

2004 年度 修士論文

下水処理水のオゾン消毒における大腸菌ファージの  
不活化速度

Inactivation Rate of Coliphages in Treated Wastewater  
by Ozonation

上條 絵美子

Emiko KAMIJO

東京大学大学院 新領域創成科学研究科

環境学専攻 社会文化環境学コース

## 目 次

第1章 はじめに.....	3
1 - 1 研究の背景.....	3
1 - 2 研究の目的.....	4
第2章 下水の再利用とオゾンについて.....	6
2 - 1 都市の水使用量の変遷と再利用量.....	6
2 - 2 水環境における安全リスクと病原微生物.....	11
2 - 2 - 1 病原微生物.....	11
2 - 2 - 2 ウイルスと指標微生物との相関.....	13
2 - 2 - 3 環境中の腸管系ウイルスの流れ.....	14
2 - 2 - 4 現在の疫学的安全性における指標.....	15
2 - 3 水の消毒法.....	17
2 - 3 - 1 消毒法の種類.....	17
2 - 4 オゾンの消毒効果と影響因子.....	19
2 - 4 - 1 オゾンの性質.....	19
2 - 4 - 2 温度の影響.....	20
2 - 4 - 3 有機物の影響.....	21
2 - 4 - 4 pHの影響.....	21
2 - 4 - 5 濁度の影響.....	22
2 - 5 オゾンによる微生物の不活化機構.....	22
2 - 5 - 1 細菌の不活化機構.....	22
2 - 5 - 2 ウイルスの不活化機構.....	23
2 - 6 オゾンに対する病原微生物の感受性の比較.....	23
2 - 6 - 1 消毒速度と定量化.....	23
2 - 7 バクテリオファージ.....	26
2 - 8 オゾン処理の現状.....	27
第3章 実験方法及び実験装置.....	31
3 - 1 微生物の定量法.....	32
3 - 1 - 1 大腸菌群の測定法(デスオキシコーレイト培地法).....	33
3 - 1 - 2 F特異RNA大腸菌ファージQの測定法(重層寒天培養法).....	34
3 - 2 オゾン発生機、原料ガスおよび排オゾン処理.....	37
3 - 3 残存オゾン濃度の測定法.....	37

3 - 4	実験装置および手順.....	39
3 - 4 - 1	実験に用いたガラス器具.....	39
3 - 4 - 2	実験手順 .....	40
第4章	実験結果.....	42
4 - 1	オゾン消費物質が無い水におけるオゾン溶解速度及び F 特異的大腸菌ファージ Q の不活化速度.....	42
4 - 1 - 2	精製水及び緩衝液.....	43
4 - 2	試料別における Q および大腸菌群の不活化率について.....	46
4 - 2 - 1	下水二次処理水塩素消毒前.....	46
4 - 2 - 2	砂ろ過処理水.....	50
4 - 2 - 3	生物膜ろ過処理水 .....	53
4 - 3	希釈した試料における Q および大腸菌群の不活化率.....	55
4 - 3 - 1	下水二次処理水塩素消毒前.....	55
4 - 3 - 2	砂ろ過処理水.....	58
4 - 3 - 3	生物膜ろ過処理水 .....	60
4 - 4	Q と大腸菌群の不活化速度.....	62
4 - 4 - 1	残存オゾン濃度と Q と大腸菌群の不活化率.....	62
4 - 4 - 2	Q と大腸菌群と不活化速度定数.....	66
4 - 4 - 3	Q と大腸菌群と不活化速度定数の相関.....	67
4 - 5	試料中に含まれる濁質の影響.....	68
4 - 6	オゾンによる試料中の有機物量について.....	69
第5章	総括.....	71
5 - 1	本研究のまとめ.....	71
5 - 2	今後の展望.....	72
	参考文献.....	73
	謝 辞.....	79
	付録.....	80

# 第1章 はじめに

## 1-1 研究の背景

我が国では、都市化の進展、生活様式の変化に伴い、都市の水需要が増加し、近年の小  
雨傾向や気象変動もあって、都市用水の需給の逼迫が恒常化している。このため、水資源  
の確保と節水型社会システムの構築が重要な課題となっているが、新たな水資源開発は難  
しい状況となっている。

人口密集地域である都市の新たな水資源として下水処理水が注目されている。下水処理  
水は、水を大量に消費する都市部において、湯水時にあっても安定的に一定の水量の確保  
が見込める貴重な水資源として位置づけることができる。現在は、主に修景用水、親水用  
水、水洗トイレ用水などの雑用水としての利用であるが、シンガポールの「ニューウォー  
ター」のように下水処理水を再処理し、飲料水や工業用水として利用するといった例も存  
在する。このように、下水処理水そのものへの認識も、「汚水を処理し、最終的に河川その  
他の公共の水域又は海域に放流するもの」から「汚水を処理した後、最終的に河川その  
他の公共の水域又は海域に放流し、又は処理した水を再利用するためのもの」に変わりつつ  
あり、下水道法の目的規格の見直しも始まっている。

平成 15 年度では、全国で処理されている下水の 1.5%が再利用されているが、高度処理  
の普及により下水処理水からの再利用水への転換は今後増えると見込まれる。東京都では、  
下水処理水量における再生水の割合が年々増し、平成 13 年度では約 10%を占めている。

再生水処理には、砂ろ過処理法や生物膜ろ過法、オゾン処理などが単体、もしくは複合  
的に組み合わせられて使用されている。この中で、オゾン処理は、水の脱臭、脱色、殺菌に  
効果的に働き、処理後の外観の良さから多く用いられている。オゾンの酸化力が極めて高  
いことも水処理におけるオゾン利用の拡大の理由の一つではあるが、オゾン処理におい  
ては、オゾンを過剰に使用しても過剰分のオゾンは酸素分子となり、害にならない。つまり  
残留性を持たないという点が大きい。

現行の水の微生物学的な安全性を保障するため、下水処理場では塩素消毒処理が行われ、  
放流されている。また、大腸菌群と一般細菌が糞便性汚染に関する代表的な指標として使  
用されている。これは、大腸菌群が病原性微生物による汚染の指標として兼ね備えるべき  
要件を比較的充足する細菌であると考えられているためである。しかし、原虫やウイルス  
などの耐塩素性生物の存在や、注入塩素による発ガン性物質トリハロメタンの生成、残留  
塩素による放流先への生態系の破壊など、下水道における塩素消毒と微生物学的な安全指

標は見直しが迫られている。

2005年1月初めから国内で頻発したノロウイルスによる集団感染によって国内で初めて死者がでた。ノロウイルスは水系感染するウイルスの中で最も被害が多いと言われ、世界中でその発生と被害が報告されている。ノロウイルスを代表とする水系感染症を引き起こすヒトの腸管内で増殖するウイルス（腸管系ウイルス）は、感染者に下痢をはじめとした症状を誘発し、糞便と共にヒトの体外に排出される。下水や河川水、海水などの水系に混入した腸管系ウイルスと環境水中において、被感染者が接触感染や経口感染することによって発症する。感染者の糞便が集中する下水処理場において適切な消毒が行われれば、環境中でのウイルスの循環は行われなくなり、ウイルスによる水系感染症の危険性は低くなる。

このように下水処理場での消毒は腸管系ウイルスのコントロールポイントになることが示唆される。

## 1-2 研究の目的

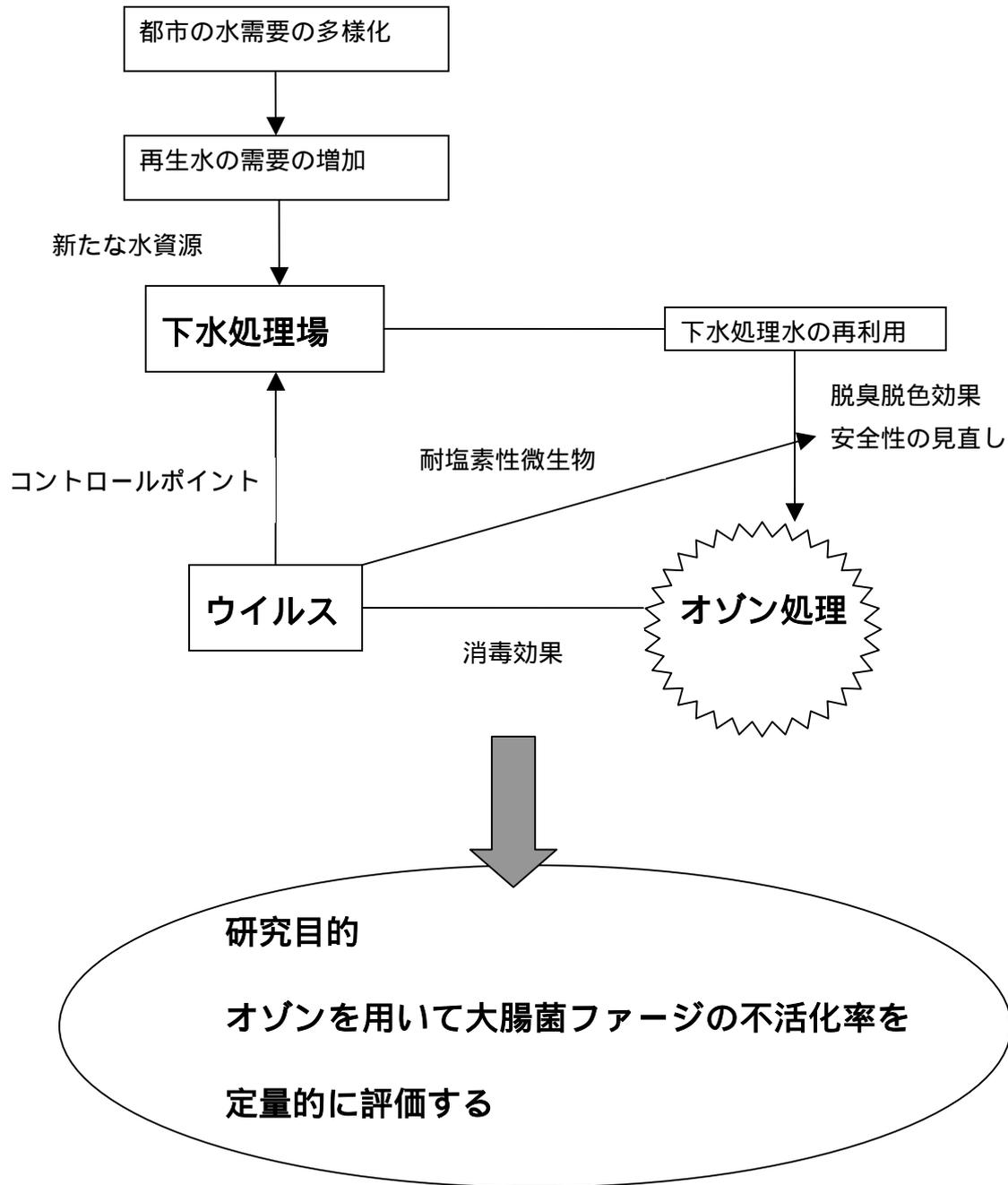
オゾンは残留性を持たないことや耐塩素性生物に効果的であるという点から、今後とも下水処理場におけるオゾン利用は増加することが見込まれる。下水処理水を河川や海などの公共水域に放流せず、処理を加えて再利用する再生水においては腸管系ウイルスによる安全リスクは今まで以上に大きいと考えられる。下水道法（平成8年改定）によれば、放流水の水質の技術上基準は大腸菌群数 3000(個/mL)と定められており、ウイルスに関しては国内での現行基準では規定されていない。

米国環境保護庁(U. S. EPA、United States Environmental Protection Agency)は、浄水処理工程で水道原水中のウイルスを4 log 99.99% 除去あるいは不活化し(U. S. EPA 2001)、飲料水の摂取によるウイルスの年間感染リスクを $10^{-4}$ (人口1万人あたり1人)以下に抑制することを推奨している(Macler 1993、Regli et al. 1993)。

オゾンはその自己分解性の速さや、対象物質との反応性の高さ、などから微生物の不活化実験においては実下水を用いた定量的なデータは不足している。オゾンを用いた微生物の不活化実験では水質中にオゾン消費物質が多く含まれている実下水を用いた実験例は少ない。

そこで本研究では、オゾン処理に用いられる下水処理水(下水二次処理水、砂ろ過処理水、生物膜ろ過処理水)を用い、回分式連続オゾン接触槽内で試料をオゾンと接触させ、病原微生物のオゾンによる不活化速度を計測した。下水二次処理水は塩素による副生成物によるオゾン消費を防ぐため、塩素注入前の処理水を採取した。計測した微生物には、現行の微生物指標である大腸菌群と、下水中、下水処理工程において病原ウイルスと似た挙動を示すことからウイルスの指標として有力な候補であるF特異的大腸菌ファージQを用いた。

## 研究の流れ

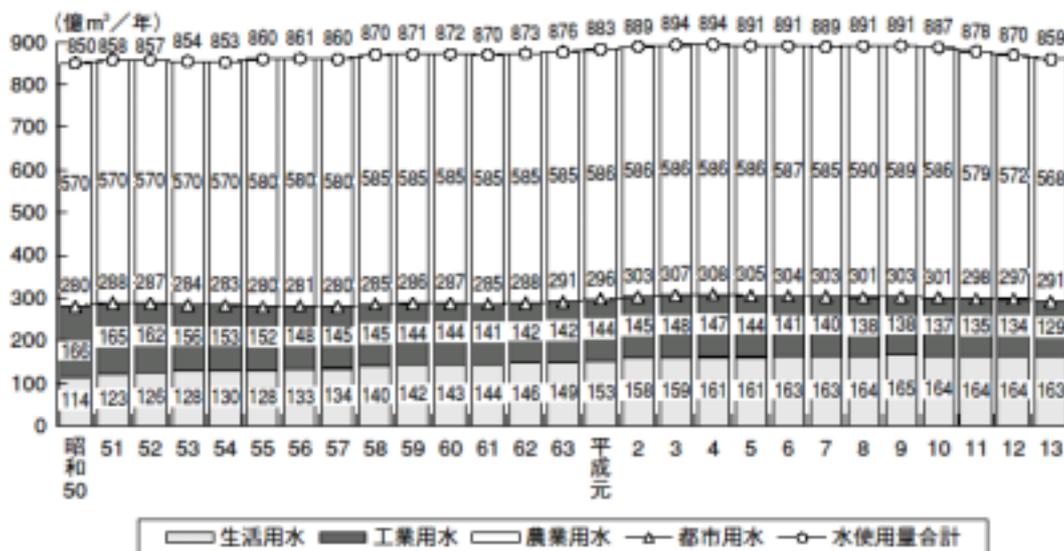


## 第2章 下水の再利用とオゾンについて

### 2-1 都市の水使用量の変遷と再利用量

日本国内での水の使用量は年々増加しており、今後もその需要が見込まれる。

平成13年における全国の水使用量は、合計で約859億 $m^3$ /年であり、用途別にみると、生活用水と工業用水の合計である都市用水が約291億 $m^3$ /年、農業用水が約568億 $m^3$ /年である。図2-1に全国の水使用量を示す。このように水の使用量は昭和50年から徐々に増加し、近年は横ばい傾向にある。（平成16年度下水道白書）



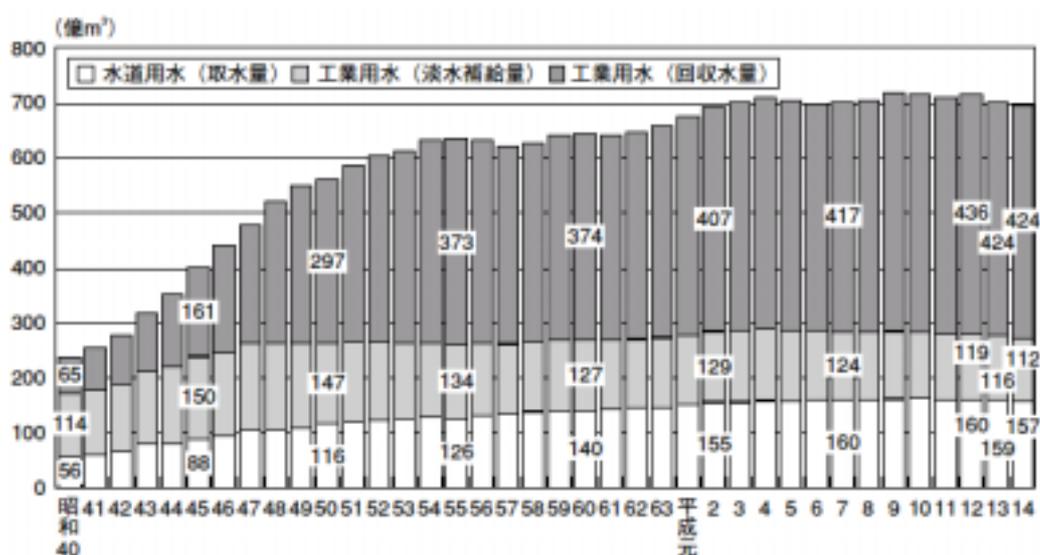
- (注) 1. 国土交通省水資源部の推計による取水量ベースの値であり、使用後再び河川等へ還元される水量も含む。  
 2. 工業用水は従業員4人以上の事業所を対象として、淡水補給水量である。ただし、公益事業において使用された水は含まない。  
 3. 農業用水については、昭和56～57年値は55年の推計値を、59～63年値は58年の推計値を、平成2～5年値は元年の推計値を用いている。  
 4. 四捨五入の関係で合計が合わないことがある。

図 2-1 全国の水使用量(平成16年度下水道白書)

- \* ここで、水道から工場に供給している水量は、生活用水ではなく工業用水に計上している。また、工業用水は、従業者4人以上の事業所を対象とした淡水補給量で、国土交通省水資源部で推計した値である。ただし、公益事業（電気事業、ガス供給事業及び熱供給事業）において使用された水量は含まない。農業用水の使用量は、実際の使用量の計測が難しいため、耕地の整備状況、かんがい等の作付面積、単位用水量（減水深）、家畜飼養頭羽数などから、国土交通省水資源部で推計した値である。なお、養魚用水や消・流雪用水等は

含んでいない

図2 - 2に示したように都市用水は昭和40年以降増加してきたが、近年は社会・経済状況等を反映してほぼ横ばい傾向にある。平成12年に比べて平成13年の水使用量が減少したのは、農業用水において水田かんがい用水量が減少したこと、工業用水において化学工業の淡水補給量が減少したことなどによる。また、都市における生活用水は、給水人口規模別の上水道の一人一日平均給水量は、かつては給水人口規模による差が大きかったが、近年はその差が少なくなっている。しかし依然として水使用量は横ばいであり、生活用水に関しては増加傾向にある。



(注) 水道統計及び工業統計表による。  
工業用水は従業者30以上の事業所についての淡水補給量。  
水道用水は上水道事業と用水供給事業についての取水量。なお、水道用水のうち工場使用量は工業用水に含めている。

図2-2 都市用水使用量の推移(水道統計及び工業統計表より)

このように都市用水使用量は年々増加もしくは横ばい傾向にあり、その水資源確保が重要な課題となっているが、新たな水源開発は難しいのが現状である。

下水処理水は、水を大量に消費する都市部において、渇水時にあっても安定的に一定の水量の確保が見込める貴重な水資源として注目されている。

全国の下水処理水の年間総量は約 130 億 $m^3$  であるが、現在これらのうち約 1.5%程度が水洗便所用水等の雑用水や、親水・修景用水等として利用されている。

再生利用の方式には、自然の循環系とかかわりを持つことなく直接再利用される閉鎖系循環方式と、処理水が一旦河川に排水されて河川水と一緒に利用される開放系循環方式に区分される。閉鎖系循環方式としては、過半数の下水処理場において処理工程における消泡水、洗浄水等として下水処理水の場内再利用が行われるとともに、処理水を処理場外に

送水して雑用水、環境用水、融雪用水、農業用水など各種の用途に再利用する事例も増えている。(表2-1、図2-3)

表2-1 下水処理水の用途別再利用状況(平成13年度国土交通省水資源部調べ)

再生利用用途	処理乗場数	再利用量 (万m <sup>3</sup> /年)	給水箇所	代表事例		
				処理場名	再利用量 (m <sup>3</sup> /日)	利用先
1 水洗トイレ用水(中水道・雑用水等)	40	577	362	福岡市中部処理センター	4,158	天神・百道・博多地区など
2 環境用水						
①修景用水	72	2,770	64	大分市弁天終末処理場	7,232	府内城址のお堀
②親水用水	19	695	17	岡山県笠岡市笠岡終末処理場	59	緑道公園せせらぎ水路
③河川維持用水	11	7,992	11	大阪市平野下水処理場	20,863	今川、駒川、細江川
3 融雪用水	20	2,928	18	札幌市厚別処理場	132,483	国道、県道、市道の排雪
4 植樹帯散水	76	21	52	横須賀市下町浄化センター	38	市内緑地、 スポーツガーデン
5 道路・街路・工事現場の清掃・散水	58	41	55	愛知県東海市東海浄化センター	6	下水道管、道路清掃散水
6 農業用水	22	1,293	18	熊本市中部浄化センター	23,363	土地改良組合
7 工業水道への供給	3	366	362	福島県原町市原町第一下水処理場	5,641	福島県企業局
8 事業所・工場への直接供給	46	1,967	45	兵庫県武庫川下流処理場	13,529	下水道事業団兵庫東
計	367	19,000	1,004			

\* 処理場数には重複を含む(再利用を行っている処理場数としては218箇所)

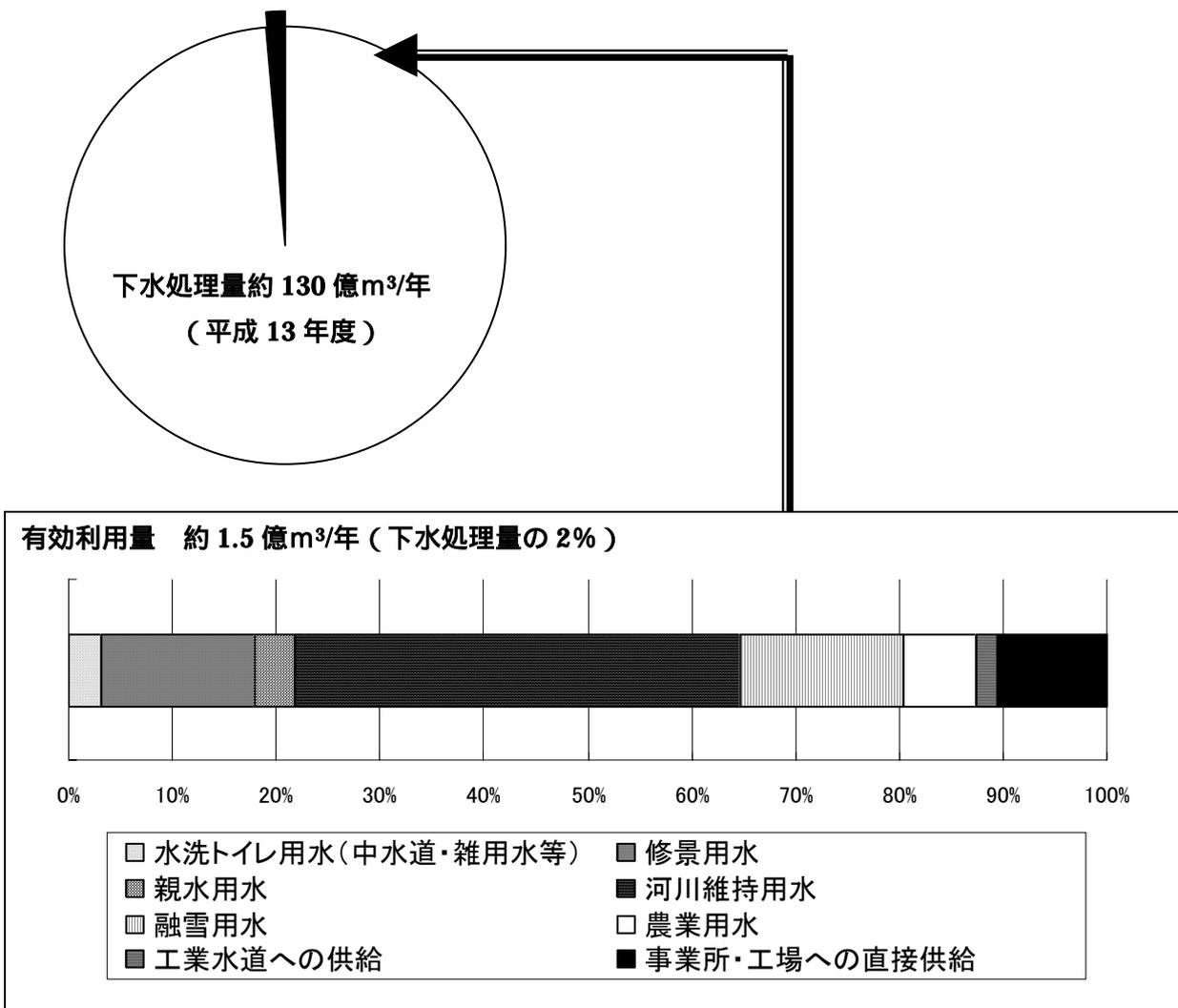


図 2 - 3 下水処理水の用途別再利用状況 (平成 13 年度)

下水処理水の処理場外再利用は、平成13年度において218の処理場で行われており、その水量は約2億m<sup>3</sup>/年となっている。また、農業集落排水施設についても多くの地区で処理水が農業用水等に再利用されている。一方、産業廃水についても既に行われている工場内の回収利用とは別に、これを処理、再生し、新たに工業用水等の用途に利用するための技術開発が進められている。健全な水循環系の構築や良好な都市・水環境の形成に向けて下水道に期待される役割は大きく、維持水量の少ない河川や都市内のせせらぎの水源等として、下水処理水の再生利用は有効である。

以下の図 2 - 4 に東京都の利用例を示す。下水処理水は 1 日に約 500 万m<sup>3</sup>処理され、そのうち 8%の約 40 万m<sup>3</sup>が高度処理され再生水として使用されている。再生水として使用されている用途は河川の流量を保持するための河川維持水、水洗トイレ用水、修景用水、車両

洗浄用水、ヒートアイランド現象の緩和のため道路に散水する「打ち水」などである。

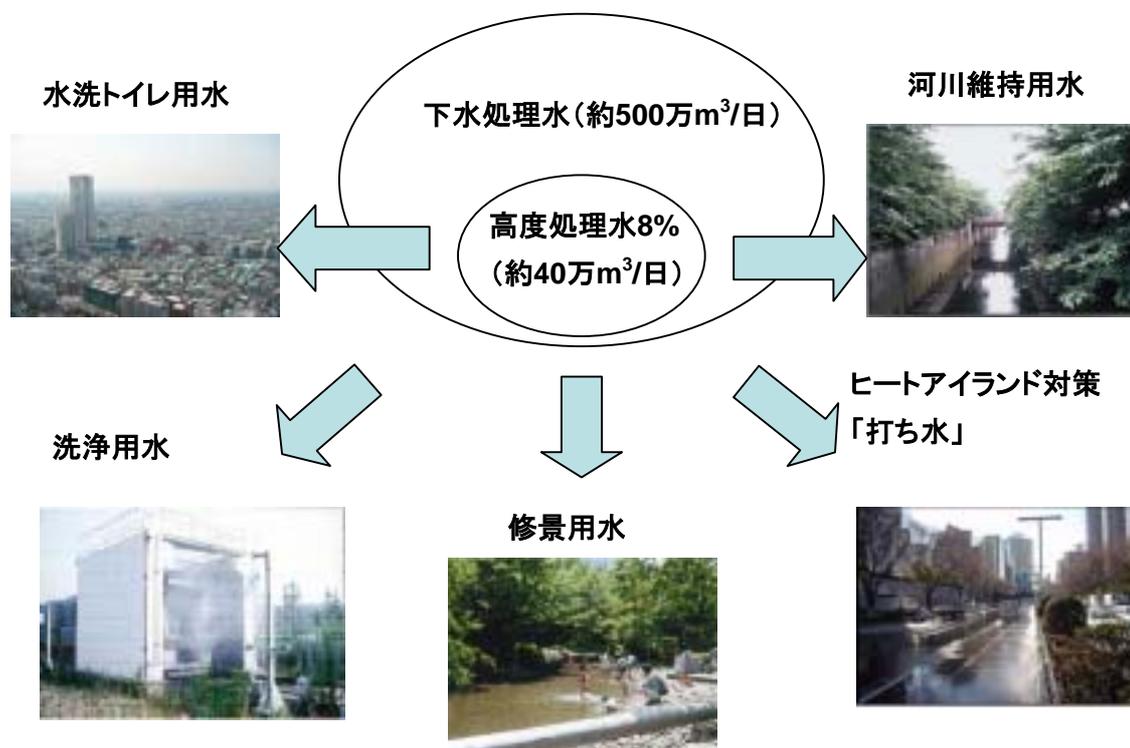


図 2-4 東京都における高度処理水利用用途

このように、直接下水処理された水が一度河川や海などに放流されず、処理後すぐに人と接触する機会が増えている。

一方で、建築物における衛生的環境の確保に関する法律により、特定建築物内で使用される雑用水の水質基準が定められるなど、日常生活における安全・安心の確保も重要な課題となってきている。下水処理水の再生利用に関しても、下水道管理者は供給者の責務として、衛生学的な安全性の確保や美観等の観点から、利用用途に適した水質を確保する必要がある。しかし、現行下水道法では、放流先として公共用水域を主たる対象と捉えており、公共用水域以外のせせらぎやビル等に下水処理水を再生利用のために供給する場合については明示的に位置づけられていない。このため、水質基準も公共用水域に放流する場合を想定して定められており、再生利用の際に必要なとされる水質基準（例えば、大腸菌、残留塩素濃度、濁度など）について特段の定めをおいていない。よって、下水処理水の再生利用を行うため、これを公共用水域以外へ放流する場合についても位置づけが明確になるよう整理するとともに、下水処理水の再生利用に対応した新たな水質基準を設定する必要がある。

## 2-2 水環境における安全リスクと病原微生物

### 2-2-1 病原微生物

汚染された飲料水や環境水との接触によって生じる感染を水系感染といい、感染の結果生じる疾病のことを水系感染症という。水系感染は汚染された水の飲用によって生じることはもちろん、水浴、シャワー、遊泳、清掃、散水、そのほか色々な方法での接触によっても生じる。

近代水道の歴史は水系感染症との闘いの歴史といっても過言ではなく、感染症の阻止を主要な目的として発達してきた。ろ過や消毒によってコレラやチフスなどの病原微生物を除去・不活化した安全な飲料水を供給することによって、感染症の流行の低減に大きく貢献してきた。しかし、病原微生物が地球上から撲滅されたわけではなく、環境水中には病原微生物は多数存在しており、検出法が確立されていないために発見できない未知の生物も存在すると考えられる。

近年は、航空機の発達により一地域のアウトブレイクが世界中に瞬時に広まってしまうという危険性をはらんでいる。いわゆる輸入感染症である。海外から持ち込まれる病原微生物が以前と比べて多くなり、国内での感染事例も多くなる傾向がある。このため、水源汚染の機会と汚染の程度が従来よりも増加する可能性があり、病原微生物の動向には注意が必要である。

高齢化社会に向けて移行している現在の日本社会においては、コレラや赤痢、破傷風のような重篤な症状をもたらす恐れのある病原菌のみならず、軽度な下痢しかもたらさない病原菌や日和見感染菌についても水系感染症菌としての対応が必要になってきている。また、生活水準の向上と衛生状況の改善により抗体の保有率が低下しており、その結果症状が重度になることが多くなる可能性がある。

環境中に常在する病原微生物には、レジオネラ属菌、緑膿菌などのように環境中で生存増殖可能な種類と、クリプトスポリジウム・パルブムや腸管出血性大腸菌O-157 やポリオウイルス、アデノウイルスのなどのように環境水中における増殖は無いが、環境中に常時もしくは一時的に存在する種がある。

水系感染症を引き起こす病原微生物には細菌類、原虫、ウイルスの3種類ある。

表2-2に代表的な水感染症の病原微生物を示した。

表 2-2 水系感染症の病原微生物

細菌類	コレラ菌、サルモネラ菌、レジオネラ属菌、リステリア菌、黄色ブドウ球菌、セレウス菌、ウェルシュ菌、腸炎ビブリオ菌
原虫（寄生虫）	クリプトスポリジウム・ジアルジア・サイクロスポーラ、赤痢アメーバ、エキノコックス
ウイルス	A型肝炎ウイルス、ノロウイルス、エンテロウイルス、アデノウイルス、ロタウイルス、アストロウイルス E型肝炎ウイルス

水系感染する細菌類は一般に消毒剤に対する感受性が比較的高く、原虫のシスト（嚢子）やオーシスト（嚢胞体）に見られるような強い消毒耐性を示す病原微生物細菌は水環境にはほとんど存在しない。

水系感染する原虫の感染型は一般的に栄養型ではなく、シスト、オーシスト、虫卵などであるが、これらは一般に塩素抵抗性が強い。このため塩素消毒のみに頼る方法はきわめて不十分で、ろ過と消毒を含む処理の導入による改善が効果的である。

ウイルスは、動物を宿主とする動物ウイルス、細菌を宿主とする細菌ウイルスおよび植物を宿主とする植物ウイルスの3種類に大別される。動物ウイルスは、DNAウイルスが6科、RNAウイルスが13科に分類されている。動物ウイルスのうち、水質衛生に関するウイルスは感染者から糞便と共に排出され、糞便あるいは糞便に汚染された水との直接接触によって感染、発症する恐れのあるものである。

これまでに140種類以上の血清型のウイルスがヒトの腸管から分離されており（Hurst 1991）これらのウイルスのすべてが水系感染を引き起こすと考えられている（Berg 1983）表2-3に代表的なウイルスについてまとめた。

表 2-3 代表的は腸管系ウイルス

	ノロウイルス	エンテロウイルス	ロタウイルス	アデノウイルス	A型肝炎ウイルス
構造	一本鎖RNA 構造は不明確	一本鎖RNA 直径28~30nmの外殻 蛋白に覆われた構造	二本鎖RNA 内殻、外殻の正20面体の カプシドに覆われた構造	二本鎖DNA 蛋白質および微量の炭水化物を 持つ構造 膜や脂質は含まない	一本鎖RNA 3~4種類の蛋白質からカ プシドが成立
感染源	糞便により直接汚染された食品 下水で汚染された飲料水や貝類		糞口経路		
症状	下痢や悪心、嘔吐、腹部圧痛な どの症状を引き起こし、髄膜炎 筋肉痛、咽頭炎、悪寒、軽度の 発熱		重篤な小児下痢症 嘔吐と脱水症状が頻りに 見られる	扁桃腺および咽頭扁桃腺に 実性を引き起こす 腫瘍形成に関与している	肝炎を引き起こす 食欲不振、発熱、倦怠 感、筋肉痛、悪心、嘔吐
備考	培養法が確立されていない		環境中での生存性が高い ため、環境水中に高濃度 で存在する	宿主細胞のDNA修復機構によ ってDNAが損傷された場合にも修 復される	40歳以上の成人のA型肝炎 ウイルスによる致死率 は2.1%と高い
	ロタウイルスやポリオウイルス よりも塩素消毒耐性が高い 生存性が非常に高い H3では、ノロウイルスは原因既 知の食中毒の87%を引き起こし、 非細菌性胃腸炎の93%を引き起こ していると考えられている		感染力が非常に高い 1個体のウイルスの摂取で 感染が成立し得る	生排水準の向上と衛生状況の改 善によりA型肝炎ウイルスの状 態の保有率が低下しており、症 状が重篤になることの多い成人 を中心としたアウトブレイクが 起こる可能性が高くなっている	

## 2-2-2 ウイルスと指標微生物との相関

米国環境保護庁は、地下水に対して大腸菌ファージ、海水に対して腸球菌(Enterococcus)を糞便汚染に対する指標として用いることを推奨している(U. S. EPA 2000)。また、体表面吸着大腸菌ファージ(Somatic coliphage)(Vaughn et al. 1974)や *Bacteroides fragilis* に感染するファージ(PHage infecting *Bacteroides fragilis*)(IAWPRC study group 1991、Jofre et al. 1986、Lucena et al. 1994、Pina et al. 1998)に加え、水処理工程と水環境中における挙動の類似性より、F 特異大腸菌ファージ(F-specific coliphage)がウイルスの代替指標として有望視されている(Dhillon et al. 1976、Havelaar et al. 1986、Havelaar et al. 1988、Havelaar et al. 1993、IAWPRC study group 1991、Jiang et al. 2001、Osawa et al. 1981、Reynolds 1992、Stetler 1984)。

しかしながら、微生物のウイルス指標としての有効性を調べた研究のほとんどにおいて指標性が成り立たないことを指摘されており、大腸菌(Borchardt et al. 2003、Chironna et al. 2002、Jiang et al. 2001)や大腸菌群(Borchardt et al. 2003、Gratacap-Cavallier et al. 2000)、糞便性大腸菌群(Chironna et al. 2002、De Serres et al. 1999、Edberg et al. 1997、Gratacap-Cavallier et al. 2000)、腸球菌(Gratacap-Cavallier et al. 2000)およびF 特異大腸菌ファージ(Borchardt et al. 2003、Havelaar et al. 1993)などをウイルスの監視指標として用いることはできないと考えられる(Borrego et al. 1997、Crocchi et al. 2000、Doré et al. 2000、Duran et al. 2002、Gerba 1979、Griffin et al. 1999、Havelaar et al. 1993、Jofre 1992、Kator et al. 2001、Lee et al. 1999、Richards 1985、Schvoerer et al. 2000、Taylor et al. 2001)。その理由として、これらの微生物がヒトの活動区域から離れた場所からも容易に検出されることが挙げられている(Santiago-Mercado et al. 1987)。また、

水を再利用する場合には、非糞便性の大腸菌が大量に存在する点と大腸菌の再増殖の点より、糞便性大腸菌群を指標に用いることはできないと考えられている(Ottoson et al. 2003)。さらに、熱帯地域においても大腸菌群は指標となり得ないことが指摘されている(Hagler et al. 1993、Hardina et al. 1991、Santiago-Mercado et al. 1987)。

ウイルス自身が指標となる可能性について、Pina らによってアデノウイルスが提案されている(Pina et al. 1998)。

毎年、世界で延べ 30～50 億人が胃腸炎による下痢症に罹患し、500～1,000 万人が死亡していると推測されている(Le Baron et al. 1990)。胃腸炎のアウトブレイクは、汚染された飲料水やプールの水、調理不十分の貝類、サラダやケーキなどの食品が原因となって生じている(Blacklow et al. 1991)。非細菌性胃腸炎の多くにウイルスが関係していると考えられており、ウイルスによって引き起こされる水系感染事例は大きな社会問題となっている(Hedberg et al. 1993)。

### 2-2-3 環境中の腸管系ウイルスの流れ

ヒトから排出された腸管系ウイルスの環境中における循環経路を図 2-5 に示した。

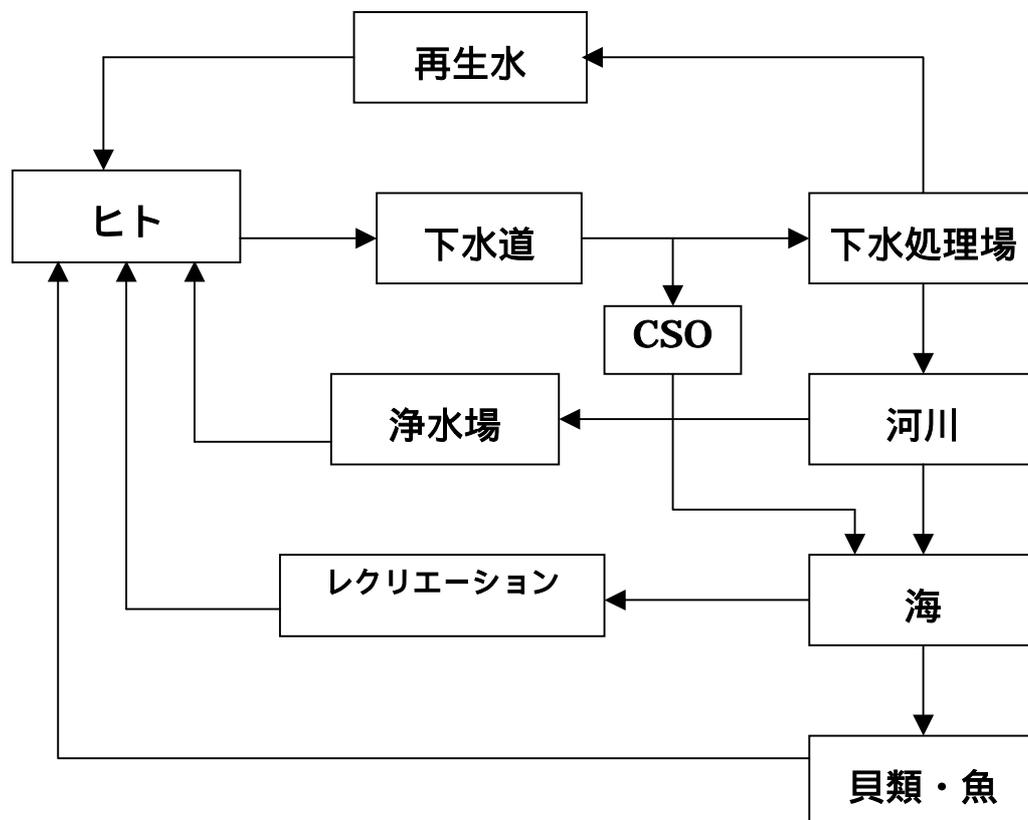


図 2-5 環境中の腸管系ウイルスの流れ

ヒトの糞便中に高濃度で排出されたウイルスは生下水として下水処理場に運ばれて処理される。合流式下水道を有する地域においては、降雨量が一定値を上回った場合に合流式下水道雨天時越流水（CSO, Combined sewer overflow）が発生し、十分な処理が施されずに生下水が放流される。

河川に放流された下水処理水は、希釈されて海域に達することになる。牡蠣をはじめとした魚介類にウイルスが高濃度に蓄積され、それらの魚介類を喫食することによってウイルスが再びヒトに感染していると考えられる。海および河川における遊泳行為での水の誤飲によってもウイルスの感染が生じていると考えられる。遊泳行為においては、ウイルスが多く含まれていると考えられる底泥を巻き上げることで感染のリスクが高くなっている可能性がある。

高度処理を行った下水処理水を再生水として利用している下水処理場があり、修景用水やトイレの洗浄水、農業用水などの用途に使用されている。その用途の特性上、ヒトが再生水中のウイルスに曝露される可能性が高いと考えられる。近年では、野菜などの生鮮食品への散水に使用した水に含まれるウイルスによる感染の重要性が指摘されている。水道水源として主に使用されている河川水（表流水）や地下水は糞便の汚染を受けている可能性が高く、浄水処理工程でのウイルスの十分な除去が必要とされる。水道水中のウイルスの濃度は非常に低いことが予想されるが、ウイルスの感染リスクを許容範囲以下に抑えるための適切な処理が施されていることを確実にしておく必要がある。病原微生物は経口経路によって感染するため、感染者との接触による二次感染によって感染が拡大する可能性がある。図 2-5 から、感染者の糞便中に含まれている腸管系ウイルスは下水処理場に集中することがわかる。すなわち、下水処理場における消毒が適切に行われれば、環境中に腸管系ウイルスは排出されなくなり、環境中におけるウイルスの循環が行われない。下水処理場は汚水を浄化するという本来の機能の他に、環境中のウイルスのコントロールポイントとしても重要である（Sobsey 2003、Menzel 1984）。

#### 2-2-4 現在の疫学的安全性における指標

我が国では、水の微生物基準としてウイルスは規定されておらず、主に大腸菌群が微生物指標として使用されている。

水道水に対しては、厚生省（現厚生労働省）の「水質基準に関する省令」（厚生省 1992）において、一般細菌（100 個/mL 以下）と大腸菌群（検出されないこと）の 2 項目が定められている。2004 年 4 月 1 日からは、大腸菌群に代わって大腸菌（検出されないこと）が水質項目として使用されることになった（厚生労働省 2003）。また、「水道法施行規則」（厚生省 1957）において、給水栓で確保すべき残留塩素濃度が規定されている。通常、遊離残留塩素濃度が 0.1mg/L 以上（結合残留塩素の場合は 0.4mg/L 以上）となるように塩素消

毒を行い、病原性微生物による汚染が疑われる場合などには遊離残留塩素濃度を 0.2mg/L 以上（結合残留塩素の場合は 1.5mg/L 以上）に保持することを要求している。

下水処理場の放流水に対しては、大腸菌群濃度 3,000 個/mL 以下が排水基準として定められている（水質汚濁防止法 1971）。

環境庁（現環境省）による「水質汚濁に係る環境基準について」（環境庁 1971）において、河川、湖沼および海域に対する環境基準が規定されている。河川を水道水源として使用するための大腸菌群の許容濃度は 5,000MPN/100mL（B 類型）であるが、前処理などを伴う高度浄水処理が必要とされる。ろ過などの簡易な浄水処理のみで給水可能な AA 類型では 50MPN/100mL 以下、通常の浄水処理（凝集、沈殿など）が必要な A 類型では 1,000MPN/100mL 以下が基準値として定められている。湖沼に対しては、AA 類型（50MPN/100mL 以下）と A 類型（1,000MPN/100mL 以下）が飲用可能な類型として定められている。

海水は飲用としては使用されないものの、海水浴などの親水行為で不特定多数の人々に使用されるため、ウイルス感染者によって汚染された海水を誤飲する可能性がある。そのため、「水浴場の判定基準」（環境庁 1997）で糞便性大腸菌群が水浴場の水質基準に定められており、1,000 個/100mL を超える場合を「不適」としている。不検出（水質 AA）および 100 個/100mL 以下（水質 A）の場合を「適」、400 個/100mL 以下（水質 B）および 1,000 個/100mL 以下（水質 C）の場合を「可」とし、水浴場としての水質基準を満たすとしている。また、水産に使用できる水質基準として、大腸菌群濃度 1,000MPN/100mL 以下（類型 A）が定められている（環境庁 1971）。

アメリカ合衆国やヨーロッパなどの諸外国においては、ウイルスが微生物基準として規定されている。米国環境保護庁では、飲料水中にウイルスが含まれないことを目標としており、浄水処理（ろ過および消毒）によって表流水および地下水中のウイルスを 4 log（99.99%）除去あるいは不活化することを規定している（U. S. EPA 2001）。また、10 万世帯以上に飲料水を給水する事業体に対し、18 ヶ月間にわたって表流水中のウイルスを培養法によって検査することを規定している（U. S. EPA 1995）。

欧州連合（EU、European Union）では、培養法で定量できることより、エンテロウイルスがウイルス指標として規定され（Lucena et al. 1986）、病原性微生物の存在によって健康に悪影響が生じないことを要求している（EC 1998）。

南アフリカ規格局（SABS、South African Bureau of Standards）は、飲料水 100L を腸管系ウイルスの検査に供し、95%以上が非検出、4%以下が 1 個/100L および 1%以下が 10 個/100L となることを規定している（SABS 1999）。

また、世界保健機関（WHO、World Health Organization）においては、飲料水中にウイルスが含まれてはならないことが勧告されている（WHO 1996）。

これらのガイドラインにおいては、検査対象とするウイルスの種類や飲料水の量、許容可能なウイルスの濃度、ウイルスの検査方法（濃縮方法、検出方法）、検査頻度などにつ

いて言及されていない場合が多く、ガイドラインとして意味を成さないものとなっている（Grabow et al. 2001）。

明確な基準が規定されていない理由としては、ウイルスに関する知見が不足していることが挙げられる。米国疾病管理予防センターによれば、ウイルスの研究における現在の優先事項として、診断精度の向上、アウトブレイクの過半数を占める病因不明事例の病因解明、伝播経路と感染の防御方法の確立の3点が挙げられている（Le Baron et al. 1990）。

以上のことから現行の水質基準では、微生物的な安全基準は大腸菌群と一般細菌のみで評価されているが、下水道の使用用途が多様化し、またこの2点でのみでは疫学的安全性が保障できないことから既存のシステムの見直しや新たなシステムの導入が必要である。

## 2-3 水の消毒法

### 2-3-1 消毒法の種類

水の消毒方法には、水道で塩素消毒が法的に定められていることもあり、その簡便さから水道以外でも塩素消毒が用いられることが多い。しかし実際には様々な消毒方法があり、水の消毒方法を表2-4にまとめる。

表2-4 水の消毒に用いられる方法\*

化学的方法				物理的方法		
酸化剤		金属	その他	熱	照射	その他
塩素	液化塩素	銀	強酸	煮沸	日光	膜 電気分解
	次亜塩素酸	銅	強アルカリ		紫外線照射	
	クロラミン	鉄酸塩	イオン交換樹脂		ガンマ線照射	
	有機塩素剤		イオン交換膜 界面活性剤		X線照射	
二酸化塩素						
臭素						
ヨウ素						
フッ素						
オゾン						
過マンガン酸カリウム						

\* 金子 1999 水質衛生学 第7章

消毒方法の選択には、消毒力の強さ、残留毒性、安価なこと、安定供給ができること、取り扱いが難しくない、等の条件が絡んでくる。また、消毒をする水の種類や規模の大きさによって選択の各要件に対する評価が異なってくる。

消毒は微生物に対する作用が強力であればいいというわけではなく、トリハロメタンやダイオキシンのような毒性物質を副生成させないことも考慮に入れなければならない。この場合、消毒の前処理が重要な意味を持つ。

汚水処理の場合は、放流先の公共用水への影響や食物連鎖による影響、下流域での水道

の取水がある場合の影響などを考慮する必要がある、飲料水では飲用に供する場合の毒性が問題となってくる。

現在、水処理施設で適用されている消毒法としては、塩素、二酸化塩素、紫外線、オゾンである。以下の表 2 - 5 に各消毒法の比較をまとめる。

表 2-5 各種消毒法の比較

	塩素	膜ろ過	紫外線	オゾン
消毒原理	代謝系酵素の不活性化	ろ過	微生物の DNA の複製阻止	強酸化力で細胞膜や DNA を破壊する
コスト		設備投資・設備維持費	設備投資	設備投資
操作性	初期小流量時や小規模処理場での制御がやや難しい	目詰まり後、洗浄、交換	基本的に無し。曝露に注意。	注入量の制御が比較的容易。直接吸引すると危険。
処理後の見た目	変化無し	脱臭脱色効果	変化無し	脱臭脱色効果
環境負荷	過剰注入が生じると水産資源への影響が懸念される	なし	なし	残留オゾン処理が必要な場合がある
耐塩素性病原微生物	効果なし	孔のサイズにより除去は可能	可視光照射で光回復する場合がある。病原性原虫の不活性化は明らかではない	除去効率が高い。特に病原性原虫やウイルスの不活性化も期待できる。
備考	効果の残留性がある。下水における適用は最も多い	ウイルス除去も可能	対象水の紫外線透過率に効果に差異がある	共存物質による消費がある

## 2-4 オゾンの消毒効果と影響因子

### 2-4-1 オゾンの性質

オゾンは酸素原子が 3 つ結合したものであり、解離エネルギーが小さいことから容易に分解し、酸素を放出する。この解離エネルギーの小ささから分解する際に、反応性の高い活性酸素を発生させる。オゾンが水と反応する際は、酸素と反応性の高いフリーラジカルに分解する。オゾンは多くの有機物と反応し炭素 - 炭素不飽和結合に酸素原子を与えてカルボン酸 (Carboxylic acid) やケトン (Ketone)、アルデヒド (Aldehyde) を発生させる。(Bailey 1975)

オゾンは酸化力が強く、水中の物質と直接反応するが、オゾンから生じる化学物質がオゾン効果をより高める。オゾンから生じるフリーラジカル ( \* ) には OH ラジカル、 $\text{HO}_2$  ラジカル、 $\text{O}_2^-$  などのマイナス電荷のフリーラジカル、 $\text{H}_2\text{O}_2$  がある。この中で OH ラジカルは最も反応性が高い。

フリーラジカルとは、対をなしていない電子対をもった原子のことで、ラジカルの電子対が奇数個であるので不安定であり、他の分子から電子 1 個を奪おうとする。このような連鎖反応が起きるのでラジカルは反応性が強い。

オゾンから生成されるこれらの因子はオゾンの分解過程で生成されるが、この変化の過程として図 2 - 6 に示すようなオゾン分解サイクルがある。

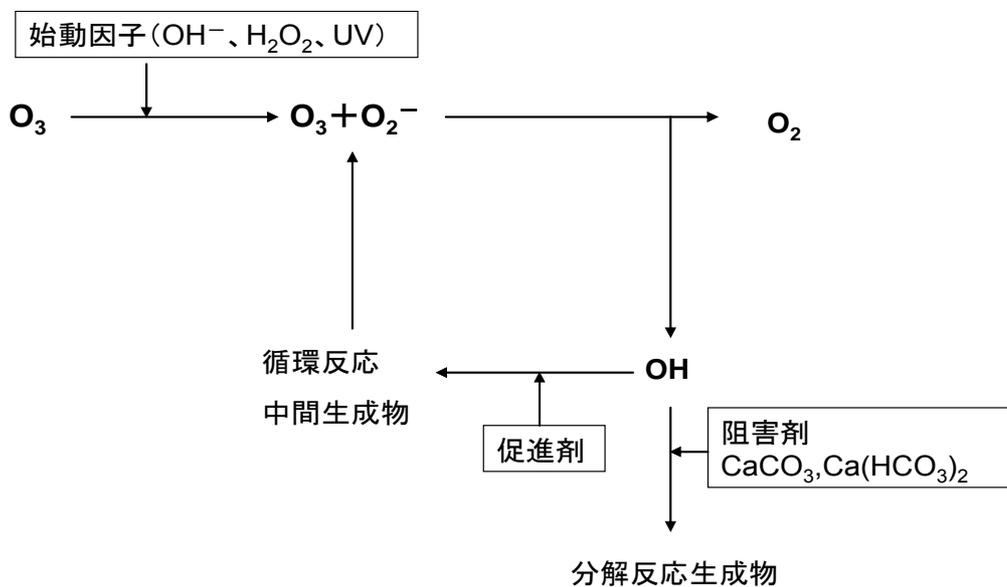


図 2-6 水中でのオゾン分解サイクル(金子光美 1990)

このプロセスが始まると、反応は種々の中間物質を巡りながら循環し、最終産物としての酸素をサイクルより放出する。オゾンそのものには抵抗性のある物質に対してより反応性のあるラジカルを供給してその抵抗性物質を酸化するのに利用されている。

促進因子は  $O_2^-$  生成を通しサイクルの回転を促進する。オゾンそのものが促進因子であり、オゾンそのものが存在する限りはサイクルが回転する。

阻害因子として一般的なものは、炭酸塩 ( $CaCO_3$ ) と重炭酸塩 ( $Ca(HCO_3)_2$ ) などである。これらは OH ラジカルに作用し、他の反応性の低いラジカルに変化させることによってサイクルの回転を阻害し、オゾン分解が遅くなる。よって、炭酸塩、重炭酸塩が多いと残留オゾンの安定性がよくなる。この現象は、消毒においてオゾンとの接触時間を長くするためには有効であるが、分解しにくい物質に対する反応性を OH ラジカルに期待する場合、これらの阻害因子の存在は不利に働く。

図 2 - 6 から、オゾン利用における酸化力というのは、オゾンそのものが働く場合とラジカルが働く場合の 2 種類の反応が同時に進行すると言える。また、オゾン消費物質と言うのは、ラジカルを阻害するラジカルスカベンジャーやオゾンと反応するような有機物のようにオゾンの循環サイクルを妨げるような物質全体を指すと解釈できる。また、オゾンが水中で検出される限り、オゾンサイクルは持続可能である。

オゾンの水への溶解度は、溶解したオゾンの不安定さからその測定には困難を伴う。オゾンの水中での自己分解速度は、気相中での分解速度と比較して著しく大きいことが確認されている。(Peleg, Hoigne and Bader 1976) また、本来オゾンは水には溶解しない物質であるのでオゾンの液相から気相への散逸が影響する。

## 2-4-2 温度の影響

温度の影響は明確になっていないようである(大垣 1990)。消毒剤の効果としては温度とともに高まり、20 を基準としたその温度計数は 1.03 ~ 1.10 の範囲であるという報告がある(宗宮 1989)。しかし、水温が高いほどオゾンの分解は促進され、消毒剤としての安定性が低下すること、水温が高いほどオゾンの水中への溶解度が低下することから消毒効率が下がると予想される。また、温度の影響に関して微生物全般への一般化は難しいようである(杉浦 1996)。

河川水と湖沼水におけるオゾン消毒を用いた Gallard らの研究によると、5 と 20 でオゾンを曝気した場合微生物の不活化効果は 20 の方が高かった(Gallard et al. 2003)。

### 2-4-3 有機物の影響

オゾンによって酸化される有機物としては、以下の a) ~ f) ) などが挙げられる。

- a) 不飽和結合をもつオレフィン系やアセチレン系化合物
- b) 芳香族単環・縮合環化合物
- c) 炭素・炭素二重結合をもつ化合物
- d) アミン、硫化物などの求核類
- e) アルコール、アルデヒド、エーテルなどの酸素を含む化合物
- f) 様々な型の炭素・金属結合

これらの中で、通常炭素の二重結合は最も反応性が高いが、炭素・窒素二重結合や求核類の中にはこれと同程度、あるいはより反応性の高いものもある。このような反応性の高い化合物が存在しなくなると、炭素・水素結合も酸化される。

最終生成物として炭酸ガス、過酸化水素、水その他、ギ酸、酢酸から炭素数 14 のトリアコン酸などの飽和モノカルボン酸、シュウ酸、ムコン酸からセバチン酸のようなジカルボン酸、グリオキシル酸やピルビン酸のようなオキシカルボン酸、及びホルムアルデヒド、グリオキサール、アセトンをはじめとするアルデヒドやケトンが確認されている。

下水二次処理水から検出されたオゾン処理生成物は、ギ酸、グリオキシル酸、酢酸、ピルビン酸、メチルグリオキサール、ホルムアルデヒド、アセトアルデヒド、フルフラール、プロピオンアルデヒド、プロピオン酸があげられる。

下水処理中に含まれている有機物については未知の物が多い。これらの有機物が水中に存在する場合はオゾンが病原微生物と接触する前に消費されてしまうため、オゾンによる消毒効果を評価する場合残留オゾン濃度で考えなければならない。

### 2-4-4 pH の影響

pH がオゾンの消毒効率そのものにどのように影響するのかは、実験例も少なく一般的な結論は得られていない(宗宮 1989)。水中にアンモニアが存在する場合、pH が高いとオゾンがその酸化に利用され、消毒効果を減ずることがある。また、pH が高いとオゾン分解が進み、安定性が低下するので、有効なオゾン濃度が pH によって変化し、間接的に消毒効率へ影響すると考えられる。

Harakeh と Butler の研究 (Harakeh et al. 1984) によると、下水処理水中に接種したポリオウイルス 型の不活化実験の結果、pH = 4 では重炭酸塩の有無に関らず不活化が進行した。一方で pH=7 と pH=9 では、重炭酸塩を添加しない場合には不活化が抑制された。アルカリ側 pH ではオゾン分子が分解し、OH ラジカルの生成が促進されるが、ラジカルスカベンジャーとしての重炭酸塩の存在は、オゾンの自己分解反応を抑制することが考えられる。この実験では重炭酸塩  $\text{NaHCO}_3$  は 0.5mol/L の濃度で添加されており、実際の下水処理水

と比べ極めて高濃度であることに留意しなければならない。しかし、この実験からウイルスの不活化には反応性が高いOHラジカルよりは反応の選択性が強い分子状のオゾンが効くという仮説が設定できる。

このような現象はオゾンによる有機物の酸化分解の現象とは異なり、消毒を目的とする場合には、水質化学条件も考慮することが必要であることを示している。

## 2-4-5 濁度の影響

多くのウイルスが水中の濁質やフロックに付着あるいは吸着していることは野生の大腸菌ファージの河川、下水処理場での調査結果からも明らかである。

金子らはウイルスの不活化に対する濁度の影響について検討している。(金子 1990) 無機性濁質物質の典型的な濁度標準物質としてカオリン、有機性濁質の代表として活性汚泥フロックを用いて、ポリオウイルス1型と大腸菌ファージT2の不活化に及ぼす濁質の影響を調べている。それによると、カオリン、活性汚泥が1mg/Lでも消毒効果に影響があり、濁度にして2度以下程度の水の場合99.99%の不活化を達成するためには、残留オゾン濃度0.6~1.6mg/Lで5分間の接触時間が必要であるとしている。塩素消毒に関してもフロックが消毒効果に影響を及ぼす同様の報告が大垣らの報告(大垣 1990)があり、わずかな濁度がウイルスを消毒剤から保護する役目を果たすといえる。

このようにオゾンの消毒効果は、対象とする水のpH、温度、有機物濃度、硬度、アルカリ度、色度、濁度などの水質因子の影響を強く受けることが示唆される。

## 2-5 オゾンによる微生物の不活化機構

### 2-5-1 細菌の不活化機構

オゾンの不活化機構については実験室規模からパイロットプラントスケール規模まで様々な微生物を用いて研究されている(Sommerville and Rempel 1972; Keller et al. 1974)。オゾンは、その強酸化力から不飽和結合を開裂させる力が強く、細菌においては細胞壁の脂肪酸の二重結合に作用し膜変性を起こし、溶菌させることにより消毒効果をもたらす(Scott and Leshner 1963; Mudd et al. 1969; Hinze et al. 1987; Pryor et al. 1991)。大腸菌に関しても同様の作用がある。(Komanapalli and Lau 1996) また、細胞膜内のスルフヒドリル基がオゾン不活化に最も影響されやすい(Komanapalli et al. 1997)。

神力らの結論によると、オゾンは細菌に対してマルチポイント攻撃を起こして殺菌する。すなわち図2-7のごとく膜への作用として膜タンパク質の酸化的変性、細胞膜チャネルの

酸化変性、細胞膜破壊と共にオゾンが膜を通過する。一方細胞内から細胞質成分が漏出し、タンパク質の酸化変性やDNAの酸化切断が起こる。これらの細胞の総合的な機能破壊によって細菌が死滅することになる。(神力 1994)

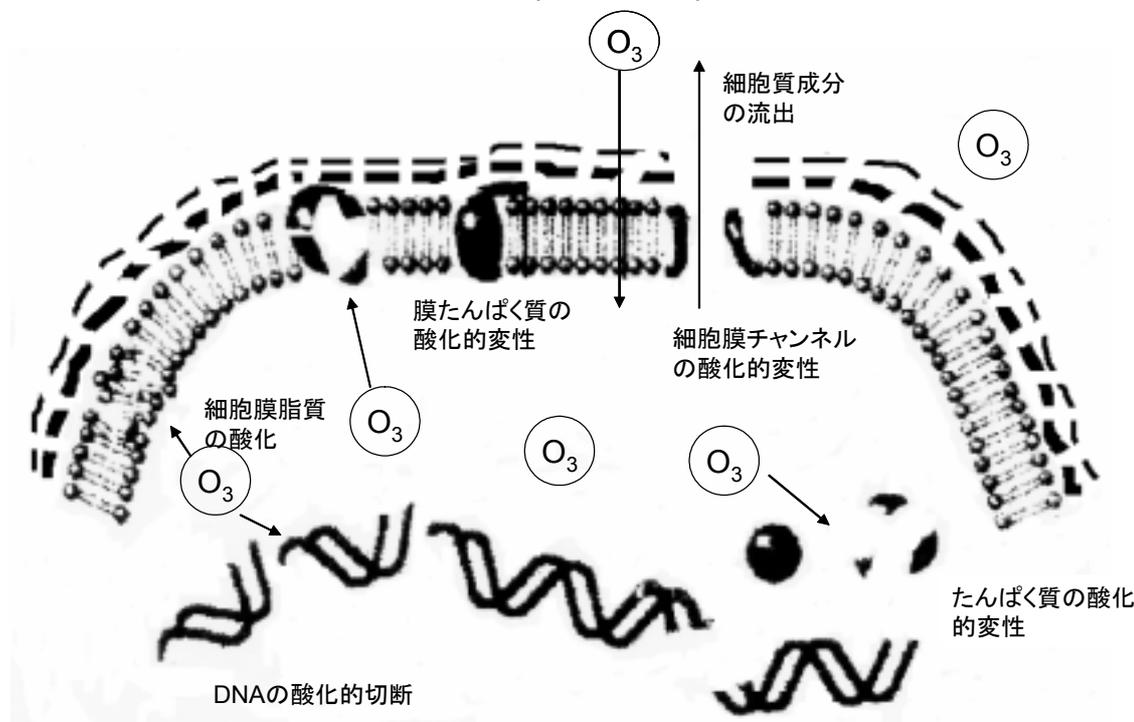


図2-7 オゾンによる細菌の不活化機構

## 2-5-2 ウイルスの不活化機構

ウイルスに対しては、その機構はバクテリオファージ (X174, f2, ポリオウイルス2型) による研究 (De Mik and De Groot 1977; Reisser et al. 1977; Kim et al. 1980) によると、オゾンは外套蛋白 (カプシド) と核酸部分のDNAあるいはRNAの両方に作用する。核酸の損傷は増殖が阻害されることになり、外套蛋白がオゾンによって損傷を受けると、宿主に感染する際にカプシドが脱着できなくなり感染力が減ると考えられている。

## 2-6 オゾンに対する病原微生物の感受性の比較

### 2-6-1 消毒速度と定量化

Sobsey は遊離塩素及びオゾンにおける微生物に対する不活化を調査した (Sobsey 1989)。表 2-6 と表 2-7 においてオゾンガスあるいはオゾン水の微生物に対する不活化と、遊離

残留塩素による不活化を比較した。これらの表を比較すると同じ微生物でもいずれもオゾンの方が不活化力の強いことが認められる。

表 2-6 オゾンによる微生物の不活化

微生物種	実験水	残留オゾン (mg/l)	水温 (℃)	pH (-)	接触時間 (min)	不活化 率(%)	濃度時間積 (mg・min/l)	研究者
細菌								
<i>Escherichia coli</i>	?	0.04~0.07	1	7.2	0.08~0.5	99	0.006~0.02	Katzenelson et al.(1974)
Tot. coliform	effl.	5.0	12.6	7.1	18	99.98	ND	Netzer et al.(1979)
Fecal streptococci	effl.	5.0	12.6	7.1	18	99	ND	"
<i>E. coli</i>	effl.	0.29~0.36	24	7.4	0.6	99.94	ND	Farooq and Akhlaq (1983)
<i>Salmonella</i>	effl.	0.29~0.36	24	7.4	0.6	99.9998	ND	"
<i>typhimurium</i>								
<i>Micobacterium</i>	effl.	0.29~0.36	24	7.4	0.6	89	ND	"
<i>fortuitum</i>								
<i>M. fortuitum</i>	BDF	0.8~1.08	24	7.0	0.58	99	0.53	Farooq et al.(1977)
ウイルス								
poliovirus1	BDF	0.15~0.2	5	7.2	0.4~1.5	99	0.2	Roy et al.(1982)
poliovirus2	BDF	0.15	25	7.2	4.83	99	0.72	"
poliovirus1	effl.	0.29~0.36	24	7.4	0.6	99.5	ND	Farooq and Akhlaq (1983)
poliovirus1	effl.+HCO <sub>3</sub>	0.2	20	7.0	10~15	97		Harakeh and Butler (1985)
poliovirus1	effl.	0.2	20	7.0	10~15	80		"
rotavirus SAll	BDF	0.1~0.3	4	6.0~8.0	0.12~0.19	99	0.019~0.044	Vaughn et al.(1987)
human rota virus	BDF	0.05~0.3	4	6.0~8.0	0.12~0.19	99	0.026~0.036	"
rotavirus SAll	effl.	0.26	15	7.2	15	96	ND	Harakeh and Butler (1985)
human rota	effl.	0.26	15	7.2	15	40	ND	"
human rota	effl.	0.4	15	7.2	15	99.99	ND	"
原虫シスト								
<i>G lamblia</i>	BDF	0.15~0.7	5	7.0	2.8~12.9	99	1.94	Wickramanayake et al. (1984;1985)
<i>G lamblia</i>	BDF	0.11~0.48	5	7.0	0.94~5.0	99	0.53	"
<i>Naegleria gruberi</i>	BDF	0.55~2.0	5	7.0	2.1~7.8	99	4.23	"
<i>N. (fsp.)</i>	DW	0.4	25	7.0	4	>98.9	ND	Langlais and Perrine (1986)
<i>Acanthamoeba</i>	DW	0.4	25	7.0	4	95	ND	"
<i>polyphage</i>								
<i>A. (3sp.)</i>	DW	0.4	25	7.0	4	>98.9	ND	"

注) BDF: O<sub>3</sub> 要求量の無い硬水、DW: 蒸留水、effl.: 下水処理水

オゾンは一般に消毒効果を表す Ct 値 (濃度 C × 時間 t) で評価できない。

オゾンは酸化力が強いのでオゾン消費物質を含む水では消毒力を発揮する以前に多くの量が消費されてしまう。そこで下水のようなオゾン消費物質を多く含む水においては新たな方法を必要としている。

表 2-7 残留塩素による微生物の不活化

微生物種	実験水	残留塩素 (mg/l)	温度 (°C)	pH	接触時間 (min)	不活化率 (%)	濃度時間積 (mg·min/l)	研究者
ウィルス								
Parvo-H-1	PBS*	0.2	20	7.0	6	99.9	0.53	Churn et al. (1984)
Parvo-H-1	PBS	0.2	10	7.0	11	99.9	0.85	Berman and Hoff et al. (1973)
SA11, disp.	BDF*	ca. 0.5	5	10	1.1-1.65	99	0.63	Raphael et al. (1987)
SA11, cell-ass.	BDF	ca. 0.5	5	10	2.4-4.4	99	1.8	Joret, J. C. et al. (1982)
Rota, Wa	Theated	0.75	22	8.3-8.6	60	94.3	ND	Harekar and Butler et al. (1984)
Human rota-	effl.	1.1	15	7.2	15	40	>15	Vaughn et al. (1986)
Human rota-	effl.	2.2	15	7.2	10	60	>15	Grabow et al. (1983)
Rota, SA11	BDF	0.1	4	8.0	0.5	99.9	0.03	Sobsey et al. (1988)
Rota, Wa	BDF	0.1	4	8.0	0.65	99.9	0.03	*
Rota, SA11	BDF	0.4-0.28	25	10.0	1.1	99.99	ca. 4.0	*
Hepatitis A	BDF	0.42-0.06	25	6	0.7	99.99	ca. 3.0	*
Hepatitis A	BDF	0.4-0.28	25	10	2.5	99.99	ca. 5.5	*
Hepatitis A	BDF	0.5	5	6.0	6.5	99.99	ca. 1.8	*
Hepatitis A	BDF	0.5	5	10.0	49.6	99.99	ca. 12.3	*
Coliphage MS2	BDF	0.5	5	6.0	1.2	99.99	ca. 0.25	*
Coliphage MS2	BDF	0.5	5	10.0	26.5	99.99	ca. 6.9	*
原虫								
<i>G. lamblia</i>	BDF	1-4	5	7.0	3-32	90	90-170	Jarroll et al. (1981)
<i>G. lamblia</i>	BDF	1.5	25	6.0-8.0	47	99	<15	Rice et al. (1982)
<i>G. lamblia</i>	BDF	2.5	5	6.0-8.0	19-26	90	ca. 120	Hiber et al. (1987)
<i>G. lamblia</i>	BDF	0.2-3.0	5.0	6.0	—	99	54-87	Rice et al. (1982)
<i>G. lamblia</i>	BDF	0.2-3.0	5.0	7.0	—	99	83-133	Leahy et al. (1987)
<i>G. lamblia</i>	BDF	0.2-3.0	5.0	8.0	—	99	119-192	Farooq, S et al. (1983)
<i>G. muris</i>		2.5	5	6.0	30	90	>150	
<i>G. muris</i>		25	5	8.0	48	90	>150	
<i>G. muris</i>		23.8-78.5	5	7.0	5.7-42.6	99	449-1012	
<i>G. muris</i>	BDF	2.8-7.1	25	7.0	3.6-16	99	25.5-44.8	
<i>G. muris</i>	BDF	11.1	25	8.0	15.6	99	177	
<i>G. muris</i>	BDF	4.4	25	5.0	16.3	99	71	
<i>Naegleria</i> (2 species)	BDF	0.5-1.0	25	7.3-7.4	1-3hr?	99.99	12-18	de Jonckheere and van de Voorde et al. (1976)
<i>Acanthamoeba</i> (2 species)	BDF	4-8	25	7.3-7.4	24hr	99.99	960-7200	
<i>N. gruberi</i>	BDF	2.64	25	5.0	2.8	99	7.3	Rubin et al. (1983)
<i>N. gruberi</i>	BDF	2.2	25	7.0	5.2	99	11.4	Campbell et al. (1982)
<i>N. gruberi</i>	BDF	15.4	25	8.0	15.4	99	177	
	gut homog in PBS	30,000	4	ca. 7.0	18hr	<95	>18hrs	

注) BDF: O<sub>2</sub>要求量のない緩衝液, DW: 蒸留水, effl.: 下水処理水

## 2-7 バクテリオファージ

大腸菌の寄生体である大腸菌ファージは、大腸菌の体内に存在する場合に限って自己を複製して増殖することが可能である。

図に示すように様々な種類があるが、遺伝子として DNA をもつものと RNA をもつもの (RNA ファージ) は *Leviviridae* (レピウイルス科) に属する。ファージは F 特異 RNA 大腸菌ファージ (F-specific RNA coliphage) と呼ばれている。RNA ファージの大腸菌に対する吸着部位は F 繊毛であり、そのため宿主菌として用いることの出来る大腸菌株は F 繊毛を持つ株に限られる。F 特異 RNA 大腸菌ファージはエンベロープを持たない直径 24 ~ 36nm の正 20 面体の構造をもち、3400 ~ 4300 bp 程度の一本鎖 (+)RNA を核酸として有する。(ICTVdB 2004)

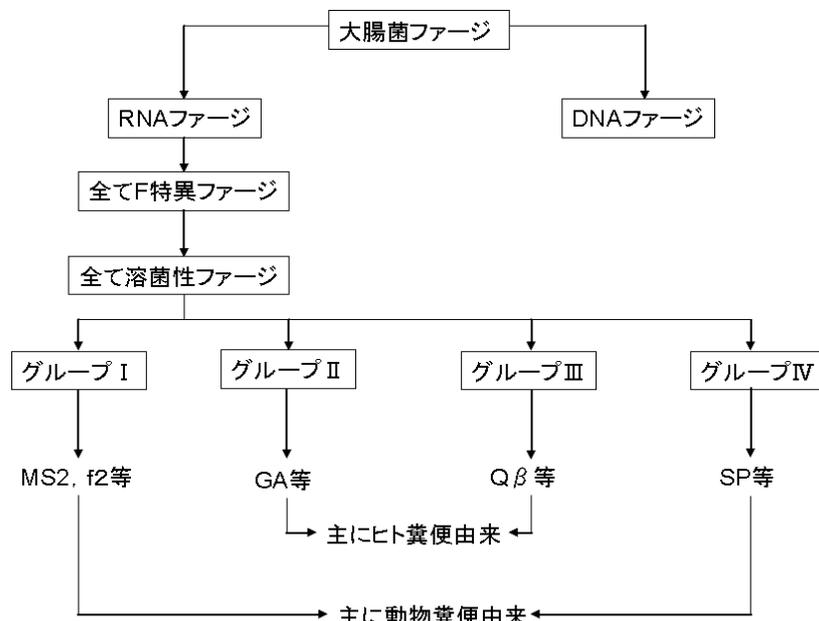


図 2-8 大腸菌ファージ系統樹

環境中に存在する F 特異 RNA 大腸菌ファージはヒトを含む動物の糞便が発生源とされている。このため、河川や海域に存在する F 特異 RNA 大腸菌ファージは、雨水によって洗い流された動物の糞便、合流式下水道の越流水、及び下水処理場の放流水などに含まれている大腸菌ファージが発生源と考えられる。

Furuse(1987)は日本及び世界各国の F 特異 RNA 大腸菌ファージの血清型を調査したが、その結果、ヒトの糞便からは主に Group I と Group II の F 特異 RNA 大腸菌ファージが検出されるのに対し、ヒト以外の哺乳類からは Group III の F 特異 RNA 大腸菌ファージが主に検出され、Group IV の F 特異 RNA 大腸菌ファージはヒトを含めた哺乳類から広く検出されることを報告している (Furuse et al.1987)。

Havelaar らは Group I と Group II の F 特異 RNA 大腸菌ファージはヒトの糞便中よりも下水から優位に検出されることを指摘しており、下水道で F 特異 RNA 大腸菌ファージの増殖が

起きていることを示唆している (Havelaar et al.1990)。このことにより、F 特異 RNA 大腸菌ファージが河川や海域で増殖している可能性が考えられたが、F 特異 RNA 大腸菌ファージの増殖には宿主菌の濃度が  $10^4$  個/mL 以上である必要があるため、下水道以外での増殖は考えられない。(Havelaar et al.1991、片山ら 2000)

## 2-8 オゾン処理の現状

下水処理におけるオゾンの利用目的と処理特性を表 2 - 8 に示す。

オゾン処理はこれらの機能が複合的に、同時に作用することが特徴であるが、下水での利用事例としては、塩素代替の消毒、もしくは再利用のための脱臭 (液相)・脱色を主な目的とするものが多い。

表 2-8 下水処理におけるオゾンの主な利用目的と処理特性

利用目的	処理特性
消毒	<ol style="list-style-type: none"> <li>1 微生物の細胞膜や DNA、RNA を直接破壊するので効果大</li> <li>2 短時間での消毒が可能</li> <li>3 通常の実験条件で、病原性原虫の不活化が可能</li> <li>4 残留性はなく、放流先での水生生物への影響が無い</li> </ol>
脱色	<ol style="list-style-type: none"> <li>1 着色物質の発色部 (2 重結合、3 重結合) を低分子化する</li> <li>2 反応速度が大きい</li> <li>3 染色系排水の脱色も可能</li> <li>4 透明度も向上</li> </ol>
脱臭	<ol style="list-style-type: none"> <li>1 臭気物質の酸化分解</li> <li>2 気相中よりも反応速度が大きい</li> </ol>
有機物分解	<ol style="list-style-type: none"> <li>1 二重結合を有する物質や求核類との反応性が高い</li> <li>2 低分子化が主体</li> <li>3 水と炭酸ガスまでの分解には至らない</li> <li>4 COD・TOC は減少、オゾン分解初期には BOD はやや増加する (易生分解化)</li> </ol>

以下の表 2 - 9 に 1990 年代以降の下水処理場におけるオゾン利用状況を示した。適用目的は処理水の再利用が中心であり、脱色、消毒、COD 対策も挙げられている。1 日処理量は初期の数 10 トン処理から近年の数十万トン処理にまで拡大しているものの、下水道が日本国内で年間 129 億トン流集されているうち平成 10 年度では 169 の処理場で年間約 1.6 億トンしか光度処理水として場外に送水されていない。その利用量はおよそ 1.24% 程度ですべての処理場でオゾン処理がなされているわけではない (平成 12 年度日本の下水道)

表 2-9 1990 年以降の下水処理施設(汚泥処理脱臭工程を除く)での設置状況

都道府県	設置場所	用途	規模 (m <sup>3</sup> /d)	運転開始年月
兵庫県	浄化センター	せせらぎ用水	2,000	1991 年 3 月
千葉県	終末処理場	中水用	1,840	1991 年 3 月
宮崎県	処理場	親水	2,880	1992 年 3 月
埼玉県	アクアパーク	修景・親水	100	1992 年 3 月
愛知県	下水処理場	修景・せせらぎ	1,300	1992 年 4 月
大阪府	処理場	色度・COD 対策	10,000	1992 年 8 月
島根県	処理場	脱色・消毒	2,150	1992 年 9 月
静岡県	終末処理場	脱色・消毒・脱臭	48	1993 年 3 月
富山県	浄化センター	消毒	4,300	1993 年 3 月
神奈川県	環境センター	放射線対策	396,000	1993 年 9 月
香川県	下水処理場	脱色・脱臭	600	1993 年 10 月
和歌山県	終末処理場	脱色	50,400	1994 年 3 月
静岡県	処理場	修景	2,736	1994 年 4 月
宮崎県	浄化センター	親水・色度	4,320	1994 年 4 月
福岡県	下水処理場	脱色・COD 対策	5,400	1995 年 6 月
東京都	処理場	再利用	44,800	1995 年 12 月
兵庫県	浄化センター	修景	1,800	1996 年 3 月
岡山県	浄化センター	消毒	1,800	1996 年 3 月
京都府	処理場	色度・臭気・COD	120,000	1997 年 4 月
大分県	終末処理場	修景	9,000	1998 年 4 月

現在下水処理において利用されているオゾン処理の主な用途と除去対象物質を表 2 - 10 に示す。

用途は大きく放流と処理水再利用とに分けることができ、通常放流用途は、全量処理、再利用用途は方流水の一部を高度処理する部分処理となる。放流用途におけるオゾン処理の目的は、消毒と脱色が主となっている。一方で再利用用途では、オゾン処理は主に修景用水、親水用水、水洗便所水等に適用されている事例が多く、消毒、色、臭いの除去など再利用において要求される安全性確保、美観確保が目的となっている。再利用を目的とし、修景用水、親水用水、水洗便所水として利用する場合、これらの用途に応じて公表されている基準値は以下の表 2 - 11 のとおりである。

表 2 - 10 下水処理水における修景・親水利用マニュアル

項目	修景用水利用	親水用水利用
大腸菌群数	1000 個/100mL 以下	50 個/100mL 以下
BOD(mg/L)	10mg/L 以下	3mg/L 以下
pH	5.8~8.6	5.8~8.6
濁度(度)	10 度以下	5 度以下
臭気	不快で無いこと	不快で無いこと
色度	40 度以下	10 度以下

表 2-11 下水処理水循環利用技術指針

基準水質	項目	水洗用水	散水用水	修景用水
基準水質	大腸菌群数(個/mL)	10 以下	検出されないこと	検出されないこと
	残留塩素(mg/L)	保持されていること	0.4 以上	
目標水質	外観	不快でないこと	不快でないこと	不快でないこと
	濁度(度)			10 以下
	BOD(mg/L)			10 以下
	臭気	不快でないこと	不快でないこと	不快でないこと
	pH	5.8~8.6	5.8~8.6	5.8~8.6

注 1) 修景用水とは、住宅団地等において人工的に作られた池、壁泉、小川などに利用する水をいう。

注 2) 衛生上必要な措置として塩素消毒を行うが、その場合、使用場所にもっとも近い受水槽付近における再生水が残留塩素を保持していること。

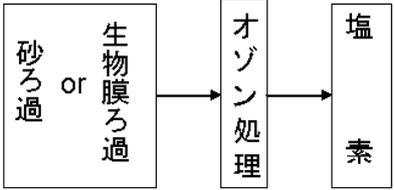
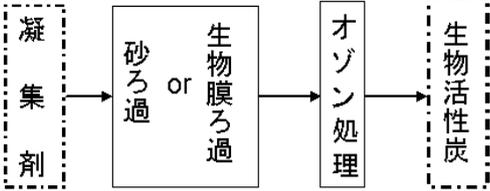
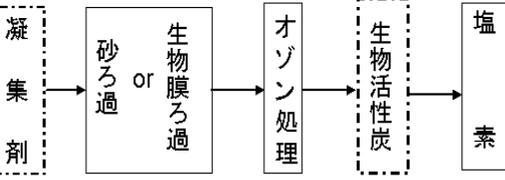
注 3) 上記のほか、設備の機能を保持するためスケール・スライム等の発生を抑制するように努めること。

下水処理水の再利用では、浮遊物質(SS)、BOD等の水質向上のほか、視覚的・嗅覚的快適性や衛生学的安全性が求められる。なかでも、「せせらぎ」や親水公園のように、施設の目的が「うるおい」や「いこい」の場の創出である場合、水質的な快適性や安全性の確保は最優先項目となる。オゾン処理は前述のとおり、消毒、脱色、脱臭性能が高く、同時にCOD除去、発泡性物質除去、透視度の向上などの複合的な効果が期待出来るため、下水処理水の修景・親水用水、水洗便所用水等への利用用途では不可欠のプロセスといえる。

表 2 - 12 に オゾン処理を中心とした処理水再利用設備の処理フローの例を示す。下水処理水の再利用を目的としたオゾン処理では、各種前処理、後処理技術と組み合わせて用いられるが、オゾン処理の効率を高めるため、前段階にろ過設備(砂ろ過または生物膜ろ過)を設けるのが一般的である。このうち生物膜ろ過は、被処理水中に残留するNO<sub>2</sub>-Nを酸化出来るためオゾンの消費量を節約できる利点がある。

このようにオゾン処理は下水処理水の再利用処理として多くの利点があり今後ともその利用が見込まれる。

表 2-12 オゾン処理を中心とした処理水再利用設備の処理フロー

用途	フロー	備考
水洗 便所用 水等	 <pre> graph LR     A[砂ろ過 or 生物膜ろ過] --&gt; B[オゾン処理]     B --&gt; C[塩素]             </pre>	<ul style="list-style-type: none"> <li>SS によるオゾン消費の低減を目的に前処理として砂ろ過を設置</li> <li>生物膜ろ過の使用も可能</li> <li>残留塩素保持を目的として塩素を注入する</li> </ul>
修景 用水	 <pre> graph LR     A[凝集剤] --&gt; B[砂ろ過 or 生物膜ろ過]     B --&gt; C[オゾン処理]     C --&gt; D[生物活性炭]             </pre>	<ul style="list-style-type: none"> <li>SS 除去率向上あるいはリン除去を必要とする場合は凝集添加剤が有効</li> <li>生物膜ろ過は SS 除去と共に亜硝酸窒素によるオゾン消費低減に有効</li> <li>さらに水質を向上を図る場合は生物活性炭を使用</li> </ul>
親水 用水	 <pre> graph LR     A[凝集剤] --&gt; B[砂ろ過 or 生物膜ろ過]     B --&gt; C[オゾン処理]     C --&gt; D[生物活性炭]     D --&gt; E[塩素]             </pre>	<ul style="list-style-type: none"> <li>修景用水とほぼ同様</li> <li>利用目的によっては塩素注入等の疫学的安全性保持を図る必要がある</li> <li>使用目的によっては膜処理も検討することが望ましい</li> </ul>

## 第 3 章 実験方法及び実験装置

環境中に存在する微生物には、細菌、原虫、ウイルス等があり、それぞれの微生物に対して様々な測定法がある。

本研究では、細菌として、厚生労働省「水質基準に関する省令」(旧厚生省 1992 年)において定められている指標微生物である大腸菌群を計測した。また、ウイルスとしては水処理工程と水環境中における挙動の類似性から、代替指標として有望視されている F 特異大腸菌ファージ Q を測定した。

- 対象試料：下水処理水  
(下水二次処理水塩素消毒前、砂ろ過処理後、生物膜処理後)
- 実験試料：東京都下水道局芝浦水再生センターから採取
- オゾン実験装置：回分式連続曝気式リアクター

ここで使用する単位ここで使用する単位

試料 1m L 中に形成するブラックおよびコロニーの個数を示したもの

大腸菌群：CFU/m L (Colony Forming Unit) コロニー形成単位

F 特異大腸菌ファージ Q : PFU/m L (Plaque Forming Unit) ブラック形成単位

- 採取した実験試料の水質分析は、下水試験法 (1997) に従って計測した。
- 採取した試料中における、硝酸性窒素、亜硝酸性窒素、アンモニア性窒素に関しては Merck 12 社製小型反射式光度計「RQflex」を用いて測定した。

### 3-1 微生物の定量法

主に寒天培養法を用いた。寒天培養法の手順の概略図を以下に示す。

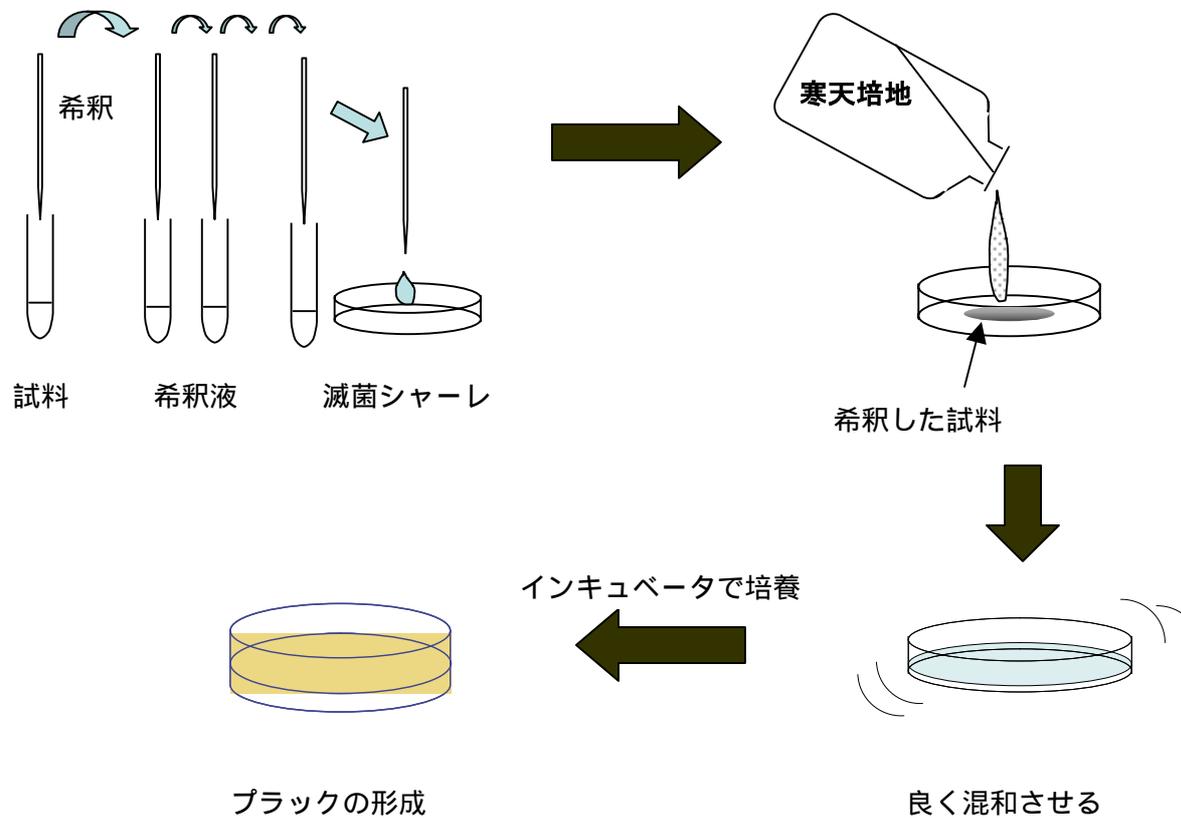


図 3-1 寒天培養法の手順

### 3-1-1 大腸菌群の測定法(デソキシコーレイト培地法)

#### 原理

本法は、大腸菌群が増殖した際に、乳糖が分解されて生じる酸によって水溶性のデソキシコール酸ナトリウムから不溶性のデソキシコール酸が検出され、同時に酸性で赤変したニューtralレッドと強く結合し、混濁した赤色コロニーを形成する性質を利用して検出を行う方法である。

#### 必要試薬

##### ◆ 寒天培地

パールコアデソキシコーレイト培地(栄研 E-MB61) 45 gを MilliQ 水 1 L に十分攪拌混和した後、加温溶解し、500m L 耐熱ガラス瓶に注ぎ入れ、使用直前まで 48 で保温した(高压蒸気滅菌は不要)。

##### ◆ 希釈液

LB broth base (Invitrogen) 20g を MilliQ 水 1 L に加熱溶解したものを 9m L ずつネジ口試験管( 18 )に分注し、高压蒸気滅菌( 121 で 15 分)した。

#### 測定手順

試料はあらかじめ 10 倍希釈法により、試料 1m L 中の大腸菌群数が 30~300 個の範囲に入るように希釈しておく。試料が低濃度と予想される場合は、試料 1m L を培養操作に用いる。

- 1) 滅菌済みのメスピペットを用いて適当に希釈した試料 1m L を無菌的にシャーレに加えた。
- 2) 保温したデソキシコーレイト培地 10m L 程度をシャーレに添加し、寒天が固まらないうちにシャーレを前後左右に回転して試料と十分に混和した。
- 3) 固化した後に約 10m L のデソキシコーレイト培地を加えて重層し、静置凝固させてインキュベーター( 35~37 )で 18~24 時間培養した。
- 4) 培養後、赤色を呈したコロニーの計数を行った。300 個以下のコロニーが形成された希釈段階のシャーレ 2 枚の計数値を平均し、希釈倍率を乗じることで試料中の大腸菌群濃度(CFU/m L)を算出した。

### 3-1-2 F特異 RNA 大腸菌ファージ Q $\beta$ の測定法(重層寒天培養法)

#### —宿主として *E.coli* K 12 F<sup>+</sup> (A/ $\lambda$ ) を用いる定量法—

##### 原理

*E.coli* K 12 F<sup>+</sup> (A/ $\lambda$ ) を宿主として用いる場合、F 特異的 RNA 大腸菌ファージ Q に加えて体表面吸着大腸菌ファージも検出することが出来る。ただし、大腸菌ファージがほぼ存在しないことが予想される試料に Q の高濃度原液を添加して試験を行う場合は、ブラックとして検出されるファージのほぼ 100% を Q として扱うことが出来る。(付録; 宿主として *E.coli* K 12 F<sup>+</sup> (A/ $\lambda$ ) と WG49 を用いた実験 参照)

##### 必要試薬

- ◆ 希釈液および培養液  
LB broth base (Invitrogen) 20g を MilliQ 水 1 L に加熱溶解したものを 9m L ずつネジ口試験管 ( 18 ) に分注し、高圧蒸気滅菌 ( 121 で 15 分 ) した。
- ◆ 宿主菌 : *E.coli* K 12 F<sup>+</sup> (A/ $\lambda$ )  
希釈液 9m L に宿主菌 *E.coli* K 12 F<sup>+</sup> (A/ $\lambda$ ) を適量添加し十分攪拌した後、対数増殖期に達するまで 37 で 3~4 時間振とう培養を行った。  
培養後の宿主菌濃度はおよそ 3~5 × 10<sup>8</sup> CFU/m L となった。
- ◆ 重層法寒天培地  
MilliQ 水 1 L に以下 (表 3 - 1、表 3 - 2) のものそれぞれを加熱溶解し、500m L 耐熱ガラス瓶に注ぎ入れ、高圧蒸気滅菌 ( 121 で 15 分 ) した。使用直前まで 48 で保温した。上層寒天培地は使用直前に対数増殖期の *E.coli* K 12 F<sup>+</sup> (A/ $\lambda$ ) を少量添加した。

表 3-1 上層寒天法培地の組成

LB broth base	20g
Bacto agar	8g
塩化カルシウム	1g

\* LB broth base(Invitrogen)

\* Bacto agar(Difco 214010)

\* 塩化カルシウム (CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, キンダ化学 000-13445)

表 3-2 下層寒天法培地の組成

LB broth base	20g
Bacto agar	11g
塩化カルシウム	1g

##### 測定手順

- 1) 下層寒天培地 10m L を無菌シャーレに加え、常温で固化させた。
- 2) 滅菌済みのメスピペットを用い、希釈液を用いて適当に希釈した試料 1m L を下層寒天培地に加え、上層寒天培地 10m L を添加し、シャーレを前後左右に回転し試料と十分に混和した。
- 3) 静置凝固させた後にインキュベーター ( 35~37 ) で 18~24 時間培養した。

- 4) *E. coli* K 12F<sup>+</sup> (A/ ) が死滅して形成された透明のブラックを計数した。300 個以下のブラックが形成された希釈段階のシャーレ 2 枚の計数值を平均し、希釈倍率を乗じることで試料中の Q の濃度 (PFU/mL) を算出した。

#### F 特異 RNA 大腸菌ファージ Q の高濃度原液の調整方法

- 1) 宿主菌である *E. coli* K 12 F<sup>+</sup> (A/ ) を培養液 9m L に適量添加し、対数増殖期に達するまで 37 で 3~4 時間振とう培養を行った。
- 2) 約 200 μL の Q 溶液を添加し、再び 37 で 18~24 時間振とう培養を行った。
- 3) セルロースアセテート膜 (口径 25mm, 孔径 0.45 μm, Advantec) を用いて全量をろ過し、Q の高濃度原液 (約 10<sup>10</sup> PFU/mL) を得た。

\* 4 の液体培地中で約 10<sup>10</sup> PFU/mL の濃度で 1 ヶ月保存できる

手順の概略図を以下の図 3-2 に示す。

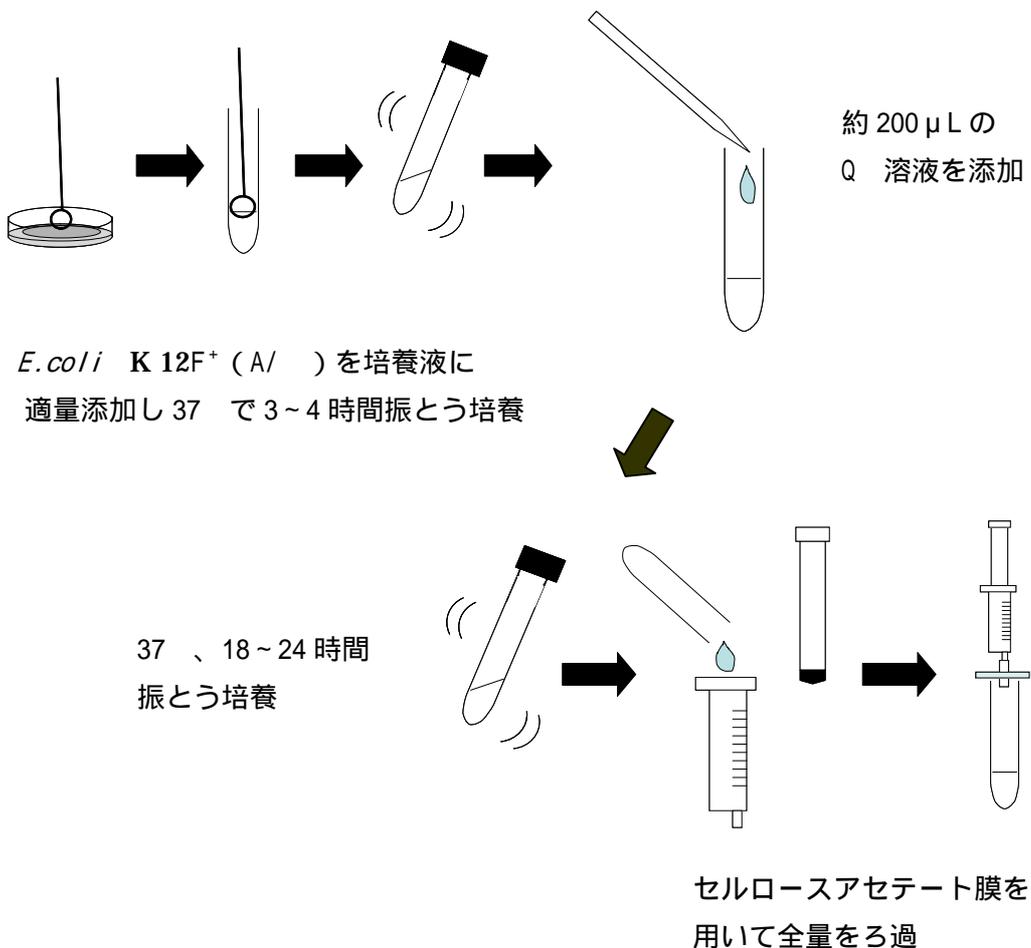


図 3-2 F 特異 RNA 大腸菌ファージ Q β の高濃度原液の調整方法概略

### F 特異 RNA 大腸菌ファージ Q の精製

Q の高濃度原液に含まれる培地成分は高濃度の有機物を含んでいるので、オゾン消費物質として働く。試料に Q の高濃度原液を添加する場合、試料中のオゾン消費量が変わる可能性がある。そこでゲルろ過クロマトグラフィーを用いて培地成分を取り除き、Q 原液(LB broth 溶液)を精製した。

ゲルろ過には、TE buffer (pH 7.6) で平衡化されたゲルろ過担体 Sephacryl 約 450  $\mu$ L が既に充填された MicroSpin Columns S-400 HR columns (Amersham Biosciences 製、製品番号 27-5140-01) を使用した。

一般にウイルスの精製法としてよく用いられる密度勾配超遠心分離法と比較し、作業が 20~30 分程度と短時間で済む。また、プレスピンによりろ過前後でサンプルは希釈されないため、液量に変化せずに回収が可能である。

手順を以下の図 3-3 に示す。

- 1) レジンをよく懸濁させる
- 2) キャップをゆるめ、カラムの先端を折る
- 3) 5mL チューブに入れてプレスピン 1 分間  $735 \times G(3,000\text{rpm})$
- 4) MilliQ 水を約 350  $\mu$ L 加え、ゲルを繰り返し洗浄した。  
プレスピン 1 分間  $735 \times G(3,000\text{rpm})$
- 5) 4) の作業を 4 回繰り返した
- 6) チューブを移しかえて培地成分が入った高濃度 Q 溶液を 100  $\mu$ L 添加した
- 7) プレスピンを 3 分間行った  $735 \times G(3,000\text{rpm})$

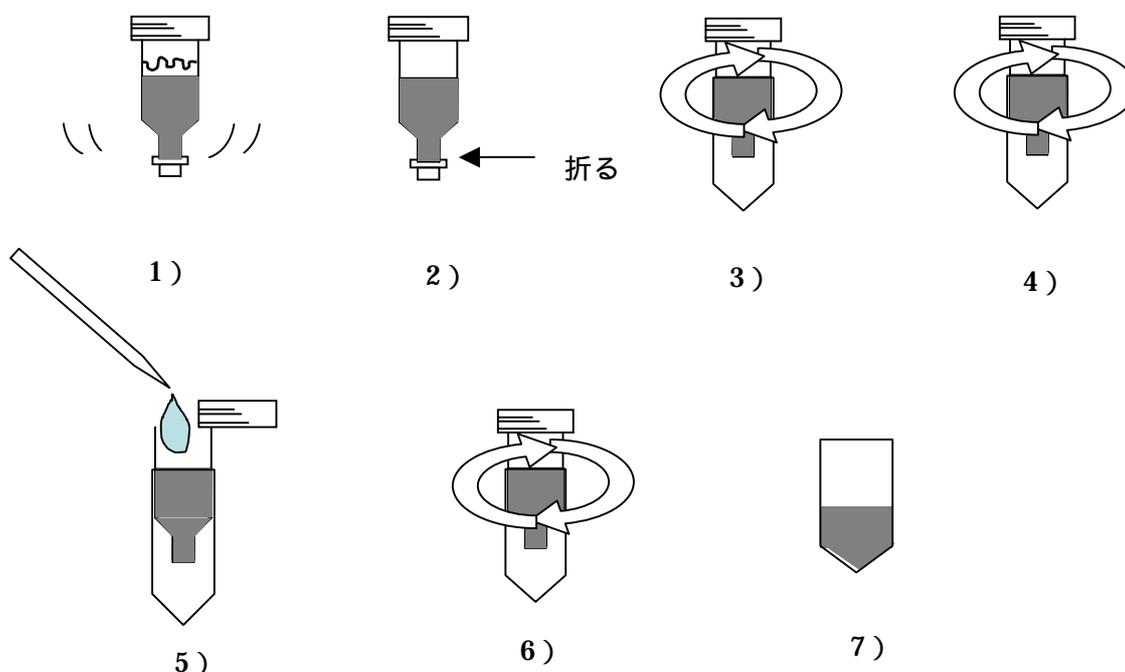


図 3-3 F 特異 RNA 大腸菌ファージ Q の精製方法

### 3-2 オゾン発生機、原料ガスおよび排オゾン処理

オゾン発生器は、日本オゾン株式会社製 ON -3-2 型（無声放電式、最大オゾン発生能力：空気原料時 1.5 g/h 酸素原料時 3.0 g/h）を用いた。原料ガスは、純酸素をシリカゲル充填管に通して水分を除去したものを使用した。

気液接触後のガスにも高濃度のオゾンが含まれているため、粒状活性炭カラム（底面積 9 cm<sup>2</sup>、高さ 25 cm）を通すことで、オゾンを除去し、排気した。

### 3-3 残存オゾン濃度の測定法

#### 原理

水中でのオゾン濃度の測定法は、インジゴカルミンによる吸光光度法を用いた（インジゴ法）。この方法は、インジゴのオゾンによる脱色反応が酸性領域において進行することを利用し、600 nm 付近での吸光度の減少割合がオゾン濃度に比例することを応用したものである。きわめて鋭敏で迅速な反応であり、妨害物質の影響も少ないとされており、Standard Method 19<sup>th</sup> Edition（1995 年）で proposed method として取り上げられている。

本研究では、インジゴ法を利用しリアルタイム的にオゾン濃度を計測できる、**Ozone Reagent LR AccuVac Ampules, High Range 0 ~ 1.50 mg/L O<sub>3</sub>**（HACH社製、カタログ No.2518025）を用いた。HACH社のプロトコルによると標準誤差範囲は ±0.024 mg/L O<sub>3</sub> である。吸光光度計はHACH COMPANY Model DR/700 PORTABLE COLORIMETER（以下DR/700と表記）を用いた。

#### 測定手順

- 1) DR/700に61.01モジュールをセットし、スタートスイッチを押す。  
**61.09.1**と表示するまで**UP ARROW**を押した。
- 2) サンプルを30 ~ 50m L  
50m L ビーカーに採取した。
- 3) 別の50m L ビーカーに約40m L のオゾンを含んでいない水（ブランク：Milli Q水）を採取した。
- 4) ブランクと採取したサンプルそれぞれに、Ozone Reagent Accu Vac Ampleの先端の部分を下向きにして水中に入れて折り、アンプルの中にサンプル水及びブランク水を充填させた。
- 5) すばやくアンプルを上下によく振り中身を混合する。アンプルの壁面についた溶液や指紋をキムワイプで拭き取る。



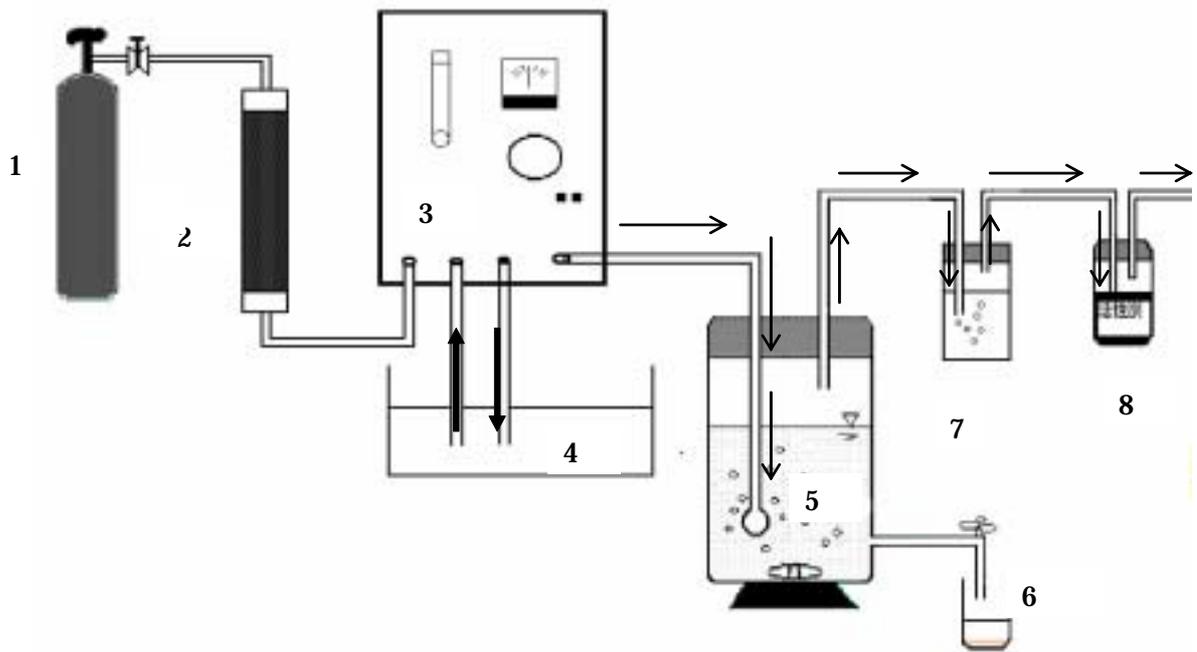
- 6 ) DR/700のセルホルダーにサンプルを入れたアンプルを入れふたを閉める
- 7 ) **ZERO**ボタンを押す。
- 8 ) 次にMill Q水を充填したアンプルをセルホルダーに入れ、**READ**ボタンを押す。
- 9 ) 脱色反応の差からサンプル中に含まれる残存オゾンの量が計測される。

## 3-4 実験装置および手順

### 3-4-1 実験に用いたガラス器具

リアクター、残存オゾン濃度測定に用いるガラス器具、スターラーなどは、通常の中性洗剤による洗浄、水道水によるすすぎ、Milli Q 水によるすすぎの後、200 のオープンに2時間おいて乾燥させた。

\* 通常オゾン実験を行う場合、Milli Q 水によるすすぎの後、オゾン水溶液に浸し、オープン乾燥させ残留オゾン完全に消失させる。これはガラス器具に付着したオゾン消費物質を除去するために行う。しかし、本実験の試料は下水処理水であり、ガラス器具に付着している微量なオゾン消費物質は実験結果に影響を及ぼさなかった。実験装置を図4 - 4に示す。



- |               |                 |
|---------------|-----------------|
| 1. 純酸素ボンベ     | 6. サンプルングスポット   |
| 2. シリカゲル管     | 7. オゾン分解器       |
| 3. オゾン発生器     | 8. 排ガス装置（活性炭吸着） |
| 4. 冷却水        |                 |
| 5. 回分型実験リアクター |                 |
- ディフューザーは直径2cmのガラス製

図3-4 実験装置

### 3-4-2 実験手順

実験手順を模式的に示すと図 3 - 5 のようになる。

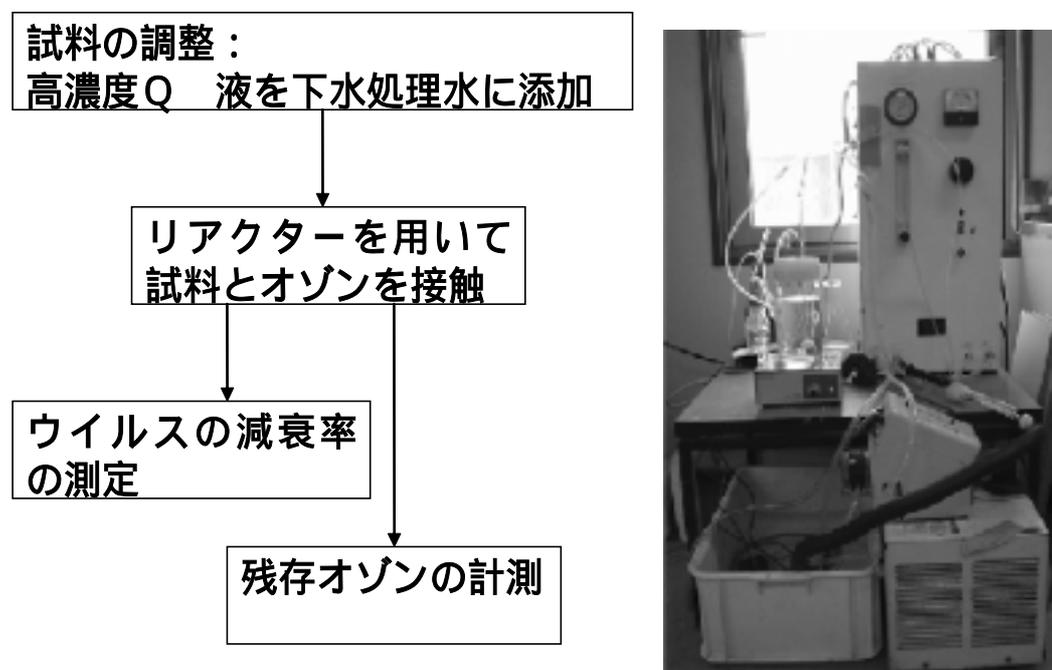


図 3-5 実験手順

- 1) オゾン発生機でオゾンが発生させた。オゾン発生量を安定させるために、2 時間オゾンが発生させた後、実験を開始した。  
流量は 100 L/h 発生電圧は 40~50V でオゾンが発生させた。  
オゾン発生量は、およそ 0.65 g/L であった。
- 2) 実験試料(下水二次処理水塩素消毒前、砂ろ過後、生物膜ろ過後)1L に、培地成分を除去した高濃度 Q 溶液を、試料中およそ  $10^6 \sim 10^7$  PFU/mL の濃度になるように 150~400  $\mu$ L 添加した。
- 3) 回文式リアクター内に Q が均一に拡散するように攪拌した後、50m L ビーカーに約 40m L サンプルングを行った。(このとき接触時間 t は 0 とする)。
- 4) サンプルング後、試料を Ozone Reagent LR AccuVac Ampules と接触させ、チオ硫酸ナトリウム溶液(試料の 2% になるような量：200  $\mu$ L をあらかじめ試験管内に加えておく)が入った滅菌済みネジ口試験管(13)に入れ、蓋をしめ、よく振って反応させた。\* サンプルング後、試料中に残った残存オゾンの進行反応を止めるためチオ硫酸ナトリウム溶液をオゾンと接触させた試料とサンプルング後すばやく混合させた。

- 5) リアクター内で、ディフューザー（直径2cmガラス製）を介して連続的にオゾンガスを吹き込んで試料と接触させた。反応中のスターラーの速度は700rpmで攪拌した。
- 6) オゾンガスがリアクター内に均一に拡散した後、接触時間 20、40、60秒、1.5、2、2.5、3、4、5、7、10分においてサンプリングを行った。そのつど 4) の操作を行った。
- 7) サンプリングが終了した後、DR/700を用いて直ちに残存オゾン量を計測し、微生物の測定を行った。

## 第4章 実験結果

試料として用いた下水処理水の水質は表4-1に示す

### 4-1 オゾン消費物質が無い水におけるオゾン溶解速度 及びF 特異的大腸菌ファージ Q $\beta$ の不活化速度

オゾン消費物質を含まない水として MilliQ 水を用い、MilliQ 水へのオゾン溶解量を測定した。オゾン発生器のオゾン発生量と HACH Ozone Reagent LR AccuVac Ampules の誤差を確認するために行った。結果を以下の図4-1に示す。

HACH Ozone Reagent LR AccuVac Ampules における残存オゾン濃度の検出限界が 1.5mg/L であるので、MilliQ 水への溶解量の限界値として検出される残存オゾン濃度値は検出値より高い可能性がある。しかし、図4-1から残存オゾン濃度 0 mg/L ~ 1.0 mg/L までの MilliQ 水へのオゾン溶解速度一定とみなすことができる。このことから 0 mg/L ~ 1.0 mg/L までの残存オゾン濃度量に関しては、アンプルによる誤差はないものとする

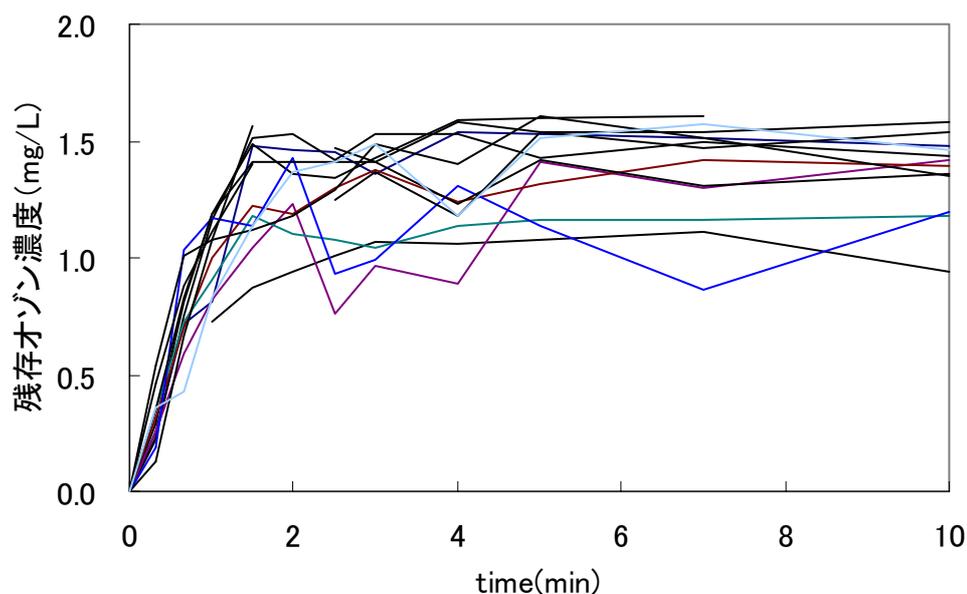


図4-1 MilliQ 水におけるオゾン溶解量

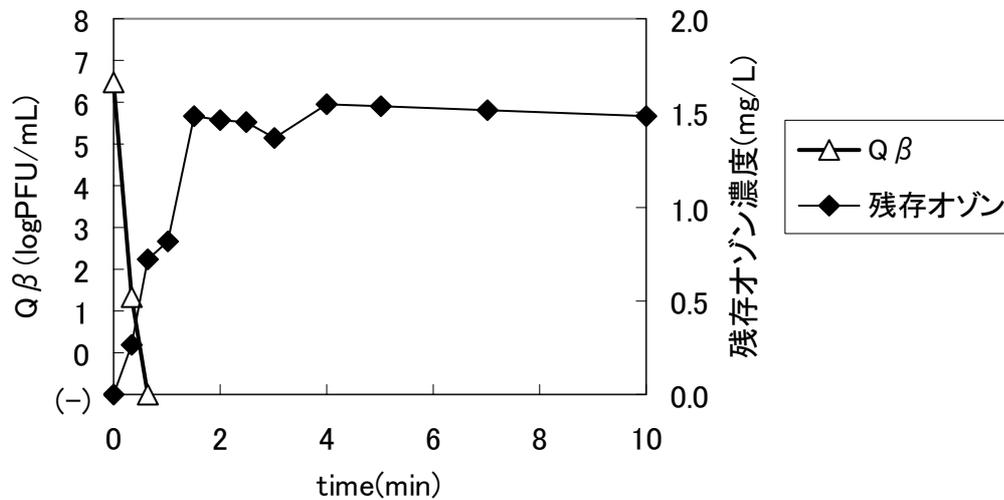


図 4 - 2 MilliQ 水における Qβ の不活化率

オゾン消費物質が無い MilliQ 水中での不活化速度係数は 10.29 であり、オゾン曝気開始後 20 秒で Qβ は 6.5 log 不活化され、検出限界値となった。

#### 4-1-2 精製水及び緩衝液

オゾンの水中での分解速度は pH の影響を大きく受け、酸性側ではより安定であり、アルカリ側ではより急速に分解が進む。多くのオゾンによる Qβ の不活化実験においては pH の影響を考慮してリン酸バッファーを用いている。しかしリン酸バッファーはそれ自身がオゾン消費物質となる場合がある (関谷 1991)。本研究では、対象試料を下水処理水としており、オゾン消費物質を含まない水 (精製水) として MilliQ 水を用いた。ここでは HACH Ozone Reagent LR AccuVac Ampules の妥当性も考慮し、リン酸バッファーの代わりに緩衝液として MilliQ 水を用いた場合、pH の変化によるオゾン分解の影響を確認した。リン酸バッファーと MilliQ 水とをそれぞれオゾンと接触させ、同時間における残存オゾン濃度の検出量についての相関を試みた。

図 4 - 3 から MilliQ 水とリン酸バッファーにおいて、近似式は  $y = 0.9569x + 0.083$ 、 $R^2$  値は 0.8508 となり、相関があると見なした。このことから、MilliQ 水中の pH によるオゾン分解は行われなかった。このため下水処理水を希釈する際の緩衝液として MilliQ 水を用いた。

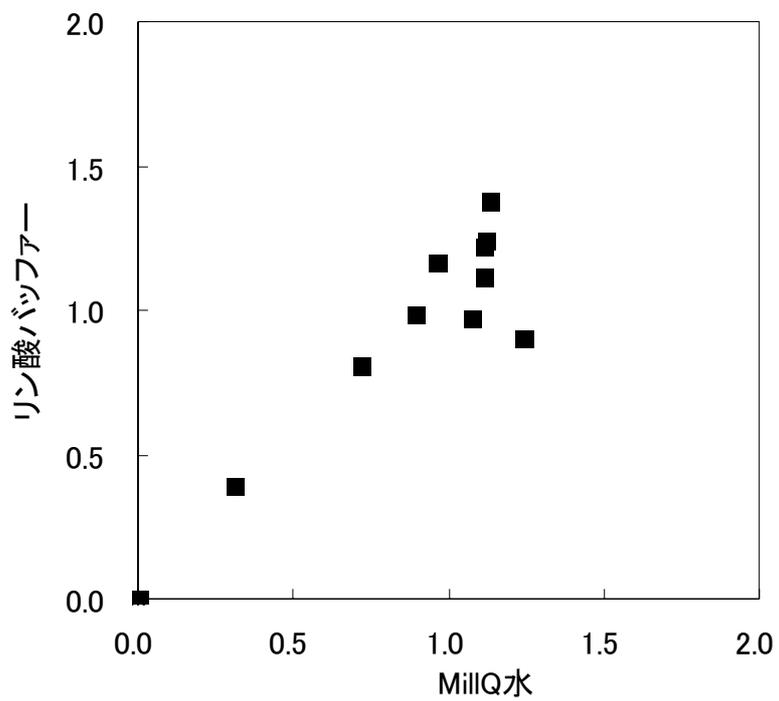


図 4 - 3 MillQ 水とリン酸バッファの相関

表 4 - 1 試料の水質

Run	種類	温度	外観	臭気	pH	残留塩素		濁度	色度	電気伝導度	ORPK	亜硝酸性窒素	アンモニア性窒素	硝酸性窒素	全窒素	全リン	残留オゾン	COD
						遊離	結合											
A	原水	27.7	0	1	6.89	0.52	0.16	1.96	16	1592.2	326	0.1	2.5	0	19.4	0.2		8.8
	砂ろ過				6.75	0.08	0.93	1.12	13.4									
	生物膜ろ過				6.9			0.54	16.1									
B	原水	23.5	1		7.61	0.15	0.83	8.34	9.9	905	376	0.1	3.5	0	14	1.1		11
	砂ろ過				7.15	0.48	1.76	5.54	6.4									
	生物膜ろ過				7.08			2.87	13.4									
C	原水	23.5	1	1	6.69	0.05	0.27	1.73	15.2	793	328	0.5	1.4	0	12.1	1.5		9.4
	砂ろ過				6.91	0.03	0.13	0.91	17.4									
	生物膜ろ過				7.06			1.14	15.6									
D	原水	22	1	1	6.78	0.04	0.39	0.74	12.7	403	334	0.5	0.8	0	10.5	0.8		7.6
	砂ろ過				6.98	0.02	0.11	0.33	10.7									
	生物膜ろ過				7.25			1.25	14.6									
E	原水	20.1	1	1	6.58	0.06	0.04	2.06	19.4	732	330	1.2	2.5	0	21.2	0.5		10
	砂ろ過				6.75	0.06	0.23	1.23	19.5									
	生物膜ろ過				6.7			0.96	20.4									
F	原水	19.7	1	1	7	0.02	0.34	2.26	19.2	1098	385	2.7	11.7	0	10.3	0.1		9.3
	砂ろ過				7.01	0.05	0.27	0.73	14.4									
	生物膜ろ過				7.52			0.93	14.6									
G	原水	19.3	1	1	7	0.04	0.19	3.18	20.3	1267	430	3.1	10.9	0	18.4	0.2		11.8
	砂ろ過				7.08	0.13	0.88	2.03	14.4									
	生物膜ろ過				6.87			1.22	19.4									

## 4-2 試料別における Q $\beta$ および大腸菌群の不活化率について

下水二次処理水、砂ろ過処理水、生物処理水における F 特異大腸菌ファージ Q と大腸菌群の不活化率を示した。また、試料名は表 4-1 にアルファベットで示したものとする。

### 4-2-1 下水二次処理水

図 4-4~図 4-10 に下水二次処理水塩素消毒前を試料として用いた場合の残存オゾン濃度と F 特異大腸菌ファージ Q と大腸菌群との経時変化を示した。

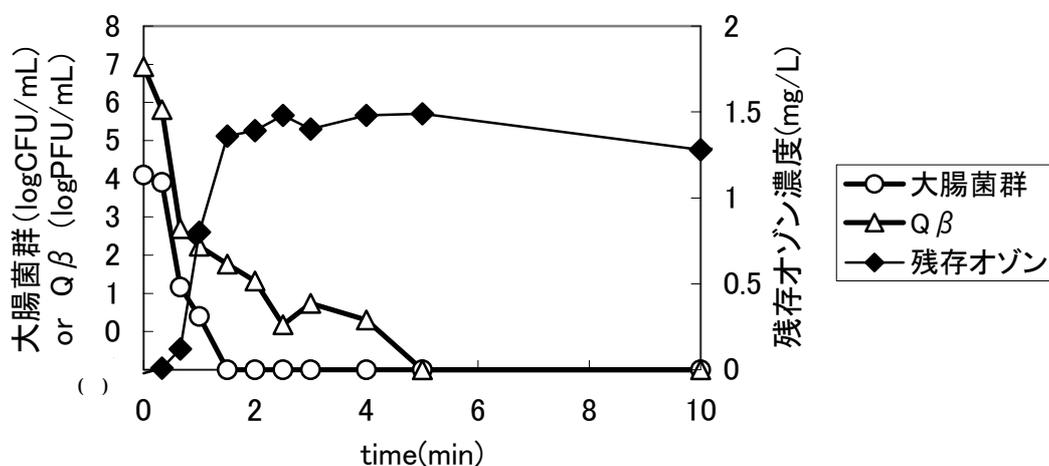


図 4-4 試料 A

試料 A におけるオゾン飽和濃度はおよそ 1.5mg/L であり、これは本研究で用いた HACH 社のオゾン測定キットの検出上限値である。実際は試料中に、オゾンがより溶け込んでおり、残存オゾン濃度は高かったと考えられる。微生物の不活化率は残存オゾン濃度が検出された 0.12mg/L において、Q は約 6.5 log、大腸菌群は約 4 log 不活化した。

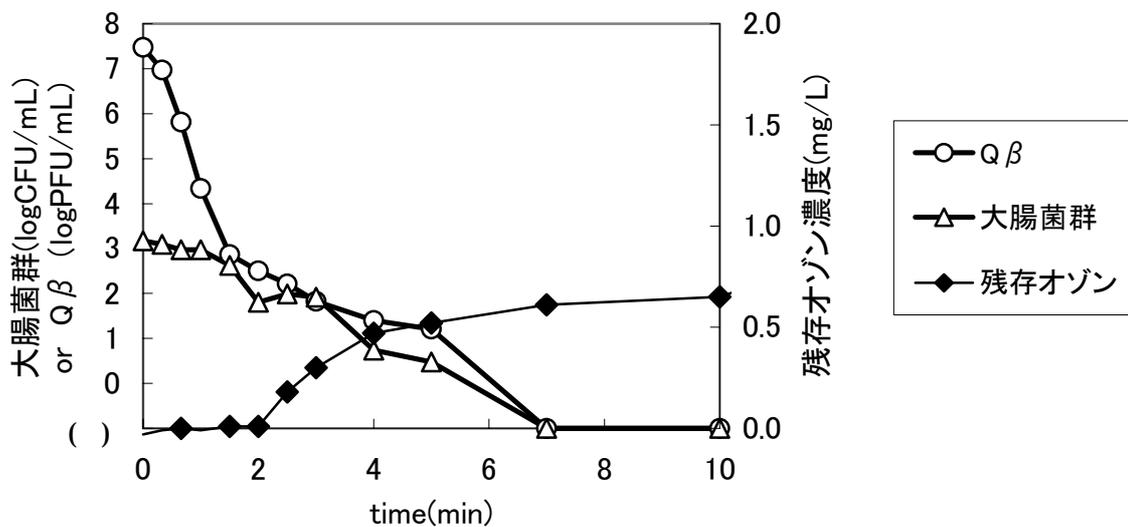


図4-5 試料B

試料Bにおいては残存オゾンの立ち上がりが遅く、試料中にオゾン消費物質が多く含まれていたと考えられる。10分における試料中の残存オゾン濃度は0.65mg/Lであり、微生物の不活化率は残存オゾン濃度が検出された0.18mg/Lにおいて、Qは7log、大腸菌群は1log不活化した。

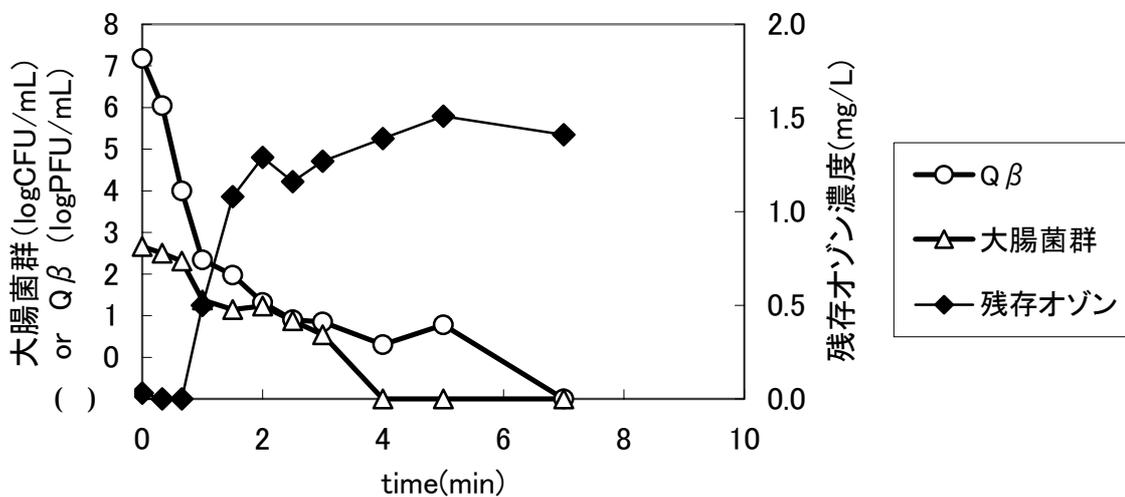


図4-6 試料C

試料Cにおける残存オゾン濃度は5分においておよそ1.5mg/Lであった。その後試料中における残存オゾン濃度は減少したが、これは測定キットの誤差範囲であると考えられる。微生物の不活化率は残存オゾン濃度が検出された0.5mg/Lにおいて、Qは5log、大腸菌群は約1log不活化した。

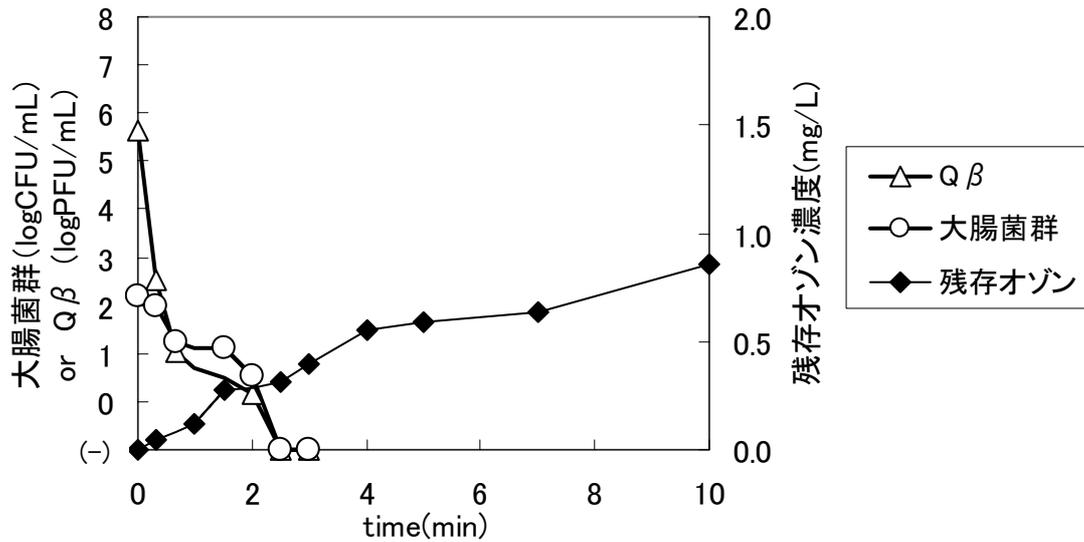


図4-7 試料D

試料Dにおいては残存オゾンの立ち上がりが速いものの、その後の立ち上がりの遅さから難分解性のオゾン消費物質が試料中に多く含まれていたと考えられる。10分における試料中の残存オゾン濃度は0.86 mg/Lであり、微生物の不活化率は残存オゾン濃度が検出された0.21mg/Lにおいて、Q $\beta$ は5 log、大腸菌群は1 log不活化した。

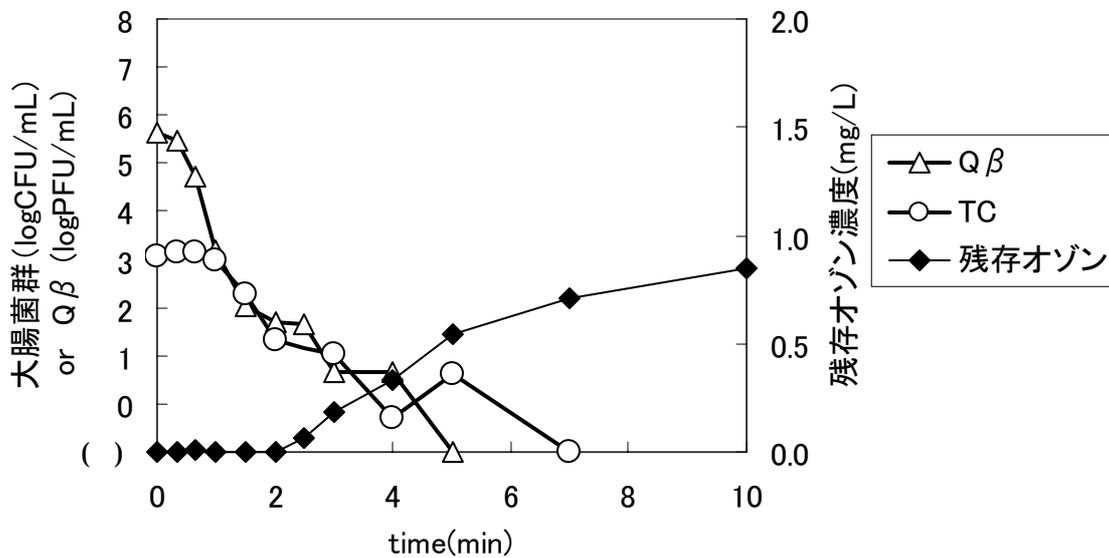


図4-8 試料E

試料Eにおいては残存オゾンの立ち上がりが遅く試料中にオゾン消費物質が多く含まれていたと考えられる。10分における試料中の残存オゾン濃度は0.85 mg/Lであり、微生物の不活化率は残存オゾン濃度が検出された0.06mg/Lにおいて、Q $\beta$ は5 log、大腸菌群は1.5 log不活化した。

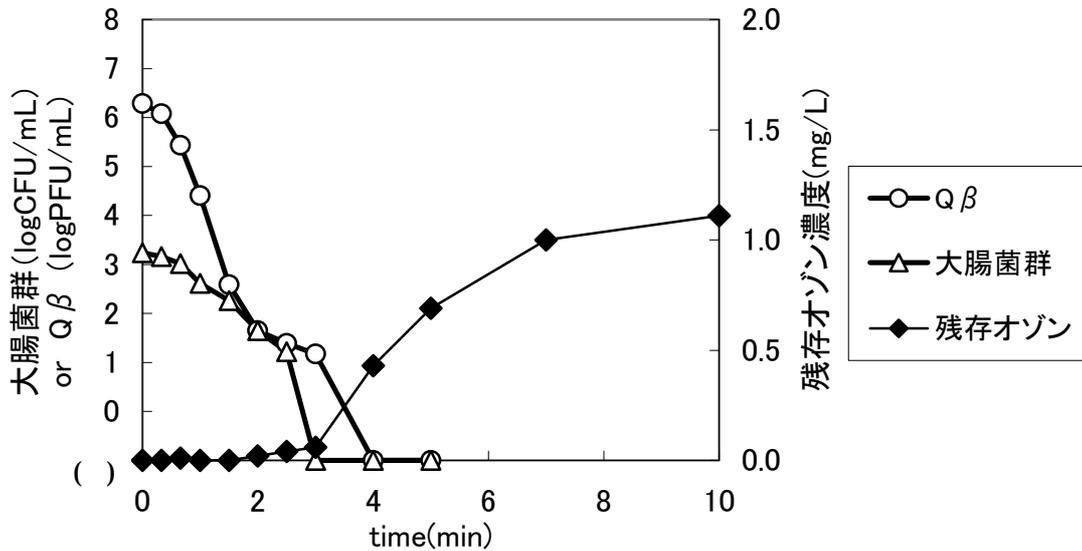


図4-9 試料F

試料Fにおいては残存オゾンの立ち上がりが遅く試料中にオゾン消費物質が多く含まれていたと考えられる。10分における試料中の残存オゾン濃度は1.11 mg/Lであり、微生物の不活化率は残存オゾン濃度が検出された0.05mg/Lにおいて、Qは5 log、大腸菌群は1.5 log不活化した。

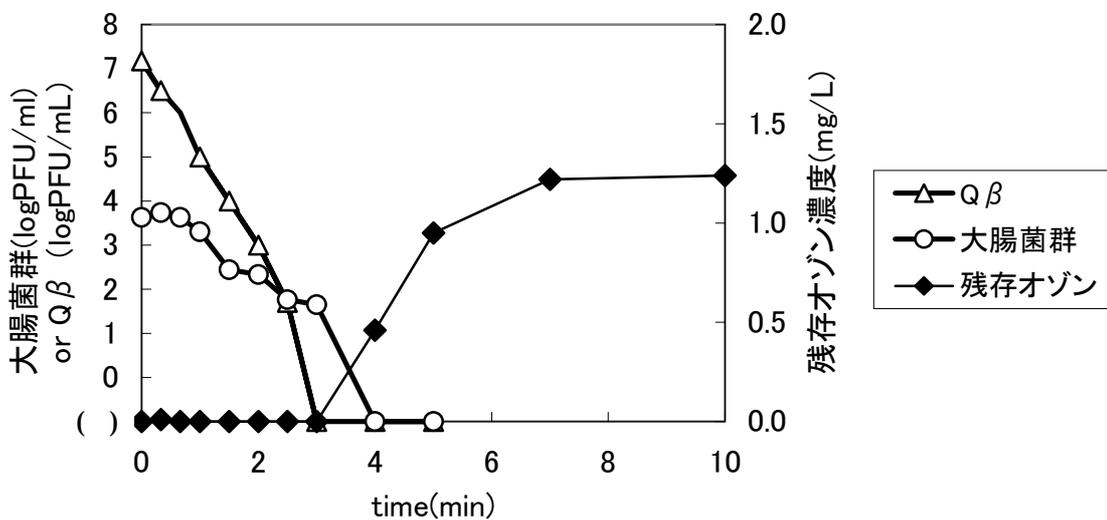


図4-10 試料G

試料Gにおいて、10分における試料中の残存オゾン濃度は1.24 mg/Lであり、微生物の不活化率は残存オゾン濃度が検出された0.46mg/Lにおいて、Qは6 log、大腸菌群は3 log不活化した。

## 4-2-2 砂ろ過処理水

図4-11～図4-15に砂ろ過処理水を試料として用いた場合の残存オゾン濃度とF特異大腸菌ファージQと大腸菌群との経時変化を示した。

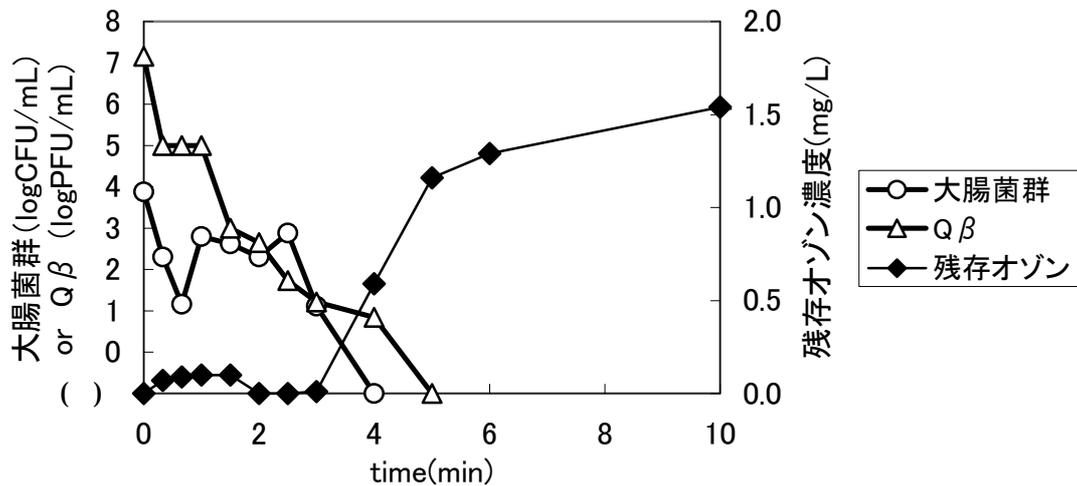


図4-11 試料A

試料Aにおいて、10分における試料中の残存オゾン濃度は1.5 mg/Lであり、微生物の不活化率は残存オゾン濃度が検出された0.59mg/Lにおいて、Qは5.5 log、大腸菌群は4 log不活化した。

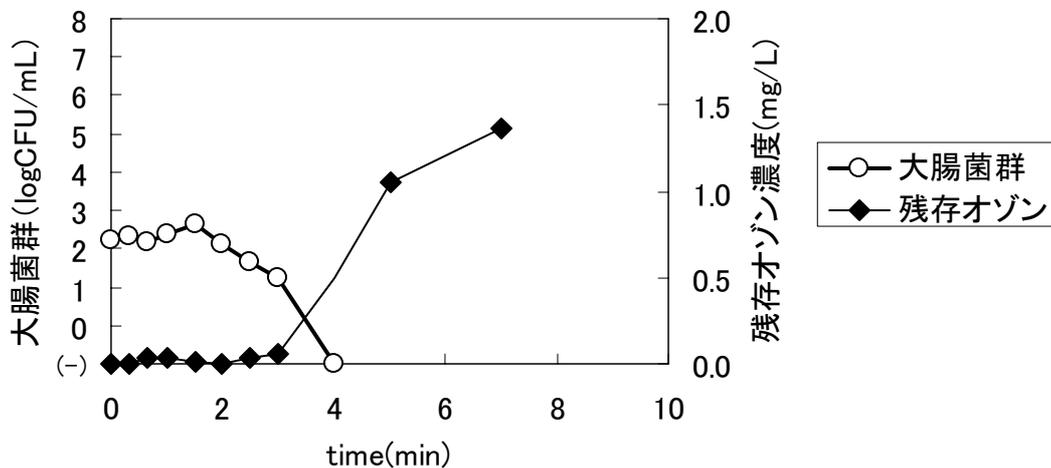


図4-12 試料C

試料Cにおいて、7分における試料中の残存オゾン濃度は1.2 mg/Lであり、微生物の不活化率は残存オゾン濃度が検出された0.06mg/Lにおいて、大腸菌群は2 log不活化した。また、このときQの測定も行ったが、宿主である*E. Coli* K12の体表面にあるF繊維毛が抜け落ちていたため、Qは感染できず、測定が行えなかった。

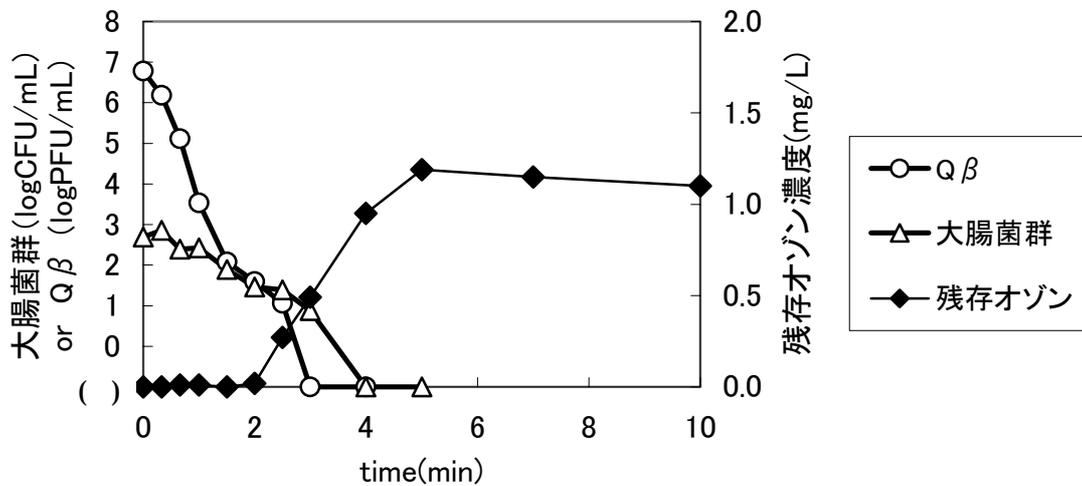


図 4-13 試料 D

試料 D において、10 分における試料中の残存オゾン濃度は 1.1 mg/L であり、微生物の不活化率は残存オゾン濃度が検出された 0.27mg/L において、Q は 6 log、大腸菌群は 2 log 不活化した。

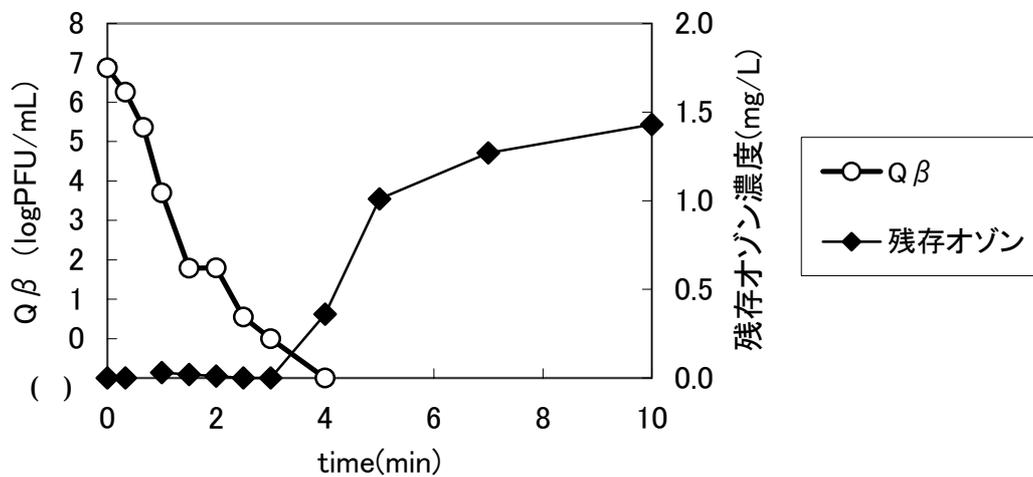


図 4-14 試料 F

試料 F において、10 分における試料中の残存オゾン濃度は 1.5 mg/L であり、微生物の不活化率は残存オゾン濃度が検出された 0.27mg/L において、Q は 7 log 不活化した。  
また大腸菌群は検出されなかった。

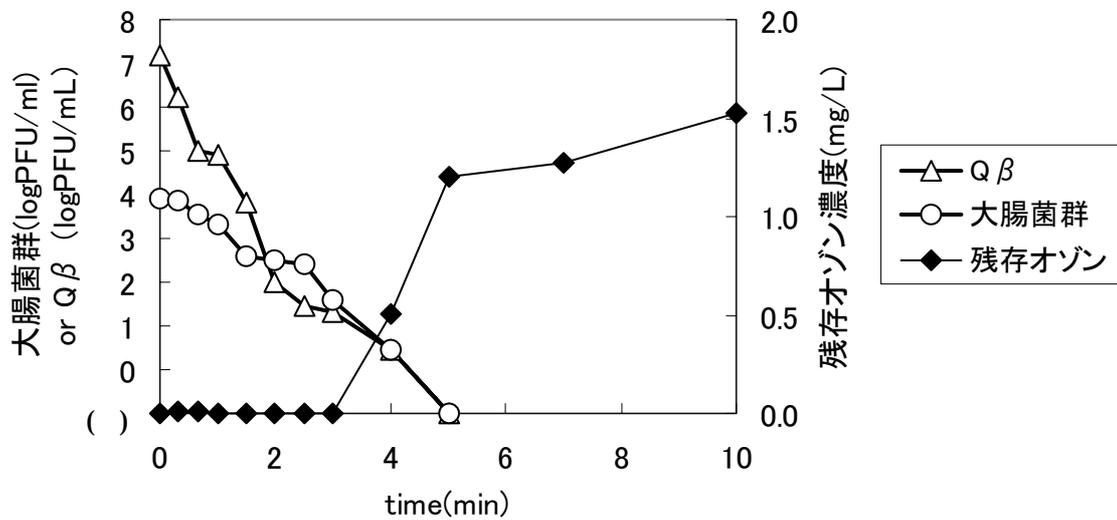


図 4-15 試料 G

試料 G において、10 分における試料中の残存オゾン濃度は 1.5 mg/L であり、微生物の不活化率は残存オゾン濃度が検出された 0.51mg/L において、Q は 7 log、大腸菌群は 4 log 不活化した。

砂ろ過処理水においては、下水二次処理水と比較した場合、試料中の残存オゾンが検出されるまでさらに 1 分ほど必要とした。このことはオゾン反応の初期段階において、消毒効果を妨げるオゾンと反応するオゾン消費物質が試料中に含まれると考えられる。

### 4-2-3 生物膜ろ過処理水

図4-16～図4-18に生物膜ろ過処理水を試料として用いた場合の残存オゾン濃度とF特異大腸菌ファージQと大腸菌群との経時変化を示した。

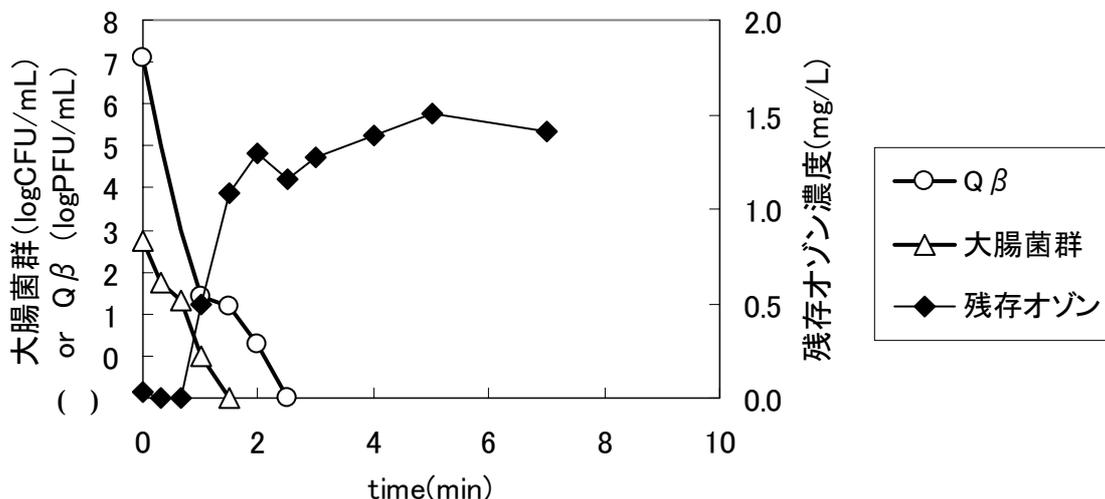


図4-16 試料C

試料Cにおけるオゾン飽和濃度はおよそ1.5mg/Lであり、本研究で用いたHACH社のオゾン測定キットの検出上限である。実際は試料中に検出値以上のオゾンが溶け込み、試料中の残存オゾン濃度は計測値より高かったと考えられる。微生物の不活化率は残存オゾン濃度が検出された0.33mg/Lにおいて、Qは6 log、大腸菌群は2 log不活化した。また、試料中の残存オゾンの検出が早いことから試料中のオゾン消費物質量は少ないと考えられた。

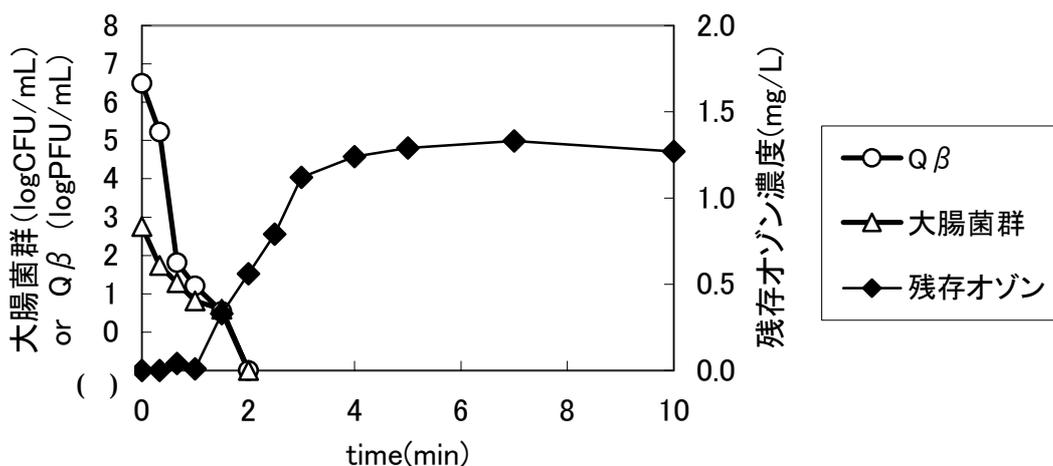


図4-17 試料E

試料Eにおけるオゾン飽和濃度はおよそ1.43mg/Lであった。微生物の不活化率は残存オゾ

ン濃度が検出された 0.33mg/L において、Q は 6 log、大腸菌群は 2 log 不活化した。また、試料中の残存オゾンの検出が早いことから試料中のオゾン消費物質量は少ないと考えられた。

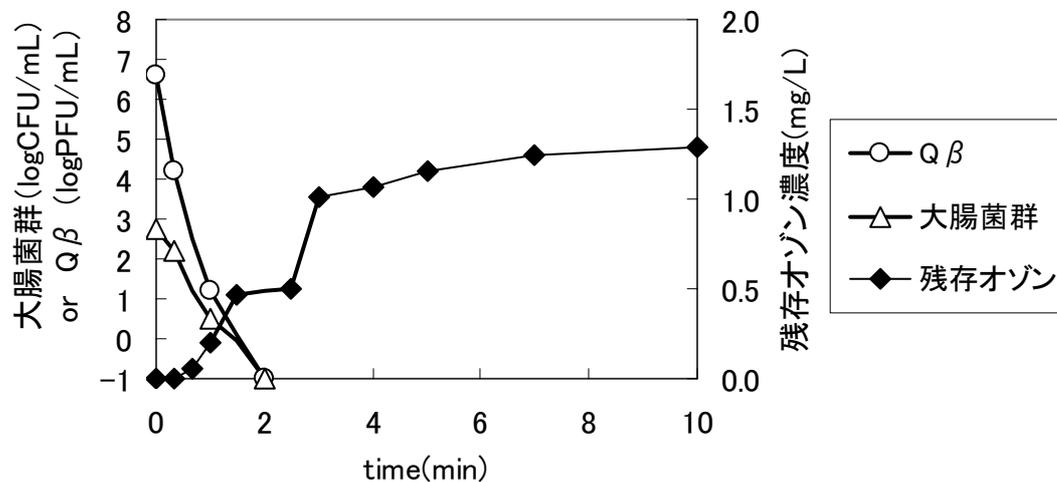


図 4-18 試料 F

試料 F におけるオゾン飽和濃度はおよそ 1.3mg/L であった。微生物の不活化率は残存オゾン濃度が検出された 0.33mg/L において、Q は 6 log、大腸菌群は 3 log 不活化した。また、残存オゾンの検出が早いことから、試料中のオゾン消費物質量は少ないと考えられた。

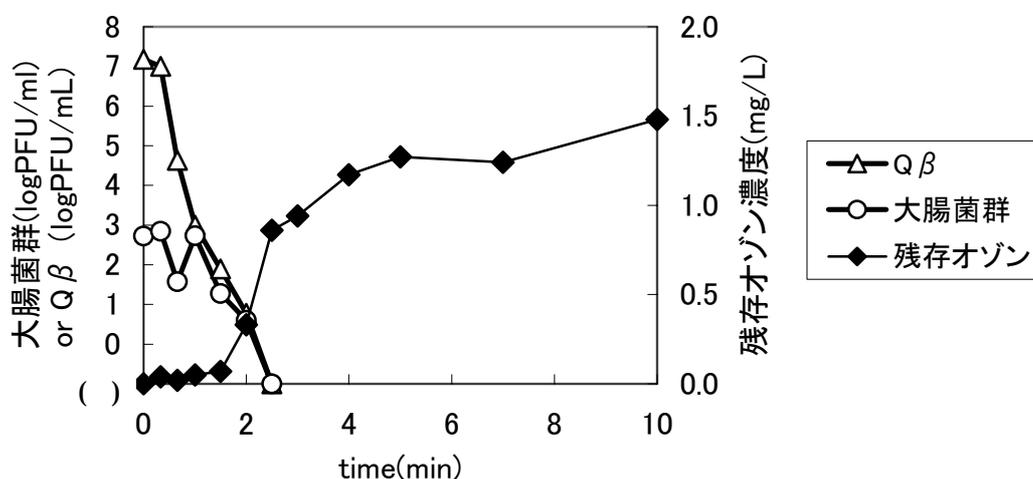


図 4-19 試料 G

試料 G におけるオゾン飽和濃度はおよそ 1.5mg/L であった。微生物の不活化率は残存オゾン濃度が検出された 0.33mg/L において、Q は 7 log、大腸菌群は 3 log 不活化した。また、試料中の残存オゾンの検出が早いことから、料中のオゾン消費物質量は少ないと考えられた。

### 4-3 希釈した試料における Qβ および大腸菌群の不活化率

下水二次処理水、砂ろ過処理水、生物処理水を MilliQ 水で 2 倍、5 倍、10 倍希釈した場合における F 特異大腸菌ファージ Qβ と大腸菌群の不活化率を示した。図 4-20～図 4-33 において希釈した試料それぞれにおいて微生物はそれぞれ不活化された。

#### 4-3-1 下水二次処理水塩素消毒前

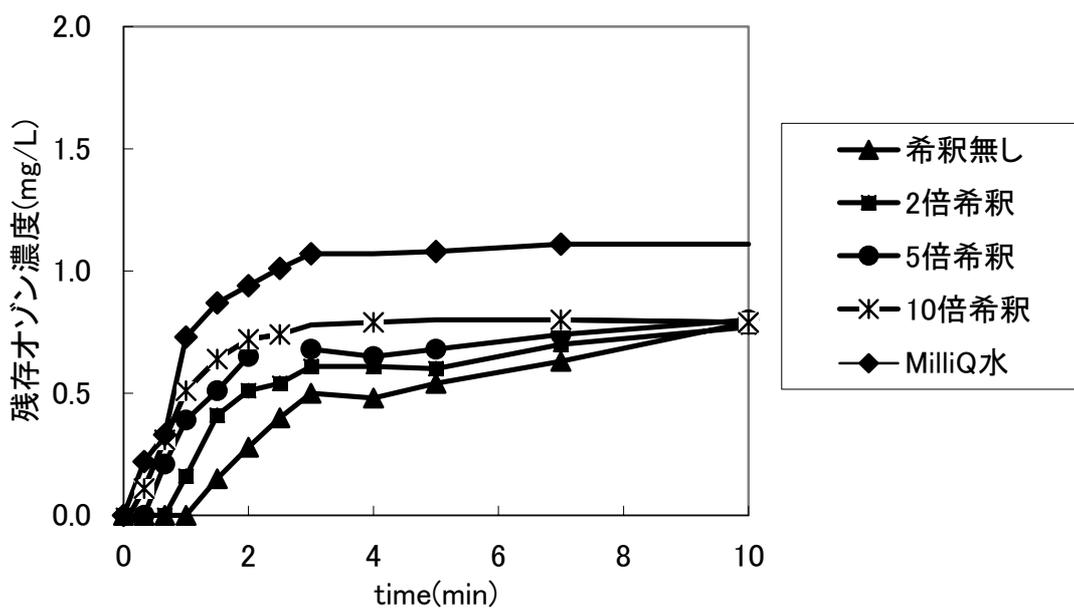


図 4-20 試料 D 希釈別残存オゾン濃度

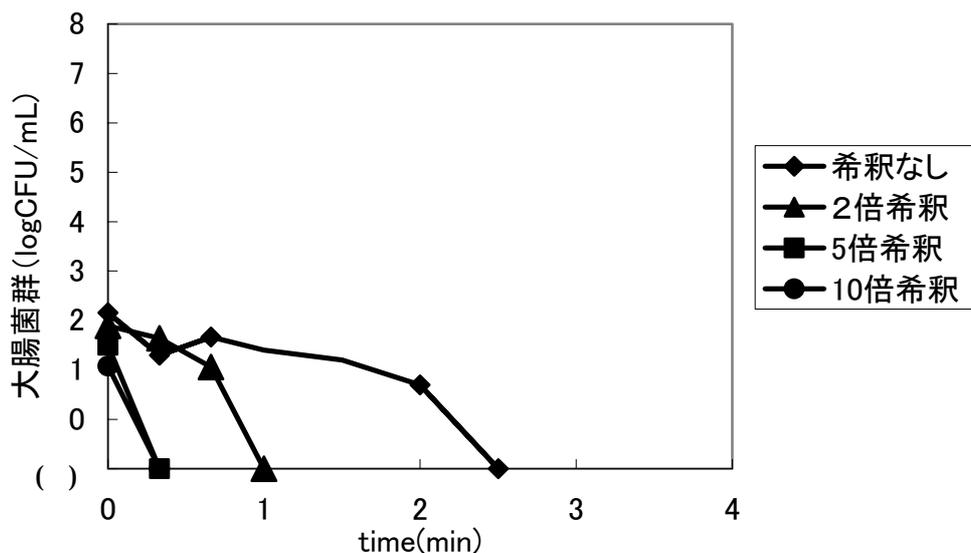


図 4-21 試料 D 希釈別 Qβ 及び大腸菌群の不活化率

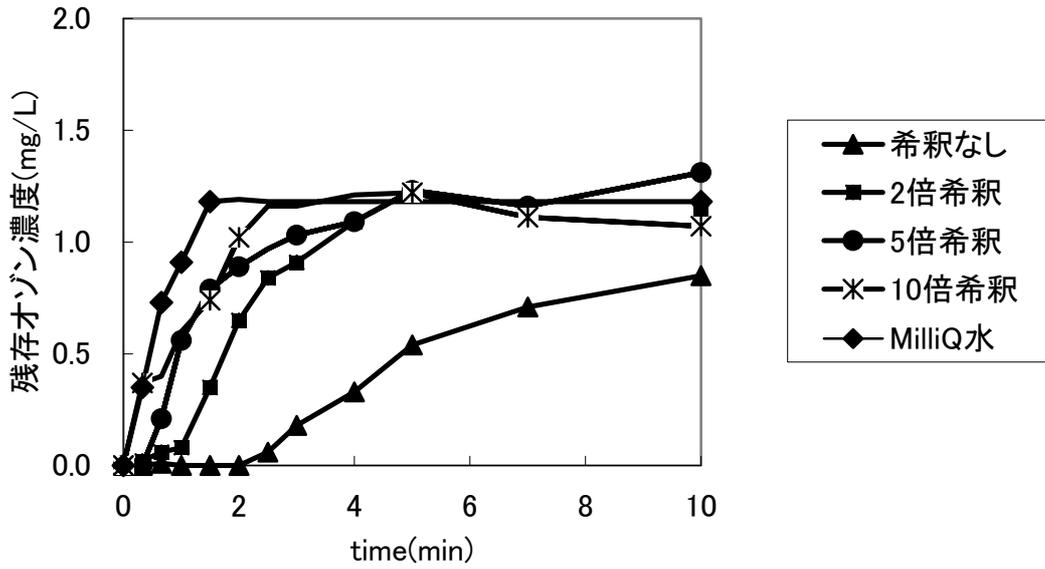


図 4-22 試料 E 希釈別残存オゾン濃度

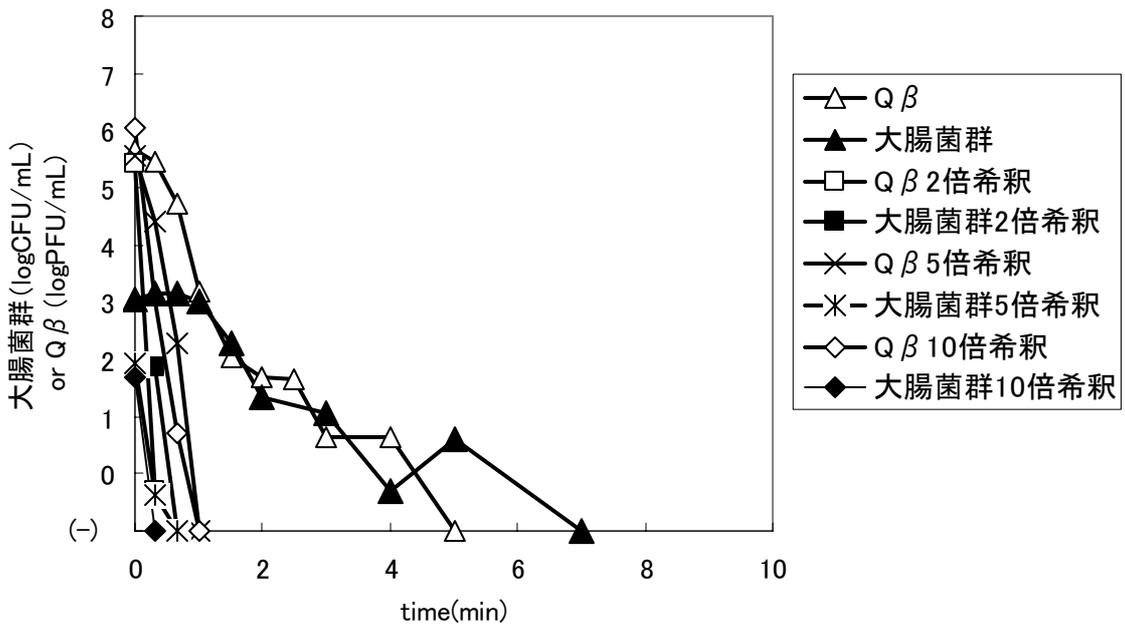


図 4-23 試料 E 希釈別 Qβ 及び大腸菌群の不活化率

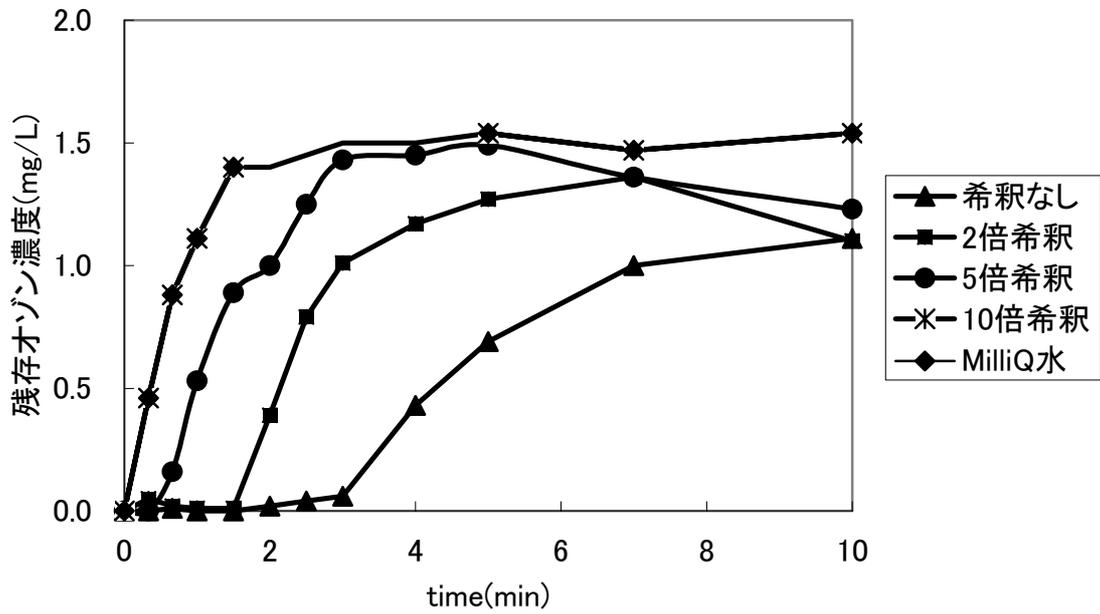


図 4-24 試料 F 希釈別残存オゾン濃度

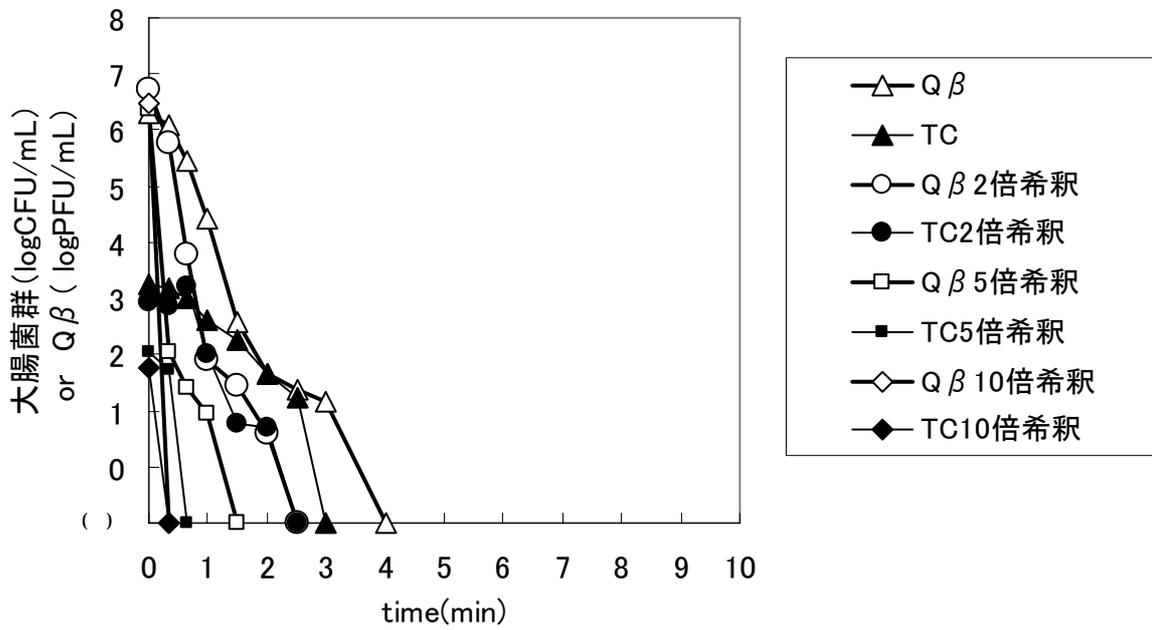


図 4-25 試料 F 希釈別 Qβ 及び大腸菌群の不活化率

### 4-3-2 砂ろ過処理水

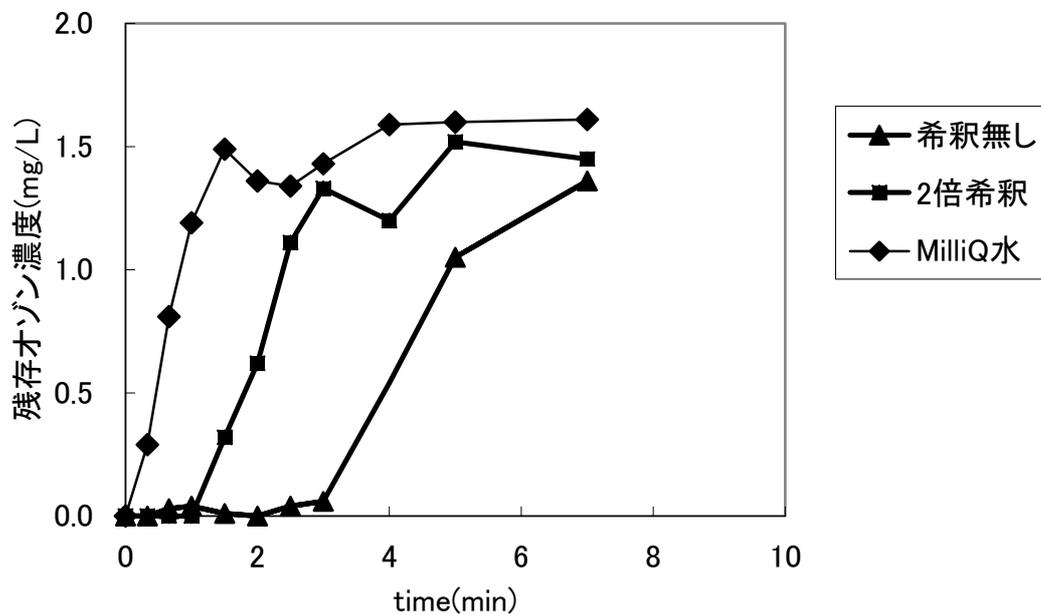


図 4-26 試料 C 希釈別残存オゾン濃度

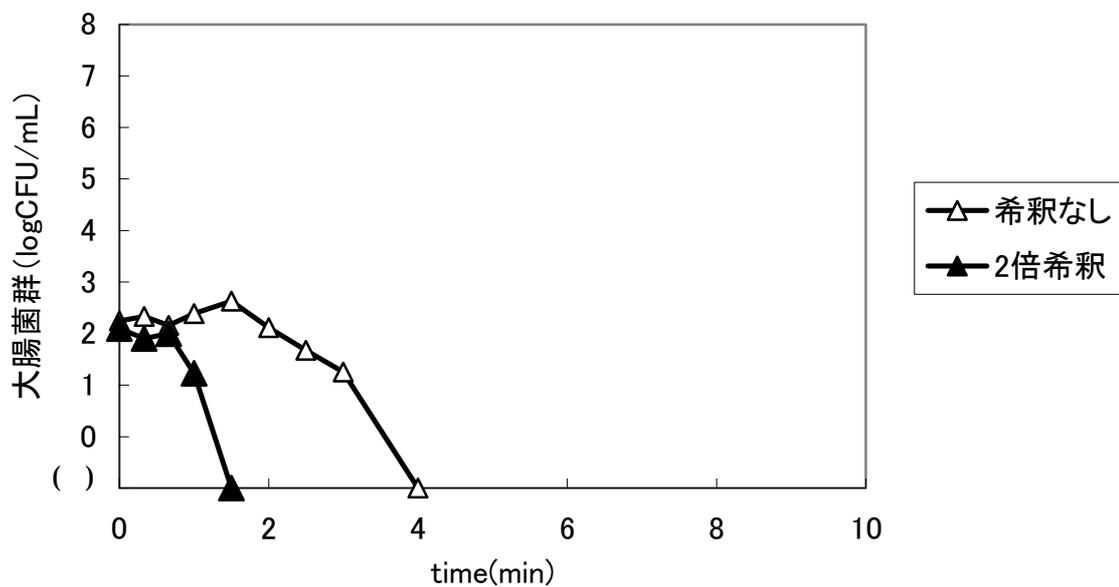


図 4-27 試料 C 希釈別大腸菌群の不活化率

Q の宿主である *E. coli* K12 の F 繊維毛が検出されなかった。このことにより、Q は宿主に感染できず、測定できなかった。

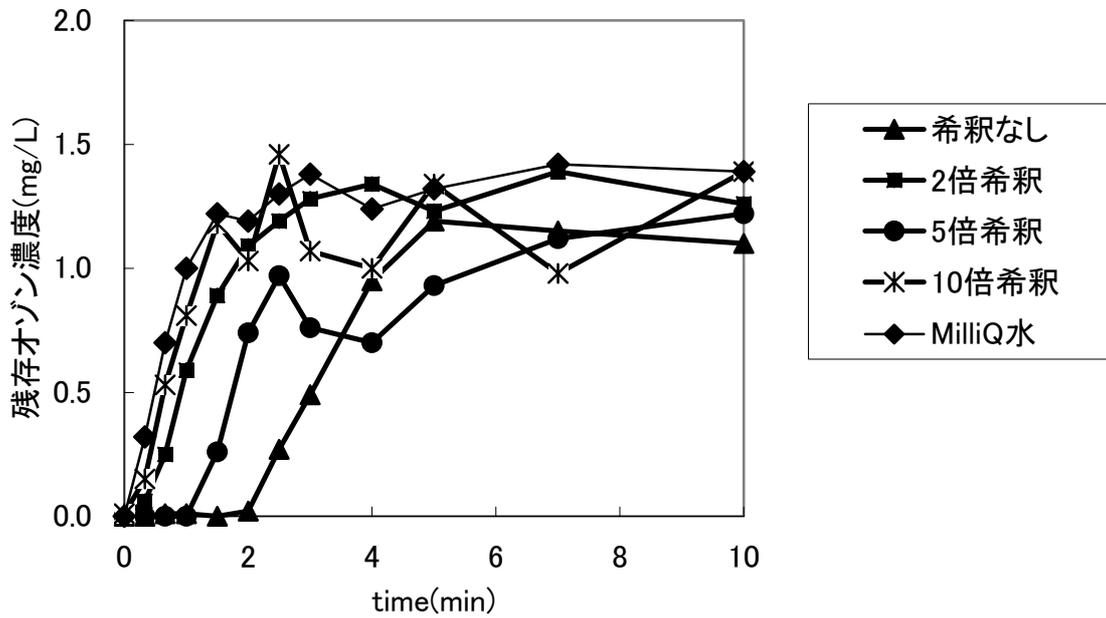


図 4-28 試料 D 希釈別残存オゾン濃度

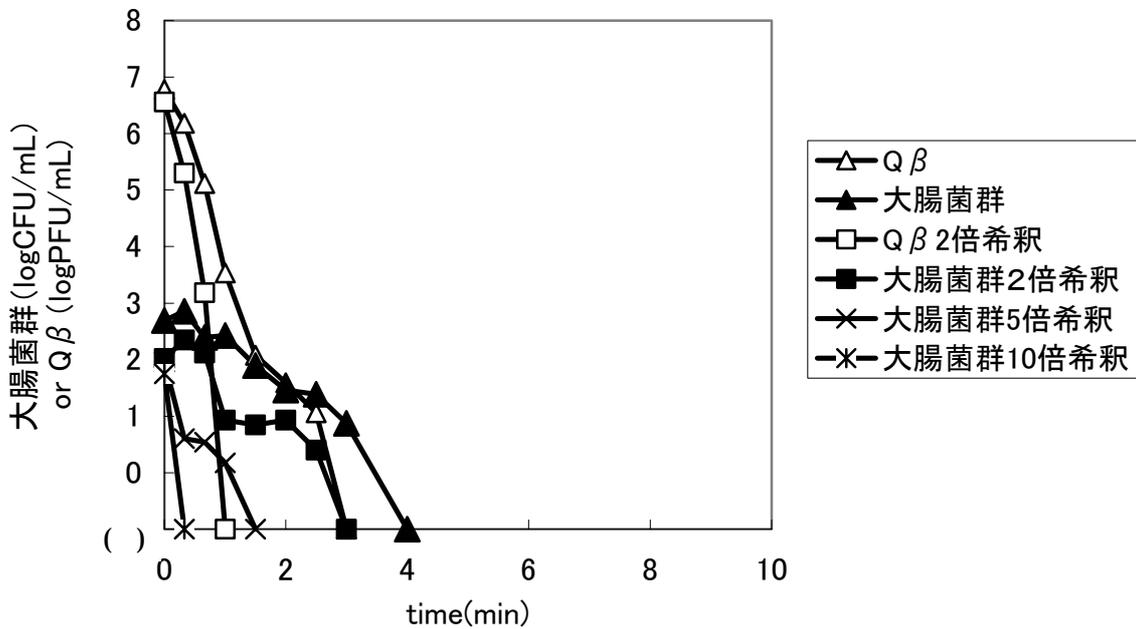


図 4-29 試料 D 希釈別 Qβ 及び大腸菌群の不活化率

### 4-3-3 生物膜ろ過処理水

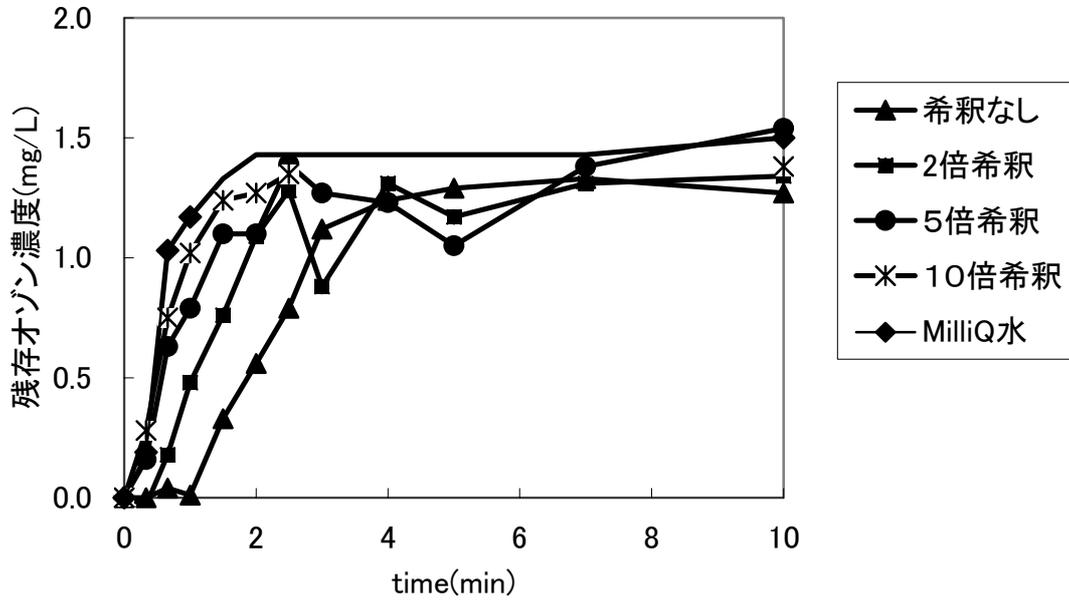


図 4-30 試料 E 希釈別残存オゾン濃度

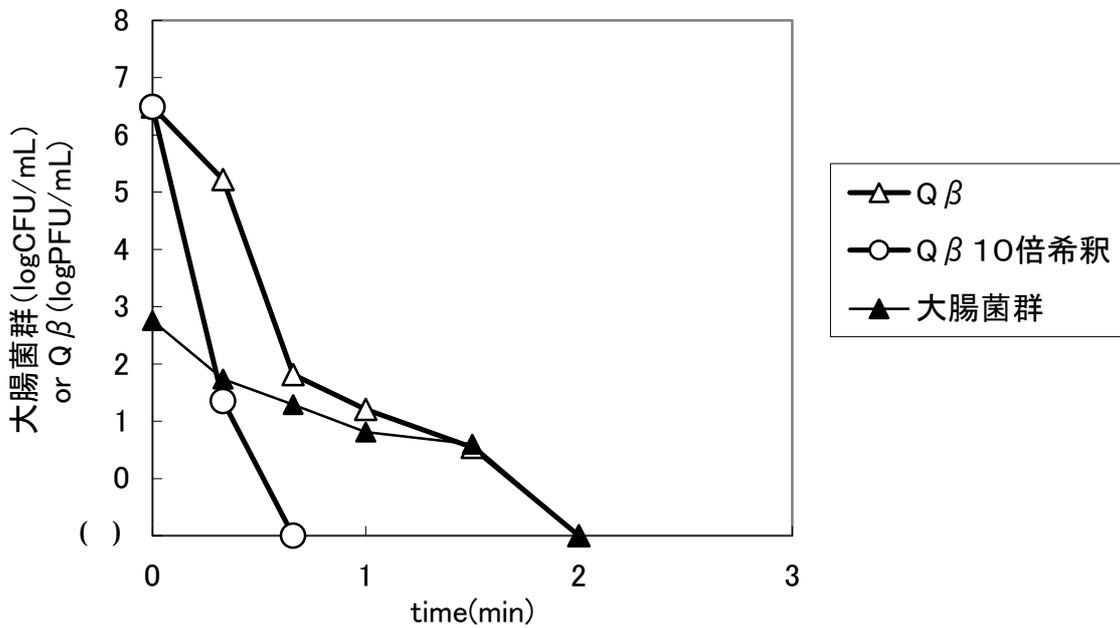


図 4-31 試料 E 希釈別 Qβ 及び大腸菌群の不活化率

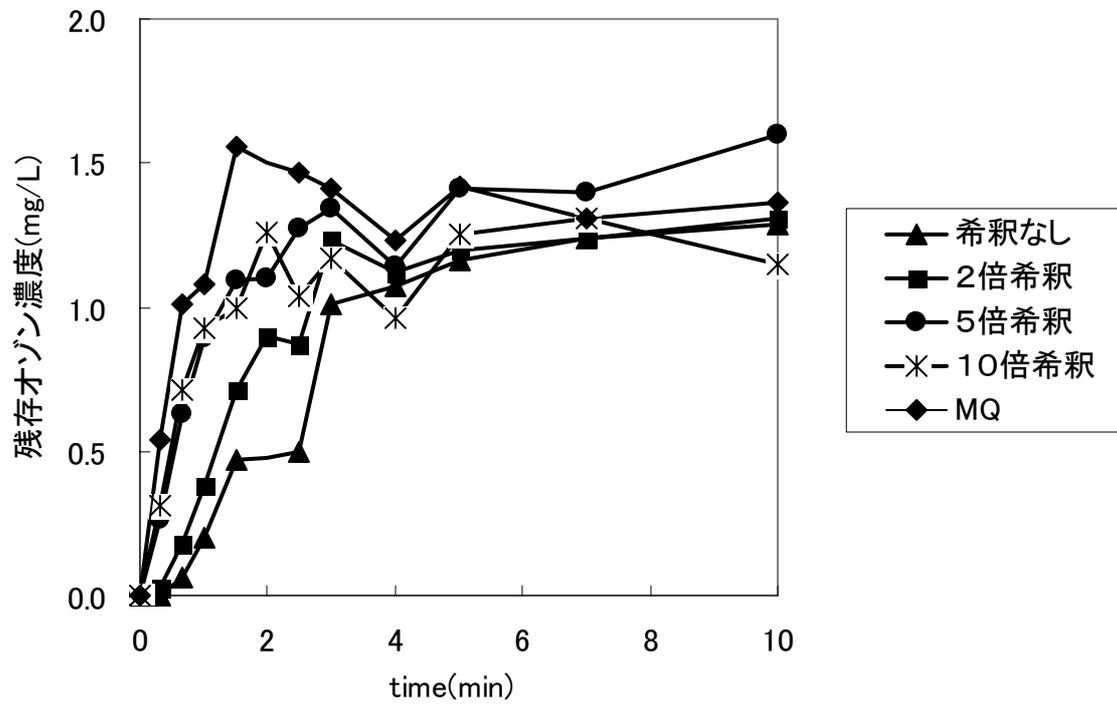


図 4-32 試料 F 希釈別残存オゾン濃度

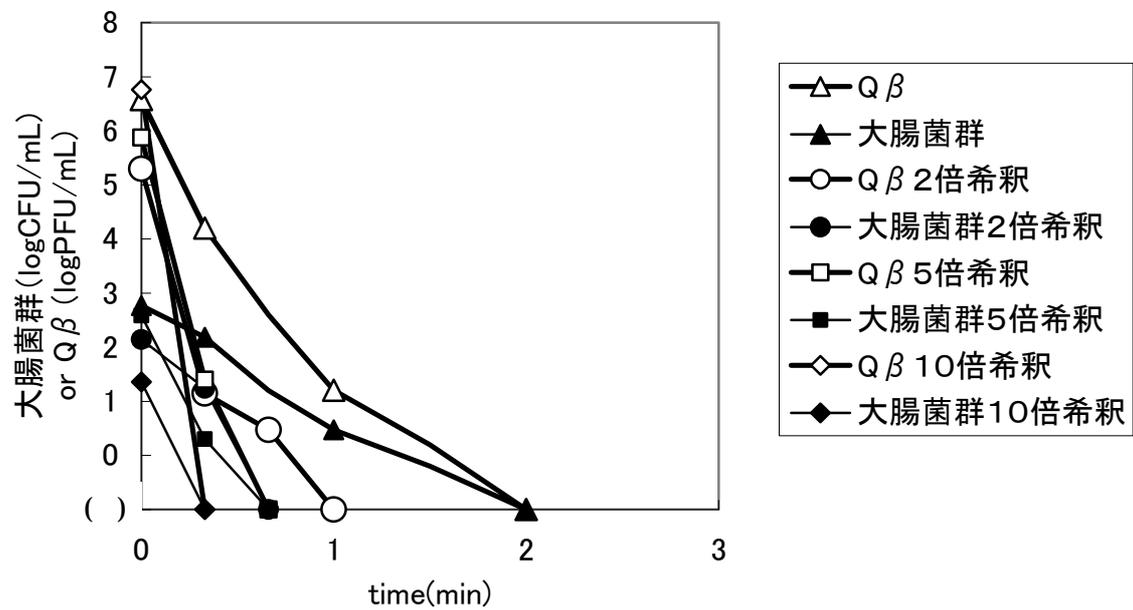


図 4-33 試料 F 希釈別 Qβ 及び大腸菌群の不活化率

#### 4-4 Qβと大腸菌群の不活化速度

##### 4-4-1 残存オゾン濃度とQβと大腸菌群の不活化率

4-1、4-2において図示されたQβと大腸菌群と残存オゾン濃度について考察する。

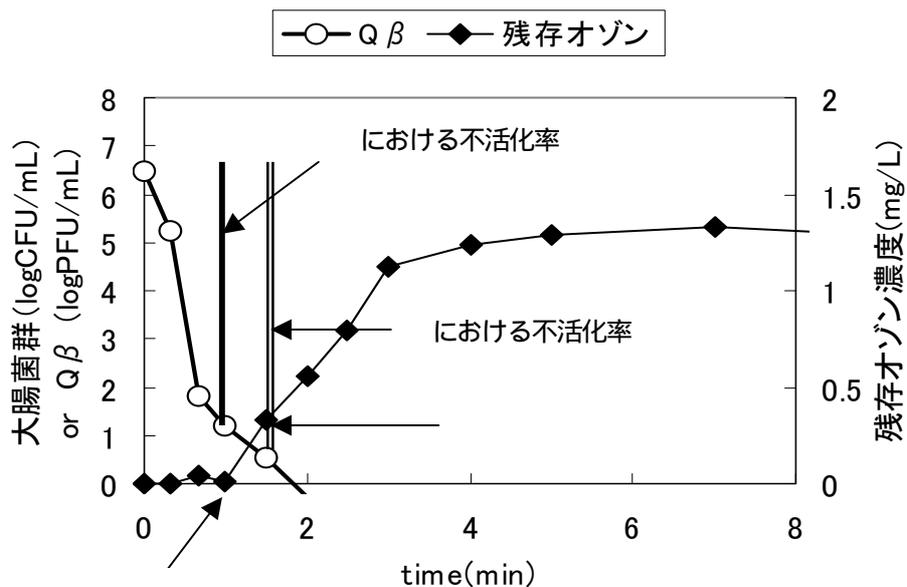


図 4-34 不活化率のプロット算出

図 4-34 で示したように、残存オゾンが検出される直前の時間 ( ) と残存オゾンが検出された時間 ( ) における Qβ と大腸菌群の不活化率を算出した。

表 4 - 2 に残存オゾンが検出される直前の時間における  $Q$  と大腸菌群の不活化率を示した。

表 4-2 残存オゾンが検出される直前の時間における  $Q\beta$  と大腸菌群の不活化率

試料名	time(min)	不活化速度		残存オゾン濃度 (mg/L)	
		$Q\beta$	大腸菌群		
下水二次処理水	A	0.33	1.129	0.194	0.01
	B	2	4.972	1.370	0.01
	C	0.66	3.176	0.351	0
	C2回目	1.5	5.984	1.613	0
	D	0.33	3.122	0.171	0.05
	E	2	3.959		0
	E5倍希釈	0.33	1.138		0
	F	3	5.114	3.238	0.06
	F2倍希釈	1.5	5.301	0.052	0.01
	F5倍希釈	0.33	4.320	0.340	0
G	3	7.176	1.985	0	
砂ろ過処理水	A	3	5.938	2.761	0.01
	C2倍希釈	1		0.866	0
	D	2	5.187	1.232	0.02
	D2倍希釈	0.33	1.261		0.06
	D5倍希釈	1		1.783	0
	F	3	6.875		0
	F2倍希釈	1	4.653		0
	G	3	5.875	2.335	0
生物膜ろ過処理水	C	0.66		1.423	0
	E	1	5.287	1.943	0.01
	F	0.33	2.376	0.580	0
	F2倍希釈	0.33	4.155	0.903	0.03
	G	1.5	5.278	1.446	0.07

残存オゾンが検出される直前において、希釈した試料を除いたそれぞれの試料における不活化に要する時間と不活化率を算出した。

下水二次処理水における残存オゾン濃度が検出される直前の時間は、 $1.62 \pm 1.18$  分であり、その時  $Q$  は  $4.09 \pm 1.91 \log$ 、大腸菌群は  $1.22 \pm 1.23 \log$  不活化された。また、砂ろ過処理水における残存オゾン濃度が検出される直前の時間は、 $2.75 \pm 0.50$  分であり、その時  $Q$  は  $5.97 \pm 0.69 \log$ 、大腸菌群は  $2.11 \pm 0.79 \log$  不活化された。生物膜ろ過処理水における残存オゾン濃度が検出される直前の時間は  $0.87 \pm 0.50$  分であり、その時  $Q$  は  $4.31 \pm 1.68 \log$ 、大腸菌群は  $1.35 \pm 0.57 \log$  不活化された。HACH Ozone Reagent LR AccuVac Ampules の誤差を考慮し、残存オゾン濃度  $0.1 \text{ mg/L}$  未満は残存オゾン 0 とみなした。

表 4 - 3 に残存オゾン濃度が検出された時間における  $Q$  と大腸菌群の不活化率を示した。

表 4-3 残存オゾン濃度が検出された時間における Qβ と大腸菌群の不活化率

試料名	time (min)	不活化速度		残存オゾン濃度 (mg/L)	
		Qβ	大腸菌群		
下水二次処理水	A	0.66	4.247	2.936	0.12
	B	2.5	5.260	1.185	0.18
	C	1	4.834	1.283	0.28
	C2回目	2	6.374	2.166	0.49
	D	0.66	4.632	0.943	0.08
	E	2.5	3.986		0.06
	E2倍希釈	0.33	5.415	0.036	0.02
	E5倍希釈	0.66	3.277		0.21
	E10倍希釈	0.66	5.330		0.4
	F	4	6.290		0.43
	F2倍希釈	2	6.130	2.924	0.39
	F5倍希釈	0.66	4.957	2.064	0.16
	G	4		3.633	0.46
砂ろ過処理水	A	4	6.310	3.875	0.59
	C	3		0.988	0.06
	C2倍希釈	1.5		2.398	0.32
	D	2.5	5.717	1.305	0.27
	D2倍希釈	0.66	3.378		0.25
	D5倍希釈	1.5		1.959	0.26
	D10倍希釈	0.33		1.752	0.15
	F2倍希釈	1.5	4.556		0.12
	F5倍希釈	0.66	5.760		0.12
	G	4	6.699	3.426	0.51
生物膜ろ過処理水	生物膜E	1.5	5.947	2.154	0.33
	C	1	5.640	2.724	0.5
	F	1	5.376	2.290	0.2
	F5倍希釈	0.33	4.477	2.284	0.26
	F2倍希釈	0.66	4.824	2.146	0.18
	G	2	6.398	2.122	0.33

残存オゾンが検出された直後において、希釈した試料を除いたそれぞれの試料における不活化に要する時間と不活化率について算出した。下水二次処理水における残存オゾン濃度の検出時間は  $2.19 \pm 0.19$  分であり、その時の不活化率は、Q は  $4.87 \pm 0.82 \log$ 、大腸菌群は  $2.00 \pm 1.21 \log$  であった。また、砂ろ過処理水においては、残存オゾン濃度の検出時間は  $3.38 \pm 0.75$  分であり、Q の不活化率は  $6.24 \pm 0.49 \log$ 、大腸菌群は  $2.40 \pm 1.46 \log$  であった。生物膜ろ過処理水における、残存オゾン濃度の検出時間は  $1.38 \pm 0.48$  分であり、Q の不活化率は  $5.84 \pm 0.44 \log$ 、大腸菌群は  $2.32 \pm 0.28 \log$  不活化された。HACH Ozone Reagent LR AccuVac Ampules の誤差を考慮し、残存オゾン濃度  $0.1 \text{ mg/L}$  未満は残存オゾン 0 とみなした。

図 4-35 と図 4-36 に下水二次処理水、砂ろ過処理水、生物膜ろ過処理水における Q、大腸菌不活化速度の平均値を算出した値を用い、残存オゾン濃度と検出時間との関係を示した。

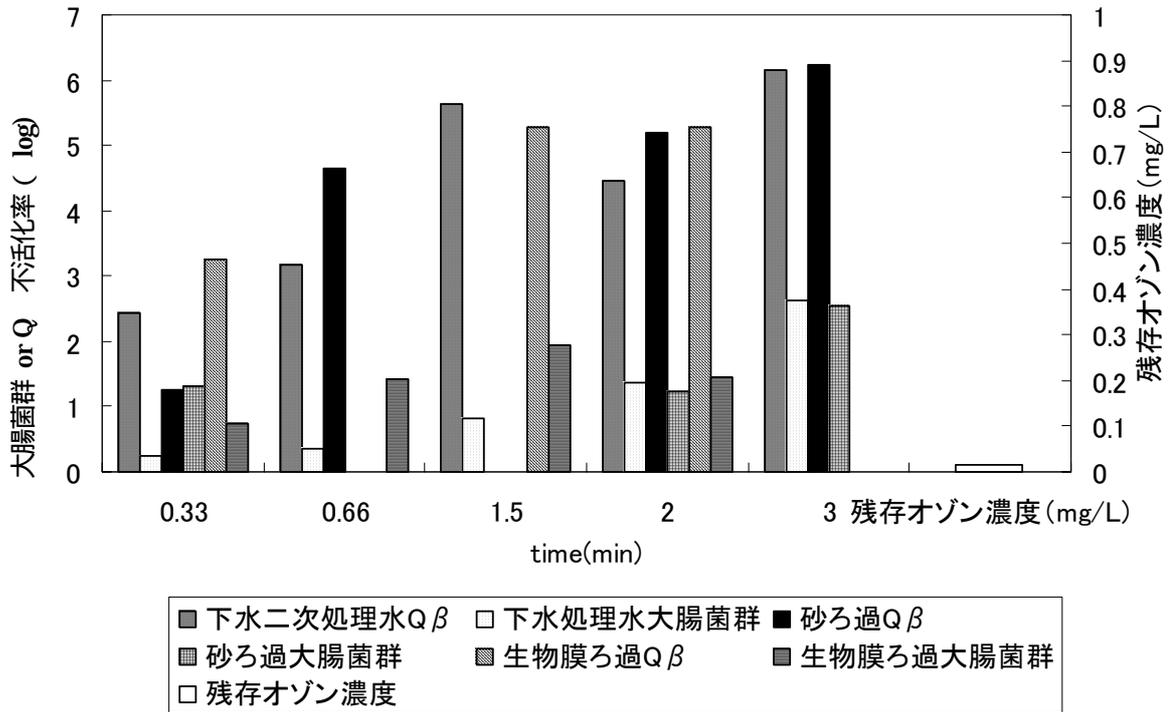


図 4-35 残存オゾンが検出される直前の時間における Qβ と大腸菌群の不活化率

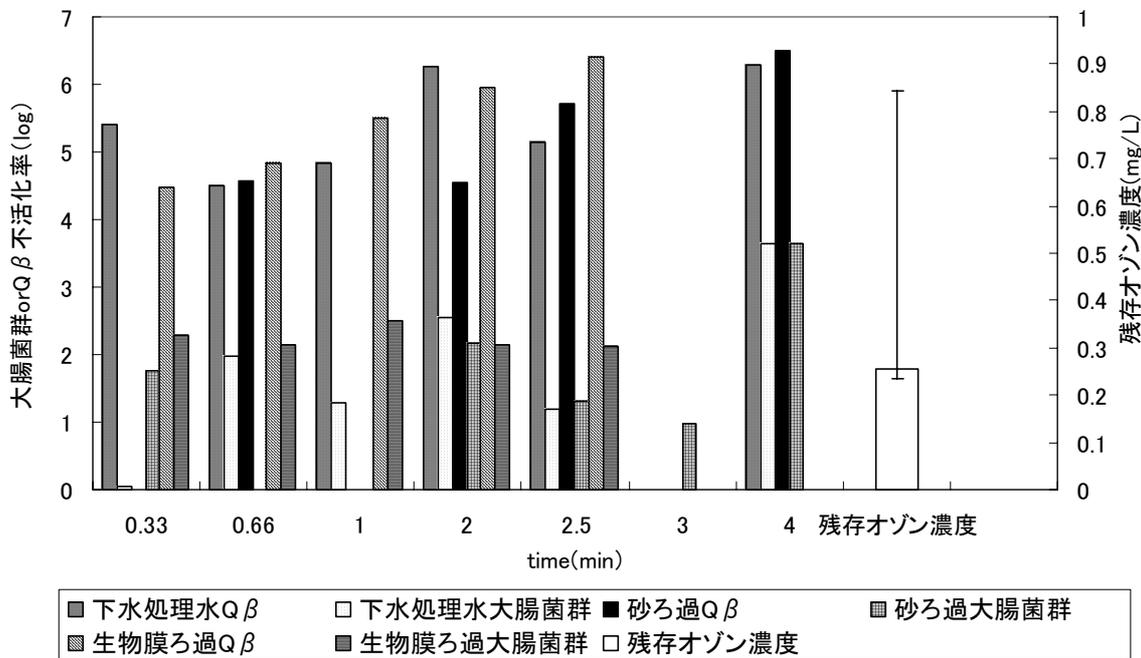


図 4-36 残存オゾン濃度が検出された時間における Qβ と大腸菌群の不活化率

図4-35、図4-36と表4-2、表4-3から、残存オゾン濃度が検出される直前においては残存オゾンが試料中から検出されなくとも、オゾンとの接触時間に伴い消毒が行われている。これは消毒を阻害する試料中のオゾン消費物質と共にQ、大腸菌群の不活化が行われていると考えられる。また、いずれの試料においても試料中から残存オゾン濃度が0.2mg/L以上検出されると、4 log以上のQにおいては不活化され、大腸菌群においては2 log以上の不活化が確認された。このことは水質の差によって、オゾンにおける消毒効果には差が見られないということを示された。

残存オゾン濃度が検出されることによって4 log以上のQの不活化率が得られるということは、米国環境保護庁が推奨しているウイルスリスク評価を十分満たしている。よって残存オゾン濃度の検出によって微生物の消毒効果が確認できることが示唆された。

表4-2、表4-3より下水二次処理水、砂ろ過処理水、生物膜ろ過処理水を比較した場合、砂ろ過処理水におけるQ、大腸菌群の不活化速度が最も小さい。これは砂ろ過処理水中の初期状態でオゾンと反応するオゾン消費物質が、下水二次処理水、生物膜ろ過処理水よりも多く含希テ要る結果、オゾンの消毒効果を低減させていると考えられる。気体オゾンが水と接触した場合ラジカルが発生する。砂ろ過処理においては、オゾンの初期状態で発生するラジカルを消費するラジカルスカベンジャーの存在が考えられる。

#### 4-4-2 Qβと大腸菌群における不活化速度定数

表4-2、表4-3におけるQと大腸菌群の不活化速度定数を算出した。以下の表4-4にQ、大腸菌群それぞれに対し、初期速度が直線的に減衰されたと判断された領域を3点ないし4点(R<sup>2</sup>値が0.981を超える点を選択した)プロットし、速度式を算出した。また、いずれの試料に対してもt=0のプロットも含めた。

表4-4 Qβ、大腸菌群における4 log 不活化速度

4log不活化速度	Qβ	大腸菌群
下水処理水A	y = -5.1736x + 6.9939	y = -3.2841x + 4.1439
下水処理水B	y = -3.2361x + 7.7519	y = -0.4004x + 3.0251
下水処理水C	y = -4.9686x + 7.3619	y = -1.2822x + 3.7039
下水処理水D	y = -7.0182x + 5.3846	y = -0.8976x + 2.1729
下水処理水E	y = -2.5999x + 6.0259	y = -0.8995x + 3.494
下水処理水F	y = -2.5246x + 6.7207	y = -1.0308x + 3.5611
下水処理水G	y = -2.4563x + 6.6109	y = -1.0786x + 4.1864
砂ろ過A	y = -2.0527x + 6.513	y = -0.6416x + 3.1529
砂ろ過C		y = -0.6226x + 2.7076
砂ろ過D	y = -3.2879x + 7.0317	y = -0.698x + 2.94
砂ろ過F	y = -3.5006x + 7.2387	
砂ろ過G	y = -2.3994x + 7.0512	y = -0.947x + 4.2072
生物膜ろ過C	y = -2.8435x + 5.9169	y = -2.5876x + 2.7278
生物膜ろ過E	y = -5.7779x + 6.556	y = -1.3611x + 2.3947
生物膜ろ過F	y = -3.162x + 5.6294	y = -1.4221x + 2.5418
生物膜ろ過G	y = -2.3706x + 6.499	y = -1.4099x + 3.1455

それぞれの試料に対し、速度式から 4 log 不活化される時間を算出したのち、平均したものを表 4-5 に示した。

表 4-5 Q $\beta$ 、大腸菌群における 4 log 不活化時間

試料名	不活化時間(分)	
	Q $\beta$	大腸菌群
下水二次処理水	2.00 $\pm$ 0.75 (n=7)	3.62 $\pm$ 1.82 (n=7)
砂ろ過処理水	2.58 $\pm$ 0.48 (n=4)	4.48 $\pm$ 0.26 (n=2)
生物膜ろ過処理水	1.93 $\pm$ 0.578 (n=4)	1.71 $\pm$ 0.42 (n=4)

Q が 4 log 不活化し、大腸菌群が 2 log 以上不活化するときの時間は、砂ろ過処理水 > 下水二次処理水 > 生物膜ろ過処理水の順であった。このことは砂ろ過処理水中に含まれているオゾン消費物質が Q と大腸菌群の不活化に影響を及ぼしたためであると考えられる (Douglas 1981)。

2-8 で述べたように、オゾン処理においては水中のオゾン消費物質を減らすために砂ろ過処理や膜ろ過処理のような前処理を行っている。しかし、本研究では、砂ろ過処理水は下水二次処理水と比較した場合よりオゾン消費物質を含んでいるという結果が得られた。

#### 4-4-3 Q $\beta$ と大腸菌群の不活化速度定数の相関

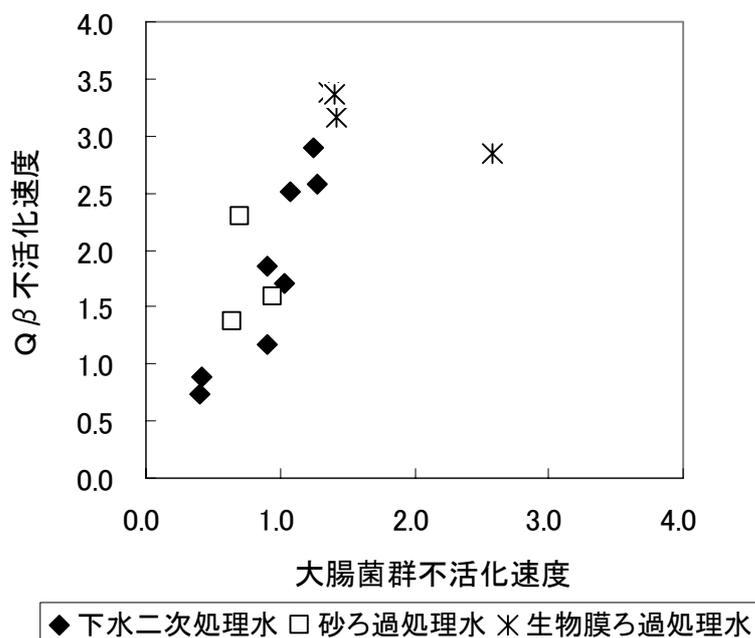


図 4-37 Q と大腸菌群の不活化速度定数の相関

表 4-4 で示した Q と大腸菌群における 4 log 不活化速度より、Q と大腸菌群の不活化速度の相関を図 4-7 に示した。不活化速度定数が大きい程、不活化されやすい。図 4-37 より大腸菌群よりも Q の方がオゾンに対する感受性が高く不活化されやすいことが示唆された。また、3 つの試料のうち生物膜ろ過処理水が最も不活化されやすく、下水二次処理水は不活化速度定数に幅があり、

水質によってオゾン消費物質量が変化するといえる。一方、砂ろ過処理水は下水二次処理水よりも不活化されにくい場合があると考えられる。図 4 - 37 より、Q はオゾン消毒においては大腸菌群よりも不活化されやすく、現行の微生物学的安全性評価で評価できる可能性があることが示唆された。

芝浦水再生センターでは、砂ろ過処理は平日のみ運転を行っており、休日の 2 日間は砂ろ過設備を稼働させていない。砂ろ過処理が稼働していない 2 日間の間に砂ろ過処理槽内において微生物が増殖し、嫌気呼吸を行なった結果、オゾン消費物質である有機物を生成したと考えられる。そして砂ろ過処理設備が稼働する際、その有機物が処理槽内に溶け出し、結果的に下二次処理水よりも砂ろ過処理を施した処理水の方がオゾン消費物質を多く含む可能性がある。

#### 4-5 試料中に含まれる濁質の影響

ウイルスや大腸菌群は下水処理水中の浮遊物質中内にフロックを形成し、その中に多く含まれていることが知られている。また、フロックの存在により、消毒剤が病原微生物に届きにくくなり、消毒効果が下がることがわかっている。(金子 1990) また、下水処理中の懸濁粒子そのものが消毒剤を消耗することによって届くべき消毒剤の量が減少し、消毒効果が低下する。

下水の再利用を目的としたオゾン処理においては、オゾン処理の効率を上げるために前処理として砂ろ過処理や生物膜ろ過処理を行っている。これは主にオゾン消費が大きい濁質の影響を取り除くために行われている。

そこで、本研究で用いた下水二次処理水において、代表的なオゾン消費物質である濁質成分がどの程度 Q、大腸菌群の不活化率に影響を与えるか検討を行った。また、濁質成分をあらわす浮遊物質 (Suspended Solid) を計測した。

試料 G の下水二次処理水を孔径 1.0  $\mu\text{m}$  ガラスフィルターでろ過し、ろ過前とろ過後の試料をオゾンと接触させた。接触後不活化速度を算出し、ろ過前とろ過後の試料を比較検討した。ろ過前の浮遊物質 (SS) の量は 5.0 mg であった。図 4 - 37 と図 4 - 38 に Q と大腸菌群の不活化速度を示す。

不活化速度は図 4 - 38 試料 G ろ過前と図 4 - 39 試料 G ろ過後でほぼ変わらなかったが、4 log 除去における不活化速度は、試料 G 砂ろ過処理前と比較した場合、試料 G 砂ろ過処理後の方が不活化速度は小さかった。このことから砂ろ過処理を行った後の試料にはオゾン消費物質が多く含まれる可能性が考えられた。

このことから下水二次処理水中の濁質成分はオゾン消費物質として消毒効果に大きく影響を与えるものではないことが示唆された。

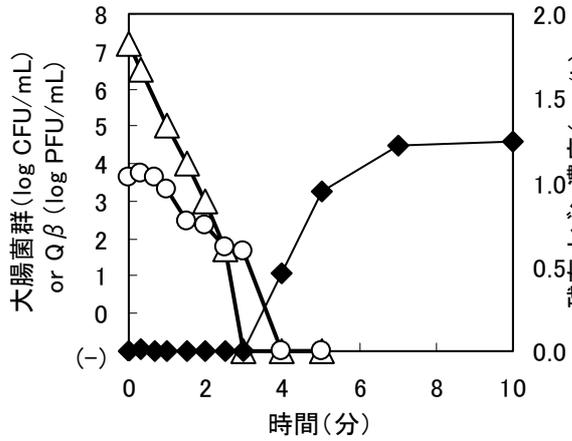


図4-38 試料Gろ過前

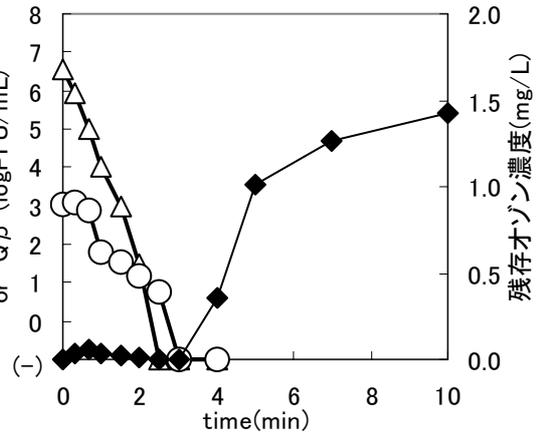


図4-39 試料Gろ過後

#### 4-6 オゾンによる試料中の有機物量について

水中の有機物濃度と波長 250 ~ 260 nm の吸光度との間に相関関係が成り立っている。オゾンは 2 重結合や求核類と反応し、有機物を低分子化する。本研究で用いた試料について 260nm で吸光度を計測し、試料中でのオゾン消費物質である有機物質量を評価した。試料 G における吸光度を図 4 - 39 に示した。

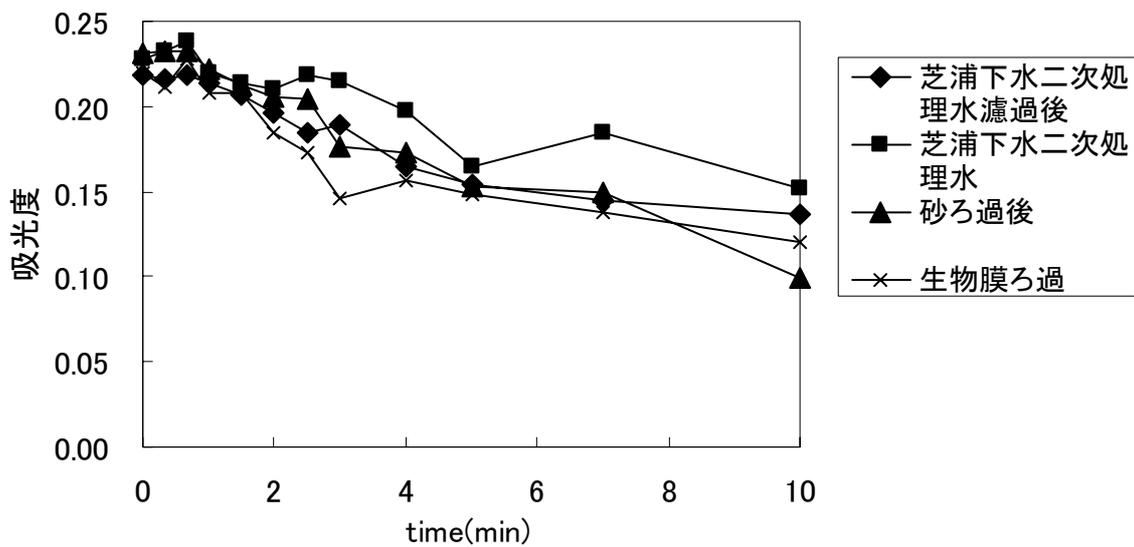


図4-39 試料G

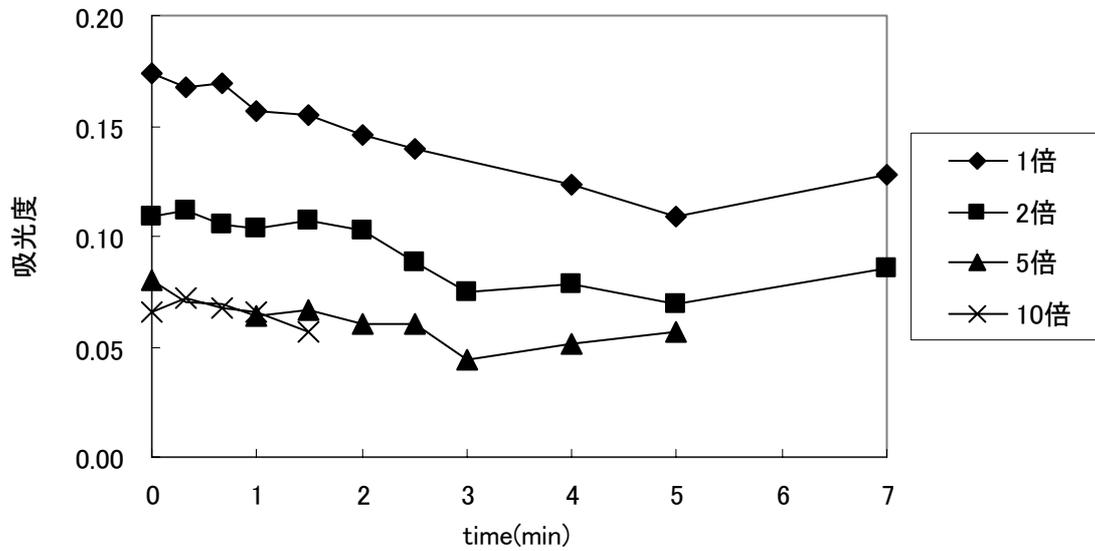


図 4-40 試料 F 下水二次処理水希釈

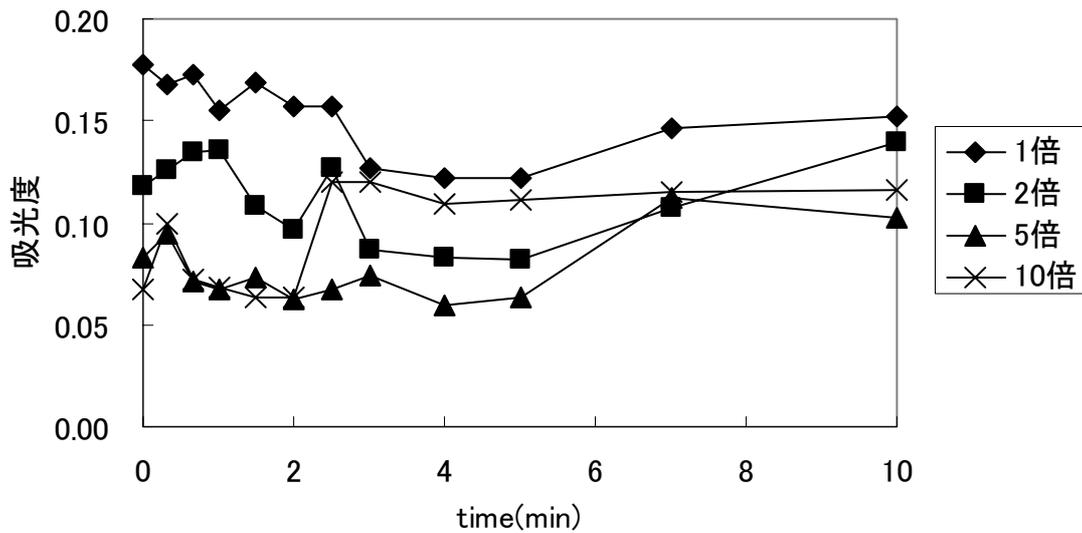


図 4-41 試料 F 砂ろ過処理水

吸光度の減少傾向から、試料中の有機物はオゾンによって分解されていることがわかった。また、図 4 - 40、図 4 - 41 から希釈したサンプルについては、6分を超えると吸光度が上昇しているが、これは一度オゾンにより結合が切れ、低分子化されたものが再び結合した可能性がある。また目視ではあるが、いずれのサンプルに対しても曝気してから 9 分後には濁質や色度が除去されていた。このことは色度除去におけるオゾン注入量では Q、大腸菌群の不活化が十分行われている可能性があることが示唆された。

## 第5章 総括

### 5-1 本研究のまとめ

下水処理場は都市の新たな水資源としての役割だけでなく、水環境中における腸管系ウイルスのコントロールポイントとしての可能性もあることから下水処理場における社会の位置づけは変わりつつある。

本研究では、下水処理水におけるウイルス指標ファージである F 特異大腸菌ファージ Q を回分型オゾン連続曝気型リアクターにおいて不活化率を測定した。試料には3種類（下水二次処理水塩素消毒前、砂ろ過処理水、生物膜ろ過処理水）を用いた。

本研究で以下の知見が得られた。

1. いずれの試料においても、試料中から残存オゾンが検出される場合、Q は 4 log 以上不活化され、大腸菌群は 2 log 以上不活化された。消毒効果のみを目的とする場合は、残存オゾン濃度の有無で微生物の不活化を評価することができた。これは、煩雑な微生物試験を行わずに、**Ozone Reagent LR AccuVac Ampules**（HACH 社製）のような簡易的なキットで測定を代用し、微生物試験の簡便化を図ることができると言える。
2. オゾン消毒においては、指標ウイルス候補である F 特異大腸菌ファージ Q は大腸菌群よりも不活化されやすかったため、現行の消毒基準である大腸菌群でウイルスに対する不活化を保障できると考えられた。
3. 下水処理場の塩素消毒前二次処理水における濁質は、オゾン消費物質として濁質中に含まれている大腸菌群やファージの不活化速度に影響を及ぼす範囲ではなかった。
4. オゾン処理はオゾン消費を少なくするために砂ろ過処理や生物膜処理を行っているが、砂ろ過処理は処理条件によってはオゾン消費物質を含む可能性があり、消毒効果に影響を及ぼすので注意が必要であると言える。
5. 脱色脱臭目的で、注入されているオゾン量で消毒効果も併せ持つ。

## 5-2 今後の展望

本研究において、オゾン前処理で用いられている砂ろ過処理された水が最もオゾン消費量が多く微生物の不活化にも影響があるとわかった。これは砂ろ過処理の運転条件や設備その他の要因が様々に絡んでいると考えられる。本実験は実験室内の容量 1L 程度の回文式リアクターで行ったため、実際の処理場における流入型においては異なる結果が出る可能性がある。

本研究では残存オゾン濃度が試料中から検出されると Q は 4 log 以上、大腸菌群は 2 log 以上と検出された。しかし微生物のオゾンに対する感受性は異なるので、実際の病原ウイルスを用いて指標ファージとの相関を取らなければならない。例えば病原ウイルスの一つであるポリオウイルスは指標ファージ候補 MS2 と比較し、オゾン耐性があることがわかっている。(Gordon et al 1991)

また、本研究では試料中の残存オゾン濃度の検出にインジゴカルミン法を用いたが、紫外線吸光度法やヨウ素滴定法における残存オゾン濃度の検出も確かめる必要がある。

## 参考文献

- **Baily, P.S** 1975 Reactivity ozone with various organic functional groups important to water purification. First international symposium on ozone for water and wastewater treatment. Proc. 101, Waterbury Conn
- **Berg, G. (ed.)** 1983. Viral pollution of the environment. CRC Press, Boca Raton, Florida
- **Baily, P.S** 1975 Reactivity ozone with various organic functional groups important to water purification. First international symposium on ozone for water and wastewater treatment. Proc. 101, Waterbury Conn
- **Blacklow, N. R., and H. B. Greenberg.** 1991. Medical progress: viral gastroenteritis. New Engl. J. Med. 325:252-263.
- **Borchardt, M. A., P. D. Bertz, S. K. Spencer, and D. A. Battigelli.** 2003. Incidence of enteric viruses in groundwater from household wells in Wisconsin. Appl. Environ. Microbiol. 69:1172-1180.
- **Borrego, J. J., and M. J. Figueras.** 1997. Microbiological quality of natural waters. Microbiologia Sem. 13:413-426.
- **Chironna, M., C. Germinario, D. De Medici, A. Fiore, S. Di Pasquale, M. Quarto, and S. Barbuti.** 2002. Detection of hepatitis A virus in mussels from different sources marketed in Puglia region (South Italy). Int. J. Food Microbiol. 75:11-18.
- **Croci, L., D. De Medici, C. Scalfaro, A. Fiore, M. Divizia, D. Donia, A. M. Cosentino, P. Moretti, and G. Costantini.** 2000. Determination of enteroviruses, hepatitis A virus, bacteriophages, and Escherichia coli in Adriatic Sea mussels. J. Appl. Microbiol. 88:293-298.
- **De Mik G, De Groot IDA** 1977 Mechanisms of inactivation of bacteriophage  $\phi$ X174 and its DNA in aerosols by ozone and ozonized cyclohexane. J Hyg 78 199-211
- **De Serres, G., T. L. Cromeans, B. Levesque, N. Brassard, C. Barthe, M. Dionne, H. Prud'homme, D. Paradis, C. N. Shapiro, O. V. Nainan, and H. S. Margolis.** 1999. Molecular confirmation of hepatitis A virus from well water: epidemiology and public health implications. J. Infect. Dis. 179:37-43.
- **Dhillon, T. S., E. K. S. Dhillon, M. C. Chau, W. K. Li, and A. H. S. Tsang.** 1976. Studies on bacteriophage distribution: virulent and temperate bacteriophage content of mammalian feces. Appl. Environ. Microbiol. 32:68-74.
- **Dore, W. J., K. Henshilwood, and D. N. Lees.** 2000. Evaluation of F-specific RNA bacteriophage as a candidate human enteric virus indicator for bivalve molluscan shellfish. Appl. Environ. Microbiol. 66:1280-1285.
- **DOUGLAS S. ROYCE , OTIS J. SPROUL and C. E. BUCK** 1981 EFFECT OF

BENTONITE CLAY ON OZONE DISINFECTION OF BACTERIA AND VIRUSES IN WATER *Water Resl.* 15 759-767.

- **Duran, A. E., M. Muniesa, X. Mendez, F. Valero, F. Lucena, and J. Jofre.** 2002. Removal and inactivation of indicator bacteriophages in fresh waters. *J. Appl. Microbiol.* 92:338-347.
- **Edberg, S. C., H. Le Clerc, and J. B. Robertson.** 1997. Natural protection of spring and well drinking water against surface microbial contamination. II. Indicators and monitoring parameters for parasites. *Crit. Rev. Microbiol.* 23:179-206.
- **Europe Community (EC).** 1998. Council directive 98/83/EC of 3 November 1998 on the quality of water intended for human consumption. *Off. J. Eur. Comm.* L330:32-54
- **Fuerst, T. R., P. O. Yarbough, Y. Zhang, P. McAtee, A. Tam, J. Lifson, K. McCaustland, J. Spelbring, D. Bradley, H. S. Margolis, M. Francotte, N. Garcon, M. Slaoui, J. P. Prieels, and K. Krawczynski.** 1996. Prevention of hepatitis E using a novel ORF-2 subunit vaccine, pp.384-392. In Y. Buisson, P. Coursaget, and M. Kane (ed.), *Enterically-transmitted hepatitis viruses*, Joue-less-Tours, Simarre, France.
- **Furuse, K.** 1987. Distribution of coliphages in the environment: general considerations, pp.87-124. In S. M. Goyal, C. P. Gerba, and G. Bitton. (ed.), *Phage ecology*, Wiley Interscience, New York, New York.
- **Gerba, C. P.** 1979. Failure of indicator bacteria to reflect the occurrence of enteroviruses in marine waters. *Am. J. Public Health.* 69:1116-1119.
- **Gordon R, Finch and Neil Fairbairn** 1991 Comparative Inactivation of Poliovirus Type 3 and MS2 Coliphage in Demand-Free Phosphate Buffer by Using Ozone *Appl. Environ. Microbiol.* 57:3121-3126.
- **Grabow, W. O. K., M. B. Taylor, and J. C. De Villiers.** 2001. New methods for the detection of viruses: call for review of drinking water quality guidelines. *Wat. Sci. Technol.* 43:1-8.
- **Gratacap-Cavallier, B., O. Genoulaz, K. Brengel-Pesce, H. Soule, P. Innocenti-Francillard, M. Bost, L. Gofiti, D. Zmirou, and J. M. Seigneurin.** 2000. Detection of human and animal rotavirus sequences in drinking water. *Appl. Environ. Microbiol.* 66:2690-2692.
- **Griffiths, P.** 1999. Time to consider the concept of a commensal virus? *Rev. Med. Virol.* 9:73-74.
- **Hagler, A. N., C. A. Rosa, P. B. Morris, L. C. Mendonca-Hagler, G. M. O. Franco, F. V. Araujo, and C. A. G. Soares.** 1993. Yeasts and coliform bacteria of water accumulated in bromeliads of mangrove and sand dune ecosystems of southeast Brazil. *Can. J. Microbiol.* 39:973-976.
- **Harakeh, M.S. and Butler, M** 1984 Factors influencing the ozone inactivation of enteric viruses in effluent ozone *Science. Eng* 6 4 235-243

- **Harakeh, M.S. and Butler, M** 1984 Factors influencing the ozone inactivation of enteric viruses in effluent ozone Science. Eng 6 4 235-243
- **Hardina, C. M., and R. S. Fujioka.** 1991. Soil: the environmental source of Escherichia coli and enterococci in Hawaii's streams. Environ. Toxicol. Water Qual. Int. J. 6:185-195.
- **Havelaar AH, Nieuwstad TJ, Meulemans CCE, and van Olphen M** 1990 F-specific RNA bacteriophages and sensitive host strains in faeces and wastewater of human and animal origin J Appl Bacteriol 69 30-37
- **Havelaar AH, Nieuwstad TJ, Meulemans CCE, and van Olphen M** 1991 F-specific RNA bacteriophages as model viruses in UV disinfection of wastewater Wat. Sci. Techno. 24:347-352
- **Havelaar AH, Pot-Hogeboom WM, Furuse K, Pot R, Hormann MP** 1990 F-specific RNA bacteriophages and sensitive host strains in faeces and wastewater of human and animal origin J Appl Bacteriol 69 30-37
- **Havelaar AH, Pot-Hogeboom WM, Furuse K, Pot R, Hormann MP** 1991 F-specific RNA bacteriophages as model viruses in UV disinfection of wastewater Wat. Sci. Techno. 24 347-352
- **Havelaar, A. H., K. Furuse, and W. M. Hogeboom.** 1986. Bacteriophages and indicator bacteria in human and animal faeces. J. Appl. Bacteriol. 60:255-262.
- **Havelaar, A. H., and W. M. Pot-Hogeboom.** 1988. F-specific coliphage as model viruses in water hygiene: ecological aspects. Wat. Sci. Tech. 20:399-407.
- **Havelaar, A. H., M. Van Olphen, and Y. C. Drost.** 1993. F-specific RNA bacteriophages are adequate model organisms for enteric viruses in freshwater. Appl. Environ. Microbiol. 59:2956-2962.
- **Hedberg, C. W., and M. T. Osterholm.** 1993. Outbreaks of food-borne and waterborne viral gastroenteritis. Clin. Microbiol. Rev. 6:199-210.
- **Hinze H, Prakash D, Holzer H** 1987 Effect of ozone on ATP, cytosolic enzymes and permeability of Saccharomyces cerevisiae. Arch Microbiol 147: 105-108
- **Hurst, C. J.** 1991. Presence of enteric viruses in freshwater and their removal by the conventional drinking water treatment process. WHO Bull. OMS. 69:113-119.
- **IAWPRC study group on Health Related Water Microbiology.** 1991. Bacteriophages as model viruses in water quality control. Wat. Res. 25:529-545.
- **ICTVdB 2004** The Universal Virus Database of the International Committee on Taxonomy of Viruses
- **J. Hoigne and N. Bader** 1976 Water Reseach 10 377
- **Jain, V., B. K. Das, M. K. Bhan, R. I. Glass, and J. R. Gentsch.** 2001. Great diversity of group A rotavirus strains and high prevalence of mixed rotavirus infections in India. J. Clin. Microbiol. 39:3524-3529.

- **Jofre, J.** 1992. Bivalve molluscs as vectors of human enteric viruses. *Microbiol. Aliments Nutr.* 10:223-228.
- **Kator, H., and M. Rhodes.** 2001. Elimination of fecal coliforms and F-specific RNA coliphage from oysters (*Crassostrea virginica*) relaid in floating containers. *J. Food Prot.* 64:796-801.
- Keller JW, Morin RA, Schaermeroth TJ Ozone disinfection pilot plant studies at Laconia, N.H *J Am Water Works Assoc* 66 730-733
- **Kim CK, Gentile DM, Sproul OJ** 1980 Mechanism of ozone inactivation of bacteriophage f2. *Appl Environ Microbiol* 39:210-218
- **Komanapalli IR, Lau BHS** 1996 Ozone-induced damage of *Escherichia coli* K-12. *Appl Microbiol Biotechnol* 46: 610-614
- **Komanapalli IR, Mudd JB, Lau BHS** 1997 Effect of ozone on metabolic activities of *Escherichia coli* K-12. *Toxicol Lett* 97 61-66
- **Le Baron, C. W., N. P. Furutan, J. F. Lew, J. R. Allen, V. Gouvea, C. Moe, and S. S. Monroe.** 1990. Viral agents of gastroenteritis. Public health importance and outbreak management. *MMWR. Recomm. Rep.* 39:1-24.
- **Lee, T., W. C. Yam, T. Y. Tam, S. W. Ho, M. H. Ng, and M. J. Broom.** 1999. Occurrence of hepatitis A virus in green-lipped mussels (*Perna viridis*). *Wat. Res.* 33:885-889.
- **Lucena, F., L. Schwartzbrod, and A. Bosch.** 1986. The effect of a mass poliomyelitis vaccination program on the occurrence of enterovirus in seawater. *Zentbl. Bakteriol. Hyg. B.* 183:67-69.
- **Macler, B.** 1993. Acceptable risk and US microbial drinking water standards. In G. F. Graun (ed.), *Safety of water disinfection*, ILIS Press, Washington, DC.
- **Mudd JB, Leavitt R, Ongun A, McManus TT** 1969 Reaction of ozone with amino acids and proteins *Atmos Environ* 3: 669-682
- **Osawa, S., K. Furuse, and I. Watanabe.** 1981. Distribution of ribonucleic acid coliphages in animals. *Appl. Environ. Microbiol.* 41:164-168.
- **Ottoson, J., and T. A. Stenstrom.** 2003. Faecal contamination of greywater and associated microbial risks. *Wat. Res.* 37:645-655.
- **Pina, S., M. Puig, F. Lucena, J. Jofre, and R. Girones.** 1998. Viral pollution in the environment and in shellfish: human adenovirus detection by PCR as an index of human viruses. *Appl. Environ. Microbiol.* 64:3376-3382.
- **Pryor WA, Das B, Church DF** 1991 The ozonation of unsaturated fatty acids: aldehydes and hydrogen peroxide as products and possible mediators of ozone toxicity. *Chem Res Toxicol* 4 341-348
- **Peleg M** 1976 THE CHEMISTRY OF OZONE IN THE TREATMENT OF WATER *Water*

Research 10 361-365

- **Regli, S., P. Berger, B. Macler, and C. Haas.** 1993. Proposed decision tree management of risks in drinking water: consideration for health and socio-economic factors, pp.39-80. In G. F. Craun (ed.), *Safety of drinking water: balancing chemical and microbial risks*, ILSI Press, Washington, DC.
- **Reisser VW, Perrich JR, Silver BB, McCammon JR** 1977 Possible mechanism of poliovirus inactivation by ozone Fochtman EG, Rice RG, Browning ME (eds) *Forum on ozone disinfection*. International Ozone Institute, New York, 186-192
- **Reynolds, K. A.** 1992. Evaluation of methods for the recovery and quantitation of bacteriophage from marine waters and sediment. M. S. thesis. University of South Florida, Tampa, Florida.
- **Richards, G. P.** 1985. Outbreaks of shellfish-associated enteric virus illness in the United States: requisite for development of viral guidelines. *J. Food Prot.* 48:815-823.
- **Santiago-Mercado, J., and T. C. Hazen.** 1987. Comparison of four membrane filter methods for fecal coliform enumeration in tropical waters. *Appl. Environ. Microbiol.* 53:2922-2928.
- **Schvoerer, E., F. Bonnet, V. Dubois, G. Cazaux, R. Serceau, H. J. A. Fleury, and M. E. Lafon.** 2000. PCR detection of human enteric viruses in bathing areas, waste waters and human stools in Southwestern France. *Res. Microbiol.* 151:693-701.
- **Scott DBM, Leshner EC** 1963 Effect of ozone on survival and permeability of *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 85: 567-576
- **Sobsey, MD** 1989 Inactivation of health-related microorganisms in water by disinfection process, *Wat, Sci. Tec.* 21 3 179-195,
- **Sobsey, M. D., D. A. Battigelli, T. R. Handzel, and K. J. Schwab.** 1995. Male-specific coliphages as indicators of viral contamination of drinking water. American Water Works Association Research Foundation, Denver, Colorado
- **Sommerville RC, Rempel G** 1972 Ozone for supplementary water treatment. *J Am Water Works Assoc* 64 377-382
- **South African Bureau of Standards (SABS).** 1999. Specification: drinking water. SABS. 241:1999, 4th ed., South Africa Bureau of Standards, Pretoria.
- **Stetler, R. E.** 1984. Coliphages as indicators of enteroviruses. *Appl. Environ. Microbiol.* 49:259-264.
- **Taylor, M. B., N. Cox, M. A. Vrey, and W. O. K. Grabow.** 2001. The occurrence of Hepatitis A and Astroviruses in selected river and dam waters in South Africa. *Wat. Res.* 35:2653-2660.
- **U. S. Environmental Protection Agency (EPA).** 1995. Virus monitoring protocol for the

information collection requirements rule. U. S. Environmental Protection Agency, publication EPA/814-B-95-002. Government Printing Office, Cincinnati, Ohio.

- **U. S. Environmental Protection Agency (EPA).** 2000. Proposed ground water rule EPA 815-F-00-003. Office of Ground Water, Environmental Protection Agency, Washington, DC.
- **石丸ら** 下水のオゾン処理における効率化について 第 33 回下水道研究発表会講演要旨集
- **石丸ら** 膜・オゾン等による下水の高度処理（その 2）第 33 回下水道研究発表会講演要旨集
- **宗宮 功** 1989 オゾン利用水処理技術 公害対策技術同友会
- **大垣眞一郎** 1990 オゾンによる消毒 用水と廃水 32,4 312-316
- **金子光美** 編著 水質衛生学 1999 技報堂出版
- **オゾンハンドブック** 日本オゾン協会
- **下水試験方法** 上巻 1997 版 社団法人日本下水道協会
- **関谷毅史** 1991 修士論文 大腸菌ファージ Q $\beta$  を用いた、オゾンのウイルス不活化効果に関する研究
- **片山浩之 久山哲雄 川本尋義、大垣眞一郎** 2000 下水処理における大腸菌群及び F 特異的大腸菌ファージ挙動の調査 土木学会第 55 回年次学術講演会平成 12 年（2000 年）9 月
- **杉光英俊** 1996 オゾンの基礎と応用、光琳出版
- 平成 12 年度日本の下水道 その現状と課題 p195 建設省都市局下水道部監修、平成 12 年 12 月

## 謝 辞

本論文を完成させるに当たりまして、多くの方々の協力とご尽力を頂きましたことを本当に感謝しています。

私の指導教官である味埜俊教授、佐藤弘康助教授、小貴元治助手には多忙な中ご指導を頂いたことに感謝いたします。

私の研究に主に御指導を頂きました東京大学大学院工学部都市環境学科の片山浩之講師、小熊久美子助手には躓きが多かった私の研究に辛抱強くかつ丁寧に指導を頂いたことに感謝いたします。研究に躓いた際は、片山講師には多くの新たな方向性を示していただき、小熊助手にはくじけていた時には励ましの言葉をかけて頂き、また頑張ろうという気持ちになりました。

また、副指導教官である磯部雅彦教授には研究に対する貴重な助言を頂きました。東京大学大学院大垣眞一郎教授には的確かつ鋭いご指摘を頂きました。

実験を行うに当たって多くの試料を提供してくださった芝浦水再生センター水質管理課の安江さん、小峰さんにご協力頂き感謝を申し上げます。

実験を遂行するにあたって多くの協力を頂きました、都市環境講座博士1年の**原本英司**さん、唐澤祥嗣技官、中川博之技官、修士1年の小西幸雄君、磯崎雄一君、実験補助の黒田ほづえさん、いつも納期に無理を言ったのにも関わらずちゃんと物品の都合をつけてくれた河野製作所様にも深く感謝の意を表します。

振り返ってみるとあっと言う間の2年間でしたが非常に楽しく、充実した2年間でした。

味埜研究室の皆様、都市環境講座の同期や皆様、社会文化環境コースの友人や研究室が隣だった縁で仲良くしていただいた清家研究室の皆様には私の二年間の修士生活を実りある楽しいものにして頂きまして本当にありがとうございました。

最後に、私にこの2年間を過ごすチャンスをくれた家族に感謝します。

2005年1月31日

上條 絵美子

## 付録

大腸菌ファージ Q は宿主として大腸菌 K12、サルモネラ菌 WG49 に感染する。しかし、宿主として *E. Coli*.K12 を用いる場合は注意が必要である。K12 の体表面に吸着し感染する Somaticphage もブラック法によって検出される。図1に概略図を示した。

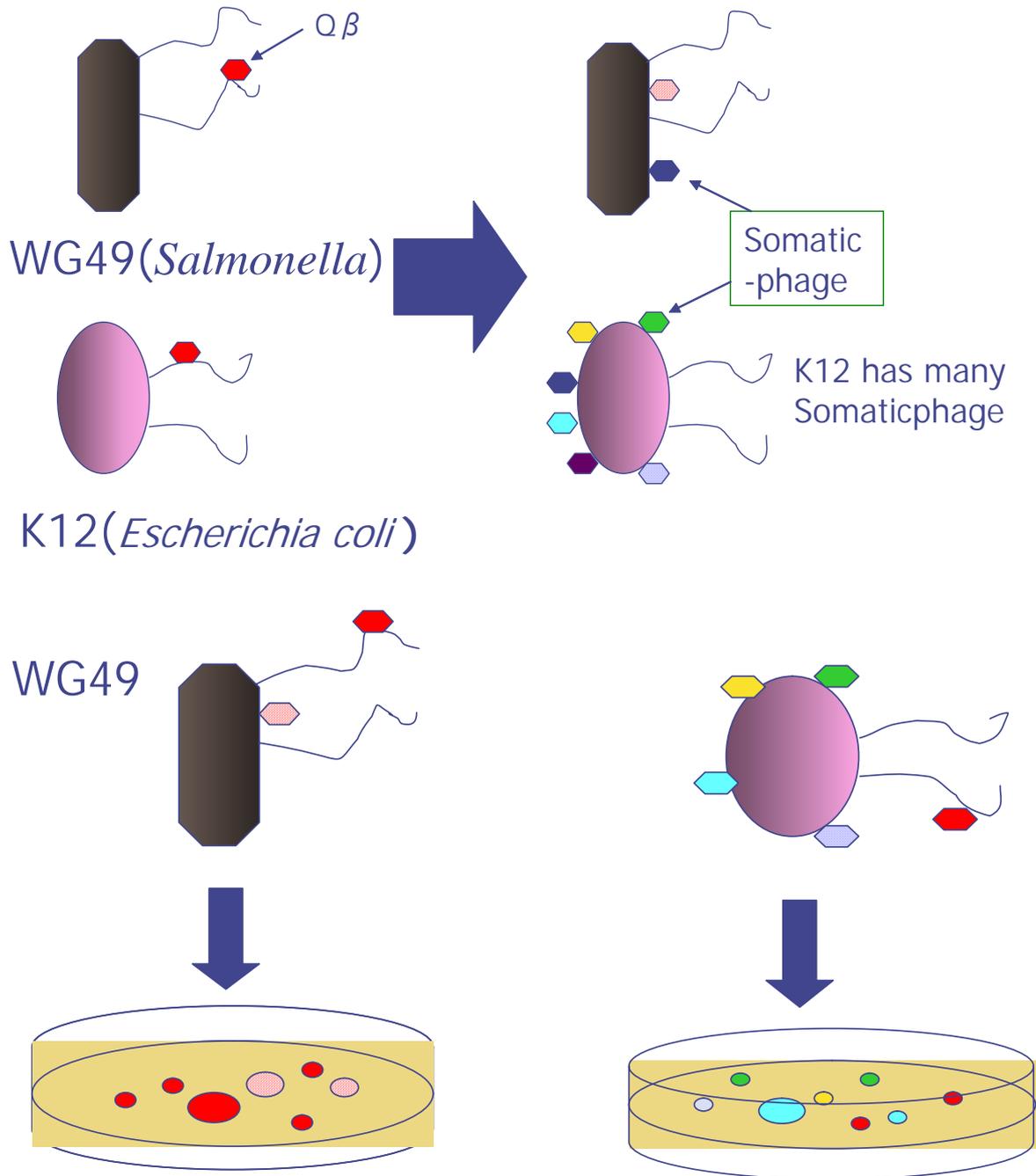


図1.WG49、K12におけるQの検出

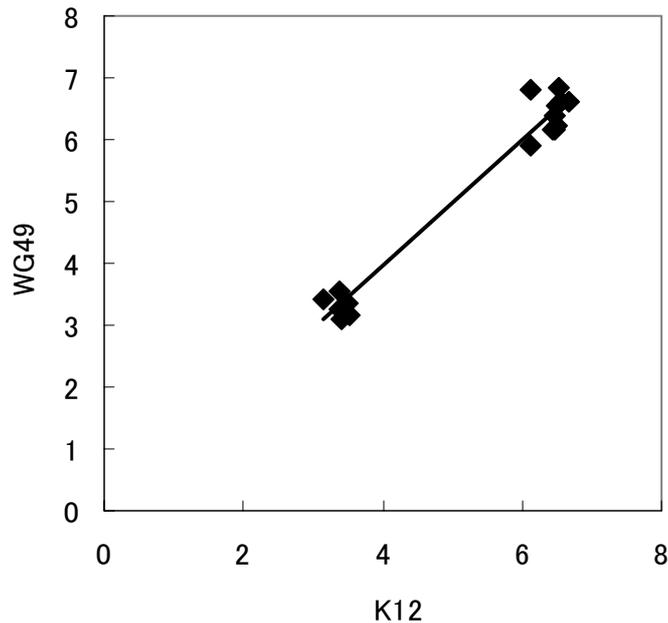


図2 WG49 と K12 との相関

\* 宿主の違いによる Q の検出量の差

WG49 と K12 は両方とも大腸菌 F 繊毛ファージ Q (RNA ファージ) のは宿主である。しかし、K12 は F 繊毛を持つが、K12 本体に感染するファージも存在し、K12 を宿主としてファージ Q を計測した場合、Q 以外のファージ(Somaticphage)も同時に計測されてしまう。

一方、サルモネラ菌である WG49 にはサルモネラファージと呼ばれるサルモネラ菌体表面に吸着感染するファージが存在する。しかしその数は少なく、F 繊毛に感染する Q の方が圧倒的に多いので、WG49 の体表面に吸着されるサルモネラファージの数は無いものとみなす。以上の事から宿主として K12 を用いるよりも WG49 を使った方が結果の信頼性は高いといえる。しかし、K12 は培養が WG49 と比較し簡便かつ短時間で行うことができる。

そこで、WG49 と K12 を宿主として用いた場合の検出量の比較を検討した。ししゅ相関を図2に示した。全国の下水处理場の内3箇所から採水した下水処理水中に高濃度 Q を添加し、宿主として WG49 と K12 を用い、ブラック法で Q を検出した。図2に K12 と WG49 を宿主として用いた場合の Q の検出の相関を示した。近似曲線の傾きは 1.02 となり、 $R^2$  は 0.9692 であった。この実験では Q ファージを処理水にあらかじめ大量に添加するので K12 本体に吸着するファージの量が無視できるためと考えられる。