

亜塩素酸水の食品添加物の指定に関する添加物部会報告書（案）

1. 品目名

亜塩素酸水

英名：Chlorous Acid Water

CAS 番号：13898-47-0（亜塩素酸として）

2. 化学式及び分子量

化学式 HClO_2 （亜塩素酸、主たる有効成分として）

分子量 68.46

3. 用途

殺菌料

4. 殺菌効果を有する分子種

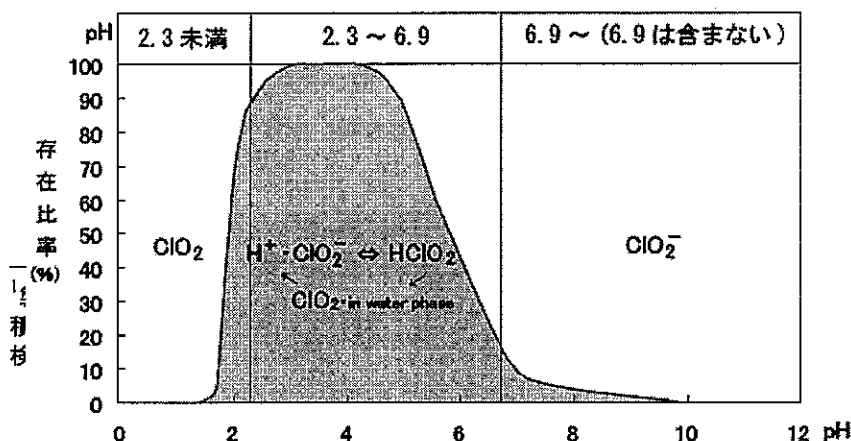
 HClO_2 、 ClO_2^- 、 $\text{ClO}_2 \cdot$ in water phase

5. 概要及び諸外国での使用状況

1) 概要

亜塩素酸水は、飽和塩化ナトリウム溶液に塩酸を加え、酸性条件下で、無隔膜電解槽（隔膜を隔てられていない陽極及び陰極で構成されたものをいう。）内で電解して得られる水溶液に、硫酸を加えて強酸性とし、生成する塩素酸に過酸化水素水¹を加えて反応させて得られる水溶液である。

また、亜塩素酸（ HClO_2 ）を含有する製剤としては、FDAにおいて間接食品添加物として許可されているASC（Acidified Sodium Chlorite solutions：酸性化亜塩素酸塩）があるが、これは、亜塩素酸ナトリウムの希釈液にGRAS（一般に安全とみなされる物質；Generally Recognized as Safe Substances）の酸類を用いてpH 2.3～3.2の酸性領域下に調製することにより生成するものである。亜塩素酸水には、塩素系化合物として HClO_2 のほか、 ClO_2^- 、 $\text{ClO}_2 \cdot$ in water phaseが混在しうる。なお、 HClO_2 は、解離状態の $\text{H}^+ \cdot \text{ClO}_2^-$ と非解離状態の HClO_2 とが平衡状態になった状態を指し、pH 2.3～6.9の範囲内において亜塩素酸水に含有される塩素酸化物の存在比は図1のとおりである。



¹に過酸化水素が添加されたとしても、製造した亜塩素酸水から過酸化水素は

図 1 亜塩素酸水が含有する塩素酸化物の pH による存在比の変化（事業者提供資料より）

2) 諸外国での使用状況

米国において、ASC は、USDA（米国農務省）と FDA から安全な食品添加物として、全家禽胴体肉、未処理の家禽胴体の部分、赤肉及び内臓肉、挽き肉形成肉、果実、野菜、香辛料及び水産物に対して、その使用が許可されており、さらに EPA（米国環境保護庁）において食品表面の殺菌剤として承認されている。

また、肉査察で USDA と同等の合意をしている全ての国（カナダ、オーストラリア等）では、肉加工場において全家禽胴体肉の前処理、部分胴体、赤肉及び臓器肉の後冷却処理に対して、ASC の使用が承認されている。また、非食品用として、病院、歯科治療室及び製薬工場のクリーンルーム等の殺菌と消毒に使用されており、さらに、酪農工業における乳頭消毒剤としても使用されている。

6. 有効性

1) *in vitro*における亜塩素酸水の殺菌効果

亜塩素酸水の殺菌力を検討するため、細菌類、真菌類（酵母）、真菌類（かび）に対して pHごとに試験を実施した。

(1) 試験管内評価試験に用いた微生物一覧

試験に用いた微生物及びその供試した理由については、表 1 のとおりである。

表 1 試験に用いた微生物一覧表

		供試菌名	供試した理由
食中毒細菌	B-1	サルモネラ菌 <i>Salmonella enteritidis</i> IF03313	牛肉・食鳥肉加工品における食中毒で、サルモネラ菌がその原因物質の1つとなっていることから被検菌とした。
	B-2	カンピロバクター菌 <i>Campylobacter jejuni</i> JCM2013	鶏肉、牛肉などの食肉製品を原因食品として本菌を原因物質とした食中毒が非常に多く発生していることから被検菌とした。
	B-3	黄色ブドウ球菌 <i>Staphylococcus aureus</i> IFO 12732	加工食品において毒素型食中毒菌として本菌を原因物質とした食中毒が非常に多く発生していることから被検菌とした。
	B-4	大腸菌 <i>Escherichia coli</i> IFO3927	食中毒原因物質として病原性大腸菌が問題となっており、大腸菌対策は特に重要と考え本菌を被検菌とした。
	B-5	腸管出血性大腸菌 O-157 <i>Escherichia coli</i> O157:H7	加工食品に汚染し、腸管出血性大腸菌を原因物質とした食中毒事例が多く発生していることから本菌を被検菌とした。
	B-6	腸炎ビブリオ菌 <i>Vibrio parahaemolyticus</i> NBRC12711	海産物における食中毒は、海洋由来の腸炎ビブリオがその原因物質となっていることから本菌を被検菌とした。
食腐敗細菌	B-7	乳酸菌 <i>Leuconostoc mesenteroides</i> NBRC 3832	食肉加工品、漬物類、練り製品加熱、水産物を原料とする加工品等広く加工食品において腐敗、劣化の原因菌とされていることから被検菌とした。
	B-8	セレウス菌(栄養細胞) <i>Bacillus cereus</i> NBRC15305	加熱処理工程のある食品における食中毒原因物質としてセレウス菌がその原因物質となっていることから被検菌とした。
	B-9	セレウス菌(芽胞) <i>Bacillus cereus</i> NBRC15305	加熱処理工程のある食品における食中毒原因物質としてセレウス菌がその原因物質となっていることから被検菌とした。

微生物(酵母)	Y-1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> IFO0216	加工食品における腐敗、異臭の原因となっており、品質管理上問題となっていることから被検菌とした。
	Y-2	<i>Candida albicans</i> NBRC1594	加工食品における腐敗、異臭の原因となっており、品質管理上問題となっていることから被検菌とした。
	Y-3	<i>Hansenula anomala</i> NBRC10213	加工食品における腐敗、異臭の原因となっており、品質管理上問題となっていることから被検菌とした。
微生物(カビ)	F-1	<i>Aspergillus flavus</i> NBRC33021	食品の腐敗の原因であり、アフラトキシン産生菌でもあることから被検菌とした。
	F-2	<i>Fusarium graminearum</i> NBRC9462	食品の腐敗の原因であり、アフラトキシン産生菌でもあることから被検菌とした。
	F-3	<i>Penicillium thomii</i> NBRC31394	食品の腐敗原因真菌類となっていることから本菌を被検菌とした。
	F-4	<i>Cladosporium metanigrum</i> NBRC6353	食品の腐敗原因真菌類となっていることから本菌を被検菌とした。

(2) 試験管内試験方法

① 亜塩素酸水の製造法

亜塩素酸水を用いて、必要に応じた濃度調製を行い本試験に用いた。各試験に用いた亜塩素酸水の性状については調製ごとに確認検査を実施し記載した。

② 「亜塩素酸水」濃度の定量法

調製した本品約 5g を精秤し、イオン交換水を加えて全量を 100.0ml とする。本調製済み液をガス洗浄瓶に入れ、液が無色になるまで窒素をガス洗浄瓶に吹き込み、試料液とした。本試料液 20ml を精秤し、別に用意したヨウ素瓶に入れ、次に硫酸 10.0ml を加えた後、ヨウ化カリウム 1g を加え、直ちに密栓をして均一になるように振って混合した。ヨウ素瓶の上部にヨウ化カリウム試液を加え流し、均一に混合してから暗所にて 15 分間放置した。15 分放置後、栓を緩めてヨウ化カリウム試液を更に加えた。直ちに密栓して均一になるように十分に混合した。遊離したヨウ素を 0.1mol/L チオ硫酸ナトリウムで滴定した。この時の指示薬はデンプン試液を用いた。尚、指示薬は液の色が淡黄色に変化した後に加えた。別に空試験を行い補正した。

$$0.1\text{mol/Lチオ硫酸ナトリウム溶液}1\text{ml}=1.711\text{mg HClO}_2$$

③ 緩衝液の調製方法

本試験において、殺菌効果へのpHの影響を検討する際に、緩衝液を調製し用いたが、それぞれの緩衝液は下記の手順に従い調製し、本試験用緩衝液として調製した。それぞれの調製液は i) ~ ix) に示した。

i) pH3.5緩衝液の調製方法

0.1mol/Lクエン酸溶液を調製し、その13.93mlに、0.2mol/Lりん酸水素二ナトリウム溶液6.07ml加えpH3.5緩衝液を調製した。

ii) pH4.0緩衝液の調製方法

0.1mol/Lクエン酸溶液を調製し、その12.29mlを調製し、0.2mol/Lりん酸水素二ナトリウム溶液7.71ml加えpH4.0緩衝液を調製した。

iii) pH4.5緩衝液の調製方法

0.1mol/Lクエン酸溶液を調製し、その10.92mlに、0.2mol/Lりん酸水素二ナトリウム溶液9.09mlを加えpH4.5緩衝液を調製した。

iv) pH5.0緩衝液の調製方法

0.1mol/Lクエン酸溶液を調製し、その9.70mlに、0.2mol/Lりん酸水素二ナトリウム溶液10.30mlを加えpH5.0緩衝液を調製した。

v) pH5.5緩衝液の調製方法

0.1mol/Lクエン酸溶液を調製し、その8.63mlに、0.2mol/Lりん酸水素二ナトリウム溶液11.38mlを加えpH5.5調製した。

vi) pH6.0緩衝液の調製方法

0.1mol/Lクエン酸溶液を調製し、その7.33mlに、0.2mol/Lりん酸水素二ナトリウム溶液12.63mlを加えpH6.0緩衝液を調製した。

vii) pH6.5緩衝液の調製方法

0.1mol/Lクエン酸溶液を調製し、その5.80mlに、0.2mol/Lりん酸水素二ナトリウム溶液14.20mlを加え、pH6.5に調製した。

viii) pH7.0緩衝液の調製方法

0.1mol/Lクエン酸溶液を調製し、その3.53mlに、0.2mol/Lりん酸水素二ナトリウム溶液16.47mlを加えpH7.0に調製した。

ix) pH7.5緩衝液の調製方法

0.1mol/Lクエン酸溶液を調製し、その1.55mlに、0.2mol/Lりん酸水素二ナトリウム溶液18.45mlを加えpH7.5に調製した。

注：腸炎ビブリオ菌の試験を実施する場合は、3%食塩を添加して調製した。

④被検菌濃厚懸濁液の調製方法

B-1：サルモネラ菌 *Salmonella enteritidis* IF03313

本被検菌を普通寒天培地（栄研化学株式会社製）上に塗抹し、37℃で24時間培養した後、培地上に発育したコロニーを白金耳で釣菌し、滅菌済み生理食塩水にて濃厚懸濁した。本液を遠心処理して、上澄液を除去し、菌体を再度、滅菌済み生理食塩水に均一に懸濁し、サルモネラ菌濃厚懸濁液（ 10^8 個/ml）とした。菌液の調製は濁度により調製することで菌数を一定量となるようにした。

B-2：カンピロバクター *Campylobacter jejuni* JCM2013

本被検菌のグリセロールストック（-70℃）を白金耳で1ループ分5%ヒツジ血液寒天培地へ塗布し、37℃で48時間、微好気培養を行った。微好気培養は角型ジャーとアネロパック微好気（いずれも三菱ガス化学社製）を用いて行った。5%ヒツジ血液寒天培地上に発育したコロニーを白金耳で釣菌し、あらかじめ37℃で微好気状態に48時間置いた50mlのブレインハートインフュージョン（BHI）液体培地（Difco社製）に接種し、37℃で48時間、微好気培養を行った。混濁した菌液を50mlの遠沈管に移し、6,000 rpm、15分間遠心することにより菌体を回収した後、洗浄のため30mlの滅菌済み生理食塩水にて濃厚懸濁した。本液を遠心処理して、上澄液を除去し、菌体を再度、滅菌済み生理食塩水に均一に懸濁し、カンピロバクター菌濃厚懸濁液（ 10^8 個/ml）とした。菌液の調製は濁度により調製することで菌数を一定量となるようにした。

B-3：黄色ブドウ球菌 *Staphylococcus aureus* IF012732

本被検菌を卵黄加マンニット食塩培地(栄研化学株式会社製)上に塗抹し、37℃で48時間培養した後、培地上に発育したコロニーを白金耳で釣菌し、滅菌済み生理食塩水にて濃厚懸濁し、乾熱滅菌済み不織布で濾過を行った。本液を遠心処理して、上澄液を除去し、菌体を再度、滅菌済み生理食塩水に均一に懸濁し、黄色ブドウ球菌濃厚懸濁液(10^8 個/ml)とした。菌液の調製は濁度により調製することで菌数を一定量となるようにした。

B-4：大腸菌 *Escherichia coli* IF03927

B-5：腸管出血性大腸菌 *Escherichia coli* O-157:H7

本被検菌を普通寒天培地(栄研化学株式会社製)上に塗抹し、37℃で24時間、培養した後、培地上に発育したコロニーを白金耳で釣菌し、滅菌済み生理食塩水にて濃厚懸濁した。本液を遠心処理して、上澄液を除去し、菌体を再度、滅菌済み生理食塩水に均一に懸濁し、大腸菌濃厚懸濁液(10^8 個/ml)とした。菌液の調製は濁度により調製することで菌数を一定量となるようにした。

B-6：腸炎ビブリオ菌 *Vibrio parahaemolyticus* NBRC12711

本被検菌を3%食塩含有標準寒天培地(栄研化学株式会社製)上に塗抹し、37℃、48時間、培養した後、培地上に発育したコロニーを白金耳で釣菌し、滅菌3%食塩添加イオン交換水にて濃厚懸濁した。本液を遠心処理して、上澄液を除去し、菌体を再度滅菌3%食塩添加イオン交換水に均一に懸濁し、腸炎ビブリオ菌濃厚懸濁液(10^8 個/ml)とした。菌液の調製は濁度により調製することで菌数を一定量となるようにした。

B-7：乳酸菌 *Leuconostoc mesenteroides* NBRC3832

本被検菌をBCP加プレート寒天培地(栄研化学株式会社製)上に塗抹し、37℃、48時間、培養した後、培地上に発育したコロニーを白金耳で釣菌し、滅菌済み生理食塩水にて濃厚懸濁した。本液を遠心処理して、上澄液を除去し、菌体を再度滅菌済み生理食塩水に均一に懸濁し、乳酸菌濃厚懸濁液(10^8 個/ml)とした。菌液の調製は濁度により調製することで菌数を一定量となるようにした。

B-8：セレウス菌(栄養細胞 [Vegetative cell]) *Bacillus cereus* NBRC15305

本被検菌を卵黄加CW寒天平板培地(栄研化学株式会社製)上に塗抹し、37℃、24時間、培養した。さらに同種の培地に塗抹し同条件で培養した。この操作を3回繰り返した。3回目の培地上に発育したコロニーを白金耳で釣菌し、滅菌済み生理食塩水にて濃厚懸濁し、乾熱滅菌済み不織布で濾過を行った。本液を遠心処理して、上澄液を除去し、菌体を再度滅菌済み生理食塩水に均一に懸濁し、セレウス菌(栄養細胞)濃厚懸濁液(10^8 個/ml)とした。菌液の調製は濁度により調製することで菌数を一定量となるようにした。

B-9：セレウス菌(芽胞 [Spore]) *Bacillus cereus* NBRC15305

本被検菌を卵黄加CW寒天平板培地(栄研化学株式会社製)上に塗抹し、37℃、10日間培養した後、培地上に発育したコロニーを白金耳で釣菌し、滅菌済み生理食塩水にて濃厚懸濁し、

乾熱滅菌済み不織布で濾過を行った。本菌液を 85℃、5 分間加熱処理を行い、加熱処理後直ちに冷水につけた。その懸濁液を遠心処理して、上澄液を除去し、菌体を再度滅菌済み生理食塩水に均一に懸濁し、セレウス菌(芽胞)濃厚懸濁液(10^8 個/ml)とした。菌濃度は 1 / 10 段階希釈培養方法で、芽胞数を測定、濃度を調製した。尚、使用までは冷蔵保管(5℃)に保管し、必要に応じて使用した。ただし、2 週間以内に使用し、それを超えたものは使用しなかった。また、多数の芽胞の形成は染色を行い、顕微鏡観察で確認した。

Y-1 : 酵母 *Saccharomyces cerevisiae* IF00216

Y-2 : 酵母 *Candida albicans* NBRC1594

Y-3 : 酵母 *Hansenula anomala* NBRC10213

本被検菌をポテトデキストロース寒天平板培地(栄研化学株式会社製)上に塗抹し、25℃、5 日間培養した後、培地上に発育したコロニーを白金耳で釣菌し、滅菌済み生理食塩水にて濃厚懸濁した。本液を遠心処理して、上澄液を除去し、菌体を再度滅菌済み生理食塩水に均一に懸濁し、酵母濃厚懸濁液(10^8 個/ml)とした。菌液の調製は濁度により調製することで菌数を一定量となるようにした。

F-1 : *Aspergillus flavus* NBRC33021

F-2 : *Fusarium graminearum* NBRC9462

F-3 : *Penicillium thomii* NBRC31394

F-4 : *Cladosporium metanigrum* NBRC6353

本被検菌をポテトデキストロース寒天平板培地(栄研化学株式会社製)上に塗抹し、30℃で 14 日間、培養した後、培地上に発育したコロニーを白金耳で釣菌し、0.05%界面活性剤(Tween 20)含有滅菌済み生理食塩水にて懸濁し、乾熱滅菌済み不織布で濾過を行った。本液を遠心処理して、上澄液を除去し、菌体を再度 0.05%界面活性剤(Tween 20)含有滅菌済み生理食塩水に均一に懸濁し、カビ濃厚懸濁液(10^8 個/ml)とした。菌液の調製はカビの生菌数をあらかじめ常法により測定して調製することでカビ数を一定量となるようにした。尚、使用までは冷蔵保管(4℃)に保管し、必要に応じて使用した。ただし、二週間以内に使用し、それを超えたものは使用しなかった。

⑤殺菌試験用試料液の調製方法

・セレウス菌(芽胞 [Spore]) 以外

濃度調製済み亜塩素酸水と、被検菌との接触時の亜塩素酸濃度が 10ppm、50ppm、100ppm、400ppm になるように前述の緩衝液〔(2) 試験管内試験方法〕を用いて亜塩素酸水濃度を調製した。本殺菌液 9.0ml を各々滅菌済試験管に移し、各々殺菌試験用試料液とした。

尚、亜塩素酸水の濃度は亜塩素酸として緩衝液〔(2) 試験管内試験方法〕、亜塩素酸濃度で記述している。

・セレウス菌(芽胞 [Spore])

濃度調製済み亜塩素酸水と、被検菌との接触時の亜塩素酸濃度が 10ppm、25ppm、50ppm、100ppm、200ppm、300ppm、400ppm、500ppm になるように前述の緩衝液〔(2) 試験管内試験方法〕を用いて亜塩素酸水濃度を調製した。本殺菌液 9.0ml を各々滅菌済試験管に移し、各々

殺菌試験用試料液とした。

尚、亜塩素酸水の濃度は亜塩素酸として緩衝液〔(2) 試験管内試験方法〕、亜塩素酸濃度で記述している。

⑥殺菌液、被検菌接触方法及び殺菌力評価方法

各殺菌試験用試料液 9.0ml に、被検菌濃厚懸濁液(10^8 個/ml) 1.0mlを加え、均一に混合し、25℃ウォーターバス中にて保管、20 分間後に、再度均一に混合し、各 1.0ml を採取した。その採取した液を、滅菌済の 0.01mol/Lチオ硫酸ナトリウム溶液(各種緩衝液で調製) 9.0mL 中に加え、均一に混合後、更に 10 分放置後にシャーレ 2 枚に 1.0ml を採取した。その後は常法に従って混釈培養法により生残菌数の測定を行った。この時に用いた培地は各菌種毎に選択培地を用い、規定温度で、規定時間培養後、2 プレートに発生したコロニーの数を平均して、生残菌数として記述した。

以上の方法で実施し、生菌数の減少率から効果の有無、程度を判定した。 10^7 個/ml から 10 個/ml 以下に殺菌できた場合を完全殺菌として判定した。

⑦被検菌接触後の殺菌試料液中の残留亜塩素酸水の中和処理条件の適正性確認試験

本殺菌効果試験には殺菌料を使用するので最終培養時の各微生物の発育に対する、残留する殺菌料、中和剤の影響の有無について確認した。

0.01mol/Lチオ硫酸ナトリウム溶液を加えての中和処理により、残留塩素の有無を確認し、中和に必要とされる処理時間の確認試験を実施した。

亜塩素酸水と被検菌と接触する時のそれぞれの濃度が10ppm、50ppm、100ppm、400ppmになるように各緩衝液を用いて調製し、緩衝試料液とした。

滅菌済の0.01mol/Lチオ硫酸ナトリウム溶液(各種緩衝液で調製)9.0mlを滅菌済試験管に加え、更に、試料液1mlを加え、直ちに均一に混合し、25℃で保管した。所定時間毎に1分、3分、5分、10分後に取り出してから、定法に従い、定量を行い、残留塩素量を確認した。その結果、20分後には、残留塩素は定量限界以下であることが確認できた。(表2)

また、本液の1.0mlを寒天培地に加えて平板培地に調製し、その表面に各種の菌液1白菌耳を塗抹して発育の有無を確認した。表1に示した菌種のうちB-2, 3, 5, 7以外の菌種において、亜塩素酸濃度10ppm、50ppm、100ppm、400ppm及び保管時間 3分、5分、10分、20分後の全ての試験区においても発育が確認できた。

この試験結果から中和処理条件による殺菌効果評価への影響はないことが確認できたので、薬液処理後の中和方法としてはこの方法で問題ないことが確認できた。

表 2 中和処理による殺菌効果への影響確認結果

	亜塩素酸水の亜塩素酸濃度 (ppm)			
設定濃度	10	50	100	400
3分後	-	-	-	-
5分後	-	-	-	-
10分後	-	-	-	-
20分後	-	-	-	-

注：－；未検出（検出限界 0.1ppm）

(3) 試験管内評価の結果

上記(1)の微生物を供試し、殺菌効果の確認を行った。なお、接触条件は 25℃・20 分間とした。なお、塩素系殺菌料は殺菌効果に被検菌との接触時の pH の影響を受けることが報告されていることから、殺菌効果確認の重要要素として pH 条件を加えて検討した。

試験結果一覧は、以下のとおり。なお、菌数 10 未満となるの殺菌効果を確認した殺菌料の濃度 (ppm) を表 3 に記載した。

表 3 評価試験の結果一覧表

		pH	3.5	4.0	4.5	5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5
食中毒細菌	サルモネラ菌 <i>Salmonella enteritidis</i> IFO3313	<10	<10	<10	50	50	50	50	50	50	50
	カンピロバクター菌 <i>Campylobacter jejuni</i> JCM2013	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	50	50
	黄色ブドウ球菌 <i>Staphylococcus aureus</i> IFO 12732	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	50	50
	大腸菌 <i>Escherichia coli</i> IFO3927	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
	腸管出血性大腸菌 O-157 <i>Escherichia coli</i> O157:H7	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
	腸炎ビブリオ菌 <i>Vibrio parahaemolyticus</i> NBRC12711	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
食中毒・腐敗細菌	乳酸菌 <i>Leuconostoc mesenteroides</i> NBRC 3832	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
	セレウス菌(栄養細胞) <i>Bacillus cereus</i> NBRC15305	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
	セレウス菌(芽胞) <i>Bacillus cereus</i> NBRC15305	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200
微生物(酵母)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> IFO0216	<10	<10	<10	<10	<10	<10	50	50	50	50
	<i>Candida albicans</i> NBRC1594	<10	<10	<10	<10	<10	50	50	50	50	50
	<i>Hansenula anomala</i> NBRC10213	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	50	50	50
微生物(カビ)	<i>Aspergillus flavus</i> NBRC33021	50	50	50	50	100	100	100	100	100	100
	<i>Fusarium graminearum</i> NBRC9462	<10	<10	50	50	50	50	100	100	100	100
	<i>Penicillium thomii</i> NBRC31394	<10	<10	50	50	50	50	50	50	50	50
	<i>Gladosporium metanigrum</i> NBRC6353	<10	<10	50	50	50	50	50	50	50	100

注) 接触時の濃度：ppm

亜塩素酸水は弱酸性域で特に安定した、広い範囲での殺菌効果が確認された。

2) 食品に対する亜塩素酸水の殺菌効果

亜塩素酸水の使用基準の対象食品群に対して、その効果を検討した。

(1) 食品の選定と微生物の選定理由

本試験を実施した食品の選定理由及び供試した微生物の種類と選定の理由については、表4のとおり。

表 4 食品の選定と微生物の選定理由

食品群	対象食品	対象菌種	対象食材及び対象菌種の選定理由	資料番号
野菜類	青ネギ	一般細菌 <i>Escherichia coli</i> IFO 3313	青ネギは使用用途も広く多量に使用されており、野菜類の中でも青ネギは特に粘性物質を多量に含むことから汚染細菌の除去が困難とされている。また、生食野菜類は食中毒原因物質として病原性大腸菌O-157等が問題となっている。 大腸菌を強制的に汚染させ、その殺菌効果について確認した。	B-1
魚介類	生鮮サマ	一般細菌 <i>Vibrio parahaemolyticus</i> NBRC 12711	回転寿司、刺身用途に多量に提供されているが、加工工程でも加熱処理が出来ないこと、海産物であることから海洋由来の腸炎ビブリオ菌がその原因物質とされる食中毒が発生している。 加工環境を考慮して腸炎ビブリオを強制的に汚染させ、その殺菌効果について確認した。	B-2
穀類 (精白米)	うるち米	一般細菌 <i>Bacillus cereus</i> NBRC 15305	米飯が工場レベルで製造され提供されるようになってからセレウス菌による食中毒は大きな問題となっている。 セレウス菌を強制的に汚染させ、その殺菌効果について確認した。	B-3
豆類	大豆	一般細菌 <i>Bacillus cereus</i> NBRC 15305	加熱処理工程のある豆類が工場レベルで製造され提供されるようになってからセレウス菌による食中毒は大きな問題となっている。 セレウス菌を強制的に汚染させ、その殺菌効果について確認した。	B-4
肉類	牛肉	一般細菌 <i>Escherichia coli</i> IFO 3313 <i>Staphylococcus aureus</i> IFO 12732 <i>Salmonella enteritidis</i> IFO 3313	牛肉加工品での食中毒は食品由来の病原性大腸菌類、サルモネラ菌と、処理工程由来の黄色ブドウ球菌が問題となっている。 大腸菌、サルモネラ菌、黄色ブドウ球菌を強制的に汚染させ、その殺菌効果について確認した。	B-5
肉類	鶏肉	一般細菌 <i>Escherichia coli</i> IFO 3313 <i>Staphylococcus aureus</i> IFO 12732 <i>Salmonella enteritidis</i> IFO 3313 <i>Campylobacter jejuni</i> JCM2013	食鳥肉加工品での食中毒は食品由来の病原性大腸菌類、サルモネラ菌と、処理工程由来の黄色ブドウ球菌が問題となっている。 大腸菌、サルモネラ菌、黄色ブドウ球菌を強制的に汚染させ、その殺菌効果について確認した。 なお、カンピロバクターについても同様殺菌効果について確認した。	B-6
果実類	イチゴ	一般細菌 <i>Penicillium thomii</i> NBRC 31394	イチゴなどの果物はケーキなどのスイーツ類の食材として多量に使用されているが、果物に付着している微生物が危害原因物質となっており、食中毒の原因となる大腸菌や、酢酸エチルの生成原因になる	B-7

		<i>Aspergillus flavus</i> NBRC 33021 <i>Cladosporium metanigrum</i> NBRC 6353 <i>Escherichia coli</i> IFO 3313 <i>Hansenula anomala</i> NBRC10213	酵母、カビの発生とアフラトキシンの蓄積などが懸念される。 大腸菌、カビ、酵母類を強制的に汚染させ、その殺菌効果について確認した。	
藻類	ワカメ (塩蔵)	一般細菌 <i>Vibrio parahaemolyticus</i> NBRC 12711 <i>Escherichia coli</i> IFO 3313	サラダ類、麺類などの用途に多量に提供されているが、海産物であることから海洋由来の腸炎ビブリオ菌が食中毒原因物質とされている。また、加工環境も海辺の工場が多い。 加工環境を考慮して腸炎ビブリオ菌、大腸菌を強制的に汚染させ、その殺菌効果について確認した。	B-8
魚介類	ホタテ貝 (生貝)	一般細菌 <i>Vibrio parahaemolyticus</i> NBRC 12711 <i>Escherichia coli</i> IFO 3313	回転寿司、刺身用途に多量に提供されているが、加工工程でも加熱処理が出来ないこと、海産物であることから海洋由来の腸炎ビブリオ菌がその原因物質とされる食中毒が発生している。 加工環境を考慮して腸炎ビブリオ、大腸菌を強制的に汚染させ、その殺菌効果について確認した。	B-9
魚介類	紋甲イカ	一般細菌 <i>Vibrio parahaemolyticus</i> NBRC 12711 <i>Escherichia coli</i> IFO 3313	回転寿司、刺身用途に多量に提供されているが、加工工程でも加熱処理が出来ないこと、海産物であることから海洋由来の腸炎ビブリオ菌がその原因物質とされる食中毒が発生している。 加工環境を考慮して腸炎ビブリオ、大腸菌を強制的に汚染させ、その殺菌効果について確認した。	B-10

(2) 食品における試験方法

①殺菌液の調製方法

亜塩素酸水を亜塩素酸としての濃度が各々25、50、100、200、300、400、500ppm になるように調製し、各々を亜塩素酸水希釈殺菌液として本試験に供試した。

②試験操作及び検査手順

試験手順は図 B-1-1～B-10-1 に示した方法で実施し、所定箇所でサンプルを採取し、菌数の測定を常法に従って実施した。

③菌懸濁液の調製方法

○カット済み青ネギ(資料番号：B-1)

大腸菌(*Escherichia coli* IFO 3313) 懸濁液の調製方法

被検菌を普通寒天培地(栄研化学株式会社製)上に塗抹し、37℃で24時間、培養した後、培地上に発育したコロニーを白金耳で釣菌し、滅菌済み生理食塩水にて濃厚懸濁した。本液を遠心処理して、上澄液を除去し、菌体を再度、滅菌済み生理食塩水に均一に懸濁し、 10^8 個/mlの生菌数となるように調製し、噴霧用菌懸濁液とした。菌液の調製は濁度により調製することで菌数を一定量となるようにした。

○生鮮サンマ（資料番号：B - 2）

腸炎ビブリオ菌 *Vibrio parahaemolyticus* NBRC 12711 懸濁液の調製方法

3%食塩加普通寒天培地（栄研化学株式会社製）上に塗抹し、37℃で48時間培養後、培地上に増殖した菌体を集菌し、滅菌済み3%食塩添加イオン交換水に均一に懸濁した。本懸濁液を遠心分離し、再度、滅菌済み3%食塩添加イオン交換水に均一になるように懸濁し、 10^8 個/mlの生菌数となるように調製し、噴霧用菌懸濁液とした。菌液の調製は濁度により調製することで菌数を一定量となるようにした。

○うるち米（資料番号：B - 3）

セレウス菌〔芽胞〕 *Bacillus cereus* NBRC 15305 懸濁液の調製方法

卵黄加CW寒天平板培地（栄研株式会社製）上に塗抹し、37℃、10日間培養した後、培地上に発育したコロニーを白金耳で釣菌し、滅菌済み生理食塩水にて濃厚懸濁し、乾熱滅菌済み不織布で濾過を行った。本菌液を85℃、5分間加熱処理を行い、加熱処理後直ちに冷水につけた。その懸濁液を遠心処理して、上澄液を除去し、菌体を再度滅菌済み生理食塩水に均一に懸濁し、 10^8 個/mlの生菌数となるように調製し、噴霧用菌懸濁液とした。このときの菌液濃度の調製は生菌数を測定して調製し一定量とした。又、芽胞形成については染色し顕微鏡で確認した。尚、本懸濁液は0℃に保管し、2週間以内に使用した。2週間以上のものは使用しなかった。

○大豆（資料番号：B - 4）

セレウス菌〔芽胞〕 *Bacillus cereus* NBRC 15305 懸濁液の調製方法

卵黄加CW寒天平板培地（栄研株式会社製）上に塗抹し、37℃、10日間培養した後、培地上に発育したコロニーを白金耳で釣菌し、滅菌済み生理食塩水にて濃厚懸濁し、乾熱滅菌済み不織布で濾過を行った。本菌液を85℃、5分間加熱処理を行い、加熱処理後直ちに冷水につけた。その懸濁液を遠心処理して、上澄液を除去し、菌体を再度滅菌済み生理食塩水に均一に懸濁し、 10^8 個/mlの生菌数となるように調製し、噴霧用菌懸濁液とした。このときの菌液濃度の調製は生菌数を測定して調製し一定量とした。又、芽胞形成については染色し顕微鏡で確認した。尚、本懸濁液は0℃に保管し、2週間以内に使用した。2週間以上のものは使用しなかった。

○牛肉（資料番号：B - 5）

大腸菌 (*Escherichia coli* IF0 3313) 懸濁液及びサルモネラ菌 (*Salmonella enteritidis* IF0 3313) 懸濁液の調製方法

被検菌を普通寒天培地（栄研化学株式会社製）上に塗抹し、37℃で24時間培養した後、培地上に発育したコロニーを白金耳で釣菌し、滅菌済み生理食塩水にて濃厚懸濁した。本液を遠心処理して、上澄液を除去し、菌体を再度、滅菌済み生理食塩水に均一に懸濁し、懸濁液(10^8 個/ml)とした。本懸濁液中の菌濃度の調製は濁度により調製し菌数を一定量となるようにした。

黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus* IF0 12732) 懸濁液の調製方法

被検菌を普通寒天培地（栄研化学株式会社製）上に塗抹し、37℃で24時間培養した後、

培地上に発育したコロニーを白金耳で釣菌し、滅菌済み生理食塩水にて濃厚懸濁し、乾熱滅菌済み不織布で濾過を行った。本液を遠心処理して、上澄液を除去し、菌体を再度、滅菌済み生理食塩水に均一に懸濁し、黄色ブドウ球菌濃厚懸濁液(10^8 個/ml)とした。本懸濁液中の菌濃度の調製は濁度により調製し菌数を一定量となるようにした。

上記3種の菌懸濁液を等量ずつ混合し、本試験の噴霧用菌懸濁液とした。尚、本濃厚菌懸濁液は当日調製し、当日使用した。

○鶏肉（資料番号：B - 6）

大腸菌 (*Escherichia coli* IF0 3313) 懸濁液及びサルモネラ菌 (*Salmonella enteritidis* IF0 3313) 懸濁液の調製方法

被検菌を普通寒天培地(栄研化学株式会社製)上に塗抹し、37℃で24時間培養した後、培地上に発育したコロニーを白金耳で釣菌し、滅菌済み生理食塩水にて濃厚懸濁した。本液を遠心処理して、上澄液を除去し、菌体を再度、滅菌済み生理食塩水に均一に懸濁し、懸濁液(10^8 個/ml)とした。本懸濁液中の菌濃度の調製は濁度により調製し菌数を一定量となるようにした。

黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus* IF0 12732) 懸濁液の調製方法

被検菌を普通寒天培地(栄研化学株式会社製)上に塗抹し、37℃で24時間培養した後、培地上に発育したコロニーを白金耳で釣菌し、滅菌済み生理食塩水にて濃厚懸濁し、乾熱滅菌済み不織布で濾過を行った。本液を遠心処理して、上澄液を除去し、菌体を再度、滅菌済み生理食塩水に均一に懸濁し、黄色ブドウ球菌濃厚懸濁液(10^8 個/ml)とした。本懸濁液中の菌濃度の調製は濁度により調製し菌数を一定量となるようにした。

上記3種の菌懸濁液を等量ずつ混合し、本試験の噴霧用菌懸濁液とした。尚、本濃厚菌懸濁液は当日調製し、当日使用した。

カンピロバクター (*Campylobacter jejuni* JCM2013) 懸濁液の調製方法

本被検菌のグリセロールストック(-70℃)を白金耳で1ループ分5%ヒツジ血液寒天培地へ塗布し、37℃で48時間、微好気培養を行った。微好気培養は角型ジャーとアネロパック微好気(いずれも三菱ガス化学社製)を用いて行った。5%ヒツジ血液寒天培地上に発育したコロニーを白金耳で釣菌し、あらかじめ37℃で微好気状態に48時間置いた50mlのブレインハートインフュージョン(BHI)液体培地(Difco社製)に接種し、37℃で48時間、微好気培養を行った。混濁した菌液を50mlの遠沈管に移し、6,000 rpm, 15分間遠心することにより菌体を回収した後、洗浄のため30mlの滅菌済み生理食塩水にて濃厚懸濁した。本液を遠心処理して、上澄液を除去し、菌体を再度、滅菌済み生理食塩水に均一に懸濁し、カンピロバクター菌濃厚懸濁液(10^8 個/ml)とした。菌液の調製は濁度により調製することで菌数を一定量となるようにした。

なお、上記1種を、本試験の噴霧用菌懸濁液とした。尚、本濃厚菌懸濁液は当日調製し、当日使用し、上記3種の菌とは別に、実施した。

○イチゴ（資料番号：B - 7）

大腸菌 *Escherichia coli* IF0 3313 懸濁液の調製方法

普通寒天培地（栄研化学株式会社製）上に塗抹し、37℃・24 時間培養後、滅菌済み生理食塩水に懸濁した液を遠心分離し、再度、滅菌済み生理食塩水に均一になるように懸濁し、噴霧用菌懸濁液（ 10^8 個/ml）とした。菌液の調製は濁度により調製することで菌数を一定量となるようにした。尚、噴霧用菌懸濁液は当日調製し、当日使用した。

酵母 *Hansenula anomala* NBRC 10213 懸濁液の調製方法

本被検菌をポテトデキストロース寒天平板培地（栄研化学株式会社製）上に塗抹し、25℃、5 日間、培養した後、培地上に発育したコロニーを白金耳で釣菌し、滅菌済み生理食塩水にて濃厚懸濁した。本液を遠心処理して、上澄液を除去し、菌体を再度滅菌済み生理食塩水に均一に懸濁し、噴霧用菌懸濁液（ 10^8 個/ml）とした。菌液の調製は濁度により調製することで菌数を一定量となるようにした。尚、使用までは冷蔵保管（4℃）に保管し、必要に応じて使用した。ただし、二週間以内に使用し、それを超えたものは使用しなかった。

カビ *Aspergillus flavus* NBRC 33021 懸濁液、*Penicillium thomii* NBRC 31394 懸濁液及び *Cladosporium metanigrum* NBRC 6353 懸濁液の調製方法

本被検菌をポテトデキストロース寒天平板培地（栄研化学株式会社製）上に塗抹し、30℃で 14 日間、培養した後、培地上に発育したコロニーを白金耳で釣菌し、0.05%界面活性剤（Tween 20）含有滅菌済み生理食塩水にて懸濁し、乾熱滅菌済み不織布で濾過を行った。本液を遠心処理して、上澄液を除去し、菌体を再度 0.05%界面活性剤（Tween 20）含有滅菌済み生理食塩水に均一に懸濁し、噴霧用菌懸濁液（ 10^8 個/ml）とした。菌液の調製は生菌数をあらかじめ常法により測定して調製することで生菌数を一定量となるようにした。尚、使用までは冷蔵保管（4℃）に保管し、必要に応じて使用した。ただし、二週間以内に使用し、それを超えたものは使用しなかった。

上記 5 種の菌懸濁液を等量ずつ混合し、本試験の噴霧用濃厚菌懸濁液とした。尚、本濃厚菌懸濁液は当日調製し、当日使用した。

○ワカメ（資料番号：B - 8）

腸炎ビブリオ菌 *Vibrio parahaemolyticus* NBRC 12711 懸濁液の調製方法

3%食塩加普通寒天培地（栄研化学株式会社製）上に塗抹し、37℃で 48 時間培養後、培地上に増殖した菌体を集菌し、3%食塩添加イオン交換水に均一に懸濁した。本懸濁液を遠心分離し、再度 3%食塩添加イオン交換水に均一になるように懸濁し、 10^8 個/ml の生菌数となるように調製し、噴霧用菌懸濁液とした。菌液の調製は濁度により調製することで菌数を一定量となるようにした。

大腸菌 *Escherichia coli* IF0 3313 懸濁液の調製方法

普通寒天培地（栄研化学株式会社製）上に塗抹し、37℃・24 時間培養後、生理食塩水に懸濁した液を遠心分離し、再度、滅菌済み生理食塩水に均一になるように懸濁し、 10^8 個/ml の生菌数となるように調製し、噴霧用菌懸濁液とした。菌液の調製は濁度により調製することで菌数を一定量となるようにした。

上記 2 種の菌懸濁液を等量ずつ混合し、本試験の噴霧用濃厚菌懸濁液とした。尚、本濃厚菌懸濁液は当日調製し、当日使用した。

○ホタテ貝柱（資料番号：B - 9）

腸炎ビブリオ菌 *Vibrio parahaemolyticus* NBRC 12711 懸濁液の調製方法

3%食塩加普通寒天培地（栄研化学株式会社製）上に塗抹し、37℃で 48 時間培養後、培地上に増殖した菌体を集菌し、3%食塩添加イオン交換水に均一に懸濁した。本懸濁液を遠心分離し、再度 3%食塩添加イオン交換水に均一になるように懸濁し、 10^8 個/ml の生菌数となるように調製し、噴霧用菌懸濁液とした。菌液の調製は濁度により調製することで菌数を一定量となるようにした。

大腸菌 *Escherichia coli* IF0 3313 懸濁液の調製方法

普通寒天培地（栄研化学株式会社製）上に塗抹し、37℃・24 時間培養後、生理食塩水に懸濁した液を遠心分離し、再度、滅菌済み生理食塩水に均一になるように懸濁し、 10^8 個/ml の生菌数となるように調製し、噴霧用菌懸濁液とした。菌液の調製は濁度により調製することで菌数を一定量となるようにした。

上記 2 種の菌懸濁液を等量ずつ混合し、本試験の噴霧用濃厚菌懸濁液とした。尚、本濃厚菌懸濁液は当日調製し、当日使用した。

○紋甲イカ（資料番号：B - 10）

腸炎ビブリオ菌 *Vibrio parahaemolyticus* NBRC 12711 懸濁液の調製方法

3%食塩加普通寒天培地（栄研化学株式会社製）上に塗抹し、37℃で 48 時間培養後、培地上に増殖した菌体を集菌し、滅菌済み 3%食塩添加イオン交換水に均一に懸濁した。本懸濁液を遠心分離し、再度、滅菌済み 3%食塩添加イオン交換水に均一になるように懸濁し、 10^8 個/ml の生菌数となるように調製し、噴霧用菌懸濁液とした。菌液の調製は濁度により調製することで菌数を一定量となるようにした。

大腸菌 *Escherichia coli* IF0 3313 懸濁液の調製方法

普通寒天培地（栄研化学株式会社製）上に塗抹し、37℃・24 時間培養後、滅菌済み生理食塩水に懸濁した液を遠心分離し、再度、滅菌済み生理食塩水に均一になるように懸濁し、 10^8 個/ml の生菌数となるように調製し、噴霧用菌懸濁液とした。菌液の調製は濁度により調製することで菌数を一定量となるようにした。

上記 2 種の菌懸濁液を等量ずつ混合し、本試験の噴霧用濃厚菌懸濁液とした。尚、本濃厚菌懸濁液は当日調製し、当日使用した。

④細菌数の測定方法

○青ネギ（資料番号：B - 1）

各サンプル 10.0g をフィルトレイトバックに量り取り、滅菌済み生理食塩水 90.0g を加えた。ストマッカーで 1 分間処理した。その 1.0ml を 2 枚のシャーレに各々移し、平板希釈法に従って菌数測定を実施した。この時、各試験区の菌数は 2 枚のシャーレで測定し、その平均値から各サンプルの生残菌数とした。

一般細菌数測定としては普通寒天培地(栄研化学株式会社製) 37℃・48 時間培養する条件で測定した。

大腸菌群測定用培地としてはデソオキシコレート寒天培地(栄研化学株式会社製)を用い、37℃・24 時間培養する条件で実施し、同培地にピンク色～赤色コロニーを確認し、その数を測定し大腸菌群数とした。更に、大腸菌群、大腸菌数測定を目的として EC プレート／E. coli および大腸菌群測定用(住友スリーエム株式会社製)、35℃・24～48 時間培養し、定型コロニーから分別し、大腸菌と大腸菌群を特定し、各々を測定した。

○生鮮サンマ(資料番号：B - 2)

各サンプルをフィルトレイトバックに入れ、重量を量り、その重量の 9 倍量の 3%食塩添加イオン交換水を加えた。ストマッカーで 1 分間処理した。その 1.0ml を 2 枚のシャーレに各々移し、平板希釈法に従って菌数測定を実施した。この時、各試験区の菌数は 2 枚のシャーレで測定し、その平均値を各サンプルの生残菌数とした。

一般細菌数測定としては 3%食塩加普通寒天培地(栄研化学株式会社製)を用い、37℃・48 時間培養する条件で測定した。

腸炎ビブリオ菌測定用培地としては TCBS 寒天培地(栄研化学株式会社製)を用い、37℃・48 時間培養する条件で実施した。

○うるち米(資料番号：B - 3)

各サンプルをフィルトレイトバックに入れ、重量を量り、その重量の 9 倍量の滅菌済み生理食塩水を加えた。ストマッカーで 1 分間処理した。その 1.0ml を 2 枚のシャーレに各々移し、平板希釈法に従って菌数測定を実施した。この時、各試験区の菌数は 2 枚のシャーレで測定し、その平均値を各サンプルの生残菌数とした。

一般細菌数測定としては普通寒天培地(栄研化学株式会社製)を用い、37℃・48 時間培養する条件で測定した。セレウス菌測定用培地としては卵黄加 CW 寒天平板培地(栄研株式会社)を用い、37℃、48 時間培養する条件で実施した。

○大豆(資料番号：B - 4)

各サンプルをフィルトレイトバックに入れ、重量を量り、その重量の 9 倍量の滅菌済み生理食塩水を加えた。ストマッカーで 1 分間処理した。その 1.0ml を 2 枚のシャーレに各々移し、平板希釈法に従って菌数測定を実施した。この時、各試験区の菌数は 2 枚のシャーレで測定し、その平均値を各サンプルの生残菌数とした。

一般細菌数測定としては普通寒天培地(栄研化学株式会社製)を用い、37℃・48 時間培養する条件で測定した。セレウス菌測定用培地としては卵黄加 CW 寒天平板培地(栄研株式会社)を用い、37℃、48 時間培養する条件で実施した。

○牛肉(資料番号：B - 5)

各サンプルをフィルトレイトバックに入れ、重量を量り、その重量の 9 倍量の滅菌済み生理食塩水を加えた。ストマッカーで 1 分間処理した。その 1.0ml を 2 枚のシャーレに各々移し、平板希釈法に従って菌数測定を実施した。この時、各試験区の菌数は 2 枚のシャーレで測定し、その平均値を各サンプルの生残菌数とした。

一般細菌数測定としては普通寒天培地(栄研化学株式会社製)を用い、37℃・48 時間培養する条件で測定した。大腸菌群測定用培地としてはデソオキシコレート寒天培地((栄研化学株式会社製)を用い、37℃・24 時間培養する条件で実施し、同培地にピンク色～赤色コロニーを確認し、その数を測定し大腸菌群数とした。更に、大腸菌群、大腸菌数測定を目的として EC プレート／E.coli および大腸菌群測定用(住友スリーエム株式会社製)、35℃・24～48 時間培養し、定型コロニーにから分別し、大腸菌と大腸菌群を特定し、各々を測定した。

黄色ブドウ球菌測定用培地としては卵黄加マンニット食塩培地(栄研株式会社)を用い、37℃、24 時間培養し、定型コロニーを確認する条件で実施した。

サルモネラ菌測定用培地としては DHL 培地(栄研株式会社)を用い、37℃、24 時間培養し、定型コロニーを確認する条件で実施した。

○鶏肉(資料番号：B - 6)

各サンプルをフィルトレイトバックに入れ、重量を量り、その重量の 9 倍量の滅菌済み生理食塩水を加えた。ストマッカーで 1 分間処理した。その 1.0ml を 2 枚のシャーレに各々移し、平板希釈法に従って菌数測定を実施した。この時、各試験区の菌数は 2 枚のシャーレで測定し、その平均値を各サンプルの生残菌数とした。

一般細菌数測定としては普通寒天培地(栄研化学株式会社製)を用い、37℃・48 時間培養する条件で測定した。

大腸菌群測定用培地としてはデソオキシコレート寒天培地((栄研化学株式会社製)を用い、37℃・24 時間培養する条件で実施し、同培地にピンク色～赤色コロニーを確認し、その数を測定し大腸菌群数とした。更に、大腸菌群、大腸菌数測定を目的として EC プレート／E.coli および大腸菌群測定用(住友スリーエム株式会社製)、35℃・24～48 時間培養し、定型コロニーにから分別し、大腸菌と大腸菌群を特定し、各々を測定した。

黄色ブドウ球菌測定用培地としては卵黄加マンニット食塩培地(栄研株式会社)を用い、37℃、24 時間培養し、定型コロニーを確認する条件で実施した。

サルモネラ菌測定用培地としては DHL 培地(栄研株式会社)を用い、37℃、24 時間培養し、定型コロニーを確認する条件で実施した。

カンピロバクター菌測定用培地としては CCDA 選択剤配合 5%ヒツジ血液寒天培地を(三菱ガス化学社製)を用い、37℃で 48 時間、微好気培養し、定型コロニーを確認する条件で実施した。

○イチゴ(資料番号：B - 7)

各サンプルをフィルトレイトバックに入れ、重量を量り、その重量の 9 倍量の滅菌済み生理食塩水を加えた。ストマッカーで 1 分間処理した。その 1.0ml を 2 枚のシャーレに各々移し、平板希釈法に従って菌数測定を実施した。この時、各試験区の菌数は 2 枚のシャーレで測定し、その平均値を各サンプルの生残菌数とした。

一般細菌数測定用培地としては普通寒天培地(栄研化学株式会社製)を用い、37℃・48 時間培養する条件で測定した。

大腸菌群測定用培地としてはデソオキシコレート寒天培地(栄研化学株式会社製)を用い、37℃・24時間培養する条件で実施し、更に、大腸菌群、大腸菌数測定を目的として

ECプレート／E. coliおよび大腸菌群測定用(住友スリーエム株式会社製)、35℃・24～48時間培養し、定型コロニーにから分別し、大腸菌と大腸菌群を特定し、各々を測定した。デソオキシコレート寒天培地での大腸菌群の測定は、同培地にピンク色～赤色コロニーを確認し、その数を測定し大腸菌群数とした。

酵母・カビ類の測定用培地としてはポテトデキストロース寒天平板培地(栄研株式会社)を用い、25℃、5日間培養し、定型コロニーを確認する条件で実施した。

○ワカメ (資料番号：B - 8)

各サンプルをフィルトレイトバックに入れ、重量を量り、その重量の9倍量の滅菌済み3%食塩添加イオン交換水を加えた。ストマッカーで1分間処理した。その1.0mlを2枚のシャーレに各々移し、平板希釈法に従って菌数測定を実施した。この時、各試験区の菌数は2枚のシャーレで測定し、その平均値を各サンプルの生残菌数とした。

一般細菌数測定用培地としては3%食塩加普通寒天培地(栄研化学株式会社製)を用い、37℃・48時間培養する条件で測定した。

大腸菌群測定用培地としてはデソオキシコレート寒天培地(栄研化学株式会社製)を用い、37℃・24時間培養する条件で実施し、同培地にピンク色～赤色コロニーを確認し、その数を測定し大腸菌群数とした。更に、大腸菌群、大腸菌数測定を目的としてECプレート／E. coliおよび大腸菌群測定用(住友スリーエム株式会社製)、35℃・24～48時間培養し、定型コロニーにから分別し、大腸菌と大腸菌群を特定し、各々を測定した。

腸炎ビブリオ菌測定用培地としてはTCBS寒天培地(栄研化学株式会社製)を用い、37℃・48時間培養し、定型コロニーを確認する条件で実施した。

○ホタテ貝柱 (資料番号：B - 9)

各サンプルをフィルトレイトバックに入れ、重量を量り、その重量の9倍量の滅菌済み3%食塩添加イオン交換水を加えた。ストマッカーで1分間処理した。その1.0mlを2枚のシャーレに各々移し、平板希釈法に従って菌数測定を実施した。この時、各試験区の菌数は2枚のシャーレで測定し、その平均値を各サンプルの生残菌数とした。

一般細菌数測定用培地としては3%食塩加普通寒天培地(栄研化学株式会社製)を用い、37℃・48時間培養する条件で測定した。

大腸菌群測定用培地としてはデソオキシコレート寒天培地(栄研化学株式会社製)を用い、37℃・24時間培養する条件で実施し、同培地にピンク色～赤色コロニーを確認し、その数を測定し大腸菌群数とした。更に、大腸菌群、大腸菌数測定を目的としてECプレート／E. coliおよび大腸菌群測定用(住友スリーエム株式会社製)、35℃・24～48時間培養し、定型コロニーから分別し、大腸菌と大腸菌群を特定し、各々を測定した。

腸炎ビブリオ菌測定用培地としてはTCBS寒天培地(栄研化学株式会社製)を用い、37℃・48時間培養し、定型コロニーを確認する条件で実施した。

○紋甲イカ (資料番号：B - 10)

各サンプルをフィルトレイトバックに入れ、重量を量り、その重量の9倍量の滅菌済み3%食塩添加イオン交換水を加えた。ストマッカーで1分間処理した。その1.0mlを2枚のシャーレに各々移し、平板希釈法に従って菌数測定を実施した。この時、各試験区の菌数

は2枚のシャーレで測定し、その平均値を各サンプルの生残菌数とした。

一般細菌数測定用培地としては3%食塩加普通寒天培地(栄研化学株式会社製)を用い、37℃・48時間培養する条件で測定した。

大腸菌群測定用培地としてはデソオキシコレート寒天培地(栄研化学株式会社製)を用い、37℃・24時間培養する条件で実施し、更に、大腸菌群、大腸菌数測定を目的としてECプレート／E. coli および大腸菌群測定用(住友スリーエム株式会社製)、35℃・24～48時間培養し、定型コロニーから分別し、大腸菌と大腸菌群を特定し、各々を測定した。デソオキシコレート寒天培地での大腸菌群の測定は、同培地にピンク色～赤色コロニーを確認し、その数を測定し大腸菌群数とした。

腸炎ビブリオ菌測定用培地としてはTCBS寒天培地(栄研化学株式会社製)を用い、37℃・48時間培養し、定型コロニーを確認する条件で実施した。

⑤品質評価方法

品質評価については5人のパネラーを選定し、試験手順は図B-1-1～B-10-1に示した方法に従って実施し、殺菌処理直後のサンプルについて塩素特有の臭気や変色等について評価した。

品質に対するなお、本試験では菌は接種しなかった。

(3) 食品系における評価試験結果について

殺菌効果：菌数10未満となることを評価した。

有効性濃度範囲：被検菌を食品に汚染させ、殺菌剤で処理した場合殺菌効果がある濃度が確認され、その効果濃度範囲において、更に品質に対して影響がないことが確認された濃度範囲を有効性濃度範囲として記述した。

品質評価においては、保管期間において定期的に取り出し下記の内容での品質確認を行い、その他品質上の変化がある場合その内容を記録した。

品質評価試験での評価結果の表示

○
×

：コントロールと比較し、品質的に問題がないと評価した区を示す。

：コントロールと比較し、品質的に問題があると評価した区を示す。

殺菌効果評価試験での評価結果の表示

○
×

：殺菌効果があると評価した区を示す。

：殺菌効果がないと評価した区を示す。

有効性濃度として考えられる範囲の表示



：品質評価と殺菌評価から有効性濃度の範囲を示す。

なお、個別の食品に対する評価試験の詳細については、以下の資料B-1～B-10に示す。

カット済み青ネギにおける亜塩素酸水による 菌処理効果と品質影響評価試験(資料B-1)

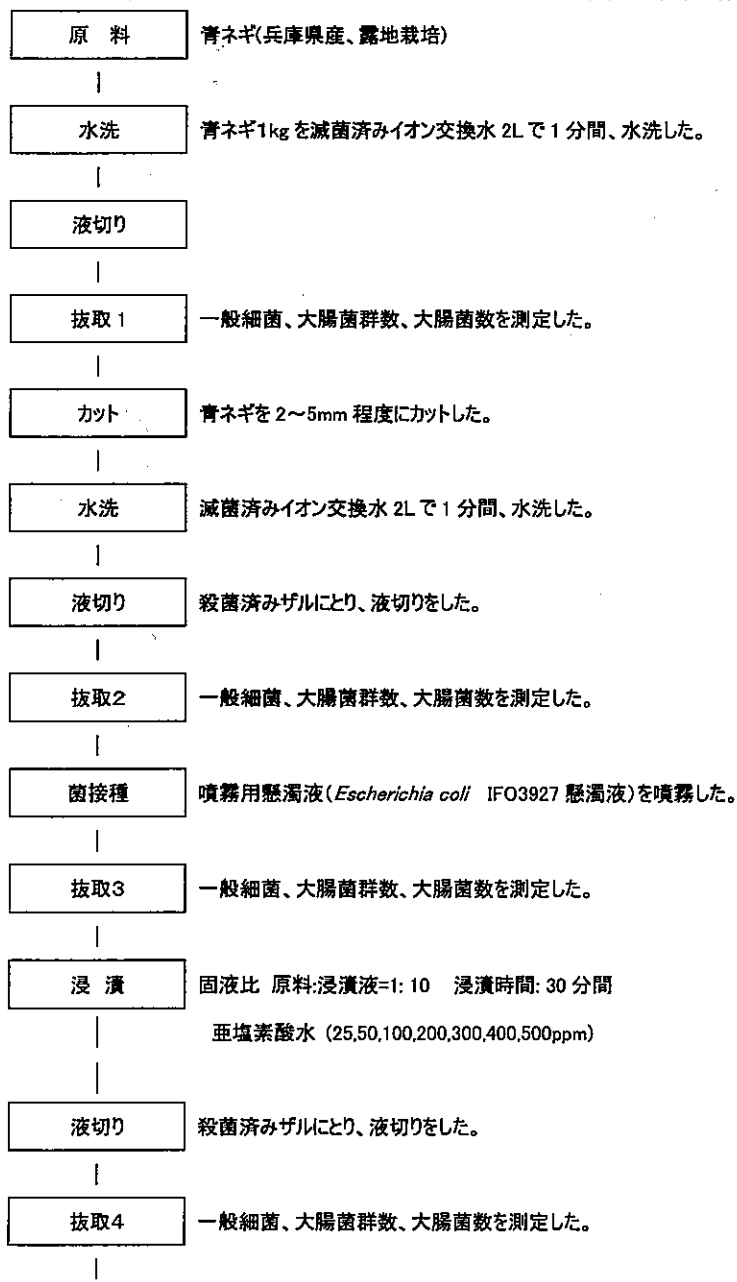
<試験内容の要約>

カット済み青ネギに大腸菌 (*Escherichia coli* IF03927、糞便由来大腸菌) を汚染させ、汚染大腸菌に対する殺菌効果を確認した。又、同時に品質に対する影響も確認し、有効性について検討した。殺菌効果と品質に対する影響を考慮して有効性濃度範囲を確認した。

その結果、亜塩素酸水は品質に影響を与えない濃度範囲で、カット済み青ネギに汚染し問題となる大腸菌を殺菌できる条件を設定することが出来た。

<試験方法と手順概要>

汚染菌 (*Escherichia coli* IF03927) に対する殺菌効果確認試験方法及び品質評価試験方法



水洗	滅菌済みイオン交換水で水洗いした。
液切り	殺菌済みザルにとり、液切りをした。
抜取5	一般細菌、大腸菌群数、大腸菌数を測定した。
保管・測定	保管温度 10℃ 品質確認と、一般細菌、大腸菌群数、大腸菌数を測定した。
抜取6	保管 1 日間
抜取7	保管 3 日間
抜取8	保管 5 日間

注：品質評価試験には菌の噴霧はしなかった。

図 B-1-1 カット済み青ネギにおける亜塩素酸水の殺菌力及び品質評価試験の手順

品質評価方法

試験手順は図 B-1-1 に従って実施し、最終処理後その 100g をビニール袋に取り、密封後 10℃ に保管した。保管後、各 1、3、5 日間保管毎に開封し品質に対する影響を確認した。なお、設定濃度については、亜塩素酸水を亜塩素酸として 25、50、100、150、200、250、300、350、400、450、500ppm に調製し、実施した。

保管期間において定期的に取り出しコントロール(未殺菌処理区)を基準として品質確認を行った。

殺菌効果と品質評価から有効性濃度範囲を確認し、下表に示した。

表 B-1-1 青ネギの殺菌処理に関する亜塩素酸水の品質評価試験と殺菌効果のまとめ

試験区	評価試験	濃度(ppm)											
		0	25	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
	品質評価	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×
	殺菌評価	×			○	○	○	○	○	○	○	○	○
		有効性濃度範囲											

以上の結果、亜塩素酸水はカット済み青ネギの品質に影響を与えない濃度範囲で、カット済み青ネギに汚染し問題となる大腸菌 (*Escherichia coli* IF03927) を殺菌することができる条件について設定することが出来た。

生鮮サンマにおける亜塩素酸水による 殺菌処理効果と品質影響評価試験(資料B-2)

<試験内容の要約>

生鮮サンマに腸炎ビブリオ菌 (*Vibrio parahaemolyticus* NBRC12711、シラス食中毒由来腸炎ビブリオ菌) を汚染させ、汚染腸炎ビブリオ菌に対する殺菌効果を確認した。又、同時に品質に対する影響も確認し、有効性について検討した。殺菌効果と品質に対する影響を考慮して有効性濃度範囲を確認した。

その結果、亜塩素酸水は品質に影響を与えない濃度範囲で、生鮮サンマに汚染し問題となる腸炎ビブリオ菌を殺菌できる条件を設定することが出来た。

<試験方法と手順概要>

汚染菌 (*Vibrio parahaemolyticus* NBRC12711) に対する殺菌効果確認試験方法及び品質評価試験方法

原 料	生鮮サンマ
洗 淨	滅菌済3%食塩添加イオン交換水を用いて、サンマを洗浄した。
抜取1	生鮮サンマのエラ、胴体部の一般生菌数と、腸炎ビブリオ菌を測定した。
菌 接 種	噴霧用菌懸濁液 (<i>Vibrio parahaemolyticus</i> NBRC 12711 懸濁液) を噴霧した。
抜取2	生鮮サンマのエラ、胴体部の一般生菌数と、腸炎ビブリオ菌を測定した。
浸 漬	固液比 原料:液(水2:氷1)=1:1.5 滅菌済3%食塩添加イオン交換水 浸漬時間:30 分間、1 時間、3 時間、6 時間 亜塩素酸水 (25,50,100,200,300,400,500ppm)
抜取3	浸漬時間 30分間で終了した。
抜取4	浸漬時間 1時間で終了した。
抜取5	浸漬時間 3時間で終了した。
抜取6	浸漬時間 6時間で終了した。
水 洗	滅菌済3%食塩添加イオン交換水を用いて、洗浄した。
液切り	殺菌済みザルにとり、液切りをした。
検 査	殺菌処理済生鮮サンマの品質確認を実施した後、エラ、胴体部の一般生菌数と、腸炎ビブリオ菌を測定した。

保 管	冷蔵(4℃)で、24時間保管した
検 査	品質確認を実施した。

注: 品質評価試験には菌の噴霧はしなかった。

図 B-2-1 生鮮サンマにおける亜塩素酸水の殺菌力及び品質評価試験の手順

品質評価方法

試験手順は図 B-2-1 に従って実施し、各浸漬時間(30 分間、1 時間、3 時間、6 時間)後、殺菌処理済み生鮮サンマを無菌プラスチック袋に取り、処理直後と 24 時間冷蔵(4℃)保管した後の品質に対する影響を確認した。

コントロール(未殺菌処理区)を基準として、品質確認を行った。

殺菌効果と品質評価から有効性濃度範囲を確認し、下表に示した。

表 B-2-1 生鮮サンマの殺菌処理に関する亜塩素酸水の品質評価試験と殺菌効果のまとめ

試験区	評価試験	濃度(ppm)							
		0	25	50	100	200	300	400	500
亜塩素酸水	品質評価	○	○	○	○	○	○	○	○
	殺菌評価	×	×	×	×	○	○	○	○
							有効性濃度範囲		

以上の結果、亜塩素酸水は生鮮サンマの品質に影響を与えない濃度範囲で、生鮮サンマに汚染し問題になっている腸炎ビブリオ (*Vibrio parahaemolyticus* NBRC12711) を殺菌することができる条件について設定することが出来た。

**うるち米における亜塩素酸水による
殺菌処理効果と品質影響評価試験(資料B-3)**

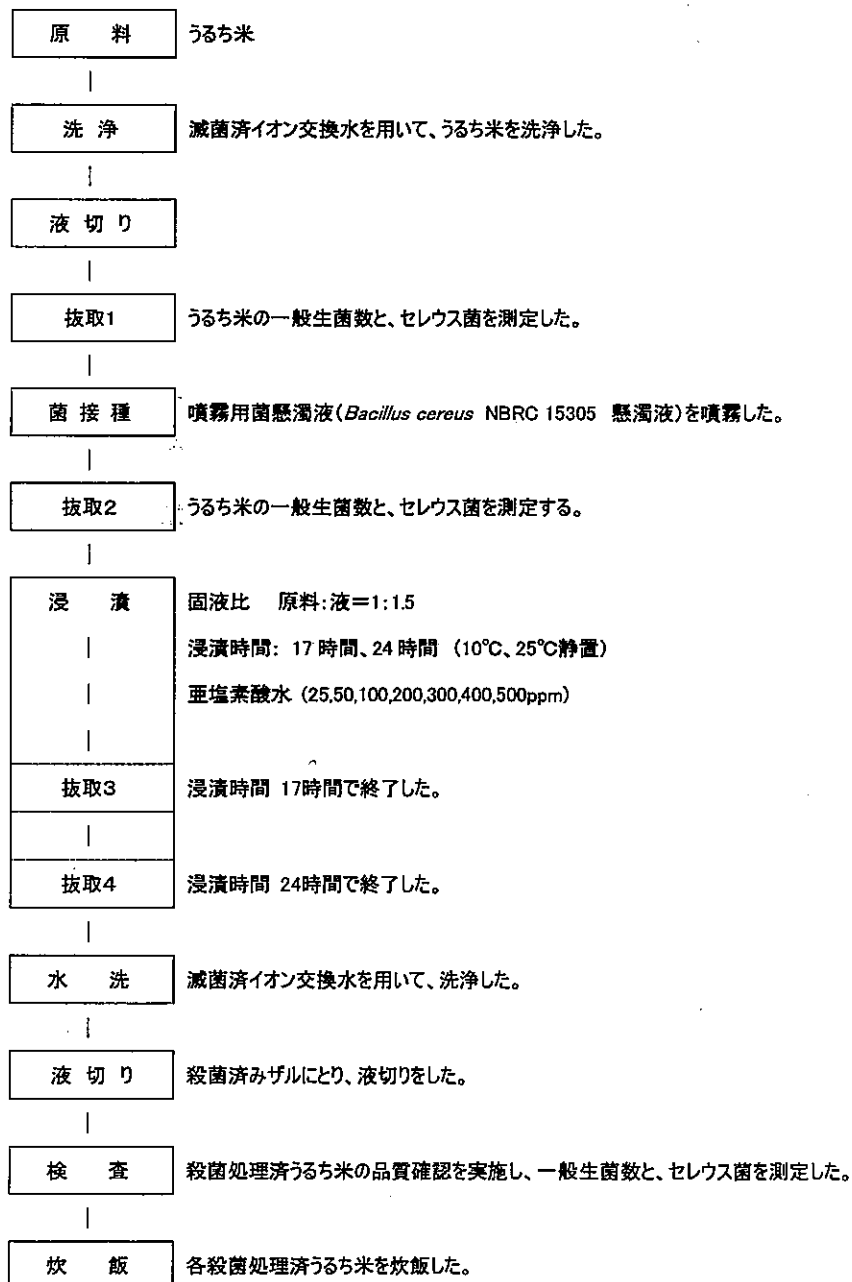
<試験内容の要約>

うるち米にセレウス菌〔芽胞〕(*Bacillus cereus* NBRC15305、由来不明)を汚染させ、汚染セレウス菌に対する殺菌効果を確認した。又、同時に品質に対する影響も確認し、有効性について検討した。殺菌効果と品質に対する影響を考慮して有効性濃度範囲を確認した。

その結果、亜塩素酸水は品質に影響を与えない濃度範囲で、うるち米に汚染し問題となるセレウス菌を殺菌できる条件を設定することが出来た。

<試験方法と手順概要>

汚染菌(*Bacillus cereus* NBRC15305)に対する殺菌効果確認試験方法及び品質評価試験方法



検 査

品質確認を実施した。

注：品質評価試験には菌の噴霧はしなかった。

図 B-3-1 うるち米における亜塩素酸水の殺菌力及び品質評価試験の手順

品質評価方法

試験手順は図 B-3-1 に従って実施し、各浸漬時間(17 時間、24 時間)後、殺菌処理済みうるち米を無菌プラスチック袋に取り、処理直後と、各々炊飯した後の品質に対する影響を確認した。ただし、ここではセレウス菌は接種しなかった。

コントロール(未殺菌処理区)を基準として品質確認を行った。

殺菌効果と品質評価から有効性濃度範囲を確認し、下表に示した。

表 B-3- 1 うるち米殺菌処理に対する亜塩素酸水の品質評価と殺菌効果の試験まとめ

試験区	評価試験	濃度(ppm)							
		0	25	50	100	200	300	400	500
亜塩素酸水	品質評価	○	○	○	○	○	○	○	○
	殺菌評価	×	×	×	×	×	○	○	○
								有効性濃度範囲	

以上の結果、亜塩素酸水はうるち米の品質に影響を与えない濃度範囲で、うるち米に汚染し問題となるセレウス菌〔芽胞〕(*Bacillus cereus* NBRC15305) を殺菌できる条件を設定することが出来た。

大豆における亜塩素酸水による 殺菌処理効果と品質影響評価試験(資料B-4)

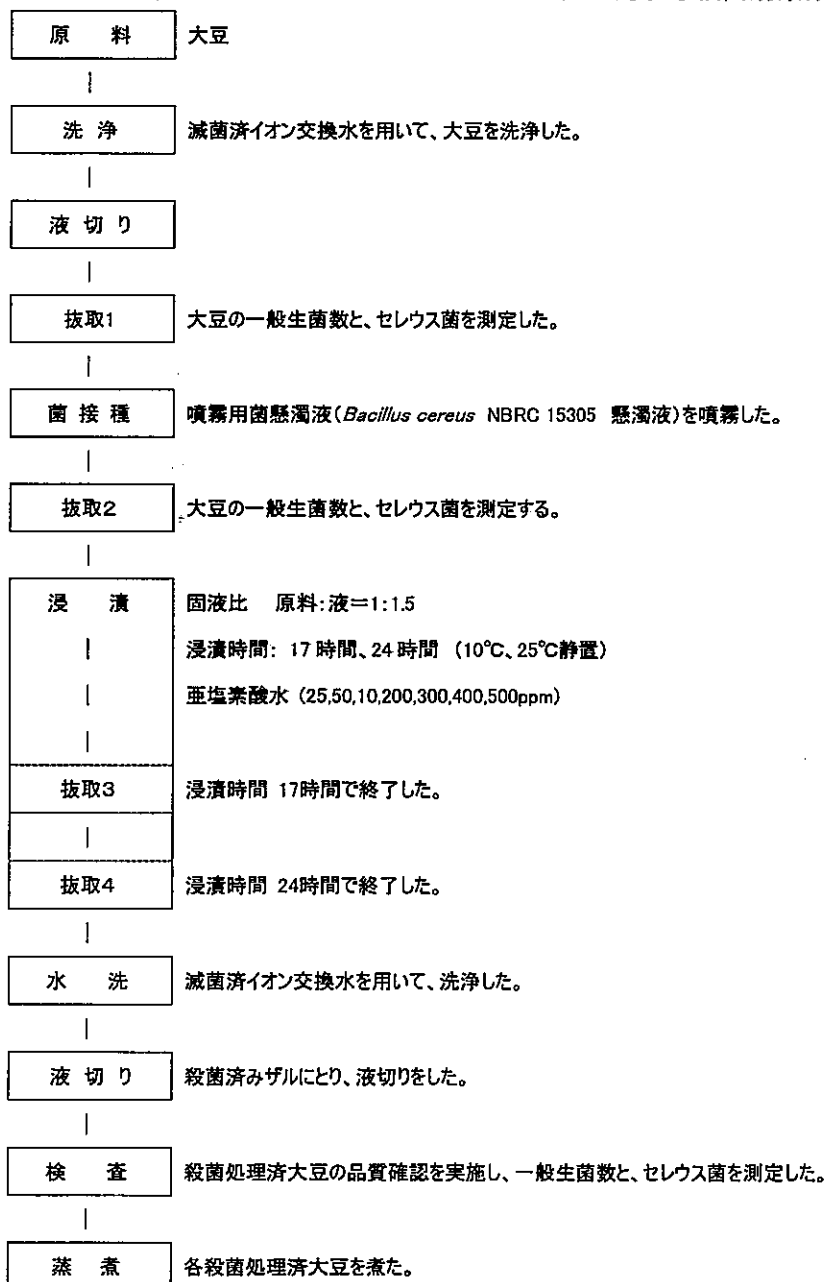
<試験内容の要約>

大豆にセレウス菌〔芽胞〕(*Bacillus cereus* NBRC15305、由来不明)を汚染させ、汚染セレウス菌に対する殺菌効果を確認した。又、同時に品質に対する影響も確認し、有効性について検討した。殺菌効果と品質に対する影響を考慮して有効性濃度範囲を確認した。

その結果、亜塩素酸水は品質に影響を与えない濃度範囲で、大豆に汚染し問題となるセレウス菌を殺菌できる条件を設定することが出来た。

<試験方法と手順概要>

汚染菌 (*Bacillus cereus* NBRC15305) に対する殺菌効果確認試験方法及び品質評価試験方法



検 査

品質確認を実施した。

注：品質評価試験には菌の噴霧はしなかった。

図 B-4-1 大豆における亜塩素酸水の殺菌力及び品質評価試験の手順

品質評価方法

試験手順は図 B-4-1 に従って実施し、各浸漬時間(17 時間、24 時間)後、殺菌処理済み大豆を無菌プラスチック袋に取り、処理直後と、各々煮た後の品質に対する影響を確認した。ただし、ここではセレウス菌は接種しなかった。

コントロール(未殺菌処理区)を基準として、品質確認を行った。

殺菌効果と品質評価から有効性濃度範囲を確認し、下表に示した。

表 B-4-1 大豆殺菌処理に対する亜塩素酸水の品質評価と殺菌効果の試験まとめ

試験区	評価試験	濃度(ppm)							
		0	25	50	100	200	300	400	500
亜塩素酸水	品質評価	○	○	○	○	○	○	○	○
	殺菌評価	×	×	×	×	×	○	○	○
								有効性濃度範囲	

以上の結果、亜塩素酸水は大豆の品質に影響を与えない濃度範囲で、大豆に汚染し問題となるセレウス菌〔芽胞〕(*Bacillus cereus* NBRC15305) を殺菌できる条件を設定することが出来た。

牛肉(ブロック肉)における亜塩素酸水による 殺菌処理効果と品質影響評価試験(資料B-5)

＜試験内容の要約＞

牛肉(ブロック肉)に大腸菌(*Escherichia coli* IF03927、糞便由来大腸菌)と、黄色ブドウ球菌(*Staphylococcus aureus* IF0 12732、由来不明)と、サルモネラ菌(*Salmonella enteritidis* IF0 3313、由来不明)を汚染させ、汚染大腸菌に対する殺菌効果を確認した。又、同時に品質に対する影響も確認し、有効性について検討した。殺菌効果と品質に対する影響を考慮して有効性濃度範囲を確認した。

その結果、亜塩素酸水は品質に影響を与えない濃度範囲で、牛肉(ブロック肉)に汚染し問題となる大腸菌と、黄色ブドウ球菌と、サルモネラ菌を殺菌できる条件を設定することが出来た。

＜試験方法と手順概要＞

汚染菌(*Escherichia coli* IF03927、*Staphylococcus aureus* IF0 12732、*Salmonella enteritidis* IF0 3313)に対する殺菌効果確認試験方法及び品質評価試験方法

原 料	牛肉(ブロック肉)
切り分け	牛肉(ブロック肉)を切り分けた。
抜取 1	牛肉(ブロック肉)の一般細菌数、大腸菌数、黄色ブドウ球菌数、サルモネラ菌数を測定した。
菌 接 種	噴霧用菌懸濁液(<i>Escherichia coli</i> IF0 3313、 <i>Staphylococcus aureus</i> IF0 12732、 <i>Salmonella enteritidis</i> IF0 3313 懸濁液)を噴霧した。
抜取 2	牛肉(ブロック肉)の一般細菌数、大腸菌数、黄色ブドウ球菌数、サルモネラ菌数を測定した。
浸 漬	固液比 原料:液=1:10 浸漬時間: 30 分 亜塩素酸水 (25,50,10,200,300,400,500ppm)
抜取 3	牛肉(ブロック肉)の一般細菌数、大腸菌数、黄色ブドウ球菌数、サルモネラ菌数を測定した。
水 洗	滅菌済イオン交換水を用いて、洗浄した。
液 切 り	殺菌済みザルにとり、液切りをした。
抜取 4	殺菌処理済牛肉(ブロック肉)の品質確認を実施し、一般細菌数、大腸菌数、黄色ブドウ球菌数、サルモネラ菌数を測定した。

保 存 	各殺菌処理済牛肉(ブロック肉)を4℃で24時間保存した。
抜取 5	殺菌処理済牛肉(ブロック肉)の品質確認を実施し、一般細菌数、大腸菌数、黄色ブドウ球菌数、サルモネラ菌数を測定した。

注: 品質評価試験には菌の噴霧はしなかった。

図 B-5-1 牛肉(ブロック肉)における亜塩素酸水の殺菌力及び品質評価試験の手順

品質評価方法

試験手順は図 B-5-1 に従って実施し、浸漬後、殺菌処理済み牛肉(ブロック肉)を無菌プラスチック袋に取り、処理直後と、10℃で 24 時間保存後の品質に対する影響を確認した。コントロール(未殺菌処理区)を基準として、品質確認を行った。

表 B-5- 1 牛肉(ブロック肉)殺菌処理に対する亜塩素酸水の品質評価と殺菌効果の試験まとめ

試験区	評価試験	濃度(ppm)							
		0	25	50	100	200	300	400	500
亜塩素酸水	品質評価	○	○	○	○	○	○	○	○
	殺菌評価	×	×	×	×	×	○	○	○
								有効性濃度範囲	

以上の結果、亜塩素酸水は牛肉(ブロック肉)の品質に影響を与えない濃度範囲で、牛肉(ブロック肉)に汚染し問題となる大腸菌(*Escherichia coli* IF03927)と、黄色ブドウ球菌(*Staphylococcus aureus* IF0 12732)と、サルモネラ菌(*Salmonella enteritidis* IF0 3313)を殺菌できる条件を設定することが出来た。

鶏肉（ブロック胸肉）における亜塩素酸水による 殺菌処理効果と品質影響評価試験（資料B－6）

＜試験内容の要約＞

鶏肉（ブロック胸肉）に大腸菌（*Escherichia coli* IF03927、糞便由来大腸菌）と、黄色ブドウ球菌（*Staphylococcus aureus* IF0 12732、由来不明）と、サルモネラ菌（*Salmonella enteritidis* IF0 3313、由来不明）と、カンピロバクター菌（*Campylobacter jejuni* JCM2013）を汚染させ、汚染菌に対する殺菌効果を確認した。又、同時に品質に対する影響も確認し、有効性について検討した。殺菌効果と品質に対する影響を考慮して有効性濃度範囲を確認した。

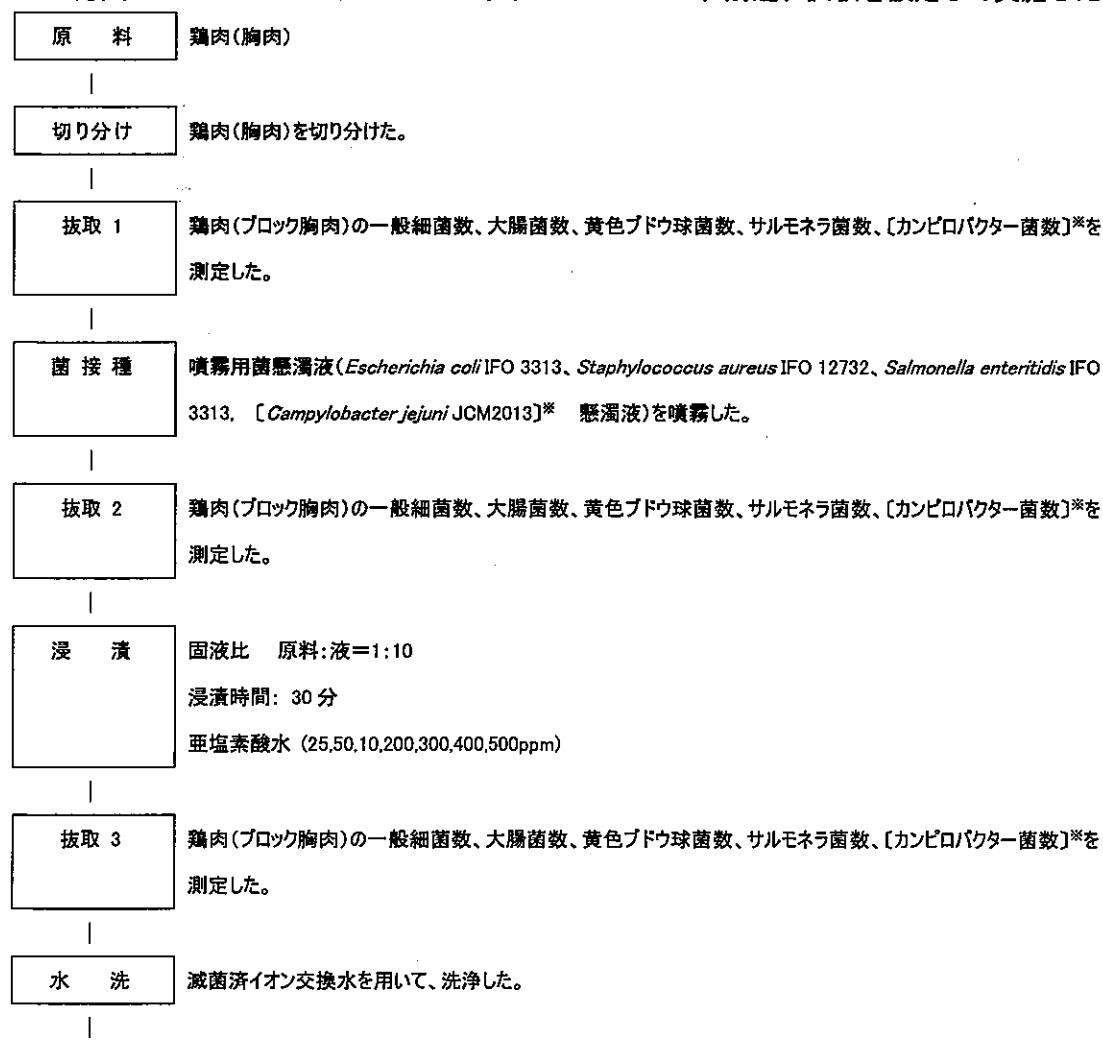
その結果、亜塩素酸水は品質に影響を与えない濃度範囲で、鶏肉（ブロック胸肉）に汚染し問題となる大腸菌と、黄色ブドウ球菌と、サルモネラ菌と、カンピロバクター菌を殺菌できる条件を設定することが出来た。

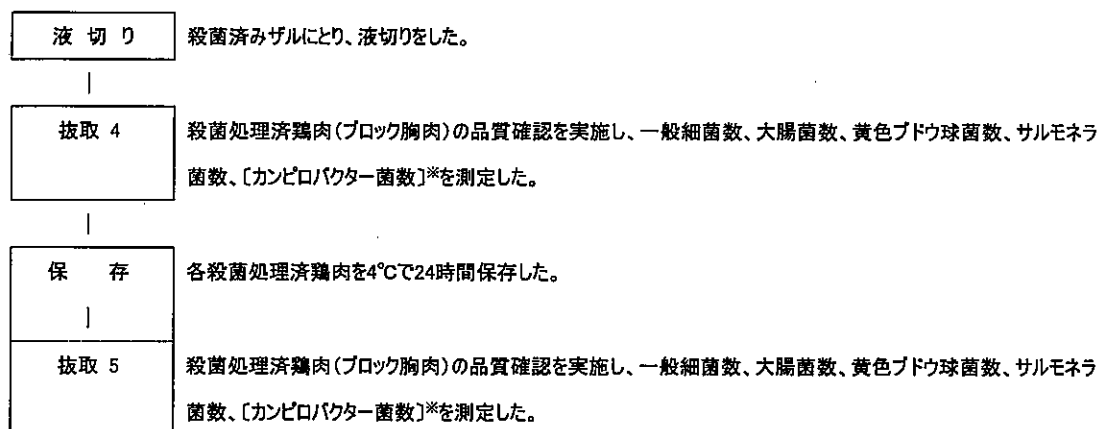
＜試験方法と手順概要＞

汚染菌（*Escherichia coli* IF03927、*Staphylococcus aureus* IF0 12732、*Salmonella enteritidis* IF0 3313、*Campylobacter jejuni* JCM2013）※）に対する殺菌効果確認試験方法及び品質評価試験

方法

※カンピロバクターについては、別途、試験を設定して実施した。





注:品質評価試験には菌の噴霧はしなかった。

図 B-6-1 鶏肉(ブロック胸肉)における亜塩素酸水の殺菌力及び品質評価試験の手順

品質評価方法

試験手順は図 B-6-1 に従って実施し、浸漬後、殺菌処理済み鶏肉（ブロック胸肉）を無菌プラスチック袋に取り、処理直後と、10℃で 24 時間保存後の品質に対する影響を確認した。尚、本試験では菌は接種しなかった。

コントロール(未殺菌処理区)を基準として、品質確認を行った。

表 B-6- 1 鶏肉殺菌処理に対する亜塩素酸水の品質評価と殺菌効果の試験まとめ

試験区	評価試験	濃度(ppm)							
		0	25	50	100	200	300	400	500
亜塩素酸水	品質評価	○	○	○	○	○	○	○	○
	殺菌評価	×	×	×	×	×	○	○	○
								有効性濃度範囲	

以上の結果、亜塩素酸水は鶏肉（ブロック胸肉）の品質に影響を与えない濃度範囲で、鶏肉（ブロック胸肉）に汚染し問題となる大腸菌（*Escherichia coli* IF03927）と、黄色ブドウ球菌（*Staphylococcus aureus* IF0 12732）と、サルモネラ菌（*Salmonella enteritidis* IF0 3313）と、カンピロバクター菌（*Campylobacter jejuni* JCM2013）を殺菌できる条件を設定することが出来た。

イチゴにおける亜塩素酸水による 殺菌処理効果と品質影響評価試験(資料B-7)

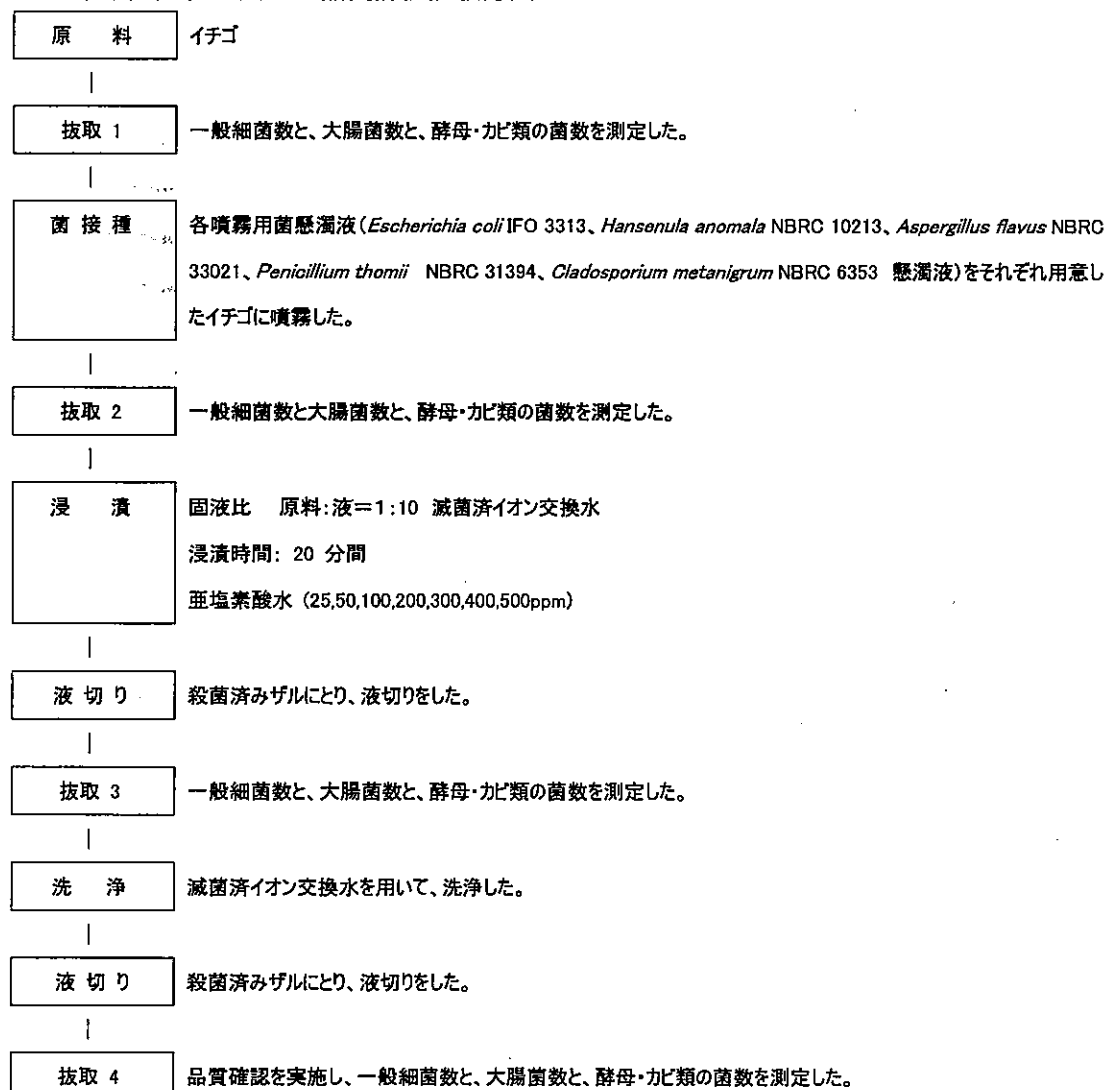
<試験内容の要約>

イチゴに大腸菌 (*Escherichia coli* IF03927、糞便由来大腸菌) と、酵母 (*Hansenula anomala* NBRC 10213、由来不明) と、カビ (*Aspergillus flavus* NBRC 33021、トウモロコシ由来) (*Penicillium thomii* NBRC 31394、腐植土由来) (*Cladosporium metanigrum* NBRC 6353、由来不明) を汚染させ、汚染大腸菌、酵母、カビに対する殺菌効果を確認した。又、同時に品質に対する影響も確認し、有効性について検討した。殺菌効果と品質に対する影響を考慮して有効性濃度範囲を確認した。

その結果、亜塩素酸水は品質に影響を与えない濃度範囲で、イチゴに汚染し問題となる大腸菌、酵母、カビを殺菌できる条件を設定することが出来た。

<試験方法と手順概要>

汚染菌 (*Escherichia coli* IF03927、*Hansenula anomala* NBRC 10213、*Aspergillus flavus* NBRC 33021、*Penicillium thomii* NBRC 31394、*Cladosporium metanigrum* NBRC 6353) に対する殺菌効果確認試験方法及び品質評価試験方法



保 存	冷蔵(4℃)で、24時間保存した
抜取 5	品質確認を実施し、一般細菌数と、大腸菌数と、酵母・カビ類の菌数を測定した。
注:品質評価試験には菌の噴霧はしなかった。	

図 B-7-1 イチゴにおける亜塩素酸水の殺菌力及び品質評価試験の手順

品質評価方法

試験手順は図 B-7-1 に従って実施し、浸漬時間 3 時間後、殺菌処理済みイチゴを無菌プラスチック袋に取り、処理直後と 24 時間冷蔵(4℃)保管した後の品質に対する影響を確認した。コントロール(未殺菌処理区)を基準として、品質確認を行った。

表 B-7- 1 イチゴ殺菌処理に対する亜塩素酸水の品質評価と殺菌効果の試験まとめ

試験区	評価試験	濃度(ppm)							
		0	25	50	100	200	300	400	500
亜塩素酸水	品質評価	○	○	○	○	○	○	○	○
	殺菌評価	×	×	×	×	×	○	○	○
								有効性濃度範囲	

以上の結果、亜塩素酸水はイチゴの品質に影響を与えない濃度範囲で、イチゴに汚染し問題となる大腸菌 (*Escherichia coli* IF03927)、酵母 (*Hansenula anomala* NBRC 10213)、カビ (*Aspergillus flavus* NBRC 33021、*Penicillium thomii* NBRC 31394、*Gladosporium metanigrum* NBRC 6353) を殺菌できる条件を設定することが出来た。

ワカメ(塩蔵)における亜塩素酸水による 殺菌処理効果と品質影響評価試験(資料B-8)

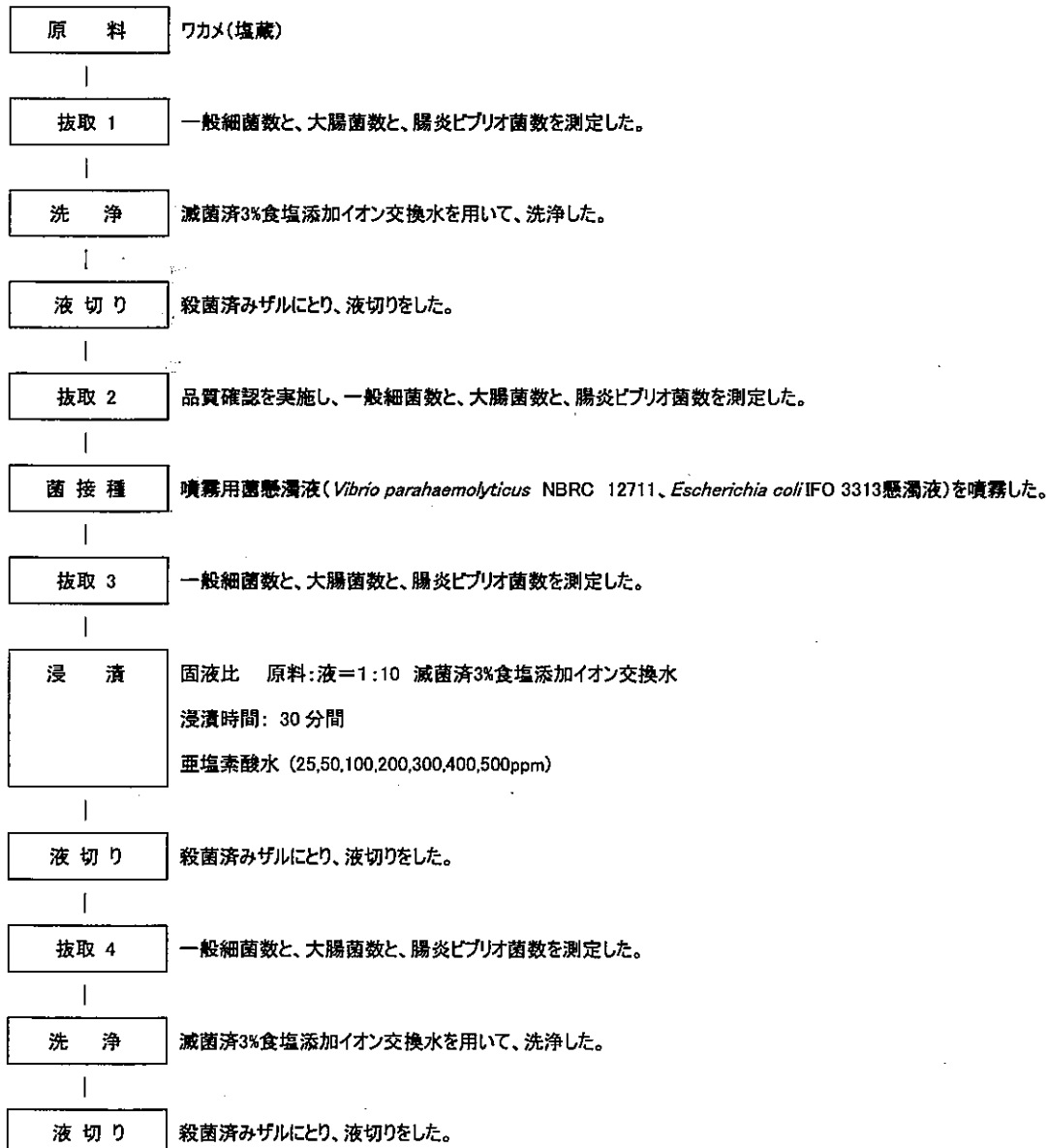
＜試験内容の要約＞

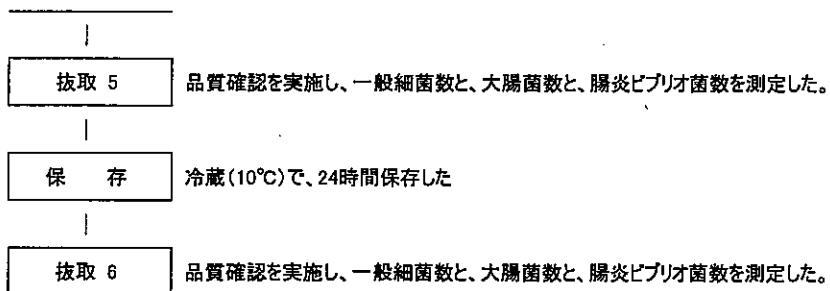
ワカメ(塩蔵)に大腸菌(*Escherichia coli* IF03927、糞便由来大腸菌)と、腸炎ビブリオ菌(*Vibrio parahaemolyticus* NBRC12711、シラス食中毒由来腸炎ビブリオ菌)を汚染させ、汚染大腸菌、腸炎ビブリオ菌に対する殺菌効果を確認した。又、同時に品質に対する影響も確認し、有効性について検討した。殺菌効果と品質に対する影響を考慮して有効性濃度範囲を確認した。

その結果、亜塩素酸水は品質に影響を与えない濃度範囲で、ワカメ(塩蔵)に汚染し問題となる大腸菌、腸炎ビブリオ菌を殺菌できる条件を設定することが出来た。

＜試験方法と手順概要＞

汚染菌(*Escherichia coli* IF03927、*Vibrio parahaemolyticus* NBRC12711)に対する殺菌効果確認試験方法及び品質評価試験方法





注: 品質評価試験には菌の噴霧はしなかった。

図 B-8-1 ワカメ(塩蔵)における亜塩素酸水の殺菌力及び品質評価試験の手順

品質評価方法

試験手順は図 B-8-1 に従って実施し、浸漬時間 3 時間後、殺菌処理済みワカメを無菌プラスチック袋に取り、処理直後と 24 時間冷蔵(4℃)保管した後の品質に対する影響を確認した。尚、この試験では菌は摂取しなかった。

コントロール(未殺菌処理区)を基準として、品質確認を行った。

表 B-8-1 ワカメ(塩蔵)殺菌処理に対する亜塩素酸水の品質評価と殺菌効果の試験まとめ

試験区	評価試験	濃度(ppm)							
		0	25	50	100	200	300	400	500
亜塩素酸水	品質評価	○	○	○	○	○	○	○	○
	殺菌評価	×	×	×	×	○	○	○	○
						有効性濃度範囲			

以上の結果、亜塩素酸水はワカメ(塩蔵)の品質に影響を与えない濃度範囲で、ワカメ(塩蔵)に汚染し問題となる大腸菌(*Escherichia coli* IF03927)、腸炎ビブリオ(*Vibrio parahaemolyticus* NBRC12711)を殺菌できる条件を設定することが出来た。

生貝ホタテ貝柱における亜塩素酸水による 殺菌処理効果と品質影響評価試験(資料B-9)

＜試験内容の要約＞

生貝ホタテ貝柱に大腸菌 (*Escherichia coli* IF03927、糞便由来大腸菌) と、腸炎ビブリオ菌 (*Vibrio parahaemolyticus* NBRC12711、シラス食中毒由来腸炎ビブリオ菌) を汚染させ、汚染大腸菌、腸炎ビブリオ菌に対する殺菌効果を確認した。又、同時に品質に対する影響も確認し、有効性について検討した。殺菌効果と品質に対する影響を考慮して有効性濃度範囲を確認した。

その結果、亜塩素酸水は品質に影響を与えない濃度範囲で、生貝ホタテ貝柱に汚染し問題となる大腸菌、腸炎ビブリオ菌を殺菌できる条件を設定することが出来た。

＜試験方法と手順概要＞

汚染菌 (*Escherichia coli* IF03927、*Vibrio parahaemolyticus* NBRC12711) に対する殺菌効果確認試験方法及び品質評価試験方法

原 料	生貝 ホタテ貝
剥き処理	生貝のホタテ貝5個からホタテ貝柱を採取し、滅菌済み3%食塩添加イオン交換水で洗浄した。
抜取 1	一般細菌数と、大腸菌数と、腸炎ビブリオ菌数を測定した。
菌 接 種	噴霧用菌懸濁液 (<i>Vibrio parahaemolyticus</i> NBRC 12711、 <i>Escherichia coli</i> IFO 3313懸濁液) を噴霧した。
抜取 2	一般細菌数と、大腸菌数と、腸炎ビブリオ菌数を測定した。
浸 漬	固液比 原料:液=1:10 滅菌済み3%食塩添加イオン交換水 浸漬時間: 1 時間 亜塩素酸水 (25,50,100,200,300,400,500ppm)
液 切 り	殺菌済みザルにとり、液切りをした。
抜取 3	一般細菌数と、大腸菌数と、腸炎ビブリオ菌数を測定した。
洗 淨	滅菌済み3%食塩添加イオン交換水を用いて、洗浄した。
液 切 り	殺菌済みザルにとり、液切りをした。
抜取 4	品質確認を実施し、一般細菌数と、大腸菌数と、腸炎ビブリオ菌数を測定した。
保 存	冷蔵(4℃)で、24時間保存した

注：品質評価試験には菌の噴霧はしなかった。

図 B-9-1 生貝ホタテ貝柱における亜塩素酸水の殺菌力及び品質評価試験の手順

品質評価方法

試験手順は図 B-9-1 に従って実施し、浸漬時間 3 時間後、殺菌処理済みホタテ貝柱を無菌プラスチック袋に取り、処理直後と 24 時間冷蔵（4℃）保管した後の品質に対する影響を確認した。

コントロール（未殺菌処理区）を基準として、品質確認を行った。

表 B-9- 1 生貝ホタテ貝柱殺菌処理に対する亜塩素酸水の品質評価と殺菌効果の試験まとめ

試験区	評価試験	濃度(ppm)							
		0	25	50	100	200	300	400	500
亜塩素酸水	品質評価	○	○	○	○	○	○	○	○
	殺菌評価	×	×	×	×	×	○	○	○
								有効性濃度範囲	

以上の結果、亜塩素酸水は生貝ホタテ貝柱の品質に影響を与えない濃度範囲で、生貝ホタテ貝柱に汚染し問題となる大腸菌（*Escherichia coli* IF03927）、腸炎ビブリオ（*Vibrio parahaemolyticus* NBRC12711）を殺菌できる条件を設定することが出来た。

生鮮紋甲イカにおける亜塩素酸水による 殺菌処理効果と品質影響評価試験(資料B-10)

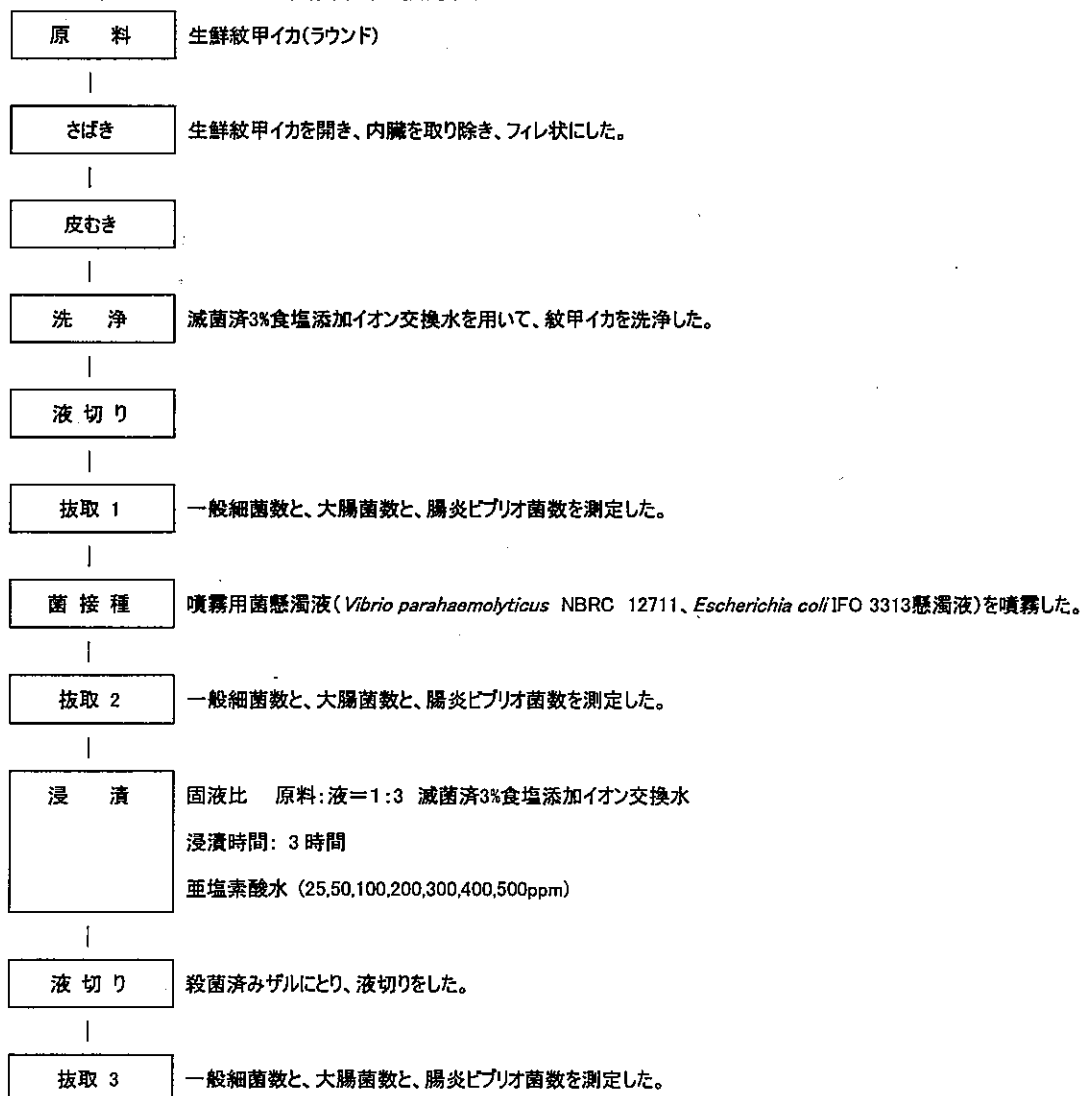
<試験内容の要約>

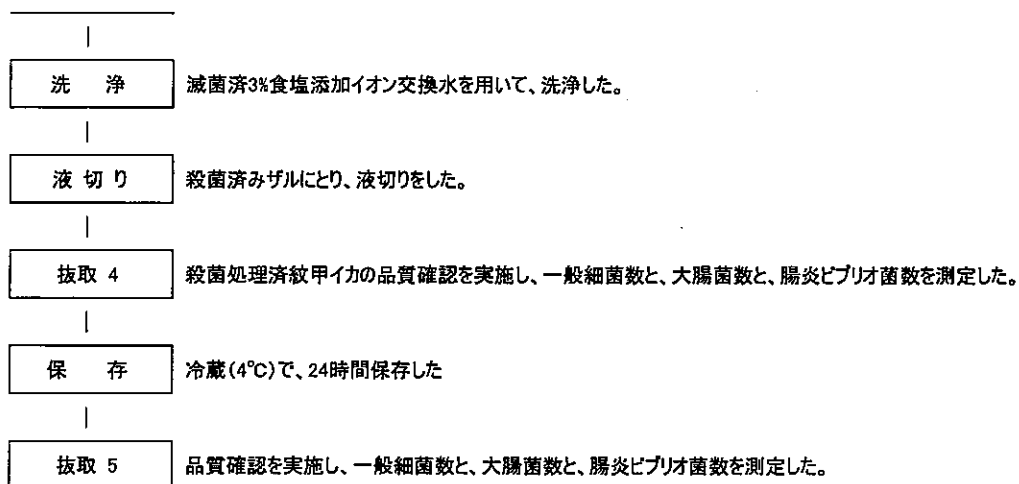
生鮮紋甲イカに大腸菌 (*Escherichia coli* IF03927、糞便由来大腸菌) と、腸炎ビブリオ菌 (*Vibrio parahaemolyticus* NBRC12711、シラス食中毒由来腸炎ビブリオ菌) を汚染させ、汚染大腸菌、腸炎ビブリオ菌に対する殺菌効果を確認した。又、同時に品質に対する影響も確認し、有効性について検討した。殺菌効果と品質に対する影響を考慮して有効性濃度範囲を確認した。

その結果、亜塩素酸水は品質に影響を与えない濃度範囲で、生鮮紋甲イカに汚染し問題となる大腸菌、腸炎ビブリオ菌を殺菌できる条件を設定することが出来た。

<試験方法と手順概要>

汚染菌 (*Escherichia coli* IF03927、*Vibrio parahaemolyticus* NBRC12711) に対する殺菌効果確認試験方法及び品質評価試験方法





注:品質評価試験には菌の噴霧はしなかった。

図 B-10-1 生鮮紋甲イカにおける亜塩素酸水の殺菌力及び品質評価

品質評価方法

試験手順は図 B-1-10 に従って実施し、浸漬時間 3 時間後、殺菌処理済み紋甲イカを無菌プラスチック袋に取り、処理直後と 24 時間冷蔵（4℃）保管した後の品質に対する影響を確認した。コントロール(未殺菌処理区)を基準として、品質確認を行った。

表 B-10- 1 生鮮紋甲イカ殺菌処理に対する亜塩素酸水の品質評価と殺菌効果の試験まとめ

試験区	評価試験	濃度(ppm)							
		0	25	50	100	200	300	400	500
亜塩素酸水	品質評価	○	○	○	○	○	○	○	○
	殺菌評価	×	×	×	×	○	○	○	○
						有効性濃度範囲			

以上の結果、亜塩素酸水は生鮮紋甲イカの品質に影響を与えない濃度範囲で、生鮮紋甲イカに汚染し問題となる大腸菌 (*Escherichia coli* IF03927)、腸炎ビブリオ (*Vibrio parahaemolyticus* NBRC12711) を殺菌できる条件を設定することが出来た。

7. 食品安全委員会における評価結果について

食品安全基本法（平成 15 年法律第 48 号）第 24 条第 1 項第 1 号の規定に基づき、平成 18 年 8 月 14 日付け厚生労働省発食安第 0814001 号により食品安全委員会あて意見を求めた亜塩素酸水に係る食品健康影響評価については、平成 19 年 12 月 25 日、平成 20 年 1 月 15 日及び 2 月 25 日に開催された添加物専門調査会の議論を踏まえ、以下の評価結果が平成 20 年 6 月 19 日付けで通知されている。

亜塩素酸水の無毒性量（NOAEL）の最小値は、ラット生殖毒性試験で認められた聴覚驚愕反応の低下に基づき、亜塩素酸イオンとして 2.9 mg/kg 体重/日と考えられることから、安全係数を 100 とし、亜塩素酸水の一摂取許容量（ADI）を 0.029 mg/kg 体重/日と設定した。

ADI	0.029mg/kg 体重/日（亜塩素酸イオンとして）
（ADI 設定根拠資料）	生殖毒性試験
（動物種）	ラット
（投与方法）	飲水投与
（NOAEL 設定根拠所見）	F2b：聴覚驚愕反応の低下
（NOAEL）	2.9mg/kg 体重/日（亜塩素酸イオンとして）
（安全係数）	100

なお、その詳細は下記のとおりである。

亜塩素酸水は、亜塩素酸（ HClO_2 ）を主たる有効成分としているが、pHの変動により二酸化塩素（ ClO_2 ）、亜塩素酸イオン（ ClO_2^- ）等も発生しうるものであり、また、生体中では代謝等により亜塩素酸のほか、塩化物イオン（ Cl^- ）、二酸化塩素、亜塩素酸イオン等の生成も考えられる。

よって、申請物質の毒性に関する試験報告はないが、既にわが国で使用の認められている亜塩素酸ナトリウム（ NaClO_2 ）の試験成績のほか、二酸化塩素、次亜塩素酸水または次亜塩素酸ナトリウム（ NaClO ）の試験成績も参考に、総合的に評価することは可能と判断した。

亜塩素酸ナトリウム等の安全性試験成績を評価した結果、亜塩素酸イオンの摂取による主要な影響は、赤血球の損傷と考えられた。発がん性は認められなかった。遺伝毒性については、細菌を用いた復帰突然変異試験でみられた陽性反応は弱いものであり、また、ほ乳類培養細胞を用いた染色体異常試験では陽性の結果が得られているものの、高用量まで試験された小核試験において陰性であったことから、生体にとって特段問題になる遺伝毒性はないと考えられた。以上から、亜塩素酸水の主たる有効成分である亜塩素酸は、添加物として適切に使用され、最終食品の完成前に除去する旨の使用基準が遵守される限り、安全性に特段の懸念はないと考えられた。

上記を踏まえ、亜塩素酸水の ADI は、亜塩素酸イオンとして 0.029 mg/kg 体重/日と評価した。

ADI	0.029mg/kg 体重/日（亜塩素酸イオンとして）
-----	-----------------------------

(AD I 設定根拠資料)	生殖毒性試験
(動物種)	ラット
(投与方法)	飲水投与
(NOAEL 設定根拠所見)	F2b：聴覚驚愕反応の低下
(NOAEL)	2.9mg/kg 体重/日（亜塩素酸イオンとして）
(安全係数)	100

8. 一日摂取量の推計等

上記の食品安全委員会の評価結果によると次のとおりである。

「平成 16 年国民健康・栄養調査報告」における「野菜類」、「穀類（米・加工品）」、「果実類」、「魚介類」、「肉類」、「豆類」、「藻類」の推定摂取量の平均値（一人一日当たり（g））をもとに、最終食品の完成前に除去するとの使用基準案に基づき、亜塩素酸水の一日摂取量を推定した。なお、事業者は、対象食品群を限定していないが、「平成 17 年度食中毒発生状況の概要について」（厚生労働省食品安全部 平成 18 年 7 月）を踏まえ、今後わが国の食中毒事件の発生件数の削減にとって重点的に微生物管理が必要と考えられる食品群を選定したとしている。

摂取量は、「野菜類」は 253.9 g、「精白米」は 161.2 g（「穀類（米・加工品）」343.0 g に換算係数 0.47 を掛けたもの）、「果実類」は 119.2 g、「魚介類」は 82.6 g、「豆類」は 61.5 g、「藻類」は 12.9 g であった。これらの食品群の摂取量には、現公定法における検出限界（1 mg/kg）程度の HClO_2 が含まれていると仮定し、さらに日本人の平均体重を 50 kg と仮定した場合、1 日に摂取される HClO_2 の量は、0.014 mg/kg 体重/日と推定される。同様に、「肉類」の摂取量は 77.9 g であり、この食品群の摂取量に対し、検出限界（5 mg/kg）程度の HClO_2 が含まれていると仮定した場合、1 日に摂取される HClO_2 の量は、0.008 mg/kg 体重/日と推定される。「果実類」に関しては、果皮の殺菌が一般的な用途であると仮定すると、果実類の摂取時には、通常、果皮は除去されるものと考えられるので、1 日に摂取される HClO_2 の量は、過剰な見積もりとなることを前提に、計 0.022 mg/kg 体重/日と推定される。

9. 臭素酸について

食品安全委員会の食品健康影響評価において、以下のとおり付帯事項が示された。

付帯事項

亜塩素酸水に遺伝毒性発がん物質と疑われている臭素酸が混入する可能性があることから、厚生労働省は、以下の事項について確実に履行すべきである。

- ・臭素酸の混入の実態を調査した上で、規格基準の設定の必要性について検討し、同調査結果及び検討結果を、添加物の新規指定の前に食品安全委員会に報告すること。

なお、既に使用の認められている次亜塩素酸ナトリウム等、臭素酸の混入する可能性のある食品添

加物についても、混入の実態を調査した上で、規格基準の設定の必要性について検討すべきと考える。

これを受け、臭素酸の混入の実態を調査し、規格基準の設定の必要性について検討した。

1) 臭素酸の混入の実態に関する調査結果

亜塩素酸水は、飽和塩化ナトリウム溶液に塩酸を加え、酸性条件下で、無隔膜電解槽（隔膜を隔てられていない陽極及び陰極で構成されたものをいう。）内で電解して得られる水溶液に、硫酸を加えて強酸性とし、生成する塩素酸に過酸化水素水を加えて反応させて得られる水溶液である。

一般に塩化ナトリウムは不純物として微量の臭化物を含むため、飽和塩化ナトリウム溶液にも微量の臭化物が含まれる。製造工程において塩素酸を生成する際に、より反応性の高い臭化物が塩化物より先に反応するために臭素酸が発生すると考えられる。

そこで、原料の塩化ナトリウムに含まれる臭化物量と 400ppm 亜塩素酸水中の臭素酸の関係を調査した。

臭化物の含有量の異なる塩化ナトリウム（含有臭化物量：29, 50, 126, 200, 320, 1300 $\mu\text{g/g}$ ）を原料として、亜塩素酸水を製造し、それらを希釈して実際に使用する濃度である亜塩素酸濃度 400ppm の亜塩素酸水を調整し、それぞれに発生した臭素酸 (BrO_3^-) の濃度を測定した。

さらに、t 分布を適用し、400ppm 亜塩素酸水中の臭素酸 (BrO_3^-) 推定最大濃度を算出した。（表 8）

表 8 塩化ナトリウムに含まれる臭化物量と亜塩素酸水中の臭素酸の生成の関係

塩化ナトリウム			400ppm 亜塩素酸 水中の臭素酸 (BrO_3^-) 濃度 (ng/g)	400ppm 亜塩素酸 水中の臭素酸 (BrO_3^-) 推定最大 濃度 (ng/g)	希釈前の亜塩素酸 水中の亜塩素酸濃 度 (%)
種類	純度 (%)	臭化物 (Br^-) 含有 量 ($\mu\text{g/g}$)			
並塩	92.23	1300	46.08	53.66	4.0 (4.0050)
食塩 1	92.00	320	14.88	21.30	4.1 (4.0591)
食塩 2	88.92	200	8.98	12.00	4.1 (4.0600)
精製塩 1	91.04	126	4.02	4.07	4.1 (4.0530)
精製塩 2	99.97	50	2.34	5.30	4.1 (4.1141)
精製塩 3	99.98	29	2.27	3.38	4.1 (4.0741)
・塩化ナトリウム中の臭化物 (Br^-) 量の測定限界は 20 ($\mu\text{g/g}$) である。 ・各塩化ナトリウムを用いて、3 ロット製造し、各ロットごとに 5 回分析した平均値を元に算出。 ・希釈前の亜塩素酸濃度 (%) は、3 ロットの平均。					

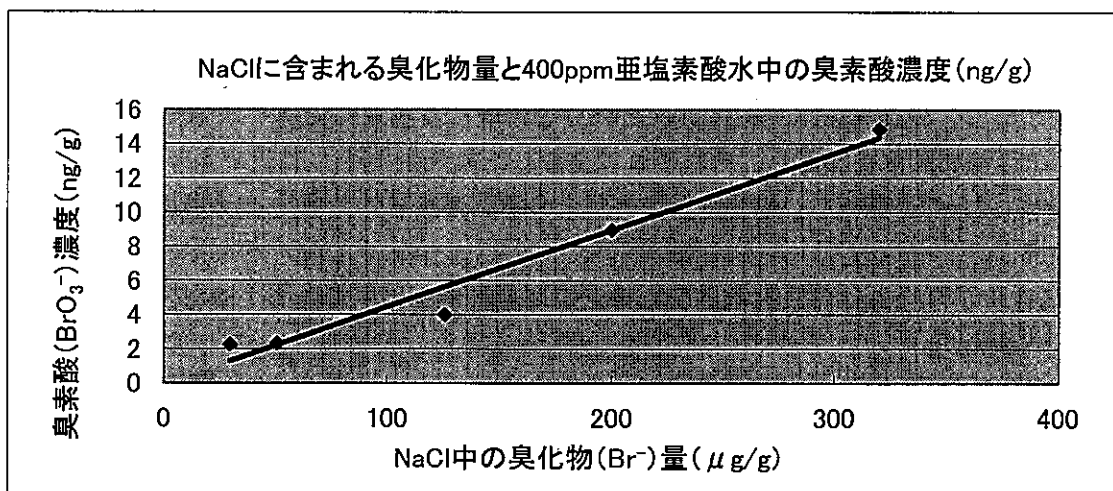
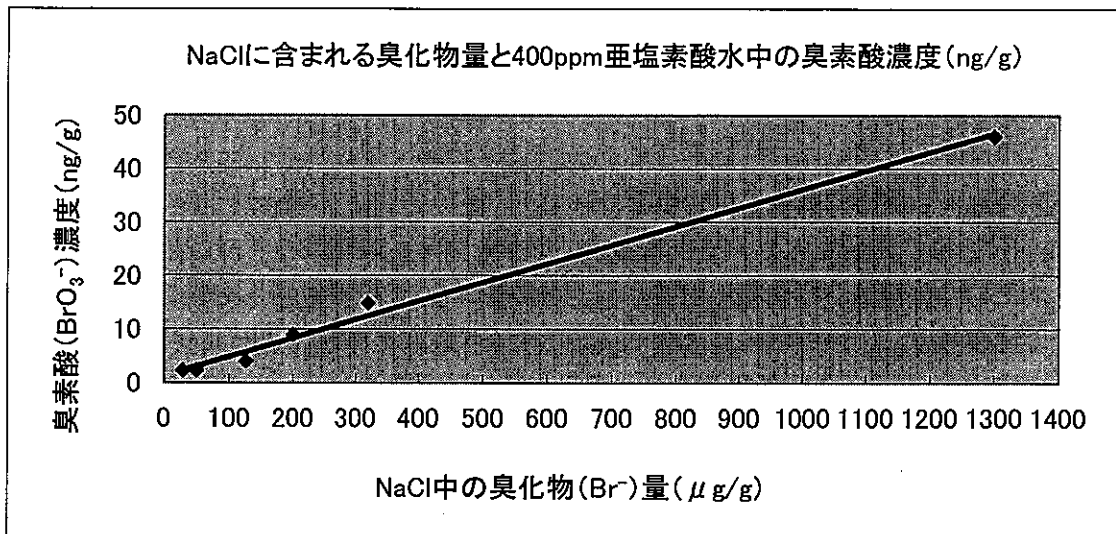
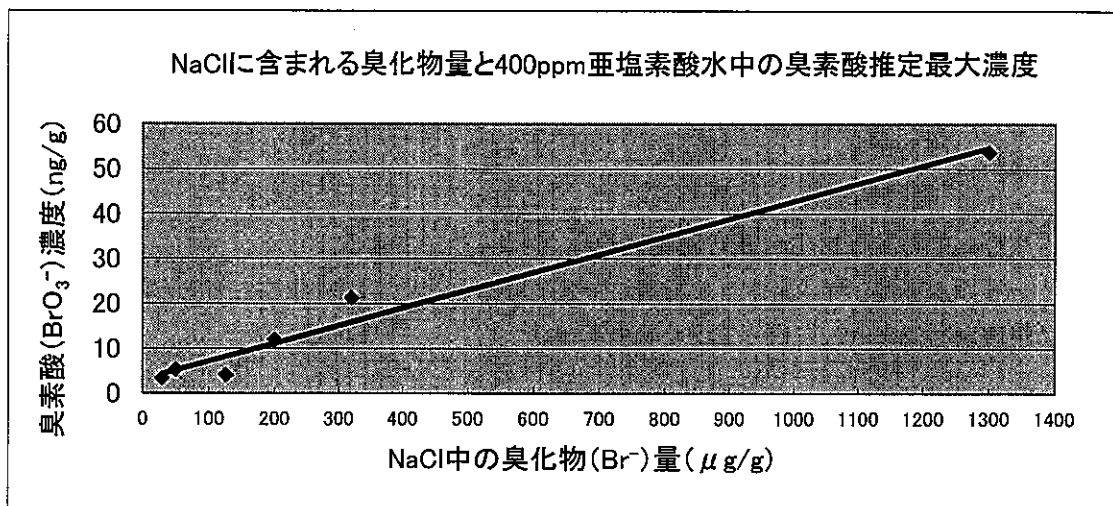


図 1. 塩化ナトリウムに含まれる臭化物量と 400ppm 亜塩素酸水中の臭素酸濃度



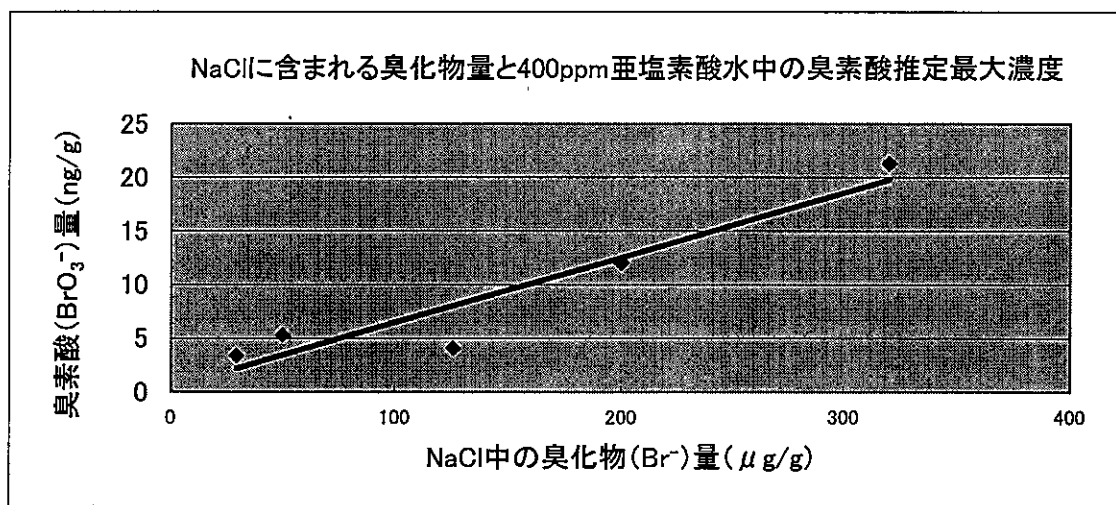


図 2. 塩化ナトリウムに含まれる臭化物量と 400ppm 亜塩素酸水中の臭素酸推定最大濃度

以上のことから、原料の塩化ナトリウムに含まれる臭化物量と 400ppm 亜塩素酸水中の臭素酸濃度、臭素酸推定最大濃度は相関性があるといえる。(図 1, 2)

また、本剤の規格が 4.0～6.0% であることから、臭化物含有量が 50μg/g の精製塩を用いて製造した 6% 亜塩素酸水から調整した 400ppm 亜塩素酸水中に含まれる臭素酸濃度を測定し、その推定最大濃度の差について検証した。

さらに、日本薬局方「塩化ナトリウム」で製造した 4% 亜塩素酸水から調整した 400ppm 亜塩素酸水中に含まれる臭素酸濃度を測定し、その推定最大濃度を算出した。(表 9)

表 9 4%及び 6%亜塩素酸水、日本薬局方「塩化ナトリウム」で製造した 4%亜塩素酸水から調整した 400ppm 亜塩素酸水中の臭素酸推定最大濃度の比較

塩化ナトリウム			400ppm亜塩素酸水中の臭素酸(BrO ₃ ⁻)濃度(ng/g)	400ppm亜塩素酸水中の臭素酸(BrO ₃ ⁻)推定最大濃度(ng/g)	希釈前の亜塩素酸水中の亜塩素酸濃度(%)
種類	純度(%)	臭化物(Br ⁻)含有量(μg/g)			
精製塩 2	99.97	50	2.34	5.30	4.1 (4.1141)
精製塩 2	99.97	50	1.93	3.62	6.1 (6.0893)
局方塩	100.00	N. D.	2.66	5.10	4.1 (4.1400)

- ・ 塩化ナトリウム中の臭化物(Br⁻)量の測定限界は 20 (μg/g) である。
- ・ 各塩化ナトリウムを用いて、3 ロット製造し、各ロットごとに 5 回分析した平均値を元に算出。
- ・ 希釈前の亜塩素酸濃度(%)は、3 ロットの平均。
- ・ 最上段のデータは表 8 の再掲

表 9 より、6% 亜塩素酸水を希釈した 400ppm 亜塩素酸水中の臭素酸濃度及び臭素酸推定最大濃度は、4% 亜塩素酸水を希釈した 400ppm 亜塩素酸水中の臭素酸濃度より低くなった。また、日本薬局

方「塩化ナトリウム」で製造した 400ppm 亜塩素酸水中の臭素酸濃度及び臭素酸推定最大濃度は、それぞれ、2.66 及び 5.10 ng/g となり、精製塩 2（臭化物含有量 50µg/g）で製造した 400ppm 亜塩素酸水中の臭素酸濃度及び臭素酸推定最大濃度と同程度であった。

2) 臭素酸の規格基準の設定の必要性について

1) の調査結果によれば、原料である塩化ナトリウムに含まれる臭化物(Br^-)量と、それを原料として製造した亜塩素酸水（亜塩素酸濃度：400ppm）の臭素酸(BrO_3^-)量には相関性がみられている。（図 1）同様に測定の際のばらつきを考慮した臭素酸(BrO_3^-)推定最大濃度との間にも相関性がみられることも確認された。（図 2）したがって、臭化物(Br^-)の含量が一定程度以下の塩化ナトリウムを製造に用いることにより、臭素酸(BrO_3^-)の発生を一定量以下に抑えることが可能である。

臭化物(Br^-)の含量が規定されている塩化ナトリウムとして、日本薬局方に収載されている「塩化ナトリウム（臭化物(Br^-)濃度：100ppm以下）」がある。

実際に使用する濃度である 400ppm に調整した亜塩素酸水中に含まれる臭素酸(BrO_3^-)の量が、臭素酸(BrO_3^-)の測定の際のばらつきを考慮したうえで、水道水質基準に定められる臭素酸(BrO_3^-)濃度 0.01mg/L（10ppb）以下²となるためには、臭化物(Br^-)濃度の低い塩化ナトリウムを原料に使用する必要がある。表 8 より、臭化物(Br^-)濃度が 100ppm 以下であれば、実際に使用する濃度に希釈された亜塩素酸水中の臭素酸(BrO_3^-)推定最大濃度が 0.01mg/L（10ng/g）以下になると考えられる。

したがって、日本薬局方に収載されている「塩化ナトリウム（臭化物(Br^-)濃度：100ppm以下）」を用いることを「亜塩素酸水」の成分規格の定義の項目に規定することによって、臭素酸(BrO_3^-)の発生量を水道水質基準（10ng/g）以下に抑えることが可能である。

以上のことから、「亜塩素酸水」の指定に当たっては、成分規格の定義の項目に日本薬局方「塩化ナトリウム」の使用を規定することにより、臭素酸(BrO_3^-)の規格基準を設定する必要はないものとする。

10. 亜塩素酸水の食品処理時の食品への塩素の残留について

1) 塩素の残留について

レタス・キャベツ・青ネギを用いて、試験を実施した。

レタスとキャベツは 4 つ切りにした後水洗し、青ネギは約 5mm サイズにカットした後水洗した。その後、各野菜を、水切りした後、イオン交換水、水道水、亜塩素酸水（亜塩素酸濃度 400ppm）に 1 分間又は 10 分間浸漬し、水切りした直後と、水道水で洗浄し、水きりした後の野菜を分析試料として、試料中の亜塩素酸濃度を測定した。その結果、すすぎ洗いしたものについては、いずれの試料からも亜塩素酸は検出されなかった。（表 10）

²水道により供給される水に含まれる臭素酸(BrO_3^-)については、水道法第 4 条第 2 項及び水質基準に関する省令（平成 15 年 5 月 31 日厚生労働省令第 101 号）において、「0.01mg/L 以下であること」とされている。

表 10 イオン交換水・水道水・亜塩素酸水で処理した野菜中の亜塩素酸

野菜	試験区	亜塩素酸(400ppm)			
		浸漬1分間(すすぎ洗いなし)	浸漬1分間・すすぎ洗い1分間	浸漬10分間(すすぎ洗いなし)	浸漬10分間・すすぎ洗い10分間
レタス	Blank区	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	Control区	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	試験区	395	N.D.	394	N.D.
キャベツ	Blank区	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	Control区	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	試験区	394	N.D.	393	N.D.
青ネギ	Blank区	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	Control区	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	試験区	393	N.D.	392	N.D.

単位:mg/kg

検体	亜塩素酸(mg/kg)
レタス処理前	N.D.
キャベツ処理前	N.D.
青ネギ処理前	N.D.
イオン交換水	N.D.
水道水	N.D.
400ppm亜塩素酸水	400

N. D. 検出されず。

Blank区:イオン交換水で浸漬・すすぎ洗い処理したもの

Control区:水道水で浸漬・すすぎ洗い処理したもの

試験区:亜塩素酸水で浸漬・すすぎ洗い処理したもの

2) トリハロメタンの生成について

亜塩素酸水を用いた殺菌処理により、トリハロメタンがどれくらい生成・残存するのかを検証した。

まず、亜塩素酸水(pH5.5、有効塩素濃度100mg/kg)を用いて野菜(レタス;淡路島産)を10分間浸漬処理し、水道水にて10分間すすぎ洗いをした後の野菜を分析試料として、「水道法水質基準に関する省令」に定められている分析方法に準じて総トリハロメタンの測定を実施した。

測定点は以下のとおり。

- 浸漬処理前のレタス
- 水道水
- レタスに浸漬する前の亜塩素酸水

- d) 水道水浸漬処理後のレタス
- e) 亜塩素酸水で浸漬処理後のレタス

表 11 水道水・亜塩素酸水で処理した野菜中の総トリハロメタン

	総トリハロメタン (mg/kg)			
	浸漬1分間(すすぎ洗いなし)	浸漬1分間・すすぎ洗い1分間	浸漬10分間(すすぎ洗いなし)	浸漬10分間・すすぎ洗い10分間
d) 水道水浸漬処理後のレタス	0.0005	0.0005	0.0004	0.0008
e) 亜塩素酸水で浸漬処理後のレタス	0.0001	0.0001	0.0003	0.0010

単位: (mg/kg)

検体	総トリハロメタン (mg/kg)
a) 浸漬処理前のレタス	0.0001
b) 水道水	0.0153
c) レタスに浸漬する前の弊社亜塩素酸水	0.0008

※水道法の総トリハロメタン基準値:0.1mg/L以下

その結果、亜塩素酸水で処理した食品中のトリハロメタンの量は水道水の 1/10 以下であった(表 11)。このことから、亜塩素酸水を用いた食品中にトリハロメタンが残存する可能性は極めて低いと考えられる。

3) アスコルビン酸を消費するラジカルの生成について

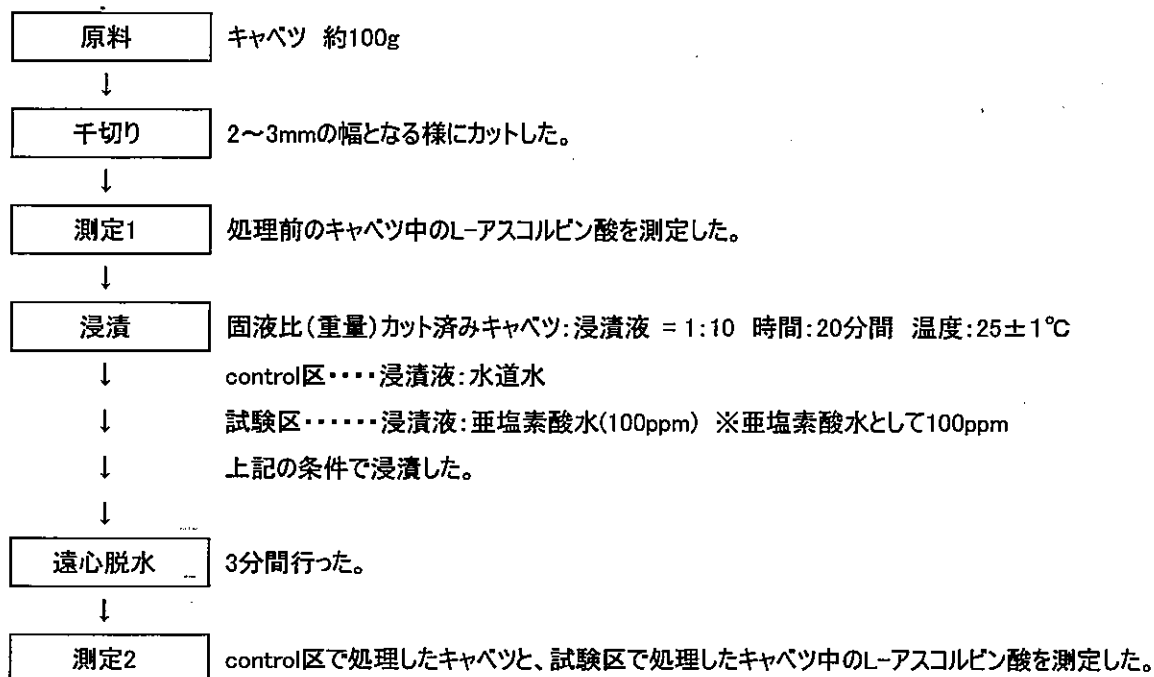
亜塩素酸水を用いたラジカルの生成に関する検証実験を実施した。

処理方法は、キャベツを約 2~3mm 幅で細切りにし、水道水、若しくは 100ppm 亜塩素酸水に 10 分間浸漬処理し、その後、3 分間遠心脱水を行ったものを検体として用い、キャベツの中のアスコルビン酸含有量の測定を 3 回実施し、その平均を検証結果として記載した。

《処理方法》

野菜(キャベツ)の処理

下記の手順に従い、野菜(キャベツ)を処理した。



※カット済みキャベツを処理する前の浸漬液〔水道水と亜塩素酸水(100ppm)〕に関しても、アスコルビン酸を測定した。

その結果、水道水及び亜塩素酸水で処理したものは、処理前と同等のアスコルビン酸（すべて還元型）を保持していることが判った(表 12)。このことから、亜塩素酸水はアスコルビン酸含有量には影響を及ぼさないと考えられ、亜塩素酸水を食品の殺菌処理剤として使用した場合、アスコルビン酸を消費するラジカルが発生する可能性は極めて低いと考えられる。

表 12 水道水・亜塩素酸水で処理した野菜中のアスコルビン酸

1 回目

検体	総アスコルビン酸	酸化型アスコルビン酸	還元型アスコルビン酸
処理前のキャベツ	18.11	-0.01	18.12
水道水	1.96	0.21	1.75
亜塩素酸水(100ppm)	0.20	0.10	0.10
control区	18.66	0.09	18.57
試験区	19.89	0.14	19.75

単位:mg/100g

2回目

検体	総アスコルビン酸	酸化型アスコルビン酸	還元型アスコルビン酸
処理前のキャベツ	18.35	0.07	18.28
水道水	2.07	-0.01	2.07
亜塩素酸水(100ppm)	0.16	-0.05	0.21
control区	19.96	0.20	19.75
試験区	20.33	-0.01	20.34

単位:mg/100g

3回目

検体	総アスコルビン酸	酸化型アスコルビン酸	還元型アスコルビン酸
処理前のキャベツ	17.68	0.18	17.50
水道水	1.96	0.27	1.69
亜塩素酸水(100ppm)	0.21	0.13	0.08
control区	19.25	-0.02	19.27
試験区	19.90	0.07	19.83

単位:mg/100g

平均

検体	総アスコルビン酸	酸化型アスコルビン酸	還元型アスコルビン酸
処理前のキャベツ	18.05	0.08	17.97
水道水	1.99	0.16	1.84
亜塩素酸水(100ppm)	0.19	0.06	0.13
control区	19.29	0.09	19.20
試験区	20.04	0.07	19.97

単位:mg/100g

処理前キャベツ:処理前のキャベツを測定した。

水道水:水道水を測定した。

亜塩素酸水(100ppm):亜塩素酸として100ppmの亜塩素酸水を測定した。

control区:水道水で処理したキャベツを測定した。

試験区:100ppmの亜塩素酸水で処理したキャベツを測定した。

以上の結果より、亜塩素酸水で食品の洗浄に用いたとしても、その後に水道水等で水洗いすることにより、食品に亜塩素酸が残留する可能性は低いと考えられる。また、トリハロメタンやラジカルが発生する可能性に関しても極めて低いと考えられる。

11. 新規指定について

亜塩素酸水を食品衛生法第10条に基づく添加物として指定することは差し支えない。同法第11条第1項の規定に基づき、次のとおり使用基準及び成分規格を定めることが適当である。

使用基準について

食品安全委員会により設定された ADI (0.029mg/kg 体重/日) 及び一日摂取量の推計結果 (0.022 mg/kg 体重/日) を踏まえ、以下のとおりとすることが適当である。

使用基準 (案)

亜塩素酸水の使用量は、亜塩素酸として、穀類 (但し、米・加工品にあつては、精白米に限る。)、豆類、野菜類、果実類、藻類、魚介類、肉類にあつては、浸漬液又は噴霧液 1 kgにつき (精白米にあつては、加し水 1 kgにつき) 0.4g/kg 以下でなければならない。また、使用した亜塩素酸水は、最終食品の完成前に分解し、又は除去しなければならない。

(参考)

品 名	主 要 用 途	使 用 基 準		
		対象食品	使用量の最大限度等	使用制限
亜塩素酸水	殺菌料	穀類 (精白米に限る。)	亜 塩 素 酸 と し て 0.4g/kg 以下 (加し水 1 kgにつき)	最終食品の完成前に分解し、又は除去しなければならない。
		豆類、野菜類、果実類、藻類、魚介類、肉類	亜 塩 素 酸 と し て 0.4g/kg 以下 (浸漬液又は噴霧液 1 kgにつき)	

成分規格 (案)

亜塩素酸水の成分規格をそれぞれ別紙 1 のとおり設定することが適当である (設定根拠は別紙 2、成分規格 (案) と対応する国際規格等との比較は別紙 3 のとおり。)

亜塩素酸水
Chlorous Acid Water

定 義 本品は、日本薬局方塩化ナトリウムを溶かした飽和塩化ナトリウム溶液に塩酸を加え、酸性条件下で、無隔膜電解槽（隔膜で隔てられていない陽極及び陰極で構成されたものをいう。）内で電解して得られる水溶液に、硫酸を加えて強酸性とし、生成する塩素酸に過酸化水素水を加えて反応させて得られる水溶液である。

含 量 本品は、亜塩素酸 ($\text{HClO}_2=68.46$) 4.0～6.0%を含む。

性 状 本品は、うすい黄緑～黄赤色の透明な液体で、塩素のにおいがある。

確認試験 (1) 本品の水溶液 (1→20) 5ml に過マンガン酸カリウム溶液 (1→300) 0.1ml を加えるとき、液は赤紫色となり、これに硫酸 (1→20) 1ml を追加するとき、液は淡黄色に変わる。

(2) 本品の水溶液 (1→20) は、波長 258nm～262nm 及び 346nm～361nm に極大吸収部がある。

(3) 本品にヨウ化カリウム・デンプン紙を浸すとき、ヨウ化カリウム・デンプン紙は青変し、次に退色する。

純度試験 (1)鉛 鉛として 1.0 $\mu\text{g/g}$ 以下

5.0 g を量り、硝酸 2ml 及び塩酸 20ml を加え、水浴上で蒸発乾固した後、残留物に硝酸(1→150)を加えて 10ml とし、検液とする。また、鉛標準液 1.0ml を量り、硝酸(1→150)を加えて 20ml とし比較液とする。鉛試験法第 1 法により試験を行う。

(2) ヒ素 As_2O_3 として 1.0 $\mu\text{g/g}$ 以下 (2.0g, 第 2 法, 装置 B)

定 量 法 本品約 5g を精密に量り、水を加えて正確に 100ml とする。この液をガス洗浄瓶に入れ、液が無色となるまで、窒素をガス洗浄瓶に吹き込み、試料液とする。試料液 20ml を正確に量り、ヨウ素瓶に入れ、硫酸 (1→10) 10ml を加えた後、ヨウ化カリウム 1g を加え、直ちに密栓してよく振り混ぜる。ヨウ素瓶の上部にヨウ化カリウム試液 5ml を入れ、暗所に 15 分間放置する。次に栓を緩めてヨウ化カリウム試液を流し込み、直ちに密栓してよく振り混ぜた後、遊離したヨウ素を 0.1mol/L チオ硫酸ナトリウムで滴定する（指示薬 デンプン試液 5ml）。指示薬は液の色が淡黄色に変化した後に加える。別に空試験を行い補正する。

0.1mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液 1ml=1.711mg HClO_2

亜塩素酸水の規格設定根拠

既指定添加物に、亜塩素酸ナトリウムがあり、第8版食品添加物公定書には、亜塩素酸ナトリウム及び亜塩素酸ナトリウム液(製剤)の規格が収載されている。また、JECFA規格(以下JECFA)には、Sodium Chlorite(亜塩素酸ナトリウム)が、FCC規格(以下FCC)には、Acidified Sodium Chlorite Solutions(酸性化亜塩素酸ナトリウム, ASC)の規格がある。これらを参考に成分規格案を設定した。

定義 臭素酸の混入実態調査及び臭素酸の規格基準の設定の必要性に係る検討をふまえ、今回指定する「亜塩素酸水」は、日本薬局方に収載されている「塩化ナトリウム」を溶かした飽和塩化ナトリウム溶液を用いることを明記した。

含量 実測を踏まえ、4.0～6.0%とした。

性状 製品の性状に基づき、「うすい黄緑～黄赤色の透明な液体で、塩素のにおいがある。」とした。

確認試験

- (1) 亜塩素酸塩の確認試験として、一般試験法 25.定性反応試験法 亜塩素酸塩(1)及び(2)がある。(1)の反応は、「亜塩素酸塩の溶液(1→20) 5mlに塩酸(1→4) 5mlを加えるとき、黄色のガスを発生し、液は黄褐色を呈する。」というものであるが、本品は、既にうすい黄緑～黄赤色を呈し、判定しにくいため、(2)のみとした。ただし、(2)は、亜塩素酸塩の溶液(1→20)を用いるが、本品は液体であるため、希釈の要不要が判断しにくいため、各条に試験法を記載することとした。
- (2) 紫外部極大吸収：本品の水溶液は、258～262nm及び346～361nmに吸収極大を持ち、亜塩素酸ナトリウム液との識別のため、設定した。
- (3) 酸化漂白作用：本品には、酸化漂白作用があることから、本規格を設定した。

純度試験

- (1) 鉛 FCCのASCでは1mg/kg以下とされている。本規格案では、これに倣い、Pbとして1.0 μ g/g以下とした。
- (2) ヒ素 JECFA及びFCCでは規格を設けていない。公定書において、亜塩素酸ナトリウム及び亜塩素酸ナトリウム液は1.0 μ g/g以下としていることから、本規格案では、これらに倣い、As₂O₃として1.0 μ g/g以下とした。なお、亜塩素酸水は、強い酸化力を持つため、第2法を用いた。

定量法 他の塩素系殺菌料の定量と同様、ヨウ素滴定法とした。ただし、本品に混在する二酸化塩素は定量を妨害するため、液が無色となるまで、窒素を吹き込んだ液を試料液とすることとした。

亜塩素酸ナトリウム(液)に設定され、本規格では採用しなかった項目

確認試験

液性 本品は、酸性～中性の溶液であり、酸化力が強く、リトマス紙を速やかに退色するため、判定が困難であることから採用しなかった。

純度試験

重金属 食品添加物の重金属試験は、今後、JECFAに倣い、鉛試験に置き換えることとなるため本規格案では、鉛を設定することとした。

亜塩素酸水規格案及び塩素系殺菌料の国際規格との対比表

本規格		JECFA (2007)	FCC
品名	亜塩素酸水	Sodium Chlorite	Acidified Sodium Chlorite Solutions
CAS番号	設定せず	7758-19-2	-
分子量	設定せず	90.44	-
定義	本品は、日本薬局方塩化ナトリウムを溶かした飽和塩化ナトリウム溶液に塩酸を加え、酸性条件下で、無隔膜電解槽(隔膜で隔てられていない陽極及び陰極で構成されたものをいう。)内で電解して得られる水溶液に、硫酸を加えて強酸性とし、生成する塩素酸に過酸化水素水を加えて反応させて得られる水溶液である	亜塩素酸ナトリウムは以下のように製造する。はじめに、塩素酸ナトリウムを、塩酸の存在下で、化学的または電気化学的に還元し、二酸化塩素を生成する。次に、二酸化塩素を、水酸化ナトリウム溶液中で、過酸化水素で還元し、30～50%亜塩素酸ナトリウムを含む溶液を得る。この液を乾燥すると、約80%亜塩素酸ナトリウムを含む固形分を得る。 または、塩素酸ナトリウム、過酸化水素及び硫酸を反応させて得られる二酸化塩素を、水酸化ナトリウム溶液中の過酸化水素で還元し、亜塩素酸ナトリウムの溶液を得る。この液を硫酸で中和し、得られた溶液を乾燥させ、塩化ナトリウム、硫酸ナトリウム、または炭酸ナトリウムの添加により亜塩素酸ナトリウムの含有量を80%に調整することができる。	酸性化亜塩素酸ナトリウム(ASC)の溶液は、無～淡黄色の透明な液体。ASC溶液は、亜塩素酸ナトリウム(NaClO_2)と亜塩素酸(HClO_2)の平衡混合物である。ASC溶液は、使用時に、亜塩素酸ナトリウム溶液に安全で適切な酸を加えて2.3～3.9の範囲内のpHとなるようpHを低下させて調製する。
含量	4.0～6.0% (亜塩素酸として)	79～86% (亜塩素酸ナトリウムとして)	40～1200ppm*1 (亜塩素酸ナトリウムとして)
性状	うすい黄緑～黄赤色の透明な液体で、塩素のにおいがある。	白色の結晶性粉末又は無～緑黄色の液体	無～淡黄色の透明な液体
確認試験	亜塩素酸塩	ヨウ化カリウムによる呈色	-
	紫外外部極大吸収	258～262nm及び346～361nm (水溶液)	-
	酸化漂白作用	ヨウ化カリウム・デンプン紙を青変した後、脱色	-
	ナトリウム	-	-
純度試験	溶解性	1) 酢酸ウラニルコバルト試液による呈色 2) 炎色反応 水に溶やすく、極性溶媒にやや溶けにくく、非極性溶媒に溶けない	-
	鉛 Pbとして	1.0 µg/g以下	1 mg/kg以下
	ヒ素 As_2O_3 として	1.0 µg/g以下	-
	水銀	設定せず	1 mg/kg以下
純度試験	炭酸ナトリウム	-	-
	水酸化ナトリウム	-	-
	硫酸ナトリウム	-	-
	塩素酸ナトリウム	-	-
	塩化ナトリウム	-	-
pH	設定せず	-	2.3～3.9
乾燥減量	設定せず	6%以下 (105℃, 24時間, 5g)	-
定量法	通気後、ヨウ素滴定法	ヨウ素滴定法	ヨウ素滴定法

*1:純度試験に記載

亜塩素酸水規格案及び第8版食品添加物公定書の亜塩素酸ナトリウム(液)規格との比較

		本規格	第8版食品添加物公定書	
名称		亜塩素酸水	亜塩素酸ナトリウム	亜塩素酸ナトリウム液
CAS番号		設定せず	7758-19-2	-
分子量		設定せず	90.44	-
含量		4.0～6.0% (亜塩素酸として)	70.0%以上 (亜塩素酸ナトリウムとして)	亜塩素酸ナトリウムとして4.0～25.0%で、その表示量の95～100%を含む
性状		うすい黄緑～黄赤色の透明な液体で、塩素のにおいがある。	白色の粉末で、においがないか又はわずかににおいがある。	無～淡黄色の澄明な液体で、においがないか又はわずかににおいがある。
確認試験	亜塩素酸塩	硫酸酸性過マンガン酸カリウム溶液による脱色	i) 塩酸によるガスの発生と液の呈色 ii) 硫酸酸性過マンガン酸カリウム溶液による脱色	i) 塩酸によるガスの発生と液の呈色 ii) 硫酸酸性過マンガン酸カリウム溶液による脱色
	紫外部極大吸収	258～262nm及び346～361nm(水溶液)	258～262nm (リン酸緩衝液)	258～262nm (リン酸緩衝液)
	酸化漂白作用	ヨウ化カリウム・デンプン紙を青変した後、脱色	-	-
	ナトリウム	-	i) 炎色反応 ii) ピロアンチモン酸水素カリウムによる呈色	i) 炎色反応 ii) ピロアンチモン酸水素カリウムによる呈色
純度試験	液性	設定せず	-	アルカリ性
	鉛 Pbとして	1.0 µg/g以下	-	-
	ヒ素 As ₂ O ₃ として	1.0 µg/g以下	1.0µg/g以下	1.0µg/g以下
	重金属 Pbとして	設定せず	10µg/g以下	10µg/g以下
定量法		通気後、ヨウ素滴定法	ヨウ素滴定法	ヨウ素滴定法

(参考)

これまでの経緯

平成18年8月14日	厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに添加物の指定に係る食品健康影響評価について依頼
平成18年8月24日	第156回食品安全委員会（依頼事項説明）
平成19年12月25日	第52回食品安全委員会添加物専門調査会
平成20年1月15日	第53回食品安全委員会添加物専門調査会
平成20年2月25日	第55回食品安全委員会添加物専門調査会
平成20年3月13日 ～平成20年4月11日	第230回食品安全委員会（報告） 食品安全委員会における国民からの意見聴取
平成20年5月26日	第58回食品安全委員会添加物専門調査会
平成20年6月19日	第243回食品安全委員会（報告） 食品安全委員会より食品健康影響評価が通知
平成23年3月28日	薬事・食品衛生審議会へ諮問
平成23年5月11日 平成23年11月2日	薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会添加物部会 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会添加物部会

●薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会添加物部会

[委員]

氏 名	所 属
穂山 浩	国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部長
井手 速雄	東邦大学薬学部教授
井部 明広	実践女子大学生生活科学部食生活科学科教授
小川 久美子	国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター病理部長
鎌田 洋一	国立医薬品食品衛生研究所衛生微生物部第三室長
北田 善三	畿央大学健康科学部教授
佐藤 恭子	国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部第一室長
中島 春紫	明治大学農学部農芸化学科教授
堀江 正一	大妻女子大学家政学部食物学科食安全学教室教授
山内 明子	日本生活協同組合連合会執行役員組織推進本部本部長
山崎 壮	国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部第二室長
由田 克士	大阪市立大学大学院生活科学研究科教授
吉成 浩一	東北大学大学院薬学研究科医療薬学講座薬物動態学分野准教授
若林 敬二※	静岡県立大学環境科学研究所 大学院生活健康科学研究科 環境物質科学専攻 化学環境研究室教授

※部会長