

## リアルタイム微生物数計測技術を用いた水道水質監視

Monitoring drinking water quality using real-time bacteriological counting technology

長崎大学大学院工学研究科 准教授 藤岡 貴浩

### （研究計画ないし研究手法の概略）

浄水場では、凝集沈殿・砂ろ過・塩素消毒といった水処理プロセスを組み合わせて水中の不純物を取り除くことで飲料水の安全性を確保している。現行の水質基準では、細菌検査（指標として一般細菌数や大腸菌群数）を定期的に行って水道水の品質担保に努めている。しかし、これら従来手法は検査に数日かかるため、分析結果が出る頃には水道水はすでに浄水場を出て配水されてしまっているという現状がある。この現状を打破するため、本研究者は、染色剤を使用することなく水中の微生物数の連続監視が可能である「リアルタイム微生物計測技術」を世界に先駆けて水道に適用し、急速濾過方式の浄水場ろ過池を使用して連続試験を行ってきた。しかし、この分析手法の定量性は十分に検証されておらず、実用化に対する障壁となっている。そこで本研究では、浄水処理工程の微生物数のリアルタイム計測の定量性を検証すると共に、浄水場における実証試験を通して砂ろ過処理性能を担保する技術として確立することを目的とした。本研究で使用する技術は、流水中に照射された特定波長の紫外レーザーに対し、まず「各粒子の散乱光により微生物の大きさに相当する粒子を認識」し、さらに「それらのうち微生物内の自家蛍光物質が発する微弱な蛍光を持つ粒子を微生物と識別する」ことで、微生物数（cells/mL）をリアルタイムにて計測する。この日本発の計測技術を砂ろ過処理の完全性を担保する技術として確立するため、浄水場の砂ろ過池を用いた連続監視実証試験を行うことで実用性を検証し、浄水処理水中の微生物数に対する定量性を他の分析技術と比較検証しようとした。

### （実験調査によって得られた新しい知見）

#### 1. リアルタイム微生物計測への前処理適用

自然水中に存在する溶解性フミン様物質は、今回計測の対象となる細菌と同じ領域に蛍光波長を持つため、リアルタイム微生物計測器（IMD-W<sup>TM</sup>、アズビル社）内の蛍光検出器の受光容量を超えて計測不能となることが課題であった。そこで浄水場における検証の前に、リアルタイム微生物数計測の分析阻害となる溶解性フミン様物質を前処理にて除去する前処理技術を構成・検証した。本前処理技術は、透析膜（Diyalizerler Polynephron<sup>TM</sup> PES-25D  $\alpha$  eco, ニプロ社）と陰イオン交換樹脂（A502 及び A860、Purolite 社）を含むガラスカラム2本で主に構成された（図1）。透析膜は、膜の孔径よりも小さい溶解性フミン様物質は拡散現象により透析膜を通過して透析水へ移動し、孔径よりも十分大きい細菌は供給水中に残留するという原理である（図2）。透析水（純水）中に移動した溶解性フミン様物質は、透析水の流路に設けられた陰イオン交換樹脂によって除去・再生される。この技術を浄水場の砂ろ過水の計測に適用した結果、安定してフミン様物質を取り除くことができ、分析妨害を受けることなく微生物数のリアルタイム計測が可能となった。よって、以降の実証試験では、この前処理装置をリアルタイム微生物計測器前段に取りつけた。

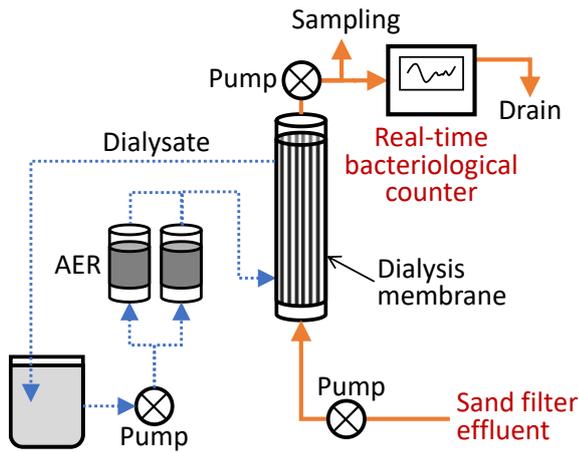


図 1. リアルタイム微生物数計測器と透析膜 + 陰イオン交換樹脂を用いた前処理構成図

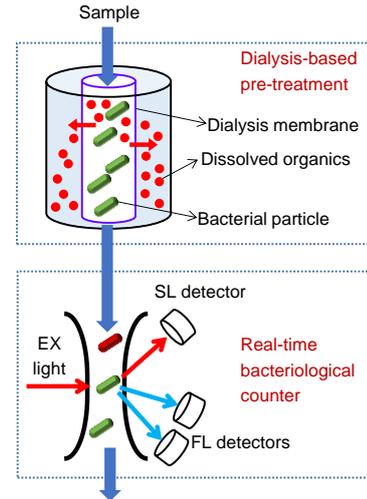


図 2. リアルタイム微生物数計測器と前処理の原理概要図

## 2. 現地実証試験

次に、リアルタイム微生物計測器に上記の前処理装置を適用し、某浄水場内の砂ろ過池ろ過水の微生物数を 20 日間連続分析した。結果、砂ろ過水中の微生物数には大きな変動が見られたものの微生物数の計測は継続され、前処理法の長期安定性が確認された。試験期間中、微粒子数は  $1 \sim 15 \times 10^4$  counts/mL で推移した一方で、微生物数は  $0.1 \sim 3.0 \times 10^4$  counts/mL 程度と大きく推移することが分かった (図 3)。3 日に一度 1 時間程度の逆洗が行われたが、微粒子数・微生物数共に逆洗直後が最も高くなり、逆洗後のろ過時間継続と共に徐々に低下して行った。実験を実施した浄水場は、河川水は常時一定流量で取水されるのに対し、湖水は昼夜で大幅に異なっており (図 4)、こういった水量変動や流入原水水質の変化が日々の粒子数と微生物数の変動に繋がっていると考えられた。

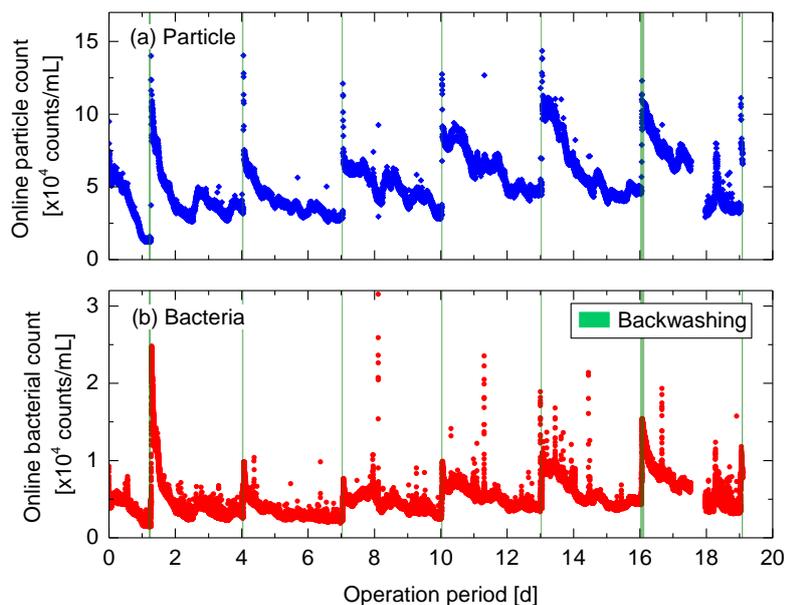


図 3. 浄水場における砂ろ過処理水中の微粒子数と微生物数のオンライン計測結果

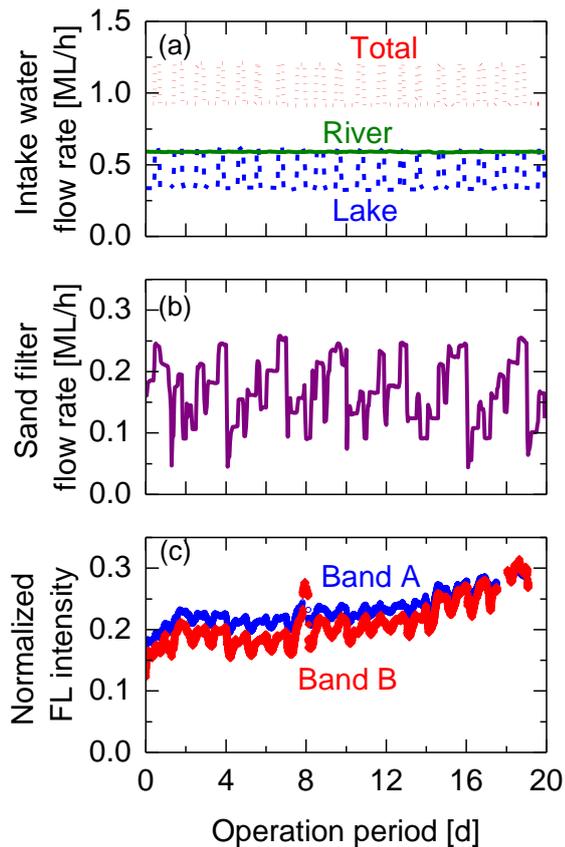


図 4. (a)試験中の浄水場の河川水・湖水の取水量、(b)対象となる砂ろ過池の処理水量、(c)計測器のバックグラウンド蛍光濃度（妨害物質濃度に比例）

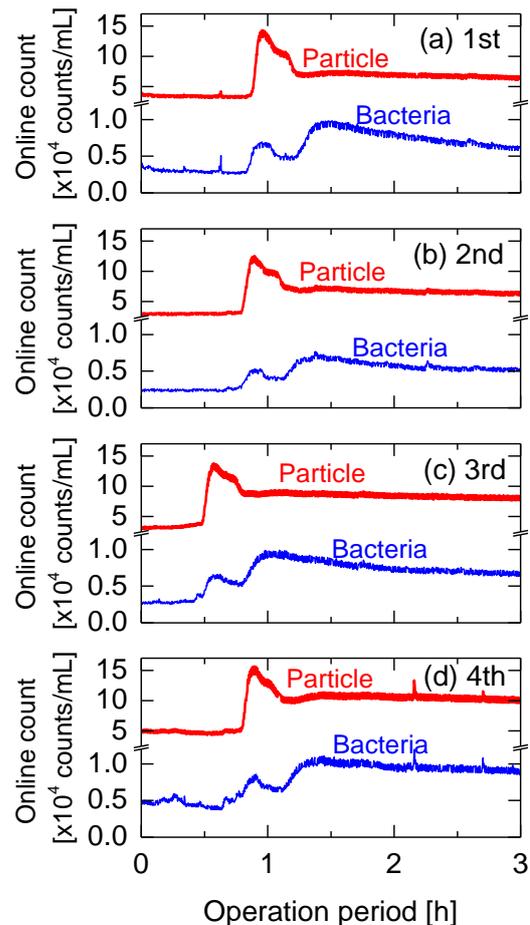


図 5. 砂ろ過槽逆洗中の（微粒子数と微生物数）の推移

逆洗時の水質変動について、粒子数と微生物数の推移を詳細に調べた結果を図 5 に示す。粒子数が洗浄直後に最大値に達することに対し、微生物数は一度高いピークを迎えた後の 2 度目のピークが最大値を示すことが分かった。この 2 度目のピーク（約 1 時間半後）の時点で、すでにろ過水は浄水として生産されており、逆洗後は微生物学的水質が通常よりも悪い過水が配水池に流入していることが分かった。微粒子カウンターや高感度濁度計など市販のオンライン水質計でこのような洗浄時の微粒子の変化を追うことは可能であるが、微生物数の推移をリアルタイムで詳細に調べたのは本研究が初めてであった。なお、総粒子数に対する微生物数の割合は通常のろ過中には約 10%程度と安定しており、微粒子数が微生物数の代替指標として使える可能性があるが、逆洗後には 5~20%の範囲で大きく振れることが分かった。よって、逆洗後には微粒子数は微生物数の代替指標として使うことが難しいと言える。

### 3. 定量性検証

本試験中、リアルタイム微生物数計測器の測定値の信頼性を調べるため、定期的にサンプリングと手分析を実施した。生死を問わず全ての細菌数を計測するための 3 種類の染色剤（SYBR GREEN, Acridine Orange, SYTO 9）、細胞膜にダメージがある細菌数を計測するための染色剤（propidium iodide）、従属栄養細菌数を計測するための培地（R2A）を使用

した。全菌数から細胞膜にダメージのある細菌数を引くことにより、細胞膜にダメージのない細菌数が計算できる。以上の結果をオンラインで計測された細菌数と比較した結果、唯一全菌数（SYBR GREEN）に高い相関がみられた（図 6 a）。但し、オンラインで計測された菌数は、全菌数の数%と大きく異なるため、SYBR GREEN で染色される細菌のうち一部のみがオンライン計測器で計測されると推察された。一方、細胞膜にダメージのない細菌数は、オンライン計測数に比較的近い絶対値を持っていた（図 6 b）。今回、浄水場では中間塩素処理が行われており、これによりほとんどの細菌の細胞膜が破壊されていたことが推察された。しかし、いずれの染色剤においても、明確な相関は見られなかった。最後に、一般的に普及している従属栄養細菌数については、相関がない上に、数値もオンライン計測値に比べて一桁以上低い値となっており、従属栄養細菌数との関連がないことが明らかになった（図 6 c）。培養法における従属栄養細菌数では、自然水中に存在する特定の細菌（今回は従属栄養細菌）しか培地中で増殖できないため、一桁以上低い数値になったと想定された。以上のことから、全菌数のうち SYBR GREEN 染色剤による計数値はオンライン計測値と非常に高い相関を持っていたが、オンライン計測値はその数%しかなく、オンライン微生物数計測器に計数している細菌の特性についての説明が今後の課題として残った。

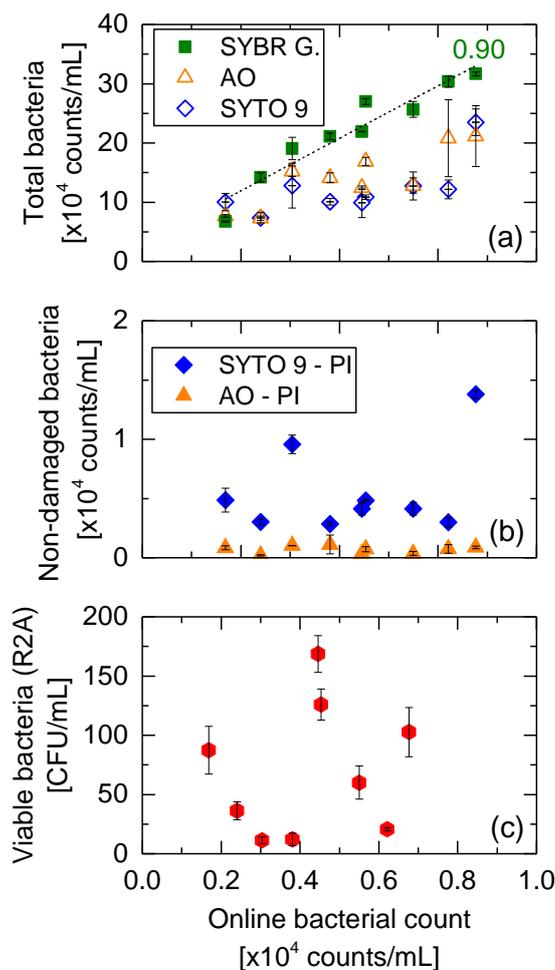


図 6. 砂ろ過水中のオンラインで計測された細菌数と全細菌数、無傷の細菌数、生菌数の比較

#### 4. まとめ

本研究を通して、砂ろ過水中の微生物数をリアルタイムで長期間計測するための連続前処理装置（透析膜＋陰イオン交換樹脂）の有効性が明らかになった。さらに、オンライン計測を通して逆洗前後の微生物数の推移が追跡可能になった。特定の染色剤によって計数された微生物数の変動は、リアルタイム微生物数計測器によって計測された微生物数の変動と高い相関を見せたが、絶対値は大幅に異なっていた。オンライン微生物数計測器に計数している細菌の特性についての解明が今後の課題として残った。

#### **（ 発 表 論 文 ）**

論文投稿準備中・投稿先未定