

【研究報告】

人工透析廃液の処理に関する研究

- オゾン水および活性汚泥による処理 -

北原節子,石原ともえ,高橋智恵子,奥井恒明,石川元

日本医療・環境オゾン研究会会報, Vol.12, No.4, 60-66. (2005)

研究報告

人工透析廃液の処理に関する研究 —オゾン水および活性汚泥による処理—

Treatment of dialysis wastewater by ozonized water and activated sludge

北原節子*、石原ともえ**、高橋智恵子**、奥井恒明***、石川 元***

*大妻女子大学社会情報学部、**神奈川県立衛生短期大学、

***ワールドメディカルサービス

要旨 本研究では、人工透析廃液に出現する細菌叢を調べ、出現した細菌類を含む6種類の標準株についてオゾン水による殺菌効果を検討した。その結果、細菌の種類により効果に違いが認められた。また、透析廃液の浄化を目的に、人工透析液中の有機物に対するオゾン水の作用について基礎的な検討を試みた結果、オゾン水によるタンパク質への分解作用はほとんど認められなかったが、グルコースに対しては作用が認められた。さらに透析廃液のオゾン水および活性汚泥による処理を試み、約95%の有機物が除去された。

キーワード：人工透析廃液、オゾン水、殺菌、TOC、活性汚泥処理

1. はじめに

わが国では、現在、約23万人が人工透析の治療を受けており、毎年新たに約1万人の患者が増加していると言われている。全国で1日に約1万2,000~3,000トンという大量の人工透析液が作られ、使用後は廃液となって毎日排出されている。人工透析廃液には高濃度の糖やタンパク質などの有機物以外に、病原菌やウイルスなどが含まれている可能性があり、その処理対策、バイオハザード対策などが問題となっている¹⁾。大量に排出される透析廃液を浄化し、安全で環境に負荷の少ない処理水にして再利用することは循環型社会において有意義なことと考え、本研究では透析廃液中に存在する細菌叢を調べ、オゾン水の標準菌株に対する殺菌効果と、人工透析液の有機物に対する除去効果について基礎的な検討を行った。さらに透析廃液についてオゾン水による処理および活性汚泥処理実験を行い、有機物および細菌叢の除去効果についても検討したので報告する。

2. 実験方法

2.1 試料

1) 人工透析液

人工腎臓用酢酸型透析液(キングダリー液2号)の組成を表1に示す濃度に希釈調製して使用した。

2) 人工透析試料

A 診療所の人工透析患者の透

析前・透析後の試料を使用した。腎機能低下のために血液中の老廃物をろ過する人工透析システムを図1に示す。透析前[A]、透析後[B]から試料を採取し、透析後の試料を透析廃液試料とした。

2.2 オゾン水の調製

オゾン水はオゾン水製造装置「オズロッカー1」(ワールドメディカルサービス開発 Regal Joint 製)により生成し、オゾン濃度測定器「OZM-01D」((株)ブイ・エム・シー)で濃度を確認後、使用濃度を精製水で調製した。

2.3 細菌の培養・同定

1) 透析前・透析後試料中の細菌の検出

検出培地：血液寒天培地(栄研ポアメディア)、ハートインフュージョン(HI)寒天培地(栄研ポアメディア)、サブロー寒天培地(栄研ポアメディア)、NAC寒天培地(栄研ポアメディア)、DHL寒天培地(栄研)、マンニット食塩培地(栄研)およびWYO α 寒天培地(栄研ポアメディア)を使用した。

表1 人工透析液調製後の糖・電解質

電解質濃度 (mEq/L)						グルコース (mg/L)
Na ⁺	K ⁺	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	Cl ⁻	CH ₃ COO ⁻	C ₆ H ₁₂ O ₆
132	2	2.5	1.5	105	33	2000

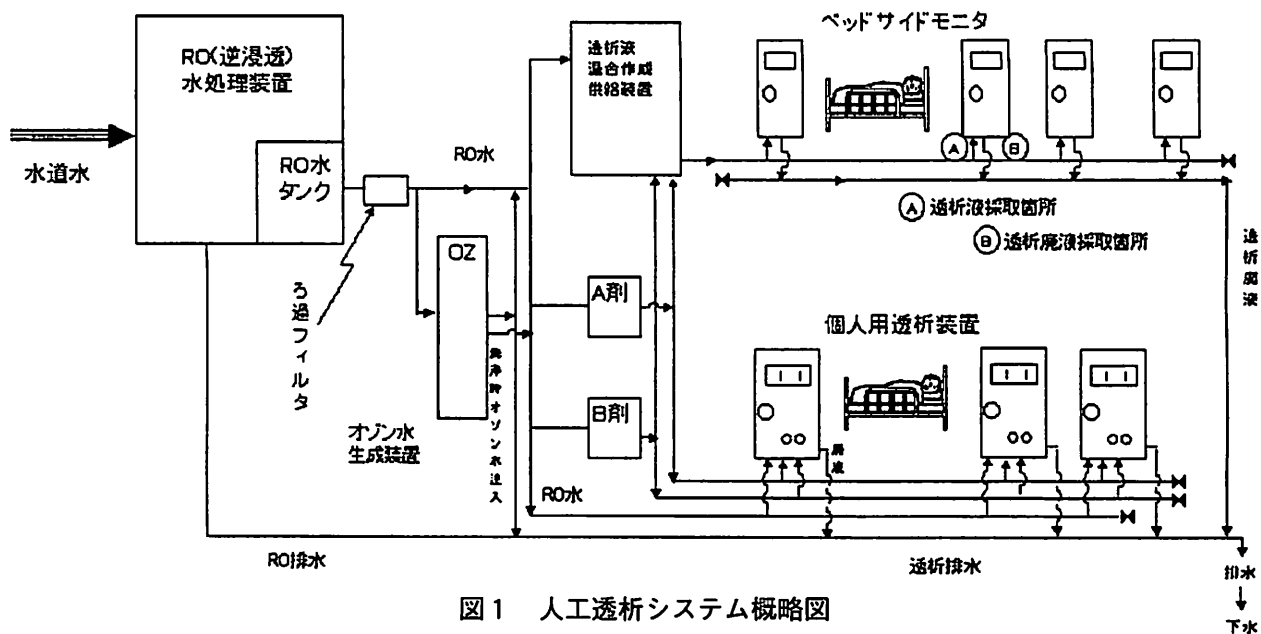


図1 人工透析システム概略図

検出・同定方法：無菌的に採取した透析前、透析後の試料原液および20倍濃縮液を生理食塩水で10倍段階希釈し、各段階希釈液0.1mLを上記検出培地に塗抹したのち、36℃、18～24時間(WYO α 寒天培地は3～5日)培養してコロニーを分離した。各培地上に発育したすべての異なるコロニーについて、グラム染色性および形態観察、オキシダーゼ試験、カタラーゼ試験および各コロニーの性状から同定を行った^{2, 3)}。

2) オゾン水による標準菌株の殺菌

供試菌株：6菌種6株の標準株を使用した。それらは*Escherichia coli* II D 5208、*Staphylococcus aureus* III D 980、*Pseudomonas aeruginosa* GTC 81、*Legionella pneumophila* GTC 745、*Bacillus subtilis* RIMD 0225014、*Candida albicans* IFM 48311である。

培養条件および菌液の調製：*S. aureus*、*E. coli*、*P. aeruginosa*、*B. subtilis*はHI寒天平板で、*C. albicans*はサブロー寒天培地で36℃、24時間培養後、*L. pneumophila*はB-CYE培地(栄研ポアメディア)で36℃、48時間培養後、発育したコロニーを生理食塩水にて菌浮遊液とした。生菌数の確認は実験時に平板希釈法により算定した。

3) オゾン水による殺菌

表2に示す条件で処理水に所定濃度のオゾン水を接触させた。処理水量が少ないほど、またオゾン濃度が高いほどオゾンとの接触反応時間は長い、その場合でも数秒以内にオゾンは消失する。検水中のオゾンが無いことをオゾン濃度測定器で確認し、細菌数を測定した。細菌数の測定は試料を生理食塩水で10段階希釈を行い、各段階希釈液0.1mLを標準寒天培地(日水製薬)にコンラージで塗抹、35℃、24時間培養後の菌数を計数した。

2. 4 オゾン水による処理実験

1) オゾン水による標準菌株の処理

殺菌試験方法：オゾン水200mLを採取し、オゾン濃度確認後直ちに所定濃度の菌浮遊液2mL入りの三角フラスコに入れ混和し、あらかじめ12.5%チオ硫酸ナトリウム8 μ Lを添加済みの小試験管に所定時間ごとに2mLづつ取り分けオゾンを消去した。その1mLを混釈培養、0.1mLを平板にコンラージ塗抹培養、残りを段階希釈しミスラー法⁴⁾で生菌数の算定を行った。ただし、好気性菌である*P. aeruginosa*と*B. subtilis*および生培地を用いた*L. pneumophila*については混釈培養を行わなかった。殺菌率はオゾン接触前後の生残菌数から求めた。

表2 オゾン水による処理水の殺菌条件

	処理水 (mL)	オゾン水 (mL)	オゾン濃度 (mg/L)
A-1	5	195	3
A-2	5	195	6
A-3	5	195	9
A-4	10	190	3
A-5	10	190	6
A-6	10	190	9
A-7	20	180	3
A-8	20	180	6
A-9	20	180	9

2) オゾン水による人工透析液の処理

① グルコース

人工透析液に所定濃度のオゾン水を加え30分以上静置し、オゾンが完全に無くなった試料についてTOC (TOC-5000 島津製) およびグルコース量を測定した。グルコースの測定はムタローゼ・GOD法で行った。発色剤はグルコースCII-テストワコー (和光純薬) を使い、492nmの吸光度の測定にはプレートリーダー「ウルトロペックバイオトラックリーダーII」(アマシャム) を使用した。

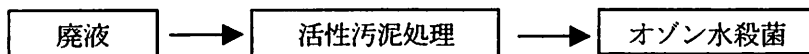
② タンパク質

人工透析液1Lにタンパク質として牛アルブミン100 mgを添加したものに所定濃度のオゾン水を加え、グルコースと同様の実験を行った。タンパク質濃度の検出には Proteostain-Protein Quantification Kit-Rapid (同仁化学) を使用し、上記と同様、プレートリーダーによって595 nmの吸光度を測定しタンパク質量を求めた。

3) 活性汚泥による人工透析廃液の処理

以下に示す2系列の実験を行った。

実験Ⅰ：グルコースで馴致した活性汚泥の汚泥容量 (sludge volume : SV) 25%に対し、人工透析廃液75%の割合で接触させ、その接触時間を0分とし、直ちに曝気を開始し、30分、1、2、4、24時間後に試料を採取した。この試料を3000 rpm 10分間遠心分離し、その上澄液についてTOCと細菌数の測定を行った。24時間後の上澄液を処理水とし、オゾン水による殺菌実験に使用した。



実験Ⅱ：人工透析廃液 800 mLとオゾン10 mg/Lオゾン水 800 mLを接触させたオゾン水処理透析廃液を用い、実験Ⅰと同様に活性汚泥処理実験を行った。



3. 実験結果および考察

3.1 人工透析液および透析廃液中の細菌叢

人工透析前および透析後の試料中に検出された細菌を表3に示した。透析前の試料には4属5種類の細菌が検出されたが、透析後の試料では同種の細菌で $10^2 \sim 10^3$ CFU/mLの増加が認められた。その原因として透析中の温度および栄養豊富な透析液成分が存在するなど、増殖可能な環境条件があったためと考えられた。

表3 透析前・後の人工透析廃液中の細菌

検出菌名	菌数	
	透析前	透析後
<i>Bacillus sp.</i>	1.3×10^0 /mL	1.4×10^3 /mL
<i>Pseudomonas sp.</i>	2.0×10^0 /mL	1.8×10^3 /mL
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2.0×10^0 /mL	3.0×10^2 /mL
<i>E. coli</i>	6.7×10^{-1} /mL	2.6×10^3 /mL
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2.0×10^0 /mL	2.6×10^3 /mL

3.2 オゾン水による標準菌株の殺菌効果

初発菌数 $10^3 \sim 10^7$ CFU/mLの*E. coli*に対して1.1~3.0 mg/Lのオゾン水の殺菌効果について検討した結果、処理10秒後にはいずれも生菌が認められなかった。図2に 10^7 CFU/mLの*E. coli*の存在下、1.1 mg/Lのオゾン水で処理した結果を示す。この結果から10秒後には生菌がみられずオゾン水の殺菌効果が認められた。

*L. pneumophila*では初発菌数 $10^4 \sim 10^6$ CFU/mLで、1.0~3.0 mg/Lのオゾン水に10秒間の接触で*E. coli*と同様に殺菌率100%となった。

初発菌数が $10^2 \sim 10^4$ CFU/mLの*C. albicans*に対しても1.3~3.0 mg/Lのオゾン水によって接触時間10秒で生菌はみられず殺菌率が100%となった。

したがって、*L. pneumophila*と*C. albicans*は初発菌数が上記の範囲で、オゾン濃度が1.3 mg/L以上であれば*E. coli*と同様な殺菌作用の受けやすいグループと考えられる。

*B. subtilis*に対するオゾン水の殺菌効果を図3に示した。*B. subtilis*に対する殺菌効果は、オゾン濃度が1.5 mg/Lでは $10^4 \sim 10^5$ CFU/mLの菌が存在すると90秒後でも生菌は残存し、3分まで接触時間を延長しても殺菌されず残存した。2.1 mg/L以上のオゾン濃度になると 10^4 CFU/mLの菌数に対しては60秒後に殺菌され、 10^5 CFU/mLでは5.4 mg/Lのオゾン水で90秒後に殺菌された。完全に殺菌される条件として $10^4 \sim 10^5$ CFU/mLの

菌数では5 mg/L以上のオゾン濃度で接触時間が90秒以上要すると考えられる。*P. aeruginosa* に対するオゾン水の殺菌効果を図4に示した。*P. aeruginosa* はオゾン濃度が1.2 mg/Lでは初発菌数が 10^7 CFU/mL存在すると、殺菌までに60秒を要したが、 10^6 CFU/mLではオゾン濃度を2 mg/Lにすると10秒で死滅した。*S. aureus*に対するオゾン水の殺菌作用は*P. aeruginosa* の場合と似た傾向を示した。オゾン濃度が1.3 mg/Lのとき 10^3 CFU/mL以下の菌数では10秒後に生菌は生存しなかったが、 10^5 CFU/mLでは時間とともに生菌数は減少し90秒後では殺菌率が100%になった。2.7 mg/Lのオゾン水では 10^5 CFU/mLの菌数でも10秒で殺菌され、 10^6 CFU/mLの菌数の場合、20秒後ですべて死滅した。

オゾンは細菌の細胞表層を破壊することによって殺菌力を示すことが知られている⁵⁾。したがってオゾンの殺菌力は菌に接触するときのオゾン水の濃度と接触時間および菌数によって左右されると考えられる。今回、球菌である*S. aureus*、桿菌である*E. coli*、*P. aeruginosa*、*L. pneumophila*、真菌である*C. albicans*、芽胞菌である*B. subtilis*を用いてオゾン水の殺菌効果を検討した。その結果、桿菌である*E. coli*、*L. pneumophila* および *C. albicans* には強い殺菌力を示した。これら3種類の菌では 10^4 CFU/mLの菌数の場合、オゾン水1.0~1.3 mg/L濃度の接触10秒後には生菌は認められなかった。

芽胞菌である*B. subtilis*は初めのオゾン濃度が1.5 mg/Lでは 10^5 CFU/mLの菌数に対し接触時間を長くしても殺菌率の効果が認められず、90秒後でも 10^4 CFU/mLの菌が残存した。芽胞菌については勝井⁶⁾らをはじめ多くの報告があるが、今回の実験でも*B. subtilis*に対するオゾンの殺菌効果は他の菌に比べて低いことが認められた。

3. 3 オゾン水による人工透析液の有機物除去効果

1) グルコース

透析液には表1に示すように2,000 mg/Lのグルコースが含まれている。透析液のグルコースに対するオゾン水の分解作用の結果を表4に示した。TOCの有機物量の多くはグルコースによるものであるため、高濃度のオゾン水の作用により、両者は同様の減少率を示した。しかし、低濃度のオゾン水ではグルコースの減少

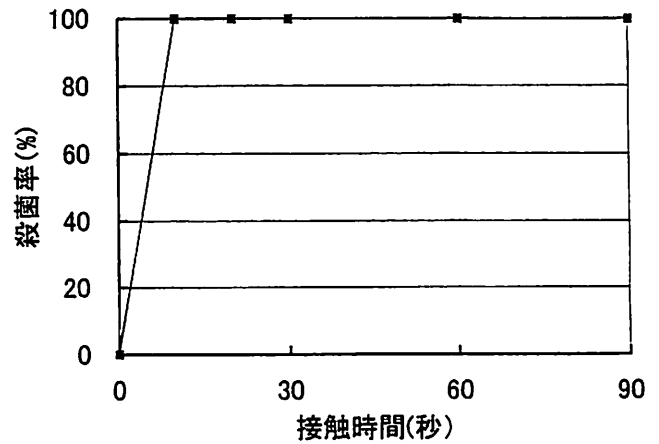


図2 オゾン(1.1 mg/L)の殺菌効果 (*E. coli*; 10^7 CFU/mL)

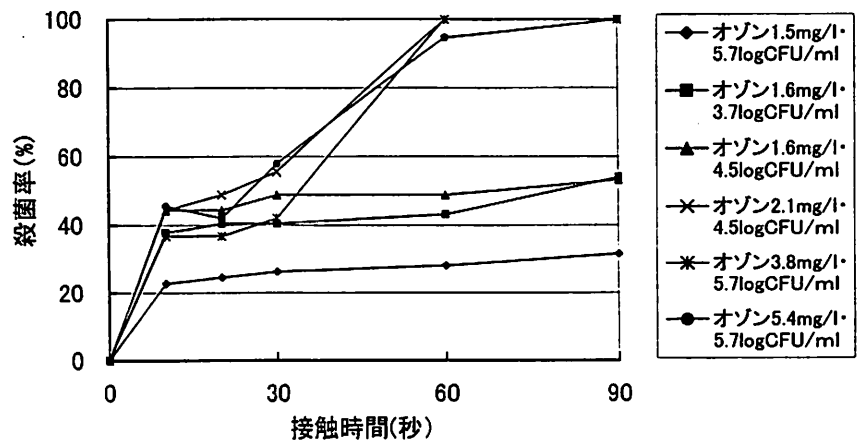


図3 オゾンの殺菌効果 (*B. subtilis*)

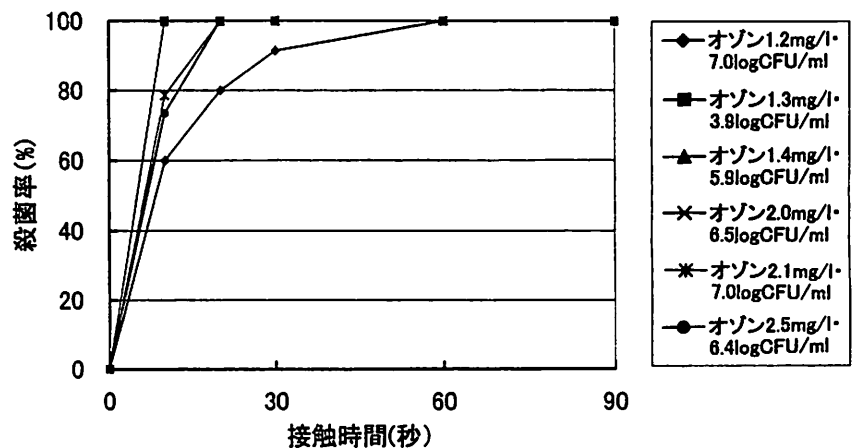


図4 オゾンの殺菌効果 (*P. aeruginosa*)

表4 グルコースに対するオゾンの分解作用

接触時オゾン濃度 (mg/L)	透析液の希釈倍数	TOC (mg/L)	TOC 減少率 (%)	グルコース (μ g/mL)	グルコース 減少率 (%)
		153.50		33.13	
6.68	4	75.73	50.7	15.00	70.0
5.87	4	76.17	50.4	16.88	66.2
4.65	4	76.93	49.9	16.88	66.2
1.25	4	124.56	18.8	32.50	1.9
1.00	4	148.84	3.2	34.63	0
0.45	4	152.43	0.7	35.68	0

表5 タンパク質に対するオゾンの分解作用

接触時オゾン濃度 (mg/L)	透析液の希釈倍数	TOC (mg/L)	TOC 減少率 (%)	アルブミン (μ g/mL)	アルブミン 減少率 (%)
		174.0		215.7	
5.85	4	131.8	24.3	214.3	0.65
3.68	4	132.9	23.6	217.1	0.00
3.23	4	130.8	24.8	214.3	0.65
2.93	4	130.5	25.0	214.2	0.65

がほとんど認められなかった。したがって、透析液に含まれるグルコースの約60%が5 mg/L前後の濃度のオゾン水によって酸化分解された⁵⁾と考えられる。

2) タンパク質

透析廃液に検出される可能性のあるタンパク質尿を想定し、アルブミン添加の透析液にオゾン水を作用させた。その結果を表5に示した。

透析液と3～5 mg/Lのオゾン水を接触させたとき、TOCでは23.6～25%の減少率が認められたが、アルブミン量はほとんど変化がなかった。30 mg/Lオゾン濃度でアルブミンの分解率がCODで62%という記載⁵⁾があるが、本実験の濃度では影響が殆ど認められなかった。

3. 4 人工透析廃液の活性汚泥処理効果

実験Iと実験IIに使用した人工透析廃液のTOCと生菌数の測定結果を表6に示した。透析廃液は約600～700 mg/L前後のTOC濃度の有機物を含んでいる。また、 10^4 ～ 10^5 CFU/mLの細菌が存在していることが認められた。なお使用した透析廃液のpHは8.3前後であった。

① 細菌叢

実験Iと実験IIにおける細菌数の経時変化を図5に示した。実験Iでは透析廃液と活性汚泥の接触後30分でわずかな菌数の減少が認められたが、その後は24時間まで増加し続けた。活性汚泥がグルコースで馴致された汚泥であるため、透析廃液の栄養分を取り込み24時間で細菌数は 10^4 CFU/mLから 10^5 CFU/mLへと一桁の増殖が認められた。

実験IIは活性汚泥処理前にオゾン水処理を加えたことにより、グルコース馴致汚泥と接触後、急激な菌数の減少が認められ、それから2時間後まで急激に増加するが、その後、徐々に減少しその後の増加はみられなかった。この理由として、30分後の急激な細菌の減少はオゾン水処理によって汚泥中の細菌が損傷を受け

表6 人工透析廃液のTOCと生菌数

人工透析廃液	TOC (mg/L)	生菌数 (CFU/mL)
実験I	725.9	2.0×10^5
実験II	601.2	2.2×10^4

たためであり、2時間以後の細菌の増加が認められなかったのは、廃液中の有機物がオゾンにより分解され栄養分として不足したものと考えられる。

② 有機物 (TOC)

実験Ⅰでは透析廃液のTOCは725.9 mg/Lであったが、活性汚泥と接触したと同時に初期吸着により、384.5mg/Lまで減少した。その後図6に示すように、4時間後まで急速に減少していくが、それ以後は徐々に減少して24時間後に、39.2 mg/Lになった。

実験Ⅱでは透析廃液のTOCは601.2 mg/Lであったが、オゾン水処理されて、308.8 mg/Lまで減少した。活性汚泥に接触と同時に146.7 mg/Lまで減少し、実験Ⅰと同様な経過を経て、24時間後には20.1 mg/Lまで減少した。

実験Ⅰおよび実験Ⅱの人工透析廃液のTOC除去率は、実験Ⅰが94.6%、実験Ⅱでは96.5%となり前処理としてのオゾン水処理の効果がわずかに認められた。

3.5 オゾン水による活性汚泥処理水の殺菌効果

実験Ⅰ(生菌数： 2.3×10^5 CFU/mL)および実験Ⅱ(生菌数： 1.3×10^4 CFU/mL)の処理水を用いて、表2

に示す条件でオゾン水の殺菌効果を測定した。その結果を図7に示した。A1~A3は処理水5 mLに対しオゾン水195 mLで処理した結果、オゾン濃度に比例して殺菌効果は高くなり、実験ⅡのA3では9 mg/Lのオゾン濃度で殺菌率は100%を示した。オゾン濃度9 mg/LのA3、A6およびA9では処理水の量が増加すると殺菌率は低下する傾向が実験Ⅰでも実験Ⅱでも認められた。この傾向についてはオゾンガスでも細菌の除去効果について試料水の有機物濃度が高いほど、細菌の除去率が低下するという報告が見られている⁷⁾。

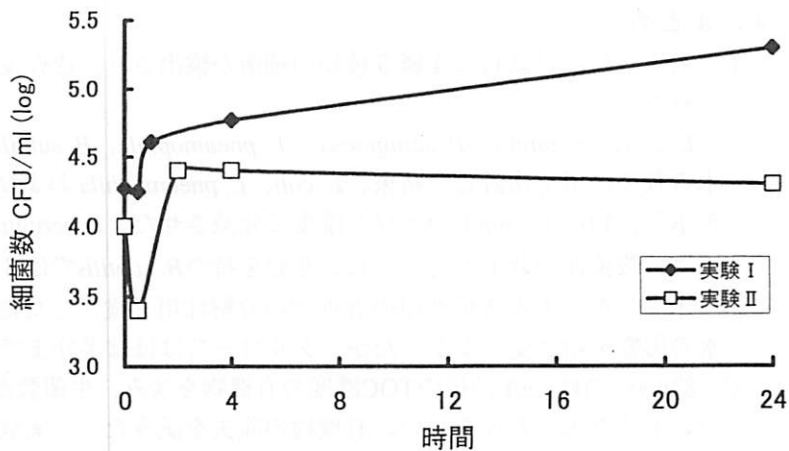


図5 人工透析廃液の活性汚泥処理—細菌数の変化—

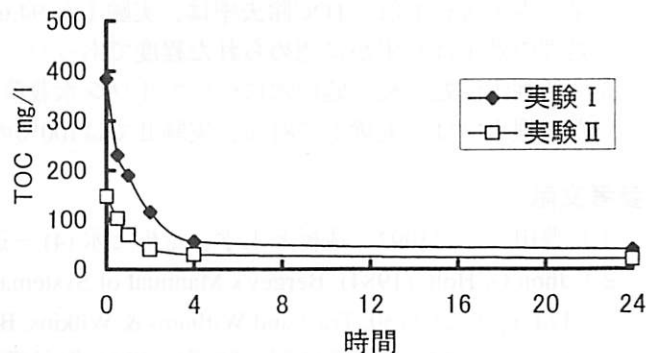


図6 人工透析液の活性汚泥処理—TOC—

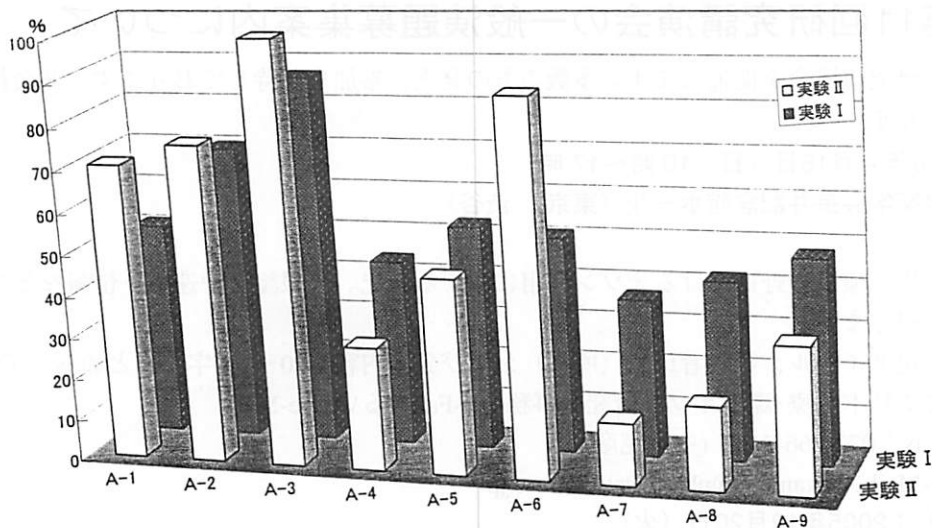


図7 活性汚泥処理水のオゾンによる殺菌効果

4. まとめ

- ① 人工透析前の試料に4属5種類の細菌が検出され、透析後に同種の細菌で $10^2 \sim 10^3$ /mLの増加が認められた。
- ② *E. coli*、*S. aureus*、*P. aeruginosa*、*L. pneumophila*、*B. subtilis*および*C. albicans*の標準株を用いてオゾン水の殺菌作用を検討した結果、*E. coli*、*L. pneumophila*および*C. albicans*に対しオゾン水は強い殺菌力を示し、1.0~1.3 mg/Lのオゾン濃度で死滅させた。*P. aeruginosa*、*S. aureus*ではオゾン濃度と菌数によっては、殺菌性の低下が認められ、芽胞を持つ*B. subtilis*では3分後でも生存する菌が認められた。
- ③ オゾン水による透析液中の有機物の分解作用を検討した結果、アルブミンなどのタンパク質はオゾン水の影響を殆ど受けなかったが、グルコースはほぼ半分まで減少することが認められた。
- ④ 約600~700 mg/L前後のTOC濃度の有機物を含み、生菌数が $10^3 \sim 10^4$ CFU/mL存在する人工透析廃液について活性汚泥処理を行い、有機物の除去を試みた。実験Ⅰでは透析廃液を直ちに活性汚泥で処理し、その処理水をオゾン水殺菌によって細菌の除去を行った。実験Ⅱでは透析廃液を前処理としてオゾン水処理し、さらに活性汚泥処理を行った後、実験Ⅰと同様に処理水のオゾン水殺菌を行った。その結果、人工透析廃液のTOC除去率は、実験Ⅰが94.6%、実験Ⅱでは96.5%となり前処理としてのオゾン水処理の効果はわずかに認められた程度であった。
- ⑤ 活性汚泥処理後の処理水についてオゾン水殺菌を行った結果、9 mg/Lのオゾン濃度で40倍に希釈された処理水では、実験Ⅰで81%、実験Ⅱでは100%の殺菌効果が認められた。

参考文献

- 1) 豊田 淳 (1992) 透析と工学、透析と水(4) - 透析液の処理 -、臨床透析、8(8)、129-133.
- 2) Jhon G. Holt (1984) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (First Edition), Bergey's Manual, pp.162-174, pp.1122-1130, Trust and Williams & Wilkins, Baltimore (USA).
- 3) Cowan and Steel, (坂崎利一監訳) (1993) 医学細菌同定の手引き (第三版)、pp.56-169、近代出版.
- 4) Miles, A.A. and Misra, S.S. (1938) The estimation of the bactericidal power of the blood. J.Hyg., Camb., 38, 732.
- 5) 出口富雄 (1993) 新版オゾン利用の新技术、サンユー書房、pp.51-69、pp.101-105.
- 6) 勝井則明、稲谷正敏、喜多英二 (2002) 低濃度オゾンによる冷蔵庫内の殺菌作用、防菌妨礙、30(10)、19-25.
- 7) 竹田 茂、伏脇裕一、森 康明 (2003) オゾンおよび紫外線を用いた生活排水二次処理水の消毒効果の基礎的検討、浄化槽研究、15(5)、1-8.

日本医療・環境オゾン研究会

第11回研究講演会の一般演題募集案内について

下記の通り研究講演会を開催します。多数の方の発表、参加を期待しております。非会員の発表も歓迎しております。

日時：2006年4月16日(日) 10時~17時

場所：日本薬学会会長井記念館ホール(東京、渋谷)

応募：

内容：医療、環境分野におけるオゾン利用に関する研究。既報論文や速報・情報などの発表も歓迎します。

方法：演題タイトル、発表者氏名(所属)および発表内容を50~100字にまとめ送って下さい。

申込み先：日本医療・環境オゾン研究会事務局へFaxあるいはe-Mail。

Fax：072-866-3122(中室克彦)

e-Mail：nakamuro@pharm.setsunan.ac.jp

締めきり：2005年12月20日(火)

- ・発表時間は原則として1件、15分 または 30分とします。
- ・受理通知を1月中に出します。受理された方には講演要旨の作成要領を送りますが、講演要旨提出期限は2月21日(火)を予定しております。