

報 告 書

大工研報第 0281号

| | | |
|---------|----------------|--------------|
| 依 頼 者 | 所 在 地 または住所 | 大阪府吹田市広芝町9-9 |
| | 企 業 名 または氏名 | 関西化工株式会社 様 |
| 研 究 題 目 | 次亜塩素酸水による抗菌試験 | |

平成 27 年 4 月 13 日付 第 275023 号で依頼のあった件について
研究した結果を次のとおり報告します。

1. 研究目的

依頼者より提出された水溶液の抗菌性を評価する。

2. 研究方法

1) 試料

- ・次亜塩素酸水 (名称は依頼者の申し出による)
試料 (次亜塩素酸水) は依頼者が調製、提出したもので、水溶液であった。
- ・生理食塩水 (名称は依頼者の申し出による)
対照試料として0.85%の生理食塩水を調製し、試験に用いた。

合計2試料

2) 試験菌の調製

- ・試験菌：メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus* IID1677)
- ・調製法：5 mLの普通ブイヨン培地(栄研化学(株))を用い、試験菌を27 °Cで一晩振盪培養後、遠心分離により菌体を得、上澄み除去後、等量の生理食塩水(0.85%)に懸濁した。本菌懸濁液を生理食塩水で2.2倍に希釈し試験に用いた。

(次ページに続く)

平成 27 年 5 月 - 8 日

地方独立行政法人大阪市立工業研究所

理 事 長 中 許 昌 美



3) 試験操作

菌懸濁液0.05 mLをプラスチック容器に入れた試料4.95 mLに接種した後、25 °Cに置いた。1分後、3分後、5分後に、この菌懸濁液0.05 mLを4.95 mLのSCDLP培地「ダイゴ」(日本製薬(株))中に回収し(操作1)、滅菌した生理食塩水で10倍ずつ4段階希釈を行い、これら菌懸濁液1 mL中の生菌数を測定した。

4) 生菌数の測定

衛生試験法・注解(2005) 1.2.1.1細菌一般試験法 3)菌数測定 (1)混釈平板培養法(p.59)を参考にして行った。ただし、微生物の培養にはSCDLP寒天培地「ダイゴ」(日本製薬(株))を用い、27 °Cで3日間培養しコロニー数をカウントした。

3. 研究結果

以下に、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus* IID1677) を接種した後の試験試料溶液中の25 °Cでの生菌数の変化を示す。

表 微生物を接種した試験試料溶液中の生菌数

| 試験菌名 | 提出試料名 | 測定 | 生菌数* (cfu/mL)** | 操作1に対応するシャーレ上に検出されたコロニー数 |
|----------------|--------|----------|--------------------|--------------------------|
| メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 | 次亜塩素酸水 | 接種1 min後 | 検出限界以下 | 4 |
| | | 接種3 min後 | 検出限界以下 | 0 |
| | | 接種5 min後 | 検出限界以下 | 0 |
| | 生理食塩水 | 接種5 min後 | 7.1×10^6 | 300以上 |
| | — | 接種時(対照) | 7.4×10^6 | 300以上 |

*) 生菌数は、菌液を接種した試料中の生菌数濃度に換算した。また、シャーレ上に30以上のコロニーが認められた場合に計測した。この場合、検出限界は 3.0×10^3 cfu/mL となる。

**) cfu : コロニー形成単位

—以 上—

報 告 書

大工研報第 0282 号

| | | |
|---------|----------------|--------------|
| 依 頼 者 | 所 在 地 または住所 | 大阪府吹田市広芝町9-9 |
| | 企 業 名 または氏名 | 関西化工株式会社 様 |
| 研 究 題 目 | 次亜塩素酸水による抗菌試験 | |

平成 27 年 4 月 13 日付 第 275023 号で依頼のあった件について
研究した結果を次のとおり報告します。

1. 研究目的

依頼者より提出された水溶液の抗菌性を評価する。

2. 研究方法

1) 試料

- ・次亜塩素酸水 (名称は依頼者の申し出による)
試料 (次亜塩素酸水) は依頼者が調製、提出したもので、水溶液であった。
- ・生理食塩水 (名称は依頼者の申し出による)
対照試料として0.85%の生理食塩水を調製し、試験に用いた。

合計2試料

2) 試験菌の調製

- ・試験菌：大腸菌0157 (*Escherichia coli* SEROTYPE O157:H7 ATCC43888)
(ベロ毒素非産生株)
- ・調製法：5 mLの普通ブイヨン培地(栄研化学(株))を用い、試験菌を27℃で一晩振盪培養後、遠心分離により菌体を得、上澄み除去後、等量の生理食塩水(0.85%)に懸濁した。本菌懸濁液を生理食塩水で11倍に希釈し試験に用いた。

(次ページに続く)

平成27 年5 月-8 日

地方独立行政法人大阪市立工業研究所

理 事 長 中 許 昌 美



3) 試験操作

菌懸濁液0.05 mLをプラスチック容器に入れた試料4.95 mLに接種した後、25 °Cに置いた。1分後、3分後、5分後に、この菌懸濁液0.05 mLを4.95 mLのSCDLP培地「ダイゴ」(日本製薬(株))中に回収し(操作1)、滅菌した生理食塩水で10倍ずつ4段階希釈を行い、これら菌懸濁液1 mL中の生菌数を測定した。

4) 生菌数の測定

衛生試験法・注解(2005) 1.2.1.1細菌一般試験法 3)菌数測定 (1)混釈平板培養法(p.59)を参考にして行った。ただし、微生物の培養にはSCDLP寒天培地「ダイゴ」(日本製薬(株))を用い、27 °Cで3日間培養しコロニー数をカウントした。

3. 研究結果

以下に、ベロ毒素非産生大腸菌0157 (*Escherichia coli* SEROTYPE O157:H7 ATCC43888) を接種した後の試験試料溶液中の25 °Cでの生菌数の変化を示す。

表 微生物を接種した試験試料溶液中の生菌数

| 試験菌名 | 提出試料名 | 測定 | 生菌数* (cfu/mL)** | 操作1に対応するシャーレ上に検出されたコロニー数 |
|-----------------------|--------|----------|--------------------|--------------------------|
| 大腸菌0157 (ベロ毒素非産生株) | 次亜塩素酸水 | 接種1 min後 | 検出限界以下 | 0 |
| | | 接種3 min後 | 検出限界以下 | 0 |
| | | 接種5 min後 | 検出限界以下 | 0 |
| | 生理食塩水 | 接種5 min後 | 7.9×10^6 | 300以上 |
| | — | 接種時(対照) | 7.7×10^6 | 300以上 |

*) 生菌数は、菌液を接種した試料中の生菌数濃度に換算した。また、シャーレ上に30以上のコロニーが認められた場合に計測した。この場合、検出限界は 3.0×10^3 cfu/mL となる。

**) cfu : コロニー形成単位

—以 上—

報 告 書

大工研報第 0283 号

| | | |
|---------|----------------|--------------|
| 依 頼 者 | 所 在 地 または住所 | 大阪府吹田市広芝町9-9 |
| | 企 業 名 または氏名 | 関西化工株式会社 様 |
| 研 究 題 目 | 次亜塩素酸水による抗菌試験 | |

平成 27 年 4 月 13 日付 第 275023 号で依頼のあった件について
研究した結果を次のとおり報告します。

1. 研究目的

依頼者より提出された水溶液の抗菌性を評価する。

2. 研究方法

1) 試料

- ・次亜塩素酸水 (名称は依頼者の申し出による)
試料 (次亜塩素酸水) は依頼者が調製、提出したもので、水溶液であった。
- ・生理食塩水 (名称は依頼者の申し出による)
対照試料として0.85%の生理食塩水を調製し、試験に用いた。

合計2試料

2) 試験菌の調製

- ・試験菌：サルモネラ (*Salmonella enterica* subsp. *enterica* IFO3313)
- ・調製法：5 mLの普通ブイヨン培地(栄研化学(株))を用い、試験菌を27 °Cで一晩振盪培養後、遠心分離により菌体を得、上澄み除去後、等量の生理食塩水(0.85%)に懸濁した。本菌懸濁液を生理食塩水で9倍に希釈し試験に用いた。

(次ページに続く)

平成27 年 5 月 - 8 日

地方独立行政法人大阪市立工業研究所

理 事 長 中 許 昌 美



3) 試験操作

菌懸濁液0.05 mLをプラスチック容器に入れた試料4.95 mLに接種した後、25 °Cに置いた。1分後、3分後、5分後に、この菌懸濁液0.05 mLを4.95 mLのSCDLP培地「ダイゴ」(日本製薬(株))中に回収し(操作1)、滅菌した生理食塩水で10倍ずつ4段階希釈を行い、これら菌懸濁液1 mL中の生菌数を測定した。

4) 生菌数の測定

衛生試験法・注解(2005) 1.2.1.1細菌一般試験法 3)菌数測定 (1)混釈平板培養法(p.59)を参考にして行った。ただし、微生物の培養にはSCDLP寒天培地「ダイゴ」(日本製薬(株))を用い、27 °Cで3日間培養しコロニー数をカウントした。

3. 研究結果

以下に、サルモネラ (*Salmonella enterica* subsp. *enterica* IFO3313) を接種した後の試験試料溶液中の25 °Cでの生菌数の変化を示す。

表 微生物を接種した試験試料溶液中の生菌数

| 試験菌名 | 提出試料名 | 測定 | 生菌数* (cfu/mL)** | 操作1に対応するシャーレ上に検出されたコロニー数 |
|-------|--------|----------|--------------------|--------------------------|
| サルモネラ | 次亜塩素酸水 | 接種1 min後 | 検出限界以下 | 0 |
| | | 接種3 min後 | 検出限界以下 | 0 |
| | | 接種5 min後 | 検出限界以下 | 0 |
| | 生理食塩水 | 接種5 min後 | 7.4×10^6 | 300以上 |
| | — | 接種時(対照) | 6.4×10^6 | 300以上 |

*) 生菌数は、菌液を接種した試料中の生菌数濃度に換算した。また、シャーレ上に30以上のコロニーが認められた場合に計測した。この場合、検出限界は 3.0×10^3 cfu/mL となる。

**) cfu : コロニー形成単位

—以 上—



報告書

大工研報第 0284号

| | | |
|------|---------------|--------------|
| 依頼者 | 所在地 または住所 | 大阪府吹田市広芝町9-9 |
| | 企業名 または氏名 | 関西化工株式会社 様 |
| 研究題目 | 次亜塩素酸水による抗菌試験 | |

平成 27 年 4 月 13 日付 第 275023 号で依頼のあった件について
研究した結果を次のとおり報告します。

1. 研究目的

依頼者より提出された水溶液の抗菌性を評価する。

2. 研究方法

1) 試料

- ・次亜塩素酸水 (名称は依頼者の申し出による)
試料 (次亜塩素酸水) は依頼者が調製、提出したもので、水溶液であった。
- ・生理食塩水 (名称は依頼者の申し出による)
対照試料として0.85%の生理食塩水を調製し、試験に用いた。

合計2試料

2) 芽胞の調製

- ・試験菌：セレウス菌 (*Bacillus cereus* IAM12605)
- ・Schaeffer's sporulation medium (SSM培地)の調製
Nutrient Broth (Difco) 8 g、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.25 g、KCl 1 g、1M $FeSO_4$ 1 μ Lを蒸留水 1 Lに加え、2 M NaOHでpHを7.1に調整した後、20 gの寒天を加え、高圧蒸気滅菌した後、濾過滅菌した50 mM $MnCl_2$ を200 μ Lと20% $Ca(NO_3)_2$ を1180 μ L添加し、シャーレに分注後、固化させた。

・セレウス菌の培養

LB培地(ペプトン10g、酵母エキス5g、食塩10g、水1L)に*Bacillus cereus* IAM12605を接種し、27℃で18時間振盪培養し菌液を得た。その50 μ Lを5枚の
(次ページに続く)

平成 27 年 5 月 -8 日

地方独立行政法人大阪市立工業研究所

理事長 中 許 昌 美



各 SSM 培地に塗布し 30 °C で 7 日間培養した。

・芽胞懸濁液の調製

5 枚の各シャーレに 2 mL の滅菌水を入れてコンラージ棒で懸濁し、15 mL のコンカルチューブに菌液を集め約 5 mL とし、80 °C で 20 分間熱処理した。コンカルチューブに菌液を集め、氷冷した後に 7000 rpm で 10 分間遠心分離した。上澄みを捨て、約 9 mL の滅菌水を加えて沈殿を懸濁し、7000 rpm で 10 分間遠心分離した。上澄みを捨て、約 9 mL の滅菌水を加えて沈殿を懸濁し、7000 rpm で 10 分間遠心分離した。約 5 mL の滅菌水を加えて沈殿を懸濁し、得られた懸濁液を 1 mL ずつ -80 °C で保存し、芽胞懸濁液とした。

3) 試験操作

2) で得られた芽胞懸濁液を解凍後、遠心分離により沈殿を得、0.2 mL の生理食塩水 (0.85%) に懸濁した。この 0.05 mL をプラスチック容器に入れた試料 4.95 mL に接種した後、25 °C に置いた。1 分後、3 分後、5 分後に、この菌懸濁液 0.05 mL を 4.95 mL の SCDLP 培地「ダイゴ」(日本製薬(株)) 中に回収し(操作 1)、滅菌した生理食塩水で 10 倍ずつ 4 段階希釈を行い、これら菌懸濁液 1 mL 中の生菌数を測定した。

4) 生菌数の測定

衛生試験法・注解(2005) 1.2.1.1 細菌一般試験法 3) 菌数測定 (1) 混釈平板培養法 (p.59) を参考にして行った。ただし、微生物の培養には SCDLP 寒天培地「ダイゴ」(日本製薬(株)) を用い、27 °C で 3 日間培養しコロニー数をカウントした。

3. 研究結果

以下に、セレウス菌 (*Bacillus cereus* IAM12605) の芽胞を接種した後の試験試料溶液中の 25 °C での生菌数の変化を示す。

表 微生物を接種した試験試料溶液中の生菌数

| 試験菌名 | 提出試料名 | 測定 | 生菌数* (cfu/mL)** | 操作 1 に対応するシャーレ上に検出されたコロニー数 |
|---------------|---------------|------------|--------------------|----------------------------|
| セレウス菌 (芽胞) | 次亜塩素酸水 | 接種 1 min 後 | 検出限界以下 | 6 |
| | | 接種 3 min 後 | 検出限界以下 | 0 |
| | | 接種 5 min 後 | 検出限界以下 | 0 |
| | 生理食塩水 (0.85%) | 接種 5 min 後 | 6.9×10^6 | 300 以上 |
| | — | 接種時(対照) | 7.3×10^6 | 300 以上 |

*) 生菌数は、菌液を接種した試料中の生菌数濃度に換算した。また、シャーレ上に 30 以上のコロニーが認められた場合に計測した。この場合検出限界は 3.0×10^3 cfu/mL となる。

**) cfu : コロニー形成単位