

フィルターによる耐熱性細菌芽胞の除去

キユノ(株)技術部 松本 健二

はじめに

細菌芽胞は耐熱性が高く、これまでに製造ラインを汚染したり、食品・飲料中で発芽・増殖する事故を起こしている。特に高温性好酸性菌の *Alicyclobacillus acidoterrestris* (りんごの透明果汁から分離) と *Alicyclobacillus acidocaldarius* (パレンシアオレンジ果汁から分離) は、耐熱性の芽胞を形成するため、通常の果実飲料の殺菌 (pH4.0未満では65℃・10分間の加熱殺菌または同等以上、pH4.0~4.6では85℃・30分間の加熱殺菌または同等以上) では死滅しない。

また、発育pH域は3.0前後から5.8前後で、55℃という高い温度でも発育で

きる¹⁾。

実際に、ドイツをはじめヨーロッパ、アメリカそして日本でもこの菌による酸性飲料や果汁の汚染事故例が報告されている²⁾。

近年、食品・飲料業界において、HACCP等の導入により、これまで以上に微生物管理がきびしくなっており、そのなかでも通常の加熱殺菌で製品品質に影響を与えることなく完全に除去することが困難で、問題となっている耐熱性芽胞および芽胞菌の除去の要求が高まってきている。

以上のような背景から、ろ材がプラスのゼータ電位を持ち、密度勾配構造でデプスタイプの“ゼータプラスフィルター”(写真1)を用いて、耐熱性細菌芽胞の除去性能評価テストを行った。

なお、試験芽胞として、乾熱滅菌の指標菌(インジケーター)である *Bacillus subtilis* の芽胞と酸性および高温の条件下でよく生育し、酸性飲料や果汁などで発芽・増殖して変敗事故を起こしている *Alicyclobacillus* 属の芽胞の2種類を使用した。

1. 耐熱性細菌芽胞の除去性能評価テスト³⁾

1) 試験芽胞: *Bacillus subtilis* IFO3134

枯草菌芽胞の滅

菌水懸濁液1Lを試験フィルター:ゼータプラス10H・30H・50H・60Hに通液し、通液直後・通液10分後のろ液各10mLならびに通液終了後ろ液全量をサンプルとして生菌数を測定したところ、ゼータプラス10Hではろ液中に芽胞が認められたが、10Hよりろ過精度が細かいグレードのゼータプラス30H、50H、60Hでは、ろ液中に芽胞の通過は認められなかった(表1)。本試験のテストライン、テスト条件は図1のとおり。

2) 試験芽胞: *Alicyclobacillus acidoterrestris*

高温性好酸性菌芽胞のりんご果汁懸濁液を試験フィルター:ゼータプラス30H・60Hに通液し、ろ液を100mLごとにサンプリングして生菌数とそのときの差圧(ΔP)を測定したところ、ゼータプラス30Hではろ液中に芽胞が認められ、LRVは3.5であったが、60Hでは最終圧力損失(ΔP):172kPa (1.75kgf/cm²)の条件下においても、ろ液中に芽胞は認められなかった(表2)。本試験のテスト条件は表2のとおり。またろ過量と差圧(ΔP)との関係は図2のとおりである。

3) 試験芽胞: *Alicyclobacillus acidocaldarius* IFO 15652

高温性好酸性菌芽胞のりんご果汁

写真1 ゼータプラスフィルター

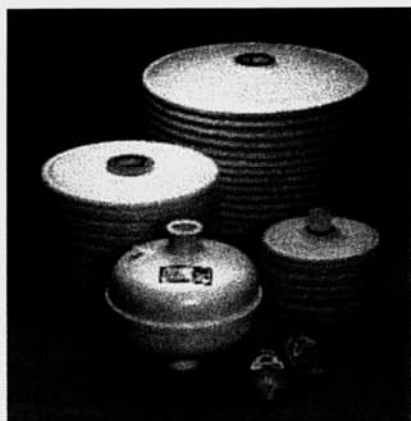


図1 テストラインと条件

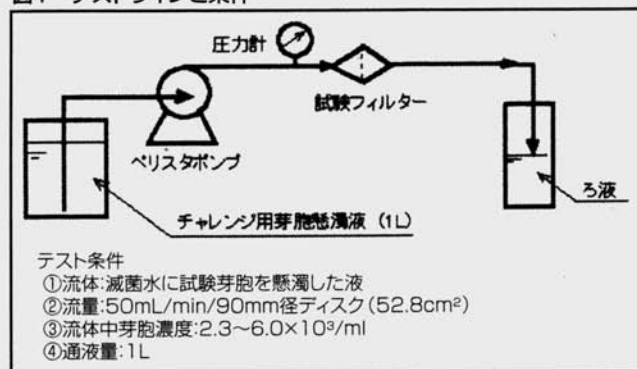


表1 ゼータプラスの枯草菌 (*Bacillus subtilis*) 芽胞の除去効果

ゼータプラス	除去性能 (LRV)	原液全量 (1L)	芽胞数 (CFU)		
			開始直後*	10分後*	終了時ろ液全量
10H (0.8~2μm相当)	4.5 >6.4	3.9×10 ⁶ 2.3×10 ⁶	0 0	2 0	110 0
30H (0.6~1μm相当)	>6.4 >5.8	2.6×10 ⁶ 6.0×10 ⁵	0 0	0 0	0 0
50H (0.4~0.8μm相当)	>6.5 >6.4	3.1×10 ⁶ 2.8×10 ⁶	0 0	0 0	0 0
60H (0.2~0.5μm相当)	>6.6 >6.7	3.8×10 ⁶ 5.3×10 ⁶	0 0	0 0	0 0

芽胞数の測定法: 原液は混濁平板培養法、ろ液はメンブランフィルター法
*サンプリング量は10mL

表2 ゼータプラスの *Alicyclobacillus acidoterrestris* 芽胞の除去効果

ゼータプラス	除去性能 (LRV)	芽胞数 (CFU)		最終ΔP kPa (kgf/cm ²)
		原液全量 (900mL)	ろ液全量	
30H	3.5	5.4×10 ⁶	1.8×10 ³	34 (0.35)
60H	>6.5	3.3×10 ⁶	0	172 (1.75)

テスト条件

- ①流体:リンゴ果汁に試験芽胞を懸濁した液
- ②流量:40 mL/min/試験ディスク (14cm²)
- ③流体中芽胞濃度:3~6×10⁹/mL

表3 ゼータプラスの *Alicyclobacillus acidocaldarius* 芽胞の除去効果

ゼータプラス	除去性能 (LRV)	芽胞数 (CFU)	
		原液全量 (1L)	ろ液全量
30Hグレード	4.7 4.6	3.0×10 ⁶ 2.7×10 ⁶	62 68
60Hグレード	>6.2 >6.2	1.5×10 ⁶ 1.7×10 ⁶	0 0

芽胞数の測定法:原液は混釈平板培養法、ろ液はメンブランフィルター法

テスト条件

- ①流体:20%リンゴ果汁に試験芽胞を懸濁した液
- ②流量:約125mL/min/試験ディスク (52.8cm²)
- ③流体中芽胞濃度:1.7~3.0×10⁹/mL
- ④通液量:1L

懸濁液1Lを試験フィルター:ゼータプラス30H・60Hに通液し、通液終了後のろ液全量の生菌数を測定したところ、ゼータプラス30Hではろ液中に芽胞が認められ、LRVは4.6、4.7であったが、60Hではろ液中に芽胞は認められずLRV>6.2であった(表3)。テストラインは*Bacillus subtilis* IF03134のラインと同じものを使い、条件は表3のような設定をした。

以上、芽胞除去試験を行った結果、30Hグレードでは*Alicyclobacillus*属の芽胞のみ通過が認められたが、より細かいろ過精度の60Hグレードでは両芽胞ともろ液中への通過は認められなかった。これは、試験芽胞の大きさの違い(*Bacillus subtilis*芽胞>*Alicyclobacillus*属芽胞)および試験流体の液性を含めろ過条件の違いが、より粗いグレードの30Hの除去性能に影響を及ぼしたと推定される。

なお、芽胞除去性能は、流体の種類・ろ過条件等により変動することが考えられるため、テスト結果は、目安とお考えいただきたい。

3. ゼータプラスフィルター採用のメリット

ゼータプラスフィルターはメンブランフィルターと比較して、目詰まりを起こしにくく、ある一定の圧力損失に達するまでの処理量を増大させることができる。特に、目詰まりを起こしやすい①高粘性の液、②汚染度の高い液、③ゲル状の液などのろ過に適している。

食品・飲料用途のゼータプラスにはろ材の材質が異なる多くの種類があり、それぞれつぎのような特徴がある。

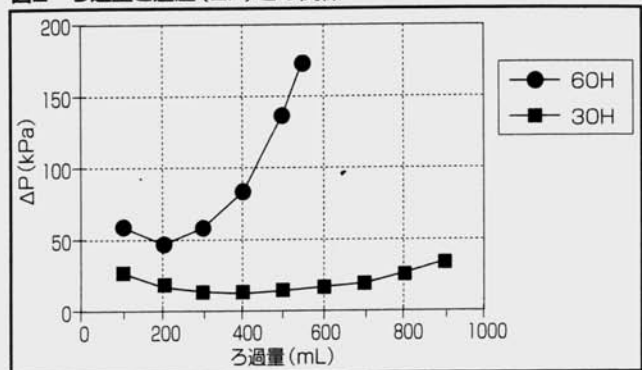
- ①Sシリーズ:標準タイプ
- ②Hシリーズ:標準タイプよりも強度的に優れ、耐熱性が高い
- ③Aシリーズ:最も粗いタイプ
- ④Cシリーズ:標準タイプと比べて含有樹脂が異なるタイプ

その他、製薬・バイオプロセス業界用途、一般工業・エレクトロニクス業界用途のゼータプラスもラインアップしている。

おわりに

ゼータプラスフィルターを使用することにより、粗いグレード(30H)において

図2 ろ過量と差圧(ΔP)との関係



も耐熱性細菌芽胞が除去(LRV:3以上)できるという結果が得られた。ゼータプラスは、目詰まりし難いことなどメンブランフィルターにはない様々な特長があり、食品や酸性飲料、果汁等から品質に影響を与えることなく細菌芽胞を除去する用途に適している。

本報告が、細菌芽胞の汚染に困っておられる方々の参考になれば幸いである。

〈参考資料〉

- 1) 伊福 靖、国産果汁の生産現状と輸入果汁—輸入果汁の取り扱いと留意点—、ビバレッジジャパン、(220)、第4号、90-91、(2000)
- 2) 後藤慶一、高温性好酸性芽胞形成細菌:*Alicyclobacillus*属細菌、防菌防黴、28、(8)、499-508、(2000)
- 3) キュノ(株)技術資料:TD-FP001フィルターによる芽胞の除去

〈著者略歴〉

松本健二(まつもと けんじ)

広島大学工学部発酵工学科卒。三菱化工機(株)、日本ボール機を経て現職。これまで水処理・アルコール発酵・バクテリアチャレンジテストを中心としたフィルターバリデーションなどに従事する。今回の報告が、現場の方々にとって細菌芽胞汚染対策の一つとなることを期待している。今後は、ゼータプラスなどのプラス荷電フィルターによるバイオプロセス分野でのアプリケーション(たとえばエンドトキシン・ウイルス・DNA等の吸着除去など)にも力を注いでいきたい。趣味は、パソコン・囲碁・プロ野球観戦など。

ミネラル酵母のバイオニア ミネラル/ビタミン素材の専門メーカー

Grow Company, Inc. (米国) 製品

ミネラル含有酵母

High Mineral Yeast

天然型ビタミン

Re-Natured® Vitamin

亜鉛(5%) / セレン(0.1%) / 鉄(5%) / 銅(1%) /
マンガン(5%) / クロム(0.2%) / モリブデン(0.2%) /
マグネシウム(5%)

B₁ / B₂ / B₆ / B₁₂ / ビオチン / コリン / C /
D₃ / E / 葉酸 / ナイアシンアミド /
イノシトール / PABA / K₁

吸収性が違います!!!

健康原料は **SCETI**

話題の素材が勢ぞろい!!

☆機能性果汁・果実エキス

(ビルベリー/クランベリー/チェリー等)

☆ポリフェノール素材

(緑茶エキス/赤ブドウエキス等)

☆エスニックハーブ各種

(マカ20倍エキス/ギムネマエキス等)

☆黄河黒米

(黒米/黒米粉)

☆動物系素材

(グルコサミン/コンドロイチン等)

他にも数々準備中! お問い合わせ下さい!!!

セティカンパニー リミテッド 営業第二部

〒107-0062 東京都港区南青山2-2-8 DFビル
電話 03-3403-3718 FAX 03-3404-4472