

## 様々な消毒処理による大腸菌への不活化機構の相違点の解析

Analysis of Different Mechanism of *E.Coli* K12 inactivation by Various Disinfection Methods

0030108 窪 華奈子 大瀧 雅寛

Kanako KUBO Masahiro OTAKI

お茶ノ水女子大学 環境工学研究室

## 1. はじめに

現在、日本における上下水道には主に塩素消毒処理が適用されている。しかし、近年塩素消毒処理の際に発がん性物質であるトリハロメタンが発生することや、放流水における残留塩素の生態系への影響などが問題となっている。そうした背景のもとに様々な代替処理が検討されることとなった。従って、新たな消毒方法を適用させる際に、その処理による微生物の減少率や種による相違、および微生物に及ぼす影響を詳細に調べることが重要である。それにより消毒するための強度(濃度、頻度、量等)を判断することができるためである。本研究では様々な処理における生物への影響を調べることにより不活化機構の相違点について解析することを目的とした。

## 2. 実験方法

## 2.1 損傷微生物の2段階評価

Fig.1 に示すように、消毒処理後の微生物を回復させる実験を行い、回復した微生物数と非回復微生物数の差から、損傷の度合いを評価した。既存の研究<sup>2)</sup>より塩素処理された微生物にフェノールレッドラクトース培養液(以下 PRLB)を用い、35°Cで4時間培養すると回復効果が見られることがわかっている。本研究ではバイオトイレに用いられているおがくず中における不活化及び、その他消毒処理を施した微生物に対して損傷度合を評価した。

## 2.2 使用モデル微生物

本実験においては大腸菌 *E.Coli* K 12(NBRC 3301)を用いた。

## 2.3 大腸菌濃度の測定

デスオキシコール酸塩培地による二重寒天法を用い、コロニー数をカウントした。

## 2.4 バイオトイレ担体(おがくず)による処理

[使用担体]: 実し尿を処理したバイオトイレから摂取した実使用担体

[微生物の抽出法]: 抽出液(3w/v%ビーフエキス液

pH9.5)により担体に吸着した微生物を液層に抽出し、液中微生物を寒天培地により測定した。

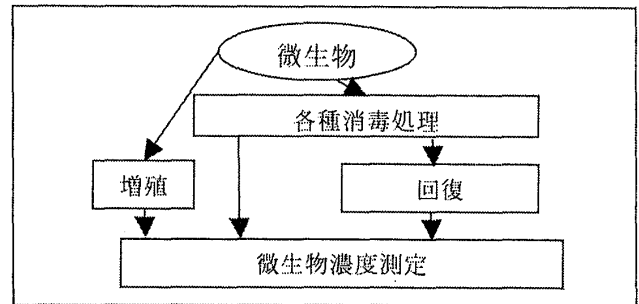


Fig1.the flow of recovery experiment

[実験の流れ]:

- ① バイオトイレの使用後担体(北海道大学提供)を絶乾し、イオン交換水で含水率を調節し一定の温度に保った
- ② *E.Coli* K 12を投入し、手動にて1分間攪拌し、設定時間後に担体を0.1gほど採取し、抽出液10mlに摂取し、重量を測定した。
- ③ 抽出液をそのまま測定したものと、PRLB9mlに1ml摂取し、2及び4時間培養した後、濃度を測定した。

(おがくず投入1分後のサンプルを0分の代わりに用いた。)

## 2.4 UV 処理

光源として低圧 UV ランプ(東芝製殺菌ランプ、20W)を用いた。

実験の流れは以下の通り

- ① シャーレ(内径5.4cm)に *E.Coli* K 12 試料 15ml を入れて(水深0.8cm)UVランプ下19.8cmに配置し、スターラーで攪拌しながら照射実験を行った。この時の線量率はおおよそ  $0.4\text{mW}/\text{cm}^2$  であった。
- ② 照射後の試料をそのまま測定したものと、PRLB9mlに1ml摂取し、2及び4時間培養した後、濃度を測定した。

ただし、実験は微生物が光回復しないよう、暗室内で行った。

3. 結果

Fig.2 から未消毒処理の *E.Coli* K 12 は PRLB に接触させると濃度に依存せずに対数的に増殖した。増殖には抽出液の影響がないことも実験によって確かめられた。

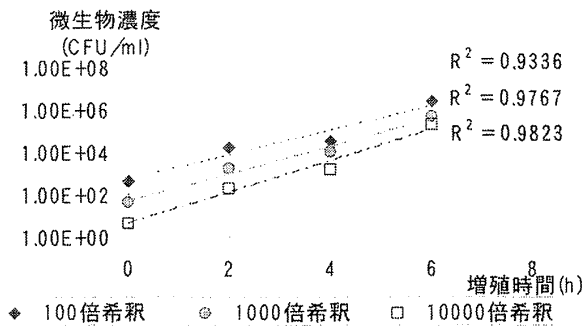


Fig.2 increase rate of *E.Coli* in PRLB

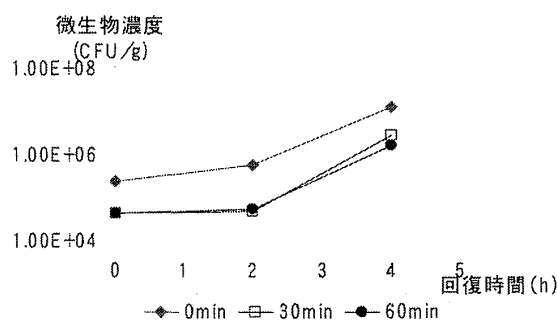


Fig.3 influence of Biotoilet treatment in recovery rate by PRLB (1)

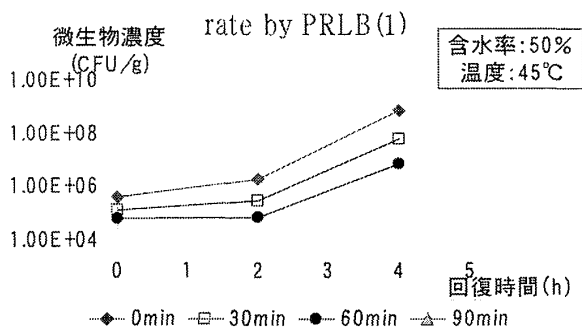


Fig.4 influence of Biotoilet treatment in recovery rate by PRLB (2)

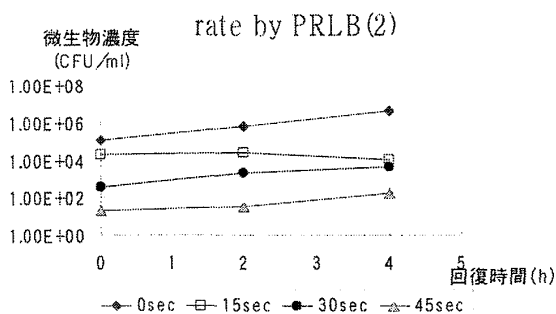


Fig5. influence of UV treatment in recovery rate by PRLB

Fig3,4 より、おがくずの処理によって2時間後までは *E.Coli* K 12 は回復せず4時間後は増殖が見られた。温度の影響も少なかった。

Fig5 から紫外線によって損傷した *E.Coli* K 12 は

PRLB に接触させても回復しなかった。

4. 考察

おがくずとの接触1分以内におがくず内に存在する全ての *E.Coli* K 12 は回復可能な浅い損傷を受けたと考えられる。浅い損傷の回復には PRLB との接触2時間以上必要であると考えられる。*E.Coli* K 12 は4時間後には増殖したので回復したと考えられる。紫外線による *E.Coli* K 12 の不活化は核酸の遺伝子損傷によることがわかっている。遺伝子損傷を受けた *E.Coli* K 12 は PRLB による回復が見られず、バイオトイレによるものと差が見られた。従って不活化機構の違いが実験結果に表れたものと考えられる。両者との比較から、おがくずの処理によって核酸の遺伝子損傷によらない機構があると考えられ、何らかの代謝機能に障害があると考えられる。また、既存の研究<sup>※</sup>より塩素消毒された *Fecal Coliforms*(以下 FC)は Table1(抜粋)に示すような回復をすることがわかっている。

Table1.FC count recoveries from chlorinated effluents on M-FC agar with PRLB preenrichment (CFU/plate)

M-FC agar	PRLB+M-FC agar	
0h	2h	4h
20	71	102
37	68	107
35	57	98
48	60	127
Mean 30	63	110

これよりバイオトイレ処理は塩素の処理より回復可能な浅い損傷によるのではないかと考えられる。

5. まとめ

今回の研究ではおがくずの処理により不活化された *E.Coli* K 12 の損傷は致命的なものではないことがわかった。消毒処理によって不活化された細菌が見かけには死滅しているようでも、実際に回復する可能性を持つことを知るのは重要である。各種回復の可能性を踏まえて消毒処理を行うことが必要である。

【参考文献】

※S.D.LIN「Membrane Filter Method for Recovery of Fecal Coli forms Chlorinated Sewage Effluents」  
Appl.Environ.Microbiol.Oct,1976,p547-552