

菌種による殺菌効果の違い

株式会社シー・アイ・シー 分析センター (2期生) 山井 克之

概要

食品微生物の分野では食品を微生物的安全な状態にするため 汚染、増殖、殺菌について研究されている。本研究では菌種と殺菌効果との関係について明らかにするための第一歩としたい。

1 序論

食事は人間の生活と切り離すことの出来ない存在である。従って食の安全は人間の生活にとって重要であることは言うまでもない。しかし食の安全とは何だろうか。食の安全の定義は様々である。本発表では微生物的な観点に立って食の安全について考えてみたい。

近年、微生物による食中毒が取り沙汰され^[1]、ニュースなどで問題視されることも少なくない。1960年代、NASAは宇宙食開発に伴い食の危害要因を未然に防ぐ HACCP^[2]という考え方を提唱した。HACCPとは食品の中に潜む危害(生物的、化学的あるいは物理的)、要因(ハザード)を科学的に分析し、それを除去(あるいは安全な範囲まで低減)する為の工程を常時管理し記録する方法である。例えば、ハンバーグを焼く際、挽肉中の感染症や食中毒原因細菌などが、ハンバーグの中心の温度が何度にとどれだけ時間経過すれば安全なレベルになるかを科学的に分析し、分析の結果、決定した管理方法を実施、そして実施した結果を記録する、といった流れである。HACCPの提唱により、かつて行われていた抜き取り検査のみの管理では為し得なかった、全品の安全性が高いレベルで効率よく確保され、その事実を記録から証明することができる。

HACCPは提唱されてから食品業界において缶詰等製造工場等で採用されてきた。1980年代、腸管出血性大腸菌 O157²がアメリカで流行した^[3]。この問題解決の為に、アメリカのマクドナルドが HACCP を導入し、成果をあげたことがきっかけで HACCP は爆発的に世界中の人々³に知られるようになった。その結果、現在では、アメリカ、オーストラリ

¹ 1925年 - 岐阜県 400人以上が集団食中毒を発症、9人が死亡。1948年食糧配給約800人が発症し2人死亡。2013年学校法人香川栄養学園 159人が発症した。2014年静岡県静岡市 O157、508人が発症、うち115人が入院した。等年間1000件程度発生

² アメリカで初めて発見、流行

³ 1963年FAO(国際連合食糧農業機関)とWHO(世界保健機関)によって設置された政府間組織であるコーデックス委員会を介して世界185カ国の行政に伝わった

ア、EU 諸国、韓国、中国を始め世界中の国々が HACCP を法令化し食品の安全を義務付けるに至った。勿論、我が国においても 1980 年代に HACCP の概念が輸入され 1995 年、総合衛生管理製造過程と言われる厚生労働省の認証制度 [2]⁴が制定された。

さて、HACCP の考え方を基礎に置く総合衛生管理製造過程を制度が採用されている日本は、衛生管理、公衆衛生について、世界でも通用する、高いレベルにあることを意味すると考える人が多いかも知れない。しかし、かつて乳業メーカーで総合衛生管理製造過程の認証を得た雪印乳業が、大規模な黄色ブドウ球菌エンテロトキシンの食中毒事件（雪印集団食中毒事件）を発生させている[4]。それは HACCP の根幹である危害要因分析（HACCP の HA）が出来ていなかった為だ。このようなことから総合衛生管理製造過程はそのまま HACCP と呼べるものではなく、形だけで中身が伴っていないものだったのである。

2020 年東京オリンピックを迎えるにあたり、各国選手団、観戦客等不特定多数の外国人が国内に来訪することが予想される。日本の食の安全を世界へ宣伝するべく、現在、国内の食品に関わる全ての団体、又は個人に対して HACCP の導入を義務付ける法案が今期の国会に提出される予定となっている。しかし法令化のみで本当に安全といえるだろうか。HACCP は、一般衛生管理プログラムの上に成り立つが、一般衛生管理プログラムでは食品の置かれる環境を管理する必要がある。つまり前提条件として食品の製造機器、調理器具等の洗浄、殺菌が確実に行われなければならない。

私は、一般衛生管理プログラム上の殺菌が確実に行われていなければ、HACCP が法令化されても大規模食中毒事件の発生し、雪印集団食中毒事件の二の舞になってしまうと考えている。そこで、国内で一般的に行われている殺菌について、どの程度効果があるのか検証してみたいと考えた。

特に、本研究では国内で広く使われている殺菌剤であるアルコール製剤の殺菌効果について、菌種別にどのような違いがあるのかについて考える。アルコール殺菌により、どの程度の殺菌効果があるのかを考えることで、国内の食の安全性、又は危険性の全体像を間接的に浮き彫りにすることができるだろう。

2 本論

アルコール製剤の殺菌効果判定実験を下記のように行った。

判定に用いた菌種*

⁴ HACCP の考え方を取り入れた制度であるが、煩雑なシステム。

- 大腸菌
- 黄色ブドウ球菌
- 腸炎ビブリオ
- 乳酸菌(ストレプトコッカス)
- サルモネラ
- バチルス

以下に菌種の特徴を記す。

○大腸菌

大腸菌は、グラム陰性⁵の桿菌⁶で通性嫌気性菌⁷に属し、環境中に存在するバクテリアの主要な種の一つである。この菌は腸内細菌でもあり、温血動物（鳥類、哺乳類）の消化管内、特にヒトなどの場合大腸に生息する。[5]

○黄色ブドウ球菌

ブドウ球菌は、通性嫌気性のグラム陽性球菌である。顕微鏡で観察すると、ブドウの房のように複数の細菌が集団を形成している。他の細菌と比較して高濃度（10%）の食塩存在下でも増殖が可能⁸であり、またカタラーゼ活性⁹、ブドウ糖発酵性¹⁰を持つなどの生化学的特徴を利用して分離・同定される。[6]

○腸炎ビブリオ

腸炎ビブリオとは、ビブリオ属に属する好塩性¹¹のグラム陰性桿菌の一種。主に海水中に生息する細菌である。[7]

○乳酸菌(ストレプトコッカス)

ストレプトコッカス(レンサ球菌)は、直径 1 μ m 程度のグラム陽性球菌で、個々の菌体が規則に直鎖状に並んだ配列をする、通性嫌気性または偏性嫌気性の有機栄養菌である。生化学的には、カタラーゼ陰性である（カタラーゼ酵素を持たないこと）から、他の代

⁵ グラム染色、細胞壁の厚さの違い。(陰性は薄い)

⁶ 長細い(球でない)

⁷ 酸素があってもなくてもいい菌

⁸ 可能だが遅くなる

⁹ H₂O₂を分解できる

¹⁰ 乳糖ではなくブドウ糖

¹¹ 塩分がないと死ぬ

表的なグラム陽性球菌と鑑別される。一般に呼吸によるエネルギー産生は行わず、酸素のある状態でもない状態でも、もっぱら乳酸発酵によってエネルギーを得る。[5]

○サルモネラ

サルモネラ属は、ブドウ糖を嫌氣的に発酵する、芽胞を持たない、通性嫌気性のグラム陰性桿菌に属する細菌であり、大きさは $0.5 \times 2 \mu\text{m}$ ぐらいの棒状で周毛性鞭毛を持ち運動性がある。サルモネラ属の細菌は乳糖を分解せず、またほとんどの菌株は硫化水素を産生し、リジンを脱炭酸し、クエン酸を炭素源として利用できる。[5]

○バチルス

芽胞を形成する。偏性好気性（一部通性嫌気性）のグラム陽性桿菌である。カタラーゼに陽性。一部の菌種は窒素固定能を有する。[5]

アルコール製剤の殺菌効果判定実験を下記のように行った。

- ① 標準寒天培地で培養した菌コロニーを生理食塩水に溶かし $1.0 \times 10^8/\text{m}\ell$ の菌液 を作成
- ② ①の菌液を 1.0 ml 取り製剤 10 ml に混和、一定時間攪拌 (10 秒)
- ③ ②の混和液から 0.1 ml を取り生理食塩水にて直ちに 100 倍希釈し試料液とする
- ④ ③の試料液を原液、10 倍、100 倍、1000 倍、10000 倍に段階希釈し標準寒天培地で混積する(腸炎ビブリオのみ培地に 2%食塩を添加する)
- ⑤ ④の培地を 35°C 48 時間培養しコロニーをカウントする
- ⑥ 各 3 回の試験を行いコロニーの平均数を試験結果とする

厚生労働省[8]は、殺菌効果が最も有効とされているアルコール濃度 70% では数秒で安全なレベルまで菌数が減るとしている。

時間的誤差を小さくするため、また、水で濡れた器具の殺菌を想定し、殺菌剤アルコール濃度を 25% の環境を設定した。

アルコールにはより一般的なエタノールを使用。

時間は30秒までとしているが、これは実務上アルコール噴霧による殺菌行為を行った場合気化し、殺菌効果が失われるまでの時間を想定している

また、コントロールとして精製水での空試験も行った。

結果を次のグラフに示す。

殺菌剤平均値

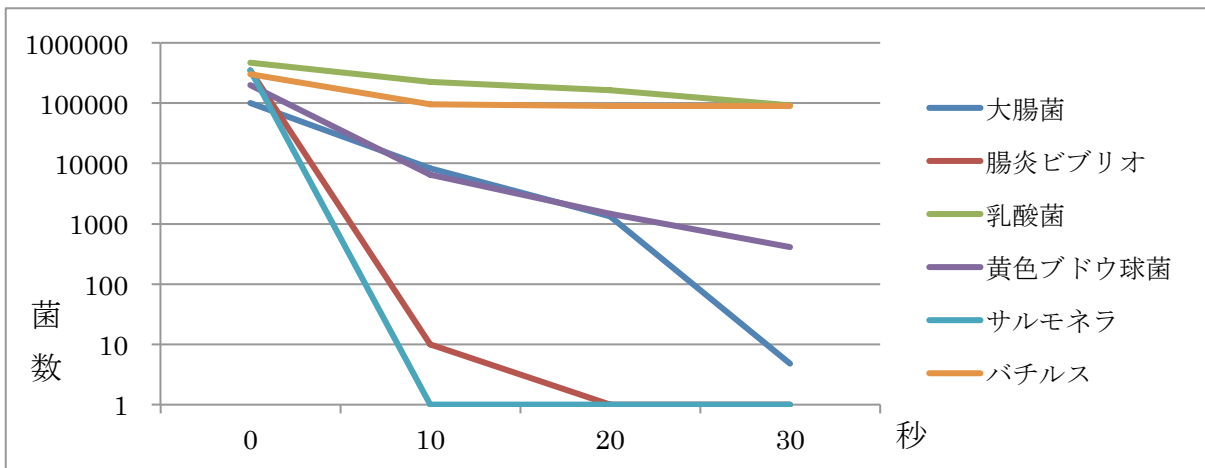


図1

空試験

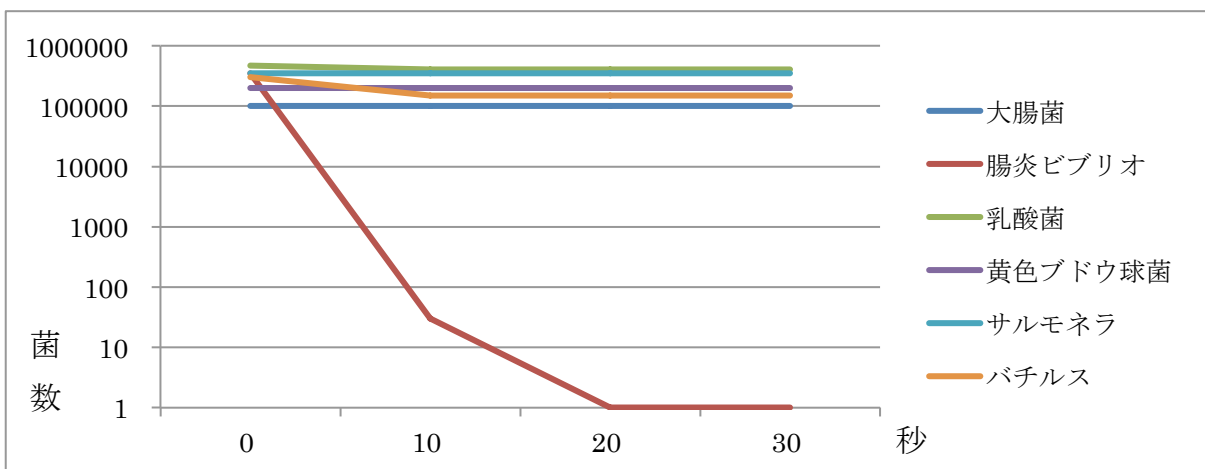


図2

試験結果における注目すべきポイント：

- ◇ 殺菌剤結果(図 1)10 秒 20 秒を見てみると腸炎ビブリオ、サルモネラの菌数が極端に少なくなっている
- ◇ 殺菌剤結果(図 1)30 秒を見てみると大腸菌の菌数が大幅に少なくなり黄色ブドウ球菌がやや少なくなっている。
- ◇ 空試験結果(図 2)を見てみると腸炎ビブリオのみ菌数が少なくなっている。

3 結論

本研究は我が国における食の安全を、食品業界で広く使われている殺菌剤の殺菌効果を判定することで判断するというものであった。

本研究においては安全な菌数の上限を 100 とする¹²。黄色ブドウ球菌、ストレプトコッカス、バチルスが基準を超えて残存していた為、この実験結果から我が国の食品業界で広く使われているアルコール殺菌剤のみでは衛生的な環境を作る上で十分ではない可能性があることがわかった。

腸炎ビブリオは塩分がないと生きられない特性があり真水で死んでしまうため [7] アルコールとの相乗効果で急速に菌数が少なくなったと考えられる。

細菌の種類はいくつかの分類方法があるが形態的な分類でグラム染色¹³判定がある陽性のものは細胞壁が厚く、陰性のものは薄い、今回の実験では黄色ブドウ球菌、ストレプトコッカス、バチルスがグラム染色陽性である。この 3 菌種は 30 秒後の菌数が多かった。形状的な差異との一致があることから何か関連がありそうだ。このことは次回以降の研究課題にしていきたい。酸性、芽胞形成との関連についても次回の課題にしたい。

参考文献

- [1] 厚生労働省"食中毒統計資料"2018 年 3 月 19 日閲覧
- [2] 一般財団法人食品産業センター"HACCP 関連情報データベース"2018 年 3 月 19 日閲覧
- [3] 社団法人 畜産技術協会"平成 21 年度食品安全確保総合調査 「食品により媒介される感染症等に関する文献調査報告書」"2018 年閲覧
- [4] 厚生労働省報道発表資料"第 2 回雪印乳業食中毒事故対策本部会議の結果について

¹² 機器や器具に清浄度の基準がないため

¹³ 細胞壁が厚い(または薄い)菌種の形態的特徴を染色液の染まり具合で判定する方法

"2000年7月14日

[5] 巖佐庸・倉谷滋・斎藤成也・塚谷裕一 "岩波生物学辞典 第5版" 岩波書店、(2013)

[6] 金子淳、成谷宏文、神尾好是、"黄色ブドウ球菌の二成分蛋白質毒素" (1998)

[7] 藤野恒三郎、福見秀雄編 『腸炎ビブリオ』 第1集"1964年

[8] 第5回厚生科学審議会 医薬品販売制度改正検討部会 4-33

"厚生労働省審議会議事録"2005年1月17日

山井 克之

1987年1月3日生まれ。東京都立科学技術高等学校卒業、東京理科大学中退、飲食店就職、検査会社に転職

飲食店では人材教育、経営管理を習得

転職は29歳科学が好きなことを思い出し少しでも近づくため、また、研究等を行うための時間的余裕を作るため。

専門分野：化学、微生物、食品

科学技術高校同窓会「四葉会」 会長

化学研究も行いたいと考えているが設備と時間が足りないため保留、現状は職業でもあるが微生物に関して研究活動中

2018年3月微生物検査技師2級取得