ガス置換包装における二酸化炭素、酸素、及びその混合ガスが食品媒介病原細菌・腐敗細菌の発育に及ぼす影響

(平成4年12月14日受理)

荻原博和* 蟹江 誠*
矢野信禮* 春田三佐夫*

Effect of Carbon Dioxide, Oxygen, and Their Gas Mixture on the Growth of Some Food-Borne Pathogens and Spoilage Bacteria in Modified Atmosphere Package of Food

Hirokazu OGIHARA, Makoto KANIE, Nobuhiro YANO and Misao HARUTA

(Department of Food Technology, College of Agriculture & Veterinary Medicine,
Nihon University: 3-34-1, Shimouma, Setagaya-ku, Tokyo 154, Japan)

The effect of ratio of carbon dioxide and oxygen on the growth of 16 strains of food-borne pathogens and spoilage bacteria was investigated using the smear plate method. The results were as follows.

1) Growth of facultative anaerobic bacteria (*A. hydrophila*, *B. cereus*, *E. coli*, *E. cloacae*, *L. monocytogenes*, *S. liquefaciens*, *S. typhimurium*, *S. aureus*) was not completely inhibited by carbon dioxide, oxygen and their mixtures. However, the growth rate of those bacteria was reduced in proportion to the increase in the ratio of carbon dioxide in the gas mixtures.

2) Growth of microaerophilic bacteria (*L. viridescens*) was not affected by carbon dioxide, oxygen or their mixtures.

3) Growth of the five species (*A. calcoaceticus*, *F. lutescens*, *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *P. fragi*) of aerobic bacteria was not recognized in the presence of 100% carbon dioxide, while *M. luteus* grew to some extent under the same conditions. Growth of *P. fragi* was inhibited in the presence of 30% or more carbon dioxide. The growth of *F. lutescens* was observed only in the case of 10% carbon dioxide and 90% oxygen. The susceptibility of aerobic bacteria to carbon dioxide was higher than that of facultative anaerobic bacteria and microaerophilic bacteria.

4) Growth of anaerobic bacteria (*C. perfringens*) was inhibited in the presence of oxygen regardless of its concentration.

From these results, it is clear that carbon dioxide, oxygen and their gas mixtures can be used effectively to inhibit or delay bacterial growth.

(Received December 14, 1992)

Key words: 二酸化炭素 carbon dioxide; 酸素 oxygen; ガス置換包装 modified atmosphere package; 腐敗細菌 spoilage bacteria; 食品媒介病原細菌 food-borne pathogens

緒 言

食品中の微生物の発育に影響を及ぼす要因としては、食品の水分活性 (a_w)、水素イオン濃度 (pH)、酸化還元電位 (E_h)、栄養素などの内部環境要因と、温度、湿度、ガス気相などの外部環境要因が知られており、これらの要因

の組み合わせにより食品の安全性と保存性を確保しようとする試みがなされている。外部環境要因の一つであるガス気相を利用する方法では、主に二酸化炭素 (CO_2)、酸素 (O_2)、窒素 (N_2) がそれぞれ単独に、またはこれらの混合ガスが利用されている。なかでも古くから二酸化炭素は微生物の発育増殖を抑制することが知られており^{1)~6)}、近年 Molin⁷⁾ も食品と関連の深い細菌を対象に

* 日本大学農獣医学部: 〒154 東京都世田谷区下馬 3-34-1

発育速度に対する二酸化炭素の影響について検討し、抑制効果を認めている。しかし、各種ガスを細菌の発育抑制要因として食品に利用する場合、その対象となる食品中の汚染菌叢やそれらの食品を汚染する頻度の高い食品媒介病原細菌に及ぼす影響を知る必要があるが、食肉で有効とされている二酸化炭素と酸素の混合ガスがそれらの細菌の発育に及ぼす影響に関する詳細な報告には接していない。

そこで、本研究では食品媒介病原細菌 7 種及び腐敗細菌 9 種を選び、それらの発育に対する混合ガス（二酸化炭素と酸素）の影響について検討を試みた。

実験方法

1. 供試菌株

本実験では下記の 16 菌種を供試した。その内訳は食品媒介病原細菌として *Aeromonas hydrophila* subsp. *hydrophila* IFO 13286, *Bacillus cereus* IAM 1110, *Salmonella typhimurium* IID 1000, *Staphylococcus aureus* FDA 209P, *Clostridium perfringens*, *Pseudomonas aeruginosa* IFO 12582, 東京都立衛生研究所より分与された *Listeria monocytogenes* の計 7 菌株。腐敗細菌として *Acinetobacter calcoaceticus* IFO 12552, *Escherichia coli* NIHJ JC-2, *Enterobacter cloacae* IAM 12349, *Flavobacterium lutescens* IFO 12997, *Lactobacillus viridescens* IFO3949, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Pseudomonas fluorescens* IFO 14160, *Pseudomonas fragi* IAM 1650, *Serratia liquefaciens* IFO 12979 の計 9 菌株である。

2. 供試菌接種法

各菌株の前培養は、*L. viridescens* が *Lactobacilli* MRS Broth (Difco 社製) を、*L. monocytogenes* は Trypticase Soy Broth (BBL 社製) を、*C. perfringens* は GAM ブイヨン (日水製薬(株)製) を、他の菌株についてはブレインハートインフュージョンブイヨン (栄研化学(株)製) をそれぞれ使用し、各菌株の適温で 2 回継代培養し供試菌液とした。更に供試菌液は、0.1% ペプトン水 (pH 7.0) を用いて、約 $10^2 \sim 10^3$ /ml になるように希釈を行った。これらの希釈菌液は *L. viridescens*, *L. monocytogenes*, *C. perfringens*, *S. aureus* の場合、前培養に用いた培地に寒天を加えた平板に、他の菌株については Standard method agar (BBL 社製) 4 枚の平板にそれぞれ 0.1 ml ずつ塗抹接種した。なお、*C. perfringens* については嫌気培養装置 (10% CO₂: 10% H₂: 80% N₂, Forma Scientific 社製) 内で培養を行い、希釈水には GAM ブイヨンを使用した。

3. 培養方法

希釈菌液を塗抹した平板 4 枚は KON/PE フィルム (ポリ塩化ビニリデンコートナイロン/ポリエチレン, 220×300 mm, 酸素透過度; 5~15 ml/m²·atm·24 hr, 水蒸気透過度; 7 g/m²·atm·24 hr) 袋に入れた後、ガス

置換包装機 (MULTIVAC, A300 型) でフィルム袋内の気相をそれぞれ 100% CO₂, 90% CO₂: 10% O₂, 80% CO₂: 20% O₂, 70% CO₂: 30% O₂, 60% CO₂: 40% O₂, 50% CO₂: 50% O₂, 40% CO₂: 60% O₂, 30% CO₂: 70% O₂, 20% CO₂: 80% O₂, 10% CO₂: 90% O₂, 100% O₂ に置換密封した。なお、実験に供したガスは、昭和炭酸(株)製の超高純度 99.99% 以上の二酸化炭素と酸素を使用した。密封後、*M. luteus*, *A. calcoaceticus*, *F. lutescens*, *P. fluorescens*, *P. fragi*, *A. hydrophila* は 30° で 72 時間培養を行い、他の 10 菌株については 37° で 48 時間培養した。一方、*C. perfringens* については、対照として嫌気培養装置内で培養を行い、その他の菌株についてはガスの代わりに通常の含気包装したものを対照とした。

4. 包装内の置換ガス組成の測定

包装内の置換ガス組成の確認は、ガスクロマトグラフィー (GC) により、次の条件で行った。

装置: (株)島津製作所製 GC-9A; カラム: WG-100 (直径 0.6 mm×1.8 m) (ガスクロ工業(株)製); カラム温度: 50°; 注入口温度: 50°; 注入量: 200 µl; キャリヤーガス: He (流量 50 ml/min); 検出器: TCD (50°)

5. ガス組成による集落の発育抑制効果の評価

ガス組成が菌の発育抑制に及ぼす効果の判定には、次のような方法を採用した。すなわち前述の方法により各菌を培養した後、寒天平板上に出現した集落の数を計測した。集落数は、分散分析法並びに D. B. Duncan の多重範囲検定法⁹⁾により各ガス組成間における有意差検定を行った。更にその平板上の集落から無作為に 20 個の集落を選び出し、その直径を実体顕微鏡 (Olympus, SZ 4045 型) を用いて測定した。得られた集落の直径の平均値については、Enfors ら⁹⁾の二酸化炭素の抑制効果の評価法を参考にして、次式から相対発育抑制割合 (Relative Inhibition: RI) を算出した。

$$RI = (d_c - d_x) \cdot d_c^{-1} \times 100$$

RI: 相対発育抑制割合 (%)

d_x : 試験ガス気相下での集落の直径 (mm)

d_c : 対照の集落の直径 (mm)

実験成績

1. 包装内の置換ガス組成の確認

包装内のガス組成は、置換された二酸化炭素、酸素及び両混合ガス (9 種類) が設定したガス組成となっているかを GC を用いて分析し、各ガス組成が設定したガス組成の ±1.5% 以内であることを確認した。

2. 通性嫌気性及び微好気性細菌の発育に及ぼすガス組成の影響

各ガス組成下における通性嫌気性並びに微好気性細菌の集落数及び相対発育抑制割合を Table 1, 2 に示した。

供試した 9 菌株は、すべてのガス組成で集落の増殖が認められ、集落数も統計的に有意差は認められなかった。

Table 1. Effects of Gas Ratio on Numbers of Colonies per Plate of Facultative Anaerobic and Microaerophilic Bacteria

Species	Gas composition (%)										
	100% CO ₂	90% CO ₂ /10% O ₂	80% CO ₂ /20% O ₂	70% CO ₂ /30% O ₂	60% CO ₂ /40% O ₂	50% CO ₂ /50% O ₂	40% CO ₂ /60% O ₂	30% CO ₂ /70% O ₂	20% CO ₂ /80% O ₂	10% CO ₂ /90% O ₂	Control (Air)
<i>S. aureus</i>	2.2±0.1 ^a	2.3±0.1	2.3±0.1	2.3±0.1	2.3±0.1	2.3±0.1	2.2±0.1	2.3±0.1	2.2±0.1	2.2±0.0	2.3±0.1
<i>B. cereus</i>	1.2±0.2	1.4±0.2	1.2±0.0	1.2±0.0	1.3±0.1	1.3±0.1	1.4±0.1	1.3±0.0	1.3±0.1	1.3±0.1	1.3±0.2
<i>A. hydrophila</i>	2.0±0.1	1.9±0.3	1.9±0.4	1.9±0.3	2.0±0.2	2.0±0.3	2.3±0.1	2.2±0.1	2.1±0.2	2.2±0.1	2.0±0.2
<i>E. coli</i>	1.7±0.2	1.8±0.1	1.5±0.5	1.8±0.2	1.5±0.1	1.2±0.6	1.2±0.3	1.2±0.1	1.3±0.2	1.3±0.4	1.5±0.4
<i>E. cloacae</i>	2.0±0.1	2.1±0.1	1.8±0.1	1.9±0.1	2.1±0.1	2.0±0.1	1.8±0.1	1.8±0.2	1.8±0.3	1.8±0.3	2.0±0.1
<i>S. typhimurium</i>	1.5±0.2	1.6±0.1	1.5±0.2	1.6±0.2	1.5±0.2	1.6±0.1	1.3±0.3	1.3±0.4	1.3±0.5	1.3±0.4	1.6±0.3
<i>S. liquefaciens</i>	2.0±0.3	2.0±0.1	2.1±0.1	2.0±0.1	2.0±0.1	2.0±0.1	2.0±0.1	1.9±0.1	2.0±0.1	2.0±0.1	1.9±0.1
<i>L. monocytogenes</i>	2.3±0.1	2.3±0.1	2.3±0.1	2.3±0.1	2.3±0.0	2.3±0.1	2.3±0.0	2.2±0.2	2.3±0.2	2.3±0.1	2.4±0.0
<i>L. viridescens</i>	2.1±0.1	2.1±0.1	2.1±0.0	2.2±0.1	2.2±0.1	2.1±0.1	2.1±0.1	2.1±0.1	2.2±0.0	2.1±0.1	2.2±0.1

^a: Means and standard deviations of log colony counts per plate from 3 to 4 plates**Table 2.** The Relative Growth Inhibitory Effect of Gas Ratio on Facultative Anaerobic and Microaerophilic Bacteria

Species	Gas composition (%)										
	100% CO ₂	90% CO ₂ /10% O ₂	80% CO ₂ /20% O ₂	70% CO ₂ /30% O ₂	60% CO ₂ /40% O ₂	50% CO ₂ /50% O ₂	40% CO ₂ /60% O ₂	30% CO ₂ /70% O ₂	20% CO ₂ /80% O ₂	10% CO ₂ /90% O ₂	Control (Air)
<i>S. aureus</i>	88 ^a	88	81	73	64	53	46	27	15	6	0
<i>B. cereus</i>	79	58	55	51	44	40	34	27	22	15	0
<i>A. hydrophila</i>	85	76	70	54	42	31	25	23	18	10	0
<i>E. coli</i>	88	77	64	58	47	35	28	15	11	3	0
<i>E. cloacae</i>	73	54	45	38	32	25	24	15	2	2	0
<i>S. typhimurium</i>	84	79	76	73	71	65	66	64	58	25	0
<i>S. liquefaciens</i>	88	87	87	87	80	54	45	31	22	6	0
<i>L. monocytogenes</i>	59	42	39	29	21	14	10	7	3	2	0
<i>L. viridescens</i>	16	17	14	19	19	18	20	20	23	30	0

^a: Relative inhibition (%) = $(d_c - d_x) d_c^{-1} \times 100$; where d_x is the average diameter of colonies in gas ratio, d_c is the average diameter of colonies in control.

Table 3. Effects of Gas Ratio on Numbers of Colonies per Plate of Aerobic Bacteria

Species	Gas composition (%)										
	100% CO ₂ /10% O ₂	90% CO ₂ /10% O ₂	80% CO ₂ /20% O ₂	70% CO ₂ /30% O ₂	60% CO ₂ /40% O ₂	50% CO ₂ /50% O ₂	40% CO ₂ /60% O ₂	30% CO ₂ /70% O ₂	20% CO ₂ /80% O ₂	10% CO ₂ /90% O ₂	Control (Air)
<i>M. luteus</i>	*a	1.8±0.1 ^b	1.7±0.1	1.8±0.1	1.8±0.2	1.9±0.1	1.8±0.1	1.8±0.2	1.7±0.0	1.8±0.1	1.9±0.1
<i>A. calcoaceticus</i>	— ^c	1.3±0.1	1.6±0.1	1.5±0.0	1.6±0.1	1.7±0.0	1.8±0.1	1.8±0.1	1.8±0.1	1.8±0.2	2.0±0.1
<i>F. lutescens</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1.8±0.1	1.8±0.0
<i>P. aeruginosa</i>	—	1.6±0.1	1.6±0.1	1.6±0.1	1.6±0.2	1.7±0.1	1.6±0.2	1.7±0.2	1.8±0.1	1.7±0.1	2.0±0.2
<i>P. fluorescens</i>	—	1.9±0.1	1.9±0.2	1.9±0.1	1.9±0.3	1.9±0.3	2.0±0.1	2.0±0.1	1.9±0.1	2.0±0.1	2.0±0.2
<i>P. fragi</i>	—	—	—	—	—	—	—	1.4±0.2	1.3±0.3	1.3±0.1	1.2±0.2

*a. Too minute colonies to count. ^b. Means and standard deviations of log colony counts per plate from 3 to 4 plates. ^c. No visible growth.
—: Underlined values are significantly different from values without underline ($p < 0.05$)

Table 4. The Relative Growth Inhibitory Effect of Gas Ratio on Aerobic Bacteria

Species	Gas composition (%)										
	100% CO ₂ /10% O ₂	90% CO ₂ /10% O ₂	80% CO ₂ /20% O ₂	70% CO ₂ /30% O ₂	60% CO ₂ /40% O ₂	50% CO ₂ /50% O ₂	40% CO ₂ /60% O ₂	30% CO ₂ /70% O ₂	20% CO ₂ /80% O ₂	10% CO ₂ /90% O ₂	Control (Air)
<i>M. luteus</i>	*a	90 ^b	77	66	52	41	28	23	12	3	0
<i>A. calcoaceticus</i>	100	75	68	52	37	21	8	7	23	37	56
<i>F. lutescens</i>	100	100	100	100	100	100	100	100	100	54	100
<i>P. aeruginosa</i>	100	76	66	60	52	42	40	40	33	13	0
<i>P. fluorescens</i>	100	93	90	83	74	54	44	31	14	0	22
<i>P. fragi</i>	100	100	100	100	100	100	100	40	29	0	16

*a. Too minute colonies to count. ^b. Relative inhibition (%)= $(d_c - d_x) d_c^{-1} \times 100$; where d_x is the average diameter of colonies in gas ratio, d_c is the average diameter of colonies in control.

Table 5. Effects of Gas Ratio on Growth of *C. perfringens*

Species	Gas composition (%)										
	100% CO ₂ /10% O ₂	90% CO ₂ /10% O ₂	80% CO ₂ /20% O ₂	70% CO ₂ /30% O ₂	60% CO ₂ /40% O ₂	50% CO ₂ /50% O ₂	40% CO ₂ /60% O ₂	30% CO ₂ /70% O ₂	20% CO ₂ /80% O ₂	10% CO ₂ /90% O ₂	Control ^a
Numbers of colonies	2.4±0.1 ^b	— ^c	—	—	—	—	—	—	—	—	2.5±0.1
Relative inhibition	13 ^d	100	100	100	100	100	100	100	100	100	0

^a. Anaerobic condition (10%: CO₂/10%: H₂/80% N₂ base). ^b. Means and standard deviations of log colony counts per plate from 3 to 4 plates. ^c. No visible growth. ^d. Relative inhibition (%)= $(d_c - d_x) d_c^{-1} \times 100$; where d_x is the average diameter of colonies in gas composition, d_c is the average diameter of colonies in control.

($p > 0.05$).

また、通性嫌気性菌 8 菌株の集落は二酸化炭素濃度が高いほどその直径が小さくなる傾向を示し、それに伴ない相対発育抑制割合も直線的に増加の傾向を示し、二酸化炭素による集落の発育抑制効果が認められた。各細菌の 100% CO_2 下における相対発育抑制割合についてみると、*S. aureus* が 88%, *B. cereus* が 79%, *A. hydrophila* が 85%, *E. coli* が 88%, *E. cloacae* が 73% といずれも高い値を示したのに対して、*L. monocytogenes* では 59% とやや低い値を示し菌株による差が認められた。特に酸素比が高まるにつれて相対発育抑制割合は低下する傾向を示した。一方、*S. liquefaciens* と *S. typhimurium* は二酸化炭素が低い組成でも菌の発育が抑制される傾向が認められた。しかし、*L. monocytogenes* では二酸化炭素の影響が少なく、相対発育抑制割合も 100% CO_2 のとき 59%, [60% CO_2 : 40% O_2] のとき 21% といずれも低い値を示した。次に微好気性菌である *L. viridescens* は通性嫌気性菌 8 菌株と異なり、二酸化炭素濃度が高い場合ほど集落が大きくなる傾向を示し、相対発育抑制割合も 100% CO_2 下では 16%, [80% CO_2 : 20% O_2] では 14% と低く、逆に 100% O_2 と [10% CO_2 : 90% O_2] では 30% と高くなる傾向を示した。

3. 好気性細菌の発育に及ぼすガス組成の影響

Table 3, 4 は、各ガス組成下における好気性細菌の集落数及び相対発育抑制割合をそれぞれ示したものである。

好気性菌の集落数については *M. luteus* のみが、100% CO_2 下で集落が確認されたものの、集落が非常に小さなため計測できなかった。他の菌株ではいずれも 100% CO_2 下での発育は認められず、*A. calcoaceticus* では二酸化炭素が 50% 以上で、*P. aeruginosa* では二酸化炭素が 60% 以上の場合有意に低い集落数を示した ($p < 0.05$)。 *P. fragi* と *F. lutescens* は、他の 4 菌株に比べて二酸化炭素の影響が強く認められた。すなわち *P. fragi* は二酸化炭素が 30% 以下のガス存在下のときに集落がみられ、特に *F. lutescens* については、他の菌が 100% O_2 組成下での発育が認められたのに対してこの菌では発育がみられず、発育が認められたガス組成は [10% CO_2 : 90% O_2] のみであった。 *F. lutescens* の発育には、ある程度の二酸化炭素が関与するのではないかと考えられるが、この点については不明であり今後検討する必要があると考える。

また、相対発育抑制割合も、好気性菌は通性嫌気性菌よりも二酸化炭素の影響を強く受ける事実を認めた。すなわち *M. luteus*, *P. aeruginosa* 及び *P. fluorescens* は、二酸化炭素の比率が低くなるにつれて相対発育抑制割合も直線的に低下する傾向を示した。 *F. lutescens* は [10% CO_2 : 90% O_2] 下でのみ発育を示し、相対発育抑制

割合は 54% で今回供試した菌株中、二酸化炭素による影響が最も強かった。 *P. fragi* は二酸化炭素が 30% 以下の場合に集落が確認され、その時の相対発育抑制割合は 40% を示したが、[10% CO_2 : 90% O_2] 下では -16% と負の値を示した。

特に 100% O_2 下では、*A. calcoaceticus*, *P. aeruginosa*, *P. fluorescens* 及び *P. fragi* の発育促進が観察され、特に *A. calcoaceticus* では、酸素比率が 70% 以上の場合に集落の発育が促進され、100% O_2 では -56% と大きな負の値を示した。

4. 偏性嫌気性細菌の発育に及ぼすガス組成の影響

Table 5 は、各ガス組成下における *C. perfringens* の発現、集落数及び相対発育抑制割合を示したものである。

C. perfringens は他の通性嫌気性菌、微好気性菌、好気性菌の菌株と異なり、酸素を含むガス組成では発育が認められなかった。100% CO_2 下のみに発育が認められ、発育した集落数は有意差がみられなかったが、集落の直径については対照に比べ小さく、相対発育抑制割合は 13% であった。

考 察

微生物に対する二酸化炭素の発育抑制メカニズムとしては、細胞膜を通過した二酸化炭素が細胞内に浸透し、その細胞内酵素系を障害する説¹⁰⁾、脱水素酵素に対する妨害¹¹⁾あるいはいくつかの酵素の活性が障害されることにより、脱炭酸反応などの代謝活性が抑制されるとする説¹²⁾などがあげられているが、いまだにそのメカニズムは解明されていない。しかし、各酵素の活性阻害と生化学的な代謝の抑制などの相乗作用が細菌の誘導期や世代時間の延長を招くものと考えられている。

今回の結果からも、二酸化炭素については通性嫌気性細菌及び好気性細菌の発育に対する抑制効果が認められ、特に好気性細菌に対する発育抑制効果が顕著であった。 Haines *et al.*¹¹⁾, Ogilvy *et al.*¹³⁾, Gill *et al.*¹⁴⁾, Enfors *et al.*⁹⁾ の報告にみるように、二酸化炭素濃度 (比率) が高いほど細菌の発育抑制率が高いことが認められた。一方、King *et al.*¹⁵⁾, Gill *et al.*¹⁶⁾, Molin¹⁷⁾, Tan *et al.*¹⁸⁾ は、タンパク質や脂肪に対する分解活性の強い *Pseudomonas* の発育に対する二酸化炭素の影響について検討し、二酸化炭素が *Pseudomonas* の発育を強く抑制する事実を報告している。今回の結果でも *Pseudomonas* を含む好気性細菌は、二酸化炭素による影響を強く受けやすいことが示唆された。これに対して食肉製品の「緑変」の汚染細菌として知られている *L. viridescens*¹⁹⁾ に対しては二酸化炭素よりも酸素の方が発育抑制効果が強い事実が認められたが、両ガス及び混合ガスとも本菌に対して有効な抑制効果はみられなかった。 Molin *et al.*⁷⁾ も *L. viridescens* が、他の乳酸菌と同様に二酸化炭素の影響を受けにくいことを報告している。他方、好気性菌や通

性嫌気性菌の発育抑制には 100% 二酸化炭素が最も有効である事実が認められているが, *C. perfringens* では 100% 二酸化炭素でのみ発育が認められ, 二酸化炭素単独で発育を抑制することが不可能なところから, ガス置換包装では, 二酸化炭素と酸素の混合のガスを用いる方が, 本菌の発育抑制に効果があると考ええる。

一方, 今回検討した食品媒介病原細菌の発育に対するガス組成の影響は少ないものの, 腐敗細菌の発育抑制に効果のある二酸化炭素を多く含む組成については, 食品媒介病原細菌に対しても同様に発育を抑制する効果が認められた。食品媒介病原細菌と腐敗細菌との間には, 明確なガスによる効果の差は認められなかった。

一般に食品中にみられる汚染細菌や食中毒起因菌には中温細菌が多いことから, 低温保持による細菌の発育抑制が行われているので, 低温保持とガス置換包装の両者を組み合わせることで細菌の発育を抑制することができる。このことについては, 実際に Enfors *et al.*⁹⁾, Gill *et al.*¹⁴⁾, Eklund *et al.*²⁰⁾ によっても検討され, 低温保持と二酸化炭素の相乗的な細菌の抑制効果を認めたと報告している。これは温度の低下に伴う微生物の世代時間の延長と培地中に溶存する二酸化炭素量の増加による pH の低下が主な要因と考えられる。従って低温と二酸化炭素の併用は細菌の発育抑制に効果的な手段ではあるが, 低温性の通性嫌気性菌の存在を考慮すると, この種の菌を対象とした検討が必要と思われる。今後更に食品媒介病原細菌と各種細菌の共存下でのガスの影響やこれらの菌の発育に及ぼすガスと温度の関係についても検討が必要である。

要 約

食品媒介病原細菌を含む 16 種の細菌と対象に, 二酸化炭素, 酸素並びに二酸化炭素と酸素の混合ガスの影響を知るために実験的な検討を試み, 次のような成績を得た。

1) 通性嫌気性細菌 8 菌種については, 今回検討したガス比率では, 集落の形成を阻止する効果は認められなかった。また, 二酸化炭素の占める割合が高まるにつれて発育抑制割合の値も高くなった。

2) *L. viridescens* に対しては, 二酸化炭素, 酸素並びに両混合ガスによる発育抑制効果は認められなかった。

3) 100% 二酸化炭素下では好気性細菌 6 菌種のうち *M. luteus* を除き, *A. calcoaceticus*, *F. lutescens*, *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *P. fragi* はいずれも発育は認められなかった。なお, *P. fragi* は二酸化炭素 30% 以下の場合に発育が阻止され, *F. lutescens* は 10% 二酸化炭

素と 90% 酸素比率のみ発育が認められた。集落の大きさは二酸化炭素比率が高まるにつれて縮小した。好気性細菌は通性嫌気性細菌, 微好気性細菌に比べて二酸化炭素に対する影響が強く認められた。

4) 今回検討した酸素を含むガス組成では *C. perfringens* の発育は阻止された。

以上, 二酸化炭素, 酸素及び二酸化炭素と酸素の混合ガスは, 細菌の発育を抑制する上で有効な因子の一つであることを認めた。

本論文の要旨は日本食品衛生学会第 63 回学術講演会 (1991 年 11 月, 富山市) において発表した。

謝 辞

供試菌を分与された東京都立衛生研究所小久保彌太郎博士に深謝致します。

文 献

- 1) Valley, G., Rettger, L. F.: J. Bacteriol. **14**, 101~137 (1927).
- 2) Valley, G.: Rev. Biol. **3**, 209~224 (1928).
- 3) Killeffer, D. H.: Ind. Eng. Chem. **22**, 140~143 (1930).
- 4) Callow, E. H.: J. Soc. Chem. Ind. **51**, 116T~119T (1932).
- 5) Coyne, F. P.: *ibid.* **51**, 119T~121T (1932).
- 6) Tomkins, R. G.: *ibid.* **51**, 261T~264T (1932).
- 7) Molin, G.: Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. **18**, 214~217 (1983).
- 8) 柴田寛三: “新・生物統計学序説” p. 87~95, (1985), 創文, 東京。
- 9) Enfors, S.-O., Molin, G.: Can. J. Microbiol. **27**, 15~19 (1981).
- 10) Coyne, F. P.: Proc. Roy. Soc., ser. B. **113**, 196~217 (1933).
- 11) Haines, R. B.: J. Soc. Chem. Ind. **52**, 13T~17T (1933).
- 12) King, A. D., Nagel, C. W.: J. Food Sci. **40**, 362~366 (1975).
- 13) Ogilvy, W. S., Ayres, J. C.: Food Res. **18**, 121~130 (1953).
- 14) Gill, C. O., Tan, K. H.: Appl. Environ. Microbiol. **39**, 317~319 (1980).
- 15) King, A. D., Nagel, C. W.: J. Food Sci. **32**, 575~579 (1967).
- 16) Gill, C. O., Tan, K. H.: Appl. Environ. Microbiol. **38**, 237~240 (1979).
- 17) Molin, G.: J. Gen. Microbiol. **129**, 2,885~2,891 (1983).
- 18) Tan, K. H., Gill, C. O.: Meat Sci. **7**, 9~17 (1982).
- 19) Niven, C. P., Evans, J. B.: J. Bacteriol. **73**, 758~759 (1957).
- 20) Eklund, T., Jarmund, T.: J. Appl. Bacteriol. **55**, 119~125 (1983).