食品保存へのオゾンの利用（第21報）

嫌気下で保存したカステラのオゾン処理の影響

内藤茂三・岡田安司・山中勝弘*

加工食品の品質劣化は、空気中の酸素により促進されるものが多く、糸状菌や昆虫の発生、油脂の酸化、色や風味の変化などの例があげられる。このような酸素による劣化を防ぐ方法として、酸化防止剤の添加、真空包装、ガス置換包装及び脱酸素剤封入包装などが従来から行われている。しかし、このような食品が嫌気的な状態におかれる場合が多くなるに従い、嫌気下で増殖する微生物に由来する酢酸エチル等のエステル、揮発性脂肪酸、白発泡の生成など今まではみられなかった変敗現象が発生する。

このようなことから食品を嫌気下で保存する前にこれらの原因微生物を殺菌しておく必要がある。そこで今回、カステラをオゾン処理し、嫌気下で保存してその品質の変化を検討したので報告する。

実験方法

1. 試料　愛知県内のカステラ製造業者より購入した製造直後のカステラ（550g、幅10cm、長さ25cm、厚さ6cm）を脱酸素効率を上げるために箱の横に1cm×15cmの穴をあけた厚紙の箱に入れ、この箱の外側に脱酸素剤をセロテープで固定した。これを包装袋（和紙／アルミ箔／ポリエチレン、幅15cm、長さ30cm、厚さ10cm）に入れてヒートシールした。

カステラの一般成分は粗たんぱく質6.7％、粗脂肪4.8％、水分28.8％、灰分0.4％であり、水分活性は、内部が0.846、表面が0.744であった。

2. 脱酸素剤　供試した脱酸素剤はバイタロンGMA－1000（東亜合成化学製造、酸素吸収と共に炭酸ガス発生タイプ）、バイタロン LH－1000（東亜合成化学製造、酸素吸収タイプ）の2種類を使用した。

3. オゾン処理　既報4)～8)）と同様に、オゾン処理にはオゾン濃度自動調整器（冷凍機付、スガ試験

* 農林水産省　名古屋農林試験所
機械製、OMS-2AC）を用い、オゾン濃度0.2〜5.0 ppm, 流量100ℓ/分, 温度10℃で5〜30分間処理を行った。

4. 包装袋内のオゾン濃度の測定 包装袋内のオゾン濃度はUVオゾンモニター（荏原実業機械, EG-2001F）を用いて測定した。

5. 微生物の測定 既報4)と同様に一般細菌数, 酵母菌数, 糠状菌数を測定した。

6. 微生物の同定 既報2),4),6)と同様に, 平板培地に培養した菌を鏡検して菌の形態を観察するとともに腐子の有無を確認し, 生理的性質を調べた。

7. 保存試験 温度30℃, 相対湿度75%の恒温恒湿器中に45日間貯蔵し, 一定期間ごとに順次試料を取り出して, 菌数, ミクロフローラ及びオゾン濃度を測定した。

8. 酸素及び炭酸ガス濃度の測定 フィルム袋内の酸素ガス量は注射器で10〜15mlのガスを採取し, 酸素分析計（東レ機械, LC-700F）により測定した。

フィルム袋内の炭酸ガス量はマイクロシリンジで1mlのガスを採取し, ガスクロマトグラフ（桜井製作所製, G-80-TPP型）により測定した。測定条件は以下のとおりである。検出器: TCD, 検出器温度: 90℃, カラム: φ 3mm × 1.5mステレンスカラム, 充填剤: 活性炭（アクティブカーボン）, カラム温度: 70℃, キャリヤーガス: ヘリウム (50ml/分)。

実験結果

1. オゾン処理したカステラの保存中における微生物の挙動と包装袋内の酸素及び炭酸ガス濃度の変化

1.1. 微生物の挙動 脱酸素素を用いてオゾン未処理のカステラを嫌気的条件下で保存した時の細菌数の変化を第1図に示した。保存初期はカステラの表面と内部では水分活性が異なるので表面と内部に分けて細菌数を測定した。対照区の表面と内部の菌数はそれぞれ保存16日目で7.1×10^3, 9.3×10^2 /g, 20日目で1.2×10^4, 1.5×10^3, 28日目で1.5×10^4, 2.1×10^3 /gとなり, 表面の菌は保存中に増加したが, 内部の菌はやや減少する傾向を示した。一方, 脱酸素素使用区は保存中に表面及び内部とも菌は減少傾向を示し, 10^2〜10^3/gの生菌数であったが, 各試験区とも表面の方が内部よりも菌数が多いことを認めた。そこでこれらの菌の減少を目的としてオゾン処理を行った。その結果を第2図に示す。

なお図にはカステラの表面の細菌数をオゾン濃度0.2, 1.0 ppm処理区についてのみ示した。オゾン濃度0.2,1.0 ppm両処理区の菌数はそれぞれ保存8日目で9.5×10^2, 5.0×10^2 /g, 16日目で2.7×10^3, 4.7×10^2 /g, 28日目で1.0×10^4, 3.5×10^2 /gとなり, オゾン処理により細菌の増殖が抑制され, 特に1.0 ppm処理区の抑制効果は顕著であった。またオゾン処理区に脱酸素素を用いることにより
食品保存へのオゾンの利用（21報）

第1図 カステラの保存中における細菌数の変化

○ 対照（表面） □ バイタロンGMA－1000（表面） △ バイタロンLH－1000（表面）
● 対照（内部） ■ バイタロンGMA－1000（内部） ▲ バイタロンLH－1000（内部）

第2図 オゾン処理したカステラの保存中における細菌数の変化

○ 対照 △ オゾン濃度0.2ppm処理＋バイタロンLH－1000
● オゾン濃度0.2ppm処理 ▲ オゾン濃度1.0ppm処理＋バイタロンLH－1000
○ オゾン濃度1.0ppm処理 ■ オゾン濃度0.2ppm処理＋バイタロンGMA－1000
□ オゾン濃度1.0ppm処理＋バイタロンGMA－1000
細菌の増殖が更に抑制された。

糸状菌は、非常に低酸素濃度でも繁殖することは知られており9)，Rhizopus, Alternaria, Cladosporiumなどの中には0.2%程度でかなりの生育を示すものがある。そこでオゾン処理区、脱酸素剤使用区及びオゾン処理と脱酸素剤との併用区について糸状菌の消長を検討した。最初にオゾン処理による糸状菌の消長を第3図に示した。糸状菌は脱酸素剤使用区及び脱酸素剤とオゾン処理併用区にはほとんど検出されなかったが、対照区ならびにオゾン濃度0.2, 1.0ppm処理区の表面及び内部では検出された。糸状菌の認められた試料は、いずれも表面が内部よりも菌数が多く、対照区の表面の菌数は保存6日、14日、22日、28日でそれぞれ1.5×10^3, 1.0×10^4, 2.5×10^4, 3.0×10^4/ｇとなった。また内部は保存14日、22日、28日でそれぞれ9.2×10^2, 9.5×10^2, 2.1×10^3/ｇとなり、保存期間の延長に伴い若干増加するにとどまった。またオゾン処理区はオゾン濃度0.2, 1.0ppm処理の両区とも対照区に比べて若干減少するものの差は認められなかった。なお酵母は本実験で使用したカステラにおいては初発は3.0×10/ｇ以下であり、45日保存後においても3.0×10^2/ｇであった。

1.2. 酸素及び炭酸ガス濃度の変化
脱酸素剤を使用したカステラの保存中における袋内の酸素及び炭酸ガス濃度の消長を測定した結果を第1表に示した。カステラは多孔質であり極めて脱酸素しに

第3図 オゾン処理したカステラの保存中における糸状菌数の変化
○ 対照（表面） △ オゾン濃度0.2ppm処理（表面） □ オゾン濃度1.0ppm処理（表面）
● 対照（内部） ▲ オゾン濃度0.2ppm処理（内部） ■ オゾン濃度1.0ppm処理（内部）

-53-
第1表 脱酸素剤を使用したカステラの保存中における
包装袋内の酸素及び硫酸ガス濃度の変化

<table>
<thead>
<tr>
<th>日数</th>
<th>対照</th>
<th>パイタロン LH-1000</th>
<th>GMA-1000</th>
<th>対照</th>
<th>パイタロン GMA-1000</th>
<th>LH-1000</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>0</td>
<td>20.9</td>
<td>20.9</td>
<td>20.9</td>
<td>0.03</td>
<td>0.03</td>
<td>0.03</td>
</tr>
<tr>
<td>1</td>
<td>20.6</td>
<td>5.55</td>
<td>2.45</td>
<td>0.93</td>
<td>9.72</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>2</td>
<td>20.0</td>
<td>0.12</td>
<td></td>
<td>0.12</td>
<td>10.6</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>3</td>
<td>20.2</td>
<td></td>
<td></td>
<td>0.24</td>
<td>15.1</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>4</td>
<td>20.0</td>
<td></td>
<td></td>
<td>0.15</td>
<td>16.2</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>6</td>
<td>20.0</td>
<td></td>
<td></td>
<td>0.31</td>
<td>14.7</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>7</td>
<td>20.0</td>
<td></td>
<td></td>
<td>0.29</td>
<td>14.5</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>8</td>
<td>19.5</td>
<td>0.45</td>
<td></td>
<td>12.1</td>
<td>13.5</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>9</td>
<td>19.3</td>
<td>0.66</td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>10</td>
<td>18.5</td>
<td>0.96</td>
<td></td>
<td>12.1</td>
<td>12.1</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>11</td>
<td>18.0</td>
<td>1.78</td>
<td></td>
<td>11.0</td>
<td>11.0</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>14</td>
<td>11.5</td>
<td>0.00</td>
<td></td>
<td>7.65</td>
<td>10.2</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>15</td>
<td>7.2</td>
<td>0.00</td>
<td>12.4</td>
<td>9.78</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>16</td>
<td>2.1</td>
<td>16.0</td>
<td></td>
<td>9.17</td>
<td>0.00</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>17</td>
<td>0.16</td>
<td>19.5</td>
<td></td>
<td>9.17</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>20</td>
<td>0.08</td>
<td>19.1</td>
<td></td>
<td>8.18</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>21</td>
<td></td>
<td>19.5</td>
<td></td>
<td>8.13</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>22</td>
<td></td>
<td>20.3</td>
<td></td>
<td>7.96</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>23</td>
<td></td>
<td>20.0</td>
<td></td>
<td>8.29</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>24</td>
<td></td>
<td>20.1</td>
<td></td>
<td>7.46</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>28</td>
<td>0.00</td>
<td>19.9</td>
<td>7.22</td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>34</td>
<td></td>
<td>20.6</td>
<td>7.05</td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>36</td>
<td></td>
<td>20.9</td>
<td>5.92</td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>45</td>
<td></td>
<td>20.5</td>
<td>5.32</td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
</tbody>
</table>

うい食品のひとつであるが、パイタロン LH-1000 使用区では保存1日で残存酸素5.55％となり、3日にはゼロとなった。また、硫酸ガス発生タイプのパイタロン GMA-1000 使用区では、保存1日で残存酸素2.45％となり、2日でゼロとなった。以後、保存期間を延長しても（最大45日保存）、残存酸素は全
く認められず、酸素ゼロの状態が保持された。

対照区では保存14日以降急激に残存酸素が減少し始め、21日目にはゼロとなった。これは14日以降、微生物の増殖が著しいことを示している。

また、炭酸ガスはバイタロン LH－1000 使用区では保存期間中全く検出されず、炭酸ガス発生タイプのバイタロン GMA－1000 使用区では炭酸ガスは保存4日で最大の16.2％となり以後減少した。一方、対照区は保存14日以降急激に増加し始めた。即ち保存0～7日では0.03～0.31％であったが、14日目、45日目にはそれぞれ7.65、20.5％となった。これは14日以降に、微生物が著しく増殖したことにより考えられる。

オゾン処理したカステラの保存中の袋内の酸素及び炭酸ガス濃度の消長を第2表に示した。

第2表 オゾン処理したカステラの保存中的包装袋内の酸素及び炭酸ガス濃度の変化

<table>
<thead>
<tr>
<th>保存日数</th>
<th>酸素濃度（%）</th>
<th>炭酸ガス濃度（%）</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td></td>
<td>対照</td>
<td>オゾン濃度（ppm）</td>
</tr>
<tr>
<td>0</td>
<td>20.9</td>
<td>0.3</td>
</tr>
<tr>
<td>1</td>
<td>20.6</td>
<td>0.3</td>
</tr>
<tr>
<td>2</td>
<td>20.3</td>
<td>0.2</td>
</tr>
<tr>
<td>3</td>
<td>20.0</td>
<td>0.2</td>
</tr>
<tr>
<td>4</td>
<td>20.0</td>
<td>0.2</td>
</tr>
<tr>
<td>5</td>
<td>20.0</td>
<td>0.2</td>
</tr>
<tr>
<td>6</td>
<td>20.0</td>
<td>0.2</td>
</tr>
<tr>
<td>7</td>
<td>20.0</td>
<td>0.2</td>
</tr>
<tr>
<td>8</td>
<td>19.5</td>
<td>0.2</td>
</tr>
<tr>
<td>9</td>
<td>19.3</td>
<td>0.2</td>
</tr>
<tr>
<td>10</td>
<td>18.5</td>
<td>0.2</td>
</tr>
<tr>
<td>11</td>
<td>18.0</td>
<td>0.2</td>
</tr>
<tr>
<td>14</td>
<td>11.5</td>
<td>0.2</td>
</tr>
<tr>
<td>15</td>
<td>7.25</td>
<td>0.2</td>
</tr>
<tr>
<td>16</td>
<td>2.19</td>
<td>0.2</td>
</tr>
<tr>
<td>17</td>
<td>0.16</td>
<td>0.2</td>
</tr>
<tr>
<td>20</td>
<td>0.08</td>
<td>0.2</td>
</tr>
<tr>
<td>21</td>
<td>0.51</td>
<td>0.2</td>
</tr>
<tr>
<td>22</td>
<td>0.02</td>
<td>0.2</td>
</tr>
<tr>
<td>23</td>
<td>0.08</td>
<td>0.2</td>
</tr>
<tr>
<td>24</td>
<td>0.00</td>
<td>0.2</td>
</tr>
<tr>
<td>28</td>
<td>0.00</td>
<td>0.2</td>
</tr>
<tr>
<td>34</td>
<td>0.00</td>
<td>0.2</td>
</tr>
<tr>
<td>36</td>
<td>0.00</td>
<td>0.2</td>
</tr>
<tr>
<td>45</td>
<td>0.00</td>
<td>0.2</td>
</tr>
</tbody>
</table>

オゾン処理時間：20分間
食品保存へのオゾンの利用（21報）

なお、オゾン処理時間は各試験区とも20分間である。オゾン濃度0.2 ppm処理区の残存酸素は保存15日以降急激に減少し始め、23日目にはゼロとなった。またオゾン濃度1.0 ppm処理区の残存酸素は保存17日以降急激に減少し、24日目ではゼロとなった。更にオゾン濃度5.0 ppm処理区の残存酸素はオゾン濃度1.0 ppm処理区と同様に保存17日以降急激に減少し、28日目にはゼロとなった。このように対照区に比較して各オゾン処理区の酸素消費速度が遅れていることはオゾン処理により微生物の増殖が抑制されていることを示している。

一方、炭酸ガス濃度はオゾン濃度0.2、1.0、5.0 ppm処理区ともそれぞれ保存15、16、20日で急激に増加し、5.71、4.67、5.27%となった。その後、保存24～28日には3試験区の炭酸ガス濃度は約20%となった。なお、オゾン処理時間を延長してもほぼ同様の結果が得られたので以後のオゾン処理時間はすべて20分間行った。

2. オゾン処理カステラの保存中における袋内のオゾン濃度の測定

オゾン処理を行ったカステラの包装直後及び保存中における袋内ヘッドスペースガス中のオゾン濃度を測定した結果を第3表に示した。

第3表 オゾン処理したカステラの保存中における袋内のオゾン濃度の変化

<table>
<thead>
<tr>
<th>保存日数</th>
<th>対 照</th>
<th>オゾン処理濃度（ppm）</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td></td>
<td></td>
<td>0.2</td>
</tr>
<tr>
<td>0</td>
<td></td>
<td>0.05</td>
</tr>
<tr>
<td>1</td>
<td></td>
<td>0.03</td>
</tr>
<tr>
<td>2</td>
<td></td>
<td>0.01</td>
</tr>
<tr>
<td>3</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>4</td>
<td></td>
<td>0.00</td>
</tr>
<tr>
<td>5</td>
<td></td>
<td>0.00</td>
</tr>
<tr>
<td>6</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>7</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
</tbody>
</table>

0.2、1.0、5.0 ppm処理区の調製直後のオゾン濃度はそれぞれ0.05、0.15、0.57 ppmであったが、保存日数の延長に伴って減少し、0.2 ppm処理区は保存3日、1.0 ppm処理区は保存5日、5.0 ppm処理区は保存7日でそれぞれオゾンは検出されなくなった。表には示さなかったが酵素剤使用区、区の保存中における袋内のオゾン濃度は上記の酵素剤無使用区に比較して、若干早く減少する傾向を示した。

3. カステラより分離した微生物の同定

対照区の細菌数は保存中に増加し、最大菌数は10^4〜10^5/g
となり、検出される菌種も多くなり10菌株が分離された。また脱酸素剤使用区においてもバイタロン
LH－1000、バイタロンGMA－1000使用区よりそれぞれ6菌株、5菌株が分離された。その分布状況を
第4表に、その形態的な特徴を第5表に示した。

第4表 カステラより分離した細菌の分布状況

<table>
<thead>
<tr>
<th>菌株No</th>
<th>標準寒天培地上での形状</th>
<th>栄養細胞の形状</th>
<th>分離源</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>1</td>
<td>黄褐色乳状シワありやや盛り上がる</td>
<td>桿菌 脱酸素剤無使用区</td>
<td>LH区</td>
</tr>
<tr>
<td>2</td>
<td>灰白色やや乾燥</td>
<td>桿菌 脱酸素剤無使用区</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>3</td>
<td>淡赤色やや乾燥</td>
<td>球菌 脱酸素剤無使用区</td>
<td>LH区 GMA区</td>
</tr>
<tr>
<td>4</td>
<td>赤褐色やや盛り上がる</td>
<td>球菌 脱酸素剤無使用区</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>5</td>
<td>灰白色微小集落</td>
<td>桿菌 脱酸素剤無使用区</td>
<td>LH区 GMA区</td>
</tr>
<tr>
<td>6</td>
<td>灰白色微小集落</td>
<td>球菌 脱酸素剤無使用区</td>
<td>LH区 GMA区</td>
</tr>
<tr>
<td>7</td>
<td>灰白色乳状シワありやや盛り上がる</td>
<td>桿菌 脱酸素剤無使用区</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>8</td>
<td>灰白色微小集落</td>
<td>桿菌 脱酸素剤無使用区</td>
<td>LH区 GMA区</td>
</tr>
<tr>
<td>9</td>
<td>灰白色粘ちょうやや盛り上がる</td>
<td>桿菌 脱酸素剤無使用区</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>10</td>
<td>赤色乾燥しやや盛り上がる</td>
<td>球菌 脱酸素剤無使用区</td>
<td>LH区 GMA区</td>
</tr>
</tbody>
</table>

LH区：脱酸素剤バイタロンLH－1000使用区
GMA区：脱酸素剤バイタロンGMA－1000使用区

第5表 カステラより分離した細菌の形態的特徴

<table>
<thead>
<tr>
<th>菌株No</th>
<th>栄養細胞</th>
<th>子胞</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td></td>
<td>形状</td>
<td>大きさ（μ m）</td>
</tr>
<tr>
<td>1</td>
<td>桿状</td>
<td>1.8×1.2</td>
</tr>
<tr>
<td>2</td>
<td>桿状</td>
<td>3.8×0.8</td>
</tr>
<tr>
<td>3</td>
<td>球状</td>
<td>0.8</td>
</tr>
<tr>
<td>4</td>
<td>球状</td>
<td>0.9</td>
</tr>
<tr>
<td>5</td>
<td>桿状</td>
<td>1.8×0.8</td>
</tr>
<tr>
<td>6</td>
<td>球状</td>
<td>1.1</td>
</tr>
<tr>
<td>7</td>
<td>桿状</td>
<td>3.5×0.9</td>
</tr>
<tr>
<td>8</td>
<td>桿状</td>
<td>1.8×0.8</td>
</tr>
<tr>
<td>9</td>
<td>桿状</td>
<td>3.2×0.8</td>
</tr>
<tr>
<td>10</td>
<td>球状</td>
<td>0.9</td>
</tr>
</tbody>
</table>

No 3, 4, 10の3菌株は球菌であり、他の7菌株はいずれも桿菌であった。これらの菌株の生理的な
性質を検討した結果を第6表に示した。

−57−
第6表 カテゴリより分離した細菌の生理的性質

<table>
<thead>
<tr>
<th>種</th>
<th>1</th>
<th>2</th>
<th>3</th>
<th>4</th>
<th>5</th>
<th>6</th>
<th>7</th>
<th>8</th>
<th>9</th>
<th>10</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>グラム染色</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
</tr>
<tr>
<td>カタラーゼ反応</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>+</td>
<td>-</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
</tr>
<tr>
<td>硝酸塩還元</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>+</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>+</td>
</tr>
<tr>
<td>V-P反応</td>
<td>-</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
</tr>
<tr>
<td>MR反応</td>
<td>-</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
</tr>
<tr>
<td>クエン酸酸化性</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>+</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>+</td>
</tr>
<tr>
<td>ゼラチン溶解性</td>
<td>-</td>
<td>+</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>+</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>+</td>
</tr>
<tr>
<td>ウレアーゼ活性</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
</tr>
<tr>
<td>蠟粉加水分解性</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>+</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>+</td>
</tr>
<tr>
<td>硫化水素の生成</td>
<td>-</td>
<td>+</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>+</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
</tr>
<tr>
<td>カゼイン凝固性</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
<td>-</td>
</tr>
<tr>
<td>45℃での生育</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>+</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
<td>-</td>
</tr>
<tr>
<td>糖の酸化性</td>
<td>グルコース</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
<td>-</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
</tr>
<tr>
<td>シュクロース</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
<td>-</td>
<td>+</td>
<td>-</td>
</tr>
<tr>
<td>マルトース</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
<td>-</td>
<td>+</td>
<td>-</td>
</tr>
<tr>
<td>ガラクトース</td>
<td>+</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
</tr>
<tr>
<td>ラクトース</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>+</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
</tr>
<tr>
<td>ソルビトール</td>
<td>+</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
</tr>
<tr>
<td>アラビノース</td>
<td>+</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
</tr>
<tr>
<td>マンニトール</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>+</td>
</tr>
<tr>
<td>キシロース</td>
<td>+</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
</tr>
<tr>
<td>グリセリン</td>
<td>+</td>
<td>-</td>
<td>+</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
<td>+</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
</tr>
</tbody>
</table>

+: 阳性, -: 隠性

1, 2, 7, 9の4菌株はグラム染色, カタラーゼ反応, 硝酸塩還元, クエン酸酸化性が陽性であり, いずれも内生細菌を形成するところから Bacillus spp. であると思われる。3, 4, 10は球菌であり, グラム染色, カタラーゼ反応, ウレアーゼ活性及び45℃での生育は陰性であった。3と10はグルコース, シュクロース, アラビノース, マンニトール, グリセリンを酸化し, 4はシュクロースのみを酸化することを認めた。これらの特性より, 3菌株は Micrococcus spp. に属する菌株と思われる。5と8はグラム陽性の桿菌であり, カタラーゼ反応, 硝酸塩還元, V-P反応, クエン酸酸化性, ゼラチン溶解性, 蠟粉加水分解性はいずれも陰性であり, 多くの糖から酸を生成することを示し, 各菌は同一の菌と思われる。6は乳白色の微小コロニーを形成し, グラム陽性桿菌であり, ウレアーゼ活
性、カタラーゼ反応、クエン酸分解性が陰性であり、多くの糖より酯を生成することを認めた。7菌株（No.1, 2, 3, 4, 7, 9, 10）が好気性菌、2菌株（No.5, 8）が微好気性菌、1菌株（No.6）が通性嫌気性菌であった。

上記したようにNo.1は桿菌であり、菌端は典型的な鋭円形又は短直で内部に円形の胞子を形成し、胞子のうが膨大しないこと及びその他の性質よりBacillus cereusと同定した。またNo.2は大型でややクラブ形又は桿状となり、マンニトールから酸を生成し、7％食塩含有ブイヨンでの生育は不良であること及びその他の性質よりBacillus megateriumと同定した。No.7は菌端が比較的丸い桿菌で連鎖せず、胞子は桿円形で胞子のうが膨大し、可溶性澱粉を分解した。またクエン酸を質化し、硫化水素を生成し、硝酸塩を還元し、45℃で生育するところからBacillus circulansと同定した。No.9は連鎖せず、内部に桿円形の胞子を形成し、胞子のうが膨大せず、胞子壁は薄く、7％食塩含有ブイヨンでは生育せず、pH4.0での生育は良好で、45℃でも生育し、カゼインを凝固したこと及びその他の性質より、Bacillus coagulansと同定した。これらのBacillus属4株の形態を写真1に示した。

写真1 カステラより分離したBacillus属細菌の顕微鏡写真

(a) Bacillus cereus（No.1）(b) Bacillus megaterium（No.2）
(c) Bacillus circulans（No.7）(d) Bacillus coagulans（No.9）

No.3はグラム陽性の菌で4個配列する場合が多く、淡赤色のコロニーを形成することからMicrococcus rubens、No.4はグラム陽性の菌で赤褐色のコロニーを形成することからMicrococcus rhodochrous、No.10はグラム陽性の菌で運動性を有し、赤色の色素を生産することからMicrococcus
agilis と同定した。これらの Micrococcus 3 株の形態を写真 2 に示した。

写真 2 カステラより分離した Micrococcus 属細菌の顕微鏡写真

(a) Mirococcus rubens（No.3） (b) Mirococcus rhodochrous（No.4）
(c) Mirococcus agilis（No.10）

なお No.5 と No.8 は Lactobacillaceae 科の Lactobacilleae 族に属する。生育適温は 40℃で 10℃以下では生産せず。細胞が典型的なひも状から棒状を呈するところから Lactobacillus bulgaricus と同定した。No.6 は数値あるいは多数連鎖する通性嫌気性球菌であり、Lactobacillaceae 科の Streplococceae 族に属する。また本菌はガス発生が認められること、ホモ型乳酸発酵を行うことから Streplococcus 族に属する。その他の種々の性質により Streptococcus faecalis と同定した。これらの形態を写真 3 に示した。

糸状菌は 2 株（No.11, 12）検出され、No.11 はサベック寒天培地上、25℃、7 日間培養で、直径 5 ～ 6 cm に達し、黒色の分生子柄を密生し、堅く詰まった黄色の基底菌糸層を形成した。分生子頭は放
写真 3 カステラより分離した乳酸菌の顕微鏡写真

(a) *Lactobacillus bulgaricus* (No. 5)  (b) *Streptococcus faecalis* (No. 6)
(c) *Lactobacillus bulgaricus* (No. 8)

長生子柄は滑面, かっ色, 頂のうは球形であり, 分生子は球形であり直径4.0 µm, かっ色, 壁面は不規則ないら状であるところから *Aspergillus niger* と同定した。No.12はコロニーは麦芽エキス寒天培地上20℃, 7日間培養で, 直径2～3 cmに達し, ピロード状, 分生子のため部分的に粉状となり, 暗緑色, コロニーの裏面は緑色を帯びた黒色, 大部分の分生子柄は菌糸から側生し, もはやときに先端に生じ, 長さは250 µm以下, 幅5 µm, 先端や中間部が膨れ, かっ色, 滑面である。また分生子は長く, 分岐した連鎖となって形成され, 楕円形から両端が丸い円筒形で2～5個連なる細胞となり, 黄褐色, 明確ないら状, 多少突出した分離痕がある。以上のことより *Cladosporium herbarum* と同定した。これら分離した糸状菌2株の形態を写真4に示した。
写真4 カステラより分離した糸状菌の顕微鏡写真

(a) Aspergillus niger (No.11)  (b) Cladosporium herbarum (No.12)

4．オゾン処理したカステラの保存中における微生物菌叢の変化

オゾン処理したカステラの保存中における微生物菌叢の変化を測定した。脱酸素剤無使用区の糸状菌叢の変化を第7表に示した。

<table>
<thead>
<tr>
<th>保存期間（日）</th>
<th>オゾン処理濃度 (ppm)</th>
<th>保存菌株No.と分離菌株同定名</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td></td>
<td>0</td>
<td>Aspergillus niger (No.11)</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>8</td>
<td>Cladosporium herbarum (No.12)</td>
</tr>
<tr>
<td>0</td>
<td>0.0</td>
<td>9.5×10</td>
</tr>
<tr>
<td>8</td>
<td>0.0</td>
<td>1.2×10^2</td>
</tr>
<tr>
<td>16</td>
<td>0.0</td>
<td>5.8×10^2</td>
</tr>
<tr>
<td>28</td>
<td>0.0</td>
<td>1.5×10^3</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>0.2</td>
<td>8.0×10</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>1.0</td>
<td>1.0×10^2</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>1.0</td>
<td>4.7×10^2</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>1.0</td>
<td>1.0×10^3</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>1.0</td>
<td>5.0×10</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>1.0</td>
<td>1.0×10^2</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>1.0</td>
<td>4.5×10^2</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>1.0</td>
<td>9.1×10^2</td>
</tr>
</tbody>
</table>

単位：/g
Asp. niger (No11) は対照区、オゾン処理区のいずれにおいても保存期間の延長に伴い増加し、オゾン処理濃度1.0 ppm区においてやや増殖が抑制された。Clado. herbarum (No12) の場合は、オゾン処理による影響はほとんど認められなかった。

脱酸素剤バイタロン L.H−1000 を使用したオゾン処理カスタメの保存中における微生物菌叢の変化を第8表に示した。

オゾン処理により L. bulgaricus (No5,8), Strep. faecalis (No 6) が減少したが、特にオゾン処理濃度1.0 ppm区において著しかった。しかし、その他の菌株 (Bacillus, Micrococcus) はオゾン処理による変化はほとんどみられなかった。なお脱酸素剤バイタロン GMA−1000 を使用したオゾン処理カスタメの保存中における微生物菌叢の変化は脱酸素剤バイタロン L.H−1000 使用区とほぼ類似の結果を得た。

第8表 カスタメのオゾン処理による保存中における微生物菌叢の変化
（脱酸素剤バイタロン L.H−1000使用）

<table>
<thead>
<tr>
<th>保存期間 (日)</th>
<th>オゾン処理濃度 (ppm)</th>
<th>1</th>
<th>2</th>
<th>3</th>
<th>4</th>
<th>5</th>
<th>6</th>
<th>7</th>
<th>8</th>
<th>9</th>
<th>10</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>0</td>
<td>0.0</td>
<td>3.5×10</td>
<td>4.1×10</td>
<td>6.0×10</td>
<td>6.5×10</td>
<td>3.5×10^2</td>
<td>2.8×10^2</td>
<td>3.1×10</td>
<td>2.1×10^2</td>
<td>5.1×10</td>
<td>7.0×10</td>
</tr>
<tr>
<td>8</td>
<td>0.0</td>
<td>3.7×10</td>
<td>5.2×10</td>
<td>6.2×10</td>
<td>6.7×10</td>
<td>3.7×10^2</td>
<td>2.9×10^2</td>
<td>5.1×10</td>
<td>2.3×10^2</td>
<td>5.3×10</td>
<td>7.2×10</td>
</tr>
<tr>
<td>16</td>
<td>0.0</td>
<td>4.2×10</td>
<td>5.9×10</td>
<td>8.1×10</td>
<td>7.3×10</td>
<td>5.2×10^2</td>
<td>1.2×10^2</td>
<td>6.3×10</td>
<td>3.7×10^2</td>
<td>6.3×10</td>
<td>8.2×10</td>
</tr>
<tr>
<td>28</td>
<td>0.0</td>
<td>5.1×10</td>
<td>6.4×10</td>
<td>9.2×10</td>
<td>8.5×10</td>
<td>6.9×10^2</td>
<td>5.2×10^2</td>
<td>1.5×10^2</td>
<td>5.4×10^2</td>
<td>5.3×10</td>
<td>9.3×10</td>
</tr>
<tr>
<td>0</td>
<td>0.2</td>
<td>3.5×10</td>
<td>4.2×10</td>
<td>5.2×10</td>
<td>3.2×10^2</td>
<td>2.5×10^2</td>
<td>1.9×10^2</td>
<td>3.8×10</td>
<td>1.2×10^2</td>
<td>5.2×10</td>
<td>6.3×10</td>
</tr>
<tr>
<td>8</td>
<td>0.2</td>
<td>3.2×10</td>
<td>4.0×10</td>
<td>4.9×10</td>
<td>4.7×10</td>
<td>3.2×10^2</td>
<td>1.5×10^2</td>
<td>3.4×10</td>
<td>1.5×10^2</td>
<td>5.2×10</td>
<td>6.2×10</td>
</tr>
<tr>
<td>16</td>
<td>0.2</td>
<td>4.0×10</td>
<td>5.0×10</td>
<td>4.2×10</td>
<td>5.3×10</td>
<td>3.2×10^2</td>
<td>1.1×10^2</td>
<td>4.1×10</td>
<td>1.2×10^2</td>
<td>4.0×10</td>
<td>5.9×10</td>
</tr>
<tr>
<td>28</td>
<td>0.2</td>
<td>5.2×10</td>
<td>6.0×10</td>
<td>8.2×10</td>
<td>8.1×10</td>
<td>5.2×10^2</td>
<td>2.5×10^2</td>
<td>6.2×10</td>
<td>3.2×10^2</td>
<td>4.3×10</td>
<td>5.3×10</td>
</tr>
<tr>
<td>0</td>
<td>1.0</td>
<td>3.5×10</td>
<td>3.8×10</td>
<td>5.3×10</td>
<td>5.2×10</td>
<td>1.8×10^2</td>
<td>1.2×10^2</td>
<td>3.1×10</td>
<td>1.0×10^2</td>
<td>4.8×10</td>
<td>5.2×10</td>
</tr>
<tr>
<td>8</td>
<td>1.0</td>
<td>3.4×10</td>
<td>4.0×10</td>
<td>5.7×10</td>
<td>5.2×10</td>
<td>8.2×10</td>
<td>9.0×10</td>
<td>3.1×10</td>
<td>8.2×10</td>
<td>4.1×10</td>
<td>4.8×10</td>
</tr>
<tr>
<td>16</td>
<td>1.0</td>
<td>4.5×10</td>
<td>5.2×10</td>
<td>5.3×10</td>
<td>6.2×10</td>
<td>7.5×10</td>
<td>8.1×10</td>
<td>3.5×10</td>
<td>5.0×10</td>
<td>4.7×10</td>
<td>4.2×10</td>
</tr>
<tr>
<td>28</td>
<td>1.0</td>
<td>5.1×10</td>
<td>5.9×10</td>
<td>6.2×10</td>
<td>7.3×10</td>
<td>6.3×10</td>
<td>7.2×10</td>
<td>3.2×10</td>
<td>5.0×10</td>
<td>4.2×10</td>
<td>4.0×10</td>
</tr>
</tbody>
</table>

1: Bacillus cereus, 2: Bacillus megaterium, 3: Micrococcus rubens, 4: Micrococcus rhodocrouus, 5: Lactobacillus bulgaricus, 6: Streptococcus faecalis, 7: Bacillus circulans, 8: Lactobacillus bulgaricus, 9: Bacillus coagulant, 10: Micrococcus agilis

なお検出菌（No11, 12）は保存中に全て検出されなかったので省略した。
考　察

カステラ、バウムクーヘンなどの洋菓子類、カルカンなどの和菓子類、中間水分食品（水分10〜40％、水分活性0.65〜0.90）に属し、糸状菌の生育による品質低下を招きやすい。このため、包装したのち蒸気やマイクロ波による殺菌を行ったり、脱酸素剤使用包装、炭酸ガス置換包装やエチルアルコール添加による静菌法などが保存性を高める手段として実用化されている。今回は脱酸素剤使用によるカステラの保存効果を検討した。カステラ保存テストによる袋内のガス組成分析の結果、バイタロンLH-1000（酸素吸収のみ・速効型）区では、3日で酸素はゼロになり、包装袋はカステラに密着し、カステラを一部変形させたが、官能的な変化は全く認められなかった。一方、バイタロンGMA-1000（炭酸ガス発生型・一般型）では、保存1日から45日目にかけて、5〜17％の炭酸ガスが発生し、包装袋は製品に密着したが、カステラを変形させることはなかった。カステラにオゾン処理をした場合、酸素の減少及び炭酸ガスの生成が遅れるところから、細菌の増殖が抑制されることを認めた。また脱酸素剤とオゾン処理を併用することにより、糸状菌及び乳酸菌の増殖が著しく抑制され、その結果、総菌数が減少した。

柳井らは和菓子（カルカン）を種々のガス組成条件下で包装し、30℃、5日間保存後のコロニー数でその効果を比較した結果、窒素ガス置換では、含気包装と同程度のコロニー数が観察され、残存酸素が1％以上あるような条件では、糸状菌の生育抑制効果がほとんどなかったと報じている。

本実験においては、このように糸状菌の増殖が抑制されることは完全に酸素がなくなったことを意味する。またオゾン処理は糸状菌に対しては抑制効果は比較的少ないが、L. bulgaricus及びStrep. faecalisの抑制効果が大きいため総菌数が減少したものと考えられる。

またオゾン処理による官能的な変化は全く認められなかった。

要　約

1. カステラに脱酸素剤を使用した場合、バイタロンLH-1000使用区では保存3日、バイタロンGMA-1000使用区では保存2日でそれぞれ酸素はゼロとなったが、対照区は21日目にゼロとなった。

2. オゾン処理と脱酸素剤を併用することにより、糸状菌、細菌の増殖が抑制された。これは脱酸素剤により糸状菌の増殖が抑制され、オゾン処理により乳酸菌（L. bulgaricus, Strep. faecalis）の増殖が
抑制されたことによる。

3. オゾン処理したカステラの袋内のオゾンは0.2, 1.0, 5.0 ppm の処理でそれぞれ保存 4, 5, 7
日でゼロとなった。

4. カステラより Bacillus 属細菌 4 種株（B. cereus, B. megaterium, B. circulans, B. coagulans),
Micrococcus 属細菌 3 種株（M. rubens, M. rhodochrous, M. agilis), 乳酸菌 3 種株 (L. bulgaricus 2
種株, Step. faecalis), 糠状菌 2 種株（Asp. niger, Clado. herbarum）を分離した。

5. カステラのオゾン処理により L. bulgaricus (No 5, 8), Step. faecalis (No 6) が減少した。特にオゾン処理濃度1.0 ppm において著しい殺菌効果を認めた。

文 献

1) 内藤茂三：愛知食品工試年報, 23, 36 (1982)
2) 内藤茂三ら：防菌防薬, 15, 225 (1987)
3) 内藤茂三：愛知食品工試年報, 24, 76 (1983)
4) 内藤茂三ら：日食工誌, 34, 788 (1987)
5) 内藤茂三：包装研究, 8, (2), 15 (1988)
6) 内藤茂三ら：日食工誌, 35, 69 (1988)
7) 内藤茂三：愛知食品工試年報, 27, 30 (1986)
8) 内藤茂三：愛知食品工試年報, 27, 39 (1986)
9) 石谷孝佑：日食工誌, 28, 75 (1981)
10) 柳井昭二ら：日食工誌, 25, 318 (1978)