



Title	塩素代替消毒法の消毒効果とその指標細菌について
Author(s)	芦立, 徳厚
Description	第2回衛生工学シンポジウム（平成6年11月10日（木）-11日（金） 北海道大学学術交流会館） . 1 計測手法 . 1-2
Citation	衛生工学シンポジウム論文集, 2, 6-11
Issue Date	1994-11-01
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/7574
Type	departmental bulletin paper
File Information	2-1-2_p6-11.pdf



1-2

塩素代替消毒法の消毒効果とその指標細菌について

芦立徳厚（函館工業高専）

1 はじめに

上水道における水源汚染の問題は日に日に深刻さを増している。その中で、人の生命・健康に影響を及ぼすあらわれの一つが塩素消毒による有害塩素化有機物副生の問題である。この問題を含め水源汚染の根本的な解決法は、清浄な水源の確保か原水の徹底浄化にあることは言うまでもない。しかし、その即時的実現は、社会的・経済的に困難であることが多い。一刻の停止も避けたいのが上水道事業であるから、この問題を抱える水道にとって次にとるべき手段は、塩素に代わる消毒剤の採用ということになる。

塩素代替消毒法としては、オゾン、二酸化塩素、紫外線などがあげられる。

本稿では、二酸化塩素、紫外線をとりあげ、それぞれの消毒特性を明らかにする。また、現行の塩素消毒はもちろん新しい消毒法が採用されたときに、消毒効果を判定するためには指標細菌の中から何を選択すべきかについても、論じてみたい。

先にも述べたように、この検討は対症療法的なところから出発しているが、このような検討をすることによって、これまで塩素一辺倒だったわが国の消毒法を見直すきっかけともなるよう積極的な展望を持って検討を進めたい。

2 塩素代替消毒法の消毒特性

2.1 二酸化塩素消毒

二酸化塩素 (ClO_2) は、主に繊維、パルプ、小麦粉の漂白剤として利用されてきたが、アメリカ、カナダ、ヨーロッパの小規模浄水場で消毒剤としてすでに使用されている。爆発の危険性があるので輸送には適さず、オンサイトで製造、使用される。塩素に亜塩素酸ナトリウムを反応させて生成する方法が一般的である。

二酸化塩素消毒については、塩素消毒と対比してその特性を検討したので以下に示したい。

消毒実験は次のような操作で行った。

二酸化塩素は、亜塩素酸ナトリウムとクエン酸・カオリン混合物をデシケータ中で一夜反応させ、発生した二酸化塩素を純水に吸収させる方法によって作製した。

滅菌済み褐色共栓300mL三角フラスコに検水を200mL採り、これに濃度既知の二酸化塩素水（あるいは次亜塩素酸ナトリウム溶液）を所定の濃度になるように加えた。密栓して混和したのち、20°Cのインキュベーター中に静置した。0, 5, 30, 60分経過後、三角フラスコから残留消毒剤濃度を測定するために100mLを別の容器に採ったのち、直ちに滅菌済み3%チオ硫酸ナトリウムを5mL加えて無毒化し細菌試験に供した。

検水としては、各種細菌をある程度含みかつ消毒剤をあまり消費しないように、市内清浄河川水に下水処理場の流入下水を5%添加したものをを用いた。

消毒特性を多面的に把握するために、次の5種類の細菌試験を行った。

- 一般細菌（SPC培地混釈平板法）
- 有機栄養細菌（R2A培地表面塗抹法）
- 大腸菌群（m-Endo培地MF法）
- ふん便性大腸菌（m-FC培地MF法）
- ふん便性連鎖球菌（m-Enterococcus培地MF法）

検水に二酸化塩素及び塩素を、それぞれ1, 2, 3ppm添加した実験結果の一部を図-1から図-2に示した。図は消毒剤との接触時間と当初の細菌数を100%とした生存率の関係で示されてい

る。図-1は、指標細菌が大腸菌群とふん便性大腸菌の結果である。二酸化塩素の場合、1ppm以外は5分後にすでに、測定範囲内で両細菌とも零であった。1ppmについても、5分後に不活化率が99.9%を超えており、二酸化塩素の消毒力の大きさを示している。塩素の場合、二酸化塩素に比べて細菌数の減少経過は緩慢である。

図-1の大腸菌群とふん便性大腸菌はともに消毒剤に耐性のない指標細菌なので、消毒剤の消毒特性を把握しづらい面がある。消毒剤耐性の大きい有機栄養細菌を指標として消毒特性を示したのが、図-2である。二酸化塩素の場合、5分までの細菌数の減少は急激であるが、その後の減少はきわめて緩慢である。また、2ppmと3ppmの間に1ppmとの間ほどの差異は見られなかった。一方、塩素の場合は減少は緩慢であるが、半対数グラフ上ではほぼ直線的に減少して行く様子が見られる。添加率が違う場合の間隔も対数的にほぼ等間隔である。接触時間60分の生存率は、1,2,3ppmそれぞれについて、二酸化塩素の場合は0.55,0.098,0.053%と塩素の12,1.6,0.35%を大幅に下回っている。60分生存率のCl₂/ClO₂比を求めると、22,16,6.6となり、同じ添加率で二酸化塩素は塩素より一桁高い不活化率を得ることができるということになる。

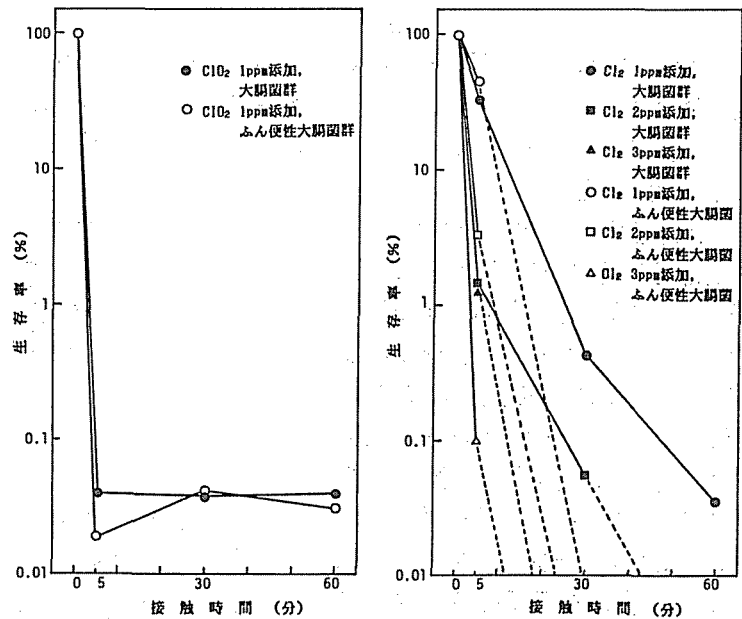


図-1 二酸化塩素と塩素の消毒経過(1)

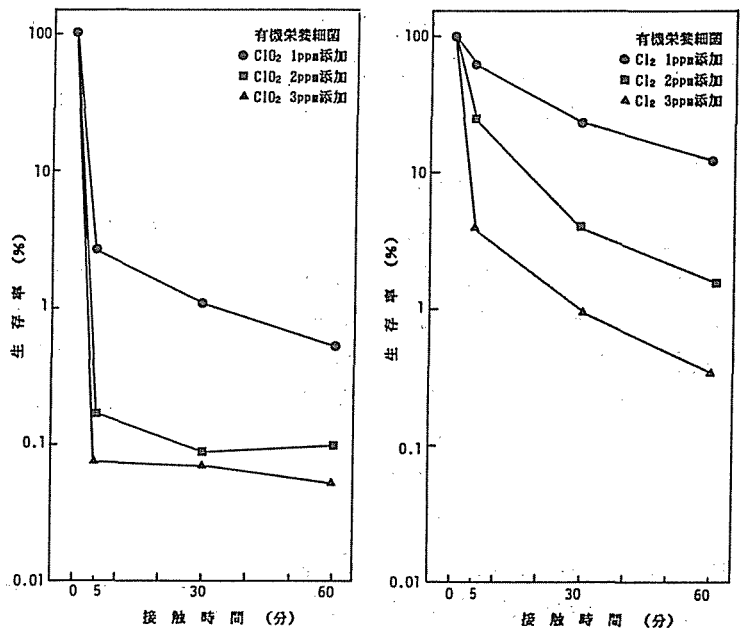


図-2 二酸化塩素と塩素の消毒経過(2)

2.2 紫外線消毒

紫外線消毒は、紫外線を吸収した核蛋白が破壊されて微生物を死滅させる作用に基づいている。核酸は260nm付近に吸収ピークを有しているので、紫外線の殺菌作用は250~265nmで最大となる。従来、室内空気や食品の消毒に用いられてきたが、塩素のような残留効果が無いことから、上水道には向いていないと考えられてきた。しかし、水源上流の下 wastewater 処理の消毒に適用して流入するTHMを削減したり、微量の後塩素と組み合わせて清浄な原水の上水道に適用するなどの利用は十分検討の価値があると思われる。

紫外線消毒の実験は、短波長紫外線照射システム XX-100 を用い、照射時間、紫外線強度、水層厚、濁度を制御因子にして実施した。細菌試験は、前節と同様に5種類について行った。検水は、2.1と同様である。濁度の影響を検討する実験だけ、検水の濁度を極力0に近づけるため、塩化マグネシウム・リン酸塩緩衝溶液に、ろ紙(No.5A)ろ過した下水処理場流入下水を5%加えて検水とした。

紫外線消毒法は、極めて短時間で処理が可能という大きな特徴を持っている。照射強度 $1600 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ と $350 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ の場合の、照射時間と各種細菌の生存率の関係を示したのが図-3である。生存率は、各時間の細菌数を当初の細菌数で除して求めた百分率の対数で示してある。図から明らかなように、有機栄養細菌を除くすべての細菌が5秒で、有機栄養細菌は10秒で99%以上不活化されている。 $350 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ という低い強度でも30秒間の照射で、すべての細菌について99%以上の不活化率が得られた。

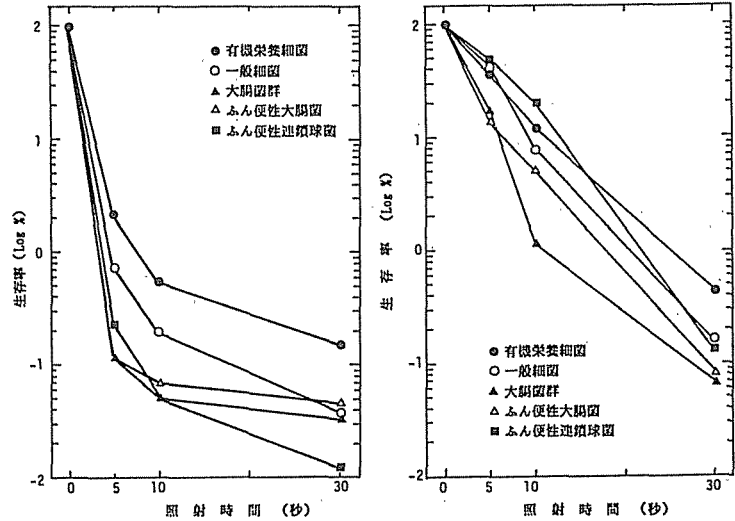


図-3 紫外線消毒の経過(1600[左], 350[右] $\mu\text{W}/\text{cm}^2$)

すなわち、二酸化塩素や塩素が、数分から数十分の接触時間を要するのに対して、紫外線消毒は秒単位の処理で十分ということになる。紫外線消毒では、照射量(紫外線強度×照射時間 [$\mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$])で制御可能といわれているが、同一の不活化率を得るための照射量が細菌毎に一定の値になるか検討してみた。99%の不活化率を得るための照射量を以下に示す。括弧内の前者が照射強度 $1600 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ の場合で、後者が $350 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ の場合である。

- | | |
|-----------------------|----------------------|
| 有機栄養細菌 (12500, 8800) | 一般細菌 (7400, 7200) |
| 大腸菌群 (5400, 3800) | ぶん便性大腸菌 (5400, 6200) |
| ぶん便性連鎖球菌 (5900, 7600) | |

この2回の実験は時期も異なり('93.10.28, '93.11.11)、検水に用いた河川水や流入下水も異なっている事を考慮すると両者はよく一致しているということがいえる。

紫外線強度の影響については、強度を増すほど不活化率も増加してゆくが、その傾向は $800 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ 前後で頭打ちとなりそれ以上の紫外線強度は効果的でないという結果になった。

検水の水層厚の影響については、一定の紫外線強度と照射時間のもとで、水層厚を1, 2, 5, 10cmに変えて実験を行った。図-4に結果を示したが、水層厚1cmのときにいずれの細菌も不活化率が最低とな

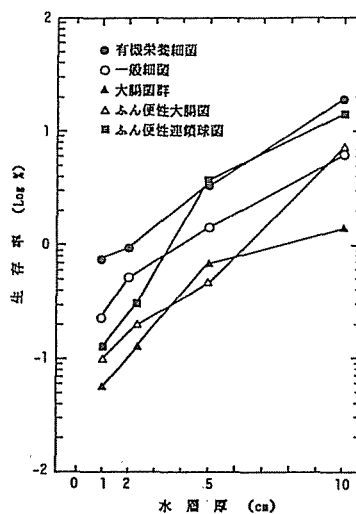


図-4 水層厚の影響

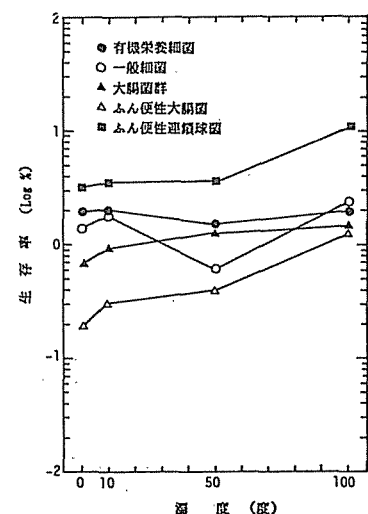


図-5 濁度の影響

り、水層厚が増すほど不活化率が低下した。また、水層厚と生存率の関係は半対数グラフ上でほぼ直線となった。

濁度の影響については、検水にカオリンを0, 10, 50, 100ppm添加して実験を行った。その結果(図-5)、50ppm以下のカオリン添加率では無添加の生存率とほとんど差が認められなかった。このことは、当実験のような細菌と濁質が分離して存在している場合、紫外線の遮蔽効果があまり大きくない事を示している。

3 消毒効果指標細菌の選択

3.1 消毒剤耐性腸内細菌の検索

すでに述べたように、ふん便性大腸菌や大腸菌群は二酸化塩素耐性がきわめて低い。そこでまず、腸内細菌の中に二酸化塩素耐性菌種がないか検討してみた。

二酸化塩素、塩素各1.0ppmに60分接触させた検水(清浄河川水に下水処理場の流入下水を少量添加したもの)をm-Endo培地に接種し、出現したコロニーを無作為に釣菌した。これをデスオキシコレイト培地で画線培養し、独立コロニーを斜面標準寒天培地に移植した。斜面寒天培地上で増殖した菌体を5mL滅菌生理食塩水(0.85%)に懸濁し、腸内細菌分類システム(API 20E)の菌液とした。

消毒剤添加前後の腸内細菌の分類結果を表-1に示した。添加前の検水では *Escherichia coli* が半数以上を占めた。検水中の細菌の供給源は主として家庭下水なのでこの結果は妥当なものと考えられる。二酸化塩素添加後は、*E. coli* は1例しか検出されず、*Klebsiella oxytoca* 等の *Klebsiella* 属と非腸内細菌の *Aeromonas* が多く検出された。一方塩素消毒では、*E. coli* は全く検出されず、二酸化塩素以上に *Klebsiella* 属が多く検出された。この結果から、*E. coli* は両消毒剤にきわめて弱いこと、腸内細菌の中では *Klebsiella* 属が強い消毒剤耐性を有していることが明らかになった。以上の結果をもとに *Klebsiella* も試験項目に加えて行った消毒実験

表-1 消毒による菌種構成の変化

	検水	ClO ₂ 添加後	Cl ₂ 添加後
<i>Escherichia coli</i>	7	1	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	-	1
<i>Citrobacter freundii</i>	2	-	1
<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	4	3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	3
<i>Klebsiella sp.</i>	-	1	1
<i>Aeromonas hydrophila</i>	2	4	2
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> var. <i>anitratus</i>	-	2	1
unidentified	1	-	1
	12	12	12

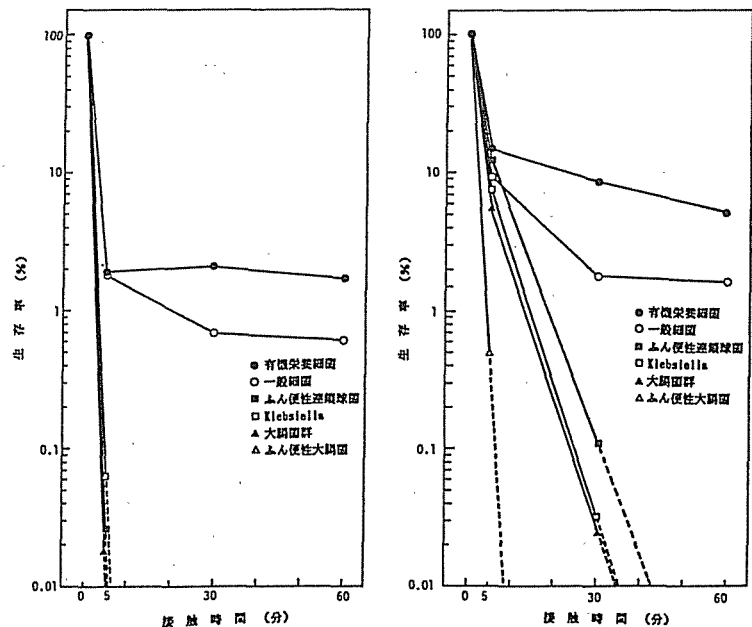


図-6 各指標細菌の消毒経過 (ClO₂[左], Cl₂[右])

の結果の一例（両消毒剤とも2ppm添加）を図-6に示した。いずれの消毒剤でも、*Klebsiella*は大腸菌群やふん便性大腸菌を上回る生存率を示したが、その差は僅かなものに留まった。結局、両消毒剤に対する生存率の推移は、汚染指標細菌のグループと生菌数指標細菌のグループに大きく分かれ、前者の消毒剤耐性は低く後者は高いという結果になった。

この結果は、消毒剤耐性の高い病原微生物が消毒工程まで到達する可能性のある浄水場において、大腸菌群を代表とする汚染指標細菌グループだけで消毒効果を判定するのはきわめて危険であるということを物語っている。

3.2 消毒効果指標細菌の提案

各種の消毒法に対して強い耐性のある病原微生物の存在が明らかになってきているので、消毒効果を判定する指標細菌はこれら病原微生物の不在を証明するものでなければならない。3.1でふれたように、従来消毒効果の判定によく用いられてきた大腸菌群は、これら消毒剤にきわめて弱く、大腸菌群の不在が病原微生物の不在を必ずしも保証しないことが明らかになっている。この間の事情をさらに明確に示したのが図-7である。当図は塩素と二酸化塩素の消毒経過を、消毒剤耐性の高い有機栄養細菌の生存率を基軸にそのときの大腸菌群の生存率と比較したものである。接触時間 5、30、60分後の生存率を直線で結んでいる。両者の生存率が同一の経過をたどれば、直線は図中の点線上にのることになる。直線が点線の下側に位置すれば、有機栄養細菌より消毒剤耐性が低く、上側にすれば耐性が高いということになる。図から明らかのように、大腸菌群の生存率は点線を大幅に下回ったところに位置している。塩素1ppm添加60分後の例でみると、有機栄養細菌の不活化率90%に対して、大腸菌群のそれは実に99.99%に達している。添加濃度が増す程点線に近づく傾向が塩素については顕著に、二酸化塩素についても若干みられる。これは、水中におけるそれぞれの細菌の存在形態が影響しているものと思われる。同様の検討を一般細菌生存率との間で行った結果を図-8に示した。塩素、二酸化塩素とも1ppm添加は点線を下回っているが大腸菌群の場合よりもかなり点線に近接している。2ppm以上の添加は点線上かそれをかなり上回る結果となった。大腸菌群の場合と同様、添加濃度が増すほど直線が上部に移行する傾向が認められる。

紫外線消毒について、同じような検討を行った結果を図-9に示した。大腸菌群の場合、塩素や二酸化塩素の結果と同様に点線を下回っているが、消毒剤の場合ほど点線から離れなかった。一般細菌の場合、点線を若干下回るものの、両者の生存率はほぼ同一の経過をたどるといってよい。また、両者に共通していることは、生存率の時間的経過は当然異なるものの、紫外線強度が異なっても大腸菌群、一般細菌とも有機栄養細菌との生存率関係の推移にあまり差異が無いということである。これは、紫外線消毒が、（紫外線強度×照射時間）で制御できることの一つの現われとみることができる。図-10は、紫外線強度の影響を調べた実験の結果をこれまでの図と同様に整理したものである。ここでも、大腸菌群は点線を大きく下回り、一般細菌はほぼ点線上に位置して

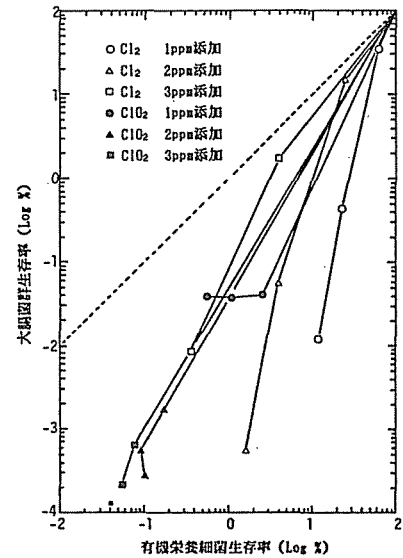


図-7 生存率の相互関係の推移（大腸菌群）

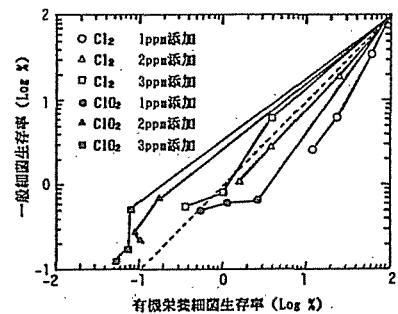


図-8 生存率の相互関係の推移（一般細菌）

いる。

以上の結果から、塩素、二酸化塩素、紫外線に共通して、大腸菌群の耐性がきわめて低いことが明らかになった。これは、大腸菌群が不在ないしはある数以下であっても、病原微生物が不在とは限らない事を意味している。総合的には有機栄養細菌が最も耐性が高いが、この指標細菌は、培養期間が長く、培地作成に細心の注意を要するなどの欠点がある。これまでの検討で一般細菌は有機栄養細菌に迫る生存率推移を示しており、消毒効果の指標細菌として大腸菌群より数段優れている。一般細菌は有機栄養細菌より一桁近く少ない（当然生存数も少なくなる）という欠点はあるが、これまで飲用水試験で大腸菌群とともに汎用されていることは大きな長所である。一般細菌を消毒効果指標細菌として見直し、消毒直後の飲料水管理に積極的に利用すべきであろう。その場合、病原微生物不在の安全レベルが一般細菌数でいくらとなるかを見出すことが必要で今後の検討課題といえよう。

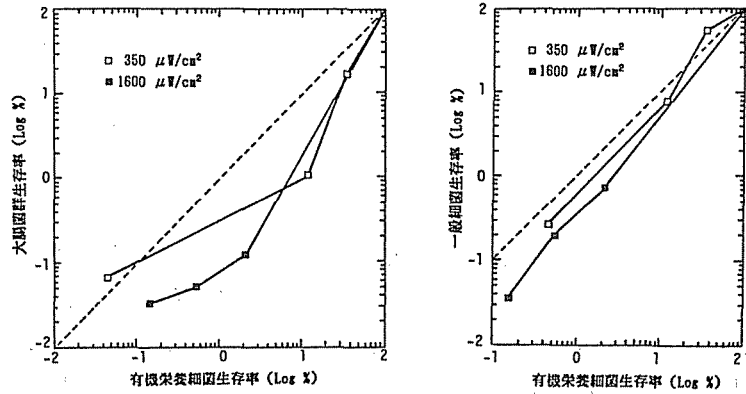


図-9 紫外線消毒生存率の相互関係の推移
(大腸菌群[左], 一般細菌[右])

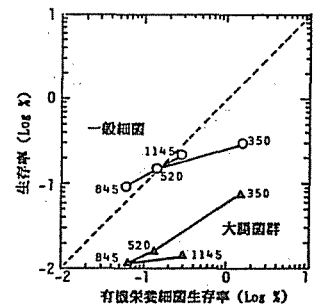


図-10 生存率の相互関係と紫外線強度

4 おわりに

二酸化塩素消毒は、消毒効果の面では塩素を上回り、本稿ではふれなかったが残留効果も期待することができる。THM類のような塩素化副生成物もほとんど生成されないことが知られている。しかし、二酸化塩素そのものやその生成物である亜塩素酸イオン等が水中に高濃度に残留することは好ましくないといわれており、使用に際しては正確・慎重な濃度管理が必要である。

紫外線消毒は、きわめて短時間に微生物を不活化できる優れた消毒法であることが明らかになった。加えて、有害副生成物の心配が少ないこと、薬剤の取扱作業や貯留・添加施設等が不要となること（残留塩素確保のための小規模施設は必要）、維持管理の容易な装置が開発されてきていることなど多くの利点がある。したがって、さきにもふれたように、水源上流の下廃水処理の消毒に適用して流入するTHMを削減したり、微量の後塩素と組み合わせることで清浄な原水の上水道に適用するなどの利用は十分現実的な価値があると思われる。

【参考文献】

- 1) Grabow, W.O.K. et al: Inactivation of hepatitis A virus, other enteric viruses and indicator organisms in water by chlorination. *Water Science and Technology*, 17, 657(1984)
- 2) 芦立徳厚他: 第48回土木学会年次学術講演会概要集, II, 904(1993)
- 3) 芦立徳厚他: 第49回土木学会年次学術講演会概要集, II B, 972(1994)