

分担研究報告書 1

諸外国の水道における浄水処理、残塩保持及び  
配水水質管理の現状に関する調査

研究分担者 国包 章一  
研究代表者 島崎 大

厚生労働科学研究（健康安全・危機管理対策総合研究事業）  
「水道の配水過程における水質変化の制御および管理に関する研究」  
平成 20 年度分担研究報告書

## 諸外国の水道における浄水処理、残塩保持及び配水水質管理の現状に関する調査

研究代表者 国立保健医療科学院水道工学部 島崎 大  
研究分担者 静岡県立大学環境科学研究所 国包 章一

### 研究要旨

欧州諸国の大規模水道事業を対象として、浄水処理および配水水質管理に関する情報源を検索し、消毒による指標微生物の不活化状況や、配水系統を通じた感染症の発生状況について情報の整理を行った。EU 諸国のうちドイツとオランダにおいては、配水系統での残留消毒剤の保持によらず、浄水と比較して配水系統で大腸菌(*E. Coli*)の検出率が増加する事例が見られた。水道の配水系統における維持管理の徹底（漏水率低減、クロスコネクション防止、管路補修時の汚染防止等）が重要である。

### A. 研究目的

水道水質の安全性および快適性のさらなる向上のため、水道水の配水過程における化学的および微生物学的水質変化を最小限に抑えるための水質管理や管路の維持管理のあり方、またそれを確保する上で必要となる浄水水質や浄水処理システムの要件につき明らかにする事を目的とする。特に、EU 諸国では消毒副生成物の生成や消毒剤由来の臭気の問題に対して多大な関心が寄せられており、わが国のように残留塩素の保持が義務づけられている国は少数である点に鑑みて、本研究課題では諸外国における浄水処理や配水水質管理の現状把握を通じて、水道における各々の意義及び必要性を検討する。

### B. 研究方法

国外の水道水質に係る学術文献調査により、水道水における微生物学的安全性の定量的評価に関する EU の研究プロジェクトである *MicroRisk* の研究成果として報告された文献を選定した。当該研究は、EU 加盟国を中心に、水道水の糞便汚染の事例や水質検査での *E. Coli* の検出状況、また、配水系統における残留消毒剤の有無との関連について過去の水質検査データの解析により評価を行ったものである。当該文献より、①EU 加盟国における水道由来の水系感染症の発生、②英国、フランス、ドイツ、オランダの配水系統中における *E. Coli* の検出状況、③浄水および配水過程における *E. Coli* 検出率の比較、④配水過程の残留塩素保持の有無による *E. Coli* 検出率の比較についてまとめた。

## C. 結果

### ①EU加盟国における水道由来の水系感染症の発生

1990年から2004年の間、EU25カ国のうち10カ国において、86件の水系感染症が報告された。国別では、英国(34%)、フィンランド(14%)、フランス(8%)およびスウェーデン(8%)での報告が多かった。水系感染症の由来となった水源の種別は、地表水および地下水ともに同数(43件)であったが、患者数は地下水が43,517人、地表水が23,047人と前者が多い状況であった。内54件について汚染源および原因の病原微生物が同定された。主な病原微生物はクリプトスポリジウムであり、全事例の38%を占め、その大半は英国での事例であった。カンピロバクターおよびノロウイルスによる感染症は、82%が北欧諸国(フィンランドおよびスウェーデン)での事例であった。

### ②各国の水道の概況および *E.Coli* 検出状況

MicroRickにおいて調査対象とした4カ国(英国、フランス、ドイツ、オランダ)の水道の事業規模について、フランスは大部分が小規模水道であり、水道事業の60%が500人未満の給水人口、9割が5,000人未満である。ドイツは市町村規模の事業体が多く、英国とオランダは共にさらに大規模の事業形態である。英国とフランスは配水過程での残留消毒剤を保持しており、特に英国は他国と比較して高濃度の消毒剤の残留を設定している。フランスでは残留塩素濃度は最大0.1mg/L程度である。ドイツおよびオランダでは、多くの浄水場で外部の汚染から防護された地下帯水層を原水としている等の理由により、大部分の配水系統で残留塩素を保持していない。英国、フランス、ドイツおよびオランダでの2001~2003年(ドイツのみ2002~2004年)の公式の水質検査データを参照したところ、全データ中で *E.Coli* が検出された割合はフランスが最大(0.203~0.492%)、次いでドイツ(0.106~0.233%)、オランダ(0.072~0.110%)、英国(0.019~0.027%)の順であった。

### ③浄水および配水過程における *E.Coli* 検出率の比較

複数の給水区域からのデータが入手可能であった、フランス、オランダおよびドイツを対象として、2000~2003年の浄水および配水過程(給水末端)での水質検査データを解析した。ドイツでは13の給水区域のうち8区域で、オランダでは125の給水区域のうち118区域で浄水処理の最終段階で塩素消毒剤を添加せず、残留塩素なしの配水を行っていた。一方、フランスでは1,960の給水区域すべてにおいて配水過程での残留消毒剤を保持していた。

各国の浄水と配水系統での *E.Coli* 検出率を比較したところ、フランスでは浄水と配水過程での *E.Coli* 検出率が同じ(0.3%)であったのに対して、ドイツとオランダでは配水過程(0.1%, 0.09%)の方が浄水(0.005%, 0.04%)よりも高い検出率であり、共に配水系統において水質劣化が生じていることが示唆された。フランスでの検出率は他国と比較して有意に高かった。当該のデータには多くの地域小規模水道が含まれており、給水区域の面積

や人口密度、維持管理の状況等が影響したと考えられる。

#### ④配水過程の残留塩素保持の有無による *E. Coli* 検出率の比較

前出の3カ国のデータについて、配水系統での残留消毒剤保持の有無による *E. Coli* 検出状況を比較した。残留消毒剤を保持している配水系統(残留濃度として0.04~0.5mg-Cl<sub>2</sub>/L)では、ドイツ、フランス共に浄水と同程度の *E. Coli* 検出率であったが、オランダでは配水系統で増加した。一方、残留消毒剤なしの配水系統では、オランダでは浄水と同程度の検出率であり、ドイツでは配水系統で増加した。オランダおよびドイツの各データを *E. Coli* の平均濃度が低い順に並べ、累計給水人口90%に相当する *E. Coli* 濃度を算出した(下表)。残留消毒剤の保持にかかわらず、*E. Coli* 濃度は配水系統において高まっており、残留消毒剤なしの配水系統での濃度は、保持している場合と比較して2~3倍であった。

表 累計給水人口90%における *E. Coli* 平均濃度

国名	残留消毒剤あり		残留消毒剤なし	
	浄水	配水系統	浄水	配水系統
オランダ	0.0001	0.02	0.0009	0.05
ドイツ	0.003	0.004	0.0007	0.01

(CFU/100mL)

#### D. 考察

特にドイツとオランダにおいては、配水系統での残留消毒剤の保持によらず、浄水と比較して配水系統で *E. Coli* 検出率が増加しており、また平均濃度や検出率は同程度であった。

以上の結果をもって、当該文献の著者らは、配水過程における残留塩素の保持のみでは水道水の安全性を確保する上では不十分であるとして、水道の配水系統における維持管理の徹底、すなわち、漏水率の低減やクロスコネクションの防止、管路補修時の汚染防止といった技術的対策を講じることで、残留消毒剤の保持に関わらず、高度な安全性が確保できると結論づけている。また、特に残留消毒剤無しの場合には、*E. Coli* を糞便汚染指標として有効に活用できるため、水道原水に塩素耐性を有する病原微生物が存在する場合に利点となるとの見解を示している。

水道の配水系統における維持管理の必要性には異存のないところであるが、一方、配水過程における残留消毒剤の位置づけについては、再汚染モニタリング指標としてのみ考慮されており、再汚染時のバリアおよび微生物再増殖抑制としての意義は考慮されていない点に留意する必要がある。

#### E. 結論

EU 諸国のうちドイツとオランダにおいては、配水系統での残留消毒剤の保持によらず、浄水と比較して配水系統で大腸菌(*E. Coli*)の検出率が増加する事例が見られた。水道の配水系統における維持管理の徹底(漏水率低減、クロスコネクション防止、管路補修時の汚染

防止等)が重要であることが示された。今後、配水過程における残塩保持や水質管理の意義、配水管の洗浄など衛生管理の現状、また配水系統を通じた感染症の発生状況につき調査し、水道における配水水質管理のあり方についてさらなる調査を進める予定である。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

- |           |      |
|-----------|------|
| 1. 特許取得   | 該当なし |
| 2. 実用新案登録 | 該当なし |
| 3. その他    | 該当なし |

#### 参考文献

Beate Hambsch, Karin Böckle and J. Hein M. van Lieverloo: Incidence of faecal contaminations in chlorinated and non-chlorinated distribution systems of neighbouring European countries, *Journal of Water and Health*, 5(Suppl. 1), 119-130 (2007).

高度処理における微生物再増殖に関わる  
栄養源の低減条件の検討

研究分担者 春日 郁朗  
研究協力者 中垣 宏隆  
Suwat Soonglerdsongpha  
前田 祐太

厚生労働科学研究（健康安全・危機管理対策総合研究事業）  
「水道の配水過程における水質変化の制御および管理に関する研究」  
平成 20 年度分担研究報告書

高度処理における微生物再増殖に関わる栄養源の低減条件の検討

研究分担者 東京大学大学院工学系研究科 春日郁朗  
研究協力者 東京大学大学院工学系研究科 中垣宏隆、Suwat Soonglerdsongpha、  
前田祐太

**研究要旨**

高度浄水処理である生物活性炭の代表的な機能である硝化、同化性有機炭素（AOC：Assimilable Organic Carbon）の除去について調査を行った。硝化については、生物活性炭を新規に導入した浄水場を対象として、前塩素処理の停止前後における硝化微生物の定着過程をモニタリングした。その結果、前塩素処理停止前は、硝化細菌、硝化古細菌の双方とも検出されなかったのに対して、前塩素処理を停止することにより、硝化古細菌に由来する遺伝子のみが活性炭から検出された。このことは、前塩素処理が硝化微生物の定着に大きな影響を与えることを示している。生物活性炭による AOC の除去については、生物活性炭を導入している三箇所の浄水場を対象として、浄水工程における AOC 濃度の変化を調査した。その結果、浄水工程における AOC 濃度の変化、生物活性炭による AOC の除去能には浄水場間で差異が見られた。また、溶存有機物の樹脂分画を試みたところ、オゾン処理水、生物活性炭処理水ともに疎水性画分が約 7 割を占めていることが示された。

**A. 研究目的**

オゾン-生物活性炭処理は、大都市を中心に導入が進められている高度浄水処理法である。しかし、その運用方法は経験的に確立されてきた部分が多く、生物学的な処理機構はブラックボックスとして扱われているのが現状である。処理機構が概念的な理解に留まっている要因としては、生物活性炭の「生物」、すなわち生物活性炭に定着し、処理に関与する微生物の実体がほとんど明らかになっていないことが挙げられる。生物活性炭にはどの程度の微生物が定着しているのか、地域・運転操作によって微生物の多様性や生物学的処理特性に差異はあるのか、どのような過程を経て活性炭に微生物が定着するのか、については不明な点が多い。生物処理の機構を理解し、運転因子あるいは水質因子が生物活性にどのような影響を与えるのかを把握するためには、ブラックボックスの構成要素である微生物の生理・生態に関する詳細な情報が必要不可欠である。本研究では、生物活性炭処理における微生物再増殖に関わる栄養源の低減効果として、硝化作用、同化性有機炭素（AOC：Assimilable Organic Carbon）の除去特性に着目し、微生物学的視点から知見を得る

ことを目的とした。

## 1. 生物活性炭の硝化作用

硝化は、生物活性炭処理で期待される主要な浄化機能であり、水温との関係を始めた既存の研究例は多い<sup>1)</sup>。しかし、硝化に関与する微生物について評価した研究は限られている。従来の研究では、アンモニア酸化細菌 (Ammonia-Oxidizing Bacteria : AOB) のみが行きとられられてきたが、近年、古細菌に属するアンモニア酸化古細菌 (Ammonia-Oxidizing Archaea : AOA) が硝化機能を有することが明らかになっている<sup>2,3)</sup>。現在のところ、単離された AOA は 1 株のみであり、その生理・生態については十分に明らかにされていない<sup>4)</sup>。これまでの我々の研究において、生物活性炭では AOB よりも AOA の方が優占していることを示す結果も得られている<sup>5)</sup>。今年度は、生物活性炭における硝化微生物の定着過程に焦点を絞った研究を展開した。

## 2. 生物活性炭による AOC 除去

オゾン処理で高分子有機物が酸化分解されると、低級カルボン酸をはじめとした低分子の親水性化合物が生成する。これらの化合物は易分解性であるため、処理されずに給配水系に流出すると細菌の再増殖などに寄与することが懸念される。物理化学的処理は AOC の除去に向いていないが、生物活性炭では微生物の生物学的作用によって AOC が効率的に除去されることが知られている<sup>6,7)</sup>。AOC を低減できる生物活性炭処理は、配水過程での水質を制御する上で有効であるが、活性炭表面に定着する微生物群集の中で、どのような代謝特性を有した細菌群が AOC 除去に主に関与しているのかについては明らかにされていない。今年度は、基礎的な情報を得ることを目的として、浄水工程における AOC の濃度変動について調査を行うと共に、AOC 成分が溶存有機物のどの画分に多く存在しているのかを明らかにするために、溶存有機物の樹脂分画を試みた。

## B. 研究方法

### 1. 生物活性炭における硝化微生物の定着過程の評価

#### 1-1 調査の概要

2008 年 10 月から新規に生物活性炭処理の運用を開始した浄水場 A を対象として、約一ヶ月間隔で、生物活性炭処理槽 (表層) から逆洗後の活性炭を採取した。全細菌 (*Bacteria*)、全古細菌 (*Archaea*)、硝化細菌 (AOB)、硝化古細菌 (AOA) の定着状況をモニタリングすると共に、硝化能を評価した。

#### 1-2 全細菌及び全古細菌 16S rDNA、AOB 及び AOA の *amoA* 遺伝子の定量

採取した生物活性炭から核酸を抽出した後、リアルタイム PCR による遺伝子のコピー数の定量を行った。対象とした遺伝子は、硝化微生物としては  $\beta$ -*Proteobacteria* に属する AOB 由来の *amoA* 遺伝子 (AOB-*amoA* 遺伝子) および AOA 由来の *amoA* 遺伝子 (AOA-*amoA* 遺



伝子)に加え、全細菌、全古細菌由来の 16S rDNA も対象とした<sup>8,9)</sup>。AOA-*amoA* 遺伝子、Bacterial 16S rDNA、Archaeal 16S rDNA の定量は TaqMan 法を用いて行った。一方、AOB-*amoA* 遺伝子の定量にはインターカレーター法を用いた。

### 1-3 硝化能試験

オートクレーブ滅菌済みの三角フラスコ (300mL) に生物活性炭試料を 100g 入れ、オートクレーブ滅菌済みの無機培地 (最終 NH<sub>4</sub>-N 濃度 : 5mgN/L) を 200mL 加えた。シリコ栓を三角フラスコに装着した後、インキュベーター内で 20°C、100(1/min) で振とうした。0, 8, 16, 24, 48 時間後に培地 10mL を採取し、孔径 0.2μm のフィルターでろ過した試料のアンモニア性窒素、亜硝酸性窒素、硝酸性窒素を測定した。アンモニア性窒素の測定はインドフェノール法、亜硝酸性窒素及び硝酸性窒素の測定はイオンクロマトグラフィーによって行った。

## 2. 生物活性炭処理における AOC 除去能と AOC 化学特性の評価

### 2-1 調査の概要

2008 年 12 月～2009 年 1 月にかけて、生物活性炭を導入している 3 箇所の浄水場 (A、B、C) から浄水工程水を採取した。浄水場 B については、使用期間 1 年と使用期間 5 年の異なる生物活性炭処理槽から処理水を別々に採水した。

### 2-2 AOC の定量

各浄水処理の工程水 (着水井、凝集沈殿処理水、オゾン処理水、生物活性炭処理水、急速ろ過水、塩素処理後の浄水) を採取し、AOC の定量を行った。試料水は、まず孔径 0.7μm のガラス繊維ろ紙でろ過して懸濁物を除去した後、チオ硫酸ナトリウムを添加して残留塩素を中和した。制限因子が炭素だけとなるように無機栄養塩を添加した後、75°C で 30 分間温浴して滅菌処理を行った。冷却後、*Pseudomonas fluorescence* strain P17 及び *Aquaspirillum* sp. strain NOX を終濃度が各々 500 CFU/ml となるように添加して、15°C で 7 日間培養した。コロニー数の計数は、試料を R2A 寒天培地に塗布して 25°C で 3 日間培養して行った。AOC 濃度の算出は、以下の式を用いて行った。収率 Y については、P17: 4.1×10<sup>6</sup> CFU/μg acetate-C、NOX : 1.2×10<sup>7</sup> CFU/μg acetate-C という文献値を用いた<sup>10)</sup>。

$$AOC(\mu\text{g} \cdot \text{acetate} - \text{C} / \text{L}) = \frac{N_{\max} (\text{CFU} / \text{mL} \times 1000 (\text{mL} / \text{L}))}{Y (\text{CFU} / \mu\text{g} \cdot \text{acetate} - \text{C})}$$

ここで AOC = AOC 濃度 (μg acetate-C/L)

N<sub>max</sub> = 最大コロニー数 (CFU/mL)

Y = 収率 (CFU/μg acetate-C)

### 2-3 溶存有機物の分画

0.1N NaOH を用いて、DAX-8 樹脂を 24 時間精製した後、ソックスレー抽出器を用いて、アセトン (24 時間)、ヘキサン (24 時間)、メタノール (24 時間) で還流洗浄を行った。精

製した樹脂はメタノールに浸漬して、ガラスカラムに充填した。0.1N NaOH、0.1N HCl でそれぞれ洗浄した後、Milli-Q 水で導電率が  $10 \mu\text{S}/\text{cm}$  以下、DOC が  $0.2 \text{ mg}/\text{L}$  以下になるまで洗浄を行った。2008 年 9 月に採水した浄水場 A の原水、オゾン処理水、生物活性炭処理水を孔径  $0.7 \mu\text{m}$  の GF/F ろ紙でろ過した後、濃硫酸を用いて pH を 2 に調整した。樹脂を詰めたガラスカラムに試料を通水し、通過した画分を親水性画分 (hydrophilic fraction) と定義した。樹脂に吸着された疎水性画分 (hydrophobic fraction) については、0.1N 及び 0.01N の NaOH で溶出した。各画分の回収率については、DOC を測定して評価した。

## C. 研究結果

### 1. 生物活性炭における硝化微生物の定着過程の評価

2007 年 10 月から運用を開始した浄水場 A では、「着水井→凝集沈澱→オゾン酸化→生物活性炭→急速砂ろ過→配水池」という工程で処理が進められ、生物活性炭処理後に中塩素処理、急速砂ろ過後に後塩素処理による消毒が行われている。また、運転開始時より前塩素処理が行われていたが、2008 年 7 月からは前塩素処理は停止された。

図 1 に水質モニタリングの結果を示す。前塩素処理停止前は、沈澱池処理水の段階でアンモニア性窒素はほぼ除去されていたが、逆に生物活性炭処理槽から微量のアンモニア性窒素が溶出することが 2008 年 7 月初頭まで常態化していた。前塩素処理停止後は、予想通り、沈澱池処理水からアンモニア性窒素が検出されるようになったが、生物活性炭処理槽ではほぼ全量のアンモニア性窒素が処理されていた。

全細菌、全古細菌の 16S rDNA を対象とした定量 PCR を行った(図 2)。全細菌の 16S rDNA は、運転開始直後から  $10^6 \text{ gene copies}/\text{g-dry}$  オーダーで検出された後、2008 年 11 月には

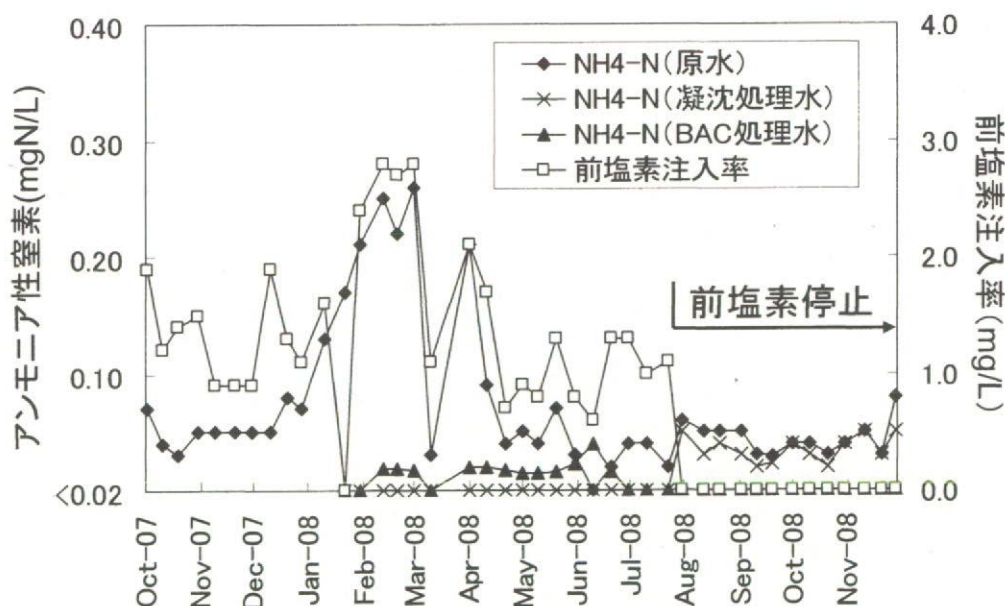


図 1 浄水場 A におけるアンモニア性窒素処理と前塩素処理の状況

10<sup>10</sup> gene copies/g-dry オーダーまで増加した。全古細菌の 16S rDNA については、2008 年 2 月までは定量下限以下になることがあるなど不安定であったが、それ以降は漸増し、2008 年 11 月には 10<sup>9</sup> gene copies/g-dry オーダーに達した。

AOA、AOB のアンモニア酸化酵素をコードした AOA-*amoA* 遺伝子、AOB-*amoA* 遺伝子を標的とした定量 PCR によるモニタリングを行った (図 2)。前塩素処理停止前は AOA-*amoA* 遺伝子、AOB-*amoA* 遺伝子ともに定量下限以下であったが、前塩素処理停止直後の 7 月 28 日採取分から 10<sup>6</sup>~10<sup>7</sup> gene copies/dry-g 程度の AOA-*amoA* 遺伝子が検出され始め、その後ほぼ一定の値に達した。

前塩素処理停止前 (2008 年 6 月 : 運転開始 8 ヶ月後) と前塩素処理停止後 (2008 年 12 月 : 前塩素停止 6 ヶ月後) の生物活性炭試料を用いて行った硝化能試験の結果を図 3 に示す。前塩素処理停止前の試料では、48 時間の培養によってアンモニア性窒素が 2.5mgN/L 除

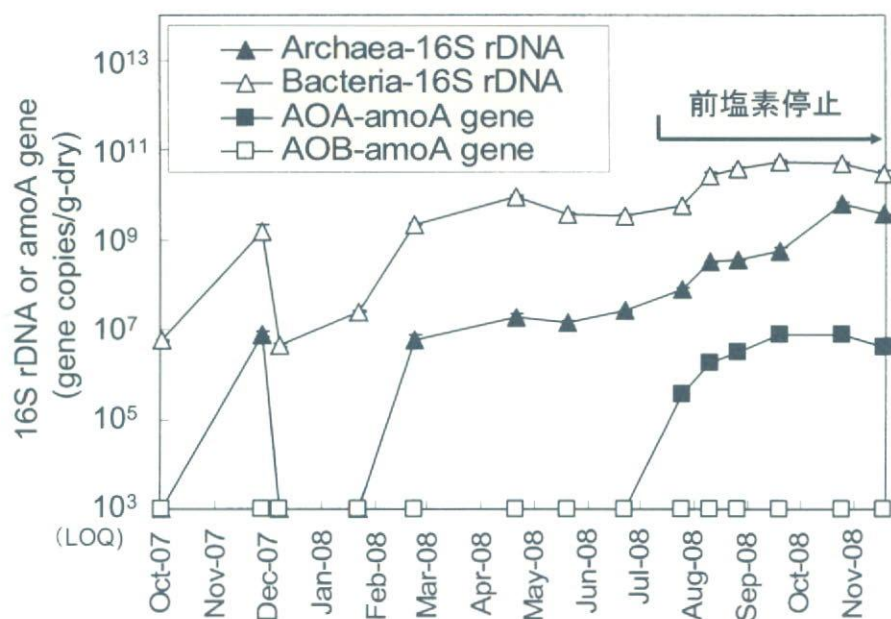


図 2 生物活性炭付着微生物の定量結果

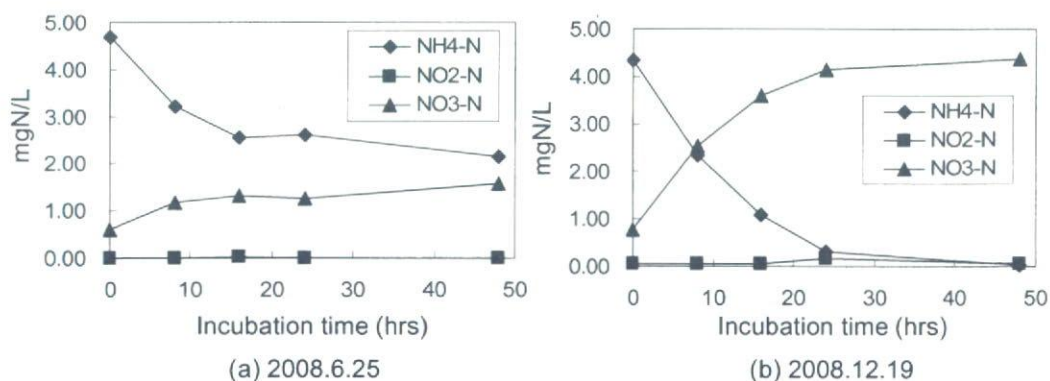


図 3 前塩素処理停止前(a)・停止後(b)の生物活性炭硝化能の比較

去されるにすぎず、硝化活性は低い状態であった。一方、前塩素処理停止後の試料では、水温の低下した冬季の試料であるにもかかわらず、同じ培養時間内に検出下限以下にまでアンモニア性窒素が除去され、それに付随して硝酸が生成することが明らかになった。

## 2. 生物活性炭処理施設における AOC 除去能と AOC 化学特性の評価

生物活性炭を導入する 3 つの浄水場を対象として、工程水の AOC 濃度を測定した。浄水場 B については、使用期間が 1 年と 5 年の生物活性炭処理水についても解析を行った。浄水場 A については、オゾン処理によって AOC 濃度が原水の AOC 濃度の約 4 倍にまで達した。増加した画分は、これまでにオゾン処理によって増加すると報告されている AOC-NOX 画分ではなく、主に AOC-P17 画分であった。しかし、生物活性炭で処理することにより、主に AOC-P17 画分が除去され、最終的な浄水の AOC 濃度は  $28 \mu\text{gC}\cdot\text{acetate}/\text{L}$  を示した。浄水場 B の浄水工程における AOC 濃度の変化は、既存の報告とは異なり、原水の AOC 濃度が最も高く  $159 \mu\text{gC}\cdot\text{acetate}/\text{L}$  を示した後、オゾン処理によっても AOC 濃度の増加は見られなかった。使用期間 1 年の生物活性炭に比べて、使用期間 5 年の生物活性炭の方が AOC 濃度の低減効果は高かった。AOC 濃度はろ過後に上昇し、最終的な浄水の AOC 濃度は  $44 \mu\text{gC}\cdot\text{acetate}/\text{L}$  であった。浄水場 C については、オゾン処理後に AOC-NOX 画分が増加したが、生物活性炭処理によって、AOC-NOX、AOC-P17 の双方の画分とも除去されていた。ろ過後には塩素処理の影響で AOC 濃度は増加した後、浄水の AOC 濃度は  $121 \mu\text{gC}\cdot\text{acetate}/\text{L}$  と他と比べて高い値を示した。

生物活性炭処理前後（オゾン処理水、生物活性炭処理水）の AOC 濃度を比較して、生物活性炭における AOC 除去率を算出した（表 1）。AOC 除去率が最も高かったのは浄水場 C で 73% を示した。浄水場 B では、使用期間 1 年の生物活性炭処理で 14%、使用期間 5 年の生物活性炭処理で 55% の除去率を示し、使用期間の違いによって除去率に差異が見られた。一方、浄水場 A の生物活性炭は使用期間が約 1 年であるにもかかわらず、除去率は 53% を示し、浄水場 B の使用期間 1 年の生物活性炭よりも高い除去能があることが示された。

AOC 成分が溶存有機物のどの画分に多く含有されているのかという情報を得るための予備実験として、溶存有機物を親水性と疎水性に分画することを試みた。2008 年 9 月に採水した浄水場 A の工程水（原水、オゾン処理水、生物活性炭処理水）を分画処理した結果を表 2 に示す。分画前の DOC 濃度と比較すると、分画後の DOC 濃度が +4~+28% 増加していることが判明し、樹脂の洗浄が十分に行われていないことが示された。分画の結果は、すべての原水、オゾン処理水、生物活性炭処理水のいずれでも、70-80% が疎水性、20-30% が親水性であることが明らかになった。

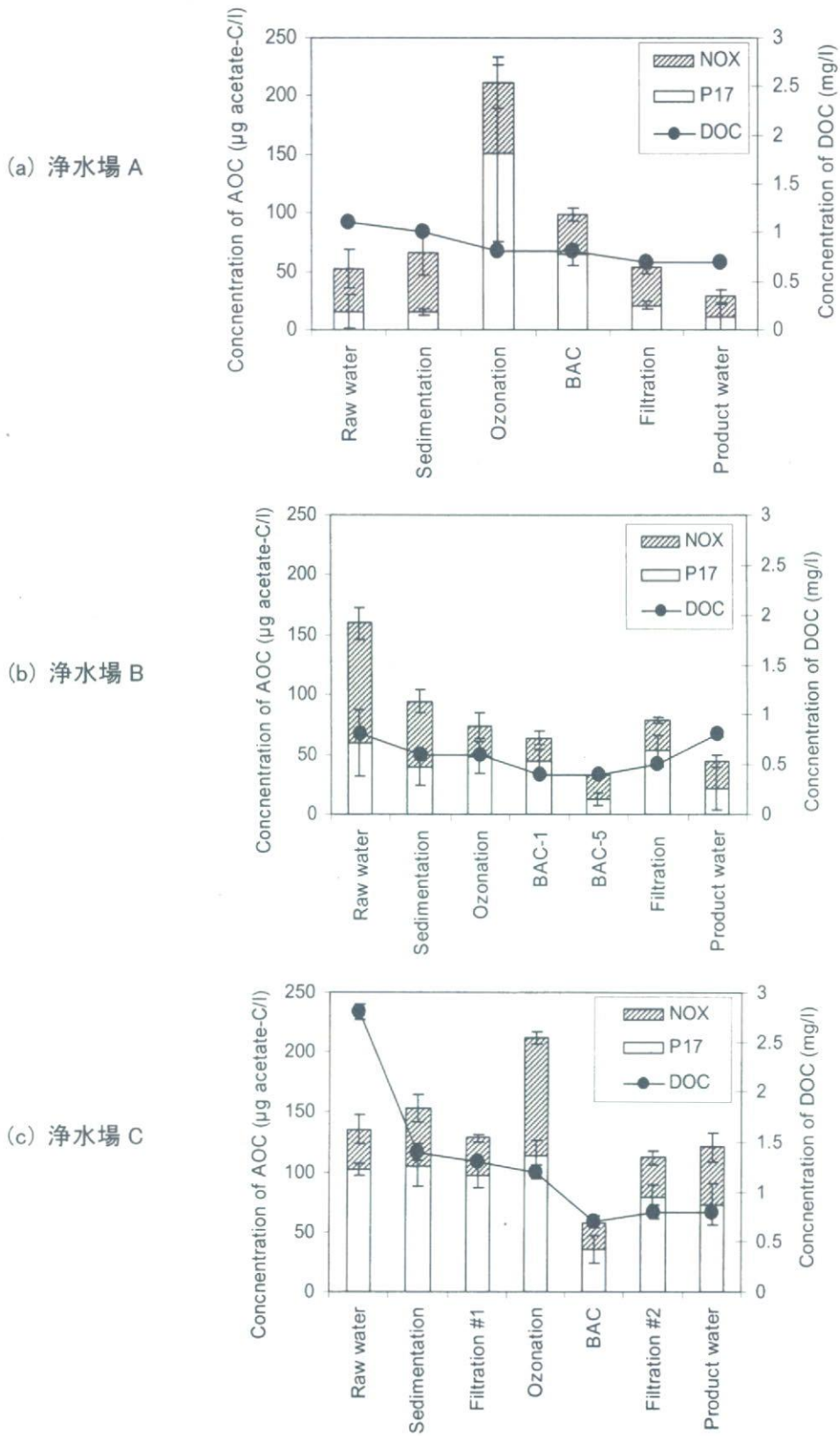


図4 浄水工程におけるAOC濃度の変化

表 1 異なる浄水場の生物活性炭処理における AOC の除去性能

浄水場	AOC 濃度 (µg acetate-C/L)		除去率 (%)
	オゾン処理水	生物活性炭処理水	
A	211	100	53
B (1 年使用)	74	64	14
B (5 年使用)		33	55
C	212	57	73

表 2 浄水工程水の樹脂分画 (浄水場 A)

工程水	DOC (mgC/L)	Fraction (%)		分画操作に伴う DOC 変化 (%)
		Hydrophobic	Hydrophilic	
原水	1.2	66	34	+23
オゾン処理水	1.0	71	29	+4
生物活性炭処理水	0.7	77	23	+28

## D. 考察

### 1. 生物活性炭における硝化微生物の定着過程の評価

全細菌、全古細菌ともに前塩素処理の停止の前後で、生物活性炭から抽出した遺伝子コピー数に大きな変動はなく、前塩素処理による定着阻害は見られなかった。このことから、前塩素処理とは関係なく、生物活性炭には急速に微生物が定着しうることが示された。ただし、今回の検出対象は DNA であり、死菌の DNA も解析に入っている可能性がある。従って、活性の議論とは直接関連しないことに注意する必要がある。

一方、硝化微生物については、前塩素処理の影響が顕著に現れた。前塩素処理を停止することにより、従来、硝化を担うと考えられた AOB ではなく、AOA が活性炭に定着したという知見は新規性が高い。図 3 に示した前塩素処理停止前後の硝化能の変化を見ても、前塩素処理停止前は十分な硝化が進行していなかったが、前塩素処理を停止した後は、水温の下がった 12 月であるにもかかわらず、完全な硝化が進行することが確認された。この硝化能の発現に、AOA が関与している可能性は高い。別途調査した浄水場 B の生物活性炭 (使用 1 年間) における AOA-*amoA* 遺伝子コピー数と比較すると、浄水場 A の生物活性炭で確認された AOA-*amoA* 遺伝子コピー数はほぼ同程度であった。AOB-*amoA* 遺伝子については、前塩素処理を停止しても検出されなかったが、その理由としては実際に定着していなかったということと、使用したプライマーの検出対象範囲の問題が推測される。実際に AOB が存在していても、使用した AOB-*amoA* 遺伝子プライマーにミスマッチがあれば増幅されない可能性はある。今後は、AOB の 16S rDNA を対象とした解析も含め、実際に AOB

が AOA と比べて存在量が少ないのかどうか、検討する予定である。

## 2. 生物活性炭処理施設における AOC 除去能と AOC 化学特性の評価

3 箇所の浄水場の浄水工程における AOC の濃度変化を比較したところ、それぞれ異なる傾向を示した。特に、オゾン処理水については、浄水場 A では AOC-P17 画分が増加したのに対して、浄水場 B では AOC の増加は見られなかった。一方、浄水場 C では、オゾン処理によって増加した画分は AOC-NOX であり、既存の報告と一致していた。これらの差異の理由についてはまだ明らかではないが、水質条件の影響や溶存有機物の特性の差異などが考えられる。生物活性炭における AOC の低減については、処理場による差異、使用期間による差異などが確認された。これらの差異の要因は、生物活性炭に付着する微生物の多様性・機能の差異に由来すると考えられる。今後は、微生物学的視点から AOC の除去に関与する微生物群集の解析を進めたい。

溶存有機物の分画実験では、オゾン処理、生物活性炭処理を行っても、親水性、疎水性の割合に大きな変化は見られなかった。オゾン処理によって、親水性画分の割合が増加することを予想したが、組成比が大きく変わるほどの変化はないことが推測される。今後は、それぞれの画分の AOC を測定するなどして、AOC と称される有機物の化学特性に関する知見を得ることを検討したい。また、今回の実験では、樹脂自体からの有機物の溶出が検出された。元々、有機物濃度の低い試料ではあるが、洗浄工程を検討するなどして、樹脂由来の有機物溶出の影響を最小限度に抑える必要があると考えられる。

## E. 結論

高度浄水処理としての生物活性炭処理では、硝化や AOC の除去など、微生物再増殖に関与する栄養源の除去が期待されている。本研究では、硝化微生物の活性炭への定着過程、浄水工程における AOC 濃度の変化などに関する知見を得た。硝化微生物の活性炭への定着には前塩素処理が影響を与えていることが示され、前塩素処理を停止することにより、硝化古細菌の *amoA* 遺伝子が  $10^6 \sim 10^7$  gene copies/dry-g 程度検出されるまで定着が進行した。前塩素処理停止前後の硝化能を比較すると、停止後の方が硝化能は向上しており、硝化古細菌の定着との関連が推測された。硝化古細菌については生理特性を含めて不明な点があるため、更なる微生物学的知見を得ることが重要である。

AOC については、3 箇所の浄水場における浄水工程水を対象として測定を行った。浄水場によって、浄水工程における AOC 濃度の変化の傾向は異なり、原水に含まれる有機物の差異、処理条件などが AOC 濃度に影響を与えていることが推測された。生物活性炭処理に着目すると、AOC の除去率は 14~73% と大きく異なっていた。同じ浄水場における使用期間の異なる生物活性炭を比較したところ、使用期間 5 年の生物活性炭の方が、使用期間 1 年の生物活性炭よりも除去性能は高いことが明らかになった。今後は、AOC の化学特性に関する研究を展開すると共に、AOC 除去に関与する微生物の種類や存在量に関する情報を蓄積する必要がある。

## 参考文献

- 1) 梶野勝司, 吉崎壽貴: 大阪市における高度浄水処理実験, 水道協会雑誌, Vol.62 (1), pp.14-18, 1993.
- 2) Leininger, S., Urich, T., Schloter, M., Schwark L., Qi, J., Nicol, G.W., Prosser, J.I., Schuster, S.C. and Schleper, C.: Archaea. predominate among ammonia-oxidizing prokaryotes in soils, *Nature*, Vol.442, pp.806-809, 2006
- 3) Wuchter, C., Abbas, B., Coolen, M.J.L., Herfort. L., van Bleijswijk, J., Timmers, P., Strous, M., Teira, E., Herndl, G.J., Middelburg, J.J., Schouten, S. and Damste, J.S.S: Archaeal nitrification in the ocean, *PNAS*, Vol.103(33), pp.12317-12322, 2006
- 4) Könneke, M., Bernhardt, A.E. and de la Torre, J.R.: Isolation of an autotrophic ammonia-oxidizing marine archaeon, *Nature*, Vol.437, pp.543-546, 2005.
- 5) 中垣宏隆, 春日郁朗, 栗栖太, 古米弘明, 国包章一: 生物活性炭上のアンモニア酸化細菌・古細菌の多様性解析, 第42回日本水環境学会年会講演集, p.54, 2008.
- 6) Polanska, M., Huysman, K. and van Keer, C.: Investigation of assimilable organic carbon (AOC) in Flemish drinking water. *Wat. Res.*, Vol.39(11), pp.2259-2266, 2005.
- 7) Chien, C.C., Kao, C.M., Chen, C.W., Dong, C.D. and Wu, C.Y.: Application of biofiltration system on AOC removal: Column and field studies. *Chemosphere*, Vol.71(9), pp.1786-1793, 2008.
- 8) Takai, K. and Horikoshi, K.: Rapid Detection and quantification of members of the archaeal community by quantitative PCR using fluorogenic probes, *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol.66(11), pp.5066-5072, 2000.
- 9) Treusch, A.H., Leininger, S., Kletzin, A., Schuster, S.C., Klenk, H-P. and Schleper, C.: Novel genes for nitrite reductase and Amo-related proteins indicate a role of uncultivated mesophilic crenarchaeota in nitrogen cycling, *Environ. Microbiol.* Vol.12, pp.1985-1995, 2005.
- 10) Standard Methods 21st Edition, 2005.

## F. 健康危険情報

該当なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

該当なし

### 2. 学会発表

- 1) Kasuga, I., Saito, H., Kurisu, F. and Furumai, H. (2008) Characterization of actively respiring bacterial community responding to organic matter in biological drinking water treatment, The



12<sup>th</sup> International Symposium on Microbial Ecology, PO02-0151.

- 2) 中垣宏隆, 春日郁朗, 栗栖太, 古米弘明 (2009) 高度浄水処理用生物活性炭へのアンモニア酸化細菌及び古細菌の定着過程, 第 43 回日本水環境学会年会講演要旨集 (発表予定)

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

消毒技術に関する検討  
(消毒による微生物再増殖の制御方法の検討)

研究分担者 大瀧 雅寛

## 消毒技術に関する検討（消毒による微生物再増殖の制御方法の検討）

研究分担者 お茶の水女子大学大学院人間文化創成科学研究科 大瀧雅寛

### 研究要旨

本分担研究では、配水過程での残留塩素濃度を低減させた状況における、各種消毒処理方法（塩素、オゾン、二酸化塩素、紫外線照射など）において、再増殖および回復を抑制させるための条件を、明らかにすることである。本年度は配水管中で増殖が問題となる一般細菌および従属栄養細菌を対象微生物とし、まず文献調査によって各消毒処理に関する情報を収集したが、定量的な評価は多く集まらなかったものの、概要をまとめることが出来た。さらに、これら消毒処理において微生物群が受ける影響の実験によって評価する手法を確立することを目指した。手法としては細菌フェージの感染性による影響評価方法、異なる培地を同時に用いる方法、微生物の運動性による評価方法、遺伝子解析を用いた群集解析による方法について、その適用性を検証し、いずれにおいて消毒処理前後の状態を比較することによって、配水過程における消毒後微生物の挙動について推定することができると考えられた。

### A. 研究目的

塩素の他に考えられ得る消毒技術には、二酸化塩素注入、オゾン注入、および紫外線照射などがある。浄水場において、それらの消毒技術を適用した場合、病原微生物に対する効果については、主に検討されているものの、配水管中での生物膜形成といった再増殖が問題となる微生物を対象としての知見は、これまであまり検討されていなかった。今後、塩素注入量の低減化や、その他の消毒技術の導入が検討される際、病原抑制の観点はずもがなであるが、配水管中での病原以外の微生物の挙動に対しても、留意することが必要である。

そこで本研究では、上記の観点から対象微生物を一般細菌や従属栄養細菌に絞り、それらの微生物についての種々の消毒処理が及ぼす影響を文献調査および実験研究によって探ることを目的

とした。

まず最初の段階として、文献調査によりそれら対象微生物に対する各消毒処理の効果を定量的にまとめる。さらに実験研究によって各消毒処理の効果を評価する。評価の方法としては、微生物へ与える損傷程度を定量的に判断するために、微生物の活性を測定する方法をいくつか試み、その適用性について検証した。

検証方法としては、活性微生物数をコントロールするのにハンドリングが容易な紫外線照射方法を採用し、この処理前後での微生物の活性を以下の方法にて検証することを試みた。

- 1) 異なる培地を同時に適用し、培地の選択性の違いから損傷箇所を推定する方法
- 2) 対象微生物に特異な細菌フェージの感染性を用いた方法
- 3) 対象微生物の運動性を培地培養法にて検証

する方法

- 4) T-RFLP 法によって、微生物群集の変化を把握する方法

以上の4方法について実験を行った。

## B. 研究方法

### B. 1. 文献調査結果

一般細菌、HPC（従属栄養細菌）、緑膿菌（*Pseudomonas* 属）に関する消毒処理方法の効果および測定法に関する既存の研究をまとめた。

### B. 2. 実験方法

配水管中での増殖微生物のモデルとして *Pseudomonas*、もしくは同じグラム陰性菌の大腸菌を用いて、消毒処理前後の微生物の状態を評価する手法の検証を行った。消毒処理方法として今年度は、活性のある微生物数のコントロールが容易な紫外線照射方法を用いて実験を行った。

#### (1) 紫外線照射処理

光源として低圧水銀ランプもしくはパルスキセノンランプを用いて、照射時間もしくは照射回数を設定することにより、対象微生物の活性微生物数をコントロールした。

#### (2) 消毒処理後の微生物測定方法について

##### i) 異なる培地を用いた方法

*Pseudomonas* はグラム陰性菌であるため、細胞膜の構造が大腸菌と同様であると考えられる。従って、この場合、選択培地であるデスオキシコール酸を含む培地が使えると考えられる。通常の *Pseudomonas* 菌が、この培地によって増殖可能かどうかを検討した。非選択培地として Tryptic Soy Agar を用いた。またもう一つの非選択培地として LB (Luria-Bertani) 寒天培地での測定も試みた。

##### ii) 細菌ファージを用いた方法

消毒後の細菌溶液に、その細菌に感染可能なファージを投入し、ファージの増殖数から細菌の持つ代謝機能の評価手法とする。ホストとファージの組み合わせが重要であるが、手始めに大腸菌と大腸菌ファージを用いて、この方法が適用可能か確かめた。

##### iii) 運動性の評価

寒天濃度を変えた寒天培地（寒天濃度 0.3%～1.0%）を直径 10cm のペトリ皿に無菌的に固形化させたものの中心に、消毒処理前後の *Pseudomonas* 細菌溶液を一定量 (10  $\mu$ L) 注入し、37°C で 24 時間培養した際に、形成する巨大コロニーの直径を計測する方法を試みた。寒天濃度によって、主たる細菌の運動原理が異なる。この遊走能力や移動能力の有無は生物膜形成の能力と密接な関係があることから、消毒後の *Pseudomonas* 菌による生物膜形成能の不活化が評価できると考えられる。

##### iv) T-RFLP 法による評価

微生物の群集解析法である T-RFLP (Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism) 解析法を用いて、消毒処理前後の生物群がどう変化するのか把握することが出来る。まずはターゲット遺伝子の増幅を行う必要があるため、*Pseudomonas* の単離株、及び下水処理水を対象として、PCR 法によって選定したプライマーによって遺伝子増殖が可能かどうか確認した。

## C. 実験結果

### C. 1. 文献調査結果

塩素及び紫外線処理における一般細菌および