

超純水や精製水の貯蔵中における微生物汚染とその防止策

キーワード：純水、微生物、増殖、ポパール、精製水、メンブランフィルター、紫外線ランプ

まえがき

微生物を取り扱う加工・試験等で純水或いは超純水が器具洗浄、試薬調製などに使用されています。これらの水は細菌、微生物が含まれていない水との認識の上で、使用時、無意識に使用しているのが常であります。しかし、遊離塩素を含まない純水をポリタンクで保存すると容器の底がぬめってくるのが観察され、これは微生物増殖が原因であると考えられます。そこで、超純水、純水を長期保存して使用する際の取扱注意点を解説し、及び技術支援業務での基板塗布用ポパール水溶液中の微生物除去策、日本薬局方精製水の微生物管理に関する課題解決事例を紹介します。

超純水の微生物汚染防止策

通常の細菌は純水中では浸透圧の関係で死滅します。まして栄養源のない状態では増殖しないと考えられます。しかし、履歴や機構の異なる純水製造装置の採水の微生物検査を行ったところ表1に示すように硝子製ディスペンサー瓶に長期保存された超純水の中に多数の微生物が検出され、貯蔵部付装置の純水からも微生物が検出されます。しかし、貯蔵部の無い装置からの直接採水は微生物が微小検出されますが、細菌は検出されません。更に、オートクレーブ滅菌メディウム瓶保存水は全く細菌・微生物が検出されていません。このように貯蔵保存水は微生物の存在を意識し使用する必要があります。それ故、微生物の存在がデータに影響を及ぼす微生物接種培養試験等にはオートクレーブ滅菌水を使用すべきであり、また、一般試薬調製に使用しても数は多くても極微量のため、すぐに実験への影響はないと思われま。ただ、中性付近のリン酸緩衝液が数日で白濁・沈殿を生じるケースなど支障が幾分あると思えます。そこで器具洗浄に常用する純水のポリタンク保存水をはじめ、各種用水は以下の事柄を意識して使用する必要があります。

- 1) ポリエアレンタンクに遊離塩素を含まない純水は室温で長期保存すると微生物が増殖します。
- 2) 逆浸透(RO)水は製造装置内の保存タンク中に多数の微生物が存在し、タンク洗浄後でも長期保存すると微生物が存在します。
- 3) 貯蔵部無しの超純(RO+IE)水製造装置蛇口より直接採水すると一般細菌は検出されません。
- 4) 水道水から一般細菌は検出されません。
- 5) 蒸留水(DIW)、イオン交換水(IEW)は装置内貯蔵タンク付きのため、微生物が存在します。
- 6) オートクレーブ滅菌水はメディウム瓶で長期保存しても微生物は全く検出されません。
- 7) 各種硝子製ディスペンサー長期保存超純水は保存状態により殆ど微生物が検出されない検体から多数の微生物が検出される検体まで多岐にわたります。
- 8) ステンレスタンク保存水(逆浸透(RO)水)は他の保存容器水より微生物が少なくなります。

当面の対策として、器具洗浄水、培養用水の使用にあたり次の応急策が考えられます。

純水(RO水)から超純水(RO+IE水)への交換。
ポリエアレン製タンクから溶出の少ないフッ素樹脂加工したHDPE製タンクへの交換。

定期的に貯蔵タンクを70～80%エタノールで殺菌・洗浄。

採水初期の水は捨て、微生物混入の防止。
また、恒久的対策としては、ステンレス製タンクに小型の液浸型紫外線殺菌ランプを取り付ける。

一方、硝子製ディスペンサー瓶を使用する時、次の注意事項を考慮する必要があります。
出来るだけ、毎回、その都度、超純水を使い切り、ディスペンサーを乾燥保管。

ディスペンサーに超純水を保存せざるを得ないときは気温変動による空気流出入や液流出を防ぎ、微生物汚染防止のため、満水にして保存。

ポパール水溶液中の微生物除去策

ポパール（正式名称ポリビニルアルコール、略称PVq）水溶液を塗布した電子基板に粒状斑点が現れるクレーム問題の技術相談が持ち込まれました。ポパール水溶液の微生物接種培養試験を行うと表2に示すように多数の微生物が検出されました。因みに正常ポパールでは微生物は検出されませんでした。そこで除去対策としてメンブランフィルターろ過を試したところポアサイズ0.20 μm、0.45 μmで完全に除菌できましたが0.80 μmではできないことが判明し

ました。ポパール水溶液は比較的粘度が高く、除菌可能な範囲内で、できるだけ圧損を少なくするため、0.45 μmメンブランフィルターをライン中に取り付け防止策を提案し、クレーム解消が図れました。

日本薬局方精製水製造ラインの微生物制御策

精製水製造装置から無菌水を送り出しても瓶詰め工程の配管や貯水部のため、基準を越える微生物が検出されるおそれがあります。そこで滞留し易い配管部や貯水部に殺菌用紫外線ランプを取り付け、254nm付近の紫外線を照射する防止策により品質管理上の課題解決が図れました。なお、殺菌ランプはプラスチックの劣化を引き起こすことがあるので注意を要します。

表1 各種処理水中の微生物検出試験結果

種別	採水法	試験水履歴	一般細菌 標準寒天培地混釈 法37℃で48時間培	微生物 PDA培地混釈法 28℃で7日間培養
超純水 (逆浸透後、イオン交換処理)	外部瓶	ガラス製ディスペンサー瓶長期継続使用(A)	+++ (約1,000cfu/ml)	+++ (約1,500cfu/ml)
		ガラス製ディスペンサー瓶長期継続使用(B)	++	++ (約80cfu/ml)
		ガラス製ディスペンサー瓶長期継続使用(C)	+	+ (約10cfu/ml)
		ポリエチレン製洗浄済タンク貯蔵開始数日後	—	+ (約2cfu/ml)
純水 (逆浸透処理のみ)	外部瓶	貯蔵部無し装置の蛇口より直接採水	— (0cfu/ml)	+ (約8cfu/ml)
		ポリエチレン製20Lタンク長期継続使用	+++ (約3,000cfu/ml)	++++ (約5,000cfu/ml)
イオン交換水	直接	自動洗浄機用ステンスタック長期継続使用	+++ (約1,000cfu/ml)	+++ (約1,000cfu/ml)
		メティウム瓶オートクレーブ滅菌、長期使用後	— (0cfu/ml)	— (0cfu/ml)
蒸留水	直接	貯蔵部付き装置の蛇口より直接採水	++ (約200cfu/ml)	++++ (約4,000cfu/ml)
		貯蔵部付き装置の蛇口より直接採水	++	++ (約200cfu/ml)
水道水	直接	浄水器付き水道蛇口より直接採水	—	+ (5cfu/ml)
		水道蛇口より直接採水	— (0cfu/ml)	+ (5cfu/ml)

表2 塗布斑点発生ポパール水溶液およびそのメンブランフィルターろ過液の微生物検出結果

試験液	細菌(標準寒天混釈37℃で48hr)	微生物(PDA混釈28℃で7日間)
ポパール原液	++++ (約5,000cfu/ml)	++++ (10,000cfu/ml以上)
0.20 μmメンブランフィルターろ過液	— (0cfu/ml)	— (0cfu/ml)
0.45 μmメンブランフィルターろ過液	— (0cfu/ml)	— (0cfu/ml)
0.80 μmメンブランフィルターろ過液	+++ (約500cfu/ml)	++++ (10,000cfu/ml以上)

注) —は検出せず +は1~10cfu/ml ++は11~200cfu/ml +++は201~2,000cfu/ml
++++は3,001cfu/ml以上 cfuはcolony forming unit(群落形成単位; 生菌数)の略