

株式会社 ニチワ 殿

試験報告書

強酸性電解水「マイクロキラー」による
各種細菌に対する殺菌効力試験

北生発 23_0353_2 号

平成 24 年 3 月 14 日

神奈川県相模原市南区北里 1 丁目 15 番 1 号
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場合は、事前に当センターの確認が必要です。
また、本報告書記載の試験結果は供試品に対するものであり、
荷口(ロット)全体の品質を証明するものではありません。

1. 試験目的

強酸性電解水による各種細菌に対する殺菌効力を評価することを目的とした。

2. 依頼者

名 称：株式会社 ニチワ

所在地：〒151-0062 東京都渋谷区元代々木町 31-1

3. 試験機関

名 称：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 24 年 3 月 6 日～3 月 9 日

5. 試験水

強酸性電解水 「ミクロキラー」

(貴社提供品, 貴社設定値：有効塩素濃度 50 mg/L, pH2)

6. 試験条件

1) 作用時間：直後 (対照のみ)、15 秒、300 秒

2) 作用温度：25 ± 2℃

7. 試験菌

Escherichia coli (O157:H7) RIMD509939 (腸管出血性大腸菌 O157 ; ベロ毒素産生株)

Shigella sonnei GTC781 (抗原性 D 亜群, ソンネ赤痢菌)

Salmonella enterica subsp. *enterica* NBRC3313 (サルモネラ)

Staphylococcus aureus NBRC12732 (黄色ブドウ球菌)

Vibrio parahaemolyticus NBRC12711 (腸炎ビブリオ)

8. 試験方法

1) 試験菌液の調製

凍結保存された菌株を前培養して、約 10⁷ CFU/mL に調製し、これを試験菌液とした。
各試験菌の前培養および菌液調製条件を表 1 に示した

表 1. 試験菌の培養条件

試験菌	前培養条件	菌液調整液	菌数測定条件	希釈液
<i>Escherichia coli</i> (O157:H7)	Tryptic Soy Agar (Difco, 以下TSA) 36 ± 2℃ 16～20時間	イオン交換水	TSA 36 ± 2℃ 40～48時間	生理食塩液
<i>Shigella sonnei</i>				
<i>Salmonella enterica</i>				
<i>Staphylococcus aureus</i>				
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	3%塩化ナトリウム加 TSA 36 ± 2℃ 16～20時間	3%塩化ナトリウム溶液	3%塩化ナトリウ ム加TSA 36 ± 2℃ 40～48時間	3%塩化 ナトリウム溶液

2) 殺菌効力試験

あらかじめ25 ± 2℃に保持した試験水1 mLを50 mL容量の遠心管に分取し、試験菌液0.01 mLを接種、混合して所定時間作用させた。所定時間作用後に不活性化剤※ 9 mLを入れ、試験水の殺菌成分を不活性化したものを、菌数測定用試料液として菌数を測定した。

また、試験水の代わりに滅菌生理食塩液（腸炎ビブリオは3%塩化ナトリウム溶液）を用いて同様に操作したものを対照とした。

※；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）（腸炎ビブリオは3%塩化ナトリウム, 0.3%チオ硫酸ナトリウム添加SCDLP培地）を用いた。試験水の不活性化剤としての有効性確認試験手順と結果を最終10項に示した。

3) 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、試料液または希釈液の各1 mLを無菌的にシャーレに移し、TSA培地20 mL（腸炎ビブリオは3%塩化ナトリウム加TSA）と混合後、固化させて、表1の条件で培養した。培養後、培地上に発育した集落を数えて、試験水1 mLあたりの試験菌数を求めた（定量下限値 10 CFU/試験水1 mL）。

4) 有効塩素濃度および pH 測定

試験直前に試験水の有効塩素濃度を AQUAB AQ-102（柴田科学）で、pH を CMPACT pH METER, B-212（HORIBA）で測定した。

9. 試験結果

試験結果を表 2～6 および図 1～5 に示した。

強酸性電解水は作用 15 秒で、どの試験菌においても試験菌数は定量下限値未満 (<10 CFU/mL) となり、試験菌に対する殺菌効力が認められた。なお、対照の試験菌数は作用 300 秒後でも直後 (作用 0 秒) の菌数と変わらず、試験系に問題はないと判断した。

参考として、試験に用いた試験水の有効塩素濃度と pH を表 8 に示した。

以上

表 2. 試験水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	作用時間 (秒)		
	0*	15	300
対照 生理食塩液	390,000	470,000	460,000
強酸性電解水 「マイクロキラー」		<10	<10

CFU/試験水 1 mL

試験菌 : *Escherichia coli* (O157:H7) RIMD509939

(腸管出血性大腸菌 O157 ; ペロ毒素産生株)

作用温度 ; 25 ± 2°C

※ ; 対照の試験菌接種直後

試験水 ; 試験前有効塩素濃度 47 mg/L, pH 2.5 (25°C)

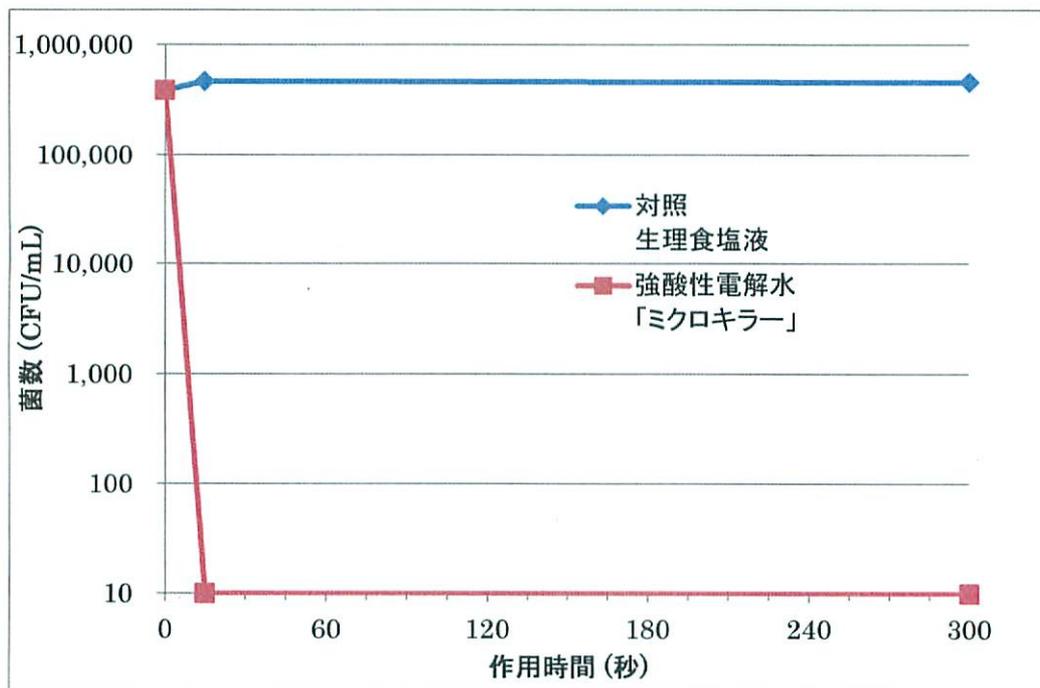


図 1. 試験水による腸管出血性大腸菌 O157 に対する殺菌効力試験結果

表 3. 試験水によるソンネ赤痢菌に対する殺菌効力試験結果

試験条件	作用時間 (秒)		
	0*	15	300
対照 生理食塩液	520,000	490,000	410,000
強酸性電解水 「マイクロキラー」		< 10	< 10

CFU/試験水 1 mL

試験菌 : *Shigella sonnei* GTC781 (抗原性 D 亜群, ソンネ赤痢菌)

作用温度 ; 25 ± 2°C

※ ; 対照の試験菌接種直後

試験水 ; 試験前有効塩素濃度 47 mg/L, pH 2.5 (25°C)

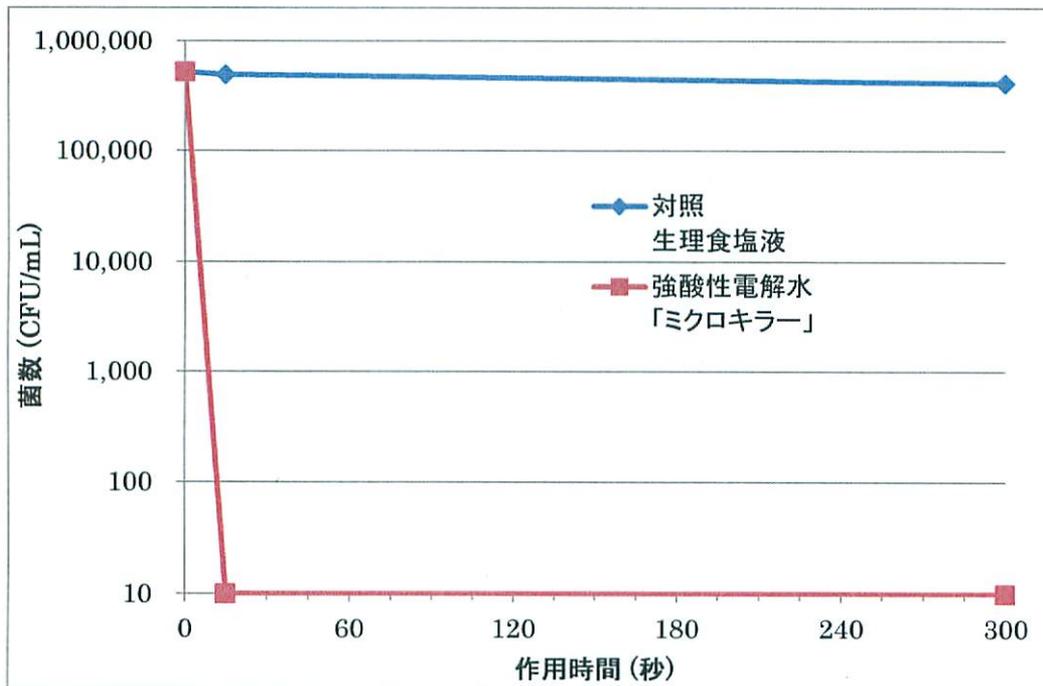


図 2. 試験水によるソンネ赤痢菌に対する殺菌効力試験結果

表 4. 試験水によるサルモネラに対する殺菌効力試験結果

試験条件	0*	作用時間 (秒)	
		15	300
対照 生理食塩液	440,000	550,000	540,000
強酸性電解水 「マイクロキラー」		<10	<10

CFU/試験水 1 mL

試験菌 : *Salmonella enterica* subsp. *enterica* NBRC3313 (サルモネラ)

作用温度 ; 25 ± 2°C

※ ; 対照の試験菌接種直後

試験水 ; 試験前有効塩素濃度 47 mg/L, pH 2.5 (25°C)

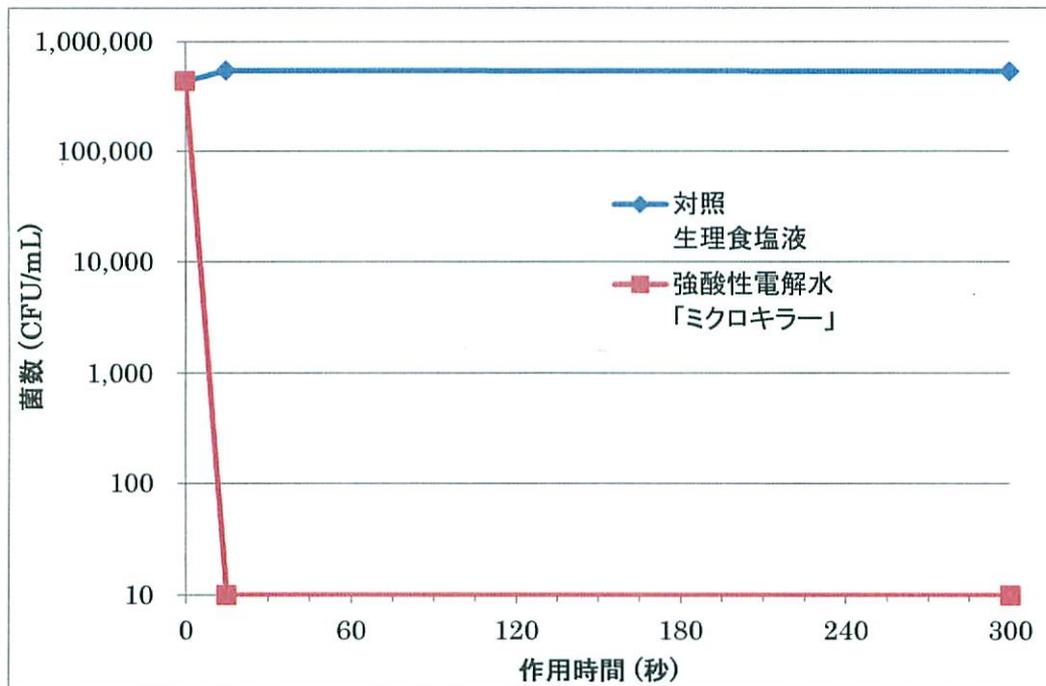


図 3. 試験水によるサルモネラに対する殺菌効力試験結果

表 5. 試験水による黄色ブドウ球菌に対する殺菌効力試験結果

試験条件	0*	作用時間 (秒)	
		15	300
対照 生理食塩液	490,000	450,000	460,000
強酸性電解水 「マイクロキラー」		<10	<10

CFU/試験水 1 mL

試験菌： *Staphylococcus aureus* NBRC12732 (黄色ブドウ球菌)

作用温度； 25 ± 2℃

※； 対照の試験菌接種直後

試験水； 試験前有効塩素濃度 47 mg/L, pH 2.5 (25℃)

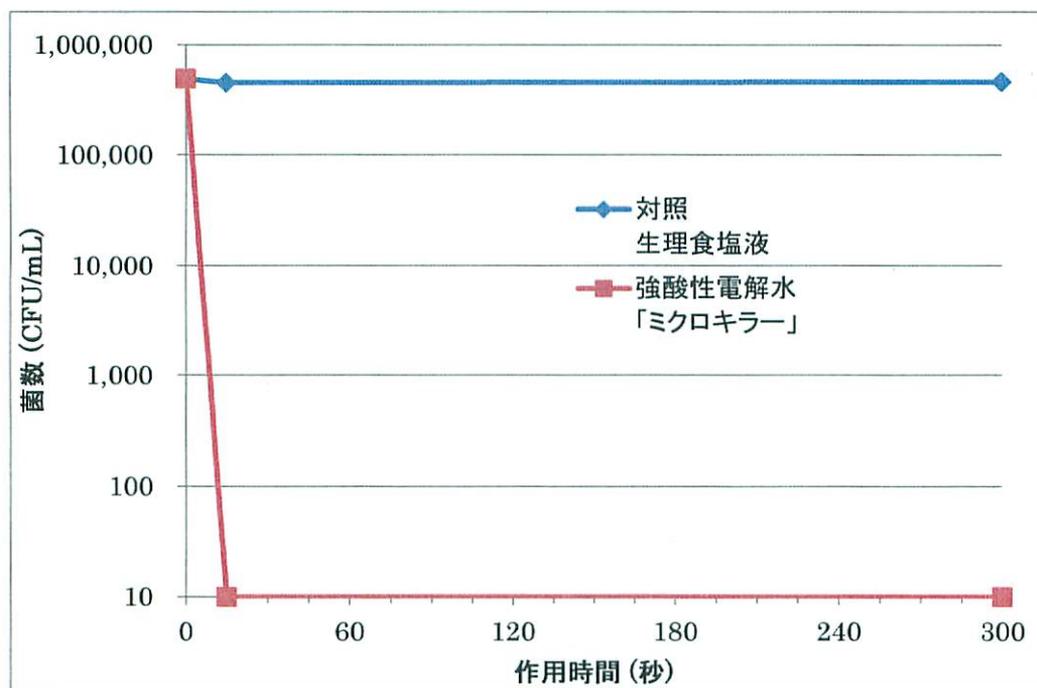


図 4. 試験水による黄色ブドウ球菌に対する殺菌効力試験結果

表 6. 試験水による腸炎ビブリオに対する殺菌効力試験結果

試験条件	作用時間 (秒)		
	0*	15	300
対照 3%塩化ナトリウム溶液	320,000	290,000	290,000
強酸性電解水 「マイクロキラー」		< 10	< 10

CFU/試験水 1 mL

試験菌： *Vibrio parahaemolyticus* NBRC12711 (腸炎ビブリオ)

作用温度； 25 ± 2℃

※； 対照の試験菌接種直後

試験水； 試験前有効塩素濃度 47 mg/L, pH 2.5 (25℃)

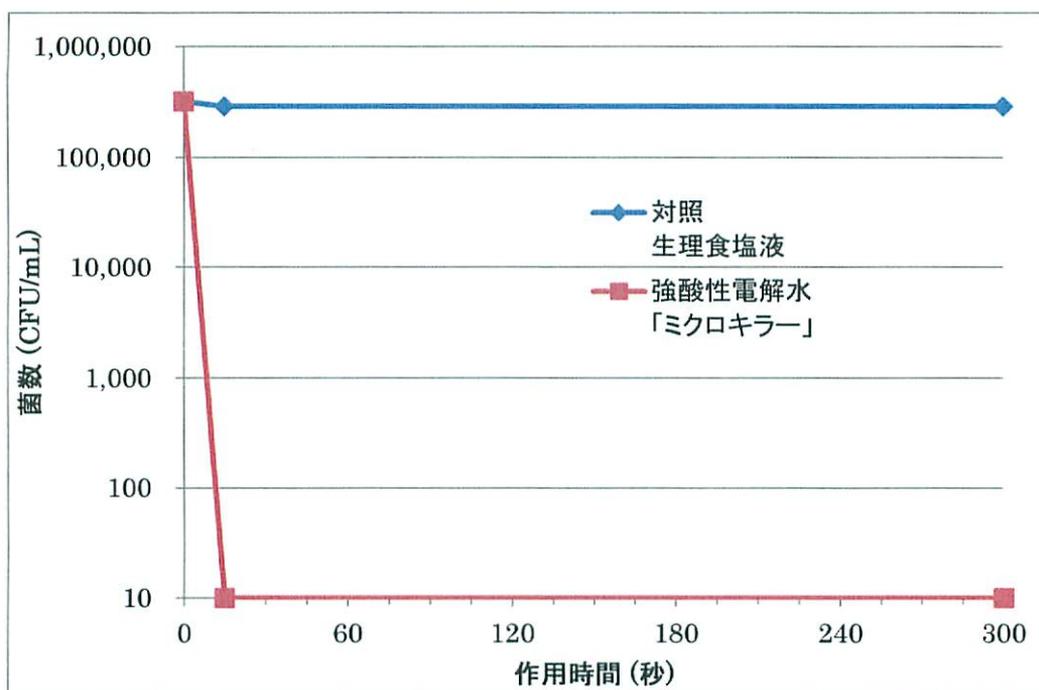


図 5. 試験水による腸炎ビブリオに対する殺菌効力試験結果

10. 不活性化剤の有効性確認試験

1) 目的

試験水による試験菌への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。

2) 方法

不活性化剤（0.3%チオ硫酸ナトリウム加 SCDLP 培地、腸炎ビブリオは 3%塩化ナトリウム、0.3%チオ硫酸ナトリウム加 SCDLP 培地）9 mL に試験水 1 mL を加え混合した（試験水 10 倍希釈）。これに約 10^4 CFU/mL の菌液を 0.1 mL 接種し、 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ で 20 分間作用させたものを試料液とし、試料液 1 mL あたりの菌数を測定した。

なお、試験水のかわりに滅菌生理食塩液（腸炎ビブリオは 3%塩化ナトリウム溶液）を用いたものを対照とした。

不活性化剤の有効性は、日本薬局方に基づき、下記の計算式で - 50%未満を無効と判定した。

$$\text{判定：} \left[\left(\text{B 不活性化剤処理後の菌数} / \text{A 対照の菌数} \right) - 1 \right] \times 100 \geq - 50\%$$

3) 結果

結果を表 7 に示した。10. 2) 項に示した判定基準以内であった為、不活性化剤は試験水に対して有効と判定した。

表 7. 不活性化剤の有効性確認試験結果

試験水	試験菌	使用不活性化剤 (試験水希釈率)	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)		
強酸性電解水 「マイクロキラー」	<i>Escherichia coli</i> (O157:H7)	0.3%チオ硫酸 ナトリウム加 SCDLP培地 (10倍)	190	190	0	有効
	<i>Shigella sonnei</i>		130	130	0	有効
	<i>Salmonella</i> <i>enterica</i>		150	160	7	有効
	<i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i>		98	92	-6	有効
	<i>Vibrio</i> <i>parahaemolyticus</i>	3%塩化ナトリウム、 0.3%チオ硫酸ナトリウ ム加SCDLP培地 (10倍)	67	63	-6	有効

※1 ; $\left[\left(\text{B/A} \right) - 1 \right] \times 100$

※2 ; - 50%未満を無効と判定

参考データ

試験水の性状

表 8. 試験水の有効塩素濃度および pH 測定結果

試験水	有効塩素濃度 ^{※1} (mg/L)	pH ^{※2}
強酸性電解水 「マイクロキラー」 (50 mg/L・pH2)	47	2.5

※1 ; AQUAB AQ-102 (柴田科学) で測定

※2 ; CMPACT pH METER, B-212 (HORIBA) で測定