

食品産業へのオゾンの利用技術

愛知県食品工業技術センター
内藤 茂三

1. はじめに

添加物を使わない強力な殺菌および脱臭方法として、食品業界では最近オゾンを利用する傾向が一段と高まっている。オゾンを利用した機械、装置が次々と開発され、そのソフト面での一層の充実が期待されている。最近の食品業界におけるオゾン処理の適用拡大には目覚ましいものがある。この背景には食品工場における食品製造のあらゆる工程における微生物制御と食品の流通が広範囲になるに伴い品質、鮮度保持に対する関心が高まったことにほかならない。食品工場でオゾンを利用する目的は、殺菌、脱臭、漂白、生理活性物質としての利用などである。現在では、この中でも殺菌についてもニーズが最も多い。オゾンによる脱臭は主として悪臭成分の酸化分解に基づくもので、殺菌を主目的として二次的に脱臭効果を得る場合も多い。また漂白はキサントシン系色素を主として分解する利用方法である。植物の増殖促進、魚介類の増殖促進、微生物の増殖促進などの生理活性物質としての新しい利用方法である。

オゾンは一般細菌、大腸菌群、青カビ、酵母、ウイルスなどに有効であるといわれ、食品の保存についても多数報告されている。1930年代に入ると食品の保存寿命の延長を目的にオゾンの利用が始まった。食肉の殺菌 (Kaess, 1936年)、オゾンによるバナナの追熟遅延 (Gane, 1933, 1934, 1935年)、オゾン氷による魚の貯蔵 (Salmon and Legall, 1936年)、オゾン雰囲気での卵の保存 (Kaess and Kirmeer, 1939年) などである。しかし実際的な応用が可能になってくるのは、1950年以降であり、現在多くのヨーロッパ諸国では冷凍貯蔵庫の殺菌や脱臭に、また、食品の保存期間の延長にオゾンを利用しているということである。オゾン暴露によるイチゴの白カビの防止 (Ewell, 1950年)、オゾン暴露によるリンゴ、オレンジ、バナナの追熟遅延 (Kuprianoff, 1953年)、オゾン雰囲気での卵のカビ発生防止 (Ewell, 1950年)、オゾン雰囲気でのチーズのカビ発生防止 (Watter, 1951年) である。1960年から1970年代になると多くの生鮮食品へ利用されるようになってきた。低濃度オゾン雰囲気でのチーズのカビ発生防止 (Gibson, 1960年)、オゾン雰囲気での食肉の貯蔵期間の延長 (Kaess and Wiedemann, 1968年)、オゾン雰囲気におけるイチゴの貯蔵期間の延長 (Berger and Hansen, 1965年)、オゾン雰囲気でのポテトの貯蔵性延長 (Kolodyaznaya and Suponina, 1975年)、オゾン雰囲気におけるトウモロコシと大豆の貯蔵性延長 (Brooks and Csallany, 1978年) などがある。

1980年代から1991年代になると加工食品工場の空気殺菌や加工食品全般の殺菌に利用されるようになってきた。これに伴い、種々の研究が行われ、食品工場の殺菌だけでも焼ちくわ製造工場¹⁾、製菓工場^{2) 3)}、生めん製造工場⁴⁾、水ようかん製造工場⁵⁾、生切り餅製造工場⁶⁾、食品包装用フィルム加工工場⁷⁾ においてオ

ゾンの利用について報告された。現在、食品製造工場内や食品貯蔵庫内の空気の浄化、食品および食品原材料の殺菌、ホテル、スーパーの生鮮食品配送センターや学校給食センターの空気の殺菌に用いられている。

2. 食品産業へのオゾンの利用^{8) 9)}

食品保存に関しても活発に研究されており、加工食品に限っても生切餅、上用饅頭、いかの燻製、半生めん、水ようかん、するめ、煮豆、かまぼこ、竹輪、生めん、もずく、漬物、チョコレートケーキ、かに風味刻みかまぼこ、ピザパイ、ギョウザの皮、乾燥あん、生あん、米飯、山菜おこわ、豆腐、削り節、カステラ、生および半生菓子、穀類、穀粉、豆類、香辛料にオゾン処理を試みるなどの研究がある。これらはいずれもオゾンの殺菌力を利用したものである。食品工業におけるオゾンの利用技術としては殺菌、脱臭、漂白、脱色および生育促進などがあるが、現在のところ圧倒的に殺菌と脱臭への利用が多い。今回は殺菌と生理活性物質としての利用について述べる。

(1) オゾンの殺菌機構

微生物の殺菌を塩素によって行った場合、塩素は微生物の細胞壁を通過し、酵素が損傷を受けて死滅する。またメチシリンに代表されるβ-ラクタム系の抗生物質による殺菌は、細胞壁合成酵素の活性部位にこの抗生物質が結合して、細胞壁合成をストップさせるという機能破壊である。オゾン殺菌ではオゾンは微生物の細胞壁等の表層を構造的に破壊し、あるいは分解することによって酵素の活性が失われ、核酸が不活性化されるものと考えられる。即ち最初の細胞表層のたんぱく質又は脂質を酸化しながら細胞壁等の機能を破壊し、オゾン負荷量が多ければさらに易反応性の官能基と反応して中に侵入し、酵素等を破壊していくのである。薬剤殺菌が一つの機能を破壊するのに対しオゾンはマルチポイント攻撃である。このため耐性菌が出来にくい殺菌方法であるといえる。

中性域における溶存オゾンの主たる反応形式は分子状オゾンの反応である。このため細胞壁や細胞膜の構成成分である脂質との反応が生じる。まずオゾンは不飽和結合に反応し、生成した過酸化物のフリーラジカルの生成が始まり、さらに連鎖反応が始まる。同時に細胞壁や細胞膜の構成成分であるたんぱく質にも反応が生じる。オゾンとたんぱく質との反応を考える場合は、具体的にはオゾン易反応性のアミノ酸残基（トリプトファン、メチオニン、フェニールアラニン等）との反応を意味する。さらにオゾン負荷量が多いと、中に侵入し核酸と反応する。特にグアニンやチミンの反応性が高い。このようにオゾンの微生物殺菌作用機構は、塩素のそれと異なっている。オゾンと塩素の殺菌力の差を濃度との対応で比べた場合、塩素は濃度が増すとともに殺菌力が増すが、オゾンはある濃度までは効果が現われないが、それ以上の濃度になると急激に効果が増すという特徴がある。これは殺菌機構の相異に起因する。

(2) オゾン殺菌に影響を与える因子

1) 気中オゾン処理

オゾンは空気中では徐々に自然分解し、酸素に戻るが、分解速度はオゾン濃度、不純物の存在、温度、湿度により異なる、常温の空気中では半減期が10時間前後

と遅いため殺菌効果は水中に比較して悪い。気中オゾン殺菌効果に最も影響を与えるのは温度である。一般的に温度がRH50%あるいはそれ以下ではほとんど殺菌効果を示さないが、RH80%以上では著しい殺菌効果を示す。Bacillus属芽胞はRH62%以下ではほとんど殺菌効果を示さないが、RH80~95%では著しい殺菌効果を示した。Clostridium属芽胞の場合はRH52%以下ではほとんど殺菌効果を示さないが、RH95%で著しい殺菌効果を示した。

Bacillus属芽胞およびClostridium属芽胞の場合はオゾン濃度の増加に伴い、殺菌効率は上昇した。また熱に対して抵抗力の弱い微生物は気中オゾン殺菌に及ぼす温度の影響は大きい。これは加熱とオゾン処理では殺菌機構が全く異なっているため、相乗効果が認められるためである。

オゾンの殺菌機構がオゾンが分解されて生成される発生期の酸素やOHラジカルに由来するために強制的に触媒等でオゾンを分解すると殺菌効果が上昇する。

2) 水中オゾン処理

オゾンは水中で急速に自然分解し、酸素に戻るが、分解速度は水温、pH、不純物の存在（有機物、無機物、重金属等）により異なるが、常温、常圧の水中では半減期が10~60分と早い。オゾンによる殺菌は化学反応性によるが、水温が上昇するとオゾンの分解が促進し、溶解度が減少しても消費量が増加して殺菌効果が上昇する場合がある。しかしオゾン注入量が一定の場合はオゾンと微生物の接触効率に問題があり、またオゾン溶解度が上昇することにより通常の実験では低温ほど殺菌効率が高い。さらに食品関連微生物では病原微生物と異なり、残留オゾン濃度が殺菌に及ぼす影響は大きい。理論的には水温が高いほどオゾンの溶解度が少なくても、オゾンの分解が早いので殺菌効果は大きいと考えられるが、その効果は菌種により著しい差異がある。このため食品のオゾン殺菌は品質への影響、ランニングコスト、微生物の接触時間等のため低温で行っている場合が多い。

オゾン分解の半減期は水質、特にpHに大きく影響を受ける。つまりpHが上昇すれば半減期が短くなり、残存オゾン濃度は減少する。pHの場合も水温と同様に関係がある。即ち、理論的にはpHが高くなるとオゾンの分解が促進し、残存オゾン濃度が減少するが、殺菌効率は上昇すると考えられる。この殺菌効果はオゾンの殺菌機構にも関与するが、菌種により著しい差異がある。アルカリ性下でのオゾンの分解は極めて早いので的確に微生物に作用しないおそれがある。このため、水温と同様の理由により食品関連微生物の殺菌は低pHで行っている場合が多い。

(3) 殺菌へのオゾンの利用^{8) 9)}

食品殺菌へのオゾンの利用分野として、オゾン水利用（原料洗浄、加工、製造）、原材料殺菌、製造工程中および製品殺菌、工場内空気殺菌、包装内封入法、オゾン水浸漬法、オゾン環境下貯蔵法がある。

食品原材料のオゾン殺菌について行われている研究は殺菌効率、貯蔵中の微生物の変化、ビタミンの変化、脂質の変化、物性の変化、突然変異原性がある。その結果、0.5~50ppmのオゾン濃度処理の場合、高オゾン濃度、低温、長時間処理により殺菌効率が高まり、貯蔵中にさらに微生物が減少し、チアミンおよびリボフラビンの分解は比較的少ないことを認めた。また脂質の脂肪酸組成、POV、

AVの変化は0.05~5.0ppmのオゾン濃度では全く認められなかった。オゾン処理小麦粉（オゾン濃度0.5, 2.0, 5.0, 50ppm）を30日間貯蔵した場合、高温性耐熱性芽胞菌、細菌と真菌を合わせた総菌数が減少し、10℃貯蔵よりも30℃貯蔵の方が減少速度が早いことを認めた。この原因はオゾン処理小麦粉を包装した場合、包装直後に比較的残存オゾン濃度が高い小麦粉は貯蔵中における菌数の減少が著しく、10℃貯蔵では比較的長期間（20~30日）オゾンが残存し、30℃貯蔵では早く分解する（10~20日）。このため30℃貯蔵の方がオゾン分解による殺菌効果が早くできるものと考えられる。オゾン処理した小麦粉を用いて実験室および生めん製造会社工場と同時に製造し、二次汚染微生物の影響について検討した結果について説明する⁴⁾。生めんは製造工程に殺菌工程がないため、原料である小麦粉の微生物および製造工程中での二次汚染微生物がそのまま最終製品に移行することになる。また水分は35~40%と比較的高いため、生めんは非常に腐敗しやすい食品といえる。製造工程中の二次汚染微生物を検討するために、各製造工程の空気中の微生物菌数を測定した結果、生めん製造会社工場において多くの空中浮遊菌を検出した。また各工程別に空中浮遊菌を測定したが、いずれの製造地点においても各測定地点間に大きな差異は認められなかった。オゾン濃度5.0ppmで処理した小麦粉を用いて製造した生めんの各製造工程中の微生物菌数を測定した結果、無処理小麦粉で製造した場合、工程が進むにつれて菌が増加し、特に生めん製造会社工場で製造した場合に菌の増殖が著しいことを認めた。最終製品で生めん製造会社工場で製造した場合、実験室で製造した場合よりも約10倍菌数が多いことを認めた。しかしオゾン濃度5.0ppmで処理した小麦粉を用いて製造した生めんの各製造工程中の微生物菌数は工程が進むにつれて菌が増加することはなくほぼ一定しており、また生めん製造会社工場で製造した場合でも実験室で製造した場合でも差異は認められず、最終製品の菌数もほぼ同じであった。これは小麦粉に残存するオゾンによって主要二次汚染菌であるMicrococcusの増殖が抑制されたことによる。なおMicrococcusのオゾン抵抗力は比較的弱いことが知られている。0.5~50ppmで1~6時間オゾン処理した小麦粉で製造した包装生めんの貯蔵期間は2~5倍長くなった。また0.5~50ppmで1~6時間オゾン処理した小麦粉で製造した生めんの外観、香り、食味、硬さおよび総合評価についての品質変化は認められなかった。

オゾン処理食品の官能検査については水ようかん、上用まんじゅう、いかの燻製等の報告があるが、これらはいずれも低濃度（0.2~1.0ppm）、短時間処理（20~30分）であり、さらに加熱後の冷却工程でのオゾン処理であるため対照区との有為差は認められていない。

食品の腐敗、変敗の約90%は工場の空中浮遊菌に由来する。そこで食品工場内のオゾンによる空気殺菌の一例として焼竹輪、生めん、菓子製造工場に0.02~0.08ppmのオゾンを1~1.5年間夜間のみ入れて微生物菌叢の変化を測定した結果、空中浮遊菌は著しく減少した。

焼竹輪の場合は加熱後に生残した芽胞形成菌以外に製造環境からくる二次汚染菌による変敗を生じる場合が多い。夏期と冬期の汚染状態が異なるため、対照区

(オゾン処理前6月と12月測定)とオゾン処理区(オゾン処理1年後の12月および1年半後の6月測定)はそれぞれ6月と12月に菌数および菌叢を測定した。

その結果、いずれの工程においても空中浮遊菌はオゾン処理により減少したが、特に菌数の多い冷却室と包装室において一般細菌数の減少が著しいことがわかった。これらの原因を検討するために、各工程のオゾン処理前後(6月)測定 of 空中浮遊菌の変化を調べた。最も空中浮遊菌の多い冷却室の場合、その菌叢は *Micrococcus* 92%、*Bacillus* 3%、*Corynebacterium* 1%、その他 4% であった。オゾン処理によりその菌叢は *Micrococcus* 72%、*Bacillus* 14%、その他 14% と変化した。また対照区の *Micrococcus roseus*、*Micrococcus luteus*、*Micrococcus flavus*、*Micrococcus colpogenes* の菌数はそれぞれ 16、19、20、21/53L (空気) であったが、オゾン処理によりそれぞれ 3、5、1、1/53L (空気) と著しく減少した。その他の工程においても *Micrococcus* についてはほぼ同様の傾向が認められた。

オゾンを経菌に用いる場合、殺菌力を持つのはオゾンそのものではなく、オゾンが分解したときに生じる発生基の酸素で、その強い酸化力による酸化作用で微生物を殺菌する。このためオゾン殺菌を有効に行うためにオゾンを分解する技術が開発されたので説明する。

3. オゾン分解技術による殺菌効果の増強

(1) 空中浮遊微生物のオゾン触媒分解型オゾン発生器による殺菌¹⁰⁾

乾燥した空気のオゾン殺菌は理論上極めて困難である。空中に浮遊させた *C. thermoaceticum* と *C. thermosaccharolyticum* の芽胞及び栄養細胞の殺菌をオゾン分解触媒型オゾン発生器を用いて検討した。

オゾン分解触媒型オゾン発生器はボックス内でセラミックオゾン発生器で発生させた 5~8ppm のオゾンを部屋より吸引した空気と接触させ、ハニカム状の二酸化マンガン系の触媒でオゾンを分解後、0.005~0.003ppm にして室内に排出する装置である。いずれの菌株の栄養細胞及び芽胞においても処理時間の延長に伴い殺菌効果が認められた。これは触媒表面でオゾンが分解される過程で発生期の酸素が生成されると同時に接触した微生物が殺菌されたと考えられる。発生期の酸素は微生物菌体又は芽胞の水と反応してヒドロキシラジカルを生成する。このヒドロキシラジカルが酸化反応の開始剤として働き、連鎖反応を引き起こし微生物菌体又は芽胞の表層を酸化する。以下の反応が微生物菌体や芽胞の表層で進行するものと考えられる。

O (発生期の酸素) + H_2O — HO (ヒドロキシラジカル)

$HO + RH$ (微生物菌体又は芽胞) — $R \cdot + H_2O$

$R \cdot + O_2$ — $RO_2 \cdot$ (連鎖)

$RO_2 \cdot + RH$ — $ROOH + R \cdot$ (連鎖)

$ROOH$ — CO_2 , 酸化生成物 (タンパク質, 脂質)

オゾン触媒分解型オゾン発生器による殺菌の場合、発生期の酸素のライフタイムは非常に短いので (10^{-12} 秒)、殺菌効率を上げるためにはオゾン分解触媒の表面積を大きく取り、循環させて接触効率を上げる必要がある。

(2) 芽胞のオゾン殺菌に及ぼす紫外線の影響¹¹⁾

紫外線はオゾンを分解する作用を有すると共に紫外線とオゾンの殺菌機構は全く異なるため、両者を併用すれば著しい殺菌効果が認められると予想される。紫外線はオゾン単独処理では比較的殺菌が困難であった*B.stearothermophilus*と*C.thermoaceticum*芽胞を用いて気中で紫外線とオゾンの併用処理を行った。52~95%RHに調整した*B.stearothermophilus*と*C.thermoaceticum*芽胞を10℃で紫外線強度80mW/cm²、5、10秒間処理後、同条件のRHで温度10℃、濃度90ppm、60分間オゾン処理を行った。また同条件のRHで温度10℃、濃度90ppm、60分間オゾン処理後、10℃で紫外線強度80mW/cm²、5、10秒間処理を行った。その結果、52%RHにおいてもいずれの芽胞においても紫外線照射とオゾン処理を併用することにより殺菌効率が上昇した。また95%RHでは紫外線照射とオゾン処理を併用することによりさらに著しい殺菌効率が上昇した。いずれの菌株の芽胞においても紫外線照射後オゾン処理を行った方が、オゾン処理後紫外線処理を行った方よりやや殺菌効率が高いことを認めた。オゾン処理と紫外線照射を同時に行った場合は、上記の交互処理よりも殺菌効率はいずれのRHの芽胞でもまたいずれの菌株においても低下した。これは紫外線照射により芽胞のDNAの損傷を受け、チミンダイマーが形成されるため自己増殖能が低下し、そこにオゾン処理により芽胞殻が損傷を受けるため溶菌現象が生じ易くなり、生育が停止するものと考えられる。またオゾン処理後紫外線照射によってもかなりの効果が生じるが、前者よりも弱いのはオゾン処理により芽胞の表層や内部の一部がDNAが変化を受けるために芽胞の紫外線照射時の生成物であるTDHTの生成が抑制されるのではないかと考えられる。なおオゾンと紫外線を同時に処理した場合は、オゾンが紫外線により分解されて発生期の酸素が生成されるため、殺菌効率が上昇すると思われるが紫外線が核酸に到達する確率が低下するため上記の交互処理よりも殺菌効率が低下した。

2. 生理活性物質としてのオゾンの利用

オゾンは、植物に損傷を与えたり生育阻害をひき起こすことにより、農作物に被害をもたらすが、環境中のオゾン濃度と植物被害との間に必ずしも明確な関係が見出されていない。窒素酸化物はそれ自身は植物に対する毒性は弱い、オゾンとともに植物に接触するとオゾンによる傷害を増大させることが知られている。また植物は絶えず乾燥、高温、低温、害虫、微生物等の種々の環境ストレスに曝されている。これらのストレスは、それ自身が大きな影響を与えない場合でも、オゾンによる被害を増幅する。このような環境要因がオゾンによる植物の被害発現に影響を与えている。このため植物は高濃度のオゾンに曝されると老化の促進、葉の脱色、葉の斑点生成、枯死等の各種の傷害を生じる。一方、低濃度のオゾン暴露では、成長の促進^{12)~14)}、各種化学成分含量の増大が生じることも報告されている^{15)~17)}。そこで今回、オゾンの生理活性物質としての利用について述べる。

(1) オゾンの生理的性質

酸素は安定な基底状態の三重項酸素分子のほかに種々のものがあり、三重項酸素分子よりも反応性が大きく、活性に富む酸素種を活性酸素という。三重項酸素分子が生体内において電子受容体として作用し、段階的に還元されていく過程で

生成するスーパーオキシド、過酸化水素、ヒドロキシラジカルおよび一重項酸素の4種を活性酸素と呼ぶことも多いが、生体内での過酸化反応に関与する活性酸素種としては、この4種のほか多くある。ヒドロキシラジカル、アルコキシラジカル、ヒドロペルオキシラジカル、ペルオキシラジカルはラジカル的に反応を進行させるのに対し、過酸化水素、一重項酸素は非ラジカル的に脂質を酸化する。オゾン通常非ラジカル的に反応するが、オゾン化第一次生成物からラジカルが生成することもある。スーパーオキシドはラジカルであり、しかしアニオンであるが通常、ラジカルとしての反応は小さく、求核試薬として作用することが多いが、その結果ラジカルを発生することがある。これらの活性酸素が、白血球等の殺菌作用に利用されていること、また酵素反応、脂質の酸化、放射線傷害、炎症、免疫、発癌、白内障、動脈硬化に深い関与があることがわかっている。また活性酸素は産業界においても、植物の発芽および増殖促進、微生物の増殖促進、果物の熟成、アワビの産卵、魚介類の増殖促進にも関係している。オゾンによる毒性発現と生理活性作用の発現は紙一重であり、オゾンによる損傷の修復機構の差異にあると考えられる。そこで微生物に対するオゾンの毒性発現と生理活性作用についてとりまとめた。

(2) 微生物に対するオゾンの影響

微生物にオゾン処理を行った場合、細胞膜および細胞壁の不飽和脂肪酸が減少するという報告は多い。また微生物のオゾン耐性は細胞周期により著しく異なることが知られている。*Saccharomyces cerevisiae*の細胞周期で誘導期とG₁期とがオゾンに最も感受性が高く、S期からG₂期にかけて分裂細胞の増加につれて徐々に耐性が増加するところからオゾン耐性は細胞の倍数性に直接関連し、これらは修復機構の作用に依存すると考えられる。オゾンが酵母を攻撃する場合はまず細胞壁であるが、酵母の細胞壁は0.1~0.4 μmの厚さを持ち、幼若細胞では薄い、老熟細胞では厚くなるのでオゾンの作用は受け難くなる。出芽した直後の細胞は容易にオゾンにより殺菌されるが、これは細胞壁が薄いことによる。

オゾンの糸状菌に対する殺菌機構は細胞構成成分へのオゾンの酸化作用が中心となる。つまり糸状菌の細胞を構成している種々の生体成分が直接オゾンによって酸化分解され、変性や傷害を受けて増殖や生存を不能にさせることによる。糸状菌の一般構造は菌糸であり、菌糸は原形質を含み、硬い細胞壁で覆われた管である。菌糸の長さは不定であるが、普通、直径は一定しておりほぼ2~30 μmの範囲に入る場合が多い。菌糸の先端の細胞には、数個の核と、ある種の細胞小器官がともにみられるが、最先端部では、これらの小器官の代わりに膜に包まれた小胞が蓄積していて、これが生育に不可欠な役割を演じていると考えられる。菌糸の細胞壁は先端部まで伸びているが、そこでかなり薄くなっているため、先端部の全般的な細胞壁の厚さは菌糸の成熟部分の100~150nmに比べて薄く、おそらく50nmと思われるのでオゾンはこの部分を集中的に攻撃するものと考えられる。

糸状菌の細胞壁の構成成分としては、たんぱく質、脂質、多糖類、無機塩類等種々なものが知られているが、それらの中でも、N-アセチルグルコサミンのβ(1-4)結合産物であるキチンと、グルコースのβ-1,3グルカン、多くの糸状菌

の細胞壁の主要構成成分となっている。これらの構成成分に対するオゾンの酸化程度により殺菌効果が著しく異なる。また先端が成長するためには、菌糸先端の細胞壁のある程度の柔らかさが必要であるため、酵母と同様に成長段階にある糸状菌は比較的オゾンには弱いと考えられる。しかし一般的にはほかの微生物に比較して糸状菌はオゾンに対する抵抗力は強い。このため細胞壁分解酵素および合成酵素とオゾンとの関係が最近注目されてきた。

このようにオゾン処理により細胞表層は著しく損傷を受ける。その結果、オゾン処理後残存した微生物は、オゾンの作用により損傷を受けていることが予想される。そこで水ようかんより分離・同定した*Bacillus*属細菌を用いて水中でオゾン処理を行い、残存菌の増殖速度を測定した結果、オゾン処理を受けた菌株は増殖速度が遅くなるのを認めた。微生物の増殖速度を抑制することができれば、日配食品の流通期間を延長することができる。微生物の増殖時間を5~8時間遅らすことにより、その商品の販売地域は飛躍的に拡大すると考えられる。*Bacillus cereus*においては誘導期間が無処理の0.5時間に対してオゾン処理30、60、120分間でそれぞれ3.2、3.5、4.0時間となり、また最大菌数に到達する時間もオゾン処理により長くなり、無処理3.5時間に対してオゾン処理30、60、120分間処理でそれぞれ7.6、7.8、8.2時間となり増殖速度が著しく遅くなった。*B. polymyxa*は*B. cereus*の結果に比べ顕著ではなかったが、オゾン処理により生育相の遅れを認めた。生育相が対数期の菌体は誘導期のものよりオゾン抵抗性が大きく、このため対数期の菌体の殺菌には誘導期の菌体の殺菌に必要なオゾン濃度の50~1000倍を必要とする。また耐熱性芽胞菌のオゾン処理による殺菌効果は比較的弱い、オゾン処理後残存した菌の耐熱性は著しく減少する。この効果は水分の多い状態でオゾン処理することによりさらに耐熱性は減少する。

*Clostridium thermoaceticum*と*Clostridium thermosacchrolyticum*芽胞は極めて強い耐熱性を有しているため、製品に混入後加熱だけで殺菌することは難しい。このため原材料に混入している段階で減菌か又は損傷させることが可能であれば後の加熱工程が緩和されるのではないかと考えられる。そこで水中と気中でオゾン処理後、耐熱性を測定した。水中オゾン濃度4~5ppmでの処理した結果、*C. thermoaceticum*芽胞は6分間処理で完全に死滅した。そこで1、3分間処理後残存した芽胞を用いて121℃での耐熱性を測定した結果、芽胞の耐熱性は著しく低下することを認めた。この効果は、芽胞の表層がオゾンにより損傷を受け、内部の耐熱性に関与するカルシウムやジピコリン酸等が溶出するのではないかと考えられる。

オゾンと紫外線を併用処理した*Hansenula*および*Kluyveromyces*属等の耐浸透圧性酵母のうち残存した菌株の一部は形態が著しく変化し、特に大きさが2~3倍となり巨大化することを認めた。この原因はオゾンおよび紫外線による細胞表層の損傷およびDNA等の損傷によるものと考えられる。

微生物細胞の損傷は凍結、乾燥、加熱、浸透圧、冷蔵、酸性化、薬剤処理、物理的処理等を通じて細胞膜に傷害が起こり、その結果選択透過性が失われることが共通的に重要な変化であると指摘されている。そのため細胞内のアミノ酸、ヌ

クレオチド、補酵素、たんぱく質、炭水化物、有機酸、無機塩等が細胞外に漏れ、また逆に普通の状態では細胞内にとりこまれない物質が損傷を受けた場合には内部に侵入することが多くの研究者によって確認されている。一般に損傷菌は代謝活性が低下し、プロテアーゼ、各種の脱水素酵素、ATP合成系の構成酵素、SOD活性低下が見られる。SODはスーパーオキシドラジカルを分解するが、この酵素の活性が低下するとスーパーオキシドラジカルが蓄積され、過酸化水素と反応してヒドロキシラジカルを生じ、その酸化作用が大きいため多くの微生物細胞にとって極めて有害である。

損傷菌においては細胞成分の分解が起こりやすく、実際に加熱等により微生物のリボゾームのRNA分解が起こることが確認されており、損傷細胞は極めて不安定な状態にあると考えられる。損傷菌でしばしばみられる温度感受性の増大は、自己分解反応を触発し、促進するためである。

オゾンによる微生物の殺菌機構は細胞表層を攻撃するのであるからオゾン処理は細胞傷害を極めて起こしやすいと考えられる。

一般に細菌の軽度の傷害細胞を培養すると、正常細胞に比べて発育が遅れる。とくに活発な増殖が開始されるまでの期間、いわゆる誘導期は著しく延長するが、この過程で細胞には一連の変化が起こっている。まず細胞膜の選択透過性が回復し、損傷細胞にみられた異常な薬剤感受性が消失するとともに、必要な栄養素は能動的に細胞内にとりこまれるようになる。細菌芽胞にみられる損傷は主として発芽機構の傷害によるものである。細菌が損傷を受けると、発育できるpHや温度範囲が狭くなる場合がある。

文献

- 1)内藤茂三、山沢正勝：防菌防黴，17,111(1989)
- 2)内藤茂三：防菌防黴，17,483(1989)
- 3)内藤茂三：愛知食品工技年報、34,68(1993)
- 4)内藤茂三、沢田洋一、山口直彦：防菌防黴，17,517(1989)
- 5)内藤茂三：包装研究、8、(2)、15(1988)
- 6)内藤茂三：愛知食品工技年報、33,111(1993)
- 7)内藤茂三：防菌防黴，21,445(1993)
- 8)内藤茂三：日食工誌、38,360(1991)
- 9)内藤茂三：防菌防黴，22,85(1994)
- 10)内藤茂三：防菌防黴、伊崎哲也，18,423(1990)
- 11)内藤茂三：防菌防黴，20,293(1992)
- 12)内藤茂三、志賀一三：日食工誌、36,181~188(1989)
- 13)James, P., Bennett, Howard M., Resh and Runeckles: Can. J. Bot., 52, 35~41(1973)
- 14)高藤芳和：日特公、照58-115466(1983)
- 15)Dugger, W.M., Jr., Koukol J. and Palmer R.L.: J. Air

Pollut. Contr. Assoc.,16,467~471(1966)

16)渡辺智子、土橋昇、高居百合子、大政謙次、田中浄、鈴木影：日食工誌、40、7~16(1993)

17)Pippen,E.L.,Potter,A.L.,Randall V.G.,NG,K.C.,Reuter III,F.W.Morgan Jr .A.I. and Oshima,R.J.:J.Food Sci.,40,672(1975)

20)内藤茂三：防菌防黴、20、293~300(1992)