

平成24年10月3日

薬事・食品衛生審議会  
食品衛生分科会  
分科会長 岸 玲子 殿

薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会  
添加物部会長 若林 敬二

食品添加物の指定等に関する薬事・食品衛生審議会  
食品衛生分科会添加物部会報告について

平成23年4月28日付け厚生労働省発食安0428第3号をもって厚生労働大臣から諮問された、下記の事項について、当部会において審議を行った結果を別添のとおり取りまとめたので、これを報告する。

記

1. 亜塩素酸水の添加物としての指定の可否について
2. 亜塩素酸水の添加物としての使用基準及び成分規格の設定について

## 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

## 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  $\text{HClO}_2$  (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

 $\text{HClO}_2$ 、 $\text{ClO}_2^-$ 、 $\text{ClO}_2 \cdot$  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<sup>1</sup>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 ( $\text{HClO}_2$ ) 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 $\text{HClO}_2$ のほか、 $\text{ClO}_2^-$ 、 $\text{ClO}_2 \cdot$  in water phase が混在しうる。なお、 $\text{HClO}_2$ は、解離状態の $\text{H}^+ \cdot \text{ClO}_2^-$ と非解離状態の $\text{HClO}_2$ 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。

<sup>1</sup>製造工程において過酸化水素の量は計算され添加される。もし、計算量より過剰に過酸化水素が添加されたとしても、積極的に塩素や次亜塩素酸と反応して消費されると考えられる。実際、要請者の製造した亜塩素酸水から過酸化水素は検出されていない。

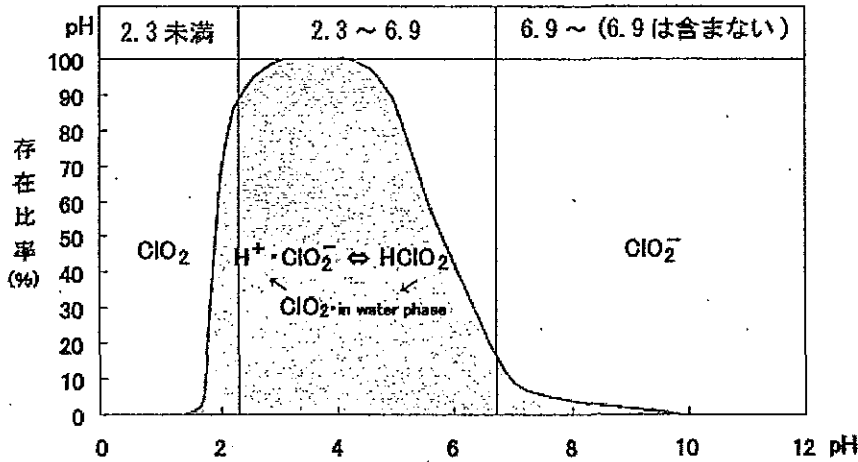


図1 亜塩素酸水が含有する塩素化合物の pH による存在比の変化 (事業者提供資料より)

## 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、赤身肉及び内臓肉、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、食肉加工場において全家禽胴体肉の前処理、部分胴体、赤身肉及び内臓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*(試験管内)における亜塩素酸水の殺菌効果

亜塩素酸水の殺菌効果を検討するため、細菌類、真菌類 (酵母)、真菌類 (カビ) を用いて、亜塩素酸水の濃度や pH の条件を調整し、試験を実施した。なお、塩素系殺菌料の殺菌効果は、微生物との接触時の pH の影響を受けることが報告されていることから、pH 条件を加えている。

#### (1) 試験に用いた微生物及び用いた理由

試験に用いた微生物及び用いた理由については、表1のとおりである。

表 1 試験に用いた微生物及び用いた理由

	微生物名	用いた理由
食中毒細菌	B-1 サルモネラ <i>Salmonella</i> Enteritidis IFO 3313	牛肉・食鳥肉加工品における食中毒で、サルモネラがその原因物質の1つとなっていることから本菌を試験に用いた。
	B-2 カンピロバクター <i>Campylobacter jejuni</i> JCM 2013	鶏肉、牛肉などの食肉製品を原因食品とし、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本菌を試験に用いた。
	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本菌を試験に用いた。
	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試験に用いた。
	B-5 腸管出血性大腸菌 0157 : H7 <i>Escherichia coli</i> 0157 : H7	加工食品において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試験に用いた。
	B-6 腸炎ビブリオ <i>Vibrio parahaemolyticus</i> NBRC 1271 腸炎ビブリオ	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試験に用いた。
食中毒腐敗細菌	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本菌を試験に用いた。
	B-8 セレウス菌(栄養細胞) <i>Bacillus cereus</i> NBRC 15305	加熱処理工程のある食品における食中毒原因物質となっていることから本菌を試験に用いた。
	B-9 セレウス菌(芽胞) <i>Bacillus cereus</i> NBRC 15305	加熱処理工程のある食品における食中毒原因物質となっていることから本菌を試験に用いた。
真菌類(酵母)	Y-1 子のう菌酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> IFO 0216	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本菌を試験に用いた。
	Y-2 不完全酵母 <i>Candida albicans</i> NBRC 1594	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本菌を試験に用いた。
	Y-3 子のう菌酵母 <i>Hansenula anomala</i> NBRC 10213	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本菌を試験に用いた。

真菌類 (カビ)	F-1	コウジカビ属 <i>Aspergillus flavus</i> NBRC33021	食品の腐敗の原因であり、カビ毒 (mycotoxin, マイコトキシン) 産生菌でもあることから本菌を試験に用いた。
	F-2	フザリウム属 <i>Fusarium graminearum</i> NBRC9462	食品の腐敗の原因であり、カビ毒 (mycotoxin, マイコトキシン) 産生菌でもあることから本菌を試験に用いた。
	F-3	アオカビ属 <i>Penicillium thomii</i> Maire NBRC31394	食品の腐敗原因真菌類となっていることから本菌を試験に用いた。
	F-4	不完全菌類 <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試験に用いた。

## (2) 試験方法

### ①亜塩素酸水濃度の定量法

亜塩素酸水約 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。

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

### ②緩衝液の調製方法

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。それぞれの緩衝液の調製方法は 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リン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リン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リン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リン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リン酸水素二ナトリウム溶液

11. 38mLを加えpH5.5緩衝液を調製した。

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リン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リン酸水素二ナトリウム溶液  
14.20mLを加えpH6.5緩衝液を調製した。

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リン酸水素二ナトリウム溶液  
16.47mLを加えpH7.0緩衝液を調製した。

ix) 7.5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リン酸水素二ナトリウム溶液  
18.45mLを加えpH7.5緩衝液を調製した。

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。

### ③試験に用いた微生物の懸濁液の調製方法

#### サルモネラ (B-1)

本菌を普通寒天培地(栄研化学株式会社製)上に塗抹し、37°C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均一に懸濁した。本液を遠心処理して上澄液を除去し、再度、菌体を滅菌済み生理食塩水に均一に懸濁し、サルモネラ懸濁液( $10^8$ 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。

#### カンピロバクター (B-2)

本菌のグリセロールストック(-70°C)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°C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°C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°C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、6,000rpm, 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均一に懸濁した。本液を遠心処理して上澄液を除去し、再度、菌体を滅菌済み生理食塩水に均一に懸濁し、カンピロバクター懸濁液( $10^8$ 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。

#### 黄色ブドウ球菌 (B-3)

本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°C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均一に懸濁し、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、再度、菌体を滅菌済み生理食塩水に均一に懸濁し、黄色ブドウ球菌懸濁液( $10^8$ 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。

#### 大腸菌 (B-4)、腸管出血性大腸菌 (B-5)

本菌を普通寒天培地(栄研化学株式会社製)上に塗抹し、37°C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均一に懸濁した。本液を遠心処理して上澄液を除去し、再度、菌体を滅菌済み生理食塩水に均一に懸濁し、大腸菌懸濁液( $10^8$  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。

#### 腸炎ビブリオ (B-6)

本菌を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°C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3%食塩添加イオン交換水にて懸濁した。本液を遠心処理して上澄液を除去し、再度、菌体を滅菌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。

#### 乳酸菌 (B-7)

本菌を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°C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均一に懸濁した。本液を遠心処理して上澄液を除去し、再度、菌体を滅菌済み生理食塩水に均一に懸濁し、乳酸菌懸濁液( $10^8$  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。

#### セレウス菌(栄養細胞) (B-8)

本菌を卵黄加CW寒天平板培地(栄研化学株式会社製)上に塗抹し、37°Cで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均一に懸濁し、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、再度、菌体を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)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。

#### セレウス菌(芽胞) (B-9)

本菌を卵黄加CW寒天平板培地(栄研化学株式会社製)上に塗抹し、37°Cで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均一に懸濁し、乾熱滅菌済み不織布で濾過を行った。本菌液を85°Cで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、再度、菌体を滅菌済み生理食塩水に均一に懸濁し、セレウス菌(芽胞)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。なお、使用までは冷蔵保管(5°C)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。

#### 真菌類(酵母) (Y-1、Y-2、Y-3)

本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°Cで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均一

に懸濁した。本液を遠心処理して上澄液を除去し、再度、菌体を滅菌済み生理食塩水に均一に懸濁し、酵母懸濁液( $10^8$  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。

#### 真菌類 (カビ) (F-1、F-2、F-3、F-4)

本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、 $30^{\circ}\text{C}$ 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、再度、菌体を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。なお、使用までは冷蔵保管( $4^{\circ}\text{C}$ )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。

#### ④亜塩素酸水試料液の調製方法

亜塩素酸水について、①の定量法により濃度を確認するとともに、成分規格に規定する性状を確認した。

##### ・セレウス菌(芽胞)以外

微生物との接触時の亜塩素酸濃度が10ppm、50ppm、100ppm、400ppmになるように②の緩衝液を用いて亜塩素酸水を希釈した。本液9.0mLを各々滅菌済試験管に移し、試料液とした。

##### ・セレウス菌(芽胞)

微生物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②の緩衝液を用いて亜塩素酸水を希釈した。本殺菌液9.0mLを各々滅菌済試験管に移し、試料液とした。

#### ⑤亜塩素酸水試料液と微生物の接触方法及び殺菌効果の評価方法

④の試料液9.0mLに③の微生物懸濁液( $10^8$  個/mL) 1.0mLを加えて均一に混合し、 $25^{\circ}\text{C}$ ウォーターバス中にて保管し、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(②の緩衝液で調製)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。その後は混釈培養法により生菌数の測定を行った。なお、2プレートに発生したコロニーの数を平均した。

以上の方法で実施し、生菌数が $10^7$ 個/mLから10個/mL以下に減少した場合を殺菌効果があるとして判定した。

#### ⑥微生物と接触後の残留亜塩素酸の中和処理条件の適正性確認試験

0.01mol/Lチオ硫酸ナトリウム溶液を加えた中和処理により、残留塩素の有無を確認し、中和に必要なとされる処理時間を確認した。また、残留する亜塩素酸及び中和剤の影響の有無について最終培養時の各微生物の発育により確認した。微生物は、表1に示したもののうち、B-1、4、6、8、9、Y-1~3、F-1~4を用いた。

i) 亜塩素酸水試料液と微生物が接触する際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、更に緩衝試料液1mLを加え、直ちに均一に混合し、25℃で保管した。所定時間毎（1分、3分、5分、10分後）に取り出してから定量を行い、残留塩素量を確認した。その結果、全ての試験区において、残留塩素は定量限界以下であることが確認できた（表2）。

ii) i) で中和処理した各緩衝試料液の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白金耳を塗抹して発育の有無を確認した。本試験に用いた全ての菌種について、亜塩素酸濃度10ppm、50ppm、100ppm、400ppm及び保管時間 1分、3分、5分、10分後の全ての試験区において発育が確認できた。

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

設定濃度	亜塩素酸水の亜塩素酸濃度 (ppm)			
	10	50	100	400
1分後	-	-	-	-
3分後	-	-	-	-
5分後	-	-	-	-
10分後	-	-	-	-

注： - ; 未検出 (定量限界 0.1ppm)

### (3) 試験結果

⑥の方法により、亜塩素酸水や pH 条件を調製し殺菌効果を調べた。

試験結果一覧は表 3 のとおり。pH 条件ごとに、殺菌効果があった亜塩素酸水濃度のうち、最も低い濃度 (ppm) を記載した。(例えば、サルモネラに対しては、pH5.0 の場合、50, 100, 400ppm の各濃度の亜塩素酸水に殺菌効果が認められたことから、該当セルに「50」と記載した。)

表 3 各 pH 条件において殺菌効果が認められた最低濃度 (ppm)

		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	10	10	10	50	50	50	50	50	50	
	カンピロバクター	10	10	10	10	10	10	10	50	50	
	黄色ブドウ球菌	10	10	10	10	10	10	10	50	50	
	大腸菌	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
	腸管出血性大腸菌 O157	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
	腸炎ビブリオ	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
細菌食中毒・腐敗	乳酸菌	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
	セレウス菌 (栄養細胞)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
	セレウス菌 (芽胞)	200	200	200	200	200	200	200	200	200	

母真菌類(酵)	子のう菌酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> IF00216	10	10	10	10	10	10	50	50	50
	不完全酵母 <i>Candida albicans</i> NBRC1594	10	10	10	10	10	50	50	50	50
	子のう菌酵母 <i>Hansenula anomala</i> NBRC10213	10	10	10	10	10	10	10	50	50
真菌類(カビ)	コウジカビ属 <i>Aspergillus flavus</i> NBRC33021	50	50	50	50	100	100	100	100	100
	フザリウム属 <i>Fusarium graminearum</i> NBRC9462	10	10	50	50	50	50	100	100	100
	アオカビ属 <i>Penicillium thomii</i> NBRC31394	10	10	50	50	50	50	50	50	50
	不完全菌類 <i>Cladosporium metanigrum</i> NBRC6353	10	10	50	50	50	50	50	50	100

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認められた。

## 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に基づき、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

試験に用いた食品及び微生物とそれぞれの選定理由については、表4のとおりである。

表 4 食品の選定と微生物の選定理由

食品群	対象食品	対象微生物	対象食品及び対象微生物の選定理由	資料番号
野菜類	青ネギ	一般生菌 大腸菌 <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0157等が問題となっているため、大腸菌を試験に用いた。	B-1
魚介類	生鮮サンマ	一般生菌 腸炎ビブリオ <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試験に用いた。	B-2
穀類 (精白米)	うるち米	一般生菌 セレウス菌(芽胞) <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ため、セレウス菌を試験に用いた。	B-3
豆類	大豆	一般生菌 セレウス菌(芽胞) <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ため、セレウス菌を試験に用いた。	B-4
肉類	牛肉	一般生菌	牛肉加工品での食中毒は食品由来の病原性大腸菌類、	B-5

		<p>大腸菌 <i>Escherichia coli</i> IFO 3313</p> <p>サルモネラ <i>Salmonella</i> Enteritidis IFO 3313</p> <p>黄色ブドウ球菌 <i>Staphylococcus aureus</i> IFO 12732</p>	<p>サルモネラと、処理工程由来の黄色ブドウ球菌が問題となっているため、大腸菌、サルモネラ、黄色ブドウ球菌を試験に用いた。</p>	
肉類	鶏肉	<p>一般生菌</p> <p>大腸菌 <i>Escherichia coli</i> IFO 3313</p> <p>サルモネラ <i>Salmonella</i> Enteritidis IFO 3313</p> <p>黄色ブドウ球菌 <i>Staphylococcus aureus</i> IFO 12732</p> <p>カンピロバクター <i>Campylobacter jejuni</i> JCM2013</p>	<p>食鳥肉加工品での食中毒は食品由来の病原性大腸菌類、サルモネラと、処理工程由来の黄色ブドウ球菌が問題となっているため、大腸菌、サルモネラ、黄色ブドウ球菌を試験に用いた。</p> <p>なお、カンピロバクターについても殺菌効果について確認した。</p>	B-6
果実類	イチゴ	<p>一般生菌</p> <p>大腸菌 <i>Escherichia coli</i> IFO 3313</p> <p>アオカビ属 <i>Penicillium thomii</i> NBRC 31394</p> <p>コウジカビ属 <i>Aspergillus flavus</i> NBRC 33021</p> <p>不完全菌類 <i>Cladosporium metanigrum</i> NBRC 6353</p> <p>子のう菌酵母 <i>Hansenula anomala</i> NBRC10213</p>	<p>イチゴなどの果物はケーキなどの洋菓子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ため、大腸菌、カビ、酵母類を試験に用いた。</p>	B-7
藻類	ワカメ (塩蔵)	<p>一般生菌</p> <p>腸炎ビブリオ <i>Vibrio parahaemolyticus</i></p>	<p>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が食中毒原因物質とされている。また、加工環境も海辺</p>	B-8

		NBRC 12711 大腸菌 <i>Escherichia coli</i> IFO 3313	の工場が多い。 加工環境を考慮して腸炎ビブリオ、大腸菌を試験に用いた。	
魚介類	ホタテ貝 (生貝)	一般生菌 腸炎ビブリオ <i>Vibrio parahaemolyticus</i> NBRC 12711 大腸菌 <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、大腸菌を試験に用いた。	B-9
魚介類	紋甲イカ	一般生菌 腸炎ビブリオ <i>Vibrio parahaemolyticus</i> NBRC 12711 大腸菌 <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、大腸菌を試験に用いた。	B-10

## (2) 食品における試験方法

### ①亜塩素酸水試料液の調製方法

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、所定箇所サンプルを採取し、菌数を測定した。なお、試験は試験手順に従って3回行い、菌数の測定方法は④に記載した。

### ③微生物懸濁液の調製方法

#### ○カット済み青ネギ（資料番号：B-1）

##### 大腸菌

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均一に懸濁した。本液を遠心処理して上澄液を除去し、再度、菌体を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。

噴霧方法：原料約1kgに対して200mLを手動式噴霧器で、均一に汚染するように無菌プラスチック袋内で混合しながら直接噴霧した。

#### ○生鮮サンマ（資料番号：B-2）

##### 腸炎ビブリオ

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時間培養した後、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。

噴霧方法：原料約 1kg に対して 200mL を手動式噴霧器で、均一に汚染するように無菌プラスチック袋内で混合しながら直接噴霧した。

#### ○うるち米（資料番号：B - 3）

##### セレウス菌（芽胞）

卵黄加CW寒天平板培地（栄研株式会社製）上に塗抹し、 $37^{\circ}\text{C}$ で 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均一に懸濁し、乾熱滅菌済み不織布で濾過を行った。本菌液を  $85^{\circ}\text{C}$ で 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。芽胞形成については染色し顕微鏡で確認した。なお、本懸濁液は  $0^{\circ}\text{C}$ に保管し、2 週間以内に使用した。

噴霧方法：原料約 1kg に対して 200mL を手動式噴霧器で、均一に汚染するように無菌プラスチック袋内で混合しながら直接噴霧した。

#### ○大豆（資料番号：B - 4）

##### セレウス菌（芽胞）

卵黄加CW寒天平板培地（栄研株式会社製）上に塗抹し、 $37^{\circ}\text{C}$ で 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均一に懸濁し、乾熱滅菌済み不織布で濾過を行った。本菌液を  $85^{\circ}\text{C}$ で 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。芽胞形成については染色し顕微鏡で確認した。なお、本懸濁液は  $0^{\circ}\text{C}$ に保管し、2 週間以内に使用した。

噴霧方法：原料約 1kg に対して 200mL を手動式噴霧器で、均一に汚染するように無菌プラスチック袋内で混合しながら直接噴霧した。

#### ○牛肉（資料番号：B - 5）

##### 大腸菌及びサルモネラ

被検菌を普通寒天培地（栄研化学株式会社製）上に塗抹し、 $37^{\circ}\text{C}$ 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均一に懸濁した。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。

##### 黄色ブドウ球菌

被検菌を普通寒天培地（栄研化学株式会社製）上に塗抹し、 $37^{\circ}\text{C}$ 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均一に懸濁し、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、黄色ブドウ球菌懸濁液 ( $10^8$ 個/mL) とした。

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。

噴霧方法：原料約 1kg に対して 200mL を手動式噴霧器で、均一に汚染するように無菌

プラスチック袋内で混合しながら直接噴霧した。

#### ○鶏肉（資料番号：B - 6）

##### 大腸菌及びサルモネラ

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°C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均一に懸濁した。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。

##### 黄色ブドウ球菌

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°C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均一に懸濁し、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、黄色ブドウ球菌懸濁液（ $10^8$  個/mL）とした。

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。

噴霧方法：原料約1kgに対して200mLを手動式噴霧器で、均一に汚染するように無菌プラスチック袋内で混合しながら直接噴霧した。

##### カンピロバクター

本被検菌のグリセロールストック（-70°C）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°C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°C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°C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均一に懸濁した。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、カンピロバクター懸濁液（ $10^8$  個/mL）とした。

なお、上記1種を、本試験の噴霧用菌懸濁液とし、上記3種の菌とは別に実施した。  
噴霧方法：原料約1kgに対して200mLを手動式噴霧器で、均一に汚染するように無菌プラスチック袋内で混合しながら直接噴霧した。

#### ○イチゴ（資料番号：B - 7）

##### 大腸菌

普通寒天培地（栄研化学株式会社製）上に塗抹し、37°Cで24時間培養した後、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。

##### 酵母 *Hansenula anomala* NBRC 10213

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°Cで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均一に懸濁した。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<sup>8</sup> 個/mL)とした。菌液は冷蔵保管(4℃)し、2週間以内に使用した。

噴霧方法：原料約 1kg に対して 200mL を手動式噴霧器で、均一に汚染するように無菌プラスチック袋内で混合しながら直接噴霧した。

カビ *Aspergillus flavus* NBRC 33021、*Penicillium thomii* NBRC 31394 及び *Cladosporium metanigrum* NBRC 6353

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<sup>8</sup> 個/mL)とした。菌液は冷蔵保管(4℃)し、2週間以内に使用した。

上記5種の菌懸濁液を等量ずつ混合し、本試験の噴霧用菌懸濁液とした。

噴霧方法：原料約 1kg に対して 200mL を手動式噴霧器で、均一に汚染するように無菌プラスチック袋内で混合しながら直接噴霧した。

#### ○ワカメ(資料番号：B-8)

##### 腸炎ビブリオ

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 時間培養した後、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<sup>8</sup>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。

##### 大腸菌

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、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<sup>8</sup>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。

上記2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。

噴霧方法：この時の噴霧は原料約 1kg に対して 200mL を手動式噴霧器で、均一に汚染するように無菌プラスチック袋内で混合しながら直接噴霧した。

#### ○ホタテ貝柱(資料番号：B-9)

##### 腸炎ビブリオ

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 時間培養した後、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<sup>8</sup>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。

##### 大腸菌

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、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<sup>8</sup>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。

上記2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。

噴霧方法：原料約 1kg に対して 200mL を手動式噴霧器で、均一に汚染するように無菌

プラスチック袋内で混合しながら直接噴霧した。

#### ○紋甲イカ（資料番号：B - 10）

##### 腸炎ビブリオ

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°Cで48時間培養した後、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。

##### 大腸菌

普通寒天培地（栄研化学株式会社製）上に塗抹し、37°Cで24時間培養した後、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。

上記2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。

噴霧方法：原料約1kgに対して200mLを手動式噴霧器で、均一に汚染するように無菌プラスチック袋内で混合しながら直接噴霧した。

#### ④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。

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

大腸菌群数測定用培地としてはデスオキシコーレイト寒天培地（栄研化学株式会社製）を用い、37°Cで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及び大腸菌群数測定用（住友スリーエム株式会社製）、35°Cで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。

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

腸炎ビブリオ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°Cで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。

一般生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°Cで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°Cで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。

一般生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°Cで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°Cで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。

一般生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°Cで48時間培養する条件で測定した。大腸菌群数測定用培地としてはデスオキシコーレイト寒天培地((栄研化学株式会社製)を用い、37°Cで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及び大腸菌群数測定用(住友スリーエム株式会社製)、35°Cで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ト食塩培地(栄研株式会社)を用い、37°Cで24時間培養し、定型コロニーを確認する条件で実施した。

サルモネラ測定用培地としてはDHL培地(栄研株式会社)を用い、37°Cで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。

一般生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°Cで48時間培養する条件で測定した。

大腸菌群数測定用培地としてはデスオキシコーレイト寒天培地((栄研化学株式会社

製)を用い、37°Cで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 及び大腸菌群数測定用(住友スリーエム株式会社製)、35°Cで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°Cで24時間培養し、定型コロニーを確認する条件で実施した。

サルモネラ測定用培地としてはDHL培地(栄研株式会社)を用い、37°Cで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°C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。

一般生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°Cで48時間培養する条件で測定した。

大腸菌群数測定用培地としてはデスオキシコーレイト寒天培地(栄研化学株式会社製)を用い、37°Cで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 及び大腸菌群数測定用(住友スリーエム株式会社製)、35°Cで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。デスオキシコーレイ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°Cで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。

一般生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°Cで48時間培養する条件で測定した。

大腸菌群数測定用培地としてはデスオキシコーレイト寒天培地(栄研化学株式会社製)を用い、37°Cで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 及び大腸菌群数測定用(住友スリーエム株式会社製)、35°Cで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°Cで

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。

一般生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°C で 48 時間培養する条件で測定した。

大腸菌群数測定用培地としてはデスオキシコーレイト寒天培地（栄研化学株式会社製）を用い、37°C で 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 EG プレート／E. coli 及び大腸菌群数測定用（住友スリーエム株式会社製）、35°C で 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°C で 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。

一般生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°C で 48 時間培養する条件で測定した。

大腸菌群数測定用培地としてはデスオキシコーレイト寒天培地（栄研化学株式会社製）を用い、37°C で 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 EG プレート／E. coli 及び大腸菌群数測定用（住友スリーエム株式会社製）、35°C で 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。デスオキシコーレイ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°C で 48 時間培養し、定型的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。

本試験では菌は接種しなかった。

### (3) 評価試験結果について

殺菌効果：資料 B-1～B-10 に示した各試験において、亜塩素酸水噴霧直前の試料において各菌数(※)が  $10^7$  個/g 以上であることを確認するとともに、亜塩素酸水噴霧後の試料におい

て菌数(※)10 個/g未満となることが確認された場合を殺菌効果があるとして評価した。

※④の測定値を10 倍することによりサンプル1.0g 中の菌数を算出

有効性濃度範囲：殺菌効果があり、更に品質に対して影響がないことが確認された濃度の範囲を有効性濃度範囲とした。

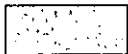
#### 品質評価試験での評価結果の表示

○	：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)

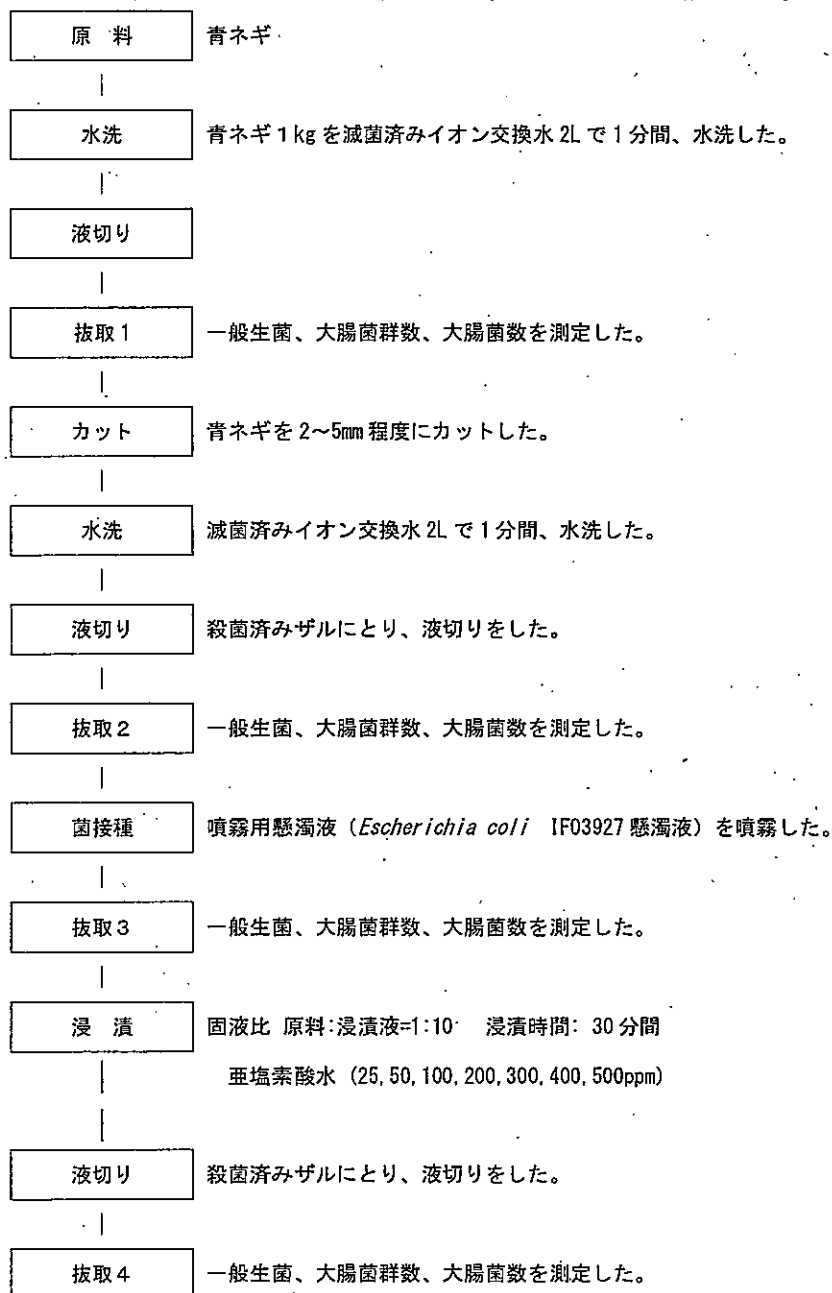
### <試験内容の要約>

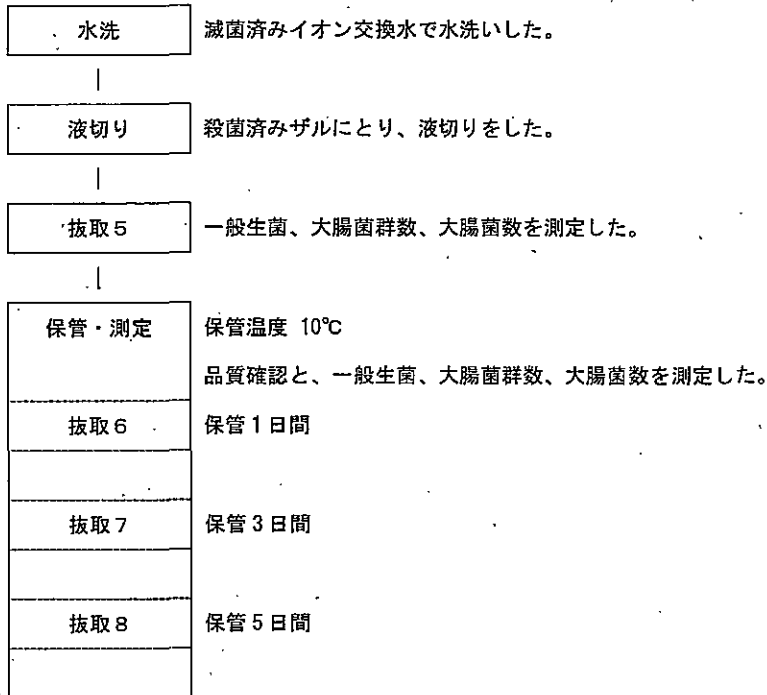
カット済み青ネギに大腸菌 (*Escherichia coli* IF03927、糞便由来大腸菌) を汚染させ、汚染大腸菌に対する殺菌効果を確認した。また、同時に品質に対する影響も確認し、有効性について検討した。殺菌効果と品質に対する影響を考慮して有効性濃度範囲を確認した。

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できた。

### <試験方法と手順概要>

#### 汚染菌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-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を殺菌することができる条件について設定することができた。なお、本試験において、一般生菌については殺菌効果が確認できなかった。

## 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>

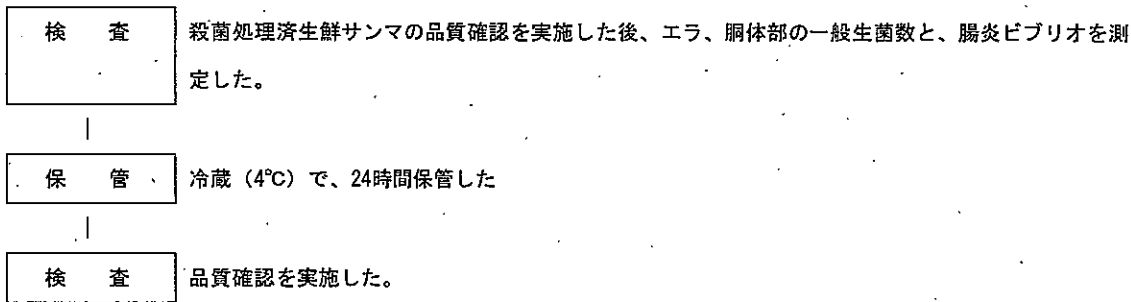
生鮮サンマに腸炎ビブリオ (*Vibrio parahaemolyticus* NBRC12711、シラス食中毒由来腸炎ビブリオ) を汚染させ、汚染腸炎ビブリオに対する殺菌効果を確認した。又、同時に品質に対する影響も確認し、有効性について検討した。殺菌効果と品質に対する影響を考慮して有効性濃度範囲を確認した。

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を殺菌できる条件を設定することができた。

### <試験方法と手順概要>

汚染菌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、サンマを洗淨した。
採取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。
採取 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)
採取 3	浸漬時間 30分間で終了した。
採取 4	浸漬時間 1時間で終了した。
採取 5	浸漬時間 3時間で終了した。
採取 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、洗淨した。
液 切 り	殺菌済みザルにとり、液切りをした。



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を殺菌することができる条件について設定することができた。



## 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)

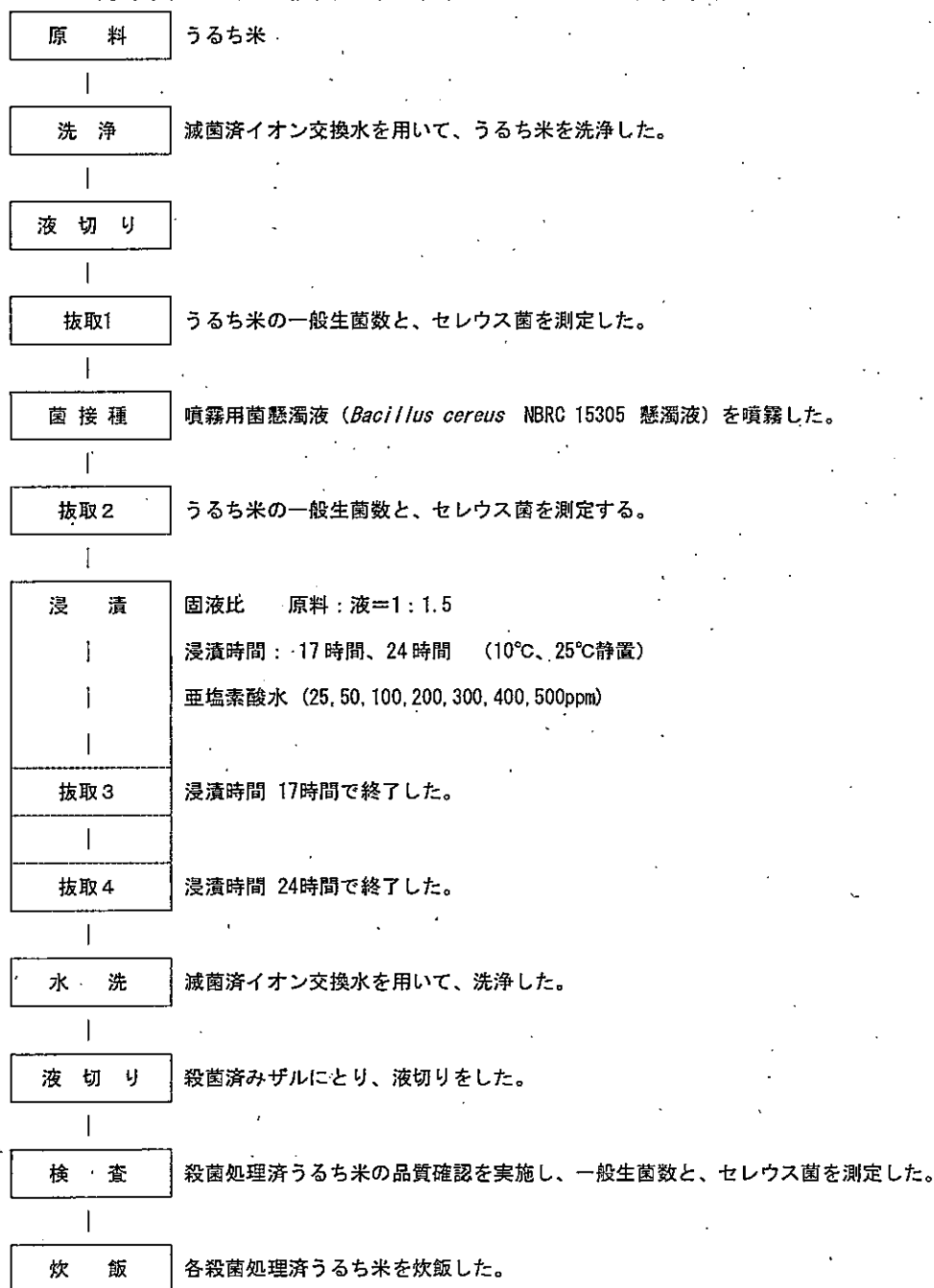
### <試験内容の要約>

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できた。

### <試験方法と手順概要>

#### 汚染菌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〕を殺菌できる条件を設定することができた。

## 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)

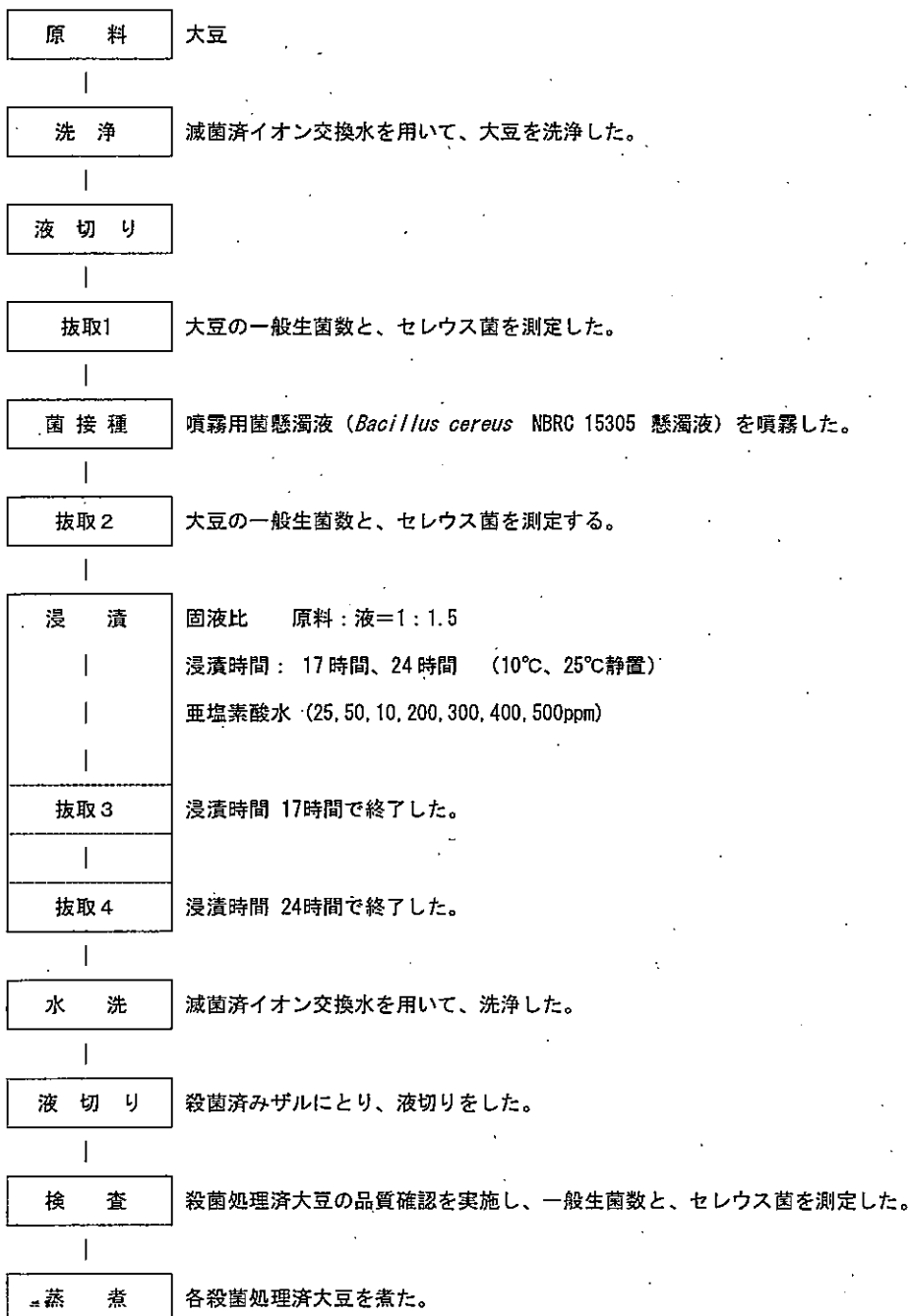
### <試験内容の要約>

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できた。

### <試験方法と手順概要>

汚染菌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〕を殺菌できる条件を設定することができた。

## 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）

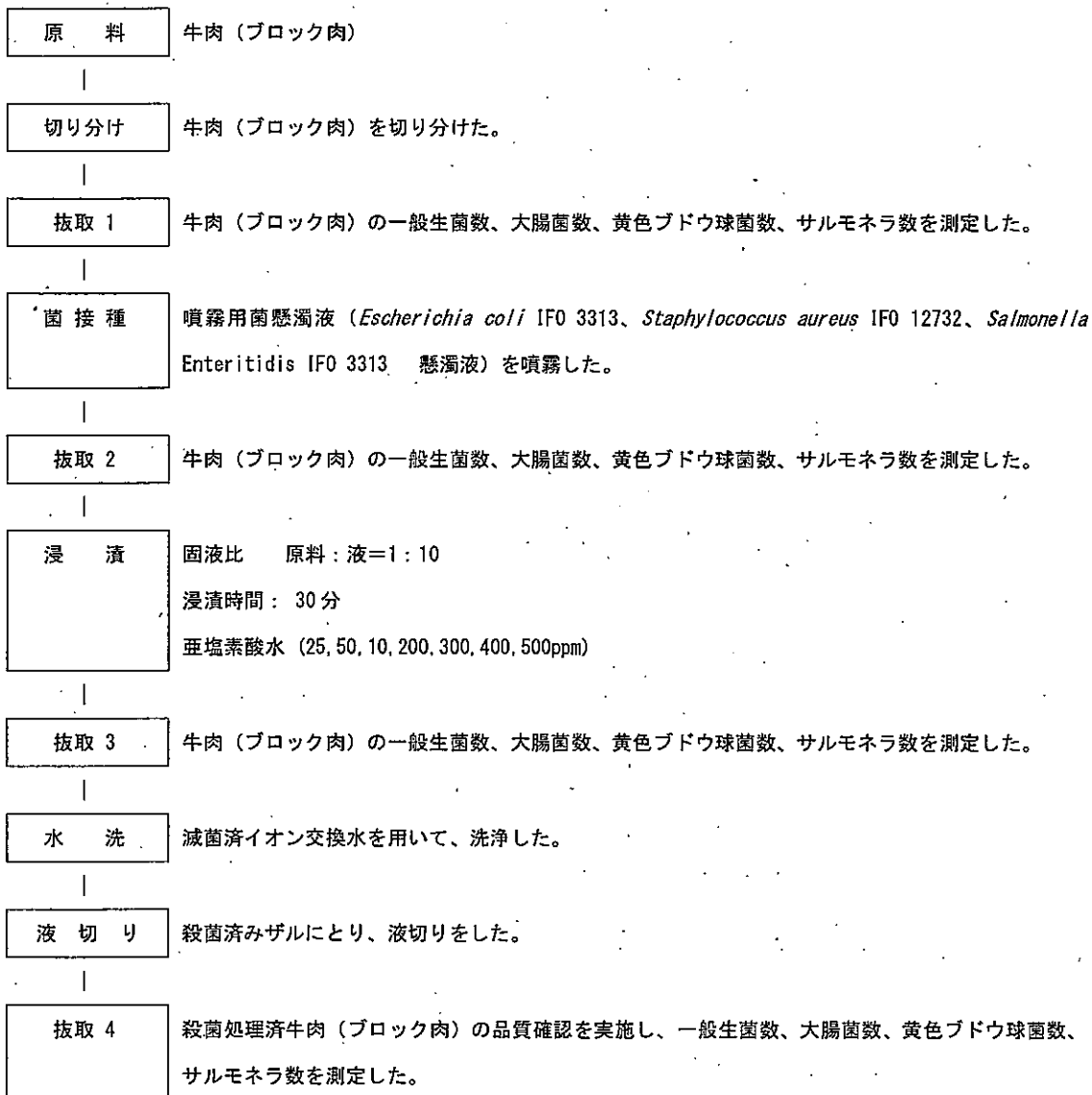
### <試験内容の要約>

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（*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、サルモネラを殺菌できる条件を設定することができた。

### <試験方法と手順概要>

#### 汚染菌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	各殺菌処理済牛肉（ブロック肉）を4℃で24時間保存した。
1	
抜取 5	殺菌処理済牛肉（ブロック肉）の品質確認を実施し、一般生菌数、大腸菌数、黄色ブドウ球菌数、サルモネラ数を測定した。

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と、黄色ブドウ球菌と、サルモネラを殺菌できる条件を設定することができた。

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）

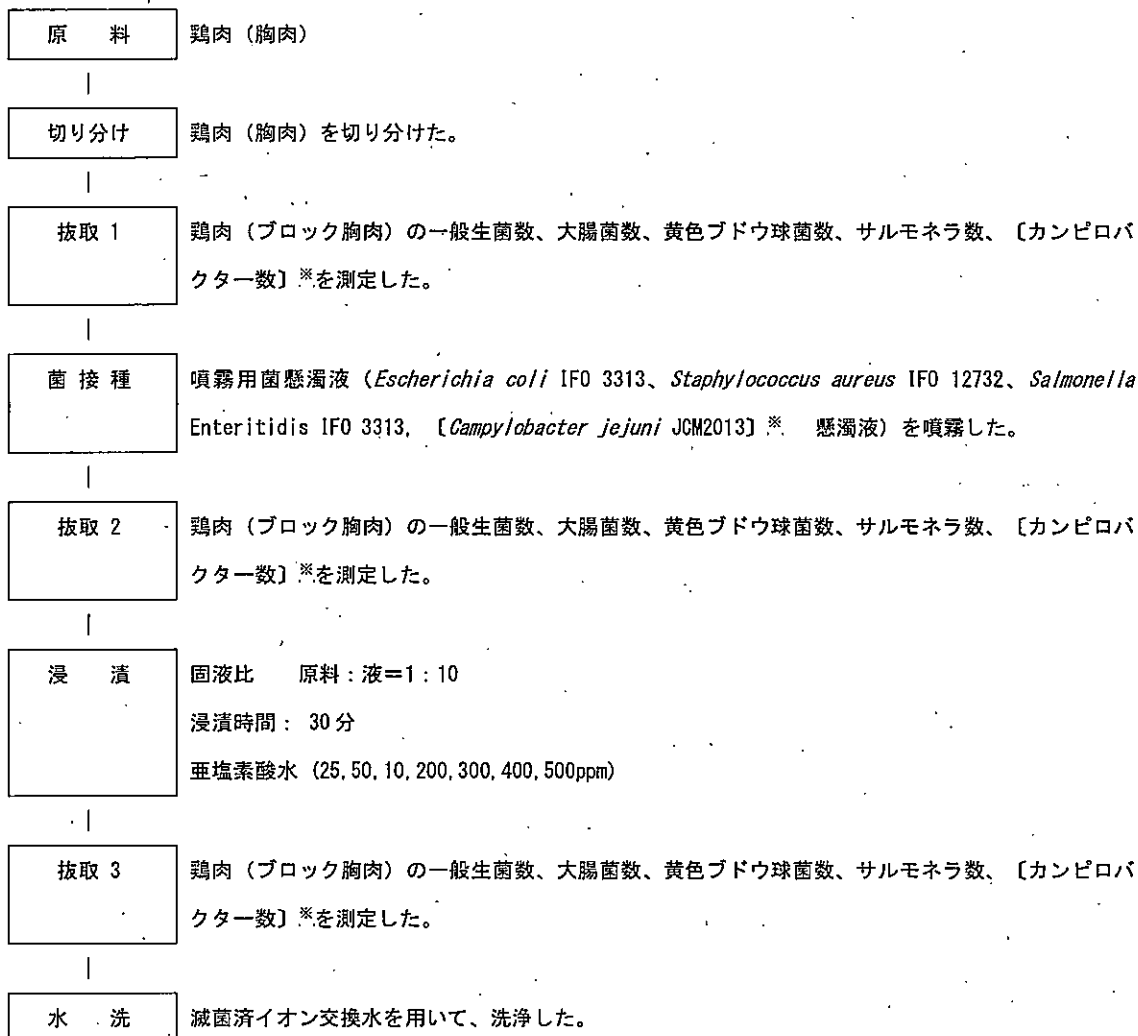
<試験内容の要約>

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（*Salmonella* Enteritidis IF0 3313、由来不明）と、カンピロバクター（*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、サルモネラと、カンピロバクターを殺菌できる条件を設定することができた。

<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。



液 切 り	殺菌済みザルにとり、液切りをした。
抜取 4	殺菌処理済鶏肉（ブロック胸肉）の品質確認を実施し、一般生菌数、大腸菌数、黄色ブドウ球菌数、サルモネラ数、〔カンピロバクター数〕※を測定した。
保 存	各殺菌処理済鶏肉を4℃で24時間保存した。
抜取 5	殺菌処理済鶏肉（ブロック胸肉）の品質確認を実施し、一般生菌数、大腸菌数、黄色ブドウ球菌数、サルモネラ数、〔カンピロバクター数〕※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-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。なお、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と、黄色ブドウ球菌と、サルモネラと、カンピロバクターを殺菌できる条件を設定することができた。



# 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)

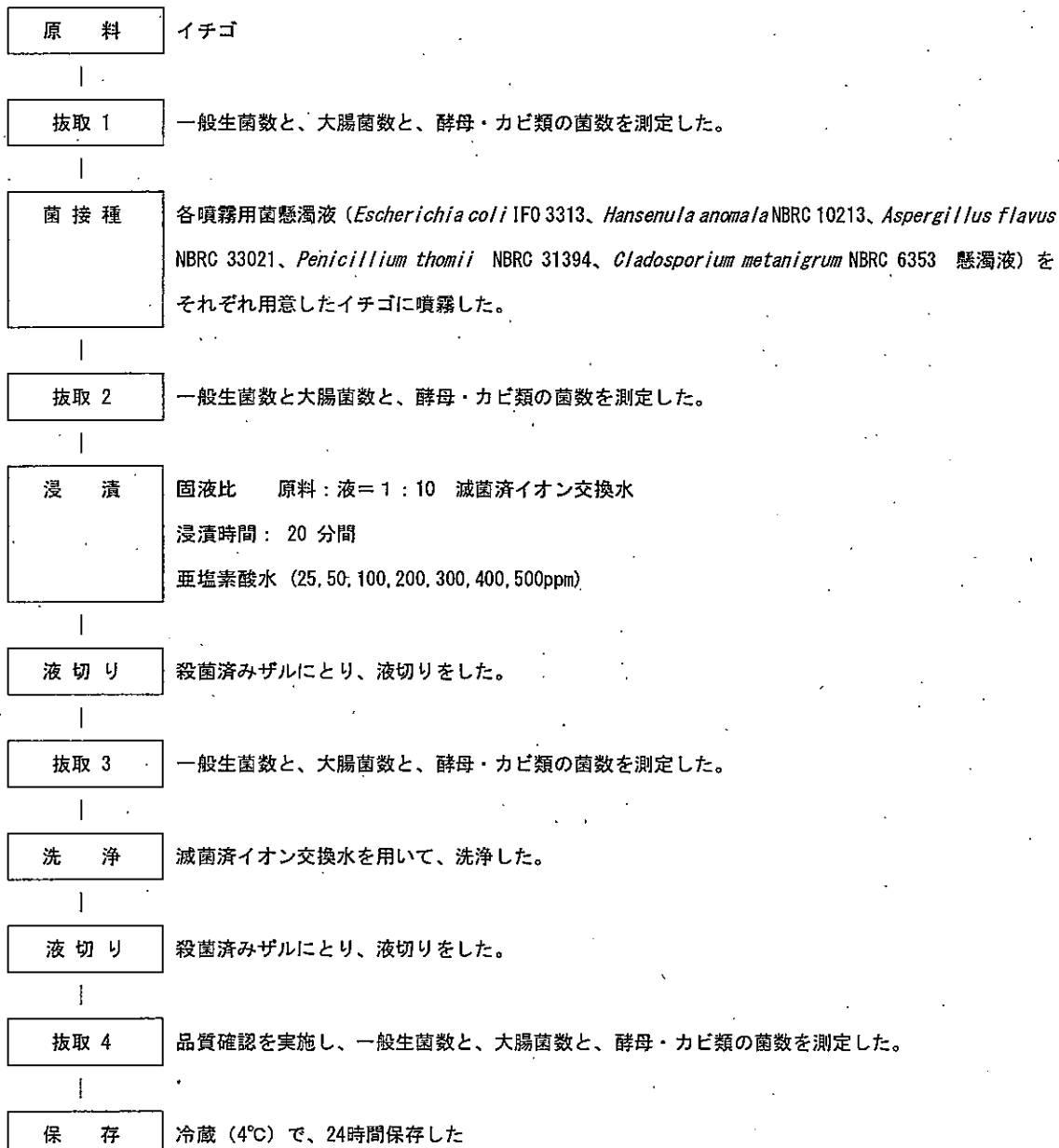
## <試験内容の要約>

イチゴに大腸菌(*Escherichia coli* IF03927、糞便由来大腸菌)と、子のう菌酵母(*Hansenula anomala* NBRC 10213、由来不明)と、コジカビ属(*Aspergillus flavus* NBRC 33021、トウモロコシ由来)、アオカビ属(*Penicillium thomii* NBRC 31394、腐植土由来)、不完全菌類(*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できた。

## <試験方法と手順概要>

### 汚染菌に対する殺菌効果確認試験方法及び品質評価試験方法



品質確認を実施し、一般生菌数と、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、子のう菌酵母、コウジカビ属、アオカビ属、不完全菌類、を殺菌できる条件を設定することができた。

## 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）

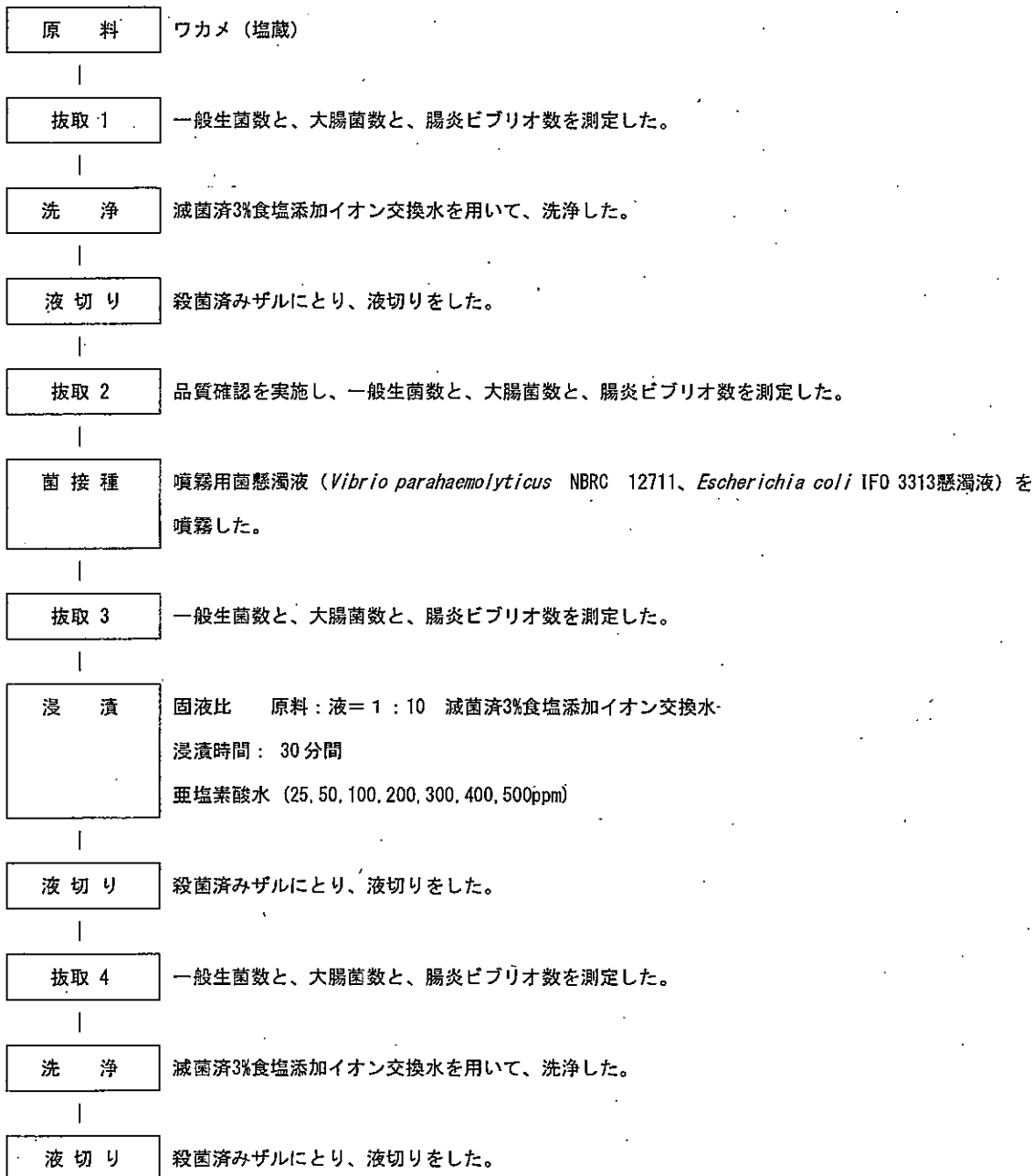
### <試験内容の要約>

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（*Vibrio parahaemolyticus* NBRC12711、シラス食中毒由来腸炎ビブリオ）を汚染させ、汚染大腸菌、腸炎ビブリオ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、腸炎ビブリオを殺菌できる条件を設定することができた。

### <試験方法と手順概要>

#### 汚染菌に対する殺菌効果確認試験方法及び品質評価試験方法



採取 5 品質確認を実施し、一般生菌数と、大腸菌数と、腸炎ビブリオ数を測定した。

保 存 冷蔵（10℃）で、24時間保存した

採取 6 品質確認を実施し、一般生菌数と、大腸菌数と、腸炎ビブリオ数を測定した。

注：品質評価試験には菌の噴霧はしなかった。

図 B-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。なお、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、腸炎ビブリオを殺菌できる条件を設定することができた。

## 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 (*Vibrio parahaemolyticus* NBRC12711、シラス食中毒由来腸炎ビブリオ) を汚染させ、汚染大腸菌、腸炎ビブリオ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、腸炎ビブリオを殺菌できる条件を設定することができた。

### <試験方法と手順概要>

#### 汚染菌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	一般生菌数と、大腸菌数と、腸炎ビブリオ数を測定した。
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	一般生菌数と、大腸菌数と、腸炎ビブリオ数を測定した。
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	一般生菌数と、大腸菌数と、腸炎ビブリオ数を測定した。
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、一般生菌数と、大腸菌数と、腸炎ビブリオ数を測定した。
保 存	冷蔵 (4°C) 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、腸炎ビブリオを殺菌できる条件を設定することができた。

## 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)

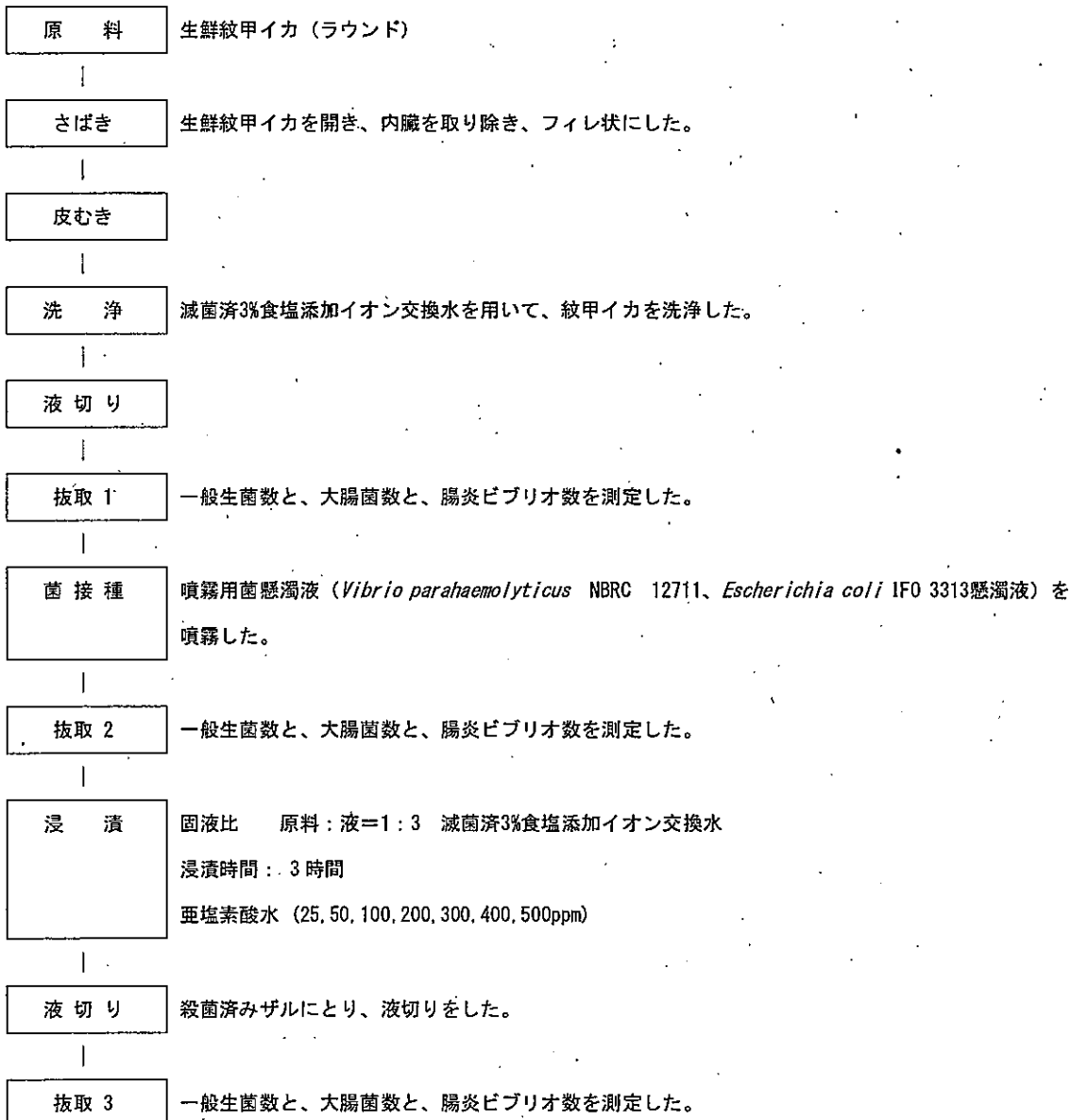
### <試験内容の要約>

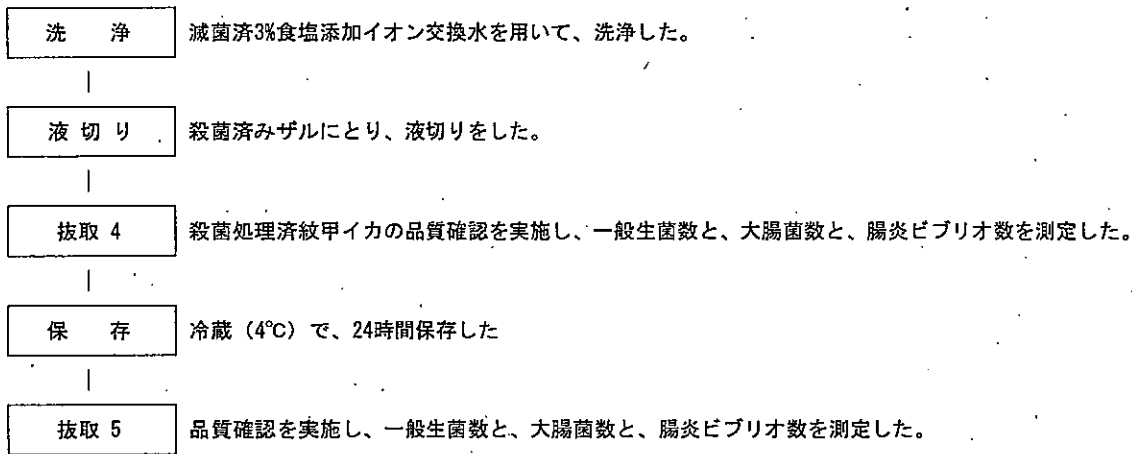
生鮮紋甲イカに大腸菌 (*Escherichia coli* IF03927、糞便由来大腸菌) と、腸炎ビブリオ (*Vibrio parahaemolyticus* NBRC12711、シラス食中毒由来腸炎ビブリオ) を汚染させ、汚染大腸菌、腸炎ビブリオに対する殺菌効果を確認した。又、同時に品質に対する影響も確認し、有効性について検討した。殺菌効果と品質に対する影響を考慮して有効性濃度範囲を確認した。

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、腸炎ビブリオを殺菌できる条件を設定することができた。

### <試験方法と手順概要>

汚染菌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、腸炎ビブリオを殺菌できる条件を設定することができた。



## 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た評価結果が平成20年6月19日付けで通知されている。また、平成24年3月30日付け厚生労働省発食安0330第4号により食品安全委員会あて意見を求めた亜塩素酸水の規格基準の改正に係る食品健康影響評価については、平成24年5月30日及び6月25日に開催された添加物専門調査会の議論を踏まえた評価結果が平成24年7月9日付けで通知されている。その評価結果は以下のとおりである。

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が、提案された製造基準が遵守されれば、臭素酸の生成量を水道水質基準以下に抑えることが可能であると考えられた。

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。

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、亜塩素酸水の一日摂取許容量（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（ $\text{HClO}_2$ ）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（ $\text{ClO}_2$ ）、亜塩素酸イオン（ $\text{ClO}_2^-$ ）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（ $\text{Cl}^-$ ）、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（ $\text{NaClO}_2$ ）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（ $\text{NaClO}$ ）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。

なお、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が、提案された製造基準が遵守されれば、臭素酸の生成量を水道水質基準以下に抑えることが可能であると考えられた。

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。

## 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））と、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  $\text{HClO}_2$  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  $\text{HClO}_2$  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  $\text{HClO}_2$  が含まれていると仮定した場合、1 日に摂取される  $\text{HClO}_2$  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  $\text{HClO}_2$  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（平成 20 年 6 月 19 日付け府食第 667 号）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生成すると考えられる。

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  $\mu$ 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 0.4g/kg の亜塩素酸水（以下、「400ppm亜塩素酸水」とする）を調製し、それぞれの臭素酸 ( $\text{BrO}_3^-$ ) 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 ( $\text{BrO}_3^-$ ) 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 <sub>3</sub> <sup>-</sup> ) 濃度 (ng/g)	400ppm亜塩素酸 水中の臭素酸 (BrO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ) 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 <sup>-</sup> ) 含有 量 (μg/g)			
並塩	92.23	1300	46.08	53.66	4.0
食塩1	92.00	320	14.88	21.30	4.1
食塩2	88.92	200	8.98	12.00	4.1
精製塩1	91.04	126	4.02	4.07	4.1
精製塩2	99.97	50	2.34	5.30	4.1
精製塩3	99.98	29	2.27	3.38	4.1

・塩化ナトリウム中の臭化物(Br<sup>-</sup>)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。

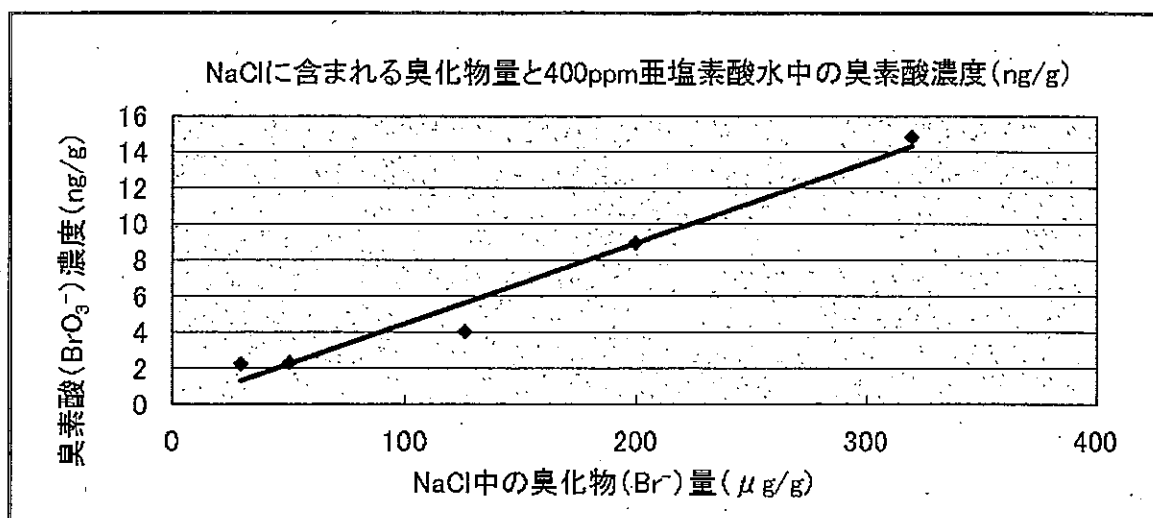
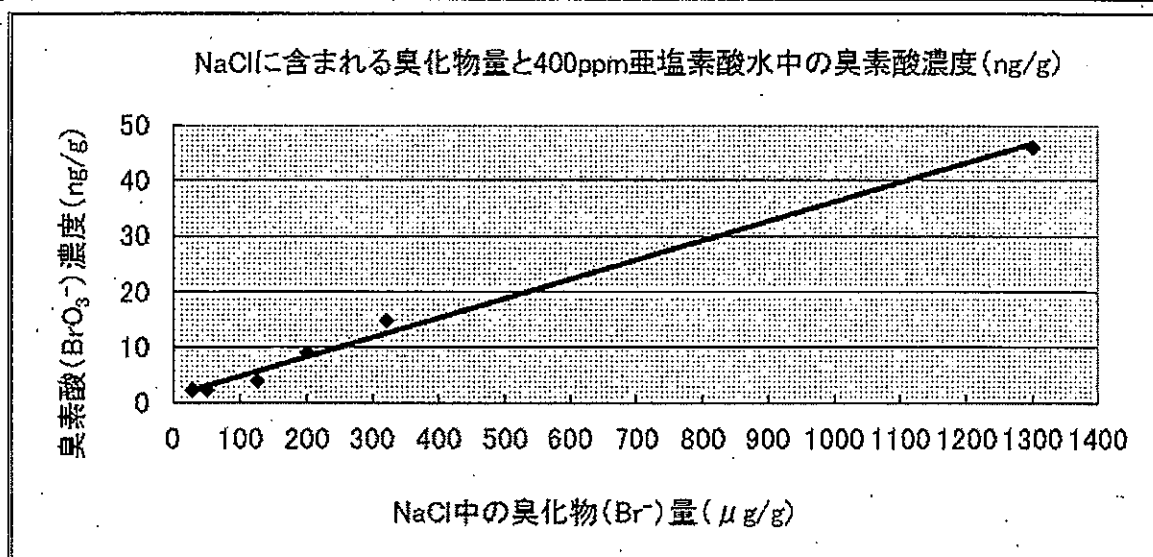


図 1. 塩化ナトリウムに含まれる臭化物量と 400ppm 亜塩素酸水中の臭素酸濃度

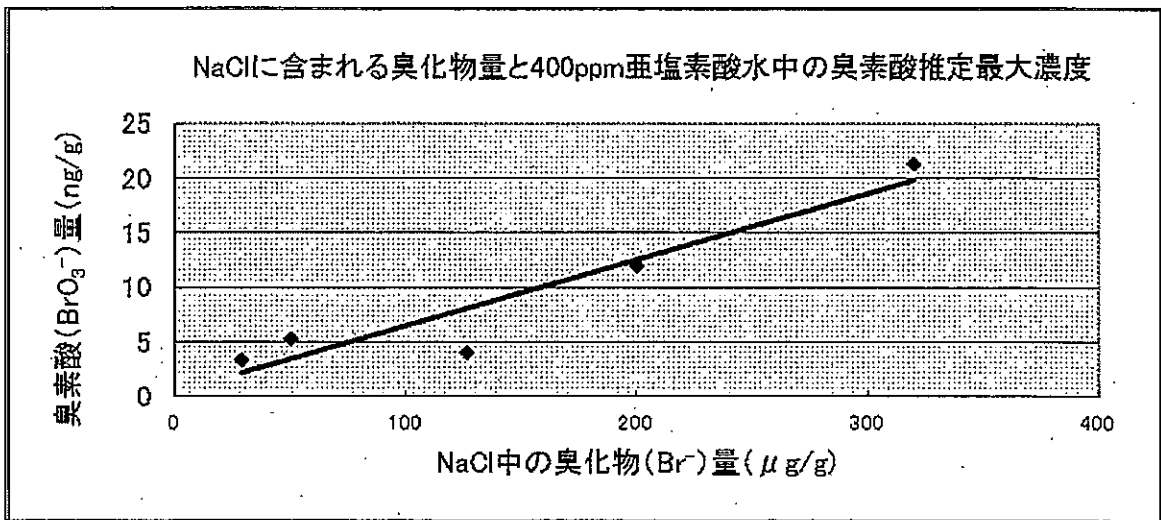
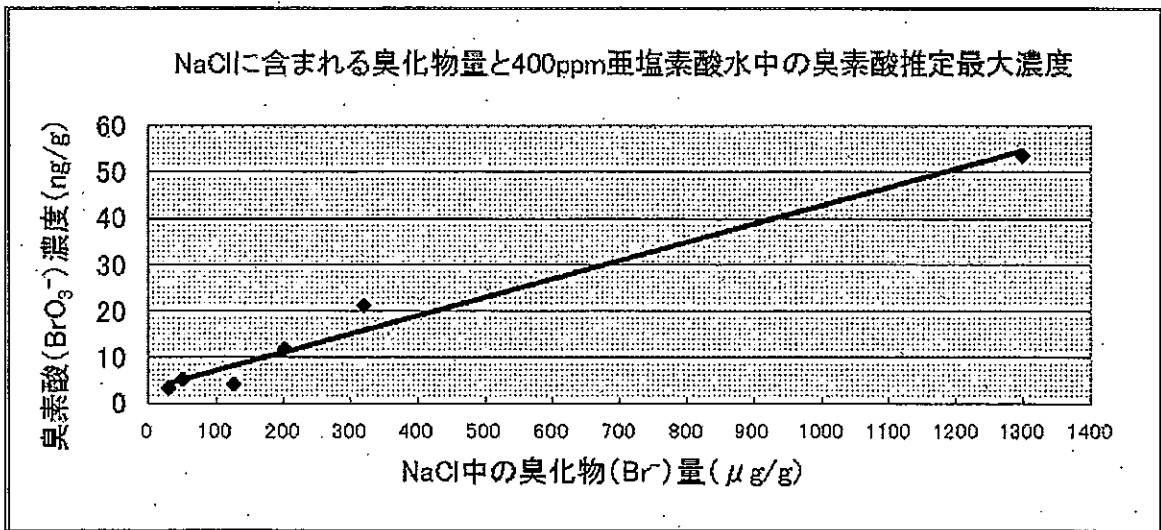


図2. 塩化ナトリウムに含まれる臭化物量と400ppm亜塩素酸水中の臭素酸推定最大濃度

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%亜塩素酸水から調製した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%亜塩素酸水から調製した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。(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%亜塩素酸水から調製した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 <sub>3</sub> <sup>-</sup> )濃度 (ng/g)	400ppm亜塩素酸 水中の臭素酸 (BrO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )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 <sup>-</sup> )含有 量 (μg/g)			
精製塩2	99.97	50	2.34	5.30	4.1
精製塩2	99.97	50	1.93	3.62	6.1
局方塩	100.00	N. D.	2.66	5.10	4.1

・塩化ナトリウム中の臭化物(Br<sup>-</sup>)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<sup>-</sup>)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:0.4g/kg)の臭素酸(BrO<sub>3</sub><sup>-</sup>)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<sub>3</sub><sup>-</sup>)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<sup>-</sup>)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<sub>3</sub><sup>-</sup>)の生成を一定量以下に抑えることが可能である。

臭化物(Br<sup>-</sup>)の含量が規定されている塩化ナトリウムとして、日本薬局方に記載されている「塩化ナトリウム(臭化物(Br<sup>-</sup>)濃度:100μg/g以下)」がある。

実際に使用する濃度である0.4g/kgに調製した亜塩素酸水中に含まれる臭素酸(BrO<sub>3</sub><sup>-</sup>)の量が、臭素酸(BrO<sub>3</sub><sup>-</sup>)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<sub>3</sub><sup>-</sup>)濃度0.01mg/L(≒10ng/g)以下<sup>2</sup>となるためには、臭化物(Br<sup>-</sup>)濃度の低い塩化ナトリウムを原料として使用する必要がある。表8より、臭化物(Br<sup>-</sup>)濃度が100μg/g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<sub>3</sub><sup>-</sup>)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、亜塩素酸水を製造する場合には日本薬局方に記載されている「塩化ナトリウム

<sup>2</sup>水道により供給される水に含まれる臭素酸(BrO<sub>3</sub><sup>-</sup>)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。

(臭化物(Br<sup>-</sup>)濃度：100 μg/g以下)」を原料として用いることにより、臭素酸(BrO<sub>3</sub><sup>-</sup>)の生成量を水道水質基準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製造基準に日本薬局方「塩化ナトリウム」又はその規格を満たすものを原料として用いる旨を規定することとし、臭素酸(BrO<sub>3</sub><sup>-</sup>)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亜塩素酸の残留、トリハロメタンの生成及びアスコルビン酸を消費するラジカルの生成について

##### 1) 亜塩素酸の残留について

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0.4g/kg)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)

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	亜塩素酸水(亜塩素酸濃度0.4g/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
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。(検出限界: 0.1mg/kg)

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、亜塩素酸濃度100mg/kg)を用いて野菜(レタス)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。

- a) 浸漬処理前のレタス
- b) 水道水
- c) 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

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

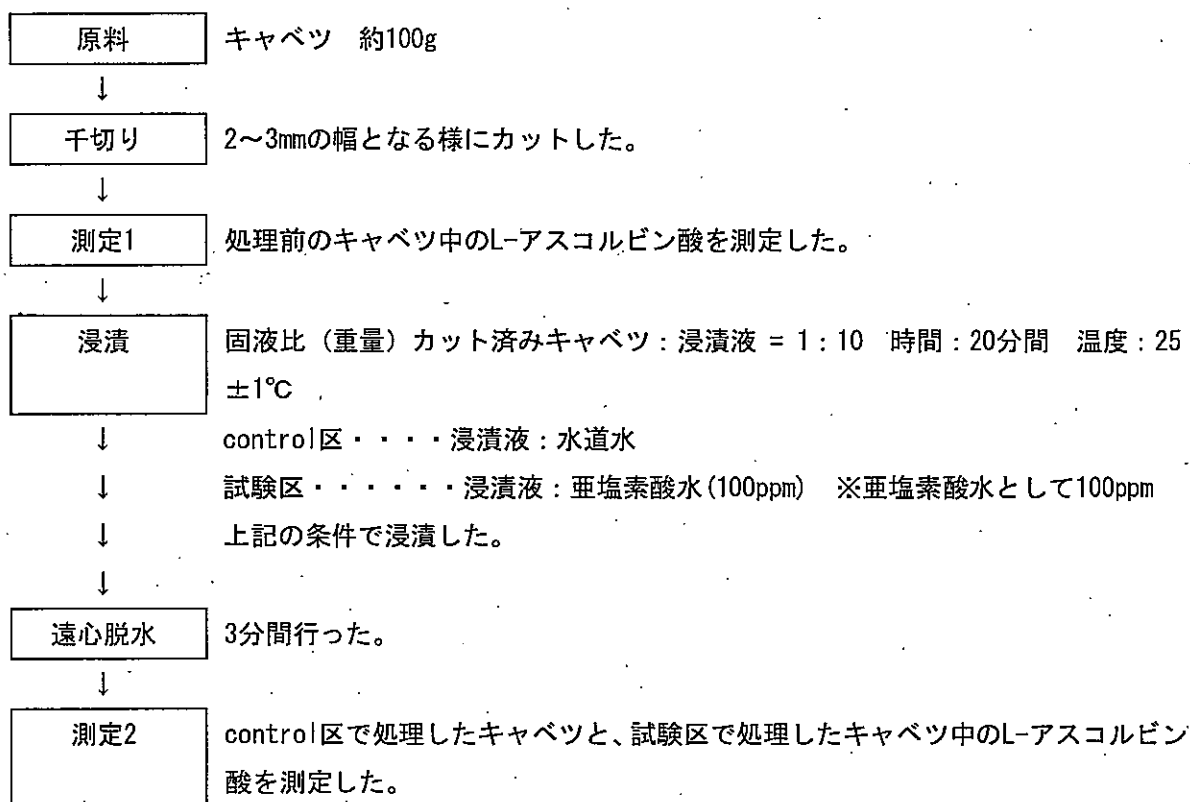
亜塩素酸水を用いたラジカルの生成に関する検証実験を実施した。

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)

亜塩素酸水は、精米、豆類、野菜（きのこ類を除く。以下この目において同じ。）、果実、海藻類、鮮魚介類（鯨肉を含む。以下この目において同じ。）、食肉、食肉製品及び鯨肉製品並びにこれらを塩蔵、乾燥その他の方法によって保存したもの以外の食品に使用してはならない。

亜塩素酸水の使用量は、亜塩素酸として、精米、豆類、野菜、果実、海藻類、鮮魚介類、食肉、食肉製品、鯨肉製品並びにこれらを塩蔵、乾燥その他の方法によって保存したものにあっては、浸漬液又は噴霧液1kgにつき0.40g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	精米、豆類、野菜（きのこ類を除く。）、果実、海藻類、鮮魚介類（鯨肉を含む。）、食肉、食肉製品、鯨肉製品並びにこれらを塩蔵、乾燥その他の方法によって保存したもの。	亜塩素酸として 0.40g/kg以下 (浸漬液又は噴霧液 1kg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。

### 製造基準(案)

亜塩素酸水を製造する場合に原料として用いる塩化ナトリウムは、日本薬局方塩化ナトリウム又はその規格を満たすものでなければならない。

### 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、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

5.0g 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  $\text{As}_2\text{O}_3$  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。この液をガス洗淨瓶に入れ、液が無色となるまで、窒素をガス洗淨瓶に吹き込み、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溶液で滴定する (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  $\text{HClO}_2$

### 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。

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 $\mu$ 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 $\mu$ 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、As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>として1.0 $\mu$ 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	
品目名	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、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 <sub>2</sub> )と亜塩素酸(HClO <sub>2</sub> )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～淡黄色の澄明な液体	
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	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	-	i) 酢酸ウラニルコバルト試液による呈色 ii) 炎色反応	
	溶解性	設定せず	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	
純度試験	鉛 Pbとして	1.0 µg/g以下	5 mg/kg以下(乾燥物換算)	1 mg/kg以下
	ヒ素 As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> として	1.0 µg/g以下	-	-
	水銀	設定せず	-	1 mg/kg以下
	炭酸ナトリウム	-	8%以下(乾燥物換算)	-
	水酸化ナトリウム	-	3%以下(乾燥物換算)	-
	硫酸ナトリウム	-	5%以下(乾燥物換算)	-
	塩素酸ナトリウム	-	4%以下(乾燥物換算)	-
	塩化ナトリウム	-	19%以下(乾燥物換算)	-
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



(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	薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会添加物部会
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
平成24年3月30日	厚生労働大臣から添加物の規格基準の改正に係る食品健康影響評価について要請
平成24年4月5日	第426回食品安全委員会（依頼事項説明）
平成24年5月30日	第106回食品安全委員会添加物専門調査会
平成24年6月25日	第107回食品安全委員会添加物専門調査会
平成24年7月9日	第439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24年8月24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

[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食品栄養環境科学研究院化学環境研究室教授

※部会長

※※平成24年5月29日まで