

2.4 リアクタによるバイオフィルムの生成抑制に関する検討

2.4.1 目的

循環浴槽システムのろ過槽内、浴槽内壁面あるいは配管内壁等に生成するバイオフィルムは、レジオネラ属菌などの病原微生物を保持するため、その生成抑制が課題となっている。このバイオフィルムの生成抑制策として、一般には塩素や二酸化塩素等による消毒方法が用いられている。

本節では室内規模のリアクター装置を用いて、一般浴槽水を基質として生成したバイオフィルムを対象に、塩素および二酸化塩素による消毒効果を理化学試験および細菌学試験を行い、その消毒効果について評価することを目的に検討した。

2.4.2 実験方法

(1) リアクタ装置

本実験で使用したリアクター装置を図 2.4.1 および図 2.4.2 に示す。本装置は室内規模の環状バイオリアクターであり、静止している外部シリンダおよび回転する内部シリンダから構成される。回転数は可変することができ、上部に 3 箇所の添加口がついている。スライド式の吸着板(生物膜生成箇所)は 20 枚となっている。

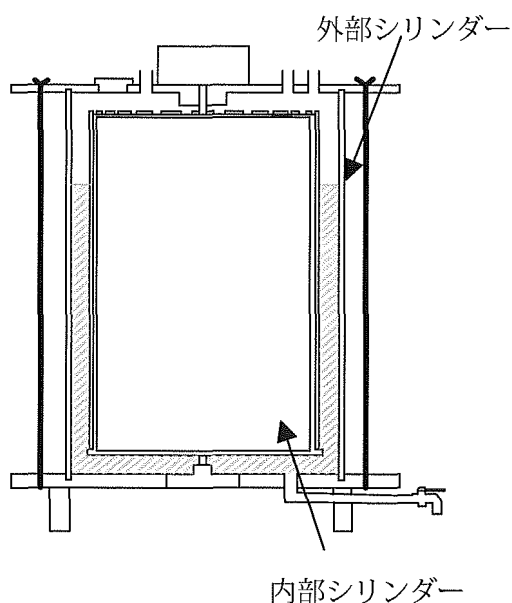


図 2.4.1 リアクター装置断面図

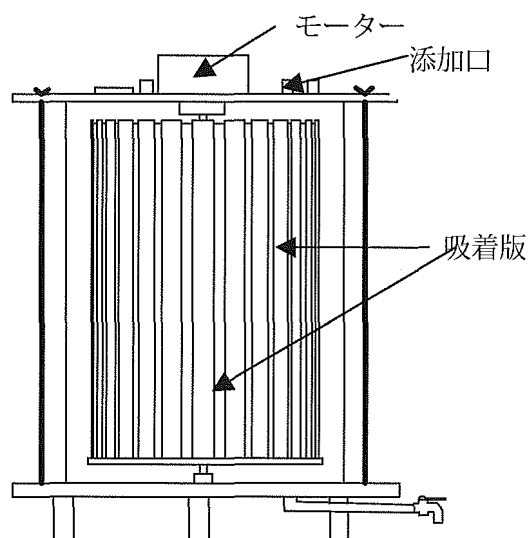


図 2.4.2 リアクター装置外観図

(2) 次亜塩素酸ナトリウムによるバイオフィルムの生成抑制実験¹⁾

リアクター装置内に浴槽水を 4L 入れる。試料とした浴槽水は、成人 5 人が 2 日間入浴に使用した一般家庭浴槽水を用いた。このリアクタ内に、家庭用循環浴槽システム（生物ろ過槽仕様）の生物ろ過槽より採取したバイオフィルムを 100mL 植菌する。実験条件としては、2 台のリアクター装置を同条件で稼働させ、1 週間後に 1 台の装置には残留塩素濃度が 0.2~0.4mg/L の範囲になるように添加し、他方は塩素無添加（対照）とした。なお、リアクター装置の回転数は 180rpm、培養期間は 3 週間とし採水時以外は暗所とした。次亜塩素

酸ナトリウムの添加条件を表 2.4.1 に示す。塩素添加濃度は、残留塩素濃度で 0.1~0.4mg/L になるようにし、実験期間中における槽内の塩素濃度を確認するために、塩素添加前日の残留塩素を測定してから、次亜塩素酸ナトリウムを計画濃度になるように加えた。なお、測定項目は、吸着板に生成したバイオフィルム量、目視観察（写真撮影）および槽内の水質測定とした。

表 2.4.1 バイオリアクタ内の塩素添加条件

| 経過日数(日) | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 添加前 | 0.02 | 0.06 | 0.04 | 0.03 | 0.04 | 0.05 | 0.03 | 0.04 | 0.02 | 0.02 | 0.02 | 0.02 | 0.02 |
| 添加後 | 0.14 | 0.26 | 0.18 | 0.22 | 0.28 | 0.33 | 0.37 | 0.19 | 0.13 | 0.18 | 0.13 | 0.18 | 0.23 |

(3) 二酸化塩素によるバイオフィルムの生成抑制実験

リアクター装置内に浴槽水を 2.5L 入れる。試料とした浴槽水は成人 5 人が入浴後の一般家庭浴槽水を用いた。この中に、生物ろ過膜仕様の生物ろ過槽より採取したバイオフィルムを SS 量として 659mg/L 植菌した。実験条件としては、2 台のリアクター装置を同条件で稼働させ、1 週間後に 1 台の装置には二酸化塩素濃度が約 1~4mg/L 程度になるように添加した。測定期間は 1 週間としたが、顕著な消毒効果がみられなかったため、10 日間培養後（消毒剤無添加）に、10 日間の消毒追加試験を行った。追加試験では、二酸化塩素濃度が約 1~8mg/L 程度になるように添加濃度を高め、リアクター装置の回転数は 1000rpm とした。評価方法は先の条件と同様に行った。二酸化塩素の添加条件を表 2.4.2 に示す。

表 2.4.2 二酸化塩素添加条件

| 経過日数(日) | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 17 | 18 |
|-------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----------------|
| 添加後二酸化塩素濃度 (mg/L) | 2.6 | 2.3 | 1.9 | 1.6 | 1.8 | 1.4 | 1.5 | 1.6 | 1.3 | 5.5 (浮遊物あり) |
| 添加前二酸化塩素濃度 (mg/L) | — | 1.6 | 1.6 | 1.7 | 1.6 | 1.3 | 1.2 | 1.2 | 1.1 | 1.1 |

| 経過日数(日) | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 28 |
|-------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 添加後二酸化塩素濃度 (mg/L) | 1.8 | 1.5 | 1.4 | 1.3 | 1.5 | 1.7 | 2.6 | 3.8 | 8.3 |
| 添加前二酸化塩素濃度 (mg/L) | 1.2 | 1.1 | 1.2 | 0.9 | 1.1 | 0.9 | 0.8 | 1.1 | 0.6 |

(4) 次亜塩素酸ナトリウムおよび二酸化塩素の対比実験

バイオフィルム約 540mL を蒸留水で全量 5.5L とする。これをバイオリアクター 2 台に 2.5L ずつ入れ、500rpm の回転数で 15 日間のバイオフィルムの培養試験を行った。

15 日間経過後の各リアクター装置から 500mL を採取し、これを初期時試料とした。

消毒剤の添加は、次亜塩素酸ナトリウムを遊離残留塩素濃度で 0.3~4.3mg/L とし、二酸化塩素では 2.4~6.3mg/L で 1 回/日の添加を行った。測定は初期時と最終日に行った。次亜塩素酸ナトリウムおよび二酸化塩素の添加条件を表 2.4.3 に示す。

表 2.4.3 次亜塩素酸ナトリウムおよび二酸化塩素（対比）の添加条件

| 経過日数(日) | | 1 | 2 | 3 | 6 | 7 | 8 | |
|------------|---|----|------|------|------|------|------|------|
| 次亜塩素酸ナトリウム | 前 | 遊離 | / | 0.01 | 0.03 | 0.03 | 0.14 | 0.18 |
| | | 総残 | | 0.12 | 1.14 | 0.77 | 4 | 4.6 |
| | 後 | 遊離 | 0.05 | 0.3 | 0.87 | 1.08 | 2.5 | 3.3 |
| | | 総残 | 0.6 | 2 | 8.8 | 10.3 | 12.5 | 13.9 |
| 二酸化塩素 | 前 | / | 1.3 | 1.3 | 1.1 | 1.4 | 2.1 | |
| | 後 | | 1.9 | 2.4 | 4.4 | 6.3 | 6.1 | 5.7 |

| | | | |
|------|------|------|------|
| 9 | 10 | 14 | 15 |
| 0.13 | 0.18 | 0.03 | 0.14 |
| 3.3 | 5.7 | 0.93 | 3.9 |
| 4.3 | 0.47 | 1.15 | / |
| 13.5 | 7.9 | 10.8 | |
| 2.2 | 2.4 | 0.9 | 1.9 |
| 6.3 | 5.2 | 4.3 | / |

2.4.3 結果および考察

(1) 次亜塩素酸ナトリウムによるバイオフィルムの生成抑制

吸着板に付着したバイオフィルムの細菌数を表 2.4.4 に示す。表に示すとおり、塩素添加により吸着板上に増殖する細菌類の減少傾向は顕著に認められた。また、槽内バイオフィルムの生成量は添加時 (53.5mg/L) の値より約 1/2 となった。

次に 3 週間継続した槽内の水質試験結果を表 2.4.5 に示す。表に示すとおり、初期値の TOC は 10.4mg/L であり、これを 3 週間培養した結果、7.7mg/L となり、23% の TOC 減少がみられた。一方、塩素添加条件下では、TOC 減少はみられなかった。

次に、槽内水中の細菌試験結果をみると、塩素無添加条件下では、初期値は 8×10^3 cfu/100 mL のレジオネラ属菌が検出され、無添加条件下では 3 週間培養することで約 13 倍 (10^5 cfu/100mL) まで増殖した。一方、塩素添加条件下では 5×10^3 cfu/100mL を示し、極端な増殖はないものの、63% のレジオネラ属菌の生残があり、塩素による顕著な消毒効果は得られなかった。

一般細菌に対する消毒作用をみると、塩素無添加の初期値は 10^6 cfu/mL を示し、塩素無添加条件下で 3 週間培養すると、約 4 倍量の 5.2×10^6 cfu/mL まで増殖した。

本条件に対し塩素消毒を行うと、3 週間値は 2.1×10^5 cfu/mL を示し、初期値に対する生残率は 15% が得られた。

以上の結果より、塩素消毒無添加条件下で 3 週間の培養を行うと、バイオフィルム中のレジオネラ属菌および一般細菌数はいずれも、13 倍から 4 倍の増殖がみられた。一方、遊離残留塩素濃度を 0.13~0.4mg/L の比較的低濃度域で作用させた結果、レジオネラ属菌の生残率は 63% を示し、一般細菌は 15% が生残する結果となり、塩素濃度を高める必要性が示唆された。

表 2.4.4 吸着板上に付着した細菌数

| | 塩素無添加 | 塩素添加 |
|-------------------------------|---------------------|------|
| レジオネラ属菌(cfu/cm ²) | 2 | ND |
| 一般細菌(cfu/cm ²) | 1.3×10 ⁴ | (-) |
| 大腸菌群(cfu/cm ²) | 3 | ND |

表 2.4.5 塩素剤添加によるリアクタ内の水質結果

| 項目 | 初期値 | 3週間経過後 | |
|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | | 塩素無添加 | 塩素添加 |
| pH | 7.2 | 7.9 | 7.8 |
| EC (μS/cm) | 189 | 191 | 289 |
| ORP, Eh (mV) | +421 | +376 | +375 |
| SS (mg/L) | 53.5 | 23.6 | 20.4 |
| TOC (mg/L) | 10.39 | 7.66 | 10.94 |
| TC (mg/L) | 16.57 | 26.74 | 30.36 |
| IC (mg/L) | 6.18 | 19.08 | 19.42 |
| レジオネラ属菌 (cfu/100mL) | 8×10 ³ | 1.1×10 ⁴ | 5×10 ³ |
| 一般細菌 (cfu/mL) | 1.4×10 ⁶ | 5.2×10 ⁶ | 2.1×10 ⁵ |
| 大腸菌群 (cfu/mL) | 4.6×10 ³ | — | — |

(2) 二酸化塩素の有無によるバイオフィルムの生成抑制

リアクター内の理化学的測定結果を表 2.4.6 に示す。二酸化塩素添加条件下における TOC の経日変化をみると、初期値 (8.2mg/L) は約 1 週間前後平衡にあるものの、日数の経過するにつれ高くなり、最終値 (28 日後) は初期値の約 2 倍量になった。一方、二酸化塩素無添加 (対照) の試料をみると、初期 TOC 値は 7.4mg/L を示し、この値は約 4 週間経過した最終値においても同等の値となった。

また、電気伝導率については、二酸化塩素添加条件下の最終値は初期値 (231 μS/cm) の約 1.5 倍となり、消毒剤の残留が確認された。なお、二酸化塩素無添加 (対照) の電気伝導率は初期値 (220 μS/cm) よりやや低い 186 μS/cm が得られている。

バイオフィルムの生成量 (SS) を表 2.4.7 に示す。表に示すとおり、二酸化塩素添加の有無により SS 量は大きく異なり、最終値における二酸化塩素添加条件下では対照 (472mg/L) の約 1/4 に減少した。

二酸化塩素による細菌類の消毒効果について表 2.4.8 および表 2.4.9 に示す。二酸化塩素無添加の初期時におけるバイオフィルム中から、レジオネラ属菌数は 10⁴CFU/100mL が検出され、最終値もほぼ同等な値が得られた。

一方、二酸化塩素を 1.4~8.3mg/L の添加条件下で、28 日間のレジオネラ属菌の消毒試

験結果を行った結果、最終日は検出されなかった。

次に従属栄養細菌に対する二酸化塩素の効果を見ると、初期値は 10^4 cfu/mL オーダで検出され、最終値は 10^6 cfu/mL を示し、二酸化塩素による顕著な消毒効果は得られなかった。この傾向は一般細菌においてもほぼ同様であった。

以上の結果より、バイオフィルムに二酸化塩素を作用させると、バイオフィルムから溶出した有機質により、水質中の TOC は増加する傾向を示し、バイオフィルム量は初期値の約 1/4 に減少した。バイオフィルム中の細菌類に対する、本薬剤の効果としては、レジオネラ属菌（細菌数： 10^4 cfu/100mL）への効果が高いことが示される一方で、本消毒剤濃度では、一般細菌および従属栄養細菌の細菌数が 10^4 cfu/mL～ 10^6 cfu/mL と高い条件下では、良好な消毒効果は得られなかった。

写真 2.4.1～写真 2.4.4 に吸着板上におけるバイオフィルムの生成状況を示す。

表 2.4.6 二酸化塩素添加によるリアクタ内の水質結果

| 経過日数(日) | pH(-) | | Cond.(μ S/cm) | | TOC(mg/L) | |
|---------|-------|-----|--------------------|-----|-----------|-------|
| | 添加 | 対照 | 添加 | 対照 | 添加 | 対照 |
| 0 | 7.8 | 7.9 | 231 | 220 | 8.21 | 7.35 |
| 1 | 7.8 | 7.8 | 233 | 228 | 7.92 | 7.36 |
| 2 | 7.9 | 7.8 | 231 | 212 | 9.51 | 8.29 |
| 3 | 7.9 | 7.8 | 228 | 211 | 8.87 | 7.76 |
| 4 | 7.8 | 7.8 | 235 | 212 | 9.50 | 7.74 |
| 5 | 7.9 | 7.9 | 233 | 208 | 8.88 | 7.39 |
| 6 | 7.9 | 7.8 | 232 | 205 | 9.19 | 8.21 |
| 7 | 7.7 | 7.7 | 214 | 197 | 7.06 | 4.98 |
| 17 | 7.3 | 7.3 | 239 | 194 | 14.0 | 10.53 |
| 19 | 7.5 | 7.5 | 262 | 189 | 8.87 | 6.66 |
| 20 | 7.6 | 7.4 | 271 | 180 | 9.85 | 6.95 |
| 21 | 7.5 | 7.5 | 280 | 188 | 10.4 | 6.26 |
| 22 | 7.5 | 7.5 | 284 | 193 | 12.6 | 5.99 |
| 23 | 7.3 | 7.3 | 290 | 201 | 12.0 | 6.50 |
| 24 | 7.2 | 7.6 | 305 | 198 | 13.6 | 6.47 |
| 25 | 7.3 | 7.5 | 310 | 197 | 13.2 | 5.79 |
| 26 | 7.4 | 7.8 | 313 | 193 | 14.4 | 6.62 |
| 28 | 7.3 | 7.4 | 324 | 186 | 15.7 | 7.39 |

表 2.4.7 二酸化塩素添加によるバイオフィルム量の変化

| バイオフィルム量 | 二酸化塩素添加 | 二酸化塩素無添加 (対照) |
|------------|---------|---------------|
| 初期値 (mg/L) | 659 | 659 |
| 最終値 (mg/L) | 112 | 472 |

表 2.4.8 二酸化塩素添加による槽内のレジオネラ属菌数

| レジオネラ属菌 | 二酸化塩素添加 | 二酸化塩素無添加 (対照) |
|-----------------|-------------------|-------------------|
| 初期値 (cfu/100mL) | 1.0×10^4 | 1.6×10^4 |
| 最終値 (cfu/100mL) | ND | 1.8×10^4 |

表 2.4.9 二酸化塩素添加による槽内の細菌試験結果

| 経過日数 (日) | 二酸化塩素添加 | | 二酸化塩素無添加 (対照) | |
|-------------|--------------------|------------------|-------------------|---------------|
| | 従属栄養細菌 (cfu/mL) | 一般細菌 (cfu/mL) | 従属栄養細菌 (cfu/mL) | 一般細菌 (cfu/mL) |
| 0 | 8×10^5 | 970 | 1.2×10^6 | 650 |
| 1 | 2.5×10^5 | 9500 | 1.1×10^6 | 650 |
| 2 | 4×10^5 | 345 | 2.0×10^6 | 680 |
| 3 | 2×10^5 | 140 | 5×10^5 | 865 |
| 4 | 1.8×10^6 | 795 | 5.5×10^5 | 2000 |
| 5 | 6.5×10^5 | 950 | 3×10^5 | 3750 |
| 6 | 7.5×10^5 | 2150 | 4.5×10^5 | 1750 |
| 7 | 1.4×10^6 | 1055 | 5.5×10^5 | 1850 |
| 17 | 1.9×10^5 | 3500 | 2.0×10^5 | 18900 |
| 19 | 2.9×10^6 | 1050 | 2.5×10^6 | 2300 |
| 20 | 2.1×10^6 | 1000 | 2.7×10^6 | 47000 |
| 21 | 1.7×10^6 | 50 | 1.5×10^6 | 450 |
| 22 | 1.3×10^6 | 50 | 1.6×10^6 | 2150 |
| 23 | 3.3×10^6 | 5850 | 2.6×10^6 | — |
| 24 | 2.0×10^6 | 300 | 2.2×10^6 | 750 |
| 25 | 3.6×10^6 | 300 | 2.9×10^6 | 450 |
| 26 | 4.2×10^6 | 100 | 3.2×10^6 | 1350 |
| 28 | 4.6×10^6 | 300 | 2.5×10^4 | 4000 |

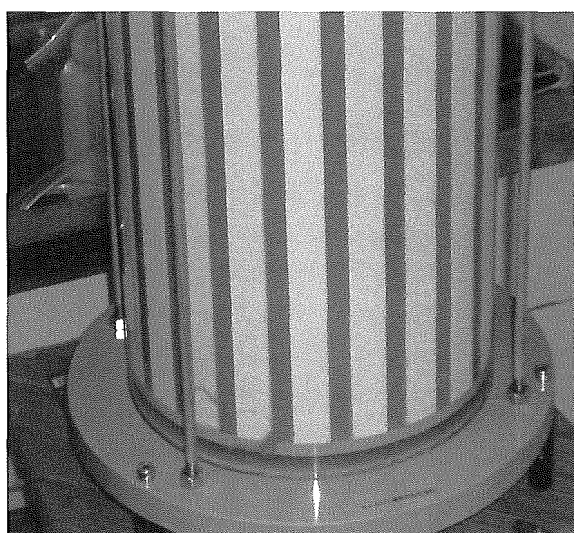


写真 2.4.1 リアクター装置下部
(無添加)

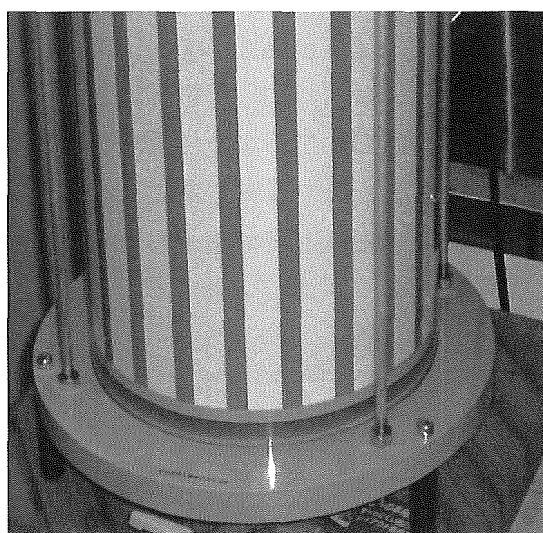


写真 2.4.2 リアクター装置下部
(二酸化塩素添加)

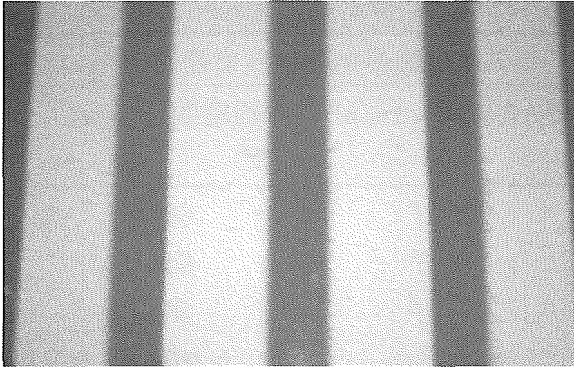


写真 2.4.3 吸着板（無添加）

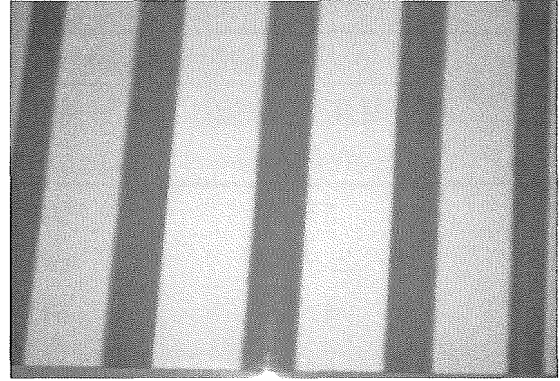


写真 2.4.4 吸着板（添加）

(3) 次亜塩素酸ナトリウムおよび二酸化塩素の対比試験

次亜塩素酸ナトリウムおよび二酸化塩素を対比させながら、バイオフィルムの生成抑制実験を行った。本条件は表 2.4.3 に示すとおり、次亜塩素酸ナトリウムは遊離残留塩素濃度として 0.3~4.3mg/L の範囲で添加し、二酸化塩素は 2.4~6.3mg/L の比較的高濃度条件下で作用させた。

得られた結果を表 2.4.10 に示す。消毒剤添加による pH 変化をみると、対照の pH は 6.8 を示すのに対し、次亜塩素酸ナトリウム添加では、7.6 とややアルカリ側に移行し、二酸化塩素添加条件下では 3.0 の酸性域を示した。

次に TOC 値についてみると、初期値 (14.5mg/L) と対比しながら評価すると、消毒剤の影響があり、二酸化塩素添加では 19.2mg/L と若干ながら高い値を示し、無機炭素濃度が 0.3 mg/L と低いことが特徴的であり、消毒剤により生物浄化の停止が確認された。一方、次亜塩素酸ナトリウム添加条件下では、65 mg/L と約 4.5 倍の TOC 値が得られ、バイオフィルムの解体が TOC 源になったと考えられた。

細菌類に及ぼす消毒剤の効果についてみると、両消毒剤によりレジオネラ属菌の初期値 (460cfu/100mL) は最終値で不検出となった。

一般細菌についてみると二酸化塩素添加は不検出となり、次亜塩素酸ナトリウム添加条件下では 0.3% の生残率であった。また、従属栄養細菌については、次亜塩素酸ナトリウム添加では 0.4% の生残率を示し、二酸化塩素になると 0.04% の生残率となった。

吸着板上のバイオフィルムの経日変化を写真 2.4.5 に示す。

2.4.4 まとめ

本実験では、次亜塩素酸ナトリウムおよび二酸化によるバイオフィルムの消毒効果について検討した。その結果、消毒剤の作用濃度と細菌数によりその効果は異なってくる事が示された。

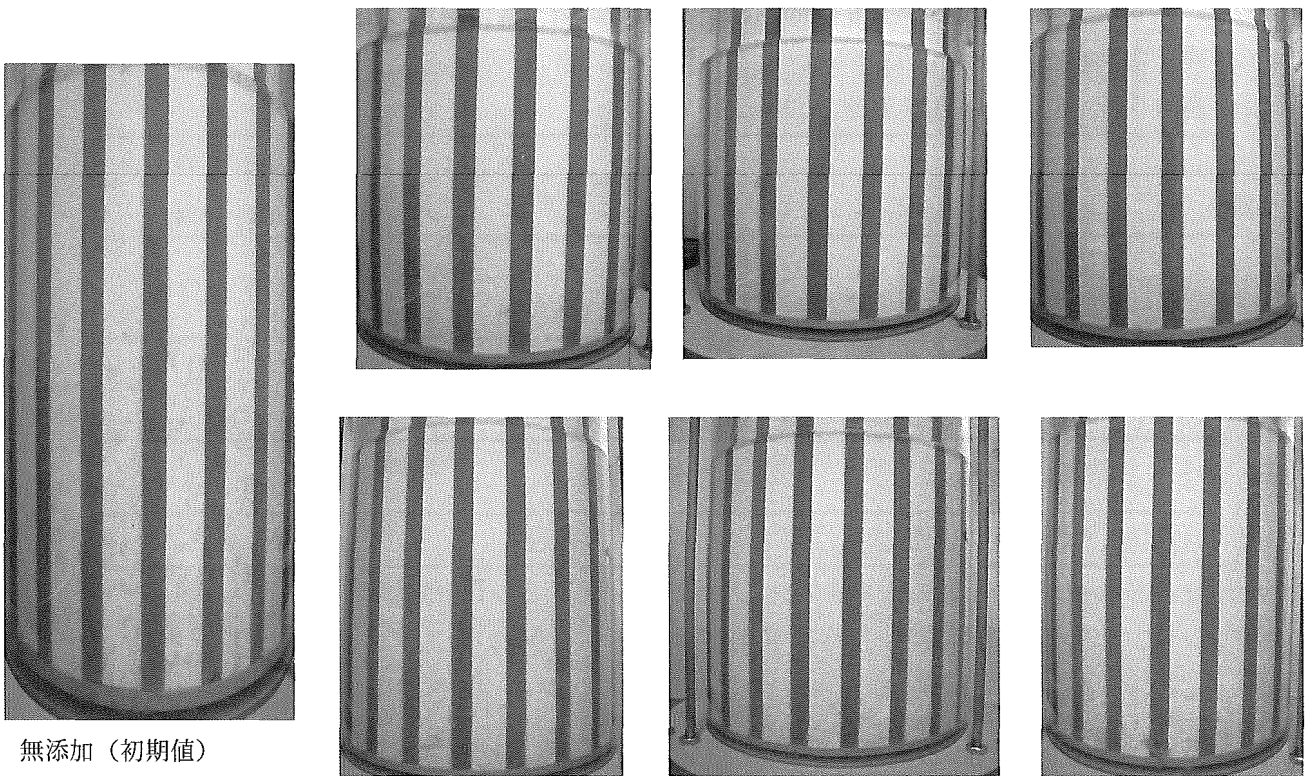
本条件下では、バイオフィルムに比較的高濃度の消毒剤を作用させることで、バイオフィルムが解体し、TOC 値を高める現象がみられた。また、細菌への消毒効果としては、比較的細菌数の低いレジオネラ属菌への効果は顕著に示された。

一方、バイオフィルム中に 10⁶cfu/mL オーダで生残していた従属栄養細菌に対する効果

としては、0.4～0.04%の生残率まで減少することが示された。

表 2.4.10 次亜塩素酸ナトリウムおよび二酸化塩素によるリアクタ内の水質試験結果

| | 初期値 | 次亜塩素酸ナトリウム | 二酸化塩素 |
|---------------------|-------------------|------------|-------|
| pH | 6.8 | 7.6 | 3.0 |
| Cond. (μ S/cm) | 65.6 | 3060 | 927 |
| SS(mg/L) | 635 | 2198 | 628 |
| TOC(mg/L) | 14.5 | 65.2 | 19.2 |
| TC(mg/L) | 18.1 | 72.6 | 19.45 |
| IC(mg/L) | 3.54 | 7.37 | 0.26 |
| 一般細菌(CFU/mL) | 6500 | 19 | ND |
| 従属栄養細菌(CFU/mL) | 1.4×10^6 | 5000 | 500 |
| 大腸菌群(CFU/mL) | 20 | ND | ND |
| レジオネラ属菌(CFU/100mL) | 460 | ND | ND |



対象薬剤、上段：次亜塩素酸ナトリウム添加、下段：二酸化塩素添加
経過日数、左から、5日、7日、9日

写真 2.4.5. 薬剤添加における吸着板上バイオフィルムの性状

(担当者：野知 啓子)

3. 消毒および細菌検査

3.1 残留塩素濃度測定法の特性評価

3.1.1 試験の目的

浴槽水の遊離残留塩素濃度は、レジオネラ属菌抑制対策の重要な管理パラメータである。その測定法としては、簡便な比色法であるDPD法が最も広く採用されており、最近ではSBT法もある。また、比色試験紙の形でシリンガルダジン法も用いられている。電気化学的測定法(ポーラログラフ法)としてハンディタイプの計器や連続濃度監視制御装置も使用されている。

これらの測定法は水道水中の遊離残留塩素濃度を測定するのに適しており、浴槽水の水源が水道水を使用している場合は大きな誤差は生じない。しかし、温泉水を使用している場合は、その泉質によっては遊離残留塩素濃度の測定に誤差を生じる場合が指摘される。

DPD法、SBT法、シリンガルダジン法、電極法の各種残留塩素濃度測定法について、遊離残留塩素濃度測定時のpHの影響、アンモニウムイオンの影響、各種温泉水質の影響について調査した。

3.1.2 残留塩素濃度測定方法

(1) 残留塩素測定方法の種類

残留塩素測定方法は、以下に示す4種類とした。

表 3.1.2.-1 残留塩素測定方法

| 方法 | 試験方法 等 | 吸光度測定波長(nm) |
|---------------|-----------------------|-------------|
| ①DPD法 | 上水試験法 17.3 DPD吸光度法 | 510 |
| ②シリンガルダジン法 | AWWA(4500 C1-H)に記載 | 530 |
| ③SBT法 | D社標準法 | 675 |
| ④電極(ポーラログラフ)法 | A社 | — |

DPD：N,N-ジエチル-p-フェニレンジアミン(硫酸塩)

シリンガルダジン：3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシベンザルダジン

SBT：N,N'-ビス(2,4-ジスルフォベンジル)-オトリジン(4Na塩)(2)

各測定法の測定手順

各残留塩素濃度測定法の測定手順を以下に示す。

① DPD法

- a. 共栓付き比色管(50mL容積)にりん酸緩衝液(0.2mol/Lりん酸二水素カリウム-水酸化ナトリウム溶液：pH 6.5)を2.5mL添加。
- b. ここにDPD試薬(N,N-ジエチル-p-フェニレンジアミン(硫酸塩)：無水硫酸ナトリウムを1：24で混合した物)を0.5g添加。
- c. 検水を加え、全量を50mLとする。

- d. これを吸収セルに取り分光光度計を用いて、510nm における吸光度(ABS)を測定。
- e. あらかじめ作成した検量線を用い、吸光度(ABS)から残留塩素濃度を読み取る。

② シリンガルダジン法

- a. 共栓付き試験管(25mL 容積)に検水を 9mL 添加。
- b. ここにシリンガルダジン用緩衝液(0.2mol/L りん酸二水素カリウムーりん酸一水素二ナトリウム：pH 6.6)を 0.3mL 添加。
- c. シリンガルダジン指示薬(115mg のシリンガルダジンを 1L の 2-プロパノールに溶解した物)を 3mL 添加。
- d. これを吸収セルに取り分光光度計を用いて、530nm における吸光度(ABS)を測定。
- e. あらかじめ作成した検量線を用い、吸光度(ABS)から残留塩素濃度を読み取る。

③ S B T 法

- a. 共栓付き試験管(25mL 容積)に検水を 10mL 添加。
- b. ここに S B T 発色用緩衝液(3mol/L 酢酸緩衝液：pH 5.2)を 120 μ L 添加。
- c. さらに、S B T 溶液(20 mmol/L)を 60 μ L 添加した。
- d. これを吸収セルに取り分光光度計を用いて、675nm における吸光度(ABS)を測定。
- e. あらかじめ作成した検量線を用い、吸光度(ABS)から残留塩素濃度を読み取る。

④ 電極法

- a. 100mL ビーカーに検水を 100mL 入れ、マグネチックスララーで攪拌する。
- b. 電極を検水に浸漬し、表示値を読み取る。
- c. 測定計器は、あらかじめ遊離残留塩素濃度既知の液で校正しておく。

(3) 検量線の作成

D P D 法、シリンガルダジン法、S B T 法の検量線の作成は以下の手順に従った。
次亜塩素酸ナトリウム溶液を純水で希釈(よう素滴定法により遊離残留塩素濃度を求めておく)して 0.1~2.0(mg/L as Cl₂)の範囲となるように、濃度を 7 段階に設定し、検水とした。

検水を (2) に示す各測定法により、発色させ吸光度(ABS)を求めた。

横軸に吸光度 (ABS)、縦軸に遊離残留塩素濃度(mg/L)をプロットし、検量線とした。

① D P D 法の検量線

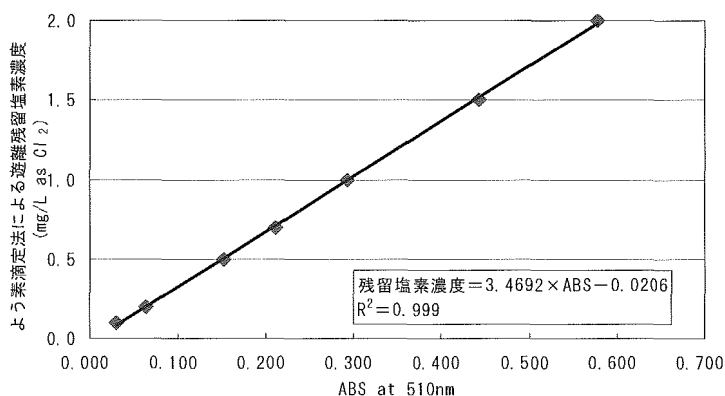


図 3.1.2-1 D P D 法の検量線

② シリンガルダジン法の検量線

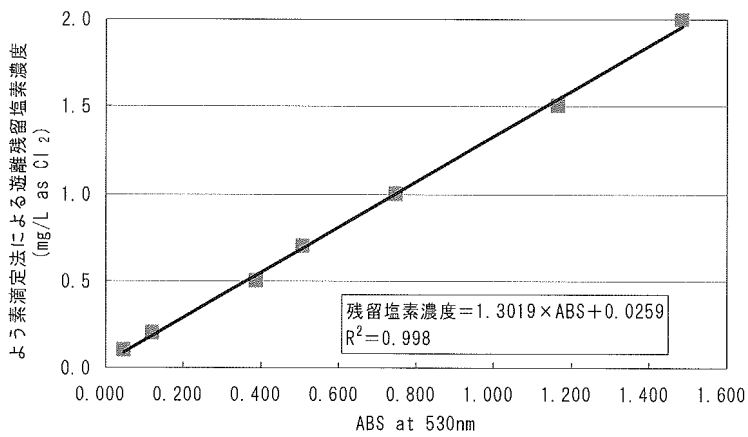


図 3.1.2-2 シリンガルダジン法の検量線

③ SBT法の検量線

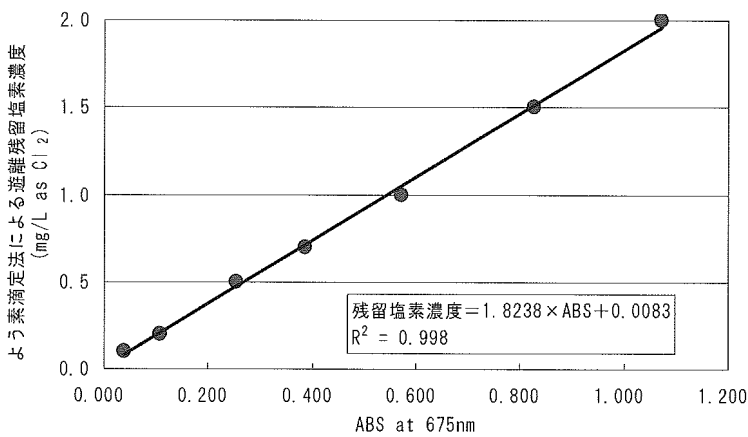


図 3.1.2-3 SBT法の検量線

3種類の遊離残留塩素濃度比色測定法について検量線を作成し、近似曲線(線形近似)を示した結果、いずれも R^2 が 0.998 以上となった。
以降の試験においては、この検量線を用いて濃度を算出した。

3.1.3 pHの影響

遊離残留塩素濃度測定法においては、電極法を除き、pH緩衝液により検水のpHを調整して発色させ、吸光度を求める。本試験では、測定手順のうち、pH緩衝液の添加を無くし、試験液のpHにより測定値がどの程度影響を受けるか調べた。また、電極法で測定した場合のpHの影響も調べた。

(1) 試験方法

① DPD法

- 50mL ビーカーに DPD 発色試薬を 0.3 g 添加。
- 酢酸緩衝液(0.1mol/L : pH4.0)を 27mL 添加し、攪拌混合した。
- この混合液の pH を、酢酸(原液もしくは 10 倍希釈)及び水酸化ナトリウム溶液(20%もしくは 1%(w/v))を使用し、10 段階 (4.0、5.0、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5、9.0、10.0) に調整した。
- 調整後、pH によっては発色が確認されたものがあつた為、波長 510nm における吸光度を測定した。
- 10(mg/L as Cl₂)の次亜塩素酸ナトリウム溶液を測定濃度として 1.0(mg/L as Cl₂)となるように添加(約 3mL)し、発色させた。
- ガラスセルを用いて、直ちに 510nm における吸光度を測定した。

② シリンガルダジン法

- 50mL ビーカーに酢酸緩衝液(0.1mol/L : pH4.0)を 28mL 添加し、シリンガルダジン指示薬を 10mL 添加、攪拌混合した。
- この混合液の pH を DPD 法と同様、10 段階に調整した。pH 調整後、発色はなかった。
- 10(mg/L as Cl₂)の次亜塩素酸ナトリウム溶液を測定濃度として 1.0(mg/L as Cl₂)となるように添加(3.0mL)し、発色させた。
- ガラスセルを用いて、直ちに 530nm における吸光度を測定した。

③ SBT法

- 50mL ビーカーに酢酸緩衝液(0.1mol/L : pH4.0)を 27.36mL 添加し、SBT 溶液(20mmol/L)を 0.18mL 添加、攪拌混合した。
- この混合液を 50mL 容ビーカーに取り、適宜 pH を調整した。DPD 法と同様、10 段階に調整した。
- この調整時、pH8.0 以上で溶液が黄色に発色した為、波長 675nm における吸光度を測定したが、675nm での吸収が無いことを確認した。
- 10(mg/L as Cl₂)の次亜塩素酸ナトリウム溶液を測定濃度として 1.0(mg/L as Cl₂)となるように添加(3.0mL)し、発色させた。
- ガラスセルを用いて、直ちに 675nm における吸光度を測定した。

④ 電極法

- 100mL ビーカーに酢酸緩衝液(0.1mol/L : pH4.0)を 97mL 添加した後、pH を 10 段階に調整した。

- 100(mg/L as Cl₂)の次亜塩素酸ナトリウム溶液を 3.0mL 添加し、1.0(mg/L as Cl₂)とした。
- 攪拌しながら、測定器の電極を入れ、指示値を読み取った。

(2) 試験結果

① pH 調整直後の吸光度測定による残留塩素濃度指示値

DPD法では pH調整直後（塩素添加前）に発色が確認された為、波長 510nm における吸光度を測定し、残留塩素濃度に換算した。

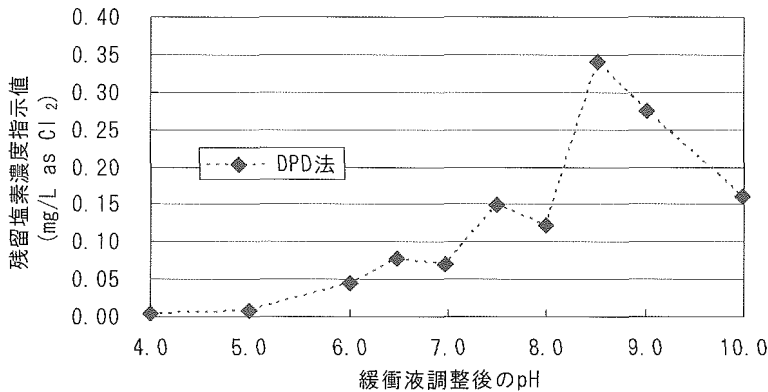


図 3.1.3-1 DPD法の pH調整による発色濃度指示値

DPD法では pH6.0 以上の場合、塩素剤を添加しなくても発色が確認された。特に、pH7.5 以上での発色が顕著である。pH7.5 以上の場合、赤紫色ではなく褐色を呈するようになった。

シリングアルダジン法、SBT法では pH変化による測定波長での発色は無かった。

② 各測定法での pH変化による測定値の変化

各種測定法で、1mg/L の遊離残留塩素濃度の検水の pHを変化させて発色させたときの測定値を示す。

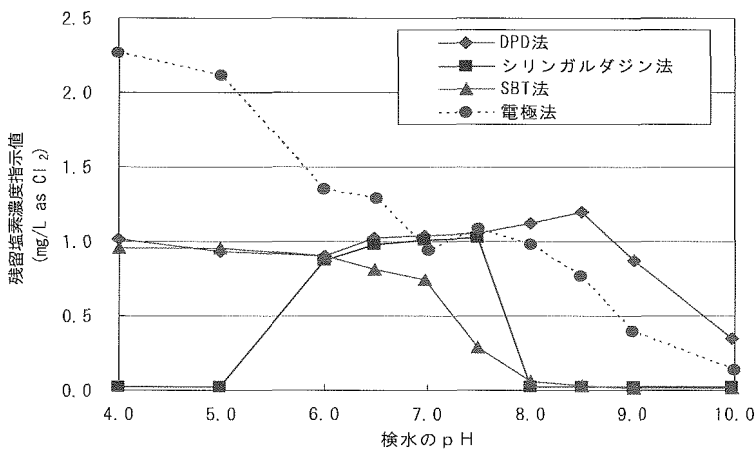


図 3.1.3-2 pHの変化による各測定法の塩素濃度測定値変化

DPD法では pH4 から 7.5 にかけて、ほぼ 1.0(mg/L as Cl₂)に近い測定値となったが、pH6.0 では 1.0(mg/L as Cl₂)を若干下回っていた。pH7.5 以上の場合、褐色を呈す

るようになり、測定値は高くなった。pH9.0 を超えると、発色が悪くなり、発色後 2 分間程度で色が消えた。

シリングルダジン法の場合、pH 5.0 以下及び 8.0 以上では発色せず、測定値はゼロとなった。シリングルダジン法の発色領域が pH6.0～7.5 の範囲である事が示された。

S B T 法は、pH4.0 及び 5.0 で、測定値が 1.0(mg/L as Cl₂)に最も近く、pH が高くなるに従って、測定値が低くなった。pH7.0 を越えると、発色の度合が急激に弱くなった。pH8.0 以上では、溶液が黄色く発色した。この時、675nm での吸収は確認されなかった。

電極法では、pH6.5 以下では高い値を示し、pH7.0～8.0 では 0.94～1.08(mg/L as Cl₂)、H8.5 を超えると、次第に指示値が低くなった。電極法の場合、酸性側では指示値が高くなり、アルカリ側では低くなる傾向が見られた。

3.1.4 アンモニウムイオン存在時の影響

アンモニウムイオンを含む水に塩素剤を添加すると、結合型塩素(クロラミン)を生成し、遊離残留塩素に比較して殺菌効果が弱くなるとされている。各種の残留塩素濃度測定法を用いてアンモニウムイオン存在条件で、塩素剤を添加した場合の測定値の挙動を調査した。

(1) 試験方法

① 試験溶液の調製

50mL 比色管に、1.0(mg/L as Cl₂)の次亜塩素酸ナトリウム溶液を 45mL とる。

ここに、塩化アンモニウム溶液を添加し、以下の 5 段階の NH₄⁺を存在させた。

| 番号 | NH ₄ ⁺ 添加濃度 (mg/L) | モル比 (アンモニア：残留塩素) |
|----|--|------------------|
| 1 | 0.064 | 0.25：1.0 |
| 2 | 0.127 | 0.50：1.0 |
| 3 | 0.254 | 1.0：1.0 |
| 4 | 0.508 | 2.0：1.0 |
| 5 | 1.016 | 4.0：1.0 |

さらに 1.0(mg/L as Cl₂)の次亜塩素酸ナトリウム溶液を加え、全量を 50mL とした。室温で 30 分間放置後、各種の方法で残留塩素濃度を測定した。

なお、この時、試験液の pH は 6.0 であった。

② 各残留塩素濃度測定方法による測定

a. 比色法による測定

D P D 法、シリングルダジン法、S B T 法は 3.1.2 の(2)に記載の測定手順で試験水を発色させ、直ちに各測定波長における吸光度を 5 分間(300 秒)、30 秒毎に連続測定した。発色開始 5 分後に、よう化カリウム溶液(50%濃度)を 0.05mL 添加し、更に 10 分間(600 秒)、1 分毎に吸光度を測定した。

b. 電極法による測定

試験は前記①項の番号 3～5 について実施した。

100mL ビーカーに前記①の濃度条件で調製した 100mL の試験水 (pH はりん酸緩衝液で 7.5 とした) を入れ、0、5 分後(300 秒)の指示値を読み取り、よう化カリウム

溶液(50%濃度)を 0.05mL 添加、添加後 1 分(開始後 360 秒)、10 分(開始後 900 秒)における指示値を読み取った。

測定に先立ち、電極の校正を行なった。方法は、つくば市水道水を活性炭充填カラムに通水脱塩素し、この水で 0 校正を行なった。この水に 1.0 (mg/L as Cl₂)となるように、次亜塩素酸ナトリウム溶液を添加した。DPD 法により塩素濃度を確認し、この濃度でスパン校正を実施した。

(2) 試験結果

各試験条件での残留塩素濃度の測定結果を示す。

① 番号 1 (アンモニア：残留塩素=0.25：1.0)

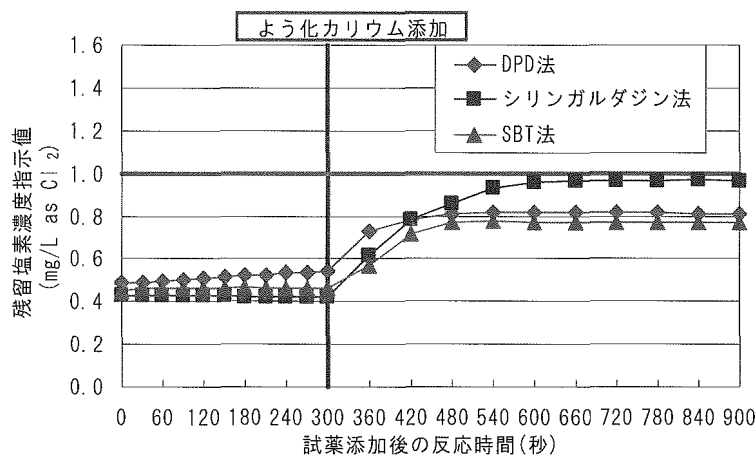


図 3.1.4-1 アンモニア：残留塩素=0.25：1.0 の時
塩素をアンモニアに対して 4 倍量入れているため遊離残留塩素が検出されている。
よう化カリウム添加前では DPD 法での値がやや増加傾向にあり、結合塩素による発色が認められる。

② 番号 2 (アンモニア：残留塩素=0.50：1.0)

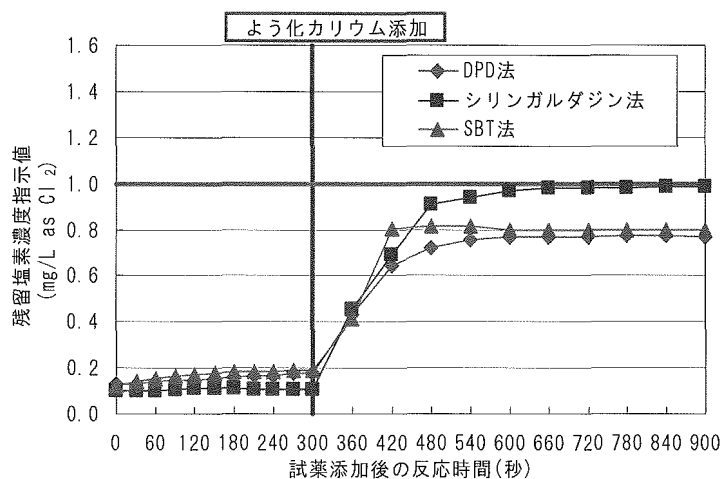
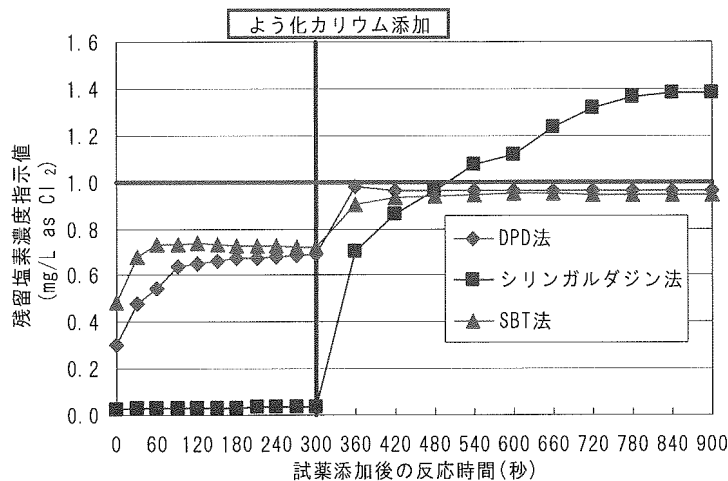


図 3.1.4-2 アンモニア：残留塩素=0.50：1.0 の時
この条件では、一部、遊離残留塩素 (0.1mg/L 程度) になっていると考えられる。

③ 番号3 (アンモニア：残留塩素=1.0：1.0)



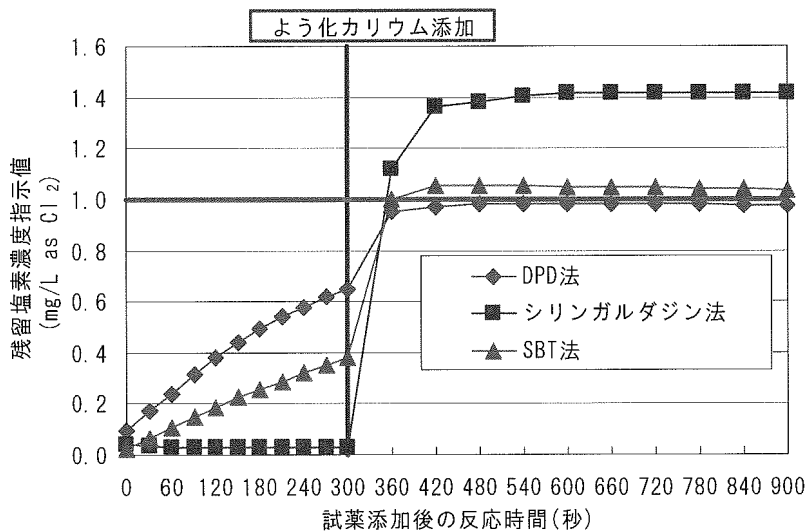
電極法の測定値

| 反応時間 (秒) | 残塩濃度 (mg/L) |
|----------|-------------|
| 0 | 0.20 |
| 300 | 0.21 |
| KI を添加 | |
| 360 | 0.96 |
| 900 | 0.97 |

図 3.1.4-3 アンモニア：残留塩素=1.0：1.0 の時

アンモニアと残留塩素のモル比が1：1とほぼモノクロアミン主体、と考えられるが、DPD法とSBT法では試薬添加直後から強い発色が認められる。シリンガルダジン法は発色しない。この条件では、電極法は0.2mg/L程度を示し、結合型塩素の一部を表示していると考えられる。

④ 番号4 (アンモニア：残留塩素=2.0：1.0)



電極法の測定値

| 反応時間 (秒) | 残塩濃度 (mg/L) |
|----------|-------------|
| 0 | 0.08 |
| 300 | 0.07 |
| KI を添加 | |
| 360 | 1.03 |
| 900 | 1.02 |

図 3.1.4-4 アンモニア：残留塩素=2.0：1.0 の時

アンモニアに対して2分の1当量の塩素添加条件では、アンモニアが過剰なので生成物は大部分モノクロアミンと考えられる。この条件では、DPD法、SBT法とも徐々に発色が強くなるが、DPD法のほうが発色の程度が強い。シリンガルダジン法は全く発色しない。電極法は0.08mg/L程度であり、時間が経過しても変動は無く、結合型塩素による指示値は比較的小さい。

⑤ 番号5 (アンモニア：残留塩素=4.0：1.0)

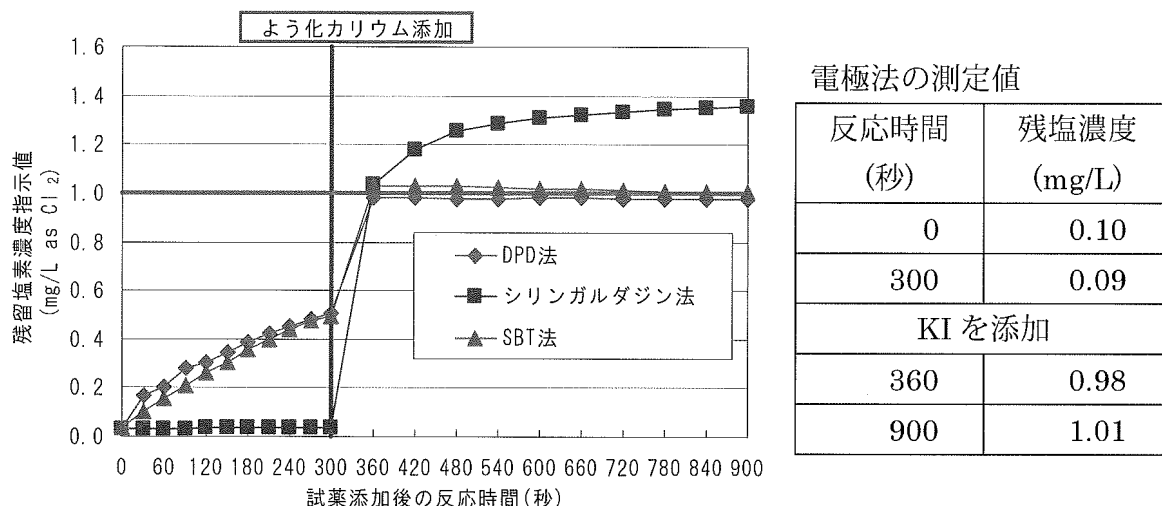


図 3.1.4-5 アンモニア：残留塩素=4.0：1.0の時

アンモニアに対して4分の一当量の塩素添加条件では、アンモニアが大過剰なので生成物はモノクロアミンと考えられる。この条件では、DPD法、SBT法とも徐々に発色が強くなり、発色の程度は同程度である。シリンガルダジン法は発色しない。電極法は0.1mg/L程度であり、時間が経過しても変動は無く、結合型塩素による指示値は比較的小さい。

3.1.5 各種温泉水の残留塩素の挙動

実際の各種温泉水に塩素剤を1.0(mg/L as Cl₂)添加した場合の、温泉水も残留塩素濃度を測定し、挙動を評価、考察した。

(1) 試験方法

① 試験に使用した温泉水と泉質

| 番号 | 泉質名(新泉質名による) | pH |
|----|--------------------------------|-----|
| 1 | ナトリウム・カルシウム-硫酸塩・塩化物温泉 | 7.5 |
| 2 | カルシウム・ナトリウム・塩化物泉等張性アルカリ性温泉 | 7.4 |
| 3 | 単純温泉 | 7.9 |
| 4 | ナトリウム-硫酸塩・塩化物泉 | 7.8 |
| 5 | ナトリウム-炭酸水素塩・塩化物泉 (旧泉質名：重曹泉) | 8.6 |
| 6 | 硫黄泉(硫化水素型) (旧泉質名：硫化水素泉) | 7.3 |
| 7 | 酸性含鉄(Ⅱ,Ⅲ)アルミニウム硫酸塩泉(旧泉質名：緑礬泉) | 2.6 |
| 8 | 硫黄泉 | 6.2 |

② 各温泉水の水質分析結果

| 番号 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|------------------------------------|-------|------|-------|-------|-------|-------|------|------|
| pH(25℃) | 7.5 | 7.4 | 7.9 | 7.8 | 8.6 | 7.3 | 2.6 | 6.2 |
| 濁度(度) | <0.5 | <0.5 | <0.5 | <0.5 | <0.5 | <0.5 | <0.5 | 3.6 |
| 電気伝導率(mS/m) | 120 | 1300 | 150 | 150 | 200 | 82 | 190 | 13 |
| 全硬度(CaCO ₃) | 288 | 3012 | 130 | 131 | 26 | 79 | 280 | 26 |
| Ca 硬度(CaCO ₃) | 280 | 3000 | 130 | 130 | 14 | 63 | 150 | 19 |
| Mg 硬度(CaCO ₃) | 8 | 12 | <1 | 1 | 12 | 16 | 130 | 7 |
| 鉄 | <0.05 | 0.46 | 0.08 | 0.13 | <0.05 | <0.05 | 30 | 0.81 |
| マンガン | <0.05 | 0.12 | <0.05 | <0.05 | <0.05 | 0.14 | 1.4 | 0.07 |
| 酸消費量 pH4.8 (CaCO ₃) | 26 | 34 | 48 | 49 | 540 | 180 | <1 | 1 |
| 塩化物イオン | 120 | 4500 | 170 | 170 | 210 | 71 | 2 | 2 |
| 硫酸イオン | 370 | 420 | 370 | 370 | 160 | 110 | 790 | 37 |
| 亜硝酸イオン | <0.1 | <0.1 | 0.11 | <0.1 | <0.1 | 0.3 | <0.1 | <0.1 |
| 硝酸イオン | 2 | 1.9 | <0.1 | <0.1 | <0.1 | 2.1 | 1.7 | <0.1 |
| シリカ | 46 | 74 | 74 | 75 | 130 | 89 | 230 | 37 |
| 過マンガン酸 K 消費 量 | <1 | 31 | <1 | <1 | 5 | 3 | <1 | 15 |
| 色度(度) | 1 | 3 | 1 | 2 | 2 | 1 | 8 | 6 |
| アンモニウムイオン | <0.1 | 0.3 | <0.1 | <0.1 | 6.4 | <0.1 | 13 | 4.5 |

③ 塩素剤添加、測定操作

各温泉水 45mL に、Cl₂ として最終濃度が 1.0(mg/L as Cl₂)となるように、次亜塩素酸ナトリウム溶液を添加した。添加後温泉水を添加し、全量を 50mL とした。

10 分間室温で放置後(以下、試験水とする)、DPD 法、シリンガルダジン法、S B T 法により残留塩素濃度を測定した。

(2) 試験結果

各温泉水の残留塩素濃度測定値、測定時の pH を表 3.1.5-1 に、同じく残留塩素濃度測定値を図 3.1.5-1 に示す。表、図中の残留塩素濃度は、発色操作直後(概ね 30 秒以内)の値を示した。

表 3. 1. 5-1 各種温泉水の残留塩素濃度、pH測定値

| 番号 | DPD法 | | シリンガルダジン法 | | SBT法 | |
|----|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | 指示値 (mg/L) | 試薬添加 直後のpH | 指示値 (mg/L) | 試薬添加 直後のpH | 指示値 (mg/L) | 試薬添加 直後のpH |
| 1 | 0.347 | 6.05 | 0.436 | 7.17 | 0.395 | 4.99 |
| 2 | 0.410 | 5.87 | 0.578 | 5.44 | 0.132 | 4.89 |
| 3 | 0.645 | 5.72 | 0.721 | 7.32 | 0.661 | 4.92 |
| 4 | 0.403 | 5.95 | 0.357 | 7.33 | 0.384 | 4.97 |
| 5 | 0.087 | 6.81 | 0.032 | 9.02 | 0.160 | 5.78 |
| 6 | 0.351 | 6.21 | 0.319 | 7.41 | 0.265 | 5.14 |
| 7 | 0.684 | 2.83 | 0.203 | 4.21 | 0.473 | 4.56 |
| 8 | 0.108 | 5.51 | 0.038 | 7.50 | 0.023 | 4.91 |

シリンガルダジン法の1、2、4、7は、pH緩衝液添加後白濁した。
また、7番はDPD法、SBT法でも、pH緩衝液添加後白濁した。
シリンガルダジン法の5、8番は、発色試薬添加後黄色に変色した。

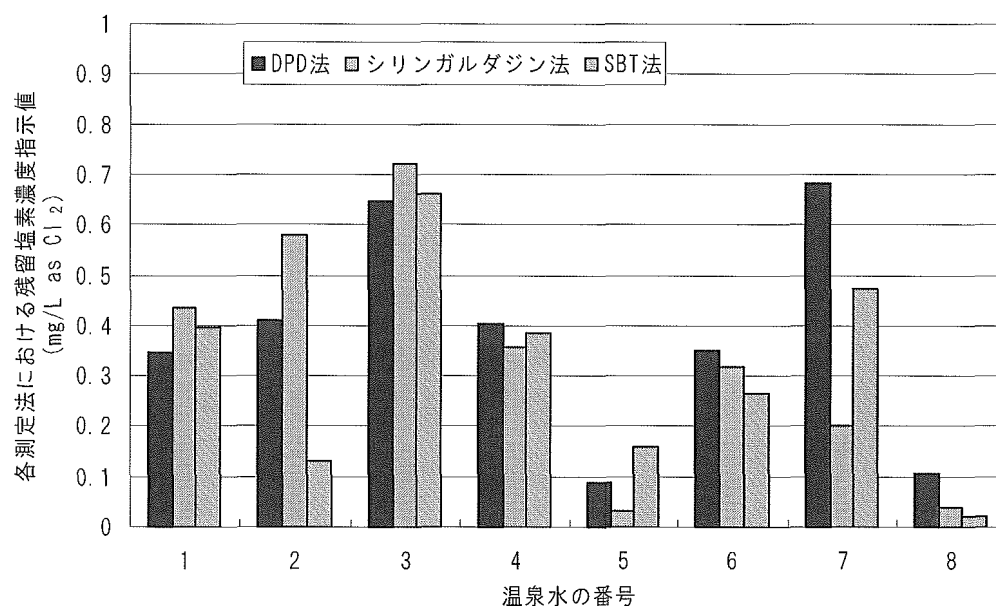


図 3. 1. 5-1 各種温泉水の各測定法による残留塩素濃度

① 1番

- ・発色試薬添加直後で、各測定法において指示値が 0.347～0.436 mg/L であった。測定値に大きな違いは無かった。
- ・シリンガルダジン法では、発色操作において、りん酸緩衝液を添加した影響により白濁が認められた。りん酸カルシウムが生成した可能性がある。

- ② 2番
- ・発色試薬添加直後で、各測定法において指示値が 0.132～0.578 mg/L であった
 - ・各測定法で値が大きく異なり、SBT 法が他の 2 種類に比べて低い値を示した。アンモニアが若干(0.3mg/L)存在しているので結合型塩素生成の可能性もある。シリンガルダジン法が最も高い値を示している理由は不明である。
 - ・本温泉水では、測定値が結合型なのか、遊離型なのか判断不能である。泉質としては、塩化物イオン濃度、カルシウム硬度が高い特徴がある。
 - ・シリンガルダジン法では、①と同様の白濁が認められた。
- ③ 3番
- ・発色試薬添加直後で、各測定法において指示値が 0.645～0.721 mg/L であった。
 - ・各測定値に大きな違いは無く、他温泉水に比べ、発色に対する影響が少ない泉質（水道水に近い）であった。
- ④ 4番
- ・発色試薬添加直後で、各測定法において指示値が 0.357～0.403 mg/L であった。
 - ・各測定値に大きな違いは無かった。
 - ・泉質は③と類似である、若干鉄が多く、色度にも違いがあるため、④の温泉水では③の温泉水に比較して塩素の消費が多い、と推測した。
 - ・シリンガルダジン法では発色試薬添加直後に白濁が確認された。
- ⑤ 5番
- ・発色試薬添加直後で、各測定法において指示値が 0.032～0.160 mg/L であった。
 - ・DPD 法、SBT 法では、試薬添加後、時間の経過とともに徐々に発色が強くなり測定値が大きくなった。DPD 法よりも SBT 法のほうが、高い値を示した。一方、シリンガルダジン法は低い値のままであった。
 - ・温泉水にはアンモニウムイオン(NH₄⁺)が 6.4mg/L あり、結合型塩素が生成していると考えられる。
- ⑥ 6番
- ・発色試薬添加直後で、各測定法において指示値が 0.265～0.351 mg/L であった。各測定値に大きな違いは無かった。
 - ・温泉水に塩素を添加し、10 分間の放置により、温泉水が薄い褐色に変化した。温泉水中にはマンガンが 0.14mg/L 含まれており、これと過マンガン酸カリウム消費量成分により塩素が消費された為指示値が低くなったことが考えられる。
- ⑦ 7番
- ・発色試薬添加直後で、各測定法において指示値が 0.203～0.684 mg/L であった。測定法間のばらつきは大きい。
 - ・塩素添加直後に強い塩素臭がした。pH は強酸性のため、ガスの発生も考えられた。
 - ・試薬添加後 10 分間放置により、温泉水が黄色から褐色に変化した。温泉水中に存在するマンガン(1.4mg/L)、及び鉄(30mg/L)の影響と考える。