

原著

気体状次亜塩素酸を検出するための 簡易インジケータの作製

加藤 稜也¹, 草川 貴¹, 吉田 真司², 林 智裕²,
井深 祥太², 福崎 智司^{1*}

¹ 三重大学大学院生物資源学研究所, パナソニックエコシステムズ(株)²

Preparation of Simple Indicator for Detecting Gaseous Hypochlorous Acid

Ryoya Kato¹, Takashi Kusagawa¹, Shinji Yoshida², Tomohiro Hayashi²,
Shota Ibuka², and Satoshi Fukuzaki^{1*}

¹ Graduate School of Bioresources, Mie University, 1577 Kurimamachiya-cho, Tsu, Mie 514-8507, Japan

² Panasonic Ecology Systems Co., Ltd., 4017, Shimonakata, Takaki-cho, Kasugai, Aichi 486-8522, Japan

Abstract

The preparation of simple indicator for detecting gaseous hypochlorous acid (HOCl_(g)) was examined using a glass fiber filter and potassium sulfamate. HOCl_(g) molecule was entrapped by sulfamate adsorbed on glass fiber surfaces, thereby being converted into chlorosulfamate and stably retained. Glass fiber filter entrapping HOCl_(g) was then reacted with total chlorine reagent, and the color of the filter was measured with a spectroscopic colorimeter. The filter could detect HOCl_(g) sensitively both in gas-phase of a closed glass vial containing sodium hypochlorite (NaOCl) solution, and in outlet air of a forced-air vaporizing humidifier fed with NaOCl solution. A good linear correlation between the product of HOCl_(g) concentration and time, measured by a chlorine detector, and the amount of HOCl_(g) entrapped in the indicator was obtained. These data indicated that the indicator prepared is a useful tool for detecting and measuring the amount of gaseous HOCl coming in contact with a solid surface.

Key words : Gaseous hypochlorous acid/ Indicator for HOCl/ Entrapment of HOCl/ Potassium sulfamate / Combined available chlorine

緒言

各種施設環境における微生物制御法として、次亜塩素酸水溶液を用いた超音波霧化噴霧¹⁻⁴⁾、スプレー噴霧⁵⁾、通風気化方式⁶⁾による殺菌法が普及し始めている。超音波噴霧とスプレー噴霧の場合、次亜塩素酸水溶液の微細粒子は噴霧口から排出された後に水の気化に伴い時間とともに目視できない状態になる。このとき、微

細粒子からは非解離型次亜塩素酸 (HOCl) の揮発が起こる。使用者は、室内の各所にどの程度の気体状の HOCl (HOCl_(g)) が拡散したのか把握できない実情がある。通風気化方式は、次亜塩素酸ナトリウム (NaOCl) 水溶液を含浸させた回転式繊維フィルタ内に室内空気を強制通風させて気液接触酸化すると同時に、フィルタ表面で揮発した HOCl_(g) を室内に排出するシス

Corresponding author : satoshi_fukuzaki@bio.mie-u.ac.jp

テムである。HOCl_(g) は、酸化力を保持したまま空間を移動し、表面付着細菌に対して殺菌効果を与えることが実証されている⁶⁾。しかし、目視できない HOCl_(g) の殺菌効果を定量的に取り扱うためには、室内に拡散した HOCl_(g) の濃度や一定時間内の固体表面への到達量を把握する必要がある。

著者らは、室内空間の HOCl_(g) 濃度の簡易測定法として、定電位電解式センサを装着した塩素ガス検知器が有効であることを提案した⁷⁾。しかし、室内の複数の固体表面に接触した HOCl_(g) の累積量を同時に把握するには限界があった。また、接触累積量の間接的測定法として、任意の容器に入れた純水に HOCl を一定時間捕集して測定する方法を行ってきたが^{6, 8)}、捕集効率や長時間の測定における HOCl の再揮発の問題があった。

本研究では、気体中の HOCl_(g) を捕捉して有効塩素量を感度良く検出できる簡易インジケータの作製を行った。インジケータの担体として比表面積の大きいガラス繊維フィルタを用い、繊維表面に窒素含有有機化合物を吸着させておく。HOCl_(g) と窒素含有有機化合物の反応により一時的に安定な結合塩素として保持した後、比色法によって有効塩素濃度を測定する。測定の対象は、pH および遊離有効塩素 (FAC_(aq)) 濃度の異なる種々の NaOCl 水溶液を入れたガラスバイアル中における気液平衡状態での気相中の HOCl_(g) と、NaOCl 水溶液を供給した気化式加湿装置の吹き出し空気中の HOCl_(g) とした。本論文では、試作したインジケータを用いれば、一定時間内に固体表面に接触した HOCl_(g) の累積量の概算ができることを示す。

実験方法

1. 簡易インジケータの概念

HOCl は揮発性で反応性が高いため、固体表面上に安定に保持することが難しい。そこで、

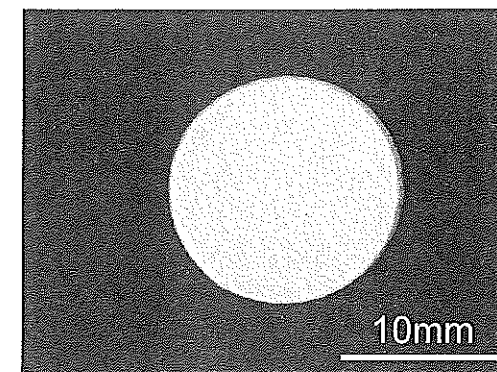
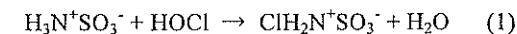


Fig. 1 Glass fiber filter (pore size: 2.0 μm) used as a support carrier for the indicator.

窒素含有有機物と接触させて結合有効塩素を形成させれば、HOCl を比較的安定に保持することが可能になる。本研究では、第一級アンモニウム化合物であるスルファミン酸カリウム (アミド硫酸カリウム) が HOCl と反応してモノクロルスルファミン酸を形成する反応に着目した (1式)。



スルファミン酸カリウムをあらかじめ担体に吸着させておき、HOCl との反応で形成した結合有効塩素を対象に全有効塩素 (TAC_(aq)) 測定試薬を用いて測定する。

2. 簡易インジケータの試作

インジケータの担体として、ろ過に使用されるガラス繊維フィルタ (Glass Fiber Prefilters AP20; 13 mm φ; Merk Millipore Ltd.) を用いた (Fig. 1)。スルファミン酸カリウム 15 g をイオン交換水 30 mL に溶解した後、保水性の維持を目的としてグリセリン 3 mg を加えてスルファミン酸-グリセリン混合液を調製した。次に、フィルタを混合液に 2 分間漬け込み、フィルタ繊維にスルファミン酸とグリセリンを吸着させた。フィルタを混合液から取り出し、ステンレス鋼製の網の上に乗せて 40°C で 24 時間乾燥させたものを簡易インジケータとして用いた。

3. 標準曲線の作製

インジケータ 1 枚に 30 μ L の NaOCl 水溶液 (pH 5.0, 1~45 ppm) を添加してモノクロロスルファミン酸を形成させた後、40°C で 5 時間乾燥させた。次に、TAC_(aq) 測定試薬 (HI 93711-01; Hanna Instruments) 1 包を 10 mL のイオン交換水に溶解して、TAC_(aq) 測定試薬溶液を調製した (40 分以内に使用)。この TAC_(aq) 測定試薬溶液 50 μ L をシャーレに予め添加しておき、この液滴の上にインジケータ 1 枚を載せて呈色反応を開始させた。反応開始 2 分後にインジケータを紙ワイプに移動させて余分な水分を除去後、30 秒以内に分光色彩計 (RC200QC; X-rite) を用いて Δa^* を測定した。

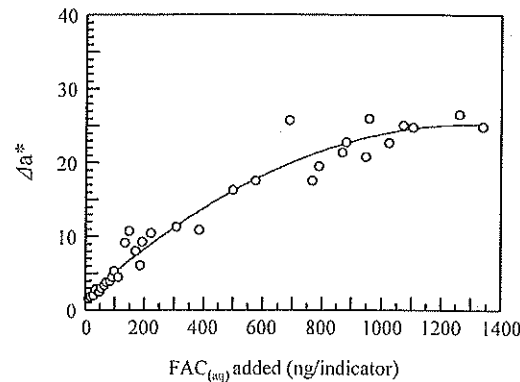


Fig. 2 Standard curve characterizing the relationship between the amount of FAC_(aq) added to the indicator and Δa^* .

4. 気液平衡時の気相中の HOCl_(g) との接触

25 mL のガラスバイアルに 20 mL の NaOCl 水溶液 (pH 5.0~10.0, 0~100 ppm) を入れ (気相: 5 mL)、ブチルゴムで密栓後、35°C で 2 時間静置して気液平衡状態とした (n=2)。2 時間後、インジケータを貼付したブチルゴムで密栓し、2 分間静置して気相中の HOCl_(g) と接触させた。2 分間の接触後、インジケータ上で形成したモノクロロスルファミン酸を上述のように全塩素測定試薬を用いて測定した。なお、ブランク (0 mg/L) にはイオン交換水を用いた。

5. 気化式加湿装置からの吹き出し HOCl_(g) との接触

気化式加湿装置は、中空円筒状 (ϕ 120 mm \times 370 mm) の多孔性繊維フィルタ (厚さ 8 mm; ポリエステル製) と含浸用 NaOCl 水溶液を入れる平型水槽 (1.1 L) を内蔵する空気通風式装置を用いた^{7,9)}。平型水槽に pH 5.0 に調整した NaOCl 水溶液 (24 ppm) を 1.0 L 供給し、回分式で装置を稼働させた (風量: 約 2 m³/min)。気化式加湿装置の吹き出し空気中の HOCl_(g) の濃度は、定電位電解式ガスセンサを装着した塩素ガス検知器を用いて 5 分間隔で測定した⁷⁾。

回分式稼働では、HOCl の揮発に伴い水槽中の FAC_(aq) 濃度の減少が起こるため、付随して HOCl_(g) 濃度も起こる。HOCl_(g) 濃度の減少曲線は、一次反応式を用いて解析した⁹⁾。

$$C = C_0 \cdot \exp(-kt) \quad (1)$$

ここで、 C_0 および C は稼働直後 (ゼロ分) および t 分における HOCl_(g) 濃度、 k は減少速度定数である。

次に、気化式加湿装置から 0.4 m 離れた位置に設置した小ボックス (0.1 m³) にインジケータを入れたシャーレを置き、吹き出し空気を吹き込むことにより HOCl_(g) と 60 分間接触させた (n=2)。インジケータ上で形成したモノクロロスルファミン酸は、上述のように TAC_(aq) 測定試薬を用いて測定した。

インジケータの有効性は、インジケータに捕捉された HOCl_(g) の累積量と塩素ガスセンサで測定した吹き出し HOCl_(g) 濃度と時間 (t) の積 ($[\text{HOCl}_{(g)}] \cdot t$) との相関性から評価した。

結果および考察

1. 標準曲線

Fig. 2 に、インジケータに添加した FAC_(aq) 量 (ng) と Δa^* の関係を表す標準曲線を示す。図中の実線は、多項式回帰分析で得られた曲線で

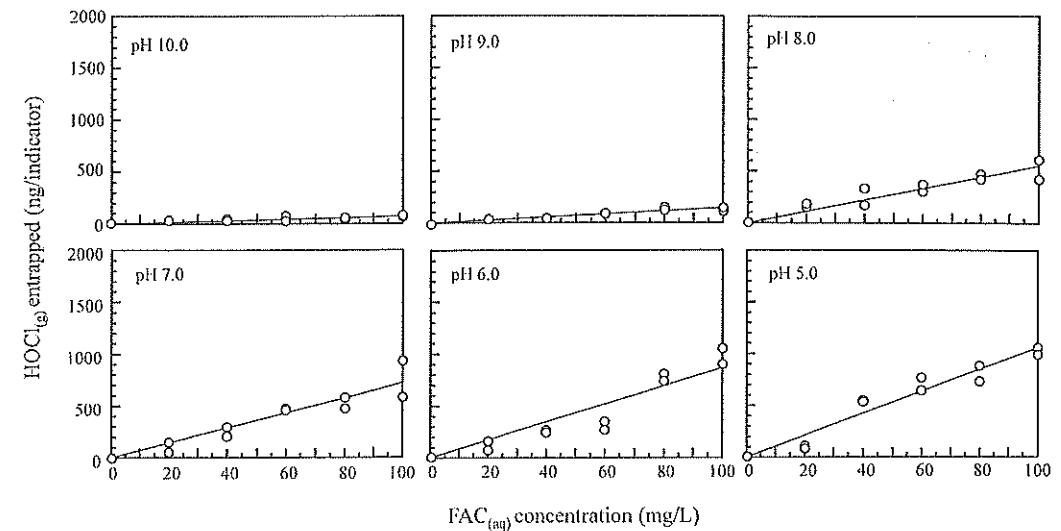


Fig. 3 Amount of gaseous HOCl_(g) entrapped on the indicator, in the head space of 25-mL glass vials containing 20 mL of the NaOCl solutions of different pHs and FAC_(aq) concentrations at 35°C.

ある。FAC_(aq) 添加量が 200 ng/indicator 以下の範囲では、FAC_(aq) 量と Δa^* には直線に近似できる関係が見られた。FAC_(aq) 添加量の増加とともに直線近似領域から外れ、添加量が 1,000~1,400 ng/indicator の範囲では Δa^* は一定値 (プラトー) に近づく曲線となった。

インジケータは、pH 5.0 の NaOCl 水溶液を添加後に 40°C で 5 時間乾燥させていることから、TAC_(aq) 測定試薬と反応しているのは揮発性の高い HOCl ではなく、モノクロロスルファミン酸であると考えられる。 Δa^* の増加がプラトーになるのは、インジケータに吸着したスルファミン酸が FAC_(aq) によって飽和することが原因と考えられる。

2. 密閉容器中の気液平衡時の HOCl_(g) の捕捉

Fig. 3 に、インジケータを用いて各種次亜塩素酸水溶液 (pH 5.0~10.0) を入れた密閉バイアルの気相中の HOCl_(g) を捕捉した結果を示す。図中の実線は、原点を通る回帰直線である。いずれの pH においても、インジケータに捕捉された HOCl_(g) 量は FAC_(aq) 濃度に比例して増加し、

グラフの傾きは pH 値の低下とともに増加した。この測定結果は、HOCl の揮発が NaOCl 水溶液中の HOCl_(aq) 濃度に依存して起こることを反映していた。著者らの先行研究では⁷⁾、本実験系での気相中の HOCl_(aq) 濃度は 10~1,200 ppb であることがわかっており、広い濃度範囲にわたって試作したインジケータは HOCl_(g) を捕捉できたことになる。

Fig. 4 は、Fig. 3 のデータ (pH 5.0~10.0) を各 pH における HOCl_(aq) 濃度に対して再プロットした結果である。図中の実線は、線形最小二乗法で得られた直線である (2 式)。

$$[\text{HOCl}_{(g)}] = 8.98 \times [\text{HOCl}_{(aq)}] + 67.1 \quad (2)$$

HOCl_(aq) 濃度と捕捉 HOCl_(g) 量の間にはデータのバラツキはあるものの、良好な相関関係が得られており (相関係数 R=0.923)、本実験系においては HOCl_(g) との接触量を少なくとも 70~900 ng/indicator の範囲で測定できることがわかった。

以上の結果から、試作したインジケータは水溶液中の HOCl_(aq) 濃度と気相中の HOCl_(g) 濃度の気液平衡関係を良好に表すことができ、一定時

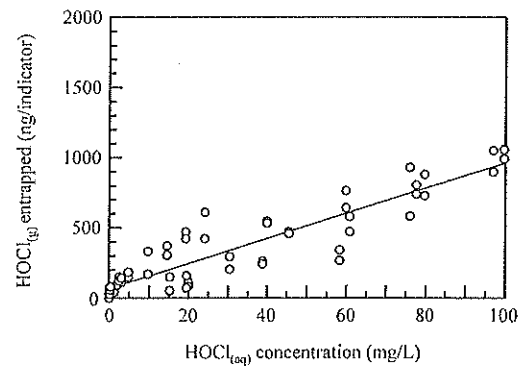


Fig. 4 Amount of gaseous $\text{HOCl}_{(g)}$ entrapped on the indicator, in the head space of glass vials containing the NaOCl solutions, as a function of the $\text{HOCl}_{(aq)}$ concentration (35°C).

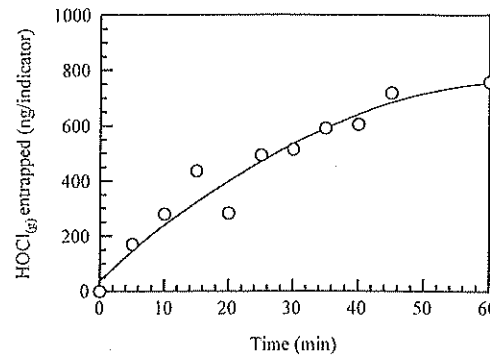


Fig. 6 Amount of $\text{HOCl}_{(g)}$ entrapped on the indicator under outlet air of a forced-air vaporizing humidifier fed with the NaOCl solutions of pH 5.0 (24 mg/L).

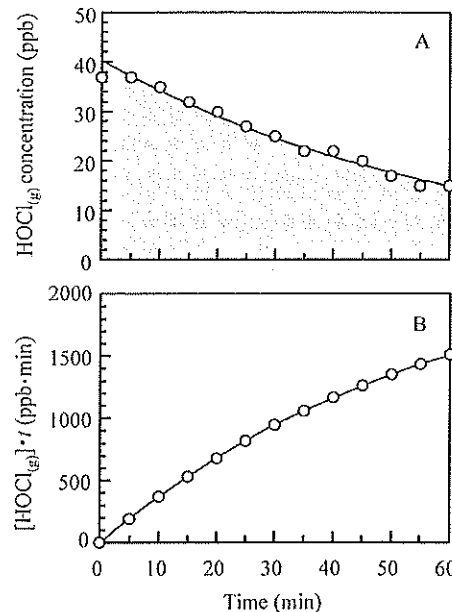


Fig. 5 Time course of gaseous $\text{HOCl}_{(g)}$ concentration in outlet air of a forced-air vaporizing humidifier fed with the NaOCl solutions of pH 5.0 (24 mg/L). The vaporizing humidifier was operated for 60 min at an air flow rate of 2 m^3/min . (A) $\text{HOCl}_{(g)}$ concentration versus time; (B) $[\text{HOCl}_{(g)}] \cdot t$ versus time. The shaded area in panel (A) was used to estimate $[\text{HOCl}_{(g)}] \cdot t$ values.

間内における $\text{HOCl}_{(g)}$ との接触量の簡易測定に有効であることが示された。

3. 気化式加湿装置の吹き出し空気中の $\text{HOCl}_{(g)}$ の捕捉

Fig. 5 に、塩素ガス検知器を用いて気化式加湿装置の吹き出し空気に含まれる $\text{HOCl}_{(g)}$ 濃度の経時変化を示す。 $\text{HOCl}_{(g)}$ 濃度は、稼働開始時および 5 分後は 37 ppb であったが、時間とともに指数関数的に減少し、60 分後には 15 ppb となった (Fig. 5A)。これは、 HOCl の揮発に伴い加湿装置の水槽中の $\text{FAC}_{(aq)}$ 濃度が一次速度論に従って指数関数的に減少するためである⁹⁾。

Fig. 5A の実線は、(1)式と非線形最小二乗法を用いて適合して得られた結果である ($R=0.991$)。

$$\ln [\text{HOCl}_{(g)}] = 40.4 \cdot \exp(-0.0165t) \quad (2)$$

時間 t_1 分と t_1+5 分における $[\text{HOCl}_{(g)}] \cdot t$ 値は、Fig. 4A の実線が示す各測定時間の $\text{HOCl}_{(g)}$ 濃度の平均値に 5 分を乗じて算出した。Fig. 5B に示す $[\text{HOCl}_{(g)}] \cdot t$ 値は、Fig. 5A の網掛け部分の面積から概算されたことになる。

Fig. 6 に、インジケータを用いて気化式加湿装置の吹き出し空気に含まれる $\text{HOCl}_{(g)}$ との接触量を測定した結果を示す。インジケータに捕捉された $\text{HOCl}_{(g)}$ 量は稼働時間とともに増加し、時間に依存して接触量が増加することを反映していた。気化式加湿装置の吹き出し空気に含まれる $\text{HOCl}_{(g)}$ 濃度は 15~37 ppb と希薄であっ

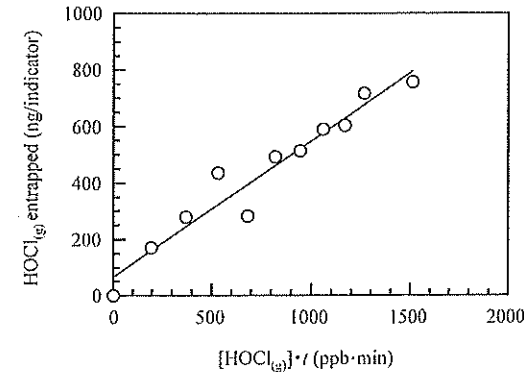


Fig. 7 Relationship between the amount of $\text{HOCl}_{(g)}$ entrapped on the indicator and $[\text{HOCl}_{(g)}] \cdot t$ value under outlet air of a forced-air vaporizing humidifier fed with the NaOCl solutions of pH 5.0 (24 mg/L).

たにもかかわらず、試作したインジケータは $\text{HOCl}_{(g)}$ を感度良く捕捉できることがわかった。

Fig. 7 は、 $[\text{HOCl}_{(g)}] \cdot t$ 値 (Fig. 5B) とインジケータに捕捉された $\text{HOCl}_{(g)}$ 量 (Fig. 6) の関係を示している。図中の実線は、線形最小二乗法で得られた直線である (3 式)。

$$[\text{HOCl}_{(g)}]_{\text{entrapped}} = 0.482 \times [\text{HOCl}_{(g)}] \cdot t + 66.1 \quad (3)$$

本解析から、 $[\text{HOCl}_{(g)}] \cdot t$ 値と捕捉 $\text{HOCl}_{(g)}$ 量の間には良好な相関関係が認められた ($R=0.967$)。また、気体状 HOCl との接触量を少なくとも 70 ~ 800 ng/indicator の範囲で測定できており、密閉容器の気相中の $\text{HOCl}_{(g)}$ の捕捉量 (Fig. 4) とほぼ一致していた。

以上の結果から、試作したインジケータを用いれば気体状 HOCl との接触量を少なくとも 70 ~ 800 ng/indicator の範囲で測定可能であることが示された。特に、希薄な $\text{HOCl}_{(g)}$ に対して高い感度を示すことが特長である。本インジケータを室内の各所に設置することによって、殺菌効果の指標である $[\text{HOCl}_{(g)}] \cdot t$ 値を概算できることは、気体状 HOCl を用いた空間微生物の制御法の最適化においても有効なツールになると期待される。

引用文献

- 1) Park, G. W., Boston, D. M., Kase, J. A., Sampson, M. N., Sobsey, M. D. (2007) Evaluation of liquid- and fog-based application of Sterilox hypochlorous acid solution for surface inactivation of human norovirus. *Appl. Environ. Microbiol.*, **73**, 4463-4468.
- 2) 浦野博水, 福崎智司 (2010) 固体表面上の *Escherichia coli* に対する次亜塩素酸水溶液の超音波霧化の殺菌効果: 防菌防黴, **38**, 573-580.
- 3) 小野朋子, 山下光治, 大岡正弘, 門田耕司 (2015) 医療施設における弱酸性次亜塩素酸水溶液噴霧システムの除菌および消臭効果, *J. Environ. Control Technique*, **33**, 161-167.
- 4) 福崎智司, 中山幹男, 浦野博水 (2013) pH 調整次亜塩素酸ナトリウム水溶液の超音波霧化による固体表面上の A 型インフルエンザウイルスの不活化, 防菌防黴, **41**, 11-17.
- 5) 高橋 紘 (2017) 空間噴霧による空気清浄化技術, pp. 75-102, 食品工場の空間除菌, 幸書房.
- 6) 吉田真司, 村松 隆, 福崎智司 (2016) 強制通風気化システムにおける水溶液含浸繊維フィルタからの次亜塩素酸の揮発, 防菌防黴誌, **44**, 113-118.
- 7) 吉田真司, 林 智裕, 加藤稜也, 草川 貴, 福崎智司 (2017) 定電位電解式センサを装着した塩素ガス検知器を用いた気体状次亜塩素酸の簡易測定, *J. Environ. Control Technique*, **35**, 260-266.
- 8) 浦野博水, 福崎智司 (2013) 室内空間における霧化次亜塩素酸ナトリウム水溶液の遊離有効塩素量の測定, 防菌防黴, **41**, 415-419.
- 9) 加藤稜也, 牧村祥子, 吉田真司, 村松 隆, 林 智裕, 井深祥太, 福崎智司 (2018) 強制通風気化システムにおける次亜塩素酸の放散過程の解析, *J. Environ. Control Technique*, **36**, in press.

Journal of Environmental Control Technique

環境管理技術

 **microbe·pestology**

vol.36
no. 1

Z16-1320

雑誌

36(1)=207:2018.2



1 2 0 1 7 0 1 7 4 3 9 9 7 1 0

