

高濃度溶解気体による低コスト・薬品無使用・オンデマンド型飲用水消毒方法の開発

研究代表者 山口大学大学院理工学研究科環境共生系専攻 教授 今井 剛

1. 緒言

従来、水の殺菌にはほとんどの場合に塩素が用いられてきた。それは、病原菌に対して卓越した殺菌効果を示し、効果の持続性も長く、安価で取り扱いも比較的容易であるためである。しかしながら、塩素と微量有機物の反応によるトリハロメタン（THM）のような有機塩素化合物の生成によるその発癌性が問題視されている。近年では、塩素消毒によって殺菌できないクリプトスポリディウム原虫等が確認されている。また、塩素耐性が高いとされるノロウィルスの様なウィルスも確認され、ウィルスによる水系感染が問題となっている。このような場合、水系感染を防ぐのは非常に難しいのが現状である¹⁾³⁾。これらの問題は発展途上国ではさらに顕著でありその解決が強く望まれている。既往の新規技術は発展途上国にとっては適用が困難なものが多く導入が困難なため⁴⁾⁶⁾（オゾンや紫外線等はコスト高で導入が困難）、衛生的な安全性を確保するのが極めて困難である。本研究は上述の問題を解決するため、塩素代替技術として新しい物理的殺菌技術を考案し、これまでに前例のない高濃度溶解気体による殺菌技術の開発を遂行してきた⁷⁾。高濃度溶解気体による殺菌技術は、水道水圧程度の圧力を利用して、高濃度に気体が溶解した水を微生物体内へ浸透させ、その後に急激に減圧（大気圧へ解放）させることで微生物の細胞内で溶解気体が急激に発泡、発達して、微生物を物理的に破壊することで殺菌（膨化殺菌）を行うものである（例えばポンポン菓子の製法）。これを既存のシステムへ適用する（この場合は主に水道の蛇口に設置することを想定、浄水処理場等へも適用可）ことで従来にない確実に安価・安心な殺菌技術の開発を行う。さらに、タイ・バンコクにおける実証試験の実施による評価を行い、その実効性を検証する。

本研究で開発を行う殺菌技術は、通常用いられているより遙かに小さい圧力処理による膨化殺菌（通常は数百 MPa という大きな圧力を用いるが、本研究では 0.2-0.5MPa という水道水圧程度の圧力を用いる）とその対象をウィルスなど極小サイズのものから原虫などかなり大きなサイズ（微生物の中では）まで、幅広い範囲をカバーしている。また、①殺菌剤として薬品ではなく気体（空気や無害気体）を用いること（安全・安心）、②圧力処理に用いる圧力が水道水圧のみであること（コストゼロ・安価）、③水道使用時に蛇口にて必要量のみ確実に殺菌できること（無駄のない殺菌・便利かつ確実）、という特色を有する。この研究開発により、我が国における殺菌技術の向上のみならず、特にそれを危急に必要とするアジア等の発展途上国における衛生環境の速やかな改善の一助となすことができると考えられる。

上述のように、オゾン処理や紫外線処理をはじめとする代替塩素技術が研究・開発されてきたが、コストの増大や既存処理施設への適用が困難である等の多くの問題を抱えている⁴⁾⁻⁶⁾。そこで本研究は、高濃度溶解気体を用いた極めて単純でありながら確実に、可能な限り安価で既存のシステムに適用可能な装置を考案した⁷⁾。本研究で考案した気体溶解装置のベースとなるものは、大量の高濃度酸素溶解水を生成し、湖沼等の底泥近傍の貧酸素水域にそれらを送り込むことを目的に申請者が所属する研究グループにより開発され⁸⁾、実際にその効果を発揮しているものである。この装置を応用して、高濃度気体溶解装置を考案し、それを既存のシステムへ適用することで、従来にない殺菌技術の開発を目指し、研究を進めてきた⁷⁾。本研究は大きく分けて2つの目的があるが、その1つは原虫類などそのサイズに関係なく殺菌できる高濃度気体溶解技術を用いた殺菌技術の開発であり、細菌類だけでなくウィルス類に対しても効果のある殺菌装置の開発・改良ならびにその運転条件の確立を行うことである。さらにもう1つの目的は、発展途上国現地（タイ・バンコク）における実証実験による検証を行い実用的な研究開発を実施することである。

一方、本研究の実施により、我が国における殺菌技術の向上が望めるのみならず、特にそれを危急に必要とするアジア等の発展途上国において、安価・安全かつ安心・確実に便利な殺菌装置を提供することができる。このことはすなわち途上国の衛生環境の速やかな改善に資することであり、これが本研究の最終的な目標である。

2. 高濃度二酸化炭素溶解水を用いた処理対象水の違いが糞便性大腸菌の殺菌効果に及ぼす影響に関する検討

2.1 実験目的

本研究の目的の一つとして挙げた、本法の発展途上国への適用性を把握するため、発展途上国現地（タイ・バンコク）における実証実験による検証を行った。本実験では、より汚染が深刻なタイの首都バンコクにおいて、水質の異なる複数の環境水および消毒前の下水処理水を処理対象水とし、殺菌対象微生物としては、より糞便汚染の度合いや病原性の調査に適しているとされる「糞便性大腸菌群」を選定した。

2.2 実験方法

図1に実験装置の概略を示す。本実験では高濃度に溶解させる気体として二酸化炭素を用いる。処理対象水(約7ℓ)を二酸化炭素で満たされた装置内

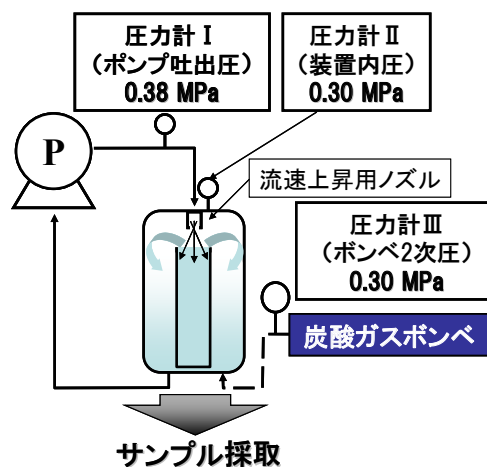


図1 実験装置概略図および圧力条件

とポンプとの間をある一定時間循環させることで二酸化炭素を十分に溶解させ、その後、装置外へ吐出させ、高濃度二酸化炭素溶解水を生成させる。

サンプリングは、ポンプを作動させ、装置内圧が 0.2MPa に安定した時点を 0min とし、処理時間 1,3,5,7,10,15,20[min]の時点で行った。得られたサンプルについて、下水試験方法⁹⁾にしたがい、デオキシコール酸塩培地を用いた重層培養法により 44.5℃、18～20 時間で培養し、糞便性大腸菌群数を測定する。測定結果(CFU/ml)について、以下に示す式(1)を用いて殺菌率(%)を算出し、考察を行った。

$$\text{殺菌率(\%)} = (a - b) / b \times 100 \cdots \cdots (1)$$

ここに、a：処理前の菌数 b：処理後の菌数

2.3 処理対象水について

表 1 に用いた処理対象水の一覧を示す。本実験で選定した処理対象水はタイにおける環境水および消毒前の下水処理水である。タイの都市部を流れる河川および運河は家庭からの生活排水による汚染が深刻化しており、糞便性大腸菌群等が多く検出される。したがって本実験ではタイにおける環境水の中でも汚染の深刻な河川および運河水を処理対象水とした。加えて、タイ・バンコク内の下水処理場から消毒前下水処理水を採取し、これらについても実験を行った。

表 1 処理対象水一覧

No.	サンプル名	
1	Thung Khru WWTP	消毒前処理水①
2	Chatuchak WWTP	消毒前処理水②
3	Chao Phraya river	河川水①
4	Nhong Kham WWTP	消毒前処理水③
5	Nong Khaem canal	運河水①
6	Klong Song Hong	運河水②
7	Saan Sab canal	運河水③
8	On Nut WWTP	消毒前処理水④

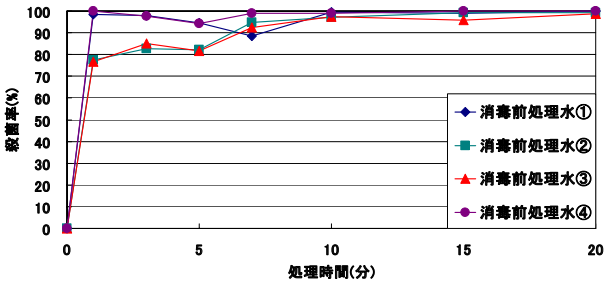


図 2 消毒前の下水処理水を用いた実験結果

2.4 実験結果及び考察

図 2 に消毒前の下水処理水を処理対象水として用いた場合の糞便性大腸菌に対する殺菌率の経時変化を、図 3 に運河や川などの環境水を処理対象水として用いた場合の糞便性大腸菌に対する殺菌率の経時変化を示す。

図 2 から、消毒前の下水処理水を処理対象水として用いた場合すべてのサンプルにおいて 20 分の処理時間でほぼ 100% の殺菌率を得ることができたこ

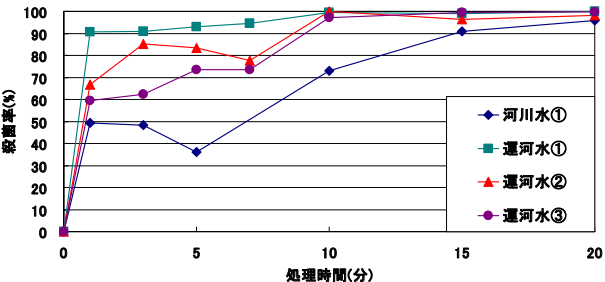


図 3 環境水を用いた実験結果

とがわかる。しかし、それぞれのサンプルにおける経時変化に着目すると、その傾向が異なっていた。処理開始 1 分で既に 100% 近い殺菌効果を得ることができた消毒前処理水①④に対し、消毒前処理水②③は開始 1 分では 80% 弱の殺菌効果を得る結果となった。

図 3 から、運河や川などの環境水を処理対象水として用いた場合すべてのサンプルにおいて 20 分の処理時間でほぼ 100% の殺菌率を得ることができたことがわかる。しかし、環境水を用いた場合も消毒前の下水処理水を用いた場合と同様に、それぞれのサンプルにおける経時変化に着目すると、その傾向が異なっていた。環境水を用いた場合では、処理開始からの 1 分間の立ち上がりがそれぞれで異なるものとなった。1 分～10 分の殺菌率のばらつきに関しては別途行った初期温度に関する実験から、中温菌である糞便性大腸菌が対象菌であるため、初期温度がより常温に近い水の方が、殺菌率が良くなったと考えられる。運河水①の殺菌率が良いが、これは内圧の設定の違いがあったためである。通常では、内圧を 0.2MPa に設定するところ、0.3MPa 程度まで上昇してしまったため、高い殺菌率が得られたと考えられる。河川水①の実験結果では異形を示したが、これもまた内圧の設定の違いであると考えられる。河川水①の場合は、処理開始から 1 分間の内圧が 0.2MPa に満たない状態で実験を行ってしまったことが低い殺菌率となった要因と考えられる。

また、昨年度に実施したタイ、バンコクにおける同様の殺菌実験に関する処理対象水の一覧を表 2 に、その実験結果を図 4 に示す。

本年度と昨年度の実験結果すべてを比較すると、どの処理対象水を用いた場合でも 20 分間循環後は、殺菌率がほぼ 100% となった。しかし、処理開始から 1 分から 10 分の立ち上がりに差がでる結果となった。この差については、上述のように装置・ポンプの変更や内圧などの条件の違いが要因として挙げられる。

表 2 昨年度 処理対象水一覧

No.	サンプル名	
1	Chong Nonsri WWTP	消毒前処理水⑤
2	Dindeng WWTP	消毒前処理水⑥
3	Si Phraya WWTP	消毒前処理水⑦
4	Chao Phraya river	河川水②
5	Pathumthani klong	運河水④
6	Bang Sue	運河水⑤

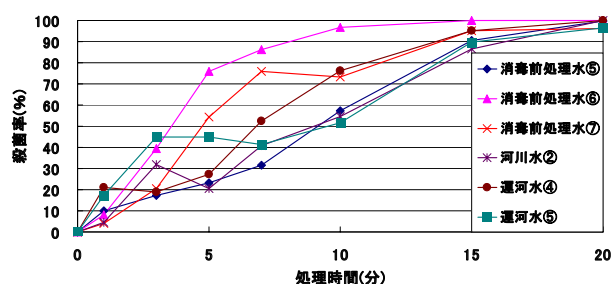


図 4 昨年度の実験結果

3. 高濃度二酸化炭素溶解水を用いた T4 フェージに対する殺菌効果の検討

3.1 実験の目的

本研究の一つの目的である、原虫類やウィルスなどそのサイズに関係なく殺菌できる高濃度気体溶解技術を用いた殺菌技術の開発のために、本実験では、ノロウィルスなど

の水系感染の問題があるウィルスに対しての本法の殺菌効果を確認する実験を行った。本実験では、比較的扱いが容易で、大腸菌に寄生し、死滅させることで生死が確認しやすいウィルスである T4 ファージを対象として殺菌効果の検討を行うことを目的とする。

3.2 高濃度二酸化炭素溶解水によるウィルスの殺菌に関する検討

3.2.1 実験方法

本実験では 2.2 に示す実験方法と同様の方法で実験を行った。実験の手順としては高濃度気体溶解装置内に二酸化炭素を充填した後、装置内に T4 ファージ(*Escherichia coli bacteriophage* T4 ATCC11303-B4)を含む処理対象水 7 L(濃度調整を行った T4 ファージを蒸留水 7L に入れてよく攪拌したものを)流入させる。その後炭酸ガス流入圧を 0.3MPa となるように調節した。このときのポンプ吐出圧が 0.38 MPa となるようにポンプを作動させ、ポンプ吐出圧がそれぞれ安定した時点を 0 min とし、処理時間 0.5,1,3,5,7,10,20 [min]の時点でサンプリングを行った。また本実験では比較対照として、糞便性大腸菌群についても同様の方法および条件で実験を行った。

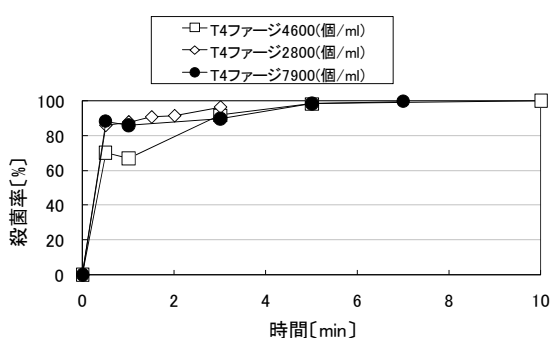


図 5 殺菌率の経時変化(装置内圧 0.3MPa)

得られたサンプルは、ウィルス(T4 ファージ)における培養操作にしたがって 36℃、18~20 時間で培養し、糞便性大腸菌群数については前節と同様の方法により培養、計数を行った。そして得られた測定結果(CFU/ml)については 2.2 の式(1)を用いて殺菌率(%)を算出し、考察を行った。

3.2.2 実験結果および考察

図 5 に T4 ファージに対する殺菌率の経時変化を示す。図 5 から、すべてのサンプルにおいて 10 分の処理時間でほぼ 100%の殺菌率を得ることができたことがわかる。このような結果となった要因としては、大腸菌や糞便性大腸菌群と同様に、前述した高濃度気体溶解水を用いた殺菌効果が考えられる。T4 ファージには微生物にあるような細

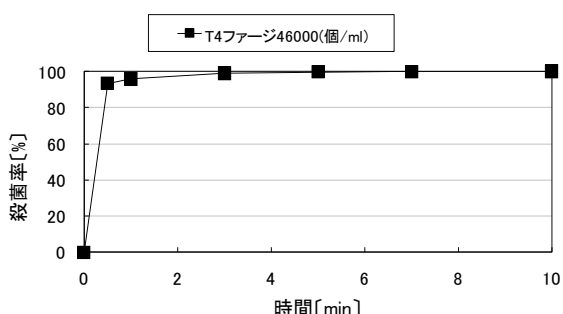


図 6 殺菌率の経時変化(装置内圧 0.3MPa)

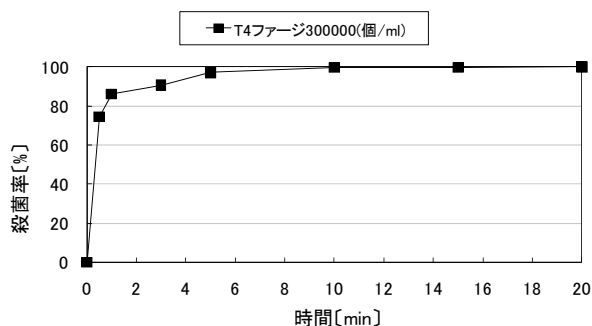


図 7 殺菌率の経時変化(装置内圧 0.3MPa)

胞膜、細胞壁は存在しないが、核が存在する。その核には半透膜が存在する。その半透膜から、加圧処理中に高濃度二酸化炭素溶解水が浸透し、除圧されることで核内に気泡が発生し T4 ファージは死滅したのではないかと考えられる。

また、本実験では T4 ファージの初期濃度が本法に与える影響を把握するため、濃度調整を行って実験を行った。図 5 には 10^4 、図 6 には 10^5 、図 7 には 10^6 オーダーの初期ファージ数での実験結果を示している。図 5 に示した T4 ファージ 4,600(個/ml)では処理時間 10 分で生存数が 0 個である。図 6 に示した T4 ファージ 46,000(個/ml)では処理時間 10 分で生存数が 5 個である。図 7 に示した T4 ファージ 300,000(個/ml)では処理時間 20 分で生存数が 40 個である。図 5、図 6、図 7 より T4 ファージの初期濃度調整を行った場合でもすべてのサンプルにおいて処理時間 10 分でほぼ 100%の殺菌率を得られ、それぞれのサンプルにおける殺菌率の経時変化に着目すると、どのサンプルにおいても循環開始直後である処理時間 0.5 分でほぼ 80%の殺菌率を得られている。また本実験より、T4 ファージの初期濃度が高くなるにつれて 100%の殺菌率に達するまでの処理時間が長くなることがわかった。このような結果となった要因としては、高濃度気体溶解装置内で T4 ファージが加圧され、高濃度二酸化炭素溶解水が T4 ファージ内に取り込まれる際に、装置内の T4 ファージ数が少ないほどより短時間に高濃度二酸化炭素溶解水が T4 ファージ内に取り込まれ、膨張・破裂が起こり殺菌に至ったものと考えられる。したがって、本実験の結果から処理前の T4 ファージ数が少ないものほど早く殺菌できる可能性が示唆された。

3.3 蒸留水が T4 ファージの殺菌に与える影響に関する検討

3.3.1 実験方法

上述の実験では、適量の T4 ファージを蒸留水 7L に入れてよく攪拌したものを処理対象水として用いている。前出の図 5、図 6、図 7 より、どのサンプルにおいても T4 ファージにおける殺菌率の経時変化で循環直後に急激に殺菌率が上昇しているのがわかる。これらのことより、蒸留水が T4 ファージに対して殺菌効果を及ぼした可能性がある。このことを確認するため以下のような実験を行った。

適量の T4 ファージを蒸留水 7L に入れた時点を 0 分とし、そのまま 10 分間放置した後サンプル採取を行った。

3.3.2 実験結果および考察

図 8 に実験結果を示す。0 分では T4 ファージは 460(個/ml)存在しており、10 分後では 445(個/ml)存在していた。この結果より蒸留水が T4 ファージの殺菌に与える影響はほとんどないことがわか

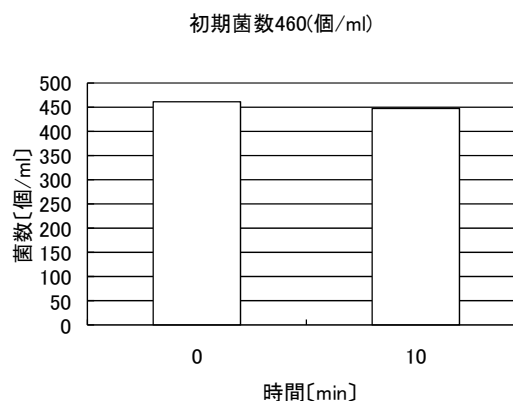


図 8 蒸留水が与える影響

った。

3.4 ポンプ循環が T4 ファージに与える影響に関する実験結果と考察

3.4.1 実験方法

本実験では 10～20 分間、高濃度気体溶解装置とポンプの間を循環させている。この実験操作では、本殺菌効果で記述した、気泡の急激な膨張により菌を内側から破裂させる殺菌効果以外にも、処理対象水をポンプを通じて装置内に設置してある別の容器に衝突させることで外側から菌体が損傷させ殺菌する効果が存在する可能性がある。そこで、そのような殺菌効果の有無を確認するため、以下のような実験を行った。

装置内に処理対象水を入れた後、二酸化炭素を注入せず、10 分間装置とポンプの間を循環させ、所定のサンプリング時間でサンプル採取を行った。なお、このとき装置内における加圧は行っていない。

3.4.2 実験結果および考察

図 9 に実験結果を示す。0 分では T4 ファージは 3,650(個/ml)存在していたが、循環開始 10 分後では 2,150(個/ml)に減少していた。これより、ポンプ循環を行うことで約 4 割の殺菌効果が得られることがわかった。また、逆にこの結果より二酸化炭素が十分に溶解していないと高い殺菌率を得ることができないことが証明され、高濃度気体溶解水を用いた殺菌効果の高さを再確認することができた。

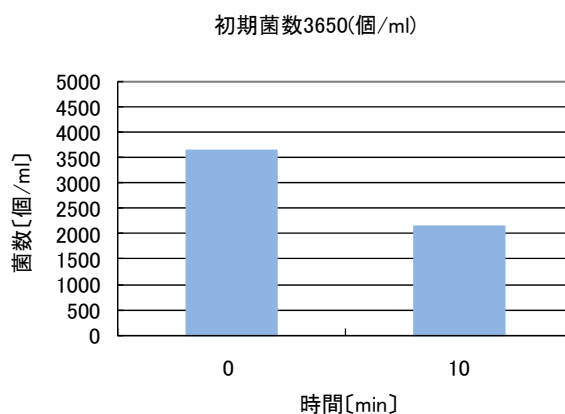


図 9 ポンプ循環が与える影響

4. 結言

- (1)タイ、バンコクにおける各種環境水を用いた実験結果から、装置内とポンプの間を一定時間循環させる内部循環式の処理で、環境水を用いて実験を行った結果、糞便性大腸菌群に対し 20 分間ではほぼ 100%の殺菌率が得られた。すなわちタイ・バンコクにおける実証実験による検証により、本法の有効性が示されたと考えられる。
- (2)T4 ファージウィルスに対する実験結果から、装置内圧 0.3MPa、処理時間 10 分ではほぼ 100%の殺菌率が得られた。したがって、本研究の目的である「サイズに関係なく殺菌できる高濃度気体溶解技術を用いた殺菌技術の開発」は達成できたものと考えられる。

謝辞

本研究は、財団法人 JFE21 世紀財団 2008 年度技術研究助成の支援によって行われました。ここに記して謝意を表します。

参考文献

- 1) 金子光美 編著：水道の病原微生物対策，善株式会社, pp.10-11, 2006.
- 2) 佐藤利夫, 砂山俊二：水の消毒技術の問題点と将来動向ーリスクマネジメントの観点からー，防菌防黴誌, Vol.30, No.9, pp.571-582, 2002.
- 3) 南山瑞彦, 荒谷祐介, 平出亮輔：生態系の観点からみた下水再生システムのあり方に関する研究，平成 17 年度下水道関係調査研究年次報告集 pp.57-62, 2005.
- 4) 財団法人 水道技術研究センター 編著：新しい浄水技術 産官学共同プロジェクトの成果, pp.111-119, 173-191, 2005.
- 5) 丹保憲仁, 小笠原絃一：浄水の技術，技報堂出版, pp.106-107, 2002.
- 6) 今村能之：世界の水問題解決に向けての国連世界水アセスメント計画(WWAP)の役割 -国連の取り組みを通じた日本の国際的地位向上を目指して-, 水文・水資源学会誌, Vol.21, No.2, pp.140-157, 2008.
- 7) 新名隆博：高濃度気体溶解水を用いた病原菌等の殺菌効果に関する研究，土木学会年次学術講演会講演概要集(CD-ROM), Vol.61, No. Disk 2, Page ROMBUN NO.7-005, 2006.
- 8) 今井 剛, 村上奉行, 浮田正夫, 関根雅彦, 樋口隆哉：閉鎖性水域における底層部への高濃度酸素水導入による水質改善効果に関する研究，水環境学会誌, Vol.29, No.11, pp.737-744, 2006.
- 9) 下水試験方法，上巻・第 3 章・第 7 節, pp.719-720, 日本下水道協会, 1997.