

平成 27 年 6 月 22 日現在

機関番号：34413

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25670329

研究課題名（和文）常圧過熱水蒸気を用いた滅菌技術と可動式滅菌装置の開発

研究課題名（英文）Development of atmospheric pressure superheated steam sterilization system and movable sterilizer

研究代表者

村上 能庸（Murakami, Yoshinobu）

大阪薬科大学・薬学部・研究員

研究者番号：30426530

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000 円

研究成果の概要（和文）：食中毒予防や疾病予防には有害微生物を滅菌・消毒する衛生管理が必要不可欠である。安価で効果的な滅菌法として高圧高温蒸気滅菌（オートクレーブ）が知られているが、開放空間では不可能であるため、環境の衛生管理には薬剤が使用される場合が多い。しかし薬剤の使用は、環境負荷の問題や、有機物存在下で効果が低下する問題等がある。本研究では、大気圧下で飽和水蒸気をさらに加熱することで得られる過熱水蒸気に注目し、高濃度有機物存在下での滅菌法の開発を目指し、5秒間曝露することで滅菌しうることを明らかにした。また、現場での使用を目的とした小型可動型過熱水蒸気滅菌装置の試作も行った。

研究成果の概要（英文）：Autoclave sterilization, high pressure - high temperature - steam sterilization, is the most common and preferred method because of its economical, nontoxic, and non-residual chemical property. But this system is not applicable to open space, such as environmental sterilization, because it is closed system. Therefore, chemical compounds are often used for environmental disinfection and cleaning. But, their effects on environmental loading are feared, and their activities are easily interfered by organic matter because of their high reactivity. In this study, we focused on superheated steam, that is higher than boiling point of water at atmospheric pressure, and tried to establish 5-sec superheated steam sterilization in the presence of organic matter, and developed small-sized movable superheated steam sterilizer.

研究分野：衛生学・公衆衛生学

キーワード：過熱水蒸気 滅菌 環境衛生

1. 研究開始当初の背景

食中毒予防や疾病予防には有害微生物を滅菌・消毒する衛生管理が必要不可欠である。滅菌法には、高圧下高温蒸気滅菌（オートクレーブ滅菌）、乾熱滅菌、ガス滅菌（酸化エチレングス滅菌）、放射線滅菌、紫外線滅菌、薬剤を用いた滅菌などがあるが、厨房や食品加工場などの設備施設の滅菌・消毒には、化学薬品が多く用いられている。しかし、化学薬品の使用は、化学薬品自体の有害性による環境や人体への影響や、有機物存在下での薬剤効果の減少などの問題も考慮しなければならない。特に、高濃度の有機物存在下では、過剰量の化学薬品を使用する傾向にあるため、特に注意が必要である。従って、厨房や食品加工場などの設備や施設における、薬剤を使用しない滅菌法の開発が望まれている。

薬剤を用いず水と熱のみにより滅菌可能なことは、121 の湿熱で滅菌する高圧下高温蒸気滅菌法で明らかであるが、大気圧下では水の沸点は 100 であるため、厨房や食品加工場などの開放空間での滅菌は、この方法では不可能である。本研究では、沸点を上回る高温蒸気による滅菌という観点から、大気圧下で飽和水蒸気を加熱して得られる過熱水蒸気（図 1）を用いた滅菌の可能性について検討した。

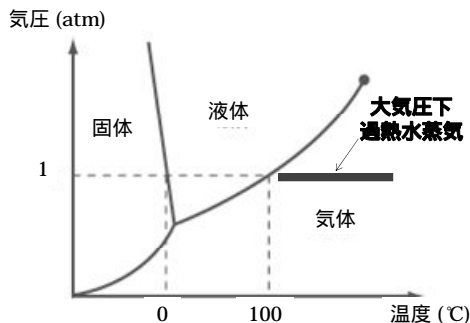


図 1. 水の状態図と大気圧下過熱水蒸気

2. 研究の目的

本研究は、大気圧下での高温蒸気滅菌について検討するものであり、具体的には、過熱水蒸気曝露による滅菌方法を確立することである。湿熱滅菌法として一般的に用いられている高圧蒸気滅菌法の滅菌条件は、121・20 分間であるが、この条件で厨房や食品加工場などの広範な領域を順次滅菌することを考えると、滅菌時間の短縮が必要不可欠である。

過熱水蒸気の乾燥熱風に対する優位性は、エンタルピー的には水が水蒸気になる際の蒸発潜熱 (2,258 J/g) の存在と、水蒸気をさらに加熱する際に得られる顕熱が乾燥空気には比べ約 2 倍である点が挙げられる。また、滅菌対象物の表面への熱伝達の面でも、水の凝集 (2,255 J/g) が大きく影響している点が挙げられる。つまり、過熱水蒸気は、大量のエネルギーを溜め、かつ、迅速に伝達しうる

媒体として非常に有効である。

従って、過熱水蒸気滅菌では、温度パラメーターを高温側に、時間パラメーターを短縮する方向で検討し、滅菌を可能にする過熱水蒸気の条件を検討した。この際、実使用を考え、高濃度の有機物が存在する条件での滅菌についても検討した。同時に、実際に現場での使用が可能な、小型可動型過熱水蒸気滅菌装置の開発を目指した。

3. 研究の方法

(1) 芽胞担持る紙片による滅菌条件の検討

高圧蒸気滅菌法の滅菌指標微生物である耐熱芽胞菌 *Geobacillus stearothermophilus* の芽胞 4×10^6 C.F.U を担持したる紙片を用いて、過熱水蒸気曝露による滅菌条件を検討した。具体的には、蒸気吐出量 2.0 kg/h の条件で、蒸気曝露時間を固定、蒸気温度を変化させ、滅菌可能な条件を検討した。なお、芽胞担持る紙片は、リン酸緩衝液 (PBS(-)) で洗浄後の芽胞を担持したものと、SCDLP 培地を含んだ芽胞を担持したものの双方を用意し、SCDLP 培地を用いた培養法により滅菌条件を評価した。

(2) 高濃度有機物存在下での滅菌条件の検討

高濃度の有機物が存在する条件下での過熱水蒸気滅菌の検討では、有機肥料が含まれている園芸用培養土、コウジカビ (*Aspergillus oryzae*) の芽胞で覆われた米粒、ナットウ菌 (*Bacillus subtilis natto*) で覆われた大豆を試料とし、培養法による評価で、滅菌条件を検討した。具体的には、蒸気吐出量 2.0 kg/h の条件で、蒸気曝露時間を固定、蒸気温度を変化させ、滅菌可能な条件を検討した。これらの試料を用いた実験系は、微生物に比べ大過剰に有機物が存在する系である。なお、真菌 (カビ) の培養には、CP 加ポテトデキストロース寒天培地 (CPPD 培地) を、細菌の培養には、標準寒天培地 (PCA 培地) をそれぞれ用いた。

(3) 小型可動型過熱水蒸気滅菌装置の開発

現場での使用が可能な小型可動型過熱水蒸気滅菌装置の開発では、蒸気吐出部の改良について重点的に検討した。

4. 研究成果

(1) 芽胞担持る紙片による滅菌条件の検討

過熱水蒸気曝露時間 5 秒間では、耐熱芽胞菌 *Geobacillus stearothermophilus* の芽胞を PBS(-) で洗浄後にろ紙に担持したものと、SCDLP 培地を含んだ状態でろ紙の担持したものの双方とも、過熱水蒸気温度 237 以上で、芽胞担持る紙片からの抽出物を SCDLP 培地で培養してもコロニーの形成は観察されなかった (表 1)。これより、ろ紙に担持した耐熱芽胞では、SCDLP 培地中に含まれる有機物に影響されことなく滅菌されることが明らかとなった。

表 1. 過熱水蒸気による耐熱芽胞担持紙の滅菌

温度()	洗浄済芽胞	培地含有芽胞
127	コロニー有	コロニー有
160	コロニー有	コロニー有
237	コロニー無	コロニー無
270	コロニー無	コロニー無

芽胞担持量：4 x 10⁶ C.F.U

過熱水蒸気吐出力：2.0 kg/h

過熱水蒸気曝露時間：5 秒間

(2) 高濃度有機物存在下での滅菌条件の検討
真菌（カビ）を対象とした滅菌条件の検討では、培養土とコウジカビ芽胞に覆われた米粒の双方とも、過熱水蒸気温度 120 ・曝露時間 5 秒間の処理で、CPPD 培地上にコロニーは観察されなかった（表 2）。これより、大量に有機物が存在する条件下でも、120 の過熱水蒸気温度に 5 秒間曝露するだけで、真菌（カビ）を滅菌できることが示された。

表 2. 過熱水蒸気による高濃度有機物存在下での真菌（カビ）の滅菌

温度()	コウジカビ芽胞 に覆われた米粒	培養土
120	コロニー無	コロニー無
150	コロニー無	コロニー無
175	コロニー無	コロニー無
200	コロニー無	コロニー無

過熱水蒸気吐出力：2.0 kg/h

過熱水蒸気曝露時間：5 秒間

細菌を対象とした滅菌条件の検討では、培養土とナットウ菌（*Bacillus subtilis natto*）の芽胞で覆われた大豆の双方とも、過熱水蒸気温度 350 ・曝露時間 5 秒間の処理で、PCA 培地上にコロニーは観察されなかった（表 3）。これより、大量に有機物が存在する条件下でも、350 の過熱水蒸気温度に 5 秒間曝露するだけで、細菌を滅菌できることが示された。

表 3. 過熱水蒸気による高濃度有機物存在下での細菌の滅菌

温度()	ナットウ菌芽胞 に覆われた大豆	培養土
250	コロニー有	コロニー有
300	コロニー有	コロニー有
350	コロニー無	コロニー無
400	コロニー無	コロニー無

過熱水蒸気吐出力：2.0 kg/h

過熱水蒸気曝露時間：5 秒間

本研究では、湿熱滅菌の長所に着目し、大気圧過熱水蒸気による滅菌の可能性について検討した。今回対象とした厨房や食品加工場などでは、広範な領域を順次滅菌する必要があるため、高圧下高温蒸気滅菌（オートクレーブ滅菌）のように時間をかけることはできないという制約がある。すなわち、高圧下高温蒸気滅菌（オートクレーブ滅菌）での滅菌条件 121 ・20 分間の時間条件を、秒単位に短縮することを目指し、滅菌条件の検討を行った。また、蒸気施設では、汚染度が高い状態、すなわち、高濃度の有機物存在下では、化学薬品の効果は著しく低下し、過剰量の薬品を使用する傾向にあるため、このような条件下での過熱水蒸気の有効性についても検討した。

過熱水蒸気曝露 5 秒間という短時間曝露条件下で、耐熱芽胞を担持した紙では 237 で、高濃度有機物存在下の真菌（カビ）芽胞では 120 で、高濃度有機物存在下の細菌では 350 で、それぞれ滅菌可能であることが示されたことから、過熱水蒸気滅菌では長時間の温度曝露は不要であることが示唆された。以上より、高いエネルギーを溜めることができ、かつ、優れた伝達媒体として働くことができる過熱水蒸気は、滅菌においても、その特性を発揮しうることが示された。

(3) 小型可動型過熱水蒸気滅菌装置の開発

本研究では、実際に現場での使用が可能な装置が目標であり、フィールドテストによる問題点の抽出と改良を目指した。

可動型過熱水蒸気滅菌装置は、単層 200V で可動の、底面 55cm 角、高さ 80cm、コード長 50m、蒸気供給量 5 kg/h 以上、最高温度 930 （無段階制御）、最大水積載量 20L、4 足キャスター付の装置を試作した（図 2）。転倒時の事故を防止するために、振り子式転倒時安全装置を内蔵した。



図 2 . 可動型過熱水蒸気滅菌装置

フィールドテストの結果、過熱水蒸気吐出部の改良の必要性が抽出された。具体的には、試験実施場所では隙間の部分の滅菌の必要性から先の細いノズルの必要性が明らかとなった。これには、吐出部を直径 1cm の細管に変更して対応した。最大の問題は、過熱水蒸気の発生部と吐出部の温度差であった。当初、本体と蒸気吐出部を保温ヒーター付誘導管でつないで温度差の縮小を図ったが、十分な熱安定性を得ることはできなかった。そのため、直径 10cm の小型過熱水蒸気発生装置を新たに開発し、過熱水蒸気発生ヘッドとして過熱水蒸気発生部と蒸気吐出部を一体化することで対応した。これにより、過熱水蒸気発生部と吐出部温度の温度差は解消され、温度安定性を担保することができた。

以上より、本研究で試作した移動型過熱水蒸気滅菌装置は、厨房や食品加工場などに代表される衛生管理が必要な場所での衛生状態の改善に貢献することが期待される。また、本装置の使用は、環境負荷の低減や作業者の健康面でも優位性があると考えられる。さらに、医療や農業分野での利用も期待されている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 2 件)

Yoshinobu Murakami, Fumio Kamio, Shinsuke Ohara, Application of superheated steam for environmental sterilization in the presence of organic matter, 18th Annual Meeting of the European Biosafety Association, 21-22, April, 2015, Vienna, Austria.

Yoshinobu Murakami, Fumio Kamio, Dai Aramaki, Hiroshi Nagasawa, Shinsuke Ohara, Application of superheated steam for environmental sterilization, 17th Annual Meeting of the European Biosafety Association, 15-16, May, 2014, Ghent, Belgium.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等(なし)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

村上 能庸(MURAKAMI, Yoshinobu)
大阪薬科大学・薬学部・研究員
研究者番号：3 0 4 2 6 5 3 0

(2) 研究分担者 なし
()

研究者番号：

(3) 連携研究者 なし
()

研究者番号：