

飲料水中の微生物による感染症対策に関する研究報告書

—紫外線の*Cryptosporidium parvum*オーシスト不活化能力の予備的検討—

研究担当者 麻布大学環境保健学部 教授 平田 強

要旨

水温20℃、pH7.2のリン酸塩緩衝水中の精製*Cryptosporidium parvum* HNJ-1株オーシストに紫外線を照射した。その結果、SCIDマウスで評価した感染性は照射線量の増加に伴って照射開始時点からおおむね指数関数的に速やかに減少し、不活化(生残率の対数值)と紫外線照射線量との関係が直線になる傾向が認められた。このときの $1\log_{10}$ 不活化紫外線照射線量はわずか0.7mW s/cm²程度と極めて小さかった。続いて、不活化に及ぼす水温の影響を5, 10, 30℃の3とおりの温度条件で調べたところ、 $2\log_{10}$ 不活化紫外線照射線量はそれぞれ1.2, 1.1, 1.0mW s/cm²となり、水温は実質上、紫外線要求性に影響しないとみなしうるレベルの影響しか示さなかった。また、紫外線線量率の影響については照射水表面位置の線量率0.048, 0.12, 0.60mW s/cm²での3とおりで調べた。その結果、 $2\log_{10}$ 不活化紫外線照射線量はそれぞれ1.2, 1.2, 1.3mW s/cm²となり、実験した範囲の紫外線照射線量率では照射強度の影響は実質上無いとして取り扱うことのできるものと判断された。このように、紫外線は極めてわずかの線量で*C.parvum*オーシストを有意に不活化することができ、水の有効な消毒方法として紫外線がクローズアップされた。しかしながら、脱囊力の低下で評価したときの不活化の様子は感染の場合と大きく異なり、照射開始直後に大きなラグを生じた後に不活化が進行するパターンとなった。また、不活化に要する紫外線照射線量は感染で評価した場合よりも極端に大きく20℃における $2\log_{10}$ 不活化紫外線照射線量は180~220mW s/cm²にも達し、感染により評価した場合の約200倍の線量が必要であった。このことは、少量の紫外線照射で感染性を消失させることは可能であるが、それらのオーシストのほとんどすべてが生物学的にはなお生きていることを示している。紫外線消毒方法の確立には、この感染力はないが生きている状態のオーシストがその後の環境条件下で回復して感染性を取り戻すかどうか重要なキーとなろう。

1. はじめに

クリプトスポリジウムによる水系感染の集団発生が世界各地から報告されており、わが国でも、1994年に平塚市駅前雑居ビルで受水タンクの汚染、1996年には埼玉県越生町での町営水道で不適切なる過処理を原因とする集団感染が発生している(黒木, 埼玉県衛生研究所)。急速砂ろ過法(凝集沈殿+砂ろ過)のクリプトスポリジウム除去能は、適正に管理しても $2-3\log_{10}$ 程度と考えられており(Robertson *et al.*, 1994), それを大きく超えるような除去が達成できるとの報告はほとんどない。したがって、急速砂ろ過法で浄水処理している浄水場の原水がクリプトスポリジウムにより汚染された場合は、その1/1,000~1/100がろ過水中に漏出する可能性があることになる。また、クリプトスポリジウムは塩素抵抗性が著しく高いとされている(Korich *et al.*, 1990; Gyurek *et al.*, 1997)。最近になって、従来の知見よりも塩素感受性であって、pH7での遊離残留塩素の感染の $1\log_{10}$ 不活化CT値が800mg min/L程度であることが明らかにされたが(Hirata *et al.*, 2000a; 志村ら, 2001), それでも、現行の水道で適用されている塩素消毒レベルでは十分な不活化は期待できないことには変わりはない。したがって、原水の汚染レベルによっては、水道水が感染症

集団発生の原因となりうる危険性がある。このような場合の浄水処理対応策としては、除去機能の強化か、消毒機能の強化あるいはその両者が必要となる。

クリプトスポリジウム除去機能の向上にはろ過池の運転管理方法の改良、除濁機能の著しく高い膜ろ過法の導入などが考えられる。しかし、ろ過池運転管理方法の改良では一定レベルの除去能力の向上が可能であるが、特段に顕著な向上を達成するのは困難である。また、膜ろ過法では財政上の負担が大きいという欠点があり、条件によっては導入に多大の困難を伴う場合も少なくない。このため、クリプトスポリジウムの不活化に優れた消毒方法の確立が望まれるところである。また、浄水システムの信頼性を高レベルに維持するためには、ろ過に代表される物理的除去方法とは異なる原理に基づく除去あるいは不活化方法を導入して、二段階バリアーを常備することが望ましい。

クリプトスポリジウムの不活化に優れた消毒方法としては、オゾン、二酸化塩素、紫外線等を候補として掲げることができる。このうちオゾンはクリプトスポリジウム $2\log_{10}$ 不活化CT値が2~3 mg min/Lとされ、有力な消毒剤と考えられているが、不活化力が水温に大きく依存するため、10℃を下回る低水温時の不活化CT値が数十mg min/Lと著しく大きい（Joret *et al.*, 1998; Hirata *et al.*, 2000b）。このため、オゾンの高い消毒効果を期待できるのは水温の高い（常時15℃を超える）ところに限定され、寒冷地の低水温期には十分な効果が期待できない。二酸化塩素は塩素よりもクリプトスポリジウム不活化力に優れるが、 $2\log_{10}$ 不活化CT値は60~80mg min/L程度であり、水道における最大注入濃度が2mg/Lに制約されている現状では、二酸化塩素単独で十分なレベルの不活化を達成することは困難である。また、化学消毒剤は、消毒剤の種類によって差異はあるものの、本質的に温度依存性があることは否めず、低水温時における効果の低減に対する配慮を必要とする性格を有する。

紫外線のクリプトスポリジウム不活化能力はこれまで、脱囊評価による $2\log$ 不活化照射線量はおおむね100mW s/cm²レベルにあることから（Ransome *et al.*, 1993; Campbell *et al.*, 1995）、必ずしも有効ではないと考えられてきた。感染による評価結果としてはLorenzo *et al.*（1993）の研究があるにはあるが、残念ながら定量性に欠け、工学的応用のための基礎データとして使用できない。しかし、つい最近、感染で評価するとクリプトスポリジウムは著しい紫外線感受性であることを示す証拠が得られた（Linden *et al.*, 2000; Clancy *et al.*, 2000; 平田, 2000（未発表））。下水道分野ではすでに紫外線消毒方法が導入されており、水の消毒装置として装置工学上の一定レベルの信頼性が確立されていることから、その効果の確認並びに水道における適用条件の明確化ができれば、クリプトスポリジウム対策のための新たな消毒技術の一つとして選択肢に加えることができる可能性が極めて高い。また、紫外線は物理線なので、化学消毒剤とは異なり、温度影響が少ないことが予想される。

そこで、本研究では、低圧水銀ランプの発生する紫外線のクリプトスポリジウム不活化能力の評価と、一定レベルのオーシスト不活化達成に対する紫外線照射線量要求性に及ぼす水温と紫外線照射線量率の影響を実験的に評価した。

2. 材料と方法

2.1 クリプトスポリジウムの供試オーシスト

大阪市立大学医学部医動物学教室井関基弘博士から分譲され、麻布大学生物科学総合研究所感染工リアでSCIDマウスにより継代維持している*Cryptosporidium parvum*の人由来株HNJ-1のオーシストを精製して実験に供した。

2.2 精製オーシスト懸濁液の調製

クリプトスポリジウム感染SCIDマウスの排出糞便を水中に捕捉して収集し、シヨ糖浮遊法で繰り返し分離精製した後、PBSで数回遠心洗浄して、精製オーシスト懸濁液とした。

2.3 紫外線の照射

Figure 1の実験装置を使用した。

装置中央部の照射用試料室の温度を恒温水槽からの循環水により所定の温度に設定した後、オーシスト濃度 10^6 /mLの10mM PBS 10mLを入れた照射容器（60mmφプラスチック製ペトリ皿、蓋なし）をセットした。これに回転子を入れ、マグネチックスターラで連続回転しながら、試料の温度が所定の温度に達した後、これに低圧水銀ランプにより紫外線を照射した。所定時間照射後、ランプスイッチを切り、感染等の試験に供した。

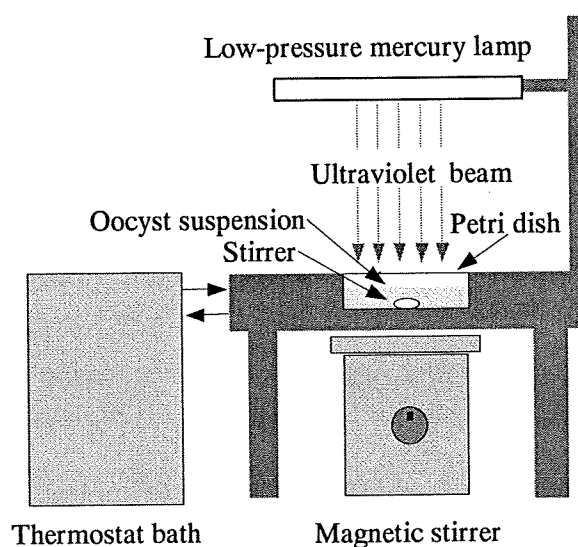


Figure 1 A batch reactor for ultraviolet irradiation

照射する紫外線の強度すなわち線量率 (mW/cm^2) は、試料水表面の位置とランプ間の距離により調整した。試料への紫外線照射線量率は、あらかじめ求めたランプからの距離と紫外線線量率実測値（紫外線線量計UTI-150-A(ウシオ電機製)により測定した値)の関係から得た推定値とした。試料への紫外線照射線量 ($\text{mW s}/\text{cm}^2$) は試料水表面における紫外線照射線量率の計算値と照射時間の積とした。なお、試料水層の厚さはわずか3.5mmであり、純水とオーシスト以外に紫外線吸収物質をほとんど含まない実験系であることから、紫外線強度は全層同一として取り扱った。また、オーシストの全投影面積はペトリ皿底面積の約1/10であることから、すべてのオーシストが同一強度の

紫外線に曝露したものとみなした。

紫外線ランプは、最初の実験「(1) 紫外線の不活化能力の評価」ではNEC製アイ殺菌灯(15W)を用いたが、その後製造中止となったことから、今後の研究の連続性に配慮して紫外線ランプを変更することとし、それ以降の実験では、岩崎電気(株)製の出力5Wの低圧水銀ランプ QCGL 5W-14 97D (ピーク波長253.7nm)を使用した。

2.4 実験条件

(1) 紫外線の不活化能力の評価

pH7.2, 水温20℃, 紫外線照射線量率0.23mW/cm²で紫外線の不活化能力を測定した。なお、この実験のみ、NEC製アイ殺菌灯(15W)により紫外線を照射した。

(2) 温度依存性

温度の影響については、紫外線照射線量率0.24mW/cm²の一定条件下、評価水温5℃, 10℃, 30℃の3とおりとし、それぞれについて5sec(照射線量1.2 mW s/cm²), 7sec(照射線量1.7 mW s/cm²), 10sec(照射線量2.4mW s/cm²)照射した。

(3) 紫外線照射線量率依存性

紫外線の照射強度の影響については、評価水温を20℃で一定、紫外線照射線量率を0.048, 0.12, 0.60 mW/cm²の3とおりとし、それぞれの照射線量率で照射線量が1.2, 1.7, 2.4mW s/cm²となるように照射した。

2.5 感染試験

供試実験動物として6週齢の免疫不全SCIDマウスを用い、MPN法(5倍希釈法, 各段階5匹)により試験した。感染試験はすべて麻布大学大学生物科学総合研究所感染エリアで行った。投与オーシスト数は予備実験で得た感染力推定値を参考にして試験に供する希釈段階を慎重に選択し、少数の犠牲ですむように配慮した。感染成立の有無は糞便におけるオーシストの有無により判定した。MPN値の計算にはHurley and Roscoe (1983)の提案したプログラムを使用した。

2.6 脱囊試験

脱囊を評価する方法としてWoodmansee(1987)の方法とCampbell *et al.*(1995)の方法があり、Campbell *et al.*(1995)の方法がより操作性に優れるが、不活化レベルの高い試料では、両方法の脱囊率が必ずしも一致しない。そこで両方法の脱囊力を比較検討したところ、生育活性評価のための方法としてはWoodmansee(1987)の方法が優れていると判断された。しかし、脱囊試験方法に関するWoodmanseeの原法やCampbell *et al.*の原法ではいずれも新鮮オーシストの脱囊率がわずか50%程度にとどまるため、少量の消毒剤に暴露したオーシストの脱囊率が消毒剤未曝露のオーシストよりも高くなるという、生育活性評価上の大きな欠点がある。この問題点は、新鮮オーシストについては脱囊処理前に酸処理を施すことにより充分克服できるが、消毒剤に暴露したオーシストでは酸処理すると脱囊率が低下する傾向があって酸処理時間の検討が必要と判断された。そこで、消毒剤未曝露オーシストの脱囊率を最大にでき、しかも消毒剤暴露オーシストの脱囊率を低下させない酸処理時間を検討した結果、37℃, 5分間の酸性Hanks液(pH2.75)による前処理により、無処理の

新鮮オーシストの脱囊率を95%以上のレベルまで高めることができ、しかも、消毒剤に曝露したオーシストの脱囊率をほとんど低下させないことが明らかになった（小澤ほか, 1999）。そこで本研究では、この結果に基づき、脱囊処理の前に37°Cで5分間、酸性Hanks液(pH2.75)に浸漬する前処理操作を加えたのちWoodmansee(1987)の方法で脱囊処理する方法を採用した。なお、脱囊率は、原則的に〔(遊離したスポロゾイト数×4)／(酸処理前のオーシスト数)〕とし、脱囊評価による不活化レベルは、消毒剤未曝露オーシストの脱囊率に対する消毒剤曝露オーシストの脱囊率の比(－)により表示した。

3. 結果及び考察

3.1 20°C, 照射線量率0.23mW s/cm²における紫外線のオーシスト不活化力

20°Cで、アイ殺菌灯からの紫外線照射線量率0.23mW s/cm²に曝露したときの照射線量と感染力の低下の関係をFigure 2に示した。感染力を1 log低下させるのに必要な紫外線照射線量は約0.7mW s/cm²であり、著しい感受性を示した。

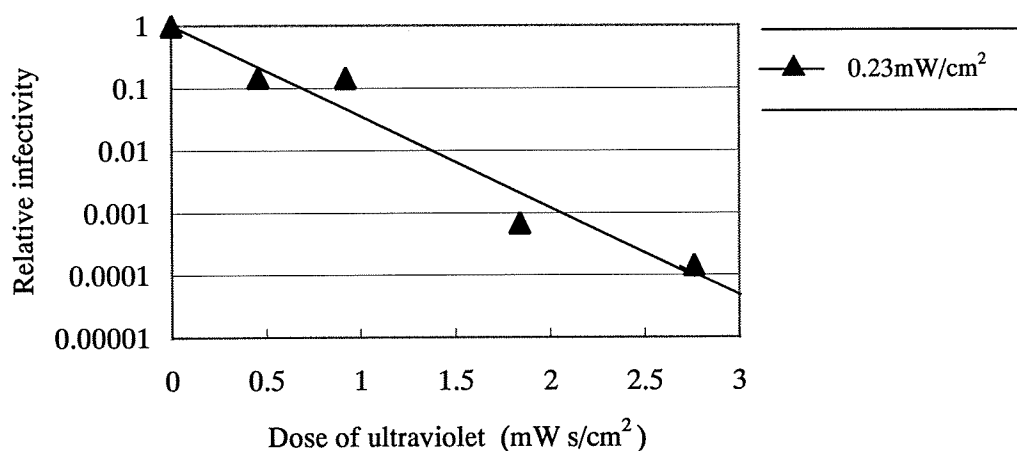


Figure 2 Effect of ultraviolet on infectivity of *C.parvum* oocysts at 20°C

3.2 紫外線の不活化効果に及ぼす水温の影響

水温5, 10, 30°Cにおける紫外線照射線量と感染力の低下の関係をFigure 3に示した。感染性は紫外線照射線量の増加に伴って指数関数的に減少した。感染の2log₁₀不活化照射線量は5, 10, 30°Cでそれぞれ1.2, 1.1, 1.0mW s/cm²であり、不活化線量に及ぼす温度の影響は極めて小さかった。この結果は、感染力を一定レベル減少させるのに必要な紫外線照射線量の増加は、温度が10°C低下してもわずか7%程度、20°Cの低下でもたかだか14%にすぎないことを示している。このように、紫外線消毒では温度の影響は実質上無視できるほど小さい。したがって紫外線消毒ではオゾンや他の化学消毒剤でみられる低水温時における不活化力の著しい低下がほとんど生じず、一定量の紫外線を照射すれば水温に関係なく同一レベルの不活化が達成されることを示している。

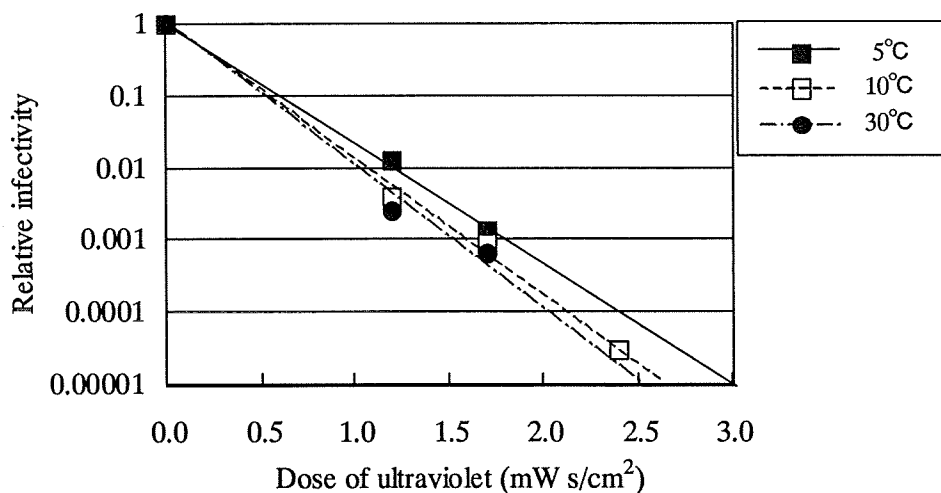


Figure 3 Effect of temperature on the ultraviolet inactivation of *C. parvum*

3.3 紫外線照射線量率の影響

水温20°Cで、線量率を変えて紫外線を照射したときの感染性の低下状況をFigure 4に示した。データのばらつきが大きく、必ずしも確定的数値情報にはなっていないが、この場合も感染性は紫外線照射線量の増加に伴っておおむね指数関数的に減少しているとみることができよう。そこで、感染性は照射線量の増加に伴って指数関数的に減少するとして整理すると、感染性を $2\log_{10}$ 低下させるのに必要な紫外線照射線量は、線量率0.048, 0.12, 0.60mW/cm²のときそれぞれ1.2, 1.2, 1.3mW s/cm²と計算された。照射線量率を10倍に増加しても、同一レベルの不活化を達成するのに必要な照射線量は計算上わずか10%程度の増加にすぎないことになる。

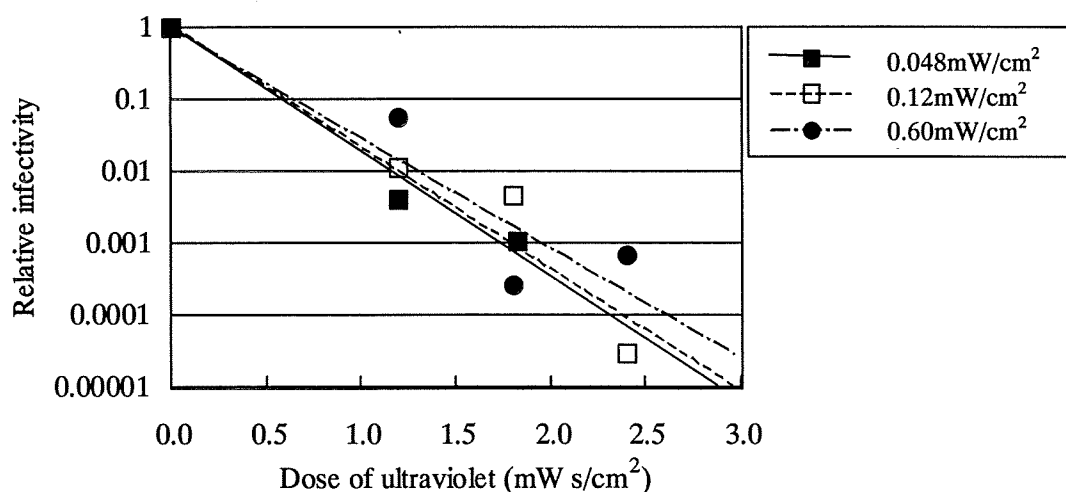


Figure 4 Effect of intensity on the ultraviolet inactivation of *C. parvum*

温度影響の場合と比較して精度があまり良くないデータしか入手できなかったため、今回の実験結果から直ちに一定レベルの不活化達成に必要な紫外線照射線量に及ぼす照射線量率の影響を定量的に議論することはできないが、紫外線の照射強度を12.5倍に高めても、同一レベルの不活化達成に

必要な紫外線照射線量に顕著な影響があるとの兆候は認められなかったことから、感染力の低下は紫外線照射線量率にあまり依存しない可能性が示唆される。

3.4 脱嚢

脱嚢で評価した生育活性で不活化を評価すると、必要紫外線照射線量は感染評価に比べると著しく増大することが知られている（100倍程度以上）。このため本研究では、脱嚢評価系での実験は、水温および照射線量率の影響評価実験のいずれも、感染評価系と同一の紫外線照射線量率としつつ、照射時間を大幅に長くした条件で行った。

水温影響の実験結果をFigure 5に示した。脱嚢率は、感染と異なり、照射開始直後に大きなラグが生じたのち不活化が進行する、いわゆるマルチヒット型の減少パターンを示した。脱嚢率を $2\log_{10}$ 低下させるのに必要な紫外線照射線量は、水温5、10、30°Cでそれぞれ290、260、230mW s/cm²となり、弱いながらも、温度が高いと必要紫外線照射線量が減少する傾向が認められた。水温が10°C低下したときの必要紫外線照射線量の増加は平均11%程度であり、数値上は感染の場合の7%よりも若干高い温度依存性を示す結果となったが、それでも水温が0°Cに低下した場合の必要紫外線照射線の増分は22%にすぎないので、温度依存性は実質上ないものとみなして扱っても大きなずれは生じない可能性が高いといえよう。

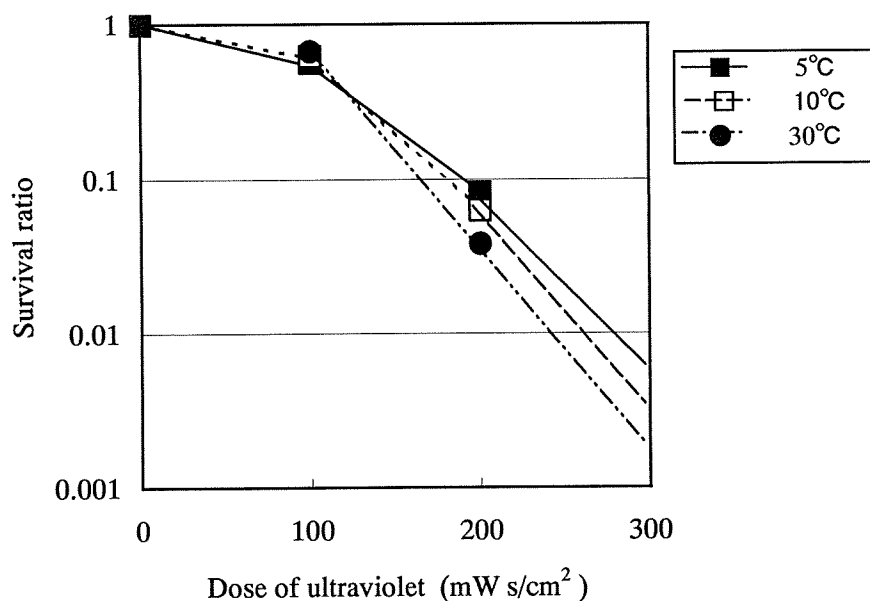


Figure 5 Effect of temperature on the ultraviolet inactivation of *C.parvum* evaluated by excystation

照射線量率の影響の評価結果をFigure 6に示す。照射線量率0.048及び0.60mW/cm²のときの脱嚢率 $2\log_{10}$ 低下紫外線照射線量はそれぞれ180、220mWs/cm²であり、照射線量率が必要紫外線照射線量に及ぼす影響は極めて小さかった。感染の場合と同様、精度があまり良くないデータしか得られなかったため、今回の実験結果から照射線量率への依存性を確定的に評価することはできな

ったが、紫外線の照射強度を12.5倍に高めても顕著な照射線量率依存性は認められなかったことから、脱囊率の低下は紫外線照射線量率や照射時間に依存しないか、依存したとしても依存度はかなり小さいことが推測される。

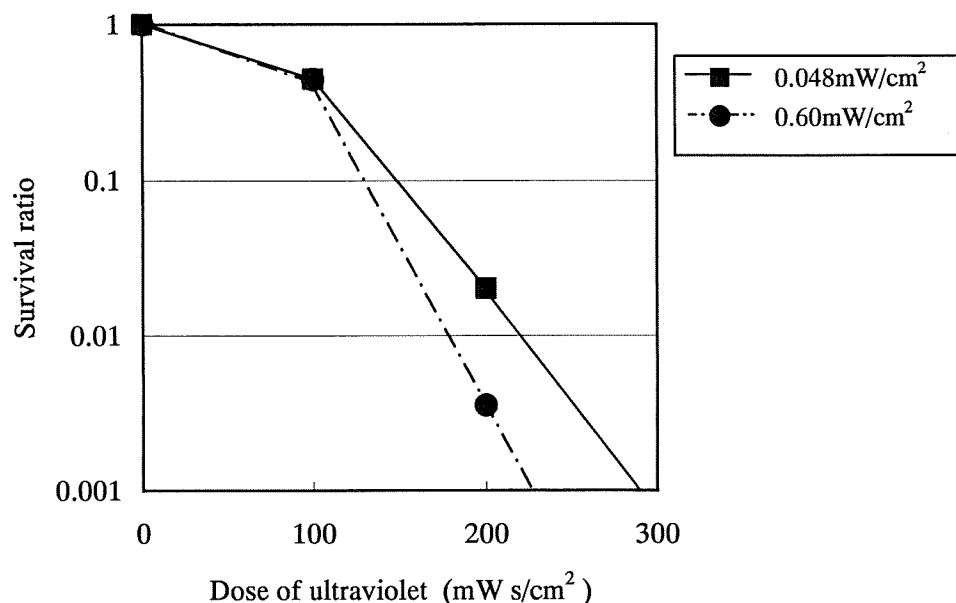


Figure 6 Effect of intensity on the ultraviolet inactivation of *C.parvum* evaluated by excystation

4. まとめ

本研究では、紫外線のクリプトスポリジウム不活化力を感染と脱囊で評価した。また、不活化に要する紫外線線量率に及ぼす水温と照射線量率の影響を調べた。その結果、以下の知見を得ることができた。

- (1) *C.parvum*オーシストの感染性は、紫外線照射線量の増加に伴って指数関数的に減少し、不活化速度はいわゆるChick型で表すことができた。
- (2) 紫外線はクリプトスポリジウムの感染力を容易に奪うことができ、不活化1 log₁₀当たりの紫外線照射線量はわずか0.5~0.7 mW s/cm²にすぎなかった。
- (3) 紫外線照射線量率0.24 mW/cm²のとき、試験した5~30°Cの範囲で、水温10°Cの低下に伴う必要紫外線照射線量の増加率はわずか7%にすぎず、紫外線の不活化効果に及ぼす水温の影響は極めて小さかった。
- (4) 紫外線照射線量率が必要照射線量に及ぼす影響も小さく、線量率0.048~0.60 mW/cm²の範囲では、不活化に必要な紫外線照射線量に線量率の及ぼす有意な影響はほとんど認められなかった。
- (5) これらの結果から、紫外線照射はクリプトスポリジウムの感染性を奪うには極めて有効かつ実用的な手段であることが明らかになった。

(6) これに対して、不活化を脱嚢で評価した場合、不活化曲線は初期に脱嚢率の低下がほとんどみられない大きなラグが出現し、マルチヒット型となった。

(7) 脱嚢評価の場合、 $2 \log$ 不活化紫外線照射線量は $180 \sim 220 \text{ mW s/cm}^2$ となり、感染評価の場合の $1.0 \sim 1.3 \text{ mW s/cm}^2$ の約200倍にも相当する極めて多量の紫外線量が必要であった。

このように、紫外線は極めてわずかの照射線量でオーシストの感染性を著しく低下させることが明らかになり、オーシストの消毒方法としての高い有効性が強く示唆された。しかしながら、不活化の評価方法を感染とするか脱嚢とするかによって、要求される紫外線照射線量に著しい差異が生じた。このことは、紫外線照射によって感染性を喪失したクリプトスポリジウムオーシストがなお生物学的には生きている状態にあることを示している。

これらの「生きてはいるが感染力を喪失した」オーシストが紫外線照射後の環境で感染性を回復するのか、それとも想定されうる環境下では回復しないと考えるのが良いのかを明らかにすることが極めて重要である。もし、感染性が回復しないことが明らかになれば、紫外線照射は水中のクリプトスポリジウムの消毒・不活化方法として極めて有効かつ実用性の優れた方法となろう。今後の研究の進展が望まれる。

参考文献

Campbell A T, Robertson L J, Snowball M R and Smith H V (1995). Inactivation of oocysts of *Cryptosporidium parvum* by ultraviolet irradiation. *Water Science and Technology*, 29(11), 2583-2586.

Gyurek L L, Finch G R and Belosevic M (1997). Modeling chlorine inactivation of *Cryptosporidium parvum* oocysts. *Journal of Environmental Engineering*, 9, 865-875.

Harm W (1980). Biological effects of ultraviolet radiation. Cambridge University Press, New York, 31-39.

Hirata T, Chikuma D, Shimura A, Hashimoto A, Motoyama N, Takahashi K, Moniwa T, Kaneko M, Saito S and Maeda S (2000a). Effects of ozonation and chlorination on viability and infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts. *Water Science and Technology*, 41(7), 39-46.

Hirata T, Shimura A, Morita S, Kimura S, Motoyama N and Hoshikawa H (2000b). The effect of temperature on the efficacy of ozonation for inactivating *Cryptosporidium parvum* oocysts. *Proceedings of 1st World Water Congress of International Water Association*, 7, 148-149.

Hurley M and Roscoe M E (1983). Automated statistical analysis of microbial enumeration by dilution series. *Journal of Applied Bacteriology*, 55, 159-164.

Jennifer L Clancy (2000). UV rises to the *Cryptosporidium* challenge. *Water* 21, 10,

14-16.

- Joret J C, Baron J, Langlais B and Perrine D (1998). Inactivation of *Cryptosporidium* sp. oocysts by ozone evaluated by animal infectivity. *Proceedings of International Ozone Conference*, 739-744.
- 黒木俊郎 (1994). クリプトスポリジウムによる集団下痢症発生事件—神奈川県, 病原微生物検出情報. 15(11), 248-249.
- KG Linden, G-A Shin and MD Sobsey (2000). Comparative effectiveness of UV wavelengths for the inactivation of *Cryptosporidium parvum* in water. *Proceedings of 1st World Water Congress of the International Water Association*, 7, 99-100.
- Korich D G, Mead J R, Madore M S, Sinclair N A and Sterling C R (1990). Effects of ozone, chlorine dioxide, chlorine, and monochloramine on *Cryptosporidium parvum* oocysts viability. *Applied and Environmental Microbiology*, 56(5), 1423-1428.
- Lorenzo L M, Ares M M E, Villacorta M M and Duran O D (1993). Effects of ultraviolet disinfection of drinking water on the viability of *Cryptosporidium parvum* oocysts. *Journal of Parasitology*, 79, 67-70.
- Ransome M E, Whitmore T N and Carrington E G (1993). Effects of disinfectants on the viability of *Cryptosporidium parvum*. *Water Supply*, 11, 75-89.
- Robertson L J, Smith H V and Ongerth J E (1994). *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis. Part III: Development of water treatment technologies to remove and inactivate oocysts. *Microbiology*, 2, 18-28.
- 埼玉県衛生部 (1997). クリプトスポリジウムによる集団下痢症—越生町集団下痢症発生事件—報告書
- 志村有通, 竹馬大介, 森田重光, 平田 強 (2001). 塩素の *Cryptosporidium parvum* オーシスト不活化効果とその濃度依存性. 水道協会雑誌 70(1), 26-33.
- Water Environment Federation (1996). Other kinetic models, In: *Wastewater Disinfection, Manual of Practice FD-10*, 244-248.
- Woodmansee D B (1987). Studies of *in vitro* excystation of *Cryptosporidium parvum* from calves. *Journal of Protozoology*, 34, 398-402.

第3編

トレーサー粒子によるろ過効果の確認実験

トレーサー粒子によるろ過効果の確認実験

1. 研究目的

平成 8 年 10 月に「水道におけるクリプトスポリジウム暫定対策指針」が策定され、浄水処理工程においては、ろ過池の出口濁度を 0.1 度以下に維持することが求められることとなった。しかし、濁度と *Cryptosporidium parvum* オーシスト（以下、*C. parvum* オーシストと記す）の相関やその除去性、濁度計の信頼性等、不明な点も多く、安全性の確度を高めるために、より多くの情報が求められている。

浄水処理工程における *C. parvum* オーシストの処理性については、海外において先行して検討がなされてきているが、その結果は検討条件の違いもあり各報告間で大きな差が生じており、国内における実用面への応用は困難な面もある。また、一方で *C. parvum* オーシストそのものを使用した処理性評価のための実験は、安全性の面から規模等に制約を受けるため、*C. parvum* オーシストに代わる代替トレーサーを用いた評価手法の検討も行われつつある。

このような背景のもと、本研究では凝集沈澱、急速ろ過処理による *C. parvum* オーシストの除去性を再評価することを目的に、*C. parvum* オーシスト代替トレーサー粒子の検討と、この代替トレーサー粒子を用いた浄水処理実験を平成 9 年度から以下のような課題について実施してきた。

平成 9 年度 : *C. parvum* オーシスト代替トレーサー粒子（ジビニルベンゼン製、黒色）の選定。この粒子と人工原水を用いたジャーテスト及び 50 m³/d 規模のプラント実験による処理性の評価。

平成 10 年度 : 蛍光トレーサー粒子（PMMA 製、蛍光発色）の開発。トレーサー粒子と *C. parvum* オーシストとの浄水工程における挙動類似性の評価。蛍光トレーサー粒子と人工原水を用いた 50 m³/d 規模のプラント実験による処理性の評価。

平成 11 年度 : 実際の浄水場原水と実プラント規模（約 1,000 m³/d）の実験設備及びカラム実験設備による、主に冬期における凝集沈澱、急速ろ過、活性炭吸着処理の各工程における処理性の評価。

平成 12 年度 : 材質、性状の異なる新たな蛍光トレーサー粒子の検討と、実プラント規模の実験設備及びカラム実験設備による、春～秋期における除去性の評価

本報告書では、研究の最終まとめとして、平成 9 年度から平成 11 年度までの成果の概要と平成 12 年度の結果を以下に報告する。

2. 平成9年度研究成果の概要

2-1. *C. parvum* オーシスト代替トレーサー粒子の検討

2-1-1. トレーサー粒子の選定

C. parvum オーシストの代替トレーサー粒子に求められる要件としては、粒径、比重、粒子表面の電位（ゼータ電位）が *C. parvum* オーシストと類似していることがあげられる。*C. parvum* オーシストの粒径は表-2.1 に示すとおり、4~6 μm （平均 5 μm ）、真比重 1.05~1.10 であり、ゼータ電位は C. Drozd らにより pH = 6~6.5 で -25 mV と報告されている。このような物理特性を持ちかつ計測の容易性を考慮したトレーサー粒子として数種類の微粒子を検討した結果、硬質プラスチック製粒子（商品名：「マイクロパール（BBN）黒」）が *C. parvum* オーシストの代替トレーサーとして今回の実験に適していると考えられた。

選定した「マイクロパール（BBN）黒」の特性値を表-2.2 に示す。

表-2.1 *Cryptosporidium parvum* オーシストの性状

粒子径	長径 5.0×短径 5.4 μm (<i>C.parvum</i>)
真比重	1.05~1.10 g/cm ³
ゼータ電位	-25 mV (pH 6~6.5)
色	青リンゴ色 (FITC 染色, B 励起蛍光下)

表-2.2 代替トレーサー粒子の特性値

品名	マイクロパール（BBN）黒
材質	硬質プラスチック (主成分：ジビニルベンゼン)
粒子径	5.5±0.21 μm
真比重	1.19 g/cm ³
かさ比重	0.4~0.5 g/cm ³
ゼータ電位	-30 mV (pH 6.6)
色	黒（自然光下）
個数	10 ¹⁰ 個/g（黒色粉体）
メーカー	積水化学工業（株）

2-1-2. トレーサー粒子の計数方法の検討

トレーサー粒子の計数は、既知水量のサンプルを孔径 0.8 μm ポリカーボネートフィルターに通水し、フィルター上に残留するトレーサー粒子数を光学顕微鏡にて計数することとした。

フィルター上のトレーサー粒子数は計数の精度と手間を考慮して百から数百となるようにサンプル水量をチェックして計測した。サンプル水量が 1 mL の場合には通水誤差を小さくするために撥水ペンによる方法とし、サンプル水量が多く 10 mL 以上となる時にはガラスファネルによる方法を採用した。

計測の概略手順を図-2.1 に示す。

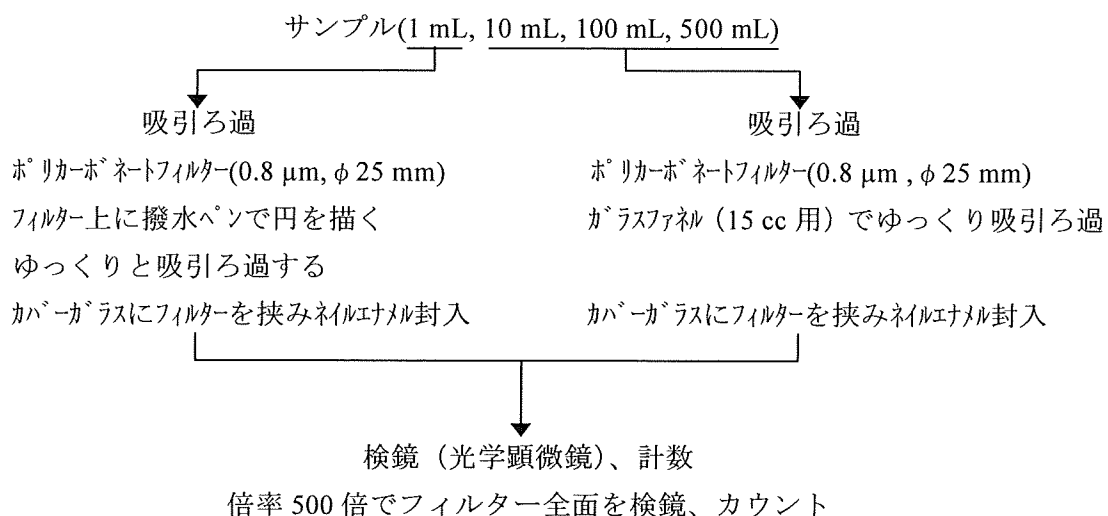


図-2.1 代替トレーサー粒子の計数手順

2-2. ジャーテスト実験

2-2-1. 実験方法

ジャーテストにより、選定したトレーサー粒子の凝集沈澱処理性について基本的な検討を行った。ジャーテストは、トレーサー粒子濃度を一定にし、原水に添加するカオリンの濃度と pH を変化させて行った。実験条件は以下の通りである。

<実験条件>

凝集剤の種類 : 硫酸バンド

注入率 : 2~15mg/L

pH の範囲 : 6~8

原水 : 工業用水+カオリン(0, 2, 5, 10 度)+トレーサー($10^5 \sim 10^6$ 個/L)

測定項目 : pH、濁度 (積分球式濁度計)、トレーサー数

ジャーテストの条件 : 水道施設設計指針・解説 p.171 に準拠

(急速攪拌 110rpm×1 分、緩速攪拌 40rpm×10 分)

2-2-2. 実験結果

ジャーテストの結果、一般的に知られているとおり、pH = 7~8 でカオリン濁度、トレーサー粒子の最適凝集領域が存在することがわかった。トレーサー粒子はカオリン濁度と同様の凝集パターンを示しており、その凝集機構はカオリン濁度のそれと類似しているものと考えられた。

pH=7 の条件下でカオリン添加量と凝集剤注入率を変化させて濁度とトレーサー粒子の除去性を比較した結果を図-2.2 に示した。両者はカオリン添加量が 2 mg/L 以上で類似のパターンを示した。またこの時、凝集剤注入率 15mg/L で、カオリン濁度 5 度までは 1 log 程度、カオリン濁度 10 度で 1.4 log のトレーサー粒子除去率が得られた。このジャーテスト結果から、トレーサー粒子の除去性はカオリンが 10 mg/L 程度共存した方がより高くなることがわかった。このことは、カオリン濁度のみならず河川系濁度の共存においても同様であると推察された。

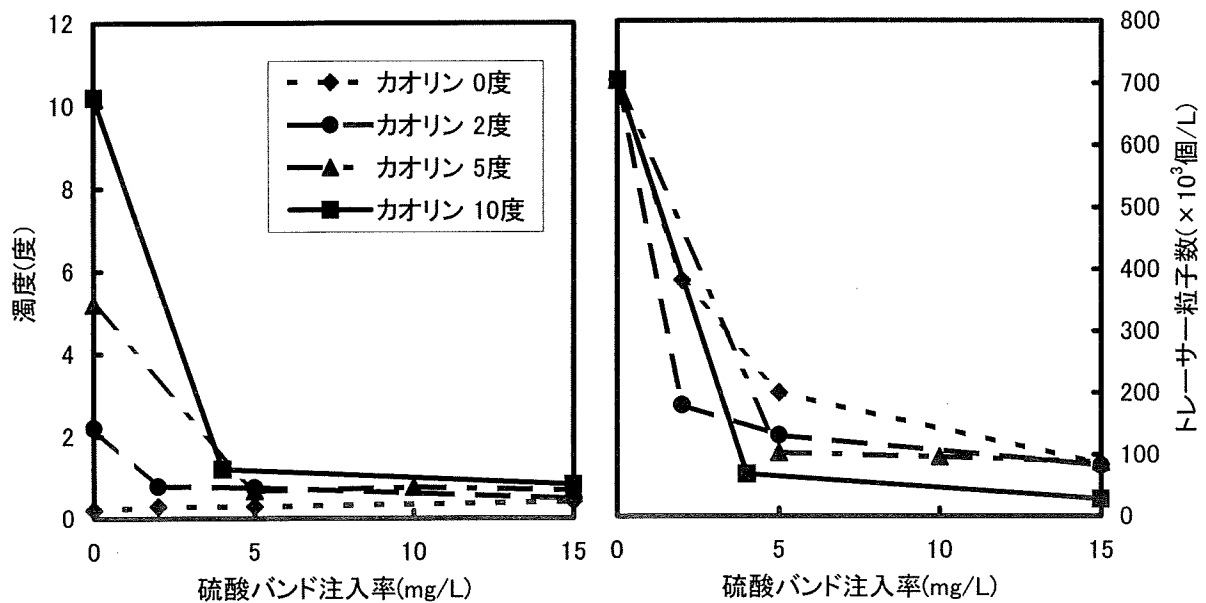


図-2.2 濁度及びトレーサー粒子の処理性

2-3. 50 m²プラント実験

2-3-1. 実験装置と実験手順

プラント実験に用いる原水は、工業用水 (5 m³/d) と、この実験の急速砂ろ過処理水を膜ろ過 (孔径 0.1 μ m) した循環水 (45 m³/d) との混合水に、所定のカオリン濁度 (0 または 10 度) 及びトレーサー粒子を一定濃度 (約 10^6 個/L = 10^9 個/m³) 添加したものを使用した。

実験プラントは図-2.3 に示すように凝集沈澱処理 (50 m³/d、傾斜管式沈澱池) 1 系列と急速砂ろ過処理 (25 m³/d、カラム径 ϕ 450 mm) 2 系列からなり、その内、急速砂ろ過処理 1 系列のみを測定の対象系列とし残りの 1 系列は通水のみとした。

凝集剤には硫酸バンドを使用し、注入率は無注入及びジャーテストで得られた最適凝集剤注入率とした。その時の pH はジャーテストでの最適 pH として 7.0 となるように苛性ソーダで調整した。

濁度の連続測定には、原水用にハック製表面乱反射式濁度計 6 型、凝集沈澱処理水用にハック社低レンジ濁度計 1720C 型、砂ろ過水はミクニカイ製低濃度精密レーザー濁度計ミルパシリーズ及び富士電機製高感度濁度計 ZYU 型を使用した。

急速砂ろ過処理水中の粒子数の測定には、Met-one 製ポータブル液中微粒子カウンター (2 μ m 以上の粒子総数及び 2~3, 3~5, 5~7, 7~10, 10~15 μ m の各粒子数) を使用した。

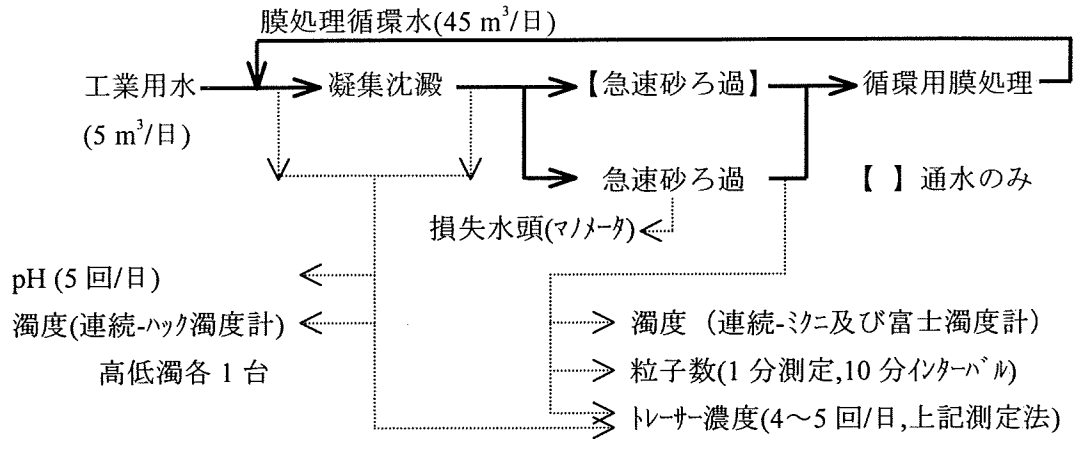


図-2.3 実験装置のフロー図

2-3-2. 実験結果

50 m²プラント実験により以下のことが明らかとなった。

- ・ カオリン無添加の低濁度原水 (0.7~0.8 度) に対し、凝集剤無注入では凝集沈澱処理におけるトレーサー除去は当然全くおこなわれない。急速砂ろ過処理では通水初期で1~2 log の除去率が認められるが、損失水頭の上昇がなくても通水時間とともにトレーサー粒子の除去は不可能となる。
- ・ 同じ低濁度原水に対し硫酸バンドを 2 mg/L 添加した場合、トレーサー粒子は凝集沈澱処理で除去はほとんど行われず、急速砂ろ過処理では平均 3 log の除去率が達成された。
- ・ 中程度の濁度 (カオリン濁度 10 度) でのトレーサー粒子の挙動は、硫酸バンド注入率 20 mg/L の凝集沈澱処理で 1.5 log の除去、急速砂ろ過処理で 2~3 log の除去が得られた。(図-2.4)
- ・ 低濁度、中濁度の急速砂ろ過通水開始時では、濁度、トレーサー粒子数、粒子カウンターの計測数 (5~7 μm) が各々安定時より高く、急速砂ろ過通水開始時の捨水の必要性を示唆していた。

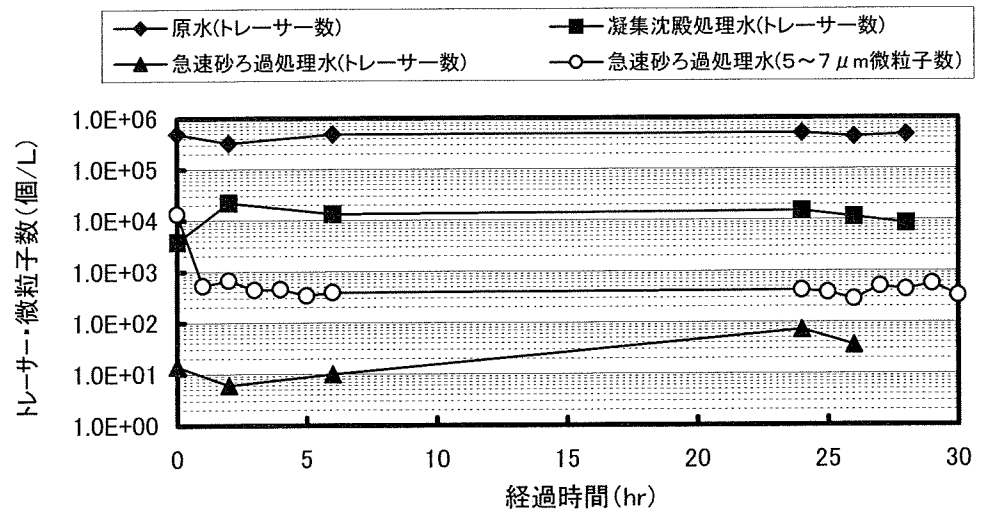


図-2.4 中濁度時のトレーサー粒子の除去性 (カオリン 10 度, 硫酸バンド 20 mg/L, pH=7)

3. 平成 10 年度研究成果の概要

3-1. 蛍光トレーサー粒子の開発

平成 9 年度の研究では、市販の硬質プラスチック粒子の *C. parvum* オーシストの代替トレーサー粒子としての有効性が確かめられたが、欠点として、計数に非常に時間がかかる（2 時間/検体）ことがあげられた。そこで、原水中でも他の夾雑物と明瞭に識別でき、安価でかつ水中で *C. parvum* オーシストと同様の挙動を示すトレーサー粒子の開発に取り組んだ。その結果、単分散性に優れ、迅速な計数が可能な蛍光トレーサー粒子を実用化した。粒子の性状を表-3.1 に示す。

表-3.1 蛍光トレーサー粒子の特性値

材質	PMMA (ポリメチルメタアクリレート)
粒子径	5.0±0.5 μm
真比重	1.19 g/cm ³
かさ比重	0.3~0.4 g/cm ³ (粉体時)
ゼータ電位	-29 mV (pH 6.6)
色	青 (UV 励起蛍光下)
個数	10 ¹¹ 個/L (乳白液状)
メーカー	粒子 : 総研科学 (株) 蛍光染色 : 日本光研工業 (株)

この粒子は、乳化重合により合成した球状の粒子を後染めし、余分な染料を水洗除去して作成したものであり、実験中において蛍光が保持されることを確認した。また、原水中の自然由来の蛍光物質ともはっきり目視で判別可能であることも確認した。トレーサー粒子のゼータ電位は、測定した pH 範囲においてオーシストとほぼ同様であった。

3-2. *C. parvum* オーシストと蛍光トレーサー粒子の挙動比較

3-2-1. 実験方法

ジャーテストと砂ろ過ミニカラム実験により、浄水処理工程における *C. parvum* オーシストと蛍光トレーサー粒子の挙動を比較検証した。ジャーテスト及び砂ろ過ミニカラム実験の実験条件は以下の通りである。

<ジャーテスト実験条件>

凝集剤の種類 : 硫酸バンド

注入率 : 10~20mg/L

pH の範囲 : 6~8

原水 : 工業用水+カオリン(0, 5, 10 度)

+*C. parvum* オーシスト(10⁵ 個/L)+蛍光トレーサー(10⁵ 個/L)

測定項目 : pH、濁度 (積分球式濁度計)、*C. parvum* オーシスト数、
トレーサー数

ジャーテストの条件 : 水道施設設計指針・解説 p.171 に準拠

(急速攪拌 110rpm×1 分、緩速攪拌 40rpm×10 分)

<砂ろ過ミニカラム実験条件>

凝集剤の種類 : 硫酸バンド

注入率 : 20mg/L

pH : 7

原水 : 工業用水+カオリン(10度)

+*C. parvum* オーシスト(10^6 個/L)+蛍光トレーサー(10^6 個/L)

上記条件にて得られたジャーテスト上澄水を砂ろ過原水とした。

カラム寸法 : 内径 200 mm ϕ

ろ層構成 : けい砂 600 mm (有効径=0.6 mm)

ろ過速度 : 120 m/d

測定項目 : pH、濁度 (積分球式濁度計)、*C. parvum* オーシスト数、
トレーサー数

3-2-2. 実験結果

ジャーテストおよび砂ろ過ミニカラムにおけるオーシストと代替トレーサー粒子の除去率 (log) の相関を図-3.1、3.2 にそれぞれ示す。この図が示すとおり、各条件において両者の間に良い相関があり、オーシストの代替指標として今回開発したトレーサー粒子が有効であることが確認された。

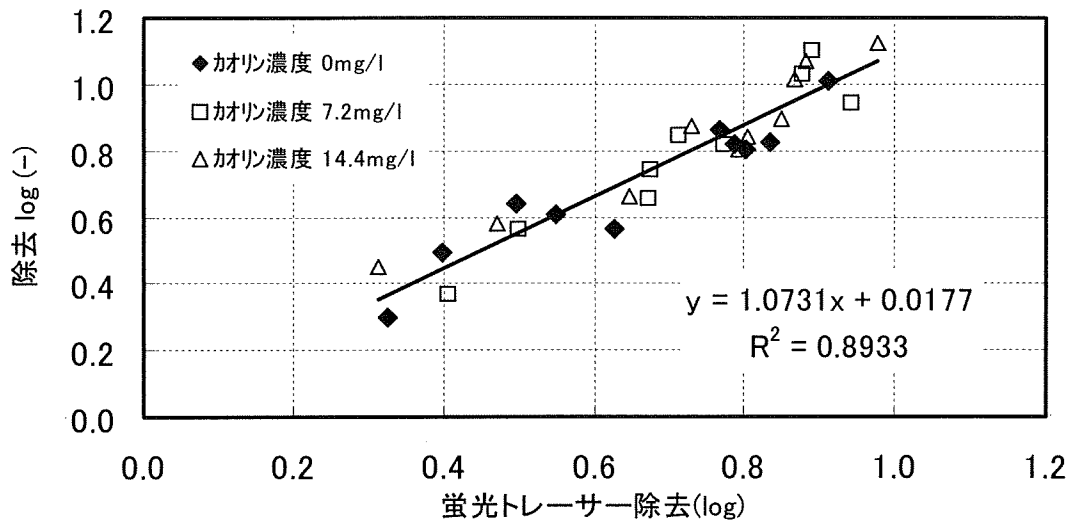


図-3.1 ジャーテストにおける除去率 (log) の相関

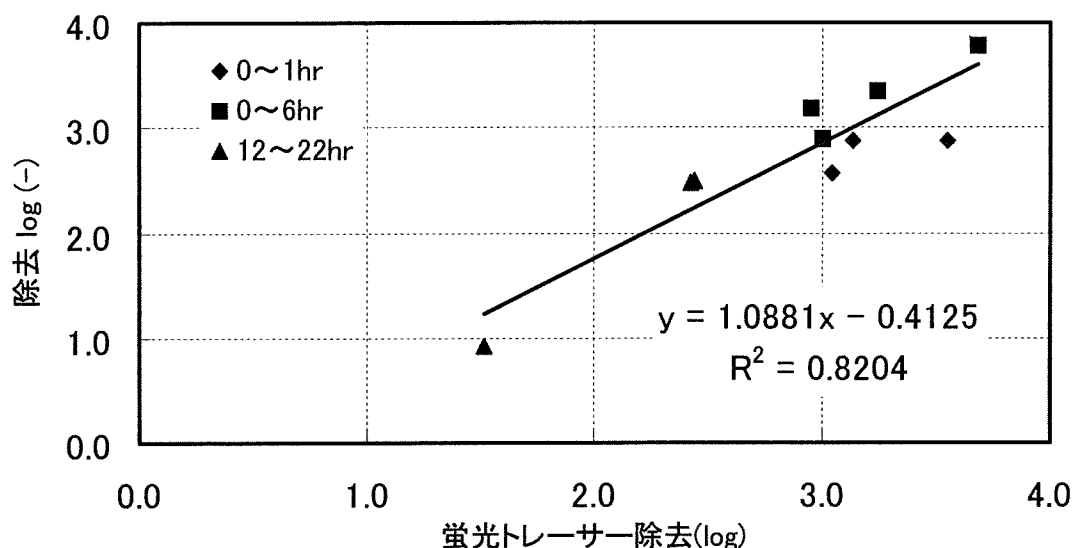


図-3.2 砂ろ過カラムにおける除去率 (log) の相関

3-3. 50 m²プラント実験

3-3-1. 実験装置と実験手順

プラント実験は、平成9年度と同様の実験設備を用い、以下の検討項目について実施した。

- ・凝集沈澱及び砂ろ過工程における除去率 (log) とその経時変化
- ・砂ろ過工程における初期漏出の把握
- ・ろ過カラムを用いた洗浄効果の確認
- ・凝集沈澱、砂ろ過実験プラント内における蛍光トレーサーのマスバランス

3-3-2. 実験結果

50 m²プラント実験により以下のことが明らかとなった。

- ・凝集沈澱工程における蛍光トレーサーの除去率 (log) は、最適条件下で 1.0~1.5 log となる。
- ・砂ろ過工程における蛍光トレーサーの除去率 (log) は、通水初期では 3.0~4.0 log 以上得られ、ろ過継続 25 時間経過時点で 1.0~1.5 log、その後 45 時間で 1.0 log 程度と、ろ過の継続に伴って蛍光トレーサーのろ過処理水への漏出が多くなる。
- ・蛍光トレーサーの砂ろ過処理水への流出挙動は微粒子カウンター (5~7 μm) の値とよく相関する。
- ・ろ過の継続に伴う蛍光トレーサー及び微粒子数のろ過処理水への流出は、濁度に先行して生じる。(図-3.3)
- ・濁度、蛍光トレーサーの砂ろ過初期での流出に対応するための捨水時間は、今回の実験条件では 30~60 分が必要であった。このような濁度及び蛍光トレーサーの初期流出は、洗浄後においてもなお濁質成分、蛍光トレーサーが砂層下部に残留してしまうことが一つの原因となっていると推察された。
- ・ろ層の洗浄方式としては、表面洗浄よりも空気洗浄の方が、今回の実験条件においては洗浄効率が良かった。
- ・蛍光トレーサーの凝集沈澱、砂ろ過におけるマスバランスはかなりとれており、除去率 (log) の評価に問題とならない程度であることが確認された。(図-3.4)

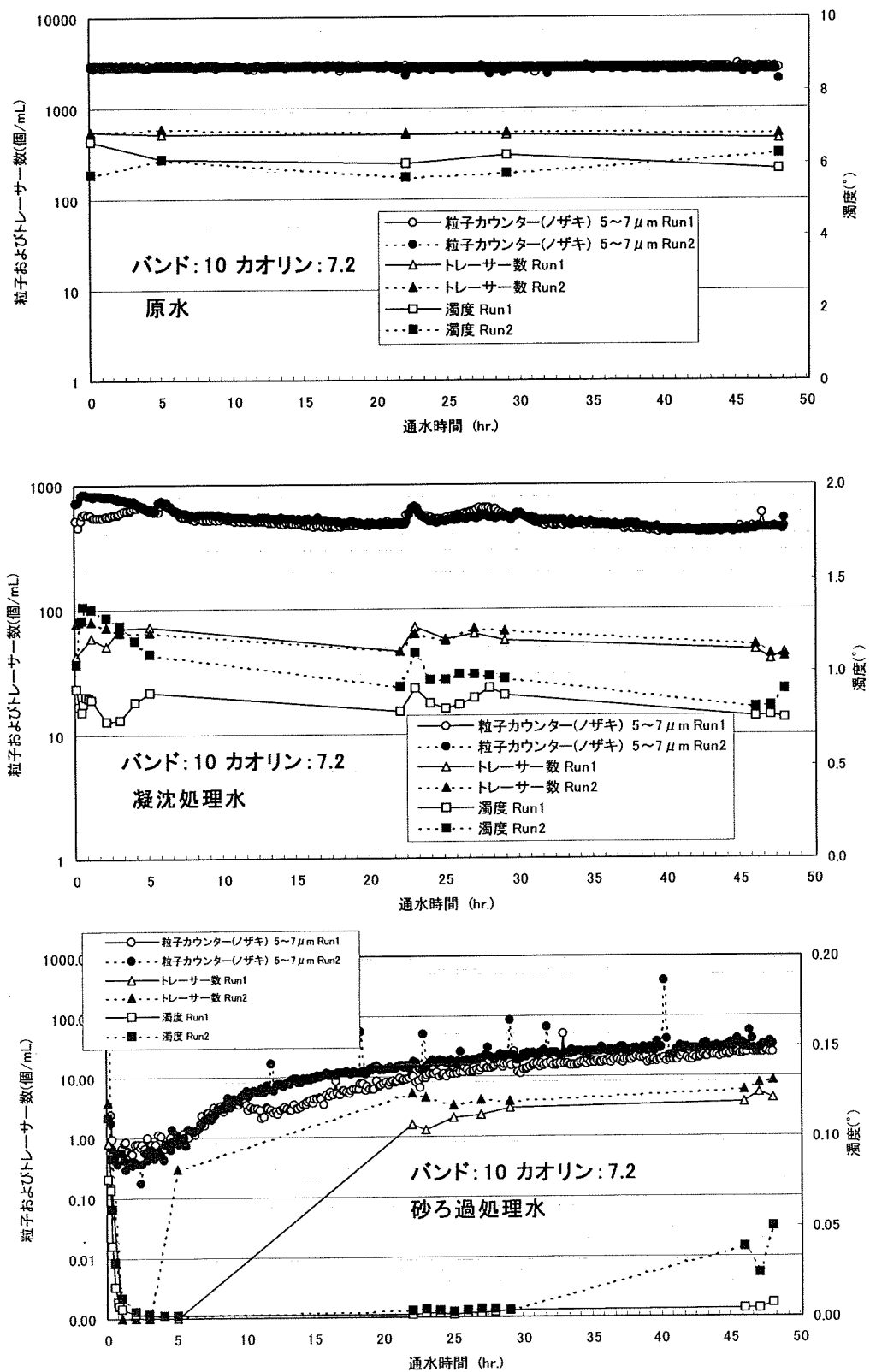


図-3.3 凝集沈澱、砂ろ過における蛍光トレーサー、濁度、微粒子数の経時変化