

## 浄水プロセスにおける障害生物の挙動解明

研究代表者	秋葉	道宏
研究分担者	藤本	尚志
研究協力者	藤瀬	大輝



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)  
「水道事業の流域連携の推進に伴う水供給システムにおける生物障害対策の強化に関する研究」  
分担研究報告書

研究課題：浄水プロセスにおける障害生物の挙動解明

研究代表者 秋葉 道宏 国立保健医療科学院 生活環境研究部 部長  
研究分担者 藤本 尚志 東京農業大学応用生物科学部 教授  
研究協力者 藤瀬 大輝 川崎市上下水道局水管理センター水道水質課 担当係長

研究要旨

浄水処理のコストや、衛生管理の観点から、処理工程における微生物の挙動を把握することは重要である。これまで、16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンシングを用いて、浄水場処理工程水の微生物相を解析してきた。その結果、各処理工程水は細菌の占める割合が高く、ろ過漏出障害の原因となる可能性が示唆された。また、沈澱処理水とろ過水間で、微生物相が大きく変化することが明らかになった。そこで本研究では浄水場における細菌の挙動を明らかにするため、川崎市上下水道局長沢浄水場の原水、沈澱処理水、ろ過水の細菌相について PMA-PCR 法を用いて生菌と死菌を識別して評価した。

原水において PMA 処理の有無による微生物相の違いは、8 月、9 月ともに、綱レベルでも属レベルでもみられなかった。PMA 処理の有無における微生物相から評価した結果、沈澱処理水における主要な生菌は、*Sphingomonas* 属、*Methylocystis* 属、*Methylobacterium* 属であると考えられた。ろ過水における主要な生菌は、*Sphingomonas* 属、*Methylocystis* 属であると考えられた。これらは、沈澱処理水から流入したものと考えられた。以上の結果から PMA-PCR 法により浄水場処理工程水中の生菌の挙動を評価できることが示唆された。

A. 研究目的

浄水処理のコストや、衛生管理の観点から、処理工程における微生物の挙動を把握することは重要である。これまで、16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンシングを用いて、浄水場処理工程水の微生物相を解析してきた。その結果、各処理工程水は真正細菌の占める割合が高く、ろ過漏出障害の原因となる可能性が示唆された。また、沈澱処理水とろ過水間で、微生物相が大きく変化することが明らかになった<sup>1)</sup>。

そこで本研究では、PMA 処理を行った系と行わない系の微生物相を比較し、処理工程水中の生菌を評価するとともに、処理工程における生菌の挙動について検討を行った。

B. 研究方法

供試試料は、相模湖を取水源とする川崎市上下

水道局長沢浄水場の原水、沈澱処理水、ろ過水を用いた。調査は 2018 年 8 月、9 月に行った。

PMA 処理には PMAxxTM (Biotium 社) を用い、集菌後のフィルターに添加し、暗所で反応後、光照射したのち、DNeasy PowerSoil Kit (QIAGEN 社) を用いて DNA 抽出を行った。また、集菌後に PMA 処理をせず、DNA 抽出を行ったものを対照系として比較を行った。

DNA 抽出物と、16S rRNA 遺伝子の V3-V4 領域をターゲットとしたプライマーセットを用いて PCR 増幅した。シーケンスは Miseq を用いて行い、シーケンスデータの解析は QIIME2 で行った。

C. 研究結果および D. 考察

1) 処理工程にともなう微生物相の変化(PMA 未処理)

微生物相の評価は、無作為の 30,000 リードを用

いて行った。各処理工程水の微生物相において、原水は Betaproteobacteria 綱と Actinobacteria 綱、沈澱処理水は Alphaproteobacteria 綱、Betaproteobacteria 綱、Cytophagia 綱、Sphingobacteriia 綱、ろ過水は Alphaproteobacteria 綱、Gammaproteobacteria 綱、Cytophagia 綱によって主に構成されていた (図 1)。

微生物相は、原水から沈澱処理水にかけて変化しており、原水中の Actinobacteria 綱 (hgcl clade) と others に含まれる分類群が前塩素処理や凝集沈澱処理により減少し、沈澱処理水において Alphaproteobacteria 綱 (*Sphingomonas* 属、*Methylocystis* 属)、Cytophagia 綱 (*Pseudarcicella* 属)、Sphingobacteriia 綱 (*Sediminibacterium* 属) の割合が増加した。また、ろ過処理により Betaproteobacteria 綱 (*Limnohabitans* 属、*Polynucleobacter* 属、*Undibacterium* 属) と Sphingobacteriia 綱 (*Sediminibacterium* 属) の割合が減少し、Alphaproteobacteria 綱 (*Sphingomonas* 属、*Methylocystis* 属、*Methylobacterium* 属) と Gammaproteobacteria 綱 (*Enhydrobacter* 属、*Methylobacter* 属) の割合が増加した。このうち、*Limnohabitans* 属、*Sediminibacterium* 属、*Sphingomonas* 属、*Methylobacterium* 属、*Enhydrobacter* 属は、これまでの検討<sup>1)</sup>においてもろ過水において、総リード数の 5%以上を占めることがあった。

## 2) PMA 処理の有無による微生物相の違い

原水において PMA 処理の有無による微生物相の違いは、8 月、9 月ともに、綱レベルでも属レベルでもみられなかった。

沈澱処理水では、両方の月で違いがみられ、PMA 処理にともない Betaproteobacteria 綱 (*Limnohabitans* 属、*Polynucleobacter* 属)、Cytophagia 綱 (*Pseudarcicella* 属)、Sphingobacteriia 綱 (*Sediminibacterium* 属) の割合が減少し、Alphaproteobacteria 綱 (*Sphingomonas* 属、*Methylocystis* 属、*Methylobacterium* 属)、Gammaproteobacteria 綱 (*Methyloparacoccus* 属、*Methylobacter* 属) の割合が増加した。なお、8 月は Cytophagia 綱の割合に大きな変化はなかったが、*Pseudarcicella* 属の割合の減少と、*Spirosoma* 属の割合の増加がみられた。

ろ過水では、8 月は綱レベルで特徴的な違いは

みられなかったが、PMA 処理にともない *Spirosoma* 属と、Alphaproteobacteria 綱内における *Methylobacterium* 属の割合の減少と、*Phreatobacter* 属の割合の増加がみられた。9 月は PMA 処理にともない Betaproteobacteria 綱 (*Limnohabitans* 属、*Polynucleobacter* 属)、Cytophagia 綱 (*Pseudarcicella* 属)、Sphingobacteriia 綱 (*Sediminibacterium* 属) の割合が減少し、Alphaproteobacteria 綱 (*Sphingomonas* 属、*Methylocystis* 属、*Phreatobacter* 属) の割合が増加した。

## E. 結論

PMA 処理の有無における微生物相から評価した結果、沈澱処理水における主要な生菌は、*Sphingomonas* 属、*Methylocystis* 属、*Methylobacterium* 属であった。

ろ過水における主要な生菌は、*Sphingomonas* 属、*Methylocystis* 属であった。これらは、沈澱処理水から流入したものと考えられた。

## F. 健康危険情報

該当なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

該当なし

### 2. 学会発表

渡邊英梨香，清水瑠花，藤本尚志，蔣紅与，大西章博，志波優，藤瀬大輝，秋葉道宏. PMA 処理を用いた浄水場処理工程水の微生物相解析. 第 53 回日本水環境学会年会，2019.3.，甲府市. 同講演集，p.159.

## H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む。)

### 1. 特許取得

該当なし

### 2. 実用新案登録

該当なし

### 3. その他

該当なし

## I. 参考文献

1) 渡邊英梨香，藤本尚志，大西章博，鈴木昌治，藤瀬大輝，松倉智子，秋葉道宏. 浄水場処理工程水

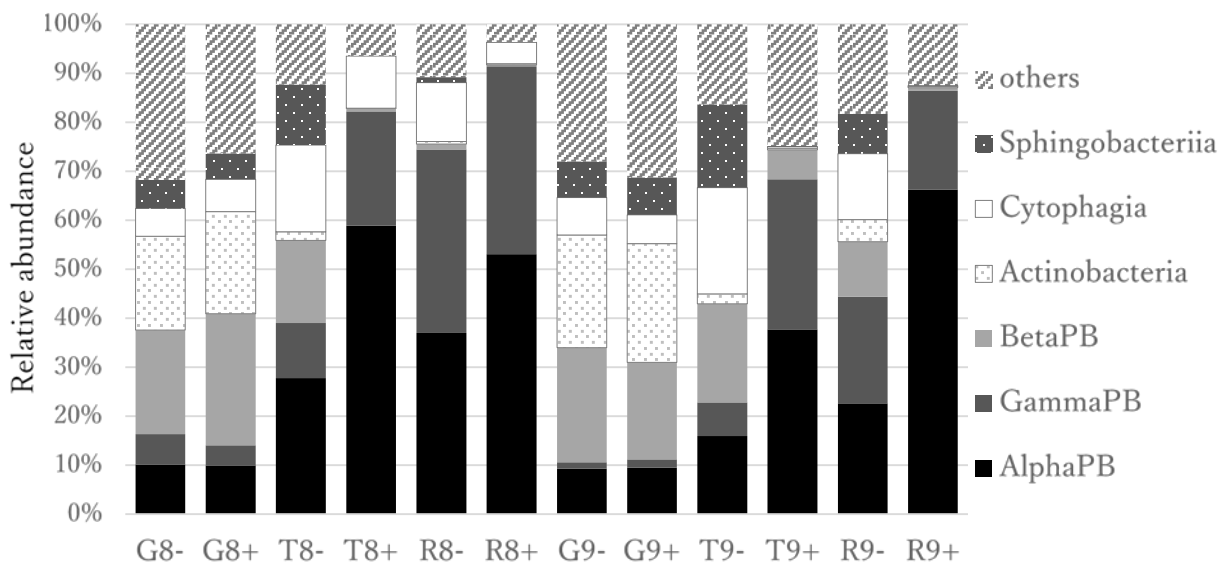


図 1 各試料の PMA 処理の有無における微生物相 (綱レベル)  
 (G 原水、T 沈澱処理水、R ろ過水、- PMA 処理なし、+PMA 処理あり)