ぼす残留塩素濃度の影響, 第 58 回全国水道研究発表会講演集, 616-617.
- 11) 大河内由美子, 石川卓, 高橋恭介, 伊藤禎彦 (2007) 浄水処理過程における微生物およびその由来物質の挙動に関する研究, 第 58 回全国水道研究発表会講演集, 622-623.
- 12) 大瀧雅寛, 廣戸裕子 (2007) 紫外線量の化学光量計による計測, 第 10 回日本水環境学会シンポジウム講演集, 136-137.
- 13) 王雪丹, 大瀧雅寛 (2007) オゾン処理における大腸菌損傷レベルの評価方法, 第 17 回日本オゾン協会年次研究講演会講演集, 95-97.