

食 品 衛 生 講 座

食品加工と微生物 その10
缶びん詰・レトルト食品の
微生物危害とその制御(1)

ナポレオンの懸賞で生まれたびん詰食品

缶詰・びん詰・レトルト食品のように食品を密閉容器に入れ、加熱殺菌して保存する方法が生まれたのは1804年、ナポレオンが軍隊食の改善のため従来からの乾燥や塩蔵、燻製などによらない食品の保存法を懸賞付で募集したのがきっかけであった。これに応募したアペール(Nicholas F. Appert)のびん詰法が最優秀作に選ばれたのが始まりといわれている。この方法によって腐りやすい食品をいつまでも保存できるようになり、この方法は彼の名前にちなんでアペルティゼーション(Appertization)と呼ばれる。ただし当時はまだ腐敗の原因が十分理解されておらず、食品が腐らないのは空気が加熱により変質するためと考えられていた。食品の腐敗が微生物によることを明快に証明したのはパスツール(Louis Pasteur)で、1860年代のことであった。

ブリキ缶を利用した缶詰はその後ヨーロッパ、米国で近代工業として発展を遂げた。わが国では明治2年長崎でいわし油漬缶詰の製造方法がフランス人から伝授されたのが最初であり、大正から昭和初期にかけて、北洋を中心にサケ・マス・カニの缶詰の製造が大発展し、戦後も昭和50年頃まで輸出産業として栄えたが、その後は急激な為替の変動により国際競争力を失い、現在は表1のように国内需要が中心となっている。

最近は自動販売機の普及もあって、缶詰は飲料缶が量

表1 わが国の缶詰の生産および輸出入の現状(1995年度)

品 目	国内生産量 (t)	輸出量 (t)	輸入量 (t)
水産缶詰	158,371	11,297	26,531
果実缶詰	91,699	276	336,945
野菜缶詰	80,422	161	368,567
ジャム	1,858	-	10,042
肉缶詰	16,627	-	32,634
調理・特殊缶詰	133,343	47	-
飲料缶	4,897,116	897	264,237

的には圧倒的に多くなっているが、わが国の缶詰産業は水産物を中心に発展してきたところが多い。

ボツリヌス中毒は最も重要な微生物危害

缶びん詰め、レトルト食品はふつう加熱殺菌が行われているため、極めて貯蔵性のよい食品である。缶詰の賞味期限は3年を目安に表示されているが、実際の保存性はさらに長いと思ってよい。

缶詰で想定される微生物危害としては、まずボツリヌス中毒があげられる。加熱不足が原因で生じやすい食中毒である。嫌気性のボツリヌス菌による食中毒はとくに欧米で多発した食中毒であり、現在でも散発的に発生が見られる。わが国でのボツリヌス中毒はほとんどがいずし(魚の発酵食品)によるE型食中毒であるが、缶びん詰によるものとして里芋缶詰(1993年、A型)、魚缶詰(1956年、E型)、びん詰の輸入キャビア(1969年、B型)などの事例がある。E型菌胞子は耐熱性が比較的に弱いので、缶びん詰での事例ではA、B型菌によることが多い。

缶びん詰やレトルト食品では、ボツリヌス菌の死滅を目的として120 4分の加熱またはそれと同等以上の殺菌効果のある方法が決められている。なお水分活性やpHなどが本菌の増殖に不適当な場合にはボツリヌス菌胞子が生き残っても増殖できないので、通常はカビ、酵母、無孢子細菌を殺し得る程度の軽微な加熱処理がなされる。

腐敗・変敗とヒスタミン蓄積も重要危害

腐敗・変敗も缶詰の重要な微生物危害である。各種腐敗・変敗缶詰の原因を調べた結果(表2¹⁾)では、加熱殺菌不足が49%と最も多く、ついで加熱殺菌後の二次汚染(23%)であった。これらの変敗菌²⁾を参考のため表3に示

表2 微生物による変敗缶詰の原因(1968~1980)

製品の種類	推 定 原 因				
	加熱殺菌不足	加熱殺菌後の2次的汚染	初期変敗	高温放置	不明
果実および果汁	13 ¹⁾	2	2	0	10
野 菜	19	10	0	0	17
魚 貝	10 ²⁾	14	0	0	5
食 肉(塩漬肉)	16	3	1	0	4
調理食	15	4	0	4	5
菓子および嗜好飲料	15	7	0	0	1
合 計	88(49%)	40(23%)	3(2%)	4(2%)	42(24%)

¹⁾例数 ²⁾未殺菌1例を含む

表3 缶詰・レトルト食品の主要変敗原因菌

製品の種類	果実・果汁	野菜	魚貝	塩漬肉	調理食	菓子	低酸性飲料
<i>B.subtilis</i> , <i>licheniformis</i>			○				
<i>B.circulans</i>					○		
<i>B.coagulans</i>		○	○	○			
<i>B.stearothermophilus</i>							
<i>S.inulinus</i>							
<i>C.sporogenes</i>		○					
<i>C.pasteurianum</i> , <i>C.butyricum</i>						○	
<i>C.thermosaccharolyticum</i>					○		
<i>C.thermoacetum</i>							

とくに重要 ○ つぎに重要 加温販売される場合に重要

す。いずれの場合も耐熱性の*Bacillus*, *Clostridium* が主要な原因菌である。上に述べたように、缶詰の殺菌はボツリヌス菌をターゲットにして決められることが多いため、耐熱性の強い高温菌は生き残ることになり、これらは製品が高温保持されるような場合には変敗の原因となりうる。一時多発したコーヒー缶詰や汁粉缶詰の変敗はこの事例である。

缶詰の微生物危害にはもう一つ、ヒスタミン中毒の問題がある。これはとくにマグロやカツオ、サバのような赤身魚が、原料段階または加工段階で不適当な温度条件におかれた場合に、ヒスタミン生成菌の増殖によって起こるアレルギー様食中毒で、一旦生成されたヒスタミンはふつうの加熱では分解しないため魚缶詰での危害の原因となる。

微生物以外の危害因子として、貝毒のような自然毒、PCB や重金属、添加物などの化学物質、抗菌性物質（養殖魚などの場合）、ガラスや石などの異物が問題となるがここでは触れない。

表4 微生物の耐熱性

微生物	温度()	D値(分)
有孢子細菌		
<i>Bacillus</i>	100	0.8 ~ 24.1
	121	0.02 ~ 3.0
<i>Clostridium</i>	100	0.31 ~ 17.6
	121	0.003 ~ 1.7
<i>B.stearothermophilus</i> *1	115	5.24 ~ 34
	121	1.42 ~ 14
<i>C.thermoacetum</i> *2	120	5 ~ 46
ボツリヌス菌 (A型)	110	2.43
	118	0.23
ボツリヌス菌 (E型)	80	1.6 ~ 3.3
無孢子細菌		
ブドウ球菌	60	0.43 ~ 7.9
乳酸菌	60	0.11 ~ 2.86
大腸菌	60	0.3 ~ 0.6
サルモネラ	57	0.75 ~ 31.0
酵母		
アルコール酵母	55	0.9 ~ 5
カビ		
コウジカビ	50	4
アオカビ	60	2.5

*1 コーン缶詰変敗菌 *2 コーヒー缶詰変敗菌として分離

表5 容器詰食品のpHによる分類と主な変敗原因菌

食品の種類 (pH) 食品例	低酸性食品 (>5.0) 食肉、魚介類、 しるこ、ココア	中酸性食品 (4.5 ~ 5.0) ミートソース	酸性食品 (3.75 ~ 4.5) フルーツみつ豆 ミカン、トマト製品	高酸性食品 (<3.7) ピクルス、果汁、 ミカンシロップ漬け
<i>Bacillus subtilis</i> (枯草菌)	+	+	±	-
<i>B.licheniformis</i>	+	+	±	-
<i>B.stearothermophilus</i>	+	-	-	-
<i>Clostridium thermoacetum</i>	+	-	-	-
<i>C.pasteurianum</i>	+	+	+	-
<i>C.botulinum</i> (ボツリヌスA、B型)	+	+	-	-
無孢子細菌	+	+	+	+
カビ・酵母	+	+	+	+
一般に採用される殺菌温度	> 110	100 ~ 110	90 ~ 100	75 ~ 85

+ ; 増殖、- ; 増殖せず。

強い細菌胞子の耐熱性

表4に代表的な微生物の耐熱性³⁾を示す。最も耐熱性の高いグループは有孢子細菌で、殺菌には100 以上の加熱を要するものが多く、加熱不足によって起こる缶詰の変敗はこれらの細菌によるものである。またボツリヌス菌もこのグループに属する。一方、カビ、酵母、無孢子細菌の耐熱性は弱い。

加熱は食品成分の化学変化を促進するので、殺菌と同時に食品の栄養性や味、香り、テクスチャーなどに影響を与える。そのため食品の殺菌はなるべく品質に悪影響を与えないよう必要最小限の加熱にとどめる必要がある。ふつう食品の加熱殺菌はD値の5倍を目安に行われることが多い。

表5は缶・びん詰（容器詰）食品をpHによって分類し、そこでの主な変敗微生物と一般的な殺菌温度⁴⁾を示したものである。pH3.7未満の高酸性食品中では有孢子細菌は生き残っても増殖できないので、通常はカビ、酵母、無孢子細菌を殺滅し得る程度の比較的低い温度での殺菌が行われている。しかし最近では、輸入原料とともに新しい菌も持ち込まれるようで、野菜ジュース缶詰などの新しい変敗菌としてpH2 ~ 4（最適pH3付近）の範囲でよく増殖する耐熱性細菌 *Alicyclobacillus acidoterrestris* が報告されているので注意が必要である。

pH3.7 ~ 4.5の食品中では有孢子細菌も増殖するので、これを殺菌するためには比較的強い加熱処理が必要となる。pH4.6以上ではボツリヌス菌も増殖するため厳重な殺菌が必要となる。また高温細菌の中には耐熱性の強いものがあり、なかでも*Clostridium thermoacetum* は120 でのD値が5 ~ 46分と極めて耐熱性が強く、この菌の殺菌を加熱だけで行うことは事実上できない。ただしこの菌は常温では増殖しないため、生き残ってもふつうの缶詰では変敗を起こすことはないが、加温式自動販売機（ホットベンダー）中では、その温度がちょうどこの菌の最適増殖温度域（55 ~ 65 付近）にあるのでコーヒー缶詰では変敗原因菌となる。ただし現在はしよ糖脂肪酸エステルを併用して増殖を防止する方法が採られている。

東京水産大学食品生産学科教授 藤井建夫

文献

- 1) 松田典彦・駒木勝・市川良子・後藤幸恵：
日食工誌, 32, 444-449（1985）
- 2) 松田典彦：缶詰時報, 69, 202-209（1990）
- 3) 芝崎 勲：包装システムと衛生, No. 4, 55-72（1980）
- 4) 松田典彦：防菌防黴, 3, 115-119（1975）

微生物制御に関するトピックス

その35 微生物は環境条件 (酸ストレス) に対応する (3)

食品や医療の分野をはじめその他一般環境に存在する微生物は前回示した飢餓ストレスの外に次に示すようなストレスに曝されている。

加熱食品、冷蔵、冷凍食品、加熱処理される材料など...Temperature stress

乳製品、肉製品、漬物、果実、果汁、味噌、醤油、アルコール飲料など...Acid stress

チーズ、バター、ソーセージ、味噌、醤油、塩漬、砂糖漬、干物など濃縮食品...Osmotic stress

濃縮食品、乾燥食品、その他材料...Oxidative stress

醸造飲食品、殺菌処理した材料など...Ethanol stress

抗菌剤、殺菌剤処理など...Chemical stress

今回はこれらstressの内、Acid stressに対する微生物の挙動について述べる。低pHに曝されると、微生物はそれに適応して生存及至増殖することがあるし、さらに他のstressに対しても耐性を獲得するstress cross protectionを示す場合もある。この点は基礎微生物学において興味深い問題であるが、微生物制御の立場からも重要視しなければならないと考えている。

Acid stressについて検討されている細菌の種類は必ずしも広くはないが、食中毒原因細菌の代表である3種の菌に関する情報を紹介することにした。細菌がAcid stressを受ける場合、2通りの過程が考えられる。その1つは中性域のpH7.0より微酸性のpH5.0に低下させ一定時間適応させた後、pH3以下の低pHに曝す方法であって、これをAcid tolerance response (ATR) と稱している。その2はpH7.0より一気に低pHに低下させる方法で、Acid shock response (ASR) といわれている。Acid stressについての研究では対数期の細胞を採取してacid stressにかけ定常期細胞と比較している例が多い。

*Listeria monocytogenes*について、図1に示したようにpH3.5、60分処理に対して、対数期細胞は最も感受性が大であって定常期に近づくにつれて抵抗性を増すことがわかる。このような経過はすべてのstressに対して共通する細菌の対応である。pH7.0で发育した対数期の細胞をpH3.5の条件にさらすと図2のように直線的に生菌数は低下し、60分以内に2log以上低下するが、pH5.5で1h対応させた後pH3.5にさらすときは90分後でも1.0log以内の低下を示すに過ぎない。この場合、適応の開始時にchloramphenicolを添加するときは酸に対する耐性の発現が認められないことから、このような短時間のacid stressにおいても新に蛋白合成が行われ、これが酸抵抗性に貢献しているものと考えられる。*L.monocytogenes*では以上の

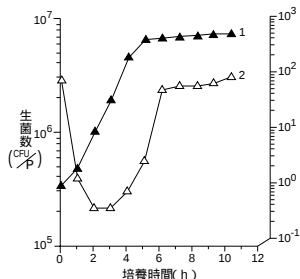


図1 *L.monocytogenes*の发育相と酸感受性
1: 发育
2: pH3.5、60分処理

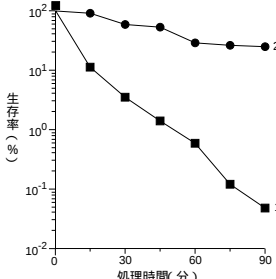


図2 *L.monocytogenes*の酸抵抗性
1: 酸未適応
2: 酸適応 (pH3.5)

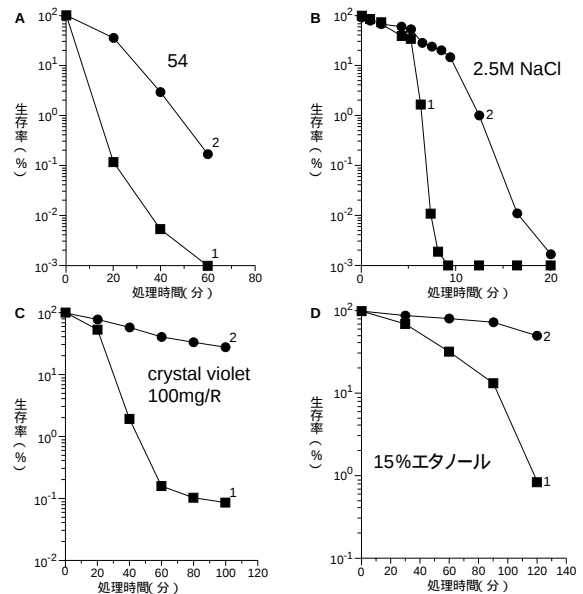


図3 *L.monocytogenes*の酸適応による各種ストレスに対する抵抗性
1. 酸未適応 2. 酸適応

ような酸適応した細胞は他の環境ストレスに対してstress cross protectionのあらわれることが認められている。図3は54℃での加熱、2.5M NaCl、crystal violet 100mg/r、15%エタノールに対して抵抗性の発現する結果を示している。

以上の結果から、*L.monocytogenes*は酸性の酪農食品、例えばヨーグルト、チーズなどの製造において生成される乳酸に対して抵抗性を増して生存性の高まる可能性がある。また酸適応した*L.monocytogenes*は図4に示したようにオレンジジュース (pH3.76) やサラダドレッシング (pH3.0) 中では未適応細胞より安定である。更にpH5.0~4.5でのATS処理により0.1% H₂O₂やナイシンのようなbacteriocinに対する抵抗性を増すことも確かめられている。

以上の結果より*L.monocytogenes*は酸適応によって、加熱、食塩、H₂O₂、エタノール、crystal violet、ナイシンに

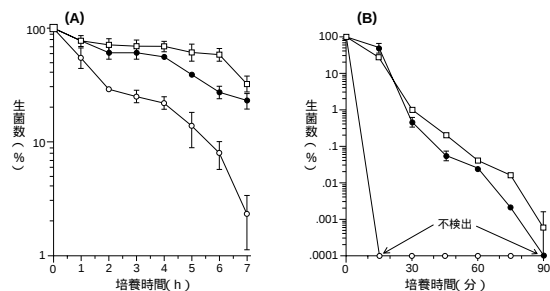


図4 *L.monocytogenes*の酸性食品中での生存
(A): オレンジジュース (pH3.76) (B): サラダドレッシング (pH3.0)
●: 酸適応 ○: 酸未適応 □: 酸未適応ATM56 (酸耐性変異株)

対してstress cross protectionを示すということができる。

一般の*Escherichia coli*に比べて*E.coli* O157:H7は耐酸性であるが、酸適応によって一般の*E.coli*同様に酸に対する抵抗性が増大し、ソーセージ発酵中に生成される乳酸に耐えて長く生存するし、pH3.4のapple ciderでも長く生存することにより食中毒の原因となっている。pH5~6の微酸性で適応させpH4.0以上で処理するATRと一気にpHを低下させるASRの処理と比較すると、後者の方が生存率の高い結果が得られている。*E.coli* O157:H7では酸適応により熱に対する抵抗性の上昇することが認められている。すなわち表1にはpH3.9に調整した3種の果汁中で加熱する場合、定常期細胞に比べて酸適応細胞のD₅₀値が大きくなっていることが*L.monocytogenes*、*Salmonella*と比較

表1 pH3.9に調整した果汁中での熱抵抗性(D50)の比較

果汁	条件処理	D値±SD(分)			
		<i>E.coli</i> O157:H7	<i>L.monocytogenes</i>	<i>Salmonella</i> C	<i>Salmonella</i> d
Apple	Stationary phase ^a	4.1±0.70	1.59±0.15	0.96±0.27	1.21±0.42
	Acid adapted ^b	7.0±0.21	5.00±0.45	1.07±0.18	2.28±0.36
Orange	Stationary phase	7.5±0.39 ^c	2.05±0.49	1.61±0.38	2.52±1.32
	Acid adapted	11.0±1.29 ^d	3.83±0.41	1.40±0.46	4.54±1.07
White grape	Stationary phase	4.0±0.78	2.29±0.37	2.43±0.29	1.38±0.18
	Acid adapted	6.1±1.30	4.59±0.70	3.62±0.87	1.60±0.58

a: TSB (pH7.2) で1夜培養

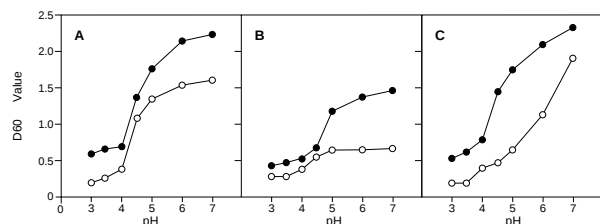
b: TSB (pH5.0) で1夜培養

c: Serotype Gaminara, Rubislaw, Hartfordの混合

d: Serotype Typhimurium, Enteritidisの混合

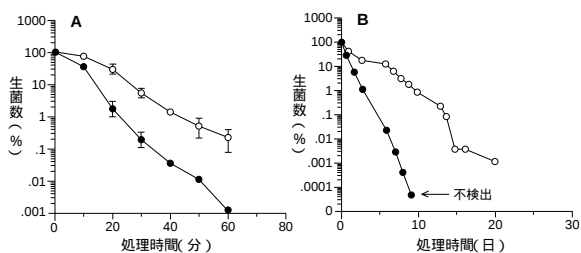
して示されている。図5は3菌種の定常期細胞と酸適応細胞のD₆₀ 値に対するpH3~7の影響を示している。

*Sal.typhimurium*について、対数期細胞をpH7.6よりpH5.8に低下した後、1世代適応した場合、pH3.3でのATRは

図5 定常期細胞と酸適応細胞の熱抵抗性(D₆₀)に対するpHの影響A: *E.coli* O157 B: *Salmonella* C: *L.monocytogenes*

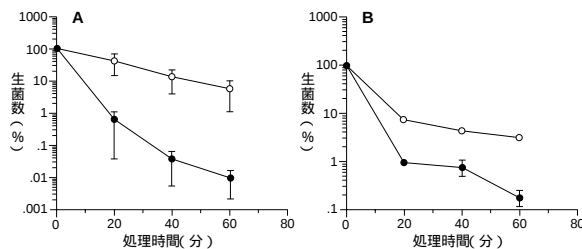
○-定常期細胞 ●-酸適応細胞

ASTより生存率が100~1000倍に上昇する結果が得られている。このようなATR処理によって図6、7に示したように、50、2.5M NaCl、crystal violet 25mg/r、polymyxin B10mg/rに対する抵抗性の上昇効果が認められる。更に図8、9に示したように酸適応によってハロゲン系殺菌剤に対して感受性を増す結果が得られるが、アニオン系殺菌剤に対して

図6 *S.typhimurium*に対する酸適応の影響

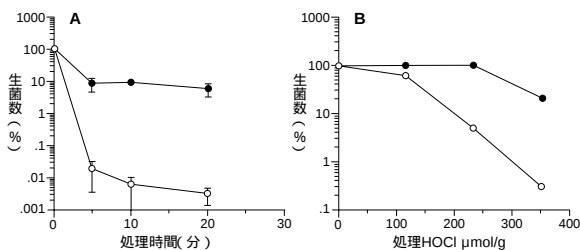
A: 50 B: 2.5M NaCl (0.1Mリン酸緩衝液 (pH7.0))

○-酸適応 ●-酸未適応

図7 *S.typhimurium*に対する酸適応の影響

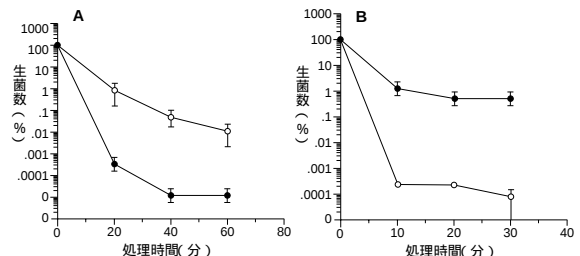
A: crystal violet 25mg/R B: polymyxin B 10mg/R

○-酸適応 ●-酸未適応

図8 *S.typhimurium*に対する酸適応の影響

A: 475 μmol HOCl/R (乾物) [サルモネラ] B: HOCl量

○-酸適応 ●-酸未適応

図9 *S.typhimurium*の酸適応成果

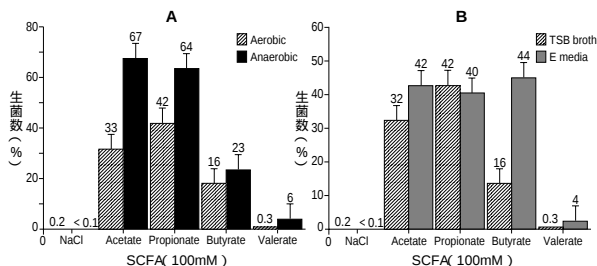
A: anionic acid (pH3.23) disinfectant B: iodine based disinfectant

○-酸適応 ●-酸未適応

は逆に抵抗性を示す結果となっている。このような酸適応の結果としては細胞表層の疎水度の増大と特殊な外膜蛋白質の誘導が考えられる。

C₂~C₅の短鎖の脂肪酸(SCEA)を添加処理(pH3.0、1h)するとき、酸抵抗性の上昇と共に毒性の増強することが認められている(図10)。

効果Acid stressの細胞に対する影響について3種の食中毒原因細胞について検討されてきた結果をstress cross protection効果を含めてまとめてみた。菌種によりこの効果はかなり共通性があるといえる。他の病原細菌についての検討は今後のまづべきであるが、グラム

図10 *S.typhimurium*に対する酸適応の影響

染色陽性のListeriaとグラム染色陰性のE.coli、Salmonellaについての検討結果を勘案すれば、細胞構造、機能の点から考えて他の細菌についてもstress cross protectionのあることが予想される。

(大阪大学名誉教授 芝崎 勲)

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
大阪営業所 〒532-0011 大阪市淀川区西中島5-6-13 御幸ビル
東京アサマ化成 〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町16-5
中部アサマ化成 〒453-0063 名古屋市中村区東宿町2-28-1
九州アサマ化成 〒811-1311 福岡市南区横手2-32-11
桜陽化成 〒006-1815 札幌市手稲区前田五条9-8-18

TEL (03) 3661-6282
TEL (06) 6305-2854
TEL (03) 3666-5841
TEL (052) 413-4020
TEL (092) 582-5295
TEL (011) 683-5052

FAX (03) 3661-6285
FAX (06) 6305-2889
FAX (03) 3667-6854
FAX (052) 419-2830
FAX (092) 582-5304
FAX (011) 694-3061