

塩素系薬剤を用いた微生物対策

実大空間における超音波霧化による次亜塩素酸水と微酸性電解水の殺菌効果の検証

EXAMINATION OF THE ANTI-MICROBE MEASURE WITH THE
CHLORINE-BASED CHEMICALSEvaluation of sterilizing efficacy of ultrasonic fogging with hypochlorite or slightly acid
electrolyzed solutions in an actual large space

山口 一*, 伊澤康一**, 山田容子***, 川上梨沙***, 富岡一之***

*Makoto YAMAGUCHI, Koichi ISAWA, Yoko YAMADA,
Risa KAWAKAMI and Kazuyuki TOMIOKA*

Recently attention has been focused on countermeasures against microorganisms such as viruses and microbe, in connection with pandemics of new forms of influenza or SARS, and the occurrence of bioterrorism. Also, in pharmaceutical or food production facilities, a high standard of internal environment of the facility is required, including countermeasures against microorganisms. These countermeasures from the facility point of view include partitioning of work zones (zoning), and cleaning the air using HEPA filters. However, when workers/researchers are working within a facility, dispersion of dust or adhering microbe brought in from clothes, etc., cause pollution of the air. In this report, the sterilization performance of weak acid hypochlorous solution used as the chemical substance was verified. In addition, the sterilization performance in an actual space varied not only with the chemical substance used, but also with the condition of the room, the air conditioning system, the method of spraying, etc. Therefore, from the above sterilization performance tests using chemical substances, the raw data required for a computational fluid mechanics (CFD) model were derived. A method that enables the effect of the chemical substance to be predicted under various conditions was investigated, and the results are reported.

Keywords: *Microbe, Hypochlorite, Slightly acidic electrolyzed water, Sterilization, CFD, Indoor air quality*

微生物, 次亜塩素酸, 微酸性電解水, 殺菌, CFD, 室内空気質

1. はじめに

最近, 新型インフルエンザやSARSなどのパンデミックの発生やバイオテロに関し, ウイルスや真菌・細菌などの微生物対策が注目されている。また, 医薬品や食品の生産施設では, 微生物対策を含めた高い水準の施設内環境が求められている。

施設面からの微生物対策として, 作業区分の区画(ゾーニング)化やHEPAフィルターを用いた空気の清浄化などが一般的である¹⁾。しかし, 施設内で作業員が作業する場合は, 衣類や持込まれる機器などからの塵埃や付着菌の飛散が空気汚染の原因となる場合がある。そのため, 施設面のみ対策だけでは, 微生物の制御は不十分であり, 何らかの直接的な殺菌技術が必要となる。

空中浮遊菌や付着菌の殺菌には, 薬剤の空中噴霧が最も有効である。薬剤の選定にあたっては, 殺菌効果ばかりでなく, 人体への毒性や実際に使用する現場や環境への適用性を考慮する必要がある²⁾。従来, 医薬品工場の無菌製剤クリーンルームなどでは, ホルマリンガス

を用いた燻蒸処理が一般的であったが, 発癌性の問題から, 過酸化水素を用いた除染システムなどに置き換わってきた³⁾。我々は, 前報において, 過酸化水素による除染システムの効果をバイオリジカルクリーンルーム(以下, BCR)にて検証した^{4,5)}。しかし, 過酸化水素による除染は, 35% (w/w) と高濃度の溶液を使用するため, 病院や食品工場などの施設では, より汎用性の高い薬剤使用が望まれる。

次亜塩素酸ナトリウム(NaOCl)は, 広い殺菌スペクトルと速効性をもった殺菌剤であり, 食品工場をはじめ医療, 保健介護施設において長年使用されてきた^{6,7)}。しかし, アルカリ性のNaOCl水溶液は, 発癌性物質であるトリハロメタン類が副生することが知られていた^{8,9)}。一方, 近年では, 電気分解で製造する微酸性の次亜塩素酸水やNaOClと塩酸を水に希釈混合して製造する弱酸性のNaOCl水溶液が普及している¹⁰⁾。これらの弱酸性(pH5.0~6.5)の水溶液は, 主たる殺菌因子である非解離型HOClを高比率で含有している。解離型の次亜塩素酸イオン(CIO)を主成分とする次亜塩素酸ナトリウムと比較して, 微生物

* 清水建設(株)技術研究所 理博

** 福山大学工学部建築学科 工博

*** 清水建設(株)技術研究所

Institute of Technology, Shimizu Corporation, Ph. D.

Faculty of Engineering, Fukuyama University, Dr. Eng.

Institute of Technology, Shimizu Corporation

細胞膜への浸透性が高く、低濃度、短時間で殺菌が可能である¹⁰⁾。また、アルカリ性であるNaOCl水溶液と異なり、弱酸性域ではトリハロメタン類の生成量が抑えられることが報告されている^{11,12)}。

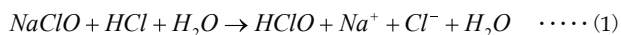
また、弱酸性のNaOCl水溶液を霧化し、空間に噴霧することで、細菌の殺菌やウイルスの不活化を効果的に実施した研究例が報告されている^{13,14)}。しかし、対象はクリーンベンチなどの小空間が主で、実大の室空間での薬剤効果の検証や薬剤効果を予測した研究は皆無であった。

室内空間における微生物対策の効果は、使用する薬剤や対象の微生物ばかりでなく、対象室の状況、空調条件や薬剤の散布条件などによって異なると考えられる。したがって本報では、代表的な条件で霧化試験を実施し、気流解析モデル (CFD) に必要なデータ (原単位) を導き出し、様々な条件下での薬剤効果を予測できる手法を検討したので報告する。

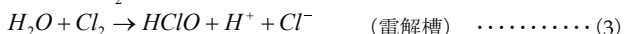
2. 実験材料ならびに実験方法

2.1 使用薬剤

今回使用した塩素系薬剤は、次亜塩素酸水と微酸性電解水を用いた。次亜塩素酸水は、次亜塩素酸ナトリウムを塩酸と水を混合し、所定の濃度に調整した弱酸性の液体である (pH5.5 ~ pH6.5)^{10,15)}。



微酸性電解水は、2 ~ 6% (W/W) の希塩酸 (pH0.5 ± 0.2) を無膜電解槽で電気分解することにより生成した (pH5.0 ~ pH6.5)^{10,16)}。電解槽の陽極側では電気分解で塩素イオン (Cl⁻) が酸化され塩素 (Cl₂) となり、電解槽内の水と反応し次亜塩素酸 (HClO) となる。同時に生成した水素イオン (H⁺) は陰極で水素ガス (H₂) となり空气中に放出され、塩素イオンは陽極側で再利用される (株式会社微酸性電解水研究所製、HOCL0.36t)。



試験前に、pHと残留塩素濃度をpH計 (サンテックス, TS-1) とクロラインメータ (バイオニクス機器㈱, RC-50T) で各々測定し、試験薬剤の安定性を確認した。

尚、実験で使用した薬剤濃度は、全てppmw (mg/L) を示す。

2.2 試験菌と培地

試験菌は、グラム陽性菌である黄色ブドウ球菌とグラム陰性菌の大腸菌を用いた (表1)。試験菌の選定には、外膜を有するグラム陰性菌と外膜のないグラム陽性菌では抗菌性の作用時間が異なることを考慮した¹⁷⁾。試験には、滅菌保証の基準とされているISO規格に準拠し¹⁸⁾、TSA (Tryptase Soy Agar ; Difco) で前培養した10⁶個の菌数を使用

表1 供試菌

試験菌	グラム染色	形状	芽胞形成	保存番号	使用培地
<i>Escherichia coli</i> (大腸菌)	陰性	桿菌	×	NBRC3301 ATCC4389	TSA培地
<i>Staphylococcus aureus</i> (黄色ブドウ球菌)	陽性	球菌	×	NBRC12732	TSA培地

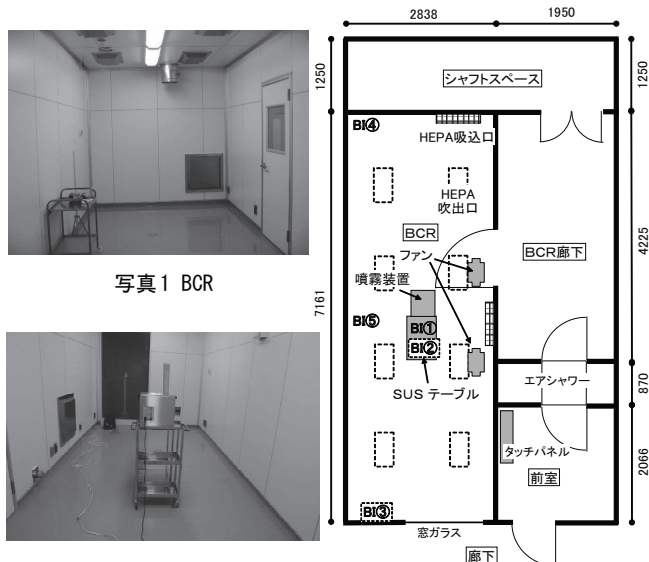


写真1 BCR

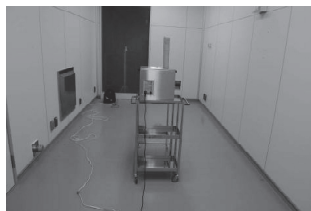


写真2 発生装置

図1 BCR平面図

した。

2.3 殺菌効果試験 (ラボ試験)

試験菌を10⁶CFU/100μlとなるように、0.1%ペプトン (Bacto peptone; Difco) 水に懸濁した。次に、試験薬剤の有効塩素濃度が所定濃度になるよう純水で希釈した。濃度調整した薬液5mlと上記の菌液100μlを混合し、所定時間処理した。本処理液1mlをSCDLP⁵⁾ (Soybean-casein digest broth with lecithin & polysorbate80 ; 栄研化学㈱) 8.1mlと3%チオ硫酸ナトリウム液0.9mlの混合液 (9ml) に添加して、塩素系薬剤の反応を停止させた¹⁰⁾。この薬剤停止後の菌液を、1ml毎に各2枚のシャーレ (φ=9cm) に添加し、50℃に保持しておいたTSA寒天培地20mlで混釈し、寒天が固化後、37℃にて48 ~ 72時間培養しコロニー数をカウントした。尚、上記の条件で、シャーレ内に増殖したコロニー数が多くカウントが困難な場合は、薬剤停止後の菌液を生理食塩水で適度に希釈して試験を行った。測定結果のコロニー数は、各々の測定の希釈条件を考慮し、カウントしたコロニー数に希釈率を除いた値とした。

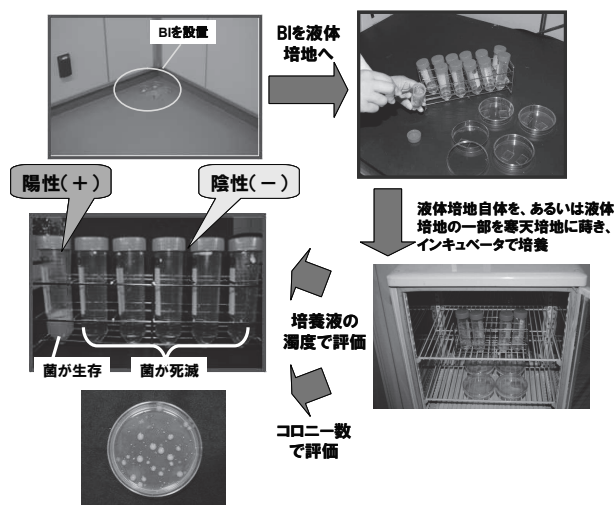


図2 BIの評価方法

2.4 実大試験

(1) 対象室

試験は、清水建設(株)技術研究所クリーンルーム実験棟BCR(バイオロジカルクリーンルーム)にて行った(写真1, 図1)。本BCRは、室容積約51m³(W2.7×D7.0×H2.7m)、乱流型でISOクラス6のクリーンルームである。

(2) 試験菌の調整

TSAで前培養し、リン酸緩衝液(PBS, pH6.8)で懸濁した約10⁶個の菌を、ホールガラス(φ=15mm)、ペーパーディスク(φ=10mm; ADVANTEC)、ガラス濾紙(φ=21mm; ADVANTEC)あるいは親水性ポリエステル布(20mm角; アムンゼン429)に滴下した(以下、BI; バイオインジケータと呼ぶ)注1)。

試験前にBIを、室容積約51m³のBCR(バイオロジカルクリーンルーム)内のテーブル上(BI①)、テーブル下(BI②)、窓側隅角部床(BI③)、壁側隅角部床(BI④)および壁面(BI⑤)注2)の5箇所に設置した(写真1, 図1)。

(3) 薬剤の噴霧条件と薬剤効果

表2 次亜塩素酸水の効果(黄色ブドウ球菌)

	5ppm	3ppm	2ppm	1ppm	0.5ppm	0.2ppm	0.1ppm	0.05ppm
3min	0	0	0	5.0×10 ²	1.2×10 ³	2.7×10 ⁵	2.8×10 ⁸	6.7×10 ⁸
5min	0	0	0	1.0×10 ²	6.9×10 ³	—	—	—
10min	0	0	0	2.8×10 ¹	2.5×10 ⁴	1.5×10 ⁶	5.9×10 ⁵	4.2×10 ⁸
15min	0	0	0	0	5.0×10 ¹	—	—	—
30min	0	0	0	0	0	5.5×10 ⁵	7.1×10 ⁵	3.4×10 ⁸
60min	0	0	0	0	0	6.1×10 ⁵	2.2×10 ⁵	2.6×10 ⁸
90min	0	0	0	0	0	8.2×10 ⁴	1.7×10 ⁵	2.1×10 ⁸
120min	0	0	0	0	0	6.3×10 ³	2.3×10 ⁵	4.7×10 ⁸
180min	0	0	0	0	0	2.0×10 ²	8.0×10 ²	2.0×10 ⁸

ppmはppmwを示す。—:欠測

表3 次亜塩素酸水の効果(大腸菌)

	5ppm	3ppm	2ppm	1ppm	0.5ppm	0.2ppm	0.1ppm	0.05ppm
3min	0	0	0	0	0	0	5.0×10 ¹	2.8×10 ⁸
5min	0	0	0	0	0	0	0	2.8×10 ⁸
10min	0	0	0	0	0	0	0	2.4×10 ⁸
15min	0	0	0	0	0	0	0	—
30min	0	0	0	0	0	0	0	1.5×10 ⁸
60min	0	0	0	0	0	0	0	—
90min	0	0	0	0	0	0	0	2.2×10 ⁴
120min	0	0	0	0	0	0	0	7.6×10 ⁵
180min	0	0	0	0	0	0	0	5.5×10 ⁴

ppmはppmwを示す。—:欠測

表4 微酸性電解水の効果(黄色ブドウ球菌)

	5ppm	3ppm	2ppm	1ppm	0.5ppm	0.2ppm	0.1ppm	0.05ppm
3min	0	2.5×10 ³	3.0×10 ⁴	1.2×10 ⁴	3.5×10 ⁴	5.1×10 ⁶	5.8×10 ⁸	6.4×10 ⁸
5min	0	0	0	6.5×10 ⁵	1.0×10 ⁵	—	—	—
10min	0	0	0	5.0×10 ¹	1.0×10 ²	3.2×10 ⁶	3.4×10 ⁶	4.2×10 ⁸
15min	0	0	0	0	9.7×10 ¹	—	—	—
30min	0	0	0	0	0	2.8×10 ⁵	1.4×10 ⁶	2.0×10 ⁸
60min	0	0	0	0	0	1.6×10 ⁶	8.9×10 ⁵	1.3×10 ⁸
90min	0	0	0	0	0	2.8×10 ⁶	4.1×10 ⁵	5.7×10 ⁸
120min	0	0	0	0	0	1.3×10 ⁶	4.3×10 ⁶	3.5×10 ⁸
180min	0	0	0	0	0	2.0×10 ⁴	3.1×10 ⁶	5.7×10 ⁸

ppmはppmwを示す。—:欠測

表5 微酸性電解水の効果(大腸菌)

	5ppm	3ppm	2ppm	1ppm	0.5ppm	0.2ppm	0.1ppm	0.05ppm
3min	0	0	0	0	0	0	3.5×10 ⁴	3.1×10 ⁸
5min	0	0	0	0	0	0	1.7×10 ³	2.7×10 ⁸
10min	0	0	0	0	0	0	1.5×10 ²	2.7×10 ⁸
15min	0	0	0	0	0	0	0	—
30min	0	0	0	0	0	0	0	2.5×10 ⁸
60min	0	0	0	0	0	0	0	—
90min	0	0	0	0	0	0	0	1.0×10 ⁸
120min	0	0	0	0	0	0	0	1.9×10 ⁸
180min	0	0	0	0	0	0	0	9.2×10 ³

ppmはppmwを示す。—:欠測

超音波噴霧装置1台(UD-2000HTi, 本多電子)をBCR中央に設置し(写真2, 図1)、所定の濃度で、BCR内に上記の2種類の薬剤を別々に、約1Lの容量で1時間噴霧し(0.2m³/min)、保持1.5時間、その後1時間で白金触媒による分解処理を行った(表6)注3)。その際、室内の床に設置した2台のエアファン(6.5m³/min)にて気中の薬剤を攪拌した。また、BI試験前のBCRの温湿度は、25℃でRH50%に調整した。

表6 BCR内での薬剤噴霧条件

	噴霧(1時間)	保持(1.5時間)	分解(1時間)
噴霧装置	ON	OFF	
攪拌用エアファン	ON		OFF
循環ダクトファン	OFF		ON

試験後、室内のBIを回収し、残存する薬剤の影響を除去するため、2.3節と同様に、チオ硫酸ナトリウム含有のSCDLP液体培地で薬剤の反応を停止後、遠心管で液体培養かTSA培地で培養した。

薬剤効果のBI判定は、培養後の液体培地が透明の場合は菌が死滅あるいは増殖せず(陰性;-)と判定し、液体培地が濁った場合は増殖菌あり(陽性;+)と判定した。寒天培地の場合は、2.3節と同様に生菌数(コロニー数; cfu)で評価した(図2)。

3. 結果と考察

3.1 殺菌効果試験(ラポ試験)

黄色ブドウ球菌と大腸菌に対する次亜塩素酸水と微酸性電解水の殺菌効果を、0.05ppmwから5ppmwの濃度で、3分から180分の処理時間で調査した。今回の試験条件では、黄色ブドウ球菌に対する次亜塩素酸水は、5から2ppmwまでは3分間浸潤させればコロニー数は0となり、高い殺菌効果が確認できた。1ppmw及び0.5ppmwでは、3分間浸潤ではコロニー数は0とならなかったが、薬剤浸潤前のコントロールの10⁶個と比較し明らかなコロニー数の低下が確認でき、前者は15分間、後者は30分間の浸潤でコロニー数が0となった。しかし、0.2ppmw及び0.1ppmwでは殆ど効果はなく、180分までの長時間浸潤でコロニー数の低下が認められた。0.05ppmwでは180分までの浸潤で効果は殆ど認められなかった(表2)。

大腸菌に対する次亜塩素酸水は、黄色ブドウ球菌と比較して明確に効果が高かった。5ppmwから0.2ppmwまでは、3分間浸潤させればコロニー数は0となった。0.1ppmwでも薬剤の効果が確認でき、3分間浸潤でも若干のコロニーが観察され、5分間浸潤ではコロニー数は0となった。しかし、0.05ppmwでは殆ど効果は確認できず、180分までの長時間浸潤で若干のコロニー数の低減は認められた(表3)。

黄色ブドウ球菌と大腸菌に対する微酸性電解水の殺菌効果は、黄色ブドウ球菌の3ppmw及び2ppmwでは3分間処理で、大腸菌では0.1ppmwで10分処理まで若干のコロニーを確認できたが、次亜塩素酸水と同等な結果を得ることができた(表4, 表5)。尚、今回の測定結果は、基本的にn=2の測定の平均値を示した注3)。

3.2 BCRにおける試験菌

の保持条件の検討

大腸菌などのグラム陰性菌は乾燥に弱く、ガラス平板上では乾燥1時間後で1/50以下に生菌数が減少することが報告

表7 BIの保持条件の検討

試験菌	試験条件	生菌数/ml	
		開始時	4時間後
大腸菌	Wet	1.9×10 ⁵	1.8×10 ⁵
	Dry	1.1×10 ⁶	2.7×10 ⁴
黄色ブドウ球菌	Wet	5.6×10 ⁵	3.5×10 ⁵
	Dry	1.8×10 ⁶	1.9×10 ⁶

表中のWetとはポリエステル布での浸潤状態、Dryとはスライドガラスでの乾燥状態での試験条件を示す。表中の値は、n=3の測定の平均値である。

されている¹⁹⁾。一方、黄色ブドウ球菌などのグラム陽性球菌は乾燥に強く、乾燥状態でも数週間生存できる。したがってBCRにおける試験に際し、供試菌の設置条件を

表8 BI素材の検討

試験菌	設置位置	生菌数/BI	
		開始時	4時間後
ペーパーディスク	テーブル上(BI①)対照	5.9×10^4	3.6×10^3
		5.9×10^4	9.4×10^4
ガラスろ紙	テーブル上(BI①)対照	9.1×10^4	20
		9.1×10^4	1.8×10^5
ポリエステル布	テーブル上(BI①)対照	2.1×10^5	<10
		2.1×10^5	5.2×10^5

確定する必要がある。無菌製剤クリーンルームなどの微生物対策(除染)では、バイオリジカルインジケータ(BI)として乾燥状態の芽胞菌(10^6 個)を用いることがISOで定義されているが¹⁸⁾、通常の室空間における場合は明確な基準はない。表7に示すように、ポリエステル布に浸潤させた試験菌とガラス製ホールスライドに分注した乾燥状態の供試菌の4時間後の生存率をBCR内に設置し調査した。黄色ブドウ球菌(グラム陽性菌)は、湿潤および乾燥状態でも生存が確認できた。しかし、大腸菌(グラム陰性菌)は、湿潤状態での生存に問題はないが、乾燥状態では 10^2 程度の菌数が減少し、乾燥状態での菌へのダメージが確認できた。したがって、実大試験では試験菌は湿潤状態で設置し、薬剤の効果を確認することとした。

3.3 BCRにおけるBI素材の検討

塩素系薬剤の中には、有機物に接すると急激に有効塩素濃度が低下し、薬効がなくなるケースが報告されている²⁰⁾。本報では、試験菌を浸潤させる担体に関し、BCRの実大試験で検討した。試験菌を浸潤させた各担体は、図1のBI①(テーブル上)に設置し、次亜塩素酸水(200ppmw)で2.4節の(2)(3)の条件で試験した。大腸菌での試験の一例を表7に示す。セルロースなど(有機物)を含有するペーパーディスクでは、薬剤の効果が低下するが、無機物であるガラス繊維やポリエステル布では、薬効に影響がないことを確認した(表8)。したがって、本試験では、担体として最もよい結果を示したポリエステル布を用いることとした。

3.4 薬剤の実大試験

BCRにて、次亜塩素酸水および微酸性電解水を、前者は200ppmw、100ppmw、50ppmw、25ppmw、12.5ppmwおよび5ppmwの6段階とし、後者は50ppmw、25ppmw、12.5ppmwおよび5ppmwの4段階の薬剤濃度に調整し、供試菌(BI)に対する薬剤効果試験を行った。本試験で実施した2種類の薬剤の噴霧条件を表9、10に示す^{注4)}。本試験3.5時間後、親水性ポリエステル布に浸潤させたBIの生存率を調査した。今回

表9 次亜塩素酸水の噴霧条件

	予定有効塩素濃度[ppmw]	実際の有効塩素濃度[ppmw]	薬液pH	薬液投入量[L]	薬剤投入量[mg]	薬剤投入速度[mg/h]
Case1	200.0	203.3	6.60	1.075	218.5	218.5
Case2	100.0	98.8	6.30	0.987	97.5	97.5
Case3	50.0	50.2	6.25	1.001	50.3	50.3
Case4	25.0	24.3	6.25	1.022	24.8	24.8
Case5	12.5	12.6	6.19	1.012	12.8	12.8
Case6	5.0	5.1	6.10	1.012	5.2	5.2

表10 微酸性電解水の噴霧条件

	予定有効塩素濃度[ppmw]	実際の有効塩素濃度[ppmw]	薬液pH	薬液投入量[L]	薬剤投入量[mg]	薬剤投入速度[mg/h]
Case7	50.0	43.3	5.94	0.999	43.3	43.3
Case8	25.0	24.9	5.97	1.021	25.4	25.4
Case9	12.5	12.5	5.96	1.068	13.4	13.4
Case10	5.0	5.0	5.90	0.965	4.8	4.8

は、前述のISOによる濁度判定だけでなく、コロニー数を測定した(2.3(1))。次亜塩素酸水の場合、黄色ブドウ球菌と大腸菌の両菌共に、200ppmw (Case1) から50ppmw (Case3) では、濁度判定「-」で、コロニー数も0個であり、菌の完全な増殖抑制効果を確認した。また、黄色ブドウ球菌で25ppmw (Case4) の場合は、濁度判定では全て「+」と明確な差は確認できなかったが、コロニー判定ではコントロールと比較し、出現したコロニー数は減少しており、完全ではないが若干の薬剤効果が確認できた。しかし、12.5ppmw (Case5) および5ppmw (Case6) では、濁度判定は全て「+」で、コロニー数はコントロールと同様に増殖し、薬剤の効果は確認できなかった(表11)。大腸菌では、200ppmw (Case1) から25ppmw (Case4) まで完全に薬剤効果が認められ、12.5ppmw (Case5) では黄色ブドウ球菌の25ppmwの場合と同様に、若干の抑制効果が確認でき、5ppmw (Case6) で薬剤効果は確認できなかった(表11)。微酸性電解水の場合、黄色ブドウ球菌は50ppmw (Case3) ではコロニー数は0となったが、25ppmw (Case8) では次亜塩素酸水と比較し、BI①とBI⑤で若干のコロニー数が確認され濁度判定「+/-」で、次亜塩素酸水より若干高い効果が確認された。しかし、大腸菌の場合は、次亜塩素酸水と同様な結果となった(表12)。こ

表11 次亜塩素酸水の噴霧効果

菌種	噴霧条件	コロニー数判定						濁り(目視)判定						
		BI①	BI②	BI③	BI④	BI⑤	コントロール	BI①	BI②	BI③	BI④	BI⑤	コントロール	
		テーブル上	テーブル下	窓床	壁床	壁		テーブル上	テーブル下	窓床	壁床	壁		
黄色ブドウ球菌	Case1	0	0	0	0	0	7.4×10^6	-	-	-	-	-	-	+
	Case2	0	0	0	0	0	7.4×10^6	-	-	-	-	-	-	+
	Case3	0	0	0	0	0	7.0×10^6	-	-	-	-	-	-	+
	Case4	1.3×10^3	4.0×10^3	9.2×10^2	7.0×10^2	4.4×10^2	8.7×10^5	+	+	+	+	+	+	+
	Case5	6.7×10^5	6.0×10^5	6.1×10^5	5.3×10^5	5.8×10^5	7.3×10^6	+	+	+	+	+	+	+
	Case6	4.2×10^5	3.5×10^5	4.8×10^5	6.0×10^6	3.4×10^6	7.5×10^6	+	+	+	+	+	+	+
大腸菌	Case1	0	0	0	0	0	9.8×10^6	-	-	-	-	-	-	+
	Case2	0	0	0	0	0	8.2×10^6	-	-	-	-	-	-	+
	Case3	0	0	0	0	0	8.7×10^6	-	-	-	-	-	-	+
	Case4	0	0	0	0	0	1.0×10^7	-	-	-	-	-	-	+
	Case5	1.1×10^4	1.8×10^4	5.6×10^3	6.6×10^3	1.7×10^4	1.0×10^7	+	+	+	+	+	+	+
	Case6	8.3×10^6	6.0×10^6	5.1×10^6	8.6×10^6	7.8×10^6	7.0×10^6	+	+	+	+	+	+	+

表12 微酸性電解水の噴霧効果

菌種	噴霧条件	コロニー数判定						濁り(目視)判定						
		BI①	BI②	BI③	BI④	BI⑤	コントロール	BI①	BI②	BI③	BI④	BI⑤	コントロール	
		テーブル上	テーブル下	窓床	壁床	壁		テーブル上	テーブル下	窓床	壁床	壁		
黄色ブドウ球菌	Case7	0	0	0	0	0	8.3×10^6	-	-	-	-	-	-	+
	Case8	3.0×10^1	0	0	0	1.0×10^1	9.2×10^6	+/-	-	-	-	-	+/-	+
	Case9	1.4×10^5	1.2×10^5	4.5×10^3	6.6×10^3	1.0×10^3	8.1×10^6	+	+	+	+	+	+	+
	Case10	7.8×10^6	6.1×10^6	7.4×10^6	6.6×10^6	8.4×10^6	7.8×10^6	+	+	+	+	+	+	+
大腸菌	Case7	0	0	0	0	0	7.0×10^6	-	-	-	-	-	-	+
	Case8	0	0	0	0	0	7.6×10^6	-	-	-	-	-	-	+
	Case9	1.4×10^5	1.6×10^5	3.5×10^4	9.9×10^4	1.8×10^3	7.8×10^6	+	+	+	+	+	+	+
	Case10	8.5×10^6	7.8×10^6	9.5×10^6	8.9×10^6	9.1×10^6	1.2×10^7	+	+	+	+	+	+	+

のように次亜塩素酸水および微酸性電解水共に、有効塩素が同じ濃度であれば、ほぼ同じ薬剤効果を示すと考えられる。尚、今回の測定結果は、3.1節と同様に、基本的にn=2の測定の平均値を示した^{注3)}。

今回の次亜塩素酸水および微酸性電解水の噴霧処理では、黄色ブドウ球菌では50ppmw、大腸菌では25ppmwで、菌の増殖を完全に抑制することが判明した。また、ISOが実施している濁度判定のみでなく¹⁸⁾、コロニー判定を実施することにより、より正確に薬剤効果を把握することができると考えられる。

表13 CFD解析条件

計算コード	ソフトウェア—Flow Designer 12 (カスタマイズ版)		
計算アルゴリズム(解法)	改良SIMPLE-C法		
メッシュ分割	約100万		
乱流モデル	高レイノルズ数型k-εモデル		
差分スキーム	二次精度風上差分(Quick)		
流入条件	噴霧装置吹出口	風速	1.66667 m/s
		断面積	0.0025 m ²
	薬剤物性値	密度	3.214 g/L
		拡散係数	0.124 cm ² /s
	BCR空調吹出口	薬剤投入速度	各試験の実測値 g/h
		風量	「噴霧」時 0 「分解」時 18.28 m ³ /min
	攪拌用エアファン吹出口	風速	左 4.04 右 3.73 m/s
		面積	0.0648 m ²
	噴霧装置吹出口	風速	0.651042 m/s
		断面積	0.0064 m ²
BCR空調吹出口	風量	「噴霧」時 0 「分解」時 18.28 m ³ /min	
	風速	左 4.04 右 3.73 m/s	
攪拌用エアファン吹出口	風速	左 4.04 右 3.73 m/s	
	面積	0.0648 m ²	
壁面条件		風速:一般化対数則	

*塩素分子の物性値(0°C, 1atm)

3.5 薬剤拡散のCFD解析

(1) 解析条件

今回のBCRにおける薬剤噴霧実験(3.4節)のCFD解析には、流体解析ソフトウェアのFlowDesignerを使用した^{21, 22)}。乱流モデルには、高レイノルズ数型k-εモデルを用い、壁表面の境界条件には、一般化対数則を用いた^{注5)}。表13にCFD解析条件を示す。初期の温湿度は、25°C、50%RHとした。一つの粒子が噴霧されて蒸散するまでの時間は短いため、今回の実験で噴霧した粒径3μm^{注6)}は、噴霧直後にガス化し、反応熱は無視できると仮定した^{注7)}。噴霧装置の吹出口と吸込口の風速、BCR空調吹出口および吸込口の風量、および室内空気攪拌用のエアファンの風速は、BCRでの実測値を与えた。薬剤投入速度は、次亜塩素酸水での実測値を用いた(表9)。また、噴霧条件は、「2.4(3)薬剤の噴霧条件と薬剤効果」に記載した通り、所定濃度の薬液を1時間で1L噴霧とし、3.1から3.4節までの実験では、全て有効塩素濃度(ppmw)による殺菌効果として検証したので、本解析では噴霧した薬剤の物性は塩素分子(Cl₂)とした(表13)²³⁾。FlowDesignerでの気中の薬剤(塩素)濃度の解析結果は、実験時のppmwと異なりppmv表示となる。

(2) 室内薬剤濃度と各BIのCT値

図3に、BCR内の濃度分布の一例として、有効塩素濃度200ppmw時の薬剤噴霧20分後の結果を示す。中心から向かって、噴霧装置と反対側で若干の濃度ムラが観察されたが、室内の殆どの濃度は0.2から0.25ppmw^{注8)}となり、噴霧終了時にはBCR内で粗一様拡散した結果と

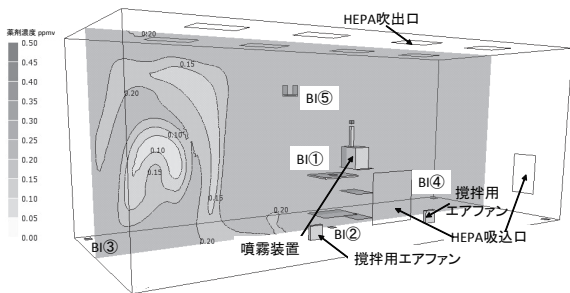


図3 BCR内の薬剤濃度分布図(噴霧20分後)

なった。次に、菌に対する薬剤の抑制指標として用いられてきたChick-Watsonの法則を基に、薬剤噴霧から分解までの各経過時間(表6)でのCT値(濃度の時間積分値)²⁴⁾について、BI①からBI⑤

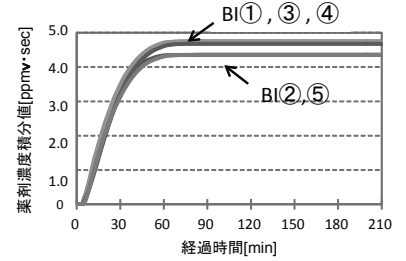


図4 各BIのCT値(ppmv·s/B)

の値を求めた。この場合、表11と表12で試験した親水性ポリエステル布(20mm角)のBI上での値(ppmv·sec/B)とした(2.4節(2), 3.4節)。図4に、次亜塩素酸水で、黄色ブドウ球菌に

果があった最低濃度50ppmw(表8, Case3)の結果を示す。「噴霧」時から1時間後の噴霧終了時までCT値(あるいは、気中濃度)は上昇したが、「保持」時の1.5時間(噴霧開始時から2.5時間)の間でCT値の上昇は停止し、「分解」終了

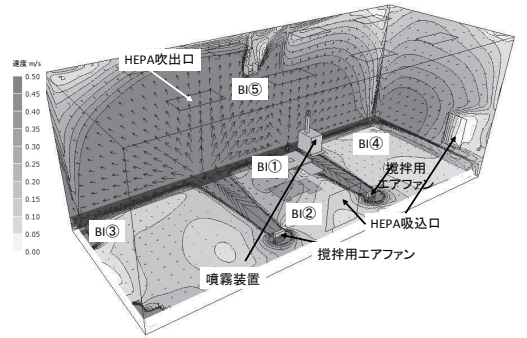


図5 スカラー分布図(噴霧100分後)

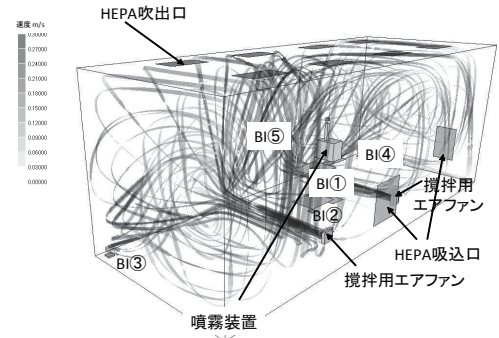


図6 BCR内気流の流線(噴霧100分後)

後の3.5時間後までCT値は一定値を示した。この現象は、「保持」時に気中のガス化した薬剤が全て室内床面に吸着したと考えられる^{注9)}。また、他のCaseにおいてもCase3と同様に、室内薬剤濃度の上昇と減衰による経時変化を確認した。

今回のCFD解析では、BI①③④に比べ、BI②⑤のCT値は若干低値となった。この結果は、噴霧装置、室内攪拌用ファンおよび各BIの配置と気流の影響が

表14 各Caseの各BIのCT値

噴霧条件	(ppmv·s/B)				
	BI① テーブル上	BI② テーブル下	BI③ 窓床	BI④ 壁床	BI⑤ 壁
Case1	19.4	17.7	19.4	19.0	17.7
Case2	9.4	8.6	9.4	9.2	8.6
Case3	4.8	4.4	4.8	4.7	4.4
Case4	2.3	2.1	2.3	2.3	2.1
Case5	1.2	1.1	1.2	1.2	1.1
Case6	0.5	0.4	0.5	0.5	0.4

噴霧条件	(ppmw·s/B)				
	BI① テーブル上	BI② テーブル下	BI③ 窓床	BI④ 壁床	BI⑤ 壁
Case1	62.2	57.0	62.2	61.2	57.0
Case2	30.2	27.7	30.2	29.7	27.7
Case3	15.4	14.1	15.4	15.1	14.1
Case4	7.4	6.8	7.4	7.3	6.8
Case5	3.9	3.5	3.9	3.8	3.5
Case6	1.6	1.4	1.6	1.5	1.4

考えられる(図1)。噴霧装置より噴霧された薬剤は、床面に設置した2台の攪拌用エアファンにより、床面から壁面、天井面へと風速3~4m/sの強い軸流によって室内に拡散され、最終的に室内濃度は粗均一となる(図3, 5, 6)。噴霧装置の近傍に位置したBI②がBI④より低値であったのは、SUSテーブル天板による気流阻害の可能性が高いと考えられる。また、噴霧装置の近傍に位置するBI⑤もBI①③④より低値であったのは、BI⑤を設置するための棚^{注2)}による影響の可能性が高いと考えられる。

BI①からBI⑤のCT値について、BIが死滅(あるいは菌の増殖を100%抑制)する必要最低値(以下、殺菌最低値という)を、表11, 12の結果を基に検討した。次亜塩素酸水と微酸性電解水では、結果は若干異なっていたが、次亜塩素酸水および微酸性電解水共に、黄色ブドウ球菌では50ppmw、大腸菌では25ppmwであると考え、次亜塩素酸水の結果から殺菌最低値を求めた^{注10)}。表14の上表に、FlowDesignerで求めた薬剤噴霧、保持から分解後3.5時間でのCase1からCase6(表8)のBI①からBI⑤におけるCT値(ppmv・s)を示した。下表には、上表の値に塩素分子の密度を乗じたCT値(ppmw・s)を示した。

黄色ブドウ球菌では、殺菌最低値は、50 ppmw (Case3) の中で、最も低い14.1ppmw・s (Case3 BI②⑤) と考えられる。更に、Case4ではコントロールと比較し、増殖抑制が確認される(コロニー数が 10^2 から 10^3 オーダー)ことから、6.8ppmw・s (Case4 BI②⑤) から7.4ppmw・s間が殺菌成否の閾値と推論できる。一方、大腸菌のBIの場合では、殺菌最低値は6.8ppmw・s (Case4 BI②⑤) となり、Case5ではコントロールと比較し、増殖抑制が若干確認される(コロニー数が 10^3 から 10^4 オーダー)ことから、3.5ppmw・s (Case5 BI②⑤) から3.9ppmw・s間が殺菌成否の閾値と考えられる^{注11)}。

4. 結論

- 1) 本報では、2種類の塩素系薬剤の効果を、グラム陽性菌である黄色ブドウ球菌とグラム陰性菌である大腸菌を用いて実証試験により検討した。
- 2) 液体培地による濁度判定よりも寒天培地によるコロニー数判定の方がより正確に薬効を把握することができる。判定法の特性を把握し、目的に応じた効果的な活用を行うことが重要である。
- 3) 供試菌内の有機化学物質により、塩素系薬剤の効果低減の可能性が示された。
- 4) 本報の試験条件では、塩素系薬剤において、有効塩素が同じ濃度であれば(微生物に影響を与える不純物が含有している場合)、同じ薬剤効果を示す可能性が高いと考えられた。
- 5) CFD解析を活用して算出したBIへのCT値を指標とする殺菌性能評価法を検討した。本論文で検討した条件では、黄色ブドウ球菌で殺菌最低値は14.1ppmw・s、大腸菌で殺菌最低値は6.8ppmw・sと試算した。

5. 課題

微生物は、生息する環境条件によって、その増殖度や形態が大きく変化する場合があり、試験条件によって結果が異なるケースも考えられる。ラボ試験ばかりでなく、実際の建物を想定した実大試験を行うことが重要である。より精度の高い微生物対策の予測技術を確立するため、実大試験によるコロニー数の判定結果を基に、対象とする薬剤の種類を

増やし、薬剤効果の共通項と特異性を明らかにしたい。

今回のCFD解析は、高レイノルズ数型 $k-\epsilon$ モデルを用いたが、壁面の境界条件には、一般化対数側を使用し^{注5)}、壁面の付着率を完全沈着^{注7)}とするなど精度に課題は残る。したがって、図4と表14に示す各CASEにおけるBIのCT値は、本報での解析条件の結果であることを特記しておきたい。しかし本論文は、実空間であるBCRでの薬剤噴霧の効果の詳細に測定・分析し、CFD解析によってBCRでの実験結果を考察した点に独自性があると考え。今後はBI近傍の薬剤濃度をより精度高く解析するなど、精度を向上させ、微生物対策予測技術の実用化を検討していきたい。

謝辞

今回の試験を支援していただいた荒木久哉氏、CFD解析についてご助言をいただいた(株)アドバンスドナレッジ研究所の池島薫氏に対し、謝意を表します。

参考文献

- 1) (社)日本空気清浄協会:コンタミネーションコントロール便覧,(株)オーム社, 1996
- 2) Russell,A.D., Hugo,W.B. and Ayliffe,G.A.J.:Disinfection, preveation and sterilization, 3rd ed., Blackwell Science, Osney Mead, Oxford, United Kingdom, 1999
- 3) 新谷英晴:バイオロジカルクリーンルームで使用される滅菌剤の現状と将来, 空気清浄, 第45巻, 第6号, pp.4-16, 2008
- 4) 松岡宏:医薬品製造施設のホルムアルデヒドガス燻蒸殺菌と最近の室内無菌化手法の傾向, 空気清浄, 第45巻, 第6号, pp.23-30, 2008
- 5) 伊藤康一, 田中昭司, 山口一, 渋谷勝利, 小野正, 松尾隆士:クリーンルーム空調組込み型過酸化水素上記滅菌システム, 防菌防黴, 第37巻, 第11号, pp.795-802, 2009
- 6) Parish,M.E., Beuchat,L.R., Suslow, T.V., Harris, L.J., Garrett, E.H., Farber, J.N. and Busta, F.F.:Methods to reduce/eliminate pathogens from fresh and fresh-cut produce, Comp. Rev. Food Sci. Food Safety, 2(Supplement), pp.161-173, 2003
- 7) Douglas,L. Mayers:Antimicrobial Drug Resistance, Clinical and epidemiological aspects, Vol.2, Humana Press, 2009
- 8) Kubota, H., Sato, K., Sasaki, N., Kawamura, Y., Ozaki, Y. and Akiyama, H.:Formation of volatile halogenated compounds in fresh-cut cabbage treated with sodium hypochlorite, Jpn. J. Food Chem. Safty., Vol.19, No.2, pp.95-103, 2012 Humana Press, 2009
- 9) 阿知波信夫, 片寄雅彦, 阿部一博:強酸性電解水によるカットキャベツの品質保持と殺菌効果,食品保蔵科学, 第29巻, 第6号, pp.341-346, 2003
- 10) 福崎智司:次亜塩素酸ナトリウムの洗浄特性と有効利用, 防菌防黴, 第40巻, 第12号, pp.787-795, 2012
- 11) 梶野勝司:塩素処理過程におけるトリハロメタン中間体の生成とトリハロメタン生成に及ぼす影響, 水道協会誌, 第51巻, 第7号, pp.33-39, 1982
- 12) 土井豊彦:弱酸性電解水の特性と食品産業での利用, 防菌防黴, 第29巻, 第6号, pp.379-388, 2001
- 13) 福崎智司, 中山幹男, 浦野博水:pH調整次亜塩素酸ナトリウム水溶液の超音波霧化による固定表面上のA型インフルエンザウイルスの不活化,防菌防黴, 第41巻, 第1号, pp.11-17, 2013
- 14) 浦野博水, 福崎智司:室内空間における霧化次亜塩素酸ナトリウム水溶液の遊離有効塩素量の測定,防菌防黴, 第41巻, 第8号, pp.415-419, 2013
- 15) 福崎智司:次亜塩素酸を基盤とする洗浄・殺菌の理論と実践, New Food Industry, 第47巻, 第6号, pp.9-22, 2005
- 16) 岡本公彰, 駒形安子, 奥田舜治, 西本右子, 鴨志田真弓, 中村梯一, 小宮山寛機:微酸性電界水の抗微生物効果, 防菌防黴, 第34巻, 第1号, pp.3-10, 2006
- 17) JIS R 1702:ファイナセラミックス, 光照射下での光触媒抗菌加工製品の抗菌性試験方法・抗菌効果, 2006
- 18) ISO 11138-1, Sterilization of health care products,Biological indicators , Part 1:General requirement,2006
- 19) 加藤延夫編:医系微生物学 (第2版), 朝倉書店, 1996

- 20) 佐藤久聡, 前原信敏, 井川房欣, 佐藤洋介, 阿知波信夫, 松井英則, 小宮山寛機: 厨房内の消毒における電解水の有用性, 日本化学療法学会雑誌, 第48巻, 第10号, pp.768-774, 2000
- 21) アドバンスドナレッジ研究所, <http://www.akl.co.jp/>, 2015現在
- 22) 中川修一, 桃瀬一成, 池島薫: ノンパラメトリック感度解析を用いた産業車両におけるエンジンルームの熱管理手法, 日本機械学会論文集(B編), 第79巻, 第805号, 2013
- 23) 藤田重文: 気相中の拡散係数に対する諸家の式の比較, 化学工学, 第28号, 第3号, pp.251-254, 1964
- 24) 福崎智司: 次亜塩素酸ナトリウムを用いた洗浄・殺菌操作の理論と実際, 調理食品と技術, 第16巻, 第1号, pp.1-14, 2010
- 25) B.E.Launder and D.B.Spalding: The Numerical computation of turbulent flows, Comp.Meth.Appl.Mech.Eng., Vol.3, pp269-289, 1974
- 26) B.E.Launder and D.B.Spalding, Mathematical Models of Turbulence, Academic Press.(1972)
- 27) 日本産業衛生学会: 許容濃度等の勧告(2014年度), 産業衛生学雑誌, 第56巻, pp.163-188, 2014

注

- 注1) 本報では、浮遊菌でなく付着菌を対象に試験を実施した。
- 注2) BI⑤は、壁面に設置するため、棚板の面積が100mm×200mm、両端に2辺が100mmの側板がついた台上に載せた。この台は、床面から1,900mmで、台の中央が窓ガラス面から3,300mmの位置にある。
- 注3) 薬剤処理後にコロニー数が確認された場合は、n=2の試験を実施した。但し、コロニー数が0の場合は、最も処理条件が厳しい場合のみn=2の試験を実施し、それ以降の場合は1回の試験に留めた。たとえば表2では、0.5ppmwの場合、30分処理ではn=2の試験を実施したが、60分処理以降は1回のみ試験した。
- 注4) 今回使用した装置(2.1節)で生成できる微酸性電解水の最高濃度は、43.3ppmwであった。
- 注5) 今回の解析では高Re数型のk-εモデルを用いたため、吸着評価に対しても乱流拡散を見積もるためには、壁面第一セルを対数領域に設定する必要がある。今回は、Reaction Probabilityの評価ポイントとして、この第一セルを参照点としたが、この参照点の妥当性の検証は課題である。今後は、壁面近傍のメッシュを細かく切るなど、粘性低層における物質伝達率を精度良く解析していきたい。
- 注6) 噴霧粒子の測定には、エアロゾルスペクトロメーター(Welas digital 2000, 東京ダイレック㈱)を使用した。
- 注7) FlowDesignerに新たに下式を組み込むことで、薬剤沈着機能を有したカスタマイズ版とした。壁面近傍速度(薬剤沈着速度)には、解析により求められた壁面第一メッシュにおける垂直成分速度を適用した^{25,26)}。今回の解析では、BCRの天井面と壁4面の付着は考慮せず、床面のみ付着確率を1と仮定した。尚、FlowDesignerでは、気中薬剤濃度を体積分率(ppmv)として定義していることから、薬剤沈着フラックスを求める下式では、薬剤密度を乗じて求めている。
- [薬剤沈着フラックス($\mu\text{g}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$)]

$$= [\text{付着確率}] \times [\text{壁面第一メッシュの気中薬剤濃度}(\mu\text{g}/\text{m}^3)] \times [\text{壁面第一メッシュの気流速度的下向きZ成分}(\text{m}/\text{s})]$$
- 注8) 気中の次亜塩素酸水や微酸性電解水の許容濃度の参考基準として、日本産業衛生学会が気中塩素濃度を0.5ppmvと定めている。この濃度は、労働者が1日8時間、週間40時間程度の通常労働時に、健康上悪影響がないと判断された濃度である。今回の全ての実験で検討した塩素濃度は、この許容濃度未満であったが、実際の現場で使用する場合は、人のいない状態での殺菌作業が望ましいと考える²⁷⁾。
- 注9) 今回のCFD解析では、床面のみ付着率1で計算したが、塩素ガスの定性モニタリング(本体Polytron7000, 電気化学センサーCl₂, Drager社)ではあるが、保持時に室内ガス濃度の同様な低下を確認した。
- 注10) 今回試験に用いた黄色ブドウ球菌や大腸菌などの細菌は指数関数的に増殖し、薬剤処理濃度(CT値)に対する殺菌効果は線型の関係になく、各々の薬剤処理濃度(CT値)域内で、出現するコロニー数は若干増減すると考えられる。
- 注11) 必要があれば、室内に散布する薬液濃度条件を詳細化することによって、より精度の高い殺菌最低値や殺菌成否の閾値を見出せる余地があると考えられる。

EXAMINATION OF THE ANTI-MICROBE MEASURE WITH THE CHLORINE-BASED CHEMICALS

Evaluation of sterilizing efficacy of ultrasonic fogging with hypochlorite or slightly acid
electrolzed solutions in an actual large space

Makoto YAMAGUCHI^{*}, *Koichi ISAWA*^{**}, *Yoko YAMADA*^{***},
Risa KAWAKAMI^{***} and *Kazuyuki TOMIOKA*^{***}

^{*} Institute of Technology, Shimizu Corporation, Ph. D.

^{**} Faculty of Engineering, Fukuyama University, Dr. Eng.

^{***} Institute of Technology, Shimizu Corporation

Recently attention has been focused on countermeasures against microorganisms such as viruses and microbe, in connection with pandemics of new forms of influenza or SARS, and the occurrence of bioterrorism. Also, in pharmaceutical or food production facilities, a high standard of internal environment of the facility is required, including countermeasures against microorganisms. These countermeasures from the facility point of view include partitioning of work zones (zoning), and cleaning the air using HEPA filters. However, when workers/researchers are working within a facility, dispersion of dust or adhering microbe brought in from clothes, etc., cause pollution of the air. In this report, the sterilization performance of weak acid hypochlorous solution used as the chemical substance was verified. In addition, the sterilization performance in an actual space varied not only with the chemical substance used, but also with the condition of the room, the air conditioning system, the method of spraying, etc. Therefore, from the above sterilization performance tests using chemical substances, the raw data required for a computational fluid mechanics (CFD) model were derived. A method that enables the effect of the chemical substance to be predicted under various conditions was investigated, and the results are reported.

- 1) This paper describes an experimental investigation into the effect of 2 types of chlorine chemicals using the gram-positive bacteria *Staphylococcus aureus* and the gram-negative bacteria *Escherichia coli*.
- 2) The effect could be more accurately determined from the number of colonies in an agar medium than from the degree of turbidity of a liquid medium. It is important to determine the characteristics of the method of determination, and to effectively utilize them in accordance with the objectives.
- 3) It is shown that the effect of the chlorine chemicals could be reduced by organic chemical substances in the bacteria tested.
- 4) It is considered that under the conditions of the tests described in this paper, provided the concentration of the effective chlorine in the chlorine chemicals is the same, there is a high possibility that the same effect will be obtained.
- 5) A method of evaluating the sterilization performance by CFD analysis using the CT value as an index was investigated. The preliminary value of minimum sterilization value for *Staphylococcus aureus* was 14.1 ppmw.s, and for *Escherichia coli* was 6.8 ppmw.s.

The rate and form of growth of microbes varies greatly depending on the environmental breeding conditions, so it is considered that in some cases the results will vary depending on the experimental conditions. It is important to carry out not just laboratory tests, but also full scale tests postulating an actual building. Based on these results the practical application of CFD analysis to technologies for predicting measures against microbes can be investigated.

(2015年1月7日原稿受理, 2015年7月16日採用決定)