

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 4 月 5 日現在

機関番号：15501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24710078

研究課題名(和文)鉄粉による大腸菌の殺菌・不活化：フェントン反応の律速段階に着目した効果の促進

研究課題名(英文)Bacteria Disinfection and Inactivation Using Zero-valent Iron, Lemon Juice, and Sunlight

研究代表者

鈴木 祐麻 (SUZUKI, Tasuma)

山口大学・理工学研究科・助教

研究者番号：00577489

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円、(間接経費) 720,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、大腸菌と大腸菌群を対象汚染物質として選定し、微量の鉄粉およびレモン汁を処理原水に添加することで太陽光殺菌(Solar Disinfection, 通称SODISと呼ばれる)の効果を高めることができることを提案・実証することである。種々のバッチ実験および実証実験の結果、鉄粉、レモン汁、そして太陽光を組み合わせることにより、フェントン反応と類似した反応プロセスがペットボトル内で連続的に進行し、その結果、OHラジカルなどの活性酸素種やフェリルイオンなどの効率的な生成を通してSODIS効果を促進することができた。

研究成果の概要(英文)：The objective of this study was to investigate the inactivation/disinfection efficiencies of E.coli and coliforms during the solar disinfection (SODIS) process with the presence of zero-valent iron and/or citric acid. The experimental results from a series of batch experiments showed that a treatment with neither sole UV-A (365 nm wavelength), zero-valent iron, nor citric acid effectively decreased the fraction of viable E.coli and coliforms under the experimental conditions investigated in this study. However, the simultaneous addition of zero-valent iron and citric acid during the UV-A illumination effectively decreased the fraction of viable E.coli and coliforms, meaning the co-existence of these three are required to effectively produce oxidants such as hydroxyl radical and ferryl ion. It was also demonstrated through field experiments that the technology proposed in this study can be easily implemented in our daily life using lemon juice rich in citric acid.

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：環境学 環境技術・環境材料

キーワード：細菌の殺菌・不活化 太陽光殺菌 鉄粉 クエン酸 フォトフェントン反応

1. 研究開始当初の背景

(1)2011年に発生した東北地方太平洋沖地震ではインフラ設備も大きな損傷を受け、震災直後における安全な飲み水の確保が大きな問題となった。近い将来に関東地方や東海地方を襲うと予想されている大地震の直後には、再びこのような飲み水不足の状況に陥ることが大いに予想される。よって、震災時における緊急の上水処理手段として、薬品を用いることなく簡易に汚染物質を処理することが可能な技術を構築しておくことは社会的にも大きな意義がある。

(2)薬品を用いることなく病原性微生物およびウイルスを処理する方法としては、途上国で幅広く用いられている太陽光殺菌 (Solar Disinfection, 通称 SODIS と呼ばれる) が挙げられる。SODIS は、処理原水が入ったペットボトルをアルミ板などの反射板やトタン屋根の上に載せ、太陽光に晒すことで太陽光に含まれる紫外線や温度上昇により病原性微生物およびウイルスを処理する方法である。しかし、従来の SODIS では6時間もの長時間ペットボトルを太陽光に晒しておく必要があり、迅速な病原性微生物およびウイルスの処理ができないという問題点が指摘されている。さらに、近年日本で普及しているペットボトルは、紫外線による製品の劣化を防ぐために、細菌に対して強い不活化効果を示す UV-C (200 - 280 nm の短波長紫外線) が透過しないような材質で作られていることが多い。このことは、ペットボトルに入れた河川水・湖水を太陽光に晒しても、紫外線単独による不活化効果はあまり期待できないことを意味している。よって、日本にて SODIS を適用するためには、ペットボトルを透過する UV-A (315 - 380 nm の長波長紫外線) と我々の身近に存在するもの (震災直後でも比較的容易に入手可能なもの) を上手く組み合わせることで、効果的に病原性微生物およびウイルスを処理することができる条件を作り出す必要がある。

2. 研究の目的

(1)本研究の目的は、大腸菌と大腸菌群を対象汚染物質として選定し、微量の鉄粉およびレモン汁を処理原水に添加することで SODIS の効果を高めることができることを提案・実証することである。鉄粉およびレモン汁を添加することにより SODIS の効果が高まると期待できる理由は二つある。まず一つ目の理由は、鉄および二価鉄イオンに殺菌効果があることは広く知られており、従来の SODIS の効果に加えて鉄あるいは二価鉄イオンによる殺菌効果が得られることである。

(2)二つ目の理由としては、レモン汁に豊富に含まれているクエン酸は三価鉄イオンと

非常に高い光還元性を示す錯体を形成するため、太陽光に晒すことでフェントン反応の律速段階となっている三価鉄イオンから二価鉄イオンへの還元反応を促進することができる。つまり、鉄粉、レモン汁、そして太陽光を組み合わせることにより、フェントン反応と類似した反応プロセスがペットボトル内で連続的に進行し、その結果、OH ラジカルなどの活性酸素種やフェリルイオン (ferryl ion, 四価鉄イオン) の効率的な生成を通して SODIS 効果の促進が期待できる。このような背景を踏まえ、処理条件が制御されたバッチ実験および実際の震災直後の状況を想定した実証実験を行った結果、本技術の有効性が実証されたのでその結果を報告する。

3. 研究の方法

(1)本研究で用いた処理原水は、山口県宇部市に位置する常盤湖の湖水に下水処理場からの放出水に含まれる細菌を添加することで人工的に作成した。大腸菌および大腸菌群は CHROMagar™ ECC 培地を用いてコロニーカウント法によって定量した。

(2)バッチ実験は、254 nm と 365 nm の波長を選択できる波長切り替え UV ランプを搭載した UV ランプビューイングキャビネットを用いて室温 (24±1℃) で行った。ガラス製フラットシャーレに前処理を施した処理原水を 60 ml (高さとして約 1cm) 加え、フロート攪拌子を用いてゆっくりと攪拌しながら、鉄粉およびクエン酸ストック溶液 (42 g/L) をそれぞれ 1 g/L および 10 mg/L となるように添加すると同時に紫外線の照射を開始した。そして、あらかじめ決められた照射時間後に大腸菌と大腸菌群の生存率を測定した。

(3)実証実験もバッチ試験と同様に、デニムジーンズを用いて濾過することで粒子状物質を除去した処理原水を用いて行った。飲料用の 500 ml ペットボトルに 500 ml の前処理 (ジーンズによるろ過) 済みの処理原水を入れ、鉄粉とレモン汁を添加した後にそのペットボトルを内部が黒色の金属製半円筒の中に置いて太陽光に晒した (図 1)。本実証実験



図 1 実証実験の様子

で用いたペットボトルは、UV-A (315 – 380 nm の長波長紫外線) は高い割合で透過するものの、強い不活化効果がある UV-C (200 – 280 nm の短波長紫外線) に関しては全く透過しない材質が使われているものである。レモン汁は一般のスーパーで購入したレモンを絞った液をそのまま使用した。レモン汁の pH は 2.17 であり、イオンクロマトグラフを用いてレモン汁の中に含まれるクエン酸の濃度を定量した結果、クエン酸濃度は 42 g/L であった。実証実験中は地表面から 1m 離れた場所の気温、ペットボトル内の水温、そして波長 365 nm の紫外線強度 (ペットボトルを透過する前) をモニタリングし、さらに照度をデジタル照度計で随時測定した。

4. 研究成果

(1)波長 254nm および 365nm の紫外線、鉄粉、そしてクエン酸が大腸菌と大腸菌群の処理効率に及ぼす影響を評価することを目的として、種々の処理条件でバッチ実験を行った。まず、図 2(a)には、波長 254nm あるいは 365nm の紫外線による処理を検討した結果を示す。波長 254nm の紫外線を用いた場合は、比較的少ない 7.2 mJ/cm² の積算照射量 (強度 0.24 mW/cm² で照射時間 30 秒) で約 99 %の大腸菌および大腸菌群が不活化されているのに対して、波長 365nm の紫外線の場合は 594 mJ/cm² の積算照射量 (強度 0.165 mW/cm² で照射時間 60 分) でも不活化効果が非常に小さいことが分かる。また、図 2(b)に示すように、鉄粉 (1 g/L) あるいはクエン酸 (10 mg/L となるように添加) を処理原水に添加し (紫外線は照射せず)、60 分後に大腸菌および大腸菌群の生存率を測定した結果、どちらの場合も生存率の大幅な減少は得られなかった。これらのことは、ペットボトルを透過する UV-A に分類される 365nm の紫外線では殺菌の不活化効果はほとんど期待できないこと、そして鉄粉およびクエン酸の単独使用についても、今回の実験で使用した濃度では殺菌効果はほぼ無いことを意味している。次に、波長 365nm の紫外線、鉄粉 (1 g/L)、そしてクエン酸 (10 mg/L) を組み合わせた条件で処理した結果を図 3 に示す。波長 365nm の紫外線と

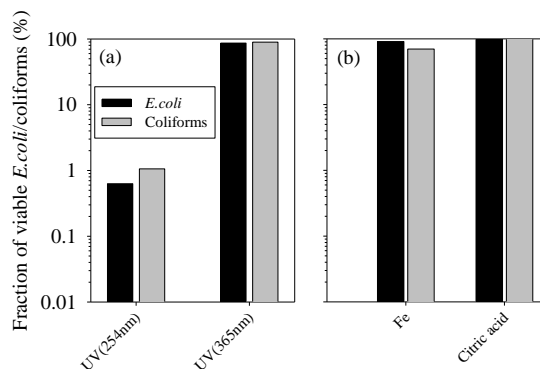


図 2 紫外線、鉄、クエン酸を単独で使用した際の大腸菌と大腸菌群の処理効率

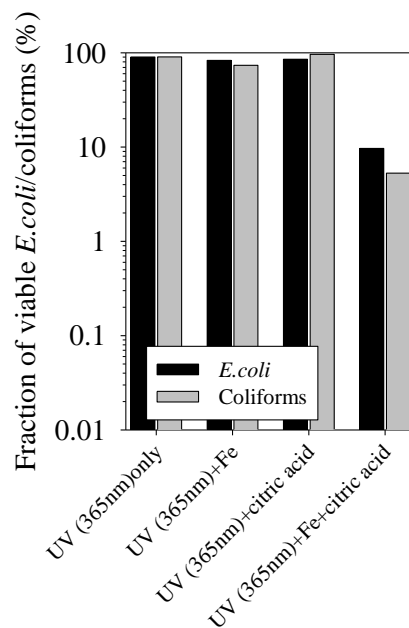


図 3 紫外線、鉄、クエン酸を組み合わせ使用した際の大腸菌と大腸菌群の処理効率

鉄粉、あるいは波長 365nm の紫外線とクエン酸を組み合わせた場合は、波長 365nm の紫外線単独で処理を行った場合と同様に大腸菌および大腸菌群の効果的な処理ができないのに対して、波長 365nm の紫外線、鉄粉、そしてクエン酸の 3 つを組み合わせた場合は 60 分 (積算照射量 594 mJ/cm² に相当) で 90 %以上の処理効率を得られた。この理由としては二つ考えられる。まず一つ目は、微量ではあるが pH1.85 のクエン酸溶液を添加することで処理原水の pH が低下し、鉄粉から微量の二価鉄イオンが溶出し、二価鉄イオンと溶存酸素などの反応過程で生成した活性酸素種や四価鉄イオン (フェリルイオン) により大腸菌および大腸菌群が殺菌されるプロセスの促進である。そして二つ目の理由は、三価鉄イオンから二価鉄イオンへの光還元反応の促進である。三価鉄イオンはクエン酸と光還元性が非常に高い錯体を形成する。よって、波長 365nm の紫外線によって三価鉄イオンから二価鉄イオンへの光還元反応が促進され、その結果、活性酸素種や四価鉄イオンの生成が促進されたと考えられる。

(2)処理原水に鉄粉とクエン酸を加える際の順序が処理効率に与える影響を検討した結果を図 4 に示す。鉄粉とクエン酸を別々に処理原水に加えた場合に比べ、原液 1 ml の中に鉄粉およびクエン酸溶液を同時に添加し、1 分後にその混合液を処理原水に加えてから波長 365nm の紫外線を照射した場合の方が高い処理効率を得られることが分かる。この要因としては、フミン質を含む溶存有機物質や炭酸水素イオンなどに起因する酸緩衝能力を有した大量の処理原水に微量のクエン酸を添加しても、pH の効果的な低下、そし

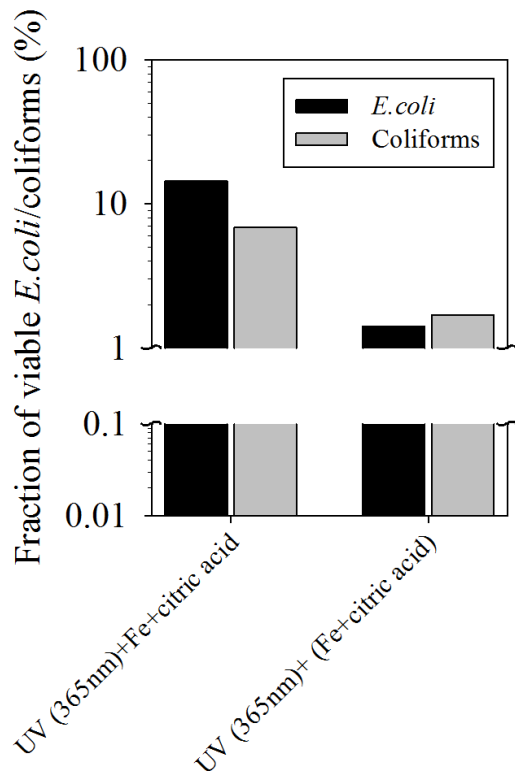


図4 処理原水に鉄粉とクエン酸を加える際の順序が処理効率に与える影響

てそれに伴う二価鉄イオンの効果的な溶出が起こらないのに対して、鉄粉とクエン酸溶液を少量の処理原液と最初に混ぜてからこれらの混合液を処理原水に加えたことにより、鉄粉がより長い時間酸性条件下に晒され、その結果、より多くの二価鉄イオンが溶出したことが考えられる。実際、処理水中に含まれる二価鉄イオンの濃度は、鉄粉とクエン酸を別々に処理原水に加えた場合は 0.098 mgFe/L であったのに対して、原液 0.5 ml の中に鉄粉およびクエン酸溶液を添加し、1分後にこれらの混合液を処理原水に加えた場合は 0.97 mgFe/L であった。これらのバッチ実験の結果から、鉄粉およびクエン酸を処理原水に加えた後に波長 365 nm の紫外線を照射することで大腸菌および大腸菌群の効果的な処理が行えること、そして鉄粉とクエン酸溶液を少量の処理原液と最初に混ぜてからこれらの混合液を処理原水に加えることで、効果的に二価鉄イオンを溶出させ、その結果、処理効率が高まることが確認された。

(3)実証実験は快晴で風が弱い日と曇りの日の二回行った。鉄粉およびレモン汁の添加量は、 500 ml の処理原水に対してそれぞれ 0.5 g と 0.12 ml (実際に絞った場合は約4滴に相当)であり、これはクエン酸をバッチ実験と同様の 10 mg/L 加えたことに相当する。また、 0.5 g の鉄粉と 0.12 ml のレモン汁を 1 ml の処理原液と最初に混合してから処理原水に加えた。

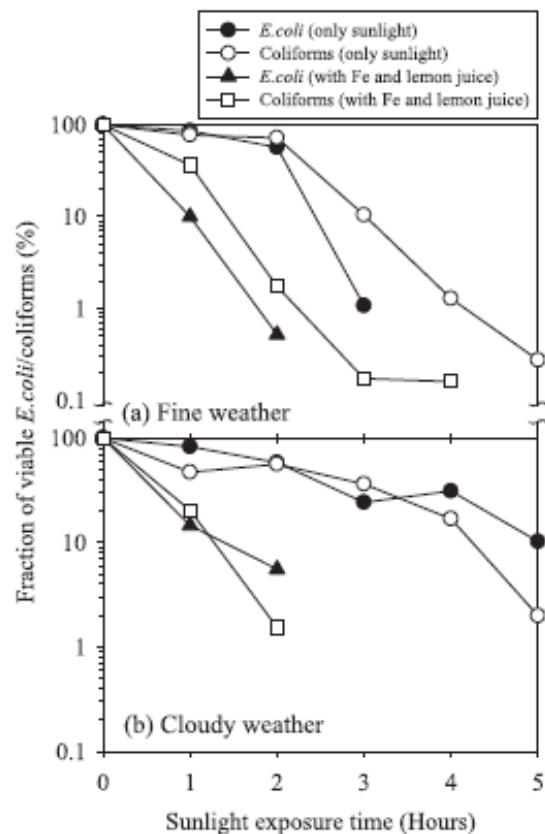


図5 晴れた日(a)と曇りの日(b)に行った実証実験の結果

(4)これらの実験で得られた大腸菌および大腸菌群の処理効果を経時変化として表現した結果を図5に示す。図5から分かるように、実験中の天候変化などを無視した大まかな計算ではあるが、鉄粉およびレモン汁を加えなかった場合と比較してこれらを加えた場合は大腸菌/大腸菌群の処理速度が2倍から5倍促進されていることが分かる。よって、微量の鉄粉とレモン汁を添加した後に太陽光に晒すことで、SODISの効果を高めることができることが実証された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

①鈴木祐麻、Noor Diyana Binti Jamil、新苗正和、鉄粉、レモン汁および太陽光による細菌の殺菌・不活化—震災直後の緊急上水処理手段としての提案—、環境資源工学、査読有、第60巻第3号、2013、138-144

6. 研究組織

(1)研究代表者

鈴木 祐麻 (SUZUKI, Tasuma)

山口大学・大学院理工学研究科・助教

研究者番号：00577489