




プール検査簡単実施マニュアル Ver.3.0

I、検体の採取

① 採取瓶の種類について

	ポリ瓶(2本)	滅菌瓶(3本)	バイアル瓶(2本)
図			
検査内容	・過マンガン酸カリとpH ・濁度	一般細菌 大腸菌	総トリハロメタン
備考	1本は濁度用(赤枠)	ハイポを一掴み入れアルミホイルを二重にかぶせて、硫酸紙で包み滅菌	神奈川県環境研究所行

② 採取時の注意

- 1、濁度…ポリバケツ4杯以上流してから採水。ポリ瓶5～6回 共洗いする。
- 2、トリハロメタン…ポリ瓶を共洗いしてから採水
そこからバイアル瓶に分注(満水)
アスコルビン酸の入れ忘れに注意！
(VCの容器は返却すること)
- 3、過マンガン酸カリとpH…ポリ瓶に分注後満タンに採水
- 4、滅菌ビン共洗いしないこと。採水場所は、塩素濃度測定場所等で3箇所採水

③ 保管上の注意

- 1、滅菌瓶とトリハロメタン用のバイアル瓶のみ冷蔵庫で保管する
- 2、ポリ瓶は冷蔵庫に保管しない(濁度が測りづらくなるため)

II、測定の手順

- ① 過マンガン酸カリ消費量を測定後、pHを測定する
- ② 濁度を測る
- ③ 一般細菌と大腸菌を測定

Ⅲ、過マンガン酸カリ消費量の測定法

1、ブランクの作り方(三角フラスコの誤差を無くするため)

- ①三角フラスコ(300mL コルベン)を用意し沸石を 30 個程度投入

★沸石は軽く洗う★



- ②水 50mL + 作成済み希硫酸(希硫酸:水=1:2)5mL を入れる

★採水用ポンプは 10mL に設定し、5 プッシュ★



- ③過マンガン酸カリ(褐色)10mL を加える



- ④マントルヒーターにて加熱し、沸騰後 5 分過熱(タイマー)



- ⑤シュウ酸(透明)10mL を加えて軽く混ぜる



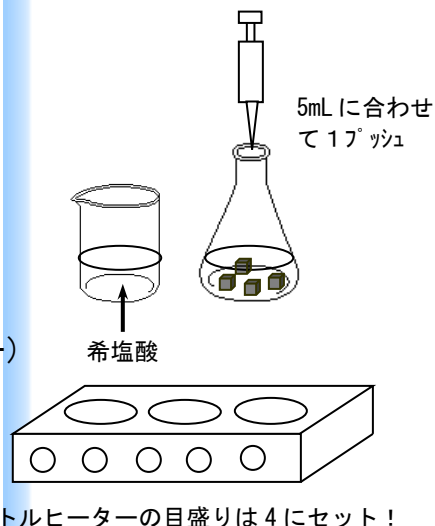
- ⑥(熱いうちに)過マンガン酸カリで薄いピンクが 20~30 秒かかっても消えなくなるまで滴定する



- ⑦その中身は捨てる(沸石は捨てないこと) 中を洗浄しないこと



- ⑧ブランク完成!! これらを使って検査を行います



中身を捨てる時、流しの蛇口は開けて流水の所に流すこと

2、過マンガン酸カリの滴定

- ① 中身を捨てたブランクのコルベンに水の代わりに検体を 50mL 入れて前述の①~⑥の操作を行う



- ② 過マンガン酸カリの滴定量を書き留めておく……A とする

3、ブランク値の測定 ※各シーズン初回のみ

- ① 中身を捨てたブランクのコルベンに検体の代わりに精製水を 50mL 入れて前述の①～⑥の操作を行う



- ② 過マンガン酸カリの滴定量を書き留めておく……**B** とする
※シーズン開始時に測定した値を使用

4、計算方法

$$(A - B) \times 6.14 = \text{_____ mg/L}$$

Point

- 1、毎年みんなで行う時、ブランクは5～6本使うので7～8本作る(2, 3日使える)
- 2、ブランクが作られている場合、数値Bは既に出ているので計算はその数値を使用する

IV、pHの測定方法

ポリ瓶に pHメーターを入れて測定(終了後 pHメーター測定部は水につけキャップをする)

★シーズン開始時にpH4とpH7の標準液で校正する★

V、濁度

専用バイアル瓶に入れて測定

(測定前に、フィルター付き蛇口から取った水で測定し、0になることを毎回確認する)

★注意点★

- ① 検体の水温に注意!
- ② 冷蔵庫に保管されていたら室温に戻してから使用!
- ③ 検体を入れた後、横にしない!
- ④ 指紋をつけない
- ⑤ ティッシュペーパー(スコッティー)で良く拭き取る(ケチらず3～4枚束ねて拭く)

Point

$$\text{計算式} \quad \text{数値} \times 0.7 = \text{JIS規格}$$

VI、一般細菌数(標準寒天培地法)

1、準備

標準寒天培地の作り方

- ① 300mL のコルベンに標準寒天培地 7.1g を入れて湯沸かし器の湯で 300mL の目盛りまでメスアップする。(8本ぐらい作成)



- ②綿栓とアルミホイルでカバーし滅菌(オートクレープ使用 121°C 20分)
★保管は冷蔵庫

Point

- 1、オートクレープは左側を使用する
2、水の確認は必ず行う(内側の底蓋の下まで ひたひたに入れる)

2、検査方法

- ①標準寒天培地を冷蔵庫から取り出し、電子レンジで3~4分加熱
その後、様子を見ながら加熱し、完全に溶解
- ②シャーレに滅菌ビンで採水した検体1mL入れて、その後、標準寒天培地を約15mL
入れて軽く混ぜる(培地が少なすぎるとシャーレの掃除が大変になる)
シャーレは1校につき6枚作成(学校名シールをフタに付ける)
★無菌室で操作
- ③培地が固まったのを確認後、まとめて恒温器へ
恒温器の扉に日時を書いたものを貼っておく
- ↓
- ④24時間培養してカウントする(部会長に一任)

Point

恒温器に入れる時はシャーレのフタを下(結露で培地が駄目にならないように)にして入れる。フタは冷めてから閉めること!

Ⅶ、大腸菌

1、準備

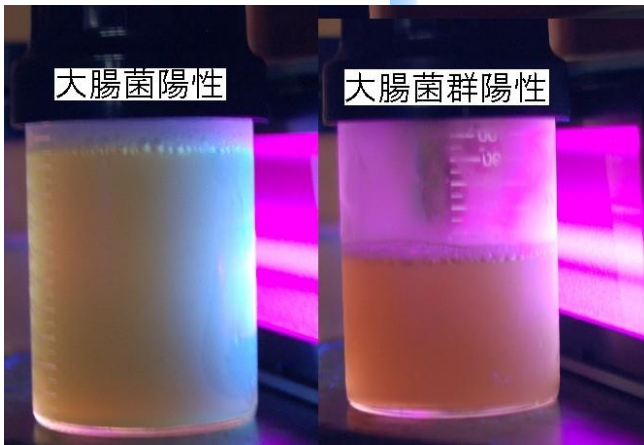
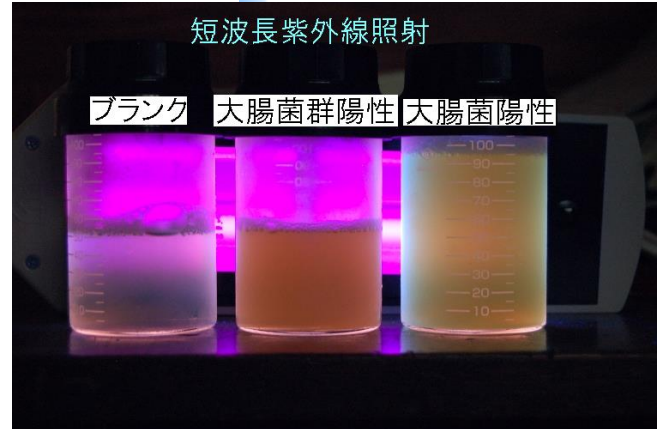
培養瓶(100mL キャップ付き)をキャップを緩め乾熱滅菌する。
注意: 必ずキャップを緩めること。プラスチックキャップが熱で変形する恐れあり
コリターゲット培養液を必要量確保する(1.5本で1校分)

▶ご連絡先はこちら 大腸菌群+大腸菌同時検出用 コリターゲット EP-100			
品番	057-10601	品番	057-10602
入数	100本/箱	入数	10本/箱
材質	ポリプロピレン		
使用期限	製造日より6ヶ月		
保存方法	冷暗所保存(2~10°C)		



2、検査方法

容器 1 本に検体50mL を入れ、コリターグ培養液(100mL 用)の**分量**を培養瓶に入れ、キャップをし、良く振り攪拌する(フタに学校名のシールを貼る)
35~37°Cで 24 時間培養後、黄色く変化していれば大腸菌群陽性と判定します
(部会長に一任)



大腸菌群陽性の場合、紫外線ランプ(短波長紫外線)を照射し、青色の蛍光を発する場合、大腸菌陽性の疑い有り判定します。

インドール試薬で確定する



赤い上澄みが出れば 大腸菌 陽性と判別する



インドール試薬は 冷蔵庫に あります。
かなり臭い(おならの成分??)ので心して 約 1mL 入れる。手にはつけない事。
オートピペットの先は 流しに廃棄し 良く水洗いしておくこと。採水瓶も良く洗浄しておく

Ⅷ、オートクレーブの使い方

- ① 水の確認(ひたひた)に入れる(内部の底蓋の下まで入れる)
- ② 元栓を開ける
- ③ 窓を開け換気扇を作動させる
- ④ 蓋をする
- ⑤ 蓋をロックする(対角線上にナットをしっかり締める)
- ⑥ フタの中央にある排気弁を開ける
- ⑦ タイマーを 20 分に合わせる(外側の黒い目盛り): 50 サイクル
- ⑧ 下の ガスコック が水平(ガス閉)になっているか確認して赤いボタンを押す
- ⑨ 右の ガスコック で種火をつける(右側のガス栓)
- ⑩ 種火がついたら左のガスコック開けバーナーに点火する
- ⑪ しばらくそのまま……
- ⑫ 温度が 100℃近くになってシューシューと音がしてきたら排気弁を閉める
- ⑬ 緑のランプがついてシューシューという音が止まったら左のレバーで火の大きさを半分にする。
- ⑭ 自動的に火は消えるが、ブザーが鳴ったら火(ガスコックを水平)を消す。
- ⑮ 圧が下がるのを待ってから排気弁を開けて蓋を開ける。

マニュアル作成 齊藤 祐一
村上 和宣
宍山 実紀
飯島 幹雄
平成 31 年 6 月改訂