

〔論 文〕

# UFB 水による抗菌効果の検証

生野 公規<sup>\*1</sup>・高山 敦好<sup>\*2</sup>・立道 悟<sup>\*1</sup>

## Verification of Antibacterial Effect of UFB Water

Koki IKUNO<sup>\*1</sup>, Atsuyoshi TAKAYAMA<sup>\*2</sup>, Satoru TATEMICH<sup>\*1</sup>

### Abstract

UFB is expected to be used in various fields, including medicine, culturing, plant cultivation, and washing. Bacteria, the proliferation of which depends on their environment, can thrive in high-temperature, high-humidity environments and adversely affect human health. Concerns have arisen over bacteria that cannot be treated without radical treatment using ozone or hydrogen peroxide solution. However, O<sub>3</sub> may adversely affect the human body and hydrogen peroxide is unstable. In recent years, UFB has been developed as a radical-containing solution. However, its properties and effects have hardly been reported. Therefore, this study examines the effectiveness of UFB as an antibacterial agent.

**Key Words** : UFB water, Nano Sight, Radical, Antibacterial, Sterilization

### 1. 緒 言

高温多湿など、地域・環境によって細菌が繁殖し、人体に悪影響を及ぼす懸念がある。細菌は極めて身近に存在し、食品や飲料、さらに人間の体の中にも疾患の原因となりうる細菌などが存在する。

現在、食品や衛生商品等では、菌の繁殖を抑えるために、防腐剤や添加物が用いられている。しかしながら、人体に直接接触することから、特に若年相においては無添加製品が愛用されているものの、消費期限が短く廃棄物の増加も懸念される。

次亜塩素酸による殺菌処理がよく用いられているが、その代替として近年、オゾンや過酸化水素水によるラジカル処理を用いた技術が報告されている。特に、オゾン処理でなければ処理しきれない強力な細菌も存在することから、大いに期待されたものであるが、オゾンは人体への悪影響が懸念され、かつ過酸化水素水はその性状が不安定なことが問題となっており、普及の足かせとなっている。

そこで近年、ウルトラファインバブル（UFB: Ultra Fine Bubble）が注目されている。従来、気泡はサイズによって明確には区別はされていなかった。それは気泡が関与する様々な性質の多くは、気泡の大きさよりも気泡内の気体や気泡周囲の物質の性質の影響の方が大きいことが要因である。また、気泡のサイズを人為的かつ容易に縮小できる簡易的な機器や市販装置も存在しなかった。近年では、気泡粒径を活かしたその多様な性質の製品として、飲料、洗剤、材料など様々な分野に及び、さらに、ガス吸収、微生物培養、養殖、発電、洗浄などの技術にも応用されてきた、さらにUFBは、ラジカルを含んだ溶液となることが報告されている。

そこで、本研究は、混入するガスおよびその粒子数による効果の検証を行い、UFB水の性状を明らかとするものである。

UFBは内部圧力が高く、気泡中の気体が水中に溶解込み収縮し、最終的に自己圧壊を起こし消滅する。その際に発生するジェットや水が分解されることで生成されたラジカルによる殺菌、抗菌が期待できる<sup>1)</sup>。

<sup>\*1</sup> 工学研究科

<sup>\*2</sup> 機械システム工学科

平成30年11月19日受理

## 2. 実験装置

### 2・1 UFB 水

2007年頃にマイクロバブルをさらに微細化したナノバブルによる有害物質の分解事例が注目され、その後も臨床医療や植物栽培などの分野での成果が報告された。2013年に国際標準化機構（ISO：International Organization for Standardization）にてファインバブル技術専門委員会が設立され、これらの微細な気泡の定義や規格化が検討された。そこで、球相当直径が $100\mu\text{m}$ 以下の気泡をファインバブルと呼び、その他の気泡とは区別された。さらにその内訳として、直径が $1\sim 100\mu\text{m}$ の気泡をマイクロバブル、直径が $1\mu\text{m}$ 以下の気泡をウルトラファインバブル（UFB：Ultra Fine Bubble）と呼ぶことで統一された。

マイクロバブルとウルトラファインバブルの明確な差は、ウルトラファインバブルでは可視光を散乱しないため肉眼では直接観察できず、マイクロバブルでは白濁により存在を確認できる点にある。UFB 水は、水中に $1\mu\text{m}$ 以下の気体が混入したもので気体自体が浮遊しており、この UFB は負のコロイドとしての側面があり、負に帯電をしていることから、UFB 同士が反発し結合することは生じにくく、気泡数密度が低下しにくいものである。

UFB 水は混入する気体を変化させることにより、気体に応じた効果を得ることが可能であり、UFB 水の生成手法の主なものは加圧溶解方式と旋回流方式があり、加圧溶解方式は液中に圧縮した気体を一気に開放させることにより UFB を生成する方式である。高濃度の UFB を生成が可能であるが、 $50\mu\text{m}$ 以上の気泡が多く生成され、気泡同士が結合し肥大化するため、上昇速度が速く、液中の UFB 滞留時間が短い。

旋回流方式は気体と液体を高速旋回させ、その際に生じるせん断力により UFB を生成する方式である。微小で均一な気泡が生成されるが生成効率が低いものである。

以上から、本研究では、2枚のプレートによる段階的な圧力開放を行うことで強い攪拌領域を生じさせる加圧溶解攪拌型ミキサを採用した。微細化された気泡は、図1に示すように、陰イオンを形成し、ラジカルと相互変換されることから、酸化還元反応と同時に陽イオンである有機物の捕集が可能であると推測する。

### 2・2 実験装置

図2に実験装置を示す。NIKUNI 製15NED07Z-V ポンプを採用し、ポンプ吸入側にタンクと気体注入口を接続し、ポンプ排出側に加圧溶解型ミキサを接続することで、UFB の生成を試みた。これは、タンクへ循環させる経路を持ち、加圧溶解型ミキサの通過回数によって、気体の粒径が減少できるものである。混入する気体の流量は $0.1\text{L}/\text{min}$ と固定し、タンク内に工業用精製水 $1.0\text{L}$ を投入後、稼働時間を5、10、20、60minの4条件でUFB水を生成した。

生成したUFB水は各試験菌を培養し、培養開始日から24時間後の殺菌試験、14日目の殺菌試験として菌の個数を比較した。普通寒天培地（NA）に接種し、 $35^{\circ}\text{C}$ 、24hの条件で培養後、滅菌生理食塩水を用いて、細菌を $10^8$ 個/mlになるよう調整を行い試験菌液とした。それぞれのUFB水 $10\text{ml}$ に対し試験菌液を $0.1\text{ml}$ ずつ接種し $25^{\circ}\text{C}$ の条件で培養を行った。接種24h後の試験管試料に滅菌生理食塩水を用いて10倍希釈し、希釈液をSCDLP寒天培地に接種させ、 $35^{\circ}\text{C}$ で14日の培養を行った。菌数は、滅菌磷酸緩衝生理食塩水をControlとし、生成されたコロニー数をカウントした生菌数により算出した。

対象となる試験菌は黄色ブドウ球菌（Staphylococcus Aureus）、大腸菌（Escherichia Coli）、緑膿菌（Pseudomonas

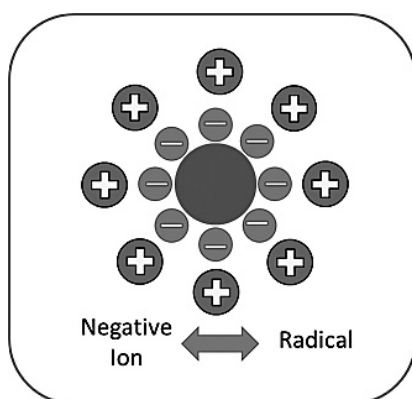


Fig.1 UFB

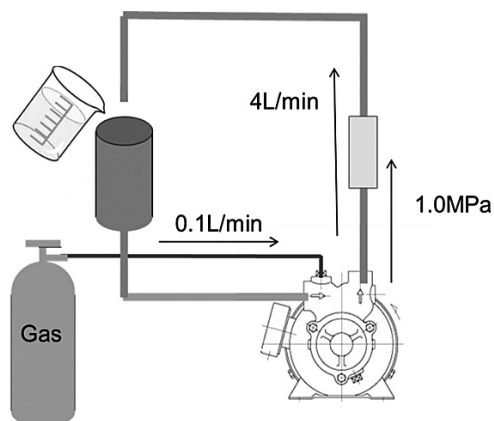


Fig.2 UFB device

Aeruginosa), カンジダアルビカンス (Candida Albicans), 麹カビ (Aspergillus brasiliensis) である。本実験では、殺菌は24時間以内に菌を死滅させる事、抗菌は14日間の間での菌の減少及び増殖を抑制する事と定義した。

## 2・3 試験対象とした菌

### 2・3・1 黄色ブドウ球菌 (Staphylococcus Aureus)<sup>2)</sup>

黄色ブドウ球菌はヒトのみならずウシ、ニワトリといった家畜・家禽に保有されているが、時として宿主に様々な疾病を引き起こす。黄色ブドウ球菌は極めて多数の毒素を産生し、ブドウ球菌属の中で最も病原性の高い菌種と考えられている。ヒトにおいては、種々の化膿性疾患、呼吸器感染、毒素性ショック症候群、ブドウ球菌性熱傷様皮膚症候群を引き起こすと共に、重要な食中毒起因菌である。黄色ブドウ球菌はヒト、家畜、家禽に分布しているが、ほとんどの食中毒はヒトに定着している黄色ブドウ球菌が食品を汚染することにより発生していると考えられており、今回の対象菌とした。

### 2・3・2 大腸菌 (Escherichia Coli)<sup>3)</sup>

病原性大腸菌とは主に下痢や腹痛を伴った胃腸炎を引き起こす大腸菌の総称で、一般的にはその病原性により、腸管病原性大腸菌 (EPEC)、腸管毒素原性大腸菌 (ETEC)、腸管組織侵入性大腸菌 (EIEC)、腸管凝集性大腸菌 (EAggEC)、および EHEC の5種類に大別されている。EHEC の特徴はベロ毒素を産生することであり、出血性的大腸炎や HUS を引き起こすことが知られている。近年では、大腸菌による食中毒が広く報道されており、今回の対象菌とした。

### 2・3・3 緑膿菌 (Pseudomonas Aeruginosa)<sup>4)</sup>

緑膿菌は、通常青緑色のピオシアニンを産生するグラム陰性桿菌で、湿潤な環境で成育し、病院では流しや風呂の排水口などの水周りに検出される「常在菌」である。また緑膿菌は、健康な人の腸管内にも存在するものの、弱毒菌であるため健常者には病原性を示さない。しかしながら免疫抑制状態にある入院患者には、敗血症、創感染、尿路感染、あるいは術後の髄膜炎、または肺炎などの重篤な感染症を引き起こすことがある。緑膿菌はエンドトキシンという強力な毒素を産生するため、血液中に侵入したり、肺炎などを惹起すると、ショックや多臓器不全を誘発する。このため血液疾患治療、熱傷治療、臓器移植、または開腹・開胸手術を受けた患者に感染した場合には致命的となる場合が多い。以上のような理由から、緑膿菌は院内感染症や術後感染症、または日和見感染症などの原因細菌として警戒すべきものである。

### 2・3・4 カンジダアルビカンス (Candida Albicans)<sup>5)</sup>

カンジダアルビカンスは、通常健常者の口腔、皮膚、咽頭などの正常細菌叢に存在する二形性真菌である。

病原性を発揮する際には、酵母形から菌糸形へと形態を変化させ、生体組織に定着、増殖し、標的となる組織に傷害を与える。さらに感染の進行によって真菌血症や全身感染を引き起こす。近年ではこの菌糸形への形態変換能力が深在性真菌症における病原性の重要な要因であると考えられている。衛生面では、手や体に直接触れるウェットティッシュや除菌シートにおいて重要視される菌であり、今回の対象菌とした。

### 2・3・5 麹カビ (Aspergillus brasiliensis)<sup>6), 7)</sup>

麹菌は不完全真菌であるアスペルギルス的一种である。アスペルギルスのうち、一部のものはヒトに対する病原性を持ち、肺などに感染することがある。これらのカビによる感染症をアスペルギルス症もしくはカビ性肺炎と呼ぶ。アスペルギルス症とはアスペルギルス属の真菌が原因である疾患の総称であり、日和見感染症である。アスペルギルスの胞子は環境中に広く存在することから、ほとんどのヒトが毎日吸入しており、免疫に障害のあるヒトなどではアスペルギルス症に進行する場合がある。人体に悪影響を及ぼす菌であり、今回の対象菌とした。

## 3. 実験結果

### 3・1 UFB 水の性状

気泡数密度は、UFB 水の一例を図3に示す。5 min が  $2.3 \times 10^6$  個/ml, 10min が  $4.2 \times 10^6$  個/ml, 20min が  $8.3 \times 10^6$  個/ml, 60min が  $1.6 \times 10^9$  個/ml であった。以上から、2億個/ml, 4億個/ml, 8億個/ml, 16億個/ml の気泡数密度を有する UFB 水による試験菌への培養実験とした。

2億個/ml の UFB 水は、83nm にピーク山が見られ、それ以外の粒子径で山が散見される。2億個/ml は混合時間が短く、粒子径が安定していない可能性が考えられる。

4億個/ml の UFB 水は、101nm にピーク山が見られ、ほぼ1本軸の粒子径分布が確認された。これは、2億個/ml と比べ混合時間が必要であり、一様な混合状態になったものと推測する。

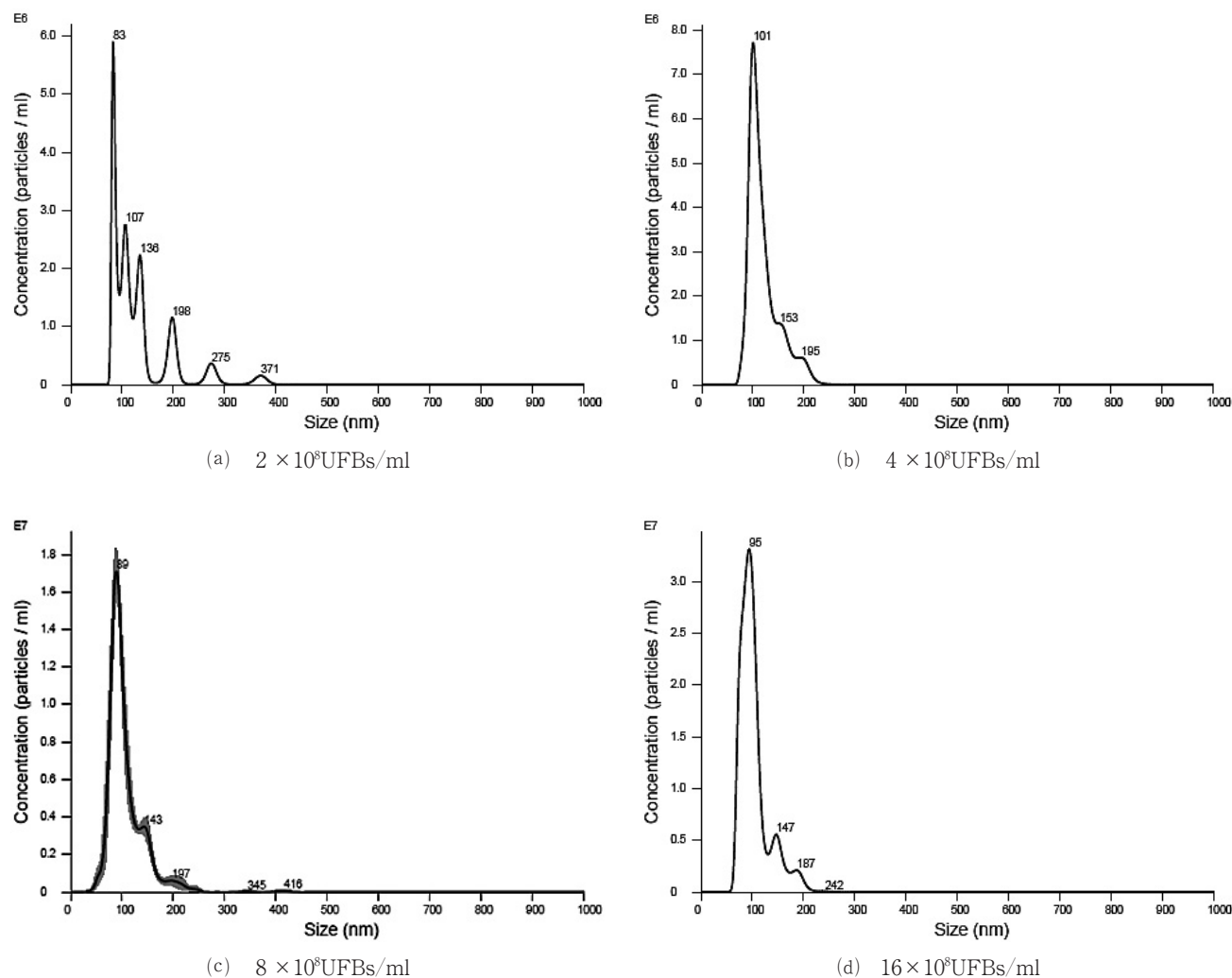


Fig. 3 Analysis result of air UFB water

8 億個/ml の UFB 水は、89nm にピークの山が見られ、4 億個/ml の場合と同様にはほぼ 1 本軸の粒子径分布が確認された。これは、4 億個/ml の場合と同様に、混合時間の増加により一様な混合状態になり、粒子径分布もより微細化されたと推測する。

16 億個/ml の UFB 水は、95nm にピークの山が見られ、4 億個/ml の場合と同様にはほぼ 1 本軸の粒子径分布が確認された。これは、4 億個/ml の場合と同様に、混合時間の増加により一様な混合状態になったと推測する。

さらに、ピークの粒子径は 95nm、それ以外の山でも 147nm、187nm と混合時間の増加による UFB の安定化が促進され、300より 100nm 付近に集中すると推測する。

以上から、ナノ粒子径密度が増加することで、粒子径分布が 1 つ山になる傾向が見られ、さらに、100nm 付近に集中する傾向が見られる。

### 3・2 殺菌試験

気泡数密度が 16 億個/ml の  $N_2$ 、 $O_2$ 、 $CO_2$ 、Air では、気体に関係なく試験菌培養 24 時間後にはほぼすべての菌が消滅した。また、気泡数密度を鑑みると、2 億個/ml では試験菌は減少しなかった。さらに、4 億個/ml、8 億個/ml では一様に試験菌の濃度が低下した。図 3 のナノ粒子径密度から、2 億個/ml では粒径にばらつきが生じており、混入する気体が凝集した可能性が考えられる。よって、14 日目までの抗菌培養は、2 億個/ml を除く 3 種類とした。

### 3・3 抗菌試験

抗菌とは、菌の発生、増殖を抑制することである。培養 14 日目の試験菌培養の実験結果を図 4 に示す。(a)が  $N_2$ UFB、(b)が  $O_2$ UFB、(c)が AirUFB の実験結果である。



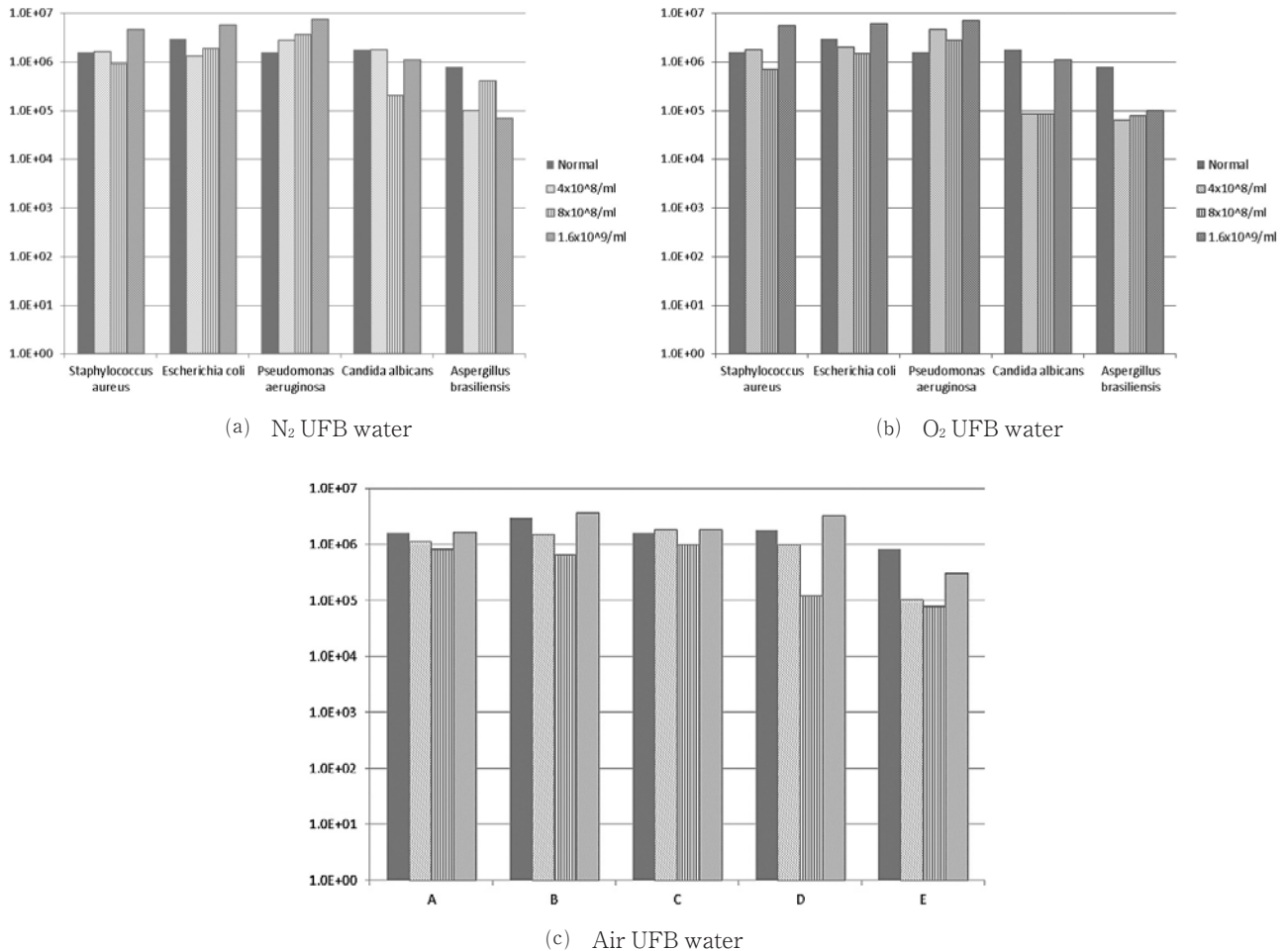


Fig. 4 Result of UFB water

黄色ブドウ球菌、大腸菌に着目すると、N<sub>2</sub>およびO<sub>2</sub>ともに4億個/mlもしくは8億個/mlで抗菌能力が確認されるが16億個/mlでは増加する傾向が見られた。緑膿菌においては、気泡数密度に関係なく増加する傾向が見られた。カンジタ菌はN<sub>2</sub>が8億個/mlで顕著な低下が見られ、O<sub>2</sub>でも4億個/mlおよび8億個/mlで大幅な低下が見られた。麹カビは、気泡数密度に関係なく、N<sub>2</sub>でもO<sub>2</sub>でも低減が可能であった。

AirUFBは、N<sub>2</sub>UFBやO<sub>2</sub>UFBの結果に酷似していた。緑膿菌に対する効果はN<sub>2</sub>UFBやO<sub>2</sub>UFBと比べ薄いですが、それ以外の菌やカビに対する効果が確認でき、一様に低減する効果が見られた。

以上から、気泡数密度が大きい16億個/mlにおいては抗菌に対する効果が期待できなかったが、これは、粒子径密度の上昇と比例しラジカルやイオンが高濃度化し肥大化した結果、短時間で消滅した可能性が示唆される。その反面、8億個/mlのUFB水が緑膿菌を除き一様に濃度低下に貢献したことから、ナノ粒子径密度が大きく寄与することが分かった。

### 3・4 考察

24時間の短時間の試験菌培養試験では、すべての菌の消滅が確認でき、UFB水の高い能力が確認された。しかしながら、14日の長期試験では、緑膿菌の処理が難しいことが明らかとなったが、常時UFB水を生成することで対応できるものと期待する。今回の試験菌の処理については以下の見解による可能性が考えられる。

通常黄色ブドウ球菌は他の細菌との競合に弱く、他の細菌が数多く存在する素材に増殖することは無いが、4億個/mlおよび16億個/mlの場合は、やや増加する傾向が見られるが、通常、1桁以上の変動によって菌数増加を評価しており、桁数が変化するほどの増加ではなく一定の抗菌が得られていると考える。

大腸菌は、十分な栄養があって、人の体温程度の温かさがあれば、20分で2倍程度に増加することが報告されている。これらから、大腸菌においては低温殺菌もしくは煮沸が有効であるが、UFB水であれば増加することなく常温でも安全性が確保できたものと言える。

緑膿菌は消毒薬や抗菌薬に対する抵抗性が非常に高いことが特徴であり、薬剤に対して耐性を獲得したものも多いため UFB 水による抗菌が持続できなかったものと考えられる。

カンジダ菌は多湿で不潔な環境で増えやすいため、汗で蒸れた場合などに菌が増殖しやすいが、本実験では工業用精製水を用いたため培養環境は清潔であり、UFB 水の抗菌作用と相まって顕著な増殖の抑制に繋がったと考えられる。

麹カビは、増殖するためには酸素が必要な好気性菌で、繁殖適温は25度～30度で、50度前後で死滅する。しかしながら、増殖に必要な酸素を用いた UFB 水でも抗菌効果が確認できた。これは、UFB 水の抗菌作用が菌の増殖力を上回ったためだと考えられる。

ラジカルの側面から考えると、O<sub>2</sub>UFB 水では OH ラジカルが生成でき、N<sub>2</sub>UFB 水では窒素系ラジカルが生成されたものと言える。

#### 4. 結 言

本研究は、加圧溶解型ミキサを用いた UFB 水を生成し、以下の結論を得た。

- 1) 加圧溶解型ミキサを用いて UFB 水を生成でき、2 億個/ml、4 億個/ml、8 億個/ml、16 億個/ml と気泡数密度を変化させることに成功した。
- 2) 気泡数密度が2 億個/ml 以外の4 億個/ml、8 億個/ml、16 億個/ml の UFB 水では、気体に関係なく試験菌培養24 時間後に殺菌作用により濃度の減少が確認できた。また、16 億個/ml の UFB 水は、ほぼ全ての菌の消滅が確認できた。
- 3) 8 億個/ml の UFB 水は、緑膿菌を除く試験菌に抗菌作用が確認できた。

#### 文 献

- (1) 飯島崇文, 牧瀬竜太郎, 村田隆昭, 難分解性有機物処理への適用を目指す OH ラジカル発生装置, 東芝レビュー, Vol. 6, No. 8 (2006)
- (2) 重茂克彦, 食水系感染症病原体の検査法 - 1, モダンメディア, 54巻, 4号, p131 (2008)
- (3) 福田真嗣, 大野博司, 腸管出血性大腸菌 O157感染症に対するプロバイオティクスの防御効果, 腸内細菌学会誌, 23巻(2009)
- (4) 藤田次郎, 病原体別にみた院内感染と対策, 日本内科学会雑誌, 97巻, 11号 (2008)
- (5) 橋本佳祐, 眞野容子, 古谷信彦, *Candida albicans* の形態変化に対する抗真菌薬効果の検討—各種抗真菌における sub-MIC 効果—, 医学検査, Vol. 63, No. 5 (2014)
- (6) 福田佳奈子, 足立厚子, 指宿智恵子, 白井成鎬, 佐々木祥人, 味噌醸造を家業とする兄弟に発症した麹菌アレルギーの2例, 臨床皮膚科, 70巻, 10号 (2016)
- (7) 亀井克彦, 落合恵理, 住宅環境に生息する病原性カビ, 特にマイコトキシン産生カビによる真菌症について, *Mycotoxins*, Vol. 58, (2008)