

抗菌フィルムの抗菌活性の測定

日本工業規格の抗菌加工製品 - 抗菌性試験方法・抗菌効果 (Z 2801:2010) を参考に一部
改変し、行った。

材料

- ・ 抗菌フィルムサンプル
- ・ 対照サンプル (ポリプロピレン製クリアファイル)
- ・ カバーフィルム (ポリプロピレン製クリアファイル)
- ・ ポリスチレン製シャーレ
- ・ マイクロピペット (200 μ l、1000 μ l)
- ・ マイクロピペット用チップ (200 μ l、1000 μ l)
- ・ 大腸菌 *Escherichia coli* NP-80011
- ・ LB 培地
- ・ LB 寒天培地
- ・ 1/500 LB 培地
- ・ 試験管 (Φ 16)
- ・ 生理食塩水

方法

・ 試験菌液の調整

凍結保存 *E. coli* NP-80011 を LB 寒天培地上に画線し、37 °C で 24 時間培養後、使用時
まで冷蔵保存した。1 白金耳量を取り、1/500 LB 培地に懸濁し、 $2.5 \times 10^5 \sim 10 \times 10^5$ 個/mL
となるように調整し、これを試験菌液とする。

・ 試験片の調整

抗菌フィルムサンプルおよび対照サンプルを 5 x 5 cm の正方形に切り、それぞれ 6 枚ず
つ用意した。また、カバーフィルムを 4 x 4 cm の正方形に切った。それぞれのサンプルお
よびカバーフィルムを両面 70 %エタノールを吸収させた脱脂綿でふき取り、表面を殺菌し
た。

・ 試験菌液の接種

シャーレに抗菌フィルムサンプルおよび対照サンプルを置き、その上に 0.4 ml の試験菌
液を滴下し、滅菌したピンセットを用いてカバーフィルムを静かに被せ、37 °C で 24 時間

培養した。

・試験片の洗い出し

試験菌液接種の直後および 24 時間培養後にそれぞれのサンプル 3 検体から静かに試験片およびカバーフィルムを別のシャーレに移し、LB 培地 10 ml を加え、振とう、洗い出しを行った。この洗い出し液の生菌数を速やかに測定する。

・生菌数の測定

洗い出し液 0.5 ml を生理食塩水 4.5 ml が入った試験管に加えて、よく攪拌し、さらにこの試験管から新しい試験管に 0.5 ml 加え、よく攪拌する。同様の手順を繰り返して、10 倍希釈系列希釈液を作成する。それぞれの希釈液 1 ml をシャーレに入れ、50 °C で保温しておいた LB 寒天培地 15~20 ml 加えて、よく混合する。室温で静置し、培地が固まったら 37 °C で 40~48 時間培養し、30~300 個程度コロニーを形成した希釈系列のコロニー数を測定する。

・抗菌活性

以下の計算式に従って生菌数を求める。

$$N = \frac{C \cdot D \cdot V}{A}$$

N : 生菌数 (試験片 1 cm² 当たり)

C : コロニー数 (2 枚のシャーレの平均値)

D : 希釈倍率

V : 洗い出し液の液量 (ml)

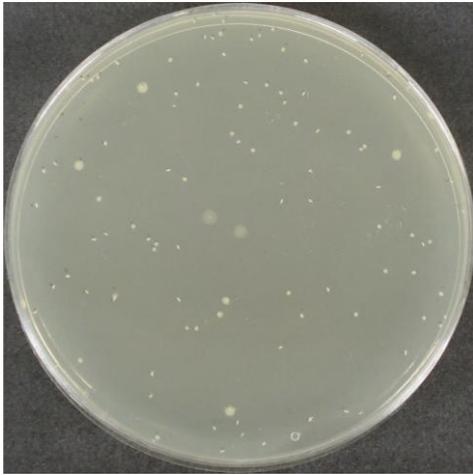
A : カバーフィルムの表面積 (cm²)

結果

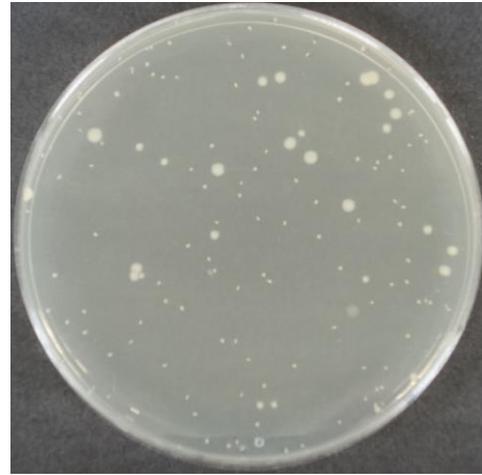
試験菌液接種直後および 24 時間培養後の生菌数を表に示した。24 時間後に対照サンプルでは 2 倍程度に菌数が増殖したが、抗菌フィルムでは検出できなくなった。

	接種直後	接種 24 時間後
対照サンプル	8.3 x 10 ³ 個/cm ²	1.9 x 10 ⁴ 個/cm ²
抗菌フィルム	3.6 x 10 ³ 個/cm ²	ND

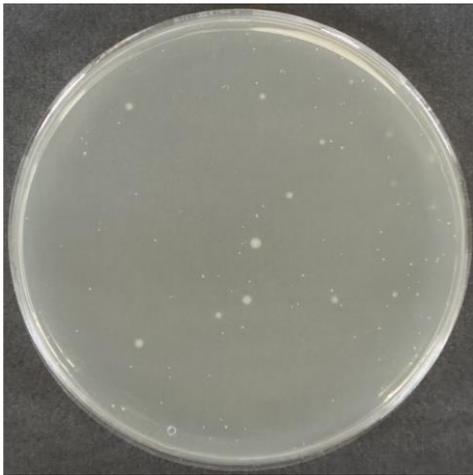
対照サンプル



抗菌フィルム



接種直後



接種24時間後

