

# 二酸化塩素含有溶液

(当社製品名:i-フレッシュ CD-1)

---

## 殺菌および抗ウイルス効果試験結果

平成21年10月8日

アイダッシュ株式会社 様

日本獣医生命科学大学  
獣医学部獣医学科  
獣医衛生学教室  
講師・田中良和

*i*フレッシュの殺菌および抗ウイルス効果の試験結果を報告いたします。

別紙のとおり、試験いたしました。方法および結果は別紙を参照していただきたいと思います。

## 【*i*-フレッシュの抗菌活性試験】

使用菌株：*E. coli* NIHJ 株（大腸菌），

*Staphylococcus aureus* FDA 209 株（黄色ブドウ球菌）

### 「方法」

1. 普通寒天培地（日水製薬）に 37°C, 20 時間培養した菌を 2 コロニーとり, 2ml の PBS (-) に浮遊させた。
2. この菌液を 1/100 に希釈し, 40 $\mu$ l ずつ各供試験管に使用した。
3. *i*-フレッシュ原液 (2000 ppm) を 1/10 ずつ滅菌 PBS で段階希釈し, 2000 ppm, 200 ppm, 20 ppm, 2 ppm, 0.2 ppm の終濃度になるように調整した。陰性コントロールとして滅菌 PBS を使用した。各溶液は 360 $\mu$ l 調整した。
4. 各濃度の試験管に調整した細菌を 40 $\mu$ l ずつ入れ, 0 分, 5 分, 15 分, 30 分後, 普通寒天培地にプレーティングした。
5. 37°C で 20 時間培養後, コロニー数を数えて, 効果を比較した。

### 「結果」

別表参照のこと

大腸菌, ブドウ球菌ともに 200 ppm まで殺菌効果が認められたが, 20 ppm 以上希釈すると殺菌効果が認められなかった。

## 「i-フレッシュ」の抗菌活性試験

菌株: *E. coli* NIH株, *S. aureus* FDA

普通寒天培地に一晚発育させた菌を2コロニーとり2mlのPBS (-)に浮遊させたこの菌液を50  $\mu$ l使用した

菌の希釈系列	原液	0.1	0.01	0.001	0.0001
<i>E. coli</i>				71 colonies	
<i>S. aureus</i>				22 colonies	

1)

試験用に0.001希釈した菌液を50  $\mu$ l使用した

2)

「i-フレッシュ」

Control	388
---------	-----

時間 (min)/希釈系列	原液 (2000 ppm)	200 ppm	20 ppm	2 ppm	0.2 ppm
0	0	0	260	339	276
5	0	0	357	451	326
15	0	0	259	371	382
30	0	0	364	210	370

*E. coli*

Control	1328
---------	------

時間 (min)/希釈系列	原液 (2000 ppm)	200 ppm	20 ppm	2 ppm	0.2 ppm
0	0	255	1692	1075	720
5	0	0	1289	1238	852
15	0	0	656	1632	973
30	0	0	1061	816	590

*S. aureus*

Results: 200 ppm以上作用させた時は*E. coli*, *S. aureus*ともに死滅効果がみられたが, 20 ppm以上希釈すると消毒効果がなかった.



# インフルエンザウイルスにおける *i*-フレッシュの

## 抗ウイルス効果試験

### 抗インフルエンザ試験

#### 「材料」

使用ウイルス株： Influenza virus A/Udon/72 (H3N2) 株 ( $10^6$ TCID<sub>50</sub>/ml)

細胞株：MDCK 細胞

メディウム：D-MEM

トリプシン：Merck 社製

*i*-フレッシュ

#### 「方法」

1. MDCK 細胞 (ATCC より購入) を 96 ウェルプレート (TRP 社製) に 10000 個/ウェル になるように一晩培養した。
2. 細胞が接着していることを確認後、ストックのインフルエンザウイルスを血清なし D-MEM (トリプシン終濃度  $20 \mu\text{g/ml}$  添加) で 1000 倍に希釈した。
3. 細胞を PBS (-) で 2 回洗浄した。
4. プレート番号 1 から 11 までに希釈したウイルス液を  $100 \mu\text{l}$  ずつ入れ、最後の 12 ウェル目にはウイルスを入れず、D-MEM を  $100 \mu\text{l}$  添加した。
5. 別のチューブで *i*-フレッシュを 1000 ppm から 1/2 希釈で、0.97656 ppm まで段階希釈し、ウェル番号 1 から 11 まで薬剤を添加した。
6. 48 時間後、細胞をエタノール酢酸溶液 (エタノール：酢酸=5：1) で 20 分室温で固定し、その後、アミドブラック 10B で染色後、洗浄・乾燥した。

#### 「結果」

別紙参照。31.25 ppm にて抗ウイルス効果が認められたが、その半分の量 (15.625 ppm) では抗ウイルス活性は認められなかった。また、125 ppm では細胞毒性が認められた。

## 細胞毒性試験

### 「材料」

細胞株：MDCK 細胞

メディウム：D-MEM

ɳフレッシュ

Counting8 kit (WAKO)

### 「方法」

1. MDCK 細胞 (ATCC より購入) を 96 ウェルプレート (TRP 社製) に 10000 個/ウェル になるように一晩培養した。
2. 細胞が接着していることを確認後、細胞を PBS (-) で 2 回洗浄した。
3. 別のチューブで ɳフレッシュを 1000 ppm から 1/2 希釈で、0.97656 ppm まで段階希 釈し、ウェル番号 1 から 11 まで薬剤を添加した。
4. 最後の 12 ウェル目には薬剤を入れず、D-MEM を 100  $\mu$ l 添加した。
5. 24 時間培養後、細胞に counting8 試薬を 10  $\mu$ l/ウェルの割合で入れ、1 時間 37°C で培 養後、480 nm で比色定量した。

### 「結果」

別紙参照。125 ppm まで、細胞毒性が認められた。

細胞毒性

Plate Title	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.135	0.138	0.296	1.255	2.079	1.582	1.385	1.68	1.443	1.24	1.391	
B	0.134	0.136	0.216	0.987	1.606	1.243	1.09	1.314	1.276	1.186	1.167	
C	0.137	0.134	0.198	0.905	1.07	1.271	1.021	1.171	1.193	1.076	1.165	
D	0.131	0.144	0.175	0.89	1.055	1.318	1.082	1.199	1.128	1.153	1.223	
E	0.136	0.136	0.14	1.172	1.511	1.489	1.567	1.443	1.429	1.39	1.881	
F	0.125	0.137	0.135	0.826	1.066	1.122	1.237	1.246	1.095	1.217	1.485	
G	0.128	0.135	0.135	0.834	1.143	1.204	1.458	1.31	1.241	1.359	1.54	
H	0.128	0.136	0.138	0.941	1.381	1.42	1.717	1.603	1.525	1.624	1.551	

450

Plate Title	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0	0.003	0.161	1.12	1.944	1.447	1.25	1.545	1.308	1.105	1.256	
B	-0.001	0.001	0.081	0.852	1.471	1.108	0.955	1.179	1.141	1.051	1.032	
C	0.002	-0.001	0.063	0.77	0.935	1.136	0.886	1.036	1.058	0.941	1.03	
D	-0.004	0.009	0.04	0.755	0.92	1.183	0.947	1.064	0.993	1.018	1.088	
E	0.001	0.001	0.005	1.037	1.376	1.354	1.432	1.308	1.294	1.255	1.546	
F	-0.01	0.002	0	0.691	0.931	0.987	1.102	1.111	0.96	1.082	1.35	
G	-0.007	0	0	0.699	1.008	1.069	1.323	1.175	1.106	1.224	1.405	
H	-0.007	0.001	0.003	0.806	1.246	1.285	1.582	1.468	1.39	1.489	1.416	
				0.84125	1.22888	1.19613	1.18463	1.23575	1.15625	1.14563	1.26538	1.23463

450 Corr.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	0	500	250	125	62.5	31.25	15.625	7.8125	3.90625	1.95313	0.97656	薬剤なし
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

薬剤により全て細胞死

毒性なし

ウイルス抑制実験

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	0	500	250	125	62.5	31.25	15.625	7.8125	3.90625	1.95313	0.97656	薬剤なし
A	x	x	x	x	x	○	▲	▲	▲	▲	▲	
B	x	x	x	x	x	○	▲	▲	▲	▲	▲	
C	x	x	x	x	○	○	▲	▲	▲	▲	▲	
D	x	x	x	x	○	○	▲	▲	▲	▲	▲	
E	x	x	x	x	○	○	▲	▲	▲	▲	▲	
F	x	x	x	x	○	○	▲	▲	▲	▲	▲	
G	x	x	x	x	○	○	▲	▲	▲	▲	▲	
H	x	x	x	x	○	○	▲	▲	▲	▲	▲	

▲インフルエンザ感染による細胞死

×薬剤による毒性死

○細胞生きているが毒性



## ■ 二酸化塩素含有溶液 (i-フレッシュ CD-1)



二酸化塩素&亜塩素酸ナトリウム溶液  
**大容量10リットル** 15,000円  
(税別)

## ■ 消毒液噴霧装置

二酸化塩素含有溶液、次亜塩素酸水など消毒液を、これまでにない独自のノズル方式で、長時間にわたり、空間を均一に除菌します。



JAXA 特許の最先端ノズルを  
採用し、超微細ミストを  
紡ぎだすことに成功しました。



二酸化塩素含有溶液  
i-フレッシュ CD-1 開発者

**岩橋 尊嗣**  
Takashi Iwahashi

1977年：明治大学大学院修士課程修了  
現在：大同大学情報学部総合情報学科  
かおりデザイン専攻 教授 工学博士

30年以上、化学薬品会社で消臭剤の研究開発に携わってきました。10年程前、二酸化塩素が持つ酸化活性能力に着目し、臭気分野への応用展開を手掛けました。その結果、複数の添加剤を併用する事で、二酸化塩素及び亜塩素酸ナトリウムを安定な平衡状態の水溶液として製造できることを確立しました。さらに保存性の向上は勿論の事、二酸化塩素の持つ広範な消臭・除菌能力も一過性ではなく、持続して使用できる事が解ってきました。お部屋の臭い・除菌等でお悩みの方は、“安全・安心”なi-フレッシュ CDを是非一度使って頂きたいと思っております。