

# 紫外線を利用した高度水処理技術

## Advanced Water Treatment Technology for Oxidation and Disinfection by Ultraviolet Irradiation

加 藤 敏 朗<sup>\*(1)</sup>  
Toshiaki KATO

三 木 理<sup>\*(2)</sup>  
Osamu MIKI

伊 藤 公 夫<sup>\*(3)</sup>  
Kimio ITO

林 順 一<sup>\*(4)</sup>  
Junichi HAYASHI

### 抄 録

従来の水処理技術では対処困難な有害化学物質や病原微生物に対する高度水処理技術として紫外線等を利用した促進酸化法(AOP: Advanced Oxidation Processes)の適用を検討している。AOPによる処理技術を最適化するには浄化特性の把握が必要不可欠と考え、浄化性能の主因とされるヒドロキシルラジカルの発生量を測定する方法を確立し、光触媒併用紫外線処理法において顕著なヒドロキシルラジカルの生成を確認した。また、病原性原虫クリプトスポリジウムの生育活性を測定する方法を確立し、紫外線処理法により本原虫を不活化できることを明らかにした。

### Abstract

Advanced oxidation processes (AOP) were expected to be powerful water treatment techniques. We aim to develop the AOP that mainly used ultraviolet irradiation for treatment of the refractory organics and the disinfection of pathogenic microbes. It is presumed that the generation of hydroxyl radical is the key factor for treatment performance in AOP. In this research, we firstly examined the method to quantify the hydroxyl radical generation, then the obvious generation of hydroxyl radical was observed in a photocatalyst/ultraviolet irradiation. And the second, we examined the method to detect biological activity of the pathogenic protozoan *Cryptosporidium*, that caused serious outbreaks in the world wide. We revealed that *Cryptosporidium* could be inactivated by the ultraviolet irradiation.

### 1. はじめに

環境と健康に対する人々の問題意識の高まりを背景に、排水、浄水を問わず水質への要求は急速に高度化している。水域の水質汚濁の主因とされた有機物の総括指標としてBOD(Biochemical Oxygen Demand: 生物化学的酸素要求量)やCOD(Chemical Oxygen Demand: 化学的酸素要求量)を用いた制御や管理に始まり、水域の富栄養化対策としての窒素やリンなどの栄養塩類の制御が加わり、昨今では生態系への環境影響や人体への健康影響等への配慮から、農薬やダイオキシン等の微量な有害化学物質に対する規制あるいは大規模な水系感染事故が想定される病原微生物への対策など、水処理技術に求められるターゲットは大きく広がってきている。

種々の複合的な汚染に対する高度処理技術として、オゾンや過酸化水素などの化学酸化剤、紫外線や光触媒などの光化学反応などを併用したAOP(Advanced Oxidation Processes: 促進酸化法)が注目を集めている。AOPは、酸化力の極めて強いヒドロキシルラジカルを水中に効果的に発生させ、このラジカル分子の酸化力が水質浄化の主要な役割を果たしていると推定されているが、ヒドロキシルラジカルの簡易測定法が無いためにAOPにおける水質浄化の

メカニズムは詳細には明らかにされていない。

また、病原性原虫を原因とした大規模な水系感染事故が世界的に頻発しており、従来の塩素消毒での防除が困難なことから、とりわけ上水道分野において対策技術の確立が囑望されている。しかしながら、動物への寄生虫である本原虫については、消毒技術の効能を簡便に評価するために必要不可欠な原虫の生死を検査する手法がないため、対策技術の検討が困難であるという大きな課題を抱えている。

著者らは水中の微量有害化学物質処理及び病原微生物消毒を目指して、紫外線を利用した高度処理技術の開発に取り組んでいる。以下、本論文においては、AOPの最適化を目指した浄化性能評価技術(ヒドロキシルラジカル測定技術、原虫検査技術)を中心に研究事例を紹介する。

### 2. ヒドロキシルラジカル発生量の測定と高効率消毒技術の提案<sup>1)</sup>

#### 2.1 紫外線消毒と光触媒/紫外線消毒

塩素等の薬剤を使わない効果的な消毒技術として、紫外線消毒が欧米を中心に実用化が進みつつある。紫外線消毒は、紫外線照射によって微生物の遺伝子を損傷させ、その結果、増殖できなくなる原

<sup>\*(1)</sup> 先端技術研究所 エネルギー・環境基盤研究部 主任研究員 学術博士  
千葉県富津市新富20-1 ☎293-8511 ☎(0439)80-3071

<sup>\*(2)</sup> 先端技術研究所 エネルギー・環境基盤研究部 主幹研究員 工学博士

<sup>\*(3)</sup> 先端技術研究所 エネルギー・環境基盤研究部 主任研究員 工学博士

<sup>\*(4)</sup> 先端技術研究所 エネルギー・環境基盤研究部 部長 主幹研究員

理に基づいているが、進化の過程で太陽光の紫外線に曝されてきた生物はそれに対する防御機構を備えている場合がある。例えば、一部の微生物は紫外線照射の後に可視光を浴びると遺伝子の損傷を修復する酵素が誘導され、再び活性を取り戻す現象(光回復現象)の存在が知られており、紫外線消毒においては光回復現象を低減させるところまで踏み込んだ検討の必要性が指摘されている<sup>2)</sup>。

そこで、紫外線の直接効果とは異なる機構に基づく消毒効果が期待できる技術として光触媒を併用することに着目した。二酸化チタンなどの光触媒は、紫外線の照射により結晶内で分極して水の酸化分解を誘起し、その結果として生じるヒドロキシルラジカルが、紫外線とは異なる機構で微生物を酸化分解できるものと考えられる。

## 2.2 光回復現象の把握<sup>3)</sup>

### 2.2.1 実験方法

ガラスシャーレに大腸菌懸濁液(*E. coli* JM109株: 約 $10^6$ /mL)を入れ、上部より紫外線を照射し、照射後の大腸菌数を計測する。また、紫外線を照射した後のシャーレを更に20W蛍光灯下で可視光を60分間照射して光回復させた試料の大腸菌数を計測し、紫外線照射後および光回復後の試料の大腸菌数を、紫外線照射前の試料の大腸菌数で除して生残率を算定した。紫外線源としては、水の消毒で汎用されている2種類の水銀ランプ、すなわち低圧水銀ランプと中圧水銀ランプをそれぞれ用いて光源による殺菌効果の差異を比較検討した。水銀ランプはランプ内部の水銀封入圧の違いにより紫外線の発光波長域が異なることが知られており、低圧封入の場合、波長254nmのUV-Cが主発光であり、中圧封入の場合は、より長波長の紫外線も含めて広い範囲の紫外光を発する特徴がある。

### 2.2.2 実験結果

低圧水銀ランプを光源とした実験結果を図1(a)に、中圧水銀ランプを光源とした実験結果を図1(b)にそれぞれ示した。図では横軸に紫外線照射量(紫外線センサーを用いたUV-C計測値)、縦軸にその時の生残率をプロットした。紫外線照射直後の生残率(図中○印)は照射量を高めると速やかに検出限界以下まで減少した。それに対して、紫外線照射の後の可視光照射によって光回復をさせると2桁から4桁程度生残率が高まった。

## 2.3 光触媒/紫外線消毒の効果確認

### 2.3.1 実験方法

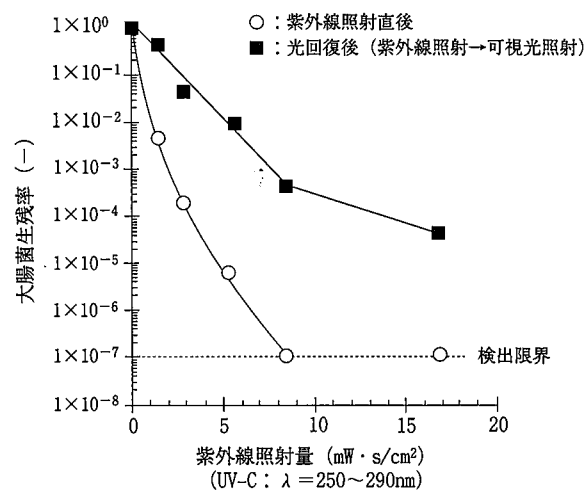
内面をゾルゲル法にて二酸化チタン被膜したガラスシャーレを使用し、前項と同じ方法で大腸菌生残率を測定した。

### 2.3.2 実験結果

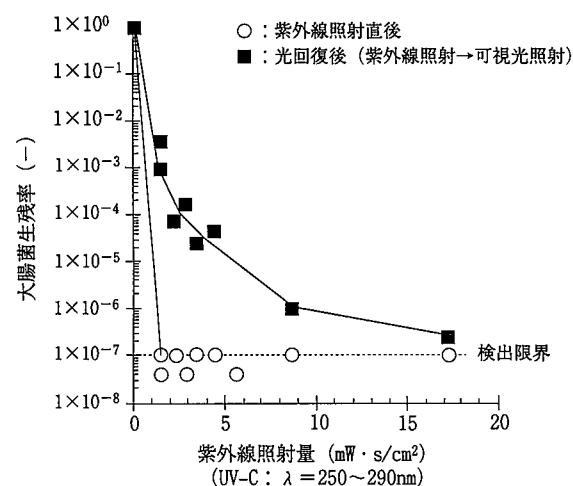
光触媒/紫外線処理した場合の光回復後の生残率について、紫外線単独処理した場合の結果と併せて図2に示した。本図より、低圧および中圧水銀ランプともに光触媒/紫外線処理では紫外線単独処理に比べて光回復後の生残率が低くなり、光触媒併用によって光回復を低減できることが明らかとなった。しかしながら、紫外線源として用いた2種類のランプについて比較すると、中圧水銀ランプの方がより光回復を低減できることが判明した。これは、図2の横軸がUV-Cの照射量を基準にしたが、前述したように中圧水銀ランプにおいてはUV-C以外の紫外光をも発している。従って、全体として光触媒を活性化しうる紫外線量が低圧に比べて中圧の方が多いためと考えられる。

## 2.4 ヒドロキシルラジカル発生量の把握<sup>4)</sup>

前項までに紫外線消毒において課題とされている光回復現象の低減は光触媒/紫外線法によって克服できる可能性が強く示唆され



(a) 低圧水銀ランプ



(b) 中圧水銀ランプ

図1 紫外線消毒の殺菌効果と光回復

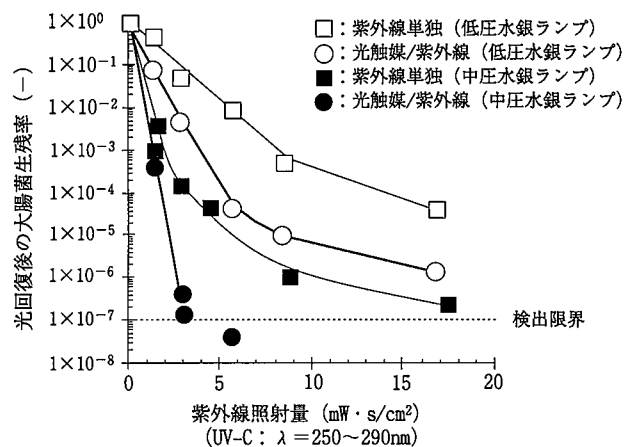


図2 紫外線消毒と光触媒/紫外線消毒の殺菌効果比較

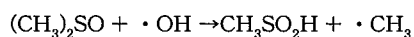
た。この傾向が当初の仮説通りヒドロキシルラジカル発生量に起因するの否かを明らかにする目的で、ヒドロキシルラジカル発生量の測定方法について検討した。

### 2.4.1 測定原理

ヒドロキシルラジカルは反応性が極めて高く、寿命が短いため、

直接測定することは困難とされている。しかしながら、ヒドロキシルラジカルを何らかの化合物(ラジカル消去剤)と反応させ、その反応生成物を観測するいわゆるラジカルトラップ法が、生化学分野において生体内のラジカル反応を観測する手法として考案されている<sup>5)</sup>。著者らは、ジメチルスルホキシド(DMSO: dimethyl sulfoxide)をラジカル消去剤としたラジカルトラップ法に着目し、水処理への適用可能性を検証した。

DMSO  $[(CH_3)_2SO]$  とヒドロキシルラジカル  $[ \cdot OH ]$  との反応は下式で表現され、反応の結果、メタンスルフィン酸[MSA: methane sulfinic acid:  $CH_3SO_2H$ ]が生成する。このMSA発生量を測定すれば、ヒドロキシルラジカル発生量を推定できる。



反応副産物としてメタンラジカル  $[ \cdot CH_3 ]$  が生成し、他のラジカル連鎖反応を引き起こすが、MSAの生成には影響しないと考えられている。

#### 2.4.2 実験方法

前述の殺菌実験と同様にガラスシャーレを用いて紫外線処理もしくは光触媒/紫外線処理を行った。但し、大腸菌懸濁液の代わりに0.5M DMSO水溶液を供試液として用いた。種々の条件で紫外線を照射した後の試料について、生成したMSAを硫酸酸性n-ブタノール溶媒で抽出し、さらに酢酸緩衝液で抽出した。回収した酢酸緩衝液抽出水相にFast Blue BB水溶液を添加し、MSAと反応させてアゾ色素を生成させた。この色素を溶媒抽出(トルエン/n-ブタノール)し、n-ブタノール飽和水で洗浄した後、吸光度を測定した。定量は、標準物質としてメタンスルフィン酸ナトリウムをDMSO溶液に溶解した標準試料に関して同様の測定を行い検量線を作成し、これに基づいて測定試料の吸光度からMSA濃度を算出した。

#### 2.4.3 結果

結果を図3に示した。本図より明らかなように、中圧水銀ランプを紫外線源とした光触媒/紫外線処理(図中●印)において最もMSA生成が顕著であった。次いで、中圧水銀ランプを紫外線源とした紫外線処理(図中■印)、低圧水銀ランプを紫外線源とした光触媒/紫外線処理(図中○印)の順で、低圧水銀ランプを紫外線源とした紫外線処理(図中□印)についてはMSA生成がほとんど観察されなかった。

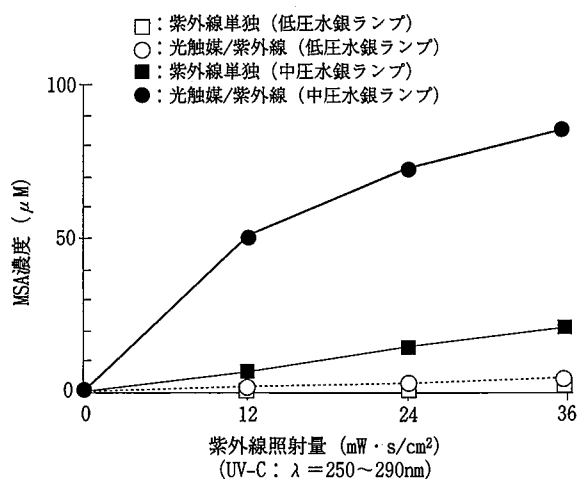


図3 紫外線消毒と光触媒/紫外線消毒のラジカル発生量比較

## 2.5 考察

紫外線消毒において今後考慮すべき課題のひとつである光回復現象の低減は、紫外線照射量を高めること、つまり、処理時間を長くすることで達成できると思われる。また、光触媒/紫外線法を用いることによって光回復現象を顕著に低減する可能性を得(図2)、特に、中圧水銀ランプが好適であるとの知見を得た。

この光回復低減効果のメカニズムを考察するために、ヒドロキシルラジカル発生量について測定技術確立を含めて検討した結果、DMSOを用いたラジカルトラップ法によって測定できることを確認し、光触媒の有無や紫外線ランプの差異に関して、光回復を考慮した殺菌効果とMSA生成量として観測されるヒドロキシルラジカル発生量との間に類似の傾向が観察されたことから、光回復の低減にはヒドロキシルラジカルが大きく寄与しているものと考えられる。

## 3. クリプトスポリジウム原虫検査技術と原虫対策技術の提案<sup>6,7)</sup>

### 3.1 クリプトスポリジウム原虫とは<sup>8)</sup>

クリプトスポリジウムなどの原虫類を原因とした水系感染事故が世界的に問題となっている。例えば、1993年に米国ミルウォーキーにおいて発症40万人超、入院4000人以上、このうち死亡者が100人以上にもものぼる極めて深刻な事例が報告されている。国内においても1996年埼玉県越生町において町民の7割に当たる8000人以上が下痢症を訴え、死亡事例こそなかったものの、再発防止に向けた緊急対策の必要性が大きくクローズアップされる契機となった。

クリプトスポリジウムは、環境中では感染性の虫体(スポロゾイト)が殻(オーシスト)に包まれた状態で存在し、オーシストの状態では塩素耐性があり、従来の浄水工程では防除が困難とされている。また、クリプトスポリジウムは、動物に対する寄生虫であり、環境中では増殖することがなく、細菌類のように培養法によって検査することはできない。

クリプトスポリジウム対策技術としては、膜分離による物理的な除去が実用化しつつあるが、コストや分離したオーシストの処理等の点で課題がある。そこで、クリプトスポリジウムを不活化する技術として紫外線消毒もしくは光触媒/紫外線消毒の適用を検討することとした。消毒による不活化の場合、膜分離等の物理的な除去と異なり処理水中のオーシストの存否のみで浄化性能を評価することはできず、オーシストの生育活性を見極めるための簡易手法が必要不可欠である。

オーシストの生育活性は、生物としての生死に着目する場合と寄生虫としての感能力の有無に着目する場合とがある。オーシストの生死を判別する方法としては活性染色法(蛍光色素で染色して顕微鏡観察)や脱囊試験(オーシストからのスポロゾイト産生を顕微鏡観察)が提案されており、また、オーシストの感染性を判別する方法としては小動物への接種試験が採用されている。しかしながら、いずれの方法も多大な労力と時間を要するため、これらに替わる簡易検査法を新たに確立する必要がある。

### 3.2 クリプトスポリジウム原虫検査技術の確立<sup>9)</sup>

最近、動物を用いることなくクリプトスポリジウムを検査するための実験系として培養細胞実験法が注目され始めている<sup>10)</sup>。オーシストもしくは予め脱囊させたスポロゾイトを培養細胞に接種することにより、培養細胞内でクリプトスポリジウムが増殖することが報

告された<sup>11)</sup>。その知見を発展させて、増殖したオーシストを酵素抗体法で検出定量する方法が提案されている<sup>12)</sup>。また、細胞表面に接着したスポロゾイトを酵素抗体法で検出できることが報告された<sup>13)</sup>。しかしながら、いずれの方法についても、不活化の程度を評価するためには更に検出感度を高める必要があり、この点について検討した。

### 3.2.1 生存性検査技術の検討

- (1) 実験方法：ヒトの小腸由来細胞株HCT-8を培養し、ホルマリン固定した後にオーシスト懸濁液と接触させて、2時間反応させた。これにより、生きているオーシストは脱嚢してスポロゾイトが細胞表面に付着する。反応後、未反応のオーシストを洗浄し、抗スポロゾイト抗体を用いて細胞表面に付着したスポロゾイトをELISA法(Enzyme-linked immunosorbent assay：酵素抗体法)にて検出した。
- (2) 実験結果：実験では種々の濃度段階に希釈調製したオーシスト懸濁液について測定した。結果を図4(a)に示す。宿主細胞の培養条件やELISA法に用いる検出試薬について詳細検討した結果、添加オーシスト数に応じた吸光度の変化が確認でき、既報<sup>9)</sup>より2桁低い $10^2$ 個程度のオーシストでも検出できた。また、培養細胞と接触させる前に予めオーシストを脱嚢させ、更にスポロゾイトを分離回収<sup>9)</sup>せずに、オーシストのまま接種してもスポロゾイトを高感度に検出することができた。本法によれば、顕微鏡観察をすることなく、オーシストの脱嚢性に着目したクリプトスポリジウムの生存性を簡便に評価できると考えている。

### 3.2.2 感染性検査技術の検討

- (1) 実験方法：HCT-8細胞を培養し、オーシスト懸濁液と接触させて、2時間反応させた。反応後、未反応のオーシストを洗浄した後に新鮮な培地を添加して2日間培養を続けた。これにより、宿主細胞へ感染したスポロゾイトは細胞内で増殖し、オーシストが産生される。培養物をホルマリン固定した後に、細胞内で増殖したオーシストを、抗オーシスト抗体を用いたELISA

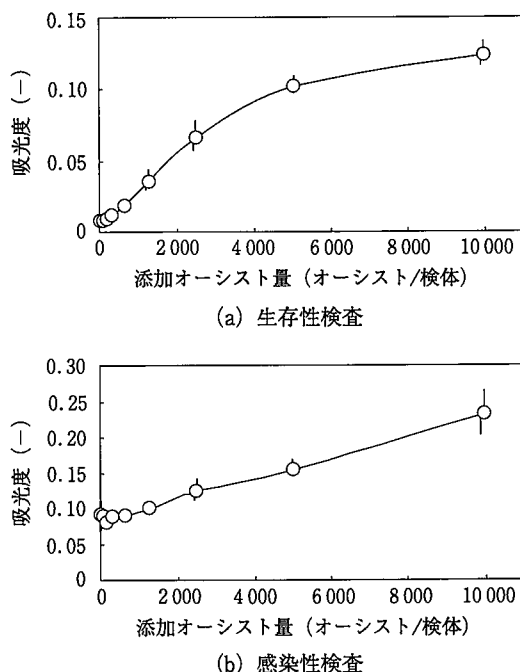


図4 クリプトスポリジウム原虫の生育活性検査に関する検量線例

法にて検出した。

- (2) 実験結果：実験では種々の濃度段階に希釈調製したオーシスト懸濁液について測定した。結果を図4(b)に示す。宿主細胞の培養条件やELISA法に用いる検出試薬について詳細検討した結果、従来の動物実験の検出感度(1検体当たり $10^4$ ~ $10^5$ オーシスト)を $10^2$ オーシスト程度にまで高めることができた。本法によれば、これまで動物実験によらねば判定できなかったクリプトスポリジウムの感染性を簡便に評価できる。

### 3.3 紫外線消毒の効果検証

#### 3.3.1 実験方法

オーシスト懸濁液に紫外線を照射し、上述の培養細胞系ELISA法を用いてオーシストの生育活性(生存性と感染性)を測定した。実験では、紫外線照射量を数段階変えて、照射量の効果を検証した。また、既存の評価法と比較するために、蛍光色素を用いた活性染色法での評価についても併せて実施した。

#### 3.3.2 実験結果

紫外線照射後のオーシスト懸濁液に関する測定結果を紫外線照射前の供試液に関する測定値で除して、生残率を算出した。結果を図5に示す。

まず、従来の脱嚢試験に相当する生存性検査のためのELISA結果(図中■印)は、紫外線照射量を高めても顕著な変化は見られなかった。この傾向は、従来の活性染色法による判定結果(図中△印)と同様であった。一方、感染性を評価したELISAの結果(図中○印)は、紫外線照射量を高めるにつれて生残率が顕著に低下した。

### 3.4 考察

これまで、クリプトスポリジウムは紫外線に対して耐性があるためクリプトスポリジウム対策技術として紫外線消毒は不適であるとされていた<sup>14)</sup>。最近、米国の複数の研究グループがクリプトスポリジウムを死滅させるには強力な紫外線照射が必要だが、低用量の紫外線照射によって感染性を低減できることを培養細胞系(但し、顕微鏡観察)や動物実験系で確認したと報告している<sup>15)</sup>。本論文においても、それをサポートする結果を得た。

これらの結果は、クリプトスポリジウムに紫外線を照射すると死滅はしないが、感染能力が低減することを示唆している。これは、紫外線によって遺伝子の本体であるDNAが変性し、DNA複製が阻害されて、結果的に増殖できなくなるためと推定している。

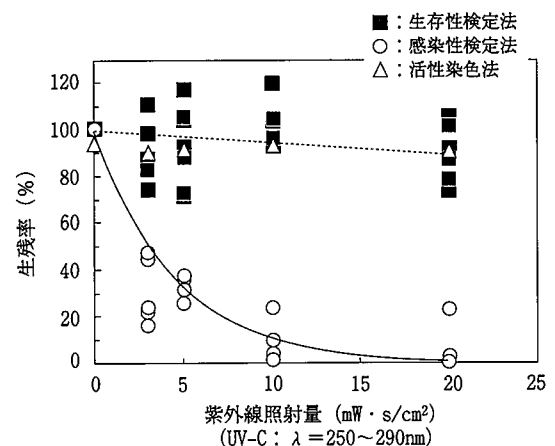


図5 紫外線によるクリプトスポリジウム原虫の不活化

#### 4. おわりに

従来汎用されている塩素消毒は残留性があるために消毒後も効果が持続する利点があるが、残留性があるが故に放流先の生態系への悪影響が指摘され、また、トリハロメタン等の消毒副生成物の健康影響が懸念されており、更には塩素消毒困難な病原微生物が問題化している状況からも塩素に替わる消毒技術の開発・実用化が急がれている。

塩素に替わる消毒技術のひとつとして注目されている紫外線消毒は、消毒副生成物の生成がないとされているものの、適用対象によっては光回復現象の問題を考慮する必要がある。すなわち、紫外線消毒の装置設計は、紫外線照射直後の生残率をもって性能評価をしているのが現状であり、消毒後に暗渠配管を通じて給水される場合には光回復現象の存否は大きな問題とはならないかもしれないが、例えば、下水放流水を自然水域に放流する場合や修景水その他の用途で水を循環利用する場合には光回復をも考慮した生残率で評価する必要がある。

紫外線消毒における課題のひとつである光回復現象の低減化は、紫外線照射量を多くすることでも可能であるが、本論文に示すように光触媒と組み合わせることによって紫外線照射量を増やすことなく光回復を低減できる。

クリプトスポリジウムなどの病原性原虫類は、従来の塩素消毒にて防除困難であり、世界的に対策技術の探索が続けられている。これまで、水処理における消毒は病原微生物を完全に死滅させることを目的としてきたが、最近、感染性を低下することができれば消毒の第一義的な目的は達成しているとの意見も提案されており<sup>16)</sup>、こ

の点からは紫外線消毒がクリプトスポリジウム対策技術になりうるものと考えている。実際、米EPAでは、他の消毒工程の有無に関わらず、紫外線消毒をクリプトスポリジウム対策技術として認可する方向で検討が進んでいる。

#### 謝 辞

本研究を行うにあたり多大なご協力を頂いた岡山大学環境理工学部小野芳朗博士に謝意を表する。

#### 参考文献

- 1) 加藤敏朗ほか:第34回日本水環境学会年会,京都,2000-3,日本水環境学会
- 2) 大垣眞一郎ほか:月刊下水道. 18 (6), 20(1995)
- 3) 特開平11-156352. 1999年6月15日
- 4) 特開2000-180430. 2000年6月30日
- 5) Fukui, S. et al.:J. Chromatogr. 630, 187(1993)
- 6) 加藤敏朗ほか:水環境学会誌. 23 (7), 427(2000)
- 7) 加藤敏朗ほか:第52回全国水道研究発表会,盛岡,2001-5,日本水道協会
- 8) 保坂三維:用水と廃水. 40 (2), 119(1998)
- 9) 特開2000-214168. 2000年8月4日
- 10) Clancy, J. L. et al.:Water Qual. Int. May/June, 11(1998)
- 11) Upton, S. J. et al.:FEMS Microbiol. Lett. 118, 233(1994)
- 12) Woods, K. M. et al.:FEMS Microbiol. Lett. 128, 89(1995)
- 13) Joe, A. et al.:Infect. Immun. 66 (7), 3429(1998)
- 14) Lorenzo-Lorenzo, M. J. et al.:J. Parasitol. 79, 67(1993)
- 15) Shin, et al.:10th Health-Related Water Microbiology Symposium, Paris, 2000-7, IWA:Huffman, et al.:ibid
- 16) 志村有通ほか:水道協会雑誌. 70 (1), 26(2001)