

平成17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17年度 病原微生物データ分析実験作業 成果報告書

「汚れ度合いの差によるアルコールスプレーの  
殺菌効果への影響」

平成18年1月  
学校法人 東海大学  
小沼博隆教授

## 研究報告書

### 汚れ度合いの差によるアルコールスプレーの殺菌効果への影響

分担研究者 小沼 博隆（東海大学海洋学部）

協力研究者 土屋 禎（財団法人日本食品分析センター）

#### 研究要旨

わが国の食品製造施設、特に調理施設において直接、食品と接触する機械・器具・容器等の殺菌には毒性の少ないアルコールが主に使用されている。しかしながら、アルコールの殺菌効果に関する報告は、試験管内実験では効果のある報告が多く見受けられるが、実際の調理工程で、あるいは調理作業と同様な方法で殺菌効果を試した報告は少ない。そこで、食品製造現場で頻繁に用いられるアルコールスプレーの殺菌効果をまな板を用いて検討した。菌株は、サルモネラおよび黄色ブドウ球菌を使用し、これらの菌を液卵ならびに白菜煮汁に $10^{7\sim 8}$ /mlになるよう接種し、まな板表面に汚染させた。そのまな板にアルコールスプレー（添加物使用の有無）を噴霧あるいは噴霧後ガーゼで拭く（ワイプする・しない）を比較検討した。

その結果、汚れの質により殺菌効果に与える影響に差があり、汚れ度合い(量)に比例してアルコールの殺菌効果を減少させる影響が大きく、その影響はサルモネラに比べ黄色ブドウ球菌の方が大きいと考えられた。白菜煮汁と液卵とではやや異なる結果を示したが、白菜煮汁は液卵より水に良く溶けるため、物理的によく洗い流されやすい特性があり、液卵は脂肪やタンパク質などで菌を保護する特性があると考えられた。アルコールスプレーは、添加物無添加より添加の方がやや高い殺菌効果がみられた。また、噴霧するだけの操作よりもワイプすることにより殺菌効果がやや大きくなる傾向が認められた。しかし、精製水のみを含ませてガーゼで軽く拭く処理をした後の菌数は、処理前に比べ菌数はほとんど減少せず除菌効果は期待できなかった。

#### 1. 研究目的

わが国の食品製造施設、特に調理施設において直接、食品と接触する機械・器具・容器等の殺菌には毒性の少ないアルコールが主に使用されている。しかしながら、アルコールの殺菌効果に関する報告は、試験管内実験では効果のある報告が多いが、実際の調理工程で、あるいは調理作業と同様な方法で殺菌効果を試した報告は少ない。また、市販アルコールスプレーには、界面活性剤や手荒れを防ぐ目的にグリセリンや乳酸ナトリウム等を添加したものが多く出回っている。そこで、食品製造現場で頻繁に用いられるこれらアルコールスプレーの殺菌効果をまな板を用いて検討し、食品の調理・加工・製造業者が行う微生物制御に役立てる。

## 2. 研究方法

### 1) 試験菌

*Salmonella* Enteritidis NBRC 3313(サルモネラ)

*Staphylococcus aureus* NBRC 12732(黄色ブドウ球菌)

### 2) 供試アルコールスプレー

① アルコールスプレー／添加物無し(エタノール；67.1 w/w%)

② アルコールスプレー／添加物有り(エタノール；67.1 w/w%，グリセリン脂肪酸エステル；0.3 w/w%，グリセリン；0.2 w/w，乳酸ナトリウム；0.0065w/w%)

### 3) 接種用菌液の調製

#### ① 菌添加液卵希釈液

鶏卵を溶き、液卵(原液)とした。この原液を滅菌精製水を用いて10倍又は100倍に希釈した。これらの液卵希釈液に、普通寒天培地で35℃、16～20時間培養した試験菌の菌体をそれぞれ懸濁させ、菌数が $10^7$ ～ $10^8$ /mlとなるように調製し、接種用菌液とした。

#### ② 菌添加白菜煮汁

3cm×4cm角の大きさに切った白菜200gに精製水400ml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)したものを白菜煮汁(原液)とし、この煮汁(原液)を滅菌精製水を用いて10倍に希釈したものを白菜煮汁10倍希釈液とした。これらの白菜煮汁に、普通寒天培地で35℃、16～20時間培養した試験菌の菌体をそれぞれ懸濁させ、菌数が $10^7$ ～ $10^8$ /mlとなるように調製し、接種用菌液とした。

### 4) 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、その表面に菌液0.1ml(25滴)を滴下後、55℃で乾燥させ(20～25分間程度)、試験片とした。

### 5) 殺菌処理

#### ① スプレーのみ

試験片の真上30cmの距離から1回スプレーし、室温で30分間放置後に試験片の生菌数を測定した。

#### ② スプレー＋ワイプ

試験片の真上30cmの距離から1回スプレーし、さらに供試アルコール製剤を含ませたガーゼで軽く拭い(1方向に1回、同じ個所を繰り返し拭わないように)、30分間放置後に試験片の生菌数を測定した

#### ③ 精製水ワイプのみ

試験片表面を滅菌精製水を含ませたガーゼで同様に軽く拭った後、室温で30分間放置後の試験片について生菌数を測定した。

## 6) 生菌数の測定

試験片をストッカー袋に入れた後、SCDLP 培地 10ml を加え、生残菌を十分洗い出した。この洗い出し液の生菌数を標準寒天培地を用いた混積平板培養法(35℃, 48時間培養)により測定した。

なお、試験はそれぞれ2回行った。

## 3 結果及び考察

### 1) サルモネラに対するアルコールスプレーの殺菌効果

(1) 菌を添加した液卵(10倍希釈)を塗抹したまな板におけるアルコールスプレー処理後の菌数は、処理前に比べ菌数は3オーダー(1,000分の1)から6オーダー(1,000,000分の1)減少し殺菌効果がみられた。その殺菌効果は、アルコールに添加物を添加(②)あるいは無添加(①)に差はみられなかった。また、アルコールスプレー処理後さらに供試アルコールあるいはアルコール製剤を含ませたガーゼで軽く拭く処理をした後の菌数は、処理前に比べ菌数はスプレーのみと同様に3オーダーから6オーダー減少した。(表1、図1)。

液卵の希釈濃度の濃淡によるアルコールスプレーの殺菌効果は、液卵濃度10倍希釈で処理前に比べ菌数は3オーダーから6オーダー減少したのに対し、100倍希釈では、処理前に比べ菌数は5オーダーから6オーダーと著しい減少を示し、100倍希釈でより高い殺菌効果がみられた。また、アルコールに添加物を添加(②)あるいは無添加(①)およびアルコールスプレー処理後さらに供試アルコールあるいはアルコール製剤を含ませたガーゼで軽く拭く処理をしたものでも同様に顕著な殺菌効果が認められた。しかし、精製水のみを含ませてガーゼで軽く拭く処理をした後の菌数は、処理前に比べ菌数はあまり減少せず、1オーダーから2オーダーの減少にとどまり、除菌効果は期待できなかった(表1、図2)。

(2) 菌を添加した白菜煮汁を塗抹したまな板におけるアルコールスプレー処理後の菌数は、処理前に比べ菌数は5オーダー(100,000分の1)減少し著しい効果がみられた。その殺菌効果は、アルコールに添加物を添加(②)あるいは無添加(①)に差はみられなかった。また、アルコールスプレー処理後さらに供試アルコールあるいはアルコール製剤を含ませたガーゼで軽く拭く処理をした後の菌数も同様に5オーダー減少し著しい効果がみられた。しかし、精製水のみを含ませてガーゼで軽く拭く処理をした後の菌数は、処理前に比べ菌数はあまり減少せず、1オーダー程度の減少にとどまり、除菌効果は期待できなかった。

(表1、図3)

煮汁の希釈濃度の濃淡によるアルコールスプレーの殺菌効果は、煮汁濃度原液ならびに10倍希釈ともに5オーダー減少と、差がみられなかった。しかし、煮汁10倍希釈では、精製水のみを含ませてガーゼで軽く拭く処理をした場合も、菌数は処理前に比べ3オーダー減少した。白菜煮汁では液卵とはやや異なる結果がみられた。その原因については明確ではないが、煮汁は液卵より水に良く

溶けるため、物理的によく洗い流されやすく、同時に汚染菌は液卵のように脂肪やタンパク質などで保護されないため顕著な殺菌効果がみられたものと考えられる（表1、図4）。

## 2) 黄色ブドウ球菌に対するアルコールスプレーの殺菌効果

(1) 菌を添加した液卵（10倍希釈）を塗抹したまな板におけるアルコールスプレー処理後の菌数は、処理前に比べ菌数は2オーダー（100分の1）から5オーダー（100,000分の1）の範囲で減少したが、アルコールスプレー処理のみ（ガーゼで拭く処理を行わない場合）では大半が1～2オーダーの減少に止まり、サルモネラと比べ殺菌効果はあまり認められなかった。一方、アルコールスプレー処理後さらに供試アルコールあるいはアルコール製剤を含ませたガーゼで軽く拭く処理をした後の菌数は、処理前に比べ菌数は2オーダーから5オーダー減少した。その殺菌効果は、アルコールに添加物を添加(②)あるいは無添加(①)で殺菌効果にやや差がみられ、無添加に比べ添加の方にやや高い効果がみられた。しかし、精製水のみを含ませてガーゼで軽く拭く処理をした後の菌数は、処理前に比べ菌数は全く減少せず除菌効果は期待できなかった（表2、図5）。

液卵の希釈濃度の濃淡によるアルコールスプレーの殺菌効果は、液卵濃度10倍希釈では処理前に比べ菌数は2オーダーから5オーダーの範囲で減少したのに対し、100倍希釈では、処理前に比べ菌数は2オーダーから6オーダーの範囲で減少を示し、10倍希釈より殺菌効果が高かった。また、アルコールスプレー処理後さらに供試アルコールあるいはアルコール製剤を含ませたガーゼで軽く拭く処理をしたものでは、さらに殺菌効果は高く4オーダーから6オーダーの範囲で減少し顕著な殺菌効果が認められた。しかし、精製水のみを含ませてガーゼで軽く拭く処理をした後の菌数は、処理前に比べ菌数はあまり減少せず、1オーダーの減少にとどまり、除菌効果はあまり期待できなかった（表2、図6）。

(2) 菌を添加した白菜煮汁原液を塗抹したまな板におけるアルコールスプレー処理後の菌数は、処理前に比べ菌数は1オーダーから6オーダーの範囲で減少を示したが、その殺菌効果にバラツキがみられた。その殺菌効果は、アルコールに添加物無添加より添加の方に明確な殺菌効果が認められた。また、アルコールスプレー処理後さらに供試アルコールあるいはアルコール製剤を含ませたガーゼで軽く拭く処理をした後の菌数は、3オーダーから6オーダーの範囲で減少し顕著な殺菌効果が認められた。しかし、添加物の添加の有無による殺菌効果の違いはみられなかった。また、精製水のみを含ませてガーゼで軽く拭く処理をした後の菌数は、処理前に比べ菌数は全く減少せず、除菌効果はなかった（表2、図7）。

白菜煮汁10倍希釈液では、アルコールスプレー処理後の菌数は、処理前に比べ菌数は5オーダーから6オーダーの範囲で減少し著しい殺菌効果を示した。その殺菌効果は、アルコールに添加物無添加に比べ添加の方にやや強い殺菌効果が認められた。また、アルコールスプレー処理後さらに供試アルコールある

いはアルコール製剤を含ませたガーゼで軽く拭く処理をした後の菌数も、5オーダーから6オーダーの範囲で減少し著しい殺菌効果を示した。その殺菌効果は、アルコールに添加物無添加に比べ添加の方にやや強い殺菌効果が認められた。また、精製水のみを含ませてガーゼで軽く拭く処理をした後の菌数は、処理前に比べ1オーダーの減少にとどまり、除菌効果はあまり期待できなかった。

煮汁の希釈濃度の濃淡によるアルコールスプレーの殺菌効果は、サルモネラの場合と同様に、液卵とはやや異なる結果を示した。その原因については明確ではないが、煮汁は液卵より水に良く溶けるため、物理的によく洗い流されやすく、同時に汚染菌は液卵のように脂肪やタンパク質などで保護されないため顕著な殺菌効果がみられたものと考えられる（表2、図8）。

表-1 サルモネラに対するアルコールスプレーの殺菌効果試験結果

接種用菌液	測定	処理方法	試験片当たりの生菌数(対数值)	
			測定-1	測定-2
液卵10倍 希釈液	処理前	***	2.4×10 <sup>6</sup> (6.380)	3.4×10 <sup>6</sup> (6.531)
	処理後	アルコールスプレー①のみ	<10 (<1.000)	6.2×10 <sup>3</sup> (3.792)
		アルコールスプレー②のみ	<10 (<1.000)	<10 (<1.000)
		アルコールスプレー①+ワイプ <sup>o</sup>	3.0×10 <sup>3</sup> (3.477)	<10 (<1.000)
		アルコールスプレー②+ワイプ <sup>o</sup>	<10 (<1.000)	<10 (<1.000)
		精製水ワイプ <sup>o</sup> のみ	3.9×10 <sup>5</sup> (5.591)	5.7×10 <sup>5</sup> (5.756)
液卵100倍 希釈液	処理前	***	1.0×10 <sup>6</sup> (6.000)	6.7×10 <sup>5</sup> (5.826)
	処理後	アルコールスプレー①のみ	20 (1.301)	<10 (<1.000)
		アルコールスプレー②のみ	<10 (<1.000)	<10 (<1.000)
		アルコールスプレー①+ワイプ <sup>o</sup>	<10 (<1.000)	<10 (<1.000)
		アルコールスプレー②+ワイプ <sup>o</sup>	20 (1.301)	<10 (<1.000)
		精製水ワイプ <sup>o</sup> のみ	8.0×10 <sup>4</sup> (4.903)	1.2×10 <sup>5</sup> (5.079)
白菜煮汁 原液	処理前	***	4.3×10 <sup>5</sup> (5.633)	7.5×10 <sup>5</sup> (5.875)
	処理後	アルコールスプレー①のみ	<10 (<1.000)	<10 (<1.000)
		アルコールスプレー②のみ	<10 (<1.000)	<10 (<1.000)
		アルコールスプレー①+ワイプ <sup>o</sup>	<10 (<1.000)	<10 (<1.000)
		アルコールスプレー②+ワイプ <sup>o</sup>	<10 (<1.000)	<10 (<1.000)
		精製水ワイプ <sup>o</sup> のみ	8.6×10 <sup>4</sup> (4.934)	9.3×10 <sup>4</sup> (4.968)
白菜煮汁 10倍希釈 液	処理前	***	1.7×10 <sup>5</sup> (5.230)	5.3×10 <sup>5</sup> (5.724)
	処理後	アルコールスプレー①のみ	<10 (<1.000)	<10 (<1.000)
		アルコールスプレー②のみ	<10 (<1.000)	<10 (<1.000)
		アルコールスプレー①+ワイプ <sup>o</sup>	<10 (<1.000)	<10 (<1.000)
		アルコールスプレー②+ワイプ <sup>o</sup>	<10 (<1.000)	<10 (<1.000)
		精製水ワイプ <sup>o</sup> のみ	1.7×10 <sup>2</sup> (2.230)	4.0×10 <sup>2</sup> (2.602)

アルコールスプレー①：アルコールスプレー／添加物無し

アルコールスプレー②：アルコールスプレー／添加物有り

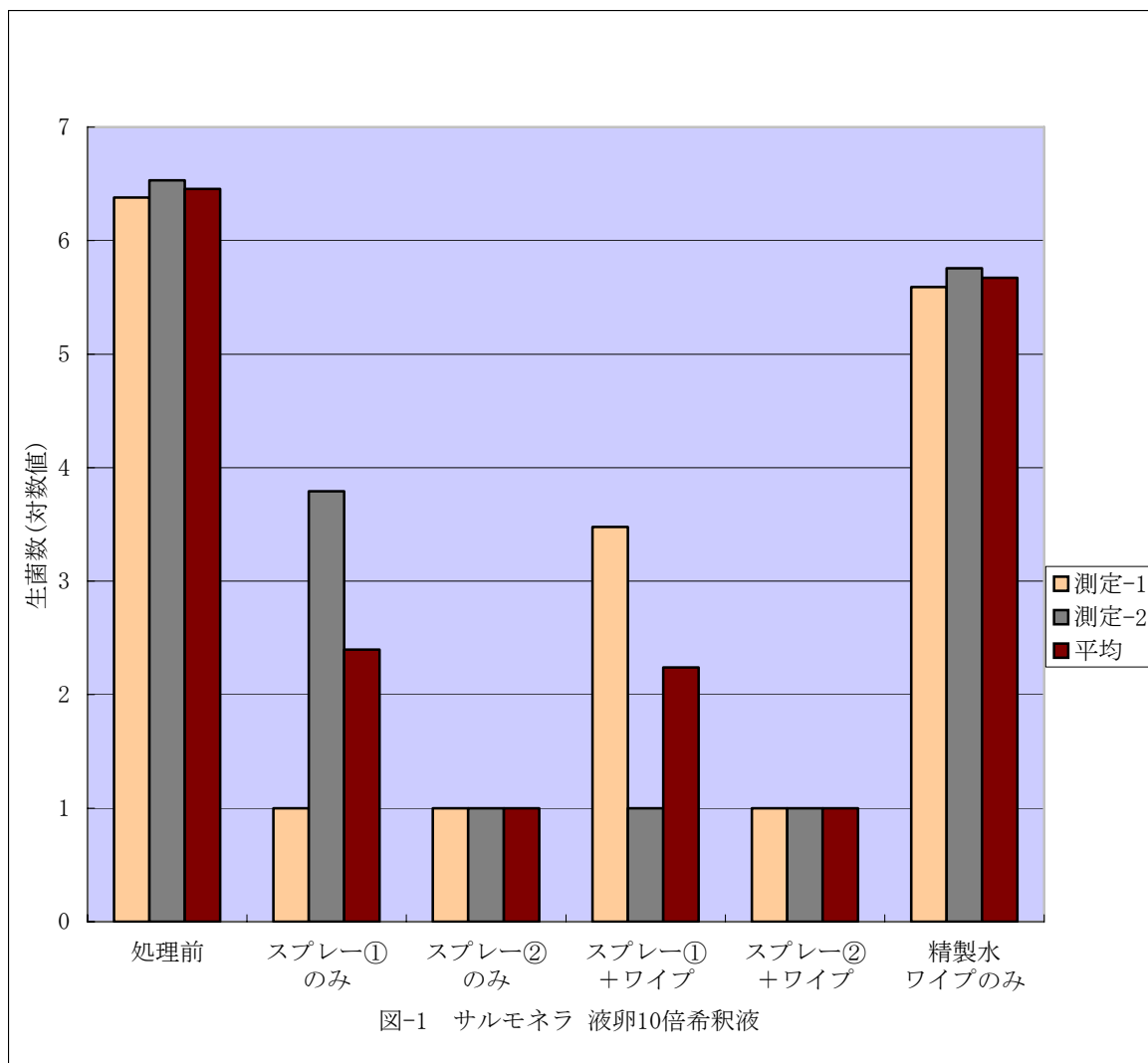
表-2 黄色ブドウ球菌に対するアルコールスプレーの殺菌効果試験結果

接種用菌液	測定	処理方法	試験片当たりの生菌数(対数値)			
			測定-1		測定-2	
液卵10倍 希釈液	処理前	***	2.0×10 <sup>6</sup>	(6.301)	2.2×10 <sup>6</sup>	(6.342)
	処理後	アルコールスプレー①のみ	1.4×10 <sup>5</sup>	(5.146)	3.2×10 <sup>5</sup>	(5.505)
		アルコールスプレー②のみ	6.0×10 <sup>4</sup>	(4.778)	2.4×10 <sup>4</sup>	(4.380)
		アルコールスプレー①+ワイプ <sup>o</sup>	2.1×10 <sup>4</sup>	(4.322)	1.8×10 <sup>3</sup>	(3.255)
		アルコールスプレー②+ワイプ <sup>o</sup>	3.2×10 <sup>4</sup>	(4.505)	50	(1.699)
		精製水ワイプ <sup>o</sup> のみ	1.1×10 <sup>6</sup>	(6.041)	1.1×10 <sup>6</sup>	(6.041)
液卵100倍 希釈液	処理前	***	1.4×10 <sup>6</sup>	(6.146)	1.4×10 <sup>6</sup>	(6.146)
	処理後	アルコールスプレー①のみ	1.2×10 <sup>4</sup>	(4.079)	1.0×10 <sup>3</sup>	(3.000)
		アルコールスプレー②のみ	<10	(<1.000)	6.1×10 <sup>3</sup>	(3.785)
		アルコールスプレー①+ワイプ <sup>o</sup>	1.8×10 <sup>2</sup>	(2.255)	<10	(<1.000)
		アルコールスプレー②+ワイプ <sup>o</sup>	<10	(<1.000)	<10	(<1.000)
		精製水ワイプ <sup>o</sup> のみ	1.6×10 <sup>5</sup>	(5.204)	2.9×10 <sup>5</sup>	(5.462)
白菜煮汁 原液	処理前	***	3.0×10 <sup>6</sup>	(6.477)	4.9×10 <sup>6</sup>	(6.690)
	処理後	アルコールスプレー①のみ	1.5×10 <sup>5</sup>	(5.176)	1.2×10 <sup>4</sup>	(4.079)
		アルコールスプレー②のみ	1.5×10 <sup>3</sup>	(3.176)	<10	(<1.000)
		アルコールスプレー①+ワイプ <sup>o</sup>	40	(1.602)	4.2×10 <sup>2</sup>	(2.623)
		アルコールスプレー②+ワイプ <sup>o</sup>	1.0×10 <sup>3</sup>	(3.000)	<10	(<1.000)
		精製水ワイプ <sup>o</sup> のみ	1.1×10 <sup>6</sup>	(6.041)	1.6×10 <sup>6</sup>	(6.204)
白菜煮汁 10倍希釈 液	処理前	***	1.2×10 <sup>6</sup>	(6.079)	1.2×10 <sup>6</sup>	(6.079)
	処理後	アルコールスプレー①のみ	40	(1.602)	10	(1.000)
		アルコールスプレー②のみ	<10	(<1.000)	<10	(<1.000)
		アルコールスプレー①+ワイプ <sup>o</sup>	<10	(<1.000)	1.3×10 <sup>2</sup>	(2.114)
		アルコールスプレー②+ワイプ <sup>o</sup>	<10	(<1.000)	<10	(<1.000)
		精製水ワイプ <sup>o</sup> のみ	7.9×10 <sup>4</sup>	(4.898)	1.2×10 <sup>5</sup>	(5.079)

アルコールスプレー①：アルコールスプレー／添加物無し

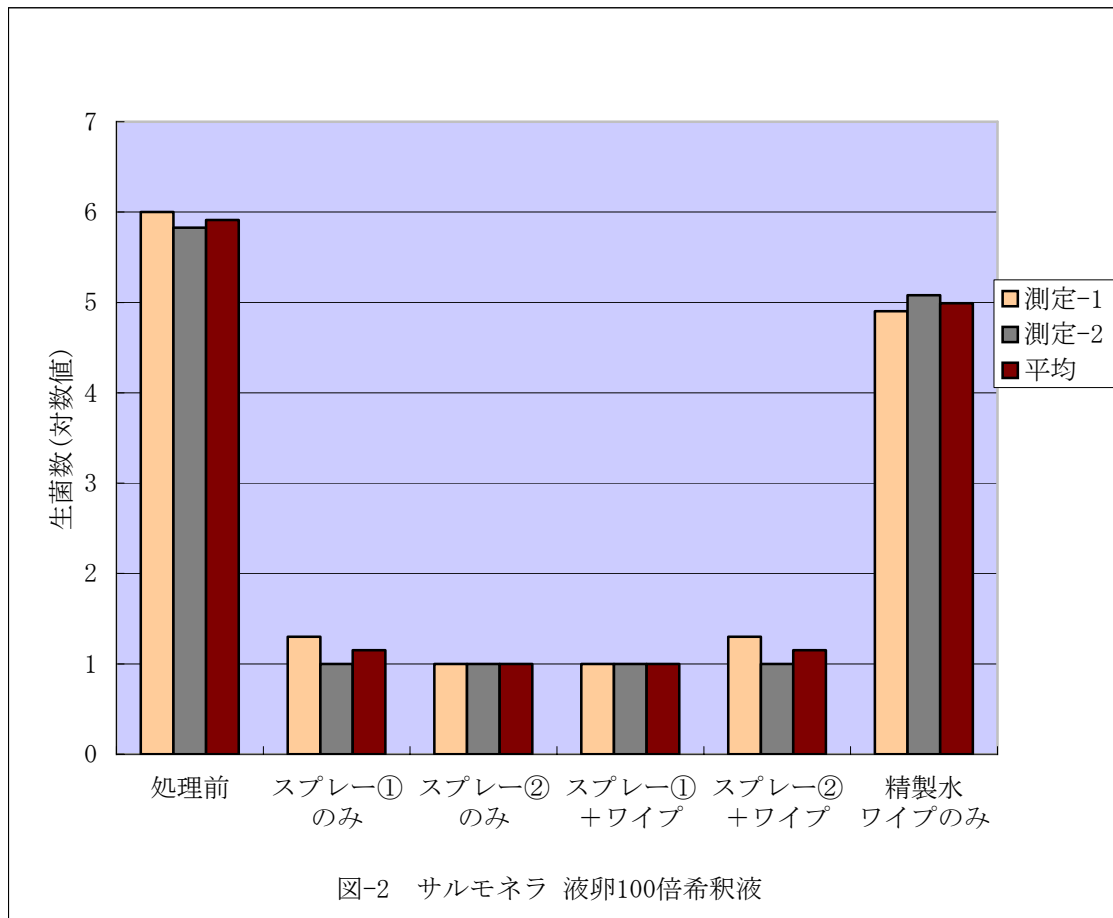
アルコールスプレー②：アルコールスプレー／添加物有り





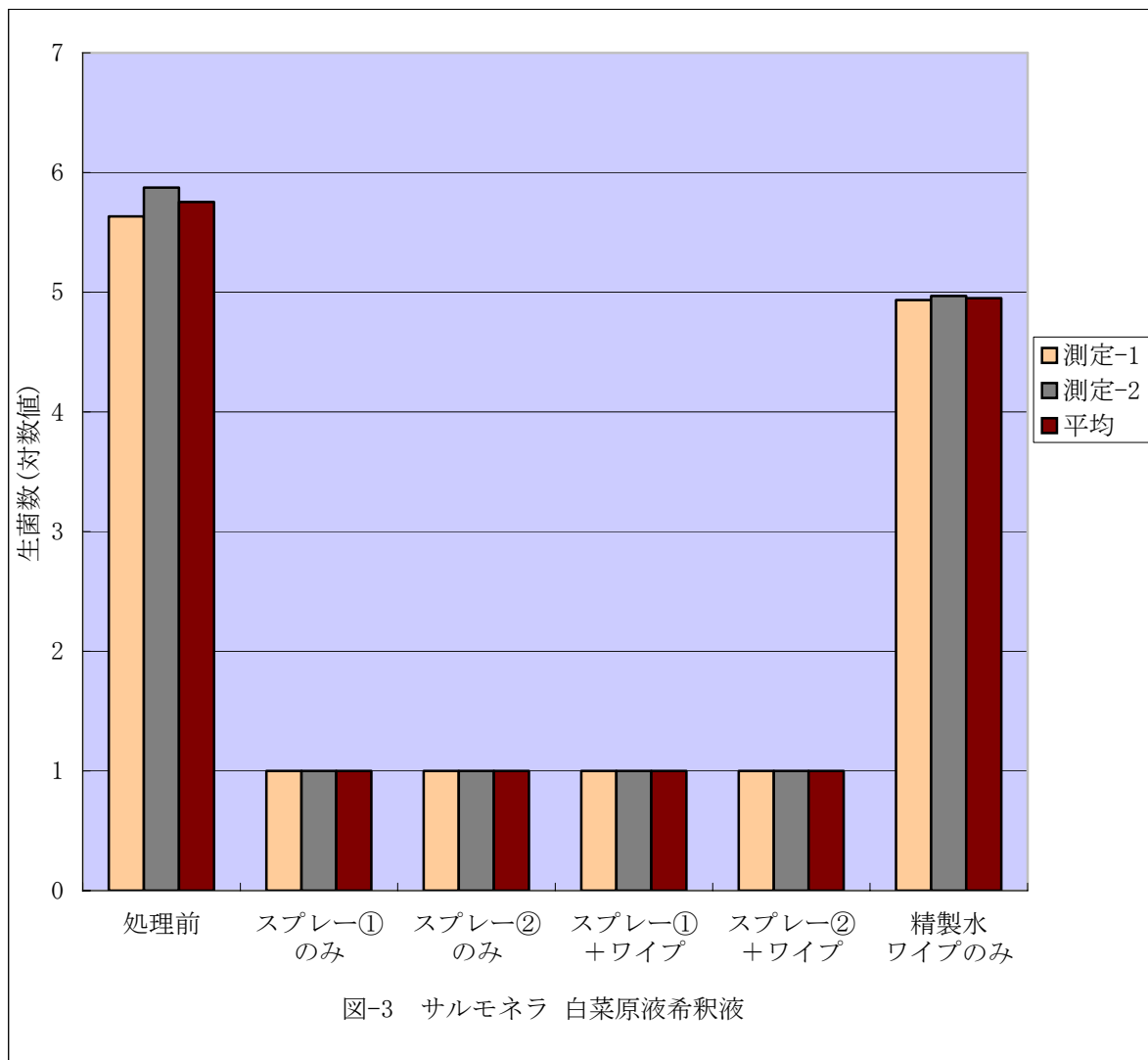
アルコールスプレー①：アルコールスプレー／添加物無し

アルコールスプレー②：アルコールスプレー／添加物有り



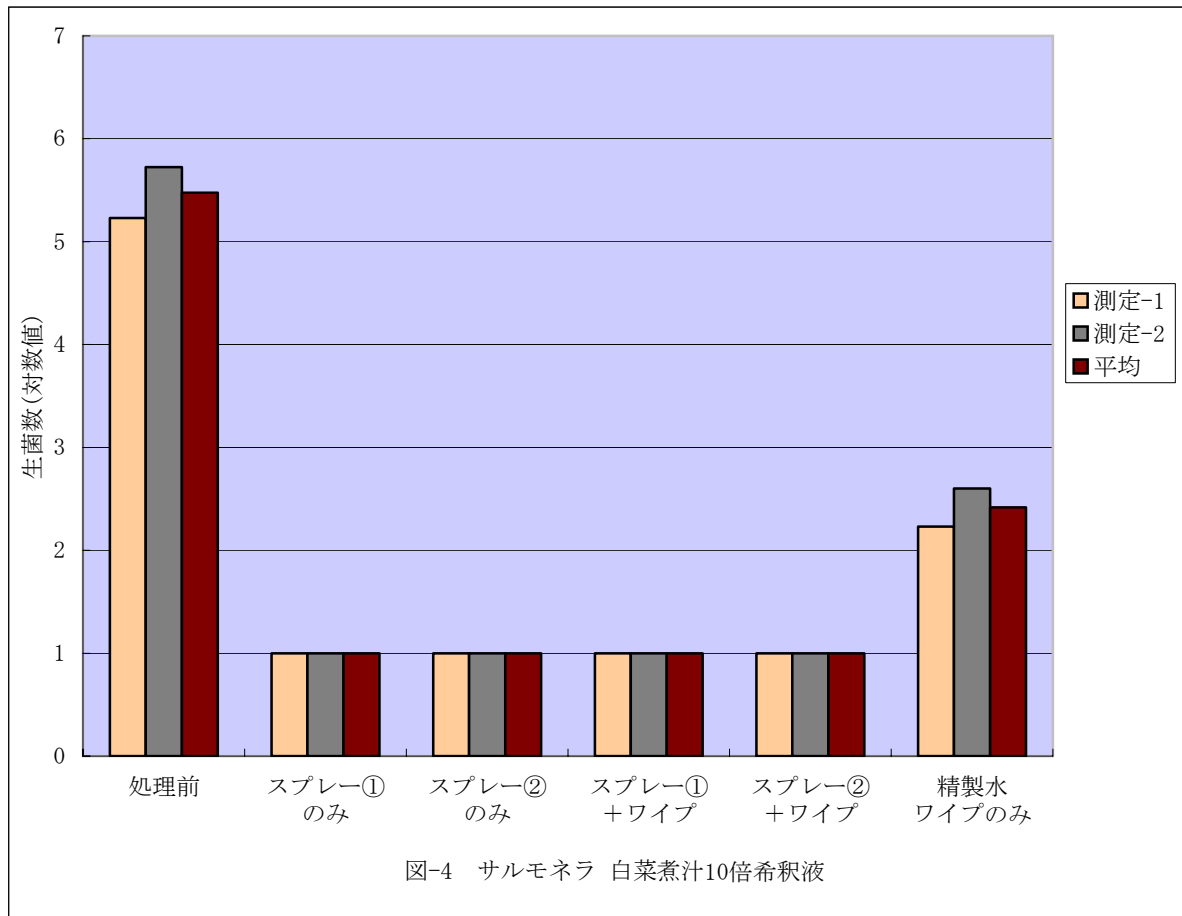
アルコールスプレー①：アルコールスプレー／添加物無し

アルコールスプレー②：アルコールスプレー／添加物有り



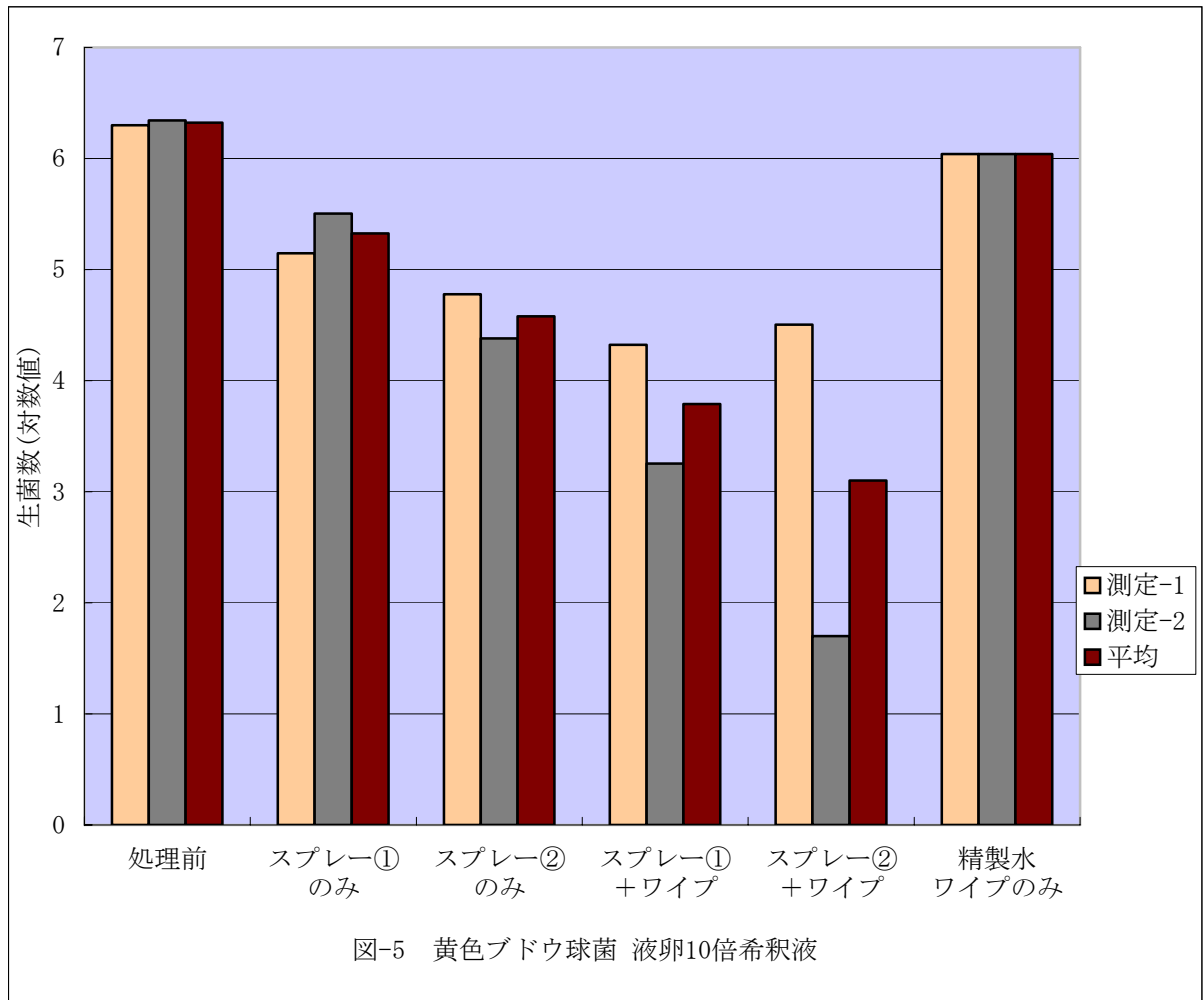
アルコールスプレー①：アルコールスプレー／添加物無し

アルコールスプレー②：アルコールスプレー／添加物有り



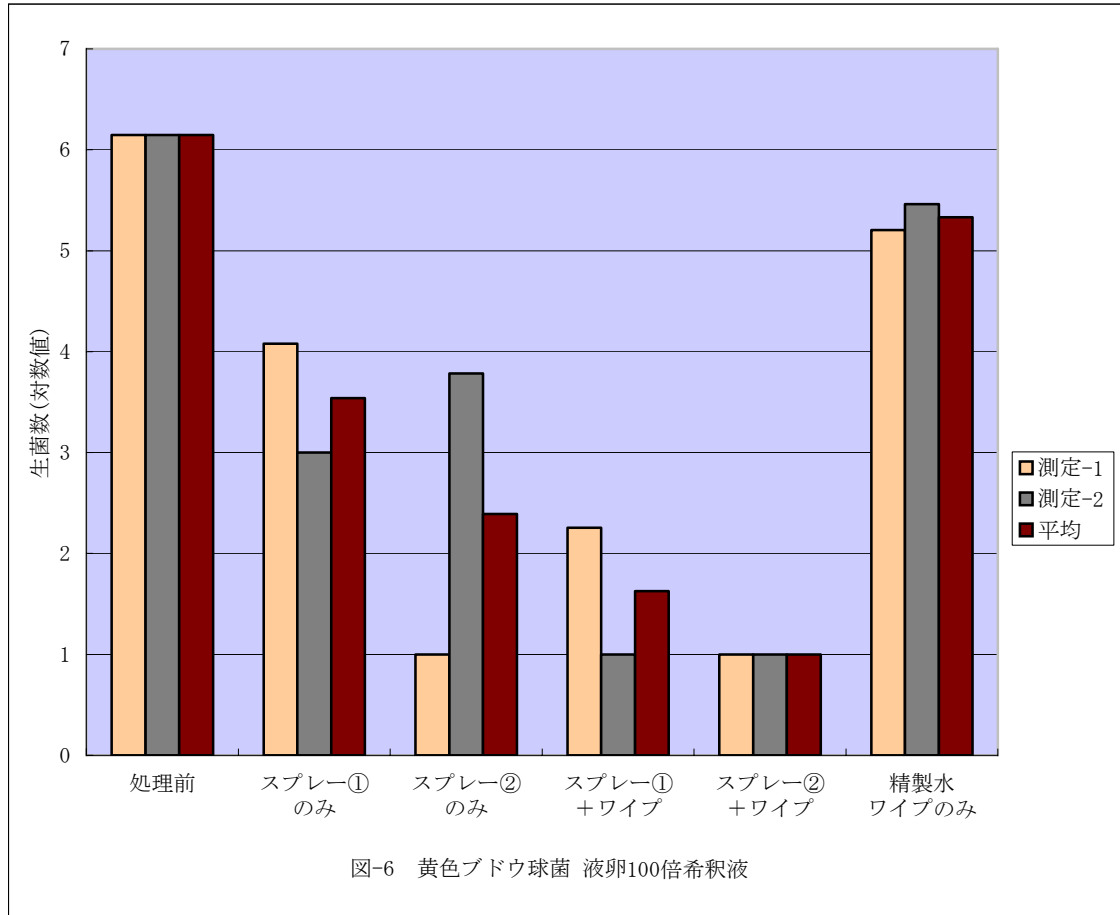
アルコールスプレー①：アルコールスプレー／添加物無し

アルコールスプレー②：アルコールスプレー／添加物有り



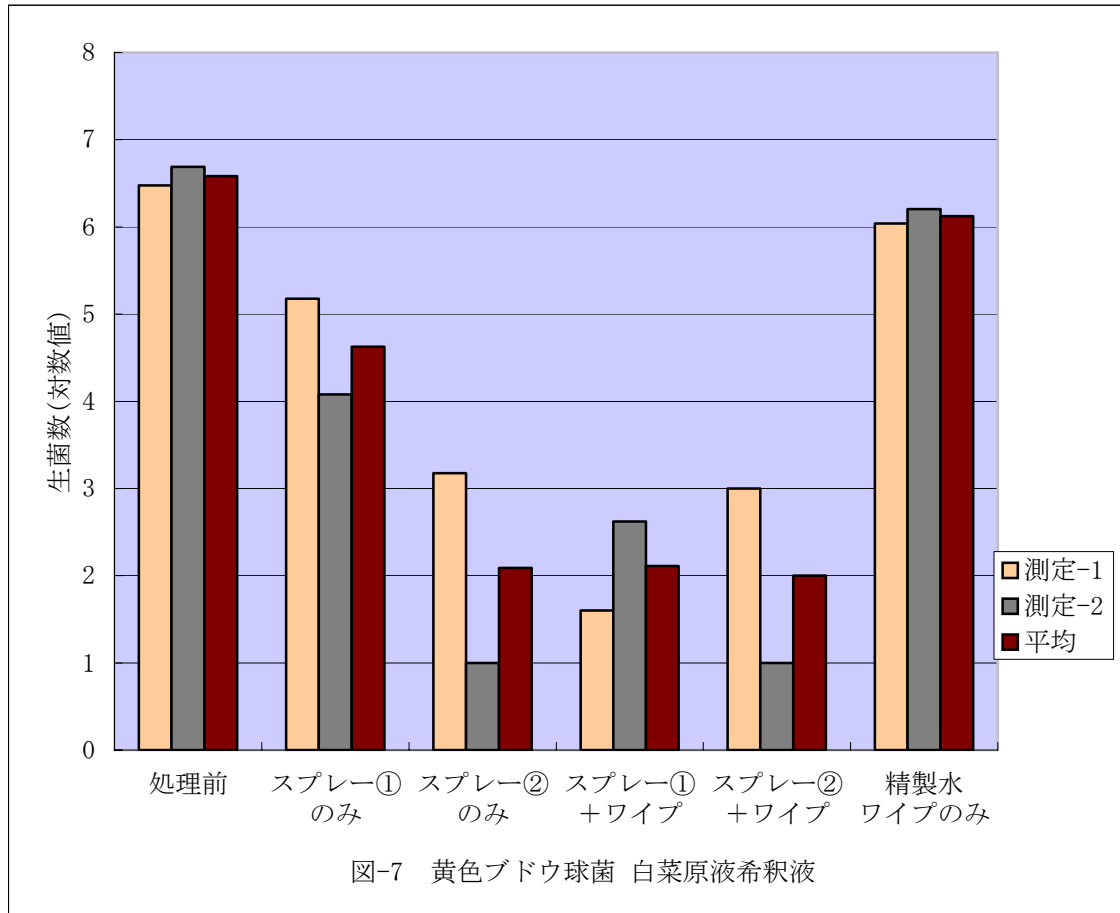
アルコールスプレー①：アルコールスプレー／添加物無し

アルコールスプレー②：アルコールスプレー／添加物有り



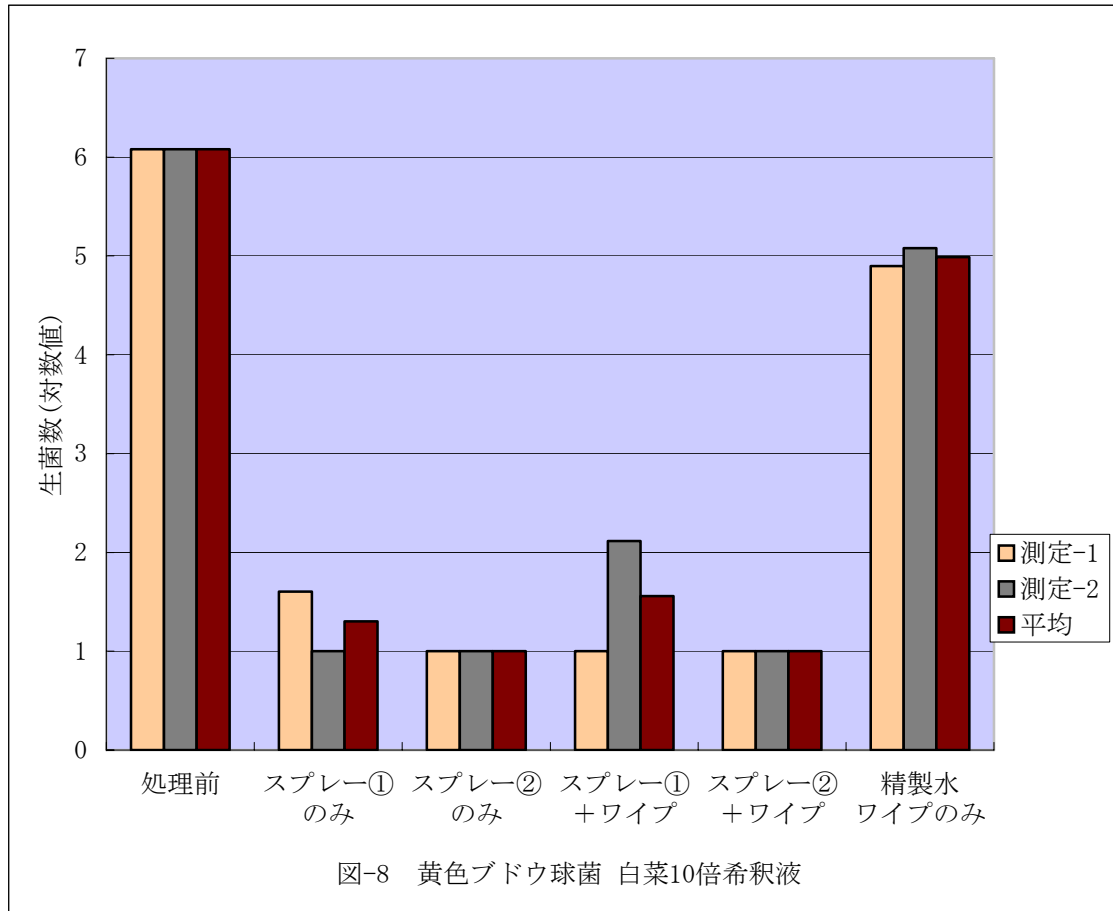
アルコールスプレー①：アルコールスプレー／添加物無し

アルコールスプレー②：アルコールスプレー／添加物有り



アルコールスプレー①：アルコールスプレー／添加物無し

アルコールスプレー②：アルコールスプレー／添加物有り



アルコールスプレー①：アルコールスプレー／添加物無し  
 アルコールスプレー②：アルコールスプレー／添加物有り

以 上