

水道の高度浄水処理過程におけるエンドトキシン活性の挙動

Fate of endotoxin activity in the course of advanced water purification process

○島崎大、小坂浩司、秋葉道宏

国立保健医療科学院 生活環境研究部 水管理研究領域

論文要旨

国内の4箇所の浄水場にて、2016年秋に高度浄水処理過程におけるエンドトキシン(ET)の挙動解明を目的とした採水調査を実施した。従来処理である凝集・沈殿処理後には、水中に溶解する遊離型ET活性値と、細菌の細胞壁等に存在する結合型ET活性値の両方が有意に低下していた。一方、オゾン処理および粒状活性炭ろ過を経ると、特に遊離型ET活性値が大幅に上昇した。高度浄水処理後に砂ろ過等の後処理を施すことで、水中の残留ETを制御することが可能と考えられた。

Field surveys on the fate of endotoxin (ET) activity were conducted at four Japanese drinking water purification plants in autumn 2016. Chemical coagulation followed by sedimentation significantly decreased ET activity dissolved in water (free-ET) and that associated with bacterial cell walls (bound-ET). Ozonation followed by granular activated carbon filtration drastically increased free-ET. Post water purification, *e.g.*, post sand filtration, would be the key to control residual ET in finished water.

キーワード：浄化処理、微生物、有害物

1. はじめに

エンドトキシン(ET)とは、強い免疫反応を惹起する生理活性物質であり、血液を介して体内に入ると炎症やショックなどの症状を起こすことが知られている。環境中に広く常在しているグラム陰性菌の細胞外膜に多く存在し、細菌が適切に消毒された水道水であってもETは残存する。ごく微量でも発熱や炎症を引き起こすため、医療分野では注射剤や医療機器等のET汚染に対して厳格な管理が求められている。とりわけ、透析治療では大量の医療用水(透析用水)が用いられるため、病院で透析用水の原水として水道水を用いる場合には、その水質管理に留意が必要であると指摘されている¹⁾。また、国内外の浄水場や下水処理場等を対象とした調査研究において、粒状活性炭や生物活性炭のろ過を経てETが上昇することが報じられている^{2,3,4,5)}。本研究では、高度浄水処理過程におけるETの存在状況や制御方法を明らかにすることを目的として、国内の浄水場を対象としたETの採水調査を行った。

2. 研究方法

2.1 国内浄水場における試料採水

2016年9月および10月の各1回、国内4箇所の高度浄水処理を導入している浄水場において、原水、処理工程水、浄水を採取した。表-1に各浄水場の処理工程および採水地点を示す。試料の採水には100mLガラス製褐色ねじ口瓶を用い、Milli-Q水により十分洗浄した後、高圧蒸気滅菌(115°C・20分)を行った。原水以外の採水瓶には、あらかじめチオ硫酸ナトリウム粉末を添加し、採水の直後に残留オゾンあるいは残留塩素を消去した。各採水瓶は満水として密栓、採水当日中に冷蔵便にて輸送し、著者らの研究施設に到着しだい、すみやかにET活性値および従属栄養細菌数(HPC)の測定に供した。

2. 2 ET 活性値の測定

ET 活性値の測定は、比濁時間分析法により行い、トキシノメーターミニおよび LAL ミニ試薬（いずれも富士フイルム和光純薬工業製）を用いた。当分析装置による測定範囲が 0.001~0.25 EU/mL であることから、各試料とも Milli-Q 水により 100 倍ないし 1000 倍希釈した。各試料 0.3mL を LAL ミニ試薬入り試験管に添加、トキシノメーターミニに挿入し、反応温度 37°C におけるゲル化時間（測定波長 660 nm の透過光量比が 92% まで低下するのに要する反応時間）に基づいて ET 活性値を算出した。

なお、各試料の全面分の測定値を総 ET 活性値、試料を 14,000rpm で 10 分間遠心分離して細胞等に結合した ET を分離した上清画分の測定値を遊離型 ET 活性値、両者の差分を結句型 ET 活性値と定義した。

2. 3 HPC の測定

HPC の測定は上水試験方法に準じて行った。滅菌済リン酸希釈水を用いて平板 1 枚あたり 30~300 個のコロニーが形成されるよう希釈を繰り返し、希釈試料 1mL を R2A 寒天培地（ベクトン・ディッキンソン社製）と混釈、寒天培地を重層し平板培地を作成した。インキュベータ内にて 20°C・7 日間静置培養した。各平板培地に形成されたコロニーを計数し、平均値および希釈倍率により HPC を算出した。

表-1 採水対象とした浄水場の浄水処理過程および採水箇所

浄水場	原水	浄水処理過程 (*:採水箇所)
A	河川A	原水* - 凝集 - 沈澱* - オゾン* - 急速ろ過* - オゾン* - 粒状活性炭* - 塩素 - 浄水*
B	河川A	原水* - 凝集 - 沈澱* - 急速ろ過* - オゾン* - 粒状活性炭* - 塩素 - 浄水*
C	河川A	原水* - 凝集 - 沈澱* - オゾン* - 粒状活性炭* - 中塩素* - 凝集* - 急速ろ過 - 浄水*
D	河川B	原水* - 凝集 - 沈澱* - 急速ろ過* - オゾン* - 粒状活性炭* - 塩素 - 凝集 急速ろ過* - 塩素 - 浄水*

3. 結果

図-1 に各浄水場の処理工程における遊離型 ET 活性値、結句型 ET 活性値、ならびに総 ET 活性値に占める遊離型 ET 活性値の割合を示す。各水道原水における総 ET 活性値は 49.2~100.0 EU/mL の範囲であり、大河内らによる本邦の先行研究⁴⁾よりも全般に低い値であった。各浄水場とも、浄水処理工程の前段に位置する凝集および沈澱処理によって、各画分の ET 活性値は最大 95% まで減少した。なお、浄水場 C の粒状活性炭ろ過後の再凝集では、遊離型 ET 活性値が減少、結句型 ET 活性値が増加していた。

一方、高度浄水処理であるオゾン処理および粒状活性炭ろ過を経た後に、ET 活性値は大幅に増加した。オゾン処理により、各浄水場とも結句型 ET 活性値は減少、遊離型 ET 活性値は増加し、総 ET 活性値は前段の処理水よりも増加（浄水場 B,C）または減少（浄水場 A,D）した。粒状活性炭ろ過を経て各画分の ET 活性値は大幅に増加し、オゾン処理水と比較して遊離型が平均 1.6 倍、結句型が平均 2.2 倍となった。

急速ろ過前後の ET 活性値は、各浄水場の処理プロセスの構成により挙動が異なっていた。凝集・沈澱処理の直後に急速ろ過を行う場合（浄水場 B,D）、粒状活性炭ろ過後に再凝集と急速ろ過を行う場合（浄水場 C,D）はいずれも各画分の ET 活性値は減少した。一方、凝集・沈澱処理後にオゾン処理を経て急速ろ過を行う場合（浄水場 A）は、結句型 ET 活性値は減少したものの、遊離型 ET 活性値の増加が観察された。

中塩素または後塩素処理により各画分の ET 活性値は浄水場 A,C,D にて増加、浄水場 B にて減少した。

総 ET 活性値に占める遊離型 ET 活性値の割合は、各浄水場とも原水は約 50%、浄水は約 80% であった。凝集・沈澱処理により結句型の割合がいったん増えるものの、浄水処理過程を経るにつれて遊離型の割

合が徐々に上昇する傾向にあった。

図-2に各浄水場の処理工程におけるHPCを示す。原水中のHPCは平均値として $3.7 \times 10^4 \sim 8.1 \times 10^5$ CFU/mLであった。凝集・沈澱処理により1桁前後低減し、オゾン処理後は不検出 $\sim 4.0 \times 10^2$ CFU/mLの範囲まで減少したものの、粒状活性炭ろ過後には $6.9 \times 10^1 \sim 1.2 \times 10^3$ CFU/mLまで再び増大した。後段の塩素処理により、浄水中のHPCは不検出 $\sim 1.0 \times 10^0$ CFU/mLまで不活化された。

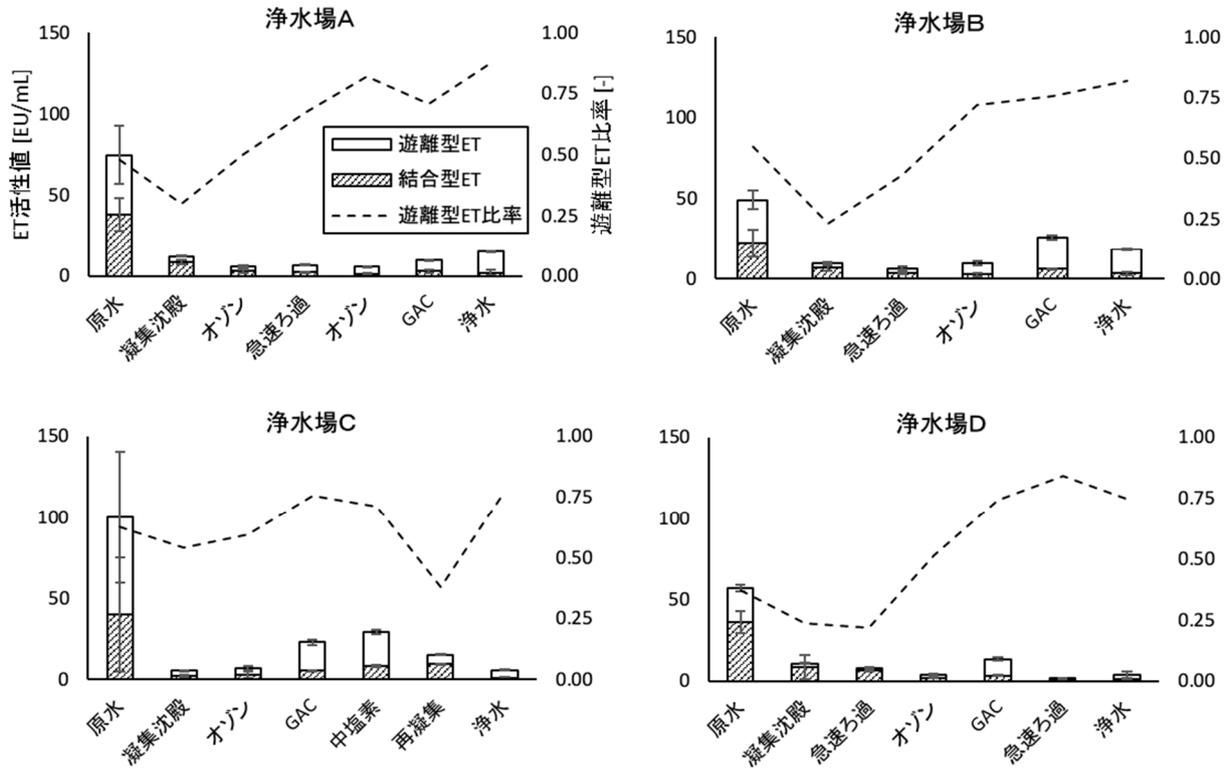


図-1 各浄水場の処理工程におけるエンドトキシン(ET)活性の挙動

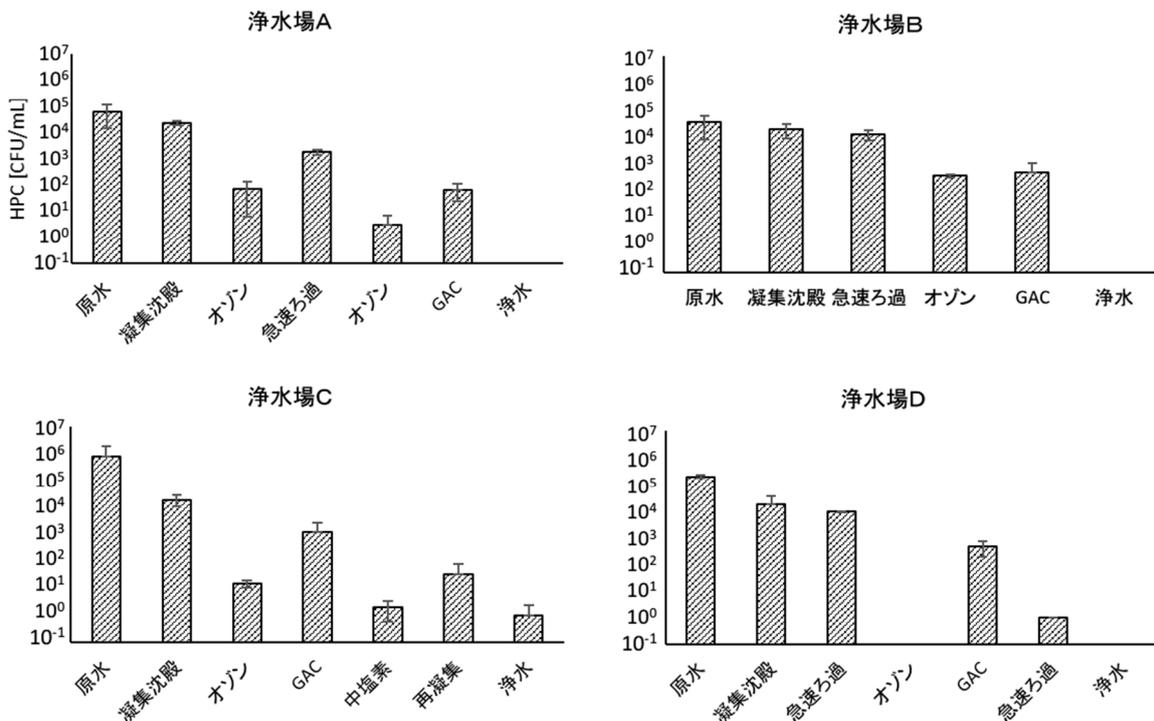


図-2 各浄水場の処理工程における従属栄養細菌数(HPC)の挙動

4. 考察

高度浄水処理であるオゾン処理および粒状活性炭ろ過による ET 活性値の大幅な増加は、既往の研究報告^{2,3,4,5)}と整合しており、これは活性炭ろ過後の HPC の増加傾向とも一致していた。活性炭ろ過槽の内部に棲息するグラム陰性菌のろ過水への流出により結合型 ET 活性値が、また、グラム陰性菌の死滅に伴う ET の流出により遊離型 ET 活性値が、それぞれ増加したと考えられる。

オゾン処理および塩素処理の双方にて、遊離型 ET 活性値の大幅な増加が観察された。酸化反応による ET 活性の挙動としては、①グラム陰性菌の健全な細胞外壁が酸化され結合型 ET 活性が増加する、②細胞外膜の酸化が進行して ET が水相に溶出し遊離型に移行する、③ET の活性部位が酸化により失活する、各現象が関わりと推定される。純菌株を用いた卓上の塩素処理実験により③の反応は緩やかであると確認されているため⁶⁾、オゾン処理においても同様に、ET の失活には時間を要している可能性がある。

粒状活性炭ろ過の後に砂ろ過や再凝集といった後段処理が設けられている場合、高度浄水処理により増加した ET 活性値を再び抑制することが可能であると考えられた。

5. おわりに

浄水中に含まれる ET 活性値は、当該の浄水場における浄水処理プロセスの構成や運転条件に大きく依存しており、塩素やオゾン等における酸化反応、ならびに、粒状活性炭（生物活性炭）ろ過における細菌や ET の流出が、ET 活性値の増大に寄与することが示された。浄水中の ET 活性を抑制するためには、高度浄水処理後に再凝集や砂ろ過といった後処理を施すことが鍵になると考えられる。

謝辞

本研究は 2014-17 年度 JSPS 科研費基盤(C)一般 26420540 「水道原水・医療用水中のエンドトキシン活性ならびに生成能の存在状況に関する研究」(研究代表者：島崎大) の助成を受けた。また、本研究の一部は 2016 年度国立保健医療科学院 短期研修「水道工学研修」特別研究の一環として実施した。ET 活性値および従属栄養細菌数の測定と解析に協力いただいた宇津木紀昭氏（埼玉県企業局）、具志堅拓実氏（沖縄県企業局）、助川英志氏（茨城県企業局）、笠倉孝志氏（国立保健医療科学院・当時）に謝意を表す。

参考文献

- 1) 峰島三千男, 川西秀樹, 阿瀬智暢, 川崎忠行, 友雅司, 中元秀友, 2016. 2016 年版透析液水質基準. 日本透析医学会雑誌 49, 697-725.
- 2) Burger, J.S., Grabow, W.O.K., Kfir, R., 1989. Detection of endotoxins in reclaimed and conventionally treated drinking water. *Wat. Res.* 23, 733-738.
- 3) de Man, H., Heederik, D.D.J., Leenen, E.J.T.M., de Roda Husman, A.M., Spithoven, J.J.G., van Knapen, F., 2014. Human exposure to endotoxins and fecal indicators originating from water features. *Wat. Res.* 51, 198-205.
- 4) Ohkouchi, Y., Ishikawa, S., Takahashi, K., Itoh, S. 2007. Factors associated with endotoxin fluctuation in aquatic environment and characterization of endotoxin removal in water treatment process. *Environ. Eng. Res.* 44, 247-254.
- 5) Simazaki, D., Hirose, M., Hashimoto, H., Yamanaka, S., Takamura, M., Watanabe, J., Akiba, M. 2018. Occurrence and fate of endotoxin activity at drinking water purification plants and healthcare facilities in Japan. *Wat. Res.* 145, 1-11.
- 6) 島崎大, 笠倉孝志 秋葉道宏, 里見翔, 三谷駿太, 小沼晋, 齋藤利晃, 2016. 浄水処理の凝集沈殿・砂ろ過・塩素消毒過程におけるエンドトキシン活性の挙動. 第 50 回日本水環境学会年会講演集, 460.