

次亜塩素酸水溶液による環境消毒について

Environmental Disinfection by Hypochlorous Acid Solution

山下 光治・濱本 裕司・安田 悠人・小野 朋子
Koji Yamashita, Yuji Hamamoto, Yuto Yasuda, Tomoko Ono

株式会社 エイチ・エス・ピー
HSP Corporation

Summary

Weak Acid Hypochlorous Solution (WAHS) has been used for disinfection of foods (meats, vegetables etc.), and for environmental disinfection in the Retirement homes, Hospitals and Laboratory Animal facilities. We will introduce here some of environmental disinfection tests. 1) To study whether WAHS is available or not for blood blot inoculated by *Acinetobacter baumannii* on the plate comparing with Sodium Hypochlorite. 2) Comparison of Ethanol and WAHS on the floor and handrail. 3) To study efficacy of shallowly dipping by WAHS on wagon caster inoculated by *Staphylococcus aureus*.

The results are: 1) It was observed that WAHS had an efficacy equal to Hypochlorite with lower concentration in the blood test, but in case that the adhesion amount of blood was larger, much higher concentration or adding physical removal was needed. 2) Ethanol and WAHS had Equivalent efficacy on the test of floor and handrail. 3) It was suggested that shallowly dipping by WAHS was available for disinfection of wagon caster. We hope to proceed to confirm how to use WAHS for environmental disinfection.

1. はじめに

近年、動物実験施設では遺伝子改変マウス、ノックアウトマウスなどの取り扱いがふえ、ますます高度な衛生管理が求められてきています。病原性の少ない環境中の日和見感染菌への減菌対策も含めて考慮が必要となってきました。

本稿では環境消毒に広く使われてきている次亜塩素酸水溶液についての概要を俯瞰し、使用上の留意点を導く目的で、具体的な環境消毒場面での消毒効果を消毒用エタノール、次亜塩素酸ナトリウム、水拭きと比較したので報告します。

2. 弱酸性次亜塩素酸水溶液の概要

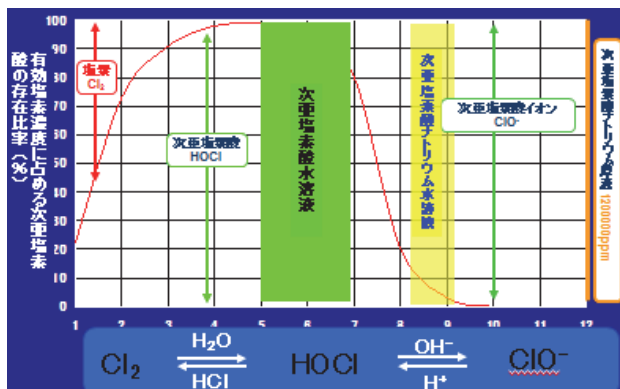
1) 弱酸性次亜塩素酸水溶液とは

次亜塩素酸ナトリウムと塩酸を水道水または精製水で希釈混合した水溶液で、用途によって有効塩素濃度を 1.4ppm (マウス、ラット飲水用) ~ 1200ppm (汚物処理用)、pH を 7.5 (大根おろし殺菌用) ~ 6.5 (一般使用) に調整したものです。環境消毒では通常、50~80ppm、pH6.0-6.5 の間で用いられています。

2) 次亜塩素酸ナトリウム水溶液との違い

水溶液中で塩素種の分子形状が pH によって、塩素ガス (Cl_2)、非解離の次亜塩素酸 (HClO)、次亜塩素酸イオン (ClO^-) の形態をとりそれらの存在比率が変わることが知られています¹⁾(図1)。これらのうち電荷をもたない非解離の次亜塩素酸分子は、細菌表面のマイナスの電荷に妨げられることなく細胞壁を透過する点が大きな違いです²⁾。このため化学物質に抵抗性を持つ炭疽菌などの細菌芽胞³⁾、パルボウイルスやアデノウイルスなどのエンベロープを持たないウイルスに有効なこと⁴⁾、さらに次亜塩素酸イオンよりも殺菌

に係る濃度時間積が 80 倍程度小さくなります¹⁾。実用上は混在する有機物の影響で失活するため 4 ~ 8 倍の値となりますが、その分、低濃度で使えて安全性が増す利点があります。pH の違いによる殺菌効果の 1 例を (表 1) に示します。



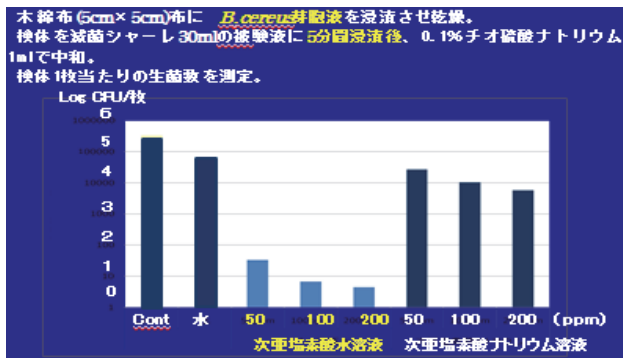
(図 1) pH による塩素種の存在比曲線

図 2 は、次亜塩素酸ナトリウムと弱酸性次亜塩素酸水溶液の殺菌効果の違いがわかるもので、木綿布を *Bacillus cereus* の芽胞懸濁液に浸して芽胞を接種して乾燥させたものを、pH6.0 次亜塩素酸水溶液、次亜塩素酸ナトリウム溶液にそれぞれ 5 分間浸漬した後の生残菌数の対数値を示しました。同濃度では弱酸性次亜塩素酸水溶液が次亜塩素酸ナトリウムよりも約 3 桁、菌数を減らしていることがわかる 1 例です。

strain	50ppm time	pH			
		5.0	6.0	7.0	8.0
<i>C.albicans</i> ATCC10231	15sec	-	-	-	+
	30sec	-	-	-	-
<i>S.maltophilia</i> ATCC13637	30sec	+	+	+	+
	1min	-	-	+	+
	3min	-	-	-	-
	1min	+	+	+	+
<i>B.subtilis</i> ATCC6633	5min	-	-	+	+
	10min	-	-	-	+
	60min	-	-	-	-

brain heart infusion broth at 37°C for 72hrs
+: alive -: not detected

(表1) pHの違いによる殺菌効果の1例



(図2) 次亜塩素酸ナトリウムとの違いの1例

3) 物性

- ・無色透明、無臭の液体
- ・有効成分の化学式 HClO (分子量 52.5)
- ・他に含まれる微小成分 NaCl 、 NaClO 、及び水道水由来の化学成分 (水道水で調整した場合)
- ・比重 1.00、極大吸収波長 235 nm
- ・ $\text{PKa}=7.5$
- ・油脂に不溶、常温常圧で気化しない。
- ・近紫外線、温度、凍結-解凍で酸素を放出して自然分解する。
- ・有機物、還元性物質で失活する。

4) 法的位置づけ

- ・労働安全衛生法、消防法、薬事法は非該当です。
- ・米国では EPA (環境保護庁) で硬質非多孔性表面の消毒剤としての認可と登録 (No.87518-R) を受けています。
- ・食品衛生法では、その都度調整したものは食品添加物 (殺菌料) として認められています。(食安基発第 0825001 号)
- ・工業製品等の取扱いでは次亜塩素酸ナトリウムと塩酸の混合物として扱われます。
- ・環境関連法として、悪臭防止法、大気汚染防止法にも非該当です。
- ・水質汚濁防止法、下水道法上は、pH 基準を満たす範囲に収まっていますが、河川、海に大量に放流する場合は魚介類に影響を与えるので中

和処理が必要です。

3. 環境消毒の検討

3.1 細菌混和血液付着表面の処理方法の検討

1) 実験材料

ア) 被検液

- ・市販塩素系消毒剤 (ミルトン、杏林製薬)
- ・有効塩素濃度 (FAC.と略す) 200, 1000, 5000ppm
- ・弱酸性次亜塩素酸水溶液 FAC. 50, 100, 200 ppm (スーパー次亜水、(株) HSP) 対照として水道水を用いた。

イ) 汚染血液

- ・ウマ脱繊維血液 (コージンバイオ (株)) に *A.baumannii* (JCM 6841) を 2.0×10^6 CFU/mL となるように接種したものを用いた。

ウ) 付着に用いた担体

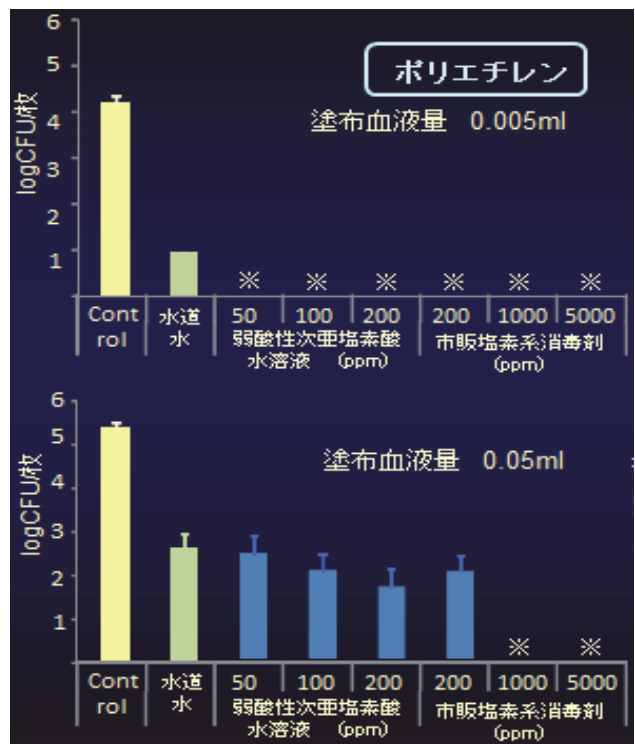
- ・ポリエチレン製滅菌シャーレ (アテクト (株))

2) 実験方法

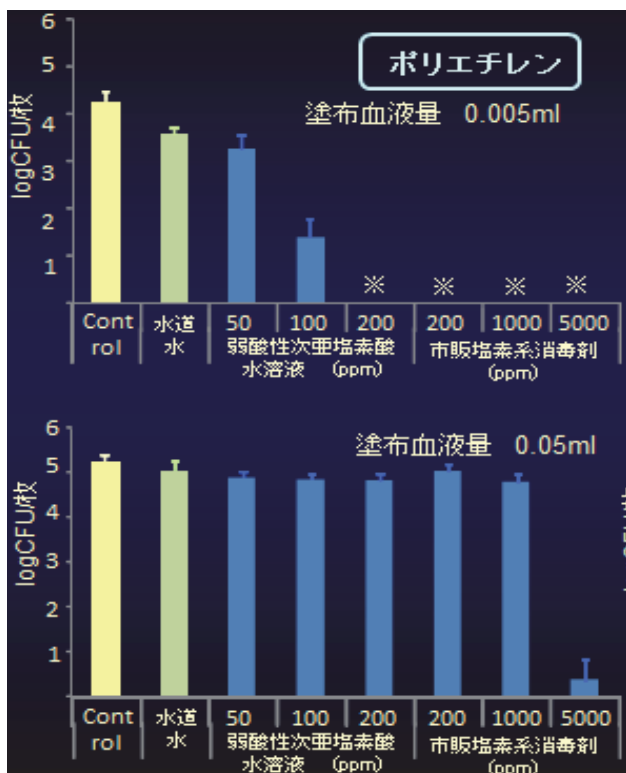
汚染血液を 0.005, 0.05mL シャーレに塗抹し、時間室内にて自然乾燥させ、被検液 2mL を含ませた滅菌紙ウエスでふき取る処理及び、被検液 10mL をシャーレに注いで浸漬する処理を行った。それぞれ処理前、処理後の汚染表面を滅菌綿棒で全域をふき取り採取し、滅菌生理食塩水に懸濁して 10 倍段階希釈し、標準寒天培地 (ニッスイ) に塗抹し 37°C、48 時間培養して菌数を測定した。

3) 結果

ふき取り処理及び浸漬処理による生残菌数を (図3、図4) に示します。※は検出限界 (1CFU) 以下を示します。



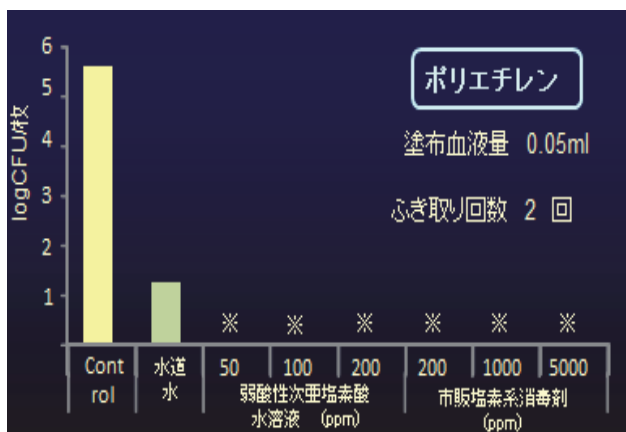
(図3) ふき取り処理による生残菌数



(図4) 浸漬処理による生残菌数

ふき取り処理、浸漬処理ともに血液の塗布量によって生残菌数の大きな違いが認められ、ふき取り処理と浸漬の比較では、ふき取り処理を加えた消毒方法が浸漬に比して顕著な効果を示しました。血液の付着量が多い場合、浸漬のみではFAC.1000ppmでも生残菌がほとんど減っていないことに注意が必要と考えられます。次に、血液塗布量 0.05mL の生残菌が多く残った処理について、ふき取り回数を2回（被検液 2mL をしみこませた紙ウエスを2枚使用）行った場合の結果を（図5）に示します。

FAC.50ppm以上で検出限界以下となり、顕著な消毒効果が認められました。



(図5) ふき取り回数2回処理の生残菌数

血液付着表面の消毒には、血液付着量、物理的除去の併用、その都度新しいウエス、消毒液にし

て、ふき取りの回数を増やすことが効果的であると考えられました。

3.2 手すり及び床消毒の検討

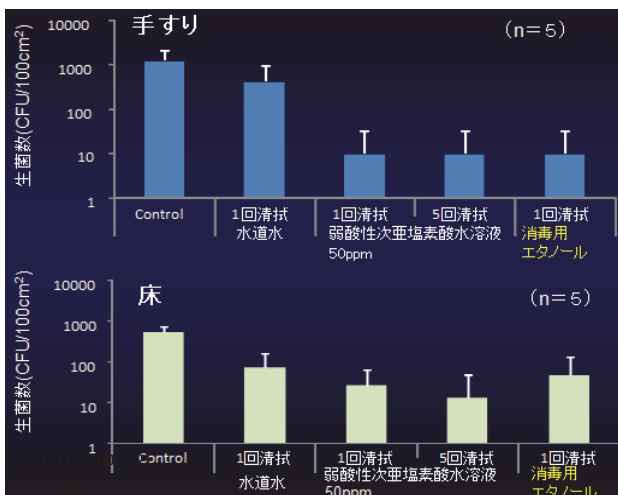
1) 実験材料と方法

被検液は、消毒用エタノール（健栄製薬（株））、弱酸性次亜塩素酸水溶液 FAC.50ppm、pH6.5、及び水道水を用いた。対照は無処理とした。

被検液 2mL を含ませた不織布（キムワイプ、日本製紙クレシア）を用いて、手すり、床を 10cm 四方 100cm² の区画に区切り、それぞれ異なる 5 か所の区画で1回の清拭を行った。清拭後、風乾した後、滅菌綿棒で区画をふき取り、滅菌生理食塩水に懸濁して 10 倍段階希釈法にて標準寒天培地（ニッスイ）に塗抹し 37℃、48 時間培養して一般生菌数を測定した。試みとして弱酸性次亜塩素酸水溶液では、1 回目ふき取ったものと同じウエスの違う面を用いて残り 4 回合計 5 回の清拭も行った。

2) 結果

清拭処理後の生残菌数を（図6）に示します。



(図6) 手すり、床の清拭処理後の生残菌数

消毒用エタノールと弱酸性次亜塩素酸水溶液による清拭の消毒効果は同等でした。

消毒用エタノールの清拭でも一般生菌が残存することに注意する必要があると考えられます。試みの弱酸性次亜塩素酸水 5 回清拭は 1 回清拭と比較して生残菌数の有意な減少は認められませんでした。

傷の多い表面の消毒ではウエスによる清拭では床の傷の内部にまで水溶液が浸潤しないことが想定され、清拭方法の工夫や改良の検討が必要であると考えられます。

3.3 靴底水槽の殺菌効果

1) 実験材料と方法

被検液は弱酸性次亜塩素酸水溶液 FAC.50ppm、pH6.2、及び水道水を用いた。対照は無処理とした。

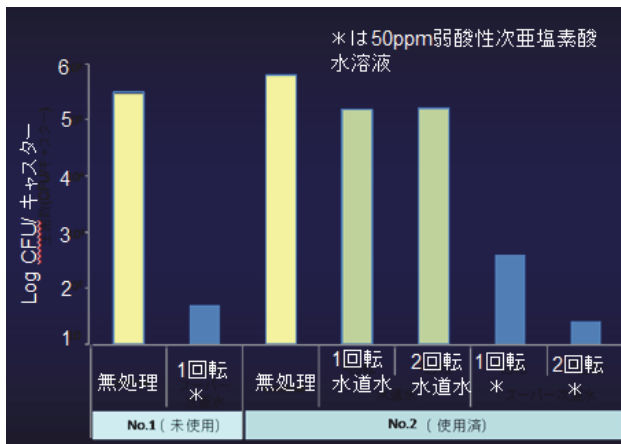
ワゴンキャスターは半径 20mm 車幅 25mm 及び 10mm の未使用と、使用中の 2 種を用いた。あらかじめワゴンキャスターを *S. aureus* (FDA209P)

の菌懸濁液に浸漬し、3 時間室温にて風乾しておいたものを検体とした。被検液 500mL を 250mm × 175mm プラスチックトレイに入れ水深を 4mm として、1 回転 2 秒の速さで未使用キャスターは検体を 1 回転、使用中キャスターは 2 回転接液させた。それぞれ風乾の後、キャスター表面全体を滅菌綿棒でふき取り、生残菌を採取した。

滅菌生理食塩水に懸濁して 10 倍段階希釈法にて標準寒天培地（ニッスイ）に塗抹し 37℃、48 時間培養して一般生菌数を測定した。

2) 結果

未使用のキャスターで 1 回転、使用中のキャスターで 2 回転の接触で接種菌数の 4 桁減少が認められました。（図 7）に示します。



（図 7）未使用と使用中キャスターの生残菌数

実使用上はより多くの回転数で接液するため、より効果が高いものと推測されますが、現場での検証をより多く積み上げていく必要があると考えられます。また、長靴やスリッパの場合などを検討していきたいと考えます。

4. まとめ

血液付着表面の消毒について、浸漬処理だけでは不十分であったこと、ふき取り操作の物理的除去を加えることがより効果的であることが示されました。

床、手すりの消毒では、FAC.50ppm 弱酸性次亜塩素酸水溶液で、消毒用エタノールと同等の消毒効果を有していたが、いずれも滅菌水準ではないことに注意が必要であることが示されました。

靴底殺菌槽についての実験では 1 回転、2 回転の接液で 4 桁の菌数減少が示されました。

5. 結語

環境消毒は施設内をクリーンな状態に保ち、万が一のアウトブレイクのリスクや環境由来菌による汚染を低減する重要な役割を持っています。

滅菌が要求される場所はそれぞれ適した方法を選択する必要がありますが、一般の環境消毒にはその程度に合わせた弱酸性次亜塩素酸水溶液の活用が可能であると考えられます。現場での試験、検証を深め、使用方法をより精度高く検証していく必要があると考えられました。

参考文献

- 1) 丹保憲仁、小笠原紘一、浄水の技術、技報堂出版、1999、101-106.
- 2) 福崎智司、次亜塩素酸による洗浄・殺菌機構と細菌の損傷、日本食品微生物学会誌、2009、26、(2)、76-80.
- 3) The Inactivation of Spores of *Bacillus globigii* and *Bacillus anthracis* by Free Available Chlorine Appl. Microbiol.、1958、6、338-342.
- 4) 各種犬ウイルスに対する薬効試験報告書 マルピーライフテック株式会社、2008.
- 5) 小野朋子、衛生管理における弱酸性次亜塩素酸水溶液（スーパー次亜水）の新たな用途展開、食品調理と技術、2013、19、(2)、28-42.
- 6) 小野朋子、弱酸性次亜塩素酸水溶液の各種芽胞に対する殺菌効果、防菌防黴、2010、38、(8)、509-514.
- 7) Wang L、Hypochlorous Acid as a Potential Wound Care Agent、Journal of Burns and Wounds、2007、(6)、65-79.
- 8) Ono T、Yamashita K、Murayama T、Sato T、Microbicidal effect of Weak Acid Hypochlorous Solution on various microorganisms、Biocontrol Science、2012、17、(3)、129-133.
- 9) 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、2001、29、(6)、379-388.
- 10) 食品安全委員会化学物質・汚染物質専門調査会、清涼飲料水評価書 総トリハロメタン、2009、1-7.
- 11) 小野朋子、環境菌に対する塩素系消毒剤の殺菌事例、防菌防黴、2009、37、(2)、129-138.
- 12) 福崎智司、次亜塩素酸の科学-基礎と応用、2012、米田出版.
- 13) 福崎智司、次亜塩素酸による洗浄・殺菌機構と細菌の損傷、日本食品微生物学会誌、2009、26、(2)、76-80.