

食品保存へのオゾンの利用に関する研究 (第34報)

生めんの乳酸菌による膨張とオゾンによる防止に関する研究

内藤茂三

生めんは水分含量が36~38%と比較的高く、保存性も低い食品であり、製造工程、流通過程での適切な処理がなされていないならば変敗しやすい食品である。

めん類の衛生管理の指標として、1991年4月に「生めん類の衛生規範」が示され、また1996年5月の食品衛生法改正で、総合衛生管理製造過程によった製造の承認制度の導入が盛り込まれ、食品製造の衛生管理におけるHACCP方式が厚生省の認知を受け、各分野の食品製造業者も自主導入に努力している。現在、全国に4000~5000社ある生めん類製造業者の経営規模は90%以上が月産で小麦粉百袋未満の中小企業であり、衛生管理が不十分なところが多い。

生めんの衛生規範では大腸菌、黄色ブドウ球菌が陰性、生菌数が $3.0 \times 10^6/g$ 以下である。今回、生めんの包装袋が貯蔵、流通中に膨張し(写真1)、エタノール臭が発生した。その原因を検討すると乳酸菌により上記現象が発成することがわかったので報告する。



写真1 膨張した小袋詰包装生めん

実験方法

1. 供試試料

試料は愛知県下の包装生めん製造業者で製造された半製品、製品(膨張品及び正常品)及び原材料を用いた。原材料はオゾン処理した小麦粉も用いた。包装生めんの

製造方法を図1に示した。



図1 小袋詰生めんの製造工程

2. 包装容器及び包装方法

製品は高密度ポリエチレン $60\mu m$ (以下「HDPE 60」)の小袋(15cm×15cm)に50g入れた。酸素ガス透過度は $1120cc/m^2 \cdot 24hr \cdot atm$ (25°C, Dry), 透湿度は $5g/m^2 \cdot 24hr$ (40°C, 90%RH)であった。

3. 保存試験

包装生めんは、20及び30°Cの恒温器に保存し、以後の試験に供した。

4. pH値の測定

試料のpH値は試料と同量の脱イオン水を加え、ホモジナイズした後、(株)日立堀場製pHメーター(F-7型)を用いて測定した。

5. 変敗菌の分離・同定

5.1 変敗菌の分離

生めんの変敗品から変敗菌の分離は標準寒天培地、BCP加プレートカウント寒天培地、MRS寒天培地等を用いてこれらに生育した微生物を無作為に釣菌し、純粋分離と平板培養を繰り返して、分離菌株を得た。

5. 2 微生物の分離・同定用培地

5. 2. 1 BCP加プレートカウント寒天培地 酵母エキス2.5g, ポリペプトン5g, グルコース1g, ツイーン80 0.1g, L-システイン0.1g, プロムクレゾールパープル (BCP) 0.06g, 寒天15gに蒸留水を加えて1,000mlとしpH7.0に調整した。

5. 2. 2 GYP白亜寒天培地 組成1:グルコース10g, 酵母エキス10g, ポリペプトン5g, 肉エキス2g, 酢酸ナトリウム・3水和物2g, 塩類溶液5ml, ツイーン80溶液10mlに蒸留水を加えて1000mlとしpH6.8に調整。組成2:炭酸カルシウム(180℃で30分間乾熱滅菌)5g, 寒天12g。培地調製法:組成1を初めに調製し, そこへ組成2を加えて121, 15分滅菌する。なお塩類溶液の組成は硫酸第一鉄7水和物0.2g, 食塩0.2g/100gであり, ツイーン80溶液の組成は5g/100ml水溶液である。

5. 2. 3 MRS培地 ポリペプトン10g, 肉エキス10g, 酵母エキス5g, リン酸2カリウム2g, クエン酸2アンモニウム2g, グルコース20g, ツイーン80 1g, 酢酸ナトリウム5g, 硫酸マグネシウム7水和物0.58g, 硫酸マンガン4水和物0.28gに蒸留水を加えて1,000mlとしてpH6.5に調整した。なおこの培地に寒天を1.5%加えたものをMRS寒天培地とした。

5. 2. 4 Briggsのトマトジュース培地 トマトジュース400ml, ポリペプトン15g, グルコース20g, 食塩5g, ツイーン80 1g, 酵母エキス6g, 可溶性でんぷん0.5gに蒸留水を加えて1,000mlとしてpH6.8に調整した。

5. 2. 5 PDA寒天培地 栄研化学(株)の既製品培地にクロラムフェニコール(100mgをエタノール5mlに溶解)を培地1,000ml当たり2.5ml添加

5. 2. 6 標準寒天培地 栄研化学(株)製培地。

5. 2. 7 希釈水 食塩8.5gを蒸留水1,000mlに溶解。

5. 3 微生物菌数の計測及び分離

細菌の計測及び分離には標準寒天培地を用い, 酵母の計測及び分離にはPDA寒天培地を用い, 試料の10倍段階希釈を作成し, 混濁法により30℃, 2日間培養後に出現したコロニーを計数及び分離した。乳酸菌の計数及び分離にはBCP加プレートカウント寒天培地, GYP白亜寒天培地, MRS寒天培地を用い, 同様に試料の10倍段階希釈を作製し, 塗抹法により寒天平板を作製した。培養は, ガスパック嫌気システム(BBL社製)を用い, 30℃, 3日間行い, BCP加プレートカウント寒天培地では黄変したコロニーを計測し, GYP白亜寒天培

地では炭酸カルシウムを溶解したコロニーを計数し, MRS寒天培地では出現したコロニーを計測し, これらのコロニーから釣菌して塗抹法により純化した。

5. 4 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を検討して同定を行った¹⁾。桿菌でカタラーゼ反応陽性で芽胞を形成するグラム陽性菌をBacillusとした。また均一の大きさの形状, 2連状, 4連状又は小房状の球菌でカタラーゼ反応陽性, ブドウ糖を酸化的に分解し, 芽胞を形成しないグラム陽性菌をMicrococcusとした。乳酸菌の同定のための諸性質の検討には, 乳酸菌実験マニュアル²⁾の記載に準じるとともにBergey's Manual of Systematic Bacteriology³⁾の記載の方法に準じ, MRS培地を基本培地として行った。すなわち, ガス生産性, 5℃から45℃における増殖の検討には, 0.05%クロロフェノールレッドを含むMRS培地を用い, 7日間まで培養を行った。糖類の発酵性は, 0.05%クロロフェノールレッドと1%の各種糖濃度を含むグルコースと肉エキスを含まないMRS培地を用い, 30℃, 7日間まで培養を行い, 指示薬の変色を観察した。乳酸, アルコールの生産性の検討にはグルコース, 肉エキスを含むMRS培地, 乳酸の光学異性体の検討には, 酢酸を含まないGYP培地を用い, 30℃で3日間の培養後の培養液を用いた。細胞壁のペプチドグリカン含量の測定にはトマトジュース培地で30℃, 7日間静置培養して得た菌体を用いた。得られた結果を, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology³⁾の記載の方法に準じて菌名を同定した。

6. 炭酸ガス濃度の測定

包装袋内の炭酸ガス濃度は, 袋にゴム板を張りガスサンプル用シリンジを用い, 試料ガス1ml採取し, ガスクロマトグラフ(柳本製, G-80TFP型)により測定した。測定条件は検出器:TCD, 検出器温度:90℃。カラム:φ3mm×2.25mステンレスカラム, 充填剤:アクチブカーボン, カラム温度:70℃, キャリヤガス:He(50ml/分)。

7. 酸素ガス量の測定

フィルム袋内の酸素ガス量の測定は, 袋にゴム板を張りマイクロシリンジで10~15mlの気体を採取し, 酸素分析計(東レ(株)製, LC-700F型)により測定した。

8. エチルアルコールの測定

フィルム袋内のエチルアルコール量の測定は, 袋にゴム板を張りマイクロシリンジで1mlの気体を採取し, ガスクロマトグラフ((株)日立製作所製, 163型)によ

り測定した。測定条件は検出器：FID，カラム温度：70℃，注入口温度：150℃，カラム：φ 3 mm × 2.25m ステンレスカラム，充填剤：PEG20M20%クロモソルブ W60/80メッシュ，キャリアーガス：N₂ (50ml/分)。

9. 落下菌及び空中浮遊菌の測定と付着菌の測定

製造工場に設定した各工程において落下菌及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，酵母及びカビの測定用には PDA 寒天培地，乳酸菌の測定用には MRS 寒天培地を用いた。落下菌は細菌では5分間，真菌では20分間シャーレ (直径9 cm) を解放して試験を行った。空中浮遊菌の捕集にはピンホールサンプラー (三基科学工業(株)製) により，毎分 26.5 ℓ 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 寒天培地及び MRS 寒天培地を置き，この平板に出現したコロニー数を空気53 ℓ 当たりの菌数として示した。なお工程の付着菌は，各工程の使用機械の一定面積 (100cm²) を滅菌生理食塩水に湿らせた滅菌ガーゼを用いてふき取り菌数を測定した。

10. 包装生めんの膨張の再現試験

供試菌として，変敗品及び正常品より分離した微生物を使用し，培養したこの菌を生めんの練り水を用いて 2.5×10⁵/g の菌数に調整し接種し，生めんを製造した。これを包装後，30℃ で7日間保存し，袋の膨張の有無について観察した。

11. 乳酸旋光性試験

30℃，8日間培養して，培養液を3,000rpm，10分間遠心分離し，上澄液のみを75℃，15分間加熱して酵素を失活させた。この上澄液について市販キット：F キット / D 乳酸 L 乳酸 (ペーリンガーマンハイム山之内(株)製) で測定した。

12. ペプチドグリカンタイプの測定試験

30℃，7日間培養して，培養液を10,000rpm，10分間遠心分離により集菌し，さらに菌体を蒸留水で2回洗浄した。ペプチドグリカンは乳酸菌実験マニュアル²⁾ により調製し，凍結乾燥した。これを4N塩酸中100℃，20時間加水分解し，薄層クロマトグラフィー及びアミノ酸分析計 ((株)日立製作所製 L-8500) でアミノ酸を分析した。

13. 小麦粉のオゾン処理

オゾン濃度自動調節機 (冷凍機付，(株)スガ試験機製，OMS-2AC) を用い，オゾンガスの濃度を5.0ppm に調整し，この調整空気を，流量100 ℓ / 分を小麦粉に温度10℃ で1時間処理した。

14. 工場のオゾン殺菌

無声放電式オゾン発生装置 (A社製) を用いて，天井に設置したパイプにオゾンガスを通気しパイプに開けた小孔よりオゾンガスを放出させた。作業時間を除き夜間のみ約5～6時間 / 1日 で約1年間オゾン処理を行った。

15. オゾン濃度の測定

紫外線オゾンモニター (荏原実業(株)製，EG-2001F) により測定した。

実験結果

1. 原材料及び製造工程中の微生物の変化

原材料及び製造工程中の微生物の消長を表1に示した。小麦粉に3.2×10²/g，食塩水に30以下/gの細菌が検出された。小麦粉に食塩水を添加後の細菌数は，混合して1.2×10³/g，複合後に5.1×10³/g，圧延後に7.2×10³/g，細断後に1.5×10⁴/g，包装後に3.2×10⁴/g となった。そこでこれらの各工程の乳酸菌の分布状況を検討した結果を表2に示した。乳酸菌は複合工程以降の工程で検出され，圧延，細断，包装工程で増殖したものと考えられる。製品の汚染の原因は上記工程からの二次汚染であると考えられたため，製造工程別に落下菌及び工程からの付着菌を測定した結果を表3に示した。工場全

表1 小袋詰包装生めんの製造工程中における微生物の消長

製造工程及び試料	菌数 (/g)		
	細菌	酵母	カビ
小麦粉	3.2×10 ²	300以下	300以下
食塩水	30以下	300以下	300以下
混合、攪拌 (60rpm, 20分)	1.2×10 ³	30以下	30以下
複合	5.1×10 ³	300以下	300以下
圧延	7.2×10 ³	300以下	300以下
細断	1.5×10 ⁴	300以下	300以下
包装	3.2×10 ⁴	300以下	300以下
製品	3.5×10 ⁴	300以下	300以下

表2 小袋詰包装生めんの製造工程中における乳酸菌の消長

製造工程及び試料	菌数 (/g)
小麦粉	300以下
食塩水	300以下
混合、攪拌 (60rpm, 20分)	300以下
複合	3.2×10 ²
圧延	1.2×10 ³
細断	3.5×10 ³
包装	5.8×10 ³
製品	6.2×10 ³

表3 小袋詰包装生めんの製造工程中における落下菌及び付着菌の消長

製造工程	落下菌数(浮遊菌数)				付着菌数			
	細菌	乳酸菌	酵母	カビ	細菌	乳酸菌	酵母	カビ
混合、攪拌機	15(12)	2(3)	1(2)	2(3)	1.2×10 ³	2.5×10 ²	30以下	30以下
複合機	20(23)	3(5)	1(1)	1(5)	3.2×10 ³	6.1×10 ²	30以下	30以下
圧延機	12(12)	1(2)	0(3)	2(2)	8.3×10 ³	8.7×10 ²	30以下	30以下
細断機	15(22)	1(5)	0(1)	2(5)	5.3×10 ⁴	3.1×10 ³	30以下	30以下
包装機	10(17)	1(3)	0(2)	1(3)	6.1×10 ⁴	4.6×10 ³	30以下	30以下

落下菌数：細菌 乳酸菌：5分間シャーレ開放 酵母、カビ：20分間シャーレ開放 シャーレ径：9cm
 浮遊菌：空気53ℓ当たりの菌数
 付着菌数：/100cm²
 細菌：乳酸菌を除いた細菌

表4 膨張小袋詰包装生めんの微生物菌数及び菌叢

菌株No.	菌種	菌数(/g)	分離源
1	<i>Lactobacillus</i>	3.2×10 ⁷	膨張品
2	<i>Lactobacillus</i>	2.5×10 ⁷	膨張品
3	<i>Bacillus</i>	3.1×10 ²	膨張品
4	<i>Bacillus</i>	1.0×10 ³	膨張品
5	<i>Bacillus</i>	1.0×10 ³	膨張品
6	<i>Bacillus</i>	1.1×10 ³	膨張品
7	<i>Micrococcus</i>	3.2×10 ⁴	膨張品
8	<i>Micrococcus</i>	1.9×10 ⁴	膨張品
9	<i>Lactobacillus</i>	6.3×10 ³	正常品
10	<i>Bacillus</i>	3.0×10 ²	正常品
11	<i>Bacillus</i>	2.5×10 ³	正常品
12	<i>Bacillus</i>	300以下	正常品
13	<i>Micrococcus</i>	5.2×10 ²	正常品
14	<i>Micrococcus</i>	300以下	正常品

体で細菌の落下菌が10~20CFU (Colony Forming Unit) /シャーレ5分間開放と比較的多く、特に混合、複合工程に多く認められ、それらのうち約15%が乳酸菌であった。またピンホールサンプラーで測定した浮遊菌も平均して20~40/53ℓ空気であった。

さらに付着菌は製造工程が進むにつれて増加し、特に細断工程で著しく増加した。表4に生めんの変敗品(膨張品)と正常品の微生物菌数及び菌叢を測定した結果を示した。変敗品より5.7×10⁷/g、正常品より6.3×10³/gの*Lactobacillus*を検出した。その他の微生物では*Bacillus*と*Micrococcus*をそれぞれ変敗品より3.4×10³/g、5.1×10⁴/g、正常品より2.8×10³/g、5.2×10²/g検出した。なお正常な生めんのpHは5.86、膨張した生めんのpHは5.21であり、水分はいずれも37~38%であった。

2. 分離微生物による生めんの膨張現象

膨張した生めんより*Lactobacillus* 2菌株(No. 1, 2), *Bacillus* 4菌株(No. 3, 4, 5, 6), *Micrococcus* 2菌株(No. 7, 8)が検出された。正常生めんより*Lactobacillus* 1菌株(No. 9), *Bacillus* 3菌株(No. 10, 11, 12), *Micrococcus* 2菌株(No. 13, 14)が検出された。ま

た、表5に示したように工場の落下菌より*Lactobacillus* (No. 15), *Bacillus* 2菌株(No. 16, 17), *Micrococcus* 2菌株(No. 18, 19)が検出され、製造工程の付着菌として*Lactobacillus* 2菌株(No. 20, 21), *Bacillus* 2菌株(No. 22, 23), *Micrococcus* 2菌株(No. 24, 25)が検出された。これらの分離した微生物を生めんの練水に2.5×10⁵/gになるように添加して生めんを製造して、30℃で7日間保存して膨張経過を検討した結果を表5に示した。膨張現象を示したのは乳酸菌(No. 1, 2, 9, 15, 20, 21)を添加した製品のみであった。同時に包装内のヘッドスペースガスからエタノール、

表5 生めんの膨張に関する微生物

菌株No.	菌種	膨張	エチルアルコール	炭酸ガス	分離源
1	<i>Lactobacillus</i>	+	+	+	膨張品
2	<i>Lactobacillus</i>	+	+	+	膨張品
3	<i>Bacillus</i>	-	-	-	膨張品
4	<i>Bacillus</i>	-	-	-	膨張品
5	<i>Bacillus</i>	-	-	-	膨張品
6	<i>Bacillus</i>	-	-	-	膨張品
7	<i>Micrococcus</i>	-	-	-	膨張品
8	<i>Micrococcus</i>	-	-	-	膨張品
9	<i>Lactobacillus</i>	+	+	+	正常品
10	<i>Bacillus</i>	-	-	-	正常品
11	<i>Bacillus</i>	-	-	-	正常品
12	<i>Bacillus</i>	-	-	-	正常品
13	<i>Micrococcus</i>	-	-	-	正常品
14	<i>Micrococcus</i>	-	-	-	正常品
15	<i>Lactobacillus</i>	+	+	+	落下菌
16	<i>Bacillus</i>	-	-	-	落下菌
17	<i>Bacillus</i>	-	-	-	落下菌
18	<i>Micrococcus</i>	-	-	-	落下菌
19	<i>Micrococcus</i>	-	-	-	落下菌
20	<i>Lactobacillus</i>	+	+	+	工程付着菌
21	<i>Lactobacillus</i>	+	+	+	工程付着菌
22	<i>Bacillus</i>	-	-	-	工程付着菌
23	<i>Bacillus</i>	-	-	-	工程付着菌
24	<i>Micrococcus</i>	-	-	-	工程付着菌
25	<i>Micrococcus</i>	-	-	-	工程付着菌

膨張：+、膨張せず：-、
 エチルアルコール生成：+、エチルアルコール生成せず：-、
 炭酸ガス生成：+、炭酸ガス生成せず：-

炭酸ガスが検出された。

3. 分離した乳酸菌の同定

膨張した生めん等より分離した乳酸菌の形態的、生理学的性状を検討した結果を表6に示した。No. 1, 2, 9, 15, 20, 21ともグラム陽性の桿菌であり、MRS寒天培地上では芽胞の形成は認められず、カタラーゼは陰性であり、グルコースを炭素源としたMRS培地でガスの発生が認められた。また、6菌株とも5℃では増殖が認められたが、45℃では増殖が認められなかった。6菌株とも、グルコース、フルクトースに発酵が認められ、リボースについては微弱ながら発酵性が認められた。マンノースについては発酵性は認められず、グルコン酸に発酵性が認められた。これらの菌株は全て乳酸以外に酢酸を生産

したところからヘテロ型であった。以上より6菌株は同じ種と推定されたので、以下からはNo. 1について同定を行った。これら6菌株の形態を写真2~7に示した。ガス発生が認められたグルコースを炭素源としたMRS培地の培養液上清中には0.82%の乳酸と0.32%のエチルアルコールが検出された。精製後の乳酸溶液のD乳酸は0.32g/ℓ L乳酸は0.43g/ℓあったので、生成乳酸はDL型と判定した。ペプチドグリカンタイプ(DAP/非DAP)の判定を行ったところRf値が0.38であること、発色が紫であることから細胞壁は非DAP型であった。加水分解後のペプチドグリカンのアミノ酸組成Lys:Glu:Ala:Aspは0.92:1:1.8:0.55であったので、ペプチドグリカンのタイプはLys:DAsp型と判定した²⁾。

表6 膨張小袋詰包装生めんより分離した乳酸菌の形態的及び生理的性質

	分離菌株 No.						<i>Lactobacillus fructivorans</i> IFO 13118
	1	2	9	15	20	21	
形態	桿状	桿状	桿状	桿状	桿状	桿状	桿状
大きさ(μm)	0.6×1.5	0.6×1.5	0.6×1.5	0.6×1.8	0.6×1.5	0.6×1.5	0.6×1.8
グラム染色	+	+	+	+	+	+	+
カタラーゼ反応	-	-	-	-	-	-	-
胞子形成	-	-	-	-	-	-	-
生育温度(℃)							
5	+	+	+	+	+	+	+
10	+	+	+	+	+	+	+
15	+	+	+	+	+	+	+
20	+	+	+	+	+	+	+
25	+	+	+	+	+	+	+
30	+	+	+	+	+	+	+
35	+	+	+	+	+	+	+
40	+	+	+	+	+	+	+
45	-	-	-	-	-	-	-
食塩5%下生育	+	+	+	+	+	+	+
エタノール5%下生育	+	+	+	+	+	+	+
発酵のタイプ	ヘテロ	ヘテロ	ヘテロ	ヘテロ	ヘテロ	ヘテロ	ヘテロ
発酵性							
アラビノース	-	-	-	-	-	-	-
リボース	+	+	+	+	+	+	+
ラムノース	-	-	-	-	-	-	-
キシロース	-	-	-	-	-	-	-
グルコース	+	+	+	+	+	+	+
フルクトース	+	+	+	+	+	+	+
ガラクトース	-	-	-	-	-	-	-
マンノース	-	-	-	-	-	-	-
マンニトール	-	-	-	-	-	-	-
ラクトース	-	-	-	-	-	-	-
セロビオース	-	-	-	-	-	-	-
マルトース	-	-	-	-	-	-	-
シュクロース	+	+	+	+	+	+	+
ソルビトール	+	+	+	+	+	+	+
メリビオース	-	-	-	-	-	-	-
ラフィノース	-	-	-	-	-	-	-
トレハロース	-	-	-	-	-	-	-
グルコン酸	+	+	+	+	+	+	+
スターチ	-	-	-	-	-	-	-
糖なし	-	-	-	-	-	-	-

+:陽性, -:陰性
ヘテロ型:乳酸、酢酸、エタノール生成

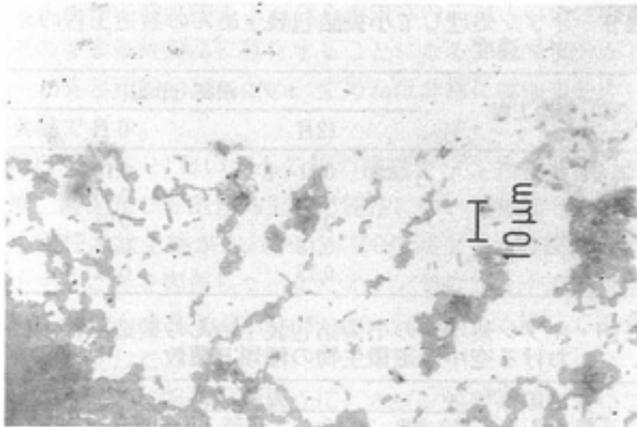


写真2 膨張した小袋詰包装生めんより分離した乳酸菌
(No. 1 : *Lactobacillus fructivorans*)

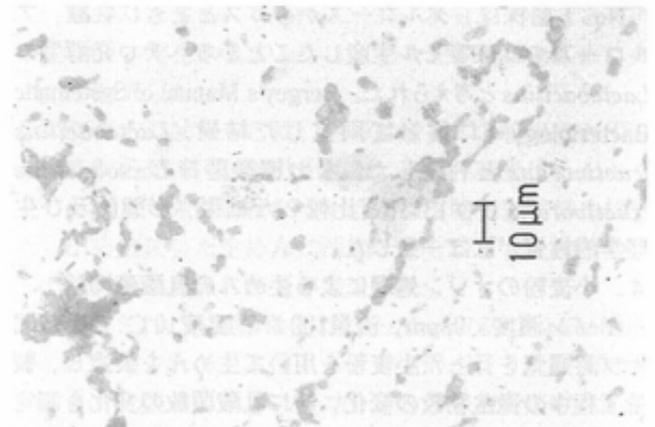


写真5 生めん製造工場の落下菌より分離した乳酸菌
(No. 15 : *Lactobacillus fructivorans*)

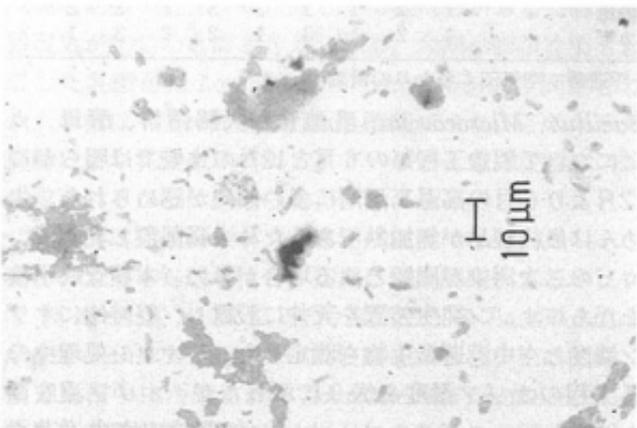


写真3 膨張した小袋詰包装生めんより分離した乳酸菌
(No. 2 : *Lactobacillus fructivorans*)

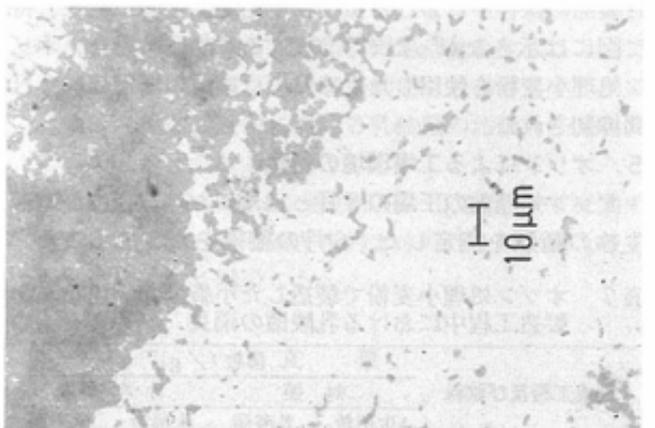


写真6 生めん製造工場の製造装置の付着菌より分離した乳酸菌
(No. 20 : *Lactobacillus fructivorans*)

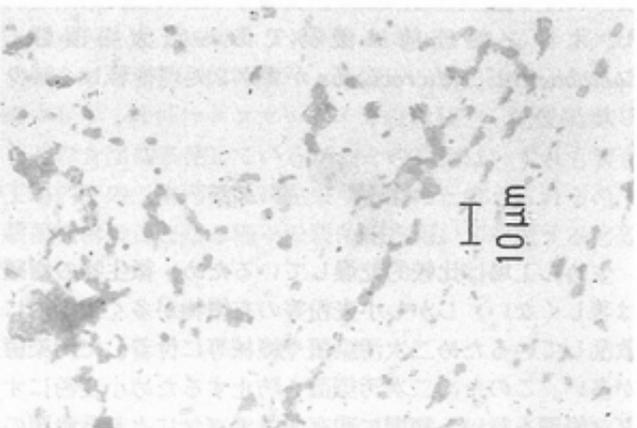


写真4 膨張した小袋詰包装生めんより分離した乳酸菌
(No. 9 : *Lactobacillus fructivorans*)

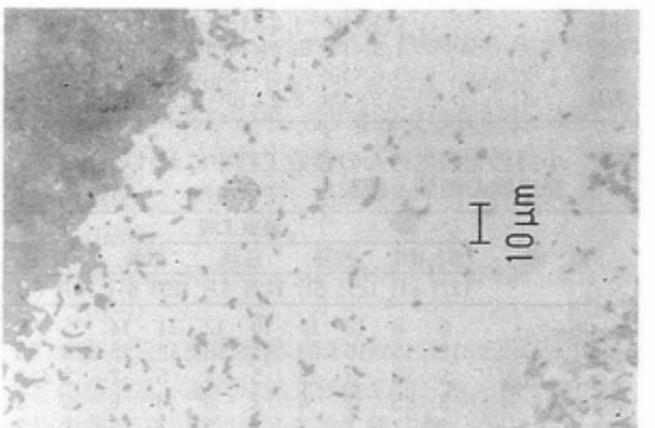


写真7 生めん製造工場の製造装置の付着菌より分離した乳酸菌
(No. 21 : *Lactobacillus fructivorans*)

No. 1 菌株は、グルコースからガスとともに乳酸、アルコールをほぼ等モル生産したことからヘテロ発酵型の *Lactobacillus* と考えられた。Bergey's Manual of Systematic Bacteriology³⁾ に従って同定した結果、*Lactobacillus fructivorans* と判定した。なお標準菌株 *Lactobacillus fructivorans* IFO 13118 と比較した結果、形態的及び生理学的性質がほぼ一致した。

4. 小麦粉のオゾン処理による生めんの乳酸菌抑制

オゾン濃度5.0ppm、流量100ℓ、温度10℃で1時間オゾン通気を行った小麦粉を用いて生めんを製造し、製造工程中の微生物数の変化、特に乳酸菌数の変化を測定した結果を表7に示した。無処理小麦粉で製造した場合、工程が進むにつれて菌が増加したが、オゾン処理した小麦粉を用いた場合は製造工程中の菌は若干増加するものの乳酸菌の増加は少なかった。無処理及びオゾン処理した製品の保存中における微生物変化を測定した結果、特に図には示さなかったが、20℃で保存した場合、オゾン処理小麦粉を使用した生めんでは細菌の増殖は約7日間抑制された。

5. オゾンによる工場環境の殺菌

オゾン処理前の工場の6月と12月における空中浮遊微生物の種類を測定した。6月の結果を表8に示した。

表7 オゾン処理小麦粉で製造した小袋詰包装生めんの製造工程中における乳酸菌の消長

製造工程及び試料	菌数 (/g)			
	対 照		オゾン処理	
	生菌数	乳酸菌	生菌数	乳酸菌
小麦粉	300以下	300以下	300以下	300以下
食塩	300以下	300以下	300以下	300以下
水	300以下	300以下	300以下	300以下
攪拌、混合 (60rpm、20分)	1.2×10 ³	300以下	1.0×10 ³	300以下
混合	5.1×10 ³	3.2×10 ²	2.2×10 ³	300以下
圧延	7.2×10 ³	1.2×10 ³	3.2×10 ³	300以下
細断	1.5×10 ⁴	3.5×10 ³	7.8×10 ³	3.7×10 ²
包装	3.2×10 ⁴	5.8×10 ³	8.8×10 ³	4.6×10 ²
製品	3.5×10 ⁴	6.2×10 ³	1.2×10 ⁴	5.2×10 ²

表8 小袋詰包装生めんの製造工程中における空中浮遊微生物の種類と菌数

菌 種	製造工程									
	混合・攪拌		複合		圧延		細断		包装	
	12月	6月	12月	6月	12月	6月	12月	6月	12月	6月
<i>Bacillus</i>	6	8	12	15	10	12	11	14	5	8
<i>Micrococcus</i>	12	15	16	20	15	18	12	15	8	10
<i>Lactobacillus</i>	5	8	3	5	5	8	5	7	2	5
大腸菌群	3	5	2	6	2	5	3	6	0	5
酵母	2	3	1	3	2	5	3	5	2	3
カビ	1	2	3	5	2	5	2	5	1	3

浮遊菌：空気53ℓ当たりの菌数

表9 オゾン処理して小袋詰包装生めんの製造工程のオゾン濃度

製造工程	オゾン濃度 (ppm)	
	12月	6月
混合、攪拌	0.11	0.10
複 合	0.15	0.05
圧 延	0.17	0.08
細 断	0.18	0.15
包 装	0.15	0.12

表10 オゾン処理後の小袋詰包装生めんの製造工程中における空中浮遊微生物の種類と菌数

菌 種	製造工程									
	混合・攪拌		複合		圧延		細断		包装	
	12月	6月	12月	6月	12月	6月	12月	6月	12月	6月
<i>Bacillus</i>	5	8	10	12	8	11	10	12	5	8
<i>Micrococcus</i>	8	10	7	12	6	10	7	8	7	9
<i>Lactobacillus</i>	1	2	1	3	0	3	0	0	1	2
大腸菌群	0	2	0	3	1	2	1	2	0	1
酵母	1	2	1	2	2	3	1	3	2	3
カビ	1	2	1	3	1	2	2	3	1	2

浮遊菌：空気53ℓ当たりの菌数

Bacillus, *Micrococcus*, 乳酸菌, 大腸菌群, 酵母, カビについて製造工程毎の6月と12月の比較では明らかに12月より6月の高温高湿期に多い傾向が認められた。生めんは最終製品が無加熱であるため大腸菌群, 乳酸菌, カビの二次汚染が問題となる場合が多い。本検査終了後、ただちにオゾン発生装置を天井に設置し、経時的にオゾン濃度と空中浮遊微生物を測定した。オゾン処理中の各工程のオゾン濃度を表9に示したが、オゾン濃度は0.05~0.18ppmであった。オゾン処理後の空中浮遊微生物を測定した結果、全体的に大腸菌群, *Lactobacillus*, *Micrococcus*, 酵母, カビが減少する傾向が認められた。オゾン処理開始後6月後の6月と12月後の12月の空中浮遊微生物を測定した結果を表10に示した。オゾン処理前は優勢であった大腸菌群, *Lactobacillus*, *Micrococcus* がオゾン処理後著しく減少した。

考 察

生めん工場は比較的乾燥しているため、微生物の増殖は著しくない。しかし小麦粉等の有機物が多く工場内に散乱しているため二次汚染菌や機械等に付着した汚染菌が多い。このため二次汚染菌を防止するため小麦粉にオゾン処理を行い、初期に残存するオゾンにより乳酸菌の増殖を抑制して膨張現象を防止する方法について検討した。生めんは製造工程に殺菌工程がないため、原料であ

る小麦粉の微生物及び製造工程中での二次汚染微生物がそのまま最終製品に移行することになる。また水分が37～40%と比較的高いため、生めんは非常に腐敗しやすい食品である。

既報^{4),5)}において小麦粉の最適オゾン処理濃度、温度、時間及び貯蔵性向上の可能性について検討した結果、小麦粉の微生物が1/10～1/100に減少し、貯蔵性が向上することを報告した。またオゾン処理した小麦粉を用いて製造した生めん⁶⁾、ギョウザの皮⁷⁾は著しく保存性が向上した。

これは既に報告したように、オゾン処理初期において小麦粉に短時間残存するオゾンにより菌数が減少するためである。今回、生めんが工場からの二次汚染乳酸菌により小袋詰生めんが膨張する現象が生じた。当該工場は次亜塩素酸ナトリウムで殺菌を行ってきたが、乳酸菌は次亜塩素酸ナトリウムに対しては抵抗力があるため本膨張現象が生じたものと考えられる。今回の膨張を引き起こした乳酸菌は*Lactobacillus fructivorans*と同定された。本菌はヘテロ発酵を行う乳酸菌であり、このヘテロ発酵により乳酸やエチルアルコールとともに炭酸ガスが生成されることが認められた。

乳酸菌は比較的オゾンで容易に殺菌できるので⁸⁾、小麦粉にオゾン処理を行い、初期に短時間残存するオゾンで製造工程中に二次汚染される*Lactobacillus fructivorans*の防止について検討を行った。その結果、製造工程中に汚染される*Lactobacillus fructivorans*は小麦粉中に微量残存するオゾンによりその増殖は著しく抑制され、生めんの膨張現象はほぼなくなった。また、さらに工場を0.05～0.18ppmのオゾンガスで処理することにより*Lactobacillus fructivorans*は著しく減少した。*Lactobacillus fructivorans*による膨張はストレートつゆ⁹⁾、加工味噌¹⁰⁾、マヨネーズ³⁾、ドレッシング³⁾、たくあん漬¹¹⁾、福神漬¹¹⁾、粕漬¹¹⁾、奈良漬¹¹⁾、焼き肉のタレ¹¹⁾、味付けメンマ¹¹⁾、イカの薫製¹¹⁾、乾燥果実¹¹⁾などの食品に多発しているが、その原因はいずれも製造工場内での二次汚染菌に由来するものと考えられるので殺菌機構のことなる種々の殺菌剤を用いて殺菌する必要がある。

要 約

小袋詰生めんの膨張原因及びその防止対策をオゾンを用いて検討し、以下の結果を得た。

1) 正常な生めんのpHは5.86、水分37.5%であったが

膨張した生めんのpHは5.21、水分37.0%であり、膨張した生めんのpHは正常な生めんのpHよりやや低下した。

- 2) 膨張した試料からは、酵母はほとんど検出されず、乳酸菌が $10^7/g$ 検出された。正常、膨張生めんから分離した微生物及び空中浮遊微生物、付着微生物を小袋包装した生めんに添加したところ、乳酸菌のみ添加した製品に膨張が発生した。
- 3) 分離された乳酸菌は全て*Lactobacillus fructivorans*と同定された。本菌はヘテロ発酵を行う乳酸菌であり、乳酸やエチルアルコールとともに炭酸ガスを生成することが認められ、小袋詰生めんの膨張を引き起こす原因菌であった。
- 4) オゾン処理小麦粉を用いて生めんを製造して、オゾン処理の二次汚染乳酸菌に対する影響を検討した。オゾン処理小麦粉を使用することにより乳酸菌は減少し、小袋詰生めんの膨張現象は防止することができた。これはオゾン処理後初期に残存するオゾンが生めん製造工程における乳酸菌の汚染を防止したのと考えられる。
- 5) 生めん工場をオゾン濃度0.05～0.18ppmで夜間のみ1日5～6時間処理を約1カ月行うことにより乳酸菌は著しく減少した。

文 献

- 1) 長谷川武治編著：微生物の分類と同定（上），（株）学会出版（1984）
- 2) 小崎道雄：乳酸菌実験マニュアル，（株）朝倉書店（1992）
- 3) Kandler, O. and Weiss, N. : Bergy's Manual of Systematic Bacteriology vol 2 (Williams and Wilkins Co., Baltimore, USA), p.1209 (1986)
- 4) 内藤茂三, 岡田安司, 酒井達也：日食工誌, 34, 788 (1987)
- 5) 内藤茂三, 岡田安司, 酒井達也：日食工誌, 35, 69 (1988)
- 6) 内藤茂三, 沢田洋一, 山口直彦：防菌防黴, 17, 517 (1989)
- 7) 内藤茂三：愛知食品工技年報, 32, 123 (1991)
- 8) 内藤茂三, 志賀一三：日食工誌, 29, 1 (1982)
- 9) 内藤茂三：愛知食品工技年報, 37, 39 (1996)
- 10) 新国佐幸, 石山朋治, 鈴木チセ, 鈴木忠直, 小坂直治, 森 勝美：日食工誌, 43, 910 (1996)