

学位論文の要旨

論文題目 野菜の加工における腸管出血性大腸菌 O157 の制御に関する研究

広島大学大学院生物圏科学研究科

生物機能開発学 専攻

学生番号 D105998

氏名 潘 小軍

第1章 序論

食品の生産から消費までの微生物制御は、食品の安全確保における重要な課題である。近年、消費者の簡便・健康・グルメ志向を反映して、ready-to-eat 食品、低塩・低糖食品、マイルド加熱食品が増えているが、これらは特に衛生管理が必要である。また、流通・消費段階での不適切な温度管理や取り扱いを想定して、食品自体に微生物の増殖に対する抵抗性を持たせる必要が生じている。近年、野菜およびその加工品を原因とする腸管出血性大腸菌 O157 食中毒が日本や欧米諸国で発生し、その対策が急務となっている。特に、生食用野菜の消費は拡大しており、業界では、鮮度とともに低い生菌数が要求されている。カット野菜や浅漬けなどの野菜加工品は加熱工程や十分な発酵工程がないため、食材が病原菌の汚染を受けていた場合、食中毒を引き起こす可能性がある。それゆえ、野菜の洗浄殺菌は食中毒リスクを低減する重要なポイントとなっている。また、野菜処理場において、洗浄殺菌液を連続使用すると殺菌効果が減少したり汚染ロットが混入した場合に交差汚染を引き起こす恐れがある。

現在、野菜加工現場では次亜塩素酸ナトリウム (NaClO) による殺菌が主流であるが、高濃度や長時間の処理は、野菜の品質の劣化や塩素臭による作業環境の悪化が問題になる。消費者が求める高い品質と、安全性を確保する強力な殺菌処理の両立は困難である。そこで、ハードル理論に基づいて、いくつかの微生物制御因子を組み合わせると、各ハードルは低く設定することが可能である。一方、野菜漬物や浅漬けなどの野菜加工品の微生物安全性確保において保存料などの食品添加物の使用は有効であるが、長期的にはこれらの健康への影響が憂慮されるため、人類が長い歴史の中で摂取してきた天然食材の有する抗菌性を利用した微生物制御法が注目されている。

このような背景の中で、本論文では、野菜の殺菌に塩素系殺菌剤である NaClO あるいは二酸化塩素 (ClO₂) を用いて種々の濃度と反応時間で洗浄殺菌効果を検証するとともに、効果的に菌数を減少させる他の殺菌法との組み合わせについても検討した。また、野菜の洗浄殺菌液を連続使用した場合の大腸菌 O157 による交差汚染について塩素濃度との関連から検討した。一方、野菜浅漬けやジュースなどの加工品の微生物的安全性を高めるために、植物抽出液および植物精油の利用についても検討した。

第2章 塩素系殺菌剤による野菜類の洗浄殺菌

塩素系殺菌剤による高濃度、長時間の野菜の洗浄殺菌は野菜の品質を劣化させる。本章では、レタス、ホウレンソウ、白菜を対象に、塩素系殺菌剤による殺菌条件の最適化を行った。

塩素系殺菌剤による野菜の洗浄殺菌では、一般生菌数、大腸菌群数および接種大腸菌 O157 数は、水道水洗浄より有意に減少した。しかし、100, 200, 500 ppm NaClO の洗浄殺菌効果には顕著な差は認められず、5分間で1.0~1.5 Log しか菌数は減少しなかった。また、洗浄殺菌開始の直後、菌数は減少し、5分以降ではほとんど菌数減少は認められなかった。野菜の洗浄殺菌で単に NaClO の使用濃度を高くしたり各処理時間を延長しても、殺菌効果は高くないことがわかった。ClO₂ は 50 ppm 濃度で NaClO より高い殺菌効果がみられた。高濃度の ClO₂ ではさらに高い効果を示したが、野菜の色調などの品質に影響した。野菜表面の撥水性や常在菌のバイオフィーム形成、切断面や気孔から組織へ菌体の侵入により殺菌剤との接触を逃れ、塩素系殺菌剤の野菜での殺菌効果が限定されたものと考えられた。

第3章 塩素系殺菌剤と物理的処理の併用効果

本章では、野菜の塩素殺菌の効果率を高める目的で、低温加熱（50℃）、超音波などの物理的処理との併用効果について検討した。超音波やバブリングとの併用効果は余り認められなかったのに対し、100 ppm NaClO および 50 ppm ClO₂ では 50℃の低温加熱との併用で殺菌効果が上昇した。処理の順序により殺菌効果に差が認められ、同時併用の場合、より高い殺菌効果が得られた。一般生菌数、大腸菌群数および接種大腸菌 O157 数は最大 2.9, 4.1, 2.5 Log それぞれ減少した。付着菌自身が熱の影響で損傷やストレスを受けて、殺菌剤に対する感受性が高まったものと考えられた。

第4章 野菜の塩素洗浄殺菌における交差汚染の防止

野菜の洗浄工程で大量用水や殺菌剤の節約のため、洗浄殺菌液を繰り返して使用すると、殺菌効果の減少あるいは汚染ロットが入った場合の交差汚染などが危惧される。そこで本章では、野菜の洗浄殺菌液を交換せずに使い続けた場合の大腸菌 O157 による交差汚染について塩素濃度との関連から検討した。初期濃度が 50, 100 ppm の NaClO では、大腸菌 O157 接種野菜を 10 回洗浄後も 10 ppm 以上の塩素が残留し、洗浄液から O157 は検出されなかった。これらで非接種野菜を洗浄しても交差汚染は認められなかった。一方、初期濃度が 10~20 ppm では洗浄数回目に塩素濃度は 1 ppm 以下に低下し、洗浄液に O157 が残った。また、これらを用いて非接種野菜を洗浄すると交差汚染を起こし、O157 が検出された。塩素濃度の減少は野菜表面の有機物質や滲出液などによるものと推察された。また、市販の野菜用洗剤の場合、1回の接種野菜の洗浄のみで交差汚染を引き起こした。したがって、50 ppm 以上の NaClO による野菜の洗浄殺菌処理は、交差汚染の防止には大きく役立っているということを実証した。

第5章 植物抽出液による野菜浅漬けの微生物制御

浅漬けは野菜に調味料と酸味料を加えたものであり、本来の発酵食品ではなく、酸性度が低い。そのため、食中毒菌は生残り、増殖することもある。日本では、白菜の浅漬けによる腸管出血性大腸菌 O157 食中毒事件が発生し、浅漬け類製造における衛生管理が非常に重要となっている。本研究では、中国産の香辛料や漢方薬から大腸菌 O157 に対する抗菌サンプルをスクリーニングして、白菜浅漬けにこれらのサンプルのエタノール抽出液を添加し、抗菌効果を確認した。グラム陰性菌である大腸菌 O157 への植物抽出液の抗菌効果は既報のとおり低かった。八角、烏梅（うばい）の抽出液は大腸菌 O157 の増殖抑制効果がより高かった。植物抽出液の併用効果を検討したところ、八角 0.1%/烏梅 0.1%/ガラナガル 0.05%の組み合わせは白菜乳剤で強い抗 O157 効果が認められた。これらを白菜浅漬けに添加して、15°Cで保存すると、7日目の一般生菌数、乳酸菌数および大腸菌 O157 数はコントロールより低かった。植物抽出液を組み合わせる野菜加工品などに添加すると、製品の安全性を高めるのに有効であると思われた。

第6章 植物精油によるジュースの微生物制御

海外では果汁による腸管出血性大腸菌 O157 などの食中毒が頻発している。HACCP の食品工場への導入が積極的に進められ、米国 FDA では果汁の製造工程において 5 Log (5D) の殺菌を要求している。近年、エッセンシャルオイル (EO) は生鮮食品やその製品の抗菌剤として注目されている。本章では、シナモン、クローブ、八角 EO およびクローブの主成分であるオイゲノールの大腸菌 O157 に対する MIC (最小発育阻止濃度) および MBC (最小殺菌濃度)、野菜ジュースにおける大腸菌 O157 抑制効果を調べた。また、大腸菌 O157 の耐熱性 (D 値) に及ぼす影響についても検討した。EO の大腸菌 O157 に対する MIC, MBC はそれぞれ 0.025-0.05%, 0.1-0.2%であった。酸性条件 (pH 4.0, pH 4.5) ではそれぞれさらに低い値が得られた。野菜・果実ミックスジュースに接種した大腸菌 O157 はすべての保存条件で増殖は認められなかったが、EO の添加濃度、保存温度と時間により大腸菌 O157 の残存は大きい影響を受けた。また、野菜・果実ミックスジュースに EOなどを添加すると、大腸菌 O157 の D₅₅ 値は大きく低下し、最大 5.69 分 (コントロール, pH 3.9) から 0.38 分 (八角 EO, 0.05%) まで減少した。

第7章 要約

本研究では、野菜の殺菌に塩素系殺菌剤による葉物野菜の殺菌条件の最適化を行ったあと、物理的処理を組み合わせる新しい殺菌技術を開発した。また、野菜の洗浄に NaClO を連続使用した場合の大腸菌 O157 による交差汚染を実証した。さらに、野菜加工品の微生物的安全性を高めるために、植物成分 (精油) の利用についても検討した。

野菜の生菌数や接種 O157 数は NaClO (100 ppm, 5 分) で、効果的に減少したが、ClO₂ (50 ppm) はより高い殺菌効果を示した。塩素系殺菌剤は低温加熱処理 (50°C, 5 分) により殺菌力は高まり、最大 2.5 Log の大腸菌 O157 数減少が認められた。超音波やバブリングとの併用効果は認められなかつ

た。初期濃度 50 ppm 以上の NaClO では、10 回洗浄後も 10 ppm 以上の塩素が残留し、交差汚染は認められなかった。一方、20 ppm 以下では接種野菜から非接種野菜への洗浄液を介した交差汚染が容易にみられた。また、植物精油は酸性 pH や低温加熱との併用効果が認められた。特に、精油と 55°C 加熱処理との併用でジュースにおける大腸菌 O157 の D_{55} 値は大きく減少した。植物抽出液の八角 0.1%、烏梅 0.1%、ガラंगル 0.05% の組み合わせは白菜乳剤や白菜浅漬け保存試験で味覚に大きな影響を与えず、強い抗 O157 効果が認められた。

本研究では、野菜の洗浄殺菌における NaClO と ClO₂ の適正な処理条件を明らかにした。さらに、50 ppm 以上の塩素は野菜洗浄殺菌中に腸管出血性大腸菌 O157 の交差汚染を防止することを実証した。一方、植物抽出液や精油は野菜加工品における大腸菌 O157 の制御に有効であることも明らかにした。