

卵殻表面に付着するクチクラ層の木酢液を 利用した除去と卵殻の殺菌法

矢後啓司・引地宏二・折原惟子

Comparative Study to Disinfectant Method of Shell-eggs on which Cuticular Layer were Separated by Wood Vinegar.

Keiji YAGO, Kouji HIKICHI, Yuiko ORIHARA

食品衛生法の改正によって新たに盛り込まれた、HACCP方式の活用と食卵の安全性確保を目標として、卵殻表面付着細菌の除去、殺菌法について検討した。

卵殻の表面を被覆しているクチクラ層は木酢液に浸漬すると、容易に膨化、剥離できて、ブラッシングによる洗浄効果を向上させた。この方法により得た洗浄卵の細菌数は、 10^3 /ml 個以下となり、0.06%次亜塩素酸ソーダ消毒液の5分の浸漬で、菌が全く回収されず、卵殻強度やハウユニット等の卵質に影響しなかった。

キーワード：クチクラ層、木酢液、次亜塩素酸ソーダ、卵質

鶏の産卵現象は卵巣に成熟卵胞の形成に続いて引き起こされる排卵に始まり、漏斗部、膨大部、峽部、卵殻腺部および膣部を経て総排泄口から産卵される。このうち、卵殻腺部では糖を含む蛋白質の粘液が分泌され、卵表面を滑らかにして放卵を容易にする¹⁾。この放卵過程で唯一腸内細菌と接触する機会が総排泄口部にあり、ここで卵殻表面に細菌が付着することになる。また、腸内細菌の一種であるサルモネラ菌については幅広く研究されており²⁾、鶏の雛に病原性のある本菌の感染を受けて発症し、以後そのまま生存することにより、保菌鶏となって卵黄、卵白や糞便から菌が検出されている。

このように卵殻の表面には腸内細菌と接触する機会があつて、肉眼的に清潔であっても種々の細菌が付着している。

本研究は鶏卵の衛生管理を重視した HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point) 方式^{2,3)}に注目すると共に鶏卵の長期保存を目指して、研究の視点を卵殻の表面に付着する細菌の浄化に置いて検討した。

材料及び方法

1 試験材料

- (1) 試験卵：当所で飼養されている品種 (TX, W77, イサホワイト, ジュリア, シヤパーサー, イサローゼ) の卵を充当した。
- (2) 洗浄液：苛性ソーダ、木酢液
- (3) 殺菌資材：次亜塩素酸ナトリウム、ソフト酸化水、グルタールアルデヒド、苛性ソーダ、ヨードチンキ

2 試験方法

(1) 食卵の洗浄方法

流水洗浄：水道の蛇口から約 10cm の位置で 30 秒間の流水を行った。

ブラシ洗浄：スポンジタワシで良く擦りながら流水洗浄した。

(2) 殺菌資材の使用法

各殺菌資材の使用濃度は 6%次亜塩素酸ナトリウム液、25%グルタールアルデヒド液、苛性ソーダ、ヨードチンキとも 1.0% (100 倍液) 液を基準とし、蒸留水で調整した。

ソフト酸化水については Super Clean-TE (株式会社オムコ) 装置で製造したものを直接使用した。

この調整液について供試卵の浸漬および手動スプレーによる 5ml の噴霧を行った。

(3) 効果判定

洗浄および殺菌処理の済んだ供試卵を直ちに市販のパックに収め、室温に約 1 時間放置してから卵殻表面に付着した細菌の回収を行った。

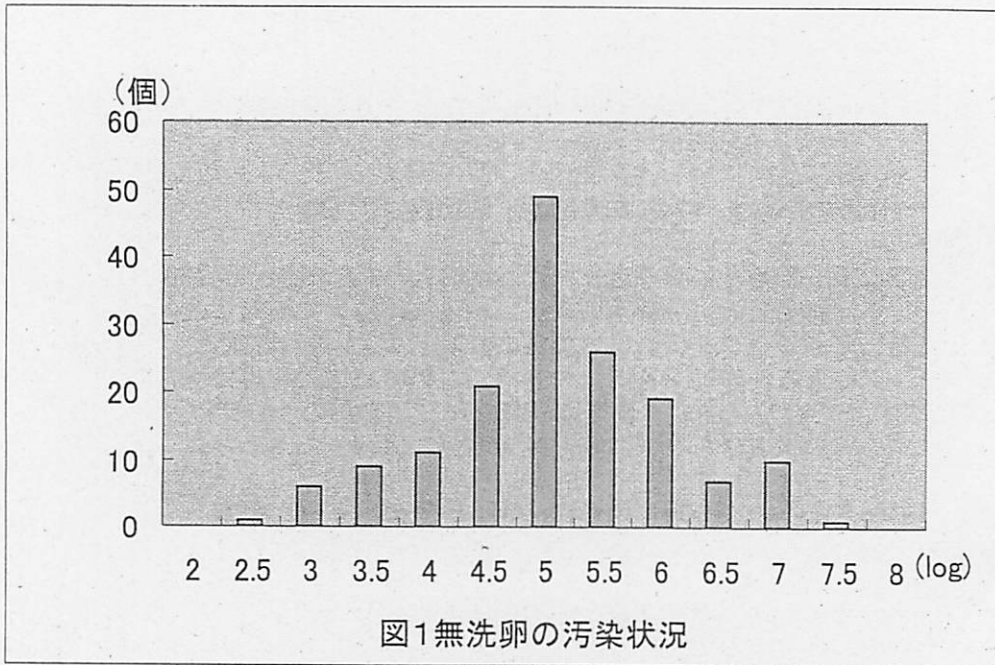
細菌の回収方法は 1ml の生理食塩水の入った小試験管に滅菌された綿棒を予め浸しておき、この綿棒で供試卵の全表面を清拭した。この溶液を 10 倍段階希釈してから、このうちの 25 μ l を DHL 培地、110 培地、TATAC 培地、変法 LBS 培地、GUM 培地、血液寒天培地およびクロストリジア培地へ接種して、37℃、48 時間好気培養および嫌気ジャートによる嫌気培養後検出された菌数を算定した。

卵質検査については卵重、卵殻強度およびハウユニットを常法により行なって調査した。

結 果

1食卵の汚染状況
(1) 無洗卵の汚染状況

無洗卵160個について、その汚染状況を総菌数で調べたところ、図1のとおりで最小値(log)が2.556/ml個、最大値7.146/ml個となり、5.000個前後に検出頻度が多いことを示した(図1)。



(2) 細菌の種類と菌数

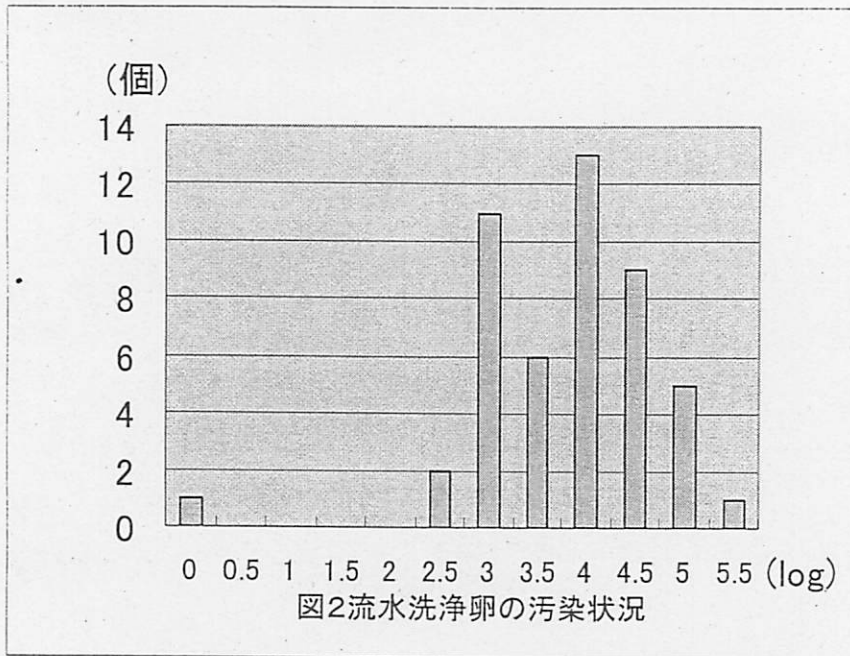
表1 卵殻表面から検出された菌種と菌数(log)

試 験	I	II	III	IV
供試卵数	10	10	10	10
好気性総菌数	5.637	-	4.712	4.462
嫌気性総菌数	-	-	3.732	3.712
Escherichia Coli	0.903	0.000	0.000	0.000
Enterobacteriaceae	2.181	1.079	1.643	1.380
Staphylococcus	4.726	-	3.769	3.505
Streptococcus	4.072	-	2.301	2.120
Lactobacillus	2.536	3.702	1.924	1.380
Clostridia	0.000	0.000	0.000	0.000

卵の表面に付着している細菌を特定して、その菌数を調べたところ、好気性総菌数が $10^4 \sim 10^5$ /ml個、嫌気性総菌数で 10^3 /ml個検出され、無菌の鶏卵は検出されなかった。(個)の検査のうち1回検出され、5%(2/40)の検出率を示した。球菌についてはブドウ球菌属が $10^3 \sim 10^4$ /ml個、連鎖球菌属で $10^2 \sim 10^4$ /ml個の範囲であった。乳酸菌属

については $10^1 \sim 10^3$ /ml個となり、検出菌数が大きく振れた。嫌気性菌であるクロストリジイ属菌は全く検出されなかった。

2 洗浄機能
(1) 流水洗浄



流水洗浄卵80個について総菌数を調べてみると、最小値0.000/ml個、最大値5.380/ml個となり、2.301個以下はなかった。また菌が全く検出されない供試卵が1個(1.3%)検出された(図2)。

そこで、洗浄効果は洗浄する時の水温に影響さ

れることも考えられるので、調査したところ、浸漬とブラッシングに差がなかったものの、流水洗浄では水道水(18℃)で平均3.460/ml個であったのに対し、温水で平均2.633/ml個となり、菌数の減少を認めた(表2)。

表2 水温の違いによる洗浄効果(log)

温水 (42℃)				水道水 (18℃)			
浸漬	流水	ブラッシング	対照	浸漬	流水	ブラッシング	対照
3.826	2.633	1.698	4.336	3.857 ^{ab}	3.460 ^{ab}	1.698 ^b	5.161 ^a

異符号間有意差 (p<0.05)

(2) ブラッシング

ブラッシング卵88個の洗浄効果は流水洗浄よりもさらに改善され、6個(6.8%)に菌を認めなかった(図3)。

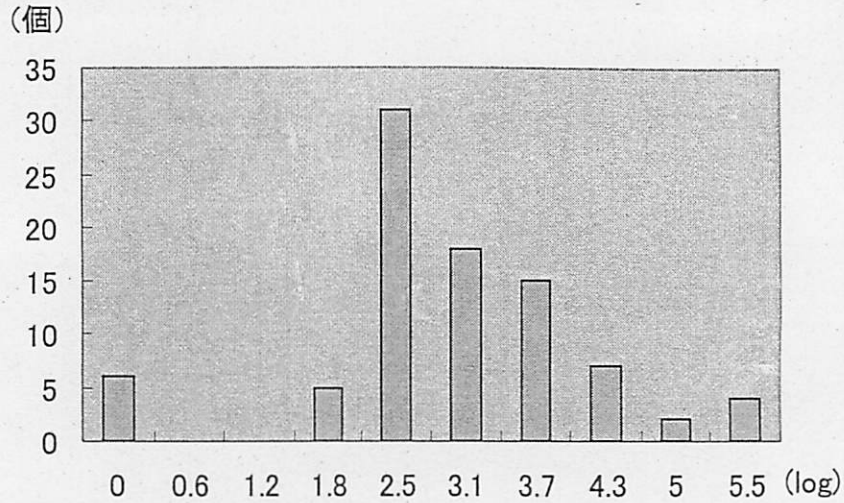


図3 ブラシ洗浄卵の汚染状況

(3) 木酢液洗浄

木酢液には卵殻表面に付着している蛋白質を膨化、剥離する機能を備えていることを予備試験で得ていたので、木酢液浸漬後の流水洗浄効果を調べた。

菌数となり、反対に10倍以上の希釈から回収される菌数も 10^4 /ml個と増加した。浸漬時間による影響では原液5分の浸漬でその機能を発揮し、10分浸漬とほぼ同一の値を示した(表3)。

その結果、木酢液は原液の使用で 10^2 /ml個以下の

表3 木酢液浸漬後の水洗効果(log)

浸漬時間	供試卵	原液	10倍	50倍	100倍
5分	白色卵	1.778	4.778	3.705	3.748
	褐色卵	1.778	3.301	4.963	2.903
	平均	1.778	4.491	4.635	3.505
10分	白色卵	1.778	3.710	3.792	3.643
	褐色卵	2.000	3.079	3.763	4.094
	平均	1.903	3.501	3.778	3.924
対照	白色卵	4.394	4.505	4.000	3.647
	褐色卵	3.892	3.602	3.556	3.414
	平均	4.212	4.255	3.832	3.546

3 抗菌作用

(1) 殺菌資材の抗菌効果

短時間で殺菌できると思われる殺菌資材5種類を選び、その抗菌作用について食卵から回収した菌種を用いて比較したところ、ソト酸化水8倍、苛性ソーダ100倍、グルタルアルデヒド200倍、次亜塩素酸ナトリウム3200倍、ヨドチンキ6400倍まで菌の発育を認めなかった(表4)。

表4 供試材の抗菌効果

	次亜塩素酸Na	グ ル タ - ル ・ A	ヨ - ト フ ィ ン	水酸化Na	酸化水	水道水
供試濃度 (%)	1.0	1.0	1.0	1.0	原液	原液
最終希釈 (倍)	3200	200	6400	100	8	<1

次に、無洗浄卵およびブラシ洗浄卵に各殺菌資材を噴霧および浸漬して、抗菌効果を調べたところ、無洗浄卵ではグ ル タ - ル ・ A に抗菌作用を認め、噴霧で80.0%、浸漬で60.0%の抑制率を示し

た。一方、ブラシ洗浄卵については噴霧、浸漬とも次亜塩素酸ナトリウムおよびグ ル タ - ル ・ A 処理により全く菌が回収されなくなった。また各殺菌剤とも噴霧と浸漬の抗菌効果に特徴のある傾向を認めなかった(表5)。

表5 各試材による無洗浄卵及び洗浄卵の抗菌効果(log)

試材	無洗浄卵			ブラシ洗浄卵		
	噴霧	浸漬	対照	噴霧	浸漬	対照
次亜塩素酸 ナトリウム (500ppm)	1.806 (0/5)	1.857 (0/5)	4.299 (0/5)	0.000 (5/5)	0.000 (5/5)	2.079 (0/5)
酸化水 (原液)	3.940 (0/5)	4.519 (0/5)	5.257 (0/5)	3.184 (0/5)	1.380 (4/5)	3.188 (0/5)
木酢液 (原液)	5.903 (0/5)	3.837 (0/5)	5.842 (0/5)	2.107 (2/5)	2.681 (1/5)	3.907 (0/5)
グ ル タ - ル ・ A (2500ppm)	0.903 (4/5)	2.017 (3/5)	5.266 (0/5)	0.000 (5/5)	0.000 (5/5)	4.745 (0/5)
水酸化ナトリウム (10,000ppm)	3.301 (0/5)	2.593 (0/5)	5.042 (0/5)	1.806 (1/5)	0.903 (4/5)	2.907 (0/5)

():抑制率

そこで、ブラシ洗浄後の卵殻表面に付着する細菌について、各殺菌資材の濃度別抗菌効果を調べた結果、噴霧では次亜塩素酸ナトリウムおよびグ ル タ - ル ・ A とともに0.8%液まで抗菌効果を認め、水酸化ナトリウムにはその効果を認めなかった。また浸漬に

ついては次亜塩素酸ナトリウムおよびグ ル タ - ル ・ A とともに0.2%液まで抗菌効果を認め、水酸化ナトリウムは原水でその効果を認めた(表6)。

表6 洗浄卵に対する各殺菌資材の濃度別効果(log)

%	浸 漬				噴 霧			
	次亜塩素酸ナトリウム	グ ル タ - ル ・ A	酸化水	対 照	次亜塩素酸ナトリウム	グ ル タ - ル ・ A	酸化水	対 照
0.1	1.778	1.000	•	2.301	1.447	1.778	•	2.812
0.2	0.000	0.000	•	3.049	1.903	2.819	•	2.462
0.4	0.000	0.000	•	1.602	1.301	1.000	•	1.447
0.8	0.000	0.000	•	2.342	0.000	0.000	•	3.064
1.0	0.000	0.000	•	4.639	0.000	0.000	•	2.079
100%	•	•	0.000	1.954	•	•	2.556	2.079

(2)木酢液と次亜塩素酸ナトリウム混合液の相加効果
本試験に使用した殺菌資材にはそれぞれ特徴があ

って、木酢液の洗浄機能を期待すれば低濃度で抗菌機能のある次亜塩素酸ナトリウムを選択することがで

き、その相加効果を検討したところ、6%次亜塩素酸ナトリウムを1%を含む混合液に5分間浸漬すれば菌が全く回収されなくなった。また6%次亜塩素酸ナトリ

ウムを0.1%以上の混合液で、1分間の浸漬により、それぞれの菌数が1.845、1.954および1.447/ml個となった(表7)。

表7 木酢液と次亜塩素酸ナトリウム混合液の抗菌効果(log)

時間 (分)	次亜塩素酸ナトリウムの濃度(%)			
	0	0.1	0.5	1.0
0	4.322	4.544 ^a	5.130 ^a	4.322 ^a
1	2.113	1.845 ^{ab}	1.954 ^b	1.447 ^b
5	2.204	1.000 ^b	1.447 ^b	0.000 ^b
10	1.903	1.301 ^b	1.301 ^b	0.000 ^b

異符号間有意差(P<0.01)

3 卵質への影響

卵殻表面のクチクラ層を除去して卵重、卵殻強度、ハウエットおよび細菌数について経日的な変化を追跡した。

その結果、卵重、ハウエットとも処理卵、無処理卵に関係なく日数の経過につれて測定値が減少し、14日後の卵重については平均処理卵3.0g、無処理卵2.4g、ハウエット値については処理卵40.3、無処理卵37.1減少した。また卵殻強度については処理卵0.

29kgの増加、無処理卵0.44kg減少した。回収された細菌数は処理卵の14日目に1/10個から1個のコロニーを検出した(表8)。

表8 木酢液と次亜塩素酸ソーダ混合液の卵質への影響

経過日数	処理卵				無処理卵			
	卵重	H U	卵殻強度	菌数	卵重	H U	卵殻強度	菌数
0	67.2	84.9	3.59	0.000	66.6	79.5	3.95	5.178
7	66.5	51.0	4.12	0.000	65.6	50.4	3.73	4.493
14	64.2	44.6	3.88	0.714	64.2	42.4	3.51	4.590

考 察

食卵の安全性に注目した場合、腸内微生物の一つであるカンジダ菌についての対応策が最重要課題となっている。種鶏場での種鶏検査やHACCP方式の採用なども本菌の排除を意識した代表例でもある^{2,3)}。その一方で生産された鶏卵が生産と販売の過程で破卵、ヒレ卵となって流通しており、これが外界に飛散している微生物の増殖を助長していることも否定できない。また卵の表面に付着しているクチクラ層の存在意義は外部からの細菌の侵入を阻止するという考え方が優先しており⁴⁾、卵殻表面細菌の衛生処理については画一した方法もなく、今日では各養鶏場やGPセンターごとに独自の方策が執られているにすぎない。

卵の表面のクチクラは7~8層で構成されており、仮に

細菌がこの層の中間に混入したとすれば各種殺菌剤の効力も半減するだろうし、またこれが細菌の生存性を助長していることも考えられる。

通常、鶏卵の洗浄は45℃以下の温水によるシャワーまたはブラッシングで行われ、その効果は本試験で検証した成績からも判るように低く、この原因は卵殻表面のクチクラ層にあると考えられる。そこで、クチクラ層の除去資材を選定したところ、木酢液にクチクラ層を短時間で膨化、剥離する機能があり、除去の程度を細菌数で調べてみると、10²/ml個以下にまで減少させた。

実験的に、クチクラ層の除去の方法としてEDTA(Ethylene Diamine Tetraacetic Acid)や苛性ソーダで分離できるとされる⁵⁾。しかし、この処理方法では短時間で処理できないことから、養鶏場やGPセンターにお

ける一日の処理数を数千、数万と考えれば、その実用化が難しいと思われる。一方、木酢液は短時間で洗浄処理できるが、有色卵ではクチク層の剥離とともに脱色するため、白色卵に限定される欠点を共有する。

殺菌資材については次亜塩素酸ソーダ、グルタールホルミドの両資材に強い抗菌力を認め、実用化に向けて検討したところ、次亜塩素酸ソーダについては問題なかったが、グルタールホルミドについては本剤が気孔より浸入して卵殻膜と反応して淡黄色のポットを形成する。このため、食卵への残留性に問題を残した。

一方、次亜塩素酸ソーダは殺菌の主成分が塩素であることから時間の経過とともに消失し、残留性は問題ないとされ、食卵の処理に使用できる。ただし、食卵の殺菌を目標とした場合、洗浄卵に付着する総菌数が 10^2 /ml個以下であることが実験的に必要であり、このためには効率的に洗浄できる木酢液の利用が推奨される。

卵殻表面のクチク層が消失した場合や次亜塩素酸ソーダの処理によって、その後の卵質に影響することも考えられるので、現在一般に規定されている賞味期限を基に追跡調査したが、卵殻強度やH₂Oに異常なかった。このことから、木酢液と次亜塩素酸ソーダの混合液で鶏卵を洗浄殺菌処理することにより衛生的で安全な食卵が消費者へ提供できるものと思われる。

文 献

- 1) 佐藤 泰(1980)食卵の科学と利用、地球社、P10-44
- 2) 遠藤秀紀(1996)養鶏分野におけるHACCP方式の導入、鶏病研報32-3,11 9-124
- 3) 太田博昭、山根祐治(1996)養鶏農場における殻付卵のHACCP、鶏病研報 32巻増刊号29-39
- 4) 佐藤寛子、竹原一明、中村政幸(1997)Salmonella Enteritidis感染鶏の排菌に及ぼす産卵開始の影響、鶏病 研報、33-3,160-165