

アサマNEWS

パートナ

1996-11 No. 55

食品衛生講座

55. ライスナー博士のハードル・テクノロジー

日本食品保全研究会食品微生物制御技術分科会では、平成8年9月12・13日に第4回セミナーおよび講演会を開催した。その第1日に行われた「微生物制御のための講演会」ではドイツのライスナー博士に「ハードル・テクノロジーによる食品保全 (FOOD Protection by Hurdle Technology)」という基調講演をお願いした。ハードル・テクノロジーの話に入る前にライスナー博士 (Lothar Leistner) の略歴について紹介しておこう。博士は1954年ベルリンのFree Universityを卒業して獣医学士の称号を取得、卒業後クルムバッハ (Kulmbach) の国立食肉研究センターで微生物研究員として勤務 (1954-59)。次いで米国シカゴの食肉研究財団、フランスパスツール研究所、フランスの原子力研究所 (EURATOM) および米国アイオワ州立大学で学ばれ、1966年に帰国後、前記国立食肉研究センターの微生物および組織学の主任教授に任命された。ここで30年間勤務され1992年に停年退官された。この間8年間研究センターの副所長、6年間所長を務められた。ライスナー博士は食品微生物 (腐敗および食中毒菌)、食品の保存技術、食品毒性学の分野で幅広い活躍をされ、約1050編の論文と40冊の単行本に分担執筆された。退官後は国際食品コンサルタントとして世界各国に指導に出かけ、特に中国・台湾、インドおよびラテンアメリカ (アルゼンチン、メキシコおよびベネズエラ) 等発展途上国においてハードル・テクノロジーの実践・普及に努められている。ライスナー博士のハードル理論は1978年食肉製品等の保存技術に関連して開発されたもので、この考え方はさらに食品の保存におけるハードル・テクノロジーに発展していったものである。一方、微生物制御技術の観点からこのハードル理論は最近各方面で注目されているHACCP方式のCCPの考え方にも取り入れられるようになった。ここでは、ライスナー博士のハードル・テクノロジーのあらましと、最近の動向について説明する。

1. ハードル効果とハードル・

テクノロジーとは

ライスナー博士は、微生物の増殖に關与する物理的、化学的、生物学的条件を陸上競技の障害物競争のハードルにたとえ、微生物制御におけるハードル理論を提唱した。すなわち食肉製品のハムを例にすれば、原料肉を汚染している微生物は、ハムの製造過程における加熱・低温の処理、酸度 (pH)、 a_w (水分活性)、Eh (酸化還元電位) の調整、保存料 (例えば亜硝酸塩、ソルビン酸、亜硫酸など) の添加、競合微生物の使用 (例えば乳酸菌) などの増殖阻害因子—ハードル—を重点的に管理することによって、微生物による危害を減少させて、安全で保存性の優れた製品を製造することができるという理論である。表1には、食肉製品の処理・加工工程と微生物の増殖に影響する要因 (ハードル) を示した。 (Leistner, L., 1978)。

表1 食肉製品の処理・加工工程と微生物の増殖に影響する要因 (ハードル)

(Leistner, L., 1978)

要 因	食 肉 製 品 の 処 理 ・ 加 工 工 程										
	加 熱	冷 却	凍 結	凍 結 乾 燥	乾 燥	塩 漬	塩 漬	糖 添 加	酸 性 化	発 酵	く ん 煙
高 低 水 分 活 性	◎	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
pH	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
酸 化 還 元 電 位	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
保 存 料	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
競 合 微 生 物	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

また、図1にはハードル効果のモデル図 (Leistner, L., 1995) を示した。図1には5つのモデルを示しているが、モデル1では、理論的ハードルとして加熱、低温保藏、 a_w 、pH、Ehおよび保存料の使用をハードルとして挙げている。これらのハードルの高さ—微生物制御効果—は食品の種類や製造・加工工程によって違ってくる。これを示したのがモデル2である。ある食品では低温保藏が極めて効果的なこともあるし、食品によっては食塩、糖等の添加や乾燥などにより a_w を低下させたり、あるいはpHの低下等が微生物制御の有効手段になることがある。モデル3と4では、同じ製造加工条件の食品でも、初期菌数が少ない場合には例えば低温保存や a_w で微生物制御が達成できるが、微生物汚染が高い場合には菌の増殖阻止ができないこ

とを示している。モデル5では、加熱や放射線処理、あるいは薬剤等の前処理によって障害を受けた損傷菌に対するハードル効果を示したものである。

図1 ハードル効果のモデル図 (Leistner, L., 1995)

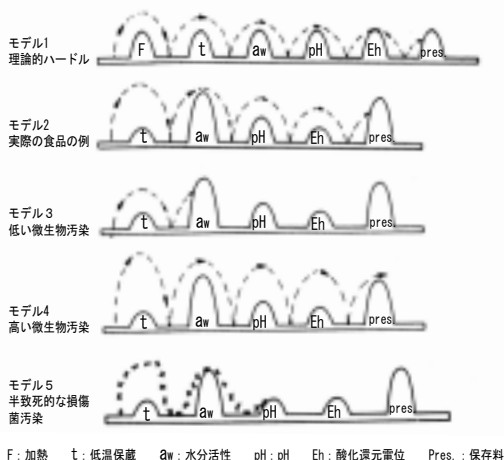


図1から分かるように、食品の微生物制御は、いくつかのハードルを組み合わせることによって複合的に行われることが分かる。最近のヨーロッパにおけるプロジェクト研究では50以上の潜在的なハードルが食品の保存性に影響することが明らかにされたという。

2. ハードル・テクノロジーの応用の現状

すでに述べたように、ハードル効果（理論）は1978年にライスナー博士によって提唱されたものであるが、その後食品の微生物制御技術としてのハードル・テクノロジーへと発展していった (Leistner, 1985)。さらに、博士は食品中の微生物の増殖、生残性、死滅にかかわる生理学的なバックグラウンドとして、ことに微生物のホメオスタシス（同種の微生物による競り合いによる増殖の停滞）、代謝疲弊 (metabolic exhaustion) およびストレス反応の考え方を導入することにより、ハードル・テクノロジーを食品の安全確保対策に取り入れるようにした。そして、この考え方をハードル・テクノロジーによる食品保全の理論的根拠にまで推し進めたものである。

去る9月12日に行われた微生物制御技術分科会主催の講演会での講演で、ライスナー博士は、先進諸国における食品の貯蔵技術分野へのハードル・テクノロジーの応用例としては、食品の発酵や特に加工工程の少ない食品への応用について説明があった。紙面の関係でここでは詳細は触れる余裕がないが、われわれの日本食品保全研究会報に今回のライスナー博士のフルペーパーを掲載する予定なので、興味のある方はそれを参照してもらいたい。また、脂肪や塩分濃度を減らしたいいわゆる“健康食品”は、従来の製品に比べ腐敗しやすく、かつ食中毒を起こしやすいので、これについてハードル・テクノロジーを適用してかなり効果を上げたという (Leistner,

1996)。ご承知のように、先進諸国では大量使用されている食品の包装材料は廃棄物処理や環境汚染物質として大きな社会問題になっている。この問題に対処するため、ハードル・テクノロジーを活用して食品の微生物的および品質の安全確保に必要な最小限度の包装に止められるような食品の保存技術の開発研究が進められているという。

一方、発展途上国における食品についてはもっぱら経験的なハードル・テクノロジーが使われてきた。周知のように多くの発展途上国では食品の低温保持や流通の実施がほとんど望めないのが現状である。そこで、ライスナー博士はハードル・テクノロジーを利用して常温で保存・流通できる食品を開発することが急務と考え、すでに、一部の国では博士の指導のもとでハードルを計画的に食品に適用して成果を上げている。適切な事例としては、中国や台湾における食肉製品、インドにおける乳製品への応用がある。これらはpH、Awの調節あるいはソルビン酸などの保存料を適切に組み合わせることにより食品の常温保存を可能にする技術のようである。また、ラテンアメリカ諸国ではハードル・テクノロジーをパイナップルのような高水分果実に応用して安定な製品を作ることに成功したという。この製品は高い水分活性 (Awが0.98-0.93) であるが、室温で数か月間鮮度を保つことができ、細菌、酵母やカビが存在していても代謝疲弊 (metabolic exhaustion) によって次第に無菌状態になるという。

3. ハードル効果のHACCPへの適用

最近わが国でもHACCPへの関心が高まっていることは周知の通りである。HACCPはHA（食品の危害分析）とCCP（重要管理点監視）から成り立っているが、これについては1993年にFAO/WHOのコーデックス委員会から出されたHACCPの7つの原則がある。そして、原則第2には「CCPを決定すること」とある。詳細な説明はここでは省略するが、ライスナー博士のハードル理論はいわばCCPの考え方と表裏一体となるものと考ええる。ただ実際の食品においては、各ハードルは相互に影響し合うもので、陸上競技のハードルのように1つずつ飛び越えられるというものではない。例えば、加熱殺菌工程はCCPでもライスナーのハードルでも極めて重要な役割を果たすものである。しかし、食品の成分や組成、これに加える食塩の濃度やpHあるいはAwによってD値が違ってくるし、また、加熱速度や微生物の熱の履歴によってもD値が違ってくる。つまり食品の殺菌効果にはいろいろな要因がかかわっている事を良く知らなければならない。従って、ある食品の殺菌条件を決めるにはそれぞれの食品毎に上記のような要因について十分に検討することが大切なのである。

(河端俊治：日本食品保全研究会会長・農学博士)

著者の研究室では、再現性のある微生物の熱抵抗特性の結果を得るため、実験過程を詳細に検討していたが、その際昇温速度と予備保温が特性数値に大きい影響を及ぼすことを見出した。これらの問題は耐熱性試験を行う場合はもちろんのこと、実際の加熱殺菌操作においても重大な問題である。

脱イオン水に浮遊させた大腸菌の50℃におけるD値(90%死滅時間)が昇温速度の上昇と共に著しく低下することが見い出された。

昇温速度 (°C/min)	D _{50°C}	
1. 0	9. 6	初発菌数 1.67×10^8 /ml
2. 1	8. 1	
5. 0	6. 6	脱イオン水
2 7 [※]	4. 3	希釈法による計算値
7 5 0 [※]	2. 9	

このような影響は、トリス緩衝液、M9最小培地、トマトジュース、卵白に浮遊させた場合にも、緩速加熱（0.6℃/分）／急速加熱（750℃/分）の比が1.8～5.3に増加する結果が得られた。このような昇温速度の上昇によって著しく熱死滅が促進される現象は大腸菌以外の微生物においても認められるか否かを検討した結果が表2であって、供試菌のいずれに対しても昇温速度の影響の大きいことが確かめられた。

微生物 (浮遊媒体)	加熱プロセス	加熱温度 (℃)	90%死滅に要 する時間(分)	90%死滅時間の 比率(SH/RH)
<i>E.coli</i>	RH	50	3.7	4.6
(Tris buffer pH 7.2)	SH		17.0	
<i>Sal.typhimurium</i>	RH	50	7.0	7.3
(Tris buffer pH 7.2)	SH		51.0	
<i>Ps.aeruginosa</i>	RH	50	2.5	5.6
(Tris buffer pH 7.2)	SH		14.0	
<i>Staph. aureus</i>	RH	50	28	2.2
(nutrient brott)	SH		62	
<i>B.subtilis</i> (栄養細胞)	RH	50	1.0	5.0
(nutrient brott)	SH		5.0	
<i>Sacch.cerevisiae</i>	RH	50	18	1.8
(citrate buffer pH 5.0)	SH		33	
<i>Can.utilis</i>	RH	48	8	1.3
(citrate buffer pH 5.0)	SH		10	

RH: 急速加熱 ($750^{\circ}\text{C}/\text{min}$) SH: 緩速加熱 ($0.6^{\circ}\text{C}/\text{min}$)

以上の結果から、蒸気を直接液状食品に吹き込んだり、あるいはプレート式熱交換器などを通して急速な熱交換が行われる場合に比較して、容器詰液状食品、粘稠食品、固体食品、あるいは固液混合食品の場合、熱伝達速度が小さく、所定の殺菌温度に到達するまでに時間がかかる場合、浮遊状態で求められた指標菌の通常の耐熱特性値 (TDT, TRT, D, Z) はそのまま当てはまらないことになる。

ある種の細菌胞子やかび胞子の発芽を促進させるため古くよりheat activationという操作が行われている(CurranおよびEvans<1944>)。これに対して無胞子細菌、特に大腸菌の熱殺菌試験において、致死温度で処理する直前、直後の温度保持条件によって著しい死滅率に変化の起こることを著者らの研究室で見出した(1974)。すなわち25℃~45℃の温度域において、5~60分間定常的に予備保温を行う場合、温度の高いほど、保持時間の長いほど生残菌数の増加することを*E. coli* K-12を供試して確認した。その後種々の微生物についても同様に致死温度処理直前と直後の保持温度の生残菌数に及ぼす影響を調べた。その結果、例えば0℃、30分保持条件を対照とした場合、37℃、30分保った方が表3に示したように、初発菌数の90%死滅時間(T_{90})値が1.5~4.7倍に増大する結果が得られた。

微生物	予備保温(℃)	加熱温度(℃)	T ₉₀ 値* (分)	T ₉₀ 値の 37 / 0 比
グラム陰性細菌				
<i>Escherichia coli</i>	{ 37 0	50	{ 45 30	1.5
<i>Salmonella typhimurium</i>	{ 37 0	50	{ 29 19	1.5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	{ 37 0	50	{ 9.7 6.6	1.5
グラム陽性細菌				
<i>Bacillus subtilis</i>	{ 37 0	53	{ 65 22	3.0
<i>Staphylococcus aureus</i>	{ 37 0	60	{ 8.3 2.0	4.2
酵母				
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	{ 37 0	50	{ 21 4.5	4.7
<i>Candida utilis</i>	{ 37 0	50	{ 19 7.5	2.5

* 初発菌数の90%低下時間 (分)

このような現象は先に示した昇温速度の影響と関連しており、緩慢加熱は非定常での予備保温とすることができる。

さらに致死温度での処理後の生残菌数測定において、測定時までの温度条件も菌数の値に影響を及ぼすことが見出された。すなわち表3と同じ微生物について致死加熱処理後直ちに0℃で2時間保持する場合に比較して、37℃、2時間放置して測定する場合、37℃/0℃の値が1.5～2.7となることが認められ、37℃での放置によって生残菌数の上昇する傾向にあることが明らかとなった。

このような定常的な予備保温効果は熱ショック効果としてその後多くの研究報告が発表され、著者らの先取的研究結果が確認されたことになる。しかしこれらの研究発表では、著者らの報文がすべて英文であるにかかわらずほとんど引用されておらないことを甚だ遺憾に思っている。しかも供試されている微生物は2、3のグラム陰性の食中毒細菌とリステリア菌に限定されている。

これら多くの発表のうちMackeyおよびDerrick (1986)の*Sal. typhimurium*を用いた熱ショックの影響を検討した結果を示す。すなわち、55℃で25分加熱処理するときの生残菌数が、37℃で培養後、42℃、45℃、48℃で予備保温するとき、生残菌数が数オーダー上昇することを認めている。図1は48℃、30分予備保温して50℃～59℃で加熱処理した場合の死滅経過であって、いずれも生残菌曲線は凸型であって7D (10⁻⁷以下時間) が2.5から20倍にも達している。

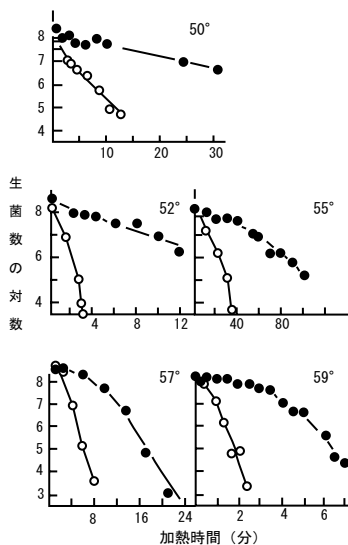


図1 *Sal. typhimurium*の耐熱性に対する予備保温の影響
予備保温条件 : 48℃, 30分
加熱処理温度 : 50℃, 52℃, 55℃, 57℃, 59℃
○ 水処理 ● 予備保温

表4には最近発表された予備保温効果例をまとめたが、いずれの供試菌に対してもD/D₀値が1.3～4.5倍となっている。

表4 予備保温の熱抵抗性に及ぼす影響

微生物	予備保温条件	D値(温度)	D/D ₀	著者
<i>Listeria monocytogenes</i>	TSYE ブロース 48℃、20分 対 照	96.9(50) 49.4(50)	1.96	Lintonら (1990)
<i>Sal. typhimurium</i>	TSYEB 培地 48℃、30分 35℃、30分	96.1(52) 21.3(52)	4.5	Bunning (1990)
<i>Listeria monocytogenes</i>	48℃、30分 35℃、30分	49.8(52) 37.9(52)	1.3	
<i>L. monocytogenes</i>	食 肉 48℃、120分 対 照	8.0(64) 3.3(64)	2.4	Farber及び Brown (1990)
<i>Sal. enteritidis</i>	TSYE 培地 48℃、30分 30℃、30分 液 卵 48℃、30分 30℃、30分	193.8秒(57.2) 62.1秒(57.2) 292.8秒(57.2) 158.4秒(57.2)	3.10 1.85	Shabら (1991)
<i>L. monocytogenes</i>	TSYEB 48℃、10分 対 照	26.4(55) 12.0(55)	2.20	Lintonら (1992) Murano及び
<i>E. coli</i> 0157:H7	TSB 培地 42℃、5分 対 照	16.8(55) 8.0(55)	2.10	Pierson (1992) Gadzella及び
<i>E. coli</i>	栄養培地 46℃、60分 対 照	4.4(54) 2.1(54)	2.09	Ingeam (1994)

このような予備保温(熱ショック)効果は温度、時間、培地組成、菌種などにより変動するが、かなり広い範囲の微生物に対して普遍性のある現象といえることができる。これらの機構については十分検討されてはいないが、熱抵抗性の上昇と熱ショックタンパク質の合成とが併行しているとか、熱ショック細胞の熱死経過より加熱損傷の修復システムが効率よく対応しているとか、細胞膜構成の修復が行われているとかの考えがある。

以上述べてきた致死加熱直前での定常的予備保温、さらには非定常の場合を含めて、微生物の耐熱性試験においては、致死温度、処理時間の正確なコントロールと共に、処理前後の温度管理の重要性が明確化されたことになる。従って常に一定のプロセスによって試験しないと死滅率(D値)に変動が起こり、測定の精度、再現性が問題となる。殺菌試験の際、細胞浮遊液を0℃に保ち直ちに致死温度に上昇させて加熱処理し、その後直ちに0℃に冷却して生残菌数を測定するという方法が測定値の再現性を保つために必要であるといえることができる(従来より広く採用されているが)。また実際の食品の加熱殺菌においても可能な限り保温より急速に致死温度まで上昇させ、殺菌処理後速やかに冷却すべきである。この点液状食品の高温短時間殺菌や超高温加熱殺菌では上記のプロセスが実施されていることになるが、容器詰の液状食品、固形食品、粘稠食品、固液混合食品においては、伝熱機構が、伝導、対流にかかわらず、昇温、冷却速度は必ずしも迅速に行われるとはいえない。そのため昇温速度は緩慢であり致死温度以下に長く保持されることになる。そのために、一般に浮遊状態で求められているD、TDT、TRT、Z値はそのまま適用できなくなり、より厳しい加熱殺菌条件を適用しなければならない。このような点については対象となる食品について検討しておく必要があると思われる。(芝崎 勲: 大阪大学名誉教授)

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