

光殺菌速度に及ぼす装置材料の影響

八木下 将 史*・船 山 齊

The effects of UV-transmitting materials on photo sterilization rate

Masahito YAGISHITA* and Hitoshi FUNAYAMA

(平成20年11月30日受理)

Attention is currently focused on UV-sterilization because it needs no agents and UV is effective against *Cryptosporidium* that has resistance to chlorine sterilization. However UV-process involved many problems such as UV-transmitting material of reactor. Fused-silica has been mainly used for reactor wall and reactor tube for many years. Although fused-silica well transmits UV-light, it is fragile and expensive. Thus, recently, fluoropolymer resins have attracted attention as new UV-transmitting materials. Fluoropolymer resins are useful materials that those antifouling property allow UV-light to transmit without maintenance. In addition, fluoropolymer resins transmit light not directly but dispersively.

This study examined the effects of fluoropolymer resin as reactor material by using UV-transmitting materials on photo sterilization rate of bacillus spores. As a result, fluoropolymer films have very low UV-light transmittance, but, those sterilization rates are about 50% of fused-silica. In addition, sterilization rates of fluoropolymer tube reactors are the same to that of fused-silica.

1. はじめに

紫外線を利用したプロセスのひとつとして光殺菌が知られている。これまでに光殺菌は、食品・飲料工場の容器殺菌や、プールや浴場などの水質浄化、半導体工場の超純水製造などにおいて実用化されている。光殺菌は主波長が253.7nmの低圧水銀灯を光源とした紫外線照射による殺菌法のことである。光殺菌プロセスの特徴としては、薬剤を用いないため水質に影響を与えないことや、有害物質を発生しないことなどがあげられる。また、最近、紫外線が塩素殺菌に対して耐性を持つクリプトスポリジウムに非常に有効であることが判明し、殺菌プロセスとしてさらに広く利用されることが期待される¹⁾。

ところで、例えば光殺菌では外部照射型光殺菌装置の反応器壁材料など、紫外線を利用するプロセスには装置材料に紫外線をよく透過するものが要求される。紫外線透過材料としてこれまで広く用いられてきている石英は、紫外線を非常によく透過するが、高価であること、加工しにくいこと、あるいは衝撃

に弱いなどの問題がある。近年、フッ素樹脂にもよく紫外線を透過するものが発見され、保守時の破損の心配がないことや、汚れが付着しにくいなどの利点から、石英に替わる紫外線透過材料として注目されている¹⁾。また、フッ素樹脂は正透過性の石英とは異なる光透過性を有し、結晶性高分子であるために光を拡散透過する性質がある。フッ素樹脂はこのような特性を持つために、反応器の形状によっては透過光強度が石英を上回るものも発見されている²⁾ことなどから、フッ素樹脂の装置材料としての可能性がさらに期待されるものと思われる。

本研究では、紫外線を利用したプロセスのさらなる合理化を目指して、装置材料として石英に替わるフッ素樹脂を利用した系について芽胞形成状態の枯草菌を対象とした光殺菌実験を行い、装置材料としての可能性を検討した。具体的には、最初に糖液貯蔵タンクの光殺菌に用いられる各種紫外線透過材料を介して紫外線を液表面に照射する表面照射型殺菌装置の場合、次に石英管やフッ素樹脂製管に対し外から紫外線を照射する流通式外部照射型殺菌装置の場合について光殺菌速度定数を求めて検討を加えた。

* 秋田高専専攻科学生

2. 表面照射型殺菌装置に及ぼす装置材料の影響

2.1 実験装置及び実験方法

実験装置の概略を図1に示した。紫外線の光源には、主波長を253.7nmとする15W 低圧水銀灯（東芝、GL-15、直径26mm）①を用いた。発光長を10mmになるように不要な部分を黒画用紙で覆った。殺菌槽には直径60mm 高さ15mm のガラス製シャーレ③を用い、スターラーを用いて一定速度で攪拌した。また、光源から鉛直下方30mm の位置に面積75×75mm の透過面②があり、石英製の板（厚さ2mm）または写真1に示したようなナフロン®PTFE フィルム（厚さ0.1, 0.3, 0.5, 1.0mm）を設置した。

実験には、枯草菌をシェーファー液体培地で72時間以上浸とう培養し、芽胞形成状態とした後、80℃で30分加熱して栄養菌体を取り除き、その後ただちに冷却したものをを用いた。この菌の調整方法は3の外部照射型殺菌装置の実験についても同様である。滅菌水で菌体濃度を $10^4 \sim 10^5$ 個/mlに調整し、20mlを殺菌槽へ加えた後、紫外線を照射し、時間毎にサ

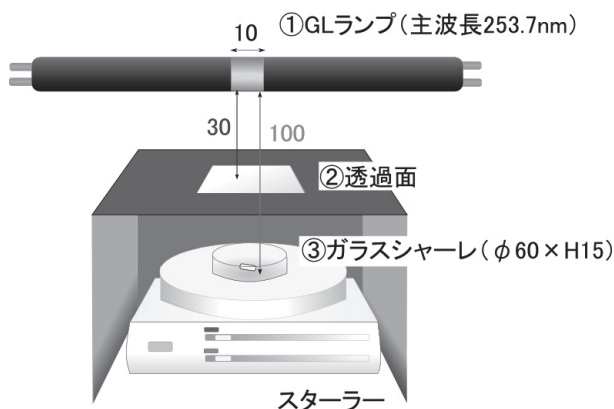


図1 実験装置の概略



写真1 ナフロン®PTFE フィルム

ンプリングした。サンプリング溶液をバイオン寒天培地に塗布し、37℃の恒温槽で一晩培養した。そのときに形成されたコロニーより、コロニーカウント法にて菌の生存割合 $f[-]$ を算出した。菌の生割合は次式に示す式で算出した。

$$f = N / N_0 \quad (1)$$

ここで、 N は時間 θ におけるコロニー数、 N_0 は $\theta = 0$ 時におけるコロニー数である。また、石英板とナフロン®PTFEの253.7nmの光の透過率を分光光度計で測定し、実験結果の比較に用いた。

2.2 実験結果

光殺菌実験の結果を図2に示した。縦軸に菌の生存割合 $f[-]$ を、横軸に紫外線照射時間 θ [min]をとり、片対数紙上に示した。図中の点で示したのが各条件の実験結果である。また、図中の空気と示したデータは透過面に何も設置しない場合の実験結果である。図より、石英板は空気と同程度の死滅速度であったことから、知見どおり、良好な紫外線透過材料であることが確認された。一方、PTFEを用いた場合は空気や石英よりも死滅速度が低下した。また、厚さが増すごとにも死滅速度は低下した。さらに、実験結果の比較のために多重標的モデルを用いて実験結果の相関を行い、その結果を図中の実線で表した。多重標的モデルは「細胞内には紫外線に敏感な構造体が存在する。この構造体（標的）に傷（ヒット）が生じることにより構造体は機能を失う。その機能喪失が原因となって細胞の死や傷害が引き起こされる。」という仮説に基づく標的論に基づいて定式化したものであり³⁾、微量に存在する光に低活性な菌を考慮した場合、次式のように示される⁴⁾。

$$f = q_1 [1 - \exp(-k_1 \theta)]^m + q_2 [1 - (1 - \exp(-k_2 \theta))^m] \quad (2)$$

$$q_1 + q_2 = 1 \quad (3)$$

ここで、 $q_1[-]$ は光に活性な菌の割合、 $q_2[-]$ は光に低活性な菌の割合、 $k_1[\text{min}^{-1}]$ は光に活性な菌の死滅速度定数、 $k_2[\text{min}^{-1}]$ は光に低活性な菌の死滅速度定数、 $m[-]$ は標的数、 θ [min]は照射時間である。実験結果はこの(2)式で相関させた。文献より枯草菌における標的数は5である⁵⁾ことがわっている。 $q_1 = 0.99$ 、 $q_2 = 0.01$ とし、 k_1 、 k_2 の値を最も実験結果を再現できるように試行錯誤法で求めた。 k_2 の値は主に高殺菌領域($f < 10^{-2}$)で生存率の計算結果に影響を与えるようになるが、本実験においては高殺菌領域のデータが少なく、求めた k_2 は

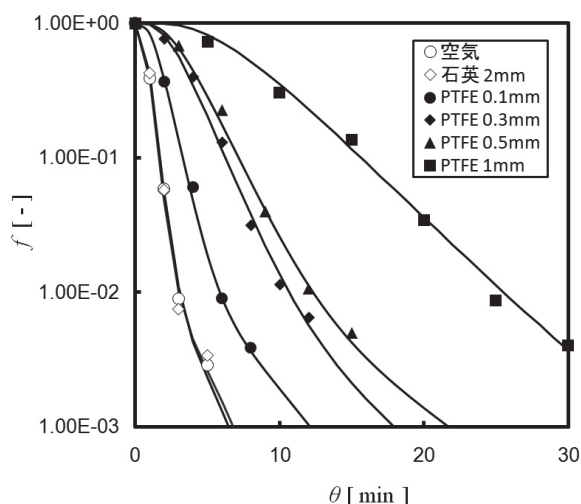


図2 光殺菌実験の結果と計算結果

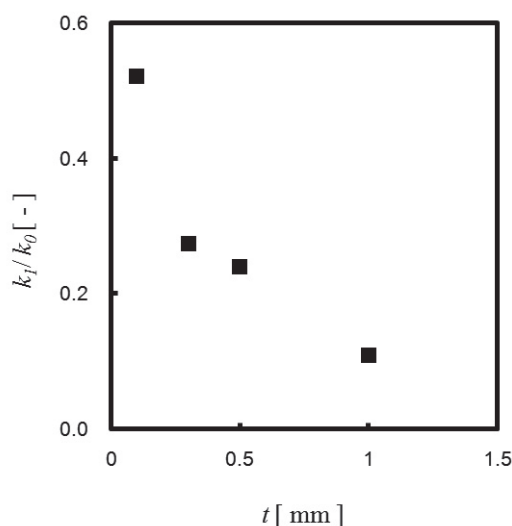


図3 ナフロンフィルムの厚さと相対死滅速度定数

信頼性が低いと考え、実験結果の比較には k_t を用いた。

次に、図3は石英板を設置した場合の k_t を基準の $k_{t,0}$ として、PTFEを設置した場合の k_t を $k_{t,0}$ で割って求めた相対死滅速度定数を示したグラフである。縦軸に $k_t/k_{t,0}[-]$ を、横軸にPTFEの厚さ t [mm]をとってある。図よりPTFEの厚さが増すごとに死滅速度定数が減少していることがわかる。このときPTFEフィルムの厚さが0.1mmの場合の死滅速度定数は石英板の場合の52%であった。同様に0.3mmの場合は27%, 0.5mmの場合は24%, 1.0mmの場合は11%となった。また、次の表1には透過面に用いた紫外線透過材料の波長253.7nmの紫外線に対する透過率 T [%] と、 k_t [min^{-1}] を示した。参考までに、

表1 死滅速度定数と紫外線透過率

材料	t [mm]	T [%]	k_t [min^{-1}]	k_2 [min^{-1}]
空気	—	100	2.4	0.57
石英	2.0	91.5	2.3	0.6
PTFE	0.1	0.17	1.2	0.32
	0.3	0.09	0.63	0.22
	0.5	0.07	0.55	0.18
	1.0	0.04	0.25	0.13

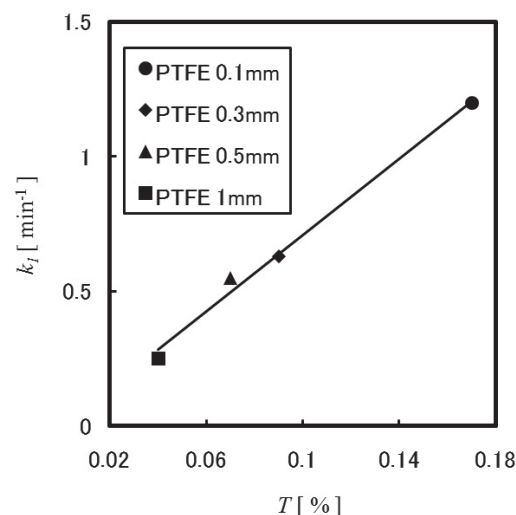


図4 死滅速度定数と紫外線透過率

空気の場合のデータと k_2 [min^{-1}] も示してある。表より、PTFEは石英と比較すると透過率が非常に低くなっており、その値は石英の 10^{-3} から 10^{-4} 程度で、ほとんど紫外線を透過していないように思われる。しかし、実際のPTFEフィルムを用いた場合の k_t は図3に示したように、石英と比較して11%から52%であったため、透過率から予想できないほど菌が死滅する結果となった。このように k_t に比較して透過率が非常に低い値なのは、拡散透過性によって分光光度計で透過率を測定したときに見かけの透過率が低くなるためである²⁾と思われる。

次に、PTFEフィルムを用いた場合の k_t を波長253.7nmの紫外光透過率 T に対してプロットしたグラフが図4である。実線は最小二乗法で直線近似した結果である。図より、実験条件範囲内において k_t は T に比例するという相関関係が明らかになった。

2.3 考察

実験装置の透過面にPTFEフィルムを用いた場合、 k_t は図3に示したように石英板と比較して11%から52%であるが、紫外線透過率は表1に示した

ようにそれに比べて非常に低い値であった。PTFE フィルムの紫外線透過率は拡散透過性のために、見かけ上非常に低い値となっていると思われ、実際には死滅速度の比較よりPTFEフィルムは石英板の半分程度の紫外線を透過しているものと考えられる。

また、PTFEフィルムを用いた場合の k_1 を、分光光度計で測定した波長253.7nmの紫外線透過率に対してプロット(図4)すると比例する関係となっていた。したがって、拡散透過性によって見かけ上低い値となっていたとしても、透過率は実際の透過光強度と関係し、殺菌速度の指標になると考えられる。

3. 外部照射型殺菌装置に及ぼす装置材料の影響

3.1 実験方法および実験装置

実験装置の概略を図5に示した。光源は15W 低圧水銀灯(東芝, GL-15, 直径25.5mm)①を用いた。発光長を10mmになるように不要な部分を黒画用紙で覆った。反応器として光源から鉛直下方150mmに光源の中心を中心位置としてランプと平行に、長さ30cm 内径10mm 外径12mmの石英管、テフロン®FEP管、テフロン®PFA管②を設置した。これらの装置材料の写真を写真2に示した。光照射を受けるテスト部分として内側中央部分180mmとり、

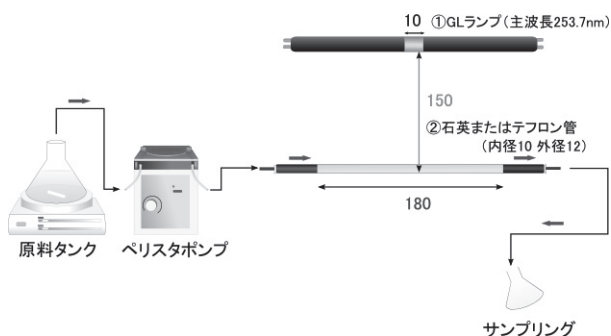
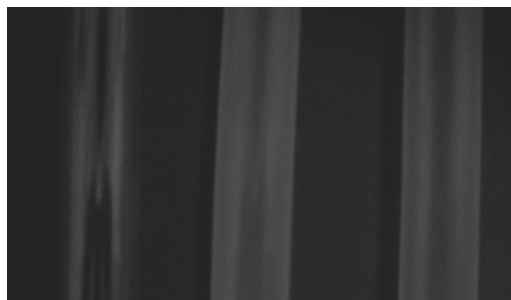


図5 実験装置の概略



石英管 FEP管 PFA管
写真2 実験に用いた装置材料

残りを黒いビニールテープで覆った。芽胞形成状態の枯草菌を滅菌水で菌体濃度を $10^4 \sim 10^5$ 個/mlに調整したものを菌懸濁液として実験に用いた。ポンプで菌懸濁液を原料タンクから流量 $0.023 \text{ cm}^3/\text{s} \sim 0.23 \text{ cm}^3/\text{s}$ の範囲で系内へ流した。このとき反応器内の流れは層流である(Re数 $3.3 \sim 33$)。定常状態になった後、出口溶液をサンプリングした。

サンプリング溶液は 10 cm^3 を採取し、十分攪拌した後、適宜希釈してからブイヨン寒天培地に塗布し、 37°C の恒温槽で一晩培養した。そのときに形成されたコロニーより、コロニーカウント法にて菌の生存割合を算出した。

3.2 実験結果

光殺菌実験の結果を図6aに示した。縦軸に菌の生存割合 $f[-]$ を、横軸に平均滞留時間 $\tau[\text{s}]$ をとり、片対数紙上に示した。点が実験結果である。図より、低殺菌率領域においてはどの条件でも差はみられなかったことがわかる。しかし、高殺菌率領域においてはフッ素樹脂であるテフロン®FEPとテフロン®PFAを用いた条件が石英よりも高い殺菌率となる結果となった。また、破線は実験結果を(2)式の照射時間 $\theta[\text{min}]$ を平均滞留時間 $\tau[\text{s}]$ に置き換えた次式で相関させた結果である。このとき q_1 と q_2 は表面照射型殺菌装置の実験結果を相関させたときに用いた値である、 $q_1=0.99$, $q_2=0.01$ を用いた。

$$f = q_1 [1 - (1 - \exp(-k_3 \tau))^5] + q_2 [1 - (1 - \exp(-k_4 \tau))^5] \quad (5)$$

$$q_1 + q_2 = 1 \quad (6)$$

図をみると、高殺菌率領域において誤差が大きくなっていることから、 q_1 と q_2 を $q_1=0.95$, $q_2=0.05$ に変化させて実験結果の相関を試みた。その結果を次の図6bに実線で示した。図6aと図6bを比較すると、 $q_1=0.95$, $q_2=0.05$ としたほうが実験結果をよく表せている。本実験は流通系であるために、菌の滞留時間の分布が q_1 と q_2 に影響を与えたと考える。

表2に(5)式で実験結果を相関した結果の k_3 および、そのときに99%の菌を殺菌するのに必要な $\tau_{0.99}$ を図6より読み取った値を示した。低殺菌率において計算結果への影響が大きく、低殺菌領域の殺菌速度の指標となる k_3 にあまり差は見られないが、 $\tau_{0.99}$ を比較するとフッ素樹脂の二つの条件が石英よりも少ない時間で99%の菌を殺菌できるということがわかる。したがって高殺菌率領域において材料の透過特性の影響が大きくあらわれると考えられる。

以上の実験結果からテフロン®FEPとテフロン

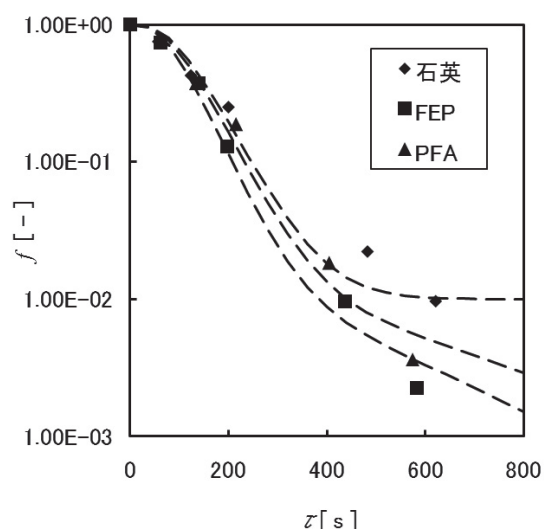


図 6 a 光殺菌実験の結果と計算結果

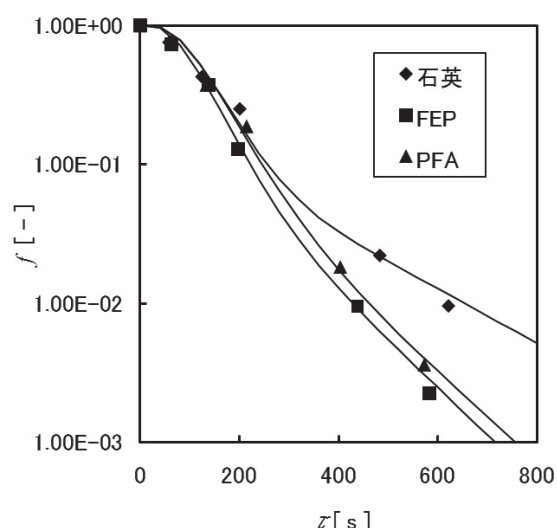


図 6 b 光殺菌実験の結果と計算結果

®PFAは管型の外部照射型殺菌装置において石英に匹敵する、良好な紫外線透過材料であることが明らかとなった。

3.3 考察

(2)式で表面照射型殺菌装置の実験結果を相関させた場合と同じ値である $q_1 = 0.99$, $q_2 = 0.01$ を用いて本実験結果を (5)式で相関すると、どの実験条件の場合も高殺菌率領域において実験結果をよく表わしていなかったが、 $q_1 = 0.95$, $q_2 = 0.05$ とすると実験結果をよく表現することができた。 q_1 と q_2 の値が変化したということは、光に活性な菌と低活性な菌の割合が変化したということになるが、殺菌実験に用いた枯草菌の調整方法は同じであり、実験ごとにそれ

表 2 死滅速度定数と殺菌率99%を得るのに必要な時間

材料	$k_3 [10^{-2} \text{s}^{-1}]$	$\tau_{0.99} [\text{s}]$
石英	1.7	650
テフロン®FEP	1.9	420
テフロン®PFA	1.7	460

らの割合が変化することは考えにくい。本実験装置は表面照射型殺菌装置の実験と異なり流通式であることが見かけの q_1 と q_2 の値に影響を与えたと考えられる。具体的には、装置内の流れが理想的な流れと異なって速度分布を持つため菌の系内滞留時間も一定ではなく分布をもっており平均滞留時間よりも早い時間で系外に排出されてしまう菌などが存在する⁴⁾ ことから見かけの q_1 と q_2 が変化したと考えられる。

また、表2からわかるように99%の菌を殺菌するのに必要な時間はどちらのフッ素樹脂も石英と比較して少ない結果となった。文献においてフッ素樹脂管（文献ではテフロン®FEP）は拡散透過性によって、外から照射した光（波長365nm）を石英管と同等以上に管の中へ通すことが報告されている²⁾ ことから、拡散透過性が死滅速度に正の影響を与えたと考えられる。

4. 結論

本研究では、紫外線を利用したプロセスのさらなる高効率化を目指して、石英に替わるフッ素樹脂を利用した系について芽胞形成状態の枯草菌を対象とした光殺菌実験を用い、装置材料としての可能性を検討した。その結果、以下のことが明らかになった。

透過材料を介して紫外線を照射する光殺菌装置の光透過面に市販のフッ素樹脂であるナフロン®PTFEフィルムと石英板を用いて光殺菌速度を比較したところ、ナフロン®PTFEは石英に比べ死滅速度が52%程度になるものがみつかった。さらに、ナフロン®PTFEの紫外線透過率と殺菌速度の相関関係を明らかにすることができた。

次に、流通式外部照射型殺菌装置の反応容器に石英管とテフロン®FEP管、テフロン®PFA管を用いて光殺菌速度を比較したところ、低殺菌率においてほぼ同等の殺菌速度が得られた。また、高殺菌率領域においてはフッ素樹脂製のほうが石英製のものよりも殺菌速度が高くなり、拡散透過の効果が大きいことがわかった。

参考文献

- 1) 浦上逸男；“初歩から学ぶ紫外線殺菌”，pp.15-24, pp.26-34, pp.124-127 工業調査会（2005）
- 2) Hitoshi Funayama and Takuo Sugawara；“Direct Determination of Absolute Light Intensity in UV-Transmitting and UV-Dispersive Fluoro Polymer Tubes”，*Bull.Chem.Soc.Jpn.*, 60, pp. 2245-2249（1987）
- 3) 菅原拓男，大橋弘保；“紫外線殺菌装置について（1）—照射光強度と不活性化速度—”，防菌防黴誌，8, pp.489-496,（1980）
- 4) Takuo Sugawara, Michio Yoneya and Hiroyasu Ohashi；“PERFORMANCE OF AN-NULAR FLOW STERILIZER IRRADIATED BY A GERMICIDAL LAMP”，*J.Chem Eng., Japan*, 14, pp.259-264（1981）