



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	低温増殖性芽胞形成菌の性状と要冷蔵加工食品の保存性を向上させる加熱殺菌条件に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	小林, 哲也
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(水産科学)
Dissertation Number	甲第15709号
Issue Date	2024-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/92459
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Tetsuya_Kobayashi_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（水産科学）

氏名：小 林 哲 也

学位論文題目

低温増殖性芽胞形成菌の性状と要冷蔵加工食品の保存性を 向上させる加熱殺菌条件に関する研究

加熱済み要冷蔵加工食品の保存性を向上させるためには、低温増殖性芽胞形成菌の制御が肝要である。低温増殖性芽胞形成菌のうち、食中毒菌であるセレウス菌や E 型毒素産生ボツリヌス菌では、増殖条件や芽胞の耐熱性などの知見は蓄積されているが、腐敗を引き起こす *Bacillus* 属や *Paenibacillus* 属などの芽胞形成菌の制御に関する知見は乏しい。製品腐敗は、食品製造企業にとって経済的損失となるため、原因微生物の制御は極めて重要な事象であり、食品ロスの低減にも貢献する。したがって、低温増殖性の *Bacillus* 属や *Paenibacillus* 属細菌の増殖条件や芽胞耐熱特性など知見は、要冷蔵加工食品の微生物制御方法を構築する上で重要である。本研究では、低温増殖性芽胞形成菌の性状や制御条件、加工食品の加熱殺菌条件と保存性ならびに品質変化の関係を明らかにした。

第 1 章では、低温増殖性の *Bacillus* 属および *Paenibacillus* 属細菌の諸特性を明らかにした。第 1 節では、ホワイトアスパラガス水煮製品に生残する *Paenibacillus* 属細菌が冷蔵保管中に発芽・増殖して腐敗に関与すること、ならびに *Paenibacillus* 属細菌分離株の増殖温度や芽胞耐熱性を明らかにした。第 2 節では、多数の *Bacillus* 属および *Paenibacillus* 属細菌の芽胞耐熱性と冷蔵温度帯での増殖能力を比較した。両属の芽胞耐熱性の分布は同様であったが、冷蔵温度帯での増殖能力には大きな差異のあることを見出した。すなわち、大半の *Bacillus* 属細菌株は 6 °C 以下では増殖しなかったが、ほとんどの *Paenibacillus* 属細菌株は 6 °C 以下でも増殖した。さらに、芽胞の $D_{90\text{°C}}$ が 25 分以上であった *Bacillus* 属細菌は 10 °C 未満では増殖しないが、芽胞の耐熱性が同等の *Paenibacillus* 属細菌は 6 °C 以下でも増殖することを見出した。第 3 節では、*Bacillus* 属および *Paenibacillus* 属細菌芽胞のポリエチレンテレフタレート (PET) およびステンレス鋼 (SS) 表面への付着性を検討し、*Paenibacillus* 属細菌の中にも *Bacillus* 属細菌と同様に表面疎水性の高い芽胞を形成する菌株が存在し、PET や SS の表面によく付着することを明らかにした。第 4 節では、*Bacillus* 属および *Paenibacillus* 属細菌の 10 °C での増殖に対するガス組成の影響を調べた。その結果、*Bacillus* 属細菌は CO₂ 混合比率が高まるに伴いコロニーを形成できなくなる菌株が増加し、CO₂ 混合比率が 75 % 以上では全ての供試菌株がコロニーを形成できなくなること、*Paenibacillus* 属細菌は CO₂ 混合比率が高まってもコロニー形成への影響は小さく、CO₂ 混合比率が 100 % でも多くの菌株がコロニーを形成することを示した。以上の結果から、*Paenibacillus* 属細菌は、加熱処理後の加工食品に生残すると、冷蔵保管中に増殖して腐敗を引き起こす可能性が高く、要冷蔵加工食品の制御対象菌とする必要があると考えられた。

第 2 章では、低温増殖性 *Paenibacillus* 属細菌芽胞の制御方法を検討した。第 1 節では、ポテトペーストに接種した *P. terrae* No.9 芽胞の制御を検討した。有機酸未添加のポテトペー

スト (pH 5.7) では, *P. terrae* No.9 芽胞の発芽・増殖を 10 °C で 28 日間抑制するには, 92.5 °C で 45 分間の加熱処理が必要であったが, 乳酸やクエン酸を添加して pH 5.4 に調整すると, 同等の効果を得るために必要な加熱時間は 1/2 前後に短縮された。第 2 節では, 遊離有効塩素濃度を調整した pH の異なる次亜塩素酸ナトリウム (NaClO) 溶液 (pH 6.0, 8.0, 10.0) で処理した *Paenibacillus* sp. No.1 芽胞を 95 °C で 15 分間加熱したところ, 酸性かつ高濃度の NaClO 溶液処理芽胞は生残芽胞数が大きく低下し, 芽胞の耐熱性低下が示唆された。この作用の主因は次亜塩素酸 (HClO) と推察され, 10 mg/L 以上の HClO で芽胞を処理すると耐熱性低下作用が得られることを示した。したがって, 要冷蔵加工食品で制御対象とすべき低温増殖性 *Paenibacillus* 属細菌は, 高い耐熱性や耐冷性, 耐酸性を具備するが, 複数の微生物制御の併用や前処理によって穏和な条件でも制御できることが示唆された。

第 3 章では, 芽胞の生残確率や増殖確率に着目した加熱殺菌条件の新たな設定方法を検討した。第 1 節では, *Paenibacillus* sp. JCM13343 の芽胞を接種した緩衝液をレトルト殺菌機で 100 °C 加熱し, 処理した試料の全数 (180 袋/条件, 計 3 条件), 全容量 (100 mL) 中の生残芽胞数を測定した。実測値分布は, 生残芽胞数のポアソン分布から求めた理論値分布と 80 %前後一致したことから, レトルト殺菌機での加熱処理後の生残芽胞数のばらつきはポアソン分布に従う可能性が高いことを見出した。第 2 節では, 加熱殺菌条件を検討する接種試験に生残芽胞数のばらつき予測を組み合わせ, 保存期間内で腐敗する検体の加熱処理後の生残芽胞数推定を試みた。*Paenibacillus* sp. JCM13343 芽胞を接種したカレーをレトルト殺菌機で加熱した後に 10 °C で 12 週間保存し, 各条件の接種菌株の増殖/非増殖検体数を明らかにした。また, 加熱生残曲線から当該条件の生残芽胞数を算出し, ばらつきの確率分布の累積値と非増殖検体の比率を比較して保存期間内で腐敗する検体の加熱処理後の生残芽胞数を推定したところ, その水準は検証用接種試験において同様の方法で推定した生残芽胞数と概ね一致した。第 3 節では, 9 種類の未殺菌カレー等から 36 条件の冷蔵品を試作し, 加熱殺菌条件と保存性の関係を調べた。10 °C で 12 週間保蔵を達成した加熱殺菌条件のうち, 30 °C で 5 日間保蔵を達成したのは一部の条件のみであったが, 30 °C で 5 日間保蔵を達成した加熱殺菌条件のうち, 10 °C で 12 週間保蔵を達成できなかった条件はなく, 当該加熱殺菌条件は, 10 °C で 12 週間保蔵達成のための十分条件と示唆された。さらに, 30 °C, 5 日間の保存試験結果をロジスティック回帰分析し, pH, 食塩濃度, 加熱殺菌前の耐熱性芽胞数および $P_{100\text{ }^{\circ}\text{C}}$ から腐敗確率を予測するモデル式を考案し, 本モデル式が十分な予測精度を持つことを検証用試料の保存試験結果 (2 種類 11 条件) から示した。

第 4 章では, 魚肉練り製品の加熱殺菌条件と保存性ならびに品質変化の関係を調べた。2 種類の魚肉練り製品を 90–117 °C で加熱し, 10 °C, 12 週間および 30 °C, 5 日間保存したところ, 2 種類ともに最も穏和な加熱処理条件 (90 °C, 45 分間) でも腐敗した検体は観察されなかった。一方, 未加熱試料と比較すると, 当該条件でも褐変や軟化, 弾力低下が観察された。

本研究では低温増殖性芽胞形成菌の性状や制御条件, 加工食品の加熱殺菌条件と保存性ならびに品質変化の関係を明らかにし, 冷蔵温度帯で長期間保存する加工食品の微生物制御に資する知見を深めた。本研究の成果は, 要冷蔵加工食品の微生物制御の条件設定における科学的根拠となる。