

◆ 特集：下水道による水・物質の制御 ◆

水系における病原微生物の挙動に関する研究

Fate of Pathogens in Natural Waters

斎野秀幸* 中島英一郎**

1. はじめに

これまで、下水道整備により公衆衛生の向上や公共用水域の水質保全が図られてきた。現在では下水道普及率は65.2%に達しており、上水道取水源上流域でも下水道が普及してきている¹⁾。また、下水道の進展に伴い、下水道に期待される役割も大きくなっており、水辺での親水的環境の創造や、水の循環・再生利用等が求められてきている。以上のことから、水系の安全性を確実に保全する必要がある、衛生学的基準のあり方についても再検討する必要が高まってきている。事実、現状では大腸菌群数等が衛生学的指標として用いられているが、放流先水系でのこれらの挙動についてはいまだ不明な部分が多い上に、糞便汚染の指標としての妥当性が疑われているところである²⁾。そのためもあり、水道水質基準は、大腸菌群から大腸菌へ移行したところでもある。

当研究室では、このような衛生学的基準についての判断資料とすべく、消毒方法や水系状況の相違に伴う下水処理水中の病原性微生物の挙動について調査を行ってきたところである。

過去の調査では、塩素消毒により一度は指標細菌を減少させたにもかかわらず、添加塩素量によっては100～200時間後には再増殖する傾向が確かめられた³⁾。

一方、別の調査では、下水処理水の放流先河川を模した水路に未消毒の下水処理水を放流して指標細菌の消長を追ったところ、それらの指標細菌が流下過程で減少する傾向が確かめられた⁴⁾。

これらの結果を受け、本研究では塩素消毒後の下水処理水中の衛生学的指標が放流後の水系でどのような消長を示すか、すなわち再増殖するのか、

減少するのか、または条件によって変化するのか、を過去の調査と同様に模型水路を用いて調査することとした。

2. 方法

国土技術政策総合研究所湖北総合実験施設内に設置した模型水路を用い、水路内での衛生学的指標の挙動について検討を行った。模型水路の概要を図-1に、模型水路の写真を図-2に示す。図-1中の四角1～15及びoutは水深を測定した位置を示す。模型水路は塩素混和槽、塩素中和槽、循環水槽、それらに供試水を供給するポンプ、及び水路から構成されている。水路はステンレス鋼(SUS)で作られており、幅20cm、長さ30mの水路を2本直列に接続してあり、合計で60mの長さがある。この水路はそれぞれのポンプを用い

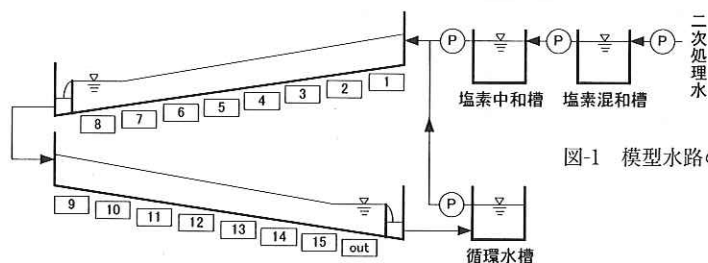


図-1 模型水路の概要

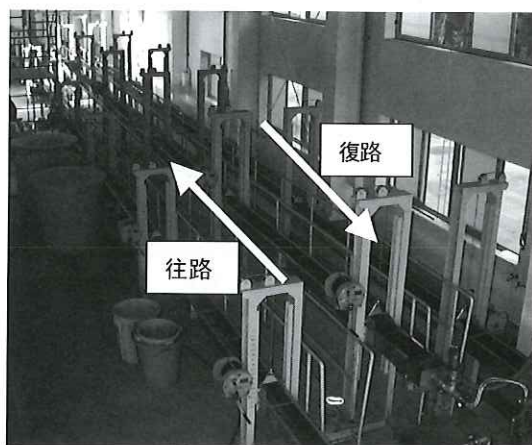


図-2 模型水路

て供試水を一過式もしくは循環式で流下させることが可能である。また、水路は勾配を自由に設定することが可能である。

供試水には実下水を用いた反応槽容量 10m³の標準活性汚泥法パイロットプラントから得られた二次処理水を塩素消毒したもの、及びそれをチオ硫酸ナトリウムで中和したものとした。なお、塩素注入率は、過去の調査で指標細菌の増殖を確認することができた 0.5mg/L とした。

測定項目は、指標細菌として大腸菌、大腸菌群、及び一般細菌とした。大腸菌及び大腸菌群（クロモ）の測定は、合成発色酵素基質培地（MERCK 社製クロモカルト寒天培地）を用い、 β ガラクツィダーゼ活性と β グルクロニダーゼ活性の有無を形成集落の色調により判別した。一般細菌、デソキシコール酸塩培地による大腸菌群（デソ）は下水試験方法に準拠した。また、同時に一般水質項目として、水温、pH、DO、COD_{Cr}、SS、各態窒素、及びりんを測定した。

本研究では指標細菌の再増殖と水路による減衰の関係を調査するが、過年度の研究ではおよそ 100 時間程度で大腸菌群等が再増殖することが示唆されている³⁾。そのため、本実験では供試水を水路に循環させつつ流し、それぞれの条件において循環通水開始前と循環通水開始後およそ 120 ～ 150 時間後に、図-1 における「1」から採水し、それぞれの項目について測定した。実験条件を表-1 に示す。水路床は SUS、砂利、及び生物層を付着させた砂利の 3 種類とした。「SUS」の場合は、それぞれの RUN の前に水道水で水路を洗浄し、その後供試水を通水した。「玉砂利」の場合は、それぞれの RUN の前に水道水を用いて丹念に水路と砂利を洗浄し、玉砂利に付いた生物層

を落とした上で実験を行った。「生物層」の場合は「玉砂利」の場合と同様に洗浄してから玉砂利を水路に敷き、その状態で塩素消毒を施していない下水二次処理水を 15L/min で一過式に約 1 ヶ月間流し続けることにより玉砂利に生物層を付着させ、その後実験を開始した。

他に実験条件として、流量、水路勾配、水温、塩素消毒後の塩素中和の有無を変えて実験を行った。

また、水質のみならず、玉砂利に付着した指標細菌についても分析を行った。分析は、供試水を水路に通水する前と通水した後にいき、それらの差を通水後玉砂利に付着した指標生物量とした。分析方法は、まず図-1 に示す「1」～「out」からそれぞれ、ほぼ同量ずつ少量の玉砂利を無菌的に採取し、ガラス瓶に入れた。これに高圧蒸気滅菌を施した生理食塩水を入れ、その上で超音波処理を 15 分間行った。この生理食塩水に含まれる衛生的指標を測定し、それを単位玉砂利あたりの付着指標細菌数とした。

3. 結果と考察

水路内縦断面図を図-3 に示す。なお、横軸は測定地点を示し、図-1 における水路床番号に相当する。また、流れの状況について表-1 に示す。

表-1 実験条件及び水路状況

		RUN 1	RUN 2	RUN 3	RUN 4	RUN 5	RUN 6	RUN 7	RUN 8
水路形状		30,000mm ⁺ × 200mm ^w × 100mm ^d × 2 往復							
水路床		SUS		玉砂利				生物層	
塩素中和		無	無	有	無	有	無	無	無
流量	[L/min]	15	15	15	15	15	100	100	15
勾配	[%]	2.33	2.33	2.33	2.33	2.33	2.33	6.67	2.33
平均砂利高	[mm]	0.0	19.0	19.0	19.6	19.0	20.0	19.1	19.0
平均水深	[mm]	10.3	21.7	21.7	18.4	21.7	45.3	36.7	21.7
平均流速	[m/sec]	0.121	0.058	0.058	0.068	0.058	0.184	0.227	0.058
	[m/min]	7.3	3.5	3.5	4.1	3.5	11.0	13.6	3.5
レイノルズ数		867	1,151	1,024	808	1,151	4,389	5,353	1,024
水路容量	[m ³]	0.12	0.26	0.26	0.22	0.26	0.54	0.44	0.26
循環水槽容量	[m ³]	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48
全容量	[m ³]	0.60	0.74	0.74	0.70	0.74	1.02	0.92	0.74
水路滞留時間	[min]	8	17	17	15	17	5	4	17
循環時間	[min/ 回]	40	49	49	47	49	10	9	49

※玉砂利の性状：85% が粒径 8 ～ 12mm、空隙率 36.7%

※塩素注入率は 0.5mg/L

※「平均水深」は玉砂利の空隙率を考慮した値

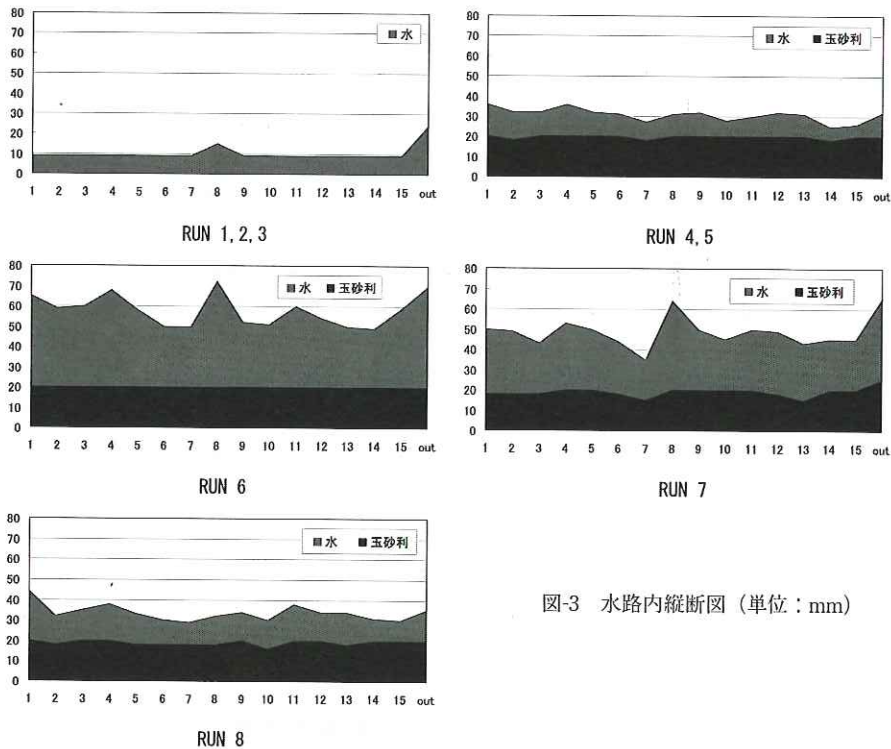


図-3 水路内縦断面図 (単位: mm)

表-2 分析結果

		RUN 1		RUN 2		RUN 3		RUN 4		RUN 5		RUN 6		RUN 7		RUN 8	
		前	後	前	後	前	後	前	後	前	後	前	後	前	後	前	後
実験条件	水路床	SUS						玉砂利						生物層			
	チオ硫酸ナトリウム添加(脱塩素)	無		無		有		無		有		無		無		無	
	流量 [L/min]	15		15		15		15		15		100		100		1	
	勾配 [%]	2.33		2.33		2.33		2.33		2.33		2.33		6.67		2.33	
水質項目	水温 [℃]	10.3	8.4	25.4	23.5	21.8	21.4	13.8	9.9	24.9	23.9	12.7	11.5	13.2	13.3	17.4	22.7
	pH	6.8	7.8	6.4	7.5	7.1	6.9	7.6	7.1	6.5	6.0	6.5	7.5	6.5	7.6	6.2	5.4
	DO [mg/L]	5.3	10.6	6.2	8.1	8.3	4.7	8.8	11.2	2.7	4.2	7.6	8.0	7.7	6.6	5.0	4.4
	遊離塩素 [mg/L]	0.11	0.06	0.08	0.07	0.07	0.04	0.15	0.09	0.00	0.05	0.10	0.04	0.11	0.09	0.08	0.08
	全塩素 [mg/L]	0.14	0.08	0.10	0.07	0.10	0.09	0.23	0.11	0.21	0.10	0.14	0.11	0.12	0.11	0.14	0.12
	COD _{Cr} [mg/L]	52	54	28	8	59	21	40	54	37	14	51	17	20	31	26	21
	SS [mg/L]	18.5	0.3	8.8	1.1	7.6	1.4	2.6	1.7	5.4	1.2	11.8	0.6	6.6	2.4	8.0	7.0
	T-N [mg/L]	15.0	12.7	18.1	19.2	18.0	19.0	13.5	21.8	22.0	25.4	15.2	17.0	14.8	15.2	23.9	38.3
	NH ₄ -N [mg/L]	1.8	0.1	0.2	0.0	0.1	0.1	1.0	0.1	0.2	0.1	0.3	0.1	0.1	0.1	0.1	0.6
	NO ₂ -N [mg/L]	8.6	4.4	0.1	0.0	0.0	0.1	5.6	4.8	0.1	0.2	3.9	1.4	11.3	0.0	0.2	0.1
	NO ₃ -N [mg/L]	1.7	5.9	22.9	18.9	12.6	17.2	3.7	12.3	16.5	16.4	7.1	14.5	2.0	13.7	20.9	33.4
	NO _x -N [mg/L]	10.3	10.2	23.0	18.9	12.6	17.2	9.3	17.1	16.6	16.6	10.9	15.9	13.2	13.7	21.1	33.5
	T-P [mg/L]	1.68	1.38	1.82	1.75	1.91	2.02	1.61	1.80	1.97	1.25	1.69	1.50	1.55	1.39	2.13	3.28
PO ₄ -P [mg/L]	1.23	1.25	1.75	1.71	1.70	1.76	1.42	1.67	1.68	1.72	1.36	1.50	1.39	1.47	1.60	2.85	
衛生指標	大腸菌 [CFU/mL]	138	1	97	0	41	1	28	0	66	1	55	2	83	2	32	1
	大腸菌群(クロモ) [CFU/mL]	2,125	24	2,810	825	1,935	1,535	1,945	66	4,670	2,050	2,040	113	2,230	107	1,085	633
	大腸菌群(デソ) [CFU/mL]	87	11	585	215	1,035	420	206	18	1,035	845	115	13	233	49	171	1,650
	一般細菌 [CFU/mL]	5,450	320	2,225	1,280	8,350	595	27,600	2,940	3,550	4,700	8,450	620	21,450	835	2,260	2,660
除去率	大腸菌 [%]	99.3		100.0		98.8		100.0		99.2		97.3		97.6		98.4	
	大腸菌群(クロモ) [%]	98.9		70.6		20.7		96.6		56.1		94.5		95.2		41.7	
	大腸菌群(デソ) [%]	87.9		63.2		59.4		91.5		18.4		89.1		79.2		-864.9	
	一般細菌 [%]	94.1		42.5		92.9		89.3		-32.4		92.7		96.1		-17.7	

水路は2本の水路を直列につないだものだが、それぞれの末端には堰を設けているため、それぞれの末端にあたる「8」、「out」では水面が高くなっていた。しかし、流速の大きいRUN6、RUN7を含めて、それぞれの末端部で玉砂利が堆積していることはなかったため、玉砂利が流されていることはなかったものと考えられる。また、傾斜を大きくしているRUN7では他の場合に比べ水面及び玉砂利層が不規則になっていた。レイノルズ数は流量の大きいRUN6、RUN7で大きくなっていた。

表2に実験結果を示す。SSは全てのケースにおいて減少していた。水量が多く、乱流状態となっていたRUN6、RUN7ではSSが巻き上がり減少率に差が出るのが予想されたが、RUN6、RUN7でも他のケースと同程度減少していた。減少したSSは120～150時間の通水の間に沈降したものと考えられる。ただし、水路床を生物層としたRUN8ではSSがほとんど減少していなかった。これは沈降するSSと、玉砂利から剥離する生物層がバランスしており、その結果SSの減少が見られなかったものと考えられる。COD_{Cr}も同様にほとんどのケースにおいて減少していたが、水温の低いRUN1、RUN4、RUN7では逆に増加していた。水温が低いためにCOD_{Cr}が微生物によって分解されることがなかったため減少はしなかったものと考えられるが、増加した原因は明らかではない。窒素、リンはケースごとに明確な差は見られなかったが、ほとんどのケースではNO₃-Nが増加することとなり、流下過程において硝化が進んでいることがわかった。総じて水路内は好氣的に保たれており、有機物等は分解されている傾向となっていた。

一方、衛生学的指標では、大腸菌は全てのケースにおいて97%以上の除去率となったが、大腸菌群(クロモ)、大腸菌群(デソ)、一般細菌ではケースごとに差が出ることとなった。まず、水温の異なるケースとしてRUN1(平均9.4℃)とRUN2(平均24.5℃)における指標細菌の除去率を比較すると、RUN1では大腸菌群(クロモ)が98.9%、大腸菌群(デソ)が87.9%、一般細菌が94.1%となっているのに対し、RUN2ではそれぞれ70.6%、63.2%、42.5%となっている。

これまでの報告において、御手洗らは、河川調

査により大腸菌群数が水温と正比例の関係があるとしていること⁵⁾や、過年度に土木研究所が行った基礎実験では、20℃では生理食塩水中(微量の培地成分を含む。)の大腸菌群数は増加するのに対し、4℃では時間に伴う減少が確認されていること³⁾などがわかっていることから、水温が高い方が大腸菌群が増殖することが予想された。本調査でも水温が高い方が大腸菌群、一般細菌が多くなっており、過去の調査結果と一致する結果となった。

また、塩素消毒後の塩素中和の有無においても衛生学的指標に差が出た。RUN2とRUN3を比較すると、大腸菌群はクロモカルトとデソキシコールのいずれの培地でも塩素を中和したケースの方が除去率が低くなった。一方、一般細菌は塩素を中和しなかった方が除去率が低くなった。また、水温が異なるために明確な判断はできないが、RUN4とRUN5を比較しても、指標細菌の除去率に大きな差が生じている。この差は、水温だけが異なるRUN1とRUN2の差よりも大きいので、塩素中和の有無の差が現れているものと考えられる。ただし、RUN2よりも、塩素中和を施したRUN3の方が一般細菌の除去率が高くなっている原因、及びRUN5で一般細菌が増加している原因は明らかでない。

また、水路床を生物層としたRUN8では、生物層による指標細菌の捕食によって除去率が高くなることが予想されたが、大腸菌以外の指標細菌の除去率は低くなっており、生物層による捕食は確認されなかった。RUN8では他のケースに比べて通水後のSSが高くなっているため、採水時に剥離した生物層と一緒に採取した可能性が考えられる。このため、大腸菌群(デソ)が10倍程度まで増加する結果になったものと考えられるとともに、大腸菌群はSSに付着していたものと考えられる。

一方、生物層以外のファクターである、水路床、水量、水路勾配による衛生学的指標の差異は見られなかった。水量を増加させたり、水路勾配を大きくさせたりすることにより流れが乱れることになり、沈降したSSやそれに付着した指標細菌が巻き上げられ衛生学的指標に影響を及ぼすことが予想されたが、その影響は確認できなかった。

また、過年度の研究では、水路床が玉砂利の場

表-3 衛生学的指標の相関係数

	大腸菌	大腸菌群 クロモカルト	大腸菌群 デソキシコール	一般細菌
大腸菌		0.154	0.214	0.348
大腸菌群(クロモ)	-		0.664	0.330
大腸菌群(デソ)	-	-		0.899
一般細菌	-	-	-	

表-4 付着指標細菌数

		RUN4	RUN5	RUN6	RUN7	RUN8
		玉砂利			生物層	
実験条件	水路床					
	塩素中和	無	有	無	無	無
	流量 [L/min]	15	15	100	100	15
	勾配 [%]	2	2	2	7	2
付着細菌	水温 [℃]	11.9	24.4	12.1	13.3	20.1
	大腸菌 [CFU/g]	4	2	-1	-2	-26
	大腸菌群 (クロモ) [CFU/g]	261	15,340	290	-464	-5,306
	大腸菌群 (デソ) [CFU/g]	101	180	-18	56	-285
	一般細菌 [CFU/g]	12,198	18,442	6,077	-2,331	-3,167

合は玉砂利への吸着や空隙への捕捉により、水路床がSUSの場合よりも衛生学的指標に影響が出る結果となったが⁴⁾、本実験ではその影響は確認できなかった。この原因として、指標細菌が砂利やその付着生物によって吸着、分解されることが考えられる。これらのことから、本実験の範囲では、乱流状態としても衛生学的指標にあまり影響を及ぼさないことや、水路床よりも、わずかながら存在する残留塩素が指標細菌に影響を及ぼしやすいことがわかった。

表-3には各衛生学的指標の除去率に関して、相関係数を示す。なお、ここでは除去率が他とは大きく異なっているRUN8を除外して計算した。大腸菌はすべてのケースにおいて100%に近い除去率を示していたため、ケースによって差が生じた他の指標とは相関がなかった。一方、デソキシコール酸塩培地による大腸菌群と一般細菌は高い相関が見られた。しかし、これらが実際の病原性微生物とどれだけの相関があるのかが明らかでないため、今後の研究が必要であると考えられる。

表-4には玉砂利への付着衛生学的指標を示す。これは通水後の付着衛生学的指標から通水前の付

着衛生学的指標を引いた差を示しており、正の値になっているものは通水中に指標細菌が玉砂利やそれへ付着した生物層に付着して増加したことを示し、負の値になっているものは通水中に指標細菌が玉砂利から離れ、流出したことや、死滅により指標細菌が減少したことを示している。

表-4からは、流量の少ないケースでは指標細菌が玉砂利へ付着しているのに対し、流量の多いケースでは必ずしも付着しておらず、むしろ付着衛生学的指標は減少している場合が多かった。しかし、玉砂利へ付着した指標細菌数は通水中に減少した指標細菌の0.01%～3%にとどまっており、付着による指標細菌の除去はあまりなく、これらは死滅または被捕食によって減少したものと考えられ、過去の調査⁴⁾と一致する

結果となった。

また、付着した指標細菌が減少した場合でもその減少数は水中の指標細菌数に比較して非常に少なくなっていた。したがって、水路を流下する際は水路床への吸着（または脱着）の影響は少なく、ほとんどが別の要因（例えば被捕食、死滅等）の影響を受けているものと考えられた。RUN8では、付着していたすべての指標細菌が減少することとなった。RUN8では他のケースに比較して通水後のSSが高いことから、何らかの理由で付着していたSSが巻き上がり、同時に指標細菌も巻き上がったため玉砂利に元々付着していた指標細菌が剥離し、減少したものと予想された。

4. まとめ

- 1) 塩素消毒した下水二次処理水を模型水路に通水した結果、大腸菌以外の衛生学的指標は水温、塩素の中和の影響を受けることとなったが、本実験の範囲では水路床、水量、水路の勾配の影響は受けなかった。大腸菌はいずれの場合でも除去率が高かった。
- 2) 水路床を生物層とした場合には各指標生物が減少することが予想されたが、本実験では巻き上

- げられた SS 等の影響によりそれらは確認できなかった。
- 3) 各衛生学的指標の相関係数を調べたところ、デソキシコール酸塩培地による大腸菌群と一般細菌には相関が見られた。しかし、実際の病原性微生物とこれら衛生学的指標との相関は未調査であり不明であるため、今後の研究が必要と考えられる。
 - 4) 玉砂利に付着した指標細菌数は供試水中の全指標細菌数に比べて極めて微少であり、通水により減少した指標細菌はほとんどが付着以外の要因（例えば被補食、死滅）によるものと考えられた。
 - 4) 鈴木穰、畑津十四日、中村みやこ：水系における病原性微生物の挙動に関する研究、国土技術政策総合研究所資料第 10 号 平成 12 年度下水道関係調査研究年次報告書集、pp.61 ~ 68、平成 13 年 11 月
 - 5) 御手洗清：愛媛県における河川の水質について、四国公衆衛生学雑誌、Vol.28、No.1、pp.148 ~ 151、昭和 58 年

参考文献

- 1) 国土交通省都市・地域整備局下水道部ホームページ <http://www.mlit.go.jp/crd/city/sewerage/>
- 2) 例えば、平田強：塩素消毒と細菌、水道協会雑誌、Vol.62、No.5、pp.6 ~ 9、平成 5 年 5 月
- 3) 鈴木穰、小越眞佐司、諏訪守、畑津十四日：水系における病原性微生物の挙動に関する研究、土木研究所資料第 3755 号 平成 11 年度下水道関係調査研究年次報告書集、pp.59 ~ 64、平成 12 年 10 月

斎野秀幸*



国土技術政策総合研究所
下水道研究部下水処理研究室研究官
Hideyuki SAINO

中島英一郎**



国土技術政策総合研究所
下水道研究部下水処理研究室長
Hideichiro NAKAJIMA