

# 高度消毒技術としてのローズチタニアUVシステム®

## Degradation of Norovirus in Sewage Treatment Water by Photocatalytic Ultraviolet Disinfection

加藤 敏朗<sup>\*(1)</sup> 柴田 敏幸<sup>\*(2)</sup> 當間 久夫<sup>\*(3)</sup> 田村 元紀<sup>\*(4)</sup>  
 Toshiaki KATO Toshiyuki SHIBATA Hisao TOHMA Motonori TAMURA  
 三木 理<sup>\*(5)</sup>  
 Osamu MIKI

### 抄 録

近年、食中毒の主要な原因微生物として注目されているノロウイルス(NV)は、汚染された水域に生息する魚貝類の体内に濃縮され、かかる魚貝類を生食することで発症することから水系感染症であるといわれている。NVによる水域汚染の原因のひとつとして下水等の流入による可能性が推定されているものの、水系のNVを検出する標準法が確立していないため、環境水中のウイルス存在状況の把握や対策技術の検討が困難な状況にある。下水処理放流水を対象にNV検査方法を検討すると共に、NV対策技術としての光触媒/紫外線消毒(ローズチタニアUVシステム)の適用可能性について検討し、本消毒法にてNV粒子を分解できる可能性を確認した。

### Abstract

Noroviruses (NVs) are known to be one of the major pathogenic viruses implicated in outbreaks of gastroenteritis caused by feeding of seafood. It is supposed that NVs would be emitted into water environment through sewage and the shellfish growing in polluted water environment would enrich with contaminated virus particles in their body. The conventional disinfection process such as chlorination is not effective to inactivation of viruses. Ultraviolet irradiation is the attractive disinfection means for inactivation of virus. However, virus particles in the effluent would remain after UV-irradiation and then inactivated virus would be detected in shellfish body by genetic analysis. In this study, we elucidate the procedure for quantitative determining method of NVs in the effluent and the possibility of virus-degrading disinfection method. We evaluate that a real-time PCR procedure becomes to a powerful tool for determination of NVs concentration in water samples. Then, we describe that photocatalytic ultraviolet disinfection (TiO<sub>2</sub>/UV) could be suggested to decompose virus particles and then the concentration of NVs could be reduced after TiO<sub>2</sub>/UV disinfection.

### 1. はじめに

我が国では、海外との交易が活発化した明治以降、コレラに代表されるような水を媒介にしたいわゆる水系感染症が大流行し、それを契機として近代の衛生システムの整備が始まった。しかしながら、水系感染症が激減するのは、上・下水道が普及・拡大した昭和40年代になってからのことである(図1)。つまり、公衆衛生の点で上・下水道が担う役割は極めて大きいといえる。

浄水プロセスや下水処理プロセスにおいては、その最終工程で消毒がなされ、一般に塩素消毒が採用されている。しかしながら、塩素消毒は、トリハロメタンのような有害な消毒副生成物が生じること、クリプトスポリジウム原虫、レジオネラなど新興、再興の塩素耐性病原微生物が出現したことなど塩素消毒で対応できない諸問題がクローズアップされ、塩素に代わる新たな消毒技術が求められるようになった。

塩素に代わる水の消毒技術として、欧米を中心に紫外線消毒が普及しつつあり、新日本製鐵でもこれまで主として下水消毒向けに紫外線殺菌装置を手がけてきた。さらに、紫外線殺菌の効果を更に高

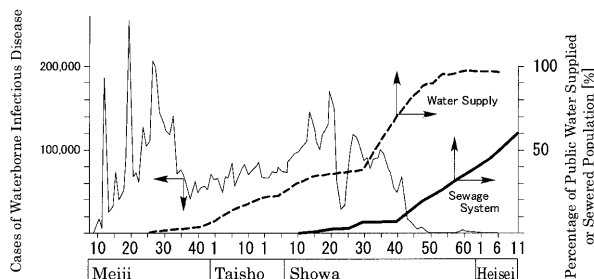


図1 水系感染症患者数、上下水道普及率の推移  
 Waterborne Infectious disease cases and percentage of water supplied or seweraged population in Japan

\*<sup>(1)</sup> 先端技術研究所 エネルギー・環境基盤研究部 主任研究員 学博  
 千葉県富津市新富20-1 〒293-8511 TEL( 0439 )80-3071  
 \*<sup>(2)</sup> 鉄構海洋・エネルギー事業部 水処理施設部 マネジャー  
 \*<sup>(3)</sup> 鉄構海洋・エネルギー事業部 水処理施設部 グループリーダー

\*<sup>(4)</sup> 先端技術研究所 新材料研究部 主幹研究員  
 (現職 (財)金属系材料研究開発センター 環境・プロセス研究部)  
 \*<sup>(5)</sup> 先端技術研究所 エネルギー・環境基盤研究部 主幹研究員 工博

める工夫として「光触媒」に着目して研究開発に取り組み<sup>2)</sup>、高活性な光触媒材料の獲得を契機として「ローズチタニアUVシステム」の開発に至り、下水中の病原性ウイルスを対象として消毒性能を検証した。

## 2. 高度消毒技術としてのローズチタニアUVシステム

### 2.1 消毒の原理

紫外線は微生物の遺伝子を変性させる作用があり、紫外線照射を受けた微生物は増殖できなくなるが、一部の微生物は紫外線照射によって変性した遺伝子を自ら修復し、再び活性を取り戻す現象が知られている。この現象は可視光線の照射によって誘導されることから、光回復現象と呼ばれている。これは、生物が太古の昔より太陽からの紫外線にさらされ、それに対する防御機構を進化的に獲得したものと考えられている。紫外線消毒を適用する場合、光回復の低減まで踏む込んだ検討の必要性が指摘されている<sup>3)</sup>。

二酸化チタンなどのある種の半導体物質は、紫外線を受光すると結晶内で分極して活発な酸化還元反応が生じ、水が酸化分解されて酸化力の強いヒドロキシルラジカル(OHラジカル)が発生する。このヒドロキシルラジカルによって微生物を光回復できないまでに分解できる。つまり、図2に示したようにローズチタニアUVシステムでは、紫外線による遺伝子変性といった直接的な効果に加え、光触媒により発生したヒドロキシルラジカルによる酸化分解といった間接的な効果により、高度な消毒を実現したシステムといえる。

### 2.2 新開発の光触媒

ローズチタニアUVシステムを支える光触媒材料は、金属担体に利用される波箔にイオンプレATING法で酸化チタンを成膜した<sup>4)</sup>。種々の条件で成膜し、光触媒活性を指標にスクリーニングを行った結果、高活性な光触媒を得、バラの花弁のような特徴的な表面微細構造(図3)に因んで「ローズチタニア」と命名した。

装置イメージの一例を図4に示した。流水管路の中心部に設置された紫外線ランプによって流水に紫外線を照射する。このような管路型の紫外線照射装置では、光触媒加工した波箔を円筒状にしてモジュールを管路の内壁に配置している。管路の一端より流入して他端より流出するまでの間に、流水は紫外線照射されるとともに、光触媒にて発生したヒドロキシルラジカルが作用する。

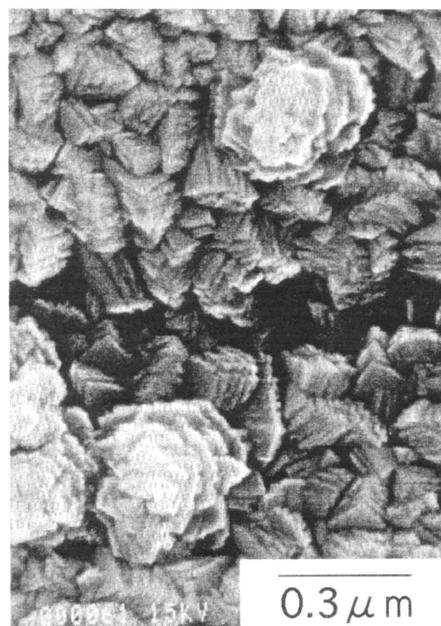


図3 新開発の光触媒表面のSEM像  
Scanning electron microscopic photograph of the newly developed photocatalyst

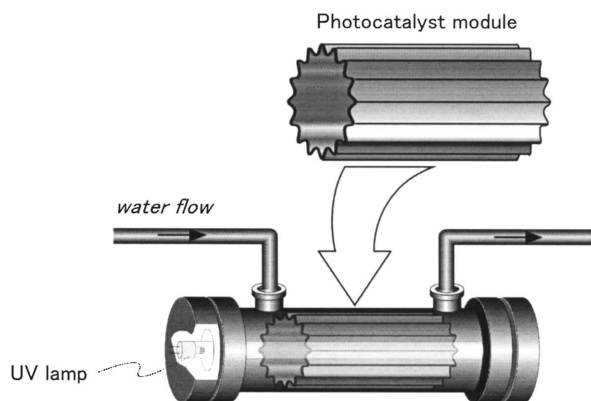


図4 ローズチタニアUVシステムの装置イメージ例  
Example of TiO<sub>2</sub>/UV irradiation apparatus

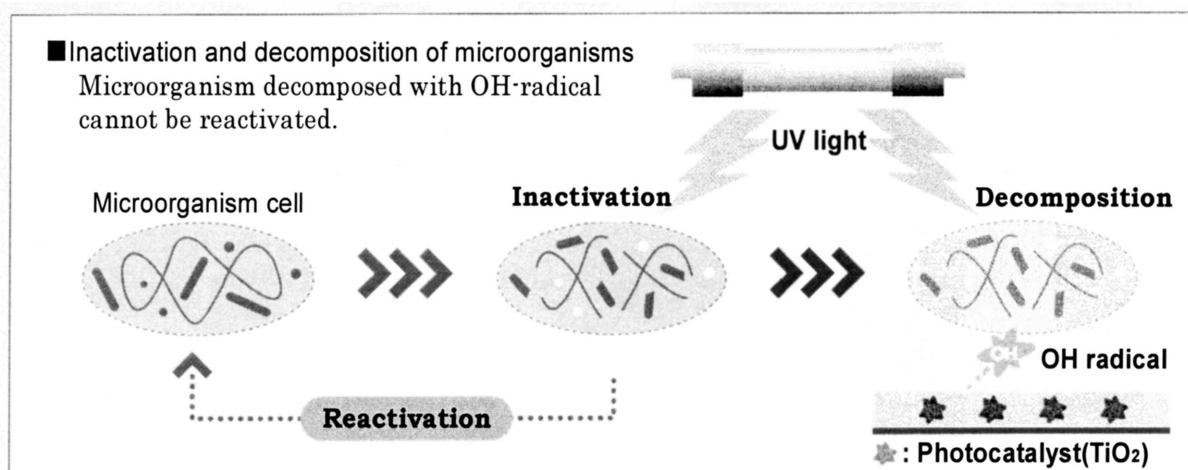


図2 ローズチタニアUVシステムの殺菌メカニズム  
Schematic presentation of the disinfection mechanisms by TiO<sub>2</sub>/UV system

### 3. 下水中ウイルス分解性能の実証検討

#### 3.1 ノロウイルス対策のニーズ

最近、魚貝類や飲料水に起因とした食中毒における主要な病原体としてノロウイルスが問題にされている。厚生労働省統計によると2003年発生の食中毒患者数29,355名のうちノロウイルスを原因とした食中毒は10,702名を数え、実に患者数の1/3以上を占めている。

ノロウイルスは、魚貝類の体内で増殖することはないとされ、魚介類の体内に本ウイルスが検出されるということは、下水などを經由して生育水域に流入し、そこで成育する例えばかき体内に濃縮保持されていることを意味しており、この汚染源を絶つべく下水放流水についてのウイルス対策技術が囑望されている。

下水中のノロウイルスは下水処理過程で汚泥への吸着などによって物理的に除去されるものの、一部は処理水中に残存し、放流前の塩素消毒でも不活性化することなく、水域へ放流される可能性がある。一般にウイルスは塩素消毒で不活性化が困難であるといわれており、ノロウイルスについても10 mg/L程度の塩素濃度では殆ど不活化できないと報告されている。これに対して、紫外線消毒はウイルスの遺伝子を光化学的に傷つけるため極めて有効な手段であるとされている。

しかしながら、紫外線消毒によってもノロウイルスの不活性化すなわち食中毒性の消失は達成できたとしてもウイルス粒子自体は残存するため、環境中に放出された場合に魚貝類の体内に蓄積・保持されることとなり、食品衛生検査においてウイルス遺伝子検査を実施した場合に、食中毒性の危険性がないにも関わらず、“ノロウイルス陽性”の判定が下され、高級生食材としての付加価値がなくなり、水産業への経済的なダメージは計り知れない。

ノロウイルスの感染性や食中毒性を簡便に判定する技術がない現状においては、食品衛生検査として高感度な遺伝子検査法を採用せざるをえないと考えられ、このため、下水処理におけるノロウイルスの根本対策として、ノロウイルスの不活性化を目的とするばかりでなく、ウイルス粒子自体を分解することが可能な消毒技術の確立が必要であると考えられる。

#### 3.2 実験方法

##### 3.2.1 消毒実験方法

前述した管路型の紫外線殺菌装置(図4)を既存の漁業集落排水処理施設に設置し、下水二次処理水の殺菌実験を実施した。処理フローを図5に、実験装置の外観を図6にそれぞれ示した。実験では光触媒を装填した装置(系)のほかに、光触媒を装填してない従来の紫外線殺菌装置(系)を併設して、両者のウイルス分解性能を比較した。なお、系装置には400W中圧水銀ランプを搭載し、系装置は65W低圧水銀ランプを採用した。また、それぞれの設計処理流量は各々毎時16m<sup>3</sup>、6m<sup>3</sup>である。

消毒実験に供した下水二次処理水は、pH7.4、SS14mg/L、紫外外部吸収0.12/cm、また、微生物濃度は、大腸菌群23MPN/mL、一般細菌7,700cfu/mLであった。

##### 3.2.2 ウイルス分析方法

ノロウイルス対策技術としての有効性を検証するには水中のノロウイルスを定量検査する方法が必要不可欠である。食品分野を中心にノロウイルスの遺伝子検査法が標準化されつつあるが、存在濃度が低いと予想される水中のノロウイルスを検査するには、遺伝子検

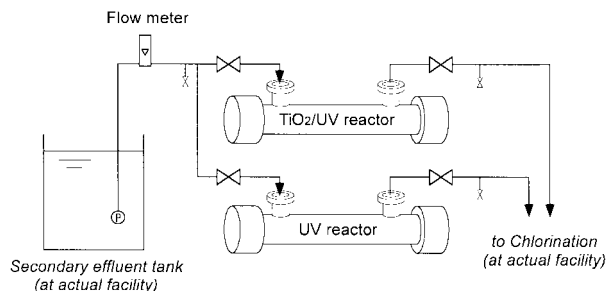


図5 実験装置フロー  
Experimental flow diagram

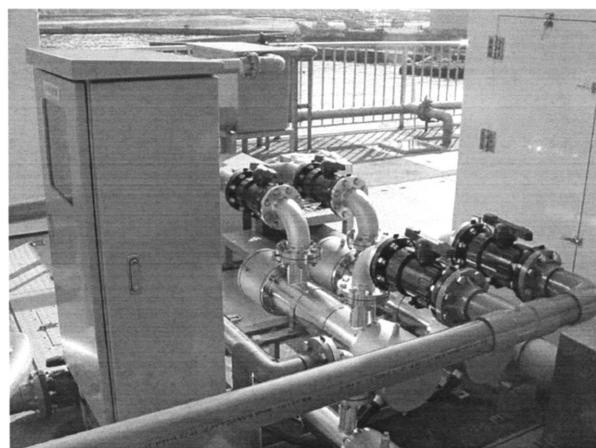


図6 実験装置外観  
Photograph of the experimental apparatus

査に先立って何らかの方法で濃縮する必要がある。これまで、水中に希薄に含まれるウイルスを濃縮分離する方法として膜ろ過補足法<sup>5)</sup>、凝集法<sup>6)</sup>、カラム吸着法<sup>7)</sup>など様々な方法が報告されているが、従来の手法を組み合わせた新たなカラム吸着法を検討した。既報<sup>8)</sup>に詳述したとおりであるが、概要は以下の通りである。

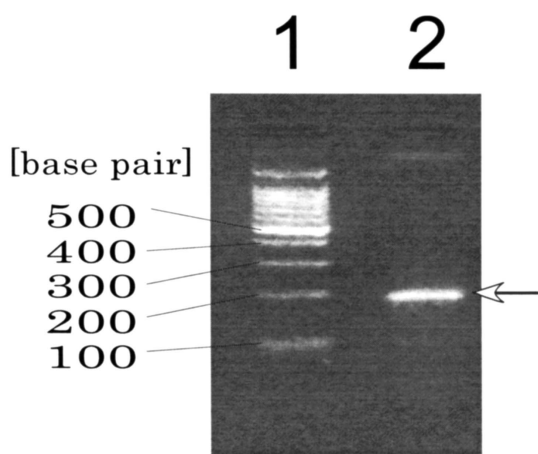
陰イオン交換性のDEAEセルロース粉末を充填したガラス製カラムに供試水5-10Lを通して、供試水中のウイルス粒子をセルロースに吸着させた。吸着した成分をアルカリ溶液 50mMグリシン、0.5%肉エキス、pH9.5) 30mLで溶出させ、さらに、ポリエチレングリコール沈殿にて再濃縮し、得られた沈殿物をトリス緩衝液 1mLに懸濁してウイルス濃縮液とした。

ウイルス濃縮液からウイルスの核酸(RNA)を抽出して遺伝子検査を実施した。すなわち、抽出したRNA溶液を用いて逆転写PCRを行い、ノロウイルス遺伝子の一部を増幅した後、アガロース電気泳動でPCR増幅DNA断片を観察した。また、ウイルス濃縮液中のノロウイルス濃度を推定するために、リアルタイム逆転写PCRを実施した。

#### 3.3 実験結果

##### 3.3.1 ウイルス分析方法の検証

図7に、一連の操作で下水二次処理水から得たウイルス濃縮液について逆転写PCRでノロウイルスの遺伝子の一部分(約200塩基)を増幅し、アガロース電気泳動を行った結果を示した。図より明らかに濃縮試料について約200塩基の増幅産物を確認できた。よって、考案したウイルス濃縮法によって下水二次処理水中のノロウイルスを濃縮分離でき、ノロウイルスの遺伝子検査ができること

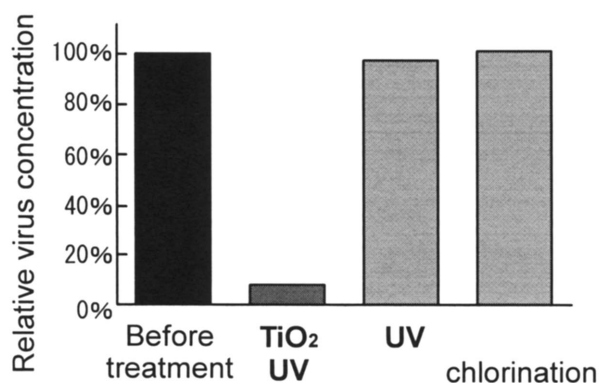


Lane 1: molecular weight maker; lane 2: product from concentrated water sample. The arrow indicates NV-related PCR product

図7 逆転写PCRによるウイルス検出結果例(アガロース電気泳動像)  
Agarose gel electrophoresis of PCR products with NV primers



(a) Agarose gel electrophoresis of PCR products



(b) Relative concentration of NVs

図8 各種消毒処理前後のノロウイルス検出結果  
Comparison of decomposing efficacy of TiO<sub>2</sub>/UV, UV or chlorination

を確認した。

### 3.3.2 分解消毒結果

処理前、および各種消毒処理後の試料について逆転写PCRを行ったところ、図8(a)に示したように光触媒/紫外線処理した場合についてのみアガロース電気泳動像が確認できなかった。これは光触媒/紫外線処理によってノロウイルスが分解した可能性を示している。また、リアルタイム逆転写PCRで定量した結果(図8(b)), 処理前に存在していたノロウイルスは、紫外線処理または塩素処理を行っても濃度が変化しないが、光触媒/紫外線処理によってウイルス濃度が明らかに低減していたことが確認され、この結果からも、光触媒/紫外線処理によればウイルス粒子を分解できるものと考えられる。

## 4. まとめと今後の展開

従来の紫外線処理では、ノロウイルスの遺伝子が損傷を受け、食中毒性は消失していることが推定されるが、逆転写PCRなどの遺伝子検査法ではノロウイルスが検出される。これに対して、光触媒/紫外線処理では、遺伝子検査で検出できないまでに分解できることから、水産海域をひかえた下水処理施設においてノロウイルス対策を見込んだ消毒技術への採用が期待される。

下水におけるノロウイルスの挙動は必ずしも明確にされているわけではなく、下水放流水中のノロウイルスをどの程度まで低減するべきかといった消毒目標値の設定に向けた検討が待たれる。

本報告では、ローズチタニアUVシステムを下水消毒技術へ適用について検討し、ノロウイルスを分解消毒できる可能性について明らかにした。この成果を発展させて、三重県と共同で養殖かきの出荷前浄化に用いる海水を対象とした高機能な殺菌装置への実用化検討に取り組んでいる。

### 参考文献

- 1) 田口 ほか:下水道協会誌 32(387) A(1995)
- 2) 加藤 ほか:新日鉄技報 43(76) 36(2002)
- 3) 大垣 ほか:月間下水道 18(6) 20(1995)
- 4) 田村 加藤:表面技術 53(5) 357(2002)
- 5) Katayama, et al.: Appl. Environ. Microbiol. 68(3), 1033(2002)
- 6) 矢野 ほか:水道協会雑誌 60(5) 10(1991)
- 7) Vilagin, et al.: Wat. Sci. Technol. 27(3/4), 299(1993)
- 8) 加藤 ほか:下水道協会誌 41(504) 123(2004)