

【報文】

微酸性電解水の抗微生物効果

岡本 公彰¹, 駒形 安子², 奥田 舜治³, 西本 右子⁴,
鳴志田真弓⁵, 中村 悌一^{5*}, 小宮山寛機²

Microbicidal Effect of Slightly Acidic Electrolyzed Water

Masaaki OKAMOTO¹, Yasuko KOMAGATA², Syunji OKUDA³, Yuko NISHIMOTO⁴,
Mayumi KAMOSHIDA⁵, Teiichi NAKAMURA^{5*} and Kanki KOMIYAMA²

¹Department of Oral Bacteriology, Tsurumi University School of Dental Medicine,
2-1-3, Tsurumi, Tsurumi-ku, Yokohama 230-8501, Japan

²Center for Clinical Pharmacology, The Kitasato Institute,
5-9-1, Shirokane, Minato-ku, Tokyo 108-8642, Japan

³Kitasato Research Center of Environmental Sciences, 1-15-1, Kitasato,
Sagamihara-shi, Kanagawa 228-8555, Japan

⁴Faculty of Science, Kanagawa University, 2946, Tsuchiya, Hiratsuka, Kanagawa 259-1293, Japan

⁵Food Research and Development Laboratory Morinaga Milk Industry Co., Ltd.
1-83, 5-chome, Higashihara, Zama-city, Kanagawa 228-8583, Japan

Exposure to slightly acidic electrolyzed water (SIAEW: available chlorine concentration of 20 ppm, pH 6.0) for 30 seconds reduced *Clostridium botulinum* spores, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, and *Shigella flexneri* from 10^6 to less than 10 CFU/ml. However, over five minutes of exposure was needed to reduce *Mycobacterium bovis* from 10^5 to less than 10 CFU/ml. It also showed a deactivating or killing effect on the influenza virus, yeasts, and fungi. The time required for SIAEW to reduce *Bacillus cereus* spores from 10^6 to less than 1 CFU/ml at 20°C was about a third of that for sodium hypochlorite solution (available chlorine concentration of 100 ppm). Investigation of glutathione (GSH) in SIAEW by ¹³C NMR confirmed a conformational change of GSH, indicating that this plays a role in the bactericidal effect. (Accepted 1 August 2005)

Key words : Slightly acidic electrolyzed water (微酸性電解水)/Bactericidal effect (殺菌効果)/Virucidal effect (殺ウイルス効果)/Sporicidal effect (殺芽胞効果)/Glutathione (グルタチオン).

緒 言

人類の往来が活発になるにつれて、様々な微生物感染が容易に伝播される時代になってきた。また日常の生活においても食中毒、院内感染などによる事故が絶えず起こっており、より有効な対策が急務となっている。感染防止の有効な手段とし

ては消毒剤の使用が一般的であり、目的に従って種々の消毒剤が使用されているが、優れた効果を発揮すると同時に安全でしかも経済的な消毒剤が期待されている。

水に少量の食塩を添加後電気分解し陽極側から生成された強酸性電解水 (pH約2.5, 有効塩素濃度20~60ppm) は薬剤耐性菌を含めた種々の微生

¹鶴見大学・歯学部・口腔細菌学教室 〒230-8501 横浜市鶴見区鶴見2-1-3 ☎045-580-8443

²北里研究所・臨床薬理研究所 〒108-8642 東京都港区白金5-9-1 ☎03-5791-6175

³北里環境科学センター 〒228-8555 神奈川県相模原市北里1-15-1 ☎042-778-9208

⁴神奈川大学・理学部 〒259-1293 神奈川県平塚市土屋2946 ☎0463-59-4111

⁵森永乳業食品総合研究所 〒228-8583 神奈川県座間市東原5-1-83 ☎046-252-3022

0385-5201/2006/0110-0003 \$ 02.00/0© 2006 Soc. Antibact. Antifung. Agents, Jpn.

物に対して優れた殺菌効果を示す¹⁻³⁾。従来の消毒剤と比べて安全性も比較的高く^{4,5)}、しかも廃液による環境汚染が少ないことから、医療分野^{6,7)}、食品分野^{8,9)}など様々な領域で消毒剤として応用されている。

この強酸性電解水と共に、2002年6月に殺菌料として食品添加物に指定された微酸性電解水は、2～6% (W/W) の希塩酸 (pH0.5±0.2) を無隔膜電解槽で電気分解することにより生成し、pH5.0～6.5有効塩素濃度10～30ppm となっている。この微酸性電解水は次亜塩素酸を含む¹⁰⁾が、強酸性電解水と比べ溶存酸素、オゾン、塩素酸化物などの副生成物の濃度が低いこと¹¹⁾が報告されている。これまで、強酸性電解水の各種微生物に対する殺菌効果試験の報告はあったが、微酸性電解水については少なかった¹²⁾。そこで、本報文では食中毒菌等のほか、医療現場で問題となる病原菌およびウイルスに対する微酸性電解水の殺菌・失活効果について報告する。さらに、一部の菌種に対する効果については、従来から使用されている塩素系殺菌料の次亜塩素酸ナトリウム溶液との比較をおこない知見を得たので報告する。

実験方法

1. 微酸性電解水

微酸性電解水生成装置ピュアスター Mp-240B (トワテクノ(株)製)¹⁰⁾ から生成された電解水 (有効塩素濃度20±1ppm, pH6.0±0.2) を試験に供した。有効塩素濃度はヨウ素滴定法¹³⁾により測定した。

2. 次亜塩素酸ナトリウム溶液

次亜塩素酸ナトリウム溶液 (和光純薬) を有効塩素濃度100±2 ppm (pH8.5±0.2) に調製して用いた。

3. 使用菌株

グラム陽性菌および陰性菌、カビ、酵母、芽胞菌およびインフルエンザウイルスを対象として実験を行った。微生物は当研究所で凍結保存してある菌株を用いた (Table 1)。

Table 1. Microorganisms used in this study

<i>Bacillus cereus</i> JCM2152
<i>Staphylococcus aureus</i> HLMRSA1192
<i>Mycobacterium bovis</i> BCG RIMD 1314006
<i>Vibrio cholerae</i> Inaba V86
<i>Shigella flexneri</i> 2a No.1675
<i>Clostridium botulinum</i> type A CB21
<i>Candida albicans</i> KF1
<i>Saccharomyces sake</i> KF26
<i>Aspergillus niger</i> KF 104 (ATCC9642)
<i>Mucor racemosus</i> KF 233 (IFO4581)
Influenza virus/New Caledonia/20/99

4. 供試菌液の調製

接種用菌数は主として日本化学療法学会の抗菌性測定に準じ 1×10^6 CFU/ml を目標とした。即ち、*Vibrio cholerae*, *Shigella flexneri* および Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) はハートインフュージョン寒天培地 (栄研化学) を用いて37℃で約20時間培養し、形成されたコロニーから標準白金耳で菌体約10mg かきとり、生理食塩水10ml に浮遊させ、約 10^8 CFU/ml に調製した。*Mycobacterium bovis* は1%小川培地 (極東製薬) を用いて35℃で4週間培養し、形成されたコロニーから標準白金耳で菌体約10mg かきとり、生理食塩水10ml に浮遊させ、約 10^8 CFU/ml に調製した。

Candida albicans および *Saccharomyces sake* はサブロー寒天培地 (日水製薬) を用いて37℃で約20時間培養し、形成されたコロニーを標準白金耳でかきとり、生理食塩水5ml に浮遊させて調製した。*Aspergillus niger* および *Mucor racemosus* の糸状真菌はポテトデキストロース寒天培地 (日水製薬) を用いて分生子を形成させ、0.1% Tween 80を含む生理食塩水で分生子懸濁液を作成した。

芽胞懸濁液は、*Clostridium botulinum* については GAM 寒天培地平板に画線培養し、孢子形成を確認後に綿球で平板表面を拭き取り、滅菌精製水に懸濁させた。次いで3000rpmで20分間遠心分離して培地成分を3回洗浄した。位相差顕微鏡による観察とバイフェル液を用いた単染色による顕微鏡観察ではほとんどが spore となることが確認された。*Bacillus cereus* についてはトリプトソイ培地 (日水製薬) を用いて15時間振とう培養し、その菌液を Thermoacidurans

寒天培地の表面に塗抹し、35℃で7日間培養した。生理食塩水を用いて培地表面から菌体を回収し、水性ポリマー二相分離法¹⁴⁾を用いて芽胞のみとした。この芽胞液を3000rpmで20分間遠沈し、生理食塩水に再懸濁する操作を3回繰り返して洗浄したあと、生理食塩水で 10^8 CFU/mlとなるように調製して試験に供した。この菌液は80℃で10分処理しても生菌数が増減しないことを確認した。

インフルエンザウイルス (*Influenza virus A/New Caledonia/20/99*) は発育鶏卵の漿尿腔にて増殖したウイルスを超遠心機にて濃縮したのち、ウイルス量を測定して試験に供した。

5. 微酸性電解水処理と菌数算定法

V. cholerae, *S. flexneri* および MRSA については、微酸性電解水10mlを試験管に入れ、上記のように調製した各菌液0.3mlを添加し、室温で1, 5, 10および15分間作用後、有効塩素を除去するために3%チオ硫酸ナトリウム0.2mlを添加した。次いでこれら菌液の0.1mlをとり、SCDLP寒天培地(栄研化学)に塗布し、37℃24時間培養後、コロニーの有無を調べた。*M. bovis* についても同様に処理し、*Mycobacterium* 7H11寒天培地(Difco Laboratories)に塗布し、35℃4週間培養後、コロニーの有無を調べた。

真菌については、微酸性電解水5mlを試験管に入れ、上記のように調製した各菌液0.1mlを添加し、1, 5, 10および15分間作用後、1mlを分取し、3%チオ硫酸ナトリウム20μlを添加した。次いでこれら菌液0.1mlを*C. albicans* および*S. sake*はサブロー寒天培地、*A. niger* および*M. racemosus*はポテトデキストロース寒天培地に塗抹し、25℃、1～2日培養後、コロニーの有無を調べた。なお、上記の菌種については有効塩素濃度100ppmの次亜塩素酸ナトリウム溶液についても実施した。

*Clostridium botulinum*の芽胞に対する効果を調べるために、検液19.8mlに芽胞懸濁液0.2mlを添加し、ここから1mlずつ継時的にサンプリングし、0.1mlの50mMチオ硫酸ナトリウムで中和後、標準寒天培地により35℃2日間培養し、

生残菌数を測定した。

インフルエンザウイルスに対する作用を調べるために、微酸性電解水1.8mlと 2×10^7 Tissue culture infection dose 50% (TCID₅₀)/ml (リン酸緩衝生理食塩液)に調整したウイルス液0.2mlを混合し、室温にて一定時間反応させた後、反応液1mlを50mMチオ硫酸ナトリウム0.1mlで中和した。この溶液1.1mlに2倍濃度のMEM培地(Eagle)を同量添加し、これをウイルス感染価測定用ウイルス原液とした。尚、作用時間0分の場合は、先に微酸性電解水をチオ硫酸ナトリウムで中和してからウイルス液を混合した。

ウイルス感染価の測定は、ウイルス感染価測定用ウイルス原液をリン酸緩衝生理食塩液で10倍希釈段階し、MDCK細胞を培養した96穴マイクロプレートの1穴に、各希釈率のウイルス液25μlを接種し、60分細胞に吸着させたのち、0.1%FBS添加MEM培地にて感染細胞を培養した。感染価の算出は顕微鏡でウイルスによる細胞変性(CPE)の有無を観察し、Reed-Munch法によるTCID₅₀/ml(50%感染価)を求めた。

本殺菌効果試験で採用した混合比でチオ硫酸ナトリウム溶液と微酸性電解水を混合した場合、微酸性電解水の殺菌効果は完全に無くなった。またこの濃度のチオ硫酸ナトリウムはいずれの菌の発育にも全く影響を与えなかった。

6. 温度の影響試験

5℃, 10℃, 20℃, 40℃, 60℃および80℃で微酸性電解水19.8mlに*B. cereus*芽胞懸濁液0.2mlを添加し、ここから1.5mlずつ継時的にサンプリングして直ちに0.15mlの50mMチオ硫酸ナトリウムと混合し反応を停止した。これを生理食塩水で10倍段階希釈し、標準寒天培地(栄研化学)を用いて35℃で2日間培養し、生じたコロニーをカウントすることにより生残菌数を求めた。試験は20℃の次亜塩素酸ナトリウム溶液および80℃に保持した生理食塩水についてもおこなった。

7. 有機物存在下の殺菌効果試験

微酸性電解水と次亜塩素酸ナトリウム溶液に有

機物としてイーストエキストラクト (Difco Laboratories) を終濃度で0.05%となるように添加し^{15,16)}, *C. albicans* および *S. sake* を対象に前述のように殺菌効果試験をおこなった。1, 5, 10 および 15 分間作用後, 1 ml を分取し, 3% チオ硫酸ナトリウム 20 μ l を添加した。次いでこれら菌液 0.1 ml をサブロー寒天培地に接種し, 菌の発育の有無を確認した。

8. グルタチオンに対する作用

微酸性電解水がグルタチオンの化学構造のどの部位と相互作用しているか, また化学構造の変化が生じていないかを検討するために¹³C NMR 測定を行った。グルタチオン (還元型, 和光純薬) および¹³C NMR 測定における化学シフトの基準として水溶液用内部標準物質である TSP (3-(trimethylsilyl) propionic acid D4 sodium salt) (Merck) を D₂O (重水) (Merck) に溶解し, 微酸性電解水を同体積加え, 攪拌後¹³C NMR 測定を行った。微酸性電解水を加えないで同条件で測定し, 結果を比較した。測定条件は JEOL JNM ECP 500 を用いて観測周波数 125.77 MHz, 積算 6,000, 測定温度 25°C とした。

結果および考察

次亜塩素酸ナトリウム溶液を消毒として使う場合, 一般的に 100 ppm 以上の濃度で使用している。使用する塩素濃度は人体や環境への影響も考えると出来るだけ低い濃度が望ましい。そこで試験に先立ち 10, 20, 30 ppm の塩素濃度で *B. subtilis* に対する殺菌効果を調べたところ, 芽胞に対しては 20 ppm で期待できる効果が認められたので, 殺菌効果の試験では 20 ppm を標準とした。

まず, 細菌栄養細胞として *V. cholerae*, *S. flexneri* および MRSA に微酸性電解水を作用させたところ作用 1 分後から 10 CFU/ml 未満となった。*M. bovis* に対してはやや時間がかかり, 作用 5 分後でも生残菌が検出されたが, 10 分後には 10 CFU/ml 未満となった。これらの違いは定かではないが, 結核菌の細胞壁はここで用いた他の菌の細胞壁とは異なり細胞壁に多量の脂質が含

まれていることから, 微酸性電解水の浸透性が悪いことが考えられる。同様の効果が強酸性電解水でも認められており²⁾, 電解水溶液は脂質の細胞壁を通過するのに時間がかかると考えられる。

酵母に対する効果は細菌類と同様に 1 分間の作用ですでに 10 CFU/ml 未満であったが, カビでは 5~10 分を要した (Table 2)。

芽胞に対する殺菌効果を調べるために, 嫌気性菌である *C. botulinum* の芽胞を作成した。これに微酸性電解水を作用させると, 作用後 30 秒では殺菌されなかったが, 1 分ですでに菌の発育は認められず, 比較的短時間で殺菌された (Table 3)。芽胞は化学薬品, 紫外線等に対して高い抵抗性を示すことが大きな特徴であるが, 微酸性電解水は優れた作用を示した。高濃度の塩素系殺菌剤は芽胞に対して効果を示すことは知られているが¹⁷⁾, 後述する *B. cereus* の芽胞に対する試験結果にも示されたとおり, 比較的低濃度の有効塩素でも効果的であったことは興味深い。

ウイルスに対する作用を調べる目的で, インフ

Table 2. Bactericidal effect of slightly acidic electrolyzed water (SIAEW)

	Inoculum	Incubation time (min.)							
		SIAEW				Sodium hypochlorite			
		1	5	10	15	1	5	10	15
<i>S. aureus</i>	1.8×10^7	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>M. bovis</i>	5.0×10^5	+	+	-	-	+	+	-	-
<i>V. cholerae</i>	1.0×10^7	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. flexner</i>	2.2×10^7	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. albicans</i>	1.0×10^6	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. niger</i>	1.0×10^6	+	+	-	-	+	+	-	-
<i>S. sake</i>	1.0×10^6	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>M. racemosus</i>	1.0×10^8	+	-	-	-	+	-	-	-

SIAEW: Available chlorine concentration (Av.Cl) was 20 ± 1 ppm, pH 6.0 ± 0.2 .

Sodium hypochlorite: Av.Cl was 100 ± 2 ppm, pH 8.5 ± 0.2 .

+: Observed viable cells.

-: Not detected (< 10 CFU/ml).

Table 3. Effect of SIAEW on *Clostridium botulinum* type A CB21 spores

Incubation time (min)	CFU/ml	
	Control (deionized water)	SIAEW
0.5	2.3×10^4	1.3×10^3
1	2.0×10^4	< 10
5	2.0×10^4	< 10
10	2.7×10^4	< 10
20	3.6×10^4	< 10

ルエンザウイルス浮遊液（ウイルス量 $1.1\sim 1.4\times 10^5$ TCID₅₀/ml）に種々の濃度の微酸性電解水を作用させた。その結果、用いたいずれの有効塩素濃度においても30秒でウイルス量が40 TCID₅₀/ml（検出限界）以下に低下し、インフルエンザウイルスに対する感染価低減効果が認められた（Table 4）。インフルエンザウイルスはエンベロップを有したRNA ウイルスであるが、エンベロップを持たないRNA ウイルスとして食中毒を引き起こすノロウイルスが知られている。微酸性電解水のノロウイルスに対する効果は不明であるが、抗インフルエンザウイルス活性から推して効果が期待できよう。但し、データを示してはいないが、インフルエンザウイルスを血清などタンパク質を加えた細胞培養液に浮遊させて微酸性電解水を作用させた場合、効果は激減する。従って、有機物の多い糞便、喀痰などよりも、手指消毒、厨房機器などの表面に付着するウイルスに限定する必要があるだろう。

強酸性電解水は有機物が存在すると殺菌効果が低下することが知られている⁸⁾。そこで微酸性電

Table 4. Effect of SIAEW on Influenza virus A/New Caledonia

Incubation time (min)	TCID ₅₀ /ml	
	Control (deionized water)	SIAEW
0	1.3×10^5	1.4×10^5
0.5	NT	<40
1	NT	<40
5	1.3×10^5	<40

NT: Not tested.

Table 5. Effect of proteins on the bactericidal effect of SIAEW

Microorganisms		Concentration of YE* (%)	Incubation time (min)				
			1	5	10	15	
<i>C. albicans</i>	SIAEW	0	-	-	-	-	-
		0.05	+	+	+	+	+
	Sodium hypochlorite	0	-	-	-	-	-
		0.05	+	+	-	-	-
<i>S. sake</i>	SIAEW	0	-	-	-	-	-
		0.05	+	+	+	+	+
	Sodium hypochlorite	0	-	-	-	-	-
		0.05	+	+	-	-	-

+: Observed viable cells.

-: Not detected (<10CFU/ml).

*YE: Yeast extract.

解水の殺菌効果に対する有機物の影響について真菌を対象に調べた。微酸性電解水に有機物として酵母エキスを0.05%の割合に添加し、比較的感受性の高い *C. albicans* と *S. sake* に作用させた。その結果、微酸性電解水に酵母エキスを添加すると、これら菌に対し15分でも殺菌効果は認められなかった（Table 5）。一方、100ppmの次亜塩素酸ナトリウム溶液では10分の作用時間で検出限界以下となった。

微酸性電解水の殺菌効果に対する温度の影響を調べる目的で、有効塩素濃度20ppmの微酸性電解水を5~80℃に保持し、これに *B. cereus* の芽胞を加えて継時的に菌の生残数を調べた。その結果、Fig.1に示すように温度が上昇するに従って殺菌効果は増強した。特に40℃以上では著しい効果が認められた。また、20℃において検出限界以下になるのに要する時間は、有効塩素濃度100ppmの次亜塩素酸ナトリウム溶液が15分であったのに対し、微酸性電解水では5分であった。

塩素系消毒剤の効果はカット野菜に対して低温（4℃）と室温（22℃）ではその効果に相違が見られなかったことが報告されている¹⁸⁾。今回は試験条件が異なるものの、微酸性電解水では5℃と20℃で明確な相違が認められ、温度が高くなるに従って効果が増強したので、より期待する効果を得るには室温以上の温度を用いると良いと思われる。

また、微酸性電解水のpHは約6.0でこのpH

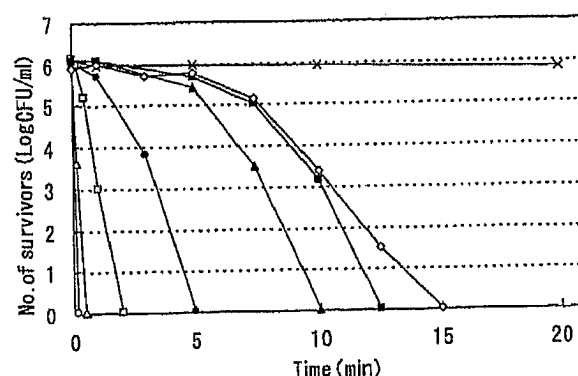


Fig.1. Effect of temperature on the sporicidal activity of SIAEW and NaClO solution against *B. cereus* spores. SIAEW treatment was at 5℃ (■), 10℃ (▲), 20℃ (●), 40℃ (□), 60℃ (△), or 80℃ (○). NaClO solution treatment was at 20℃ (◇). 0.85% NaCl solution treatment was at 80℃ (×).

では大部分(約97%)の活性塩素は HClO と考えられている^{10,19)}。 HClO は ClO^- の約80~100倍の殺菌効果があることが報告されており^{20,21)}、このことが比較的低濃度の有効塩素濃度でも優れた殺菌効果を発揮しているものと思われる。

塩素系の殺菌剤の一種である亜塩素酸ナトリウム溶液は、チオールを含んでいる抗酸化物質であるグルタチオンを急速に酸化し、微生物に損傷を与えることが報告されている²²⁾。微酸性電解水について試験管内で調べたところ、 ^{13}C NMR において、Fig. 2 に示したグルタチオンの化学構造

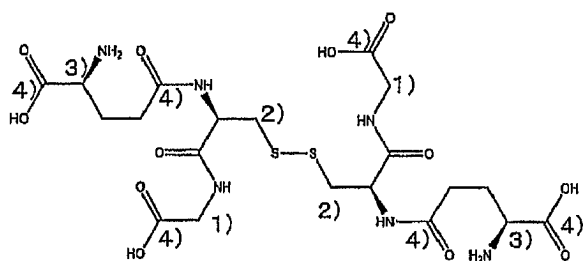


Fig. 2. Chemical structure of glutathione.

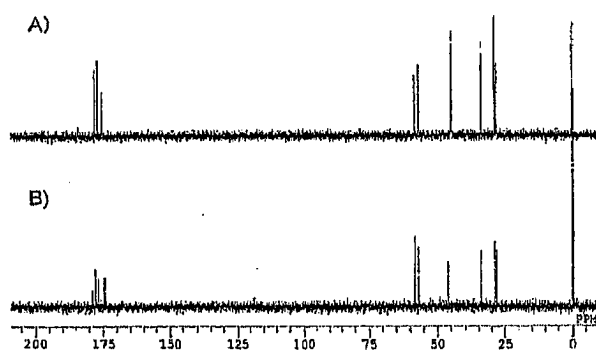


Fig. 3. Effect of SIAEW on the NMR spectra of glutathione
A):with SIAEW, B):without SIAEW.

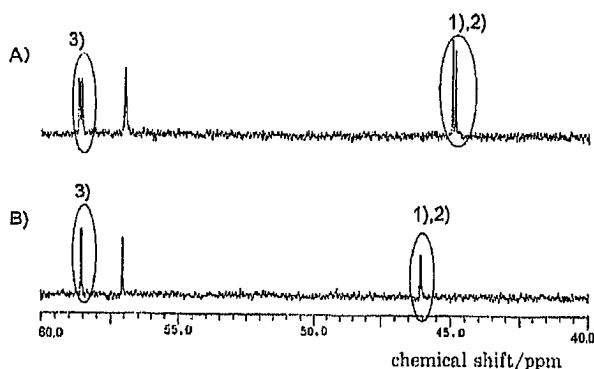


Fig. 4. Effect of SIAEW on the NMR spectra of the high field region (40~60ppm) of glutathione
A):with SIAEW, B):without SIAEW.

において S に隣接する $\text{C}(2)$ 、及び COOH と NH の間の $\text{C}(1)$ のピークが加えていない場合に比較して変化することがわかった (Fig. 3, 4)。これらのピークは微酸性電解水を加えていない D_2O 中では 1 本であったのに対し、微酸性電解水を加えると 2 本にわかれ、全体的に化学シフトの小さい側へシフト (高磁場シフト) している。また最も低磁場の 175ppm 付近の COOH の $\text{C}(4)$ にも違いが観測されている。詳細に検討すると、 NH および NH_2 に隣接する C も分裂していることがわかる。このことは微酸性電解水がグルタチオンの S 及び NH , NH_2 と相互作用していることを示し、これが殺菌効果の一部を担っていることが考えられる。またグルタチオンの S に隣接する 2 つの $\text{C}(2)$ は NMR スペクトル上で同一ピークとして観測され、等価であることから Fig. 2 の構造は維持されており、グルタチオンジスルフィドにまでは変化していないことがわかる。

グルタチオンの構造に影響を与えていることから、おそらく微酸性電解水に含まれる塩素が、グルタチオンの活性を修飾していることが考えられる。一般的に塩素は種々の有機物を酸化する作用がある。事実、次亜塩素酸ナトリウム溶液はウイルス粒子とウイルス核酸を破壊することが報告されている²³⁾。従って、微酸性電解水もアミノ酸だけではなく、ウイルスの核酸にも作用することは十分考えられ、今後のさらなる作用機序の解明に興味を持たれる。

なお、データは示さなかったが、2L 容ビーカー (開口部直径13cm) に微酸性電解水を 2L 入れて 20°C に静置し、有効塩素濃度の変化を測定したところ、24 時間後でも 90% 以上残存した。このため、例えば病院や老人介護施設などにおいても、各使用現場で個々に生成装置を設置して使用するのではなく、タンクに微酸性電解水を一旦貯水して、そこから院内に配管し、各給水口から院内全体で広範囲に利用することができる。一方、有機物があると殺菌効果が速やかに減弱することから、使用後はこのまま下水道に廃棄しても、下水にある有機物によって不活性化されると考えられるので、環境への影響は少ないと思われる。

以上示したように、微酸性電解水は各種微生物に対する殺菌効果が認められた。したがって、食品関連施設などの微生物制御のほか、医療・介護施設における院内感染の危険度の低減に効果が期待できる。

結 論

水に原料として塩酸を加えて電気分解し生成された微酸性電解水（有効塩素濃度20ppm, pH6.0）の微生物に対する作用およびその特性について調べた。その結果、以下の項目が明らかになった。

1. 各種細菌、インフルエンザウイルスおよび嫌気性菌 (*Clostridium*) の芽胞に対して比較的短時間 (30秒～1分) に殺菌効果を示すが、抗酸菌に対しては5分以上を要した。
2. 20℃において 10^6 CFU/ml の *B. cereus* 芽胞を1CFU/ml 以下にするのに要する時間は、有効塩素濃度100ppm の次亜塩素酸ナトリウム溶液に比較して約1/3であった。
3. 有機物の影響により殺菌効果が減弱し、有効塩素濃度の高い次亜塩素酸ナトリウム溶液に比較して影響を受けやすかった。
4. グルタチオン (GSH) に対する作用を調べたところ、グルタチオンの構造変化が認められた。

参 考 文 献

- 1) 岩沢篤郎, 中村良子, 水野徳次 (1993) 臨床分離株に対するアクア酸化水の効果, 環境感染, 8, (2), 11-16.
- 2) 岩沢篤郎 (1993) アクア酸化水の抗微生物効果, 臨床検査, 37, (8), 918-919.
- 3) Venkitanarayanan, K. S., Ezeike, G. O., Hung, Y.C., and Doyle, M. P. (1999) Efficacy of electrolyzed oxidizing water for inactivating *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Enteritidis, and *Listeria monocytogenes*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, 4276-4279.
- 4) 森 義雄, 小松繁樹, 畑 好昭 (1997) 強酸性電解生成水溶液の生体毒性—経口投与によるラットの亜急性毒性試験と口腔組織への影響—, 日本歯科大学会誌, 84, 619-626.
- 5) 岩沢篤郎, 中村良子 (2003) 生体消毒薬の細胞毒性: *in vitro*, *in vivo* における強酸性電解水, ポピドンヨード製剤, グルコン酸クロルヘキシジン製剤, 塩化ベンザルコニウム製剤の比較検討, 感染症学雑誌, 77, 316-322.
- 6) Tsuji, S., Kawano, S., Oshita, M., Ohmae, A. et al. (1999) Endoscope disinfection using acidic electrolyzed water. *Endoscopy*, 31, 528-535.
- 7) Tanaka, N., Fujisawa, T., Daimon, T., Fujiwara, K., Yamamoto, M., Abe, T. (2000) The use of electrolyzed solutions for the cleaning and disinfecting of dialyzers. *Artif. Organs*, 24, (12), 921-928.
- 8) 佐藤久聡, 前原信敏, 井川房欣, 斎藤洋介, 阿知波信夫, 松井英則, 小宮山寛機 (2000) 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, 48, (10), 768-774.
- 9) Koseki, S., Yoshida, K., Isobe, S., and Itoh, K. (2004) Efficacy of acidic electrolyzed water for microbial decontamination of cucumbers and strawberries. *J. Food Prot.*, 67, 1247-1251.
- 10) 鈴木 潔, 中村悌一, 小久保貞之, 富田 守 (2005) 塩酸を原料にした微酸性電解水の物理学的性質. 防菌防黴, 33, 55-62.
- 11) 鈴木 潔, 中村悌一, 小久保貞之, 富田 守 (2005) 塩酸を原料にした微酸性電解水の化学的性質. 防菌防黴, 33, 63-71.
- 12) 中山素一, 藤本章人, 樋口 彰, 渡辺 誠, 飯尾雅嘉, 宮本敬久 (2003) 微酸性次亜塩素酸水の *Bacillus* 属細菌芽胞及び乳酸球菌に対する効果と特性. 防菌防黴, 31, 421-425.
- 13) 日本規格協会 (1999) JIS K 0102, 36.2 よう紫滴定法, 東京.
- 14) Sacks, L. E., and Alderton, G. (1961) Behavior of bacterial spores in aqueous polymer two-phase systems. *J. Bacteriol.*, 82, 331-341.
- 15) 浅井昭士郎, 山村正次, 野田充宏, 高瀬市将, 平田健一, 滝永 一, 南 晋介, 青野正男, 磯貝昌彦, 並河 勇 (1995) 酸化電位水による殺菌効果と変異原性の検討. 歯科基礎医学会誌, 37, 152-161.
- 16) 黄 吉城, 高鳥浩介, 熊谷 進, 高橋淳子 (1997)

- 酸化電位水の殺菌効果. 防菌防黴, 25, 387-391.
- 17) Bloomfield, S. F., Uso, E. E. (1985) The antibacterial properties of sodium hypochlorite and sodium dichloroisocyanurate as hospital disinfectants. *J. Hosp. Infect.*, 6, (1), 20-30.
- 18) Escudero, M. E., Velazquez, L., Di Genaro, M. S., and de Guzman, A. M. (1999) Effectiveness of various disinfectants in the elumination of *Yershinia enterocolitica* on fresh lettuce. *J. Food Prot.*, 62, 665-669.
- 19) Nakagawara, S., Goto, T., Nara, M., Ozawa, Y., Hotta, K., and Arata, Y. (1998) Spectroscopic characterization and the pH dependence of bactericidal activity of the aqueous chlorine solution. *Analytical Sciences*, 14, (8), 691-698.
- 20) 日本薬学会編, 衛生試験法・注解2000, p 715, 2000年 金原出版.
- 21) Morris, J. C. (1966) Future of Chlorination. *J. Am. Water Works Assoc.*, 58, 1475-1482.
- 22) Ingram, P. R., Homer, N. Z. M., Smith, R. A., Pitt, A. R., Wilson, C. G., Olejnik, O., and Spickett, C. M. (2003) The interaction of sodium chlorite with phospholipids and glutathione: a comparison of effects in vitro, in mammalian and in microbial cells. *Arch. Biochem. Biophys.*, 410, 121-133.
- 23) Shirai, J., Kanno, T., Tsuchiya, Y., Mitsubayashi, S., Seki, R., (2000) Effects of chlorine, iodine, and quaternary ammonium compound disinfectants on several exotic disease viruses. *J Vet Med Sci.*, 62, (1), 85-92.