

研究ノート

給食管理実習室における過酢酸の消毒効果

浅野 公介・木藤 伸夫

Disinfection Effects of Peracetic Acid on Equipment in the Food Service Management
Training Room

ASANO Kosuke and KIDO Nobuo

要 旨

実習終了後に給食管理実習室に残存する、食中毒の原因菌を含む細菌芽胞に対する過酢酸の消毒効果を調べた。市販の過酢酸スプレー（過酢酸を170ppm含む）の噴霧により、消毒前に分離された芽胞形成菌を主とする細菌汚染が除去され、無菌状態になることが明らかになった。噴霧時の酢酸による刺激臭や、ステンレス等の金属への腐食作用への注意は必要であるが、近年食品添加物として認可された過酢酸は、食品を取り扱う給食管理実習室の消毒に、安全で強力な効果を示すことが明らかになった。

キーワード

給食管理実習室 消毒 過酢酸 芽胞 食品添加物

目 次

I. 緒言

II. 材料と方法

III. 結果と考察

謝辞

文献

I. 緒言

新型コロナウイルス感染症流行下の2020年、我々は長期にわたった遠隔授業後の給食管理実習室での実習再開にあたり、実習室内の細菌分布状態を調査した¹⁾。その結果、実習前の実習室の調理台や保管庫等の設備からは、長期にわたって生存可能な芽胞形成菌が分離されたが、教員、学生が入室し作業を行う実習期間中を通しては、人体や食材に由来すると考えられる細菌が多く分離された。これらの細菌は、実習終了後1ヶ月ほどで実習前の芽胞形成菌が主流を占める分布に戻り、ヒトの入室や食材の搬入頻度により実習室内の細菌分布が周期性をもって変化すると予想できた。大学のような教育機関では学期間の長期休業の間実習室は使用されず、比較的長期にわたり実習室が未使用の状況となる。この間実習室内へ人の入室はかなり限定されるため、分離される細菌は乾燥や低栄養の環境でも生存可能な非病原性の芽胞形成菌が主流となるが、食中毒の原因となるセレウス菌も分離された。管理栄養士養成施設における必修科目である給食管理実習、給食経営管理実習においては、給食の運営に関する様々な業務の体験、能力の修得を目的としているが、衛生管理も重要な学修目的の一つである。そのため、大量調理の実施にあたって参考にすべき種々のマニュアルが、厚生労働省や文部科学省から提供されている^{2,6)}。マニュアルでは器具等の洗浄・殺菌²⁾、あるいは設備等の洗浄・消毒⁴⁾についての記載はあるが、アルコールと加熱による消毒を主とした対応であり、芽胞の殺菌は考慮されていない。大学における実習で調理された給食は調理後短時間で提供されるため、調理された食品の腐敗や食中毒菌の増殖について考慮する必要性は低いが、可能な限り清浄な環境で調理することが望ましいと考えられる。医療機関における手術室などとは異なり、調理室を完全な無菌状態にすることは必須ではないと考えられるが、近年食品添加物としても認められ、芽胞を効率よく殺菌する効果が知られている過酢酸の消毒効果を調理の現場で調べることは意義があると考えた。

自然界のあらゆる場所に生存する微生物の除去には、化学的方法と物理的方法があり、これら微生物除去のための様々な消毒・滅菌法が開発されている⁷⁾。なかでも細菌の芽胞は乾燥に耐え、熱や消毒薬に対

しても耐性を示すことから、殺菌、除菌が難しい対象として知られている。芽胞を形成する食中毒原因菌には、ウエルシュ菌、セレウス菌、ボツリヌス菌などがある。前回の調査ではセレウス菌以外の食中毒原因菌は検出されなかったが、食中毒原因菌以外にも芽胞を形成する菌は加熱に強いため、食材等に付着すると食品の腐敗を起こす原因となることがある。芽胞は皮膚や手指、あるいは調理台等の消毒に一般的に使用されるアルコール系や、逆性石鹼、クロルヘキシジン等の消毒薬に対して耐性を示し、これらの消毒薬で除去することはできない。芽胞を形成する細菌の殺菌法として、乾熱滅菌法、高圧蒸気滅菌法、放射線滅菌、ガス滅菌法などが知られている。しかし、これらは医療器具や医薬品の滅菌には適しているが、実習室のような空間の殺菌には適さない。また、病室等の殺菌にホルムアルデヒドを用いたホルマリン燻蒸が用いられたこともあるが、近年ホルムアルデヒドの発がん性が指摘され、作業員や環境への負荷に対する懸念から、国内では代替法への切り替が進んでいる。芽胞にも有効な高水準消毒薬としてグルタルアルデヒドと過酢酸が使われている。両者とも芽胞を含むすべての微生物に有効であり、医療現場では内視鏡の滅菌や高度消毒に用いられている。グルタルアルデヒドは、材質を傷めにくいという利点を有するが、一方でその蒸気は呼吸器系や眼の粘膜を刺激し、液の付着により化学熱傷を引き起こすことがあり、その取り扱いには注意が必要な消毒薬である。一方、過酢酸は10分以内という短時間でウイルスや結核菌を不活化、殺菌し、消毒薬に耐性の枯草菌芽胞も10分以内に殺菌できるという特徴がある。しかし、金属に対する腐食性と高濃度での粘膜刺激性が欠点として挙げられている⁷⁾。

過酢酸はこれまで内視鏡や透析機器の消毒薬、飲料工場におけるペットボトルやプラスチックキャップの殺菌に用いられてきた⁸⁻¹⁰⁾。過酢酸は医薬品以外の使用は日本では認められていなかったが、国外では米国、カナダ、オーストラリアにおいて、野菜、果物、食肉等の食品に対して食品添加物として使用されていたことから、日本に輸入される食品にも含まれている可能性があるとして、厚生労働省は2013年から対応を始めた。その結果、2016年に日本でも食品添加物としての認可が下り、食品の表面除菌に使用されるようになった。また、過酢酸は水との反

応により酢酸と過酸化水素に分解するため、毒性をもつ成分の残留は認められない。このような特徴や経緯から、食品を取り扱う給食管理実習室での使用には適していると考えられ、今回芽胞への消毒効果を調べることにした。

II. 材料と方法

1. 菌の採取と培養

前報と同様に¹⁾給食管理実習室内の異なる衛生レベルの場所から、いわゆるスタンプ培養法により試料を採取し、37℃、48時間の培養を行った。25cm²の面積の菌を集めるスタンプ培地「ぺたんチェック[®] 25」(栄研化学)の標準寒天培地と卵黄加マンニット食塩培地(MSEY)の2種類を用いて菌を採取した。ペタンチェック培地で増殖した細菌は、直接、あるいは普通寒天培地またはマンニット食塩寒天培地(いずれも日本製薬株式会社)を用いて純粋培養を行い、菌株の同定に用いた。試料の採取は、実習終了後1か月以上を経た、2022年と2023年8月下旬から9月上旬にかけて行った。

2. 細菌の同定

分離した細菌の同定は、16S rDNAの塩基配列を用いて行った。単独のコロニー、あるいは純粋培養後の独立したコロニーを滅菌蒸留水100μlに懸濁し、95℃で15分間加熱した。10,000×g、2分間の遠心上清をPCR反応の鋳型DNAとして用いた。PCR反応にはEmeraldAmp[®] PCR Master Mix(タカラバイオ株式会社)を使用し、添付マニュアルに従って反応を行った。PCR条件は、95℃5分でDNAを変性後、95℃30秒、55℃30秒、72℃60秒の反応を30サイクル行った。使用したプライマーは、前回と同じものを用いた¹⁾。16S rDNA断片の増幅を0.9%アガロースゲル電気泳動で確認後、Nucleospin Gel and PCR Clean-up(タカラバイオ株式会社)で精製した。精製したPCR断片のDNA塩基配列の決定は、ユーロフィンジェノミクス株式会社に依頼した。

3. 過酢酸

今回使用した過酢酸は、パーサンスプレー(関東化学)⁸⁾を使用した。本製品は過酢酸170ppmに希釈されており、直接対象物に噴霧して使用できる。前回細菌の分布を調べた箇所において¹⁾、1日目に消毒前の試料をぺたんチェックで採取し、その後パーサンスプレーを均一に噴霧した。一晩放置後、同様の場所(前日の採取場所の近傍)で消毒後の試料を採取した。

III. 結果と考察

1. 過酢酸消毒前の細菌分布状況

給食管理実習室内での採取後、37℃、48時間の培養で生じたコロニー数を表1に示した。培地1cm²あたりのコロニー数を表1に示した。スタンプ培養法による一般生菌数を用いた汚染状況をTen Cateの評価法を用いて評価すると^{5, 11)}、まったく菌が分離されない清潔、あるいは検出されたコロニー数が1 colony forming unit(CFU)/cm²未満のごく軽度の汚染という判定結果となった。この結果は前回の調査結果と同等であり¹⁾、給食管理実習室内は、恒常的に清浄な状況が保持されていると評価できた。個別の測定結果から、水を使用する流しの汚染は軽度ではあるが最大であり、調査した箇所の中では細菌の生育に適した環境であることが推測できた。以下に示すが、今回も分離された菌種は芽胞形成菌が主なものであること、芽胞の死滅は環境の影響を受けにくいことを考慮すると、給食管理実習室使用中に細菌の増殖を可能な限り抑えることが、芽胞形成菌の増殖を減らし、実習室中を清浄に保つために重要であると考えられた。今回、調理器具保管庫において細菌汚染は見られなかったが(表1)、実習後の調理器具の洗浄、保管庫での熱乾燥(80℃)、およびその庫内の密封により、汚染が防げたものと考えられた。前回の報告でも実習前後で細菌が検出されていないことから¹⁾、器具保管庫における上記一連の殺菌操作は、器具の清浄な保管にある程度の効果を示していることがうかがえる。ただし、実習期間中には芽胞形成菌を含む人や食材に由来すると考えられる細菌が検出されていたことから、調理器具を頻繁に出

し入れする機会が多い場合には、別の消毒法の導入も考えた方が良いと思われた。

2. 分離した菌株の同定

分離した菌は16S rDNAの塩基配列を用いて、菌種を決定した(表2)。細胞分裂を繰り返して増殖するいわゆる栄養型細菌は、高温や乾燥に弱く、増殖に必要な栄養が供給されないような条件下では、数日で死滅すると考えられている。これに対して一部の細菌が形成する孢子(細菌の場合は芽胞とよばれる)は、高温や酸、アルカリに対しても抵抗性を示し、乾燥状態でも長期間生存し、適度な温度、水分、栄養が供給されると、発芽して栄養型細菌となり増殖を開始する。今回分離されたほとんどの菌種は芽胞形成菌であり、以前報告した実習終了後1ヶ月を経た実習室内の微生物環境と同等であることが明らかになった¹⁾。分離された主要な菌は*Bacillus*属、*Paenibacillus*属、*Geobacillus*属、*Lysinbacillus*属の細菌で、いずれも芽胞形成菌である。また、作業台2から分離された*Streptomyces corchorusii*は、一般に芽胞を形成しない*Streptomyces*属菌の中でも芽胞を形成する珍しい菌種である。

芽胞を形成しない菌種として、流しからは*Sphingomonas desiccabilis*が分離された。*Sphingomonas*属の細菌は、淡水、海水、土壌や植物根系などの様々な環境で生育しており、*S. desiccabilis*はセリウムやネオジムなどの希土類元素(レアアース)を玄武岩から溶出させるバイオマイニングに利用されており、2019年には国際宇宙ス

テーションで実験に使われた。給食経営管理実習室には、食材への付着、あるいは土埃等により持ち込まれた菌が生き延びていたものと考えられた。作業台からは、非芽胞形成菌として*Pseudomonas psychrotolerans*が分離された。*Pseudomonas*属の細菌も水や土壌、植物や動物の組織などの様々な環境から分離される細菌であり、食材あるいは人により持ち込まれたものが生き延びたものと考えられた。

まな板保管庫から分離された*Micrococcus*属の細菌は放線菌の1種で、水や土壌などから分離される。今回分離された*M. luteus*はヒトの口腔や上気道、哺乳動物の皮膚の常在細菌として知られているが、各種抗生物質に対する感受性が高いことから、抗生物質の検定菌として広く用いられており、日本薬局方に規定される抗生物質の微生物学的力価試験や、食品衛生法に基づく食品中の残留抗生物質試験等の公定試験に指定されている株がある¹²⁾。人や動物の常在菌ではあるが、これらによって実習室に持ち込まれたと考えるよりは、やはり土埃等により混入したと考える方が適切であると考えられた。カウンターから分離された*S. achromogenes*は、分子生物学で使用される制限酵素Sac I、IIの供給源として知られているが、*Streptomyces*属菌も土壌に生息する放線菌であることから、土埃等で持ち込まれた菌が生存していたものと考えられた。

3. 過酢酸の消毒効果

本論文は実習終了後に給食管理実習室に残存する芽胞に対する過酢酸の消毒効果を明らかにすることを目的としている。過酢酸の殺菌効果についてはこれまでも詳細に検討されており^{7,9)}、主に実験室で得られた結果が調理の現場でもある実習室で本来の効果が発揮できるかの確認となる。今回調査したすべての場所で、過酢酸の噴霧一晩放置後には細菌は検出されなかったことから(表1)、芽胞形成菌を中心として実習室内の様々な場所で生存している細菌に対して過酢酸が強力な殺菌効果を示すことが確認できた。過酢酸が内視鏡や人工透析装置などの医療器具の高水準消毒薬として使用される場合は、濃度0.3%の溶液に浸漬する方法で用いられ、室内噴霧や清拭には適さないとされている⁹⁾。今回使用したパーサンスプレーは、浸漬用希釈液の1/10以下の濃

表1 PCA、MSEY培地の菌数(CFU/cm²)

採取場所	PCA		MSEY	
	消毒前	消毒後	消毒前	消毒後
過酢酸消毒				
流し	0.68	0	0.32	0
作業台1	0.36	0	0.16	0
作業台2	0.22	0	0.04	0
盛り付け台	0.04	0	0.06	0
まな板保管庫	0.14	0	0.16	0
調理器具保管庫	0	0	0	0
カウンター	0.38	0	0.08	0

表2 分離、同定された菌株

場所	過酢酸	消毒前	消毒後
流し		<i>B. megaterium</i> <i>P. urinalis</i> <i>P. provencensis/urinalis</i> <i>S. desiccabilis</i> <i>G. stearothermophilus/B. flexus</i> <i>B. altitudinis</i> <i>B. cereus</i>	no colony
作業台1		<i>B. toyonensis</i> <i>B. subtilis</i> <i>B. megaterium</i> <i>B. koreensis</i> <i>Streptomyces sp.</i> <i>P. psychrotolerans</i> <i>B. pumilus</i> <i>B. lichenformis</i> <i>B. aryabhattai</i>	no colony
作業台2		<i>S. minutiscleroticus</i> <i>B. altitudinis</i> <i>S. corchorusii</i>	no colony
盛り付け台		<i>P. cookie</i> <i>B. subtilis</i> <i>B. aryabhattai</i>	no colony
まな板保管庫		<i>B. altitudinis</i> <i>M. luteus</i> <i>L. macroides</i> <i>B. proteolyticus/cereus/albus</i> <i>M. luteus/yunnanensis</i> <i>S. hygrosopicus</i> <i>B. pumilus</i> <i>B. cereus</i> <i>B. subtilis</i> <i>B. megaterium</i>	no colony
調理器具 保管庫		no colony	no colony
カウンター		<i>B. megaterium</i> <i>B. aryabhattai</i> <i>S. achromogenes</i> <i>B. pumilus</i> <i>B. safensis</i> <i>B. amyloliquefaciens</i>	no colony

度である0.017% (170ppm)に希釈されており⁸⁾、室内における噴霧の使用でも人体への影響は少ないと考えられた。さらに、2016年に過酢酸が食品添加物として認可されたことから、食品を扱う実習室などの消毒には適切と考えられる。今回使用したパーサンスプレーは、低濃度ではあっても実習室内の効果的な殺菌が可能であることが示されたため、実習再開前の実習室内の消毒等に使用することが考えられる。ただし、実習室内の清浄度を、ほぼ無菌状態にすることに意味があるかは、意見が分かるところであろう。

芽胞を含むすべての微生物に対して短時間で殺菌効果を示す過酢酸の欠点として、粘膜刺激性を示す、金属腐食性を示す点があげられている。過酢酸の原液は6%ほどの濃度で販売されており、使用する際には保護服や手袋、マスクなどの着用が必要となる。しかし、今回使用したパーサンスプレーは希釈済みで、使用に際しての注意事項は少ないが、噴霧した時点で強い酢酸臭を感じるため、人によっては苦手な人もいると思われた。特に噴霧で使用する場合は換気を行い、マスクや保護メガネを着用して、直接眼や皮膚に薬剤を付けないようにすることが望ましい。

過酢酸は鉄、銅、真鍮、亜鉛鋼板、炭素鋼製などの金属製品に、腐食性を示すため使えないことが明示されている。また、天然ゴムや生ゴムに対しては、繰り返し使用した場合劣化を生じるため、これらを使用した製品の消毒には注意を要する^{8,9)}。一方、

ステンレスや樹脂に対しては腐食性を示さない⁸⁾。給食管理実習室内の多くの設備はステンレスでおおわれており(流し、作業台、盛り付け台、まな板保管庫、調理器具保管庫)、上記条件から、実習室設備の消毒に過酢酸を用いることは、特に障害が無いと考えられた。しかし、今回使用した経験から、噴霧処理後ステンレスに付いた傷付近で、金属の腐食と思われる反応が起こっていることが観察された。ステンレスは鉄とクロムの合金で(ニッケルを含む場合もある)、鋼表面のクロムが酸化してできる被膜により表面が保護され錆びにくくなっている。表面に傷がついてもステンレスに含まれるクロムが直ちに酸化され表面を保護すると考えられているが、水分の付着により保護膜が形成されにくくなるとともに、塩分(Cl)の付着や酸、アルカリによって錆が生じることが知られている。さらに、塩分が付着した状態で過酢酸が作用すると、腐食が促進されるとも言われている¹³⁾。調理においては塩などの使用は必須であるため、消毒前の十分な洗浄が必要となる。

本実験において、パーサンスプレーの1回あたりの使用量はおよそ100gであった。100gあたりのコストは、現在使用している消毒用エタノールが約60円に対し、パーサンスプレーでは約250円であった。しかし、消毒用エタノールは実習中比較的高い頻度で使用するのにに対し、パーサンスプレーは実習開始前の年2回の使用で十分に芽胞除去が可能であると考えられるため、消毒用エタノールに比べ費用はそれほどかからないと思われる。また、使用回数が少ないため、上述した過酢酸によるステンレス等への影響も軽減できると考えられる。

謝辞

給食管理実習室の細菌採取にご協力いただいた、松本大学人間健康学部健康栄養学科成瀬祐子氏、および裕野佐也香氏に感謝致します。



図1. パーサンスプレー

文献

- 1) 木藤伸夫・成瀬祐子・裕野佐也香・水野尚子,「新型コロナウイルス感染症の流行による長期休業後の管理栄養士養成施設の給食管理実習室における細菌の分布状況」『地域総合研究』23, pp.83-92(2022).
- 2) 厚生労働省, 大量調理施設衛生管理マニュアル(最終改正:平成28年10月6日付け生食発1006第1号)
<https://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-11130500-Shokuhinanzendu/0000139151.pdf>(閲覧日2022.4.7).
- 3) 文部科学省,「学校給食調理場における手洗いマニュアル」文部科学省スポーツ・青少年局学校健康教育課(2008).
- 4) 文部科学省,「調理場における洗浄・消毒マニュアルPart I」文部科学省スポーツ・青少年局学校健康教育課(2009).
- 5) 文部科学省,「調理場における洗浄・消毒マニュアルPart II」文部科学省スポーツ・青少年局学校健康教育課(2010).
- 6) 文部科学省,「調理場における衛生管理&調理技術マニュアル」文部科学省スポーツ・青少年局学校健康教育課(2011).
- 7) 大久保憲・尾家重治・金光敬二編,『消毒と減菌のガイドライン(第4版)』へるす出版(2020年).
- 8) 関東化学株式会社, (食品添加物)過酢酸製剤について
https://products.kanto.co.jp/web/index.cgi?c=t_product_table&pk=432(過酢酸製剤, 冊子)(閲覧日2023.9.6).
- 9) サラヤ株式会社, アセサイド6%消毒液,
<https://med.saraya.com/products/acecide/>(製品情報PDF)(閲覧日2023.9.6).
- 10) 鈴研株式会社, 過酢酸とは?
<https://www.suzuken-ltd.co.jp/choose/peracetic-acid/>(閲覧日2023.9.6).
- 11) 森井沙衣子・坂本薫,「給食施設におけるHACCPに基づいた衛生管理—重要管理点設定のための基礎研究—」『兵庫県立大学環境人間学部 研究報告』第17号, pp.39-49(2015).
- 12) 独立行政法人製品評価技術基盤機構(NITE)バイオテクノロジーセンター NBRC ニュース編集局, NBRC ニュース第27号
https://www.nite.go.jp/nbrc/cultures/others/nbrcnews/news_vol27.html(閲覧日2023.9.6).
- 13) 日東金属工業株式会社, 技術コラム
<https://www.nitto-kinzoku.jp/contents/sabi-05taisuyokusei.png>(閲覧日2023.9.15).