

2006年2月 インディアナ州 コミュニティ水道	<i>Campyrobacter</i> spp.	32	公共水道が感染源で32人の郡住民が胃腸炎に罹患。9人中7人の下痢試料から <i>Campyrobacter</i> spp. が検出された。流行時には大腸菌群と大腸菌が検出。流行発生前に塩素剤注入機が故障しており、塩素注入率が不適切であった。また新たな配水管を敷設した際、圧力試験に飲料水ではない水を用いたことによりクロスコンタミネーションが起った。	クロスコンタ ミネーション 消毒装置故障
2006年7月 メリーランド州 ノンコミュニティ	norovirus G1	148	キャンプ参加者が胃腸炎に罹患。10人の下痢試料を試験したところ、8試料から norovirus G1 が検出された。ガーデンハウスの飲料水試料の9/10において大腸菌群と大腸菌が検出された。主な原因は給水装置に不具合のあるトイレ（逆流防止装置が取り付けられていない）と、手洗い場が限定されていたことによる。また、配水システムには検出可能なレベルの塩素が含まれていなかった。	逆流（誤接続）

表2 EU諸国での中間イベント別フォルツリー分析結果³⁾

中間イベント	流行発生数	平均貢献度 (%) (標準偏差)	水源の種類別				
			地下水		表流水		
			流行発生数	平均貢献度 (%) (標準偏差)	流行発生数	平均貢献度 (%) (標準偏差)	
	n=61		n=24		n=22		
水源	41	50.5 (26.6)	19	60.3 (23.2)	17	39.0 (26.3)	
浄水処理	41	49.0 (25.6)	18	35.6 (22.3)	17	59.0 (23.2)	
配水	19	87.4 (22.0)	6	84.5 (24.9)	5	80.8 (26.5)	
検出	16	22.6 (16.0)	6	17.8 (8.3)	7	18.6 (18.3)	

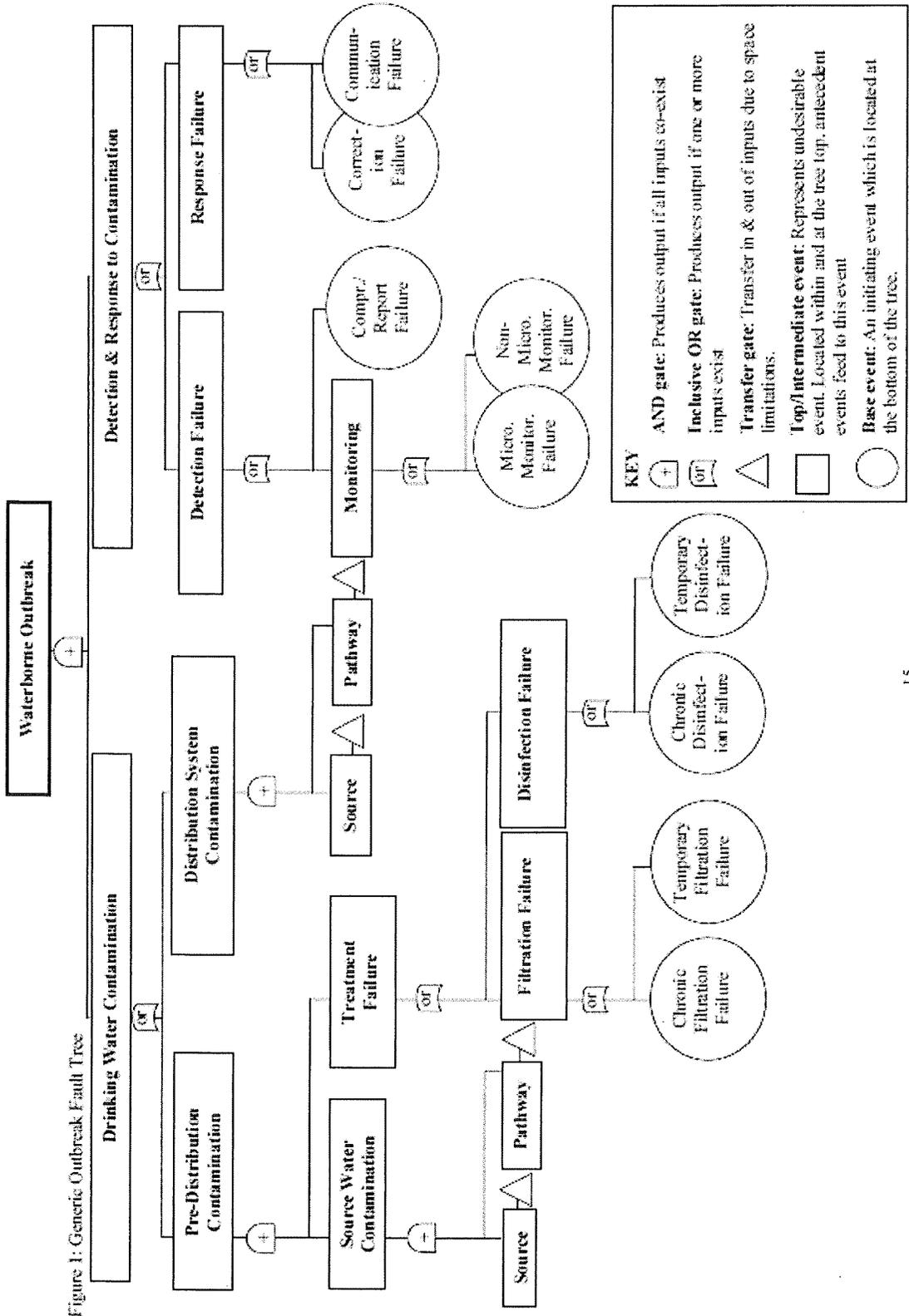


Figure 1: Generic Outbreak Fault Tree

図 1 水系感染症発生におけるフォルトツリー図³⁾

当該の 61 件の水系感染症発生事例「水源」「浄水処理」「配水」「検出」の間で分析を行ったところ、配水に関しては、発生頻度は低い（約 30%）ものの、平均貢献度は 87.4 点と極めて高い（給配水過程単独の不具合で発生する確率が高い）という結果となった（表 2）。

「配水」に対する base event の中では、「逆流・クロスコネクション」が極めて高い貢献度（平均で 95 点）となったが、実際にこれが原因で感染症が起こった事例は 1 回のみであった。水道の管轄外で行われた「逆流・クロスコネクション」に起因する事例は比較的高い頻度（15%）で起こり、その平均貢献度も高かった（85.4 点）。

D. 考察

給配水過程を原因とする水系感染症の発生件数および流行全体に占める割合は、米国が 2003-2004 年に 6 件（42.9%）、2005-2006 年が 2 件（20%）。EU 諸国が 1990-2004 年に 30%であった。これらから給配水過程の不具合に起因する水系感染症は、いずれの国でも無視することのできないレベルで存在することが確認された。

その中でも、米国は水源の汚染や消毒の不良などを主な原因とし、クロスコネクションが事例発生のトリガー、あるいは被害を拡大させるとみられる事例が多かった。EU 諸国は個々の事例の詳細は不明であるが、給配水過程の不具合が流行に関与している事例の中で配水過程の貢献度が高かった。これは、給配水過程での不具合を単独の要因として、集団感染症を引き起こす可能性があることを示している。また、給配水過程の中でも「逆流・クロスコネクション」の貢献度が最も高かった。EU 諸国では配水過程での残留消毒剤保持を規定しない場合があるため、給配水過程での突発的汚染発生等の事象に対して脆弱となる可能性が想定される。

E. 結論

米国及び EU 諸国における飲料水由来の水系感染症の事例分析から、給配水過程に起因する水系感染症流行のリスク要因としてクロスコネクションや消毒の不備が重要であること、また、EU 諸国では給配水過程での突発的汚染発生等の事象に対して脆弱となる可能性があることが示された。近年、米国においては非飲料水（修景、灌漑、トイレの洗浄、工業、発電所の冷却水）の使用量が近年増加しており、クロスコネクション発生のリスクは増加している²⁾。このことから、飲料水と非飲料水の配管識別の明確化、広報・教育活動などの方策がより一層重要になると考えられる。

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

- 1) Jenifer L. Liang, Eric J. Dziuban, Gunter F. Craun, Vincent Hill, Matthew J. Gelting, Rebecca L. Calderon, Michael J. Beach, Sharon L. Roy: Surveillance for Waterborne Disease and Outbreaks Associated with Drinking Water and Water not Intended for Drinking – United States, 2003-2004, MMWR Surveillance Summaries, 55(SS-12). 31-65 (2006).
- 2) Jonathan Yoder, Virginia Roberts, Gunter F. Craun, Vincent Hill, Lauri Hicks, Nicole T. Alexander, Vince Radke, Rebecca L. Calderon, Michael J. Beach, Sharon L. Roy: Surveillance for Waterborne Disease and Outbreaks Associated with Drinking Water and Water not Intended for Drinking – United States, 2005-2006. MMWR Surveillance Summaries, 57(SS-9). 39-69(2008).
- 3) Beate Hamsch, 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).

厚生労働科学研究 平成 21 年度分担研究報告書 オランダにおける配水システム管理の全体像

研究分担者：京都大学大学院 伊藤 禎彦

研究要旨:オランダにおいて、いかに塩素を使用しない水道水の配水が可能になっているかについて論じた。まず、トリハロメタンが発見されてから 2005 年の完全停止に至るまで、30 年以上の歳月をかけて、科学的な知識・技術、その実用化、行政的施策・体制などを積み重ねながら進めてきた点を強調した。微生物的安全確保の上で特筆されるのは、定量的感染リスク評価の実務への導入である。そこでは、水道水から微生物が検出されないからリスクゼロとするのではなく、リスク問題と真摯に向き合う姿勢がみられた。これに加えて、微生物的に安定な水の配水、配水管材質の選定を含む配水管内面での生物膜生成の制御、配水管網の維持管理など、実務上必要と考えられる方策を重ね合わせている。総じて、塩素を使用しないシステムとするために、配水システムで起きる現象を注意深く監視するとともに、維持管理を強力に行っている。安全方策を幾重にも設けることによって、はじめて塩素を使用しない水道水の配水を実現しているとみることができ

1. はじめに

オランダはかねてから水道水の消毒に塩素を使用しない国として有名である。筆者は 2008 年から 2009 年にかけて 5 カ月間 KWR 水道・水循環技術研究所 (KWR Watercycle Research Institute, 以下、KWR と記す) に滞在し、特に定量的感染リスク評価 (Quantitative Microbial Risk Assessment; QMRA) に関する実務を行う機会を得た¹⁾。本稿では、この滞在経験をもとに、オランダにおける塩素使用の停止の理由・背景、またそれを可能とするための方策などについて、筆者の考察を交えつつ紹介する。

2. オランダにおける塩素消毒停止の現状

トリハロメタン問題は周知のように、1972 年、ライン川下流から取水していたオランダ、ロッテルダム水道水中にクロロホルムが含まれている事実が報告されたことに始まる。1974 年には、米国で、ミシシッピ川を水源とするルイジアナ市民に関する疫学調査結果が報告された。1976 年には米国国立がん研究所が動物実験によってクロロホルムの発がん性を確認する。これがトリハロメタン問題の端緒といえる。それらを受けて、米国環境保護庁は 1979 年、総トリハロメタン濃度を 0.1 mg/L 以下 (年間平均値) とする規制を開始する。わが国でも 1981 年になって、総トリハロメタン暫定制御目標値として 0.1 mg/L 以下 (年間平均値) が設定されるに至る。以上の経緯については様々な資料にまとめられている²⁻⁴⁾。また、トリハロメタンはロッテルダム市水道のルークによって発見されたとされるが、その発表に至る経緯や当時のオランダの対応などについては、芦谷^{5,6)}が生き生きと描写しており極めて興味深い。

トリハロメタンの発見と併行して、各国で塩素消毒の位置づけの根本的な見直し、浄水処理プロセスの再構築などが進められていった。塩素消毒そのものも、注入量の低減や、代替消毒剤の検討などが行われてきた。もちろんオランダでも同様の動きがみられるが^{7, 8)}、この国に特徴的なのは、塩素消毒そのものを中止する浄水場も広まっていったことである。

オランダはかねてから塩素消毒を殆ど行っていない国としてわが国でも有名であった⁹⁾。しかし実

は、全国で塩素が全く使用されなくなったのは比較的最近のことなのである。

オランダで最後の塩素消毒を停止したのは、ロッテルダムをはじめとする南西地域へ配水している水道会社エビデスであり、2005年のことである。クロロホルムが世界で初めて発見されたのは、このエビデスがもつベーレンプラート浄水場である。そこで国内で最後まで塩素を使用していたというのは、ある意味で皮肉なことといえよう。

ただ注意すべきなのは、確かに塩素使用を停止はしたが、二酸化塩素の使用(UV消毒も併用)に切り替えたという点である。二酸化塩素はいうまでもなく配水系での残留性を確保できる消毒剤である。筆者がベーレンプラート浄水場を訪問(2008年)したとき、国内の他地域では塩素を停止したのに、ここで2005年まで停止できなかった理由を尋ねた。それに対して、配水系でのアエロモナスのリスクが依然として懸念され払拭できないからという回答であった。現段階では、残留性が確保できる二酸化塩素はまだ必要と考えており、懸念が払拭されれば将来的には止めたいと考えているという。

ここで重要な点は、1972年にクロロホルムが発見されてから2005年塩素使用の完全停止に至るまで、実に30年以上の歳月をかけて、一步一步進めてきているということである。この間、科学的に必要な知識・技術、その実用化、行政的施策・体制などをひとつひとつ積み重ねながら今日に至っている。塩素を入れないのは、文化が異なるから、リスクに対する考え方が異なるから、水温が低いから可能だったということでは決してない。実際、上記の例のように、微生物リスクの懸念がある場合には、塩素使用は停止したものの二酸化塩素を使用し残留性を確保しているのである。2010年現在、二酸化塩素を使用している浄水場はオランダ国内に数ヶ所ある(ただし給水末端までの残留性保持を要件としているわけではない)。

本稿では、この国での塩素停止の理由・背景、またそれを可能とするための各種方策について論じてみたい。

3. 塩素消毒停止の理由、可能であった背景

塩素消毒の停止に至る経緯は単純ではない。ここでは、停止の動機、塩素の役割と限界に関する認識、オランダという国で可能であった背景などについて紹介する。塩素なしを可能とするための技術・方策については別に4章で述べる。

3.1 塩素消毒停止への動きの理由

(1)消毒副生成物

トリハロメタンが世界で初めてこの国で発見されたインパクトが大きかったことは想像に難くない。トリハロメタン発見の後、中間塩素処理を含む塩素消毒の見直しや注入量の低減、オゾン—粒状活性炭を使用する高度処理の導入などの浄水処理プロセスの再構築などが進められていった^{7,8)}。しかしこのこと自体はわが国を含む多くの国に共通することであり、トリハロメタンの世界初の発見が塩素停止の決定的な理由とはいえないようである。

(2)味とにおい

塩素消毒停止への動きの大きな理由のひとつに味とにおいの問題があるという。これに対する苦情の影響が大きかったようである。

塩素が使われなくなった現在では、95%以上の人水質と安全性に満足し信頼しており、89%の人が水質からみた料金水準に満足しているという統計もある¹⁰⁾。実際、味指数(taste number)で見ると、塩素使用時には値が大きかったが、塩素停止後は小さな値となり、苦情はなくなったという。ボトルウォーターの消費量も欧州の先進国と比べると極めて低く、このことはオランダ国民の水道水への

満足度を反映したものであるとしている¹⁰⁾。現在、オランダにおいて、性状関連項目のうち改善ニーズが高いのは硬度である。

3.2 可能であった背景

オランダにおいて水道水源は、1/3 が表流水(浸透ろ過後の水を含む)であり、2/3 は地下水である¹¹⁾。表流水を水源としている地域は主として国の西部であり、地下水を水源としているのは東部、北部、南部地域である。汚染されたライン川とマース川の下流域に位置するこの国では、歴史的に、水源としては微生物的に安全な地下水が好ましいとされてきた⁷⁾。

そして地下水を水源としている地域では、数百年間、塩素を全く入れていないという。通常、地下水は微生物的に安定な水質であり、塩素を入れる必要がないという判断である。

このためこの国では、塩素を順次停止していくことに抵抗感が大きくないのである。それに対してわが国のように塩素を全国どこでも使用している国では、ある水道事業者が塩素使用を中止するとは例外をつくることを意味し、容易なことではないだろう。ひとつの国の中で塩素をそもそも使用していない地域が広く存在していたことが、塩素停止する浄水場を増やし、さらには全面停止へ向けても動きやすかったということがいえる。

また、東部地域では、従来から塩素使用しておらず、カルキ臭がない。このため塩素注入されている西部地域と比べ、国内で味とにおいの差が顕著となる。このため西部地域でもカルキ臭を嫌う傾向が強かったという。塩素を入れなくなると、塩素を入れているところの味とにおいの差が顕著となることから、さらに塩素をやめる方向に動いていったようである。

もちろんその他の背景要因も無視できない。経済力、地理的条件、人口密度などが間接的な関連因子と考えられる。

3.3 塩素の役割と限界に関する認識

先に述べたように一歩一歩塩素使用を回避してきているのであって、当然のことながらその間、塩素消毒の意義についても賛否交えた議論が長くなされてきた。その結果、現在では概ね以下のような認識に到達している⁷⁾。

- ・ 欧州(英国、フランス、オランダ)において浄水中 *E.coli* の検出頻度を整理した。例えば、オランダにおける2001-2003年の測定結果によれば、0.01-0.09%で*E.coli*または高温耐性大腸菌群が検出されている¹²⁾。この検出頻度を塩素の有無で比較すると、塩素消毒を行っている浄水場の方が極めて低いわけではない。すなわち、塩素消毒は微生物的安全性を高めるための追加プロセスとしての意義は低いと考えられる。
- ・ 配水過程で汚染が発生した場合、その汚染水には一般に有機物が多く含まれるので塩素は容易に消費されてしまう。粒子に付着している微生物は塩素から保護され不活化されない。また、*E.coli* は容易に不活化されてしまうので、たとえ指標菌が検出されなくてもクリプトスポリジウムなどは不活化されず、結局リスクは残ることになる。総じて、残留塩素は配水過程での再汚染に対しては限定的な効果しか持たない。

実際、配水系統における*E.coli*の検出頻度を調べたところ、オランダでの2001-2003年の測定結果によれば、0.1%で*E.coli*または高温耐性大腸菌群が検出されている¹²⁾。この検出頻度を英国、フランスと比較したところ、塩素消毒を行わないことで配水中での検出頻度を高めていることはない結論した。この結論は、一部で消毒剤が残留していないドイツとの比較でも同じである¹³⁾。

- ・ 残留塩素は確かに細菌の再増殖を抑制する効果がある。これに対しオランダでは、AOC (Assimilable Organic Carbon; 生物同化可能有機炭素)指標によって微生物的安定性を確保

することによっても、再増殖は制御できるという考え方をとっている。

- ・ EU 諸国で発生した 61 の感染流行事例を分析した¹⁴⁾ところ、主な原因は、逆流、クロスコネクション、修理、漏水、低水圧、浄水処理や原水での不具合などであった。ほとんどの感染流行は残留塩素が保持されている配水システムでおきているのも事実である。結局のところ、配水系での残留塩素は感染流行の発生防止に十分機能しているわけではない。

4. 塩素なしでの給配水を可能にするための方策

塩素を使用せず安全な水道水を配水するためにはさまざまな方策が必要であるが、ここでは水源の水質保全、浄水場での運転管理、給配水システムの衛生管理など一般的な事項ではなく、塩素なしでの配水実現に直結する、あるいはオランダに特徴的な事項を中心に述べる。

4.1 水源確保と浄水処理におけるマルチバリア

まずは、良好な原水の確保が根本的であることは論をまたない。ライン川、マース川の下流域・河口域に位置するオランダでは特に重要である。その考え方は以下のとおりである⁷⁾。

- 1) 微生物的に安全な地下水を用いるのが好ましい。地下水の取水位置の周囲には、概ね地下で 60 日程度の到達時間が確保できるように保全区域が設定されている。
- 2) 表流水の場合は、なるべく浸透ろ過させてから取水する。
- 3) 特に表流水を直接原水とする場合には、浄水処理システムをマルチバリアシステムとする。

ただし表流水の比率は次第に増加する傾向にあり、2007 年現在で 38.6%に達している¹⁵⁾。

浄水処理プロセスとしてマルチバリアシステムを備えている代表的な処理フローを図 1 に示す¹¹⁾。水道会社ウォーターネットがもつライダイネ浄水場のプロセスであるが、大きな特徴は、凝集—急速砂ろ過による前処理を行った水を砂丘に導いて浸透ろ過処理¹⁶⁾を行っていることである。砂丘浸透させる水を蓄えた運河・浸透池の様子を写真 1 に示す。この水が土壤に浸透し、60-400 日滞留した後、集水管などによって水路に集められる。また、その後、オゾン—粒状活性炭処理を行っているが、このいわゆる高度処理水を緩速砂ろ過処理している点も大きな特徴である。この他、PWN 北ホランド州水道がもつヘムスカーク浄水場では、オゾン—粒状活性炭による高度処理水をなんと自然に返して浸透ろ過を行っている⁸⁾。

マルチバリアシステムを備える目的は、汚染河川の下流に位置するためさまざまな汚染化学物質の除去や硝酸態窒素の除去など多様である。中でも特徴としてあげられるのは、処理プロセスにおける微生物の除去・不活化を重要な目的として位置付けている点である。浄水処理プロセスでの微生物の除去・不活化能を評価する研究¹⁷⁾も数多く行われており、例えば、砂丘などによる浸透ろ過処理では $8 \log_{10}$ 以上の高い除去能を期待できる^{18, 19)}などの結果が得られている。砂丘浸透ろ過については、芦谷^{20, 21)}が、微生物の除去・不活化に加えて、水量確保、希釈、水質の平準化などの機能について論じている。さらに、マルチバリアシステムでは、4.3 で述べる AOC 濃度の低減も重要な目的となっている。

ただ、周知のように、近年は膜ろ過の導入が進んでいる。膜ろ過では、除去対象物質を明確にでき、その除去能も確定的であることから、筆

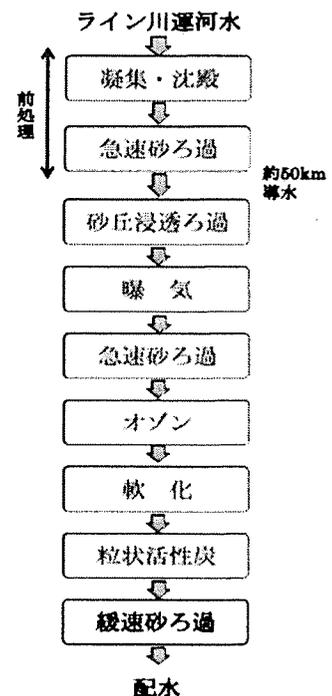


図 1 ウォーターネット・ライダイネ浄水場におけるマルチバリアシステム



写真 1 砂丘と浸透ろ過させる水を蓄えた運河・浸透池(ウォーターネット・ライダイン浄水場)

表 1 オランダにおける微生物に関する水質要件 (2001 年施行)

項目	基準値
QMRAによって、腸管系ウイルス、クリプトスポリジウム、ジアルジア等の年間感染リスクが 10^{-4} 以下と評価されること	
大腸菌と腸球菌	0 CFU/100 mL
アエロモナス*	1000 CFU/100 mL以下
従属栄養細菌(22° Cにおける形成集落数)*	100 CFU/mL以下
大腸菌群とクロストリジウム*	0 CFU/100 mL

a: 運転管理基準

者は水質変換マトリックスの観点からマルチバリアシステムの再構築が可能であろうと考えている。実際、ヘムスカーク浄水場では、一部の水について UF と RO で処理を行っているが、この水は(あたりまえのことだが)浸透ろ過には回されていない^{8, 11)}。

4.2 QMRA

上述した良好な原水の確保や浄水処理におけるマルチバリアシステムの構築に加えて、オランダの水道水質管理において特筆されるのは、水道水の微生物的安全性を確保するため、定量的感染リスク評価(QMRA)の手法を実務に導入していることである。オランダにおける現行の水質基準²²⁾は2001年から施行されているものであるが、そのうち微生物に関する項目を表1に示す。上述したアエロモナスなど4つの項目(うち3つは運転管理上の基準)があるが、注目すべきは、これに加えて、「QMRAによって、腸管系ウイルス、クリプトスポリジウム、ジアルジア等の年間感染リスクが 10^{-4} 以下と評価されること」という項目が存在することである。こんな項目があるのは世界でここだけである。

すなわち各水道会社は、法律によって、自分たちが供給する水道水の微生物感染リスクを定量評価し提示することが義務付けられている(主として表流水を原水とする場合)。そして、感染リスクが年間 10^{-4} 以下の安全な水道水を供給する義務を負う。QMRAの手法自体はオランダが構築したわけではなく、学術的成果は別にある²³⁾。しかしQMRAの手法を水道水供給の実務の場に適用しているという点では、世界の中でオランダが抜きん出ている。筆者が滞在したKWRは、オランダ国内でQMRAの重要性を認識させ、法律によって評価を義務付けることに成功しているのである。そして、実務者が扱いやすいようにソフトウェアのインターフェイスを構築し、QMRA toolとして各水道会社に配布している。

ある浄水場の浄水についてリスク評価を行った例⁷⁾を図2に示す。腸管系ウイルス、カ

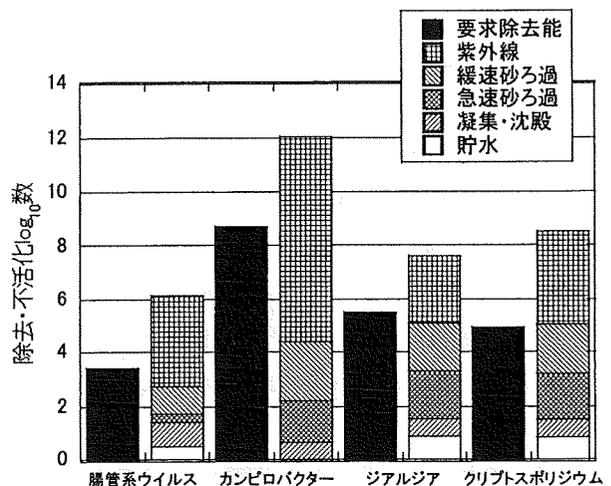


図2 微生物に対する要求除去能と保証除去能の評価例⁷⁾

ンピロバクター、クリプトスポリジウム、ジアルジアの結果を示している。“要求除去能”とは、原水中微生物濃度と 10^{-4} リスクレベルを満足する微生物濃度から、浄水処理で除去・不活化することが要求される \log_{10} 数を計算したものである。これに対して、この浄水場がもつ貯水、凝集・沈殿、急速・緩速砂ろ過、UV で期待できる除去・不活化 \log_{10} 数を積み上げている。“要求除去能”が示す \log_{10} 数は 10^{-4} レベルを意味するので、例えば $2 \log_{10}$ 大きければ 10^{-6} レベルであることを意味する。こうしてこの浄水場では、4 種の微生物について、塩素消毒を行わなくても十分安全な水道水を生産できることを示している。ただしこの感染確率値については、表 1 に示す他の水質項目のように一般の人がウェブ等を通じて容易にアクセスできるほどには情報公開は進んでいない。

さて筆者は、水道会社ウォーターネットがもつヴェスパカスプル浄水場を対象として QMRA を行う機会を得た²⁴⁻²⁶。浄水場の処理フローは、凝集一貯水(滞留時間 89 日)一急速砂ろ過一オゾン処理一軟化一粒子活性炭一緩速砂ろ過である。もちろん塩素消毒は行われておらず、緩速砂ろ過が「最終消毒装置」とみなされている。*E. coli* を指標微生物とし、カンピロバクターの年間感染リスクを評価した。

塩素消毒を行わないので、緩速砂ろ過処理後の水は配水される水道水そのものである。2 系列について合計 1393 回(2003 年~2004 年)のデータをみたが、さすがに *E. coli* については、1 回検出例(0.2 *E. coli* /100mL)があるほかはすべて 0 であった。

しかし、 10^{-4} リスクレベルを満足する微生物(細菌、ウイルス、原虫)濃度とは $100\sim 10000 \text{ m}^3$ に数単位というレベルである²⁷。したがって、この分野では一般に、微生物の測定値が 0 であることをもってリスクゼロと考えるのは非常に初歩的な段階であると考えられている。

このため筆者は、処理プロセスの除去・不活化能をひとつひとつ丁寧に評価²⁸することとした。緩速砂ろ過後の *E. coli* 測定値はほぼ全て 0 なので、そのままでは緩速砂ろ過の除去能を評価することができない。そこで、パイロットスケールで行われた緩速砂ろ過による *E. coli* の除去実験結果を用いた。先述したようにこの国では、処理プロセスにおける微生物の除去・不活化能の評価¹⁷は、わが国よりもはるかに重要視されている。こうして処理プロセスの総合除去・不活化能をモンテカルロシミュレーションによって計算したところ、中央値 $7.46 \log_{10}$ 、平均値 $6.22 \log_{10}$ を得た。処理水中の *E. coli* 濃度がほぼ全て 0 であるにもかかわらず除去率を 100%とは考えず、上記除去・不活化能を有すると評価している点が重要である。この結果、水道水中 *E. coli* 濃度の計算値は 0 にはならない(平均値 $1.64 \times 10^{-4} \text{ E. coli}/100 \text{ mL}$)。表流水で測定された比率を用いて *E. coli* 数をカンピロバクター数に換算し、カンピロバクターによる年間感染確率を計算した。結果として、平均値 $1.68 \times 10^{-3} \text{ 人}^{-1} \text{ 年}^{-1}$ を得た。注目されるのは、水道水の *E. coli* 測定値がほぼ 0 であるにも関わらず、年間感染確率はその目標値である 10^{-4} より大きな値となったことである。これは、微生物の測定値が 0 だから感染リスクもゼロであると片づけるのではなく、なんとか定量化しようとしたからこそ得られた値である。リスク問題と真正面から向き合うとはこういうことをいうのだろう。

この成果をもとに、感度分析によって重要管理点(この浄水場の場合、オゾン処理)を指摘した²⁵ほか、不確実性分析と組み合わせることで、今後情報の集積が必要な個所を指摘することができた²⁶。

このような QMRA の手法について、EU 諸国では、MICRORISK プロジェクトとして体系的に実施して整備し、現段階での集大成をみている²⁷。

筆者がこの国で、高度処理を含むわが国の浄水処理プロセスについて話したとき、「こんなにきちんと処理しているのに、なぜその後、塩素なんか入れる必要があるのか？」という質問を何度も受けた。

「浄水処理した後、塩素を入れるということは、処理後の水がまだ安全ではないということになってしまう。」これも複数の人から聞いた見解である。これらの発言は、決してお国柄や文化が違うからではなく、科学的根拠に基づいていることが上述したことで理解できると思う。

さて、このように微生物的安全性を確保しているわけだが、これは主として浄水場でつくった処理水水質を対象としているという限界もある。年間感染リスク 10^{-4} とは、本来は給水栓水で確保されるべき安全レベルである。しかし、容易に想像できるように、配水過程でおきる諸現象を取りこんでリスク評価を行うことは容易ではない。もちろん研究レベルではそのような検討も進められている^{12, 29)}。例えば、1994年から2003年までの10年間に、オランダで起きた水道水の汚染事故50例によって、影響を受けた人口は延べ185,000人と推定されている。しかしながら、実務上は、感染リスク値は浄水水質に対して評価しているという段階なのである。

また、一般に、QMRAでは、主として感染確率を推算することに焦点があてられる。しかし、水系感染症には特性、重篤度、期間に大きな差があるのであって、本来は、感染後の健康影響の大きさ全体を測定する基準が必要である。これを可能にする基準がDALYs(Disability Adjusted Life Years; 障害調整生存年数)である³⁰⁻³²⁾。筆者の評価例²⁶⁾でも、カンピロバクターの感染確率をもとに、配水地域におけるDALYsを推算した。ついでその健康影響がもたらすコストも試算した。このように現在では、感染確率値を提示する段階から、健康影響を直接記述する方向へ進んでいる³³⁾。微生物的安全性に関する指標が、「微生物濃度」→「感染確率」→「DALYs」と変化してきていることに注目していただきたい。

4.3 微生物的に安定な水の配水

浄水水質レベルとはいえ、微生物的安全性を定量化し管理しているわけだが、それで十分とは考えず、幾重にも対策を講じている。はじめは、水道水中での微生物再増殖の制御である。もちろん、水道水中で検出される細菌数は、配管内面に生育した生物膜から離脱してくるものが大部分である³⁴⁾。水道水からそのような細菌が検出されないように制御するという意味である。

もっとも有名なのが、van der Kooijら³⁵⁾によるAOC指標の開発である。そして、実際の配水系統において浄水処理後のAOC濃度と配水後の水中従属栄養細菌数には相関が認められること、また、配水管内でAOC濃度は低減するがその値は10-15 $\mu\text{g/L}$ 以上でありそれ以下には低減しないことを見出した。これらをもとに、水道水中の従属栄養細菌数の増大を制御するための目標値として10 $\mu\text{g/L}$ を設定したのである^{36, 37)}。

ここで注意すべきは、AOC 10 $\mu\text{g/L}$ 以下とは、細菌がまったく繁殖しない条件ではない点である。この値は、生物膜が形成されても、水道水中の細菌濃度が高くなるわけではないということを示している。これに対して筆者らは、低残留塩素条件下(0.05 mg/L)で許容できるAOC濃度として11 $\mu\text{g/L}$ を提示した^{38, 39)}が、これは配水管内で生物膜すら形成しない濃度レベルとみなすことができる。

そして、目標値10 $\mu\text{g/L}$ をクリアするための浄水処理プロセスの構築をさまざまな形で行ってきている。1980年代にはAOC低減のためには粒状活性炭処理が効果的とされた⁸⁾が、現在ではそれに加えて、貯水、浸透ろ過(砂丘浸透ろ過、バンクフィルトレーション⁴⁰⁾、生物活性炭ろ過、緩速砂ろ過などの生物処理が有効と認識されている。この国の成功には、前処理過程を含めて、この生物処理が充実していることが大きく寄与していると考えられる。これらの生物が関与する処理プロセスは、無論微生物に対する除去・不活化能を有するが、水のAOC低減にも大きく寄与している。水温はわが国よりも低い、それにもかかわらず生物ろ過過程を重要なプロセスと位置付けているのである。

こうした検討や数々の調査研究の過程で、塩素を使用しなくても、AOCを用いて制御すれば、微

生物的に安定な水の配水が可能との理解が次第に広まっていったのである。

浄水処理プロセスにおける AOC の変化を測定した例を図 3 に示す³⁵⁾。図 3 は 10 $\mu\text{g/L}$ 以下の低 AOC 濃度の水の生産に成功している例であるが、一般に AOC 10 $\mu\text{g/L}$ 以下を達成するのは容易ではない。オランダにおいても 10 $\mu\text{g/L}$ 以上やさらには 20 $\mu\text{g/L}$ 以上となる水道水もしばしばあり、浄水処理プロセスにおける対策や調査研究が継続されている⁴¹⁾。この低 AOC を達成する方法の中には、オゾン処理の中止も含まれる。オゾン処理はよく知られるように、AOC 濃度の増大をもたらす。このことと臭素酸イオンの生成を理由にして、PWN 北ホランド州水道のように、オゾン処理を回避し、促進酸化法である UV/過酸化水素法に移行した例もある^{42, 43)}。



図 3 浄水処理プロセス(水道会社エビデス・クラールンヘン浄水場)における AOC 濃度変化の測定例³⁵⁾

注: 1) 処理プロセスの全段階で測定されたわけではない。

2) 塩素が使用されているが、現在は二酸化塩素に切り替えられている。

4.4 配水管内面での生物膜生成の制御

さて、浄水処理で安全な水を生産し、かつ微生物的に安定な水を配水すればそれで安心なはずだが、これにとどまらずさらに対策が講じられている。それは、微生物的に安定な水を配水している条件下で、配水管内面で実際に生物膜が生成していないかを監視し制御するものである⁴⁴⁾。

(1) 生物膜生成に関する指標と監視

このために以下のいくつかの指標が考案されてきた。生物膜生成能 (Biofilm Formation Potential; BFP) (pgATP/cm^2)、生物膜生成速度 (Biofilm Formation Rate; BFR) ($\text{pgATP}/\text{cm}^2 \cdot \text{日}$)、レジオネラ増殖ポテンシャル (*Legionella* Growth Potential) である。

KWR に設置されている BFP の試験装置を写真 2 に示す。管を輪切りにしてカラムに詰め、試水を流して BFP などを測定するためのものである。

レジオネラについてはオランダでは 1999 年のフラワーショーでの感染事故から関心が高まった。従属栄養細菌とは増殖至適条件が異なるため、BFP に加えてレジオネラ増殖ポテンシャル指標を考案したのである。写真と同様な装置であるが、BBM (Boiler-biofilm monitor) と呼ばれ、37-38°C でのレジオネラ増殖を調べている。かつ、このような BBM を国内の浄水場および配水系統に設置してモニタリングを行い、レジオネラ増殖ポテンシャルの比較や制御に関する研究が続けられている^{45, 46)}。

(2) 配水管材質の選定

また、配水管についても生物的に安定な材質のものを使用するようにしている。その指標は上記の BFP である。

例えば、ポリ塩化ビニル (PVC)、テフロンは生物膜の生成が低い、可塑剤添加 PVC、ポリエチレンでは生物が生育しやすい、などの結果が得られている³⁶⁾。写真 2 と同様の装置を用いて、異なる材質の管を輪切りにしてカラム内に入れ、生物膜の生成状況を試験する。さらに、この試験方法を欧州での

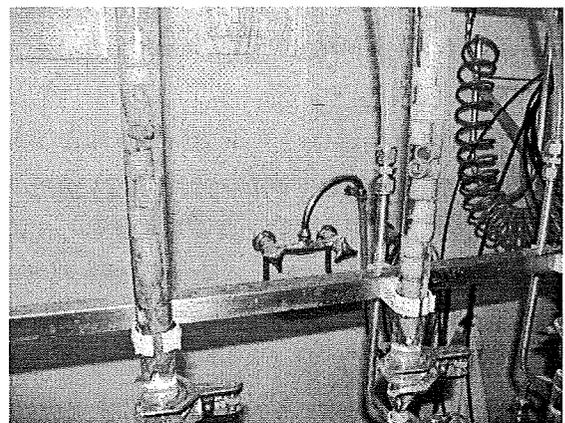


写真 2 生物膜生成試験装置 (KWR 所有)

標準試験方法として整備しようとしている。

KIWA は名称変更し KWR Watercycle Research Institute となったが、KIWA という組織は残っており、この認証業務等を行っている。そして、すべての管材料は使用前に KIWA で試験しなければならないこととなっている。

現在オランダで使用されている管の 49%は PVC, 29%が石綿セメント, 9%が铸铁管である。前二者が生物的に安定であることが、更新の際もこれらの使用が推奨されている理由のひとつになっている。なお、使用割合が増加しているのは PVC である¹⁵⁾。

4.5 配水管網の維持管理

一方、漏水率を低下させることは配水過程での再汚染の防止に有効である。オランダでは2%程度と極めて低い漏水率を達成しており、これは世界一を誇る¹¹⁾。

配水管網における洗管も頻度高く行われている。4~5年に1度程度といわれる⁴⁷⁾ほか、2年に1度実施しているという水道会社ウォーターネットもある。洗浄方法は、ピグ洗浄よりもフラッシング洗浄が主体 (1.5 m/sec 程度)である⁴⁸⁾。近年、流速を高めて(0.4 m/sec 以上)管内の自浄作用の効果を期待する考え方が提案されている⁴⁹⁾。微粒子の上にも生物膜は形成されるから、微粒子は動く生物膜とみなされる。なお今後は、膜ろ過の導入が進めば、配水管網に流入する微粒子数が格段に少なくなることを期待されている⁵⁰⁾。

さらに、経年管も25年程度と非常に短いサイクルで更新が実施されているようである⁵¹⁾。

4.6 水安全計画との関連

以上の各種方策は、水道事業全体からみると、水安全計画(Water Safety Plan)の一環として位置づけられている。運転管理上の衛生規準(Hygiene Code)含め、全体としては水安全計画の各要素としてとらえている^{52, 53)}。

また、リスク管理を行うためにソフトウェア MaRisk A を独自に開発して使用している⁵²⁾。その考え方は WHO ガイドラインに示されたものと同様であり、水源から蛇口までで抽出した危害事象に対して、発生頻度×重大性でスコアを計算する。その総合計が水道システム全体のリスクの大きさである。何らかの対策を講ずれば、発生頻度ないし重大性が低減するからスコアが小さくなる。これにより、必要な費用と、その対策によるスコアの低下量も計算できる。これを用いれば、対策の優先順位や費用対効果の議論を行うことが可能になる。

5. おわりに

本稿では、オランダにおいて、いかに塩素を使用しない水道水の配水が可能になっているかについて論じたが、わが国の水道システムの将来を展望する上で参考にできる点が多々あると考えられる。

微生物的安全確保の方策で特筆されるのは、QMRA の実務への導入であることを述べた。そこでは、水道水中から微生物が検出されないからリスクもゼロであると片づけるのではなく、なんとか定量化しようとする。リスク問題と真摯に向き合っている姿をみることができるといえる。

また、浄水水質として低感染リスク値を得て安心するのではなく、実務上必要と考えられる方策を重ね合わせていることを紹介した。総じて、塩素を使用しないシステムとするために、配水システムで起きる現象を注意深く監視するとともに、しっかり維持管理を行っているといえる。安全のための方策を幾重にも設けることによって、やっとな塩素を使用しない水道水の配水を実現しているとみることができる。

なお、このように高度な管理を実施しているオランダ水道であるが、コスト¹⁵⁾については、一般家庭

における水道料金は平均 1.43 €/m³ (2007 年)とそれほど高くはない。また家庭内での水使用原単位は 128 L/人・日(2007 年)で、家計に占める水道料金の比率は 0.6%となっている¹⁰⁾。

参考文献

- 1) 伊藤禎彦:オランダ・ユトレヒト滞在記, 環境衛生工学研究, Vol.23, No.1, pp.28-32 (2009)
- 2) 丹保憲仁編著:水道とトリハロメタン, 技報堂出版, 273p. (1983)
- 3) 米国環境保護庁編, 眞柄泰基監訳: 飲料水とトリハロメタン制御, 公害対策技術同友会, 334p. (1985)
- 4) 「近代水道百年の歩み」編集委員会: 近代水道百年の歩み, 日本水道新聞社, 303 p. (1987)
- 5) 芦谷和芳, ロッテルダム水道とルーク博士(その 1), 水道事業研究, 第 114 号, pp. 74-79 (1986)
- 6) 芦谷和芳, ロッテルダム水道とルーク博士(その 2), 水道事業研究, 第 115 号, pp. 77-87 (1986)
- 7) P. Smeets, G. Medema, H. van Dijk: The Dutch secret: how to provide safe drinking water without chlorine in the Netherlands, Drink. Wat. Eng. Sci., Vol. 2, pp. 1-14 (2009)
- 8) J. C. Kruithof: Disinfection by-product formation: Dutch approach of control strategies, pp. 23-30, Disinfection By-products in Drinking Water: Current Issues, M. Fielding and M. Farrimond eds., The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK (1999)
- 9) 島崎大, 国包章一: 水道水の残留塩素保持に係る規定および研究の動向, 環境衛生工学研究, Vol.23, No.3, pp. 16-19 (2009)
- 10) Vewin: Reflections on performance 2006, 62p. (2007)
- 11) P. J. de Moel, J. Q. J. C. Verberk, J. C. van Dijk: Drinking Water; Principles and Practices, World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., Singapore, 413p. (2006)
- 12) J. H. M. van Lieverloo, E. J. M. Blokker, G. Medema: Quantitative microbial risk assessment of distributed drinking water using faecal indicator incidence and concentrations, J. Water Health, Vol. 5, pp. 131-149 (2007)
- 13) B. Hamsch, K. Bockle, J. H. M. van Lieverloo: Incidence of faecal contaminations in chlorinated and non-chlorinated distribution systems of neighbouring European countries, J. Water Health, Vol. 5, pp. 119-130 (2007)
- 14) H. L. Risebro, M. F. Doria, Y. Andersson, G. Medema, K. Osborn, O. Schlosser, P. R. Hunter: Fault tree analysis of the causes of waterborne outbreaks, J. Water Health, Vol. 5, pp. 1-18 (2007)
- 15) Vewin: Water Supply Statistics 2007, 31p. (2008)
- 16) T. N. Olsthoorn, M. J. M. Mosch: Fifty years artificial recharge in the Amsterdam dune area, Management of Aquifer Recharge for Sustainability, Dillon ed., Swets&Zeitlinger, Lisse, 2002.
- 17) W. A. M. Hijnen: Elimination of micro-organisms in water treatment, KWR Watercycle Research Institute, the Netherlands, 289p. (2009)
- 18) J. F. Schijven, H. A. M. de Bruin, S. M. Hassanizadeh, A. M. D. Husman: Bacteriophages and clostridium spores as indicator organisms for removal of pathogens by passage through saturated dune sand, Water Res., Vol. 37, No. 9, pp. 2186-2194 (2003)
- 19) J. F. Schijven, W. Hoogenboezem, P. J. Nobel, G. J. Medema, A. Stakelbeek: Reduction of FRNA-bacteriophages and faecal indicator bacteria by dune infiltration and estimation of sticking efficiencies, Water Science and Technology, Vol. 38, No. 12, pp. 127-131 (1998)
- 20) 芦谷和芳, アムステルダム市の水道と砂丘浄水場(その 1), 水道事業研究, 第 117 号, pp. 64-70 (1987)
- 21) 芦谷和芳, アムステルダム市の水道と砂丘浄水場(その 2), 水道事業研究, 第 118 号, pp. 143-151 (1987)

- 22) Staatsblad van het Koninkrijk der Nederlanden, 53p. (2001)
- 23) C. N. Haas, J. B. Rose, C. P. Gerba 著, 金子光美監訳: 水の微生物リスクとその評価, 技報堂出版, 452p. (2001)
- 24) 伊藤禎彦, P. Smeets, G. Medema, 宋金姫: 定量的感染リスク評価における浄水処理プロセスの流入・流出水濃度のデータペアリング方法, 第 44 回日本水環境学会年会講演集 (2010) (印刷中)
- 25) 伊藤禎彦, P. Smeets, G. Medema: 定量的感染リスク評価の感度解析における非加熱飲料水消費量データの影響, 第 44 回日本水環境学会年会講演集 (2010) (印刷中)
- 26) 伊藤禎彦, P. Smeets, G. Medema: 定量的感染リスク評価の不確実性分析による必要調査項目の提示, 第 61 回全国水道研究発表会講演集 (2010) (印刷中).
- 27) G. Medema, J. F. Loret, T.-A. Stenstrom, N. Ashbolt eds.: MICRORISK, Quantitative Microbial Risk Assessment in the Water Safety Plan (2006)
- 28) P. W. M. H. Smeets: Stochastic modelling of drinking water treatment in quantitative microbial risk assessment, Water Management Academic Press, Delft, the Netherlands, 202p. (2008)
- 29) M. Prevost: Application of QMRA to distribution systems, American Water Works Association Water Quality Technology Conference, Washington State Convention & Trade Center, Seattle, Washington, USA, November 15-19 (2009)
- 30) L. Fewtrell, J. Bartram 著, 金子光美, 平田強監訳: 水系感染症リスクのアセスメントとマネジメント, WHO ガイドライン・基準への適用, 技報堂出版, 434p. (2003)
- 31) A. H. Havelaar, J. M. Melse: Quantifying health risks in the WHO Guidelines for Drinking Water Quality. A burden of disease approach. Report 734301022, RIVM, Bilthoven, the Netherlands (2003)
- 32) 伊藤禎彦, 越後信哉: 水の消毒副生成物, 技報堂出版, 325p. (2008)
- 33) I. Douglas: Using Quantitative Microbial Risk Assessment (QMRA) to optimize drinking water treatment, American Water Works Association Water Quality Technology Conference, Washington State Convention & Trade Center, Seattle, Washington, USA, November 15-19 (2009)
- 34) E. van der Wende, W. Characklis, D. Smith: Biofilm and bacterial drinking water quality, Water Res., Vol. 25, pp. 1313-1322 (1989)
- 35) D. van der Kooij, A. Visser, W. A. M. Hijnen: Determining the concentration of easily assimilable organic carbon in drinking water, J. Am. Water Works Assoc., Vol. 74, No. 10, pp.540-545 (1982)
- 36) 海賀信好: KIWA における配水システムの微生物学的研究, 水道協会雑誌, Vol. 68, No. 7, pp.44-52 (1999)
- 37) D. van der Kooij, J. H. M. van Lieverloo, J. A. Schellart, P. Hiemstra: Distributing drinking water without disinfectant: highest achievement or height of folly?, J. Water SRT-AQUA, Vol. 48, No. 1, pp. 31-37 (1999)
- 38) 大河内由美子, Ly Bich Thuy, 石川卓, 河野圭浩, 伊藤禎彦: 残留塩素濃度を低減した水道システムにおける要求水質に関する研究, 第 61 回全国水道研究発表会講演集(2010) (印刷中)
- 39) Ly Bich Thuy: Control and detection of bacterial regrowth in drinking water distribution with low level of chlorine residual, Doctoral dissertation of Kyoto University (2010)
- 40) P. J. Stuyfzand, M. H. A. Juhasz-Holterman, W. J. de Lange: Riverbank filtration in the Netherlands: well fields, clogging and geochemical reactions, Riverbank Filtration Hydrology, Stephen A. Hubbs ed., Springer, the Netherlands (2006)
- 41) L. C. Rietveld, A. Grefte, P. S. Ross, A. W. C. van der Helm: Advanced treatment and control for biostable drinking water, Proceedings of 6th Netherlands-Japan Workshop on Water Technology, pp. 46-49, Oct. 14-16, Katsura Campus, Kyoto University, Kyoto, Japan (2009)

- 42) J. C. Kruithof, P. C. Kamp, B. J. Martijn: UV/H₂O₂ treatment: A practical solution for organic contaminant control and primary disinfection, *Ozone-Science & Engineering*, Vol. 29, No. 4, pp. 273-280 (2007)
- 43) J. C. Kruithof, P. C. Kamp, M. Belosevic, M. Stefan: UV/H₂O₂ retrofit of PWN's water treatment plant Andijk for primary disinfection and organic contaminant, 2nd IWA Leading-Edge Conference on Water and Wastewater Treatment Technologies, M. van Loosdrecht and J. Clement eds., IWA Publishing, London, UK, pp. 53-65 (2004)
- 44) D. van der Kooij: Heterotrophic plate counts and drinking-water safety, J. Bartram, J. Cotruvo, M. Exner, C. Fricker, A. Glasmacher eds., IWA Publishing, London, UK (2003)
- 45) R. Valster, B. Willings, S. Voost, G. Bakker, H. Smidt, D. van der Kooij: Detection and identification of free-living protozoa present in drinking water, In *Legionella: State of the Art 30 Years after Its Recognition*, Nicholas P. Cianciotto, et al. eds., ASM Press, Washington, D. C. (2006)
- 46) D. van der Kooij, H. Veenendall, W. J. H. Scheffer: Biofilm formation and multiplication of *Legionella* in a model warm water system with pipes of copper, stainless steel and cross-linked polyethylene, *Water Res.*, Vol. 39, No. 13, pp. 2789-2798 (2005)
- 47) Jan Vreeburg, 私信 (2008)
- 48) J. Vreeburg: Discolouration in drinking water systems: a particular approach, Delft University of Technology, Delft, the Netherlands, Chapter 5, pp. 89-112 (2007)
- 49) J. Vreeburg: Discolouration in drinking water systems: a particular approach, Delft University of Technology, Delft, the Netherlands, Chapter 4, pp. 63-88 (2007)
- 50) J. Vreeburg: Discolouration in drinking water systems: a particular approach, Delft University of Technology, Delft, the Netherlands, Chapter 3, pp. 35-62 (2007)
- 51) Gary Amy, 私信 (2008)
- 52) J. H. M. van Lieverloo, G. Medema, D. van der Kooij: Risk assessment and risk management of faecal contamination in drinking water distributed without a disinfectant residual, *J. Water Supply: Research Technol.-AQUA*, Vol. 55, No. 1, pp. 25-31 (2006)
- 53) G. Medema, P. Smeets: Quantitative risk assessment in the Water Safety Plan: case studies from drinking water practice, *Water Science & Technology: Water Supply-WSTWS*, Vol. 9, No. 2, pp. 127-132 (2009)

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 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 21 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 Suwat Soonglerdsongpha
前田 祐太

研究要旨

今年度は、高度浄水処理である生物活性炭の生物学的浄化作用として、同化性有機炭素（AOC：Assimilable Organic Carbon）の除去について調査を行った。まず、代表的な AOC のモデル物質として、ギ酸、酢酸、シュウ酸を選択し、生物活性炭を詰めたカラムに連続的に供給することで、これらの低級カルボン酸を利用する細菌の馴致を試みた。その結果、基質濃度 1mgC/L では分解速度の向上は観察されなかったが、濃度を 10mgC/L に上げるとギ酸、シュウ酸の分解速度が速くなり、これらを分解する細菌の馴致が進んだことが示唆された。単離を行ったところ、すべての系から *Pseudomonas* 属、*Microbacterium* 属に近縁な細菌が単離された。一方、安定同位体炭素で標識したギ酸、酢酸、シュウ酸を用いて、安定同位体プロービング法（SIP: Stable Isotope Probing）による低級カルボン酸利用細菌の特定を試みた。培養時間などの実験条件を検討した後、基質濃度 10mgC/L と 0.5mgC/L の条件下で適用したところ、これらの低級カルボン酸を同化している細菌に由来すると考えられる遺伝子フラグメントを検出することに成功した。

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。昨年度は、主に生物活性炭の硝化作用に関する研究を展開したが、今年度は微生物再増殖との関連も深い同化性有機炭素（AOC：Assimilable Organic Carbon）に着目し、生物活性炭において AOC 成分の除去に関与している細菌群の特定を試みた。

B. 研究方法

1. 連続式カラムリアクターを用いた生物活性炭における低級カルボン酸利用細菌の馴致

1-1 連続式カラムリアクターの運転

2009年5月に採取した生物活性炭を用いて、連続式のカラムリアクターを運転した。Run A、Run B、Run Cには、それぞれ無機培地にギ酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、シュウ酸ナトリウムを添加した培養液を供給した。また、Run Dは無機培地のみを対照系とした。カラムリアクターの空塔接触時間は1.6時間（線速度0.2cm/min）、流量は1.0ml/minである。また、各基質濃度は最初の30日間は1mgC/L、続く14日間は10mgC/Lとした。

2-2 生物活性炭の低級カルボン酸除去能の測定

連続運転期間中に経時的に生物活性炭10gをカラムから取り出し、ギ酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、シュウ酸ナトリウムをそれぞれ1mgC/L添加して、これらの分解を回分実験（20℃、100rpm）で調査した。10mgC/L培養系でも、除去能の試験は初期濃度1mgC/Lで行った。また、生物作用を抑制し、物理吸着の寄与を評価するために、アジ化ナトリウムを添加した対照系も用意した。低級カルボン酸の測定は、イオンクロマトグラフ（Metrohm 761 Compact IC）で行った。

2-3 低級カルボン酸利用細菌の単離

Bacto agarに1, 10, 100mgC/Lとなるように、ギ酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、シュウ酸ナトリウムをそれぞれ添加し、生物活性炭から剥離した細菌の単離を試みた。培養は20℃、7日間とした。単離された細菌の16S rRNA遺伝子配列を、キャピラリーシークエンサー（ABI3100-Avant）で決定した。

2. 安定同位体プロービング法(SIP法)による低級カルボン酸利用細菌の特定

2-1 SIP法の手順

$^{13}\text{C}_2$ -酢酸塩（99atom%, Cambridge Isotope Lab.）、 ^{13}C -ギ酸塩（99atom%, Cambridge Isotope Lab.）、 $^{13}\text{C}_2$ -シュウ酸塩（99atom%, Sigma-Aldrich）を唯一の炭素源とした液体培地中で、生物活性炭を培養した。なお、対照系として ^{12}C の基質を用いた同条件の培養系も準備した。培養終了後、4.9ml ポリアロマーチューブを用いて、抽出DNAの超遠心分離処理をNVT65.2 Beckman rotor (Beckman)で行った。遠心条件は20℃、45000rpm（178,000 x g）68時間である。超遠心にあたっては、4.75ml 塩化セシウムストック液（1.720g/cm³、0.1M Tris-HCl, pH 8.0, 0.1M KCl, 1mM EDTA）とDNA抽出液0.15mlを混合して供した。遠心分離終了後、20画分（約250μl）を採取し、比重をデジタル屈折計（AR200, Reichart）で測定した。ポリエチレングリコールを用いてDNAを精製した後、真正細菌の16S rRNA遺伝子に特異的なプライマーでPCRを行い、Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism（T-RFLP法）によって16S rRNA遺伝子の多様性を解析した。

2-2 培養時間の検討

生物活性炭 3g に、 $^{13}\text{C}_2$ -酢酸塩 (99atom%, Cambridge Isotope Lab.)、 ^{13}C -ギ酸塩 (99atom%, Cambridge Isotope Lab.)、 $^{13}\text{C}_2$ -シュウ酸塩 (99atom%, Sigma-Aldrich) を 10mgC/L となるように添加した無機培地 300ml を加え、20℃で 24 時間、48 時間、120 時間培養を行った。それぞれの培養時間における SIP の結果を比較した。

2-3 異なる濃度条件下における低級カルボン酸利用細菌の特定

(1) 回分式 (10mgC/L)

生物活性炭 3g に対して、 $^{13}\text{C}_2$ -酢酸塩 (99atom%, Cambridge Isotope Lab.)、 ^{13}C -ギ酸塩 (99atom%, Cambridge Isotope Lab.)、 $^{13}\text{C}_2$ -シュウ酸塩 (99atom%, Sigma-Aldrich) を 10mgC/L となるように添加した無機培地 300ml を加え、20℃で 48 時間培養を行い、2-1 の方法で解析を行った。

(2) 連続式 (0.5mgC/L)

生物活性炭 3g に対して、 $^{13}\text{C}_2$ -酢酸塩 (99atom%, Cambridge Isotope Lab.)、 ^{13}C -ギ酸塩 (99atom%, Cambridge Isotope Lab.)、 $^{13}\text{C}_2$ -シュウ酸塩 (99atom%, Sigma-Aldrich) を 0.5mgC/L に調整した培地 (総量 10L) を連続的に供給した (流量 5-6min/min)。容器における水理学的滞留時間は 3 時間であり、培養温度は 20℃とした。以降の操作は、2-1 の方法に準じた。

C. 研究結果

1. 連続式カラムリアクターを用いた生物活性炭における低級カルボン酸利用細菌の馴致

1.1 採取した生物活性炭の低級カルボン酸除去能

2009年5月に採取した生物活性炭の低級カルボン酸除去能を評価した結果を図1に示す。ギ酸、酢酸については、アジ化ナトリウムの添加した系では濃度がほとんど減少しなかったのに対して、アジ化ナトリウムを添加しない系では3-5時間で完全に分解され、生物学的な除去が卓越していることが示された。一方、シュウ酸については、生物活性を抑制した系でも濃度の低減が見られたことから、物理吸着によって除去される割合も高いことが示された。物理吸着の寄与を補正した上で生物分解速度を擬似一次反応として仮定して反応速度係数を算出すると、ギ酸 $0.81 \text{ (hr}^{-1}\text{)} >$ 酢酸 $0.56 \text{ (hr}^{-1}\text{)} >$ シュウ酸 $0.08 \text{ (hr}^{-1}\text{)}$ と、低級カルボン酸の種類によって差異が認められた。

1.2 連続カラムリアクターによる低級カルボン酸利用細菌の馴致

図2に、1mgC/L 培養系、10mgC/L 培養系で馴致した生物活性炭のギ酸、酢酸、シュウ酸の除去能の変化を示した。1mgC/L 培養系では、培養期間を通して分解速度に差異は見られなかったが、10mgC/L 培養系では、ギ酸、シュウ酸については培養日数が経過するにつれて分解速度が速くなり、これらの基質を利用する細菌の馴致が進んだことが示唆された。一方、酢酸については、10mgC/L 培養系であっても分解速度の向上は観察されなかった。