

## 明 細 書

発明の名称：殺菌剤組成物

### 技術分野

[0001] 本発明は、超微細気泡を含有する水を用いることにより、環境中の様々な有機物汚れ存在下での殺菌、またはバイオフィルム中の殺菌をすることのできる新規な殺菌剤組成物、その製造方法、およびそれを利用する殺菌方法に関する。

### 背景技術

[0002] 殺菌剤は、工業、化粧品、食品加工、医薬品、農業、酪農などあらゆる分野で広く利用されている。その種類は多岐にわたり、例えば、医療、食品分野で用いられる殺菌剤としては、塩素系殺菌剤、ヨウ素系殺菌剤、過酸化物質系殺菌剤、アルデヒド系殺菌剤、フェノール系殺菌剤、ビグアニド系殺菌剤、水銀系殺菌剤、アルコール系殺菌剤、四級アンモニウム塩系殺菌剤、両性界面活性剤系殺菌剤などがある。

しかしこれら殺菌剤の多くは、タンパク質などの有機物による汚れや、多糖やタンパク質などに覆われたバイオフィルムに対しては著しい殺菌力の低下を示していた。そのため実験系の殺菌評価と現場使用系の殺菌評価とのずれを生み、殺菌の増殖を許し、感染の原因となっていた。特にバイオフィルムは、生活環境や産業上で深刻な問題を引き起こす場合があり、注目されている。例えば、住環境ではトイレや台所、浴室等のぬめりやつまり、悪臭の原因となり不快感を与える。温泉施設等の循環式浴槽内で形成されたバイオフィルム中の細菌により感染症が発生する場合もある。一方産業上の問題としては、下水道管や船底にバイオフィルムが形成されることにより腐食を引き起こす事があり、また工場の製造ライン上のバイオフィルムが微生物汚染の原因となることもある。医療関連では、透析等のチューブや内視鏡、コンタクトレンズ等の医療器具に形成されたバイオフィルムが感染源となったり、また、皮膚等の人体組織でのバイオフィルム形成により疾病を引き起こし

たりする。ヒト口腔内においては歯に形成するバイオフィルム、いわゆるデンタルプラーク（歯垢）がう蝕や歯周病の原因となることがよく知られている。食品関連では、野菜等の生鮮食料品や加工食品原料及び調理器具に形成されたバイオフィルムが腐敗や食中毒の原因となる。これらに対処するために、現状では実験系で得られた殺菌濃度より遥かに高い濃度を実使用濃度に規定している。

[0003] バイオフィルムへの浸透性を向上させる方法として、アニオン性界面活性剤の併用が提案された（特許文献1、2、3）。しかしながら、これらの公知技術には課題があった。例えば、実使用時では有機物汚れがあることを想定し、実験系で得られた殺菌濃度より遥かに高い濃度に規定はしているが、高濃度にしても、過剰な汚れの中やバイオフィルムの中に存在する菌まで殺菌できず、かつ生体や環境安全面からも好ましくなかった。また有機物汚れ中でも殺菌・抗菌活性を失わないグリセリン脂肪酸エステルは、グラム陰性菌に対しては抗菌性をもたないという欠点があった（非特許文献1）。そのため、グラム陰性菌に対して殺菌力を有するキレート剤である、エチレンジアミン四酢酸を併用しグリセリン脂肪酸エステルの欠点を補うことが提案された（特許文献4、5、6）が、エチレンジアミン四酢酸は、次亜塩素酸又はその塩と反応し、有効塩素濃度が減少して、殺菌力の低下がもたらされるなど、配合の組み合わせが限定されるといった配合自由度の問題があった。また、バイオフィルムへの浸透性を向上させる方法として、アニオン性界面活性剤の併用が提案されているが（特許文献1、2、3）、カチオン性殺菌剤との併用では電氣的相互作用により殺菌力が減弱されてしまうなど配合自由度の問題があった。

## 先行技術文献

### 特許文献

[0004] 特許文献1：特開2006－069909号公報

特許文献2：特開2006－182663号公報

特許文献3：特開2006－312588号公報

特許文献4：特開1997-278610号公報

特許文献5：特表2003-528820号公報

特許文献6：特開1987-269673号公報

### 非特許文献

- [0005] 非特許文献1：『香粧品 防腐・殺菌剤の科学』ジョン・J・カバラ編 吉村孝一・滝川博文訳 フレグランスジャーナル社 1990年4月10日発行 249～263頁

### 発明の概要

#### 発明が解決しようとする課題

- [0006] 本発明は、有機物の存在下およびバイオフィルムに対しても優れた殺菌効果を示す殺菌剤組成物、その製造方法、およびそれを使用する殺菌方法を提供することを目的とする。

#### 課題を解決するための手段

- [0007] 本発明は、最頻粒子径が500nm以下である超微細気泡を含む水と殺菌成分を含む殺菌剤組成物に関する。好ましい態様では、超微細気泡の最頻粒子径を有する粒子の1mL当たりの個数である「最頻粒子密度」は1万個以上である。また、異なる好ましい態様においては、1mL当たりの微細気泡粒子の総数である「総粒子密度」は100万個以上である。また粒子径1000nm以下の超微細気泡の1mL当たりの数である、粒子径1000nm以下の超微細気泡密度は100万個以上である事が好ましい。

前記超微細気泡の内部は空気、酸素、水素、窒素、炭酸ガス、アルゴン、ネオン、キセノン、フッ素化気体、オゾンおよび不活性化ガスから選択される1種または2種以上の気体であることができる。

また本発明で使用される殺菌成分は、ヨウ素系殺菌成分、過酸化物系殺菌成分、アルデヒド系殺菌成分、フェノール系殺菌成分、ヒグアニド系殺菌成分、水銀系殺菌成分、アルコール系殺菌成分、四級アンモニウム塩系殺菌成分、両性界面活性剤系殺菌成分、天然由来殺菌成分であることができる。

さらに本発明は、最頻粒子径が500nm以下である超微細気泡を含む水と殺菌成分を混合することを含む、殺菌剤組成物の製造方法を提供する。また本発明は、殺菌成分を含む水中に、最頻粒子径が500nm以下である超微細気泡を発生させることを含む、殺菌剤組成物の製造方法を提供する。好ましい態様では、超微細気泡の最頻粒子密度は1万個以上であり、10万個以上であることがさらに好ましい。また、異なる好ましい態様においては、総微粒子密度および粒子径1000nm以下の超微細気泡密度は100万個以上である。

さらに本発明は、本発明にかかる殺菌剤組成物を使用する殺菌方法を提供し、特に、本発明にかかる殺菌剤組成物を、バイオフィームと接触させることを含む殺菌方法を提供する。

なお本明細書においてバイオフィームとは、微生物が形成する高次構造体をいい、たとえば多糖類などの細胞外高分子化合物（EPS）により結合されて生成されるフィルムをいう。バイオフィームの例としては先に述べたような、住居のトイレや台所、浴室、温泉施設等の循環式浴槽、下水道管等の各種配管、船底、工場の製造ライン、透析等のチューブ、内視鏡、コンタクトレンズ等の医療器具、人体の皮膚、口腔内、野菜等の生鮮食料品や加工食品原料及び調理器具に形成されたバイオフィームがあげられる。

## 発明の効果

[0008] 本発明により、有機物存在下およびバイオフィームに対しても優れた殺菌効果を示す殺菌剤組成物、およびこれを利用する殺菌方法が得られる。

## 図面の簡単な説明

[0009] [図1]超微細気泡を含む水中の気泡の粒径分布の測定結果を示す図である。

なお、装置の検出上限を超えたため、検水を精製水で希釈し測定を行い、希釈倍率を乗じた値を測定結果として示した。

[図2]日本薬局方精製水中の気泡の粒径分布の測定結果を示す図である。

## 発明を実施するための形態

[0010] 本発明において使用される超微細気泡は、最頻粒子径が500nm以下、

好ましくは最頻粒子径が300nm以下、さらに好ましくは最頻粒子径が150nm以下であり、最も好ましくは最頻粒子径が110nm以下であり、最頻粒子密度は好ましくは1万個以上、さらに好ましくは5万個以上、さらに好ましくは50万個以上、さらに好ましくは500万個以上、さらに好ましくは1000万個以上、さらに好ましくは5000万個以上、さらに好ましくは1億個以上、さらに好ましくは5億個以上、最も好ましくは7億個以上である。

[0011] 本発明においては、粒子径1000nm以下の超微細気泡密度および総粒子密度は好ましくは100万個以上、さらに好ましくは400万個以上、さらに好ましくは4000万個以上、さらに好ましくは1億個以上、さらに好ましくは4億個以上、さらに好ましくは10億個以上、さらに好ましくは30億個以上、さらに好ましくは50億個以上、さらに好ましくは70億個以上、さらに好ましくは100億個以上、さらに好ましくは200億個以上、最も好ましくは400億個以上であることができる。さらに好ましい態様では、1000nm以上の気泡はほとんど存在しない。この場合には「総粒子密度」と、粒子径1000nm以下の超微細気泡密度は同意となる。後述の実施例においては1000nm以上の気泡はほとんど存在しないので、両者は同意の用語として使用されている。

[0012] 本発明で使用される超微細気泡の粒径は非常に小さいために通常の粒度分布測定装置では正確に測定することができない。そのため本明細書中では、ナノ粒子解析システム ナノサイトシリーズ (Nano Sight 社製) により測定した数値を利用している。ナノ粒子解析システム ナノサイトシリーズ (Nano Sight 社製) は、ナノ粒子のブラウン運動の速度を計測し、その速度から粒子径を算出する。最頻粒子径は、存在する粒子の粒子径分布から確認でき、個数が極大値となる時の粒子径をいう。

[0013] 本発明において使用される水は、これらに限定されるものではないが、水道水、精製水、イオン交換水、純水、超純水、脱イオン水、蒸留水、緩衝液、上水、天然水、ろ過水、高純水、飲料水および電解水から選択されること

ができる。

また水溶性溶媒、たとえばアルコール、グリコール、グリセリン、エーテル、ケトン、エステルなどを加えることもできる。

[0014] 超微細気泡表面のゼータ電位は、気泡の安定性に影響を与える。本発明で使用される超微細気泡表面は帯電し、そのゼータ電位の絶対値は5 mV以上、好ましくは7 mV以上、より好ましくは10 mV以上、さらに好ましくは20 mV以上、さらに好ましくは25 mV以上、最も好ましくは30 mV以上である。

[0015] 本発明で使用される超微細気泡は、任意の公知の手段、たとえばスタティックミキサー式、ベンチュリ式、キャビテーション式、蒸気凝集式、超音波方式、旋回流方式、加圧溶解方式、微細孔方式で発生させることができる。好ましい気泡の発生方法は気液混合せん断方式である。

[0016] 気液混合せん断方式による超微細気泡の発生に有用な装置としては、たとえば特許第4118939号に開示されている装置があげられる。この装置においては、流体旋回室内に導入された気液混合流体の多くは、前述の従来装置におけるように単純に吐出口に向うのとは異なり、一旦、吐出口のある方向とは反対方向に旋回流として進む。そして、その旋回流は、第1端壁部材によって反転させられ該第1端壁部材から第2端壁部材に向けて進むことになるが、このときの旋回回転半径は第1端壁部材に向かうときに比べて小さくなるので、その流速は高速となり、従って、該液体内に含まれる気体への剪断力が大きくなり、その微細化が促進される。

[0017] 殺菌成分の水溶液を超微細気泡発生装置により処理し、水溶液中に超微細気泡を発生させることにより、殺菌成分が水中に溶解している本発明の組成物を製造することができる。また、超微細気泡を含む水に、殺菌成分を溶解することによっても本発明の組成物を製造することができる。前記の超微細気泡を含む水は、先に述べた通りの最頻粒子径および密度を有することができる。

[0018] また殺菌成分が疎水性の場合には、殺菌成分を、超微細気泡を含む水中に

分散させることができる。この場合には、水中に殺菌成分が分散された分散液中に超微細気泡を発生させても良いし、また超微細気泡を含む水中に殺菌成分を添加して分散させても良い。本明細書においては、殺菌成分が水に溶解された場合と分散された場合とを包含して、殺菌成分を含むとの表現が使用される。

[0019] 本発明で使用される殺菌成分は、塩素系殺菌成分、ヨウ素系殺菌成分、過酸化係殺菌成分、アルデヒド系殺菌成分、フェノール系殺菌成分、ビグアナイド系殺菌成分、水銀系殺菌成分、アルコール系殺菌成分、四級アンモニウム塩系殺菌成分、両性界面活性剤系殺菌成分、天然由来抗菌成分であることができる。

[0020] 塩素系殺菌成分の例としては、次亜塩素酸ナトリウム、塩素、塩素化イソシアヌール酸等が挙げられる。

[0021] ヨウ素系殺菌成分の例としてはヨウ素、ポビドンヨード、ノノキシノールヨード、フェノキシヨード等が挙げられる。

[0022] 過酸化係殺菌成分の例としては、過酸化水素、過マンガン酸カリウム、オゾン、強酸性水等が挙げられる。

[0023] アルデヒド系殺菌成分の例としては、グルタルアルデヒド、フタラール、ホルムアルデヒド等が挙げられる。

[0024] フェノール系殺菌成分の例としては、イソプロピルメチルフェノール、チモール、オイゲノール、トリクロサン、クレゾール、フェノール、クロロクレゾール、パラクロロメタクレゾール、パラクロロメタキシレノール、オルソフェニルフェノール、パラオキシ安息香酸アルキルエステル、レゾルシン、ヘキサクロロフェン、サリチル酸又はその塩類等が挙げられる。

[0025] ビグアナイド系殺菌成分の例としては、クロルヘキシジン、グルコン酸クロルヘキシジン、塩酸クロルヘキシジン等が挙げられる。

[0026] 水銀系殺菌成分の例としては、マーキュロクロム、塩化第二水銀、チメロサル等が挙げられる。

[0027] アルコール系殺菌成分としては、エタノール、イソプロパノール等が挙げ

られる。

[0028] 四級アンモニウム塩系殺菌成分の例としては、塩化セチルピリジニウム、塩化ベンゼトニウム、塩化ベンザルコニウム、塩化デカリニウム等が挙げられる。

[0029] 両性界面活性剤系殺菌成分の例としては、N-ラウリルジアミノエチルグリシン、N-ミリスチルジエチルグリシンなどのN-アルキルジアミノエチルグリシン、N-アルキル-N-カルボキシメチルアンモニウムベタイン、2-アルキル-1-ヒドロキシエチルイミダゾリンベタインナトリウム等が挙げられる。

[0030] 本発明で使用される殺菌成分としては、以下の天然由来の抗菌成分も使用することができる。

天然物由来の抗菌成分としては、ヒノキチオール、アネトール、アニスオイル、ボルネオール、樟脳、カルボン、カシヤオイル、アカザオイル、シネオール、シトラール、シトロネラル、オイゲノール、ピネン、ゲラニオール、レモンオイル、リオロール、メントール、オレンジオイル、サフロール、チモール等の植物系薬剤や、甲殻類の殻を原料としたキチン、キトサン、ホタテやカキの貝殻を焼成処理することによって得られる焼成貝殻粉末などの動物系薬剤や、ポリリジンなどの微生物系薬剤、リゾチームなどの酵素系薬剤が挙げられる。また、生物が外界の微生物に対して自らを防御するために産生する抗菌性ペプチドも使用でき、例えば、ヒスタチン (Histatin)、ディフェンシン (Defensin)、ラクトフェリン (Lactoferrin)、ラクトフェリンの分解産物であるラクトフェリシン (Lactoferricin)、マガイニン (Magainin)、セクロピン (Cecropin)、メリチチン (Melittin) などがある。これらは、本来生物自らが産生しているものであるため、生体に対しての副作用あるいは阻害作用は極めて小さい。また、超微細気泡を含む水で体を洗い流すだけで、皮膚表面の抗菌性ペプチドの殺菌効果を高め、殺菌剤を用いることなく十分な殺菌効果が期待できることが想像される。

[0031] また天然由来の抗菌成分として抗菌性の植物抽出物を使用することもできる。具体例としては、グレープフルーツ種子エキス、アカザ科のハハキギ等、アヤメ科のヒオウギ等、オトギリソウ科のセイヨウトドリソウ等、カンラン科のニューコウ、ギレアデバルサムノキ等、キキョウ科のツリガネニンジン等、キク科のエキナセア、カミツレ、ゴボウ、セイタカアワダチソウ、ホソバオケラ等、キンポウゲ科のオウレン等、スイカズラ科のスイカズラ等、クスノキ科のゲッケイジュ等、クワ科のホップ等、シソ科のコガネバナ、オレガノ、ケイガイ、セージ、タイム、セイヨウヤマハッカ、ヤマジソ、ラベンダー、ローズマリー等、ショウガ科のシュクシャ、ショウガ等、スイカズラ科のセイヨウニワトコ等、スギ科のスギ等、セリ科のヨロイグサ、ボウフウ等、タデ科のミチヤナギ等、ツツジ科のウワウルシ等、ドクダミ科のドクダミ等、ハマビシ科のハマビシ等、ブドウ科のヤブガラシ等、フトモモ科のオールスパイス、ティーツリー、ユーカリ、チョウジ等、マメ科のイヌエンジュ、エンジュ、クララ、ホンシタン、ムラサキタガヤサン等、マンサク科のフウ等、ミカン科のキハダ、ウンシュウミカン等、ムラサキ科のコンフリー等、メギ科のバーベリー、ナンテン等、モクレン科のホオノキ等、バラ科のワレモコウ、バラ等、ヤドリギ科のヤドリギ等、ユリ科のハナスゲ、バラン、カンゾウ等、リンドウ科のジンギョウ等、イネ科の孟宗竹等からの植物抽出物が挙げられる。

[0032] 本発明において使用される好ましい殺菌成分としては、ポビドンヨードなどのヨウ素系殺菌成分、グルコン酸クロルヘキシジンなどのピグアナイド系殺菌成分、塩化ベンザルコニウムなどの四級アンモニウム塩系殺菌成分、グレープフルーツ種子エキスなどの植物抽出物が挙げられる。

[0033] 使用される殺菌成分の量は、殺菌成分の種類、用途などにより変化する。好ましい量は実験により適宜決定することができるが、一般的には殺菌剤組成物の10から0.00001重量%の範囲で使用する事ができる。

[0034] 本発明の殺菌剤組成物には、上記記載の殺菌成分に加えて、その剤型に応じて適宜な任意成分を本発明の効果を妨げない範囲で配合することができ、

例えば、湿潤剤、増粘剤、安定剤、pH調整剤、防腐剤、甘味剤、香料、界面活性剤、有効成分、着色料、キレート剤、紫外線吸収剤、漂白剤、消泡剤、酵素等を含有できる。また、殺菌効果を高める助剤を配合することで、さらに殺菌効果を向上させることが期待できる。さらに、殺菌成分としてポビドンヨードを用いる場合、その低濃度での安定性を高める成分を配合（特開1993-43891号公報）することもできる。

[0035] 湿潤剤としては、上記した成分（B）に加えて、ブチレングリコール、エチレングリコール、キシリット、マルチット、ラクチット等の糖アルコール、多価アルコールを使用することができる。

[0036] 増粘剤としては、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシメチルエチルセルロース、メチルセルロースなどのセルロース系粘結剤、キサンタンガム、カラギーナン、グアガム、アルギン酸ナトリウム、カチオン化セルロース、モンモリロナイト、ゼラチン、ポリアクリル酸ナトリウム等が挙げられる。

[0037] pH調整剤としては、フタル酸、リン酸、クエン酸、コハク酸、酢酸、フマル酸、リンゴ酸及び炭酸並びにそれらのカリウム塩、ナトリウム塩及びアンモニウム塩、リボ核酸及びその塩類、水酸化ナトリウムなどが挙げられる。

[0038] 防腐剤としては、安息香酸ナトリウム等の安息香酸塩、塩酸アルキルジアミノエチルグリシン、ソルビン酸カリウム等が挙げられる。

[0039] 甘味剤としては、サッカリンナトリウム、アスパラテーム、ステビオサイド、ステビアエキス、パラメトキシシンナミックアルデヒド、ネオヘスペリジルジヒドロカルコン、ペリラルチン等が挙げられる。

[0040] 香料としては、例えば、ユーカリ油、ウィンターグリーン油、カシア油、クローブ油、タイム油、セージ油、バジル油、カルダモン油、コリアンダー油、スペアミント油、オレンジ油、レモン油、マンダリン油、ライム油、グレープフルーツ油、柚子油、スウィーティー油、ラベンダー油、ローズマリ

一油、ローレル油、カモミル油、キャラウェイ油、マジョラム油、セロリ油、ベイ油、オリガナム油、パインニードル油、ネロリ油、レモングラス油、ローズ油、ジャスミン油、パチュリ油、イリスコンクリート、ローズアブソリュート、オレンジフラワーアブソリュート、バニラアブソリュート、マンゴーアブソリュート、パチュリアブソリュート、ジンジャーオレオレジン、ペッパーオレオレジン、カプシカムオレオレジン、トウガラシ抽出物等の天然香料、及び、これら天然香料の加工処理（前溜部カット、後溜部カット、分留、液-液抽出、エッセンス化、粉末香料化等）した香料、及び、リモネン、ピネン、ブタノール、イソアミルアルコール、*n*-ヘキセノール、*cis*-3-ヘキセノール、*cis*-6-ノネノール、リナロール、 $\alpha$ -テルピネオール、ベンジルアルコール、フェニルエチルアルコール、アネトール、チモール、メチルチャビコール、オイゲノール、カルボン、メントン、プレゴン、1, 8-シネオール、ヨノン、キャロン、*n*-ヘキサナール、*trans*-2-ヘキセナール、シトラール、シンナムアルデヒド、ベンズアルデヒド、エチルアセテート、エチルブチレート、イソアミルアセテート、ヘキシルアセテート、エチル2-メチルブチレート、アリルヘキサノエート、アリルシクロヘキサプロピオネート、リナリルアセテート、メンチルアセテート、メンチルラクテート、カルビールアセテート、フェノキシエチルイソブチレート、メチルジャスモネート、サリチル酸メチル、サリチル酸エチル、メチルシンナメート、メチルアンスラニレート、フェニルエチルグリシデート、エチルラクテート、バニリン、マルトール、炭素数4~12のガンマ及びデルタラクトン、アンブレットリド、ジメチルサルファイド、トリメチルピラジン、エチル $\beta$ -メチルチオプロピオネート、フラネオール、エチルシクロペンテノロン、シクロテン、2-メチルブチリックアシッド、プロピオニックアシッド、*p*-メトキシシンナミックアルデヒド、3-1-メントキシプロパン-1, 2-ジオール、メントングリセリンアセタール、スピランツール、モノメンチルサクシネート、リナロールオキサイド、バニリルブチルエーテル、イソプレゴール等の単品香料、更に、ストロベリーフレーバー

、アップルフレーバー、メロンフレーバー、バナナフレーバー、ピーチフレーバー、ラズベリーフレーバー、パイナップルフレーバー、グレープフレーバー、トロピカルフルーツフレーバー、マンゴーフレーバー、ウメフレーバー、オレンジフレーバー、レモンフレーバー、グレープフルーツフレーバー、ティーフレーバー、バターフレーバー、ミルクフレーバー等の調合香料、及び、エチルアルコール、プロピレングリコール、トリアセチン、グリセリン脂肪酸エステル等の香料溶剤等が挙げられる。

[0041] 界面活性剤としては、ノニオン性界面活性剤、アニオン性界面活性剤、カチオン性界面活性剤、および両性界面活性剤が挙げられ、例えば、アニオン性界面活性剤として、ラウリル硫酸ナトリウム、ミリスチル硫酸ナトリウム等のアルキル硫酸ナトリウム、ラウロイルサルコシナトリウム、ミリストイルサルコシナトリウム等のアシルサルコシン塩、ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム、水素添加ココナッツ脂肪酸モノグリセリドモノ硫酸ナトリウム、ラウリルスルホ酢酸ナトリウム、N-パルミトイルグルタミン酸ナトリウム等のN-アシルグルタミン酸塩、N-メチル-N-アシルタウリンナトリウム、N-メチル-N-アシルアラニンナトリウム、 $\alpha$ -オレフィンスルホン酸ナトリウムなどが挙げられる。両性界面活性剤としては、ラウリルジメチルアミノ酢酸ベタインや、N-ヤシ油脂肪酸アシル-N-カルボキシメチル-N-ヒドロキシエリミダゾリニウムベタイン等を配合できる。

[0042] 着色料としては、青色1号、緑色3号、黄色4号、赤色105号などが挙げられる。

殺菌効果を高める助剤としては、例えば、バイオフィームへの浸透を高めるアニオン性界面活性剤やノニオン性界面活性剤、両性界面活性剤、カチオン性界面活性剤、及び糖アルコールなどが挙げられ、アニオン性界面活性剤の例として、ラウリル硫酸ナトリウム、糖アルコールの例として、エリスリトール、キシリトール、ソルビトールなどが挙げられる。

カチオン界面活性剤としては、塩化ステアリルトリメチルアンモニウム、

塩化ラウリルトリメチルアンモニウム等のアルキルトリメチルアンモニウム塩、塩化セチルピリジニウム等のアルキルピリジニウム塩、塩化ジステアリルジメチルアンモニウム等のジアルキルジメチルアンモニウム塩、塩化ポリ(N, N'-ジメチル-3, 5-メチレンピペリジニウム)、アルキル四級アンモニウム塩、アルキルジメチルベンジルアンモニウム塩、アルキルイソキノリニウム塩；ジアルキルモリホニウム塩、POE-アルキルアミン、アルキルアミン塩、ポリアミン脂肪酸誘導体；POE-アミン脂肪酸誘導体；ポリアミン脂肪酸誘導体アミルアルコール脂肪酸誘導体、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウムが挙げられる。

ノニオン性界面活性剤の例としては、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレンアルキルエーテル、ポリオキシエチレンアルキルフェニルエーテル、脂肪酸ポリグリセリンエステル、脂肪酸ショ糖エステル、脂肪酸アルカノールアミド、アルキルアミノオキサイド、アルキルアミドアミノオキサイド等を挙げることができる。

[0043] キレート剤としては、トリポリリン酸ナトリウム、メタケイ酸ナトリウム、炭酸ナトリウム、水酸化ナトリウム、水酸化カリウムなどのアルカリ性ビルダー、エチレンジアミンテトラアセテート(EDTA)、N-ヒドロキシエチル-エチレンジアミントリアセテート(HEDTA)、トリエタノールアミンが挙げられる。

[0044] 紫外線吸収剤としては、ベンゾフェノン系(2-ヒドロキシベンゾフェノン、2, 4-ジヒドロキシベンゾフェノンなど)、サリチレート系(フェニルサリチレート、2, 4-ジ-tert-ブチルフェニル-3, 5-ジ-tert-ブチル-4-ヒドロキシベンゾエートなど)、ベンゾトリアゾール系[(2'-ヒドロキシフェニル)ベンゾトリアゾール、(2'-ヒドロキシ-5'-メチルフェニル)ベンゾトリアゾールなど]、アクリル系[エチル-2-シアノ-3, 3-ジフェニルアクリレート、メチル-2-カルボメトキシ-3-(パラメトキシベンジル)アクリレートなど]などが挙げられる。

[0045] 消泡剤としては、シリコーン系(ジメチルポリシロキサンなど)、鉱物油

(スピンドル油、ケロシンなど)、炭素数12～22の金属石鹸(ステアリン酸カルシウムなど)などが挙げられる。

[0046] 酵素としては、プロテアーゼ、リパーゼ、アミラーゼ、セルラーゼ、オキシダーゼなどが挙げられる。

上記の各成分はあくまでも例示に過ぎず、本発明の効果を妨げない限り、任意の公知の薬剤を使用することができる。また各成分の配合量も任意であり、本発明の効果を妨げない範囲で使用する事ができる。

[0047] 本明細書における本発明の説明および実施例の記述は本発明の様々な例示的な実施態様の詳細な説明のためにのみあり、当業者は本発明の範囲から逸脱することなく、本明細書に開示された実施態様に様々な改良および変更を行うことができる。したがって、本明細書の記載は本発明の範囲を何ら制限するものではなく、本発明の範囲は特許請求の範囲の記載によってのみ決定される。

## 実施例

[0048] 超微細気泡を含む水の調整

気液混合せん断方式による超微細気泡発生装置である株式会社協和機設製の「BUVITAS」により、日本薬局方精製水を使用して、超微細気泡を発生させた。生成した超微細気泡の粒径をナノ粒子解析システム ナノサイトシリーズ(NanoSight社製)により測定した。なお、装置の検出上限を超えた場合は、検水を精製水で希釈し測定を行い、希釈倍率を乗じた値を測定結果として示した。測定結果を図1に示す。図の横軸はnm単位での粒子径を、縦軸は1mL当たりのナノバブル粒子数( $10^8$ 個/mL)を示す。また図2に、日本薬局方精製水についての微細気泡の測定結果を示す。

生成した超微細気泡を含む水の最頻粒子径は77nm、最頻粒子径における粒子密度は $7.44 \times 10^8$ 個/mL、総粒子密度は $4.11 \times 10^{10}$ 個/mLであった。

日本薬局方精製水については、粒子密度が非常に少なく、正規分布が見られないことから測定結果はノイズであると判断された。

以下の実施例においては、超微細気泡を含む水は上記と同様に調整され、ブランクの比較例としては、超微細気泡を含む水の代わりに、日本薬局方精製水を使用したものを用いた。

#### [0049] 実施例 1

有機物中の緑膿菌に対する殺菌効果

試験は、「AOAC Official Method 964.02 Testing Disinfectants against *Pseudomonas aeruginosa*」に準拠し実施した。

##### 1) 試験液の調整

ポビドンヨードを上記のようにして作成された、超微細気泡が酸素を含む水または精製水で希釈し、ポビドンヨードが100mg/Lになるように調整した。

##### 2) 試験菌液の調製

凍結保存した菌株 (*Pseudomonas aeruginosa* NBRC 13275) を Tryptic Soy Agar (Difco, 以下「TSA培地」) で  $36 \pm 1^\circ\text{C}$ 、18~24時間培養した。この培養菌を Tryptic Soy Broth (Difco, 以下「TSB培地」) に移植して、 $36 \pm 1^\circ\text{C}$ 、18~24時間培養した。培養後の菌液を TSB培地で約  $10^6 \text{ CFU/mL}$  に調製し、これを試験菌液とした。

##### 3) 試験菌付着キャリアの調製

100mL ビーカーに滅菌済みの生物検査用カップ (ステンレス製ペニシリンカップ 441-01, 相互理化学硝子製作所, 以下「キャリア」と記載) を入れ、キャリアが完全に浸かる量の試験菌液 (30~40mL 程度) を注ぎ、静置した。10~15分後、滅菌ろ紙を敷いたシャーレにキャリアを取出し、 $36 \pm 1^\circ\text{C}$ 、 $40 \pm 2$ 分間静置して、菌および培地由来の有機物をキャリアへ乾燥付着させた。

##### 4) 殺菌試験

あらかじめ  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  に保持した各試験液を 50mL 容量の遠心管に 10

mL ずつ分取し、ここにカギ型白金線を用いて、試験菌を付着させたキャリアを 1 個ずつ入れて、 $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  で 20 分間作用させた。作用後、不活性化剤 SCDLP 培地（栄研化学）10 mL の入った遠心管にキャリアを 1 個ずつ移し、キャリアに付着している試験液の殺菌成分を不活性化した。これを、 $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$  で、5 分間超音波洗浄機で処理して、キャリアから試験菌を洗い出し、さらにボルテックスミキサーで 1 分間攪拌したものを、菌数測定用試料液として残存菌数を測定した。また、試験液の代わりに滅菌生理食塩液を用いて同様に操作したものを対照とした。

#### 5) 残存菌数の測定

菌数測定用試料液を原液として、滅菌生理食塩液で 10 倍段階希釈列を作製し、試料液または希釈液の各 1 mL を無菌的にシャーレに移し、TSA 培地 20 mL と混合後、固化させて  $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$  で 48 時間培養した。培養後、培地上に発育した集落を数えて、キャリアあたりの残存試験菌数を求めた（定量下限値 10 CFU/キャリア）。

#### 6) 結果

結果を表 1 に示した。記載した結果は、繰返し 5 回（n 5）実施し、最小値と最大値を省いた n 3 を、試験結果の菌数の平均値（対数値）で表示した。

対照の残存菌数は 4.9 であった。また、精製水で調整したポビドンヨードは 3.9 であったのに対し、超微細気泡が酸素を含む水で調整したポビドンヨードは 1.4 となり両者の殺菌効力に明らかな差が認められた。

[0050]

[表1]

| 試験品名              | 調整水                      | 最頻<br>粒子径<br>(nm) | 最頻粒子<br>密度<br>( $10^8$ 個/ml) | 総粒子<br>密度<br>( $10^{10}$ 個/ml) | ポビドン<br>ヨード<br>濃度<br>(mg/L) | 菌数 CFU/キャリア |        |       |       | 対数値 |
|-------------------|--------------------------|-------------------|------------------------------|--------------------------------|-----------------------------|-------------|--------|-------|-------|-----|
|                   |                          |                   |                              |                                |                             | n1          | n2     | n3    | 平均    |     |
| 対照<br>(生理<br>食塩水) | -                        | -                 | -                            | -                              | -                           | 68000       | 110000 | 62000 | 80000 | 4.9 |
| ポビドン<br>ヨード       | 水                        | -                 | -                            | -                              | 100                         | 23000       | 19000  | 26000 | 8000  | 3.9 |
|                   | 超微細<br>気泡が<br>酸素を<br>含む水 | 91                | 3.1                          | 2.3                            | 100                         | 10          | 10     | 50    | 23    | 1.4 |

## [0051] 実施例 2

有機物汚れ中の黄色ブドウ球菌に対する殺菌効果

試験は、住宅用合成洗剤及び石けんの除菌活性試験（洗剤・石けん公正取引協議会が定める方法）に準拠し、黄色ブドウ球菌（*Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* NBRC 12732）に対する殺菌効力を検討した。

1) 試験液の調整

超微細気泡として窒素を気泡内に含有する水を上記のようにして作成した。

天然抗菌剤としてグレープフルーツ種子エキスを使用し、超微細気泡を含む水または精製水で希釈し、0.5%になるように調整した。

2) 試験菌液の調製

殺菌済みの三角フラスコ内に、試験温度（ $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ）になじませた1/2ニュートリエント培地約5 mLと殺菌済みガラスビーズ適量を入れ、前培養した試験菌の菌体を1白金耳添加した。試験管攪拌機で3分間攪拌した。次いで殺菌済みの試験管に約1 mLを移し、適当量の1/2ニュートリエント培地を加え、試験管攪拌機で攪拌し、生菌数を $2.5 \times 10^8$ から $12.5 \times 10^8$  cfu/mLに調製した。試験温度で1時間静置した後、モデル汚染物質（牛血清アルブミン水溶液、30 g/L）1.0 mLを加え、混合し、

2 分間静置したものを試験菌液として使用した。

### 3) 試験菌付着キャリアの調製と殺菌試験

住宅用合成洗剤及び石けんの除菌活性試験の記載の通りに調製されたステンレス鋼製円板上に、再度攪拌した試験菌液を 0.01 mL 量り取り、試験片表面に均一に塗布した。シャーレの蓋をして試験菌液が外見上乾くまで  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  で静置した。その後、試験液 0.1 mL を量り取り、表面に均一に塗布した。シャーレの蓋をして  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  で 1 分間静置した。その後指示通りに不活性化を行い、生菌数を測定した。

### 4) 結果

結果を表 2 に示した。記載した結果は、繰返し 5 回 (n 5) 実施し、最小値と最大値を省いた n 3 を、試験結果の菌数の平均値 (対数値) で表示した。

水で調整した天然抗菌剤は 4.4 であったのに対し、超微細気泡を含む水で調整した天然抗菌剤は 2.5 となり両者の殺菌効力に明らかな差が認められた。

[0052] [表2]

| 試験品名                  | 調整水                      | 最頻<br>粒子径<br>(nm) | 最頻粒子径<br>密度<br>( $10^8$ 個/ml) | 総粒子<br>密度<br>( $10^{10}$ 個/ml) | 天然系<br>抗菌剤<br>濃度<br>(%) | 菌数 CFU/キャリア |       |       |       | 対数値 |
|-----------------------|--------------------------|-------------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------|-------------|-------|-------|-------|-----|
|                       |                          |                   |                               |                                |                         | n1          | n2    | n3    | 平均    |     |
| グレープ<br>フルーツ<br>種子エキス | 水                        | —                 | —                             | —                              | 0.5                     | 1900        | 39000 | 35000 | 25000 | 4.4 |
|                       | 超微細<br>気泡が<br>窒素を<br>含む水 | 103               | 5.0                           | 4.1                            | 0.5                     | 640         | 55    | 170   | 290   | 2.5 |

### [0053] 実施例 3

う蝕原菌形成バイオフィルムに対する殺菌効果

#### 1) 試験液の調整

上記のようにして作成した超微細気泡が酸素を含む水または精製水でポビドンヨードを希釈し、ポビドンヨードが 1.0 mg/mL、および 10 mg

／mLになるように調整した。

## 2) 試験菌液の調製

*Streptococcus mutans* (ATCC 25175) を *Tryptic soy Broth* 0.5% *Yeast extract* 含有培地（以下「TSBY培地」）で、37℃でOD660が0.6～0.8（ $10^8$ 個／mL）になるまで前培養し試験菌液とした。

## 3) バイオフィルムの形成

試験管に試験菌液50μLをTSBY培地（+1%スクロース）4950μLに植菌し、37℃で18時間培養することでバイオフィルムを形成させた。

## 4) 殺菌試験

バイオフィルムを形成させた試験管からアスピレーターで培養液を除去し、PBS5mLを添加することでバイオフィルムを洗浄した。PBSを除去後、試験液5mLを処理し、振蕩機で揺らしながら反応させた（37℃、20分）。20分後、試験管に0.4%w／vチオ硫酸Na溶液5mLを加え殺菌剤を不活化した。超音波発振機を用いて試験管壁面に形成されたバイオフィルムを剥離し、ボルテックスにてバイオフィルムを分散させ菌数測定用試料液とし、バイオフィルム中の残存菌数を測定した。

## 5) バイオフィルム中残存菌数の測定

菌数測定用試料液を緩衝液で希釈し、MS寒天培地で培養（37℃、36～48時間）後、コロニー数を計数し、バイオフィルム中の残存菌数を測定した。

## 6) 結果

結果を表3に示した。記載した結果は、繰返し5回（n5）実施した。

精製水で調整した1.0mg／mLおよび10mg／mLポビドンヨードはバイオフィルム中の菌数が616.6cfuおよび9.2cfuであったのに対し、超微細気泡を含む水で調整したポビドンヨードは149.2cfu

uおよびO c f uとなり両者の殺菌効力に差が認められた。

[0054] [表3]

| 試験品名        | 調整水                      | 最頻<br>粒子径<br>(nm) | 最頻粒子径<br>密度<br>( $10^7$ 個/ml) | 総粒子<br>密度<br>( $10^9$ 個/ml) | ポビドン<br>ヨード<br>濃度<br>(mg/mL) | 菌数 CFU |     |      |     |     |       |
|-------------|--------------------------|-------------------|-------------------------------|-----------------------------|------------------------------|--------|-----|------|-----|-----|-------|
|             |                          |                   |                               |                             |                              | n1     | n2  | n3   | n4  | n5  | 平均    |
| ポビドン<br>ヨード | 水                        | -                 | -                             | -                           | 1                            | 612    | 439 | 1050 | 386 | 596 | 616.6 |
|             | 超微細<br>気泡が<br>酸素を<br>含む水 | 100               | 2.0                           | 1.6                         |                              | 250    | 35  | 178  | 150 | 133 | 149.2 |
|             | 水                        | -                 | -                             | -                           | 10                           | 9      | 22  | 13   | 0   | 2   | 9.2   |
|             | 超微細<br>気泡が<br>酸素を<br>含む水 | 100               | 2.0                           | 1.6                         |                              | 0      | 0   | 0    | 0   | 0   | 0     |

[0055] 実施例 4

実施例 1 と同じ方法により、実験を行った。

ただし、ポビドンヨードを上記のようにして作成された超微細気泡が酸素を含む水または精製水で希釈し、ポビドンヨードが  $100 \text{ mg/L}$  になるように調整した。また、超微細気泡を含む水の最頻粒子密度を、それぞれ  $1 \text{ mL}$  あたり  $10^4$ 、 $10^5$ 、 $10^6$ 、 $10^8$  のオーダーになるように調整した。

[0056]

[表4]

| 試験品名              | 調整水                      | 最頻<br>粒子径<br>(nm) | 最頻粒子径<br>密度<br>(個/ml) | 総粒子<br>密度<br>(個/ml)  | ポビドン<br>ヨード<br>濃度<br>(mg/L) | 菌数 CFU/キャリア |       |       |        | 対<br>数<br>値 | 殺<br>菌<br>効<br>果<br>判<br>定 |
|-------------------|--------------------------|-------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------------|-------------|-------|-------|--------|-------------|----------------------------|
|                   |                          |                   |                       |                      |                             | n1          | n2    | n3    | 平均     |             |                            |
| 対照<br>(生理<br>食塩水) | -                        | -                 | -                     | -                    | -                           | 170000      | 80000 | 87000 | 110000 | 5.0         | -                          |
| ポビドン<br>ヨード       | 水                        | -                 | -                     | -                    | 100                         | 46000       | 47000 | 39000 | 44000  | 4.6         | ×                          |
|                   | 超微細<br>気泡が<br>酸素を<br>含む水 | 81                | $7.2 \times 10^4$     | $4.2 \times 10^6$    |                             | 5900        | 2200  | 7700  | 5300   | 3.7         | △                          |
|                   | 超微細<br>気泡が<br>酸素を<br>含む水 | 81                | $7.2 \times 10^5$     | $4.2 \times 10^7$    |                             | 4200        | <10   | <10   | <10    | 3.1         | ○                          |
|                   | 超微細<br>気泡が<br>酸素を<br>含む水 | 81                | $7.2 \times 10^6$     | $4.2 \times 10^8$    |                             | <10         | <10   | <10   | <10    | 1.0         | ○                          |
|                   | 超微細<br>気泡が<br>酸素を<br>含む水 | 81                | $7.2 \times 10^8$     | $4.2 \times 10^{10}$ |                             | <10         | <10   | <10   | <10    | 1.0         | ○                          |

## [0057] 実施例 5

実施例 1 と同じ方法により、実験を行った。

ただし、ポビドンヨードを上記のようにして作成された超微細気泡が大気または  $C_3F_8$  を含む水、または精製水で希釈し、ポビドンヨードが 100 mg/L になるように調整した。

結果を表 5 に示す。

## [0058]

[表5]

| 試験品名              | 調整水                        | 最頻<br>粒子径<br>(nm) | 最頻粒子<br>密度<br>( $10^8$ 個/ml) | 総粒子密度<br>( $10^{10}$ 個/ml) | ポピドン<br>ヨード<br>濃度<br>(mg/L) | 菌数 CFU/キャリア |       |       |       | 対数値 |
|-------------------|----------------------------|-------------------|------------------------------|----------------------------|-----------------------------|-------------|-------|-------|-------|-----|
|                   |                            |                   |                              |                            |                             | n1          | n2    | n3    | 平均    |     |
| 対照<br>(生理<br>食塩水) | -                          | -                 | -                            | -                          | -                           | 22000       | 34000 | 41999 | 32000 | 4.5 |
| ポピドン<br>ヨード       | 水                          | -                 | -                            | -                          | 100                         | 3200        | 1800  | 8600  | 4500  | 3.7 |
|                   | 超微細<br>気泡が<br>大気を<br>含む水   | 75                | 5.7                          | 4.6                        |                             | 10          | 75    | <10   | 32    | 1.5 |
|                   | 超微細<br>気泡が<br>C3F8を<br>含む水 | 76                | 2.7                          | 1.3                        |                             | <10         | <10   | <10   | <10   | 1.0 |

# 請求の範囲

- [請求項1] 最頻粒子径が500nm以下である超微細気泡を含む水と殺菌成分を含む殺菌剤組成物。
- [請求項2] 超微細気泡の最頻粒子密度が1万以上である、請求項1に記載の殺菌剤組成物。
- [請求項3] 粒子径1000nm以下の超微細気泡密度が100万以上である、請求項1または請求項2に記載の殺菌剤組成物。
- [請求項4] 前記超微細気泡が空気、酸素、水素、窒素、炭酸ガス、アルコール、ネオン、キセノン、フッ素化気体、オゾンおよび不活性化ガスから選択される1種または2種以上の気体である、請求項1から3のいずれか1項記載の殺菌剤組成物。
- [請求項5] 前記の殺菌成分が、塩素系殺菌成分、ヨウ素系殺菌成分、過酸化物質系殺菌成分、アルデヒド系殺菌成分、フェノール系殺菌成分、ピグメント系殺菌成分、水銀系殺菌成分、アルコール系殺菌成分、四級アンモニウム塩系殺菌成分、両性界面活性剤系殺菌成分、天然由来抗菌剤である、請求項1から4のいずれか1項記載の殺菌剤組成物。
- [請求項6] 最頻粒子径が500nm以下である超微細気泡を含む水と殺菌成分を混合することを含む、殺菌剤組成物の製造方法。
- [請求項7] 殺菌成分を含む水中に、最頻粒子径が500nm以下である超微細気泡を発生させることを含む、殺菌剤組成物の製造方法。
- [請求項8] 請求項1から5のいずれか1項記載の殺菌剤組成物を用いることを特徴とする殺菌方法。
- [請求項9] 請求項1から5のいずれか1項記載の殺菌剤組成物を、バイオフィルムと接触させることを含む殺菌方法。