II-463　下水汚泥中における大腸菌ファージQβの熱による不活化

東京大学工学部　正会員　金子　栄廣
三井銀行　香ノ木　賢
東京大学工学部　正会員　藤田　賢二

1．はじめに

下水汚泥の処理方式の一つに堆肥化処理がある．この処理の特長は製品を緑農地に還元できることにあるが，そのためには処理の過程で病原微生物を十分に死滅させ安全な製品を得る必要がある．一般に，堆肥化過程において得られる高温が病原細菌の死滅に効果があるといわれている[1]が，ウィルスに対する効果については十分な検討がなされていないのが現状である．そこで，本研究では，大腸菌ファージQβを指標として水中および下水汚泥中におけるウィルスの温度耐性を実験的に調べ，比較検討した．

2．実験方法

実験条件を表－1に示す．水中のQβについて調べるための試料は，滅菌したリン酸塩緩衝液（pH 7.2）に所定濃度のQβを加えて調製した．汚泥中のQβについて調べるための試料には，T下水処理場から採取した高分子系生脱水ケーキを滅菌したものを高濃度のQβを含むリン酸緩衝液中に分散させ一昼夜スターラーで攪拌した後，遠心分離して含水率を 75～80% としたものを用いた．温度耐性を調べるため，試料を試験管にとり，光を遮断した状態で所定の温度に保ち，所定時間毎にサンプルを採取してQβ濃度を調べた．Qβの計測は，E.Coli K-12 (A/λ)を宿主菌とし，PGYC培地を用いたプラック法によった．

表－1　実験条件

	温度	初期Qβ濃度	pH	含水率
緩衝液	20 ℃	2.1×10^{7} PFU/ml	6.72	－
〃	30 ℃	1.3×10^{7} PFU/ml	6.72	－
〃	37 ℃	2.3×10^{7} PFU/ml	6.72	－
〃	45 ℃	6.3×10^{7} PFU/ml	6.76	－
〃	50 ℃	7.0×10^{7} PFU/ml	7.34	－
〃	55 ℃	7.9×10^{7} PFU/ml	6.76	－
〃	60 ℃	7.0×10^{7} PFU/ml	6.76	－
下水汚泥	30 ℃	9.6×10^{8} PFU/g	5.10*	76.6 %
〃	37 ℃	5.7×10^{8} PFU/g	5.10*	80.1 %
〃	45 ℃	9.6×10^{8} PFU/g	5.10*	76.6 %
〃	50 ℃	5.1×10^{8} PFU/g	5.10*	80.1 %
〃	60 ℃	9.6×10^{8} PFU/g	5.10*	76.6 %

＊）汚泥10gに蒸留水100mLを加え10分間攪拌した液のｐＨ

3．結果と考察

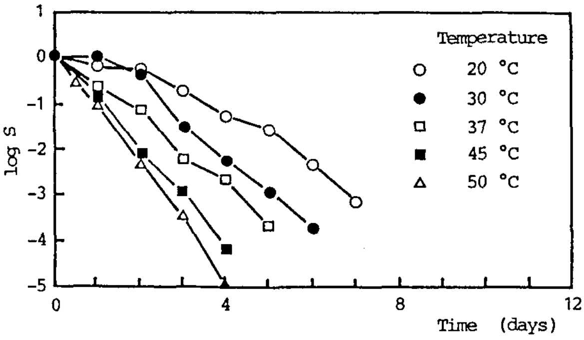
図－1は緩衝液中におけるQβの生存率（Ｓ）の時間変化を示したものである．これによると，温度が高いほど不活化が速やかに起こることがわかる．特に55℃以上の場合には不活化が急速に進み，一日でQβが全く検出されなくなった．またこの図から，37℃ 以上では一次反応的に，20℃ および 30℃ の場合にはそれぞれ約１日および約２日の抵抗期間（生存数が変化しない期間）をおいて一次反応的に不活化が進むことがわかる．そこで，抵抗期間中のデータを除いたデータに最小自乗法を用いて次式をあてはめ，各温度条件下における一次反応速度定数を算出した．

$$S \equiv C/C_0 = \exp\{-k(t-t_L)\} \quad \cdots\cdots \quad (1)$$

ここでＣはQβ濃度，C_0はQβ初期濃度，ｋは一次反応速度定数，ｔは実験開始後の経過時間およびt_Lは抵抗期間である．

図－2は下水汚泥中におけるQβの生存率の時間変化を示したものである．下水汚泥中においても温度が高くなるほど不活化が速やかに起こり，50℃以上の場合には一日でQβが検出されなくなった． 37℃ および 45℃ の場合は緩衝液中の場合と同様一次反応的に不活化が進んでいるので，（１）式をあてはめて一次反応速度定数を求めた．これに対して 30℃ の場合，実験開始直後の２日までとそれ以降とで不活化速度が

変化している．この原因については現在のところ明確にされておらず，今後検討する必要があるが，ここでは２日目以降の不活化速度が下水汚泥に取り込まれているＱβの不活化速度を表していると考え，この範囲のデータを用いて一次反応速度定数を求めた．

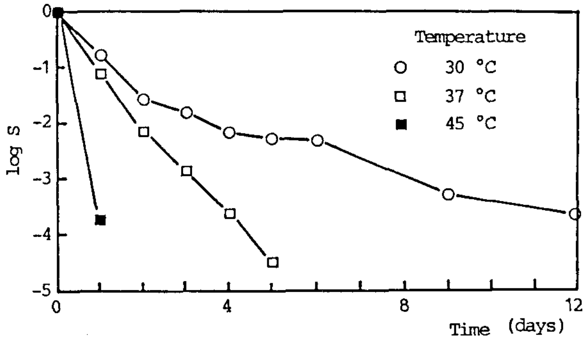


図－１　緩衝液中におけるＱβの生存率の時間変化

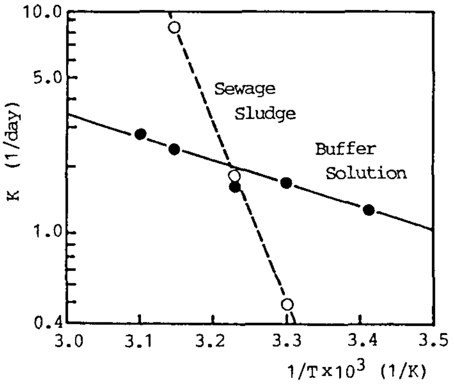
図－３は上記の方法によって求めた一次反応速度定数を Arrhenius plot によって整理したものである．この図から，Ｑβの熱による不活化速度が次の Arrhenius の式に従うことがわかる．

$$\log_e k = -E/RT + C_1 \quad \cdots (2)$$

ここでＥは活性化エネルギー，Ｒは気体定数，Ｔは絶対温度およびC_1は定数である．そこで活性化エネルギーを求めると，緩衝液中の場合 Ｅ＝ 4.73 (kcal/mol)，下水汚泥中の場合 Ｅ＝ 36.7 (kcal/mol) となった．ｐＨなどの条件が違うため厳密な議論をすることはできないが，下水汚泥中の方が緩衝液中の場合に比べてＱβの熱に対する感受性が強いといえる．また，両者にあてはめた直線が 37℃ (1/T ＝ 3.23) 付近で交差していることから，温度がこれより低い場合には下水汚泥中の方が緩衝液中よりも不活化速度が遅く，これより高温の場合には下水汚泥中の方が緩衝液中よりも不活化速度が速いことがわかる．



図－２　下水汚泥中におけるＱβの生存率の時間変化



図－３　一次反応速度定数の温度依存性

４．おわりに

以上の検討の結果，次のことが明らかになった．

１）　大腸菌ファージＱβの熱による不活化過程は抵抗期間を考慮した一次反応として表すことができる．

２）　Ｑβの熱による不活化速度は Arrhenius の式に従う．

３）　Ｑβの熱に対する感受性は，水中よりも下水汚泥中の方が強い．

４）　下水汚泥中のＱβは，常温では水中に存在するときよりも不活化しにくいが，堆肥化処理で得られるような高温条件下では水中に存在するときよりも速やかに不活化する．

なお，本研究で用いた E.Coli K-12 (A/λ) ならびにＱβは東海大学医学部古瀬浩介博士より分与していただいたものである．また，本研究の一部は文部省科研費試験研究(1)（代表 大垣眞一郎）の補助を受けた．

＜参考文献＞

1) Goloueke,C.G., When is Compost "Safe" ?, BioCycle, vol.23, No.2, 1982.