

— 資 料 —

大腸菌へのマイクロ波照射の影響

達 牧 子 中 村 智英子

The Effects of Microwave Radiation on *Escherichia coli*

Makiko TSUJI Chieko NAKAMURA

Abstract

We examined the survival and acid resistance of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 (EHECO157) in foods irradiated by microwave (2.45 GHz, 700 W, 7 s) with a domestic microwave oven. When the microwave irradiated foods inoculated with the cells at the cell density of 3×10^6 cells/g, the living cell number decreased below 65%. The cells in curry showed the lowest survival ratio (2%) among those in foods examined. Acid resistance of the cells in foods irradiated by the microwave was also effectively reduced below 10% irrespective of foods surveyed. Microwave could prove useful for reducing the living cell number and acid resistance of EHEC O157 in foods.

キーワード：大腸菌 O157 : *Escherichia coli* O157

マイクロ波照射食品：foods irradiated by microwave

酸耐性：acid resistance

緒 言

腸管出血性大腸菌 O157 (Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157, EHEC O157) は、1982年に初めて食品媒介性病原体として認識され¹⁾、今日では世界中で公衆衛生の脅威となっている。EHEC O157はベロ毒素産生大腸菌 (verocytotoxin-producing *E. coli*: VTEC) の一種である。EHEC O157は、数細胞でも経口感染すると報告され²⁾、この高い感染力は消化管で生存可能な本菌の高い酸耐性と関連する³⁾。本菌の酸耐性は、生育環境や生理学的状態によって変動することが報告され⁴⁾、本菌が混入して増殖する食品の種類によって酸耐性が異なることも報告されている⁵⁾。しかし、食品に混入した本菌に電子レンジ処理を行った場合の酸耐性の変化に関してはこれまで報告が無い。食品の電子レンジ処理は、マイクロ波の電磁波としてのエネルギーを熱に変換して食品を加熱する方法である。本法は調理時間の短縮や省エネの観点から優れているため⁶⁾、電子レンジ処理は汎用的な調理法となっている。現在、電子レンジのマイクロ波は米国連邦通信委員会が指定した0.915および2.45 GHz という共通の周波数で広く使用されている。食品にマイクロ波を照射すると、食品を汚染している微生物は加熱時間に依存し

てある程度殺菌される。Apostolou ら⁷⁾は、トリ肉20 gの表面に 10^5 - 10^6 cfu/gで接種したEHEC O157は、家庭用電子レンジの最大出力で35秒間マイクロ波照射した後（最終平均表面温度は69.8℃）も生存することを報告した。マイクロ波照射による大腸菌細胞の破壊は、主に照射時間に依存する加熱効果のため⁸⁾と報告されているが、短時間の電子レンジ処理で食品を完全に殺菌することは困難である。また、電子レンジは食事の直前に汎用されることから、電子レンジ処理後も生存するEHEC O157の酸耐性を明らかにすることは重要な課題と考えられる。著者等は、これまでにマイクロ波自体の大腸菌 O157に対する影響を検討するため、温度制御可能なマイクロ波発生装置を用いて、加熱の影響が無いマイクロ波の照射条件でも本菌に障害が生じて、酸耐性やベロ毒素生産性が低下することを報告した⁹⁾。本研究では、電子レンジのマイクロ波が、食品に混入したEHEC O157の生存率と酸耐性に与える影響を検討した。

実験材料と方法

1) 使用機器

マイクロ波照射は、家庭用電子レンジ（最大出力700 W, 2.45 GHz, RE-T13-W6P 型, シャープ）を使用した。

2) 供試菌株と培養条件

大腸菌 O157は、EHEC O157 : H7 Sakai 株を使用した。この株は、平成8年に大阪府堺市で発生した集団食中毒から分離された株と遺伝的に同じである。本菌を5 mlのLB (Luria-Bertani) 培地（1%トリプトン, 0.5%酵母エキス, 0.5% NaCl, 1 mM NaOH）を用いて37℃で24時間好氣的に培養し、実験に使用した。増殖は、660 nmにおける濁度またはLB 寒天培地を用いた標準寒天平板培養法により測定した。

3) 供試食品

合計14種類の食品を使用した。即ち、飲料として、緑茶（お〜いお茶, 伊藤園）、麦茶（伊藤園）、ウーロン茶（サントリーフーズ）、牛乳（成分無調整, 森永乳業）、缶コーヒー（コカコーラナショナルビバレッジ）、剣山の天然水（フレッシュデポ）を使用した。レトルト食品として、ボンカレーゴールド21（大塚食品）、北海道シチュー・クリーム（ハウス食品）、コーンスープ（中村屋）、ハヤシライスソース（ハウス食品）、みそ汁（永谷園）、白粥（中島董商店）を用いた。食肉として、市販の豚肉（ロース）、牛肉（ロース）を使用した。

4) 電子レンジ加熱条件

5 gの試料を試験管（外径16.5 mm, 内径14.1 mm, 長さ165 mm; パイレックス岩城, 旭硝子）に入れ、5分間水冷した。試験管外部の水滴を拭き取り、直ちに電子レンジで加熱して、処理時間と温度変化を、温度記録計付き温度センサー（TR-1220/TR-71Ui, T&D (株)）により測定した。実験は5連で行った。

5) 電子レンジ処理と生存率測定

EHEC O157細胞は、約 3.0×10^6 細胞/mlになるように5 mlの各飲料・レトルト食品並びにLB培地に接種し、700 Wで7秒間照射した後に急冷した。LB 寒天培地を用いる平板培養法により、電子レンジ処理前後の生菌数を測定し、生存率を計算した。

食肉の場合は、5 gの生肉又は加熱肉（オートクレーブ処理したもの）に約 3.0×10^6 細胞/gになるように細胞懸濁液（50 ml）を表面塗抹し、同様にマイクロ波照射した後、5 mlの生理食塩水を加えて十分に攪拌し、肉片を含まないように1 mlの細胞懸濁液をサンプリングして電子レンジ処理後の生菌数を測定した。電子レンジ処理前の生菌数は、生肉5 gに約 2.0×10^6 細胞/gになるように本菌を接種し、直ちに生理食塩水5 mlを加えて十分に攪拌した。肉片を含まないように1 mlの細胞懸濁液をサンプリングして平板培養法により生菌数を測定した。電子レンジ処理前後の生菌数から、生存率を計算した。

6) 酸耐性測定

電子レンジ処理前後のEHEC O157の酸耐性は、以下の方法により測定した。塩酸でpH3.0に調整したLB培地に、電子レンジ処理前後の細胞を約 3.0×10^5 細胞/mlになるように懸濁し、37℃の恒温水槽中で1時間インキュベーションした。その後、直ちにpHを中性に調整し、LB寒天培地を用いる平板培養法により生菌数を測定した。酸処理前後の生菌数から生存率を計算し、その値を酸耐性率とした。

結果

電子レンジ加熱時間と到達温度の関係を調べた。LB培地を入れた前述の試験管を、電子レンジ処理した時の到達温度を表1に示す。電子レンジ加熱において試料の容量が多い場合、試料温度が均一にならないことが想定されること、また容量が少ない場合は極めて短時間で温度が上昇することから、試料量は5 gとして実験を行った。電子レンジ加熱後の到達温度については、自動販売機のホット飲料の場合55℃前後の温度であるが、電子レンジ処理時間が短い場合（6秒間）には到達温度にバラツキが大きいことから、本実験では処理時間7秒間として以下の実験を行った。この条件で、各種食品について電子レンジ処理後の到達温度を調べたところ、到達温度は58.7℃から60.4℃の範囲内で、誤差は±1℃以内であったため、食品の種類にかかわらず、同一条件で電子レンジ処理した。

各種の飲料、レトルト食品、食肉にEHEC O157を接種した後、マイクロ波照射した場合の生存率を図1に示した。食品以外の試料としてLB培地と純水を使用した。飲料では、緑茶と牛乳が他の飲料試料と比べて生存率が大幅に低下した。レトルト食品では、カレーとシチューにおいて生菌数が最も低下した。白がゆは、EHEC O157の生存率が比較的高い結果となった。食肉は、飲料やレトルト食品の場合と比較すると、中程度の生存率となった。各食品にEHEC O157を接種後、マイクロ波照射を行わずに、直ちに生菌数を測定した場合には、生菌数は低下しなかったため、食品との短時間接触による生菌数低下ではなく、マイクロ波照射に

表1 電子レンジ加熱と到達温度

処理時間(s)	到達温度(℃)
6	54.3 ± 1.7
7	59.8 ± 1.0
8	66.6 ± 0.8

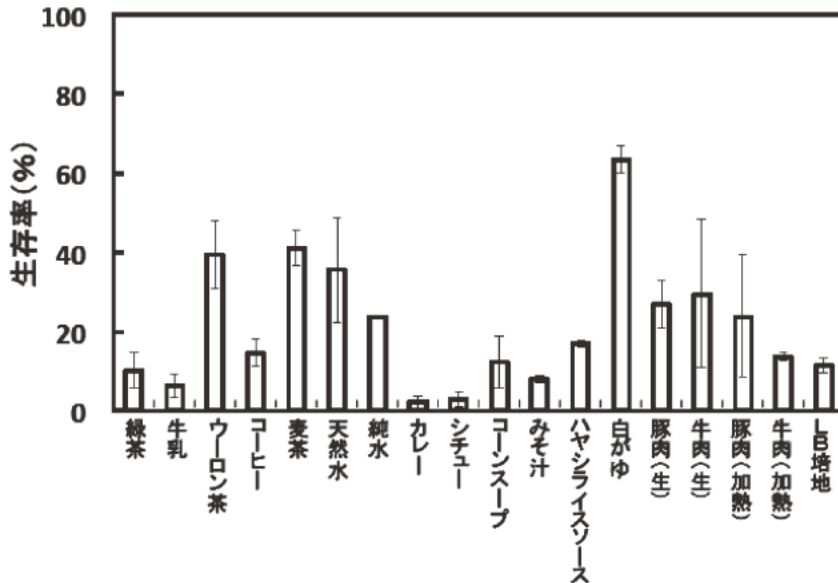


図1 各種食品中の大腸菌 O157に対するマイクロ波の殺菌効果

よる生菌数低下であると考えられた。続いて、マイクロ波照射した後の酸耐性を図2に示した。酸耐性が最も低下した食品はカレーとシチューであった。生肉中の EHEC O157 の酸耐性は豚肉・牛肉共に、加熱又は非加熱にかかわらず同程度の酸耐性となった。各食品に EHEC O157 を接種してマイクロ波照射を行わずに、直ちに酸耐性を測定した場合には90%以上の酸耐性率を示し、食品の種類にかかわらず短時間の接触では酸耐性の低下が見られなかったため、食品との接触による酸耐性低下ではないと考えられた。

考察

種々の食品に EHEC O157 を接種し、700 W で7秒間のマイクロ波照射をすると、本菌の生存率や酸耐性は食品の種類によって著しく変動することが明らかとなった。特にカレーやシチューのレトルト食品では生存率と酸耐性が共に著しく低下した。これらの食品に本菌を接種してマイクロ波照射を行わずに、直ちに生存率や酸耐性を測定した場合には、両者共に低下しなかったことから、カレーやシチューにはマイクロ波照射との併用により本菌の酸耐性を低下させる成分が含まれると考えられる。これまで、著者等のマイクロ波照射による方法⁹⁾を除き、EHEC O157の酸耐性を効率的に低下させる方法は知られていない。市販カレーやシチューには香辛料が含まれる。レトルトカレーやシチューの香辛料含量は公表されていないが、例えばカレーでは一般に水に対して約4%のカレー粉を使用する。カレー粉の主要香辛料はコリアンダー、クミン、ターメリックである¹⁰⁾。これまでに、EHEC O157に対する香辛料の影響を検討し、生菌数低下にナツメグが有効であることも報告されている¹¹⁾。また、著者等は、ペロ毒素生産性の低下にオールスパイスやクミンが有効であることを報告した¹²⁾。これまで EHEC

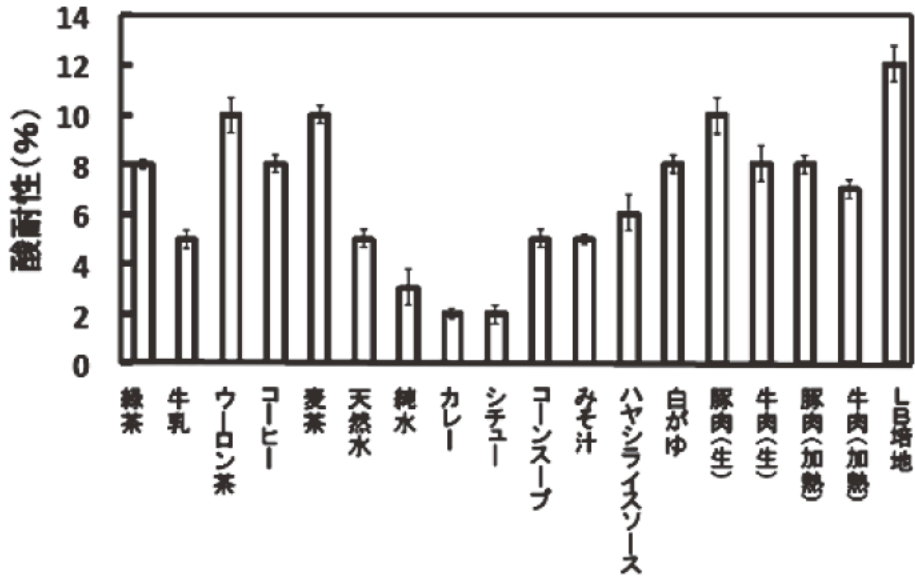


図2 マイクロ波照射した食品中の大腸菌 O157の酸耐性

O157の酸耐性低下に有効な香辛料は知られていないが、マイクロ波との併用により香辛料成分が本菌の酸耐性を低下させた可能性も考えられる。電子レンジが汎用される食品群について、混入した EHEC O157のマイクロ波照射後の生存率と酸耐性を検討したが、マイクロ波照射しない場合の本菌の生存率は100%であり、酸耐性率は90%以上であった。各種食品に本菌を接種した後のマイクロ波照射は生存率を65%以下に低下させ（図1）、酸耐性率も10%以下となった（図2）ことから、電子レンジのマイクロ波照射は食品中の EHEC O157の生存率低下と酸耐性低下に有効であると考えられる。

文献

- 1) Riley, L. W., Remis, R. S., Mcgee, H. B., Wells, J. G., Davis, B. R., Hebert, R. J., Olcott, E. S., Johnson, L. M., Hagrett, N. T., Blake, P. A., and Cohen, M. L. Hemorrhagic colitis associated with a rare type *Escherichia coli* serotype. N. Engl. J. Med., 308 : 681-685 (1983).
- 2) Griffin, P. M., and Tauxe, R. V. The epidemiology of infections caused by *Escherichia coli* O157: H7, other enterohemorrhagic *E. coli*, and the associated hemolytic uremic syndrome. Epidemiol. Rev., 13 : 60-98 (1991).
- 3) Gorden, J. and Small, P. L. Acid resistance in enteric bacteria. Infect. Immun., 61 : 364-367(1993).
- 4) Benjamin, M. M. and Datta, A. R. Acid resistance of Enterohemorrhagic *Escherichia coli*. Appl. Environ. Microbiol., 61 : 1669-672 (1995).
- 5) Yokoigawa, K., Takikawa, A., Okubo, Y., and Umesako, S. Acid tolerance and *gad* mRNA levels of *Escherichia coli* O157 : H7 grown in foods. Int. J. Food Microbiol., 82 : 203-211 (2003).
- 6) Thostenson, E. T. and Chou, T. W. Microwave processing: fundamentals and applications. Composites Part A : Appl. Sci. Manufactur. 30 : 1055-1071 (1999).

- 7) Apostolou, I., Papadopoulou, C., Levidiotou, S., and Ioannides, K. The effect of short-time microwave exposures on *Escherichia coli* O157 : H7 inoculated onto chicken meat portions and whole chickens. *Int. J. Food Microbiol.*, 101 : 105-110 (2005) .
- 8) Fujikawa, H., Ushioda, H., and Kudo, Y. Kinetics of *Escherichia coli* destruction by microwave irradiation. *Appl. Environ. Microbiol.*, 58 : 920-924 (1992) .
- 9) Tsuji, M. and Yokoigawa, K. Acid resistance and verocytotoxin productivity of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 : H7 exposed to microwave, *J. Food Sci.*, 76 : 445-449 (2011) .
- 10) Tainter, D. R. and Grenis, A. T. Common seasoning blends. In *Spices and seasonings*. 2nd Ed., John Wiley and Sons, Inc., New York, pp. 180-185 (2001) .
- 11) Takikawa, A., Abe, K., Yamamoto, M., Ishimaru, S., Yasui, M., Okubo, Y., and Yokoigawa, K. Antimicrobial Activity of Nutmeg against *Escherichia coli* O157. *J. Biosci. Bioeng.*, 94 : 315-320 (2002) .
- 12) Takemasa, N., Ohnishi, S., Tsuji, M., Shikata, T., and Yokoigawa, K. Screening and analysis of spices with ability to suppress verocytotoxin production by *Escherichia coli* O157. *J. Food Sci.*, 74, : 461-466 (2009) .