

調理環境下での食中毒原因菌の付着性評価と 微酸性電解水の殺菌効果の検討 —食中毒原因菌に対する微酸性電解水殺菌効果—

上田 柊太¹, 小宮山 謙太¹, 塩田 由依², 眞野 容子¹, 古谷 信彦¹

¹ 文京学院大学大学院 保健医療科学研究科

² 文京学院大学 保健医療技術学部 臨床検査学科

要旨

厚生労働省食中毒統計資料によれば食中毒発生件数は飲食店が最も多く、次いで家庭、旅館、病院、事業所、学校給食などが挙げられている。食中毒発生の要因として、調理器具や調理環境の消毒不備といった一般衛生もその一つとなっている。微酸性電解水は厚生労働省より食品添加物・殺菌料として使用されており、安全性が確認されている。本研究では、調理器具などを介した微生物汚染を減らすため、付着担体への食中毒原因菌付着性評価と、微酸性電解水による殺菌効果について検討した。微酸性電解水による1分以上の浸漬において、素材の異なる付着担体双方にて、両供試菌共に殺菌効果が認められた。本結果より、両供試菌共に微酸性電解水による殺菌効果が認められたことから、低い塩素濃度で殺菌効果を発揮し、環境への負担を軽減する微酸性電解水が、担体付着した食中毒原因菌に対する殺菌料として有効であることが示唆された。

キーワード

微酸性電解水, 食中毒, 消毒, *Staphylococcus aureus*

I. 序論

食中毒発生のリスクとなりやすい施設・事業所は多岐にわたり、厚生労働省食中毒統計資料によれば食中毒発生件数は飲食店が最も多く、次いで家庭、事業所、学校給食、旅館、病院などが挙げられる。食中毒の原因物質として細菌とウイルスが約90%を占めている¹⁾。食中毒発生の要因として食品の加熱不足や保存方法の不備があるが、調理器具や調理環境の消毒不備といった一般衛生もその一つとなっている²⁾。近年、ヒトへの影響が少なく、食中毒原因病原体に対し、食材の品質を損なうことなく低い塩素濃度で高い殺菌効果を発揮する微酸性電解水 (Slightly acidic electrolyzed water: SAEW) による殺菌が注目されている。微酸性電解水は無隔電解槽において、塩酸または塩化ナトリウム水溶液を電気分解することにより生成される pH5.0～6.5 かつ有効塩素濃度 10～80ppm の塩素系殺菌料である。2002 年に厚生労働省により殺菌料として食品添加物に指定され、その安全性が確認されている³⁾。微酸性電解水の主な殺菌成分は次亜塩素酸「hypochlorous acid (HClO)」であり、分子サイズが小さく電氣的に中性であるため、細胞膜を透過し生体膜の損傷による殺菌的な作用や細胞内酵素の不活化、ATP 産生阻害、DNA 損傷などの生菌的な作用により高い殺

菌効果を発揮する⁴⁾。微酸性電解水は大腸菌 (*Escherichia coli*) の超微細構造と透過性を変化させ、細胞内容物の漏出と不活性化につながる可能性がある⁵⁾。また、微酸性電解水と紫外線照射を用いた併用実験において、*Salmonella enteritidis* におけるプラスチック製、ステンレス鋼、およびガラス表面などの担体の表面に対する不活性化が可能であると報告されている⁶⁾。黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) は健康者の保有率 20～30% とされており、毒素型食中毒の原因菌である⁷⁾。我が国において発生した黄色ブドウ球菌食中毒の原因食品は、にぎりめし、寿司、肉、卵、などの調理加工品など多岐にわたっている⁸⁾。黄色ブドウ球菌自体の耐熱性は高く、通常の加熱調理では活性を失わない⁹⁾。食品中でエンテロトキシンを産生させないよう食品の汚染、食品中での増殖を防ぐことが必要である。さらに、食品が汚染されることで使用した包丁やまな板などの調理器具を介し、ほかの食品が汚染されるなどの二次汚染への関与が考えられる。これらのことから、本研究では調理器具などを介した微生物汚染を減少させるため、SAEW を用いた殺菌・消毒方法を確立させることを目的とした。

II. 方法

1. 供試菌

食品の汚染度指標である *Escherichia coli* ATCC25922 (精度管理株), 食中毒原因菌として, 駿河台日本大学病院より 2009 年 5 月 28 日に提供された *Staphylococcus aureus* (便由来) を使用した。

2. 付着担体

菌液付着担体としてまな板を想定したポリエチレン (2cm×2cm), 調理台や調理器具を想定したステンレス (九宝金属製作所, 大阪府) (sus304 2cm×2cm) を用いた。

3. 使用殺菌料

殺菌料 (試験薬) は電解水生成装置である PURESTER®µ-Clean II (森永乳業株式会社, 東京) を用いて調製を行った微酸性電解水 (SAEW), 対照として水道水の計 2 種類を使用した。

4. 微酸性電解水の有効塩素濃度測定法

ヨウ素滴定法により測定を行った。メスシリンダーを用いて微酸性電解水を 70.9mL 量りとり, コルベンへ移した。スターラーにセットし攪拌しながら, ヨウ化カリウム薬 (富士フィルム和光純薬, 大阪府) を約 1g, 50% 酢酸を 1mL, デンプン液を 1mL 加えた。0.01mol/L チオ硫酸ナトリウム (富士フィルム和光純薬, 大阪府) を 1mL ずつ滴下し, 滴下後 10 秒間完全に透明になったタイミングで滴下を終了した。滴下したチオ硫酸ナトリウム液 (mL) × 5 = 微酸性電解水の有効塩素濃度 (mg/kg; ppm) とした。

5. 調理器具への菌の残存性評価

はじめに, 付着担体を 70% アルコールに浸漬させた後, 精製水で洗浄し, これらを滅菌済みポリエチレンおよびステンレス (2cm×2cm) とした。そこに, McFarland 0.5 (1.5×10⁸ CFU/mL) に調整した菌液 10μL を滴下後安全キャビネット内で 10 分, 30 分, 60 分間乾燥させ, 菌液付着担体とした。その後, 0.5% チオ硫酸ナトリウム (富士フィルム和光純薬, 大阪府) 10mL 入り遠沈管へ回収, 混和し抽出液を得た。0.9% 滅菌生理食塩水 (関東化学, 東京) にて連続希釈し, トリプトソーヤ寒天培地 (日水製薬株式会社, 東京) にて 37℃, 一晚培養後, 菌数カウントを行い付着担体への菌の残存性を評価した。

6. 浸漬試験における微酸性電解水の殺菌効果

はじめに, 付着担体を 70% アルコールに浸漬させた後, 精製水で洗浄し, これらを滅菌済みポリエチレンおよびステンレス (2cm×2cm) とした。そこに, McFarland 0.5 (1.5×10⁸ CFU/mL) に調整した菌液 10μL を滴下後安全キャビネット内で 10 分間乾燥させ, 菌液付着担体とした。微酸性電解水 (pH6.25±0.12, 有効塩素濃度 24.58±4.55ppm) と水道水 (対照) 50mL に, 菌液付着担体をそれぞれ 10 秒, 30 秒, 1 分, 3 分, 5 分間浸漬させた。塩素系消毒薬の中和緩衝液である 0.5% チオ硫酸ナトリウム 10mL 入り遠沈管へ回収, 混和し反応を停止させ抽出液を得た。0.9% 滅菌生理食塩水にて連続希釈し, トリプトソーヤ寒天培地にて 37℃, 一晚培養後, 菌数カウントを行い殺菌料効果の判定とした。また, 浸漬を行わずに, 菌液付着担体を 0.5% チオ硫酸ナトリウム水溶液 10mL 入り遠沈管へ回収し, 接種・培養したものをコントロールとした。

III. 結果

有効性評価は, 4.00 log CFU/mL 以上の菌数減少を認めた場合を有効と評価する日本環境感染学会における「環境消毒の評価指針 2020」の基準に準拠し行った¹⁰⁾。

1. 調理器具への菌の残存性評価

調理器具への菌の残存性評価の結果を示した (図 1)。2 供試菌ともに, 付着担体に菌を付着後, 10 分, 30 分, 60 分と菌液が乾燥するに従い, 回収された菌数は減少した。菌種間での比較では, *S. aureus* により多く菌が残存した。付着担体ではステンレスと比較しポリエチレンにて多くの菌の残存が確認された。

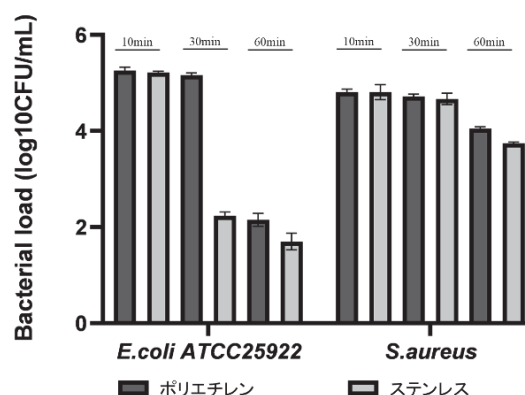


図 1. 調理器具への菌の残存性評価

2. 浸漬試験における微酸性電解水の殺菌効果

ポリエチレンに対する消毒効果の結果を示した(図2, 3). *E. coli* ATCC25922ではSAEW10秒間の浸漬において, *S. aureus*ではSAEW1分間の浸漬において殺菌効果を示した. また, 水道水による浸漬では時間による生菌数の減少は認められたが, 殺菌効果は認められなかった.

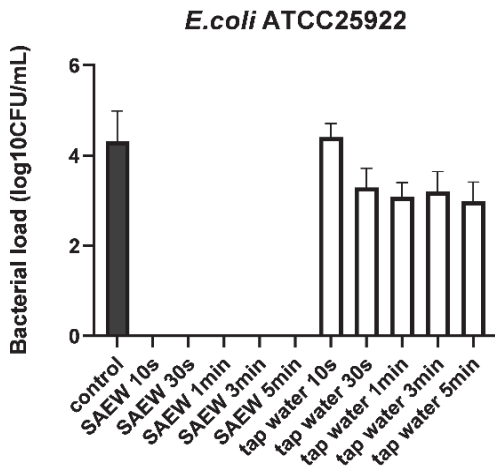


図 2. *E. coli* におけるポリエチレンに対する殺菌効果

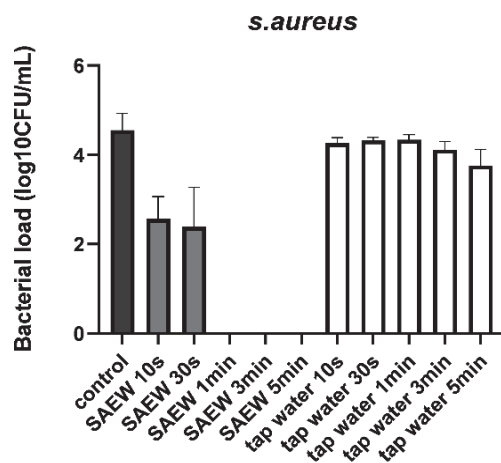


図 3. *S. aureus* におけるポリエチレンに対する殺菌効果

ステンレスに対する消毒効果の結果を示した(図4, 5). *E. coli* ATCC25922ではSAEW30秒間の浸漬において, *S. aureus*ではSAEW1分間の浸漬において殺菌効果を示した. また, ステンレスにおいても水道水による浸漬では時間による生菌数の減少は認められたが, 殺菌効果は認められなかった.

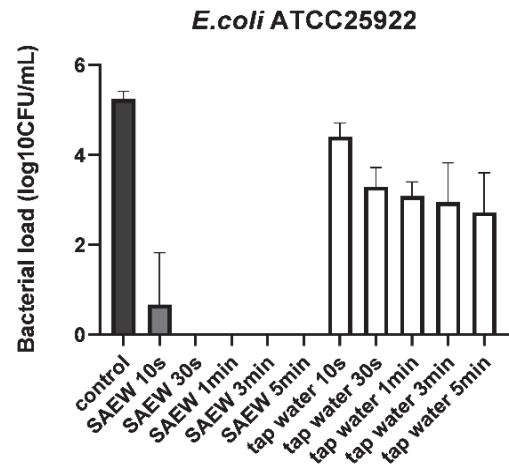


図 4. *E. coli* におけるステンレスに対する殺菌効果

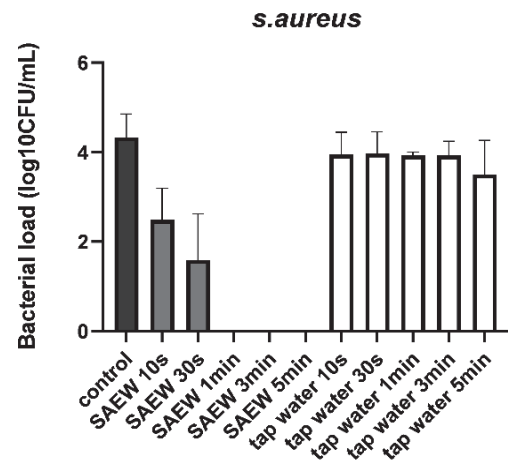


図 5. *S. aureus* におけるステンレスに対する殺菌効果

IV. 考察

本研究は, 調理器具などを介した微生物汚染を減少させるため, 消毒・殺菌方法を確立させることを目的とした. 結果として, 微酸性電解水による浸漬消毒を行うことで調理器具に付着した細菌に対する消毒・殺菌効果を認めたため微酸性電解水を用いることが有用であると示唆された. *Cronobacter sakazakii* に対するステンレス鋼, ゴム製品表面への微酸性電解水による付着試験では, 塩素濃度 30mg/L, 60秒間での作用時間において不活化が可能であると報告されている¹¹⁾. また, 微酸性電解水は農業や酪農業などの食品分野や歯科領域においても新たな除菌方法として注目され¹²⁾, ブルーベリー等の食品に対して重量減少に影響を与えず, 細胞壁成分の分解を減少させることにより, 長期

的な品質貯蔵を維持している¹³⁾。

調理器具への菌の残存性評価の結果から、調理器具へ細菌が付着した場合でも、十分に乾燥させることで生菌数は減少した。調理器具の使用後の保存方法として水気を取り、十分に乾燥させることの重要性が確認された。しかし、2供試菌において、乾燥のみでは十分に消毒・殺菌効果を得ることは不可能であり、特に *S. aureus* では付着担体に多くの菌の残存を認めた。細菌の構造上の差異や乾燥への強さ、付着性の違いが関係していると考えられる。また、ポリエチレンとステンレスを比較すると生菌数に差がみられた。素材には凹凸による粗さや滑らかさの違いが生じるため、凹凸の多いポリエチレンにおいて細菌付着が多いと考えられる。

微酸性電解水を用いた浸漬試験においては、異なる素材に付着した2供試菌共に、検出限界まで殺菌効果を示したことから、付着した食中毒原因菌に対する殺菌料として、微酸性電解水が有効であることが示唆された。また、作用時間が増すことにより殺菌効果が高くなることが確認された。細菌の残存性評価から、素材間により細菌付着性の違いがみられたが、ステンレスおよびポリエステルに対して微酸性電解水は同等の殺菌効果を示した。*E. coli* は塩素による感受性が *S. aureus* に比べて高いことが報告されている¹⁴⁾。2供試菌に対する殺菌効果を比較すると、*E. coli* において殺菌効果が高いことが確認された。グラム陽性菌とグラム陰性菌の細胞壁の構造の違いに由来していると考えられるが、殺菌効果のメカニズムを理解するためには、さらなる研究が必要である。水道水による浸漬では、付着した原因菌の残留を認めた。菌数の減少は消毒・殺菌されたのではなく、付着担体から剥離しただけであると考えられるため、使用水道水や調理器具を介した二次汚染へと関与する可能性が示唆される。また、微酸性電解水を含む塩素系殺菌料は有機物の存在下では効果が低下してしまう。そのため有機物存在下における殺菌効果の検討や、浸漬のみならず、流水を用いることによる検討も今後必要であると考ええる。

V. 結語

調理環境下における食中毒原因菌に対する微酸性電解水の殺菌効果について検討を行った。結果として、素材間における細菌付着性に差異がみられたが、人体や環境への影響が少ない微酸性電解水による浸漬により殺菌効果を得たため、調理環境下を介した食中毒原因菌の伝播を防ぐ方法として、微酸性電解水は有用であることが示唆された。

本論文内容に関連する著者らの利益相反：なし

参考文献

- 1) 厚生労働省:「食中毒統計資料」「2023(令和5年)」食中毒発生状況 001213031.pdf (mhlw.go.jp) (2024年10月28日現在)
- 2) 伊藤武:厨房をおびやかす病原菌—食品から施設まで— 生活衛生 Vol.45 No.1 3-13(2001)
- 3) 厚生労働省“食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件について”. <https://www.mhlw.go.jp/content/000757879.pdf> (2024年10月28日現在)
- 4) 厚生労働省“次亜塩素酸水と次亜塩素酸ナトリウムの同類性に関する資料”<https://www.mhlw.go.jp/shingi/2009/08/dl/s0819-8k.pdf> (2024年10月28日現在)
- 5) Ye Z, Wang S, Chen T, et al. Inactivation Mechanism of *Escherichia coli* Induced by Slightly Acidic Electrolyzed Water. SCIENTIFIC REPORTS. 2017; 7: 6279
- 6) Zang, Y. T, Li, B. M, Bing, S, et al. Modeling disinfection of plastic poultry transport cages inoculated with *Salmonella enteritidis* by slightly acidic electrolyzed water using response surface methodology. Poult Sci. 2015; 94: 2059-2065
- 7) NIID 国立感染研究所:黄色ブドウ球菌食中毒とは <https://www.niid.go.jp/niid/ja/kansennohanashi/511-aureus.html> (2024年10月28日現在)
- 8) 品川邦汎. 2 黄色ブドウ球菌. 食中毒予防必携 第2版. p.63-71, 社団法人日本食品衛生協会, 東京(2007)
- 9) 五十君静信. 1 *Staphylococcus*. 食品由来感染症と食品微生物. p.424-438, 仲西寿夫、丸山務監修, 中央法規出版, 東京(2009).
- 10) 一般財団法人, 日本環境感染学会「環境消毒の評価指針2020」[kankyosyodokuyaku2020.pdf](https://www.kankyosyodokuyaku2020.pdf) (kankyokansen.org) (2024年10月28日現在)
- 11) Guo L, Han J, Wang Y, et al. Antibacterial action of slightly acidic electrolytic water against *Cronobacter sakazakii* and its application as a disinfectant on high-risk contact surfaces. Food Microbiology. 2024; 15: 1314362
- 12) Komachiya M, Yamaguchi A, Hirai K, et al. Antiseptic effect of slightly Electrolyzed water on dental unit water systems. Bull Tokyo Dent Coll 2014; 55: 77-86
- 13) Chen Y, Hung Y. C, Lin H. Effects of acidic electrolyzed oxidizing water on retarding cell wall degradation and delaying softening of blueberries during postharvest storage. LWT-Food Sci. Technol. 2017; 84: 650-657

- 14) Songjian Nan et al: Effect of slightly acidic electrolyzed water for inactivating *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus* analyzed by transmission electron microscopy. Journal of food 73 (12),2211-2216,2010

Evaluation of Food Poisoning-causing Bacterial Adherence in Cooking Environments and Sterilization Efficacy of Slightly Acidic Electrolyzed Water: Sterilization Effect of Slightly Acidic Electrolyzed Water on Bacteria Causing Food Poisoning

Shuta Ueda¹, Kenta Komiyama¹, Yui Shiota², Yoko Mano¹, Nobuhiko Furuya¹

¹ Graduate School of Health Care Science, Bunkyo Gakuin University,

² Department of Clinical Laboratory Medicine, School of Health Science Technology, Bunkyo Gakuin University,

Abstract

According to the Ministry of Health, Labor and Welfare, food poisoning outbreaks occur most frequently in restaurants, followed by homes, inns, hospitals, business establishments, and school cafeterias. General hygiene, such as inadequate disinfection of cooking utensils and cooking environment, is a significant contributing factor. Microacidic electrolyzed water, approved as a food additive and disinfectant by the Ministry of Health, Labor, and Welfare, has been confirmed safe for use. In this study, to reduce microbial contamination of cooking utensils, we evaluated the adherence of food-poisoning-causing bacteria to various carriers, and examined the sterilization efficacy of slightly acidic electrolyzed water. Both test organisms were effectively eliminated when immersed in slightly acidic electrolyzed water for more than one minute, regardless of the carrier material. These findings suggest that slightly acidic electrolyzed water is an effective disinfectant against food poisoning-causing bacteria on various surfaces. Its bactericidal effect at low chlorine concentrations and reduced environmental burden make it a promising solution for improving food safety in diverse settings.

Key words ——— Slightly acidic electrolyzed water, Food poisoning, Disinfection, *Staphylococcus aureus*

Bunkyo Journal of Health Science Technology vol.17: 21-26