

【報文】

非イオン界面活性剤添加弱酸性次亜塩素酸水の 噴霧によるニワトリ種卵表面の消毒効果

小野 朋子, 三宅 真名, 山下 光治

Surface Disinfection of Hatching Egg Shells by Spraying Weak Acid Hypochlorous Water Containing a Nonionic Surfactant

Tomoko ONO, Mana MIYAKE and Koji YAMASHITA

Research and Development Division, HSP company 56-5,
Ezaki, Okayama-shi, Okayama, 702-8005, Japan

Weak acid hypochlorous water (WAHW) is a diluted NaClO solution in which the pH is adjusted to 5.5~6.5 with HCl. This study was to investigate the availability of spraying of ultrasonically atomized WAHW for the disinfection of hatching eggs. In order to bring WAHW into contact with the bacteria on the surface of hatching egg shells more sufficiently, two kinds of nonionic surfactants, polyglycerol esters of fatty acids or sucrose fatty acid esters, were used, and each of them was added to WAHW (P-WAHW, S-WAHW).

The largest volume of mist was observed in the case of the 100ppm surfactant with the same equipment, but the differences were not observed in the pH and residual chlorine concentration of the condensed mist. The survival rates of *S. aureus* embrocated on the egg shells were 0.15%, 0.005%, 0.007% with WAHW, P-WAHW (with 50ppm surfactant) and S-WAHW (with 50ppm), respectively, in the case of exposure to the mist at 7.7, 9.0 and 10.8 mg/m³×h. It was suggested that the mist of P-WAHW and S-WAHW were more effective than one of WAHW for the disinfection of egg shells at the same time-concentration of the product.

(Accepted 24 April 2006)

Key words : Weak acid hypochlorous water (弱酸性次亜塩素酸水)/Nonionic Surfactant (非イオン界面活性剤)/Disinfection effect (殺菌効果)/Egg shells (卵殻)/Mist (噴霧).

1. 緒 言

弱酸性次亜塩素酸水を超音波噴霧器で霧化し、卵表面に接触させる噴霧消毒について検討を行った結果、定法のホルマリン燻蒸とほぼ同等の殺菌効果および対熱孵化率が得られた。

食材洗浄においては、弱酸性次亜塩素酸水に界面活性剤を添加することで、表面張力が低下し濡れ性が向上するため、殺菌効果が增大することが報告されている¹⁾。本報では、卵殻表面の細菌に対する消毒効果を増大させるため、弱酸性次亜塩

素酸水に界面活性剤を添加して噴霧消毒を行うことを検討した。噴霧消毒においても、噴霧粒子の表面張力を低下させることで卵殻表面に存在する菌体への接触効率が上がり、殺菌効果が增大することが期待される。界面活性剤添加した場合の噴霧粒子の化学的性状への影響および卵殻表面の消毒効果を基礎的に検討したので報告したい。

2. 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（以下 WAHW と略す）は弱酸性次亜塩素酸水生成装置 Steri-Mixer 1000SME（㈱エイチ・エス・ピー）にて有効塩素濃度200ppm, pH6.0±0.2に調製した。界面活性剤は食品添加物に指定され、食品用乳化剤および洗浄剤として使用されている非イオン界面活性剤のポリグリセリン脂肪酸エステルおよびショ糖脂肪酸エステルを用いた。供試界面活性剤の HLB (Hydrophile-lipophile balance) 値は各々16, 15である。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ョ糖脂肪酸エステルを各々10, 50, 100, 250, 500, 1000ppm となるように添加して調整し、ポリグリセリン脂肪酸エステルを添加した弱酸性次亜塩素酸水を P-WAHW, ショ糖脂肪酸エステルを添加した弱酸性次亜塩素酸水を S-WAHW とした。

2.2. 界面活性剤添加による弱酸性次亜塩素酸水の噴霧量, 残留塩素濃度および pH の測定

弱酸性次亜塩素酸水に添加した界面活性剤の種類および濃度による噴霧粒子の pH, 残留塩素濃度および噴霧量への影響について調査した。WAHW, P-WAHW および S-WAHW の噴霧は、弱酸性次亜塩素酸水噴霧装置 Trans Fogger（㈱エイチ・エス・ピー）を用いた。噴霧粒子をビニール製袋で採取し、採取した液について pH および残留塩素濃度を測定した。pH は EH Controller（㈱IWAKI）, 残留塩素濃度は、pH 残留塩素比色測定器（アドバンテック東洋㈱）を用いて測定した。また、噴霧器で一定時間噴霧を行い、噴霧装置の噴霧前後のタンク内の水量差より、噴霧量を測定した。

2.3. *S. aureus* および試験卵の調整

供試微生物は *Staphylococcus aureus* FDA 209P（以下 *S. aureus* と略す）とし、Plate-Count-Agar（MERCK）を用いて37℃で24時間培養した後、滅菌精製水に懸濁し、菌懸濁液とした。

市販の鶏卵を割卵し洗浄乾燥させ、卵殻表面に

直径3.5cm の円をマーキングし、その内部に菌懸濁液を塗布し、風乾したものを試験卵とし、実験に供した。

2.4. 弱酸性次亜塩素酸水の噴霧による卵殻表面の *S. aureus* に対する殺菌試験

実験用ブース（Fig.1）の中心付近に試験卵を設置し、弱酸性次亜塩素酸水噴霧装置 Trans Fogger（㈱エイチ・エス・ピー）を用いて WAHW, S-WAHW および P-WAHW を1時間噴霧した。なお、実験開始前のブース内温度は18℃～25℃, 湿度は40～60%であった。

噴霧前および噴霧中の試験卵を経時的に採取し、滅菌綿棒を用いて卵殻表面のマーキング内部をふき取り、滅菌生理食塩水に懸濁した。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℃, 48時間培養した後生菌数を測定した。殺菌効果の評価にあたっては、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。

3. 実験結果

3.1. 弱酸性次亜塩素酸水および界面活性剤添加弱酸性次亜塩素酸水の噴霧量

弱酸性次亜塩素酸水噴霧装置を用いて同一条件下で噴霧したところ、噴霧量は界面活性剤の濃度の上昇とともに増加した。界面活性剤濃度100ppm のとき最大量となり、P-WAHW, S-WAHW の噴霧量は各々299ml/h, 373ml/h で、界面活性剤を含まない WAHW のみでは234

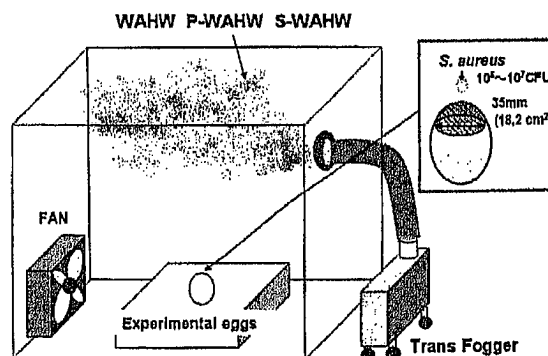


Fig.1. The experimental booth (Capacity: 0.3m³)

ml/hであった。界面活性剤濃度100ppm以上では濃度の上昇とともに噴霧量は低下し、すべての界面活性剤濃度においてS-WAHWがP-WAHWよりも噴霧量が多い傾向が認められた (Fig.2)。

3.2. 弱酸性次亜塩素酸水および界面活性剤添加

弱酸性次亜塩素酸水の残留塩素濃度および pH 有効塩素濃度200ppm, pH6.1の WAHW を噴霧した場合、噴霧粒子の残留塩素濃度は110ppm であるのに対し、P-WAHW, S-WAHW とともにその残留塩素濃度は100ppm 前後で、界面活性剤の種類による影響は認められなかった。

また、pH は WAHW で6.29とやや上昇するが、界面活性剤を1000ppm 添加した P-WAHW および S-WAHW の pH は各々6.34, 6.42で、界面活性剤添加による pH 上昇はわずかであった (Fig. 3)。

3.3. 卵殻表面の *S. aureus* に対する消毒効果

界面活性剤添加による殺菌効果について比較したところ、界面活性剤の濃度が10ppm, 1000 ppm の場合 WAHW 単独よりも消毒効果がやや低下したが、50ppm の場合、残存率は各々0.005 %, 0.007%と WAHW 単独よりも高い消毒効果を示した (Fig.4)。噴霧前の卵殻表面の菌数は

$1.5 \times 10^5 \sim 1.5 \times 10^6$ CFU/cm² であり、滅菌蒸留水を噴霧した場合の *S. aureus* の残存率は10% 以上であった。WAHW を噴霧した場合は時間の経過とともに残存率は減少し、噴霧60分後の残存率は0.15%であった。本噴霧条件の次亜塩素酸の濃度時間積を以下の式で求め、各濃度時間積における残存率を求めたところ、Fig.5 の結果となった。

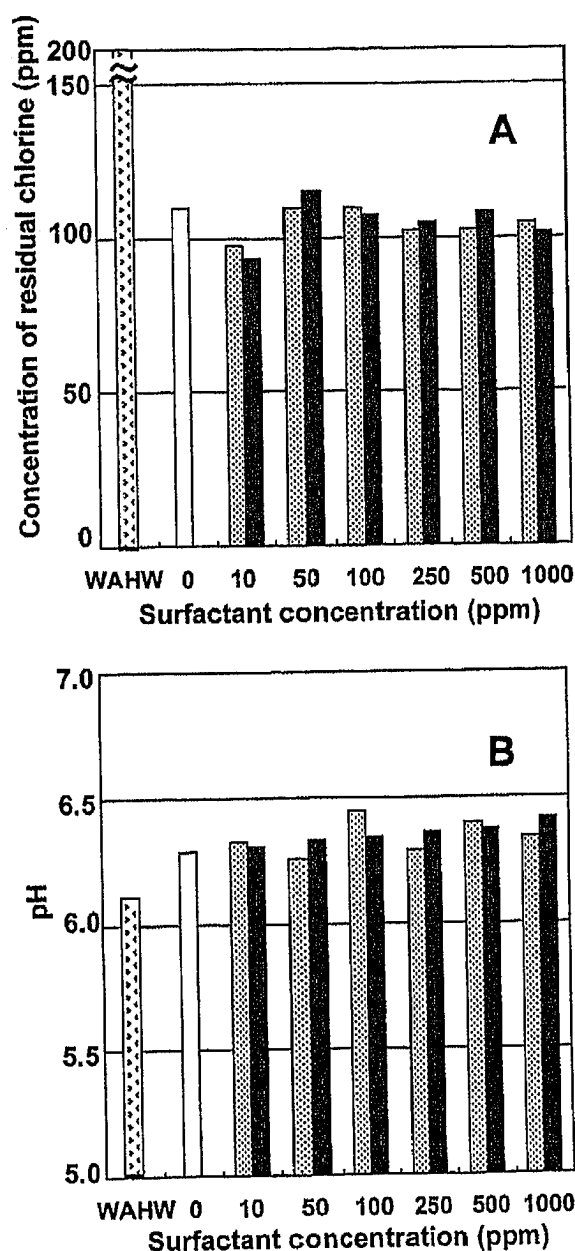


Fig.3. Concentration of residual chlorine (A) and pH (B) of the mist of WAHW, P-WAHW, S-WAHW (□ WAHW, ▨ P-WAHW, ■ S-WAHW) before spraying WAHW

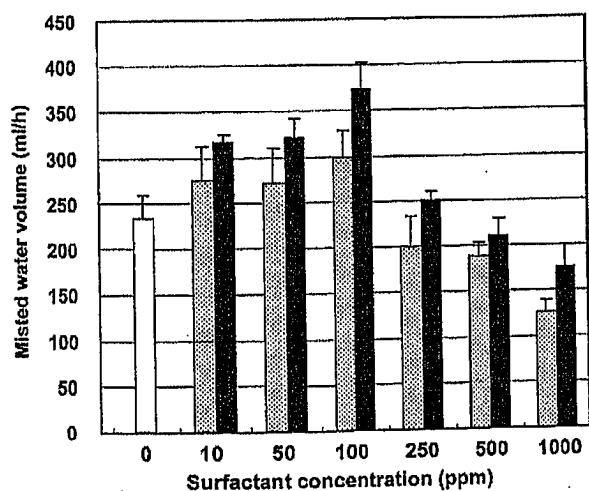


Fig.2. Misted water volume of the mist of WAHW, P-WAHW, S-WAHW (□ WAHW, ▨ P-WAHW, ■ S-WAHW)

$$\text{濃度時間積 (mg} \times \text{h)} = \frac{1 \text{ 時間当たりの噴霧量 (ml)} \times \text{有効塩素濃度 (ppm)}}{1000} \\ \times \frac{\text{噴霧時間 (min)}}{60} \times 0.3$$

濃度時間積で評価した場合、界面活性剤の添加により残存率が低下する傾向が認められた。また、縦軸を残存率の対数、横軸を次亜塩素酸の濃度時間積としたところ回帰式がえられ、WAHW 単独の場合の R2乗値は0.95、界面活性剤を添加した系においても0.78~0.99と高い R2乗値が得ら

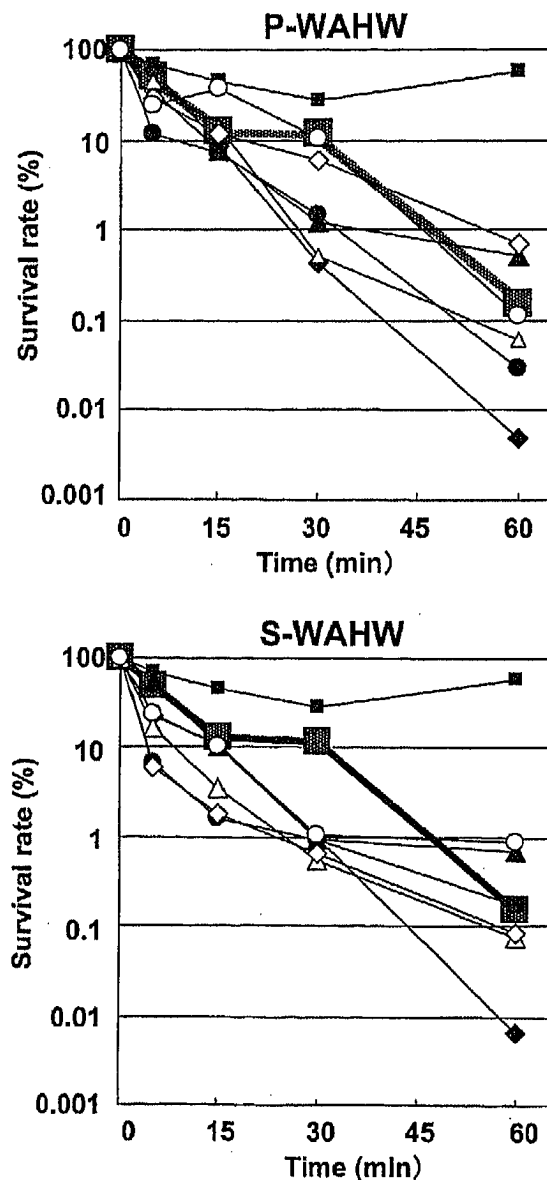


Fig.4. Bactericidal effect of WAHW, P-WAHW or S-WAHW against *S.aureus* on the surface of the egg shells

■ Distilled water ■ WAHW ▲10ppm ◆50ppm ●100ppm △250ppm ◇500ppm ○1000ppm

れた。また、各界面活性剤濃度における残存率の回帰式の傾きの値を各界面活性剤濃度ごとにプロットしたものを Fig.6 に示したが、その結果、P-WAHW, S-WAHW とも界面活性剤濃度の上昇に伴い、直線の傾きの値が大きくなる傾向が認められた。

4. 考 察

弱酸性次亜塩素酸水に2種類の界面活性剤を添

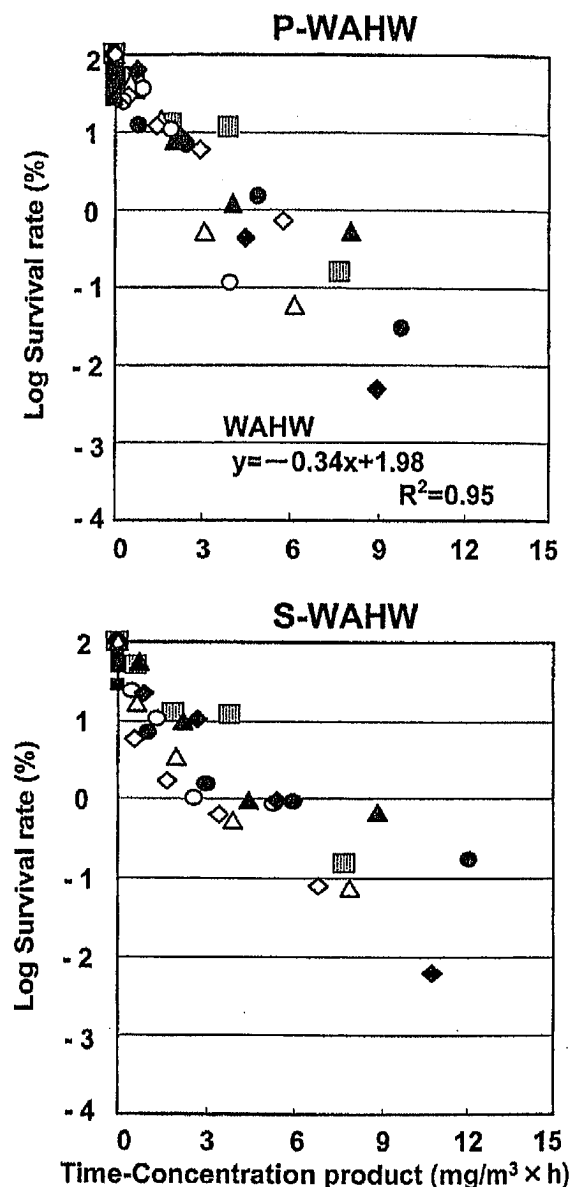


Fig.5. The relation of the Log survival rate using WAHW, P-WAHW or S-WAHW and the Time-Concentration product

■ Distilled water ■ WAHW ▲10ppm ◆50ppm ●100ppm △250ppm ◇500ppm ○1000ppm

加した場合, どちらも界面活性剤濃度100ppm までは噴霧量が増加し, S-WAHW および P-WAHW の単位時間当たり噴霧量は WAHW のみの場合の各々1.3倍, 1.6倍となった。しかし界面活性剤濃度100ppm 以上では噴霧量は減少し, 界面活性剤濃度1000ppm の条件で, P-WAHW, S-WAHW は各々0.5倍, 0.7倍の噴霧量であった。超音波霧化は, 液体に超音波振動エネルギーを与えることにより断続的に液体が気相に分裂し発生するため²⁻⁴⁾, 液体の表面張力が低いと噴霧量が増大すると考えられる。しかし, 界面活性剤濃度100ppm 以上では発生した噴霧粒子が噴霧器の内

部で接触して落下し, 噴霧水槽内に戻るため噴霧量は減少したと推察される。

化学的性状の変化としては, すべての系において残留塩素濃度の減少が認められた。超音波を照射することにより液中にキャビテーションが発生し, 局部的に高温高压状態になることが残留塩素濃度の低下の原因と考えられる。P-WAHW, S-WAHW とともに, すべての系において残留塩素濃度の低下は WAHW と同程度であり, 界面活性剤を添加したことによる影響は認められなかった。pH は界面活性剤自体の pH の影響を受けてわずかに上昇する傾向が見られたが pH6.10~6.34 の範囲であった。すなわち, 残留塩素濃度および pH は界面活性剤を添加しても WAHW と変わらないことが明らかとなった。

卵殻表面の *S. aureus* に対する消毒効果を接触時間で評価を行った結果, WAHW を60分間噴霧した場合では残存率0.15%であったが, 界面活性剤を添加した場合, 界面活性剤濃度によって消毒効果に違いが認められた。P-WAHW は界面活性剤濃度50, 100, 250ppm で S-WAHW は界面活性剤濃度50, 100, 250, 500ppm の条件で消毒効果の増大が認められた。また, 最も消毒効果が高かったのは P-WAHW, S-WAHW とともに界面活性剤濃度50ppm の場合であった。特に P-WAHW では, 界面活性剤の濃度による影響が大きく, R^2 乗値も0.51と比較的高い値を示した。すなわち, WAHW に界面活性剤を添加したことによる消毒効果の増大は, 噴霧量の増加だけではなく界面活性剤自体の効果が寄与していることが示唆された。鶏卵の卵殻表面は直径1250~1260 μm の気孔や微細な凹凸が存在し, 細菌がその構造に潜りこみ消毒が困難になる^{5, 6)}。界面活性剤を添加することで噴霧粒子の表面張力が減少し, 卵殻表面への接触性を向上させたのではないかと考えられる。

また, 超音波噴霧における一定周波数の場合, 噴霧粒子径は以下の式によって示される^{7, 8)}。

$$A = 190 (\sigma f p^2)^{\frac{1}{3}}$$

A =粒子径 (μm) ρ =密度 (g/cm^3) σ =表面張力 (mN/m) f =固有周波数 (kHz)

表面張力の低下に伴い, 粒子径は小さくなるため,

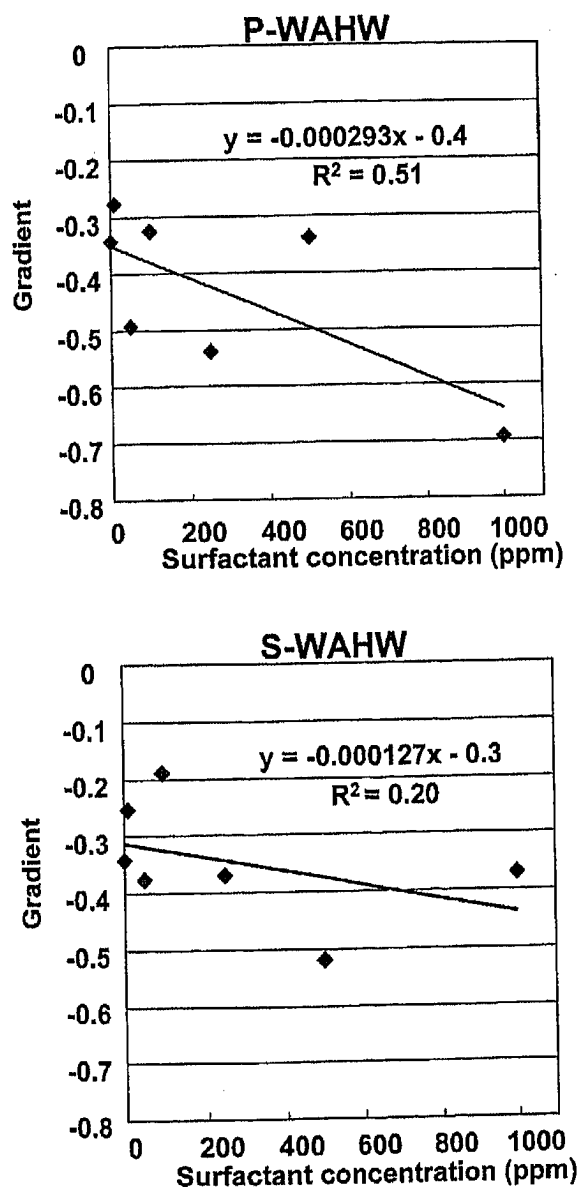


Fig.6. The gradients of least square estimates in Fig.6. and surfactant concentration

噴霧粒子が卵殻の微細構造に入りこみ易くなることも考えられるが、噴霧粒子径の分布などの詳細な検討が必要である。

以上の結果より、卵殻表面の消毒は WAHW を単独で噴霧するよりも、界面活性剤濃度 50 ppm の条件で高い消毒効果が得られることが明らかとなった。また、界面活性剤濃度 100 ppm 以上においても、噴霧量を維持することが出来れば、短時間でさらに高い消毒効果を得ることが可能であるとえられる。

今後、本技術の実用化にあたっては、P-WAHW, S-WAHW で噴霧消毒した場合の種卵の孵化率等を検討し、種卵に対する安全性を確認する必要がある。

5. 結 論

種鶏場における種卵消毒法として、弱酸性次亜塩素酸水の噴霧による消毒法を検討した。

卵殻表面への接触効率を上げるため、WAHW に非イオン界面活性剤のポリグリセリン脂肪酸エステルおよびショ糖脂肪酸エステルを 10~1000 ppm となるよう添加した。その結果、噴霧量は増大する傾向が認められたが、pH および残留塩素濃度は WAHW と差は認められなかった。消毒効果は、噴霧量の増大に伴い界面活性剤濃度 50 ppm の条件が最も高かった。次亜塩素酸の濃度時間積で評価した場合は、界面活性剤濃度の増大に伴い消毒効果の上昇が認められた。今後は、本

技術の現場での実用化にあたっては、噴霧消毒した種卵の孵化率などへの影響を検討する必要がある。

文 献

- 1) 小野朋子, 三宅真名, 山下光治 (2005) 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. 防菌防黴, 33, (6), pp. 257-262.
- 2) 日本液体微粒子学会 (2001) アトマイゼーション・テクノロジー.
- 3) D. Sindayihebura, M. Dobre, L. Bolle (1997) Experimental Study of Thin Liquid Film Ultrasonic Atomization, ExHFT '97, Bruxelles.
- 4) 岩元睦夫 (1997) 生物・環境産業のための非熱プロセス事典.
- 5) 伊藤裕和, 中谷 洋, 番場久雄, 林 和陽 (1999) オゾンガス消毒によるウズラ卵 (種卵) への影響とサルモネラ殺菌効果, 愛知農業総合試験場研究報告, 31, pp. 305-311.
- 6) J. Charles Lee (2004) A Practical Manual for Understanding the Shell Structure Broiler Hatching Eggs and Measurements of Their Quality, Mississippi Agricultural and Forestry Station.
- 7) 千葉 近 (1990) 超音波噴霧.
- 8) 寺田隆雄, 田中伸哉, 大須賀将志 (2000) 新超音波霧化技術, 携帯型吸入器を実現した微細メッシュによる独自の噴霧機構について. OMRON TECHNICS 39, (4), pp. 293-297.