

## 食品保存へのオゾンの利用に関する研究（第10報）

### 製あん工程の微生物菌数に及ぼすオゾン処理の影響

内藤茂三・塚本 忠\*

生あんは、水分が多く変質し易い食品であるため、長期にわたる保存が困難で、これが製あん業の大規模化を妨げた原因である。したがって長期にわたって保存が可能な生あんを作ることは理想であるが、しかし現状では極めて困難な状態である。渡辺ら<sup>1)</sup>は生あんの保存性についての観点から、市販生あんの水分、纖維、生菌数を調べ、水分は59.6～67.2%，纖維は2.37～8.75%，生菌数 $2.8 \times 10^4$ ～ $1.2 \times 10^7/g$ と相当に幅のある製品が出回っていることを報告している。現在、愛知県下の生あん製造工場3社の製造直後の生あんの生菌数は、 $1.0 \times 10^4$ ～ $5.7 \times 10^5/g$ である<sup>2)</sup>。これが $2.5 \times 10^7$ ～ $6.2 \times 10^8/g$ にまで増加すると腐敗臭（酸臭、有機酸臭等）が発生するようになる。一般に $10^4$ ～ $10^5/g$ の生あんを0～5℃で保存する場合、実用的には4～5日位が限度であると考えられている。

そこで生あんの保存性向上を図る目的で、生あん製造へのオゾンの利用について検討を行った。今回は原料豆ならびに製造工程中にオゾン処理を行い、生あんの微生物に及ぼす影響について検討したので報告する。

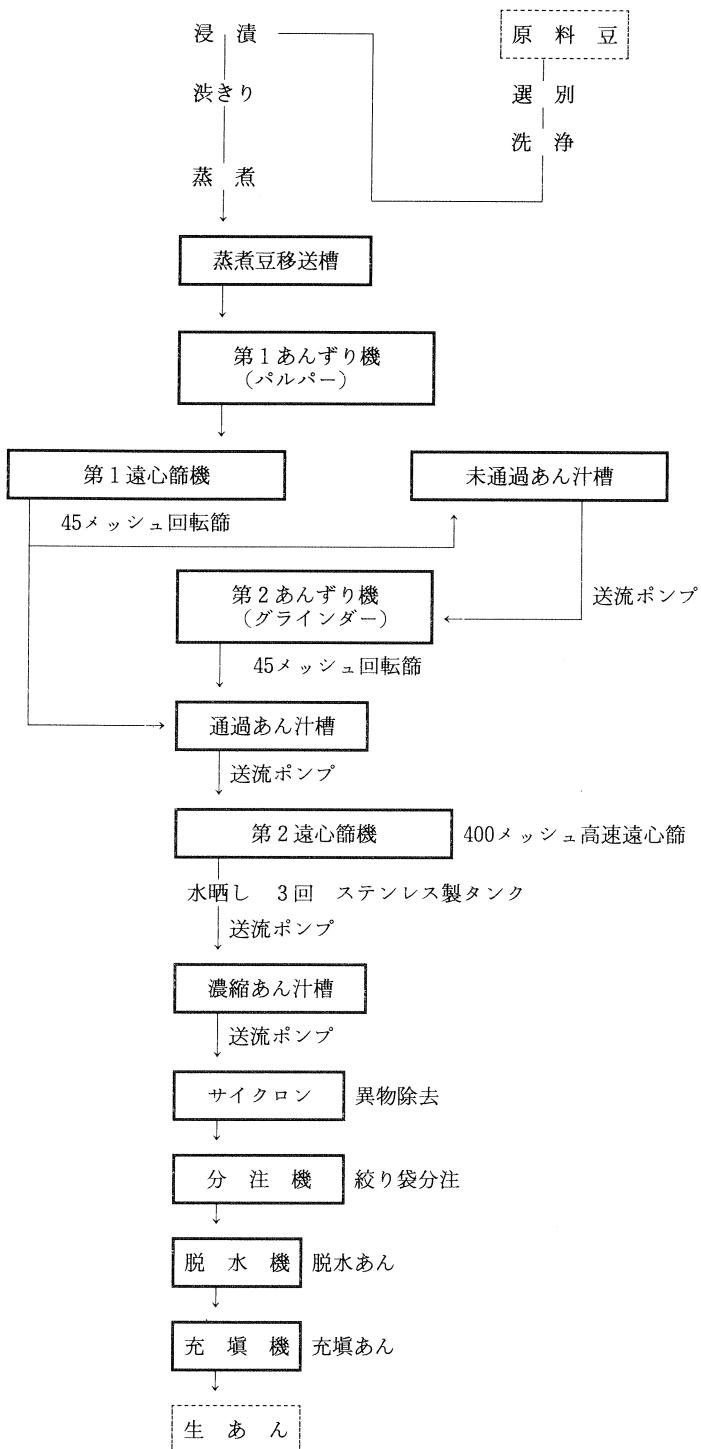
### 実験方法

#### 1. 生あん製造方法および供試試料

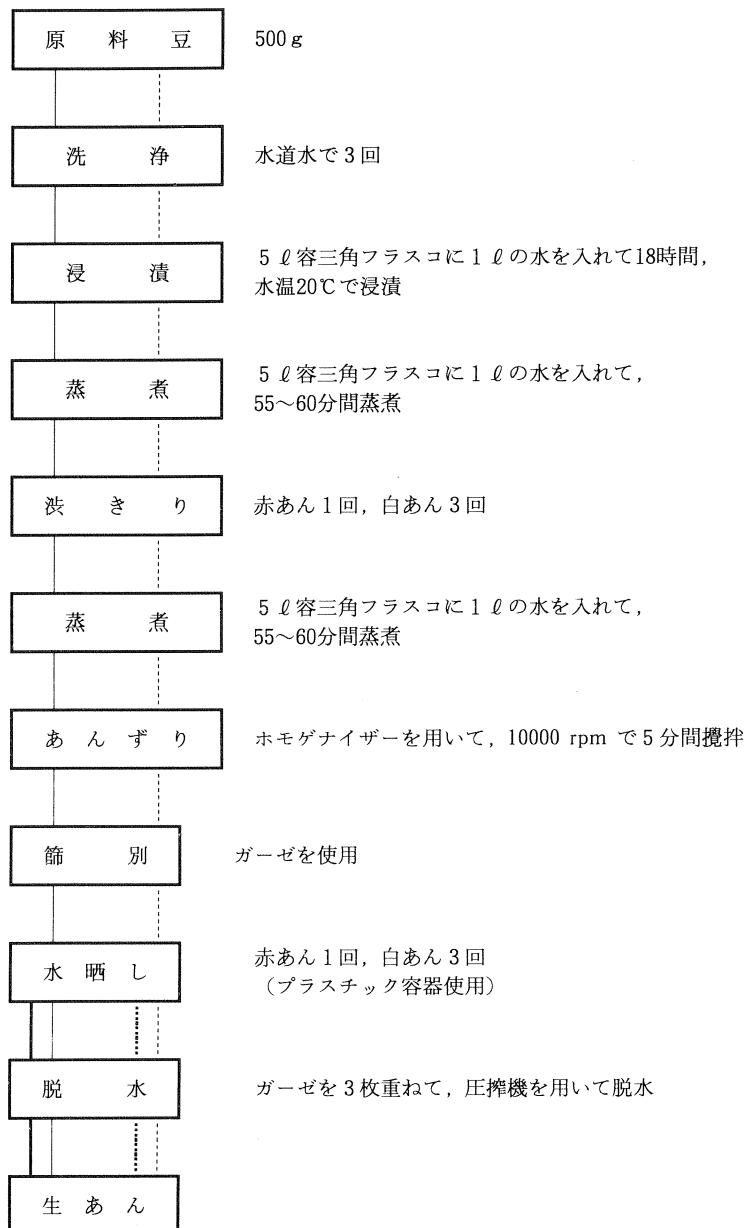
1. 1. 工場における生あん製造方法および供試試料 愛知県内の生あん製造工場より、工程毎に直接試料を採取して実験室へ持ち帰り、直ちに分析した。生あん製造工場における赤生あんの製造工程を第1図に示した。なお、当工場は赤生あん用に小豆、白生あん用にインゲン豆（大手芒豆）を用いていた。

1. 2. 実験室における生あん製造方法および供試試料 赤生あん用に小豆、白生あん用にインゲン豆（大手芒豆）を市場より購入し供試試料とした。赤生あんは小豆を用いて第2図に示した工程に従って製造した。次いで白生あんの製造方法はインゲン豆を用いて、赤生あん製造方法に準じて行った。ただし白生あんはシアン化合物を除去する目的で水晒し工程を3回実施した。

\* ユニオン商事株



第1図 生あん製造工場における生あん製造工程



第2図 実験室での生あん製造工程

- 原料豆無処理
- - - - - 原料豆のオゾン処理
- 水晒し工程でのオゾン処理（原料豆無処理）
- ..... 水晒し工程でのオゾン処理（原料豆のオゾン処理）

## 2. 微生物菌数の測定

2. 1. 生菌数 希釀平板培養法で行い、標準寒天培地（酵母エキス0.25%，ポリペプトン0.5%，ブドウ糖0.1%，寒天1.5%，pH 7.0）を使用し、30℃で2日間培養して測定した。

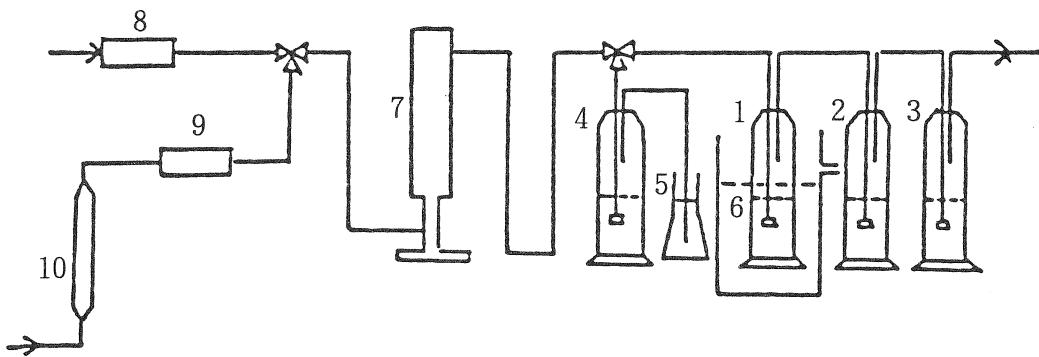
2. 2. 大腸菌群の測定 希釀平板培養法で行い、デスオキシコーレイト寒天培地（栄研化学株製）とEMB 寒天培地（栄研化学株製）を使用し、37℃で24時間培養して測定した。

2. 3. 生酸菌数の測定 希釀平板培養法で行い、BCP 添加プレートカウント寒天培地（栄研化学株製）を使用し、30℃で2日間培養して測定した。

2. 4. 耐熱性芽胞菌数の測定 試料5 gを滅菌した100 ml 容三角フラスコに入れ、滅菌脱イオン水50 mlを加えて、沸騰水中で30分間保持し、ホモゲナイズした後、測定試料とした。なおこの試料を標準寒天培地（前出）を用いて希釀平板培養法により、30℃で2日間培養して測定した。

3. 微生物の分離および同定 試料をホモゲナイズ後、希釀平板培養法により生菌数を測定し、発生した集落のうち代表的なものを混釀平板培養法により純粋分離した。なお使用した培地組成は、生菌数の測定に用いたものと同一である。分離した菌株は、常法<sup>3)</sup>に従って分類学的性質を調べ Bergey's Manual ,7th, ed<sup>4)</sup>, 8th, ed<sup>5)</sup>によって同定した。

4. オゾン処理およびオゾン濃度の測定 オゾン処理は原料豆及び晒し工程で行った。オゾン発生器は日本ゼウス株製の JAZ, CL-P11を使用し、オゾン濃度0.64～0.78 ppm（水中）、処理時間30～120分、流速0.62～0.79 l／分、水温0～5℃（晒し工程）で、また原料豆はオゾン濃度50 ppm、20℃で1時間、気中で処理した。なお、これらのフローシートを第3図に示した<sup>6)</sup>。



第3図 オゾン殺菌システムのフローダイヤグラム

- |                       |                           |
|-----------------------|---------------------------|
| 1. オゾン反応槽             | 2. 3. オゾン分解槽（5%ヨウ化カリウム溶液） |
| 4. モニター槽（2%ヨウ化カリウム溶液） | 5. オゾン分解槽（10%水酸化ナトリウム溶液）  |
| 6. 恒温槽                | 7. 流量計                    |
| 8. オゾン発生器             | 9. エアーポンプ                 |
| 10. 滅菌綿をつめたガラス管       |                           |

また、オゾン濃度は、厚生省のオゾン処理設備指針<sup>7)</sup>のヨウ素滴定法及びオゾン UV モニター EG 2011（荏原実業株式会社）により測定した。

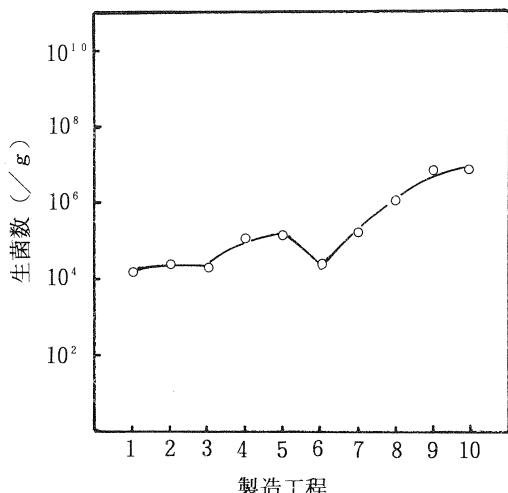
5. シアン化水素の定性試験 ピクリン酸紙法及び硝酸銀滴定法で行った<sup>8)9)</sup>。

## 実験結果及び考察

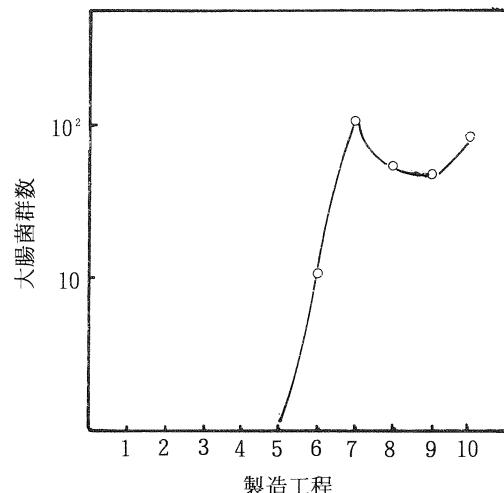
1. 生あん製造工場における製造工程中の微生物の消長

今回、調査を行った生あん製造工場で採用している製造方法は、前記第1図に示した。

ジェットエクストラクター（第1遠心篩機）、ノズル型セパレーター（第2遠心篩機）、フィルターブレス（脱水機）等は最近の合理化でん粉工場で使用されている機械を導入し、製造工程の連続化、機械化を図っている。しかしながら、でん粉製造とあん製造とでは根本的に異っているのは、生あん製造では製品が加熱されて熱変性を受けている点であり、また、あんは細胞でん粉であることである。従って、あんの製造の場合には、でん粉の糊化とたんぱく質の熱変性の程度が製品の品質、及び歩留りに大きな影響を及ぼし、また磨碎においても細胞を破壊しないような条件が必要である。あん粒子の大きさは、でん粉に比較して数倍も大きいので沈降速度は非常に速いが、強い圧力を受けると圧縮して破壊され易く、また破壊されたでん粉粒子、微纖維等はその後の脱水工程で操作を困難にしたり、あんの性質を大きく変化させるのみならず、微生物の増殖にも影響を与えることが知られている<sup>2)</sup>。



第4図 生あん製造工場における赤あん製造工程中の生菌数の変化



第5図 生あん製造工場における赤あん製造工程中の大腸菌群数の変化

- (製造工程を示す数字は第4図と同じ)
1. 蒸煮
  2. 第1あんずり（パルバー）
  3. 第2あんずり（グラインダー）
  4. 通過あん汁槽
  5. 第2遠心篩
  6. 最終水晒し（上澄み液）
  7. 最終水晒し（沈殿あん汁）
  8. 濃縮あん汁
  9. 脱水あん
  10. 充填あん（製品）

当工場での赤生あん製造工程中の生菌数の変化を第4図に示した。蒸煮、第1あんずり機(パルパー)、第2あんずり機(グラインダー)までの工程では $1.1\sim1.8\times10^4/g$ であるが、通過あん汁槽、第2遠心篩機で $1.2\sim2.7\times10^5/g$ となった。また水晒しは2~3回行うが、最終の晒しの上澄液は $1.5\times10^4/g$ 、最終水晒し沈殿あん汁は $2.5\times10^5/g$ であった。サイクロンで異物除去後、濃縮あん汁を分注機により搾り袋に分注し、自動式油圧圧搾機で脱水後は $8.7\times10^6/g$ となった。さらに充填機で輸送袋に充填後若干増加した。これらの工程では高温から低温への品温の変化を急速に行い、菌の増殖を防止するよう配慮をしているが、最終工程終了後は $3.0\times10^7/g$ となった。

次に製造工程中の大腸菌群数の変化を第5図に示した。第2遠心篩別工程までは大腸菌群は検出されなかったが、最終水晒し工程における晒し上澄液、晒しあん、脱水あん、輸送袋充填あんには大腸菌群が検出された。しかし大腸菌群数は比較的少なく、各工程によって若干異なるが $1.2\times10^2\sim1.5\times10^2/g$ であった。

生菌数は通過あん汁槽、篩別、水晒しと工程を経るにつれて菌数は増加するが、特に脱水工程での増加が著しい。菌数の消長、機械設備の洗浄殺菌の状況から判断すると、工場環境からの二次汚染と工程間のパイプに付着している微生物の汚染により、工程を経るに伴い菌数が増加したと考えられる。また原料豆に付着している耐熱性芽胞菌が蒸煮後に残存することも、大きな原因の1つとして考えられる。実験室における生あんの製造においてもほぼ同様な微生物の消長を示した。

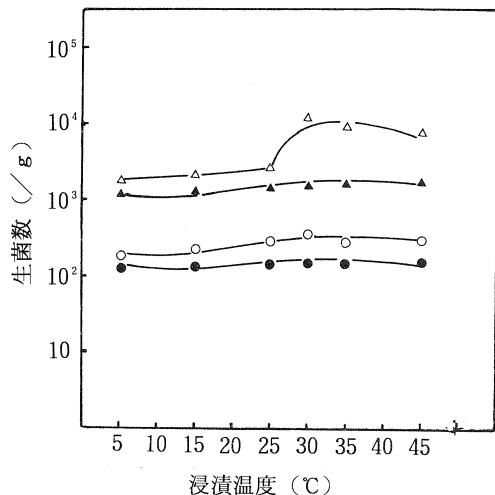
**2. 生あん用原料豆のオゾン処理による微生物数の変化** 生あん用原料豆にオゾン処理を行い、微生物数の変化を調べると共に各温度別での吸水後の微生物の増殖度を検討した。原料豆のオゾン処理による付着微生物数の変化は比較的少ないことを認めた。即ち、小豆は生菌数が無処理で $5.7\times10^2/g$ であったが、オゾン処理により若干減少して $1.0\times10^2/g$ となった。大手芒豆の場合、生菌数は無処理で $5.8\times10^2/g$ 、オゾン処理により $1.5\times10^2/g$ となった。なおオゾン処理による耐熱性芽胞菌数の変化は、小豆、大手芒豆のいずれの試料においてもほとんど認められなかった。原料豆には付着微生物数が極めて少なく、かつ大部分が耐熱性芽胞菌であるため、オゾン処理による変化が少なかったと考えられる。

次にオゾン処理を行った原料豆を5~45℃に18時間浸漬後、微生物の増殖速度を測定した結果を第6図に示した。小豆の場合、オゾン処理を行うことにより付着微生物の増殖速度が抑制され、5~45℃のいずれの温度に浸漬しても差異は認められず、 $1.7\times10^2\sim3.2\times10^2/g$ の生菌数を示し、ほぼ原料豆の付着微生物と同程度であった。一方、無処理豆の場合は、浸漬温度が上昇するに伴い、生菌数は増加して30℃で $1.2\times10^4/g$ となった。

さらに大手芒豆の場合は、微生物の増殖速度が小豆に比較して著しく大きく、オゾン処理原料豆、無処理原料豆とも生菌数には大きな差異は認められず、浸漬温度の上昇に伴い生菌数は顕著に増加した。

耐熱性芽胞菌の浸漬温度による変化を検討した結果を第7図に示した。小豆の場合、浸漬温度やオゾ

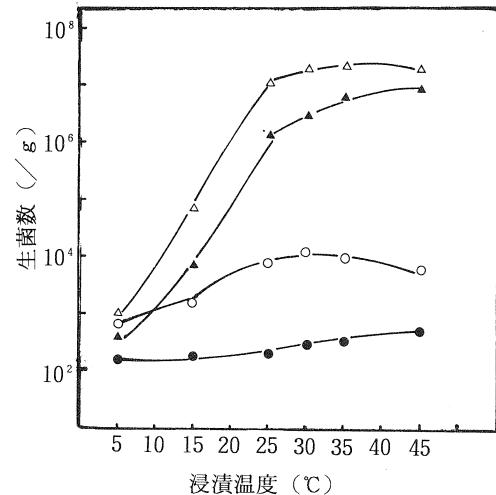
ン処理の有無による差異は、いずれも認められず、原料豆に付着していた耐熱性芽胞菌がそのまま移行し、浸漬後においても増加しなかった。一方、大手芒豆の場合は、原料豆のオゾン処理により増殖が若干抑制される傾向を示した。



第6図 原料豆の浸漬温度による生菌数の変化

- 無処理小豆
- オゾン処理小豆
- △—△ 無処理大手芒豆
- ▲—▲ オゾン処理大手芒豆

浸漬時間：18時間



第7図 原料豆の浸漬温度による耐熱性芽胞菌数の変化

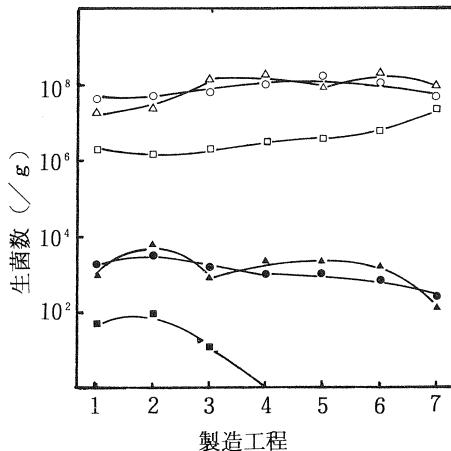
(記号は第6図と同じ)

浸漬時間：18時間, 100°Cで30分間加熱処理

{オゾン処理条件 濃度（気中）：50 ppm, 時間：1時間, 温度：20°C} {オゾン処理条件 濃度（気中）：50 ppm, 時間：1時間, 温度：20°C}  
また浸漬温度による差異は、認められず、いずれも  $1.2 \sim 1.5 \times 10^3 / g$  であったが、無処理の場合、30～35°C 浸漬で  $1.1 \times 10^4 / g$  と増加した。

### 3. 生あん製造工程中のオゾン処理による微生物数の変化

3. 1. 赤生あん オゾン処理を行った原料豆を用いて、生あんを製造し、生菌数の変化を検討した結果を第8図に示した。渋切り工程で生菌数は著しく減少し、オゾン処理小豆で  $1.0 \times 10^3 / g$ 、無処理小豆で  $8.0 \times 10^3 / g$  となった。次の蒸煮工程でオゾン処理小豆には生菌数はほとんど検出されず、また無処理小豆で  $7.5 \times 10^3 / g$  となった。煮上った小豆を単一の細胞粒に分割するために磨碎、篩別後、水晒し工程に入るが、この工程で生菌数は著しく増加し、オゾン処理小豆で  $2.0 \times 10^6 / g$ 、無処理小豆で  $7.0 \times 10^6 / g$  となった。水晒し工程終了後、脱水工程に移り、さらに微生物は増殖して充填時の最終製品でオゾン処理小豆で  $2.5 \times 10^7 / g$ 、無処理小豆で  $4.5 \times 10^7 / g$  となった。これらの結果から水晒し工程で著しく生菌数が増加することが判明したので、これを防止するために、本工程でのみオゾン処理を行って生あんを製造した場合、生菌数は  $1.6 \times 10^6 / g$  となった。また原料小豆及び水晒し工程でオゾン処理を行うと、生あんの生菌数は  $5.2 \times 10^5 / g$  と著しく減少することを認めた。



第8図 赤あん製造工程における生菌数の変化

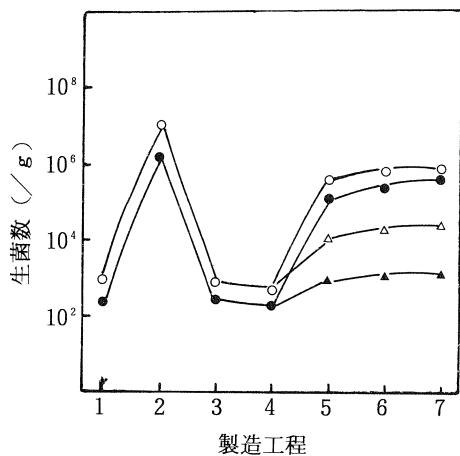
- |                   |                              |
|-------------------|------------------------------|
| 1. 原料豆（小豆）        | 生菌数                          |
| 2. 浸漬（25℃, 18時間）後 | ○ —— ○ 無処理小豆                 |
| 3. 渥切り後（2回目）      | ● —— ● オゾン処理小豆               |
| 4. 蒸煮後（1時間）       | △ —— △ 水晒し工程オゾン処理<br>(無処理小豆) |
| 5. 水晒し後（2回目）      |                              |
| 6. 脱水後            | ▲ —— ▲ 水晒し工程オゾン処理            |
| 7. 充填後            | (オゾン処理小豆)                    |

原料豆オゾン処理：オゾン濃度50 ppm (気中)，処理時間60分，気温20℃。  
水晒し工程オゾン処理：オゾン濃度0.64~0.78 ppm (水中)，  
処理時間30分，水温5℃。

上記の方法で製造した生あんを小袋に詰め，5℃において保存中における微生物数の変化を測定した結果を第9図に示した。

水晒し工程でオゾン処理を行った製品の初発菌数は比較的少なく，保存5日後までは明らかに他の試験区よりも著しく少ないことを認めたが，保存10日後では他の製品と同程度の菌数となった。なお大腸菌群数は水晒し工程でオゾン処理を行うことにより著しく減少し，保存3日後では全く検出されなかつた。

3. 2. 白生あん 原料豆として大手芭豆を用いて生白あんを製造し，その製造工程における生菌数の変化を検討した結果を第10図に示した。渥切りは，豆の皮が完全に膨張し，皮が破裂する直前に行い，合計3回実施した。3回目の生菌数は，オゾン処理豆で $2.3 \times 10^2$  / g，無処理豆で $4.5 \times 10^2$  / gであった。渥切り後，冷水をかけると，豆が硬化して蒸煮しにくくなるため，渥切りを2回以上行うときは温水を使用した。



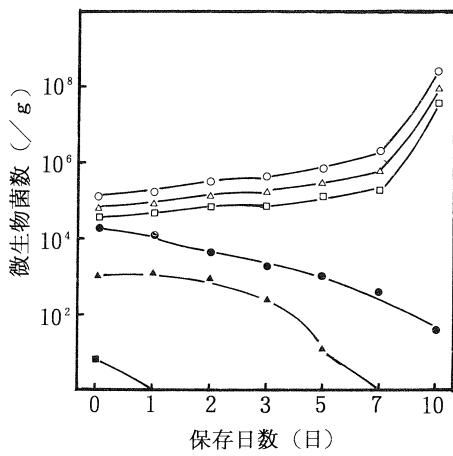
第10図 白あん製造工程における生菌数の変化

- 生菌数
- 1. 原料豆 (大手芒豆) ○ —— ○ 無処理大手芒豆
  - 2. 浸漬 (25°C, 18時間) 後 ● —— ● オゾン処理大手芒豆
  - 3. 洗切り後 (3回目) △ —— △ 水晒し工程オゾン処理 (無処理大手芒豆)
  - 4. 蒸煮後 (1時間)
  - 5. 水晒し後 (2回目) ▲ —— ▲ 水晒し工程オゾン処理 (オゾン処理大手芒豆)
  - 6. 脱水後
  - 7. 充填後

原料豆オゾン処理：オゾン濃度50 ppm (気中)，処理時間60分，気温20°C。

水晒し工程オゾン処理：オゾン濃度0.64～0.78 ppm (水中)，

処理時間30分，水温5°C。



第11図 オゾン処理を行なって製造した白あんの保存中における微生物数の変化

- —— ○ 生菌数 (対照区)  
 ● —— ● 大腸菌群数 (対照区)  
 △ —— △ 生菌数 (原料豆オゾン処理)  
 ▲ —— ▲ 大腸菌群数 (原料豆オゾン処理)  
 □ —— □ 生菌数 (水晒し工程オゾン処理)  
 ■ —— ■ 大腸菌群数・(水晒し工程オゾン処理)

保存温度：5°C

原料豆オゾン処理：オゾン濃度50 ppm (気中)，処理時間60分，気温20°C。

水晒し工程オゾン処理：オゾン濃度0.64～0.78 ppm (水中)，

処理時間30分，水温5°C。

生白あんは白度を必要とするため、生赤あんと異なり、煮熟完了時の状態は、製あん機に入れて細胞が分離することが煮熟の最適の状態であるので、全体の収量がやや少なくなった。この段階ではオゾン処理豆で $1.8 \times 10^2 / g$ ，無処理豆で $4.0 \times 10^2 / g$ の生菌数が検出されたにすぎなかった。篩別、磨碎終了後、水晒しを行ったが、生赤あんと同様にこの工程で微生物は急激に増加し、生菌数はオゾン処理豆で $1.7 \times 10^5 / g$ ，無処理豆で $6.5 \times 10^5 / g$ となった。

水晒し後、冷却したあん汁は脱水されて生あんとなるが、オゾン処理豆、無処理豆より製造した生あんの生菌数はそれぞれ $3.5 \times 10^5 / g$ ， $8.7 \times 10^5 / g$ となった。しかしながら水晒し工程でオゾン処理後製造した生あんは $1.5 \times 10^4 / g$ となり、原料豆及び水晒し工程でオゾン処理を行って生あんを製造すると、付着微生物数は著しく減少し、 $7.5 \times 10^3 / g$ となった。

上記の方法で製造した生あんを5°Cで保存し、その微生物数の変化を測定した結果を第11図に示した。水晒し工程でオゾン処理を行って製造した生あんは初発菌数が少ないと前記したが、保存中に大腸菌群は著しく減少し、1日後では全く検出されなかった。しかし、生菌数は保存期間を延長すると、3

試験区の差異は認められなくなった。なお白あんに多いシアン化水素は検出されなかった。

4. 生あん用原料豆の微生物の分離・同定 小豆及び大手芒豆を水に浸漬後、増殖する微生物を分離した。小豆より12菌株（R 1～R 12）の形態的特性を第1表に示す。R 1～R 9は桿菌でR 10～R 12は球菌であった。25℃で18時間浸漬後、一番多く菌数が認められたのはR 1であり、加熱（100℃、30分間）後はR 6が多く検出された。

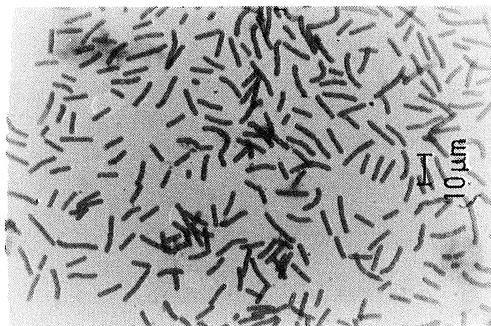
第1表 小豆より分離した微生物の形態的特性

菌株No. R	形状	大きさ (μ)	標準寒天培地 上での形態	分離試料 (分離源)	分離試料中の菌数 (/g)
1	桿状	1.5～19.5×0.5～0.6	灰白色花弁状	25℃, 18時間浸漬 (オゾン処理小豆)	$2.2 \times 10^4$
2	桿状	1.0～2.0×0.5～0.6	灰白色広がる	25℃, 18時間浸漬 (オゾン処理小豆)	$5.0 \times 10^3$
3	桿状	1.2～1.5×0.5～0.6	灰白色粘ちょう しわ広がる	原料豆 (オゾン処理小豆)	$8.0 \times 10$
4	桿状	1.2～1.5×0.5～0.6	灰白色粘ちょう しわ広がる	原料豆30分加熱 (オゾン処理小豆)	$1.0 \times 10^2$
5	桿状	1.2～18.0×0.5～0.6	暗銅色粒状	原料豆30分加熱 (オゾン処理小豆)	$1.0 \times 10^2$
6	桿状	1.5～2.0×0.7～0.8	灰白色広がる	5℃, 18時間浸漬 30分加熱	$5.0 \times 10^2$
7	桿状	1.2～1.5×0.5～0.6	灰白色又は白色 しわ盛り上がる	5℃, 18時間浸漬 30分加熱(オゾン処理小豆)	$1.0 \times 10$
8	桿状	1.5～7.5×0.6～1.0	灰白色粒状	30℃, 18時間浸漬 30分加熱	$3.0 \times 10$
9	桿状	3.0～6.0×0.5～0.6	灰白色又は黄色	45℃, 18時間浸漬 30分加熱	$2.0 \times 10$
10	球状	0.5～0.6	灰白色又は クリーム色	25℃, 18時間浸漬 30分加熱(オゾン処理小豆)	$1.0 \times 10^2$
11	球状	0.5～0.6	灰白色	25℃, 18時間浸漬 30分加熱(オゾン処理小豆)	$2.2 \times 10^2$
12	球状	0.5～0.6	灰白色粒状	原料豆	$6.0 \times 10$

また、大手芒豆より分離した21菌株（W 1～W 21）の形態的特性を第2表に示した。W 1, W 2, W 4, W 6～W 12, W 15～W 21は桿菌であり、W 3, W 5, W 13, W 14は球菌であった。25℃の水温で18時間浸漬後、菌数が比較的多く認められたのはW 1, W 2, W 8であり、加熱（100℃、30分間）後により多く検出された菌株はW 4, W 6であった。代表的な微生物であるR 1, R 6, W 1, W 2, W 4, W 6, W 8, W 9の顕微鏡写真を写真1に示した。

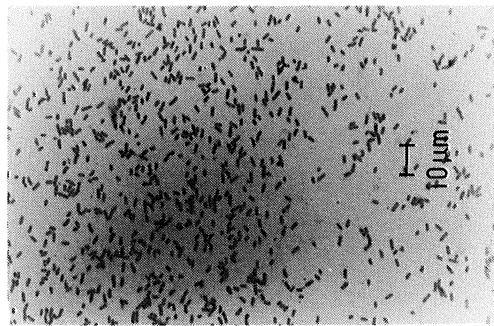
第2表 大手芒豆より分離した微生物の形態的特性

菌株No. W	形状	大きさ ( $\mu$ )	標準寒天培地 上での形態	分離試料 (分離源)	分離試料中の菌数 ( $/g$ )
1	桿状	1.5~ 2.0×0.5~0.7	灰白色 細かいしわ	45°C, 18時間浸漬	$5.8 \times 10^7$
2	桿状	1.5~ 2.0×0.6~0.7	灰白色 周辺乾燥	45°C, 18時間浸漬	$6.0 \times 10^7$
3	球状	0.5~0.6	クリーム色	45°C, 18時間浸漬 30分加熱（オゾン処理大手芒豆）	$4.0 \times 10$
4	桿状	1.5~ 6.0×0.5~0.6	灰白色	45°C, 18時間浸漬 30分加熱	$2.0 \times 10^2$
5	球状	0.5~0.6	クリーム色	45°C, 18時間浸漬 30分加熱	$5.0 \times 10$
6	桿状	4.5~12.0×0.5~0.6	灰白色広がる	30°C, 18時間浸漬 30分加熱	$1.0 \times 10^2$
7	桿状	2.5~ 4.5×0.5~0.6	クリーム色 広がる	45°C, 18時間浸漬 30分加熱（オゾン処理大手芒豆）	$1.0 \times 10^2$
8	桿状	2.0~ 3.0×0.7~0.8	灰白色乾燥	30°C, 18時間浸漬	$2.0 \times 10^6$
9	桿状	1.5~ 7.5×0.5~0.7	灰白色又は クリーム色	30°C, 18時間浸漬 30分加熱	$8.0 \times 10^5$
10	桿状	3.0~ 6.0×0.5~0.7	灰白色 艶あり	30°C, 18時間浸漬	$1.0 \times 10^5$
11	桿状	1.5~ 3.0×0.6~0.8	灰白色 しわ盛り上がる	30°C, 18時間浸漬	$9.5 \times 10^6$
12	桿状	1.5~ 6.0×0.6~0.7	灰白色 しわ盛り上がる	30°C, 18時間浸漬 30分加熱（オゾン処理大手芒豆）	$1.0 \times 10$
13	球状	0.5~0.6	灰白色又は クリーム色	30°C, 18時間浸漬 30分加熱（オゾン処理大手芒豆）	$1.0 \times 10$
14	球状	0.5~0.6	灰白色 盛り上がる	30°C, 18時間浸漬 30分加熱（オゾン処理大手芒豆）	$1.0 \times 10$
15	桿状	1.0~ 1.5×0.6~0.7	灰白色 しわ盛り上がる	5°C, 18時間浸漬 30分加熱	$1.0 \times 10$
16	桿状	1.0~ 1.5×0.6~0.8	灰白色 しわ盛り上がる	30°C, 18時間浸漬 30分加熱	$9.0 \times 10$
17	桿状	2.5~12.5×0.6~0.8	灰白色 しわ盛り上がる	30°C, 18時間浸漬 30分加熱	$1.2 \times 10^2$
18	桿状	1.5~12.0×0.5~0.8	灰白色 しわ盛り上がる	5°C, 18時間浸漬 30分加熱	$1.0 \times 10$
19	桿状	1.2~ 2.0×0.7~0.8	灰白色針状	30°C, 18時間浸漬 30分加熱（オゾン処理大手芒豆）	$3.0 \times 10^2$
20	桿状	1.5~ 2.0×0.8~1.0	灰白色	25°C, 18時間浸漬	$2.0 \times 10^3$
21	桿状	0.7~ 1.0×0.4~0.4	クリーム色 しわ状	25°C, 18時間浸漬	$6.0 \times 10^2$



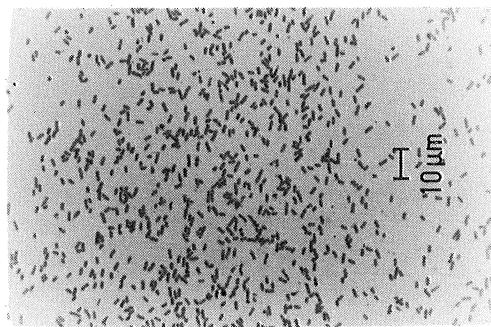
R 1

(*Bacillus megaterium*)



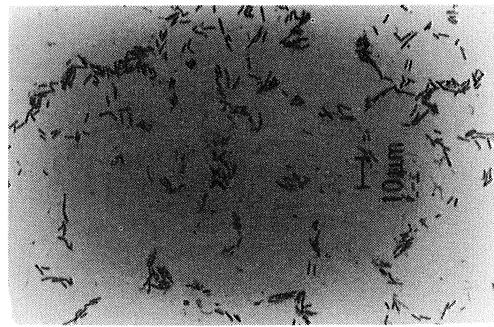
W 2

(*Bacillus stearothermophilus*)



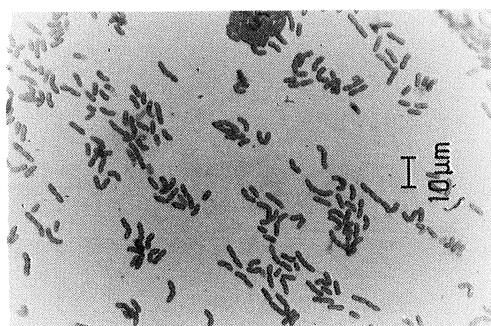
R 6

(*Bacillus subtilis*)



W 4

(*Bacillus coagulans*)



W 1

(*Bacillus cereus*)



W 6

(*Bacillus cereus*)

写真 1 原料豆より分離した微生物の顕微鏡写真 (1)

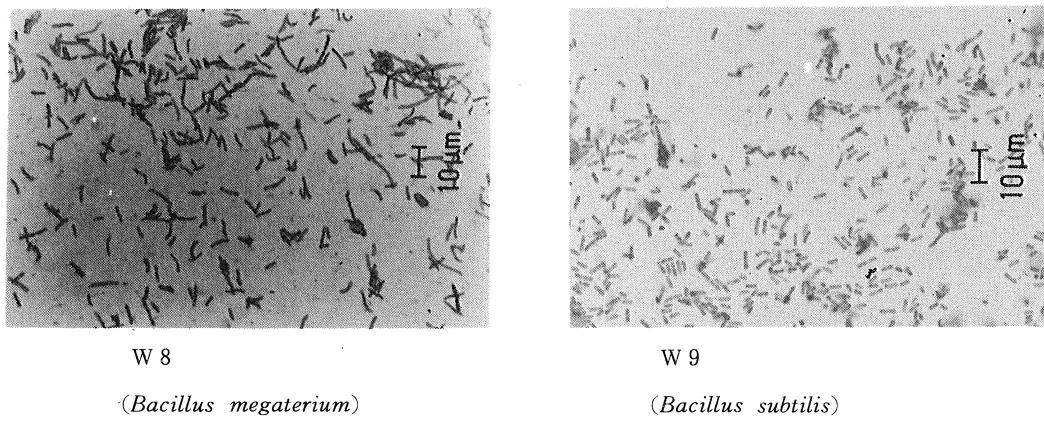


写真1 原料豆より分離した微生物の顕微鏡写真（2）

分離菌の生理的特性を第3表、第4表に示した。分離菌株は、いずれの菌株もグラム染色およびカタラーゼ活性は陽性であった。

第3表 小豆より分離した菌株の生理的特性

	分離菌株No. (R)											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
グラム染色	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
カタラーゼ反応	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ゼラチン溶解性	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-
スターク溶解性	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
インドール产生	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
クエン酸資化性	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-
硝酸塩還元	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-
ウレアーゼ活性	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-
V-P反応	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-
MR試験	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
オキシダーゼ活性	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7%食塩含有ブイヨン生育	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
硫化水素生成	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-
カゼイン分解	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
糖の資化性												
グルコース	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ガラクトース	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ラクトース	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+
マルトース	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+
シュクロース	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
グリセリン	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
マンニトール	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+
ソルビトール	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+
アラビノース	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
キシロース	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+ : 陽性, - : 陰性

第4表 大手豆より分離した菌株の生理的特性

	分離菌株No. (W)																				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
グラム染色	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
カタラーゼ反応	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ゼラチン溶解性	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+
スターク溶解性	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+
インドール産生	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
クエン酸資化性	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+
硝酸塩還元	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+
ウレアーゼ活性	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
V-P反応	+	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+
MR試験	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-
オキシダーゼ活性	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7%食塩含有ブイヨン生育	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+
硫化水素生成	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
カゼイン分解	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+
糖の資化性																					
グルコース	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ガラクトース	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ラクトース	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
マルトース	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
シュクロース	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
グリセリン	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+
マンニトール	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
ソルビトール	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-
アラビノース	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
キシロース	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+ : 陽性, - : 陰性

VP反応(アセチルメチルカルビノールの産生)はR2, R6, R8, W1, W4, W6, W9~11, W15~18, W20~21に認められた。硝酸塩還元はR1~R3, R5~R8, W1, W4, W6~W11, W15~W18, W20~21に認められ、クエン酸資化性はR1~R3, R5~R8, W1, W4, W6~W11, W15~W18, W20~21に認められた。またMR試験はR8, W10~11, W15~W18が陽性であった。さらにゼラチン溶解性はR1~R3, R5~R8, W1, W4~W11, W14~W18, W20~21に認められた。カゼインの分解は、R1~2, R5~6, W4, W7~W11, W15~W18, W20~21に認められた。また小豆より分離した12菌株(R1~R12)の糖の資化性試験の結果、グルコース、ガラクトース、シュクロース、グリセリン、アラビノース、キシロースはいずれの菌株も資化した。またグルコース、ガラクトース、シュクロースは大手豆より分離した21菌株(W1~W21)のいずれも資化した。

上記の形態的及び生理的性質より R 1～R 9, W 1～2, W 4, W 6～W12, W15～W21は内性胞子を形成するグラム陽性の好気性桿菌であることから *Bacillus* 属であり、また R10～R12, W 3, W 5, W13～14はグラム陽性、カタラーゼ反応陽性の好気性の球菌であるが未同定である。

以上の結果を第5表にとりまとめた。*Bacillus cereus* (W 1, W 6, W17), *B. megaterium* (R 1, R 5, W 7, W 8), *B. stearothermophilus* (W 2, W12, W19, R 4, R 9), *B. subtilis* (W 9, W21, R 2, R 6), *B. coagulans* (W 4, W20), *B. circulans* (R 3, R 7), *B. polymyxa* (R 8), などが検出された。

第5表 小豆及び大手芒豆より分離した微生物の同定結果

分離菌株No.	同定名	分離菌株No.	同定名
R 1	<i>Bacillus megaterium</i>	W 1	<i>Bacillus cereus</i>
2	<i>Bacillus subtilis</i>	2	<i>Bacillus stearothermophilus</i>
3	<i>Bacillus circulans</i>	3	未同定
4	<i>Bacillus stearothermophilus</i>	4	<i>Bacillus coagulans</i>
5	<i>Bacillus megaterium</i>	5	未同定
6	<i>Bacillus subtilis</i>	6	<i>Bacillus cereus</i>
7	<i>Bacillus circulans</i>	7	<i>Bacillus megaterium</i>
8	<i>Bacillus polymyxa</i>	8	<i>Bacillus megaterium</i>
9	<i>Bacillus stearothermophilus</i>	9	<i>Bacillus subtilis</i>
10	未同定	10	未同定
11	未同定	11	未同定
12	未同定	12	<i>Bacillus stearothermophilus</i>
		13	未同定
		14	未同定
		15	未同定
		16	未同定
		17	<i>Bacillus cereus</i>
		18	未同定
		19	<i>Bacillus stearothermophilus</i>
		20	<i>Bacillus coagulans</i>
		21	<i>Bacillus subtilis</i>

R : 小豆より分離した菌株, W : 大手芒豆より分離した菌株

菌数の多い微生物は、R 1 (*B. megaterium*), W 1 (*B. cereus*), W 2 (*B. stearothermophilus*), W 8 (未同定), W11 (未同定) であった。

## 要 約

愛知県下の生あん製造工場における各工程の微生物の消長を検討した結果、生菌数は水晒し工程以降  $10^5 \sim 10^7 / g$  となり、著しく増加した。また原料豆（小豆、大手芒豆）に付着する微生物数は  $10^2 \sim 10^3 / g$  で、その大部分が耐熱性芽胞菌 (*Bacillus*) であった。

原料豆をオゾン処理することにより、生菌数、耐熱性芽胞菌数はいずれも減少する傾向を示した。また小豆を各温度（5～45℃）の水に浸漬することにより、オゾン処理小豆は  $10^2 \sim 10^3 / g$  とほとんど増殖する傾向を示さなかったが、無処理小豆では  $10^3 \sim 10^4 / g$  と増殖することを認めた。

大手芒豆では水での浸漬により増殖速度が著しく早く、オゾン処理大手芒豆も無処理豆も  $10^6 \sim 10^8 / g$  となり、大きな差異は認められなかった。

原料豆及び水晒し工程でオゾン処理を行った生あんの生菌数は著しく減少し、保存性が向上することを認めた。

原料豆より検出される微生物は、大部分が *Bacillus*（小豆9菌株、大手芒豆4菌株）であった。これらの微生物を同定した結果、*B. cereus*, *B. megaterium*, *B. coagulans*, *B. circulans*, *B. polymyxa* が検出された。この中でも特に菌数の多い微生物は *B. megaterium*, *B. cereus*, *B. stearothermophilus* であった。

## 文 献

- 1) 渡辺ら：日食工誌，13，242（1966）
- 2) 内藤ら：未発表
- 3) 長谷川武治編著：微生物の分類と同定（下），学会出版センター（1985）
- 4) Bread, R. S. et al : Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 7 th ed., Williams and Wilkins Co., Baltimore
- 5) Buchanan, R. E. et al : Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8 th ed., Williams and Wilkins Co., Baltimore
- 6) 内藤ら：日食工誌，29，1（1982）
- 7) 厚生省環境衛生局水道課編：オゾン処理設備指針，P. 19（1972）
- 8) 厚生省食品衛生課、乳肉衛生課、食品化学課：食品衛生関係法規集，中央法規，1215（1978）
- 9) Eyjolesson, R. : Fort. der Chem. Org. Naturst., 27, 74 (1971)