

平成16年度農林水産省
食品製造工程管理
情報高度化促進事業

平成16年度 病原微生物データ分析実験作業 成果報告書

「(プラスチック製)まな板表面に滴下した
サルモネラおよび腸炎ビブリオの各種除菌操作を
行ったときの消長に関する研究」

平成17年2月
学校法人 東海大学
小沼博隆教授

(プラスチック製)まな板表面に滴下したサルモネラおよび腸炎ビブリオの 各種除菌操作を行ったときの消長に関する研究

1. 目的

日常使用しているまな板の材質は、一般的には木製、プラスチック製及び合成ゴム製等があるが、現状では水分を吸収しにくいプラスチック製まな板の使用が大部分を占めている。そこで、プラスチック製まな板に対する有効でしかも簡易な洗浄並びに殺菌方法を模索し、微生物制御に役立てる。

2. 試験方法

1) 試験菌

Salmonella Enteritidis NBRC 3313(サルモネラ)

Vibrio parahaemolyticus RIMD 2210100(腸炎ビブリオ)

2) 菌液の調製

普通寒天培地(栄研化学株式会社;腸炎ビブリオについては食塩を3%添加)で35℃±1℃,16~20時間培養した試験菌の菌体を豚肉煮汁*(腸炎ビブリオに用いるものは食塩を3%添加)に懸濁させ、1ml当たりの菌数が10⁶~10⁷(腸炎ビブリオは10⁸~10⁹)となるように調製し、菌液とした。

* 豚肉煮汁;2cm×7cm×1cmに切った豚モモ肉(脂を除く)300gに精製水600mlを加え、20分間煮沸後、煮汁を採取し、高圧蒸気滅菌(121℃,15分間)したもの。

3) 試験片の調製

市販のプラスチック製まな板(抗菌加工表示無し)を5cm×5cmの大きさに切り取り傷をつけたもの(5mm幅の格子状にカッターナイフで傷を付けた)及び傷をつけないものに菌液0.1ml(25滴)を滴下し、55℃で乾燥させ(20~25分間程度)、試験片とした。

4) 試験操作

① 洗浄効果の確認及びまな板表面の電子顕微鏡写真の撮影

試験片を各種条件(未洗浄,軽く水洗い及び十分に洗浄)*で洗浄後,30℃,相対湿度40~50%で24時間保存した。洗浄前(菌液乾燥直後)及び24時間保存後に試験片の生菌数を測定した。また,まな板表面に試験菌の菌体を付着させた試験片を同様に洗浄し,洗浄前,洗浄後の表面の電子顕微鏡写真を撮影した。

- * 軽く水洗い:水道水 500 ml を用いて試験片表面を洗い流した。
- * 十分に洗浄:2.5 cm×2.5 cm×2.0 cm に切り取った食器洗浄用スポンジに精製水 7 ml 及び食器洗浄用洗剤(除菌効果の表示無し, 液性;中性, 成分;界面活性剤(16%), アルキルエーテル硫酸エステルナトリウム, 脂肪酸アルカノールアミド)0.5 ml をしみ込ませ, 手で10回揉んだものを用いて縦横往復 5 回こすり洗い後, 水道水 500 ml を用いて洗い流した。

② 熱湯殺菌の効果確認

試験片(傷無し)を 95 °C の精製水に浸漬させ, 2 及び 5 秒後に生菌数を測定した。また, 対照として室温の精製水に試験片を浸漬させ, 同様に試験した。

③ 乾熱殺菌の効果確認

試験片(傷無し)を 100 °C, 乾熱条件で加熱し, 2 及び 5 時間加熱後に生菌数を測定した。また, 対照として室温で 2 及び 5 時間放置した試験片の生菌数を測定した。

5) 生菌数の測定

SCDLP 培地 10ml を用いて, 試験片から生残菌を洗い出した。この洗い出し液の生菌数を標準寒天培地(栄研化学株式会社)を用いた混釈平板培養法(35 °C±1 °C, 48 時間培養)により測定し, 試験片 1 個当たり換算した。また, サルモネラに関しては生菌数測定後の洗い出し液全量について増菌培養法により検出試験を行った。なお, 腸炎ビブリオの試験に用いる培地には食塩を 3 % 添加した。

3. 結果

1) サルモネラを用いた洗浄効果の確認(表-1)

傷の無いまな板では 10^5 の生菌数が洗浄直後に $10^2 \sim 10^3$ (軽く洗浄), $10^1 \sim 10^2$ (十分に洗浄)に減少し, 24 時間後には全ての条件で <1 に減少した。

傷の有るまな板では 10^5 の生菌数が洗浄直後に 10^4 に減少し, 24 時間後には $10^2 \sim 10^3$ (軽く洗浄), $10^1 \sim 10^2$ (十分に洗浄)に減少した。

2) 腸炎ビブリオを用いた洗浄効果の確認(表-1)

傷の無いまな板では $10^2 \sim 10^3$ の生菌数が洗浄直後に $10^1 \sim 10^2$ (軽く洗浄), <10 (十分に洗浄)に減少し, 24 時間後には全ての条件で <10 に減少した。

傷の有るまな板では 10^3 の生菌数が洗浄直後に $10^1 \sim 10^2$ (軽く洗浄), 10^1 (十分に洗浄)に減少し, 24 時間後には全ての条件で <10 に減少した。

3) 熱湯殺菌の効果確認(表-2)

サルモネラ, 腸炎ビブリオともに 95℃, 2 秒間の浸漬で<1, <10 に減少した。

4) 乾熱滅菌の効果確認(表-3)

サルモネラ, 腸炎ビブリオともに 100℃, 2 時間で<1, <10 に減少した。

5) 電子顕微鏡写真の撮影(別紙)

未洗浄のまな板表面では多数の菌体を確認できた。十分に洗浄した傷の無いまな板では菌体は確認できなかったが, 傷の有るまな板では, 傷付近にわずかに菌体を確認することができた。

表-1 洗浄効果の確認結果

試験菌	測定	区分	試験片 1 個当たりの生菌数			
			まな板(傷無し)		まな板(傷有り)	
			測定-1	測定-2	測定-1	測定-2
サルモネラ	洗浄前	未洗浄	4.9×10^5	2.9×10^5	2.8×10^5	2.4×10^5
	洗浄直後	軽く洗浄*1	7.3×10^3	7.5×10^2	3.2×10^4	4.1×10^4
		十分に洗浄*2	1.2×10^2	20	1.4×10^4	1.2×10^4
	洗浄後 24 時間後	未洗浄	9.1×10^4	1.0×10^5	3.2×10^4	5.9×10^4
		軽く洗浄*1	<1	<1	6.6×10^2	5.1×10^3
		十分に洗浄*2	<1	<1	50	5.4×10^2
腸炎 ビブリオ	洗浄前	未洗浄	3.1×10^3	3.8×10^2	1.7×10^3	1.4×10^3
	洗浄直後	軽く洗浄*1	2.2×10^2	80	2.3×10^2	50
		十分に洗浄*2	<10	<10	20	10
	洗浄後 24 時間後	未洗浄	<10	<10	<10	<10
		軽く洗浄*1	<10	<10	<10	<10
		十分に洗浄*2	<10	<10	<10	<10

<1: 検出せず

*1 試験片表面を水道水 500 ml を用いて, 洗い流した。

*2 試験片表面を食器洗浄用スポンジ(2.5 cm × 2.5 cm × 2 cm, 精製水 7 ml 及び食器洗浄用洗剤 0.5 ml を染み込ませ, 手で 10 回揉んだもの)を用いて, 縦横往復 5 回こすり洗い後, 水道水 500 ml を用いて洗い流した。

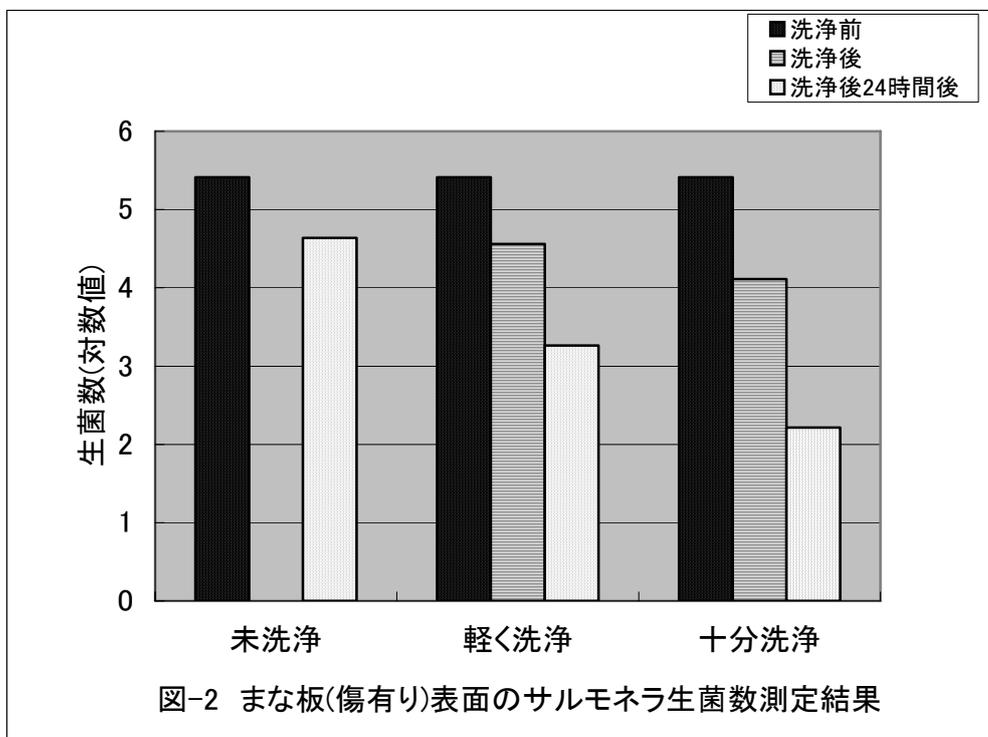
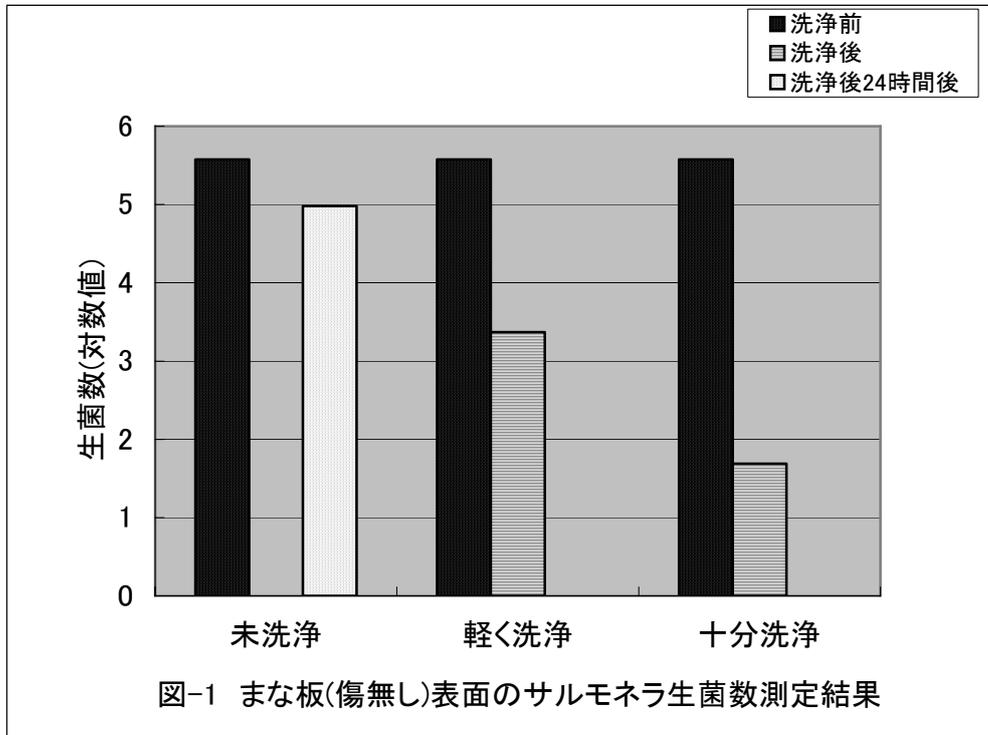


表-2 熱湯殺菌の効果確認結果

試験菌	浸漬液	測定	試験片 1 個当たりの生菌数	
			測定-1	測定-2
サルモネラ	***	菌液乾燥直後	4.9×10^5	2.9×10^5
	95 °C (精製水)	2 秒間浸漬後	<1	<1
		5 秒間浸漬後	<1	<1
	対照; 室温 (精製水)	2 秒間浸漬後	2.7×10^5	3.4×10^5
		5 秒間浸漬後	2.3×10^5	2.1×10^5
	腸炎 ビブリオ	***	菌液乾燥直後	3.1×10^3
95 °C (精製水)		2 秒間浸漬後	<10	<10
		5 秒間浸漬後	<10	10
対照; 室温 (精製水)		2 秒間浸漬後	<10	<10
		5 秒間浸漬後	<10	<10

<1: 検出せず

表-3 乾熱殺菌の効果確認結果

試験菌	乾熱温度	測定	試験片 1 個当たりの生菌数	
			測定-1	測定-2
サルモネラ	***	菌液乾燥直後	4.9×10^5	2.9×10^5
	100 °C	2 時間放置後	<1	<1
		5 時間放置後	<1	<1
	対照(室温)	2 時間放置後	1.7×10^5	1.7×10^5
		5 時間放置後	2.4×10^5	1.7×10^5
	腸炎 ビブリオ	***	菌液乾燥直後	3.1×10^3
100 °C		2 時間放置後	<10	<10
		5 時間放置後	<10	<10
対照(室温)		2 時間放置後	<10	<10
		5 時間放置後	<10	<10

<1: 検出せず

4. 考察

- 1) サルモネラを用いた試験において、まな板に傷がある場合、傷がない場合に比べ洗浄直後の生残菌数は軽く水洗いした場合で1オーダー程度、十分洗浄した場合で2オーダー

一程度高かった。特に傷がある場合軽く水洗いした場合と十分洗浄した場合での生残菌数に大きな差がなかったことが特徴的であった。また、24 時間室温放置した場合、傷無しのみな板では菌は検出されなかったが、傷がある場合、1 オーダー～2 オーダー程度の減少は認められたものの、菌は $10^1 \sim 10^3$ / 試験片程度検出された。みな板に傷がある場合、洗浄により菌を取り除くことが困難であり、洗浄後も死滅しにくいものと考えられた。

2) 腸炎ビブリオに関しては、洗浄前(乾燥直後)では菌は生き残っていたが、未洗浄の状態においても 24 時間後に菌は死滅した。腸炎ビブリオに関しては、乾燥条件における消長を確認することは困難であると考えられた。

3) 洗浄、乾燥による菌の除去、殺菌効果はある程度期待できるものの、熱湯殺菌、乾熱殺菌の方が確実な殺菌手段であると考えられた。

以 上

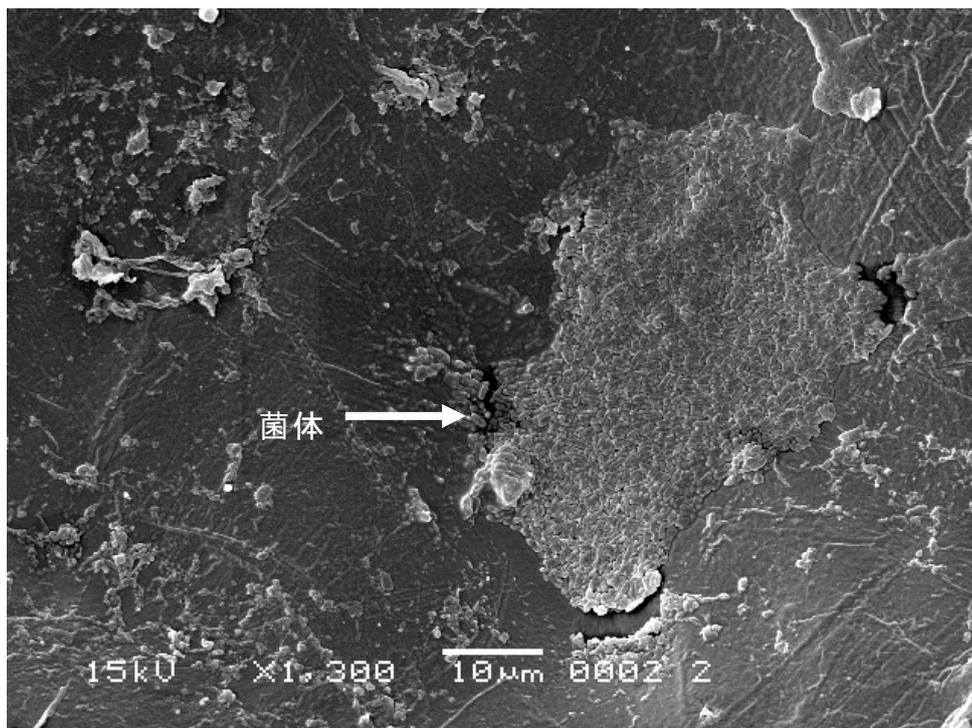


写真-1 未洗浄まな板

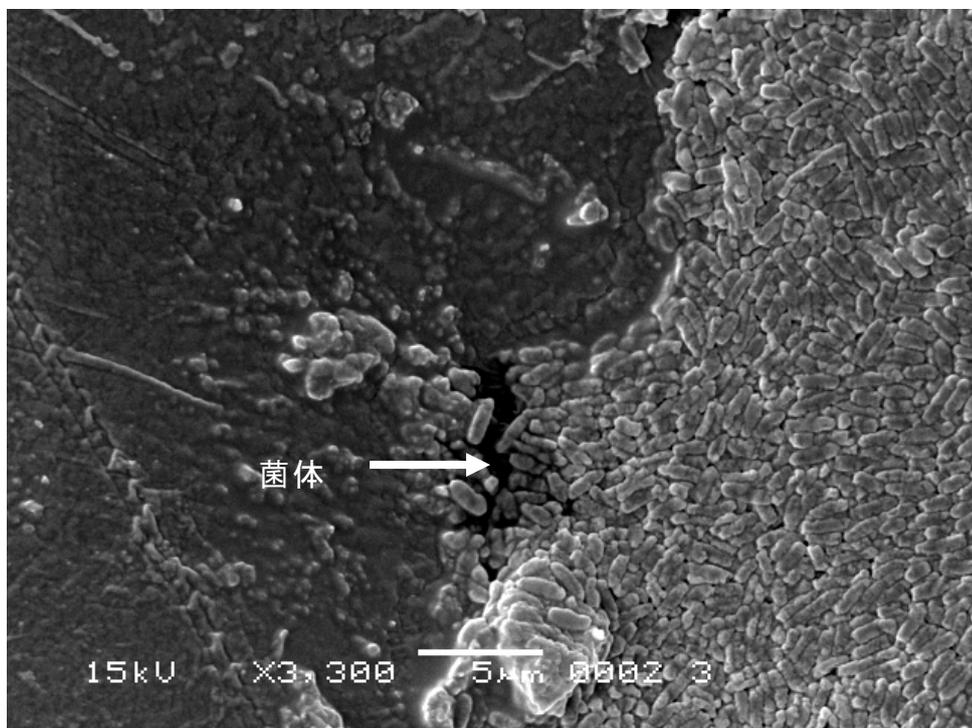


写真-2 未洗浄まな板

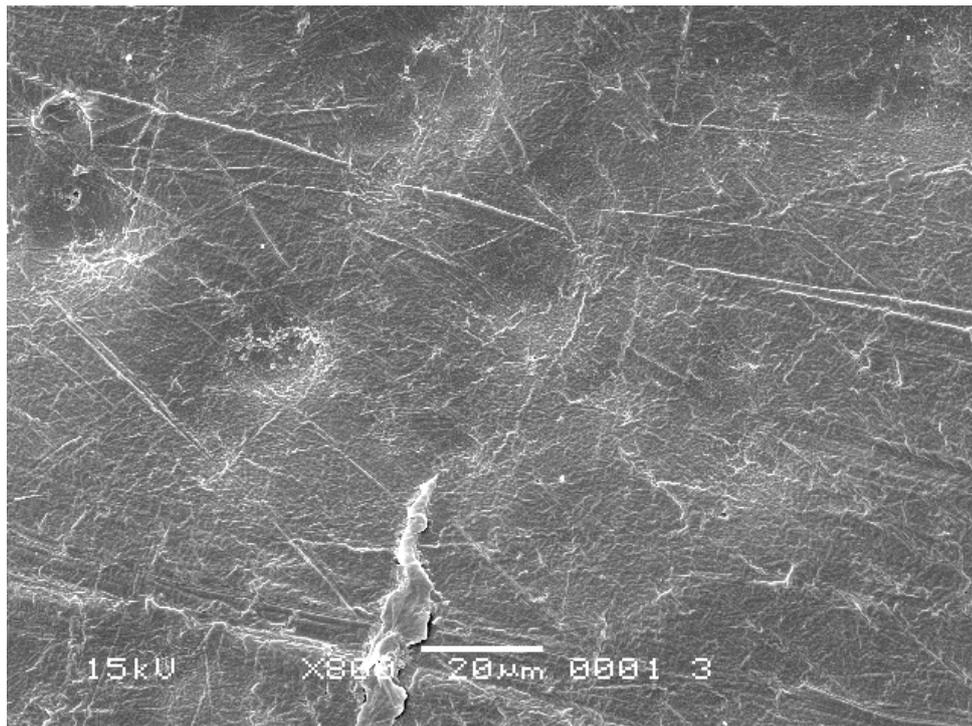


写真-3 十分洗浄したまな板(傷無し)

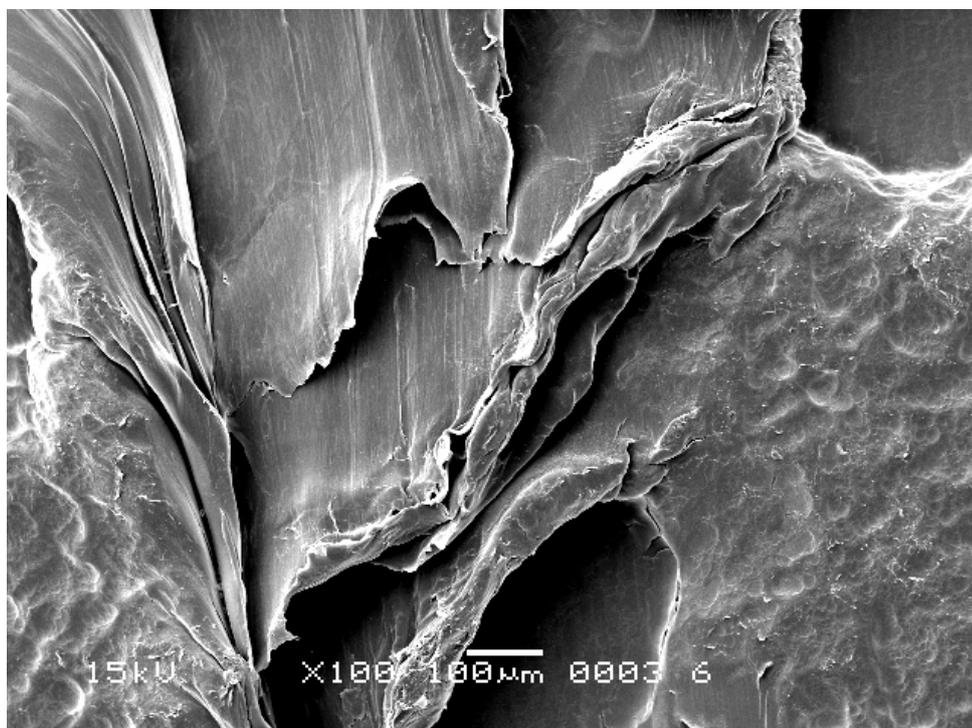


写真-4 十分洗浄したまな板(傷有り)

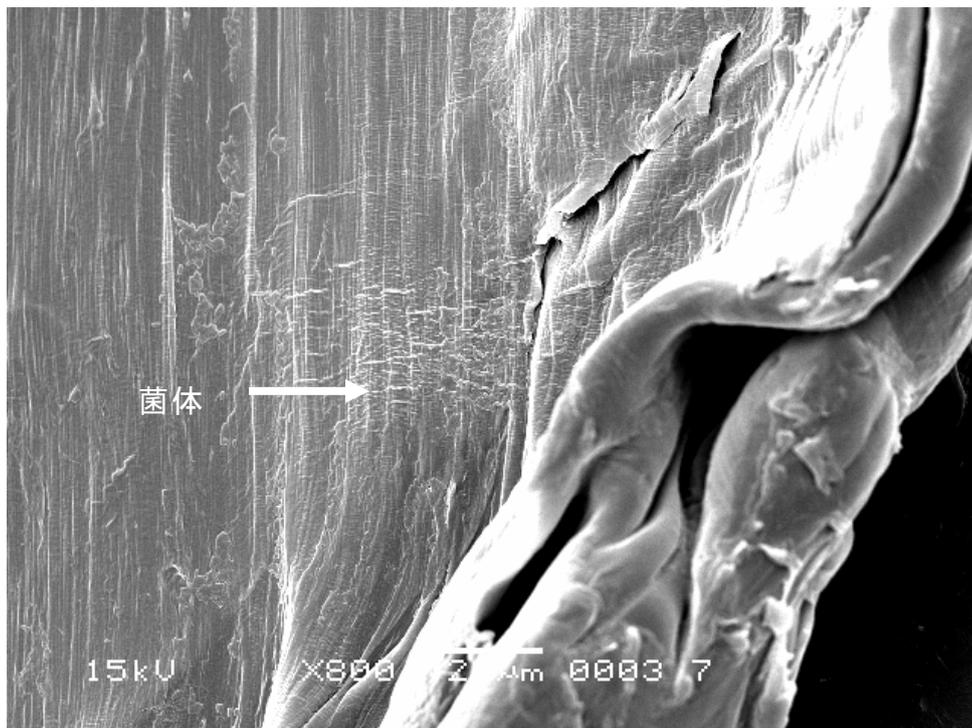


写真-5 十分洗淨したまな板(傷有り)

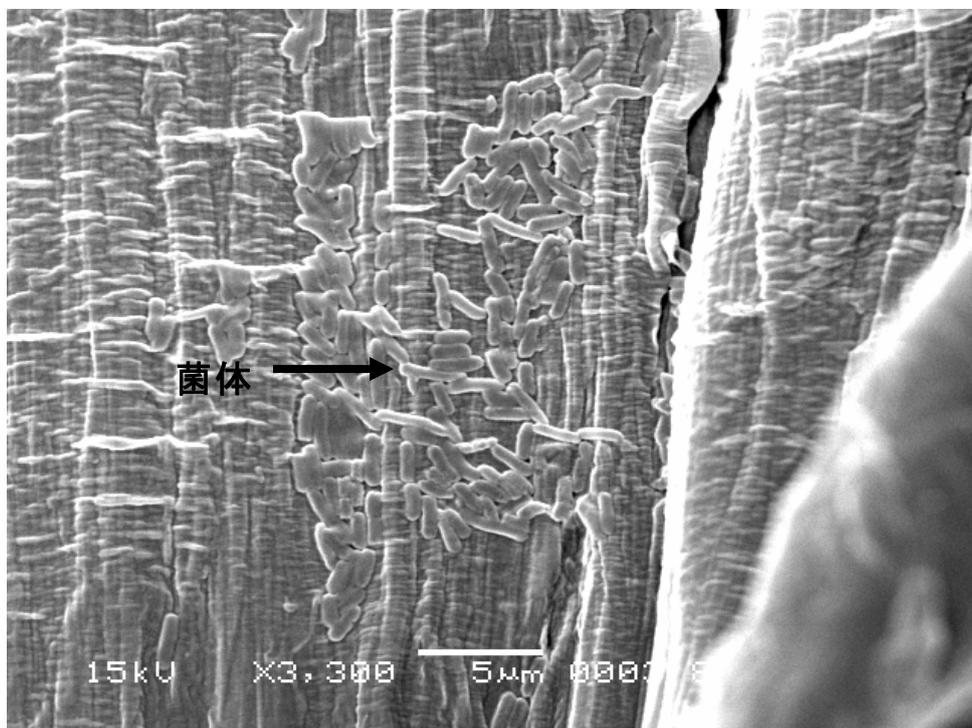


写真-6 十分洗淨したまな板(傷有り)