

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4392718号
(P4392718)

(45) 発行日 平成22年1月6日(2010.1.6)

(24) 登録日 平成21年10月23日(2009.10.23)

(51) Int. Cl.		F I	
C 1 2 Q	1/02	(2006.01)	C 1 2 Q 1/02
C 1 2 M	1/00	(2006.01)	C 1 2 M 1/00 Z

請求項の数 10 (全 15 頁)

(21) 出願番号	特願2003-566553 (P2003-566553)	(73) 特許権者	501203344
(86) (22) 出願日	平成15年2月6日(2003.2.6)		独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構
(86) 国際出願番号	PCT/JP2003/001222		茨城県つくば市観音台3-1-1
(87) 国際公開番号	W02003/067254	(74) 代理人	100077126
(87) 国際公開日	平成15年8月14日(2003.8.14)		弁理士 中村 盛夫
審査請求日	平成18年1月17日(2006.1.17)	(74) 代理人	100086221
(31) 優先権主張番号	特願2002-29270 (P2002-29270)		弁理士 矢野 裕也
(32) 優先日	平成14年2月6日(2002.2.6)	(73) 特許権者	307026374
(33) 優先権主張国	日本国(JP)		二瀬 克規
(31) 優先権主張番号	特願2002-168049 (P2002-168049)		埼玉県越谷市千間台西三丁目二 パークタウン13-104
(32) 優先日	平成14年6月10日(2002.6.10)	(74) 代理人	100080687
(33) 優先権主張国	日本国(JP)		弁理士 小川 順三

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 飲食品等の品質判定方法およびそのインジケータ

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

基準気泡径を印刷表示した、密閉された透明な軟質フィルム袋内に、ガスを発生する性質のある微生物であるガス産生菌を基質と共に封入し、その袋を、飲食品あるいは薬剤に付帯させて同じ環境下に置いて一緒に保存し、該袋内に発生するガス量によって、飲食品又は薬剤の被判定対象の品質を判定することを特徴とする飲食品又は薬剤の品質判定方法。

【請求項2】

上記ガス産生菌は、酵母、かびおよび細菌のいずれか一種であることを特徴とする請求の範囲1に記載の飲食品又は薬剤の品質判定方法。

【請求項3】

上記ガス産生菌は、ガス産生開始温度以上において、主に炭水化物からの酸生成に伴ってCO₂とH₂を発生するものであることを特徴とする請求の範囲1または2に記載の飲食品又は薬剤の品質判定方法。

【請求項4】

上記基準気泡径は、腐敗危険期、注意期、安全期に相当する気泡径の大きさを印刷表示したものであることを特徴とする請求の範囲1に記載の飲食品又は薬剤の品質判定方法。

【請求項5】

被判定対象の飲食品又は薬剤に由来する微生物を上記の容器や袋内に封入することを特徴とする請求の範囲1に記載の飲食品又は薬剤の品質判定方法。

【請求項6】

10

20

基準気泡径を印刷表示した、密閉された透明な軟質フィルム袋内に、ガスを発生する性質のある微生物であるガス産生菌を基質とともに充填封入した後、その袋を、飲食品あるいは薬剤に付帯させて同じ環境下に置いて一緒に保存し、該袋内に発生するガス量によって飲食品又は薬剤の品質を判定できるようにしてなる飲食品又は薬剤の品質判定用インジケータ。

【請求項 7】

上記ガス産生菌は、酵母、かびおよび細菌のいずれか一種であることを特徴とする請求の範囲 6 に記載の飲食品又は薬剤の品質判定用インジケータ。

【請求項 8】

上記ガス産生菌は、ガス発生開始温度以上において、主に炭水化物からの酸生成に伴って CO_2 と H_2 を発生するものであることを特徴とする請求の範囲 6 または 7 に記載の飲食品又は薬剤の品質判定用インジケータ。

10

【請求項 9】

上記基準気泡径は、腐敗危険期、注意期、安全期に相当する気泡径の大きさを印刷表示したものであることを特徴とする請求の範囲 6 に記載の飲食品又は薬剤の品質判定用インジケータ。

【請求項 10】

被判定対象の飲食品又は薬剤に由来する微生物を上記の容器や袋内に封入したことを特徴とする請求の範囲 6 に記載の飲食品又は薬剤の品質判定用インジケータ。

【発明の詳細な説明】

20

【0001】

【発明の属する技術分野】

この発明は、農産物や畜産物、魚介類などの生鮮食品、弁当や惣菜などの加工食品、ジュースや酒などの飲料、ソースなどの調味料からなる飲食品、あるいはワクチン、生化学用サンプル、化粧品などの薬剤についての品質、とくに環境温度や経過時間の影響によって起こる、これらの物品の変質や鮮度の低下を客観的に評価判定する方法およびこの方法に用いて有効なインジケータに関するものである。

【0002】

【従来の技術】

生鮮食品や加工食品、ジュースなどの飲食品、ワクチンや血液等の薬剤（以下、便宜上、これらを総称して「飲食品等」と略記して述べる）は、これらの安全性を確保するため、流通過程に保持された時間、即ち経過時間のみならず、その流通環境の温度履歴の管理が重要である。もし、環境温度や経過時間の管理を誤ると、例えば生鮮食品の場合は、変質（鮮度の低下）を招くだけでなく腐敗することがあり、さらには食中毒を発生する危険さえもある。

30

【0003】

こうした飲食品等の変質や腐敗は、その多くが、生産から流通を経て消費者に渡り、飲食に供されるまでの間に微生物が増殖することによって生じる。ところが、飲食品等の品質は、従来、該飲食品自体の腐敗に伴う異臭や変色、異味等を人の感覚によって主観的に判断するのが普通である。しかしながら、こうした主観的な判断には個人差があり、正しい品質（変質や腐敗の進行程度）を知ることは難しいのが実情である。

40

【0004】

しかも、こうした飲食品等の品質低下は、たとえその飲食品等がチルド域（ $-5 \sim 5$ ）またはクーリング域（ $5 \sim 10$ ）に保存されていたとしても生じることがある。それは、実際の流通過程において、該飲食品等がどのような温度環境にあったか、どのように取り扱われたかという条件、例えば、該飲食品等を保冷庫に入れるまでの時間や、出し入れの回数などが異なるからである。とくに、該飲食品等の腐敗は、環境の温度が高ければ高い程、また保存時間が長くなるほど進行しやすくなる。このような背景の下で、従来より、流通過程における温度上昇や保存時間の経過に伴う飲食品等の品質低下を判断するためのインジケータの開発が強く求められてきた。

50

【0005】

このような飲食品等の品質低下や異変等を判定するためのインジケータとしては、例えば、特開平11-194053号公報に開示された方法がある。この技術は、拡散性の染料が温度上昇と時間の経過により、染料拡散層に拡散浸透し、変色することによって温度履歴を確認する方法である。また、特開平11-296086号公報には、加熱温度と時間に依存して変色するインクを用いて、記号、図形または文字を飲食品の包装に直接印刷、または紙や樹脂シートに印刷したものを包装に貼付することによって飲食品の温度履歴を表示する方法が開示されている。しかしながら、これらの方法は、加熱温度と保持時間による微生物増殖の関係から、飲食品等の増殖の程度を推測する方法であり、実際にどの程度、微生物が増殖しているのかを客観的に判断することはできない。従って、実際の流

10

通過過程での飲食品等の取り扱いは、未だ高い品質を十分に保持している場合でさえも、危険を避けるために廃棄処分するのが普通で、非経済的であった。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】

本発明の目的は、従来技術が抱えている上述した問題に鑑み、飲食品等の品質が温度の変動および/または時間の経過によって変質する場合に、その変質の程度、すなわち鮮度の低下を、微生物の増殖の程度として視覚的に捉えられるようにすることにより、簡便かつ正確に判定することのできる、飲食品等の品質判定方法およびそのインジケータを提案することにある。

【0007】

【課題を解決するための手段】

発明者らは、上記目的を実現するため、実際の流通食品中に含まれている食品由来の微生物に着目し、鋭意研究を重ねた。その結果、これらの微生物のうち、ガス産生機能をもつガス産生菌が上記目的を実現するものとして有効であり、そのガス産生菌から発生したガス量によって飲食品等の品質（鮮度、変質の程度）を客観的（視覚的）に判定することが可能になるとの知見を得た。すなわち、本発明は、基準気泡径を印刷表示した、密閉された透明な軟質フィルム袋内に、ガスを発生する性質のある微生物であるガス産生菌と、そのガス産生菌の基質（例えば、発酵基質）とを封入し、その袋を、飲食品あるいは薬剤に付帯させて同じ環境下に置いて一緒に保存し、該袋からのガス発生量によって被判定対象である飲食品又は薬剤の品質を判定することを特徴とする飲食品又は薬剤の品質判定方法である。

20

30

【0008】

なお、上記ガス産生菌は、酵母、かびおよび細菌のいずれか一種であり、増殖開始温度以上の温度において、主に炭水化物からの酸生成に伴って CO_2 と H_2 を発生するものであり、そして、被判定食品等の成分とその食品由来の微生物（ガス産生菌）を共に容器や袋内に封入したものであること、および上記基準気泡径は、腐敗危険期、注意期、安全期に相当する気泡径の大きさを印刷表示したものであることが好ましい。

【0009】

また、本発明は、基準気泡径を印刷表示した、密閉された透明な軟質フィルム袋内に、ガスを発生する性質のある微生物、即ちガス産生菌を培養液および/または培地からなる基質、例えば発酵基質とともに充填封入した後、その袋を、飲食品あるいは薬剤に付帯させて同じ環境下に置いて一緒に保存し、該袋内に発生するガス量によって飲食品又は薬剤の品質を判定してなる飲食品又は薬剤の品質判定用インジケータを提案する。

40

【0010】

なお、本発明にかかるインジケータにおいて、上記ガス産生菌は、酵母、かびおよび細菌のいずれか一種であり、ガス産生開始温度以上において、主に炭水化物からの酸生成に伴って CO_2 と H_2 を発生するものであること、被判定食品等に由来する微生物を望ましくはその飲食品等の成分とともに封入すること、および上記基準気泡径は、腐敗危険期、注意期、安全期に相当する気泡径の大きさを印刷表示したものであることが好ましい。

【0011】

50

【発明の実施の形態】

本発明において重要な役割を担う微生物、とくに飲食品等の中でガス産生機能をもつ微生物について説明する。一般に、微生物は、飲食品の中にあつて、発酵と腐敗の働きを司っている。発酵とは、有用微生物およびそれらが作り出す酵素が有機物を代謝し、有用物質を生産する現象を言い、醸造や発酵食品（醤油、味噌等）などの分野で広く利用されている。これに対し、腐敗は、有害微生物（腐敗微生物）が飲食品中の炭水化物やタンパク質、脂肪などを分解する酵素を菌体外に分泌し、その分解生成物を栄養源として繁殖することによって生じる現象をいう。なお、この分解生成物（有機酸、アルデヒド、アンモニア等）が、腐敗臭や味の変質、変色等の原因になっている。

【0012】

ところで、微生物のガス産生機能とは、前記のとおり微生物が、代謝やつくり出す酵素によって飲食品中の有機物を分解する際に、分解生成物と共にCO₂やH₂などのガスを発生する機能を言い、該機能を有する微生物をガス産生菌と言う。このガス産生菌による有機物の分解は、ガス産生開始温度を超えたあたりから始まり、増殖したガス産生菌の1つ1つから少量のガスを徐々に発生する。なお、このガス産生開始温度は、ガス産生菌の種類や保存状態によっても異なるが、ほとんどのガス産生菌は1～10の範囲内にある。

【0013】

なお、微生物とは、一般に顕微鏡でなければ観察することができないほどに小さな生物の総称で、酵母、かび、細菌などが含まれる。表1に主要な有機物発酵の種類と発酵を行なう微生物、発酵に伴う主な微生物を示す。

【0014】**【表1】**

10

20

	微生物	分解生成物
アルコール発酵	・酵母 (トルロプシス (<i>Torulopsis</i>)、カンジダ (<i>Candida</i>) 属など) ・カビ ・一部の細菌 (ジモナス (<i>Zymomonas</i>) など)	エタノール、CO ₂
ヘテロ型乳酸発酵	・ロイノストック (<i>Leuconostoc</i>) およびラ クトバチラム (<i>Lactobacillus</i>) の一部 (ロイノストック メンテロイデス (<i>Leu.mesenteroides</i>) など)	乳酸、酢酸、ギ酸、エ タノール、CO ₂
混合酸発酵	・イコリ (<i>E.coli</i>)、サルモネラ (<i>Salmonella</i>)、エルウィニア (<i>Erwinia</i>) など	乳酸、エタノール、酢 酸、H ₂ 、CO ₂ またはギ酸
ヒチンクライオール発酵	・クレブシエラ (<i>Klebsiella</i>)、 バシラス ポリミキシア (<i>Bacillus polymyxa</i>) など	2,3-ブチレングライコ ール、乳酸、エタノール、 酢酸、H ₂ 、CO ₂ また はギ酸
酪酸およびブタノール・ アセトン発酵	・クロストリジウム (<i>Clostridium</i>) の一部 ・バシラス マセランス (<i>Bacillus macerans</i>)	酪酸、酢酸、H ₂ 、CO ₂ 、 ブタノール、エタノール、 アセトン、イソブ ロパノール
プロピオン酸発酵	・プロピオンバクテリウム (<i>Propionibacterium</i>) とその近 縁の嫌気性菌	プロピオン酸、酢酸、 CO ₂

【 0 0 1 5 】

本発明は、このような微生物、特にガス産生菌のガス産生機能を利用して、飲食品等の品質（鮮度）を判定する方法、およびこの方法の実施に用いるインジケータについての提案である。上述したように、ガス産生菌による有機物分解反応、つまりガス産生反応は、飲食品が置かれている環境温度、および経過（保存）時間によって徐々に進行する他、水、酸素および栄養素の有無、pH値などの影響を受けることから、ガス産生菌を含む発酵基質（試料液）を飲食品等と同じ条件に調整し、これを合成樹脂製の軟質フィルムをヒートシールして形成した小袋内に充填封入してインジケータを作製し、さらに、このインジケータを飲食品等と同じ環境下に置いて一緒に保存し、インジケータ内で発生したガスによる気泡の大きさの程度を判断することにより、飲食品等の品質を判定することができる。この場合、望ましくは被判定対象の飲食品等由来のガス産生菌を前記小袋内に封入するとよいが、必ずしもそうしたガス産生菌に限定されるものではない。より望ましくは前記飲食品等の成分をも基質として封入するとよい。しかし、基質とガス産生菌の相性があるので、これらの組み合わせは、被判定対象に合わせて選択することが好ましい。

【 0 0 1 6 】

本発明にかかる判定方法が、従来よりも優れている点は、本発明の場合、飲食品等の腐食の要因となる微生物による分解反応（ガス産生反応）と同じ反応を、前記小袋内で再現できるようにした点にある。たとえば、本発明にかかる上記インジケータを、流通過程におかれる飲食品と共に同じ環境下に保持しておくことで、その飲食品内での微生物による腐食反応の程度を、前記インジケータ内に直接的に再現することができ、しかもそれが視覚によって客観的に捉えることができるから、より正確な飲食品等の品質（鮮度、腐敗の進行程度等）を表示することができるようになる。

【0017】

本発明の判定方法およびインジケータに用いるガス産生菌としては、表2に示す微生物のうちの一つ以上を用いることが好ましい。

【0018】

【表2】

酵母	サッカロマイセス (<i>Saccharomyces</i>) 属 ジゴサッカロマイセス (<i>Zygosaccharomyces</i>) 属 トルラスボラ (<i>Tbrulaspora</i>) 属 カンジダ (<i>Candida</i>) 属 など	
カビ	アスペルギルス (<i>Aspergillus</i>) 属 ペニシリウム (<i>Penicillium</i>) 属 ムーコル (<i>Mucor</i>) 属 など	10
細菌	ロイコノストック (<i>Leuconostoc</i>) 属: ロイコノストック メゼンデロイデス (<i>Leu.mesenteroides</i>) ロイコノストック パラメゼンデロイデス (<i>Leu.paramesenteroides</i>) ロイコノストック ラクティス (<i>Leu.lactis</i>) ロイコノストック オエノス (<i>Leu.oenos</i>) など ラクトバチルス (<i>Lactobacillus</i>) 属: ラクトバチルス ペントサス (<i>L.pentosus</i>) ラクトバチルス スエビカス (<i>L.suebicus</i>) ラクトバチルス コリノデス (<i>L.collinodes</i>) ラクトバチルス ブチネリ (<i>L.buchneri</i>) ラクトバチルス プレビス (<i>L.brevis</i>) ラクトバチルス ファーメンタム (<i>L.fermentum</i>) ラクトバチルス ケフィール (<i>L.kefir</i>) ラクトバチルス カンドレリ (<i>L.kandleri</i>) ラクトバチルス コンフューサス (<i>L.confuses</i>) ラクトバチルス サンフランシスコ (<i>L.sanfrancisco</i>) ラクトバチルス マイナー (<i>L.minor</i>) ラクトバチルス ハロトレランス (<i>L.halotolerans</i>) ラクトバチルス ビリデセンス (<i>L.viridescens</i>) ラクトバチルス フラクティボランス (<i>L.fructivorans</i>) ラクトバチルス ラウテリ (<i>L.reuteri</i>) ラクトバチルス オリス (<i>L.oris</i>) ラクトバチルス ヒルガルディ (<i>L.hilgardii</i>) ラクトバチルス バッシノステラカス (<i>L.vaccinestercus</i>) など ビフィドバクテリウム (<i>Bifidobacterium</i>) 属 ビフィドバクテリウム シュードカテムラタム (<i>B.pseudocatenulatum</i>) ビフィドバクテリウム デンチューム (<i>B.dentium</i>) ビフィドバクテリウム アドレセンティス (<i>B.adolescentis</i>) ビフィドバクテリウム アニマリス (<i>B.animalis</i>) ビフィドバクテリウム ガリナラム (<i>B.gallinarum</i>) ビフィドバクテリウム シュードロンガム (<i>B.pseudolongum</i>) ビフィドバクテリウム ロンガム (<i>B.longum</i>) ビフィドバクテリウム プロムラ (<i>B.pullorum</i>) ビフィドバクテリウム カテニユラティム (<i>B.catenulateum</i>) ビフィドバクテリウム アングラティム (<i>B.angulatum</i>) ビフィドバクテリウム グロボサム (<i>B.globosum</i>) ビフィドバクテリウム マグナム (<i>B.magnum</i>) ビフィドバクテリウム コリネフォーム (<i>B.coryneforme</i>) ビフィドバクテリウム アステロイデス (<i>B.asteroids</i>) ビフィドバクテリウム サイス (<i>B.suis</i>) ビフィドバクテリウム クニークリ (<i>B.cuniculi</i>) ビフィドバクテリウム インファンティス (<i>B.infantis</i>) ビフィドバクテリウム プレーヴ (<i>B.breve</i>) ビフィドバクテリウム インディカム (<i>B.indicum</i>) ビフィドバクテリウム サブチル (<i>B.subtile</i>) ビフィドバクテリウム サーモフィリウム (<i>B.thermophilum</i>) ビフィドバクテリウム ボウム (<i>B.boium</i>) ビフィドバクテリウム ミニナム (<i>B.minimum</i>) ビフィドバクテリウム ビフィダム (<i>B.bifidum</i>) ビフィドバクテリウム チョエリナム (<i>B.choerinum</i>) など	20 30 40

【0019】

表2に示したガス産生菌のうち、本発明に係る判定方法への採用にあたっては、アスペルギルス属カビおよびラクトバチルス属細菌などがよく適合するが、とくに、サッカロマ

イセス属酵母を用いることが好ましい。なお、サッカロマイセス属酵母は、パンやビールの製造に、アスペルギルス属カビは、清酒の製造に、そして、ラクトバシルス属細菌は、ヨーグルトやチーズの製造に一般的に使用されている微生物であり、安心して使用することができる。

【0020】

とくに前記のサッカロマイセス属酵母には、パン酵母、醸造酵母、飼料酵母および核酸原料酵母などがあり、醸造物のほか、一般に果汁、果皮、樹液のように糖密度の高い基質にも存在する。なお、パン酵母の代表的なものとしては、サッカロマイセスセルピシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) があり、その中には、つくったパン生地を冷凍処理・冷蔵保存しても活性が失われない冷凍耐性酵母や冷蔵耐性酵母がある。一般的なパン酵母は4で発酵することもあるが、この冷蔵耐性酵母においては10で発酵するという特徴があり、また、冷凍耐性酵母は、冷凍による発酵能の低下を招きにくいという特徴を有する。

10

【0021】

なお、酵母は、嫌気条件下においてアルコール発酵を行い、糖（グルコース）などの栄養分を分解して二酸化炭素とエタノールを生成する。一方、好気条件下において呼吸を行い、表3に示すような栄養源を含有する液内で、適当な温度：30前後およびpH：5～6の下で増殖していく。

【0022】

【表3】

20

栄養源	
炭素源	有機炭素源：グルコース、フルクトース、サッカロース、マルトースなど
窒素源	無機窒素：アンモニウム塩 有機窒素：尿素、アミノ酸、ペプトン、酵母エキス など
無機塩	少量の無機塩が必要で、そのうち P、K、Mg、S は他の元素よりも多く必要。
生育因子	ビタミン B1、ビオチン、イノシトール、ニコチン酸アミド、パントテン酸およびピリドキシンなどを必要とするものがある。

30

【0023】

次に、本発明に係るインジケータの作製方法について説明する。まず、上記に示した微生物の少なくとも一種以上を、発酵基質である培養液および/または発酵用培地と混合し、試料液を作製する。また、微生物と培養液および/または培地からなる発酵基質とは、別々に保管し、合成樹脂製の軟質フィルムの縦・横をヒールシールして形成される小袋中への充填に当たっては、その充填直前に両者を混合する。

【0024】

なお、培養液の例としては、牛乳、肉エキス、果汁、野菜ジュースおよび発酵調味料などのいずれか一種以上のものが好適に用いられる。また、培地の例としては、ブドウなどの果物の糖分や野菜の糖分などが好適に用いられるが、これらは酵母がアルコールと炭酸ガスに代謝する現象があるために好適であり、その他、糖分の多いリンゴ、ジャガイモなども好適に用いられる。

40

【0025】

上記のようにして作製したガス産生菌を種菌した試料液（発酵基質）を、合成樹脂製の透明な軟質フィルムをヒールシールして形成される小袋内に内部が見えるように充填封入し、インジケータを作製する。この充填封入の方法は、特許第2930515号公報、特開2001-335005号公報および特開2002-2601号公報などに提案の液状物充填装置を用いて行なうが、その際、インジケータ内に空気が混入しないように注意することが肝要である。これは、本発明に係る方法が、インジケータ内に発生するガス量によって腐食の程度を判断する技術であるから、初めからインジケータ内に空気が混入する

50

と、正確なガス発生量を確認することができなくなるからである。

【0026】

この意味において、本発明に用いる微生物としては、前記ガス産生菌のうち、低酸素濃度でも生育できるような微好気生菌、通性嫌気生菌あるいは嫌気生菌であることが条件となる。

【0027】

このようにして作製したガス産生菌を含む試料液を充填して封入したインジケータは、使用されるまでガス産生菌のガス産生開始温度以下、つまり0℃以下の温度で冷蔵保存する。

【0028】

また、本発明に適合する合成樹脂製の軟質フィルム袋としては、ポリエステル、ナイロン、ポリプロピレンなどのプラスチックフィルムを用いる。また、安全性を確保するため、前記フィルム袋のベースフィルムに二軸延伸ナイロン25μmなどの強度の高い材料を用いることができる。

10

【0029】

また、インジケータの表面には、対象となる飲食品等の種類やガス産生菌の種類に応じて、品質の指標となる基準気泡径を予め印刷表示しておくことが好ましい。この基準気泡径は、飲食品の危険期、注意期および安全期に相当する気泡径の大きさを示したものであり、このように予め基準気泡径を印刷表示しておけば、食品の管理者がその都度、気泡径を測定する必要がなく、目視により品質（腐敗の進行程度）を容易に確認することができるという利点がある。

20

【0030】

なお、発明者らの研究によれば、小袋等の中に封入する菌はいずれの種類についても菌温度を変化させることにより、ガス発生時間は変化し、基盤、例えば、糖濃度を変化させることにより、最終ガス発生量は変化することがわかった。これらの性質を利用すれば、小袋内のガス発生時間と発生量を任意にコントロールし、用途に合った時間調整とガス発生後に破袋しない製品の製造が可能である。

【0031】

【実施例】

<実施例1>

微生物を含む様々な飲食品を用いて、保存時間および温度におけるガス発生反応の有無および気泡径を確認し、インジケータ用の試料液として最適な食品の選定を行なった。

30

【0032】

(供試試料)

本実験に用いた基質(試料液)を表4に示す。

【0033】

【表4】

No.	製品種類	培養液、培養地
1	牛乳	牛乳中のたんぱく質 (原液)
2	はっ酵乳 1	牛乳中のたんぱく質 (原液)
3	はっ酵乳 2	牛乳中のたんぱく質 (原液)
4	ラクトアイス	牛乳中のたんぱく質 (原液)
5	乳製品：乳酸菌飲料	牛乳中のたんぱく質 (原液)
6	きぬ豆腐	大豆たんぱく質 (汁・豆腐)
7	米みそ	大豆たんぱく質 (原液・10倍希釈)
8	塩漬 1	野菜中の糖分 (漬液)
9	塩漬 2	野菜中の糖分 (漬液)
10	塩漬 3	野菜中の糖分 (漬液)
11	醤油漬 1	野菜中の糖分 (漬液)
12	醤油漬 2	野菜中の糖分 (漬液)
13	たくあん漬	大根、米ぬかの糖分 (漬液)
14	酢漬	野菜中の糖分 (漬液)

10

20

【0034】

(実験用インジケータの作製)

NY¹⁵/XA-S⁵⁰のラミネートフィルムを用いて作製した小袋中に、表4に示した各製品を試料液として2ml充填した後、空気が混入しないようにヒールシートを施して実験用インジケータを作製した。

30

【0035】

(実験1-1)

前記各試料液を充填したインジケータ(小袋)を、25℃に設定した恒温槽内に24時間放置し、袋内のガス発生の有無を確認した。その結果を表5に示す。これによれば、No.7~10のインジケータにガスの発生が認められた。とくに、No.9のインジケータでは、多量のガス発生が認められた。

【0036】

【表5】

40

No.	製品種類	ガス発生
1	牛乳	×
2	はっ酵乳1	×
3	はっ酵乳2	×
4	カトアイ	×
5	乳製品：乳酸菌飲料	△
6	きぬ豆腐 汁	×
	豆腐	×
7	米みそ 原液	△
	10倍希釈	○
8	塩漬1	○
9	塩漬2	◎
10	塩漬3	○
11	醤油漬1	△
12	醤油漬2	×
13	たくあん漬	×
14	酢漬	×

10

20

◎：ガス発生有（多） ○：ガス発生有 △：ガス発生有（極少） ×：ガス発生無

【0037】

そこで、最も顕著なガス発生が認められたNo. 9のインジケータを用いて、温度を変えて微生物のガス産生反応を確認した。

（実験1-2）

実験用インジケータを23 に保った室内と、5 の冷蔵庫中に24時間放置し、放置14時間後およびその後は、2時間おきにインジケータ内に発生した気泡径を3回ずつ測定した。その結果を表6および図1に示す。なお、図1は、3回の測定結果の平均値を示したものである。また、各時間毎に撮影した写真を図2および図3に示す。

30

【0038】

【表6】

環境温度	5°C			23°C		
回数	1	2	3	1	2	3
保持時間						
0 hr	0	0	0	0	0	0
14 hr	0	0	0	2.36	1.34	2.76
16 hr	0	0	0	4.2	2.71	3.62
18 hr	0	0	0	4.68	3.11	3.92
20 hr	0	0	0	4.93	3.55	4.21
22 hr	0	0	0	4.92	3.57	4.3
24 hr	0	0	0	6.69	3.89	5.52

40

【0039】

実験1-2の結果から、5 の環境下では、24時間放置後も気泡の発生は認められず、低温ではガス産生菌による反応が進まないことがわかった。しかし、23 の環境下では、14～16時間後にガスの発生が認められ、時間の経過に従って気泡径が大きくなっていることがわかる。

【0040】

<実施例2>

50

次に、本発明にかかるインジケータに使用するガス産生菌として、酵母の有効性を確認するため、以下のような実験を行なった。

(実験用インジケータの作製)

まず、酵母 1 g を蒸留水 1 m l に懸濁させて酵母液を作製した。この酵母液 0 . 2 m l と 5 % グルコース溶液 1 0 m l (培養液) とを混合して得た試料液を、Ny / VM - PET / X A - S のラミネートフィルムを用いて作製した小袋中に 1 m l ずつ充填した後、空気が混入しないようにヒートシールを施して実験用インジケータを作製した。

【 0 0 4 1 】

(実験 2 - 1)

前記のとおり作製した各インジケータ(小袋)を、23、10、4、2 および 0 . 5 に設定した恒温槽内にそれぞれ放置し、酵母によるアルコール発酵に伴い、試料液中のグルコースが分解され、CO₂が発生するまでに要する時間を測定した。その結果を表 7 に示す。さらに、インジケータを 23 恒温槽中に 30 分、3 時間および 9 時間放置した際の写真を図 4 に示す。表 7 および図 4 の結果から、温度が高いほどアルコール発酵に要する時間が短くなり、23 では、30 分経過後から CO₂ が発生し始め、9 時間後には袋が破裂しそうな程に多量のガスが発生することが確認できた。

【 0 0 4 2 】

【表 7】

恒温槽温度	ガス発生に要した時間
23°C	30~60 分
10°C	4~5 時間
4°C	9~13 時間
2°C	64 時間
0.5°C	78~80 時間

【 0 0 4 3 】

(実験 2 - 2)

次に、ガス産生反応に伴う試料液の pH 値、糖濃度および生菌数の変化について調査した。前記のとおり作製した 3 種類のインジケータに対し、インジケータ作製直後と 23 恒温槽に 24 時間放置後における試料液の pH 値、糖濃度および生菌数を測定した結果を表 8 に示す。

【 0 0 4 4 】

【表 8】

		pH	糖濃度(%)	生菌数 (CFU/ml)
インジケータ 1	インジケータ作製直後	3.94	5	1.4×10 ⁸
	23°C-24 時間放置後	3.38	2.5	—
インジケータ 2	インジケータ作製直後	4.06	5	1.2×10 ⁸
	23°C-24 時間放置後	3.37	2.3	3.0×10 ⁷
インジケータ 3	インジケータ作製直後	3.78	5	1.2×10 ⁸
	23°C-24 時間放置後	3.20	1.2	5.8×10 ⁷

【 0 0 4 5 】

表 8 の結果から、いずれのインジケータも 24 時間放置後の試料液の糖濃度および pH 値が、インジケータ作製直後と比較して低下していることがわかる。これは、酵母によるアルコール発酵により試料液中のグルコース(糖分)が分解され、その分解生成物として CO₂(酸性)が生成されたことによる。また、生菌数はいずれも 24 時間放置により減少しているが、これは菌の栄養成分であるグルコース(糖分)が消費され、その結果、菌の代謝異常(栄養失調)が起きたためと思われる。

【 0 0 4 6 】

(実験 2 - 3)

さらに、前記のとおり作製した実験用インジケータ(小袋)を24時間、-22の冷凍庫で凍結させた後、解凍し、23、10および4に設定した恒温槽内に放置してガス発生量およびアルコール発酵に要する時間を調査した。その結果を表9に示す。

【0047】

【表9】

単位：時間

恒温槽温度		発生量(+)*	発生量(++)*	発生量(+++)*
23°C	酵母1	0.3	1.25	3
	酵母2	0.5	1.75	3
10°C	酵母1	4	6	—
	酵母2	25	—	—
4°C	酵母1	—	15以内	87以内
	酵母2	135以上	255以内	—

10

* (+) : やや発生、(++) : 多量発生、(+++) : 非常に発生

【0048】

表9の結果から、いずれのインジケータにおいても凍結 - 解凍処理を行わない場合(実験2-1、表7)と比較するとガス発生までに若干の時間を要するものの、ガス発生量については大きな変化が見られず、本実験で用いた酵母が冷凍による障害(発酵能の低下)を受けにくい(冷凍耐性酵母)ことが確認できた。このような酵母は、例えば、冷凍食品等のインジケータとしての適用が期待できる。

20

【0049】

以上の実施例1の結果から、本発明にかかるインジケータを用いると、ガス発生までには時間がかかってしまうものの、少なくとも例示した漬物液(培養液：野菜の糖分)からなる試料液を用いたインジケータでは、食品の品質(腐敗の進行程度)を判定するときに極めて有望であることがわかった。また、本実験では使用しなかったが、その他にも未殺菌の食品(野菜や果物を含む)であれば、本発明のインジケータとして利用することができると考えられる。また、このように市販の商品をそのままインジケータ用試料として使用しても良いし、ガス産生菌の種類と培養液(地)を検討することにより、温度、食品の種類に合わせて、様々なインジケータを提供することもできる。

30

【0050】

また、以上の実施例2の結果からは、本発明に係るインジケータに適合するガス産生菌として、酵母が好適に利用できることが確認できた。また、酵母はその種類によって発酵温度が異なることから、対象とする食品にあわせて適切に選択すれば、優れたインジケータになり得ることがわかった。

【0051】

【発明の効果】

以上説明したように、本発明に係る飲食品等の判定方法およびこの方法の実施に用いるインジケータによれば、飲食品等の品質、とくに温度履歴、経過時間の両方に依存して変質する程度(腐食の進行程度等)を、その飲食品の変質を小袋内に再現するような形で、より正確にかつ簡便に判定することができるようになる。本発明において、飲食品等とは、農産物、畜産物、魚介類などの生鮮食品、弁当や惣菜などの加工食料品、野菜や果物のジュースあるいは酒などの飲料、ソースやみそなどの調味料、食料油、生化学用サンプル、化粧品、工業薬品、ワクチンなどの薬剤、血液、臓器、育畜用培地、種子その他の主として保存環境の温度や保存時間の影響を受けて変質したり、腐敗したりする物品を意味しており、このような物品の品質を判定するのに有効である。

40

【図面の簡単な説明】

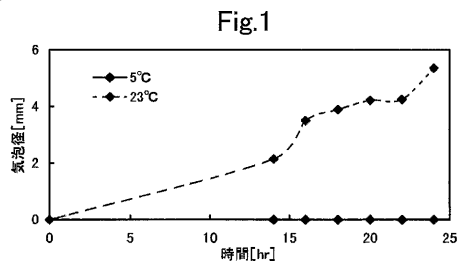
図1は、実験1-2における気泡径と時間との関係を示すグラフである。

図2は、実験1-2における気泡径の経時変化(環境温度：5)を示す写真である。

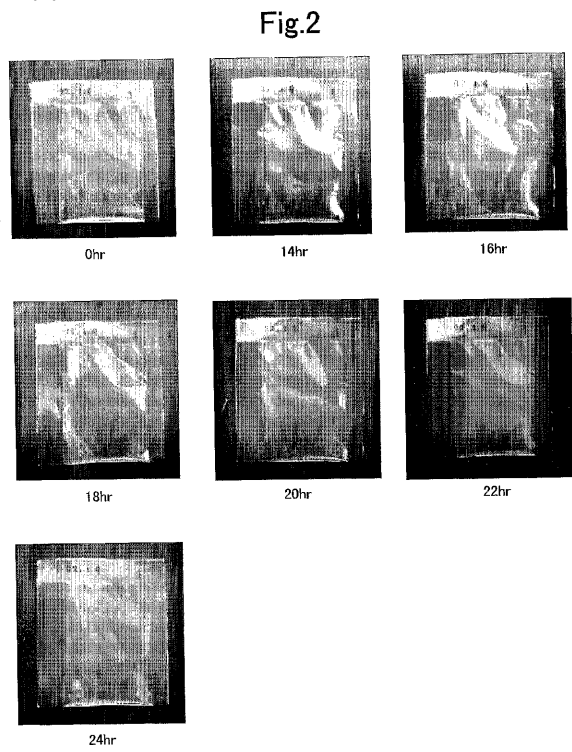
50

図3は、実験1-2における気泡径の経時変化（環境温度：23℃）を示す写真である。
図4は、実験2-1におけるガス発生量の経時変化（環境温度：23℃）を示す写真である。

【図1】

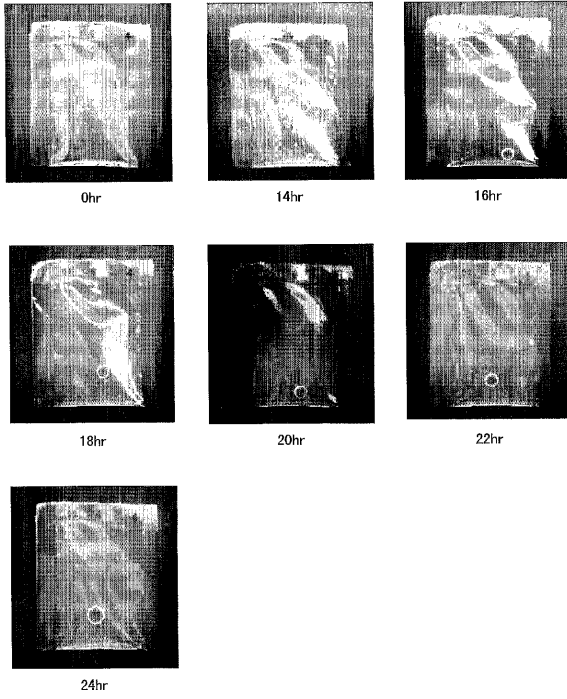


【図2】



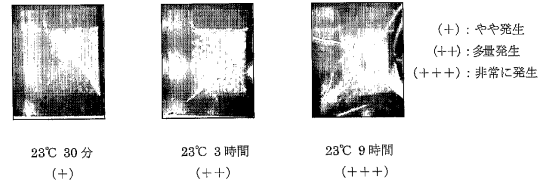
【 図 3 】

Fig.3



【 図 4 】

Fig.4



フロントページの続き

(74)代理人 100077126

弁理士 中村 盛夫

(72)発明者 一色 賢司

茨城県つくば市観音台2丁目1番地12独立行政法人 食品総合研究所

(72)発明者 小川 順三

千葉県千葉市花見川区幕張本郷7丁目10番19号

審査官 引地 進

(56)参考文献 実開平07-007500(JP,U)

特開平07-165270(JP,A)

特開平02-257872(JP,A)

特開昭59-122921(JP,A)

特開昭61-243329(JP,A)

特開2001-178496(JP,A)

特開平11-178597(JP,A)

特開平04-079896(JP,A)

特開昭63-152974(JP,A)

International Journal of Food Microbiology, 1996年, Vol.33, pp.103-120

Trends in Food Science & Technology, 1999年, Vol.10, pp.356-365

月刊フードケミカル, 1994年, 第10巻, 第5号, pp.21-25

食品と開発, 1993年, 第28巻, 第5号, pp.15-16

Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie, 1996年, Vol.29, No.7, pp.664-668

Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie, 1985年, Vol.18, pp.128-132

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12Q 1/00- 3/00

JSTPlus(JDreamII)

PubMed

Science Direct

CA/BIOSIS/MEDLINE/WPIDS(STN)