

図1 2 紫外線処理前後の培養（2日間）後における各株のエリア相対値

D. 考察

1) 単離株の不活化実験結果

塩素処理を行った場合については、図4から水道水から単離した y3, r1, w1 の耐性は比較的高く、その中でも r1 の耐性が非常に高いことが分かった。水道水から単離した株は、一度浄水場で塩素処理を経た後に検出された株であるため塩素耐性が高いというこの結果は妥当といえる。一方生物活性炭から単離された w6 の塩素耐性は非常に低く、w7 は w6 よりは耐性が高いが y3, r1, w1 と比べると耐性が低いことがわかった。

次に紫外線照射処理を行った場合については、図5から水道水から単離した r1 の紫外線耐性が非常に高いことがわかった。その他の株は単離元に関わらず同じくらいの耐性を示した。このことから今回単離して得られた株のうち、r1 は非常に高い紫外線耐性をもち、その他の株は紫外線耐性が比較的低い株であることがわかった。

2) 未処理試料における培養前後の比較

図8に示されるように、混合株試料の培養前と培養後のエリア相対値を比較すると、w6 株のエリア相対値の増加が顕著であることがわかった。このことから w6 株は他の株に比べて増殖能が非常に大きいことが推定される。

3) 塩素処理について

塩素処理前後の T-RFLP プロファイルのエリア相対値比較を示した図9の結果から、単離株に対する塩素処理実験から塩素耐性が高いとわかっていた y3, r1 株のエリア相対値は増加していた。一方、耐性が低いことがわかっている w6 株のエリア相対値は減少していた。このことから処理前後の群集試料を T-RFLP 解析し、得られたプロファイルのエリア相対値を比較することで、株の塩素耐性を評価することは可能であると考えられた。しかし w1 株においては塩素耐性があるにもかかわらず相対値が減少した。これはもともとのエリア相対値が他の株に比べて非常に小さかったため、その増減がはっきりと現れなかったためと考えられる。従って、このような場合、エリア相対値の増減を処理耐性と結び付けることはできないと考えられた。

次に塩素処理前後の試料に2日間培養した場合の T-RFLP プロファイルについて、相対値を比較した図10の結果から、塩素処理1分では、y3 株以外空白（塩素処理前）とほとんど変わらなかった。これは塩素処理で受けた損傷が弱く、未処理の場合とほとんど変わらず増殖をしたことが要因と考えられた。塩素処理10, 60分では耐性の高い y3, r1 株のエリア相対値が増加し、耐性の低い w6 株のエリア相対値が減少した。図9で示した処理直後と変わらず w6 株は減少していたことから、w6 株は塩素処理耐性が低いだけでなく、処理後の再増殖性も低いことが考えられた。一方 w7 株においては図9で示した処理直後とは異なり、エリア相対値が増加したことから、w7 株は y3, r1 株より塩素処理耐性は低い、処理後の再増殖性は高いこと

が示唆された。

4) 紫外線照射処理について

紫外線処理後には PCR 後の蛍光強度が明らかに減少していた。紫外線は細菌の DNA に損傷を与えるが、DNA 量自体は変化しないため、蛍光強度に変化は見られないと予測していたが、この結果から損傷を与えた部位が PCR 増幅、制限酵素処理時に影響を与え処理前とは異なる蛍光強度を示す可能性が示唆された。また紫外線照射処理前後の T-RFLP プロファイルのエリア相対値比較を示した図 11 の結果から、紫外線未処理の試料（ブランク）と紫外線処理後のエリア相対値を比較すると、耐性の高い r1 株の増加、耐性の低い w6 株の減少が見られた。しかし w6 株と紫外線耐性がほとんど同じである y3, w1, w7 株においては、顕著な変化は見られなかったことから、処理耐性を評価することはできないことが考えられた。また紫外線処理前後の試料に培養処理を施した結果を示した図 12 の結果から、紫外線処理を行うと 15, 45, 75sec 全てにおいて、紫外線耐性の高い r1 株のエリア相対値が著しく増加し、その他の株はほとんど増加しないことがわかった。この結果は、群集試料中の紫外線耐性の高い株を顕著に示した結果であり、また、r1 株以外の株においては、処理後の再増殖性が低いことを示していると考えられた。このことから紫外線処理においては、処理後液体培養を行うことで複数種の細菌の不活化耐性・再増殖性を一度に評価することが可能であることが分かった。

E. 結論

T-RFLP 法を用いて複数種の微生物群の消毒処理耐性やその後の増殖能力を一度に解析することが可能であることが示唆された。

塩素処理においては、処理前後の各株の T-RFLP プロファイルのエリア相対値を比較すると、耐性の高い株のエリア相対値は増加し、耐性の低い株のエリア相対値は減少したことから、T-RFLP 法を用いて複数種の細菌の塩素耐性を一度に評価することは可能であると考えられたが、処理前の段階で蛍光強度の低い株においては評価は難しいことがわかった。また塩素処理後に培養過程を挟むことによって、塩素処理耐性の低い株のエリア相対値の減少が見られ、増殖量に関しても抑制されていることがわかった。また処理直後（培養なし）では減少したものの、処理後培養すると増加した株も見られ、処理耐性が低いがその後の増殖能力が高い株であると判断できた。従って、T-RFLP 法と液体培養を組み合わせることで、塩素処理後の再増殖性の評価を行うことができると考えられた。

紫外線処理においては、処理前後の各株のエリア相対値を比較しても、処理耐性を示す一定の傾向は見られず、処理耐性を直接評価することはできないと考えられた。ただし紫外線処理後、培養過程を挟んだ場合では、耐性の高い株のエリア相対値に著しい増加が見られ、耐性の低い株は変化しなかった。このことから、処理後に液体培養を行うことで、群集試料中の耐性の高い株を顕著に示すことができ、処理後の再増殖性も評価することが可能であることが分かった。

この様に T-RFLP 法と液体培養を組み合わせ、塩素消毒および紫外線消毒において、複数種の細菌の不活化耐性・再増殖性を一度に評価することは可能であることが分かった。しかし、T-RF ピークの強度は DNA 抽出や PCR など各ステップにおけるバイアスなどの理由から、定量的な議論に結び付けることは難しい。そのため耐性が高い、低いといった大まかな評価にしか用いることができない。定量性の問題を解決するには、混合試料に量が既知のマーカー生物（もしくはマーカー DNA）を投入して、その T-RFLP プロファイルのエリア面積との相対値で比較するといった方法が考えられる。この検討が今後の課題としてあげられる。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

Myriam Ben Said, Kazama Shinobu, Otaki Masahiro and Abdennaceur Hassen (2010) Detection of active *Escherichia coli* after irradiation by pulsed UV light using a Q β phage, *African Journal of Microbiology Research*, Vol. 4, No.11, pp. 1128-1134

2. 学会発表

溝添倫子, 大瀧雅寛, 春日郁郎, (2011) T-RFLP 法を利用した従属栄養細菌の消毒処理耐性の評価, 第

44 回日本水環境学会年会にて発表予定

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
無し
2. 実用新案登録
無し
3. その他
無し

分担研究報告書 4

残留塩素濃度を低減した水道システムにおける
微生物再増殖管理に関する研究

研究分担者 伊藤 禎彦
研究協力者 大河内 由美子

厚生労働科学研究 平成 22 年度分担研究報告書
残留塩素濃度を低減した水道システムにおける微生物再増殖管理に関する研究

研究分担者:京都大学大学院 伊藤 禎彦

研究協力者:京都大学大学院 大河内 由美子, 矢田 祐次郎

研究要旨:本研究では残留塩素濃度を最小限にした水道システムの構築を想定し, 微生物再増殖を抑制可能な水質を達成するため, オゾン-粒状活性炭処理水にナノろ過(NF)処理を適用した。NF 処理により平均 90%の TOC が除去された一方で, AOC の平均除去率は約 50%に留まった。また, 冬季には流入水 AOC の上昇に伴って処理水濃度も上昇し, 除去率も大きく変動した。このように, 既存の高度処理に NF 処理を増設するのみでは, 残留塩素を最小化した水道システムで要求される AOC 水準を安定的に達成することはできなかった。また, NF 処理水中には, 残存する極微量の有機物に対して高いバイオマス変換率を有する微生物が存在し, 残留塩素なしの条件では顕著な再増殖が起こること, そのため残留塩素の併用が不可欠であることを示した。さらに, AOC 約 53 $\mu\text{gC/L}$ の NF 処理水をアニユレーリアクターに連続通水し, 残留塩素濃度 0.05 mgCl_2/L における微生物学的安定性を調べた。速度は遅いながらバイオフィルムの形成は進行したが, 最小限の残留塩素添加により約 3 log と高いバイオフィルム形成抑制効果を得ることができた。このように, NF 処理はバイオフィルム形成抑制の観点からも, 残留塩素濃度の最小化を進める上で有用な技術となりうる。

A. 研究目的

浄水中には生菌や不活化された微生物, それらに由来する物質が存在している。給配水過程においては, 極微量に残存する同化可能有機炭素(AOC)を炭素源として微生物が再増殖する現象が確認されており, 残留塩素を維持することで再増殖現象を抑止しているのが現状である。カルキ臭や消毒副生成物の生成を抑制するためには, 反応前駆物質の除去と並んで残留塩素濃度を最小化する必要があるが, 現状のまま残留塩素濃度を低減すれば, 再増殖微生物による健康リスク増大あるいは水質悪化による快適性の低下は不可避である。そのため, より厳密な微生物マネジメントおよびリスクアセスメント手法が求められる。

そこで本研究では, 最小限の残留塩素濃度を維持した水道システムの構築を目的として, 1) 微生物増殖を促進しない水質要件の決定と処理術の探索, 2) 浄水中の従属栄養細菌数(HPC)を迅速に測定する手法の確立および 3) 腸管系病原微生物を対象とした定量的微生物リスク評価に取り組む。具体的には, カルキ臭対策の一環として残留塩素濃度を痕跡程度まで低減する場合, 微生物学的安定性を維持するためには生物分解可能な有機炭素濃度を同時に低減する必要があるため, AOC を指標として微生物再増殖を促進しない水質条件を決定し, それを達成するための処理技術としてナノろ過(NF)処理の適用可能性を検討する。また, コロニー形成数により測定する従属栄養細菌数の代替手段として, 低濃度有機物存在下で短時間の培養を行い新たに合成・標識された DNA 量の測定を行うことで, その栄養条件下で増殖活性を有する微生物を検出し, 実際に給配水系統から採取した水道水試料に対する適用可能性を検討する。

B. 方法

微生物増殖を促進しない水質要件を達成するための浄水処理技術

ナノろ過処理による AOC 除去特性

昨年度までの検討により, 残留塩素濃度を最小化した水道システムで微生物再増殖を抑制するために

要求される AOC レベルを明らかにした。同時に表流水を原水とする場合には、現行の高度浄水処理プロセスでは上記要求レベルの達成が困難であることも示した。そこで、さらに AOC を低減するための要素技術としてナノろ過(NF)処理プロセスに着目し、現行の高度浄水処理プロセスに NF 処理プロセスを増設した場合の水質改善効果を調べた。具体的には、淀川表流水を原水とする浄水場内の処理実験施設に導入されている膜処理ユニット(表 1)を使用して、オゾン(O₃)-活性炭(GAC)処理水を連続通水し年間を通して採水を実施した。なお、運転期間中にクエン酸および苛性ソーダ溶液による膜洗浄を計 5 回実施した。

- ・ 測定時期: 2010 年 5 月～12 月
(1～2 週間に 1 回の頻度で実施)
- ・ 測定項目: AOC, TOC, HPC, pH

表 1 膜処理ユニットの概要

膜形式	スパイラル型 NF 膜
大きさ	φ 99.5 mm×L 1016 mm
本数	3 本 (2 本 -1 本の 1パス 2 段式)
型式	ESNA1-4040 型 (日東電工社製)
除塩率	90.0 %
膜材質	芳香族ポリアミド樹脂

NF 処理水の微生物再増殖特性

NF 処理により TOC や AOC といった有機物濃度のみならず、無機イオン濃度や微生物濃度も同時に変化する。そこで本研究では、NF 処理による処理水の微生物再増殖特性の変化を明らかにするため、流入水である O₃-GAC 処理水と NF 処理水を対象として採水後 20℃で 11 日間培養し、定期的な試料採取により再増殖 HPC を測定した。なお、前述の AOC 測定では試験水に無機栄養塩類を添加した上で試験菌株の植種を行っており、炭素濃度のみが増殖制限因子となる環境を作り出しているのに対して、この再増殖実験は無機栄養塩類の添加なし、かつ微生物の植種なしの条件で実施しており、微生物除去も含めた NF 処理による水質変化が再増殖に与える影響を評価可能な手法と考えられる。

また、あらかじめ採取した GAC 処理水と NF 処理水をそれぞれ 20℃で培養して、残存微生物を定常相に達するまで再増殖させて植種懸濁液(GAC 菌体, NF 菌体)を調製した。各菌体の有機炭素-バイオマス変換率を比較するため、既知濃度の酢酸ナトリウムを添加した NF 処理水にこれらを植種し、20℃で培養した場合の最大再増殖量を比較した。

残留塩素低減環境における NF 処理水の微生物学的安定性

残留塩素濃度を最小化した条件下における NF 処理水の微生物学的安定性を、A) 回分培養試験ならびに B) 連続通水試験により調べた。

A) 回分培養試験: 異なる AOC 濃度の NF 処理水を 75℃, 30 分間加熱殺菌し、窒素およびリン溶液と植種微生物溶液を添加した後に、間欠的に次亜塩素酸ナトリウム溶液を添加することにより、0, 0.05 mgCl₂/L の二段階で塩素濃度のコントロールを行った。培養は 20℃で 10～11 日間行い、植種後の従属栄養細菌数の変化を培養法により経時的に調べた。植種微生物溶液として、あらかじめ採取したナノろ過処理水を HPC が定常相に達するまで 20℃で培養した試料を用いた。

B) 連続通水試験: 二つのアニュラーリアクター(AR)を上記の処理実験施設に設置し、残留塩素濃度を二段階(0 および 0.05 mgCl₂/L)に調整した NF 処理水を連続通水して、ポリカーボネート切片上に形成されたバイオフィームおよび流出水中の HPC の経時変化を調べた。残留塩素濃度 0.05 mgCl₂/L の系は AR 流出直後の点で目標濃度となるよう次亜塩素酸ナトリウム溶液の添加を行った。AR 槽の滞留時間は 2 時間、流速は 8.3 mL/min, インナードラムの回転速度は 84 rpm と設定した。

C. 結果

微生物増殖を促進しない水質要件の決定

ナノろ過処理による AOC 除去特性

NF 処理前後の TOC および AOC の経時変化を図 1(a)(b)にそれぞれ示す。TOC 除去に関しては、一部の試料で膜ファウリングに伴う除去率の低下が確認されたものの、運転期間を通して約 90%と安定した除去効果が得られた。処理水の平均濃度は 0.07 ± 0.06 mg/L であった。一方、AOC 除去に着目すると平均除去率は約 50%であったが、その除去率は大きく変動した。運転期間を平成 21 年 5 月～10 月 22 日までとそれ以降に分けて結果を比較すると、高水温期に相当する前期の処理水 AOC 濃度の平均は 24 ± 10 μ gC/L であったのに対して、徐々に水温が低下する後期には 64 ± 30 μ gC/L と 2 倍以上高い値となった。処理水濃度の大きな変動は、図 2 に示すように低水温期には生物活性炭の有機物生分解機能の低下に伴い、流入水 (O_3 -GAC 処理水) 中の AOC 濃度が高くなる傾向にあることを反映していると考えられる。

また、NF 処理前後の HPC の経時変化を図 1(c)に示す。平均除去率は 93%、処理水中の HPC は 10 ± 8 CFU/mL と安定して低い値を示した。この HPC が膜処理ユニットの透過側配管の汚染によるものかどうかは定かではないが、運転期間を通して常に検出され続けた。

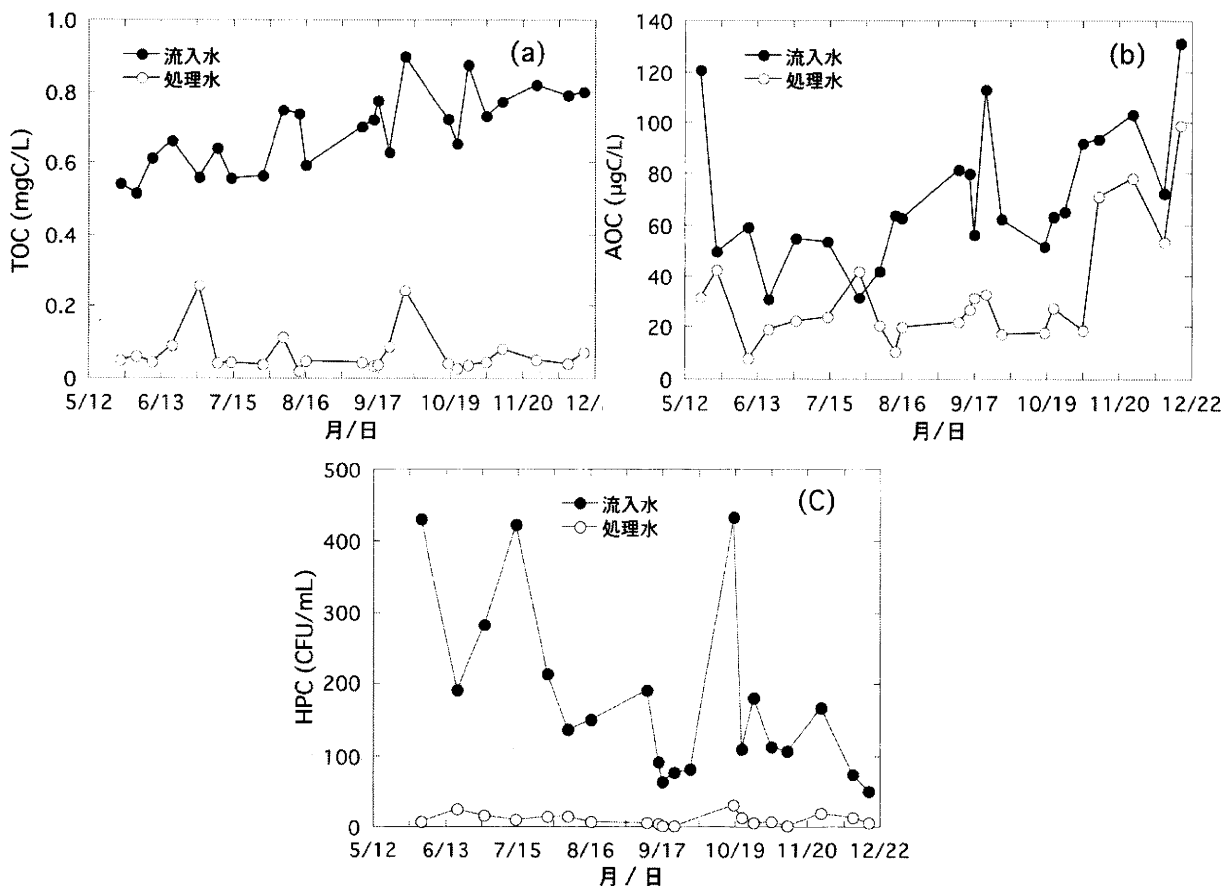


図 1 NF 処理前後の水質の経時変化

(a): TOC (b): AOC (c): HPC

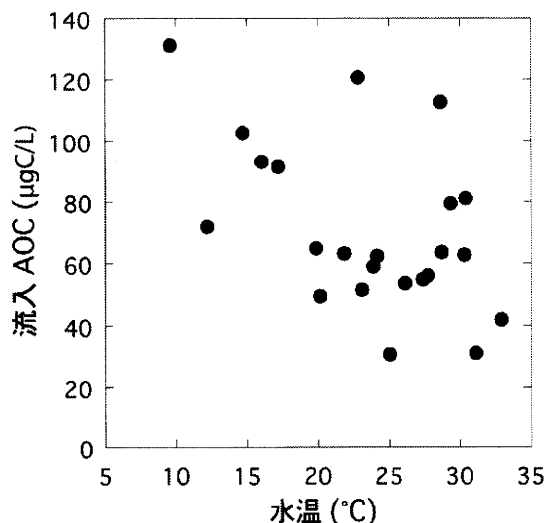


図2 水温と流入水(GAC 処理水)AOC の関係

NF 処理水の微生物再増殖特性

さらに、AOC 濃度の異なる GAC 処理水および NF 処理水を 20°C で培養した場合(植種なし)の最大再増殖量を図 3 に示す。NF 処理水は流入水である GAC 処理水と比較して明らかに AOC 濃度が低いにも関わらず、再増殖後は顕著に高い HPC カウントを示すことが判明した。また、NF 処理水で観察された最大増殖量は処理水中の AOC 濃度に比例して増大することがわかった。一方、GAC 処理水では両者の間に明確な相関は認められなかった。GAC 処理水には AOC 前駆物質が多量に残存するため、培養期間中に徐々に生物作用により加水分解されることで新たに AOC が生成されるのに対して、NF 処理水では処理により AOC 前駆物質の大部分が除去された結果として、AOC として計測される有機化合物群が微生物再増殖基質の主成分となったためと考えられる。

また、酢酸ナトリウムを添加した NF 処理水に GAC 菌体および NF 菌体を植種した場合の各微生物群の最大増殖量を比較した結果を図 4 に示す。添加した酢酸ナトリウム濃度と最大増殖量の回帰式から、GAC 菌体、NF 菌体の各バイオマス変換率はそれぞれ 5.4×10^5 CFU/µgC、 1.9×10^6 CFU/µgC となり、NF

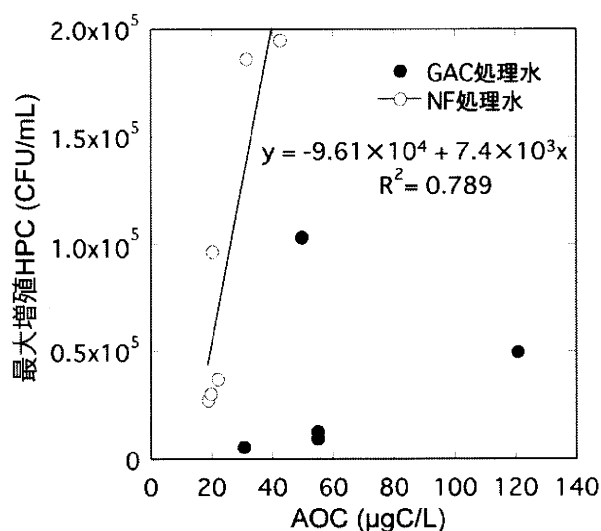


図3 NF 処理水、GAC 処理水における AOC 濃度と最大再増殖量の関係(植種なし)

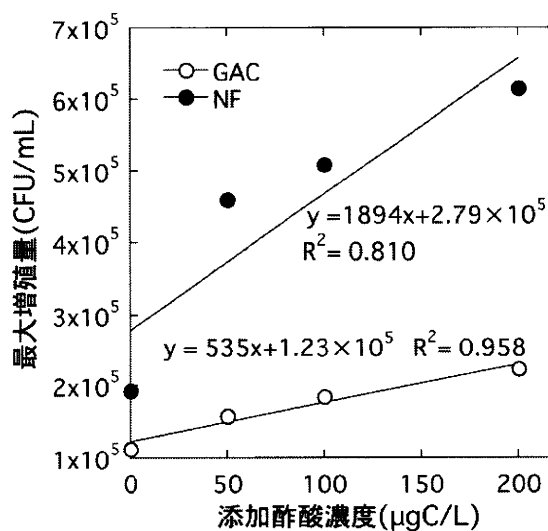


図4 GAC 菌体 NF 菌体の最大増殖量と添加酢酸濃度との関係

菌体で3倍以上高いバイオマス変換率を示すことが明らかになった。

残留塩素低減環境におけるNF処理水の微生物学的安定性

A) 回分培養試験：回分培養試験における微生物再増殖の結果を、昨年度報告した微生物学的に安定な水質曲線と併せて図5に示す。本実験で用いたNF処理水のAOC濃度は17.1~71 µgC/Lの範囲に分布したが、残留塩素なしの条件下では全てのAOC濃度において微生物再増殖が確認された一方で、残留塩素濃度0.05 mgCl₂/Lの条件下では全ての試料で再増殖は起こらなかった。

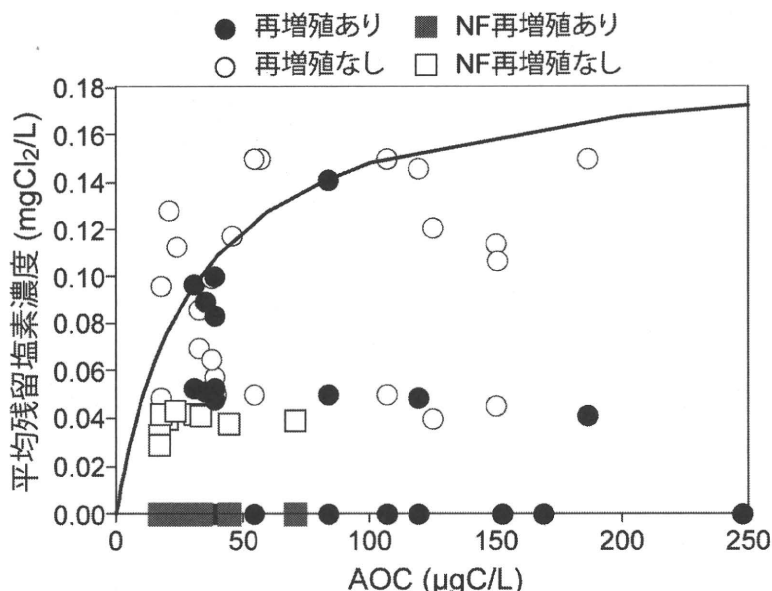


図5 異なるAOC・残留塩素濃度におけるナロ過処理水の再増殖試験結果(回分培養試験)

B) 連続通水試験：上記のように、回分培養試験で検討したAOC濃度範囲では微生物再増殖は確認されなかったため、NF処理水を連続通水した場合の微生物学的安定性を検討した。ARに残留塩素濃度を調整したNF処理水を連続通水した場合のバイオフィルム中HPCおよび流出水HPCの経時変化を図6に示す。実験期間中の平均水温は13.2°C(9.6~14.7°C)、期間中に2回測定した流入水AOC濃度は約53 µgC/Lであった。また、残留塩素を添加した系の実際の流入水平均残留塩素濃度は0.084 mgCl₂/L、流出水平均残留塩素濃度は0.040 mgCl₂/Lであった。

残留塩素なしの条件下では定常状態のバイオフィルム密度が 1.2×10^5 CFU/cm²に達した。AR流出水中の浮遊HPCもバイオフィルム形成に伴って最大 6.0×10^3 CFU/mLまで増大した。一方、0.05 mgCl₂/Lの残留塩素が存在する条件下では、定常状態のバイオフィルム密度は 3.4×10^2 CFU/cm²と大幅に抑制され、また流出水中の浮遊HPCは3~4 CFU/mLとほとんど増加することなく推移した。ここで、今回の連続通水試験は一般に微生物再増殖が起こりにくいとされる水温15°C以下の条件で実施しているにもかかわらず、NF処理水を残留塩素濃度0.05 mgCl₂/Lの条件で連続通水した場合、浮遊微生物濃度の増加は抑制される一方で、配管内のバイオフィルム形成は完全に抑止することができず、速度は遅いながらバイオフィルム形成は進行することがわかった。

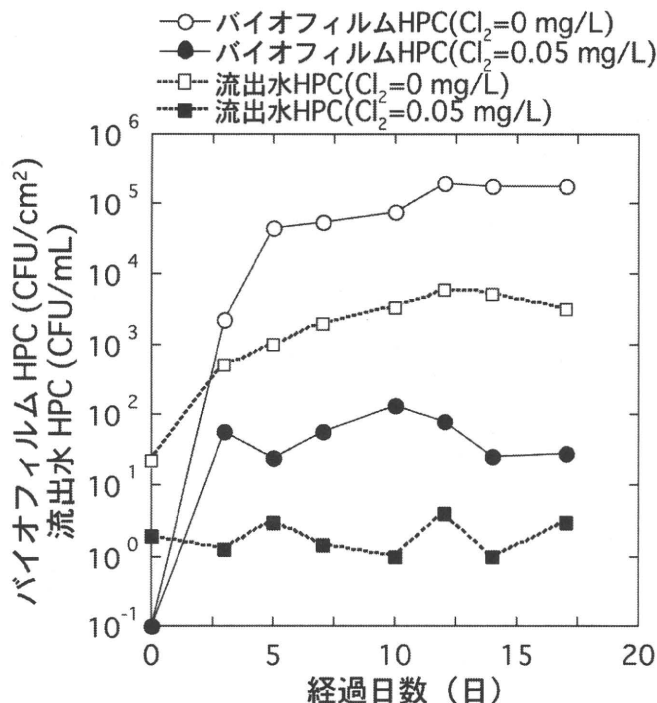


図6 連続通水試験におけるバイオフィーム密度・流出水 HPC の経時変化

D. 考察

1) 微生物増殖を促進しない水質要件の決定

NF 処理による AOC 除去特性

O₃-GAC 処理後に NF 処理を適用することで、GAC 処理水に残存する AOC の除去に一定の効果が確認できた。ただし、昨年度提示した、残留塩素低減環境における微生物学的安定性の維持に要求される AOC 水準、約 11 μgC/L を安定的に達成することは不可能であった。特に、流入 AOC 濃度が増大する低水温期には処理水濃度も大幅に増加したことから、現存の高度浄水処理プロセスにナノろ過処理を増設するのみでは浄水の微生物学的安定性を十分に確保することは困難であり、微生物学的視点からの処理プロセス再構築、特に低水温期における AOC 除去能を強化するプロセス/運転条件の導入が必要と考えられる。

NF 処理水の微生物再増殖特性

再増殖試験の結果から、NF 処理水では AOC 濃度が低いにもかかわらず再増殖 HPC は増加することが明らかになった。これはすなわち、極微量の有機炭素を材料として多量のバイオマス生産を示す微生物が NF 処理水中に存在すると考えることができる。NF 処理水中の微生物群と GAC 処理水中の微生物群のバイオマス変換率を酢酸を添加した NF 処理水を用いて測定したところ、NF 菌体が GAC 菌体の 3 倍以上高いバイオマス変換率を示したことからこの仮説が検証された。つまりこの結果は、NF 処理により有機物の大部分を除去したとしても、より低栄養な環境に適応した微生物の増殖が起こることを意味する。NF 処理水中で検出された HPC が透過側の配管の汚染によるものかどうかははっきりしないが、この結果はどのような理由にせよ一度汚染が起これば、残留塩素がない条件下では爆発的な再増殖につながることを示唆している。そのため、NF 処理により上記要求水準に近いレベルで AOC を制御可能な状態であっても、最小限の残留塩素を併用する必要があると考えられる。

残留塩素低減環境における NF 処理水の微生物学的安定性

今回実施した NF 処理水を用いた回分培養試験では、いずれの AOC 条件においても微生物再増殖は確認されなかった。図 5 からわかるように、急速ろ過処理された水道水試料を用いた再増殖試験(昨年度実施)では、今回と同レベルの AOC/残留塩素条件においても再増殖ありとの結果が多数得られている。同レベルの AOC/残留塩素条件下においても再増殖が起こったり起こらなかったりと結果が変動する理由として、1) AOC 前駆物質の存在、2) 用いた植種微生物群の残留塩素に対する耐性の違い、の2つが考えられる。昨年度の再増殖試験では、AOC 濃度の低い水を調製するため再増殖試験に先だって水道水の AOC および AOC 前駆物質の一部を生物分解/除去しているが、残存する AOC 前駆物質が再増殖試験中に加水分解され AOC の供給源となった可能性がある。それに対して、NF 処理水では AOC 前駆物質の大部分が物理的に除去された結果、AOC 前駆物質が再増殖に与える影響を排除することができたと考えられる。また本実験では、NF 処理水に残存する微生物を再増殖させて植種液として用いているが、処理により微生物増殖に適さない水質への変換が行われた結果、その環境に適応可能な少数の微生物が優占的に生育し、結果として植種液を構成する微生物種とその残留塩素耐性が均一化したことが、より変動の少ない再増殖試験結果につながったと考えられる。

一方、連続通水試験により連続的に基質(AOC)が流入する給配水システムの状況を再現した。約 53 $\mu\text{gC/L}$ の AOC が残存する NF 処理水を連続通水した結果、バイオフィームは形成されるものの 0.05 mgCl_2/L の残留塩素添加により約 3 log の生物膜形成抑制効果を得ることができた。一方で、流出水 HPC 数の増加も抑制可能であった。平成 19 年度に実施した水道水を連続通水した AR 試験結果¹⁾と比較しても、より低濃度の残留塩素でより高いバイオフィーム形成抑制効果が得られた。配管内に生物膜は存在するものの給水栓では HPC 数の増加は検出されない、という本実験で得られた状況は、van der Kooij が定義する微生物学的に安定な水に相当する²⁾。結果でも述べたように、今回の試験は低水温期に実施しているため微生物再増殖が起こりにくいと言われる状態であった点には留意する必要があるが、逆に高水温期には流入水 AOC の低下に伴い NF 処理水の AOC 濃度も半減するため、単純に今回得られたバイオフィーム形成抑制効果が過大評価であるとは言えない。そのため、やはり実際に高水温期に連続通水試験を実施することでバイオフィーム形成抑制効果を調べるのが望ましいと考えられる。

本研究で得られた結果は、NF 処理の適用により完全にバイオフィーム形成を抑制することはできないものの、大幅に残留塩素を削減しても従来の浄水水質より高いバイオフィーム形成抑制効果が得られる可能性を示しており、NF 処理は残留塩素の最小化を進める上で重要な処理技術となる。

E. 結論

本研究では残留塩素濃度を最小化した水道システムの構築を想定し、微生物再増殖を抑制するために要求される AOC 水準を達成するための要素技術として、ナノろ過処理の適用可能性を調べた。NF 処理の TOC 除去率は平均 90%と高かったものの、AOC の平均除去率は約 50%に留まり、その除去率は大きく変動した。冬季の流入水 AOC 濃度が処理水濃度に大きく影響することからも、既存の高度浄水処理プロセスへの NF 処理プロセス増設に留まらず、AOC 除去に焦点を当てたプロセス再構築に取り組む必要がある。

また、NF 処理水には極微量の有機炭素を利用して再増殖する微生物が存在するため、残留塩素がない条件下では一度汚染が起こると顕著な再増殖が起こってしまうこと、そのため残留塩素の併用が不可欠であることを示した。

さらに、0.05 mgCl_2/L の残留塩素が存在する条件下で回分培養試験、連続通水試験を行い、NF

処理水の微生物学的安定性を調べた。その結果、回分培養試験では検討した AOC 濃度範囲 17.1 ~71 $\mu\text{gC/L}$ では再増殖は起こらなかった。一方、連続通水試験ではバイオフィルムの形成はわずかながら進行したが、バイオフィルム剥離による浮遊微生物の濃度増加は起こらなかった。また、残留塩素なしの条件と比較すると約 3 log のバイオフィルム形成抑制効果が得られた。これらの結果から、NF 処理を適用することにより従来水質よりも高いバイオフィルム形成抑制効果が得られるため、残留塩素濃度の最小化が可能になることを示した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 伊藤禎彦 (2010) 定量的感染リスク評価の感度分析における非加熱飲料水消費量データの影響, 用水と廃水, Vol.52, No.8, pp.55-65.
- 2) 浅田安廣, 大河内由美子, 伊藤禎彦 (2010) プロモデオキシウリジン修飾 DNA 量に基づいた浄水中の従属栄養細菌数迅速推定法の開発, 環境工学研究論文集, Vol.47, pp.119-126
- 3) 伊藤禎彦 (2010) 事例報告「オランダにおける塩素を使用しない水道システムの管理」, 水道協会雑誌, Vol.79, No.10, pp.12-22.
- 4) Yumiko Ohkouchi, Bich Thuy Ly, Suguru Ishikawa, Yusuke Aoki, Shinya Echigo, and Sadahiko Itoh (*in press*) A survey on levels and seasonal changes of assimilable organic carbon (AOC) and its precursors in drinking water, *Environmental Technology*.

2. 学会発表

- 1) 大河内由美子, Ly Bich Thuy, 石川卓, 河野圭浩, 伊藤禎彦 (2010) 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, pp.476-477.
- 2) 伊藤禎彦, Patrick Smeets, Gertjan Medema (2010) 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, pp.498-499.
- 3) 浅田安廣, 大河内由美子, 伊藤禎彦 (2010) 浄水中の従属栄養細菌迅速測定を目的としたプロモデオキシウリジン修飾 DNA 定量法の確立, 環境衛生工学研究, Vol.24, No.3, pp.31-34.
- 4) 大河内由美子, 河野圭浩, Ly Bich Thuy, 伊藤禎彦 (2010) 残留塩素を最小化した水道システムにおける微生物学的安定性向上を目的とした膜ろ過法の適用, 環境衛生工学研究, Vol.24, No.3, pp.35-38.
- 5) 文亮太, 大河内由美子, 伊藤禎彦 (2010) 酵素学的手法による浄水中の同化可能有機炭素前駆物質の構成成分推定, 環境衛生工学研究, Vol.24, No.3, pp.124-127.
- 6) 周靨, 伊藤禎彦 (2010) 定量的微生物リスク評価における検出限界以下データに対する濃度補間方法, 第 47 回環境工学研究フォーラム講演集, pp.151-153.
- 7) Sadahiko Itoh (2010) Drinking Water Treatment and Quantification of Infection Risk, Proceedings of the 18th Seminar of JSPS-MOE Core University Program on Urban Environment, pp.113-128.
- 8) 矢田祐次郎, 河野圭浩, 大河内由美子, 伊藤禎彦 (発表予定) ナノろ過処理による AOC 低減効果と微生物再増殖特性の変化に関する研究, 第45回日本水環境学会年会講演集.

- 9) 大河内由美子, 矢田祐次郎, 伊藤禎彦 (発表予定) ナノろ過処理を適用した浄水の微生物学的安定性に関する研究, 第62回全国水道研究発表会講演集.

H. 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 |

参考文献

- 1) 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 19 年度分担研究報告書, 2008
- 2) van der Kooij, D: Assimilable organic carbon as an indicator of bacterial regrowth, *J. AWWA*, 84(Feb), pp.57-65, 1992.

モデルシミュレーションによる配水過程における
微生物再増殖性および汚染事故発生時の健康リスク評価

研究分担者 伊藤 竜生
研究協力者 船水 尚行

厚生労働科学研究 平成 22 年度分担研究報告書

分担研究:モデルシミュレーションによる配水過程における微生物再増殖性および汚染 事故発生時の健康リスク評価

研究分担者 北海道大学大学院工学研究科 伊藤 竜生

研究協力者 北海道大学大学院工学研究科 船水 尚行

研究要旨:残留塩素濃度を低減した配水管網において、水道水の健康リスクを一定以下にするための方策(浄水系、給配水系の運転管理法)を提言するため、これまでに開発されてきた原水から給配水系までの水道にかかわるプロセスを包括的に表現し、健康リスクを推算するシミュレーションモデルについて、以下の 3 点の改良を行った。すなわち、(1)任意の配水区の形状に対応できる、(2)有機物濃度、微生物濃度に対応して残留塩素濃度を推算可能とする、(3)塩素及び有機物の反応による反応副生成を推算可能とする。また、改良したシミュレーションモデルについて、実管網における残留塩素濃度、従属栄養細菌濃度の実測値とシミュレーションモデルによる計算結果との照合を行い、モデル中のパラメータ値のチューニングを行った。その結果、従来 1 ケタ程度の幅の範囲で報告されているパラメータ値を報告値の範囲内にて設定可能であることが示された。

A研究目的

残留塩素濃度を低減した配水管網において、水道水の健康リスクを一定以下にするための方策(浄水系、給配水系の運転管理法)を提言するため、これまでに開発されてきた原水から給配水系までの水道にかかわるプロセスを包括的に表現し、健康リスクを推算するシミュレーションモデルの改良を行う。特に本年度の改良は、(1)任意の配水区形状に対応できるようにアルゴリズムの改良を行う、(2)残留塩素濃度の減少速度を有機物濃度が異なる場合に適用可能とする、(3)有機物と塩素の反応による反応生成物を推算可能とする、ことを目的として実施した。

また、実管網における残留塩素、従属栄養細菌の測定結果を用いて、モデル中のパラメータ値の調整を行い、適切なパラメータ値の設定とシミュレーションモデルの妥当性の検討を目的とした。

B研究方法

(1) シミュレーションモデル

図 1 に本研究で用いたシミュレーションモデルの概要を示す。本シミュレーションモデルは浄水処理の単位プロセスごとに計算を行う。入力パラメータとして原水の平均水質(過マンガン酸消費量、大腸菌群数)、消毒に用いる浄水中残留塩素濃度を用いて、配水池、配水管および高架水槽内での残留塩素の消費量、生物分解可能有機物の変化量、従属栄養細菌の再増殖量を計算する。この結果とし

て、給水栓における残留塩素濃度、有機物濃度、微生物濃度が推算される。

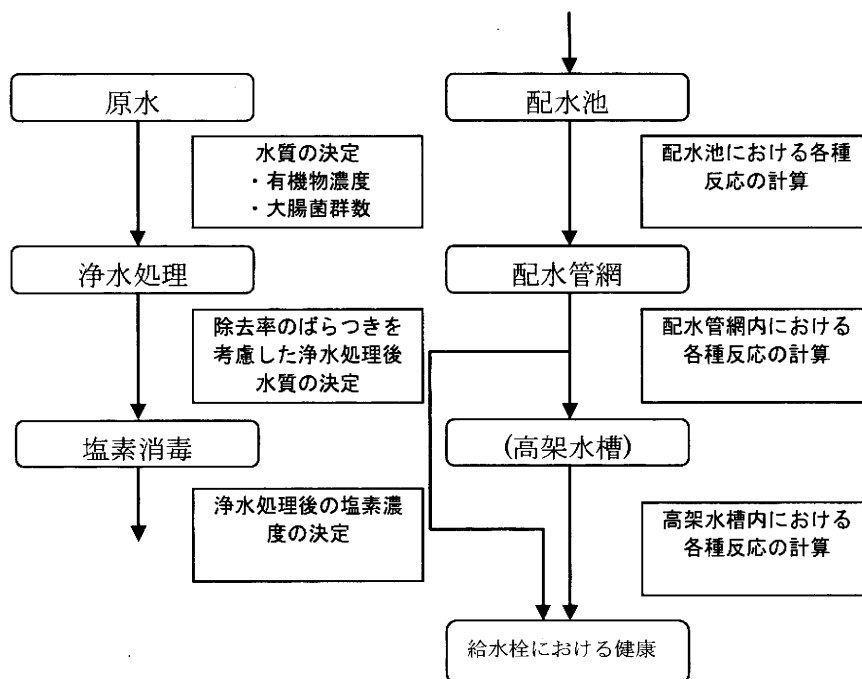


図1 シミュレーションモデル

(1)有機物と塩素の反応モデル

従来の管網内残留塩素濃度の減少は残留塩素濃度に関する一次反応モデルにより記述されてきた。この一次反応モデルでは、液中の有機物濃度に対応して残留塩素消費が変化することを一次反応速度係数の値を変化させることにより表現することになる。今回のシミュレーションでは、管網内の残留塩素濃度、有機物濃度の両者を推測することを目的としており、残留塩素濃度変化を一次反応モデルで評価することは妥当とは言えない。また、多様な原水水質に対応した塩素注入を検討するためにも、残留塩素濃度減少を有機物濃度との関係で表現することが必須である。

そこで、Funamizuら¹⁾が下水再生水中の残留塩素濃度の記述に用いたモデルを参考にし、残留塩素の消費速度を残留塩素濃度と有機物濃度の積に比例するという速度式を採用した。また、反応モデルの係数値も同論文に報告されている値を使用することとした。

(2)実測値とシミュレーション値の照合によるモデル中パラメータの調整

(2-1)対象管路

今回、シミュレーションを実施した管路は図2のようであり、図中の星印の地点における残留塩素濃度、従属栄養細菌濃度、有機物濃度が測定されている。

(2-2)パラメータの調整方法

まず、シミュレーションモデルの反応モデルのうち、下記の微生物増殖、残留塩素に関する3つのモデル式をとりあげ、これらの式中のパラメータに注目することとした。また、調整を行うパラメータの数を極力少なくすることを目的とし、下記のように調整するパラメータを選択した：

①微生物増殖・死滅そのものに関する収率(式中 Y)，最大比増殖速度(μ)，飽和係数(k_s)，死滅速度係数(k_{mon})については、報告値の幅が大きく無いことから信頼性が高いと判断し、調整しない

②微生物の増殖速度に与える塩素濃度の影響を示す係数(K_{inact})，壁面からの剥離の係数(K_{shear})，微生物の死滅に与える塩素濃度の影響を表現する係数(K_{cl})による影響を検討する。

③塩素濃度のモデルについては、壁面生物膜への輸送に関する係数(K_{fc})は水理的パラメータであること、有機物と塩素の反応の係数(K_{sc})については既往の実測を利用しているため、そのままとし、塩素の自己分解反応に関する係数(K_b)による影響を検討する。

◆Bacteria

・Bulk

$$\frac{\partial X_{bi}}{\partial t} + v_i \frac{\partial X_{bi}}{\partial x} = Y\mu \frac{S_{bi}}{k_s + S_{bi}} (X_{bi} e^{-k_{inact} C_{bi}}) + k_{shear} X_{wi} - (k_{mort} + k_{cl} C_{bi}) X_{bi} - k_{fix} X_{bi}$$

・Wall

$$\frac{dX_{wi}}{dt} = Y\mu \frac{S_{wi}}{k_s + S_{wi}} (X_{wi} e^{-k_{inact} C_{wi} / k_{r2}}) + k_{fix} X_{bi} - (k_{mort} + \frac{k_{cl} C_{wi}}{k_1}) X_{wi} - k_{shear} X_{wi}$$

◆Free Cl

・Bulk

$$\frac{\partial C_{bi}}{\partial t} + v_i \frac{\partial C_{bi}}{\partial x} = -k_{b,li} C_{bi} - \frac{k_{fci} (C_{bi} - C_{wi})}{r_{hi}} - k_{sc} S_{bi} C_{bi}$$

次に、パラメータ値の調整については、まず、個々のパラメータ値を大きな幅で変更し、それぞれのパラメータ値のシミュレーション値への寄与を検討し、続いて、二つのパラメータ値を同時に変更して、実測値との照合を行うこととした。

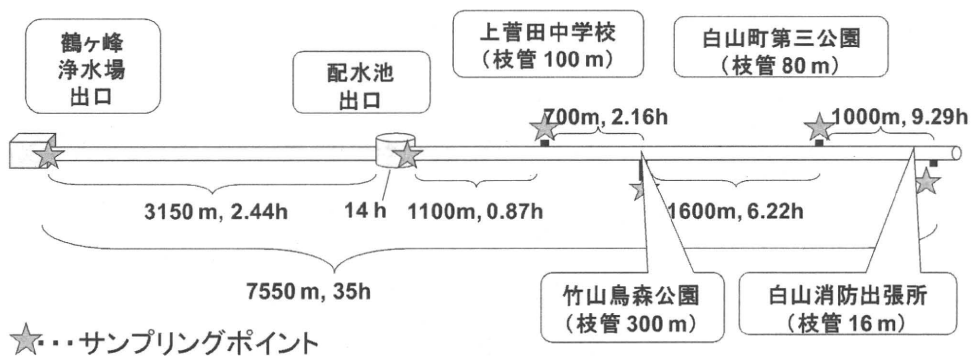


図2 シミュレーション対象管路

C, D研究結果と考察

(1) 平均的なパラメータ値を用いた場合の計算結果

はじめに、パラメータの平均的な値を用いた場合の計算値と実測値の比較を図3に示す。なお、浄水場出口での実測値が濃度ゼロの場合であることから、計算では極めて低い濃度であるという意味で 10^{-2} CFU/ml として計算した。図の結果より、従属栄養細菌濃度の計算結果は大きく実測値と異なっていることがわかる。一方、残留塩素濃度はおおよその値が得られている。有機物濃度については、実測値ならびに計算値とも浄水場出口濃度から変化しておらず、以後の議論では有機物濃度についての結果は用いないこととした。

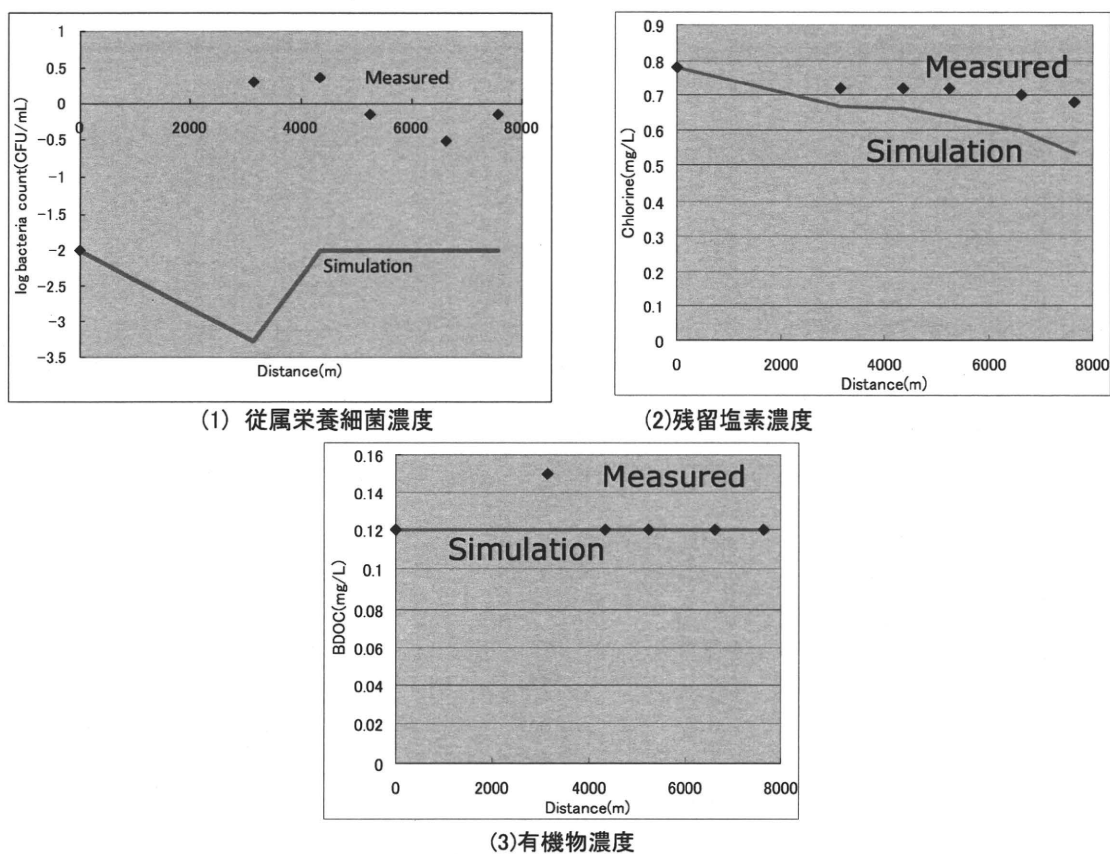


図3 平均的なパラメータ値を用いた場合の計算値と実測値の比較

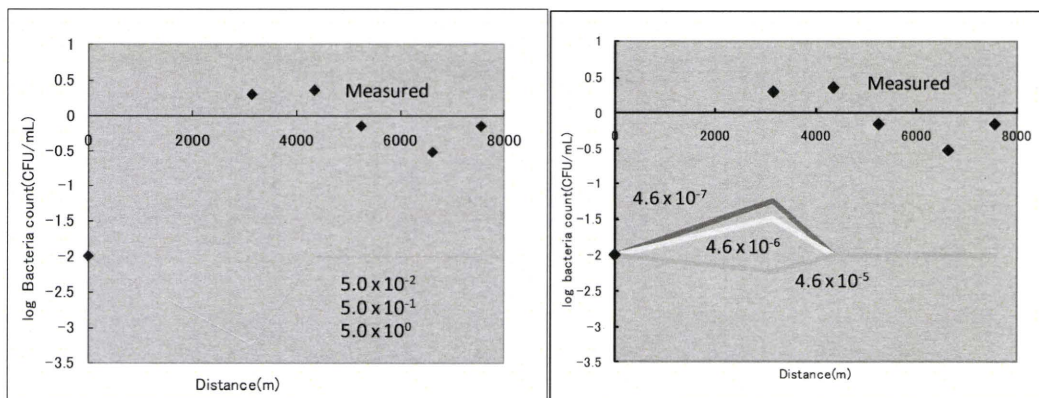
(2) 各パラメータ値の計算結果への影響 (感度解析)

次に、残留塩素濃度はおおよその計算ができていることから、残留塩素濃度計算に関連するパラメータ Kb 値はそのままにし、従属栄養細菌濃度に関連する3つのパラメータを独立に変化させた場合の計算値と実測値の比較を図4に示す。

図3(1)の結果より、微生物の増殖速度に与える塩素濃度の影響を示す係数 (K_{inact}) を3ケタの範

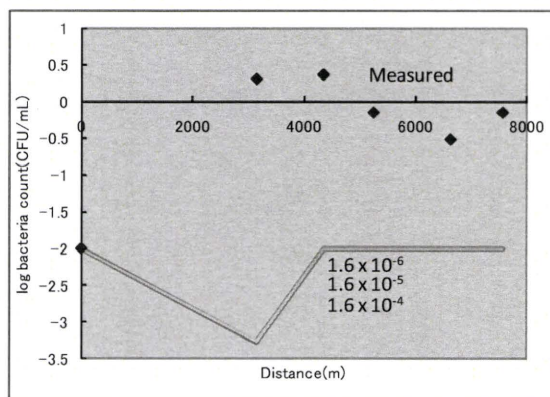
围で変化させても従属栄養細菌濃度の計算値はまったく変化せず、このパラメータ値については、報告値の中間値、 10^{-2} のオーダーの値を設定する、すなわち、0.35とすることとした。次に、微生物の死滅に与える塩素濃度の影響を表現する係数 K_{cl} の値のみを変化させた場合の結果を図3(2)に示す。この場合にはある程度従属栄養細菌濃度が変化しているが、このパラメータ値のみを変化させることで実測値を再現することは難しいことがわかる。図3(3)は、壁面からの剥離の係数、 K_{share} を変化させた場合の結果である。3ケタの数値の変化に対しても、計算結果はほとんど変化していない。

次に、 K_{inact} と K_{cl} を同時に変化させて、計算結果への影響を検討した結果を図4に示す。図の結果より、この場合には、実測の従属栄養細菌濃度に対して、過大な計算結果から過小な結果まで与えており、 4.6×10^{-6} に近い値の範囲に最適な K_{cl} の値が存在していることがわかる。



(1) K_{inact} を $5 \times 10^{-2} \sim 5 \times 10^0$ の範囲で変化させた場合

(2) K_{cl} を 4.6×10^{-7} から 4.6×10^{-5} の範囲で変化させた場合



(3) K_{share} を $1.6 \times 10^{-6} \sim 1.6 \times 10^{-4}$ の範囲で変化させた場合

図3 3つのパラメータの感度解析結果

そこで、より詳細に K_{cl} の値の影響を検討し、実測値との比較結果を図5に示す。この結果より、従属栄養細菌濃度をおおよそ再現できたことがわかる。

次に、残留塩素濃度の計算結果と塩素の自己分解反応に関する係数值(K_b)との関係を図6に示す。図6は K_b 値を3ケタ変化させた場合である。図の結果より、おおよそ K_b 値を 10^{-6} のオーダーにすることで実測値を計算可能であることがわかる。

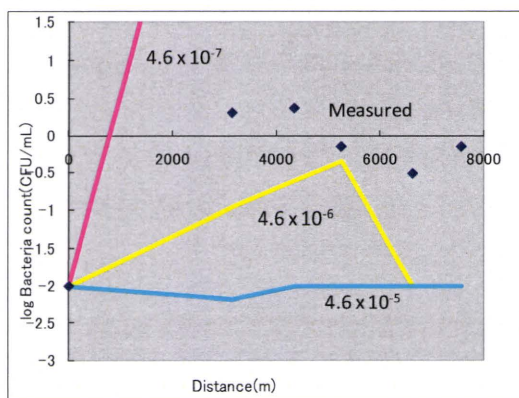


図4 Kcl 値の計算結果に与える影響—1

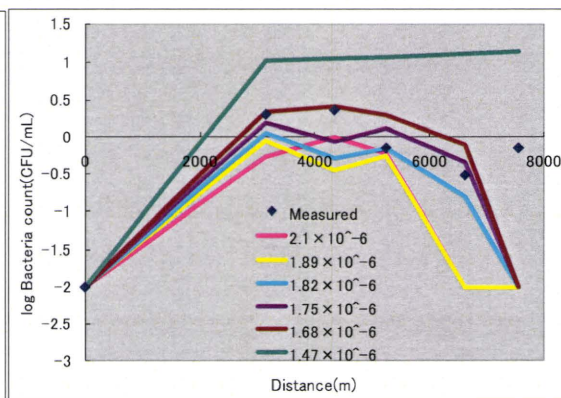


図5 Kcl 値の計算結果に与える影響—2

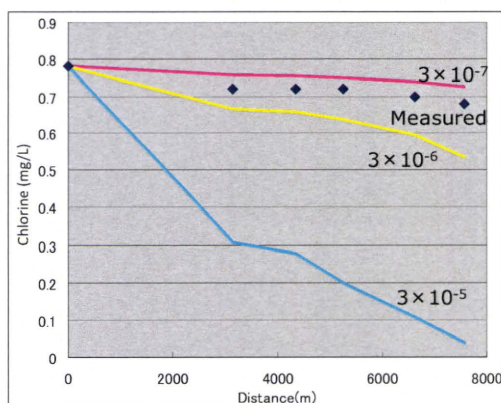


図6 K_b 値の計算結果に与える影響

(3)最終的な計算結果

以上の各パラメータ値が計算結果に与える影響の検討結果をふまえ、最終的に図7に示すような計算結果を得た。

E結論

これまでに開発されてきた原水から給配水系までのプロセスを包括的に表現し、健康リスクを推算するシミュレーションモデルの改良を行った。本年度の改良は、(1)任意の配水区形状に対応できるようなアルゴリズムの改良、(2)残留塩素濃度の減少速度を有機物濃度の関数として表現したこと、である。これにより、多様な配水管網構造と多様な原水にシミュレーションモデルを直接適用可能になった。また、実管網における残留塩素、従属栄養細菌の測定結果を用いて、モデル中のパラメータ値の調整を行