

1. 水道水における一般細菌の再増殖に関する調査

板倉 愛実
平林 達也
今中 壮一

1. はじめに

本市では、市内一円における給水栓末端の残留塩素濃度を水道法施行規則に定められた0.1mg/L以上確保することに加え、低減化・平準化することを目的に残留塩素シミュレーションプログラム式を用いて、給水栓末端における残留塩素濃度が0.2mg/Lから0.4mg/Lとなるよう、浄・配水場出口における残留塩素濃度を設定している。しかしながら、塩素消費物質の変動及び水需要の変化による滞留時間の増加等、シミュレーションの条件とは異なった事象が発生した場合、給水栓末端における残留塩素濃度がシミュレーションより低くなることも予想される。

配水管や給水管内の水道水は水圧を有しているため、外部からの流入によって水道水が汚染されることはないものの、残留塩素濃度が低下した条件下であっても、微生物学的な安全性が担保されているかを調べるために、GAC処理水や浄水等の処理水を用いて室内実験を行ったので、その結果について報告する。

2. 調査方法等

2. 1 一般細菌の塩素不活化実験

2. 1. 1 一般細菌の培養

柴島浄水場下系（以下：下系）GAC処理水1mLを標準寒天培地に添加後、37℃で24時間培養した。培養後、得られたコロニーを白金耳で取り、液体培地が入っている三角フラスコに転溶して37℃で24時間振とう培養した。24時間後、液体培地が白濁していることを確認し、50mL遠沈管に移した後に、3000rpm×20分で遠心分離を行い、菌体を底に集めた。上澄みを捨て、リン酸緩衝生理食塩水（PBS）を50mL加え3000rpm×20分で遠心分離を2回繰り返し洗浄した。

2. 1. 2 塩素不活化実験

2. 1. 1で得られた菌体を下系GAC処理水を5mL加えボルテックスミキサーで懸濁させた。この懸濁液1mLを下系GAC処理水300mLが入っている三角フラスコに1mL添加後、残留塩素濃度が0.2mg/Lと0.5mg/Lになるように添加して反応を開始した。反応時間（1、2、5、10、20分）毎にサンプリングし、それぞれ1mLずつ標準寒天培地に採り入れて37℃の恒温槽内で24時間培養した。24時間後、各サンプルにおける生菌数を計測した。

2. 2 残留塩素消失後の再増殖調査

2. 2. 1 流達時間が短い地域を想定した調査

チオ硫酸ナトリウムが入っている耐熱瓶に下系浄水を採水し、夏場と冬場を想定して30℃と10℃の恒温槽内で一定期間（1、3、5、7日）保管した。保管日ごとに耐熱瓶1本を使用し、そのうちの1mLを標準寒天培地に播種して培養を行った。24時間後に各サンプルにおける生菌数を計測した。

2. 2. 2 流達時間が長い地域を想定した調査

チオ硫酸ナトリウムが入っていない耐熱瓶に下系浄水を採水し、30℃の恒温槽内で一定期間（1、2、5、7、9、14、35日）保管した。保管日ごとに耐熱瓶1本を取り出し、試料水1mLを標準寒天培地に採り入れて37℃の恒温槽内で24時間培養した。残りの試料水は、残留塩素濃度測定に使用した。24時間後、各サンプルにおける生菌数を計測した。

2. 3 浄水捕捉培養

水質試験所内の2か所の蛇口からの浄水を500mL採水し、浄水中に含まれる微粒子を捕捉するために、孔径0.45μmの疎水格子フィルターでろ過した。ろ過後のメンブレンフィルターを標準寒天培地の上に置いて37℃の恒温槽内で24時間培養し、得られた生菌数を計測した。

2. 4 バイオフィルムの培養

2. 1. 1で調製した培養液が入っているシャーレに複数のキャリア片（PVC片、活性炭、鉄さび）を入れ、37℃の恒温槽内で数時間キャリア片に細菌を付着させた。2～3時間後、細菌を付着させたキャリア片を菌体が含まれていない液体培地入りシャーレに移して37℃の恒温槽内で一晚培養した。翌日キャリア片をPBSで洗浄後、一部をデジタルマイクロスコープで観察した。また、一片をPBS1mLが入っている1.5mL容マイクロチューブに移して10800rpm×10minで遠心分離を行い、キャリア片に付着している一般細菌を全て剥離した。得られた懸濁液を標準寒天培地に採り入れて培養し、24時間後生菌数を計測した。¹⁾

2. 5 活性炭の使用年数における一般細菌の検出の違い

使用年数が異なる（0年～5年）柴島浄水場下系GAC吸着池を選定し、処理継続時間が洗浄後0～60時間におけるGAC処理水500mLを孔径0.45μmの疎水性格子フィルターでろ過した。微粒子が捕捉されたフィルターを標準寒天培地上に置いて37℃の恒温槽内で24時間培養し、生菌数を計測した。

3. 結果と考察

3. 1 一般細菌の塩素不活化実験

残留塩素濃度が0.2mg/Lと0.5mg/Lになるように塩素を添加して反応を開始し、所定の時間にサンプリングしたものを標準寒天培地に培養して得られた結果を残留塩素濃度の推移とあわせて図-1(a)と(b)に示す。

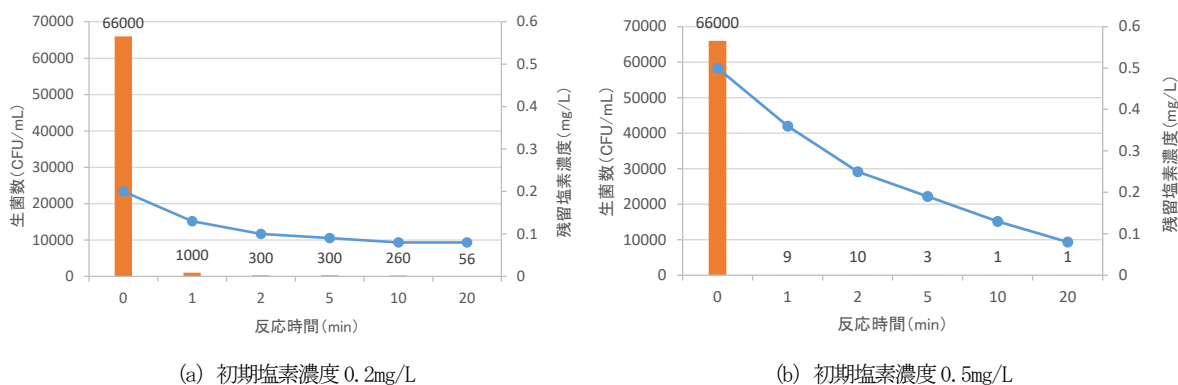


図-1 反応時間毎の残留塩素濃度と生菌数の推移

初期の残留塩素濃度によらず、塩素添加1分で60000CFU/mL以上の生菌が直ちに不活化され、反応開始後20分で、ともに水質基準値以下になったが、塩素存在下においても生菌数をゼロにすることはできなかった。各反応時間における(a)と(b)の生菌数を比較すると、(a)の生菌数の方が多いことから、塩素濃度が高い方が生菌の不活化処理を効果的に実施できることが分かったが、残留塩素濃度が0.1mg/L付近になると、十分な塩素接触時間を確保しなければさらに低減させることは難しくなる結果となった。

3. 2 残留塩素消失後の再増殖調査

3. 2. 1 流達時間が短い地域を想定した調査

10℃と30℃の恒温槽内で保管した日数毎の一般細菌の生菌数を表-1に示す。10℃で保管したサンプルは残留塩素がない状態が7日間経っても一般細菌は検出されなかった。一方、30℃で保管したサンプルは、表-1より保管開始3日目から数個のコロニーが検出され、7日目では水質基準値以上の一般細菌が検出された。

本調査は、採水時にチオ硫酸ナトリウムで浄水中の塩素を分解除去しており、塩素との接触時間が十分確保されていない実験系であることから、浄水場出口からの流達時間が短い地域における残留塩素消失後の一般細菌再増殖の状況を想定したモデルとなっている。このことから、浄水場出口からの流達時間が短い地域における給水栓においては、30℃程度の水温になると十分な塩素接触時間が確保されないために、残留塩素消失後に一般細菌が再増殖する可能性があることがわかった。

表-1 保管温度と生菌数の関係

保管期間 (日)		0	1	3	5	7
生菌数 (CFU/mL)	10℃	0	0	0	0	0
	30℃	0	0	5	45	>1000

3. 2. 2 流達時間が長い地域を想定した調査

3. 2. 1で30℃の恒温槽内で保管したサンプルが再増殖することが確認されたことから、残留塩素がある状態で保管を開始した場合の挙動を調べることにした。保管日数毎の残留塩素濃度と生菌数の推移を表-2に示す。

表-2 保管日数毎の残留塩素濃度と生菌数の推移

保管期間(日)	0			1	2	5	7	9	14	35
	0h	2h	6h							
残留塩素濃度 (mg/L)	0.46	0.42	0.33	0.04	0.01	0	0	0	0	0
生菌数 (CTU/mL)	0			0	0	0	0	0	0	0

保管を開始してから徐々に残留塩素が減少し、6時間後には残留塩素が0.33mg/L 検出されたものの、翌日にはほぼ消失した。保管は1か月以上無塩素の状態でも継続したが、生菌数は保管開始直後から全く検出されず、一般細菌の再増殖は認められなかった。この理由として、塩素が消失するまでに塩素との接触時間を十分確保できたことで、再増殖の原因となる一般細菌が不活化されたと考えられた。

本調査は、残留塩素を保持した状態で保管を開始していることから、塩素との接触時間が十分確保されている実験系となっており、浄水場出口からの流達時間が長い地域における一般細菌再増殖の状況を想定したモデルとなっている。保管開始後1日目には残留塩素が検出されなかったものの、塩素との接触時間が一定確保されたことにより一般細菌の検出が認められなかったことから、流達時間が長い地域においては、残留塩素消失後においても一般細菌が再増殖する可能性は低いと考えられた。

3. 3 浄水捕捉培養

2. 3に示す方法で採水し、培養した後のシャーレの結果を図-3に示す。精製水をろ過して培養したブランクからは一般細菌が検出されなかったが、2か所の蛇口から採水した浄水からは、十分な残留塩素が確保されているにもかかわらず、一般細菌が検出された。仮に、浄水中にフリーな状態で一般細菌が存在しても、孔径0.45μmの疎水格子フィルターを通過すると考えられることから、検出された一般細菌はフィルター上に捕捉された微粒子等に付着していたものと推定された。

これにより、浄水中に鉄さび等の微粒子が存在すると、一般細菌が微粒子に付着し、給水栓において残留塩素が検出される状況であっても一般細菌が検出される可能性があると考えられた。

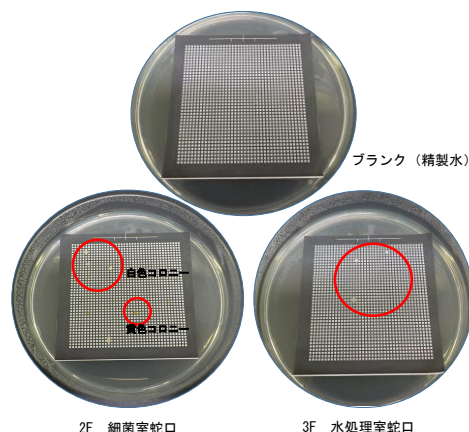


図-3 各採水地点における捕捉培養

3. 4 バイオフィルムの培養

2. 4の方法で培養したバイオフィルムをデジタルマイクروسコープで観察したものを図-4に示す。



図-4 各キャリア片におけるバイオフィルム培養結果 (左から PVC 片、活性炭、鉄さび)

どのキャリア片も表面にバイオフィルムが付着していなかったが、PVC片や活性炭の周辺には白い塊(○で示した部分)が認められた。これは2. 4のはじめにキャリア片に付着させた一般細菌が、PBSによる洗浄時に剥離したものと考えられた。

また、キャリアの一片を遠心分離で剥離後、標準寒天培地に採り入れて培養した結果を下の表-3に示す。

表-3 各キャリア片の培養における一般細菌の検出状況

	一般細菌の有無		
	PVC片	活性炭	鉄さび片
ブランク※	×	○	×
一般細菌を付着させたキャリア片	○	○	○

※一般細菌を付着させずに同様の操作で培養したもの。「○」：検出、「×」：未検出

図-4でキャリア片に一般細菌が付着している様子は見られなかったが、遠心分離して得られた培養液を培養すると全てのキャリア片で一般細菌が検出された。これは最初にキャリア片に付着させた一般細菌が検出されたものと考えられた。また、ブランクとして菌体を付着させていないキャリア片を同様の手順で培養したところ、活性炭のみで一般細菌が検出された。一方、PVC片や鉄さびびではブランクでの一般細菌が検出されていないことから、もともと活性炭に一般細菌が存在している可能性があることが分かった。

3. 5 GAC 吸着池からの一般細菌の検出状況

3. 4で活性炭のブランクを培養すると一般細菌が検出されたことから、GAC 吸着池からの一般細菌の漏出状況について調べた。処理継続時間やGACの使用年数により検出される一般細菌数に差があるかを調べるため、使用年数の異なる下系 GAC 吸着池（2号池、4号池、5号池、10号池）を調査池として選定した。各池の処理継続時間における生菌数を表-4に示す。

表-4 各池の処理継続時間における生菌数 (CFU/500 mL)

	使用年数 (年)	処理継続時間 (h)			
		洗浄直後	20	50	60
blank		0			
2号池	5	3	0	41	76
4号池	4	0	0	39	>100
5号池	3	1	1	24	2
10号池	0	4	6	10	23

どの池も洗浄してから処理を継続するに伴って一般細菌の検出数が多くなり、使用年数が長くなるに伴って一般細菌が多く検出された。このことから、GAC 吸着池の処理継続時間が長くなるほど、また、GAC の使用年数が長くなるほど、GAC 処理水中に漏出する一般細菌数が多くなることが分かった。

4. まとめ

本調査により得られた結果を下に示す。

- ・ 初期の塩素濃度によらず、一定時間塩素と接触すると反応開始 20 分で水質基準以下になり、塩素濃度が高い方が不活化処理を効率的に行うことができることが分かった。
- ・ 塩素消失後の再増殖実験について、流達時間が短い地域では、十分な塩素接触時間を確保できないために夏場で無塩素の状態が続いた時に再増殖する可能性があることが分かった。また、流達時間が長い地域では、到達するまでに塩素と十分接触していることから、再増殖の原因となる一般細菌が不活化されて再増殖する可能性は低いことが分かった。
- ・ 浄水をろ過した後のフィルターを培養すると一般細菌が検出されたことから、浄水中に微粒子が存在することで一般細菌が検出される可能性があることが分かった。
- ・ GAC 吸着池の処理継続時間が長くなるほど、また、GAC の使用年数が長くなるほど、GAC 処理水中に漏出する一般細菌数が多くなることが分かった。

5. 参考資料

- 1) 厚生労働科学研究費補助金 健康安全・危機管理対策総合研究事業 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 平成 24 年度 総合・分担研究報告書 p53 培養部分参考