

## 1. はじめに

今日、上水や下水の殺菌剤として塩素が最も一般的に使用されている。ところが、水中の有機化合物との反応によるTHMsの生成のほか、下水処理水中に残存する塩素が、放流水域の水生生物に及ぼす毒性作用についての指摘も多く、主に米国を中心として、塩素に代わる殺菌剤に関する検討が進められている。疫学からは、鉄(III)酸カリウム( $K_2FeO_4$ )を対象として、殺菌剤としての特性や、殺菌効果に影響を及ぼす因子に関する検討が続けているが、これまでに、試水のpHの調整方法や、用いた緩衝溶液の濃度が $K_2FeO_4$ の殺菌効果の発現と極めて重要な関係にあることを見出した。ところが、塩素の場合には $KCl$ や $NaCl$ が数種のウイルスの不活化に影響を及ぼすとの報告はあるものの、pHの調整方法や実験に用いる緩衝溶液の濃度がどの程度殺菌効果に影響するかを検討した例はみあたらない。そこで今回、大腸菌を対象として、 $K_2FeO_4$ および塩素による殺菌実験を行なった。

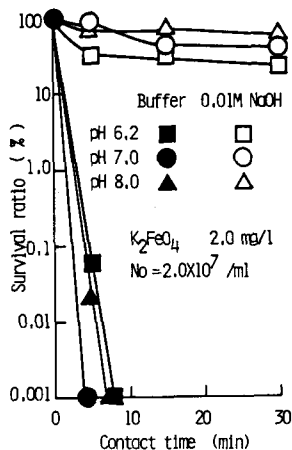
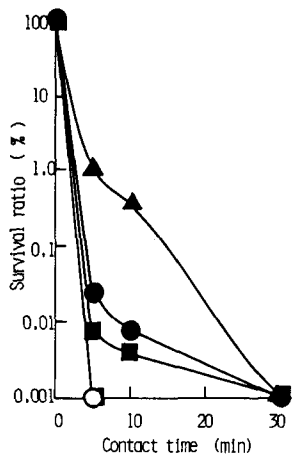
## 2. 実験方法

試薬の調整や実験においては、脱イオンー蒸留水に $KMnO_4$ を加えて再蒸留した水(精製水)を使用した。 $K_2FeO_4$ (純度94.5%)は、Schreyerらの方法により合成し、クロム法で純度を測定した。

普通寒天培地上で、37°C、24時間培養した*Escherichia coli* K-12株を、滅菌した精製水中に懸濁させて大腸菌懸濁液を作成し、この一定量を100ml容三角フラスコ内のSprensenリン酸塩緩衝溶液中あるいは、あらかじめ $M/100$  NaOH溶液でpHを調整しておいた精製水中に所定の菌数(約 $1 \times 10^7$ 個/ml)となるよう加えて、その生菌数を測定した。つぎに、これに実験直前に作成しておいた $K_2FeO_4$ 溶液(198.0 mg/l,  $1.0 \times 10^{-3} M$ )、あるいは次亜塩素酸ナトリウム溶液(市販品を適当な濃度となるように希釈して、O-トリジン法にて有効塩素濃度を測定したもの)を所定の濃度となるよう添加し、全量を100mlとした。一定時間後、よく攪拌して試水を取り、EMB培地を用いた平板培養法(37°Cにて48時間培養)で残存菌数を測定した。また必ずブランク実験を行なって、 $K_2FeO_4$ または次亜塩素酸ナトリウム溶液を添加しなければ、生菌数に変化のないことを確かめた。

## 3. 結果と考察

まず、 $M/15$ リン酸塩緩衝溶液、ならびに希アルカリでpHを調整しておいた精製水中に、 $K_2FeO_4$ あるいは次亜塩素酸ナトリウム溶液を添加して、時間の経過にともなう残存菌数の変化を調べた。 $K_2FeO_4$ の場合には(Fig. 1)、pH 6.2~8.0の範囲内ではpHが異なっても殺菌効果に著しい差は見られない。 $M/5$ リン酸塩緩衝溶液中では5分で $10^{-3}\%$ 以下の生存率となるのに対し、緩衝効果

Fig. 1 Disinfection of *E. coli* by  $K_2FeO_4$ Fig. 2 Disinfection of *E. coli* by chlorine

のない精製水中では、30分後でも50%以上の生存率が確認された。一方、 $2.0 \times 10^7$ 個/mlの大腸菌懸濁液に次亜塩素酸ナトリウムを加えて、有効塩素濃度を0.3~0.5 mg/lとした場合には (Fig. 2)、精製水中では pH にかかわりなく、添加後5分で生存率は $10^{-3}$ %以下と強力な殺菌効果を示した。M/15 リン酸塩緩衝液中では、 $10^{-3}$ %以下の生存率とするには30分ほどの接触時間を必要とした。また、緩衝液中では、 $\text{HOCl}$ と $\text{OCl}^-$ との関係により、pHが高くなるほど殺菌効果が弱くなる塩素殺菌の特徴が確認された。なお、実験前後の pH の測定を行なうて、pH を調整した精製水の場合でも pH は $\pm 0.1$ 程度の変動にとどまっていることを確認している。

つぎに、リン酸塩緩衝液の濃度を変えて殺菌実験を行なった。Table 1 に示したように、 $\text{K}_2\text{FeO}_4$  の場合には、緩衝液の濃度が低下するに伴って殺菌効果は著しく低下している。ところが、塩素の場合には、リン酸塩緩衝液の濃度が $1.3 \times 10^{-3}\text{M}$ 以上では20~45%程度の生存率を示しているが、 $6.7 \times 10^{-4}\text{M}$ にまで希釈すると有効塩素濃度が0.11 mg/l でも、 $10^{-3}$ %以下の強力な殺菌効果が認められた。この結果は、緩衝作用を持たない精製水中で、塩素はより強力な殺菌効果を示すという先の結果 (Fig. 2) と裏付けている。このように、 $\text{K}_2\text{FeO}_4$  の場合と同様に、塩素の場合も実験に用いる試水の緩衝作用の有無、強弱、あるいは緩衝液中のリン酸塩の濃度により、殺菌効果が異なることが明らかとなった。また、緩衝液の濃度の増減に伴う殺菌効果の変化の様子は、 $\text{K}_2\text{FeO}_4$  と塩素とは相反する傾向にあることも明らかとなった。

ここで、M/15 リン酸塩緩衝液中ならびに pH を調整した精製水中における、 $\text{K}_2\text{FeO}_4$  と塩素との殺菌効果の強さを比較するために、それぞれの添加濃度と $1.0 \times 10^7$ 個の大腸菌に対するモル数で整理した結果が Table 2 である。 $\text{K}_2\text{FeO}_4$  と塩素とは初期の生菌数に対する薬剤添加量に著しい差がないとみて、生存率と比べてみると、M/15 リン酸塩緩衝液中では、 $\text{K}_2\text{FeO}_4$  の方が塩素に比べてより短時間で強い殺菌効果を示している。ところが、pH を調整した精製水中では、塩素の方がはるかに強力な殺菌剤であることは明らかである。

今回の実験で得られた結果は、それぞれの殺菌剤の殺菌機構と深い関連を持つと考えられ興味深い。また別に、Table 2 は、異なる殺菌剤どうしの比較を行なう場合、それぞれの殺菌剤の特性や、実験条件による殺菌効果の差異を十分把握しておく必要のあることと示唆している一例とみることもできよう。

<参考文献>

1) J.B.Coulter, NTIS PBrep. PB-83-263848 (1983)      2) 加藤, 風岡 水処理技術 22(1) 9 (1984)  
 3) J.C.Hoff & E.E.Geldrich, J.Am.Wat.Wks Ass. 73 (1) 40 (1981)  
 4) J.M.Schreyer, L.T.Ockerman & G.W.Tompson, Inorg. Synth. 4, 164, (1953)

Table 1 Effects of concentration of phosphate buffer solution on disinfection of *E.coli* by  $\text{K}_2\text{FeO}_4$  or chlorine

( pH  $7.0 \pm 0.1$ , contact time 30 min )

| Concentration of phosphate<br>buffer solution<br>( M ) | Survival ratio ( % )                                              |                                                         |
|--------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
|                                                        | $\text{K}_2\text{FeO}_4$<br>2.0 mg/l<br>No= $1.0 \times 10^7$ /ml | Free chlorine<br>0.11 mg/l<br>No= $1.7 \times 10^7$ /ml |
| $6.7 \times 10^{-2}$                                   | N.D                                                               | 45.0                                                    |
| $3.3 \times 10^{-3}$                                   | N.D                                                               | 45.3                                                    |
| $6.7 \times 10^{-3}$                                   | 0.08                                                              | 25.0                                                    |
| $1.3 \times 10^{-3}$                                   | 45.0                                                              | 20.0                                                    |
| $6.7 \times 10^{-4}$                                   | —                                                                 | N.D                                                     |

No: Initial density of *E.coli* (cells/ml)  
 N.D  $\leq 0.001\%$

Table 2 Comparison of disinfection of *E.coli* by  $\text{K}_2\text{FeO}_4$  and chlorine ( pH  $7.0 \pm 0.1$  )

|                                                 | Initial density<br>of <i>E.coli</i><br>(celles/ml) | Dose              |                      | Survival ratio                                |                       |
|-------------------------------------------------|----------------------------------------------------|-------------------|----------------------|-----------------------------------------------|-----------------------|
|                                                 |                                                    | (mg/l)            | (mol/l)              | $\frac{\mu \text{ mol}}{10^7 \text{ celles}}$ | Contact<br>time (min) |
| M/15 phosphate buffer                           |                                                    |                   |                      |                                               |                       |
| $\text{K}_2\text{FeO}_4$                        | $2.0 \times 10^7$                                  | 10.0              | $5.0 \times 10^{-6}$ | $2.5 \times 10^{-3}$                          | N.D ( 5 )             |
| Free chlorine                                   | $3.9 \times 10^7$                                  | 0.23              | $6.5 \times 10^{-6}$ | $1.7 \times 10^{-3}$                          | 0.25 ( 30 )           |
|                                                 |                                                    | 0.44              | $1.2 \times 10^{-5}$ | $3.2 \times 10^{-3}$                          | 0.01 ( 30 )           |
|                                                 |                                                    | $2.0 \times 10^7$ | 0.34                 | $9.6 \times 10^{-6}$                          | $4.8 \times 10^{-3}$  |
| Purified Water ( pH controlled with 0.01M NaOH) |                                                    |                   |                      |                                               |                       |
| $\text{K}_2\text{FeO}_4$                        | $1.2 \times 10^7$                                  | 20.0              | $1.0 \times 10^{-5}$ | $8.3 \times 10^{-3}$                          | 45.0 ( 30 )           |
| Free chlorine                                   | $2.0 \times 10^7$                                  | 0.40              | $1.1 \times 10^{-5}$ | $5.6 \times 10^{-3}$                          | N.D ( 5 )             |

N.D  $\leq 0.001\%$