

### 8.3 循環濾過式浴槽の生物浄化槽の細菌構成

#### 8.3.1 目的

生物浄化方式の循環式浴槽はろ過器がレジオネラ増殖の温床となることから、その使用が減っている。その代替として物理ろ過と塩素消毒の併用が行われている。しかし物理ろ過は湯の浄化能力が高くないこと、塩素消毒は臭いやトリハロメタンの発生が問題となっている。

そこで、循環式浴槽システムのなかで生物浄化方式のろ過装置のみの 65℃処理、紫外線殺菌、食塩添加による次亜塩素酸の発生という 3つの組み合わせにより、レジオネラの増殖を抑えつつ湯を浄化するシステムに注目し、この生物浄式ろ過装置のろ材の細菌叢を解析することを目的とした。

#### 8.3.2 方法

##### (1)材料

上記に示す家庭用循環式浴槽の使用者よりろ材を送付してもらい、ろ材を入れて攪拌したものを材料とした。

##### (2)菌の分離

10-1,000 倍に希釈した材料を LA 培地に塗布し、37 または 42℃で培養、出現したコロニーの形態、色などの異なるコロニーを LA 培地で純培養した。

##### (3)DNA の抽出と PCR

分離菌から DNA を抽出し、16SrRNA のユニバーサルプライマーである 8UA と 1485B を用いて PCR を行った。PCR 産物を精製し、pGEM-T easy vector とライゲーションして、*E. coli* DH5a をトランスフォーマーションした。増殖した *E. coli* からプラスミドをとり、シークエンサー (CEQ2000XLDNA) により塩基配列を解析した。

##### (4)ホモロジーサーチ

16SrRNA の塩基配列のホモロジー検索を実施し、属・種の推定を行った。

##### (5)菌の耐熱性

約  $10^6$ CFU/ml の菌数に調節した浮游液をつくり、60℃の温浴槽に浸せきしたのち LA 培地に塗布し CFU を計測した。

##### (6)バイオフィルム形成

LB 培地(液体)にて前培養した菌を LB 培地にて 10 倍希釈して 3 日間静置培養した。肉眼にてガラス管壁のバイオフィルム形成を観察後、0.25%クリスタル紫を  $500 \mu\text{l}$  添加、15 分室温に置いたのち菌液を観察し、2ml の蒸留水にて 2 回洗浄後、メタノール処理し、3 時間後に吸光度を計測した。

#### 8.3.3 結果

分離培養、染色、同定を行った結果を表 8.8 に示す。

株番号 1-5 は 37℃培養、6-10 は 42℃培養とした。11-14 は 65℃熱処理直後の分離菌である。同定を実施した 1-10 の株は *Bacillus* 属、*Brevibacillus* 属、*Paenibacillus* 属とグラム陽性菌が優勢であったが、水に生息するグラム陰性の

*Sphingomonas*, *Caulobacter*, *Sphingopyxis* も検出された。これらの多くはバイオフィルムを形成し、そのうち芽胞を形成する *Bacillus* 属、*Paenibacillus* 属は熱に耐性を示した。一方、熱処理直後に送られてきた試料から分離された 11-14 の菌はいずれもグラム陰性菌であるがバイオフィルムを形成し、しかも熱に耐性を示した。

### 8.3.4 考察

レジオネラの増殖を許さない生物浄化槽の作製は塩素を使わずに循環濾過式浴槽が使われる点で期待がもたれている。今回の研究で、熱に耐性でバイオフィルムをつくる能力の高い細菌構成の一部が明らかにされたと考える。これらの細菌の浄化能力を定量化する方法を開発し、浄化能力の高い細菌を選択する必要がある。菌種とその性質が明らかになれば、熱処理に耐性で、レジオネラの増殖を許さず、しかも浄化能力の高い生物浄化槽の供給ができると考えている。

しかし、生物浄化槽は管理維持を怠ると、あらたな病原菌の増殖を許すことになる。今後、レジオネラ以外の病原菌の増殖抑制も考慮しつつ、安全な生物浄化槽の作製に向けて研究を続ける必要がある。

表 8.3 分離菌株の同定結果

株番号	形態と配列	培地	培養温度	コロニーの色	Gram染色	芽胞	分離した菌の属と種の同定	Biofilm		耐熱性(60°C30分) 減少菌数(log10)
								菌膜	OD	
1	連鎖は少ない、桿菌	LA	37°C	white	+	+	<i>Bacillus subtilis</i>	+++	2.41	2.60
2	連鎖は少ない、小さい桿菌	LA	37°C	yellow	-	-	<i>Sphingomonas</i> sp.	++	3.02	3.14
3	短桿菌	LA	37°C	yellow	-	-	不明	+	3.16	2.74
4	桿菌(両端細い)	LA	37°C	white	-	-	<i>Caulobacter</i> sp.	+	1.67	3.25
5	短い桿菌	LA	37°C	white	-	-	不明	-	1.77	3.29
6	短い桿菌(両端丸い)	LA	42°C	light yellow	+	+	<i>Brevibacillus parabrevis</i>	+	1.48	2.70
7	小さい桿菌(両端濃く染まる)	LA	42°C	yellow	-	-	<i>Sphingopyxis alaskensis</i>	+	2.52	4.91
8	短い桿菌	LA	42°C	light yellow	+	+	<i>Bacillus cereus</i>	++	1.53	0.34
9	短い桿菌	LA	42°C	transparent	+	+	<i>Paenibacillus macerans</i>	+	1.68	0.17
10	長い連鎖桿菌	LA	42°C	white	+	+	<i>Brevibacillus</i> sp.	-	0.5	3.05
11	長い桿菌	LA	42°C	white	+	+		+	1.78	-0.10
12	短い桿菌(太い)	LA	42°C	yellow	-	-		+	1.58	-0.02
13	短い桿菌(両端濃く染まる)	LA	42°C	transparent	-	-		+	2.93	-0.25
14	短い桿菌	LA	42°C	yellow	-	-		+	1.9	-0.29

## 8.4 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

### 8.4.1 目的

循環浴槽システムのろ過槽内や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の細菌叢となるため、その生成抑制が課題となっており、この生成抑制策として塩素等による消毒方法が用いられている。

本研究ではリアクター装置を用いて、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、その消毒効果を検討した。

#### 8.4.2 実験方法

##### (1)リアクター装置

本実験で使用したリアクター装置を図 8.8 および図 8.9 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で構成されており、吸着板(生物膜生成箇所)は 20 枚となっている。

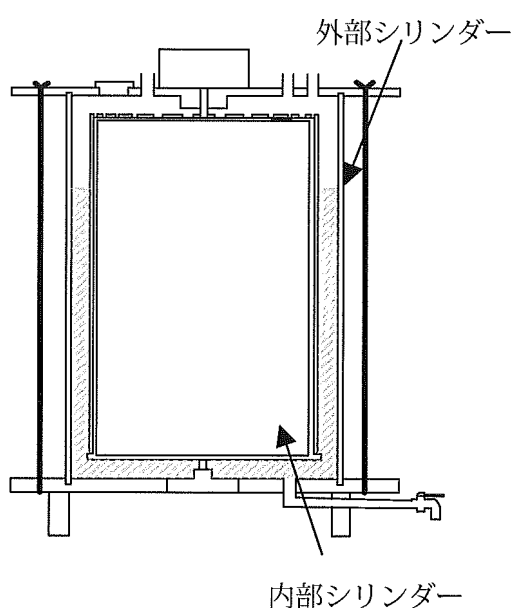


図 8.8 リアクター装置断面図

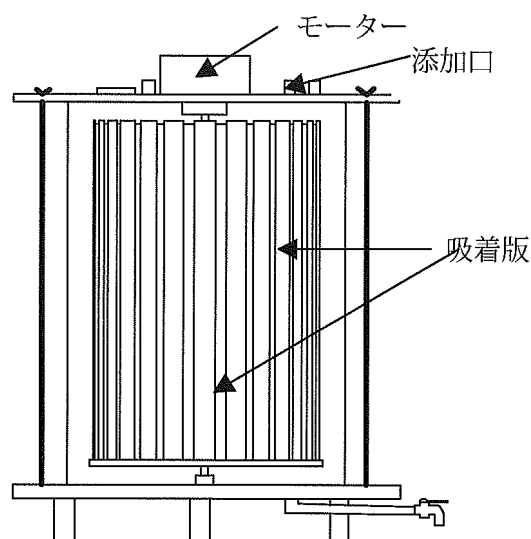


図 8.9 リアクター装置外観図

##### (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 (実験 a)

2 台のリアクター装置内に浴槽水と家庭用循環浴槽システムのろ材より採取したバイオフィルムを入れる。1 週間後に 1 台の装置には残留塩素濃度が 0.2-0.4mg/L 程度となるよう添加し、他方は塩素無添加とした。なお、培養は暗所にて実施し、リアクター回転数は 180rpm、培養期間は 3 週間とした。その間の測定項目として、吸着板に生成したバイオフィルム量、目視観察および槽内の水質測定とした。

##### (3)二酸化塩素によるバイオフィルムの生成抑制実験 (実験 b)

実験 a と同様に、2 台のリアクター装置内に浴槽水とバイオフィルムを入れ、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、1 週間測定したが、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)、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。

(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 8.4 に示す。

表 8.4 次亜塩素酸ナトリウムおよび二酸化塩素（対比）の添加

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	/

8.4.3 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 8.5 に示す。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、槽内バイオフィルムの生成量は添加時の約 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 8.6 に示す。塩素無添加条件下では、TOC は初期値 10.4mg/L が 3 週間培養後には 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。

細菌試験結果をみると、塩素無添加条件下ではレジオネラ属菌は初期値  $8 \times 10^3$ cfu/100mL が、無添加条件下では 3 週間培養することで  $10^5$ cfu/100mL まで増殖した。一方、塩素添加条件下では  $5 \times 10^3$ cfu/100mL を示し、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。

以上の結果より、塩素消毒無添加条件下で 3 週間の培養で、バイオフィルム中

のレジオネラ属菌の増殖が確認された。一方、遊離残留塩素濃度を 0.13~0.4mg/L の比較的 low 濃度域で作用させた結果、レジオネラ属菌の生残率は 63% となり、塩素濃度を高める必要性が示唆された。

表 8.5 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 <sup>2</sup> )	2	ND
一般細菌(cfu/cm <sup>2</sup> )	1.3×10 <sup>4</sup>	(-)
大腸菌群(cfu/cm <sup>2</sup> )	3	ND

表 8.6 塩素剤添加によるリアクター内の水質結果

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 (μ S/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 <sup>3</sup>	1.1×10 <sup>4</sup>	5×10 <sup>3</sup>
一般細菌 (cfu/mL)	1.4×10 <sup>6</sup>	5.2×10 <sup>6</sup>	2.1×10 <sup>5</sup>
大腸菌群 (cfu/mL)	4.6×10 <sup>3</sup>	—	—

## (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 8.7 に示す。二酸化塩素添加条件下における TOC 値は初期値 (8.2mg/L) が約 1 週間前後平衡にあるものの、最終値は約 2 倍量となったが、対照は約 4 週間経過後も初期値と同等であった。

二酸化塩素による細菌類の消毒効果を表 8.8 に示す。二酸化塩素を 1.4~8.3mg/L の添加条件下では 10<sup>4</sup>CFU/100mL が検出されたレジオネラ属菌が 28 日間の消毒試験で抑制された。一方、対照ではレジオネラ属菌数は 28 日後もほぼ同様な値が得られた。

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<sup>4</sup>cfu/100mL) への効果が高いことが示された。

表 8.7 二酸化塩素添加によるリアクター内の水質結果

経過日数(日)	pH(-)		Cond.( $\mu$ 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 8.8 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)	$1.0 \times 10^4$	$1.6 \times 10^4$
最終値(cfu/100mL)	ND	$1.8 \times 10^4$

### (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。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 8.9 に示す。pH は消毒剤添加により、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、二酸化塩素添加条件下では 3.0 の酸性域を示した (対照 pH:6.8)。

次に TOC 値についてみると、初期値 (14.5mg/L) と対比すると、消毒剤の影響により、二酸化塩素添加では 19.2mg/L と若干高い値を示し、無機炭素濃度が 0.3mg/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では、65 mg/L と約 4.5 倍となり、バイオフィルムの解体が示唆された。

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。

表 8.9 次亜塩素酸ナトリウムおよび二酸化塩素添加による水質試験結果

	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)	$1.4 \times 10^6$	5000	500
大腸菌群(CFU/mL)	20	ND	ND
レジオネラ属菌(CFU/100mL)	460	ND	ND

#### 8.4.4 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ことを示された。

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。

## 9. 消毒および細菌検査

### 9.1 残留塩素濃度測定法の特性評価

#### 9.1.1 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いるが、最近では SBT 法や比色試験紙の形でシリングルダジン法、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、シリングルダジン法、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。

#### 9.1.2 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 9.1 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シリングルダジン法	AWWA(4500 Cl-H)	530
③SBT法	D社標準法	675
④電極(ポーラログラフ)法	A社	—

##### (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

- ① 共栓付き比色管 50mL にりん酸緩衝液を 2.5mL 添加
- ② ここに DPD 試薬を 0.5 g 添加
- ③ 検水を加え、全量を 50mL とする
- ④ これを吸収セルに取り分光光度計で 510nm における吸光度(ABS)を測定
- ⑤ あらかじめ作成した検量線を用い、ABS から残留塩素濃度を読み取る

###### 2) シリングルダジン法

- ① 共栓付き試験管(25mL 容積)に検水を 9mL 添加
- ② ここにシリングルダジン用緩衝液を 0.3mL 添加
- ③ シリングルダジン指示薬を 3mL 添加
- ④ これを吸収セルに取り分光光度計で 530nm における ABS を測定



- ⑤あらかじめ作成した検量線を用い、ABS から残留塩素濃度を読み取る
- 3) SBT 法
- ① 共栓付き試験管(25mL 容積)に検水を 10mL 添加
  - ② ここに SBT 発色用緩衝液を 0.12mL 添加
  - ③ さらに、SBT 溶液(20 mmol/L)を 0.06mL 添加
  - ④ これを吸収セルに取り分光光度計で 675nm における ABS を測定
  - ⑤ あらかじめ作成した検量線を用い、ABS から残留塩素濃度を読み取る
- 4) 電極法

- ① 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
- ② 電極を検水に浸漬し、表示値を読み取る
- ③ 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

DPD 法、シリンガルダジン法、SBT 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して 0.1~2.0(mg/L as Cl<sub>2</sub>)の範囲となるように 7 段階の濃度で設定し、検水とした。  
 検水を(2)に示す各測定法により、発色させ ABS を求めた。  
 横軸に 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。  
 作製した検量線を図 9.1~9.3 に示す。

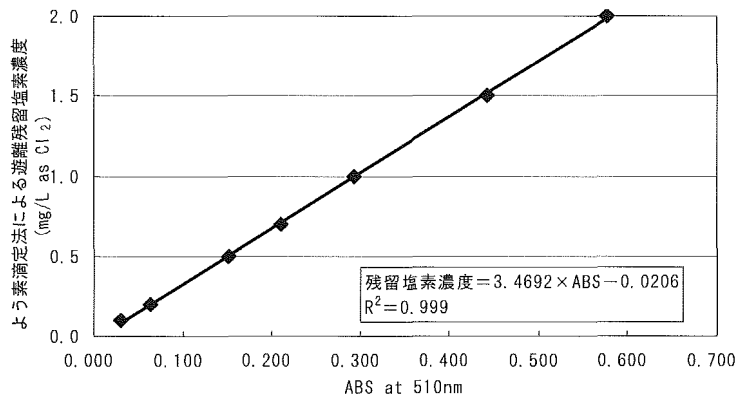


図 9.1 DPD 法の検量線

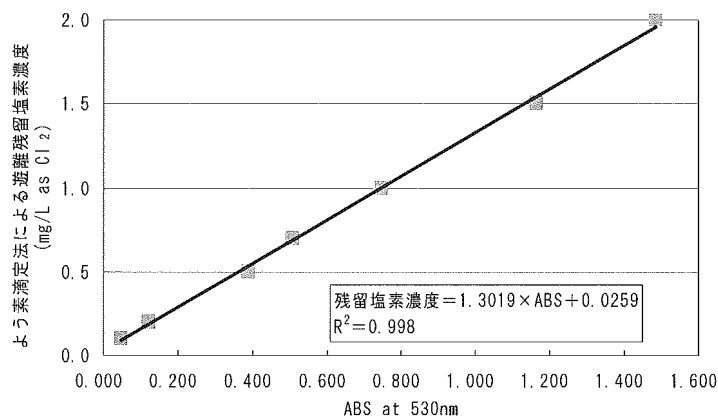


図 9.2 シリンガルダジン法の検量線

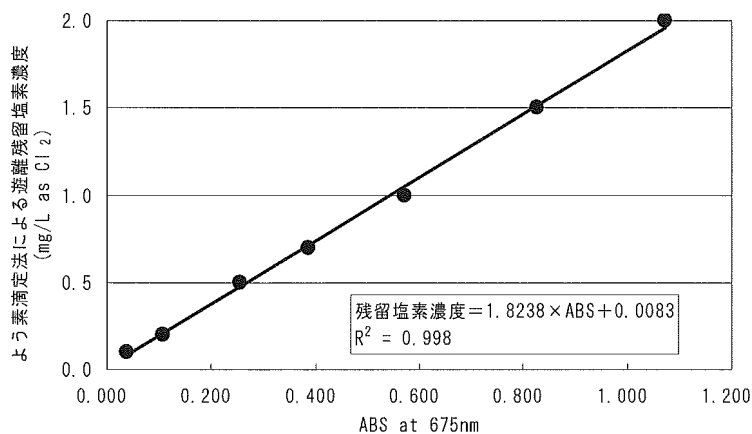


図 9.3 SBT 法の検量線

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。

### 9.1.3 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

- ① 50mL ビーカーに DPD 発色試薬を 0.3 g 添加
- ② 酢酸緩衝液 (0.1mol/L : pH4.0) を 27mL 添加し、攪拌混合した
- ③ この混合液の pH を酢酸及び水酸化ナトリウム溶液にて、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

④調整後、pHによっては発色が確認されたものがあった為、波長 510nm における吸光度を測定

⑤10(mg/L as Cl<sub>2</sub>)の次亜塩素酸ナトリウム溶液を測定濃度として 1.0mg/L となるように添加して発色

⑥ガラスセルを用いて、直ちに 510nm における吸光度を測定

## 2) シリンガルダジン法

①50mL ビーカーに酢酸緩衝液を 28mL 添加し、シリンガルダジン指示薬を 10mL 添加、攪拌混合

②この混合液の pH を DPD 法と同様、10 段階に調整した。

pH 調整後の発色はなかった。

③10mg/L の次亜塩素酸ナトリウム溶液を測定濃度として 1.0mg/L となるように添加して発色

④ガラスセルを用いて、直ちに 530nm における吸光度を測定

## 3) SBT 法

①ビーカーに酢酸緩衝液を 27.36mL 添加し、SBT 溶液を 0.18mL 添加、攪拌

②この混合液をビーカーに取り、適宜 pH を調整し、DPD 法と同様、10 段階に調整（調整時、pH8.0 以上で溶液が黄色に発色した為、吸光度（波長 675nm）を測定したが、測定できず）

③10mg/L の次亜塩素酸ナトリウム溶液を測定濃度として 1.0mg/L となるように添加して、発色

④ガラスセルを用いて、直ちに 675nm における吸光度を測定

## 4) 電極法

①100mL ビーカーに酢酸緩衝液を 97mL 添加後、pH を 10 段階に調整

②100(mg/L as Cl<sub>2</sub>)の次亜塩素酸ナトリウム溶液を 3.0mL 添加

③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。

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。

シリンガルダジン法、SBT 法では pH による測定波長での発色は無かった。

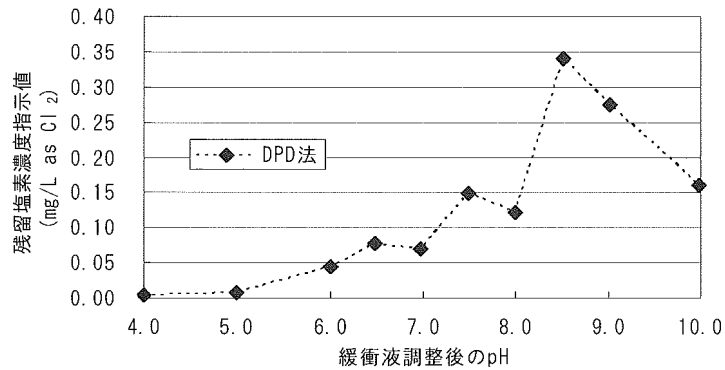


図 9.4 DPD 法の pH 調整による発色濃度指示値

## 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。

DPD 法では pH4 から 7.5 にかけて、ほぼ 1.0mg/L に近い測定値となったが、pH6.0 では 1.0mg/L 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。

シリングアルダジン法の場合、pH 5.0 以下及び 8.0 以上では発色せず、測定値は 0 となった。シリングア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。

SBT 法は pH4.0 及び 5.0 で、測定値が 1.0mg/L に最も近く、pH が高くなるにしたが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 0.94~1.08mg/L、pH8.5 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。

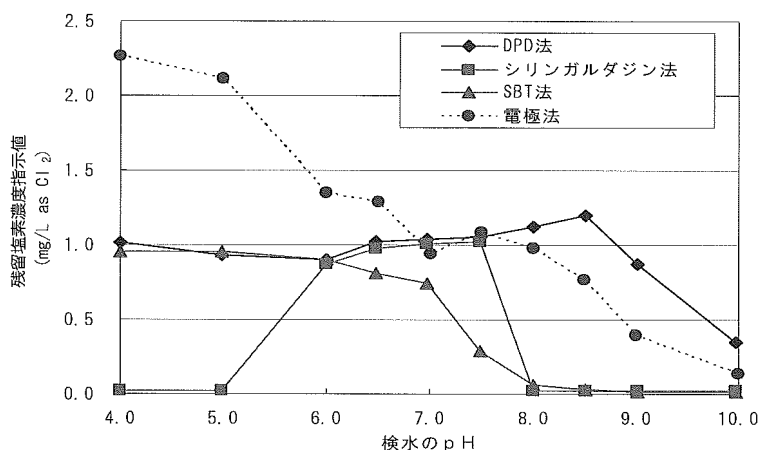


図 9.5 pH の変化による各測定法の塩素濃度測定値変化

#### 9.1.4 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 Cl<sub>2</sub>)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 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>を存在させた。

	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> 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 Cl<sub>2</sub>)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

##### ① 比色法による測定

DPD 法、シリンガルダジン法、SBT 法は 9.1.2 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、1 分毎に吸光度を測定した。

②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 1 分後、10 分後における指示値を読み取った

(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)アンモニア：残留塩素=0.25：1.0 の場合

塩素をアンモニアの 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(図 9.6)。

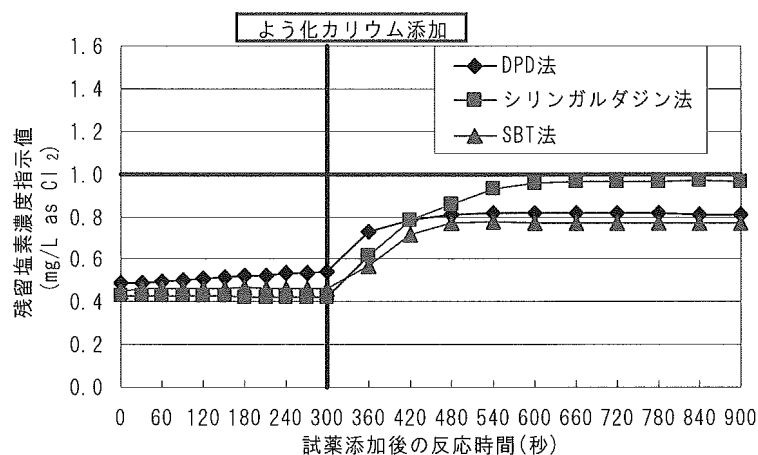


図 9.6 アンモニア：残留塩素=0.25：1.0 の時

2)アンモニア：残留塩素=0.50：1.0 の場合

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(図 9.7)。

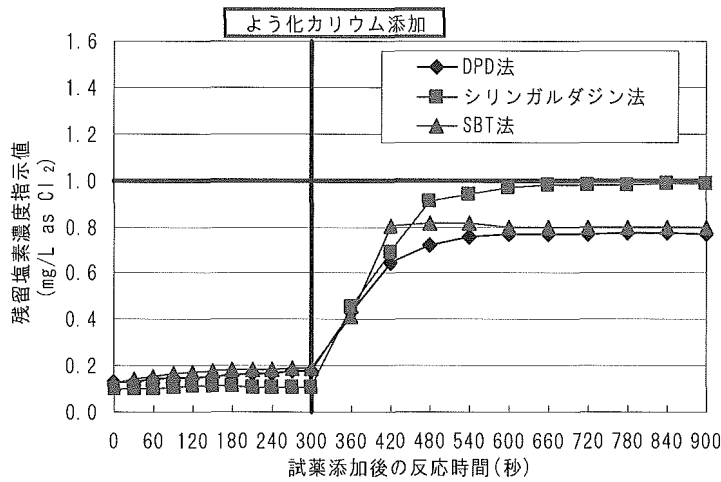
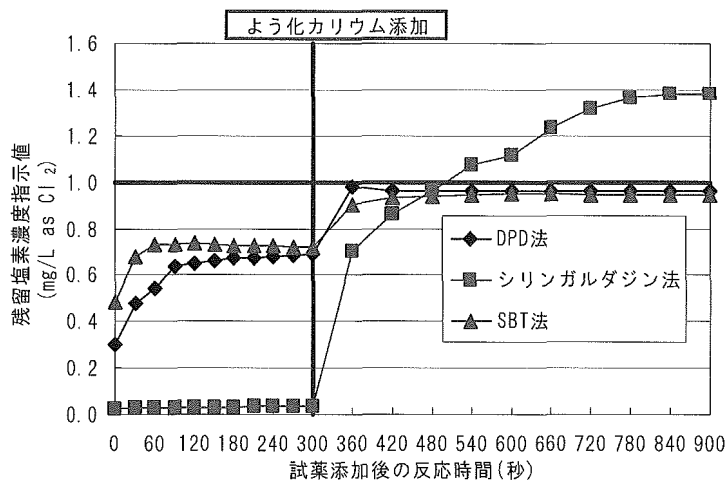


図 9.7 アンモニア：残留塩素=0.50：1.0の時

3) アンモニア：残留塩素=1.0：1.0の場合

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（図9.8）。



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 9.8 アンモニア：残留塩素=1.0：1.0の時

4) アンモニア：残留塩素=2.0：1.0の場合

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法の方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（図9.9）。

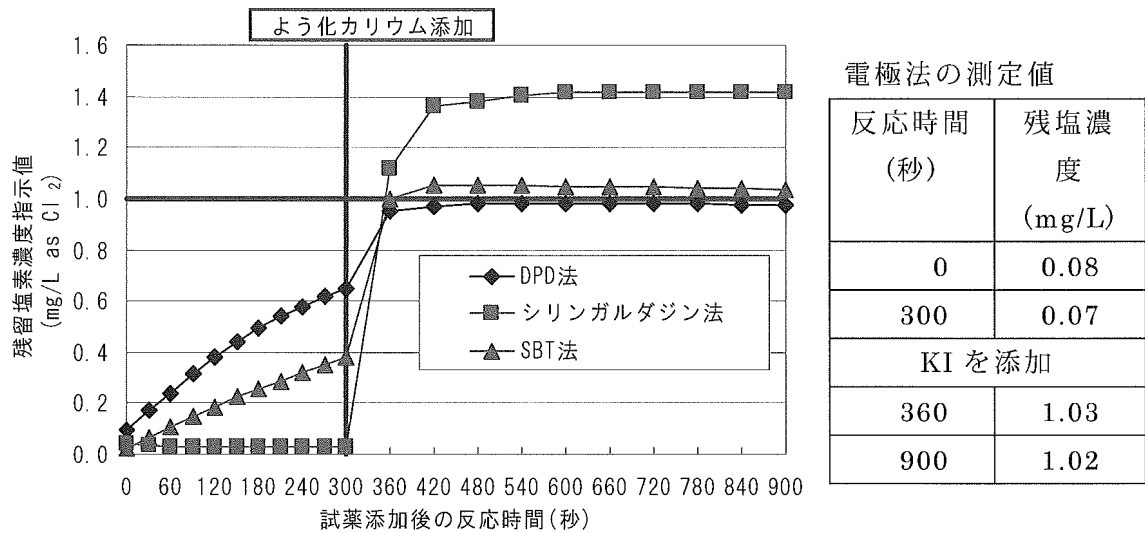


図 9.9 アンモニア：残留塩素=2.0：1.0の時

5)アンモニア：残留塩素=4.0：1.0の場合

アンモニアに対して4分の1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(図9.10)。

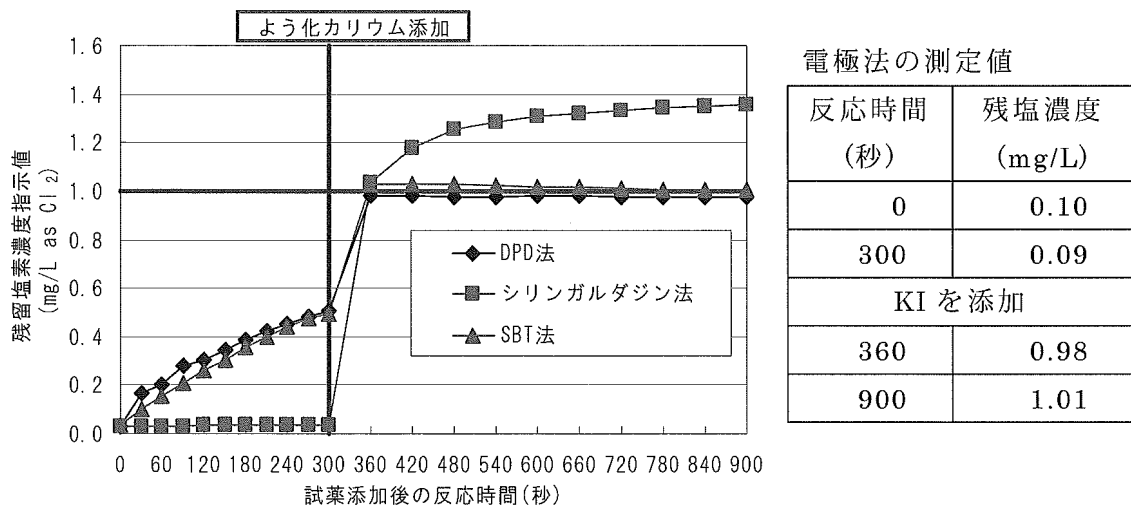


図 9.10 アンモニア：残留塩素=4.0：1.0の時

9.1.5 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1.0mg/L添加した場合の温泉水の残留塩素濃度の挙動を評価、考察した。

(1)試験方法



① 試験に使用した温泉水と泉質

	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

	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 <sub>3</sub> )	288	3012	130	131	26	79	280	26
Ca 硬度(CaCO <sub>3</sub> )	280	3000	130	130	14	63	150	19
Mg 硬度(CaCO <sub>3</sub> )	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 <sub>3</sub> )	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
KMnO <sub>4</sub> 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、Cl<sub>2</sub>として最終濃度が 1.0(mg/L as Cl<sub>2</sub>)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、SBT 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を図 9.11 に示す。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。

温泉水により、残留塩素濃度の測定値は様々であり、同じ温泉水でも測定法により残留塩素濃度の値が異なっている場合もあった。

全ての温泉水は、添加した塩素濃度に比べて低い値を示しており、その理由として、鉄、やマンガン等の成分により残留塩素が消費された、塩素が結合型となり一部のみが測定されている、測定法の pH 調整が不十分で発色がうまくいかなかった等と推察する。

測定法による、値の違いは主として結合型の存在によるものと考えられるが、それだけでは説明のつきにくい場合もあり複雑である。

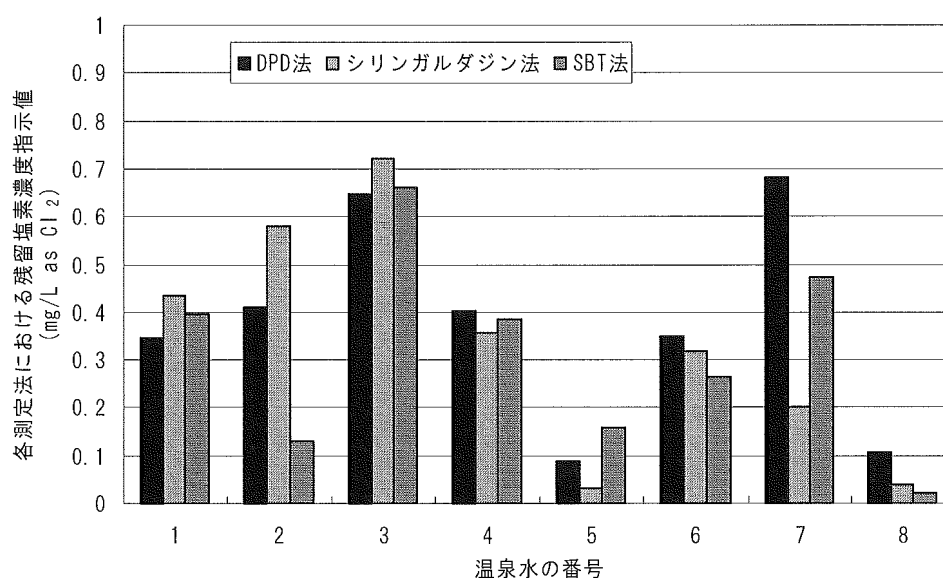


図 9.10 各種温泉水の各測定法による残留塩素濃度

### 9.1.6 まとめ

残留塩素濃度測定法として、DPD 法、シリンガルダジン法、SBT 法、ポーラログラフ電極法について特性を調査した。

その結果、各測定法について、その発色や測定値は pH により変化することが確認された。

比色法で残留塩素濃度を測定する場合は、試験水の pH を緩衝液により発色至適 pH に調整して測定しなければならず、温泉水によっては pH 緩衝能が高く、十分に pH 調整されない場合があるので注意を要する。

電極式の場合は、計器を校正した上で、測定する必要がある。

アンモニウムイオンが存在する場合の残留塩素は結合型になっており、測定方法により測定値が異なってくる。

シリンガルダジン法は、結合型塩素には殆ど反応せず、遊離残留塩素濃度のみ

を測定した。DPD 法と SBT 法は、結合型塩素の一部と反応し、測定値として表示した。測定値は時間の経過とともに高くなるので、遊離残留塩素濃度のみを測定する場合は発色させた後、出来るだけ速やかに測定する必要がある。

DPD 法と SBT 法を比較した場合、条件によっては SBT 法の方が、結合型塩素に対する測定値が低くなっている。

電極法は、結合型塩素濃度の 10% 程度の表示値であった。

温泉水中の残留塩素濃度の測定では、①温泉の泉質により、塩素が消費され残留濃度が低くなる、②結合型塩素を生成し、遊離残留塩素が検出されなくなる、③結合型塩素の場合、測定法により測定値が異なってくる、④ pH 緩衝能が強い場合は、発色に影響する可能性がある等の挙動が生じるので、残留塩素測定器による測定値をそのまま遊離塩素濃度と解釈できない場合があることに注意が必要である。

## 9.2 塩素処理に伴う消毒副生成物の検討

### 9.2.1 結合塩素の生成特性

塩素は水中の無機性、有機性窒素化合物と結合してクロラミンを生成する。本実験では、水中の有機化合物との相関をみながら、塩素処理に伴う循環系浴槽水の結合塩素生成量について測定した。

#### (1) 実験方法

次亜塩素酸ナトリウムの添加濃度を 1mg/L 前後になるように添加し、循環系浴槽水で全量を 100mL としたものを試料とし、HACH 社製の DR/4000 分光光度計を用いて全塩素濃度、遊離残留塩素濃度を計測し結合塩素を算出した。

#### (2) 結果および考察

##### 1) 生物ろ過膜仕様循環系浴槽水

生物ろ過膜仕様循環系浴槽水のアンモニア性窒素は 1mg/L 以下と比較的低濃度であることから、本実験では有機性窒素も視野に入れて TOC および過マンガン酸カリウム消費量を測定し、結合塩素の生成量について評価した。各採取時点における循環浴槽水の塩素濃度、TOC および  $\text{KMnO}_4$  消費量を表 9.2 に示す。

循環系浴槽水における塩素の存在割合を  $\text{KMnO}_4$  消費量および TOC 濃度との関連において  $\text{KMnO}_4$  消費量が 5mg/L 以下を示す浴槽水中の結合残留塩素濃度の割合は 30%以下になった。すなわち、遊離残留塩素で 70%が存在していることになる。

$\text{KMnO}_4$  消費量が 5~10mg/L の範囲ではデータにやや変動があるものの、結合塩素の存在割合は 30~60%の範囲にあり、結合塩素の存在割合がやや高くなる試料もみられた。

表 9.2 残留塩素濃度および  $\text{KMnO}_4$  消費量、TOC 濃度測定結果（生物ろ過膜仕様）

遊離塩素(mg/L)	遊離塩素(%)	結合塩素(mg /L)	結合塩素(%)	$\text{KMnO}_4$ 消費量(mg/L)	TOC(mg/L)
0.96	80.0	0.24	20.0	2.52	3.18
0.65	59.6	0.44	40.4	4.28	3.87
0.44	45.8	0.52	54.2	5.31	4.60
0.54	57.4	0.40	42.6	4.33	4.52
0.82	82.8	0.17	17.2	6.29	4.38
0.77	84.6	0.14	15.4	4.45	4.09
0.68	66.0	0.35	34.0	6.15	4.16
0.41	38.7	0.65	61.3	8.39	4.41
1.07	82.9	0.22	17.1	6.66	3.89
0.82	68.9	0.37	31.1	5.96	4.25
1.07	80.5	0.26	19.5	7.66	3.80
0.74	65.5	0.39	34.5	9.65	3.43
1.10	80.9	0.26	19.1	-	4.07
0.89	78.8	0.24	21.2	7.66	3.78
1.16	89.2	0.14	10.8	4.70	3.85
0.95	72.5	0.36	27.5	3.64	3.72
1.19	90.8	0.12	9.2	4.56	3.80
1.13	87.6	0.16	12.4	4.11	3.58
1.21	87.7	0.17	12.3	4.33	3.30
1.07	81.1	0.25	18.9	3.61	3.35
1.11	99.1	0.01	0.9	3.52	3.02
1.18	85.5	0.20	14.5	3.22	3.37
1.30	88.4	0.17	11.6	3.22	1.36
1.14	81.4	0.26	18.6	3.50	1.56
1.22	79.7	0.31	20.3	3.92	4.35
1.05	83.3	0.21	16.7	2.10	3.53
1.09	75.7	0.35	24.3	3.66	4.68
1.01	80.8	0.24	19.2	3.24	3.69

## 2) レジオネラ対応型循環系浴槽水

生物ろ過膜仕様と同条件で、レジオネラ対応型循環系浴槽水に残留塩素濃度が  $1\text{mg/L}$  になるように添加した水質結果を表 9.3 に示す。

各採取時点における本システム浴槽水の結合塩素割合は ND~94%を示した。これを生物ろ過膜仕様における結合塩素生成割合に対比すると、0.9~61.3%が得られていることから、本システム浴槽水の方が結合塩素で存在する割合の高いことがわかる。これに寄与する  $\text{KMnO}_4$  消費量をみると、本システム浴槽水は  $2.8\sim 9.5\text{mg/L}$  を示す水質となり、生物ろ過膜仕様では、 $2.1\sim 9.6\text{mg/L}$  を示し、若干ながら生物ろ過膜仕様が水質は良好であった。この理由として、本システムは生物ろ過槽内が 1 回/2 週の頻度で  $70^\circ\text{C}$  の熱洗浄が行われることから、ろ過槽内の微生物定着性の悪化によると考えられた。以上のことから、浴槽水に有機物が残留することにより、塩素消毒に伴う結合塩素の生成割合も高くなることが示された。