

アサマ NEWS

パートナ

2017-1 No.176

食品の微生物変敗と 防止技術

(15) 清涼飲料の微生物変敗と制御

1. はじめに

清涼飲料は「乳酸菌飲料、乳及び乳製品を除く酒精分1%未満の飲料」と定義されている。日本では清涼飲料に果実飲料が含まれるが、アメリカでは果実飲料は、ソフトドリンクと並んでペパレージの中で独立した分類とされている。清涼飲料の品質管理、品質保証においては微生物管理と異物混入防止が重要である。その中でも製品の微生物管理は安心、安全性面から重点を置かれている。設備の大型化による大量生産で原料、製造機器の微生物汚染の可能性が拡大して危害の範囲が広範囲にわたっている。

清涼飲料水の成分規格には、混濁（原材料として用いられる植物若しくは動物の組織成分、着色若しくは着色の目的に使用される添加物又は一般に人の健康を損なうおそれがないと認められる死滅した微生物（製品の原材料に混入することがやむを得ないものに限る。）に起因する混濁を除く。）したものであってはならないとされている。

混入した微生物による増殖により混濁が容易に検出される。大腸菌群は陰性でなければならないし、ミネラルウォーター類（水のみを原料とする清涼飲料水をいう。）のうち、容器包装内の二酸化炭素圧力が20°で98kPa未満であって、かつ、殺菌又は除菌を行わないものにあつては、腸球菌及び緑膿のう菌が陰性でなければならない。使用原水は飲用適の水で一般細菌数は1ml当たり100以下、大腸菌群は検出されないこととなっている。また飲料水の保存基準は紙栓をつけたガラス瓶に収められたものは、10°以下で保存しなければならない。

ミネラルウォーター類、冷凍果実飲料及び原料用果汁以外の清涼飲料水のうち、pH4.6以上で、かつ、水分活性が0.94を超えるものであって、原材料等に由来して当該食品中に存在し、かつ、発育し得る微生物を死滅させるのに十分な効力を有する方法で殺菌していないものにあつては、10°以下で保存しなければならない。冷凍果実飲料及び冷凍した原料用果汁は、-15°以下で保存し、原料用果汁は、清潔で衛生的な容器包装に収めて保存しなければならない。

清涼飲料水の殺菌条件は、大きく飲料のpHにより区分されている。これはそれぞれのpH域で発育可能な微生物を死滅させることを目指しているものであり、酸性域ではカビや酵母を、中性域では細菌芽胞を制御することを目的とする。

pH4.6以上かつ水分活性0.94以上では *Clostridium*

botulinum が発育して毒素を生産することができる条件である。120℃、4分間の加熱条件は *Clostridium botulinum* の芽胞に対して殺菌効果が認められる条件となっている。清涼飲料水の無菌化の考え方は商業的無菌であり、微生物が完全に死滅している殺菌は要求していない。清涼飲料水の品質を劣化させる微生物を殺菌するということになる。ここに清涼飲料水の微生物的変敗の要因がある。

清涼飲料水を製造するに当たって制御の対象となる微生物はカビ、細菌、酵母である。細菌には乳酸菌や耐熱性芽胞菌が中心となる。それぞれの生育最適pHの制御、殺菌温度制御が大切となる。

2. ミネラルウォーター

2.1 ミネラルウォーターの種類

地下水などのうち飲用適の水（カルシウム、マグネシウムなど（硬度）及びpH値を除き、水道法第4条に適合する水をいう）を容器に詰めたもの（炭酸飲料の日本農林規格（昭和49年6月27日農林省告示第567号）に規定する炭酸飲料を除く）。

これを「ミネラルウォーター類」という。ナチュラルウォーターは特定の水源から採水された地下水を原水とし、沈殿、濾過、加熱殺菌以外の物理的・化学的処理を行わないものをいう。ナチュラルミネラルウォーターはナチュラルウォーターのうち鉱化された地下水（地表から浸透し、地下を移動中又は地下に滞留中に地層中の無機塩類が溶解した地下水（天然の二酸化炭素が溶解し、発泡性を有する地下水を含む）をいう）を原水としたものをいう。

ミネラルウォーターはナチュラルミネラルウォーターを原水とし、品質を安定させる目的などのためにミネラル調整、ばっ気、複数の水源から採水したナチュラルミネラルウォーターの混合などが行われているものをいう。飲用水、ボトルドウォーターはナチュラルウォーター、ナチュラルミネラルウォーター及びミネラルウォーター以外のものをいう。

2.2 ミネラルウォーターの変敗

輸入ミネラルウォーターにカビの菌糸が発見されてから全国的に輸入及び国産ミネラルウォーターから異物が発見されるようになった。ミネラルウォーターで細菌が発育するが、目視変化に乏しい。

国産ミネラルウォーター類の生産数量は、ナチュラルミネラルウォーターが全体の90%を占め、次いでナチュラルウォーター、ミネラルウォーターの順でボトルドウォーターは非常に少量である。市販ミネラルウォーターはほとんど

が鉱泉水を原料としているため、ミネラル成分は多いが、有機成分は少なく微生物の生育に適した条件ではない。

国産のほとんどのミネラルウォーターは殺菌、除菌処理をしているのでほとんどの製品からは微生物は検出されない。

殺菌、除菌処理をしていない市販の輸入ミネラルウォーターには真菌の検出されることは少なく、*Psuedomonas* 類の低温細菌が検出される。しかし市販のミネラルウォーターの製造工程中にカビ等微生物の二次汚染が生じることがある。ほとんどが異物として検出されている。

2.3 ミネラルウォーターの変敗原因菌

2.3.1 細菌

1991年までにボトルドウォーターに関してオーストラリア、カナダ等の7箇国について検討した結果、*Psuedomonas* 属細菌が全ての国、*Acinetobacterium* 属細菌が6箇国、*Flavobacterium* 属細菌が5箇国より検出された。その他4箇国で検出されたものに *Alcaligenes*、*Bacillus*、*Enterobacter* がある。

ボトルドウォーターの細菌数は充填直後は少ないが、数日後には $10^4 \sim 10^6/\text{g}$ に増殖した *Psuedomonas* が検出される。

Manaidaは15ブランド（23試料、うち4ブランド試料はフランスとベルギー製）のボトルド無発泡性ミネラルウォーターを検討し、2ブランド4試料には微生物が存在しないが他は22℃培養で $0.8 \times 10^1 \sim 3.6 \times 10^4/\text{ml}$ 、37℃では $1.1 \times 10^1 \sim 5.4 \times 10^4/\text{ml}$ であったとしている。

イギリスのナチュラルミネラルウォーターについて地下からくみ上げた後のさまざまな段階で微生物の消長を調べた結果、どの試料も充填直後はほとんど検出されずに、貯蔵中に増殖した。主な細菌は *Pseudomonas*、*Acinetobacterium*、*Xantomonas* であった。

無発泡性ミネラルウォーターにおける *Echerihia cori*、*Enterobacter cloacae*、*Klebsiella pneumonia*、*Pseudomonas aruginosa* の消長が報告された。ミネラルウォーター中では保存初期には著しく減少するが、特にPVCボトル中では非常に低い死滅率であった。外国のミネラルウォーターより検出される *Acinetobacterium* 属細菌は日本の食品より検出され、話題となっている。

豆腐のパック水の粘度が上昇し、豆腐の表面に粘性物が沈着して、豆腐の商品価値を低下させることがある。このような状態は、豆腐の成分がパック水に溶出するだけでなく、微生物による変敗である。15℃で保存した場合の粘度が最も高くなった3日について検討すると多量の *Acinetobacter* 属の細菌が検出された。*Corynebacterium* のような菌は大豆抽出液の主要な糖であるグルコース、シュクロース、フルクトースより酸を生産するが、大豆抽出液の粘度を増加させない。

Acinetobacter 属細菌はシュクロース、グルコースを資化せず、他の炭水化物をエネルギー源として利用する。豆腐表面あるいは溶出している大豆タンパク質をエネルギー源として利用するために *Acinetobacter* 属の細菌はこれらのタンパク質をペプチドまで分解する。その結果、パック水の粘度が上昇した。パック水から検出された粘度生成ペプチド、*Acinetobacter* 属の細菌が生成するペプチドが一致した。本菌株を同定した結果、*Acinetobacter calocoaceticus* であった。

Acinetobacter 属の細菌は土壌や河川に存在し、健康な人の皮膚からも見つかる菌で、通常は無害である。しかし体

力が落ちていたり重い病気にかかったりしている従業員等に感染して、豆腐に二次汚染される。このような感染を日和見感染といい、*Acinetobacter* は日和見感染の代表的な菌である。*Acinetobacter* は健康な人に感染しても害を及ぼすことはほとんどない。*Acinetobacter* 属細菌には多くの種類があり、人の感染症例からは *Acinetobacter baumannii* が最も多く検出される。

2.3.2 カビ

異物として検出された真菌は直径約3～20mm、ほとんど白色の菌糸塊であった。検出された菌種は *Penicillium* が最も多く、次いで *Acromonium*、*Cladosporium*、*Alternaria* であった。

輸入品においても *Penicillium* が最も多く、次いで *Acremobacter*、*Cladosporium* が検出された。表1にミネラルウォーターより検出されたカビを示した。

表1 ミネラルウォーターより検出されたカビ

<i>Penicillium</i>
<i>Acremonium</i>
<i>Alternaria</i>
<i>Paecilomyces</i>
<i>Moniliella</i>
<i>Aureobasidium</i>

ほとんどの場合、一つの検体からは一つの菌種のみが検出されたが、銘柄の中には検体ごとに異なる菌種が検出される場合があった。

日本のミネラルウォーターでは *Alternaria* 属カビによる汚染が多い。*Alternaria* 属カビは工場の空中浮遊菌として多く検出されているので、ミネラルウォーター工場の空中浮遊菌として容易に検出できる。

植物病原菌として知られているが、工場、穀物、青果物、加工食品に普通に生息している。このカビの特色は綿毛状黒色、オリーブ黒色、黒褐色、灰色色、オリーブ色をしており、綿毛状をしているのすぐわかる。顕微鏡で見ると単生又は分岐し、直線状又は屈曲しており、くちばし状の分生子を生成する。

食品に関わる *Alternaria* は *Alternaria alternata* が一般的である。最適生育温度は22～28℃で最低生育温度は2～5℃である。ススカビともいわれ、コロニーはフカフカした羊毛状で、菌糸には隔壁がある。

食品の変敗原因菌であるほか、リンゴの心腐病、ミカンの黒腐病、トマト、ニンジン、白菜の黒斑病の病原菌であり、種々の食品、土壌、空気中など生活環境に広く存在している。通常は土壌中の変敗した野菜や果物から普通に検出される。

ミネラルウォーターの微生物汚染による変敗を表2に示した。

表2 ミネラルウォーターの微生物変敗

	原因物質
ミネラルウォーター（国産）	<i>Legionella</i>
ミネラルウォーター（ニュージーランド産）	カビ
ミネラルウォーター（オーストラリア産）	カビ
ミネラルウォーター（カナダ産）	カビ
ミネラルウォーター（ベルギー産）	カビ
ミネラルウォーター（国産）	カビ

2.4 ミネラルウォーターの変敗防止対策

ミネラルウォーターはほとんど全てが殺菌、除菌処理が行われている。その方法はろ過、オゾン処理、紫外線照射であり、これらの方法を複数組み合わせることで処理が行われている。

加熱殺菌では141～145℃ 5～6秒、143℃ 2秒、120℃ 3秒、115℃ 15秒、110℃ 20秒、102℃ 23秒、90℃ 30分、85℃ 30分、間処理が行われている。

ろ過では0.2μフィルター、0.22μフィルターで行っている。

ろ過と加熱では0.2μフィルターと115℃ 5秒、0.45μフィルター又は0.2μフィルターと98℃ 3分、0.2μフィルターと90℃ 6秒、2μフィルターと90～92℃ 10分、1μフィルターと85℃ 30分、紫外線単独処理、紫外線とオゾンの併用処理、オゾン単独処理、紫外線、オゾン、ろ過の併用により、ろ過とオゾンの併用処理が行われている。

ミネラルウォーター類の殺菌等については規格基準が出され、ミネラルウォーター類のうち、その中心部の温度を85℃で30分間加熱する方法による殺菌又はこれと同等以上の効力を有する加熱酸菌以外の方法又は除菌を行うとされている（昭和62年、8月18日課長通達衛食第130号）。

食品、添加物等の規格基準（昭和34年厚生省告示第370号）について、平成26年12月22日に一部が改正された（厚生労働省告示第482号）。このうち、「清涼飲料水の成分規格及び製造基準が、【ミネラルウォーター類（殺菌又は除菌を行わないもの）】、【ミネラルウォーター類（殺菌又は除菌を行うもの）】、【ミネラルウォーター類以外の清涼飲料水】に分類され、各規格基準が変更になった。しかし殺菌に関する規定である昭和62年、8月18日課長通達衛食第130号はそのままである。なお改正後の清涼飲料水の区分は「ミネラルウォーター類（殺菌・除菌有）」は水のみを原料とする清涼飲料水のうち、殺菌又は除菌を要するものをいう。

「ミネラルウォーター類（殺菌・除菌無）」は水のみを原料とする清涼飲料水のうち、泉源の衛生管理がなされ、殺菌又は除菌を要しないもの（NMW規格に準拠するもの）をいう。

「ミネラルウォーター類以外の清涼飲料水」「ミネラルウォーター類（殺菌・除菌有）」は「ミネラルウォーター類（殺菌・除菌無）」以外の清涼飲料水をいい、冷凍果実飲料及び原料用果汁を含むとされた。

オゾンを利用した「高度水処理装置」が開発されている。水を電気分解して得たオゾンと水道水を混合し、それをサンゴ礁の砂を粒状に固めたコーラルサウンド・天然石等のオゾン分解層とヤシガラ活性炭を混合した吸着層の二つの槽を通して。細菌も検出されず、臭気、味にも異常がない。

selective and enrichment media, J. Appl. Bacteriol., 69, 871-876 (1990)

- 4) Maridou, A., Study of the bacterial flora of a noncarbonated natural mineral water, J. Appl. Bacteriol., 73, 355-361 (1992)
- 5) Moreila, L., Agostinho, P., Vasconcellos and Costa, M.S.: survival of allochthonous bacteria in still mineral water bottled in polyvinyl chloride and glass, J. Appl. Bacteriol., 77, 370-381 (1994)
- 6) 白川武志：豆腐の粘性変敗について、日食工誌、32, 1-5 (1985)
- 7) 藤川浩、和宇慶朝昭、楠淳、野口やよい、橋本由美、大田建爾、伊藤武：東京都におけるミネラルウォーターへの微生物性異物混入の実態、日食微誌13、41-44 (1996)
- 8) 内藤茂三：食品の変敗微生物、幸書房（2016）
- 9) 日刊工業新聞：水道水をおいしい水に、オゾン添加、ミネラル豊富、1991年7月16日

（内藤茂三 食品・微生物研究所）

文献

- 1) Warburton, D.W.: A review of the microbiological quality of bottled water sold in Canada, The need more stringent standards and regulations, Can. J. Microbiol., 39, 158-168 (1993)
- 2) Moris, P.V. and Costa, M.S.: Alterations in the major heterotrophic bacterial populations isolated from a still bottled mineral water, J. Appl. Bacteriol., 69, 750-757 (1990)
- 3) Manaiida, C.M., Nuns, O.C., Moris, P.V., and Costa, M.S.: Heterotrophic plate counts and the isolation of bacteria from mineral waters

微生物と環境一体にいる細菌

“人の体には自分の細胞より10倍も多い微生物が住み着いている。”という説が、前世紀の中頃から広く行き渡っていた。つまり、われわれの体の細胞数が30兆であるのにたいして、腸内には100種から3000種類の細菌が100兆個から1000兆個生息しているという。

《あなたのからだは9割が細菌》(文献1)というアランナ・コリンの著作も出されている。内容は、胃腸炎、自己免疫疾患から精神障害にいたる人の病気と腸内細菌との関係を書き表したもので、『あらゆる病気が腸から始まる』、という刺激的なタイトルもある。しかし、からだの9割が細菌という根拠は示されていない。

最近、ワイズマン研究所のミロのグループによって(文献2)過去の業績の見直しが行われた。それによると、人の体の細菌数が体の細胞数の10倍であるというのは、微生物学者ドウェイン・サベージが1977年に出したレビューに端を発している。

サベージは、『少量の放射線は人体に恩恵をもたらす』という放射線ホルミシス説の提唱者として知られているT.D. ラッキーが行った細菌数のきわめて大ざっぱな(封筒の裏側に書いた計算 back-of-the-envelope calculation)推測値と、教科書に載っていた、妥当だが裏付けのない人の細胞数を組み合わせて10倍という比率をわり出した。10倍という数字は魅力的で、この数字はその後検証されずに、あたかも真実であるかのように、科学者たちに信じられてきた。

ミロたちの再検討によれば、人がもっている細菌の数は39兆個(大部分は腸内細菌で38兆個)で、以前定説となっていた数の1/10ほどだと言うことになった。体の細胞数を30兆(大部分は赤血球)とすると、1.3倍ほどになる。

かれらの報告している体の各部位についての細菌数の見積もりを表1に示した。

表1 様々な器官に生存している細菌数

場所	典型的な細菌数/ml	量 (ml)	全細菌数
大腸	10^{11}	400	10^{14}
歯垢	10^{11}	<10	10^{12}
唾液	10^9	<100	10^{11}
皮膚	$<10^{11}/\text{m}^2$	1.8 m^2	10^{11}
胃	$10^3 - 10^4$	250 - 900	10^7
十二指腸・空腸	$10^3 - 10^4$	400	10^{11}
回腸(小腸下部)	10^8	400	10^7

腸内細菌についてはアサマパートナーニュース175号(2016年11月)で、その一端に触れた。

表1をみて目に付くのは、腸内細菌の数は別として、口の中(歯垢・唾液)に多くの細菌がいるということだろう。

10^{11} (1,000億)、 10^{12} (1兆)と言う数の細菌が口の中にいると言っても、イメージすることは難しい。しかしその細菌は当然ながら呼吸・咳・くしゃみの時に飛び出している。

「あなたがクシャミを一回すると口の中から10万個の細菌が一流テニスプレーヤーのサーブより速いスピードで飛んで行くのです…。“くしゃみ一回菌十萬…”」。だから、「マスクを付けて作業することは大事ですよ」。食品工場で工員・職員に話をする時にはこんな言い方をしていた。世界一流のテニスプレーヤーのサーブは初速60~70メートルと報告されている。それよりも速い“秒速100m”で飛び出すというのはたしかに恐ろしい感じをもたされる。けれども、この秒速100mというのも長く言い継がれた神話で、実際には4~5 m/秒というように訂正されている(文献3)。

けれども、クシャミで出た飛沫が、微少な(50μ 以下の)霧状になり長く空中を漂うということは多くの研究で実証されている。

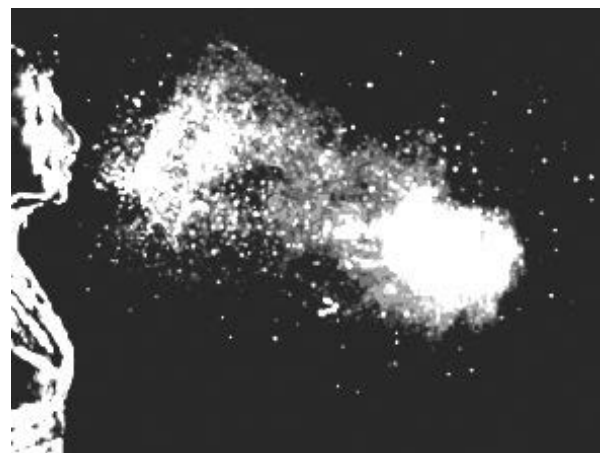


写真1 クシャミの高速度カメラ映像。クシャミをしてから約0.22秒後の映像。Bourouiba et al., 2014

食品を扱う時には、やはりマスクは必需品である。

文献

- 1) アランナ・コリン著、矢野真千子訳、あなたの体は9割が細菌、河出書房新社、
- 2) Sender, R., Fuchs S. and R. Milo, Revised estimates for the number of human and bacterial cells in the body. PLOS Biology 14 (8) : e1002533. doi:10.1371/journal.pbio.1002533, August 19, 2016
- 3) Bourouiba, L. Dehandschoewercker, E., and Bush, J. M. W. Violent expiratory events; on coughing and sneezing. J. Fluid Mech. 745: 537-563, 2014.
- 4) Tang J W et al. Airflow dynamics of human jets: Sneezing and Breathing ? Potential sources of infectious aerosols. PLoS One 2013; 8 (4) : e59970. doi: 10.1371/journal.pone. 0059970

清水 潮(元東京大学海洋研究所教授)

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20-6 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16-20 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
 ●九州アサマ化成販売 / 〒815-0031 福岡県福岡市南区清水1-16-11 TEL (092)408-4114 FAX (092)408-4350
 ●桜陽化成 / 〒006-0815 札幌市手稲区前田五条9-8-18 TEL (011)683-5052 FAX (011)694-3061