



Japan  
Food  
Research  
Laboratories

## 試験報告書

第 203020280-001 号  
2003年（平成 15年）04月02日

依頼者 高園メディウエル株式会社

検体 本報告書中

試験項目 殺菌効果試験

2003年（平成15年）02月04日当センターに提出された  
上記検体について試験した結果は次のとおりです。

財団法人

日本食品分析センター

東京本部 〒151-0062 東京都渋谷区元代々木町52番1号  
大阪支所 〒564-0051 大阪府吹田市豊津町3番1号  
名古屋支所 〒460-0011 名古屋市中区大須4丁目5番13号  
九州支所 〒812-0034 福岡市博多区下呉服町1番12号  
多摩研究所 〒206-0025 東京都多摩市永山6丁目11番10号  
千歳研究所 〒066-0052 北海道千歳市文京2丁目3番

## 殺菌効果試験

### 1 依頼者

高園メディウエル株式会社

### 2 検体

- 1) 二酸化塩素
- 2) 次亜塩素酸ナトリウム
- 3) 安定化二酸化塩素(水溶液10ccにクエン酸0.4g配合)
- 4) 安定化二酸化塩素(水溶液10ccにクエン酸0.8g配合)

ただし、検体2)は、平成15年2月6日に搬入された。

なお、依頼者からクエン酸の提供を受けた。また、有効成分量は検体1)2,000 µg/ml、  
検体2)6%，検体3)及び4)2,500 µg/mlと依頼者から数値の提供を受けた。

### 3 試験目的

検体の殺菌効果を試験する。

### 4 試験概要

精製水を用いて希釈した検体希釈液に枯草菌(芽胞)、腸球菌、レジオネラ、黄色ブドウ球菌又は黒こうじカビの菌液を接種(以下「試験液」という。)後、20℃で保存し、1、5、15及び30分後に各試験液中の生菌数を測定した。

### 5 試験結果

結果を表-1に示した。

表-1-1 試験液1 ml当たりの生菌数測定結果

試験菌	対象	濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ )	試験液1 ml当たりの生菌数				
			開始時	1分後	5分後	15分後	30分後
枯草菌 (芽胞)	検体1)	100	***	$5.1 \times 10^5$	$3.0 \times 10^5$	$2.0 \times 10^4$	<10
		50	***	$4.8 \times 10^5$	$2.9 \times 10^5$	$2.0 \times 10^5$	$2.3 \times 10^4$
		10	***	$5.3 \times 10^5$	$2.9 \times 10^5$	$2.2 \times 10^5$	$1.5 \times 10^5$
		5	***	$5.4 \times 10^5$	$4.5 \times 10^5$	$3.0 \times 10^5$	$2.1 \times 10^5$
		1	***	$4.7 \times 10^5$	$5.3 \times 10^5$	$5.2 \times 10^5$	$5.8 \times 10^5$
		0.25	***	$6.7 \times 10^5$	$4.0 \times 10^5$	$4.8 \times 10^5$	$5.3 \times 10^5$
	検体2)	10	***	$4.5 \times 10^5$	$5.6 \times 10^5$	$1.3 \times 10^5$	$9.1 \times 10^2$
		5	***	$5.2 \times 10^5$	$4.0 \times 10^5$	$5.0 \times 10^5$	$6.7 \times 10^4$
		1	***	$4.3 \times 10^5$	$4.8 \times 10^5$	$4.4 \times 10^5$	$5.2 \times 10^5$
		0.25	***	$3.5 \times 10^5$	$4.8 \times 10^5$	$5.3 \times 10^5$	$5.1 \times 10^5$
	検体3)	500	***	$2.8 \times 10^5$	<10	<10	<10
		100	***	$3.0 \times 10^5$	$1.7 \times 10^4$	<10	<10
		50	***	$4.1 \times 10^5$	$2.8 \times 10^5$	<10	<10
		10	***	$5.3 \times 10^5$	$3.7 \times 10^5$	$3.6 \times 10^5$	$1.9 \times 10^5$
	検体4)	500	***	$8.4 \times 10^4$	<100	<100	<100
		100	***	$3.0 \times 10^5$	<100	<100	<100
		50	***	$3.4 \times 10^5$	$1.3 \times 10^5$	<100	<100
		10	***	$3.9 \times 10^5$	$4.2 \times 10^5$	$2.4 \times 10^5$	$9.3 \times 10^4$
	対照①	—	$5.6 \times 10^5$	***	***	***	$4.5 \times 10^5$
	対照②	—	$5.4 \times 10^5$	***	***	***	$5.7 \times 10^5$
	対照③	—	$5.6 \times 10^5$	***	***	***	$4.5 \times 10^5$

<10及び<100：検出せず

\*\*\*：試験実施せず

対照：精製水

なお、検体1)の100及び50  $\mu\text{g/ml}$ は「対照①」を、検体1)の10、5、1及び0.25  $\mu\text{g/ml}$ 、検体3)及び4)は「対照②」を、検体2)は「対照③」を対照とした。

表-1-2 試験液1 ml当たりの生菌数測定結果

試験菌	対 象	濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ )	試験液1 ml当たりの生菌数				
			開始時	1分後	5分後	15分後	30分後
腸球菌	検体1)	10	***	<10	<10	<10	<10
		5	***	<10	<10	<10	<10
		1	***	$4.5 \times 10^5$	<10	<10	<10
		0.25	***	$6.0 \times 10^5$	$3.9 \times 10^5$	<10	<10
	検体2)	10	***	<10	<10	<10	<10
		5	***	<10	<10	<10	<10
		1	***	<10	<10	<10	<10
		0.25	***	30	20	50	20
	検体3)	500	***	<100	<100	<100	<100
		100	***	<100	<100	<100	<100
		50	***	<10	<10	<10	<10
		10	***	$4.9 \times 10^4$	<10	<10	<10
	検体4)	500	***	<100	<100	<100	<100
		100	***	<100	<100	<100	<100
		50	***	<10	<10	<10	<10
		10	***	$2.8 \times 10^2$	<10	<10	<10
	対 照	—	$6.1 \times 10^5$	***	***	***	$5.3 \times 10^5$

<10及び<100：検出せず

\*\*\*：試験実施せず

対照：精製水

表-1-3 試験液1 ml当たりの生菌数測定結果

試験菌	対 象	濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ )	試験液1 ml当たりの生菌数				
			開始時	1分後	5分後	15分後	30分後
レジオネラ	検体1)	10	***	<100	<100	<100	<100
		5	***	<100	<100	<100	<100
		1	***	<100	<100	<100	<100
		0.25	***	$1.8 \times 10^5$	<100	<100	<100
	検体2)	10	***	<100	<100	<100	<100
		5	***	<100	<100	<100	<100
		1	***	<100	<100	<100	<100
		0.25	***	<100	200	100	<100
	検体3)	500	***	<1000	<1000	<1000	<1000
		100	***	<1000	<1000	<1000	<1000
		50	***	<1000	<1000	<1000	<1000
		10	***	<100	<100	<100	<100
	検体4)	500	***	<1000	<1000	<1000	<1000
		100	***	<1000	<1000	<1000	<1000
		50	***	<1000	<1000	<1000	<1000
		10	***	<1000	<1000	<1000	<1000
	対 照	—	$2.8 \times 10^6$	***	***	***	$2.5 \times 10^6$

<100及び<1000：検出せず

\*\*\*：試験実施せず

対照：精製水

表-1-4 試験液1 ml当たりの生菌数測定結果

試験菌	対 象	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	試験液1 ml当たりの生菌数				
			開始時	1分後	5分後	15分後	30分後
黄色 ブドウ球菌	検体1)	10	***	<10	<10	<10	<10
		5	***	<10	<10	<10	<10
		1	***	<10	<10	<10	<10
		0.25	***	$1.9 \times 10^4$	<10	<10	<10
	検体2)	10	***	<10	<10	<10	<10
		5	***	<10	<10	<10	<10
		1	***	<10	<10	<10	<10
		0.25	***	<10	<10	<10	<10
	検体3)	500	***	<100	<100	<100	<100
		100	***	<100	<100	<100	<100
		50	***	<10	<10	<10	<10
		10	***	<10	<10	<10	<10
	検体4)	500	***	<100	<100	<100	<100
		100	***	<100	<100	<100	<100
		50	***	<10	<10	<10	<10
		10	***	<10	<10	<10	<10
	対 照	—	$5.5 \times 10^5$	***	***	***	$3.4 \times 10^5$

<10及び<100：検出せず

\*\*\*：試験実施せず

対照：精製水

表-1-5 試験液1 ml当たりの生菌数測定結果

試験菌	対象	濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ )	試験液1 ml当たりの生菌数				
			開始時	1分後	5分後	15分後	30分後
黒こうじ カビ	検体1)	10	***	$5.2 \times 10^4$	$4.2 \times 10^5$	10	<10
		5	***	$1.9 \times 10^5$	$9.1 \times 10^4$	$6.2 \times 10^4$	$5.3 \times 10^4$
		1	***	$2.2 \times 10^5$	$1.3 \times 10^5$	$2.4 \times 10^5$	$1.8 \times 10^5$
		0.25	***	$3.4 \times 10^5$	$2.9 \times 10^5$	$2.1 \times 10^5$	$2.7 \times 10^5$
	検体2)	10	***	$1.8 \times 10^5$	$2.5 \times 10^5$	$1.6 \times 10^5$	$1.2 \times 10^5$
		5	***	$2.2 \times 10^5$	$1.9 \times 10^5$	$1.8 \times 10^5$	$2.3 \times 10^5$
		1	***	$2.2 \times 10^5$	$3.3 \times 10^5$	$1.8 \times 10^5$	$2.9 \times 10^5$
		0.25	***	$2.7 \times 10^5$	$2.7 \times 10^5$	$3.0 \times 10^5$	$2.2 \times 10^5$
	検体3)	500	***	<10	<10	<10	<10
		100	***	<10	<10	<10	<10
		50	***	<10	<10	<10	<10
		10	***	$4.8 \times 10^4$	90	<10	<10
	検体4)	500	***	<10	<10	<10	<10
		100	***	<10	<10	<10	<10
		50	***	<10	<10	<10	<10
		10	***	$3.6 \times 10^4$	20	<10	<10
	対 照	—	$2.6 \times 10^5$	***	***	***	$1.9 \times 10^5$

<10 : 検出せず

\*\*\* : 試験実施せず

対照 : 精製水

## 6 試験方法

### 1) 試験菌株

細菌：

*Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* IFO 3134(枯草菌)

*Enterococcus faecalis* IFO 12964(腸球菌)

*Legionella pneumophila* GIFU 9134(レジオネラ)

*Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* IFO 12732(黄色ブドウ球菌)

カビ：

*Aspergillus niger* IFO 6341(黒こうじカビ)

### 2) 菌数測定用培地及び培養条件

枯草菌，腸球菌及び黄色ブドウ球菌：

SCDLP寒天培地[日本製薬株式会社]，混積平板培養法，35℃2日間

レジオネラ：

B-CYE  $\alpha$ 寒天培地[栄研化学株式会社]，平板塗抹培養法，35℃7日間

黒こうじカビ：

GPLP寒天培地[日本製薬株式会社]，混積平板培養法，25℃7日間

### 3) 試験菌液の調製

枯草菌(芽胞)：

調製済の芽胞液を生理食塩水で希釈して菌数が約 $10^7$ /mlとなるように調製し，試験菌液とした。

腸球菌：

試験菌株をBrain Heart Infusion Agar(Difco)で35℃18～24時間培養した後，生理食塩水に浮遊させ，菌数が約 $10^7$ /mlとなるように調製し，試験菌液とした。

レジオネラ：

試験菌株をB-CYE  $\alpha$ 寒天培地で35℃3日間培養後，再度B-CYE  $\alpha$ 寒天培地で35℃2～3日間培養し，菌体を精製水に浮遊させ，菌数が約 $10^8$ /mlとなるように調製し，試験菌液とした。

黄色ブドウ球菌：

試験菌株を普通寒天培地[栄研化学株式会社]で35℃18～24時間培養した後，生理食塩水に浮遊させ，菌数が約 $10^7$ /mlとなるように調製し，試験菌液とした。



黒こうじカビ：

試験菌株をポテトデキストロース寒天培地[栄研器材株式会社]で25℃7~10日間培養後、0.005%スルホコハク酸ジオクチルナトリウム溶液に浮遊させ、ガーゼでろ過後、胞子数が約 $10^7$ /mlとなるように調製し、試験菌液とした。

4) 検体希釈液の調製

検体1)：

250 mlの精製水中にA剤及びB剤を入れ、容器のふたをし、腸球菌及び黄色ブドウ球菌は1~2時間、枯草菌(芽胞)、レジオネラ及び黒こうじカビは一晚室温で放置した。その溶液の有効成分濃度を2,000 µg/mlとし、精製水を用いて100, 50, 10, 5, 1及び0.25 µg/mlに希釈した。

検体2)：

検体の有効成分濃度を6%とし、精製水を用いて10, 5, 1及び0.25 µg/mlに希釈した。

検体3)及び4)：

検体の有効成分濃度を2,500 µg/mlとし、精製水を用いて500, 100, 50及び10 µg/mlに希釈した。これらの希釈液にクエン酸を添加し、10分間放置した。クエン酸の添加量は希釈液10 ml当たり検体3)は0.4 g, 検体4)は0.8 gとした。

5) 試験操作

検体希釈液10 mlに試験菌液を0.1 ml接種し、試験液とした。20℃で保存し、1, 5, 15及び30分後に試験液1 mlをSCDLP培地[日本製薬株式会社]9 mlに、また試験液0.1 mlをSCDLP培地9.9 mlに添加し、試験液中の生菌数を菌数測定用培地を用いて測定した。

なお、対照として、精製水を用いて同様に試験し、開始時及び30分後に生菌数を測定した。

以 上

