

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）
公衆浴場におけるレジオネラ症対策に資する検査・消毒方法等の衛生管理手法の開発のための研究
研究代表者：前川純子 国立感染症研究所 細菌第一部

令和2年度 分担研究報告書

弱酸性の人工炭酸泉へのモノクロラミン消毒の適用

研究分担者	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 微生物部
	田栗利紹	長崎県環境保健研究センター 保健科
研究協力者	杉山寛治	株式会社マルマ 研究開発部
	田中慶郎	株式会社マルマ 営業部
	市村祐二	ケイ・アイ化成株式会社 機能性薬品部
	茶山忠久	ケイ・アイ化成株式会社 機能性薬品部
	青木信和	ケイ・アイ化成株式会社 機能性薬品部

(研究要旨)

浴槽水の消毒に使われるモノクロラミンは、pHの酸性条件下で臭気のあるジクロラミンへ変化する可能性が心配されたことから、これまでのところアルカリ性や中性の泉質に適用され、酸性での適用事例がなかった。一方の遊離塩素消毒は、pH5程度の弱酸性、例えば人工炭酸泉に用いられており、同じ塩素系の消毒方法であるモノクロラミンは、同程度の弱酸性に適用できるかもしれない。現状、アルカリ性と酸性の浴槽が同一施設内にあるなどして、モノクロラミン消毒と遊離塩素消毒を併用する場合、両消毒方法の混入によりジクロラミンやトリクロラミンによる臭気の発生する恐れがあり、2つの消毒の併用は避けたい。そこで、弱酸性の浴槽水にもモノクロラミン消毒が適用できないか検討した。まず、pH3～8に調整した緩衝液中でモノクロラミン濃度3 mg/Lの安定性を比較したところ、pH3～4では濃度が減少したが、pH5～8では添加10分後も濃度が安定して維持されていた。次に、営業施設の人工炭酸泉、3施設の計4浴槽において、終濃度3 mg/L以上に維持したモノクロラミン消毒の効果を検証した。週1回の換水・配管洗浄前の細菌検査では、いずれの浴槽水からもレジオネラ属菌は検出されず、モノクロラミン消毒時に増殖の報告がある、従属栄養細菌数の増加もなかった。うち2浴槽ではフローサイトメトリーによる全菌数検査も行い、浴槽水が適正に消毒されているとの結果を得た。これまでの営業施設におけるモノクロラミン消毒の実施と同様に、入浴者からの臭気等に関する苦情もなかった。以上の結果から、これまで適用されていなかったpH5までの弱酸性にも、臭気を発生させることなくモノクロラミン消毒が利用可能であること、レジオネラ属菌だけでなく、従属栄養細菌数の増殖を抑制できることが示唆された。

A. 研究目的

浴槽水を連続的に使用し続ける循環ろ過で、レジオネラ属菌による集団感染が生じて循環式浴槽の問題が明らかとなると、緊急避難的に遊離塩素消毒が導入された。ところが高pHの温泉水等

では遊離塩素消毒の効果が減弱してレジオネラ属菌が検出されたり、塩素消毒の臭気が敬遠されたりした。遊離塩素消毒に代わるモノクロラミン消毒であれば、高pHであっても消毒効果が得られて、臭気もほとんどなく、レジオネラ属菌の不

検出が維持可能となった¹⁾。

モノクロラミンは、pH の酸性条件下で臭気のあるジクロラミンへ変化する可能性が心配されたことから、これまでのところアルカリ性や中性の泉質に適用され、酸性での適用事例がなかった^{2, 3)}。pH7.5~9.0 程度が最適とされ、pH 値 5 未満でモノクロラミンからジクロラミンへの変換が報告されている^{4, 9)}。

一方の遊離塩素消毒は pH5 程度の弱酸性、例えば人工炭酸泉に用いられており、同じ塩素系の消毒方法であるモノクロラミンは、同程度の弱酸性の範囲であれば適用できる可能性がある。

近年の浴場施設は、複数の浴槽を設置して、複数の泉質を用意することがある。例えば一方は弱アルカリ性の単純泉、もう一方は弱酸性の炭酸泉を用意し、それぞれの消毒方法としてモノクロラミン消毒と遊離塩素消毒を同一施設内で併用することがありえる。もし併用すると、混入によりジクロラミンやトリクロラミンによる臭気が発生する恐れがあり、そのような事態は避けたいところである。従来は酸性側へのモノクロラミン消毒を意図していなかったが、酸性でも適用できるのであれば、消毒方法の混在を避けて、消毒方法を統一できるかもしれない。そこで当該研究ではモノクロラミン消毒の酸性側への適用拡大を企図した。

酸性側の泉質の例として、人工炭酸泉に着目した。昨今の入浴施設では、人工的に炭酸泉を作り出す人工炭酸泉製造装置の導入が進んでおり、1つの施設内にアルカリ性の泉質との併存が十分にありえる。炭酸泉は炭酸ガス（二酸化炭素）が溶け込んだ泉質で、入浴することで体表から吸収された炭酸ガスが毛細血管を拡張させ血行を促進し、疲労回復を促すと報告される⁵⁾。人気が高く、pH は 5 程度の弱酸性になる。

B. 研究方法

1 試験管内における pH3~8 に調整した緩衝液中でのモノクロラミンの安定性の比較

次亜塩素酸ナトリウムと硫酸アンモニウム水溶液を水道水と混合し、2,500 mg/L のモノクロラ

ミン水溶液を調製した。次に、りん酸-クエン酸緩衝液にて pH を調整した pH3~8 の各 pH 液に、3 mg/L 相当になるように上記モノクロラミンを添加し、緩やかに攪拌した。室温下で、添加後 1 分、5 分および 10 分後に、DPD-硫酸アンモニウム鉄 (II) 滴定法⁶⁾ で滴定し、遊離塩素、モノクロラミン、ジクロラミン、トリクロラミンの塩素濃度を測定した。

2 人工炭酸泉の原水における添加モノクロラミンの濃度安定性試験

協力を得た営業 3 施設の井水について、モノクロラミン濃度の安定性を事前に確認した。100mL の井水にモノクロラミンを 3 mg/L の濃度になるよう添加し、ウォーターバスで 40°C に保温し、一定時間ごとに、モノクロラミン濃度を測定した。

3 弱酸性の人工炭酸泉におけるモノクロラミン消毒の効果検証

営業 3 施設の人工炭酸泉の 4 浴槽で、モノクロラミン濃度を 3 mg/L 以上に維持する消毒実証試験を行なった。人工炭酸泉の原水には、3 施設いずれも井水を循環利用していた。モノクロラミンの生成、注入装置と人工炭酸泉製造装置の設置の概略を図 1 に示した。各施設では、モノクロラミン濃度 10 mg/L、2 時間の循環により、週一回の配管消毒と換水を実施した。

消毒効果の確認用に、浴槽水を換水日前日の夜間に採取した。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 倍濃縮後、GVPC 寒天培地に分離培養し、100mL あたりの CFU (Colony Forming Unit) を算出した。また、従属栄養細菌数 (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。ただし、従属栄養細菌数については浴槽水に近い温度の 37°C で、20 日間培養した。大腸菌群についてはデゾキシコレート培地 (ニッスイ) で常法により定量した。一部の浴槽水は、フローサイトメトリー (FCM) により全菌数を測定した⁷⁾。

浴槽水の全塩素濃度の現場測定には、MD100

残留塩素計 (Lovibond 社) を用いて、DPD 法により測定した。なお、全塩素濃度の値はモノクロラミン濃度の値とほぼ一致することは前報⁸⁾で確認済みである。浴槽水の pH 測定には、コンパクト pH メータ LAQUAtwin<pH-22B> (堀場アドバンスドテクノ) を用いた。

C. 結果

1 試験管内における pH3~8 に調整した緩衝液中でのモノクロラミンの安定性の比較

pH5 から 8 の緩衝液に添加されたモノクロラミンは、いずれも所定の濃度が維持されていた (表 1)。一方、pH3 と 4 では、遊離塩素とジクロラミンに変化して、モノクロラミン濃度が低下した。

2 人工炭酸泉の原水における添加モノクロラミンの濃度安定性試験

2 施設の井水に添加されたモノクロラミンは、添加 6 時間後もほぼ安定して維持されていた (図 2)。なお、結果には示さないが、残りの 1 施設の井水においても、モノクロラミン濃度が安定して維持されていることを事前に確認している。

3 弱酸性の人工炭酸泉におけるモノクロラミン消毒の効果検証

人工炭酸泉を使用した 3 施設、4 浴槽において、モノクロラミンの消毒効果を確認した (表 2)。

A 施設の炭酸風呂浴槽水の pH 値は 5.6 と弱酸性であった。浴槽水の全塩素濃度は、試験期間を通じて 3mg/L 以上と安定して維持されており、レジオネラ属菌、一般細菌数、従属栄養細菌数、大腸菌群の検出はなかった。

B 施設の炭酸風呂浴槽水の pH 値は 5.1 と弱酸性で、全塩素濃度は 3 mg/L 以上に維持され、レジオネラ属菌、一般細菌数、従属栄養細菌数、大腸菌群の検出はなかった。

C 施設の炭酸風呂 2 浴槽の浴槽水の pH 値はそれぞれ 5.0 と 5.2 の弱酸性で、全塩素濃度は 3 mg/L 以上に維持され、レジオネラ属菌、一般細菌数、従属栄養細菌数、大腸菌群の検出はなかった。この 2 浴槽については、フローサイトメトリー

(FCM) により全菌数を測定し、いずれの浴槽水とも閾値 (1,000) 未満と、菌数は低かった。

D. 考察

モノクロラミンを適切に生成し、ジクロラミン等を発生させないためには、次亜塩素酸ナトリウムよりもアンモニアの比率を多くすることが最初に必要となる (図 1)。それに加えて pH も重要で、pH7.5~9.0 程度が最適とされ、酸性ではジクロラミンやトリクロラミンへ変化する可能性が指摘される^{4,9)}。臭気が発生しないことを利点の一つとしてモノクロラミン消毒を使用してきたことから、ジクロラミンやトリクロラミンと言った強い臭気が生じることを回避するために、これまでは酸性の浴槽水に対してモノクロラミン消毒を積極的に応用することがなかった。

ところが、近年の浴場施設では、複数の源泉を利用したり人工的な温泉を作出したりすることで複数の泉質を同時に取り扱い、酸性とアルカリ性の両方の pH が混在することがある。レジオネラ対策の一環としていずれの浴槽水にも常時の消毒を行うが、これまでの流れに従うと、酸性の浴槽水に従来の遊離塩素消毒、アルカリ性の浴槽水にモノクロラミン消毒を選択することになる。ここで 2 つの温泉が混入すると、アンモニアが入ることで遊離塩素消毒が打ち消されたり、遊離塩素が入ることでモノクロラミンがジクロラミンやトリクロラミンに変化する恐れがあった。いずれか一方の消毒方法だけを選択できれば、混入の問題は回避できる。もしアルカリ性の浴槽水を遊離塩素消毒に戻せば、元に戻ってレジオネラ汚染に悩むことになる。では酸性の浴槽水にモノクロラミン消毒を適用できないだろうか？

本研究の結果として、試験管内では pH5 と 6 の酸性条件であっても、モノクロラミン濃度が安定して維持されることを実験的に確認できた (表 1)。文献的には、モノクロラミンからジクロラミンへの変換が、pH 値 5 未満で生じるとの報告⁴⁾があり、我々の成績と一致した。すなわち、pH5 程度の弱酸性までであれば、モノクロラミン消毒の適用が可能と判断できた。

では実際の浴槽でも使用可能だろうか。本研究では、酸性の浴槽として、人工炭酸泉に着目した。これらを使用している施設では、すでにモノクロラミン消毒をアルカリ性の泉質に導入しており、消毒方法の統一による恩恵があり、協力を得られやすい背景があった。

3 施設の人工炭酸泉の原水はすべて井水であったことから、井水中にモノクロラミン濃度に影響する成分がないことを最初に確認した (図 2)。そして人工炭酸泉に適用し、塩素濃度に問題がなく、微生物が抑えられることを確認した。すなわち、3 施設、4 浴槽の人工炭酸泉の浴槽水のいずれからもレジオネラ属菌は検出されなかった。

モノクロラミン消毒の長期利用時に増加が問題となった従属栄養細菌数¹⁰⁾も、検出されなかった (表 2)。C 施設の 2 浴槽水のフローサイトメトリー (FCM) による全菌数は閾値未満 (表 2CD) であり、適正に消毒されているとの判定であった。遊離塩素消毒は低 pH で消毒効果が高いが、同様にモノクロラミン消毒の酸性条件はアルカリ性や中性よりより消毒効果が高いのかもしれない。これとは別に、人工炭酸泉に溶存している 1,000 mg/L を超える炭酸ガスがレジオネラ属菌の増殖を抑制¹¹⁾した可能性もあり、酸性条件と炭酸ガスの相乗効果も考えられた。

なお、すべての浴槽水で塩素臭等の苦情はなく、塩素濃度は適切に維持され、ジクロラミンやトリクロラミンの発生はなかったと考えられた。

E. 結論

弱酸性 (pH5 程度) の人工炭酸泉 (3 施設 4 浴槽) に、モノクロラミン消毒は適用可能で、従属栄養細菌数の上昇がなかった。

F. 参考文献

- 1) 森 康則, 永井佑樹, 赤地重宏, 杉山寛治, 田中慶郎, 茶山忠久, 西 智広, 濱口真帆, 吉村英基, 泉山信司: 次亜塩素酸ナトリウム消毒への阻害要因を有する高アルカリ温泉水に対するモノクロラミン消毒の検証, 温泉科学, **69**, 90-102 (2019)
- 2) 杉山寛治: モノクロラミン消毒による浴槽水の衛生対策, ビルと環境, 148 号, 34-41 (2015)
- 3) 杉山寛治, 長岡宏美, 佐原啓二, 神田 隆, 久保田 明, 縣 邦雄, 小坂浩司, 前川純子, 遠藤卓郎, 倉 文明, 八木田健司, 泉山信司:, モノクロラミン消毒による掛け流し式温泉のレジオネラ対策, 防菌防黴, **45**, 6, 295-300 (2017)
- 4) Feher P. P., Purgel M., Lengyel A., Stirling A. and Fabian I., The mechanism of monochloramine disproportionation under acidic conditions, Dalton Trans., **48**, 16713-16721, 2019
- 5) 西村直記: 高濃度人工炭酸泉浴による疲労回復効果, 日本福祉大学スポーツ科学論集, 第 1 巻, 5-10 (2018)
- 6) JIS 工業用水試験方法 JIS K 0101: 1998. 28.4 DPD-硫酸アンモニウム鉄 (II) 滴定法
- 7) 田栗利紹, 中西 典子, 倉 文明, 田中 忍, 平塚貴大, 井上 浩章, 縣 邦雄, 蔡 国喜, 増輪文治: 携帯型フローサイトメーターによる環境水中レジオネラリスクの現地評価技術の標準化, 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) 公衆浴場におけるレジオネラ症対策に資する検査・消毒方法等の衛生管理手法の開発のための研究, 令和元年度分担研究報告書 (研究代表者 前川 純子) p.37-68 (2020)
- 8) 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)
- 9) Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality, Monochloramine in Drinking-water, https://www.who.int/water_sanitation_health/water-quality/guidelines/chemicals/chloramine-background.pdf (2021.3.18 現在)
- 10) 長岡宏美, 泉山信司, 八木田健司, 杉山寛治, 小坂浩司, 壁谷美加, 土屋祐司, 市村祐二,

青木信和：社会福祉施設の入浴設備におけるモノクロラミン消毒実証試験と浴槽水から分離される従属栄養細菌について，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）「公衆浴場等施設の衛生管理におけるレジオネラ症対策に関する研究」平成 28 年度分担研究報告書研究代表者（前川 純子） p.13-22 (2017)

なし

- 11) 住谷敬太，小森正人，木村哲也，斎藤利明，藤田雅弘，塚越博之，黒澤 肇，猿木信裕：浴槽水における溶存炭酸ガスのレジオネラ属菌抑制効果，平成 30 年度第 45 回日本防菌防黴学会年次大会講演要旨集，281（2018）

G.研究発表

誌上発表

1. Mori Y, Yanagimoto K, Yamamoto T, Nagai Y, Yoshimura H, Akachi S, Yamagami T, Uematsu K, Hisada Y, Nishio M, Yagi J, Izumiyama S, Initial Trials of Monochloramine Disinfection of Circulating Bathtub Water at Public Hot Spring Facilities and Determining its Efficacy. Journal of Hot Spring Sciences, 2020, 70, 50-60.
2. 森 康則，赤地重宏，永井佑樹，吉村英基，泉山信司. 温泉付随ガス分離設備におけるレジオネラ属菌の実態調査と対策. 温泉科学, 69, 192-201 (2020)
3. 大河内由美子，泉山信司，前川純子，紙上ミニシンポジウム I～水の衛生管理～3.貯水槽水道で滞留した水道水からのレジオネラ属菌および関連微生物の検出状況，日本防菌防黴学会誌，2020，48(8)，377-382

口頭発表

1. 藤井 明、松田宗大、小倉 徹、小倉諒太、植園健一、枝川亜希子、泉山信司、モノクロラミン管理下の循環浴槽におけるろ材付着バイオフィルムに対する各種消毒剤の効果、第 47 回建築物環境衛生管理全国大会、2020 年 1 月、東京都

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

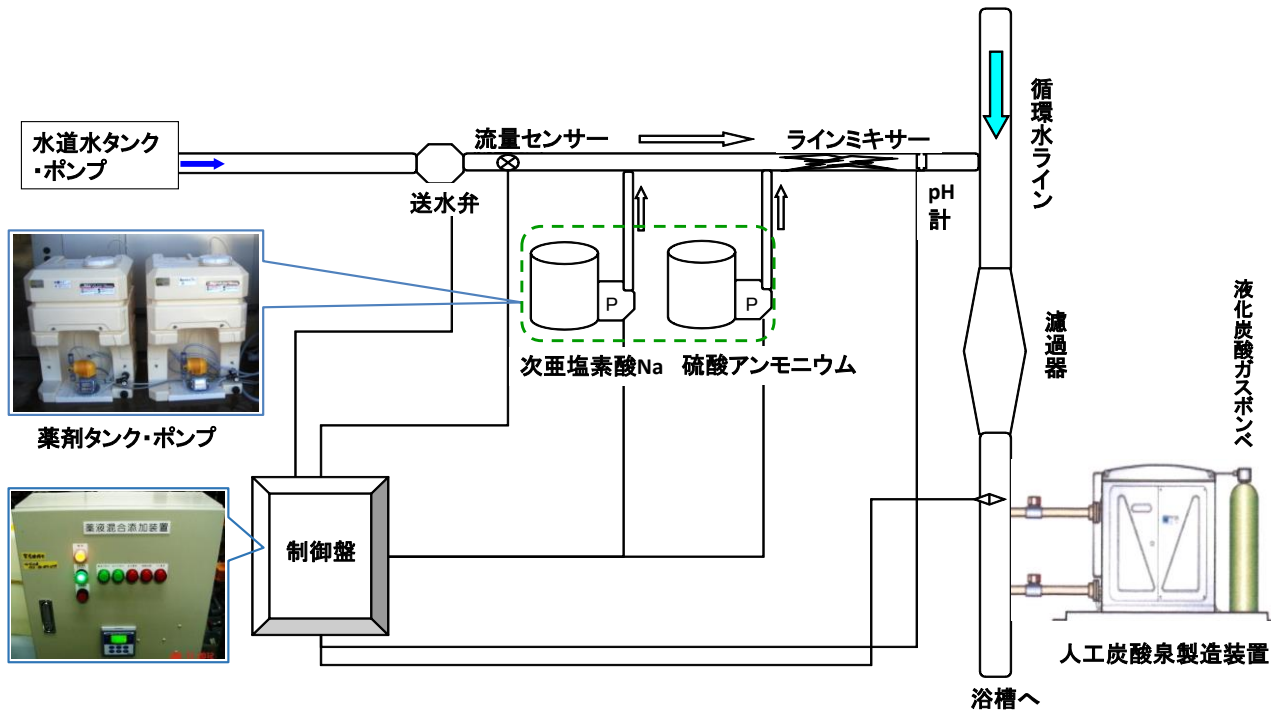


図1 モノクロラミンの生成と人工炭酸泉製造装置の位置関係

pH が中性の水道水または井水に、次亜塩素酸ナトリウム(NaClO)と硫酸アンモニウム((NH₄)₂SO₄)を適正な比率で混合することで、モノクロラミンを生成した(2NaClO + (NH₄)₂SO₄ → 2NH₂Cl + Na₂SO₄ + 2H₂O)。モノクロラミンが循環系統の途中で添加されて十分に希釈された後、液化炭酸ガスの注入により人工炭酸泉を製造した。

表1 pHを3から8に調整した緩衝液中での、モノクロラミンの安定性を比較

添加 1分	塩素形態	pH 3	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8
	全塩素	(96.4)*	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
	遊離塩素	14.3	3.6	0.0	0.0	0.0	0.0
	モノクロラミン	78.6	92.8	100.0	100.0	100.0	100.0
	ジクロラミン	3.5	3.6	0.0	0.0	0.0	0.0
添加 5分	塩素形態	pH 3	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8
	全塩素	(96.4)*	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
	遊離塩素	25.0	3.6	0.0	0.0	0.0	0.0
	モノクロラミン	67.9	92.8	100.0	100.0	100.0	100.0
	ジクロラミン	3.5	3.6	0.0	0.0	0.0	0.0
添加 10分	塩素形態	pH 3	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8
	全塩素	(92.8)*	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
	遊離塩素	17.8	3.6	0.0	0.0	0.0	0.0
	モノクロラミン	67.9	92.8	100.0	100.0	100.0	100.0
	ジクロラミン	7.1	3.6	0.0	0.0	0.0	0.0

*各 pH の緩衝液にモノクロラミンを 3mg/L の濃度で添加し、添加 1 分後、5 分後、10 分後の各塩素濃度を測定した。表内の数値は、全塩素濃度を 100%とした際の各塩素形態の比率(%)を表す。()内の全塩素測定は、滴定の終点が不明のため、遊離塩素濃度とモノクロラミン、ジクロラミンの合計として求めた。

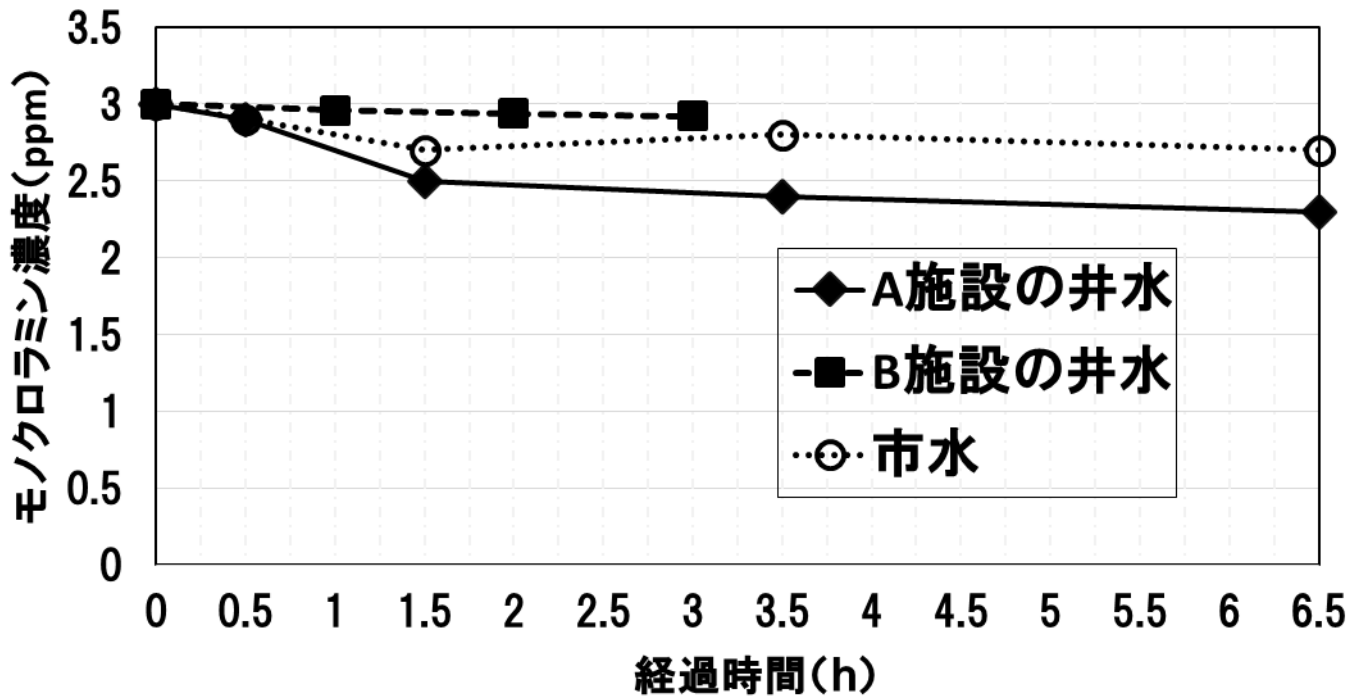


図2 人工炭酸泉の原水(井水)におけるモノクロアミン濃度の推移

本試験により、人工炭酸泉に用いる井水中に、モノクロアミン濃度を低減させる成分がないことを事前に確認した。

表2 炭酸風呂(3施設、計4浴槽水)におけるモノクロアミン消毒の効果

A施設の炭酸風呂

検査項目	モノクロアミン消毒期間		
	1週目	3週目	13週目
レジオネラ属菌数 (CFU/100mL)	<10	<10	<10
一般細菌数 (CFU/mL)	<1	<1	<1
従属栄養細菌数 (CFU/mL)	<1	<1	<1
大腸菌群 (CFU/mL)	<1	<1	<1
全塩素濃度 (ppm)	4.2	4.1	3.8

浴槽水のpH値: 5.6

B施設の炭酸風呂

検査項目	モノクロアミン消毒期間	
	11ヵ月後	14ヵ月後
レジオネラ属菌数 (CFU/100mL)	<10	<10
一般細菌数 (CFU/mL)	<1	<1
従属栄養細菌数 (CFU/mL)	<1	<1
大腸菌群 (CFU/mL)	NT	<1
全塩素濃度 (ppm)	4.1	4.9

浴槽水のpH値: 5.1、NT: 検査せず

C施設の男子炭酸風呂

検査項目	モノクロアミン消毒期間	
	15ヵ月後	19ヵ月後
レジオネラ属菌数 (CFU/100mL)	<10	<10
一般細菌数 (CFU/mL)	<1	<1
従属栄養細菌数 (CFU/mL)	<1	<1
大腸菌群 (CFU/mL)	NT	<1
FCM値 (counts/mL)	333	NT
全塩素濃度 (ppm)	4.8	3.5

浴槽水のpH値: 5.0、NT: 検査せず

C施設の女子炭酸風呂

検査項目	モノクロアミン消毒期間	
	15ヵ月後	19ヵ月後
レジオネラ属菌数 (CFU/100mL)	<10	<10
一般細菌数 (CFU/mL)	<1	<1
従属栄養細菌数 (CFU/mL)	<1	<1
大腸菌群 (CFU/mL)	NT	<1
FCM値 (counts/mL)	95	NT
全塩素濃度 (ppm)	4.3	3.2

浴槽水のpH値: 5.2、NT: 検査せず