

食品保存へのオゾンの利用に関する研究 (第36報) 海苔佃煮の乳酸菌による変敗とオゾンによる防止技術

内藤茂三

佃煮を使用される調味料で区分すると大きく三つに分けられる。一つ目は昆布佃煮、海苔佃煮、貝類佃煮、ハゼ佃煮、フキ佃煮等の醤油、食塩が中心で、甘味料を微量しか使わないもの、二つ目はこうなご佃煮、わかさぎ佃煮、かつおやまぐろ佃煮、はぜやふなの甘露煮類、削節佃煮等の醤油、食塩に砂糖、水飴を併用しているもの、三つ目はスルメ佃煮のように醤油を使用せず砂糖、水飴を主体とし、微量の食塩を加えて調味したものである。

これらの佃煮に共通していることは、水分が少なく、塩分又は糖度がかなり高いことであり、従って保存性に富んでいることである。

しかし、塩分や糖度が高いために特殊な微生物が生育して佃煮が変敗する場合がある。

最近、瓶に詰めた海苔の佃煮に異臭、液化するとともに、味が変化するという現象が多発した。海苔佃煮の品質を左右する最も重要な項目は、味と香りである。この味の変化及び香りの変化が乳酸菌に起因していることが分かったので報告する。

実験方法

1. 供試試料

試料は愛知県下の海苔佃煮製造業者で製造された半製品、製品(異臭品及び正常品)及び原材料を用いた。海苔佃煮の製造工程を図1に示した。

2. 変敗菌の分離・同定

変敗した海苔佃煮から変敗菌の分離は以下のように行った。標準寒天培地、ポテデキストロス(PDA)寒天培地、BCP加プレートカウント寒天培地、MRS寒天培地、GYP白亜寒天培地、Briggsのトマトジュース培地等¹⁾を用いて、平板混釈培養方法により行い、これらの平板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くり返して、分離菌株を得た。

変敗菌の同定手法は前報^{1) 2)}と同様にして行った。つまり、乳酸菌の同定は「乳酸菌実験マニュアル」³⁾の記載に準じて行った。

3. 微生物菌数の計測

細菌の計測は標準寒天培地を用い、酵母の計測にはP

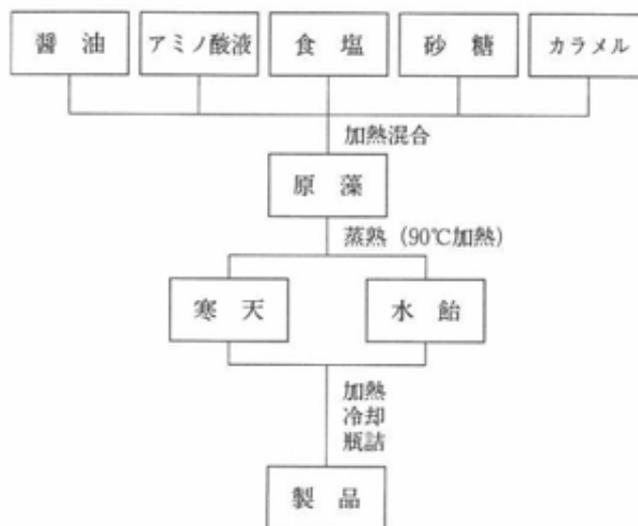


図1 瓶詰海苔佃煮の製造工程

DA寒天培地、乳酸菌の計測にはMRS寒天培地を用いた。試料の10倍段階希釈液を作成し、混釈法により25又は30℃で2～3日間培養後に出現したコロニーを計測した。

なお、乳酸菌は通常の混釈培養法のみならず同時にガスパックシステム(BBL社製)でも培養を行い、多数のコロニーが出現した方を乳酸菌数とした。

4. 香気成分の測定

香気成分は試料10gを20ml容サンプル瓶にとり、50℃、1時間保持した時のヘッドスペースガス1mlをGC(ガスクロマトグラフ)法により測定した。GC((株)日立製作所製、163型)の測定条件は、検出器:FID、カラム温度:70℃、注入口温度:150℃、カラム:φ3mm×2.25mステンレスカラム、充填剤:PEG 20M(60/60メッシュ)20%クロモソルブW、キャリアガス:N₂(50ml/分)である。

5. 有機酸の測定

変敗品及び正常品を硫酸でpH2.0に調製し、ソックスレー液体抽出器で120時間連続抽出を行い、エーテルを完全に除去後、カルボン酸分析計(日本分光(株)製)で分析した。

6. 落下菌数及び空中浮遊菌数並びに付着菌数の測定

製造工場の各工程における落下菌数及び空中浮遊菌数

の測定培地は、細菌では標準寒天培地、真菌ではPDA寒天培地、乳酸菌ではMRS寒天培地を用いた。落下菌は細菌で5分間、真菌で20分間シャーレ(直径9cm)を開放して測定した。空中浮遊菌の捕集にはピンホールサンプラー(三基科学工芸(株)製)により、毎分26.6ℓの速度で2分間空気を吸引して測定した。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平板、PDA寒天培地及びMRS寒天培地平板を置き、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。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。

7. 海苔佃煮の異臭生成の再現試験

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、培養した菌を蒸熟後の冷却時に 2.8×10^7 /gの菌数になるように接種して瓶詰を行った。これを30℃で2週間保存し、異臭の生成について検討した。

8. 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/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。

9. 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」³⁾の記載に準じて調製し、凍結乾燥した。これを4N塩酸中100℃、20時間加水分解し、TLC(薄層クロマトグラフ)及びアミノ酸分析計((株)日立製作所製、L-8500)によりアミノ酸を分析した。なおDAP(Diamino pimeric acid)/非DAPの判定は、培養液5mlから得られる菌体を、そのまま塩酸で加水分解し、加水分解物をTLCで測定した。

10. 工場のオゾンガス処理

無声放電式オゾン発生装置(A社製)を各工程の天井に設置し、約1年間夜間のみ(作業時間を除き、夜間のみ約5~6時間/日)オゾン処理を行った。

11. オゾンガス濃度の測定

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。

12. 工場のオゾン水処理

オゾン水生成装置(無声放電式オゾン発生器を使用したエジェクター式溶解方式、B社製)を用いて工場の床を3回/日の割合で処理を30日間行った。

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。細菌は原藻(アオ板ノリ、バラ干しノリ)に $2.5 \times 10^4 \sim 1.2 \times 10^5$ /g、濃口醤油30以下/g、食塩300以下/g、砂糖300以下/g、カラメル300以下/g、寒天300以下/g、水飴300以下/g、アミノ酸液 1.5×10^3 /gが検出された。

表1 瓶詰海苔佃煮の原料及び製造工程中の微生物の消長

原材料及び製造工程中の試料	菌数(/g)		
	細菌	酵母	カビ
原藻			
アオ板ノリ	2.5×10^4	300以下	300以下
バラ干しノリ	1.2×10^5	300以下	300以下
濃口醤油	30以下	30以下	30以下
食塩	300以下	300以下	300以下
砂糖	300以下	300以下	300以下
カラメル	300以下	300以下	300以下
寒天	300以下	300以下	300以下
水飴	300以下	300以下	300以下
アミノ酸液	1.5×10^3	300以下	300以下
調味液混合加熱後	30以下	30以下	30以下
原藻投入蒸熟後	2.5×10^3	300以下	300以下
水飴、寒天投入蒸熟後	3.2×10^2	300以下	300以下
冷却後	1.2×10^4	300以下	300以下
瓶詰後	2.8×10^4	300以下	300以下

釜に醤油、アミノ酸液、食塩、砂糖、カラメルを入れて加熱した調味後の細菌数は30以下/gであり、洗浄して脱水後の原藻を投入して蒸熟後の細菌数は 2.5×10^3 /gであった。さらに水飴、寒天を投入して30分間煮込んだ後の細菌数は 3.2×10^2 /gであった。煮上がった製品は冷却台に広げて冷却するが、この冷却後の細菌数は 1.2×10^4 /gとなり、瓶詰後の細菌数は 2.8×10^4 /gであった。

これらの原材料及び各工程の乳酸菌の分布状況を検討した結果、乳酸菌は冷却工程の製品から 1.0×10^4 /g、瓶詰製品から 2.5×10^4 /g検出され、冷却工程で汚染され瓶詰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の冷却、瓶詰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数、浮遊菌数及び工程からの付着菌数を5月に測定した結果を表2に示した。工場全体の落下細菌数が15~32CFU(Colony Forming Unit)/シャーレ5分間と比較的多く、特に蒸熟、冷却、瓶詰工程に多く認められ、そのうち約10%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細菌数も15~52/53ℓ空気であった。さらに工場の床の付着細菌数は製造工程が進むにつれて増加し、特に冷却工程で著しく増加した。

表3に海苔佃煮の変敗品(異臭品)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。*Lactobacillus*

表2 瓶詰海苔佃煮の製造工程中における落下菌数、浮遊菌数及び床の付着菌数

製造工程	落下菌数(浮遊菌数)			床の付着菌数		
	細菌	乳酸菌	真菌	細菌	乳酸菌	真菌
原料置場	15(15)	1(2)	2(3)			
調味液混合	18(21)	2(3)	3(5)	1.5×10^3	1.1×10^2	30以下
蒸熟	21(36)	1(4)	3(6)	3.5×10^3	5.1×10^2	30以下
冷却	32(52)	4(6)	3(5)	7.5×10^3	8.5×10^2	30以下
瓶詰	28(38)	3(4)	5(8)	2.7×10^4	3.6×10^3	30以下
				1.8×10^4	2.2×10^2	30以下

落下菌数：細菌、乳酸菌は5分間シャーレ開放、真菌(酵母、カビ)は20分間シャーレ開放、シャーレ径：9cm
 浮遊菌数：空気53と当たりの菌数(ピンホールサンブラー使用)
 床付着菌数：100cm²当たりの菌数
 細菌数：乳酸菌を除いた菌数
 測定時期：5月

表3 海苔佃煮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>	3.1×10^7	変敗品
2	<i>Bacillus</i>	1.1×10^3	変敗品
3	<i>Micrococcus</i>	2.8×10^3	変敗品
4	<i>Micrococcus</i>	4.0×10^2	変敗品
5	酵母	3.0×10^3	変敗品
6	酵母(<i>Rhodotorula</i>)	5.0×10^2	変敗品
7	<i>Lactobacillus</i>	5.1×10^2	正常品
8	<i>Bacillus</i>	1.0×10^3	正常品
9	<i>Micrococcus</i>	2.1×10^3	正常品
10	酵母	3.1×10^2	正常品

は変敗品から 3.1×10^7 /g、正常品より 5.1×10^2 /gの菌を検出し、変敗品は顕著に多かった。その他の微生物では*Bacillus*と*Micrococcus*(変敗品では2種類検出したのでその合計)をそれぞれ変敗品から 1.1×10^3 /g、 3.2×10^3 /g、正常品から 1.0×10^3 /g、 2.1×10^3 /gを検出したが、両品に大差は認められなかった。なお、酵母は変敗品(2種類の合計)及び正常品のそれぞれから 3.5×10^3 /g、 3.1×10^2 /g検出し、変敗品はやや多いことを認めた。

表4に海苔佃煮の変敗品及び正常品の成分分析を行った結果を示した。変敗品及び正常品のpHはそれぞれ3.78と4.62であり、変敗品はややpHが低いことを認めた。また、変敗品は正常品に比較してエチルアルコール、乳酸、酢酸が増加して糖質が減少した。また外観観察によると変敗品は若干液化していた。

正常な海苔佃煮から検出された香気成分は、アセトアルデヒド、酢酸エチル、エチルアルコール、ジメチルサルファイドであったが、異臭の生成した海苔佃煮は上記成分のほか、イソブチルアルデヒド、イソバレルアルデヒド等、その他多数の未同定ピークが検出された。

2. 分離微生物による海苔佃煮の異臭生成及び液化現象

異臭の生成した海苔佃煮から*Lactobacillus* 1菌株(No. 1)、*Bacillus* 1菌株(No. 2)、*Micrococcus* 2菌株(No. 3, 4)、酵母2菌株(No. 5, 6)が検出された。正常海苔佃煮から*Lactobacillus* 1菌株(No. 7)、*Bacillus* 1菌株(No. 8)、*Micrococcus* 1菌株(No. 9)、

表4 変質及び正常海苔佃煮の成分

	変敗品	正常品
pH	3.78	4.62
乳酸菌数(/g)	3.1×10^7	5.1×10^2
細菌数(乳酸菌を除く、/g)	4.3×10^3	3.1×10^3
酵母菌数(/g)	3.5×10^3	3.1×10^2
カビ数(/g)	300以下	300以下
水分(%)	60.3	56.8
水分活性	0.91	0.87
塩分(%)	5.32	5.82
糖質(%)	3.51	4.33
エチルアルコール(%)	0.52	0.06
酸度(mEq)	12.67	9.56
乳酸(%)	0.62	0.32
酢酸(%)	0.25	0.10
クエン酸(%)	0.41	0.39
リンゴ酸(%)	0.58	0.65
コハク酸(%)	0.51	0.53

酸度：10倍希釈液

酵母1菌株(No. 10)が検出された。工場の落下菌から*Lactobacillus* 1菌株(No. 11)、*Bacillus* 3菌株(No. 12, 13, 14)、*Micrococcus* 2菌株(No. 15, 16)が検出され、製造工程の付着菌として*Lactobacillus* 1菌株(No. 17)、*Bacillus* 2菌株(No. 18, 19)、*Micrococcus* 2菌株(No. 20, 21)が検出された。これらの分離した微生物を冷却処理後の海苔佃煮に添加して瓶詰を行い、30℃で2週間保存して異臭の生成及び液化について検討した結果を表5に示した。明らかに異臭発生及び液化したのは乳酸菌(No. 1, 7, 11, 17)を添加した製品のみであり、またエチルアルコール臭を生成したのは乳酸菌(No. 1, 7, 11, 17)及び酵母(No. 5, 10)であった。

3. 分離した乳酸菌の同定

異臭の生成した海苔佃煮、正常な海苔佃煮及び工場から分離した乳酸菌の形態的、生理的性状を検討した結果を表6に示した。No. 1, 7, 11, 17のいずれの菌株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、カタラーゼ活性は陰性であり、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、4菌株とも5℃で増殖が認められたが、45℃では増殖が認められなかった。また4菌株とも、グルコース、フルクトース、マンノースに発酵性が

表5 海苔佃煮の異臭生成に関係する微生物

菌株No.	菌種	異臭	液化	エチルアルコール	分離源
1	<i>Lactobacillus</i>	+	+	+	変敗品
2	<i>Bacillus</i>	-	-	-	変敗品
3	<i>Micrococcus</i>	-	-	-	変敗品
4	<i>Micrococcus</i>	-	-	-	変敗品
5	酵母	-	-	+	変敗品
6	酵母 (<i>Rhodotorula</i>)	-	-	-	変敗品
7	<i>Lactobacillus</i>	+	+	+	正常品
8	<i>Bacillus</i>	-	-	-	正常品
9	<i>Micrococcus</i>	-	-	-	正常品
10	酵母	-	-	+	正常品
11	<i>Lactobacillus</i>	+	+	+	落下菌
12	<i>Bacillus</i>	-	-	-	落下菌
13	<i>Bacillus</i>	-	-	-	落下菌
14	<i>Bacillus</i>	-	-	-	落下菌
15	<i>Micrococcus</i>	-	-	-	落下菌
16	<i>Micrococcus</i>	-	-	-	落下菌
17	<i>Lactobacillus</i>	+	+	+	工程付着菌
18	<i>Bacillus</i>	-	-	-	工程付着菌
19	<i>Bacillus</i>	-	-	-	工程付着菌
20	<i>Micrococcus</i>	-	-	-	工程付着菌
21	<i>Micrococcus</i>	-	-	-	工程付着菌

異臭の有無：+：有り，-：無し
 液化の有無：+：有り，-：無し
 エチルアルコール生成の有無：+：有り，-：無し

認められ、リボースについては発酵性が認められなかった。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4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4菌株の形態を写真1～4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培地の培養液の上澄液中には0.80%の乳酸と0.35%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0.37g/ℓ，L乳酸は0.43g/ℓであったので、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) の判定を行った結果、Rf値は0.41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比はLys:Glu:Alnは1:0.95:2.7であったのでペプチドグリカンのタイプはLys:Aln型と判定した。No. 1菌株は、グルコースから炭酸ガスとともに乳酸、アルコールをほぼ等モル生産したところからヘテロ発酵型の*Lactobacillus*と考えられた。Bergey's Manual of Systematic Bacteriology⁴⁾に従って同定した結果、*Lactobacillus viridescens*であった。しかし現在では本菌は*Weissella*属に移行されて*Weissella viridescens*と名称を変更している。なお標準菌株*Lactobacillus viridescens* IFO 3949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. オゾンガス及びオゾン水による工場環境の殺菌

オゾンガス処理前の工場の5月と11月における空中浮遊微生物の種類を測定した結果を表7に示した。

表6 異臭の生成した海苔佃煮等より分離した乳酸菌の形態的及び生理的性質

形態	分離菌株No.				<i>Lactobacillus (Weissella) viridescens</i> IFO3949
	1	7	11	17	
大きさ (μm)	0.7×2.1	0.7×2.5	0.7×2.0	0.7×2.5	0.7×2.5
グラム染色	+	+	+	+	+
カタラーゼ反応	-	-	-	-	-
胞子形成	-	-	-	-	-
ガス発生 (MRS 培地)	+	+	+	+	+
生育温度 (°C)					
5	+	+	+	+	+
10	+	+	+	+	+
15	+	+	+	+	+
20	+	+	+	+	+
25	+	+	+	+	+
30	+	+	+	+	+
35	+	+	+	+	+
40	+	+	+	+	+
45	-	-	-	-	-
食塩5%下生育	+	+	+	+	+
エチルアルコール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
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

Bacillus, *Micrococcus*, *Weissella viridescens*, 大腸菌群, 酵母, カビについて製造工程毎の5月と11月の比較では明らかに11月より5月の方が多いという傾向がみられ、変敗品の発生する時期とほぼ一致した。変敗の原因菌である*Weissella viridescens*は各工程に検出され、特に調味料混合、蒸熟、冷却工程に多く、本菌による汚染が工場全体にわたっていることが認められた。海苔佃煮は完全に冷却後包装する場合、やや熱いうちに包装する場合があるがいずれの場合においても変敗品が生成しているところから*Weissella viridescens*が二次汚染した可能性が大きい。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8に示したが、オゾン濃度は、0.12～0.26ppmであった。

オゾン処理開始6か月後の5月と12か月後の11月の空中浮遊微生物を測定した結果を表9に示した。オゾン処



写真1 変敗した海苔佃煮より分離した乳酸菌(No. 1)

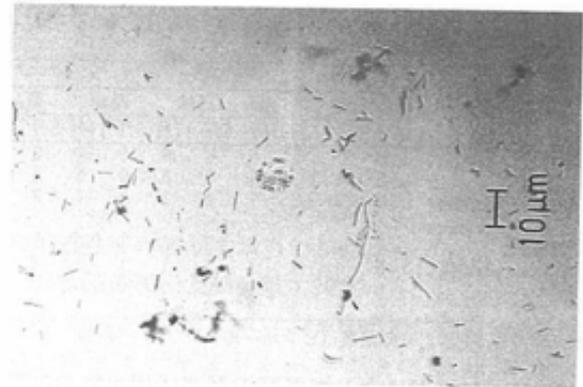


写真3 変敗した海苔佃煮より分離した乳酸菌(No. 11)



写真2 変敗した海苔佃煮より分離した乳酸菌(No. 7)



写真4 変敗した海苔佃煮より分離した乳酸菌(No. 17)

表7 海苔佃煮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									
	原料置場		調味料混合		蒸熟		冷却		瓶詰	
	5月	11月	5月	11月	5月	11月	5月	11月	5月	11月
<i>Bacillus</i>	7	5	5	3	15	12	17	15	13	8
<i>Micrococcus</i>	8	3	13	10	19	14	30	16	24	7
<i>Weissella (Lactobacillus) viridescens</i>	2	0	3	3	4	3	6	4	4	1
<i>Rhodotorula</i>	1	0	0	2	2	0	1	0	2	2
酵母(<i>Rhodotorula</i> を除く)	0	1	2	1	1	1	1	1	3	1
大腸菌群	0	0	3	0	2	1	5	2	1	0
カビ	2	2	3	2	3	2	3	2	3	3

浮遊菌：空気53ℓ当たりの菌数 (ピンホールサンブラー使用)

理前は検出された大腸菌群が全く検出されず、さらに *Weissella viridescens*, *Micrococcus* が減少することを認めた。

また調味料混合、蒸熟、冷却工程を0.8ppmのオゾン水で1日に3回ずつ30日間洗浄して、各工程における床の微生物菌数及び菌叢を測定した。各工程の装置及び床をオゾン水で洗浄した結果、付着微生物は著しく減少し、特に蒸熟、冷却工程に付着した *Weissella viridescens* は全く検出されなくなった(表10)。

表8 オゾンガス処理中の海苔佃煮製造工程のオゾンガス濃度

製造工程	オゾン濃度 (ppm)	
	5月	11月
原料置場	0.15	0.18
調味料混合	0.20	0.24
蒸熟	0.13	0.15
冷却	0.22	0.26
瓶詰	0.12	0.15

考 察

海苔佃煮工場は原藻の洗浄に多くの水を使用するために湿度が高く、さらに原料が多種にわたるため微生物の汚染は著しい。海苔佃煮の原料、特に糖類や調味液を多量に使用するため、また、これらが工場に多く散乱しているため床や機械等に付着した汚染菌が多い。本工場では長年の間、工場の床等の殺菌に300ppmの次亜塩素酸ナトリウム液を散布してきたが、大腸菌群や乳酸菌の増殖が認められた。これは、これらの菌が長年の使用により次亜塩素酸ナトリウムに対して抵抗力を有したことによるものと推定される。このため次亜塩素酸ナトリウムと殺菌機構の全く異なるオゾンを用いて殺菌することは

表9 オゾンガス処理後の海苔佃煮製造工程中における空中浮遊生物の種類と菌数

菌種	製造工程									
	原料置場		調味料混合		蒸熟		冷却		瓶詰	
	5月	11月	5月	11月	5月	11月	5月	11月	5月	11月
<i>Bacillus</i>	6	5	5	3	9	8	10	11	10	6
<i>Micrococcus</i>	5	1	3	1	8	5	9	6	5	1
<i>Weissella (Lactobacillus)</i>	0	0	2	1	1	1	0	1	2	0
<i>viridescens</i>										
<i>Rhodotorula</i>	1	0	0	2	2	0	1	0	2	2
酵母(<i>Rhodotorula</i> を除く)	0	1	2	1	1	1	1	1	3	1
大腸菌群	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
カビ	2	2	3	2	3	2	3	2	3	3

浮遊菌：空気53ℓ当たりの菌数 (ピンホールサンプラー使用)

表10 オゾン処理による海苔佃煮製造工程の床の付着乳酸菌数

製造工程	床の付着菌数 (100cm ² 当たりの菌数)	
	オゾン水処理前	オゾン水処理後
調味料混合	5.1×10^2	1.2×10
蒸熟	8.5×10^2	0
冷却	3.6×10^3	0

オゾン水濃度：0.8ppm

オゾン水処理後の菌数：3回/日、30日間処理後測定

乳酸菌：*Weissella viridescens*

極めて有効であると考えられる。今回、海苔佃煮の異臭生成及び液化の原因となった微生物は、工場環境より汚染された乳酸菌の一種である *Weissella viridescens* であった。本菌は耐糖性、耐塩性が強く、水分活性が0.86でも生育し、糖類を資化して酸及びエチルアルコールを生産した。また本菌は原材料からは検出されず、冷却工程以降の製品に全て検出されたところから、冷却工程で工場より二次汚染されたものと考えられる。さらに本菌は製造工程中の落下菌、空中浮遊菌及び床より検出されたところから工場環境からの二次汚染と考えられた。

正常製品においても *Weissella viridescens* が検出されたところから乳酸菌の汚染は拡大していると考えられる。一般的に海苔佃煮の主要香気成分は、カルボニル化合物 (エチルアルデヒド、プロピルアルデヒド、ブチルアルデヒド)、含硫化合物 (ジメチルスルファイド)、揮発性塩基化合物 (アミン、アンモニア等) と考えられている。これらの化合物が変化するか、あるいは他の香気成分が生成すると異臭として感知される場合が多い。今回の場合も pH の著しい低下による香気の変化、及びエチルアルコールの生成による香気の変化によるものと考えられる。また液化は乳酸菌の増殖による影響であると考えられた。

乳酸菌はオゾンで比較的容易に殺菌されるので⁵⁾、製造工場の装置や床等の殺菌をオゾンガスやオゾン水で処理することにより *Weissella viridescens* は殺菌することができると考えられる。今回、0.13~0.26ppm のオゾンガスで各製造工程を殺菌した結果、*Weissella*

viridescens は著しく減少した。その結果、海苔佃煮の変敗は減少した。*Weissella viridescens* による食品の変敗は経験的に多く知られている。その多くは環境からの二次汚染であり、ハムやソーセージの緑変は乳酸菌が関与しており特に *Weissella viridescens* あるいは *Leuconostoc fructosus* が主な原因菌であるとされている⁶⁾。

要 約

瓶詰海苔佃煮の異臭生成及び液化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) 正常な海苔佃煮の pH は 4.62 であったが、異臭の生成した海苔佃煮は pH が 3.78 であり、エチルアルコール臭が生成した。
- 2) 異臭生成及び液化した海苔佃煮からは、酵母が $3.5 \times 10^3 / \text{g}$ 、*Weissella viridescens* が $3.1 \times 10^7 / \text{g}$ 検出された。正常な海苔佃煮からは酵母が $3.1 \times 10^2 / \text{g}$ 、*Weissella viridescens* が $5.1 \times 10^2 / \text{g}$ 検出された。正常、異臭生成海苔佃煮より分離した微生物及び空中浮遊、落下微生物、機械等の付着微生物を海苔佃煮に添加したところ、*Weissella viridescens* のみ添加した製品に異臭生成及び液化が生成した。
- 3) 分離された乳酸菌は全て *Weissella viridescens* と同定された。本菌はヘテロ型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、海苔佃煮の異臭生成及び液化を引き起こす原因菌であった。
- 4) *Weissella viridescens* は工場の機械装置及び床等より分離され、オゾンガスやオゾン水で処理することにより著しく減少した。

文 献

- 1) 内藤茂三：愛知食品工技年報：38, 36 (1997)
- 2) 内藤茂三：愛知食品工技年報：37, 39 (1996)
- 3) 小崎道雄：乳酸菌実験マニュアル、(株)朝倉書店 (1992)
- 4) Kandler, O. and Weiss, N.: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Vol. 2 (Williams and Wilkins Co., Baltimore, USA), p.1209 (1986)
- 5) 内藤茂三、志賀一三：日食工誌, 29, 1 (1982)
- 6) Gardner C.A.: 食肉微生物学、春田三佐夫ら監訳、p.141 (建社) 東京 (1987)