

## 過硝酸を用いた新規殺菌装置の開発

プロジェクト  
責任者

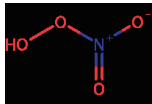
大阪大学大学院工学研究科 環境エネルギー工学専攻

准教授 北野 勝久

### プロジェクト概要

#### 過硝酸による殺菌

活性酸素種の1つであり過酸化物質であり反応性が高い



日本語名	過硝酸、ペルオキシ硝酸
英語名	Peroxynitric acid (PNA)
化学式	$\text{HNO}_4$ ( $\text{HOONO}_2$ )
CAS番号	26404-66-0

古くから存在は知られているが、不安定なため応用は皆無

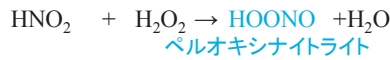
過硝酸を殺菌に利用する論文や特許は過去に無く世界初のオンリーワン技術[1]

**特許**  
『殺菌方法、殺菌用製剤、および殺菌液の製造装置』  
日本国特許第6,087,029号、米、英、独、伊、仏、西で登録済  
【請求項1】 化学反応によって得られた過硝酸( $\text{HOONO}_2$ )を含む液体を、pH4.8以下の酸性条件下で、殺菌対象に適用する、ことを特徴とする殺菌方法。

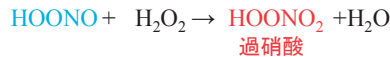
[1] S. Ikawa, A. Tani, Y. Nakashima, K. Kitano, Journal of Physics D: Applied Physics, 405401(2016).

#### 化学合成法

試薬を混ぜるだけで合成可能[2]



※低温&低pH条件は必須



[2] F. Raschig, Angewandte Chemie, 17, 1419 (1904).

用途(量や濃度)に応じた合成装置を提供可能

#### 過硝酸連続合成装置

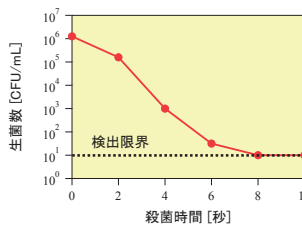
低温下で薬液を混合するだけであり装置コストは低



※1Mの過硝酸を合成可

#### 芽胞液の短時間殺菌

生菌数の変化(過硝酸6.5mMで35°C)



#### 実験手順

- 1 枯草菌の芽胞液と過硝酸を混合
- 2 (殺菌処理)
- 3 培地を混合し殺菌活性を消去
- 4 コロニーカウント法により生菌数評価

D値(菌数を1桁低下させる時間)が1.1秒と世界最高レベル

#### 過硝酸の濃度

殺菌剤は為害性が出るよりも低い濃度で利用する必要がある。過酸化水素3%はオキシドールとして消毒剤に用いられるが、10%オーダーになると化学熱傷を起こし、90%オーダーでは爆発の危険性がある。

	過硝酸濃度	$\text{H}_2\text{O}_2$ 相当濃度
化学合成原液	1,000 mM	10,000 %
医療機器滅菌	~10 mM	100 %
生体消毒	~2 mM	20 %
芽胞菌の殺菌実験	~1 mM	10 %
大腸菌液の殺菌実験	~0.02 mM	0.2 %

殺菌剤は殺菌力と毒性の比が重要

#### 動物を用いた安全性試験

	急性経口毒性試験	皮膚刺激性試験
実験動物種	ラット	ウサギ
準拠ガイドライン	OECD TG420	OECD TG404
実験写真		

100mMの過硝酸(1,000%相当の $\text{H}_2\text{O}_2$ )で問題無く、滅菌レベルの殺菌力を生体へ適用可

#### 素材適合性試験

様々な素材で耐久試験  
殺菌、洗浄、乾燥工程を~1000回

SUS、Oリング、医療機器部品等へのダメージ無

#### 排水基準

分解生成物は硝酸性窒素だが、相対的に低濃度

機器滅菌の濃度だと排水基準値以下で問題無

#### 他殺菌剤との比較

枯草菌の芽胞液に対するCT値(濃度×接触時間)

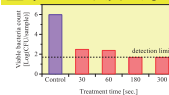
	過硝酸溶液 1M $\text{HOONO}_2$	オキシドール 3% $\text{H}_2\text{O}_2$	アンチホルミン 6% $\text{NaClO}$	過酢酸溶液 6% $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$
殺菌力	3300	1	9.6	400
コスト [円/L]	1100	1200	28000	27000
コスト [円/L/殺菌力]	0.33	1200	2900	68

過酢酸等と異なり過硝酸溶液は無臭 ※原価に電気代やpHバッファー代等が入っていないが、大量使用時はさらにコスト低減可

桁違いに高い殺菌力(過酸化水素10,000%相当)ならび低コストを実現可能  
次亜塩素酸に比べ夾雑物耐性は約40倍であり、実使用においても有効な殺菌力

#### 皮膚汚染モデル(ブタ皮)の消毒

栄養細胞(黄色ブドウ球菌)の無菌化は簡単のため、芽胞(枯草菌)を塗布したブタ皮に対して過硝酸溶液をスプレー噴射



消毒剤有効性の評価基準は ~2LogR

動物実験で安全性が確認された濃度の消毒薬で、皮膚汚染モデルにおける芽胞の無菌化に成功したのは世界初

世界初の殺菌剤である過硝酸は、安全性と殺菌力の比に優れ、生体消毒から医療機器滅菌まで様々な応用が考えられます。基本特許は国内外で権利化済みです。現在、複数の企業が参画する過硝酸応用研究開発コンソーシアム (<http://www.ppl.eng.osaka-u.ac.jp/pna/>) を構築しており、新規参画企業を募集中です。

# Medical devices

## Development of a new disinfection device using Pernitric acid solution

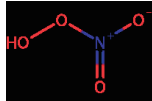
Principal Investigator

Division of Sustainable Energy and Environmental Engineering,  
Graduate School of Engineering, Osaka University

Associate Professor Katsuhisa KITANO

### Project Outline

#### Sterilization by Peroxynitric acid (PNA)



Name	Peroxynitric acid (PNA)
Formula	$\text{HNO}_4$ ( $\text{HOONO}_2$ )
CAS number	26404-66-0

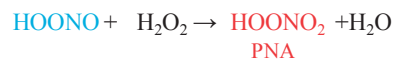
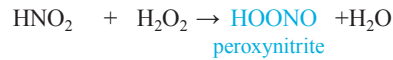
It has been known to exist, but has no applications due to its instability.

There has never been a paper or patent on the use of PNA for sterilization, making it the world's first and only technology [1].

Patent  
Sterilization method, preparation for sterilization, and device for producing bactericidal liquid  
Patented in Japan, US, UK, Germany, Italy, France, Spain

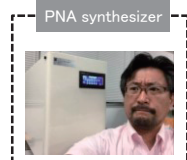
[1] S. Ikawa, A. Tani, Y. Nakashima, K. Kitano, Journal of Physics D: Applied Physics, 405401(2016).

#### Chemical synthesis



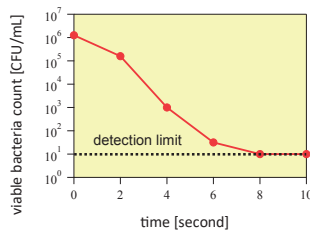
[2] F. Raschig, Angewandte Chemie, 17, 1419 (1904).

Many types of synthesizer can be provided ※~1M PNA



#### Sterilization of spore

6.5mM PNA



The D value (time to reduce the bacteria count by one digit) is 1.1 seconds, which is the highest level in the world.

#### Concentration of PNA

There is a need for disinfectants to be used at lower concentrations than can be harmful. Hydrogen peroxide at 3% is used as oxydol in disinfectants, but at concentrations on the order of 10% it can cause chemical burns, and at concentrations on the order of 90% there is a risk of explosion.

	PNA conc.	equivalent $\text{H}_2\text{O}_2$ conc.
undiluted solution	1,000 mM	10,000 %
Medical device sterilization	~10 mM	100 %
Disinfection	~2 mM	20 %

For fungicides, the ratio of fungicidal power to toxicity is important.

#### Safety studies with animals

	Acute oral toxicity test	Skin irritation test
animal	rat	rabbit
guideline	OECD TG420	OECD TG404
photo		

Sterilization level of disinfection can be applied to living organisms without any problem with 100 mM PNA (1,000%  $\text{H}_2\text{O}_2$  equivalent).

#### Material compatibility test

Endurance testing with various materials  
Sterilization, washing and drying process ~1000 times

No damage to SUS, O-rings, medical device parts, etc.

#### Comparison with other bactericides

using spore solution

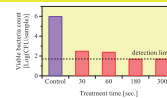
	PNA 1M $\text{HOONO}_2$	Oxydol 3% $\text{H}_2\text{O}_2$	Antiformin 6% $\text{NaClO}$	Peracetic acid 6% $\text{CH}_3\text{COO}_2\text{H}$
relative bactericidal activity	3300	1	9.6	400
cost [JPY/L]	1100	1200	28000	27000
cost [JPY/L/bactericidal activity]	0.33	1200	2900	68

PNA solution is odorless.

Unprecedentedly high sterilizing power (equivalent to 10,000%  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) at low cost

#### Disinfection of a skin contamination model (pig skin)

Sterilization of vegetative cells (*Staphylococcus aureus*) was simple. Spray jet of PNA solution was applied to pig skin contaminated with spores (*Bacillus subtilis*).



The evaluation criteria for disinfectant efficacy are ~2LogR

The world's first successful sterilization of spores on skin contamination models to the detection limit using disinfectants at concentrations that have been confirmed safe in animal studies

The world's first disinfectant, PNA has an excellent ratio of safety and disinfecting power, and can be applied to various fields from biological disinfection to medical equipment sterilization. The basic patent has been granted in Japan and overseas. Currently, we are building a consortium for research and development of PNA application (<http://www.ppl.eng.osaka-u.ac.jp/pna/>), in which several companies are participating, and we are looking for new companies to join us.