



消毒薬の殺菌効果の研究(第3報) : 殺菌効果に対する温度の影響

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 北海道教育大学 公開日: 2008-05-21 キーワード: 作成者: 青井, 陽, 横田, 正義 メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.32150/00005576

消毒薬の殺菌効果の研究（第3報）

殺菌効果に対する温度の影響

青井 陽・横田 正義

北海道教育大学旭川校保健学教室

Bactericidal Activity of Disinfectants (3rd Report) :

Influence of the Temperature on Bactericidal Activities of Disinfectants

AOI Yoh and YOKOTA Masayoshi

Department of Health Science, Asahikawa Campus, Hokkaido University of Education, Asahikawa 070-8621

Abstract

The bactericidal activity of Ethylalcohol (ethanol) and Benzalkonium chloride (Osvan), with single or mixture, were examined at various temperatures. Ethanol showed a bactericidal effect against *Staphylococcus aureus* of 58% at temperature of 20°C and of 18% at 50°C. Ethanol killed *Escherichia coli* cells by 36% at temperature of 20°C and 16% at 50°C. Osvan had a germicidal effect against *S.aureus* of 0.025% at temperature of 20°C and of 0.00625% at 50°C. When used against *E.coli*, Osvan showed bactericidal activity of 0.4% at temperature of 20°C and of 0.05% at 50°C. It can therefore be said that, as the temperature rose during the examinations, the bactericidal potential of the disinfectants was strengthened. Comparisons of their effectiveness when used independently or as a mixture revealed that the mixture of ethanol and Osvan was stronger in terms of its germicidal effect at each temperature.

I. 緒言

エチルアルコール（以後エチルと略称する）は非常に古くから用いられている消毒薬である。粘膜や傷面に対する浸襲作用等の欠点はあるが、殺菌力の強さ、即効性、高い安全性、残留性がない、などの特性のために広く用いられている。

オスバンは学校、病院、事業所などで広く用い

られている消毒薬である。殺菌力は他の消毒薬に比べて強力ではないが、安全性、刺激の少なさ、取り扱いの容易さ、安価であることによってエチルと共に最も良く用いられている。

これらの消毒薬の殺菌効果の判定は室温での使用が基準になっている。使用温度が異なる際の殺菌効果の変化についてはよくわかっていない⁷⁾。もしも各消毒薬の殺菌力が定法よりもさらに増強

されるような条件を見いだすことができれば、学校の保健室などでの使用の際に有効な支援となるだろう。そこで我々はエチル、オスバンの室温での効果をもとに、処理温度をより高くした際に殺菌力に差違が生じるかどうかを、それぞれ典型的なグラム陰性菌およびグラム陽性菌であり、菌体表面の構造が非常に異なるために消毒薬の殺菌効果は異なると考えられる、大腸菌とブドウ球菌とを指標菌として調べてみようとした。またこれらを混合した際には殺菌効果が増強されるが^{1,2)}、この現象が異なる温度でも起こるかどうかも併せて検討した。

II. 材料・方法

1. 菌 株

ブドウ球菌は人粘膜から分離し、大腸菌は河川水から分離した。グラム染色の後大腸菌についてはバイオテスト1号（栄研化学株式会社）を用いて同定した。ブドウ球菌は所定の方法によって同定した¹⁾。

2. 培 地

細菌の増殖と、殺菌効果の判定にはトリプトソイブイヨン培地（栄研化学株式会社）およびトリプトソイ寒天培地（栄研化学株式会社）を用いた。

3. 消毒剤

消毒薬はエチルアルコール（関東化学株式会社；以後エチルと略）および塩化ベンザルコニウム〔オスバン〕（甘糟化学産業株式会社）を用いた。

4. 消毒剤の濃度および処理温度

殺菌効果の測定はエチルについては、処理温度によって濃度が異なるが、ブドウ球菌に対しては14～64%、大腸菌に対しては10～36%を用いた。オスバンについては処理温度によって濃度が異なるが、ブドウ球菌に対しては $1.5625 \times 10^{-3} \sim 1.0 \times 10^{-1}\%$ を、大腸菌に対しては $6.25 \times 10^{-3} \sim 2.0 \times 10^{-1}\%$ を用いた。処理温度は20～50℃の範囲で、

また処理時間は15、30、60および120秒で殺菌効果の測定を行った。

5. 消毒薬の殺菌効果の判定

所定の消毒薬濃度になるように各消毒薬と菌液とを混合し、一定時間保持した後、その0.1mlを採取し2mlの生理食塩水に入れて希釈し、ここから白金耳またはピペットによって採取しトリプトソイ寒天培地に接種した。37℃にて24から48時間培養し、試験菌の発育の有無によって殺菌効果の判定を行った。普通に発育したものを効果無しとして-、50～5程度のコロニーを示したものをかなり有効として±、発育しなかったものを有効として+と表記した。

III. 結 果

1. エチルアルコール（以後エチルと略称する）のブドウ球菌および大腸菌に対する殺菌効果

表1にエチルのブドウ球菌に対する殺菌効果を示す。エチルの濃度は14～64%、処理温度は20、30、40および50℃だった。表1に示したように20℃においては50および52%では120秒、54%では60秒、58および62%では15秒で殺菌効果が見られた。以後、処理温度を上昇させるに従って、エチルの殺菌効果は増強されていった。すなわち30℃においては36%で60秒、40%では30秒、42%では15秒で殺菌効果が見られた。40℃においては24%では120秒で、26%では60秒、28%では15秒、30%では15秒で殺菌効果が見られた。50℃においては14%では120秒で、16%では30秒で、18%および20%では15秒で殺菌効果が見られた。

表2にエチルの大腸菌に対する殺菌効果を示す。エチルの濃度は10～36%、処理温度は20、30、40および50℃だった。表2に示したように、20℃において32%では120秒、34%では30秒、36%では15秒で殺菌効果が見られた。以後処理温度を上昇させると殺菌効果は増強された。すなわち30℃においては、26%では30秒で、28%では15秒で殺菌効果が見られた。40℃においては、20%で60秒、

表1. ブドウ球菌に対するエチルアルコールの殺菌効果

濃度 %	温 度																
	20℃				30℃				40℃				50℃				
	15*	30	60	120	15	30	60	120	15	30	60	120	15	30	60	120	
14													-	-	-	±**	
16														-	±	±	+
18														±	±	+	+
20														±	+	+	+
22									-	-	-	-	+	+	+	+	
24									-	-	-	±					
26									-	-	±	+					
28									±	+	+	+					
30									+	+	+	+					
32					-	-	-	-	+	+	+	+					
34					-	-	-	-	+	+	+	+					
36					-	-	±	+									
38					-	±	+	+									
40					-	±	+	+									
42					+	+	+	+									
44																	
46	-	-	-	-													
48	-	-	-	-													
50	-	-	-	±													
52	-	-	-	±													
54	-	-	±	+													
56	-	-	±	+													
58	±	±	±	+													
60	±	±	+	+													
62	±	+	+	+													
64	+	+	+	+													

※：処理時間(秒) ※※；-：殺菌効果なし ±：かなり有効 +：殺菌効果あり

表2. 大腸菌に対するエチルアルコールの殺菌効果

濃度 %	温 度																
	20℃				30℃				40℃				50℃				
	15*	30	60	120	15	30	60	120	15	30	60	120	15	30	60	120	
10																	-**
12																	-
14									-	-	-	-	-	±	±	+	
16									-	-	-	-	+	+	+	+	
18									-	-	-	-	+	+	+	+	
20									-	-	+	+					
22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	+	+					
24	-	-	-	-	-	-	±	-	+	+	+	+					
26	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+					
28	-	-	-	-	+	+	+	+									
30	-	-	-	-	+	+	+	+									
32	-	-	-	±	+	+	+	+									
34	-	±	+	+	+	+	+	+									
36	+	+	+	+	+	+	+	+									

※：処理時間(秒) ※※；-：殺菌効果なし ±：かなり有効 +：殺菌効果あり

22%では30秒，24%では15秒で殺菌効果が見られた。又50℃においては，14%で30秒，16%では15秒で殺菌効果が見られた。

各温度でブドウ球菌は大腸菌に比べてエチルに

対して抵抗性が強かった。特に20℃15秒処理での殺菌効果は大腸菌では36%で見られたのに対し，ブドウ球菌では64%でなければ見られなかった。

表3. ブドウ球菌に対するオスバンの殺菌効果

濃度 %	温 度							
	20℃				50℃			
	15*	30	60	120	15	30	60	120
1.5625×10^{-3}					-	-	±	+**
3.125×10^{-3}					-	±	±	+
6.25×10^{-3}	-	-	-	-	+	+	+	+
1.25×10^{-2}	-	-	±	±	+	+	+	+
2.50×10^{-2}	±	+	+	+				
5.0×10^{-2}	+	+	+	+				
1.0×10^{-1}	+	+	+	+				

※：処理時間(秒) ※※；-：殺菌効果なし ±：かなり有効 +：殺菌効果あり

表4. 大腸菌に対するオスバンの殺菌効果

濃度 %	温 度							
	20℃				50℃			
	15*	30	60	120	15	30	60	120
1.25×10^{-2}					-	-	-	-**
2.50×10^{-2}	-	-	-	-	-	±	+	+
5.00×10^{-2}	-	-	-	±	±	+	+	+
1.00×10^{-1}	-	-	-	+				
2.00×10^{-1}	-	+	+	+				
4.00×10^{-1}	+	+	+	+				

※：処理時間(秒) ※※；-：殺菌効果なし ±：かなり有効 +：殺菌効果あり

2. オスバンのブドウ球菌および大腸菌に対する殺菌効果

表3にオスバンのブドウ球菌に対する殺菌効果を示す。オスバンの濃度は $1.5625 \times 10^{-3}\%$ ～ $1 \times 10^{-2}\%$ ，処理温度は20℃および50℃だった。表3に示したように20℃においては $1.25 \times 10^{-2}\%$ では60秒で， $2.5 \times 10^{-2}\%$ では15秒で殺菌効果が見られた。また50℃においては 1.5625×10^{-3} では60秒， $3.125 \times 10^{-3}\%$ では30秒で， $6.25 \times 10^{-3}\%$ では15秒で殺菌効果が見られた。処理温度を上昇させると殺菌効果は増強され，50℃では20℃に比べ約8倍効果が高まっていた。

表4にオスバンの大腸菌に対する殺菌効果を示す。オスバンの濃度は 1.25×10^{-2} ～ $4.0 \times 10^{-1}\%$ ，処理温度は20℃および50℃だった。表4に示したように，20℃においては $5.0 \times 10^{-2}\%$ では120秒， $2.0 \times 10^{-1}\%$ では30秒， $4.0 \times 10^{-1}\%$ では15秒で殺菌効果が見られた。また50℃においては $2.5 \times 10^{-2}\%$ では30秒で， $5.0 \times 10^{-2}\%$ では15秒で殺菌効果が見られた。ブドウ球菌の例と同様，処理温度を上昇させることにより殺菌効果の増強が見られた。50℃では20℃に比べて約4～5倍効果が高

まっていた。

オスバンはブドウ球菌に対して殺菌効果が強く，大腸菌に比べると20℃および50℃で約10倍殺菌効果が高かった。

3. エチルとオスバンを混合した際のブドウ球菌および大腸菌に対する殺菌効果

表5にエチルとオスバンを混合した際のブドウ球菌に対する殺菌効果を示した。エチルは12～54%，オスバンは 4×10^{-4} ～ $1.25 \times 10^{-2}\%$ の濃度の範囲で，処理温度は20および50℃を用いた。

表5に示したように20℃においては，エチル42%では，オスバン $1.5625 \times 10^{-3}\%$ ～ $6.25 \times 10^{-3}\%$ では30秒， $1.25 \times 10^{-2}\%$ では15秒で殺菌効果が見られた。エチル46%では，オスバン $1.5625 \times 10^{-3}\%$ ～ $6.25 \times 10^{-3}\%$ の混合では15秒で殺菌効果が見られた。エチル50%ではオスバン $1.5625 \times 10^{-3}\%$ の混合では15秒で，エチル54%ではオスバン $1.5625 \times 10^{-3}\%$ の混合で15秒で殺菌効果が見られた。また50℃においてはエチル12%ではオスバン $4.0 \times 10^{-4}\%$ で120秒， $8.0 \times 10^{-4}\%$ で60秒， $1.6 \times 10^{-3}\%$ の混合で30秒， $3.2 \times 10^{-3}\%$ では15秒で

表5. ブドウ球菌に対するエタノールおよびオスパンを混合した際の殺菌効果

		処 理 温 度									
		20℃				50℃					
オスパン %	処理* 時間	エタノール %				オスパン %	処理 時間	エタノール %			
		42	46	50	54			12	14	16	18
1.5625 ×10 ⁻³	15	-	±	±	+***	4.0 ×10 ⁻⁴	15	-	-	-	±
	30	±	±	+	+		30	-	-	±	+
	60	±	+	+	+		60	-	±	±	+
	120	+	+	+	+		120	±	±	+	+
3.125 ×10 ⁻³	15	-	±	+	+	8.0 ×10 ⁻⁴	15	-	-	-	±
	30	±	+	+	+		30	-	±	±	±
	60	±	+	+	+		60	±	±	+	+
	120	+	+	+	+		120	±	+	+	+
6.25 ×10 ⁻³	15	-	±	±	+	1.6 ×10 ⁻³	15	-	-	±	±
	30	±	+	+	+		30	±	±	+	+
	60	±	+	+	+		60	±	±	+	+
	120	+	+	+	+		120	+	+	+	+
1.25 ×10 ⁻²	15	±	+	+	+	3.2 ×10 ⁻³	15	±	±	±	±
	30	+	+	+	+		30	+	±	+	+
	60	+	+	+	+		60	+	+	+	+
	120	+	+	+	+		120	+	+	+	+

※：処理時間(秒) ※※；-：殺菌効果なし ±：かなり有効 +：殺菌効果あり

表6. 大腸菌に対するエタノールおよびオスパンを混合した際の殺菌効果

		処 理 温 度									
		20℃				50℃					
オスパン %	処理* 時間	エタノール %				オスパン %	処理 時間	エタノール %			
		26	28	30	32			8	10	12	14
5.0 ×10 ⁻²	15	-	-	-	-***	6.25 ×10 ⁻³	15	-	-	-	-
	30	-	-	±	-		30	-	-	-	-
	60	-	-	-	-		60	-	-	-	-
	120	-	-	+	+		120	-	-	-	+
1.0 ×10 ⁻¹	15	-	+	+	+	1.25 ×10 ⁻²	15	-	-	-	-
	30	-	+	+	+		30	-	-	-	+
	60	-	+	+	+		60	-	-	-	+
	120	-	+	+	+		120	-	+	+	+
2.0 ×10 ⁻¹	15	±	+	+	+	2.5 ×10 ⁻²	15	-	-	-	+
	30	+	+	+	+		30	-	-	+	+
	60	+	+	+	+		60	+	±	+	+
	120	+	+	+	+		120	+	+	+	+

※：処理時間(秒) ※※；-：殺菌効果なし ±：かなり有効 +：殺菌効果あり

殺菌効果が見られた。エチル14%ではオスパン4.0 × 10⁻⁴%で60秒, 8.0 × 10⁻⁴%の混合で30秒, 1.6 × 10⁻³%の混合で30秒, 3.2 × 10⁻³%では15秒で殺菌効果が見られた。エチル16%ではオスパン4.0 × 10⁻⁴%および8.0 × 10⁻⁴%の混合で30秒, 1.6 × 10⁻³%では15秒で殺菌効果が見られた。エチル18%では, オスパン4.0 × 10⁻⁴%および8.0 × 10⁻⁴%の混合で15秒, 1.6 × 10⁻³%では15秒で殺菌効果が見られた。

ブドウ球菌に対する各消毒薬単独での殺菌濃度

は20℃においてエチル58%, オスパン2.5 × 10⁻²%, また50℃においてはエチル18%, オスパンは6.25 × 10⁻³%であり, エチルとオスパンを混合した際には20℃および50℃で, 各消毒薬を単独使用したよりも殺菌効果は増強された。

表6にエチルとオスパンを混合した際の, 大腸菌に対する殺菌効果を示す。エチルは8~32%, オスパンは6.25 × 10⁻³~2.0 × 10⁻¹%の濃度の組み合わせで, 処理温度は20℃および50℃で殺菌効果を調べた。その結果, 表6に示したように20℃

ではエチル26%+オスバン 2.0×10^{-1} %では15秒で、エチル28%+オスバン 1.0×10^{-1} %では15秒で、エチル30%+オスバン 5.0×10^{-2} %では120秒で殺菌効果が見られた。また処理温度50℃においては、エチル8%+オスバン 2.5×10^{-2} では60秒、エチル10%+オスバン 1.25×10^{-2} および、エチル12%+オスバン 1.25×10^{-2} では120秒、エチル14%+オスバン 6.25×10^{-3} では120秒で殺菌効果が見られた。各消毒薬単独での殺菌効果は、20℃においてはエチル34%、オスバン 2.0×10^{-1} %, また50℃においてはエチル14%、オスバン 2.5×10^{-2} であり、大腸菌に対してエチルとオスバンの混合による殺菌効果は増強された。

IV. 考 察

エチルアルコール（エチル）はブドウ球菌に対して20℃において58%^{1,2,4)}、30℃において42%、40℃において28%、50℃において18%で有効と思われる。また大腸菌に対しては20℃において36%^{1,2,4)}、30℃において28%、40℃において24%、50℃において16%で殺菌効果が発揮されると思われる。エチルは処理温度が高くなるに従って殺菌効果は増強され⁹⁾20℃と50℃で比較した場合、ブドウ球菌では3.4倍、大腸菌では2.4倍、殺菌力は増加する。ただしエチルはブドウ球菌に対して大腸菌よりも殺菌力は劣るようである^{6,7)}。

オスバンはエチルと同様、処理温度が高くなるに従って殺菌効果は増強され、20℃と50℃を比較するとブドウ球菌では約8倍、大腸菌では約4倍、効果が増強された。オスバンは大腸菌よりもブドウ球菌に対してより殺菌効果が強いと思われ^{2,3,5,8)}20℃で8倍、50℃で16倍ブドウ球菌に対して強く作用した。

エチルの殺菌効果には濃度に閾値のような現象があると考えられる。エチルは効果が全くない濃度と有効濃度の範囲の差が非常に小さくある濃度から突然殺菌効果が発揮されるように思える。一方オスバンの殺菌効果には閾値はないようである。オスバンは濃度と処理時間に比例して徐々に

殺菌効果は強まって行く。無効である濃度と有効な濃度の範囲の差は大きい。

以前我々は20℃においてエチルとオスバンの混合により相乗効果があることを示したが^{1,2)}、50℃においてもブドウ球菌および大腸菌ともに相乗効果があることが示された。

我々はエチルおよびオスバンにおいて、単独でも混合しても処理温度を上げると殺菌効果が強まることを示したが、この現象は消毒薬の使用上有益であると思われる。北海道においては冬期間寒冷で保健室で使用する消毒薬は冷たくなっていることが多いが、我々は温度を上げて使用した方が消毒薬の殺菌効果は増強することを本実験で示した。特にオスバンのように作りにおいて使用する消毒薬は、冬期において使用する際、児童・生徒の、冷たく手を洗にくいという心情を考慮するだけではなく、消毒効果を有効に発揮させる点からも使用時には加温し暖めておくことが必要である。

V. 要 約

エチルアルコール（以後エチルと略称する）と塩化ベンザルコニウム（オスバン）の20～50℃における殺菌効果を、消毒薬単独又は混合して調べた。殺菌効果の指標菌はブドウ球菌と大腸菌を用いた。エチルはブドウ球菌に対しては20℃において58%、50℃において18%、大腸菌に対しては20℃において36%、50℃において16%で有効だった。オスバンはブドウ球菌に対して20℃において0.025%、50℃において0.00625%、大腸菌に対しては20℃において0.4%、50℃において0.05%で有効だった。処理温度が上昇するに従って各消毒薬の殺菌効果は増強された。エチルとオスバンを混合すると20℃、50℃の両方で殺菌効果の増強が見られた。

VI. 参考文献

- 1) 青井陽・横田正義・中田秀彦（1996）消毒薬の殺菌効果の研究 特にエタノール、ヒビテン、およびオ

- スパンを混合した際の相乗的殺菌効果について 北海道教育大学紀要 (第2部C) 46:121-133.
- 2) 青井陽・横田正義・中田秀彦 (1997) 消毒薬の殺菌効果の研究 (第2報) 短時間におけるエタノール, およびオスバン, またはヒビテンを混合した際の相乗的殺菌効果について 北海道教育大学紀要 (第2部C) 48:31-41.
- 3) Cutler R.A. et. al. (1966) Alkylbenzyltrimethylammonium chloride - a comparative study of the odd and even chain homologues. C.S.M.A. Proceedings of the 53rd Annual Meeting, pp.102-113.
- 4) Hayes W. (1949) The bactericidal properties of some disinfectants in common use. Br. J. Urol., 21: 198-208.
- 5) Hueck H.J. et. al. (1966) Bacteriostatic, fungistatic, and algistatic activity of fatty nitrogen compounds. Appl. Microbiol., 14:308-319.
- 6) Morton H.E. (1950) Relationship of concentration and germicidal efficiency of ethyl alcohol. Ann. N.Y. Acad. Sci., 53:191-196.
- 7) Price P.B. (1950) Reevaluation of ethyl alcohol as a germicide. Arch. Surg., 60:492-502.
- 8) Quisno R. and Foter M.J. (1946) Cetyl pyridinium chloride. J. Bacteriol., 52:111-117.
- 9) Tilley F.W. (1942) Influence of temperature on bactericidal activities of alcohol and phenols. J. Bacteriol., 43:521-555.

(青井 陽 旭川校助教授)

(横田 正義 旭川校教授)