NCT-H EIAU 2010-7

ティオスカイコートの光触媒効果を用いた殺菌効果の検証

実験期間:2010 年 7 月 17 日～2010 年 7 月 23 日
報告日:2010 年 7 月 23 日
沼津工業高等専門学校　物質工学科 5 年
安部　晶大

1. 目的

前研究期間では菌体濃度を 10000 倍希釈として実験を行なったが、コロニー数が多く、定量的な結果を得ることができなかった。本研究期間では菌体濃度をさらに10倍に希釈し、10^5倍希釈として実験を行った。

2. 実験

2-1　試料、試薬および装置

- ティオスカイコート(光触媒)塗布樹脂板　有限会社栄和自動車提供
- ティオスカイコート(光触媒)未塗布樹脂板　有限会社栄和自動車提供
- *E.coli*　鈴木先生提供
- 塩化ナトリウム　シグマアルドリッチジャパン社製 試薬特級
- 酵母エキス　和光純薬工業株式会社製
- トリプトン　DIFCO 社製
- 寒天　和光純薬工業株式会社製　試薬特級
- ブラックライト　FL20SBL 捕虫器用蛍光ランプ 20 形　東芝ライテック株式会社製
  波長:352 nm　定格ランプ電力:20 W　紫外線出力(距離 1m):2.9 W　管長:580 mm
  管径:32.5 mm　有限会社栄和自動車提供
- 振とう培養機　Personal-10　株式会社大洋化学工業社製
- オートクレーブ　TOMY SS-305　株式会社トミー精工社製
- 分光光度計　U-2910 Spectrophotometer　株式会社日立製作所製
- ボルテックスミキサー　TME-21 TEST TUBE MIXER　ADVANTEC 社製
- 恒温槽用ヒーター　Thermo minder　タイテック株式会社製

2-2　菌体濃度 10^5 倍希釈とした場合におけるティオスカイコート殺菌能力の定量的評価

1) 大腸菌のグリセロールストックを解凍し、液体 LB 培地に加え、37 ℃、好気性条件下にて、一日間前培養を行なった。LB 培地の組成を Table 1 に示す。
2) 安全キャビネット内にて樹脂板に 70%アルコールを噴霧した。スタンプする面を上にし、UV ランプ点灯下にて表面に付着したアルコールを蒸発させることにより、樹脂板の滅菌を行なった。
3) コール酸ナトリウム 0.03 g を 10 mL の蒸留水に溶解し、オートクレーブ滅菌を行うことにより 0.3 %(w/v)コール酸ナトリウム溶液を調製した。
4) 3)で調製したコール酸ナトリウム溶液を用いて菌液を 10^{-5} 倍に希釈した。
5) ティオスカイコート塗布および未塗布樹脂板それぞれに希釈した菌液 100 μL をスプレッダーを用いて塗抹した。
6) 静置 0 分の樹脂板を固体 LB 培地にスタンプした。
7) 静置 30 分、60 分の樹脂板をブラックライト下にて静置した。
8) 約 5 分毎の間隔で 0.3 %(w/v)コール酸ナトリウム溶液 100 μL をスプレッダーを用いて展開し、樹脂板表面を湿らせた。
9) 30 分、60 分後樹脂板を固体 LB 培地にスタンプした。
10) 37 ℃、好気性条件下にて、一日間培養を行なった。
11) 培養の結果を観察した。

Table 1　LB 培地

成分	濃度(g/L)
トリプトン	10.0
酵母エキス	5.0
塩化ナトリウム	10.0
※寒天	20.0

※固体培地とする場合のみ添加した

3. 結果および考察

3-1 菌体量の調節

実験結果を Fig. 1～3 に示す。また、計測したコロニー数を Table 2 に示す

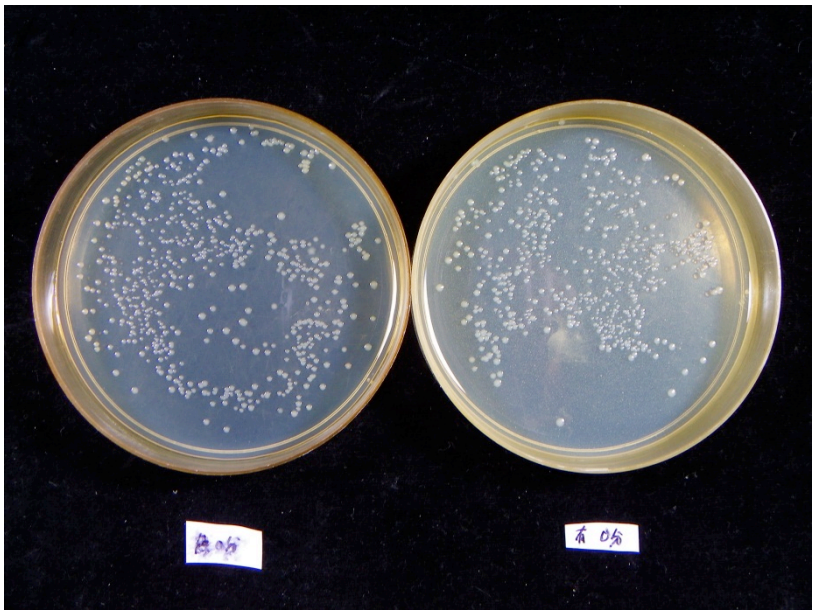

Fig. 1　静置 0 分培養結果(左：ティオスカイコート未塗布、右：ティオスカイコート塗布)

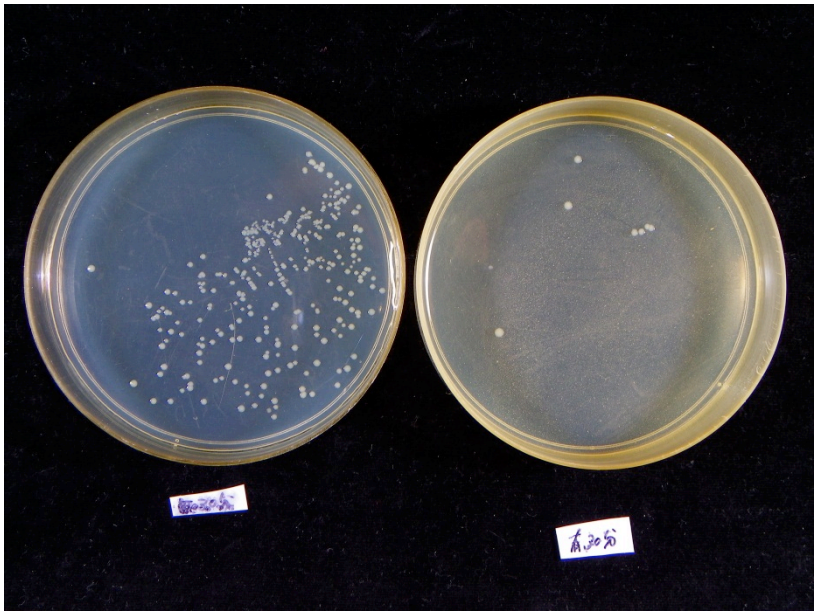

Fig. 2　静置 30 分培養結果(左：ティオスカイコート未塗布、右：ティオスカイコート塗布)

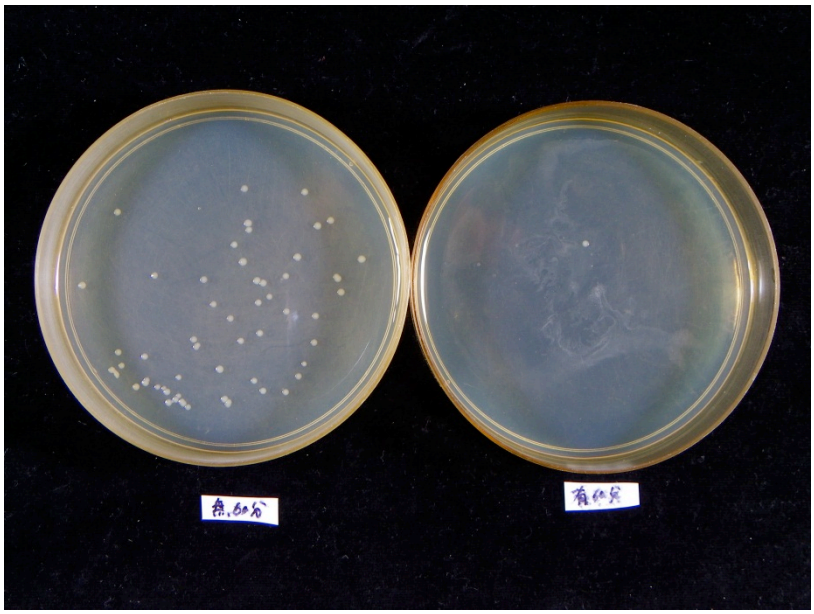

Fig. 3　静置 60 分培養結果(左：ティオスカイコート未塗布、右：ティオスカイコート塗布)

Table 2　コロニー数

静置時間[min]	ティオスカイコート塗布	ティオスカイコート未塗布
0	565	612
30	7	318
60	1	58

Fig. 1～3 および Table 2 からティオスカイコート塗布の樹脂板の経時的な生菌数の減少が確認された。また、30 分、60 分においてコロニー数が一桁になり、定量的な評価を行うことができるようになった。しかし、ティオスカイコート未塗布の樹脂板においても経時的なコロニー数の減少が確認された。これは給水が十分でなく、樹脂板表面が乾燥してしまったために、菌体が死滅してしまったことが原因であると考えられる。

4. 今後の予定

- スプレーを用いた保湿を検討する。
- グラム陽性菌として表皮ブドウ球菌での実験を検討する。