

温水循環回路における細菌のオゾン殺菌

福崎智司・浦野博水・村木良爾*・安藤捷彦*

Satoshi FUKUZAKI, Hiromi URANO, Ryouji MURAKI *, and Katsuhiko ANDO *

キーワード オゾン／殺菌／細菌／温水循環

KEY WORDS Ozone / Sterilization / Bacteria / Warm water-circulation

1 はじめに

近年、健康志向の高まりや快適性への追求がすすむなか、24時間風呂やレジャー感覚の公衆浴場が普及している。これらの浴槽では、浴槽水を長期間入れ替えずにいつでも入浴できるように、浴槽水を浄化・保温・循環する装置が装備されている。一方、浴槽水の微生物汚染（大腸菌群、レジオネラ属菌等）に起因する病害や感染症が絶えないのも事実であり、安価で簡便な浴槽水の殺菌技術の普及が望まれている。

現在、24時間風呂の微生物汚染対策として、残留性の低さからオゾンが浴槽水の浄化・殺菌処理に利用され始めているが¹⁾、オゾンの特性を生かした最適な処理条件に関する基礎データが不足しているのが実情である。

本研究では、大腸菌とレジオネラ属菌を対象としてオゾンを利用した殺菌処理の有効性と適切な処理条件について検討した。

2 実験方法

2.1 供試菌

大腸菌 *Escherichia coli* NBRC3972（（独）製品評価技術基盤機構（木更津市）から入手）とレジオネラ属菌 *Legionella pneumophila* GIFU2522（（財）岡山県健康づくり財団（岡山市）保管菌；依頼試験として実施）を用いた。

2.2 培養

E. coli と *L. pneumophila* の培地には、各々乾燥ブイヨン“ニッスイ”（日水製薬）とGVPC培地（ピオメリユー社）を用いた。*E. coli* の前培養は、保存用スラントから一白金耳ほど採取した菌を5mlの培地に懸濁させ、試験管中（容積15ml）にて37℃で24時間培養して行った。この前培養液を200mlの培地に接種し、三角フラスコ中（容積300ml）にて40℃で17時間培養した。

*オーニット（株）

次に、この培養液200mlを遠心分離（ $1,700 \times g$ ）して集菌した。集めた菌体を200mlの0.9%生理食塩水に懸濁し、遠心分離（ $1,700 \times g$ ）して集菌した。この洗浄操作を2回繰り返した後、菌体を200mlの0.9%生理食塩水に再び懸濁した。*L. pneumophila* の菌液は、上記と類似の方法で調製した。

生菌数の測定は、寒天培地上でのコロニー形成数（Colony Forming Unit: CFU）で評価した。

2.3 オゾン殺菌試験

図1に、オゾン殺菌実験のフロー図を示す。

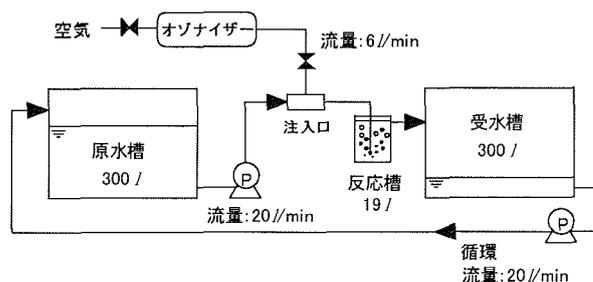


図1 オゾン殺菌実験装置のフロー

原水には、水道水（岡山市）を使用した。原水槽の水温は40℃に維持し、残留塩素が消失した後に菌液を原水槽に添加した。ポンプによる原水の送液量（流量）は20 l/minとした。オゾンガスは、室内空気を原料として無声放電式オゾナイザー（Model 964）により生成させ、6 l/minで温水に注入し、19 lの反応槽内でオゾンガスとの気液接触を行った。反応槽での滞留時間は約60秒であり、非循環式でのオゾン殺菌時間に相当する。オゾンガス濃度は、0.1～8.1 g/Nm³の範囲で変化させた。受水槽中での残留オゾンの消去は、チオ硫酸ナトリウム（Na₂S₂O₃）溶液を添加することにより行った。循環式の殺菌実験は、受水槽に貯水された水を再び原水槽に送液する循環回路系にて同様

の殺菌操作を行った（循環時間：30～120分）。菌数測定のスプリングは、受水槽で行った。

3 結果と考察

表1に、非循環回路での *E. coli* の殺菌に及ぼす注入オゾンガス濃度の影響を示す。試験菌液として、*E. coli* の培養液と生理食塩水に懸濁した菌液を各々原水槽に添加した。生理食塩水懸濁液の場合、3.4g/Nm³ で 80CFU/ml に激減し、5.1 及び 8.1g/Nm³ で完全な殺菌が達成されていた。一方、培養液の場合、オゾン濃度 8.1g/Nm³ では完全に死滅したが、3.4g/Nm³ では生菌数は約半減、5.1g/Nm³ では約 2 オーダーの減少に止まった。その理由として、培養液は *E. coli* の細胞以外にポリペプトンや酵母エキス等の有機成分を含むため、オゾンが培地の有機成分の酸化に消費されたのではないかと考えられた。事実、いずれのオゾン濃度においても受水槽中の残留オゾン濃度はゼロであった。

表1 *E. coli* の殺菌に及ぼすオゾン濃度の影響（非循環回路）

菌液	生菌数 (CFU/ml)			
	原水槽	3.4g/Nm ³	5.1g/Nm ³	8.1g/Nm ³
生理食塩水懸濁液	1.2 × 10 ⁴	80	<10	<10
培養液	1.9 × 10 ⁴	7.1 × 10 ³	3.7 × 10 ²	<10

処理槽滞留時間：60秒

表2に、非循環回路での *L. pneumophila*（生理食塩水懸濁液）の殺菌に及ぼす注入オゾンガス濃度の影響を示す。いずれのオゾン濃度においても、*L. pneumophila* は完全に死滅する結果となった。

表2 *L. pneumophila* の殺菌に及ぼすオゾン濃度の影響*（非循環回路）

菌液	生菌数 (CFU/ml)			
	原水槽	3.4g/Nm ³	5.1g/Nm ³	8.1g/Nm ³
生理食塩水懸濁液	4.0 × 10 ⁴	<10	<10	<10

処理槽滞留時間：60秒

*（財）岡山県健康づくり財団の協力で実施

上記の生理食塩水懸濁液を用いた殺菌実験では、受水槽中に排出される温水中には残留オゾン濃度が検出された。すなわち、受水槽からスプリングした後も細菌細胞はオゾンと反応していることになる。そこで、*E. coli* の生理食塩水懸濁液の実験系（3.4g/Nm³）において、スプリングした温水にチオ硫酸ナトリウム溶液を添加（スプリング直後、30秒後、60秒後）して残留オゾンを消去させた（表3）。スプリング直後の添加では、6.1 × 10² CFU/ml の生存菌が検出され約 2 オ

オーダーの減少に止まった。30秒後の添加で 40CFU/ml、60秒後の添加で完全死滅となった。以上の結果から、オゾン濃度を 3.4g/Nm³ とした場合、オゾンとの接触滞留時間を 2 分間程度に設定すれば、*E. coli* を完全に死滅させることができると思われる。

表3 *E. coli* の殺菌に及ぼす受水槽中の残留オゾンの消去の影響（非循環回路）

オゾン濃度 (g/Nm ³)	生菌数 (CFU/ml)			
	原水槽	直後* (処理:60秒)	30秒後* (処理:90秒)	60秒後* (処理:120秒)
3.4	1.3 × 10 ⁴	6.1 × 10 ²	40	<10

*スプリングした温水へのチオ硫酸ナトリウム溶液の添加時期

表4に、循環回路での *E. coli*（生理食塩水懸濁液）の連続式オゾン殺菌実験の結果を示す（循環時間：30～120分）。注入オゾンガス濃度は 0.1、0.8、3.4g/Nm³ とした。オゾン濃度 0.1g/Nm³ の場合、30～90分間の循環では生菌数は同オーダーもしくは 1 オーダーの範囲の減少しか起こらなかったが、120分間の循環でようやく完全死滅となった。一方、0.8 及び 3.4g/Nm³ の場合、30分間の循環で完全な殺菌が達成されており、循環時間の延長においても生菌数は検出されなかった。

表4 循環回路における *E. coli* のオゾン殺菌に及ぼす時間の影響

オゾン濃度 (g/Nm ³)	生菌数 (CFU/ml)				
	原水槽	30分	60分	90分	120分
0.1	7.5 × 10 ³	1.2 × 10 ³	7.5 × 10 ²	1.1 × 10 ²	<10
0.8	2.3 × 10 ³	<10	<10	<10	—
3.4	2.0 × 10 ⁴	<10	<10	—	<10

4 まとめ

比較的低濃度のオゾンガスの注入により、*E. coli* や *L. pneumophila* の浮遊菌を短時間に殺菌できることが示された。実際の浴槽の配管系では、これらの細菌群はバイオフィルムを形成して薬剤耐性を示している事例も報告されている。今後は、バイオフィルム中の *E. coli* や *L. pneumophila* に対するオゾン殺菌の効果を検討する必要がある。

謝辞

L. pneumophila のオゾン殺菌試験にご協力頂いた（財）岡山県健康づくり財団の宮井泰三博士ならびに渡辺晃正氏に深謝いたします。

参考文献

- 1) 竹田 至：“オゾン利用浄化技術の実際” サンユー書房(1999) p. 311