

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）
レジオネラ検査の標準化及び消毒等に係る公衆浴場等における衛生管理手法に関する研究
研究代表者：倉 文明 国立感染症研究所 細菌第一部

平成 25 年度 分担研究報告書

種々の温泉水におけるモノクロラミン消毒効果と高濃度洗浄の検証

研究分担者	縣 邦雄	アクアス株式会社 つくば総合研究所
	神野透人	国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部
	八木田健司	国立感染症研究所 寄生動物部
研究協力者	杉山寛治	株式会社マルマ 研究開発部
	小坂浩司	国立保健医療科学院 水道工学部
	泉山信司	国立感染症研究所 寄生動物部
	長岡宏美	静岡県環境衛生科学研究所
	片山富士男	静岡市保健所
	和田裕久	静岡市環境保健研究所
	富田敦子	静岡市環境保健研究所
	市村祐二	ケイ・アイ化成株式会社
	江口大介	ケイ・アイ化成株式会社

（研究要旨）

遊離塩素消毒の代替消毒法としてのモノクロラミン消毒の必要性、適用性を知るために、種々の成分を含む温泉源泉水におけるモノクロラミンと遊離塩素の濃度安定性を調べた。安定性は、遊離塩素の濃度が著しく減少するが、モノクロラミンでは濃度が安定、遊離塩素よりは失活が少ないものの、モノクロラミンでも濃度減少、遊離塩素、モノクロラミンのどちらも大幅な濃度減少、に大別できた。本研究で示したとおり、モノクロラミン消毒の持続性を少量の試料を用いて試験することで、本消毒法の現場への適合性の事前試験と、採用判断が適切かつ簡便に進むと考えられた。

モノクロラミン添加試験を行い、濃度安定性源泉水の施設、モノクロラミン濃度の減少がみられた源泉水の施設、および中性域（pH 7.3）の井水の沸かし湯を使用する施設の、計 3 ヶ所を選出した。これら施設において、浴槽水のモノクロラミン濃度（3 mg/L）を維持する 4 週間以上の実証試験を行なった。その結果、いずれの浴槽水中からもレジオネラやアメーバの検出はなく、塩素消毒臭の原因であるトリクロラミン、有毒物質である塩化シアンは生成されず、消毒副生成物の生成も少なかった。本研究の結果、新たに、モノクロラミン濃度の減少が見られる泉質、中性域の井水の沸かし湯への、モノクロラミンの高い消毒効果と安全性が確認された。

浴槽水の配管洗浄方法として、高濃度モノクロラミン（20 mg/L 程度）による循環殺菌が効果的であることが、ろ過器逆洗水やヘヤーキャッチャ接続配管内面拭き取りの検査から示された。これまでの結果から、循環式浴槽水へモノクロラミン消毒法を導入するのに必要な衛生管理手法は確立されたと考えられる。今後、遊離塩素消毒が困難な現場施設へのモノクロラミン消毒法の早急な導入・普及が望まれる。

A．研究目的

各都道府県や政令市の循環式浴槽水の衛生管理に関する条例には、浴槽水の遊離塩素濃度を適切に管理すること（0.2 または 0.4 mg/L 以上に保ち、かつ最大 1.0 mg/L を超えない）が定められている。しかし、遊離塩素消毒に使われる次亜塩素酸ナトリウムは殺菌力に優れているが、アルカリ泉質による殺菌効果の低下や、アンモニア態窒素を含む泉質による遊離塩素の消費、濃度維持の困難、消毒不十分といった問題が生じている。また、遊離塩素消毒による塩素臭や有害なトリハロメタン等の消毒副生成物の生成も問題となっている。

遊離塩素消毒の各種問題点を補う新たな消毒方法として、厚生労働省の研究班では水道法施行規則第 17 条に記載されている結合塩素に着目し、結合塩素の一種であるモノクロラミンの浴槽水に対する消毒効果を検証してきた。平成 23 年度は実験用循環式モデル浴槽^{1,2)}で、平成 23、24 年度は温泉水の循環式浴槽を使用している営業施設^{3,4)}において、モノクロラミンの生成装置と全塩素濃度測定器による自動制御装置を導入し、モノクロラミン消毒の有用性を実証してきた。モノクロラミン消毒は、遊離塩素消毒に比べ、濃度が安定して維持され、消毒効果が持続すること、消毒副生成物の生成が少ないこと、配管等に付着するバイオフィルムの殺菌と形成抑制ができること、不快な塩素臭が低減できることなどを明らかにした。

本年度は、従来より広範囲な泉質の消毒を目指し、モノクロラミン消毒の適用の可否を事前に知る方法として、少量の源泉水を用いた試験室におけるモノクロラミンと遊離塩素の濃度安定性試験を検討した。

また、条例で週 1 回以上の実施が求められている循環式浴槽のろ過器・配管洗浄方法として、高濃度遊離塩素に替わり、高濃度モノクロラミン洗浄が使用可能か営業施設において検証した。

B．研究方法

1 種々の温泉水におけるモノクロラミン消毒効果の検証

(1) 各種源泉水におけるモノクロラミンの濃度安定性試験

計 8 ヶ所の温泉源泉水（浜松市内 1 検体、静岡市内 5 検体、静岡県内 1 検体、横浜市内 1 検体（いわゆる黒湯）**表 1**）と、入浴剤（硫黄の湯）を使った浴槽水 1 検体について、各 100 mL をポリエチレン容器に入れ、モノクロラミンまたは次亜塩素酸ナトリウムを 3 mg/L となるよう添加し、40 のウォーターバスに浸漬して保温し、一定時間ごとに、全残留塩素濃度（一部、モノクロラミン濃度）と遊離塩素濃度を測定した。

モノクロラミン溶液は、適当量の純水に 12% 次亜塩素酸ナトリウム 8.4 mL を加え、そこに純水に溶解した 1.88 g の塩化アンモニウム液を添加し、その後 1 L にメスアップして、およそ 1,000 mg/L の溶液を調製した。次亜塩素酸ナトリウム溶液は 12% 次亜塩素酸ナトリウム 8.4 mL を 1 L に希釈して、およそ 1,000 mg/L、pH 11.5 の溶液を調製した。調製した各塩素剤の溶液は、温泉水 100 mL あたり 0.3 mL 添加することで目的の濃度（3 mg/L）を得た。

全残留塩素濃度は、適宜 3 倍ないし 5 倍に希釈してから、DPD 試薬による比色法で測定した。モノクロラミン濃度はインドフェノール法（HACH 社ポケット水質計）で、遊離塩素濃度は DPD 法（共立理化学のパックテスト）で測定した。

(2) 営業施設における検証試験

上記試験でモノクロラミン濃度安定性が高かった温泉（ナトリウム・カルシウム塩化物泉、H 温泉使用施設）と、モノクロラミン濃度の減少がみられた温泉（ナトリウム・カルシウム塩化物泉、Y 温泉使用施設）および井水施設（pH 7.3 の井水の沸かし湯使用）の計 3 ヶ所において、浴槽水のモノクロラミン濃度を 3 mg/L に維持する 4 週間以上の検証試験を実施した。

モノクロラミンは、水道水に次亜塩素酸ナトリウムと塩化アンモニウムのモル比が 1 : 2.5 にな

るように混合することで生成¹⁻⁵⁾し、直ちに浴槽水に添加した。

モノクロラミンの注入方式は、H温泉、Y温泉の使用施設では全塩素濃度測定器による自動制御装置を用いた³⁻⁵⁾。井水施設では、指定時間毎に一定量のモノクロラミンを注入するタイマー注入装置を使用した。

浴槽水は、遊離塩素管理時(試験前または対照浴槽)で1回、試験中は週1回の全換水とろ過器・循環系の洗浄消毒日の前日(入浴による有機物負荷が最大と推定される日)に4回または6回採水し、各種検査に供した。

対象3施設の詳細は以下のとおり。

1) H温泉使用施設

静岡県浜松市内のホテルの入浴施設で、実験浴槽は循環式浴槽の露天風呂(総容量28トン、ろ過あり)、成分分析表による泉質はナトリウム・カルシウム塩化物温泉(低張性/弱アルカリ/低温泉)でpH8.2、アンモニウムイオン濃度は0.4mg/Lであった(表1)。

2) Y温泉使用施設

静岡県静岡市内の公衆浴場で、実験浴槽は循環式浴槽の内風呂(総容量18トン、ろ過あり)、泉質はナトリウム・カルシウム塩化物温泉(高張性/中性/低温泉)でpH7.36、アンモニウムイオン濃度は2.9mg/Lであった(表1)。

3) 井水沸かし湯使用施設

静岡県浜松市内のホテルの入浴施設で、実験浴槽は循環式浴槽の内風呂(総容量20トン、ろ過あり)、浴槽水は井水pH7.3の沸かし湯であった。

2 モノクロラミンによる配管洗浄・消毒効果の検証

(1) 高濃度モノクロラミン(20mg/L)によるろ過器および配管の洗浄・消毒効果

循環式の静岡市内2営業施設(S温泉、Y温泉使用施設)と浜松市内1営業施設(井水沸かし湯使用施設)の計3施設において、約20mg/Lの高濃度モノクロラミンによる配管洗浄を実施した。なお、S温泉使用施設は、循環式浴槽の露天風呂(総容量約20トン、ろ過あり)をもつ公衆浴場

で、泉質はナトリウム炭酸水素塩温泉(低張性/アルカリ性/低温泉)でpH9.0であった(表1)。

20mg/Lの高濃度モノクロラミンはバケツ内の水道水100Lに、浴槽水の水量10トンに対し12%次亜塩素酸ナトリウム1.67L、20%塩化アンモニウム1.88kgを順次添加し、2,000mg/Lのモノクロラミン溶液を調製後、直ちに浴槽水へ投入し、一晚または1時間配管系内を循環した。

高濃度モノクロラミンの排水時に必要な中和作業の薬剤として、亜硫酸ナトリウムの使用を検討した。亜硫酸ナトリウムは浴槽水の水量10トンに対し370g(モル比1.05で計算)を使用した。

高濃度モノクロラミン洗浄実施前後に、ろ過器の逆洗浄水とヘヤーキャッチャ接続配管内面の拭き取り(綿棒で配管内部表面を円を描くように10周拭き取る)材料を採取し、それらの一綿棒当たりの従属栄養細菌数、レジオネラ属菌数を測定した。

(2) 通常の浴槽水のモノクロラミン消毒濃度(3mg/L)による配管内面のバイオフィーム除去効果

H温泉のモノクロラミン管理時(濃度約3mg/L)と遊離塩素管理時(濃度約1mg/L)のヘヤーキャッチャ接続配管内面を手と綿棒で拭き取り、目視観察した。

また、井水施設のモノクロラミン管理時(濃度約3mg/L)と遊離塩素管理時(濃度約0.5mg/L)のヘヤーキャッチャ接続配管内面を、ほぼ1週間ごと計4~5回(4週間~5週間連続)、綿棒で拭き取り、それらの一綿棒当たりの従属栄養細菌数とレジオネラ属菌数の測定と、洗い出し液の目視による色・濁度を観察し、両消毒方法による配管内面のバイオフィーム除去効果を比較した。

3 検査項目

(1) 微生物検査

レジオネラ属菌の定量は、浴槽水500mLをメンブランフィルター法により100倍に濃縮し、GVPC寒天培地を用いて分離培養し、100mLあたりのCFU(Colony Forming Unit)を算出した。また、レジオネラ属菌の生菌の存在を調べるため、液体

培養(Liquid Culture) EMA-qPCR 法⁶⁾:(LC EMA-qPCR と略)(TaKaRa)により、レジオネラ属菌特異的遺伝子の定量を行い、得られたコピー数をCFU/100mLに換算した。なお、カットオフ値は換算値の5 CFU/100ml(培養法の10 CFU/100mlに相当)とした。

さらに、レジオネラ属菌の増殖の場となる自由生活性アメーバ(大腸菌塗布無栄養寒天培地)およびアメーバ増殖の前兆となる従属栄養細菌(R2A 寒天培地(ニッスイ))や一般細菌数(標準寒天培地(栄研化学))についても常法により定量した。

(2) 塩素濃度の測定

採水現場における浴槽水のモノクロラミン濃度、全残留塩素濃度、遊離残留塩素濃度の測定は、簡易測定器であるポケット水質計(HACH社、オーヤラックス社)を用いた。測定試料は、測定器の測定可能範囲内にするため浴槽水を純水または市販の天然水(軟水)で5倍に希釈調製した。

モノクロラミンの定量およびモノクロラミン生成に伴って生成される恐れのあるジクロラミンの定量は、米国 Standard Methods(第21版, 2005)のDPDを用いた硫酸第一鉄アンモニウム(FAS)による滴定法(DPD/FAS 滴定法)に準じて行った。悪臭の原因となるトリクロラミンの濃度測定については、高感度に定量できるHS-GC/MS法(定量下限値は15µg/L)により定量した。これらの塩素濃度の測定については、国立保健医療科学院で実施した。試料は冷蔵の宅配便で輸送し、すみやかに試験した。

(3) 消毒副生成物の定量

入浴者が経気道および経皮的に取り込む化学物質暴露を評価するため、浴槽水中と浴槽室内空気中の消毒副生成物(トリクロロメタン、プロモジクロロメタン、ジプロモクロロメタン、トリプロモメタンのトリハロメタン類4物質およびジクロロアセトニトリル、プロモクロロアセトニトリル、ジプロモアセトニトリルのハロアセトニトリル類3物質)の定量を行った。これらの測定は、国立医薬品食品衛生研究所で実施した。気相のサンプリングは現場で行い、濃縮物を冷蔵で輸送し、

すみやかに試験した。

(4) 塩化シアン濃度の定量

アンモニアなどの有機物とクロラミンとの反応で生成されやすいと言われる、有害物質の塩化シアンを、上水試験方法(2011)の4-ピリジンカルボン酸吸光光度法に準拠して行なった。ただし、試料にリン酸緩衝液(pH7.2)を添加すると白濁を生じ測定不能になるため、試料の水素イオン濃度が中性域にあることを確認の上、緩衝液を添加せずに試験操作を行なった。浴槽水検体は、Y温泉のモノクロラミン消毒(濃度3mg/L)管理時に週1回、計4回に採取した。

C. 結果

1 種々の温泉水におけるモノクロラミン消毒効果の検証

(1-1) 各種源泉水におけるモノクロラミンの濃度安定性試験

U温泉、S温泉、K温泉はpH8.5以上のアルカリ性で、H温泉、Y温泉、N温泉とB温泉はアンモニウムイオンを含み、D温泉はヨウ素イオン、U温泉、K温泉は硫化水素を多く含む泉質である(表1)。これら8種の源泉水と、入浴剤(硫黄の湯)を使った浴槽水、および井水と市水の計11種に対して、次亜塩素酸ナトリウムまたはモノクロラミン添加を行った。塩素濃度の経時変化を図1-1、図1-2、図2-1、図2-2、図3、図4、図5に示した。

H温泉の源泉水では、次亜塩素酸ナトリウム約3mg/L添加時に急激な全残留塩素濃度の減少がみられたが(図1-1)、モノクロラミン約3mg/L添加時の全塩素濃度は安定して維持された(図1-2)。なお、結果には示さないが、次亜塩素酸ナトリウム添加時の全残留塩素濃度と遊離塩素濃度は一致していた。

温泉成分が類似したN温泉とY温泉は、全残留塩素濃度の大幅な濃度減少(図2-1)、モノクロラミンの一定速度での減少がみられた(図2-2)。

U温泉、D温泉、B温泉は、次亜塩素酸ナトリウムでもモノクロラミンでも、濃度が急減した

(**図 2-1**、**図 2-2**、**図 3**、**図 4**)。

K温泉とS温泉は、いずれの添加時も濃度の減少はほとんどなかった(**図 2-1**、**図 2-2**)。

井水施設の井水(pH 7.3)は、次亜塩素酸ナトリウムでもモノクロラミンでも、濃度の減少はほとんどなかった(**図 1-1**、**図 1-2**)。

(1-2) 営業施設における検証試験

(1-2-1) H温泉

前述の濃度安定性試験で、次亜塩素酸ナトリウムの急激な濃度減少があり、モノクロラミン添加時の濃度減少がほとんどないH温泉の露天風呂におけるモノクロラミン消毒検証試験の結果を**表 2**に示した。モノクロラミン消毒中の浴槽水からレジオネラやアメーバの検出はなく、塩素臭の原因であるトリクロラミンも検出されず、消毒副生成物の生成も少なかった。

遊離塩素管理時の対照浴槽の消毒副生成物濃度は 194.56 $\mu\text{g/L}$ とモノクロラミン管理時の 60 倍以上高い数値であった。本浴槽の遊離塩素管理時(0.4 mg/L 程度を維持)の 12%次亜塩素酸ナトリウムの使用量は約 150 kg/月であるが、モノクロラミン管理時(3 mg/L 程度を維持)の 12%次亜塩素酸ナトリウムの使用量は約 50 kg/月と3分の1程度で済んでいた。

(1-2-2) Y温泉

次亜塩素酸ナトリウムの大幅な濃度減少、モノクロラミン濃度にも減少がみられたY温泉施設の内湯におけるモノクロラミン消毒の検証試験の結果を**表 3**に示した。浴槽水のモノクロラミン濃度は、自動注入により 2.7~3.5 mg/L の範囲で、安定して維持されていた。浴槽水からはレジオネラ属菌やアメーバ、レジオネラ属菌の生菌由来遺伝子は検出されず、ジクロラミン濃度も最大 0.2mg/L と低かった。塩素臭の原因とされるトリクロラミンは検出されなかった。浴槽水中の消毒副生成物濃度(トリハロメタン類 4 物質およびハロアセトニトリル類 3 物質の合計)は、試験前(次亜塩素酸ナトリウムのみを添加して管理)が 89 $\mu\text{g/L}$ に対し、試験中は 1.8~4.5 $\mu\text{g/L}$ と低く安定していた。浴槽室内の空気中の消毒副生成物濃

度は試験前(次亜塩素酸ナトリウム管理)が 140 $\mu\text{g/m}^3$ に対し、モノクロラミン管理時は 2.6 $\mu\text{g/m}^3$ と非常に少なかった。塩化シアン濃度の測定は、Y温泉で 4 回実施したが、どの検体からも検出されなかった(0.001 mg/L 未満)。採取した浴槽水の pH は 7.2、7.2、7.5、7.6 であった。

(1-2-3) 井水施設

中性域の井水施設の内湯におけるモノクロラミン消毒の検証試験の結果を**表 4**に示した。浴槽水のモノクロラミン濃度はタイマー注入により 3.6~4.8 mg/L の範囲で維持されていた。浴槽水からレジオネラやアメーバ、レジオネラ属菌の生菌由来遺伝子は検出されず、ジクロラミン濃度も最大 0.1mg/L と低かった。塩素臭の原因とされるトリクロラミンは検出されなかった。消毒副生成物濃度は、対照浴槽(次亜塩素酸ナトリウムのみを添加して管理)が 25 $\mu\text{g/L}$ に対し、実験浴槽は 0.74~2.4 $\mu\text{g/L}$ と低く安定していた。浴槽室内の空気中の消毒副生成物は、対照浴槽(次亜塩素酸ナトリウム管理)が 30 $\mu\text{g/m}^3$ に対し、モノクロラミン管理浴槽は 3.2 $\mu\text{g/m}^3$ と少なかった。

(1-2-4) モノクロラミン注入方式と濃度維持

モノクロラミンの注入方式として、H温泉、Y温泉使用施設では全塩素濃度測定器による自動制御装置を用いたが、ポケット残留塩素計による定期的な校正を実施することで、モノクロラミン濃度を適正に保持することができた。また、井水施設では、新湯の追加量に応じ一定量のモノクロラミンを注入するタイマー注入方式でほぼ一定濃度を維持することが可能であった。

2 モノクロラミンによる配管洗浄・消毒効果の検証

(2-1) 高濃度モノクロラミンによるろ過器および配管の洗浄・消毒効果

高濃度モノクロラミンによる配管の洗浄・消毒前後におけるろ過器の逆洗浄水の微生物検査結果を**表 5**(S温泉使用施設、全残留塩素濃度 21mg/L、一晚循環)と**表 6**(Y温泉使用施設、全残留塩素濃度 24~22mg/L、1時間循環)に示した。いずれも洗浄後に一般細菌数や従属栄養細菌数

の大幅な減少が確認され、その洗浄・殺菌効果が認められた。

高濃度モノクロラミンによる配管洗浄前後のヘヤーキャッチャ接続配管内面の拭き取り綿棒の生理食塩水洗い出し液の微生物検査結果と洗い出し液の写真を、**図6**（左：Y温泉施設、全残留塩素濃度24~22mg/L、1時間循環。右：井水施設、モノクロラミン濃度17mg/L、1時間循環）に示した。いずれも洗浄後に従属栄養細菌数が大幅に減少した。また、井水の沸かし湯による試験時では、拭き取り綿棒の洗い出し液で目視による濁りの違いも観察できた。

以上のS、Y、井水の3施設のいずれにおいても、亜硫酸ナトリウムによる高濃度モノクロラミン洗浄水の中和作業は、悪臭等の発生もなく、安全に、適切に中和されたことを確認した。

(2-2) 通常の浴槽水のモノクロラミン消毒濃度(3mg/L)による配管内のバイオフィルム除去効果

(2-2-1) H温泉

H温泉を使用する循環式浴槽水のモノクロラミン消毒時と遊離塩素消毒時(濃度約1mg/L)のヘヤーキャッチャ接続配管内面を拭き取った、手と綿棒の様子(写真)を比較して**図7**に示した。モノクロラミン消毒時の配管内面にはぬめりもなく、遊離塩素消毒時に比べ、肉眼的な汚れが非常に少なかった。

(2-2-2) 井水施設

井水施設のヘヤーキャッチャ接続配管内面を拭き取った検体の、従属栄養細菌数、レジオネラ属菌数の変化と綿棒洗い出し液の写真を**図8左**に示した。同施設の対照浴槽の遊離塩素消毒(濃度約1mg/L)における拭き取り検体の、従属栄養細菌数、レジオネラ属菌数の変化と綿棒洗い出し液の写真を**図8右**に示した。

遊離塩素管理(FC)からモノクロラミン管理(MC)に切り替えた後の配管内面の従属栄養細菌数(青バー)は、大幅に減少(10^{-3} 程度)し、レジオネラ属菌(赤バー)も検出されなくなった(**図8左**)。綿棒洗い出し液の濁りも減り、モノクロ

ラミン管理時は濁りが少ない状態が継続した。

一方、遊離塩素管理を継続した対照浴槽では、従属栄養細菌数と濁りに、モノクロラミンほどの変化はなかった(**図8右**)。

以上、H温泉、井水の2施設の結果、浴槽水のモノクロラミン消毒は遊離塩素消毒よりも配管内面のバイオフィルム除去・殺菌効果が高いことが示された。

D. 考察

1 種々の温泉水におけるモノクロラミン消毒効果の検証

(1-1) 各種源泉水におけるモノクロラミンの濃度安定性試験

温泉水におけるモノクロラミンの安定性を事前に知ることができれば、本消毒方法の採用判断の上で有用な情報となる。研究班で実施した実験用循環式モデル浴槽^{1,2)}や営業施設^{4,5)}におけるモノクロラミン消毒実証試験で得られたデータから、モノクロラミンは遊離塩素よりも有機物等との反応性が低く、40と高温の浴槽水中でもその濃度が安定して維持されることが明らかであった。一方、どのような泉質に応用が可能かは不明であった。

8ヶ所の温泉の源泉水(**表1**)と、硫黄を含む入浴剤の浴槽水、および中性域(pH 7.3)の井水へのモノクロラミン添加時と遊離塩素添加時の経時的な濃度変化は、モノクロラミン安定、遊離塩素急減、モノクロラミン減少、遊離塩素急減、遊離塩素、モノクロラミンいずれも急減の3タイプに大別された。このことから、はモノクロラミンの利用が容易で、はモノクロラミンの濃度維持が可能であれば消毒効果が期待でき、は塩素消毒の適用の対象外と考えられた。

本年度の研究班報告書(別報)⁷⁾では、温泉成分とモノクロラミン濃度の安定性の関係を検討している。例えばアンモニア態窒素(アンモニウムイオン)は、遊離塩素を著しく低下させる(結合塩素になる)が、モノクロラミンとのそれ以上の反応性はなく、モノクロラミン濃度は安定であった。硫黄はモノクロラミン、遊離塩素濃度をと

もに著しく低下させた。温泉源泉水にはこのような成分が単独、あるいは混合して含まれていて、遊離塩素やモノクロラミンの適用に際して問題が生じる可能性が考えられた。

実際に、アンモニウムイオンを単独で含むH温泉の源泉水では、モノクロラミン濃度は安定して維持されたが、遊離塩素濃度は急減した(図1-1, 図1-2)。ヨウ化物イオンを含むY温泉、N温泉の源泉水では、モノクロラミン濃度の一定の減少が観察された。硫黄成分を含むU温泉、K温泉の源泉水ではモノクロラミン濃度の著しく減少がみられた(図2-1, 図2-2)。モノクロラミンはアルカリ域で安定して生成され、中性域ではやや安定性が欠けるとされているが、pH7.3の井水中で、モノクロラミン濃度は維持されることを確認した(表4)。

このように温泉源泉水へのモノクロラミン添加試験でその濃度安定性を知ることができ、モノクロラミンの残留性と消毒の効果を事前に予測可能と考えられる。こうした事前の検討が行われ、本消毒方法の現場への導入が進むと期待された。

(1-2) 営業施設における検証試験

モノクロラミン安定・遊離塩素急減のH温泉、モノクロラミン減少・遊離塩素急減のY温泉、および中性域(pH 7.3)の井水施設の計3ヶ所で実施したモノクロラミン消毒の実証試験で、いずれの浴槽水からもレジオネラやアメーバの検出はなかった。塩素臭の原因であるトリクロラミンは生成されなかった。浴槽水と室内環境空気の消毒副生成物濃度は、対照の遊離塩素消毒より大幅に少なかった(表2、表3、表4)。また、有機物とクロラミンとの反応で生成される可能性があり、水道法で水質基準が示されている塩化シアンは検出されなかった。

源泉にアンモニウムイオンが0.4 mg/L含まれるH温泉では、本試験が行われる前は、浴槽水に大量の次亜塩素酸ナトリウムが注入され、アンモニウムイオンをすべて消失させた後に、遊離塩素濃度を出さず不連続点処理が行われていた。多量の消毒副生成物の検出はその結果であろう。一方、

モノクロラミン消毒の実証試験時には、そのようなことはなく、より少量の次亜塩素酸ナトリウムの注入で、安定した消毒が実現されたと考えられた(表2)。

Y温泉を使用する施設では源泉にアンモニウムイオンが2.9 mg/Lと多量に含まれており、次亜塩素酸ナトリウムを投入しても不連続点処理に達せず、結合塩素が生成され、遊離残留塩素は発生していなかった。しかし、現場においてDPD法により浴槽水の遊離残留塩素濃度を測定すると、見掛け上は0.2 mg/L程度が検出され、遊離塩素濃度が規定量確保され衛生上問題ないと誤解されていた。この試料水を精査すると、浴槽水には遊離塩素は含まれず、結合塩素(モノクロラミン)が検出されていた(表3)。

井水施設では、遊離塩素管理の対照浴槽の浴槽水と室内空気中に、消毒副生成物7種類の合計がそれぞれ25 µg/L、30 µg/m³生成されていた。また、塩素臭の原因となるトリクロラミンも検出されており、モノクロラミン消毒時のそれぞれの数値を大きく上回っていた(表4)。遊離塩素消毒が困難な温泉泉質だけでなく、遊離塩素消毒が可能であった井水沸かし湯においても、モノクロラミン消毒が適していると判断された。

モノクロラミンの注入・生成の方式は、試験室と異なり、実際の現場にとっては重要な課題である。今回の試験では、ポケット残留塩素計による定期的な校正を伴った全塩素濃度測定器による自動制御方式と、新湯の追加量に応じ一定濃度のモノクロラミンを注入する時間指定のタイマー注入方式を実施したが、どちらの方式でも濃度の大きな逸脱はなくほぼ一定濃度を維持できた。

モノクロラミン消毒の利用状況については以下のようなものである。すなわち、すでに欧米の水道や給湯系^{8,9)}で実施され、配管等に付着するバイオフィルムの殺菌と形成抑制が可能で、レジオネラ症発生の予防効果が高いと報告されている。日本でも、モノクロラミン消毒が有効と判断される温泉浴槽水等にモノクロラミン消毒を採用することで、年に1,000件の患者届出がされているレジオネラ症の発生防止に効果があると期待される。

厚生労働省の通知によると、現時点でモノクロラミン消毒の採用は問題無いと解釈されているが、普及には具体的なモノクロラミンの語句を入れることや、各地方自治体の条例にモノクロラミン消毒が採用されることが効果的かもしれない。浴槽水のレジオネラ対策に苦慮する施設、指導する行政、利用者にとっての安全性向上と、いずれの立場にとっても有用な消毒方法になると期待している。

2 モノクロラミンによる配管洗浄・消毒効果の検証

(2-1) 高濃度モノクロラミンによるろ過器および配管の洗浄・消毒効果

ろ過器および配管の消毒法として「循環式浴槽におけるレジオネラ症防止対策マニュアル(平成13年9月11日)」で規定する10~50 mg/Lの高濃度遊離塩素消毒を実施するためには大量の次亜塩素酸ナトリウムを投入する必要がある。ところが、浴槽水のモノクロラミン管理下の浴槽水中には多量のアンモニアが含まれ、高濃度遊離塩素消毒により、多量のトリクロラミンが発生する危険がある。仮にモノクロラミン管理と高濃度遊離塩素消毒を両立させるには、浴槽水を排水してから水道水または井水を張り、これに次亜塩素酸ナトリウムを投入して10~50 mg/Lの遊離残留塩素濃度を確保して行う方法が考えられる。

一方、高濃度遊離塩素消毒の代わりに高濃度モノクロラミンによるろ過器および配管の洗浄消毒効果が確認・導入されれば、作業量、作業時間、費用等々の改善も含め、トリクロラミン発生は回避される。本法の実用化に向けその有効性を3ヶ所の営業施設において検証した結果、浴槽水のモノクロラミン消毒時の配管洗浄方法として、20 mg/L程度の高濃度モノクロラミンによる循環殺菌が効果的であることが、ろ過器逆洗水とヘヤーキャッチャ接続配管内面の拭き取り検査から確認された。すなわち、モノクロラミン消毒施設には、高濃度遊離塩素消毒の代替として、高濃度モノクロラミンによる洗浄を提案したい。

モノクロラミンは魚類に毒性があるため、その

排水時には中和が必要となるが、高濃度モノクロラミン洗浄水の中和用薬剤として亜硫酸ナトリウムが適していることが確認された。下水に接続している施設は問題ないが、河川に放流するような施設では特に注意すべきである。

(2-2) 通常の浴槽水のモノクロラミン消毒濃度(3mg/L)による配管内のバイオフィーム除去効果

H温泉の拭き取り結果(図7)は、モノクロラミン消毒が遊離塩素消毒よりも明らかにバイオフィームを制御できていることを示した。井水施設の拭き取り結果(図8)も、モノクロラミン管理時のバイオフィーム除去・付着防止効果が遊離塩素管理時より高いことを示した。

モノクロラミンは遊離塩素よりも複合培養で形成されたバイオフィーム中への浸透性が高く、バイオフィーム内の細菌を効果的に殺菌できることが実験的に確認されている¹⁰⁾。欧米では、配管系内を1.5~3mg/L程度のモノクロラミン濃度を保持することで、病院の循環給湯水のバイオフィームやレジオネラ属菌の増殖・定着を制御し、レジオネラの院内感染を予防できたとの報告もある^{8,9)}。

モノクロラミンは人体から出て浴槽水中に蓄積される有機物(垢や汗に含まれるアンモニアなど)と反応しにくく、結果的に水系のモノクロラミン濃度が安定して維持されると考えられる。問題の質が異なるが、夜間に循環殺菌を停止する施設においても、配管内のバイオフィームの増殖・定着といった問題の発生や進行を遅らせるなど、多少なりと緩和できるかもしれない。

E. 結論

種々の成分を含む温泉源泉水にモノクロラミンと遊離塩素を添加して、それぞれの濃度安定性を調べることで、温泉水のモノクロラミン消毒の効果を事前に予測した。温泉に対するモノクロラミン消毒の適用の可否が事前にわかることで、モノクロラミン消毒の現場採用への理解が進むと思われる。

モノクロラミン濃度が安定な泉質だけでなく、ある程度の濃度減少が見られる泉質においても、全塩素濃度測定器による自動制御や、時間指定のタイマー注入方式でその濃度を適正に維持できた。浴槽水の循環ろ過系内のレジオネラ属菌の増殖・定着が阻止でき、かつ消毒副生成物等の発生も極めて低く抑えられた。

ろ過器・配管の洗浄・殺菌方法として、約 20 mg/L の高濃度モノクロラミンによる洗浄・殺菌効果が高いことが確認された。さらに、通常の浴槽水のモノクロラミン消毒濃度 (3mg/L) による配管内のバイオフィルム除去効果が遊離塩素消毒 (0.5 または 1mg/L) よりも高いことが示された。

以上の結果から、循環式浴槽水へモノクロラミン消毒法を導入するのに必要な衛生管理手法は確立されたと考えられた。現場施設へのモノクロラミン消毒法の早急な導入・普及が望まれる。

F. 参考文献

- 1) 杉山寛治, 神田隆, 市村祐二, 江口大介, 泉山信司, 八木田健司, 小坂浩司, 遠藤卓郎: 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, モデル浴槽水におけるモノクロラミン生成・注入・測定の自動化の検証, 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 (研究代表者、倉 文明)
- 2) 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 (2) 109-115 (2010)
- 3) 縣邦雄, 田栗利紹, 杉山寛治, 神澤啓: 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, 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 (研究代表者、倉 文明)
- 4) 佐原啓二, 縣邦雄, 神野透人, 八木田健司, 杉山寛治, 小坂浩司, 泉山信司, 片山富士男, 富田敦子, 江口大介, 市村裕二, 道越勇樹, 八木美弥: 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循環式浴槽の消毒効果について 営業施設における検証, 平成 24 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 (研究代表者、倉 文明)
- 5) 佐原啓二, 杉山寛治, 神澤啓: 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 静岡県内の温泉入浴施設における注入・測定方法の自動化 平成 24 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 (研究代表者、倉 文明)
- 6) 烏谷竜哉, 荒井桂子, 磯部順子, 緒方喜久代, 八木田健司, 泉山信司, 矢崎知子, 金谷潤一, 吉崎美和: 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, 液体培養(Liquid Culture) EMA-qPCR 法を用いたレジオネラ生菌迅速検査法の検討, 平成 24 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 (研究代表者、倉 文明)
- 7) 縣邦雄, 青木信和, 市村裕二, 江口大介, 杉山寛治, 泉山信司, 小坂浩司, 片山富士男, 和田裕久, 富田敦子: レジオネラ検査の標準化及び消毒等に係る公衆浴場等における衛生管理手法に関する研究 アンモニウムイオン、ヨウ化物イオン等が塩素剤の安定性に与える影響, 平成 25 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 (研究代表者、倉 文明)
- 8) Casini B., Totaro M., Valentini P., Baggiani A., Privitera G.: Long-term effects of monochloramine disinfection for *Legionella* and other waterborne bacteria control in a hospital water

network. The 8th international conference on *Legionella*. Book of abstracts. p.82 (2013)

- 9) Duda S., Kandiah S., Stout J.E., Baron J.L., Yassin M., Fabrizio M., Ferrelli J., Hariri R., Goepfert J., Bond J., Hannigan J., Rogers D. : Monochloramine disinfection of a hospital water system for preventing hospital-acquired Legionnaires' disease. Lessons learned from a 1.5 year study. The 8th international conference on *Legionella*. Book of abstracts. p.79 (2013)
- 10) Lee W.H., Wahman D.G., Bishop P.L., Pressman J.G. : Free chlorine and monochloramine application to nitrifying biofilm: comparison of biofilm penetration, activity, and viability. *Environ. Sci. Technol.*, **45** (4) 1412-9 (2011)

G. 研究発表

論文発表

なし

学会発表

- 1) 佐原啓二、杉山寛治、縣邦雄、江口大介、市村祐二、神野透人、小坂浩司、泉山信司、八木田健司、片山富士男、富田敦子、道越勇樹、八木美弥、田中慶郎、遠藤卓郎、倉文明：モノクロラミンによる循環式浴槽の消毒効果について - 営業施設における検証試験 - , 日本防菌防黴学会第 40 回年次大会, 大阪

(2013)

- 2) Sahara K., Sugiyama K., Agata K., Eguchi D., Ichimura Y., Jinno H., Kosaka K., Izumiyama S., Yagita K., Katayama F., Tomita A., Michikoshi Y., Yagi M., Tanaka Y., Endo T., Kura F. : Sanitary control of circulating bath water by monochloramine disinfection, The 8th International Conference on *Legionella*, Melbourne, Australia (2013)

研修会

杉山寛治：モノクロラミン消毒法の活用，第 23 回レジオネラ対策シンポジウム，NPO 入浴施設衛生管理推進協議会主催，2013 年 6 月 12 日，東京

刊行物

- 1) 佐原啓二、神田隆、八木美弥、道越勇樹、杉山寛治、縣邦雄、江口大介、市村祐二、久保田明、富田敦子、片山富士男、神野透人、小坂浩司、泉山信司、八木田健司、倉文明：浴槽水のモノクロラミン消毒，病原微生物検出情報，Vol.34 No.6, 14-15 (2013)
- 2) 杉山寛治：浴槽水のモノクロラミン消毒による衛生管理，第 53 回温泉保護・管理研修会テキスト,13-1~13-4 (2013)

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）
なし