

- the WHO Guidelines for Drinking Water Quality. A burden of disease approach, Report 734301022, RIVM, Bilthoven, the Netherlands (2003)
- 34) E. A. van Lier, A. H. Havelaar, Disease burden of infectious diseases in Europe: a pilot study, Report 215011001, RIVM, Bilthoven, the Netherlands (2007)
- 35) 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)
- 36) E. van der Wende, W. Characklis, D. Smith: Biofilm and bacterial drinking water quality, *Water Res.*, Vol. 25, pp.1313-1322 (1989)
- 37) 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)
- 38) 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)
- 39) 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)
- 40) 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、pp.476-477 (2010)
- 41) Ly Bich Thuy: Control and detection of bacterial regrowth in drinking water distribution with low level of chlorine residual, Doctoral dissertation of Kyoto University, p.73 (2010)
- 42) 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)
- 43) 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)
- 44) 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)
- 45) 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)
- 46) 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)
- 47) 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)
- 48) 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)
- 49) Jan Vreeburg, 私信 (2008)
- 50) J. Vreeburg: Discolouration in drinking water systems: a particular approach, Delft University of Technology, Delft, the Netherlands, Chapter 5, pp.89-112 (2007)
- 51) J. Vreeburg: Discolouration in drinking water systems: a particular approach, Delft University of Technology, Delft, the Netherlands, Chapter 4, pp.63-88 (2007)
- 52) J. Vreeburg: Discolouration in drinking water systems: a particular approach, Delft University of Technology, Delft, the Netherlands, Chapter 3, pp.35-62 (2007)
- 53) Gary Amy, 私信 (2008)
- 54) 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)
- 55) 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)

(平成22年2月17日受付)

「特集：残留塩素の適正管理に向けた取り組み」

EU 諸国における配水過程の残留消毒剤保持に係る規定 及び大腸菌の検出状況

島 崎 大
国立保健医療科学院水道工学部
施設工學室長

キーワード：残留塩素、消毒剤、消毒副生成物、大腸菌、配水管網

分類項目：浄水（消毒）塩素及び塩素剤（050702）、水質（水質管理）水質基準（120103）、水質（水質に関する調査研究）給配水系における調査研究（120605）、水質（細菌等に関する調査研究）大腸菌・大腸菌群（120802）、海外水道事情（ヨーロッパ）その他（140410）

1. はじめに

日本国内においては水道法により給配水過程での残留塩素の保持が義務づけられている。一方、欧米各国の水道の例をみると、大半の国が消毒剤の残留下限値を設定しておらず、また、消毒自体も表流水を水源とする場合などに限られる場合が見受けられる。ここでは、EU 諸国における残留消毒剤の保持に係る規定や考え方について概要を紹介する。また、欧州委員会の研究プロジェクトの成果から、EU 諸国の配水系統における大腸菌の検出状況等についても紹介したい。

2. EU 諸国における水道の消毒及び残留消毒剤保持の状況

EUでは、加盟各国が遵守しなければならない水質基準値として飲料水指令を1980年に施行（1998年改訂）しているが、その中では消毒に関する規定は明記されていない¹⁾。ただし、大腸菌などの指標微生物が検出されないことが定められており、必然的に、浄水処理による適切な消毒の実施を求めていると言える。この水質基準をもとに、加盟各国では国内法として消毒剤の選定や水質基準の設定を行うことが求められている。各国の消毒に関する法規制や実施状況は、以下の通りである^{2), 6)}。

浄水処理での消毒について、すべての飲料水に対して法的に消毒を義務づけているのはポルトガル、スペイン、英国である。オーストリア、デンマーク、フランスは表流水から取水している場合

のみに消毒を義務づけている。給配水過程の残留塩素について、日本と同様に給水栓での残留塩素の保持を法的に義務づけているのはポルトガルとスペインのみである。ポルトガルは給水末端で0.2mg/L、スペインは0.2~0.8mg/Lの残留塩素濃度が必須である。オーストリアとドイツは、微生物に関する基準を達成する必要がある場合に限り残留塩素保持を要求している。ただし、オーストリアは同時に末端での上限値も設定しており、例として遊離塩素は0.3mg/L未満とする必要がある。

目標値として浄水場出口で確保すべき残留濃度を示しているのは、ベルギー、フランス、アイルランドの3カ国である。英国では、法的に消毒を義務づけながら基準値や目標値は設定していない。残留消毒剤の濃度は、水源水質、浄水処理方式、配水システムの状況に応じて異なるとの理由による。

このように残留塩素濃度を規定している理由として、①微生物学的指標値に合致するため、②生物膜の生成を防止するため、③微生物等を最小化するため、④配水過程における汚染混入時の被害を最小限とするため、⑤汚染物質が混入した場合の指標となるため、などが挙げられる。

一方、上記の国以外では消毒剤の残留を要求していない。その主な理由は、①地下水など原水水質が良好な水源であるため、②浄水処理におけるマルチバリアによりほとんどの有害物質を除去で

きるため、③洗管等による維持管理により配水管網の衛生状態を保持できるため、④消毒副生成物を防ぐため、などである。また、仮にわずかな消毒残留効果を保持していても重大な汚染混入には効果がない、残留消毒を汚染混入の指標として用いることは、現実的な信頼性に乏しいとの判断にもよっている。

特に EU 諸国においては、消毒副生成物の生成や残留消毒剤による異臭味の問題に対して、より重大な関心が寄せられていると言ってよい。ギリシャ、ポルトガル、スペインを除いた国は、消毒副生成物に関する 1 項目以上の基準を設けている。先述のオーストリアと同様、フィンランド、スイス、ルクセンブルグも残留消毒剤の上限値を目標値として設定しており、消毒副生成物対策を主としているためと考えられる。

とりわけ、オランダは塩素消毒及び残留消毒剤保持に依存しない水道システムの構築に向けた取組みを進展させており、現在では浄水処理での塩素消毒がほぼオゾンや UV などに置き換わり、また、国内すべての水道が残留消毒剤なしで配水されている³⁾。オランダにおいてそのような水道システムを可能としている背景としては、地下水を中心とした良好な水道水源、様々な処理の組合せによる浄水水質の化学的及び微生物学的な安全性と安定性の確保⁴⁾、給配水過程での汚染防止や微生物再増殖の制御に着目した管路の衛生管理と配水の水質管理⁵⁾などが挙げられるが、詳細については、本誌平成22年10月号における伊藤禎彦先生のご報告⁶⁾を参照いただきたい。

以上、各国の残留消毒剤及び消毒副生成物に関する基準やガイドラインを表-1にまとめた。

3. EU 諸国における大腸菌の検出状況と配水システムにおける残留塩素保持の有無との関連

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欧州委員会の研究プロジェクトである“MICRORISK”⁷⁾では、水道水の糞便汚染の事例や水質検査での大腸菌の検出状況、また、配水システム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。当該研究の成果論文における、配水システムでの大腸菌の検出状況は以下のようである⁸⁾。

3-1 調査対象各国の水道の概況及び大腸菌の検出状況

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。ドイツ及びオランダでは、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、ドイツ及びオランダでの 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、全データ中で大腸菌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。

3-2 浄水及び配水過程における大腸菌検出率の比較

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、オランダ及びドイツを対象として、2000～2003 年の浄水及び配水過程（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。

各国の浄水と配水システムでの大腸菌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大腸菌検出率が同じ（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、ともに配水システムにおいて水質の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

表-1 EU 諸国における残留消毒剤及び消毒副生成物管理の状況

国 名	法的な消毒の義務	消毒剤残留値 (は法的な規制あり)			消毒副生成物基準値・ガイドライン値	
		消毒剤	浄水場出口 (mg/L)	給水栓 (mg/L)	消毒副生成物	上限濃度 (mg/L)
オーストリア	表流水	遊離塩素	0.3~0.5	0.3 未満	総トリハロメタン	0.03
		オゾン	0.1 以上	0.05 未満		
		二酸化塩素	0.05 以上	0.2 未満	亜塩素酸	0.2
ド イ ツ		遊離塩素		0.1 以上	総トリハロメタン	0.01
		二酸化塩素		0.05~0.2	亜塩素酸-二酸化塩素	0.2
ポルトガル	すべて	塩素		0.2		
ス ペ イ ン	すべて	遊離塩素		0.2~0.8		
		結合塩素		1.0~1.8		
ベルギー		遊離塩素	0.2		総トリハロメタン	0.1
フランス	表流水	遊離塩素	0.1		クロロホルム	0.03
フィンランド		全塩素	1.0 未満		クロロホルム	0.03
					プロモジクロロメタン	0.06
					その他	WHO ガイドラインに従う
ス イ ス		遊離塩素	0.1 以下		クロロホルム	0.1
		二酸化塩素	0.05 以下		プロモジクロロメタン	0.015
		オゾン	0.05 以下		ジプロモクロロメタン	0.1
		結合塩素	0.2 以下		プロモホルム	0.1
					総トリハロメタン	0.025 (目標値)
					亜塩素酸-塩素酸	0.3
アイルランド		遊離塩素	0.2~0.5		総トリハロメタン	0.1
ルクセンブルグ		遊離塩素	0.25 未満		総トリハロメタン	0.05
英 国	すべて				総トリハロメタン	0.1
					亜塩素酸-二酸化塩素	0.5
デンマーク	表流水				総トリハロメタン	0.01~0.015
オ ラ ン ダ					ハロゲン化炭化水素	0.001
					臭素酸	0.0005 (目標値)
					総トリハロメタン	0.02 (目標値)
イタリア					総トリハロメタン	0.03
スウェーデン					総トリハロメタン	0.05
ギリシャ						

※ドイツとオーストリアは微生物基準値を達成するために必要な場合のみ、法的な消毒剤の残留値を適用する。

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た。

3-3 配水過程の残留塩素保持の有無による大腸菌検出率の比較

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大腸菌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/L）では、ドイツ、フランス共に浄水と同程度の大腸菌検出率であったが、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。オランダ及びドイツの各データを大腸菌の平均濃度が低い順に並べ、累計給水人口90%に相当する大腸菌濃度を算出したところ（表-2）、残留消毒剤の保持にかかわらず、大腸菌濃度は配水系統において上昇しており、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-2 累計給水人口90%における大腸菌平均濃度⁸⁾

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)

3-4 残留塩素保持の意義に関する考察

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大腸菌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、当該論文の著者らは、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ンタクトの防止、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た。また、特に残留消毒剤無しの場合には、大腸菌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た⁸⁾。

4. おわりに

EU 諸国においては、消毒副生成物の生成や残留消毒剤による臭気等の問題に対してより大きな関心が寄せられており、日本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。その中でスペインやポルトガルは他国と比べて温暖な気候に属するため、微生物の再増殖性が比較的高い可能性が考えられる。オランダではほぼ全ての水道システムが塩素消毒及び残留消毒剤に依存しておらず、また、浄水水質の安全性と安定性の確保に関して先進的な取り組みが行われている。しかしながら、オランダを含めた各国において、残留消毒剤の保持に関わらず浄水から大腸菌が所定の割合で検出され、一部には配水過程での汚染が示唆された点には留意する必要がある。

翻って日本においては、残留塩素の保持によって微生物学的安全性が確保されている面が大いにあり、上で指摘されている配水系統での維持管理や衛生管理の徹底については全く異存のないところであろう。配水系統における水質劣化の抑制のためには、残留塩素の適正管理により消毒副生成物や臭味を低減すると同時に、微生物学的な安全性と安定性を確保するための浄水水質の保持及び配水過程の衛生状態の保持という統合的管理が課題となる。このことより、水道ビジョンに掲げられる「安心・快適な給水の確保」の達成や、水道に対する信頼性のさらなる向上に資すると期待される。

参考文献・参考 URL

(H22.10.21現在)

- 1) 欧州委員会：飲料水指令 (The Drinking Water Directive)
http://ec.europa.eu/environment/water/water-drink/index_en.html
- 2) Owen Hydes: European regulations on residual disinfection, J. AWWA, 91(1), pp.70-74 (1999).
- 3) P. W. M. H. Smeets, G. J. Medema and J. C. van Dijk: The Dutch secret: how to provide safe drinking water without chlorine in the Netherlands, Drink. Water Eng. Sci., 2, pp.1-14 (2009).

- 4) Dick van der kooji, J. Hein M. van Lieverloo, Jon Schellart, and Peter Hiemstara: Maintaining quality without a disinfectant residual, *J. AWWA*, 91(1), pp.55-64 (1999).
- 5) J. Hein M. van Lieberloo, Gertjan Medema and Dick van der kooji: Risk Assessment and risk management of faecal contamination in drinking water distributed without a disinfectant residual, *J. Water Supply: Research and Technology-AQUA*, 55(1), pp.25-31 (2006).
- 6) 伊藤禎彦: 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 (2010).
- 7) The Microrisk consortium: MICRORISK
http://www.microrisk.com/publish/cat_index_6.shtml
- 8) 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), pp.119-130 (2007).

COMPARISON OF ASSIMILABLE ORGANIC CARBON REMOVAL AND BACTERIAL COMMUNITY STRUCTURES IN BIOLOGICAL ACTIVATED CARBON PROCESS FOR ADVANCED DRINKING WATER TREATMENT PLANTS

Suwat Soonglerdsongpha,^{1,*} Ikuro Kasuga,¹ Futoshi Kurisu² and Hiroaki Furumai²

¹Department of Urban Engineering
the University of Tokyo
Tokyo 113-8656, Japan

²Research Center for Water Environment Technology
the University of Tokyo
Tokyo 113-8656, Japan

Key Words: Advanced drinking water treatment, Assimilable organic carbon (AOC), Bacterial community, Biological activated carbon (BAC), Polymerase chain reaction-Denaturant gradient gel electrophoresis (PCR-DGGE), Terminal-restriction fragment length polymorphism (T-RFLP)

ABSTRACT

This study was to compare the removal efficiency of assimilable organic carbon (AOC) by biological activated carbon (BAC) filtration in three advanced drinking water treatment plants in Japan. The influence of total microbial abundances and bacterial community associated with BAC on AOC removal was also investigated. Results showed that AOC concentrations were increased after ozonation treatment. BAC filtration offered high removal efficiency of AOC from 53 to 73%. The highest reduction was observed in plant A. Total microorganisms on BAC in plant A, B and C enumerated by 4',6-diamidino-2-phenylindole staining method were 4.4×10^8 , 9.0×10^8 and 5.1×10^8 cells g^{-1} wet, respectively. Cell-specific activity of AOC removal in BAC treatment followed the order of plant A, plant C and plant B. The bacterial community structures of raw water and BAC samples were investigated by polymerase chain reaction- denaturing gradient gel electrophoresis and Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism

Bacterial communities in raw water of all three plants were similar but significantly different from those on BAC. This suggests that community structure changes along the treatment process. Bacterial community on BAC of plant A was slightly different from those on BAC of plant B and C. The difference in service time or retention time of BAC filtration might have some influence on bacterial community structures.

INTRODUCTION

Biological stability of drinking water has been gaining considerable attention in the fields of water treatment and water quality management. Biologically stable water is defined as the water in which the growth of microorganisms is limited in drinking water distribution system. Bacterial regrowth in drinking water distribution system leads to deterioration of water quality, acceleration of pipe corrosion and the risk of microbial diseases [1,2]. Chlorination is not always effective for controlling bacterial regrowth because

residual chlorine decreases with time [3]. It is commonly recognized that organic substrate is one of the main factors for bacterial regrowth. Thus, potential of bacterial regrowth can be quantified by abundance of assimilable organic carbon (AOC) in water. AOC is defined as a part of dissolved organic carbon which can be assimilated by reference bacterial strains [4]. The heterotrophic bacterial growth can be limited when AOC is lower than $10 \mu g$ acetate- $C L^{-1}$ in systems without residual disinfectants [4]. On the other hand, LeChevallier et al. [5] suggested that AOC should be controlled between 50 and $100 \mu g$ acetate- $C L^{-1}$ in systems maintaining the appropriate level of re-

*Corresponding author
Email: suwat@env.t.u-tokyo.ac.jp

sidual chlorine.

Ozonation combined with biological activated carbon (BAC) filtration is one of the major advanced drinking water treatment technologies. Ozone oxidation can produce AOC by degrading large organic molecules to smaller ones such as carboxylic acids, aldehydes, and ketones [6]. Although these hydrophilic and low-molecular weight materials are hard to be removed physicochemically, they are efficiently removed by biological oxidation in BAC filtration [7-10]. However, the mechanism of AOC removal in BAC filtration has not been elucidated yet. In this study, we compared the removal efficiencies of AOC by BAC filtration in three advanced drinking water treatment plants in Japan. In addition, microbial abundances and community structures associated with BAC were characterized since they are the important factors relating to the efficiency of AOC removal.

EXPERIMENTAL METHODS AND MATERIALS

1. Sampling Site Selection

Three advanced drinking water treatment plants (plant A, B, and C) introducing ozonation-BAC filtration in Japan were investigated. Water and BAC samples were collected from plant A, B and C on Nov. 27, Dec. 3 and Dec. 19, 2008, respectively. BAC in plant A (BAC-A) had been used for 4 yr while BAC in plant B (BAC-B) and plant C (BAC-C) had been used for 1 yr. Plant A and plant B receiving raw water from the same river and operate with the same treatment configuration: coagulation/sedimentation, primary sand filtration, ozonation, BAC filtration, chlorination, secondary sand filtration and post-chlorination. On the other hand, plant C receiving raw water from another river operates with the similar treatment processes as plant A and B, excluding primary sand filtration. Ozonation was provided at a maximum dosage of 2 mg L⁻¹ in all three plants. The retention time of BAC filtration was 15 min in plant A while that in plant B and C was 12 min.

2. AOC Determination

AOC in water samples were determined according to the Van der Kooij method [4]. Briefly, water samples were pasteurized at 75 °C for 30 min in water bath after sampling to inactivate indigenous bacteria. After cooling, *Pseudomonas fluorescens* strain P17 and *Aquaspirillum* sp. strain NOX were inoculated into the water samples at the initial concentration of about 500 colony forming unit (CFU) mL⁻¹ of each strain. The water samples were incubated at 15 °C for 7 d and then the colonies were counted on R2A agar by spread plate method. In this study, we used the yield coefficients of 4.1 × 10⁶ CFU μg⁻¹ acetate-C for

P17 and 1.2 × 10⁷ CFU μg⁻¹ acetate-C for NOX [4].

3. Enumeration of Total Microorganisms on BAC

Microorganisms attached on BAC were detached by vortex for 1 min and ultrasonication at 40 W for 3 min. Suspended cells were harvested and immobilized on a 0.22 μm-polycarbonate membrane filter then stained with 1 mg L⁻¹ of 4',6-diamidino-2-phenylindole for 15 min. They were enumerated with an epifluorescent microscope (Olympus BX51, Tokyo, Japan).

4. Polymerase Chain Reaction (PCR) - Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) Analysis of Bacterial Communities in Raw Water and on BAC

DNA was extracted from raw water and BAC samples by using PowerSoil™ DNA Isolation Kit (MO BIO Laboratories, CA, USA). The extracted DNA was used as templates in polymerase chain reaction to amplify the V3 regions of bacterial 16S rRNA genes. Two primers (357fGC and 518r) were used for the amplification. The amplified fragments were separated on 8% polyacrylamide gels (37.5:1 acrylamide/bis-acrylamide) with denaturing gradient ranging from 35 to 55%. After the electrophoresis at 130 V for 5 h, the gels were stained with VisTra green (Cambrex Bio Science Rockland, USA) and scanned with a FluorImager 595 (Molecular Dynamics, USA).

5. T-RFLP Analysis of Bacterial Communities in Raw Water and on BAC

Bacterial 16S rRNA genes were amplified using primer 27 f and 907 r. The 5' end of 27 f was labelled with 6-carboxyfluorescein (6-FAM). The 200 ng of purified products was digested separately with 10 U of *HhaI*, *MspI* and *RsaI* (Toyobo, Osaka, Japan) at 37 °C for 6 h. Separation of fluorescently labelled fragments was conducted with an automated DNA sequencer (ABI 3100 Prism Avant Genetic analyzer, Applied Biosystems, USA). Fragment analysis was carried out with GeneMapper (Applied Biosystems). The major terminal restriction fragments (T-RFs) obtained by *HhaI* digestion whose relative fluorescence units were more than 50 were selected and transformed to the binary data (1 or 0 corresponding to presence or absence of T-RF). The binary data were used for principal components analysis. The composition of microbial community was estimated by matching the Terminal RF Length Polymorphism (T-RFLP) profiles obtained by *HhaI*, *MspI* and *RsaI* digestion with the database of bacterial T-RFs through the phylogenetic assignment tool (PAT) [11].

RESULTS AND DISCUSSION

1. AOC Concentrations in Treatment Processes

The concentrations of AOC in the treatment

processes of three drinking water treatment plants are presented in Fig. 1. The total AOC concentrations in raw water of plant A, plant B and plant C were 136, 69 and 52 $\mu\text{g acetate-C L}^{-1}$, respectively. The AOC concentrations in raw water of plant A and plant B were different though these plants receive raw water from the same river. The large difference of AOC concentration may be due to the rain events between the sampling dates at both plants. The increase of AOC concentrations were observed after ozonation in all plants. This is because partial degradation of organic matter in raw water to more biodegradable forms [6]. AOC-NOX fraction was increased mostly in plant A and plant B. This observation is consistent with the other studies [7-10]. On the other hand, AOC-P17 fraction was increased after ozonation in plant C. Plant A and plant B receive raw water from the same river while plant C receives raw water from a different river. Thus, dissolved organic matter in raw

water of plant C might have different composition, resulting in the different production pattern of AOC by ozonation. Reduction of AOC concentration by BAC filtration was observed in all plants. Although both of AOC-P17 and AOC-NOX fractions were highly removed, removal performances were different among plants. AOC reductions by BAC filtration followed the order of 155 $\mu\text{g acetate-C L}^{-1}$ (73% reduction) in plant A, 111 $\mu\text{g acetate-C L}^{-1}$ (53% reduction) in plant C and 58 $\mu\text{g acetate-C L}^{-1}$ (53% reduction) in plant B. The largest AOC reduction in plant A could be due to longer retention time of BAC filtration in plant A (15 min) compared with plant B and plant C (12 min). However, AOC reduction in plant C was two times larger than that in plant B despite the same retention time. Thus, differences in retention time of BAC filtration are not directly associated with AOC removal efficiency.

We have evaluated biodegradation of formate, acetate and oxalate by BAC comparing to sterile BAC in which biological activity was prohibited by NaN_3 (data not shown). The results demonstrated that all three AOC model substances were greatly removed by BAC whereas no reduction was observed in sterile BAC. Hence, biodegradation would be the major mechanism of AOC removal in BAC filtration in advanced drinking water treatment process.

2. Relationship between Total Microbial Abundances of BAC and AOC Removal

Total microbial cells on BAC-A, -B and -C were 4.4×10^8 , 9.0×10^8 and 5.1×10^8 cells g^{-1} wet, respectively. No large differences were observed among the BAC samples. Considering AOC removal rates of BAC filtration calculated by AOC concentration data in Fig. 1 and total microbial cells in the entire BAC bed, cell-specific activity of AOC removal can be estimated. The estimation demonstrated that cell-specific activities of AOC removal for BAC-A, -B and -C were 1.18, 0.27 and 0.91 $\text{fg C cell}^{-1} \text{h}^{-1}$, respectively. Thus BAC-A offered the highest performance for AOC removal followed by BAC-C and BAC-B. However, total abundances include dead cells as well as live ones. Thus, we need to evaluate only viable or active microorganisms rather than total abundances to estimate more accurate activity.

3. Bacterial Community Structures in Raw Water and on BAC

Bacterial communities in raw water and on BAC were investigated by DGGE analysis (Fig. 2). The DGGE result indicated that bacterial communities in raw water were similar among all plants. However, they were significantly different from communities on BAC, suggesting that communities on BAC were composed of bacteria which were not dominant in raw

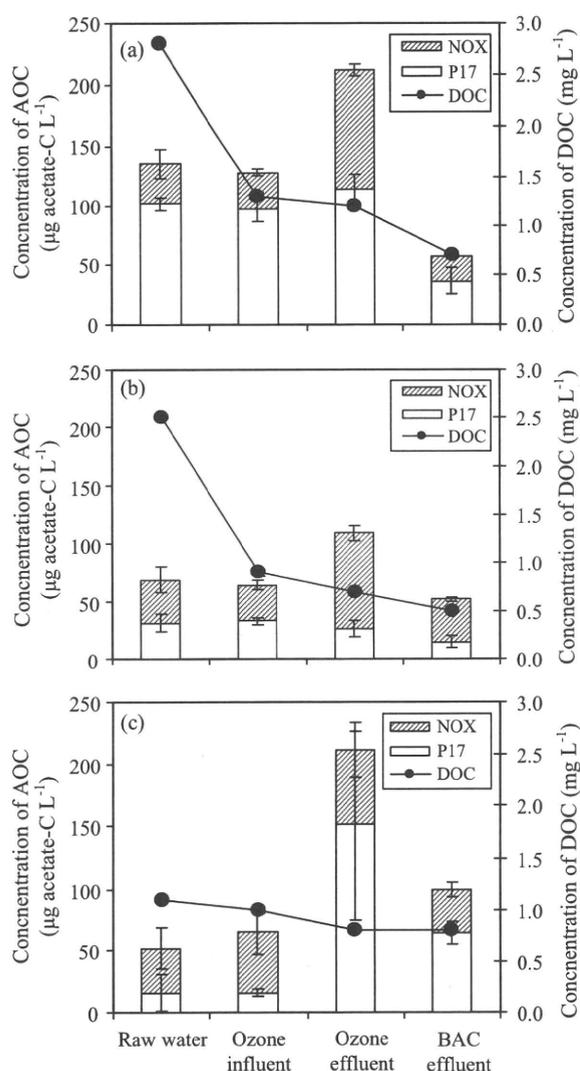


Fig. 1. Changes in AOC concentration along the treatment process in (a) plant A, (b) plant B and (c) plant C.

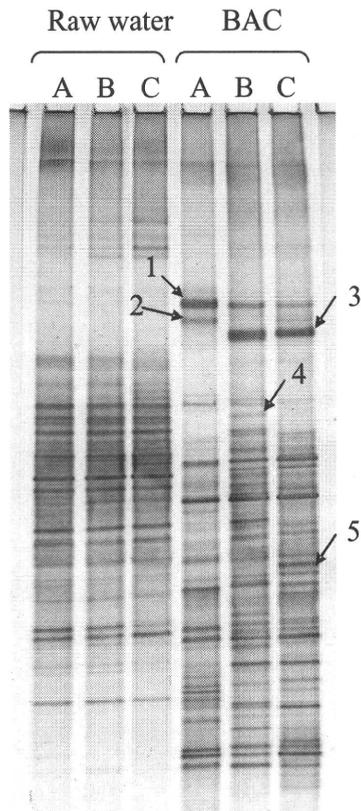


Fig. 2. DGGE profiles of bacterial communities in raw water and on BAC.

water. Some bands such as band 1 were common in all BAC samples while some bands were observed in only one BAC sample (e.g. band 2 in BAC-A, band 4 in BAC-B, band 5 in BAC-C). In addition, there were some common bands found in two samples (e.g. band 3 observed in both BAC-B and BAC-C).

In addition to DGGE analysis, T-RFLP analysis was applied to evaluate bacterial community structures of raw water and BAC samples. Figure 3 shows T-RFLP profiles of raw water and BAC samples obtained by *HhaI* digestion. The T-RFLP profiles of raw water samples were similar among three plants. Major T-RFs detected are shown in Fig. 3 and Table 1. T-RF 1 to 4 were common fragments detected in all raw water samples. However, some fragments (T-RF 5 and 6) observed in raw water of plant C were not observed in plant A and B. This is probably because plant A and B receive raw water from the same river but plant C receives raw water from another river. On the other hand, the T-RFLP profiles of BAC samples were significantly different from those of raw water samples. It was in accordance with the DGGE results.

Some T-RFs including T-RF 7, 9, 10, 11 and 15 were common in all BAC samples. However, some T-RFs only observed in each BAC sample were also found such as T-RF 13, 14, 16 and 17 in BAC-A, T-RF 18 in BAC-B and T-RF 20 in BAC-C. Principal component analysis (PCA) of the T-RFLP profiles ob-

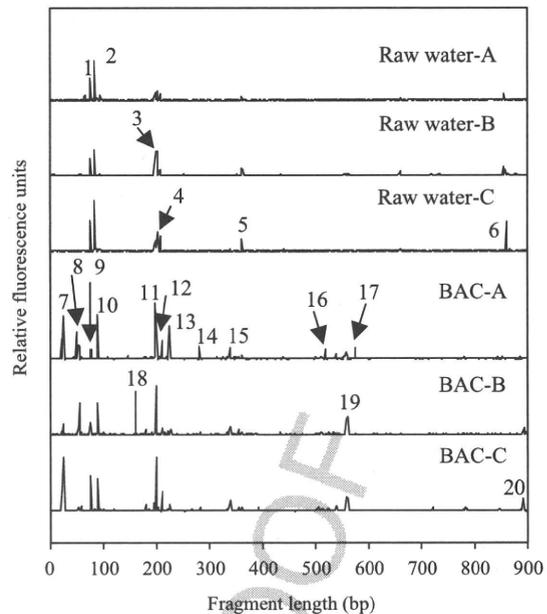


Fig. 3. T-RFLP profiles obtained by *HhaI* digestion.

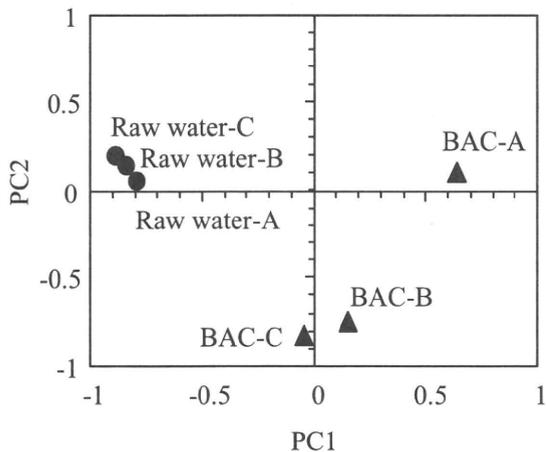
tained by *HhaI* digestion was applied to evaluate similarity of the profiles. The result of PCA is shown in Fig. 4. Principal component 1 (PC1) separated the profiles of raw water samples from those of BAC samples. All raw water samples were grouped together. On the other hand, principal component 2 (PC2) separated BAC-A from BAC-B and BAC-C, indicating that community structure of BAC-A was different from those of BAC-B and BAC-C. BAC-A had been operated for much longer time than BAC-B and BAC-C (BAC-A: 4 yr, BAC-B and BAC-C: 1 yr), microorganisms on BAC-A have probably been acclimated to the AOC produced by ozonation. In addition, retention time in these plants was slightly different (BAC-A: 15 min, BAC-B and BAC-C: 12 min). Therefore, the difference in service time of BAC or retention time of BAC filtration might have some influence on bacterial community structures and thus on removal efficiency of AOC.

The bacterial candidates corresponding to the major T-RFs were predicted by PAT software. In this analysis, three profiles obtained by *HhaI*, *MspI* and *RsaI* digestion were compared with the database of T-RFs of bacterial strains and clones generated by using the Microbial Community Analysis software [12]. We need to understand the limitation of this indirect estimation because closely related or phylogenetically different bacteria could share fragments of the same length. The matching result is summarized in Table 1.

T-RF 3 and 4 found in all raw water samples were probably derived from chloroplast of *Palmaria palmata* (eukaryotic algae) and *Polaromonas naphthalenivorans*, respectively. On the other hand, candidates for T-RFs (T-RF 9, 10, 11 and 15) observed in all BAC samples included bacteria in phylum Firmicutes, Gammaproteobacteria and Alphaproteobacte-

Table 1. Bacterial candidates of major T-RFs in raw water and BAC predicted by PAT analysis

T-RF	Species match (Bacterial phylum information)	Raw water			BAC		
		A	B	C	A	B	C
1	Unidentified	✓	✓	✓	–	–	–
2	Unidentified	✓	✓	✓	–	–	–
3	chloroplast of <i>Palmaria palmata</i>	✓	✓	✓	–	–	–
4	<i>Polaromonas naphthalenivorans</i> CJ2 (Chlorobi)	✓	✓	✓	–	–	–
5	Unidentified	–	–	✓	–	–	–
6	Unidentified	–	–	✓	–	–	–
7	Unidentified	–	–	–	✓	✓	✓
8	Unidentified	–	–	–	✓	✓	–
9	<i>Clostridium piliforme</i> pRJ (Firmicutes)	–	–	–	✓	✓	✓
10	<i>Chlorobaculum tepidum</i> (T) (Firmicutes)	–	–	–	✓	✓	✓
11	<i>Pseudomonas</i> sp. BBCT8 (<i>Gammaproteobacteria</i>)	–	–	–	✓	✓	✓
12	<i>Catenibacterium mitsuokai</i> JCM 10611 (Firmicutes)	–	–	–	✓	–	✓
13	<i>Paenibacillus ourofinaensis</i> AC13MSD (Firmicutes)	–	–	–	✓	–	–
14	Unidentified	–	–	–	✓	–	–
15	<i>Roseivivax halotolerans</i> (T) OCh 210T (<i>Alphaproteobacteria</i>)	–	–	–	✓	✓	✓
16	<i>Acidiphilium cryptum</i> JF-5 (<i>Alphaproteobacteria</i>)	–	–	–	✓	–	–
17	<i>Microcystis holsatica</i> NIES-43 (<i>Cyanobacteria</i>)	–	–	–	✓	–	–
18	Unidentified	–	–	–	–	✓	–
19	<i>Spiroplasma chrysopicola</i> (T) ATCC 43209 DF-1 (<i>Tenerecutes</i>)	–	–	–	–	✓	✓
20	<i>Leptotrichia amnionii</i> (Fusobacteria)	–	–	–	–	–	✓

Fig. 4. PCA analysis of T-RFLP profiles obtained by *HhaI* digestion.

ria. Moreover, T-RF 13 and 16 detected in only BAC-A were matched with Firmicutes and Alphaproteobacteria or Cyanobacteria, respectively. These bacterial candidates might be associated with higher AOC removal performance of BAC-A. However, relationship between community structures and AOC removal performances is still not clear because BAC-C could remove more AOC than BAC-B despite their community structures were similar as shown in Fig. 4. Further study is required to identify community members on BAC and their activities and functions in terms of AOC removal.

CONCLUSIONS

This study compared the removal efficiency of AOC by BAC filtration in three advanced drinking water treatment plants in Japan. The influence of total microbial abundances and bacterial community structures of BAC on AOC removal efficiency was investigated. The AOC concentrations were increased after ozonation treatment and highly reduced after BAC filtration. The highest AOC reduction was observed in plant A followed by plant C and plant B. This order was in accordance with the cell-specific activities of AOC removal estimated for the BAC samples. The community structures of BAC samples were significantly different from those of raw water samples. The community structure of BAC-A was different from those of BAC-B and BAC-C. The difference in service time or retention time of BAC filtration might have some influence on bacterial community structures. Identification of community members and elucidation of their activities and functions in terms of AOC removal are required to further understand the mechanism of AOC removal by BAC filtration.

REFERENCES

1. Rittmann, B.E. and V.L. Snoeyink, Achieving biologically stable drinking water. *J. Am. Water Works Ass.*, 76(10), 106-114 (1984).
2. Hu, J.Y., Z.S. Wang, W.J. NG and S.L. Ong, The

- effect of water treatment processes on the biological stability of potable water. *Water Res.*, 33(11), 2587-2592 (1999).
3. Zhang, W. and F.A. DiGiano, Comparison of bacterial regrowth in distribution systems using free chlorine and chloramine: a statistical study of causative factors. *Water Res.*, 36(6), 1469-1482 (2002).
 4. van der Kooij, D. and H.R. Veenendaal, Determination of the concentration of easily assimilable organic carbon (AOC) in drinking water with growth measurements using pure bacterial cultures. *The AOC manual SWE 95.002*, KIWA, Nieuwegein, Netherlands (1995).
 5. LeChevallier, M.W., T.M. Babcock and R.G. Lee, Examination and characterization of distribution system biofilms. *Appl. Environ. Microb.*, 52(12), 2714-2724 (1987).
 6. Hammes, F., E. Salhi, O. Köster, H.P. Kaiser, T. Egli and U. von Gunten, Mechanistic and kinetic evaluation of organic disinfection by-product and assimilable organic carbon (AOC) formation during the ozonation of drinking water. *Water Res.*, 40(12), 2275-2286 (2006).
 7. Liu, W., H. Wu, Z. Wang, S.L Ong., J.Y. Hu and W.J. Ng, Investigation of assimilable organic carbon (AOC) and bacterial regrowth in drinking water distribution system. *Water Res.*, 36(4), 891-898 (2002).
 8. Polanska, M., K. Huysman and C.V. Keer, Investigation of assimilable organic carbon (AOC) in Flemish drinking water. *Water Res.*, 39(11), 2259-2266 (2005).
 9. Chien, C.C., C.M. Kao, C.D. Dong, T.Y. Chen and J.Y. Chen Effectiveness of AOC removal by advanced water treatment systems: a case study. *Desalination*, 202(1-3), 318-325, (2007).
 10. Chien, C.C., C.M. Kao, C.W. Chen, C.D. Dong and C.Y. Wu, Application of biofiltration system on AOC removal: Column and field studies. *Chemosphere*, 71(9), 1786-1793 (2008).
 11. Kent, A.D., D.J. Smith, B.J. Benson and E.W. Triplett, Web-Based phylogenetic assignment tool for analysis of terminal restriction fragment length polymorphism profiles of microbial communities. *Appl. Environ. Microb.*, 69(11), 6768-6776 (2003).
 12. Shyu, C., T. Soule, S.J. Bent, J.A. Foster and L.J. Forney, MiCA: A Web-based tool for the analysis of microbial communities based on terminal-restriction fragment length polymorphisms of 16S and 18S rRNA genes. *Microb. Ecol.*, 53(4), 562-570 (2007).
-
- Discussions of this paper may appear in the discussion section of a future issue. All discussions should be submitted to the Editor-in-Chief within six months of publication.
- Manuscript Received: August 23, 2009**
Revision Received: December 10, 2009
and Accepted: April 22, 2010

(8-12) 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

○大河内由美子(京都大学大学院) Ly Bich Thuy(京都大学大学院)
石川 卓(月島機械) 河野 圭浩(京都大学大学院)
伊藤 禎彦(京都大学大学院)

1. はじめに

日本の水道事業は原水水質の状況に合わせて高度浄水処理を導入し、科学的な観点から十分に安全な水を供給している。しかし、このように格段に水質が向上した水道水であっても、利用者側からの評価は必ずしも高いとは言えない。一つの理由として、4 割弱の利用者が感知すると回答している“カルキ臭”の存在が挙げられ、満足度の高い水供給システムを確立するために優先的に取り組むべき課題と言える¹⁾。カルキ臭は水道水中に残存する前駆物質と塩素との反応生成物であるため、これらのうちいずれかの濃度低減が有効な手段となりうる。本研究ではカルキ臭抑制の一手法として、残留塩素濃度を低減した水道システム構築を想定し、残留塩素濃度低減環境においても微生物学的安定性を維持するための水質、特に同化可能有機炭素(AOC) 要求水準を明らかにする。

2. 実験方法

(1) 水試料中の AOC 低減方法に関する検討：水試料として京都大学桂キャンパスの水道水を使用した。試料中の AOC 濃度は上水試験方法解説編²⁾に従い、*Pseudomonas fluorescens* P17 株と *Aquaspirillum* sp. NOX 株を用いて測定した。1) 中性条件下、2) アルカリ条件(pH 9) 下のいずれかでの加熱処理(121 °C, 20min)を行った後、微生物を接種して 20°C で 9 ~ 12 日間培養した。ここでは該当水道水の残留塩素を中和後、再増殖微生物が定常期に達するまで培養した微生物群を接種株として用いた。0.2 μm のろ紙で増殖バイオマス除去した後に、同様の方法で 8 ~ 22 日間の培養および増殖バイオマス除去を再度行い、培養前後の AOC 濃度を比較した。

(2) 残留塩素濃度低減環境における微生物再増殖実験：必要に応じて(1)の方法で AOC を低減した水道水試料を用いて、3 段階の残留塩素濃度(0, 0.05, 0.1-0.15 mg/L) 制御条件下で 20 °C における微生物の再増殖((1)と同様の方法で接種株を調製)を調べた。実験は回分培養系で行い、次亜塩素酸ナトリウム溶液を間欠添加することで残留塩素濃度を制御した。経時的に残留塩素濃度を確認するとともに、従属栄養細菌数(HPC)の測定を行った。

3. 結果と考察

(1) 水試料中の AOC 低減方法に関する検討：加熱処理前後の AOC 濃度変化を図 1 に示す。121°C, 20 分の加熱処理により水試料中の AOC 濃度は顕著に増大し、100 μgC/L を超過した。その後、計 2 回の培養(20 ~ 29 日間)を経て AOC 濃度は急速に低下した。特に、アルカリ条件下で加熱処理した場合に最も高い効果が確認され、最終的な AOC 濃度は 17 μgC/L まで低下した。この結果は、加熱処理を行うことで水道水中に残存している比較的高分子量物質から構成される有機物群が低分子化されて AOC が増大すること、また増大画分は後段の微生物培養により除去可能であることを示している。一方、加熱処理を行っていない試料では培養期間を通じて AOC 濃度の顕著な変化は確認されず、AOC として計測されない高分子量有機物群が試料中に残存していると考えられる。以上の結果から、水道水試料中の AOC を低減するためには、pH 9 で加熱処理後、微生物培養を 20 日間以上行い、加水分解された AOC 画分のバイオマス変換とろ過除去を行うこととした。

(2) 残留塩素濃度低減環境における微生物再増殖実験：培養 10 日後の微生物再増殖結果と初期 AOC 濃度および残留塩素濃度の関係を図 2 に示す。ここでは、培養後の HPC が接種量を超えた場合のみ再増殖ありと判定した。また、残留塩素濃度は培養期間中の平均値で表している。残留塩素濃度 0 mg/L の場合、AOC 濃度 17 ~ 250 μgC/L の全ての試料において微生物再増殖が確認された。

ここで、ある水道水が微生物学的に安定であるためには、消毒剤による微生物不活化速度が系内

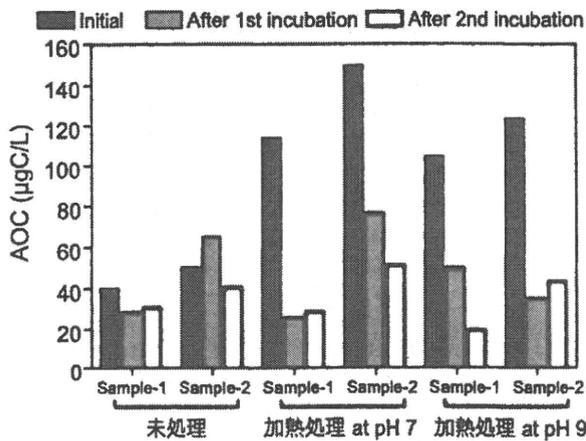


図1 加熱前処理によるAOC低減効果の比較

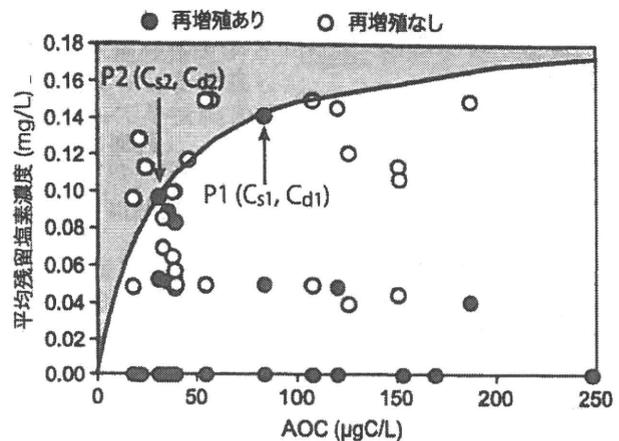


図2 再増殖とAOC・残留塩素濃度の関係

の微生物増殖速度と等しいか、より大きい必要がある。消毒による不活化が Chick-Watson モデル、微生物増殖が Monod モデルにそれぞれ従うと仮定して、微生物基質 (AOC) と消毒剤 (残留塩素) 濃度の関係を以下の式で表した³⁾。

$$C_d \geq \frac{\mu_{\max}}{k} \left(\frac{C_s}{K_s + C_s} \right) \quad (\text{式 1})$$

ここで、 C_s : 基質 (AOC) 濃度 ($\mu\text{gC/L}$)、 C_d : 消毒剤 (残留塩素) 濃度 (mg/L)、 μ_{\max} : 系内微生物の最大比増殖速度 (h^{-1})、 k : 消毒剤の不活化速度定数 ($\text{L/mg}\cdot\text{h}$)、 K_s : 基質半飽和定数 ($\mu\text{gC/L}$) である。

図2中の再増殖が確認されたデータセットから2点、P1(最大消毒剤濃度)およびP2(最小基質濃度)をそれぞれ式1に代入し、 $K_s=31.4 \mu\text{gC/L}$ 、 $\mu_{\max}/k=0.19 \text{ mg/L}$ となる曲線を得た。この曲線を用いることにより、ある残留塩素濃度を想定した場合に微生物再増殖を抑制するために許容されるAOC濃度が計算可能となる。例えば、カルキ臭低減を目的として残留塩素濃度を0.05または0.1 mg/Lまで最小化した場合の許容AOC濃度は、それぞれ10.9または33.6 $\mu\text{gC/L}$ と算出された。van der Kooijは、オランダ国内において残留塩素なしの水道システムにおいて調査を行い、AOC濃度が変化せずかつ極端な微生物再増殖を起こさないAOCレベルとして10 $\mu\text{gC/L}$ を提唱している⁴⁾。本研究で得られた結果は、仮に痕跡程度の残留塩素(0.05 mg/L)が存在したとしても同等の水質が要求されることを意味している。ここで、オランダの調査例では給水栓水で1000 CFU/mL以下のHPCが検出されており、このHPCはAOC 10 $\mu\text{gC/L}$ 以下という条件においても配管内で進行したバイオフィーム蓄積に由来すると考えられる。そのため、やはりバイオフィーム形成を防止するためには、本研究で得られた要求水準までAOCを低減する必要があると考えられる。

4. 本研究のまとめ

本研究ではカルキ臭抑制の一手法として、残留塩素濃度を低減した水道システム構築を想定し、残留塩素濃度低減環境においても微生物学的安定性を維持するための要求水質を明らかにした。その結果、残留塩素濃度を制御可能な最小限濃度(0.05 mg/L)まで低減した場合には、微生物再増殖を防止するためにAOCを約10 $\mu\text{gC/L}$ まで低減する必要があることを示した。表流水を原水とする高度処理浄水中のAOC濃度は約50 $\mu\text{gC/L}$ 以上であることがわかっており(データ未発表)、残留塩素濃度低減に先立ってAOC除去能の大幅な強化が不可欠と考えられる。

参考文献

1) 伊藤禎彦ら: 水道水に対する満足感の因果モデル構築と満足感向上策に関する考察, 水道協会雑誌, 76(4), pp. 25-37, 2007, 2) 日本水道協会: 上水試験方法解説編, 東京, 2001, 3) Srinivasan, S. and Harrington, G. W.: Biostability analysis for drinking water distribution systems, *Wat. Res.*, 41(10), pp.2127-2138, 2007, 4) van der Kooij, D.: Assimilable organic carbon as an indicator of bacterial regrowth, *Journal AWWA*, 84(Feb), pp. 57-65, 1992

(8-23) 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

○伊藤 禎彦(京都大学大学院)

Patrick Smeets(KWR Watercycle Research Institute)

Gertjan Medema(KWR Watercycle Research Institute)

1. はじめに

オランダでは水道水は塩素を使用せずに配水されている。この水道水の安全性を確保するため、2001年以降、定量的感染リスク評価(QMRA)によって浄水の年間感染確率が 10^{-4} 以下と評価されることが法令上の要件となっている。別報で、ヴェスパカスル浄水場を対象としたQMRAを行うため、微生物濃度データのベアリング方法について検討シリング法が適切であることを示した¹⁾。また、非加熱飲料水消費量データの統計的取り扱い方法が感度分析の結果に大きく影響することを見出し、ポアソンモデルよりも指数モデルのような連続モデルを用いる方がよいことを指摘した²⁾。本稿ではまずCampylobacterの年間感染確率をその信頼区間とともに評価する。また不確実性分析を行いQMRAの精度向上のために必要な事項を抽出する。さらに、障害調整生存年数(Disability Adjusted Life Years; DALYs)とコストを試算し、QMRAに関する全体の作業を完結させている。

2. 年間感染確率の推定

対象浄水場の処理フローは、凝集—貯水(滞留時間 89 日)—急速砂ろ過—オゾン処理—軟化—粒状活性炭—緩速砂ろ過であり、塩素消毒は行われていない。E. coli を指標微生物とし浄水プロセスの除去・不活化能を評価した。E. coli データは 2002 年から 2005 年に得られたものを使用した。原水の E. coli 濃度分布にはガンマ分布をあてはめた。本浄水場で主な微生物のバリアは、凝集—貯水、急速砂ろ過、オゾン処理、緩速砂ろ過でありこれら 4 段階を評価した。除去・不活化能に対して分布を選択し、凝集—貯水はロジスティック分布、急速砂ろ過はワイブル分布、オゾン処理は正規分布(いずれも除去・不活化 log₁₀ 数に対して)をあてはめた。一方、緩速砂ろ過後の E. coli 測定値はほぼ全て 0 であったので、パイロットスケールで行われた E. coli の除去実験結果(水温 13℃以下, 6 回分)から最小値 4.2 log₁₀, 最尤値 2.4 log₁₀, 最大値 2.0 log₁₀ を得て三角分布を設定した。以上の確率密度関数をもとにモンテカルロシミュレーション(100,000 回)を行い、4 処理ステップの総合除去・不活化能を計算した結果、中央値 7.46 log₁₀, 平均値 6.22 log₁₀ であった。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。原水中 E. coli 濃度にこの除去能を適用し水道水中 E. coli 濃度を求めた(平均値 1.64×10^{-4} E. coli/100 mL)。E. coli の 1 日当摂取量は、水道水中 E. coli 濃度と非加熱飲料水消費量データから計算した。オランダでは平均値 0.706 glass/日(1 glass=250 mL)をもつポアソンモデルで与えるのが適当とされている。平均値 2.99×10^{-4} E. coli/日を得た。次に、マース川で測定された E. coli に対する Campylobacter の比率(C/E 値, 対数正規分布)を用いて E. coli 摂取量を Campylobacter 摂取量に換算した。Campylobacter に関する用量反応モデルである指数モデル($P_d = 1 - \exp(-0.686 \times D)$, D:用量)を用いて 1 日当感染確率 P_d を計算した(平均値 6.51×10^{-6} 人⁻¹ 日⁻¹)。これより年間感染確率として平均値 1.68×10^{-3} 人⁻¹ 年⁻¹を得た。以下、この評価結果をベースとよぶ。目標値 10^{-4} より大きな値となった。

以上の推算値をまとめて表 1 に示す。平均値、中央値に加えて 2.5 パーセンタイル、97.5 パーセンタイルも示している。この中で E. coli 摂取量以降の 2.5 パーセンタイルがいずれも 0 となっている。これは、水消費量がポアソン分布という離散分布で与えられ、48%の人々が全く水道水を飲まない統計となっているためである。この水消費量データの統計的取り扱い方法が感度分析結果に及ぼす影響については別報²⁾で論じた。

3. 不確実性分析

QMRAにおける各予測項目および最終的に評価された年間感染確率は、当然、大きな不確実性をもつ。ここでは結果に大きく影響すると予想される項目をとりあげ不確実性分析を行った。

アムステルダム—ライン運河水の取水：本浄水場の原水はベテナ・ボルグーから取水される表流水であるが、夏季(3 ヶ月間)に需要水量が増大する時期には、

アムステルダム—ライン運河の水が追加取水される。その取水量は年間水量の 5%であるがより汚染されている(E. coli 濃度 1.75 倍)。夏季の 3 ヶ月間、アムステルダム—ライン運河水が 20%加わるものと考えた。年間感染確率

表 1 QMRA による推算値

	P2.5	中央値	平均値	P97.5
総合除去・不活化 log ₁₀ 数	5.41	7.46	6.22	9.58
水道水中 E.coli (E.coli/100 mL)	1.07×10^{-8}	4.35×10^{-6}	1.64×10^{-4}	9.25×10^{-4}
E. coli 摂取量 (E.coli/日)	0	1.24×10^{-8}	2.99×10^{-4}	1.36×10^{-3}
Campylobacter 摂取量 (Campylobacter/日)	0	1.35×10^{-10}	9.52×10^{-6}	3.36×10^{-5}
1 日当感染確率 (人 ⁻¹ 日 ⁻¹)	0	9.24×10^{-11}	6.51×10^{-6}	2.30×10^{-5}
年間感染確率 (人 ⁻¹ 年 ⁻¹)	0	3.37×10^{-8}	1.68×10^{-3}	9.06×10^{-3}

の計算結果を表 2 に示す。平均値はわずかに増大したが大きな影響はみられなかった。

緩速砂ろ過における高水温期の除去率の影響：水温 13℃以上での測定結果 3 例³⁾より最小値 5.6 log₁₀、最尤値 3.6 log₁₀、最大値 3.1 log₁₀ を求め、三角分布を設定した。上述の 13℃以下での除去能(最尤値 2.4 log₁₀)と比較して除去能は向上することがわかる。5 月～9 月の 5 ヶ月間、除去能は上記にしたがうとした。表 2 より年間感染確率はやや低下している。

C/E 値：ベースケースに用いた C/E 値は、

本浄水場の原水とは異なるマズ川での測定値(平均値 0.042, 標準偏差 0.10 の対数正規分布を設定)である。これに対して、WHO がガイドライン記載の文献レビューを参考に最小値 0.001 (0.1%)を設定した。一方、ワングでの貯水池での調査例より最大値 1(100%)を設定した。表 2 より、0.001 とした場合では平均値 6.59×10^{-5} 人⁻¹年⁻¹と極めて低い値となり、1 とした場合では平均値 2.53×10^{-2} 人⁻¹年⁻¹と増大した。C/E 値が感染確率の評価値に大きく影響することがわかる。本浄水場の原水での *Campylobacter*/*E. coli* または *Campylobacter* 濃度そのものの調査を進める必要性が高いと指摘できる。

用量反応モデルの影響：*Campylobacter* に関する用量反応モデルには指数モデルを用いた。別に Teunis らによって提示された $\alpha=0.024$, $\beta=0.011$ をもつベータポアソンモデルがあるが、これを適用すると感染確率が低用量域では最大感染確率曲線よりも大きな値となる問題がある⁴⁾。そこでベータポアソンモデルを近似した指数モデルを用いたのである。指数モデルの代わりに最大感染確率曲線($P_d=1-\exp(-D)$ 、低用量域では $P_d \approx D$)を適用した。表 2 に示すように感染確率はベースケースよりやや大きな値となる。次にベータポアソンモデルを使用して感染確率を計算すると最大感染確率曲線による値よりも大きな値となった。やはりここでベータポアソンモデルを使用するのは適切ではない。

リンク法とデイト法の比較：処理前後の微生物濃度データのベアリングにはリンク法を使用するのが適切である⁵⁾。ここでは参考のため除去・不活化能をデイト法で評価した。ベアリング方法を吟味しない場合、通常、デイト法を採用するからである。表 2 に示すように、リンク法と比較して 19 倍も大きな値となった。デイト法ではしばしば低除去率がみられるため、除去率が負になることさえある。QMRA を行う前に適切なベアリング方法を選択する必要がある。

4. 疾病負担とコスト推算

一般に、QMRAでは感染リスクを推算することに焦点が当てられるが、本来、感染後の健康影響の大きさを測定する統一基準が必要であり、これを可能にする基準が DALYs である。先進国における *Campylobacter* の感染による DALYs は、1000 人の胃腸炎に対し、YLD3.2、YLL1.4 と推算され、 $3.2 + 1.4 = 4.6$ DALYs と求められている⁶⁾。本浄水場で生産された水道水はアムステルダム東部地域に配水され、配水人口は約 360,000 人である。計算された年間感染確率から感染者の年間の発生数は、 $1.68 \times 10^{-3} \times 360,000$ 人 = 605 人。感染者から罹患者の発生は動的な現象として理解されるので、感染者から罹患者が発生する割合は簡単ではなく設定できる定数はない。ここでは安全サイドに立って、その割合を 1 と仮定する。この場合、配水地域での DALYs は、 $605 \times 4.6 / 1000 = 2.78$ DALYs と求められる。*Campylobacter* による胃腸炎のコストは、1 ケス約 370€ (割引率 0%) と評価された。これを用いて配水地域でのコストは、 $605 \times 370€ = 220,000€$ と計算される。この例のように今後は、水質を健康影響の大きさと直接表示する方法が導入されていくと考えられる。

5. おわりに

ワングの浄水場をとりあげたケーススタディにおいて *Campylobacter* の年間感染確率を評価した結果、水道水中の *E. coli* 濃度がほぼ全て 0 であるにもかかわらず、平均値 1.68×10^{-3} 人⁻¹年⁻¹となり 10⁻⁴ より大きかった。感度分析²⁾と不確実性分析の結果をまとめると、まず前者の結果から、本浄水場では、年間感染確率の大きさに最も寄与するのはバクソ処理であった。感染確率低下のためには、バクソ処理で微生物を確実に不活化することが最も有効である。次に不確実性分析の結果から、浄水処理における除去能に対する水温の影響、病原微生物数と指標微生物の比の影響、処理前後の微生物濃度データのベアリング方法の影響が大きいことを示した。これらをもとに、QMRA の評価値の精度を向上させるために必要な事項、および収集する必要性が高いデータを指摘した。さらに、対象配水地域における DALYs とコストを試算した。

参考文献 1)伊藤ら, 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ベアリング方法, 第 44 回日本水環境学会年会講演集(2010). 2)伊藤ら, 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). 3)Dullemont et al., Chapter 2. In *Recent Progress in Slow Sand and Alternative Biofiltration Processes* (Gimbel et al., eds.), 12-20, IWA Publishing (2006). 4)Pettersson et al., Chapter 7. In *MICRORISK: Quantitative microbial risk assessment in the water safety plan* (Medema et al., eds.) (2006). 5)Havelaar et al., Report 734301022, RIVM, The Netherlands (2003)

表 2 年間感染確率の不確実性分析結果

	年間感染確率 (人 ⁻¹ 年 ⁻¹)		
	P2.5	平均値	P97.5
ベースケース	0	1.68×10^{-3}	9.06×10^{-3}
アムステルダムライン運河水の取水	0	1.72×10^{-3}	8.60×10^{-3}
緩速砂ろ過における高水温期の除去	0	1.01×10^{-3}	3.72×10^{-3}
C/E 値	0.001 (0.1%)	6.59×10^{-5}	3.54×10^{-4}
	1 (100%)	2.53×10^{-2}	2.84×10^{-1}
用量反応モデル	最大感染確率曲線	2.30×10^{-3}	1.27×10^{-2}
	ベータポアソン	4.24×10^{-3}	2.77×10^{-2}
デイト法	0	3.18×10^{-2}	4.72×10^{-1}

(10-8) Evaluation and enrichment of biological activity of carboxylic acids removal by biological activated carbon in continuous column reactors
 連続式カラムリアクターを用いた生物活性炭のカルボン酸生分解特性の評価

○Soonglerdsongpha Suwat(東京大学大学院) 春日 郁朗(東京大学大学院)
 栗栖 太(東京大学大学院) 片山 浩之(東京大学大学院)
 古米 弘明(東京大学大学院)

1. Introduction

Ozonation combined with biological activated carbon (BAC) has been widely used in advanced drinking water treatment plants. Ozonation results in the formation of assimilable organic carbon (AOC), which is biodegradable organic matter including carboxylic acids. Although AOC has potential to promote bacterial regrowth in distribution pipes, subsequent treatment by BAC filter can remove AOC efficiently to ensure biological stability of drinking water. However, little information is available on the mechanism of AOC removal in BAC. We examined biological performance of BAC to remove carboxylic acids such as formate, acetate, and oxalate as model AOC substances. In addition, bacteria responsible for those carboxylic acids degradation were evaluated.

2. Materials and Methods

2.1 Continuous column reactors

BAC sample was collected from an advanced drinking water treatment plant in May, 2009. They were packed in glass column reactors. Run A, Run B, and Run C were continuously fed with 1 mgC/l of formate, acetate, and oxalate in mineral medium for 30 days, respectively. Subsequently, substrate concentration was increased to 10 mgC/l and operated for additional 14 days. Control experiment was conducted in parallel without adding carboxylic acids (Run D). Experimental conditions were summarized in Table 1. During enrichment, BAC samples were periodically taken for removal performance test and bacterial community analysis.

2.2 Removal performance test and bacterial community analysis

Removal performance test was performed in batch mode. This test was initiated by adding 1 mgC/l of formate, acetate, and oxalate to 10-g BAC in 300 ml of mineral medium. Control of biodegradation was carried out by adding sodium azide (NaN₃). Incubation was conducted at 20°C with 100 rpm agitation. Carboxylic acids concentrations were periodically determined with an ion chromatograph (Metrohm 761 Compact IC, Switzerland). Bacterial community associated with BAC was characterized by terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) analysis with an ABI 3100-avant (Applied Biosystems, USA).

Table 1 Experimental conditions of continuous column reactors

Column	Added substrate	Contact time (hr)	Flow rate (ml/min)	Linear velocity (cm/min)
Run A	Formate	1.6	1.0	0.2
Run B	Acetate			
Run C	Oxalate			
Run D	-			

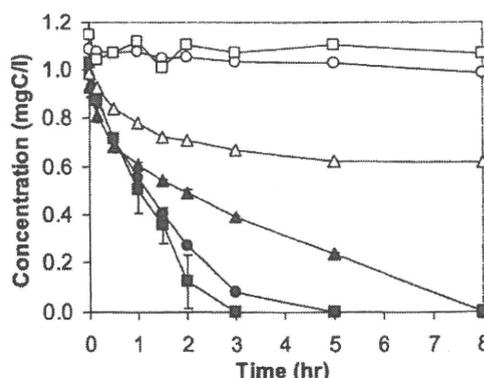


Fig.1 Removal of formate (●), acetate (■), and oxalate (▲) by original BAC (open symbols indicate control with NaN₃).

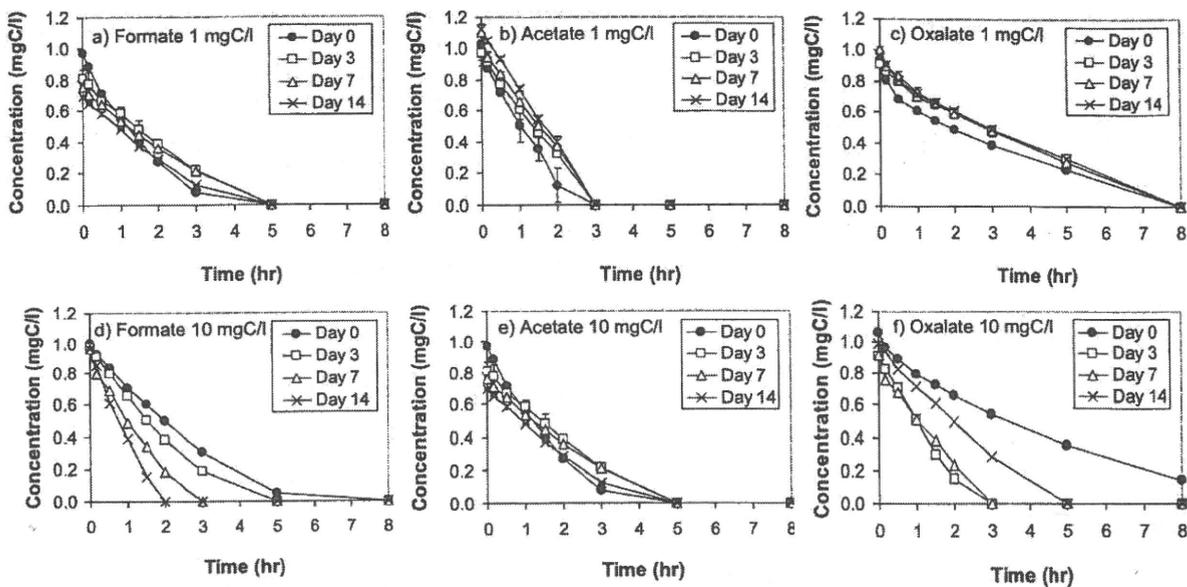


Fig.2 Temporal changes in removal performance of BAC after enrichment with 1 mgC/l and 10 mgC/l of formate (RunA: a and d), acetate (RunB: b and e), and oxalate (RunC: c and f)

3. Results and discussions

3.1 Carboxylic acids removal performance of original BAC

Fig.1 shows reduction profiles of formate, acetate and oxalate by original BAC. In the control experiment with NaN_3 , no decline was found in formate and acetate while some decrease was observed in oxalate. It indicates that formate and acetate were preferably removed by biodegradation, while oxalate was removed by biodegradation as well as physical adsorption. Considering contribution of physical adsorption, biodegradation rate constants were compared supposing that degradation profiles followed the pseudo-first order reaction. Acetate was rapidly removed at the rate of 0.81 hr^{-1} followed by formate (0.56 hr^{-1}) and oxalate (0.08 hr^{-1}), suggesting that biodegradation performance was different depending on the types of carboxylic acids.

3.2 Enrichment of formate, acetate and oxalate utilizing bacteria

In the column reactor experiment, we tried to enrich bacteria responsible for formate, acetate, and oxalate degradation. Fig. 2 shows temporal changes in removal performance in each reactor. Results showed that reduction rates in all carboxylic acids were not increased by continuous feeding with 1 mgC/l of each substrate. However, the increase of removal performance was observed in Run A (formate) and Run C (oxalate) when the concentration was increased to 10 mgC/l, while no significant change was found in Run B (acetate). It is likely that formate and oxalate utilizing bacteria were enriched under 10 mgC/l enrichment condition. In addition, bacterial communities associated with BAC were investigated by T-RFLP. Results showed that bacterial communities in Run C (oxalate) and Run D (control) were stable while new fragments were observed in Run A (formate) and Run B (acetate) under both of 1 mgC/l and 10 mgC/l enrichment conditions. Bacteria corresponding to those fragments might actively take part in formate and acetate degradation in column experiment.

4. Conclusion

The analysis of original BAC indicated that acetate and formate were preferably and rapidly removed by biodegradation while oxalate biodegradation rate was much slower and it was also removed by physical adsorption. The increases of removal performance were observed in the columns reactors where BAC was acclimatized with 10 mgC/l of formate and oxalate. T-RFLP analysis could detect changes in bacterial community in case of continuous feeding of formate and acetate, not oxalate. Activity and abundances of bacteria utilizing each substrate will help us to understand mechanism of AOC removal by BAC filter.

B-43 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

○周 靚^{1*}・伊藤 禎彦^{1,2}

¹京都大学大学院 工学研究科 都市環境工学専攻 (〒615-8540 京都市西京区京都大学桂C1棟)

²京都大学大学院 地球環境学堂 (〒615-8540 京都市西京区京都大学桂C1棟)

* E-mail: zhou@urban.env.kyoto-u.ac.jp

1. はじめに

飲料水の微生物的安全性を管理するための手法として定量的微生物感染リスク評価(Quantitative Microbial Risk Assessment ;QMRA)がある。QMRAにおいては、しばしば微生物濃度データに対する分布形のフィッティングが難しい場合がある。大きな要因の1つは、多くの微生物濃度が検出限界以下であり、測定値が得られない点である。

QMRAの第一段階は浄水処理プロセスの除去・不活化能を評価することである。残存率 π は次式(1)によって計算する：

$$\log_{10}\pi = \log_{10} \frac{C_{out}}{C_{in}} \quad (1)$$

ここで、 C_{out} は流出水濃度で、 C_{in} は流入水濃度である。この式で、 C_{out} あるいは C_{in} が0なら、除去率は計算できない。0データの割合が大きくなると、評価結果にも大きく影響することになる。浄水処理プロセスにおいて、急速砂ろ過後、オゾン処理後、緩速砂ろ過後、塩素消毒処理後等処理水中では、微生物濃度は低く、測定値が0となる場合が多いと予想される。この時微生物濃度は本当に0ではなく、検出限界以下の可能性が高いと考えておく必要がある。

本研究では、QMRAの推定値の精度向上を目的として、測定値が0であるデータの取り扱い方法について考察した。検出限界以下の値が出現することに対する考え方・方法には幾つかの種類があるが、ここでは、簡便な方法として、微生物濃度がポアソン分布に従うことを利用して、検出限界以下にデータ補間する方法を考案した。

別報で、伊藤はオランダの浄水場を対象として *Campylobacter* の年間感染リスクを評価した¹⁾。本研究も同じ浄水場の微生物データを使用する。まず、0データの影響が大きいと考えられる急速砂ろ過、オゾン処理段階の0データを補間した。次に、補間し

たデータを使って、モデル浄水場における4つの処理ステップの総合除去能を推定するとともに、年間感染確率を計算した。さらに、補間データを使うケースとベースケースの計算結果で差異が生じる原因について考察した。

2. 方法

*E. coli*を対象微生物として取り上げた。一般に、*E. coli*濃度はMPN法(最確数法)によって測定する。使用するデータを見ると、標準試料水量100mLの時、*E. coli*濃度の検出限界は0.2 *E. coli* /100mLであった。

水や食物のような媒体における微生物存在量分布を記述する際は、ポアソン分布を基本とする。*E. coli*の平均濃度 μ (*E. coli*/100mL)の水から、試料100mLをランダムに取れば、 N 個の*E. coli* ($N=0$ を含む)を含む試料を見つける確率 P は、ポアソン分布によって式(2)で与えられる。

$$P(N) = \frac{(100\mu)^N}{N!} e^{-(100\mu)} \quad (2)$$

この分布ではパラメータは1つだけであるため、平均濃度 μ が求まると分布は完全に特定される。

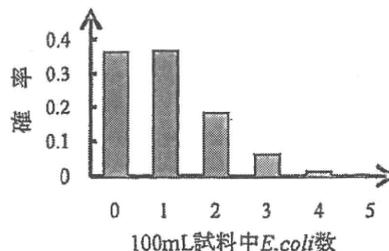


図1 平均濃度 $\mu=1$ のポアソン分布

図1は水中*E. coli*の平均濃度 $\mu=1$ の時、試料水量が100mLの場合の N 個の*E. coli*を含む試料を見つける確率を示す。*E. coli*の個数が0から5となる確率を示しており、0となる可能性も高い。

式(2)より、試料水量100mLにおいて0個の*E. coli*を含む試料を見つける確率は：

$$P(N=0) = \frac{(100\mu)^0}{0!} e^{-(100\mu)} = e^{-(100\mu)} \quad (3)$$

この指数関数の分布図を図2に示す。(3)式によって、任意の平均濃度値 μ を与える時、0個の *E. coli* を含む試料を見つける確率 $P(N=0)$ が求まる。図2から、水中 *E. coli* の平均濃度が低ければ、0個を取る確率も高いことがわかる。

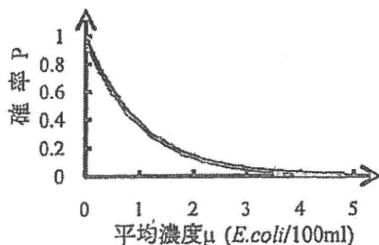


図2 任意の平均濃度 μ を与える時、100mL 試料水量において0個の *E. coli* を含む試料を見つける確率

ここで、標準試料水量 100mL の時、*E. coli* の検出限界は 0.2 *E. coli* /100mL であることに基づき、測定値 0 の水の平均濃度はすべて 0.2 *E. coli* /100mL 以下と仮定する。

検出限界 $\mu=0.2$ *E. coli* /100mL の時、

$$P(N=0) = e^{(-100 \times 0.2)} = 0.81873 \quad (4)$$

すなわち、 μ が検出限界以下 $0 < \mu < 0.2$ *E. coli* /100mL の時、 P が取る範囲は $0.81873 < P < 1$ となる。したがって、0.81873~1 の間で P 値に乱数発生させると、対応する μ は次式(5)で求まる：

$$\mu = -\frac{\ln P}{100} \quad (5)$$

(ただし、 $0.81873 < P < 1$)

3. 結果および考察

対象とした浄水場における主な微生物のバリアは、凝集一貯水、急速砂ろ過、オゾン処理、緩速砂ろ過であり、感染リスクの評価対象はこれら4段階とする。4段階中、0データの影響が大きいのは急速砂ろ過、オゾン処理、緩速砂ろ過の3段階である。緩速砂ろ過の場合、定量数は1回だけで他はすべて0であったので、除去能を評価するために、パイロットスケールで行われた *E. coli* の添加実験の結果を用いた²⁾。そこで上記の方法は急速砂ろ過とオゾン処理2段階の測定データに適用した。

使用した *E. coli* 濃度データの概要を表1に示す。オ

表1 *E. coli* 濃度データ概要

	全データ数	0データ数	0データ割合
原水	46	1	2%
凝集一貯水後	91	1	1%
急速砂ろ過後	556	313	56%
オゾン処理後	300	285	95%
緩速砂ろ過後	1393	1392	99.9%

ゾン処理水の定量数は15回のみである。なお、15回の定量のうち4回は大容量サンプリングによって測定され、0.009 *E. coli*/100mL以下という低い値であった。

(1) 検出限界以下へのデータ補間結果

急速砂ろ過の場合は、 P 値を 0.81873~1 の間で 313 回乱数発生させて、313 個の 0 データを検出限界 0.2 *E. coli*/100mL 以下へ補間した。オゾン処理の場合は、 P 値を 0.81873~1 の間で 285 回乱数発生させて、285 個の 0 データを補間した。図3は急速砂ろ過水について補間前と補間後の *E. coli* 濃度のヒストグラムを示す。

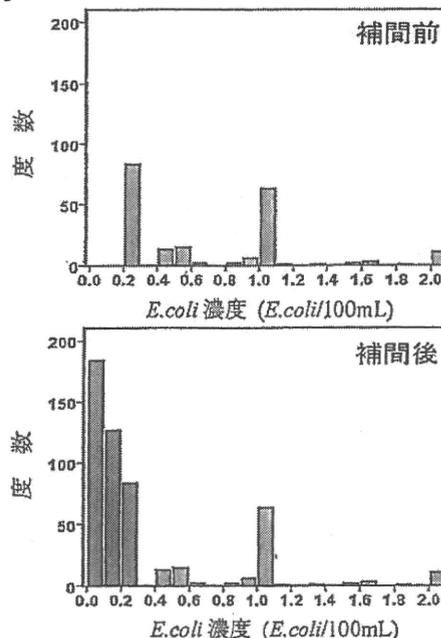


図3 急速砂ろ過水における補間前後の濃度分布

(2) 年間感染確率の推定結果

急速砂ろ過水とオゾン処理水に対して補間した *E. coli* 濃度を用いて、各処理プロセスにおいてランク法によって除去・不活化能を評価した。除去・不活化 \log_{10} 数は式(1)によって計算した。そして除去・不活化能に対して適合する分布を選択し、適合分布の確率密度関数をもとにモンテカルロシミュレーション (10 万回) を行い、4 処理ステップの総合除去・不活化能を計算した。*E. coli* の 1 日当摂取量は、水道水中 *E. coli* 濃度と非加熱飲料水消費量データから計算した。次に、*E. coli* に対する *Campylobacter* の比率 (C/E) を用いて *E. coli* 摂取量を *Campylobacter* 摂取量に換算した。*Campylobacter* に関する用量反応モデルである指数モデル ($P_d = 1 - \exp(-0.686 \times D)$, D:用量) を用い 1 日当感染確率 P_d を計算した。これより式 $P_y = 1 - (1 - P_d)^{365}$ によって年間感染確率を計算した。除去・不活化能と年間感染確率の推定結果を表2、3、4に示す。ケース1はベースケース¹⁾で、急速砂ろ過とオゾン処理段階の0データを除去しないままペアリングして推定している。ケース2は急速砂ろ