

令和 5 年 6 月 26 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K14861

研究課題名（和文）生物活性炭処理を介した給配水システムにおける微生物叢の形成とその制御

研究課題名（英文）Formation of microbial community in water distribution systems via biological activated carbon treatment

研究代表者

中西 智宏（Nakanishi, Tomohiro）

京都大学・工学研究科・助教

研究者番号：90824293

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：生物活性炭処理は高度浄水処理プロセスの主要な単位操作の1つであり、微生物による水の浄化作用が期待できる一方で、活性炭層の中で繁殖した微生物が漏出し、浄水中に残存してしまう可能性がある。本研究は生物活性炭処理水における動物プランクトンやその共生細菌に焦点を当て、処理水中の存在実態や塩素消毒への感受性、共生細菌の群集組成などを培養法および分子生物学的手法を用いた調査によって明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生物活性炭処理は必然的に微生物を繁殖させているという側面があり、微生物の漏出には十分留意しておく必要がある。これまで活性炭層から動物プランクトンが漏出することは指摘されてきたものの、それらと共存することで塩素消毒から保護される細菌群の存在について調べられた例は皆無である。本研究はこのような微生物群集の漏出実態や制御方策について初めて検討するものであり、学術的新規性や工学的意義が大きい。

研究成果の概要（英文）：Biological activated carbon (BAC) treatment is a critical unit operation in advanced water purification processes. However, despite its purification ability by microbes, there is a risk that microorganisms that have grown in the activated carbon bed may leach and persist in the purified water. This study aimed to investigate the presence of zooplankton and their symbiotic bacteria in BAC-treated water, their susceptibility to chlorine disinfection, and the composition of the symbiotic bacterial community using both culture-based and molecular techniques.

研究分野：環境工学、環境微生物学、水処理工学

キーワード：生物活性炭処理 動物プランクトン 漏出微生物 オゾン処理

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

わが国の一部の浄水場では、カビ臭原因物質や微量汚染物質等の効率的な除去を目的としてオゾン処理と生物活性炭(Biological Activated Carbon; BAC)処理を主要単位操作とする高度浄水処理プロセスが採用されている。BAC 処理は粒状活性炭表面に形成させた微生物叢による生物処理が期待できるものの、処理過程で必然的に微生物の繁殖を助長しているとも考えられ、微生物の漏出には留意しておく必要がある。

BAC 吸着池からは、生物処理に関わる夾雑細菌に加えてワムシ等の動物プランクトン<sup>1)</sup>や生物膜、活性炭粒子<sup>2)</sup>が漏出することが知られている。後段の塩素処理によって多くの微生物は不活化されるものの、これらと一体となって漏出していく細菌群は塩素による不活化から保護され、生菌のまま送配水システムに流入する可能性がある。消毒直後の浄水であっても一般細菌として検出されるのみならず、給配水末端で残留塩素濃度が減少すれば微生物再増殖の引き金となる可能性も考えられるため、その存在実態や制御方策について検討することが望ましい。しかしながら、既往研究では漏出微生物の種類や量、塩素消毒における抵抗性について調べられた例は少なく、知見が不足している状況である。

### 2. 研究の目的

上記を踏まえて、本研究は高度浄水処理プロセスにおける微生物的安定性を向上させることを見据えて、BAC 層からの微生物の漏出実態を把握するとともに、それらが水道水中の微生物群集に与える影響を把握することを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) BAC 処理水における動物プランクトンの存在量調査

高度浄水処理を採用する浄水場において BAC 処理水 15~50 L をポリカーボネート製メンブレンフィルター (φ 25mm, 孔径 5 μm) にろ過し、捕集された動物プランクトンを DAPI (4', 6-diamidino-2-phenylindole) で染色した後、蛍光顕微鏡で観察・計数した。本調査は 2020~2022 年の高水温期 (4~9 月) に行った。

#### (2) 動物プランクトンが保持する細菌数の推定

上記浄水場の BAC 処理水の検水栓に目合 10 μm のプランクtonネットを設置し、流量 10~20 L/分程度で 2~3 時間 (数千リットル) 通水することでプランクtonを捕集し、濃縮液約 50 mL を得た。これを実験室に持ち帰り、10 分間静置することで目に見える夾雑物やバイオフィルムを沈降させた。その上澄み液を取って 4 °C で 20 分間インキュベートした後、500×g で 4 分間遠心分離して上澄み液を除去し、最終容量が 20 mL になるようリン酸緩衝液で沈殿物を再懸濁させた。遊離塩素濃度 10 mg/L となるように次亜塩素酸ナトリウム水溶液を添加し、4 分間インキュベートすることで浮遊細菌を不活化させた。反応後、3 % w/v チオ硫酸ナトリウムで塩素中和し、数 mL を分取して動物プランクton数、一般細菌数 (標準寒天培地, 36°C で 24 時間培養)、従属栄養細菌数 (R2A 寒天培地, 20°C で 7 日間培養) を測定した。続いて、超音波ホモジナイザー (NR-50M; マイクロテック・ニチオン, ホーンサイズ 3 mm) で出力 40 %, 2 分間の超音波処理を行い、動物プランクtonを破砕させ、検体の一般細菌数、従属栄養細菌数を改めて測定した。超音波処理前後の細菌数の増加分が動物プランクtonによって塩素消毒から保護された細菌群であるとみなし、プランクton 1 個体あたりが保有する細菌数を推定した。

#### (3) 動物プランクtonが保持する細菌群が水道水の細菌群集に及ぼす影響把握

上記 (2) の消毒後の検体から DNeasy PowerWater Kit を用いて DNA 抽出し、次世代シーケンサー Miseq (イルミナ社) を用いて 16S rDNA (V3V4 領域) のアンプリコンシーケンシングを行った。同様の解析を、浄水場の工程水 (原水、ろ過水、オゾン処理水、BAC 処理水、浄水) やその送水幹線における水道水に対しても実施し、細菌群集の組成を比較した。特に動物プランクtonの濃縮液から得られた細菌群集の優占種に着目し、それらの処理工程や浄水、水道水中の相対割合の変化を把握した。

### 4. 研究成果

#### (1) BAC 処理水における動物プランクtonの存在量調査

表 1 に動物プランクtonの計数結果を、図 1 に蛍光観察の様子を示す。BAC 処理水からワムシや線虫が主に検出され、平均でそれぞれ 10 個体/10L、3 個体/10L であった。海外でも BAC 処理水から 8.6 個体/10L 程度の個体数で主にワムシやカイアシ類が検出されたという報告<sup>1)</sup>があり、本調査でもこれと類似した生物種と個体数であった。

表1 高水温期におけるBAC処理水中の動物プランクトンの計数結果  
(単位：個体/10L, n=30)

	最小値	平均値	最大値
ワムシ類	0	10	59
線虫類	0	3	9
その他(カイアシ類など)	0	0.2	2
動物プランクトン合計	0.7	13	66

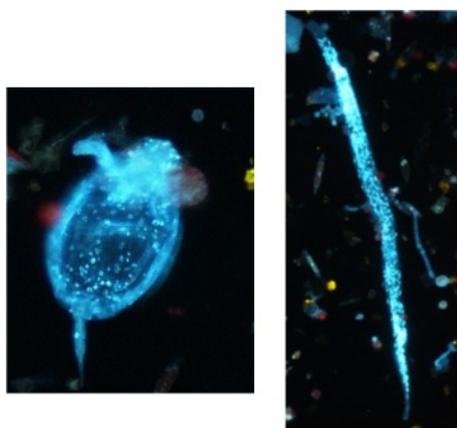


図1 BAC処理水中の動物プランクトンの蛍光観察像(左：ワムシ、右：線虫)

(2)動物プランクトンが保持する細菌数の推定

3(2)において、動物プランクトンの濃縮液を塩素消毒した検体における一般細菌・従属栄養細菌数はほぼ不検出～10 CFU/mL程度に留まったのに対して、超音波処理によってそれぞれ最大98倍、380倍に増加した(データ不掲載)。これは、動物プランクトンの体表面や体内に細菌が大量に保持され、塩素消毒から保護されていることを示している。図2に動物プランクトン1個体が保有する細菌数の推定結果を示す。測定日によってばらつきはあるものの、プランクトン1個体は数十～数百CFUの一般細菌/従属栄養細菌を保有していると推算された。以上より、BACからの漏出微生物は塩素消毒ですべてが不活化されるわけではなく、動物プランクトンによって保護された細菌が塩素消毒を耐え抜き、給配水システムに流入しうることが示された。

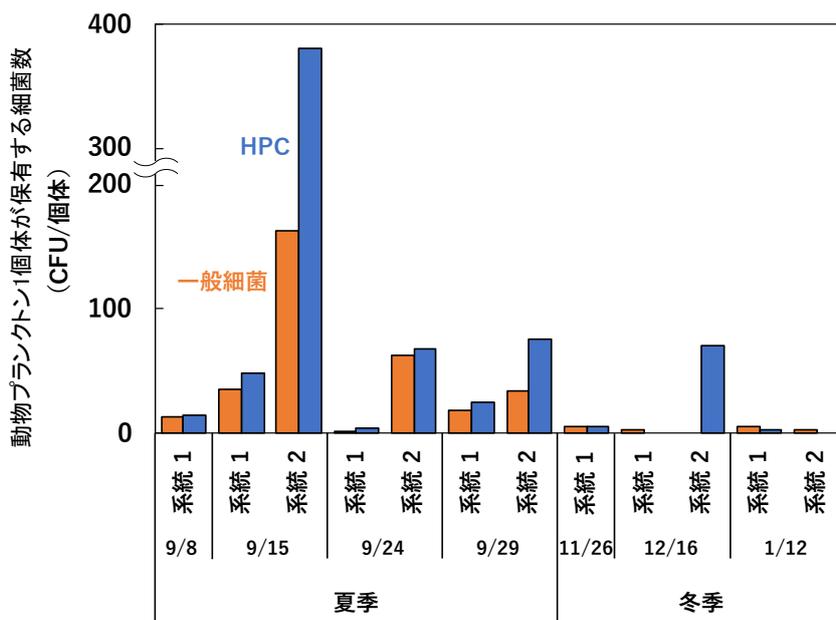


図2 BAC処理水中の微小動物1個体が保有する一般細菌数、従属栄養細菌数(HPC)の推定結果  
(BAC処理水は同時に2系統から採水したため、系統1、2と分けて表示。)

(3)動物プランクトンが保持する細菌群が水道水の微生物群集に及ぼす影響把握  
 動物プランクトンによって保持される細菌群集の菌叢解析を行った結果、特に *Pseudomonadaceae* 科、*Weeksellaceae* 科、*Sphingobacteriaceae* 科、*Obscuribacteraceae* 科といった細菌グループが優占していることが明らかとなった。さらに、これらの処理工程水、浄水、送水幹線上の水道水の細菌群集に占める相対割合を図 3 に示す。これらの細菌群は浄水や送水過程でも存在割合が大きいことが多かった。これより、塩素消毒による不活化から保護されることで、浄水や水道水中の主要な細菌群集の 1 つとなっている可能性が示された。また、これらの細菌群はオゾン処理水においても相対割合が高く、予想に反する結果であった。動物プランクトンは BAC 層内部で増殖しているものと推察されるが、原水やろ過水にも相当量が存在し、保持する細菌群をオゾン処理による不活化からも保護している可能性が考えられる。今後、浄水処理プロセス全体での動物プランクトンや細菌群の調査をすることが望ましい。

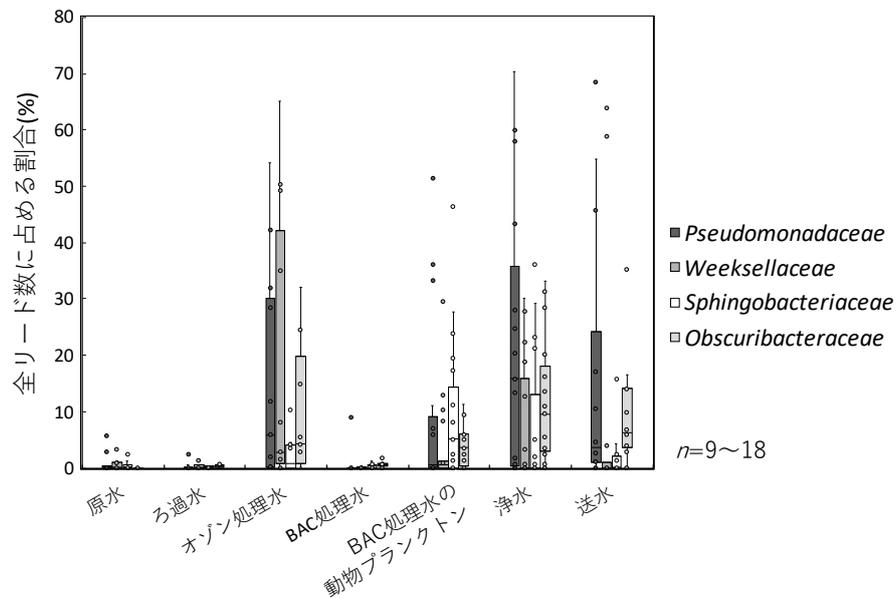


図 3 動物プランクトンが保有する優占種の浄水処理工程における相対割合の変化

参考文献

- 1) Wang, Q., You, W., Li, X., Yang, Y., & Liu, L. (2014). Seasonal changes in the invertebrate community of granular activated carbon filters and control technologies. *Water Research*, 51, 216–227.
- 2) Camper, A. K., Lechevallier, M. W., Broadaway, S. C., & Mcfeters, G. a. (1986). Bacteria Associated with Granular Activated Carbon Particles in Drinking Water. *Applied and Environmental Microbiology*, 52(3), 434–438.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 三雲祥太, 中西智宏, 越後信哉, 伊藤禎彦
2. 発表標題 生物活性炭処理水における微小動物の体内細菌が浄水中の細菌群に及ぼす影響
3. 学会等名 第55回 日本水環境学会年会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------