

# 新しい殺菌剤開発の試み ～薬液の混合による殺菌力の変化～

大阪府立園芸高等学校 バイオサイエンス科 バイオ研究部 3年 岡本 晃

【はじめに】新型コロナウイルスの流行によりエチルアルコールなどの殺菌剤の需要が高まり、消毒液の需要が増大している。そこで、アルコールと酢酸など殺菌効果が期待される薬液の複合効果により、少ない量で同等の殺菌力を発揮する新しい殺菌液を開発できる可能性について検討した。

【材料】殺菌作用のある薬液としてエチルアルコール、食酢の主成分である酢酸、水道水の殺菌に用いられる次亜塩素酸ナトリウム(以下アンチホルミン)を単体または混合し、試験液とした。殺菌対象とする菌体には大腸菌、枯草菌、酵母を使用した。

【方法】殺菌処理の基本手順を図1に示した。

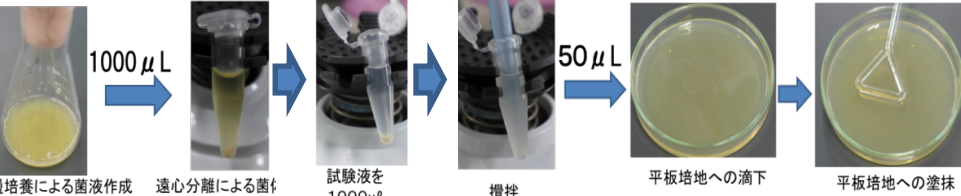


図1. 殺菌実験の基本手順

大腸菌、枯草菌を用いた実験には、ブイヨン培地(肉エキス・ペプトン 各10g/L、塩化ナトリウム 15g/L、pH 7.2)を使用した。酵母を用いた実験には、酵母カビ用培地(グルコース5%、ペプトン0.5%、イーストエキス0.2%、 $K_2HPO_4$  0.2%、 $KH_2PO_4 \cdot H_2O$ , 0.02%)を使用した。各菌液は液体培地で、30°C 150rpmで1晩振とう培養し作成した。各実験には3反復を設けた。

## 《大腸菌殺菌実験》

実験1 エタノール単体の殺菌実験・50～65%の範囲で殺菌力を検証した。なお、試験液と菌体の攪拌の過程をボルテックスミキサーでおこなったものとマイクロピペットでピペッティングで行なったものを比較した。

実験2 酢酸単体の殺菌実験・0～50%の範囲での殺菌力を検証した。

実験3 エタノール酢酸混合液の殺菌実験・エタノール20～55%と酢酸3～10%の混合液の殺菌力を検証した。

殺菌力の評価として、塗抹24時間後に培地上にコロニーの発生がほとんどない状態を‘5’、コロニーが密着して発生している状態を‘1’とした五段階の尺度を設け、これを殺菌強度として計測した。

## 《枯草菌殺菌実験》

実験4 次亜塩素酸ナトリウム(アンチホルミン, NaClO)の有効塩素濃度0.1～1.0%の範囲での殺菌力を検証した。

実験5 エタノール55%とアンチホルミンの有効塩素濃度0.5%のA液と、同55%と1.0%での複合液のB液、アンチホルミンの有効塩素濃度1.0%単体のC液と、殺菌剤なしのD液で殺菌能力の比較を行った。なお、形成したコロニー数から生菌数の計数を行った

## 【結果】

＜実験1＞ミキサーで攪拌した結果を図2に示した。およそエタノール60%試験液が最も殺菌できた。なお、反復したシャーレによりばらつきがあり、その違いは明瞭ではなかった。

ピペッティングで攪拌したものは55%が一番殺菌でき、コロニーが全くなかった。60%と65%は同じくらい殺菌できていて、50%が最も殺菌できていなかった(図3)。なお、同一区の反復で結果にばらつきはなかった。

＜実験2＞酢酸0～50%まで4区分で行った実験では、0%は全く殺菌できず、10%以上を試験液としたものは全て殺菌できていた(図4)。

酢酸1～10%まで4区分で行った実験では、3%と5%酢酸液を試験液とした区分は培地の約5割が菌体に覆われたが10%区分は全く菌が発生していなかった(図5)。

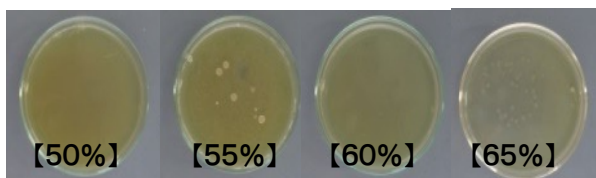


図2. ミキサー攪拌でエタノール50～65%の試験液で処理を行い24時間培養した大腸菌

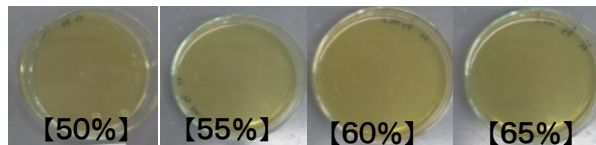


図3. ピペッティング攪拌でエタノール50～65%の試験液で処理し24時間培養した大腸菌

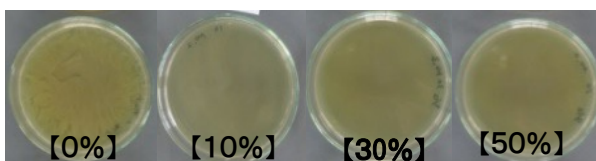


図4. 酢酸0～50%の試験液で処理し24時間培養した大腸菌

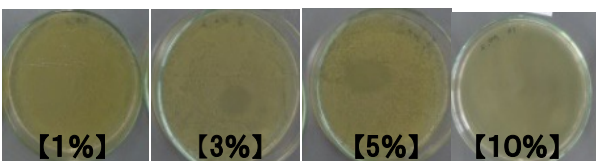


図5. 酢酸1～10%の試験液で処理し24時間培養した大腸菌

## ＜実験3＞

酢酸5%にアルコール 30%以上の濃度とした試験液では大腸菌を完全に殺菌できた。

酢酸10%ではアルコール 40%以上の濃度では完全に殺菌できた。

| 試験液      | 試験液A | 試験液B | 試験液C | 試験液D |
|----------|------|------|------|------|
| エタノール(%) | 0    | 40   | 50   | 55   |
| 酢酸(%)    | 0    | 5    | 5    | 5    |

| 試験液      | 試験液E | 試験液F | 試験液G |
|----------|------|------|------|
| エタノール(%) | 40   | 50   | 55   |
| 酢酸(%)    | 10   | 10   | 10   |

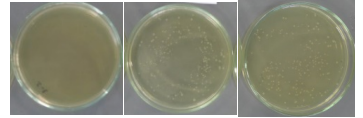
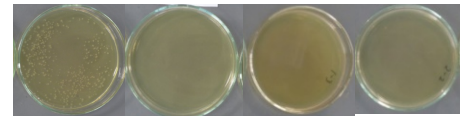


図6. エタノールと酢酸の混合液 処理後24時間培養し、平板培地に発生した大腸菌コロニー

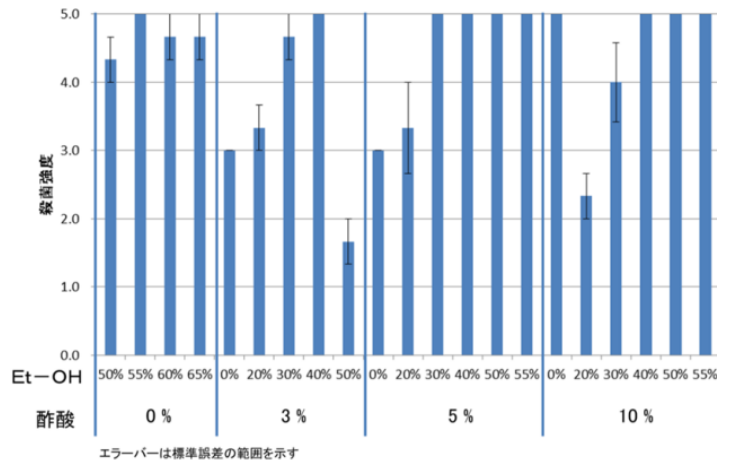


図7(左). エタノールと酢酸の混合液が大腸菌に示す殺菌強度

＜実験4＞予備実験において枯草菌はアルコール、酢酸で殺菌できなかった。本実験ではアンチホルミンの有効塩素濃度1.0%以上で完全に殺菌できていた。0.5%以下では大きく殺菌力が低下していた。

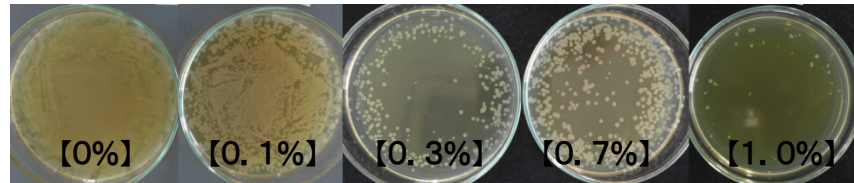


図8. 有効塩素濃度0～1.0%のアンチホルミンの試験液で処理し24時間培養した枯草菌

＜実験5＞処理後の枯草菌生菌数は、1mlあたりA液が $6.0 \times 10^3$ 、B液が約40、C液が約20、D液が1mlに $4.3 \times 10^5$ であった。

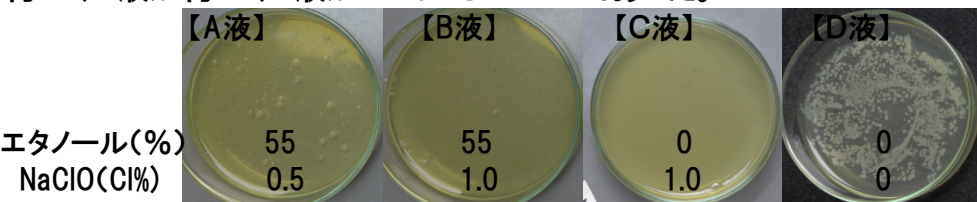


図9. エタノールとアンチホルミンの混合試験液処理後24時間培養した枯草菌

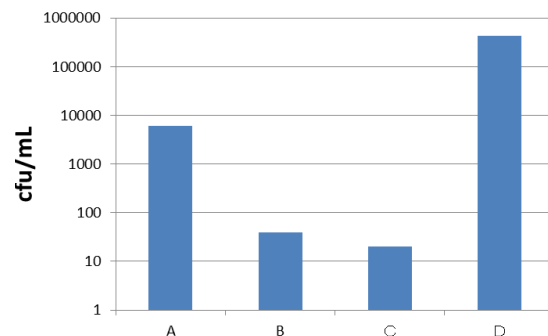


図10(左). エタノールとアンチホルミンの混合液処理後の菌液中の生菌数

## 【まとめ】

○実験1: 実験方法として殺菌処理をボルテックスミキサー攪拌でおこなっても実験結果にばらつきが大きく、ピペッティング攪拌で安定した結果が得られる。

○実験2: 酢酸10%濃度で大腸菌を殺菌できる。

○実験3: アルコール、酢酸がそれぞれ単体では大腸菌を殺菌できない低濃度でも混合することで殺菌することが確かめられた。

○実験4: 枯草菌の殺菌には、アルコール、酢酸単体では効果がなく、アンチホルミンの適用が必要である。

○実験5: 枯草菌に対しては、アルコールの殺菌力を低濃度アンチホルミンで補完することはできない。

【参考文献】東京医療保健大学大学院医療保健学研学科 医療保健学専攻 博士課程 殺菌・抗ウイルス効果におよぼすエタノール濃度の影響