

〈研究発表〉

限外ろ過膜のウイルス除去性能に及ぼす凝集処理の影響評価

西田 佳記¹⁾, 山下 尚之¹⁾, 田中 宏明¹⁾, 花田 茂久²⁾, 谷口 雅英²⁾, 北中 敦²⁾

¹⁾ 京都大学大学院 工学研究科 (〒520-0811 大津市由美浜 1-2, E-mail: nishida@biwa.eqc.kyoto-u.ac.jp)

²⁾ 東レ株式会社 (〒520-0842 大津市園山 1-1-1, E-mail: Shigehisa_Hanada@nts.toray.co.jp)

概要

下水再生水の衛生学的安全性の確保のために 5 log 以上のウイルス除去を目標とし、凝集処理と限外ろ過(UF)膜処理を組み合わせた下水再生プロセスを検討し、ウイルスの除去性能を評価した。UF の前段に凝集または凝集沈殿を行う 1 段凝集プロセスと凝集沈殿と凝集を併用する 2 段凝集プロセスを検討したところ、2 段凝集プロセスのみが約 8 log と目標を達成することが出来た。各処理工程別、ウイルスの存在形態別に分けて除去率を調べたところ 2 段凝集プロセスの UF 膜での除去率が 1 段凝集プロセスに比べて高い値となった。

キーワード: 下水再生水、限外ろ過(UF)膜、ウイルス、凝集、PAC

1. はじめに

近年、世界的な人口増加や地球温暖化による気候変動に伴い水資源の重要性が高まってきている。そこで、水を循環利用するという観点から下水再生水が有用な水資源として注目されている。我が国においても慢性的な水不足に悩まされてきた沖縄において、国内初の大規模な再生水の畑作灌漑利用が計画された¹⁾。

一方、下水再生水の利用には下水由来であるということから、細菌、原虫、ウイルス等の病原性微生物の問題が付随し、不十分な処理のまま利用されると感染症が発生し、更には感染者の糞便からの二次汚染の拡大も懸念される。そのため、再生水の衛生学的安全を確保することが必要不可欠となる。我が国においては「下水処理水の再利用水質基準等マニュアル」²⁾が策定されているが、沖縄で計画されている農業利用に関する基準は未だ存在しない。一方で、1960年代から再生水の農業利用が盛んに行われてきた米国カリフォルニア州では“Title22”³⁾という基準が定められ、食用作物への灌漑利用では、処理過程において 5 log 以上のウイルス除去を規定している。また、この基準を満足するプロセスとして凝集沈殿、ろ過および消毒を実施する Full Treatment が基本プロセスとして規定されている。沖縄においても、Full Treatment に準拠した処理プロセス(前塩素→凝集沈殿→砂ろ過→UV→後塩素)により 5 log 以上のウイルス除去を達成することが示された⁴⁾が、一方で塩素や UV による消毒工程での高コスト、高エネルギー消費が問題となった。

消毒剤に頼らない病原性微生物の処理技術として、膜処理が挙げられる。膜処理の利点としては、i) 安定的なろ過水質、ii) 省スペース化、iii) 後段の消毒効

果の安定的な達成 などがある。また、ウイルス除去においては、凝集処理と膜処理を組み合わせた浄水処理によってウイルス除去が可能であることが知られている⁴⁾。

そこで本研究では、Full Treatment に替わるプロセスとして凝集処理と膜処理を組み合わせた処理プロセスを検討し、“Title22”の基準の 5 log 以上のウイルス除去を基準に下水再生処理プロセスへの適用可能性を調べた。

2. 実験方法

2.1 限外ろ過膜および処理プロセス

本実験では、公称孔径 0.01 μm、公称分画分子量 150kDa のポリフッ化ビニリデンの UF 膜(東レ株式会社製)を用い、UF 膜および処理プロセス全体のウイルス除去性能を調べた。

また処理プロセスとしては、ポリ塩化アルミニウム(PAC)による凝集処理と UF 膜処理を組み合わせた以下の 3 つのプロセスを滋賀県内 A 下水処理場、沖縄県内 B 下水処理場において二次処理水を用いて検討した。

- ・ Process.1: 凝集→UF 膜
 - ・ Process.2: 凝集沈殿→(上澄み)→UF 膜
 - ・ Process.3: 凝集沈殿→(上澄み)→凝集→UF 膜
- 各プロセスの概要を Fig. 1~3、凝集剤の添加量を Table 1 に示す。

本研究では、UF 膜の前処理に凝集処理を 1 回行う Process 1, 2 を 1 段凝集プロセス、凝集処理を 2 回行う Process 3 を 2 段凝集プロセスとした。

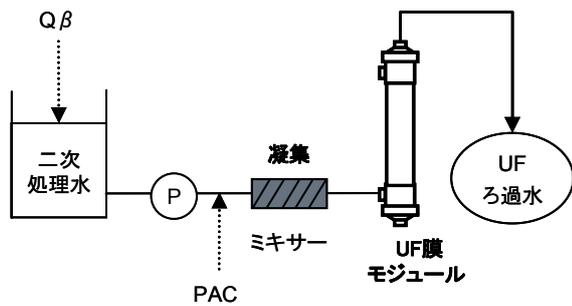


Fig. 1: Outline of Process 1

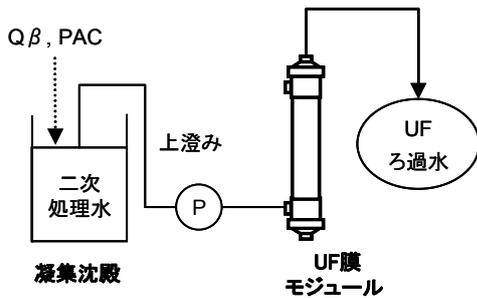


Fig. 2: Outline of Process 2

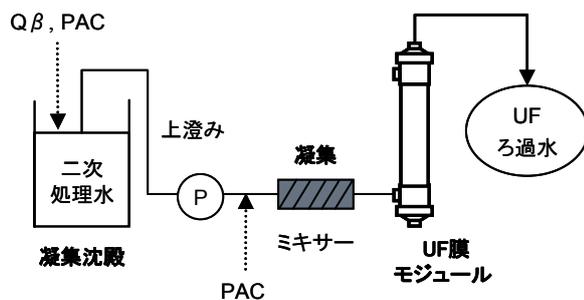


Fig. 3: Outline of Process 3

Table 1: Experimental condition

	PAC 添加濃度 (mg/L)		実験回数
	凝集沈殿	凝集	
Process 1	—	20	A:6, B:2
Process 2	50	—	A:1
Process 3	50	20	A:2, B:2

2.2 ウィルス

本実験では、人への感染力がなく、容易に培養可能な Bacteriophage Q β (NBRC 20012)をモデルウイルスとして用い、除去性能を評価した。この Q β は一本鎖の RNA ウィルスであり、大きさは約 23nm、構造は正二十面体と A 型肝炎ウイルスやポリオウイルスなどの腸管系ウイルスと大きさ・構造が似ている。

Q β の培養は、*E.coli* K12F+(A λ)(NBRC 13965)を宿主菌として行った。LB 培地中で *E.coli* を対数増殖期に達するまで 37 $^{\circ}$ C、3~4 時間培養した後、Q β を添加し、更に 37 $^{\circ}$ C で 18~24 時間培養した。培養後、孔径 0.45 μ m のメンブレンフィルター(セルロース混合エステル、Advantec 社製)でろ過し、高濃度原液を

得た。

Q β 濃度の測定は、Table 2 に示した培地組成の重層寒天培地法⁶⁾により行った。滅菌済みシャーレ上で固化させた下層寒天培地に試料 1mL を加え、培養した *E.coli* を混ぜた上層寒天培地で試料を重層し、均一になるように素早く攪拌して固化させた。18~24 時間 37 $^{\circ}$ C で培養させた後、形成したプラーク数を数え、プラーク数が 30~300 の範囲にある希釈系列を採用し、PFU(Plaque Forming Unit)/mL として求めた。

Table 2: Composition of the culture media

	上層培地	下層培地
	g/1L·Milli-Q	
LB Broth	20	20
Bacto Agar	8	11
CaCl ₂ ·H ₂ O	1	1

2.3 サンプル処理

懸濁物質に吸着したウイルスの分離および測定を阻害する細菌類の除去のために、試料を孔径 0.45 μ m のメンブレンフィルター(セルロース混合エステル、Advantec 社製)で吸引ろ過し、膜面残渣とろ液に分けて分析を行った。膜面残渣中の Q β は pH9.5、3%w/v のビーフエキスで抽出して、懸濁態 Q β として求めた。また、本研究では懸濁物質を 0.45 μ m 以上の大きさを持つ物質とした。ろ液中の Q β は懸濁物質に吸着していなかった、つまり浮遊態 Q β として求めた。

2.4 Q β ファージの輸送条件の検討

沖縄での実験の際は、当研究室で Q β 高濃度原液の作成およびサンプル中の Q β 濃度測定を、B 下水処理場においてサンプルの前処理をするため、研究室(滋賀県)~沖縄間で Q β 高濃度原液、および前処理したサンプルの輸送を行った。そこで、Q β の活性が維持されるような適切な輸送温度の検討を行った。保存温度としては、クール便を想定した 4 $^{\circ}$ C および対照として 25 $^{\circ}$ C とし、1, 2, 3, 4, 6 日後の Q β 濃度を測定した。なお、研究室~沖縄間の輸送期間は 2 日間である。試料は、Q β の高濃度原液に加えて、サンプル処理後の試料を想定し、2.3 で示した孔径 0.45 μ m のメンブレンフィルターでろ過した二次処理水、ビーフエキスに 10²、10⁶ 倍希釈され、10⁷~10⁸、10³~10⁴(PFU/mL)になるように Q β 原液を添加したものとした。

3. 結果および考察

3.1 Q β ファージの保存温度の検討結果

4 $^{\circ}$ C、25 $^{\circ}$ C で 6 日間保存した Q β 濃度変化を Fig. 4~6 に示す。4 $^{\circ}$ C で保存した試料では、全ての試料で Q β 濃

度の変化が小さく、輸送期間の2日間での低下は0.3 log以下であった。しかし、Qβ原液、二次処理水が6日間で0.1 log以下のQβ濃度の低下であるのに対して、ビーフエキスでは6日間で約0.6 logと若干の低下が見られた。一方、25°Cで保存した試料では、Qβ原液のみ濃度変化は小さいが、二次処理水、ビーフエキスでは著しく減少し、輸送期間の2日間での低下は3 log以上であった。二次処理水、ビーフエキスで10⁶倍希釈した試料では3日後にはプラークが検出されなかった。

これらの結果から、25°Cに対して4°Cでの保存が適切であり、輸送期間の2日間ではQβは活性を維持することが分かった。

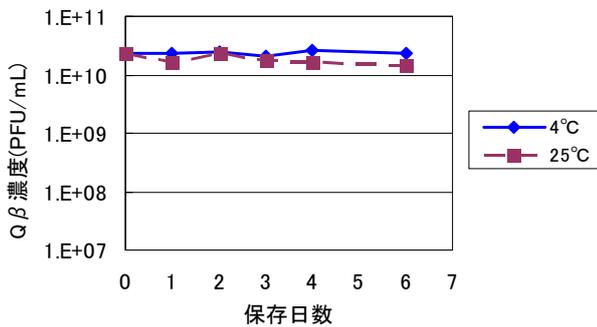


Fig. 4: Activity change of Qβ in stock solution

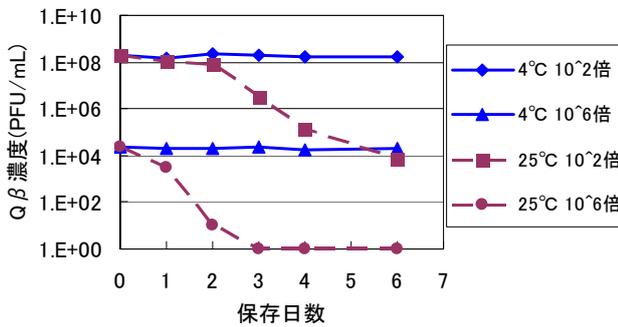


Fig. 5: Activity change of Qβ in filtered secondary effluent

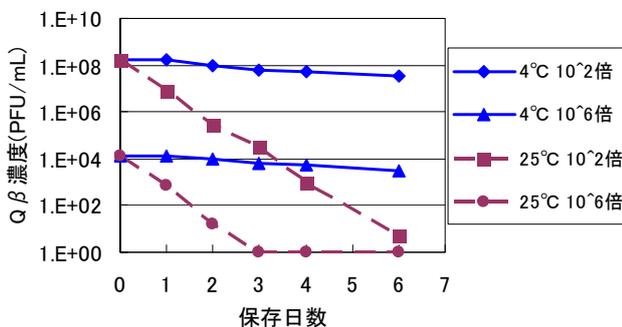


Fig. 6: Activity change of Qβ in filtered beef extract

3.2 A 下水処理場でのウイルス除去性能評価

始めに滋賀県内のA下水処理場で行ったProcess 1, 2, 3によるウイルス除去実験結果をFig. 7に示す。プロセス全体の除去率を見てみると、1段凝集プロセスのProcess 1, 2では、約3 logと目標の5 logに比

べて低い値となった。一方、2段凝集プロセスのProcess 3では、8 log以上の高除去率が得られた。各プロセスにおいてUF膜での除去が全処理プロセスのQβ除去の中心となっているが、Process 3では凝集沈殿の除去率が高くなっているもののUF膜での除去率がProcess 1, 2に比べて2 log以上高い値となった。

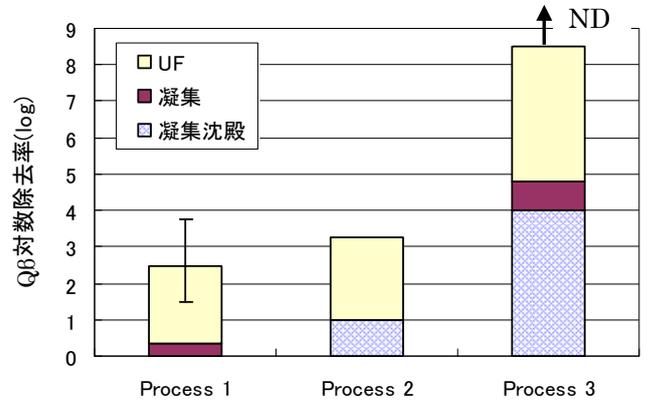


Fig. 7: Average of Qβ log removal at WWTP A

3.3 B 下水処理場でのウイルス除去性能評価

続いて、B下水処理場においてProcess 1, 3によるウイルス除去実験を行い、実際の再利用のフィールドにおいて処理プロセスの適用可能性を検討した。その結果をFig. 8に示す。

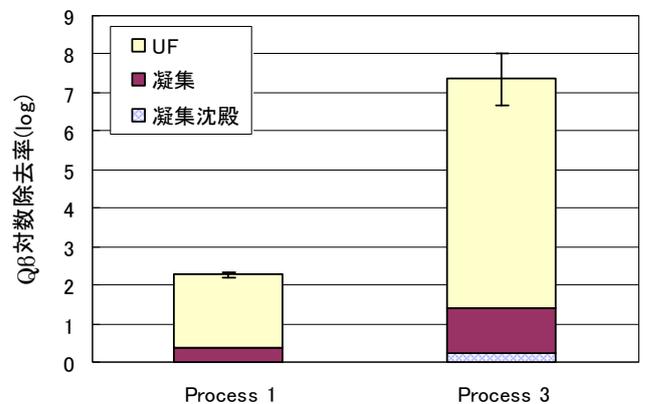


Fig. 8: Average of Qβ log removal at WWTP B

B下水処理場においても、Process 3は約7 logの除去率となり、Title 22の基準を達成することが示された。特に、UF膜での除去率がProcess 1に比べて4 logも高い値となった。これらの結果から、沖縄においてもProcess 3のウイルス除去における有効性が示され、沖縄での再生処理プロセスに適用可能であることが示唆された。また、2段凝集によりUF膜でのウイルス除去性能が向上することが分かった。

3.4 UF膜によるウイルス除去性能

水中のウイルスは懸濁物質に取り込まれるものも多く存在するが、液相中に浮遊しているものも存在する。

本研究では、これらを懸濁態 QB、浮遊態 QB と分類したが、凝集処理により他の粒子と同様に負に帯電したウイルスが中和され、懸濁物質に取り込まれるウイルス量が増え（浮遊態から懸濁態への移行）、またウイルス同士の凝集が進み UF 膜でのウイルス除去が向上されることが期待される。

そこで、これらの凝集処理の効果を UF ろ過原水中での懸濁態 QB と浮遊態 QB の濃度比、および浮遊態 QB の UF による除去率で評価した。

(1) UF ろ過原水中での懸濁態および浮遊態 QB の濃度比

UF ろ過原水中での懸濁態および浮遊態の QB 濃度をそれぞれ C_s , C_f とし、その濃度比 P を以下の式で表した。また、各プロセスにおける濃度比 P を Fig. 9 に示す。

$$P = \log (C_s/C_f)$$

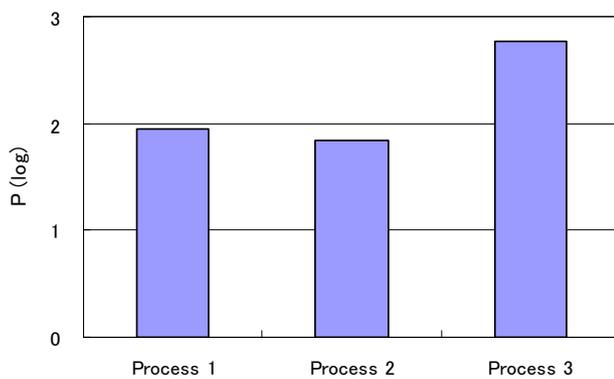


Fig. 9: Average of P of Process 1, 2, and 3

各プロセスとも 2 log 以上の P 値を得て、ほぼ全ての QB が懸濁物質に吸着しており、各プロセス間に大きな違いは見られなかった。

(2) 浮遊態 QB の UF による除去

UF 膜により懸濁物質が完全に除去されるため、UF ろ過水中には浮遊態 QB として存在していると考えられる。そこで、UF ろ過水中の QB 濃度を C_{UF} として浮遊態 QB の UF による除去率 R_f を次式で求めた。また、各プロセスの除去率 R_f を Fig. 10 に示す。

$$R_f = \log (C_f/C_{UF})$$

2 段凝集プロセスの Process 3 による浮遊態 QB の対数除去率は、1 段凝集プロセスの Process 1, 2 に比べて約 2 log 高い除去率となった。このことから水中の QB が 2 段凝集（凝集沈殿→凝集）により QB 同士で凝集するか、 $0.45 \mu m$ 以下の粒子に吸着することでウイルス粒子が大きくなり UF 膜での除去率が向上されたと示唆された。

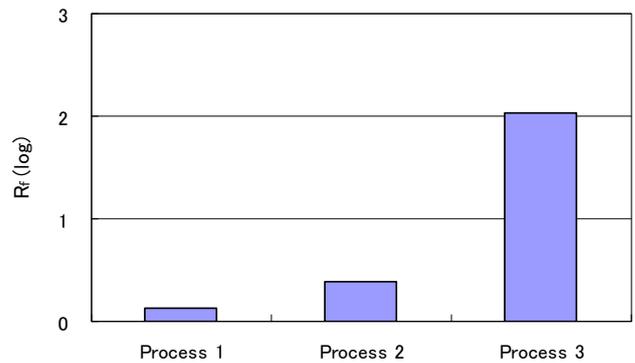


Fig. 10: Average of R_f of Process 1, 2, and 3

4. まとめ

本研究で得られた知見をまとめる。

- 研究室（滋賀県）－沖縄間のサンプルの輸送温度条件の検討を行ったところ、高濃度原液、メンブレフィルターでろ過した二次処理水およびビーフエキス中で $4^\circ C$ 保存すると、6 日間は QB の活性が維持されることが分かった。
- Process 1（凝集→UF）、Process 2（凝集沈殿→UF）において約 3 log 程度の QB 除去率となった。
- Process 3（凝集沈殿→凝集→UF）では、7~8 log の QB 除去率となり、Title 22 基準の 5 log 以上のウイルス除去を達成することが分かった。
- 2 段凝集（凝集沈殿→凝集）により 1 段凝集（凝集、凝集沈殿）に比べて UF 膜によるウイルス除去効果が向上した。

参考文献

- 1) 田中宏明, 浅野孝: 農業灌漑への下水処理水再利用—沖縄でのわが国初の本格的な計画—, 再生と利用, 29(114), 6-13 (2006)
- 2) 国土交通省・国土技術政策総合研究所: 下水処理水の再利用水基準等のマニュアル (2005)
- 3) State of California, Water recycling criteria, California Code of Regulations, Title 22, Division 4, Chapter 3. (2000)
- 4) T. Matsushita, Y. Matsui, N. Shirasaki, Y. Kato: Effect of membrane pore size, coagulation time, and coagulant dose on virus removal by a coagulation-ceramic microfiltration hybrid system, Vol.178, pp.21-26(2005)
- 5) Liv Fiksdal, TorOve Leiknes: The effect of coagulation with MF/UF membrane filtration for the removal of virus in drinking water, Journal of membrane science, Vol. 279, pp.364-371(2006)
- 6) 大瀧雅寛: 大腸菌フェージ測定法, 東大都市工版