

# 塩素-紫外線消毒における病原微生物の複合処理に関する研究

安井宣仁\*

## Study on combined treatment for pathogenic microorganism with chlorination and UV disinfection

Nobuhito Yasui\*

This study approach is to establish the healthy water environment and inhibiting the water disease. Recently, various type of pathogenic microorganisms has been reported in worldwide. In the future, to prevent the water disease from pathogenic microorganisms and to treat properly them has been required. The disinfection is important as in order to prevent the water diseases. This study aim is to evaluate the inactivation of pathogenic microorganism with combined chlorination and UV disinfection techniques. In the combined method, chlorination was performed after irradiated UV and the indicator of pathogenic microorganism was used coliphage MS2. Phosphate buffer solution was as the sample and the combined chlorine which was generated by reacted to ammonium chloride and Sodium hypochlorite to the sample. As the experimental results, the Synergistic effect was confirmed to perform by combined chlorination and UV disinfection. The inactivation effect was promoted by conducting combined to UV compared with chlorination alone. By performing the chlorination after irradiation UV as 60 mJ/cm<sup>2</sup>, the inactivation rate was increased about 1.5 times.

*Keyword combined treatment, UV irradiation, chlorination, synergistic effect*

### 1. 研究の背景と目的

近年、異常気象や水害等の自然災害が顕在化している中、これらの原因要因の一つである考えられる地球温暖化が問題となってきた。温暖化による影響は様々な分野において今後、深刻な問題を引き起こす可能性がある。例えば地球の平均気温が上昇することにより、自然生態系のバランスが崩れ、国内で今まで確認されなかった生物等が出現する可能性も挙げられる。そのような中、「水」についても考えてみると、温暖化による水温上昇は閉鎖性水域での富栄養化を促進させることも懸念される。また水系感染症に着目した場合、新たな新興ウイルスの出現や未知の病原微生物の出現などの可能性も捨てきれないのが現状である。今後、益々我々の生活において健全な水環境を創出することが急務であると考えられる。

健全な水環境を創出するためには適切に水系感染症を

\*近畿大学工業高等専門学校

総合システム工学科 都市環境コース(土木系)

防止し、安全な水を確保することが必要不可欠である。そのためにも現状の水処理技術をより強固にすることが求められる。現状、MBR など膜処理やオゾン処理による高度処理など様々な処理技術が開発されてきた中、水系感染症防止の観点からは最終的に水を「消毒」することがなによりも重要となってくる。既存の消毒技術は主に上水道では塩素処理が法律で義務化されており、下水処理で7割程度の処理場で塩素処理、2割が紫外線処理、1割がその他処理である<sup>1)</sup>。現状、国内の消毒技術で大半の病原微生物に対しては対応できているものの、今後、さらなる安全性を強化する上では現状の処理技術の効果の限界を把握し、より適切に病原微生物に対して対応していくことで将来的に健全な水環境を創出できると考えられる。

既存の消毒技術の短所を相互的に補い、それぞれの長所を上手く活用し、今後出現する可能性のある新興ウイルス等に対して、水系感染症防止の観点から、それらの既存の消毒技術を複合することで対応できるのではないかと考

えた。本研究では、既存の消毒技術として「塩素処理」と「紫外線処理」を組み合わせることで病原微生物の不活化の相乗効果が期待できるのでは考え、本年度ではまず手始めに純水系でこれらの消毒技術を組み合わせた際の病原微生物の不活化特性を評価した。

## 2. 実験方法と材料

### 2. 1 実験概略

本研究では、病原微生物として大腸菌ファージ MS2 (以下、MS2 と記す) を指標微生物として選定し、塩素消毒、紫外照射実験を試みた。また塩素処理後紫外線処理、紫外線処理後塩素処理の組み合わせを変化させることで不活化特性が異なるかを評価した。また試験水はリン酸緩衝液とし、予め高濃度に培養した MS2 溶液を試験水に添加した。添加用の MS2 溶液は水質性状が変化するのを防ぐために培地成分を除いた溶液を作成し添加した。

塩素処理では塩素形態の違いによる不活化特性を把握するため遊離塩素と結合塩素の 2 種類の消毒を実施した。

### 2. 2 大腸菌ファージ MS2 の準備

宿主菌 E.coli K12F+(A/λ) のコロニー 2,3 個を大腸菌ファージ定量用培地 10ml に懸濁させ、37°C で培養。3~4 時間培養後、宿主菌液の全量を 37°C に保温しておいた大腸菌ファージ定量用培地 200ml に入れ、宿主菌数の 10~20 倍量の RNA ファージ MS2 を投入する。37°C で振とう培養しながら 3~4 時間培養。保存溶液作成のため、宿主菌体を除く必要があり、培養した液を遠心分離(12000rpm, 4°C, 20 分間)かけ、ポアサイズ 0.45 μm のフィルターでろ過する。この方法で、10<sup>10</sup>PFU/ml の RNA ファージ MS2 高濃度溶液を得ることができる。

### 2. 3 塩素消毒実験

塩素消毒実験は回分式にて下記の手順に従い実験を行った。

- 1) 試験水：滅菌済 PBS(リン酸緩衝液) に培地成分を除いた MS2 を初期濃度 10<sup>5</sup>PFU/mL 程度添加
- 2) 初期濃度 1mg/L の次亜塩素酸ナトリウム溶液を添加
- 3) 接触時間を 1~15min 程度に設定し、1 分間隔で遊離・総残留塩素濃度を測定
- 4) 設定した接触時間に達したら、チオ硫酸ナトリウム溶液を試験水に添加し、残留塩素を消失
- 5) 塩素接触後の MS2 濃度を重層寒天培地法により定量

塩素消毒の指標となる残留塩素濃度は時間の経過とともに変化するため、適宜、遊離残留塩素濃度と総残留塩素

濃度を DPD 法によりモニタリングを行った。塩素の消毒効果は残留塩素濃度と接触時間の積である CT 値で評価した。塩素接触前後の MS2 濃度は式(1)に従い、生残率を算出した<sup>2)</sup>。

$$S_t = \frac{N_t}{N_0} \quad (1)$$

S<sub>t</sub> は塩素接触時間 t における MS2 の生残率 (-)

N<sub>t</sub> は塩素接触時間 t における MS2 濃度 (PFU/mL)

N<sub>0</sub> は塩素投入前の初期 MS2 濃度 (PFU/mL) である。

### 2. 3. 1 塩素 (結合塩素) 消毒実験

2.3 で示した塩素消毒実験では、塩素の形態が遊離塩素であり、遊離塩素は消毒力が高く反応性が速いため、安定的な消毒が難しい欠点がある<sup>3)</sup>。そこで、残留性が高い結合塩素を作成し、同様の方法で結合塩素実験を行った。結合塩素は遊離塩素と比較すると消毒力は極端に弱くなるものの、試験水の水質性状に依らず、一定の濃度を安定的に確保できる利点がある<sup>3)</sup>。

通常、塩素消毒に用いられている次亜塩素酸ナトリウム溶液は、そのまま使用した場合、水質の性状により遊離塩素と結合塩素が混在した状態になる。本研究では試験水をリン酸緩衝液としているため、2.3 の実験系では結合残留塩素の生成は非常に少ない状態である。そのため、結合残留塩素を下記の手順により予め作成し実験に用いた。

次亜塩素酸ナトリウム溶液(10000ppm)と塩化アンモニウム溶液(20000ppm)を 1:1 で混合し、pH を 10 に調整し、約 30 時間反応させ、約 1000ppm の結合残留塩素を作成した。実験手順は 2.3 と同様とし、初期添加濃度を約 20mg/L に調整し、接触時間を 0~50 分とした。

### 2. 4 紫外線照射実験

図-1 に紫外線照射装置を示す。紫外線は発行長 10cm の 6W の低圧紫外線ランプ (UL0-6DQ, ウシオ電機社製) を用い上部より照射し、回分式にて行った。予め試験水に MS2 の初期濃度が約 10<sup>5</sup>PFU/mL になるように調整した溶液を滅菌シャーレ (直径 (φ) =9cm, 水深 (d) =1.15cm) に試験水約 80mL を充填し、厚さ 2mm の石英ガラスで蓋をし、マグネチックスターラーにより攪拌した。実験条件は紫外線量が 0~60mJ となるように設定した。石英ガラス表面に投入される紫外線照度は化学光量計を用いて測定し、試験水の吸光度を勘案し算出した平均紫外線照度と照射時間の積より紫外線量を算出した<sup>4)</sup>。また紫外線照射前後の MS2 濃度は、塩素消毒同様に式(1)を用い生残率を算出し不活化を評価した。

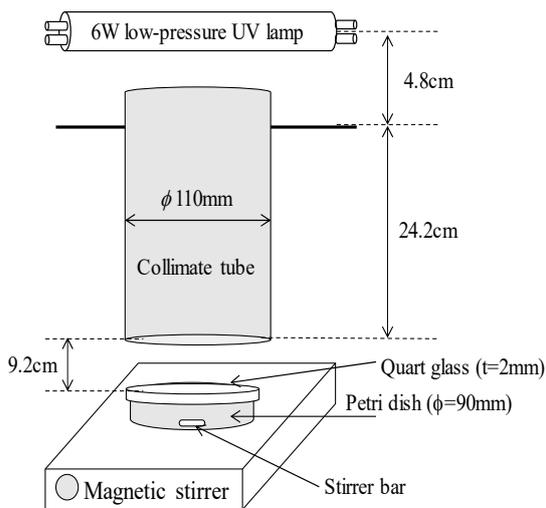


図-1 紫外線照射装置

## 2. 5 複合処理

本研究では、2.3 および 2.4 で示した、実験手順に従い、紫外線照射後に塩素消毒を実施した。複合処理においてはどちらの消毒を先に実施するかを考えた際、日本国内の上水道法では消毒の残留性を確保することから塩素消毒が義務化されている。その点を考慮して、実際の処理施設で複合処理を行う場合、紫外線照射の後段に塩素消毒するのが望ましいと考え、本研究では紫外線照射後に塩素消毒を実施した。

実験手順は、2.4 で示した手順に従い、紫外線照射後の試験水を初期濃度として、2.3 および 2.3.1 で示した塩素消毒実験に供した。

## 3. 実験結果と考察

図-2 に塩素単独処理の結果を示す。図-2 の塩素の形態は遊離塩素の状態になっているため、横軸の CT 値は遊離塩素濃度と接触時間の積とした。縦軸は塩素処理前後の生残率を対数で示した Log 生残率とした。図-2 より再現性を確認するため同一の実験を 2 回行った結果、塩素投入初期で Log 生残率が大きく異なる結果となった。その後、複数回実施したものの再現性が得られなかった。

この原因は、塩素の形態が遊離塩素となっていることで、反応性が高く、水温、pH の影響により大きく消毒力が変化するからである。試験水の pH は概ね 7 となるように設定しているが、pH が 0.1 ずれるだけで、酸・アルカリ度が 1.26 倍変動する。遊離塩素は水中での存在形態が pH により異なり、アルカリ側では次亜塩素酸イオンとなり、酸性側だと次亜塩素酸が卓越する。また消毒力も次亜塩素酸 >> 次亜塩素酸イオンとなるため、複数回の実験を行った際、試験水が同一な条件を再現することが困難であったため、

図-2 に示すような差異が生じたのではないかと考えた。

本実験より、実現場で複合処理の適用を考えた際、再現

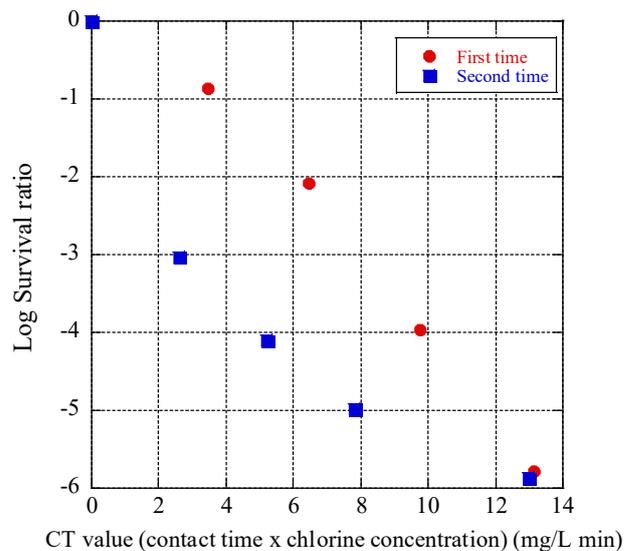


図-2 塩素単独処理における MS2 の Log 生残率

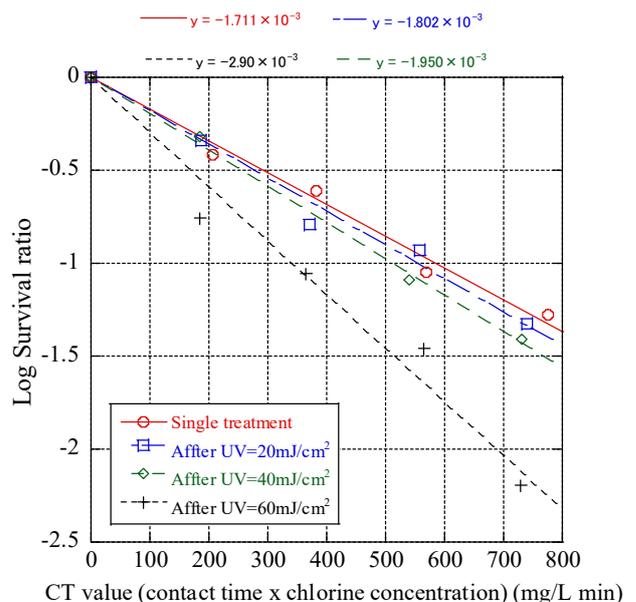


図-3 紫外線照射後における  
結合塩素消毒による MS2 の不活化特性

効果とその限界を的確に評価することが必要となるため、消毒力は著しく低下するが、塩素の安定性が増し、消毒副生成物の生成も遊離塩素より低い、塩素の形態である結合残留塩素を用いた結果を図-3 に示す。

図-3 より、紫外線照射後に結合塩素消毒を行うことで塩素消毒の効果が上昇していることが把握できた。CT 値と Log 生残率が 1 次反応に従うと仮定すると、結合塩素消毒単独処理では、不活化速度  $= 1.711 \times 10^{-3} (\text{mg/L} \cdot \text{min})^{-1}$  であったが、紫外線量  $= 20 \text{mJ/cm}^2$  照射後に塩素消毒を行うこと

で  $1.802 \times 10^{-3}(\text{mg/L} \cdot \text{min})^{-1}$ 、線量=40mJ/cm<sup>2</sup>照射後で  $1.950 \times 10^{-3}(\text{mg/L} \cdot \text{min})^{-1}$ 、60mJ/cm<sup>2</sup>照射後で  $2.90 \times 10^{-3}(\text{mg/L} \cdot \text{min})^{-1}$  と線量が大きくなるにつれ紫外線照射後の結合塩素濃度の消毒力が高まっていることが分かり、結合塩素消毒→紫外線照射を行うことで相乗効果が生じていることが把握された。図-4 に不活化速度比の比較を示す。塩素単独処理に比較して、紫外線照射後に塩素処理を行うことで、不活化速度が最大 1.5 倍以上促進した。紫外線照射により RNA が損傷した MS2 が後続の塩素処理において、より塩素の浸透性が高まり、結果として不活化が促進されたのではないかと推察された。

#### 4. 結言

本研究では、浄水・下水処理で一般的に幅広く用いられている消毒手法である、塩素および紫外線を組み合わせる複合処理における病原微生物の不活化特性を評価した結果以下の結論を得た。

- ・ 遊離塩素消毒は、水質性状の違いにより、大腸菌フェージ MS2 の不活化に対して安定した不活化が得られなかった。遊離塩素は消毒効果力が強い一方、多少の水質性状の違いにより消毒力が左右される可能性が考えられた。
- ・ 結合塩素と紫外線を組み合わせた複合処理では、紫外線照射後に結合塩素による消毒を行う事で、塩素単独処理よりも最大 1.5 倍程度、不活化が促進された。しかしながら遊離塩素単独よりも 100 倍程度消毒力が低下する傾向が確認された。

今後の展開として、より安定的かつ促進効果が望める複合処理技術を開発し、それを実現場に反映できる技術の確立を目指す必要があると考えられた。

#### 参考文献

- 1) 公益社団法人 日本下水道協会, 平成 25 年度版 下水道統計, 第 70 号, CD-R, 2015
- 2) 安井宣仁, 諏訪守, 南山瑞彦, 消毒によるウイルス不活化評価に関する調査, 土木研究所資料: No.4309 平成 26 年度下水道関係調査研究年次報告書, pp.3-9
- 3) 金子光美, 水の消毒, 財団法人日本環境整備教育センター, pp.85-90, 1997.
- 4) Rahn Ronald O., Potassium iodide as a chemical actinometer for 254nm radiation: Use of iodate as an electron scavenger, Photochemistry and Photobiology, 66(4), pp.450-455, 1997.

