

VII-65

汚泥吸着によるウイルス安定性の増加

*日本大学生物資源科学部

正 員 中嶋睦安

正 員 砂入道夫

上床和弘

小林謙介

1. はじめに

浄化槽汚泥等の各種汚泥を再生し利用する際には、し尿に由来する微生物やウイルスに対して再生作業従事者ならびに再生利用者の安全を図る必要がある。特にポリオウイルス等、糞便中に多量に排出される腸管ウイルスは、浄化槽汚泥を汚染し、汚泥を再生利用する際に大きな障害となる。このようなウイルスを汚泥から検出するため、実際の野外浄化槽汚泥等の採取物に指標ウイルスとしてポリオウイルスを添加して以下の実験を行った。

まず、汚泥へのウイルスの吸着性を確認するため汚泥量とウイルス溶出量を比較した。次いで、汚泥のウイルス濃縮効果と最大ウイルス吸着量を求めるため、汚泥にウイルスを添加して吸着量を測定した。また、汚泥ウイルスの熱安定性についても調べた。

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プラーク形成法を用いた。吸着量測定には、下水処理場の汚泥を用いた。今回使用したウイルス液は、半透膜濃縮(アミコン)し 10^8 PFU/mlまで濃縮したものをを用いた。

(1) 汚泥への最大ウイルス吸着量

前項で汚泥毎の吸着量が異なっていたことから、検体の汚泥量を1gに統一しウイルス吸着量を測定した。汚泥は流入水と長時間接触し浮遊ウイルスを吸着・濃縮する効果も考えられることから、汚泥への最大ウイルス吸着量を検討した。

一定量(0.1 g)の汚泥にウイルスを添加、静置(1時間)してウイルスを吸着させ反応後、遠心洗浄して未吸着ウイルスを除き、ウイルス吸着汚泥を得、汚泥吸着ウイルス量を調べた。汚泥吸着ウイルスの溶出には、ホウ酸緩衝液(0.1 M、pH 10、1%NaCl 含有)を用いて行った。

(2) 汚泥吸着ウイルスの安定性

汚泥吸着ウイルスについて、活性の安定性を25℃に静置し経時的(1, 2, 4, 7, 14, 28日)に追跡した。対照には培養液(DEM)に浮遊させたウイルスを用いて行った。

(3) 汚泥吸着ウイルスの熱安定性

汚泥吸着および培養液(DEM)に浮遊したこれらのウイルスについて、熱安定性を調べた。段階的に温度を設定し、これらに対して1時間曝した後、ウイルスの活性を測定した。

3. 結果と考察

(1) 汚泥への最大ウイルス吸着量と溶出量

○は吸着ウイルス量、●は溶出ウイルス量を示した。吸着ウイルス量及び溶出ウイルス量がほぼ一致していることから、汚泥成分によるウイルスの不活化はないと考えられる。前回の汚泥へのウイルス吸着量は、汚泥1gあたり最大 1.2×10^6 PFUであったが、濃縮させたウイルスを使った今回は汚泥1gあたり 10^9 PFU吸着した。ウイルス濃度を増加させるとそれに比例して汚泥吸着ウイルス量も増加していることから汚泥1gあたり 10^9 PFU以上吸着すると考えられる(図1)。従って、汚泥は極めて強いウイルス吸着物質であり、液相中のウイルスを捕捉吸着し結果的に濃縮すると考えられる。

キーワード: 吸着、活性汚泥、熱不活化、病原性腸管ウイルス、ポリオウイルス

〒252-8510 神奈川県藤沢市亀井野 1866 Tel:0466-84-3705 Fax:0466-80-1142

（２）経時的变化によるウイルス不活化測定

○は汚泥にウイルスが吸着させたもの、●は培養液中にウイルス浮遊させたものを示した。実験開始28日目では、添加ウイルスの1/1000程度まで不活化されたが、感染性ウイルスは存在していた。3日目以降で両者の生存数に顕著な差がみられた。また、14日での培養液中に浮遊させてあるウイルス量は、28日での汚泥吸着ウイルス量とほぼ等しいことから、ウイルスが汚泥に吸着することにより半減期が約2倍に延長することが考えられる（図2）。

（３）加熱によるウイルス不活化測定

○は汚泥にウイルスが吸着させたもの、●は培養液中にウイルス浮遊させたものを示した。培養液中のウイルスは、50℃1時間で急速に感染性を失い、汚泥に吸着したウイルスは60℃1時間で急速に感染性を失った（図3）。このことから、ウイルスは、汚泥に吸着することによって耐熱性が増すと考えられる。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

汚泥のウイルス吸着性をポリオウイルスを指標ウイルスとして測定した。汚泥量とウイルス溶出量は相関性が認められ汚泥へのウイルス吸着が実際に観察された。ウイルスの溶出にはホウ酸緩衝液が良好で、効率的にウイルスが回収された。下水が流入する汚泥は、10⁹PFU/g以上のポリオウイルスを吸着濃縮し、ウイルスが汚泥に吸着することにより半減期が約2倍に延長することが考えられる。しかし、60℃1時間でポリオウイルスは急速に感染性を失ったことから、汚泥中のウイルス不活化には、70℃1時間以上の加熱が必要であり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。また、ウイルスは、100粒子でヒトへの感染が成立するとされる。流入してくるウイルスが希薄な量であっても、それが処理槽等の汚泥に吸着し、高濃度に濃縮されることから、汚泥は感染性廃棄物に準じて取り扱うべきものであり、その取り扱いには充分な対応が必要であると考えられる。

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)

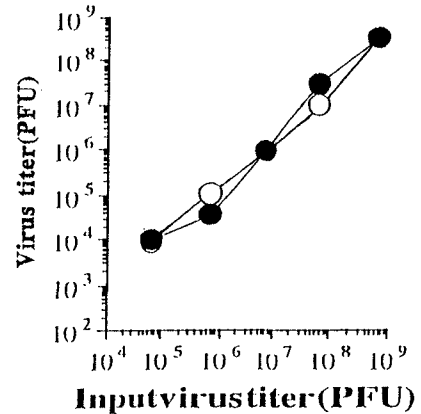


図1 汚泥への最大ウイルス吸着量

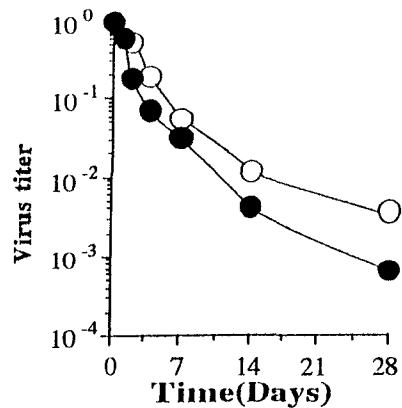


図2 汚泥吸着ウイルスの安定性

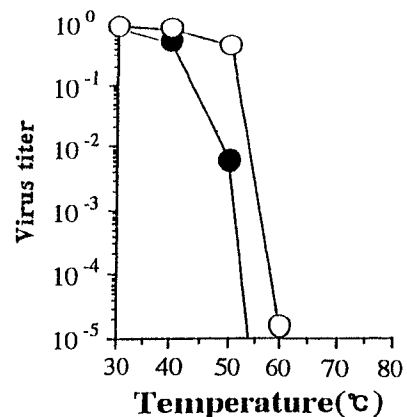


図3 汚泥吸着ウイルスの熱安定性