

生物線量計による紫外線殺菌装置の評価手法に関する検討

お茶の水女子大学・正会員・大瀧雅寛
 東京大学・正会員・大垣眞一郎

はじめに

水処理における紫外線照射による消毒法は、副生成物の問題が無く維持管理方法が簡易であることから塩素の代替法として検討されているが、実用化に際して処理水が実際にどれだけの紫外線線量を受けているのか評価する方法が確立されねばならない。これまで吸光度、濁度、装置内の流動条件を加えた照射強度分布を予測するためのモデルが幾つか提唱されているが、装置が複雑な形状になるほどモデルによる予測は難しい。別のアプローチとして紫外線感受性が既知である微生物を装置に投入し、その殺菌効果から紫外線線量を測定するという生物線量計を用いた方法がある。この方法は装置の形状に依存せずに測定できるという長所をもつ。本研究では、この生物線量計の信頼性に関して、使用微生物の入手元による紫外線感受性の違い、保存方法、保存後の紫外線感受性の变化の有無について検討した。また生物線量計の適用範囲を超えるほど照射線量が大きい装置に適用するための手法についても検討した。

実験方法

1. 使用微生物の取り扱いに関する検討

生物線量計としては、大腸菌ファージが主に用いられる。中でもQ と MS2 が多く用いられている。これは比較的高い紫外線抵抗性を持つ、一次反応的に不活化される、実験の再現性がよい、濃度測定が簡単である、人体に無害、という長所を持つ。Q の入手元として東京大学工学部保存のものと同様に米国 ATCC から購入したものをを用いて、その感受性の相違について調べた。MS2 は米国 ATCC より購入したものと南フロリダ大学ローズ教授研究室保存のものについて調べた。

両ファージとも液体培地(組成:カゼイン 17g/L,大豆タンパク 3g/L,デキストローゼ 2.5g/L,食塩 5g/L,リン酸水素二ナトリウム 2.5g/L)中にて原液を4℃で冷蔵保存した。6ヶ月間における原液中の濃度の変化、及び紫外線感受性の変化について調べた。不活化実験は定圧紫外線ランプを用いておこなった。実験は試料をシャーレに入れ、ランプの下部に設置しスターラーで充分攪拌しながら照射実験を行い、経時的に濃度を測定した。採取した試料の保存溶媒として、リン酸緩衝液(Na₂HPO₄:7.5mM, NaH₂PO₄:2.5mM, NaCl:145mM)及び液体培地(上述のものと同じ)を用いその濃度変化を測定し、実験採水後の試料を保存しておく方法についても検討した。

2. 紫外線線量の大きい装置への適用法の検討

紫外線光源として高い線量率をもつ中圧紫外線ランプを用いた。装置は実験室用の小型の装置と実際の処理場に設置するプラントスケールの2種で行った。小型装置は電動シャッターが連動しており、照射時間を秒単位で正確に設定することが可能である。小型装置では試料をシャーレに入れたものをランプの下部に設置して照射実験を行った。また紫外線ランプとシャッターの間に、透過面積を1/2、1/4、1/10に調節したステンレス製スリット板を入れ、透過線量を調節することにより不活化率と線形関係が得られるかを調べた。プラントスケールの装置はランプが流れ方向に垂直に設置している流動式装置を用いた。ランプを覆う石英製内管とランプの間に透過面積を1/3、1/4、1/10に調節したステンレス製円筒型スリットを入れ、小型の装置と同様に透過線量を調節して不活化率との関係を調べた。

実験結果および考察

1. 使用微生物の取り扱いに関する検討

図1は入手元が異なるQ、MS2の紫外線不活化実験結果である。この結果に示される通り、同一種であれば紫外線感受性に関する違いは見られなかった。更に様々な入手元で検討する必要があるが、

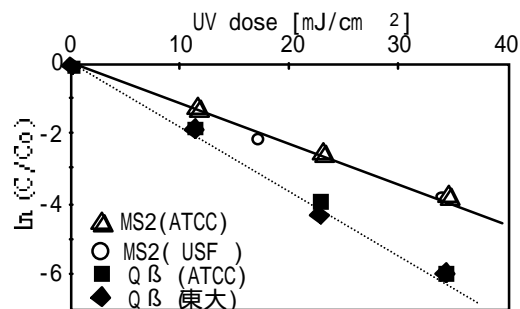


図1 異なる入手元のQ とMS2のUV感受性

キーワード： 紫外線ランプ、生物線量計、大腸菌ファージ、透過性シャッター、ファージ保存法

連絡先：〒112-8610 東京都文京区大塚 2-1-1 Tel) 03-5978-5748 Fax) 03-5978-5748 E-mail) otaki@cc.ocha.ac.jp

生物種が同じであれば入手元には依存しない可能性が高い。図2は4における冷蔵保存期間がMS2及びQの紫外線感受性に与える影響を示したものである。図より6ヶ月の冷蔵保存期間では紫外線感受性は変わらないことがわかった。この6ヶ月の間には原液の濃度はほぼ変わらなかった。従って6ヶ月間は紫外線の生物線量計として濃度、感受性共に信頼性が保たれるものと考えられる。

図3はリン酸緩衝液中に保存の場合と液体培地中に保存の場合の各ファージの濃度変化である。一次反動的に減少しており、リン酸緩衝液中では、実験直後でない正確な測定ができないことがわかった。もし翌日もしくは数日後に濃度測定を行う場合は保存液を液体培地にする必要がある。

2. 高線量照射装置への適用法に関する検討

図4は小型の照射装置におけるスリット透過面積と算定照射線量の関係を示したものである。即ち光源からの照射線量率を任意に調節すれば、線形関係にある任意の微生物不活化量が得られることを示している。図5はプラントにおけるスリット透過面積と算定照射線量を示した。この範囲では線形的な関係が見られた。紫外線装置に用いられるモデルにおいては乱流域では装置内平均線量と不活化率は線形の関係で表される。小型照射装置で実証された結果と考え合わせると流通式の照射装置における紫外線線量は線形的な関係があると仮定すれば、76.7mWs/cm²であると算定されることになる。

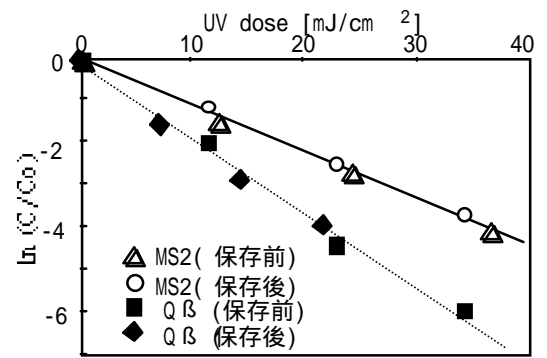


図2 冷蔵保存前後のQとMS2のUV感受性

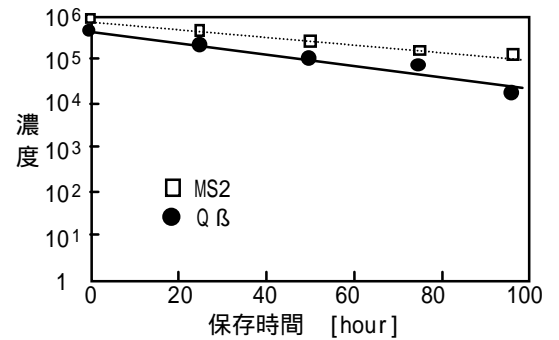


図3 リン酸緩衝液中のQとMS2の濃度変化

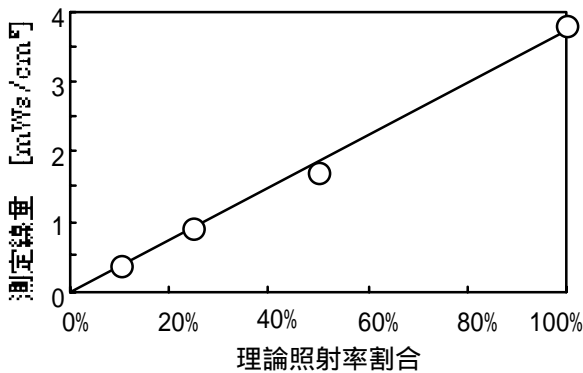


図4 実験室規模のUV装置による透過率と線量率の関係

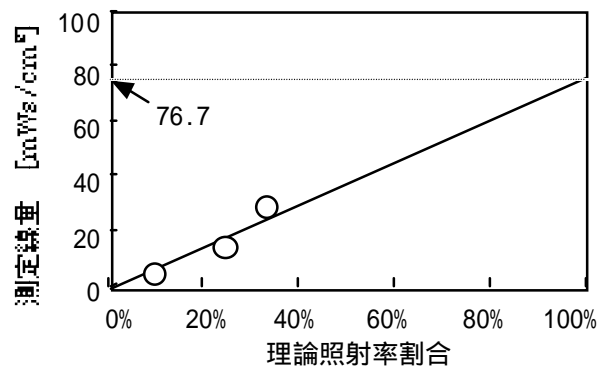


図5 プラント規模のUV装置による透過率と線量率の関係

結論

1. 生物線量計としてQ、MS2とも異なる入手先であっても、その紫外線感受性に相違は見られなかった。またどちらも液体培地中における4ヶ月冷蔵保存では6ヶ月間は初期濃度、紫外線感受性共に変化は無いことがわかった。ただし実験後の採水試料はリン酸緩衝液中での保存では正確に濃度測定ができないので、できるだけ液体培地中において冷蔵保存する必要があることがわかった。

2. 線量が生物線量計の適用範囲を超えている紫外線照射装置については、透過面積を調節したスリットを用いることにより生物線量計を適用することができることがわかった。

謝辞

本研究において紫外線実験装置を提供して下さった荏原製作所に感謝いたします。またQ及びMS2の取り扱い方法について協力していただいた南フロリダ大学のJ.B.Rose教授、D.Huffmann博士に感謝いたします。

参考文献

Kamiko N. and Ohgaki S., "RNA coliphage Qβ as a Bioindicator of the Ultraviolet Disinfection Efficiency", Wat. Sci. Tech. Vol. 21, No.3, pp227-231, 1989