

循環式浴槽システムの衛生管理に関する研究
第3報—循環系内におけるバイオフィルムの形成特性
 Study on the Hygienic Management of the Circulation Bathtub System

Part3—Formation Characteristic of the Biofilm in the Circulatory System

技術フェロー ○野知 啓子 (関東学院大学) 技術フェロー 大塚 雅之 (関東学院大学)
 正会員 菅生 政樹 (新菱冷熱工業) 正会員 小宮 翔 (クリマテック)
 技術フェロー 赤井 仁志 (ユアテック) 技術フェロー 松村 佳明 (山下設計)

Keiko NOCHI*¹ Masayuki OTSUKA*¹ Masaki SUGOH*² Syo KOMIYA*³ Hitoshi AKAI*⁴ Yoshiaki MATSUMURA*⁵

*¹Kanto Gakuin Univ. *²Shinryo Corporation *³Kurimatekku Corporation *⁴Yurtec Corporation *⁵Yamashita Sekkei Inc.

The formation characteristic of the biofilm under the experimental condition of first report and second report was examined. It was verified that as a result of making real bathtub water and trial bathtub water to be the trial sample, the formation of the biofilm was similar, and that the trial bathtub water becomes the substitution bathtub water. The formation of the biofilm is different by the existence of the disinfection. And, the formation of the biofilm was suppressed by carrying out the chlorination in the filtration tank back step.

はじめに

循環式浴槽システムろ過槽内で形成する生物膜(以下、バイオフィルムとする)は、入浴者由来の有機汚濁物質を分解、浄化する機能をもっている。一方、温水を循環系で利用することで、浴槽壁面や配管等にもバイオフィルムは定着し、バイオフィルム内にレジオネラ属菌などの病原性細菌が保護されるため、問題となることが多い。

以上の背景から本研究では、中空糸膜付設循環式浴槽システム(第1報、図1)を用いて、系内で形成するバイオフィルムについて観察した。

すなわち、中空糸膜、紫外線および塩素剤による水中の細菌に対する阻止・不活化効果が、バイオフィルム中細菌にも影響し、形成抑制効果として発現するか否かを知るために実験的検討を行った。

1. 実験方法

図1(前報1)に示す温水槽から中空糸膜への流入経路における配管内に形成したバイオフィルムを採取した。

実験条件は、第1報および第2報で行った、①中空糸膜による阻止実験、②紫外線併用実験、③塩素併用実験とした。具体的な条件は次のとおりである。

1.1 模擬浴槽水を用いたバイオフィルムの形成実験

模擬浴槽水を供試水とし、①中空糸膜阻止実験(透過流量:0.006~0.04 m³/d)として、113日間の循環系で形成させた条件、②中空糸膜(透過流量:0.04m³/d)に紫外線照射を併用し68日間継続した条件、③ろ過槽後段で塩素消毒を行い、21日間で形成させた条件、④ろ過槽前段で塩素消毒を行い、35日間で形成させた条件とした。

形成したバイオフィルムは滅菌水にブラシで剥離させ、バイオフィルム量(SS)および細菌試験を行った。測定は、一般細菌、従属栄養細菌およびレジオネラ属について行った。

1.2 実浴槽水を用いたバイオフィルムの形成実験

実浴槽水を供試水とし、①中空糸膜を用いた阻止実験として54日間の連続下で形成させた条件、②中空糸膜に紫外線を併用し、37日間の連続下で形成させた条件、③中空糸膜に塩素消毒(ろ過槽後段塩素注入)を併用し、38日間による連続下で形成させた条件とした。測定項目は、バイオフィルム中の一般細菌、従属栄養細菌およびレジオネラ属菌について計測した。なお、バイオフィルム形成箇所(採取)は第1報の図1に示す。

2. 結果および考察

2.1 模擬浴槽水を用いたバイオフィルムの形成実験

2.1.1 中空糸膜による阻止実験

①中空糸膜法(透過水量0.006m³/d:28日、透過水量0.04m³/d:26日、透過水量0.04m³/d:24日、紫外線照射併用:15日(照射位置:循環出口)、計113日間)の条件下で、中空糸膜流入口(配管、第1報、図1)に形成したバイオフィルム量およびバイオフィルム中の細菌試験を行った。得られた結果を写真1および表1に示す。バイオフィルム形成量は0.27 μg/cm²・dであった。バイオフィルム中の一般細菌数は3.3×10⁴CFU/cm²・d、従属栄養細菌数は1.5×10⁶CFU/cm²・dが定着する結果が得られた。また、レジオネラ属菌は354 CFU/cm²・d以上となった。



写真1 バイオフィルム中の細菌数(中空糸膜実験)
(模擬浴槽水)

表1 中空糸膜実験で形成したバイオフィーム
(模擬浴槽水)

バイオフィーム量	0.27 $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{d}$		
細菌名	一般細菌	従属栄養細菌	レジオネラ属菌
細菌数[CFU/mL]	1.9×10^6	8.5×10^7	$5.5 \times 10^4 <$
定着面積あたり [CFU/cm ²]	3.8×10^6	1.7×10^7	$1.0 \times 10^4 <$
1日当たりの定着 数[CFU/cm ² · d]	3.3×10^4	1.5×10^5	354 <

2.1.2 紫外線照射併用実験

中空糸膜透過流量 0.04m³/d に紫外線(ランプ強度:109 mW/cm²)を透過水出口で照射し、68日間におけるバイオフィームの形成実験を行った。得られた結果を写真2、表2に示す。バイオフィーム形成量は0.09 $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{d}$ が得られた。また、このバイオフィーム中に生残した一般細菌は43CFU/cm² · d となり、従属栄養細菌数は897CFU/cm² · d が得られた。また、レジオネラ属菌は74CFU/cm² · d と一般細菌数より高い値で検出された。

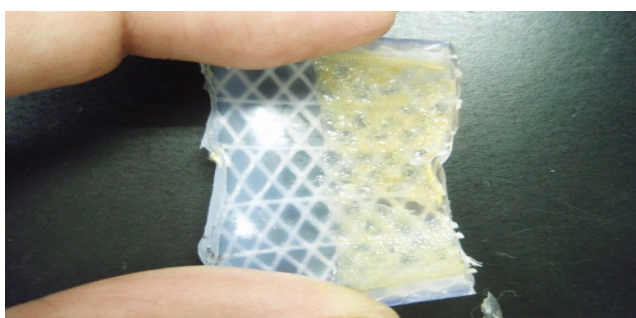


写真2 紫外線併用実験で形成したバイオフィーム
(模擬浴槽水)

表2 バイオフィーム中の細菌数(紫外線併用実験)
(模擬浴槽水)

バイオフィーム量	0.09 $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{d}$		
細菌名	一般細菌	従属栄養細菌	レジオネラ属菌
細菌数[CFU/mL]	1.5×10^4	3.0×10^5	2.4×10^4
定着面積あたり [CFU/cm ²]	2.9×10^3	6.1×10^4	5.0×10^3
1日当たりの定着 数[CFU/cm ² · d]	43	897	74

2.1.3 塩素消毒併用実験

(1) ろ過槽後段塩素消毒

中空糸膜透過量 0.04m³/d に温水槽内に遊離残留塩素濃度で7.6~17.6mg/L · dの注入条件で21日間におけるバイオフィーム形成実験を行った。

得られた結果を写真3および表3に示す。バイオフィームの形成量をSS濃度で算出した結果、測定下限値以下であった。一方、バイオフィーム中の一般細菌数は

19CFU/cm² · d となり、従属栄養細菌数は48CFU/cm² · d でありレジオネラ属菌数は、1日当たりに換算すると1CFU/cm² · d 以下となり、極端に低い結果が得られた。

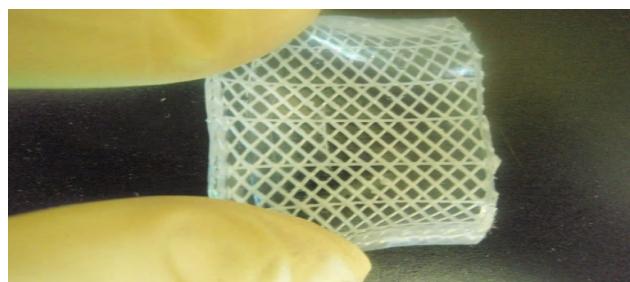


写真3 塩素消毒後段実験で形成したバイオフィーム
(模擬浴槽水)

表3 バイオフィーム中の細菌数(ろ過槽後段注入)
(模擬浴槽水)

バイオフィーム量	定量下限値以下		
細菌名	一般細菌	従属栄養細菌	レジオネラ属菌
細菌数[CFU/mL]	2.0×10^3	5.3×10^3	12
定着面積あたり [CFU/cm ²]	4.0×10^2	1.0×10^3	2
1日当たりの定着 数[CFU/cm ² · d]	19	48	1 >

(2) ろ過槽前段塩素消毒

中空糸膜透過量 0.04m³/d に温水槽内に遊離残留塩素濃度で1.5~35.2mg/L · dの注入条件下で35日間におけるバイオフィーム形成実験を行った。

得られた結果を写真4および表4に示す。同表に示すとおり、バイオフィームの形成量は0.14 $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{d}$ が得られた。またバイオフィーム中に生残した一般細菌は8.9 $\times 10^3$ CFU/cm² · d となり、従属栄養細菌は1.3 $\times 10^6$ CFU/cm² · d となり、高い値が検出された。一方、レジオネラ属菌も354CFU/cm² · d 以上と高い値であった。

以上の結果より、塩素消毒法をろ過槽前段で行うことにより、ろ過槽内の生物膜により、水中の遊離残留塩素が消費されてしまうため、ろ過槽後段で塩素注入する条件よりも消毒効果が低減したと考えられる。

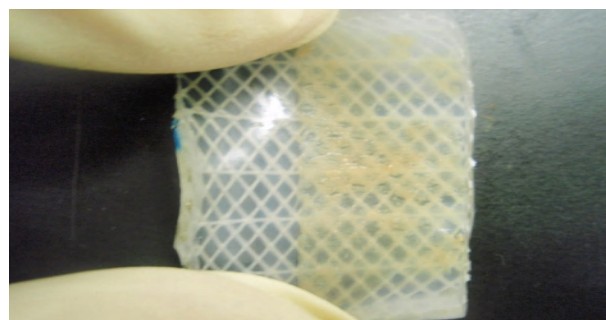


写真4 塩素消毒前段実験で形成したバイオフィーム
(模擬浴槽水)

表4 バイオフィルム中の細菌数(ろ過槽前段注入)
(模擬浴槽水)

バイオフィルム量	0.14		
	一般細菌	従属栄養細菌	レジオネラ属菌
細菌数[CFU/mL]	1.5×10^6	2.2×10^8	$5.0 \times 10^4 <$
定着面積あたり [CFU/cm ²]	3.1×10^5	4.6×10^7	$1.1 \times 10^4 <$
1日当たりの定着 数[CFU/cm ² ・d]	8.9×10^3	1.3×10^6	354<

2.1.4 各条件によるバイオフィルム形成特性

各条件下におけるバイオフィルムの形成量を降順で示すと、中空糸膜阻止実験 ($0.27 \mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{d}$) > ろ過槽前段塩素注入 ($0.14 \mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{d}$) > 紫外線併用 ($0.09 \mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{d}$) > ろ過槽後段塩素注入 (ND) となった。

また、バイオフィルム中から検出された細菌は、一般細菌では中空糸膜阻止実験 ($3.3 \times 10^4 \text{CFU}/\text{cm}^2 \cdot \text{d}$) > ろ過槽前段塩素注入実験 ($8.9 \times 10^3 \text{CFU}/\text{cm}^2 \cdot \text{d}$) > 紫外線併用実験 ($43 \text{CFU}/\text{cm}^2 \cdot \text{d}$) > ろ過槽後段塩素注入実験 ($19 \text{CFU}/\text{cm}^2 \cdot \text{d}$) となった。

従属栄養細菌では、ろ過槽前段塩素注入実験 ($1.3 \times 10^6 \text{CFU}/\text{cm}^2 \cdot \text{d}$) > 中空糸膜実験 ($1.5 \times 10^5 \text{CFU}/\text{cm}^2 \cdot \text{d}$) > 紫外線併用実験 ($897 \text{CFU}/\text{cm}^2 \cdot \text{d}$) > ろ過槽後段塩素注入実験 ($48 \text{CFU}/\text{cm}^2 \cdot \text{d}$) となり、配管に対する消毒効果の有無により細菌の検出数は大きく相違した。

バイオフィルム中レジオネラ属菌の生残数は、中空糸膜阻止実験 ($354 < \text{CFU}/\text{cm}^2 \cdot \text{d}$) > ろ過槽前段塩素注入 ($354 < \text{CFU}/\text{cm}^2 \cdot \text{d}$) > 紫外線併用実験 ($74 \text{CFU}/\text{cm}^2 \cdot \text{d}$) > ③ろ過槽後段塩素注入 ($1 > \text{CFU}/\text{cm}^2 \cdot \text{d}$) の順となった。

以上の結果より、中空糸膜で阻止した条件をろ過槽出口でさらに紫外線照射することで、中空糸膜で形成したバイオフィルムの67%の減少量が得られた。さらに塩素消毒ろ過槽後段注入によりバイオフィルムの形成は抑制されることが示された。

同時にバイオフィルム中で生残している細菌数も中空糸膜法に紫外線、塩素消毒を併用することで生残数は低下した。

すなわち、水中に生残している細菌類によりバイオフィルムを形成していくことが実証され、とくにレジオネラ属菌はバイオフィルム中で保護され増殖していくことが明瞭であった

2.2 実浴槽水を用いたバイオフィルム形成実験

2.2.1 中空糸膜による阻止実験

中空糸膜による細菌類の阻止実験終了時(54日間)の中空糸膜流入口(配管)に形成したバイオフィルム(写真5)中の細菌試験結果を表5に示す。

同表に示すとおり、本バイオフィルム中の一般細菌



写真5 中空糸膜実験で形成したバイオフィルム
(実浴槽水)

表5 バイオフィルム中の細菌数(中空糸膜実験)
(実浴槽水)

細菌名	一般細菌	従属栄養細菌	レジオネラ属菌
細菌数[CFU/mL]	4.4×10^5	3.2×10^8	$3.0 \times 10^5 <$
定着面積あたり [CFU/cm ²]	3.6×10^5	2.6×10^8	$2.5 \times 10^4 <$
1日当たりの定着 数[CFU/cm ² ・d]	6.7×10^3	4.8×10^6	463<

は $6.7 \times 10^3 \text{CFU}/\text{cm}^2 \cdot \text{d}$ が定着する結果が得られた。また、従属栄養細菌数は $4.8 \times 10^6 \text{CFU}/\text{cm}^2 \cdot \text{d}$ が定着し、レジオネラ属菌は $463 \text{CFU}/\text{cm}^2 \cdot \text{d}$ 以上と高い値が示された。

2.2.2 紫外線併用による形成抑制実験

②中空糸膜+紫外線照射(ランプ強度: $109 \text{mW}/\text{cm}^2$)による不活化実験(37日間)終了時の中空糸膜流入口(配管)に形成したバイオフィルム(写真6)中の細菌試験結果を表6に示す。

同表に示すとおり、バイオフィルム中の一般細菌は $16 \text{CFU}/\text{cm}^2 \cdot \text{d}$ となり、従属栄養細菌数は $7.9 \times 10^3 \text{CFU}/\text{cm}^2 \cdot \text{d}$ が得られた。また、レジオネラ属菌は $431 < \text{CFU}/\text{cm}^2 \cdot \text{d}$ と一般細菌より高い値が検出された。すなわち、実浴槽水を供試した条件においても、バイオフィルム中でレジオネラ属菌が保護され増殖することが示された。



写真6 紫外線併用実験で形成したバイオフィルム
(実浴槽水)

表6 バイオフィーム中の細菌数(紫外線併用実験)
(実浴槽水)

細菌名	一般細菌	従属栄養細菌	レジオネラ属菌
細菌数[CFU/mL]	1.0×10^3	5.0×10^5	$6.8 \times 10^7 <$
定着面積あたり [CFU/cm ²]	5.9×10^2	2.9×10^5	$1.6 \times 10^4 <$
1日当たりの定着 数[CFU/cm ² ・d]	16	7.9×10^3	431 <

2.2.3 塩素併用による形成抑制実験

中空糸膜+塩素(温水槽内の遊離残留塩素濃度 0.23~4.27mg/L)による不活化実験(38日間)終了時の中空糸膜流入口(配管)に形成したバイオフィーム(写真7)中の細菌試験結果を表7に示す。

定着したバイオフィーム中の一般細菌数は1CFU/cm²・d以下が得られ、従属栄養細菌数は1400CFU/cm²・dであった。一方、レジオネラ属菌は検出されず、塩素によるバイオフィームの形成抑制効果が顕著に示された。

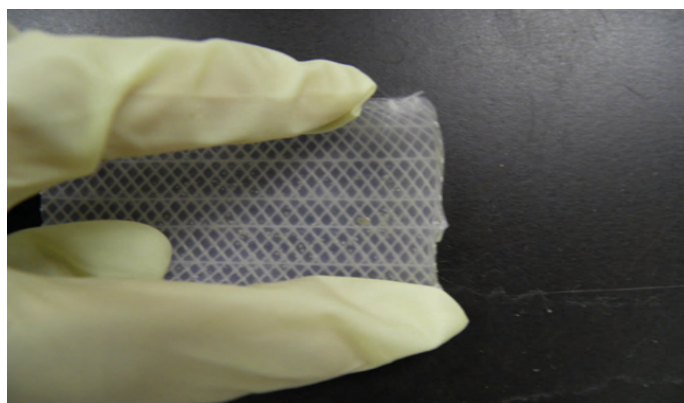


写真7 塩素併用実験で形成したバイオフィーム
(実浴槽水)

表7 バイオフィーム中の細菌数(塩素併用実験)
(実浴槽水)

細菌名	一般細菌	従属栄養細菌	レジオネラ属菌
細菌数[CFU/mL]	20	8.5×10^4	ND
定着面積あたり [CFU/cm ²]	12	5.2×10^4	ND
1日当たりの定着 数[CFU/cm ² ・d]	1 >	1.4×10^3	ND

2.2.4 各条件によるバイオフィーム形成特性

各条件下におけるバイオフィームの形成特性を降順で見ると、中空糸膜による阻止実験(6.7×10^3 CFU/cm²・d) > 紫外線併用実験(16CFU/cm²・d) > 塩素併用実験(<1CFU/cm²・d)となった。次に従属栄養細菌の検出数は、中空糸膜による阻止実験(4.8×10^6 CFU/cm²・d) > 紫外線併用実験(7.9×10^3 CFU/cm²・d) > 塩素併用実験(1.4 ×

10^3 CFU/cm²・d)となった。バイオフィーム中レジオネラ属菌の生残特性は、中空糸膜による阻止実験(463 < CFU/cm²・d) > 紫外線照射併用実験(431 < CFU/cm²・d) > 塩素併用実験(ND)となり、バイオフィーム中の細菌増殖抑制には塩素消毒剤が効果的であることが示された。

2.3 各浴槽水により形成されたバイオフィーム

模擬浴槽水および実浴槽水により、形成されたバイオフィーム中の細菌数を図1にまとめて示す。バイオフィーム中から検出された細菌数が最も高い条件は、実浴槽水を基質とした中空糸膜法における従属栄養細菌であった。また、塩素消毒(ろ過膜後段注入)以外では、バイオフィーム中でレジオネラ属菌が保護され、高い値で検出されることも明瞭に示された。

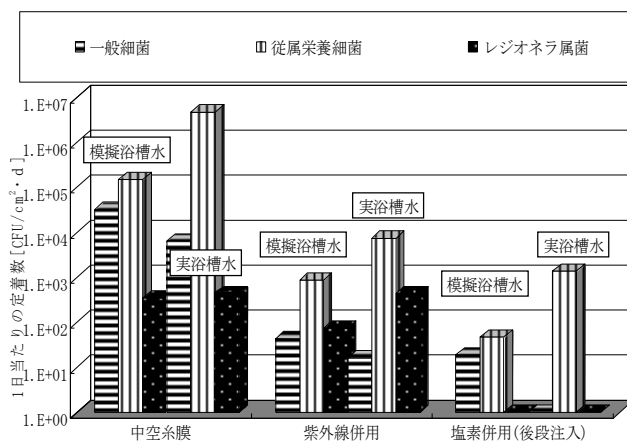


図1 各条件におけるバイオフィーム中の細菌数

3. まとめ

- (1) 模擬浴槽水および実浴槽水を供試水とし、①中空糸膜による阻止実験、②①に紫外線併用実験、③①に塩素消毒併用実験下におけるバイオフィームの形成実験を行った。
- (2) バイオフィームの形成は、両浴槽水ともほぼ同様な傾向にあり、模擬浴槽水は実浴槽水の代替浴槽水となることが実証された。
- (3) バイオフィームの形成は、消毒効果の有無により相違した。また、バイオフィームの形成抑制は塩素消毒併用実験(ろ過槽後段で塩素消毒)において顕著であった。すなわち、消毒位置は、温水槽内直前で施用する方がバイオフィーム形成抑制の観点からも効果的であった。

謝辞：本研究の一部は、(社)空気調和・衛生工学会循環式浴槽システムの衛生管理対策小委員会(主査：野知啓子)の一環として行ったものである。