人工湿地リアクターにおけるウイルス除去能の比較

山梨大学	学生会員	○杉山早椰香
山梨大学	学生会員	伊藤瑠璃子
山梨大学大学院	正会員	遠山 忠
山梨大学大学院	正会員	原本 英司
山梨大学大学院	正会員	坂本 康

1. はじめに

人工湿地とは、自然の湿地の浄化効果を活用して人工的に作られた污水处理システムである。これまでは、有機物の除去を目的とした研究が中心であり、病原微生物の除去に着目した研究は限られてきた¹⁾。そこで本研究では、F 特異 RNA 大腸菌ファージ MS2 をモデルウイルスとし、人工湿地リアクターにおけるウイルスの除去性能を評価することと、さらに、ヨシの有無、ろ材による吸着作用、滞留時間および土壌の深さの違いによるウイルスの除去性能を評価することを目的とした。

2. 実験方法

1) リアクターの設置と運転

ヨシの有無、ろ材の種類（パーライト、ゼオライト、竹炭）、ろ材の有無、土壌の深さを変えた人工湿地リアクター（容量 2L）を 15 個作製し、それぞれに滅菌 MilliQ 水を 1L 流した。その後は 1 週間に一度人工汚水（二次処理水 1L に返送汚泥 10mL、液体肥料 100 μ L を加えたもの）を与えた。①~⑩のリアクターは土壌の深さ 0.48m、⑪~⑮のリアクターは 0.24m である。

2) MS2 ファージの除去率測定実験

病原ウイルスの指標として MS2 ファージ（ATCC 15597-B1）を約 6×10^3 plaque-forming units (PFU) /mL の濃度で添加した滅菌 MilliQ 水（原水）1L を各リアクターに通水し、浸透水を回収した。リアクター内での滞留時間による影響を調べるため、ポンプ（EYELA ローラーポンプ RP-1100 型）を用いて通水速度を変化させた（0.2mL/s または 3.0mL/s）。その後、大腸菌 K12 株（NBRC 3301）を宿主菌としたブラック法を用いて原水及び浸透水中の MS2 ファージの濃度を測定し、各リアクターでの MS2 ファージの除去率を算出した。

3) 二次処理水通水による実ウイルス測定実験

除去率を元にリアクターを選抜し、選抜したリアクターに山梨県内の下水処理場で採取した二次処理水を通水させた。通水させた二次処理水と通水する前の二次処理水を陰電荷膜破碎型濃縮法²⁾により濃縮した。濃縮後、DNA および RNA 抽出を行い、DNA ウイルスとしてアデノウイルス³⁾と JC ポリオーマウイルス⁴⁾、RNA ウイルスとして、逆転写後に、アイチウイルス⁵⁾、ノロウイルス GI⁶⁾、タバコモザイクウイルス⁷⁾、トウガラシ微斑ウイルス⁸⁾を定量 PCR にかけた。リアクターに通水前、通水後のウイルス濃度を比較し、二次処理水でのウイルスの除去率を算出した。

3. 結果及び考察

1) 微生物除去測定実験

滞留時間による MS2 ファージの除去率の変化は見られず、その差は 0.02~0.64 の間であり今回の実験条件では比較出来なかった。ろ材の比較では平均して、パーライト 1.07log (n = 4)、ゼオライト 0.97log (n = 4)、竹炭 1.25log (n = 4) の除去率が得られた。ヨシ無しの方が除去率が高く、植物根圏の微生物群によるウイルスの除去より、土壌による除去効果が高かったと考えられた。

キーワード 人工湿地, ウイルス

連絡先 〒400-8511 山梨県甲府市武田 4-3-11 B3-309 山梨大学大学院環境動態研究室 B-3 号館 B3-311 号室
TEL: 050-220-8725 Email: eharamoto@yamanashi.ac.jp

2) 二次処理水通水による実ウイルス測定実験

表1にそれぞれのウイルスの除去結果を示す。JC ポリオーマウイルス、アイチウイルスおよびノロウイルスGIは、流入水から多く検出されなかったため表には提示していない。アデノウイルスと比べると、トウガラシ微斑ウイルスとタバコモザイクウイルスは除去効果が高かった。これはアデノウイルスがペッパーマイルドモットウイルス、タバコモザイクウイルスより小さいことと、前者は正十二面体だが、後者2つは桿状という形状の違いが関係している可能性がある。また、MS2 フェージをモデルウイルスとして実験した時に除去効果が高かったリアクターと、実ウイルスの場合で除去結果が高かったリアクターが違ったため、ウイルスごと除去に最適なリアクターが異なることが分かった。

表1 アデノウイルス、タバコモザイクウイルス、トウガラシ微斑ウイルス、流入水の濃度の比較(log copies/L)

	ヨシの有無	ろ材	Adeno	流入水と流出水の濃度の差	TMV	流入水と流出水の濃度の差	PMMoV	流入水と流出水の濃度の差
①	有	パーライト	6.7	-1.7	<2.8	0.9	<2.8	3.6
②	有	ゼオライト	5.7	-0.7	<2.9	0.8	5.6	0.8
③	有	竹炭	5.8	-0.8	3.9	-0.2	6.4	-0.1
④	有	深い土壌	<2.8	2.2	3.5	0.2	6.2	0.1
⑤	有	浅い土壌	5.5	-0.5	<2.8	0.9	5.7	0.6
⑥	無	パーライト	6.3	-1.3	<2.6	1.1	<2.6	3.7
⑦	無	ゼオライト	5.9	-0.9	<2.6	1.1	<2.6	3.7
⑧	無	竹炭	6.3	-1.3	<2.9	0.8	<2.9	3.4
⑨	無	深い土壌	5.7	-0.7	<2.8	0.9	4.2	2.1
⑩	無	浅い土壌	5.8	-0.8	<2.8	0.9	<2.8	3.5
⑪	有	パーライト	5.9	-0.9	4.0	-0.3	6.6	-0.2
⑫	有	ゼオライト	6.0	-1.0	<2.8	0.9	4.6	1.7
⑬	有	竹炭	<2.8	2.2	<2.8	0.9	5.8	0.5
⑭	有	深い土壌	<2.8	2.2	3.6	0.1	6.0	0.3
⑮	有	浅い土壌	5.4	-0.4	3.9	-0.2	5.7	0.6
流入水			5.0		3.7		6.3	

参考文献

- 1) 中山尊登ら,2013,北日本病害虫研究会報 64(12). 40-45
- 2) 原本英司ら,2010,水道協会雑誌,79(10), 2-11
- 3) Heim, A et al., 2003. J. Med. Virol. 70(2):228-239.
- 4) Pal,A et al., 2006. J. Virol Methods.135 :32-42.
- 5) 山下ら, 2000. J.Clin. Microbial. 38(8):2955-2961.
- 6) 影山ら, 2003. J. Clin. Microbiol., 41(4):1548-1557
- 7) Balique,F et al. 2013 PLoS ONE.8(1):e54993
- 8) Zhang, T et al. 2006 PLoS Biol. 4(1):e3.