

オゾン・塩素消毒によるウイルスの低減効果と消毒副生成物の生成評価

Evaluation of virus reduction effect and formation of the disinfection by-product by ozone and chlorine disinfection

○ 諏訪 守^{*}、山下 洋正^{*}、北村友一^{*}、高沢 麻里^{*}(現所属^{**})、阿部 翔太^{**}

^{*} (国研)土木研究所、^{**} 埼玉県環境科学国際センター、^{**} 株式会社エンテックス

論文要旨

本論文では、ウイルス低減と消毒副生成物の生成抑制の観点から、有効となる消毒条件を検討するため、水質性状が異なる高度処理水、二次処理水、NH₄-N 残存水を用いてオゾン、塩素消毒実験を行った。消毒原水が高度処理水である場合には、塩素消毒前にオゾン処理を行うことで塩素の添加濃度を大幅に高めることなく、ウイルスの低減効果を向上させられた。また、ニトロソアミン類の生成濃度は定量下限値以下であり、未知の生成物の探索でもオゾン処理・塩素消毒後のピーク強度が小であり、消毒副生成物の生成を抑制できた。

キーワード：消毒、ウイルス、消毒副生成物

1. はじめに

下水道で広く用いられる塩素消毒に耐性を有する病原微生物としてはウイルス等の存在が知られており、水系感染症への対策として、下水処理における効果的な消毒技術・管理手法の検討が重要である。消毒強化と消毒副生成物抑制の間にはトレードオフの関係が想定されるため、これらの観点から合理的な水質安全性向上手法の提案が期待される。特に、衛生学的安全性をより高めるために消毒耐性病原微生物に対して消毒を強化することは、消毒副生成物の生成増大につながる懸念される。その中でも N-ニトロソアミン類の 1 種である N-ニトロソジメチルアミン(NDMA)は、水道水質の要検討項目に位置づけられており、下水処理水を対象とした調査例は少ないが、塩素消毒やオゾン処理によって生成の可能性が報告されている¹⁾。また、N-ニトロソアミン類以外にも複数の既知の副生成物に加え、未知の生成物の存在も想定されるが、それらを物質ごとに個別に同定・定量することは容易ではない。

本論文では、ウイルスおよび消毒副生成物のリスク要因に応じた管理技術の提案を目的として、F 特異 RNA フェージ G2(FRNAPH G II)とノロウイルス(NoV)を指標にオゾン・塩素消毒による低減・不活化効果の向上と、消毒副生成物の生成抑制の観点から有効となる消毒条件を検討した。

2. オゾン・塩素による消毒実験方法

2.1 消毒の対象水と消毒条件

消毒の対象水は、活性汚泥法の二次処理水、硝化抑制活性汚泥法の NH₄-N 残存二次処理水(NH₄-N 残存水)、窒素・りん的高度処理法である生物学的高度処理水(高度処理水)の 3 種類とした。塩素の添加濃度を大幅に高めることなく消毒効果を向上させるため、塩素消毒前にオゾン処理を行った。オゾンによる添加濃度は対象水ごとに 0~5 mg/L、塩素消毒では次亜塩素酸ナトリウムの添加濃度を 0~4 mg/L とした。オゾン処理、塩素消毒の接触時間は各々 20 分間とした。

2.2 FRNAPH G II と NoV の測定方法

FRNAPH G II の測定方法は、定量的タイピング手法³⁾による感染力の有無の判断が可能な IC-PCR 法(培

養法と分子生物学的手法の PCR 法を組み合わせた手法)とした。NoV は、ポリエチレングリコール沈殿法により試料を濃縮し、濃縮によって得られた沈渣を遺伝子分解酵素を除去した水に再浮遊させてウイルス濃縮液とした。濃縮液中のウイルスはリアルタイム RT-PCR 法により定量を行った。

2.3 消毒副生成物の測定方法と探索

ニトロソアミン類と消毒副生成物の探索のための測定方法を図-1 に示す。分析対象としたニトロソアミン類は 8 物質とした(N-ニトロソジメチルアミン(NDMA)、N-ニトロソメチルエチルアミン(NMEA)、N-ニトロソジエチルアミン(NDEA)、N-ニトロソジ-n-プロピルアミン(NDPA)、N-ニトロソピロリジン(NPYR)、N-ニトロソモルホリン(NMOR)、N-ニトロソピペリジン(NPIP)、N-ニトロソジ-N-ブチルアミン(NDBA))。ニトロソアミン類の測定方法は上水試験方法など⁴⁾⁵⁾⁶⁾を参照した。試料 1L をろ過(GF/B:1.0 μm)し、ろ液に内部標準物質のメタノール混合溶液を添加した。固相カートリッジを利用し加圧型固相抽出装置により固相抽出を行い、ジクロロメタン溶出液を窒素気流下で乾固直前まで濃縮し、メタノール、ミリ Q 水溶液(2:8)1 mL で定容、ろ過(0.2 μm)した後、LC/MS/MS(API4000 AB SCIEX 社)によりニトロソアミン類の定性・定量を行った。消毒副生成物の探索では、同じ試料を LC-QTOF/MS (Xevo G2-XS QToF:Waters 社) で分析し、解析ソフト(Progenesis)でピークの溶出時間、*m/z*、ピーク強度を網羅的に取得した。その他、上記以外の水質分析項目は、NH₄-N、DOC、残留塩素とした。

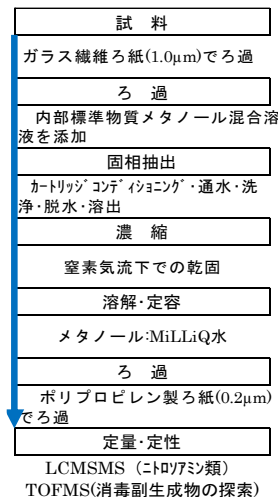


図-1 N-ニトロソアミン類等の測定法の概要

3. オゾン・塩素による消毒実験結果

3.1 消毒条件に応じた FRNAPH G II の不活化効果と NoV の低減効果

ウイルス指標として利用した FRNAPH G II の不活化効果について図-2 に示す。消毒対象水として高度処理水に次亜塩素酸ナトリウムを 1 mg/L となるよう添加した場合、および二次処理水に次亜塩素酸ナトリウムを 2 mg/L となるよう添加した場合には、先に行ったオゾン処理の添加濃度に応じてそれぞれ不活化効果の向上が見られたが、FRNAPH G II が定量下限値以下となる場合もあり、確認できた不活化効果は最大で 1.6 log であった。消毒対象水が高度処理水で次亜塩素酸ナトリウムの添加濃度を 2mg/L とした消毒条件では、FRNAPH G II が定量下限値以下となり、高い不活化効果(3.7 log 以上)が得られた。オゾン処理を先に行った場合でも定量下限値以下であったため、オゾン処理と塩素消毒の併用による不活化効果の向上を本条件では確認できなかった。高度処理水の FRNAPH G II の濃度が低かったため定量できたデータ数が限定的であったことから、試料の濃縮や定量手法の改善を図る必要があると考えられた。

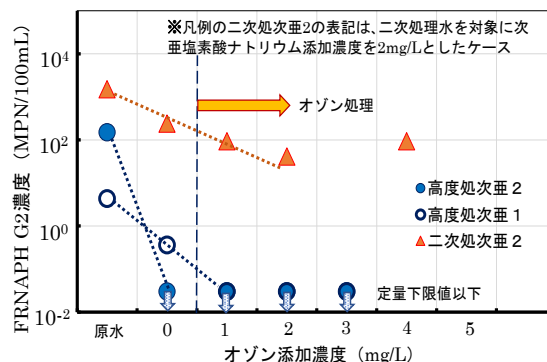


図-2 試料性状とオゾン添加濃度の違いが FRNAPH G II の不活化効果に及ぼす影響

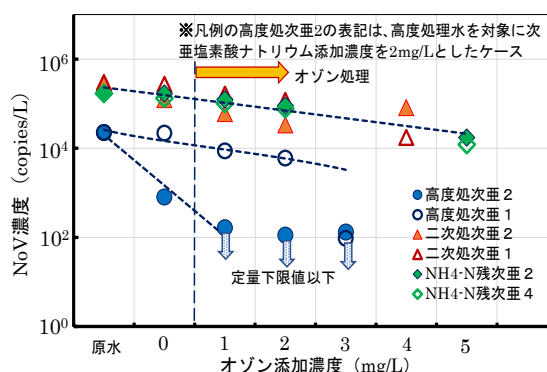


図-3 試料性状とオゾン添加濃度の違いが NoV の低減効果に及ぼす影響

NoV の低減効果について図-3 に示す。消毒対象水が高度処理水である場合には、オゾン処理後に次亜塩素酸ナトリウムの添加濃度を 2 mg/L とした消毒条件にて最大 2.3 log 以上の低減効果が得られた。二次処理水、NH₄-N 残存二次処理水では最大で 1.2 log 程度であった。

消毒対象水が異なることで、FRNAPH G IIや NoV の低減・不活化効果に大きな違いが生じたが、1 つの要因として水質性状の影響が推定される。このため、各対象水について同一の消毒条件として次亜塩素酸ナトリウム添加濃度が 2 mg/L、オゾンの添加濃度を 0, 2 mg/L とした場合の遊離・全残留塩素濃度とその CT 値について整理した結果を表-1 に示す。遊離残留塩素濃度は次亜塩素酸ナトリウムを添加してから接触時間の 20 分後に測定した値、CT 値は 5 分間隔で測定した遊離残留塩素濃度の積算値から算出した。FRNAPH G IIや NoV の低減・不活化効果が高かったオゾン添加濃度を 2 mg/L、次亜塩素酸ナトリウム添加濃度を 2 mg/L とした高度処理水は、他の試料と比較して塩素の消費量が低く遊離の残留塩素濃度が高く保持されていた。また、二次処理水と比較して DOC もやや低い状況にあった。オゾン添加濃度が 0 mg/L の消毒条件では、オゾンの添加濃度が 2 mg/L よりも遊離の残留塩素濃度が低いことから、塩素を消費する有機物がオゾンの添加によって分解されているものと推定された。NH₄-N 残存水では、遊離の残留塩素濃度が低く、全残留塩素濃度が高かったことから、クロラミンの生成が優先していたと考えられた。

表-1 オゾン・塩素消毒後の消毒対象水の水質性状

	DOC (mg/L)	NH ₄ -N (mg/L)	遊離・全残留塩素濃度 (mg/L) オゾン ²	遊離・全残留塩素濃度 (mg/L) オゾン ⁰	CT値遊離 (mg・min/L) オゾン ²	CT値遊離 (mg・min/L) オゾン ⁰
高度処理水	4.9	0.01	0.64, 1.1	0.12, 0.56	19.3	9.4
二次処理水	5.3	0.01	0.29, 0.88	0.04, 0.28	13.4	6.4
NH ₄ -N残存水	6.4	14.4	0.06, 1.8	0.07, 1.6	6.3	6.2

次亜塩素酸ナトリウム添加濃度は2mg/L、残留塩素濃度の左値は遊離、右値は全

3.2 ニトロソアミン類の生成評価

各種処理水の消毒条件によるニトロソアミン類の生成状況について図-4 に示す。二次処理水と NH₄-N 残存水で定量値が得られた 4 物質のみであった。高度処理水ではオゾン処理後に塩素消毒を行って検出された 4 物質の多くが定量下限値以下(<3.3~40 ng/L)の濃度であった。二次処理水(NH₄-N 残存水を含む)では、オゾン添加によってニトロソアミン類の生成濃度が高まり、特に NPYR の生成が顕著であったが、硝化抑制の NH₄-N 残存水は二次処理水と比較して全体的にニトロソアミン類の生成濃度が低い状況であった。この理由を明らかにするためには、遊離塩素およびクロラミンならびにオゾンについて、前駆物質との反応特性を詳細に把握する必要がある。

上述したニトロソアミン類の測定結果の内、水道水質基準の要検討項目である NDMA の生成濃度について、改めて整理した結果を図-5 に示す。高度処理水ではオゾン処理後に塩素消毒を行っても NDMA の検出濃度は定量下限値以下(<3.3 ng/L)であった。一方、二次処理水や NH₄-N 残存水ではオゾン処理後に塩素消毒を行うことで NDMA の生成濃度が高まるケースも見られたが、最大値は 10 ng/L 程度であった。NDMA に関しては、参考として水道水質要検討項目の 100 ng/L の目標値があるが、今回の各種対象水の消毒条件下では超過したケースはなかった。

3.3 LC-QTOF/MS による消毒副生成物の探索試行

LC-QTOF/MS による消毒副生成物の探索試行として Progenesis を用いたノンターゲット解析を実施した。Positive と Negative のピーク強度について、各種消毒後水と消毒前原水を比較し、t 検定と倍率(消毒前の 10 倍以上)をもとに消毒前後で有意な増加を示したピークを抽出した。その結果、消毒副生成物の候補ピークは 170 個が抽出された。その中でオゾン処理・塩素消毒後の試料にてピーク強度が大きかった 1 つの例を

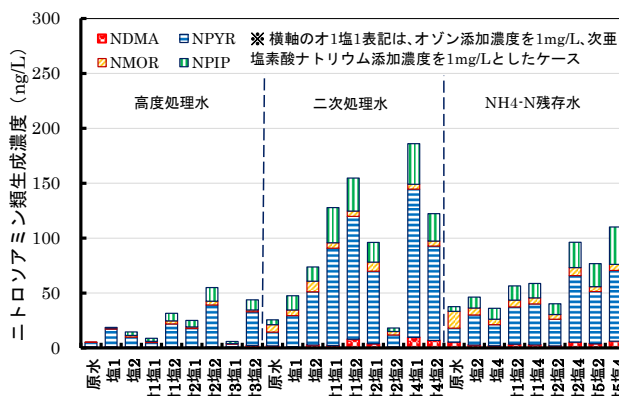


図-4 各種処理水の消毒条件によるニトロソアミン類の生成

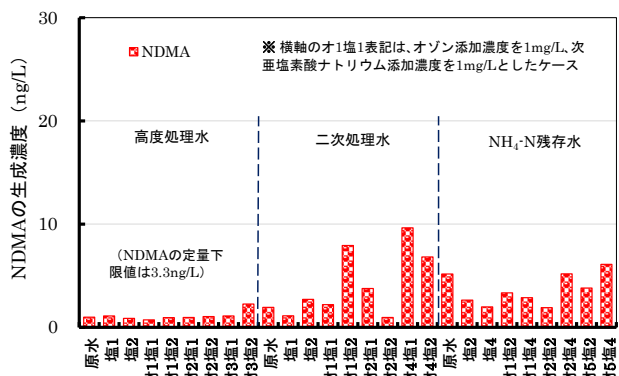


図-5 各種処理水の消毒条件によるNDMAの生成

図-6 に示す。消毒原水が高度処理水である場合と比較して、二次処理水と NH₄-N 残存水を原水としたオゾン処理・塩素消毒後の試料でピーク強度が大きかったが、消毒原水が高度処理水である場合には、二次処理水等と比較してオゾン処理・塩素消毒後のピーク強度が小さかった。このように、未知の消毒副生成物についても、探索的なノンターゲット解析により発生傾向を把握することが可能と考えられた。

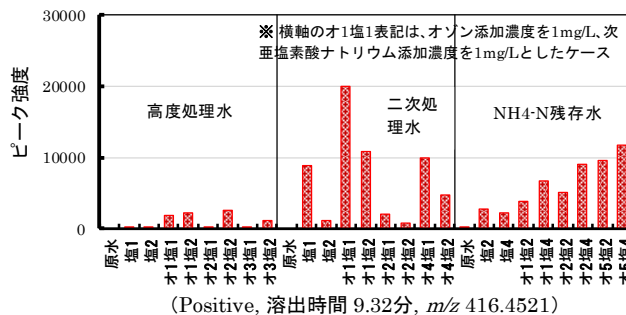


図-6 消毒で増加したピーク強度の比較の1例

3.4 有効な消毒条件の把握

本消毒実験では、塩素の添加濃度を大幅に高めることなく消毒効果を向上させるため、塩素消毒前にオゾン処理を行い、ウイルスの低減効果と消毒副生成物の生成評価を行った。本実験時の FRNAPH G II の不活化効果、NoV の低減効果、水道水質要検討項目の目標値がある NDMA および未知の生成物のピーク強度について、消毒対象水ごとに、不活化効果の最大値と副生成物の最大生成濃度等を表-2 に整理した。消毒対象水が高度処理である場合には、ウイルスの低減効果、消毒副生成物の生成濃度等の観点から、オゾン、塩素消毒が有効となる可能性が唆された。これらの効果が確認できた消毒条件としては、オゾン添加 2mg/L、塩素添加濃度 2mg/L(接触時間 20 分)であった。高度処理水では他の試料と比較して遊離の残留塩素濃度が高く保持され、ウイルスの低減効果が高くなったと推定されたが、消毒副生成物については生成要因となる前駆物質の測定を行っていないため、今後のさらなる評価が必要と考えられた。

表-2 オゾン・塩素消毒後における各試料のウイルス

試料	低減効果と消毒副生成物の生成濃度・ピーク強度				
	項目	FRNAPHの不活化効果(log)	NoVの低減効果(log)	NDMA生成濃度(ng/L)	ピーク強度の最大値
高度処理水		3.7 以上	2.3 以上	3.3以下	2,610
二次処理水		1.6	1.2	9.6	20,072
NH ₄ -N残存水		—	1.1	6.1	11,801

※ 値は各試料ごとの最大値

4. まとめ

本論文では、ウイルス低減と消毒副生成物の生成抑制の観点から、有効となる消毒条件を検討するため、水質性状が異なる高度処理水、二次処理水、NH₄-N 残存水を用いてオゾン、塩素消毒実験を行った。消毒原水が高度処理水である場合には、塩素消毒前にオゾン処理を行うことで塩素の添加濃度を大幅に高めることなく、ウイルスの低減効果を向上させられた。また、ニトロソアミン類の生成濃度は定量下限値以下であり、未知の生成物の探索でもオゾン処理・塩素消毒後のピーク強度が小であり、消毒副生成物の生成を抑制できた。

参考文献

- 1) 尹水鐵、中田典秀、山下尚之、田中宏明、下水処理場におけるN-ニトロソアミン類及びそれらの生成能の挙動、土木学会論文集G(環境)、68(7)、III351-358、2012.
- 2) 立石浩之、北本靖子、宮田雅典、N-ニトロソアミン類の水道水源での存在実態及び高度浄水処理過程における挙動、水道協会雑誌、78(4)、pp8-22、2009.
- 3) Hata, A., Hanamoto, S., Shirasaka, Y., Yamashita, N., Tanaka, H., Quantitative distribution of infectious F-specific RNA phage genotypes in surface waters. Applied and Environmental Microbiology. 82, 4244-4252, 2016.
- 4) 日本水道協会、上水試験方法(2011年版)IV.有機物編、pp.212~214、2011.
- 5) Suchul Yoon, Norihide Nakada, Hiroaki Tanaka, A new method for quantifying N-nitrosamines in wastewater samples by gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry, Talanta 97, 256-261, 2012.
- 6) 中田典秀、板井周平、楊永奎、鈴木裕識、田中修平、工業用化学物質の酸化処理過程における副生成物生成能試験法の提案、土木学会論文集G(環境)、72(7)III95-116、2016.