

2024-1 No.218

食品の微生物変敗と 防止技術

(57) 牛丼の微生物変敗と制御

1. 牛丼の歴史と特徴

1. 1 牛丼の歴史

牛鍋屋では飯を出していたので、牛鍋を丼飯に載せれば牛丼になる。また、牛肉の煮込み売りの屋台でも飯を提供することはできるので牛肉の煮込みを丼飯にかければ牛丼ができたので、明治時代の中ごろには牛丼が誕生した。牛丼は牛飯と呼ばれて、明治20年頃には売られていた。甘辛い醤油味や味噌味で煮た牛肉を温かい飯の上にかけてのものであった。明治25年頃には牛飯が流行していて、女性でも好んで牛飯を食べていた¹⁾。特に関東大震災後には多くの牛丼店が繁盛した。牛丼は牛肉をすき焼き風に煮たものを飯の上に乗せたもので明治、大正時代に食されていた。牛丼とは、薄く切った牛肉とタマネギなどを醤油などで甘辛く煮込み、丼に盛った飯の上に載せた料理である。すき焼き丼の名残で、糸コンニャク、シラタキと一緒に煮込むこともある。牛丼は醤油ベースで調味されることが多いが、味付けに塩、味噌割下を使用する場合もある。関東地方の味付けは味噌から醤油の割下が主流になっていった。

牛丼は牛鍋を丼飯にかけた料理が原型で、当時は牛飯と呼ばれ、明治20年頃に誕生した。ネギだくとはタマネギがたっぷり入っている牛丼のことを意味する。牛肉の大衆化とともに人気を得て、牛丼チェーン店ができたこともあって、国民的丼となり、また牛丼チェーン店の海外進出とともに、ライスボールと呼ばれて定着した。

牛丼の名が広く出回ってきたのは大正時代の初めて牛丼、温かく美味しく食べられる牛丼の手製とあって牛丼の作り方が公表されている。関東大震災にあっても、必要な食材を確保出来た牛丼は、牛肉とタマネギを味醂と醤油で煮て丼の上に打ちかけて提供され、東京市民の空腹を満たした。牛肉をほとんど食べてこなかった日本では幕末の開国によって牛肉食が普及し、主に江戸時代の鶏肉鍋やシヤモ鍋の延長線上にある牛鍋という食べ方で普及した^{1, 2)}。江戸時代初期は獣肉を食べることは嫌っていたが、後期になると牛肉を食べる風が始まっていた。また、明治時代になると、文明開化の風潮に乗って、牛肉を食べない者は文明人ではないというような時代になった。明治30年ころになると牛肉を食べることは、一般社会に大流行した。

1. 2 牛丼の特徴

牛肉が一般に食べられるようになったのは明治時代になってからである。牛丼は初期のころは牛飯と言われていた。これまで牛丼チェーン店は模倣の連鎖により発展してきた。模倣は、真似ることにより自社の商品やサービスを強化することに繋がる。あるいは自社の商品やサービスに不足している部分や全体を補完することができる³⁾。企業はこうしたことから同業リーダーや同業ライバルの商品やサービスの内容を分析し、自社の商品やサービスに反映している。これは、単なる模倣ではなく、自社の商品やサービスの品質向上や改善に他ならず、企業として行う一般的な取り組みである。

牛肉製品の製造基準や保存基準に示されている殺菌条件やpH、水分活性の数値は牛肉のHACCPシステムにおいても管理基準である。牛丼に使う肉は、肉の切り落としでもよく、タマネギと一緒にダシ汁で煮ればできる簡易丼である。ネギだくと言うのはタマネギが多めになることで、ネギ抜はタマネギなしのことである。ネギ抜きはタマネギ抜きとなるので肉とツユの味がその分多めに味わえるという利点がある。タマネギにはプロテアーゼがあり、牛肉のタンパク質の分解を促進する。また、牛肉自体は消化が悪い食材なので、牛丼を食べすぎると消化が追い付かず腹痛を起こすことがある。牛肉は牛が食べていたエサによって異臭がすることがあるが、タマネギとの加熱工程により消臭される。牛肉の表面には *Campylobacter jejuni* や腸管出血性大腸菌、*Salmonella* などの食中毒を起こす細菌が付着している可能性がある。牛肉を洗うと牛肉に付着している食中毒菌が水しぶきと共に飛び散り周囲の調理器具や食品に付着する可能性があり、牛肉の表面に水分や血が付着している時はキッチンペーパーで拭き取る。

日本三大和牛に数えられる米沢牛を使った米沢牛丼には米沢牛ステーキ丼、米沢牛すじ丼があり、また三重県の松阪牛丼がある。牛丼の牛肉は、醤油、酒、味醂、砂糖、ダシ汁で煮込み、タマネギは別鍋で煮る場合が多い。

2. 牛丼の微生物変敗と制御

2. 1 牛丼の原材料の微生物

と殺解体直後の牛肉には中温菌の *Micrococcus* と *Klebsiella* が検出されるが、10℃以下にされると *Pseudomonas* が中心となり、その後変敗に関与する *Moraxella*、*Acinetobacter*、*Lactobacillus*、*Brochothrix* 及び腸内細菌になる。

ブロック牛肉を、4℃で真空包装して5週間まで微生物を検討した⁴⁾。2つの施設で調整された真空包装のブロック牛肉の細菌数の時間的推移を検討した結果、A施設での製品について保存当初菌数レベルは低く検出限界値以下であった。その後保存日数が経過するに伴い増加し、5週間後には $1.0 \times 10^6/g$ であった。一方B施設での製品は保存初発菌数が高く $1.0 \times 10^5/g$ 後半の値を示し、徐々に増加して5週間後に $1.0 \times 10^8/g$ となった。A施設の製品からは5週間後は *Lactobacillus curvatus* のみが検出され、B施設の製品からは保存当初から *Lactobacillus algidus* をはじめ多くの細菌が5週間後にも検出された。A施設での環境拭き取り試験では好気的培養では種々の細菌が検出され、特に *Pseudomonas* が多く検出された。嫌気培養では種々の乳酸菌が検出されたが製品より分離された *Lactobacillus curvatus* は直接培養法では検出されなかった。しかし増菌培養法により検出された。その結果 *Lactobacillus curvatus* のみならず *Lactobacillus algidus* が処理室、冷蔵庫、食肉作業室のすべてから検出されたことから、真空包装の乳酸菌による変敗は環境よるものであると考えられた。牛丼の具材の微生物を表1に示した。

表1 牛丼の具材の微生物

具材	微生物
牛肉	<i>Lactobacillus curvatus</i> , <i>L.algidus</i> , <i>L.fructivorans</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Coliform</i>
タマネギ	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Micrococcus luteus</i>
ネギ	<i>B.subtilis</i> , 腸管毒素産生大腸菌O148
コンニャク	<i>B.circulans</i> , <i>B.subtilis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Norovirus</i>
卵	<i>B.subtilis</i> , <i>M.luteus</i> , <i>S.aureus</i> , <i>Streptococcus lactis</i>

脱酸素剤を封入した嫌気包装貯蔵による牛肉の細菌数、菌叢について検討した⁵⁾。貯蔵開始時の菌叢はグラム陽性細菌が85%以上を占め、10日間貯蔵後の菌叢において、嫌気包装試料では*Lactobacillus*が30%を占め、*Pseudomonas*や*Coliform*などのグラム陰性細菌は抑制された。一方、空気包装試料では、グラム陽性細菌が認められず、*Pseudomonas*が約40%を占めた。一方、嫌気包装試料では、貯蔵10日目でも初期腐敗に至っていなかったが、臭いの感覚的検査では、弱い酸敗臭が感知された。これは、嫌気包装試料で、*Lactobacillus*が有意に増殖したためと考えられる。牛肉に付着した食中毒菌はタマネギとの加熱処理により殺菌できる。

タマネギの一般細菌数は $1.0 \times 10^6 \sim 1.0 \times 10^7$ /gであり、その菌叢は*Bacillus subtilis*、*Micrococcus luteus*である。また、長ネギの一般細菌数は $1.0 \times 10^5 \sim 1.0 \times 10^7$ /gであり、その菌叢は*B. subtilis*が中心である。社員給食会社のチェーン事業所で長ネギによる食中毒が発生した。原因食品は生食用の長ネギの小口切であり、腸管毒素原生大腸菌O148が検出された。刻み長ネギでは塩素では殺菌しにくいことに由来する。腸管毒素原生大腸菌は東南アジア、インドをはじめとする発展途上国の下痢症状の主な原因菌となっている。菌は75℃の加熱で死滅するが、 $1.0 \times 10^2 \sim 1.0 \times 10^3$ /gの少量の菌でも人の体内に取り込まれると、腸管内でエンテロトキシンという毒素を産生し、急性胃腸炎を引き起こす。牛井に糸コンニャクを加える場合がある。糸コンニャク、シラタキは、*Bacillus circulans*、*Staphylococcus aureus*、*Norovirus*に汚染されている場合がある。糸コンニャク、シラタキの微生物は製造工程中で増加し、製造器具からの二次汚染が多い。

殺付き卵の卵殻上に存在する微生物は、*Micrococcus*、*Staphylococcus*、*Streptococcus*、*Bacillus*、*Coliform*などが中心で*Alcaligenes*、*Flavobacterium*、*Pseudomonas*は少ない。

2. 2 牛井の微生物変敗

牛肉が腐った時の臭いはなんとも強烈で、ツンと鼻を衝くくらいではなく、強烈変敗臭がある。変敗すると肉そのものの弾力も失われ、ドロドロになっていく過程が発生する。変敗した時の肉の特徴は粘りがあり、変敗菌が活発化している。変敗菌はタンパク質を分解していくので粘りが出るようになる。同じ粘り気でも糸を引くようになると、完全に変敗している。変敗している時の特徴は糸を引く、粘り気が進むと糸を引くようになる。肉は新鮮な時でもともと持っている脂質があるので、手に持った時に多少の粘りはあるが、変敗した時の粘りは糸を引くくらいになる。食肉が変敗しているのは食肉が白くなり、茶色く変色し、ヌルヌル、ネバネバして糸を引き、酸っぱい臭い、アンモニア臭、硫黄臭がしている場合が多い。牛井の代表的な変敗は、鼻を刺すような臭いと糸を引くような粘り気である。肉の糸引き現象の主となるものが、ヘテロ乳酸菌により、炭酸ガスが発生することである。牛井に使用された砂糖を資化して粘質物のデキストランを産生する*Leuconostoc mesenteroides*により起こる場合が多い。

牛井の肉の糸引き現象や粘り現象は乳酸菌である*Leuconostoc mesenteroides*、その他の*Lactobacillus*、*Leuconostoc*が原因で炭酸ガスが発生することもある。牛井の賞味期限は作ってから1時間以内であり、冷蔵して電子レンジで再加熱すると12時間はもつ。*Staphylococcus aureus*は65℃、30分で死滅するが、牛井は65℃で30分以上加熱したら食べれない。熟成の仕方や期間などに明確な定義や規制がないため、品質、安全管理がままたちなのが現状である。牛井の微生物変敗を表2に示した。牛井とは、薄く切った牛肉とタマネギなどを醤油などで甘辛く煮込み、丼に盛った飯の上に載せた料理である。すき焼き丼の名残で、シラタキと一緒に煮込むこともある。牛肉の変敗には*Pseudomonas*による油脂分解による異臭、二次汚染菌による*Wickerhamomyces anomalus*によるシンナー臭、*Bacillus subtilis*、*B.cereus*によるアンモニア臭、*Brochothrix thermosphacta*による有機酸臭の生成がある。また牛肉の*Weissella viridescens*による緑色化、*Lactobacillus alimentarius*によるバイオフィルムの生成がある。牛井を食べると腹痛になる原因菌は*Campylobacter jejuni*、腸管出血性大腸菌、*Salomonella*、*Clostridium perfringens*である場合が多い。

牛井は牛鍋を丼飯にかけた料理が原型で、当時は牛飯と呼ばれ、明治時代に誕生した。ネギだくとはタマネギが入っている牛井のことを意味するのでタマネギの*Bacillus subtilis*、*Micrococcus luteus*等の微生物が変敗に及ぼす影響は大きい。

表2 牛井の微生物変敗

変敗現象	原因菌	防止対策
糸引き	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	二次汚染防止、環境殺菌
異臭	<i>Lactobacillus fructivorans</i>	二次汚染防止、環境殺菌
ネト	<i>Bacillus subtilis</i> 、 <i>B.licheniformis</i>	一次汚染防止、原料選択
油脂分解	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	二次汚染防止、環境殺菌
シンナー臭	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	二次汚染防止、環境殺菌
アンモニア臭	<i>B.subtilis</i> 、 <i>B.cereus</i>	一次汚染防止、原料選択
緑色化	<i>Weissella viridescens</i>	二次汚染防止、環境殺菌
バイオフィルム	<i>Lactobacillus alimentarius</i>	二次汚染防止、環境殺菌
有機酸臭	<i>Brochothrix thermosphacta</i>	一次汚染防止、原料選択

釧路市の老人ホームで出された温玉載せゴボウ牛井の食中毒は、*Clostridium perfringens*が原因菌であった。牛肉に付着している可能性のある主な食中毒菌の発病までの時間は*Campylobacter jejuni*で食後2～7日、腸管出血性大腸菌で食後4～8日、*Salomonella*は食後8～72時間、なお*Clostridium perfringens*では食後6～18時間であり、喫食後24時間以降に発病することはない。

2. 3 牛井の微生物変敗防止

牛井を食べると嘔吐や下痢になることは少ないが、食中毒症状になる場合がある。その場合のほとんどが卵とタマネギが原因である。

*Campylobacter jejuni*や腸管出血性大腸菌などの細菌は、家畜の腸にいる細菌なので、肉に付着する菌をゼロにすることは非常に困難である。また、重い肝炎を引き起こすおそれのある型肝炎ウイルスは、豚のレバーや肉の内部からも検出されることもある。ただ、これらの細菌などは熱に弱いので、十分加熱して食べれば、食中毒にはならない。

*Campylobacter jejuni*は耐熱性があり、加熱のみでは阻止できず二次汚染を防止する必要がある。

食肉工場では油脂が多く床や壁に分散している油脂が微生物の汚染源である。食肉加工工場の油脂量を分析し、同時に生菌数を分析すると油脂の量に比例して生菌数が増加する。つまり油脂量の増大により生菌数が増大するのである。これは食肉工場には油脂を分解する*Pseudomonas fluorescens*が多いことに由来する。工場に床等に付着した油脂を*Pseudomonas fluorescens*が分解して環境が変化して、乳酸菌等の他の微生物が増殖する。その結果、これらの菌が食肉に二次汚染して変敗の原因となる場合が多い。一般的に肉を扱っている工場では、現在では油脂が工場に分散している場合は少ないが昔は多くあり、食肉の変敗の原因となっていた⁶⁾。

*Campylobacter jejuni*は牛などの腸に存在する細菌であり、生の牛肉に付着しており、生肉に触れた手やまな板から具材に感染する。少量でも感染し、菌が体内に入ると2～7日で発熱、腹痛、下痢、嘔吐の症状が現れる。腸管出血性大腸菌(O157)は主として牛の腸にいる細菌であり、牛の糞などを介して牛肉に付着する。発熱や激しい腹痛、水溶性の下痢、吐気、嘔吐などの症状が起きる。しかし、これらの細菌は熱に弱いので十分加熱して食べれば食中毒は起きない。

食中毒を防ぐためには、生肉や加熱が不十分な肉は使用しない。また、肉や脂をつなぎ合わせた結着肉や挽肉、筋切りした肉、タレ等に漬け込んだ肉、牛や豚、鶏のレバーなどの内臓は、内部まで十分に加熱してから提供する。目安は、肉の内部の温度が75℃で1分以上加熱することである。例えば、ハンバーグなら、竹串を刺してみて肉汁が透明になり、中の赤身がなくなった状態になれば、加熱は十分である。

飲食店の牛井による*Campylobacter jejuni*により腹痛は、鶏肉が原因であった。

牛井を保存する場合は、牛井の具材、つゆ、飯を分けて冷蔵、冷凍する必要がある。

大量調理施設衛生管理マニュアルでは、調理後の食品は調理終了してから2時間以内に食べるのが好ましいとされている。

牛井の消費期限は季節により異なるが盛り付けから1～2時間が限度であり、冷蔵で1～2日、冷凍で15～30日である。レトルト牛井は、真空包装などで6カ月～1年保存できる。

文献

- 1) 飯野亮一：天井、かつ井、牛井、うな井、親子井：筑摩書房（2020）
- 2) 喜田川守貞：『守貞漫稿』（1853）
- 3) 吉野忠男、吉田典敬：模倣と連鎖の脱却（2）、大阪経大論集、66,27-42（2015）
- 4) 高橋敏子、北川詠子、黒川奈都子、井上伸子、石岡大成、星野利得：真空包装された食肉における乳酸菌の動態と汚染原因の検討、平成21年度地域保健福祉研究助成、公益法人大同生命事業団報告書、33-37（2009）
- 5) 泉本勝利、梅谷 淳、三浦弘之：牛肉の細菌数および菌叢に及ぼす嫌気包装の影響、日畜会誌、53,672-676（1982）
- 6) 内藤茂三：食肉及び食肉製品の微生物汚染による腐敗、変敗防止、SUNATEC e-Magazine、2013, 6月号、1-4（2013）

（内藤茂三 食品・微生物研究所）

野菜付着菌に対する温和加熱殺菌²⁾

生野菜に付着している細菌は、 $10^2 \sim 10^7/g$ と幅広く、野菜の種類、部位、季節などによって違いがみられるが、通常 $10^5/g$ 前後の細菌が付着しているといわれている。なかでも *Pseudomonas* 属菌などのグラム陰性菌に属する細菌が優勢となることが多いことは既に述べた。野菜に付着している細菌の多くは、長期間生存し、保存状態によっては増殖することが知られている。例えば、*Salmonella* 属菌は葉菜で1~40日、根菜では10~50日生存し、大腸菌は葉菜で30日間生存が可能といわれている。カット野菜の場合、食中毒菌の多くは、8℃以下の保存条件では増殖するものは少ないが、20℃以上では大腸菌群、*Bacillus cereus*、*Staphylococcus aureus*、*Campylobacter jejuni*、*Salmonella* Typhimurium などほとんどの食中毒菌が増殖する。

表1は、キャベツやキュウリなどの野菜に付着している微生物の生菌数を調べたもので、概してキャベツやニンジンで生菌数が多く、キュウリ、ナス及びダイコンで少ない傾向がみられる¹⁾。キャベツでは特にグラム陰性菌が多く、真菌及び乳酸菌が少ない。また、結球内部の葉になるほどグラム陰性菌が減少し、生菌数も減少している。一方、キュウリ、ナス及びダイコンともグラム陰性菌、真菌及び乳酸菌のいずれの生菌数も少ない。キュウリやナスで付着菌数が少ないのは結実後から収穫までに要する期間が他の野菜類と比べて極めて短いことや果皮表面の組織構造と関係があると思われる。なお、軽い水洗程度では微生物叢に大きな影響は見られていない。このため、キュウリ浅漬で保存中に白濁が起こり難い一因として果実表面に付着した微生物叢の違いも関係しているように思われたが、この点については、さらに詳細な付着微生物の菌叢についての検討が必要と思われる。

表1 野菜に付着している微生物の菌数 (cfu/ml)¹⁾

材 料	総生菌	グラム陰性菌	真菌	乳酸菌	収穫日
キャベツ					5月15日
業位 1~3枚	1.5×10^7	4.7×10^6	5.9×10^3	$10^2 >$	
5~7	3.5×10^6	3.4×10^5	$10^2 >$	$10^2 >$	
10~12	1.7×10^6	1.8×10^6	$10^2 >$	$10^2 >$	
15~17	1.3×10^5	6.0×10^5	$10^2 >$	$10^2 >$	
20~25	$10^2 >$	$10^2 >$	$10^2 >$	$10^2 >$	
キャベツ (水洗後)					6月14日
業位 1~3枚	1.3×10^7	2.5×10^6	4.7×10^3	8.5×10^3	
7~9	2.7×10^6	1.7×10^6	$10^2 >$	$1.8 \times 10^4 >$	
14~16	3.0×10^6	4.0×10^5	3.3×10^3	$10^2 >$	
21~23	9.7×10^5	2.3×10^5	$10^2 >$	5.0×10^3	
28~30	2.9×10^5	$10^2 >$	$10^2 >$	0.5×10^3	
キュウリ	4.0×10^4	1.0×10^3	7.5×10^2	1.0×10^3	6月17日
同上 (水洗後)	1.5×10^3	1.0×10^3	$10^2 >$	$10^2 >$	
ナス	1.5×10^4	1.1×10^4	$10^2 >$	$10^2 >$	6月17日
同上 (水洗後)	3.0×10^3	0.7×10^3	$10^2 >$	$10^2 >$	
ニンジン (土拭き取り)	1.5×10^6	0.7×10^5	$10^2 >$	8.8×10^3	7月 3日
同上 (水洗後)	2.5×10^5	5.3×10^2	$10^2 >$	4.8×10^3	
ダイコン (土拭き取り)	3.8×10^5	3.0×10^3	$10^2 >$	1.5×10^3	4月26日
同上 (水洗後)	7.4×10^3	2.9×10^3	$10^2 >$	2.0×10^2	

野菜付着細菌に対し、45~50℃の温和な加熱条件でも生菌数の減少がみられることに関しては前回述べた。このなかで、グラム陰性菌に対して殺菌効果がある一方、グラム陽性菌（主に乳酸菌）に対してはあまり減菌効果がみられないことについて言及した。温和加熱処理することで死滅が促進される他の例としては、表2で示すように低温性、好冷性細菌について

でもみられることが報告されている²⁾。50℃の温和加熱処理した場合の *Pseudomonas fragi* のD値は7.4分、*Pseudomonas aeruginosa* の値は14~60分、食中毒菌の *Yersinia enterocolitica* は、62.3℃で加熱処理した場合のD値は0.24~0.96であることなど、いずれもD値が一般的な細菌よりも短時間であることがわかる。なお、これは温和加熱処理とはいえないが、*Bacillus brevis* や *Bacillus pumilus* など低温性 *Bacillus* 属菌の芽胞のD値が90℃で4.4~6.6分であることは興味深い。

表2 低温性、好冷性菌の熱死滅条件²⁾

微生物	熱死滅条件	
	温度 (℃)	D値 (min)
<i>Bacillus brevis</i> 、 <i>B. pumilus</i> など 低温性 <i>Bacillus</i> 芽胞	90	4.4~6.6
<i>B. psychrosaccarolyticus</i> 芽胞	85	11~42
<i>Candida nivialis</i>	40	15
<i>Clostridium botulinum</i> typeE 芽胞	77~80	0.6~4.3
<i>Micrococcus cryophilus</i>	40	15
<i>Ps. aeruginosa</i>	50	7.4
<i>Ps. aeruginosa</i>	50	14~60
<i>Serratia</i> sp.	30	30
<i>Vibrio marinus</i>	25	80
<i>Yersinia enterocolitica</i>	62.3	0.24~0.96

Staphylococcus aureus が52℃の温和な加熱処理により塩耐性が低下すること³⁾や *Candida utilis* が温和加熱処理により細胞膜の損傷やRNAの分解を生じ、ソルビン酸による感受性が增大することについて、前回、紹介した⁴⁻⁵⁾。そこで、グラム陽性菌と陰性菌の温和加熱処理による減菌効果の違いは、細胞膜の構造が異なることに起因すると思われることから今回はこれらについて述べたいと思う。

グラム陽性菌と陰性菌の違いについて

先述したようなグラム陽性菌とグラム陰性菌に対する温和加熱処理や化学物質に対して反応が異なる要因は、細胞表層の違いに基づいていることから、それぞれの細胞表層の特性に関して概要を述べる。

図1⁶⁾で示すように、グラム陰性菌の細胞表層は細胞壁のペプチドグリカン層が薄く、その外側は外膜でおおわれている。この外膜は、細胞膜のように単なるリン脂質二重膜ではなく脂質と多糖類で構成されるリポ多糖類（リポポリサッカライド）からなっている。この多糖類の鎖が親水性の性格をもっていることから、疎水性官能基を有する化学的薬剤は侵入しにくくなる。

一方、グラム陽性菌は、図からもわかるようにグラム陰性菌よりも厚いペプチドグリカン層を有していることから、グラム陰性菌よりも強固な細胞壁に囲まれているような構造を有している。したがって、グラム陽性菌は、加熱や乾燥などの物理的な環境に強く、グラム陰性菌はそのような加熱や乾燥などに弱い傾向がみられる。腸内細菌や魚類に付着している水生細菌の多くはグラム陰性菌で、水分の多い環境で棲息することに適している。一方、*Bacillus* 属菌や *Staphylococcus* 属菌のようなグラム陽性菌は、加熱処理や乾燥に対して抵抗性がみられる。したがって、穀類、豆類や皮膚の表面など、比較的乾燥している環境でも棲息できる特徴を有する。

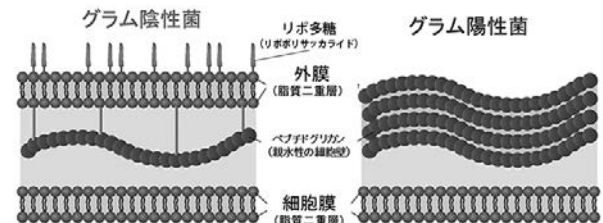


図1 グラム陽性菌とグラム陰性菌の細胞壁⁶⁾

温和加熱処理による細胞成分の漏洩

50℃の温和加熱処理によって細菌細胞の死滅が起こり、それは特にグラム陰性菌に顕著であることを述べてきた。これは、細胞表層の構造に基づいており、細胞の死滅と並行してタンパク質や核酸関連物質であるRNA様物質などの細胞内成分の漏洩が生じていることが推察される。菌体細胞成分の簡

易測定法としては、260nm吸収物質やオルシノール法によるRNA様物質、フェノール硫酸法による全糖の測定法などがあり、それらを利用して温和加熱処理による菌体外への漏洩について調べた報告の概要はつぎのとおりである⁷⁾。45℃、50℃で30分間の温和加熱処理した菌体から漏洩してくる各物質量を測定した結果を表3に示した。グラム陰性菌の*Pseudomonas fluorescens*や*Flavobacterium* sp.、また、野菜由来の大腸菌群である*Enterobacter aerogenes*や*Klebsiella pneumoniae*に対して45℃の加熱処理で細胞内成分の漏洩が認められることから、温和な加熱処理によっても細胞膜の損傷や核酸関連物質の分解などがおこっていることが考えられる。50℃の温和加熱処理で生菌数の減少がみられた*Flavobacterium* sp.、*E. aerogenes*、*K. pneumoniae*などは、45℃の温和加熱処理では、死滅そのものはあまり認められていないが、細胞内成分の漏洩は生じていることがわかる。一方、野菜由来の乳酸菌である*Leuconostoc mesenteroides*、*Streptococcus faecalis*、*Streptococcus faecium*、*Pediococcus pentosaceus*、*Lactobacillus plantarum* (新名*Lactiplantibacillus plantarum*) や*Micrococcus varians*などのグラム陽性菌に対する温和加熱処理の場合、260nm吸収物質や全糖において、わずかな漏洩が認められる一方、RNA様物質の漏洩はほとんど認められず、45、50℃という温和な加熱処理で短時間の場合には、細胞膜に対してあまり損傷を与えていないものと考えられる。

表3 温和加熱処理した菌体からの260nm吸収物質およびオルシノール反応物質の漏洩⁷⁾

Strain	260nm absorbing materials(O.D.)		Orcinol reaction positive materials(as RNA μg/m)		Carbohydrate (as glucose μg/m)	
	45℃	50℃	45℃	50℃	45℃	50℃
<i>Pseudomonas fluorescens</i> P-24	0.56	0.58	15.8	15.3	14.0	12.3
<i>Flavobacterium</i> sp. F-4	1.09	1.17	23.0	23.5	25.4	30.0
<i>Enterobacter aerogenes</i> E-2	0.27	0.42	2.8	5.9	6.5	14.6
<i>Klebsiella pneumoniae</i> E-8	0.41	0.41	3.1	3.4	3.2	6.2
<i>Micrococcus varians</i> M-4	0.04	0.05	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> L-11	0.02	0.02	0.0	0.0	3.4	3.4
<i>Streptococcus faecalis</i> ML-8	0.03	0.03	0.0	0.0	3.0	2.2
<i>Streptococcus faecium</i> ML-12	0.04	0.04	0.0	0.0	3.5	3.4
<i>Pediococcus pentosaceus</i> ML-4	0.05	0.07	0.0	0.0	5.0	6.2
<i>Lactobacillus plantarum</i> L-4	0.06	0.08	0.0	0.0	5.0	6.2

培養菌体を無菌的に洗浄後、リン酸緩衝液 (pH6.8) に懸濁させ45、50℃、30分間加熱処理

図2は*P. fluorescens*、*Flavobacterium* sp.、*E. aerogenes*、*K. pneumoniae*に対する50℃の温和加熱が処理時間に及ぼす影響について見たものであるが、処理時間が長くなるにつれ菌体外のオルシノール陽性物質や260nm吸収物質の増加がみられることから細胞表層が損傷を受けていることがわかる。一方、グラム陽性菌の乳酸菌である*Leuc. mesenteroides*、*St. faecalis*、*St. faecium*、*P. pentosaceus*、*L. plantarum*は、図3からも明らかなように50℃の温和加熱処理を60分間行っても漏洩物質の増加はごくわずかであることから細胞表層の損傷はあまり生じていないものと思われる。

温和加熱処理による食塩耐性の低下

野菜由来細菌の食塩耐性が温和加熱処理によってどの程度影響を受けるのかについて検討したものを図4に示した。*Micrococcus luteus*および*L. plantarum*は45℃で30分間処理しても4%食塩添加培地においてコロニー形成能はわずかな減少にとどまっており、温和加熱処理によって食塩耐性の低下はあまり認められていない。一方、*E. aerogenes*や*K. pneumoniae*の場合は、45℃、30分間の加熱処理後において、食塩が無添加の培地では損傷菌の回復がみられ、コロニー形成能の低下はみられないが、食塩が添加されている培地においてはコロニー形成能の低下がみられ、それは食塩濃度が高まるにつれ顕著であることがわかる。特に、*K. pneumoniae*は45℃、30分間の加熱処理で4%食塩添加培地におけるコロニーの形成は、1/1000に低下していることから温和加熱処理によって食塩耐性は低下していることがわかる。

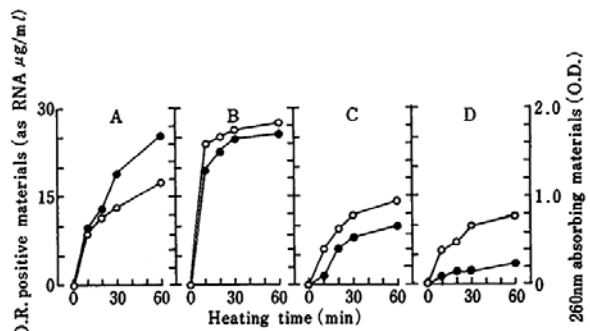


図2 温和加熱処理したグラム陽性菌の菌体からの260nm吸収物質およびオルシノール反応物質の漏洩⁷⁾
 ○: 260 nm absorbing materials
 ●: orcinol reaction positive materials (as RNA)
 A: *Pseudomonas fluorescens* P-24, B: *Flavobacterium* sp. F-4
 C: *Enterobacter aerogenes* E-2, D: *Klebsiella pneumoniae* E-8

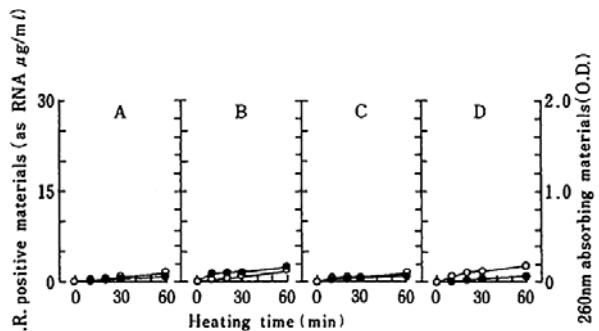


図3 温和加熱処理したグラム陽性菌の菌体からの260nm吸収物質およびオルシノール反応物質の漏洩⁷⁾
 ○: 260 nm absorbing materials
 ●: orcinol reaction positive materials (as RNA)
 A: *Leuconostoc mesenteroides* L-11, B: *Streptococcus faecalis* ML-8
 C: *Pediococcus pentosaceus* ML-4, D: *Lactobacillus plantarum* L-4

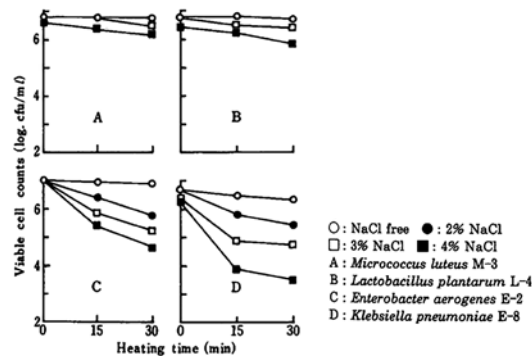


図4 45℃で温和加熱処理した細菌の食塩耐性の低下⁷⁾

引用文献

- 1) 東尾久雄ら: 保蔵科学会誌, 23 (6), 303-307 (1997)
- 2) 柴崎勲ら: *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 39 (8), 738~745 (1992)
- 3) Hurst, A., et al.: *Can J. Microbiol.*, 20, 1153 (1974)
- 4) 土戸哲明ら: 発酵工学, 50, 93 (1972)
- 5) 土戸哲明ら: 発酵工学, 50, 341 (1972)
- 6) <https://cen.acs.org/articles/93/web/2015/04/New-Spin-Old-Gram-Stain.html>
- 7) 宮尾ら: 日食工誌, 37, 433 (1990)

(東京家政大学大学院 宮尾茂雄)

アサマ化成株式会社

E-mail: contact@asama-chemical.co.jp
<https://www.asama-chemical.co.jp>

- 本社 / 〒103-0001
- 大阪営業所 / 〒532-0011
- 東京アサマ化成販売 / 〒103-0011
- 中部アサマ化成販売 / 〒453-0063
- 九州アサマ化成販売 / 〒815-0031
- 桜陽化成 / 〒006-0815

- 東京都中央区日本橋小伝馬町20-6 TEL (03)3661-6282 FAX (03)3661-6285
- 大阪市淀川区西中島5-6-13 御幸ビル TEL (06)6305-2854 FAX (06)6305-2889
- 東京都中央区日本橋大伝馬町2-1 TEL (03)3666-5841 FAX (03)3667-6854
- 大伝馬町壹番地ビル5階
- 名古屋市市中村区東宿町2-28-1 TEL (052)413-4020 FAX (052)419-2830
- 福岡県福岡市南区清水1-16-11 TEL (092)408-4114 FAX (092)408-4350
- 札幌市手稲区前田五条9-8-18 TEL (011)683-5052 FAX (011)694-3061