

アサマ

NEWS

パートナ

2017-11 No.181

食品の微生物変敗と 防止技術

(20) ゼリーの微生物変敗と制御

1. ゼリー

ゼリーには水分が70~80%前後の通称カップゼリー、透明ゼリー等をソフトゼリーと呼び、水分が20~30%前後の通称濃縮ゼリー、乾燥ゼリーをハードゼリーと呼んでいる。

FDAの規定による「ゼリー」とは砂糖などの甘味料55量に対して、果汁45量以上の配合原料をもって製造された食品であって、仕上がり製品の可溶性固形分は65%以上でなければならないとされている。

最近はいろいろなタイプが販売されているが、比較的水分の多いソフトゼリー消費が拡大している。これに伴い種々の変敗也多発している。例えば、原材料に使用する寒天やκ-カラギーナンのゲルは離水現象を起こしやすい。フルーツゼリーは消費者の嗜好に従い、果汁、果肉が多く入ったものへと移行し、それとともにゼリーも離水性があり、やわらかく口の中で崩れるような食感が好まれている。一般に、親水基である硫酸基が少ないほど水を保つ能力が小さい。ゼリー強度の低いほど、そしてゲルの濃度が小さいほど離水量は増大する。最近、夏期においてソフトゼリー製品が製造約1週間後に黒色化する現象が多発した。当該製品はpHが3.3~3.5であり、糖濃度は20~25%であったところから真菌の生育が予想された。これらの原因を検討した結果、黒色化した製品からまた製造工場から共通の黒色酵母様カビが検出された。そこでソフトゼリー製品の黒色化現象生成原因菌は*Aureobacidium pullans*の不完全菌であった。ソフトゼリーは水を約80℃になるまで加熱し、ゲル化剤(κ-カラギーナン、ローカストビーンガム等)とグラニュー糖を溶かし、約50℃に放冷し、予め45℃に加温しておいた果汁と酸味料(0.1%クエン酸)を加え、ポリプロピレンカップに詰めて製造している。一般的な原材料は液糖、濃縮果汁、ゲル化剤、発酵調味液、果実色素、ソルビトール、ルチンである。

耐熱性カビの*Byssoschlamys*、*Neosartorya*によるゼリーにおける膨張やゲル状物の発生や、加工果実を使用したゼリーでの果肉の軟化やゲル状物の発生等がある。*Byssoschlamys fulva*(無性世代は*Paecilomyces fulvus*)、*Neosartorya fischeri*(無性世代は*Aspergillus fischerianus*)は野菜や果物を使用し

たソフトゼリーの膨張の原因カビとなっている。これらのカビの殺菌には85℃で60分間、90℃で5分間の殺菌が必要である。

最近ソフトゼリーの一部で、未開封の商品で容器が膨張しているという指摘を受けて、中身を分析の結果、ほとんどがカビの混入が原因であった。

2. ゼリーの微生物変敗

2.1 ゼリーの原材料の微生物

果汁に由来する酵母及びカビが変敗の原因となる場合が多い。果汁は有機酸が多く、糖濃度が高いため、酵母の生育には好適である。温州ミカン果汁中の酵母は*Kloeckera africans*、*Candida iusitaniae*、*Saccharomyces cerevisiae*、*Saccharomyces bayanus*等が工場の果汁より検出されている。また殺菌済みの市販ミカン果汁より*Rhodotorula*、*Cryptococcus*及び*Candida*等の酵母が検出されている。これらの無孢子酵母が果汁製品中の主要酵母であると考えられる。リンゴ果汁でもほぼ同様な結果である。

果汁からカビの分離頻度は少ないが、製造工程での二次汚染菌として知られている。*Aureobacidium pullans*、*Aspergillus niger*、*Aspergillus fumigatus*、*Botrytis cinerea*、*Cladosporium shaerospermum*が検出されている。搾汁後ろ過貯蔵前のリンゴ果汁からは多種類の*Mucor*、*Aspergillus*、*Penicillium*属のカビが検出されているがこれらはいずれも工場からの二次汚染菌である。

2.2 ソフトゼリーの黒色変敗に関与する微生物

ソフトゼリーの製造工程中における細菌、酵母、カビの変化を検討した結果、最も菌数が多く検出されたのは細菌であり、その菌数はκ-カラギーナンとグラニュー糖加熱溶解直後原料、放冷後原料はそれぞれ 3.5×10^3 /g、 7.0×10^3 /g、オレンジ果汁および酸味料添加品 1.2×10^4 /g、ポリプロピレンカップ充填品 1.4×10^4 /g、5℃、5時間放冷品 2.1×10^4 /gおよび製品で 3.2×10^4 /gであった。なお酵母はκ-カラギーナンとグラニュー糖加熱溶解直後原料から製品に至るまでいずれも300以下/gであった。カビはκ-カラギーナンとグラニュー糖加熱溶解直後原料、放冷後原料および酸味料添加品はいずれも300以下/gであったがポリプロピレンカップ充填品 3.4×10^2 /g、5℃、5時間放冷品 4.1×10^2 /gおよび製品で 5.2×10^2 /gであった。なお検出されたカビ

はいずれも黒色酵母様カビであった。

ソフトゼリーの黒色変敗が生成した製品3点（A、B、C）と製造後25℃で14日間保存したソフトゼリー（正常製品）3点（D、E、F）の細菌、酵母、カビ及びその他の特性を測定した結果を表1に示した。

測定した全ての製品で細菌は $3.5 \times 10^3 \sim 5.2 \times 10^4$ /gであり、酵母はいずれの製品も300以下/gであった。黒色変敗したソフトゼリーA、B、Cからは黒色酵母様カビがそれぞれ 2.6×10^6 /g、 5.5×10^6 /g、 1.7×10^7 /g検出された。しかし正常品D、E、Fからはカビはいずれも300以下/gであった。以上のことよりソフトゼリーの黒色変敗に関与している微生物はカビであると考えられる。

表1 ソフトゼリーの変敗品と正常品の特性

製品	細菌 (/g)	酵母 (/g)	カビ (/g)	水分 (%)	pH	糖濃度 (%)
黒色斑点生成品(A)	5.2×10^4	300以下	2.6×10^6	70	3.3	10
黒色斑点生成品(B)	4.1×10^4	300以下	5.5×10^6	71	3.4	11
黒色斑点生成品(C)	3.8×10^4	300以下	1.7×10^7	72	3.5	12
正常品(D)	3.5×10^3	300以下	300以下	75	5.0	25
正常品(E)	7.0×10^3	300以下	300以下	78	5.1	23
正常品(F)	9.1×10^3	300以下	300以下	80	5.2	20

なお正常製品のpHは5.0～5.2、水分は75～80%、水分活性は0.96～0.98、糖濃度20～25%であった。しかし黒色変敗製品のpHは3.3～3.5と低く、水分は70～72%と低く、水分活性は0.92～0.94とやや低く、糖濃度は10～12%と著しく低下することを認めた。

ソフトゼリー製造工程の空中浮遊菌の検討を行ったところ、黒色酵母様カビは原材料や半製品からは検出されずに充填品から検出されているところから製造工程中の充填工程で二次汚染したと考えられる。そこで黒色化現象が生成したソフトゼリー製造工場の空中浮遊菌数を検討した。製造工程別の空中浮遊菌数の6月に測定した結果、工場全体の空中浮遊菌は多く検出され、各工程で細菌、酵母、カビのすべてが検出された。特に黒色酵母様カビは3～23/53ℓ空気と多く検出された。特に充填工程、放冷工程でそれぞれ12、15/53ℓ空気と多く検出された。なおいずれの工程でも細菌は2～6/53ℓ空気、酵母は23～35/53ℓ空気、以外のカビは5～10/53ℓ空気検出された。

黒色酵母様カビは、*Aureobacidium pullulans*であった。

2.3 乾燥ゼリーの微生物による変敗

乾燥ゼリー等の高糖分（40～70%）を含む食品においてカビによる変敗が多発している。このような条件下で生育できるカビは限られており、好調性のカビが中心である。しかし食品の化学組成、水分活性、包装形態、包装内の酸素濃度、温度、湿度その他の保存条件によって発生するカビは一般に外部からの吸湿によりその生育が起る場合もある。乾燥ゼリーには高糖性のカビや酵母が増殖して、白色、黄色等の斑点が生成する場合がある。これらはいずれも製造工場の浮遊菌に由来する。乾燥ゼリーは乾燥湿度、速度及び温度が重要である。

30℃各関係湿度下でのゼリーは、関係湿度90%では吸湿し、関係湿度80%以下で乾燥する。また乾燥速度は関係湿度

43%以下ではほとんど差がなく、60%になると明らかに遅くなる。

乾燥温度40℃、50℃、60℃、関係湿度それぞれ40%、60%のときの乾燥速度は、乾燥温度が高いものほど早く、また関係湿度の影響は40℃のときは60%の方が遅かったが、50℃、60℃のときは乾燥が進み、それぞれ約21.5%、19.5%以下になると関係湿度の高い方が早くなることが認められた。

ゼリーを50℃、60℃で乾燥し、乾燥過程におけるゼリーの物性の変化を調べた結果、破壊荷重はゼリーの水分が初発水分から6～7%減少するまでは変化せず、それ以下になると急速に増加した。またクリープ試験における E_1 は乾燥が進むにつれて大きくなったが E_2 、 E_4 、 η_2 は逆に小さくなる傾向にあり、50℃乾燥の方がその変化が大きかった。また η_3 は50℃では減少するの、60℃では増加傾向にあり、乾燥温度の違いがゼリーの物性に大きく影響することを認めた。乾燥ゼリーの周りに砂糖衣が出来ている場合が多いのでカビと間違え易い。寒天を沸騰させる温度が低ければ、乾燥に少し時間がかかるのでカビが発生し易い。

乾燥ゼリーに生育し易い酵母とカビを表2に示した。

表2 乾燥ゼリーに生育し易い微生物

酵母
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i> , <i>Zygosaccharomyces bisporus</i>
<i>Candida lactis-ondensi</i> , <i>Candida manniotfaciens</i> , <i>Candida versatilis</i>
カビ
<i>Eurotium repens</i> , <i>Eurotium rubrum</i> , <i>Eurotium chevalieri</i>
<i>Wallemia sebi</i> , <i>Penicillium sp.</i> , <i>Aspergillus sp.</i>

3. ゼリーの微生物変敗防止

3.1 カビと酵母

ソフトゼリーの変敗原因菌は圧倒的にカビが多い。また、乾燥ゼリーの変敗原因菌は酵母とカビが中心になる場合が多い。カビは酵母やキノコと同類であるため、特に酵母との区別が困難である場合がある。酵母は主として出芽によって増殖し、その生活の大部分を単細胞で過ごし、その大きさが2～5μm程度であるが、カビは主として菌糸を伸長して栄養源や水分を摂取し、各種の胞子を介して繁殖する。また単細胞で分裂増殖をする細菌に比べ、カビが栄養、発育をつかさどる菌糸体と繁殖期間である史実体とに分化している点などから、微生物のなかでは最も進化している部類である。

カビは糸状菌ともいわれるように正式には真菌類のなかで酵母とキノコを除いた菌糸状を呈するものを総称する俗語である。不完全菌類は、子囊菌類又は担子菌類と類縁関係を持つ種々雑多な菌類が含まれる便宜的な分類にすぎない。したがって、不完全菌類の中のある菌種に有性世代が発見された場合には、その有性世代に類似した子囊菌類又は担子菌類に関連する新しい菌名が与えられる。例えば不完全菌類—不完全酵母の中で*Candida*に属する*Candida guilliermondii*は、子囊胞子をつくる有性生殖が発見された結果、子囊菌類—半子囊菌類の中の*Pichia*に帰属させるべきことが判明し、*Pichia guilliermondii*と命名された。このような場合、不完全世代をアナモルフ、完全世代をテレオ

モルフと呼ぶ。テレオモルフは、アナモルフを含めてその菌の生活を代表する菌名として優先的に扱われる。したがってアナモルフが先に記載され、テレオモルフが遅れて発見された場合は、同一菌種でありながら2つの菌名を持つことがある。

好糖性カビとは孢子が水分活性0.80以下で発芽でき、0.95で最適の生育が見られるものをいう。好糖性カビによる食品の変敗は多く、その原因菌も *Wallemia*、*Aspergillus*、*Eurotium*、*Monascus*、*Scopulariopsis* 等多種にわたっている。包装形態は一部脱酸素剤使用包装もあるが、圧倒的に含気包装が多い。これは製品の水分活性が比較的低いことにあると考えられる

3.2 果汁の殺菌

天然果汁の殺菌に当たっては搾汁時の新鮮な香味、色調および栄養成分を保持することが重要である。加熱殺菌により酵素も不活性化され安定した果汁となるが、フレーバー成分の飛散や加熱臭が生成する。このため瞬間殺菌法や93～95℃、15～20秒間殺菌法が採用されている。*Saccharomyces cerevisiae* の孢子の加熱殺菌は栄養細胞の約100倍以上の条件を必要とする。リング果汁の *Saccharomyces cerevisiae* の孢子のD60値は6.1分であり、Z値は3.8℃である。またゼリーのように糖の多い製品は耐熱性が増加する。果汁の高圧殺菌が行われている。高圧下では共有結合の変化はなく、物理的な体積の減少によってイオン結合、水素結合、疎水結合といった非共有結合が水との相互作用のもとに生成または破壊を起こすことによりタンパク質の変性が生成する。タンパク質の変性は酵素が失活し殺菌が可能である。0.5～1.0×10⁶/ml の *Saccharomyces cerevisiae* 孢子はリング果汁、ミカン果汁中でD値は300Mpaで10.8分、500Mpaで8秒であった。

3.3 製造工程での二次汚染防止

果汁に二次汚染するカビは、*Mucor* が多く、*Aspergillus*、*Penicillium*、*Fusarium*、*Alternaria*、*Aureobaculum*、*Botrytis*、*Byssosclamyces*、*Neosartorya*、*Cladosporium*、*Epicoccum*、*Monascus*、*Phialophora*、*Rhinochlamydia*、*Rhizopus*、*Scopulariopsis* が知られている。これらのカビは元来、原材料に付着していたものであるが、長年の製造により工場全体を汚染している場合が多い。搾汁後ろ過貯蔵前後の工程での二次汚染が多い。

ゼリー製造工場に主に用いられる環境殺菌剤はエタノール、次亜塩素酸ナトリウム、オゾンがあるが、これらの殺菌剤には特徴がある。ゼリー工場は作業中あるいは作業後の工程で多くの水を使用するが、工場の気温が高いと、この水が水蒸気となり、これにより揮散したカビが落下して工場全体を汚染する。オゾン水を工場に散布した場合、オゾン水濃度及び散布方法によりオゾンガスが揮散する。このオゾンガスによりオゾン水が到達できない部位の洗浄・除菌ができるというメリットがある。

文献

- (1) 内藤茂三：食品の変敗微生物、幸書房（2016）
- (2) 内藤茂三：食品とオゾンの科学、建帛社（2017）
- (3) 石田欽一、志賀一三：乾燥ゼリーに関する研究、（第3報）ゼリーの乾燥について、日食工誌、19、139～143（1972）
- (4) 好井久雄、金子安之、山口和夫：食品微生物ハンドブック、技報堂出版（1995）
- (5) 柳井昭二、平田孝、森勝美：温州ミカンにおける微生物の分布、日食工誌、33、14～20（1986）
- (6) 小島満子、倉田浩、駒形和男：市販みかんおよびりんご果実飲料における微生物の分布、食衛誌、19、449～（1978）
- (7) Splittstoesser, D. F. et al: Effect of Food composition on heat resistance of yeast ascospores, J. Food Sci., 51, 1265～1267（1986）
- (8) Zool, C. D. et al.: High pressure inactivation kinetics of *Saccharomyces cerevisiae* ascospores in orange and apple juices, J. Food Sci., 64, 533～535（1999）

（内藤茂三 食品・微生物研究所）

ボツリヌス症

1. ボツリヌス菌食中毒

ボツリヌス菌（*Clostridium botulinum*）による食中毒は、ヨーロッパでは腸詰め中毒として（botulus、腸詰め・ソーセージ）古くから知られていた。そのつくる毒素の血清型により、これまでA型からG型まで、7つの型が知られていた。2013年に新しい型（H型）が乳児ボツリヌス症の症例から発見され、1970年のG型毒素発見から40年ぶりの発見といわれた。（文献1）

このH型毒素はそれまでのA～G型に比べても、さらに強力なものと言う。

2. ボツリヌス食中毒の事例ー日本

ボツリヌス食中毒は東北・北海道で自家製の「いずし」を原因とするE型菌による症例が多く報告されてきたが、近年は少なくなった。よく知られている事例は真空パックの辛子レンコン（1984年14都道府県、A型、患者36例、死亡11）で社会的にも大きなインパクトを与え、一時は辛子レンコンそのものが店頭から消えるという騒ぎになった。その後、輸入オリーブ瓶詰（1998年東京、B型、患者18例）、真空パックハヤシライスソース（1999年千葉、A型、患者1例）などによる事例があり、A、B型毒素によるものが多い。（国立感染症研究所感染症情報センター <http://idsc.nih.go.jp/iasr/29/336/tpc336-j.html>）

ボツリヌス食中毒が稀な事象になる一方、それに対する警戒心も薄れてきているようだ。1999年のハヤシライス事件はその事を示しているように見える

同年8月、千葉県柏市で兄妹が、常温に置かれていた、真空パックのハヤシライスを食べ、兄は一口食べて異味・異臭に驚き吐き出したが、12歳の妹は一口食べてしまった。夕方、女の子はめまいを訴え、病院に運ばれた。病院では原因は分からないものとりあえず点滴を打ったが、症状はさらに悪化。ろれつが回らなくなり、手足にも麻痺が表れ、呼吸不全に陥った。治療にあたった医師たちも最初は原因が特定できず、入院から5日目ようやくボツリヌス食中毒であることが判明した。女の子もかなりの重症で、原因が分かった後に血清などで適切な治療を受けたもののすぐには病状の改善は見られず、2ヶ月たっても人工呼吸器が外せなかった。結局、初期の診断の遅れが災いして、彼女は退院まで1年もかかった。

この事件は、近年普及している密封調理食品が、レトル

ト食品と混同され、常温におかれて事故をおこす可能性を明らかにしたのと言える。このような食品は、低温保存と言う条件と、賞味期限を明示してあるにもかかわらず、レトルト食品と同じように取り扱われる可能性があり、注意と警告を怠らないことが重要である。

3. ボツリヌス食中毒の事例ーアメリカ

アメリカ疾病管理予防センター（CDC）ではボツリヌス症のデータを毎年報告している（文献2）。2011～2015年までの報告を表1に示した。なお、表では確認された患者と、未確認（probable cases、臨床的にはボツリヌス症を示す）の患者を併せた。2015年の例ではボツリヌス症と思われる患者の66%は乳児ボツリヌス症、21%は食品由来、11%は創傷由来だった。アメリカでは例年ほぼ同じ件数、患者数が報告されている。

表1 アメリカでのボツリヌス症

	乳児		食品由来		創傷性		原因不明	
	患者	死者	患者	死者	患者	死者	患者	死者
2015	141	0	45	1	23	1	4	1
2014	128	0	20	2	27	1	2	0
2013	135	0	8	1	14	0	2	0
2012	122	0	25	1	8	0	5	1
2011	102	0	20	0	13	0	5	2

統計の取り方とその操作にアメリカと日本では違いがあり、また、アメリカの人口が日本の約2.5倍ということを考えても、日本では2008年以降は例年患者数0～2人であることを考えると、ボツリヌス菌による被害が日本より広い範囲で起こっている。

日本では考えられない事例として、アメリカの刑務所内で密造されたプルノ酒によるボツリヌス中毒事件がある。（文献3）

プルノというのは、果汁、ケチャップ、砂糖、馬鈴薯、熱湯などから作られる発酵酒で、アメリカの刑務所では広く普及しているという。

カリフォルニア州の二つの刑務所で、2004年と2005年に刑務所内で密造されたプルノ酒を飲んだ囚人がボツリヌス中毒を発症、合計5人の患者を出し、うち3名は人工呼吸が必要になった。いずれもボツリヌスA型菌が原因だった。

4. 乳児ボツリヌス症

アメリカでの食品由来ボツリヌス食中毒では、数の上からは70%と乳児ボツリヌス症が多い。原因は明確でないものが多いが、ハチミツがその原因になりうるものが以前から指摘され、CDCでは12か月までの乳児には蜂蜜を与えないように警告している。

わが国での乳児ボツリヌス症は、1986年、千葉県で報告

された最初の症例から2008年1月現在まで24例の発生報告がある。食品由来のボツリヌス症と同じように発生頻度の低い疾患だが、2005年以降は毎年ほぼ2例ずつ発生している。1990年以前はハチミツが原因食品と考えられる症例がほとんどであったが、乳児にハチミツを与えることの危険性が周知されたこともあり、近年はハチミツ摂取歴のない症例のみになっている。

5. 加熱殺菌のモデルとしてのボツリヌス菌

昔から怖れられた食中毒菌であり、また、芽胞菌のため死滅温度も高いため、（毒素そのものは加熱に弱い）、食品安全性の基準としてボツリヌス菌の制御が取り上げられてきた。缶・びん詰めによる食中毒を防ぐため、食品中のボツリヌス数を12桁下げる、12Dの加熱（121℃、2.4分）が缶詰・レトルト食品加熱の基準として、古くから「商業的滅菌」と言われてきた。

わが国の厚生労働省の規格でも、真空パック詰食品（容器包装詰低酸性食品）は120℃ 4分以上又は同等の加熱加圧殺菌がなされているものは常温保存ができる。とされている。

6. ボツリヌス菌毒素

ボツリヌス菌毒素は、現在われわれの知っている最強の毒素である。毒素の人に対する致死量は正確には分かっていないようだが、70kgの体重の人に対して、おおよそ70μmくらいだろうと言われる。（文献4）

これは同じく強力な毒素として知られているフグ毒のほぼ10倍の強さと言える。青酸カリに至ってはボツリヌス菌毒素の1/2,000以下の毒力しかない。

このように大変強力な毒素であるにもかかわらず、人間というものは勝手なもので、ボツリヌストキシンの強力な麻痺作用を、顔面痙攣・眼瞼痙攣・斜視などを治療するための医療用、また、顔のしわ伸ばし、あごを小さく見せるなどの美容目的でボトックスと称して使っている。

ボツリヌス毒素というと大変恐ろしいように思うが、ボトックス療法で使われる量はいずれも50単位、100単（1単位はマウスの半数致死量/g）で、人に危険を及ぼす量（3000～3万単位）に比べれば、当然ながら桁違いに小さい。

文献

- 1) Barash, J. R. and S. S. Arnon Infant, A Novel Strain of Clostridium botulinum that produces Type B and Type H Botulinum Toxins. J. Inf. Diseases. 209: 183～191, 2014.
- 2) CDC National Botulism Surveillance Summary 2015.
- 3) Vugia, D. C. et al., Botulism from drinking pruno. Emergency. Inf. Dis., 15: 69～71, 2009.
- 4) Armon, S. S. et al., Botulinum toxin as a biological weapon: Medical and public health management. JAMA 285: 1059～1070, 2001.

（清水 潮 東京大学大気海洋研究所 元教授）

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