

平成23年度厚生労働科学研究（健康安全・危機管理対策総合研究事業）
分担研究報告書

公衆浴場等におけるレジオネラ属菌対策を含めた総合的衛生管理手法に関する研究

モノクロラミン消毒による入浴施設の衛生管理
実際の入浴施設における注入・測定の自動化

研究代表者	倉 文明	国立感染症研究所細菌第一部
研究分担者	○縣 邦雄	アクアスつくば総合研究所
研究分担者	田栗 利紹	長崎県環境保健研究センター
研究分担者	杉山 寛治	静岡県環境衛生科学研究所
研究協力者	神澤 啓	アクアスつくば総合研究所

研究要旨：長崎県の温泉入浴施設(循環式)において、浴槽水のレジオネラ属菌抑制対策として、モノクロラミン添加による処理対策を導入した。

当温泉入浴施設は、源泉を一日 50m³使用、源泉水(20~50部)に対して水道水を(80~50部)添加して浴槽に供給している。泉質は塩化物、炭酸水素を多く含み、アンモニウムイオンが 5mg/L 程度存在し、塩素を消費する泉質である。

大浴槽(男女共通、保有水量 20m³)に、モノクロラミン発生装置を設置し、ろ過器出口から連続的に循環浴槽水を採水してモノクロラミン(全塩素)濃度の連続測定と、ろ過器入り口へのモノクロラミン液の注入制御を行った。その結果、運用開始後 3ヶ月間にわたり、大浴槽水のモノクロラミン濃度を安定的に 4~5mg/L 程度に維持し、浴槽水中のレジオネラ属菌を不検出に出来た。

A. 研究目的

入浴施設における浴槽水のレジオネラ属菌対策として、モノクロラミンの使用が検討された。(平成 21 年度厚生労働科学研究「公衆浴場におけるレジオネラの消毒方法に関する研究」)その後、平成 22 年度厚生労働科学研究「公衆浴場等におけるレジオネラ属菌対策を含めた総合的衛生管理手法に関する研究」では、実際の掛け流し式温泉施設においてモノクロラミン発生装置を設置して浴槽水中のモノクロラミン濃度を 3mg/L に調整し、レジオネラ属菌を不検出に出来た¹⁾。この施設では、温泉泉質がアンモニウムイオンを含まず塩素消費が無いこと、源泉貯槽の湯がそのまま掛け流し式浴槽に入ることから、浴槽水のモノクロラミン濃度は、一定水量の源泉水に対し

て一定量のモノクロラミン液を源泉貯槽に添加することで調整できた。

今年度の研究では、浴槽水のモノクロラミン残留濃度の調整が単純ではない施設でのモノクロラミンによる処理技術を確認することを目的とした。

具体的には、浴槽水中のモノクロラミン濃度を全塩素として測定する計器を設置し、測定濃度により発生装置を制御して浴槽水中のモノクロラミン濃度を所定の範囲に維持管理する。

なお、浴槽水のモノクロラミン濃度の調整が単純ではない要因として、源泉がアンモニウムイオンを含み塩素消費量が多いこと、源泉と水道水を混ぜて浴槽に供給していること、浴槽水を循環使用していることが挙げられる。

B. 研究方法

1. 概要

モノクロラミン発生装置及び残留塩素濃度監視計器を、長崎県の温泉入浴施設の大浴槽に設置、自動的に安定して浴槽水中のモノクロラミン濃度を所定濃度に維持できること、及びレジオネラ属菌の不検出を確認した。

実験室において源泉水の塩素消費量を測定し、循環式浴槽水に対するモノクロラミン添加量の目安を検討した。

その後、他2浴槽（露天、ジャグジー）にもモノクロラミン発生装置を設置してモノクロラミン注入（手動による濃度制御方式）を行った。

2. 試験方法

2-1. モノクロラミン発生装置の設計と設置、運用

モノクロラミンの発生量として1時間あたり約60gの発生装置を設計、ポンプ・タンク類の機種選定及び制御盤を製作し現地の機械室に設置した。

大浴槽（保有水量20m³）の循環配管にモノクロラミン液を注入した。

装置を現地に設置後は、モノクロラミン発生量を調整、塩素濃度測定計器と組み合わせて浴槽水中のモノクロラミン濃度を所定濃度に調整した。

2-2. 全塩素測定計器による浴槽水のモノクロラミン濃度の測定と制御

残留塩素濃度測定計器（イワキ社製CL-310W-IA型残留塩素計：表示レンジを10mg/Lに改造品）を設置し、大浴槽のろ過器出口配管から浴槽水を電極セルに通水（1L/分）して全残留塩素濃度を測定した。制御値を4.0mg/Lに設定してモノクロラミン発生装置の運転を制御した。

残留塩素濃度の測定値は、5分間隔でデジタル記録計に記録した。

2-3. 源泉水の塩素消費量の測定

源泉水と水道水の水質分析を行い、化学成分の組成を明らかにした。

源泉水に、モノクロラミンを50mg/L、100mg/L添加し40℃にてマグネチックスターラーで攪拌し、一定時間ごとに全残留塩素濃度を測定、塩素の消費量を求めた。

また、源泉水（塩素添加有り、無し）に対して水道水を0%、50%、80%混合した水にモノクロラミンを3mg/L添加し、40℃で攪拌して全残留塩素濃度の変化を測定した。

2-4. 他2浴槽へのモノクロラミン処理の適用

同温泉入浴施設の露天風呂（保有水量6m³）、ジャグジー（保有水量2m³）にモノクロラミン発生装置を設置し、モノクロラミンの注入を行った。

タンク類は大浴槽のものを使用し、ポンプ及び配管のみを追加設置した。残留塩素の測定計器は設置せず、浴槽水の塩素濃度の調整は手動とした。

C. 結果と考察

1. モノクロラミン発生装置の設計と設置、運用

発生装置の設計基準を表1に、機器の品名・仕様と価格を表2に示す。

次亜塩素酸ナトリウムと塩化アンモニウム液のポンプはいずれも次亜塩素酸ナトリウム液用の接液材質及び自動エア抜き機構方式を採用した。

フローを図1に示す。水道水を、ボールタップ付きの50Lタンクに貯め、水道水用のポンプを用いて混合用配管に通水する。そこに12%次亜塩素酸ナトリウム液を添加する。次亜塩素酸ナトリウム液は、配管中のスタティックミキサにより混合希釈される。混合希釈

された次亜塩素酸ナトリウム液に対して、20%塩化アンモニウム液を添加してモノクロアミンを発生させる。各ポンプの吐出量は仕様表の範囲で可変することが出来る。最終的に各ポンプ類の設定は、水道水 600mL/分、次亜塩素酸ナトリウム 3.4mL/分、20%塩化アンモニウム液 3.8mL/分とした。

制御盤は、浴槽の循環ポンプの運転信号を受け循環ポンプが運転中（逆洗時を除く）、且つ残留塩素濃度測定計器の制御が ON の時にモノクロアミン液を注入する。発生装置を停止する時は水道水ポンプのみを一定時間（0～30 秒で可変、設定は 15 秒とした）遅延して停止させる。これは配管内の濃いモノクロアミン液を押し出すためである。モノクロアミン液の注入点は、ろ過器の入り口配管である。

本発生装置のイニシャルコストは、846,195 円（工事費含まず）である。

大浴槽のみのランニングコストは、一日当たり 1,093 円（次亜塩素酸ナトリウム 3.7L、20%塩化アンモニウム 4.0L 使用）であった。従来のトリクロロイソシアヌル酸は 945 円/日でありほぼ同等であるが、モノクロアミン処理では連続的に濃度を維持できている。

2. 全塩素測定計器による浴槽水のモノクロアミン濃度の測定と制御

残留塩素計（CL-310W-IA 型）の表示部（2mg/L までの表示）を 10mg/L に改造し、現地大浴槽のろ過器近傍に設置した。計器へのサンプル水はろ過器出口配管から取り出し約 1L/分の水量で電極のセル部に導入した。サンプル水はセル部を通水後は排水した。測定は計器の全残留塩素濃度測定用の B モードとし、モノクロアミンを含む浴槽水を通水し、モノクロアミン濃度又は全残留

塩素濃度を測定して計器を校正した。

設定値を 4.0mg/L とした時の残留塩素濃度の測定結果を図 2 に示す。設定値を中心に±10%（約 0.4mg/L）の範囲で変動しており、営業時間中の全残留塩素（モノクロアミン）濃度の調整が適切に行われていることを示している。濃度の変動は、設定値マイナス 10%でモノクロアミンの注入を開始し、設定値プラス 10%でモノクロアミンの注入を停止していることを意味する。

測定データで急に 3mg/L 付近になっている時間帯（深夜 0 時から数時間）がある。これは夜間浴槽の循環ポンプが停止する時、計器の電極セルへのサンプル水が停止するためである。本計器は電極部の通水流速が低くなると測定値が低くなるのでサンプル水の流量調整には注意が必要である。なお 1 月 11 日は休業日であり値が低くなっている。

計器の校正はおよそ 1 週間ごとに行うことでほぼ適正な運用が出来た。

残留塩素計のコストは、500,400 円（工事費含まず）である。

大浴槽へのモノクロアミン注入システムのフローを図 3 に、設置状況を写真 1 と写真 2 に示す。

2 月 2 日 15 時の採水では、大浴槽水の残留モノクロアミン濃度 4mg/L、レジオネラ属菌は不検出（10CFU/100mL 未満）であった。

3. 源泉水の塩素消費量の測定

（1）水質分析

源泉水、大浴槽水、水道水の水質分析結果を表 3 に示す。源泉水はアンモニウムイオンを 4.6mg/L 含み、TOC は 1.5mg/L、ORP は 344mV であり還元力の強い泉質ではない。大浴槽水は、源泉水 2 割、水道水 8 割の混合水である。

（2）源泉水のモノクロアミン消費量

源泉水にモノクロラミンを添加して40℃で攪拌，一定時間ごとに全残留塩素濃度を測定した結果を図4に示す。源泉水はモノクロラミン添加後3時間で100mg/L添加時40mg/L減少，50mg/L添加時30mg/L減少した。48時間後ではそれぞれ78mg/L，42mg/Lの減少であり源泉水に添加したモノクロラミンが消費されたことを示す。消費量は時間が経過すると増加している。参考につくば市水+NaCl8200mg/Lの塩化物イオン濃度を源泉水と同じにした水にモノクロラミンを30mg/L添加した場合は，5時間では減少ゼロ，48時間で4mg/Lの減少であり，反応による消費は無い。

(3) 水道水希釈によるクロラミン消費状況の変化

源泉水(次亜塩素酸20mg/L添加による前処理有り無し)と水道水を混合した水に，モノクロラミンを3mg/L添加して一定時間ごとに全残留塩素濃度を測定した結果を図5に示す。ばらつきはあるものの，水道水で希釈することで同じ時間経過でのモノクロラミンの消費量は減少する。塩素による前処理の有無では，源泉割合20%の時に顕著に塩素消費量(速度)が減少している。

実際の大浴槽水では，前塩素の源泉水2割，水道水8割の水質状態でありモノクロラミンの消費量(速度)が小さい条件であった。このため，浴槽水中の残留塩素濃度を維持しやすかったものと考えられる。

4. 他2浴槽へのモノクロラミン処理の適用

2012年2月1日，露天風呂(保有水量6m³)，ジャグジー(保有水量2m³)にモノクロラミン発生装置を設置し，モノクロラミンの注入を行った。大浴槽用のモノクロラミン発生装置の

タンクから，追加のポンプ類に水道水及び薬液を供給した。ポンプ類及び配管は大浴槽に設置したものと同一仕様の機器を用いた。

残留塩素の測定計器は設置せず，浴槽水の残留塩素濃度の調整は手動とした。すなわち，浴槽水の全残留塩素濃度を測定して，その結果により次亜塩素酸ナトリウムポンプ及び20%塩化アンモニウム液ポンプの注入量を調整する。各ポンプの注入量の調整は，ボタンを押して表示されるパルス数を変更するのみであり，簡便である。

2月2日15時に行った採水では露天風呂水，ジャグジー水とも，残留モノクロラミン濃度2mg/L，レジオネラ属菌不検出(10CFU/100mL未満)であった。

浴槽水のモノクロラミン残留濃度は，浴槽水の流出水量，入浴者数，源泉水の混合割合により変化する。中でも源泉水の塩素消費のウエイトは大きくなっている。温泉の快適性を損なわない範囲で源泉を水道水で希釈して浴槽に供給することで塩素消費量(速度)が低下するので，少ないモノクロラミン添加量で浴槽水の残留濃度を維持できる。

3つの浴槽に対してモノクロラミンを添加する装置の状況を写真3に示す。

D. 結論

1. 循環式温泉入浴施設においてモノクロラミン発生装置及び，全残留塩素測定装置を設置して，浴槽水中のモノクロラミン濃度を安定して連続的に設定濃度に維持できた。
2. 上記処理により，浴槽水中のレジオネラ属菌を不検出(10CFU/100mL未満)に出来た。
3. 4mg/L程度のモノクロラミンが残留する浴槽水に入浴した場合，不快な塩

素臭気を感じることはなかった。

4. 大浴場に設置した自動化装置の費用は 1,350,195 円(税込み, 工事費含まず)である。一ヶ月間の運転コスト(大浴槽の薬品費のみ)は約 3 万円であり, 従来处理とほぼ同等である。

5. 塩素濃度測定装置を設置することなく, 浴槽水のモノクロラミン濃度を手動で調整することも可能である。

E. 参考文献

1) 縣邦雄, 杉山寛治, 神澤啓; 温泉施設におけるモノクロラミン生成装置

の設置・運用結果, 厚生労働科学研究(健康安全・危機管理対策総合研究事業)「公衆浴場等におけるレジオネラ属菌対策を含めた総合的衛生管理手法に関する研究」平成 23 年度総括・分担研究報告書
研究代表者: 倉文明, p 25-31(2011)

F. 研究発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

なし

表 1. モノクロラミン発生装置の設計基準

	通液量(最大)	通液量(最大)
水道水	1200mL/分	72L/時間
12%次亜塩素酸ナトリウム液 (%は W/W, 比重 1.15, Cl ₂ 分子量=71)	6.8mL/分	0.41L/時間
20%塩化アンモニウム液 (%は W/V, NH ₄ Cl 分子量=53.5)	7.6mL/分	0.46L/時間
モノクロラミン(asCl ₂)生成量	0.94g/分	56g/時間
本モノクロラミン液の塩素:アンモニウムのモル比は, 1:2.2 モノクロラミン濃度は, 約 780mg/L		
参考:モノクロラミン生成の反応式 $\text{NaClO} + \text{NH}_4\text{Cl} \rightarrow \text{NH}_2\text{Cl} + \text{NaCl} + \text{H}_2\text{O}$		

表 2. 発生装置の機器類の仕様・価格

品名	機器仕様・品名	価格(税込み)
水道水タンク	50L ポリエチレン製, ボールタップ付き	36,435
水道水ポンプ	タクミナ製 GS2-1000-VTCE-HW-100V1-Y-S-S 型 最大 1200mL/分×0.3MPa (60Hz)	164,850
次亜塩素酸ナトリウム液タンク	タクミナ製 PTU-100 型 100L ポリエチレンタンク	65,205
次亜塩素酸ナトリウム液ポンプ	タクミナ製 ARPZD-31-CL-HWJ 型 最大 30mL/分×0.7MPa	134,400
塩化アンモニウム液タンク	タクミナ製 PTU-100 型 100L ポリエチレンタンク	65,205
塩化アンモニウム液ポンプ	タクミナ製 ARPZD-31-CL-HWJ 型 最大 30mL/分×0.7MPa	134,400
スタティックミクサ	20A 塩化ビニル製	77,700
制御盤	100V, 水道水ポンプ遅延タイマー (30 秒) 及び水道水タンクのレベル制御付き	157,500
配管類	薬液混合部主配管は 20A 塩化ビニルパイプ その他は, 塩ビブレードホースにて接続	10,500
合計金額		¥ 846,195

注記:表中の価格(税込み)は, 定価, 工事費用は含まない。

表 3. 水質分析結果

	源泉水	大浴槽	水道水
pH(25°C)	8.2	8.4	7.5
電気伝導率(mS/m)	1500	340	13
全硬度 (CaCO ₃)	72	41	34
カルシウム硬度 (CaCO ₃)	36	20	16
マグネシウム硬度 (CaCO ₃)	36	21	18
塩化物イオン (Cl ⁻)	4400	960	5
酸消費量 (pH4.8) (CaCO ₃)	2500	420	33
シリカ (SiO ₂)	42	64	68
硫酸イオン(SO ₄)	<5	<5	6
TOC	1.5	1.3	<1.0
COD(O)	3.4	0.6	0.7
アンモニウムイオン (NH ₄)	4.6	3.8	<0.1
全ヨウ素	3.8	2.8	—
ORP (mV)	344	460	600

単位: pH、電気伝導率(mS/m)、ORP (mV)を除きmg/L

図 1. モノクロラミン発生装置のフロー図

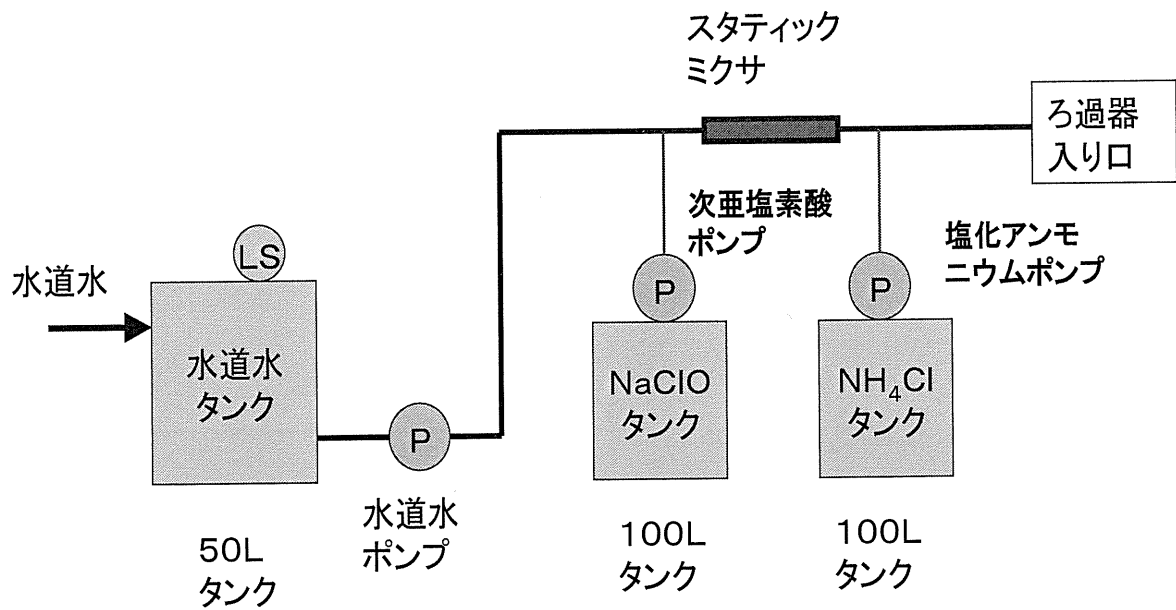


図 2. 大浴槽の残留塩素濃度の測定結果

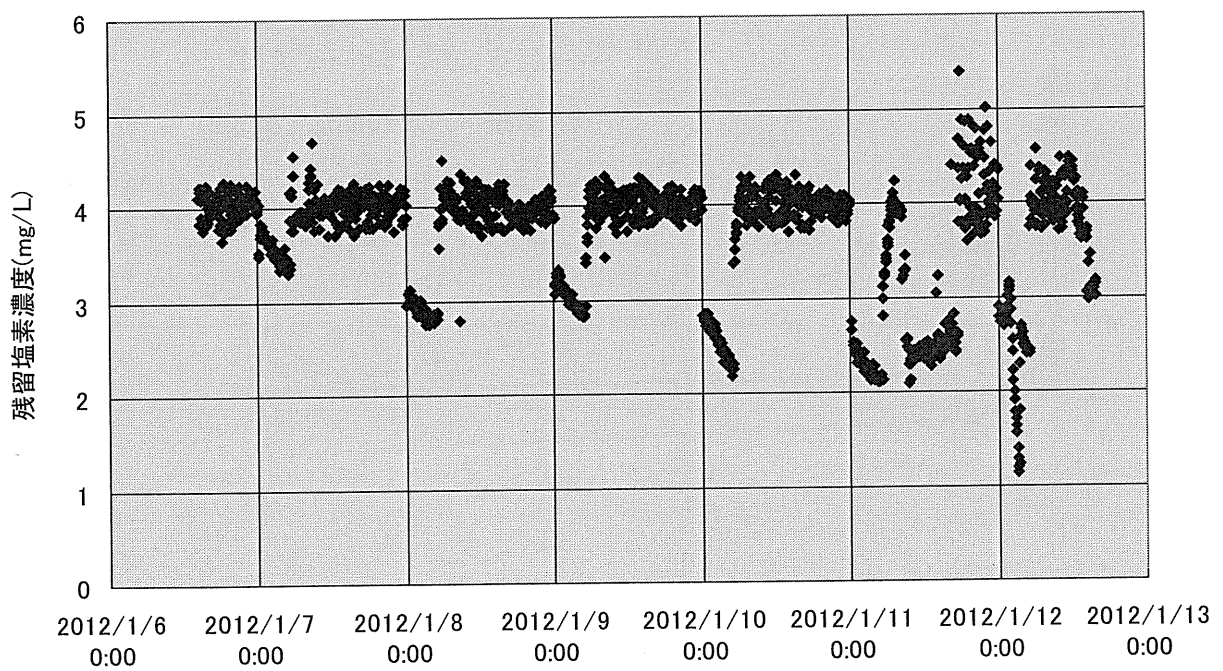


図 3. 大浴槽のモノクロラミン注入・制御フロー図

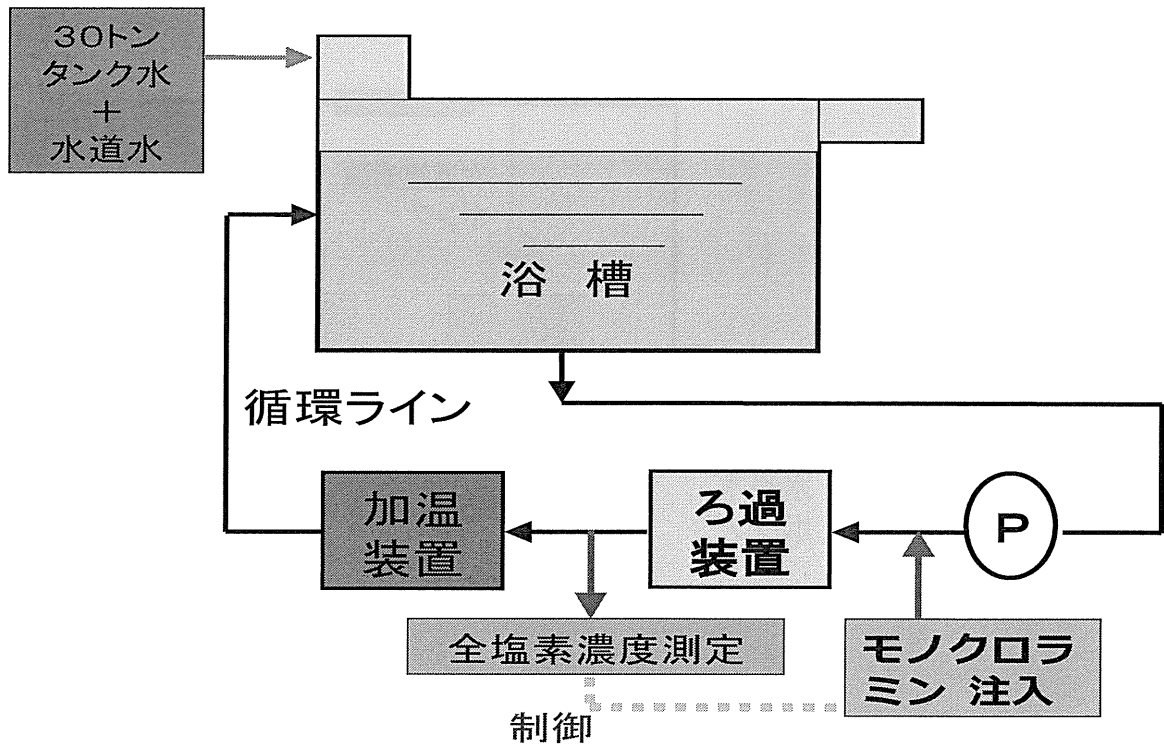


図 4. 源泉水のモノクロラミン消費量の測定結果

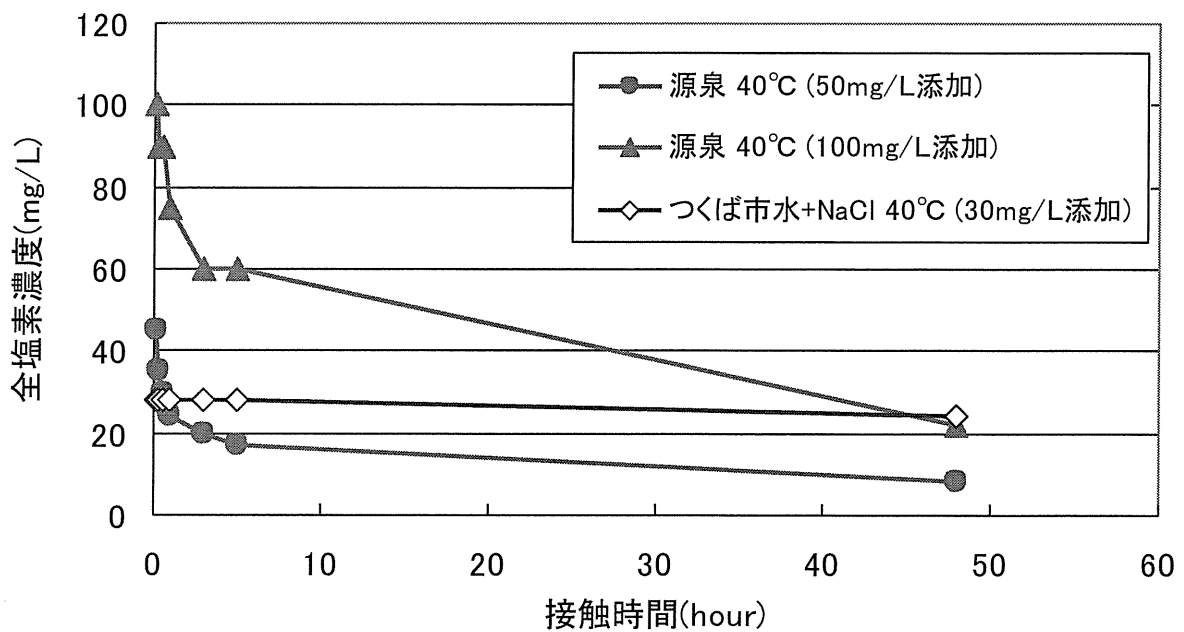


図5. 水道水希釈によるクロラミン消費状況の変化 (20%源泉は上方の2曲線)

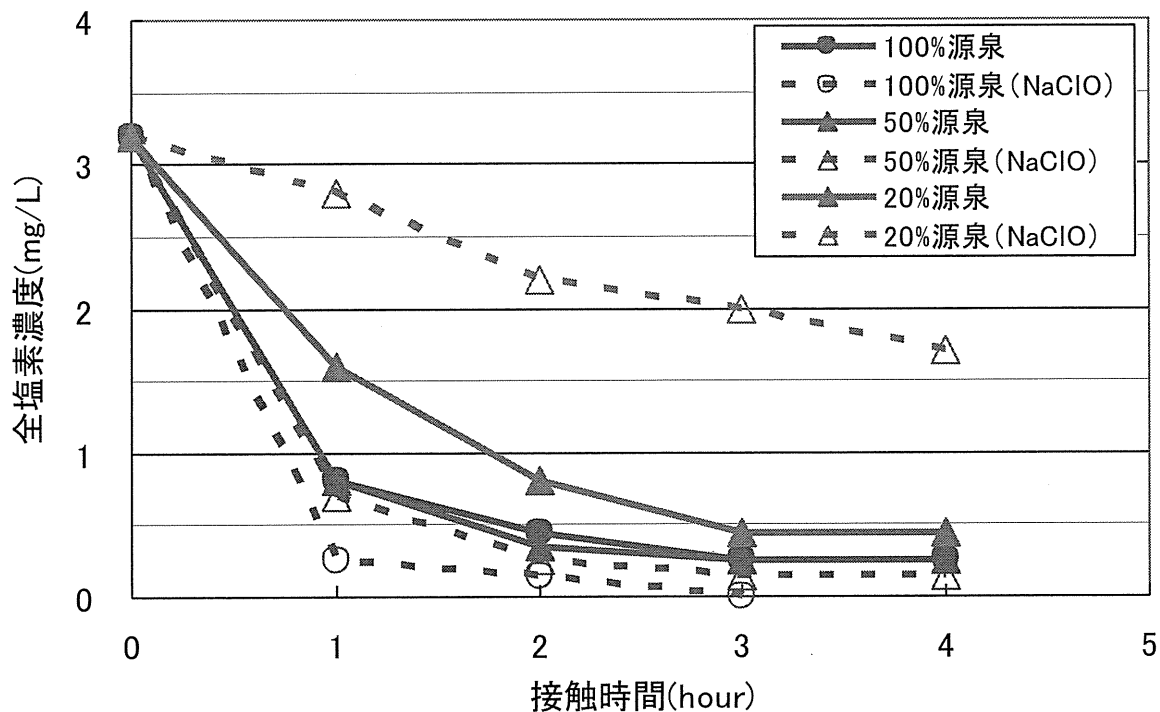
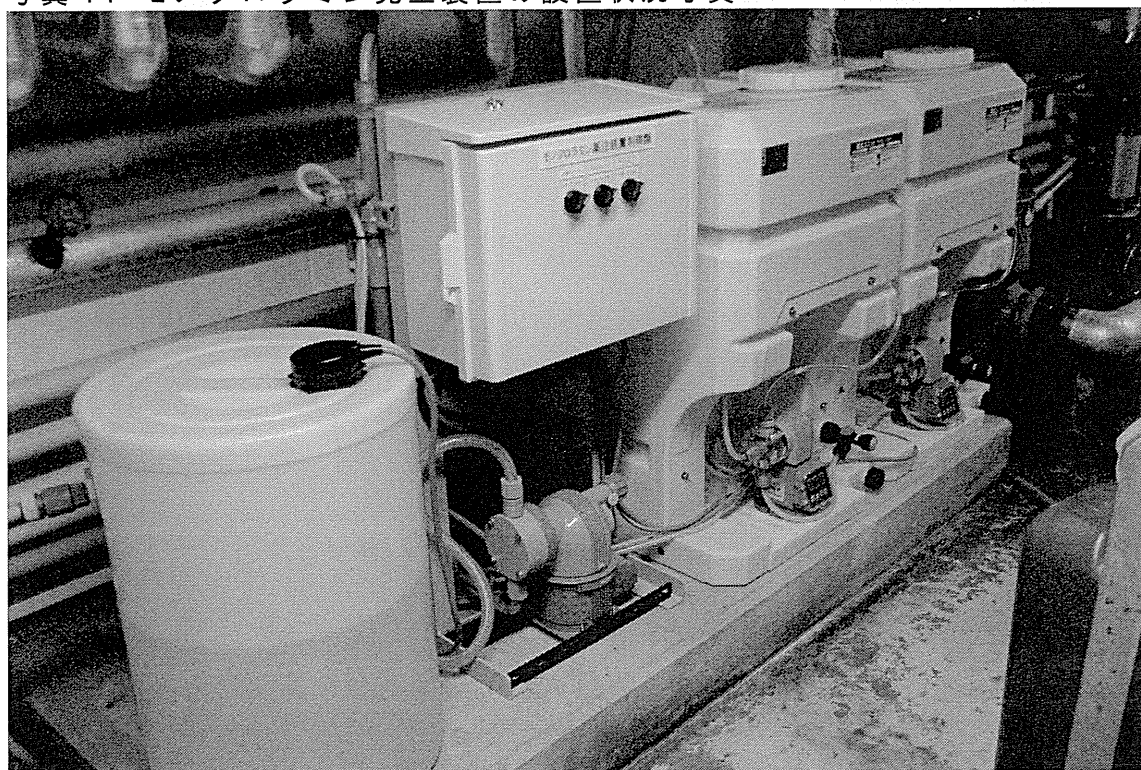
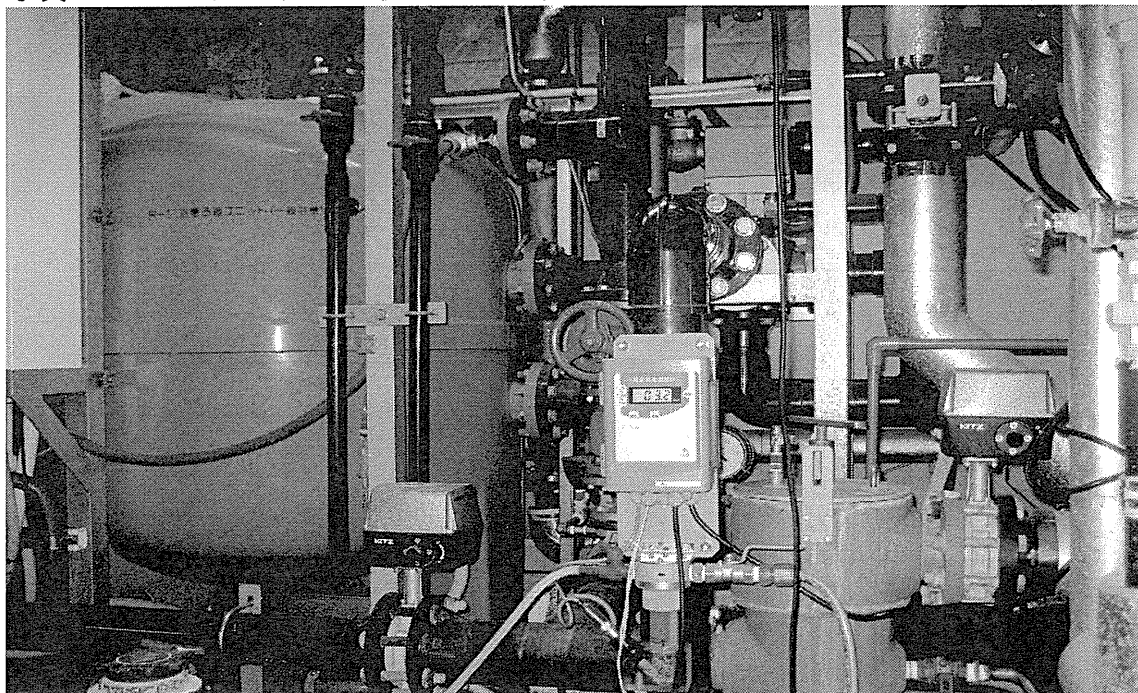


写真1. モノクロラミン発生装置の設置状況写真



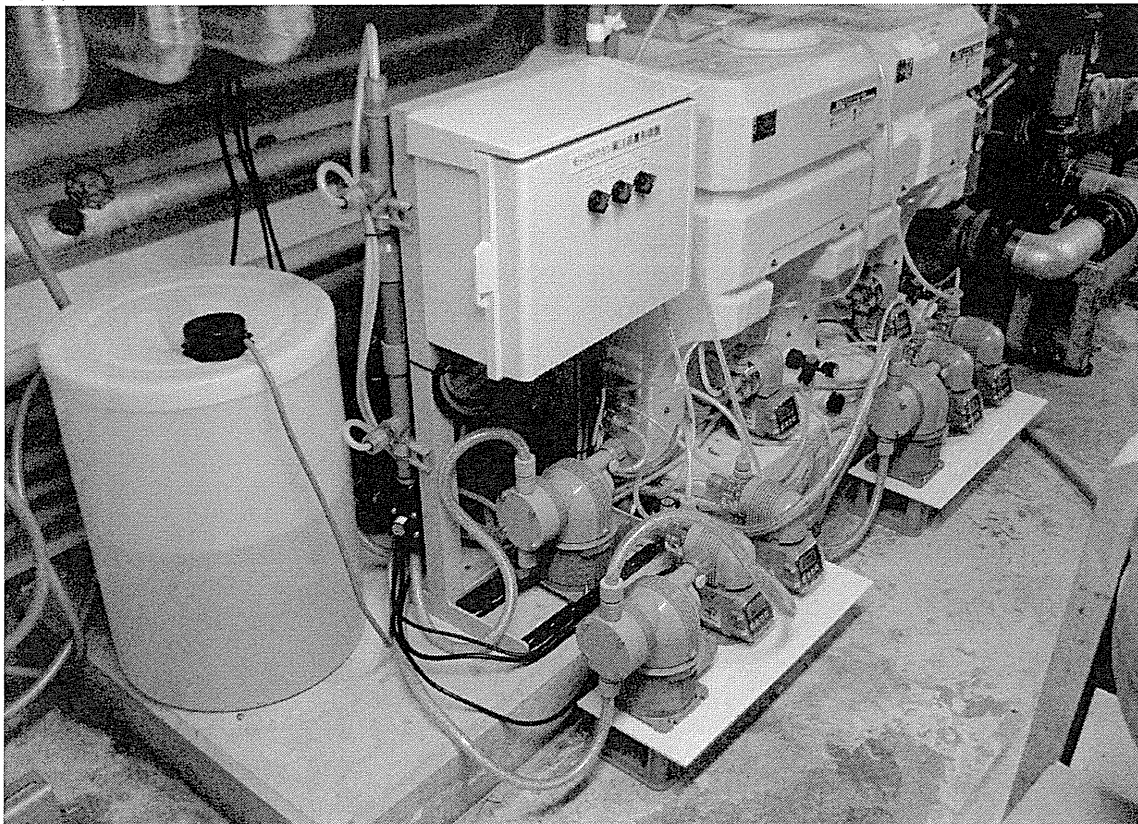
左から水道水タンク, 制御盤と水道水ポンプ, 次亜塩素酸ナトリウム液のタンクとポンプ, 塩化アンモニウム液のタンクとポンプである. 混合配管は制御盤の左側面に縦に取り付けられている. 水道水, 薬液類の配管は塩ビブレードホースを使用している.

写真2. モノクロラミン液注入点の様子



大浴槽のろ過器近傍に設置した，残留塩素測定計器の様子。
サンプル水はろ過器の出口配管からホースで電極セルに1L/分の流量で導いている。
モノクロラミン液の注入箇所はろ過器の入り口配管である。

写真3. 3つの浴槽に対してモノクロラミンを添加する装置の設置状況



白い板の上の3つの黄色いポンプが1式となっている。
タンク類はそのままポンプ類2式を追加した。

厚生労働科学研究費補助金
健康安全・危機管理対策総合研究事業
平成 23 年度 分担研究報告書

公衆浴場等におけるレジオネラ属菌対策を含めた総合的衛生管理手法に関する研究

モノクロラミン消毒による入浴施設の衛生管理（長崎県の実施例）

研究分担者：○田栗利紹 長崎県環境保健研究センター
研究協力者： 縣 邦雄 アクアス株式会社
研究協力者： 小坂浩司 国立保健医療科学院
研究協力者： 杉山寛治 静岡県環境衛生科学研究所
研究協力者： 泉山信司 国立感染症研究所

（研究要旨）昨年度に引き続き、営業施設におけるモノクロラミン消毒の有効性を検証した。当該施設の原水はアンモニア態窒素等を含み、大きく塩素を消費することが明らかとなった。当初、モノクロラミンを原水に直接注入したが十分な生成が認められず、一旦投与を中止して従来の管理方法に戻した。実験室で確かめた原水の塩素消費量が莫大であったため、注入口の接続先を原水から循環水に変更し、まず 20t 規模浴槽をモノクロラミンで管理してその消毒効果を検証した。次いで露天風呂とジャグジーにもモノクロラミン消毒を適用した。最終的には、いずれの浴槽においてもレジオネラ属菌を不検出とすることができた。モノクロラミン消毒は、アンモニア態窒素含有の温泉の消毒方法として有効であり、アンモニア対策として塩素消毒を行っている施設においてはランニングコストの低減も期待された。現地でのモノクロラミン測定は、普及している DPD 測定で代用できた。モノクロラミンは 2.0～3.0mg/L でレジオネラ属菌不検出と、モノクロラミン消毒の効果が認められた。モノクロラミン自動調製注入装置の設置により、用事調整を必要とする管理方法の弱点が改善され、今後の普及が強く期待された。

A. 研究目的

管理の難しい温泉利用入浴施設における適切な消毒のために、従来の遊離塩素に変わる新たな消毒薬としてモノクロラミン（以下、Mch）が提案され、その有効性が報告された¹⁾。循環式入浴施設において、昨年度実施した手投入による小規模浴槽の Mch 管理²⁾に引き続いて、本年度は Mch 自動生成注入装置による全体管理を試みた。

B. 研究方法

1. 対象施設

1) 泉質と浴槽

Na・Mg 炭酸水素塩・塩化物泉を利用する長崎

県内入浴施設で、浴槽ごとに 3 系統のろ過器（男女兼用）と接続することにより循環ろ過させていた。一日当たりの原水の汲み上げ量は約 50t で、3 系統の上流に共通して 10t および 30t 規模の貯湯槽を有していた。浴槽は、約 20t、6t、および 2t 規模で、それぞれ内湯、露天、およびジャグジーとして利用しており、最初に内湯のみを、後に露天とジャグジーを加えた全浴槽の水を対象に Mch 管理を実施した。

2) 施設の衛生管理状況

1 日あたりの入浴者数は約 200～400 人であり、週 1 回の定休日に完全換水とともに浴槽内の洗浄を実施していた。業者との委託契約により、ろ材（セラミクス性）を年 1 回定期交換し、バ

イオフィルム対策として年1回循環水系を過酸化水素水で処理するとともに、年数回、貯湯槽を高圧洗浄機で洗浄していた。実験に先立って、次亜塩素酸ナトリウムにより循環系統内の30mg/L×2時間の高濃度洗浄を施した後、対象浴槽水からレジオネラ不検出を確認した。

3) 従来の消毒方法

原水に5mg/L程度のアンモニアを含んでいたことから、日常的には、その対策として原水汲み上げと同時に10tタンクに40mg/L相当の次亜塩素酸ナトリウムを投与していた。さらに、循環系統内のろ過器の直前でイソシアヌル酸を注入して消毒を行っていた。

2. 調査の概要

1) 期間

冬季3ヶ月間(12月1日(木)～2月23日(木))。

2) 貯湯槽の前処理

調査開始から12月7日までは、従来の原水への塩素注入量(40mg/L)を維持させたが、12月8日以降は10t貯湯槽への塩素注入量を半減させた。

3) Mch自動生成注入装置

タンクとポンプ、全塩素測定装置とフィードバック制御装置からなる、全自動Mch注入装置を設置して、当初は貯湯タンク、最終的には循環ろ過器の前に注入口を接続した。ろ過器出口に自動塩素濃度測定器を接続し、設定した基準値未満でMch注入を開始、超過で停止させて濃度を管理した。原水に対して従来どおりの塩素注入量であった12月8日までの基準値は4.6mg/L、半減させて以降は4.0mg/Lとした。

4) 検査箇所

浴槽水およびふき取り試料(100cm²シリコン板をろ過器出口に設置して定期検査)

5) 検査項目

レジオネラ菌、アメーバ、従属栄養細菌、遊離塩素、全塩素、Mch、ジクロロアミン、およびトリクロロアミンを実施した。検査方法は昨年度の方

法²⁾に準拠した。TOC、pH、およびアンモニア態窒素は、それぞれガラス電極法、全有機炭素計測法、および比色法により検査した。

6) コストの試算

3ヶ月間の管理に要した消毒剤の使用量およびこれらの購入費からモノクロアミン管理による1日あたりのランニングコストを算出して、従来の管理方法と比較した。

倫理面への配慮: 調査に先だって、管轄保健所および衛生管理者等施設関係者に対する調査の目的、調査期間、塩素系消毒剤としてのモノクロアミンの性質、当該消毒剤の投与方法、投与場所およびその管理方法についての周知、並びに施設利用者に向けた当該消毒剤使用とその目的の告知を行ない、匿名にて感想意見を聴取した。

C. 研究結果

1. 実験初期に、浴槽水のMchが予測値(3.0～4.0mg/L)よりも低い傾向を示した(Table 1)。貯湯槽への遊離塩素の残留が判明したため、貯湯槽への塩素注入量を半減させた。その後、Mchが高濃度検出されるようになり、安定まで時間を要したものの、最終的に基準値前後で推移するようになった(Fig. 1b)。また、浴槽水的全塩素とMchはほぼ同等の値を示した(Table 1, Fig. 1b)。

2. 次亜塩素酸投与量半減後に貯湯槽の従属栄養細菌が漸増したが、3ヶ月間を通じて浴槽水レジオネラ菌、アメーバ、および従属栄養細菌は検出されなかった(Fig. 1)。ふき取り検体からもレジオネラ菌とアメーバは検出されなかったが、3ヶ月目に2～3log程度の従属栄養細菌が検出された。

3. 塩素半減した後、モノクロアミン消毒を行っていない他の浴槽水(露天、ジャグジー)の従属栄養細菌が増殖していたことが判明した。

ジャグジーから低濃度のレジオネラ属菌が検出され (80~90 cfu/100mL)、遊離塩素測定用 DPD で濃度を 1.0 mg/L 以上に保っても不検出にできなかった (Fig. 2)。この間、高濃度塩素洗浄 (50 mg/L×120 分、毎週) やろ過器の薬液注入逆洗浄 (10 mg/L×10 分、毎週) で対処した。急遽、これら 2 浴槽へのモノクロラミン管理を追加した 1 月 26 日以降、レジオネラは不検出となった (Fig. 2)。

4. 原水の塩素消費量は反応時間により 30~50 mg/L 程度 (最大 78 mg/L) (縣ら、本年度報告書) であった。この時の原水にはヨウ素イオンが 2.3 mg/L 含まれており、Mch 溶液へのヨウ素の添加により Mch の消費が促進された (データ未掲載) ため、塩素消費の原因と疑われた。

5. 対象施設における従来の管理方法とモノクロラミン管理方法の 1 日あたりランニングコストを比較した。浴槽水段階での消毒費用ではどちらもほぼ千円前後で違いは認められなかったが、従来は貯湯槽段階の塩素処理に大きなウエイトがかけられている事が明らかとなり、モノクロラミン管理でこれが半減したことによりコスト減につながる結果となった (Fig. 3)。

6. 調査期間を通じて、消毒臭などの苦情は聞かれず、得意客の中には実施前よりも炭酸水素塩泉の特徴であるヌルヌル感を強く感じるようになったとの意見も寄せられた。

D. 考察

1. アンモニア態窒素の対策等に前塩素処理などを施している施設における Mch 管理の適用は、遊離塩素の残留に注意が必要であると考えられた。現地では、全塩素測定によりモノクロラミン値を推定できると考えられた。

2. Mch は最低 2.0 mg/L でも、レジオネラ、およびアメーバの発生を約 3 ヶ月間にわたって抑止した。ふき取り検査でのみ 3 ヶ月後に少量の従属栄養細菌が検出されたが、レジオネラ、ア

メーバは不検出であり、バイオフィルムに対しても長期にわたって発生を抑制することが確かめられた。

3. ジャグジーで 1.0 mg/L を越す高濃度の塩素が検出されていたにもかかわらず従属栄養細菌やレジオネラが検出された。これは、前塩素注入量を半減させたことにより誘発されたと考えられ、アンモニア態窒素存在下の浴槽水に対する遊離塩素管理の困難さが改めて示された。一方で、このような不具合がおきている浴槽水でも、Mch の適用により、レジオネラを不検出にすることができた (Fig. 2)。

4. 当初、原水の Mch 管理が安定せず、原水に含まれる阻害物質 (ヨウ素イオンが疑われるものの塩素消費量と一致せず同定できていない) によるものと考えられ、Mch 適用に際して、温泉の場合には、原水に対する塩素消費量把握の必要性が示唆された。なお、昨年度認められた遊離塩素測定の系統誤差は原水に含まれるヨウ素イオンによるものと考えられた。

5. Mch 生成には塩化アンモニウムが必要であるため、単純な費用計算では遊離塩素管理よりも高くなる。しかし、今回、前処理に使用している遊離塩素量を半減させても十分効果が認められることが確かめられ、全体コストを削減することができた。Mch は、特にアンモニア態窒素の前処理に塩素を使用している施設においてはコスト削減につなげることのできる方法であり、経営的にも魅力のある手段であることが示された。

6. 調査期間を通じて、消毒臭などの苦情は聞かれず、Mch 消毒はその消毒効果に限らず、快適さの向上にも有用と考えられた。

E. 結論

Mch 消毒した浴槽は試験期間を通してレジオネラ属菌は検出されず、循環ろ過方式を採用している営業施設において Mch 消毒は有効であっ

たと言えた。特に遊離塩素消毒下で検出されたレジオネラ属菌を不検出にできたことは、当該消毒方法の特長と言えた。遊離塩素の1/100といわれるMchの殺菌力の観点から消毒機序の解明が待たれる。Mch自動調製注入装置により、用事調整を必要とする管理方法の弱点が改善され、今後の普及が強く期待された。

F. 参考文献

- 1) 杉山寛治, 小坂浩司, 泉山信司, 縣 邦雄, 遠藤卓郎 モノクロラミン消毒による浴槽レジオネラ属菌の衛生対策 保健医療科学 59, 109-115 (2010)
- 2) 田栗利紹, 杉山寛治, 泉山信司, 小坂浩司;モノクロラミン消毒による入浴施設の衛生管理(長崎県の実施例), 厚生労働科学研究費補助金(健康安全・危機管理対策総合研究事業)「公衆浴場等におけるレジオネラ属菌対策を含めた総合的衛生管理手法に関する研究」平成22年度総括・分担研究報告書 研究代表者:倉 文明, p.41-46 (2010).

G. 健康危険情報 なし

H. 研究発表

- 1) 田栗利紹, 杉山寛治, 小坂浩司, 泉山信司, 倉 文明, 温泉利用循環ろ過式浴槽水におけるモノクロラミン消毒の有効性, 日本防菌防黴学会第38回年会, 大阪 (2011)

I. 知的所有権の取得状況 なし

Table 1. Parameter of the water tested on December 6th, 2011.

	Date	pH	Total organic carbon (mg/L)	Ammonium nitrogen (mg/L)	Free chlorine (mg/L)	Total chlorine (mg/L)	Monochloramine (mg/L)	Dichloramine (mg/L)	Trichloramine (mg/L)
Source water	12月6日	7.6	<2.0	3.40	—	—	—	—	—
Storage tank water	12月6日	—	—	—	7.30	—	0.25	0.28	ND
Bath water	12月6日	—	—	—	ND	2.00	1.60	ND	ND
Storage tank water	12月8日	8.2	<2.0	0.05	4.51	4.92	0.14	0.25	ND
Bath water	12月8日	8.2	<2.0	1.48	ND	3.92	3.70	ND	ND

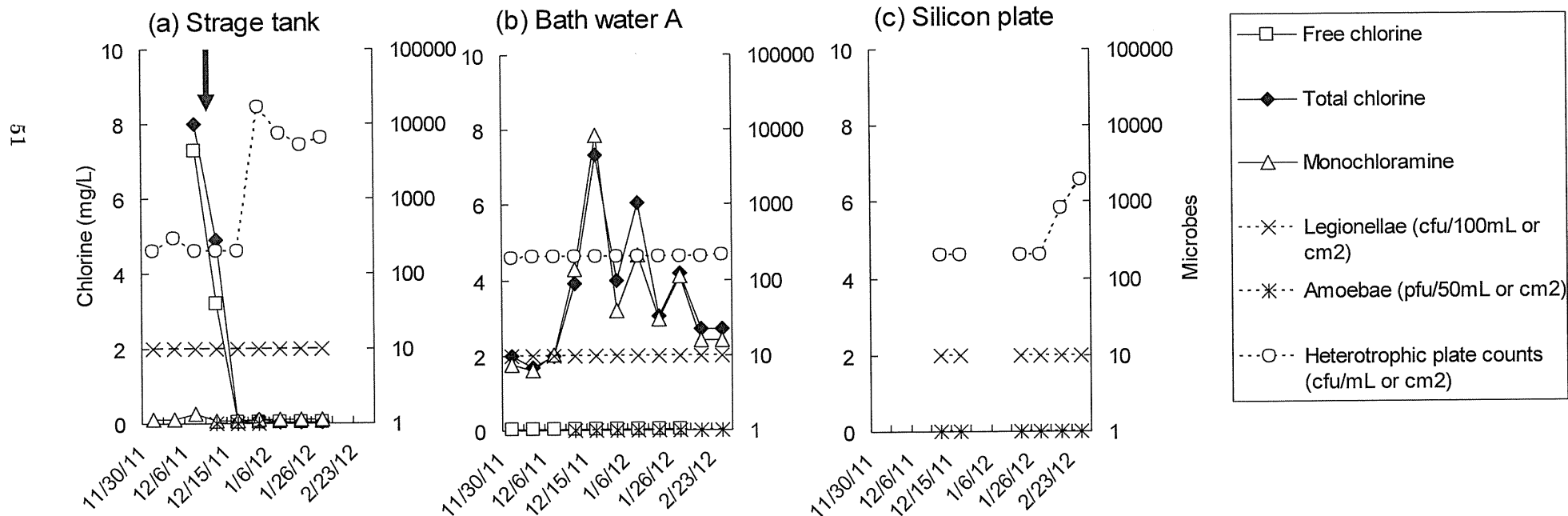


Fig.1 貯湯槽、内湯浴槽水ならびにふき取り試料における各種消毒剤と微生物汚染状況の推移
 矢印は10t貯湯槽への塩素投与量を半減させた時期、培養検査の不検出はそれぞれの検出限界で記した (Legionellae = 10 cfu/100mL, Amoebae = 1 pfu/100mL, Heterotrophic plate counts = 200 cfu/100mL)

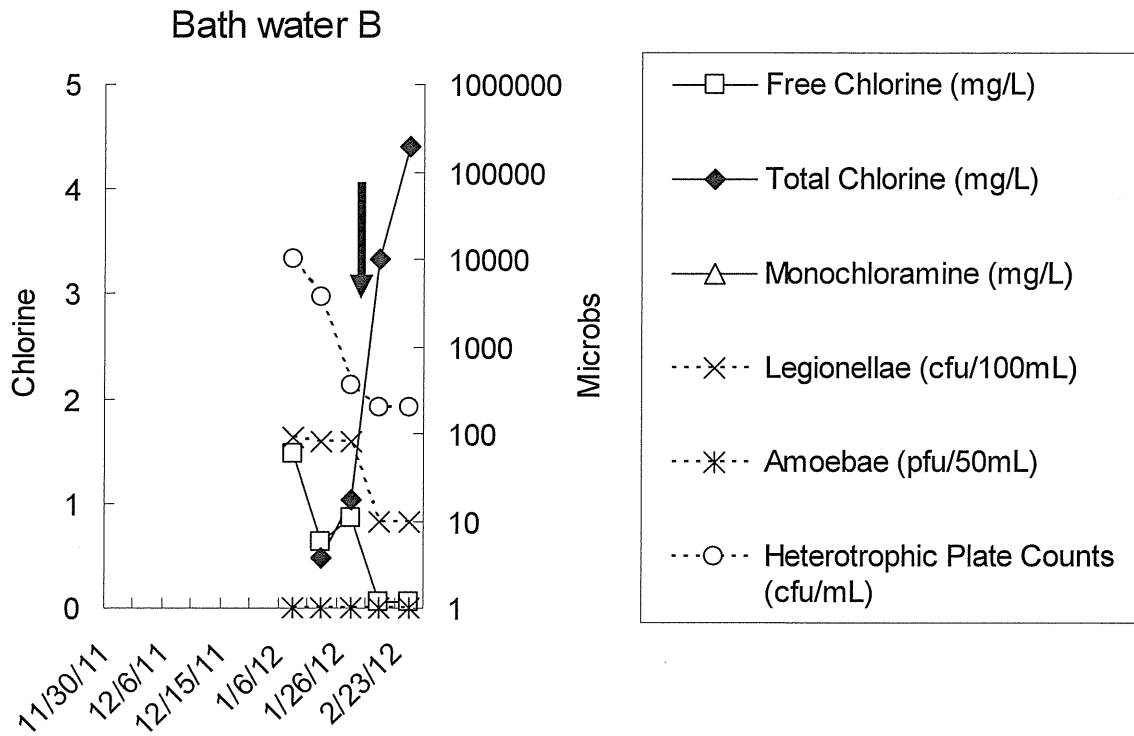


Fig. 2 ジャグジー浴槽水の汚染状況
 矢印はモノクロラミン管理への移行時期

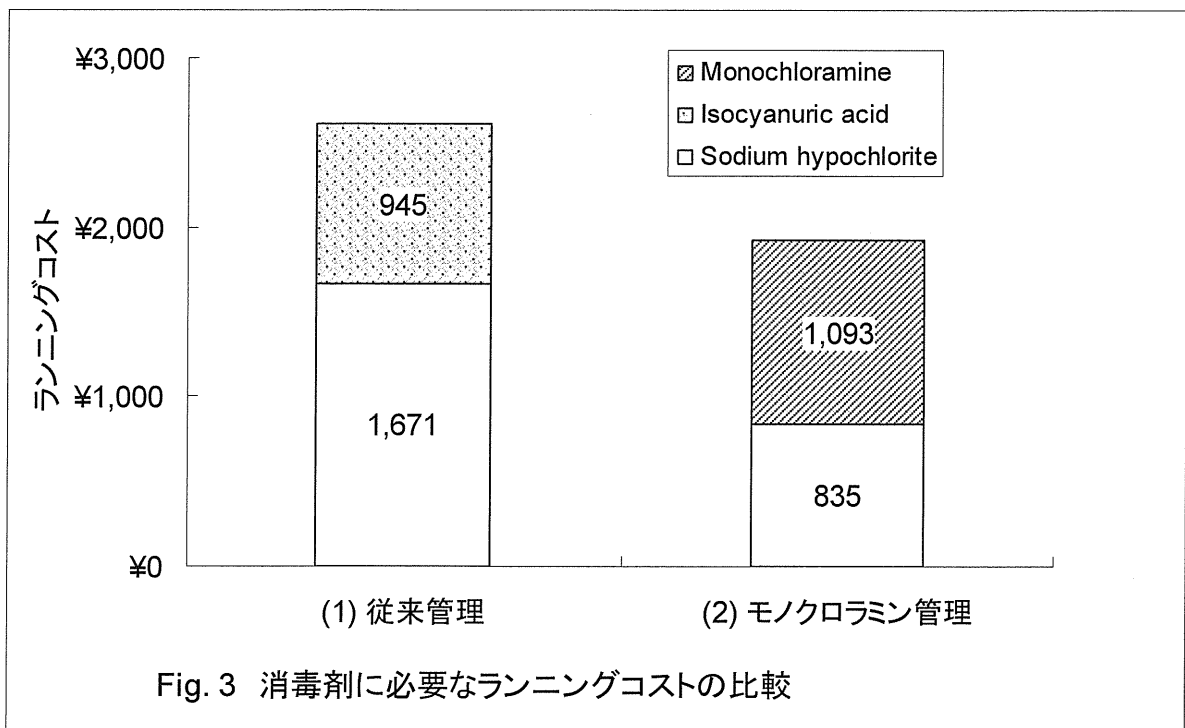


Fig. 3 消毒剤に必要なランニングコストの比較

厚生労働科学研究費補助金
健康安全・危機管理対策総合研究事業
平成 23 年度 分担研究報告書

公衆浴場等におけるレジオネラ属菌対策を含めた総合的衛生管理手法に関する研究

フローサイトメトリー法における不連続点を越えた塩素消毒の清浄化判定

研究分担者： 田栗利紹 長崎県環境保健研究センター
研究協力者： 小坂浩司 国立保健医療科学院
研究協力者： 泉山信司 国立感染症研究所
研究協力者： 小田康雅 シスメックス株式会社
研究協力者： 山崎雅之 日産化学工業株式会社

(研究要旨) フローサイトメトリー法を消毒の難しい温泉等に応用した結果、同法のレジオネラリスクの陰性ステージ(清浄化判定)が塩素要求量と関係し、塩素要求量を超えて消毒を行えば、陰性ステージに達することが判明した。これらの結果はレジオネラ属菌検査結果ともよく対応しており、レジオネラリスクを低減するためには、遊離塩素を用いた温泉等の消毒においては不連続点塩素管理が要求されることが示唆された。

A. 研究目的

泉質に含まれる様々な阻害物質、入浴者や温度等により、温泉等浴槽水の遊離塩素による消毒は非常に難しい。この塩素消毒の問題を軽減するために考案されたフローサイトメトリー法(以下、FCM法)は、細菌汚染とレジオネラ汚染との強い関連性から、細菌計数によりレジオネラリスクを判定しており、僅かな試料から極短時間でスクリーニングすることを可能とした技術である。一方で、同法では完全に消毒された水の状態を清浄化ステージと定めて閾値を決定している。この閾値により得られるレジオネラリスクの存否結果はレジオネラ属菌培養法と約90%一致した。¹⁾

当該研究では、このFCM法を、消毒の難しい温泉水に応用した。その結果、FCM法のレジオネラリスクの陰性ステージ(清浄化判定)が塩素要求量と関係し、塩素要求量を超えて消毒を行えば、陰性ステージに達することが判明したので報告する。遊離塩素管理を行っている

施設の温泉水を使用した。消毒の効果が得られず苦慮していた背景があった。

B. 研究方法

1. 供試菌液の調製

1) *Legionella pneumophila* ATCC 33152、*Escherichia coli* NBRC 3972、*Rhizobium radiobacter* JCM 20371 を用いた。

2) -80℃保存株を *L. pneumophila* は BCYE α 培地に復元後、1代継代し 37℃で 24 時間培養したものを供試した。*E.coli* と *R.radiobacter* は R2A 培地に復元後、同じ培地で 1 代継代し、30℃で 24 時間培養したものを供試した。

3) 滅菌済み PBS を用いて、*L. pneumophila* は McF 2.0、*E.coli* は McF 1.0、および *R.radiobacter* は McF 2.0 に懸濁して、3000 rpm×5 分遠心後に上清を除去して再懸濁したものを 37℃、24 時間培養後に供試した。この時のこれらの McF はそれぞれ 1.0、0.5、および 1.0 を示した。

2. 試験溶液の調製

1) 塩化物塩泉、炭酸水素塩泉、単純アルカリ泉、および井水を約 20 L 採取して、0.2 μm ポアメンブレンで 3 回ろ過した試料を用いた。水道水は採水後に常温で静置して塩素を消失させたものに同じ処理を施した。試料は、冷蔵保存して 1 ヶ月以内に試験に供した。pH、遊離/全残留塩素濃度、 Mn^{2+} 、 Fe^{2+} 、TOC およびアンモニア態窒素濃度を測定した。

3. DPD 法による不連続点の決定

1) 温泉等試料のアンモニア態窒素量、有機物濃度や水温等を検討して、適切な塩素注入率の範囲を決定し、次亜塩素酸ナトリウムを用いて、適切な 10 段階の濃度列を作製した。添加時の濃度勾配を回避するために、三角フラスコ中の試料に塩素を入れる場合、振とう状態で加え、一定時間振とうしてから暗所で静置した。

2) 浴槽利用を想定して、40°C 60 分間で反応させた。Fig. 1 に、炭酸水素塩泉における、25、40°C での塩素添加量と全塩素濃度の関係を示す。いずれの水温でも遊離塩素が検出された時の塩素添加量は同等であったが、40°C の場合、常温 (25°C) 条件と比べると、通常、アンモニア存在下では示される不連続点が顕著には認められなかった。この傾向は、他の対象水についても同様であった。

3) 試料を各三角フラスコに 50mL 入れ、水浴中で 40°C に維持させた。カバー等により暗所にして 1) で調製した 100 倍濃度塩素溶液の 0.5mL を加えて試験を開始した。

4) 暗所 40°C で 1 時間静置させた。

5) 遊離塩素量と全塩素量を測定した。

6) 遊離の測定濃度が 0.1mg/L を越えて、かつ最小濃度となった時点を不連続点とした。なお、2) で述べたが、25°C において、不連続曲線が描かれたことから、必ずしも塩素要求量が不連続点として示されなかった場合もあったが、塩素要求量に対し不連続点という言葉を用いることとした。

4. FCM 法による不連続点の決定

1) 試験溶液 (検体) 10 mL を滅菌済み中試験管に分注し、1.3) で調製した菌液を最終 10⁵ counts/mL となるように添加して 40°C に維持した恒温水槽に浸漬した。

2) パックテストのカチオン濃度とアンモニア態窒素量から必要塩素濃度を推定し、次亜塩素酸ナトリウムを用いて 100 倍濃度希釈列を作製した。例えば、塩化物泉では 100 mg/L 近い塩素要求量 (Table 1) が見込まれたため、最大値を 300 として、250、200、150、100、50、40、30、20、および 0 mg/L の希釈列として、それぞれの 100 倍濃度液を作製した。

3) 恒温水槽中の各試験管を約 50rpm で振とうさせた状態で保持し、調製した塩素水希釈列の 0.1 mL を試料中に挿入した状態で加え、約 10 分後に振とうを停止して 60 分まで静置して反応させた。反応終了後、直ぐに各試験溶液を 2.5% (塩化物泉は 25%) チオ硫酸ナトリウムで中和するとともに 0.05% グルタルアルデヒド溶液で菌を固定した。計測に際しては各試料を 0.2 mL 専用容器に分取し、フローサイトメーター (BACTANA, シスメックス社製) にセットして特定エリア内の細菌数を算出した。試験溶液の塩素濃度を塩素注入率として横軸に、測定された細胞数を縦軸にしてプロットし、細胞数が 3.48 log counts/mL を下回った最小濃度を、FCM による不連続点とした。

5. フィールドテスト

1) 温泉 (炭酸水素塩泉) 利用の 4 箇所の循環式入浴施設より、8 つの浴槽水を採水して、塩素要求量とレジオネラ属菌検査を実施した。

C. 研究結果

1. 水道水、井水、塩化物泉、炭酸水素塩泉、単純アルカリ泉の理化学検査結果を Table 1 に示した。水道水の遊離・全塩素濃度は採水時のものである。

2. これらの温泉等において、FCM 法で測定した不連続点は、従来の DPD による不連続点とほとんど変わらない値を示した (Fig. 2, 3)。

3. 炭酸水素塩泉を利用する温浴施設のフィールドテストでは全ての浴槽水から遊離塩素用 DPD で発色が認められたが、塩素要求量によりレジオネラ属菌の存否が異なった。レジオネラ菌不検出の 5 浴槽水は DPD で $0.2\sim 1.2$ mg/L (0.71 ± 0.42) を示し、且つほとんど塩素要求量を満たしていた (Fig. 4)。しかし、レジオネラ属菌が検出された 3 浴槽水では DPD の値が $0.39\sim 0.7$ mg/L (0.56 ± 0.16) を示したにもかかわらず、これらの塩素要求量を満たすためにさらに $10\sim 20$ mg/L の塩素を必要としていた (Fig. 4, 5)。

D. 考察

1. FCM 法では細菌汚染と清浄化の二つのステージにより判定される (Fig. 5)。細菌汚染から清浄化ステージに至る閾値と塩素要求量の不連続点はほぼ一致し、FCM 法の清浄化ステージは塩素管理の不連続点を越えたところにあった。

2. 遊離塩素管理が行われている温浴施設の浴槽水にアンモニア態窒素が残留し、レジオネラの存否と関連していた。FCM 法による清浄度の判断は、レジオネラ属菌検査結果との対応が得られた。レジオネラ汚染と細菌汚染の密接な関係が改めて認識された。

3. 本研究で遊離塩素の測定に使用した簡易な DPD 法では発色して遊離塩素があるように測定されたが、本当の所は不連続点を越えていなかった。これは原水に含まれるアンモニアの影響により、クロラミンが共存する環境であったことに起因すると考えられた。アンモニア態窒素等を含む温泉のレジオネラ属菌を遊離塩素により消毒するには、常時、不連続点を越えた消

毒を要することが示唆された。

E. 結論

アンモニア態窒素を含む温泉等における FCM 法清浄化ステージは、遊離塩素消毒の不連続点を越えたところにあった。遊離塩素を用いた温泉等の消毒においてレジオネラリスクを低減するには、不連続点塩素管理が要求されることが示唆された。

F. 参考文献

1) Taguri, T., Oda, Y., Sugiyama, K., Nishikawa, T., Endo, T., Izumiyama, S., Yamazaki, M., and Kura, F., 2011. A rapid detection method using flow cytometry to monitor the risk of Legionella in bath water. *Journal of Microbiological Methods*, 86, 25–32.

G. 健康危険情報 なし

H. 研究発表

1) Taguri, T., Oda, Y., Sugiyama, K., Nishikawa, T., Endo, T., Izumiyama, S., Yamazaki, M., and Kura, F., 2011. A rapid detection method using flow cytometry to monitor the risk of Legionella in bath water. *Journal of Microbiological Methods*, 86, 25–32.

I. 知的所有権の取得状況 なし

Table 1. 供試した温泉等

	塩化物泉	炭酸水素塩泉	単純アルカリ泉	井水	水道水	試験方法
pH (20°C)	6.8	8.0	8.2	7.4	7.7	上水試験方法 VI-1 9.2
全有機炭素(TOC) (mg/L)	0.5	0.7	2.1	0.5	0.6	上水試験方法 VI-1 22.2
NH ₄ -N (mg/L)	10.0	4.1	0.2	0.2	< 0.1	上水試験方法 VI-2 10.4
Fe ²⁺ (mg/L)	5.0	< 0.2	< 0.2	< 0.2	< 0.2	パックテスト
Mn ²⁺ (mg/L)	0.5	< 0.2	< 0.2	< 0.2	< 0.2	パックテスト
遊離塩素 (mg/L)	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	0.14	DPD比色法
全塩素 (mg/L)	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	0.2	DPD比色法

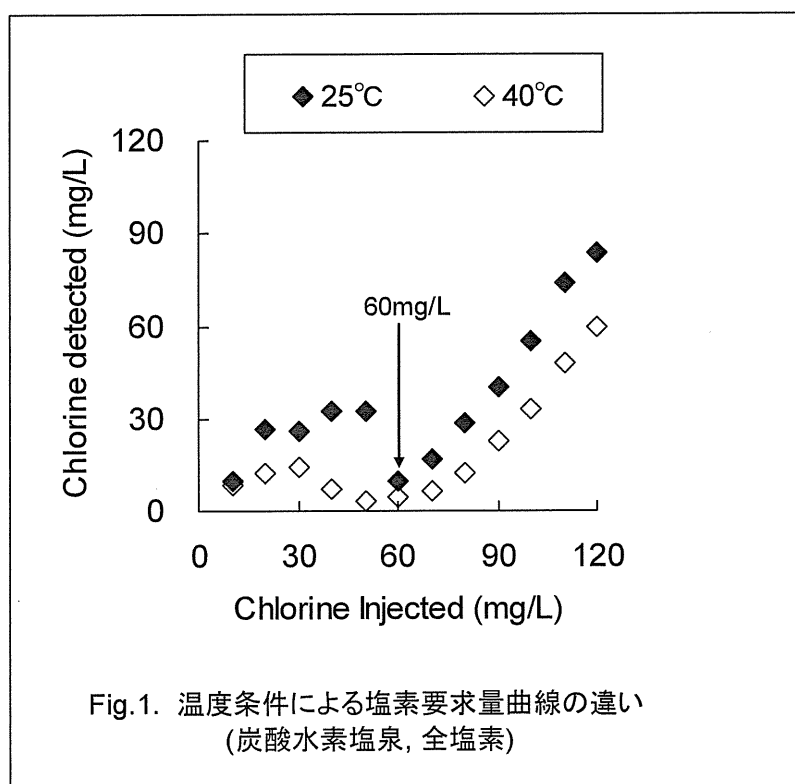


Fig.1. 温度条件による塩素要求量曲線の違い
(炭酸水素塩泉, 全塩素)