

食品微生物の制御

食品微生物の化学的制御-3

危害微生物の制御に有効な化合物ないし化学的技術-2

食品微生物の化学的制御-1及び2で、保存料と食品安全性向上剤の違いについて述べ、特に食品安全性向上剤には必ずしも食品の保存性向上にはつながらないものも含まれることを紹介した。しかし、両方の技術は、食品微生物を死滅、あるいは不活性化させる作用に基くものであるため、結果として危害微生物の不活性化のみならず、多くの腐敗微生物も含めて不活性化させ、食品の保存性を向上させることにもつながることが多い。

ここでは前報¹⁾の表1に示される危害微生物制御に有効な化合物ないし技術の開発の中で、区分3の“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”による制御にまとめられる技術について述べる。

食品危害微生物の制御に関して、この技術は、要するに制御困難な危害微生物の制御に有機酸や各種の物理化学的技術を組み合わせ、作用の強さを増し、効果微生物の範囲を広げて、制御しようとするもので、従って開発を進めれば、多くの機能が一緒になった、極めて有効な開発となることが多い。ただ、このような技術の開発は保存料の定義?に触れて、自由な利用が制限される場合があるかもしれない。

3-1. 有機酸の組み合わせ

例として、既に米国では実用化されている有機酸塩類の組み合わせによる効果的な微生物制御技術を紹介する。従来有機酸は、“有機酸”と一まとめにされて扱われ、酢酸、プロピオン酸、乳酸、クエン酸・など個々の有機酸の抗菌活性の特性の違いは、殆ど顧みられなかった。これは多くの専門書の有機酸の定義に普通にみられることで、この定義に従えば、A, B, C・・・と複数以上の有機酸を、特定の反応系内に加えて行った場合、その抗菌活性も、A+B+C・・・と、各有機酸の抗菌活性の単純な合計になるに過ぎないと云っていることと同じである。この定義の基本的な解説は、図1に示されるもので代表される²⁾。つまり、有機酸の抗菌活性は、目標とする微生物菌体内部に移行のしやすさによって決まり、移行後の有機酸から発生するプロトン [H⁺] によって出現すると云うものである。その量に影響するのは非解離状態の有機酸分子の微生物菌体内への移行のしやすさによるとされる。

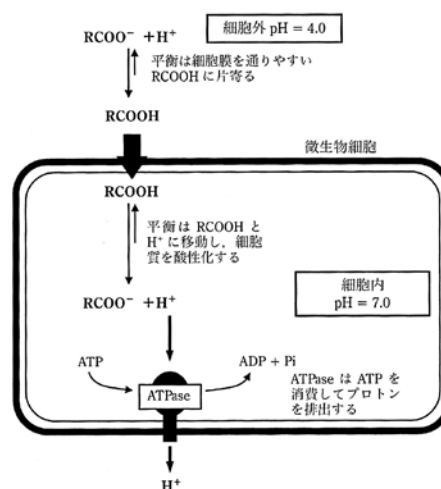


図1 一般的な有機酸の作用機作を示す概念図 (Davidson)²⁾

しかし、有機酸類の抗菌活性を、一括りにするような単純な定義に対しては、多くの疑問が投げかけられてきた。例えば、1. 解離した有機酸も抗菌活性を示す。2. pKa 値がほぼ同じ複数の有機酸でも活性の強さが異なる例が多くある。3. 有機酸の種類によっては、対象とする微生物の種類によって、その抗菌作用が異なり、中には無効の場合がある。4. 抗菌活性と pH の関係は有機酸によって異なる。5. リンゴ酸、フマル酸のような2塩基性酸や、クエン酸のような3塩基性酸の抗菌活性に対する合理的な説明がない。等々・・・であったが、筆者らによる有機酸の抗菌活性は個々の有機酸に独自のもので、むしろ有機酸毎に独立したものであるとする報告³⁾や、それを引用した Hisao らの報告⁴⁾により、有機酸の抗菌活性は従来のように一括り説明することから、各有機酸毎にそれぞれ独立したものとされるようになった。

この有機酸の抗菌作用が、各化合物で独自のものであるとする認識は非常に重要で、各有機酸の作用が各化合物独自で、化合物により異なるのであれば、複数の有機酸を組み合わせれば、複数の異なった化合物を組み合わせたと同じことを意味することになり、それぞれの有機酸の単独の抗菌作用を加算合計したものは異なり、組み合わせた有機酸の抗菌作用が相乗的に増大する(時には相殺的に減少する)ことが起こり得ることを意味している。

この可能性は、先ず Rubin が、乳酸と酢酸の組み合わせが、*Salmonella Typhimurium* に対して、軽微ながら相乗的に菌数を抑制する結果となることを報告し⁵⁾、少し遅れて Moon らは酸抵抗性の酵母に対し、酢酸と乳酸、酢酸とプロピオン酸、乳酸とプロピオン酸の間に相乗的な

効果のあることを報告し⁶⁾、また、Comesらはフマル酸とソルビン酸カリ、およびフマル酸と安息香酸ナトリウムとの組み合わせが、強い抗菌活性の増強をもたらし、リンゴサイダー中の大腸菌 O157:H7の菌数を5log/ml程度効果的に減少させることを報告し⁷⁾、清水らはフマル酸と各種有機酸を組み合わせると著しく強い殺菌作用をグラム陰性細菌に対して示すようになることを報告している⁸⁾ ことなどで裏付けられた。

このように、複数の有機酸同士の組み合わせが、それぞれ単独の有機酸より強い抗菌作用が期待できることが示されるにつれ、食品の安全性を高めることに、これらの組み合わせ相乗作用を利用する動きが出てきた。

Listeria monocytogenes は、ナチュラルチーズ、スモークサーモン、幾つかのソーセージ類などの多くの RTE 食品 (Ready to Eat 食品、調理済み食品と考えてもよい) に汚染しやすく、増殖すれば致死率の高い疾病の原因となるため、この細菌の汚染と増殖抑制方法が、米国では非常に重要視されている。また、この細菌は低温細菌で、食品を冷蔵庫に保存しても増殖するので、冷蔵保存では完全に制御することはできない。従って、適切な化学的制御方法が求められてきた中で、2.5%程度の乳酸ナトリウムまたはカリウム塩と0.25%の2酢酸ナトリウムを組み合わせると対象食品に使用すると、強い相乗的な抗菌作用を得ることが出来、低温で *Listeria monocytogenes* から食品を守る事が出来ることが示された。この試みの効果は、約30報にも及ぶ多くの実験論文によって確認され、この処方を実施された RTE 食品は安全と認められることとなった。なお、この処方は、*L. monocytogenes* を制御するだけでなく、*Salmonella Enteritidis* などの *Salmonella* 制御⁹⁾、食鳥肉製品の腐敗を起こす特殊な嫌気性菌 *Clostridium* の制御¹⁰⁾ や、一般好気生菌数効果的に増殖を抑制すること¹¹⁾ も報告されている。つまり、乳酸塩とディ酢酸ナトリウムの組み合わせは、特定の危害細菌の制御のみならず、多くの腐敗細菌を含めて制御出来るので、優れた保存料でもあると云える。効果を示す例は、図2に *L.monocytogenes* の制御結果⁹⁾ を、図3に *S. Enteritidis* の制御結果をしめす⁹⁾。

乳酸塩と酢酸塩の組み合わせ以外の有機酸同士の食い合わせによる相乗作用の利用については、フマル酸と他の有機酸との組み合わせが、試験管内の殺菌効果と、リンゴサイダー中の大腸菌 O157:H7の殺菌にフマル酸とソルビン酸カリまたは安息香酸ナトリウムとの組み合わせが効果的であったとする報告⁷⁾ 以外には見当たらないが、フマル酸+他の有機酸の組見合わせで、非常に実用性の高い組み合わせが見つかる可能性は高いと思われる。

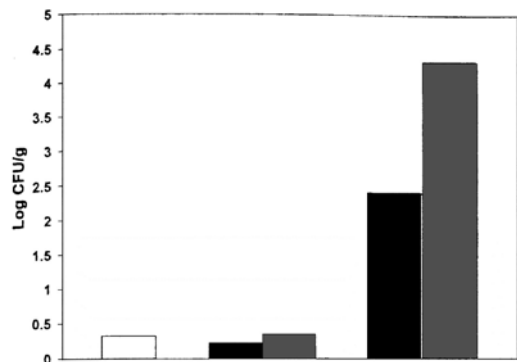


図2 2.5%乳酸ナトリウム (SL), 0.1および0.2% 2酢酸ナトリウム (SDA) 並びにそれらの組み合わせの肉中の *L.monocytogenes* の生存に対する効果、図中の数字は、10°Cで20日間保存したときの対照区の菌数との差で示されている (Comesら)。

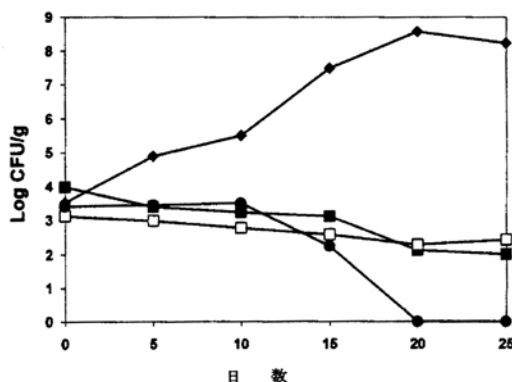


図3 乳酸ナトリウム (SL), 2酢酸ナトリウム (SDA), 酢酸ナトリウム (SA) および両者の組み合わせを含むミンチ肉エマルジョンを10°Cで保存したときの *Sal. Enteritidis* の変化

◆: 対照、●: 0.2% SDA+2.5% SL、□: 0.1% SDA+2.5% SL、▲: 0.2% SA+2.5% SL

3-2. 要約

危害微生物制御の化学的技術の紹介の中で、複数の有機酸の組み合わせが、抗菌活性の範囲と強さを拡大して制御する方法であり、この結果は、単に危害微生物の制御にとどまらず、一般の腐敗微生物を含めて食品微生物を制御出来る方法であることを示した。

引用文献

- 1) 松田敏生、食品微生物の化学的制御-2、アサマパートナーニュース、147、2012-3
- 2) Davidson, L.C.: Chemical Preservatives and Natural Antimicrobial Compounds in Food Microbiology, Fundamentals and Frontiers 29, pp 520-556, edited by Doyle, M. P. Beuchat, L. R. and Montville, J. T., ASM Press, Washington D. C. (1997)
- 3) 松田敏生、矢野俊博、丸山昌弘、熊谷英彦: 有機酸の抗菌作用 - 各種 pH における発育阻止濃度の検討 -, 食工41、687-70 2 (1994)
- 4) Hsiao, C-P. and Siebert, K. J.: Modeling the Inhibitory Effects of Organic Acids on Bacteria, Int. J. Food Microbiol., 47, 189-201 (1999)
- 5) Rubin, H. J.: Toxicological Model for Two Acid System, Appl. Environ. Microbiol., 36, 623-624 (1978)
- 6) Moon, N. J.: Inhibition of the Growth of Acid Tolerant Yeast by Acetate, Lactate, and Propionate and Their Synergistic Mixtures., J. Appl. Bacteriol. 55, 453-460 (1983)
- 7) Comes, J. E. and Beelman, R. B.: Addition of Fumaric Acid and Sodium Benzoate as an Alternative Method to Achieve a 5-log Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 Populations in Apple Cider, J. Food Prot. 65, 476-483 (2002)
- 8) 清水高正、高島俊弘、加藤正博: 食品添加物として使用される数種の有機酸の抗菌作用、食衛、36、50-54 (1995)
- 9) Mbandi, E. and Shelef, L. A.: Enhanced Inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella Enteritidis* in meat by Combination of Sodium Lactate and Diacetate, J. Food Prot. 64, 640-644 (2001)
- 10) Meyer, J. D. Cerveny, J. G. and Luchansky, J. B.: Inhibition of Nonproteolytic, Psychrotrophic *Clostridia* and Anaerobic Sporeformers by Sodium Diacetate and Sodium Lactate in Cooked-in-bag Turkey Breast, J. Food Prot. 66, 1474-1478 (2003)
- 11) Samelis, J. Bedie, G. K. Sofos, J. N. John, K. E., Scanga, J. A., and Smith, G. C.: Control of *Listeria monocytogenes* with combined Antimicrobials after Postprocess Contamination and Extended Storage of Frankfurters at 40C in Vacuum Package, J. Food Prot. 65, 299-307 (2002)

(松田敏生 フードスタッフ研究所)

食品加工と微生物

加工用原料野菜の化学的除菌技術（1）

一次亜塩素酸ナトリウム

加工用原料野菜の除菌技術としては物理的あるいは化学的方法があり、今回は、主に手洗浄、曝気洗浄やプランチングによる加熱殺菌など、物理的な除菌技術について述べた。一方、化学的な除菌技術として次亜塩素酸ナトリウムや有機酸を使った殺菌洗浄や界面活性剤を含む食品用洗浄剤を利用した除菌洗浄の他に、オゾン水、電解水、酵素剤、焼成カルシウムを利用したものが利用されているほか、過酸化水素を用いた方法も一部で検討されている。そこで、今回は化学的な除菌技術として広く利用されている次亜塩素酸ナトリウムを用いた殺菌洗浄やその特性について述べる。

1. 次亜塩素酸ナトリウム

次亜塩素酸ナトリウムを用いた殺菌洗浄はカット野菜や浅漬けを製造している業界で最も多く利用されている殺菌洗浄法の一つである。次亜塩素酸ナトリウムの抗菌スペクトルは広く、表1¹⁾に示すようにグラム陽性菌、グラム陰性菌のいずれに対して強い抗菌力を示し、一部の真菌類、ウイルスや一部の芽胞に対しても有効であることが知られている。このように微生物に対して強い殺菌力を有している一方、人体に対しては、次亜塩素酸ナトリウムは強い漂白作用や脱臭作用有していることから、眼などの粘膜に対して強い刺激を与えるなどの影響を及ぼすことがある。したがって、使用にあたっては人体に直接付着させないなど、十分な注意が必要である。次亜塩素酸ナトリウムは、光や熱によって分解するほか、pH11以下の状態で重金属や二酸化炭素（空気）が存在していると分解が起きるので保管の際は直射日光を避け、使用後は密栓し、25℃以下で遮光保存することが必要である。また、金属製容器は分解を促進するので使用は避けなければならない。このように次亜塩素酸ナトリウムの保存には注意する必要がある。

微生物	有効塩素 (ppm)	pH	温度 (℃)	時間	殺菌率 (%)	報告者
<i>A.aerogenes</i>	0.01	7.0	20	5分	99.8	RIDENOUR
<i>St.aureus</i>	0.07	7.0	20	5分	99.8	RIDENOUR
<i>E.coli</i>	0.01	7.0	20	5分	99.8	RIDENOUR
<i>E.coli</i>	12.5	7.7	25	15秒	>99.999	MOSLEY
<i>Sh.dysenteriae</i>	0.02	7.0	0	5分	99.9	RIDENOUR
<i>S.paratyphi B</i>	0.02	7.0	20	5分	99.9	RIDENOUR
<i>S.derby</i>	12.5	7.2	25	15秒	>99.999	MOSLEY
<i>Str.lactis</i>	6	8.4	25	15秒	>99.99	HAYS
<i>L.plantarum</i>	6	5.0	25	15秒	>99.99	HAYS
<i>B.cereus</i>	100	8.0	21	5分	99	COUSINS
<i>B.subtilis</i>	100	8.0	21	60分	99	COUSINS
<i>B.coagulans</i>	5	6.8	20	27分	90	LABREE
<i>C.botulinum A</i>	4.5	6.5	25	10.5分	99.99	ITO
<i>C.botulinum E</i>	4.5	6.5	25	6.0分	99.99	ITO
<i>C.perfringens 6719</i>	5	8.3	10	60分	なし	DYE
<i>C.sporogenes</i>	5	8.3	10	35分	99.9	DYE

表1 各種細菌に対する次亜塩素酸の殺菌作用¹⁾

次亜塩素酸ナトリウムの殺菌力は次亜塩素酸により発揮される。次亜塩素酸は水中では通常、解離しており、

殺菌性を有するのは未解離の次亜塩素酸である。したがって、pHによる影響を強く受ける。表2¹⁾で示すようにpH10以上の場合ほとんどのが解離状態にあるが、pH6以下では90%以上のが未解離の次亜塩素酸となることから、次亜塩素酸による殺菌洗浄を効果的に行うにはpH5~6であることが望ましい。しかし、pHが低すぎる場合は毒性のある塩素ガスが発生し、非常に危険な状態になるので十分な注意が必要である。次亜塩素酸は細菌に作用すると核酸やたんぱく質、細胞膜の変性を引き起こすこと、また、たんぱく質やラジカル消去剤を添加すると殺菌力が急速に低下することなどからラジカルの生成が推測されており、次亜塩素酸の最終的な殺菌作用はヒドロキシラジカルによるものであろうと考えられる。

pH	HOClとして存在 (%)
4.5	100
5.0	98
6.0	94
7.0	75
8.0	23
9.0	4
10.0	0

表2 次亜塩素酸の存在率とpHの関係¹⁾

次亜塩素酸ナトリウムを利用した野菜の除菌に関しては多くの報告がされている。島津ら²⁾は有効塩素50~200ppmの次亜塩素酸ナトリウム水溶液にキュウリを5分間浸漬し、その除菌効果について検討を加えている。このなかで、100ppmの次亜塩素酸ナトリウム水溶液に15分以上浸漬することにより数分の1に減少できるが、期待するほどの効果は得られず、pH調整が必要としている。太田ら³⁾はキュウリに対する次亜塩素酸ナトリウムの除菌効果について詳細に検討を行っている。キュウリの表面にはワックス層があり、水をはじくために効果的な洗浄が困難である。そこで、次亜塩素酸ナトリウムによる洗浄の前処理として界面活性剤であるシヨ糖脂肪酸エステルの使用を検討している。

次亜塩素酸ナトリウムはpHに殺菌効果が左右されることを述べたが、図1は各pHでの次亜塩素酸ナトリウムによる殺菌効果について検討したものである。pH10.0あるいはpH8.0のようなアルカリ側よりもpH6.0以下の酸性側での効果が顕著であることがわかる。作用濃度では図2からも明らかなように有効塩素が50~100ppmで効果が認められているが、100ppm以上にしてもキュウリの殺菌効果はあまり変わらないことから、塩素臭の残留、作業環境を考慮すると処理濃度は100ppmで十分としている。作用温度に関しては図3で示すように30℃以下とそれ以上の温度において殺菌効果に差が認められており、処理温度を30℃以上にするとう効果的であるとしている。洗浄において30℃で行うことは実際上、困難であることが多いと思われるが、通常環境条件である20℃では有効塩素濃度100ppm、pH6.0の処理条件で10²オーダーの減少を達成するには30分以上の浸漬時間が必要であることを明らかにしている。したがって、短時間に効果的な洗浄を行うには何らかの手段との併用が必要と考えられる。その点に関して太田ら⁴⁾は曝気との併用について検討を加えている。曝気のみでの洗浄では短時間域での洗浄効果が大きく、曝気流量が大きくなるほど洗浄効果が増加するが、150L/min以上になるとキュウリ組織が物理

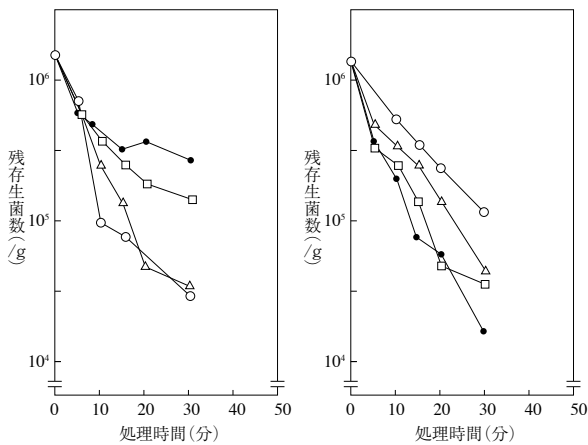


図1 次亜塩素酸 Na の効果におよぼす pH の影響³⁾ *有効塩素濃度 100ppm, 温度 20℃
○ pH4.0, △ pH6.0, □ pH8.0, ● pH10.0

図2 次亜塩素酸 Na の効果におよぼす濃度の影響³⁾ * pH6.0, 温度 20℃
○ 25ppm, △ 50ppm, □ 100ppm, ▲ 150ppm, ● 200ppm

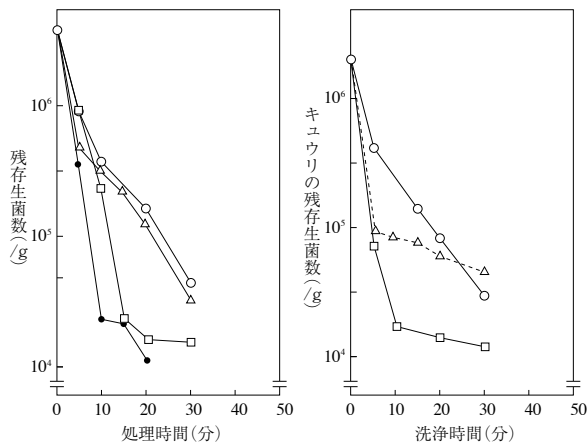


図3 次亜塩素酸 Na の効果におよぼす温度の影響³⁾ * pH6.0, 次亜塩素酸 Na 濃度 100ppm
○ 10℃, △ 20℃, □ 30℃, ● 40℃

図4 曝気と NaOCl 併用洗浄によるキュウリの洗浄効果⁴⁾ 曝気流量: 100ℓ / 分
NaOCl 殺菌条件: 有効塩素 100ppm, 作用 pH6.0, 温度 20℃
○ NaOCl 洗浄, △ 曝気洗浄, □ 曝気・NaOCl 併用洗浄

的損傷を受けやすくなる傾向のあることを指摘している。図 4 は曝気と次亜塩素酸ナトリウムを併用してキュウリの洗浄を行った場合の洗浄効果について示したものである。曝気流量を 100L/min、次亜塩素酸ナトリウムの処理条件を有効塩素 100ppm、pH6.0、温度 20℃ でキュウリを処理した場合、次亜塩素酸ナトリウムの単独処理では作用温度が 20℃ の場合は 10^2 オーダー減少させるのに 30 分以上の処理時間を必要とするが、曝気処理の特徴である短時間での除菌効果を併用することによって、相乗効果が表れ、短時間で殺菌効果が得られている。具体的には初発菌数が $10^5 \sim 10^6/g$ のキュウリの場合、10 分間で 10^2 オーダーの減少が可能であるとしている。次亜塩素酸ナトリウムによる殺菌洗浄は回数を増やすことによりさらに洗

浄効果を高めることができる。表 3 および表 4 は 100 および 200ppm の次亜塩素酸ナトリウム水溶液で連続する 3 槽の洗浄槽で繰り返し処理した場合のカット野菜の一般生菌数および大腸菌群数の変化を調べたもので、繰り返しにより、さらに生菌数の低減化が認められる結果となっている。

	次亜塩素酸	
	100ppm	200ppm
原料野菜	$1.0 \times 10^2 \sim 1.1 \times 10^5$	$1.0 \times 10^2 \sim 1.1 \times 10^5$
1 次洗浄	$1.2 \times 10^3 \sim 7.9 \times 10^3$	$6.2 \times 10^3 \sim 3.8 \times 10^4$
2 次洗浄	$1.8 \times 10^2 \sim 2.3 \times 10^2$	$9.9 \times 10 \sim 8.9 \times 10^2$
3 次洗浄	$2.6 \times 10^2 \sim 5.9 \times 10^3$	$9.9 \times 10 \sim 8.9 \times 10^2$

表 3 殺菌剤の濃度の違いによる一般生菌数の変化⁵⁾

	次亜塩素酸	
	100ppm	200ppm
原料野菜	$3.6 \times 10 \sim 1.4 \times 10^4$	$1.0 \times 10 \sim 1.1 \times 10^3$
1 次洗浄	$5.4 \times 10^2 \sim 3.3 \times 10^3$	$6.6 \times 10^3 \sim 1.7 \times 10^4$
2 次洗浄	$2.0 \times 10 \sim 9.0 \times 10^2$	$9.9 \sim 1.2 \times 10^3$
3 次洗浄	$1.3 \times 10^2 \sim 7.2 \times 10^2$	$9.9 \sim 2.9 \times 10^2$

表 4 殺菌剤の濃度の違いによる一般生菌数の変化⁵⁾

次亜塩素酸ナトリウムを加工用原料野菜の殺菌洗浄に用いる場合、次亜塩素酸ナトリウム特有の臭いが野菜に残留しないように配慮する必要がある。また、前述したように原料野菜をカットするなどの物理的処理を加えると細菌の増殖を促すとともに呼吸量の増大がみられ、品質低下を速めることになるので、最初に界面活性剤を用いた洗浄を行なった後に次亜塩素酸ナトリウムによる殺菌洗浄を繰り返して行い、水洗浄によって残留する次亜塩素酸ナトリウムの除去を充分に行なうことが必要である。

洗漬け原料野菜の洗浄の場合は生原料よりも下漬野菜を殺菌洗浄した方が作業性および洗浄効果が高まることが多い。これは下漬により原料野菜が柔軟となり、曝気などの物理的洗浄における野菜組織の損傷が少なくなるとともに野菜表面のワックス層が減少するため、殺菌洗浄効果が高まるためである。なお、次亜塩素酸ナトリウムでは特有の臭いが発生するので作業環境には十分注意する必要がある。したがって、洗浄装置を閉鎖システムにするなど従業員の健康を配慮した工夫も必要と思われる。

引用文献

- 1) Cords, R., et al., "Antimicrobials in Foods", Chap.14, p469 ~ 537, Marcel Dekker, Inc. (1993)
- 2) 島津祐子ら：岩手県醸造食品試験場報告, 21, 7 (1987)
- 3) 太田義雄ら：日食工誌, 42, 661 (1995)
- 4) 太田義雄ら：広島食工技研報, 21, 32 (1996)
- 5) 伊勢 哲：調理食品と技術, 3, (1), 59 (1997)

(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2-3 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 名古屋市南中村区東宿町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