

【報文】

非イオン界面活性剤を添加した弱酸性次亜塩素酸水の 野菜に対する殺菌効果

小野 朋子, 三宅 真名, 山下 光治

Disinfection Effect on Vegetables by Weak Acid Hypochlorous Water to which a Nonionic Surfactant was Added

Tomoko ONO, Mana MIYAKE and Koji YAMASHITA

*Research and Technology Development Division, HSP company 385-1,
Toushinden, Okayama-shi, Okayama 700-0956, Japan*

Weak acid hypochlorous water (WAHW), which is produced by mixing NaClO and HCl in water and adjusting it to pH 5.5–6.5, is now used for washing shredded vegetables. In order to increase the contact between WAHW (pH 6.0, 100ppm available chlorine) and the bacteria on surface of vegetables, two kind of nonionic surfactants, polyglycerol esters of fatty acids or a washing agent with sucrose fatty acid esters, were added to WAHW (P-WAHW and S-WAHW, respectively). The pH and concentration of free residual chlorine for 24 hours of P-WAHW and S-WAHW remained unchanged, and the surface tension was decreased. When shredded vegetables (cucumber and long green onion) were washed with WAHW, P-WAHW and S-WAHW, bacteria on vegetables were reduced by 2.1 to 4.1 log CFU/g. P-WAHW and S-WAHW were more effective than WAHW. Therefore I would suggest that this method be used in the commercial processing of shredded vegetables. (Accepted 4 February 2005)

Key words : Weak acid hypochlorous water (弱酸性次亜塩素酸水)/Disinfection effect (殺菌効果)/Surface tension (表面張力)/Nonionic Surfactant (非イオン界面活性剤)/Shredded vegetable (カット野菜).

緒 言

2003年度のわが国の1人あたりの1年間の野菜の消費量は102.8kgであり、年々減少傾向にあるものの、近年の健康志向や、生活様式の変化などから、カット野菜の消費量は逆に増加傾向にある¹⁾。

生食用カット野菜は、野菜の細胞を切断した際に細胞液が漏出し、細胞液を栄養源として微生物が増加し易い条件となる上、加熱工程を経ず消費されるため、微生物学的リスクが高い食品である²⁾。近年、カット野菜を介した集団感染事例も

多く報告されており^{3, 4)}、微生物汚染の制御が重要である。

次亜塩素酸ナトリウムと塩酸を希釈混合し、pH5.5~6.5に設定した弱酸性次亜塩素酸水は、Fig.1に示すように主成分が次亜塩素酸(HClO)であり、次亜塩素酸イオン(ClO^-)を主成分とする次亜塩素酸ナトリウムと比較して、高い殺菌効果を有している⁵⁾。また、次亜塩素酸ナトリウムと比較してトリハロメタンの発生量も少ないことから⁶⁾、現在、器具、食材洗浄など多くの分野で利用されている。しかし、野菜洗浄においては、野菜の表面構造や表面に生成されたバイオフィル

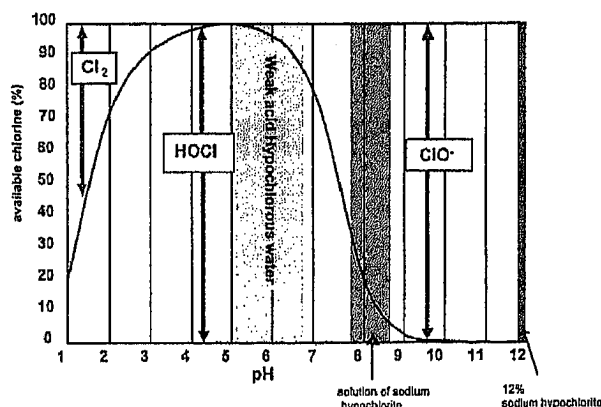


Fig.1. The form of available chlorine in water.

ム等により、弱酸性次亜塩素酸水が菌体に接触せず、殺菌効果が十分に得られないことがあり、いかに弱酸性次亜塩素酸水を菌体に接触させるかが課題となっている。

本研究では、弱酸性次亜塩素酸水の野菜表面の菌体への接触性を向上させることを目的とし、弱酸性次亜塩素酸水に界面活性剤としてポリグリセリン脂肪酸エステルおよびシヨ糖脂肪酸エステル配合洗浄剤をそれぞれ混合し、これらの野菜に対する洗浄殺菌効果について比較検討した。

実験方法

1. 弱酸性次亜塩素酸水および界面活性剤添加次亜塩素酸水の調製

弱酸性次亜塩素酸水（以下 WAHW と略す）は弱酸性次亜塩素酸水生成装置 Steri-Mixer1000SME（㈱エイチ・エス・ピー）にて調製した。食品添加物指定の次亜塩素酸ナトリウムおよび塩酸を、水道水で混合希釈し、有効塩素濃度100ppm、pH6.0に調製した。

界面活性剤はポリグリセリン脂肪酸エステルおよびシヨ糖脂肪酸エステル配合洗浄剤を用いた。本剤は非イオン界面活性剤で食品添加物に指定されており、食品用乳化剤および洗浄剤として使用されている¹⁾。HLB (Hydrophile-lipophile balance) 値は各々16, 15と親水性を示す。界面活性剤添加弱酸性次亜塩素酸水は、弱酸性次亜塩素酸水にポリグリセリン脂肪酸エステルおよびシヨ糖脂肪酸エステル配合洗浄剤（シヨ糖脂肪酸エス

テル5%配合）を各々250ppm となるように添加して調製した（以下、P-WAHW, S-WAHW と略す）。

2. 界面活性剤添加次亜塩素酸水の性質

WAHW に界面活性剤を添加することにより、界面活性効果および pH, 遊離塩素濃度が維持されるかどうかを検討した。

界面活性効果は、水道水、次亜塩素酸ナトリウム溶液（有効塩素濃度100ppm）、WAHW, P-WAHW および S-WAHW の表面張力および濡れ性をプレート法および液滴法にて測定し評価した。プレート法は表面張力計 CBVP-A3（協和界面科学㈱）を、液滴法は接触角試験器 Contact Angle Meter CA-DT（協和界面科学㈱）を用いて測定を行った。

また、WAHW, P-WAHW および S-WAHW を調製後、室内に静置し pH および遊離塩素濃度の経時的变化を測定した。pH は EH Controller（㈱ IWAKI）、遊離残留塩素濃度は DPD 法残留塩素測定器（㈱ SIBATA）を用いて測定した。

3. *B.cereus* 芽胞の調製

Plate-Count-Agar（MERCK）に *Bacillus cereus* (NBRC13597) を塗布し、37℃で24時間培養したのち、5日間室温に静置して芽胞を形成させた。芽胞を含むコロニーを平板から採取し滅菌精製水に懸濁した後、60℃、10分の加熱処理を行い、滅菌精製水を用いて2回洗浄し、芽胞懸濁液を調製した。実験に当っては、顕鏡にて90%以上が芽胞であることを確認した。

4. *B.cereus* 芽胞に対する殺菌効果

基礎実験として、*B.cereus* 芽胞に対する殺菌効果を検討した。水道水、ポリグリセリン脂肪酸エステル（250ppm）、シヨ糖脂肪酸エステル配合洗浄剤（250ppm）、WAHW, P-WAHW, S-WAHW 各々100ml に、*B.cereus* 芽胞懸濁液を 6.0~6.3 log CFU/ml となるように添加したものを試料液とした。なお、P-WAHW および S-WAHW は調製後5分以内に実験に供した。

試料液の一部を経時的に採取し、速やかに0.1

%チオ硫酸ナトリウムを添加した滅菌生理食塩水中に混和して有効塩素を失活処理した。失活処理後、適宜希釈して Plate-Count-Agar に塗抹し、37℃、48時間培養後、生菌数を測定した。

5. キュウリおよびアオネギの洗浄殺菌

供試野菜として、表面構造などから殺菌効果が得られにくく、かつ生食する機会の多いキュウリおよびアオネギを用いた。キュウリおよびアオネギは市販品を試験に供した。水道水、WAHW、P-WAHW および S-WAHW を被験液とした。なお、P-WAHW および S-WAHW は調製後5分以内に実験に供した。

キュウリのヘタ部およびアオネギの根部をカットして除いた後、各被験液流水下で1分間、擦り洗いを行った。その後、キュウリは2分の1にカットしたもの(100~120g)、アオネギは10cmの長さにカットしたもの約10本(9~11g)を各被験液300mlに投入し、マグネチックスターラーを用いて攪拌しつつ浸漬処理した。浸漬処理後、キュウリおよびアオネギの5gを滅菌生理食塩水45mlに採取し破碎したものを試料原液とした。試料原液を滅菌生理食塩水で適宜希釈して Plate-Count-Agar に塗抹し、37℃、48時間培養後、生菌数を測定した。

実 験 結 果

1. 界面活性剤添加次亜塩素酸水の性質

Table 1 に示すように、水道水と WAHW の表面張力は71.7dyne/cm、70.6dyne/cm とほぼ同等であった。WAHW と有効塩素濃度を同濃度に調製した次亜塩素酸ナトリウムは WAHW よりも表面張力は低かった。これは、次亜塩素酸ナトリウム溶液中の水酸化ナトリウム成分の界面活性作用であると報告されている¹⁾。WAHW に界面活性剤2種を加えることによって、表面張力は各々31.3、28.0dyne/cm まで低下した。界面活性剤を蒸留水に混合した場合と表面張力はほぼ同等であった。また、液滴法で接触角を測定したが、WAHW 単独の場合と、界面活性剤を加えた場合では、接触角の変化は認められなかった (Table 2)。

また、Fig.2 に WAHW、P-WAHW および S-WAHW の pH(A) および遊離残留塩素濃度(B) の経時の変化を示す。初期 pH6.0、初期遊離残留塩素濃度50ppm のとき、pH は、WAHW および S-WAHW は調製後144時間まで、pH6.0付近で安定していた。P-WAHW は調製後24時間以降 pH が低下し、144時間後には pH4.1 になった。

遊離残留塩素濃度は WAHW 単独の場合48時間以内は濃度の変化が見られず、その後144時間

Table 1. Surface tension of tap water, sodium hypochlorite, WAHW, P-WAHW, S-WAHW, polyglycerol esters of fatty acids or washing agent with sucrose fatty acid esters.

	Tap water	Sodium hypochlorite	WAHW	P-WAHW	S-WAHW	Polyglycerol esters of fatty acids	Washing agent with Sucrose Fatty Acid Esters
surface tension (dyne/cm)	71.7	67.2	70.6	31.3	28.0	30.7	29.2

Table 2. Face contact angle of tap water, sodium hypochlorite, WAHW, P-WAHW, S-WAHW, polyglycerol esters of fatty acids or washing agent with sucrose fatty acid esters.

	Tap water	Sodium hypochlorite	WAHW	P-WAHW	S-WAHW	Polyglycerol esters of fatty acids	Washing agent with Sucrose Fatty Acid Esters
face contact angle (θ)	50.6	36.6	38.0	46.3	42.2	45.2	44.4

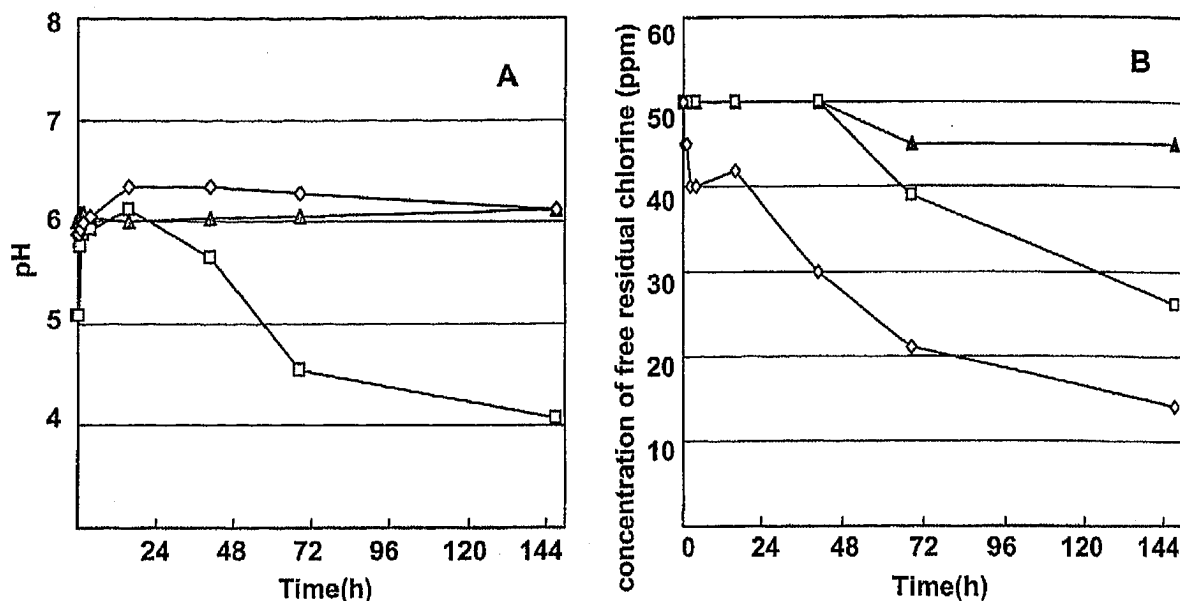


Fig.2. pH (A) and concentration of free residual chlorine (B) of WAHW, P-WAHW or S-WAHW.
(▲ WAHW □ P-WAHW ◇ S-WAHW)

で5 ppm 低下した。P-WAHW は48時間までは濃度の低下が見られなかったが、144時間後では26ppm まで低下した。S-WAHW は調製直後に50ppm から40ppm まで低下するものの、24時間は40ppm を維持し、144時間後では14ppm まで低下した。

以上の結果より、WAHW に界面活性剤を加えることにより、表面張力は著しく減少し、かつ調製後24時間は pH および遊離残留塩素濃度の低下も少ないことがわかった。

2. *B.cereus* 芽胞に対する殺菌効果

Fig.3 に *B.cereus* 芽胞に対する WAHW, P-WAHW, S-WAHW および界面活性剤単独の殺菌効果を示す。蒸留水単独および界面活性剤単独の2種では、*B.cereus* 芽胞の生菌数は低下せず、界面活性剤自体に殺菌効果は認められなかった。WAHW および P-WAHW, S-WAHW はいずれも高い殺菌効果が認められ、界面活性剤を添加しても殺菌効果は変化しなかった。

3. キュウリおよびアオネギの洗浄殺菌効果

Fig.4 に水道水, WAHW, P-WAHW および S-WAHW で洗浄した場合のキュウリおよびアオネギの殺菌効果を示す。なお有意差検定には

student の t 検定を用いた。キュウリおよびアオネギの洗浄前の一般生菌数 (Control) は各々 5.4, 4.9 log CFU/g であった。洗浄後、アオネギの水道水洗浄を除くすべての系で生菌数が有意に減少した。また、WAHW 洗浄では生菌数は各々 3.8, 4.1 log CFU/g であったのに対し、界面活性剤2種を添加することにより、キュウリは各々 2.9, 2.2 log CFU/g アオネギは各々 2.8, 2.1 log CFU/g まで生菌数を有意に低下させること

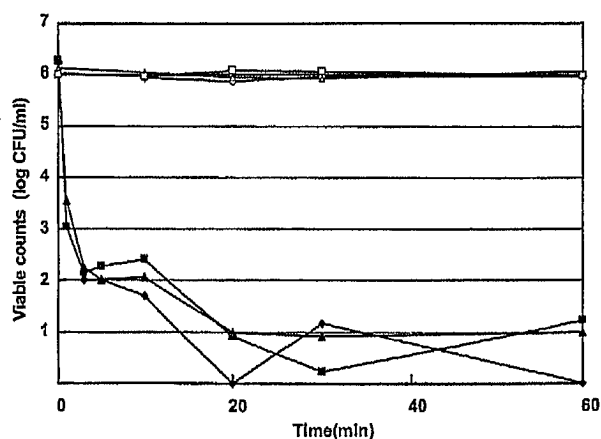


Fig.3. Bactericidal effect of WAHW, P-WAHW, S-WAHW against *B.cereus* spores.
◇ Distilled water
△ Polyglycerol esters of fatty acids
□ Washing agent with sucrose fatty acid esters
◆ WAHW ▲ P-WAHW ■ S-WAHW

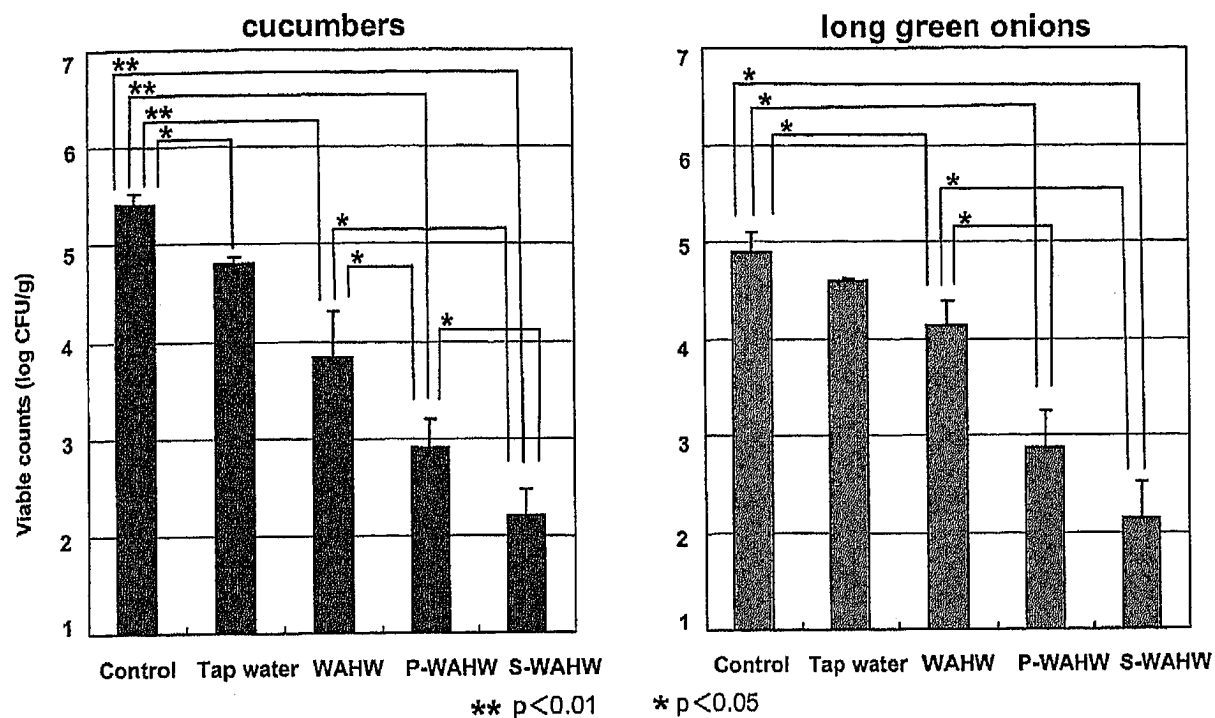


Fig.4. Bactericidal effect on cucumbers and long green onions treated with tap water, WAHW, P-WAHW or S-WAHW.

が可能であった ($p < 0.05$)。また、キュウリにおいては P-WAHW 洗浄よりも S-WAHW 洗浄の方が生菌率が有意に低く ($p < 0.05$)、高い殺菌効果が認められた。

考 察

弱酸性次亜塩素酸水は有機物と反応すると失活して効力を失うことが知られており⁹⁾、洗浄剤とも反応し、殺菌効果が低下するため、洗浄剤と混合して使用することは奨励されていない。しかし、本実験で用いた 2 種の界面活性剤は調製後 24 時間まで遊離残留塩素濃度、pH を維持し、かつ表面張力も低下した。

この界面活性剤添加弱酸性次亜塩素酸水は、浮遊状態の *B.cereus* 芽胞に対して、殺菌効果に影響を与えなかった。このことより、界面活性剤 2 種は、弱酸性次亜塩素酸水の殺菌効果自体を増大させる効果はなく、浮遊状態の *B.cereus* 芽胞に対しては次亜塩素酸 (HClO) の単独の殺菌効果が主体であることが示唆された。

しかし、代表的なカット野菜であるキュウリ、

アオネギに対する洗浄実験においては弱酸性次亜塩素酸水に界面活性剤を添加することで殺菌効果は有意に向上した。キュウリおよびアオネギ表面は、疎水性クチクラ層で覆われ、細菌より遥かに大きい気孔などの植物器官が存在することから、付着細菌にとって好ましい自己防衛環境が整えられている¹⁰⁾。そのため、殺菌剤が野菜表面の菌体に接触せず、効果が得られにくい^{11, 12)}。本実験では、弱酸性次亜塩素酸水に界面活性剤を添加することにより、野菜表面への濡れ性が向上し、弱酸性次亜塩素酸水で野菜を満遍なく濡らすことができたため、殺菌効果が向上したと考えられる。

また、カット野菜製造の洗浄工程は、水洗、中性洗剤で洗浄、流水すすぎ、殺菌剤での洗浄、水洗という流れが推奨されている¹³⁾。界面活性剤添加弱酸性次亜塩素酸水を工程中で使用する場合、中性洗剤で洗浄する工程と殺菌剤で洗浄する工程を同時に行うことができ、工程の簡素化が期待される。また、界面活性剤添加弱酸性次亜塩素酸水で洗浄した場合のカット野菜の味臭の変化は、弱酸性次亜塩素酸水と同程度であり、洗浄工程後の水洗によって、除去できるものと考えられた。

実用化するためには弱酸性次亜塩素酸水と界面活性剤の混合による副生成物の安全性の確認や、洗浄手法等のさらなる検討が必要であるが、本手法は殺菌効果が得られにくいとされているカット野菜洗浄工程において、次亜塩素酸の殺菌効果を発揮させることが可能であり、利用性が高いと考えられる。

結 論

弱酸性次亜塩素酸水に界面活性剤2種を添加した場合、殺菌効果および界面活性効果を同時に維持することが可能であった。キュウリおよびアオネギに対して弱酸性次亜塩素酸水単独よりも高い殺菌効果が得られ、カット野菜製造工程において有用性が高い手法であることが示唆された。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、ご指導、ご鞭撻を賜りました岡山県工業技術センター福崎智司先生および食品工学研究室の皆様、川崎医科大学中央検査部 通山薫先生をはじめとする中央検査部の皆様、川崎医療福祉大学 美祢弘子先生に深謝致します。

文 献

- 1) 吉田 隆 (1999) カット青果物と切り花の生産及び品質管理技術, pp.5-38, エヌ・ティー・エス.
- 2) 泉 秀実 (2001) カット野菜の品質特性と微生物学的安全性. 食品保蔵科学, 27, (3), 145-156.
- 3) 西川禎一 (2003) 野菜の非加熱殺菌法. 防菌防黴, 31, (8), pp.427-439.
- 4) E. Duffll (2003) Investigation of an outbreak of *E.coli* O157 infections associated with trip to France of schoolchildren from Somerset, England, EUROSURVEILLANCE, 8, (4), 81-98.
- 5) 高野光男, 横山理雄, 西野 甫 (2000) 洗浄殺菌の科学と技術. pp.173-182, サイエンスフォーラム.
- 6) 土井豊彦 (2001) 弱酸性電解水の特性と食品産業での利用. 防菌防黴, 29, (6), pp.379-388.
- 7) 中川良二, 薮内裕子他 (2004) カットキュウリの次亜塩素酸ナトリウム殺菌における食品用界面活性剤の前処理効果. 食品科学工学, 51, (7), pp.367-369.
- 8) 浦野博水, 福崎智司 (2004) 日本防菌防黴学会年次大会要旨集, p83.
- 9) 大久保憲, 新太喜治他 (1994) 電解酸性水に関する調査報告. 手術医学, 15, (4), pp.508-520.
- 10) 磯部賢治 (2001) 微生物の生存戦略. 表面科学, 22, (10), pp.652-662.
- 11) 小関成樹, 伊藤和彦 (2000) カット野菜の電解水殺菌における強アルカリ性電解水の前処理効果. 食品化学工学, 47, (12), pp.907-913.
- 12) 小関成樹, 伊藤和彦 (2000) 強酸性電解水を用いたカット野菜の殺菌 (第1報). 食品科学工学, 47, (9), pp.722-726.
- 13) 厚生労働省, (1997) 大量調理施設衛生管理マニュアル (平成9年3月24日衛食第85号別添).