

粉体ろ過法 操作方法の詳細

1. 検証項目

- ・ 原水、浄水のろ過水量評価
- ・ 蛍光ビーズあるいは固定クリプトスポリジウムを使った、捕捉性能の評価
- ・ 固定クリプトを使い、免疫磁気ビーズ法等の精製操作を含む、回収率の評価

2. 試験法の流れ

- ろ過支持体として 37mm のプラスチック容器あるいは 90mm の金属製容器を用意し、粉体ケーキろ過層を形成する
- ↓
- ろ過する
 - ▶ ろ過層形成とろ過操作は中断すること無く続けて実施し、ろ過層を維持し続ける
- ↓
- ろ過を終了し、ろ過水量等を記録する
- ↓
- 濃縮物を密栓して冷蔵保存、あるいは検査を行う

2. ろ過水量と粉体使用量の調整

- ・ 原水の場合は、通常、ろ紙の上に 1g、タンクに 2g (以下 1+2g と表記) でろ過を実施
- ・ 上水の場合は、通常、ユニット内に 0.5g、タンクに 1g (0.5+1g) でろ過を実施
 - ▶ 経験上、原水の濁度が 10 度を超える場合は 10L に達せずろ過が閉塞するので、2 回以上に分けてろ過する。なお、詰まることが予想されるような試料に対しては、ろ紙の上に 0g、タンクに全量 (0+3g) でろ過を実施すると、閉塞が遅くなり、ろ過水量が若干増加する可能性がある

3. 粉体溶解方法

- 粉体を必要により分割後、1.5g までの粉体を 50ml の遠心管に移す
- ↓
- 粉体 1.5g あたり、Tween80 0.1% 5ml と精製水 15ml を使用して、支持体のメンブレンフィルターから粉体を洗い流し、支持体のメンブレンフィルターを除く
- ↓
- 粉体 1.5g あたり、1M HCl 25ml を加え、粉体を溶解する。完全溶解しなかったら HCl の量を若干増やす
 - ▶ 37mm 浄水用フィルターは 1.5g の粉体を使用し、全量を 50ml 遠心管 1 本で溶解可能。多量の試料水を濃縮した後は、一部のみを溶解使用しても良い
 - ▶ 90mm 原水用フィルターは標準 3g の粉体を使用し、50ml 試験管 1 本では溶解不能

のため、粉体を分割し、半分の 1.5g 相当を 50ml 試験管 1 本で溶解する（水に懸濁してからの分割は困難）

- ▶ 捕捉性能の評価には、塩酸で溶解した試料を直接に観察用フィルターに載せて計数する
- ▶ 分母となる数を求めるには、分母用の 50mL 遠心管に同じ量を添加し、溶解試料と同じ量となるよう PBST で希釈する

4. 粉体分割方法

○余分な水分を紙の上に乗せて水分を除く（写真 1）

↓

○ピンセットとハサミで 2 分割（写真 2）したり、4 分割（写真 3）したりする

- ▶ 分割した分、塩酸の使用量を減らすことが出来る
- ▶ ろ過前にろ紙にマジックで印をつけておくと（写真 4）分割しやすく、分割すれば一部のみ試験して残りは追試のために待機できる
- ▶ 粉体を界面活性剤に懸濁してからチューブに分けるのは困難で、懸濁した状態から均等に分割する必要があるれば、PE や PP の容量の大きなプラスチックタッパで溶解処理後に 50ml 管に分ける操作もある
- ▶ 溶解しない粉体は遠心管に密栓し冷蔵保存する

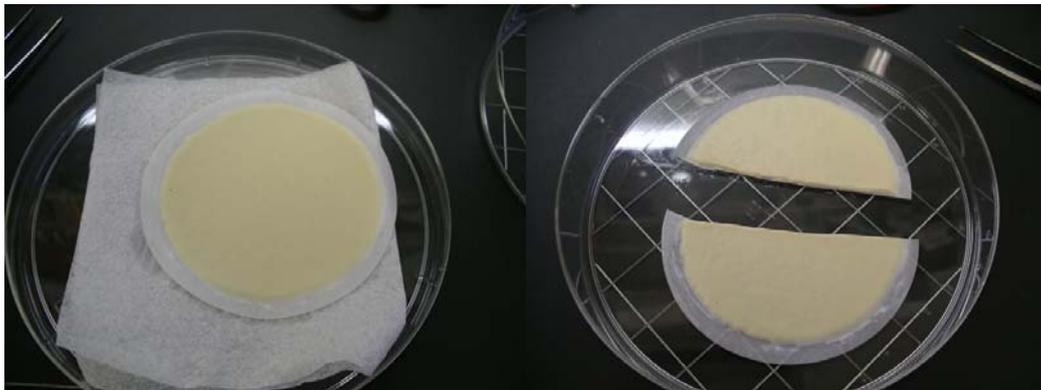


写真 1

写真 2

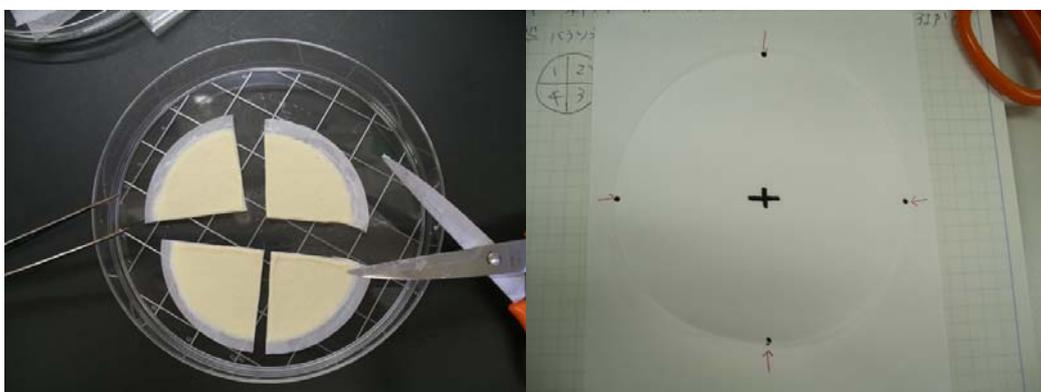


写真 3

写真 4

5. 磁気ビーズ法精製のための前処理（酸とカルシウムの除去）

○50mL 遠心管で濃縮物を塩酸で溶解する

↓

○1000 g 5 分間、遠心分離を行い、沈さ 2~3ml を残す（底の斜めの部分、回収率維持目的）

↓

○以下を順番に使用し、1 種類ごとによく攪拌

0.5M EDTA 3ml（析出を防ぐ。後で析出がみられるなら EDTA を増やす）

0.5M NaOH 3ml（遠心直後の沈さと同じ液量とし、中和に使用する）

1M Tris-HCl (pH7~8) 1ml（中性に戻すための緩衝液）

↓

○精製水を混合し希釈する

↓

○1000 g 5 分間、遠心分離、沈さ 2~3ml を残す（底の斜めの部分相当）

↓

○PBST に懸濁する

↓

○1000 g 5 分間、遠心分離、沈さ 2~3ml を残す（底の斜めの部分相当）

↓

○免疫磁気ビーズ法の試料とする

- 沈殿物を良く攪拌して完全に分散させ、次いで免疫磁気ビーズ法の緩衝液・界面活性剤を加えて良く攪拌してから次の操作に移る