

強酸性電解水による乳頭清拭の効果

荒井 威吉・仙田 晶嗣・山上 貴礼・無量谷重希・中村 正・浦島 匡
 帯広畜産大学, 帯広市 080-8555

Efficacy of Acidic Electrolyzed Water for Premilking Teat Cleaning and Disinfection

Ikichi ARAI, Akitsugu SENDA, Kihiro YAMAGAMI, Aki MURYOYA,
 Tadashi NAKAMURA and Tadasu URASHIMA

Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine,
 Obihiro-shi, 080-8555

キーワード : 強酸性電解水, 乳頭清拭

Key words : Acidic electrolyzed water, Premilking teat cleaning and disinfection

Abstract

The efficacy of the use of acidic electrolyzed water (AEW) for premilking teat cleaning and disinfection (TCD) was evaluated using a split-udder experimental design. The efficacy of AEW for TCD was compared with that of NaClO solution contained 200 ppm available chlorine (HClO). The viable cell counts levels of SPC, lactic acid bacteria, thermotrophic bacteria and anaerobe (group A) which contaminated on teat skin were over 10^3 cfu/cm², whereas psychrotrophic bacteria and coliforms (group B) were less 10^2 cfu/cm². After TCD with AEW and HClO, viable cell counts levels of the microorganisms of group A and group B were decreased to 2.8~7.6% and 10.0~14.5% respectively. On the other hand, the efficacy of AEW or HClO for TCD was almost constant throughout one year. The microorganisms of group A and coliforms decreased gradually from summer to winter, but only psychrotrophic bacteria increased gradually from summer to winter. It was concluded that the efficacy of AEW for TCD was almost equal to that of HClO, and thus AEW could be effectively used for TCD.

要 約

搾乳時における強酸性電解水による乳頭清拭の効果を検討した。同一泌乳牛の右前後乳頭を強酸性電解水で、左前後乳頭を NaClO 溶液で清拭し、乳頭清拭の前後に各々の乳頭表皮 5 cm² を拭き取り、一般細菌数、乳酸菌数、高温菌数、嫌気性菌数、低温菌数および大腸菌群数を測定し、両者の清拭効果を比較した。強酸性電解水は、NaClO 溶液と同等の乳頭清拭効果を示し、乳頭表皮の汚染菌数が 10^3 cfu/cm² 以上ある一般細菌、乳酸菌、高温菌および嫌気性菌の乳頭清拭後の残存率は 2.8~7.6%、 10^2 cfu/cm² 以下の低温菌数と大腸菌数の残存率は 10.0~14.5%であった。乳頭清拭の

効果は作業者に近い乳頭の方が高い傾向がみられた。各乳頭表皮の汚染細菌数は菌種毎に類似の水準を示し、低温菌は夏から冬に向かって漸増したが、その他の 5 菌種は夏から冬にかけて漸減する季節的変動を示した。強酸性水と NaClO 溶液による乳頭清拭の効果は季節的な影響を受けず、ほぼ一定であることが認められた。

緒 言

一般に搾乳前の乳頭清拭の殺菌剤として NaClO 溶液が用いられている。近年になって殺菌効果の高い各種の電解機能水が開発された(土井ら, 1998)。有隔膜強電解水生成装置で 1% 食塩水から陽極側に生成される pH 2.0 前後の強酸性電解水(以下強酸性水と記載する)は塩素殺菌を効率よく行う殺菌水であり(清水

と古沢, 1992), また強酸性水の物理化学的な性質は紫外吸収スペクトルの比較分析によると HClO/ClO^- 溶液の pH を酸性側に調整したものと等しいことが明らかにされている (NAKAGAWARA *et al.*, 1998). 強酸性水の殺菌メカニズムは, 白血球のミクロペルオキシド・ハライド系で生成される HClO , $\cdot\text{OH}$, $\cdot\text{O}_2^-$ ラジカルによる殺菌作用と同様の原理に基づくものと考えられる. また HClO は急性毒性と亜急性毒性についての問題はなく, 慢性毒性についても 500~2,000 ppm の高濃度の NaClO で発ガン性が認められないと報告されている (HASEGAWA *et al.*, 1986). 水道水で調製した有効塩素濃度 100 ppm の NaClO 溶液と比べて, 同じ水道水で希釈した塩酸の無隔膜弱電解による pH 6.3, 有効塩素濃度 9 ppm の電解機能水では, 含まれているトリハロメタンが 1/2, クロロフォルムが 1/3 などと少ないこと (土井ら, 1998) から, 強電解水は毒性に関しても HClO と同等の安全性を有すると考えられる.

強酸性水はメチシリン耐性黄色ブドウ球菌などに対する強力な殺菌効果が認められていることから, その使用上の留意点などが検討されており (岩沢と中村, 2001), すでに歯科治療用器具や内視鏡の殺菌 (櫻井, 2000), 病院内での手指の消毒などの医療の現場に広く普及されている. 食品分野では HACCP 対応の手段として期待されるが, HClO は現在食品添加物の指定を受けていないため, 近い将来に指定を受けることによって普及するものと思われる. 農畜水産分野では, イネの種籾の消毒, カット野菜やレタスの殺菌効果 (KOSEKI *et al.*, 2001), 乳牛の子宮洗浄 (生田と中家, 1996), 乳頭のポストディッピングの効果 (渡辺ら, 1993), ミルキングパーラー殺菌への利用の可能性 (中村, 2000), 魚の殺菌や魚市場の消毒などの研究はあるがまだ少ない. 強酸性水は HClO と同様に有機物と接触すると殺菌効果が減退するので応用研究事例における評価は一定ではなく, またプレディッピングの効果やミルキングパーラーの殺菌その他の新しい分野における利用も期待されることから, 今後さらに研究する必要がある.

そこで本研究は, 搾乳時に泌乳牛の乳頭を強酸性水と NaClO 溶液で清拭し, 清拭前後の乳頭表皮部の細菌数を検査して両者の乳頭清拭効果を比較するとともに, 強酸性水を乳頭清拭に使用することの可能性について検討した.

材料および方法

強酸性水は有隔膜強電解水生成装置 SUPER OX-SEED LABO FW-200 (アマノ株式会社製) を用いて製造した. 本装置で生成される強酸性水は 1% 食塩水の電気分解により, 陽極側に生成する HClO , ClO^- , HCl などを含む pH 2 前後の強酸性で有効塩素濃度が

20~30 ppm と低くても高い殺菌効果を示す殺菌水である.

供試動物は帯広畜産大学附属農場で飼養されている健康なホルスタイン種泌乳牛を用い, 2000年6月から12月まで毎週1回づつ搾乳時にミルキングパーラーと繋ぎ牛舎から無作為に1頭づつを選抜し, 総計27頭, 108乳頭を検査した. 乳頭を左右の試験区に分け (OLIVER *et al.*, 2001), 搾乳時に右前後乳頭は強酸性水, 左前後乳頭は有効塩素 200 ppm の NaClO 溶液による清拭を行った. すなわち各々の試験液に浸したタオルを固く絞って乳頭部分のみを拭いた後, 乾いたタオルで水分を拭き取って乾燥させた. また本学附属農場ミルキングパーラーで行っている温湯噴射の方法では, ノズルから温湯を噴射しながら乳頭部分を洗浄した後, 乾いたタオルで水分を拭き取って乾燥させた.

細菌検査用サンプルは拭き取り法を用いて, 乳頭清拭の前後に各乳頭毎の乳頭先端部表皮 5 cm^2 を滅菌綿棒で拭き取り, 0.85% 生理食塩水 10 ml に混釈した. 細菌検査は次の6菌種について10倍段階希釈法による混釈培養を行った. 一般細菌 (SPC 培地), 乳酸菌 (BCP 加プレートカウント培地) および大腸菌群 (DESO 培地) は 32°C で 48 ± 3 時間培養した. 高温菌数 (SPC 培地) は KIKUCHI *et al.* (1996) の方法に従い薄く重層した後 45°C で 48 ± 3 時間培養した. 低温菌 (CVT 培地) は 7°C で10日間培養した. 嫌気性菌 (ABCM 培地) は重層した後 BBL Gas Pak Plus (BECTON 社製) を用い 32°C で 48 ± 3 時間培養した. 培養後, 各々形成されたコロニー数を測定した.

乳頭清拭による細菌の残存率は計算式 (乳頭清拭後の細菌数 ÷ 乳頭清拭前の細菌数) × 100 を用いて算出した.

結果および考察

乳頭清拭前の各乳頭毎の一般細菌, 乳酸菌, 高温菌, 嫌気性菌, 低温菌および大腸菌群の平均細菌数と標準偏差から, 乳頭表皮の汚染細菌数は各菌種毎にはほぼ類似した水準を示しているが, 各々の細菌数の変動は大きいことが認められた (表1). 菌種毎の汚染細菌数における各乳頭間の相関係数では, 菌種によって乳頭間相互に有意な相関を示すものと, まったく相関を示さないものが認められた (表2). したがって各乳頭の汚染細菌数の水準はほぼ類似しているが, 各乳頭毎の細菌汚染の程度は各々個別に生じているものと考えられた.

乳頭清拭前の汚染細菌数と NaClO 溶液または強酸性水による乳頭清拭後に残存した細菌数についての全乳頭の平均値, 標準偏差および残存率を表3に示した. 清拭前の乳頭表皮の汚染細菌数および強酸性水または NaClO 溶液を用いて乳頭清拭した後の残存細菌数は, 両者ともそれぞれ対応する菌種毎にはほぼ類似した水準

Table 1. The viable cell counts of microorganisms which contaminated on each teat skins before premilking teat cleaning and disinfection.

Teat	Viable cell counts (log cfu /cm ²)					
	SPC ¹⁾	LAB ²⁾	TB ³⁾	Anaerobe	Coliform	PB ⁴⁾
Left fore	4.74±0.54	4.39±0.53	3.77±0.44	4.23±0.59	1.90±0.41	1.70±0.70
Left rear	4.82±0.48	4.55±0.51	3.97±0.47	4.46±0.54	2.13±0.43	1.87±0.68
Right fore	4.49±0.46	4.24±0.64	3.71±0.51	4.09±0.58	1.90±0.58	1.97±0.25
Right rear	4.85±0.58	4.47±0.49	3.94±0.59	4.44±0.57	2.19±0.63	1.82±0.68

1) SPC: Standard plate counts, 2) LAB: Lactic acid bacteria
3) TB: Thermotrophic bacteria, 4) PB: Psycrotrophic bacteria

Table 2. The correlation coefficients between the viable cell counts of microorganisms which contaminated on each teat skins and the teat position of quarters

Teat	SPC			LAB			TB		
	Left rear	Right fore	Right rear	Left rear	Right fore	Right rear	Left rear	Right fore	Right rear
Left fore	0.622**	0.589**	0.494**	0.415*	0.616**	0.230	0.280	0.572**	-0.079
Left rear		0.465*	0.446*		0.284	0.077		0.509**	0.630**
Right fore			0.407*			0.347			0.137

Teat	Anaerobe			Coliform			PB		
	Left rear	Right fore	Right rear	Left rear	Right fore	Right rear	Left rear	Right fore	Right rear
Left fore	0.542**	0.692**	0.464*	0.117	0.540**	-0.168	0.445*	0.332	0.473*
Left rear		0.458*	0.637**		0.074	0.660**		0.240	0.233
Right fore			0.350			0.070			0.016

1) The abridgments of each microorganisms are same in Table 1.
* : P<0.05, **: P<0.01

Table 3. The viable cell counts of microorganisms which contaminated on teat skins before and after premilking teat cleaning and disinfection (TCD) with acidic electrolyzed water or NaClO solution contained 200 ppm available chlorine, and the survivor rates of each microorganisms by teat cleaning and disinfection.

Organism ¹⁾	Acidic electrolyzed water			Sodium hypochloride		
	Pre-TCD ²⁾ (cfu /cm ²)	Post-TCD ³⁾ (cfu /cm ²)	Survivor rate ⁴⁾ (%)	Pre-TCD (cfu /cm ²)	Post-TCD (cfu /cm ²)	Survivor rate (%)
SPC	4.7×10 ⁴	1.0×10 ³	5.1± 8.5	6.0×10 ⁴	7.6×10 ²	3.8±10.0
LAB	2.3×10 ⁴	5.8×10 ²	7.6±18.4	3.0×10 ⁴	3.7×10 ²	5.0±10.3
TB	6.6×10 ³	1.5×10 ²	6.5±13.3	7.5×10 ³	1.1×10 ²	3.7± 6.4
Anaerobe	1.8×10 ⁴	3.7×10 ²	6.1±13.3	2.2×10 ⁴	2.4×10 ²	2.8± 5.0
Coliform	1.1×10 ²	1.3×10 ¹	12.2±20.4	1.0×10 ²	9.1×10 ⁰	14.7±23.5
PB	7.8×10 ¹	1.2×10 ¹	13.2±24.2	6.2×10 ¹	1.4×10 ¹	10.0±18.2

1) Abridgments of each microorganisms are same in Table 1.
2) Pre-TCD: The viable cell counts of microorganisms which contaminated on teat skins before premilking teat cleaning and disinfection
3) Post-TCD: The viable cell counts of microorganisms which contaminated on teat skins after premilking teat cleaning and disinfection
4) Survivor rate: The survivor rates =(Post-TCD/Pre-TCD)×100

を示した。汚染細菌数が 10³cfu/cm² 以上を示した一般細菌、乳酸菌、高温菌および嫌気性菌では、乳頭表皮に残存した細菌数が乳頭清拭によって両者ともそれぞれ 2.8~7.6%に減少した。しかし乳頭表皮の汚染細菌数が 10²cfu/cm² 以下と少なかった低温菌と大腸菌群では、清拭後の細菌数の残存率は両者ともそれぞれ 10.0~14.5%であった。これらの残存率の差異は乳頭清拭では除去できない細菌数の範囲があることを示唆するものと考えられた。有隔膜強電解水生成装置で陽

極側に生成した強酸性溶液は pH 2 前後で、20~30 ppm の低濃度の HClO, ClO⁻, HCl などを含み (NAKAGAWARA *et al.*, 1998), NaClO 溶液などの殺菌剤と同様に強い殺菌効果を示すことが明らかにされている (岩沢と中村, 2001) ので、理論的には両者の殺菌効果は同等であると推定される。この推定のとおり本実験の結果は、両者がほぼ同等の乳頭清拭効果を示すことを実証した。弱酸性の電解機能水を乳頭洗浄に用いた場合は、洗浄後の生菌数の残存率が 2.2% (0.1~12.0

Table 4. The survivor rates of each microorganisms contaminated on fore- and rear-teat skins by premilking teat cleaning and disinfection (TCD) with disinfectants

Position of teat	Survivor rates ¹⁾ (%)					
	SPC ²⁾	LAB	TB	Anaerobe	Coliform	PB
Fore-teat	5.1± 8.0	7.7±17.7	6.7±13.4	6.0±13.3	17.1±27.6	13.4±22.9
Rear-teat	3.0±10.4	4.9±11.7	3.5± 6.2	3.0± 5.2	9.8±13.6	8.4±13.7

1) Survivor rates: The survivor rate =(Post-TCD/Pre-TCD)×100

2) Abridgments of each microorganisms are same in Table 1.

%)となり、有効塩素濃度 120 ppm の NaClO 溶液による残存率 4.8% (1.3~6.9%)と有意差がないことが報告されている(中村, 2000)。強酸性水を搾乳後の乳頭ディッピングに用いた場合、従来から使用されているヨードホルム剤と同等の殺菌効果が認められている(渡辺ら, 1993)。またミルカーなどの搾乳機器を酪農用洗剤で洗浄した後に行う温湯洗浄のかわりに、弱酸性電解機能水を用いて洗浄すると殺菌効果が高いことも認められている(中村, 2000)。これらのことから強電解水は搾乳前の乳頭清拭またはプレディッピング、搾乳後のポストディッピング、ミルカーや搾乳機器類の殺菌作業などの一連の搾乳作業における衛生管理の有効な手段になると考えられる。

本学附属農場の平行式ミルキングパーラーにおける強酸性水と NaClO 溶液による乳頭清拭では、作業員から遠い位置にある前乳頭の細菌数の残存率と比べると、作業員に近い後乳頭の残存率は各菌種とも約 60%程度に低くなる傾向が認められた(表 4)。これらの結果から、作業員と乳頭位置との関係が乳頭清拭の効果に影響を及ぼすことが示唆された。また本学のミ

ルキングパーラーで用いられている温湯噴射による乳頭洗浄法においては、汚染菌数が 10³cfu/cm² 以上ある一般細菌などでは残存率が 2.2±2.8%, 汚染菌数が 10²cfu/cm² 以下の大腸菌群などは 16.1±15.7%であった。これらの結果から強酸性水または NaClO 溶液による乳頭清拭と温湯噴射による乳頭洗浄はほぼ同等の乳頭清拭効果を有しており、両法ともに有効な乳頭清拭の手段であることが確認された。

6 月から 12 月までの乳頭清拭前後の一般細菌数と低温細菌数の推移には特徴的な季節の変動が認められた(図 1)。乳頭清拭の前後ともに、一般細菌数と乳酸菌数、高温菌数、大腸菌群数および嫌気性菌数は夏に高く、冬に向かって減少する傾向が認められた。一方低温菌は夏に乳頭表皮で検出されないことがあり、菌数も低かったが、冬に向かって増加する傾向を示した。これらの結果から乳頭清拭の効果には季節的な変動が認められず、年間を通してほぼ一定の清拭効果が発揮されていることが示された。

文 献

- 土井豊彦・渡辺良三・鈴木 潔・加藤 良・外山一吉 (1998) 塩酸電解法を利用した電解機能水製造装置「ピュアスター」とそれによって製造した機能水の、衛生管理への利用。ミルクサイエンス, 47: 23-28.
- HASEGAWA, R., M. TAKAHASHI, T. KOKUBO, F. FURUKAWA, K. TOYODA, H. SATO, Y. KUROKAWA and Y. HAYASHI (1986) Carcinogenicity study of sodium hypochlorite in F344 rats. Food Chem. Toxic., 24: 1295-1302.
- 生田健太郎・中家一郎 (1996) 分娩後早期における乳牛子宮内細菌と強酸性イオン水による子宮洗浄効果。日獣会誌, 49: 363-367.
- 岩沢篤郎・中村良子 (2001) 強酸性電解水使用の注意点。Pharm. Tech. Japan, 17: 103-109.
- KIKUCHI, M., Y. MATSUMOTO, X. M. SUN and S. TAKAO (1996) Incidence and significance of thermophilic bacteria in farm milk supplies and commercial pasteurized milk. Anim. Sci. Technol. (Jpn), 67: 265-272.
- KOSEKI, S., K. YOSHIDA, S. ISOBE and K. ITOH (2001) Decontamination of lettuce using acidic electrol-

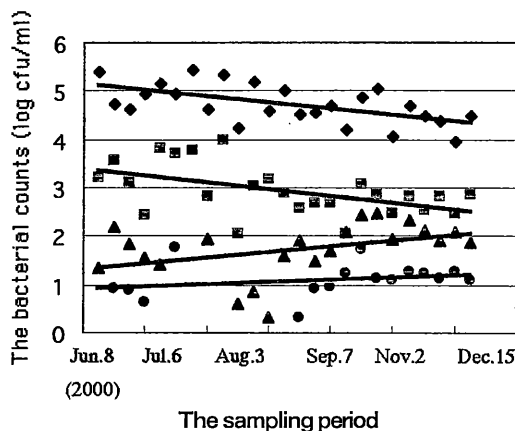


Fig. 1 The seasonal changes of the viable cell counts of SPC and psychrotrophic bacteria (PB) which contaminated on teat skins of quarters before premilking teat cleaning and disinfection (TCD) with disinfectants, and those after TCD from June to December.

Symbols are follows:

◆ SPC before TCD, ■ SPC after TCD, ▲ PB before TCD, ● PB after TCD

- alyzed water. *J. Food Protec.*, **64**: 652-658.
- NAKAGAWARA, S., T. GOTO, M. NAYA, Y. OZAWA, K. HOTTA and Y. ARATA (1998) Spectroscopic characterization and the pH dependence of bactericidal activity of aqueous chlorin. *Anal. Sci.*, **14**: 691-698.
- 中村正斗 (2000) 「電解機能水」のミルクパーラー殺菌利用の可能性. *Dairy Japan* (July) 57-61.
- OLIVER, S. P., B. E. GILLESPIE, M. J. LEWIS, S. J. IVEY, R. A. ALMEIDA, D. A. LUTHER, D. L. JOHNSON, K. C. LAMAR, H. D. MOOREHEAD and H. H. DOWLEN (2001) Efficacy of a new premilking teat disinfectant containing a phenolic combination for the prevention of mastitis. *J. Dairy Sci.*, **84**: 1545-1549.
- 櫻井幸弘 (2000) 強酸性水による簡便な内視鏡の洗浄・消毒. *消化器内視鏡*, **12**: 541-547.
- 清水義信・古沢利武 (1992) 電解による酸化電位水の殺ウイルス, 殺細菌および殺真菌の作用. *歯科ジャーナル*, **36**: 1055-1060.
- 渡辺昭夫・一条俊浩・鈴木龍一・氏家賢一 (1993) 酸性水を併用したデッピングによるウシ乳房炎の予防. *東北家畜臨床研誌*, **16**: 98-99.

