

表17 殻付き卵中におけるS.Eの増殖性(冬場2/25~4/11)

20℃保存した卵にS.E接種後、殻付き卵のまま20℃3日間培養

卵番号	0日保存 (産卵後 2日)	4日保存 (産卵後 6日)	7日保存 (産卵後 9日)	11日保存 (産卵後 13日)	14日保存 (産卵後 16日)	18日保存 (産卵後 20日)	21日保存 (産卵後 23日)	25日保存 (産卵後 27日)	28日保存 (産卵後 30日)	32日保存 (産卵後 34日)
1	1.7E+00	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	NT	NT	NT	NT	NT
2	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	1.7E+00	1.1E+07	NT	NT	NT	NT	NT
3	1.7E+00	0.0E+00	1.7E+00	1.7E+00	5.1E+02	NT	NT	NT	NT	NT
4	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	NT	NT	NT	NT	NT
5	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	2.0E+06	NT	NT	NT	NT	NT
6	1.7E+02	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	NT	NT	NT	NT	NT
7	1.7E+00	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	1.7E+00	NT	NT	NT	NT	NT
8	1.7E+00	1.5E+01	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	NT	NT	NT	NT	NT
9	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	NT	NT	NT	NT	NT
10	1.7E+01	0.0E+00	0.0E+00	1.7E+00	3.3E+00	NT	NT	NT	NT	NT

表18 殻付き卵中におけるS.Eの増殖性(冬場2/25~4/11)

30°C保存した卵にS.E接種後、殻付き卵のまま20°Cで培養

卵番号	0日保存 (産卵後 2日)	4日保存 (産卵後 6日)	7日保存 (産卵後 9日)	11日保存 (産卵後 13日)	14日保存 (産卵後 16日)	18日保存 (産卵後 20日)	21日保存 (産卵後 23日)	25日保存 (産卵後 27日)	28日保存 (産卵後 30日)
1		0.0E+00	1.8E+06	2.1E+07	7.6E+05	NT	NT	NT	NT
2		0.0E+00	0.0E+00	5.8E+06	0.0E+00	NT	NT	NT	NT
3		0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	4.3E+06	NT	NT	NT	NT
4		8.3E+05	1.3E+06	5.6E+06	1.7E+00	NT	NT	NT	NT
5	NT	0.0E+00	3.4E+06	1.8E+07	1.1E+07	NT	NT	NT	NT
6		0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	1.7E+00	NT	NT	NT	NT
7		4.0E+02	3.5E+01	1.1E+07	1.0E+07	NT	NT	NT	NT
8		1.7E+00	1.7E+00	7.1E+06	3.3E+00	NT	NT	NT	NT
9		0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	1.1E+07	NT	NT	NT	NT
10		0.0E+00	2.9E+06	1.0E+01	1.7E+00	NT	NT	NT	NT

表19 殻付き卵中におけるS.Eの増殖性(冬場2/25~4/11)

30°C保存した卵にS.E接種後、殻付き卵のまま30°Cで培養

卵番号	0日保存 (産卵後 2日)	4日保存 (産卵後 6日)	7日保存 (産卵後 9日)	11日保存 (産卵後 13日)	14日保存 (産卵後 16日)	18日保存 (産卵後 20日)	21日保存 (産卵後 23日)	25日保存 (産卵後 27日)	28日保存 (産卵後 30日)
1		1.0E+08	0.0E+00	3.0E+07	1.1E+07	NT	NT	NT	NT
2		0.0E+00	0.0E+00	8.3E+00	1.0E+08	NT	NT	NT	NT
3		0.0E+00	0.0E+00	1.3E+01	3.8E+07	NT	NT	NT	NT
4		0.0E+00	0.0E+00	1.0E+08	1.0E+07	NT	NT	NT	NT
5	NT	0.0E+00	0.0E+00	1.0E+08	3.6E+06	NT	NT	NT	NT
6		0.0E+00	0.0E+00	5.0E+00	1.3E+07	NT	NT	NT	NT
7		0.0E+00	0.0E+00	3.3E+00	6.4E+06	NT	NT	NT	NT
8		3.3E+00	3.3E+00	1.7E+00	1.9E+07	NT	NT	NT	NT
9		0.0E+00	6.7E+00	3.3E+00	1.8E+01	NT	NT	NT	NT
10		0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	1.3E+05	NT	NT	NT	NT

表20 殻付き卵中におけるS.Eの増殖性(冬場2/25~4/11)

産卵後2日目の卵にSE接種後20℃で保存し、1週間ごとに10個ずつ検査						
保存期間	1週間	2週間	3週間	4週間	5週間	
SE増殖菌数	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	
	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	1.7E+00	0.0E+00	
	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	
	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	
	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	
	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	
	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	
	3.3E+00	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	
	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	
	1.7E+00	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	
0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00	0.0E+00		
SE増殖個数	2/10	0/10	0/10	1/10	0/10	
SE生存個数	9/10	10/10	8/10	8/10	4/10	
SE死滅個数	9/10	10/10	8/10	8/10	4/10	

分担研究報告書

食品に起因する危害に関するデータベースおよび予測モデル
の開発に関する研究

分担研究者：難波 江（社団法人日本乳業協会）

研究協力者：植松 豪（森永乳業）

亀井俊郎（明治乳業）

金盛 徹（（株）ヤクルト）

近 義弘（（社）日本乳業協会）

根橋秀邦（雪印乳業）

広田哲士（森永製菓）

井上雄二（森永乳業）

森 浩晴（明治乳業）

高見沢康太郎（（株）ヤクルト）

関根吉家（雪印乳業）

黒田和彦（森永製菓）

前年度までに収集した乳・乳製品における微生物危害の制御に関する原著論文について、内容を整理し、有用なデータを抜き出し、整理した。抜き出したデータは主に、種々の要因による菌の増殖と死滅への影響および乳・乳製品の製造加工と保存流通における菌の消長に関する実験成績および実態調査成績から成り立つ。これにより、乳・乳製品の衛生管理に必要なデータベースを作成することができた。

A. 研究目的

乳・乳製品については、総合衛生管理製造過程の承認制度が導入され、既に多数の乳業会社がこの承認を受け、HACCP に基づく衛生管理を行っているところである。しかし、HACCP による衛生管理の計画を策定し、確実に実行するためには、危害である病原微生物の制御に関する知見が必須であり、この知見が不確かであったり、誤ったものである場合には、衛生管理に決定的な欠陥を招来し、大型の食中毒を引き起こしかねない。本研究の目的はこうした知見について科学的データを収集し整理することにある。そのために既に前年度までに収集した、乳・乳製品に関わる病原微生物の制御に関する内外の既存の原著論文から、衛生管理に必須なデータを抜き出し、整理した。なお、本報告書では印刷の都合上、それらデータの一部のみを掲載することとした。

B. 研究方法

前年度までに収集した、乳・乳製品に関わる病原微生物の制御に関する内外の既存の300編以上の原著論文を査読し、衛生管理に必須なデータを、方法を含めて抜き出し、整理した。

C. 研究結果と考察

以下に収集したデータの一部（リステリア）を抜粋し示す。

1. 文献要旨

微生物名:

L. monocytogenes

文献No.2:

A mathematical analysis of microbial inactivation at linearly rising temperatures: calculation of the temperature rise needed to kill *Listeria monocytogenes* in different foods and methods for dynamic measurements of D and z values.

著者:

C.A.Miles and B.M.Mackey

出典:

Journal of Applied Bacteriology 1994,77,14-20

要約:

直線的な温度上昇で加熱された微生物の不活性化を理論的に分析し、いくつかのファクターを考慮することによって、生残菌数を減少させるのに必要な直線的な温度上昇を予測するための一つの数式を導いた。この数式は文献等で公表されているD及びz値をもとに、様々な食品中の *Listeria monocytogenes* を不活性化するのに必要な温度を予測した。直線的な温度上昇から得られた生残菌数により導かれたD及びz値による2つの新しい正確な手法を紹介する。

2. 方法

- ・指標菌株名: *L. monocytogenes* 菌株5 (鶏肉加工工場分離)
- ・媒体: 殺菌した牛肉ミンチ
- ・初発菌数: 2×10^8 / 8g 牛肉ミンチ
- ・加熱: 湯浴 (1°C/分の温度上昇率) 後冷却
- ・増菌培養: 25°C、3週間
- ・本培養: *Listeria* Selective Agar で培養後確認培養

3. 結果

- ・発表された文献のD値、Z値等を式14に代入した。

$$(14) \text{ 式 } \quad T = T_0 + z/2.303 \times [\ln(D_0 r/z) + \ln(2.303n)]$$

T; 温度、 T_0 ; 任意の温度、 D_0 ; T_0 におけるD値、r; 温度上昇率、 $n=9.3$

その結果は表1、致死温度は実験値では67~68°Cであったが、計算値では65.5~68.8°Cと良く一致。

Table 1 Temperature at which an inoculum of 2×10^8 *Listeria monocytogenes* is reduced to zero during heating at a linearly rising rate of 1°C min⁻¹

Reference	D_{60} (min)	z (°C)	Calculated temperature to inactivate inoculum (°C)
Gaze <i>et al.</i> (1989)	8.32	5.98	68.8
Farber (1989)	3.12	4.92	65.6
Mackey <i>et al.</i> (1990)	3.8	6.8	67.3

Calculations based on published D and z values derived from experiments performed in minced beef. Values were inserted in eqn (14) with $n = 9.3$, see text.

Table 3 Heat resistance data for *Listeria monocytogenes*: *D* and *z* values

Code no.	Substrate	Temperature	<i>D</i> (min)	<i>z</i> (°C)	Reference
1	Ground meat	60	3.12	4.92	Farber (1989)
2	Ground meat plus cure	60	16.7	3.5	Farber (1989)
3	Beef	60	8.32	5.98	Gaze <i>et al.</i> (1989)
4	Beef	60	6.27	5.98	Gaze <i>et al.</i> (1989)
5	Chicken	60	5.29	6.72	Gaze <i>et al.</i> (1989)
6	Chicken	60	5.02	7.39	Gaze <i>et al.</i> (1989)
7	Beef, chicken (fitted values from combined data)	60	3.8	6.8	Mackey <i>et al.</i> (1990)
	Cured sausage				
	(no heat shock)	64	3.3	—	Farber and Brown (1990)
	(heat-shocked 48°C 12 h)	64	8.0	—	Farber and Brown (1990)
8	Liquid whole egg (5 strains)	60	1.5	6.6	Foegeding and Leasor (1990)
9	Tryptone soya broth	60	4.1	6.0	Quintavalla and Campanini (1991)
10	Pork emulsion with fat, curing salts	60	7.3	6.8	Quintavalla and Campanini (1991)
	Pork emulsion/slow heating	60	12.95	—	Quintavalla and Campanini (1991)
11	Liver sausage slurry (calculated from linear part of curve)	60	2.4	6.2	Bhaduri <i>et al.</i> (1991)
12	(calculated using Gompertz equation)	60	1.6	4.7	Bhaduri <i>et al.</i> (1991)
13	Ground beef, lean	62.8	0.6	5.17	Fain <i>et al.</i> (1991)
14	Ground beef, fatty	62.8	1.2	6.33	Fain <i>et al.</i> (1991)
15	Crab meat	60	2.61	8.4	Harrison and Huang (1990)
16	Ground roast beef (inoculated/tryptose agar)	60	5.40	8.3	Schoeni <i>et al.</i> (1991)
17	Ground roast beef (inoculated/LPM agar)	60	5.26	8.7	Schoeni <i>et al.</i> (1991)
18	Ground roast beef (natural contaminant/tryptose agar)	60	1.68	7.0	Schoeni <i>et al.</i> (1991)
19	Ground roast beef (natural contaminant/LPM agar)	60	1.06	7.5	Schoeni <i>et al.</i> (1991)
20	Fermented sausage mix (Tryptose agar)	60	7.18	10.4	Schoeni <i>et al.</i> (1991)
21	Fermented sausage mix (LPM agar)	60	5.00	8.6	Schoeni <i>et al.</i> (1991)
22	Various foods (mean value)	60	2.5	6.9	Mackey and Bratchell (1989)
23	Milk (sealed tube method)	60	2.2	6.1	Mackey and Bratchell (1989)
24	Milk (slug flow heat exchanger)	60	1.8	7.4	Mackey and Bratchell (1989)
	Homogenized whole milk (cells grown at 43°C; anaerobic recovery)	62.8	4.05	—	Knabel <i>et al.</i> (1990)
	(cells grown at 37°C; aerobic recovery)	62.8	0.6	—	Knabel <i>et al.</i> (1990)
	Phosphate buffer	60	0.63	—	Boyle <i>et al.</i> (1990)
	Beef/water 20/80	60	2.54	—	Boyle <i>et al.</i> (1990)

Quoted *D* values are usually experimentally observed values at a particular temperature. Ideally, fitted values derived from *D* values obtained at a range of temperatures should be used in calculations. In many cases such 'fitted' values are not quoted in the original papers. The values of *D* for the data of Schoeni *et al.* (1991) are fitted values calculated from their data; the two values listed for each set of conditions were based on data obtained using either tryptose agar or lithium chloride-phenylethanol-moxalactam (LPM) agar as recovery media.

計算式: 致死温度 = 処理温度 + Z値 / 2.303 × (ln(処理温度でのD値 × r(加熱速度))
 + ln(2.303 * (n=TD値)))

- ・各種の加熱媒体における *L. monocytogenes* の耐熱性 (文献値、表3)
- ・表3のD値、Z 値から求めた計算値: 表4

Table 4 Temperatures (T_{7D}) required to reduce viable numbers of *Listeria monocytogenes* by 7 log₁₀ units during heating at linearly rising temperatures

Code no.*	T_e (°C)†	D (min)	z (°C)	Rate of temperature rise (°C min ⁻¹)		
				0.1	1.0	10.0
1	60	3.12	4.92	60.0	65.0	69.9
2	60	16.7	3.5	63.1	66.6	70.1
3	60	8.32	5.98	62.1	68.1	74.1
4	60	6.27	5.98	61.4	67.3	73.3
5	60	5.29	6.72	60.7	67.4	74.1
6	60	5.02	7.39	60.3	67.7	75.1
7	60	3.8	6.8	59.7	66.5	73.3
8	60	1.5	6.6	57.1	63.7	70.3
9	60	4.1	6.0	60.3	66.3	72.2
10	60	7.3	6.8	61.6	68.4	75.2
11	60	2.4	6.2	58.7	64.9	71.1
12	60	1.6	4.7	58.8	63.5	68.1
13	62.8	0.6	5.17	59.0	64.2	69.4
14	62.8	1.2	6.33	59.5	65.9	72.2
15	60	2.61	8.4	57.5	65.9	74.3
16	60	5.4	8.3	60.2	68.5	76.8
17	60	5.26	8.7	59.9	68.6	77.3
18	60	1.68	7.0	57.1	64.1	71.1
19	60	1.06	7.5	55.2	62.7	70.2
20	60	7.18	10.4	60.5	70.9	81.3
21	60	5	8.6	59.8	68.4	77.0
22	60	2.5	6.9	58.4	65.3	72.2
23	60	2.2	6.1	58.6	64.7	70.8
24	60	1.8	7.4	57.0	64.4	71.8

* From Table 3.

† T_e is the temperature at which the decimal reduction time, D_e , was determined.

1. 文献要旨

微生物名:

Bacillus stearothermophilus 孢子

文献No.5:

A study on optimizing heat treatment milk. I .Pasteurization.

著者:

C.PERI, Ella PAGLIARINI and S.PIERUCCI

出典:

Milchwissenschaft 43(10)1988

要約:

熱に対するダメージを評価するため、次のパラメーターについて検討した。*B. stearothermophilus* 芽胞及び耐熱性マイクロコッカスの死滅、耐熱性プロテアーゼとリパーゼの不活化、HMF、フロシン、リジノアラミン、ラクチュロースの生成、チアミンとリジンの減少である。いかなる温度・時間の組み合わせでもその効果を計算し、熱安定性や要求品質対応できるプログラムを作成することが目的である。分析値、比較データから次の二項を推断した。

①栄養細胞の破壊という点で、75℃20秒に比べて同等もしくはよりダメージの少ない効果的な殺菌処理方法が可能である。85℃4. 2秒の処理が最適であろう。②殺菌処理は牛乳に官能的、栄養的に差がないもつと思いついた条件が選べる。実際的なロングライフ牛乳の製造に適した温度条件を示した。

2. 方法

- ・菌株名: *Bacillus stearothermophilus* NDCO10003 (孢子)
- ・加熱媒体: 生乳
- ・初発菌数: 10^6 / ml 生乳
- ・加熱: オイルバス、キャピラリーチューブ

3. 結果

特に詳細な記述なし。(表1、表2)

Table 1: Kinetics data for stabilization and heat damage reactions in the heat treatment of milk

	Reaction	Order of reaction	Kinetics constant: K values at indicated temperature (°C)	Activation energy (J/mole)	Range of temperature (°C)	Concentration, assumed for raw milk	References
Low activation energy reactions	Lipase inactivation	1	$K_{130} = 1.15 \times 10^{-3} \text{ (sec}^{-1}\text{)}$	53037	70-150	100 (Arbitrary activity units)	Calculated from data in (20)
	Protease inactivation	1	$K_{120} = 1.25 \times 10^{-2} \text{ (sec}^{-1}\text{)}$	63963	70-150	100 (Arbitrary activity units)	Calculated from data in (20)
Medium activation energy reactions	Furosine formation	0	$K_{120} = 0.497 \text{ (}\mu\text{mol/l x sec)}$	81637	120-150	0 mg/l	Calculated from data in (22)
	Thiamine loss	2	$K_{120} = 3.01 \times 10^{-4} \text{ (mg/l x sec)}$	100800	120-150	0.4 mg/l	(11)
	Lysinoalanine formation	0	$K_{130} = 3.87 \times 10^{-2} \text{ (}\mu\text{mol/l x sec)}$	101377	110-130	0 mg/l	Calculated from data in (23)
	Available lysine loss	2	$K_{130} = 2.12 \times 10^{-6} \text{ (mg/l x sec)}$	109000	130-160	2880 mg/l	(11)
	Colour formation	0	$K_{130} = 1.66 \times 10^{-3} \text{ (sec}^{-1}\text{)}$	116000	50-160	0 (An arbitrary scale is adopted by setting as unity value the threshold of browning perception)	(11)
	Lactulose formation	0	$K_{120} = 5.38 \text{ (}\mu\text{mol/l x sec)}$	120224	60-145	0 mg/l	Calculated from data in (21)
	Total HMF formation	0	$K_{130} = 0.22 \text{ (}\mu\text{mol/l x sec)}$	135098	75-130	0 mg/l	This work
High activation energy reactions	Thermophilic micrococcal cells destruction	1	$K_{90} = 1.38 \text{ (sec}^{-1}\text{)}$	329985	60-90	10^6 Cells/ml	(19)
	B. stearothermophilus spore destruction	1	$K_{120} = 1.10 \times 10^{-2} \text{ (sec}^{-1}\text{)}$	345357	110-140	100 Spores/ml	This work

Table 2: Optimization of milk pasteurization: processes are calculated by assuming a 10^{-12} reduction of thermophilic bacteria cells

Temperature (°C)	70	75	80	85	90	95	100	105	110	Pasteurization 75 °C/ 20 sec	Boiling at 100 °C/ 5 sec	
Time (sec)	529	101	20.0	4.2	0.91	0.21	0.048	0.019	0.003			
Stabilizing effects:	Assumed concentration in raw milk											
B. stearothermophilus spores/ml	100	No significant variations										
Thermophilic bacteria, cells/ml	10^6	10^{-6} By assumption										
Protease residual activity, %	100	68	90	97	99	100	100	100	100	98	$0.4 \times 10^3 < 10^{-12}$	
Lipase residual activity, %	100	56	87	96	99	100	100	100	100	97	98	
Heat damage effects:	Color index (perception threshold = 1)											
Available lysine loss, %	288 mg/100 ml	0.5×10^{-3}	0.2×10^{-2}	0.6×10^{-3}	0.2×10^{-2}	0.8×10^{-4}	0.3×10^{-4}	10^{-2}	0.5×10^{-5}	0.2×10^{-2}	0.3×10^{-3}	10^{-5}
Thiamine losses, %	0.4 mg/l	No significant variations										
Total HMF, mg/l	0	No significant variations										
Lactulose, mg/l	0	3.5×10^{-3}	1.3×10^{-2}	5.04×10^{-3}	2.0×10^{-2}	8.25×10^{-4}	3.4×10^{-4}	1.5×10^{-4}	6.3×10^{-5}	2.8×10^{-5}	2.6×10^{-3}	1.5×10^{-3}
Furosine, mg/l	0	4.6	1.6	5.7×10^{-1}	2.1×10^{-1}	7.9×10^{-2}	3.1×10^{-2}	1.2×10^{-2}	5.1×10^{-3}	2.1×10^{-3}	3.2×10^{-1}	1.3
Lysinoalanine, mg/l	0	2.2	6.3×10^{-1}	1.8×10^{-1}	5.7×10^{-2}	1.8×10^{-2}	5.7×10^{-3}	2.0×10^{-3}	7.0×10^{-4}	2.5×10^{-4}	1.2×10^{-1}	2.1×10^{-1}
	0	6.8×10^{-2}	2.2×10^{-2}	7.0×10^{-3}	2.4×10^{-3}	8.3×10^{-4}	3.0×10^{-4}	1.0×10^{-4}	4.1×10^{-5}	1.6×10^{-5}	4.3×10^{-3}	1.0×10^{-3}

1. 文献要旨

微生物名:

Bacillus stearothermophilus 孢子

文献No. 6:

A study on optimizing heat treatment milk. II .Pasteurization.

著者:

Ella PAGLIARINI, C.PER and S.PIERUCCI

出典:

Milchwissenschaft 43(11)1988

要約:

芽胞破壊、プロテアーゼの不活性化及び熱のダメージにおける速度論的解析を基に、幾つかの熱殺菌過程の効果を評価した。コンピューターシミュレーションの結果は、超高温短時間殺菌後に、低温長時間殺菌を実施する二段階殺菌法が、耐熱性芽胞、酵素を破壊するのに有効であることを示唆した。二段階殺菌法は、栄養学および官能的品質という点において通常の UHT 殺菌牛乳に匹敵し、一方、品質保持期限において滅菌した長期間保存可能乳に匹敵すると思われる。安定性の効率という観点から、低温と高温の幾つかの組み合わせを示した。

2. 方法 (文献No.5と同じ)

3. 結果

・60℃208分～95℃23分で 10^{-5} ～ 10^{-6} に減少

・145℃2.5秒で 10^{-6} ～ 10^{-7} に減少

・118℃30分で 10^{-7} に減少

これらは表1に示されるが詳細データはなし。

・牛乳殺菌の二段階殺菌法フロー:  2

Table 1: Effects resulting from a combined process including low temperature treatment and UHT treatment (145 °C/1.9 sec). Minimum requirements: heat-resistant protease: less than 1 % residual activity; B. stearotherophilus spores: more than 5 decimal reduction.

Low temperature process conditions		Stabilizing effects				Heat damage effects					
Temperature (°C)	Time (min)	B. stearotherophilus spores, decimal reduction	Protease residual activity (%)	Lipase residual activity (%)	Colour index (perception threshold = 1)	Available lysine losses (%)	Thiamine losses (%)	Total HMF (mg/l)	Lactulose (mg/l)	Furosine (mg/l)	LAL (mg/l)
60	208	10 ⁻⁵ to 10 ⁻⁶	0.93	0.042	0.061	0.3	1.8	0.8	62	23	0.7
65	148	10 ⁻⁵ to 10 ⁻⁶	0.93	0.065	0.072	0.3	2.1	0.9	73	25	0.8
70	106	10 ⁻⁵ to 10 ⁻⁶	0.93	0.100	0.087	0.4	2.5	1.0	87	28	0.9
75	77	10 ⁻⁵ to 10 ⁻⁶	0.93	0.140	0.100	0.5	2.9	1.2	105	30	1.1
80	56	10 ⁻⁵ to 10 ⁻⁶	0.93	0.200	0.130	0.6	3.3	1.5	128	33	1.3
85	41	10 ⁻⁵ to 10 ⁻⁶	0.93	0.270	0.150	0.7	3.9	1.8	158	36	1.6
90	31	10 ⁻⁵ to 10 ⁻⁶	0.93	0.360	0.190	0.8	4.5	2.3	195	38	1.8
95	23	10 ⁻⁵ to 10 ⁻⁶	0.93	0.470	0.230	1.0	5.2	2.9	242	42	2.1
Standard UHT treatment (145 °C/ 2.5 sec)		10 ⁻⁶ to 10 ⁻⁷	90	93	0.035	0.1	0.0	0.82	41	1.7	0.18
Standard sterilization treatment (118 °C/30 min)		10 ⁻⁷	8.8	8.2	2.5	9.0	31.7	40	2741	250	18

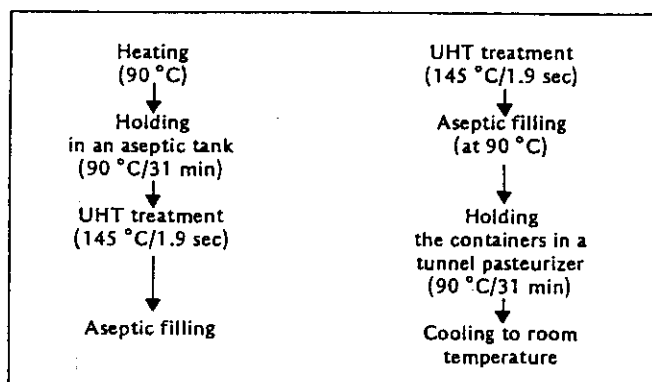


Fig. 2: Alternative flow sheets of a two-step process for milk sterilization.

1. 文献要旨

微生物名:

Clostridium tyrobutyricum、*Bacillus cereus*、
Bacillus stearothermophilus

文献No.7:

Thermoresistance anormale de spores bacteriennes chauffees par injection directe dans vapeur

著者:

O.CERF et J.HERMIER

出典:

LE LAIT/JANVIER-FEVRIER 1973/521-522

要約:

Cl. tyrobutyricum、*B. cereus* 及び *B. stearothermophilus* の孢子を超高温殺菌 (UHT) タイプのパイロットプラント殺菌機の蒸気中に注入して加熱した。加熱温度は102~105℃、滞留時間は約10秒とした。加熱媒体としての液体には緩衝液、全乳および脱脂乳を使用した。滞留時間分布の決定にはトレーサとしてメチレンブルーを使用した。各細菌株をアンプル (TDT試験管) 中で、様々な温度に加熱して耐熱性パラメーター値を測定し、理論殺菌効率を算出した。*Cl. tyrobutyricum* 及び *B. cereus* の実験的殺菌効率は、実験値が理論値より1.2ないし7倍高かった。また、*Cl. tyrobutyricum* の場合、加熱致死時間曲線は変化した。すなわち、アンプル中で加熱した時のZ値が9.8℃であったのに対して、蒸気中に連続的に注入したときのZ値は13℃であった。*B. stearothermophilus* の孢子は、水蒸気中に注入すると部分的に不活性化されたのに対して、同温度にアンプル中で加熱すると活性化された。

2. 方法

・菌株名: *Cl. tyrobutyricum* CNRZ 510 及び514、*B. cereus* 111 及び

B. stearothermophilus FS 1518(ATCC7953)

・芽胞の作成: *Cl. tyrobutyricum* はTGE培地、37℃、透析膜

B. stearothermophilus はWang培地、ROUXフラスコ、55℃

B. cereus: Hermier培地、ROUXフラスコ、30℃

・菌濃度: 10^{10} / ml

・菌数測定: *Cl. tyrobutyricum* はHirsch、Grinsted、嫌気培養、35℃

B. stearothermophilus はWang培地、55℃

B. cereus: Hermier培地、Wang培地、30℃

・アンプル中加熱

加熱媒体: 0.02Mリン酸カリウム緩衝液 (pH=7.0)、グリセリン恒温槽

アンプル: 長さ100mm、外径8mm

・蒸気加熱

装置: Laguilharre の殺菌機を基にしたパイロットプラント(図1)

加熱媒体: 脱脂乳、全乳 (0.02Mリン酸カリウム緩衝液 (pH=7.0))

3. 結果

・アンプル中

リン酸カリウム緩衝液中 (表3)

	D値 (分)		検討した温度範囲	Z値 (°C)
	90°C	120°C		
Cl.tyrobutyricum 510	5.5		80-97	8.25
514	21		85-105	9.8
B.cereus 111	44		85-100	9.8
B.stearothermophilus FS1518		10	80-130	7.5

脱脂乳中 (表4)

Cl.Tyrobutyricum 510	6.6		80-97	9.25
514		85-101	9.9	

・蒸気注入: 表5及び表6

但し殺菌効率とは注入した孢子数と生残数との比の対数

Cl.Tyrobutyricum 514のZ値は13°C (アンプル中は9.8°C)

L_c: アンプル中で加熱して得られたD値、Z値を使って算出した殺菌効率

Cl. tyrobutyricum に対する殺菌効果 (蒸気) TABLEAU 5
 Efficacité stérilisatrice du traitement avec injection dans la vapeur sur les spores
 de *Cl. tyrobutyricum* 514

Milieu de chauffage 加熱媒	Température (°C)	Efficacité stérilisatrice 殺菌効果		$\frac{L_e}{L_c}$
		L_e (expérimentale) 実験値	L_c (calculée)	
Tampon phosphate	102	0,5	0,2	2,5
	111	2,9	1,6	1,8
	115	>7	3,2	>2,2
Lait entier 全乳	105	1,0	0,8	1,2
	111	4,6	2,6	1,8
	115	>7	5,2	>1,3
Lait écrémé 脱脂乳	102	1,0	0,4	2,5
	105	1,7	0,8	2,1
	111	3,3	2,6	1,3
	115	>7	5,2	>1,3

1) 脱脂乳中の孢子に対する殺菌効果 (蒸気) TABLEAU 6
 Efficacité stérilisatrice du traitement avec injection dans la vapeur sur les spores
 chauffées en tampon phosphate

Souche 株	Température (°C)	Efficacité stérilisatrice		$\frac{L_e}{L_c}$
		L_e (expérimentale)	L_c (calculée)	
<i>Cl. tyrobutyricum</i> 510	102	4,2	1,2	3,5
	105	5,3	2,3	2,3
	111	>7	7,5	—
<i>B. cereus</i> 111	102	0,7	0,1	7
	105	0,7	0,2	3,5
	111	1,7	0,8	2,1

1. 文献要旨

微生物名:

Enterobacteriaceae, Coliforms, Fecal coliforms

文献No.8:

Accelerated Decrease of Enterobacteriaceae Counts During Ripening of Raw Milk Manchego Cheese by Lactic Culture Inoculation

著者:

PILAR GAYA, MARGARITA MEDINA and M. NUNEZ

出典:

JOURNAL OF FOOD PROTECTION, 46, APRIL 1983

要約:

14 バット分のマンチェゴチーズを非冷却の羊乳より製造した。その内 7 つの実験用製品バットには脱脂乳にて調製した *Streptococcus lactis* カルチャーを1%添加し、残り 7 つについてはカルチャー未添加の対照用サンプルとし、同条件での製造を実施した。熟成期間中の実験用チーズは対照チーズと比較して、かなりの低 pH であり、熟成期間の全ての段階において、その平均差は 0.2 を超えていた。使用したバット中の乳の平均対数菌数値は Enterobacteriaceae が 5.90、coliforms が 5.64、fecal coliforms が 4.00 であった。60 日後これら 3 種の微生物群の実験チーズ中の対数菌数値は各々平均、1.83、1.46、1.02 であった。一方、対照チーズの値は上記 3 種の菌種について各々、3.78、3.60、2.64 であった。実験用チーズと対照チーズ間で 5% の有意差であった。60 日間熟成したチーズより Enterobacteriaceae 種として *Enterobacter cloacae*、*Escherichia coli*、及び *Hafnia alvei* が検出された。官能評価データでは実験用チーズ及び対照チーズの塩分、水分含量に有意差は無い事が示された。

2. 方法

・指標菌株名: 牛乳中の微生物

・乳酸菌カルチャー: *Strept. Lactis* 12

・増殖媒体: ① 乳酸菌カルチャー未添加 (羊乳)

② 添加 (羊乳)

・菌数測定

生菌数	PCA
coliforms	VRBA
Enterobacteriaceae	VRBA + 1% グルコース
fecal coliforms	VRBA (44.5°C)

3. 結果

図1、2に結果を示す。

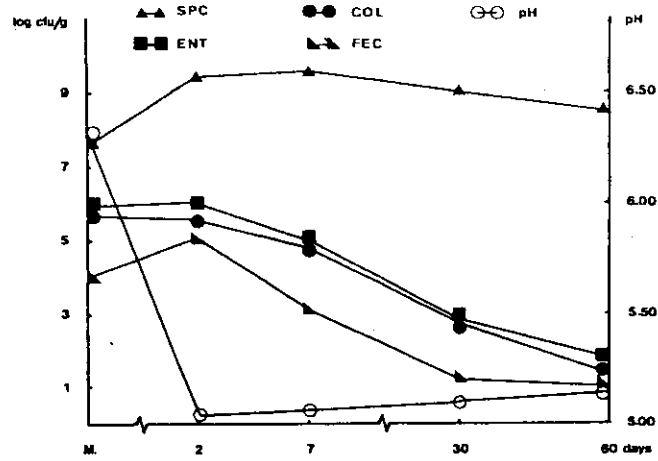


Figure 1. Changes in total viable counts (SPC), Enterobacteriaceae (ENT), coliform (COL) and fecal coliform (FEC) numbers and pH values during the 60-d ripening period of experimental Manchego cheeses manufactured from raw sheep milk inoculated with 1% of a *Streptococcus lactis* skim milk culture.

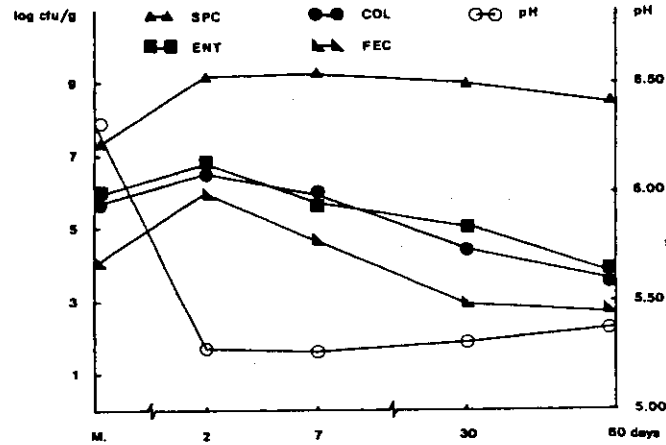


Figure 2. Changes in total viable counts (SPC), Enterobacteriaceae (ENT), coliform (COL) and fecal coliform (FEC) numbers and pH values during the 60-d ripening period of control Manchego cheeses manufactured from non-inoculated raw sheep milk.

(菌数の対数值)

	初発	60日後	
		スターター入り	コントロール
coliforms	5.64	1.46	3.60
Enterobacteriaceae	5.90	1.83	3.78
fecal coliforms	4.00	1.02	2.64

1. 文献要旨

微生物名:

Listeria monocytogenes

文献No.9:

Acid Adaptation of *Listeria monocytogenes* Can Enhance Survival in Acidic Foods and during Milk Fermentation

著者:

CORMAC G.M.GAHAN, BRID O'DRISCOLL, and COLIN HILL

出典:

Applied and Environmental Microbiology, Sept. 1996, P.3128-3132

要約:

我々は以前に、*Listeria monocytogenes* の苛酷な酸性ストレス (pH3.5) に対する耐性が、穏やかな酸 (pH5.5) に 1 時間順応させることによって誘導されることを報告し、その現象を酸耐性反応 (acid tolerance response : ATR) と名づけた。ATR の工業的重要性を確定するため、我々は様々な酸性食品中で、酸順応した菌および順応していない菌の生存性を調べた。酸順応は、カッテージチーズ、ヨーグルト、全脂チェダーチーズを含めた酸性乳製品中での *Listeria monocytogenes* の生存性を向上させた。酸順応させた *L. monocytogenes* はまた、乳酸菌により発酵している牛乳中で、その生存性が増加していくことを示した。同様に、乳酸以外の酸を含む pH の低い食品 (オレンジジュース及びサラダドレッシング) 中においても、酸順応させた菌は飛躍的に生存性が向上することを示した。しかしながら、モッツァレラチーズ、市販のカッテージチーズ、あるいは低脂肪チェダーチーズのような、他に比べてやや高い pH の食品中では、酸順応は生存性を向上させないようであった。我々は以前に、誘導しなくとも本質的に酸耐性を持った *L. monocytogenes* の変異株を単離した。本研究では、その一つの変異株、ATM56 が pH の低い食品中および発酵している牛乳中において、野性株と比較して高い生存能力を示した。かなりの割合の ATM56 を、70 日後でさえ、全脂および低脂肪チェダー中から回収することができた。総じて、そのデータは ATR のメカニズムが、本質的であれ誘導的であれ、pH の低い食品中といった環境内での *L. monocytogenes* の生存性に大きな影響を及ぼしていることを示唆している。

2. 方法

・指標菌株名: *L. monocytogenes* LO28 (serotype 1/2 c)、ATM56 (酸耐性変異株)

LO28 株を pH 5.5 に 1 時間適応させ酸順応 → 酸順応 LO28

7.0

→ 酸非順応 LO28

・前培養: 0.6% 酵母抽出物 + トリプトンソーヤブロス (YSB-YE)

・生育測定: 600nm 濁度

・確認: リステリア選択培地 (LSA、オックスフォード組成)

・増殖媒体: ヨーグルト、カッテージチーズ、チェダーチーズ、

3. 結果

(1) *L. monocytogenes* におけるATR: 図1

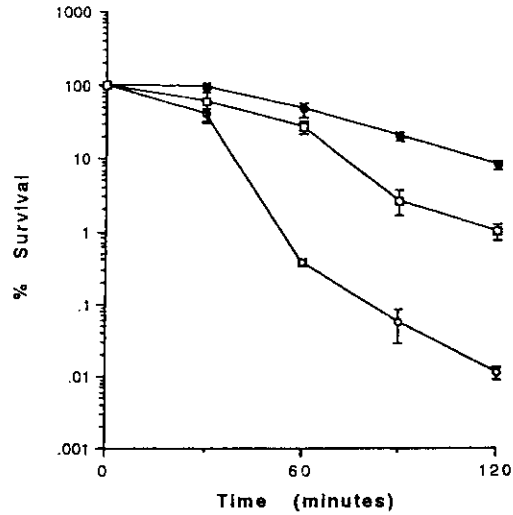


FIG. 1. ATR in *L. monocytogenes*. The survival of acid-adapted (●) and nonadapted (○) *L. monocytogenes* LO28 and nonadapted ATM56 (□) cultures at pH 3.5 is shown. Error bars represent the standard deviation for triplicate experiments.

(2) 酸性乳製品中での挙動

・ヨーグルト中 (pH3.90) 残存性 酸順応LO28 > ATM56 > 非順応LO28 (図2-A)

・カッテージチーズ (pH4.71) 酸順応LO28 ≒ ATM56 > 非順応LO28 (図2-B)

