

- の実態把握とその低減対策に関する研究」平成 25 年度総括・分担研究報告書.
- 2) 藤本尚志, 村田昌隆, 大西章博, 鈴木昌治, 矢島修, 山口茂, 岸田直裕, 秋葉道宏 (2013) 分子生物学的手法による濁度障害原因生物の解明. 水道協会雑誌, **82(5)**, pp.2-10.
 - 3) 日本水道協会 (2011) 上水試験法 2011 年版 VI. 生物編. 日本水道協会, 東京.
 - 4) 中村寿子 (1988) 落射蛍光顕微鏡を用いた生物試験－植物ピコプランクトン試

験の導入及び全細菌とその他のピコプランクトンとの同時試験方法の検討－. 水道協会雑誌, **57(7)**, pp.128-137.

J. 謝辞

アンケート調査の実施にあたり、ご協力いただいた水道事業者の方々に深くお礼申し上げます。

表1 検査対象試料とその検査水量

| | 水源 | 原水 | 沈殿水 | ろ過水 | 配水池水 |
|------------------|--------|--------|-------|--------|----------|
| 検査事業体数* | 13/17 | 15/17 | 7/17 | 9/17 | 2/17 |
| 最大検査水量 の平均値** | 11 mL | 10 mL | 57 mL | 210 mL | 1,000 mL |
| 最少検査水量 の平均値** | 4.4 mL | 3.9 mL | 38 mL | 200 mL | 1,000 mL |

*2 事業体で排水処理工程水も測定していると回答

**ピコプランクトン数に応じて適宜変更と記載した事業体も多い

表2 試料の固定・前処理方法

| 固定方法 | 事業体数 | 前処理有無 | 事業体数 |
|----------------|-------|-------|-------|
| 無（直接観察） | 13/17 | 有* | 1/17 |
| グルタルアルデヒドによる固定 | 4/17 | 無 | 16/17 |

*孔径 5.0 μm のポリカーボネート製フィルターでろ過

表3 試料の濃縮方法

| 濃縮法の種類 | 事業体数* | MFの種類 | 事業体数 | 遠心条件** |
|----------|-------|---------------|------|---------------|
| MF法（膜濃縮） | 15/17 | 親水性 PTFE | 6/15 | 1,000~1,500 g |
| 遠心沈殿法 | 3/17 | 黒色ポリカーボネート | 6/15 | 20~30 分 |
| 濃縮なし | 2/17 | 高透明度ポリカーボネート | 1/15 | |
| | | 黒色セルロース混合エステル | 1/15 | |
| | | セルロース混合エステル | 1/15 | |

*複数回答あり（試料の種類によって、濃縮方法が異なることがあるため）

**有効回答 2 件

表4 試料の封入・観察方法

| 封入方法 | 事業体数* | 対物レンズ の倍率 | 事業体数 | 観察時の励起 フィルターの種類 | 事業体数 |
|-----------|-------|--------------|------|--------------------|------|
| 水 | 9/17 | ×20 | 3/17 | G 励起のみ | 9/17 |
| イメージンオイル | 6/17 | ×40 | 9/17 | G+B 励起 | 5/17 |
| DABCO-PBS | 1/17 | ×60 | 1/17 | G+B+U 励起 | 1/17 |
| マウントミディアム | 1/17 | ×100 | 4/17 | 明視野観察のみ | 2/17 |
| 封入無 | 1/17 | | | | |

*複数回答あり

分担研究報告書 3

分子生物学的手法による
ろ過漏出障害の原因生物の評価

研究代表者 秋葉 道宏
研究分担者 藤本 尚志

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)
「水道システムにおける生物障害の実態把握とその低減対策に関する研究」
分担研究報告書

研究課題：分子生物学的手法によるろ過漏出障害の原因生物の評価

研究代表者 秋葉 道宏 国立保健医療科学院 統括研究官
研究分担者 藤本 尚志 東京農業大学 応用生物科学部 教授

研究要旨

ピコプランクトンとは大きさが $0.2\sim 2\mu\text{m}$ のプランクトンであり、水源において細胞数が高まると、浄水場においてろ過池の出口の濁度を 0.1 度以下に維持することが困難になる。これまで分子生物学的手法（クローニング）により浄水場におけるろ過漏出障害原因生物の調査を行い、複数の系統に位置づけられるピコシアノバクテリアのクローンおよび緑藻綱 *Mychonastes homosphaera* に近縁なクローンが検出され、これらの微生物がろ過漏出障害の原因となる可能性が示唆された。しかしながらろ過水の生物相データが不足しており、また、クローニングにより生物相を完全に評価できていない可能性が示唆された。そこで本研究課題ではさらに知見を集積するとともに次世代シーケンサーによる詳細な生物相の評価手法の確立を行った。2年間の調査により長沢浄水場ろ過水では、藍藻綱 *Synechococcus* sp. 0BB26S03 に近縁なクローンおよび *Synechococcus* sp. MH305 に近縁なクローンの検出頻度および割合が多く、主要なろ過漏出障害の原因生物である可能性が示唆された。原水では *Synechococcus* sp. 0BB26S03 に近縁なクローンの割合が大きく、ろ過水では *Synechococcus* sp. MH305 に近縁なクローンの割合が大きくなる傾向があり、*Synechococcus* 属の種類によって処理工程における除去特性が異なる可能性が示唆された。次世代シーケンサーを用いた 16S rRNA 遺伝子アンプリコン解析により長沢浄水場工程水において Proteobacteria 門、Actinobacteria 門、Bacteroidetes 門といった従属栄養細菌の割合が大きく、80~100%を占めた。原水、沈澱水に比較してろ過水のほうが *Synechococcus* 属の割合が高まる傾向にあり、*Synechococcus* 属の砂ろ過による除去率が低いことが示唆された。ろ過水に占める Proteobacteria 門の割合が高く、濁度への寄与が大きいことが示唆された。次世代シーケンサーを用いた 16S rRNA 遺伝子アンプリコン解析により水道水源の微生物群集構造を門レベルから属レベルまで定量的に評価することが可能であった。水域ごとに優占する *Synechococcus* 属の種が異なり、様々な *Synechococcus* 属の種がろ過漏出障害の原因となる可能性が示唆された。

A. 研究目的

近年、湖沼・貯水池を水源とする浄水場においてピコプランクトンによるろ過漏出障害が発生し問題となっている。平成 19 年に厚生労働省が水道事業に対して義務付けた「水道におけるクリプトスポリジウム等対策指針」において、クリプトスポリジウム等による汚染の対応措置として、リスク判断がレベル 4(クリプトスポリジウム等による汚染のおそれが高い)またはレベル 3(クリプトスポリジウム等による汚染のおそれがある)の場合、ろ過池またはろ過膜の出口の濁度を 0.1 度以下に維持することが可能なろ過設備(急速ろ過、緩速ろ過、膜ろ過等)を整備することが義務付けられている。しかしながらピコプランクトンによるろ過漏出障害が発生すると、この対策指針に従って濁度 0.1 度以下に維持することが困難になり、浄水場では対応に苦慮している。この問題となるピコプランクトンとは $0.2\sim 2\mu\text{m}$ の大きさの

プランクトンを指し *Synechococcus* 属等の藍藻類と真核生物に属するものが含まれる。ピコプランクトンはこれまで落射蛍光顕微鏡による観察における蛍光の色調により 3 グループに分けて検討されているが、ろ過池から漏出する種に関する知見が不足しているのが現状である。これまで、分子生物学的手法により浄水場工程水を調査し、複数の系統に位置づけられるピコシアノバクテリアのクローンおよび緑藻綱 *Mychonastes homosphaera* に近縁なクローンが検出され、これらの微生物がろ過漏出障害の原因となる可能性が示唆された。しかしながらろ過水まで解析できたことが少なく、ろ過水の生物相が多様であり、クローニングにより生物相を完全に評価できていない可能性が示唆された。そこで本研究課題ではピコプランクトン対策に関する基礎的知見を得ることを目的として、相模湖を水源とする川崎市上下水道局長沢浄水場の各工程水を対象とし、

継続して分子生物学的手法を用いてピコプランクトンの生物相について解析するとともに、次世代シーケンサーによる 16S rRNA 遺伝子アンプリコン解析を用いて詳細な評価を行った。

B. 研究方法

B-1 供試試料

2012年3月27日、4月17日、5月24日、6月19日、7月18日、9月19日、10月17日、11月22日、2013年1月23日、2月20日、3月19日、4月17日、5月22日、6月21日、7月17日、8月21日、9月18日、10月16日、11月20日、12月18日に川崎市上下水道局長沢浄水場着水井、凝集沈澱池、急速砂ろ過池より採水した試料を用いた。

次世代シーケンサーによる水道水源の群集構造解析には以下の試料を用いた。群馬県草木ダム堰堤直上流の表層より、2012年7月2日、8月21日、10月23日に採水した試料、宮ヶ瀬湖ダム中央の表層より2012年、8月1日、9月5日、2013年4月17日、5月8日、6月5日に採水した試料、江戸川矢切取水場より、2012年8月7日、2013年5月29日に採水した試料、茨城県鰐川より2012年6月13日、2013年4月23日、5月29日に採水した試料を用いた。鰐川は霞ヶ浦(北浦)から流れる河川である。

B-2 細胞数測定方法

試料中の細胞数に応じて適量(25~300ml)を、孔径0.2 μ mメンブレンフィルターを用いて吸引ろ過を行った。ろ過したフィルターについて落射蛍光顕微鏡のB励起、G励起で20視野それぞれ写真を撮影し、PE-type、PC-type、CH-typeの細胞数を計測した。

B-3 クローニングによる生物相の解析

ピコシアノバクテリアのクローニングは Ivanikova ら¹⁾に従って行った。ナノプランクトンの除去を目的として試料を孔径3 μ mもしくは5 μ mのメンブレンフィルターを用いて吸引ろ過を行い、前処理を行った後、そのろ液を孔径0.2 μ mのポリカーボネート製メンブレンフィルターを用いて吸引ろ過し集菌を行った。集菌したフィルターを裁断して50ml容ファルコンチューブに回収した。CTAB (Cetyltrimethyl ammonium bromide) 法により遺伝子の抽出を行った。アガロースゲル電気泳動によりゲノムDNAの確認を行った後PCRに供した。16S rRNA 遺伝子のPCRには106Fおよび789Rのプライマーペアを用いて行った。PCR終了後、アガロースゲル電気泳動によりPCR産物の確認を行い、切り出したゲルをQIAquick Gel Extraction Kit (QIAGEN社)を用いてゲル精製を行った。精製したPCR産物を用いてTOPO TA Cloning Kitによりクローニングを行った。コロニーPCRにより挿入部分の遺伝子を増幅し、RFLP

法により、グルーピングを行った。これに基づいて目視でグループ分けを行い、各グループについて塩基配列の解析を行った。クローンの塩基配列約600塩基の前半100塩基、後半100塩基についてFASTAサーチを行い、近縁種が一致するか確認を行った。一致しないものはキメラとした。その後、アライメントを行い決定した塩基配列を基に相同性検索を行った。

B-4 ピコシアノバクテリアの分離

分離・培養にはシクロヘキシミドを添加したCB培地を用いた。CB培地10mlを試験管に分注しオートクレーブにより滅菌した。孔径5 μ mメンブレンフィルターを用いて試料をろ過した。そのろ過液のピコシアノバクテリア細胞数を10 cells/mlになるまで希釈し、各試験管に0.1ml、0.2ml、0.3ml添加した。培養は1,500 lx、20 $^{\circ}$ Cの恒温器で行った。

B-5 次世代シーケンサーによる群集構造解析

真正細菌の16S rRNA 遺伝子を特異的に増幅させるプライマー515F、806Rを用いてTailed PCRを行った。増幅を確認した後、精製、濃度調整を行い、Illumina社のMiSeqによりアンプリコンシーケンシングを行った。得られた塩基配列はQIIMEを利用して解析を行った。宮ヶ瀬湖以外の試料において、Cyanobacteria門のリード数に真核藻類の葉緑体遺伝子のリード数も含まれる。

C. 研究結果およびD. 考察

C-1 長沢浄水場工程水の生物相評価

1) 細胞数の推移

長沢浄水場の原水においてPE-typeおよびPC-typeのピコシアノバクテリアが観察された。400 cells/ml以下を検出限界以下とした。PE-typeは2012年は春季から秋季に高まり最大5000 cells/mlであった(図1)。2012年は春季に高まった。PC-typeは夏季に細胞数が高まる傾向が見られ最大3400 cells/mlであった。この期間におけるろ過水の濁度は0.01~0.03の間で推移した。

2) クローニングによる評価

2012年は原水、沈澱水はすべての試料でクローニングに成功したが、ろ過水については3月と10月のみ成功した。2013年は3月の沈澱水、2013年4、5月のろ過水においてPCRによる増幅が見られなかったがそれ以外の試料ではクローニングに成功した。

工程水において*Synechococcus*属は75塩基配列が検出され、配列間の相同性が99%以上の場合、同一のOTU (Operational Taxonomic Unit)としたところ8 OTUsに分けられた(表1、図2)。2012年3~6月の原水において真核藻類の葉緑体に含まれる遺伝子が多く検出された。7月~11月の原水において本研究のターゲットではないVerrucomicrobia門の細菌が多く検出され、

Synechococcus 属系統の生物相を正確に評価できなかった。そのため 2013 年は *Verrucomicrobia* 門の検出を抑えるため、PCR のアニーリング温度を 65°C に設定して行った。2013 年は PE-type の細胞数が多い 4 月、5 月は PE-type である *Synechococcus* sp. MW6B4 や Uncultured *Synechococcus* sp. clone LS51 に近縁なクローンが検出され、PC-type の細胞数が多い 7 月、8 月は PC-type である *Synechococcus* sp. 0BB26S03 が検出され、顕微鏡観察結果と遺伝子解析結果の間に整合性が見られた。沈澱水は原水に比べ *Synechococcus* 属の割合が増加し、*Synechococcus* 属の凝集沈澱処理による除去率が低いことが示唆された。沈澱水は原水に比べ細菌の検出割合が減少し、前塩素処理・凝集沈澱処理により細菌が減少していることが明らかとなった。

Synechococcus 属の組成を比べたところ、原水では *Synechococcus* sp. 0BB26S03 に近縁なクローンの割合、検出頻度が多いことが明らかとなった。沈澱水では *Synechococcus* sp. 0BB26S03 に加えて Uncultured *Synechococcus* sp. clone LS51、*Synechococcus* sp. MW6B4、*Synechococcus* sp. MH305 に近縁なクローンの検出頻度が高く、多くの *Synechococcus* 属の種類が検出されることが明らかとなった。ろ過水では *Synechococcus* sp. 0BB26S03 に近縁なクローンおよび *Synechococcus* sp. MH305 に近縁なクローンの割合および検出頻度が高いことが明らかとなった。2013 年 6 月～9 月の原水・沈澱水において PC-type である *Synechococcus* sp. 0BB26S03 に近縁なクローンの割合が多いが、ろ過水では PE-type である *Synechococcus* sp. MH305 等に近縁なクローンの割合が多く、*Synechococcus* 属の種類によってろ過池における除去特性が異なる可能性が示唆された。

3) 次世代シーケンサーによる評価

2012 年 3、10 月および 2013 年の試料について評価したところ、総リード数は 13 万～29 万であった。工程水において *Proteobacteria* 門、*Actinobacteria* 門、*Bacteroidetes* 門といった従属栄養細菌の割合が大きく、80～100% を占めた(図 3～9)。*Proteobacteria* 門の割合が最も高く 36%～100% を占めた。2013 年 8 月(データは示していない)、10 月、11 月は原水、沈澱水に比較してろ過水のほうが *Cyanobacteria* 門の割合が高まった。この時、*Cyanobacteria* 門に占める *Synechococcus* 属の割合は 95% であり、*Synechococcus* 属の砂ろ過による除去率が低いことが示唆された。*Synechococcus* 属のリード数が多かった 2013 年 8 月、10 月、11 月のろ過水についてクローニングによる生物相と比較したところ、一致が見られ、次世代シーケンサーによるアンプリコン解析によりクローニング結果を裏付けることができた。各試料において

ろ過水に占める *Proteobacteria* 門の割合が高く、濁度への寄与が大きいことが示唆された。

4) 分離・培養

2013 年 8 月の原水より一株 (N-1)、10 月の原水より一株 (N-2)、9 月の沈澱水より一株 (N-3) の計 3 株のピコシアノバクテリアの分離に成功した(写真 1～3)。N-1 株、N-2 株は PC-type の桿菌であった。N-3 株は PE-type の桿菌であった。分離株の遺伝子解析の結果、N-1 株は *Synechococcus* sp. 0BB26S03、N-2 株は *Synechococcus* sp. PS721、N-3 株は Uncultured *Synechococcus* sp. clone LS51 に近縁なピコシアノバクテリアであることが明らかとなった。N-3 株は未培養の系統に位置する *Synechococcus* 属であることが明らかとなった。N-1 株、N-3 株の分離はクローニング結果を裏付けるものと考えられた。

C-2 次世代シーケンサーによる水源における真正細菌群集構造の評価

1) 草木湖

1 試料あたりのリード数は 16 万リードから 20 万リードであった。各門のリード数の割合を評価したところ *Proteobacteria* 門のリード数は各月において 43～60% であり主要な微生物群であることが明らかとなった(図 10)。*Cyanobacteria* 門のリード数は細胞数が $10^5 \sim 2 \times 10^5$ cells/ml と高い 7、8 月は 20% を占めたが、 4×10^4 cells/ml と低下した 10 月は 1% となった。*Cyanobacteria* 門に占める *Synechococcus* 属の割合は 70% 以上であり、細胞数の高い 7、8 月は約 90% となった。*Synechococcus* 属について種レベルで評価すると、細胞数が高い 7、8 月は *Synechococcus* sp. MH305 の割合が高く 90% 以上を占めた(図 11)。細胞数が低下した 10 月は *Synechococcus* sp. PS721 が約 60% を占め、季節によって *Synechococcus* 属の種組成が変化することが明らかとなった。

2) 宮ヶ瀬湖

2012 年 8、9 月、2013 年 4～6 月の 1 試料あたりのリード数は 13 万リードから 22 万リードであった。各門のリード数の割合を評価したところ、*Actinobacteria* 門、*Proteobacteria* 門のリード数が多く合計で 66～86% を占め、主要な微生物群であることが明らかとなった(図 12)。*Cyanobacteria* 門は 0.5%～8% の間で推移した。*Cyanobacteria* 門に占める *Synechococcus* 属の割合は 97～100% であった。次世代シーケンサーにより検出された *Synechococcus* 属について配列間の相同性が 99% 以上の場合、同一の OTU としたところ 12 OTUs に分けられた(表 2)。各試料に共通して *Synechococcus* sp. MW6B4 に近縁な OTU のリード数の割合が高く 29～80% を占めた。また、*Synechococcus* sp. MH301 といったクローニングでは検出できなかった存在割合の低い種も各試料で検出できた。

3) 江戸川

1 試料あたりのリード数は2012年8月は13万4千リード、2013年5月は23万3千リードであった。Proteobacteria門の占める割合が大きくそれぞれ44%、91%を占めた(図13)。ピコシアノバクテリアの細胞数が 10^5 cells/mlを超えていた2012年8月においてもCyanobacteria門のリード数は1%程度と低かった。これは下水処理場の放流水が流入し、従属栄養の細菌数が多いことが原因として考えられた。シアノバクテリア門のうち、真核藻類の葉緑体に含まれる遺伝子のリード数が3割程度を占めており、*Synechococcus*属の系統が6~7割を占めていた。*Synechococcus*属の種組成として2012年8月は*Synechococcus* sp. PS721が71%、2013年5月は*Synechococcus* sp. 0BB26S03が68%を占めていた(図14)。*Synechococcus* sp. PS721は琵琶湖からの分離株、*Synechococcus* sp. 0BB26S03はイタリアBubano Basinからの分離株である。

4) 鰯川

1 試料あたりのリード数は16万9千リードから18万7千リードであった。Actinobacteria門、Bacteroidetes門、Cyanobacteria門、Proteobacteria門のリード数は各月において10%以上であり、主要な微生物群であることが明らかとなった(図15)。Cyanobacteria門は2013年4月、5月において30%以上と高く推移した。

Cyanobacteria門の総リード数に占める、真核藻類の葉緑体に含まれる遺伝子のリード数の割合は2012年6月、2013年4月、5月においてそれぞれ、33%、61%、42%であり、2013年4月に高かった。このとき、珪藻綱*Nitzschia*属、*Synedra*属、*Aulacoseira*属、*Skeletonema*属、クリプト藻綱*Cryptomonas*属、渦鞭毛藻綱*Dinophysis*属の葉緑体に含まれる遺伝子に近縁な塩基配列のリード数が多かった。Cyanobacteria門について目レベルで評価すると、2012年6月、2013年5月はSynechococcales目のリード数が多く、それぞれ、89%、68%であった(図16)。富栄養貯水池においてピコ植物プランクトンが植物プランクトン総量に占める割合は10%以下と小さいと報告されているが²⁾、本水域では、シアノバクテリアに限ってみると、割合が高い時期もあることが明らかとなった。2013年4月はNostocales目が54%、Pseudanabaenales目が25%を占めた。Nostocales目として*Aphanizomenon flos-aquae* NIES81、Pseudanabaenales目として、*Pseudanabaena* sp. PCC7402に近縁な塩基配列のリード数がほとんどを占めた。2013年4月は2-MIB濃度が240 ng/lと他の月よりも高く、*Pseudanabaena* sp. PCC7402に近縁な藻類が2-MIBの原因となっていると推察された。

*Synechococcus*属としては、*Synechococcus* sp. PCC7009および*Synechococcus* sp. PS680が主要で

あった(図17)。Synechococcales目のリード数が多い2012年6月、2013年5月は*Synechococcus* sp. PCC7009に近縁な塩基配列のリード数がそれぞれ42%、60%を占めた。*Synechococcus* sp. PCC7009はピコシアノバクテリアのPC(Phycocyanin rich)typeである³⁾。

E. 結論

長沢浄水場ろ過水から*Synechococcus* sp. 0BB26S03、*Synechococcus* sp. MH305に近縁なクローンは検出され、主要なる過漏出障害の原因生物である可能性が示唆された。次世代シーケンサーによる16S rRNA遺伝子アンプリコン解析によりろ過水に占めるProteobacteria門の割合が高く、濁度への寄与が大きいことが示唆された。

次世代シーケンサーにより水道水源の微生物群集構造を門レベルから属レベルまで定量的に評価することが可能であった。水域ごとに優占する*Synechococcus*属の種が異なり、様々な種*Synechococcus*属がろ過漏出障害の原因となる可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1) 論文発表

(1) 藤本尚志, 村田昌隆, 大西章博, 鈴木昌治, 矢島修, 岸田直裕, 秋葉道宏 (2013) 分子生物学的手法による浄水場における濁度障害原因生物の解明、水道協会雑誌, 82(5), pp.2-10.

(2) Fujimoto N., Matsuo E., Murata M., Nomura K., Ohnishi A., Suzuki M., Enmoto K., Yamaguchi S., Yanagibashi Y., Kishida N. and Akiba M., Evaluation of the Small-Eukaryote Community Composition in a Mesotrophic Lake by Sequencing the 18S rRNA Genes, Japanese Journal of Water Treatment Biology, 2014, 50(2), pp. 85-94.

2) 学会発表

(1) 横山友紀, 藤本尚志, 大西章博, 鈴木昌治, 蘭 勝司, 岸田直裕, 秋葉道宏. 分子生物学的手法による宮ヶ瀬湖におけるピコシアノバクテリア群集構造の季節変化の解析. 第47回日本水環境学会年会; 2013年3月; 大阪. 同講演集 pp. 14.

(2) 石原匠, 藤本尚志, 大西章博, 鈴木昌治, 山口 茂, 岸田直裕, 秋葉道宏. 分子生物学的手法による草木湖における真核ピコプランクトンの生物相の解析. 第47回日本水環境学会年会; 2013年3月; 大阪. 同講演集 pp. 664.

(3) 大谷将太郎, 藤本尚志, 大西章博, 鈴木昌治, 山口 茂, 岸田直裕, 秋葉道宏. 分子生物学的手法による草木湖におけるピコシアノバクテリア群集構造解析. 第47回日本水環境学会年会; 2013

年 3 月；大阪。同講演集 pp. 665.

(4) 藤本尚志, 藤瀬大輝, 岸田直裕, 秋葉道宏. 分子生物学的手法によるろ過漏出障害の原因生物の評価. 平成 25 年度全国会議(水道研究発表会) ; 2013 年 10 月；郡山。同講演集 pp. 530-531.

(5) 水野恵伍, 藤本尚志, 大西章博, 鈴木昌治, 岸田直裕, 秋葉道宏, 野田尚宏, 松倉智子, 関口勇地. クローニングおよび次世代シーケンサーによる宮ヶ瀬湖のピコシアノバクテリア群集構造解析. 第 48 回日本水環境学会年会 ; 2014 年 3 月；仙台。同講演集 pp. 620.

(6) 藤本尚志, 大西章博, 鈴木昌治, 岸田直裕, 秋葉道宏, 村田直樹, 本山信行, 野田尚宏, 松倉智子, 関口勇地. 次世代シーケンサーによる鱒川の植物プランクトン生物相の評価. 第 48 回日本水環境学会年会 ; 2014 年 3 月；仙台。同講演集 pp. 245.

(7) 福田真美子, 藤本尚志, 大西章博, 鈴木昌治, 村田直樹, 本山信行, 岸田直裕, 秋葉道宏. 分子生物学的手法による鱒川の植物プランクトン生物相の評価. 第 48 回日本水環境学会年会 ; 2014 年 3 月；仙台。同講演集 pp. 619.

(8) 遠藤沙紀, 藤本尚志, 大西章博, 鈴木昌治, 藤瀬大輝, 岸田直裕, 秋葉道宏. 分子生物学的手法による浄水場におけるろ過漏出障害原因生物の評価. 第 48 回日本水環境学会年会 ; 2014 年 3 月；仙台。同講演集 pp. 630.

(9) 小高千裕, 藤本尚志, 大西章博, 鈴木昌治,

藤瀬大輝, 岸田直裕, 秋葉道宏. 分子生物学的手法による相模湖のピコシアノバクテリア生物相の評価. 第 48 回日本水環境学会年会 ; 2014 年 3 月；仙台。同講演集 pp. 618.

(10) 藤本尚志, 大西章博, 鈴木昌治, 藤瀬大輝, 岸田直裕, 秋葉道宏. クローニング法および次世代シーケンサーによるろ過漏出障害原因生物の評価. 平成 26 年度全国会議(水道研究発表会) ; 2014 年 10 月；名古屋。同講演集 pp. 540-541.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む。) 該当なし

I. 参考文献

- 1) Ivanikova, N. V., Popels, L. C., McKay, R. M. L., Bullerjahn, G. S., Lake Superior supports novel clusters of cyanobacterial picoplankton, *Applied and Environmental Microbiology*, 73, 4055-4065 (2007).
- 2) 一柳淳一、千葉信男、後藤光亀、須藤隆一：水源貯水池における植物ピコプランクトンの出現実態、*水環境学会誌*, 20, 29-35(1997).
- 3) Crosbie, N. D., Pöckl, M., Weisse, T., Dispersal and Phylogenetic Diversity of Nonmarine Picocyanobacteria, Inferred from 16S rRNA Gene and *cpcBA*-Intergenic Spacer Sequence Analyses, *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 5716-5721 (2003).

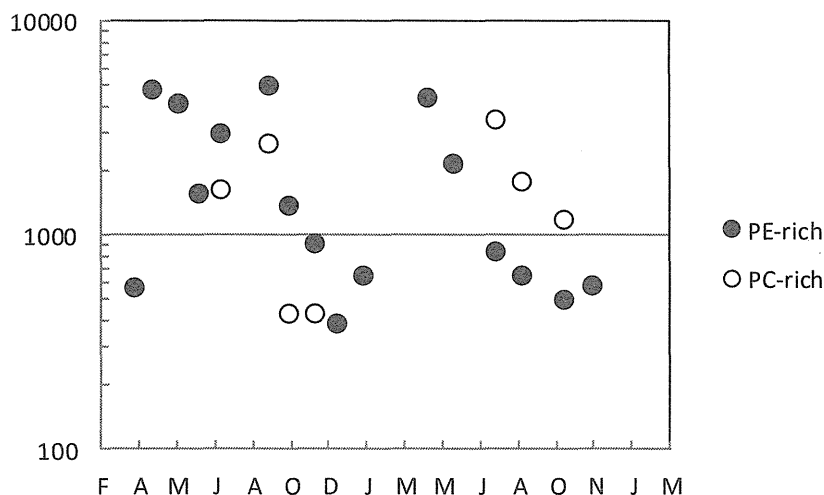


図 1 長沢浄水場原水のピコシアノバクテリア細胞数の推移 (2012 年、2013 年)

表1 クローニングにより検出された OTU の近縁種とその推移(○、●、◎はクローン数を示す)

| 原水 | | | 2012 | | | | | | | | | | | | 2013 | | | | | | | | | | | |
|-------------------|--|---------|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|--|--|
| OTU | 近縁種 | 相同性 (%) | Mar | Apr | May | Jun | Jul | Sep | Oct | Nov | Jan | Feb | Mar | Apr | May | Jun | Jul | Aug | Sep | Oct | Nov | Dec | | | | |
| OTU_1 | <i>Synechococcus</i> sp. 0BB26S03 | 99.5 | | | | | ○ | | ○ | | | | | | | ○ | ◎ | ○ | ● | ◎ | ○ | | | | | |
| OTU_2 | Uncultured <i>Synechococcus</i> sp. clone LS51 | 99.8 | | | | | | | | | | | | | ○ | ○ | | | | | | ◎ | | | | |
| OTU_3 | <i>Synechococcus</i> sp. MW6B4 | 100 | | | | | | | | | | | | ○ | ◎ | ○ | | | | | | ○ | | | | |
| OTU_4 | <i>Synechococcus</i> sp. MH305 | 100 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| OTU_5 | <i>Synechococcus</i> sp. MA0607K | 99.7 | | | | | ○ | | | | | | | | | | ○ | | | | | | | | | |
| OTU_6 | <i>Synechococcus rubescense</i> SAG 3.81 | 100 | ○ | | ● | | ○ | | | | | | | | | | | | | | | ○ | | | | |
| OTU_7 | <i>Synechococcus</i> sp. LBB3 | 99.7 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| OTU_8 | <i>Synechococcus</i> sp. MA0607K | 98.7 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | chloroplast gene of eukaryotic algae | | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ | ● | | ○ | ● | | ◎ | ◎ | ◎ | | ◎ | ○ | ○ | | ◎ | ◎ | | | | |
| | Verrcomicrobia bacterium | | ◎ | ● | ◎ | ○ | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ | | ◎ | ◎ | ● | | ◎ | | | | |
| 沈澱水 | | | 2012 | | | | | | | | | | | | 2013 | | | | | | | | | | | |
| OTU | 近縁種 | 相同性 (%) | Mar | Apr | May | Jun | Jul | Sep | Oct | Nov | Jan | Feb | Mar | Apr | May | Jun | Jul | Aug | Sep | Oct | Nov | Dec | | | | |
| OTU_1 | <i>Synechococcus</i> sp. 0BB26S03 | 99.5 | | | | | ◎ | ◎ | ○ | | | | | | | ◎ | ◎ | ◎ | | ◎ | | | | | | |
| OTU_2 | Uncultured <i>Synechococcus</i> sp. clone LS51 | 99.8 | | | | | | | | ○ | ● | ◎ | | ● | ● | | | | ◎ | | | ● | | | | |
| OTU_3 | <i>Synechococcus</i> sp. MW6B4 | 100 | | | ○ | | ○ | | ○ | | | | | ◎ | ◎ | | | | ● | | | | | | | |
| OTU_4 | <i>Synechococcus</i> sp. MH305 | 100 | | | | | ○ | ○ | ○ | ● | | | | ○ | | ○ | | | | | | | | | | |
| OTU_5 | <i>Synechococcus</i> sp. MA0607K | 99.7 | | | | | | | | | | | | | ○ | ● | ○ | | | | | | | | | |
| OTU_6 | <i>Synechococcus rubescense</i> SAG 3.81 | 100 | | ● | ○ | ● | | | | | | | | | ○ | | | | ○ | | | | | | | |
| OTU_7 | <i>Synechococcus</i> sp. LBB3 | 99.7 | | | | | | | | | | | | | | | | ○ | ○ | | | | | | | |
| OTU_8 | <i>Synechococcus</i> sp. MA0607K | 98.7 | | ○ | ○ | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | chloroplast gene of eukaryotic algae | | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ | | ○ | ○ | ◎ | ◎ | | | | | ○ | | ○ | | ◎ | ◎ | | | | |
| | Verrcomicrobia bacterium | | | ○ | ◎ | ◎ | ● | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ | | ◎ | ◎ | | ◎ | | | | | |
| ろ過水 | | | 2012 | | | | | | | | | | | | 2013 | | | | | | | | | | | |
| OTU | 近縁種 | 相同性 (%) | Mar | Apr | May | Jun | Jul | Sep | Oct | Nov | Jan | Feb | Mar | Apr | May | Jun | Jul | Aug | Sep | Oct | Nov | Dec | | | | |
| OTU_1 | <i>Synechococcus</i> sp. 0BB26S03 | 99.5 | | | | | | | ● | | | | | | | | | | ● | ● | ◎ | | | | | |
| OTU_2 | Uncultured <i>Synechococcus</i> sp. clone LS51 | 99.8 | | | | | | | | | | | ○ | | | ○ | ○ | | | | | | | | | |
| OTU_3 | <i>Synechococcus</i> sp. MW6B4 | 100 | | | | | | | | | | | | | | | ○ | | | | ● | | | | | |
| OTU_4 | <i>Synechococcus</i> sp. MH305 | 100 | ◎ | | | | | | | | | | | | | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ | | ○ | | | | | |
| OTU_5 | <i>Synechococcus</i> sp. MA0607K | 99.7 | | | | | | | | | | | | | ○ | | | | | | | | | | | |
| OTU_6 | <i>Synechococcus rubescense</i> SAG 3.81 | 100 | | | | | | | | | | | | | | | ○ | | | | | | | | | |
| OTU_7 | <i>Synechococcus</i> sp. LBB3 | 99.7 | | | | | | | ○ | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| OTU_8 | <i>Synechococcus</i> sp. MA0607K | 98.7 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | chloroplast gene of eukaryotic algae | | | ● | | | | | ◎ | | | ○ | ◎ | | | | ◎ | | ◎ | ◎ | | ◎ | | | | |
| | Verrcomicrobia bacterium | | ◎ | | | | | | ○ | | ◎ | ◎ | ◎ | | | ○ | ◎ | | ● | ○ | ○ | ◎ | | | | |
| ○:1~4、●:5~9、◎:10~ | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

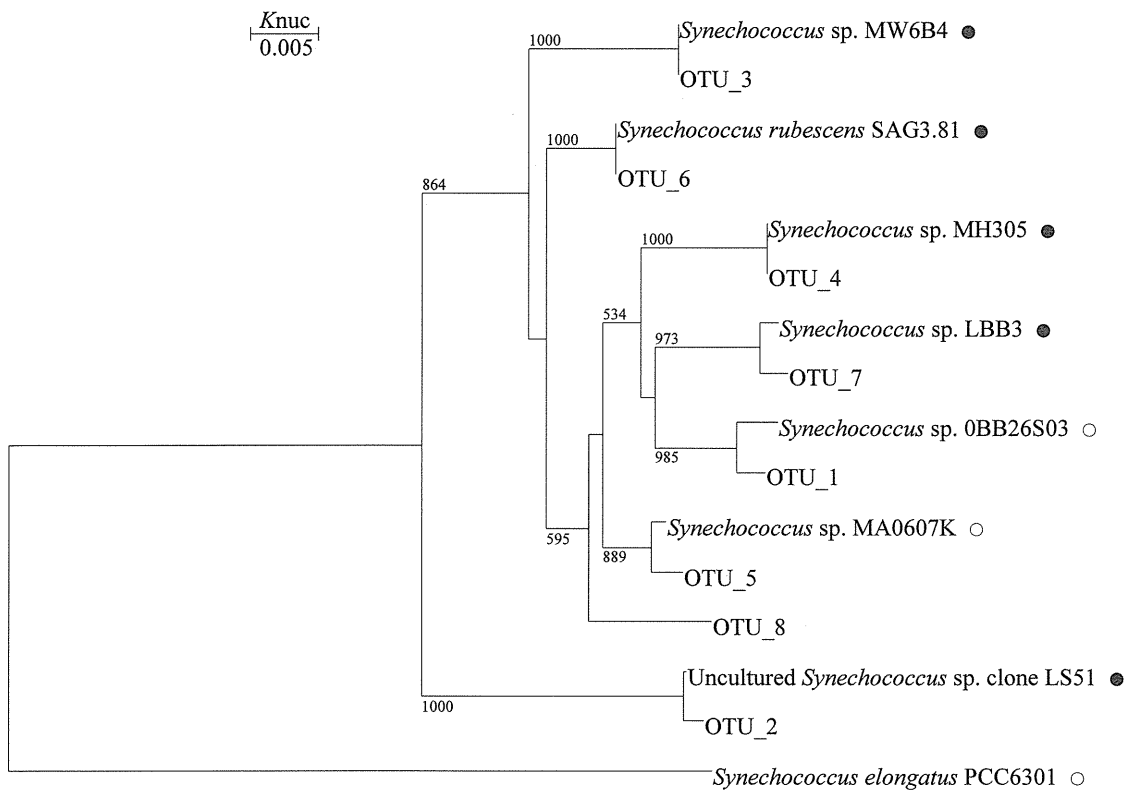


図2 長沢浄水場工程水から検出された OTU および分離株の 16S rRNA 遺伝子に基づく系統樹、約 580 塩基に基づいて作成、● : PE-type ○ : PC-type

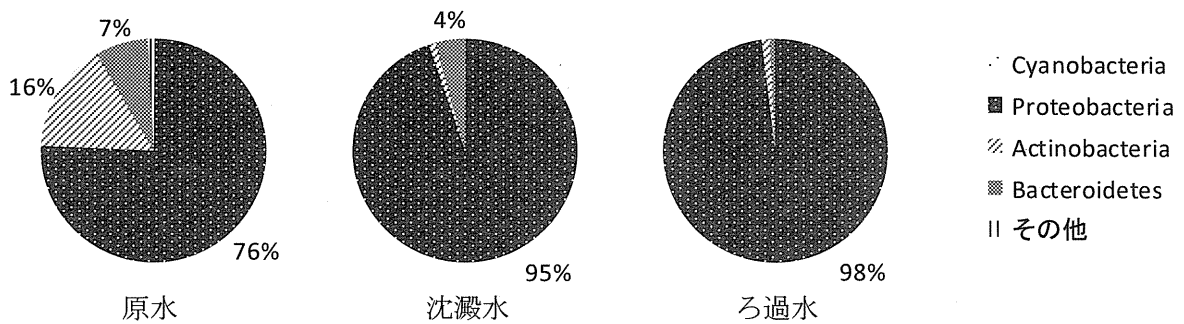


図3 長沢浄水場工程水の 16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンスによる真正細菌の門レベルの組成 (2012年10月)

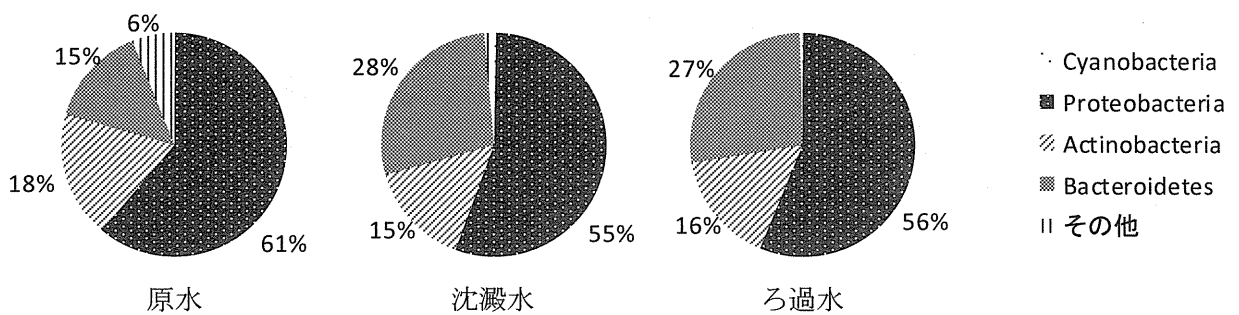


図4 長沢浄水場工程水の 16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンスによる真正細菌の門レベルの組成 (2013年2月)

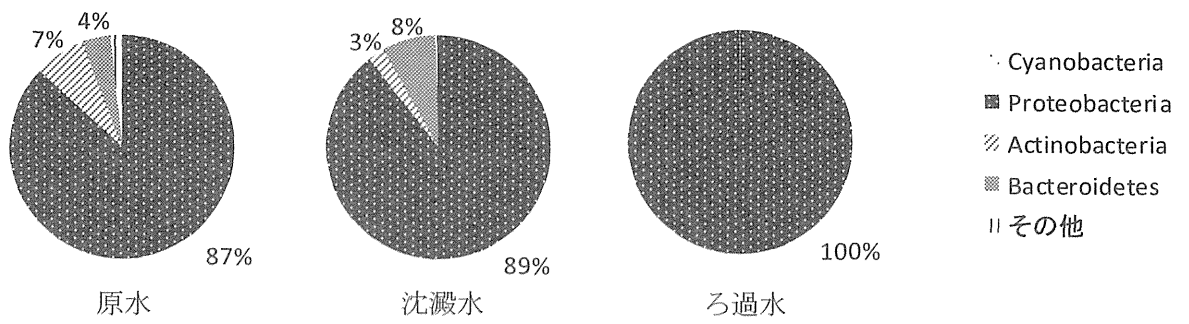


図5 長沢浄水場工程水の16S rRNA遺伝子アンプリコンシーケンスによる真正細菌の門レベルの組成 (2013年6月)

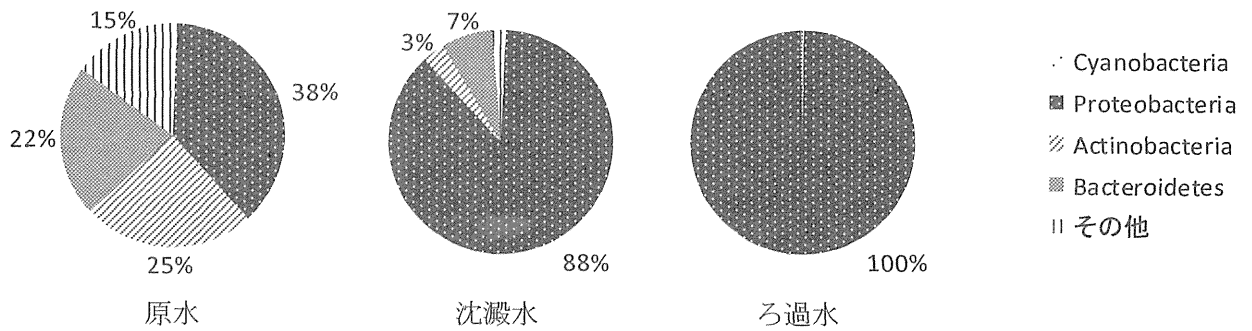


図6 長沢浄水場工程水の16S rRNA遺伝子アンプリコンシーケンスによる真正細菌の門レベルの組成 (2013年7月)

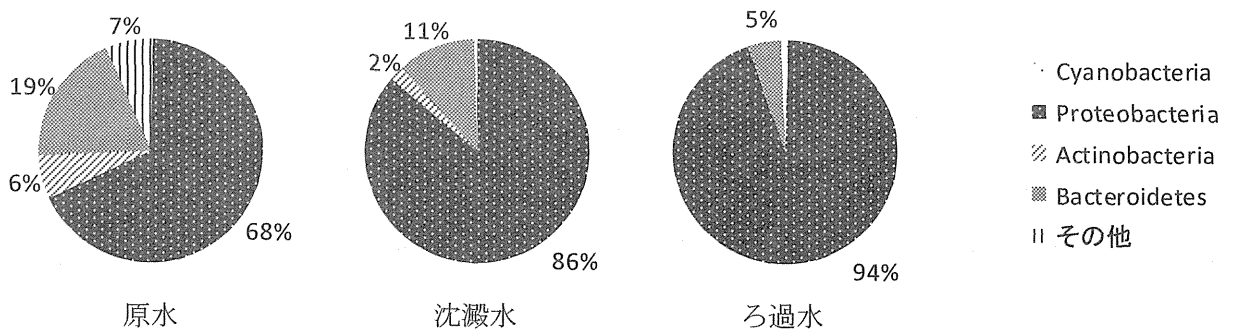


図7 長沢浄水場工程水の16S rRNA遺伝子アンプリコンシーケンスによる真正細菌の門レベルの組成 (2013年9月)

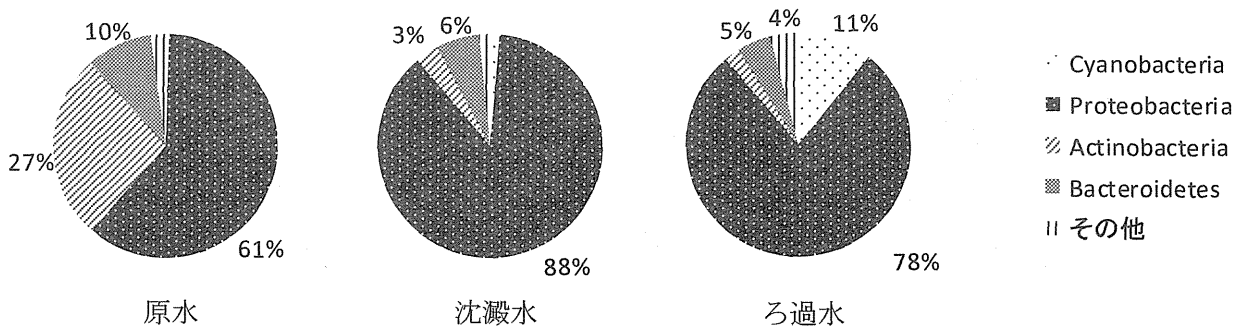


図8 長沢浄水場工程水の16S rRNA遺伝子アンプリコンシーケンスによる真正細菌の門レベルの組成 (2013年10月)

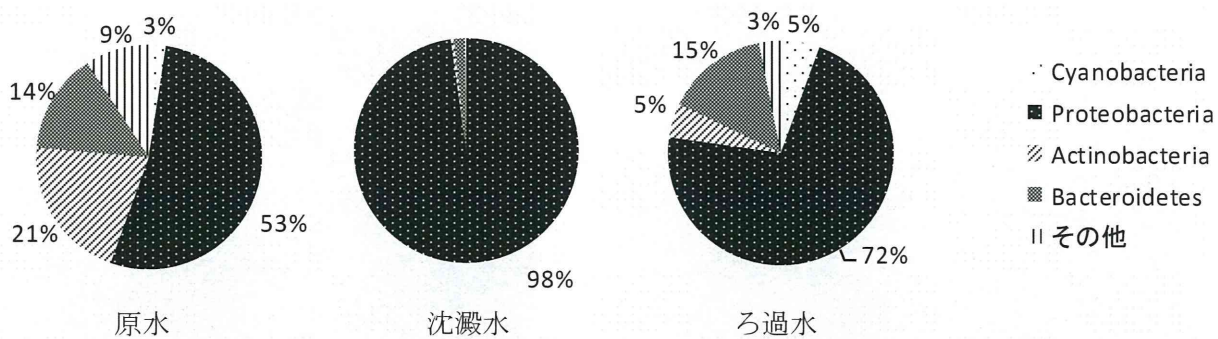


図9 長沢浄水場工程水の16S rRNA遺伝子アンプリコンシーケンスによる真正細菌の門レベルの組成 (2013年11月)

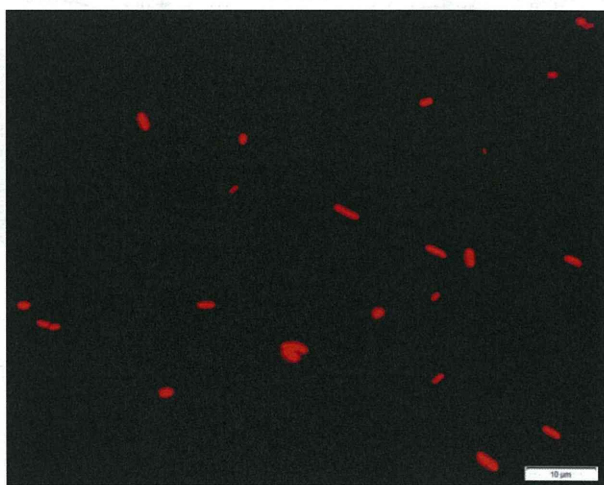
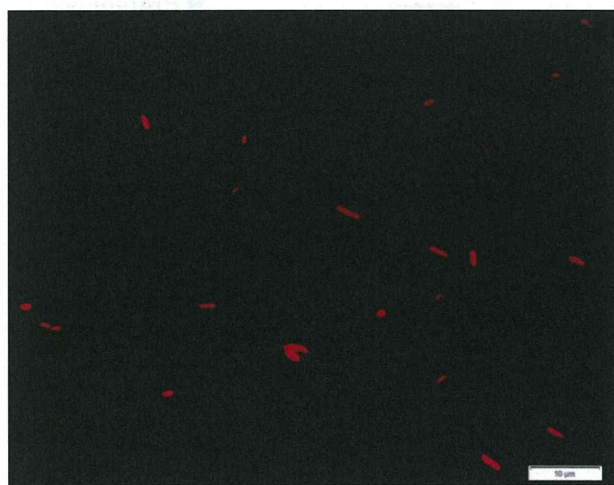


写真1 長沢浄水場原水から分離したN-1株の落射蛍光顕微鏡写真 (左:B励起、右G励起、バーは10μm)

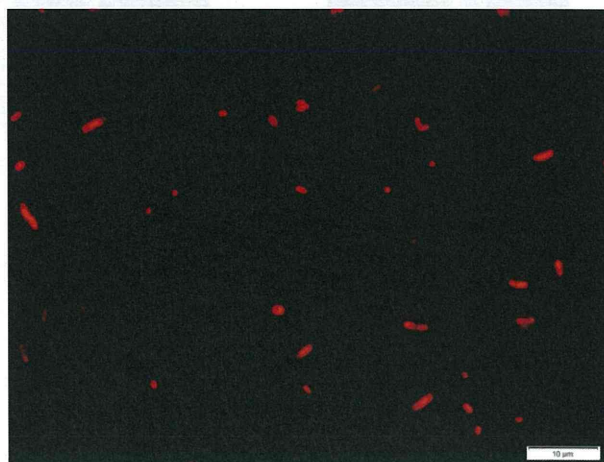


写真2 長沢浄水場原水から分離したN-2株の落射蛍光顕微鏡写真 (左:B励起、右G励起、バーは10μm)

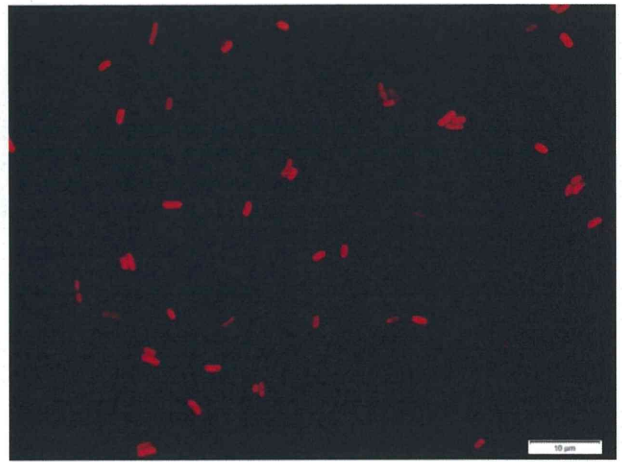
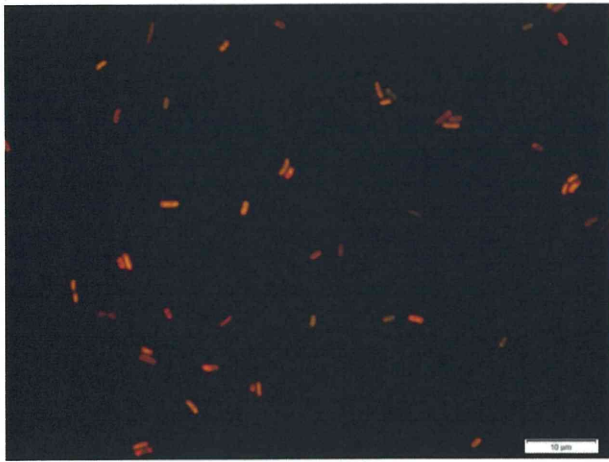


写真3 長沢浄水場沈澱水から分離した N-3 株の落射蛍光顕微鏡写真
(左:B 励起、右 G 励起、バーは 10μm)

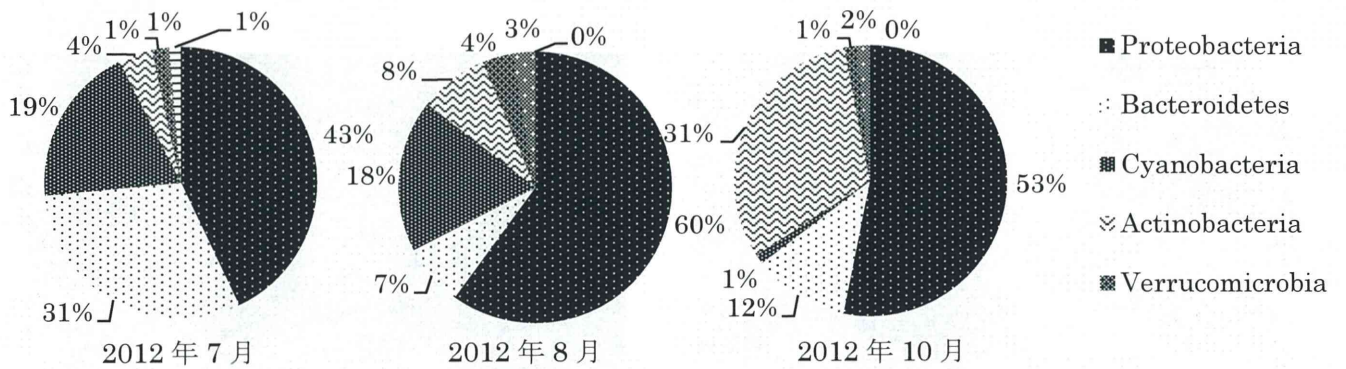


図10 草木湖の 16S rDNA 遺伝子アンプリコンシーケンスによる真正細菌の門レベルの組成

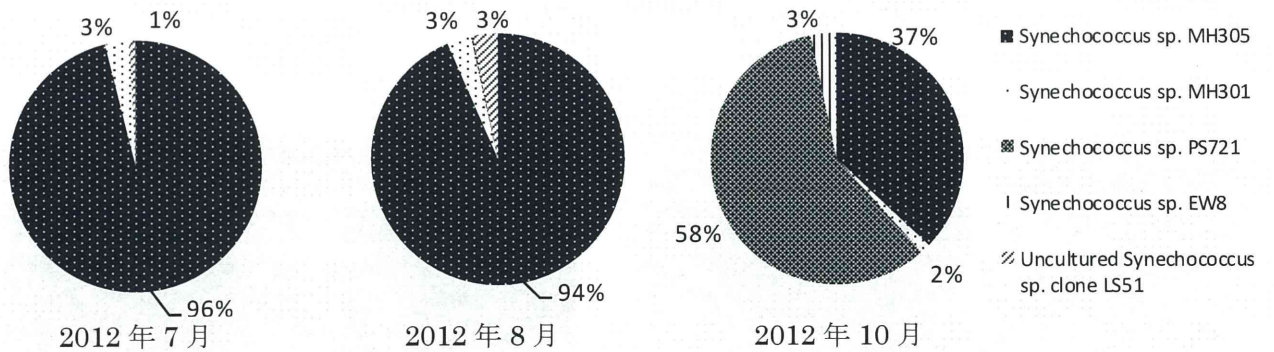


図11 草木湖の 16S rDNA 遺伝子アンプリコンシーケンスによる *Synechococcus* 属の組成

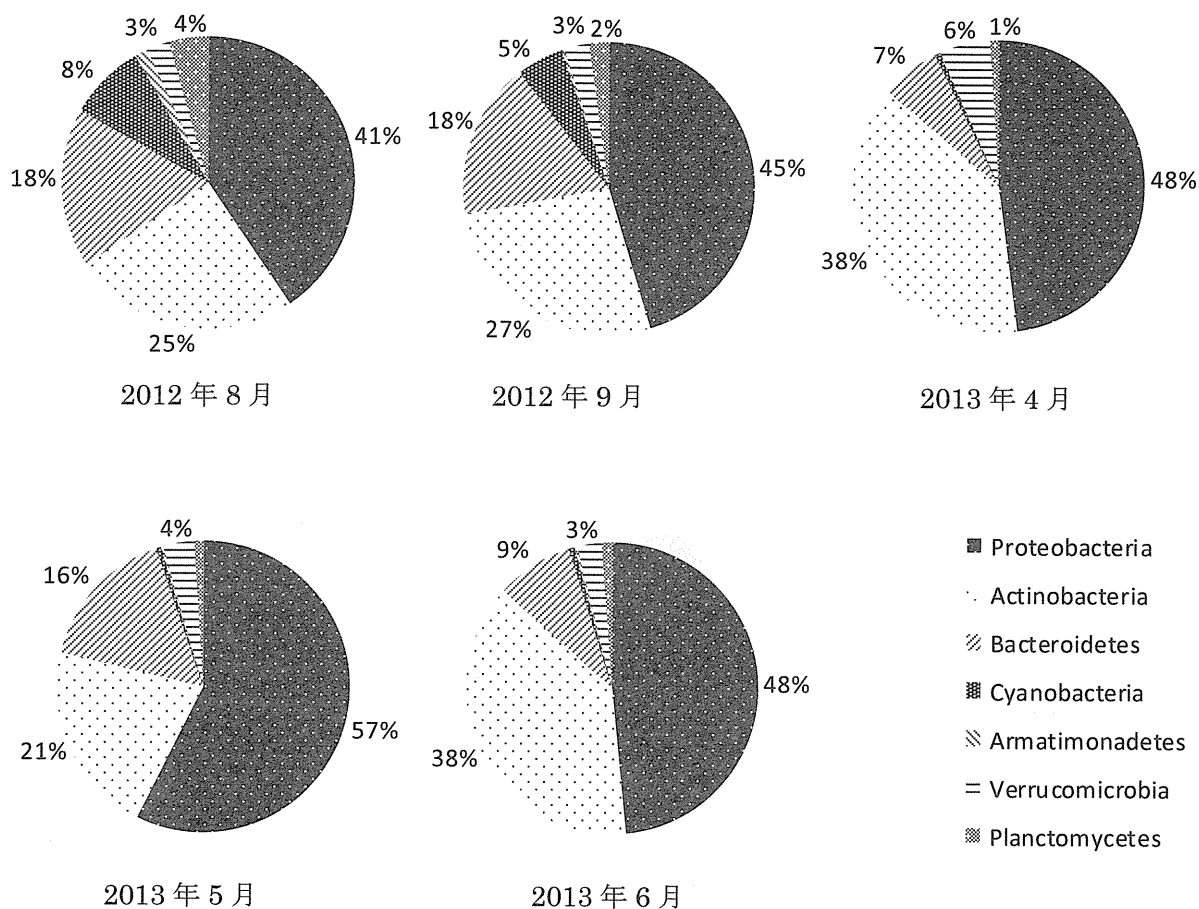


図 12 宮ヶ瀬湖の 16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンスによる真正細菌の門レベルの組成

表 2 宮ヶ瀬湖の 16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンスによる *Synechococcus* 属の OTU とその各月におけるリード数

| OTU | Closest Relative | Identity(%) | 2012 | | 2013 | | |
|-----------|---|-------------|-------|------|------|-----|-----|
| | | | Aug | Sep | Apr | May | Jun |
| LM_otu_1 | <i>Synechococcus</i> sp. MW6B4 | 100 | 11510 | 3064 | 502 | 501 | 609 |
| LM_otu_2 | <i>Synechococcus rubescens</i> SAG 3.81 | 96 | 109 | 359 | 103 | 88 | 17 |
| LM_otu_3 | <i>Synechococcus rubescens</i> SAG 3.81 | 100 | 4276 | 107 | 27 | 88 | 61 |
| LM_otu_4 | <i>Synechococcus</i> sp. MH305 | 100 | 469 | 195 | 219 | 64 | 22 |
| LM_otu_5 | <i>Synechococcus</i> sp. MH305 | 97.2 | 91 | 4360 | 3 | 91 | 1 |
| LM_otu_6 | <i>Synechococcus</i> sp. PCC7918 | 99.2 | 96 | 2118 | 0 | 32 | 0 |
| LM_otu_7 | <i>Synechococcus</i> sp. MA0607K | 99.6 | 275 | 104 | 0 | 1 | 0 |
| LM_otu_8 | <i>Synechococcus</i> sp. LBG2 | 99.6 | 4 | 192 | 0 | 3 | 0 |
| LM_otu_9 | <i>Synechococcus</i> sp. MH301 | 100 | 17 | 0 | 35 | 6 | 53 |
| LM_otu_10 | <i>Synechococcus</i> sp. PS721 | 100 | 130 | 36 | 0 | 1 | 0 |
| LM_otu_11 | <i>Synechococcus</i> sp. PCC7920 | 99.2 | 38 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| LM_otu_12 | <i>Synechococcus</i> sp. 0BB22S0 | 99.2 | 7 | 0 | 0 | 0 | 0 |

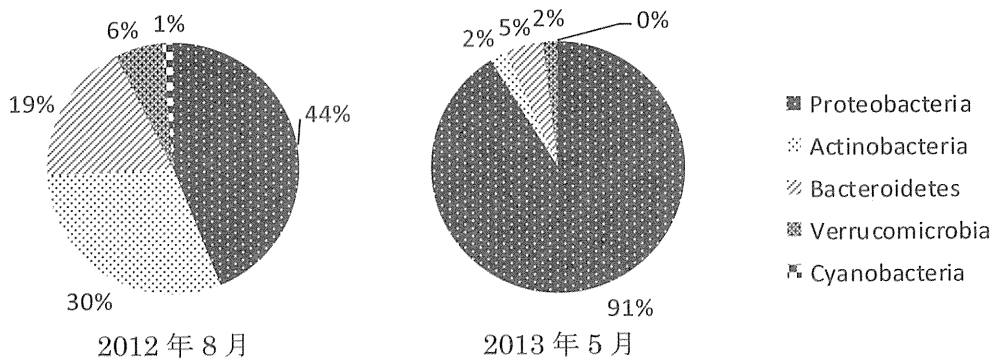


図 13 江戸川の 16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンスによる真正細菌の門レベルの組成

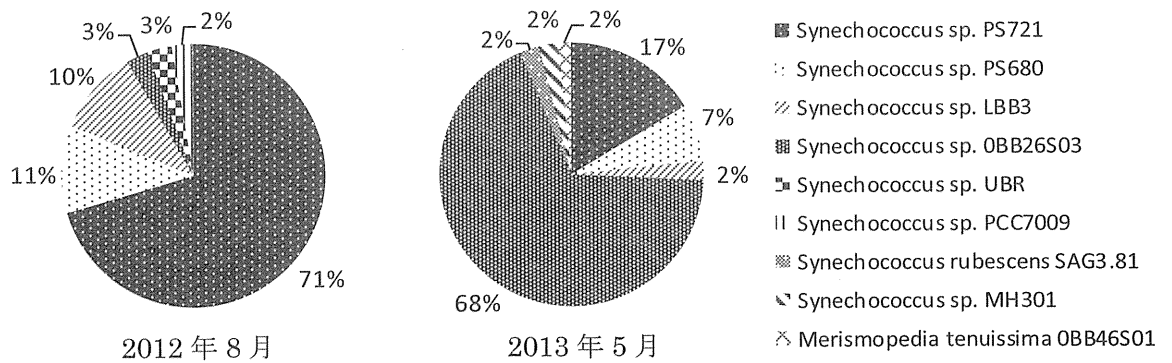


図 14 江戸川の 16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンスによる *Synechococcus* 属の組成

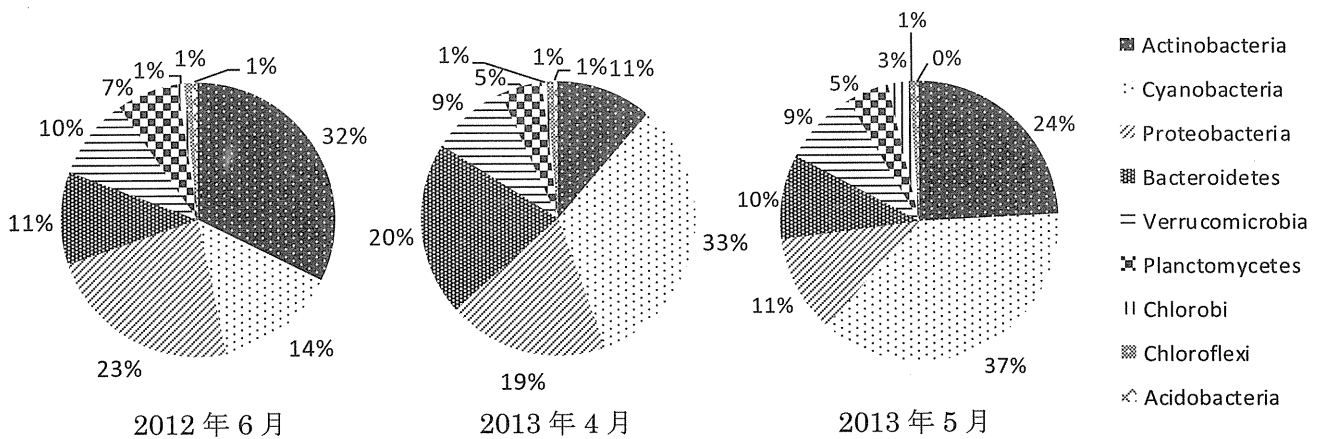


図 15 鰯川の 16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンスによる真正細菌の門レベルの組成

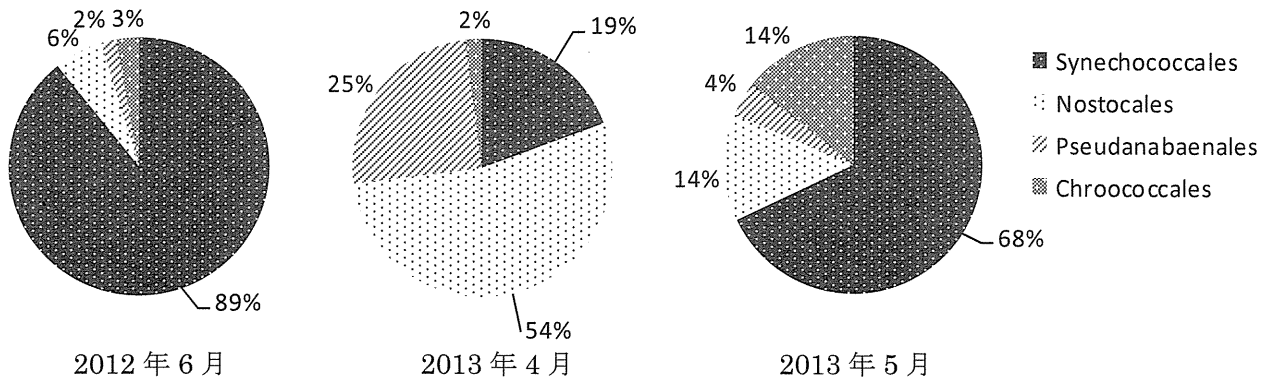


図 16 鱒川の 16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンスによる Cyanobacteria 門の組成

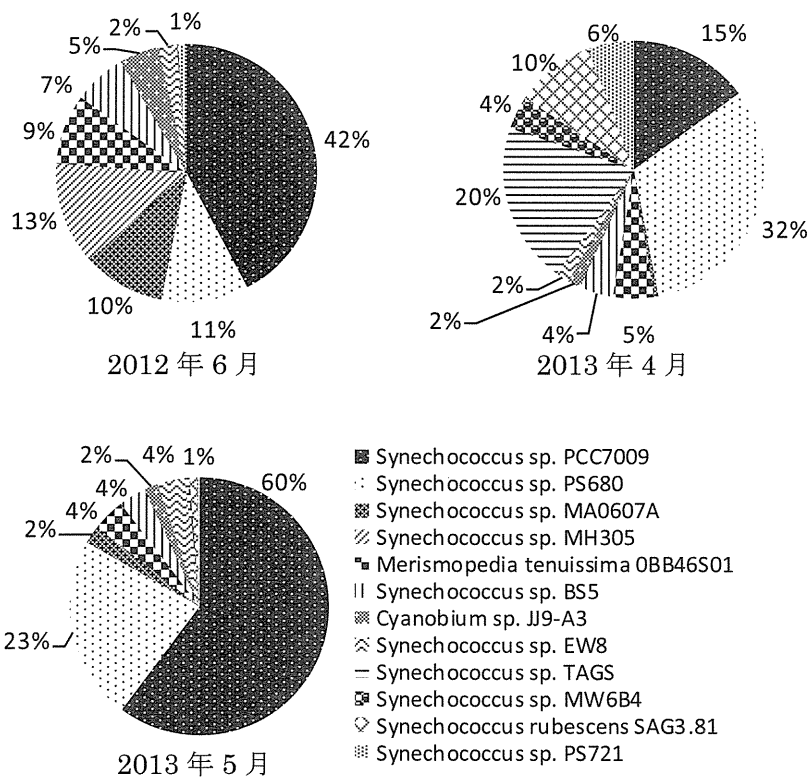


図 17 鱒川の 16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンスによる *Synechococcus* 属の組成

分担研究報告書 4

生物障害を起こさないための浄水処理技術の開発

研究代表者 秋葉 道宏
研究分担者 西村 修

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）
「水道システムにおける生物障害の実態把握とその低減対策に関する研究」
分担研究報告書

研究課題：生物障害を起こさないための浄水処理技術の開発

研究代表者 秋葉 道宏 国立保健医療科学院 統括研究官
研究分担者 西村 修 東北大学大学院工学研究科教授

研究要旨

本年度は、ピコ植物プランクトンによるろ過障害、濁度障害の問題への対応策として、浄水現場にて二段凝集が最もよく行われていることに鑑み、二段凝集の処理メカニズムの解明を目的に、培養したピコ植物プランクトンを懸濁させた原水を用いてラボスケールの凝集ろ過処理実験、および凝集沈澱ろ過処理実験を行い、二段凝集処理の効果を解析した。

その結果、ピコ植物プランクトンのような粒径の極めて小さい植物プランクトンに対して 5 mg-PAC/L の凝集剤を注入した凝集沈澱ろ過法において、粒径 200 μm 超にピークをもち、10 μm 以下のフロックがほとんど存在しないフロックを形成することが可能であり、このようなフロックは沈澱によっては 50% 程度しか除去できないものの、ろ過によってほぼ完全に除去できることが明らかになった。

しかし、凝集剤注入量がより少ない 2 mg-PAC/L の場合、濁度は完全には除去されずろ過漏出が生じた。一方、凝集剤注入量がより多い 10 mg-PAC/L の場合、ろ過水の濁度は 0 度となったものの、ろ過閉塞が生じた。さらに、ろ過水へのアルミニウムの漏出という観点から、最適凝集剤注入量より高い場合も低い場合もアルミニウム濃度が高まることが示唆された。

ピコ植物プランクトンを凝集沈澱処理するためには、粘土粒子等に比べて比重が小さく沈澱除去が困難であること、また粘土粒子等に比べてより多くの凝集剤注入量を必要とし、結果としてフロックの再分散を生じる可能性が高いことから、ろ過処理前に適切な凝集剤注入量によってろ過除去可能なフロックを形成する凝集ろ過法は、ピコ植物プランクトンの除去には極めて合理的であると言える。

A. 研究目的

近年、湖沼、ダム貯水池を水源とする浄水場でピコ植物プランクトンによるろ過障害、濁度障害が問題となっている。この対応策として現場では二段凝集が最もよく行われている¹⁾。二段凝集とは通常の凝集沈澱処理に加え、ろ過池直前で再度凝集剤を添加する方法である。しかし、二段凝集操作の効果に関する知見は経験的な要素が多く、メカニズムや最適な処理条件に関する報告は少ない。

そこで本研究では、二段凝集の処理メカニ

ズムの解明を目的に、培養したピコ植物プランクトンを懸濁させた原水を用いてラボスケールの凝集ろ過処理実験、および凝集沈澱ろ過処理実験を行い、二段凝集処理の効果を解析した。

B. 研究方法

1) ピコ植物プランクトン懸濁液の作成

ピコ植物プランクトンは(独)国立環境研究所 NIES-1348 の *Synechococcus* sp. を使用した。CB 培地にて温度条件 25 \pm 1 $^{\circ}\text{C}$ 、光

条件 $18 \mu \text{mol photons/m}^2/\text{sec}$ 、12-h light/12-h dark で培養を行った。

草木ダム堰堤上流の表層水を分析したところ Cyanobacteria 門が $1 \times 10^5 \sim 2 \times 10^5$ cells/mL 検出され、そのうち *Synechococcus* 属が 90%だったという報告を参考に¹⁾、培養した *Synechococcus* sp.を活性炭を通した水道水で 1×10^5 cells/mL の細胞数になるよう希釈し (濁度は 2 度程度)、これを曝気攪拌したものを原水として使用した。

2) 凝集剤

ポリ塩化アルミニウム(PAC)を所定の濃度で用いた。

3) ゼータ電位の測定

ゼータ電位の測定には Micro-Electrophoresis Apparatus Mk II(Rank Brothers, UK)を用いた。室温 $20 \pm 1^\circ\text{C}$ 、80mV の条件で、Smoluchowski 式によって計算してゼータ電位を得た。

4) 粒径分布の測定

粒径は日機装社の粒度分光計 Microtrac HRA 9320-X100 を用いて測定した。全体を 100%としたときのある粒径の出現割合を頻度として表した。

5) アルミニウム濃度の測定

処理水に残留するアルミニウム濃度の測定は Thermo Scientific 社製 ICP-AES iCAP6500 を用いて行った。

6) 凝集ろ過実験

原水に凝集剤を注入した直後、ろ過を行う凝集ろ過法の実験は図 1 に示す装置を用いて以下の通り行なった。

ろ過には直径 3 cm、高さ 100 cm の円筒を使用した。ろ過速度が 100 m/d の急速ろ過になるよう流量は 50 mL/min に調整した。このろ過筒に有効径 0.5 mm、均等係数 1.5 の砂を高さ 50 cm 部分まで充填した。そして、ろ材の表層から深さ 5、15、30 cm の位置の水頭を測定できるようにマンメーターを設置した。

凝集剤の注入条件は 0、2、5、10 mg-PAC/L の 4 条件であり、攪拌は行わず、ろ過層上部の水を貯留する空間で原水と凝集剤を混合

した。

実験は 1 回毎に逆流洗浄を行った。1 回のろ過継続時間は 2 時間とし、15 分毎にろ水をサンプリングして濁度、損失水頭を測定した。ろ層に流入する粒子のゼータ電位は、凝集剤を添加した後の水をサンプリングして測定した。

7) 凝集沈澱ろ過実験

日本水道協会がまとめた「水道施設基準解説」を参考に、急速攪拌槽、フロック形成槽、沈澱槽を作成した。また、本実験には凝集ろ過実験で使用したろ過筒を使用した。概要を図 2 に示す。

ろ過速度が 100 m/d の急速ろ過になるよう流量は 50 mL/min に調整し、この流量で急速攪拌を約 7 分、緩速攪拌を約 30 分、沈澱を約 1 時間となるように各槽を設計した。

急速攪拌槽は直径 7cm、高さ 20cm の円筒であり、高さ 10cm の位置から水を流出させた。凝集剤、および原水はポンプを用いて流量を調整し、急速攪拌槽中の円筒の流入口の上部から注入し、下部のスターラーで攪拌されるようにした。攪拌にはスターラーを使用した。G 値は 100 s^{-1} に設定した。

フロック形成槽は縦 9cm、横 15cm、高さ 10cm の直方体である。急速攪拌槽からの処理水は阻流板によりフロック形成槽の下部でプロペラ攪拌機により満遍なく攪拌されるようにした。G 値は 18 s^{-1} に設定した。

沈澱槽は縦 9cm、横 40cm、高さ 10cm の直方体である。フロック形成槽と接続しており、フロック形成槽の処理水が越流して流れ込むようにした。またフロック形成槽と同様に阻流板を使用した。

急速攪拌槽における凝集剤濃度は 2、5、10 mg-PAC/L に設定した。実験は 1 回毎に逆流洗浄を行った。1 回のろ過継続時間は 3 時間とし、30 分毎にろ水、1 時間毎に沈澱処理水をサンプリングした。測定項目は濁度、粒径分布、ゼータ電位とした。

C. 研究結果および D. 考察

1) 凝集ろ過実験

凝集ろ過法の濁度処理能力を図3に示す。凝集剤を添加しない系では原水の濁度2.2度に対してろ過水の濁度は1.9度と14%の濁度が除去されるにとどまった。

これに対して凝集剤を添加した系では、ろ過漏出が起こった2mg-PAC/Lでも原水濁度2.3度からろ過水濁度0.3度と87%以上除去されていた。さらにこの系でも1時間を過ぎてからの濁度は0度(検出下限値未満、以降同様)となった。

一方、凝集剤注入量5、10mg-PAC/Lの場合は、初期より一貫してろ過水濁度が0度であった。

凝集ろ過法における総損失水頭の経時変化を図4に示す。2時間目の総損失水頭は2mg-PAC/Lで1.2cm、5mg-PAC/Lで4.7cm、10mg-PAC/Lで19.3cmであり、凝集剤濃度を高くするにつれて総損失水頭が顕著に上昇した。図5に、凝集ろ過法の2時間後の損失水頭の鉛直分布を示す。凝集剤濃度の増加に対し、表層での損失水頭は急激に上がり、10mg-PAC/Lの系ではろ層表面でろ過閉塞を引き起こしたことが分かる。

表1には各凝集剤注入量においてろ層に流入するブロックのゼータ電位を示した。ピコ植物プランクトンのゼータ電位が約-30(mV)であるのに対して、凝集剤注入量が増加するにつれて荷電中和が生じたが、10mg-PAC/Lでも-15(mV)であり、良好な凝集に必要な荷電中和領域である-5~+5(mV)²⁾には達しなかった。

本研究結果から、ピコ植物プランクトンの除去にろ過直前の凝集剤添加が有効であることが確認された。また、わずかにろ過漏出が起こった2mg-PAC/Lでも1時後には濁度がほぼ0となっており、時間とともにブロックの捕捉能力が向上したことが伺われる。

海老江ら³⁾は、PACをろ過装置に流した場合、ろ層上部5cmでアルミニウムが50%抑留されたことを明らかにしているが、ろ過直前に添加した凝集剤がろ層表面に抑留され、ブロックを捕捉する能力を高めたために、2mg-PAC/Lの系で時間経過とともにブロッ

ク捕捉能力が高まったと考えられる。

2) 凝集沈澱ろ過実験

凝集沈澱ろ過法における沈澱処理水の濁度の経時変化を図6(a)に、ろ過処理水の濁度の経時変化を図6(b)に示す。凝集剤注入量2mg-PAC/Lの場合1.6度弱の濁度、凝集剤注入量5、10mg-PAC/Lの場合1度強の濁度でろ過筒へ流入していた。しかし、ろ過処理によって2mg-PAC/Lの系を除き濁度は0度となった。2mg-PAC/Lの系においては、0.5hの時のみ濁度が0.2度程度であり、「クリプトスポリジウム等対策指針」において求められている0.1度未満を達成していなかったが、それ以降は0.1度未満を達成していた。

凝集沈澱ろ過法における総損失水頭の経時変化を図7に示す。凝集沈澱ろ過法では、実験終了時の3時間目の総損失水頭は2mg-PAC/Lで1cm、5mg-PAC/Lで1.6cm、10mg-PAC/Lで4.6cmであった。凝集剤濃度を上げると総損失水頭も増加するが、凝集ろ過実験で見られた急激な総損失水頭の増加は見られず、処理が良好に継続したことが分かる。

2時間目の総損失水頭を凝集沈澱ろ過法と凝集ろ過法で比較すると、2mg-PAC/Lで2倍、5mg-PAC/Lで5倍、10mg-PAC/Lで9倍、凝集ろ過法の総損失水頭が大きかった。

ろ過漏出が起こった2mg-PAC/L系の粒径分布を図8に示す。ここで、縦軸の頻度は粒子全体の個数に対する各粒径の粒子の出現頻度を示す(各ラインで示される頻度の総和(面積)は100%として示している)。沈澱槽で沈降するブロック(沈澱物)と浮遊するブロック(浮遊物)の粒径を比較すると、沈澱物には浮遊物よりやや大き目の100 μ m以上のブロックが存在し、一方浮遊物は10 μ m以下の比較的小さなブロックが存在した。この差が沈澱によって除去されたブロックの特徴を表している。すなわち図6に示したように凝集沈澱ろ過法において凝集沈澱処理によって濁度が2.2度から1.6度に低下したが、この結果は粒径100 μ m以上のブロックが除去されたことによるものと見ることが