

包装食品の微生物変敗防止に関する研究 (第23報)

どら焼の微生物による変敗に及ぼす包装フィルムの影響

内藤茂三

どら焼は水分が30~35%, たんぱく質が6.0~8.0%, 脂質が2.0~3.0%であるため極めて変質しやすい和菓子である。このためガス置換包装や脱酸素剤封入包装が行われている場合もある。今回、酸素透過度および透湿度の異なる6種類のフィルムを用いて包装し、品質に及ぼす影響について検討したので報告する。

実 験 方 法

1. 試料 愛知県下のどら焼製造工場で製造された製品を用いた。供試試料の一般成分は、水分31.5%, たんぱく質6.0%, 脂質2.5%, 糖質58.3%, 繊維0.8%, 灰分0.9%であり、その水分活性(A_w)は皮部0.853, あん部は0.865であった。

2. 包装フィルム 供試フィルムは KOP/PE, OPP/PE, KPT/PE, MST/PE, KNY/PE 及び NY/PE の計6種類を用い、これらのフィルムの物性値を第1表に示した。

第1表 包装材料の物性値

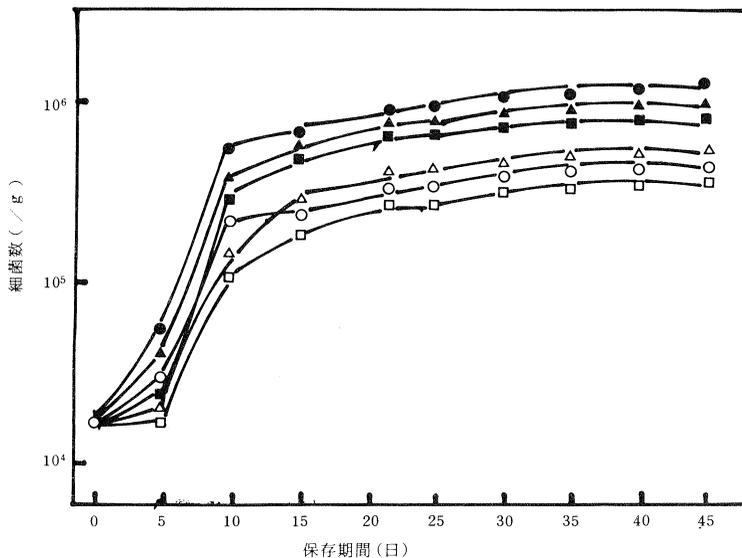
フィルム構成	厚 さ (μm)	酸素透過度 ($\text{ml}/\text{m}^2 \cdot 24\text{hr} \cdot \text{atm}$)	透 湿 度 ($\text{g}/\text{m}^2 \cdot 24\text{hr}.$)	引張強度 ($\text{kg}/15\text{mm}$)	突刺強度 (g)
KOP/PE	50	14.0~18.0	4.0~5.5	4.5	1,100
OPP/PE	50	1350 ~1550	5.5~6.5	4.5	1,100
KPT/PE	50	5.5~7.5	9.0~10.5	3.5	600
MST/PE	50	25.5~35.5	8.5~9.5	3.5	600
KNY/PE	75	5.5~7.5	9.1~9.8	6.0	1,600
NY/PE	75	40.5~55.8	9.2~10.4	6.0	1,600

KOP/PE: 塩化ビニリデンコートポリプロピレン/ポリエチレン
 OPP/PE: 延伸ポリプロピレン/ポリエチレン
 KPT/PE: 塩化ビニリデンコートセロファン/ポリエチレン
 MST/PE: 防湿セロファン/ポリエチレン
 KNY/PE: 塩化ビニリデンコートナイロン/ポリエチレン
 NY/PE: ナイロン/ポリエチレン

3. 微生物の測定 既報¹⁾と同様に一般細菌数、酵母菌数、糸状菌数を測定した。
4. 微生物の同定 既報^{2),3),4)}と同様に、平板培地に発育した菌を鏡検して菌の形態を観察するとともに孢子の有無を確認し、生理的性質を調べた。
5. 保存試験 温度30℃、相対湿度（RH）80%の恒温恒湿器中に45日間保存し、一定期間ごとに順次試料を取り出して、菌数及びマイクロローラを測定した。
6. pHの測定 皮部とあん部を別々に分けてとり、10倍量の滅菌水を添加してホモゲナイズ後、pHメーターで測定した。
7. 水分活性の測定 水分活性測定装置（Nova Sina社製、JEL-20型）を用いて、25度の恒温器中で測定した。

実 験 結 果

1. だら焼の細菌の増殖に及ぼす包装フィルムの影響 酸素透過度の異なる6種類のフィルムで包装しただら焼を30℃で保存し、細菌の増殖に及ぼす影響について検討した結果を第1図に示した。最も



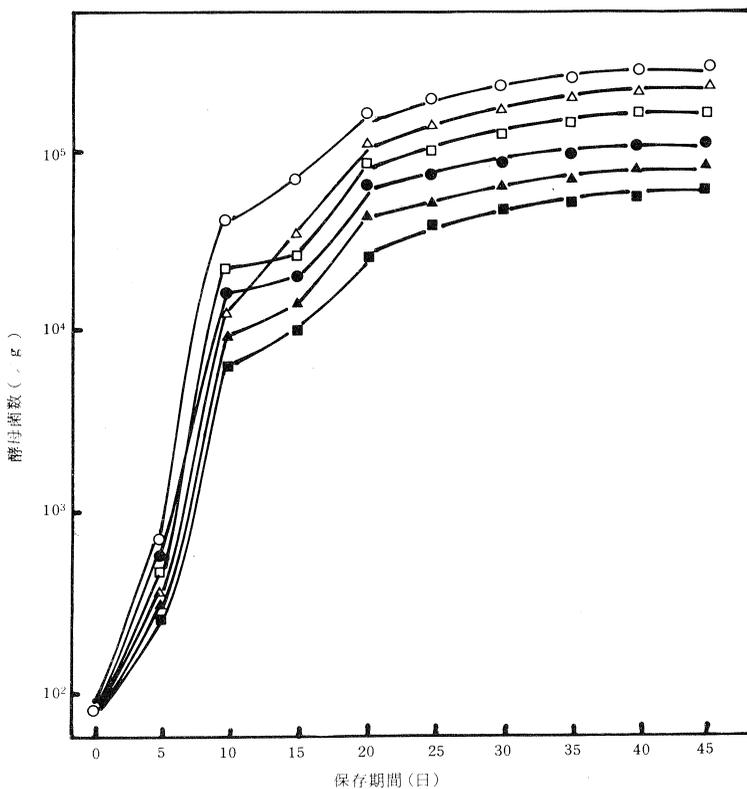
第1図 だら焼の細菌の増殖に及ぼす包装フィルムの影響

- KOP/PE △ KPT/PE □ KNY/PE
 ● OPP/PE ▲ MST/PE ■ NY/PE

包装フィルムの略号は第1表と同じ

酸素透過度の大きいOPP/PEのフィルムで包装した製品の生存中における細菌の増殖は、保存5、10、15、20日でそれぞれ 7.0×10^4 、 6.8×10^5 、 7.5×10^5 、 8.5×10^5 /gとなった。また最も酸素透過度が小さいKNY/PEのフィルムで包装した製品の保存中における細菌の増殖は5、10、15、20日でそれぞれ 2.4×10^4 、 1.0×10^5 、 2.4×10^5 、 3.8×10^5 /gとなり、上記フィルムよりもやや抑制される傾向を認めた。その他のフィルムで包装された製品の保存中における細菌の増殖は、上記2種類のフィルムで包装した製品の範囲内にあったが、酸素透過度の大きいフィルムで包装された製品ほど、保存中における細菌の増殖が大きいことを認めた。

2. どら焼の酵母の増殖に及ぼす包装フィルムの影響 上記6種類のフィルムを用いて包装したどら焼を30℃で保存し、酵母の増殖に及ぼす影響を測定した結果を第2図に示す。



第2図 どら焼の酵母の増殖に及ぼす包装フィルムの影響

- | | | |
|----------|----------|----------|
| ○ KOP/PE | △ KPT/PE | □ KNY/PE |
| ● OPP/PE | ▲ MST/PE | ■ NY/PE |

包装フィルムの略号は第1表と同じ

酸素透過度が $5.5 \sim 18.0 \text{ ml/m}^2 \cdot 24 \text{ hr} \cdot \text{atm}$ の範囲にあるKOP/PE, KPT/PE及びKNY/PEの各

フィルムで包装した製品の酵母は酸素透過度が大きいフィルム OPP/PE, MST/PE 及び NY/PE で包装した製品よりも保存中に増殖する速度がやや速いことを認めた。即ち酸素透過度が $14.0 \sim 18.0 \text{ ml/m}^2 \cdot 24 \text{ hr} \cdot \text{atm}$ である KOP/PE と $1,350 \sim 1,550 \text{ ml/m}^2 \cdot 24 \text{ hr} \cdot \text{atm}$ である OPP/PE で包装されたどら焼の保存20日目の菌数は 2.0×10^5 , $7.5 \times 10^4 / \text{g}$, さらに保存45日目では 4.7×10^5 , $1.0 \times 10^5 / \text{g}$ の値をそれぞれ示した。しかし保存期間の延長に伴い, 包装材料の差異による菌数の変化は少なくなった。

3. どら焼の保存中における pH の変化に及ぼす包装フィルムの影響 製造直後のどら焼の pH は 6.60, あん部は 6.25 であった。このどら焼を用いて包装フィルムの差異による保存中における pH の変化を測定した結果を第 2 表に示した。

第 2 表 包装フィルムの差異によるどら焼の保存中における pH の変化

包装フィルム		保 存 期 間 (日)									
		0	5	10	15	20	25	30	35	40	45
KOP/PE	全 体	6.65	6.58	6.55	6.55	6.50	6.45	6.40	6.42	6.41	6.40
	あん部	6.25	6.18	6.21	6.21	6.35	6.30	6.23	6.21	6.20	6.20
OPP/PE	全 体	6.65	6.55	6.45	6.45	6.45	6.40	6.35	6.35	6.30	6.32
	あん部	6.25	6.25	6.12	6.10	6.10	6.05	6.01	6.07	6.10	6.05
KPT/PE	全 体	6.65	6.55	6.58	6.51	6.51	6.47	6.45	6.43	6.40	6.38
	あん部	6.25	6.20	6.23	6.32	6.32	6.31	6.25	6.22	6.21	6.21
MST/PE	全 体	6.65	6.57	6.46	6.46	6.45	6.42	6.37	6.35	6.30	6.31
	あん部	6.25	6.20	6.12	6.12	6.10	6.07	6.07	6.06	6.12	6.05
KNY/PE	全 体	6.65	6.55	6.53	6.53	6.51	6.48	6.46	6.45	6.43	6.41
	あん部	6.25	6.25	6.22	6.22	6.20	6.27	6.25	6.22	6.20	6.20
NY/PE	全 体	6.65	6.51	6.47	6.47	6.45	6.41	6.38	6.35	6.31	6.30
	あん部	6.25	6.20	6.10	6.10	6.07	6.05	6.05	6.05	6.15	6.06

包装フィルムの略号は第 1 表と同じ

保存 5 日目までは, いずれのフィルムで包装したどら焼とも pH の低下はわずかであり差異は認められなかった。しかし, 保存10日では酸素透過度の大きいフィルムで包装された製品の pH の低下がみられ, 特にあん部において著しいことを認めた。保存25日以降も, あん部においては明らかに差異を示し, 酸素透過度の大きいフィルムで包装された製品ほど pH の低下が著しいことを認めた。

4. どら焼より分離した微生物の同定 上記したように製造直後のどら焼は細菌数 $3.0 \times 10^4 / \text{g}$,

酵母菌数 $9.0 \times 10^5 / g$ であり、KOP/PEで包装し、30℃で保存45日目の細菌数は 6.1×10^5 、酵母菌数は $4.8 \times 10^5 / g$ となった。このように細菌の増殖は比較的少なく、酵母の増殖が著しいことが認められたが、この原因としては水分活性が0.853~0.865であるために細菌は比較的増殖しにくく、酵母は増殖しやすかったものと考えられる。これらの製品より細菌6菌株(No.1~6)と酵母2菌株(No.7, 8)を分離し、その分布状況を第3表に示した。製造直後の製品は細菌が多く、特にNo.1とNo.2が $1.0 \sim 1.9 \times 10^4 / g$ であった。また酵母は比較的少なくNo.7とNo.8が $3.7 \sim 5.3 \times 10^2 / g$ 検出されるにすぎなかった。しかし、保存中酵母は著しく増殖し、45日目にはNo.7とNo.8がそれぞれ 4.0×10^5 、 $2.0 \times 10^4 / g$ に達したが、その間の細菌の増殖は比較的少なくNo.1とNo.2は45日目にそれぞれ 4.0×10^5 、 $1.0 \times 10^5 / g$ となった。

第3表 どら焼より分離した微生物の分布状況 (/g)

	保 存 期 間 (日)										
	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	
Na											
細菌	1	1.9×10^4	2.5×10^4	2.0×10^5	2.5×10^5	3.2×10^5	3.8×10^5	3.5×10^5	3.7×10^5	4.0×10^5	4.0×10^5
	2	1.0×10^4	1.2×10^4	1.0×10^5	1.2×10^5	1.3×10^5	1.5×10^5	1.8×10^5	1.8×10^5	1.8×10^5	1.5×10^5
	3	2.7×10^2	3.7×10^3	2.4×10^4	2.6×10^4	2.3×10^4	2.8×10^4	3.1×10^4	3.0×10^4	3.2×10^4	3.1×10^4
	4	3.0×10^2	5.6×10^3	2.0×10^3	2.5×10^3	2.1×10^3	2.9×10^3	2.7×10^3	3.0×10^3	3.3×10^3	3.5×10^3
	5	1.0×10^2	1.2×10^2	3.8×10^2	4.0×10^2	4.3×10^2	4.5×10^2	4.6×10^2	5.0×10^2	5.2×10^2	5.1×10^2
	6	1.0×10^2	1.5×10^2	2.4×10^3	2.8×10^3	3.0×10^3	3.0×10^3	2.9×10^3	3.0×10^3	3.0×10^3	2.7×10^3
Na											
酵	7	5.3×10^2	7.5×10^2	5.7×10^4	7.5×10^4	2.2×10^5	3.5×10^5	3.8×10^5	4.0×10^5	4.1×10^5	4.0×10^5
母	8	3.7×10^2	1.2×10^2	1.0×10^4	1.0×10^4	1.2×10^4	1.5×10^4	1.6×10^4	1.5×10^4	1.8×10^4	2.0×10^4

包装フィルム：KOP/PE (塩化ビニリデンコートポリプロピレン/ポリエチレン) 30℃、80% RHで保存

どら焼より分離した細菌の形態的特性を第4表に示した。No.1~3は $1.0 \sim 1.2 \mu m$ の大きさの球菌であり、No.4~6は楕円形の孢子を有する桿菌であった。これらの菌株の生理的特性を第5表に示した。

No.1はオレンジ色コロニーでありカタラーゼ反応、硝酸塩還元、第1リン酸アンモン利用及びMR試験は陽性であった。さらにグラム染色、ウレアーゼ活性及び硫化水素の産生は陰性であったこと、及びその他の性質より *Micrococcus varians* と同定した。No.2は黄色コロニーであり、カタラーゼ反応、第1リン酸アンモン利用及びMR試験、リトマスミルク分解は陽性であり、さらにその他の性質より *Micrococcus flavus* と同定した。No.3は赤色コロニーでありカタラーゼ反応、硝酸塩還元、第1リン酸アンモン利用、ゼラチン溶解性及びMR試験は陽性であり、さらにその他の性質より *Micrococcus*

包装食品の微生物変敗防止に関する研究（第23報）

第4表 どら焼より分離した細菌の形態的特性

	菌 株 No.					
	1	2	3	4	5	6
細胞						
形状	球状	球状	球状	桿状	桿状	桿状
大きさ(μm)	1.0~1.2	1.0~1.2	1.0~1.2	0.6~0.8 × 1.5~3.0	1.0~1.5 × 1.5~4.0	0.8~1.0 × 1.2~3.5
胞子						
形状	—	—	—	楕円形	楕円形	楕円形
大きさ(μm)	—	—	—	0.6~0.8 × 1.0~1.2	0.6~0.8 × 1.0~1.5	0.6~0.8 × 1.0~1.2
胞子のう	—	—	—	膨大せず	膨大せず	膨大せず
ブイヨン菌膜	—	—	—	+	+	+
運動性	—	—	—	+	+	+

—：陰性，+：陽性

第5表 どら焼より分離した細菌の生理的特性

	菌 株 No.					
	1	2	3	4	5	6
グラム染色	—	—	—	+	+	+
カタラーゼ反応	+	+	+	+	+	+
ゼラチン溶解性	—	—	—	+	+	+
クエン酸資化性	—	—	—	+	+	+
インドール産生	—	—	—	—	—	—
硝酸塩還元	+	—	+	+	+	+
V-P反応	—	—	—	+	+	+
デンプン分解	—	—	—	+	+	+
MR試験	+	+	+	+	+	+
第1リン酸	+	+	+	+	+	+
アンモン利用						
ウレアーゼ活性	—	—	—	—	—	—
硫化水素産生	—	—	—	—	—	—
リトマスミルク分解	—	+	—	—	—	—
糖の資化性						
グルコース	+	+	+	+	+	+
フラクトース	+	+	+	+	+	+
ガラクトース	—	—	—	+	+	+
グリセロール	—	—	+	+	+	+
マンニトール	—	—	+	+	+	—
ラクトース	+	+	—	—	—	—
アラビノース	—	—	—	+	+	—
キシロース	—	—	—	+	+	—
マルトース	—	—	—	—	—	+
シュクロース	+	+	+	+	+	+

—：陰性，+：陽性

roseus と同定した。No. 4, 5 は比較的細長く、短連鎖し、胞子のうは膨大せず、胞子壁は薄く、カゼインをペプトン化しアルカリ性にする。その他の性質よりNo. 4 は *Bacillus subtilis*, No. 5 は *Bacillus mesentericus* と同定した。No. 6 はやや小型の桿菌で菌端は典型的な鈍円又は平直で内部に楕円形の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。

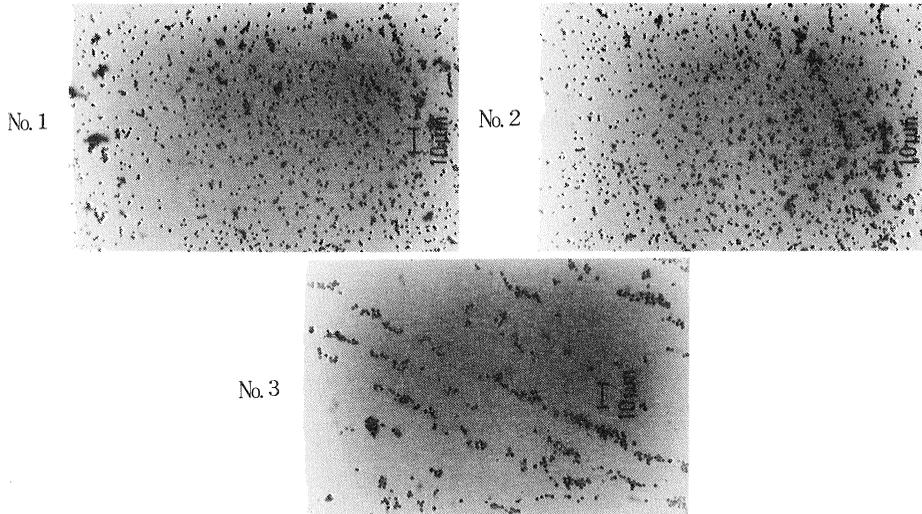


写真1 どら焼より分離した *Micrococcus* spp. の顕微鏡写真

No. 1 : *Micrococcus varians* No. 2 : *Micrococcus flavus*
 No. 3 : *Micrococcus roseus*

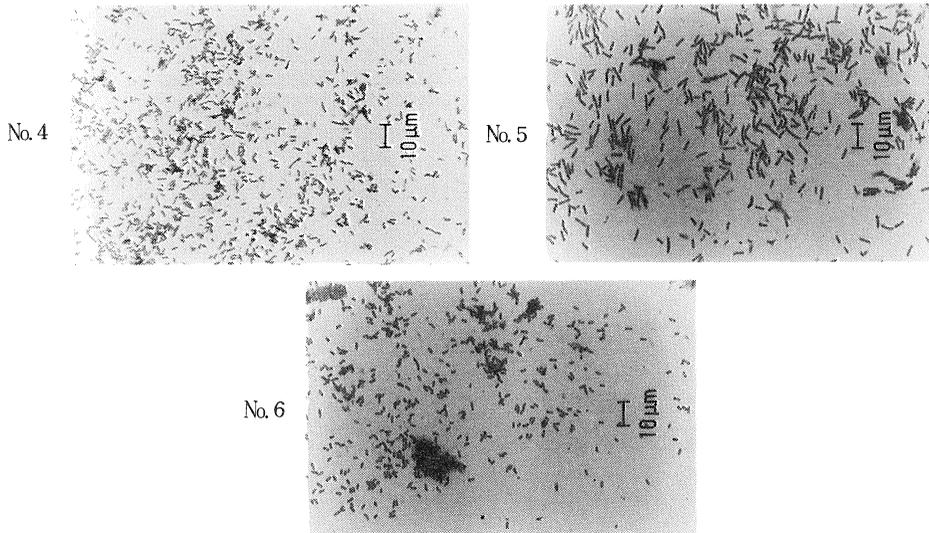


写真2 どら焼より分離した *Bacillus* spp. の顕微鏡写真

No. 4 : *Bacillus subtilis* No. 5 : *Bacillus mesentericus*
 No. 6 : *Bacillus cereus*

№1～3の *Micrococcus spp.* の顕微鏡写真を写真1に示した。また、№4～6の *Bacillus spp.* の顕微鏡写真を写真2に示した。

どら焼より分離した酵母の形態的特性を第6表に示した。№7と№8の細胞の形態は楕円形、卵形、長楕円形が混在し、単一又は連鎖し、大きな細胞（ $3.5\sim 8.0\times 5.0\sim 10.0\mu\text{m}$ ）であった。胞子はいずれの菌株も形成し、その形態は楕円形を呈した。生理的性質を第7表に示した。№7及び№8はいずれもアルブチン分解、エタノール資化性及び硝酸塩資化性はいずれも陰性であり、エタノール様芳香は陽性であった。糖の発酵性及び資化性より№7は *Saccharomyces cerevisiae*, №8は *Saccharomyces kluyveri* と同定した（写真3）。

5. 包装フィルムの差異によるどら焼の保存中における官能的な変化 6種類の酸素透過度の異なるフィルムで包装したどら焼の保存中における官能的な変化を第8表に示した。保存5日目まではいずれの試験区においても全く異常は認められなかった。10日目においてOPP/PE, MST/PE及びNY/PE区はムレ臭が生成し、20日目においてKOP/PE, KPT/PE及びKNY/PE区はエタノール臭が生成した。25日目ではすべての試験区においてエタノール臭が発生した。30日目でのあん部はKOP/PE, KPT/PE及びKNY/PE区とも酸臭を生成したがOPP/PE, MST/PE及びNY/PE区ではエタノール臭が認められた。

第6表 どら焼より分離した酵母の形態的特性

	菌 株 №	
	7	8
細胞		
形態	楕円形, 卵形, 長楕円形混在	楕円形, 卵形, 長楕円形混在
大きさ (μm)	$5.0\sim 8.0\times 5.0\sim 10$	$3.5\sim 7.5\times 5.0\sim 10$
偽菌糸	形成せず	形成せず
胞子		
形態	楕円形	楕円形
大きさ (μm)	$1.5\sim 3.0\times 2.0\sim 3.5$	$1.5\sim 2.0\times 2.0\sim 3.5$
皮膜	弱い皮膜形成	弱い皮膜形成
麦芽寒天培地での生育	白色から灰白色のつやのある 盛り上がったコロニー	白色から灰白色のやや盛り上 がったコロニー
YM寒天培地での生育	白色から灰白色のつやのある 円形のコロニー	白色の盛り上がった比較的 大きなコロニー

第7表 どら焼より分離した酵母の生理的特性

	菌株 No.	
	7	8
アルブチン分解	—	—
硝酸塩資化性	—	—
エタノール資化性	—	—
ビタミンフリー培地での生育	+	+
糖の発酵性		
グルコース	+	+
マルトース	+	—
ガラクトース	+	+
ラクトース	—	—
シユクロース	+	+
糖の資化性		
グルコース	+	+
シユクロース	+	+
マルトース	+	+
ラクトース	—	—
ラフィノース	+	+
セロビオース	—	+
トレハロース	+	+
D-キシロース	—	—
L-アラビノース	—	—
L-ラムノース	—	—

—：陰性，+：陽性

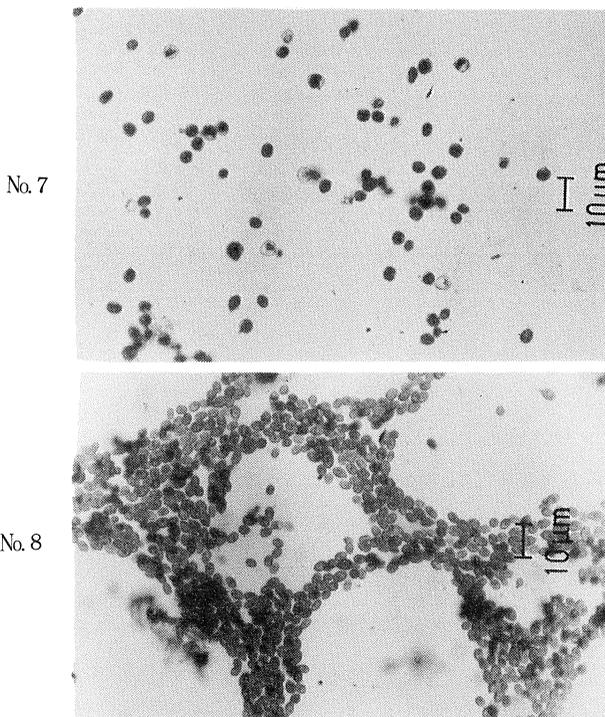


写真3 どら焼より分離した酵母の顕微鏡写真

No. 7 : *Saccharomyces cerevisiae*

No. 8 : *Saccharomyces kluyveri*

第8表 包装フィルムの差異によるどら焼の保存中における官能的な変化

包装フィルム	保 存 期 間 (日)									
	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45
KPP/PE										
全 体	← 異常なし →			← エタノール 臭 →						
あん部	← 異常なし →			← エタノール 臭 →		← 酸臭 →		← コゲ臭 →		
OPP/PE										
全 体	異常なし	← ムレ臭 →			← エタノール 臭 →					
あん部	← 異常なし →			← エタノール 臭 →		← 酸臭 →		← コゲ臭 →		
KPT/PE										
全 体	← 異常なし →			← エタノール 臭 →						
あん部	← 異常なし →			← エタノール 臭 →		← 酸臭 →		← コゲ臭 →		
MST/PE										
全 体	異常なし	← ムレ臭 →			← エタノール 臭 →					
あん部	← 異常なし →			← エタノール 臭 →		← 酸臭 →		← コゲ臭 →		
KNY/PE										
全 体	← 異常なし →			← エタノール 臭 →						
あん部	← 異常なし →			← エタノール 臭 →		← 酸臭 →		← コゲ臭 →		
NY/PE										
全 体	異常なし	← ムレ臭 →			← エタノール 臭 →					
あん部	← 異常なし →			← エタノール 臭 →		← 酸臭 →		← コゲ臭 →		

包装フィルムの略号は第1表と同じ

考 察

どら焼は一応保存性のある食品の1つであるが、その主材料となるあんは耐糖性細菌及び酵母による変敗が発生する機会に絶えずさらされている。微生物の問題は主にあんの含糖量と水分によって左右されるが、保存による増殖も考える必要がある。

細菌の増殖に及ぼす包装フィルムの影響について30℃、RH 80%で45日間保存した結果、比較的酸素透過度の大きいフィルムで包装した製品（OPP/PE、MST/PE、NY/PE）は細菌の増殖が著しかった。これは増殖の主となる細菌が *M. varians* と *M. flavus* の好気性細菌であることに由来する。

一方、細菌とは逆に酵母は酸素透過度の大きいフィルムで包装した製品では、増殖がやや抑制されることを認めた。これは包装袋内がやや好気性であるため細菌の増殖が著しく、酵母の増殖がやや抑制さ

れたものと考えられる。

また保存中、細菌の増殖は酵母に比較して少ないことを認めた。これは水分活性が皮部で0.853、あん部で0.865と比較的低いため増殖が抑制されたものと考えられる。*M. varians*, *M. flavus*, *M. roseus*はやや耐糖性であるが、*B. subtilis*, *B. mesentericus*, *B. cereus*は耐糖性がないため増殖が著しく抑制されたものと考えられる。これに対して *Sacch. cerevisiae* と *Sacch. kluyveri* は耐糖性があるために著しく増殖したものと思われる。

保存中における官能的な変化は初期においては細菌に由来するムレ臭が生成する。この場合は酸素透過度の大きいフィルムで包装された製品に認められ、次いでエタノール臭が生成した。これに対し酸素透過度の小さいフィルムで包装された食品はムレ臭は生成せず、エタノール臭が生成した。これらの変化は酵母の増殖が著しいことを示している。

要 約

どら焼を酸素透過度の異なる6種類のフィルムで包装し、30℃、RH80%で保存し、その品質の変化について検討し、以下の結果を得た。

1. 細菌の増殖は比較的酸素透過度の大きいフィルムで包装した製品において著しいことを認めた。
2. 酵母の増殖は酸素透過度の小さいフィルムで包装した製品において著しいことを示した。
3. 酸素透過度の大きいフィルムで包装された製品ほどpHの低下が大きいことを認めた。
4. どら焼より細菌6菌株 (*M. varians*, *M. flavus*, *M. roseus*, *B. subtilis*, *B. mesentericus*, *B. cereus*)、酵母2菌株 (*Sacch. cerevisiae*, *Sacch. kluyveri*) を分離し、製造直後は *M. varians*, *M. flavus* が多く認められ、保存45日目にはこれらの菌に加えて *Sacch. cerevisiae*, *Sacch. kluyveri* が多いことを認めた。
5. 保存中における官能的な変化は酸素透過度の大きいフィルムで包装された製品においてまずムレ臭が認められ、次いでエタノール臭が生成した。酸素透過度の小さいフィルムで包装された製品はやや遅れてエタノール臭が生成した。

文 献

- 1) 内藤茂三ら：日食工誌，35，69（1988）
- 2) 内藤茂三ら：日食工誌，34，788（1987）
- 3) 内藤茂三：包装研究，8，（2），15（1988）
- 4) 内藤茂三ら：防菌防黴，15，225（1987）