包装食品の微生物変敗防止に関する研究(第32報) 包装もめん豆腐の微生物による液化現象について

内藤茂三

豆腐は大豆の水溶性たんぱく質を固めたものである。大豆のたんぱく質にはグロブリンに属するグリシニンが多い。本来グロブリンは水に不溶性であるが大豆中には塩類が多いため容易にグリシニンが溶出される。この溶出したたんぱく質を加熱し、さらにカルシウム又はマグネシウムの塩類を添加して変性させて凝固させたものが豆腐である。この時に重要な役割を果たすのが凝固剤である。

もめん豆腐は、豆乳を凝固剤(硫酸カルシウム、塩化マグネシウム、ケーグルコノδーラクトン等)で凝固させてから上澄みを除き、くずした後、これを布に敷いた孔のある型箱に移し、上から重しをして成型し、スチロールトレイに入れ密封して低温に保存され販売される。しかし、凝固剤に塩化マグネシウムを用いたもめん豆腐は製造後、1~2日で液化する現象が生ずることがある。その液化の程度は製造後の時間の経過とともに増大するところから凝固剤の添加量不足ではなく、微生物に起因するものと考えられる。

そこでこの原因を検討するために若干の検討を行っ たので報告する。

実 験 方 法

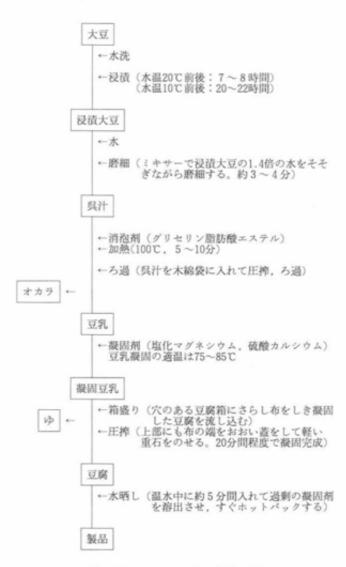
1. 試 料

試料は第1図に示すように一定量の大豆に10倍量の 水を加え磨砕,加熱して豆乳を採り,得られた豆乳に 凝固剤(硫酸マグネシウム,硫酸カルシウム,塩化マ グネシウム,塩化カルシウム)を添加し,箱盛り,圧 搾し,水さらしを行い製品とした。

2. 包装フイルムおよび包装方法

豆腐をスチロールトレイ (縦13.4cm, 横10.4cm, 高さ6.1cm) に入れ, 水を充塡してからポリプロピレン (PP) フイルムでふたをした。なおスチロールトレイの厚さは350 μ mであり,酸素ガス透過度は14~16cc/㎡/24h, atm (25 $^{\circ}$ C, Dry),透湿度は5~8 g/㎡/24h (40 $^{\circ}$ C, 90%RH) であった。

3. 微生物測定用の使用培地および希釈水



第1図 もめん豆腐の製造工程

- (1) PDA寒天培地:栄研化学の既製品培地にクロラムフェニコール (100mgをエタノール 5 mlに溶解) を培地 1 l 当り2.5ml添加したもの。
- (2) YM寒天培地:ポリペプトン5g, 酵母エキス3g, グルコース10g, 寒天15g, 脱イオン水1000ml, pH6.0
- (3) 標準寒天培地: 栄研化学の既製品培地
- (4) GYP白亜寒天培地:乳酸菌実験マニュアル¹⁾

- (5) BL寒天培地: 栄研化学の既製品培地
- (6) 希釈水: NaCl8.5gを脱イオン水1000mlに溶解

4. 微生物菌数の測定

試料25gを無菌的に採取し、これをホモジナイザーカップ(500ml容)に希釈水225gとともに入れ、ホモジナイザーで5分間磨砕し、そのホモジネート液を微生物菌数測定に用いた。好気性細菌数の測定は標準寒天培地を用い、嫌気性細菌数の測定はGYP白亜寒天培地およびBL寒天培地を用いて測定した。酵母菌数の測定はPDA寒天培地およびYM寒天培地を用いた。細菌は30℃、酵母は25℃で培養した。なお嫌気性菌の測定はBL寒天培地を用い、BBLのガスパック法で行った。

5. 微生物の同定

細菌については形態的な観察を行うとともに生化学 的性状²⁾を検討して同定を行うとともに生化学的性状 ³⁾を検討して同定を行った。

6. 落下菌および空中浮遊菌の測定

製造工場に設定した15地点において年間4回にわたって落下菌および空中浮遊菌を測定した。用いた培地は細菌の測定用には標準寒天培地、酵母およびカビの測定用にはPDA培地を用いた。落下菌はシャーレ(直径9.0cm)を細菌では5分間、真菌では20分間開放して検査を行った。

空中浮遊菌の捕集はピンホールサンプラー(三基科学(報製)により、毎分26.5l の速度で2 分間空気を吸引した。この際、サンプラーのターンテーブルの上に標準寒天培地、PDA培地を置き、この平板に出現したコロニー数を空気53l 当たりの菌数として示した。

7. 分離菌株の生育試験

分離菌株の生育温度範囲を決めるために、供試菌株 を標準寒天又はPDA寒天斜面培地に接種し、5 ℃又は 7 ℃で2週間、および10℃、15℃、20℃、25℃、30 ℃、37℃でそれぞれ1週間培養した。生育状態は液体 培養したものを分光光度計(島津UV-100)の660nmで 測定した。

8. プロテアーゼ活性の測定

Hagiharaら⁴⁾, Ueharaら⁵⁾の方法に準拠し以下のご とく反応させた。0.01Mトリス一塩酸緩衝液 (pH8.4) に溶解した0.6%ミルクカゼイン5 mlに酵素液 1 mlを 加え,40℃で30分間反応させた。そして0.11M酢酸, 0.22M酢酸ナトリウムおよび0.33Mトリクロル酢酸を 含む液を5 mlを加え反応を停止させ,ろ過した。

次に反応ろ液をFolin比色法。に準じ測定した。ろ

液 2 mlに0.55M炭酸ナトリウム 5 ml, 3 倍希釈Folin 試薬 1 mlを添加し,30℃で30分間保温後660nmにおける吸光度を分光光度計(島津UV-100)で測定した。

プロテアーゼ活性は、1分間で 1μ gのチロシン相当量の呈色物を遊離させたとき1単位として表示した。

9. たんぱく質分解試験

10%脱脂乳 (Difco) 液を10%添加した標準寒天又は PDA寒天培地を用いた。

この寒天平板に分離微生物を画線培養し、集落の周囲に透明帯ができたものを強弱の程度を問わずにプラス (+),陰性のものをマイナス (-) と記載した。分解能は $5 \, \text{℃}$, $15 \, \text{℃}$, $25 \, \text{ℂ}$ の各培養温度毎に経時的に観察した。

10. カルシウム, リン, マグネシウムの定量

カルシウム,リン,マグネシウムの定量は、原子吸 光分光光度計(ジャーレルアシュ(報製)を用いて測定 した。

11. もめん豆腐の液化の再現試験

供試菌株として,製品,半製品,原材料および落下 菌,空中浮遊菌より分離した微生物を直接もめん豆腐 に接種し,それらを5℃で7日間保存し,液化現象の 有無について観察した。

実験結果

1. 原材料および製造工程中の半製品,製品の微生 物変化

製造工程中における微生物の消長を第 1 表に示した。原料大豆に $3.1 \times 10^2/g$,浸漬大豆に $7.5 \times 10^4/g$, 具汁に $2.7 \times 10^4/g$, 豆乳に $5.7 \times 10^4/g$, オカラには $1.2 \times 10^6/g$ の細菌が検出された。 擬固後静置時に $1.1 \times 10^4/g$, 箱盛り圧搾時に $2.2 \times 10^4/g$, 水 さらし後に $3.2 \times 10^4/g$, 製品として出荷時には $5.2 \times 10^4/g$ であった。また嫌気性菌,酵母,カビはいずれの工程においても全く検出されなかった。

液化した豆腐および製造後1日貯蔵後の豆腐(正常豆腐)の微生物菌数および菌叢を測定した結果を第2表に示した。液化した豆腐は嫌気性細菌が2.4×10°/g,酵母が8.2×10°/g検出された。またBacillusは3.5×10°/gであった。また正常豆腐はBacillusが3.7×10°/g検出された。以上のことより液化の原因は嫌気性細菌あるいは酵母が関与していると考えられた。

第1表 もめん豆腐の製造工程中における微生物の消長

製造工程中の試料	菌数 (/g)					
教坦工任中の政府	細菌	酵母	カビ			
原浸具豆 大大 大大 豆豆 受具豆オ 製造 野 大大 豆豆 大大 豆豆 乳 乳 ラ 豆 乳 カ ラ 豆 乳 乳 ラ ラ ラ 乳 ・ 後 後 後 後 後 後 後 後 後 後 後 後 後 後 後 を り し り し し し し し し し し し し ら し ら し ら り ら り	3.1×10 ² 7.5×10 ⁴ 2.7×10 ⁴ 5.7×10 ⁴ 1.2×10 ⁶ 1.1×10 ⁴ 2.2×10 ⁴ 3.2×10 ⁴ 5.2×10 ⁴	3.0×10 ² 以下 3.0×10 ² 以下	3.0×10°以下 3.0×10°以下 3.0×10°以下 3.0×10°以下 3.0×10°以下 3.0×10°以下 3.0×10°以下 3.0×10°以下 3.0×10°以下			

第2表 液化豆腐の微生物菌数および菌叢

≓ pSr		細菌 (/g)		skra (/)	412 (/ -)	
豆腐	Bacillus	Micrococcus	嫌気性菌	酵母 (/g)	カビ (/g)	
液化豆腐	3.5×10³	3.0×10°以下	2.4×10°	8.2×10 ⁸	3.0×10 ² 以下	
正常豆腐	3.5×10^{3}	3.7×104	3.0×10 ² 以下	3.0×10°以下	3.0×10 ² 以下	

2. 製造工程の落下菌および空中浮遊菌

もめん豆腐の液化原因菌は製造工場の落下菌および 空中浮遊菌に起因すると推定されたので工場の落下菌 および空中浮遊菌について測定した。その結果を第3 表に示した。

落下菌数はいずれの工程においても細菌が多く,特に圧搾,木晒し工程において41~55CFU/5分間(以下CFU/5分間は略す。CFU:集落形成単位)であっ

た。

また同工程における酵母は7~10認めた。

空中浮遊菌はいずれの工程においても多くの細菌を認めたが、特にろ過、冷却、圧搾、水晒し工程において75~82CFU/53l(以下CFU/53l空気を略す)を認め、酵母はこれらの工程においては10~17とほぼ同程度が認められた。これは本工場は工程別に仕切られておらず、大豆浸漬工程から水晒し、包装工程に至る

第3表 もめん豆腐製造工場の落下菌および空中浮遊菌

dul VI: 107		落下法			ピンス	トールサンプラ	ラー法	
製造工程	好気性細菌	嫌気性細菌	酵母	カビ	好気性細菌	嫌気性細菌	酵母	カビ
大豆浸漬	15	2	1	1	51	5	1	2
絞り工程	30	5	3	2	62	7	7	1
ろ過工程	35	6	5	1	78	10	10	2
冷却工程	31	5	5	2	75	12	12	1
凝固工程	25	6	5	1	68	15	15	2
圧搾工程	41	10	8	1	75	20	20	1
水晒し工程	55	12	10	2	82	18	18	3

落下法:細菌、CFU/シャーレ 5 分間開放、酵母およびカビ、CFU/シャーレ20分間開放 ピンホールサンプラー法:CFU/空気53 l

まですべて同一室内で行われているため大きな差異は 認められなかったと考えられた。しかし落下菌につい て差異が認められたのは、使用する水の量に大きく関 係している。

最近では水晒しは温水で行うホットパック法が採用 されているので、特に空中浮遊菌が多いと考えられ た。

3. 原材料および製造工程中の半製品および製品の 成分の変化

豆腐成分の変化を製品,原材料および製造工程中の 半製品について検討した。正常な豆腐と液化豆腐の一 般成分分析を行った結果を第4表に示した。液化豆腐

第4表 もめん豆腐の一般成分

	正常品	液化品
水分	90.5	95.0
灰分	0.6	0.6
脂質	3.0	1.5
糖質	1.5	0.5
繊維	0	2.4
たんぱく質	4.4	2.4
上単位%		
カルシウム	40	43
リン	65	68
マグネシウム	130	135
人上单位mg%		
рН	6.30	4.30
Brix(%)	60	22

は正常な豆腐に比較して脂質、糖質が減少しているこ とが認められ,無機塩類は正常な豆腐とほぼ同じで あった。しかし液化豆腐はpHが4.30と著しく低下し、 ブリックスも22%と著しく低下したところから微生物 の増殖があったものと考えられる。液化豆腐は凝固剤 として塩化マグネシウムを用いた場合のみ生成してい るところから凝固剤の無機塩類が微生物の増殖に関係 していると考えられる。豆腐製造工程中の成分の変化 を第5表に示した。カルシウム、リン、マグネシウム 等の無機塩類は原料大豆ではそれぞれ25, 6.2, 250mg /100gであったが、豆乳でそれぞれ24、46、22mg/1 00gであった。製品の場合, 凝固剤に硫酸カルシウム と塩化マグネシウムの混合物(それぞれ0.15%)を用 いた場合ではカルシウム, リン, マグネシウムがそれ ぞれ134,63,115mg/100gであったが、凝固剤に硫酸 カルシウム (0.3%) を用いた場合はそれぞれ185.5 1. 40mg/100gであり、凝固剤に塩化マグネシウム (0.3%) を用いた場合はそれぞれ89,50,197mg/ 100gであった。

硫酸カルシウムを凝固剤に用いた場合は、豆乳中のカルシウム量の8~9倍のカルシウムが、塩化マグネシウムを凝固剤として用いた場合は、豆乳中のマグネシウム量の9~10倍のマグネシウムが豆腐の中に含まれることになる。

第5表 もめん豆腐製造工程中の成分の変化

		%				mg9	6
	水分	たんぱく質	脂質	灰分	カルシウム	リン	マグネシウム
大豆 豆汁 豆汁 ラ ラ 製品	12.5 88.1 94.2 76.2	35.5 8.8 4.6 4.2	18.0 6.4 2.3 4.1	5.2 1.5 0.4 1.02	25 111 24 87	6.2 135 46 92	250 67 22 45
塩化マグネシウム	89.2	6.3	3.2	0.55	134	63	115
硫酸カルシウム	90.0	7.1	2.5	0.40	185	51	40
塩化マグネシウム	87.0	9.2	3.3	0.50	89	50	197

硫酸カルシウム+塩化マグネシウム:それぞれ0.15% (全体で0.3%)

硫酸カルシウム:0.3% 塩化マグネシウム:0.3%

4. 豆腐貯蔵中における微生物菌数の変化

凝固剤として用いられている硫酸カルシウムや塩化マグネシウムのカルシウムやマグネシウムが微生物の生育に影響を及ぼしていると考えられたため、凝固剤の差異による保存中における微生物の変化について検討した(第6表)。硫酸カルシウムを凝固剤として用いた場合は、pHは6.5~6.8となる場合が多いが、塩化マグネシウムを凝固剤として用いる場合は、pHは6.8~7.2となり、必然的に細菌も生育し易くなり、各種凝固剤を乾物含量として0.3%添加した材料を用いて、第6表に示すように5℃で保存した結果、凝固剤として塩化マグネシウムを用いた場合は、硫酸カルシウムを用いた場合よりも細菌の生育が早いことが認められた。

また液化豆腐は5~7℃で貯蔵した場合,2~3日 後で集中的に発生する。異臭は全く認められなかった が微生物により液化したことが考えられた。

5. 微生物の分離・同定

液化現象が発生したもめん豆腐より5菌株の好気性 細菌(Na.1~5),1菌株の嫌気性細菌(Na.6),1菌 株の酵母(Na.7)が検出された。また正常品より5菌 株の好気性細菌($Na1\sim5$)が検出された。これらの 液化豆腐および正常豆腐から分離した微生物を第7表 に示した。

液化豆腐および正常豆腐からいずれも 5 菌株の好気 性細菌を分離した。液化豆腐の場合はBacillus 3 菌株 (Na 1 \sim 3), Micrococcus 2 菌株 (Na 4 \sim 5) であった。

嫌気性細菌の形態学的、生理学的性状を調べた結果を第8表に示した。嫌気性細菌は酸を生産することが認められたので純粋分離はGYP白亜寒天培地で発生したコロニーを釣菌する操作を繰り返すことによって行った。このようにして得た純粋分離菌について、Bergey's Manualに従って所定の試験を行い、グラム陽性の通性嫌気性細菌(主に二連球菌でサイズは $0.7\sim0.9\mu$ m程度)、運動性なし、内生胞子なし、カタラーゼ陰性を確認した。さらにグルコースから多量のD一乳酸およびエタノールを生産し、シュクロースからデキストランの生成が認められ、アラビノースを発酵することなどからLeuconostoc mesenteroidesと同定した(以下Leu. mesenteriodesと略す)。細胞の形態の顕微鏡写真を写真1に示した。

第6表 凝固剤の差異によるもめん豆腐保存中における細菌の変化

保存日数 (日)	塩化マグネシウム	硫酸カルシウム	塩化マグネシウム 硫酸カルシウム
初発	2.7×10 ³	1.5×10 ³	3.1×10 ³
1	5.1×10^{3}	2.0×10^{3}	5.0×10^{3}
2	1.2×104	8.1×10^{3}	1.0×10 ⁴
3	3.8×104	1.2×104	2.7×104
4	7.1×104	2.1×104	5.0×104
5	1.0×10 ⁵	5.1×104	8.0×10 ⁴
2 3 4 5 6	1.2×10 ⁵	6.2×104	1.2×10 ⁵
7	5.1×10 ⁵	7.1×104	2.1×10 ⁵

5 °C, 保存, 菌数:/g, 凝固剤の量は第5表と同じ

第7表 液化豆腐および正常豆腐から微生物の分離

		菌数	(CFU/g)
分離菌No. 1 2 3 4 5 6	菌種	液化豆腐	正常豆腐
1	Bacillus	1.2×10 ⁴	1.0×10 ⁴
2	Bacillus	2.1×104	1.5×104
3	Bacillus	2.0×10^{3}	2.2×103
4	Micrococcus	9.5×10^{3}	5.7×10^{3}
5	Micrococcus	1.5×10^{3}	2.7×10^{3}
6	嫌気性細菌	2.4×10°	3.1×10^{2}
7	酵母	8.2×10 ⁸	5.1×10 ²

第8表 液化豆腐より分離した嫌気性細菌の形態学的および生理学的性質

	No. 6
細胞	
形状	球状,主として二連球菌
大きさ	0.7~0.9 ミクロン
グラム染色	0.7 0.0
カタラーゼ反応	<u>'</u>
運動性	_
内生胞子	_
ゼラチン液化性	_
デキストラン産生	+
硫化水素産性	<u> </u>
ffに の 条座 任 インドール 産生	T
フトール単生 DK系統に数しぬ。	_
硝酸塩資化性	_
たんぱく質分解性	_
脂質分解性 酸産生	
酸産生	+
糖の資化性	
シュクロース	+
グルコース	+ + + + + + + +
マルトース	+
ラクトース	+
ガラクトース	+
フラクトース	+
アラビノース	+
キシロース	+
マンニトール	+
生育温度 (℃)	
5	+
5 7	+
10	+
15	÷
20	+ + + + +
25	+
30	+
37	_

+:陽性, -:陰性

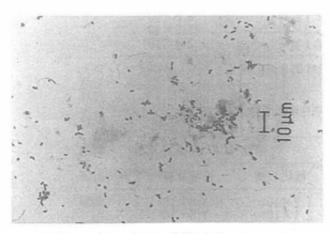


写真 1 液化豆腐より分離したLeuconostoc mesenteroides

酵母の形態学的,生理学的性状を調べた結果を第9表に示した。本酵母は低温(5~10℃)で良好に増殖し、また低pH(3.5~5.0)でも増殖することが認められた。また脂質の分解力(もめん豆腐の脂質は約5.0%)およびたんぱく質の分解力(もめん豆腐のたんぱく質は約7.0%)が認められた。形態は大型の長円形の細胞であり、偽菌糸を良好に形成した。アルブチンを分解し、硝酸塩を資化し、でんぷんを分解し、糖の発酵性は全く認められず、多くの糖を資化するところからTrichosporon pullulans (以下Tr. pullulansと略す)と同定した。細胞の形態の顕微鏡写真を写真2に示した。

第9表 液化豆腐より分離した酵母の形	(能学的および生理学的性質
--------------------	---------------

	No. 7	
細胞		
形状	長円形	
大きさ	4~7×10~20ミクロン	
偽菌糸形成		
アルブチン分解	+	
硝酸塩資化性	+ + + + + + +	
でんぷん資化性	+	
たんぱく質分解性	<u></u>	
油脂の分解性	+	
ウレアーゼ活性	1	
糖の発酵性	,	
グルコース	_	
ガラクトース	_	
シュクロース	_	
マルトース	_	
ラクトース	_	
ラフイノース	_	
糖の資化性		
グルコース	+	
マルトース	+	
ラクトース	<u>-</u>	
ガラクトース	+	
フラクトース	+	
アラビノース	_	
キシロース	_	
マンニトール	_	

+:陽性, -:陰性

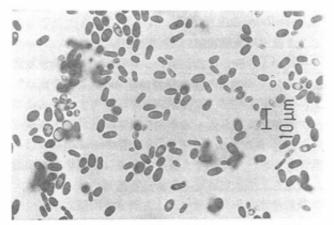


写真 2 液化豆腐より分離したTrichosporon pullulans

6. Leu. mesenteroidesおよびTr. pullulansの増殖に及ぼす凝固剤の影響

微生物の生育は塩類によって著しく影響を受ける。 今回の液化豆腐には塩化マグネシウムが凝固剤として 用いられており、Leu. mesenteroidesが $2.4 \times 10^{\circ}/g$ 、 Tr. pullulansが $8.2 \times 10^{\circ}/g$ が検出されたところか ら、これらの微生物が塩化マグネシウムの影響により 著しく増殖したものと考えられる。塩化マグネシウム が微生物の生育および著しい影響を与えることが知られている^{フラーシ}。

塩化マグネシウム又は硫酸カルシウムを凝固剤として用いて製造した豆腐に液化豆腐より分離したLeu. mesenteroidesおよびTr. pullulansを添加して豆腐の液化現象の発生について検討を行った結果を第10表に示した。

凝固剤として塩化マグネシウムを使用した場合, Leu. mesenteroidesおよびTr. pullulansを同時に添加 したものは貯蔵2日後, Tr. pullulansのみ添加したも のは貯蔵4日後で一部液化が生じ, Leu. mesenteroidesのみ添加したものは液化現象は生じなかった。

また凝固剤として硫酸カルシウムを使用した場合, Leu. mesenteroidesおよびTr. pullulansを同時に添加 したものは貯蔵6日後, Tr. pullulansのみ添加したも のは貯蔵7日後で一部液化が生じ, Leu. mesenteroidesのみ添加したものは液化現象は生じなかった。

以上のことよりもめん豆腐の液化現象はTr. pullulansが主原因菌であり、Leu. mesenteroides,塩 化マグネシウム、硫酸カルシウムがTr. pullulansの生 育やプロテアーゼ等の酵素の生産に影響を与えている ものと考えられた。

7. 液化原因菌 (Tr. pullulans) の性質

7. 1 生育温度

液化豆腐より分離したTr. pullulansの生育温度につ いて検討した結果を第11表に示した。

2~4日間の培養では5~20℃まで生育し、培養 7~30日間では5~25℃まで生育が可能であった。し かしいずれの培養期間においても30℃以上では全く生 育しなかった。また7~10℃で最も生育が良好であっ た。このことより低温性の酵母であると考えられる。

7. 2 生育およびプロテアーゼ生産に及ぼす塩類 の影響

PDA培地に塩化マグネシウム, 硫酸カルシウム, 塩 化カルシウムをそれぞれ0.3%添加して生育およびプ ロテアーゼ生産に及ぼす影響を検討した。その結果を 第12表に示した。

第10表 液化豆腐より分離したTr. pullulansおよびLeu. mesenteroides添加によるもめん豆腐保存中にお ける液化現象の生成

** **		塩化マグネシウム		硫酸カルシウム				
保存 期間 (日)	Leu.mesen.	Tr.pullulans	Leu.mesen. Tr.pullulans	Leu.mesen.	Tr.pullulans	Leu.mesen. Tr.pullulans		
切発	_	_	_	_	_	_		
1	_	-	-	_	_	-		
2	_	_	+	-	_	-		
3		_	+	_	_	_		
4	_	+	+	_	_	_		
5	_	+	+	_	_	-		
6	_	+	+	_	_	+		
7	-	+	+	_	+	+		

+:一部液化, -:変化なし 接種菌数; Tr. pullulans: 1.5×10^e/豆腐1個 Leu. mesenteroides: 2.8×10^e/豆腐1個 塩化マグネシウム: 0.3% 硫酸カルシウム: 0.3%

第11表 液化豆腐より分離したTr.pullulnsの生育温度

保存期間(日)	設定温度(℃)							
	5	7	10	15	20	25	30	37
2	+	++	++	+	+	_	_	_
4	+	++	++	+	+		_	-
7	+	++	++	+	+	+	-	_
10	+	++	++	+	+	+	_	_
14	+	++	++	+	+	+	_	_
30	+	++	++	+	+	+	_	_

ポテトデキストロース培地使用, +:生育, ++:生育良好

第12表 液化豆腐より分離したTr.pullulnsの生育およびプロテアーゼ 生産に及ぼす塩類の影響

塩類	プロテアーゼ活性 (単位/ml)	生育 (O. D. 600nm)
対照	20	0.300
塩化マグネシウム	250	2.150
塩化カルシウム	80 65	0.750
硫酸カルシウム	65	0.812

塩類はポテトデストロース培地に0.3%添加 10℃で48時間培養

塩化マグネシウムの添加によりTr. pullulansの生育 およびプロテアーゼ生産に著しい影響を与えることが 認められた。

8. 液化原因菌 (Tr. pullulans) のオゾン殺菌

Tr. pullulansは工場のすべての落下菌および空中浮遊菌より検出された。このため工場全体を殺菌するため工場の天井にオゾン発生装置を取り付け,夜間のみ5~8時間,オゾン濃度約0.5~3 ppmで約6ヵ月作動させた。その結果,落下菌および空中浮遊菌より検出されたTr. pullulansは約1/10に減少した。

考 察

豆腐の液化現象が生じたのはまず最初にLeu. mesenteroidesが増殖してpHが4.3まで低下した。その結果,豆腐の一般的な腐敗菌であるBacillusやMicrococccusの増殖が抑制され,その代わりにpH4.3でも増殖可能なTr. pullulansが生育し,豆腐の脂質およびたんぱく質を分解して,液化現象が生じたものと考えられる。Tr. pullulansは低温で増殖可能であり,脂質およびたんぱく質分解力を有する微生物であり,豆腐には極めて増殖し易い微生物である。

微生物のプロテアーゼ等細胞外酵素の生産には塩類 の影響が大きいと言われており、Katoら"はPseudomonasのプロテアーゼ生産は100%海水が一番よく, 海水を薄めていくに従って悪くなると報告しており、 また東条ら®はBacillusの場合、マグネシウムが生育 にも, プロテアーゼ生産にも著しい促進効果を持って いることを報告している。今回, 液化豆腐原因菌であ るTr. pullulansの場合も0.3%の塩化マグネシウムの 添加により著しい生育の促進とプロテアーゼ生産の増 大が認められた。通常, もめん豆腐は水晒し工程によ り,過剰な凝固剤を除去しているが,その除去効率が 悪い場合はTr. pullulansの増殖が促進される可能性が ある。この原因として大量生産に伴う水晒し工程の短 ・ 縮化あるいは省略が挙げられる。実際には前にも述べ たが60℃の温水で5分間程度の処理を行うホットバッ クが普及しているので凝固剤の除去効率は極めて悪い と考えられる。

要 約

1) 包装もめん豆腐に発生した液化原因微生物を調べ るため、原材料および製造工程中の半製品、製品の 微生物を測定した結果,浸漬大豆に $7.5\times10^4/g$, 呉汁に $2.4\times10^4/g$,水晒し後の豆腐に $3.2\times10^4/g$,出荷時に $5.2\times10^4/g$ の細菌が検出された。また液化豆腐からはLeu. mesenteroidesが $2.4\times10^9/g$,Tr. pullulansが $8.2\times10^8/g$ 検出された。

- 製造工程の落下菌および空中浮遊菌よりLeu. mesenteroidesおよびTr. pullulansを検出した。特に ろ過,冷却,圧搾,水晒し工程において多く検出さ れた。
- 3) 凝固剤を塩化マグネシウム又は硫酸カルシウムを 用いて製造した豆腐の保存性について検討した結果,塩化マグネシウムを使用したものが微生物の生 育が速く、変敗が早いことが認められた。
- 4) 液化豆腐生成原因菌はTr. pullulans (酵母)であり、Leu. mesenteroides (嫌気性細菌)はTr. pullulansの生育を促進する効果を示した。また凝固剤として用いた塩化マグネシウムはTr. pullulansの生育およびプロテアーゼ生産を促進する作用を示した。
- 5) Tr. pullulansおよびLeu. mesenteroidesは製造工場からの二次汚染菌であるため、工場をオゾンで殺菌することによりこれらの微生物の殺菌が可能であった。

京 献

- 1) 小崎道雄:乳酸菌実験マニュアル,朝倉書店(19 92)
- 長谷川武治編著:微生物の分離と同定(上), ㈱学 会出版(1984)
- 飯塚 広・後藤昭二:酵母の分類同定法,東京大 学出版会(1969)
- 4) Hagihara B., Matsubara H., Nakai M. and Okunuki K.: J. Biochem., 45, 185-190 (1958)
- Uehara H. Yaneda Y., Yamane K. and Maruo B.: J. Bacteriol. 119,82-90 (1974)
- 6)京都大学農学部農芸化学教室編:新改版農芸化学 実験書第2巻,産業図書㈱(1967)
- Kato N., Nagasawa Y., Tani Y and ogata K.: Agric. Biol. Chem., 36, 1177-1184 (1972)
- 8) 東条 敬・徳山龍明・丸尾文治:農化,55,105-110 (1981)
- 9) 東条 敬·徳山龍明·丸尾文治:日本大学農猷医 学部学術研究報告,32,153-159(1975)