

微生物リスク評価を用いた水質管理手法について

国立保健医療科学院 島崎大
 京都大学 伊藤禎彦
 お茶の水女子大学 大瀧雅寛
 東京大学 春日郁朗

1 目的

H23-25 年度厚生労働科学研究「水道の浄水処理および配水過程における微生物リスク評価を用いた水質管理手法に関する研究」における成果等をふまえ、国内外の微生物リスク評価を用いた水質管理手法に関する情報を収集し、我が国の水質管理への適用に資する技術的知見を整理する。

2 諸外国における微生物リスク評価手法の現状

2-1 オランダ国における定量的微生物リスク評価（QMRA）の実施状況

オランダでは、微生物に関する水道水質基準の中で QMRA を行うことが規定され、実務への導入が進められてきた。同国内での実施状況もまとめて報告されている¹⁾。表 1 はオランダ国内の 12 浄水場において、4 種類の微生物（エンテロウイルス、カンピロバクター、クリプト、ジアルジア）を対象にして行った計 46 ケースに及ぶ QMRA 結果をまとめたものである。1 つの国内でこれだけの QMRA 事例がまとめて報告されたのは世界初である。結果を見ると、4 種類すべてに対して、感染確率 10^{-4} を満たすのは 6 浄水場しかなかった。このうち、感染確率 10^{-4} をもっとも超過しやすいのはカンピロバクターであった（4 ケース）。まず、感染確率 10^{-4} を満たすことが、そう容易とはいえないことが示されたのは驚きである。カンピロバクターが感染確率 10^{-4} をもっとも超過しやすいと評価されたのも意外である。ただ、オランダでは塩素を使用しておらず、カンピロバクターはもちろんバクテリアなので、塩素を使えるなら簡単に不活化できるともいえる。

表 1 Association between index pathogens and risk of infection
at 12 different water production location

Infection risk	Enterovirus	Campylobacter	Cryptosporidium	Giardia	Total
95% < 10^{-4}	8	7	9	11	35
Median < 10^{-4} ≤ 95%	1	1	2	1	5
Median ≥ 10^{-4}	1	4	1	0	6
Total	10	12	12	12	46

先般、オランダ KWR Watercycle Research Institute が中心となり、watershare²⁾というプラットフォームが立ち上げられた。水道分野を中心とした実務的課題に対応するための 23 種類のソフトウェアツールが積み込まれている。そのうちの 하나가 QMRA であり、独自に開発した QMRA spot ソフトウェア³⁾を提供している(上記の評価結果も QMRA spot を使用)。ただし watershare の利用には会費が必要である。QMRA spot のみの無償利用は可能。

2-2 WHO やその他の国々の動向

WHO では現在、「QMRA に関する WHO Guidebook」の編纂が進められている。既に「飲料水水質ガイドライン」の中にも QMRA による水質管理方法が詳細に記述されているが、他にも下排水の農業・漁業利用やレクリエーション水に関する分野でそれぞれ QMRA が導入されたガイドラインなどが存在しており、各々をとりまとめてひとつのガイドブックを作成し、水道事業者や行政担当者が実務に QMRA を導入し活用することが目指されている。2015 年以降の公開見込みである。

その他、QMRA 手法を導入しつつある国には、米国、カナダ、オーストラリアなどがある。

3 国内の水道水源等における病原微生物の存在状況

3-1 飲料水健康危機管理実施要領に係る報告状況

平成 20 年 4 月から平成 25 年お月までの期間に厚生労働省健康局水道課に報告があった水道原水中のクリプトスポリジウムおよびジアルジア濃度を図 1 および 2 にまとめた(濃度は対数目盛として表示、0~1 log10 までを 6 階級に分割しているが、小さい値から 1, 2, 3, 4, 5~6, 7~9 オーシストまたはシスト/10 L に対応)。各試料の検出率は明らかではない。岸田らは、わが国の表流水を原水とする 30 カ所の浄水場において、ウイルスおよび原虫の汚染実態を調査している(2010 年度)。クリプトスポリジウム、ジアルジアの検出率はそれぞれ 27%、20%であったとしており⁴⁾、図 1, 2 における存在状況の参考になる。

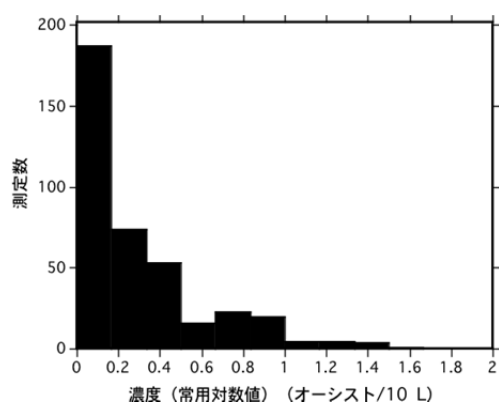


図 1 水道原水中のクリプトスポリジウム濃度
(2008 年 4 月~2013 年 12 月、測定数 389)

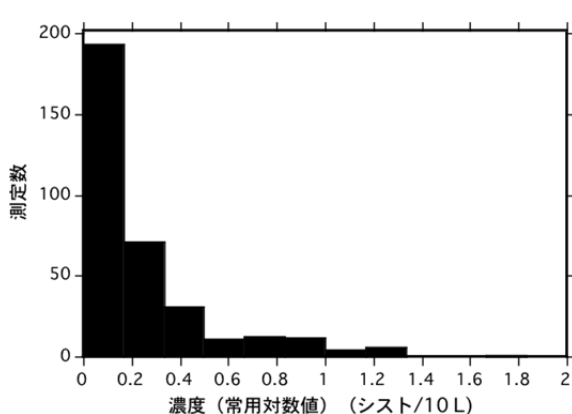


図 2 水道原水中のジアルジア濃度
(2008 年 4 月~2013 年 12 月、測定数 343)

3-2 利根川・荒川水系の存在状況

利根川水系および荒川水系の表流水を原水とする A, B 浄水場のクリプトスポリジウムおよびジアルジアの検出濃度を示す。経時的傾向を把握するため、3 ヶ月ごとの移動平均をプロットしている。いずれも最近 10 年間に於いて継続的に検出されている。

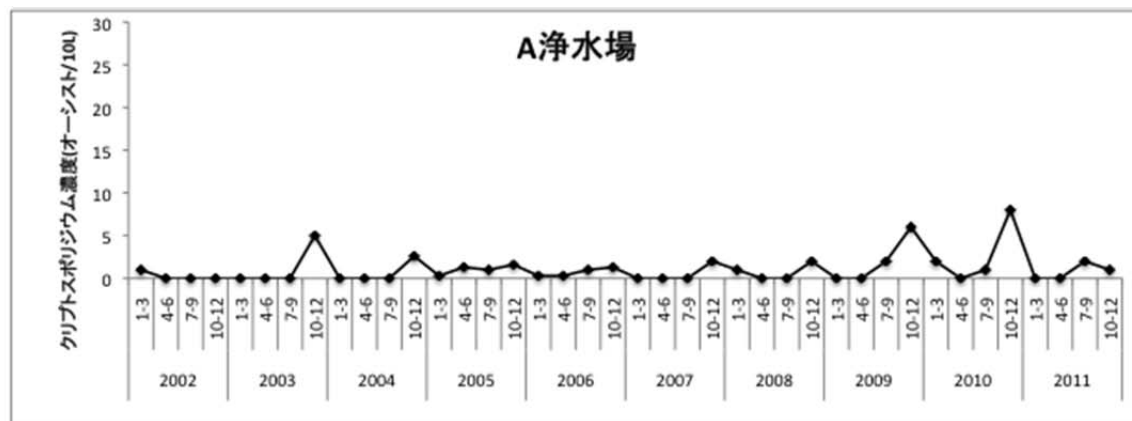


図 3 A 浄水場原水におけるクリプトスポリジウム検出状況

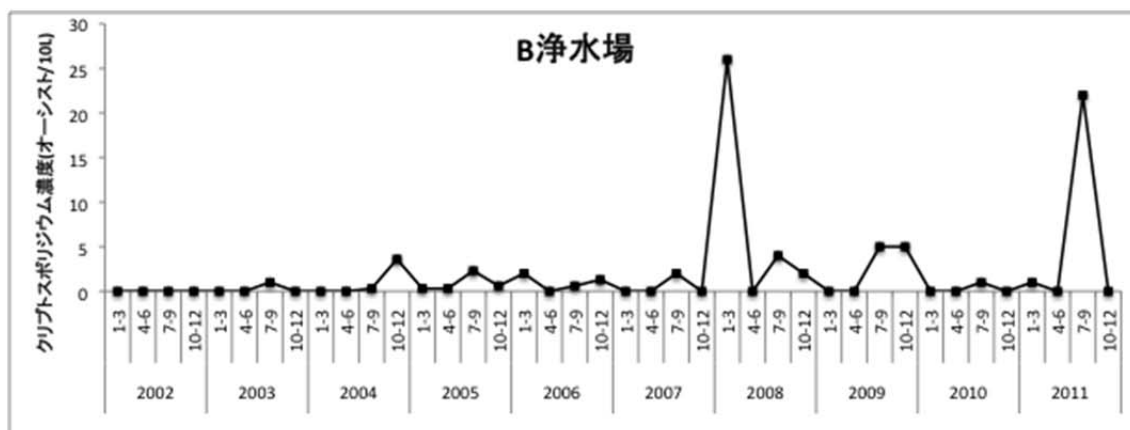


図 4 B 浄水場原水におけるクリプトスポリジウム検出状況

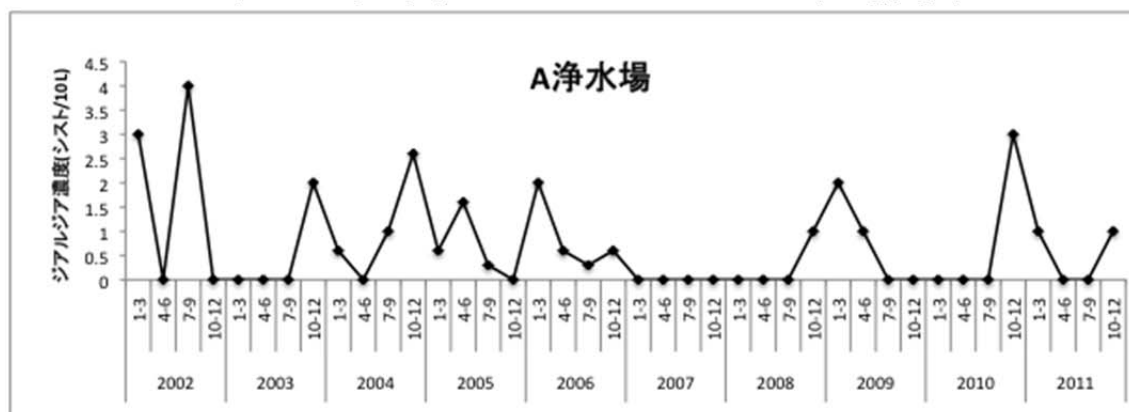


図 5 A 浄水場原水におけるジアルジア検出状況

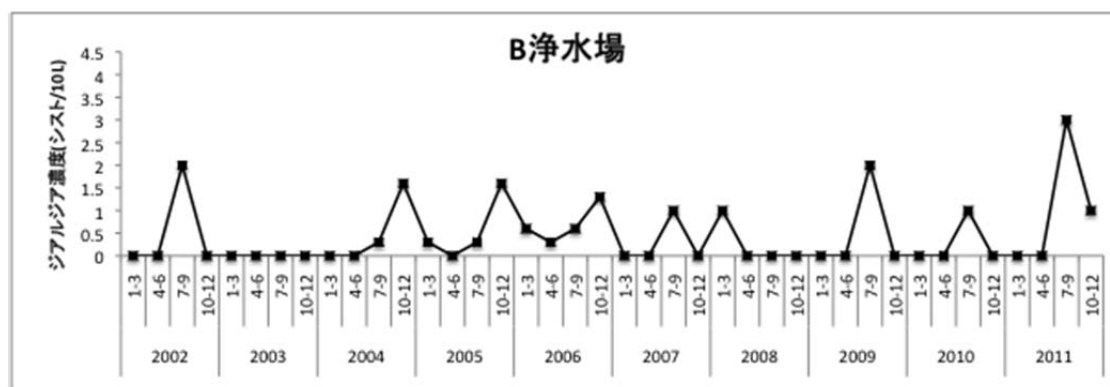


図6 B浄水場原水におけるジアルジア検出状況

3-3 淀川水系の存在状況

淀川の表流水を原水とする C,D,E 浄水場におけるクリプトスポリジウムおよびジアルジアの検出濃度を図7～図12に示す。ジアルジアは2007年以降に測定が開始された。経時的傾向を把握するため、4ヶ月ごとの移動平均をプロットしている。過去には検出されていたが、その後検出されなくなった原水の例である。畜産排水の管理が強化されたことなどによると考えられている。

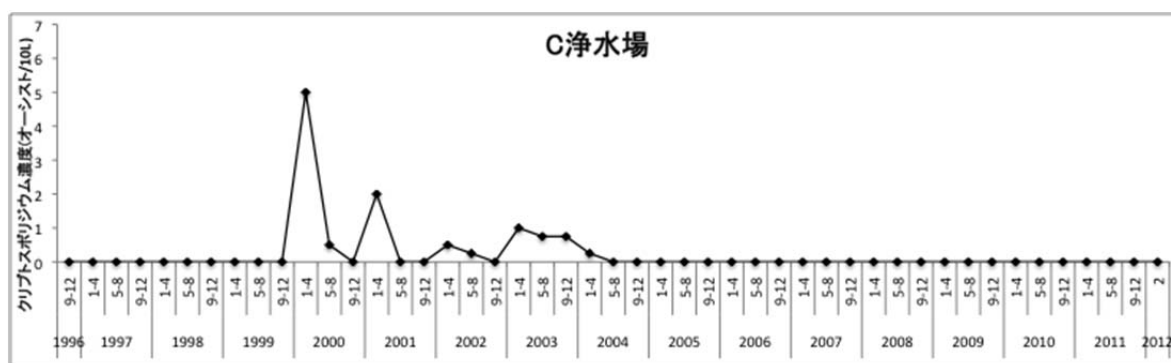


図7 C浄水場原水におけるクリプトスポリジウム検出状況

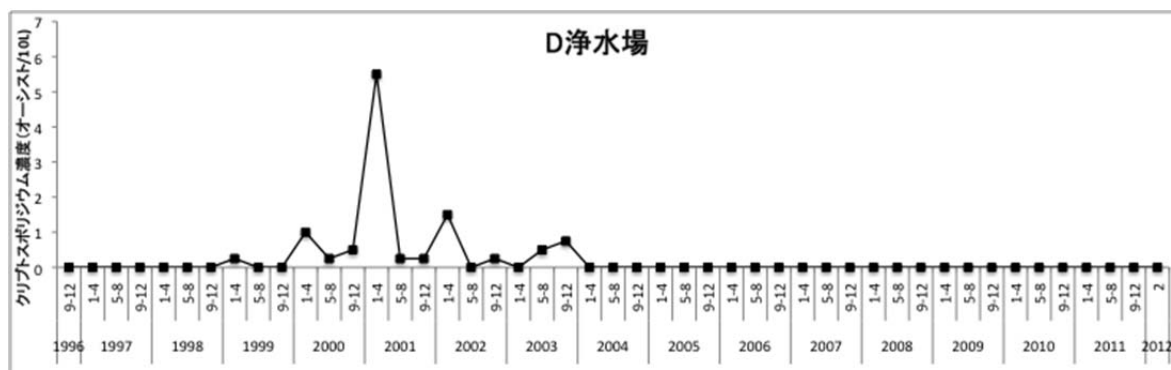


図8 D浄水場原水におけるクリプトスポリジウム検出状況

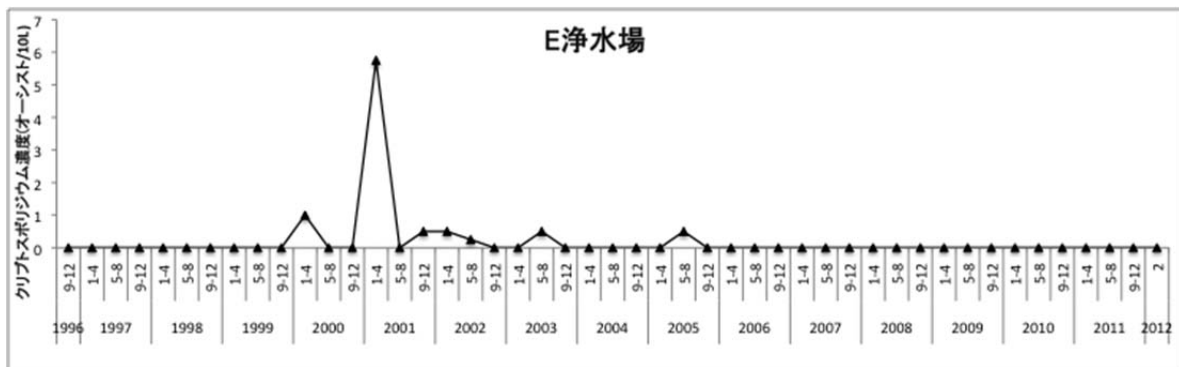


図9 E浄水場原水におけるクリプトスポリジウム検出状況

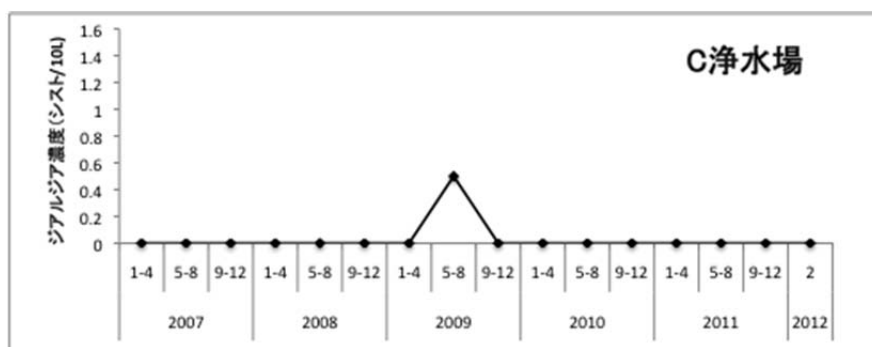


図10 C浄水場原水におけるジアルジア検出状況

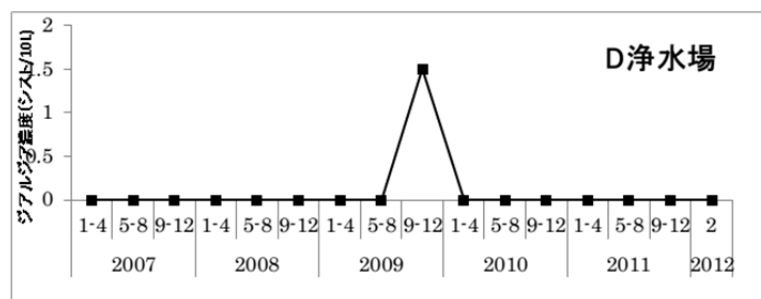


図11 D浄水場原水におけるジアルジア検出状況

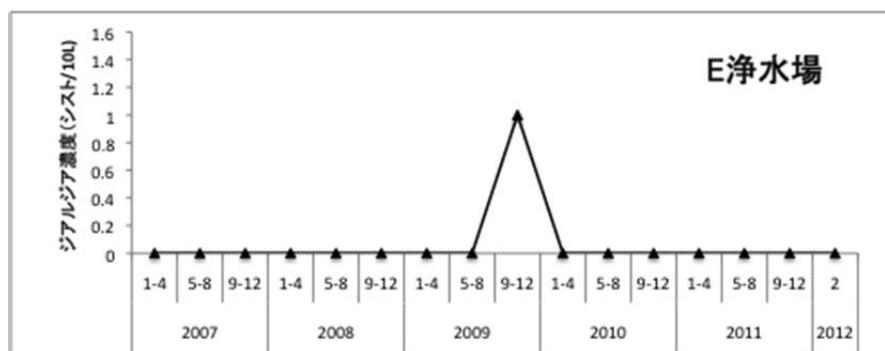


図12 E浄水場原水におけるジアルジア検出状況

3-4 ウイルスの存在状況

F 水道事業体では、エンテロウイルス、ノロウイルス、アデノウイルスの3種類を対象として、6 浄水場における原水計7箇所で、年に3回の測定が継続されている。エンテロウイルスとノロウイルスの測定例を図13、図14に示す。わが国の水道水源で測定されている数少ない例であり貴重なデータである。表1にも示したとおり、海外ではエンテロウイルスのQMRAが行われることが多い。わが国でも、微生物学的安全評価に適用可能である程度の頻度ならびに質を備えた測定データ蓄積が望まれる。

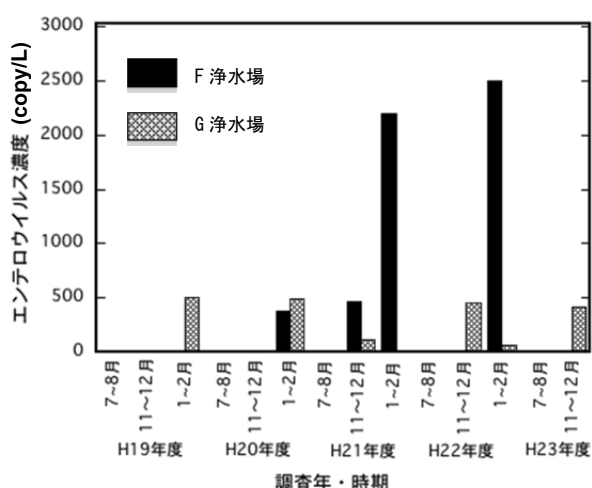


図13 水道原水中エンテロウイルスの測定例

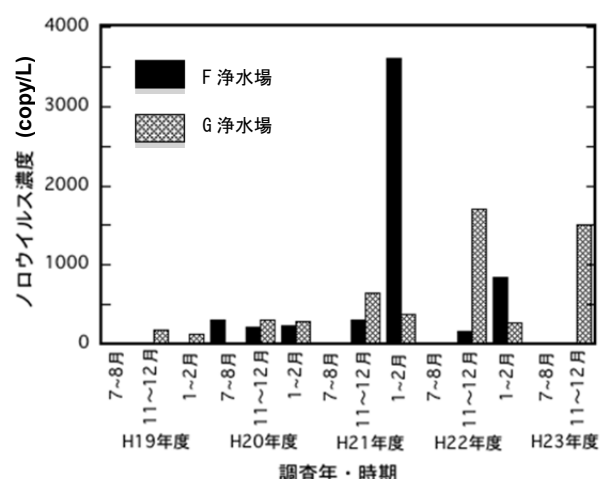


図14 水道原水中ノロウイルスの測定例

3-5 浄水処理プロセスにおける除去・不活化過程の測定例

G 水道事業体では、浄水処理工程における細菌の除去・不活化過程が測定されている。測定項目は、一般細菌、従属栄養細菌、大腸菌群、大腸菌である。従属栄養細菌の測定例を図15に示す（一部2ヶ月間の移動平均として表示した期間有り）。このように、現在に至るまで長期にわたって測定が継続されている。現在のところ、リスク管理というよりは工程管理の意味合いが強いが、浄水処理工程における微生物の除去・不活化過程が把握されている数少ない例といえる。

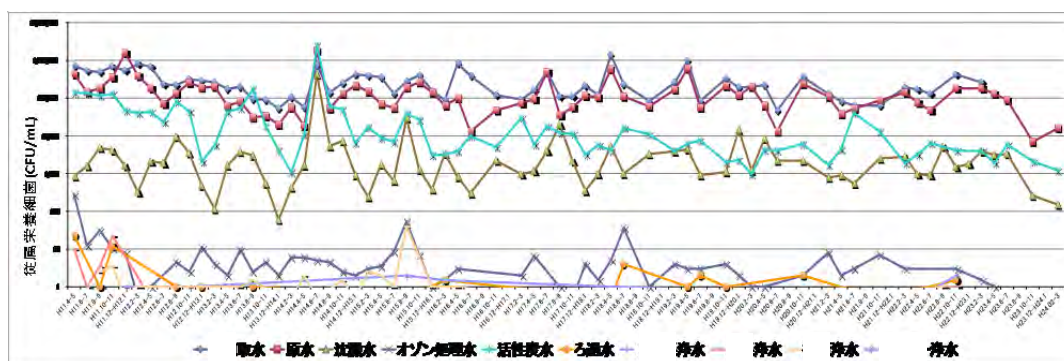


図15 浄水処理工程における従属栄養細菌の除去・不活化過程の測定例

4 大腸菌を用いた各消毒処理による不活化実験における大腸菌種および測定法について

4-1 概要

大腸菌はグラム陰性の腸内細菌であるが、水系感染症の病原微生物の感染者の糞便と共に環境水に排出されることから糞便汚染の指標細菌として長らく使われてきている。環境中の動態が病原細菌のそれと類似、もしくは耐性が強いということから、浄水プロセスや消毒プロセスにおいて病原細菌の動態を予測するためにモデル細菌としても使われる。グラム陰性菌は薬剤耐性が比較的強いこと、サイズや構造が病原細菌と似ているとされていることがその理由である。

我が国の浄水プロセスにおいて用いられる塩素消毒をはじめとする各種消毒処理（オゾン、UV）の効果を調べるために、多くの研究が大腸菌を用いている。しかし上述のように、これら消毒処理によって、大腸菌がどのような作用機序を受けて不活化するのかを見定める必要がある。そのためには、これらの研究が統一した視点での評価になっているかが重要である。この視点が損なわれると、大腸菌による不活化実験の結果を、本筋である病原細菌への効果へと翻訳する際に、その効果を見誤って推定することにつながりかねない。

そこでここでは、大腸菌を用いた塩素などによる不活化実験を扱った既報を調べ、大腸菌への効果を統一した視点で評価しているのか、改めて調べてみた。

4-2 不活化実験での使用大腸菌について

Oksana L. *et al.* (2010) は 61 種の大腸菌の遺伝子を調査したところ、いずれの大腸菌においても、わずか 20%しか共通なシーケンスを持たず、他の 80%は他の大腸菌には見つかからないシーケンスとなっていると報告している²⁰⁾。この事実は、大腸菌と一口に言っても、多種多様な種が存在し、それらのもつ機能、構造が各種で異なることを示唆している。従って、各消毒剤による効果を考える際にも、実験に使用した大腸菌種によって、その効果の高低だけでなく、不活化の作用機序も異なる可能性が当然考えられる。

既報においては、異なる種の大腸菌を用いて、同条件における不活化効果の違いを検討した例は少ないが、一例を挙げると、高田ら (2014) によれば、2 種の大腸菌（NBRC 13965 : F2 型、および NBRC 3301 : K-12 型）において、各波長（210～290 nm）の紫外光による不活化効果が異なっただけでなく、その後の光回復率を見てみると、NBRC3301 では、いずれの波長光においても光回復が見られたが、NBRC13965 株では 210nm や 230nm 光での不活化後には光回復が見られていない（図 16）²⁸⁾。これは即ち、UV 光の不活化において用いる大腸菌が異なると光回復効果の評価において異なる結果を導くことを意味する。また光回復をしない不活化となると、その不活化機構は当然異なると考えられ、種によってメカニズムが異なることを示している。

そこで、これまでの研究において使用されている大腸菌種にどの程度のばらつきがあるのか、既報を調べて使用大腸菌種をまとめた。全ての論文を網羅したとはいえないが、Water Research および Journal of American Environmental Microbiology、Desalination といった代表的な論文雑誌から、ここ 20 年程度のスパンで調べた結果を表 2 に示した。表 2 に見

られるように、使用されている大腸菌に統一性は無い。代表的な大腸菌株タイプとして *E. coli* K-12、*E. coli* C、*E. coli* B が良く挙げられるが、それらを意識して選択しているということも見受けられない。単離保存されている大腸菌には K12 株が多く、購入されている大腸菌には K-12 株の割合が多い。少なくとも、基本的には同じ K12 株から選択することが、統一した評価方法とするための第一歩であると思われる。ただし望むらくは、同じ株、もしくは水処理プロセスにおける消毒処理の評価用の標準株を定めることが、良いのではないかとと思われる。

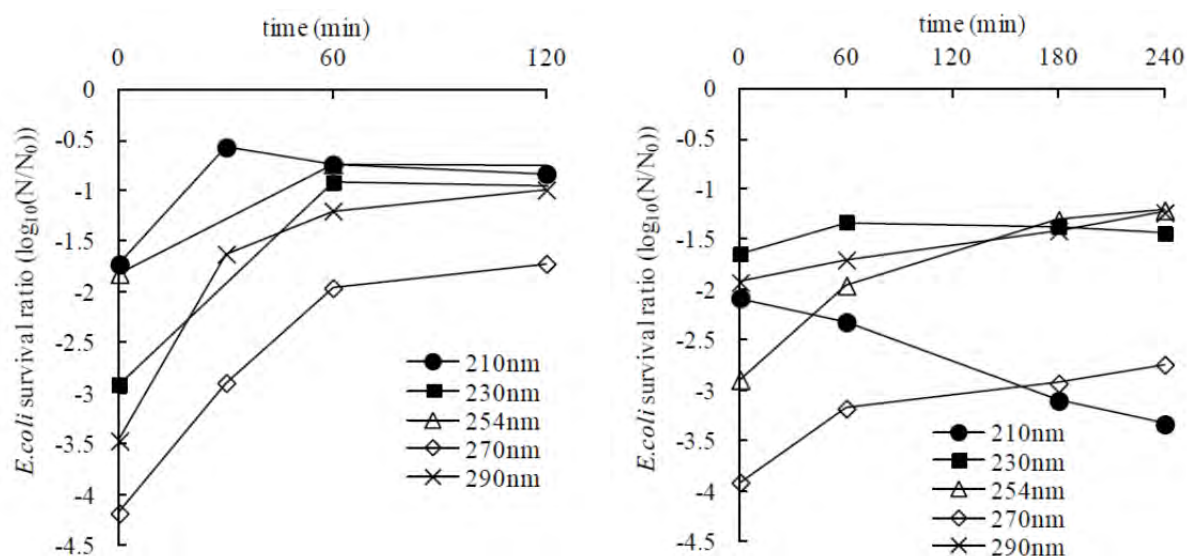


図 16 UV 波長毎の不活化後における可視光照射時の濃度変化²⁸⁾

右 : NBRC3301 左 : NBRC13965

表2 既報における使用大腸菌種のまとめ

著者	評価した消毒法	使用大腸菌	コメント
Haas et al. (1980)	遊離塩素、結合塩素	JK114株	K12、イリノイ大学J.Koniskyより分譲
M.W.LeChevallier et al. (1984)	塩素	河川由来の単離株	同定済み
D.Berman et al. (1988)	塩素	下水由来大腸菌	
G.R.Finch et al. (1988)	オゾン	ATCC 11775	NCTC 9001系統, ナリジクス酸耐性変異株
Y. Kouame et al. (1991)	遊離塩素、結合塩素	ATCC11229	AMC 198系統
S.A.Tyrrell et al. (1995)	塩素, オゾン	下水由来大腸菌	
M.N.B.Momba et al. (1999)	遊離塩素、結合塩素	ATCC 11775	NCTC 9001系統
G.P. Winward et al. (2006)	塩素	下水由来大腸菌群	
M.Guo et al. (2006)	UV	CGMCC 1.3373	中国科学アカデミーの生物研究所提供
		下水由来大腸菌	
P.W.M.H.Smeetsa et al. (2006)	オゾン	河川由来株	RIVMにて保存
H.M.Murphy et al. (2008)	塩素、UV	ATCC 47076	MG1655系統, K12
R.Ozkanca et al. (2009)	各種ストレス実験	NCTC 8797	K12Northumbria大学、Newcastle,UKにての保存株
M.Cho et al. (2010)	塩素	ATCC 8739	Crooks系統
		ATCC 11229, 15597	ファージの宿主菌とK12
J.J.Velez-Colmenares et al. (2011)	UV	下水由来大腸菌	
K.Kolhu et al. (2012)	UV	ATCC 23631	K12
X.Wang et al. (2012)	UV, 塩素	下水由来大腸菌	
E.M.Anastasi et al. (2013)	塩素、UV	下水由来糞便性大腸菌群	
N. Yamada et al. (2013)	塩素(光触媒より生成)	JCM20135	K-12、理研生物資源センター
Z.Du et al. (2015)	遊離塩素、結合塩素	AT980	MG1655系統

4-3 大腸菌の測定法の違いについて

G.A.McFeters *et al.* (1986)によれば、水道配水管中の大腸菌の測定において、異なる培地 (Endo agar LES と T7 agar with penicillin) を用いた結果、濃度に差が生じたことを報告している¹⁷⁾。これは浄水処理において塩素消毒工程を経た大腸菌には、塩素による損傷が生じているが、損傷大腸菌がコロニー形成能力を回復させるかどうか、培地によって異なることが原因としている。この場合、T7 agar with penicillinの方が3~18倍回復させる能力が高いとしている。この結果は、塩素消毒処理を施した大腸菌のように損傷を受けた大腸菌がいる場合、測定に使用する培地の選択によって、生残した大腸菌濃度結果が異なる、すなわち塩素による不活化効果の評価結果が異なることを示唆している。

G.A.McFeters *et al.* (1982)では、希釈液、培養液、ろ過膜が、損傷菌の検出にどう影響するかを検討しており、配水管から単離培養した大腸菌 2 種を対象として、培地として、TLY 寒天培地 (tryptic soy broth+0.3% yeast extract, +1.0% lactose+1.5% 寒天)、TLY-D 寒天培地 (TLY +0.1% デオキコール酸)、Triple sugar iron agar, tergitol 7 培地、lactose 培地、EE 培地、ブリリアントグリーン培地、Levin eosin methylene blue 培地、lauryl tryptose 培地、m-Endo 培地、デオキコール酸ラクトース培地、ブリリアントグリーン bile2%培地、violet red bile 培地、mFC 培地、erosin methylene blue 培地、MacConky 培地、GN 培地、XLD 培地、nutrient alginate,, boric acid 培地、purple serum 寒天培地、TLY 培地、TLY-D 培地+0.1% Tween80 の非常にバラエティーに富む培地種を用いて、その検出率の相違を検討している。さらに希釈液にも言及し、PBS、0.1% ペプトン液、PBS+0.1% ペプトン液+0.1% 牛乳、といった種類を用いて、その相違を検討した。結果として、希釈液は、ペプトンもしくは牛乳を加えたものが最も検出率が高く、かつ4℃で操作すると損傷菌の回復効果が最も高いとしている。また培地の多くは損傷菌を回復させ、その回復率の幅は 0~100%であった。一般的な培地は約 30%の回復率であった。また 0.01% デオキコール酸含有の培地では、損傷菌は著しく影響を受けるが、通常菌は受けなかったとしている¹⁶⁾。この研究では、大腸菌の損傷率として(1)式にて算定している。この(1)式で示される菌の比率は、増殖を抑制する条件がない場合にはコロニー形成可能であるが、抑制因子があるとコロニー形成能を失ういわゆる VBNC (Viable but not culturable) 状態となっている菌の比率を示すことになるといえる。

$$(\text{TLY 寒天培地の結果} - \text{TLY-D 寒天培地の結果}) \div \text{TLY 寒天培地の結果} \quad \text{式(1)}$$

塩素消毒処理を経て損傷した大腸菌については、TLY-D のような選択培地の結果は、TLY 寒天培地のような非選択培地よりも検出結果が低くなり、生残率が低いと判断されることになる。そのため、TLY-D 培地での測定の方が不活化効果の評価においては高い効果を示すことになる。もし病原菌の消毒処理にこの結果を当てはめてみれば、塩素によって損傷を受けたが増殖条件が整えば増殖可能な状態 (すなわちヒトに摂取され、腸管に達した場合が相当) の病原細菌を消毒済み (殺菌済み) として評価することに相当する。これは消

毒効果を誤って高く見積もることになり、危険側の評価となる。

そこで大腸菌種の場合と同様に、これまでの研究において、使用されている大腸菌測定方法はどの程度のばらつきがあるのか、既報論文を調べてまとめた。特に使用されたコロニー形成のための培養培地が、栄養成分が主体の非選択性の培地であるのか、栄養成分だけでなく阻害因子（本来は大腸菌以外の細菌の増殖を抑制するための因子）を含有させた、選択性の培地であるのかについて、先と同様に *Water Research* および *Journal of American Environmental Microbiology, Desalination* といった代表的な論文雑誌から、ここ 20 年程度のスパンで調べた結果を表 3 に示した。

培地の種類の欄に選択培地か非選択培地を示したが、記述のない論文については、推測で示したものもある。割合としては選択培地を用いた論文の方が多い。下水由来や河川由来の大腸菌（および大腸菌群）などを対象とする場合、非選択培地を用いると、大腸菌かどうかの選別が難しいため、実質上使用できないことになる。そのケースはやむを得ないとしても、大腸菌の単離株（多くは ATCC からの購入品）を用いたケースであっても、選択培地を用いて濃度決定を行っているケースが多い。

表 3 の下に、使用されている選択培地およびその選択性の原理を示した。多くが細胞外膜のないグラム陽性菌に対し、界面活性剤（ラウリル硫酸塩、デオキシコール酸塩、胆汁酸塩など）を用いて溶菌させ、増殖を阻害する原理を用いたものである。

塩素、オゾンといった酸化剤を用いた消毒方法では、大腸菌のようなグラム陰性菌の細胞外膜と接触し、酸化反応により外膜を変質させることが容易に推測される。その場合、グラム陰性菌であっても界面活性剤の影響を受け、増殖阻害が生じることになる。即ち細胞外膜の損傷を受けた菌は、増殖活性を有していても、培地中の阻害剤（界面活性剤）によってコロニー形成能を失活する可能性が高い。これが塩素の影響を受けた大腸菌を測定した際に生じた（上述の(1)式に示された）選択培地と非選択培地のそれぞれにより測定されたコロニー数（大腸菌濃度）の差となると考えられる。

前述のように、この差が生じるということは、消毒効果を評価するにあたり、危険側の評価となるため注意を要する。表 3 に示したように既存の報告を参照する場合、選択性培地を用いて消毒効果を評価しているかに留意し、そうである場合は、消毒効果としては高めの評価となっていると判断することが妥当と考えられる。

表 3 既報における大腸菌測定方法のまとめ

著者	評価した消毒法	使用大腸菌	測定方法	培地の種類
Haas et al. (1980)	窒素塩素、結合塩素	JK114株	ろ過トラップ、栄養培地に50 mg/L thiamine添加	非選択性培地
M.W.LeChevallier et al. (1984)	塩素	河川由来の単離株	TLY培地、TLY-D培地	TLY:非選択性培地、TLY-D:選択性培地 ^{*1}
D.Berman et al. (1988)	塩素	下水由来大腸菌	MPN法とのみ記述。詳しい記述無し。	? 選択性培地か?
Y. Kouame et al. (1991)	窒素塩素、結合塩素	ATCC11229	Nutrient寒天培地	非選択性培地
S.A.Tyrrell et al. (1995)	塩素、オゾン	下水由来大腸菌	ろ過トラップ、m-TEC培地	選択性培地 ^{*2}
M.N.B.Momba et al. (1999)	窒素塩素、結合塩素	ATCC 11775	ろ過トラップ、m-FC培地	選択性培地 ^{*3}
G.P. Winward et al. (2006)	塩素	下水由来大腸菌群	ろ過トラップ、m-LGA培地	選択性培地 ^{*4}
H.M.Murphy et al. (2008)	塩素、UV	ATCC 47076	ろ過トラップ、m-Endo培地	選択性培地 ^{*5}
M.Cho et al. (2010)	塩素	ATCC 8739	栄養培地+1.5%寒天	非選択性培地
X.Wang et al. (2012)	塩素、UV	下水由来大腸菌	ろ過トラップ、Basic Fuchsin/Sodium sulfite培地	選択性培地 ^{*6}
E.M.Anastasi et al. (2013)	塩素、UV	下水由来環境性大腸菌群	ろ過トラップ、mFC培地	選択性培地 ^{*3}
Z.Du et al. (2015)	窒素塩素、結合塩素	AT980	Lauryl Bertani agar (LB培地)	非選択性培地
G.R.Finch et al. (1988)	オゾン	ATCC 11775	ろ過トラップ、TLPY培地 (mFCから肥分除去)とmFCを併用した	非選択性培地
P.W.M.H.Smeets et al. (2006)	オゾン	河川由来株	ラウリル硫酸ナトリウム培地	選択性培地 ^{*7}
M.Guo et al. (2006)	UV	CGMCC 13373	Proper agar (栄養培地か?)との記述あり	非選択性培地
J.J.Velez-Colmenares et al. (2011)	UV	下水由来大腸菌	ろ過トラップ、m-Endo培地	選択性培地 ^{*5}
K.Koltu et al. (2012)	UV	ATCC 11229, 15597	X-GAL培地	選択性培地 ^{*8}
R.Odzan et al. (2009)	UV	下水由来大腸菌	X-GAL培地	選択性培地 ^{*8}
	各種ストレス実験	ATCC 23631	ろ過トラップ、m-Endo Agar LES medium	選択性培地 ^{*9}
		NCTC 8797	各種培地*を多用して比較	選択性培地(様々な方法)

*1 TLY-D培地 : デオキシコール酸ナトリウムによるグラム陽性菌の阻害

*2 m-TEC培地 : ラウリル硫酸ナトリウム、デオキシコール酸ナトリウムによるグラム陽性菌の阻害

*3 m-FC培地 : 胆汁酸塩によるグラム陽性菌の阻害

*4 m-LGA培地 : ラウリル硫酸ナトリウムによるグラム陽性菌の阻害、β-グルクロニダーゼ酵素の検出による選択

*5 m-Endo培地 : ラウリル硫酸ナトリウムによるグラム陽性菌の阻害

*6 Basic Fuchsin/Sodium sulfite培地 : 亜硫酸ナトリウムと塩基性フクシンによるグラム陽性菌の阻害

*7 ラウリル硫酸ナトリウム培地 : ラウリル硫酸ナトリウムによるグラム陽性菌の阻害

*8 X-GAL培地 : β-グルクロニダーゼ酵素の検出による選択

*9 m-Endo Agar LES medium : ラウリル硫酸ナトリウムによるグラム陽性菌の阻害、β-グルクロニダーゼ酵素の検出による選択

各消毒剤において、選択培地と非選択培地によって不活化後の濃度差が生じることを示した既報をいくつか紹介する。Kazama *et al.* (2013)は大腸菌（NBRC3301）に対して、塩素処理を施し、濃度変化を様々な方法にて測定した結果を比較している（図 17）¹²⁾。このうち TSA（非選択培地）と DESO および C-EC（どちらも選択培地）の結果を見てみると、選択培地の結果の方が非選択培地の結果よりも、不活化速度が有意に高くなっている。即ち、塩素による大腸菌の不活化実験を実施した際、非選択培地を用いることによって、不活化速度を実際よりも高

く見積もってしまうことが示されているといえる。

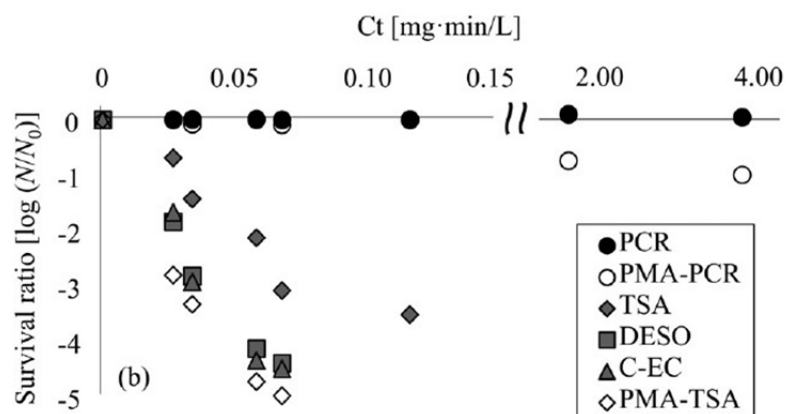


図 17 塩素処理における各測定方法による大腸菌（NBRC3301）の濃度測定結果¹²⁾

王ら（2007）は、大腸菌（NBRC3301）に対して、オゾン処理（0.1 mg/L オゾン溶解水への投入）を施し、濃度変化を様々な方法にて測定した結果を比較している（図 3）²⁹⁾。TSA（非選択培地）と DESO（選択培地）の結果を比較してみると、選択培地と非選択培地の結果の差は、塩素の場合よりも顕著となっていることがわかる。この場合、非選択培地による濃度変化はほとんど生じていないことから、ほぼ全ての大腸菌は増殖能力を維持したままであり不活化効果はほとんど無いに等しいのに、濃度測定法として選択培地を用いると、99.9%の不活化が達成できると評価してしまうことになり、その誤認は非常に大きい。

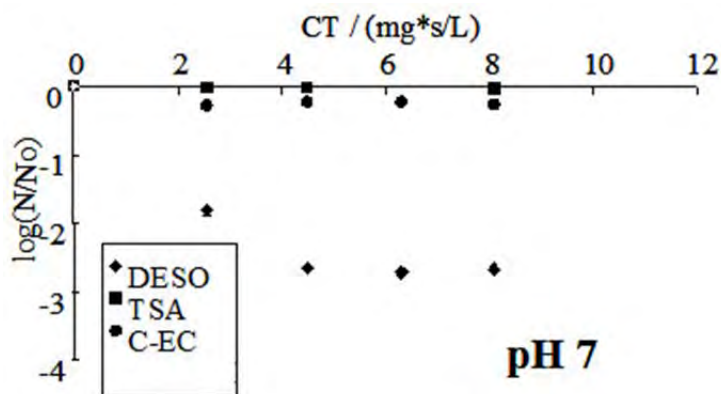


図 18 オゾン処理における各測定方法による大腸菌（NBRC3301）の濃度測定結果²⁹⁾

大瀧ら (2009) は大腸菌 (NBRC3301) に対して、紫外線処理および二酸化塩素処理 (5 mg/L 投入) を施し、濃度変化を様々な方法にて測定している³⁰⁾。図 19 には、紫外線処理の結果を示している。紫外線処理は、不活化メカニズムが核酸 (遺伝子) 損傷によるため、細胞外膜や細胞内酵素の損傷には関与していないと考えられる。従って、紫外線によって不活化された細菌は、増殖能力を保持しつつも外膜や内部酵素損傷によってコロニー形成能を失う VBNC となっている状態はないと推測される。図 19 に示した結果は、正にその推測と合致している。即ち選択性培地でも非選択性培地でも、同様の結果となっていることから、VBNC 菌の存在がないことが証明されている。結果的にこの UV 消毒方法においては、測定法に関して留意する必要はあまりなさそうである。

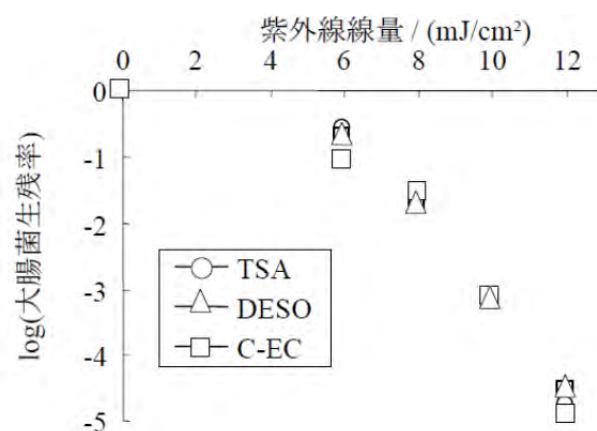


図 19 紫外線照射処理における各測定方法による大腸菌 (NBRC3301) の濃度測定結果³⁰⁾

Kazama *et al.* (2013) も、同様に紫外線処理を行った場合の結果を示している¹²⁾。この結果においても、図 17 の場合と同様に各培地間の有意な差は見られていない。このことから紫外線照射においては培地選択を考慮しなくても、その評価結果はいずれにおいても妥当だと判断できる。

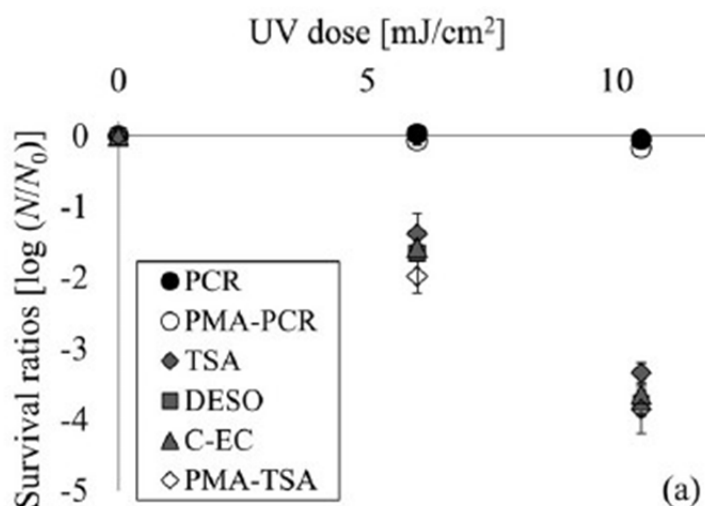


図 20 紫外線処理における各測定方法による大腸菌 (NBRC3301) の濃度測定結果¹²⁾

図 21 は二酸化塩素処理の結果である。オゾンや塩素と同様に TSA（非選択培地）での濃度変化はごくわずかに生じている。従って、多くの大腸菌は増殖能力を維持したままであり不活化効果は非常に小さいことがわかる。

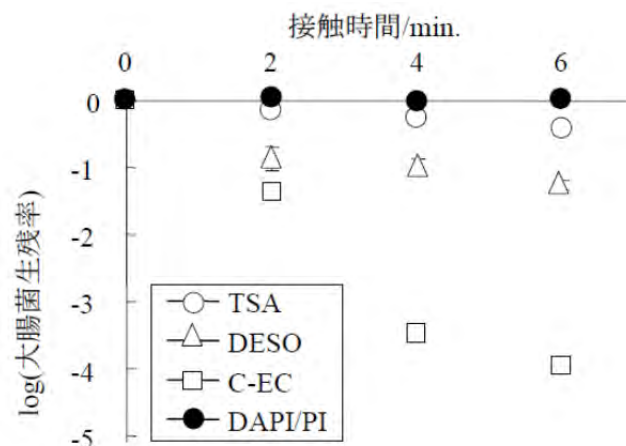


図 21 二酸化塩素処理における各測定方法による大腸菌（NBRC3301）の濃度測定結果³⁰⁾

しかし DESO（選択培地）や C-EC（選択培地）の結果を見ると、DESO では 90%程度、C-EC では 99.99%程度の不活化を達成していることになる。この結果からは、二酸化塩素は細胞外膜の損傷と関連していると考えられる DESO よりも細胞内酵素である β グルクロニダーゼを検出する C-EC の方が不活化率が高いことから、外膜の損傷よりも内部の細胞質の変質が原因となっていることが推測されるが、いずれにせよ濃度測定法として選択培地を用いると、90～99.99%の不活化が達成できると評価してしまうことになり、その誤認はオゾンと同じく非常に大きいと考えられる。

4-4 まとめ

- 1) Oksana L. *et al.* (2010) が示した結果や、筆者が関連した既報において示すとおり、大腸菌を用いた各消毒処理の評価においては、使用する大腸菌種を適切に選択しなければ、消毒処理の評価を統一した視点で比較することができない。過去の代表的な学術雑誌に掲載されている論文を参照してみると、使用されていた大腸菌には統一性はなく、それらの比較評価は非常に困難であると考えられる。統一的な手法の策定が望まれる。
- 2) G.A.McFeters *et al.* (1986) が示した結果や、筆者が関連した既報において示すとおり、大腸菌を用いた各消毒処理の評価においては非選択培地を用いた濃度測定が適切であると考えられる。特に、界面活性剤によるグラム陽性菌阻害や大腸菌特有の酵素の検出を原理とする選択培地を濃度測定に用いた場合は、塩素剤（二酸化塩素も含む）、オゾンといった酸化力を用いた消毒処理の評価には効果の過大評価につながる危険性が高く、適していないといえる。過去の代表的な学術雑誌に掲載されている論文を参照してみると、そのようなケースが多く見受けられ、それらに対しては再評価が必要ではないかと考えられる。

5 浄水処理工程における全菌数及び生菌数の時間変動性のフローサイトメーターを用いた評価

5-1 概要

水道水中の細菌数は「一般細菌」(水質基準)、「従属栄養細菌(Heterotrophic Plate Counts: HPC)」(水質管理目標設定項目)によって監視されている。これらの指標は、水道水中での細菌の動態を評価する上で重要だが、共に培養を介しており、一般細菌で24時間、HPCで7日間もの培養が必要である。原水の糞便汚染、処理不良による細菌除去の悪化、給配水系における塩素消失に伴う細菌再増殖などが突発的に生じた場合、現行指標ではその変動をリアルタイムに追跡することは不可能である。また、コロニーを形成できる細菌は全体の一部であることも事実であり、培養法では水中の細菌数を正確に把握すること自体に限界がある。

近年、水環境中の細菌数の迅速測定法として、フローサイトメーター(Flow cytometer: FCM)が活用されている。FCMでは、微小流路に核酸を染色した細菌を流しながら、個々の細胞にレーザーを照射して蛍光や散乱光の情報を収集することで、迅速かつ正確に細菌数を測定可能である。また、蛍光試薬を工夫することで、細胞の膜損傷性(生死判別)を評価することもできる。しかし、我が国において水道分野へのFCMの活用を本格的に評価した事例はない。そこで本研究では、前塩素処理の実施前後における高度浄水処理工程を対象として、全菌数及び生菌数の測定にFCMを活用することを試みた。また、現行指標の測定頻度では十分に明らかになっていない各処理による細菌除去の時間変動性を詳細に評価した。

5-2 実験方法

H 浄水場において、前塩素処理実施前(2012年12月5日)、実施後(同12月19日)に、各工程(原水→凝集沈殿→前段ろ過→オゾン→生物活性炭→後段ろ過→浄水)の処理水を9:00から16:00まで採水した。12月6日より、BACと後段ろ過の後に加えて、凝集沈殿前にも塩素を注入する前塩素処理が開始された。前塩素処理実施前後の採水は各々1時間、15分間隔で行った。試料の残留塩素を中和した後、全菌数と生菌数を卓上型FCM(Accuri C6, BD社)で測定した。全菌数の染色にはSYBR® Green I (Life Technologies社)、生菌と死菌の判別にはSYBR® Green IとPropidium Iodide (Life Technologies社)を用いた。暗所、37°Cで10分間染色した後、無希釈で50 µlを測定に供した(測定時間:約1.5分)。本機器の定量下限値は1000 cells/mLである。なお、計算上、定量下限以下の試料は500 cells/mLとして扱った。また、13:00に採水した試料については、上水試験方法に準じてHPCを測定した。

5-3 結果及び考察

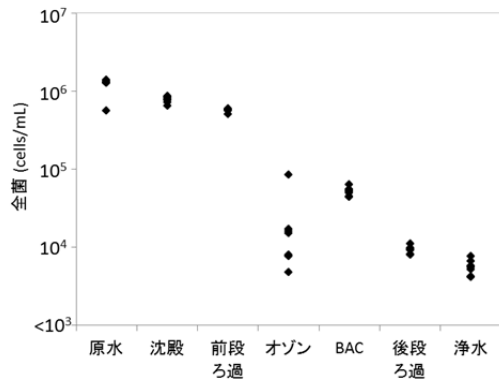
図22に、前塩素処理前後における各処理工程水中の全菌数の時間変動を示す。前塩素実施前には、原水及び浄水の全菌数(平均値±標準偏差)が、各々 $1.2 \times 10^6 \pm 2.8 \times 10^5$ cells/mL(変動係数CV:22%)、 $5.6 \times 10^3 \pm 1.2 \times 10^3$ cells/mL(CV:21%)であり、浄水処理全体で平均2.3logの除去が確認された。各処理における平均除去率は、凝集沈殿36%、前段ろ

過 27%、オゾン 96%、後段ろ過 82%であり、オゾン処理及び塩素注入後の後段ろ過の除去率が特に高かった。一方、BAC 処理水では、オゾン処理水に比べて 2.6 倍ほど全菌数が増加しており、BAC で増殖した細菌が流出していることが確認された。オゾン処理水中の全菌数の CV は、131%とばらつきが大きかったが、他の処理工程については、CV が約 10% 以下であり、凝集沈殿やろ過の全菌除去率は安定していることが明らかになった。前塩素実施後については、実施前と比べて、凝集沈殿、前段ろ過における除去率がそれぞれ 72%、81%と増加しており、前塩素処理により、これらの処理における全菌除去率が向上したことが確認された。浄水工程全体の全菌除去率も 3.3log と実施前よりも高くなっていた。

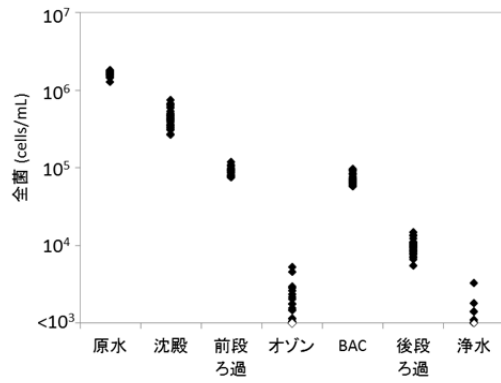
図 23 に、前塩素処理実施前後における各処理工程水中の生菌数の時間変動を示す。前塩素実施前では、原水～前段ろ過処理水、BAC 処理水の平均生菌数は、全菌数の 6～23%であった。凝集沈殿、前段ろ過による生菌の平均除去率は、各々 49%、39%と全菌数の除去率と類似していたが、CV は 102%、117%と全菌数に比べて時間変動性が大きかった。一方、オゾン処理水、後段ろ過水、浄水中の生菌数は全て定量下限以下であり、オゾン及び塩素によりそれぞれ平均 2.3log、0.8log 以上の不活化が常に行われていた。浄水処理全体での生菌除去率は 2.8log であった。前塩素実施後には、凝集沈殿処理水中の生菌数が $1.3 \times 10^3 \pm 5.7 \times 10^2$ cells/mL (CV : 46%) まで激減し、前段ろ過処理水に至ってはすべて定量下限以下であり、前塩素処理が生菌数の動態に大きな影響を与えていた。以降は、前塩素実施前と同様に BAC 処理水で生菌数の上昇が観察され、浄水処理全体での生菌除去率は 2.9log と前塩素実施前と同程度であった。図 23 には、13:00 に測定した HPC の結果も付記したが、前塩素処理前後における HPC の動態は生菌数の傾向と類似していることが確認された。

5-4 結論

FCM の活用により、高度浄水処理工程における全菌数及び生菌数の時間変動に関する知見を得ることができた。また、前塩素処理により、凝集沈殿、前段ろ過における全菌数及び生菌数の除去率が大きく向上することも確認された。FCM による測定は迅速かつ簡易であり、細菌のコロニー形成能にも依存しないことから、高度な工程・水質管理を実現する上で有用と考えられる。

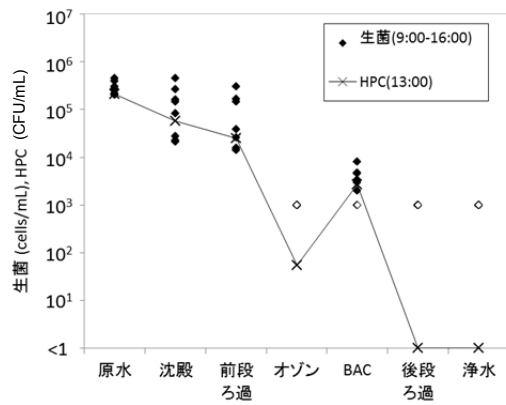


前塩素処理実施前 (1 時間間隔 : N=8)

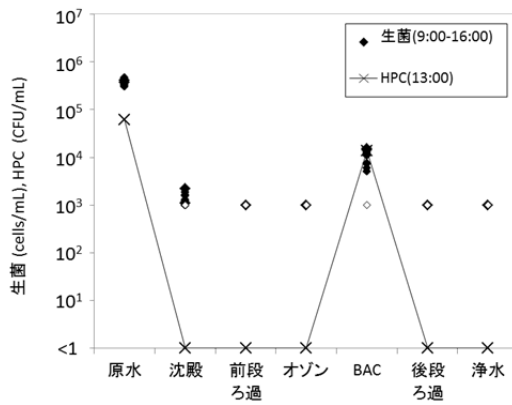


前塩素処理実施後 (15 分間隔 : N=29)

図 22 前塩素処理実施前後における全菌数の 9:00-16:00 の時間変動 (白抜きは FCM 定量下限以下を示す)



前塩素処理実施前 (1 時間間隔 : N=8)



前塩素処理実施後 (30 分間隔 : N=15)

図 23 前塩素処理実施前後における生菌数の 9:00-16:00 の時間変動 (白抜きは FCM 定量下限以下を示す)

6 高濁度原水発生による処理不良時におけるクリプトスポリジウム除去性ならびに感染リスク評価

6-1 概要

豪雨発生件数の増加に伴い、高濁度原水や有機物濃度上昇の発生頻度が高まる事により、近年では主に中小規模水道事業体で対応に苦慮している例が多く見られる。平成 23 年度に施設能力 10,000m³/日以下の急速ろ過方式浄水場を有する事業体を対象に行われたアンケート調査³¹⁾によると、回答のあった 130 事業体（140 浄水場）のうち、原水水質面の課題があるとした浄水場数は 42、そのうち高濁度を問題と回答した浄水場が 16、藻類が問題としたところが 6 あったことが報告されている。集中豪雨による急激な原水濁度上昇は予測不可能な場合があり、浄水場の取水方法や配水池容量に余裕がない状況では高濁度原水の取水を避けられない。このような状況においても凝集剤の注入を適切に判断し処理を行なう必要があるため、中小規模水道事業体が導入しやすく、かつ効果の高い原水高濁度対応技術が必要となる。また、豪雨により耕作地や牧場のような家畜飼育地表土等から高濃度糞便汚染物が雨水流出することにより、耐塩素性を有し、凝集・砂ろ過等の物理的除去にのみ依存するクリプトスポリジウム等の原虫類による汚染が懸念される。とりわけ、高濁度原水の発生によって凝集・砂ろ過の処理効率が低下した場合には、ろ過水へのクリプトスポリジウムの流出が生じうる。また、ろ過水への紫外線消毒の適用を想定すると、ろ過水の紫外線透過率が低減することにより、紫外線消毒におけるクリプトスポリジウムの不活化率にも影響を及ぼす可能性がある。

これまでの調査研究により、濁度の急激な上昇時において遅延無く凝集剤注入率を増加することで安定した凝集沈殿処理が継続できること、また、高濁度原水の取水により凝集不良または沈殿不良となった場合、二段凝集処理により砂ろ過水濁度の低減が可能であることが示されている。ここでは、小型浄水処理実験プラントを用いた模擬高濁度原水の処理効果と水質特性評価を行うと共に、クリプトスポリジウム模擬粒子の除去性に基づいた感染リスク評価を試みた。

6-2 実験方法

1) 模擬高濁度原水の調整

模擬原水の濁質として粘土鉱物であるカオリンおよびベントナイトを 1:1 の割合で混合し、有機物としてフミン酸ナトリウム試薬（Aldrich 社製）を添加した。国立保健医療科学院水道水を活性炭フィルターに通水して残留塩素除去を行ったのり、原水調製に用いた。濁度設定については、集中豪雨時の河川での急激な濁度変化を想定し、通常時の濁度（5 度）から急激な変化を持たせピーク時の高濁度状況（1000 度）を経て、濁度が徐々に漸減していく推移とした。各濁度の設定は 2008～2010 年度の水道統計に基づいた。有機物についても水道統計を基に TOC 換算濃度として 2～8mg/L の範囲で設定した。クリプトスポリジウム模擬粒子として、水道技術研究センタークリプトレーサー1 号を使用し、原水中に 10⁵～10⁶ オーシスト/L の最終濃度になるよう調整した。

2) 凝集剤の種類および注入箇所

凝集剤には多くの浄水場で使用されている従来型 PAC（塩基度 50%）を基本とし、近年、高濁度時の凝集沈殿処理に適するとされる超高塩基度 PAC（塩基度 70%）も選定した。注入箇所として、砂ろ過筒に流入する直前の沈でん水に対して後 PAC を注入する二段凝集処理を検討した。

3) 浄水処理実験装置の概要および測定項目

凝集沈殿実験には国立保健医療科学院が所有する小型浄水処理実験装置（図 24）を用いた。当装置は、薬品混和、凝集沈でん（傾斜板脱着可）、砂ろ過、膜ろ過を備えており、最大濁度 1,000 度程度までの処理を可能としており、最大処理能力は 4m³/日である。図 25 に示す原水、沈澱水、ろ過水の 3 箇所から採水を行い、濁度、微粒子数、pH、アルカリ度、アルミニウム（溶存態、懸濁態）、TOC、E260 およびクリプトレーサー粒子数を測定した。



図 24 小型浄水処理実験装置の概観

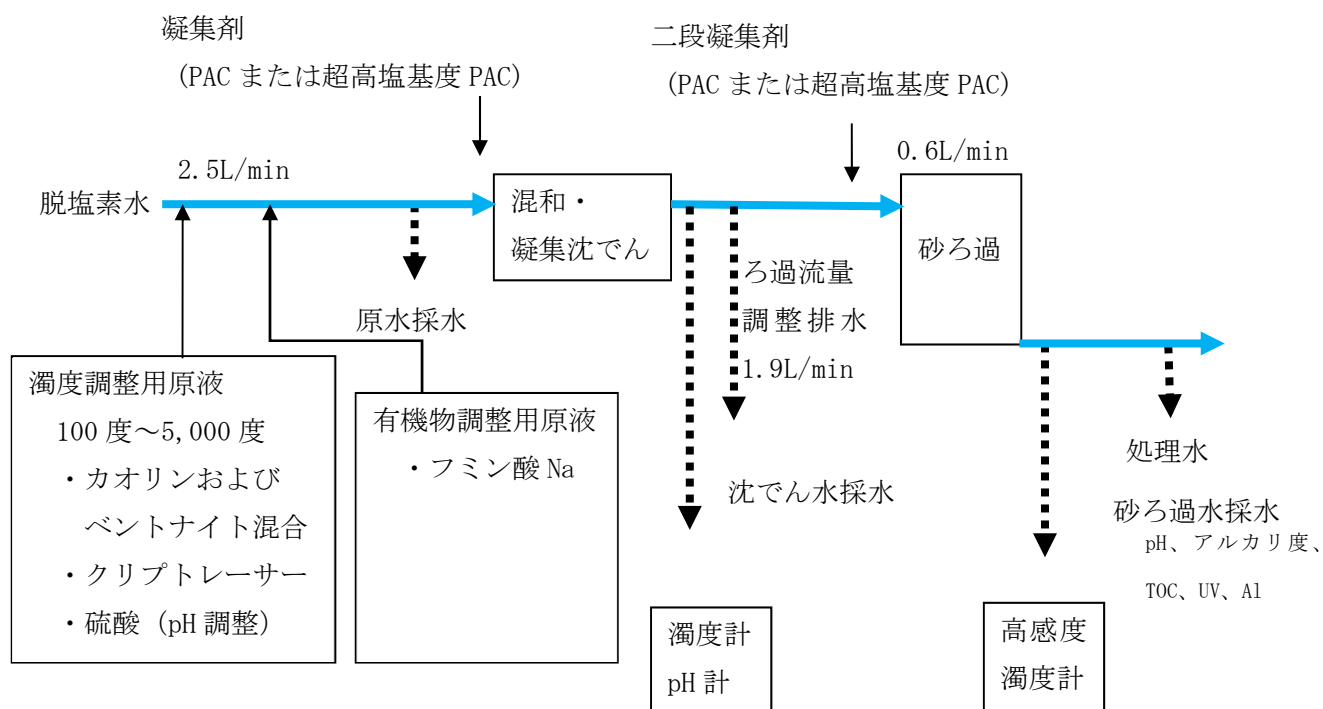


図 25 浄水処理実験フロー及び採水箇所

4) 運転条件

原水濁度および凝集沈殿処理の条件として、以下に示す7シナリオを設定した。

- ・ RUN1：原水濁度(濁質のみ)を 5～1000 度に変動させ、各濁度に対応する凝集剤適正注入率にて処理
- ・ RUN2：RUN1 の原水に有機物（フミン酸）を添加し、上記の凝集剤適正注入率にて処理。
- ・ RUN3：沈でん不良を再現するため、実験装置の沈殿槽の傾斜板を全て撤去し、後 PAC（通常 PAC）を注入
- ・ RUN4：凝集不良を再現する目的で PAC の注入量を不足させたうえで後 PAC（通常 PAC）を注入
- ・ RUN5：RUN4 の条件で、凝集剤及び二段凝集処理に用いる凝集剤として超高塩基度 PAC を使用
- ・ RUN6：後 PAC の処理効率を明確にするため、前処理を実施せず後 PAC 注入（原水は濁質のみ）
- ・ RUN7：後 PAC の処理効率を明確にするため、前処理を実施せず後 PAC 注入（原水は濁質及び有機物）

表 5 各浄水処理実験における原水水質および運転条件

	原水濁度	有機物	凝集剤	二段凝集	備 考
RUN 1	5～1000 度	なし	適正注入率	なし	5 度（～01:30）→1000 度（～02:30） →500 度（～04:00）→200 度（～05:30） →50 度（～08:00）
RUN 2	5～1000 度	2～8mg/L	適正注入率	なし	同上
RUN 3	50 度（目標沈でん水濁度 5 度）	2.5mg/L	適正注入率 (70mg/L)	0～4 mg/L	沈でん不良（傾斜板除去により）
RUN 4	50 度（目標沈でん水濁度 5 度）	2.5mg/L	注入不足 (27mg/L)	0～4 mg/L	凝集不良（凝集剤注入不足）
RUN 5	50 度（目標沈でん水濁度 5 度）	2.5mg/L	注入不足 (27mg/L)	0～4 mg/L	凝集剤、後凝集剤を超高塩基度 PAC に変更
RUN 6	5 度（目標沈でん水濁度 5 度）	なし	なし	0～6 mg/L	後 PAC のみ
RUN 7	5 度（目標沈でん水濁度 5 度）	2 mg/L	なし	0～25 mg/L	凝集沈でんせず後 PAC のみ

5) クリプトスポリジウム感染リスク評価

砂ろ過水を直接飲用する場合、ならびに、紫外線消毒後に飲用する場合を対象としたクリプトスポリジウム感染リスク評価を行った。後者については実測したクリプトレーサー

除去率と砂ろ過水の紫外線吸光度の値により、ろ過水に対して紫外線消毒を行う場合の条件を仮定した。

・紫外線消毒によるクリプト不活化率の推定

表 6³²⁾および図 26³²⁾より、ろ過水の紫外線吸光度におけるクリプトスポリジウム不活化率を表 7 と仮定しリスク評価に用いた。

表 6 紫外線吸光度と透過率の関係³²⁾

紫外線吸光度 abs./10mm	紫外線透過率 %
0.022	95
0.071	85
0.125	75

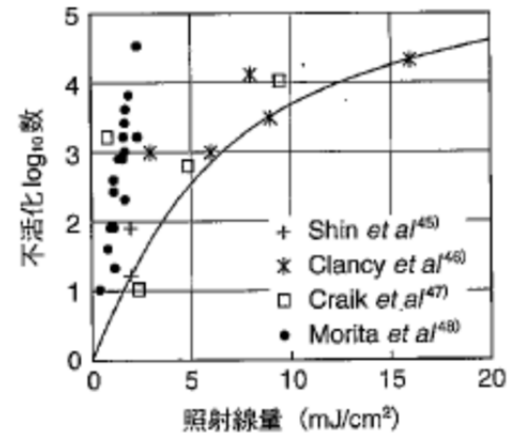


図 26 紫外線照射によるクリプト不活化率³²⁾

表 7 各紫外線吸光度に対する不活化率

紫外線吸光度 abs./10mm	紫外線不活化率 log
~ 0.022	3.6
0.023 ~ 0.071	3.4
0.070 ~ 0.125	3.2
0.126 ~	3.0

・クリプトスポリジウム感染確率

以下の Hass 式³³⁾より一年間の感染確率を推定した。

$$P(N) = 1 - e^{-N/k} \quad \text{式(2)}$$

ここで、P(N)：摂取数 N の時の感染確率

N：摂取数

k：定数(クリプトスポリジウム：238.601)

・原水中のクリプトスポリジウム

高濁度の水道原水に含まれるクリプトスポリジウムのオーシスト数として「100 個/L」と設定した。

・非加熱飲用水量

わが国における非加熱飲用水量について最近のアンケートや推定では 0.321L/日³⁴⁾および 0.327 L/日³⁵⁾との報告がある。ここではさらに安全側として「1.0L/日」と設定した。

6-3 結果及び考察

1) 各運転条件におけるクリプトレーサー除去特性

各 RUN における濁度除去率とクリプトレーサー除去率の算出結果を表 8, 図 27, 28 に示す。

表 8 各 RUN における濁度除去率及びクリプトレーサー除去率

	原水 濁度 [度]	沈でん 水濁度 [度]	砂ろ過水 濁度[度]	凝沈 濁度 Log 除去率	砂ろ過 濁度 Log 除去率	凝沈 クリプト Log 除去 率	砂ろ過 クリプト Log 除去 率	Total クリプト Log 除去 率
RUN1 有機物なし、高濁	3	0.53	0.0017	0.7	2.5	0.7	2.2	2.9
	752	1.70	0.0027	2.6	2.8	2.3	3.0	5.2
	412	1.78	0.0022	2.4	2.9	2.4	>4.1	>6.5
	154	1.50	0.0023	2.0	2.8	2.2	2.5	4.8
	49	1.94	0.0018	1.4	3.0	1.7	3.4	5.1
RUN2 有機物あり、高濁	4	0.40	0.0013	1.0	2.5	1.0	3.9	4.9
	774	1.23	0.0023	2.8	2.7	2.6	5.8	8.4
	455	1.16	0.0021	2.6	2.7	2.4	4.9	7.3
	210	1.02	0.0012	2.3	2.9	2.4	5.5	7.8
	49	1.06	0.0006	1.7	3.2	2.2	5.3	7.5
RUN3 有機物あり、沈で ん不良、後 PAC	63	4.25	0.0015	1.2	3.5	1.0	3.6	4.6
	66	4.71	0.0005	1.1	4.0	0.9	>4.6	>5.5
	45	7.19	0.0003	0.8	4.4	2.0	>4.5	>6.5
	47	6.56	0.0004	0.9	4.2	1.1	3.9	5.1
	51	7.94	0.0006	0.8	4.1	0.9	>4.6	>5.5
RUN4 有機物あり、凝集 不良、後 PAC	42	5.70	0.0598	0.9	2.0	1.2	2.8	4.0
	42	5.40	0.0275	0.9	2.3	1.0	4.1	5.0
	47	7.01	0.0291	0.8	2.4	1.1	3.7	4.8
	48	6.76	0.0177	0.9	2.6	1.0	3.8	4.9
	39	6.65	0.0145	0.8	2.7	1.0	4.7	5.7
RUN5 有機物あり、凝集 不良、超高塩基度 PAC、後 PAC	37	7.49	0.0472	0.7	2.2	0.7	1.7	2.4
	38	6.42	0.0259	0.8	2.4	1.2	3.4	4.6
	52	7.02	0.0165	0.9	2.6	1.1	3.5	4.6
	44	6.19	0.0054	0.9	3.1	1.6	3.2	4.8
	42	6.98	0.0042	0.8	3.2	0.7	4.0	4.7
RUN6 有機物なし、凝沈 なし、後 PAC	—	5.33	4.60	—	0.1	—	0.1	0.1
	—	5.59	0.16	—	1.5	—	2.9	2.9
	—	5.40	0.12	—	1.6	—	3.4	3.4
	—	5.29	0.08	—	1.8	—	3.9	3.9
	—	5.18	0.16	—	1.5	—	2.7	2.7
RUN7 有機物あり、凝沈 なし、後 PAC	—	5.53	5.50	—	0.0	—	0.1	0.1
	—	5.55	5.50	—	0.0	—	0.1	0.1
	—	5.48	5.48	—	0.0	—	0.1	0.1
	—	5.43	0.58	—	1.0	—	2.1	2.1
	—	6.52	0.03	—	2.3	—	4.9	4.9
	—	5.28	4.38	—	0.1	—	0.3	0.3

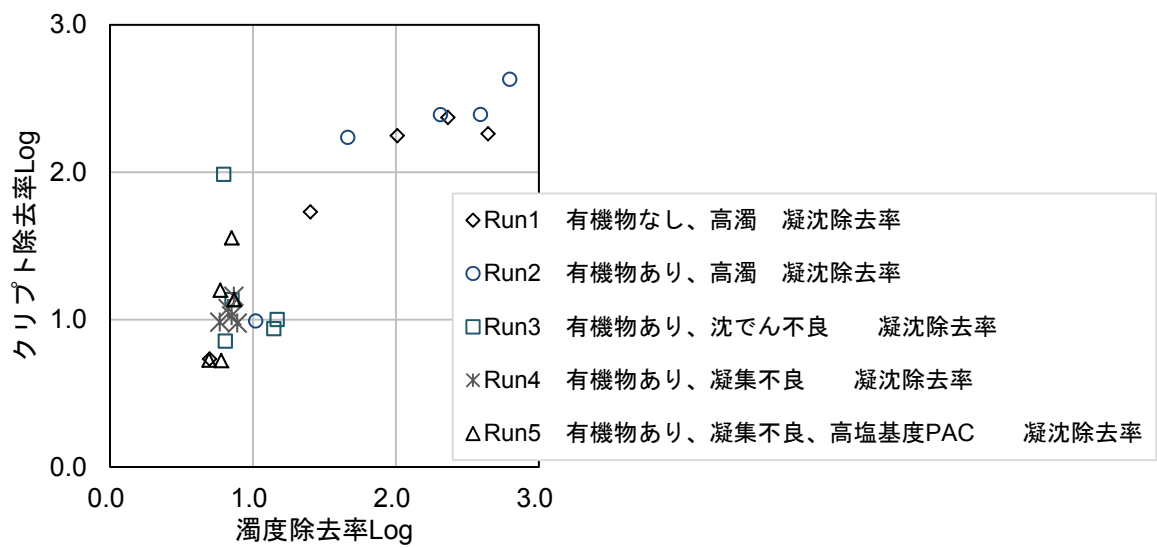


図 27 各 RUN における濁度除去率とクリプトレーサー除去率（凝集沈殿）

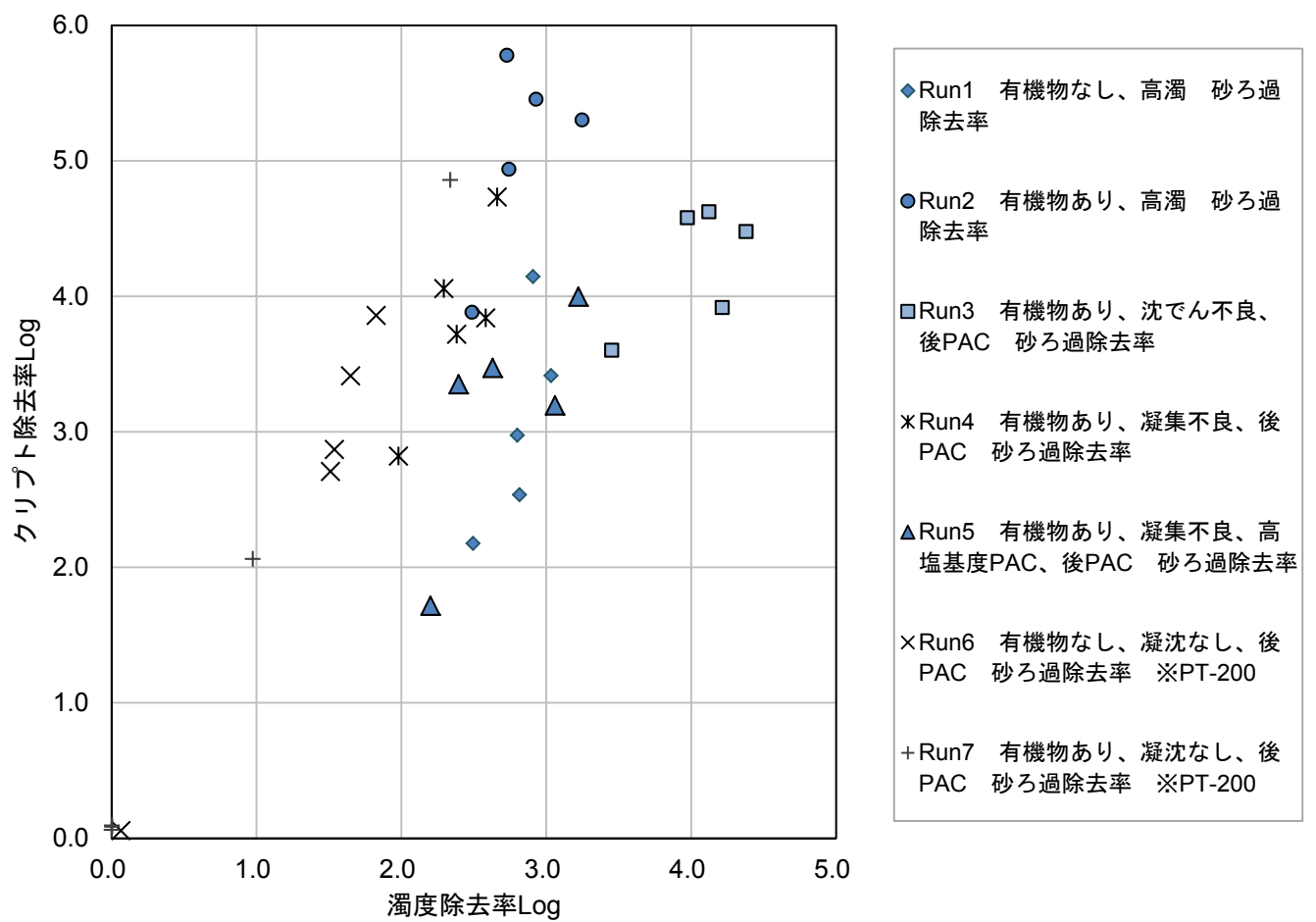


図 28 各 RUN における濁度除去率とクリプトレーサー除去率（砂ろ過）

(2) 超高塩基度 PAC によるクリプトレーサー除去性の評価

RUN4 及び RUN5 について、濁度除去率とクリプトレーサー除去率を比較した結果を図 29 に示す。砂ろ過除去率については、超高塩基度 PAC の方が従来 PAC より低かった。特に、凝集不良の条件下で後 PAC なしで砂ろ過を行った場合の除去率が、超高塩基度 PAC では、従来 PAC より低かった。粒度分布でも同様の傾向を示しており、超高塩基度 PAC は従来 PAC に比べて、 $3-7\mu\text{m}$ 、 $7-\mu\text{m}$ での流出が多かった。特に、後 PAC 注入率が低いときにこの傾向が強かった。

超高塩基度 PAC を後 PAC に用いた場合は、添加量が不十分だと、見かけは濁度除去できていても、従来 PAC より砂ろ過での除去率が低くなる可能性がある。

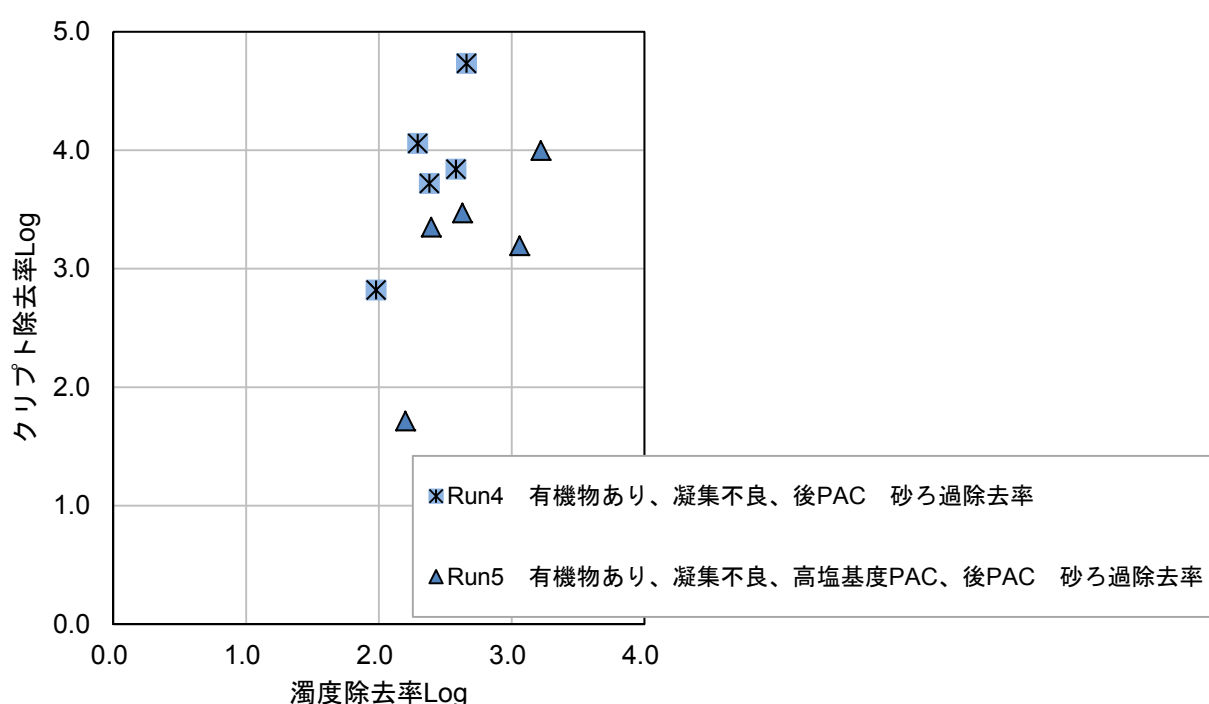


図 29 RUN4 および RUN5 の濁度除去率とクリプトレーサー除去率の比較（砂ろ過）

(3) 後 PAC 注入によるクリプトレーサー除去性の評価

RUN3、RUN4、RUN6、RUN7 について、濁度除去率あたりのクリプトレーサー除去率を比較した結果を図 30 に示す。凝集沈澱を行わず後 PAC のみで処理を行った RUN6 と RUN7 は、有機物の有無にかかわらず、いずれも濁度除去率の上昇にともない砂ろ過除去率が上昇する傾向を示した。また、除去率は他の RUN より高かった。RUN4（凝集不良、後 PAC）も同様の傾向を示した。RUN3（沈でん不良、後 PAC）については、RUN4、RUN6、RUN7 とは異なる挙動を示した。ただし、RUN4 の一部の砂ろ過水中のクリプトレーサー粒子数が 0 個/L だったため、実際の除去率はより高いと考えられる。

これらのことから、凝集不良時の後 PAC による濁度除去は、クリプトスポリジウム除去にも高い効果を示すと判断できる。一方、沈でん不良時の後 PAC によるクリプトスポリジウム除去効果は限定的であると推測される。

ただし、粒径分布については、RUN4 及び RUN6（凝集不良もしくは直接ろ過で後 PAC）の砂ろ過水は、RUN3（沈でん不良、後 PAC）の砂ろ過水に比べて $3\sim 7\mu\text{m}$ の粒子の割合が高かった。これは、凝集不良もしくは直接ろ過では、沈でん不良に比べて、濁度漏れいที่เกิดขึ้น際のクリプトスポリジウム漏れいのリスクが高いことを示唆している。

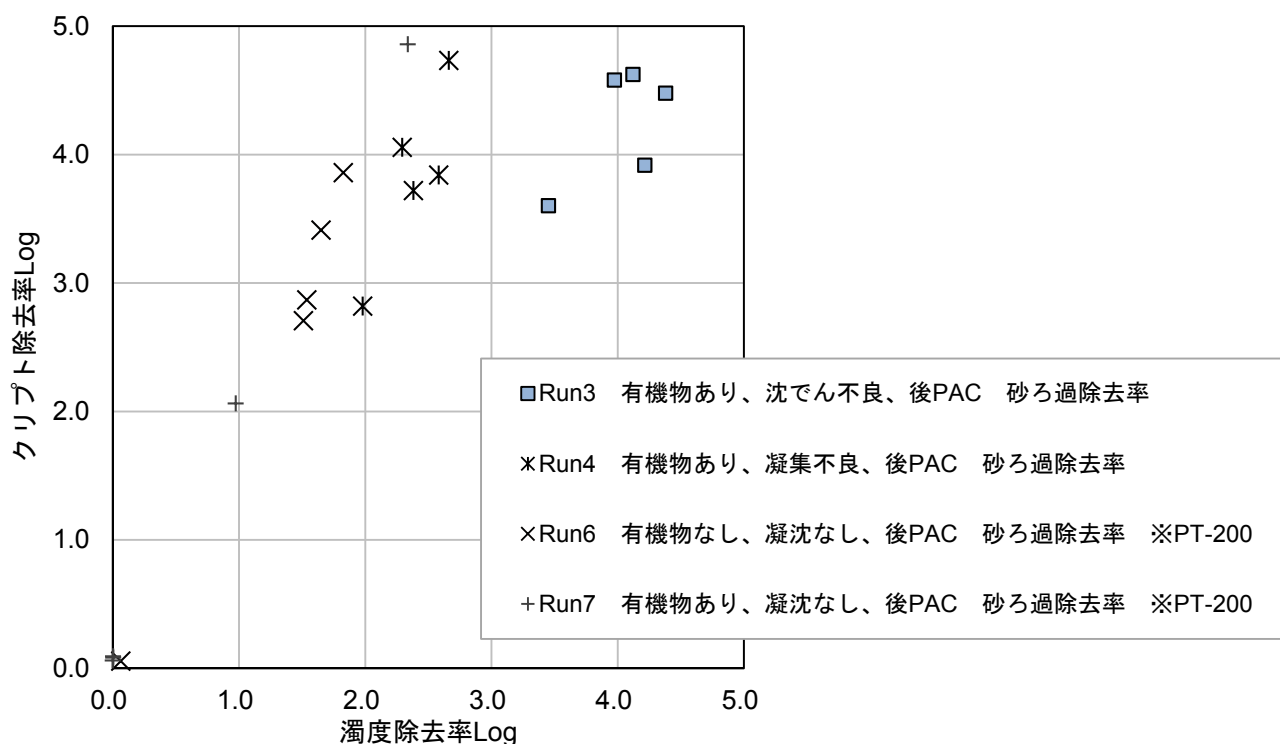


図 30 RUN3、RUN4、RUN6、RUN7 の濁度除去率とクリプトレーサー除去率の比較（砂ろ過）

(4) クリプトスポリジウム感染リスク評価

各 RUN における感染確率を試算したところ、凝集沈でん・砂ろ過のみの場合では US EPA が提唱する許容感染確率 10^{-4} を超過したケースが 83%あり、適切な浄水処理が行われない運転条件下では感染確率が高まることが確認できた（表 9）。一方、PAC の適正注入を実施した RUN2 において、濁度 5 度の場合を除き凝集沈でん・砂ろ過の処理のみで当該の許容感染確率を下回っており、原水中のクリプトスポリジウムが高濃度であっても、適切な PAC 注入率の確保により感染リスクの低減が可能であった（表 9）。また、砂ろ過水に対して紫外線消毒を追加することで、感染確率 10^{-4} を超過するケースは大幅に減少した（表 10）。このことから、高濁度となる地表水原水に対しても、クリプトスポリジウム感染リスクの低減の面より紫外線照射設備を追加することが有用である可能性が示唆された。

表 9 凝集沈でん・砂ろ過処理水のクリプトスポリジウム感染確率

	原水中の クリプト濃度 個/L	飲用水量 L/日	除去率 log	摂取量 個/日	感染確率 人/年		
RUN1	100	1	2.9	0.126	<i>0.193</i>		
			5.2	0.000631	<i>0.000965</i>		
			6.5	0.0000316	0.0000483		
			4.8	0.00158	<i>0.00242</i>		
			5.1	0.000794	<i>0.00121</i>		
RUN2			4.9	0.00126	<i>0.00193</i>		
			8.4	0.000000398	0.000000609		
			7.3	0.00000501	0.00000766		
			7.8	0.00000158	0.00000242		
			7.5	0.00000316	0.00000483		
RUN3			4.6	0.00251	<i>0.00384</i>		
			5.5	0.000316	<i>0.000483</i>		
			6.5	0.0000316	0.0000483		
			5.1	0.000794	<i>0.00121</i>		
			5.5	0.000316	<i>0.000483</i>		
RUN4			4.0	0.01	<i>0.0153</i>		
			5.0	0.001	<i>0.00153</i>		
			4.8	0.00158	<i>0.00242</i>		
			4.9	0.00126	<i>0.00193</i>		
			5.7	0.0002	<i>0.000306</i>		
RUN5			2.4	0.398	<i>0.608</i>		
			4.6	0.00251	<i>0.00384</i>		
			4.6	0.00251	<i>0.00384</i>		
			4.8	0.00158	<i>0.00242</i>		
			4.7	0.002	<i>0.00306</i>		
RUN6			0.1	79.4	<i>103</i>		
			2.9	0.126	<i>0.193</i>		
			3.4	0.0398	<i>0.0609</i>		
			3.9	0.0126	<i>0.0193</i>		
			2.7	0.2	<i>0.306</i>		
RUN7			0.1	79.4	<i>103</i>		
			0.1	79.4	<i>103</i>		
			0.1	79.4	<i>103</i>		
			2.1	0.794	<i>1.21</i>		
			4.9	0.00126	<i>0.00193</i>		
			0.3	50.1	<i>69.1</i>		
米国EPA基準 (10 ⁻⁴) 超過				83%	30		
				最大	103		
				最小	0.000000609		

表 10 凝集沈でん・砂ろ過・紫外線照射水のクリプトスポリジウム感染確率

	原水中の クリプト濃度 個/L	飲用水量 L/日	除去率 log	砂ろ過水 吸光度 abs./10mm	紫外線 不活化率 log	摂取量 個/日	感染確率 人/年		
RUN1	100	1	2.9	0.001	3.6	0.0000316	0.0000483		
			5.2	0.008	3.6	0.000000158	0.000000242		
			6.5	0.011	3.6	7.94E-09	1.21E-08		
			4.8	0.009	3.6	0.000000398	0.000000609		
			5.1	0.007	3.6	0.00000002	0.000000306		
RUN2			4.9	0.012	3.6	0.000000316	0.000000483		
			8.4	0.007	3.6	1E-10	1.53E-10		
			7.3	0.011	3.6	1.26E-09	1.93E-09		
			7.8	0.009	3.6	3.98E-10	6.09E-10		
			7.5	0.012	3.6	7.94E-10	1.21E-09		
RUN3			4.6	0.014	3.6	0.000000631	0.000000965		
			5.5	0.011	3.6	7.94E-08	0.000000121		
			6.5	0.013	3.6	7.94E-09	1.21E-08		
			5.1	0.013	3.6	0.00000002	0.000000306		
			5.5	0.012	3.6	7.94E-08	0.000000121		
RUN4			4.0	0.028	3.4	0.00000398	0.00000609		
			5.0	0.021	3.6	0.000000251	0.000000384		
			4.8	0.017	3.6	0.000000398	0.000000609		
			4.9	0.017	3.6	0.000000316	0.000000483		
			5.7	0.017	3.6	5.01E-08	7.66E-08		
RUN5			2.4	0.020	3.6	0.0001	0.000153		
			4.6	0.018	3.6	0.000000631	0.000000965		
			4.6	0.019	3.6	0.000000631	0.000000965		
			4.8	0.017	3.6	0.000000398	0.000000609		
			4.7	0.017	3.6	0.000000501	0.000000766		
RUN6			0.1	0.012	3.6	0.02	0.0306		
			2.9	0.011	3.6	0.0000316	0.0000483		
			3.4	0.009	3.6	0.00001	0.0000153		
			3.9	0.010	3.6	0.00000316	0.00000483		
			2.7	0.015	3.6	0.0000501	0.0000766		
RUN7			0.1	0.147	3.0	0.0794	0.121		
			0.1	0.174	3.0	0.0794	0.121		
			0.1	0.171	3.0	0.0794	0.121		
			2.1	0.069	3.4	0.000316	0.000483		
			4.9	0.019	3.6	0.000000316	0.000000483		
			0.3	0.183	3.0	0.0501	0.0766		
米国EPA基準 (10 ⁻⁴) 超過						19%	7		
						最大	0.121		
						最小	1.53E-10		

6-4 結論

1) フロック形成状況が異なる場合の二段凝集処理による効果

沈でん不良時、凝集不良時共に後 PAC を注入することで砂ろ過濁度の低減に効果があり、その効果は沈でん不良時のほうが大きいことが分かった。また、凝集不良時よりも沈でん不良時の方が砂ろ過水濁度は低く、清澄化が早いことが分かった。なお、濁度除去率に対するクリプトスポリジウム除去率は、凝集不良時の方が沈でん不良時よりも高かった。

2) 前処理をしない場合の二段凝集処理による効果

沈でん水濁度 5 度の条件では、凝集沈でん処理を行わない場合でも、適正量の後 PAC を添加することで、砂ろ過水の濁度および DOC を低減できた。なお、有機物が共存すると、砂ろ過での濁度除去に必要な後 PAC 添加量は、有機物がない場合に比べて大幅に増加することが確認できた。

3) 従来型 PAC と超高塩基度 PAC の処理性

超高塩基度 PAC は従来型 PAC と同程度の濁度除去能を示し、後 PAC 注入率が多くなるに連れ、超高塩基度 PAC の濁度除去能が従来型 PAC よりも優れていることが分かった。また、砂ろ過損失の上昇の抑制に効果が確認された。一方、クリプトスポリジウムの除去性については、超高塩基度 PAC はやや劣る傾向が見られた。また、凝集沈でんに超高塩基度 PAC を使用した場合は、従来型 PAC に比べて、砂ろ過水中に粒径 $3\mu\text{m}$ 以上の粒子が多く流出する傾向が見られた。

4) クリプトレーサーの挙動とリスク評価

プラント実験において、クリプトスポリジウム模擬粒子を用いてクリプトスポリジウム除去特性の調査を行い、各処理条件における濁度除去率あたりのクリプトスポリジウム除去率のデータを得た。このデータをもとに、高濁度原水による処理悪化時を想定したケーススタディを行ったところ、クリプトスポリジウム年間感染確率は、米国 EPA が提案する年間許容感染リスク 10^{-4} を上回る可能性が示唆された。また、砂ろ過水の紫外線吸光度を用いた紫外線による不活化率の試算では、原水がクリプトスポリジウムで汚染され、凝集沈でん処理が不十分となった状態であっても、砂ろ過水に紫外線を照射することによって感染リスクの大幅な低減が可能であると考えられる。

7 おわりに

諸外国において導入が進みつつある微生物リスク評価手法を、わが国の水道行政や水道事業における水質管理の実務に即して、如何に適用していくかが今後の大きな課題である。具体的には、水道原水や浄水処理の各プロセスにおいて病原微生物や代替指標の濃度、物理的除去効果や消毒効果に関する水質項目を定期的に監視し、微生物リスク評価に供するデータを蓄積することで、個々の浄水場における微生物リスクの所在の把握や、リスク低減に係る重要管理点の抽出など、信頼性の高い科学的エビデンスに基づいた、さらに高度な水質管理手法に展開することが可能になるものと考えられる。

参考文献・URL

- 1) Rutjes, S. A., Schijven, J., de Roda Husman, A. M.; Application of quantitative microbial risk assessment for Dutch drinking water production locations, 17th International Symposium on Health Related Water Microbiology; WaterMicro 2013, September 15-20, 2013, Florianopolis, Brazil.
- 2) <http://www.kwrwater.nl/watershare/index.aspx?rdr=true&LangType=1033>
- 3) Schijven, J.F., Tenuis, P. M. F., Rutjes, S. A., Bouwknecht, M., de Roda Husman, A. M.: QMRAspot: A tool for Quantitative Microbial Risk Assessment from surface water to potable water, Water Research, 45, 5564-5576, 2011.
- 4) 岸田直裕、今野祥顕、原本英司、浅見真理、秋葉道宏：我が国における水道原水中の水系感染性ウイルスおよび原虫の存在実態と指標微生物の有効性、水道協会雑誌、Vol. 82, No. 10, pp. 2-10, 2013.
- 5) Anastasi E.M. Wohlsen T.D., Stratton H.M. and Katouli M. (2013) Survival of *Escherichia coli* in two sewage treatment plants using UV irradiation and chlorination for disinfection, Water Research, 47(17), pp. 6670-6679
- 6) Berman D, Rice E.W. and Hoff J.C. (1988) Inactivation of particle-associated coliforms by chlorine and monochloramine, Appl. Environ. Microbiol., 54(2), pp. 507-512
- 7) Cho M., Kim J., Kim J.Y., Yoon J. and Kim J.H. (2010) Mechanisms of *Escherichia coli* inactivation by several disinfectants, Water Research, 44(11), pp. 3410-3418
- 8) Du Z. Nandakumar R. and Nickerson K.W. and Li X. (2015) Proteomic adaptations to starvation prepare *Escherichia coli* for disinfection tolerance, Water Research, 69(1), pp. 110-119.
- 9) Finch G.R., Smith D.W. and Stiles M.E. (1988) Dose-response of *Escherichia coli* in ozone demand-free phosphate buffer, Water Research, 22(12), pp. 1563-1570
- 10) Guo M., Hu H., Bolton J.R. and El-Din M.G. (2009) Comparison of low- and medium-pressure ultraviolet lamps: Photoreactivation of *Escherichia coli* and total coliforms in secondary effluents of municipal wastewater treatment plants. Water Research, 43(3), pp. 815-821
- 11) Haas C. N. and Engelbrecht R.S. (1980) Chlorine dynamics during inactivation of coliforms, acid-fast bacteria and yeasts, Water Research, 14(12), pp. 1749-1757
- 12) Kazama S., Otaki M. (2013) Quantitative analysis of the inactivation mechanisms of *Escherichia coli* by a newly developed method using propidium monoazide, J. of Water and Environment Technology, 11(6), pp. 507-517
- 13) Kollu K. and Örmeci Baru (2012) Effect of particles and bioflocculation on ultraviolet disinfection of *Escherichia coli*, Water Research, 46(3), pp. 750-760.

- 14) Kouame Y. and Haas C.N. (1991) Inactivation of *E. coli* by combined action of free chlorine and monochloramine, *Water Research*, 25(9), pp.1027-1032
- 15) LeChevallier M.W., Hassenauer T.S., Camper A.K. and McFeters G.A. (1984) Disinfection of bacteria attached to granular activated carbon, *Appl. Environ. Microbiol.*, 48(5), pp.918-923
- 16) McFeters G.A., Cameron S.C. and LeChevallier M.W. (1982) Influence of diluents, media, and membrane filters on detection of injured waterborne coliform bacteria, *Appl. Environ. Microbiol.*, 43(1), pp. 97-103
- 17) McFeters G.A., Kippin J.S. and LeChevallier M.W. (1986) Injured coliforms in drinking water, *Appl. Environ. Microbiol.*, 51(1), pp.1-5
- 18) Momba M.N.B., Cloete T.E., Venter S.N. and Kfir R. (1999) Examination of the behaviour of *Escherichia coli* in biofilms established in laboratory-scale units receiving chlorinated and chloraminated water, *Water Research*, 33(13), 2937-2940
- 19) Murphy H.M., Payne S.J. and Gagnon G.A. (2008) Sequential UV- and chlorine-based disinfection to mitigate *Escherichia coli* in drinking water biofilms, *Water Research*, 42(8-9), pp.2083-2092
- 20) Oksana L., Wassenaar T.M. and Ussery D. W. (2010) Comparison of 61 sequenced *Escherichia coli* genomes, *Microb. Ecol.* 60(4), pp.708-720,
- 21) Özkanca R., Saribiyikb F., Isika E., Sahina N., Kariptasc E. and Flintd K.P. (2009) Resuscitation and quantification of stressed *Escherichia coli* K12 NCTC8797 in water samples, *Microbiological Research*, 162(2), pp.212-220
- 22) Smeets P.W.M.H., Helm A.W.C. van der, Dullemont Y.J., Rietveld L.C. Dijk J.C van and Medema G.J. (2006) Inactivation of *Escherichia coli* by ozone under bench-scale plug flow and full-scale hydraulic conditions, *Water Research*, 40(17), pp. 3239-3248
- 23) Tyrrell S.A., Rippey S.R. and Watkins W.D. (1995) Inactivation of bacterial and viral indicators in secondary sewage effluents, using chlorine and ozone, *Water Research*, 29(11), pp.2483-2490
- 24) Vélez-Colmenares J.J., Acevedo A. and Nebot E. (2011) Effect of recirculation and initial concentration of microorganisms on the disinfection kinetics of *Escherichia coli* , *Desalination*, 280(1-3), pp.20-26.
- 25) Wang X., Hu X. Wang H. Chun Hu. (2012) Synergistic effect of the sequential use of UV irradiation and chlorine to disinfect reclaimed water, *Water Research*, 46(4), pp. 1225-1232.
- 26) Winward G.P., Avery L.M., Stephenson T. and Jefferson B. (2008) Chlorine disinfection of grey water for reuse: Effect of organics and particles, *Water*

- Research, 42(1-2), pp. 483-491
- 27) Yamada N., Suzumura M., Koiwa F. and Negishi N. (2013) Differences in elimination efficiencies of *Escherichia coli* in freshwater and seawater as a result of TiO₂ photocatalysis, *Water Research*, 47(8), pp. 2770-2776,
- 28) 高田園子, 大畠麻優菜, 大瀧雅寛 (2014) 異なる波長による大腸菌の不活化と光回復効果, 第 17 回日本水環境学会シンポジウム講演集, p. 133
- 29) 王雪丹, 大瀧雅寛 (2007) オゾン処理における大腸菌損傷レベルの評価方法, 第 17 回日本オゾン協会年次研究講演会講演集, pp. 95-97
- 30) 大瀧雅寛, 溝添倫子, 林紗綾佳 (2009) 紫外線および二酸化塩素処理における大腸菌の細胞損傷レベルの測定, 第 60 回全国水道研究発表会講演集, pp. 184-185
- 31) 相澤貴子ら (2013) 経年化浄水施設における原水水質悪化等への対応に関する研究, 平成 23 年度厚生労働省科学研究費補助金 (健康安全・危機管理対策総合研究事業) 統括研究報告書
- 32) 厚生労働省健康局水道課: 紫外線処理設備について (平成 19 年 3 月 30 日事務連絡)
- 33) Haas, C. N., Crockett, C. S., Rose, J. B., Gerba, C. P. and Fazil, A. M. (1996) Assessing the risk posed by oocysts in drinking water. *Journal of American Water Works Association* 88(9), 131-136)
- 34) 大瀧雅寛: 非加熱水量アンケート調査結果報告 生活工学研究 第 4 巻 第 2 号 2002
- 35) 小松良光, 近藤才寛, 田川克弘; インターネットアンケートに基づく蛇口からの非加熱飲水量の調査およびデータ解析, 水道協会雑誌, 82 (3), 16-25, 2013.
- 36) 春日郁朗, 尾崎奈緒, 栗栖太, 古米弘明, 重枝孝明 (2014) 高度浄水処理工程における細菌現存量のフローサイトメーターを用いた迅速評価, 水道協会雑誌, Vol. 83, No. 6, pp. 2-15.