

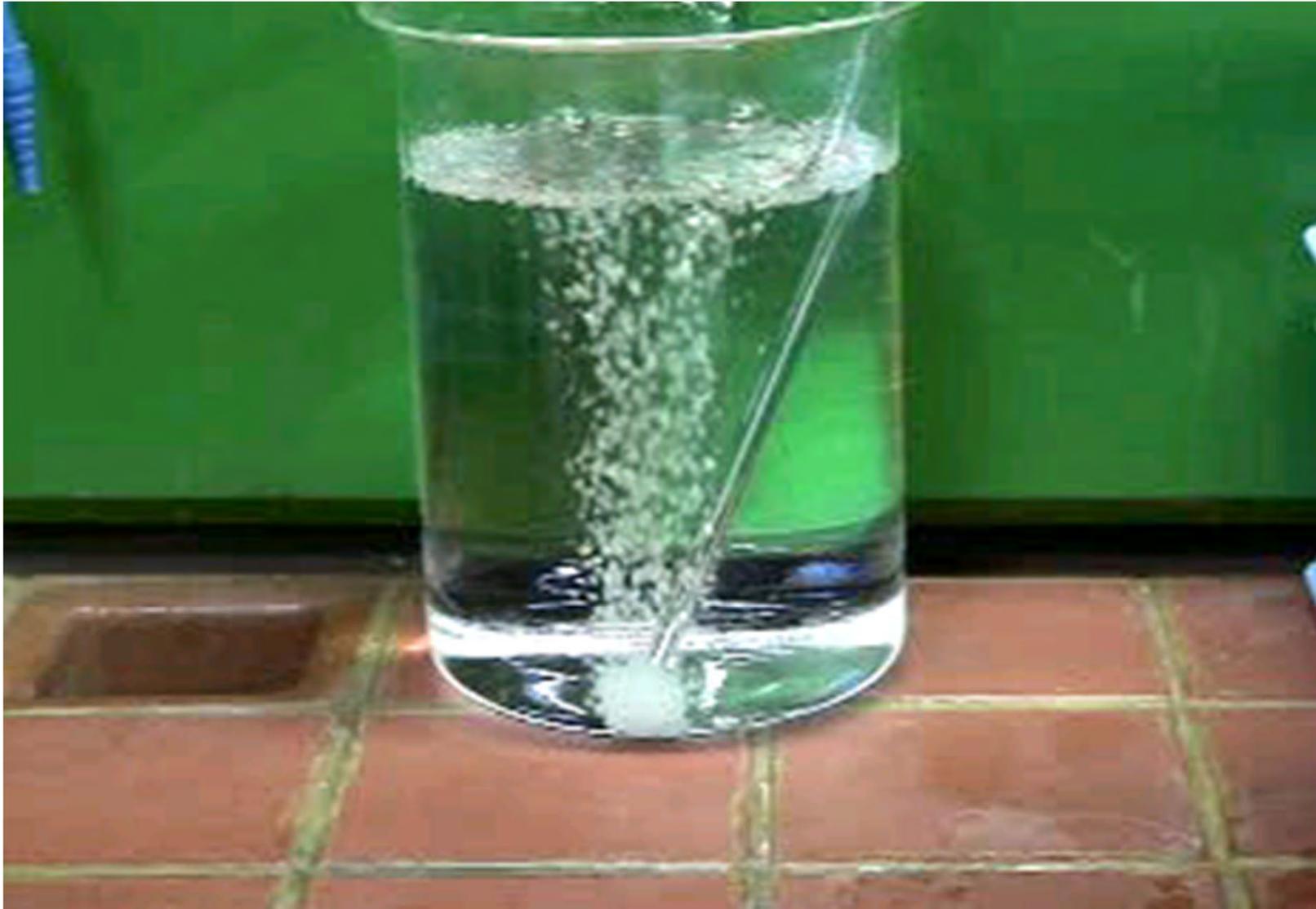
マイクロナノバブルによる 殺菌技術の開発

高橋 正好（産業技術総合研究所）

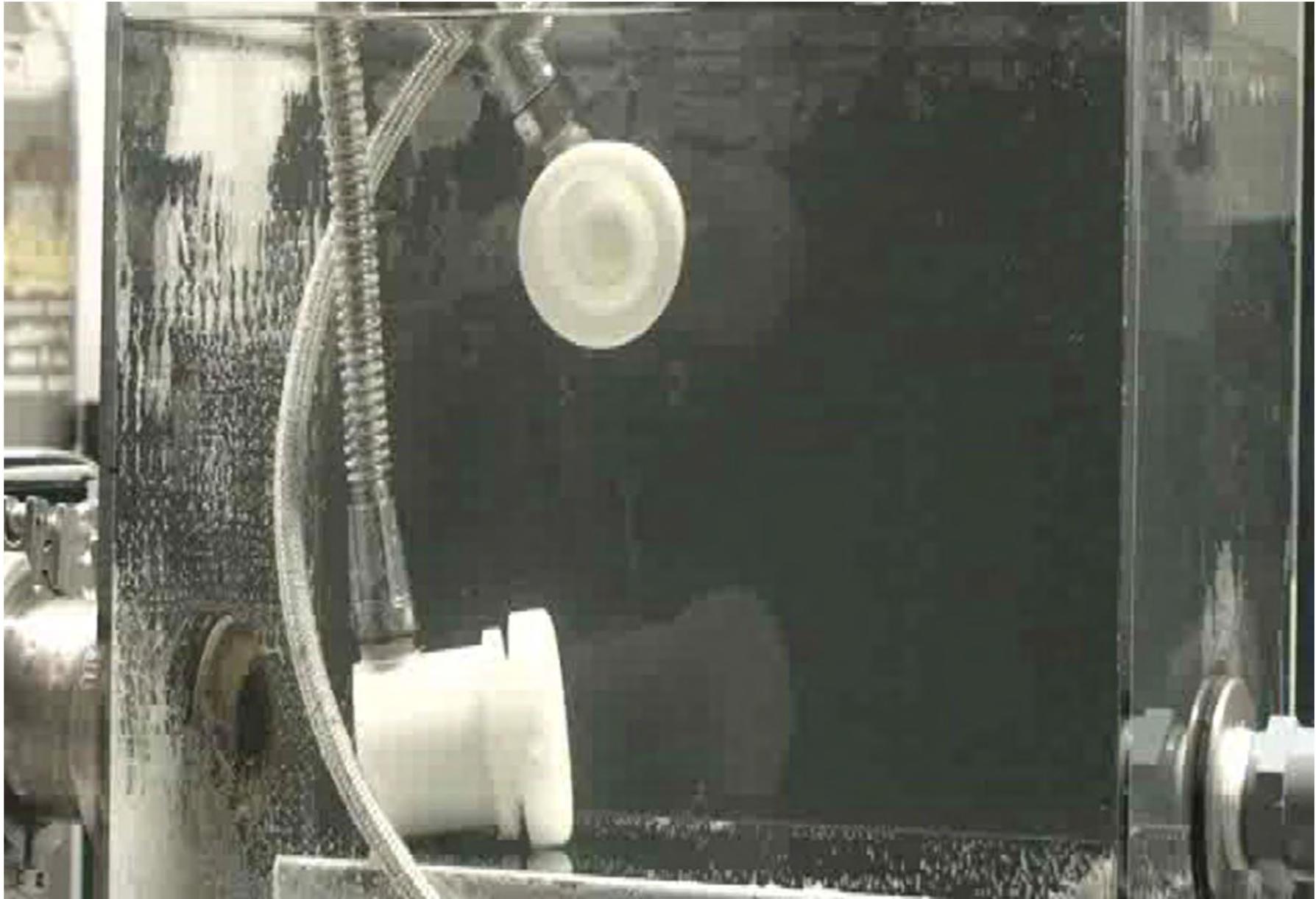
本日の講演内容

1. マイクロバブルとナノバブルの基礎
2. マイクロバブルによるカット野菜洗浄
3. ナノバブルによる牡蠣の殺菌
4. 環境・医療分野での応用事例
5. まとめと今後の展望

普通のアワ



非常に小さなアワ（マイクロバブル）

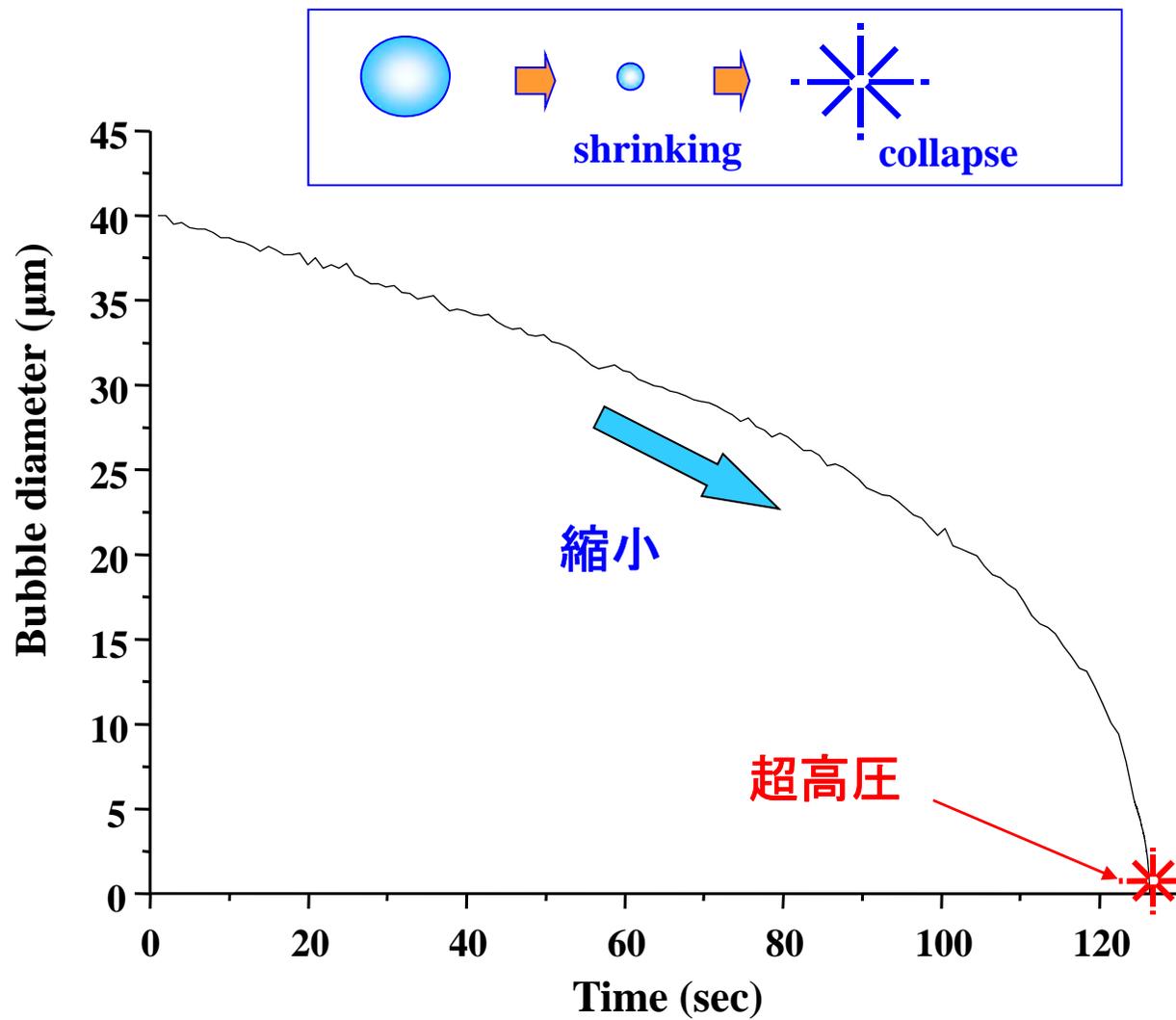


マイクロバブル (非常に小さなアワ)



ゆっくりと浮上しながら縮小して、水中で消滅する

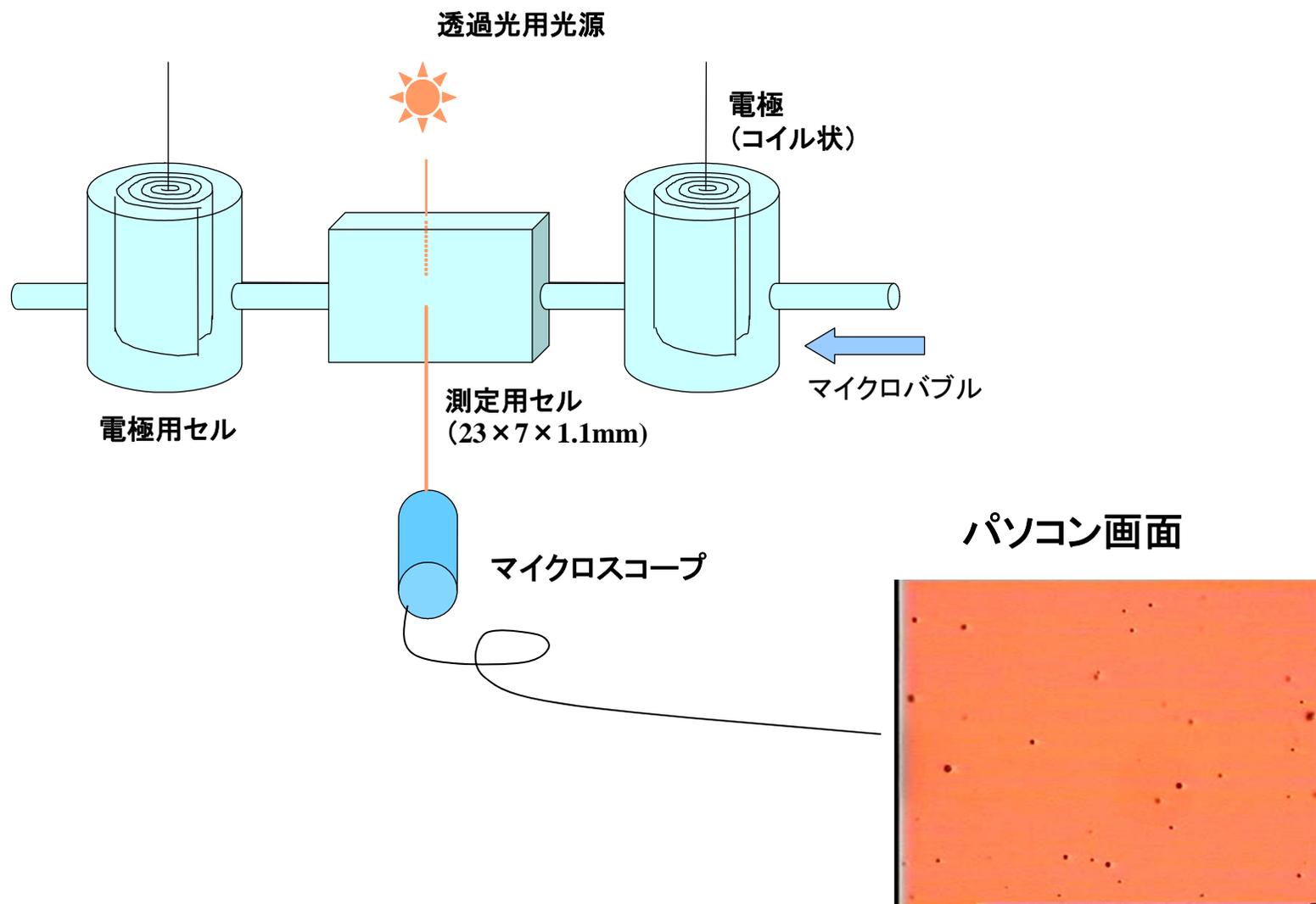
内部圧力の上昇



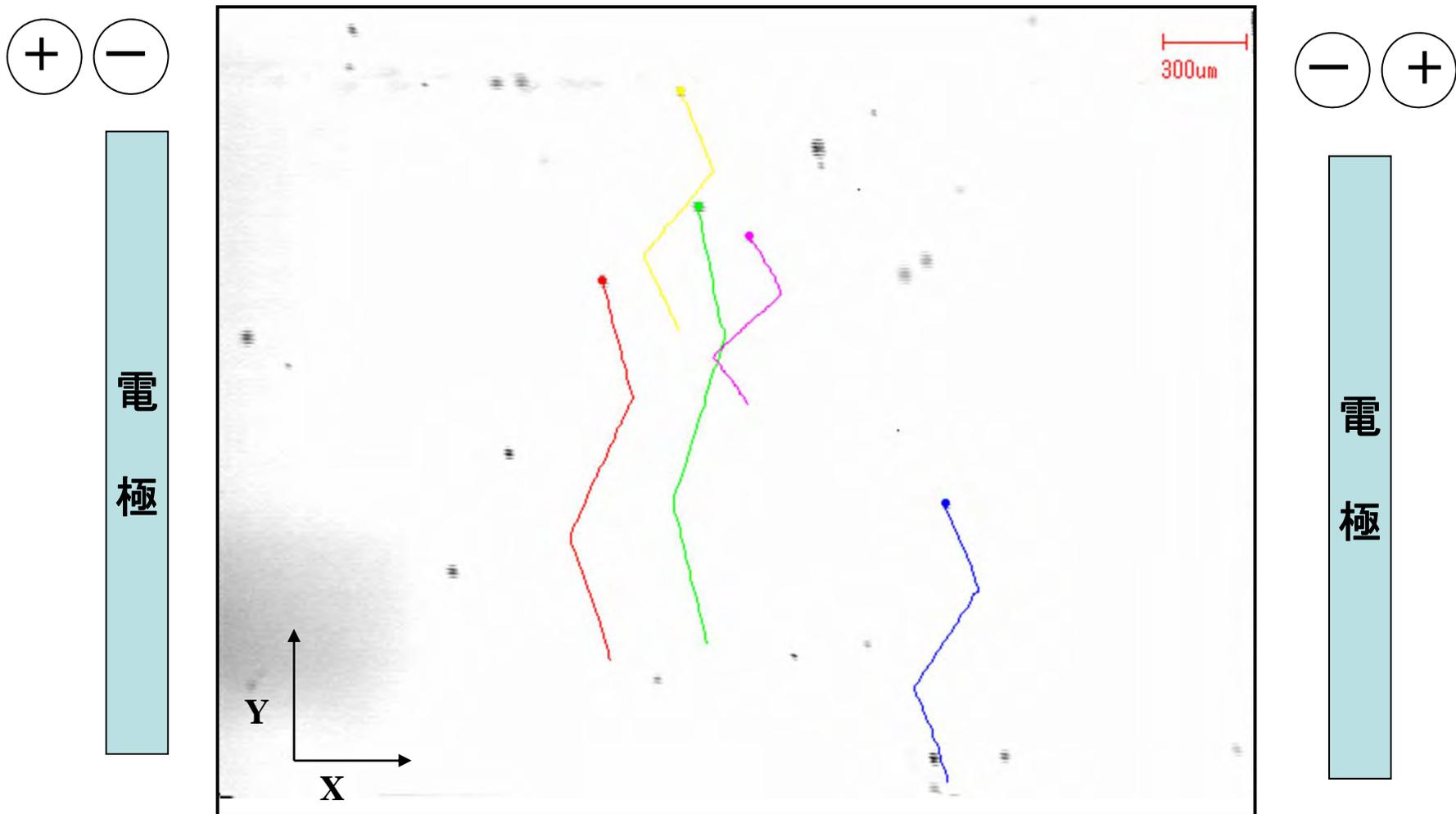
Young-Laplace equation

$\Delta P = 2\sigma / r$

Diameter μm	ΔP kg/cm ²
10	0.3
1	3
0.1	30
⋮	⋮
0	∞

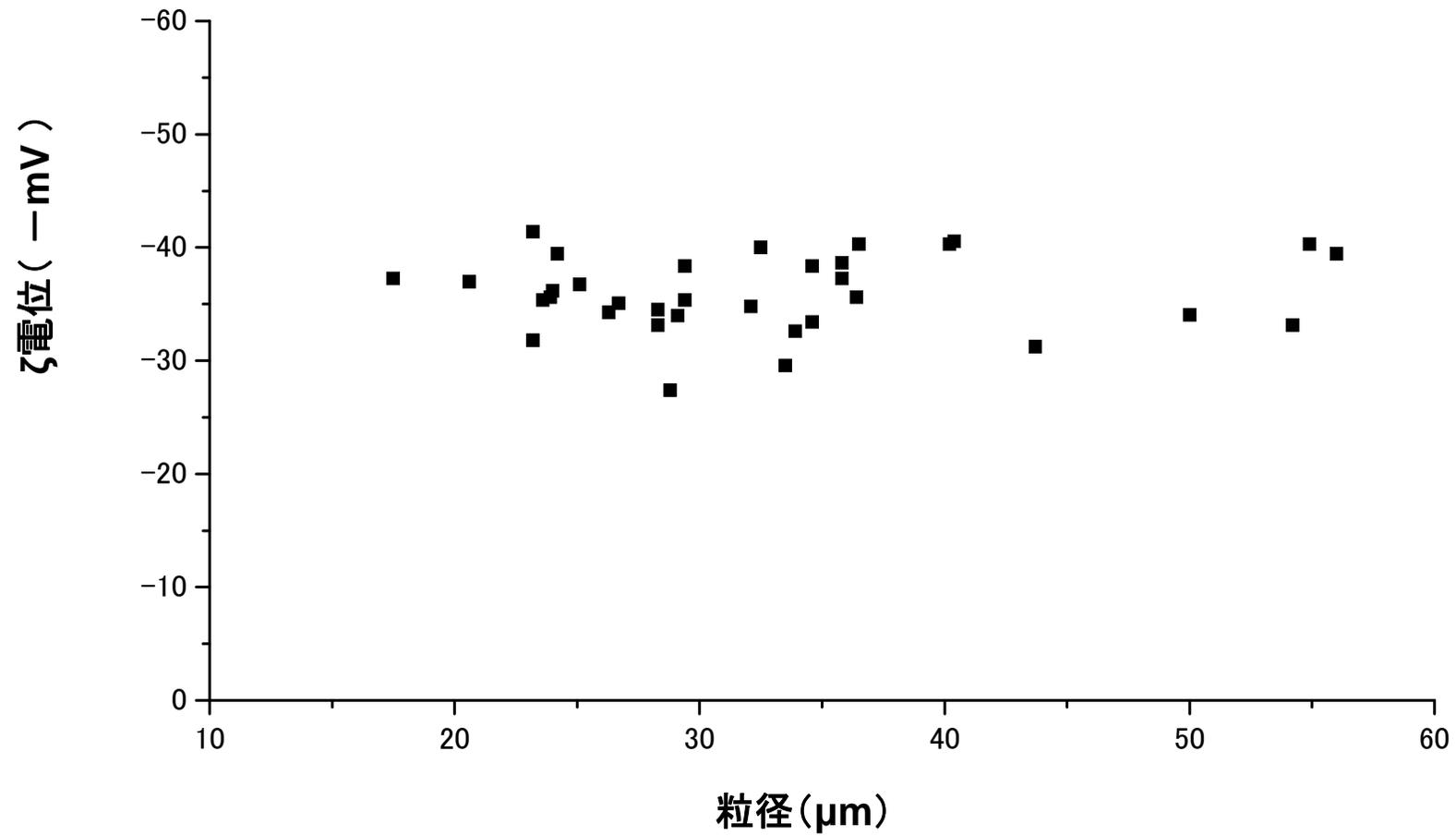


電気泳動セル中のマイクロバブルの動き



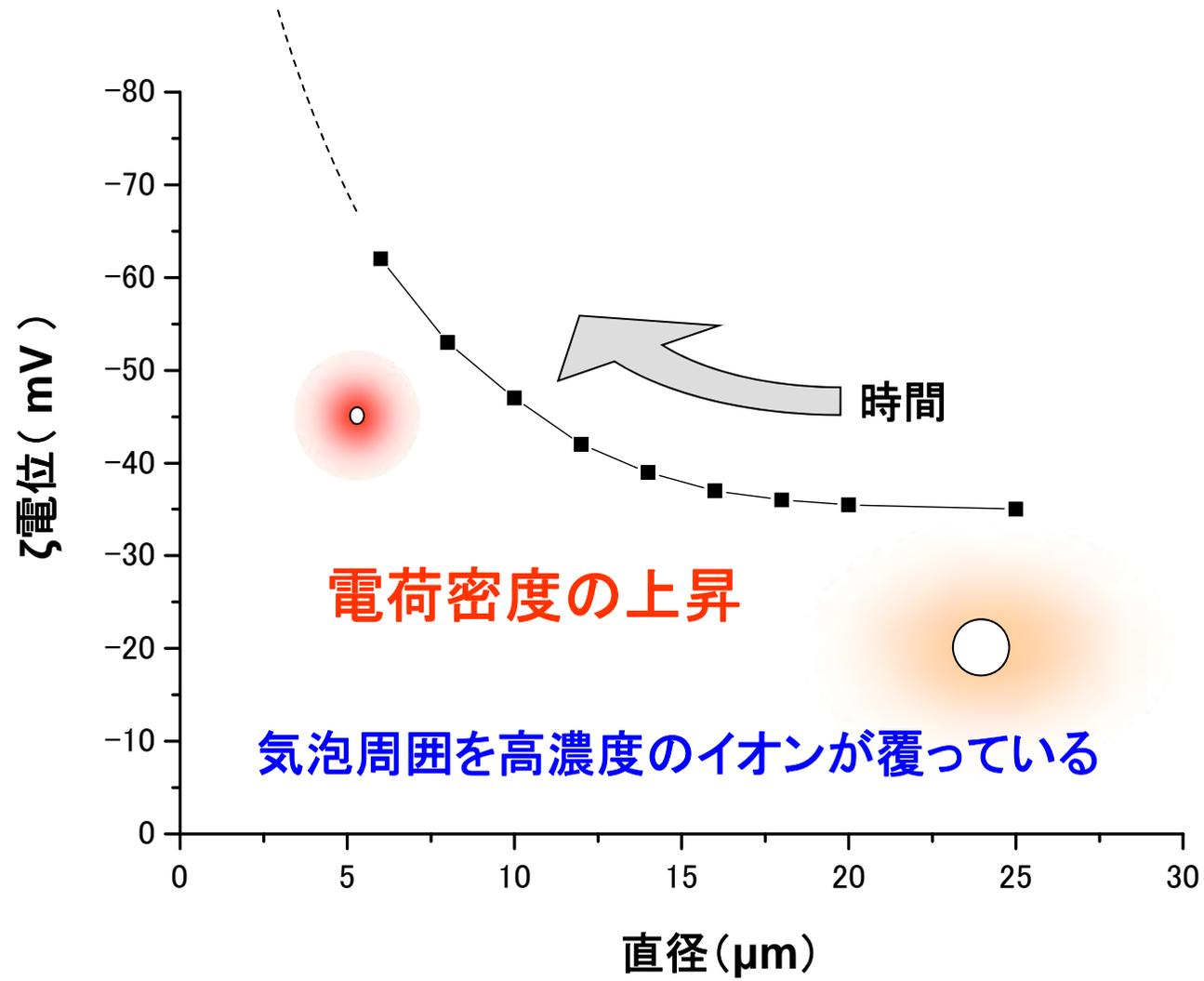
電気泳動の測定画面の一例 (30 フレーム/ 秒 640 × 480画素)

約3秒間の軌跡

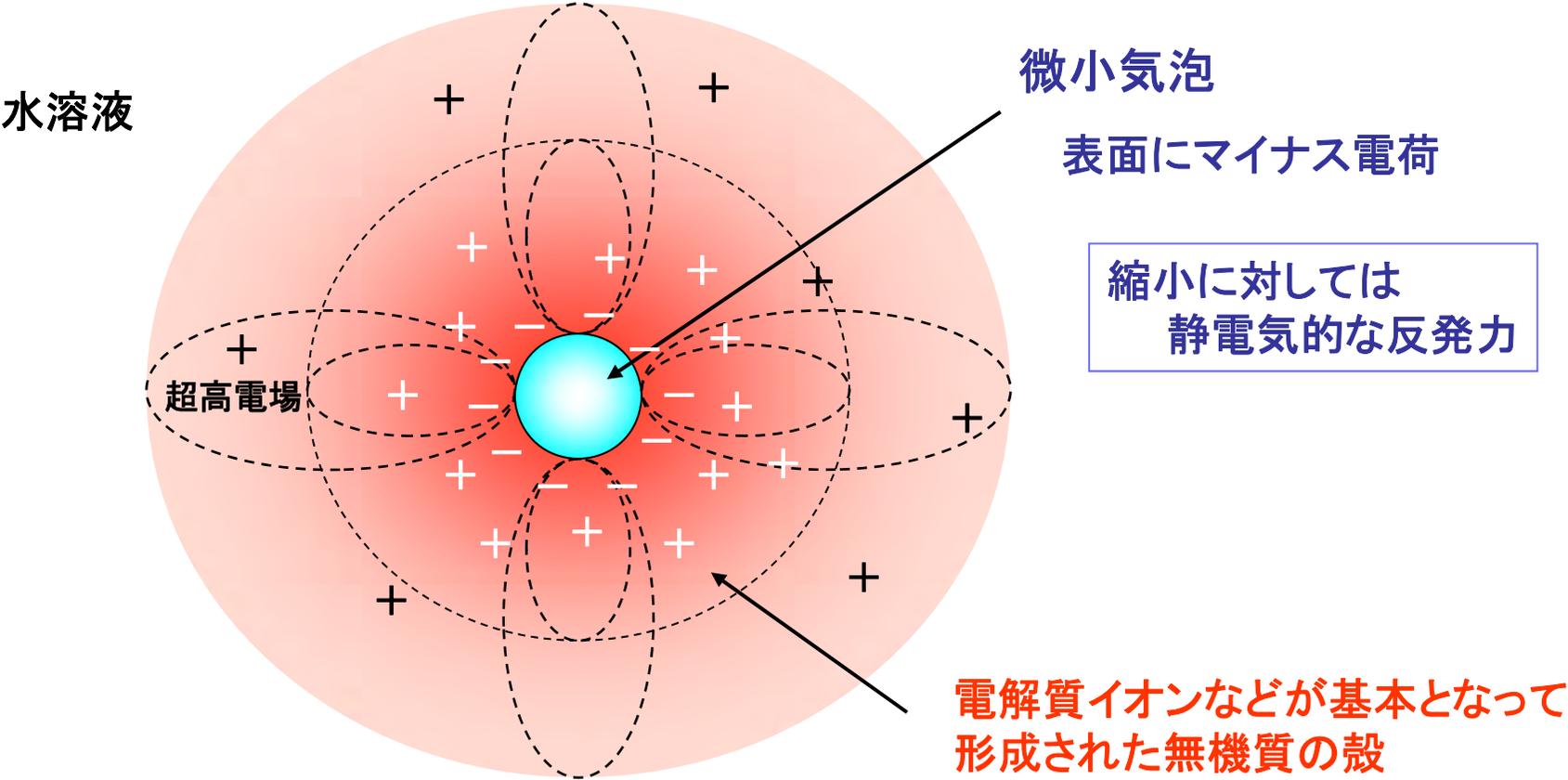


蒸留水中での気泡のゼータ電位の測定結果

一つの気泡の変化に注目



微小気泡の安定化メカニズム（イメージ）

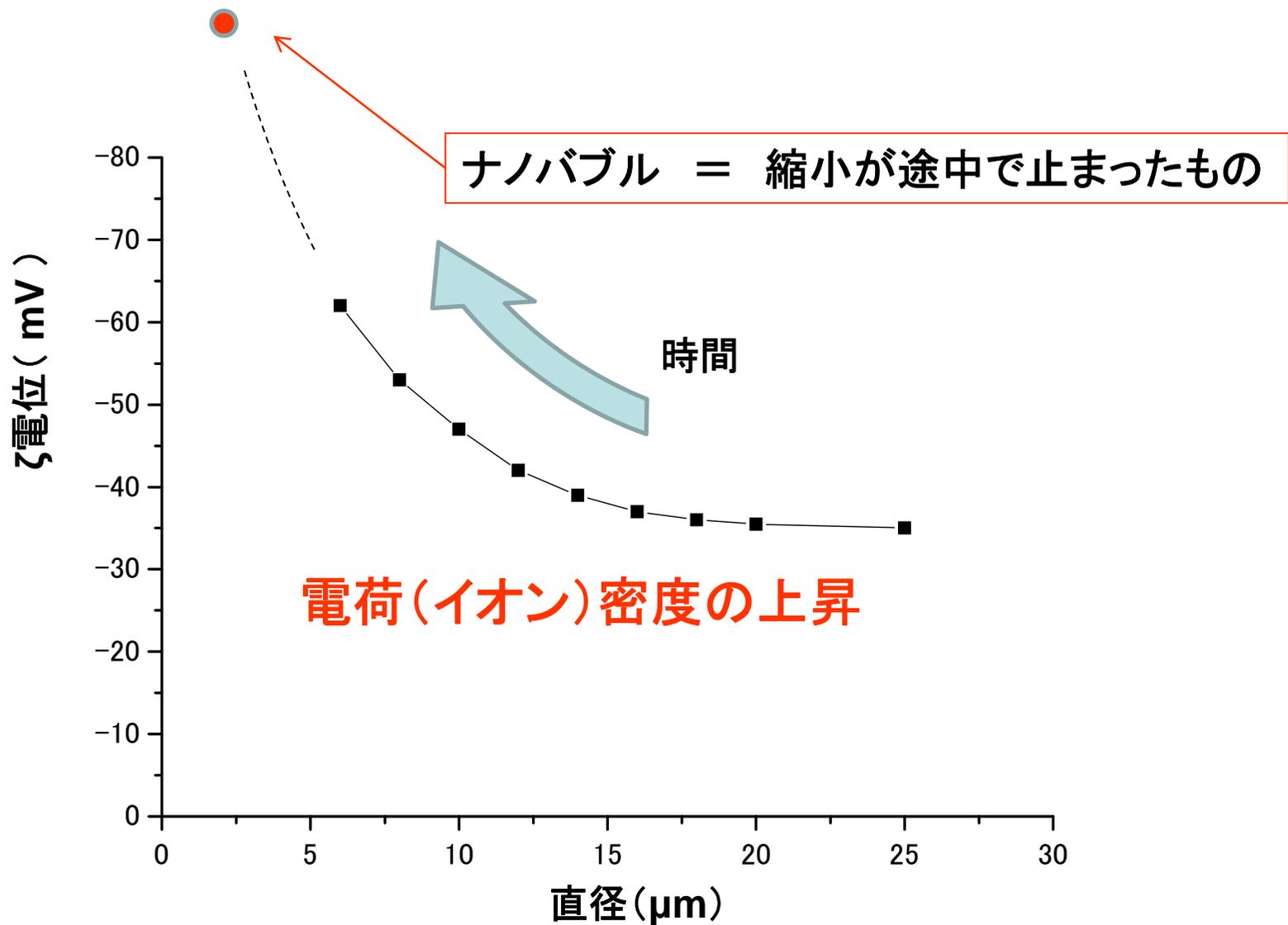


Salting-out 現象によりガスの溶解度が低下

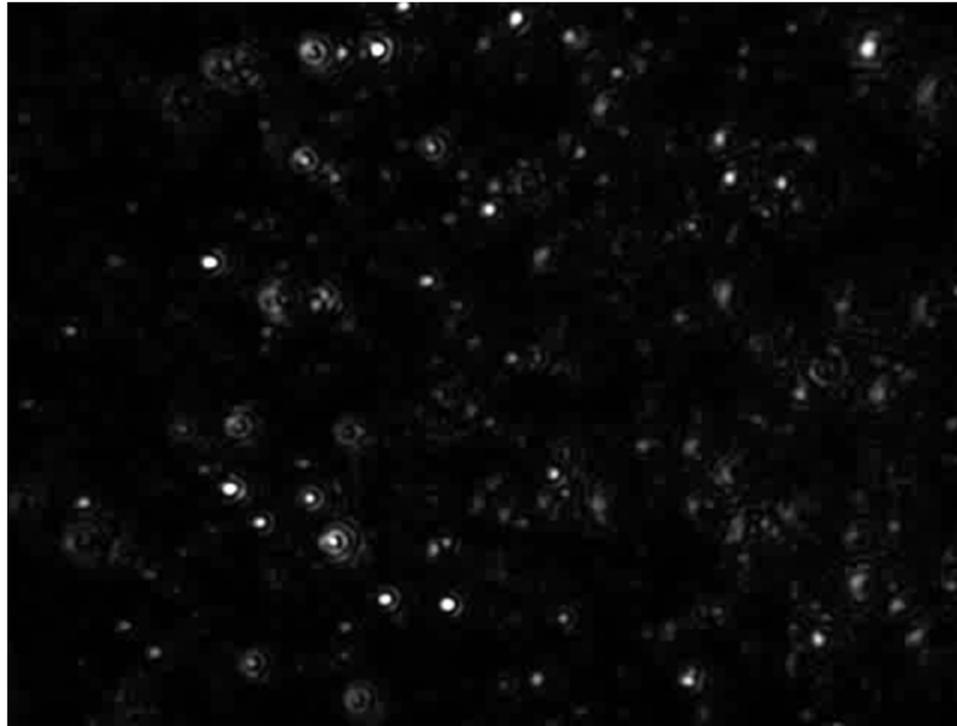
↓
気泡内の気体の散逸を抑制

↓
微小な気泡として安定化

ナノバブルとして安定化



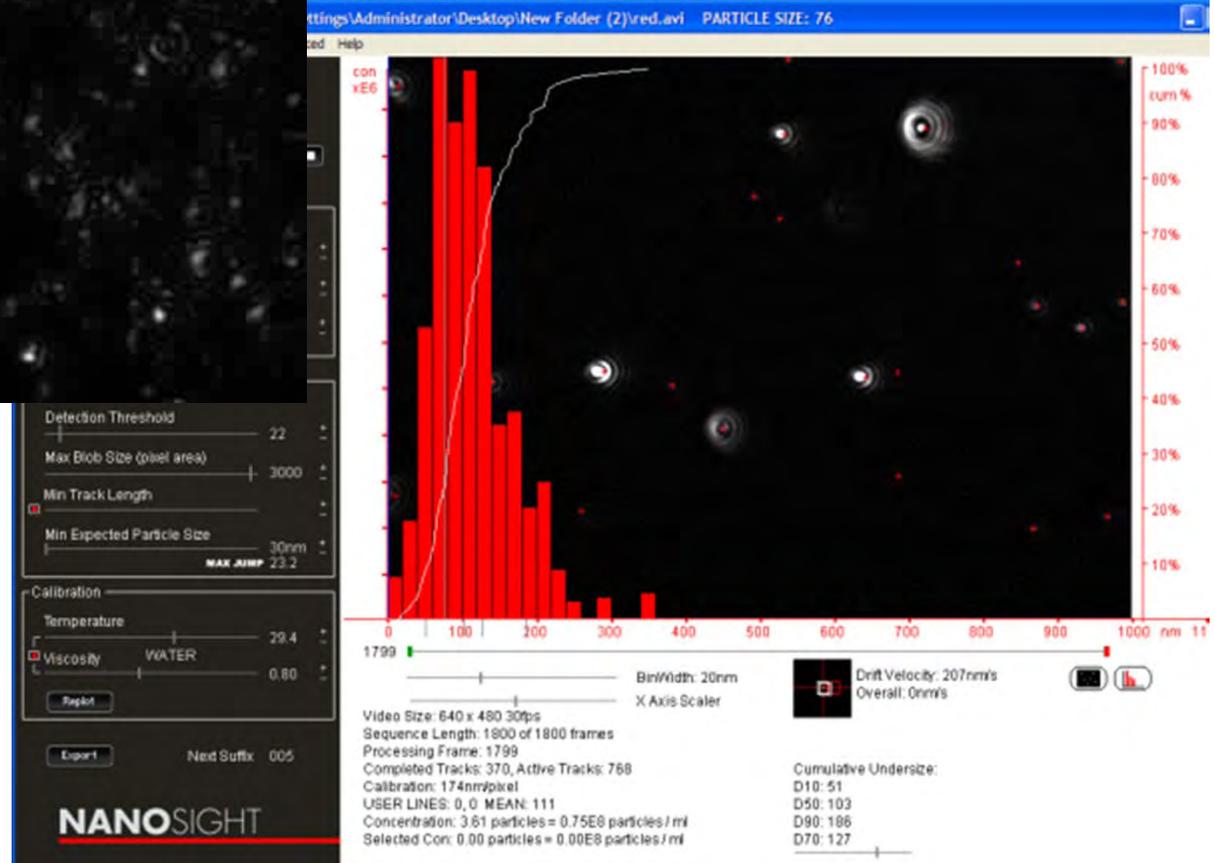
光学的な測定方法



ブラウン運動の様子

ナノバブル

平均径=111nm モード径=76nm
D10:51nm、D50:103nm、D90:186nm



ナノバブル
(目に見えないほど小さなアワ)

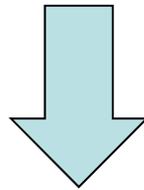


長時間消えずに漂っている

ルーペ×2

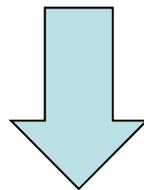
殺菌技術としての実用化への検討

微小泡自体には(強力な)殺菌効果を期待することはできない



オゾンに注目

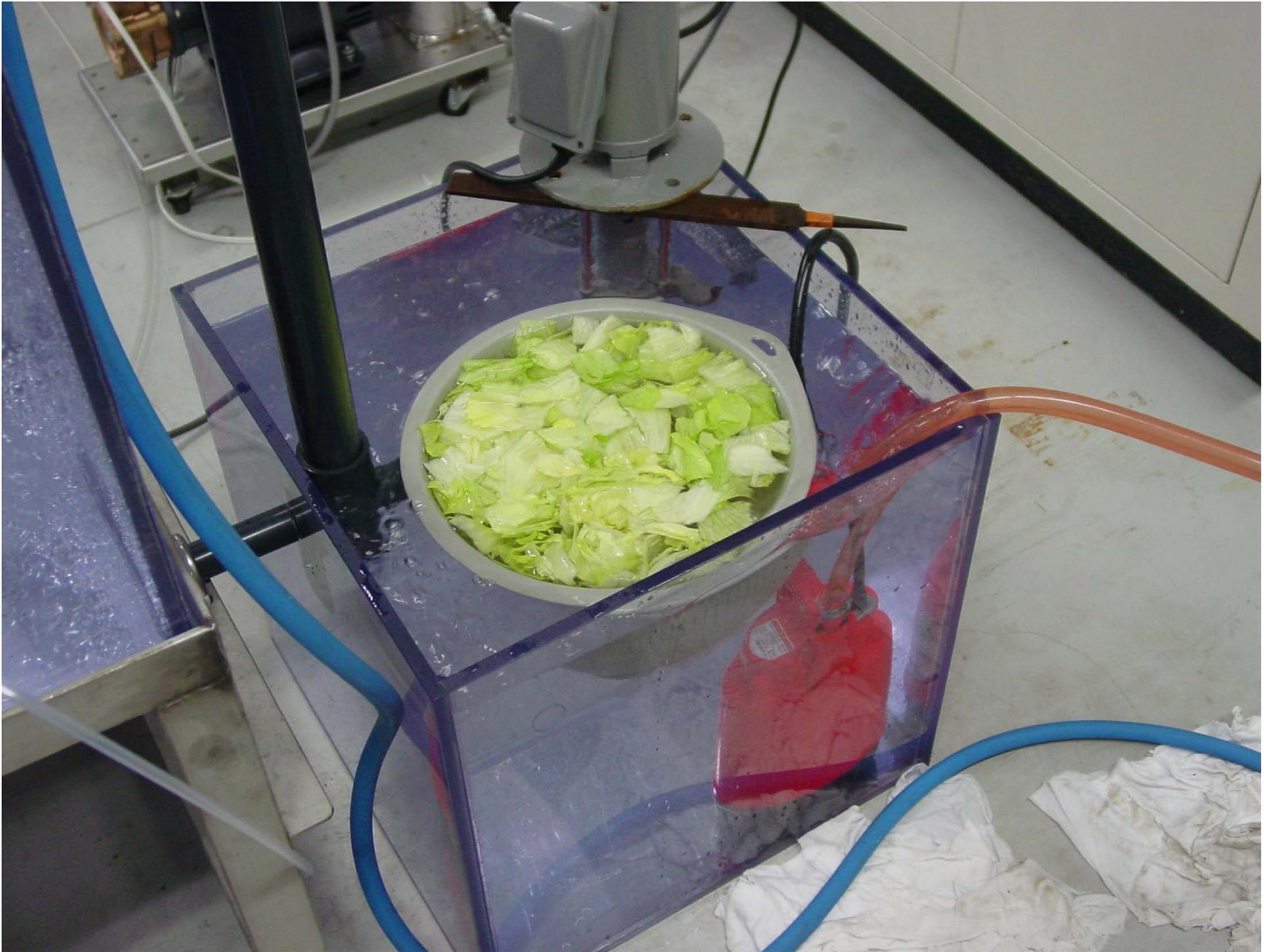
オゾン O₃ : 強力な酸化能力により広い殺菌スペクトルを示す



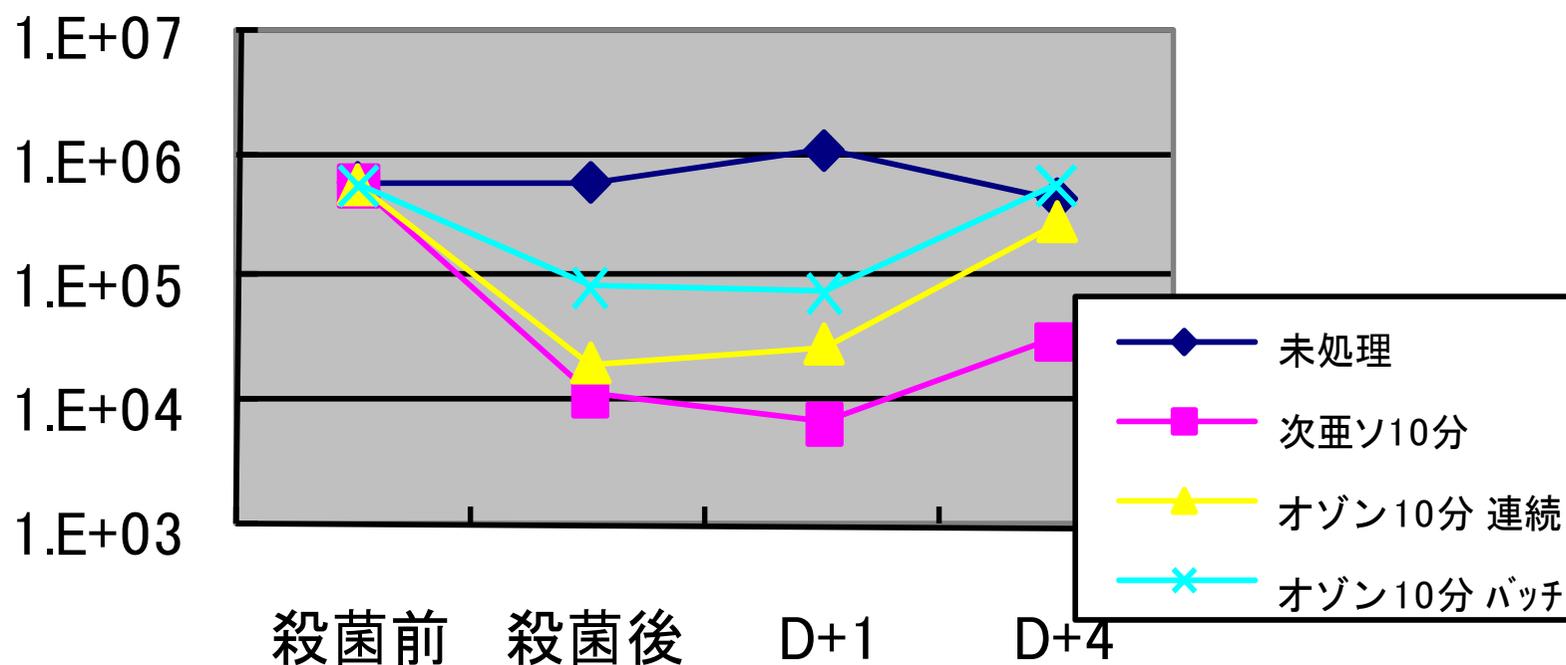
内部に含む気体としてオゾンを利用



オゾンマイクロバブルを利用したカット野菜の洗浄試験

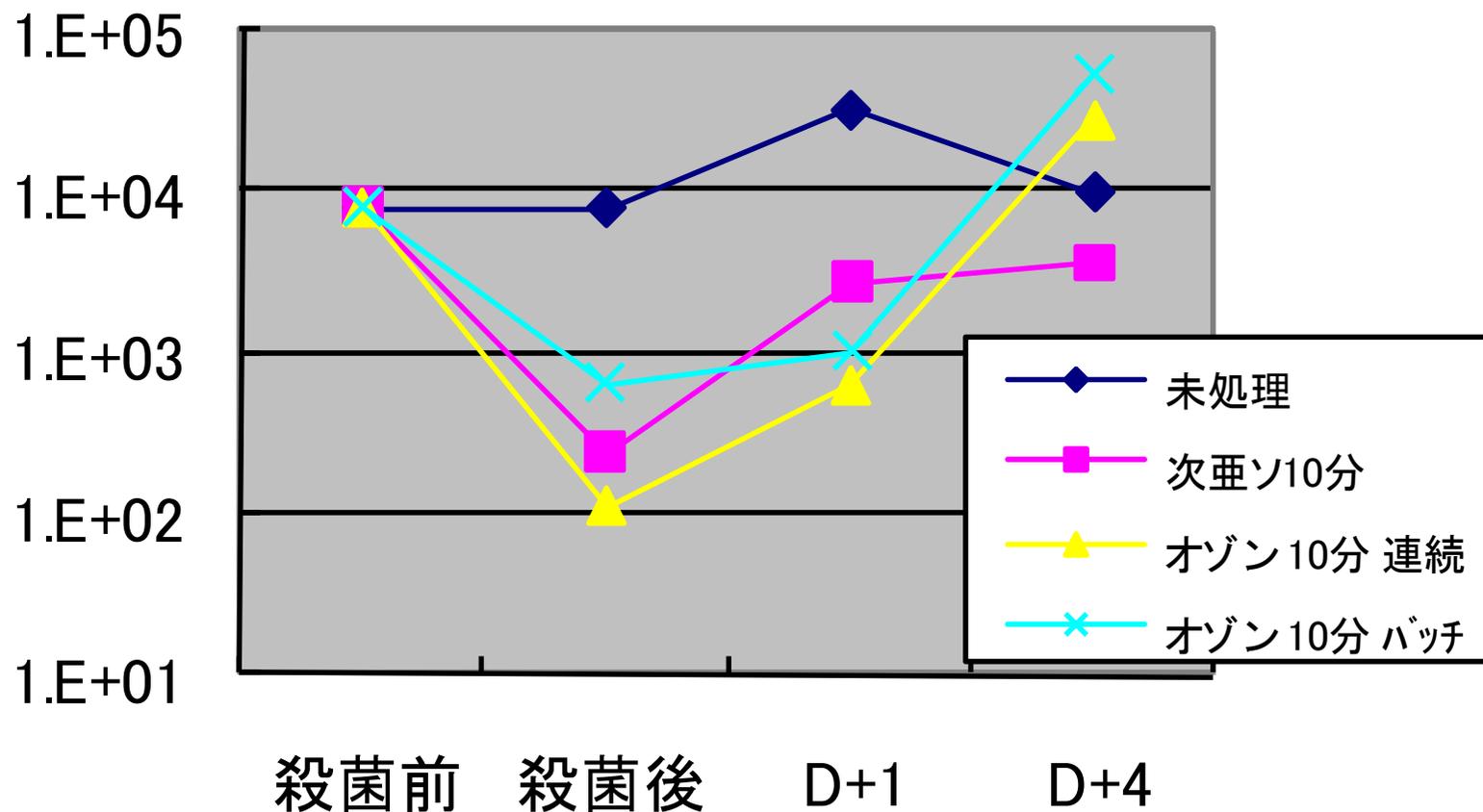


オゾンマイクロバブルと次亜塩素酸の比較 一般生菌数



次亜塩素酸 100ppm オゾン 1.5mg/L

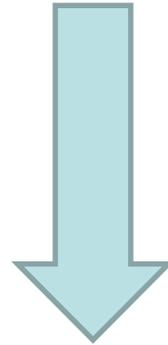
オゾンマイクロバブルと次亜塩素酸の比較 大腸菌群数



次亜塩素酸 100ppm オゾン 1.5mg/L

オゾンマイクロバブル

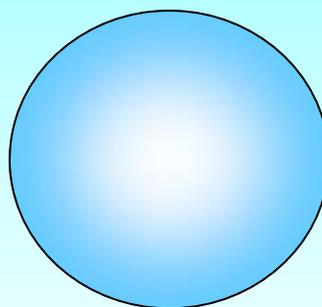
持続性が弱く、有機物に隠れている菌類への対処が難しい



オゾンナノバブルの利用

塩類(電解質)の存在下でオゾンマイクロバブルに刺激を与えて製造

ある程度高い電解質濃度
+
物理的刺激



超微細な気泡(ナノバブル)としての安定化

A photograph showing several oysters on a perforated metal tray. The oysters are arranged in a row, and their shells are a mix of light and dark colors. The tray is set against a dark background.

牡蠣体内のノロウイルス対策

ネコカリシウイルスを捕食後にオゾンナノバブル水中で蓄養



処理前の牡蠣（中腸腺にウイルスが留まりやすい）

オゾンナノバブルによる処理後の牡蠣



TCID50(50%感染価) $10^{4.75}$ - (6時間処理) → $10^{2.25}$: 不活化率99%以上

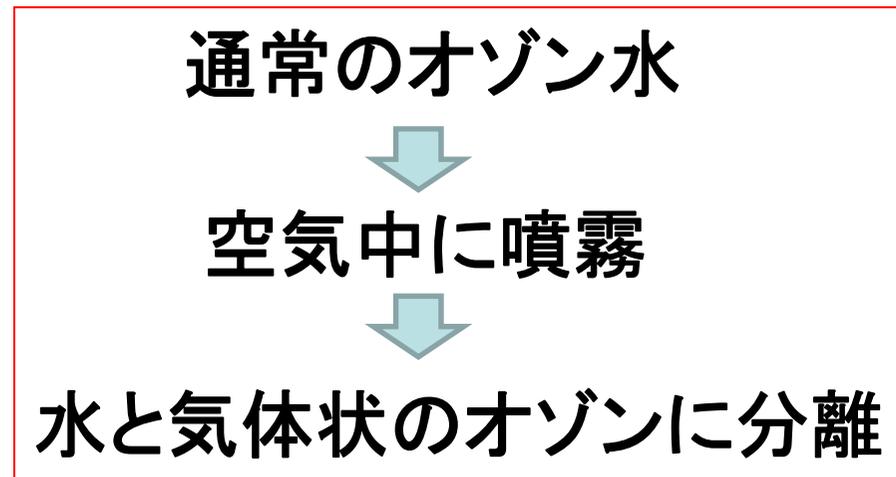
宮城県 実用浄化システム

オゾンマイクロバブル処理後の清浄海水にオゾンナノバブルを少量添加

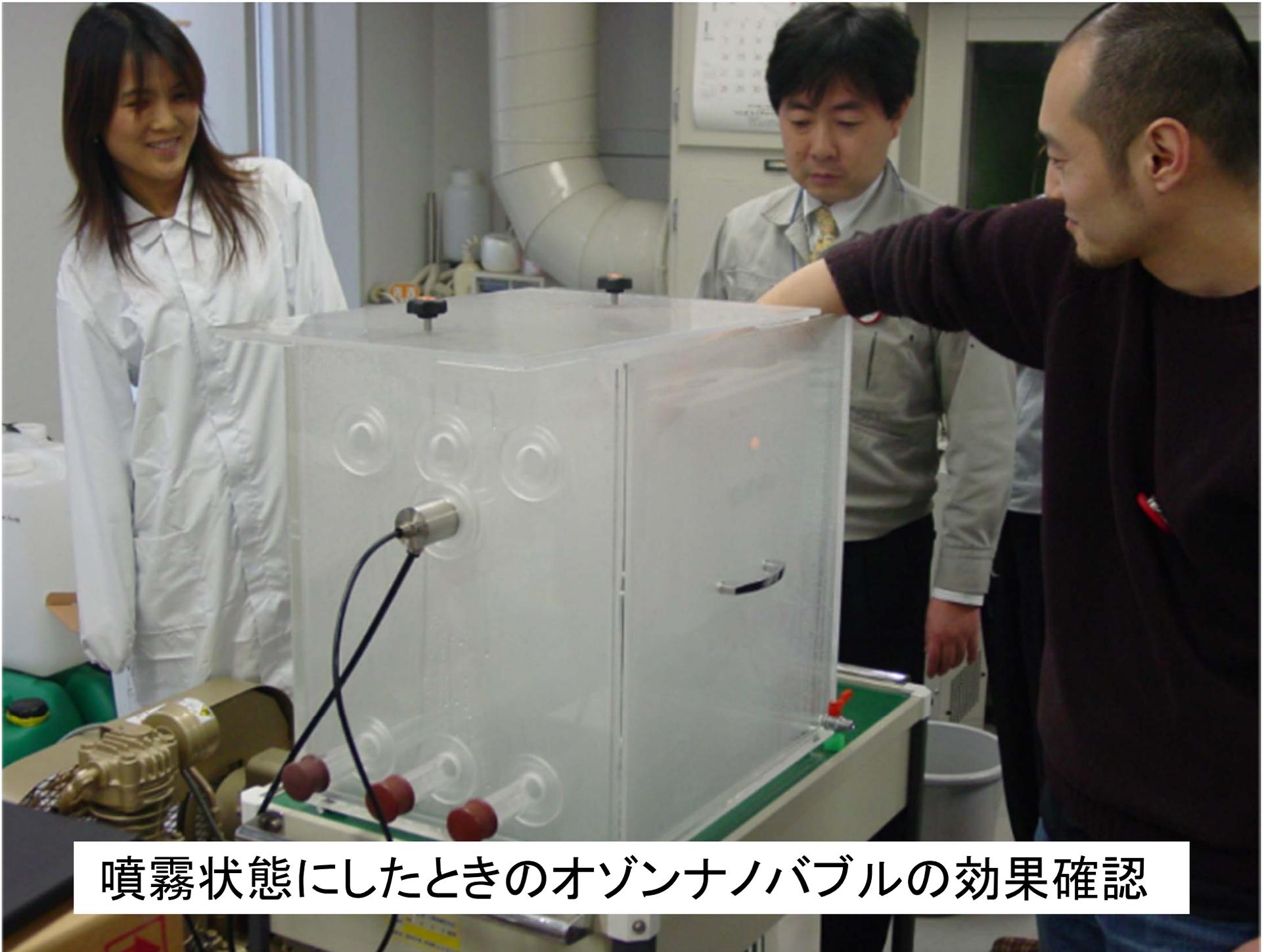


システム導入後、クレームがほぼ皆無になる(女川町三好屋)

環境殺菌技術としての可能性



オゾンナノバブルの場合、持続は可能か？



噴霧状態にしたときのオゾンナノバブルの効果確認



酸化能力として 80% 以上が残存

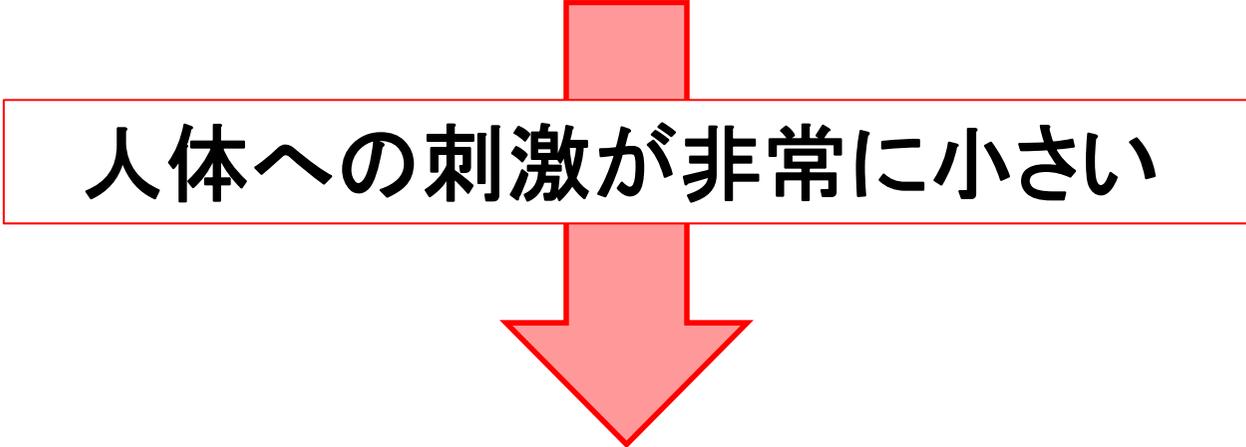


蒲鉾工場内での落下菌対策(宮城県)

養護老人ホームでのインフルエンザ対策(三重県)

医療分野での応用

オゾンナノバブル

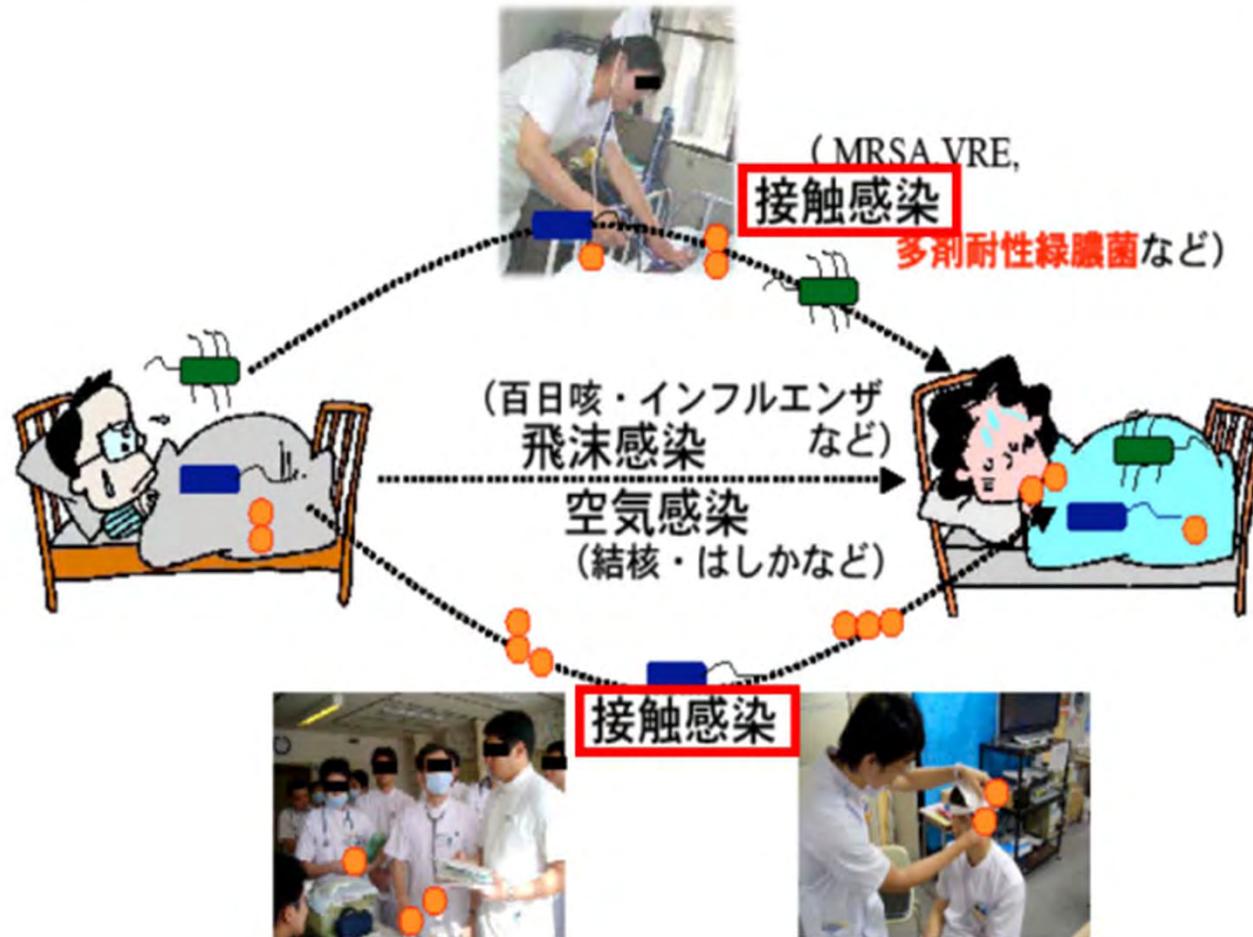


人体への刺激が非常に小さい

従来にないタイプの殺菌技術として期待

院内感染対策としてのオゾンナノバブルの可能性

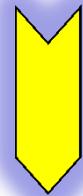
患者さんから患者さんへ菌（耐性菌）が伝播する主な経路



東京医科歯科大学 荒川先生

薬剤耐性菌に対する手段

エチルアルコール・クロルヘキシジン（ヒビテン）・塩化ベンザルコニウム（オスバン）による手指消毒



- アレルギー・皮膚炎の発生
- 粘膜には用いられない（エタノール，ヒビテン）

オゾンナノバブル：少なくとも短時間であれば
人体に対しての刺激がない

常在菌	非常常在菌 (要監視、要対策)
腸球菌	$\xrightarrow[\text{の遺伝子の獲得}]{\text{vanA, vanB, vanDなど}}$ バンコマイシン耐性腸球菌(VRE)
黄色ブドウ球菌	$\xrightarrow{\text{mecA遺伝子の保持}}$ メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)

腸球菌や黄色ブドウ球菌は、健康な人の腸内や皮膚などから普通に検出される「常在菌」です。しかし、VREやMRSAは、それぞれ、腸球菌や黄色ブドウ球菌の仲間の細菌ですが、特殊な耐性遺伝子を持っており、健康な人から検出されるのは稀な菌です。しかし、近年、健康な人でも、MRSAを保菌している人が時々見られるようになり、特に、**病院内では、MRSAが半ば「常在菌化」している医療施設もあり、深刻な問題**となっています。

常在菌	非常常在菌 (要監視、要対策)
緑膿菌	$\xrightarrow[\text{とgyrA, parCなどの変異}]{\text{aac, bla}_{\text{MDR}}\text{などの遺伝子の獲得}}$ 多剤耐性緑膿菌(MDRP)

MRSAやVREが「常在菌」では無いのと同様に「多剤耐性緑膿菌」(MDRP)も、「常在菌」ではありません。そこで、感染症に対する防御能力の低下した患者が多く収容される**病院内で、多剤耐性緑膿菌が、MRSAのように半ば「常在菌化」しないよう、入念な院内サーベイランスによる早期検出と実効ある感染拡大の防止対策の実施が強く求められています。**

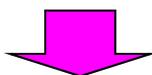
オゾンナノバブル(O₃NB)殺菌効果の判定

1. 細菌のコロニーを生理的食塩水に懸濁
2. 懸濁度を OD₅₇₈ = 0.3に調製
3. 2の懸濁液を 1/100, 1/10⁴, and 1/10⁵に希釈
4. 50μl の細菌懸濁液を培地に播種(コントロール)
5. 2の懸濁液を 1/20に希釈



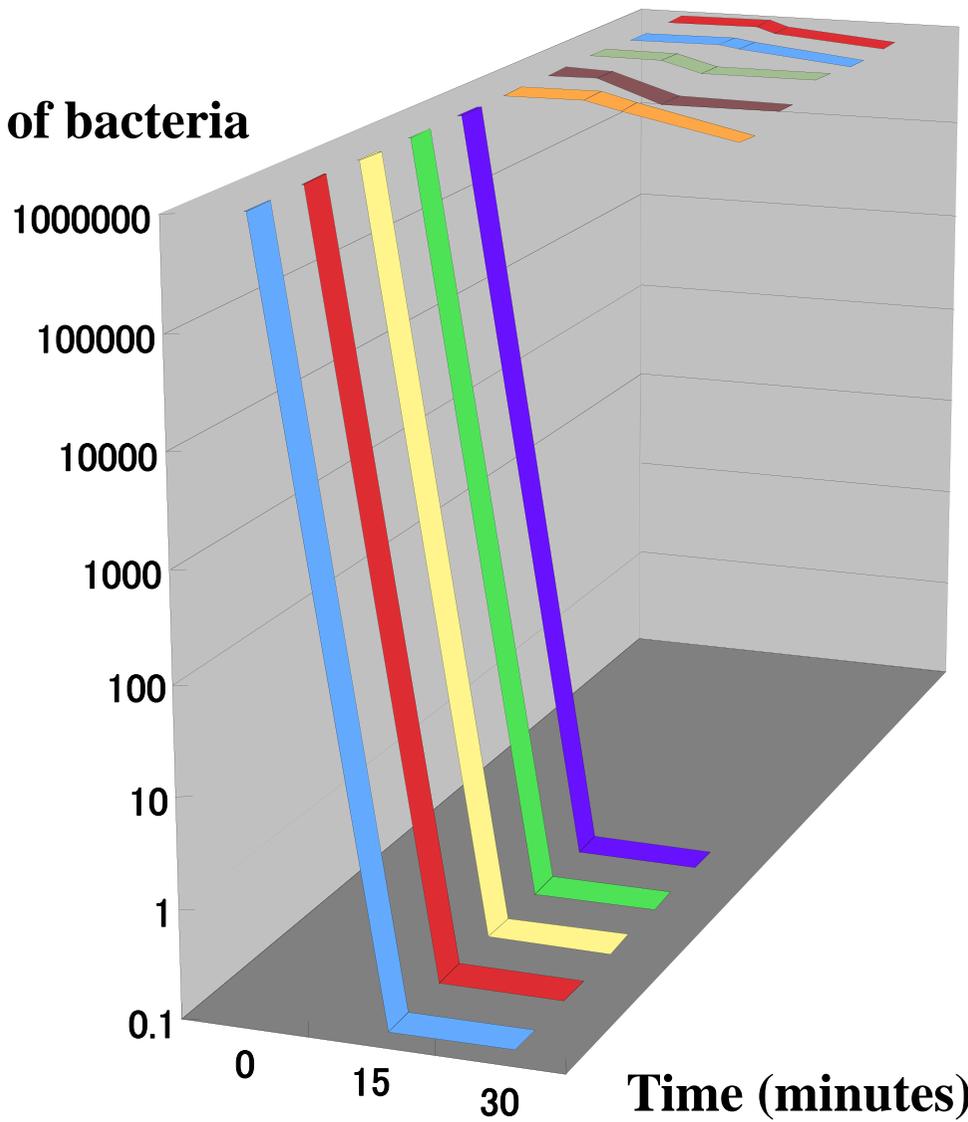
6-1. 5の懸濁液 0.1ml を0.9ml のO₃NB
に加える
(最終 O₃NB 濃度: 90%)
(5x10⁵/ml: *S. aureus*:based on the standard of CLSI)

6-2. 5の懸濁液 0.1ml を0.9ml の蒸留水または
培地(HIB)で希釈したO₃NBに加える
(最終 O₃NB 濃度: 40, 60, 80 %)



7. 1, 5, 15, 30 分間インキュベート
8. 100μl を培地に播種
9. 37°C 一晚培養
10. プレート上のコロニー数を計測

Num. of bacteria



- Mu3 in BON
- Mu50 in BON
- VISA HIP PC in BON
- VISA HIP NJ in BON
- VISA HIP MI in BON
- Mu3 in DDW
- Mu50 in DDW
- VISA HIP PC in DDW
- VISA HIP NJ in DDW
- VISA HIP MI in DDW

BON final 90%

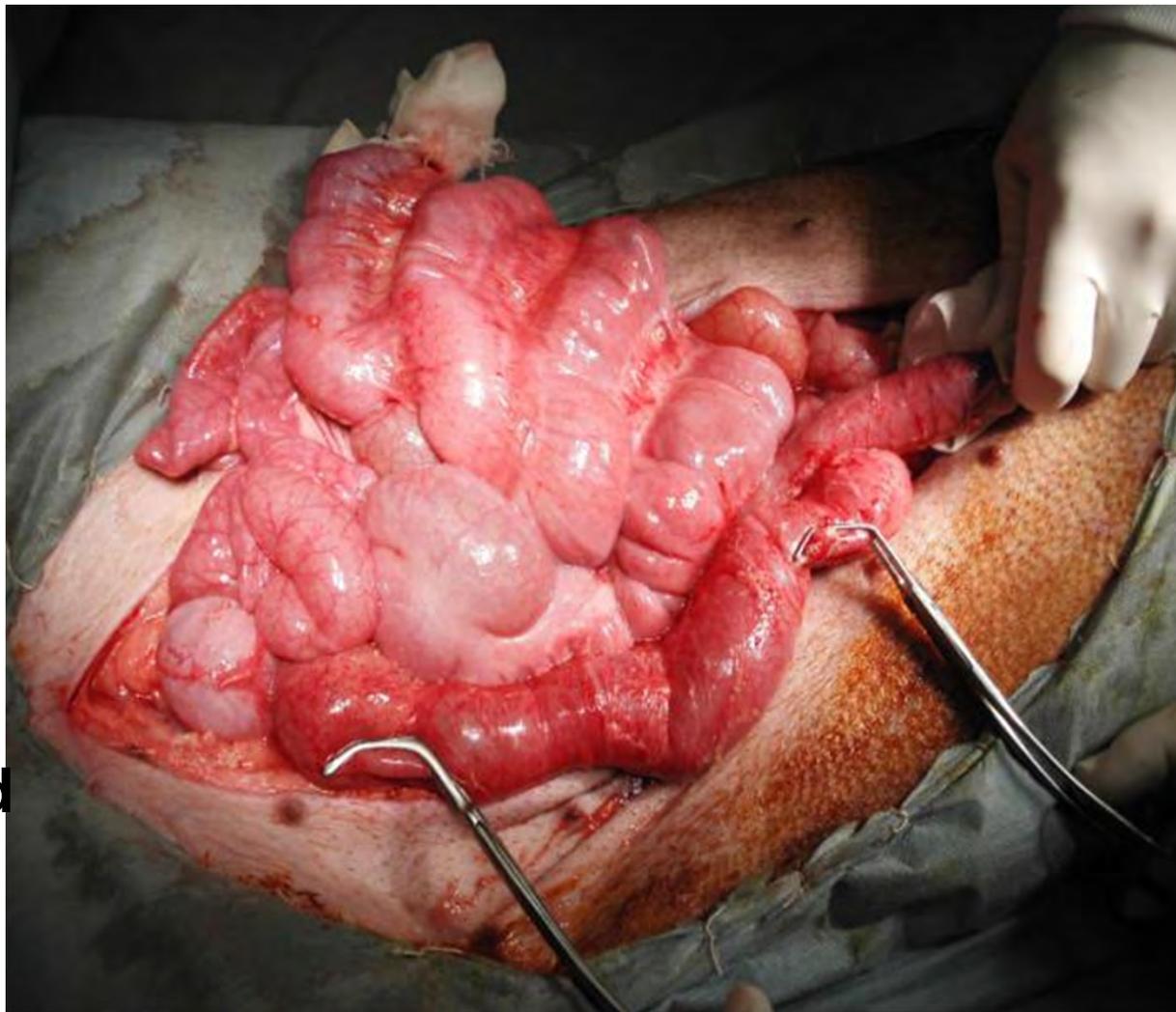
試験を実施した全ての耐性菌がO₃NBに対して強い感受性を示した

腸内洗浄 → 内視鏡による手術

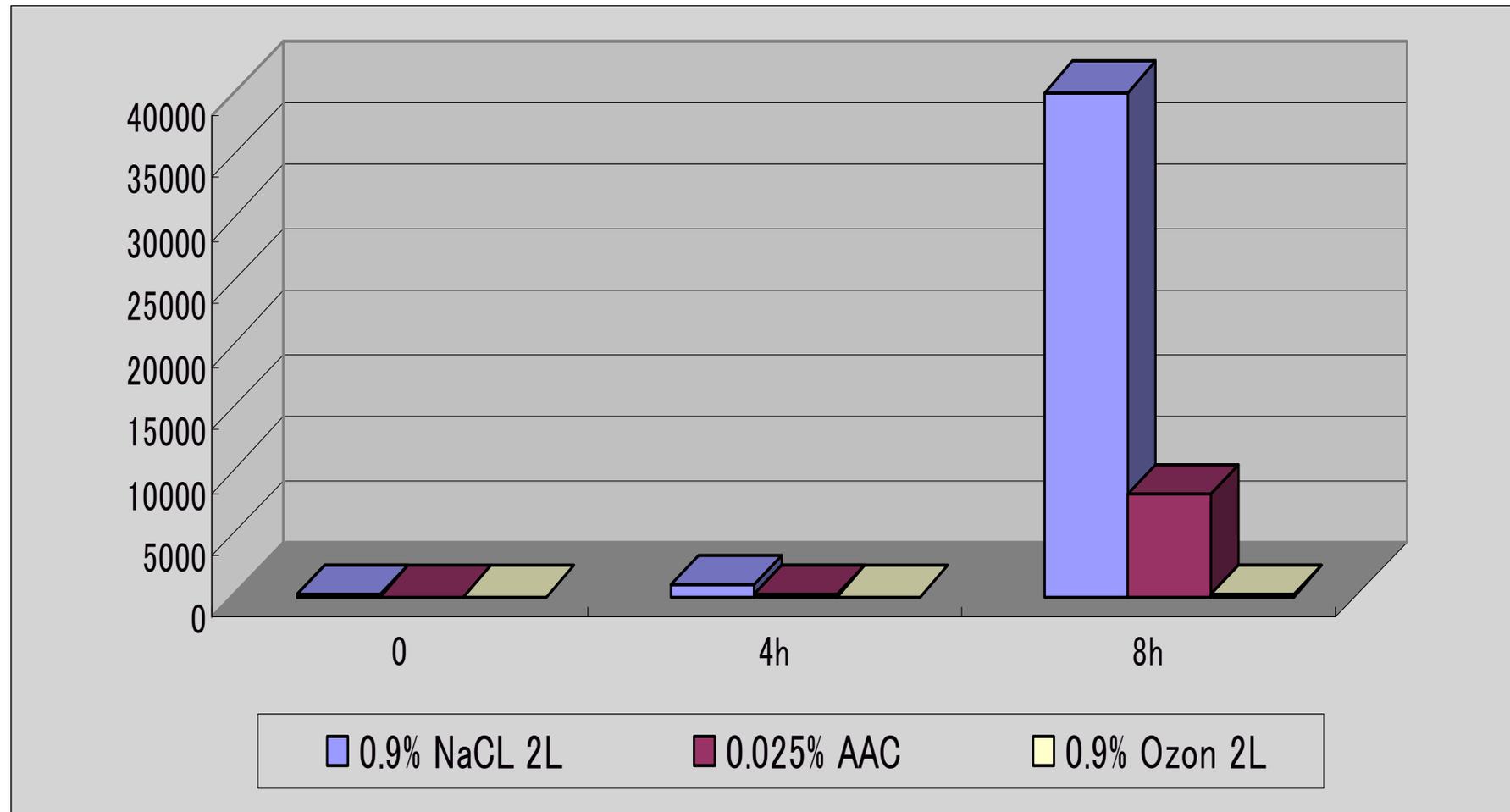


Pre-purgative condition

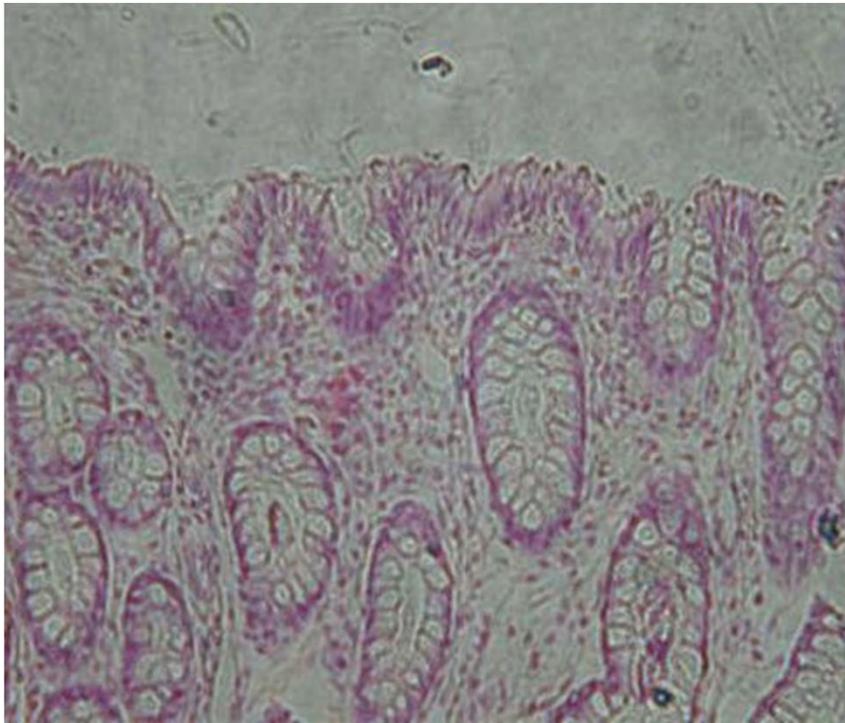
Sampling method



洗淨後細菌数の経時的増殖率 (AV~10cm, 37.0 °C)

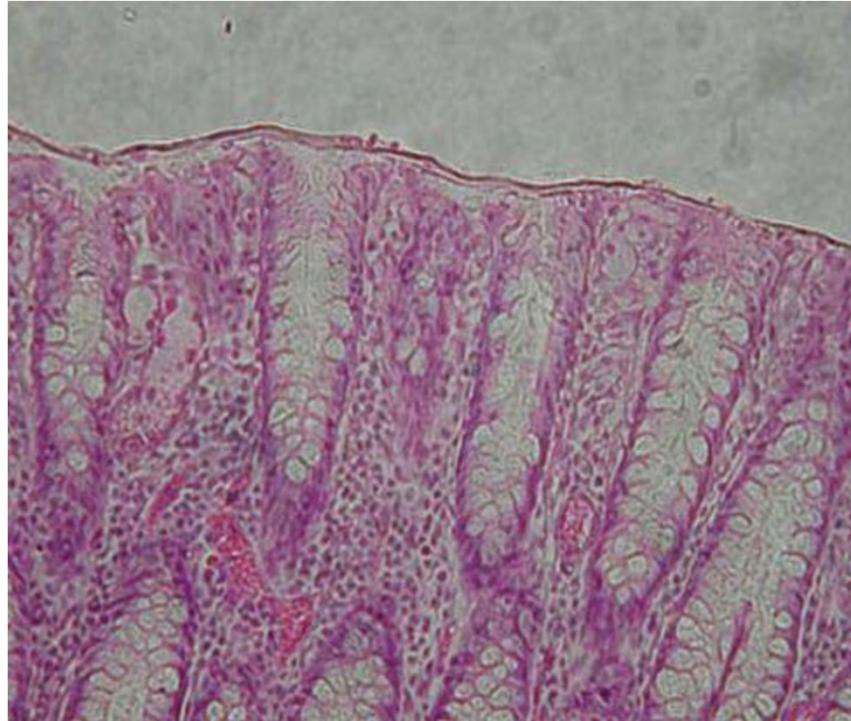


組織学的影響



生理食塩(コントロール)

粘膜細胞異常なし・粘膜上のムチン質も保持される



O3NB 0.9 %

粘膜上皮が薄く・完全に一層剥奪している

粘膜上皮細胞の一層の剥奪の他、粘膜上皮内にリンパ球の介在が多数観察される。この上皮内リンパ球はIntra Epithelial Lymphocyte であり、粘膜の局所への動員が観察される。オドンナバブル水によるこのリンパ球の動員は、粘膜局所の細菌抵抗性に大きく寄与する可能性がある。

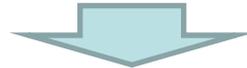
O₃NBによる粘膜免疫能の増強効果

まとめと今後の展望

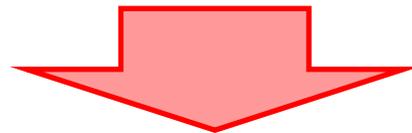
オゾンを利用



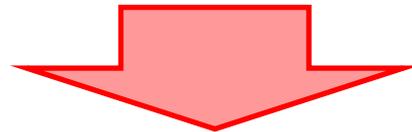
マイクロバブル&ナノバブル



殺菌水として利用可能



利用にあたってはノウハウの確立が不可欠



従来にはない新しい殺菌技術として期待できる