衛生化学
THE JOURNAL OF
HYGIENIC CHEMISTRY
19 (4) 227-230 (1973)

オゾンによる殺菌剤の分解 (第1報)
Escherichia coli 増殖阻害作用の低下

中島栄子, 鈴木潤三, 鈴木静夫
東京理科大学薬学部¹⁾

Decomposition of Bactericides by Ozone. I.
Growth Inhibition Effect for *Escherichia coli*

EIKO NAKAJIMA, JYUNZOU SUZUKI
and SHIZUO SUZUKI
Faculty of Pharmaceutical Science, Science University of Tokyo¹⁾

(Received December 6, 1972)

The ozonization treatment of bactericides was examined from its growth inhibition effect on *Escherichia coli*. No remarkable decrease of the inhibition rate was observed for 2-ethylimidazole, tributyltin fumarate, and 2-hydroxy-2-phenylmercurioxy-3,5,6 : 3,5,6-hexachlorodiphenylethane. The inhibition rate of imidazole increased by ozonization treatment. In the case of dichloroisocyanuric acid, the inhibition rate increased with an increase in ozone consumption after it decreased once. The inhibition rate decreased in proportion to the amount of ozone consumed in the case of sodium 2-mercaptobenzothiazole, sodium trichlorophenate, sodium tetrachlorophenate, and eight other bactericides.

緒 言

最近, PCB などの有害性化合物や, DDT, BHC 等の殺虫剤による環境汚染が問題になっている. しかしながら農業や工業に現在も広範に使用されている農薬や殺菌剤などによる環境汚染, 特に水質汚染については, その分析の困難さも手伝って, いまだ一般には問題視されていない.²⁾

産業界では従来から, 工業用水における微生物障害の防止のために各種の殺菌剤が使用されており,³⁻⁶⁾ 使用後の排水には, これらの有毒物が相当溶存していること

が予想されるにもかかわらず何の処理もされずに, 下水や河川に放流されているのが現状である. また, 農地で農薬使用によって, 河川に流出することも考えられ, これらに対して何らかの処理をすることが必要となっている.

著者らは, 従来からフェノール処理などに利用されているオゾン⁷⁻¹⁰⁾ により酸化分解した場合, これら殺菌剤の殺菌力が, どの程度低下するかを, 現在, 汎用されている殺菌剤を中心にして試験したので報告する.

- 1) Location : Funagawara-cho, Ichigaya, Shinjuku-ku, Tokyo (東京都新宿区市ヶ谷船河原町).
- 2) 横山茂樹, 工業用水, **38**, 17 (1961).
- 3) 飯塚 広, 工業用水, **83**, 50 (1965).
- 4) 鈴木静夫, 中島玉枝, 工業用水, **103**, 50 (1967).
- 5) 鈴木静夫, 辰野高司, 工業用水, **106**, 79 (1967).
- 6) 鈴木静夫, 工業用水, **108**, 19 (1967).
- 7) S. J. Niegowski, *Ind. Eng. Chem.*, **45** (3), 632 (1953).
- 8) H. R. Eisenhauer, *J. Water Pollution Control Federation*, **40**, 1887 (1968).
- 9) 三村秀一, 渡辺悠二, 水処理技術, **11** (2), 23 (1970).
- 10) H. R. Eisenhauer, *J. Water Pollution Control Federation*, **43**, 200 (1971).

実験方法

1. 反応装置 オゾン酸化反応に用いた装置の概略を Fig. 1 に示す。反応時のオゾン流量は 880 ml/min とし、この時のオゾン発生量は 10.4 mg/min である。

Fig. 1. Experimental Arrangement of Ozonization Reaction

- A: drying tub
- B: ozonator (Nippon Ozone CO. LTD.)
- C: flowmeter
- D: ozonization reactor
- E: ozone absorber
- F: gas dispersion plate
- G: sampling cock

2. オゾン量の分析法 2% ヨウ化カリウム水溶液 (500 ml) を入れたオゾン吸尿管 (E) にオゾンを導入して、反応吸収させる。各時間毎に吸尿管溶液 10 ml を採取し、1N H_2SO_4 1 ml で酸性とした後、チオ硫酸ナトリウムで滴定し、B で発生したオゾン量との差からオゾン消費量を算出した。

3. 増殖阻害率の実験法及び計算法 ヴィヨン液体培地 4.7 ml を入れた振盪培養管に、各時間毎に反応管 (D) より採取した試料 5 ml と、前培養した *Escherichia coli* の懸濁液 0.3 ml を入れ、37° で振盪培養しながら、30 分毎に光電光度計 (650 mμ) で吸光度 ($-\log T$) を測定する。この値から、Fig. 2 の a, b のような生長曲線を作成する。

Fig. 2 で、a はコントロールの生長曲線、b は殺菌剤またはそのオゾン分解反応液が入った場合の生長曲線である。図の斜線部分の面積 A, B をプランイメーターを用いて求めると、増殖阻害率は次式により計算される。

$$\text{増殖阻害率} = (A - B) / A \times 100(\%)$$

4. 殺菌剤 実験に使用した殺菌剤を、Table I に示した。

各薬剤を反応させる場合、分散の不良なものと、起泡性の高いものには、分散剤または消泡剤として、信越シリコンを数滴添加した。その場合、この程度の量のシリコンは、*E. coli* に対する生長阻害効果はなく、また、

Fig. 2. Example of Growth Curve to Estimate the Inhibition Rate for *E. coli*

- a: growth curve of control
- b: growth curve of culture containing bactericide or its reactant
- c: base line
- A: area of shadowed portion between a and c
- B: area of shadowed portion between b and c

オゾン消費も無視できるものであることを確認した。

オゾン酸化を行なう場合の各薬剤の濃度は、未反応の状態で *E. coli* に対する阻害率が 100% か、またはできるだけそれに近くなるような濃度を選定した。

結果及び考察

各種の殺菌剤について、反応時間毎のオゾン消費量 (殺菌剤 1 g 当り) と、その反応時間における反応液の *E. coli* 増殖阻害率をまとめて Table II に示した。オゾン消費量が反応時間とともに増加している間は酸化分解が進み、また、オゾン消費量が変化しなくなった場合にはオゾン分解が終了したものと考えられる。一般には、この点からオゾン分解性の難易が判定できるが、本実験では殺菌剤濃度を *E. coli* に対する増殖阻害率に合わせて選定してあるため、オゾン反応における薬剤間の濃度差が大きく、すべての殺菌剤の分解性を比較することは困難である。従って、本報では殺菌剤の *E. coli* 増殖阻害作用がオゾン分解でいかなる影響を受けるかについて検討する。

実験結果から、オゾン分解による殺菌剤の *E. coli* 増殖阻害作用の変化は、おおむね次の 4 つの型をとることがわかる。(1) オゾン処理しても *E. coli* 増殖阻害作用がほとんど低下しない。(2) オゾン処理により、かえって *E. coli* 増殖阻害作用が増大する。(3) オゾン処理により、一度は阻害作用が低下するが、途中から再び増大する。(4) オゾン処理によって *E. coli* 増殖阻害作用が徐々に低

TABLE I. Bactericides and the Concentration in Ozonization and Incubation of *E. coli*

Compounds	Abbreviation	Concentration (ppm)	
		Ozonization	Incubation
Phenol compound			
sodium trichlorophenate	TriCPNa	600	300
sodium tetrachlorophenate	TetCPNa	200	100
sodium pentachlorophenate	PCPNa	20	10
Quaternary ammonium compound			
cethyl trimethyl ammonium chloride	CTAC	10	5
2-heptadecyl-1-(2-hydroxyethyl)-ethyl-imidazolinium ethylsulfate	HHIS	10	5
Organotin compound			
triphenyltin acetate	TPTA	100	50
tributyltin fumarate	TBTF	1.96	0.98
Organic sulfur compound			
disodium ethylene bis[dithiocarbamate]-	Nabam	20	10
tetramethylthiuram disulfide	Thiram	100	25
sodium 2-mercaptobenzothiazole	SMB	600	300
Organic mercury compound			
2-hydroxy-2-phenylmercurioxy-3, 5, 6 : 3, 5, 6-hexachlorodiphenylethane	PMHC	1	0.5
phenylmercuric acetate	PMA	40	5
Other compound			
imidazole		1000	500
2-ethylimidazole		1000	400
O, O-dimethyl-2, 2, 2-trichloro-1-hydroxyethyl phosphonate	Neguvon	50	25
dichloroisocyanuric acid	SDIC	400	100

下する。

2-Ethyl imidazole, TBTF, PMHC などは、ほぼ(1)の型に相当する。これらのうちで、2-ethyl imidazoleはオゾン消費量が少なく、しかも反応時間20-30分で一定になっていることから、オゾン分解を受けにくい化合物であると考えられ、さらにオゾン処理を続けたとしても、阻害率の低下は期待できない。一方、TBTFとPMHCはオゾン消費量の変化からみて、オゾン処理を続けた場合には、*E. coli* 増殖阻害率が変化する可能性がある。しかし、1 g当りのオゾン消費量は、試験された殺菌剤の中では最も大きく、従って、オゾン分解では*E. coli* 増殖阻害作用が低下し難い殺菌剤であるといえる。

Imidazoleは(2)の型に相当し、非常に少ないオゾン消費量で*E. coli* 増殖阻害率が急激に増大している。これはオゾン分解により、imidazoleよりも殺菌性の高い化合物が生じたためであると考えられる。しかし、反応時間30分まで徐々にオゾン消費量が増加していることからさらにオゾン処理をすれば阻害率が低下する可能性はある。

(3)の型をとって変化したのはSDICで、これも殺菌剤1 g当りのオゾン消費量が非常に少ないにもかかわらず、いったん*E. coli* 増殖阻害率の低下が見られた後、反応途中から急激に増加している。この場合にもやはり反応中間物が殺菌性の高いものになっていることが推定できる。

以上に挙げた殺菌剤以外のものは(4)のタイプに相当し、オゾン分解によりその*E. coli* 増殖阻害率が徐々に低下する。中でも特に、SMB, TetCPNa, TriCPNaなどはごく少ないオゾン消費量で急激に阻害率が低下しており、*E. coli* 増殖阻害作用の低下という面から判断した場合には、オゾン分解効率の最も高い殺菌剤であるといえる。また、オゾン消費量の変化から見て、HHIS, Neguvon, Nebamは、ほぼオゾン酸化が終了したものと考えられ、その時点で、HHISやNeguvonは阻害率が非常に低くなっていることがわかる。その他の殺菌剤もオゾン消費量の増加とともに*E. coli* 増殖阻害作用が低下しており、殺菌性の低下という面からすれば、オゾン分解処理の意義は充分あると思われる。

TABLE II. Influences of Ozonization on Growth Inhibition Rate for *E. coli* of Bactericides

Compound	Reaction time (min)	O ₃ Consumed (g) Bactericide (g)	Inhibition rate (%)	Compounds	Reaction time (min)	O ₃ Consumed (g) Bactericide (g)	Inhibition rate (%)
TetCPNa	0	0	83	PCPNa	0	0	89
	5	0.3	67		5	4.7	56
	10	0.4	63		10	10.4	44
	20	0.5	43		20	13.6	29
TriCPNa	0	0	96	CTAC	0	0	59
	5	0.2	75		5	2.9	43
	10	0.3	57		10	6.6	36
	20	0.7	24		20	10.3	33
	30	1.0	17		30	13.7	30
HHIS	0	0	100	Nabam	0	0	80
	5	6.1	18		5	2.5	57
	10	10.5	23		10	3.5	52
	20	10.6	7		20	3.6	45
	30	10.8	7		30	3.6	43
Thiram	0	0	99	SMB	0	0	98
	5	0.8	98		5	0.2	59
	10	1.2	90		10	0.3	25
	20	1.5	96		20	0.4	25
	30	1.6	77		30	0.5	24
TPTA	0	0	37	TBTF	0	0	89
	5	0.3	33		5	22.2	83
	10	1.2	21		10	41.3	71
	20	2.8	13		20	78.0	64
	30	3.0	8		30	110.7	71
PMA	0	0	100	PMHC	0	0	92
	5	0.3	100		5	56.4	94
	10	0.9	92		10	112.0	95
	20	1.3	95		20	150.0	94
	30	1.6	51		30	237.2	88
Imidazole	0	0	20	2-Ethyl imidazole	0	0	100
	5	0.1	55		5	0.1	100
	10	0.2	86		10	0.2	100
	20	0.3	93		20	0.4	100
	30	0.4	89		30	0.4	100
Neguvon	0	0	38	SDIC	0	0	83
	5	1.3	42		5	0.1	69
	10	2.1	29		10	0.1	30
	20	2.2	18		20	0.2	92
	30	2.2	11		30	0.4	90

結 語

E. coli 増殖阻害作用の低下という面から、殺菌剤のオゾン分解処理を検討したが、殺菌剤にはオゾン分解によって殺菌性の低下するものがあるとともに、殺菌性の变化しないものや、オゾン分解によって逆に殺菌性が高

くなるものもあり、実際にオゾン処理を適用する場合には十分な配慮が必要である。

また、このような現象が起こる原因や、殺菌剤の構造との関連についても今後さらに検討を要するものと思われる。