

株式会社 RO プラス 様

試験報告書

「クローツ溶液（二酸化塩素水）」による殺菌効力試験

北生発 25_0230 号

平成 25 年 11 月 29 日

神奈川県相模原市南区北里 1 丁目 15 番 1 号

一般財団法人 北里環境科学センター

理事長 伊藤 俊洋

試験内容を公表する際は、結果の表記等について専門的な立場から確認させていただいております。なお、確認目的と申込様式は、ホームページに収載しております。

(http://www.kitasato-e.or.jp/?page_id=87)

1. 試験目的

「クローツ溶液（二酸化塩素水）」の腸管出血性大腸菌 O157 に対する殺菌効果を確認した。

2. 依頼者

名 称：株式会社 RO プラス

所在地：〒101-0052 東京都千代田区神田小川町 2-2

3. 試験機関

名 称：一般財団法人 北里環境科学センター

所在地：〒252-0329 神奈川県相模原市南区北里 1-15-1

担 当：微生物部バイオ技術課

4. 試験期間

平成 25 年 11 月 25 日～平成 25 年 11 月 28 日

5. 試験液

「クローツ溶液（二酸化塩素水）」

- 1) 200 ppm
- 2) 100 ppm
- 3) 50 ppm

上記濃度、各 200 mL

6. 試験条件

- 1) 作用時間：0（初期）、5 分
- 2) 作用温度：25 ± 2 °C

7. 試験菌と菌液の調製方法

1) 試験菌

Escherichia coli (O157 : H7) RIMD509939 (腸管出血性大腸菌 O157)

2) 菌液の調製

凍結保存された菌株を Tryptic Soy Agar (Difco、以下「TSA 培地」) で 36 ± 2 °C、18 時間培養した。この培養菌を新たな TSA 培地に移植して、36 ± 2 °C、20 時間培養した。発育した集落をかき取り、滅菌精製水に懸濁して約 10⁷ CFU/mL に調製し、これを試験菌液とした。

8. 試験方法

1) 殺菌効力試験

殺菌効力試験は以下の手順により行った。

あらかじめ 25 ± 2 °Cに保持した試験液を 50 mL 容量の遠心管に 10 mL 分取した。そこへ試験菌液 0.1 mL を加え、試験管ミキサーで混合して0分（初期）、5分作用させた。所定時間作用後、1 mL を不活性化剤* 9 mL に添加して、細菌に対する殺菌作用を停止させた。これを菌数測定用試料液とした。なお、作用時間 0（初期）および陰性対照は、試験液の代わりに 減菌蒸留水（大塚製薬）を用いた。

*；不活性化剤として有効性を確認した0.3%チオ硫酸ナトリウム添加SCDLP培地（栄研化学）を用いた。試験液の不活性化剤としての有効性確認試験手順と結果を10 項に示した。

2) 菌数測定

菌数測定用試料液を原液として、滅菌生理食塩液で 10倍段階希釈列を作製し、原液および希釈液の各 1 mL をシャーレに移し、TSA培地と混和し 36 ± 2 °Cで48時間培養した。培養後、培地上に発育した集落を数えて、試験液 1 mL あたりの試験菌数を求めた（検出限界値 10 CFU／試験液1 mL）。

9. 試験結果

菌数測定の結果を表・1 に示した。結果には、陰性対照の菌数と試験液作用後の菌数対数値の差から求めた菌数対数減少値（=LRV: log reduction value）と、試験時における各試験液の pH を表内に示した。

初期菌数は、 4.2×10^5 CFU/mL であった。陰性対照（滅菌蒸留水）5 分間の菌数は 4.8×10^5 CFU/mL であり、初期菌数からの変動はほとんど認められなかった。一方、本試験条件で最も濃度の低い試験液「クローツ溶液（二酸化塩素水）」50 ppm においても、試験菌に対して 5 分間の作用で検出限界値未満（< 10 CFU/mL）となり、LRV は 4.6 以上であった。

以上の結果より、「クローツ溶液（二酸化塩素水）」200 ppm, 100 ppm, 50 ppm の腸管出血性大腸菌 O157 に対する殺菌効果が認められた。

以上

表・1 試験液による腸管出血性大腸菌 O157 に対する殺菌効力試験結果

試験条件	pH ^{※1}	作用時間		LRV ^{※2} 5分間
		0(初期)	5分	
陰性対照 滅菌蒸留水		4.2×10^5	4.8×10^5	
「クローツ溶液(二酸化塩素水) 50 ppm	10.2		<10	>4.6
「クローツ溶液(二酸化塩素水) 100 ppm	10.4		<10	>4.6
「クローツ溶液(二酸化塩素水) 200 ppm	10.5		<10	>4.6

※1 ; HORIBA, COMPACT pH METER B-212 ガラス電極法

※2 ; LRV (菌数対数減少値) : \log_{10} (5 分作用後の対照の菌数 : 各試験液の菌数)

試験菌 : *Escherichia coli* (O157 : H7) RIMD509939 (腸管出血性大腸菌 O157)

試験菌液の菌数 : 4.2×10^7 CFU/mL

菌数単位 : CFU/mL

検出限界値 : 10 CFU/mL

10. 不活性化剤の有効性確認試験

1) 目的

試験液による試験菌に対する殺菌作用を停止させる目的で使用する不活性化剤の有効性を確認した。なお、用いた試験液は本試験条件で最も濃度の高い 200 ppm 試験液とした。

2) 方法

不活性化剤 (0.3% チオ硫酸ナトリウム添加 SCDLP 培地) 9 mL に試験液 1 mL を加え混合した (試験液 10 倍希釈)。これに約 10^4 CFU/mL の菌液を 0.1 mL 接種し、常温で 20 分間作用させた後、この混合液の菌数を測定した。

なお、対照として、試験液のかわりに蒸留水を用いた。

不活性化剤の有効性は、第十六改正日本薬局方 4.05 - I - 3.5 に準拠し、下記判定基準によって判定した。

判定基準： B (不活性化剤処理後の菌数) / A (対照の菌数) × 100 = 50 ~ 200% 以内

3) 結果

試験結果を表・2 に示した。対照 (蒸留水) に菌液を 20 分間作用させた場合の菌数は 95 CFU/mL であった。また、試験液を不活性化剤 (0.3% チオ硫酸ナトリウム添加 SCDLP 培地) で 10 倍に希釈した液に菌液を 20 分間作用させた場合の菌数は 93 CFU/mL であり、対照との菌数の比率は 98% であった。

以上より、10. 2) 項に示した判定基準以内であった為、不活性化剤は試験液に対して有効と判定した。

表・2 不活性化剤の有効性確認試験結果

試験液	使用不活性化剤 (試験液希釈率)	菌数 (CFU/mL)		(A)との比※1 (%)	有効性の 判定結果※2
		対照 (A)	不活性化剤 (B)		
「クローツ溶液 (二酸化塩素水) 200 ppm	0.3% チオ硫酸 ナトリウム添加 SCDLP 培地 (10倍)	95	93	98	有効

※1 ; B/A × 100

※2 ; 比率が 50~200% 以内で有効と判定した (第十六改正日本薬局方)