

表1. 入浴者と浴槽補給水量

日	入浴者数	浴槽補給(m ³)	補給水量/人(L)	日	入浴者数	浴槽補給(m ³)	補給水量/人(L)
1	1,368	98.5	72.00	19	286	63	220.28
2	1,154	84.4	73.14	20	244	40.8	167.21
3	1,067	83.2	77.98	21	262	55.8	212.98
4	788	56.6	71.83	22	310	47.1	151.94
5	休日			23	540	67.7	125.37
6	383	53.6	139.95	24	796	64.3	80.78
7	293	47.9	163.48	25	休日		
8	295	44.5	150.85	26	293	54.2	184.98
9	243	52.1	214.40	27	295	46.6	157.97
10	418	59.5	142.34	28	296	51.9	175.34
11	839	54.9	65.44	29	212	50.8	239.62
12	736	74.6	101.36	30	459	54.1	117.86
13	休日						
14	253	52.7	208.30	総入浴者		総補給量	溢水量/人
15	284	43.7	153.87	13,570	1,566	115.40	
16	291	46.8	160.82				
17	469	57.1	121.75				
18	696	59.6	85.63				

(空気調和・衛生工学、81(4) :273-279より転載)

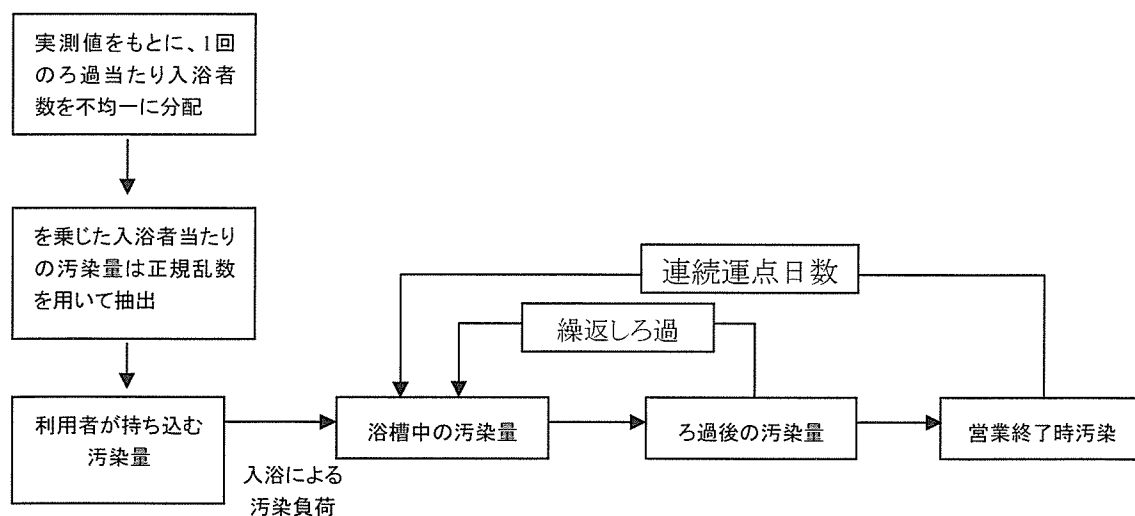


図3. 濁度計算のフロー図

1日を8時間?に分割し、1時間ごとに汚染量の推移を計算した。汚染負荷量は実測値を単位時間当たりの入浴者数に不均一に分配したものに、正規分布を仮定した利用者あたりの汚染負荷量に乗じた。

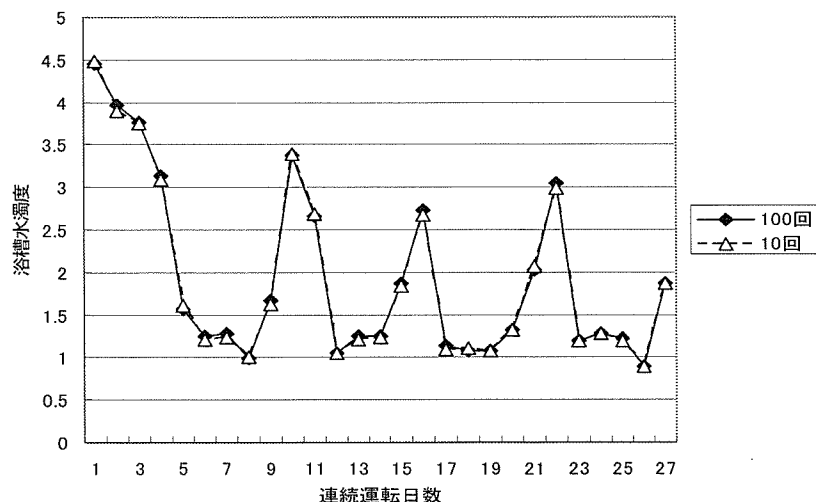


図4. 繰り返し計算による濁度の推定値

濁質の除去率を20%、1日のろ過回数を8回（8時間営業で1時間に1回のろ過頻度）として、浴槽水の濁度を100回の繰り返し計算と10回の計算を比較したところ、両者はほぼ同じ結果を示した。

報告から、入浴者数は営業開始当初から日曜日までの4日間に多数の入浴者が利用し、その後は土日の週末に平日の2ないし3倍近くの人が集中利用していた。

砂ろ過の濁質除去率はおよそ40%（中村勉ら、2005年）とされていることから、40～10%の除去率を想定して浴槽水の濁度を推計した（図5）。

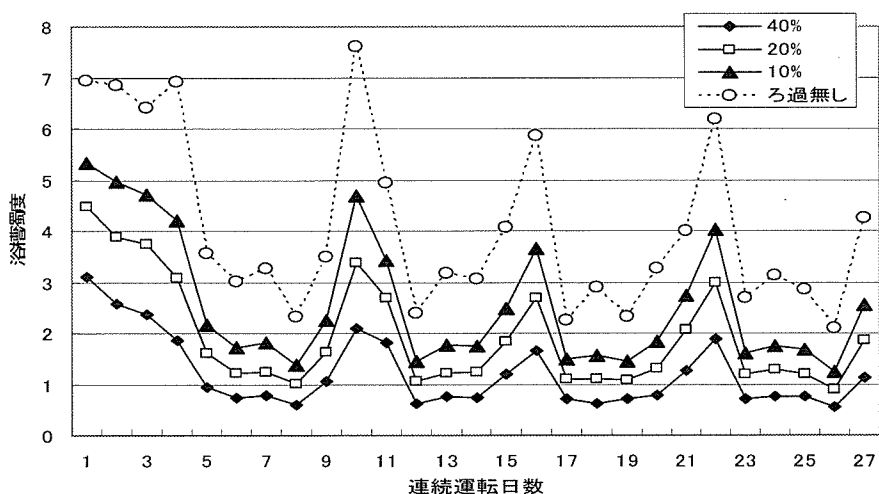


図5. 各除去率による浴槽水濁度の推計（8回/日循環稼働）

除去20%以上のろ過装置で、1日8回循環により濁度は基準値を超えることなく推移した。ろ過回数を一日に4回程度に下げても、20%程度の除去効率が保障されれば、週末の混雑にも対応できるとの結果を得た。一方、入浴者が減少する平日にはろ過を行わず、溢水管理のみで水質基準以下に維持管理できることも示された。

図5からは、40%程度の除去効果を有するろ過装置を1日に8回程度循環稼働させれば

濁度は基準値を超えることなく推移するものと計算された。また、除去率が20%程度の

ろ過装置であっても対応可能であることが示された。また、ろ過回数を半減させて、稼働率を1日に4回程度に下げても、20%程度の除去効率が維持されれば週末の混雑にも

対応できるものと計算された(図6)。一方、入浴者が減少する平日にはろ過を行わず、溢水管理のみで水質基準以下に維持管理できることも示された。

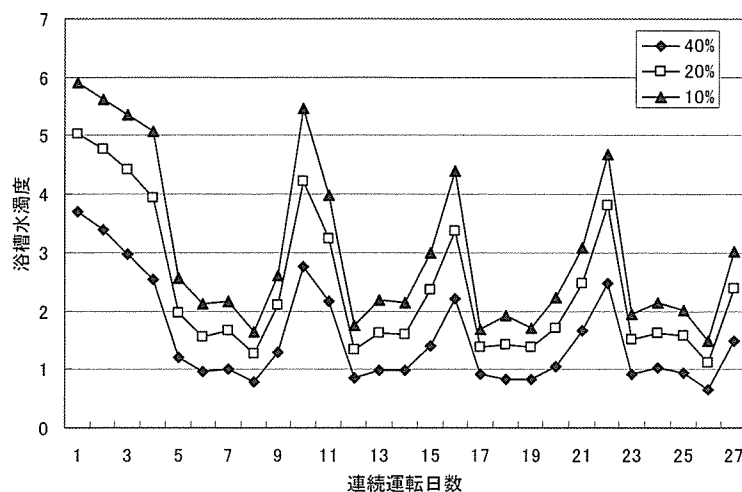


図6. 各除去率による浴槽水濁度の推計 (4回/日 循環稼働)
ろ過回数を4回/日とした場合、除去率20%のろ過装置でかろうじて水質基準の遵守が可能と計算された。

3. 利用者数と有機物汚染の関係

上述の濁度の項で用いた(1)式は有機物汚染の計算にも適用可能で、濁度を過マンガン酸カリウム消費量に置き換えることができる。溢水管理と過マンガン酸カリウム消費量の関係を以下の計算により求めた。

浴槽水水質基準では原水で過マンガン酸カリウム消費量10mg/L以下、浴槽水で25mg/L以下と規定されている。既存の報告資料、浴槽施設の管理記録を基にして試算した1人当たりが持ち込む有機物量は概ね過マンガン酸カリウム消費量に換算して0.5gと計算される(平成16年度班報告)。これを10m³程度の浴槽にあてはめると、単純計算では240~500人の入浴が可能となるが、循環式浴槽では溢水管理が励行されており希釈効果が期待される。そこで、濁度の計算と同様に、浴槽は常に満水に維持され、入浴に伴

って利用者の体積分だけ浴槽水が溢れ、これを補充するという条件で前出の(1)式を用いて計算した。

過マンガン酸カリウム消費量の計算にあてはめるべく、(1)式において

- ω : 浴槽水の有機物汚染量 (過マンガン酸カリウム消費量)
 - m : 入浴者の持ち込む有機物量 (過マンガン酸カリウム消費量) (g/人)
 - N : 入浴者数
 - O : 入浴者一人当たりの給湯量
 - V : 浴槽容量
 - Wi : 給湯量 (= $N \times O$)
 - t : 入浴からの時間 (日)
- と定義した。

前回と同様に、使用し続けた浴槽水 ($t \rightarrow \infty$) の過マンガン酸カリウム消費量は利用者により持ち込まれる過マンガン酸カリウム消費量 [m] を利用者あたりの給湯量 [O] で除した値 [$\omega = m/O$] に収束する。ちなみ

に、入浴者1人当たりの有機物持ち込み量を0.5g（過マンガン酸カリウム消費量に換算）

として、計算した結果を図3に示す。

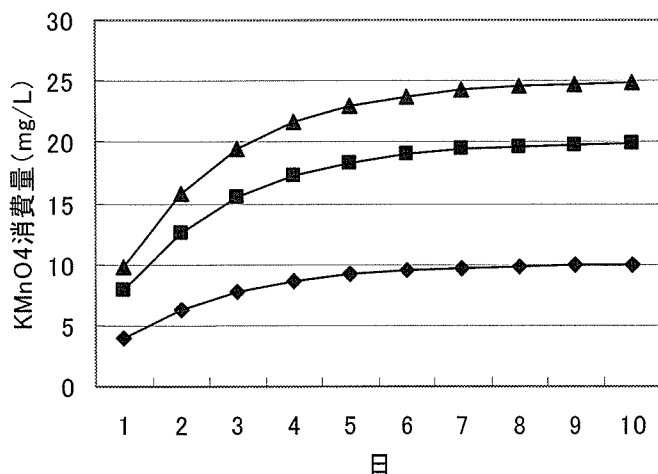


図3 浴槽水中のKMnO₄消費量の推移

浴槽は常に満水に保たれ、入浴者が入るたびに溢水があり、利用者が出た後に溢水分が補給（50L/人）されるものとし、入浴者1人当たりの有機物持ち込み量を0.5g（◆）、1g（■）、1.25g（▲）とすると、浴槽水のKMnO₄消費量はそれぞれ10、20、25mg/Lに収束する。

平成16年度の研究事業により入浴者1人当たりの有機物持ち込み量はおおよそ0.5gと計算されている（平成16年度報告）。この値を持ち込み有機物量として計算すると、過マンガン酸カリウム消費量は10mg/Lに収束し、基準値の25mg/Lを超えることはない。水質基準値を超えるのは1人当たりの汚染量が1.25gを以上に想定した場合に限られる。ちなみに、(2)式からは、過マンガン酸カリウム消費量は浴槽の容量や利用者数にかかわらず、持ち込まれる汚染量と新鮮な湯水の補給によって決まることが理解できる。以上のことから、循環式浴槽では過マンガン酸カリウム消費量は溢水と同量の湯水の補給により管理できることが示された。従って、生物浄化方式を用いる必要（根拠）は無いと結論される。なお、浴槽施設によっては溢水した水を回収溝で受けて再度浴槽に戻している場合があるが、このような装置では浴槽水中の有機物管理が行われていないと判断される。

D 結論

浴槽水の水質基準として過マンガン酸カ

リウム消費量が25mg/L以下、濁度は5度以下と規定されている。溢水と浴用水の供給が実施されている循環式浴槽システムにおいては、過マンガン酸カリウム消費量は基準値以内に制御されることを示した。これにより、「過マンガン酸カリウム消費量の管理に向けては生物浄化が必須」とするこれまでの考えは否定される。

一方、循環式装置では濁質除去（ろ過装置）が必要なことが示されたが、計算上では必ずしも高い除去能力を必要とせず、限られたろ過回数により基準値を満たす制御が可能であることも示された。ところが、現行では1時間に2回程度のろ過が勧奨されており、ろ過能力を保証するために大型のろ過槽が必要となっており、ろ過槽の規模やろ過回数の適正化が図られるべきである。

注意すべきは、浴槽水の有機物や濁質の汚染制御は微生物対策とは独立した事象である点で、残留塩素管理が徹底されない限り系内には徐々にバイオフィームが形成され、有機物汚染は微生物に形を変えて系内に蓄積される。したがって、濁質や有機物の管理とは独立して遊離残留塩素による消毒と定期

的な完全換水・洗浄（微生物対策）が必須である。

翻って、バイオフィームは温水と接する構造物の表面に着生・増殖するもので、構造面から接水面積を減らすことが汚染防止の観点から重要課題として指摘される。ろ材の種類にもよるが、大型のろ過槽は浴槽システムの全体の接水面積の 90 %以上をしめており（平成 17 年度当該研究報告）、バイオフィーム対策上厄介な問題となってきた。当該研究成果を参照してろ過性能およびそのろ過回数について再検討が必要と考える。

なお、当該研究事業では使い捨て型の珪藻土ろ過装置と塩素による浴槽水の管理方法を別途検討し、良好な結果を得ていることを付記する。

参考文献

1. 空気・調和衛生工学便覧、空気調和・衛生工学会編、第 2 版（4）第 7 編（平成 7 年）pp510-516.
2. 小川正晃、泉祐三、畠田成二 2007. 浴場施設の実測調査に基づいた使用水量の算出方法。空気調和・衛生工学 81 巻（4）：273-279。
3. 中村 勉、小川 正晃、稲田 朝夫、中村 克

彦、紀谷 文樹、浴場施設におけるレジオネラ対策に関する研究（その 2）砂式ろ過器のろ過性能試験、空気調和・衛生工学会大会、平成 17 年。

4. 平成 16 年度 厚生労働科学研究報告書（地球健康危機管理研究事業）循環式浴槽における浴用水の浄化・消毒方法の最適化に関する研究（主任研究者 遠藤卓郎）
5. 平成 17 年度 厚生労働科学研究報告書（地球健康危機管理研究事業）循環式浴槽における浴用水の浄化・消毒方法の最適化に関する研究（主任研究者 遠藤卓郎）

E 研究発表

泉山 信司、遠藤卓郎（2007）浴槽水の溢水あるいはろ過による濁質と有機物除去に関する計算。環境技術学会、大阪市立大学（予定）。

F 知的所有権の取得状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（地域健康危機管理研究事業）
分担研究報告書

循環式浴槽における浴用水の浄化・消毒方法の最適化に関する研究

珪藻土ろ過と塩素管理の併用による循環浴槽水の微生物汚染制御

分担研究者	杉山 寛治	静岡県環境衛生科学研究所
	泉山 信司	国立感染症研究所
	八木田健司	国立感染症研究所
研究協力者	大畑 克彦	静岡県環境衛生科学研究所

研究要旨： 細菌の除去効果が期待できる珪藻土ろ過装置をモデル浴槽に組み入れて、循環浴槽水の微生物制御手法としての珪藻土ろ過の有用性を評価した。

殺菌なしの珪藻土ろ過単独運転（毎日、珪藻土張替え）時に、自然汚染で、増殖した従属栄養細菌数、レジオネラ属菌数のろ過器通過前、後の菌数を比較し、ろ過による細菌除去効果を確認した。同時に、ろ過材や通過水側のろ布等におけるレジオネラ属菌数の増加も認めた。

そこで、珪藻土ろ過（毎日、珪藻土張替え）に、適量の塩素注入を併用することで、浴槽水やろ過材におけるレジオネラ属菌やアメーバ等の微生物汚染制御が可能か検討した。その結果、珪藻土ろ過材の毎日交換、浴槽水への適量の塩素（0.2～0.4 mg/L）注入と、週 1 回の配管洗浄によって、長期間（21 日間）にわたって、浴槽水、珪藻土ろ過材をレジオネラ属菌、アメーバの増殖が起こらない状態に保つことが可能であり、循環浴槽水の浄化・消毒方法として優れていることが確認された。

A. 研究目的

これまで、循環式浴槽におけるろ過機能として、浴槽水からの有機物の除去と濁質の除去が必要と考えられてきた。一方、*Legionella* 汚染防止の必要性から残留塩素管理が推奨されるに至り、生物浄化による有機物の除去は理論的に不可能となり、ろ過の目的は濁度管理のみにしぼられる（有機物管理に関しては別途報告参照）。ろ過器に蓄積した濁質等の有機物を放置すれば細菌、アメーバ、最終的には *Legionella* 属菌の増殖を招くことから

ろ過層の管理は循環式浴槽における最も重要な管理点である。ろ過装置のろ材は主に砂が用いられるが、一度使用を開始すれば年余にわたって同じ砂を使い続けることが想定される。蓄積した濁質を除去するには逆洗浄が行われるが、一部の微生物（バイオフィルム）が残ることは避けられず、高濃度塩素による殺菌あるいは常時塩素注入を行って浴槽水の安全を担保する必要がある。

一方、珪藻土ろ過は、水泳プール、食品、銭湯など広く使用されているもので

あるが、大型浴場施設にはほとんど導入実績がないようである。珪藻土ろ過では珪藻土を支持体の上に積層（ケーキ層）させて、水を圧送してろ過を行う。一般的な珪藻土の使用量は $0.2\sim 1.6\text{kg}/\text{m}^2$ で、この条件下でのケーキの厚さは数 mm である。ケーキの張替はほぼ自動的に行えるような構造がとられており、ケーキ交換時の洗浄にかかる負担は少ない。

ろ過材に蓄積された濁質を容易に廃棄でき、新しいろ過材に交換、清浄な状態にリセットすることが可能な珪藻土ろ過の導入により、浴槽水中の細菌数を大幅に低減させ、あわせて *Legionella* の発生をおさえることが可能と期待される。

平成 17 年度に実施した「珪藻土を用いたケーキろ過の微粒子除去性能の事前評価」において、珪藻土ろ過で、細菌の短径に相当する $0.5\mu\text{m}$ のポリスチレン粒子の最大 99.99% (4 log) 除去が達成され、浴槽水より直接的な細菌除去が可能であるとの結果が得られている。

そこで、珪藻土ろ過装置を組み入れたモデル浴槽を用いて、珪藻土ろ過材の毎日交換を伴った珪藻土ろ過単独運転実験と、珪藻土ろ過材の毎日交換と浴槽水への適量の塩素注入を併用した実験を行い、循環浴槽水の微生物制御手法としての珪藻土ろ過の有用性を評価した。

B. 方法

1. 珪藻土ろ過単独運転実験

循環水量 $4\text{ m}^3/\text{h}$ のモデル浴槽に、珪藻土ろ過器（珪藻土内面プレコート方式、日本フィルコン社製、表面積 0.15m^2 のろ過筒のろ布（テフロン製）5 本使用、図 1）を設置した。珪藻土は孔径が小さい 100 番（ラジオライト、昭和化学（株）

をろ過面積あたりの珪藻土量として $1.6\text{kg}/\text{m}^3$ （ろ圧 0.2 Mpa ）の条件で使用した。珪藻土は 1 日、1 回定時に、空気吸入攪拌洗浄方式で排水し、珪藻土に捕捉された細菌や汚れを除去した後に、新たな珪藻土をろ筒ろ布（筒状に整形されたろ布）の内側にケーキ形成させた（プリコート）。

最初に、浴槽水への次亜塩素素注入（自動測定、自動注入で、遊離残留塩素濃度 $0.2\sim 0.4\text{ mg}/\text{L}$ を維持）による塩素管理下で 5 日間、21 名が入浴し、浴槽水への有機物蓄積を行った。その後、塩素注入を停止し、珪藻土ろ過の単独運転による循環ろ過を 9 日間実施した。毎日、珪藻土張替直前の浴槽水、ろ過器内水、およびろ過器通過水と、ろ過材張替時の古い珪藻土をサンプリングし、浴槽水等は、レジオネラ属菌数、従属栄養細菌数、アメーバ数、過マンガン酸カリウム消費量、TOC などを検査した。また、1 日間使用した珪藻土ろ過材を対象にレジオネラ属菌数、従属栄養細菌数、アメーバ数を検査した。

2. 珪藻土ろ過と塩素管理の併用実験

モデル浴槽に設置された珪藻土ろ過器に珪藻土 200 番（ラジオライト、昭和化学（株））、ろ過面積あたりの珪藻土量： $1.6\text{kg}/\text{m}^3$ ）を、1 日、1 回定時に張替え、珪藻土に捕捉された細菌や汚れを珪藻土ごと除去した。また、浴槽水への次亜塩素素注入（自動測定、自動注入で、遊離残留塩素濃度 $0.2\sim 0.4\text{ mg}/\text{L}$ を維持）による殺菌を併用した。さらに、浴槽、配管、ろ過タンク内部のバイオフィルム除去のための週 1 回の定期的な洗浄、消毒を想定して、8 日目と 15 日目に浴槽水へ次亜

塩素酸ナトリウムを添加し配管洗浄（遊離残留塩素濃度 10 mg/L、2 時間循環）を実施した。その後、排水と浴槽水の全換水を行った。以上の条件下で 3 週間にわたり入浴を実施する実験を 2 回行った（入浴者数 1 回目：計 45 名、2 回目：計 43 名）。

実験開始 1 日目、4 日目、8 日目、11 日目、15 日目、18 日目、21 日目の珪藻土張替直前の浴槽水と、ろ過材張替時の古い珪藻土をサンプリングした。浴槽水は、レジオネラ属菌数（培養法およびリアルタイム PCR によるレジオネラ遺伝子検出：*mip*、属特異的 5S r RNA 遺伝子の両者）、従属栄養細菌数、アメーバ数、過マンガン酸カリウム消費量、TOC などを検査した。また、1 日間使用した珪藻土ろ過材を対象にレジオネラ属菌数、従属栄養細菌数、アメーバ数を検査した。

C. 結果および考察

1. 珪藻土ろ過単独運転実験

9 日間の珪藻土ろ過単独運転時の浴槽水、ろ過器内水、ろ過器通過水の従属栄養細菌数、レジオネラ属菌数の推移を図 2 に示した。運転開始から 6 日間は、ろ過器内水とろ過器通過水に存在する従属栄養細菌数はおおむね 10^4 cfu/ml 程度に抑えられ、砂ろ過等に比べおよそ 2 log 程度の除去効果が認められた。同じくレジオネラ属菌数も 10^3 cfu/100ml 未満と、およそ 1~3 log 程度の除去効果が認められた。浴槽水も、従属栄養細菌数、レジオネラ属菌数ともに、ろ過器通過水とほぼ同様な菌数を示し、細菌除去効果が浴槽水にも及んでいることが示された。しかし、7 日目以降のろ過器内水、ろ過器通過水、および浴槽水の従属栄養細菌数、レジオ

ネラ属菌数にはほとんど差がみられなくなった。

図 3 に珪藻土ろ過単独運転時のろ過材、ろ過器通過水側のろ布拭き取り、ろ過筒ゴムパッキン拭き取りの従属栄養細菌数、レジオネラ属菌数を示した。珪藻土ろ材の従属栄養細菌数は 1 日後にはろ材 1 g あたり 10^8 CFU に達し、レジオネラ属菌数も徐々に増加した。通過水側のろ布拭き取り検査で 0 日目、3 日目はレジオネラ属菌は検出されなかったが、8 日目には 25cm² の拭き取りで、ろ布から 3.8×10^3 CFU、ろ過筒ゴムパッキンから 2.1×10^5 CFU の高い菌数でレジオネラ属菌を検出し、長期間運転時の通過水側でのレジオネラ属菌の増殖が確認された。

また、ろ過筒内の圧力が珪藻土ろ材張替時には、圧力限界上限値 (0.23Mpa) に近い数値に上昇しており、ろ過器内水でみられた従属栄養細菌等の増殖に伴う珪藻土の目詰まりが起きていることが推測された。

2. 珪藻土ろ過と塩素管理の併用実験

モデル浴槽を用いて、ろ過材の毎日交換と、浴槽水への適量の塩素注入の併用および、週 1 回の配管洗浄の条件下で、長期間 (21 日間) にわたる入浴実験を 2 回行い、浴槽水と珪藻土ろ過材におけるレジオネラ属菌、従属栄養細菌、アメーバ汚染、有機物量などの推移を調べた。その結果、2 回の実験とも、浴槽水、珪藻土ろ過材のいずれからもレジオネラ属菌は検出されず、レジオネラ属菌の増殖宿主であるアメーバの検出もなかった。図 4 に、2 回目の結果を示した。また、浴槽水からはレジオネラ属菌に特異的な遺伝子 (*mip*、属特異的 5S r RNA 遺伝子) も検

出されず、珪藻土ろ過装置を使用した本条件の衛生管理で、レジオネラの遺伝子レベルの汚染（死菌も含めて）も防げることが示唆された。従属栄養細菌数は、浴槽水で 100 cfu/ml 以下、珪藻土ろ過材で 10⁴ cfu/1g 以下であった（図 4）。浴槽水の水質分析では、2 回の実験とも、7 回すべての採水において、濁度は 0.1 度未満とその濁質除去効果が確認できた。

また、ろ過筒内の圧力は常時 0.18Mpa 前後を維持しており、塩素殺菌によってバイオフィルムの生成が阻止され、ろ布の目詰まりが防止され、ろ過が順調に行われたと考えられた。

循環式浴槽のろ過装置として、珪藻土ろ過を使用し、次の①、②、③の衛生管理を実施することで、① ろ過材の毎日交換による濁質、捕捉微生物の一斉除去、② 浴槽水への適量の塩素注入による浴槽水、ろ過材の塩素殺菌、③ 週 1 回の配管洗浄・換水による配管等循環系内のバイオフィルム除去が期待でき、長期間にわたって、浴槽水、珪藻土ろ過材をレジオネラ属菌のない清浄な状態に保つことが可能であった。今後は、実際の浴槽施設で同様な評価を行い、浴槽水の新たな微生物制御手法として確立させていきたい。

D. 結論

基礎実験で、細菌の除去効果が確認された珪藻土ろ過装置をモデル浴槽に組み入れて、循環浴槽水の微生物制御手法としての珪藻土ろ過の有用性を評価した結

果、以下の結論を得た。

殺菌なしの珪藻土ろ過単独運転（毎日、珪藻土張替え）実験で、ろ過器通過前、後の従属栄養細菌数、レジオネラ属菌数を比較し、珪藻土ろ過による 1~3 log の細菌除去効果を確認した。しかし、7 日目以降の長期にわたっては、ろ過材通過水側におけるバイオフィルム等の細菌の増殖の影響と思われる除去効果の低下がみられた。

珪藻土ろ過（毎日、珪藻土張替え）、適量の塩素注入、週 1 回の配管洗浄を併用することで、長期間（21 日間）にわたって、浴槽水、珪藻土ろ過材をレジオネラ属菌、アメーバ等の増殖を制御した状態に保つことが可能であった。本手法は、① 珪藻土ろ過材による濁質・微生物の除去と系外への排出、② 浴槽水、ろ過材の塩素殺菌、および③ 循環系内のバイオフィルム除去などの微生物制御法を効果的に組み合わせており、今後、循環浴槽水の浄化・消毒方法の優れた一手法となり得ると思われた。

E. 研究発表

なし

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

- 珪藻土単独運転
 - 1日1回珪藻土張替え
 - 珪藻土の種類 #100
 - 使用量 1.6kg/m²
 - ろ圧 0.2MPa
 - 循環水量 4m³/h
 - 運転開始日のみ入浴
- 珪藻土、塩素管理併用運転
 - 1日1回珪藻土張替え
 - 珪藻土の種類 #200
 - 使用量 1.6kg/m²
 - 浴槽水の残留塩素濃度を0.2~0.4mg/Lに維持
 - 週1回完全換水 配管洗浄
 - 3週間継続して入浴



図1 珪藻土ろ過実験の概要と珪藻土ろ過器(ろ過タンク内部)

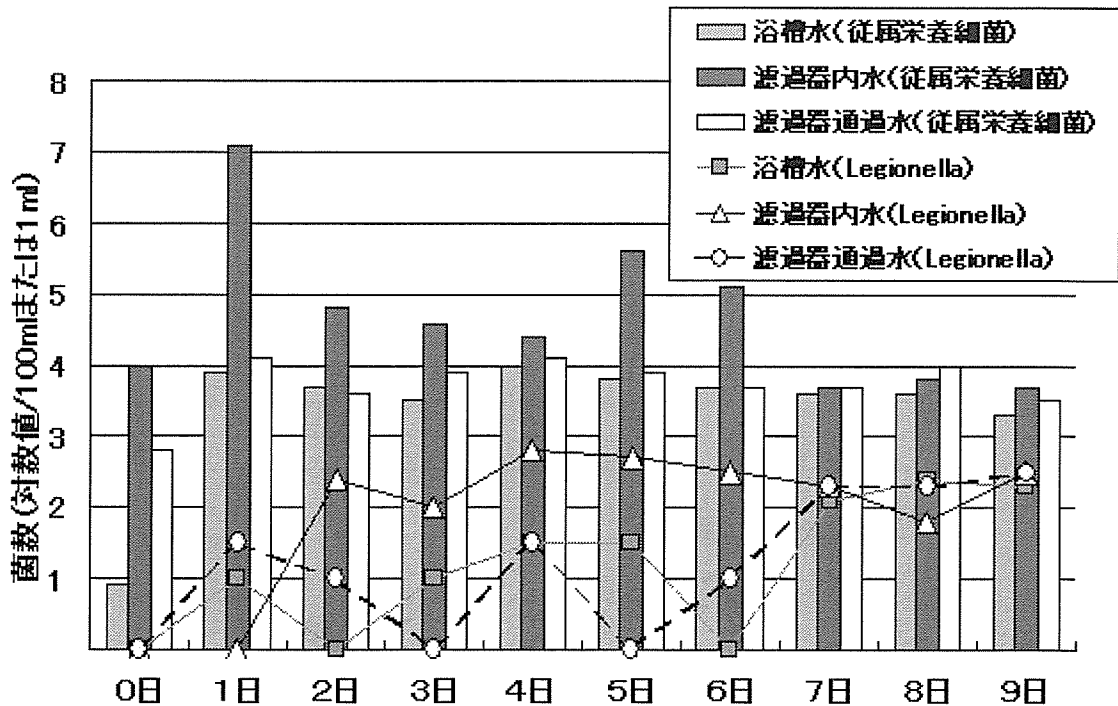


図2 珪藻土濾過単独運転時の菌数の推移

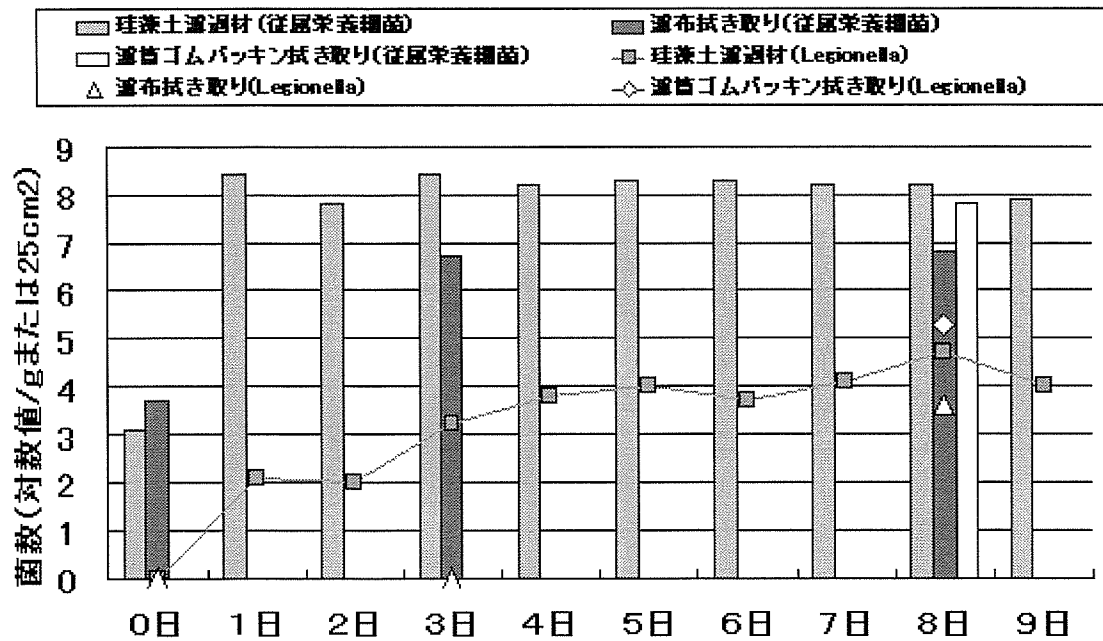


図3 珪藻土濾過単独運転時の菌数の推移(2)

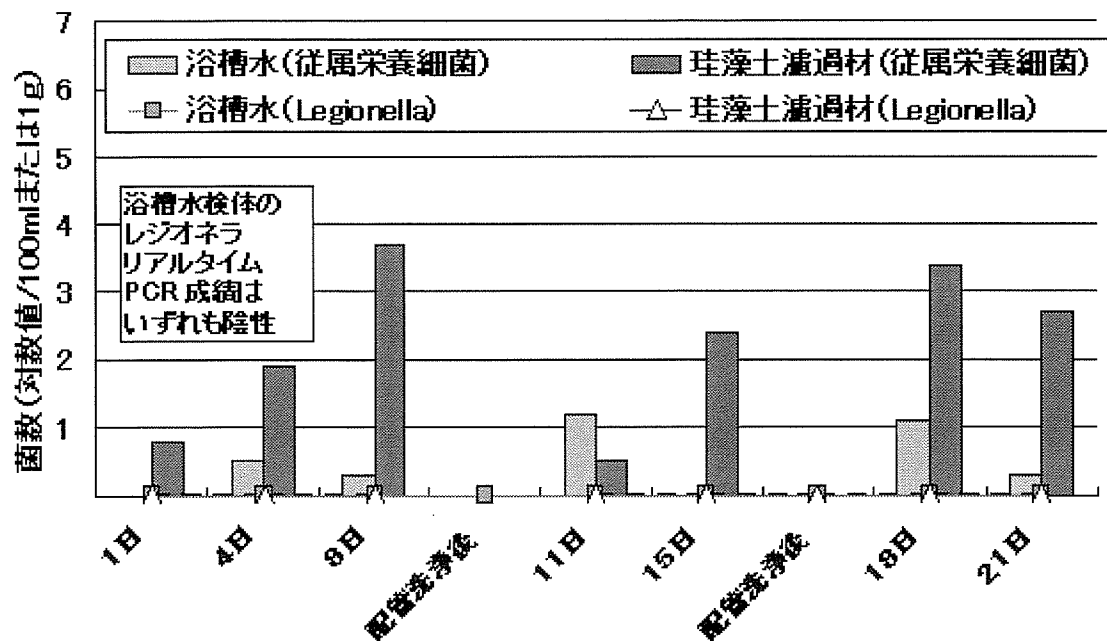


図4 珪藻土毎日張替え、塩素管理併用運転時の菌数の推移

循環式浴槽における浴用水の浄化・消毒方法の最適化に関する研究

各種殺菌剤のレジオネラ属菌に対する殺菌効果

主任研究者	遠藤 卓郎	国立感染症研究所 寄生動物部
分担研究者	縣 邦雄	アクアスつくば総合研究所
研究協力者	神澤 啓	アクアスつくば総合研究所

研究要旨：温泉水において高 pH やアンモニウムイオンを含む泉質の場合に塩素剤の殺菌効果が弱まることからより効果的な殺菌対策が望まれている。今回、実験室において塩素剤、臭素剤、二酸化塩素、ヨウ素剤の4種類の酸化性殺菌剤を用いてレジオネラ属菌に対する殺菌効果を評価した。実験条件は pH を 4.5、7.0、9.5 の3点に設定し、それぞれの条件においてアンモニウムイオン 0 および 5mg/L の添加条件を設定した。殺菌剤の濃度は 0.5mg/L (as Cl₂ 又は as ClO₂) とした。その結果、塩素剤は高 pH 及びアンモニウムイオンの存在により殺菌効果が低下したのに対し、二酸化塩素はすべての水質条件で安定した殺菌効果を発揮した。臭素剤も高 pH、アンモニウムイオン存在条件で高い殺菌効果を発揮した。今後、塩素剤の効果が得られにくい温泉施設において、これら殺菌剤の効果を検証することで有効な衛生管理手法の確立がなされるものと期待される。

A. 研究目的

浴槽水中のレジオネラ属菌をはじめとする細菌類の殺菌には塩素剤がひろく用いられている。浴槽水の水源として水道水を使用している場合は塩素剤が有効に作用するが、温泉水の場合は高 pH やアンモニウムイオンを含む泉質などの場合は塩素剤の殺菌効果が弱まり、十分な殺菌効果が得られない場合がある。こうした場合、塩素剤に替わる殺菌剤として、臭素系薬剤、二酸化塩素、ヨウ素剤などが提唱されている。これらの各種殺菌剤について、高 pH やアンモニウムイオンを含む水質でのレジオネラ属菌に対する殺菌効果を評価することで、各種殺菌剤の特徴を

把握し、温泉水を使用した実際の浴槽水の適切な消毒方法を確立するための基礎データとすることを目的とした。

B. 研究方法

(1) 概要

実験室において、塩素剤、臭素剤、二酸化塩素、ヨウ素剤の4種類の酸化性殺菌剤を用いて、レジオネラ属菌に対する殺菌効果を評価した。試験時の塩素剤、臭素剤、ヨウ素剤の濃度は 0.5mg/L as Cl₂、二酸化塩素の濃度は 0.5mg/L as ClO₂ とした。試験水は塩素剤による殺菌効果が得られ難い水質を想定して、pH を変化させた場合、アンモニウムイオンを含む場合を想定して

試験を行なった。

表 1. 試験水質の条件

条件	pH	アンモニウムイオン(mg/L)
1	4.5	0
2	7.0	0
3	9.5	0
4	7.0	5
5	9.5	5

(2) 各種殺菌剤

試験に使用した各種殺菌剤は以下のものを用いた。

- ① □ 塩素剤：12%次亜塩素酸ナトリウム溶液(食品添加物規格品)
- ② □ 臭素剤：1-ブロモ-3-クロロ-5,5-ジメチルヒダントイン(BCDMH、BWA社製)のグラニュール剤を純水に溶解して使用。

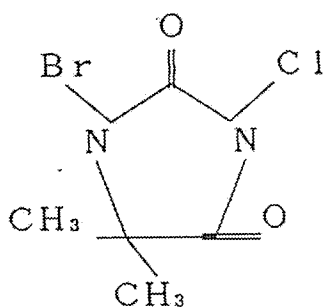


図 1. BCDMH の構造式

- ③ 二酸化塩素：亜塩素酸ナトリウムと塩酸を反応させて生成したもの。純度 90%以上、タクミナ社にて製造し、約 0.1%溶液で冷蔵保存。
- ④ ヨウ素剤：市販試薬 0.05 mol/L ヨウ素溶液(キシダ化学)

(3) 試験水質

純水に、pH緩衝液を添加し、pH4.5(酢酸バッファ)、pH7.0(りん酸バ

ッファ)、pH9.5(炭酸ナトリウム)の試験液を調製した。

アンモニウムイオン 5mg/L を含む試験液は、塩化アンモニウム試薬を 15mg/L 添加した。

(4) レジオネラ属菌

試験には、*Legionella pneumophila* (serogroup 1) G1FU9134 株を使用した。BCYE α 培地上で、36 \pm 1 $^{\circ}$ C、3日間培養したコロニーを試験に供した。

(5) 試験方法

殺菌試験の手順を以下に示す。

- ① 各条件の試験水をろ過滅菌(0.45 μ m)し、100mL \times 5本(薬品4種類+無処理)の三角フラスコに分注した。
- ② 各試験液に前培養した *Legionella pneumophila* を、約 2.0 \times 10⁵ CFU/mL となるように添加した。
- ③ 同様に、各条件の試験水をろ過滅菌(0.45 μ m)し、100mL \times 5本(薬品4種類+無処理)の三角フラスコに分注した。
- ④ その試験液に、各 1mg/L as Cl₂ 又は 1mg/L as ClO₂ となるように、各殺菌剤を添加した。
- ⑤ 菌液と、殺菌剤液を等量混合し、その時を殺菌試験開始とした(反応液中

殺菌剤 0.5mg/L、初期菌数約 1.0×10^5 CFU/mL)。その後、室温 (25℃) で、フラスコごと攪拌放置した。

- ⑥ 試験開始後、1分、5分、10分、30分、1時間、3時間に試験液を採取し、残留塩素(二酸化塩素)濃度を測定した。残留塩素濃度の測定には DPD 法デジタル式測定器 (タクミナ社くろるくん)、二酸化塩素濃度の測定には DPD 法デジタル式測定器 (タクミナ社二酸化くろるくん) を用いた。
- ⑦ 一方、培養試験用として、採取した試験液にチオ硫酸ナトリウムを添加して殺菌剤を中和した。
- ⑧ 各時間ごとに採取した試験液を、BCYE α 培地上に接種、 $36 \pm 1^\circ\text{C}$ で7日間培養し、レジオネラ属菌数を測定した。
- ⑨ 3時間経過後の試験液の pH を測定した。

C. 結果と考察

表1に示す実験条件1~5の各条件で4種類の殺菌剤を用いて殺菌試験を行った。得られた結果は表2から表6にまとめ、あわせて図示(図2~6)した。

結果は以下のとおりであった。

(1) pH4.5 :

- ・ 塩素剤、臭素剤、二酸化塩素、ヨウ素剤のいずれの殺菌剤処理により、1分以上の接触時間でレジオネラ属菌は不検出となった。
- ・ 当該低 pH 条件では無処理(コントロール)群においても時間の経過と共に菌の生残率が低下し、pH の影響が観察された。
- ・ 消毒剤の残留濃度の推移を見ると、

他の殺菌剤に比較して塩素剤の消失時間が早い傾向が確認された。次亜塩素酸ナトリウムと酢酸との反応や低 pH 下での揮散が消失の原因と推測された。

(2) pH7.0 :

いずれの殺菌剤処理においても1分以上の接触時間でレジオネラ属菌は不検出となった。

消毒剤の残留性は二酸化塩素がもっとも高く、次いで臭素剤、ヨウ素剤の順であった。

(3) pH9.5 :

- ・ 二酸化塩素処理では1分以上の接触時間でレジオネラ属菌は不検出となった。
- ・ 臭素剤処理では1分間の接触により $1 \sim 2 \log_{10}$ 程度の菌数の減少が認められ、5分以上の接触で不検出となった。
- ・ 塩素剤とヨウ素剤はほぼ同等の殺菌効果を示し、10分間の接触により \log_{10} 程度の菌数の減少を観察した。
- ・ 臭素剤や二酸化塩素の殺菌効果は高 pH 条件でも保たれることが確認された。
- ・ ただし、いずれの消毒剤においても消失が速やかで、特に塩素剤、ヨウ素剤の消失が顕著で、高 pH 条件での消毒剤の存在様式とあいまって殺菌効果の低減が指摘される。

(4) pH7.0、 $\text{NH}_4 = 5\text{mg/L}$:

- ・ 臭素剤、二酸化塩素、ヨウ素剤処理では、1分以上の接触時間でレジオネラ属菌は不検出となった。
- ・ 塩素剤処理では1分間の接触でおよそ $1 \log_{10}$ 、5分間接触で $3 \log_{10}$ 程度

の菌の減少に留まった。上述の(2)のアンモニウムイオンが無い条件での結果に比べ、明らかに殺菌効果の低下が観察された。結合型塩素に変化することでの殺菌効果の低下が確認された。

- 臭素剤では半分程度が結合型に変換するものと考えられるが、二酸化塩素とともにアンモニウムイオンの存在に影響されにくい傾向が確認された。

(5) pH9.5、NH₄=5mg/Lの条件

- 二酸化塩素処理では1分間以上の接触時間でレジオネラ属菌は不検出となった。
- 臭素剤とヨウ素剤は類似した挙動を示しており、1分間の接触でおよそ3log₁₀の菌数の減少が確認され、5分間以上の接触で不検出となった。
- 塩素剤では著しい殺菌効果の低下がみられ、10分間の接触においても0.4log₁₀程度の菌の減少に留まった。菌数は30分間の接触でおよそ1log₁₀、1時間の接触で1.4log₁₀程度の減少をみるに留まった。
- ヨウ素剤処理ではアンモニウムイオンの共存により殺菌効果が増強された結果となった。

(6) 結果のまとめ

アンモニウムイオンを含まない条件では、pH4.5、7.0ではいずれの殺菌剤によってもレジオネラは0.5mg/Lの濃度、1分間の接触で不活化された。pH9.5では塩素剤、ヨウ素剤の殺菌効果が低下した。一方、二酸化塩素の殺菌効果は低下せず、臭素剤の殺菌効果もわずかな低下に留まった。アンモニウムイオンを含む場合は、

pH7.0では塩素剤の殺菌効果のみが低下し、他の殺菌剤はアンモニウムイオンの影響を受けなかった。pH9.5では塩素剤の殺菌効果は著しく阻害された。これに反し、臭素剤、ヨウ素剤ではアンモニウムイオンによる妨害効果は観察されなかった。また、当該実験条件では二酸化塩素は安定して殺菌効果を示した。

D. 結論

異なったpH、ならびにアンモニウムイオンの有無の組み合わせにより計5系統の実験条件を設定し、酸化性殺菌剤(塩素剤、臭素剤、二酸化塩素、ヨウ素剤)によるレジオネラ属菌の殺菌試験を行った。その結果、以下の結論を得た。

- 塩素剤は従来言われているように、高pH、アンモニウムイオン共存下で著しい殺菌効果の低下が再確認された。
- 二酸化塩素は今回の実験条件では安定した殺菌効果を示し、接触時間1分間程度でレジオネラに対し5~6log₁₀程度の殺菌効果が期待された。
- 臭素剤の殺菌作用はアンモニウムイオンにより妨害されなかった。一方、高pH(pH9.5)で殺菌効果は低下したが、塩素剤に比して低下の程度は軽微であり、実用上問題の無いレベルと考えられた。
- ヨウ素剤は高pH条件で殺菌効果が低下した。
- 高pH(アルカリ性温泉)や、アンモニウムイオンを含有する温泉水の殺菌剤として二酸化塩素の効果が高いことが示された。
- 臭素剤(BCDMH)は高pH条件下においても高い殺菌効果が確認された。

今後、実際に水質の要因で塩素剤による殺菌効果が十分でない温泉施設においてこれら殺菌剤の効果を検証し、より安定した浴槽水の衛生管理手法の確立が期待される。

E. 研究発表

なし

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 2. 水質条件 1 (pH4.5) の結果

接触時間	無処理		塩素剤 0.5mg/L(as Cl ₂)		臭素剤 0.5mg/L(as Cl ₂)		二酸化塩素 0.5mg/L(as ClO ₂)		ヨウ素剤 0.5mg/L(as Cl ₂)	
	レジオネラ属菌数 (CFU/mL)	遊離残留塩素 (mg/L)	レジオネラ属菌数 (CFU/mL)	遊離残留塩素 (mg/L)	レジオネラ属菌数 (CFU/mL)	遊離残留塩素 (mg/L)	レジオネラ属菌数 (CFU/mL)	二酸化塩素 (mg/L)	レジオネラ属菌数 (CFU/mL)	遊離残留塩素 (mg/L)
1分	26000	0.20	1未満	0.26	1未満	0.41	1未満	0.40	1未満	0.40
5分	5000	0.21	1未満	0.23	1未満	0.38	1未満	0.41	1未満	0.41
10分	5000	0.16	1未満	0.24	1未満	0.39	1未満	0.39	1未満	0.39
30分	3000	0.13	1未満	0.29	1未満	0.33	1未満	0.32	1未満	0.32
1時間	4100	0.09	1未満	0.23	1未満	0.33	1未満	0.36	1未満	0.36
3時間	1700	0.01	1未満	0.17	1未満	0.21	1未満	0.29	1未満	0.29
試験後のpH	4.51		4.51		4.50		4.51		4.51	

表 3. 水質条件 2 (pH7.0) の結果

接触時間	無処理		塩素剤 0.5mg/L(as Cl ₂)		臭素剤 0.5mg/L(as Cl ₂)		二酸化塩素 0.5mg/L(as ClO ₂)		ヨウ素剤 0.5mg/L(as Cl ₂)	
	レジオネラ属菌数 (CFU/mL)	遊離残留塩素 (mg/L)	レジオネラ属菌数 (CFU/mL)	遊離残留塩素 (mg/L)	レジオネラ属菌数 (CFU/mL)	遊離残留塩素 (mg/L)	レジオネラ属菌数 (CFU/mL)	二酸化塩素 (mg/L)	レジオネラ属菌数 (CFU/mL)	遊離残留塩素 (mg/L)
1分	56000	0.25	1未満	0.33	1未満	0.41	1未満	0.32	1未満	0.32
5分	29000	0.22	1未満	0.31	1未満	0.39	1未満	0.25	1未満	0.25
10分	17000	0.21	1未満	0.23	1未満	0.39	1未満	0.15	1未満	0.15
30分	39000	0.15	1未満	0.15	1未満	0.33	1未満	0.06	1未満	0.06
1時間	42000	0.16	1未満	0.08	1未満	0.23	1未満	0.01	1未満	0.01
3時間	30000	0.13	1未満	0.02	1未満	0.20	1未満	1未満	1未満	1未満
試験後のpH	7.02		7.02		7.02		7.02		7.02	

表 4. 水質条件 3 (pH9.5) の結果

接触時間	無処理		塩素剤 0.5mg/L(as Cl ₂)		臭素剤 0.5mg/L(as Cl ₂)		二酸化塩素 0.5mg/L(as ClO ₂)		ヨウ素剤 0.5mg/L(as Cl ₂)	
	レジオネラ属菌数 (CFU/mL)	遊離残留塩素 (mg/L)	レジオネラ属菌数 (CFU/mL)	遊離残留塩素 (mg/L)	レジオネラ属菌数 (CFU/mL)	遊離残留塩素 (mg/L)	レジオネラ属菌数 (CFU/mL)	二酸化塩素 (mg/L)	レジオネラ属菌数 (CFU/mL)	遊離残留塩素 (mg/L)
1分	27000	0.13	21000	0.08	1000	0.08	1未満	0.11	17000	0.12
5分	87000	0.11	15000	0.07	1未満	0.07	1未満	0.08	5300	0.07
10分	120000	0.13	4800	0.06	1未満	0.06	1未満	0.06	3800	0.12
30分	110000	0.11	180	0.03	1未満	0.03	1未満	0.09	980	0.11
1時間	98000	0.08	1未満	0.03	1未満	0.03	1未満	0.03	38	0.08
3時間	100000	0.06	1未満	0.05	1未満	0.05	1未満	0.03	1未満	0.02
試験後のpH	9.63		9.55		9.57		9.44		9.44	

表 5. 水質条件 4 (pH7.0、アンモニウムイオン 5mg/L) の結果

接触時間	無処理		塩素剤 0.5mg/L(as Cl ₂)		臭素剤 0.5mg/L(as Cl ₂)		二酸化塩素 0.5mg/L(as ClO ₂)		ヨウ素剤 0.5mg/L(as Cl ₂)	
	レジオネラ属菌数 (CFU/mL)	遊離塩素 (mg/L)	レジオネラ属菌数 (CFU/mL)	遊離塩素 (mg/L)	レジオネラ属菌数 (CFU/mL)	遊離塩素 (mg/L)	レジオネラ属菌数 (CFU/mL)	二酸化塩素 (mg/L)	レジオネラ属菌数 (CFU/mL)	遊離塩素 (mg/L)
1分	77000	0.51	4900	0.01	1未満	0.25	0.39	1未満	1未満	0.39
5分	81000	0.47	140	0.07	1未満	0.22	0.40	1未満	1未満	0.30
10分	67000	0.48	1	0.02	1未満	0.30	0.31	1未満	1未満	0.21
30分	77000	0.48	1未満	0.03	1未満	0.29	0.24	1未満	1未満	0.09
1時間	76000	0.49	1未満	0.02	1未満	0.26	0.17	1未満	1未満	0.01
3時間	120000	0.46	1未満	0.02	1未満	0.24	0.06	1未満	1未満	0.01
試験後のpH	6.97		6.97		6.97		6.96		6.97	

表 6. 水質条件 5 (pH9.5、アンモニウムイオン 5mg/L) の結果

接触時間	無処理		塩素剤 0.5mg/L(as Cl ₂)		臭素剤 0.5mg/L(as Cl ₂)		二酸化塩素 0.5mg/L(as ClO ₂)		ヨウ素剤 0.5mg/L(as Cl ₂)		
	レジオネラ属菌数 (CFU/mL)	レジオネラ属菌数 (CFU/mL)	結合塩素 (mg/L)	遊離塩素 (mg/L)	レジオネラ属菌数 (CFU/mL)	結合塩素 (mg/L)	遊離塩素 (mg/L)	レジオネラ属菌数 (CFU/mL)	二酸化塩素 (mg/L)	レジオネラ属菌数 (CFU/mL)	遊離塩素 (mg/L)
1分	150000	180000	0.49	0.01	150	0.51	0.16	1未満	0.10	130	0.12
5分	190000	87000	0.55	0.00	1未満	0.45	0.15	1未満	0.09	1未満	0.10
10分	170000	67000	0.51	0.03	1未満	0.42	0.14	1未満	0.06	1未満	0.16
30分	180000	18000	0.51	0.00	1未満	0.42	0.10	1未満	0.02	1未満	0.11
1時間	160000	6300	0.47	0.03	1未満	0.41	0.07	1未満	0.02	1未満	0.06
3時間	130000	2	0.49	0.02	1未満	0.36	0.07	1未満	0.01	1未満	0.02
試験後のpH	9.56		9.54		9.58		9.53		9.52		

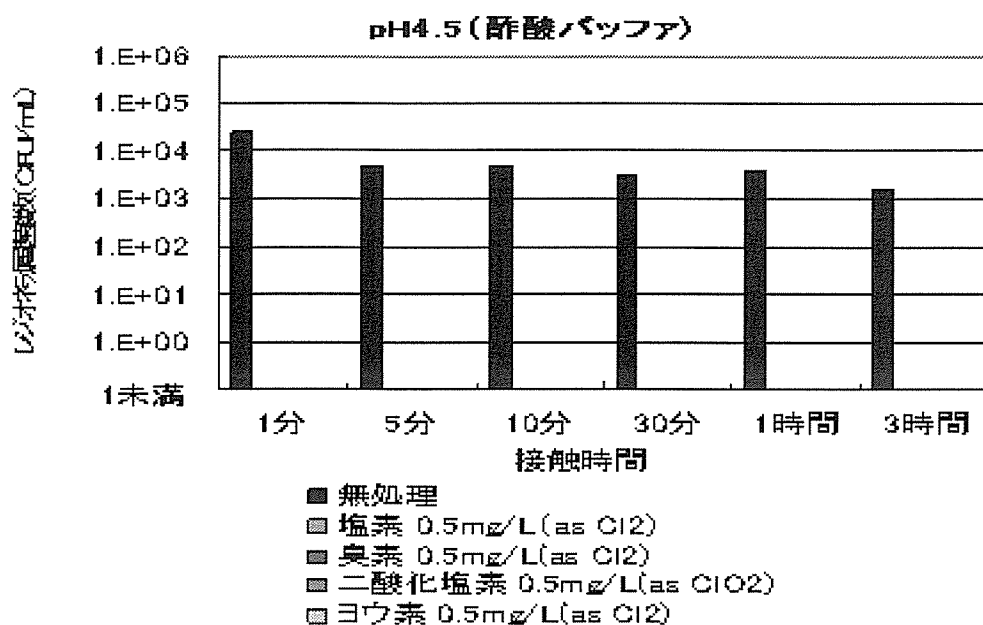


図 2. 水質条件 1 (pH4.5) の結果

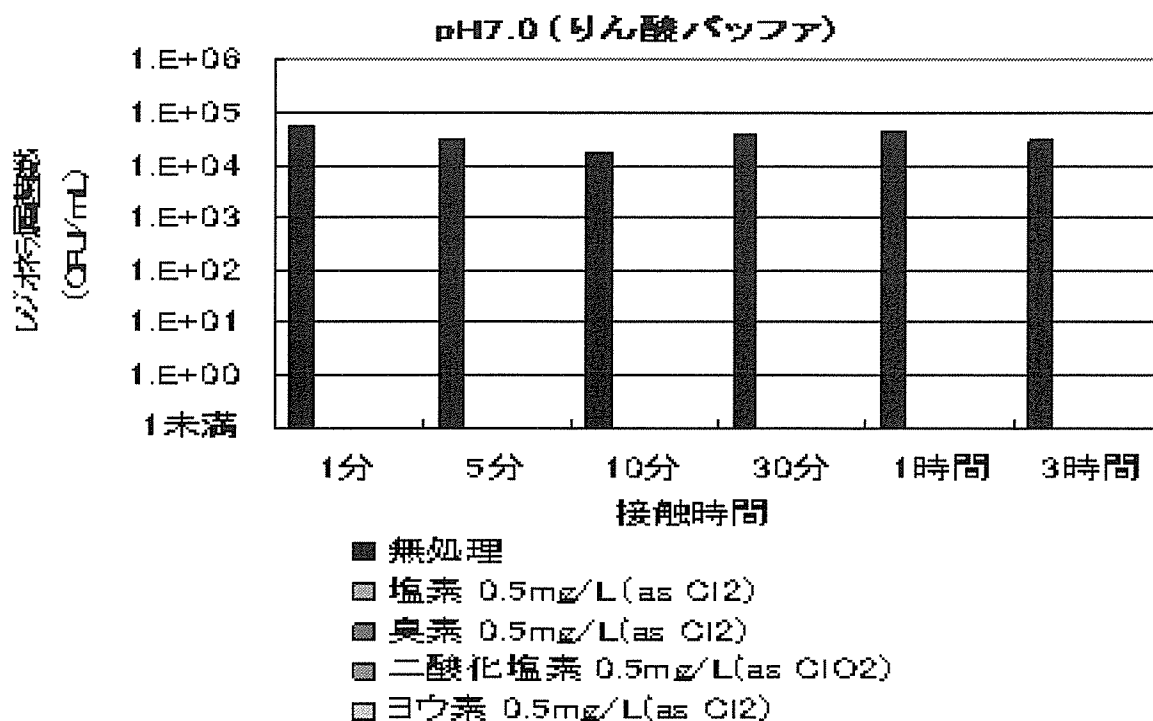


図 3. 水質条件 2 (pH7.0) の結果