

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

Characteristics of pathogenic virus on elution from biotoilet matrix and permeation through soil

0130118 田中美保 大瀧雅寛

Miho Tanaka and Masahiro Otaki

お茶の水女子大学 環境工学研究室

1. はじめに

バイオトイレとは、多孔性物質（おがくず）を担体として用い、微生物による好気性分解により屎尿を水、炭酸ガス、無機物に変えるものである。これはほとんど臭いを出さない、下水設備が不要等の利点から、介護用としてベッドのそばに置いたり、公園や山小屋の仮設トイレ等として利用されている。また富栄養化の原因となるリンや窒素の下水への排出がなく処理後の残さ物の堆肥化が可能であることから、水環境への栄養塩負荷が少なく、かつ資源の再利用ができるという利点もある¹⁾。

しかし残さ物を堆肥として用いた場合、バイオトイレ中に病原微生物が残存していると、降雨等によって病原微生物が土壤及び地下水へと移動し最終的に人に曝露する可能性が考えられる。本研究では、ウイルス指標である大腸菌ファージをモデルウイルスとして用い、バイオトイレ担体からの病原ウイルスの溶出特性を明らかにし、感染リスクを評価するための基礎データを得ることとした。

2. 実験

2.1) 使用担体

実屎尿を処理したバイオトイレより採取した使用済み担体を用いた。

2.2) 使用病原ウイルス指標

F特異 RNA 大腸菌ファージ Q β を用いた。

2.3) 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ブラック形成法で測定した。

2.4) 担体からのウイルス脱離実験

担体 5 g に、あらかじめ培養しておいた高濃度ファージ溶液 (2.5×10^6 PFU/mL) 0.5 mL とリン酸緩衝液 10 mL を投入し、よく混合して担体にファージを吸着させた。そこにリン酸緩衝液 40 mL を投入し攪拌した。このときの液相中のファージ濃度は 2.5×10^4 PFU/mL とした。

リン酸緩衝液 40 mL を投入した時間を 0 min として時間毎に攪拌を停止し、溶液を採取して担体を孔径 0.45 μ m のメンブレンフィルターにて濾過除去した後、濾液のファージ濃度を測定した。

2.5) 担体へのウイルス吸着実験

リン酸緩衝液 50 mL と担体に高濃度ファージ溶液 0.5 mL を投入し攪拌した。投入した担体量と液相中のファージ濃度の組み合わせは以下のように調整した。

- ・担体 1 g, ファージ濃度 4.6×10^2 PFU/mL
- ・担体 1 g, ファージ濃度 2.5×10^4 PFU/mL
- ・担体 5 g, ファージ濃度 2.5×10^4 PFU/mL

ファージ溶液を投入した時間を 0 min として時間毎に攪拌を停止し、溶液を採取して担体を 2.4) と同様にして濾過除去した後、濾液のファージ濃度を測定した。

2.6) 実際の雨天状況を想定したカラム実験 1

円筒カラムに担体(含水率 58 %)を 4 cm 層になるよう投入し、その上に、 1.9×10^7 PFU/mL のファージ溶液を 3 mL 混合させた担体 15 g を投入した。上から模擬降雨としてイオン交換水を滴下した (平均降雨強度は 5.6 mm/h と 18.1 mm/h)。カラムの底から溶出した溶液を時間毎に採取して、浮遊物を 2.4) と同様にして濾過除去した後、濾液のファージ濃度を測定した。

2.7) 実際の雨天状況を想定したカラム実験 2

円筒カラムに園芸用培養土を 20 cm 層になるよう投入し、その上に、 1.9×10^7 PFU/mL のファージ溶液を 3 mL 混合させた担体 15 g を投入した。上から模擬降雨としてイオン交換水を滴下した (平均降雨強度は 22.6 mm/h)。カラムの底から溶出した溶液を時間毎に採取して、浮遊物を 2.4) と同様にして濾過除去した後、濾液のファージ濃度を測定した。

3. 結果

3.1) 担体からのウイルス脱離実験

脱離実験の時間経過結果を Fig.1 に示す。

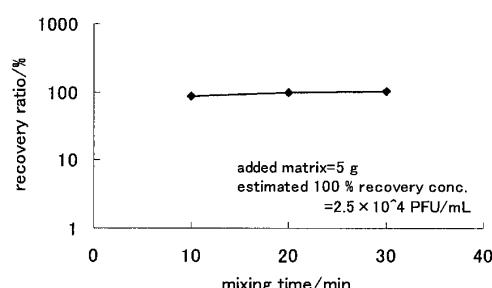


Fig.1 Detachment of phage from the matrix in various time

3.2) 担体へのウイルス吸着実験

ファージ初期濃度および担体量を変えて行った吸着実験の結果を Fig.2,3 に示す。

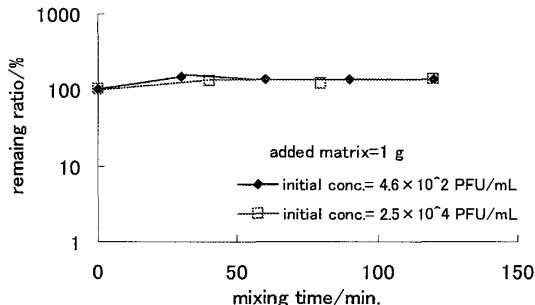


Fig.2 Adsorption of phage to the matrix in various concentration

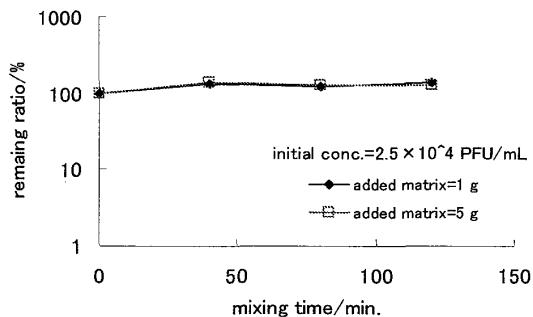


Fig.3 Adsorption of phage to different volume of matrix

3.3) 実際の雨天状況を想定したカラム実験 1

カラム実験の結果を Fig.4 に示す。

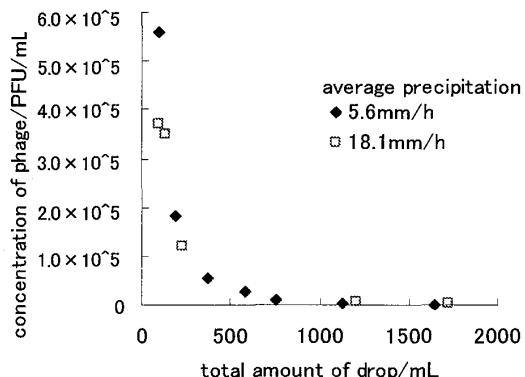


Fig.4 Concentration of phage in permeate from matrix at different average precipitation rate

3.4) 実際の雨天状況を想定したカラム実験 2

カラム実験 2 の結果を Fig.5 に示す。

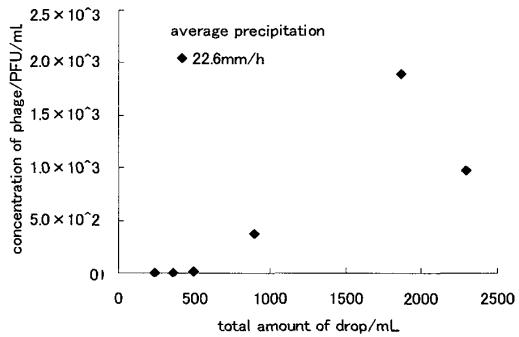


Fig.5 Concentration of phage in permeate from soil

4. 考察

担体に吸着させたファージの液相への脱離実験では担体投入後速やかに全ファージが脱離し、溶液中のファージ濃度は、吸着させたファージが 100 % 脱離した場合の理論値と同じになった (Fig.1)。また Fig.2,3 より、搅拌時間、ファージ初期濃度、投入担体量に関わらず溶液中のファージ濃度変化は見られなかった。従ってファージは液相中から使用済み担体へほとんど吸着しないことがわかった。

カラム実験 1 より、投入したファージ総量の 90 % が溶出するのに必要となる滴下量は、平均的な降雨強度 ($5 \sim 10$ mm/h) の場合 3.0×10^2 mL、比較的大きい降雨強度 ($10 \sim 20$ mm/h) の場合 7.0×10^2 mL だった。降雨強度が大きいほど、滴下水が担体層を通過する時間は短く、それによりファージ溶出量が減少すると考えられるため、溶出量は降雨強度に依存するといえる。

カラム実験 2 では、Fig.5 の近似式より求めた最終的なファージ溶出総量の推定値は、投入したファージ総量の 10.7 % となった。よって残りのファージが、培養土層を通過する時に培養土に吸着されるといえる。

5. まとめ

通常バイオトイレの担体を堆肥として用いる場合、土壤の上に担体を撒くことになる。担体に残存しているウイルスがすべて土壤に移動しても、今回使用した培養土を土壤として利用した場合は大半のウイルスが培養土に吸着される。よってウイルスが地下水等に移動し、人に暴露するリスクは、使用する土壤の吸着度に大きく依存する。

6. 参考文献

- 1) 大江華「バイオトイレにおける病原微生物感染リスクの実験的研究」平成 14 年度卒業論文