

〈原 著〉

次亜塩素酸水およびエタノールと比較検討した貝殻焼成酸化カルシウム水の多目的な環境表面用洗浄・除菌剤としての有効性

石原 雅之¹⁾・比留間寿美代¹⁾・秦 裕樹¹⁾
中村 伸吾¹⁾・金山 敦宏²⁾・加來 浩器²⁾

Effectivity of Scallop Shell-Derived Calcium Oxide Water in Comparison with Hypochlorous Acid and Ethanol as General-Purpose Disinfectants for Environmental Surfaces

Masayuki ISHIHARA¹⁾, Sumiyo HIRUMA¹⁾, Yuuki HATA¹⁾,
Shingo NAKAMURA¹⁾, Atsuhiko KANAYAMA²⁾ and Koki KAKU²⁾

¹⁾Division of Biomedical Engineering, National Defense Medical College Research Institute, ²⁾Division of Infectious Diseases Epidemiology and Control, National Defense Medical College Research Institute

(2021年4月9日受付・2021年7月14日受理)

要 旨

貝殻焼成酸化カルシウム水 (BiSCaO Water) は、ホタテ貝殻由来酸化カルシウムを基にした高濃度カルシウムイオン溶液であり、pH ≥ 12.7 の無色透明な液体である。BiSCaO Water は広範囲の殺微生物・ウイルス不活化効果を有しており、さらに生体や環境に優しい物質であることが知られている。本研究は、環境表面のための洗浄・除菌剤としての BiSCaO Water の有効性を、エタノールや次亜塩素酸水 (200 ppm, pH 6.2) と比較して評価することを目的とした。アデノシン三リン酸 (ATP) ふき取り検査ならびに簡易菌数測定の結果、BiSCaO Water はエタノールや次亜塩素酸水と同様に、木板や布、金属、硝子板、ゴム、牛皮製品といった様々な環境表面に対して洗浄・除菌作用を示すことが明らかとなった。高濃度エタノールや次亜塩素酸水は環境負荷が大きく生体組織に有害作用を引き起こすことを考慮すると、BiSCaO Water は安全性に優れた洗浄・除菌剤として期待される。

Key words : 除菌, 洗浄, 環境表面, 貝殻焼成酸化カルシウム水

序 文

COVID-19 対応の洗浄・除菌剤として広く使用されているエタノールは引火性の問題があり、さらに直接肌に触れると肌荒れなどを引き起こす。また、次亜塩素酸ナトリウム (pH > 10) および微弱酸性次亜塩素酸水 (pH ≈ 6) は、ともに強い殺菌活性を有するが、次亜塩素酸ナトリウム (pH > 10) は 200 ppm 以下の低濃度では殺菌活性は弱く、洗浄・除菌剤としての適用には高濃度液が必要となる¹⁻³⁾。しかしながら高濃度では有害物質の産生の危惧があり、酸化力による障害性、脱色性、金属腐食性も強い³⁾。200 ppm の微弱酸性次亜塩素酸水 (pH

≈ 6) は安全で強い殺菌活性を示すが、有機物の共存下で不安定であり、室温下、紫外線を含んだ太陽光で容易に分解・失活する。それゆえ、有害な障害や環境破壊がなく病原性微生物・ウイルスを有効に減らすことができる環境表面用洗浄・除菌剤の開発が、環境衛生と公衆衛生のために依然として求められている。

ホタテ貝殻焼成酸化カルシウム (Bio-Shell Calcium Oxide (BiSCaO)) はホタテ貝殻を高温焼成することで得られる高純度 (99.5% 以上) 酸化カルシウム (CaO) であり、その含有液は洗浄・除菌剤となる^{1,2,4-6)}。一般に、ホタテ貝殻焼成生成物は食品添加物等としていくつかの製品が市販されているが、CaO の水和物である水酸化カルシウムが主成分の製品が多く、それらと比較して高純度 CaO である BiSCaO はより高い除菌および消

¹⁾防衛医科大学校防衛医学研究センター医療工学研究部門, ²⁾防衛医科大学校防衛医学研究センター広域感染症疫学・制御研究部門

臭効果を示す。さらに、BiSCaOの懸濁液や分散液、コロイド分散液は、同じpHの水酸化ナトリウム(NaOH)水溶液よりも高い殺微生物活性を示す^{4,5)}。すなわち、アルカリ度だけではBiSCaO含有液の強力な殺菌特性を説明できない。BiSCaO粒子の周囲ではOH⁻濃度がバルク溶液中よりも高いことや、BiSCaOから生成される活性ラジカル種による酸化・還元反応が付加的殺菌因子であることが示唆されている⁷⁾。

BiSCaO WaterはBiSCaO微粉末をほとんど含まない高濃度カルシウムイオン水であり、無色・透明な強アルカリ水溶液(pH ≥12.7)である^{1,2)}。その強アルカリ性により、BiSCaO Waterは高い殺微生物・ウイルス不活化効果を有している。メーカー(プラスラボ株式会社, 神奈川)によると、一般的にCaOは水への溶解性が低いが、低温下で高濃度のBiSCaOを繰り返し溶解させることで、pH 12.7以上の高濃度の溶解カルシウムイオン水を製造しているということであった。BiSCaO Waterの高いpHは生体への安全性の観点から大きな懸念であるが、液中のCa²⁺イオンと空気中のCO₂との相互作用によるCaCO₃の生成により、環境表面や皮膚上ではpHが急速に低下することが示されている²⁾。現在の喫緊の課題、COVID-19対応のため、防衛医科大学校や自衛隊衛生活動の中で洗浄・除菌剤としてBiSCaO Waterが利用されている。実際、ダイヤモンドプリンセス号への防衛医科大学校医官の派遣、防衛医科大学校病院の医療現場、大阪コロナ重症センターへの防衛医科大学校看護官派遣、防衛医科大学校学生舎陽性者発生時の環境表面洗浄・除菌の作業において、洗浄・除菌剤として使われている。本研究では、環境表面のための洗浄・除菌剤としてのBiSCaO Waterの有用性を、汎用洗浄・除菌剤として広く使用されているエタノールおよび次亜塩素酸水と比較検証した。

材料と方法

1. BiSCaO Water, エタノール, 次亜塩素酸水の除菌効果

BiSCaO Waterおよびエタノール(99.5%)はそれぞれプラスラボ(神奈川)および富士フィルム和光純薬より得た。次亜塩素酸水(200 ppm, pH 6.5)は、500 ppm NaClO(吉田製薬, 東京)を純水で希釈し、0.1 NHClを加えてpH 6.2に調整することで調製した。次亜塩素酸水の濃度は、ClO(HClOおよびClO⁻)選択的試験紙を使用して残留塩素レベルとして確認された(高濃度: 25~500 ppm, 低濃度: 1~25 ppm, 共立理化学研究所, 東京)⁶⁾。

汚染懸濁液は、前日に採取した自宅浴槽の残り湯を10%ダルベッコ改変イーグル培地および0.1wt%ウシ血清アルブミンとともに37°Cで24時間インキュベーション

することで調製した^{8,9)}。得られる汚染懸濁液に各種除菌剤を加えてよく混合し、室温で15分間インキュベーションした。ここで、未希釈のBiSCaO Water(pH 12.7, 市販原液), エタノール(99.5% 試薬), および200 ppm次亜塩素酸水(pH 6.2)を100%除菌剤とし、汚染懸濁液との混合後の最終的濃度を75, 50, 25, 12.5および6.25%とした。この希釈は、各洗浄・除菌剤の濃度に依存した効果を比較するために行われた。

汚染された布切れおよび木片を準備するため、布切れ(2 cm × 2 cm)および木片(1.2 cm × 1.2 cm × 0.2 cm)を汚染懸濁液40 mLに加え、37°Cで2時間インキュベーションし、その後きれいな水で濯いだ。汚染された布切れおよび木材片を10 mLの各種除菌剤試料に加え、15分間穏やかに攪拌した。その後、布切れおよび木材片を取り出して10 mLの純水中に加え、2分間激しくボルテックスすることで菌体を放出させた。一般生菌(TC)および大腸菌群(CF)の最小コロニー形成単位数(CFU)を定量するため、各サンプル1 mLを、TCまたはCF簡易ドライ培地プレート(ニッスイ, 東京)に添加し、37°Cのインキュベーター(A1201, 生田産業株式会社, 長野)で24時間インキュベーションした^{7,8)}。実験はサンプル数n = 3で実施した。

2. BiSCaO Water, エタノール, 次亜塩素酸水の環境表面洗浄・除菌効果

皮脂、体液、細菌、食品残渣等汚れ全体を、アデノシン三リン酸(ATP)ふき取り検査(LuciPac A3 Surface, キッコーマンバイオケミファ, 東京)により定量化した⁹⁾。環境表面として、使用済で一週間以上洗浄することなく通常の棚に放置されたラテックスゴム手袋(パウダーフリー)、トイレサンダル(底面)、古木箱の平木材、洗面流し台、洗面所鏡、牛革ソファ、テレビ画面、眼鏡レンズ・フレーム、金属ドアノブ、飛沫防止用アクリル板を用い、約100 cm²の各表面にBiSCaO Water, エタノール(75%)あるいは次亜塩素酸水(pH 6.2, 200 ppm)を1スプレー(約3 mL)した後、清潔なペーパータオルで拭き取る操作を2度繰り返すことで、表面洗浄・除菌作業を実施した。LuciPac A3 Surfaceの説明書に従い、Lumitester PD-20(キッコーマンバイオケミファ, 東京)を用いて発光量(Relative Light Unit, RLU)を測定した(n = 3)。測定範囲は5 cm四方の枠を表面に置き、縦10回横10回測定綿棒を回転させながら軽くふき取る方法を使った。ドアノブについては、手に触れる部分の面積が49.8 cm²であり、その半分(24.9 cm²)を測定範囲とした。また眼鏡レンズ・フレームは、レンズの外側の面積は約20 cm²あり、フレームの一部(5 cm²相当)を加えて測定範囲とした。したがって本研究では、相対的発光量をRLU/25 cm²として統一した。

除菌効果の評価は、上記アデノシン三リン酸(ATP)

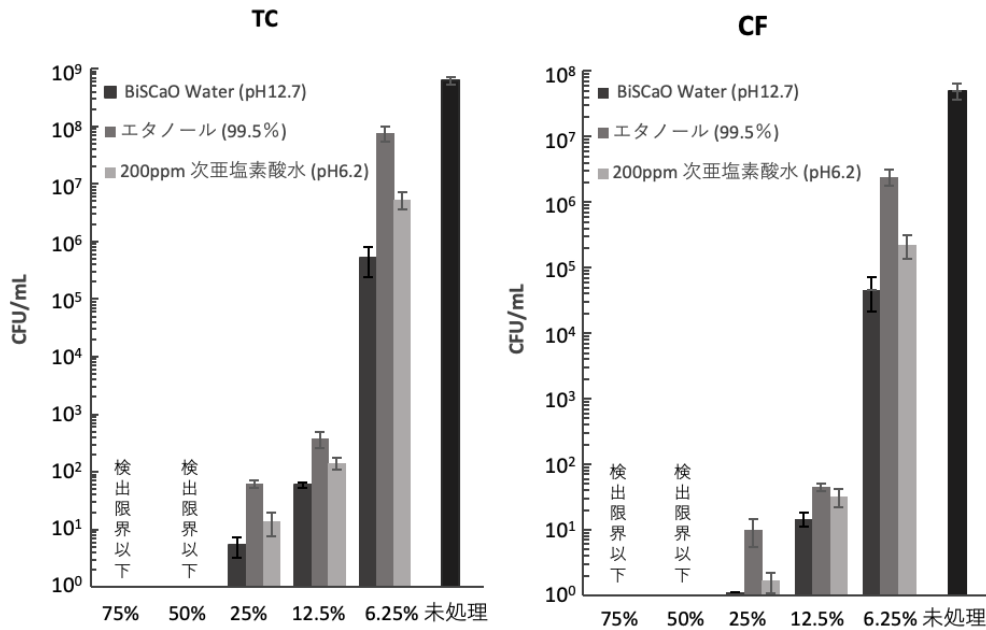


図1 細菌叢を含む汚染された懸濁液に対する各種洗浄・除菌剤の除菌効果. 様々な濃度の洗浄・除菌剤で処理した後の TC (左) および CF (右) の CFU/mL 値を示す (n=3).

ふき取り検査と同様に各種表面を洗浄した後、除菌剤の希釈のため洗浄表面を水道水で注ぎ清潔なペーパータオルでふき取り、簡易ふき取り検査キットを用いて説明書に従ってそれぞれの測定範囲(約 25 cm²) TC コロニー数の測定を実施した。すなわち、一定面のふき取りを実施し、試験液を TC 簡易ドライ培地プレートに添加した後、37°C で 24 時間インキュベーションし、CFU 値を CFU/25 cm² として算出した (n = 3)。

結 果

1. BiSCaO Water, エタノール, 次亜塩素酸水の除菌効果

BiSCaO Water, エタノール, 次亜塩素酸水について、汚染懸濁液に対する除菌効果を比較評価した。用いた汚染懸濁液の TC ならびに CF はそれぞれ $5.1 \pm 1.4 (\times 10^8)$ CFU/mL ならびに $4.5 \pm 2.5 (\times 10^7)$ CFU/mL であった。さらに Protein Assay BCA Kit (和光純薬工業株式会社) で測定した当該汚染懸濁液のタンパク質濃度は約 1100 μg/mL であり高有機環境は維持されていた。当該汚染懸濁液を各種除菌剤とよく混合し、室温で 15 分間インキュベーションした後、CFU/mL 値を算出した(図 1)。75% および 50% 試験液では、BiSCaO Water, エタノール, 次亜塩素酸水のいずれにおいても浮遊 TC および CF は検出限界以下であり、高い除菌効果が確認された。25% 以下の濃度では除菌効果が低減し、6.25% では BiSCaO Water, エタノール, 次亜塩素酸水ともに除菌効果はほとんどなかった。また、25, 12.5, および 6.25% において、三種の除菌剤のうち BiSCaO Water が

やや高い除菌効果を示すことが示唆された。

汚染木片および布切れに対する除菌効果を評価した。TC がそれぞれ 5.3 ± 0.8 および $2.1 \pm 1.1 (\times 10^7)$ CFU/mL, CF がそれぞれ 5.6 ± 0.7 および $4.6 \pm 2.1 (\times 10^6)$ CFU/mL の汚染木片および布切れを用い、各種除菌剤で処理した後に TC および CF を定量した(図 2)。BiSCaO Water, エタノール, 次亜塩素酸水の 100% 試験液はいずれも、汚染木片や布切れの TC および CF を検出限界以下まで低下させた。各 50% 試験液では布切れの TC および CF は検出限界以下まで低下したが、汚染木片の TC および CF はわずかに残存した。試験液濃度が 25% 以下では濃度低下に伴って残存する TC および CF が増加した。

2. BiSCaO Water, エタノール, 次亜塩素酸水の環境表面洗浄・除菌効果

環境表面に対する洗浄・除菌効果を評価した。使用済のラテックスゴム手袋(パウダーフリー)、トイレサンダル(底面)、古木箱の平木材、洗面流し台、洗面所鏡、牛革ソファ、テレビ画面、眼鏡レンズ・フレーム、金属ドアノブ、飛沫防止用アクリル板を環境表面として用い、BiSCaO Water (市販原液)、エタノール(75%)、次亜塩素酸水(pH 6.2, 200 ppm)で洗浄した後 ATP ふき取り検査ならびに簡易ふき取り TC コロニー形成検査を実施した。

ATP ふき取り検査は、ATP や ADP (アデノシン二リン酸)、AMP (アデノシン一リン酸) の総量を汚れの指標とする検査法であり、ルシフェラーゼが触媒する化学発光の相対値(Relative Light Unit, RLU)に基づい

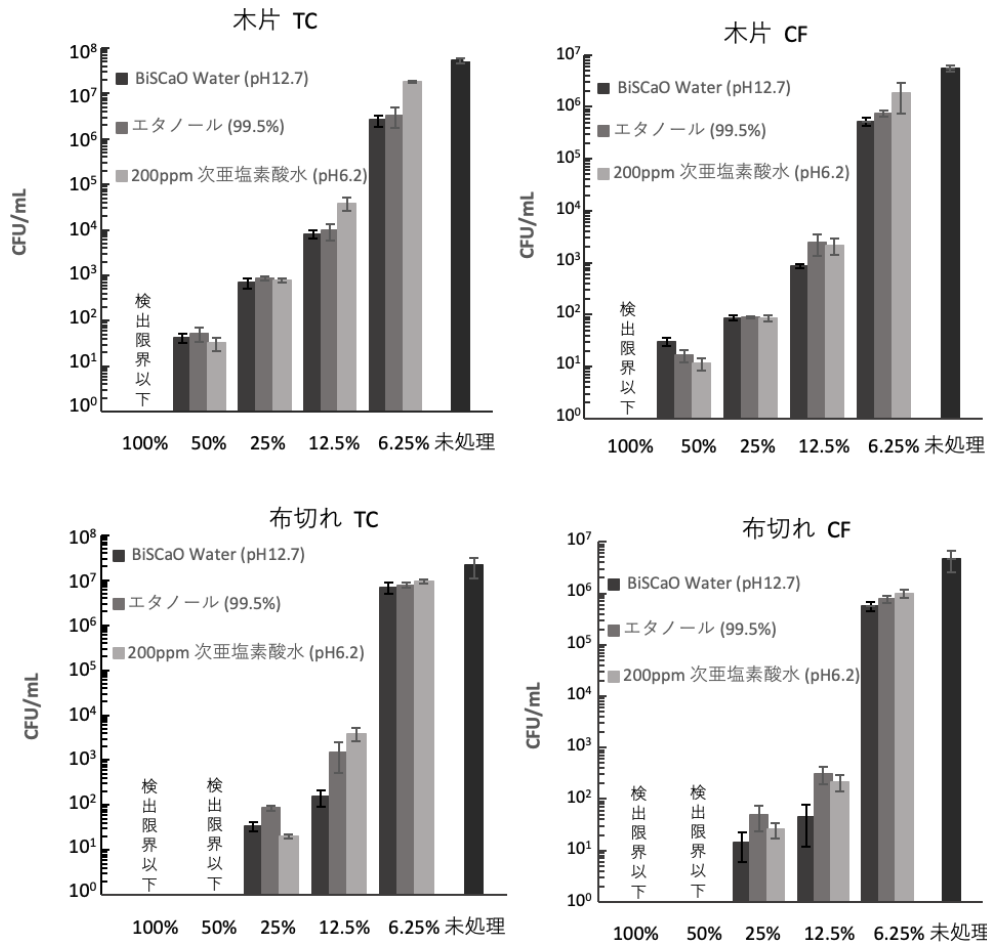


図2 汚染された木片および布切れに対する除菌効果。様々な濃度の各種洗浄・除菌剤で処理した後の木片(上段)および布切れ(下段)から放出されたTC(左)およびCF(右)のCFU/mL値を示す(n=3)。

ている。ATP 拭き取り検査はその場で測定できる利点があり、病原微生物を含む多くの有機物を含んだ目に見えない汚れを高感度で測定できる方法であり、ここで適用した。水道水での洗浄により RLU/25 cm² 値が各表面で減少したが、眼鏡レンズ・フレーム (720 ± 110 RLU/25 cm²) を除いて依然として 1000 以上の高い RLU/25 cm² 値を示した。一方で BiSCaO Water, エタノール, 次亜塩素酸水で洗浄した結果, ラテックスゴム手袋, 洗面流し台, 洗面所鏡, テレビ画面, 眼鏡レンズ・フレーム, 金属ドアノブ, 飛沫防止用アクリル板については, RLU/25 cm² 値が 500 以下に減少したが, トイレサンダル底面や古木箱の平木材, 牛革ソファーでは RLU/25 cm² 値が 3500 以上で洗浄効果は不十分であった。

TC の CFU 値は水道水洗浄では数分の一に減少した。一方で, BiSCaO Water やエタノール, 次亜塩素酸水による洗浄では, いずれの環境表面においても CFU 値が十分の一以下にまで大幅減少し, BiSCaO Water, エタノール, 次亜塩素酸水のいずれにおいても全て 50 CFU/25 cm² 以下になった。

考 察

BiSCaO Water は 100% ホタテ貝殻由来焼成成分の水溶液で, 強力な殺菌・ウイルス不活化効果を有している¹⁾。これまでに, 日本食品分析センターによる評価により, BiSCaO Water は大腸菌 NBRC 3972, 緑膿菌, サルモネラ菌を 5 分以内に, 病原性大腸菌 O-157:H7 および黄色ブドウ球菌を 15 分以内に検出限界以下まで減少させることが明らかとなっている。さらに, エンベロープウイルスであるインフルエンザ A (H1N1) ならびに非エンベロープウイルスであるネコカリシウイルスのいずれも 5 分以内に, 50% 組織培養感染量 (TCID₅₀) 法での検出限界以下まで減少させた¹⁾。しかしながら, これらの評価は純水溶液中で実施されており, 高有機物環境下にある汚濁水や環境表面での有効性は詳細には評価されていなかった。本研究では, 高有機物環境下での汚染水での除菌効果を評価するため, 浴槽の残り湯を培地で培養することで調製した, 高有機物環境下で大腸菌を中心に多種の菌種が含まれている汚濁水を用いた^{1~3,8,9)}。我々は, 過去の研究でこの汚濁水を用いた実験を CF(大

表 1 BiSCaO Water, エタノール, 次亜塩素酸水の環境表面洗浄効果

	BiSCaO Water (市販原液)	エタノール (75%)	次亜塩素酸水 (pH 6.2, 200ppm)	水道水	(洗浄前)
ラテックスゴム手袋 (パウダーフリー)	480±98	510±120	450±140	1210±210	4510±620
トイレサンダル (底面)	6325±580	7275±1280	6540±720	11250±2230	16250±2160
古木箱の平木材	7650±610	8630±720	7710±590	14560±2540	21340±3420
洗面流し台	790±180	880±210	820±170	8760±1870	25440±3310
洗面所鏡	340±27	470±36	360±30	1230±310	7450±860
牛革ソファ	3560±470	4050±540	3520±430	6070±790	11250±1260
テレビ画面	460±35	420±36	390±33	1260±210	3720±410
眼鏡レンズ・フレーム	450±47	470±32	420±35	720±110	2840±330
金属ドアノブ	310±25	490±44	330±51	1970±220	4870±520
飛沫防止用アクリル板	360±33	490±38	380±31	1290±270	7950±920

単位は RLU/25 cm² であり, n=3 の平均値を標準誤差とともに示す。

表 2 BiSCaO Water, エタノール, 次亜塩素酸水の環境表面除菌効果

	BiSCaO Water (市販原液)	エタノール (75%)	次亜塩素酸水 (pH 6.2, 200ppm)	水道水	(洗浄前)
ラテックスゴム手袋 (パウダーフリー)	6±2	12±4	5±2	143±14	521±34
トイレサンダル (底面)	12±3	22±4	14±3	228±31	840±92
古木箱の平木材	22±5	31±6	20±4	140±22	1160±220
洗面流し台	28±6	42±8	28±7	248±37	1220±360
洗面所鏡	32±7	45±10	34±9	143±28	960±121
牛革ソファ	38±4	49±12	36±5	356±45	930±96
テレビ画面	22±3	41±9	26±5	124±22	830±67
眼鏡レンズ・フレーム	14±2	20±3	12±2	165±25	580±46
金属ドアノブ	17±3	28±3	16±2	68±14	150±18
飛沫防止用アクリル板	10±4	26±6	11±3	114±26	530±76

単位は CFU/25 cm² であり, n=3 の平均値を標準誤差とともに示す。

腸菌群) や TC (総一般生菌数) の簡易ドライ測定用培地の併用で繰り返し実施しており, 当該手法は高有機物環境下での除菌実験として安全性, 簡便性, 信頼性が優れている^{1-3,8,9)}。理想的には, 接種する菌相として基準菌種や本研究の目的からして SARS-CoV-2 ウイルスを含めて各種基準病原性微生物を使うことが望ましいが, 実験施設や安全性の問題から実施が困難であり, 本研究では洗浄・除菌効果の評価として浴槽からの残り水を利用した。

同様に BiSCaO Water の洗浄・除菌効果を様々な高有機物環境下である環境表面についても評価し, エタノールや次亜塩素酸と比較検討した。まず, 汚染懸濁液や木片および布切れを用いた検討では, BiSCaO Water はエタノールや次亜塩素酸と同等の除菌効果を示すことが確認された (図 1 および 2)。しかし, 各洗浄・除菌剤の時間依存的な効果については今後詳細に比較検討する必要がある。

次に, 使用済のラテックスゴム手袋(パウダーフリー), トイレサンダル (底面), 古木箱の平木材, 洗面流し台, 洗面所鏡, 牛革ソファ, テレビ画面, 眼鏡レンズ・フ

レーム, 金属ドアノブ, 飛沫防止用アクリル板といった多種多様な環境表面を用いた検討を実施した。生物学的な汚れを簡便に指標化できる ATP ふき取り検査による検討の結果, BiSCaO Water はエタノールや次亜塩素酸と同程度の洗浄効果を示すことが明らかとなった (表 1)。説明書によると, 1250 RLU/25 cm² 以下は「きれい」(合格), 1251~2500 RLU/25 cm² は「要注意」, 2501 以上は「汚い」(不合格) とされる。表 1 に示す通り, 洗浄前の環境表面 10 品目すべてが不合格で「汚い」にあてはまった。水道水での洗浄により RLU/25 cm² 値が減少したが, トイレサンダル底面, 古木箱の平木材, 洗面流し台, 牛革ソファでは依然として不合格のままであった。一方で BiSCaO Water, エタノール, 次亜塩素酸水で洗浄した結果, ラテックスゴム手袋, 洗面流し台, 洗面所鏡, テレビ画面, 眼鏡レンズ・フレーム, 金属ドアノブ, 飛沫防止用アクリル板については, RLU/25 cm² 値が合格レベルまで大幅に減少した。その他の環境表面についても各種洗浄・除菌剤により RLU 値が減少したが, 洗面流し台では要注意レベルにとどまり, トイレサンダル底面や古木箱の平木材, 牛革ソファでは不合格

のままであった。

ATP ふき取り検査で定量される ATP や ADP, AMP は微生物が死滅した後も残存する¹⁰⁾。そこで、生存している微生物量を評価するために、簡易ふき取り検査キットを用いて TC の CFU 値を算出した。その結果、各表面の微生物量はいずれの洗浄・除菌剤の場合も大幅減少した(表 2)。したがって、BiSCaO Water はエタノールや次亜塩素酸水とともに、環境表面に対する洗浄・除菌剤として有効であることが明らかとなった。特筆すべきことに、RLU/25 cm² 値の減少量が数分の一にとどまったトイレサンダル底面、古木箱の平木材、牛革ソファについても、CFU 値においては数十分の一まで低下した。すなわち、BiSCaO Water, エタノール, 次亜塩素酸水は ATP を指標とする洗浄効果が不十分な場合があっても、除菌効果については高いことが認められた。BiSCaO Water, エタノール, 次亜塩素酸水の三者間の洗浄・除菌能力について大きな差は見られなかったが、エタノールに比して BiSCaO Water と次亜塩素酸水がわずかに優れる傾向があった。

COVID-19 対応のために現在、アルコール系ならびに次亜塩素酸系洗浄・除菌剤が広く利用されている^{11,12)}。しかしながら、アルコール系洗浄・除菌剤はエンベロープウイルスである SARS-CoV-2 に対しては有効であるものの、ノロウイルスなど非エンベロープウイルスに対する効果は限定的であると言われている¹³⁾。次亜塩素酸系洗浄・除菌剤はエンベロープウイルスおよび非エンベロープウイルスの両方に有効であるものの、必要な濃度(50 ppm 以上)では酸化力による脱色性や金属腐食性が強い。加えて、高濃度の次亜塩素酸水やアルコール製剤には特有の臭いや刺激があり、直接肌に触れると肌荒れやアレルギーを引き起こすといった生体に対する強い刺激性があり、布地や不織布マスクへの使用も素材を傷めるため使用できない^{14,15)}。

BiSCaO Water は、SARS-CoV-2 に対しては未検証であるものの、種々の病原性微生物やエンベロープウイルス(インフルエンザ A) および非エンベロープウイルス(ネコカリシウイルス)の両方に対する有効性が示されている¹⁾。BiSCaO Water と同じ pH 12.7 の NaOH 水溶液は手や粘膜組織の障害や化学繊維、プラスチック、アルミや銅などの金属の劣化を引き起こすことから、従来 BiSCaO Water は安全性の観点から懸念があった。しかしながら、最近、BiSCaO Water は当初は高アルカリであるものの、各種表面に噴霧した後は空気中の二酸化炭素を吸収して CaCO₃ を生成することで、高 pH 域から速やかに弱アルカリ域 (pH<10) まで低下することが明らかとなっている²⁾。加えて不揮発性の CaO をベースにすることから臭いもなく、むしろ汚物等の臭いを消臭することが示されている^{1,2)}。本研究で BiSCaO Water

は環境表面用洗浄・除菌剤としてエタノールや次亜塩素酸水と同等であると示されたことを合わせて考えると、BiSCaO Water は安全性に優れた洗浄・除菌剤としてさらなる発展が期待される。

利益相反自己申告：申告すべきものなし。

文 献

- 1) Nakamura S, Ishihara M, Sato Y, Takayama T, Hiruma S, Ando N, *et al.*: Concentrated bioshell calcium oxide (BiSCaO) water kills pathogenic microbes: characterization and activity. *Molecules* 2020; 25: 3001.
- 2) Ishihara M, Hata Y, Hiruma S, Takayama T, Nakamura S, Sato Y, *et al.*: Safety of concentrated bioshell calcium oxide water application for surface and skin disinfections against pathogenic microbes. *Molecules* 2020; 25: 4502.
- 3) Ishihara M, Murakami K, Fukuda K, Nakamura S, Kuwabara M, Hattori H, *et al.*: Stability of weakly acidic hypochlorous acid solution with microbicidal activity. *Biocontrol Sci* 2017; 22: 223-7.
- 4) Sato Y, Ishihara M, Nakamura S, Fukuda K, Takayama T, Hiruma S, *et al.*: Preparation and application of bioshell calcium oxide (BiSCaO) nanoparticle-dispersions with bactericidal activity. *Molecules* 2019; 24: 3415.
- 5) Sato Y, Ohata H, Inoue A, Ishihara M, Nakamura S, Fukuda K, *et al.*: Application of colloidal dispersions of bioshell calcium oxide (BiSCaO) for disinfection. *Polymers* 2019; 11: 1991.
- 6) Hiruma S, Ishihara M, Nakamura S, Sato Y, Asahina H, Fukuda K, *et al.*: Bioshell calcium oxide-containing liquids as a sanitizer for the reduction of histamine production in raw Japanese Pilchard, Japanese Horse Mackerel, and Chub Mackerel. *Foods* 2020; 9: 964.
- 7) Sawai J: Antimicrobial characteristics of heated scallop shell powder and its application. *Biocontrol Sci* 2011; 16: 95-102.
- 8) Sato Y, Ishihara M, Nakamura S, Fukuda K, Kuwabara M, Takayama T, *et al.*: Comparison of various disinfectants on bactericidal activity under organic matter contaminated environments. *Biocontrol Sci* 2019; 24: 103-8.
- 9) Fukuda K, Sato Y, Ishihara M, Nakamura S, Takayama T, Murakami K, *et al.*: Skin cleansing technique with disinfectant using improved high-velocity steam-air micromist jet spray. *Biocontrol Sci* 2020; 25: 35-9.
- 10) Fukuda T, Tsuchiya Y, Iwakiri H, Ozaki M: Adenosine triphosphate bioluminescence assay for monitoring contamination of the working environment of anaesthetists and cleanliness of the operating room. *J Infect Prev* 2015; 16: 8-13.
- 11) Kampf G, Todt D, Pfaender S, Steinmann E: Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents. *J Hosp Infect* 2020; 104: 246-51.
- 12) Hirschmann MT, Hart A, Henckel J, Sadoghi P, Seil R, Mouton C: COVID-19 coronavirus: recommended personal protective equipment for the orthopaedic and trauma surgeon. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2020; 28: 1690-8.
- 13) Kampf G: Efficacy of ethanol against viruses in hand disinfection. *J Hosp Infect* 2018; 98: 331-8.
- 14) Hiruma S, Hata Y, Ishihara M, Takayama T, Nakamura S, Ando N, *et al.*: Efficacy of Bioshell Calcium Oxide Water as Disinfectants to Enable Face Mask Reuse. *Biocontrol Sci* 2021; 26: 27-35.

- 15) Grinshpun SA, Yermakov M, Khodoun M: Autoclave sterilization and ethanol treatment of re-used surgical masks and N95 respirators during COVID-19: impact on their performance and integrity. *J Hosp Infect* 2020; 105: 608-14.

〔連絡先〕〒359-8513 埼玉県所沢市並木 3-2
防衛医科大学校防衛医学研究センター医療工学研究部門
石原雅之
E-mail: ishihara@ndmc.ac.jp

Effectivity of Scallop Shell-Derived Calcium Oxide Water in Comparison with Hypochlorous Acid and Ethanol as General-Purpose Disinfectants for Environmental Surfaces

Masayuki ISHIHARA¹⁾, Sumiyo HIRUMA¹⁾, Yuuki HATA¹⁾,
Shingo NAKAMURA¹⁾, Atsuhiro KANAYAMA²⁾ and Koki KAKU²⁾

¹⁾*Division of Biomedical Engineering, National Defense Medical College Research Institute,* ²⁾*Division of Infectious Diseases Epidemiology and Control, National Defense Medical College Research Institute*

Abstract

The current coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic has highlighted the importance of cleaning and disinfection of environmental surfaces. Bioshell calcium oxide water (BiSCaO Water) is a concentrated solution of calcium oxide derived from scallop shells and has a high pH (≥ 12.7). So far, BiSCaO Water has been shown to exhibit broad microbicidal activity and to be friendly to the living body and the environment. This study aimed to explore the potential use of BiSCaO Water for the disinfection of environmental surfaces compared with ethanol and hypochlorous acid (200 ppm, pH 6.2). Investigations based on adenosine triphosphate (ATP)-based swab tests and microbial count tests revealed that BiSCaO Water, ethanol, and hypochlorous acid exhibited cleaning and disinfection efficacy for various environmental surfaces, including those of wooden plates, clothes, metals, glass plates, rubber, and cowhide goods. Given that ethanol and hypochlorous acid have relatively high environmental load and adverse effects on human tissues, BiSCaO Water may be a superior disinfectant in terms of safety.

Key words: disinfection, cleaning, environmental surface, bioshell calcium oxide (BiSCaO)