

えひめ食品賞味期限延長技術開発事業

－UV 照射殺菌による賞味期限延長技術の開発－

藤田雅彦 石井佑治 渡部将也 井上寛之 續木康広 渡邊雅也 藤本真人 中西秀明

青野光男 兵頭紋佳 菊地毅洋 笹山新生 上田浩晶 畑 明寿*¹ 太田奈保美*¹

宮前二郎*¹ 藤谷 登*² 白川 宰*³ 日野弘喜*³

Ehime food expiration date extension technology development project
-Development of shelf life extension technology using UV sterilization-

FUJITA Masahiko, ISHII Yuji, WATANABE Masaya, INOUE Hiroyuki, TSUZUKI Yasuhiro,
WATANABE Masaya, FUJIMOTO Manato, NAKANISHI Hideaki, AONO Mitsuo, HYODO Ayaka,
KIKUCHI Takehiro, SASAYAMA Shinsei, UEDA Hiroaki, HATA Akihisa, OTA Nahomi, MIYAMAE Jiro,
FUJITANI Noboru, SHIRAKAWA Osamu and HINO Koki.

近年の食品を取り巻く社会情勢(安心・安全、SDGs、食品ロス軽減等)から、食品殺菌技術を使用した賞味期限延長の取組みが進んでいる中で、非加熱殺菌技術を用いた食品の賞味期限延長に繋がる技術の開発に向け、UV 照射による加工食品への殺菌効果及び影響の調査、UV 照射量可視化技術の開発、UV 照射に適した包材の開発を実施した。

食肉加工品においては 90%以上の微生物抑制率と、10 日以上の賞味期限延長効果、旨味成分である遊離アミノ酸量の増加などを確認したほか、腐敗原因菌の同定も行った。

UV 照射量可視化技術の開発では、コロジオンとクルクミン色素、NaOH を混合した UV 反応塗料において目視で確認した退色量と分光測色計で測定した色差に相関性が確認できた。

UV を透過する包装資材について検討した結果、ガスバリア PE フィルムを用いたものでは高い UV 透過率、ガスバリア性、ヒートシール性を有しており、鶏むね肉において 95%の高い殺菌率を示した。

キーワード：賞味期限延長、UV、殺菌

はじめに

近年の食品を取り巻く社会情勢(安心・安全、SDGs、食品ロス軽減等)から、食品殺菌技術を使用した賞味期限延長の取組みが進んでいるが、一般的な加熱殺菌では、食材が本来もつ、味、見た目、食感、栄養素等が消失することが課題である。

本研究では、UV 照射による非加熱殺菌技術を確立させ、食材が本来もつ、味、見た目、食感、栄養素(機能性含む)を保持させたまま、賞味期限延長に繋がる技術の開発に向け、加工食品への UV 照射による殺菌効果の検証及び UV 照射の与える食品への影響の調査を行った。また UV 照射実用化に向けた技術として、UV 照射量可視化技術の開発及び UV 照射に適した包材の開発を行ったので報告する。

実験方法

1. 食肉加工品の消費期限延長可能性の検討

ベーコン及びウインナーについて波長 280nm、積算光量 50mJ/cm² の UV 照射を行い、4℃一定温度

* 1 岡山理科大学獣医学部 * 2 岡山理科大学総合企画局 * 3 東芝ライテック株式会社
この研究は、「えひめ食品賞味期限延長技術開発事業」の予算で実施した。

にて保存した。その後、標準寒天培地法にて経時的に一般生菌数を計測し、消費期限設定基準である 5000 CFU/g までの到達日数を算出した。

また、スモークチキン及びスパイスハムに対し、積算光量 50mJ/cm² の照射を行い、未照射の対照区と併せてそれぞれ消費期限である 44 日及び 35 日間、10°C 一定温度にて保存し、ベーコン及びウインナーと同様の標準寒天培地法にて一般生菌数を計測した。

2. 食肉加工品の腐敗原因菌の特定

食肉加工品の腐敗原因菌特定のため、培地上に生育した微生物のコロニー外観を確認した。続いて菌体をスライドグラスに塗抹しグラム染色を施し、光学顕微鏡(Leica 製 DM750)にて形態と染色性を観察し、細菌と真菌を分類した。細菌の場合は、菌体の配列、グラム陽性・陰性、球菌・桿菌、芽胞形成の有無について確認を行った。真菌の場合は糸状菌・酵母の分類を行った。

微生物種の同定には質量分析法と遺伝子解析法を用いた。前者では MALDI-TOF-MS AXIMA 微生物同定システム(島津製作所製)を用いた。後者は、細菌と真菌の rRNA 遺伝子をコードする DNA 配列解析により行った。細菌の解析には Bacterial 16S rDNA PCR Kit Fast (800)、真菌では Fungal rDNA(ITS1) PCR Kit Fast 及び Fungal rDNA(D1/D2) PCR Kit Fast を用いた(いずれもタカラバイオ株式会社製)。得られた DNA 配列情報を BLAST(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)での相同性解析に供し、最も近縁の菌種を検査結果とした。

3. UV 照射による旨味成分への影響

積算光量 100mJ/cm² の照射を行い、ウインナーで 0 日、27 日及び 42 日、ベーコンで 0 日、42 日及び 60 日間 10°C にて保存した食肉加工品の遊離アミノ酸量の測定を行った。50mL 遠沈管に粒状ビーズ約 10 g とサンプルを約 2 g 正確に測り取り、5%(w/v)トリクロロ酢酸(TCA)溶液を 10mL 加え、縦振り型振とう機で 10 分間振とうした。その後、4°C で 30 分間静置し、遠心分離(4°C、7000rpm、10 分間)し、上清を 15mL 遠沈管に分取した。脱脂のため、分取した上清にヘキサン 2 mL を加え振とうし、遠心分離後、ヘキサン層をパスツールピペットで除去した。脱脂操作を 3 回行った後、50mL ナスフラスコへ移し、消泡剤を数滴加え、エバポレーターにて濃縮乾固した。残留する TCA 除去のため、超純水を加えて洗浄後、エバポレーターで濃縮乾固する操作を 3 回繰り返した。最後に、内容物を pH2.2 クエン酸リチウム緩衝液で洗いこみながら 5 mL メスフラスコに移し、定容後、0.20µm メンブレンフィルターでろ過し試料溶液とした。得られた試料溶液について、自動アミノ酸分析装置(日立ハイテクノロジーズ製 L-8900)により遊離アミノ酸量を分析した。

4. 天然由来クルクミン色素を用いた UV 照射量可視化技術の開発

UV 照射量を可視化する色素として天然の食用色素であり、光に対して応答性が高く、変退色が大きいクルクミン色素(東京化成工業株式会社製)を使用した。0.5mol/L NaOH の添加量によってクルクミン色素の色味が変わり、脱色性に違いがあったことから、コロジオン(5.0mass%)2000µl、0.1mass%クルクミン色素(95%エタノール溶液)7000µl に 0.5mol/L NaOH を 0~1000µl 添加し、余剰分はエタノールを加え、全量を 10ml とし UV 反応塗料を調整した。混合液にろ紙(5 B、55mm(ADVANTEC 製))を浸した後、乾燥したろ紙を UV 照射の試料とした。塗料を固定したろ紙に紫外線照射装置(東芝ライテック株式会社製)を用いて、積算照射エネルギーが 50~400 mJ/cm² の範囲で UV を照射した。ろ紙一枚で UV 照射有無の色を確認できるよう、ろ紙の上半分をアルミホイルで覆い UV を照射した。また、UV 照射有無の色を測定するため、分光測色計(コニカミノルタ株式会社製 CM-5)を使用した。L*は明度を、a*、b*は色相と彩度を示している。測定は、UV 照射有無のろ紙の各部の色彩をそれぞれ測定し、その差を ΔL*、Δa*、Δb* で示し、色差 ΔE* を下記式(A)にて算出した。

$$\Delta E^* = \{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2\}^{1/2} \quad (A)$$

5. 紫外線透過及びガスバリア性を有する UV 照射殺菌に適した包材の開発

ガスバリア PE(膜厚：約 30µm、酸素ガス透過度：10cc/m²・day・atm、紫外線透過率：約 77%(200~400nm))の加工性を評価するため、ヒートシール接着性能を評価した。

ガスバリア PE を 100mm×30mm の短冊状に切出し、内側同士を熱傾斜試験機(株式会社東洋精機製作所製 No.884)でヒートシールした。スタンドシーラー(石崎電機製作所製 NL-602PS)を用い、ヒートシール温度は 110°C~140°C とし、処理した短冊から、ヒートシール部が中央となるように 15mm 幅の試験片を切り出し、引張試験に供した。引張試験は、万能材料試験機(株式会社エー・アンド・デイ製

RTE-1210)を用い、引張速度 300mm/min で実施した。

次に、ガスバリア PE を約 100mm×100mm に切り出した後、2枚のシートを重ね3辺をヒートシールすることで袋状に加工した。袋状に加工したガスバリア PE に、30mm×50mm に切った鶏むね肉サンプルを入れ、真空包装した後、照射強度 100mJ/cm²の UV 照射を実施した。その後、一般生菌数を測定し、下記式(B)から殺菌率を算出した。また、対照区として市販のレトルトパックを用い、同様の手順で UV 殺菌を行い、一般生菌数を測定した。

$$\text{殺菌率} = \text{UV 照射後の鶏むね肉の一般生菌数} / \text{UV 照射前の一般生菌数} \times 100 \quad (\text{B})$$

結果と考察

1. 食肉加工品の消費・賞味期限延長可能性の検討

ベーコン及びウインナーの一般生菌数の推移は図1のとおり。UV 処理区において、5000 CFU/g までの到達日数はベーコンで約 10 日、ウインナーで約 15 日の延長効果が見られた。

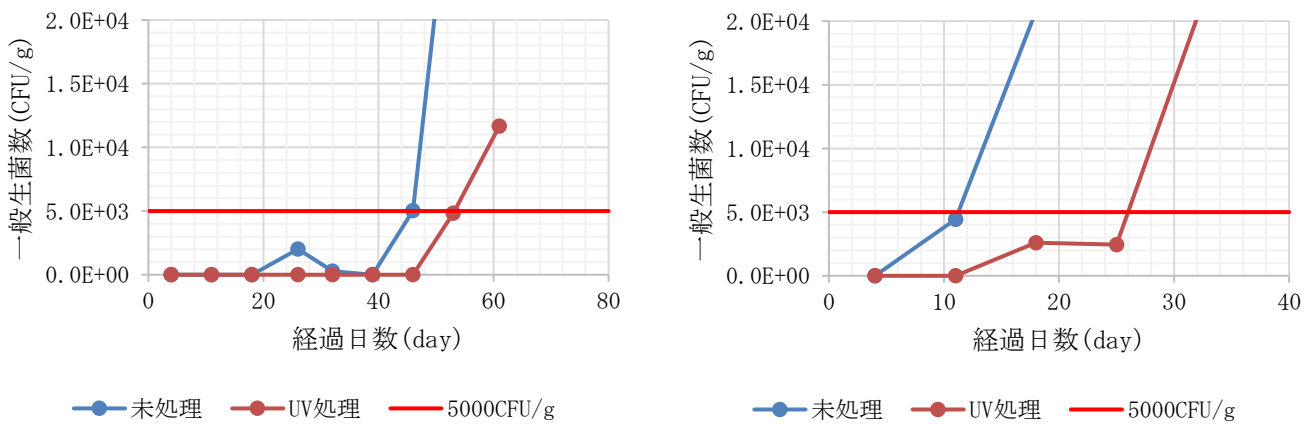


図1 ベーコン(左)及びウインナー(右)の一般生菌数の推移

スモークチキン及びスパイスハムを対象にした UV 照射による一般生菌数抑制効果は図2のとおり。スモークチキンでは -1 log(菌抑制率 91%)程度の一般生菌数抑制効果が確認できた。スパイスハムでは UV 照射による菌数抑制効果が確認できなかった。これは、スパイス内部に生育する微生物に対して UV 光が届かなかったことやスパイス内部に生育する菌種のうち約 40%を占める芽胞菌が UV 照射線量では殺菌できないことなどに起因すると考えられる。本試験では積算光量 50mJ/cm²の UV を照射したが、芽胞菌の不活性化光量は 163mJ/cm²であり、殺菌可能な光量には達していない。上述の理由から、表面をスパイスで覆うような製品に関しては、UV 照射による殺菌は困難であることが示唆される。

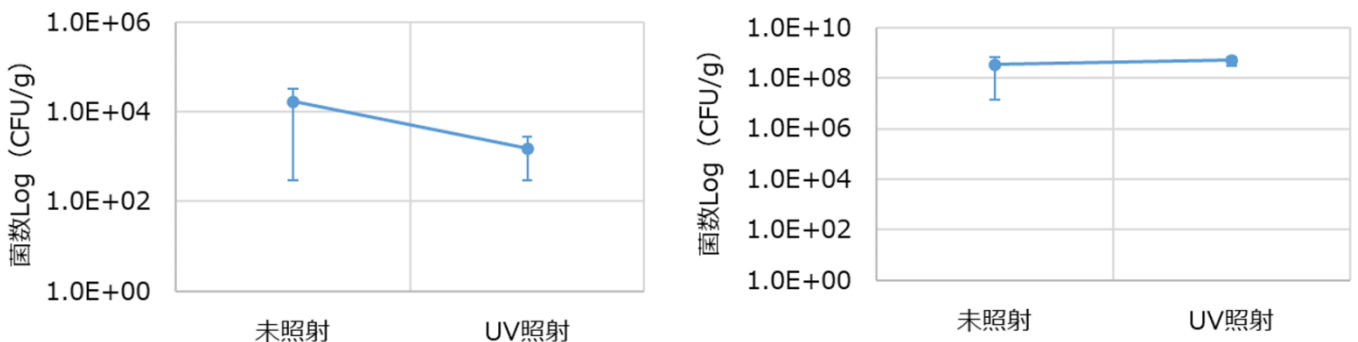


図2 UV 照射によるスモークチキン(左)及びスパイスハム(右)の一般生菌数の変化

2. 食肉加工品の腐敗原因菌の特定

ベーコンに由来する微生物の特定を行った。培地上でのコロニー形態、光学顕微鏡像(400倍、1,000倍)、菌種特定結果は図3のとおり。腐敗した食肉加工品から検出された微生物の特定を行った結果、*Candida* 属(真菌)、*Paenibacillus* 属、*Kocuria* 属(細菌)が検出された。文献調査²⁾³⁾⁴⁾を行ったところ、これらの微生物は食品腐敗菌として認識されており、食品への混入経路や汚染源について先行研究の知見が存在した。

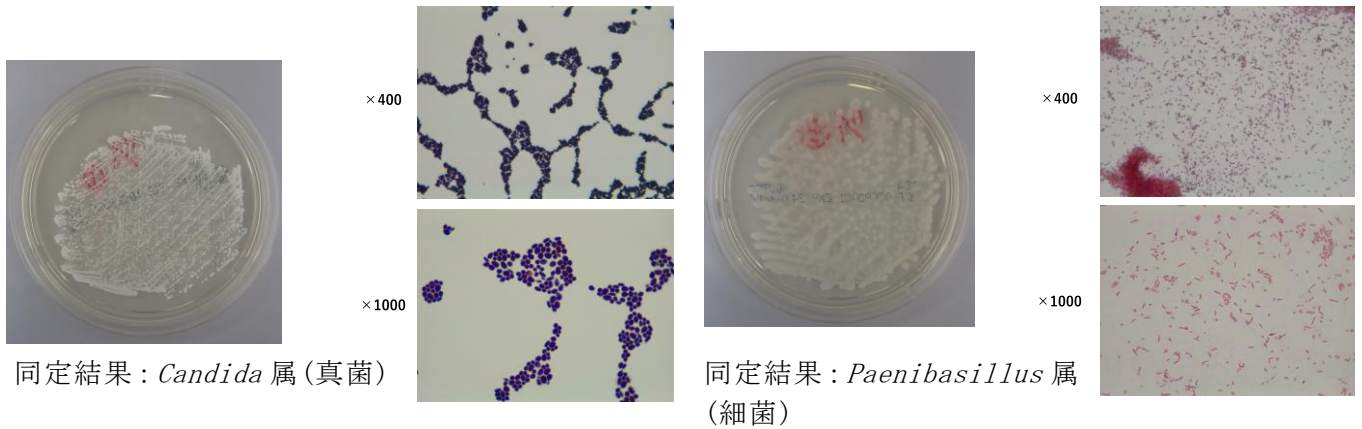


図3 食肉加工品腐敗原因菌のコロニー形態及び光学顕微鏡像

3. UV照射による旨味成分への影響

UV照射後のベーコンについて、遊離アミノ酸(18種)分析を実施した。結果は図4のとおり。

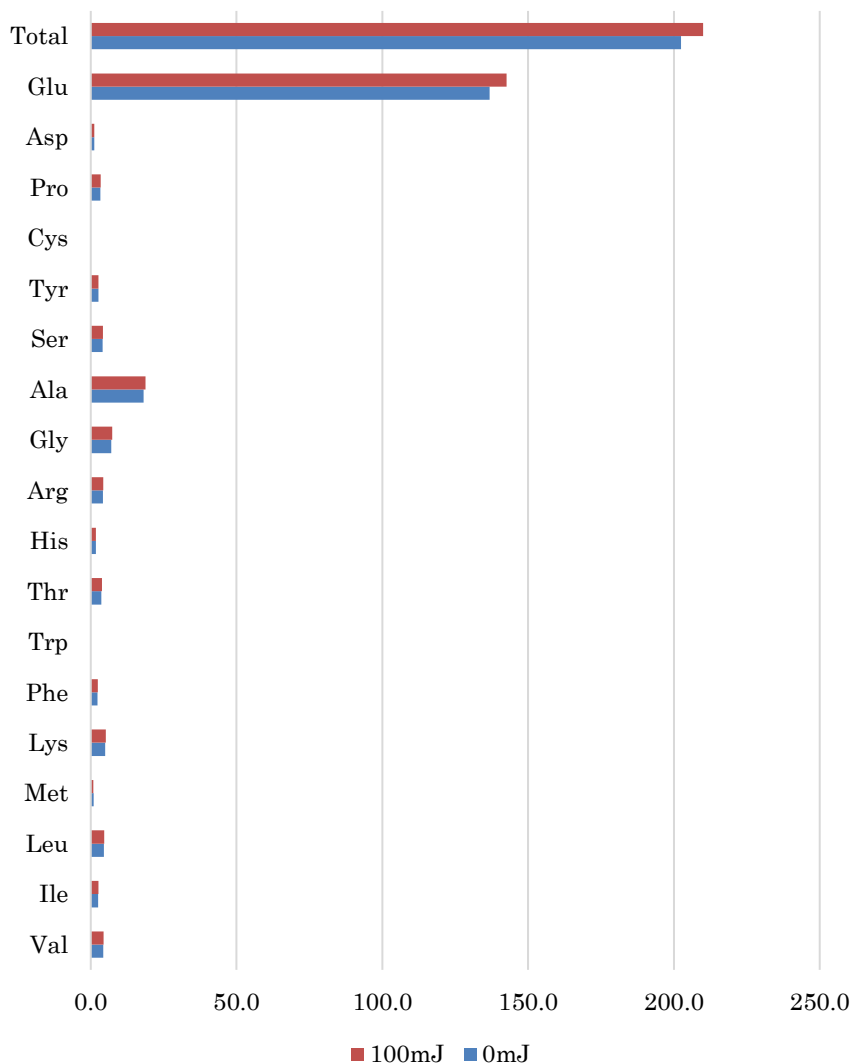


図4 UV照射によるベーコンの遊離アミノ酸量の変化

UV 照射によりベーコンの遊離アミノ酸量が増加する傾向がみられた。遊離アミノ酸のうち増加傾向がみられたものはアラニン、グルタミン酸などであった。呈味に大きく関わる旨味成分であるグルタミン酸の増加は呈味閾値 0.02%以下であり、旨味が大幅に向上するといった呈味への影響はほとんどないものと考えられる。

また、UV 照射を行ったサンプルを長期保存した場合の遊離アミノ酸変化は図 5 のとおり。未照射のものと比較して UV 照射を行ったものでは、保存期間を経ることで遊離アミノ酸総量が有意に増加する傾向が見られた。遊離アミノ酸の内特に旨味成分であるグルタミン酸の増加量が大きく、呈味が向上している可能性が示唆される。ベーコンを対象にした UV 照射による遊離アミノ酸の増加について、そのメカニズムははっきりしておらず、増加要因についてはさらなる検討の余地がある。

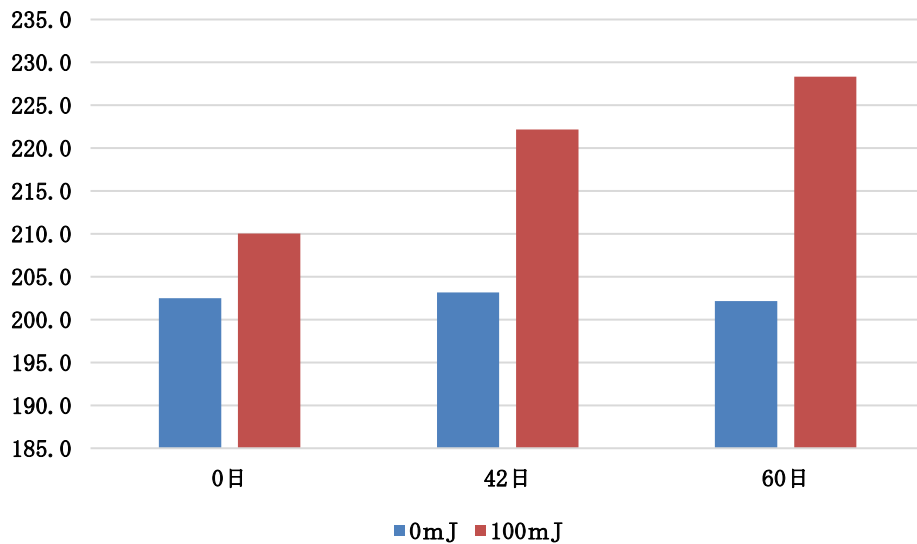
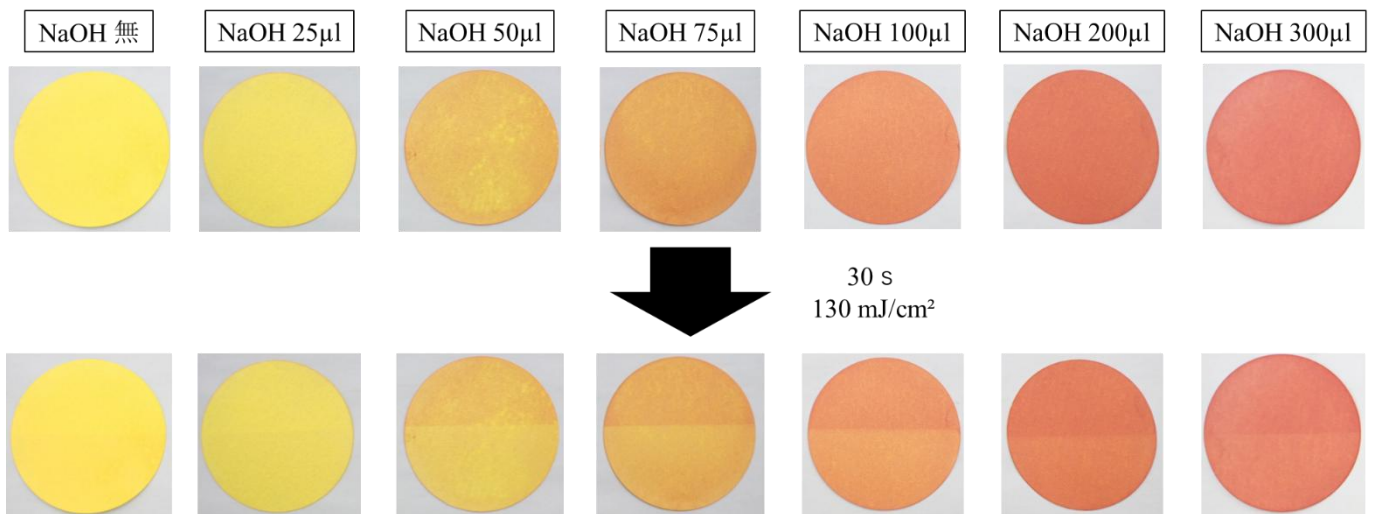


図 5 UV 照射後の長期保存によるベーコンの遊離アミノ酸総量の変化

4. 天然由来クルクミン色素を用いた UV 照射量可視化技術の開発

NaOH の添加量を検討するため、UV 反応塗料をろ紙に固定して、UV 照射を 30s 行った結果を図 6 に示す。その結果、NaOH の量が少ない、または多い場合には目視で脱色が見られず、50~500 μ l の間では目視で脱色が確認できた。脱色が確認できた中でも、50~200 μ l の間ではより脱色されていることが目視で確認でき、UV 照射によるクルクミンの脱色には NaOH の添加量が重要であることが確認された。



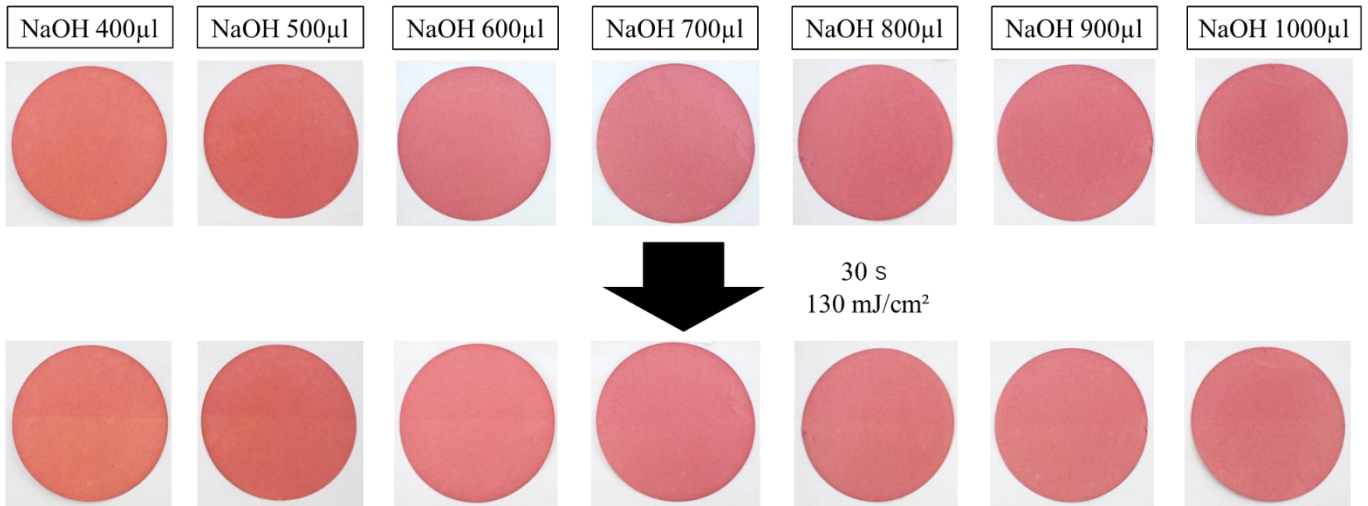


図6 水酸化ナトリウム添加量の検討による UV 脱色試験結果

上述にて目視でより脱色が確認された NaOH 添加量 75μl について、脱色が確認できる積算照射エネルギー範囲を把握するため 50、100、150、200mJ/cm²で UV 照射を行った結果を図7に示す。また、脱色されていない部分と脱色された部分を分光測色計で測定し、 ΔE^* を算出した結果を図8に示す。その結果、図7に示すとおり、積算照射エネルギーが高くなるにつれて目視で色差がよりはっきりしており、図8では、積算照射エネルギーが高くなるにつれて、色差 ΔE も上昇していた。また、線形の近似曲線により、積算照射エネルギーに対する ΔE^* の相関が見られた。

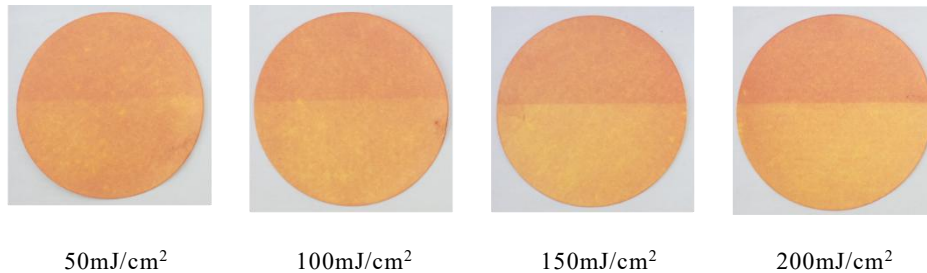


図7 積算照射エネルギーの違いによる UV 脱色試験結果

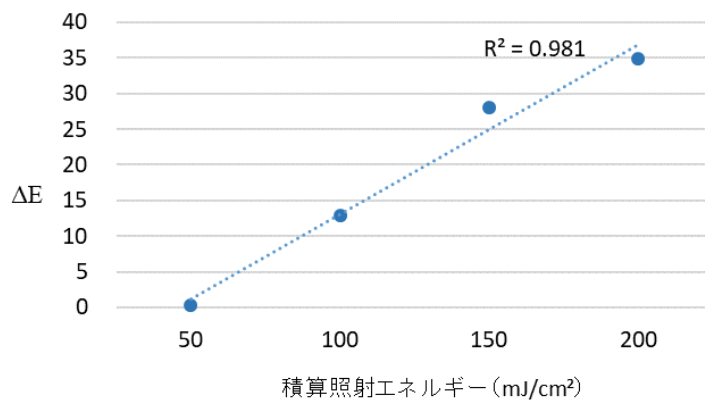


図8 積算照射エネルギーにおける色差 ΔE の結果

5. 紫外線透過及びガスバリア性を有する UV 照射殺菌に適した包材の開発

ガスバリア PE のヒートシール引張試験の結果を表1に示す。結果から、ヒートシール温度 120°C 以下の試験片では、ヒートシール部で破断が見られ、十分に接着ができていないことがわかった。対して、ヒートシール温度 130°C 以上の試験片では、降伏点を超えても破断は見られなかった。このことから、ガスバリア PE フィルムは、130°C 以上のヒートシール加工において、良好な接着性が得られることがわかった。

表1 ヒートシール引張試験

ヒートシール温度(°C)	110	120	130	140
ヒートシール強度(N)	0.021	0.077	7.2	7.6
破断箇所	ヒートシール部	ヒートシール部	破断せず	破断せず

図9に鶏むね肉のUV殺菌試験の結果を示す。結果から、ガスバリアPEを用い、UV照射を行った鶏むね肉では、約95%の殺菌効果が確認できた。一方で、既存のレトルトパックでは、殺菌率が約60%であり、殺菌効果の低下が見られた。これは、市販レトルトパックでは、ガスバリア層に紫外線透過率の低いPETフィルムが使用されているためと考えられる。

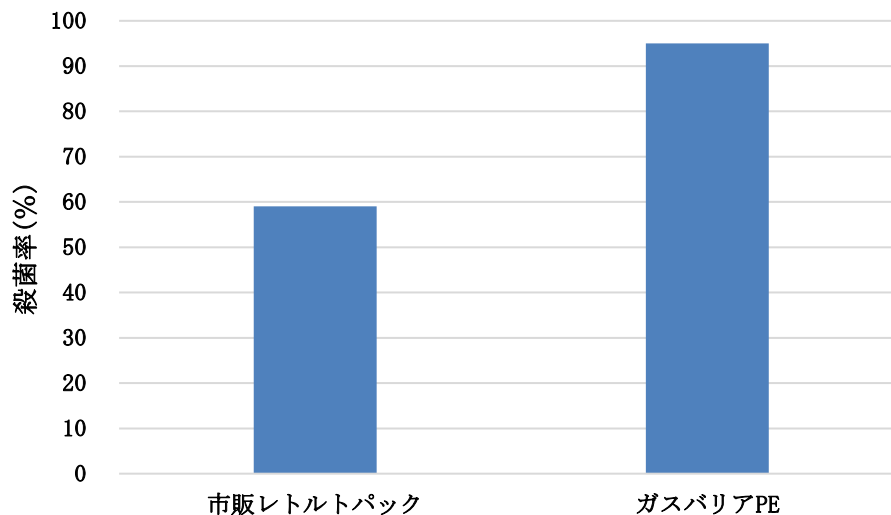


図9 鶏むね肉のUV殺菌効果試験

ま と め

UV照射を用いた食品賞味期限延長技術を開発するため、食肉加工品へのUV殺菌技術の評価、UV照射量の可視化及びUV殺菌に適した包材の検討を行った結果、以下の成果が得られた。

1. 食肉加工品へのUV殺菌を実施したところ、ベーコン及びウインナーについてそれぞれ約10日及び約15日の消費期限延長効果が確認できた。スモークチキンでは10°C一定温度、消費期限である44日保存後の検体において90%以上の一般生菌抑制効果を示した。一方で、食品表面をスパイスが覆った形状のスパイスハムでは殺菌効果が著しく減衰した。
2. ベーコンの腐敗原因菌として *Candida* 属(真菌)、*Paenibacillus* 属、*Kocuria* 属(細菌)が検出された。
3. UV照射による旨味成分への影響を調査したところ、ベーコンへのUV照射により遊離アミノ酸の増加傾向が見られたが、呈味への影響はほとんどないことが分かった。また、UV照射した後、保存期間を経ることで遊離アミノ酸総量、グルタミン酸量が増加し、呈味が向上する可能性が示唆された。
4. クルクミン色素をUVで脱色するためには、適量のNaOHが必要であることが確認された。また、コロジオンとクルクミン色素、NaOHを混合したUV反応塗料において、目視で確認した退色量と分光測色計で測定した色差に相関性が見られた。
5. ガスバリアPEは130°C以上の条件で、良好なヒートシール加工が可能であった。またガスバリアPEを用いたUV殺菌試験では、殺菌効果が約95%であり、市販レトルトパックと比較し高いUV殺菌効果が確認できた。

文 献

- 1) Sri Bagiwati 他：香辛料中の微生物分布と放射線殺菌効果，食品照射，**20**，23-26(1985).
- 2) アース環境サービス：ESCO News Letter Vol.11(1)(2020).
- 3) Savini V 他：Drug sensitivity and clinical impact of members of the genus *Kocuria*, J Med Microbio, **59**-12(2010).
- 4) 加藤 寛子 他：Paenibacillus 属細菌はバイオフィルム中に高い芽胞を形成する，2016 JSME annual meeting, P-021.