

# 日本医療・環境 オゾン学会会報

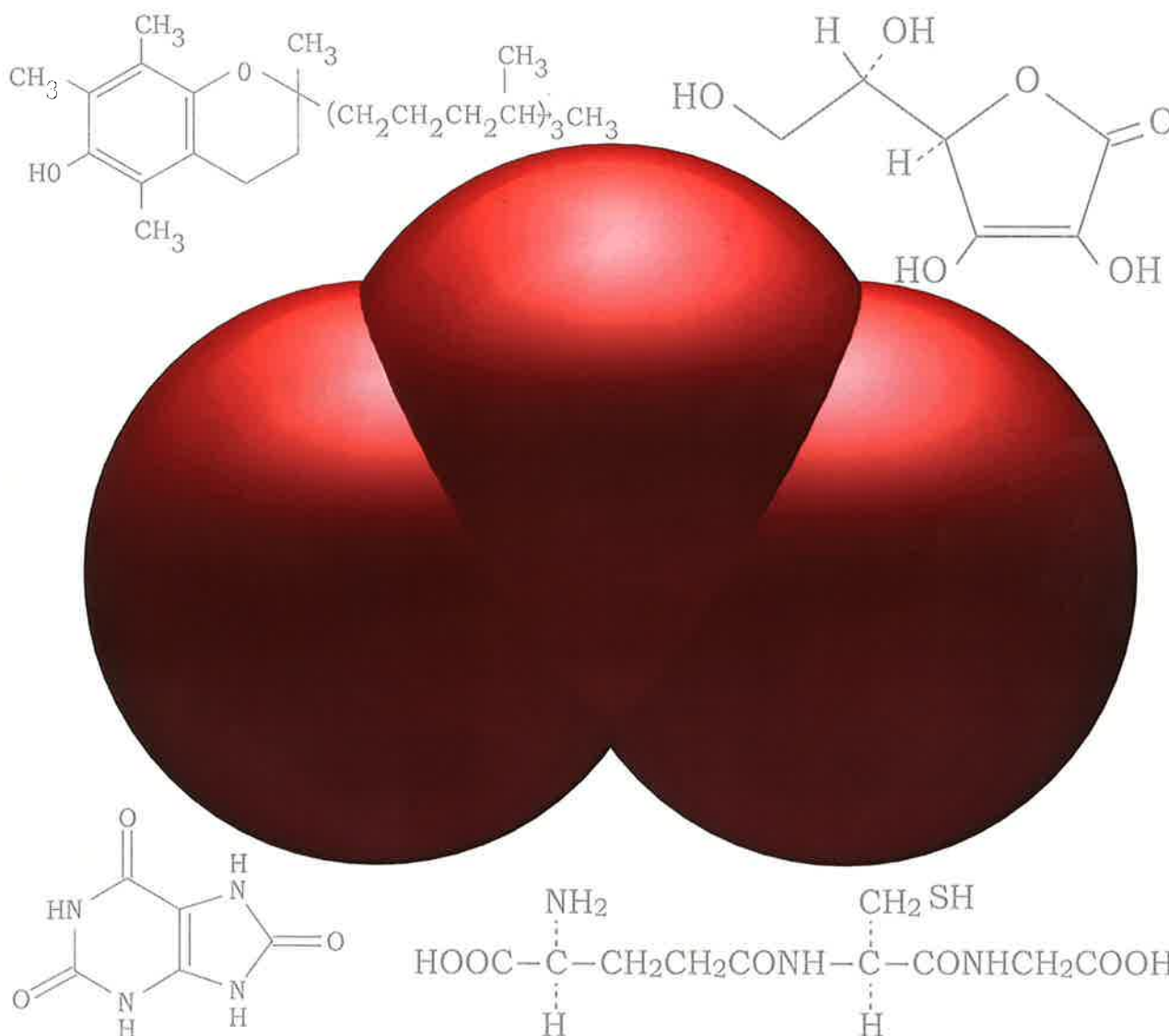
BULLETIN OF JAPAN SOCIETY FOR THE MEDICAL & HYGIENIC USE OF OZONE

- ・総説 我が国における統合医療の展望
- ・研究報告 水中溶存オゾンの半減期の制御方法に関する研究
- ・短報 小型低濃度オゾン発生器による浮遊ウイルスの除去効果
- ・解説 オゾン脱臭について—概論その2—

Vol.22, No.3

Aug. 2015

ISSN 2186-3784



日本医療・環境オゾン学会

## 短報 小型低濃度オゾン発生器による浮遊ウイルスの除去効果

摂南大学名誉教授 中室 克彦、北里環境科学センター 岡上 晃、株式会社シーファイブ 津田 浩司

**要旨** 居住空間に低濃度オゾン発生器を設置した時の浮遊ウイルスの除去効果を把握するため、小型低濃度オゾン発生器を6畳間の空間に相当する25 m<sup>3</sup> 試験チャンバー内に設置し、浮遊ウイルスの除去性能をウイルス数の経時変化を測定することによって評価した。その結果、チャンバー内10<sup>6</sup> PFU/50 Lの浮遊ウイルス数が、運転開始180分後に10<sup>3</sup> PFU/50 L(除去率99.2%)に減少した。このことから、オゾンガス1.00 mgO<sub>3</sub>/hを生成する小型低濃度オゾン発生器の使用は、6畳間に相当する室内で浮遊ウイルスを除去する効果のあることが認められた。

**キーワード**： 小型低濃度オゾン発生器、浮遊ウイルス、大腸菌ファージ、除去性能

### 1. 目的

近年我国においては、春季にスギ・ヒノキの花粉による花粉症、夏季には、アデノウイルスや食中毒菌による感染症、冬季にはノロウイルスやインフルエンザウイルスなどによる細菌やウイルスによる感染症が流行している。そのため、これらの感染症に対する対策の一つとして室内居住空間においては空気中に浮遊する塵埃や花粉、ハウスダスト、臭気などを除去する目的で空気清浄器などを設置する傾向が増加している。しかし、これら空気清浄器による細菌やウイルスなどに対する除去効果に関する研究についてはほとんど報告されていない<sup>1)~4)</sup>。

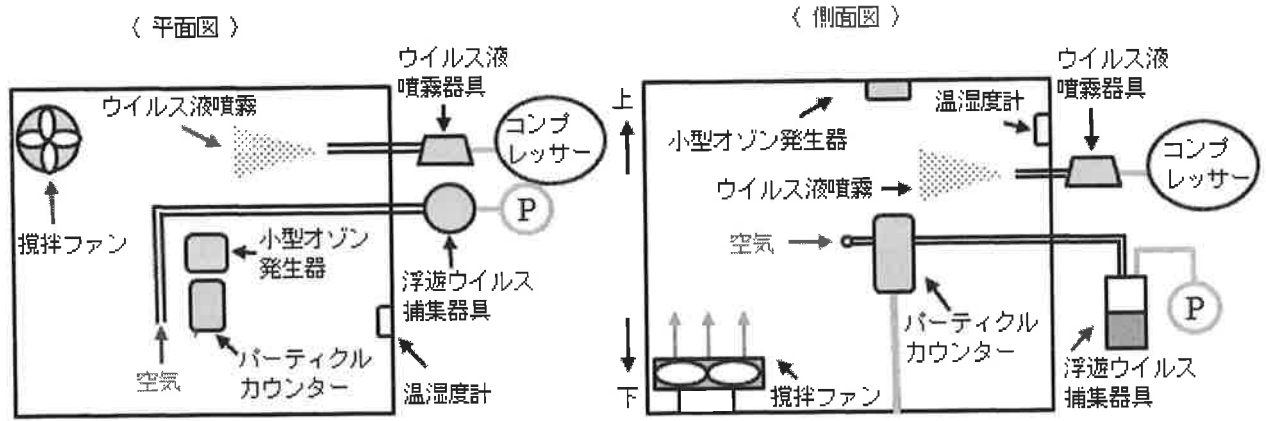
室内環境における空気清浄に関しては、室内浮遊細菌の低減化<sup>5)</sup> および介護施設や入院病棟などにおける脱臭<sup>6),7)</sup>を目的としたオゾン空気清浄器が多く用いられている。オゾンはその酸化力が殺菌およびウイルスの不活性化に有効であることが知られている。しかし、これらオゾン空気清浄器による細菌やウイルスなどの詳細な除去効果についての研究は認められない。そのため、居住空間に低濃度オゾン発生器を設置した時の浮遊ウイルスの除去効果を把握するため小型低濃度オゾン発生器を6畳間の空間に相当する25 m<sup>3</sup> 試験チャンバー内に設置・運転して浮遊ウイルスの除去性能をウイルス数の経時変化を測定することによって評価した。

### 2. 実験方法

#### 1) 試験操作

25 m<sup>3</sup> 試験チャンバー(縦3.3m×横3.5m×高さ2.2m:材質、ステンレス(SUS304)側面に3か所の塩ビ製のぞき窓(2,400~5,400cm<sup>2</sup>)を有する)内に小型低濃度オゾン発生器((株)シーファイブ製、「エアブリレ」APR-10型:初期モード2.52 mgO<sub>3</sub>/hで10分、その後通常モード1.00 mgO<sub>3</sub>/hで運転、風量:0.0273 m<sup>3</sup>/min)と攪拌ファン(BS-B-25 (Yamazen製))およびレーザー式パーティクルカウンターMODEL3886(日本カノマックス(株)製)、温湿度計TR-72 Ui (T&D製)を図1に示す様にそれぞれ設置した。これらを設置後、実験開始前にあらかじめチャンバーを設置した室内空気を天井に設置したヘパフィルターを通じて清浄空気で置換した。チャンバーの一側面には、図1に示す様にウイルス液噴霧口と浮遊ウイルス捕集口を設け、それぞれウイルス液噴霧器具と浮遊ウイルス捕集器具を接続した。ウイルス液噴霧器具としてウイルス液を入れた約20 mLガラス製ネブライザーを使用した。20 mL捕集液を入れた60 mLガラス製ミゼットインピンシャーを浮遊ウイルス捕集器具として使用した。これらの連結にはシリコンチューブ(内径8 mm、外径10 mm)を用いた。

試験操作は、チャンバー内の攪拌ファンを作動させながらウイルス液を15分間噴霧し、その後さらに2分間攪拌ファンを作動させチャンバー内空気を均質化させた。2分攪拌後にチャンバー内空気から実験開始(0分)の浮遊ウイルスを捕集した。その後、評価対象としたオゾン発生器を運転し、30、60、90、120、180、240、300、360、420、480分オゾンガスを曝露後に浮遊ウイルスを捕集した。なお、試験対照としての自然減衰についても、前述と同様の方法で実施した。

図 1 25m<sup>3</sup> 試験チャンバー内実験装置の概要

## 2) ウイルス液の調製

宿主菌である *Escherichia coli* NBRC 106373 を Nutrient Broth を用いて  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  で一晩培養し宿主菌液を作製した。この  $10^8 \sim 10^9$  PFU/mL 宿主菌液 5 mL に、大腸ファージ  $10^5 \sim 10^6$  PFU/mL *Escherichia coli* phage MS2 NBRC 102619 (ウイルスのサイズ: 約  $0.03 \mu\text{m}$ ) を 5 mL 接種し、半流動寒天 (Nutrient Broth + 0.5% 塩化ナトリウム + 0.5% Agar) と混合して角型シャーレの 80 mL 普通寒天培地に重層した。これを  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  で 18 時間培養後、宿主菌を遠心除去し、孔径  $0.22 \mu\text{m}$  のメンブランフィルターでろ過して約  $10^{11}$  PFU/mL の試験ウイルス液を調製した。さらに、これを 1/10 濃度の Nutrient Broth で 100 倍に希釈し試験用ウイルス液とした。

試験チャンバー内に噴霧した試験ウイルス液のウイルス数 (PFU/mL) は、自然減衰 (対照) 試験時において  $1.2 \times 10^9$  PFU/mL、また、オゾン曝露時において  $2.9 \times 10^9$  PFU/mL であった。

## 3) ウイルス液の噴霧

ウイルス液を入れたガラス製ネブライザーにコンプレッサーから圧縮空気を送入し、ウイルス液 3 mL をチャンバー内へ毎分約 0.2 mL の液を噴霧サイズ  $0.3 \sim 0.5 \mu\text{m}$  で 15 分間噴霧して 25 m<sup>3</sup> 試験チャンバー内に浮遊させた。なお、コンプレッサーからの吐出空気圧を  $1.5 \text{ kg/cm}^2$ 、吐出空気量を 7.25 L/分の条件でウイルス液を噴霧した。

## 4) 浮遊ウイルスの捕集

浮遊ウイルスの捕集は、捕集液として 0.015% チオ硫酸ナトリウム添加リン酸緩衝生理食塩液 20 mL を入れたミゼットインピンジャー 60 mL を用いた。1 回の捕集につき、試験チャンバー内の空気を毎分 10 L で 5 分間合計 50 L の空気を吸引して行った。チャンバー内は空気を均質化するために、攪拌ファンを運転させた。浮遊ウイルスの捕集については 1) 試験操作と同様に操作し、実験開始 30 分ごとに 5 分間浮遊ウイルスの捕集操作を行った。

## 5) 浮遊ウイルス数の測定

浮遊ウイルス捕集後のガラス製ミゼットインピンジャー内の捕集液を試験原液とし、リン酸緩衝生理食塩液で 10 倍段階希釈列を作製した。その試験原液および希釈液と宿主菌を 2) と同様に操作し半流動寒天に混合して普通寒天培地に重層し、 $36 \pm 1^\circ\text{C}$  で 18 時間培養した。培養後、増殖したプラークを数え、空気 50 L あたりの浮遊ウイルス数を求めた。

## 6) オゾン濃度の測定

所定時間小型低濃度オゾンガス発生器を運転開始後にオゾン検知管 (ガステック社製、オゾン No.18 L) を装着した 100 mL 気体採取器 (ガステック社製) を用い試験チャンバー内の図 1 に示す温湿度計近くの下から 50 cm 付近の塩ビ製のぞき窓の測定用の穴から空気 100 mL を 10 回吸引し比発色法によってチャンバ

一内のオゾン濃度を測定した。本測定においてオゾンガス濃度の定量下限値は 0.025ppm であった。

### 7) 浮遊ウイルスの除去性能評価方法

小型低濃度オゾン発生器は、日本電機工業会規格 JEM 1467<sup>8)</sup> に準じて試験を行った。ただし、本規格には「家庭用電気清浄機」を電気式あるいは機械式の脱臭あるいは集塵機と定義しているため、対象とした小型低濃度オゾン発生器は本規格に該当しない。しかし、本規格を用いて 90 分間で対数減少値 2.0 log 以上の減少によってウイルス除去性能があるものと評価した。すなわち、以下の方法で評価を実施した。

初期 (0 分) のウイルス数から経過時間ごとのウイルス数を差し引き、対数減少値\*1 を計算し、さらに、対照を差し引いた正味の対数減少値\*2 を求め、浮遊ウイルスの除去性能を以下の計算式によって求めた。

$$*1 ; \text{対数減少値} = \text{Log}_{10} (\text{初期ウイルス数} - \text{経過時間ごとのウイルス数})$$

$$*2 ; \text{正味の対数減少値} = \text{試験品運転時の対数減少値} - \text{対照の対数減少値}$$

本試験方法によって得られる正味の対数減少値が 2.0 以上のとき浮遊ウイルスに対する除去効果があるものと判断した。

## 3. 結果

### 1) チャンバー実験におけるオゾン濃度、温度、湿度および浮遊粒子の変化

小型低濃度オゾン発生器を 25 m<sup>3</sup> 試験チャンバー内に設置し、攪拌ファンを送風し浮遊ウイルス噴霧後、チャンバー内のオゾンガス濃度を運転開始から 0 ~ 480 分間に 30 分ごとに測定した。その結果、実験開始 0 ~ 180 分までは 0.025 ppm 以下を示し、240 ~ 480 分までは 0.025 ppm のオゾンガス濃度を示した。

オゾン曝露時のチャンバー設置室内の温度および湿度の変化を検討した結果、運転開始 0 ~ 480 分の間、チャンバーを設置した部屋の温度は 20.2 ~ 23.8 °C、湿度は 50 ~ 60 % に調節されていることを確認した。また、オゾン曝露のない時においても、ほぼ同様の値を示した。

また、オゾン曝露時のチャンバー内の浮遊ウイルスを含む浮遊粒子をレーザー式パーティクルカウンターによって、運転開始から 480 分間の経時変化を検討した。オゾン曝露時の運転開始時において 5 μm 以下、3~5 μm、1~3 μm、0.5~1 μm、0.3~0.5 μm の粒子径のものがいずれもおおよそ 1、2~5、200、7,000、150,000 個/2.83L 空気検出されたのに対し、オゾン曝露 480 分後に 5 μm 以下、3~5 μm 粒子はほとんど変化がなかった。しかし、1~3 μm、0.5~1 μm、0.3~0.5 μm の粒子径のものはそれぞれ 100、3,000、100,000 個/2.83L 空気に減少することを示した。また、オゾン曝露のない時の経時変化においても、ほぼ同様の挙動を示した。

### 2) オゾン曝露時の浮遊ウイルス数の変化

オゾン曝露時のチャンバー実験における浮遊ウイルスの減少挙動を図 2 に示す。オゾン曝露のない自然減衰 (対照) において試験開始時のウイルス数が 10<sup>5.4</sup> PFU / 50 L であったものが、ほぼ一定の割合で減少し 480 分後に 10<sup>4</sup> PFU / 50 L 付近に減少した。これに対し、オゾン曝露時のウイルス数の挙動は、試験開始 0 分において 10<sup>6</sup> PFU / 50 L のウイルス数が 180 分後に対数減少値が 2 桁以上の 10<sup>3</sup> PFU / 50 L になり、

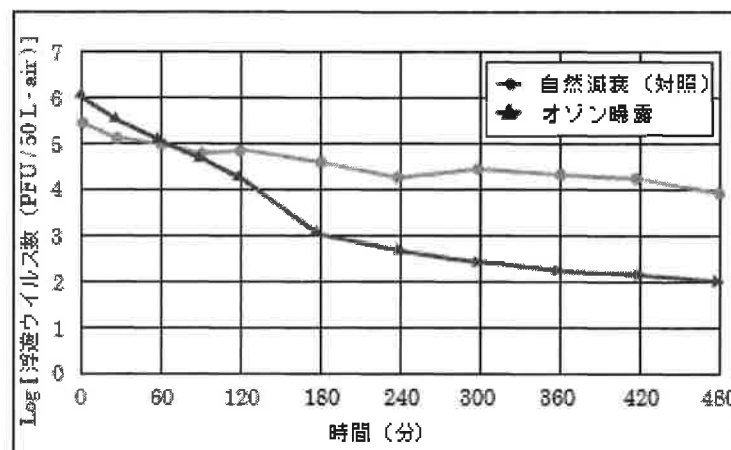


図 2 オゾン曝露による浮遊ウイルス数の経時変化

さらに 480 分後に  $10^2$  PFU / 50 L に減少することを示した。本試験条件において、オゾン曝露時は、自然減衰 (対照) に比べ浮遊ウイルス数を減少させる効果が認められた。正味の対数減少値 2.0 以上になったのは 180 分後であった。

### 3) オゾン曝露時の浮遊ウイルス数除去率の変化

図 3 に示す様に、オゾン非曝露時の浮遊ウイルス除去率は 0 % に対してオゾン曝露時の除去率は、180 分までは除去率が急激に減少し、99.2 % の除去率を示した。その後 480 分後には、除去率はほとんど増加せず、99.3 ~ 99.4 % の除去率を示すにとどまった。

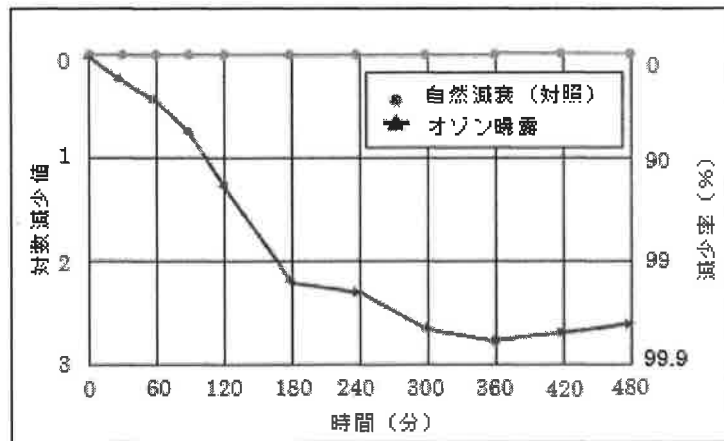


図 3 オゾン曝露による浮遊ウイルス数の経時的減少率

## 4. 考察

室内空気中浮遊微生物としては、細菌 (バクテリア)、真菌 (カビ)、植物孢子、ウイルスなどが考えられる。浮遊微生物のうち室内空気の問題になる感染症はレジオネラ症ぐらいである<sup>9)</sup>。居住空間における新たな問題としてダニ、カビやハウスダストが主要な発症原因物質と考えられるアレルギーが注目されている<sup>10)</sup>。

室内の換気の不備や結露によってもカビは増殖するため<sup>2)</sup>、ダニやカビなどを含むハウスダスト対策は、生活居住者が日常生活の中で継続的に対処しなければ解決できない問題である。アレルゲンを回避することは、アレルギー対策の有効な手段のひとつであるため<sup>3), 4), 11)</sup>、いくつか検討されているが、室内に浮遊する細菌、真菌、ウイルスに対するオゾンによる不活化効果に関する研究はほとんど認められない。

室内の居住空間においてこれらの微生物の増殖を抑え、さらに、積極的に除去することが重要である。MRSA (メチチリン耐性黄色ブドウ球菌、緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)、大腸菌 (*Escherichia coli*) をガーゼ含浸させたものを 1、5、10ppm オゾンガス処理による生残率に及ぼす影響に関する検討結果において、いずれの菌も CT 値が 50 では死滅率 99.9~99.9999%、CT 値が 150 では死滅率 99.99~99.9999% であり、さらに CT 値を増加させるとコロニー数がゼロになることを報告している<sup>12)</sup>。

オゾンは酸化力が強いいため、強い殺菌およびウイルス不活化効果を有することが知られているが、オゾンガスの曝露濃度は数 10 ppm~200 ppm とかなり高濃度を用いた時の殺菌あるいはウイルスに対する不活化効果が報告されている<sup>13)</sup>。労働環境の許容濃度である 0.1 ppm 以下の低濃度オゾンガスによる殺菌あるいは不活化効果に関する検討はほとんど認められない。

今回の室内で使用される小型低濃度オゾン発生器の浮遊ウイルス除去性能に関する 25 m<sup>3</sup> チャンバー実験 (6 畳の間相当) において、実験中のオゾン濃度が 0.025 ppm 以下であることが確認できた。この濃度が我が国における労働環境における許容濃度である 0.1 ppm<sup>14)</sup> よりはるかに低いことから、本実験条件は、健康者に対して健康上の悪影響が認められない濃度であることが考えられた。しかし、このような 0.1 ppm 以下の低濃度オゾンガスでも、十分な曝露時間によって殺菌効果が得られることが期待できることを示唆する報告がある<sup>12)</sup>。

本試験方法において試験対象とした小型低濃度オゾン発生器による浮遊ウイルスに対する曝露によって

正味の対数減少値（減少率）は 90 分で 0.75（82%）であり、浮遊ウイルスの抑制効果は認められなかったものの、180 分では 2.18（99.33%）であった。本試験条件において、オゾン曝露時は、自然減衰（対照）に比べ浮遊ウイルス数を減少させる効果が認められた。ウイルス除去性能が有効であると評価できる正味の対数減少値が 2.0 以上を示したのはオゾン曝露 180 分後であった。今回検討した小型低濃度オゾン発生器の浮遊ウイルス除去性能評価において、0.025 ppm の低濃度オゾンによる 180 分曝露によって浮遊ウイルスに対する除去効果のあることが示唆された。

## 5. 結論

居住空間に低濃度オゾン発生器を設置した時の浮遊ウイルスの除去効果を把握するため、小型低濃度オゾン発生器を 25 m<sup>3</sup> 試験チャンバー内に設置して浮遊ウイルスの除去性能を評価した結果、以下の結論が得られた。

本実験におけるオゾン曝露レベルは 0.025 ppm 以下であるため、健常者に対して健康上の悪影響が認められない濃度であった。この濃度のオゾン曝露時のウイルス除去性能は、試験開始 0 分におけるウイルス数 10<sup>6</sup> PFU / 50 L が 480 分後に 10<sup>2</sup> PFU / 50 L に減少することを示した。この時の対数減少値は、曝露 180 分後に 2.0 以上になったことから浮遊ウイルスの除去効果のあることが評価できた。これら結果から、0.025 ppm 低濃度オゾン曝露によって浮遊ウイルスの除去効果のあることが認められた。

## 6. 引用文献

- 1) 福富友馬、安枝浩、中澤卓也、谷口正実、秋山一男（2009）室内環境中のダニ・昆虫とアレルギー疾患、室内環境、**12**, 87-96.
- 2) 濱田信夫（2007）冬のサッシの結露とカビ汚染、防菌防黴、**35**, 23-29.
- 3) 安枝浩（2005）室内環境アレルゲンとアレルギー疾患の発症、感染症免疫、**35**, 12-21.
- 4) 榎本雅夫、永井智（2007）小児アレルギー性鼻炎の抗原除去・回避とその実際、MB ENT82, 19-25.
- 5) 日本医療・環境オゾン研究会（1994）環境分野におけるオゾン利用の実際、医療・環境オゾン研究、増刊 3 号、p79~97.
- 6) 社団法人 日本空気清浄協会（2003）オゾン利用空気浄化システム検討専門委員会報告書、p64-69.
- 7) 松尾清美、杉光英俊、上村元子、淵上義文（1999）低濃度オゾンを利用した介護療養環境用多目的脱臭装置の開発、日本医療・環境オゾン学会会報、6（4）（通巻 21）1-6.
- 8) 日本電気工業会規格 JEM1467「家庭用電気清浄機」付属書 D「浮遊ウイルスに対する除去性能評価試験」（2013）.
- 9) 池田耕一（1998）室内空気汚染の原因と対策、日刊工業新聞社、p141-149.
- 10) 筏義人、吉田修編集（2011）住居医学（V）第九章 住居内アレルゲンの検出と失活化、産業図書株式会社、p47-67、p149-171.
- 11) 村上能庸、筏義人（2010）オゾンを活用したダニアレルゲン失活化に関する研究、臨床環境、**19**, 89-94.
- 12) 日本オゾン協会 オゾンハンドブック編集委員会（2004）オゾンハンドブック、p91-92.
- 13) 日本医療・環境オゾン研究会（2005）居住空間における安全利用基準制定委員会（OSGA）、p96-105.
- 14) 多田治（1967）有害物管理のための測定法（無機編）、労働科学研究所、p102-109.