

## 芽胞形成菌について

### はじめに

細菌にはいろいろな種類がありますが、芽胞を形成することで厳しい環境に耐えうる『芽胞形成菌』というものが存在します。芽胞とは、植物でいう“種子”に相当し、堅い殻を持ち、加熱、乾燥、紫外線、化学薬品などに対し強い耐性を示します。芽胞形成菌は、環境により栄養細胞と芽胞の2種類の形態に姿を変え（図-1及び2）、環境条件が悪いときは菌体内に芽胞を作り、環境に耐えて生残します。環境条件が良くなると芽胞から発芽し、栄養細胞となって細胞分裂を繰り返します。

このような環境適応能力に優れた芽胞形成菌は、自然界に広く分布しており、あらゆる食材を汚染する可能性があります。それらの食材から、洗浄、調理、加熱殺菌などの工程を経て食品を製造しても、食品中に芽胞が生残する場合があります。その芽胞がときとして発芽・増殖し、食品の変敗や食中毒の原因となり問題を引き起こすことがあります。

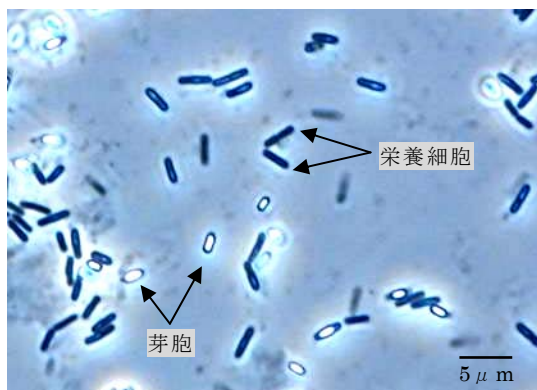


図-1 芽胞と栄養細胞（位相差顕微鏡）

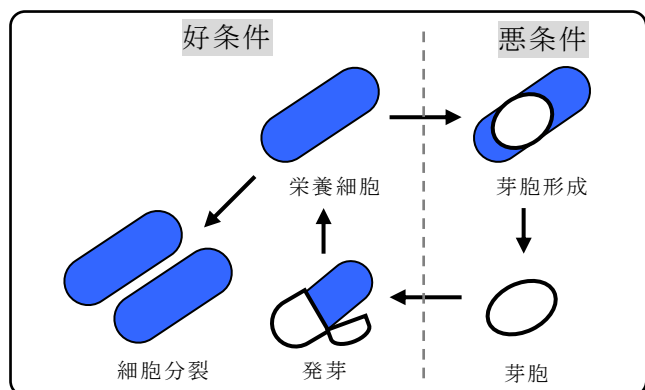


図-2 芽胞形成菌の生活環

### 芽胞形成菌の種類と分布

芽胞形成菌の多くは、一般的にグラム陽性の桿菌であり、大腸菌やサルモネラなどのグラム陰性菌は芽胞を形成しません。芽胞形成菌は、酸素存在下で増殖する好気性芽胞菌と、酸素非存在下で増殖する嫌気性芽胞菌に大別されます。好気性芽胞菌の多くは *Bacillus* 属の細菌であり、食中毒菌であるセレウス菌や、変敗菌である枯草菌、有用菌である納豆菌などが挙げられます。土壌、空気、水などの環境中に存在し、穀類、豆類、野菜、香辛料などを汚染します。一方、嫌気性芽胞菌の多くは *Clostridium* 属の細菌であり、食中毒菌であるウェルシュ菌やボツリヌス菌、缶詰の変敗菌である酪酸菌などが挙げられます。土壌、水、海や湖底の泥などの環境中の他、ヒトや動物の腸管内にも存在しており、穀類、豆類などの食品原料に加え、乳製品、食肉及び魚介類などの食品を汚染することがあります。

これらの他、好気性芽胞菌の変敗菌として、フラットサワー菌や耐熱性好酸性菌などが存在します。

## 芽胞形成菌と食中毒

以下に芽胞を形成する代表的な食中毒菌を紹介します。

### i) セレウス菌 (*Bacillus cereus*)

セレウス菌による食中毒は、その症状から嘔吐型と下痢型の2タイプに分かれます。嘔吐型食中毒は、食品中で本菌が増殖する際に生成した嘔吐毒（セレウリド）を摂取することにより起こります。一方、下痢型食中毒は、食品と共に摂取した本菌がヒトの腸管内で増殖し、生成される下痢毒（エンテロトキシン）により起こります。本食中毒は、食品が長時間室温放置されたために起こったと考えられる事例が多く、原因食品としては、焼き飯、ピラフ、オムライスなどの米飯の他、焼きそばやスパゲッティなどの麺類が挙げられます。

### ii) ウェルシュ菌 (*Clostridium perfringens*)

ウェルシュ菌による食中毒は、大量に作り置きされる食品での事例が多く、特に学校給食での発生が多いことから「給食病」との異名も存在します。大量調理される食品では、加熱により食品中の酸素が追い出され、嫌気状態が形成されます。また、加熱後にそのまま放置されることで、本菌が増殖できる温度が長く維持されてしまいます。このような環境下で大量に増殖した本菌が、食品と共に摂取され、ヒトの腸管内で毒素を産生することにより食中毒が起こります。原因食品としては、大量調理されることの多い煮物、スープ、カレー、シチューなどが挙げられます。

### iii) ボツリヌス菌 (*Clostridium botulinum*)

ボツリヌス菌による食中毒は、食品中で本菌が増殖する際に生成したボツリヌス毒素を摂取することにより起こります。缶・瓶詰めや真空パック詰食品などの嫌気状態が長期間維持される食品では、本菌が増殖して毒素を生成することがあります。なお、ボツリヌス毒素は比較的熱に弱く、喫食前に十分な加熱を行えば失活させることが可能です。原因食品としては、ソーセージ、缶・瓶詰めなどの保存食品やいずしなどの発酵食品が挙げられます。詳しくは、JFRL ニュース Vol.4 No.11 Aug. 2012「忘れてはいけない、ボツリヌス毒素の脅威を」をご参照ください。

## 芽胞形成菌と食品の変敗

以下に食品の変敗原因となる芽胞形成菌の一例を紹介します。

### i) フラットサワー菌 (*Bacillus coagulans*, *Geobacillus stearothermophilus* など)

フラットサワー菌は、高温条件を好み、缶・瓶詰め食品や容器包装詰食品で変敗（酸敗）を起こすことがあります。本菌の増殖により食品が変敗しても、ガスを産生しないために缶の蓋底が扁平（フラット）で容器外観に異常を認めず、さらに酸の産生により内容物が酸っぱく（サワー）変化することからこう呼ばれます。

### ii) 耐熱性好酸性菌 (*Alicyclobacillus* 属など)

耐熱性好酸性菌は、もともと土壌に存在している菌で果汁を製造する段階で混入すると考えられています。本菌は長期常温保存の果汁飲料を変敗させることがありますが、高温かつ低酸性条件を好むため、ホットベンダーで加温販売される酸性飲料でも変敗を起こすことがあります。中でも、*Alicyclobacillus acidoterrestris* が食品中で増殖するとグアイアコールという物質を産生します。グアイアコールはクレゾール様の薬品臭を発するため、

異臭の原因となります。

### 芽胞形成菌に関連する食品の規格基準

食品衛生法における食肉製品、鯨肉製品及び魚肉ねり製品の製造基準には、「製造に使用する香辛料、砂糖及びでん粉は、その1g当りの芽胞数が1,000以下でなければならない。」と定められています。なお、ここでの芽胞数は、沸騰水浴中で10分間の加熱に耐える好気性芽胞菌の芽胞を対象にしています。

また、特定加熱食肉製品及び包装後加熱食肉製品の成分規格にはクロストリジウム属菌が「検体1gにつき1,000以下でなければならない。」と定められており、その他、ミネラルウォーター類の製造基準には原水中の芽胞形成亜硫酸還元嫌気性菌（クロストリジウム属菌に相当）が陰性であることが定められています。

### 芽胞形成菌の検査法

一般的な芽胞形成菌の検査法は次の通りです。食品から調製した試料液を試験管に移し、沸騰水浴中で10分間加熱します。これを急冷した後、必要に応じて試料液から10倍段階希釈液を調製し、シャーレに分注して標準寒天培地と混合します。培地が固化した後、好気条件のもと35℃で2日間培養し、出現した集落数を計測します。この検査法では、沸騰水浴中で10分間の加熱に耐える好気性芽胞菌の芽胞が計測されますが、この加熱条件では死滅してしまう芽胞もあるため、試料に存在していた芽胞数を正しく把握できない場合があります。したがって、日常の品質検査としては、実際の食品製造上の加熱条件などを考慮して、試料液を70℃で20分間、又は80℃で10分間加熱するなど、加熱条件を変えたほうが有意義な結果が得られることがあります。

嫌気性芽胞菌については、嫌気培養が必要であるため上記検査法では測定できません。パウチや嫌気培養装置を使用した方法により測定しますが、ここではパウチを用いた方法を紹介します。食品から調製した試料液を滅菌パウチに移し、クロストリジウム培地を加えてよく混合し、パウチを熱シールした後、冷却凝固します。35℃で1日間培養した後、出現した定型的集落（黒色集落）を計測します。

その他の芽胞形成菌の試験法としては、「食品衛生検査指針」（2004年版）でフラットサワー菌の検査法が紹介されています。また、自主規格として、一般社団法人日本果汁協会からは「耐熱性好酸性菌統一検査法」が提案されています。

### 食品における芽胞形成菌対策

芽胞形成菌はさまざまな食材を汚染する可能性があり、なおかつ芽胞は100℃前後の高熱でも完全に殺滅させることが困難です（表-1）。したがって、食品製造における対策としては、①食材をよく洗浄し可能な限り芽胞を除去すること、②適切な加熱で可能な限り芽胞を殺滅すること、③芽胞が発芽して増殖しないような食品設計や取り扱いをすること、具体的には食品の水分活性、pH、塩分濃度、酸素濃度、酸化還元電位など微生物の増殖に関わる因子を制御し、さらに保存温度や流通温度に注意し、増殖させないことが重要です。

表-1 主な食中毒菌の耐熱性データ（“現場必携・微生物殺菌実用データ集”より抜粋編集）

| 食中毒菌         | 芽胞形成 | 耐熱性   |           | 媒体            |
|--------------|------|-------|-----------|---------------|
|              |      | 温度（℃） | D 値*（分）   |               |
| セレウス菌（下痢型）   | 有    | 95    | 4.1±4.5   | —             |
| セレウス菌（嘔吐型）   | 有    | 95    | 12.0±11.4 | —             |
| ウェルシュ菌       | 有    | 90    | 3~15      | 蒸留水           |
|              |      | 100   | 6         | 蒸留水           |
| ボツリヌス菌       | 有    | 85    | 100       | リン酸緩衝液(pH7.0) |
|              |      | 95    | 4.4       | リン酸緩衝液(pH7.0) |
| 大腸菌          | 無    | 57.2  | 1.3       | 生乳            |
| 腸管出血性大腸菌O157 | 無    | 76    | 0.11      | イオン交換水        |
| 黄色ブドウ球菌      | 無    | 62.7  | 1.81      | 殺菌脱脂乳         |
| サルモネラ        | 無    | 57.2  | 1.7       | 生乳            |

\* : D 値とは、ある温度において菌数を 1/10 に減少させるために必要な時間であり、微生物の耐熱性を表す。なお、芽胞形成菌については、芽胞の D 値を示した。

## おわりに

芽胞形成菌は原材料や環境中に広く存在することから、さまざまな食品を汚染する可能性があります。完全に除去することは困難です。食品製造においては、食品ごとに芽胞形成菌の種類や数を把握し、これらをうまく制御していく必要があります。

弊財団では、芽胞形成菌に関して以下の試験項目を受託しております。これらの分析試験を通じ、皆様の問題解決のお役に立つことができれば幸いです。

| 一般的な品質管理試験項目  |  | その他の試験項目   |
|---|--|--|
| <p>&lt;好気性芽胞菌&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>耐熱性芽胞菌数*</li> <li>セレウス菌</li> <li>枯草菌</li> <li>耐熱性好酸性菌</li> </ul> <p>* 加熱条件のご指定も承ります。</p> | <p>&lt;嫌気性芽胞菌&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>ウェルシュ菌</li> <li>クロストリジア数</li> <li>クロストリジウム属菌</li> <li>[食肉製品等の成分規格]</li> <li>芽胞形成亜硫酸還元嫌気性菌</li> <li>[ミネラルウォーター類の製造基準]</li> <li>など</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>フラットサワー菌</li> <li>納豆菌</li> <li>有胞子乳酸菌</li> <li>酪酸菌</li> <li>嫌気性芽胞菌</li> <li>高温性耐熱性芽胞菌</li> <li>高温性嫌気性芽胞菌</li> <li>など</li> </ul> |

## 参考文献

- 厚生省告示第 370 号（昭和 34 年 12 月 28 日）
- 厚生労働省監修：“食品衛生検査指針－微生物編－”，日本食品衛生協会（2004）
- 山本茂貴監修：“現場必携・微生物殺菌実用データ集”，サイエンスフォーラム（2011）
- 食品安全委員会ファクトシート：“セレウス菌食中毒”，“ウェルシュ菌食中毒”，“ボツリヌス症” 入手先 〈<https://www.fsc.go.jp/sonota/factsheets.html>〉