

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2008 年 3 月 13 日 (13.03.2008)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2008/029645 A1

(51) 国際特許分類:
G01N 27/416 (2006.01) *C12Q 1/04* (2006.01)

(74) 代理人: 吉竹 英俊, 外(YOSHITAKE, Hidetoshi et al.); 〒5400001 大阪府大阪市中央区城見 1 丁目 4 番 7 〇号住友生命〇ＢＰプラザビル 1 〇階 Osaka (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP2007/066466

(22) 国際出願日: 2007 年 8 月 24 日 (24.08.2007)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2006-243786 2006 年 9 月 8 日 (08.09.2006) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): ダイキン工業株式会社 (DAIKIN INDUSTRIES, LTD.) [JP/JP]; 〒5308323 大阪府大阪市北区中崎西 2 丁目 4 番 1 2 号 梅田センタービル Osaka (JP).

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 奥村 千晶 (OKUMURA, Chiaki) [JP/JP]; 〒5258526 滋賀県草津市岡本町字大谷 1 〇〇〇番地の 2 ダイキン工業株式会社 滋賀製作所内 Shiga (JP). 山梨 秀己 (YAMANASHI, Hideki) [JP/JP]; 〒5258526 滋賀県草津市岡本町字大谷 1 〇〇〇番地の 2 ダイキン工業株式会社 滋賀製作所内 Shiga (JP).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

(54) Title: CELL COUNT DETERMINATION METHOD AND CELL COUNT DETERMINATION APPARATUS FOR THERMODURIC BACTERIUM

(54) 発明の名称: 耐熱性菌数測定方法および菌数測定装置

(57) Abstract: Disclosed is a cell count determination method for a thermoduric bacterium, which can determine the cell count of a thermoduric bacterium within a shorter measurement time. The method comprises the following steps (A) and (B): (A) subjecting a sample to a given thermal treatment to sterilize a predetermined bacterium (a non-thermoduric bacterium such as *Escherichia coli*) and allow cells of a thermoduric bacterium to remain in the sample; and (B), subsequent to the step (A), adding the sample to a liquid culture medium and measuring the change in concentration of dissolved oxygen in the liquid culture medium using an oxygen electrode to determine the cell count of the thermoduric bacterium.

(57) 要約: 本発明は、より短い測定時間で耐熱性菌数を測定することができる耐熱性菌数測定方法を提供することを目的とする。そして、本発明に係わる耐熱性菌数測定方法の 1 の側面では、工程 (A) と工程 (B) とを備えている。工程 (A) は、検体に対して所定の熱処理を施すことにより所定の菌 (大腸菌等の非耐熱性菌) を殺菌し、検体に耐熱性菌を残存させる工程である。また工程 (B) は、前記工程 (A) の後に、検体を液体培地に添加し、酸素電極を用いて液体培地の溶存酸素濃度の変化を測定することにより、耐熱性菌数を測定する工程である。



WO 2008/029645 A1

明 細 書

耐熱性菌数測定方法および菌数測定装置

技術分野

[0001] この発明は、耐熱性菌数測定方法および菌数測定装置に係る発明である。

背景技術

[0002] たとえば食品の衛生管理の観点から、食品に含まれる芽胞菌等の耐熱性菌の数を測定することが要求されている。耐熱性菌数を測定する方法として、たとえば寒天培養法が従来より知られている(非特許文献1)。

[0003] 寒天培養法は、検体が添加された寒天培地に対して、たとえば100℃、15分間の所定の熱処理を施す。当該所定の熱処理により、耐熱性菌以外の非耐熱性菌(たとえば大腸菌等)を殺菌することができる。そして、当該所定の熱処理後、耐熱性菌を培養し、発生したコロニーの数を目視でカウントすることにより耐熱性菌数を測定するものである。

[0004] 非特許文献1:森地敏樹監修、「食品微生物検査マニュアル」、栄研器材株式会社発行、2002年7月、ISBN4-9901151-1-2

発明の開示

発明が解決しようとする課題

[0005] しかし、上記寒天培養法により耐熱性菌数を測定する方法では、測定時間に長時間を要するという問題が生じていた。さらに、上記寒天培養法により耐熱性菌数を測定する方法では、作業工程が煩雑化し、かつ作業者の作業に起因するばらつきが生じるという問題も生じていた。

[0006] そこで、本発明は、より短い測定時間で耐熱性菌数を測定することができる耐熱性菌数測定方法および菌数測定装置を提供することを目的とする。さらには、簡易な作業で、かつ測定結果のばらつきが少ない耐熱性菌数測定方法および菌数測定装置を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0007] 上記の目的を達成するために、本発明に係る請求項1に記載の耐熱性菌数測定

方法は、検体に含まれる耐熱性菌の数を測定する耐熱性菌数測定方法であって、(A)前記検体に対して所定の熱処理を施すことにより所定の菌を殺菌し、前記検体に前記耐熱性菌を残存させる工程と、(B)前記工程(A)の後に、前記検体を液体培地に添加し、酸素電極を用いて前記液体培地の溶存酸素濃度の変化を測定することにより、前記耐熱性菌数を測定する工程とを、備えている。

[0008] また、請求項2に記載の耐熱性菌数測定方法は、検体に含まれる耐熱性菌の数を測定する耐熱性菌数測定方法であって、(A)前記検体を添加した液体培地に対して所定の熱処理を施すことにより所定の菌を殺菌し、前記液体培地に前記耐熱性菌を残存させる工程と、(B)前記工程(A)の後に、酸素電極を用いて前記液体培地の溶存酸素濃度の変化を測定することにより、前記耐熱性菌数を測定する工程とを、備えている。

[0009] また、請求項3に記載の耐熱性菌数測定方法は、請求項1または請求項2に記載の耐熱性菌数測定方法であって、前記耐熱性菌は、芽胞菌であり、(C)前記芽胞菌を増殖させる前の工程であって、前記芽胞菌を含む前記液体培地にピルビン酸を加える工程を、さらに備えている。

[0010] また、請求項4に記載の菌数測定装置は、酸素電極法により耐熱性菌数の測定を行うことができる菌数測定装置であって、前記菌数測定装置に設置される液体培地内に挿入可能な酸素電極と、検体を添加した前記液体培地に対して所定の熱処理を施し、当該所定の熱処理後に、前記酸素電極を用いて前記液体培地の溶存酸素濃度の変化を測定することにより、前記耐熱性菌数を測定する制御部とを、備えている。

発明の効果

[0011] 本発明の請求項1, 2, 4に記載の発明では、酸素電極法により耐熱性菌数の測定を実施している。したがって、測定時間は短時間で済む。また、寒天培養法の場合で必要であった、希釈、混釈、重層、目視による菌数カウント等の人為的作業を省略することができる。したがって、作業の簡易化を図ることができると共に、人為的作業に起因した測定のバラツキを抑制することができる。さらに、検体または検体を添加した液体培地に対して所定の熱処理を施している。したがって、大腸菌等の非耐熱性菌

を殺菌することができ、結果として耐熱性菌のみ菌数を測定することができる。

[0012] また、本発明の請求項3に記載の発明は、芽胞菌を増殖させる前の工程であって、芽胞菌を含む液体培地にピルビン酸を加える工程を、さらに備えている。したがって、測定時間のさらなる短縮化、および測定結果の再現性向上(つまり、測定バラツキの縮小化)を図ることができる。

[0013] この発明の目的、特徴、局面、および利点は、以下の詳細な説明と添付図面とによって、より明白となる。

図面の簡単な説明

[0014] [図1]本発明を適用した場合の測定結果の一例を示す図である。

[図2]本発明を適用した場合の測定結果の一例を示す図である。

[図3]市販のチョコレートに対して本発明を適用した場合の図である。

[図4]ピルビン酸添加による効果を示す測定結果図である。

発明を実施するための最良の形態

[0015] 以下、この発明をその実施の形態を示す図面に基づいて具体的に説明する。

[0016] 以下、実施の形態として、本発明を適用した酸素電極法(DOX:dissolved oxygen electrode method)を利用した、所定の検体に含まれ得る耐熱性菌の菌数測定方法について説明する。なお、一般的に耐熱性菌のほとんどが芽胞菌である。ここで、酸素電極法は、検体を液体培地に添加して微生物を培養し、酸素電極を用いて当該液体培地の溶存酸素濃度の変化を測定することにより微生物数を測定する方法のことである(たとえば、特開2005-224117号公報、特開2005-304418号公報)。

[0017] 芽胞菌等の耐熱性菌は、加熱に対して強い抵抗性を有しており、所定の熱処理を施しても生存し得る。

[0018] はじめに、検体に対して所定の熱処理を施す。当該熱処理により、所定の菌(大腸菌等の非耐熱性菌)を殺菌し、検体に耐熱性菌のみを残存させる。その後、当該検体を液体培地に添加する。ここで、当該所定の熱処理は、たとえば100℃の温度を15分間施す。または、70℃の温度を20分間施す。なお、当該所定の熱処理として、公定法は100℃10分であるが、好気性菌自主検査向けは70℃20分であり、缶詰等自主検査向けは100℃15分である。当該所定の熱処理は、対象とする食品、加工

法によって、加熱温度、加熱時間は変化しうる(たとえば、オートクレーブでの121℃ 20分)。

[0019] そして、上記液体培地を、内面に酸素電極を有する測定用セルに注入し、該測定用セルを測定装置にセットする。液体培地中の溶存酸素濃度は測定用セルの酸素電極により電気信号へと変換され、測定装置は、当該電気信号に基づいて液体培地中の溶存酸素濃度の変化を測定する。これにより、測定装置は、液体培地中に含まれていた耐熱性菌の初期菌数を測定することができる。

[0020] 通常、この電気信号としては、酸素電極が出力する電流が用いられ、その電流値は溶存酸素濃度が高くなるほど大きな値となる。液体培地中の溶存酸素は耐熱性菌の呼吸によって消費されるので、該電流値は時間の経過と共に下がってくる。このとき、該電流値がゼロに近い所定のしきい値 I_{th} 以下に減少するまでの所要時間は、初期菌数によって異なり、初期菌数が多いほど短くなる。液体培地中の耐熱性菌数が多いと、それだけ酸素の消費量が多いので溶存酸素濃度が早く低下するためである。従って、酸素電極法(DOX)による耐熱性菌数測定では、酸素電極の出力電流がしきい値 I_{th} に達するまでの所要時間を測定し、その結果から液体培地中の初期菌数を算出することができる。

[0021] 以下、本発明を適用した場合の測定結果について説明する。

[0022] まず、検体として次のようなものを使用した。希釈液(生理食塩水)中に大腸菌100 000(10の5乗)CFU/mlを浮遊させたものに、市販の枯草菌芽胞液を10CFU/ml、1000CFU/ml、100000CFU/mlを各々添加したものを採用している。なお、CFUとは、Colony Forming Unit(集落形成単位)の略である。たとえば、1mlまたは1gの資料から50個の集落が検出される場合には、50CFU/ml、または50 CFU/gと表示される。

[0023] 当該検体を用いて、上記所定の熱処理(70℃20分)を実施した後に酸素電極法により芽胞菌数を測定するまでの時間と、上記所定の熱処理を実施せず(非加熱処理)に酸素電極法により芽胞菌数を測定するまでの時間とを、測定した。その結果が図1, 2である。ここで、図1に表記された測定値をプロット化したものが図2である。

[0024] 図1, 2から分かるように、本発明を適用した場合においても耐熱性菌数(図1, 2で

は芽胞菌数)の測定を行うことができた。なお、寒天培養法により、耐熱性菌数を測定する場合には、通常48時間の測定時間を要するが、図1, 2に示すように、本発明を適用した場合には、いずれの枯草菌芽胞液濃度においても、24時間未満で芽胞菌数を測定することができた。

[0025] また、図2に示すように、非加熱処理の場合には、枯草菌芽胞液濃度が変化しても測定時間はさほど変化しない。このことにより、非加熱処理の場合には、芽胞菌以外の大腸菌等の非耐熱性菌の測定に關与する影響が大きいと把握できる。他方、図2に示すように、所定の熱処理を施した場合には、枯草菌芽胞液濃度を变化させると測定時間も大きく変化する。このことにより、当該所定の熱処理により、大腸菌等の非耐熱性菌が殺菌されていることが理解できる(つまり、所定の熱処理を施すことにより、芽胞菌のみの菌数測定することが可能となる)。

[0026] 次に、市販のチョコレートを用いた耐熱性菌数の測定について説明する。

[0027] 市販のチョコレートをサンプリングする。ここで、今回の測定におけるサンプリングとは、所定の量の検体から、5gまたは10gの検体を測りとり、9倍量の生理食塩水またはPBS(リン酸バッファ)等の希釈液を加える作業のことである。ここでは生理食塩水を使用している。当該サンプリング後、70℃20分間の所定の熱処理(つまり、大腸菌等の非耐熱菌の殺菌処理)を行い、冷却する。

[0028] 当該冷却後の検体から、希釈液(ここでは生理食塩水)を用いて、耐熱性菌数が30~300CFU/mlとなる濃度を確実に含むと想定される10倍の希釈系列を作る。

[0029] その後、サンプリングの検体(原液)、10倍の希釈系列の検体を各々、各滅菌シャーレに1ml分注する。各滅菌シャーレに、滅菌後50℃に保温した寒天培地15mlを加えてよく混合して冷却凝固後、寒天培地4mlを薄く重層する。

[0030] そして、48時間後に各シャーレ上のコロニーを目視でカウントし、希釈に基づいて検体中の菌数を算出する。当該測定結果が、図3の「加熱」の場合の平板菌数(9.1×10^3 CFU/g)である。

[0031] 他方、上記各処理の内、所定の熱処理を省略した場合の測定結果が、図3の「非加熱」の場合の平板菌数(6.2×10^3 CFU/g)である。

[0032] これに対して、市販のチョコレートをサンプリングし、これに対して70℃20分の所定

の熱処理を実施し、酸素電極法により耐熱性菌数を測定した。当該測定結果が、図3の「加熱」の場合のDOX検出時間(462±5分)である。他方、市販のチョコレートをサンプリングし、これに対して所定の熱処理を実施せずに、酸素電極法により耐熱性菌数を測定した。当該測定結果が、図3の「非加熱」の場合のDOX検出時間(447±27分)である。

[0033] 酸素電極法を用いた周知の方法により、図3のDOX検出時間を菌数に換算した場合、酸素電極法を用いて測定された耐熱性菌の菌数と、寒天培養法により測定された耐熱性菌の菌数(平板菌数)とが、ほぼ同じ値となった(換算の結果、非熱処理の場合: 7.1×10^3 CFU/g、所定の熱処理を施した場合: 4.5×10^3 CFU/g)。なお、検出時間と菌数との関係については、特願2005-175998号公報、特願平11-99870号公報、特願2002-34159号公報で詳細に述べられている。閾値を設け(今回の場合は、300nA)、電流値が当該閾値を超える時間を検出時間とし、予め分かっている菌数(または別途測定した菌数)によって検量線を作成して、検出時間を菌数に換算する。

[0034] 図3の測定結果から分かるように、本発明を用いた場合(つまり、酸素電極法により耐熱性菌を測定した場合)であっても、寒天培養法と同様に、食料品に存する耐熱性菌の菌数を測定することができる。さらに、図3の結果からも分かるように、本発明を採用した方が、測定時間の短縮化を図ることができる。

[0035] 以上の測定結果から分かるように、酸素電極法を用いて耐熱性菌数を測定することにより、検体に含まれていた耐熱性菌数をより短時間で測定することができる(寒天培養法の場合が48時間程度であるのに対して、酸素電極法の場合には、当該48時間より十分短い)。また、希釈、混釈、重層、菌数の目視カウント等の面倒な作業も省略できる。また、酸素電極法を用いた場合には、前述の希釈、混釈、重層、目視カウント等人為的な作業も省略できるので、測定バラツキを抑制することができる。

[0036] また図1, 2の結果からも分かるように、事前に、検体に対して所定の熱処理を施すことにより、非耐熱性菌(大腸菌等)を殺菌することができる。したがって、耐熱性菌のみが生存する液体培地に対して酸素電極法を施すことができ、耐熱性菌の菌数のみを測定することができる。

- [0037] なお、酸素電極法では、電気信号をモニタすることで菌数の測定が行われるので、測定の自動化、測定結果のデータベース化、測定システムのネットワーク化が容易であるという利点もある。
- [0038] また、上記実施の形態では、検体に対して所定の熱処理を施すことにより非耐熱性菌を殺菌した後に、当該所定の熱処理後の検体を液体培地に添加し、当該液体培地を用いて酸素電極法により耐熱性菌数を測定する場合に言及した。
- [0039] 上記で言及した耐熱性菌数の測定手順に加えて、次の手順を採用しても良い。検体を添加した液体培地に対して所定の熱処理を施す。当該所定の熱処理により、非耐熱性菌が殺菌され、液体培地に耐熱性菌を残存させることができる。その後、酸素電極を用いて当該所定の熱処理を施した液体培地の溶存酸素濃度の変化を測定する。当該溶存酸素濃度の変化の測定により、耐熱性菌数を測定することができる。当該手順によっても、上述同様に、より短時間で、簡易な作業により、しかも測定のバラツキを抑制して、検体に含まれる耐熱性菌の数を測定することができる。また、当該手順を実施する場合には、以下の菌数測定装置を提供できる。
- [0040] つまり、当該菌数測定装置は、たとえば上述した特開2005-224117号公報、特開2005-304418号公報に記載されている酸素電極法による耐熱性菌数の測定を行うことができる菌数測定装置であって、次の部分を備える。当該菌数測定装置は、酸素電極と制御部とを備えている。ここで、酸素電極は、当該菌数測定装置に設置される液体培地内に挿入可能である。また、制御部は、検体を添加した液体培地に対して所定の熱処理を施す制御を行う。また、当該制御部は、当該所定の熱処理後に、酸素電極を用いて液体培地の溶存酸素濃度の変化を測定することにより、耐熱性菌数を測定する制御を行う。
- [0041] 当該菌数測定装置において、ユーザは、所定の検体を用意し、これを液体培地に添加する。当該液体培地を当該菌数測定装置に設置すれば、自動的に、上記制御部の制御の下、設置された液体培地に対して所定の熱処理が実施される。上述の通り、当該所定の熱処理は、たとえば70℃、20分、若しくは100℃、15分であり、当該所定の熱処理により、大腸菌等の非耐熱性菌を殺菌することができる(換言すれば、液体培地に耐熱性菌のみを残存させることができる)。その後、制御部の制御の下、

自動的に、酸素電極を用いた酸素電極法を当該液体培地に施し、結果として、耐熱性菌数のみの測定を自動的に行うことができる。

[0042] なお、耐熱性菌である芽胞菌を増殖させる前の工程であって、芽胞菌を含む液体培地にピルビン酸を加える工程を、さらに備えていても良い(特願2004-127911号公報)。これにより、図4の測定結果に示すように、測定時間のさらなる短縮と、測定結果の再現性向上を図ることができる。ここで、図4は、ピルビン酸を添加させた場合と添加しなかった場合とにおける、DOX検出時間(分)と測定のばらつきCV(%)とを示す測定結果である。図4において、ピルビン酸添加の場合の方が、DOX検出時間が短縮されており、測定再現性も向上している。なお、図4の測定では、大腸菌群 10^5 CFU/mlと枯草菌芽胞液10CFU/mlとを含む生理食塩水をサンプルとし、当該サンプルに対して所定の熱処理(70℃20分)を施した。当該サンプルを複数用意し、一部のサンプルにピルビン酸を添加、他のサンプルにはピルビン酸を添加しなかった。

[0043] また、廃棄物に耐熱性菌が残っていないかを調べる場合には、非耐熱性菌を殺菌するために、121℃20分の所定の熱処理を施せば良い。通常、当該所定の熱処理の条件では、芽胞菌であっても死滅する可能性がある。しかし、大容量の液体の中心部などでは、十分に温度が上がらない場合があり、その場合には芽胞菌が生き残る可能性がある。

[0044] なお、上記各測定において、芽胞菌(芽胞液)として、標準芽胞液を使用した(<http://www.eikenkizai.co.jp/product/kosoukin/kosoukin.html>、または、<http://ja.wikipedia.org/wiki/%E8%8A%BD%E8%83%9E>、参照)。

[0045] この発明は詳細に説明されたが、上記した説明は、すべての局面において、例示であって、この発明がそれに限定されるものではない。例示されていない無数の変形例が、この発明の範囲から外れることなく想定され得るものと解される。

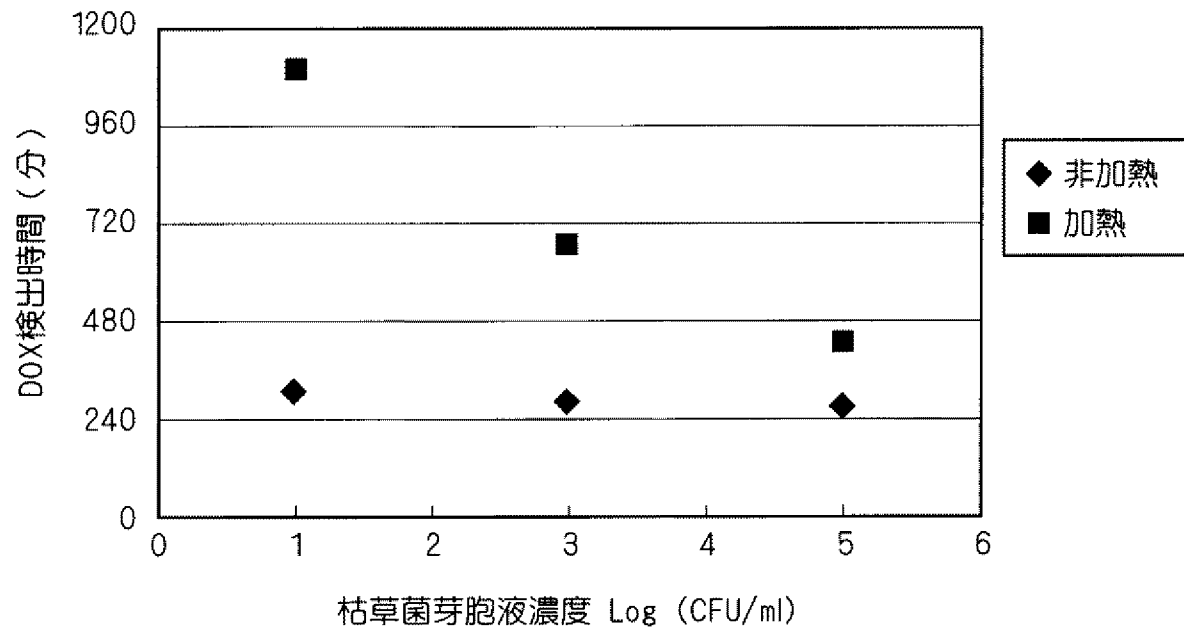
請求の範囲

- [1] 検体に含まれる耐熱性菌の数を測定する耐熱性菌数測定方法であって、
(A)前記検体に対して所定の熱処理を施すことにより所定の菌を殺菌し、前記検体に前記耐熱性菌を残存させる工程と、
(B)前記工程(A)の後に、前記検体を液体培地に添加し、酸素電極を用いて前記液体培地の溶存酸素濃度の変化を測定することにより、前記耐熱性菌数を測定する工程とを、備えている、
ことを特徴とする耐熱性菌数測定方法。
- [2] 検体に含まれる耐熱性菌の数を測定する耐熱性菌数測定方法であって、
(A)前記検体を添加した液体培地に対して所定の熱処理を施すことにより所定の菌を殺菌し、前記液体培地に前記耐熱性菌を残存させる工程と、
(B)前記工程(A)の後に、酸素電極を用いて前記液体培地の溶存酸素濃度の変化を測定することにより、前記耐熱性菌数を測定する工程とを、備えている、
ことを特徴とする耐熱性菌数測定方法。
- [3] 前記耐熱性菌は、芽胞菌であり、
(C)前記芽胞菌を増殖させる前の工程であって、前記芽胞菌を含む前記液体培地にピルビン酸を加える工程を、さらに備えている、
ことを特徴とする請求項1または請求項2に記載の耐熱性菌数測定方法。
- [4] 酸素電極法により耐熱性菌数の測定を行うことができる菌数測定装置であって、
前記菌数測定装置に設置される液体培地内に挿入可能な酸素電極と、
検体を添加した前記液体培地に対して所定の熱処理を施し、当該所定の熱処理後に、前記酸素電極を用いて前記液体培地の溶存酸素濃度の変化を測定することにより、前記耐熱性菌数を測定する制御部とを、備えている、
ことを特徴とする菌数測定装置。

[図1]

		枯草菌芽胞液濃度 (CFU/ml)		
		10^1	10^3	10^5
検出時間 (分)	非加熱	316.8	292.4	280.8
	加熱	1103.0	674.2	435.0

[図2]



[図3]

	DOX検出時間 (分)	平板菌数 (CFU/g)
非加熱	447±27	9.1×10^3
加熱	462±5	6.2×10^3

[図4]

	DOX検出時間 (分)	CV (%)
非添加	1103	15.8
添加	922	9.7

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/066466

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N27/416(2006.01) i, C12Q1/04(2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N27/416, C12Q1/04

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2007
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2007	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2007

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus (JDream2)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	JP 2005-304418 A (Daikin Industries, Ltd.), 04 November, 2005 (04.11.05), Claim 2; Par. Nos. [0002], [0012] to [0015], [0020] (Family: none)	4 1-3
Y	JP 2006-61003 A (Nisshin Flour Milling Co., Ltd.), 09 March, 2006 (09.03.06), Par. Nos. [0021], [0025], [0039] (Family: none)	1-3
A	JP 10-276762 A (Daikin Industries, Ltd.), 20 October, 1998 (20.10.98), Full text; Figs. 1 to 8 (Family: none)	1-4

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
14 September, 2007 (14.09.07)

Date of mailing of the international search report
25 September, 2007 (25.09.07)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/066466

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 10-276795 A (Daikin Industries, Ltd.), 20 October, 1998 (20.10.98), Full text; Figs. 1 to 5 (Family: none)	1-4

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（I P C））
Int.Cl. G01N27/416(2006.01)i, C12Q1/04(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（I P C））

Int.Cl. G01N27/416, C12Q1/04

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1 9 2 2－1 9 9 6年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1－2 0 0 7年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6－2 0 0 7年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4－2 0 0 7年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

JSTPlus(JDream2)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	J P 2 0 0 5－3 0 4 4 1 8 A（ダイキン工業株式会社）2 0 0 5. 1 1. 0 4, 請求項2、段落【0 0 0 2】、【0 0 1 2】－【0 0 1 5】、【0 0 2 0】、（ファミリーなし）	4
Y		1－3
Y	J P 2 0 0 6－6 1 0 0 3 A（日清製粉株式会社）2 0 0 6. 0 3. 0 9, 段落【0 0 2 1】、【0 0 2 5】、【0 0 3 9】（ファミリーなし）	1－3

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

1 4. 0 9. 2 0 0 7

国際調査報告の発送日

2 5. 0 9. 2 0 0 7

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁（I S A / J P）
郵便番号1 0 0－8 9 1 5
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官（権限のある職員）

野村 伸雄

2 J

9 3 1 1

電話番号 0 3－3 5 8 1－1 1 0 1 内線 3 2 5 2

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	J P 1 0 - 2 7 6 7 6 2 A (ダイキン工業株式会社) 1 9 9 8 . 1 0 . 2 0 , 全文, 図 1 - 8 (ファミリーなし)	1 - 4
A	J P 1 0 - 2 7 6 7 9 5 A (ダイキン工業株式会社) 1 9 9 8 . 1 0 . 2 0 , 全文, 図 1 - 5 (ファミリーなし)	1 - 4