

弱酸性次亜塩素酸水を用いた動物実験施設での衛生管理の可能性

－ホルマリン燻蒸に替わる新たな消毒資材としての活用

飼育汚物排水の消毒処理への応用の可能性－

山下光治¹⁾・三宅真名¹⁾・小野朋子¹⁾・那須玄明¹⁾・重本雅之¹⁾・

橋本晴夫¹⁾・増田 礎¹⁾・中山英治²⁾・倉林 譲³⁾

¹⁾株式会社エイチ・エス・ピー技術開発部・²⁾福田種鶏場株式会社・

³⁾岡山大学自然生命科学研究支援センター 動物資源部門

はじめに

私達はこれまで、次亜塩素酸ナトリウムと塩酸を希釈混合して得られる弱酸性次亜塩素酸水（弱酸性水と略します。商用名；スーパー次亜水）の活用技術の開発と生成器の開発に取り組んできました。弱酸性水は安全で廉価、そして豊富に使える消毒資材として様々な分野で活用されてきています。

ここではこの間になってきた研究のいくつかをかき摘んで紹介したいと思います。

次亜塩素酸は、中水準消毒剤の次亜塩素酸ナトリウムの殺菌成分の主成分で、近年の研究から各種電解水の殺菌効果をもたらす主成分であること、さらに生体防御機構の好中球での殺菌作用を担う主要成分であることが明らかにされてきました。

(1)

次亜塩素酸とタンパクなどの有機物との反応は、塩素化と酸化の両者があり細菌やウィルスの種々のタンパクと非特異的に反応し、殺滅または不活化していると考えられています。

弱酸性水は、次亜塩素酸ナトリウムを塩酸でpH5.0～6.5に調整した水溶液で、用途に応じて有効塩素濃度を50～200ppmに設定して用います。

液性を弱酸性にすることで有効塩素濃度に占める次亜塩素酸の含有率を90%以上にし、(200ppmの次亜塩素酸ナトリウムでは次亜塩素酸の含有率は約4%)、より低い濃度で高い殺菌効果をもつ水溶液です。(2) (図-1)

次亜塩素酸の含有率を高めることで、殺菌効果を保ちながら有効塩素濃度を低く抑え、皮膚に対する刺激性や機器の腐食性を低減しています。

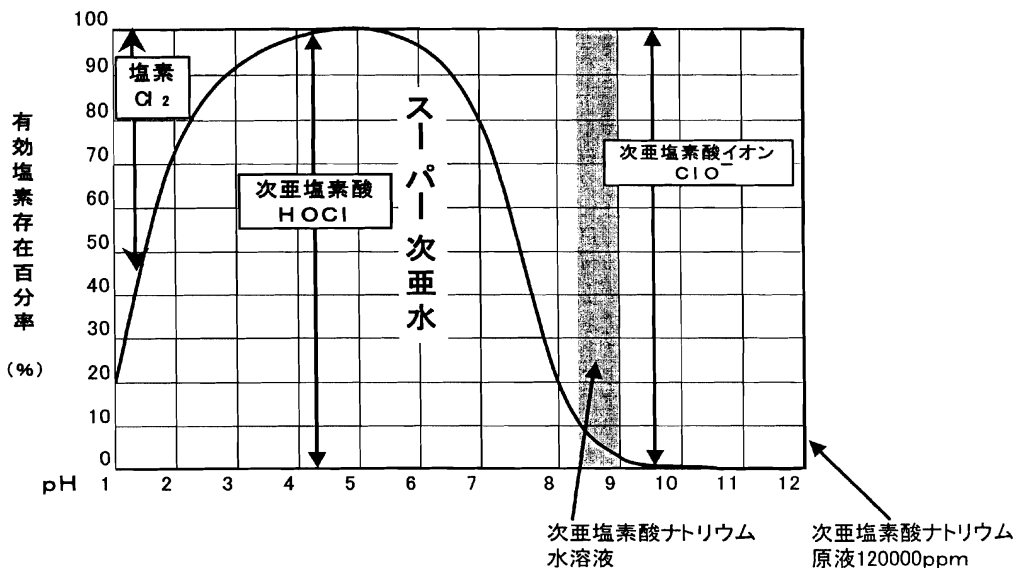


図-1

① pHを調整した次亜塩素酸ナトリウムの殺菌効果について
平成13年度岡山県地域技術起業化推進助成事業（於 岡山大学医学部附属病院中央検査部）

① pH6.0~6.3、有効塩素濃度 50ppm の弱酸性水と、微酸性電解水とで供試菌に対する殺滅効果に差があるかどうかを調べたもので実験方法は（図-2）左側に示しています。

これらの菌株では弱酸性水と微酸性電解水で殺滅効果およびアルブミン添加による殺滅阻害ともに同等で、50ppm の有効塩素濃度の弱酸性水は *Bacillus subtilis* ATCC6633 株の芽胞にも有効で

あることが判りました。（表-1）

②次亜塩素酸水の pH を変化させたときの殺滅効果を調べた結果、pH5.0 と pH6.0 では同等の殺滅効果が認められましたが、pH7.0、8.0 では殺滅に要する時間がより多く必要とされ、次亜塩素酸水の pH が殺滅効果のファクターであることを示すことができました。（表-2）

③ヒト手指の付着菌（通過菌）に着目して弱酸性水を手洗いに用いた場合の除菌効果を調べました。実験方法は（図-2）右側に示します。付着菌を常在菌と区別するためにメチシリン耐性表皮ブドウ球菌（MRSE）を用いてスクリーニングして計測した点がこの実験の特徴です。

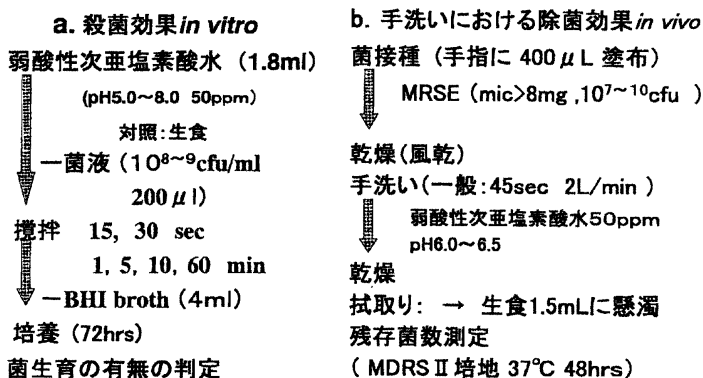


図-2 実験方法

(平成13年度岡山県地域技術起業化推進助成事業
第17回日本環境感染学会 一部改)

表-1 反応時間と殺菌効果 弱酸性水/電解水

	ATCC	×10 ⁷ cfu/ml	15 sec	30 sec	1 min	5 min	10 min
<i>P.aeruginosa</i>	27853	2.0~16	-/-	-/-	/	/	/
<i>S.aureus</i>	25923	1.1~16	-/-	-/-	/	/	/
<i>E.faecalis</i>	29212	1.1~11	-/-	-/-	/	/	/
<i>E.faecium</i>	35667	1.4~16	-/-	-/-	/	/	/
<i>E.coli</i>	25922	2.0~9.2	-/-	-/-	/	/	/
<i>S.maltophilia</i>	13637	2.1~7.0	/	+/+	-/-	-/-	/
<i>C.albicans</i>	10231	1.0~3.4	-/-	-/-	/	/	/
<i>B.subtilis</i>	6633	4.7~7.2	/	/	+/+	+/+	-/-

表-2 pHの違いによる殺菌効果 at 26°C

菌種	final ×10 ⁷ cfu/ml	反応時間	pH調整次亜塩素酸ナトリウム水 50ppm			
			pH 5.0	pH 6.0	pH 7.0	pH 8.0
<i>C.albicans</i> ATCC10231	3.4	15sec	-	-	-	+
		30sec	-	-	-	-
<i>S.maltophilia</i> ATCC13637	2.1	30sec	+	+	+	+
		1min	-	-	+	+
<i>B.subtilis</i> ATCC6633	1.1	3min	-	-	-	-
		1min	+	+	+	+
		5min	-	-	+	+
		10min	-	-	-	+
		60min	-	-	-	-

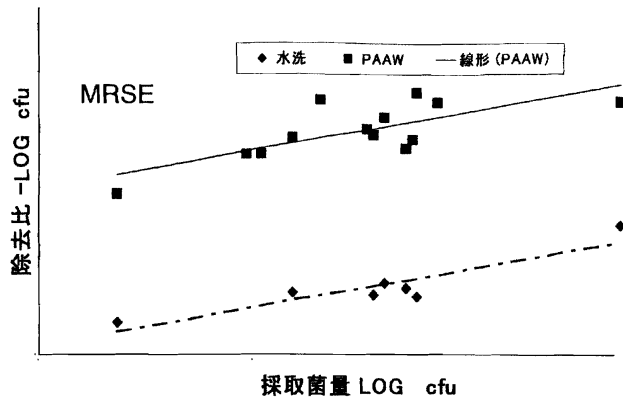


図-3 手洗いにおける除菌効果 *in vivo*

表-3 除菌率と孵化率について

区分	HOCl	Form	HOCl	Form	HOCl	Form
処理前	2.7E05		1.2E05		1.7E05	
処理後	1.4E02	5.4E03	2.8E02	2.7E03	1.6E03	6.4E03
除菌率%	99.95	98.00	99.77	99.78	99.90	96.30
貯卵日数	6.5		8.5		12	
対熟孵化率%	94.9	94.3	94.1	91.8	95.7	86.0

汚物除去を行っていない小卵(<50g)504個ずつに弱酸性水噴霧処理(HOCl)及びホルマリン燻蒸処理(Form)を行ない6.5日~12日間貯卵して21日後の受精卵に対する孵化率を調べた。種卵コンテナー5段積み。

手掌と手指、指間に菌を接種後、無処理で採取した菌数と、手洗い後採取した菌数の除去比の対数を(図-3)に示します。水道水手洗いと弱酸性手洗いの比較では、弱酸性手洗いの方が除菌率にして 10^3 倍($p < 0.01$)除菌効果が高いことが判りました。

これまでに、ウイルスではCox, Inf, SFV, HSV, HIV, Echo, Adeno, En, HBVを短時間で不活性化する事が確かめられています。(3ほか)

② ホルマリン燻蒸に替わる新たな消毒資材としての活用

平成14年度岡山市オンリーワン企業育成支援事業(於 岡山大学自然生命科学研究支援センター・動物資源部門他)

種卵消毒などに使われてきたホルマリン燻蒸は、作業者の発ガンの危険性や刺激性が強く、また環境への配慮から廃棄燻蒸後の除去の必要性あり、有効な代替の消毒資材が求められています。刺激性が少なく変異原性がなく、さらに自然分解性の速やかな弱酸性水を噴霧する事でこの課題を解決しようと考えました。

弱酸性水の噴霧による消毒に際して次の課題や問題点がありました。

①ホルマリン燻蒸と同等の消毒効果が、弱酸性

水の噴霧で可能かどうか、またそれを実現するための噴霧濃度と作用時間、攪拌風速の設定。

②次亜塩素酸は常温常圧下では気体で存在できず、水和粒子で噴霧しないと効果がないこと。このため、トレイに積み上げた種卵の隅々にまで噴霧粒子がゆき渡るかどうか。さらに種卵のトレイを改良する必要があるかどうか。種卵の表面がぬれた状態になることが孵化に悪影響を与えないかどうか。

③現在廃棄処分とされる汚卵を弱酸性水で洗浄することで、有効活用する事ができないかどうか。

④作業者の安全性はどうか。

これらについて検討を行ないました。その結果

①次亜塩素酸の濃度×作用時間積は、 $4.6\text{mg}/\text{m}^3 \times 90\text{min}$ でホルマリン燻蒸 $11\text{g}/\text{m}^3 \times 20\text{min}$ と同等の除菌効果をあげることがわかり、攪拌風速は種卵への影響から約 $0.4\text{m}/\text{s}$ として良好な結果が得られたこと。

②噴霧粒子径は $3\mu\text{m}$ で、積み上げたトレイの上段、中段、下段で除菌効果に有意な差がなく、トレイに設置した種卵の隙間でも除菌ができること。

また、処理後の種卵表面がぬれた状態になっても、対熟孵化率からみて影響が認められなかったこと等が判ってきました。

ホルマリン燻蒸と弱酸性水噴霧の除菌率、対熟孵化率を(表-3)に示します。

③汚卵洗浄については、30ppm、38℃～40℃の弱酸性水で噴流洗浄した後、温風で乾燥させる方法で、通常処理の種卵と実用上遜色の無い孵化状態が得られました。

④については次項目に示します。

③ ラットにおける噴霧弱酸性次亜塩素酸水噴霧吸入の影響による血液一般及び生化学値に及ぼす影響について
 平成 14 年度岡山市オンリーワン企業育成支援事業(於 岡山大学自然生命科学研究支援センター・動物資源分野)

倉林 譲先生の御指導、御協力のもとに、弱酸性水の噴霧吸入試験をラットを用いて行なうことができました。3ヶ月間にわたって弱酸性水 13、27、53mg/h・m³、弱酸性水および水道水の噴霧下で飼育し、血液一般及び生化学値、体重変化、臨床所見を調べました。結果、対照群と3つの弱酸性

群で次亜塩素酸による影響といえる有意な差は認められず、体重変化、臨床所見とも異常は認められませんでした。(4) (図 4、5)

LC50 ; 1073mg/m³ * 4hrs : ラット経気道(5)に匹敵するホルマリン燻蒸(11g/m³*20min)に対して、この試験では、弱酸性水噴霧の種卵消毒(4.6mg/m³)の濃度で 2.8~11.5 倍、作用時間にして 1440 倍の環境下でラットに影響が認められなかったことは有意義で、弱酸性水噴霧はホルマリン燻蒸に比して格段に安全性が高いと言えます。

これらのことから、ホルマリン燻蒸に替わる消毒資材として弱酸性水の噴霧は除菌効果、対熟孵化率、作業者の安全性、環境への配慮の点から有望であると考えられます。

更に、ホルマリン燻蒸の従来の設備や工程を大きく改変することなく実施でき、ランニングコスト面ではホルマリンの 1/20、二酸化塩素の 1/110、過酢酸の 1/2100 ですみます。

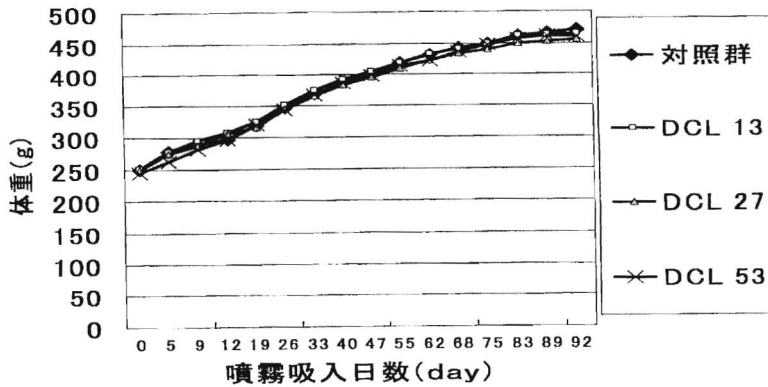


図-4 噴霧吸入日数と体重変化

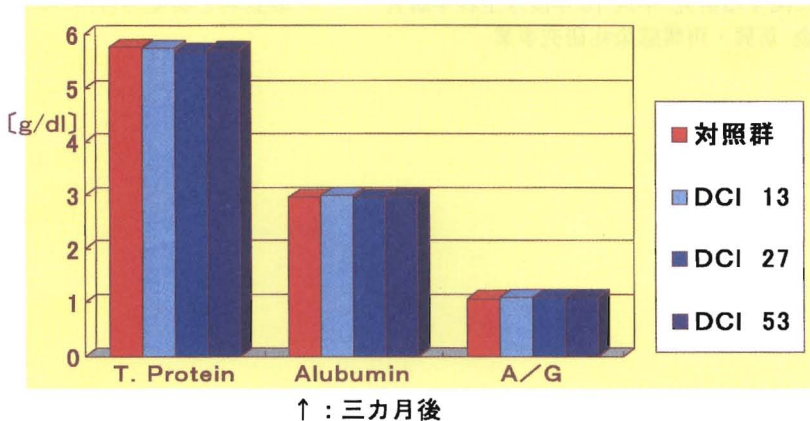


図-5 T. Protein, Albumin A/G に及ぼす影響
 DCI 13 は 13mg/h・m³ 噴霧吸入群を表します

④ 飼育汚物排水の消毒処理への応用について

汚物排水と次亜塩素酸ナトリウム及び塩酸を懸濁し長時間作用させて、消毒を行なったのちに中和処理を行なうことまでは、従来どおりの技術の延長で可能だったわけですが、その後固液分離を行なった後の固形分を、さらにバイオ処理して分解し、廃棄物をほとんど無くすることが可能なシステムを構築しました。この点が新しいことです。排出液も排水基準を満たすことができ、汚物排水処理で問題となる臭気について、汚物混液の攪拌を循環式のエアレーションで行なうことで臭気を外部に排出しない方式としたことなども工夫といえると思います。

汚物の種類によってシステムが若干異なるものと予想されますが、改良工夫をしていくことで、様々なものが実用化できると考えています。

弱酸性水にはまだまだ開拓されていない活用分野が多くあります。

実験動物施設での諸経費の削減に役立てられれば幸いです。

謝辞

発表のお世話を頂きました佐藤勝紀先生、国枝哲夫先生および関係者の方々、弱酸性水の殺菌効果の研究を御指導頂きました岡山大学医学部附属病院中央検査部 草野展周先生、小出典男先生、さらに施設内衛生管理・排水処理の御指導および設置導入して頂きました滋賀医科大学動物生命科学センター 鳥居隆三先生に、心より感謝いたします。

参考文献

- (1) 堀田国元：我が国における施設内感染等のあり方に関する研究，平成10年度厚生科学研究補助金 新興・再興感染症研究事業

- (2) 丹保憲仁，小笠原紘一 共著：浄水の技術，技報堂出版，1985
- (3) 太刀川貴子，渡理英二，染谷健二，池田年純，荒明美奈子，藤巻わかえ，金井孝夫，内山竹彦，宮永嘉隆：各種病原微生物に対する弱酸性電解水の効果，環境感染，14，255-261，1999
- (4) 三宅真名，那須玄明，山下光治，倉林 謙：ラットにおける噴霧弱酸性次亜塩素酸水吸入による血液一般及び生化学値に及ぼす影響，実験動物と環境 11 (1)，42-47，2003
- (5) 上原陽一 監修：化学物質安全性データブック，化学物質安全情報研究会，1997
- (6) 鈴木芳英：弱酸性電解水噴霧による病室内消毒と臨床応用について，機能水シンポジウム，V，117-118，1998
- (7) 栗原朋子，山科尚子，大雲秀子，森下幸恵，岸田幸子，堀田美智恵，萬所美紀，後藤真寿美，正分明美，原田みゆき，島田節代，梶迫時子：弱酸性水の全館配管による活用状況—細菌学的効果の検証によるケアの確認，第29回広島県国保診療施設地域医療学会誌，249-251，2003
- (8) 下井昌勝，成田憲司，宮迫保江，松川真弓，木村祐次，内 久敏，落合真理子，浜口直樹：弱酸性水の洗浄効果の検討，日本臨床工学会，17，104-105，2002
- (9) 倉林 謙，朱宮正剛：実験動物の飼育環境，特に床敷について，実験動物と環境，10(2)，165-171，2002
- (10) Y. Kurabayashi, J. M. Tang, G. J. Yang, E. Q. Liu, Y. Yamaguchi, S. Yamada: Evaluations of River-eco charcoal on the blood routine and blood biochemical values in rats, 岡山実験動物研究会報，19，23-27，2002
- (11) 倉林 謙：床敷と実験動物のWell-being，実験動物と環境 9(1)，16-18，2001