

平成21年6月10日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18780106
 研究課題名（和文）食品の非熱的処理における細菌死滅挙動の変動要因の解明と高精度予測モデルの開発

研究課題名（英文）Investigation of factors on bacterial inactivation by non-thermal processing and development of predictive model for estimating bacterial inactivation

研究代表者

小関 成樹（SHIGENOBU KOSEKI）

独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構・食品総合研究所・主任研究員

研究者番号：70414498

研究成果の概要：非熱処理の一つである高圧処理における殺菌効果に及ぼす種々の環境要因を定量的に評価して、従来の死滅曲線を求めるモデル化手法とは異なる殺菌効果予測モデルを実際の食品系において開発した。また、高圧処理によって生ずる損傷菌の回復を制御するために、高圧処理後に温和な加熱処理を施す手法を開発した。さらに、損傷回復制御条件の最適化のための数理モデルを開発し、必要に応じた処理条件の選定を可能とした。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	1,300,000	0	1,300,000
2007年度	1,200,000	0	1,200,000
2008年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	330,000	3,930,000

研究分野：食品工学，予測微生物学

科研費の分科・細目：食品科学・食品安全性

キーワード：予測微生物学，殺菌，数理モデル，細菌，食品

1. 研究開始当初の背景

近年、食品の微生物学的安全性を確保するための手法の一つとして、食品における微生物の増殖あるいは死滅挙動のモデル開発・活用が欧米を中心に盛んに行われている。微生物挙動予測モデルは Codex 指針においても定量的微生物学的リスクアセスメントや HACCP への適用が検討され、その重要性が高まりつつある。しかし、現状の整備された条件下において開発された予測モデルでは、現実の食品製造・加工・流通・消費の場面に

において、高い精度で微生物数の増減を予測することは困難である。最近の研究では温度変動に対応可能な予測モデルが開発されつつあるが、それでも現実においては十分な予測精度とは言い難い。特に、近年の消費者の高品質な最小加工食品（熱を加えず生の素材に近い食品）への要望の高まりから注目を集めている非熱的処理（超高压処理や電解水処理など）の殺菌予測モデルについては十分な検討がなされていない。

また、食品流通のグローバル化に伴い、安

全性を保証するための国際流通基準として HACCP や HACCP を基本骨格とした ISO22000 等に関心が集まっている。これら規格基準の設定を科学的・技術的に支援するための手段として微生物挙動予測モデルは位置付けられる。しかし、既往の研究では微生物側の状態を考慮して、それによって生じるばらつきを組み込んだ微生物挙動予測モデルはなかった。

2. 研究の目的

本研究では、近年の消費者の高品質な最小加工食品（熱を加えず生の素材に近い食品）への要望の高まりから注目を集めている非熱的処理（超高压処理や電解水処理など）の殺菌予測モデルを開発する。これによって、安全性と加工特性の両面の最適化を可能にする。モデル開発においては、細菌側の変動要因、すなわち菌株の違い、細菌の生育ステージの違い、存在形態の違い、共存する多種の細菌の相互作用および食品成分の影響等が非熱的処理における細菌の死滅挙動に及ぼす影響を明らかにして、予測精度の高い、実用に耐えうる殺菌予測モデルの開発を目的とする。本研究期間内においては、従来の経時変化モデルだけではなく、確率論的な殺菌予測モデルを構築することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 菌株の違い：超高压処理および電解水処理による複数の菌株（6 株ずつ）に対する病原性細菌（対象にはグラム陽性菌として *Listeria monocytogenes*、グラム陰性菌として *Salmonella* spp）の死滅条件の違いを検討した。

(2) 生育ステージ（対数増殖期、定常期）の違い：生育ステージの異なる細菌に対する超高压処理および電解水処理による殺菌効果を検討した。一般に対数増殖期の細菌は各種ストレスに対して感受性が高いため、殺菌されやすいと考えられている。一方、定常期の細菌は比較的ストレスに対して抵抗性を示すと考えられている。しかし、実際にどの程度の殺菌効果の違いとして現れるかについての定量的な検討はないなかったことから、生育ステージを 6 時間毎に区分して、殺菌処理を施し、比較検討した。

(3) 存在形態（単体か菌塊またはバイオフィーム）の違い：固体表面上にバイオフィームを作成して、その状態での超高压処理および電解水処理による殺菌効果を検討した。

(4) 非熱的処理の速度論的なモデルの開発：超高压処理あるいは電解水処理による細菌死滅の経時変化は Weibull frequency distribution に従うことが近年報告されている。はじめに経時変化について基本モデルに Weibull 関数を用いて、死滅経時変化予測

モデルを構築した。さらに、これまでの曲線回帰手法ではない、微分方程式を基本モデルとする新たな殺菌予測モデルを構築した。

(5) 非熱的処理の確率論的殺菌予測モデルの開発：従来の死滅曲線を求めるモデル化手法とは異なる殺菌効果予測モデルを開発した。本モデルでは殺菌処理による細菌の挙動を死滅可能性として捉える。

(6) 高压処理後の損傷菌回復制御手法およびその予測モデル開発：高压処理によって生ずる損傷菌の回復を制御するために、高压処理後に温和な加熱処理を施す手法を開発した。

4. 研究成果

(1) 菌株の違い：超高压処理および電解水処理による複数の菌株（6 株ずつ）に対する病原性細菌（対象にはグラム陽性菌として *Listeria monocytogenes*、グラム陰性菌として *Salmonella* spp）の死滅条件の違いを検討した。その結果、菌株によって圧力耐性あるいは薬剤耐性に大きな違いがあることが見出された。この結果から、最も抵抗性の強い菌株を殺菌モデル開発の対象菌に選抜した。

(2) 生育ステージ（対数増殖期、定常期）の違い：生育ステージの異なる細菌に対する超高压処理および電解水処理による殺菌効果を検討した。一般に対数増殖期の細菌は各種ストレスに対して感受性が高いため、殺菌されやすいと考えられている。一方、定常期の細菌は比較的ストレスに対して抵抗性を示すと考えられている。しかし、実際にどの程度の殺菌効果の違いとして現れるかについての定量的な検討はないなかったことから、生育ステージを 6 時間毎に区分して、殺菌処理を施した結果、培養 18 時間程度までは抵抗性が低い、24~36 時間の培養細胞は殺菌処理に対して高い抵抗性を示した。一方、48 時間まで培養時間を延長すると、抵抗性は低くなることが明らかとなった。

(3) 存在形態（単体か菌塊またはバイオフィーム）の違い：固体表面上にバイオフィームを作成して、その状態での超高压処理および電解水処理による殺菌効果を検討した。固体表面（ステンレス片）にバイオフィームを形成した場合にも、各種の処理に対して抵抗性が高まることが明らかとなった。

(4) 非熱的処理の速度論的なモデルの開発：超高压処理あるいは電解水処理による細菌死滅の経時変化は Weibull frequency distribution に従うことが近年報告されている。そこで、経時変化について基本モデルに Weibull 関数を用いて、死滅経時変化予測モデルを構築した。さらに、これまでの曲線回帰手法ではない、微分方程式を基本モデルとする新たな殺菌予測モデルを構築した。本モデルは変動する圧力条件下での殺菌効果

(細菌数の減少)を高い精度でシミュレートすることを可能とした。

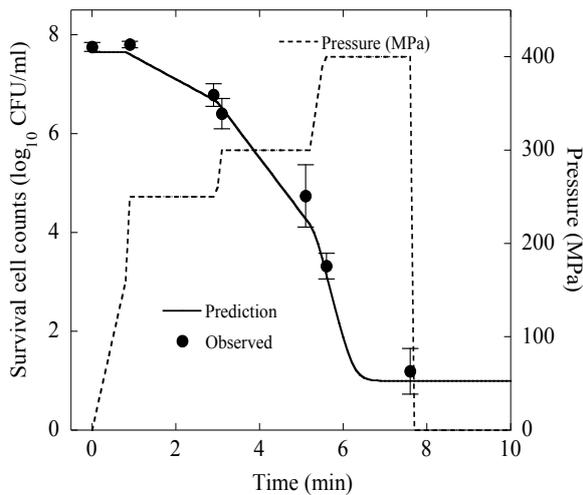


図1 変動圧力下における大腸菌の不活化挙動の予測結果

(5) 非熱的処理の確率論的殺菌予測モデルの開発：従来の死滅曲線を求めるモデル化手法とは異なる殺菌効果予測モデルを実際の食品系において開発した。本モデルでは殺菌処理による細菌の挙動を死滅可能性として捉えることで、食品加工において必要とする殺菌効果(対数減少量)を的確にかつ容易に推定可能となった。さらに、圧力の他に温度の要因も加えたモデルを開発した。本モデルでは効果の確実性(確率)をも同時に推定できることから、新たな殺菌効果指標モデルとして発展することが期待できる。

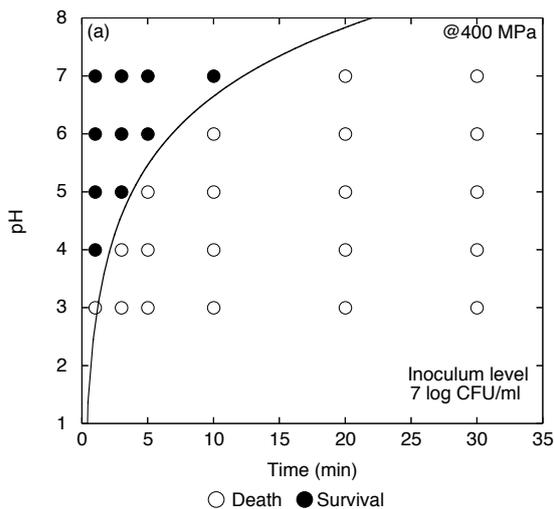


図2 確率論的殺菌予測モデルによる殺菌効果の予測結果(生存/死滅境界線モデル)

(6) 高圧処理後の損傷菌回復制御手法およびその予測モデル開発：高圧処理によって生

ずる損傷菌の回復を制御するために、高圧処理後に温和な加熱処理を施す手法を開発した。本手法によれば、高圧処理後の保存中に損傷回復してくる細菌の制御を可能とした。さらに、損傷回復制御条件の最適化のための数理モデルを開発し、必要に応じた処理条件の選定を可能とした。

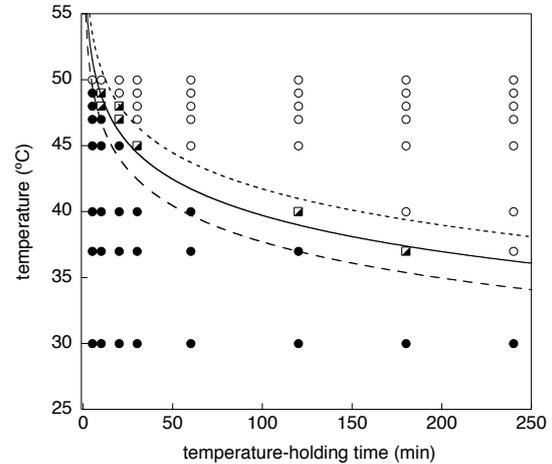


図3 高圧処理後の損傷菌回復を制御するための加温処理条件の確率論的予測結果(●回復, ○非回復)

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計7件)

- ① Shige Koseki, Maki Matsubara, and Kazutaka Yamamoto, Prediction of a Required Log Reduction with Probability for *Enterobacter sakazakii* during High-Pressure Processing, Using a Survival/Death Interface Model, Applied and Environmental Microbiology, 75, 1885-1891, (2009), (Refereed)
- ② Shigenobu Koseki, Yasuko Mizuno, and Kazutaka Yamamoto, Use of mild-heat treatment following high-pressure processing to prevent recovery of pressure-injured *Listeria monocytogenes* in milk, Food Microbiology, 25, 288-293, (2008), (Refereed)
- ③ Shigenobu Koseki, Yasuko Mizuno, and Kazutaka Yamamoto, Predictive modelling of the recovery of *Listeria monocytogenes* on sliced cooked ham after high pressure processing, International Journal of Food Microbiology, 119, 300-307, (2007), (Refereed)
- ④ Shigenobu Koseki and Kazutaka Yamamoto, A novel approach to predicting microbial

inactivation kinetics during high pressure processing, International Journal of Food Microbiology, 116, 275-282, (2007), (Refereed)

- ⑤ Shigenobu Koseki and Kazutaka Yamamoto, Modelling the bacterial survival/death interface induced by high pressure processing, International Journal of Food Microbiology, 116, 136-143, (2007), (Refereed)
- ⑥ Shigenobu Koseki and Kazutaka Yamamoto, Water activity of bacterial suspension media unable to account for the baroprotective effect of solute concentration on the inactivation of *Listeria monocytogenes* by high hydrostatic pressure, International Journal of Food Microbiology, 115, 43-47, (2007), (Refereed)
- ⑦ Shigenobu Koseki and Kazutaka Yamamoto, pH and solute concentration of suspension media affect the outcome of high hydrostatic pressure treatment of *Listeria monocytogenes*, International Journal of Food Microbiology, 111, 175-179, (2006), (Refereed)

〔学会発表〕 (計 2 件)

- ① Shigenobu Koseki, Yasuko Mizuno, and Kazutaka Yamamoto, Effect of mild-heat treatment following high pressure processing on the recovery of pressure-injured *Listeria monocytogenes* in milk, International Association for Food Protection 95th Annual meeting, 2008 年 8 月 5 日, (米国, コロンバス)
- ② Shigenobu Koseki, Yasuko Mizuno, and Kazutaka Yamamoto, Predictive Modeling for the Recovery of *Listeria monocytogenes* on Sliced Cooked Ham after High Pressure Processing, 5th International Conference on Predictive Modelling in Foods, 2007 年 9 月 18 日 (ギリシャ, アテネ)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小関成樹 (SHIGENOBU KOSEKI)
独立行政法人 農業・食品産業技術総合
研究機構・食品総合研究所・主任研究員
研究者番号：70414498