

アサマ

NEWS

パートナ

2014-7 No.161

オゾンによる 食品微生物の制御

食品工業へのオゾンの利用（その7） オゾンと過酸化水素

1. はじめに

わが国の無菌充填包装食品は、1985年厚生省令第29号によってLL (Long-life)牛乳の常温流通が許可されてから、一段と多様化してきた。最近、食品及び包装材料の新しい殺菌技術、新しい無菌充填機の開発によりその種類も生クリーム、スープ、果汁、プリン、水ようかん、ムース、おかゆ等、従来の液状、高粘性食品から固形物入りの粘性食品へと発展してきている。一方、包装容器の種類も紙容器（ゲブル、ブリック）、プラスチック容器（カップ、袋、ボトル）と多様化している。無菌化充填包装は、あらかじめ殺菌、滅菌処理された食品を、無菌化された包装材料を使用して無菌環境下で充填、密封するシステムである。

2. 食品包装材料の微生物と殺菌方法

食品の無菌化包装において包装材料の滅菌は重要なポイントになる。プラスチック包装材料の生菌数は日本の場合 5～10/100cm²であり、ラミネートされたフィルムの場合（10種類の平均）は、7～10/100cm²であり、そのうち細菌が80%、酵母が7%、カビが13%を占めた。検出された細菌の内訳は Micrococcus を中心とする球菌 52%、Bacillus 30%、その他18%であった。成型したプラスチックカップの場合（6種類の平均）、生菌数は1～4/100cm²であり、そのうち細菌が87%、酵母6%、カビ7%であった。検出された細菌の内訳は球菌65%、Bacillus 22%、その他13%であった。無菌包装において使用する包装材料の殺菌方法の主なものの特徴を表1に示した。無菌製品の包装材料は過酸化水素、加熱水蒸気、乾燥熱風、紫外線、オゾン等で殺菌される。中でも過酸化水素は牛乳、乳飲料のような紙容器、プリン、パバロア、ゼリー、コーヒー用クリーム等の各種デザート食品群のプラスチック容器、包装材料の殺菌に最も一般的に使用される殺菌剤である。

容器の場合、過酸化水素を塗抹、噴霧、又は浸漬した後、熱風で乾燥する方式である。

過酸化水素を用いることで懸念されているのは、その

残留の問題である。

加熱水蒸気、乾燥熱風等の一部の装置で使用されているが、いずれも殺菌性能が劣る。そのため加熱水蒸気では温度が180～230℃のものが使用され、従って耐熱性のある金属容器に用いられる。蒸気の使用が好ましくないコンボジット缶では乾燥熱風が用いられているが、乾燥熱風の最高温度は127℃であり、この温度では細菌芽胞の殺菌は不十分なため、充填する内容食品は果汁など高酸性食品に限定している。

紫外線は高出力ランプが開発されて以来多く使用されるようになった。ただ非透過性のため全体として殺菌力は弱い。そのため他の方法と併用されて用いられる場合が多い。紫外線は過酸化水素の殺菌効果を著しく強めることが知られており、過酸化水素単独の場合は濃度が35%のものが使用されているのに対して、紫外線との併用の場合は、最も効果の大きい濃度は0.5～1.0%、あるいは2.5%と極めて低い。これは紫外線によって過酸化水素中にヒドロキシラジカルが生じるため、これが細胞に作用し損傷を与えると考えられている。高濃度では紫外線が過酸化水素に吸収されるため殺菌効力は低下する。

プラスチック容器では、射出成型時の熱、共押し出し時の熱によって殺菌する方法もあるが、いずれも二次汚染の問題がある。エチレンオキシドによる方法、放射線による方法もあるがこれらはいずれもバッチでの不連続、オフラインの殺菌となる。

表1 包装材料の殺菌方法

方法	長所	短所	適用
過酸化水素	即効性 冷殺菌	残留性	プラスチック容器 プラスチックフィルム
紫外線	即効性 冷殺菌	非透過性 コスト高	プラスチック容器 プラスチックフィルム
乾燥熱風	非耐熱性菌殺菌	殺菌効果弱い	金属容器、コンボジット容器
加熱水蒸気	即効性	耐熱性菌生成 コスト高	金属容器
過酸化水素と紫外線	即効性 冷殺菌	メンテ困難	プラスチック容器
エチレンオキシド	殺菌力大 即効性 冷殺菌	残留性	プラスチック容器
射出成型時の熱	非耐熱性菌の殺菌	殺菌力弱い	プラスチック容器
オゾン	冷殺菌 ガスと溶液使用可	殺菌力の持続性	プラスチックフィルム

最近、オゾンによる包装材料の殺菌が注目を浴びてい

る。オゾン殺菌法の特徴はオゾンガスとオゾン水の併用で殺菌し、熱を出さない冷殺菌で残留がないことである。デスポーザブル医療分野では、現在、エチレンオキシド殺菌法が主流であるがγ線殺菌法、紫外線殺菌法、オゾン殺菌法が検討されている。食品においては、バッグインボックスの場合、内袋はプラスチック製であり密封状態で殺菌する必要があるため、殺菌方法が限られており、現在、γ線殺菌法とエチレンオキシド殺菌法が行われている。エチレンオキシド殺菌法ではその殺菌時間と残留エチレンオキシドが実用上の問題となる。一般に医療用資材では材料の一部に紙を使用し、エチレンオキシドガスの出入りがスムーズに行われるようにしてある。バックインボックス内袋の場合は、液体を入れるので、紙を使用することはできない。そこで殺菌はフィルムを透過してくるエチレンオキシドで行わなければならない。その結果、残留エチレンオキシドの問題が生じている。オゾンを利用し、これらの問題を解決する方法が検討されている。

①オゾン殺菌の特徴

オゾン殺菌ではオゾンは微生物の細胞壁等の表層を構造的に破壊し、あるいは分解することによって酵素の活性が失われ、核酸が不活化される。細菌細胞の構造は、中央部に遺伝情報を司る染色体があり、その外側に蛋白質と脂質とからなる柔らかい細胞膜があり、さらにその外側に蛋白質、多糖、脂質からなる細胞壁が取り巻いている。これらの膜、壁の厚さは約10nmである。細菌に対する殺菌作用機構は、オゾン水あるいはこれより空気中に放出されたオゾンガスが水分と反応して生成したヒドロキシラジカルによる細胞壁の酸化分解である。このようにオゾンによる殺菌は溶菌と呼ばれる細菌の細胞壁の破壊や分解によるものといわれ、塩素が細胞膜を通して酵素を攻撃する機構とは全く異なる。このため細菌の生存率をオゾン又は塩素濃度でプロットしてみると、塩素は濃度が増加するごとに殺菌力が増加するカーブを描いたが、オゾンはある一定の濃度に到達して殺菌力を示すという特徴がある。

②過酸化水素殺菌の特徴

過酸化水素は無色透明の液体で臭気はほとんどなく、水と良く混合し、酸化還元の両作用を示し、光、熱等の分離的手段によっても化学的あるいは酵素的にも分解する。過酸化水素は広い範囲の微生物に対して殺菌作用を示すが、短時間にその顕著な効果を期待するためには高濃度、高温条件が必要である。しかし食品中では急速に分解されるため微生物の種類により低濃度でも殺菌効果は認められる。過酸化水素は分解時に発生する活性酸素により微生物細胞膜の変性や酵素変性により殺菌効果を示すが、鉄等の反応によるフェントン反応等によって生成するヒドロキシラジカルも殺菌効果に寄与する。また過酸化水素はヒドロキシラジカルやスーパーオキシドラジカルに比べ、寿命も長く、安定な物質である。特に細菌ではカタラーゼ分解酵素を持ったものは、殺菌効果は現れにくい、カタラーゼ分解酵素を持たない乳酸菌や嫌気性細菌は低濃度の過酸化水素でも効果が認められる。嫌気性の肺炎双球菌及び連鎖状球菌等は過酸化水素が検

出され、嫌気性の乳酸菌はカタラーゼを持たないため過酸化水素を蓄積して、他の微生物の殺菌に寄与する。

3. オゾンを利用した無菌充填システム

無菌化充填包装は、あらかじめ殺菌、滅菌処理された食品を無菌化された包装材料を使用して無菌環境下で充填、密封する包装システムである。この時、最も問題となるのが包装材料の無菌化である。包装材料の微生物は、通常の無加熱食品と同様に原紙に存在する微生物と製造工程での二次汚染微生物である。細菌には *Micrococcus* が圧倒的に多い。*Micrococcus* はオゾンに抵抗力がないので、オゾンを利用して殺菌することは有効である。

オゾンを利用した無菌充填包装システムはオゾンで無菌充填状態を維持し、容器及びフィルムの殺菌、充填、密封シールが行われる。包装材料の殺菌、充填、シール部はチャンバーになっていて、無菌空気によって常に外部より圧力を高く保持されており、一部解放されている部分から浮遊菌がチャンバー内に侵入するのを防いでいる。

なお、チャンバー内のプレ滅菌は、高濃度オゾンガスを吹き込み、しばらくオゾンガス処理状態を保持し、その後、無菌空気を吹き込むことによりオゾンを上部分解部へ送り、オゾンを完全に排除している。無菌空気は高性能フィルターを用いて除菌してチャンバー内に導入する。

4. オゾン処理による包装材料加工工場の空中浮遊微生物の変化

食品包装用材料加工工場は水分が少ないため乾燥に強いグラム陽性細菌、真菌の二次汚染が問題となる場合が多い。*Bacillus*, *Micrococcus*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Rhizopus* について各測定地点では1月は4～28/5分間、7月は3～34/5分間の落下微生物が検出された。従業員（ヒト）が多いと落下微生物が多いことが考えられた。

人間からの微生物汚染は多いと考えられる。工場のオゾン処理により *Micrococcus* が著しく減少した。

オゾン処理前の包装材料加工工程の生菌数を測定した結果、印刷からドライラミネーション工程にかけて生菌数が増加した。工場のオゾン処理により印刷からドライラミネーション工程にかけての生菌数が著しく減少した。

5. 従業員（ヒト）に由来する微生物

人間の皮膚、頭、口腔、腸管、上気道、鼻咽喉、手指、足には多くの正常細菌叢が定住している。これらの微生物群は正常フローラと呼ばれる。ヒト固有の微生物叢として、一生ヒトと共生して存在し、外部から他の病原菌が侵入した場合には、常在菌の拮抗作用によりこれを防いだり、また腸内菌の場合には種々のビタミン類やタンパク質の合成、消化作用の助成、免疫刺激や腸内異常発酵の抑制などヒトに対して種々の役割を果たしている。

通常、微生物はヒトの口や消化器だけではなく、皮膚（わき部、そけい部、手部、足部）にも多く付着している（表2）。皮膚に付着している微生物の数は健康人でおおよそ $10^5 \sim 10^6/\text{cm}^2$ 、手のひらのように多く洗う部分は $10^2 \sim 10^3/\text{cm}^2$ くらいで、汗のかきやすい部分では $10^{11}/\text{cm}^2$ 程度付着している。主な微生物は細菌で、*Corynebacterium* と

ブドウ球菌が多い。これらの菌が外部からの有害菌の侵入を阻止している。ヒトの汗には微生物が多く存在する。衛生管理上、汗を拭き取ることは大切ですが、薬用石鹸等で手や皮膚を洗い続けると皮膚の有用菌が減少し、有害菌の感染を受けやすくなる。

従業員の靴の中には多くのカビが生育する。普通、靴の内部の状態は、温度32℃、相対湿度80～90%であるのでカビの生育には好適で、靴の中底の表面の汗は約99.5%が水で、ナトリウム、カリウム、塩素、炭水化物誘導体（主に乳酸塩）、尿素、アンモニア、アミノ酸、脂肪酸、ステロール類、フェノール類、ビタミン類が含まれている。靴の中の微生物は汗、時には皮膚の鱗片の溶解物（カリウム、乳酸、尿素）、汗によって流出された皮膚鱗片、靴の材料の劣化が起こり、靴の外観が損なわれるだけでなく、裏地、中底等がカビに侵され、損傷を受けると同時にカビ臭やいわゆる猫臭を放つようになる。カビは従来からヒトの皮膚病の原因カビとされてきた経緯を考慮して従業員の健康管理は重要である。多くの食品工場では従業員に由来する真菌により多量の食品が変敗した例がある。

表2 ヒトに生息する微生物（1 cm²当たり）

部位	グラム陽性菌		グラム陰性菌	カビ
	球菌	桿菌		
わき部	6.5×10 ⁵	1.6×10 ⁷	4.5×10 ³	0.07
そけい部	4.7×10 ⁴	1.9×10 ⁶	5.0×10	0
手部	7.7×10 ⁵	8.6×10 ²	0.5	0.17
足部	7.0×10 ⁵	2.2×10 ⁶	2.2×10 ⁶	3.8

文献

- 1) 内藤茂三：産業へのオゾンの利用技術12、食品工場のオゾン殺菌、日本防菌防黴学会誌、42、(6) (2014)
- 2) 内藤茂三：オゾンを利用した無菌充填・包装システムの実例、食品と科学、32、(6)、102-110 (2000)
- 3) 内藤茂三：オゾン殺菌技術とその効果、食品と容器、36、(2)、64-74 (1994)
- 4) Fetner, R.H. and Ingola, R.S.: Bacterial activity of ozone and Chlorine against *Escherichia coli* at 1℃, *Ozone chemistry and Technology*, 370-374 (1959)
- 5) 内藤茂三：包装材料加工工場の落下微生物に及ぼすオゾン処理の影響、日本防菌防黴学会、21,445-451 (1993)
- 6) 内藤茂三：食品工場における植物及び人感染性カビによる食品変敗と制御、かびと生活、4、(1)、30-36 (2011)
- 7) Bertho, A.H. Gluck: Ann., 494, 159 (1932)

(内藤茂三 食品・微生物研究所)

古代中国酢の歴史と製造技術

中国の酢には黒酢系統のものが多く、独特の風味を有している。以前、北京市の醸造研究所で技術指導を行った経験があり、そのときの資料をもとに中国酢の紹介をしてみたい。今回は、中国酢の起源と古代中国で行われていた食酢製造の歴史を紹介し、次回は日本でも知られている“鎮江香醋”や“保寧醋”などの伝統的な中国酢について紹介したいと思う。

中国酢の起源

中国酢は長い歴史を有しており、食酢を意味する“醋”あるいは“酢”という字の偏は“酉”である。“酉”という文字は、古く甲骨文に見られ酒を意味している。このことから酢が酒から作られていたことがわかる。日本

では“酢”と表すのが一般的だが、中国では“醋”と表現することが多い。現在と異なり、古代中国の醸造酒はアルコール濃度が低かったため、アルコールが酢酸菌によって酸化されて酢になってしまう場合が多かった。『韓非子』は中国の戦国時代（紀元前403～前221）に書かれた歴史的な書物であるが、その中に酒が酸敗したために売り物にならなくなった話が記されている。また、前漢時代（紀元前202～8）、楊雄の著した『法言』の中にも、儀式が長く続いたので、儀式が終わった頃には、既に酒は酸っぱくなっていったという逸話も残っている。このことから、当時の酒は酸敗し易く、比較的容易に酢酸発酵が起こっていたことが想像される。その後、それらを酢として利用することになる。

漢代以後になると古書の中で“苦酒（からざけ）”という言葉が頻繁に出てくる。この苦酒という言葉も酢の古い呼び名である。有名な『齊民要術』でも酢のことを“苦酒”と表現している。東漢時代になると酢という文字が出てくる。現在の中国では、醋という字を使うのが、一般的であるが、食醋の古字が“酢”という字であることから、日本は中国よりも古い酢という字を使っていることになり、興味深い。中国では、食生活では不可欠な調味料になっていた宋時代以降、中国では醋という言葉が日常的に使われるようになったものと思われる。

古代中国の製麹

古代中国で醸造の際に用いられていた糖化方法は、糸状菌のリゾプスあるいは麹菌を用いる方法で、同様の糖化方法は東アジア各国にも広く伝わり、現在でも利用されている。一方、欧米各国で利用されている糖化方法は主に麦芽によるもので、麦芽のアミラーゼを利用して、ビールやウイスキーの醸造の際、麦芽を用いて糖化が行われることは良く知られているが、これはアジアと西欧での醸造技術で大きく異なる点である。欧米で糸状菌を用いた糖化が初めて行われたのはドイツで1892年のことである。中国から大量の酒薬を収集し、その中から糖化力の強いリゾプス菌を分離し、それをアルコール工業に用いたところ、従来利用していた麦芽よりも糖化力が強かったことが記録されている。逆に、中国でも麦芽を糖化剤として利用していた歴史がある。『周礼、天官』の中で記載されている“醴齊”は麦芽を用いて製造された酒であったことが記録として残っている。

麦を原料とした麴の製造

『齊民要術』の中には23種類の食酢の醸造方法が記述されている。醸造に用いられる微生物の主なものは“黄衣”で、醸造の際の糖化および発酵に用いられる。黄衣は、蒸した小麦に麹菌を接種することにより製造された散麴である。黄衣は散麴なので好気培養条件の下で麹菌を接種して製造する。穀物を原料に食酢を醸造することを生物化学的にみると澱粉の糖化、アルコール発酵及び酢酸発酵の一連の変化を経て作られることに他ならない。黄衣は強い糖化力を有するだけでなく、たんぱく分解活性も強い。酢の醸造に使用すれば原料中の蛋白質を分解し、アミノ酸やペプチド類を生成するので、製品の風味を高めることができる。このようなことが、1400年前の古代中国で経験的に行なわれていた。

米を原料とした麴の製造

『居家必用事類全集』には麴菌の麴を利用して酢を醸造する方法について詳しく記述している。この中に“三黄酢製造方法”に関する記述がある。“三黄酢製造方法”は米を原料とし、麴菌を接種することによって麴を製造する方法で、散麴を作る。これを日に干して貯蔵し、糖化剤としていたものと考えられている。また、“麦黄酢製造方法”は小麦を原料として麴菌を接種し、散麴を作る方法である。なお、“大麦酢製造法”は大麦を黄色になるまで炒め、それを原料として麴をつくることによって香の成分を生成させ、製品となる酢にその香を付与させようとするものであったようだ。

麴を原料とした麴の製造

古代中国では、麴を製造するための原料として米や麦だけを使用していたわけではない。それらのもの以外で比較的多く利用されていたものが麴である。『居家必用事類全集』には“麴醋製造法”についての記述がみられる。この製造法は、米と麴を利用して液体発酵により製造するところに特徴がある。現在の中国で良く知られている“四川保寧麴醋”の製造で用いられている固体発酵法とは異なるものである。麴の炭素源と窒素源の割合は微生物、特に麴菌の生長と増殖に対し、最適であることが知られており、微量無機成分も麴菌の生育に有効であることも明らかにされている。したがって、麴は麴菌を培養するのに最適な培地ということになる。数百年前の明の時代にこのような長所を既に見通していたことは、驚きに値する。麴の麴を用いる技術は、その後、発展することはなかったが、その有用性が近年になって再認識され、それ以降、この技術は急速に各地に拡がり、現在のようにアルコール、食酢製造の重要な麴となっている。

リゾープスを主体とする食酢麴

『齊民要術』には、直方体の形状をした笨麴（ホン）を利用して酢を醸造したことに関する内容を記述した文章が多くみられる。この麴は小麦粉に水を混合し、練り上げたものを煉瓦形にし、それを蒸した後、リゾープス菌を接種して製造される。笨麴は先述した麦麴よりも大きく、直方体の形を成している。原料に用いる小麦は炒めたものを使用するのが普通である。“笨”（ホン）の意味は不器用あるいは粗野という意味がある。したがって、笨麴は粗麴と呼ばれることがある。原料の小麦は炒めた後、麦麴のように細かく挽かれることもなく、粗粒のまま作られる。水を加えて練った後、木型（一般的なのは、30cm 四方で、高さが7cm 程度）に入れて押し、煉瓦状に整形するものである。このように比較的荒っぽい方法でも整形することができることから、笨麴と呼ばれる様になったものと思われる。

古代中国における食酢製造技術

古代中国における主な食酢製造方法としては、（1）穀

物を原料とし、糖化、アルコール発酵及び酢酸発酵が同時並行して行なわれる複式発酵法、（2）酒あるいは酒含有物質を原料とし、アルコール酸化を主とする酢酸発酵法などがある。

1) 複式発酵法

この方法は中国で開発された発酵法で、現在に伝えられているだけでなく、東アジアや東南アジアの国々にも広く伝わった方法である。日本の米酢も糖化、アルコール発酵、酢酸発酵が同時並行的に行われる複式発酵法で作られている。この発酵法はさらに固体発酵法と液体発酵法の2種類に分けることができる。古書によると古代中国では、液体発酵法が固体発酵法よりも広く利用されていたようで、『齊民要術』には食酢の醸造に関する記載が23種類ほどあるが、ほとんどが液体発酵法に関するものである。穀物を原料として複式発酵を行う場合の第一段階は、穀物の浸漬、蒸煮である。その目的は一定の水分が存在する条件下で澱粉粒を膨脹、糊化させることにより、アミラーゼ及び糖化酵素による加水分解を促進するためである。同時に蛋白質が蒸煮によって熱変性することによって蛋白分解酵素が作用しやすくなる効果もある。

2) アルコール酸化による酢酸発酵法

この方法は酢の製造法では最も古いものであったことが想像される。それは、酒を放置しておく通常、酢酸発酵が進行するからである。『齊民要術』の中に“動酒酢法”に関する記述がある。その内容から、酒に水を加えて希釈することによってアルコール濃度を野生の酢酸菌が増殖可能なところにまで低下させ、酢酸発酵を行わせていたものと思われる。7日後には、酢酸や酢酸菌膜が生成していたことがわかる。酢酸菌は好気性の強い細菌であることから、網状の菌膜を液体表面に形成する特性を持っている。『齊民要術』で、“衣”と表現されているものは、酢酸菌膜のことと思われるが、これは酢酸菌が盛んに繁殖している状態を表現するのに適当であったことによるものであろう。また、それらの“衣”（酢酸菌膜）は、攪拌せずに、自然のまま生育させ、数十日後、酢酸菌が酸生成能力を失い、自然に沈殿することで酢の製造が終わることからも、表現としてふさわしいと考えたのであろう。これらの記載から、既に1400年余りに酢酸菌の特性を理解し、それを巧みに利用してきたことがわかる。『齊民要術』の著者である賈思勰は酢の製造が“衣”の作用によるものであることを明らかにし、それは、生物であることを最初に述べた人である。これはヨーロッパでは酢酸の製造が生物かそれとも非生物であるかという論議をしていた頃よりも1300年余りも古いことなのである。

（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