

【報文】

弱酸性次亜塩素酸水の噴霧による種卵消毒に関する研究

小野 朋子, 三宅 真名, 山下 光治

Studies on the Disinfection of Hatching Eggs by Spraying Weak Acid Hypochlorous Water Mist

Tomoko ONO, Mana MIYAKE and Koji YAMASHITA

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

Weak acid hypochlorous water (WAHW) is a diluted NaClO solution with its pH adjusted to 5.5~6.5 with HCl. This study was to investigate the possibility of spraying WAHW mist for the disinfection of hatching eggs as an alternative to formaldehyde fumigation. The survival rate of *S. aureus* on the surface of glass petri dishes and that of bacteria on the surface of egg shells were both reduced below 1% with WAHW mist. In the practical trial, 168~1848 hatching eggs were sprayed with the WAHW mist at $7.1\text{mg}/\text{m}^3$ for 1.5h.

As a result, the effects on the disinfection on the surface of egg shells and Hatch of Fertile were nearly equal to those of the treatment of formaldehyde fumigation. It was suggested that this method is available for the disinfection of hatching eggs as an alternative to formaldehyde fumigation.

(Accepted 5 April 2006)

Key words : Weak acid hypochlorous water (弱酸性次亜塩素酸水)/Disinfection effect (殺菌効果)/Hatching Eggs (種卵)/Mist (噴霧)/Hatch of Fertile (対熟孵化率).

緒 言

養鶏場における種卵(受精卵)は孵化率の向上, 衛生対策の徹底の観点からふ卵衛生対策指針および鶏卵のサルモネラ総合対策指針に基づき, 卵殻表面を消毒することが推奨されている^{1, 2)}。

種卵消毒の方法としてはディッピング法および燻蒸法が行われているが, 燻蒸法の主流は殺菌効果, コストおよび操作性の観点からホルマリン燻蒸が多く行われている³⁻⁵⁾。

しかしホルマリンは, 発癌性があり(社)日本産業衛生学会は 2 A (人間に対して発癌性があると考えられる物質)に定めており, 作業員への健康被害が懸念されている^{6, 7)}。また, それに伴い排出時の周辺環境への影響から自治体によっては

排出規制が定められていることなどから, 近年ホルマリン燻蒸に替わる種卵の消毒法の開発が求められている^{8, 9)}。

弱酸性次亜塩素酸水は, 次亜塩素酸ナトリウムに塩酸を希釈混合し, pH を 5.5~6.5 に調整したもので, 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^{10, 11)}。この弱酸性次亜塩素酸水を超音波振動方式噴霧器で細霧化し, 空気中に噴霧することにより, 卵殻表面の消毒が可能であり, ホルマリン燻蒸の代替法として利用することができる。

本報告では, 弱酸性次亜塩素酸水の噴霧による殺菌効果および実際に種卵消毒に適用した場合の

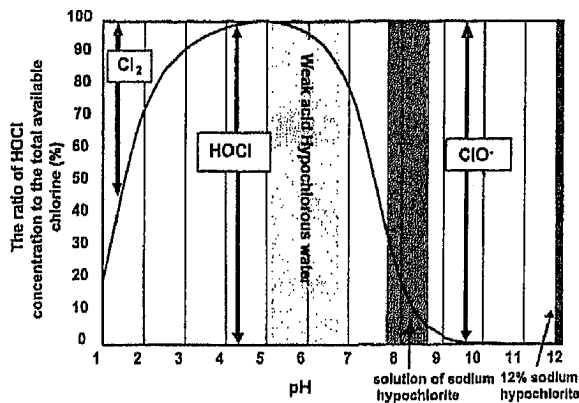


Fig.1. The ratio of HOCl concentration to the total available chlorine in water

殺菌効果、孵化率について基礎的に検討した結果について報告する。

実験方法

2.1. 弱酸性次亜塩素酸水の調製

弱酸性次亜塩素酸水 (Weak Acid Hypochlorous Water ; 以下 WAHW と略す) は弱酸性次亜塩素酸水生成装置 Steri-Mixer 1000 SME (株エイチ・エス・ピー) にて調製した。すなわち次亜塩素酸ナトリウム (12%) に塩酸 (8.5%) を水道水とともに希釈混合し、有効塩素濃度 30~200ppm, pH 6.0±0.2 に調製したものを実験に供した。なお, WAHW の噴霧条件については WAHW の有効塩素濃度, 噴霧量および噴霧時間より単位容積あたりの濃度時間積 ($\text{mg}/\text{m}^3 \cdot \text{h}$) を求め, 評価した。

2.2. 弱酸性次亜塩素酸水の噴霧による *S. aureus* に対する殺菌試験

供試微生物は *Staphylococcus aureus* FDA209P (以下 *S. aureus* と略す) を用いた。実験にあたっては, Plate-Count-Agar (MERCK) に *S. aureus* を塗布し, 37°C で 24 時間培養した後, コロニーを平板から採取し滅菌精製水に懸濁したものを菌懸濁液とした。

Fig.2 に本実験で使用した実験用ブース (容積 0.3 m^3) を示す。菌懸濁液を直径 90mm の滅菌ガラスシャーレ上に 10^7 CFU/plate となるよう薄く塗布し風乾させたものをビニールブース内の 5 地

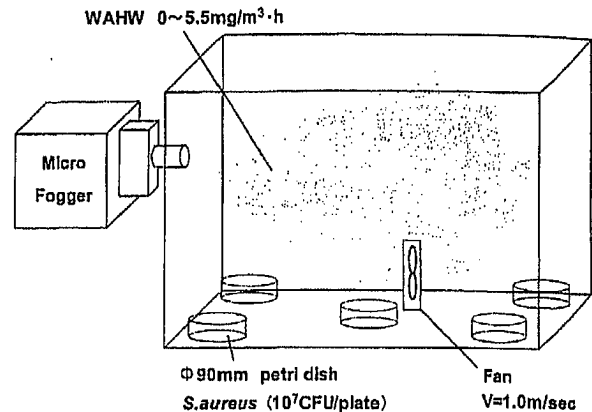


Fig.2. The experimental booth (Capacity : 0.3 m^3)

点に設置した。弱酸性次亜塩素酸水噴霧装置 MicroFogger300 (株エイチ・エス・ピー) を用いて一定時間 WAHW の噴霧を行った。なお, MicroFogger300 の噴霧量は 50 ml/h であった。

殺菌効果の評価にあたっては噴霧前後のガラスシャーレ表面の *S. aureus* を標準寒天スタンプ培地 (日水製薬) にて採取し, 37°C, 48 時間培養した後生菌数を測定した。5 地点の生菌数の平均値を求め, 噴霧前の生菌数に対する噴霧後の生菌数の割合を残存率として評価した。

2.3. 弱酸性次亜塩素酸水の噴霧による卵殻表面の一般生菌に対する殺菌試験

種卵はチャンキー純系種のものを用いた。実験にあたっては, 鶏舎より採取した種卵表面を滅菌綿棒でふき取り, 標準寒天培地で 37°C, 24 時間培養し, 出現したコロニーを平板からランダムに採取し生理食塩水に懸濁したものを菌懸濁液とした。種卵を菌懸濁液に浸漬した後風乾させたものを試験卵として実験に供した。

実験用ブース (容積 1 m^3) 内の 5 地点に試験卵を設置した。弱酸性次亜塩素酸水噴霧装置 MicroFogger600 (株エイチ・エス・ピー) を用いて一定時間 WAHW の噴霧を行った。なお, MicroFogger600 の噴霧量は 80 ml/h であった。

殺菌効果の評価にあたっては, 噴霧前後の試験卵の表面を滅菌綿棒を用いて卵全周をふき取ったものを滅菌生理食塩水に懸濁し, 適宜滅菌生理食塩水で 10 倍希釈したものを標準寒天培地に平板塗抹した。37°C, 48 時間培養した後生菌数を測

定し、5地点の生菌数の平均値を求め、噴霧前の生菌数に対する噴霧後の生菌数の割合を残存率として評価した。

2.4. 種鶏場における弱酸性次亜塩素酸水噴霧による種卵消毒

実用試験は種鶏場の種卵燻蒸室にて行った。

Fig.3, Pic.1 に燻蒸室内の配置図および写真を示す。容積 24m^3 の燻蒸室に168~1848個の種卵

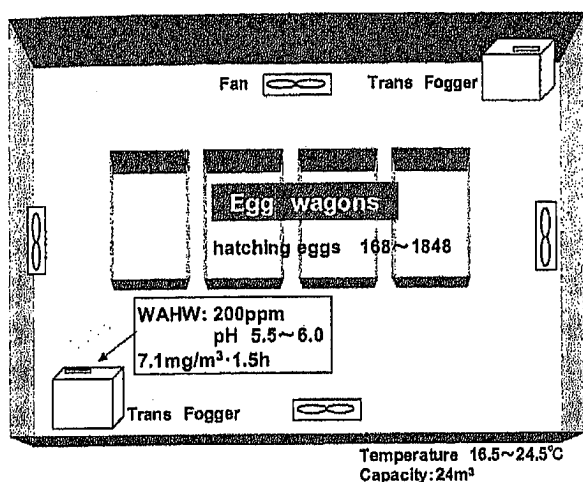
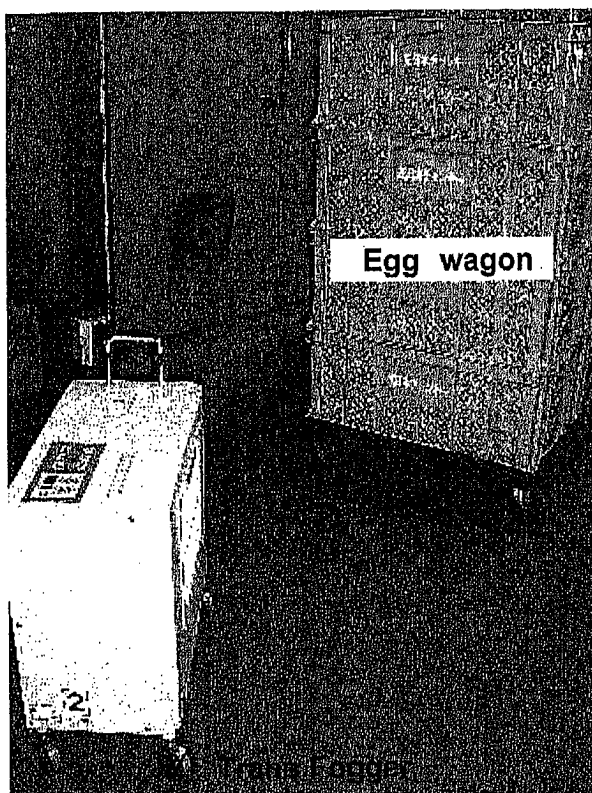


Fig.3. The fumigation chamber



Pic.1. The fumigation chamber

を詰めたワゴン、攪拌扇4台および噴霧器(棚エイチ・エス・ピー製 Trans Fogger) 2台を設置した。噴霧はWAHW(有効塩素濃度200ppm, pH6.0~6.5)を噴霧量570ml/hの条件で90分間行った。

細菌試験は噴霧開始前および噴霧開始後のワゴンから種卵を10個ずつ採取し、滅菌綿棒を用いて卵全周をふき取ったものを滅菌生理食塩水に懸濁し、適宜滅菌生理食塩水で10倍希釈したものを標準寒天培地に平板塗抹した。37°C, 48時間培養した後生菌数を測定し、噴霧前の生菌数に対する噴霧後の生菌数の割合として評価した。また、消毒した種卵の孵化率についても検討を行った。

対照として、同燻蒸室でパラホルムアルデヒド $10\text{g}/\text{m}^3$ の条件でホルマリン燻蒸を20分間行った後、70分換気を行い、殺菌効果および孵化率について比較した。

実験結果

3.1. 弱酸性次亜塩素酸水の噴霧による *S. aureus* に対する殺菌効果

Fig.4にWAHWを噴霧した場合におけるガラスシャーレ表面の *S. aureus* の残存率を示す。噴霧前の生菌数は $1.2 \times 10^2 \sim 3.0 \times 10^3 \text{CFU}$ であった。滅菌蒸留水を噴霧した場合の残存率は41.5%であったが、濃度時間積が増加するとともに残存率は減少し、濃度時間積 $4.5\text{mg}/\text{m}^3 \cdot \text{h}$ 以上の条件では残存率は0.69%, 0.33%と高い殺菌効果

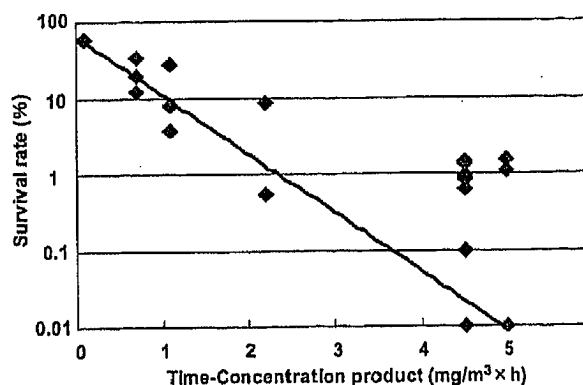


Fig.4. Survival rate of *S. aureus* on the surface of the petri dishes treated with WAHW mist

が認められた。

3.2. 弱酸性次亜塩素酸水の噴霧による卵殻表面の一般生菌に対する殺菌効果

Fig.5 に WAHW を噴霧した場合における卵殻表面の一般生菌の残存率を示す。WAHW 噴霧前の一般生菌数は $2.9 \times 10^2 \sim 1.7 \times 10^5$ CFU/卵1個であった。卵殻表面の一般生菌数の残存率は濃度時間積が増加するとともに減少し、濃度時間積 $6.4 \text{ mg/m}^3 \cdot \text{h}$ の条件では残存率は0.2%となり、卵殻表面に付着した一般生菌に対しても高い殺菌効果が認められた。

3.3. 種鶏場における弱酸性次亜塩素酸水の噴霧による種卵消毒効果および孵化率

Table 1 に WAHW 噴霧および対照としてホルマリン燻蒸した場合の種卵の除菌率および孵化

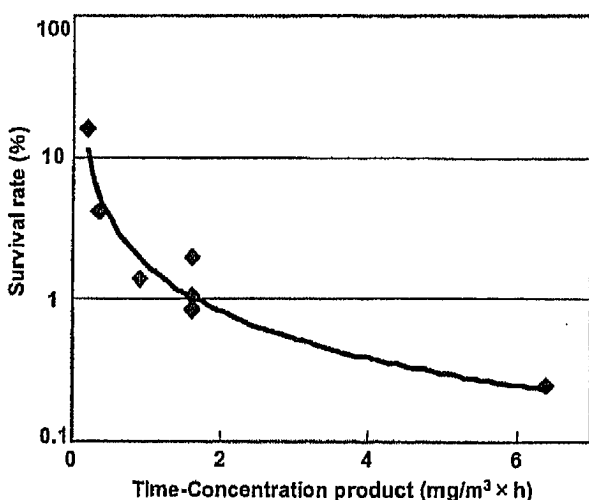


Fig.5. Survival rate of microorganisms on the egg shell surface treated with WAHW mist

Table 1. The comparison of the effects on the disinfection and hatching rate by spraying WAHW and formaldehyde fumigation

Egg Age (day)	Ratio of eradication (%)		Hatching rate of fertile eggs (%)	
	WAHW	formaldehyde	WAHW	formaldehyde
6.5	99.95	99.92	94.9	94.3
8	99.70	99.25	96.3	97.5
8.5	99.77	99.78	94.1	91.8
12	99.90	99.90	95.7	86.0
13	99.85	99.79	94.0	93.4
15	99.79	99.79	93.4	94.0
average	99.85±0.09※	99.75±0.29	94.6±1.6	92.9±3.4

※ standard deviation

率を示す。WAHW 噴霧前の一般生菌数は卵1個あたり $1.0 \times 10^3 \sim 2.7 \times 10^5$ CFU であった。WAHW 噴霧およびホルマリン燻蒸を行った場合の卵殻表面の除菌率は、各々平均99.83%、99.73%、標準偏差は各々0.1%、0.27%で、ほぼ同等であった。対熟孵化率（孵化数/（全種卵数－無精卵数）×100）は WAHW 噴霧およびホルマリン燻蒸を行った場合、各々95.0%、92.6%であり、同等の孵化率を示した。また、標準偏差は WAHW 噴霧およびホルマリン燻蒸が各々1.0%、4.2%であり、WAHW 噴霧を行った系はばらつきが小さい傾向が認められた。

考 察

3.1および3.2の実験により、WAHW の噴霧によりガラス表面に塗布した *S. aureus* および卵殻表面に存在する一般生菌に対する消毒効果が認められた。消毒対象物の表面に WAHW の噴霧粒子が付着することにより消毒効果が得られたと考えられる。卵殻表面の菌相については *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterobacteriaceae* などが卵殻汚染の主力菌として報告されているが、本実験で用いた *S. aureus* も卵殻表面での寿命が長いことより留意が必要な菌種とされている¹²⁾。本実験では WAHW の噴霧により *S. aureus* および卵殻表面菌に対して消毒効果を有しており、これら卵殻汚染の原因菌に対しても効果があることが示唆された。また、WAHW 噴霧条件は濃度時間積 6.0 mg/m^3 以上で安定した消毒効果が得られた。

実用試験においては、濃度時間積 $7.1 \text{ mg/m}^3 \cdot 1.5 \text{ h}$ の条件で WAHW の噴霧を行った結果、除菌率は99.83%となり、現行のホルマリン燻蒸とほぼ同等の消毒効果が認められた。また対熟孵化率についてもホルマリン燻蒸と同等であり、WAHW 噴霧による種卵に対する孵化率の低下は認められなかった。また、対熟孵化率は一般的に貯卵日数が長くなると低下する傾向が見られるが¹³⁾、貯卵日数の違いによる対熟孵化率の違いも見られず、安定した孵化率が得られている。

一方、実用化に当たっての課題として、

WAHW は噴霧粒子が水滴状態の場合に殺菌効果があることより、種卵の配置やトレイの形状および攪拌方法などにより、消毒効果にばらつきが生じる可能性があるため、噴霧粒子を卵全体に効率よく接触させる工夫が必要となると考えられる。また、種卵表面が糞や泥などで汚染されていた場合は噴霧粒子が接触せず、また接触しても有機物によって速やかに有効塩素が失活し十分な消毒効果が得られない可能性があるため、泥や糞などで汚染された汚卵は用いないことが必要である。そのため、実用上の消毒条件についてはさらに検討を進めていく予定である。

結 論

鶏の種卵消毒に、ホルマリン燻蒸の代替法として弱酸性次亜塩素酸水の噴霧を検討した結果、卵殻表面の殺菌効果および対熱孵化率はホルマリン燻蒸と同等の効果を得ることができた。したがって、新たな種卵消毒法として有用性が高いことが示唆された。

参 考 文 献

- 1) 農林水産省畜産局 (1975) ふ卵衛生対策指針。
- 2) 農林水産省消費・安全局 (2005) 鶏卵のサルモネラ総合対策指針。
- 3) 古田賢治 (1993) 養鶏施設における消毒に関する諸問題。家禽学会誌, 30, (5), pp. 325-335.
- 4) Kenji FURUTA Shizuo Sato (1975) Studies on the Disinfection of Hatching Eggs -The Effect of Formaldehyde Fumigation on Bacteria Contaminating the Egg Shell Surface, *Japan. Poultry Sci*, 14, (1), pp.27-32.
- 5) Kenji FURUTA Koshi WATANABE (1978) Studies on the Disinfection of Hatching Eggs, Hatchability of Eggs Disinfected by Formaldehyde or by Certain Kinds of Disinfectant Solution, *Japan. Poultry Sci*, 15, (1), pp.25-30.
- 6) 山下光治, 三宅真名他 (2003) 弱酸性次亜塩素酸水を用いた動物実験施設での衛生管理の可能性。岡山実験動物研究会報, 第20号, 9月, pp. 28-32.
- 7) 末永義明 (2005) 燻蒸殺菌後のホルマリンガス対策。化学装置, 47, (4), pp. 69-74.
- 8) 横関正直 (2004) 熱煙霧消毒専用除菌剤「ハイペロックス」の鍋加熱式煙霧と微粒子噴霧による効果の検討。畜産の研究, 58, (12), pp. 1284-1286.
- 9) 松下幸広, 池谷守司, 池谷昌久 (2002) 養鶏現場における弱酸性電解水の消毒効果。静岡県中小家畜試験場研究報告, 13, pp. 15-18.
- 10) 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.
- 11) 福崎智司 (2005) 次亜塩素酸を基盤とする洗浄・殺菌の理論と実際。New Food Industry, 47, (6), pp. 9-22.
- 12) 箕口重義, 荒木裕子, 久毛しげ子 (1976) 鶏卵卵殻の細菌叢に関する研究 (第1報) 殻付卵の貯蔵条件下で保蔵した鶏糞の細菌叢について。聖徳米養短期大学紀要, 7, pp. 24-30.
- 13) 野田賢治 (2001) 技術情報1 ニワトリ種卵の効率的保存技術。畜産技術, 558, (11), pp. 25-28.