

## 第 390 回雑誌会

(May. 10, 2023)

### (1) Effect of temperature on turbidity removal by coagulation: Sludge recirculation for rapid settling

Dayarathne, H.N.P., Angove, M. J., Jeong, S., Aryal, R., Paudel, R. S. and Mainali, B.  
Journal of Water Process Engineering, **46**, 102559 (2022)

Reviewed by M. Kanai

水道原水の濁度の原因となる天然有機物 (NOM) や粘土粒子を有効に除去する方法として、凝集沈殿処理がある。原水の水温は、浮遊コロイドや吸着プロセス等の凝集沈殿処理効率に影響を与えることが報告されている。本研究では、原水の水温変化における濁度除去率の比較を行い、水温が凝集沈殿処理効率に及ぼす影響を検討した。また、高濁度条件での凝集プロセスの促進効果を目的とし、汚泥の再利用による濁度除去率についても検討した。試料水は NOM のモデル化合物としてフミン酸ナトリウム塩 (HA), 粘土粒子としてカオリナイト (KN) とベントナイト (BN) を使用して作製した。また、無機凝集剤として塩化第二鉄、高分子凝集剤としてノニオン系ポリアクリルアミド (PAM) を使用した。実験用原水は HA 濃度 5 mg/L, KN または BN 濃度 100 mg/L, pH5~9 に調整し、水温を 2°C, 10°C, 20°C, 30°C, 40°C の条件に設定した。調整した各原水 1 L を攪拌しながら、流動電位 (SP) が 0 mV になるまで塩化第二鉄を注入した後、ノニオン系 PAM (1.0 mg/L) を注入し、緩速攪拌 (20~70 rpm) を 10 分間行った。その後、10 分間静置する中で、1 分ごとに上澄みを採取して濁度を測定し、濁度除去率から水温変化による影響を検討した。また、上記と同一の原水に凝集沈殿処理で回収した汚泥 0~10 mL を注入して凝集沈殿処理を行い、処理後の上澄み水の濁度を測定した。

事前の検討で粘土粒子には処理が容易な KN を選定し、緩速攪拌速度は 40 rpm に設定した。この緩速攪拌速度の条件のもとで、HA と KN で作成した原水を用いて、水温の異なる条件における凝集効率を比較した。その結果、pH7 における濁度除去率は、2°C で 83%、40°C で 78% となり、水温上昇とともに濁度除去率は低下した。pH と水温の上昇によって懸濁物質の負のゼータ電位が上昇するため、荷電中和に必要な正の電荷を持つ凝集剤の注入率を増加させる必要があったと考えられる。次に、pH7 において汚泥の再利用実験を行ったところ、汚泥を 5 mL 注入した条件下では汚泥注入なし条件と比較して、濁度除去率が向上した。また、最適な汚泥注入率は水温によって異なり、2°C では汚泥量を増加させるとさらに濁度除去率が向上した。以上のことより、水温変化は濁度除去率に大きな影響を及ぼし、低温下で処理効率が向上する可能性が示唆された。また、凝集沈殿処理の汚泥を再利用することで、濁度除去率を促進させる効果があることがわかった。

**(1) Unraveling the role of ballast surface charge at floc growth behavior in ballasted flocculation**

Qasim, M., Park, S., Kim, J, O

Separation and Purification Technology, **278**, 119507 (2021).

Reviewed by K. Takahashi

バラスト凝集は、従来の凝集沈殿に用いられる無機凝集剤に加えて、バラスト材 (BM) を併用する新たな処理法であり、従来法と比較して、非常に優れた処理性を有する。しかしながら、BM の表面電荷特性によるフロック形成への影響に関する情報は不足している。そこで本研究では、粒径と表面電荷の異なる 6 種類のマグネタイト BM {粒径/表面電荷 : BM-A (33  $\mu\text{m}$ /-9.40 mV), BM-B (33  $\mu\text{m}$ /+31.6 mV), BM-C (33  $\mu\text{m}$ /-37.8 mV), BM-D (80  $\mu\text{m}$ /+1.23 mV), BM-E (80  $\mu\text{m}$ /+33.6 mV), および BM-F (80  $\mu\text{m}$ /-29.8 mV)} を用いて、BM の表面電荷の違いによる凝集性能を比較した。試料水は、水道水 3 L に  $\text{NaHCO}_3$  を 80 mg/L, カオリンを 200 mg/L 添加して、pH を 8.0 に調整した。バラスト凝集実験は、ポリ塩化アルミニウム (PAC) の注入率を 30 mg/L に固定し、BM の注入率を 25~2000 mg/L に変化させて行った。測定項目は、静置開始 120 秒後のフロックの粒径、濁度、および沈降速度とした。

BM-A, -B, -C, -E, -F は、注入率 75 mg/L~300 mg/L の範囲において、フロックの粒径が最大に達したが、300 mg/L 以上では粒径が小さくなった。一方で、BM-D は 300 mg/L 以上の注入率でもフロックの成長する傾向が確認された。また、負電荷が強い BM-C と BM-F は注入率 200 mg/L において最も高い濁度除去率と沈降速度を達成した。しかしながら、BM 自身が PAC 由来のアルミニウム水酸化物種を消費するため、注入率が 200 mg/L よりも増加すると濁度除去率と沈降速度が低下した。正電荷が強い BM-B と BM-E では、500 mg/L において最も高い濁度除去率と沈降速度を達成した。しかし、正電荷の BM-B と BM-E は、アルミニウム水酸化物種との相乗作用によって、フロックのゼータ電位が正に反転するため、注入率が 500 mg/L を超えると濁度除去率と沈降速度が低下したと考えられる。一方で、表面電荷が弱い BM-A と BM-D は、注入率の増加に伴って濁度除去率と沈降速度が上昇した。BM-A と BM-D は表面電荷が弱いため、BM 同士の反発力が非常に弱く、特に BM-D は表面電荷が正であり、懸濁粒子間に引力が働くため、注入率 2000 mg/L において、最も高い濁度除去率 (99.5%) と沈降速度 (102.4 m/h) を達成した。以上のことから、バラスト凝集において、表面電荷が弱く正に帯電している BM が最適であることが明らかになった。

## (2) Application of iron flocculation to concentrate white spot syndrome virus in seawater

Kim, M. J., Beak, E. J., Kim, K. I.

Journal of Virological Methods, **306**, 114554 (2022)

Reviewed by R. Nakamura

エビ白斑症候群ウイルス (White Spot Syndrome Virus : WSSV) は養殖エビの主要な病原体であり、水産業に多大な経済損失をもたらしている。そこで、WSSV を海水から濃縮・回収する方法として、鉄塩凝集と PES または PC メンブレンフィルターによる鉄フロックの回収、シュウ酸 (Oxalate) またはアスコルビン酸 (Ascorbate) による再懸濁を組み合わせた 4 つの最適な条件を比較した (PES-Oxalate, PES-Ascorbate, PC-Oxalate, PC-Ascorbate)。紫外線処理後の海水 500 mL に  $3.5 \times 10^0 \sim 10^6$  copies/mL の WSSV を添加し、模擬試料水を作製した。試料水は、1.6  $\mu\text{m}$  および 0.45  $\mu\text{m}$  のフィルターで濾過し、塩化第二鉄 (0.18M  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) を 50  $\mu\text{L}$  添加した。試料水を 120 rpm で 1 時間攪拌し、メンブレンフィルターで鉄フロックを回収した後、メンブレンフィルターを 1 mL の再懸濁バッファで一晩振盪攪拌 (暗所, 4°C) した。得られた WSSV 再懸濁液から DNA を抽出し、qPCR 法を用いて DNA コピー数から回収率を算出した。次に、4 つの実験条件で回収した WSSV の活性状態を確認した。回収した WSSV を異なる濃度でエビに接種し、2 週間後の累積死亡率および陽性率を検査し、感染性の指標である VP28 遺伝子の発現を qPCR 法で確認した。その後、鉄凝集法 (PES-Ascorbate) を白斑病が発生したエビ養殖場 (3 地点) の実海水に適応した。

鉄凝集法の各条件による WSSV DNA 平均回収率は、PES-Oxalate :  $78.67 \pm 12.90\%$ 、PC-Oxalate :  $84.53 \pm 24.30\%$ 、PES-Ascorbate :  $85.59 \pm 16.98\%$ 、PC-Ascorbate :  $93.74 \pm 7.44\%$  となり、全条件で 80% 以上の回収率が得られた。Oxalate で再懸濁した WSSV を接種されたエビ群は、累積死亡率 : 100% であり、VP28 はエビの筋肉組織で発現が確認された。一方で、Ascorbate で再懸濁した WSSV を接種されたエビ群は、累積死亡率 : 0~20% であり、VP28 の発現は Oxalate で再懸濁した場合と比較して有意な上昇は見られなかった。そのため、鉄フロックを Oxalate で再懸濁することで、感染性 WSSV の回収が可能であった。さらに、エビ養殖場のエビ・実海水を季節ごとに調査した結果、エビからは 7 月~9 月にかけて WSSV が最大  $10^6$  copies/mL で検出され、実海水は 7 月、9 月に WSSV が約  $10^2$  copies/mL で検出された。以上のことから、鉄凝集と Ascorbate による再懸濁を組み合わせた手法は、海水中のウイルスを濃縮・検出可能であり、病原ウイルスの発生状況や感染動向の監視に応用できることが示唆された。

## 第 392 回雑誌会

(May 24, 2023)

### (1) Comparison of environmental microbiomes in an antibiotic resistance-polluted urban river highlights periphyton and fish gut communities as reservoirs of concern

Mills, M., Lee, S., Mollenkopf, D., Wittum, T., Sullivan, S. M. P. and Lee, J.

Science of The Total Environment, **851**, 158042, (2022).

Reviewed by K. Tsuda

河川水中に存在する薬剤耐性遺伝子 (ARG) は新興の汚染物質として懸念されている。特に、ヒトの多剤耐性菌の感染症に使用されるカルバペネム系抗菌薬に耐性を示すカルバペネマーゼをコードする遺伝子の一部はプラスミド媒介性であり、接合によって他の細菌に伝播する可能性がある。そこで本研究では、環境マトリックス (水、堆積物、デトリタス、ペリフェトン、魚の腸) におけるカルバペネム耐性遺伝子の存在量と細菌叢を比較し、ARG の汚染が最も懸念されるマトリックスを特定することを目的とした。試料は、2017 年 10 月から 2018 年 8 月の各季節に米国オハイオ州サイオト川流域の 26 地点から採取した。各環境マトリックスから DNA を抽出後、3 つのカルバペネム耐性遺伝子 (*bla<sub>KPC</sub>*, *bla<sub>NDM</sub>*, *bla<sub>OXA-48</sub>*) を Droplet Digita™ PCR (ddPCR) で定量した。さらに、都市部の 9 地点 (9/26 地点) における細菌叢の 16S rRNA 遺伝子を解析し、採取地点と季節差によるペリフェトン中の微生物群集構造解析を行った。また、環境マトリックスの生態系動態を推定するために、解析ソフトウェア PICRUST2 を用いて機能遺伝子存在量の予測解析を行った。

カルバペネム耐性遺伝子は、すべてのマトリックスから検出され、各検出率は *bla<sub>KPC</sub>* : 88%, *bla<sub>NDM</sub>* : 64%, *bla<sub>OXA-48</sub>* : 22% であった。魚の腸は *bla<sub>KPC</sub>* と *bla<sub>NDM</sub>* の濃度が最も高く、ARG の生物濃縮の可能性と、ふん便を介して薬剤耐性が水環境全体に拡散するリスクが示唆された。ペリフェトンは、他のマトリックスと比較して、*bla<sub>NDM</sub>* と *bla<sub>OXA-48</sub>* において濃度が高かった。各マトリックスの細菌叢を比較したところ、堆積物の  $\alpha$  多様性が最も高く、デトリタスは最も低かった。ペリフェトンの細菌叢の多様性は、場所よりも季節の変化による影響が大きかった。夏と比較して、春に細菌属の多様性と濃度が増加した。細菌叢の多様性とカルバペネム耐性遺伝子の関連を統計的に解析したところ、両者の間に有意な関係は認められなかった。また、PICRUST2 による、異なる環境マトリックスにおける微生物群の機能は、その役割や場所によって異なり、堆積物は好気性細菌と嫌気性細菌が混合し、水とペリフェトンはそれぞれオクタン酸とパルミチン酸生合成する細菌が検出された。ペリフェトンでは、バイオフィルムの安定性に不可欠なパルミチン酸を含むパルミテートの生合成が活発であることがわかった。これらの結果から、最も懸念されるマトリックスは、ペリフェトンと魚の腸であることが明らかになった。河川における ARG 負荷を推定するためには、複数のマトリックス中の ARG を考慮することが重要である。

## **(2) Seasonal distribution and prevalence of diarrheagenic *Escherichia coli* in different aquatic environments in Taiwan**

Wen-Chien, H., Bing-Mu, H., Po-Min, K., Chi-Wei, T., Ying-Ning, H., Chun-Wei, K. and Yu-Li, H.

*Ecotoxicology and Environmental Safety*, **124**, 37-41 (2016).

Reviewed by R. Matsuyama

表流水の糞便汚染問題のうち、病原体の存在はヒトの健康に重大なリスクを与える可能性がある。病原体の存在は、季節や天候による影響を受けることが報告されているが、下痢原性大腸菌 (DEC) の季節的变化に関する知見は少ない。そこで本研究では、台湾の異なる水環境を対象に、DEC である腸管病原性大腸菌 (EPEC), 腸管毒素産生大腸菌 (ETEC), 志賀毒素産生大腸菌 (STEC) の存在と季節分布について調査した。試料は、2013 年 4 月から 2014 年 4 月に、温泉 5 ヶ所、淡水湖 19 ヶ所、河川 12 ヶ所、プーヅ川流域の 34 地点から表流水を採取した。なお、温泉以外の地点は、季節ごとに計 4 回試料採取を行った。水質評価のために、水温、pH、および濁度を測定した。従属栄養細菌数と総大腸菌群数はメンブレンフィルター法によって計数した。また、試料水 1L をフィルター通水し、通水後のフィルターを MacConkey ブロス 10 mL に入れ、37°C で 24 時間培養した。その後、フィルターを取り出して遠心分離し、沈殿したペレットから MagPurix Bacterial DNA Extraction Kit ZP02006 を用いて DNA を抽出した。抽出した DNA は、PCR 法で病原遺伝子 (ETEC : *LT*, EPEC : *eaec*, STEC : *stx1*) の保有を確認することで DEC の存在を把握した。また、Mann-Whitney U 検定によって、各水質項目と DEC 検出率の相関を調べた。

383 検体のうち、31.8% (122/383 検体) が DEC として検出された。DEC の検出率は対象とした水域ごとに違いが見られ、淡水湖は 3.3% (2/59 検体)、温泉は 6.1% (5/81 検体)、河川は 36.1% (17/47 検体)、プーヅ川流域は 50% (98/196 検体) であった。プーヅ川流域で DEC が検出率の高かった原因は、生活排水や畜産排水の流入による汚染であると推測される。DEC の種別で見ると、EPEC, ETEC, STEC の順に検出率が高かった。また、各季節で見ると、全水域において、春季・夏季は秋季・冬季と比較して検出率が高かった。台湾は主に夏に降雨があり、台風や雷雨が発生しやすい天候が影響したと考えられる。また、統計解析の結果、DEC の検出率は、各水域の pH、総大腸菌群数、従属栄養細菌数と有意な関係が見られた。以上の結果から、DEC の検出率は、季節や天候の影響を受け、降雨が多い時期に検出率が高くなる可能性が示唆された。また、水質項目の持続的調査は、DEC 汚染状況の把握に役立つと考えられた。

## 第 393 回雑誌会

(May 31, 2023)

### (1) Adsorption capacities of activated carbons for geosmin and 2-methylisoborneol vary with activated carbon particle size: Effects of adsorbent and adsorbate characteristics

Matsui, Y., Nakao, S., Sakamoto, A., Taniguchi, T., Pan, L., Matsushita, T. and Shirasaki, N.

Water Research, **85**, 95-102 (2015).

Reviewed by R. Kondo

粉末活性炭 (PAC) は、ジェオスミン、2-メチルイソボルネオール (MIB) の除去に広く用いられている。しかしながら、PAC の粒径と吸着性能の関係について検討した研究は不足している。そこで本研究では、素材や粒径の異なる 9 種類の PAC {素材/粒径 ( $\mu\text{m}$ ): PAC-A (ヤシ殻/31.0), PAC-B (ヤシ殻/47.9), PAC-C (木/10.6), PAC-D (木/15.4), PAC-E (木/16.4), PAC-F (木/15.4), PAC-G (木/25.2), PAC-H (木/18.9), PAC-I (石炭/18.3)} を用い、各 PAC を粉砕して粒径の違いによるジェオスミンと MIB の吸着性能を比較した。また、各 PAC の特性を元素組成によって評価した。実験用原水は無機イオンを用いてイオン濃度を調整した人工湖水に、ジェオスミンと MIB を  $1\ \mu\text{g/L}$  添加して作製した。吸着平衡試験では、160 mL バイアルに 150 mL の原水と PAC を  $20\ \text{mg/L}$  添加し、 $20^\circ\text{C}$  で 1 週間攪拌を行った。0.22  $\mu\text{m}$  メンブレンフィルターで PAC を取り除き、ろ液中のジェオスミンと MIB 濃度を GC/MS によって定量した。

MIB では、吸着等温線から PAC-A, PAC-B, および PAC-C を細粒化することによって吸着性能が向上したが、粒径 3  $\mu\text{m}$  以下では吸着性能は向上しなかった。また、その他の PAC では粒径による MIB の吸着性能の違いは確認されなかった。ジェオスミンでは、PAC-A と PAC-B を細粒化することで吸着性能が著しく向上した。その他の PAC においても、細粒化によって吸着性能がわずかに向上した。このことから、PAC の粒径は、MIB よりもジェオスミンの吸着性能に影響を与えることがわかった。また、PAC の種類によってジェオスミンと MIB の吸着性能が異なることが示唆された。各 PAC を元素分析したところ、PAC の細粒化による吸着性能の変化が大きかった PAC-A と PAC-B は親水性を示す酸素含有量が低かった。親水性の低い PAC はジェオスミンと MIB に対する吸着性能が高いが、PAC の浸透距離に対して粒径が大きい場合、内部領域が吸着に使えなくなるので吸着性能が低下する。親水性が低い PAC-A と PAC-B は、細粒化によって吸着性能が向上し、他の PAC と比較して吸着性能が最も高くなった。このことから、親水性の低い PAC を数  $\mu\text{m}$  の粒径に粉砕し、粒子径を浸透距離より小さくすることでジェオスミンと MIB の除去効率が向上することが明らかになった。

## 第 394 回雑誌会

(Jun. 7, 2023)

### (1) The effect of pH/PAC on the coagulation of anionic surfactant wastewater generated in the cosmetic production

Zhang, L., Liu, X., Zhang, M., Wang, T., Tang, H. and Jia, Y.

Journal of Environmental Chemical Engineering, **11**(2), 109312, (2023)

Reviewed by Y. Hisatsugu

中国の吉林市では、化粧品原料生産において大量の排水が発生している。排水には直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム (LAS) などのアニオン界面活性剤が高濃度で含まれており、活性汚泥法において汚泥の浮遊やフロック崩壊を引き起こす可能性がある。そこで本研究では、活性汚泥処理の前処理として凝集沈殿法を用い、pH と凝集剤注入率が汚染物質の除去効率に及ぼす影響を検討した。また、凝集条件が汚泥フロック構造に与える影響についても検討した。実験用原水には、化粧品原料工場の実排水 (COD :  $6,700 \pm 500$  mg/L, pH : 5~6, 濁度 :  $1,160 \pm 50$  NTU, ゼータ電位 :  $-46.743 \pm 10$  mV, LAS 濃度 :  $94.4 \pm 10$  mg/L) を用いた。無機凝集剤にはポリ塩化アルミニウム (PAC, 注入率 : 0 g/L, 2.0 g/L, 2.2 g/L, 2.4 g/L, 2.6 g/L), 高分子凝集剤にはカチオン性ポリアクリルアミド (PAM, 注入率 : 0.03 g/L), pH 調整剤には 1 mol/L の HCl と Ca(OH)<sub>2</sub> を用いた。測定項目は、凝集沈殿後の上澄み水の COD, 濁度および LAS 濃度, 汚泥フロックのゼータ電位, 粒子サイズとした。さらに、汚泥の熱安定性を熱重量分析 (TGA) によって評価した。

原水の pH を変化(PAC 無添加)させて凝集沈殿を行ったところ、pH5.4 から 3.0 に低下させた場合において、LAS 濃度が 94.4 mg/L から 44.6 mg/L に低下した。pH5.4 から 8.0 に上昇させた場合には、LAS 濃度は 25.3 mg/L に低下した。しかしながら、pH 調整だけでは溶存有機物 (DOM) の主成分である芳香族タンパク質有機物は除去できなかった。次に、pH 3~8 の範囲で PAC を注入したところ、PAC 注入率 2.6 g/L, pH6 において、COD 除去率 91.4%, LAS 除去率 92.4% となり、最高除去率を達成した。また、高分子 DOM が除去できたが、低分子 DOM 除去は困難であった。

pH と凝集剤注入率による汚泥フロック構造への影響を検討した結果、pH が 3~8 に変動してもフロックの官能基組成は一貫して類似しており、主に-OH, 脂肪酸, カルボン酸基で構成されていた。また、異なる pH で凝集沈殿を行い生成した凝集汚泥を TGA によって比較したところ、pH が高い場合には水酸化アルミニウム複合体が形成され、熱分解反応の活性化エネルギーを低下させ、熱伝導効率に影響を及ぼした。以上のことから PAC 無添加の pH 調整のみでも凝集沈殿が生じ、COD と LAS の除去効率が改善されることがわかった。また、PAC 注入による凝集沈殿処理によって、高分子 DOM は除去できるが、低分子 DOM の除去は困難であることが明らかとなった。

## (2) long-range transport of airborne bacteria over East Asia: Asian dust events carry potentially nontuberculous *Mycobacterium* populations

Maki, T., Noda, J., Morimoto, K., Aoki, K., Kurosaki, Y., Huang Z., Chen, B., Matsuki, A., Miyata, H., and Mitarai, S.

Environment International, **168**, 107471 (2022).

Reviewed by R. Funaguma

非結核性抗酸菌性肺疾患 (NTM-PD) による健康被害は国際的な問題になっている。アジアでは NTM-PD の発病者が多く、東日本では *Mycobacterium avium*, 西日本や中国大陸では *M. intracellulare* を原因菌とする NTM-PD が発生している。近年、気圧の変動によってエアロゾルに吸着した微生物が中国大陸から日本に飛来することが確認されており、西日本における *M. intracellulare* は中国大陸から飛来した可能性がある。そこで本研究では、アジア大陸の黄砂発生源から風下に位置する諸国のエアロゾル試料および日本の山頂の雪試料を採取し、アジア大陸からエアロゾルを介した NTM-PD 拡散の可能性について検討した。エアロゾルの採取は、高度 2~20 m の 6 地点と高度 2,000~2,500 m の 1 地点で行った。採取方法は、滅菌済みフィルターフォルダーを装着した 0.22  $\mu\text{m}$  フィルターを用いて、高度 2~20 m の場合は 1.0~96 時間、高度 2,000~2,500 m の場合は 0.5~1 時間、流量 5 L/min でろ過捕集を行った。雪試料は、立山において非ダストシーズンとダストシーズンの層から採取し、融雪後の 5 mL を DNA 抽出に供した。また、各試料中の粒子 (微生物粒子、鉱物粒子、ブラックカーボン) を蛍光試薬と蛍光顕微鏡によって分類した。さらに、フェノールクロロホルム法で DNA を抽出し、16s rRNA の V4 領域を対象として細菌叢を解析した。

各粒子を分類した結果、ダストイベント時には平常時と比較して、空気中の微生物・鉱物粒子の濃度が最大 100 倍に増加した。また、雪試料中のダストシーズン層の鉱物粒子と人為的汚染物質は中国大陸、韓国で検出されたものと一致した。菌叢は、主に *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, 及び *Proteobacteria* 門で構成されていた。*Mycobacterium* 属の相対的存在量は、日本の高地において最も高かったが、*Mycobacterium* 属と同一の分類階級である *Actinobacteria* 門と *Corynebacteriales* 目の 16s rRNA の取得配列に対する相対的存在量は黄砂発生源から風下地域にかけて減少した。また、雪試料はダストシーズン層において *Mycobacterium* 属が高い割合で存在しており、その相対的存在量はブラックカーボン濃度と正の相関を示した。これらの結果から、冬期から春先に、アジア大陸から日本に *Mycobacterium* 属とその近縁の細菌がブラックカーボンのような人工的粒子とともに輸送され、NTM-PD の潜在的な拡散に寄与していることが示唆された。



## 第 395 回雑誌会

(Jun. 21, 2023)

### (1) Disinfectants facilitate the transformation of exogenous antibiotic resistance genes via multiple pathways

Jia, Y., Wang, Z., Zhu, S., Wang, Z. and Liu, Y.

Ecotoxicology and Environmental Safety, **253**, 114678, 2023.

Reviewed by S. Tamai

薬剤耐性菌による健康被害は国際的な問題となっている。細菌は、形質転換によって外来の DNA を取り込み、薬剤耐性を獲得することが可能である。一方で、COVID-19 の流行によって消毒剤の使用量が世界的に増加している。消毒剤の過剰な使用は、消毒効果の低下を招き、細菌の遺伝子伝播頻度を促進する恐れがある。そこで本研究では、消毒剤が細菌の形質転換頻度に与える影響を評価し、そのメカニズムを解明することを目的とした。形質転換実験では、レシピエントとして *Escherichia coli* (*E. coli*) 標準株 (DH5 $\alpha$ ) と 2 つの臨床株 (*E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*), ならびにドナー遺伝子として大きさの異なる 4 つの薬剤耐性プラスミド (pUC19 : 2686bp, pET-28a : 5369bp, pUT-mini-Tn5 : 7385bp, pWM91 : 8261bp) を使用した。コンピテントセルにプラスミドと 7 種類の消毒剤を 4 段階の濃度 (0, 0.001, 0.01, 0.1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) で添加後、ヒートショック法によってプラスミドを導入した。その後、抗菌薬入りの培地で生育したコロニー数から形質転換頻度を求めた。さらに、細胞の細胞膜透過性、呼吸活性、運動性、および遺伝子の発現量の変化をコントロール試料と比較し、消毒剤の添加による細胞特性の変化を評価した。

DH5 $\alpha$  と pUC19 の形質転換実験において、7 つの消毒剤の効果を検討したところ、臭化ベンザルコニウム、塩化ベンザルコニウム、およびポリヘキサメチレングアニジン (PHMG) の添加によって形質転換頻度が 2~4 倍に上昇した。これらの消毒剤は、コントロールと比較して全ての濃度区 (0.001~0.1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) において形質転換頻度が有意に増加した。臨床株と pET-28a, pUT-mini-Tn5, または pWM91 を使用した場合においても、消毒剤の添加によって形質転換頻度が有意に上昇した。細胞膜透過性と呼吸活性について検討したところ、細胞の外膜透過性、内膜透過性、および呼吸活性は消毒剤の添加によって有意に増加した。さらに、膜関連遺伝子と呼吸に関連する ATP 遺伝子の発現が有意に促進された。また、細菌の運動性も消毒剤の添加によって向上した。PHMG を添加した際にはコントロールと比較してコロニー径が 2 倍以上に拡大し、鞭毛の合成に関連する遺伝子の発現が促進された。これらの結果から、消毒剤の添加によって細胞の膜透過性と呼吸活性が向上し、ATP 遺伝子の発現量が増加することで、鞭毛の活動が活発になり、形質転換頻度が大幅に向上することが明らかになった。

## (2) Plant resistome profiling in evolutionary old bog vegetation provides new clues to understand emergence of multi-resistance

Obermeier, M. M., Wicaksono, W. A., Taffner, J., Bergna, A., Poehlein, A., Cernavaand, T., Lindstaedt, S., Lovric, M., Mueller-Bogota, C. A. and Berg G.  
The ISME Journal, **15**, 921–937 (2021).

Reviewed by E. Nishimura

抗菌薬に耐性を有する微生物の起源やその変遷を辿るには、自然界中のレジストームに関する理解が不可欠である。在来植物は二次代謝産物が極めて多様であることから、レジストームも多様な可能性があり、理想的な研究媒体として期待できる。そこで本研究では、ヒトの手が加わっていない湿地生態系を対象に、主要な在来植物であるミズゴケのレジストームプロファイルを作成し、薬剤耐性の獲得に関する情報を蓄積した。始めに、ナスタチン含有 R2A 寒天培地を用いて、ミズゴケから計 437 株の細菌を分離した。その後、細菌の DNA を抽出し、16S rRNA 遺伝子を標的とした菌叢同定を実施した。また、10 種類の抗菌薬を対象としたスクリーニングによって細菌分離株の薬剤耐性を調べた。次に、ミズゴケから直接得られたメタゲノムショートリードを用いて、メタゲノム解析を実施し、レジストームプロファイルを作成した。その後、OTU から遺伝子の多様性を評価した。さらに、ミズゴケの DNA 断片を大腸菌 EPI300 にクローニングし、9 種類の抗菌薬を対象とした機能性メタゲノミクススクリーニングを実施した。その後、検出された特異的な薬剤耐性クローン（大腸菌 EPI300-Mm3）について、De novo シーケンスを用いて、ミズゴケが保有する新規薬剤耐性遺伝子（ARGs）を検索した。

細菌分離株の薬剤耐性率は 88% (385/437 株) であり、その大半が半合成、および合成抗菌剤に対する耐性であった。また、耐性菌の 18% (71/385 株) は多剤耐性株であり、*Serratia* 属、*Rouxiella* 属、*Paraburkholderia* 属、*Pseudomonas* 属から多く確認された。メタゲノム解析の結果、ミズゴケから 943 種類の ARGs が検出された。多様性評価の結果、ミズゴケのレジストームは非常に多様であり、グリコペプチド系と  $\beta$  ラクタム系抗菌薬に係る ARGs が優占して存在した。また、排出ポンプをコードする遺伝子が優占して検出され、細菌の薬剤耐性の獲得において重要な薬剤耐性機構であることが示唆された。新規 ARGs の保有を確認した結果、新規クラス A の  $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子 (*bla*<sub>Mm3</sub>) が同定された。以上のことから、植物のレジストームは多様であり、排出ポンプの存在が細菌の薬剤耐性獲得に強く寄与していることが示唆された。また、臨床で重要な抗菌薬の耐性を自然に保有していることも明らかとなった。

## 第 396 回雑誌会

(Jun. 28, 2023)

### (1) Multidrug-resistant bacteria and microbial communities in a river estuary with fragmented suburban waste management

H, J., Jong, M., Acharya, K., Liew, S., Smith, D. R., Noor, Z., Goodson, M. L., Werner, D., Graham, D. W and Eswaran, J.

Journal of Hazardous Materials, **405**, 124687 (2021).

Reviewed by Y. Kato

東南アジアは衛生施設の管理が不十分であり、薬剤耐性菌の出現と拡散のリスクが高いことが懸念されている。そこで本研究では、マレーシア南部の河口域を対象に、物理的および微生物学的観点から河川流域の水質を評価した。試料は、メラユ川の 8 地点（上流：M1～M3，下流：M4～M8）を選定して採取した。採取地点は、様々な土地利用（M2 と M3：処理水流入地点，M7：メラユ川の河口，近辺に学校が存在）に基づいて選択した。各地点の水試料中の細菌 DNA を抽出し、16S rRNA 遺伝子解析から細菌叢を特定した。また、qPCR 法によって総大腸菌とヒト由来大腸菌マーカー遺伝子を定量した。次に、選択培地を用いたメンブレンフィルター法によって大腸菌、大腸菌群、ブドウ球菌、および腸球菌を計数・単離した。加えて、セフトキシム（0.25 µg/mL）とアンピシリン（8 µg/mL）含有大腸菌・大腸菌群選択培地を用いて ESBL 産生菌を計数・単離した。ESBL 産生の単離株について、ディスク拡散法によって 9 種類の抗菌薬に対する薬剤感受性試験を実施した。さらに、検出された薬剤耐性菌について、16s rRNA 遺伝子による菌種同定を行い、5 種類の抗菌薬に対する MIC 値を測定した。また、multiplex PCR 法によって β ラクタマーゼ遺伝子、バンコマイシン耐性遺伝子、およびカルバペネマーゼ遺伝子の保有を確認した。

下水処理場処理水の影響を受ける地点 M2 と M3 の細菌叢は、下流域と比較して多くの微生物群集で構成されていた。総大腸菌とヒト由来大腸菌の遺伝子コピー数は、河川流下に沿って変化し、M2 と M3 で存在量が最も多かった（ $5.6 \times 10^8 \sim 1.3 \times 10^9$  gene copies/100 mL）。遺伝子コピー数と同様に、培養可能な微生物量も M2 と M3 で存在量が多かった。また、ESBL 産生菌は、上流域で多く検出された。薬剤感受性試験の結果、*Enterococcus faecalis* の 85.7%（12/14 株）が多剤耐性であった。また、*Enterobacte cloacae*（2/2 株）、*Escherichia coli*（4/4 株）、*Klebsiella pneumoniae*（2/2 株）、*Pseudomonas monteyli*（9/9 株）、および *P. pseudoalcaligenes*（3/3 株）は、すべての単離株が多剤耐性であった。ESBL 産生菌について薬剤耐性遺伝子の保有を確認したところ、β ラクタマーゼ遺伝子である TEM 遺伝子（30.8%）が優占して検出された。以上のことから、下水処理場放流水の影響によって処理水放流地点における薬剤耐性菌の曝露リスクが高くなることが示唆された。

## (2) Disinfection of treated urban effluents for reuse by combination of coagulation / flocculation and Fenton processes

Venâncio, J. P. F., Ribeirinho-Soares, S., Lopes, L. C., Madeira, L. M., Nunes, O. C. and Rodrigues, C. S. D.

Environmental Research, **218**(1), 115028 (2023)

Reviewed by M. Kanai

近年、衛生基準の高い国においても水系感染症の発生率が増加している。下水から安全な再生水を得るには、効率的な排水処理に加えて、有害微生物の不活化が重要である。本研究では、凝集沈殿とフェントン酸化を組み合わせた処理技術を用いて、都市下水の消毒と薬剤耐性遺伝子 (ARG) の除去における最適条件を検討し、処理水の再利用の可能性を考察した。ポルトガル北部の下水処理場から生物処理水 (STWW) を原水とした。凝集沈殿には、pH 調整剤 (1 N NaOH, 1 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) と無機凝集剤 (FeCl<sub>3</sub>) を用いた。無機凝集剤注入率は 40, 60, 80, 120, 140 mg/L とした。凝集沈殿の処理後の上澄み水 (CTWW) を回収し、続いてこの CTWW をフェントン酸化によって処理した。フェントン酸化処理には、酸化剤 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) と触媒 (FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O) を用いた。酸化剤の注入率は 0, 40, 50, 75, 100, 125 mg/L, 触媒の注入率は 0, 4, 5.5, 7, 10 mg-Fe<sup>2+</sup>/L とした。そして、処理後の上澄み水 (FTWW) を最終的な処理水とした。各処理の最適条件は、濁度除去率と糞便性大腸菌群 (ENT) の不活化率から決定した。また、全処理過程において、ENT, 腸球菌, 従属栄養細菌および薬剤耐性 ENT を計数した。並行して、全処理過程における細菌叢の変化も解析した。さらに、qPCR 法によって 3 種類の ARG の残存性を評価した。再生水の安全性は、FTWW の水質を欧州議会が定めた再生水水質基準によって評価した。

凝集沈殿処理は、凝集剤注入率 120 mg/L において濁度除去率が最大となり、このときの ENT の不活化率は 99%であった。フェントン酸化処理の最適条件は、ENT の不活化率から評価して、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 注入率 100 mg/L, FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 注入率 7 mg-Fe<sup>2+</sup>/L, 反応時間 120 分に設定した。最適条件下の FTWW は、72 時間暗所で保存した場合においても、細菌の増殖と ARG コピー数の増加は確認されなかった。しかしながら、原水の STWW と 72 時間保存後の FTWW の細菌叢を比較した結果、STWW よりも保存後の FTWW の方が病原性を有する可能性のある *Acinetobacter* 属と *Clostridium* 属の全 16s rRNA 遺伝子に対する相対存在量は多くなった。最適条件における FTWW の水質を評価したところ、全ての項目で欧州議会の定めた再生水水質基準値を満足した。しかしながら、72 時間保存後の FTWW 中には水質基準に設定されていない病原細菌の存在が示唆されたことから再生水としてのリスクが懸念される結果となった。

**(1) Precoating membranes with submicron super-fine powdered activated carbon after coagulation prevents transmembrane pressure rise: Straining and high adsorption capacity effects**

Zhao, Y., Kitajima, R., Shirasaki, N., Matsui, Y., Matsushita, T

Water Research, **177**, 115757 (2020).

Reviewed by K. Takahashi

精密ろ過や限外ろ過において、膜の閉塞を引き起こす天然有機物 (NOM) が問題となっている。NOM の除去には、粉末活性炭 (PAC,  $D_{50}=12\ \mu\text{m}$ ) の使用が有効であり、特に超微細 PAC (SPAC,  $D_{50}=1\ \mu\text{m}$ ) やサブミクロン SPAC (SSPAC,  $D_{50}=200\ \text{nm}$ ) は NOM 吸着能力が高く、凝集剤と組み合わせることで効果的な前処理が可能である。そこで本研究では、PAC, SPAC, SSPAC と凝集剤を組み合わせた膜ろ過処理の膜間差圧 (TMP) の長期上昇を防ぐ処理能力および NOM の除去性能を比較した。試料は茨城県の鰯川から採水した。試料を流量  $0.64\ \text{mL}/\text{min}$  で中空糸 PVDF 膜を沈めた長方形のタンクに供給し、流量  $0.71\ \text{mL}/\text{min}$  でろ過した。ろ過は 7 時間間隔で逆洗を行いながら 28 時間続けた。活性炭は  $5\ \text{mg-C}/\text{L}$  の注入率で、ろ過開始前にパルス注入、またはろ過プロセス全体を通して連続注入を行った。また、凝集剤はポリ塩化アルミニウムを活性炭注入前または後に注入した ( $0$  または  $2\ \text{mg-Al}/\text{L}$ )。ろ液は 30 分間隔で回収し、NOM 物質としてバイオポリマー (BP) とフミン物質 (HS) の測定を行った。また、TMP を、デジタル圧力計を用いて電圧に基づいて記録し、各実験で決定した検量線を用いて圧力に変換して測定した。

TMP の増加は SSPAC において最も緩和され、SPAC, PAC と続いた。しかし、SSPAC による処理を行った場合でも、TMP は時間とともに増加した。このことから、SSPAC による処理だけでは、膜の閉塞を止めることはできないことが分かった。活性炭の注入方法について、SSPAC は連続注入するよりも、パルス注入の方が TMP の増加速度が遅くなったが、SPAC では有意差がなかった。また、TMP の増加率が、凝集剤なしよりも凝集剤ありの方がはるかに低いことから、膜の閉塞を軽減するためには、活性炭注入前の凝集処理が重要であることが分かった。BP と HS の除去率は SSPAC が最も高く、次いで SPAC, PAC となった。また、BP の除去率は、凝集剤を使用した場合よりも、使用しない場合の方が高かった。これは、膜上の PAC の堆積が密になり、PAC がろ材としての役割を果たした結果、BP の除去率が高くなったと考察される。以上より、凝集剤を注入した後、SSPAC をパルス注入することによって最も良好な BP, HS の除去率と TMP の増加の抑制を達成できる。

## 第 398 回雑誌会

(Jul 12, 2023)

### (1) Transition of antimicrobial resistome in wastewater treatment plant: impact of process configuration, geographical location and season

Honda, R., Matsuura, N., Sorn, S., Asakura, S., Morinaga, Y., Huy, T. V., Sabar, M. A., Masakke, Y., Yamamura, H. H. and Watanabe, T.

npj Clean Water, 46 (2023).

Reviewed by K. Tsuda

下水処理場 (WWTP) は薬剤耐性 (AMR) の貯蔵庫として機能し、処理放流水には一定量の薬剤耐性菌 (ARB) や薬剤耐性遺伝子 (ARG) が含まれることから、WWTP から水環境への AMR の拡散が懸念されている。また、流入下水と処理放流水の ARG 特性は異なる可能性がある。そのため、下水処理過程の違いが水環境へ異なる影響を及ぼすことは否定できない。そこで本研究では、地域、季節、および生物学的処理構成の異なる WWTP に着目し、下水処理過程の違いによる ARG の存在割合と組成、およびその変遷に影響を及ぼす主要因を検討した。調査対象は、日本の自治体が管理する生物学的処理の異なる 5 つの WWTP とし、各 WWTP の流入下水、活性汚泥、および処理放流水を夏季と冬季に採取した。その後、流入下水 50 mL と活性汚泥 50 mL を遠心分離し、ペレットから DNA を抽出した。また、処理放流水 200 mL をフィルターでろ過し、DNA を抽出した。その後、リアルタイム PCR を用い、16S rRNA を定量した。また、MiSeq により配列情報を取得し、細菌を分類した。さらに、HiSeq を使用したショットガンメタゲノム解析により各試料の ARG の存在量と組成を特定した。

下水処理過程を通じて細菌数は減少した。一方で、細菌が保有する ARG の存在割合は、5 つの WWTP に共通して流入下水 (32-50 %) から活性汚泥 (5-19 %) にかけて減少したが、処理放流水では活性汚泥と顕著な差は認められなかった。各処理過程における多剤耐性遺伝子の存在割合に着目したところ、全ての WWTP で活性汚泥中の存在割合が高かった。また、冬季よりも夏季において存在割合が顕著に高かった。ARG の組成を確認したところ、5 つの WWTP に共通して流入下水は臨床的に重要な ARG、活性汚泥は多剤耐性 ARG を多く含み、処理過程が ARG の組成を区別する主要因であると考えられた。この ARG の組成変化は、生物学的処理と最終沈殿処理水で発生していることが考えられる。また、流入下水においては、ARG の組成の季節差が確認されたことから、季節が二次要因であることが示唆された。これらの結果から、WWTP における ARG の存在量と組成は、処理過程で異なることが明らかになった。その中で、流入下水は季節性の影響を受けており、臨床における抗菌薬の季節的使用に起因する可能性がある。

## (2) Optimization and performance evaluation of an automated filtration method for the recovery of SARS-CoV-2 and other viruses in wastewater

Angga, M.S., Malla, B., Raya, S., Kitajima, M., Haramoto, E.  
Science of The Total Environment, **882**, 163487, 2023.

Reviewed by R. Nakamura

近年世界的に大流行した *SARS-CoV-2* は、罹患者の糞便中に存在することが報告された。そのため、下水中の *SARS-CoV-2* を検出することによって、地域感染の予防措置を講じる、下水疫学 (WBE) アプローチが広く検討されている。下水中のウイルス検出には、迅速かつ高効率なウイルス濃縮技術が必要である。そこで本研究では、高感度で迅速かつ簡便なウイルス濃縮技術である CP-Select 法の最適化を行い、PEG 沈殿法 (JSWE PEG 法・IDEXX PEG 法) と Direct capture 法との性能の比較を行った。CP-Select 法は、中空糸フィルターチップでウイルスを捕捉した後、CO<sub>2</sub> が注入された溶出液から発生するマイクロバブルを利用し、数秒で高濃度の溶出液を得ることができる。下水試料は、日本の 7 つの下水処理場と COVID-19 検疫施設の浄化槽から採水した。下水試料 40 mL に *SARS-CoV-2*, *Coliphage MS2* (*MS2*), *Pseudomonas phage φ6* (*φ6*) を添加したものを原水とした。原水の遠心分離の有無, Protease の添加の有無, Protease のインキュベート時間 (10 分間・30 分間), フィルターチップの孔径 (0.05 μm, 0.2 μm, 0.45 μm) の各条件を検討し, CP Select 法を最適化した。その後, 下水試料 40 mL を最適化された CP Select 法, JSWE PEG 法, IDEXX PEG 法, および Direct capture 法で濃縮し, *SARS-CoV-2*, *Enteroviruses*, *NoVs-GI*, *NoVs-GII*, *PMMoV* の検出率, ならびに添加した *MS2*, *φ6* の回収率から各手法の性能を比較した。QIAamp Viral RNA Mini Kit を用いて, 140 μL 濃縮サンプルから 60 μL のウイルス遺伝子抽出液を得た。そして, RT-qPCR 法を用いてウイルス遺伝子の検出・定量を行った。

CP Select 法は、遠心分離後の上澄液に Protease を 500 μL 添加後に、10 分間インキュベートし、0.05 μm の中空糸フィルターチップで濃縮する方法が最も高い回収率を示した。また、最適化された CP Select 法を JSWE PEG 法, IDEXX PEG 法, および Direct capture 法と比較した結果, *SARS-CoV-2* は CP Select 法で 75% (6/8), その他の手法では 100% (8/8) で検出された。*PMMoV* と *NoVs-GII* は全ての手法で 100% (8/8) 検出された。*NoVs-GI* では、CP Select 法および Direct capture 法の検出率は 88% (7/8) であり、PEG 沈殿法 (JSWE PEG 法 : 50%, IDEXX PEG 法 : 75%) よりも高かった。また、CP Select 法における *MS2* と *φ6* の回収率は、それぞれ 9.4±7.4% と 2.1±1.1% となり、他の手法と比較して有意に低かったが、処理時間は約 5 分であり、他の手法より著しく短くなった。CP Select 法のウイルスの検出性能は既存の手法とほぼ同等であり、処理時間も極めて短時間であったことから、更なる最適化を図ることで、WBE に適用できることが示唆された。

## 第 399 回雑誌会

(Jul 19, 2023)

### (1) Integrative survey of 68 non-overlapping upstate New York watershed reveals stream features associated with aquatic fecal contamination

Green, H., Wilder, M., Wiedmann, M., and Weller, D.

Frontiers in Microbiology, **12**, 684533 (2021).

Reviewed by R. Matsuyama

糞便汚染源の特定は、公衆衛生上重要である。糞便汚染は、糞便性指標細菌によって評価されるが、汚染源等の特定は困難である。一方で、微生物源追跡 (MST) 技術は、宿主特異的な細菌やウイルスを用いて定量的に汚染源を特定できるほか、物理的データと融合させてモデル化することで、汚染の支配要素の推定も可能になる。そこで本研究では、微生物学的データと物理化学的データを用いた MST 技術によって、糞便汚染の発生・増減に関連する影響要因を特定することを目的とした。試料は、五大湖とフィンガーレイクス流域において、異なる 68 地点から河川表流水を採取した。その後、Colilert Quanti-Tray 2000 キットによって大腸菌数を計数した。また、試料水から DNA 抽出し、ヒト (HF183)、反芻動物 (Rum2Bac)、イヌ (DG3)、および鳥類 (GFD) の 4 つの宿主遺伝子を qPCR 法によって定量した。次に、地点周辺の空間データの取得において、採取地点周辺の土地被覆を逆距離加重 (IDW) によって特徴づけた。気象データは、環境気象応用ネットワーク測候所より取得した。河川の特徴は、全米水文学データセット等を用いて整理した。得られた全てのデータを基に、一般化線形混合モデルと条件付き CART モデルによって、糞便汚染の影響要因の特定を行った。

大腸菌は全検体から検出され、大腸菌数は平均 212 MPN/100mL であった。これに対して、宿主遺伝子の検出率は低く、196 検体のうち、38% (74/196 検体) であった。また、採取検体数当たりで確認すると、HF183 は 25% (49/196 検体)、Rum2Bac は 17% (34/196 検体)、GFD は 4% (8/196 検体)、DG3 は 0.5% (1/196 検体) の順に検出率が高かった。モデルを用いて糞便汚染の影響要因を検討したところ、調査日前日～当日の降雨や採取地点の上流における養豚場の密度、雨水管の存在は、大腸菌数の増加に影響を与えることがわかった。ヒトによる糞便汚染は、調査前日の降雨や上流の雨水管の存在、各調査地点から 60 m 圏内に開発地域の存在が影響していた。反芻動物による糞便汚染は、調査日前日～当日の降雨や各調査地点の 60 m 圏内に存在する牧草地、流域内における農地、森林、湿地の存在が影響していた。イヌと鳥類は、検出率が低く、糞便汚染の要因の特定は困難であった。以上のことから、糞便汚染は、汚染源によって発生要因が異なるものの、降雨や流域の人工開発の有無、流域付近の牧草地等の存在が影響を与えていると考えられる。



第 400 回雑誌会  
(July. 26, 2023)

**(1) Effects of pre, post, and simultaneous loading of natural organic matter on 2-methylisoborneol adsorption on superfine powdered activated carbon: Reversibility and external pore-blocking**

Nakayama, A., Sakamoto, A., Matsushita, T., Matsui, Y. and Shirasaki, N.

Water Research, **182**, 115992 (2020).

Reviewed by R. Kondo

天然有機物 (NOM) 存在下での微量汚染物質の活性炭 (AC) に対する吸脱着は、可逆的であるとされているが、実証されていない。さらに、AC による NOM と微量汚染物質の吸着除去において、AC に吸着する順序による吸着性能の変化は不明である。そこで本研究では、NOM と微量汚染物質として 2-メチルイソボルネオール (2-MIB) を用い、粉末活性炭 (PAC) と超微粉末活性炭 (SPAC) への吸脱着の可逆性を検討した。吸着試験には模擬原水として、NOM モデル物質にフミン酸 (SHA, 濃度 ; 1.6, 6 mg-C/L), フルボ酸 (SFA, 濃度 ; 0.9, 7 mg-C/L) を添加した超純水を用いた。すべての試料水において 2-MIB の初期濃度は 1,000 ng/L とした。吸着試験の条件は、NOM に続いて 2-MIB を吸着させる条件 (NOM-pre-loading AC), NOM と 2-MIB を同時に吸着させる条件 (NOM-simultaneous-loading AC), 2-MIB に続いて NOM を吸着させる条件 (NOM-post-loading AC), 2-MIB のみを吸着させる条件 (NOM Free) の 4 条件で吸着試験を行った。吸着後の処理水に残留した 2-MIB 濃度は、GC-MS を用いて測定した。

各条件における 2-MIB の残留割合を比較したところ、NOM 存在下では NOM の存在しない条件と比較して 2-MIB の残留割合が高くなった。また、NOM-post-loading AC の結果から、AC に吸着した 2-MIB が NOM に置換されて水溶液中に脱離したことが示唆された。さらに、NOM 存在下では PAC と SPAC の注入率が 10 mg/L 以上になると、NOM-pre-loading AC と NOM-post-loading AC の両条件において、2-MIB の残留割合に差は生じなかった。したがって、AC 注入率が高い場合には、2-MIB は AC に対して吸脱着の可逆性を持つことが判明した。一方で、AC 注入率が低く、初期 NOM 濃度が高いほど AC に対する NOM 負荷が高くなり、不可逆性が強くなった。この原因として外部孔の閉塞が考えられる。また、不可逆性の傾向は、SPAC よりも PAC において強くなった。これは、PAC と比較して SPAC 粒子は外部孔の総表面積がはるかに大きく、外部孔が閉塞しにくいことが起因している。以上のことから、NOM 存在下において AC に対する 2-MIB の可逆的な吸着が行われることが明らかになった。

## (2) Treatment of potato starch wastewater by dual natural flocculants of chitosan and poly-glutamic acid

Li, M., Zhu, X., Yang, H., Xie, X., Zhu, Y., Xu, G., Hu, X., Jin, Z., Hu, Y., Hai, Z., Li, A.  
Journal of Cleaner Production, **264**, 121641, (2020).

Reviewed by Y. Hisatsugu

中国の農村地域では、ジャガイモでん粉の生産により大量の排水が排出されている。排水中には有機物が高濃度で含まれており、前処理として凝集処理が有効であるが、凝集剤の残留による二次汚染の可能性がある。そこで本研究では、天然凝集剤であるキトサン (CS) とポリグルタミン酸 (PGA) を組み合わせた凝集沈殿処理による凝集メカニズム、試薬の組み合わせによる相乗効果の解明、および汚泥の肥料としての利用可能性を検討した。原水には蒸留水とサツマイモを 5 : 1 の比率でミキサーにかけ、4 層のガーゼを通してろ過した模擬でん粉排水を用いた。実験には、pH 調整剤として 0.1 M の HCl と NaOH、凝集剤として CS (1 g/L) と PGA (1 g/L) を用いた。また、CS と PGA の処理性能について、無機凝集剤のポリ塩化アルミニウム (PAC) とポリ硫酸第二鉄 (PFS) と比較した。CS と PGA を併用した凝集処理は、急速攪拌 (300 rpm, 5 分) と緩速攪拌 (80 rpm, 10 分) 条件で行い、その後 30 分間静置した。CS と PGA は、それぞれ単独で注入した場合、両方を順番に注入した場合、および両方の混合物を注入した場合の 5 通りの方法で注入した。実験後は COD, TN, TP, pH, 濁度、ゼータ電位を測定して、汚泥の特性評価を行った。

CS を 100 mg/L 注入して pH を変化させた場合、pH 8 で CS のゼータ電位が 0 mV 付近となり、濁度除去率は 90.1% であった。ゼータ電位と濁度除去率の関係から、CS の除去性能には電荷の中和が影響していることがわかった。また、PGA を 100 mg/L 注入して pH を変化させた場合、処理水のゼータ電位が 0 mV 付近となる pH 4 において、濁度除去率は 89.5% に達成した。注入率を変化させてもゼータ電位はほとんど変化しなかったため、PGA では架橋作用が除去性能に影響していると考えられる。5 通りの注入方法を比較した結果、CS 注入後、3 分後に PGA を注入する方法において、最も高い除去率が得られた。CS と PGA の各注入率 40 mg/L での濁度除去率は 97.5% と最も高く、同じ注入量の場合では、PAC と PFS よりも高い濁度除去率であったが、COD, TN, および TP の除去率は低かった。また、汚泥に含まれる有機物の質量分率は 95%, 総栄養分は 5.6% であり、どちらも中国農業省の基準値よりも高く、有機肥料への利用可能性が示された。以上の結果より、でん粉排水において CS と PGA の天然凝集剤の併用による凝集は高い濁度除去性能を示し、生成された汚泥は環境負荷の少ない有機肥料として利用可能であることが示された。

## 第 401 回雑誌会

(Aug. 2, 2023)

### (1) Taxon-specific aerosolization of bacteria and viruses in an experimental ocean-atmosphere mesocosm

Michaud, J. M., Thompson, L. R., Kaul, D., Espinoza, J. L., Richter, R. A., Xu, Z. Z., Lee, C., Pham, K. M., Beall, C. M., Malfatti, F., Azam, F., Knight, R., Burkart, M. D., Dupont, C. L., and Prather, K. A.

Nature Communication, **9(1)**, 2017, 2018.

Reviewed by R. Funaguma

海洋飛沫エアロゾル (SSA) は、海洋と大気のマイクロバイオームをつなぐ重要なプロセスである。SSA は、海水表面 1-1000  $\mu\text{m}$  の海面微小層 (SSML) で発生する気泡の破裂により発生することが報告されている。しかしながら、海洋から大気への微生物の移行を制御する要因に関する知見は少ない。そこで本研究では、実環境を模擬した 13,000 L の海洋大気施設で、海水、SSML 中に存在する細菌とウイルスの SSA への移行の実態を検討した。実験は 34 日間実施し、フローサイトメトリーと落射蛍光顕微鏡を使用して試料中の細菌とウイルスを計数した。34 日間の中で、植物プランクトンが増殖した期間中に、海水 (2 L)、SSML (200 mL)、および SSA を採取し、DNA 抽出に供した。SSA はエアサンプラーで 450 L/min で 3 時間採取した。各試料水は、孔径の異なる 3  $\mu\text{m}$   $\cdot$  0.2  $\mu\text{m}$   $\cdot$  0.025  $\mu\text{m}$  の 3 種類のフィルターを用いて孔径の大きい順にろ過し、それぞれのフィルターから DNA を抽出した。illumina HiSeq シーケンサーを用いてショットガンメタゲノムシーケンシングを行った。その後、海水と SSML 中に存在する細菌・ウイルスと SSA 中に存在する細菌・ウイルスの存在量の比を求め、各細菌・ウイルスの SSA への移行のしやすさを評価した。

細菌とウイルスを計数した結果、海水と SSML の細菌数は正の相関を示し、海水と SSA の細菌数は負の相関を示した。また、海水中のウイルス数は、細菌数の 10 倍以上で計数されたが、SSA 中の細菌とウイルスの濃度はほぼ同等であった。このことから、ウイルスよりも細菌の方が優先的に海水、SSML から SSA へ移行されやすいことが示唆された。細菌の中では *Actinobacteria* 綱と *Bacillus* 綱、ウイルスではエンベロープウイルスの *Polydnaviridae* 科や *Alloherpesviridea* 科は、海水と SSML と比較して SSA 中での存在量が増加し、海水と SSML から SSA へ移行しやすい傾向が確認された。一方で、非エンベロープウイルスの *Podoviridae* は海水と SSML と比較して SSA 中での存在量が減少し、海水と SSML から SSA へ移行しにくい傾向を示した。これらの結果から、細菌とウイルスの分類学的特徴によってエアロゾル化の傾向が異なることが確認された。

## (2) Pervasive transmission of a carbapenem resistance plasmid in the gut microbiota of hospitalized patients

León-Sampedro, R., DelaFuente, J., Díaz-Agero, C., Crellen, T., Musicha, P. *et al.*

Nature microbiology, **6(5)**, 606-616, 2021.

Reviewed by S.Tamai

臨床環境において、カルバペネマーゼ産生腸内細菌（CPE）による感染症が問題となっている。病院内での薬剤耐性菌の拡散は、プラスミドの伝播によって引き起こされるが、伝播の頻度や院内感染の蔓延にどのような影響を及ぼすかは明らかになっていない。そこで本研究では、カルバペネマーゼをコードする OXA-48 プラスミド（pOXA-48）を対象とし、患者間における薬剤耐性菌の拡散と患者の腸内におけるプラスミドの伝播を追跡することで、pOXA-48 の伝播過程・メカニズムの特定を目的とした。1つの病院の異なる病棟（消化器科、脳神経外科、呼吸器科、泌尿器科）において、サンプルとして 9275 人の患者の直腸スワブを 28,089 個採取した。採取した直腸スワブは、ESBL 選択培地と OXA-48 型 CPE 選択培地に塗抹し、生育した株は MALDI-TOFMS で菌種を同定した。そして、ディスク法によって同定株の OXA-48 型 CPE の確定試験を行い、さらに、PCR 法によって *Bla*-OXA48 遺伝子と pOXA-48 の保有を確認した。その後、pOXA-48 保有腸内細菌単離株の DNA を抽出し、ショットガンメタゲノムシーケンシングによって配列情報を取得した。配列情報は系統樹の作成と contig の構築に使用し、ゲノムの相同性から遺伝子の伝播経路を推定した。さらに、本研究から得られた特異的な pOXA-48 バリエントの接合伝達能力を評価するため、高頻度で検出されるバリエント（pOXA-48\_K8）との接合伝達頻度を比較した。

各病棟における pOXA-48 腸内細菌保有患者の割合は、0.5–1.5%であり、*Klebsiella pneumoniae*（63.2%, 108/171 株）と *Escherichia coli*（26.3%, 45/171 株）が優占種であった。続いて、pOXA-48 *K. pneumoniae* および *E. coli* の病院内での拡散の経路を推定するモデルを作成したところ、脳神経外科と呼吸器科では、pOXA-48 *K. pneumoniae* を保有する患者が存在する場合、他の患者が pOXA-48 *K. pneumoniae* を獲得する確率が高くなった。一方で、pOXA-48 *E. coli* からは同一の傾向は確認されず、*K. pneumoniae* は *E. coli* よりも患者間で拡散しやすいことが示唆された。また、腸管内で pOXA-48 クローンを保有していた場合、異なる種の pOXA-48 を保有する確率が飛躍的に高まることが確認され、患者の腸内でのプラスミドの伝播の重要性が示唆された。本研究において検出された、4つの特異的な pOXA-48 バリエントの接合伝達能力を評価したところ、形質転換頻度は高頻度で検出される pOXA-48 バリエント（pOXA-48\_K8）と有意差はなく、腸内細菌叢における pOXA-48 の水平伝播が頻繁に行われていることが示唆された。

第 402 回雑誌会  
(Sep. 13, 2023)

**(1) Overlooked effect of ordinary inorganic ions on polyaluminum-chloride coagulation treatment**

Chen, Y., Matsui, Y., Sato, T., Shirasaki, N. and Matsushita, T.

Water Research, **235**(15), 119909 (2023)

Reviewed by M. Kanai

ポリ塩化アルミニウム (PACl) は電荷中和能力の高い無機凝集剤であり、様々な地域において異なる塩基度で製造され、使用されている。PACl は水中でアルミニウムイオンとして加水分解し、生成されたアルミニウム (Al) 多核種が荷電中和にすることによって凝集を引き起こす。PACl の適切な塩基度は、原水の水質によって異なり、凝集沈殿における原水の水質は、重要な要素であると考えられている。しかしながら、除去対象物以外の物質が凝集に及ぼす影響については、これまで注目されてこなかった。そこで本研究では、塩基度の異なる 2 種類の PACl を用い、PACl の加水分解速度から PACl の性能と天然水中に含まれるイオン濃度および天然有機物 (NOM) 濃度の関係を説明することを目的とした。試料水は、黒森川貯水池 (秋田県)、常願寺川 (富山県)、豊平川 (北海道) から採水し、イオン濃度を変化させ実験に供した。無機凝集剤には、高塩基度で高い電荷中和能力を有する PACl (塩基度: 70%, HB-PACl) と通常の塩基度の PACl (塩基度: 50%, NB-PACl) を用いた。はじめに、ビーカーに試料水 4 L を入れ、pH を 7.0 または 7.5 に調整し、30 分間攪拌を行った。続いて、PACl (注入率: 1.5, 2.5, 3.5 mg-Al/L) を注入し、600 s<sup>-1</sup> の急速攪拌で 40 秒間、50 s<sup>-1</sup> で 170 秒間、20 s<sup>-1</sup> で 170 秒間、10 s<sup>-1</sup> で 320 秒間の 3 段階に分けて緩速攪拌を行った。静置は、1 時間とした。攪拌中にビーカーから水を採取し、孔径 10 μm のメンブレンフィルターでろ過し、Al 濃度を測定した。Al 濃度が初期濃度から 4 分の 1 になるまでの時間を求め、この値を加水分解速度として評価に用いた。また、濁度除去率、フロック形成速度を測定した。

HB-PACl は、硫酸イオン (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) 濃度が低い試料水 (<0.06 mmol/L) においてフロック形成速度が非常に遅く、濁度除去率も低かったが、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>濃度が 0.1 mmol/L 以上になると濁度除去率が向上した。NB-PACl は SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>濃度に関わらず、濁度除去率が高かった。したがって、PACl の処理性向上の要因は、電荷中和能力の高さだけではないと考えられる。SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、重炭酸イオン (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>)、NOM を含む原水において PACl の加水分解は促進したが、塩化物イオン (Cl<sup>-</sup>)、硝酸イオン (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)、陽イオンを含む原水では、PACl の加水分解は促進されなかった。また、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>は HB-PACl と NB-PACl を加水分解する能力が極めて高かったが、HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>は NB-PACl よりも HB-PACl を加水分解する効果が低く、通常のアルカリ度の原水では HB-PACl の加水分解にほとんど寄与しなかった。したがって、HB-PACl は、高い電荷中和能力を有するが、凝集性能の向上には原水中に 0.1 mmol/L 以上の SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>が必要である。以上のことより、凝集沈殿には電荷中和に加えて、PACl の加水分解を促進するイオンが必要であることが示唆され、PACl の凝集性能に最も影響を及ぼす陰イオンは、PACl の塩基度によって異なることが明らかとなった。

## 第 403 回雑誌会

(Oct. 4, 2023)

### **Determining the primary sources of fecal pollution using microbial source tracking assays combined with land-use information in the Edwards Aquifer**

Hinojosa, J., Green, J., Estrada, F., Herrera, J., Mata, T., Phan, D., Pasha, A.B.M, T., Matta, A., Johnson, D. and Kapoor, V.

Water Research, **184**, 116211 (2020).

Reviewed by R. Matsuyama

糞便汚染源の特定は公衆衛生上重要であり、近年では、微生物発生源追跡 (MST) 技術が利用されている。本研究では、MST 技術を気象情報や土地利用と組み合わせて適用し、河川の糞便汚染源を特定した。また、通年調査を実施することで糞便汚染の空間的・時間的変動を評価した。試料は、テキサス州のバルコンズ川、レオン川のそれぞれ 4 地点から 1 年間で 26 回、表流水を採取した。試料水から DNA を抽出し、バクテロイデス属細菌マーカー (BacUni)、糞便性指標細菌マーカー (大腸菌: EC23S857; 腸球菌: Enterol), および宿主関連マーカー (ヒト: BacHum, HF183; ウシ: BacCow; イヌ: BacCan; ニワトリ/アヒル: Chicken/Duck-Bac) の各出現率を qPCR 法によって測定した。水質は、水温、溶存酸素量、pH、溶存窒素類 (NH<sub>4</sub>-N, NO<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N) の項目を測定した。調査前日と 7 日前の降雨量データは、全米の水質情報システムより入手した。得られた各データを基に、スピアマンの順位相関分析によって各マーカー濃度に対する水質項目と降雨量の相関関係を評価した。また、ArcMap 10.5.1 を用いて対象河川周辺の土地利用パラメータを取得し、宿主関連マーカー遺伝子のコピー数と土地利用変数との相関関係を評価した。

全調査地点において、各細菌マーカーの検出率は概ね 90%以上 (BacUni: 98%, EC23S857: 98%, Enterol: 96%) であった。各宿主関連マーカーの検出率は 4~77%であり、春季、および秋季の終わりから初冬にかけて高い濃度に検出された。農村部であるバルコンズ川の調査地点は、BacCow (28~77%) の検出率が最も高く、バルコンズ川の糞便汚染はウシに由来することが示唆された。これに対して、都市部であるレオン川の調査地点は BacCan (35~58%) の出現率が最も高く、レオン川の糞便汚染はイヌに由来することが示唆された。また、レオン川の調査地点では、ヒトマーカー (BacHum, HF183) とイヌマーカー (BacCan) は、NO<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N, 降雨量との相関が強かった。これは、降雨に伴う下水処理水等の河川への流出が影響したと考えられる。各宿主関連マーカー遺伝子のコピー数と土地利用変数の相関関係からも、ヒトマーカーは人口や浄化槽の密度が高い開発地域で高濃度に検出された。以上より、MST 技術を気象情報や土地利用と組み合わせることで、糞便汚染源の特定に加え、対象地点の糞便汚染実態を把握することが可能になる。

## 第 404 回雑誌会

(Oct 11, 2023)

### (1) The impact of chlorine disinfection of hospital wastewater on clonal similarity and ESBL-production in selected bacteria of family Enterobacteriaceae

Rolbiecki, D., Korzeniewska, E., Czatzkowska, M. and Harnisz, M.

International Journal of Environmental Research and Public Health, **19**, 13868 (2022).

Reviewed by K. Tsuda

病院の消毒処理施設は、病院排水に含まれる高濃度の病原菌や多剤耐性菌を不活化し、それらの都市下水処理場への流入を防いでいる。しかし、塩素消毒は細菌の遺伝子の水平伝播を促進し、薬剤耐性菌を蔓延させる可能性がある。本研究では、塩素消毒によって、腸内細菌科細菌のクローン類似性、基質特異性拡張  $\beta$  ラクタマーゼ (ESBL) 産生細菌の表現型と遺伝子型、および菌種に及ぼす影響を評価した。試料は、各季節 (春, 夏, 秋, 冬) の病院排水 (塩素消毒前・後) から採取した。次に、選択培地を用いて 480 株 (消毒前: 240 株, 消毒後: 240 株) の腸内細菌科細菌を単離した。その後、480 株の細菌の DNA を抽出し、ERIC-PCR 法によって DNA フィンガープリントを作成した。また、発色培地で ESBL 産生疑い株をスクリーニングした後、表現型検査 (Combined Disc Test) を行い、104 株の ESBL 産生菌を単離した。次に、PCR 法を用いて ESBL 産生遺伝子型 ( $bla_{SHV}$ ,  $bla_{TEM}$ ,  $bla_{OXA}$ ,  $bla_{CTX-M-1}$ -group,  $bla_{CTX-M-2}$ -group,  $bla_{CTX-M-9}$ -group, および  $bla_{CTX-M-8/25}$ -group) を検出した。さらに、ESBL 産生菌に対して 16S rRNA 遺伝子を標的とした菌種同定を実施した。

腸内細菌科細菌のフィンガープリントに基づくクローン類似性は、塩素消毒 (前: 0.46, 後: 0.44) よりも各季節 (春: 0.59, 夏: 0.52, 秋: 0.47, 冬: 0.47) の影響を受けた。ESBL 産生菌は、消毒前の病院排水から 11.7% (28/240 株), 消毒後から 31.8% (76/240 株) が検出され、塩素消毒後で高くなった。しかし、消毒の前後において ESBL 産生菌のセフトキシム (前: 100%, 後: 88.6%), セフトキシム (前: 67.9%, 後: 64.5%), およびセフトキシム (前: 67.9%, 後: 64.5%) に対する耐性率は、ほとんど変化しなかった。また、ESBL 産生遺伝子の割合も塩素消毒の前後で変化し、 $bla_{OXA}$  は消毒前の検出率 (46.4%, 13/28 株) よりも消毒後の検出率 (80.3%, 61/76 株) が有意に高かった。ESBL 産生菌の菌種は、消毒の有無に関わらず *Enterobacter hormaechei* と *Klebsiella pneumoniae* の 2 種が優占種であった。クローン類似性解析の結果に基づいてクラスター分析を実施したところ、クラスター内の 1 株当たりの薬剤耐性遺伝子保有数の平均値は *Klebsiella* 属のクラスターが最も高い値を示した。これらの結果から、塩素消毒は病院排水中の ESBL 産生菌の割合を増加させることが明らかになった。特に、*Klebsiella pneumoniae* は、その生残性や薬剤耐性遺伝子保有数から環境中に薬剤耐性を拡散させる主要因となる可能性がある。

## 第 405 回雑誌会

(Oct. 26, 2023)

### (1) Spatiotemporal distribution of antimicrobial resistant organisms in different water environments in urban and rural settings of Bangladesh

Asaduzzaman, M., Rousham, E., Unicomb, L., Islam, M., Amin, D., Rahman, M., Hossain, M., Mahmud, Z., Szegner, M., Wood, P. and Islam, A.

Science of the Total Environment, **831**, 154890, (2022).

Reviewed by Y. Kato

基質特異性拡張型  $\beta$ -ラクタマーゼ (ESBL) 産生腸内細菌科細菌による市中感染率は、世界規模で年々増加傾向であり、東南アジアにおける感染率は最も高い。東南アジアでは、生活排水や病院廃水の多くが未処理のまま公共用水域に放出されていることから、水環境において新たな薬剤耐性菌 (ARB) が発生する可能性がある。そこで本研究では、バングラデシュの都市部と農村部を対象に、ARB と薬剤耐性遺伝子 (ARG) の空間分布を調査した。試料は、冬季と夏季において、農村部の養鶏場と一般家庭の計 80 地点から飲料水、排水、池、河川水、都市部の 40 地点から飲料水、食品市場排水を計 397 検体採取した。試料水は、孔径 0.22  $\mu\text{m}$  のフィルターで吸引ろ過し、3 種類の m-TEC 培地 (抗菌薬無し、セフトキシム : 1 mg/L, メロペネム : 0.5 mg/L) 上に貼り付けて、ESBL 産生大腸菌 (ESBL-Ec), カルバペネム耐性大腸菌 (CR-Ec) を単離した。その後、代謝・酵素反応の違いから菌種を同定した。同定された ESBL-Ec 陽性株は、double disc synergy 試験によって ESBL 株を確定した。CR-Ec 陽性株は、3 種類のカルバペネム系抗菌薬に対する薬剤感受性試験によって CR 株を確定した。次に、水試料 100 mL をろ過したフィルターから DNA を抽出し、qPCR によって *bla*<sub>NDM-1</sub> および *bla*<sub>CTX-M-1</sub> 遺伝子を定量した。さらに、得られた定量的データと ArcGIS を用いて、薬剤耐性 (AMR) 空間マッピングを作成した。

農村部と都市部における ESBL-Ec の検出率は、飲料水が最も低く、排水が最も高かった。一方で、農村部における CR-Ec の検出率は、ESBL-Ec と同様に飲料水が最も低かったが、河川水の検出率は最も高かった。各試料水の ARG 濃度を定量した結果、*bla*<sub>NDM-1</sub> は農村部・都市部の排水から高濃度で検出され、都市部の食品市場排水が最も高かった ( $3.33 \pm 3.21 \log_{10}$  copies/100 ml)。同様に、*bla*<sub>CTX-M-1</sub> も農村部と都市部の排水から高濃度に検出された。AMR 空間マップを用いて ARB と ARG の分布を調べた結果、ESBL-Ec は、農村部と都市部の飲料水以外のあらゆる水環境に遍在しており、CR-Ec は農村部と都市部の排水において多く検出された。また、排水は ARB と ARG の検出頻度が高く、農村部と比較して都市部で有意に高かった ( $p < 0.05$ )。以上より、ARB や ARG の空間分布を調べることによって、AMR の拡散実態や汚染の重要スポットの推定が可能になる。



## (2) Fouling mitigation in membrane bioreactors by nanobubble-assisted backwashing

Fernandes, H., Kiuchi, S., Kakuda, T., Hafuka, A., Tsuchiya, T., Matsui, Y., Kimura, K

Journal of Water Process Engineering, **53**, 103860 (2023)

Reviewed by K. Takahashi

膜分離活性汚泥法 (MBR) において、膜閉塞は主要な問題の 1 つである。そこで本研究では、ナノバブル水逆洗 (NBB) による MBR の膜閉塞の軽減と、逆洗液が活性汚泥に与える影響について、水道水逆洗 (TWB) および次亜塩素酸ナトリウム (NaClO) を用いた化学逆洗 (CEB) と比較した。実験は、札幌市の下水処理場に設置された 3 台のベンチスケール MBR を、同一の運転条件で並列運転し、逆洗浄条件のみ変化させた。MBR 内に粒状担体を投入し、運転条件は汚泥滞留時間 30 日、タンク内の曝気  $0.012 \text{ Nm}^3/\text{min}$ 、ろ過速度  $50\text{-}80 \text{ L/m}^2/\text{h}$ 、11 分ごとに 1 分間の休止として、運転を行った。逆洗浄は、5 時間ごとに 60 分間、 $8 \text{ L/m}^2/\text{h}$  の速度で TWB、NBB または CEB の方式で行った。本実験では、異なる季節、異なるろ過速度で 5 回の実験を実施した。実験終了時に、汚れた膜をタンクから取り出し、水道水を通水することによって、実験前後の膜のろ過抵抗の変化を測定した。また、逆洗液が MBR の性能に与える影響を評価するため、ろ液の全有機炭素 (TOC)、溶存有機炭素 (DOC)、汚泥懸濁液の MLSS、アンモニウムイオン ( $\text{NH}_4^+$ )、亜硝酸イオン ( $\text{NO}_2^-$ )、硝酸イオン ( $\text{NO}_3^-$ ) を測定した。そして、蛍光分光光度計とフーリエ変換赤外分光光度計 (FT-IR) を用いて、膜閉塞層の分子構造や官能基を分析した。さらに、走査電子顕微鏡 (SEM) と原子間力顕微鏡 (AFM) を用いて、膜閉塞層の観察を行った。

季節にかかわらず、NBB の洗浄性能は TWB よりも高く、CEB と同程度であった。TWB の実験後のろ過抵抗は NBB より 424% 高く、ろ過抵抗の抑制には NBB の方が TWB よりも効果的であった。しかし、膜閉塞層の組成と TOC、DOC、MLSS、 $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{NO}_2^-$ 、 $\text{NO}_3^-$  濃度は、逆洗液の方式の違いによる変化が認められなかった。一方、NBB で逆洗された膜表面の膜閉塞層が TWB の膜閉塞層より粗いことが AFM 画像から観察された。これは、NB が膜とゲル層の界面に侵入した際に、ゲル層を浮き上がらせたためであり、粒状担体による洗浄効果が高まったと考えられる。さらに、NBB を適用した場合、膜閉塞層の厚さは著しく減少することが SEM によって観察された。TWB サンプルの表面の膜閉塞層は、NBB サンプルよりも 30% 厚かった。したがって、NBB を実施した場合には、膜閉塞層の化学的な組成の変化よりも、物理的な構造が変化した可能性があると推測された。以上の結果より、NBB を実施しても MBR の汚泥性状には大きな変化は見られず、NBB は膜からの膜閉塞層の除去を促進することが示唆された。

**(1) Wastewater-based prediction of COVID-19 cases using a highly sensitive SARS-CoV-2 RNA detection method combined with mathematical modeling**

Ando, H., Murakami, M., Ahmed, W., Iwamoto, R., Okabe, S., Kitajima, M.

Environment International, **173**, 107743, 2023.

Reviewed by R. Nakamura

近年世界的に大流行した *SARS-CoV-2* は、罹患者の糞便中から下水中に排出されることが報告された。現在、下水中の *SARS-CoV-2* RNA ( $C_{RNA}$ ) を検出することによって、下水道集水域の COVID-19 感染者数を予測する、下水疫学 (WBE) が注目されている。下水沈殿物から  $C_{RNA}$  を高感度で検出する EPISENS-S 法が既往の研究で開発されたが、雨水等の影響で希釈された下水には効果的ではなかった。また、流入下水中の  $C_{RNA}$  濃度から将来の COVID-19 新規感染者数を予測することができる精度の高い数理モデルの開発が望まれる。そこで本研究では、下水から高感度かつ簡便にウイルスを濃縮・検出できる EPISENS-M 法を開発し、感染者からのウイルス排出メカニズムを考慮した独自の数理モデル (PRESENS モデル) を開発した。EPISENS-M 法は、陰電荷膜 (孔径 0.8  $\mu\text{m}$ ) で *SARS-CoV-2* を捕捉し、ろ過膜から直接  $C_{RNA}$  を抽出した。その後、逆転写 qPCR を用いて  $C_{RNA}$  を定量した。流入下水試料は、2020 年 5 月~2022 年 6 月の期間、札幌市内の 2 つの下水処理場から毎週採水した (207 サンプル)。EPISENS-M 法の最適化のため、下水 300 mL と MilliQ 水 500 mL に、熱不活化 *SARS-CoV-2* を添加して最終濃度を  $1.12 \times 10^5$  copies/L に調整したものを試料水とした。この試料水に  $\text{MgCl}_2$  の最終濃度が 25 mM になるように調整した後、EPISENS-M 法を用いて  $C_{RNA}$  濃度を測定し、回収率を算出した。本法を 2 つの下水処理場の下水に適用し、 $C_{RNA}$  とトウガラシ微斑ウイルス RNA (PMMoV<sub>RNA</sub>) の濃度を測定した。その後、測定した  $C_{RNA}$  濃度の長期的データを用いて、PRESENS モデルの新規感染者数の予測精度を評価した。

EPISENS-M 法による  $C_{RNA}$  回収率は、流入下水 : 95.4~99.5%, MilliQ : 98.7~99.1% であり、極めて回収率が高かった。2021 年 3 月 3 日~2021 年 6 月 2 日の期間に、2 つの下水処理場から採水された 37 サンプルの PMMoV<sub>RNA</sub> の平均濃度は、EPISENS-M 法 :  $1.25 \times 10^8$  copies/L, EPISENS-S 法 :  $5.05 \times 10^7$  copies/L であり、EPISENS-M 法が有意に高かった。*SARS-CoV-2* の陽性率は、EPISENS-M 法と EPISENS-S 法で、それぞれ 100% (37/37) と 91.9% (34/37) であったが、両者の  $C_{RNA}$  濃度に有意な差は認められなかった。新規感染者数に基づいた、本法の  $C_{RNA}$  検出確率を推定すると、人口 10 万人あたりの新規感染者数が 0.69 人/日の場合、下水から  $C_{RNA}$  を 50% の確率で検出できることが判明した。また、開発した PRESENS モデルは、採水日から 5 日後までの新規感染者数を高い精度で予測可能であると実証された。本研究で確立した EPISENS-M 法と PRESENS モデルの組み合わせによる一連の感染者数予測手法は、感染動向の予測ツールとして、社会的活用が期待される。

## (2) Titanium Ions Inhibit the Bacteria in Vase Solutions of Freshly Cut *Gerbera jamesonii* and Extend the Flower Longevity

Li, C.X., Fan, Y.F., Luan, W., Dai, Y., Wang, M.X., Wei, C.M., Wang, Y., Tao, X., Mao, P. and Ma, X.R.

*Microbial Ecology*, 77, 967-979 (2019).

Reviewed by M. Ogori

チタンは殺菌・静菌作用を有し、植物の成長促進効果をもたらす。しかし、チタンは土壌中では酸化物と結合した状態であり、植物に作用しないことから、安定性を有するイオン性チタンがチタンの代替物として考えられている。そこで本研究では、チタンイオンの添加によるガーベラの切り花の寿命とチタンイオンによる抗菌活性を検討した。試料のガーベラは、中国の成都市の花市場で購入した。次に、対照群（CK 群）とチタンイオン処理群（Ti 群）をそれぞれ 3 サンプルずつ作成した。約 30cm に切断したガーベラ 10 本について、対照群（CK 群）は、脱イオン水（200 mL）を添加した三角フラスコで 10 日間（5 日目に脱イオン水 100 mL を追加）培養した。Ti 群は、脱イオン水中のチタンイオン濃度が 8 mg/L になるように調整した。10 日間の培養後、溶液 1 mL を採取し、LB 培地を用いて 5 日間培養し、細菌数を計数した。さらに、花器水から DNA を抽出し、16S rRNA 遺伝子の V3-V4 領域を標的とした菌種同定を実施した。

茎の萎れ具合から寿命の違いを比較したところ、室温（23–25 °C）で 7 日間培養後の Ti 群（満開：8±1 輪、萎れ：2±1 輪）は、CK 群（満開：6±1 輪、萎れ：4±1 輪）と比較して、ガーベラの寿命が長かった。また、CK 群の細菌数（ $3.78 \pm 1.45 \times 10^8$  CFU/mL）は、Ti 群の細菌数（ $2.2 \pm 0.2 \times 10^5$  CFU/mL）と比較して約 1700 倍と有意に高かった。CK 群と Ti 群の細菌叢を比較したところ、CK 群の菌叢は多様であり、 $\beta$  多様性解析を実施したところ、CK 群と Ti 群の類似度は低く、CK 群間での類似度も低かった。Ti 群の 3 サンプルは、CK 群と比較して、プロットの距離が近く、チタンイオンが細菌に選択圧を与えることが示唆された。CK 群と Ti 群において優占的であった細菌は、腸内細菌科（CK 群：20.2%，Ti 群：23.2%）、*Pseudomonas veronii*（CK 群：16.0%，Ti 群：20.0%）、*Pseudomonas* sp.（CK 群：5.84%，Ti 群：15.8%）であった。また、Ti 群では、*Flavobacterium succinicans* の存在割合が約 53 倍（CK 群：0.06%，Ti 群：3.18%）、*Pseudomonas* sp. が 2.7 倍（CK：5.84，Ti 群：15.8%）になった。一方で、Ti 群は、ほとんどの細菌分類群（37/58）で存在割合が減少し、チタンイオンによる細菌の抑制は効果的であった。これらの結果から、チタンイオンは、細菌数を減少させることでガーベラの寿命を延ばし、細菌の多様性を低下させることが明らかとなった。

## 第 407 回雑誌会

(Nov.9,2023)

### (1) Application of cerium and lanthanum coagulants in wastewater treatment—A comparative assessment to magnesium, aluminum, and iron coagulants

Kajjumba, G. W., Fischer, D., Risso, L. A., Koury, D. and Marti, E. J.

Chemical Engineering Journal, **426**, 131268 (2021).

Reviewed by Y. Hisatsugu

リンを高濃度を含む汚泥の脱水液にはポリリン酸蓄積細菌から放出されたリンが含まれており、脱水液中のリンを除去するために凝集沈殿処理が行われている。ランタンとセリウムの凝集剤は水中のリンを効果的に除去できるが、知見が不足していることから排水処理には利用されていない。そこで本研究では、ランタノイド系凝集剤の最適条件の検討、処理性能、および処理コストについて一般的な凝集剤と比較した。試料には、リンを高濃度を含んだ汚泥の脱水液を用いた。用いた凝集剤は以下の通りである：塩化第二鉄 ( $\text{FeCl}_3$ )、ミョウバン ( $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ )、アルミン酸ナトリウム ( $\text{Na}_2\text{Al}_2\text{O}_4$ )、水酸化マグネシウム ( $\text{Mg}(\text{OH})_2$ )、ランタノイド系凝集剤の塩化ランタン ( $\text{LaCl}_3$ )、塩化セリウム ( $\text{CeCl}_3$ )。pH 調整後、リン濃度を  $100 \text{ mg-PO}_4^{3-}/\text{L}$  に調整した試料水 1L に凝集剤を添加し、75 秒間の急速攪拌 (250 rpm) と 15 分間の緩速攪拌 (40 rpm) を行い、15 分間静置した上澄み液を採取した。その後、最適条件を検討するために pH と凝集剤注入率を変化させてリン濃度を測定した。そして、最適条件における処理性能の比較のため、リン酸イオン性リン、アルカリ度、COD、濁度、アンモニア性窒素、汚泥量を測定した。また、凝集剤の購入価格、pH 調整剤に用いる費用、および汚泥の処理費用を考慮して年間の処理費用を比較した。

本研究で使用した全ての凝集剤の最適条件におけるリン除去率は 80%以上に達し、 $\text{CeCl}_3$  によるリン除去率は最も高く、98.5%を達成した。さらに、ランタノイド系凝集剤は排水の最適アルカリ度 (70~150 ppm) を満たし、 $\text{LaCl}_3$  は COD と濁度の除去率が他の凝集剤と比較して最も高かった (COD: 20.2%, 濁度: 96.6%)。各処理の汚泥量を比較したところ、 $\text{Mg}(\text{OH})_2$  が最も少なく ( $120 \pm 20 \text{ mL}$ )、 $\text{CeCl}_3$ 、 $\text{LaCl}_3$ 、 $\text{FeCl}_3$ 、 $\text{Na}_2\text{Al}_2\text{O}_4$ 、 $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$  の順に多くなった。次に、処理費用を比較した結果、 $\text{Mg}(\text{OH})_2$  が最も低く、 $\text{FeCl}_3$ 、 $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ 、 $\text{Na}_2\text{Al}_2\text{O}_4$ 、 $\text{CeCl}_3$ 、 $\text{LaCl}_3$  の順に高くなった。ランタノイド系凝集剤はコストが最も高くなったが、汚泥生成量は低かった。 $\text{Mg}(\text{OH})_2$  と  $\text{Na}_2\text{Al}_2\text{O}_4$  は処理後の pH が高くなることから、管内にストルバイトが発生し、運転コストが増加する可能性が示唆された。以上のことより、ランタノイド系凝集剤は最も高いコストを要するが、リン回収においては最適であった。汚泥生成量が少ないことから、埋立のコストが高くなる地域では  $\text{FeCl}_3$  と同程度に費用が低くなる可能性が示された。

## (2) Characterization of airborne bacteria and fungi at a land-sea transition site in Southern China

Feihong, X., Ying, Y., Shichun, Z., Yingyi, Z., Dingli, Y., Yan, Z. and Senchao, L.  
Science of The Total Environment, **849**, 157786 (2022).

Reviewed by R. Funaguma

エアロゾル中の細菌、真菌の菌数と群集構造は、エアロゾルの発生源と周囲の地理的環境に影響を受ける。さらに、相対湿度、降雨などの環境条件によって変動する可能性がある。そこで本研究では、沿岸域における1年間を通じた気象パラメータと季節差が、エアロゾル中の細菌と真菌の菌数、およびこれらの群集構造に与える影響について調査した。エアロゾル試料は2019年12月から2020年12月の各季節において、中国の洪澳島で採取した。浮遊粒子（TSP）は、0.45 μm 石英繊維フィルターを備えたエアサンプラーで1 m<sup>3</sup>/min の流量で24時間採取した。その後、フィルターからDNAを抽出し、細菌の16s rRNA 遺伝子のV3-V4領域と真菌のITS1 遺伝子を増幅し、HiSeq2500によって配列を取得して、それぞれの菌の分類に利用した。また、qPCRによって細菌の16s rRNA と真菌のITSのコピー数を測定した。そして、気象（気温、相対湿度、風向、風速など）と大気汚染物質（CO, NO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>, PM<sub>2.5</sub> など）のデータを Air quality monitoring station から取得し、RDA 分析で微生物群集との関連性を評価した。また、気団の軌跡データを Meteinfo モデルから取得した。さらに、発生源追跡分析によって TSP 中の細菌と真菌の発生源を調査した。

1年間の季節ごとにおける TSP 中の細菌数の変化は、 $9.17 \times 10^3 \sim 1.37 \times 10^5$  cells/m<sup>3</sup> の範囲にあり、有意な季節差はなかった。一方で、真菌数は  $1.7 \times 10^2 \sim 1.1 \times 10^3$  cells/m<sup>3</sup> の範囲にあり、特に秋における真菌数の変動は大きいことがわかった。1年間にわたる微生物群集の変化を解析すると、細菌叢は主に *Firmicutes* 門 (33.07%) と *Proteobacteria* 門 (23.19%) であり、真菌叢は *Ascomycota* 門 (50.09%) と *Basidiomycota* 門 (22.20%) であった。また、季節の違いによる細菌叢と真菌叢の変動が確認され、夏季では細菌の *Proteobacteria* 門、真菌の *Basidiomycota* 門が最も多かった。微生物群集構造を RDA 分析で解析した結果、春と夏では、気象要因である気温、相対湿度、降水量、秋と冬では、大気汚染物質、気圧、風向の影響を受けた。主成分分析の結果、夏の微生物群集は他の季節と比較して有意に異なり、南シナ海の気団の影響と考えられた。発生源追跡分析の結果、1年間における TSP 中の細菌の約 58%、真菌の 33% 以上が陸上由来であり、細菌の約 7%、真菌の約 12% が海洋由来であった。このことから、中国南部の沿岸では、年間を通して微生物群集構造は陸上から受ける影響が大きいことが示唆された。