

アルミニウム系凝集剤によるウイルス不活化効果

|         |     |       |
|---------|-----|-------|
| 岐阜大学工学部 |     | 間宮 鉄平 |
| 同上      |     | 鈴置 弘  |
| 同上      | 正会員 | 松下 拓  |
| 同上      | 正会員 | 松井 佳彦 |
| 同上      | 正会員 | 井上 隆信 |

1 はじめに

通常、凝集剤は、ブラウン運動のために沈降しないような小粒子径の懸濁物質を凝集し、沈降可能な大きさにするために用いられる。一方、ウイルスの不活化について様々な検討、報告がされているなかで、ごく最近凝集剤がウイルスを不活化するとの報告がなされた<sup>1)</sup>。凝集剤を水中に添加するとフロックが形成され、フロック中にウイルスが取り込まれるが、フロック中に存在するウイルスはそのままでは測定できない。凝集剤のウイルスの不活化効果を調べるためには、水溶液中に存在するウイルスだけでなく、フロック中に存在するウイルスも計測する必要がある。フロックは、pH を上げることで溶解可能であるが、フロック溶解時にウイルスが不活化される可能性があった。そこで Matsui らは、ビーフエキス溶液 (BE 溶液) を共存させることによってウイルスに影響を与えずフロックを溶解する方法をとった<sup>1)</sup>。彼らは NaOH により pH を 9.5 に調整した BE 溶液を、最終濃度 6% として試料に添加し、5 秒間ボルテックス攪拌にてフロックを溶解する方法を用いた。但し、フロックが完全に溶解したかの否か検討が十分になされていない。そこで、本研究ではフロック溶解時間に注目し、フロックがどれくらいの攪拌時間で溶解できるのかを検討をし、適切な溶解時間のもとで、アルミニウム系凝集剤を用いたウイルスの不活化効果を検討することを目的とする。

2 用いたファージと凝集剤

2-1 大腸菌ファージ

ウイルスとして、大腸菌ファージ Q $\beta$  (以下 Q $\beta$ と記す) を用いた。Q $\beta$ は 1 本鎖 RNA をもつウイルスで、エンベロープを持たず、直径が約 23nm である。宿主菌は、*Escherichia coli* K12F<sup>+</sup> (A/ $\lambda$ ) を用いた。測定は、二重層寒天培地を使ったブラック形成法で行った。

2-2 アルミニウム系凝集剤

本研究では、一般に浄水場で用いられている PAC (ポリ塩化アルミニウム)、硫酸バンドと、市販の試薬である AlCl<sub>3</sub>、Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> を用いて、不活化実験を行った。

3 実験方法

3-1 アルミニウムフロック溶解法の選定

Milli-Q 水に、10<sup>6</sup>PFU/ml になるように Q $\beta$ を添加した。そこに 10mgAl/L になるように PAC を添加し、60 分接触させた。接触後にサンプルを採取し、pH9.5 の BE 溶液 (12%) と 1:1 で混合した後、攪拌(Direct mixer DM-301,アズワン)することによりアルミニウムフロックを溶解し、経時的にウイルス濃度を測定した。

3-2 アルミニウム系凝集剤による不活化実験

Milli-Q 水に、10<sup>6</sup>PFU/ml になるように Q $\beta$ を添加した。そこに PAC を添加し、直ちに NaOH で pH を 7.0 に調整した。これをパドルにより 5 分間急速攪拌(G 値 194s<sup>-1</sup>)し、その後緩速攪拌(G 値 23s<sup>-1</sup>)して、Q $\beta$ と接触させた。0,10,20,40,60 分後において採取した試料を pH9.5 の BE 溶液 (12%) と 1:1 で混合し、フロックを溶解後に Q $\beta$ 濃度を測定した。

## 4 実験結果と考察

### 4-1 フロック溶解時間についての検討

図 1 にフロック溶解に伴う Q $\beta$ 濃度の変化を示す。5 秒間のフロック溶解時間では Q $\beta$ 濃度は、 $3.3 \times 10^1$ (PFU/mL)と計測されたが、溶解時間が長くなるに従い Q $\beta$ 濃度も増加し、5 時間のフロック溶解時間では Q $\beta$ 濃度は、 $2.4 \times 10^4$ (PFU/mL)と最大になった。ところが、5 時間以上のフロック溶解では、Q $\beta$ 濃度の減少が観察され、30 時間のフロック溶解で Q $\beta$ 濃度は  $5.5 \times 10^3$ (PFU/mL)となった。高 pH との長時間接触により、Q $\beta$ が不活化されたと考えられた。これらよりフロック溶解時間を 5 時間として不活化実験を行うことが妥当ではないかと考えられた。

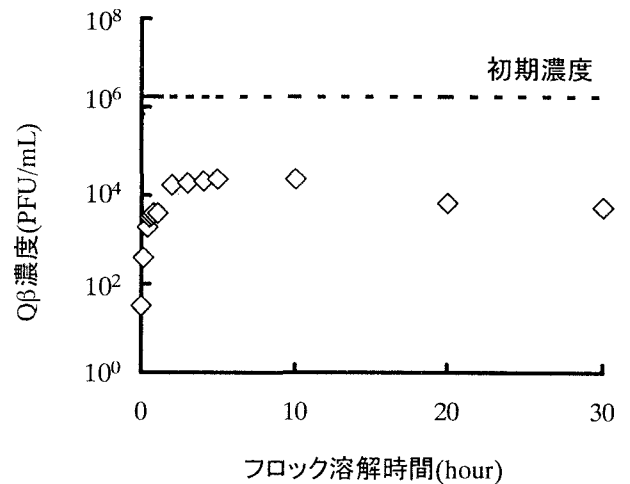


図1 フロック溶解時間に伴うQ $\beta$ 濃度の変化

### 4-2 PAC による Q $\beta$ の不活化効果

不活化実験において、フロック溶解時間を 5 秒間と 5 時間とし、Q $\beta$ 濃度を測定した。その結果を図 2 に示す。

フロック溶解時間が 5 時間では  $-1.1 \log \sim -1.8 \log$  程度の log 残存率の低下を示し、PAC との接触時間が長くなるに従い、log 残存率は低下した。フロック溶解時間が 5 秒では、 $-2.8 \log \sim -4.9 \log$  程度の log 残存率の低下を示し、PAC との接触時間が長くなるに従い、log 残存率は低下した。両者を比較すると、フロック溶解時間が 5 時間の方がいずれの接触時間でも残存率が高いことから、フロック溶解時間が 5 秒ではフロック中のウイルスが完全には誘出できていないことが確認された。またフロック溶解時間が 5 時間でも、残存率の低下が観察されたことにより、Q $\beta$ が PAC によって不活化されているのではないかと考えられた。

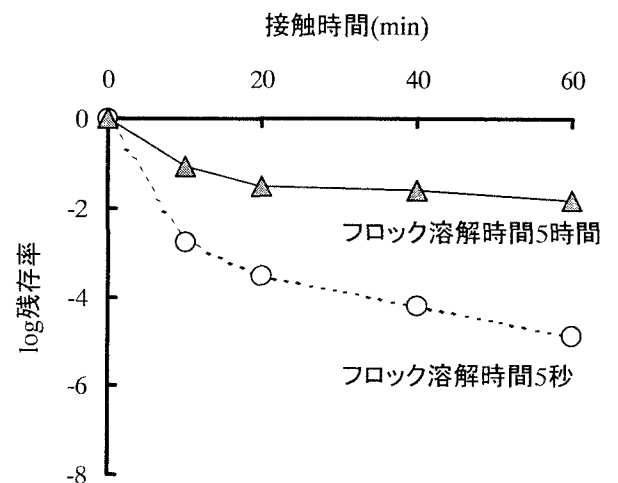


図2 フロック溶解時間の違いによる残存率の差

## 5 おわりに

本研究ではアルミニウム系凝集剤を用いて、Q $\beta$ の不活化効果を調べ、以下の結果を得た。

- ① フロック溶解時間 5 秒では、フロックの溶解が不十分であり、フロック溶解時間 5 時間を要することがわかった。
- ② フロック溶解時間を 5 時間としても、Q $\beta$ の減少が確認された。これより PAC により Q $\beta$ が不活化されたと判断された。

## 参考文献

- 1) Matsui *et al.*, Virucidal Activity of Coagulant PACl and Alum, Proceedings of IWA 2nd World Water Congress in CD-ROM, Berlin, Germany, 2001.