

Ⅶ-240

浄化槽汚泥へのウイルス結合と不活化

*日本大学生物資源科学部 正 員 中嶋睦安
上床和弘
正 員 砂入道夫
**日本環境整備教育センター 正 員 渡辺孝雄
加藤裕之

1. はじめに

浄化槽汚泥の有効利用を図るため堆肥化などの再生利用技術が進められているが、浄化槽は糞便等が流入するためヒト由来の病原体を含む可能性がある。特にヒトの糞便中に排出される腸管ウイルスは浄化槽に流入し汚泥再生過程の作業従事者及び周辺環境を汚染する可能性がある。このため汚泥再生利用の衛生学的安全性評価策定が望まれる。そこで汚泥の安全性評価の一環として実際の腸管ウイルスであるポリオウイルスを用いて汚泥へのウイルス結合と熱不活化を測定した。

2. 実験方法

ウイルスの増殖と定量にはアフリカミドリザル腎臓由来のVero細胞を、ポリオウイルスにはSabin1型株を、定量法にはメチルセルロース重層ブランク形成法またはTCID₅₀を用いた。ウイルス結合量測定には単独浄化槽および合併浄化槽の汚泥5検体を用いた（表1）。最初に汚泥からのウイルス溶出液の比較検討を行い、次に一回または反復添加による汚泥へのウイルス結合量測定を行った。さらに汚泥発酵過程でのウイルス残存性を推定するため加熱によるウイルス不活化測定を行った。

（1）汚泥からのウイルス溶出液の検討

浄化槽汚泥に結合するウイルス量を正確に測定するため溶出液を比較した。矢野ら（1）の0.1Mホウ酸緩衝液（pH10, 1% NaCl）、純水、生理食塩水、細胞培養液（DEM）、リン酸緩衝液（PBS-）を溶出液として用いた。0.1gの汚泥Aにウイルス 4.0 x 10⁴PFUを添加し室温30分放置後、上清と汚泥を遠心分離した。上清中のウイルス量から結合ウイルス量を推定した。汚泥には5種の溶出液を添加し室温20分放置後ウイルスを回収し定量した。

（2）汚泥へのウイルス結合量測定

採取した浄化槽汚泥5検体にポリオウイルスを添加、室温1時間静置後PBS-で3回遠心洗浄した。汚泥からのウイルス溶出には（1）のホウ酸緩衝液を用いブランク形成法で定量した。

（3）反復添加によるウイルス結合量測定

浄化槽汚泥各0.1g（湿重量）にウイルス添加と遠心洗浄を連続3回行い、上清中のウイルス量から各回の結合ウイルス量を推定した。さらに3回添加後溶出させブランク形成法で定量した。

（4）加熱によるウイルス不活化測定

汚泥は発酵処理後再利用されるが、この発酵過程でのウイルス不活化を推定するため、細胞培養液中での加熱による不活化曲線をTCID₅₀を用いて経時的に作成した。

表1. 測定に用いた検体

施設	処理浄化槽	採取汚泥
A	単独	沈殿分離室汚泥
B	単独	接触ばっ気室汚泥
C	単独	清掃汚泥
D	合併	嫌気ろ床槽第2室汚泥
E	合併	沈殿槽内汚泥

表2. 溶出液の比較

溶出液	ウイルス溶出率
ホウ酸緩衝液	34.6%
純水	5.3%
生理食塩水	2.5%
培養液	2.0%
リン酸緩衝液 （添加ウイルス量=100%）	1.7%

キーワード：浄化槽，汚泥，ウイルス，結合，不活化

*〒252 神奈川県藤沢市亀井野1866 TEL 0466-84-3705 FAX 0466-80-1142

**〒162 東京都新宿区原町3丁目33番地2 TEL 03-3232-4325 FAX 03-3232-4354

3. 結果と考察

（1）汚泥からのウイルス溶出液の検討

汚泥からのウイルス溶出にはホウ酸緩衝液が最も有効であった（表2）。

（2）汚泥へのウイルス結合量測定

汚泥により溶出ウイルス量に著しい差が認められたが、いずれも感染性ウイルス粒子が溶出され、汚泥量と溶出量に正の相関がみられた（図1）。

（3）反復添加によるウイルス結合量測定

3回のウイルス添加後も汚泥のウイルス結合力は残存し、汚泥1gあたり最高 5.5×10^5 PFU を結合した。さらに結合ウイルスの一部が感染性粒子として溶出された（図2）。数10PFUで感染が成立することから汚泥の取り扱いには注意が必要と考えられ、とくに排出作業に伴うミストとして浮遊する場合の感染対策は必要と思われる。

（4）加熱によるウイルス不活化測定

50℃30分以上でポリオウイルスは急速に感染性を失った（図3）。ただし汚泥結合状態での不活化測定が今後の課題である。汚泥発酵過程では75℃以上になることから、採取後速やかに発酵過程に移るような施設・作業手順を整備することにより汚泥の再生利用が可能と思われる。

4. まとめ

浄化槽汚泥はポリオウイルスを結合濃縮しこれが放出される可能性が示唆された。50℃30分以上でポリオウイルスは急速に感染性を失ったことから、採取後速やかに発酵過程に移るような施設・作業手順を整備することにより汚泥の再生利用が可能と思われる。この場合、浮遊粉塵中のウイルス測定などが必要とされポリオウイルスなどの指標ウイルスを用いた何らかの基準策定が必要と考えられる。

5. 参考文献

[1] 矢野一好ら、下水中のウイルスの消長とその不活化に関する研究 第6報 用水と排水 28(3) 37-43(1986)

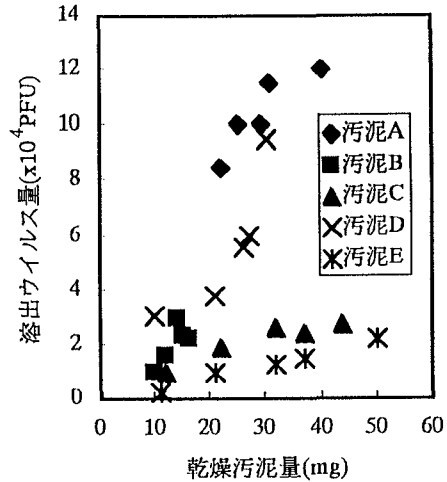


図1.汚泥から溶出されるウイルス量

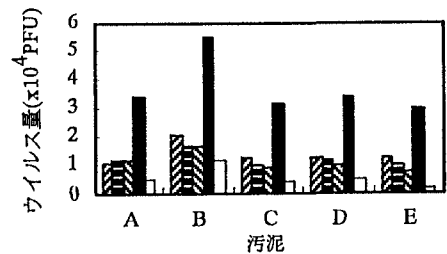


図2.反復添加によるウイルス結合量

■ 1回目 ■ 2回目 ■ 3回目
■ 総結合ウイルス □ 溶出ウイルス

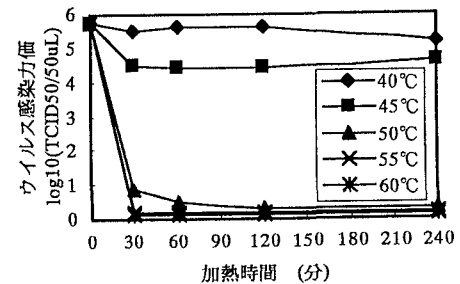


図3.ウイルスの熱不活化曲線