

# クリプトの不活化 — 浄水場返送水 —

## Inactivation of Cryptosporidium in Recycle Water from Purification Plant



(環)技術部第1グループ  
西 拓 也  
Takuya Nishi

浄水場排水処理設備内での効率的なクリプトの不活化システムの実用化に向け、ろ過池洗浄排水などを返送再利用するクローズドシステム内のクリプトの存在割合を調べた。混合槽、沈降管、脱水機から構成されるテスト装置を使用し、沈殿池排泥にポリスチレントレーサー（クリプトの擬似粒子）を加え、攪拌後、濃縮、脱水を行った。上澄水、濃縮汚泥、脱水ろ液、脱水ケーキ、ろ布洗浄排水中のトレーサーの割合は、濃縮汚泥が一番高く、約18%が着水井に返送されることが確認できた。

また、汚泥や返送水中のクリプトの不活化方法として加熱・紫外線・電気・乾燥処理を行い、それぞれの最適条件を見つけ、それをヒトへの感染力の有無が評価できる培養細胞をもちいた感染試験法で評価を行っている。

To develop practical system for inactivation of Cryptosporidium, a study was made on its surviving rate in the closed system of water purification plants where rinse water is recycled. Together with the sludge settled in a sedimentation basin, a polystyrene tracer, artificial particles for Cryptosporidium, was added to a test unit composed of a mixing tank, sedimentation tube and dehydrator.

Measurement of the tracer rate in the supernatant, concentrated sludge, dehydrator filtrate and filter cloth washing wastewater found that the concentrated sludge was the highest. About 18% of the injected tracer was returned to the receiving well.

Cryptosporidium in the sludge and recycle water was inactivated with heating, UV, electricity and drying methods to find their optimum inactivating conditions. The performance is being evaluated using cultured cells to check the infectivity to human being.

### Key Words :

クリプトスポリジウム

Cryptosporidium

排水処理

Waste water from water purification plant

ポリスチレン製トレーサー

Polystyrene tracer

### まえがき

(財)水道技術研究センターは、1997年～2001年の五カ年計画で水道における浄水技術の革新と高効率化の実現を最終目的に ACT21「高効率浄水技術開発研究」を実施している。本研究は、従来浄水技術と

比較して、(1)より高い汚染物質除去性能を有し、(2)処理施設の小型化・簡素化および管理の省力化が図れ、(3)信頼性がより高い「高効率浄水技術」の開発を目指し、7つの研究グループに分かれて研究を行っている。当社は、その内の第5研究グループの「浄

水場排水の高効率処理技術」に参画し、浄水場内でのクリプトの存在割合の把握、および排水処理における不活化システムの検討を行っている。

## 1. 実験目的<sup>1)</sup>

クリプトスポリジウム（写真1；以下クリプト）による水系感染症の集団発生が世界で多発しており、1993年には米国ミルウォーキーで患者数40万人を越える世界最大規模の感染事例が発生した。我が国も例外でなく、1996年に埼玉県越生町で8800人余りの感染者を出している。これらの事故は浄水処理が不十分であったことによるものが多く含まれているが、中には従来の浄水処理の慣行からみて、特に問題であるとは考えられない運転管理が行われ、かつ供給した水道水が水質基準を満たしていた水道水での集団感染も含まれている。このことは、水源によっては水道システムに関する従来の基本的考え方が必ずしも十分でなかったことを強く示唆するものである。このような微生物感染症問題が発生することは、水道の社会的地位づけを根本から揺るがしかねないきわめて重要な問題であり、クリプト対策は現在、水道界の最優先課題となっている。

これまで、浄水場でのクリプト対策として、処理水濁度を0.1以下にすることや膜処理によるクリプトの除去が有効とされてきた。しかし、除去したクリプトの処理、つまり浄水場内での排水中のクリプトの処理については未解決のままである。除去したクリプトを河川放流した場合、浄水場が新たなクリ

プトの汚染源となる。また、ろ過池洗浄排水等を返送再利用するクローズドシステムを採用した浄水場の場合、クリプトは浄水場内を循環・蓄積する恐れがある。そこで本研究では、浄水場内全体のクリプトの存在割合を把握し、浄水場内でのクリプトに対する安全性を確保できるシステムについて検討をおこなっている。

## 2. トレーサーを用いたクリプトの挙動の確認

浄水場の原水から侵入したクリプトは、その大部分が凝集沈殿池にて原水中のSS成分と共に凝集され<sup>2)</sup>、沈殿池排泥として濃縮槽に集まる。しかし、濃縮槽以降の排水処理設備内でのクリプトの存在割合は未だ確認されていない。そこで、クリプトの疑似粒子であるポリスチレン製トレーサーを用いて排水処理設備内のクリプトの存在割合を確認した。

### 2.1 実験装置

濃縮槽以降の排水処理設備内でのクリプトの存在割合を確認するため、写真2、3に示す実験装置を使用した。

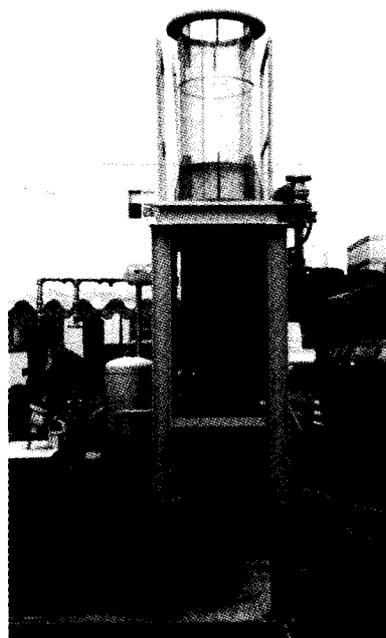


写真2 沈降管外観  
Photo 2 Thickener

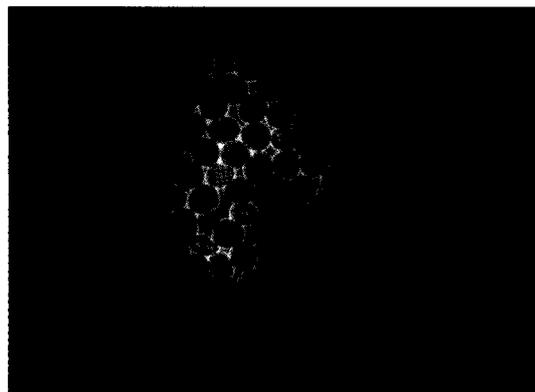


写真1 クリプトスポリジウム蛍光顕微鏡撮影  
Photo 1 *Cryptosporidium, parvum*

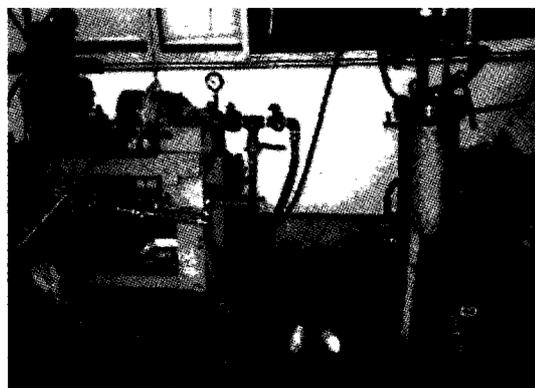


写真3 脱水機外観  
Photo 3 Dehydrator

沈降部での汚泥の沈降時間は48時間とした。実験に供試した沈殿池排泥は、ポリスチレン製トレーサーを添加し、十分に攪拌した後、48時間沈降させた。上澄水と濃縮汚泥を分離した後、濃縮汚泥を脱水機にて脱水処理をおこなった。

ポリスチレン製トレーサーの仕様を第1表に示す。また、写真4に蛍光顕微鏡でのポリスチレン製トレーサーを示す。実験装置の仕様を第2表に示す。沈降管(写真2)は材質が透明PVCで形状が $\phi 400 \times 2500$  H、有効容積が250 Lである。脱水機(写真3)のろ過面積は $1.04 \text{ m}^2$ 、ろ布通気度は $1000 \text{ cm}^3/\text{cm}^2 \cdot \text{min}$ である。

## 2.2 実験フロー

実験装置のフロー図を第1図に示す。

装置は沈降管、小型脱水機で構成される。まず、トレーサーを添加した沈殿池排泥を沈降管にて48時間濃縮し、濃縮槽上澄水と濃縮汚泥を回収した。さらに濃縮汚泥を小型脱水機にて脱水し、脱水ろ液・脱水ケーキ・ろ布洗浄排水を回収した。

## 2.3 実験条件

ここで、対象となるクリプトは、凝集沈殿池で凝集剤にて汚泥粒子と凝集された形で濃縮槽に移送される。そのため、トレーサーはあらかじめ沈殿池排泥に添加した後、酸・アルカリ調整を行い、汚泥粒子と凝集させてから実験に供試した。また、トレーサーが配管内や沈降管に吸着する分を無視できるように、 $1.40 \times 10^{10}$ 個添加した。

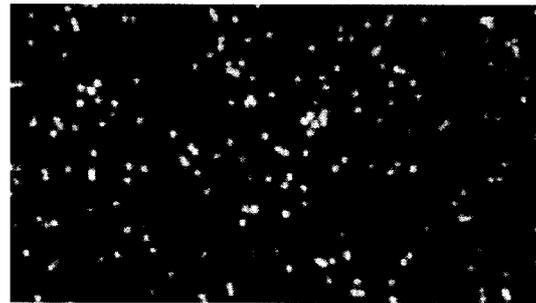


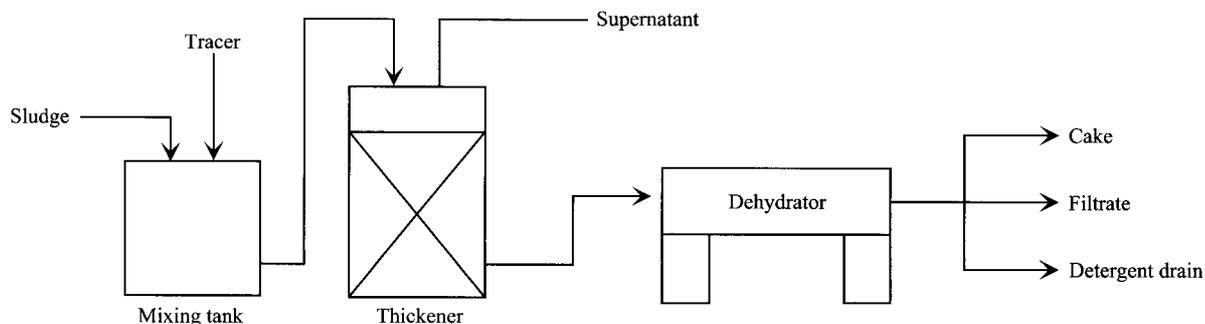
写真4 ポリスチレン製トレーサー  
Photo 4 Polystyrene tracer

第1表 ポリスチレン製トレーサーの仕様  
Table 1 Specification of polystyrene tracer

		Polystyrene tracer	Cryptosporidium
Size	$\mu\text{m}$	$5.0 \pm 0.5$	$4.2 \sim 5.5$
	—	1.07	1.06
	mV (pH)	-19 (7.0)	-25 (6.5)

第2表 実験装置  
Table 2 Experimental apparatus

	Material	Size
Thickener	PVC	$\phi 400 \text{ mm} \times 2500 \text{ mm}$ , 250 L
Dehydrator	SS	Filtration area ; $1.04 \text{ m}^2$
Filter cloth	PP	$1000 \text{ cm}^3/\text{cm}^2 \cdot \text{min}$



第1図 実験装置フロー  
Fig. 1 Flow diagram of test plant

濃縮槽での沈降時間は48時間とした。

小型脱水機での脱水時間は、打込20分、圧搾25分で計45分とした。

実験では、沈殿池排泥中のトレーサー数に対する沈降管上澄水、濃縮汚泥、脱水ろ液、脱水ケーキ、ろ布洗浄排水中のトレーサーの割合を確認した。

## 2.4 実験結果

クリプトは凝集沈殿池では約90%が汚泥粒子と共に濃縮槽に移送され、さらに0.1%が処理水に漏出することがこれまでの研究で知られている。この知見と今回の実験結果を統合し、一例としてクロズドシステムを採用した浄水場でのクリプトの存在割合をシュミレーション計算した結果を第2図に示す。この図より、浄水場に侵入したクリプトの大部分が濃縮汚泥中に存在し、約18%のクリプトが着水井に返送されることが確認された。

## 3. クリプトの不活化試験の概要

前述のトレーサーをもちいたクリプトの挙動の確認試験より、浄水場内に侵入したクリプトの大部分が濃縮汚泥中に、約18%が着水井に返送されることが確認できた。そこで、次にクリプトを効率的に不活化するため、汚泥や返送水中のクリプトの処理を加熱・電気・紫外線・乾燥・圧力により効果があるか確認した。

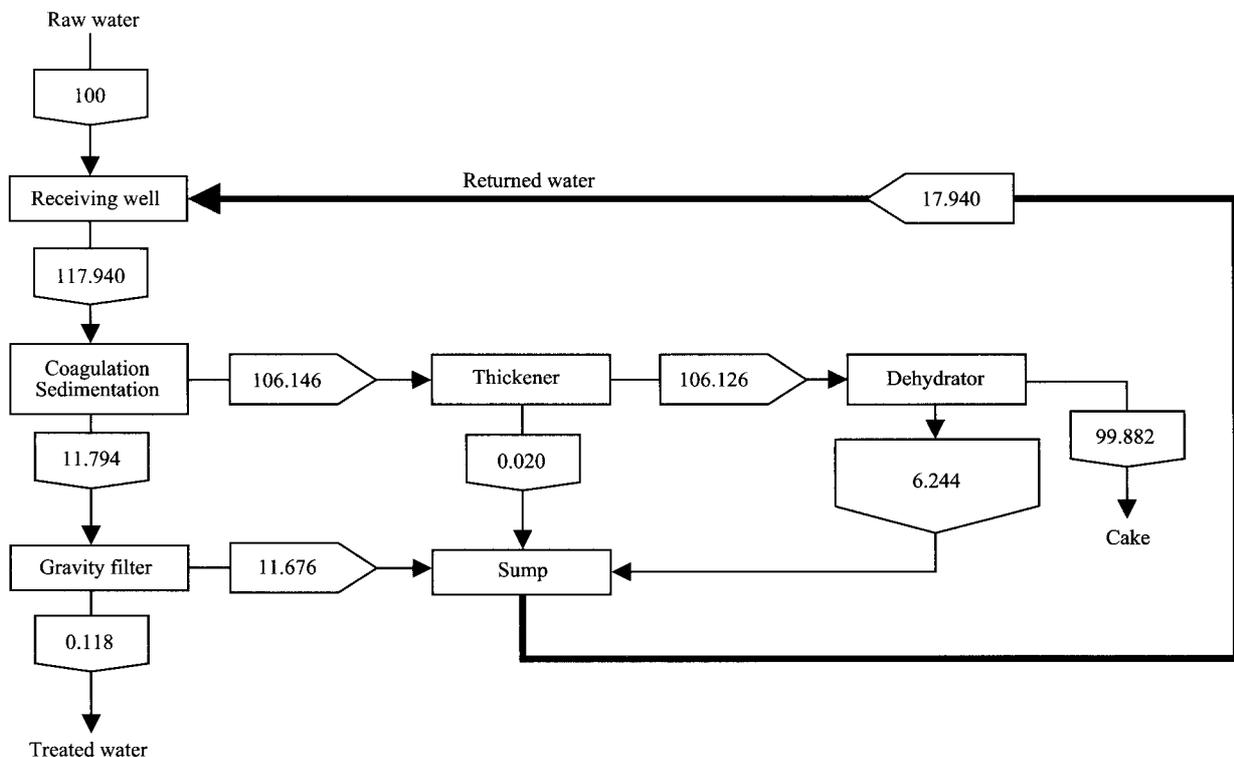
ここで、クリプトの不活化評価には、生育活性試験法と感染試験法がある。本試験では両方法にて評価をおこなった。

### 3.1 生育活性試験

#### 1) 生体染色法

染色液を用いて染まりやすさ、染まりにくさから生育活性を判定する方法である。代表的な染色法は、DAPI/PI染色法である。膜透過性のDAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) 染色とPI (propidium iodide) の染色の組み合わせであり、DAPI染色は(写真5)波長350nmのフィルターブロックを用い、PI染色は(写真6)510~560nmのフィルターブロックを用いて蛍光・微分干渉顕微鏡で観察し、DAPI染色で染まり、PI染色で染まらないものを生育活性があると判断する。この方法は比較的簡単に、短時間で測定できる反面、染色程度に差が有り、測定が人の目の判断によることから、そのばらつきにより判定が困難な場合が多い。また、感染試験と比較し、クリプトの不活化に対して過小評価となるといわれている。

一方、SYTO-59による染色法は(写真7)、510~560nmのフィルターブロックを用いて蛍光・微分干渉顕微鏡で観察し、SYTO-59染色で染まらないものを生育活性があると判断する。DAPI/PI染色



第2図 浄水場におけるクリプトスポリジウムの挙動  
Fig. 2 Existence of Cryptosporidium in water Purification plant

に比べて染色の曖昧さが少なく、より短時間で測定できる特徴があり、また動物感染試験と相関性が高いといわれている。

## 2) 脱 囊 法

試験管内で脱囊しやすい温度条件等で生育し、顕微鏡観察にて脱囊したクリプトを生育活性があると判定する方法であり、比較的簡単に実施することができる。しかし、測定するためには1000個以上のクリプト数を必要とし、クリプトの個体により脱囊するまでの時間が異なることから、生育活性の判定に応用するには課題が多いといわれている。

## 3. 2 感染試験法

### 1) 動物感染試験

免疫不全マウス等にクリプトを経口投与し、2週間程度の飼育期間中に排泄された糞便中のクリプトを測定し、感染したかどうかを判定するものである。生育活性試験とは違い、クリプトの感染力を評価することができる。しかし、実験を実施するために特定の飼育施設が必要であったり、供試個体により感染するオーシスト数に差があり、その均一性のための準備にも万全を期するなど、多大な費用・時間・労力を必要とする。また、従来人畜共に感染するといわれてきたクリプトスポリジウムパルブムについて、ヒトにしか感染しないものの存在が近年確認されたことから、動物感染試験では正確な結果が得られないことになる。

### 2) 培養細胞を用いた感染試験

ヒトの回腸の腫瘍細胞を37℃のシャーレ内で二酸化炭素培養し、増殖した細胞に感染させる方法で、クリプトのヒトへの感染力の有無が評価できるため、近年注目されている試験法である。さらに動物感染試験と比較し、省コスト・省時間で測定することができる。

## 3. 3 クリプトの不活化評価の信頼性

クリプトの不活化は、その評価法によって差があり、生育活性試験法は、感染試験と比較してクリプトの不活化に対して過小評価する傾向がある<sup>3)4)</sup>。従って、生育活性試験結果をもちいてクリプトの不活化処理設備を計画した場合、過大設備となってしまうおそれがある。エネルギーを効率的に利用するためには、より正確な試験結果が必要となる。そのため、前述で紹介したクリプトの不活化試験法のうち、培養細胞を用いた感染試験法を採用してデータ解析する予定である。また、感染試験と相関性が高いといわれる SYTO-59 染色試験法も併用して感染試験と関連づけることができれば、より多くの試験データ

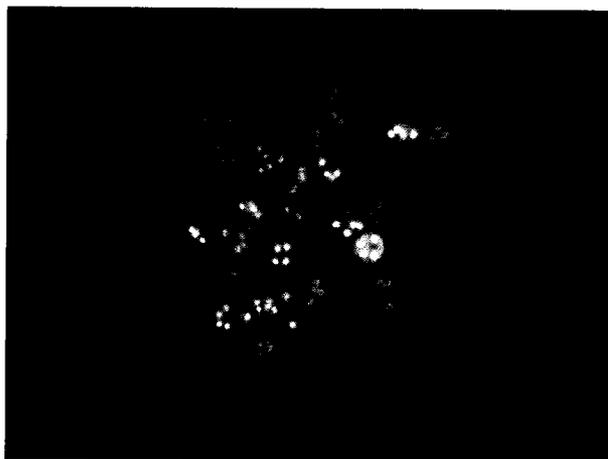


写真 5 DAPI 染色によるクリプトスポリジウム  
Photo 5 Cryptosporidium with DAPI stain



写真 6 PI 染色によるクリプトスポリジウム  
Photo 6 Cryptosporidium with PI stain



写真 7 SYTO-59 染色によるクリプトスポリジウム  
Photo 7 Cryptosporidium with SYTO-59 stain

が得られると期待している。

### 3.4 不活化試験項目

排水処理工程でクリプトの不活化処理をおこなうため、以下の項目について検討する。

#### 1) 濃縮汚泥中のクリプトの不活化

濃縮汚泥中のクリプトは加熱・電気処理にて不活化させるのがエネルギー的に安価であると考え、クリプトが不活化するまでの時間を確認する。

#### 2) 返送水中のクリプトの不活化

返送水の量的関係より、紫外線照射によるクリプトの不活化が効率的であると考え、適正な紫外線照射量、紫外線強度の検討をおこなう。

#### 3) 脱水ケーキ中のクリプトの不活化

脱水ケーキ中のクリプトは、脱水機による圧力または乾燥の影響が生存日数にどの程度効果があるのか確認する。

### むすび

熱や紫外線といった簡単な操作で浄水場内のクリプトを不活化することができれば、本プロセスは微生物的に安全な水が得られる可能性が高い技術となる。現在、前述の実証実験を進めているところであ

る。

なお、ここで紹介した ACT21 における研究は(株)石垣、月島機械(株)、(株)西原環境衛生研究所、前澤工業(株)、ユニチカ(株)との共同研究として実施している。実験結果についてはあらためて紹介したいと考えている。

#### [参考文献]

- 1) 金子光美：推計感染症とその対策，水道協会雑誌，768，(1998)，pp.2～21
- 2) 財水道技術研究センター：飲料水中の微生物による感染症対策に関する研究報告書(1998)
- 3) Finch G.R., Black E.K., Gyurek L. and Belosevic M.: Ozone inactivation of *Cryptosporidium parvum* in demand-free phosphate buffer determined by in vitro excystation and animal infectivity. *Applied and Environmental Microbiology*, 59, (1993), pp.4203～4210
- 4) Black E.K., Finch G.R., Taghi-Kilani R. and Belosevic M.: Comparison of assays for *Cryptosporidium parvum* oocysts viability after chemical disinfection. *Federation of European Microbiological Societies microbiology letters*, 135, (1996), pp.187～189
- 5) 木村憲司：クリプトスポリジウムの殺滅，造水技術，(2000)，pp.18～24

#### 連絡先

西 拓也 環境装置事業部  
環境本部  
技術部  
第1グループ  
TEL 03-3459-5940  
FAX 03-3459-3256  
E-mail t.nishi@pantec.co.jp