

殺菌効果試験

平成25年10月22日

試験依頼先 一般財団法人 日本食品分析センター

試験成績書発行年月日 平成25年10月22日

試験成績書発行番号 第13078378001-01号

1 依頼者

株式会社 日本衛生システム

2 検体

- 1) スーパーアルファ水
- 2) エタノール

3 試験目的

検体の微生物に対する殺菌効果を試験する。

4 試験概要

検体に枯草菌(芽胞)、枯草菌、大腸菌、大腸菌(血清型O157:H7、ペロ毒素 I 及び II 型産生株)、緑膿菌、黄色ブドウ球菌又はクロカワカビの菌液を接種後(以下「試験液」という。)、20℃で保存し、10、30、及び60秒並びに5及び10分後に試験液中の生菌数を測定した。

なお、あらかじめ予備試験を行い、生菌数の測定方法について検討した。

5 試験結果

結果を表一1に示した。また、培養後の生菌数測定平板の一例を写真一1～21に示した。

なお、試験液をSCDLP培地(クロカワカビはGPLP培地)で10倍に希釈することにより、検体の影響を受けずに生菌数の測定ができることを予備試験により確認した。

第13078378号

1 検体

- 1) スーパーアルファ水
- 2) エタノール

2 試験結果

結果を表一に示した。

表一 試験液の生菌数測定結果

試験菌	対象	生菌数(/mL)					
		開始時*	10秒後	30秒後	60秒後	5分後	10分後
枯草菌 (芽胞)	検体1)スーパーアルファ水	8.0×10^7	9.9×10^7	8.5×10^7	3.7×10^7	<10	<10
	検体2)エタノール	9.8×10^7	1.3×10^8	1.1×10^8	1.2×10^8	7.9×10^7	8.6×10^7
枯草菌	検体1)スーパーアルファ水	1.5×10^7	70	20	<10	<10	<10
	検体2)エタノール	1.5×10^7	2.4×10^2	1.6×10^2	1.9×10^2	1.9×10^2	1.5×10^2
大腸菌	検体1)スーパーアルファ水	3.3×10^7	<10	<10	<10	<10	<10
	検体2)エタノール	3.3×10^7	<10	<10	<10	<10	<10
大腸菌 (O157:H7)	検体1)スーパーアルファ水	5.4×10^7	<10	<10	<10	<10	<10
	検体2)エタノール	5.4×10^7	<10	<10	<10	<10	<10
緑膿菌	検体1)スーパーアルファ水	6.5×10^7	<10	<10	<10	<10	<10
	検体2)エタノール	6.5×10^7	<10	<10	<10	<10	<10
黄色 ブドウ球菌	検体1)スーパーアルファ水	1.4×10^8	80	<10	<10	<10	<10
	検体2)エタノール	1.4×10^8	<10	<10	<10	<10	<10
クロカワ カビ	検体1)スーパーアルファ水	1.3×10^5	<10	<10	<10	<10	<10
	検体2)エタノール	1.3×10^5	<10	<10	<10	<10	<10

<10: 検出せず

保存温度 : 20°C

試験液: 検体49mLに試験菌液mL(大腸菌は検体10mLに試験液0.1mLを添加、混合

したもの

* 添加菌液の生菌数を測定し、試験液1mLあたりに換算した。

以上

第 13078378001-01号

6 試験方法

1) 試験菌

- ① Bacillus subtilis NBRC 3134(枯草菌)
- ② Escherichia coli NBRC 3972(大腸菌)
- ③ Escherichia coli ATCC 43895(大腸菌、血清型O157:H7、ペロ毒素 I 及び II 型産生株)
- ④ Pseudomonas aeruginosa NBRC 13275(緑膿菌)
- ⑤ Staphylococcus aureus subsp. aureus NBRC 12732(黄色ブドウ球菌)
- ⑥ Cladosporium cladosporides NBRC 6348(クロカワカビ)

2) 菌測定培地及び培養条件

試験菌①、③、④及び⑤

標準寒天培地[栄研化学株式会社]、混釈平板培養法、 $30^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、3日間

試験菌②

SCDLP寒天培地[日本製薬株式会社]、混釈平板培養法、 $30^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、3日間

試験菌⑥

ポテトデキストロース寒天培地[栄研化学株式会社]、混釈平板培養法、 $25^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、7日間

3) 試験菌液の調整

試験菌①(芽胞)

ソイビーン・カゼイン・ダイジェストカンテン培地[栄研化学株式会社]で $35^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、7~10日間培養した試験菌の生理食塩水に懸濁させ、 $70^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、20分間加熱し、栄養細胞を死滅させた。この懸濁液を遠心分離して上澄み液を除いた後、菌体を生理食塩水に懸濁させ、菌数が $10^9/\text{mL}$ となるように調整し、芽胞液とした。芽胞液そのものを試験菌液とした。

試験菌①~⑤

試験菌を普通ブイヨン培地[栄研化学株式会社]で $30^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、24時間、振とう培養(約100r/min)した。得られた培養液を遠心分離(3000r/min、10分間)して上澄み液を取り除いた後、菌体を生理食塩水に懸濁させた。再度遠心分離(3000r/min、10分間)し、上澄み液を取り除いた後、菌体を生理食塩水に懸濁させ、菌数が $10^8\sim 10^9/\text{mL}$ となるように調整し、試験菌液とした。

第 13078378001-01号

試験菌⑥

試験菌をPotato Dextrose Agar(Difco)で $25^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、7日間培養した後、胞子を0.1%ポリソルベート80(Twee80)加生理食塩水に懸濁させ、不織布フィルターでろ過後、ろ液を氷冷し、遠心分離(5°C 、12000r/min、5分間)した。次に、上澄み液を取り除き、胞子を生理食塩水に懸濁させ、再度遠心分離(5°C 、12000r/min、5分間)した。さらに、上澄み液を取り除き、胞子を生理食塩水に懸濁させ、遠心分離(5°C 、12000r/min、5分間)し、上澄み液を取り除いた。菌体を生理食塩水に懸濁させ、菌数が $10^6\sim 10^7/\text{mL}$ となるように調整し、試験菌液とした。

4) 試験操作

検体49mLに試験菌液1mL(試験菌②は検体10mLに試験菌液を1.0mL)接種し、試験液とした。20±1℃で保存し、保存10、30及び60秒並びに5及び10分後に試験液をSCDLP培地[日本製薬株式会社](試験菌⑥はGPLP培地[日本製薬株式会社])で直ちに10倍に希釈し、試験液中の生菌数を菌数測定用培地を用いて測定した。