

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・緩速砂濾過、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—貯水（滞留時間89日）—急速砂濾過—オゾン処理—軟化—粒状活性炭—緩速砂濾過である。もちろん塩素消毒は行われておらず、緩速砂濾過が「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、緩速砂濾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1,393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100～10,000 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。緩速砂濾過後の*E. coli*測定値はほぼ全て0なので、そのままでは緩速砂濾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濾過による*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 1.64×10^{-4} *E. coli*/100 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 1.68×10^{-3} /人/年を得た。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²⁹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²⁵。

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、配水過程でおきう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¹²⁾。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),31)}。食品や水(水道水に加えて下水の再利用水なども含む)のDALYs指標による安全評価の分野³²⁻³⁴⁾でも、オランダが最も進んでいるとみられる。筆者の評価例²⁹⁾でも、カンピロバクターの感染確率を計算するにとどまらず、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³⁵⁾。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。DALYsを用いた水質表示例は今後増えていくと予想される。

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³⁶⁾。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³⁷⁾によるAOC指標の開発である。そして、実際の配水系

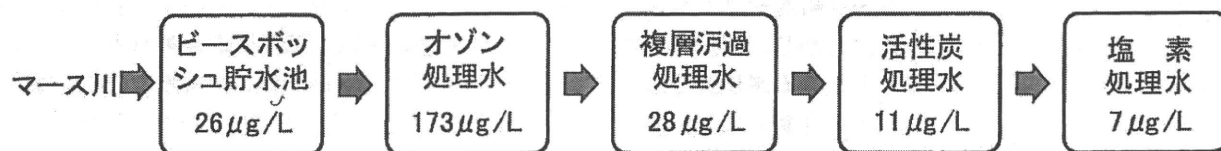
統において浄水処理後のAOC濃度と配水後の水中従属栄養細菌数には相関が認められること、また、配水管内でAOC濃度は低減するが、低減後もその値は10-15 $\mu\text{g/L}$ 以下にはならないことを見出した。これらをもとに、水道水中の従属栄養細菌数の増大を制御するための目標値として10 $\mu\text{g/L}$ を設定したのである^{38),39)}。

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意味している。また、この濃度レベルでは細菌は水相でなお増殖可能である。これに対して筆者らは、低残留塩素条件下(0.05mg/L)で許容できるAOC濃度として11 $\mu\text{g/L}$ を提示した^{40),41)}。この条件では水相で細菌は増殖できないので、配水管内で生物膜も形成しにくい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⁴²⁾)、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⁷⁾。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が、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³⁷⁾。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、



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。

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³⁷⁾

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⁴³⁾。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^{44),45)}。

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⁴⁶⁾。

(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 及び BFR 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 や BFR を測定するためのものである。そして微生物的安定性は、AOC と BFR の2つのパラメータによって定義されている³⁹⁾。

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-biofilmmonitor) 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 を国内の浄水場及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^{47),48)}。

(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 (硬質 PVC)、テフロンは生物膜の生成量が少ない、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^{38),39)}。典型的な BFP 値については、ガラスで $10 \text{pgATP}/\text{cm}^2$ (陰性対照とみなしている)、硬質 PVC は $20-50 \text{pgATP}/\text{cm}^2$ でありテフロンも同程度、ポリエチレンで $500-3,000 \text{pgATP}/\text{cm}^2$ 、可塑剤添加 PVC で $10,000 \text{pgATP}/\text{cm}^2$ 程度と報告されている。

試験は、写真-2と同様の装置を用いて、異なる



写真-2 生物膜生成試験装置 (KWR 所有)

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調べる。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、各種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。さらに、この試験方法を欧州での標準試験方法として整備しようとしている。

現在オランダで使用されている管の49%は硬質 PVC、29%が石綿セメント、9%が鑄鉄管である。生物的安定性に関する基準値があるわけではないが、上記の BFP 値を参考に、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る理由のひとつになっている（ただし、石綿セメントの BFP 値は不明）。なお、使用割合が増加しているのは硬質 PVC である¹⁹⁾。

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⁴⁹⁾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（1.5m/sec 程度）である⁵⁰⁾。近年、通常使用時の配水管網の流速を高めて（日に一度0.4m/sec 以上の流速が出現するように設計）配水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⁵¹⁾。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、膜汚過の導入が進めば、配水管網に流入する微粒子数が格段に少なくなることが期待されている⁵²⁾。

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⁵³⁾。

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^{54), 55)}。

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⁵⁶⁾。その考え方は WHO 飲料水水質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。ここでは、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¹⁹⁾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）とそれほど高くない。また家庭内での水使用原単位は128L/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、p. 273 (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、p. 334 (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、p. 303 (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. W. M. H. Smeets, G. J. Medema, J. C. 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及び研究の動向、環境衛生工学研究、Vol. 23, No. 3, pp. 16-19 (2009)
- 10) Vewin: Reflections on performance 2006, p. 62 (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, p. 413 (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*, p. 31 (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, p. 289 (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*, p. 53 (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、p. 452 (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ベアリング方法、第44回日本水環境学会年会講演集、p. 75 (2010)
- 25) 伊藤禎彦: 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 (2010)
- 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、pp. 498-499 (2010)
- 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, p. 202 (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、p. 434 (2003)
- 31) 伊藤禎彦、越後信哉: 水の消毒副生成物、技報堂出版、p. 325 (2008)
- 32) World Health Organization: WHO Initiative to Estimate the Global Burden of Foodborne Diseases, A summary document (2008)
- 33) 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)
- 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. Kruihof, 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. Kruihof, 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, 私稿 (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, 私稿 (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
施設工学室長

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って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者が多く、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、大部分の配水システム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)	
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ネクションの防止、管路補修時の汚染防止といった技術的対策を講じることで、残留消毒剤の保持に関わらず、高度な安全性が確保できると結論づけた。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ると言えるものの、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

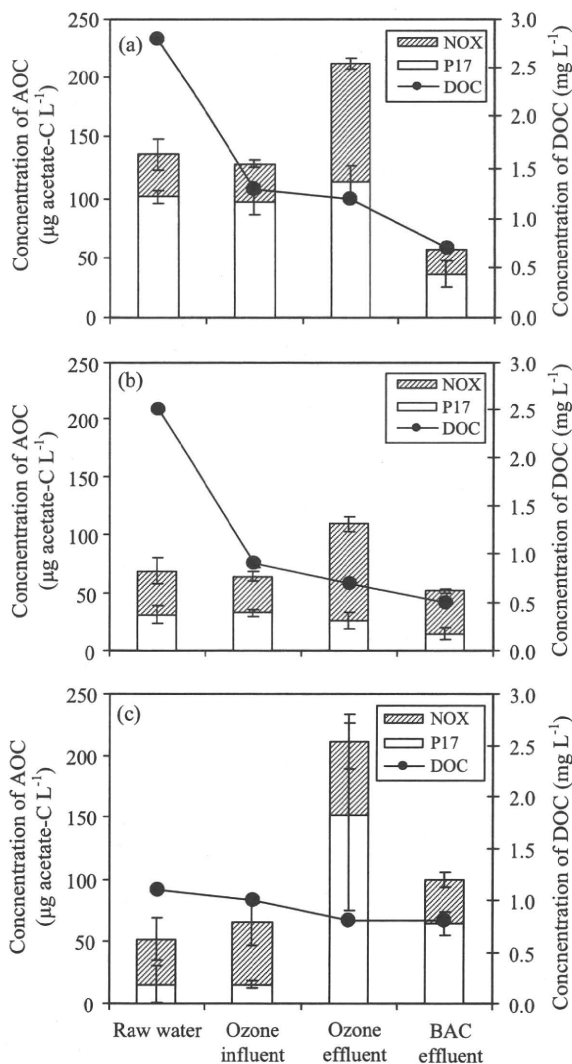


Fig. 1. Changes in AOC concentration along the treatment process in (a) plant A, (b) plant B and (c) plant C.

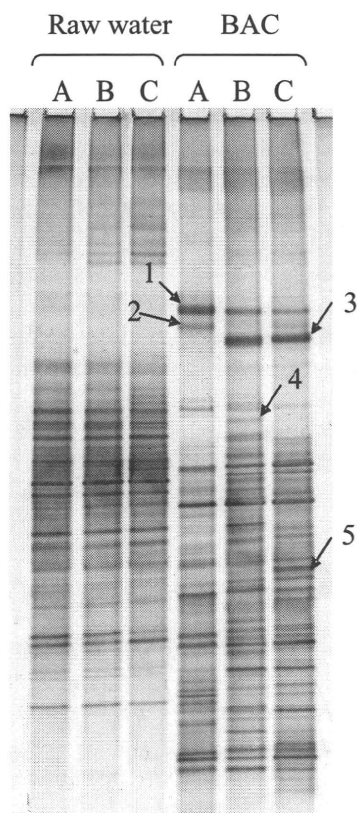


Fig. 2. DGGE profiles of bacterial communities in raw water and on BAC.

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-

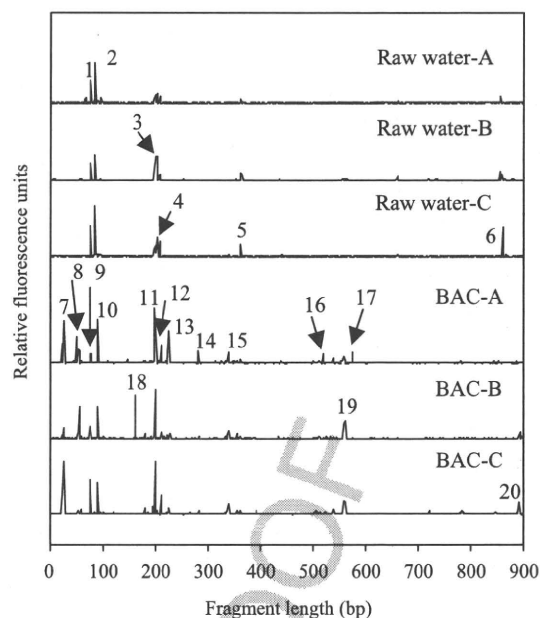


Fig. 3. T-RFLP profiles obtained by *HhaI* digestion.

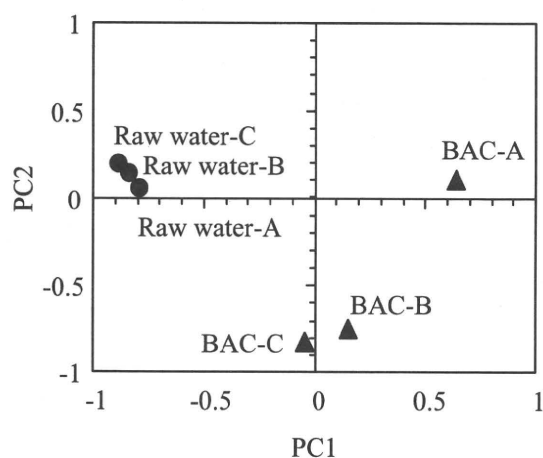
tained by *HhaI* digestion was applied to evaluate similarity of the profiles. The result of PCA is shown in Fig. 4. Principal component 1 (PC1) separated the profiles of raw water samples from those of BAC samples. All raw water samples were grouped together. On the other hand, principal component 2 (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 ourofinensis</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 chrysopticola</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

- Rittmann, B.E. and V.L. Snoeyink, Achieving biologically stable drinking water. *J. Am. Water Works Ass.*, 76(10), 106-114 (1984).
- 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. Veenendal, 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

