

## ウイルスの土壤浸透モデルの実験的検証

Experimental verification of mathematical model of virus permeation through soil

0330114 早川彩 大瀧雅寛

Aya Hayakawa and Masahiro Otaki

お茶の水女子大学 環境工学研究室

### 1.はじめに

コンポスト型トイレとは、多孔性物質(おが屑)を用いて、投入屎尿を分解するものである。ほとんど臭いを出さない、下水整備が不要であるという利点から、現在では下水道が未整備の場所での利用だけでなく、介護用トイレや公園・山小屋の仮設トイレとしても利用されている。屎尿は微生物の好気性分解により、水、炭酸ガス、無機物に分解され、分解後のおが屑は堆肥化が可能である。

しかし、コンポスト型トイレに投入された病原微生物が残存している残渣物を堆肥として利用した場合、降雨等によって病原微生物が残渣物から土壤、地下水へと移動し、最終的には人に曝露するという可能性が考えられる。そこで本研究では、感染リスク評価における曝露経路として「土壤浸透→地下水汚染」ルートに着目し、特に土壤浸透におけるウイルスの挙動を数値的にシミュレートすることを試みた。そのため、まず既存の研究<sup>1)</sup>から得られたデータを用いて数値モデルの適合性を検証したが、どの数値モデルもピーク時間、流出濃度のどちらかにずれが生じてしまった。既存の実験データにはウイルスの土壤への吸着特性が含まれていないため、生じたずれの原因を特定することができない。そこで、浸透性が高く、従って感染リスクが高くなると考えられる琉球石灰岩を用いて基礎データを得て、数値モデルによるシミュレーションを試みることとした。

### 2.実験

#### 2.1. 使用病原ウイルス指標

F特異RNA大腸菌ファージQβを用いた。

#### 2.2. ファージ測定方法

*E.coli* K12 (NBRC 13965) を宿主菌とした二層寒天培地によるプラック法によって測定した。

#### 2.3. 実験方法

##### 2.3.1. 琉球石灰岩へのウイルス吸着実験

リン酸緩衝液49.5mLと高濃度ファージ溶液0.5mLの混合物に琉球石灰岩1gを投入し攪拌した。

投入した時間を0 minとして時間毎に溶液を3mL程度採取し、琉球石灰岩を0.45μmのメンブレンフィルターによつ

て濾過除去した後に濾液中のファージ濃度を測定した。琉球石灰岩の溶解によるpHの変化を考慮し、リン酸緩衝液はpH6.6, pH8.7の二種類を用いた。

##### 2.3.2. ウィルスの琉球石灰岩土壤浸透実験

円筒カラムに、琉球石灰岩を10cm層になるように投入し、その上に未使用おが屑15gを投入した。おが屑の上に、高濃度ファージ溶液(8.0×10<sup>7</sup> PFU/mL)を3mL滴下し、カラムの頭上から模擬降雨としてイオン交換水を滴下した。ファージ溶液を投入した時間を0 minとしてカラムの底から流出した溶液を時間毎に採取し、琉球石灰岩を濾過除去した後、濾液の大腸菌ファージ濃度を測定した。

模擬降雨として滴下したイオン交換水の平均降雨強度はそれぞれ22 mm/h, 37 mm/hとした。

### 3.結果と考察

#### 3.1. 琉球石灰岩へのウイルス吸着実験

琉球石灰岩へのウイルス吸着実験の時間経過結果をFig1に示す。

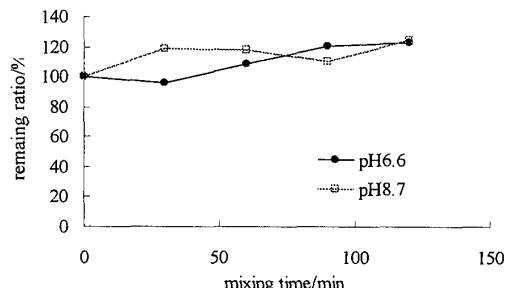


Fig1. Adsorption of phage from the matrix in various time

Fig1より、pHの値に関わらず、ファージ残存率は減少しなかった。したがって液相中の大腸菌ファージは琉球石灰岩に吸着しないことがわかった。なお、残存率が100%を越えているのは、琉球石灰岩が水分を吸収し、液相中のファージ濃度が大きくなつたためと考えられる。

#### 3.2. ウィルスの琉球石灰岩土壤浸透実験及び移流モデルの適用

3.1より、ウィルスは琉球石灰岩へ吸着しないことがわかつたため、浸透実験結果に吸着項を持たない移流モデル

2) (1) の適用を試みた。結果を Fig2 に示す。なおモデルの適用には、差分微分方程式により数値計算によって行った。

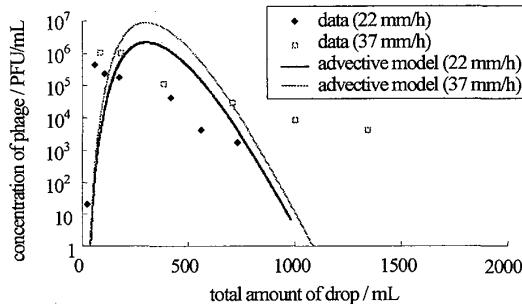


Fig2. Advective model and actual data

$$\frac{\partial C}{\partial t} = - \frac{Q}{A \epsilon} \frac{\partial C}{\partial x} \quad (1)$$

$C$  : ファージ濃度 [PFU/mL]

$t$  : 時間 [h]  $\epsilon$  : 空隙率 [-]

$Q$  : 流量 [cm<sup>3</sup>/h]  $A$  : カラム断面積 [cm<sup>2</sup>]

$Q/A$  : 見かけの浸透流速 (=平均降雨強度)

$x$  : 位置 [cm]

Fig2 より、投入ファージ総量に対する最終的なファージ流出総量の推定値の割合は、平均降雨強度が 22 mm/h のとき 23%，37 mm/h のとき 94% であった。また、ピーク以降の流出濃度の減少速度が遅いことから、ファージが琉球石灰岩の層を通過する際に滞留する部分があり、そこでの流出が遅くなっていると考えられる。移流モデルでは滞留を考慮に入れていないため、滞留遅延モデルの検討が必要となった。

### 3.3. 滞留遅延モデル

琉球石灰岩層において、ファージの滞留が生じない部分

(2) と生じる部分 (3) を区別したコンパートメントモデルを考えた。式を以下に示す。なお、 $\alpha$  はファージが滞留しやすい領域の割合、 $\gamma$  は滞留による流出速度の遅延割合を示す。

$$\frac{\partial C_1}{\partial t} = - \frac{Q}{A \epsilon} \frac{\partial C_1}{\partial x} \quad (2)$$

$$\frac{\partial C_2}{\partial t} = - \frac{Q}{A \epsilon} \gamma \frac{\partial C_2}{\partial x} \quad (3)$$

$$C = (1 - \alpha) C_1 + \alpha C_2 \quad (4)$$

$C_1$  : 移流濃度 [PFU/mL]  $C_2$  : 滞留部分濃度 [PFU/mL]

$\alpha$  : パラメータ [-]  $\gamma$  : パラメータ [-]

このモデルの適用においては、(2), (3) 式を差分微分方程式を用いて計算し、得られた数値を (4) 式に代入した。 $\alpha$ ,  $\gamma$  は実測できないので、データに合うように設

定した。この時の数値を以下の表に示す。

TABLE1. Values of Parameters

$Q/A$ [cm/h]	$\alpha$ [-]	$\gamma$ [-]	$\epsilon$ [-]	$C_0$ [PFU/mL]
2.2	0.1	0.45	0.35	$2.0 \times 10^7$
3.7	0.05	0.2	0.35	$8.0 \times 10^7$

$Q/A=2.2$  cm/h の場合、投入ファージ総量に対する最終的なファージ流出総量の推定値の割合が 23% であったことから、残りのファージは琉球石灰岩層に残存しているものと考え、 $C_0=2.0 \times 10^7$  PFU/mL とした。

コンパートメントモデルの結果を Fig3 に示す。

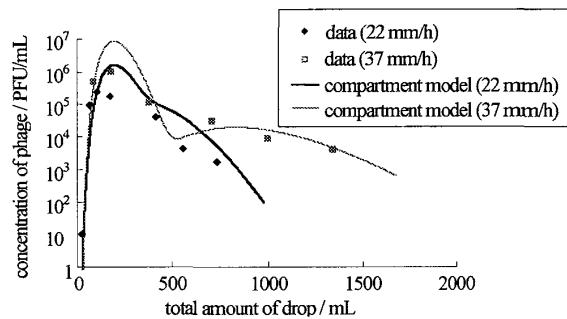


Fig3. Compartment model and actual data

Fig3 より測定値とシミュレーション結果を比較すると、流出濃度に 1 オーダー程度のずれが生じてしまった。しかし、Fig2 より移流モデルと比較すると、コンパートメントモデルは測定値の形状に近づいており、滞留による流出濃度の減少速度の遅延を表すことができたと考えられる。

### 4.まとめ

担体に残存しているウイルスがすべて土壤に移動した場合、投入ファージ総量に対する最終的なファージ流出総量の推定値の割合は、平均降雨強度によって異なることがわかった。また、ウイルスは琉球石灰岩層を滞留しながら地下水へと流出し、このウイルスの滞留はコンパートメントモデルを用いることで表すことができた。

### 5.参考文献

- 1) 田中美保「病原ウイルスのバイオトイレ担体からの溶出及び土壤浸透特性」平成 16 年度卒業論文
- 2) 福江正治訳「地盤と地下水汚染の原理」東海大学出版会 (1995)