

II-521

下水処理水の消毒指標微生物の検索

建設省 土木研究所 正員 諏訪 守
 正員 佐藤 和明
 正員 小越 真佐司

1. はじめに

下水処理水再利用の普及に伴い、衛生学的安全性に対する要望は昨今、ますます高いものとなってきた。特に水系伝染病の病原性ウイルスの下水処理プロセスでの挙動については自治体の衛生研究所で一部測定がなされているが、現時点では極めて限られたデータであり、そのデータも定量性という観点からは不十分なものである。そこで改めてデータの蓄積が望まれるが、取り扱い上の安全性、専門学的技術を必要とすることなどにより、これまでの衛生工学の手法でアプローチすることは難しい。

そこでウイルス代替指標として、その構造、性質等の類似性さらに、測定が簡易で安全かつ経済的であるなどの理由から、バクテリオ Phage が注目されている。本論文は RNA Phage である MS2、Q β Phage、DNA Phage である T₄ Phage、さらに、宿主菌である E. coli K12 (F⁺)、E. coli B 株、腸球菌群の主要構成菌である E. faecalis を用いて塩素、紫外線の耐性実験を行ない、処理水再利用にあたってより高度の安全性を確保するための諸課題の一部を検討した結果を報告するものである。

2. 実験方法

2-1 塩素耐性実験 各種菌株の1晩培養液、Phageの調整液を生理食塩水（0.85%濃度）で $10^3 \sim 10^4$ 濃度に希釈したのち実験用サンプルとした。サンプルを滅菌した三角フラスコに約200ml分注し、次亜塩素酸ナトリウムを注入しスターラーによって攪拌を行なった。15分間接触を行なった後、約100mlを残留塩素測定用サンプルとし、残りのサンプルはただちに亜硫酸ナトリウムを添加し塩素の中和を行ない測定用サンプルとした。塩素の定量は、よう素滴定法によった。

2-2 紫外線耐性実験 塩素耐性実験と同様に $10^3 \sim 10^4$ 濃度に希釈したサンプルを約10ml滅菌シャーレに分注し、15Wの紫外線ランプの鉛直下に置き照射を行なった。紫外線強度は200～500 μ W/cm²とした。紫外線強度測定は紫外線強度センサーによった。

3. 実験結果

3-1 塩素耐性実験結果 実験結果を図-1、2に示す。図中の（ ）内の数値は残留塩素濃度を示してある。数値のないものについては測定限界以下である。E. coli K12 (F⁺)、E. coli B 株については0.3mg/lの塩素濃度により99.9%以上の不活化率であるが、E. faecalis だけは0.5mg/lで約99.9%の不活化率で一般的に言われているように、腸球菌群の主要構成菌である E. faecalis は大腸菌群の主要構成菌の E. coli よりも強い塩素耐性を示している。Phage については T₄ Phage が最も強い耐性を示しており、1.5mg/lの塩素濃度で約60%の不活化率である。MS2、Q β phage は、それぞれ80～90%の不活化率であり、菌株に比べ強い塩素耐性を示している。

3-2 紫外線耐性実験

実験結果を表-1、2に示す。

バクテリアの紫外線照射による不活化は一次式で近似できるとされている。

$$N = N_0 \exp [-I/K] \text{ ---- (1)}$$

ここに、N₀: 初期濃度

N : 照射後の濃度

I : 紫外線量($\text{mW} \cdot \text{s}/\text{cm}^2$)

K : 不活化速度定数($\text{mW} \cdot \text{s}/\text{cm}^2$)

菌株の中では *E. faecalis* が最も紫外線耐性があり、単位線量 ($1 \text{ mW} \cdot \text{s}/\text{cm}^2$) あたり約 60% の生存率を示している。Phage については MS2、Q β Phage が菌株、Phage 中最も紫外線耐性があり、単位線量あたり約 70~80% の生存率を示している。DNA Phage である T₄ Phage は宿主菌である *E. coli* B 株よりも紫外線感受性が強く、すみやかに不活化されてしまっている。一般的に DNA を遺伝子として保持しているバクテリアは RNA を遺伝子として保持しているバクテリアよりも紫外線感受性が強いと言われており、ここでもその傾向がうかがえた。

4. まとめ

ウイルス代替指標として注目されているバクテリオファージを用い、塩素、紫外線の耐性実験を行なった。実験で用いた 2 種類の RNA Phage である MS2、Q β Phage は宿主菌株、さらに、*E. faecalis* よりも塩素、紫外線に強い耐性がある。DNA Phage である T₄ Phage は塩素に対し強い耐性があることがうかがえた。

腸球菌群の主要構成菌である *E. faecalis* も他の *E. coli* の菌株よりも塩素、紫外線耐性があり、Phage とともに大腸菌群指標を補う消毒指標として有望であると考えられる。

しかし、ここでは特に記していないが、著者らが下水処理場における Phage の実態調査を行なった結果、二次処理水中の野性の Phage 量は $11 \sim 92 \text{ PFU}/\text{ml}$ と低濃度であり、塩素滅菌後の放流水中では検出されないか、 $1.0 \text{ PFU}/\text{ml}$ 程度の検出量であった。よって自然水（処理水）中の Phage を指標とすることよりも、これら純粋株の Phage を人為的に注入し消毒効率の判定を行なうことが良い方法とも考えられる。今後の課題として、これらの Phage と病原性ウイルスとの詳細な耐性関連性の把握などが考えられる。

尚、今回の実験に用いた菌株、Phage の提供をいただいた東海大学医学部古瀬浩介博士、横須賀市村田省平氏に謝意を表します。

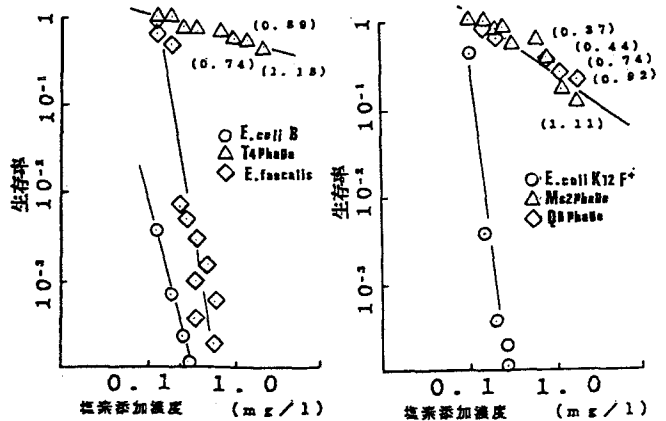


図-1、2 塩素による菌株、Phage の耐性実験

表-1 UV照射による各菌株・Phageの不活化速度定数の違い

	<i>E. coli</i> K12 (F ⁺)	<i>E. coli</i> B	<i>E. faecalis</i>
菌株	1.48	1.43	1.90
Phage	M3.77 Q3.04	T ₄ 0.44	—

($\text{mW} \cdot \text{s}/\text{cm}^2$)

表-2 不活化速度定数から求めた単位線量・濃度当たりの生存率

	<i>E. coli</i> K12 (F ⁺)	<i>E. coli</i> B	<i>E. faecalis</i>
菌株	0.51	0.50	0.59
Phage	M0.77 Q0.72	T ₄ 0.10	—

注) MはMS2, QはQ β , T₄はT₄ Phageを表す。