

# 水試料からのウイルス濃縮と回収方法の検討

## *Concentration and recovery of viruses from environmental waters*

平田 強

麻布大学生命・環境科学部環境科学科

Tsuyoshi Hirata

Department of Environmental Science School of Life and Environmental Science, Azabu University

**Abstract:** Quantitative detection of viruses in environmental waters is essential in evaluating health risks of viral infection from water. As virus concentration in environmental waters is usually very low, it is necessary to concentrate viruses from large volume of water samples. Recently, Katayama et al (2002) developed a new series of procedures to concentrate viruses by adsorption to and elution from a negatively charged membrane and the series was verified to improve recovery rates greatly. We applied the series for concentrating norovirus from treated wastewaters and observed recovery by the series of procedures was not always high for norovirus from treated wastewater. We therefore examined the adsorption and recovery abilities of the series of procedures for viruses in municipal wastewater and biologically treated wastewater. Coliphages Q $\beta$  and MS2 were used as model viruses. A type HA membrane filter with a 0.45 micrometer pore size was selected as negatively charged membrane.

Adsorption rate of coliphage Q $\beta$  on negatively charged membrane was very high at the initial stage of filtration with >99.9%. The adsorption rate was gradually decreased with increased water volume of filtration and reached to a few ten%. Decreasing feature of adsorption rate was differed not only between raw wastewater and treated wastewater, rapid decrease in raw wastewater and slow decrease in treated wastewater, but also different sampling dates.

Differed from coliphage Q $\beta$ , consistent small adsorption rate of 30 to 40% was observed in coliphage MS2 even at the initial stage of filtration.

These results suggest the extended research on concentration and recovery technology for viruses in environmental waters.

### 1. 目的

環境水は水道原水として、あるいはレクリエーション水として、人に直接、間接に接触する。それゆえ環境水のウイルス汚染の定量的把握は、公衆衛生上重要な課題である。しかし、水中のウイルス濃度は一般に低い。このため、定量には高度の濃縮が必要である。陰電荷膜は従来からウイルスをよく吸着することが知られているが、吸着したウイルスを膜か

ら誘出するよい方法がなかった。しかし、最近、katayama et al (2002) は、誘出前に酸洗浄を導入した陰電荷膜法 (MgCl<sub>2</sub>によるウイルス粒子荷電の反転→陰電荷膜への吸着→酸洗浄によるMgの洗い出しとウイルスの再吸着→アルカリ誘出) が非常に良好な濃縮回収方法であることを明らかにし、その普及が進みつつある。

我々は、このKatayama et alの方法を用いて、下水並びに下水処理水のノロウイルス汚染調査を実施し

たところ、その過程で、水の種類によっては、ろ過水量の増加がウイルス回収量の著しい低下をもたらしている可能性を示す現象を認めた。そこで、本研究では、陰電荷膜法の適正化を目標に、基本的な検討を行った。

## 2. 方法

陰電荷膜として Millipore HA filter (pore size 0.45  $\mu\text{m}$ , filter diameter 47 mm, effective filtration area 12.6  $\text{cm}^2$ ) を用いた。ウイルスとしては大腸菌ファージ Q $\beta$  を、ファージの定量には、プラーク形成法を用いた。

## 3. 結果と考察

陰電荷膜によるウイルスの吸着：吸着率 [(原液のウイルス濃度 - ろ液のウイルス濃度)  $\times$  100 / 原液のウイルス濃度] が 90% に低下するろ過水量は、最初沈殿池流出水の場合 90 ~ 120 mL, 下水処理水の場合 500 ~ 1500 mL であり、一定の吸着率を維持可能なろ過水量は水の種類によって大きく異なった。このときの水試料のガラス繊維ろ紙によるろ過水の OD<sub>254</sub> (/cm) は、最初沈殿池流出水 0.55, 下水処理水 0.10 であり、有機物代替指標である OD<sub>254</sub> が高い最初沈殿池水で、ろ過の早期の段階でウイルス吸着率の著しい低下が生じた。また、吸着率が 90% を下回った後の吸着率の低下も、下水でより速やかであった。このことは、水中に膜の吸着部位を塞ぐ物質が存在し、下水ではその量が多いことが考えられた。類似の傾向は、オゾン処理水や水道水でも観察されている。また、オゾン処理水では、ろ過水量を増加させると、回収されるウイルス量が減少 (ウイルスの脱着) する現象も再三観測された。

また、予備的検討によると、HA filter の MS2 吸着能力は、Q $\beta$  に対する吸着能力に比べると非常に小さく、1/10 以下であった。

酸洗浄：酸洗浄によって膜から剥離するウイルスは吸着量の 1% かそれ以下であり、酸洗浄が最終成績に及ぼす影響は小さいと判断された。

アルカリ誘出：膜からのアルカリによるウイルス誘出率については、ほぼ 100% とする報告がある一方で、数% かそれ以下との報告があるなど、情報が錯綜しており、確定していない。ウイルス種により

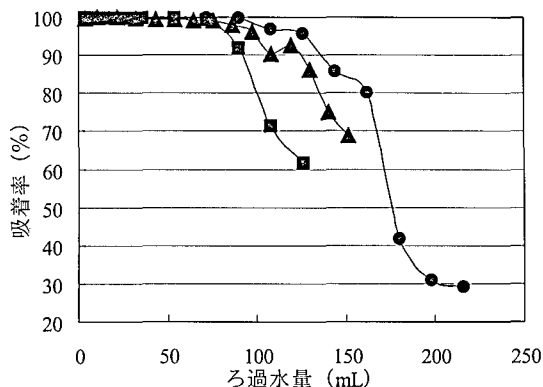


Figure 1 Effect of cumulative filtration volume of raw wastewater on adsorption rates

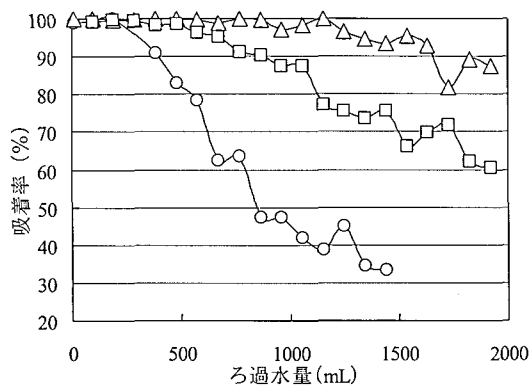


Figure 1 Effect of cumulative filtration volume of biologically treated wastewater on adsorption rates

かなり異なるようで、今回の Q $\beta$  を用いた実験では、誘出率はわずか 3% であったが、MS2 での予備実験では 30% との成績が得られた。

## 4. 要約

今後の展開：予備的検討も含めて、Q $\beta$ , MS2, ノロウイルスの 3 種類のウイルスについて検討したが、吸着能力や回収能力がウイルスの種類によって非常に大きく異なることが明らかになった。大腸菌ファージ MS2 とノロウイルスについて、吸着並びに誘出に及ぼす水質による影響の評価を引き続き行っており、これらの成果を陰電荷膜法の使用限界の明確化と利用方法の適正化につなげたい。

## 文献

Katayama H, Shimasaki A and Ohgaki S (2002) Development of a virus concentration method and its application to detection of enterovirus and Norwalk virus from coastal seawater. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 1033-1039.