

4. バクテリオファージ Q β を用いたウイルスの浄水処理特性の推定

鬼丸 祐二

大阪公立大学大学院 谷本 佳彦

平林 達也

今中 壮一

1. はじめに

水系伝播する病原ウイルスは、胃腸炎や肝炎などヒトに多様な健康被害を及ぼすため、浄水施設において適切に処理される必要がある。また昨今の新型コロナウイルスの感染拡大に伴い、ウイルスへの関心が高い状態にあることから、水道水中のウイルスに関する科学的知見の集積が急務となっている。

水道原水中には 10^5 個/L 程度の病原ウイルスが存在する一方¹⁾、健康影響上の観点から、水道水質としては病原ウイルスを 10^{-5} 個/L にすることが求められる²⁾。そのため、浄水処理において最大 10log の除去・不活化が必要となる。本研究では、ウイルス指標としてバクテリオファージ Q β を用いた室内添加実験を行い、本市浄水場の各処理工程におけるウイルスの LRV を算出し、浄水処理フロー全体でのウイルスの処理性を評価することを目的とした。

2. ウイルス指標としてのバクテリオファージ Q β

病原ウイルスの浄水処理性を確認するためには、病原ウイルスそのものを対象として測定に用いることが最も理想的である。しかしながら、浄水処理水中の病原ウイルス濃度は極めて低く、直接の濃度定量が困難であること、さらにはヒトへの感染リスクを考慮する必要があることから、ウイルス指標としてバクテリオファージ Q β を用いて実験を行った。なお、バクテリオファージ Q β は F 繊維をもつ大腸菌に感染するノンエンベロープ型の一本鎖 RNA ウイルスである³⁾。

3. 浄水処理フロー

大阪市が有する柴島、庭窪、豊野の 3 浄水場では、図-1 に示す浄水処理フローを採用している⁴⁾。3 場ともに淀川の表流水を原水として取水し、急速砂ろ過池の前後に 2 段のオゾン処理、後段に粒状活性炭 (GAC) 処理を配置した高度浄水処理となっている。オゾン処理については、中オゾン接触池では、オゾン注入率 $0.7 \text{ mg-O}_3/\text{L}$ を上限とした溶存オゾン濃度に基づくフィードバック制御を基本として行い、後オゾン接触池では、臭素酸生成抑制の観点から、溶存オゾン濃度と接触時間の積 (CT) が $2.5 \text{ mg-O}_3 \cdot \text{min}/\text{L}$ となるよう溶存オゾン濃度制御を行っている。

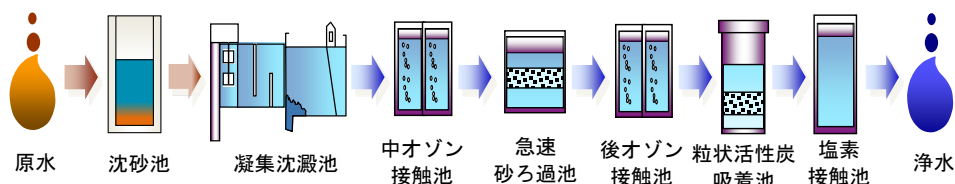


図-1 大阪市における浄水処理フロー

4. 実験方法

4. 1 バクテリオファージ Q β の計数

バクテリオファージ Q β の宿主として大腸菌 K-12 株を使用した。バクテリオファージ Q β および大腸菌 K-12 株の培養には、表-1 に組成を示す 702medium を用いた。バクテリオファージ Q β の培養は永井らの報告⁵⁾に基づき行い、孔径 $0.45\mu\text{m}$ のセルロースアセテート膜にてろ過し、高濃度液 ($2\sim 3 \times 10^{11}$ PFU/mL) を調製した。また、702medium に寒天を加えて調製した二重平板培地を用いてバクテリオファージ Q β のブラック形成単位 (PFU/mL) を算出し、この値をウイルスの処理性評価に用いた。なお、ブラック計数の定量下限を 30PFU/mL として、オゾン処理実験、塩素処理実験においてはバクテリオファージ Q β 不活化率の定量下限値を算出した。また各処理実験におけるブラック計数は、各群につきそれぞれ 3 回ずつ行った。

表-1 培地の組成

702medium	
ハイポリペプトン	10g
酵母エキス	2g
MgSO ₄ ・7H ₂ O	1g
蒸留水	up to 1L

4. 2 凝集沈澱処理実験

ジャーテスター JT-6DN (宮本理研工業株式会社製) を用いて実験を行った。柴島浄水場沈砂池にて晴天時に採水した濁度 3 度の原水 (低濁原水) および雨天時に採水した濁度 30 度の原水 (高濁原水) をそれぞれ供試水とし、バクテリオファージ Q β を添加し攪拌した後、速やかにジャーテストを行った。凝集剤として硫酸アルミニウム (Al₂O₃ として 8.0~8.2wt %) を 20ppm 添加し、必要に応じて塩酸及び水酸化ナトリウムを用いて pH 調整を行った後に、急速攪拌 (120rpm、1 分)、緩速攪拌 (40rpm、10 分) を行い、10 分間静置し、濁質分を沈降させた上澄水を検水とした。

4. 3 砂ろ過処理実験

内径 3 cm、長さ 100cm のアクリル製円筒型カラムに新砂を層厚 60cm 充填した後に、バクテリオファージ Q β を添加した柴島 3 系中オゾン処理水をろ過速度 90m/d で通水し、その流出水を検水とした。なお、ろ過速度は実処理における実測値を反映しており、中オゾン処理水は、予めチオ硫酸ナトリウム水溶液を添加し、残留オゾンを除去している。

4. 4 GAC 処理実験

内径 2.6cm、長さ 100cm のアクリル製円筒型カラムに新炭を層厚 60cm 充填した後に、バクテリオファージ Q β を添加した柴島下系後オゾン処理水を空間速度 5/h で通水し、その流出水を検水とした。なお、空間速度とは、単位時間あたりのろ過材体積に対する処理流量を表した値であり、本実験の空間速度は実処理における実測値を反映している。また後オゾン処理水は、予めチオ硫酸ナトリウム水溶液を添加し、残留オゾンを除去している。

4. 5 オゾン処理実験

オゾン発生装置 WAT-08（株式会社ラウンドサイエンス社製）を用いてバッチ式のオゾン処理実験を行った。柴島 3 系凝集沈殿処理水及び柴島 3 系砂ろ過処理水を供試水とし、バクテリオファージ Q β を添加した後、オゾンガスを毎分 0.2mg/L の割合で注入した。オゾン処理 0、1、2、5、10 分後に採水を行い、速やかに溶存オゾン濃度を測定した後直ちに試料 10mL に対し、0.3%チオ硫酸ナトリウム溶液を 10 μ L 添加することで残留オゾンを除去したものを検水とした。

4. 6 塩素処理実験

柴島下系 GAC 処理水を供試水とし、バクテリオファージ Q β を添加した後に初期遊離塩素濃度が 0.7mg/L となるよう塩素水を加えて素早く攪拌した。その後、塩素処理 0、15 秒、1、2、5、10、20、30、60 分後に採水を行い、速やかに遊離残留塩素濃度を測定した後直ちに試料 10mL に対し、0.3%チオ硫酸ナトリウム水溶液を 10 μ L 添加することで残留オゾン除去したものを検水とした。

5. 結果と考察

5. 1 凝集沈殿処理

凝集沈殿処理実験の結果を図-2 に示す。なお、原水中の濁質分への吸着影響も評価するため、凝集剤を添加せずに所定の時間ジャーテストを行った試料を対照群として図中に示した。対照群の生存率を 1 とし、実験群の処理性を求めたところ、凝集沈殿処理による除去率は低濁度原水試料では 90% (1.0log)、高濁度原水試料では 94%(1.21log) となった。

5. 2 砂ろ過処理及び GAC 処理

砂ろ過処理実験の結果及び GAC 処理実験の結果を図-3 及び図-4 に示す。なお、これらの実験においては、流入水を対照群としてその結果を図に示した。同様に除去率を求めると、砂ろ過処理では 43%(0.21log)、GAC 処理では 34% (0.21log) となった。

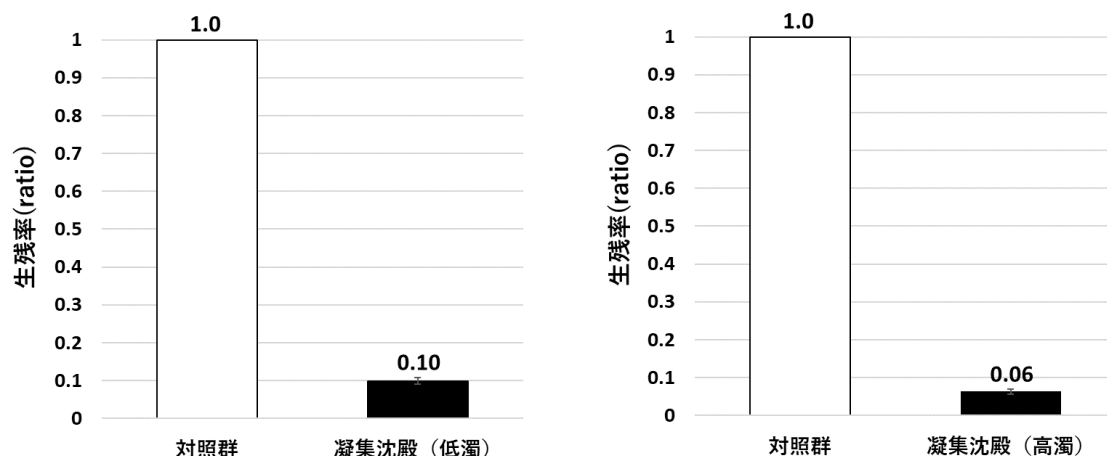


図-2 低濁度原水試料（左）および高濁度原水試料における凝集沈殿処理の除去性

5. 3 オゾン処理

本市の浄水処理フローを反映するために、凝集沈殿処理水を処理対象とした中オゾン処理実験、砂ろ過処理水を処理対象とした後オゾン処理実験を行った。中オゾン処理実験の結果を図-5 に、後オゾン処理実験の結果を図-6 に示す。なお、オゾンガスではなく、酸素ガスを送気した時の不活化率を対照群の結果として示した。

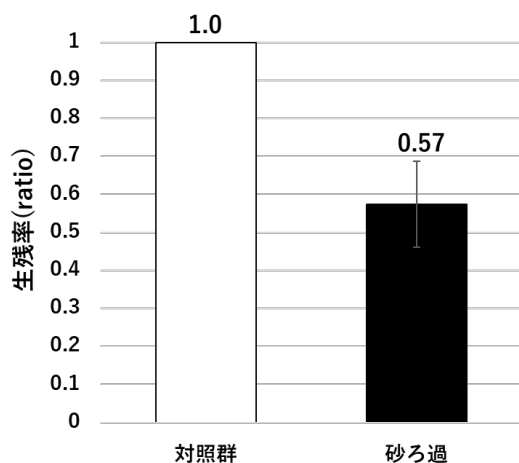


図-3 砂ろ過処理の除去性

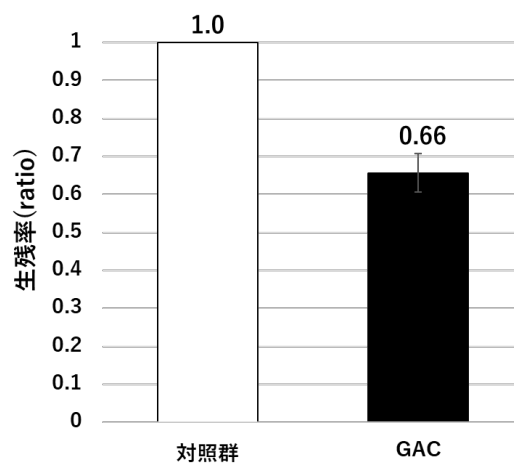


図-4 GAC 処理の除去性

図-5 より、中オゾン処理については、試料水によりオゾンが消費されたため溶存オゾンは検出されなかったものの、徐々にバクテリオファージ Qβ の不活化反応が進行し、最終的に 10 分間オゾン接触させることにより 4.8log 不活化された。

次に、後オゾン処理では、オゾン注入後、速やかに 5log 程度不活化され、その後緩やかに不活化反応が進行し、最終的に 10 分間で 6.1log 不活化された。

また、溶存オゾン濃度は、接触開始後 2 分間は検出されなかったが、それ以降は検出されるようになり、オゾン接触 5 分後の CT 値は 0.2 mg-O₃・min/L、10 分後の CT 値は 0.8 mg-O₃・min/L であった。本市では後オゾン処理における CT 値が 2.5 mg-O₃・min/L となるよう溶存オゾン濃度制御を行っていることを考えると、後オゾン処理のみでもウイルスは十分に不活化されると推測された。なお、中オゾン処理実験の不活化率の定量下限は 5.3log、後オゾン処理実験の不活化率の定量下限は 6.3log であった。

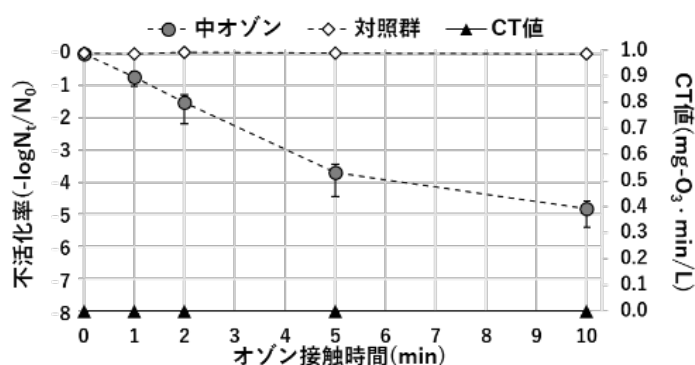


図-5 中オゾン処理の不活化特性

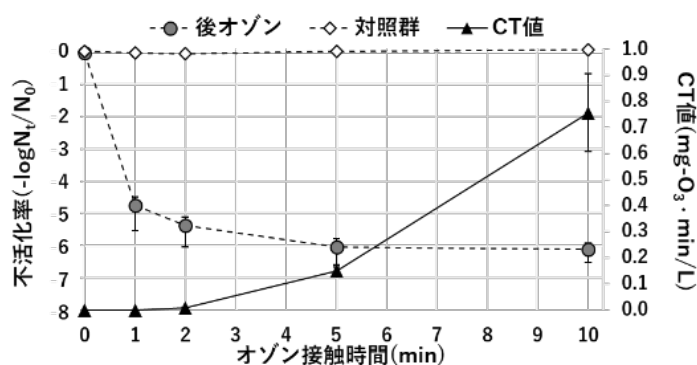


図-6 後オゾン処理の不活化特性

5. 4 塩素処理

塩素処理実験の結果を図-7 に示す。対照群は塩素を添加せず静置させた時の結果を示している。塩素添加から 5 分ほどで 3log 以上不活化され、その後緩やかに不活化反応が進行し、最終的に 60 分間で 4.9log 不活化された。60 分後の塩素 CT 値は 17 mg-Cl₂・min/L となっており、本市の浄水処理フローでの塩素接触池における塩素 CT 値よりも小さくなっている。なお、塩素処理実験における不活化率の定量下限は 5.4log であった。

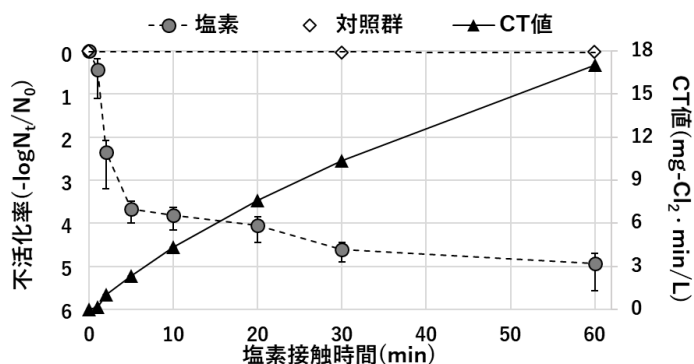


図-7 塩素処理の不活化特性

5. 5 浄水処理フロー全体での処理性評価

得られた結果から各浄水処理工程のウイルスの処理性を表-2 にまとめた。凝集沈殿処理は、安全側の評価を行うために低濁度原水の結果である 1.0log を採用した。また中オゾン処理、後オゾン処理、塩素処理に関しては、浄水場での運用と比較して安全側の実験条件であると考えられたため、それぞれ $\geq 4.8\log$ 、 $\geq 6.1\log$ 、 $\geq 4.9\log$ と示した。得られた各浄水処理工程の除去率及び不活化率を組み合わせることにより、本市の浄水処理システムでのトータルの処理性を評価すると、17.2log 以上であると推定された。また、ウイルスの浄水処理特性は、オゾン処理ならびに塩素処理に大きく依存していることが明らかになった。

表-2 各浄水処理工程におけるウイルスの処理性の比較

	凝集沈殿	中オゾン	急速砂ろ過	後オゾン	GAC	塩素	計
除去	1.0log	—	0.2log	—	0.2log	—	$\geq 17.2\log$
不活化	—	$\geq 4.8\log$	—	$\geq 6.1\log$	—	$\geq 4.9\log$	

6. まとめ

ウイルスの浄水処理特性を明らかにするために、ウイルス指標としてバクテリオファージ Q β を用いた室内添加実験を行った。本調査の結果、各浄水処理工程のウイルスの処理性が示され、処理工程の中ではオゾン処理と塩素処理の作用に大きく依存していることが確認された。また、本市の浄水処理システム全体としては、17.2log 以上のウイルスの処理性があると推定された。

7. 参考文献

- 1) Miura, T. *et al.* Detection of Norovirus and Rotavirus Present in Suspended and Dissolved Forms in Drinking Water Sources. Food and Environmental Virology, 11(1), pp.9-19, 2019.
- 2) World Health Organization. Guidelines for Drinking-water Quality, Fourth Edition, 2011.
- 3) 関谷毅史ら：大腸菌ファージ Q β を用いたオゾンのウイルス不活化に関する研究，水道協会雑誌，第 62 巻 第 2 号，pp.21-27，(1993)
- 4) 寺嶋勝彦：大阪市の高度浄水処理について，生活衛生，第 46 巻 第 3 号，pp.79-84，(2002)
- 5) 永井利郎ら：バクテリオファージの取扱法，微生物遺伝資源利用マニュアル，(2019)