

ウラシル化学線量計を内包したリポソーム粒子の評価

Evaluation of liposome particles containing chemical actinometer using uracil solution

0230125 山内有希子 大瀧雅寛

Yukiko YAMAUCHI and Masahiro OTAKI

お茶の水女子大学 環境工学研究室

1. はじめに

近年、塩素処理に代わる消毒技術として紫外線消毒が検討されている。重要な課題の一つとして、実際の紫外線水処理装置が病原微生物を十分不活化できているかどうかの評価が挙げられる。その一つの方法として、既知の微生物を装置に投入し、その不活化率から装置内における不活化有効紫外線線量を算出するという生物線量計によるものが提案されている。この方法は、早期解析ができないという欠点がある上、使用生物の安定性や再現性という点でも化学物質と比べると不安な点が残される。

そこで本研究では、微生物の代わりに、細胞を構成しているリン脂質二重膜からなる、リポソーム粒子を生物線量計の代替として応用することを試みた。具体的には、紫外線領域の波長光を吸収して光化学反応を起こす物質をリポソーム粒子内に封入した紫外線感受性粒子を調製し、この粒子の紫外線量計としての特徴ならびにその適用性を評価した。

2. 実験方法

2. 1. ウラシル溶液の照射実験

化学線量計として生物細胞内の DNA, RNA の構成塩基の一つであるウラシルを用いて、0.01, 0.1, 1.0 g/L ウラシル溶液各 20 mL を調製し、低圧 UV ランプにおける照射実験を行った。このとき、ランプからシャーレの距離やシャーレ内の攪拌速度、および線量は全実験で一定とした。また、正確な紫外線線量率は iodide/iodate 化学線量計を用いて測定したり、照射時間を 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3 時間とし、その都度、溶液の吸光スペクトルを測定した。

2. 2. リポソーム溶液の照射実験

Milli-Q 水にて 1 g/L ウラシル溶液内包リポソーム濃縮液を 100 倍希釈した溶液と 0.01 g/L ウラシル溶

液各 20 mL について、同様の照射実験を行った。

2. 3. リポソーム溶液の調製方法

20 mg/mL レシチン溶液 0.5 mL をナス型フラスコに入れ、クロロホルム 10 mL を加えて希釈した。それをエバポレーターで約 1 時間溶媒除去し、ナス型フラスコごとデシケーター内で一日乾燥させた。形成したリポソーム薄膜に、0.9%塩化ナトリウム溶液 2 mL と 1 g/L ウラシル溶液 18 mL を加えて、エバポレーターで約 30 分間攪拌し、リポソーム溶液を調製した。次にリポソーム粒子の遠心分離 (30,000 g×20 分) による濃縮を試みた。リポソーム濃縮率を測るために、濃縮前後の 254 nm の吸光度を測定した。

3. 結果と考察

3. 1. ウラシル溶液の量子収率

各濃度においてウラシル溶液は、紫外光を吸収して、化学変化を起こし、254 nm の吸光度が低下した。Fig.1 に 0.01 g/L ウラシル溶液における各照射時間後の吸光スペクトル変化を示す。

iodide/iodate 化学線量計を用いて測定した線量率と各溶液の 254 nm での吸光度より、溶液中に吸収された光量を算出し、吸収光量モル数に換算した。また、ウラシルのモル変化量を、各溶液の 254 nm での吸光度変化より、Lambert-Beer 則に従い計算した。量子収率は、横軸に吸収光量モル数、縦軸にモル変化量をプロットして、その回帰直線の傾きより求められる。Fig.2 にその結果を示す。

0.01, 0.1, 1 g/L のウラシル溶液の量子収率はそれぞれ、0.0013, 0.0055, 0.026 となった。Fig.3 にウラシル溶液の各濃度と量子収率の関係を示す。この結果より、ウラシル溶液の濃度を上げることによって、量子収率は向上することがわかった。

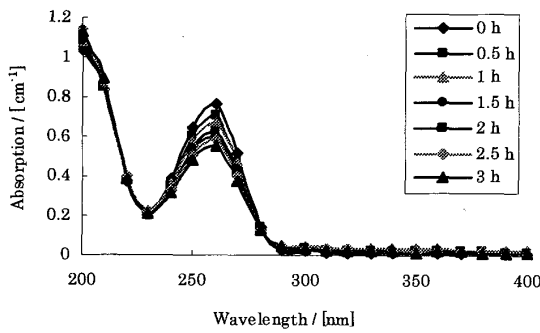


Fig.1 Change in spectrum of 0.01 g/L uracil solution

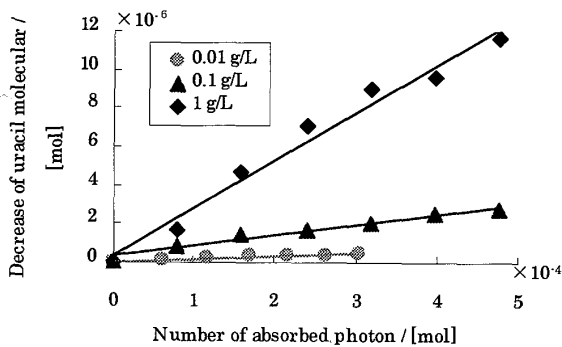


Fig.2 Relationship between decrease of uracil molecular and number of absorbed photon at each concentration

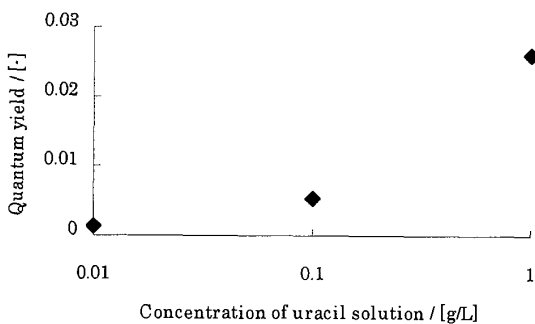


Fig.3 Quantum yield at each concentration of uracil solution

3. 2. 濃縮倍率測定

リポソーム溶液の遠心分離前と遠心分離後の濃縮部分のそれぞれのリポソームの吸光度は、 5.5 cm^{-1} 、 11.1 cm^{-1} であった。従って、2倍に濃縮されたことがわかった。

3. 3. 量子収率の比較

1 g/L ウラシル溶液の場合では、紫外吸光が高すぎるため、このような溶液を使って紫外線装置の線量計として使うことは、実際の消毒対象水と同じ状況とならないため不適である。一方、0.01 g/L まで希釈して、実対象水レベルまで吸光度を下げると量子収率も低

下し、実用的ではない。そこで、リポソーム粒子内に 1 g/L ウラシル溶液を内包し、その溶液を濃縮かつ 100 倍に希釈して、リポソーム内には高濃度のウラシル溶液を保持しつつ溶液全体の吸光度を低下させることを試みた。

Fig.4 に 0.01 g/L ウラシル溶液と 1 g/L ウラシル溶液内包リポソーム溶液(溶媒中のウラシル濃度は 0.01 g/L)のモル変化量と吸収光量モル数を示す。量子収率はともに 0.0015 となり、高濃度のウラシル溶液を封入したリポソームによって量子収率を改善するに至らなかった。これは、リポソームの濃縮倍率が低く、ウラシル溶液内包リポソーム粒子の存在数が少なくなり、全体の量子収率に影響を与えるほどではなかったためと考えられる。

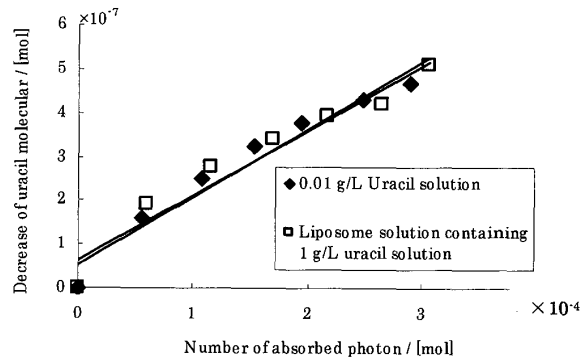


Fig.4 Comparison of quantum yields of liposome and no-liposome solutions

4. まとめ

ウラシル溶液は、紫外吸光によって 254 nm の吸光度が変化し、その変化から紫外線量率を測定することができた。また、溶液の濃度が高くなると量子収率は向上した。以上のことより、ウラシル溶液を水の消毒効果における化学線量計として使用できる可能性が見出された。また、ウラシル溶液をリポソーム粒子内に内包することにより量子収率を向上させる方法が考えられるが、そのためには濃縮倍率を高める方法の確立が必要である。

5. 参考文献

- 1) Ronald O. Rahn (2000) "The Iodide/Iodate Actinometer in UV Disinfection: Characteristics and Use in the Determination of the Fluence Rate Distribution in UV Reactors"
- 2) 鈴木尚子「リポソームを用いた擬似微生物調製と紫外線消毒処理技術への応用」平成 16 年度 修士論文