

ういろうの加熱殺菌条件の検討

安田佳生・小川祐佳里・近藤徹弥・安藤俊之

加工食品中に混入した微生物はしばしば食品中で増殖し品質を劣化させる。そのため、加工食品の製造の際には、製品に微生物が残存しないような対策を講ずる必要がある。

和菓子類の場合は日持ちしないことが一般消費者に十分認識されているため、購入後数日経過してからの変敗は製造者の責任とは考えられにくい。消費期限も当日又は翌日のものが多く、和菓子類の製造工程の微生物管理も他の食品と比較すると緻密なものとはなっていない。

しかし、ういろうの場合は、大手メーカーがケーシングチューブ中で蒸し成形する方法で製造を行っていることから、常温流通可能な贈答品として定着してきている。そのため、従来のせいろうで蒸す方法でういろうを製造し対面販売を行っている和菓子屋においても、ある程度の品質保持が求められてきている。

微生物による変敗を防ぐには、pH調整や静菌剤などの添加物を用いて菌の増殖を抑制することが有効であると考えられる。この方法はういろうにも適用可能であるが、和菓子屋の多くはpH調整剤や静菌剤を使用した時ういろうの物性や味が変わることから使用しないことが多い。

愛知県内で、pH調整剤や静菌剤を使用しないういろうを製造している和菓子屋に対し変敗防止方法を調査した結果、いずれの製造所もういろう包装後の加熱殺菌を行っていたが、加熱殺菌の方法は製造所によってかなり異なっていた。

そこで、ういろうの加熱殺菌条件と生菌数との関係を検討し、どのような加熱殺菌条件が適当であるか調査・研究したので報告する。

実験方法

1. 生菌数の測定

標準寒天培地を用いて混積平板培養法により、30℃で2～3日培養し、出現したコロニーを計数した。

2. pHの測定

試料を生理食塩水で10倍希釈し、そのpHをガラス電極式水素イオン濃度計(株堀場製作所、F-12型)を用いて測定した。

3. ういろうの試作

白双糖770gを熱湯500mlに溶かし約75℃にした。この糖液に上新粉560g及び浮粉140gを加え、泡立器を用いて手早く混ぜた。更に、温度が約65℃になるように熱湯900mlを2回に分けて加え、種とした。あらかじめせいろうに長方形のステンレス枠(25.5cm×24.5cm、高さ4.0cm)を置き、中にセパレートシートを敷き、そこに種を流し入れ、角型万能むし器(株鋼豊製作所、D-20C型)で2時間蒸し上げた。蒸し上がった後ステンレス枠を外し放冷した。

このういろうを20等分し、5.0cm×6.0cm×4.0cmの大きさにしてういろう用包装紙で包装した。

4. ういろうの加熱殺菌

せいろうに包装したういろうを並べ、蒸し器(100℃)で蒸し上げ放冷した。オーブンによる加熱殺菌の場合は、包装したういろうをオーブン(上火200℃、下火150℃)に入れ、加熱後放冷した。

5. 菌の同定

長谷川¹⁾の方法に従って各種性質を調べた。また、Bergey's Manual of Systematic Bacteriology²⁾に従って同定した。

6. 細菌胞子懸濁液の調製

南場ら³⁾の方法に従って行った。

7. 細菌胞子懸濁液の濃度調整

ういろうから分離した各細菌胞子の懸濁液を10段階に希釈し、生菌数の測定方法と同様に行った。試料1.0ml当たりの生菌数を計測後、各細菌胞子の懸濁液の濃度が 1.0×10^7 /mlになるように希釈した。

7. 細菌胞子懸濁液の濃度調整

いろいろから分離した各細菌胞子の懸濁液を10倍段階に希釈し、生菌数の測定方法と同様に行った。試料1.0ml当たりの生菌数を計測後、各細菌胞子の懸濁液の濃度が 1.0×10^7 /mlになるように希釈した。

8. いろいろへの細菌胞子の添加

1.0×10^7 /mlに希釈した細菌胞子の懸濁液を0.010mlとり、いろいろの表面にのせた滅菌ろ紙にしみ込ませた。

9. いろいろ表面の胞子の生存確率の測定

1.0×10^5 個の胞子を滅菌ろ紙にしみ込ませたものをいろいろ表面にのせ、包装後に加熱殺菌を行い常温で1日放置した。

滅菌ピンセットを用いていろいろにのせたる紙を無菌的に液体培地10.0ml中に入れた。30℃、24時間振とう培養後、標準寒天培地上で48時間培養し、細菌の生存の有無を確認した。同一試料につき5点測定した。測定試料数のうち生存胞子が確認された試料数の割合を生存確率とした。

10. いろいろの物性の測定

2 kg 測定用ロードセルを装着した単軸圧縮・引張型レオメーター（株式会社山電、レオナー RE-3305型）を用いて硬さ、ガム性（食品を飲み込める状態にまで崩壊させるのに必要なエネルギーであり、硬さ×凝集性で求められる物性値）を測定した。接触面直径が10mmの円柱状ブランジャーを使用した。試作したいろいろを乾燥しないように25℃に放冷し、20mmの厚さに切断し、ブランジャーを一定速度1.0mm/sで試料に対して垂直に2回上下運動させ試料に荷重を加えた。クリアランスを5 mmとした。1試料につき7点測定し、最大値及び最小値を除いた5点の平均を物性値とした。

実験結果及び考察

1. 市販いろいろの保存性

愛知県内で製造された市販の白いろいろ7種類について、それぞれ pH 及び初発、3日、7日、14日保存後の生菌数の測定を行った。結果を表1に示した。

表1 市販いろいろの pH 及び生菌数

	pH	生菌数 (/g)			
		初発	3日目	7日目	14日目
A	5.27	300以下	300以下	300以下	300以下
B	6.36	300以下	300以下	300以下	300以下
C	6.19	300以下	300以下	300以下	300以下
D	6.28	300以下	300以下	300以下	300以下
E	6.25	8.0×10^5	5.9×10^7	1.7×10^8	1.0×10^8
F	6.17	300以下	300以下	300以下	1.6×10^4
G	6.23	300以下	300以下	5.4×10^3	300以下

て、それぞれ pH 及び初発、3日、7日、14日保存後の生菌数の測定を行った。結果を表1に示した。

A 及び B のいろいろは、種をケーシングチューブに詰めた後に蒸し固めるタイプであるので蒸した後に雑菌が入らない。生菌数は A、B とともに14日保存後でも300以下/gであった。また、A については、pH の値が他の製品と比べて低いことから、pH 調整により雑菌の増殖を抑制しているものと考えられた。

せいろ蒸しタイプである C ~ G のいろいろは、せいろで蒸したあと、放冷・切斷・包装する過程で雑菌が混入する可能性があると考えられる。表1で、C と D の生菌数は14日保存後でも300以下/g であるのに対し、E は、初発ですでに 8.0×10^5 /g であった。pH の値が製品間でほとんど均一であることから、生菌数の違いは加熱殺菌方法の違いによるものではないかと考えられた。

2. 市販いろいろからの菌株の分離

表1の市販いろいろ E ~ G より分離した25菌株 (No. 1~25) の耐熱性（沸騰水中10分）を測定したところ、No. 10~18の菌株に耐熱性が認められた。また、分離した25菌株をそれぞれ試作したいろいろに添加し3~4日後のいろいろの状態を観察したところ、耐熱性を有した No. 10~18の菌株を添加した場合のみ離水やひび割れがみられた。残りの菌株では、15日保存後でも離水やひび割れなどの変化は起こらなかった。これら No. 10~18の菌株は不十分な加熱殺菌で生残し、いろいろの離水やひび割れを引き起こすと考えられることから、これらの菌株の同定を行い、いろいろの加熱殺菌試験に使用することとした。

3. 菌株の同定

No. 10~18の9菌株の生理的、化学的、形態的性質を調べたところ、いずれも桿菌でグラム陽性であり、カタラーゼ反応、オキシターゼ反応ともに陽性で、胞子を形成していた。また、耐熱性（沸騰水中10分）があり運動性はなかった。標準寒天培地上では、いずれも不透明でやや灰色がかかったしわのあるコロニーを形成した。

表2 いろいろから分離した菌株の性質

試験項目	No. 10~18
V-P 反応	+
メチルレッド試験	-
55℃での生育	-
7% NaCl 中の生育	+
硝酸塩の還元	+
アラビノースから酸の生成	+
キシロースから酸の生成	+
マンニトールから酸の生成	+

表3 試作ういろいろの生菌数(/g)

加熱殺菌 時間(分)	30℃保存		
	1日目	8日目	15日目
0	1.7×10 ⁷	4.1×10 ⁶ *	— **
	7.6×10 ⁷	— **	— **
5	300以下	1.1×10 ⁶ *	— *
	1.3×10 ³	2.0×10 ⁶ *	— *
10	1.5×10 ³	4.6×10 ⁵ *	— *
	300以下	1.3×10 ⁶ *	— *
15	300以下	300以下	1.3×10 ⁷ *
	300以下	300以下	300以下
20	300以下	300以下	300以下
	300以下	300以下	300以下
40	300以下	300以下	300以下
	300以下	300以下	300以下

加熱殺菌はせいろで行う。

*:離水, ひび割れ ** :カビ

以上の結果から, No. 10~18の9菌株は *Bacillus* 属と
同定した。

次に, これら9菌株について Bergey's Manual of
Systematic Bacteriology²⁾に従って同定を行ったところ,
9菌株とも表2に示すとおりとなった。これらの結果よ
り, No. 10~18の9菌株は *Bacillus subtilis* と同定した。

4. 試作ういろいろの保存性

ういろいろを試作し, 切断, 包装後, 加熱殺菌を0分
から40分まで行った。これらを30℃で, それぞれ1日, 8
日, 15日保存後の生菌数の測定を行った結果を表3に示
した。

加熱殺菌時間が0分, 5分, 10分では, 8日目です
べて離水やひび割れ又はカビが観察された。また, 加熱殺
菌時間が15分では, 15日目に片方のみ1.3×10⁷/gとな
り, 離水やひび割れが観察された。これに対し加熱殺菌
時間が20分, 40分では15日目でも生菌数は300以下/gと
なった。

5. 変敗菌の由来の検討

ういろいろから分離した *Bacillus subtilis* のうち, 沸騰水
中30分加熱において最も耐熱性が高かった No. 13の菌株
の胞子をういろいろに添加する実験を行った。No. 13の胞
子懸濁液は1.0×10⁷/mlになるよう希釈して冷蔵保存し
た。

初めに, ういろいろ中で増殖する菌が原材料由来のもの
なのか, 一度蒸し終わったあとの放冷, 切断, 包装の過
程で付着したいわゆる二次汚染によるものなのかを検討
した。

まず, 原材料中の生菌数を調べた。白双糖, 浮粉の生

表4 胞子添加ういろいろの生菌数(/g)

加熱殺菌 時間(分)	30℃保存		
	1日目	8日目	15日目
10	2.1×10 ⁵	— *	— *
	5.7×10 ⁴	— *	— *
15	2.5×10 ⁴	— *	— *
	8.1×10 ⁴	— *	— *
20	2.6×10 ³	2.8×10 ⁵	— *
	1.0×10 ⁴	— *	— *
25	300以下	1.5×10 ⁵	8.3×10 ⁵ *
	300以下	300以下	8.2×10 ⁵
30	300以下	1.9×10 ⁵	3.1×10 ⁵
	300以下	7.0×10 ⁴	7.0×10 ⁵
40	300以下	300以下	300以下
	300以下	300以下	300以下

加熱殺菌はせいろで行う。

*:離水, ひび割れ

表5 ういろいろ表面の胞子の生存確率

加熱殺菌 時間(分)	測定試料数	生存胞子が確認 された試料数	生存確率 (%)
15	5	5	100
20	5	5	100
25	5	3	60
30	5	1	20
35	5	0	0
40	5	0	0

加熱殺菌はせいろで行う。

菌数は300以下/gであったが, 上新粉には5.8×10²/g存
在していた。上新粉中に多量の胞子が存在している場合
を想定して, No. 13の胞子をういろいろへ添加してその影
響を調べた。No. 13の胞子を1.0×10⁶/gになるようにう
いろいろの種に添加し, 強火で90分蒸したものと120分蒸
したものの生菌数を測定した。その結果, 両方とも生菌
数は300以下/gとなった。これより, ういろいろの離水や
ひび割れを引き起こしている菌は蒸し終わったあとの,
放冷, 切断, 包装の過程でういろいろ表面に付着した菌で
あると考えた。そこで, ういろいろの表面に No. 13の胞子
を添加して, 加熱殺菌方法を検討した。

6. 胞子添加ういろいろの保存性

ういろいろの表面に No. 13の胞子を1.0×10⁶個になるよ
うに添加した時の加熱殺菌時間と生菌数との関係を調べ
た結果を表4に示した。加熱殺菌を40分以上行くと15日
目でも300以下/gになった。また, ういろいろの表面温度
は, 10分後に100℃に達したことから, 100℃に達してか

表6 間欠殺菌した孢子添加ういろの生菌数 (g)

間欠殺菌時間 (分)		30℃保存		
当日	翌日	1日目	8日目	15日目
0	20	1.5×10 ⁴	2.1×10 ⁵	8.6×10 ⁵
		2.8×10 ⁵	1.4×10 ⁵	1.4×10 ⁶
20	20	300以下	300以下	2.0×10 ⁵
		300以下	300以下	300以下

加熱殺菌はせいろで行う。

*:離水、ひび割れ

表7 オープン加熱した孢子添加ういろの生菌数 (g)

加熱殺菌時間 (分)	30℃保存		
	1日目	8日目	15日目
5	8.4×10 ⁴	2.5×10 ⁵	1.8×10 ⁶
	1.2×10 ⁵	8.6×10 ⁵	1.2×10 ⁷
10	300以下	4.6×10 ⁵	1.0×10 ⁶
	300以下	1.0×10 ⁶	7.4×10 ⁶
15	300以下	2.3×10 ⁶	300以下
	300以下	300以下	300以下

オープンは上火200℃、下火150℃の条件で行う。

*:離水、ひび割れ

表8 オープン加熱ういろの孢子の生存確率

加熱殺菌時間 (分)	測定試料数	生存孢子が確認された試料数	生存確率 (%)
5	5	5	100
10	5	5	100
15	5	5	100
20	5	2	40

オープンは上火200℃、下火150℃の条件で行う。

ら30分で孢子が死滅することが分かった。

ういろ表面の孢子の生存確率を測定した結果を表5に示した。加熱殺菌を35分以上行えば、孢子が完全に死滅することが分かった。この結果は、生菌数測定の結果とも一致していた。

7. 試作ういろの殺菌方法の検討

一般のせいろ蒸しういろの加熱殺菌として通常は蒸し器による加熱殺菌を行っているが、より効果的な他の殺菌方法がないか調査した。ういろを製造する事業所で、加熱殺菌に利用できそうな蒸し器、オープンについて検討した。

(1) 蒸し器を用いた間欠殺菌

一度加熱した翌日にもう一度加熱する方法は間欠殺菌と呼ばれ、孢子の殺菌に有効であると言われている。そこで、蒸し器で加熱殺菌を行い、その翌日にもう一度蒸

表9 冷凍ういろの加熱殺菌時間と生菌数 (g)

加熱殺菌時間 (分)	30℃保存		
	1日目	8日目	15日目
20	3.0×10 ⁴	1.4×10 ⁵	2.1×10 ⁵
	3.3×10 ⁵	1.0×10 ⁵	1.9×10 ⁵
40	300以下	300以下	300以下
	300以下	300以下	2.5×10 ⁵
60	300以下	300以下	300以下
	300以下	300以下	300以下

加熱殺菌はせいろで行う。

*:離水、ひび割れ

した孢子添加ういろを30℃で保存し、生菌数を測定した。その結果を表6に示した。

翌日のみ20分蒸した孢子添加ういろは、1日目ですでに1.5×10⁴/g、2.8×10⁵/gであった。一方、当日に蒸し殺菌を20分行い、翌日20分蒸した孢子添加ういろは8日目でも300以下/gであった。しかし15日目では2試料のうち一方は2.0×10⁵/gとなり、殺菌時間が不十分であることが示唆された。

(2) オープンによる加熱殺菌

次に、オープンで孢子添加ういろの加熱殺菌を行った時の加熱時間と生菌数との関係を表7に示した。

加熱時間5分、10分では、8日目、15日目で離水やひび割れが観察された。15分加熱では、8日目に2.3×10⁶/gとなったものがあつたが、それ以外は300以下/gであった。オープンについてもいろいろ表面の孢子の生存確率を測定した。その結果を表8に示した。5分、10分、15分の加熱殺菌ではどれも滅菌されなかったが、20分加熱殺菌すると一部滅菌された。

8. 冷凍ういろの保存性

ういろの製造所では、ういろをまとめて製造し冷凍しておくことが多い。これらの製造所では、販売当日に加熱殺菌を兼ねて蒸し器による解凍を行うことから、冷凍ういろの加熱殺菌についても検討した。ういろを冷凍した後、加熱殺菌を行った時の生菌数との関係を表9に示した。40分の加熱殺菌では15日目で2.5×10⁵/gとなったが、それ以外は300以下/gであった。60分の加熱殺菌では全て300以下/gであった。

9. 加熱殺菌ういろの物性の変化

加熱殺菌によりういろの物性がどのように変化するか調べた。

殺菌方法及び殺菌時間と硬さとの関係を図1に、また、ガム性との関係を図2に示した。蒸し器で加熱殺菌を行った場合は、加熱殺菌を行っていないものに比べ、硬さ及びガム性が低下していることが分かった。しかし、加熱

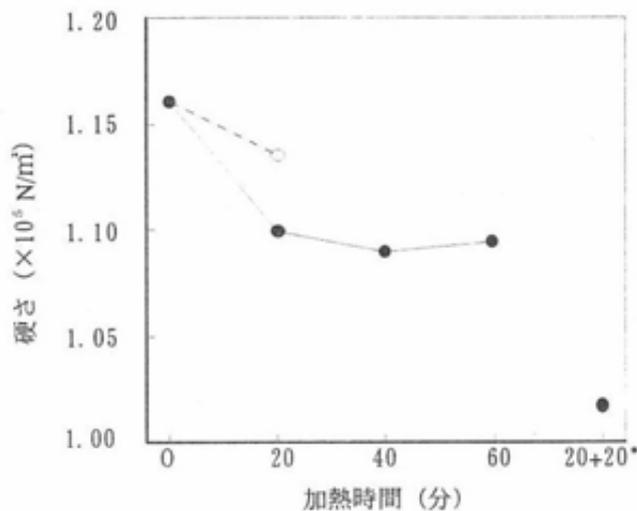


図1 加熱殺菌いろいろの硬さ

—●—, 蒸し; —○—, オープン

*:当日と翌日に20分ずつ加熱殺菌したもの

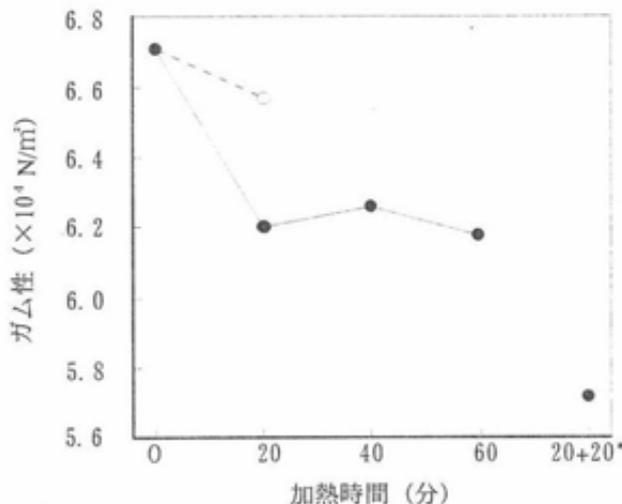


図2 加熱殺菌いろいろのガム性

—●—, 蒸し; —○—, オープン

*:当日と翌日に20分ずつ加熱殺菌したもの

殺菌時間が20分の場合と60分の場合では、硬さ及びガム性の変化はなかった。蒸し器で当日と翌日に20分ずつ加

熱殺菌すると、更に硬さ及びガム性が低下した。一方、オープンで加熱殺菌を行った場合は、加熱殺菌を行っていないものに比べ、硬さ及びガム性はほとんど変化しなかった。

以上の結果から、蒸し器による加熱殺菌は物性を変化させるが、オープンによる加熱殺菌は、物性をあまり変化させないということが分かった。また、蒸し器による加熱殺菌においては、加熱時間の違いは物性に影響せず、加熱回数が物性に影響することが分かった。

要 約

市販の7種類のいろいろの生菌数を分析したところ、製品によってばらつきが見られた。これは、製造所によって加熱殺菌方法が違うためであると考えられた。

次に市販のいろいろから菌を分離した。いろいろに添加して離水やひび割れを引き起こしたのものについて、菌の形態的、生理的性質を調査した結果、*Bacillus subtilis*と同定した。*Bacillus subtilis*は耐熱性の孢子を形成することから、孢子の懸濁液を作製しそれを試作したいろいろに添加し加熱殺菌を行った。その結果、pH調整や添加物を使用しなくてもせいろによる加熱殺菌を40分行えば加熱殺菌のみで孢子を滅菌することが十分に可能であることが分かった。

加熱殺菌が物性に及ぼす影響については、蒸し器による加熱殺菌がいろいろを軟化させることが分かった。

文 献

- 1) 長谷川武治：改訂版微生物の分離と同定（下）（学会出版センター，東京），p.99（1975）。
- 2) Kandler, O. and Weiss, N.: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* Vol.2 (Williams and Wilkins Co., Baltimore, USA), p.1105 (1986)。
- 3) 南場毅・戸谷精一・金田陸美・川口悦子・加藤照：愛知県食品工業技術センター年報，37, 5 (1996)。