腸管出血性大腸菌 O157: H7をはじめとする食中毒菌に対する 食酢の抗菌作用 (その1) 静菌作用および殺菌作用

" (株)中埜酢店中央研究所,"名古屋大学医学部細菌学講座 円谷 悦造") 浅井 美都") 辻畑 茂朝" 塚本 義則") 太田美智男")

> (平成9年1月29日受付) (平成9年3月6日受理)

Key words: vinegar, *Escherichia coli* O157: H7, food-borne pathogenic bacteria, antibacterial activity

要 旨

腸管出血性大腸菌 O157: H7を含む食中毒菌および一般細菌に対する食酢(酒精酢,穀物酢,米酢)の 静菌作用と殺菌作用を検討した。

供試した細菌全株が、食酢由来の0.1%の酢酸濃度で増殖が阻止され、食酢(酢酸)には強い静菌作用があることが分かった。この作用に関しては、食酢の種類による差は認められなかった。また、静菌作用における病原性大腸菌の菌株間の感受性の差は殆どなかった。

食酢は腸管出血性大腸菌 O157: H7に対して殺菌作用を有しており、その強さは、酒精酢>穀物酢>米酢の順であった。また、腸管出血性大腸菌 (O157: H7, O26: H11) においては、菌株間での食酢による死滅速度の差は小さかったが、腸管病原性大腸菌 $(O111: K58: H^-)$ はこれらに比べ明らかに感受性が強く、速やかに死滅した。

初発生菌数に関わらず、食酢による死滅速度は一定であったが、菌体の生育相の影響は大きく、対数 増殖期の菌体は定常期のそれに比べ明らかに感受性が強く、殺菌され易かった。

温度が高いほど食酢の殺菌力は強くなり、 $40\sim50^{\circ}$ C程度の温湯での殺菌が応用面からみて効果的と思われた。

序 文

食酢は幅広い種類の微生物に対して抗菌作用を有することが古くから知られているが¹⁾,種々の食中毒菌に対する抗菌作用を体系的に研究した例は少ない²⁾⁻⁴⁾. 特に,平成8年に大きな問題となった腸管出血性大腸菌 Escherichia coli O157: H7に対しては,酢酸(食酢の主成分)溶液による食肉の洗浄・殺菌に関する報告⁵⁾⁻¹³⁾があるのみで,食酢の抗菌作用に関する研究はない。

本報では,食中毒防止対策における食酢の効果

別刷請求先: (〒475) 愛知県半田市中村町 2 - 6 (株)中埜酢店中埜中央研究所

円谷 悦造

的な利用法を提示する目的で,腸管出血性大腸菌 O157: H7をはじめとする食中毒菌および一般細 菌に対する食酢の静菌作用および殺菌作用につい て検討した。また,後者に及ぼす初発生菌数,温 度,生育相の影響についても併せて検討した。

材料と方法

1. 供試菌株

成績の項の Table 2 に示した由来の異なる病原性大腸菌 O157: H7 6 株 (NGY-10; 平成 8 年愛知県春日井市, NGY-11; 平成 8 年愛知県春日井市, RIMD 0509861; 平成 8 年岡山県邑久町, RIMD 0509881; 平成 8 年岡山県新見市, RIMD 0509890; 平成 8 年大阪府堺市, RIMD 0509891;

平成8年大阪府堺市;何れも集団食中毒の原因株), O26: H111 株 (NGY-9688; 平成8年愛知県名古屋市), O111: K58: H-1 株 (ウルスコフ氏より分譲), を含む食中毒菌7種と一般細菌19種の計26種, 34株を供試した.

2. 供試食酢

(株)中埜酢店製の酒精酢(酢酸酸度10%,以下, 本報での濃度表示は全てw/v%),穀物酢(酢酸酸 度4.2%) および米酢(酢酸酸度4.5%)を供試し

Table 1 General analysis of various vinegars

	Concentration(%,w/v)				
Components	Spirit vinegar	Grain vinegar	Rice vinegar		
acidity vinegar	10	4.2	4.5		
acetic acid	10	3.8	4.1		
non-volatile acids	ND^*	0.4	0.4		
reducing sugar	0.058	1.191	7.387		
amino acid nitrogen	0.003	0.007	0.012		
NaCl	ND^*	0.01	0.02		
ethanol	0.134	0.083	0.205		

*Not detected.

Table 2 Bacteriostatic action of spirit vinegar

Strains -		Vinegar acidity (%,w/v)				
Strams -		0.025	0.05	0.075	0.1	
Escherichia coli O157: H7 HGY-10	₩*	###	1111	+++	_	
E. coli O157: H7 NGY-11	1111	###	###	##	_	
E. coli O157: H7 RIMD 0509861	++++	###	###	#	_	
E. coli O157: H7 RIMD 0509881	++++	###	###	+++	_	
E. coli O157: H7 RIMD 0509890	###	###	###	+++	_	
E. coli O157: H7 RIMD 0509891	###	++++	###	++	_	
E. coli O26: H11 NGY-9688	###	###	###	+++	_	
E. coli O111 : K58 : H-	++++	1111	++++	+++	_	
E. coli IFO 3208	###	###	###	###		
Citorobacter freundii IID 976	1111	###	###	###	_	
Enterobacter aerogenes MK	###	###	###	###	_	
E. cloacae IAM 1221	###	###	++	+	_	
Serratia marcescens MK	++++	++++	###	###	_	
Salmonella enteritidis IID 604	###	++++	##	+	_	
S. typhimurium NCI 17024	###	###	###	+++	_	
Proteus vulgaris IFO 3851	###	###	###	 	_	
Morganella morganii IFO 3848	###	###	###	++	_	
Vibrio parahaemolyticus IFO 12711	###	###	##	_		
Aeromonas hydrophila IFO 3820	###	1111	##	_	****	
Alcaligenes faecalis IAM-B-141-1	###	###	++	+	_	
Pseudomonas aeruginosa IID 1031	###	++++	##	_	_	
P. fluorescens IFO 3081	###	###	++	+	_	
Micrococcus luteus IFO 3763	###	###	++	#	_	
M. roseus IFO 3764	###	+ '	_	_	_	
Staphylococcus aureus IFO 3060	###	###	###	++++		
Rhodococcus equi IAM 1038	###	###	###	++	_	
Bacillus subtilis IFO 3007	++++	###	###	##	_	
B. cereus MK	###	###	###	###	_	
B. pumilus IFO 3030	++++	###	###	+	_	
B. licheniformis IAM 11054	###	###	+++	+		
B. megaterium MK	+++	++	_		_	
B. circulans IFO 3329	###	###	###	++	_	
B. brevis IFO 3331	+++	+++	++	_	-	
B. sphaericus IFO 3525	###	1111	++++	++++	_	

^{*}Visual growth occured within 1 day(\boxplus), 2 days(\boxplus), 3 days(\boxplus), and 4 days(\vdash).

No growth occured within 4 days (-). Inoculated media were incubated at 30° C.

た.

本試験に使用した酒精酢,穀物酢,米酢の分析値を Table 1 に示した。ここに示されるように,酒精酢の酸成分は酢酸が100%であった。従って,酢酸酸度と酢酸濃度は同義と判断し,以下,本報では,酒精酢に限って酢酸濃度と表現した。また,酢酸以外の酒精酢の成分は0.2%程度と微量であることから同様の理由で酒精酢(酢酸)と表現した。

3. 静菌力の測定

所定の酢酸濃度となるよう酒精酢を添加したブイヨン寒天培地(肉エキス0.5%,ペプトン1%,塩化ナトリウム0.5%,寒天1.5%,pH 7.0. Vibrio parahaemolyticus IFO 12711の場合のみ塩化ナトリウム3%)上に供試菌体懸垂液0.01mlを表面塗抹し、30°Cにて4日間培養し菌の生育の有無を経日的に観察した。生育が肉眼的に認められるまでの日数により,供試菌株に対する酒精酢(酢酸)の静菌力を比較した。腸管出血性大腸菌の157:H7 NGY-10については、所定の酢酸酸度となるよう穀物酢、米酢を添加したブイヨン寒天培地を調製し、同様に試験した.酢酸酸度0.1%となるように調製した寒天培地のpH は食酢の種類により若干異なり、酒精酢、穀物酢、米酢で各々、pH 5.05、pH 5.07、pH 5.37であった.

4. 殺菌力の測定

1) 殺菌試験溶液の調製

酒精酢,穀物酢,米酢を所定酢酸酸度となるように純水で希釈した。同一酢酸酸度の溶液でも食酢の種類により pH は異なり,酢酸酸度 4 %では,酒精酢,穀物酢,米酢で各々,pH 2.56, pH 2.69,pH 3.01であった。

2) 供試菌体懸垂液の調製

ブイヨン寒天培地で37°C,24時間培養後,菌体 を滅菌水に懸垂した.

3) 殺菌試験

(1) 殺菌所要時間の測定

滅菌後,30°Cに保温した殺菌試験溶液10ml に,2.0×10°CFU/ml に調整した腸管出血性大腸菌 O157:H7 NGY-10の菌体懸垂液0.1ml を添加後 速やかに混合し,所定時間毎に殺菌試験溶液の

0.05ml をブイヨン液体培地に接種した。この培地を 30° Cにて3日間培養し,菌の生育の有無を肉眼的に観察した。培養後に菌の生育が認められなくなった時間を殺菌所要時間($2.0\times10^{\circ}$ CFU/ml から< $2.0\times10^{\circ}$ CFU/ml にまで殺菌するのに要する時間)とし,各々の殺菌試験溶液の殺菌力を比較した。

(2) 死滅曲線の作成

供試菌体懸垂液を殺菌試験溶液に接種し,経時 的にブイヨン寒天培地を用いた希釈平板培養法に より生菌数を測定し,最小二乗法により死滅曲線 を作成した.

5. 初発菌数の影響

所定の初発菌数となるように腸管出血性大腸菌 O157: H7 NGY-10の菌体懸垂液を,酢酸濃度 2.5%の酒精酢希釈液に接種し,30°Cでの死滅曲線 を作成した.

6. 殺菌温度の影響

腸管出血性大腸菌 O157: H7 NGY-10の菌体懸垂液を,酢酸濃度2.5%の酒精酢希釈液に接種し, $10\sim50^{\circ}\mathrm{C}$ での死滅曲線を作成した。死滅曲線よりアレニウスプロットを求め,各温度において,異なる生菌数を殺菌するのに要する時間を外挿法で算出した。

7. 生育相の影響

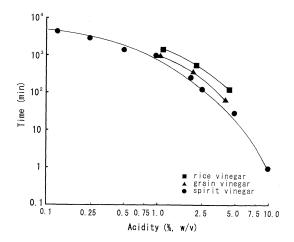
腸管出血性大腸菌 O157: H7 NGY-10をブイヨン液体培地に接種し、37°Cで振盪培養した。所定時間培養後の培養液を酢酸濃度2.5%の酒精酢希釈液に接種し、30°Cでの10分後の生存率を求め、各生育相の菌体の酒精酢(酢酸)に対する感受性を比較した。

成 績

1. 食酢の静菌力

食中毒菌および一般細菌に対する酒精酢(酢酸)の静菌作用を調べた。結果を Table 2 に示したが、腸管出血性大腸菌 O157: H7をはじめとする供試菌株の全てが0.1%の酢酸濃度で生育が阻止され強い静菌作用が認められた。腸管出血性大腸菌 O157: H7については、穀物酢と米酢でも試験したが、酒精酢と全く同一の結果であり、0.1%の酢酸酸度で生育が阻止された。培地の pH は酒精

Fig. 1 Time necessary for five log decrease in bacterial number of cells of *Escherichia coli* O157: H7 NGY-10 in rice, grain, and spirit vinegars at 30°C



酢を使用した場合が最も低く,pH 5.05であったが,同pH に塩酸で調整した培地では供試菌株の生育は阻止されなかった。

2. 食酢の種類による殺菌力の差

Fig. 1 に,各種食酢の原液および希釈液を用いた場合の酢酸酸度と,腸管出血性大腸菌 O157:H7 NGY-10の殺菌に要する時間(生菌数を 2.0×10^{1} CFU/ml にまで下げるのに要する時間)との関係を示した。縦軸に殺菌に要する時間の対数をとってあるが,ここで示されるように同一酢酸酸度では酒精酢>穀物酢>米酢の順で殺菌力が強く,殺菌に要する時間はこの順で短かかった。

3. 腸管病原性大腸菌の菌株間の酒精酢感受性 の差

由来の異なる病原性大腸菌 O157: H76株, $O26: H11, O111: K58: H^-$ 各1株の 30° C, 酢酸 濃度2.5%の酒精酢希釈液中での死滅曲線を Fig. 2 に示した。ここで示されるように,腸管出血性大腸菌 O157: H7, O26: H1107株は比較的類似した死滅速度であったが,腸管病原性大腸菌 $O111: K58: H^-$ はこれらの株とは明らかに酒精酢(酢酸)に対する感受性が高かった。

4. 酒精酢の殺菌力に及ぼす初発生菌数の影響

Fig. 2 Bactericidal activity of spirit vinegar with 2.5% (w/v) acidity against *Escherichia coli* O157: H7, O26: H11, and O111: K58: H- at 30°C

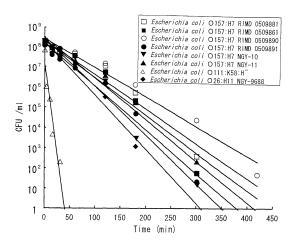
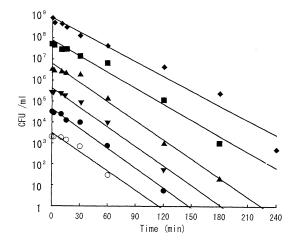


Fig. 3 Effect of initial number of cells on bactericidal activity of spirit vinegar with 2.5% (w/v) acidity against *Escherichia coli* O157: H7 NGY-10 at 30°C



腸管出血性大腸菌 O157:H7 NGY-10の初発生菌数を変えて,酢酸濃度2.5%の酒精酢希釈液中での死滅曲線を作成したところ, Fig. 3 に示したように,酒精酢(酢酸)による死滅速度定数は初発生菌数に係わらずほぼ一定であった。特に,約10 $^{\circ}$ CFU/ml 以下の初発菌数では全く同一の死滅速度定数 $(k=0.07 \mathrm{min}^{-1})$ を示した。

5. 酒精酢の殺菌力に及ぼす温度の影響

感染症学雑誌 第71巻 第5号

Fig. 4 Effect of temperature on bactericidal activity of spirit vinegar with 2.5% (w/v) acidity against *Escherichia coli* O157: H7 NGY-10

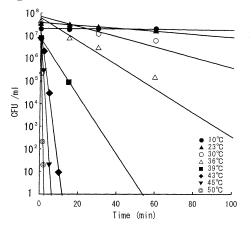
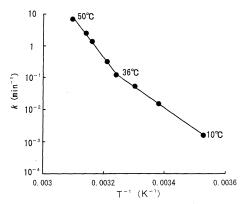


Fig. 5 Arrhenius plots derived from Fig. 4



温度を変えて、腸管出血性大腸菌 O157:H7 NGY-10の酢酸濃度2.5%の酒精酢希釈液中での死滅曲線を作成した (Fig. 4). ここで得られた死滅曲線の傾きよりアレニウスプロットを求め (Fig. 5),各温度において、異なる生菌数を殺菌するのに要する時間を外挿法で算出した。結果を Table 3 に示したが、温度が高いほど短時間で殺菌され、酢酸濃度2.5%の酒精酢希釈液中で、腸管出血性大腸菌 O157:H7 NGY-10 の生菌数を 1,000分の1 に減少させる時間は、50°Cでは0.84分、40°Cでは14.4分、30°Cでは137分、20°Cでは739分、10°Cでは4.516分であった。

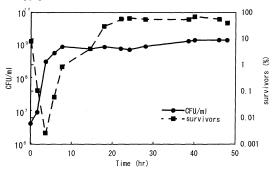
6. 酒精酢の殺菌力に及ぼす生育相の影響

Table 3 Thermal death time of *Escherichia coli* O157: H7 NGY-10 in spirit vinegar with 2.5% (w/v) acidity

Temp(°C)	k (min ⁻¹) -	Thermal death time(min)				
		10-3*	10-6*	10-9*	10-12*	
10	1.53×10^{-3}	4,516	9,031	13,547	18,063	
15	3.84×10^{-3}	1,799	3,598	5,398	7,197	
20	9.35×10^{-3}	739	1,478	2,217	2,956	
25	2.21×10^{-2}	313	625	938	1,250	
30	5.06×10^{-2}	137	273	410	546	
35	1.13×10^{-1}	61.1	122	183	245	
40	0.480	14.4	28.7	43.2	57.6	
45	2.03	3.40	6.81	10.2	13.6	
50	8.24	0.84	1.68	2.52	3.35	

^{*}Decrease number of bacterial cells.

Fig. 6 Effect of growth phase on bactericidal activity of spirit vinegar with 2.5% (w/v) acidity against *Escherichia coli* O157: H7 NGY-10 at 30°C



生育相の異なる腸管出血性大腸菌 O157: H7 NGY-10の菌体の酒精酢(酢酸濃度2.5%)に対する感受性を調べた。その結果, Fig. 6 に示したように対数増殖期の菌体は酒精酢(酢酸)に対する感受性が高く,逆に定常期の菌体は感受性が低かった。

考 察

食酢の抗菌作用は静菌作用,即ち菌体の増殖抑制・阻害作用および殺菌作用,即ち生菌数の低減化作用に分けて論じることができる。食品の防腐という意味合いからは,静菌作用が殺菌作用とともに重要である。そこで,腸管出血性大腸菌O157:H7を含む食中菌および一般細菌に対する酒精酢(酢酸)の静菌力を調べた。その結果,0.1%

という低い酢酸濃度で供試した34株の全てが増殖 阻止され、強い静菌作用があることが分かった。 この作用は同一酢酸酸度においては食酢の種類に よる差は認められず、酒精酢、穀物酢、米酢は同 一の静菌力であった。

一方,食中毒対策という観点からは,静菌作用より殺菌作用が重要である。特に,腸管出血性大腸菌 O157: H7をはじめとする感染型の食中毒菌対策においては,殺菌力が要求される。そこで,食酢の殺菌作用について詳細に検討した。

食酢は腸管出血性大腸菌 O157: H7 NGY-10に 対する殺菌作用を示し、横軸に酢酸酸度の対数、 縦軸に殺菌に要する時間の対数をとると、なだら かな曲線を描くことができた。このことから、外 挿法により任意の酢酸酸度での殺菌所要時間を求 めることができることが分かった。

食酢の殺菌力は種類により異なり、同一酢酸酸 度では,酒精酢>穀物酢>米酢の順であった。酒 精酢はエタノールを原料としており、酢酸以外の 成分は0.2%程度しか含まれていないのに対し、穀 物酢は小麦, 酒粕, 米, トウモロコシおよびエタ ノール,米酢は米,エタノールを原料としており, 酢酸以外の有機酸(不揮発酸として分析), アミノ 酸(アミノ体窒素として分析)や糖類(還元糖と して分析)が含まれている。因みに、同一酢酸酸 度で比較した場合, アミノ酸および糖類含量は米 酢が最も多い。また、pH も異なっており、同一酢 酸酸度では米酢>穀物酢>酒精酢の順で高い。次 報14)で述べるように、酒精酢(酢酸)の殺菌力は糖 類により弱められること, pH が高いほど殺菌力 は弱くなることから、食酢の種類による殺菌力の 差は、糖含量とpH の要因が関連していると考え られた. このように酒精酢が最も殺菌力の強いこ とが分かったので本研究では主に酒精酢を用い た。

由来の異なるベロ毒素生産性の腸管出血性大腸菌 O157: H7および O26: H11の計7株間の酒精酢(酢酸) 感受性の差は大きくなかったが、ベロ毒素非生産性の腸管病原性大腸菌 O111: K58: H-はこれらに比べ顕著に感受性が高かった。これは興味深い結果であり、今後は供試菌株を増やし、

酒精酢(酢酸)感受性とベロ毒素生産性の関係を 検討していく予定である.

腸管出血性大腸菌 O157: H7 NGY-10の初発生菌数は,酒精酢(酢酸)の殺菌力に殆ど影響を与えず,死滅速度は一定であることが明らかとなった。このことから,任意の初発生菌数での殺菌所要時間を外挿法で求めることができることが分かった。

腸管出血性大腸菌 O157: H7 NGY-10に対する 酒精酢(酢酸)の殺菌力に及ぼす温度の影響を検 討し,死滅曲線からアレニウスプロットを求めた ところ, 高温域 (36~50°C), 中温域 (10~36°C) において各々直線性が得られた、このことから, 任意の温度において, 任意の生菌数を殺菌するの に要する時間を外挿法で算出できることが分かっ た. 因みに, 酢酸濃度2.5%の酒精酢希釈液中で, 腸管出血性大腸菌 O157: H7 NGY-10の生菌数を 1,000分の1に減少させるのに要する時間を算出 すると、30°Cに比べ45°Cでは約40分の1に短縮さ れ, 3.4分であることが分かった。このことより, 火傷の危険のない40~50°Cぐらいの温度で食酢処 理することが、実用的な殺菌方法であることが示 唆された。なお, 腸管出血性大腸菌 O157: H7の殺 菌には75°C, 1分間以上の加熱殺菌が有効である が,ここで得られた温湯での殺菌処理は,食材の 食感や栄養価の損傷が少ない点で優れているよう に思われた。

腸管出血性大腸菌 O157: H7 NGY-10の対数増殖期の菌体は酒精酢(酢酸)に対する感受性が高く,定常期の菌体は感受性が低いことが分かった。この知見は、食酢の殺菌力を評価し、食の場面等での応用性を検討していく上で重要であり、試験には対数増殖期ではなく定常期の菌体を用いるべきであると判断された。

本研究の結果から、食酢の静菌作用(防腐作用), 殺菌作用を、食の場面等での食中毒防止対策の一つとして利用できると考えられた。食酢の殺菌力を増強したより効果的な食酢の利用法、食の場面での応用性についても検討したが、これらの結果については次報¹⁴⁾に譲る。

本論文の要旨は1996年第33回日本細菌学会中部支部総会

において報告した.

文 献

- 1) 栗本末弘:天然物利用による食品の保存技術。食酢(酢酸)の利用,衛生技術会,東京,1981;12-50。
- 2) 清水利貞,鈴木一良,出川 昭:調味料中における数種病原および食中毒菌の生存期間について。 日食工誌 1962;9:198-200.
- 3) 円谷悦造,柴田邦彦,川村吉也,正井博之:合せ 酢の殺菌作用について。日食工誌 1981;28:387 -392.
- 4) 今井忠平,上杉郁子:マヨネーズの衛生管理(その8)追補と総括(下).油脂 1989;42:90-94.
- 5) Dickson JS: Control of *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, and *Escherichia coli* O157: H7 on beef in a model spray chilling system. J Food Sci 1991; 56: 191-193.
- 6) Abdul-Raouf UM, Beuchat LR, Ammar MS: Survival and growth of *Escherichia coli* O157: H7 in ground, roasted beef as affected by pH, acidulans, and temperature. Appl Environ Microbiol 1993; 59: 2364-2368.
- 7) Siragesa GR, Dickson JS: Inhibition of Listeria monocytogenes, Salmonella typhimurium and Escherichia coli O157: H7 on beef muscle tissue by lactic or acetic acid contained in calcium alginate gels. J Food Safety 1993; 13: 147-158.
- 8) Cutter CN, Siragusa GR: Efficacy of organic acids against *Escherichia coli* O157: H7 attached to beef carcass tissue using pilot scale model carcass washer. J Food Prot 1994; 57: 97

-103.

- 9) Brackett RE, Hao YY, Doyle MP: Ineffectiveness of hot acid sprays to decontaminate *Escherichia coli* O157: H7 on beef. J Food Prot 1994: 57: 198–203.
- 10) Dickson JS, Siragusa GR: Survival of Salmonella typhimurium, Escherichia coli O157: H7 and Listeria monocytogenes during storage on beef sanitized with organic acids. J Food Safety 1994; 14: 313-327.
- Conner DE, Kotrola JS: Growth and survival of *Escherichia coli* O157: H7 under acidic conditions. Appl Environ Microbiol 1995; 61: 382– 385.
- 12) Hardin MD, Acuff GR, Lucia LM, Oman JS, Savell JW: Comparison of methods for decontamination from beef surfaces. J Food Prot 1995: 58: 368-374.
- 13) Podolak RK, Zayas JF, Kastner CL, Fung YC: Reduction of *Listeria monocytogenes, Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella typhimurium* during storage on beef sanitized with fumaric, acetic, and lactic acids. J Food Safety 1995; 15: 283-290.
- 14) 円谷悦造,浅井美都,辻畑茂朝,塚本義則,太田 美智男:腸管出血性大腸菌 O157:H7 をはじめ とする食中毒菌に対する食酢の抗菌作用(その2) 殺菌作用に及ぼす塩化ナトリウムと温度の影響. 感染症誌 1997;71:54-61.

450 円谷 悦造 他

Antibacterial Action of Vinegar against Food-Borne Pathogenic Bacteria Including *Escherichia coli* O157:H7 (Part 1) Examination of Bacteriostatic and Bactericidal Activities

Etsuzo ENTANI¹⁾, Mito ASAI¹⁾, Shigetomo TSUJIHATA¹⁾,
Yoshinori TSUKAMOTO¹⁾ & Michio OHTA²⁾

¹⁾Nakano Central Research Institute of Nakano Vinegar Co. Ltd.
²⁾Department of Bacteriology, Nagoya University School of Medicine

Bacteriostatic and bactericidal activities of vingar products against food-borne pathogenic bacteria including enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) O157:H7, and other bacteria were examined.

By the presence of spirit vinegar at 0.1% acidity, the growth of 34 strains of bacteria was completely inhibited. Grain and rice vinegars also inhibited the growth of bacteria at the same acidity. These results suggest that vinegars have strong bacteriostatic activity.

Bactericidal activity of vinegar products was measured. The order of their activities against *E. coli* O157:H7 strains was spirit vinegar>grain vinegar>rice vinegar.

Susceptibility of 7 EHEC strains (6 *E. coli* O157:H7 isolated from 3 outbreaks and 1 *E. coli* O26:H11 from a sporadic case) to spirit vinegar was similar to each other, and much lower than that of an enteropathogenic *E. coli* O111:K58:H⁻ strain. It indicates that these EHEC strains are rather acid-tolerant. The bactericidal activities of vinegars were independent of bacterial inoculum sizes, but were dependent of growth phase. Bacteria of logarithmic growth phase were more sensitive than those of stationary phase. Bactericidal activity of spirit vinegar profoundly depended on the reaction temperature. At higher temperatures, spirt vinegar killed bacteria much more rapidly. In 2.5% acidity vinegar, the times for the log3 reduction of cells were 4,516 min at 10°C, 739 min at 20°C, 137 min at 30°C, 14.4 min at 40°C, and 0.84 min at 50°C, respectively. These results suggest that treatment with vinegar solution at handy temperatures ranged 40–50°C may be one of the useful methods to prevent bacerial food poisoning.