細菌および酵母の殺菌挙動におよぼす酸化電位の影響

菊池麻知子*, 山下嗣人**, 近藤康人***, 志水康彦***, 滝沢貴久男***, 須齋 嵩***

Effect of Oxidation Potential on the Sterilization Behavior
of Bacteria and Yeast

Machiko KIKUCHI*, Tsugito YAMASHITA**, Yasuhito KONDOH***, Yasuhiko SHIMIZUH***,
Kikuo TAKIZAWA*** and Takashi SUSAI***

Key Words : Electrochemical Sterilization, Oxidation Potential, Sterilization Efficiency, Bacteria and Yeast

1. 緒 言

病原性大腸菌 O-157, サルモネラ菌などの細菌が原因とされる食中毒の集団発生は, 食品衛生に対する不安を増大させた。現在, 用いられている微生物の殺菌方法としては, 塩素化合物, ヨード, 抗生物質などの薬剤による化学的な手法, また, 熱, ガスなどによって微生物の抵抗性に働きかける物理的な原理が応用されている¹⁾。

さらに, 食品工場や日常生活で常用される公共用水などの殺菌・消毒に使用される薬剤に起因する化学物質や有害汚染物質が人体および環境に悪影響を与えることが懸念されている。

そこで, 簡便で安全かつ効果的な水の殺菌方法として, 電解作用を利用した定電位での殺菌—電解殺菌—について, グラム陰・陽性の細菌および酵母(以下「被検菌」と略す)を懸濁させた電解液中での殺菌挙動について検討したので報告する。

2. 実験方法

本実験に用いた電極は, 試験極(作用面積; 1.0 cm²)および対極(作用面積; 3.0 cm²)ともに市販の白金—イリジウム系貴金属酸化物被覆チタン基板電極(DSE)である。また, 電解液は塩素イオン濃度 17 ppm 標準水

(表 1)²⁾をあらかじめ滅菌処理した後, 上記の被検菌を懸濁して調整した。すなわち, 被検菌は大腸菌 *Escherichia coli* (IFO 3972), 黄色ブドウ球菌 *Staphylococcus aureus* (IFO 12732), 酵母の一種である *Saccharomyces cerevisiae* (IFO 2018) の 3 種で, 大腸菌および黄色ブドウ球菌は 35°C, 酵母は 25°C でそれぞれ 24 hr. 活性化して遠心集菌後, 洗菌を 2 回行い, 懸濁して電解液の初期菌数が約 10⁶CFU/mL となるよう調整した。次に, この濃度の電解液で定電位電解(0.5~1.5 V vs. Ag/AgCl sat. KCl)を行い, 電解殺菌の効果および発生塩素量を調べた。

電解殺菌の評価は電解後, 直ちに前記と同じ温度で 48 hr. 培養し, コロニー計数法により生菌数を測定, (1)式に基づく殺菌効率(η)で行い, 目標値を 90%以上とした。

$$\eta = \{ 1 - (Na) / (Nb) \} \times 100 (\%) \cdots \cdots \cdots (1)$$

Na : 電解後 CFU, Nb : 電解前 CFU

また, 発生塩素量は o-トリジン法と残留塩素測定器(樹電気化学計器製 HRC-110 型)を併用し残留塩素として定量した。

3. 結果および考察

被検菌を所定濃度に懸濁した電解液を 0.5 V, 1.0 V および 1.5 V の各電位で定電位電解を行い, 殺菌効率を検討した。0.5 V ではいずれの被検菌においても殺菌効果は認められなかったが, 1.0 V になると黄色ブドウ球菌では 180 sec. 以降で 90%以上の殺菌効率を得られた。

Table 1 Chemical analysis of standardized water²⁾.

Na ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻
5.75	10.02	6.08	0.98	17.75	24.50

<mg / L >

* 関東学院大学 大学院 (〒236-8501 神奈川県横浜市金沢区六浦町 4834)
Graduate school of Kanto Gakuin Univ. (4834, Mutsuura-cho, Kanazawa-ku, Yokohama-shi, Kanagawa 236-8501)

** 関東学院大学 工学部 (〒236-8501 神奈川県横浜市金沢区六浦町 4834)
Fac. of Eng., Kanto Gakuin Univ. (4834, Mutsuura-cho, Kanazawa-ku, Yokohama-shi, Kanagawa 236-8501)

*** 三洋電機(株) 研究開発本部冷熱技術開発プロジェクト (〒370-0596 群馬県邑楽郡大泉町坂田 1-1-1)
SANYO Electric Co., Ltd. R & D Headquarters Heating, Refrigeration and Energy Development Center (1-1-1, Sakata, Oizumi-machi, Ora-gun, Gunma 370-0596)

Fig. 1 Effect of electrolytic oxidation time on the sterilization efficiency (1.5 V).

しかし、大腸菌および酵母の効率は低く目標値には至らなかった。図 1 に 1.5 V における殺菌効率と通電時間の関係を示す。大腸菌および黄色ブドウ球菌は短時間の通電でも高い殺菌効率を得られた。しかし、酵母の殺菌効率は 600 sec. までは 50~60% と低く、1200 sec. で目標値をクリアし、酵母の殺菌には長時間の通電を要することが確認された。これらの酸化電位においては、黄色ブドウ球菌の殺菌が最も容易で、次いで大腸菌で、酵母は殺菌されにくいことがわかった。

つぎに、電解で発生した塩素の挙動について検討した。酸化電位 0.5~1.5 V での残留塩素量を調べた結果、塩素の発生は 0.5 V では認められず、1.0 V では 0.05~0.1 mg/L の極少量を確認した。

しかし、この電位は塩素発生電位より卑であることから、次亜塩素酸イオン (ClO^-) が有効な残留塩素として定量されたものと考えられる。図 2 に 1.5 V での残留塩素と通電時間の関係を示す。それぞれの電解液を用い、定電位電解で得られた残留塩素量を通電時間に対して整理したもので、菌種によって傾向は大きく異なる。残留塩素量は黄色ブドウ球菌を懸濁した電解液で時間に比例して増加し、ブランクとほぼ同様の挙動を示している。一方、大腸菌の残留塩素量は黄色ブドウ球菌よりも少なく、酵母ではさらに少なくなった。

グラム陰性菌の大腸菌とグラム陽性菌の黄色ブドウ球菌では細胞表面構造におけるペプチドグリカン層に明瞭な差があり、一般的にペプチドグリカン層 15~80 nm の黄色ブドウ球菌よりも、2~5 nm の大腸菌が塩素に対して殺菌されやすい³⁾⁻⁵⁾。しかし、本研究では大腸菌よりも黄色ブドウ球菌の殺菌効率が高くなった。

この理由は、残留塩素濃度が影響しており、菌体サイズの違いによる発生塩素の消費が大きく関係しているものと考えられる。すなわち、1.5 V 電解で明らかなように黄色ブドウ球菌を懸濁した電解液中の残留塩素量が、大腸菌や酵母に比べ多くなっていることから、同一電解条件であっても、被検菌により消費される塩素量を考慮する必要がある。濃度一定の塩素雰囲気の場合はペプチドグリカン層の厚い黄色ブドウ球菌よりも薄い大腸菌が塩

Fig. 2 Effect of electrolytic oxidation time on the amount of chlorine (1.5 V).

素の影響を受けやすく、多層構造の細胞壁で覆われた酵母の耐塩素性は強くなる。しかし、塩素が消費され易い希薄濃度の場合は、菌体自身による発生塩素の消費を菌体サイズから検討した結果、0.5~1.0 μm の黄色ブドウ球菌では消費量が少なく、1.1~1.5 $\times$ 2.0~6.0 μm で鞭毛を有する大腸菌の塩素消費量は多く、5~10 μm の酵母での消費量はさらに大きくなっていると考えられる。したがって、電解で発生する塩素濃度は菌体サイズおよび殺菌効率と関連し、菌体サイズと殺菌効率に相関のあることがわかる。

以上の結果から、電解殺菌感受性は、黄色ブドウ球菌 > 大腸菌 > 酵母の順となり、発生塩素量が菌体サイズに影響しているものと考えられる。

4. 結 言

酸化電位、希薄塩素発生域における大腸菌、黄色ブドウ球菌および酵母について電解殺菌を検討した結果、以下の結論を得た。

- (1) 本実験の酸化電位では黄色ブドウ球菌の感受性が高く、次いで大腸菌で、酵母が最も殺菌されにくい。
- (2) 殺菌効率に影響を与える因子は、被検菌の菌体サイズおよび細胞構造の相違であり、電解で発生する塩素量の消費が優先されるためである。なかでも、酵母は、菌体サイズが大きく、多層構造の細胞壁を有するため塩素消費量も多く、耐殺菌性が高い。

(Received October 26, 1999; Accepted December 28, 1999)

文 献

- 1) 黄古城, 高島浩介, 熊谷 進, 高橋淳子; 防菌防ばい, 25, (7), p. 387~391 (1997)
- 2) Y. Shimizu; Sanyo technical review, 21, (2), p. 91 (1989)
- 3) 相田 浩, 高尾彰一, 梶倉辰六郎, 斎藤日向, 高橋 甫; 新版 応用微生物学 I; p. 65, 106 (朝倉書店, 1981)
- 4) 百瀬春生編; 微生物工学; p. 24, 41 (丸善, 1997)
- 5) 大久保耕嗣, 浦上 弘, 多村 憲; 環境感染, 13, (3), p. 184 (1998)