

学 位 論 文 題 名

浅漬け類製造に関する食品衛生学的研究

学位論文内容の要旨

「浅漬け」は従来の高塩濃度、長期間発酵によって製造される漬物と異なり、容易に微生物増殖による品質劣化が生じる。浅漬け類の食中毒リスク評価あるいはリスク低減手法の開発研究はほとんど行われてこなかったが、2000 年以降、「かぶ浅漬け」「和風キムチ」および「キュウリ浅漬け」を原因食材とする病原大腸菌集団食中毒事件が相次いで発生し、その衛生管理手法の確立が急務とされた。本研究では浅漬け類中の食中毒原因菌の増殖、死滅特性を明らかにするとともに、製造段階の各段階における微生物制御手法の開発を行った。更に東南アジア諸国の発酵食品より抗菌物質生産性微生物を分離し、浅漬けのバイオペリザベーションに応用した。

抗生物質耐性変異株を用いた接種試験系の構築

生野菜や浅漬け類には常住細菌が存在するため、食中毒原因菌の接種試験を行うにあたっては、接種微生物と常住細菌を区別する手段が必要である。通常は界面活性剤あるいは高濃度の食塩が選択剤として使用されるが、このような物質を使用した培地では殺菌操作等によって生じた損傷菌が計数されない。経口摂取された損傷菌は体内で増殖することがあるために、これは食中毒リスクを低く見積もることに繋がる。そこで接種試験に使用する食中毒原因菌に抗生物質耐性を付与し、選択剤として抗生物質を使用することで、損傷菌検出効率の高い接種試験用計数系を構築した。

「和風キムチ」中における食中毒原因菌の挙動

市販および研究室製造和風キムチ中における 4 種類の食中毒原因微生物の増殖、死滅特性を調査した。市販和風キムチの場合、黄色ブドウ球菌は急速に死滅し、12 日後に検出限界以下になった。同様のレベルまで生菌数が低下するのに、サルモネラとリステリアは 16 日を要した。病原大腸菌は 24 日間を通じて接種時点と同等以上の生菌数を維持した。実験室製造和風キムチの場合、黄色ブドウ球菌は 12 日、リステリアは 20 日で検出限界まで減少した。病原大腸菌およびサルモネラは保存後 4 日目までは微増がみられたが、8 日後以降一定水準を保つか微減に転じた。以上の結果より和風キムチに混入した食中毒原因菌は食品中で大きく菌数が増加しないものの、通常の消費期限内に完全に死滅しないことが、実験的に明らかにされた。

酸性化亜塩素酸水を用いた生食野菜の表面殺菌

酸性化亜塩素酸水洗浄の白菜浅漬け製造への応用

浅漬け類の原料となる生野菜の殺菌には、次亜塩素酸ナトリウム水溶液が多用される。しかしこの物質は食品中の有機物と反応することで殺菌力が低下し、同時に有機塩素化合物を生成する。食品添加物である亜塩素酸ナトリウムと食用可能な有機酸を混合して作られる酸性化亜塩素酸（ASC）水は上記のような問題がないとされる。そこで浅漬け原料野菜に付着させた食中毒菌や、自然に付着する品質劣化細菌に対するASC水の殺菌効果について検討を行った。ASC水洗浄により、白菜表面に付着する一般細菌、大腸菌群および4種類の食中毒原因菌は2桁以上減少した。洗浄殺菌後の漬け込み期間中に一般細菌、大腸菌群およびリステリアは増殖したが、6日後までは殺菌区の方が非殺菌区よりも低い生菌数を示した。ASC洗浄による原料白菜の変色や、白菜漬けの品質低下は見られなかった。

天然添加物による浅漬けの微生物制御

漬け込み期間中における品質劣化細菌やリステリアの増殖を制御するために、天然添加物による微生物制御を試みた。キトサンは4種類の食中毒原因微生物に対して1桁前後の殺菌効果を示した。ワサビ、ホップエキス混合物（ワサオーロ EXT）は品質劣化の原因となる乳酸菌の増殖を効果的に抑制し、キトサンと組み合わせることでリステリアに対する殺菌効果を高めることが判明した。グラム陽性食中毒原因菌に対するナイシンとワサオーロ EXTの殺菌効果には有意な差がなかったが、ナイシン添加区の方では3日目以降、リステリアの増殖がみられた。また天然添加物の使用は白菜漬けの品質に影響を与えなかった。

ベトナム産浅漬けからのバクテリオシン生産微生物の検索

抗菌性納豆菌の分離と浅漬けの微生物制御への応用

浅漬けのバイオプリザベーションに使用可能な微生物のスクリーニングおよび特性評価を行った。ベトナムの浅漬けからはナイシンA生産性乳酸菌と抗菌物質生産性納豆菌が分離された。更に東南アジア全域の大豆発酵食品より抗菌物質生産性納豆菌を分離し、抗菌スペクトル測定およびRAPD PCR法による系統分類を行った。国内自家製納豆由来株は食中毒原因菌に対して高い抗菌活性を示し、部分精製された抗菌性ペプチドは、浅漬け中の一般細菌およびリステリアの微生物制御に応用可能であることが示された。

以上の研究は浅漬け類食品の食中毒リスクアセスメント上、重要な基礎データを提供するのみならず、より安全性が高い浅漬け製品の製造に寄与するものと考えられる。同時にこれは賞味期限延長効果を通じて、期限切れ商品の廃棄ロス減少を可能とするものであり、製造業者の利益向上にも繋がるものと考えられる。また天然添加物、あるいは新規に発見された抗菌性納豆菌の浅漬け類の微生物制御への応用は、消費者の「自然、天然志向」にも合致するものであり、今後の展開が期待される。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 木 村 俊 範

副 査 教 授 和 田 龍 彦

副 査 教 授 浅 野 行 蔵

副 査 教 授 横 田 篤

学 位 論 文 題 名

浅漬け類製造に関する食品衛生学的研究

本論文は9章からなり、図36（うち写真7枚）、表27、引用文献221を含む、総頁数203の和文論文であり、別に7編の参考論文が添えられている。

近年、食に対する安全・安心の担保が大きな関心事となっている。「浅漬け」は従来の高塩濃度、長期間発酵によって製造される漬け物と異なり、微生物増殖による品質劣化が容易に生じることが知られている。しかし、浅漬け類の食中毒リスク評価あるいはリスク低減手法の開発研究はほとんど行われてこなかったが、2000年以降、「かぶ浅漬け」「和風キムチ」および「キュウリ浅漬け」を原因食材とする病原大腸菌集団食中毒事件の相次ぐ発生を契機に、その衛生管理手法の確立が急務とされてきた。

そこで、本研究では浅漬け類中の食中毒原因菌の増殖、死滅特性を明らかにすることを主目的に、製造工程の各段階における微生物制御手法の開発を行うと共に、東南アジア諸国の発酵食品より抗菌物質生産性微生物を分離し、浅漬けのバイオプリザベーションに応用した。

得られた結果の概要は以下の通りである。

1. 抗生物質耐性変異株を用いた接種試験系の構築

生野菜や浅漬け類には常住細菌が存在するため、食中毒原因菌の接種試験を行うにあたっては、接種微生物と常住細菌を区別する手段が必要である。通常は界面活性剤あるいは高濃度の食塩が選択剤として使用されるが、このような物質を使用した培地では殺菌操作等によって生じた損傷菌が計数されない。経口摂取された損傷菌は体内で増殖することがあるために、これは食中毒リスクを低く見積もることに繋がる。そこで接種試験に使用する食中毒原因菌に抗生物質耐性を付与し、選択剤として抗生物質を使用することで、損傷菌検出効率の高い接種試験用計数系を開発、構築した。

2. 「和風キムチ」中における食中毒原因菌の挙動

市販および研究室製造和風キムチ中における4種類の食中毒原因微生物の増殖、死滅特性を調査した。市販和風キムチの場合、黄色ブドウ球菌は急速に死滅し、12日後に検出限界以下になった。同様のレベルまで生菌数が低下するのに、サルモネラとリステリアは16日を要し

た。病原大腸菌は 24 日間を通じて接種時点と同等以上の生菌数を維持した。実験室製造和風キムチの場合、黄色ブドウ球菌は 12 日、リステリアは 20 日で検出限界まで減少した。病原大腸菌およびサルモネラは保存後 4 日目までは微増がみられたが、8 日後以降一定水準を保つか微減に転じた。以上の結果より和風キムチに混入した食中毒原因菌は食品中で大きく菌数が増加しないものの、通常の消費期限内に完全に死滅しないことが、実験的に明らかにされた。

3. 酸性化亜塩素酸水を用いた生食野菜の表面殺菌

および酸性化亜塩素酸水洗浄の白菜浅漬け製造への応用

浅漬け類の原料となる生野菜の殺菌には、次亜塩素酸ナトリウム水溶液が多用される。しかしこの物質は食品中の有機物と反応することで殺菌力が低下し、同時に有機塩素化合物を生成する。食品添加物である亜塩素酸ナトリウムと食用可能な有機酸を混合して作られる酸性化亜塩素酸 (ASC) 水は上記のような問題がないとされる。そこで浅漬け原料野菜に付着させた食中毒菌や、自然に付着する品質劣化細菌に対する ASC 水の殺菌効果について検討を行った。ASC 水洗浄により、白菜表面に付着する一般細菌、大腸菌群および 4 種類の食中毒原因菌は 2 桁以上減少した。洗浄殺菌後の漬け込み期間中に一般細菌、大腸菌群およびリステリアは増殖したが、6 日後までは殺菌区の方が非殺菌区よりも低い生菌数を示した。ASC 洗浄による原料白菜の変色や、白菜漬の品質低下は見られなかった。

4. 天然添加物による浅漬けの微生物制御

漬け込み期間中における品質劣化細菌やリステリアの増殖を制御するために、天然添加物による微生物制御を試みた。キトサンは 4 種類の食中毒原因微生物に対して 1 桁前後の殺菌効果を示した。ワサビ、ホップエキス混合物 (ワサオーロ EXT) は品質劣化の原因となる乳酸菌の増殖を効果的に抑制し、キトサンと組み合わせることでリステリアに対する殺菌効果を高めることが判明した。グラム陽性食中毒原因菌に対するナイシンとワサオーロ EXT の殺菌効果には有意な差がなかったが、ナイシン添加区の方では 3 日目以降、リステリアの増殖がみられた。また天然添加物の使用は白菜漬の品質に影響を与えなかった。

5. ベトナム産浅漬けからのバクテリオシン生産微生物の検索

および抗菌性納豆菌の分離と浅漬けの微生物制御への応用

浅漬けのバイオプリーザベーションに使用可能な微生物のスクリーニングおよび特性評価を行った。ベトナムの浅漬けからはナイシン A 生産性乳酸菌と抗菌物質生産性納豆菌が分離された。更に東南アジア全域の大豆発酵食品より抗菌物質生産性納豆菌を分離し、抗菌スペクトル測定および RAPD PCR 法による系統分類を行った。国内自家製納豆由来株は食中毒原因菌に対して高い抗菌活性を示し、部分精製された抗菌性ペプチドは、浅漬け中の一般細菌およびリステリアの微生物制御に応用可能であることが示された。

以上の研究は浅漬け類食品の食中毒リスクアセスメント上、重要な基礎データを提供するのみならず、より安全性が高い浅漬け製品の製造に寄与するものと考えられる。同時にこれは賞味期限延長効果を通じて期限切れ商品の廃棄ロス減少を可能とするものであり、製造業者の利益向上にも繋がるものと考えられ、本研究成果は学術・実用両面において高く評価される。

よって審査員一同は、稲津 康弘が博士 (農学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認めた。