

ることから、従来型 PAC と同様の操作性で利用できることが想定された。また、最終処理水である砂ろ過水や膜ろ過水の濁度は従来型 PAC と同等以上であり、残留アルミニウム濃度については、従来 PAC とより低減可能であることから、残留アルミニウム低減のための有効な方策である可能性が示された。

小型浄水処理装置およびジャーテストによる水道原水を用いた試験では、原水 pH 及び凝集剤注入率が同じ場合、高塩基度 PAC は従来 PAC に比べて凝集 pH の低下が小さく、pH 低下に与える影響は小さかった。高塩基度 PAC は、幅広い凝集 pH の範囲で、かつ、低い注入率によって、従来の PAC と同等以上の処理水質を得ることができた。高塩基度 PAC は、一般的な凝集・沈殿・ろ過による浄水システムにおいて、濁度処理の改善及び残留アルミニウムの低減化を図るうえで、有効な凝集剤であることが示唆された。

3) 粒状活性炭からの重金属類の溶出に関する調査

活性炭からの初期溶出に関する調査では粒状活性炭と浸出用液の割合が実設備に近い場合は、ヒ素等の金属が溶出することが明らかとなった。粒状活性炭交換後の立ち上げ作業では、必要に応じてろ過排水等を実施することで、溶出金属を少なくすることができる。

粒状活性炭に関する今後の課題として、経年炭や再生炭からの金属溶出状況、浸出試験の改良、効果的な洗浄方法、金属含有量と溶出量の関係等が考えられる。

粒状活性炭(新炭)に含有する重金属類の溶出特性に関する調査では GAC に含有する重金属類の定量的な測定方法を検討し、水道用の市販 GAC について調査した。7種類(Fe, Mn, Cr, As, Zn, Pb, Cd)全ての重金属類が検出され、その含有量は 0.1 ~ 2000 $\mu\text{g/g}$ -GAC の範囲であった。

GAC カラムにおける Ca 溶液通水初期の重金属溶出濃度は、当該重金属の GAC 含有量

に比例して高くなる傾向が見られたが、通水を継続した場合の溶出特性については、重金属の種類により異なった。As の溶出特性については、通水速度に影響されず、通水量に比例して溶出量の増加が認められた。

4) レアメタルに関する基礎調査

今回の実態調査の結果、コバルトとテルルについては環境中の存在濃度は低いことがわかった。ゲルマニウムは 1 地点のみ低濃度で検出されたが、HRL の設定濃度が低い点を考慮すると、注意を要する。ストロンチウムは全調査地点から検出され、リチウムも多くの調査地点で検出されたが、全国の濃度分布状況は把握できていない。以上の事から、ゲルマニウム、ストロンチウム及びリチウムについては今後も調査を継続し、浄水中の存在量の把握及び毒性評価の情報収集を行う必要があると考える。

F. 研究発表

1. 論文発表

伊藤雅喜、山田俊郎、馬場崇、林田武志、秋葉道宏. 逆流防止装置の異常検出に関する研究、環境工学研究論文集、46; 269-276, 2009

Ohno, K., Matsui, Y., Itoh, M., Oguchi, Y., Kondo, T., Konno, Y., Matsushita, T. and Magara, Y.: NF membrane fouling by aluminum and iron coagulant residuals after coagulation-MF pretreatment, *Desalination*, 254, 17-22, 2010

2. 学会発表

長峯知徳、伊藤雅喜、岡本朗夫、吉井昭寿、杉本聡平. ナノろ過膜処理における原水 pH 制御の効果と薬品洗浄に関する検討. 第 60 回全国水道研究発表会 ; 2009.5.20-22 ; さいたま. 同講演集. p.148-149

林田武志、伊藤雅喜、早瀬久司、洲澤俊綱. 給水装置の構造・材質基準に係わる試験方法に関する検討. 第 60 回全国水道研究発表

会 ; 2009.5.20-22 ; さいたま. 同講演集.
p.352-353

古林祐正, 伊藤雅喜, 山田俊郎, 南方則之,
堀野秀一, 佐藤研一郎, 松井佳彦. パイロ
ットスケールプラントにおける高塩基度
PAC を用いた浄水処理に関する検討. 第 44
回日本水環境学会年会 ; 2010.3.15-17 ; 福岡.
同講演集. p.188

平成 21 年度厚生労働科学研究費補助金（健康安全・危機管理対策総合研究事業）
分担研究報告書

飲料水の水質リスク管理に関する統合的研究

— 一般有機物分科会 —

研究代表者 松井 佳彦 北海道大学大学院工学研究科 教授
研究分担者 秋葉 道宏 国立保健医療科学院水道工学部 部長
西村 哲治 国立医薬品食品衛生研究所環境衛生化学部 部長

研究要旨

消毒副生成物と農薬以外の有機物質について、同化性有機炭素（AOC）、臭気物質、有機フッ素化合物を検討項目とした。本年度は、塩素消費量低減化および微生物の潜在的増殖量の指標となる AOC の低減化のための浄水処理諸条件、かび臭被害の発生状況及びその低減化対策、パーフルオロカルボン酸（PFOS）やパーフルオロスルホン酸（PFOA）などの水道原水中の存在実態等に関して、調査研究を実施することを目的とした。

神戸市水道局の千苜貯水池を対象にかび臭物質の推移について調査した結果、季節によってかび臭物質濃度が変化した。その原因となる障害生物種が季節により異なっていることが明らかとなった。かび臭物質の発生時には取水口の変更や活性炭処理を行い、水道水への着臭を防いだ。

AOC はオゾンで酸化されて増加し、生物処理で 0.05mg/L 程度まで低減した。送配水においては、次亜塩素酸ナトリウムの酸化作用により僅かに増加する傾向にあった。原水からオゾン処理水までは AOC 濃度の変動は大きい。活性炭水以降は年間を通して一定の値を示し、全有機炭素の約 6% に相当した。活性炭全量を新炭に交換した後の通水で AOC が上昇し、安定するのに 2 週間程度を要した。AOC の増減挙動は、有機酸の増減挙動と類似していた。また、生物により有機物がシュウ酸、酢酸を経て蟻酸に分解されることが示唆された。

時期、採水場所が異なる原水とその凝集沈殿処理水を用いて、3 日後の残留塩素濃度が 0.2～0.4 mg/L になるように塩素添加した結果、塩素処理前の DOC や UV254 では 0.5 mg-Cl/L 以下の精度を確保した塩素消費量の予測は困難であり、残留塩素濃度の減少を予測するためには新たな指標の導入が必要であることが明らかとなった。凝集沈殿では、塩素を消費しやすい有機物質を選択的に除去できる可能性が示唆された。

PFOS 及び PFOA の両物質とも、今回採水した都市河川原水とその浄水から検出されたが、最大値は原水で PFOS の 0.014 µg/L であった。配水池水における結果は原水と大きな濃度変化はなく、浄水処理（塩素・ろ過処理）では除去されにくいことがわかった。英国 COT が示している TDI から試算した水道水の毒性評価値は PFOS 0.75 µg/L であり、浄水場の PFOS 最高値はその 1.9% 程度と低値であった。負荷量から推定すると、下水処理場放流水が PFOS と PFOA の排出源の一つであることが確認できた。

EDTA の試験法は、誘導体化や検水をロータリーエバポレーターで濃縮する操作があるなど、操作が煩雑かつ長時間かかるものであるため、前処理方法を簡便化するた

めに検討を行った。固相抽出法を適用することで、目標値の 1/50 から 1/5 の濃度範囲に対して、簡素化および前処理時間の短縮化する方法を確立することができた。

A. 研究目的

消毒副生成物と農薬以外の有機物質について、同化性有機炭素 (AOC)、臭気物質、有機フッ素化合物を検討項目とした。本年度は、塩素消費量低減化および微生物の潜在的増殖量の指標となる AOC の低減化のための浄水処理諸条件、かび臭被害の発生状況及びその低減化対策、環境中や生物体内での残留性が高く、発がん性などの健康影響も疑われ、広範囲な汚染が懸念されているパーフルオロカルボン酸 (PFOS) やパーフルオロスルホン酸 (PFOA) などの水道原水中の存在実態等に関して、調査研究を実施することを目的とした。

B. 研究方法

(1) AOC の挙動に関する調査

実施設を主体として、取水場から送配水管路における AOC の挙動、オゾン注入率、活性炭接触時間および新炭の影響について有機酸の動向も含めて調査を行った。また、代替指標としての有機酸との相関、および有機酸の処理プロセスでの変化について調査した。

(2) 溶存有機物の性質と塩素消費量の関係

溶存有機物の性質と塩素消費量の関係を調べるために、河川水と水源池水を対象として、ポリ塩化アルミニウム (PAC) による凝集沈殿処理水後の水の塩素消費量、DOC および UV254 の測定を行った。

(3) PFOS 及び PFOA の存在実態

平成 19 年 6 月～平成 21 年 6 月、東京近郊の都市河川及び地下水系における PFOS と PFOA の存在実態を、固相抽出-LC/MS 法を用いて調査した。

C. 研究結果と考察

(1) 千苺貯水池におけるかび臭物質の推移とその対策

神戸市水道局の千苺貯水池を対象にかび臭物質の推移について調査した結果、季節によってかび臭物質濃度のみでなく、その原因となる障害生物種が異なっていた。平成 21 年度は原因微生物を特定することが困難で、且つ継続して観測されてきた深水層におけるかび臭物質は発生しなかった。かび臭物質の発生時には取水口の変更や活性炭処理を行い、水道水への着臭を防いだ。

(2) AOC の挙動に関する調査

取水から浄水場までの導水管内で生物的作用により AOC は低減されていた。

浄水場内では、オゾンによる酸化で増加し、活性炭処理の生物作用で低減した。この高度処理の導入によりろ過水の AOC は、0.1 mg/L から 0.05 mg/L 程度に低下した。送配水においては、消毒剤として添加される次亜塩素酸ナトリウムの酸化作用により僅かに増加傾向にあった。各プロセスの挙動は、原水からオゾン処理水までは AOC 濃度変動は大きいですが、活性炭水以降は安定して 0.05 mg/L 程度であった。沈澱水までは AOC-P17 が AOC-NOX より多いが、オゾン処理で AOC-NOX が大きく増加した後は AOC-NOX の割合が多くなった。次亜塩素酸ナトリウム添加後、ろ過水以降では、AOC-NOX が徐々に増加する傾向であった。これら浄水系の AOC は、全有機炭素の約 6% に相当した。

オゾン注入率が高くなるほど、オゾン水の AOC は高くなる傾向が認められるが、活性炭水とろ水では、ほぼ一定値であり

オゾン注入率と顕著な相関は認められなかった。

活性炭全量を新炭に交換した後、通水開始後に AOC が上昇し、安定するのに 2 週間程度を要した。この時、通水初期には AOC-P17 の存在割合が高く、通水に伴い低下した。AOC-NOX は、初期は低いが一旦上昇した後低下する傾向を示した。AOC の増減は、有機酸の経日変化と類似しており、有機酸が影響しているものと思われた。有機酸の中で、酢酸は通水開始後高くなりその後低下した。シュウ酸についても初期に若干高い傾向が認められた。蟻酸は通水開始後徐々に高くなり一定値を示すようになった。これらは、通水に伴い生物が増殖し有機物がシュウ酸、酢酸を経て蟻酸に分解されたためと思われる。この有機酸の変化が AOC-P17 と AOC-NOX 濃度に影響したと思われる。このように、新炭に交換した場合は、十分な生物処理が行われるまでは AOC が一時的に高くなることがわかった。

ろ過水以降、TOC、UV 値は常時一定値を示す傾向であり、従属栄養細菌は培養日数を 14 日間としてもほぼ検出されない。酢酸は、AOC と同様の増減傾向であるが、活性炭水では低下する傾向を示した。有機酸の内訳は、原水から沈澱水までは酢酸が多いが、オゾン水でシュウ酸が増加し、その後は蟻酸がわずかに多い傾向を示した。活性炭水以降、シュウ酸と蟻酸が増加しているが、これは、次亜塩素酸ナトリウムの添加により有機物が酸化されたためと思われる。

有機酸は炭素換算して、オゾン処理水、ろ過水、浄水及び送配水では、AOC に対して 40~50%であるが、活性炭水は 25%程度であり、有機酸として測定している 3 成分以外が関与しているものと思われた。

AOC と有機酸に相関が認められたことから、有機酸によって AOC の予測が可能であると思われる。

(3) 溶存有機物の性質と塩素消費量の関係

安全でおいしい水を供給する観点から、給水栓での残留塩素濃度は 0.1~0.4 mg/L の範囲で制御することが望ましいが、配水中における残留塩素の減少は主として溶存有機物質等による塩素の分解反応や水道管壁面における塩素の分解反応によって消費されるため制御することが難しい。

水源池水を対象とした凝集沈殿処理について、残留濁度は 2 mg-Al/L で急激に低下したが、有機物質濃度の指標である DOC や UV254 は、12 mg-Al/L にかけて添加量と共に緩やかに低下した。濁度に対する最適添加量は 4 mg-Al/L と考えられたが、その添加量において DOC、UV254 の減少量はそれぞれ 39%、29%であった。一方、PAC 添加量 4 mg-Al/L において 41%の低減率、12 mg-Al/L 添加したものは塩素消費量を 52%減少させることができたことがわかった。

PAC 添加量 4 mg-Al/L において塩素消費量の低減率が DOC、UV254 の除去率よりも大きいこと、さらに 4 mg-Al/L から 12 mg-Al/L に PAC 添加量が増加した場合も DOC、UV254 は 9%減少している一方で、塩素消費量の減少は 11%と若干大きいことから、凝集沈殿処理は若干ながら塩素を消費しやすい有機物質を選択的に除去できていると考えられた。DOC および UV254/DOC 当たりの塩素消費量が、添加量によって 1~3 割の減少が確認された。一般に凝集沈殿処理では高分子量の溶存有機物質を優先的に除去することが考えるため、処理により溶存有機物質の組成が変化し、それらが単位 DOC 当たりの塩素

消費量に影響することが考えられた。

DOC, UV254 については、活性炭を 5 g/L まで添加することにより大きく減少し、その後は直線的に減少しているようであり、塩素添加量は全添加量においてほぼ直線的に減少しているようであった。活性炭 15 g/L 添加では無添加のものに比べて、DOC, UV254 はそれぞれ、53%, 60% 減少している一方で、塩素消費量は 52% 減少に留まることがわかった。活性炭処理は塩素を消費しにくい有機物質を選択的に除去できている可能性が示唆された。

オゾン処理の影響については、今回の条件におけるオゾン酸化では実際の浄水処理時と同様 DOC はほとんど除去できないが、UV254 については数分のオゾン処理時間で 70% 以上の大きな減少が見られ、塩素添加量は数分で大幅に増加、その後はほとんど変化がないことがわかった。DOC については若干の増加が見られたが、本オゾン処理においては処理前にろ過を行っておらず、粒子状の有機物質の一部が可溶化したことが考えられた。

オゾン処理によって、DOC は変化せず、UV254 は減少する一方で、塩素消費量は増加した結果、単位 DOC もしくは単位 UV254 当たりの塩素消費量は大幅に増加する可能性が示唆された。

水源池の原水については、DOC の増加に伴い塩素消費量が増加するという関係が得られたが、塩素消費量の幅は同一 DOC 濃度でも 0.7 mg-Cl/L 以上あり、DOC 濃度から 0.2~0.4 mg-Cl/L の残留塩素濃度の制御を行うことは困難であると考えられた。塩素消費量の幅は同一 UV254 では 1.0 mg-Cl/L 程度あり、UV254 単独で残留塩素濃度の制御を行うことは困難であると考えられた。溶存有機物質の性質の違いが塩素消費量に影響することが示唆された。

凝集沈殿処理水では、原水の結果より

はばらつきの範囲が狭くなっていたが、同一 DOC もしくは UV254 においても依然 0.5 mg-Cl/L 以上の残留塩素濃度のばらつきが見られ、DOC や UV254 での塩素消費量、末端での残留塩素の予想の困難さを示した。

このように塩素消費量をさらに精度良く予測するためには、官能基、分子量といった溶存有機物質の性質を示す指標が必要であると考えられた。

(4) PFOS 及び PFOA の存在実態

平成 19 年 6 月～平成 21 年 6 月の期間、東京近郊の都市河川及び地下水系における PFOS と PFOA の存在実態を、固相抽出-LC/MS 法を用いて調査した。

PFOS 及び PFOA の両物質とも、今回採水した東京近郊の都市河川原水とその浄水から検出されたが、最大値は原水で PFOS の 0.014 µg/L であった。浄水場配水池水に関しても同原水と同様の値を示した。

英国 COT が示している TDI から試算した水道水の毒性評価値は PFOS 0.75 µg/L, PFOA 7.5 µg/L であり、浄水場の PFOS 最高値はその 1.9% 程度と低値であった。また、別の水源においても最高で PFOS が 0.008 µg/L, PFOA が 0.005 µg/L, PFOS が 0.014 µg/L 程度と、低値であった。

関西地域では PFOA が比較的高い濃度を示す傾向が公表されているが、本調査では PFOS の方が高い濃度であることがわかった。配水池水における結果は原水と大きな濃度変化はなく、浄水処理（塩素・ろ過処理）では除去されにくいことがわかった。

負荷量から推定すると、下水処理場放流水が PFOS と PFOA の排出源の一つであることが確認できた。

(5) EDTA の分析法における前処理方法の検討

EDTA の試験法は、誘導体化や検水を

ロータリーエバポレーターで濃縮する操作があるなど、操作が煩雑かつ長時間かかるものであるため、前処理方法を簡便化するための検討を行った。固相抽出法を適用することで、目標値の 1/50 から 1/5 の濃度範囲に対して、簡素化および前処理時間の短縮化することができた。

D. 結論

AOC はオゾンおよび次亜塩素酸ナトリウムで酸化されて増加し、生物処理で低下し、浄水では全有機炭素の約 6%に相当する 0.05 mg/L 程度まで低減していた。原水からオゾン処理水までの AOC 濃度変動は大きいですが、活性炭水以降は年間を通して安定していた。沈澱水までは AOC-P17 が AOC-NOX より多いが、オゾン処理後は AOC-NOX の割合が多くなった。活性炭全量を新炭に交換した通水初期には AOC-P17 の存在割合が高く、通水に伴い低下した。AOC-NOX は、初期は低いが一且上昇した後低下する傾向を示した。AOC の増減は、有機酸の経日変化と類似しており、有機酸が影響しているものと思われる。通水に伴い生物が増殖し有機物がシュウ酸、酢酸を経て蟻酸に分解することが示唆された。

現在の高度処理施設のシステムおよび運用においては、十分に AOC が低減されているものと思われた。一方、浄水処理過程での有機酸生成状態や濃度の変化が AOC に影響を与えるものと推測された。

AOC をさらに低減することは、送配水の微生物の増殖を抑制し微生物リスクの安全性を高めることができ、おいしい水の供給の観点から検討されている残留塩素濃度の低減化に対しても有意義であると思われることから、引き続き調査を継続することが必要である。

塩素濃度は初期の急激な減少後緩やかに低下するが、塩素消費量を初期の DOC

や UV254 では予測、整理できないことが明らかとなり、残留塩素濃度の減少を予測するためには新たな指標の導入が必要であることが明らかとなった。凝集沈殿では、塩素を消費しやすい有機物質を選択的に除去できる可能性が示唆された。

PFOS 及び PFOA の両物質とも、今回採水した東京近郊の都市河川原水とその浄水から検出されたが、原水の最大値で PFOS の 0.014 µg/L であった。英国 COT が示している TDI から試算した水道水の毒性評価値は PFOS 0.75 µg/L であり、浄水場の PFOS 最高値はその 1.9%程度と低値であった。配水池水における結果は原水と大きな濃度変化はなく、浄水処理（塩素・ろ過処理）では除去されにくいことがわかった。

負荷量から推定すると、下水処理場放流水が PFOS と PFOA の排出源の一つであることが確認できた。

EDTA の試験法は、誘導体化や検水をロータリーエバポレーターで濃縮する操作があるなど、操作が煩雑かつ長時間かかるものであるため、前処理方法を簡便化するための検討を行った。固相抽出法を適用することで、目標値の 1/50 から 1/5 の濃度範囲に対して、簡素化および前処理時間の短縮化することができた。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) 林 祐輝・中井 智司・奥田 哲士・西嶋 渉・岡田 光正 (2009) 塩素消費量低減の視点からの浄水処理工程の評価, 第 41 回化学工学会秋季大会

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

平成 21 年度厚生労働科学研究費補助金（健康安全・危機管理対策総合研究事業）
分担研究報告書

飲料水の水質リスク管理に関する統合的研究
－微生物分科会－

研究代表者 松井 佳彦 北海道大学大学院工学研究科 教授
研究分担者 泉山 信司 国立感染症研究所寄生動物部 主任研究官
研究分担者 秋葉 道宏 国立保健医療科学院水道工学部 部長
研究分担者 松下 拓 北海道大学大学院工学研究科 准教授

研究要旨

水道水の微生物学的な安全性は凝集沈殿ろ過と塩素消毒により担保されてきた。クリプトスポリジウム等の耐塩素性病原微生物の混入による大規模な水系集団感染の経験を契機として、塩素消毒に大きく依存する微生物対策を改めて見直すことが求められている。

一般細菌に置き換わる指標としての従属栄養細菌測定が開始され、全国の測定値が徐々に明らかになりつつある。一般細菌に比べて高感度な試験が可能となったことで、不検出ではない、有意な測定値が得られている。

ウイルスではインフルエンザウイルスの処理性を検証し、水道の安全性を確認した。また活性炭処理による吸着除去が期待できることを示した。

耐塩素性病原微生物対策として、試料水の濃縮方法、クリプトスポリジウムならびにジアルジアの迅速遺伝子検査法を開発した。rRNA の逆転写によってクリプトスポリジウム等の高感度検出が可能となり、実用化に向けての道が開けてきており、qRT-PCR による定量、並びに直接塩基配列決定による種や型の情報が得られた。一方、顕微鏡検査によりクリプトスポリジウム等検査が定期的に行われているが、209 水道事業体中 22 事業体（11%）において原水からの検出を確認した。畜産排水処理施設に着目し、病原性原虫の流出傾向を調査したところ、処理施設への流入水中のクリプトスポリジウム濃度は 24,000～960,000 oocysts/L、ジアルジア濃度は 3,900～810,000 cysts/L であり、検出率・濃度とも高かった。排水処理による両原虫の除去は平均で 2～3 log 程度であったが、処理に不良が生じると原虫の除去性能が著しく低下した。

A. 研究目的

微生物分科会では水道の微生物汚染に係る諸問題、すなわち従属栄養細菌、腸管系ウイルス、そして耐塩素性病原微生物を包括的に検討し、水道の微生物学的な安全性確保と向上を目指している。

平成 20 年 4 月より従属栄養細菌数の測定

は水質管理目標設定項目に追加された。従属栄養細菌を一般細菌に代わる指標として活用するには、現状を明らかにし、活用方法の整理と実践が必要と考える。

腸管系ウイルスでは現行の浄水処理によって十分に不活化・除去されることを示すことが、安全・安心につながる。トリインフルエ

ンザウイルスは腸管で増殖して鳥間での水を介した糞口感染が指摘されることから、水道におけるインフルエンザウイルスの処理性について確認を行った。近年の活性炭の微粉化によりウイルスの吸着が考えられたことから、活性炭処理によるウイルス除去性について検討を行った。

クリプトスポリジウム等の耐塩素性病原微生物対策ではモニタリングシステムの拡充に向けた濃縮方法と検出方法の開発検討を進めている。平成 19 年 4 月に適用となった指針で浄水を毎日 20 リットル以上採水して 14 日間の保存が推奨されており、これに対応した濃縮保存法としての粉体ろ過法の実用性についての実地の評価を行った。浄水だけでなく、原水への適用拡大も目指し、ろ過面積増加による原水ろ過を併せて検討した。

現行の指針におけるクリプトスポリジウム等検査法は顕微鏡を主体とする検査法であるが、顕微鏡検査に比べて複数の試料を一括して処理が可能となる遺伝子検査法に期待が寄せられている。qRT-PCR 法による検出法を新たに開発し、実試料への適用を試みた。クリプトスポリジウム等に関しては排出源対策が重要であることから、畜産施設からのオーシストの排出状況を調査した。

B. 研究方法

B1 従属栄養細菌の指標性に関する研究

全国各地における従属栄養細菌の検出状況については各地の水道事業者がインターネット上で公表している水質検査結果を集計した。低濃度の残留塩素が存在する状況での従属栄養細菌増殖（リグロース）の可能性については、実験的に低濃度の残留塩素を保持したモデル環境を作り、消毒に不利な条件である、高 pH 値、濁度含有の条件下での従属栄養細菌の挙動を追跡した。

B2 腸管系ウイルスに関する研究

インフルエンザウイルスはヒトインフルエ

ンザ（H1N1 季節性）ならびにトリインフルエンザ（H5N3）を使用した。これらの遊離塩素消毒、モノクロラミン消毒、紫外線消毒の効果について検討した。

活性炭処理における処理性評価には Qβ ファージ他を用い、複数の微粉化活性炭と所定の条件下で接触処理した後に、ブラック法により評価した。接触条件用に 5 種類のイオン調整水を作成し、実験に供した。Milli-Q 水に NaHCO₃ を添加してアルカリ度を 20 mg-CaCO₃/L に調整したものをイオン調整水・Control とし、このイオン調整水・Control に NaCl を 200 μM 添加したものを Na, MgCl₂·6H₂O を 100 μM 添加したものを Mg, CaCl₂ を 100 μM 添加したものを Ca, CaCl₂ を 500 μM 添加したものを Ca(500) とした。イオン調整水は、HCl を用いて pH 6.8 に調整した後、膜孔径 0.2 μm のメンブレンフィルターでろ過してから実験に供した。

B3 耐塩素性病原性微生物の研究

浄水試料の濃縮・保存を可能とする、酸溶解性の粒状ハイドロキシアパタイトを用いたケーキろ過フィルターを用いて事業者の協力を得て実用性を確認した。浄水の実地検証例として神奈川県内の 2 つの水道事業者、A 市；河川表流水を原水 15,500m³/日浄水場、B 市：深井戸を水源とする浄水場の協力を得た。A 市では 20L, 60L, 及び B 市では 24 時間の連続濃縮を行った。一方、原水濃縮法としての応用には相模川河川水を用いて、ろ過水量等を確認した。原水適用装置モデルは、浄水用 37mm サンプリグユニットならびに原水用 90mm 径フィルターホルダーにろ紙と粉体を使用した。

核酸迅速検査法のためのオーシスト、シストからの核酸抽出は以下の手順で行った。

試料を濃縮

↓

免疫磁気ビーズ法による精製

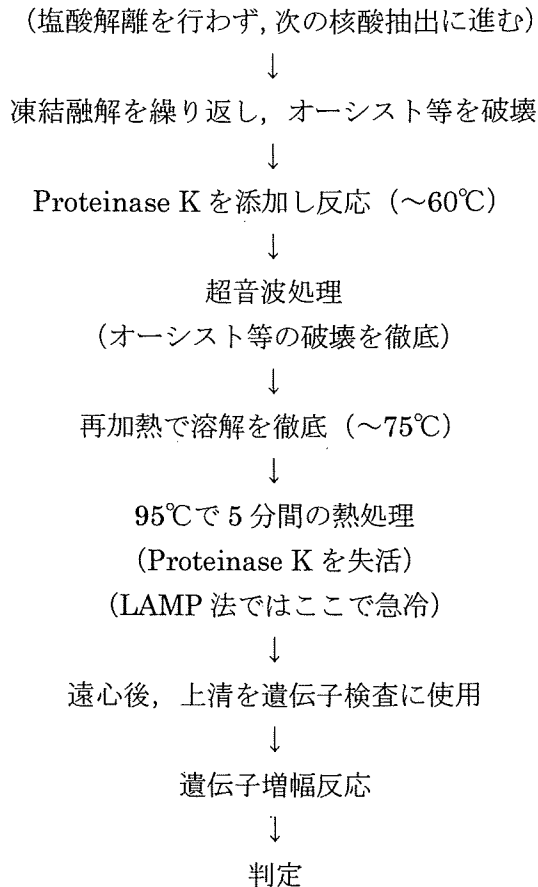


図 遺伝子抽出手順を中心とした遺伝子検査法の流れ

qRT-PCR 法では Cycleave 法ならびに Universal Qprobe 法による検出法を開発した。いずれも逆転写反応を行い、ついで PCR を行う 2 ステップ法で行った。感度試験では、クリプトスポリジウムならびにジアルジアの核酸抽出液を 10 倍毎の連続希釈濃度で調整して反応を行った。実試料での qRT-PCR 法の検討には、昨年に RT-LAMP 法の検討で使用した保存試料ならびに利根川水系の河川水試料を利用し、RT-LAMP 法、検鏡法と比較した。

試料は定法に従い調製した。環境水 20L を定法に従いフィルター濃縮した。濃縮液を 2 等分し、それぞれ免疫磁気ビーズによる精製を行った。一方を定法に従い検鏡法で、他方を核酸抽出に使用した。濃縮液の沈渣量が多い場合には、沈渣を 2~3 等分し、それぞれ

を免疫磁気ビーズで精製した。全ての環境水試料は磁気ビーズ精製後-20°Cで冷凍保存し、後日まとめて核酸抽出を行った。qRT-PCR 法により陽性となった増幅産物は電気泳動を行い、増幅産物を確認した後、直接塩基配列決定を行った。

全国のクリプトスポリジウム等検出状況は、インターネット上で公表している 197 水道事業体の測定値を集計し、その解析を試みた。

養豚施設の汚染実態調査では、養豚舎内に排泄された糞便と母豚の直腸便を FEA 法により検査し、試料の一部から磁気ビーズ法によりクリプトスポリジウム等を精製し、RT-LAMP 反応を行った。

畜産施設の排水処理評価では、畜産流入排水は 2L、畜産排水処理水は 10 L からクリプトスポリジウム等の検出を試みた。なお、調査対象施設では畜舎排水は活性汚泥法で処理がなされていた。施設への流入排水は遠心濃縮、排水は中空糸限外ろ過膜で加圧ろ過濃縮した。超音波処理後にショ糖密度勾配遠心法で精製したオーシストをセルロースフィルター上で蛍光抗体染色し、定法に従い顕微鏡で計数した。

C. 研究結果および考察

C1 従属栄養細菌の指標性に関する研究

インターネット上で公表されている従属栄養差金の検出状況を調査した。従属栄養細菌が水質管理目標設定項目となった平成 20 年 4 月以降、多くの水道事業体で試験が行われ、一部の結果が公開されており、その結果を集計した (図 1)。浄水場出口、給水栓などの浄水系試料では 100cfu/ml 未満がその大半を占めるが、最高値は 5,900cfu/ml であった。水質管理目標項目の目標値(2,000cfu/ml)を超えた報告はこの 1 例のみであった。

十分塩素と接触した水道水を、遊離残留塩素濃度を下げた状態で保存し、従属栄養細菌のリグロースが起こるか試験した。さらに誤接続等による汚染が生じた場合を想定し、低

残留塩素状況下、あるいは塩素濃度は水質基準内ではあるが消毒に不利な場合の条件（高 pH 値、濁質含有）についても検討した。具体的には、試料の遊離残留塩素をチオ硫酸ナトリウム溶液で遊離残留塩素を減らし、0.1, 0.05, 0.0mg/L とし、その後、時間経過とともに減少する残留塩素濃度を維持するために適宜次亜塩素酸ナトリウム溶液を添加した。その結果残留塩素が 0.05mg/L 程度存在する場合には、極微量の原水を添加した場合を含めて、pH7.2 前後あるいは pH8.0 においても 10 日以前に従属栄養細菌の顕著な増殖は認められなかった。しかし、濁度 0.17 度を含む試料水で同様の実験を行ったところ、0.1, 0.05mg/L の残留塩素では従属栄養細菌の増殖が認められ、残留塩素濃度が低下するほど増殖は早期に見られた（図 2）。

C2 腸管系ウイルスに関する研究

インフルエンザウイルスの塩素消毒、モノクロラミン、紫外線による不活化を、細胞への感染性を指標として評価した。H1N1 型は 0.1mg/L の 30 秒間の接触時間で 4-log 以上の不活化が得られた（図 3A）。これは文献に報告されているトリインフルエンザ（H5N1）消毒と遜色ない結果と考えられた（Rice ら, 2007）。H1N1 型のモノクロラミン消毒では 0.4mg/L の 10 分間の接触時間で 2-log 以上が不活化された（図 3B）。H1N1 型ならびに H5N3 型の紫外線消毒では、4mWs/cm² の線量で 2-log 以上が不活化された（図 3C）。以上の結果、インフルエンザウイルスが他のウイルスと比較して、消毒処理に高い耐性を持つことは無かった。

活性炭処理におけるウイルス除去はこれまで想定されていなかったが、各処理工程におけるウイルス処理性を明らかにする目的で、微粉化活性炭（S-PAC）へのウイルス吸着を試験した。各イオン調整水（Control, Na, Mg, Ca, Ca（500））における各 S-PAC（Coconuts-①, Wood-①, Wood-②, Wood-

③）のゼータ電位とウイルス（Qb）の Log 除去率の関係を図 4 に示す。いずれの条件下の S-PAC も負に帯電していた。およそ 3 ないし 6-log のウイルス吸着が認められ、その条件であるイオン調整水・Ca（500）における各 S-PAC（Coconuts-①, Wood-①, Wood-②, Wood-③）、イオン調整水・Mg, Ca における S-PAC（Wood-②, Wood-③）では、ゼータ電位の絶対値が 30 mV よりも小さかった。一方、ウイルスの吸着がほとんど認められなかったイオン調整水・Control, Na における各 S-PAC（Coconuts-①, Wood-①, Wood-②, Wood-③）、イオン調整水・Mg, Ca における S-PAC（Coconuts-①, Wood-①）のゼータ電位の絶対値は 30 mV より大きかった。ウイルスのゼータ電位は、いずれのイオン調整水でも -5 mV から -10 mV 付近であったことから、ウイルスと活性炭は共に負に帯電しているため、その間には電気的な斥力が働いたと考えられた。なお、1 価の陽イオンより、2 価の陽イオン存在下がよりウイルスの吸着除去が高く、ウイルスの吸着除去は時間の経過とともに増加した。また微粉化によって活性炭の径を小さくすることでウイルスの吸着除去性能が向上する傾向が見られた。

C3 耐塩素性病原微生物の研究

酸溶解性ハイドロキシアパタイト粒子を用いたケーキろ過濃縮方法は、これまでに綾瀬浄水場の浄水では 400L 程度のろ過が実用的であることが示されていたが、神奈川県内の 2 つの水道事業体の協力を得て実施した試験でも、期待通りのろ過結果を得た。A 市および B 市で行った濃縮操作ならびに綾瀬浄水場浄水での結果を図 5 に重ねて示した。A 市で行った 20L 設定モード、60L 設定モード、連続モード及び B 市で行った連続モードの実験で、3 事例を除いて、概ね期待通りろ過濃縮できることが確認された。問題の 2 事例は A 市浄水場の実験で生じた閉塞の事例で、ろ過濃縮物の検鏡でフロック様の懸濁物質が観察

された。A市浄水場は通常は濁度が低く凝集剤（パック）が注入されておらず、添加凝集時のpH値が高かったこと、急速攪拌やフロック形成が不十分であることが原因と推定された。この様に濃縮量と所要時間の関係及び濃縮産物の検鏡結果などから浄水処理上の課題も判明し、ろ過施設における凝集剤の未使用の実態とアルミニウム濃度の管理の関係、ろ過池の管理の重要性を改めて認識した。期待通りのろ過水量が得られなかった残りのB市での1事例は、流速計のトラブルが原因であり、流速計をろ過後に配置することで障害を避ける変更など改善を図った。

粉体ろ過法を原水に適用を拡大するための検討を行った。平成21年12月～平成22年1月の相模川社家取水を使用し、90mm金属ホルダーを使用した原水適用装置モデルでの濃縮実験を行った。実験を行った期間中の濁度は2度前後(1.3～2.2度)であった。図6にろ過所要時間とろ過量の関係を示した。HAの使用量、初期量および追加量を0～3g(計6g)の範囲で変化させ濃縮実験を行った。どの条件でも約15分で社家取水10Lを濃縮することが可能という結果が得られた。また、今回実験に用いたような低濁度であれば、HAの投入量に関係なく、原水40L～50L程度までの濃縮が可能と判断された。さらに、ろ過圧を上げることにより、より短時間で濃縮することができることも確認された。なお、90mmPTFE製ろ紙及び浄水用の37mmサンプリングユニットでは、濁度2度程度の原水でも10L濃縮することは難しいと判断された。

クリプトスポリジウム等の迅速遺伝子検査法の開発では新たにCycleleave法ならびにUniversal Qプローブ法によるRT-PCRの高感度検出系を確立した。これまでのRT-LAMP法と同様に高感度な検出が可能であり、最終のPCR反応チューブあたりにして、Cycleleave法ではクリプトスポリジウムが0.0048個程度、ジアルジアが0.0002個程度、Universal Qプローブ法ではクリプトスポリ

ジウム0.0075個程度から安定して検出された(図7, 8)。なお、ジアルジアはrDNA遺伝子のコピー数が多かったことから、RT反応無しでも0.01個程度から安定した検出が可能であった。RT-LAMP法に習い、高感度な2つのqRT-PCR法を開発することができた。簡便な定性試験に利便性が期待されるLAMP法とは異なり、定量PCRでは必要に応じオーシスト・シスト数を求めることが可能であり、応用が期待された。

実際の河川試料を用いた場合として、qRT-PCR、RT-LAMP、顕微鏡法の比較を行い、いずれも対応する結果が得られた(表1, 2)。顕微鏡に比べて遺伝子検査が若干高感度である一方、反応阻害に注意すべきと考えられた。Cycleleave法増幅産物の直接塩基配列決定を行った結果、いずれもクリプトスポリジウムあるいはジアルジアの塩基配列が得られ、特異的な増幅であったことが確認された。また実証試験として、これまで遺伝子検査の経験が無かった水道事業体において顕微鏡法とRT-LAMP法を比較しても、遜色ない結果が得られ、実用性に問題は無かった。

現在、ホームページ上でクリプトスポリジウムの検出状況を公表している水道施設は219事業体にのぼる。水源は表流水から地下水まで様々であるが、このうち原水からクリプトスポリジウムを検出した事業体は209事業体中22事業体(11%)に留まり(最大値は26オーシスト/10L)、検出報告が関東に集中するなどの地域差が生じていた。報告の事業体が試験に熟練した施設に偏る傾向が伺えることから改めて外部精度管理システムの必要性を検討する時期にあるものと考えられる。なお、浄水から検出されている事例はなかったことを付記する。

養豚施設の調査からは2ヶ月齢のブタからクリプトスポリジウムが検出され、rRNA遺伝子の一部配列の97%が一致したことから、遺伝子型はpig genotype IIおよび*Cryptosporidium suis*(要精査)と考えられ

た。いずれの遺伝子型もヒトからの検出例が報告されている。ジアルジアは 2~6 ヶ月齢の子ブタから検出され、遺伝子型は Assemblage E であることを、rRNA 遺伝子の一部配列から (100%一致) 確認した。Assemblage E は主に有蹄類を宿主とするものであるが、ヒトからの検出例も報告されている。

畜産排水処理施設を調査した結果、流入排水中のクリプトスポリジウムオーシスト濃度は 24,000~960,000 oocysts/L, ジアルジアシスト濃度は 3,900~810,000 cysts/L であり、検出率・濃度とも高かった。畜産排水および処理水中濃度から排水処理による両原虫の除去を算出したところ、平均で 2~3 log 程度除去されることがわかったが、汚泥のバルキング (膨化: 汚泥が沈降しにくくなり、上澄水が得にくくなる現象) が生じて処理に支障をきたすと、原虫の除去が著しく低下することを確認した。家畜密度の高い流域において取水を行う場合、下水同様、畜産由来の原虫汚染について注意を払う必要があることが示された。

E. 結論

従属栄養細菌の指標性に関する研究

全国的な浄水系試料の検出状況は 100cfu/ml 未満がその大半を占めたが、最高値は 5,900cfu/ml であった。水道水の残留塩素濃度を下げた状態で保存し、従属栄養細菌を監視したところわずか (0.05mg/l) でも残留塩素が存在する場合には、従属栄養細菌の顕著な増殖は認められなかった。しかし、濁度 0.17 度の沈殿処理水を試料として同様の実験を行ったところ、0.1, 0.05mg/l の残留塩素を含んでいても従属栄養細菌の増殖が認められた。

腸管系ウイルスに関する研究

インフルエンザウイルスの消毒を、細胞への感染性を指標として評価した結果、インフ

ルエンザウイルスが他のウイルスと比較して、消毒処理に高い耐性を持つことは無かった。

活性炭によるウイルスの吸着除去を評価した結果、活性炭とウイルスの間の電気的な斥力が小さいこと、微粉化された細孔のある活性炭であること、イオン濃度が影響していることなどが考えられた。

耐塩素性病原微生物の研究

簡便で効率的なクリプトスポリジウム等原虫類の試験のためのサンプル濃縮に、ハイドロキシアパタイト粒子のろ過濃縮法を開発し、所定のろ過性能が得られた。ケーキフィルターを大容量向けに大型化することで原水にも適用可能であることを確認した。

全国的なクリプトスポリジウム等検出状況を調査した結果、クリプトスポリジウムの検出を報告している事業者は 22 事業者であり、11%に過ぎなかった。検出状況は予想以上に低く個々の試験機関における精度管理の必要性が指摘されるものと判断された。

免疫磁気ビーズによるクリプトスポリジウムオーシストの分離・精製と組み合わせた RT-LAMP 法に加え、Cycleave 法ならびに Universal QProbe 法を用いた高感度な qRT-PCR 法を構築した。いずれの方法も他法と同様の検出結果が得られており、特異性や感度は実用的と考えられた。qRT-PCR は定量法としての利用が期待され、加えて増幅産物の塩基配列決定によりクリプトスポリジウムジアルジアの種別型別への応用も期待された。

畜産排水処理では両原虫が平均で 2-3 log 程度除去されていたが、汚泥のバルキングが生じると、原虫の除去が著しく低下した。病原性原虫は現行の排水規制では規制対象となっていないことから、家畜密度の高い流域において取水を行う場合、畜産由来の原虫汚染について注意を払う必要があることを改めて認識した。

F. 研究発表

1. 論文発表

Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y., Oshiba, A. and Ohno, K., Estimation of norovirus removal performance in a coagulation-rapid sand filtration process by using recombinant norovirus VLPs, *Water Research*, 44, 1307-1316, 2010.

白崎伸隆, 松下拓, 松井佳彦, 大芝淳, 浦崎稔史, 大野浩一, 遺伝子組換えノロウイルス外套タンパク粒子(rNV-VLPs)を用いたヒトノロウイルスの浄水処理性評価, *環境工学研究論文集*, 46, 415-422, 2009.

Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y., Urasaki, T. and Ohno, K., Comparison of behaviors of two surrogates for pathogenic waterborne viruses, bacteriophages Q β and MS2, during the aluminum coagulation process, *Water Research*, 43(3), 605-612, 2009.

Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y., Kobuke, M. and Ohno, K., Comparison of removal performance of two surrogates for pathogenic waterborne viruses, bacteriophage Q β and MS2, in a coagulation-ceramic microfiltration system, *Journal of Membrane Science*, 326, 564-571, 2009.

Inomata, A., Kishida, N., Momoda, T., Akiba, M., Izumiyama, S., Yagita, K. and Endo, T., Development and evaluation of a reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification assay for rapid and high-sensitive detection of *Cryptosporidium* in water samples, *Water Science and Technology*, 60 (8), 2167-2172, 2009.

2. 学会発表

Urasaki, T., Matsushita, T., Shirasaki, N., Oshiba, A., Matsui, Y. and Ohno, K., Removal of norovirus VLPs in drinking water treatment process, *Proceedings of The 3rd IWA-ASPIRE Conference*, Taipei, Taiwan, 18-22 October 2009.

Matsushita, T., Shirasaki, N., Oshiba, A., Urasaki, T., Matsui, Y. and Ohno, K., Removal of norovirus by a coagulation-ceramic MF hybrid system, *Proceedings of Euromembrane 2009 Conference*, Montpellier, France, 6-10 September 2009.

Matsushita, T., Shirasaki, N., Kobuke, M., Matsui, Y. and Ohno, K., Effective removal of virus by ceramic microfiltration with in-line coagulation pretreatment, *Proceedings of Euromembrane 2009 Conference*, Montpellier, France, 6-10 September 2009.

Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y., Urasaki, T., Oshiba, A. and Ohno, K., Evaluation of norovirus removal performance in a coagulation-ceramic microfiltration process by using recombinant norovirus VLPs, *Proceedings of 5th IWA Specialised Membrane Technology Conference for Water and Wastewater Treatment*, Beijing, China, 1-3 September 2009.

Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y., Oshiba, A., Urasaki, T. and Ohno, K., Application of recombinant norovirus VLPs to evaluate norovirus removal performance in a coagulation-sedimentation-rapid sand

filtration process, Proceedings of Nanoparticle and Particle Separation 2009, Durham, USA, 3-5 June 2009.

Matsushita, T., Shirasaki, N., Urasaki, T., Oshiba, A., Matsui, Y. and Ohno, K., Removal of norovirus during conventional drinking water treatment process -application of recombinant NV-VLPs to laboratory-scale experiments, Proceedings of 15th International Symposium of the Health-Related Water Microbiology Group, Naxos, Greece, 31 May-5 June 2009.

白崎伸隆, 松下拓, 松井佳彦, 大芝淳, 浦崎稔史, 大野浩一, 遺伝子組換えノロウイルス外套タンパク粒子(rNV-VLPs)を用いたヒトノロウイルスの浄水処理性評価, 第 46 回環境工学研究フォーラム, 2009.

白崎伸隆, 松下拓, 松井佳彦, 大野浩一, ウイルス外套タンパクを用いたヒトノロウイルスの浄水処理性評価, 第 12 回日本水環境学会シンポジウム, 2009.

大芝淳, 白崎伸隆, 浦崎稔史, 松下拓, 松井佳彦, 大野浩一, 浄水処理におけるノロウイルスの処理性評価, 第 60 回全国水道研究発表会, 2009.

猪又明子, 百田隆祥, 泉山信司, 遠藤卓郎: RT-LAMP 法による水試料からのクリプトスポリジウム高感度検出. 日本水処理生物学会第 46 回大会, 平成 21 年 11 月 11~13 日, 高知市

石井孝明, 金田聖子, 吉田伸広, 森田重光, 平田強, Cryptosporidium オーストおよび Giardia シストの精製方法の検討, 日本水環境学会年会 (2009.3)

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

2. 実用新案登録

3. その他

なし

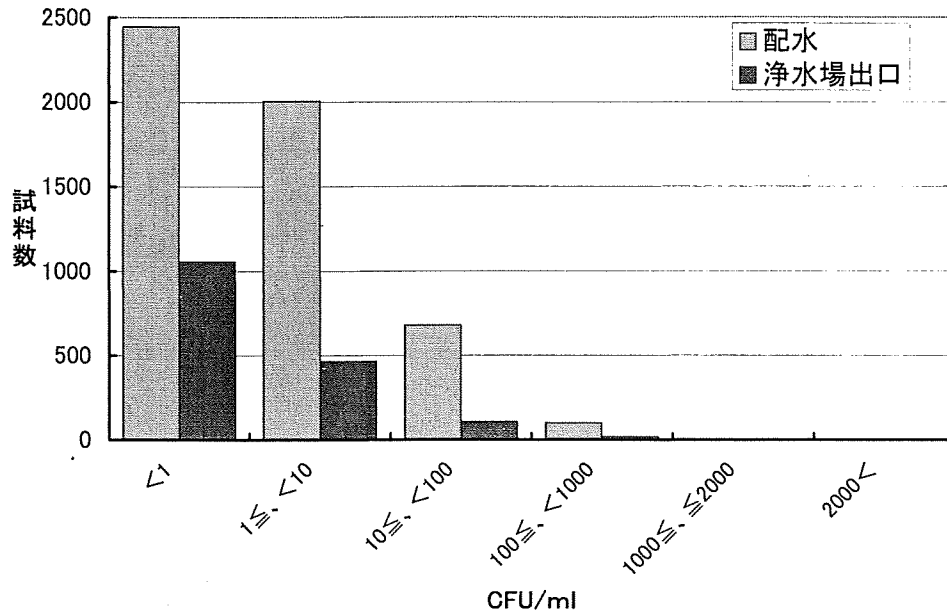


図 1 インターネット上で公開された従属栄養細菌の検出状況（試料総数 6888）

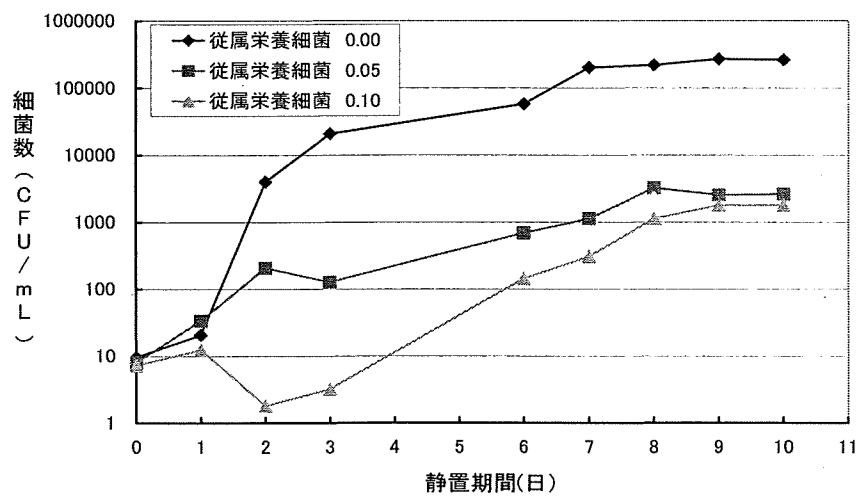


図 2 濁質添加、低遊離残留塩素下における従属栄養細菌数（pH 値未調整、約 7.24）

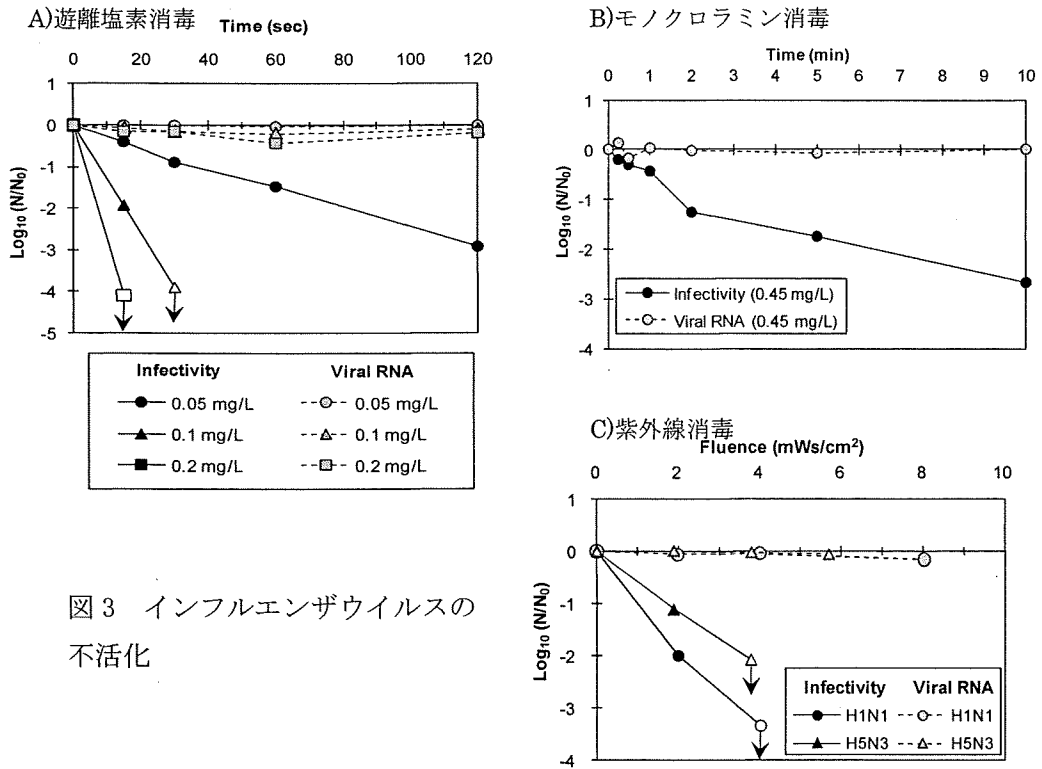


図3 インフルエンザウイルスの不活化

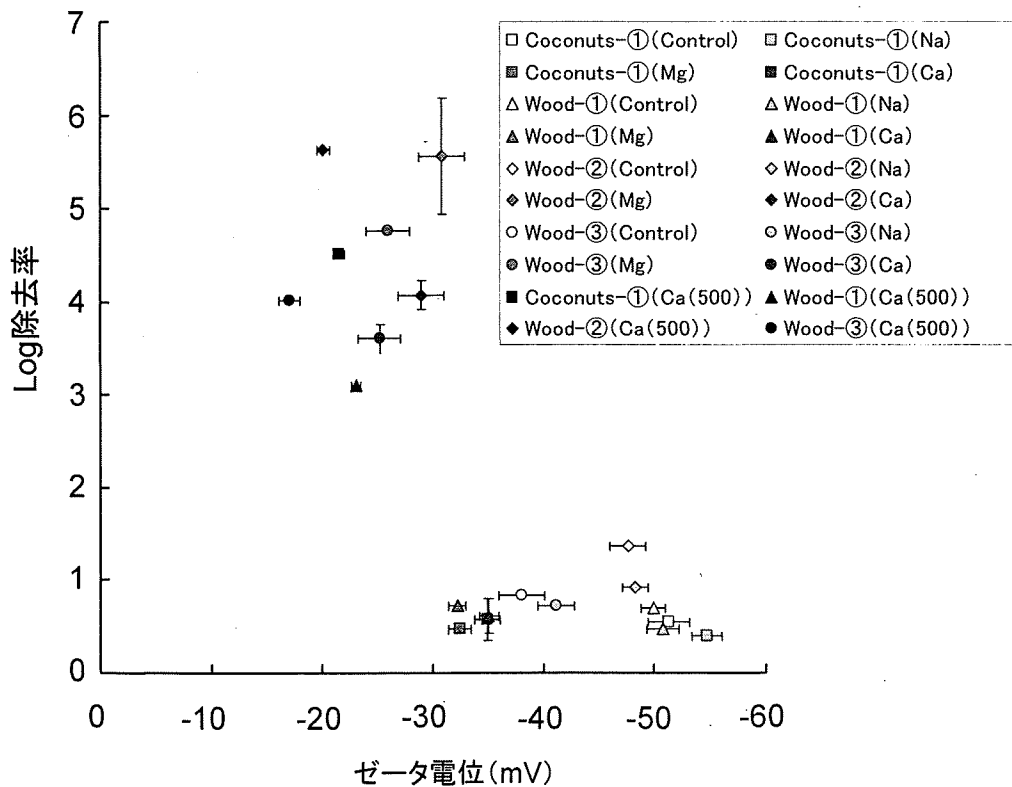
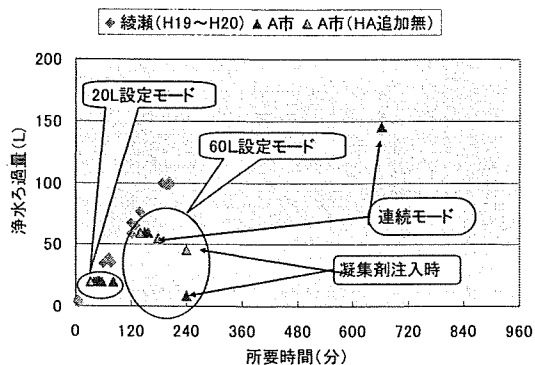


図4 各イオン調整水における微粉化活性炭のゼータ電位とウイルスのLog除去率の関係(8時間後)

A) 20L、60L 設定他



B) 連続濃縮他

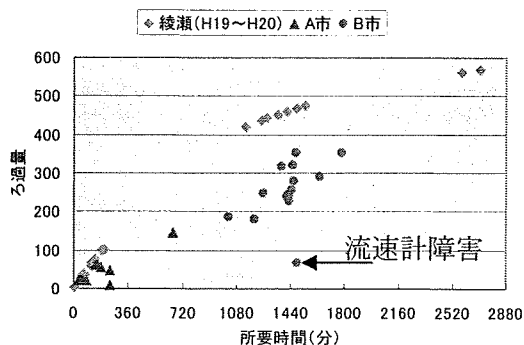


図5 浄水ろ過量と所要時間の関係

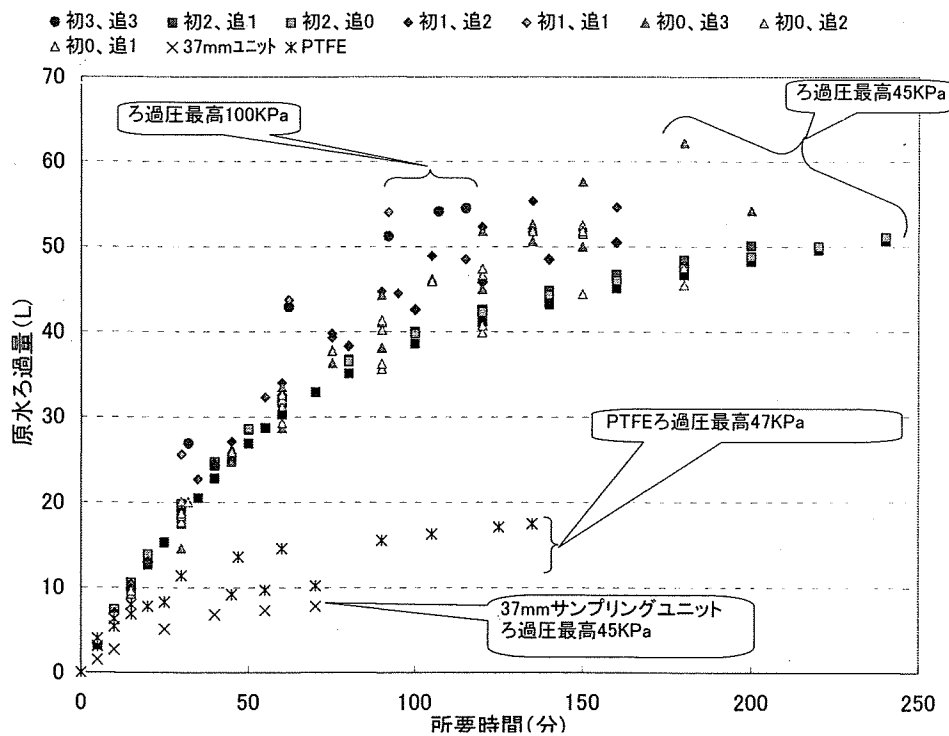


図6 原水ろ過量と所要時間の関係

A) クリプトスポリジウム検出系

B) ジアルジア検出系

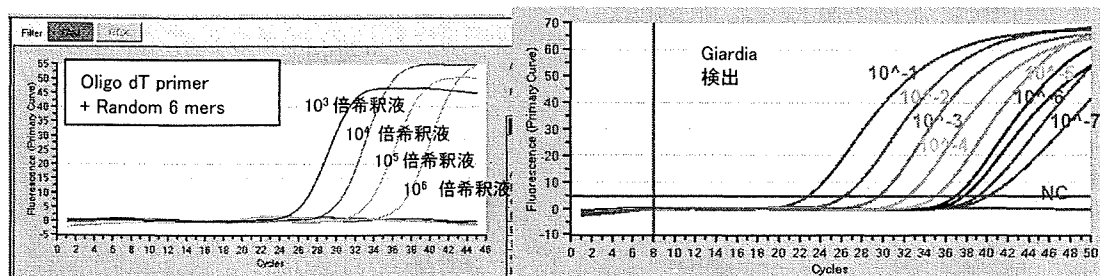


図7 Cycleave法 RT-PCRによるクリプトスポリジウム等検出の増幅曲線

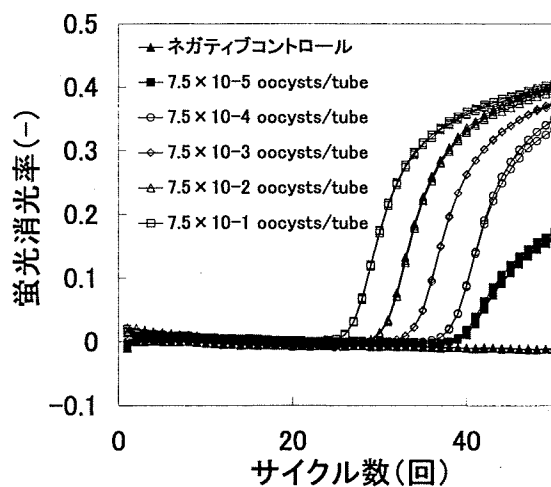


図8 Universal QProbe RT-PCR法によるクリプトスポリジウム検出の増幅曲線

表1 顕微鏡観察、RT-LAMP、qRT-PCR法によるクリプトスポリジウム等検出の比較

| # | 水の種類 | 水量 | クリプトスポリジウム | | | ジアルジア | | | 備考 |
|----|-------|-----|------------|----------|--------|-------|---------|--------|---------|
| | | | 検鏡 | RT-LAMP* | RT-PCR | 検鏡 | RT-LAMP | RT-PCR | |
| 1 | 湧水 | 10L | - | - | - | - | - | - | 陰性対照 |
| 2 | 伏流水 | 10L | - | - | - | - | - | - | 陰性対照 |
| 3 | 浄水 | 20L | 0 | - | - | - | - | - | 陰性対照 |
| 4 | 浅井戸 | 10L | 0 | - | - | - | - | - | 陰性対照 |
| 5 | 表流水 | 5L | 4.5 | -(+) | + | 10 | + | + | |
| 6 | 表流水 | 5L | 1 | -(-) | - | 5 | - | + | |
| 7 | 養豚場排水 | 5mL | 10 | -(+) | - | - | - | - | |
| 8 | 表流水 | 10L | 530 | -(+) | + | - | - | - | |
| 9 | 表流水 | 10L | - | + | + | - | + | + | |
| 10 | 表流水 | 10L | - | + | + | - | - | - | |
| 11 | 表流水 | 10L | 1 | + | + | - | - | - | |
| 12 | 表流水 | 5L | 4 | + | + | 2 | + | + | |
| 13 | 同上 | 同上 | - | + | + | + | + | + | 12と同一試料 |
| 14 | 表流水 | 10L | 400 | + | + | - | - | - | |

*():内は鏡型使用量を5から1μL使用で追試験を行った