

(様式第 1 3 号)

学 位 論 文 要 旨

氏名: 小野 朋子

題目: 弱酸性次亜塩素酸水溶液の殺菌効果の基礎的検討および食品・畜産分野への適用に関する研究

(Basic Study on Microbicidal Effect of Weak Acid Hypochlorous Solution and Application in Field of Food and Livestock Industry)

本研究では、食品および畜産分野で弱酸性次亜塩素酸水溶液の適用を目的とし、その基礎的検討および実使用条件での効果検証を行った。弱酸性次亜塩素酸水溶液は、次亜塩素酸ナトリウムを水道水で希釈し、塩酸で pH を 5.5~6.5 の弱酸性に調製したものである。弱酸性に調整することにより、水中の塩素の形態がイオン型の次亜塩素酸イオン($OC1^-$)から分子形の次亜塩素酸($HClO$)に変化する。細菌表面は負に帯電していることから、同じ負の荷電を持つ次亜塩素酸イオン($OC1^-$)よりも荷電を持たない次亜塩素酸($HClO$)のほうが細菌の形質膜に対する透過性が高い。ゆえに次亜塩素酸($HClO$)は受動拡散によって微生物の細胞壁と形質膜を速やかに通過し、菌体の内部と外部の両面から酸化作用を与え、殺菌効果および速度が増大するといわれている。また、弱酸性次亜塩素酸水溶液は人体や環境に対する安全性が高いことも確認されており、食品添加物としても使用できることから、食品および畜産分野での適用に適している。

まず、弱酸性次亜塩素酸水溶液の基礎的な殺菌効果を確認するため、細菌、カビ、ウイルスの各種標準株および臨床分離株に対する殺菌、殺カビおよびウイルス不活化効果の検討を行った。その結果、有効塩素濃度 50ppm の弱酸性次亜塩素酸水溶液は本試験で供したすべての標準株の細菌、カビおよびウイルスを 15 秒~600 秒で検出限界以下とする高い殺菌・不活化効果が認められた。*B. subtilis*, *B. cereus* および *A. niger* は有効塩素に対して抵抗性が高かったが、pH5.0, 6.0 の弱酸性域の条件で殺菌に要する時間が短縮された。

次に、有効塩素に対して高い抵抗性が認められた芽胞菌のうち、医療や食糞分野で問題となっている *B. cereus*, *A. acidoterrestris* および *C. difficile* を用いてさらに詳細に検討を行った。有効塩素濃度 10~200ppm、pH6 および 9 の次亜塩素酸水溶液を調整して各種芽胞液に接触させ、その生菌数の経時的変化を測定した。また、芽胞をステンレス、プラスチックおよび布などの各種部材に付着させた場合の殺菌効果についても検討した。pH6 の次亜塩素酸水溶液は pH9 の場合と比較して、短時間で殺菌が可能であった。また、芽胞菌に対する対数生残率 (S) は有効塩素濃度 (ppm) と時間 (min) の積である濃度時間積に対数近似し、その値は pH が弱酸性域で低い値となった。この傾向はポリエチレン、ステンレス鋼および布に付着した芽胞でも同様であった。

次に弱酸性次亜塩素酸水溶液の食品分野への適用について検討を行なった。食品分野はノロウイルスや病原性大腸菌などによる集団食中毒や、食品の品変敗および質劣化などの観点から、製造時における微生物管理が大きな課題となっている。本研究では特に、製造中に加熱工程を持たないカット野菜や漬物製造ラインでの弱酸性次亜塩素酸水溶液の使用を目指し、検討を行なった。

まず、カット野菜の材料として、殺菌が困難なキュウリおよびアオネギを用いた。有効塩素濃度 100ppm の弱酸性次亜塩素酸水溶液で洗浄することによってキュウリおよびアオネギの一般生菌数は 5.4、4.9 logCFU/g から 3.8、4.1 logCFU/g に有意に減少した。さらに殺菌効果を増大させる試みとして、界面活性剤の添加も検討した。弱酸性次亜塩素酸水溶液に 2 種の非イオン型界面活性剤を添加したところ、pH および有効塩素濃度を 24 時間維持することができ、表面張力の低下が確認された。また、殺菌効果も弱酸性次亜塩素酸水溶液単独よりも 1~2 桁減少させることができ、殺菌が困難な野菜に対する殺菌方法として有用性が高いことが示された。

さらに、実際の漬物製造工場での適用を想定し、食品用洗浄機での殺菌条件に即し、漬物の原料となるハクサイの殺菌を試みた。50ppm の弱酸性次亜塩素酸水溶液で 20 秒間攪拌洗浄を行なった場合、漬物衛生規範の殺菌条件(次亜塩素酸ナトリウム 100ppm で 10 分または 200ppm で 5 分)での殺菌条件と同等の殺菌効果が得られた。また、トリハロメタン的一种であるクロロホルムの生成量は水道水で洗浄した場合と同程度であった。

最後に畜産分野への適用を目指し、養鶏場での弱酸性次亜塩素酸水溶液の使用について検討を行った。養鶏分野では、農場の衛生管理を徹底することで鳥インフルエンザをはじめとする疾病の抑制を行い、かつ鶏肉および鶏卵の食品としての微生物学的安全性を確保することが求められている。

まず、ブロイラー種鶏への飲水へ弱酸性次亜塩素酸水溶液を利用した場合の、飲水の殺菌効果および鶏に対する生産性および安全性への影響について水道水と比較して評価した。飲水殺菌に 50ppm 弱酸性次亜塩素酸水溶液を用いた場合、給水ライン中の残留塩素濃度は、徐々に低下するものの、給水器内でも総塩素濃度 14.6 ppm を維持していた。飲水中の生菌数を測定したところ、特に大腸菌群数およびサルモネラ属菌などグラム陰性菌を検出限界以下となっており、水道水と比較して菌数を抑制できた。生産性については、餌付け初期の育成率が 0.8% 向上した。また、飲水期間を通して、鶏の臓器重量、血液性状および組織学的検査において悪影響は認められなかった。

ブロイラー種鶏の種卵(受精卵)消毒への弱酸性次亜塩素酸水溶液の噴霧の適用を検討し、現行のホルマリン燻蒸法との比較を行った。弱酸性次亜塩素酸水溶液の噴霧により種卵消毒を行った場合の卵殻表面の殺菌効果および孵化率について検討を行った。弱酸性次亜塩素酸水溶液の噴霧による除菌率は 99.85% となり、ホルマリン燻蒸での除菌率 99.75% と同等であった。除菌率のばらつきは弱酸性次亜塩素酸水溶液噴霧のほうが小さく安定した除菌率が得られた。孵化率も弱酸性次亜塩素酸水溶液噴霧およびホルマリン燻蒸で各々 94.6%、92.9% と同等の孵化率であった。これらの結果より種卵消毒においても弱酸性次亜塩素酸水溶液はホルマリン燻蒸の代替法として利用性が高いことが示された。

本研究により、弱酸性次亜塩素酸水溶液は食品及び畜産の分野において、衛生管理をする上で有用性が高いことが示された。今後は様々な分野において弱酸性次亜塩素酸水溶液の持つ特性に応じた殺菌方法の開発およびその検証を進めていきたい。