アサマ NEWS パートナー
2012-3 NO.147

食品微生物の制御

食品微生物の化学的制御－2

危害微生物の制御に有効な化合物ないし化学的技術

食品微生物の化学的制御－１で、化学的制御は、保存料と食品の安全性向上技術の２種に分かれることを述べた。そこでは、食品の安全性向上技術には、食品の保存性向上には無関係に、特定の標的とする危害微生物のみを制御する技術も含まれることが特徴であることを示した。勿論化学的技術には、コンベンショナルな保存料のように、危害微生物以外に一般的な腐敗微生物もまとめて制御してしまう技術も存在するのは当然である。しかし、ここでは危害微生物制御技術の備えるべき特徴を解説したい。この技術開発に添える条件と具体例は**表－1**に示した通りである[2)]。ここでは、**表－1**の中の特徴的なものを選んで紹介することにしたい。

１．危害微生物に選択的に有効な技術の開発

１－１．バクテリオファージによる危害微生物の制御

この研究開発は、危害微生物制御技術の特徴を象徴的に示しているもので、特定の危害微生物制御には有効な技術が、それ以外の微生物制御には全く有効でない。

Hagens ら[1)] によると、バクテリオファージによる微生物制御は、人の微生物による疾病治療への利用から始められたが、食品危害微生物制御へのは、2003年から2004年に Levenrnts らにより *Listeria monocytogenes* 制御が試みられ、また *Salmonella* 属細菌制御は、Fiorentin らにより2005年に、*Campylobacter* 制御は Atterbury らにより2007年に、病原性大腸菌は Bach ら、Bach ら、および Sheng らによって2003年から2006年にわたって研究報告されたと述べられている。

これらの研究に基づいて、バクテリオファージの食品由来の危害微生物制御への利用が許可申請され、2006年 EBI Food Safety’s Listex の抗ファージ処方を *Listeria monocytogenes* が汚染しやすい食品の加工プロセスの助剤として利用することが、FDA と USDA の双方から GRAS（Generally Recognized As Safe）として認可された。この他にも、皮革処理上の *E.coli* 処理や、屠殺前の動物の *Salmonella* 処理にファージを用いる方法とか、トマトやペッパーの疾病のバクテリオファージ処理にも認可を与えられ、また幾つかのファージ混合物による食品の包装過程への利用にも許可が下りているという。

さて、このようにバクテリオファージの食品への利用が多く認められているが、その安全性はファージが自然界に広くまた多く存在し、現に人が消化している食品中にも多量のバクテリオファージが存在すること、また発酵食品中には多種、多量のファージが存在すること、更には、ファージは人の消化管中にも存在していること、更には人の疾病治療にファージが長年使用されても不都合な結果は出ていないこと、人に抗 Listeria ファージを多量投与しても何らの不都合な結果は出てこなかったことなどの事実によって、安全性が担保されている。

繰り返すようであるが、この技術の問題点は食品保存には全く役立たないことと、この技術によって特定の食品が特定の危害微生物によるリスクからは守られたとしても、多くの国ではファージ利用による特定危害微生物制御による安全性向上の技術は認められていないので、国際的にファージ処理食品が流通するにはなお時間を要するのではないかと思われることである。

表１　危害微生物制御に有効な化合物ないし技術の開発[2)]

区分	対応策
1	危害微生物に選択的に有効な物質ないし技術の開発 （１）バクテリオファージによる危害微生物制御 *Listeria monocytogenes* 制御（GRAS） *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* O157：H7, *Campylobacter* などの制御（開発中） （２）特定の危害微生物に選択的なバクテリオシン（様化合物）による制御 （３）有機酸の選択的な抗菌活性の利用による制御 クエン酸塩による *Clostridiuom perfringens* の選択的阻害 酢酸と食塩によるグラム陰性細菌の阻害
2	特異的な条件下に有効な化合物ないし技術の開発 （１）嫌気的な条件下に嫌気性菌を制御する物質 *Clostridium botulinum* の亜硝酸塩による制御 （２）高温条件下に高温微生物を選択的に制御する *Clostridium thermosaccharolyticum Geobacillus stearothermophilus* *Moorella thermoacetica* らのグリセリン脂肪酸エステルやショ糖脂肪酸エステルによる制御
3	物理的ないし化学的条件の組み合わせによる抗菌活性の拡大と強化による制御 （１）乳酸塩とディ酢酸ナトリウムの組み合わせによる *L.monocytogenes* を代表とする危害微生物の制御 （２）フマル酸と各種有機酸の組み合わせによるグラム陰性細菌の制御 （３）加熱と抗菌性化合物との組み合わせによる危害微生物の制御
4	拮抗微生物の利用 （１）乳酸菌による拮抗阻害 食肉製品、スモークサーモン、カット野菜などの *Listeria*、*Salmonella*、*Escherichia coli* O157:H7の制御 （２）野菜の自然細菌類による危害微生物（*Listeria*, *Salmonella*, *E.coli* O157:H7）の制御

１－２．バクテリオシンによる危害微生物制御

バクテリオシンのうちでナイシンが保存料としてただ一つ許可になっているが、バクテリオシンのグラム陽性細菌に活性を示す抗菌活性からみて、特定の危害微生物制御に特化して使用される可能性は残っている。

多くの報告が見られるのは、乳酸菌生産のバクテリオシンによる *L. monocytogenes* の制御で、ナイシンと共に多くのバクテリオシン及びバクテリオシン生産菌の利用性が示されている[2、3]。バクテリオシンの場合、バクテリオファージと同様に、標的とする細菌以外の細菌に対する活性は殆ど認められないことが多いので、腐敗を阻止すると云う結果はあまり期待できないことが多い。保存料に指定されたナイシンの場合は、広い範囲のグラム陽性細菌に活性を示すので、食品腐敗の防止のみならず *L.monocytogenes* に続いて *Clostridium botulinum* の阻止活性が期待されている[3]。

乳酸菌由来のバクテリオシンは、以上のような特定の細菌に対する阻害効果の他に、グラム陰性菌や真菌類に活性を示すものも報告されている[4－7]。特定の微生物に絞ってスクリーニングすれば、選択的に危害微生物を制御する可能性が残されている。

１－３．有機酸の選択的な抗菌活性の利用

有機酸の抗菌活性は、有機酸それぞれによって異なり、pH 低下作用だけが抗菌活性の根拠でないことは既に報告されている[8－11]。有機酸のこのような抗菌活性は、コンベンショナルな保存料の食品保存活性の主体でもあるが、実は個々の有機酸の活性は微生物の種類に対しかなり選択的或いは特異的で、むしろこの特異性を積極的に利用して行くのが今後の方向であると思われる。実際、この特異性の例を挙げれば、１）グラム陽性、陰性細菌には活性を示すが、カビや酵母の真菌類には活性を示さない有機酸は、乳酸とアジピン酸で（**表－2**）、カビや酵母を主要なプロセスの要因とする醸造製品では、特に乳酸は、発酵初期の腐敗微生物による製品の劣化を防止し、その間、酵母の生育による発酵の進捗を進める必須のものとなっている。

表２　酢酸と乳酸とアジピン酸の発育阻止濃度[8]

菌の種類	酢酸 作用 pH			乳酸 作用 pH			アジピン酸 作用 pH		
	6.5	5.5	4.5	6.5	5.5	4.5	6.5	5.5	4.5
乳酸菌	阻止濃度（%）			阻止濃度（%）			阻止濃度（%）		
Lactobacillus casei	>5.0	3.5	0.5	2.5	2.5	1.5	>5.0	4.5	0.23
L. brevis	>5.0	4.5	1.5	2.5	2.5	1.0	>5.0	>5.0	0.46
L. heliveticus	3.5	2.5	0.125	2.0	1.5	NG	>5.0	2.0	0.06
一般細菌									
Escherichia coli	3.5	2.5	0.5	2.5	2.0	1.0	>5.0	3.0	0.06
Bacillus subtilis	3.5	2.5	NG	3.0	3.0	1.5	>5.0	0.5	0.06
Staphylococcus aureus	>5.0	0.5	0.125	4.5	2.5	0.5	>5.0	1.0	0.06
真菌類									
Saccharomyces cerevisiae	>5.0	2.5	0.5	>5.0	>5.0	>5.0	>5.0	>5.0	>2.3
Hansenulla anomara	4.5	1.5	0.5	>5.0	>5.0	>5.0	>5.0	>5.0	>2.3
Torulopsis candida	>5.0	1.0	0.25	>5.0	>5.0	>5.0	>5.0	>5.0	>2.3
Aspergillus oryzae	4.0	0.25	0.05	>5.0	>5.0	>5.0	>5.0	>5.0	>2.3
Penicillium oxalicum	4.5	0.5	0.05	>5.0	>5.0	>5.0	>5.0	>5.0	>2.3

またクエン酸は特にグラム陽性細菌に強い活性を示すので、肉製品の長時間を要する冷却期間における *C.perfringens* の芽胞の発芽抑制に利用されている[12]。

酢酸は、有機酸の中では特異的な活性を示すことが次第に明らかにされているが、食塩と組み合わせることによって、グラム陰性細菌、特に腸管出血性大腸菌に対し特異的な活性の増加が報告されていて[13]、実験的なデータの報告は無いが、わが国古来より食品である〆サバや、酢の物の安全性の確保に大きい役割を果たしているものと思われる。

フマル酸は、食用可能な塩基当量の最も小さい有機酸で、可食性有機酸の中では最も少ない量で pH を低下させることが出来る。しかしこの酸の抗菌活性は、その強い pH 低下作用によるのか、化合物独自の性質によるのかよく分からない。清水らによると、フマル酸0.1－0.3%溶液に各種の細菌を接触させると、濃度依存的に殺菌活性が高くなるが、それはグラム陰性菌に対してのみで、グラム陽性細菌に対してはフマル酸の濃度を上げても殺菌活性は強くはならない[14]。しかし、フマル酸をアスコルビン酸、リンゴ酸、酒石酸、クエン酸、シュウ酸などと併用すると、フマル酸単独より著しく強い活性を示したが、併用に用いた有機酸単独では活性を示さなかったと報告している。同じような報告は Comes らによってもなされ、リンゴサイダーに接種した *E.coli* O157：H 7 にフマル酸を添加すると、pH を3.4に一定に調整した条件下では、少し活性を示したのみであったが、クエン酸やリンゴ酸は、同じ条件下では全く活性を示さなかった。ところが、フマル酸と安息香酸ナトリウム、或はソルビン酸カリウムと組み合わせると、単独の場合と比べ著しく強い殺菌活性を示したと報告されている[15]。この例では、グラム陰性細菌を対象として実験され、pH も3.4と一定に調整されていて、*E.coli* O157：H 7 に対するフマル酸と安息香酸ナトリウムやソルビン酸カリのフマル酸との組み合わせの著しい活性の出現は、フマル酸の特異的な性質に基づくものと考えざるを得ない。

以上の他、食品の危害微生物制御には、活性の範囲や強さを高める方法や新しい抗菌活性の化合物の開発なども存在するが、それらについては次号で紹介したい。

１．要約

食品の危害微生物制御に特化していると考えられる技術を示した。程度の差はあるが、基本的には、それらの技術は食品を保存することではなく、食品を危害微生物の汚染や生育に伴うリスクの低下させるものであった。そして、その技術はバクテリオファージのように先進的なものもあるが、意外にも旧来わが国で実施してきた食塩と酢酸の組み合わせのようなものも含まれることが明らかになった。この意味で、有機酸の様な化合物の作用を見直すことから、新たな危害微生物制御の方法が提案できるかもしれない。

引用文献

１）Hagens, S. and Offerhaus, M. L.：Bacteriop@hages-New Weapons for Food Safety, Food Technology 62,（４）46-54（2008）
２）松田敏生、化学的食品微生物制御の方向について、Foods and Food Ingredients Journal of Japan, 215, NO4 417-426（2010）
３）Daeschel, M. A.., Applications and Interactions of Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria in Foods and Beverage, in Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria p63-91, published by Academic Press Inc,（1993）
４）Lozo, J.,Vukasinovic,M.,Strahinic,I.and,Topiairovic, I.,: Characterization and Antimicrobial Activities of Bacteriocin 217 Produced by Natural Isolate *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*BGBUK2-16, J. Food Prot., 67, 2727-2734（2004）
５）M. C. Collado, M. Hernandez and Y. Sanz, Production of Bacteriocin like Inhibitory Compounds by Human Fecal *Bifidobacterium* Strains, J. Food Prot. 68, 1034-1040（2005）
６）U. Roy. ,Ratish, V. K., Grover, S. and Neelakansen, S.:Production of

Antifungal Substances by *Lactobacillus lactis* subsp.*lactis* CHD28.3, Int. J Food Microbiol., 32, 27-34 (1969)
7）Magnusson, J. and Schnuerer, J.:*Lactobacillus coryniformis* subsp. *coryniformis* Strain Si3 Produced a Broadspectrum Antifungal Compound, Appl. Environ. Midcrobiol., 67 1-5 (2001)
8）山本泰、東和男、好井久雄、有機酸の抗菌作用、日食工、31, 525－530（1984）
9）松田敏生、矢野俊博、丸山晶弘、熊谷英彦、有機酸の抗菌作用－各 pH における発育阻止作用の検討、日食工、41, 687-702{1994}
10）松田敏生、有機酸の抗菌作用、食衛、45, J－180－196（2004）
11）宮尾茂雄、フードケミカル、2, 35-41（1987）
12）Thippareddi, H.,Juneja, V. K., Phebus, R. K., and Marsden, J. I.,and Kaster, C. L. :Control of *Clostridium perfringens* Germination and Outgrowth by Buffered Sodium Citrate during Chilling of Roast Beef and Injected Pork, J. Food Prot. 66, 376－381（2003）
13）菅野幸一、食酢の殺菌・静菌作用、防菌防黴、26、(4) 187－19 7（1998）
14）清水高正、高畠俊弘、加藤正博、食品添加物として利用される数種の有機酸の抗菌作用、食衛、36, 50－54（1995）
15）Comes, J. E, and Beelman, R. B. Addition of Fumaric acid Sodium Benzoate as an Alternative Method to Achieve a 5-log Reduction of *E. coli* O157:H7 Populations in Apple Cider. J. Food Prot. 65, 476－483 (2002)

（松田敏生　フードスタッフ研究所）

食品加工と微生物

加工用原料野菜の物理的除菌技術

前回、加工用原料野菜における細菌汚染について述べてきた。これらの汚染細菌による農産加工品の品質低下を防ぐには、低温流通を基本とした上で日持ち向上剤の利用や pH を調整することなどにより微生物の生育を制御することになる。しかし､それらに先立って大切なことは, 原料野菜に付着している微生物をいかに可能な限り減少させるかということである。

カット野菜、野菜サラダ、浅漬けなど非加熱農産加工品の品質低下の主な原因は原料野菜に付着している細菌の増殖や活動による。また、付着菌が食中毒菌の場合には食中毒の発生を招くことになる。それらを抑止するためには原料野菜に付着している有害菌を除去するとともに初発菌数を極力低減させることが重要である。

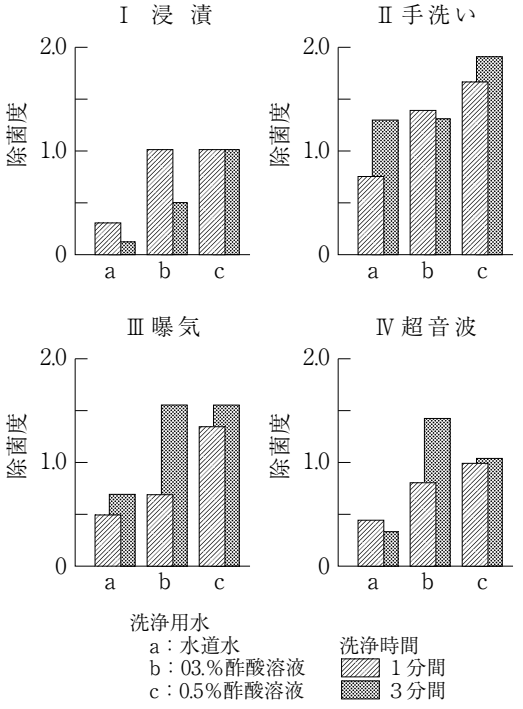
加工用原料野菜の洗浄方法には、物理的な除菌方法として、手作業や噴流式あるいは曝気式の洗浄装置を利用したもの､加熱（ブランチング）を利用したものなどがある。化学的な除菌方法として、食品用洗浄剤、次亜塩素酸ナトリウム、酢酸などの有機酸を用いたもの、また、それらを併用した方法などがある。さらに､近年にいたっては､それらの方法に加え、オゾン、電解水などを利用したものが導入されている。

今回は原料野菜の除菌技術のうち、加熱処理を含む物理的な除菌技術を中心に述べ、次回は化学的除菌技術について紹介したいと考えている。

物理的除菌技術

物理的な除菌法としては水浸漬、手洗浄、曝気洗浄、超音波洗浄などがあるが、通常、単独で行われることはなく他の洗浄法と併用して行われることが多い。超音波洗浄は20kHz 以上の人間の耳に聞こえないほどの高い周波数を持つ音波を利用するものである。超音波の照射が強力な場合は照射時の急速な圧力変化によって水中に溶け込んでいる気体が液体内で分離し、気泡が発生する。この現象をキャビテーション（空洞現象）と呼んでいる。この気泡が破裂するとき、近くの個体表面に強烈な破壊力が生じることになる。この物理的作用を利用したものが超音波洗浄で、野菜に付着している細菌の除去への応用が試みられているが、野菜自体が軟らかい物体であることから、野菜の洗浄効果に対しては満足のいく結果が得られていないのが現状である。渡邊ら[1]は浅漬けに使用される白菜の物理的洗浄法および酢酸洗浄を併用した場合について比較検討を行い、**図 1** の結果を得ている。これによると物理的洗浄法では手洗いが最も洗浄効果が高く、次に曝気洗浄が効果的で、超音波洗浄は効果がなかったとしている。一方、洗浄水に0.3あるいは0.5％の酢酸溶液を併用した場合には除菌効果が向上していることが明らかである。しかし、0.5％の酢酸溶液を洗浄用水として用いた場合は洗浄後の下漬白菜にかなり酸味が残るとしており、洗浄用水には0.3％の酢酸溶液が適当であるとしている。また、島津ら[2]はキュウリの除菌においてスポンジによる手洗い、超音波洗浄、ブランチング処理の効果について検討を加えている。スポンジによる手洗いでは洗浄前のキュウリ表皮の菌数が105/cm^{2}であったものが洗浄により1/10の104/cm^{2}となるが、洗浄前の菌数が102/cm^{2}の場合には手洗いで菌数を減らすのは困難であることを述べている。また、超音波洗浄の効果については渡邊ら[1]と同様、あまり洗浄効果はなかったとしている。超音波は金属面やガラス面のような剛体面の汚れを除去するには効果的であるが、野菜表面のような軟らかい表面構造を持つ物体には洗浄効果が低下することがいわれていることからもこのような結果になったものと考えられる。

図 1　各種洗浄方法による下漬白菜の除菌洗浄効果[1]



除菌度＝log（C／X）
X：洗浄後の下漬白菜の一般生菌数
C：洗浄前の下漬白菜の一般生菌数（対照）

島津らはブランチングによる殺菌効果についても検討を加え**表１**で示すように除菌効果の大きいことを報告している。洗浄前の菌数が7.9×104/cm²のキュウリを100℃、20秒処理することにより、５/cm²以下、100℃、10秒処理することにより15/cm²となったことを報告している。また、ブランチングではキュウリの色は明るい緑色に変色するが、急冷することによってテクスチュアーに関しては大きな変化はなかったとしている。このような高温・短時間のブランチングは除菌という目的では極めて効果的であるが，実用的には大量処理が要求されることを考慮すると装置面での検討がさらに必要と思われる。

表１　ブランチング処理とキュウリの菌数[2]　（1cm²当り）

	1	2
水洗後	7.9×10^4	5.5×10^4
100℃，10秒	15	5
20秒	＜5	＜5
30秒	10	＜5
60℃，5分	45	＜5
10分	10	＜5

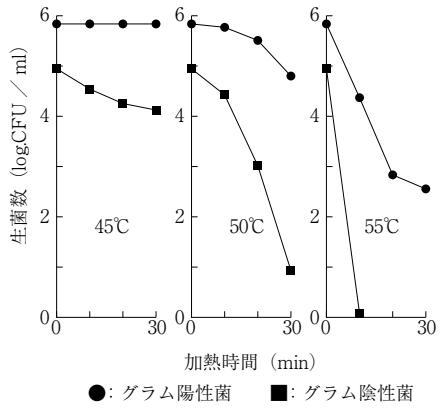
菊池ら[3]もブランチングによる除菌効果について検討を加えている。キュウリの緑色を損なわないブランチング条件として加熱温度、エタノール濃度、酢酸濃度と処理時間の関係について検討を加え、緑色の変化のない条件下でのエタノールおよび酢酸添加ブランチングによる殺菌効果を調べ、**表２**に示す結果を得ている。すなわち、緑色の変化のないブランチング条件は50℃、３分または60℃、１分で、この条件下でエタノール５％以上、酢酸0.5％の水溶液中のブランチングによってキュウリの付着細菌を1/1000に低減している。また、宮尾ら[4]はカブを50℃で温和加熱処理を行った場合の付着細菌に及ぼす影響について検討を加えている。45～55℃という温和な加熱条件下では**図２**に示すようにグラム陰性菌は死滅しやすい傾向が認められ、特に *Pseudomonas* 属菌が特に熱感受性が高く、45℃、15分の加熱処理でも1/100に減少している。また、この差はグラム陰性菌は45℃の温和加熱処理で核酸系物質や260nm吸収物質などの細胞内成分の細胞外への漏洩が認められることから、細胞膜の損傷が起こっている一方、グラム陽性菌の漏洩はわずかであることから細胞膜の相違が細胞膜の損傷に与える熱感受性の差となって表れたものであると報告している。

表２　エタノールおよび酢酸添加ブランチングの殺菌効果[3]

加熱条件	対照（水洗のみ）	エタノール濃度（v/v）			
		0%	5%	10%	20%
50℃－３分	1.6×10^8	2.2×10^7	8.8×10^6	4.6×10^6	3.6×10^6
同上（酢酸0.5%）	〃	1.7×10^7	5.3×10^5	5.8×10^5	4.2×10^5
60℃－１分	〃	1.9×10^7	3.2×10^6	8.5×10^5	1.8×10^5
同上（酢酸0.5%）	〃	1.0×10^7	1.1×10^5	3.1×10^5	1.0×10^5
70℃－10秒	〃	1.3×10^7	4.6×10^6	6.8×10^5	6.9×10^5
同上酢酸（0.5%）	〃	1.2×10^7	3.6×10^5	3.5×10^5	1.6×10^5

（生菌数／キュウリ１本）

図２　カブ付着菌に及ぼす温和加熱の影響[4]



引用文献
１）渡邊久芳ら：農林規格検査所調査研究報告、14，１（1990）
２）島津祐子ら：岩手県醸造食品試験場報告、21，７（1987）
３）菊池久寿郎ら：新潟県食品研究所・研究報告，24，25（1989）
４）宮尾茂雄ら：日食工誌，37，433（1990）

（宮尾茂雄　東京家政大学教授）

アサマ化成株式会社
E-mail : asm@asama-chemical.co.jp
http://www.asama-chemical.co.jp
●本　　社／〒103-0001　東京都中央区日本橋小伝馬町20-3　TEL（03）3661-6282　FAX（03）3661-6285
●大阪営業所／〒532-0011　大阪市淀川区西中島5-6-13 御幸ビル　TEL（06）6305-2854　FAX（06）6305-2889
●東京アサマ化成／〒103-0001　東京都中央区日本橋小伝馬町16-5　TEL（03）3666-5841　FAX（03）3667-6854
●中部アサマ化成／〒453-0063　名古屋市中村区東宿町２－28－１　TEL（052）413-4020　FAX（052）419-2830
●九州アサマ化成／〒811-1311　福岡市南区横手２－32－11　TEL（092）582-5295　FAX（092）582-5304
●桜陽化成／〒006-1815　札幌市手稲区前田五条９－８－18　TEL（011）683-5052　FAX（011）694-3061