紫外線照射水処理における光回復の評価

鹿島田 浩 二* 神 子 直 之*
山 本 和 夫* 大 垣 眞一郎*

Photoreactivation Following Ultraviolet Light Disinfection

Koji KASHIMADA*, Naoyuki KAMIKO*,
Kazuo YAMAMOTO* and Shinichiro OHGAKI*

* Department of Urban Engineering, University of Tokyo, 7-3-1, Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113 Japan

Abstract

Photoreactivation of microorganism following UV disinfection is one the research topics for assessing the performance of UV disinfection, because there is little consensus on how the visible light intensity relates to the photoreactivation rate and the maximum survival in wastewater treatment processes.

Obvious photoreactivation by a fluorescent lamp was observed in the case of indicator bacteria (heterotrophic bacteria, coliform bacteria, fecal coliform) in raw sewage, but not *E. coli* B and *E. coli* K12 A/λ(F⁺). Inactivation of fecal coliform was observed simultaneously during photoreactivation process by sunlight.

Dose rate at 360nm wave length as visible light intensity showed it to be an useful good indicator for assessing the photoreactivation rate and the maximum survival by both of the fluorescent lamp and sunlight.

Key word: photoreactivation, UV disinfection, fecal coliform

1 はじめに

現在、日本では下水処理の消毒として塩素処理が行われている。塩素処理は長年の実績があり、扱いが簡便であるが、残留塩素の生態系への影響あるいはトリハロメタン等の副生成物の問題などの観点から、塩素消毒に替わる消毒法の一つとして紫外線消毒が検討されるようになってきている。紫外線消毒は、消毒剤が残留しないこと、過剰注入の心配がないこと、装置が単純であることなど、様々な点で長所がある魅力的な代替法の一つであり、カナダ、アメリカなど欧米を中心に下水処理場に導入されている。しかし、紫外線によって不活化された細菌は、近紫外線あるいは可視光線を照射することにより損傷が回復することが知られてい

る。この現象は光回復と呼ばれる。水環境中での光回復の理解は、紫外線照射法の実プラントへの適用にあたって重要な課題のひとつである。下水処理以外でも光回復の理解が必要な場合がある。例えば浄水器に紫外線照射を用いる場合、透明保存容器内での光回復の評価が必要である。

光回復は1949年にケルナーによってストレプトマイセスについて発見され、翌年に初めて論文が発表された。紫外線照射による生物体の不活化は、おもにUV光子によってDNA内の塩基が二量体を形成することによっておこる。光回復とは、近紫外光・可視光を当てることによって、細胞内で生産される光回復酵素によって、いったん形成された二量体が開裂して修復され、細胞が再び活性を取り戻す現象である^{1),2)}。

* 東京大学工学部都市工学科 〒113 東京都文京区本郷 7-3-1

環境工学分野における光回復についての研究は、日本では、1987年の神子らによる紫外線照射線量と最大光回復量の関係および時間の経過による光回復能の変化について、糞便性大腸菌群を用いた実験³⁾、あるいは、中圧ランプと低圧ランプでの光回復の比較実験⁴⁾などがある。しかし、光回復に関する科学的知見は多いものの、下水処理分野における研究方法や評価の方法についてはいまだ統一した評価手法がないのが現状である。カナダ・オンタリオ州のガイドラインでは光回復は無視できるものとされている⁵⁾が、カリフォルニア州政府に提出された National Water Research Institute の紫外線に関するガイドライン案⁶⁾の中では、光回復は今後の研究課題としてあげられている。本研究では、糞便性汚染の指標として使われている糞便性大腸菌群などの、蛍光灯および太陽光による光回復速度と最大光回復を定量的に評価する手法を検討した。

2 光回復の定式化

2.1 光回復の回復過程

光回復における回復過程は、可視光線を十分に当てた後の最終的な生残率を $S_m[-]$ 、その時点での生残率を $S[-]$ として、次のような 1 次反応式を満たすと仮定することができる⁷⁾。(Fig. 1 参照)

$$dS/dt = k(S_m - S)$$

ここに、 k : 光回復速度係数 $[\text{min}^{-1}]$

紫外線照射直後 ($t=0$) の生残率を S_0 として積分すれば、可視光線照射時間 t 分後の生残率 S は、

$$S = (S_m - S_0)(1 - e^{-kt}) + S_0 \quad (1)$$

となる。ここでは、 $(S_m - S_0)$ を最大光回復量と呼ぶ。

Fig. 1 Typical photoreactivation curve as a function of time

t と S の関係を実験で測定すれば、非線形最小二乗法により、 S_m と k を独立に同時に決定することができる。 S_0 は S の初期値であり、実測できる。

2.2 紫外線照射量と光回復

1987年の神子らの実験³⁾によれば、紫外線照射量を変えた場合の、生残率および可視光線照射後の生残率と紫外線照射線量の関係は、Fig. 2 に示すように、高紫外線線量域で生残率の低下がにぶるテーリング部分を除けば、両者とも片対数で直線関係にある。同様な結果は佐々木⁴⁾からも示しているところである。この結果をもとに、紫外線量 $D [\text{mW} \cdot \text{s} \cdot \text{cm}^{-2}]$ と、紫外線照射直後の生残率 S_0 、光回復後の生残率 S_m の関係を整理すると次のようになる。

$$S_0 = e^{-a_0 D}, \quad S_m = e^{-a_m D}$$

ここに、 a_0 は紫外線照射直後の不活性化係数 $[\text{mW}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{cm}^2]$ 、 a_m は可視光線照射後の不活性化係数 $[\text{mW}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{cm}^2]$ である。両式から D を消去して整理すると、

$$S_m = S_0^{(a_m/a_0)}$$

となる。Fig. 2 より、紫外線照射線量が $12 \text{ mW} \cdot \text{s} \cdot \text{cm}^{-2}$ 以下の部分について a_0 、 a_m を求めると、 $a_0 = 0.441$ 、 $a_m = 0.097$ であるから、

$$S_m = S_0^{0.22} \quad (2)$$

を得る。すなわち、Fig. 2 のデータで、紫外線照射線量が $12 \text{ mW} \cdot \text{s} \cdot \text{cm}^{-2}$ 以下の場合では、紫外線照射した直後の生残率の 0.22 乗の値まで最終的に光回復によって

Fig. 2 Survival of fecal coliform in secondary effluent (before chlorination) after UV irradiation and the survival after photoreactivation³⁾
● after UV irradiation, ○ after photo reactivation

回復するということになる。

3 実験方法

3.1 可視光線の定量について

光回復現象に影響する光の波長は近紫外線域から可視光線域にかけて幅があり、また細菌種によってその感受性も異なる。大腸菌の一種 *E. coli* B の紫外線高感受性株である B_{s-1} は 340~420nm にかけての光に強い光回復現象を起こし、380nm 付近で相対的光回復効率が最大を示すことが知られている¹⁾。今回の実験では、光回復作用を起こす可視光線の強さを表す指標として 360nm を用いた。これは、360nm の相対的光回復効率が最大値とほぼ同じ (約90%) であり、360nm の線量率測定器が市販されているからである。

3.2 紫外線照射装置

紫外線照射には Fig. 3(a) のような二重円筒型低圧水銀ランプ (主たる波長 254nm) の装置を使用した。試料はシャーレに入れて気泡の入らないように石英ガラ

(a) UV irradiation

(b) photoreactivation (by fluorescent lamp)

Fig. 3 Experimental setups

スでふたをし、スターラーで攪拌しながら紫外線ランプの円筒ケースの監視窓から出る紫外線を照射した。表面の線量率については常に一定になるようにシャーレの位置は固定し、線量は照射時間を変えることによって調節した。ランプの線量率は温度によって変わるので、ポンプで空気を送って空冷式とし、ランプ点灯後45分以上経って温度が一定になってから使用した。紫外線を照射した後は直ちに試料をアルミホイルで包んだふたで覆い、濃度測定まで可視光線が当たらないのを防いだ。紫外線線量の算定は生物線量計を用いた。具体的には、大腸菌ファージ Q β の不活化率を測定して、試料表面の紫外線線量率を算定し、試料の 254nm の吸光度により試料中の平均の紫外線線量率を計算し、求めた⁸⁾。

実験器具の殺菌は、シャーレは 180°C 30 分以上の乾熱滅菌、スターラーは加圧蒸気滅菌 (121°C 15 分)、石英ガラスは紫外線照射によった。

3.3 蛍光灯による可視光照射

可視光線は市販されている 15W の蛍光灯 2 本を用いて Fig. 3(b) のように照射した。シャーレはガラスのふたを用いた。試料は直接ピペットで採水して各時間の細菌濃度を測定した。線量率はシャーレと蛍光灯の距離を変えることにより調節し、光の強さは波長 360nm の線量率で評価した。線量率は、線量計 (TOPCON, UVR360) を試料の液表面の位置に置いて、シャーレのガラスのふたをかけ、センサー部分を蛍光灯に向けて測定した。

また対照実験として、同じ条件で紫外線を照射し、暗所に保存した試料の濃度の時間変化も測定した。

なお紫外線を照射してから可視光線を照射するまでの間 (約 8~10 分) はアルミホイルで覆って可視光に晒されないようにした。

3.4 太陽光による可視光照射

紫外線を照射した試料をガラスの試験管に入れ、屋外の太陽光の直射下あるいは日陰に置いて太陽光による光回復実験を行った。光の強さは、波長 360nm の線量率を 10~15 分間隔で線量計を用いて測定した。測定はセンサー部分を様々な方向に向け、最も高かった線量率をその試料に当たる線量率とした。対照実験は 3.3 と同様に行った。

3.5 供試試料

用いた試料は *E. coli* K12 A/ λ (F⁺)、*E. coli* B および下水処理場流入水 (東京都三河島下水処理場) 中の一般細菌、大腸菌群、糞便性大腸菌群である。*E. coli* K12 A/ λ (F⁺) と *E. coli* B は寒天培地上にコロニーを形成したプレート上から菌出し、液体培地で、37°C、12~36 時間培養し、濃度が 10⁸~10⁹ CFU ml⁻¹ になっ

たものを、滅菌した純水で約100倍に希釈して用いた。また、下水処理場の流入水は紫外線が試料に均一に当たるよう公称孔径 $1.2\mu\text{m}$ のメンブランフィルターで濾過してSSを除去し、数倍に希釈したものを用いた。下水処理場流入水は採水後2週間以内に使用し、使用するまでは 4°C で保存した。細菌濃度は、一般細菌は標準寒天培地、大腸菌群はデソキシコール寒天培地、糞便性大腸菌群はm-FC培地を用いて、上水試験法¹⁰⁾に基づいて測定した。

4 結果と考察

4.1 蛍光灯による光回復実験

蛍光灯による光回復実験の結果を、*E. coli* K12 A/ λ (F⁺)、*E. coli* BについてそれぞれFig. 4, Fig. 5に、下水処理場流入水の一般細菌、大腸菌群、糞便性大腸菌群についてをFig. 6に示す。

Fig. 4, Fig. 5に示すように、*E. coli* K12 A/ λ (F⁺)と*E. coli* Bでは可視光線をあてた場合と暗所に保存した場合では顕著な違いは現れなかった。*E. coli* B_{S-1}および*E. coli* B/ γ (紫外線抵抗株)が360nm付近の波

長の光で光回復をする事は過去の文献^{11,8)}でも示されている。また環境中の大腸菌群が光回復を起こすことも広く知られており、こうした事実と今回の結果は異なっているが、本実験条件では、蛍光灯の光は波長360nmの線量率で $0.15\text{mW}\cdot\text{cm}^{-2}$ であり、直射日光の数十分の1であることから、より強い光をあてれば光回復を示す可能性もある。今回の実験条件の限りでは、*E. coli* K12 A/ λ (F⁺)、*E. coli* Bは光回復を示さないかもしくは光回復しにくい菌株であると言える。

一方、Fig. 6に示すように下水処理場流入水の指標細菌では、3つの指標（一般細菌、大腸菌群、糞便性大腸菌群）ともに、暗所に保存した場合はほとんど生残率は変化しなかったのに対し、可視光線を当てた場合は照射直後から生残率は上昇し、120分でほぼ定常状態に達した。3つの指標細菌では初期濃度、紫外線照射後の濃度は十数倍の違いはあるものの、紫外線照射による生残率の低下や、光回復過程は非常に似ていることが分かる。このときの生残率の変化について式(1)を

Fig. 4 Photoreactivation of *E. coli* K12 A/ λ (F⁺) exposed to fluorescent lamps

	exposed to fluorescent light	kept in the dark	UV dose [$\text{mW}\cdot\text{s}\cdot\text{cm}^{-2}$]	dose rate at 360nm wave length[$\text{mW}\cdot\text{cm}^{-2}$]
run 1	□	■	20.9	0.15
run 2	◇	◆	20.6	0.15
run 3	○	●	18.7	0.15

Fig. 5 Photoreactivation of *E. coli* B exposed to fluorescent lamps

	exposed to visible light	kept in the dark	UV dose [$\text{mW}\cdot\text{s}\cdot\text{cm}^{-2}$]	dose rate at 360nm wave length[$\text{mW}\cdot\text{cm}^{-2}$]
run 1	□	■	26.9	0.15
run 2	○	●	21.9	0.15
run 3	◇	◆	27.0	0.15
run 4	△	▲	26.6	0.15

Fig. 6 Photoreactivation of indicator bacteria in raw sewage exposed to fluorescent lamps
Irradiation UV dose= $5.34\text{mW}\cdot\text{s}\cdot\text{cm}^{-2}$
(except for fecal coliform ($3.85\text{mW}\cdot\text{s}\cdot\text{cm}^{-2}$))
Fluorescent light dose rate= $0.15\text{mW}\cdot\text{cm}^{-2}$
◇ Heterotrophic bacteria (exposed to visible light)
◆ Heterotrophic bacteria (control, kept in darkness)
○ Coliform group (exposed to visible light)
● Coliform group (control, kept in darkness)
□ Fecal coliform (exposed to visible light)
■ Fecal coliform (control, kept in darkness)

用いて生残率曲線を求めた結果を Fig. 6 に実線で示した。この結果紫外線によって1～5%に低下した生残率は可視光線を当てることによって30～50%まで回復したことが分かる。

4.2 太陽光による光回復実験

蛍光灯で顕著な光回復を示した下水処理場流入水の糞便性大腸菌群について、太陽光を使った光回復実験の結果を Fig. 7 に示す。太陽光を当てた場合は、可視光線の強度が大きいため、蛍光灯を使った場合に比べて、非常に敏感に反応して照射後約15分で生残率は最高に達した。しかしその後生残率は時間とともに徐々に減少した。これは蛍光灯の実験では見られなかった現象であるが、数回試みた太陽光の実験ではいずれも同じような現象が観測された。試料はガラスの試験管に入れて太陽光に当てているため、254nm 付近の殺菌紫外線はガラスに吸収され、影響は小さいと考えられる。しかしながら、柳田⁹⁾によれば「波長350～490nmの可視光線にも殺菌作用がある」とされている。

最大値に達するまでの結果について、蛍光灯を使った実験と同様に、式(1)より生残率曲線を求め、Fig. 7 に

Fig. 7 Photoreactivation of fecal coliform in raw sewage exposed to sunlight
irradiation UV dose= $5.24\text{mW}\cdot\text{s}\cdot\text{cm}^{-2}$
○ exposure to sunlight, ● in darkness (control)
✱ dose rate at 360nm wave length of sunlight

Fig. 8 Rate constant of photoreactivation (k) of fecal coliform in raw sewage as a function of dose rate at 360nm wave length (I)
○ sunlight, ● fluorescent light

実線で示した。

4.3 可視光線の線量率が光回復に与える影響

一定の紫外線量 ($5.24\text{mW}\cdot\text{s}\cdot\text{cm}^{-2}$) を照射した後、蛍光灯と太陽光を使って様々な強さの可視光線を当て、最大光回復量 ($S_m - S_0$) および光回復速度係数 k を求め、360nm の線量率 I との関係調べた。結果の解析は式(1)により回帰し、($S_m - S_0$) と k を算出した。

線量率 I と光回復速度係数 k の関係を示したのが

Fig. 9 Maximum photoreactivation of fecal coliform in raw sewage as a function of dose rate at 360nm wave length (I)

○ sun light, ● fluorescent light

Fig. 8 である。蛍光灯の結果および太陽光の結果について全体的には、両対数図上で正の相関関係があることが分かる。相関関数は0.9を得た。可視光線の強度と光回復速度係数は、理論的にも実験的にも明確な関数で結ばれているわけではないが、この結果からすれば、可視光線の強度が分かればある程度の光回復速度が予測できる。

一方、線量率 I と最大光回復量 ($S_m - S_0$) の関係を Fig. 9 に示した。可視光線線量率の低い2つの実験では、生残率が定常状態になるまで実験を行えなかったため回帰計算の誤差が大きくなり、理論的には1を越えることはないはずであるが、計算上1を越えてしまうものもあった。また可視光線量の高い太陽光では4.2で述べたように太陽光自体の「殺菌作用」⁹⁾により見かけ上の最大光回復量は小さくなっていると思われる。こうした因子を考慮すれば、線量率 I はあまり最大光回復量に影響していないと考えられる。

4.4 紫外線量が光回復に与える影響

360nm 線量率 I に係わりなく、 S_m と S_0 には式(2)と同じ関係が成立するものとして、Fig. 9 の実験にあてはめてみる。今回の実験では紫外線照射線量は $5.24 \text{ mW} \cdot \text{s} \cdot \text{cm}^{-2}$ であり、 $12 \text{ mW} \cdot \text{s} \cdot \text{cm}^{-2}$ 以下であるから式(2)の関係が成り立つ。 S_0 をほぼ0.056としているから、 0.056×0.22 乗で $S_m = 0.53$ を得る。従って、最大光回復量は $(S_m - S_0) = 0.47$ (Fig. 9 の実線) となり、Fig. 9 に示すように実験結果と比較的よく合致することがわかる。

4.5 光回復を考慮した紫外線による消毒効果の算定の試み

以上の結果から、紫外線によって消毒された細菌の全量が光回復するわけではなく、紫外線消毒後の生残率 (S_0) を下げるほど光回復後の生残率 (最大値 S_m) が下がることが分かる。したがって、 S_m を一定値以下に下げる (最大光回復後の消毒効果を得るため) には、 S_0 を十分に下げれば良いことになる。また、光回復速度係数 k の値を知ることにより、放流後の光回復の速度を算定することができるようになる。すなわち、このような概念により、放流先での光回復の程度を算定することができ、水質基準を満たすために必要な紫外線線量を、流下時間、太陽光の強度、水の吸光度などを用いて求めることができる。

しかし、これらの結果は糞便性大腸菌群についてのものであり、病原細菌については今後の検討が必要である。

5 結 論

以上のような実験、考察より次のような知見を得た。

1) *E. coli* B 株や *E. coli* K12 A/ λ (F^+) 株では光回復は起こらないか、もしくは非常に弱くしか起こらなかった。病原細菌などの株による光回復の相違の検討がさらに必要である。

2) 360nm の線量率 I を用いることによって、蛍光灯と太陽光による光回復過程を統一して表現することができた。また光回復速度係数 k と I には相関があることが明らかになった。

3) 最大光回復量 ($S_m - S_0$) は、光回復光の線量率 I を変化させても、影響を受けないようである。

(原稿受付 1994年6月10日)

(原稿受理 1994年9月2日)

参 考 文 献

- 1) 武部啓 (1983) DNA 修復, 東京大学出版会。
- 2) 大垣眞一郎 (1992) 紫外線とオゾンによる消毒, 「水処理」(佐藤敦久編著) 5.5.1, pp.155-173, 技報堂出版。
- 3) 神子直之, 大垣眞一郎 (1987) 下水処理水の紫外線消毒効果に及ぼす光回復の影響, 土木学会第42回年次学術講演会講演概要集II-374。
- 4) 佐々木賢一他 (1993) 紫外線照射の下水処理法への適用, 荏原インフィルコ時報, No. 109。
- 5) Ho, Anthony, K.W. (1991) Disinfection Practice in Ontario, Proceedings of WPCF 64th Annual Conference, Pre Conference Workshop, International Perspectives in Effluent Disinfection, 2-8。
- 6) National Water Research Institute (USA.) (1993) UV disinfection Guidelines for Wastewater Reclamation and Disinfection Research Needs Identification。

- 7) Dulbecco, R. (1955) Photoreactivation, in Radiation Biology, Vol II (A. Hollaender Ed.), pp.455-486, McGraw Hill Book Co., Inc., New York.
- 8) Kamiko, N. and Ohgaki, S. (1989) RNA coliphage Q β as a bioindicator of the UV disinfection efficiency, *Water Science and Technology*, **21**(3), 227-231.
- 9) 柳田友道 (1981) 微生物科学 2, pp.515-517, 学会出版センター.
- 10) 上水試験法 (1985) 日本水道協会.