

【解説】

食品産業におけるオゾン利用(5)

—食品変敗防止へのオゾンの利用技術(その2)—

内藤茂三

日本医療・環境オゾン研究会会報, Vol.7, No.3, 5-8. (2000)

- 報)」について、1998年12月。
- 4) 建設省：「平成11年度水環境における内分泌攪乱化学物質に関する実態調査結果（春期・夏期調査）について」、1999年11月19日。
  - 5) Maron D.M. and Ames B.N.: Revised methods for the Salmonella mutagenicity test, *Mutation Res.*, 113, 173-215 (1983).
  - 6) Nishikawa J., Saito K., Goto J., Dakeyama F., Matsuo M. and Nishihara T.: New screening methods for chemicals with hormonal activities using interaction of nuclear hormone receptor with coactivator. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 154, 76-83 (1999).
  - 7) 環境庁 未来環境創造型基礎研究推進制度平成10年度報告書：化学物質による生物・環境負荷の総合評価手法の開発に関する研究、p13、1999.
  - 8) Nakamuro K., Ueno H. and Sayato Y. : Mutagenic activity of organic concentrates from municipal river water and sewage effluent after chlorination or ozonation, *Wat. Sci. Tech.*, 21, 1895-1898 (1989).
  - 9) 中室克彦、川井 仁、梅谷かおり、坂崎文俊、奥野智史、上野 仁、西川淳一、西原 力：酵母Two-hybrid法による河川水中エストロゲン活性物質の評価、日本内分泌攪乱化学物質学会第二回研究発表会要旨集、p76 (1999).
- 

## 解説

### 食品産業におけるオゾンの利用（5）

#### － 食品変敗防止へのオゾンの利用技術（その2） －

愛知県食品工業技術センター 内藤 茂三

#### 1. はじめに

和洋菓子の変敗を起こさせる酵母とは、製造された和洋菓子が保存、流通段階において好ましくない現象を発生させる酵母のことである。和洋菓子は植物性原材料を使用し、糖類を多量に使用するので酵母により変敗が起きやすい。その変敗現象は、酵母菌体付着による斑点生成、アルコール発酵、ガス発生、エステル生成、酸生成等が多い。また酵母は有機酸類を資化する場合が多く、食品のpH調整に用いられている酢酸、乳酸、クエン酸が資化されてpHが高くなり、細菌の増殖が促進される場合もある。さらに酵母は保存料に対しても抵抗力のあるものが多く、*Rhodotorula*に属する数種の酵母は0.25%の安息香酸を炭素源としてpH 4.5でよく増殖し、*Saccharomyces rosei*は0.25%のプロピオン酸（pH 4.5）、*Brettanomyces intermedius*は0.1%のソルビン酸存在下で良好に増殖する。このように保存料で酵母の増殖を阻止することは極めて困難である。しかしこれらの酵母により食品が腐敗、変敗しても食品が有毒化して食中毒の原因になることはほとんどない。酵母の代謝産物には毒性がないし、一部の酵母において酵母菌自体に病原性（*Candida albicans*）があるといっても細菌類や他の真菌類で起こるように、酵母自身が食物を通じて感染症や中毒症の原因になることはない。そこで今回、酵母による和洋菓子の変敗現象とオゾンによる防止方法についてとりまとめた。

#### 2. 酵母による和洋菓子の変敗現象

##### (1) 酵母のパスツール効果とクラブツリー効果

酵母の酸素呼吸によってグルコースの一部が炭酸ガスと水になることをパスツール効果といい、グルコースの存在によって酸素呼吸が抑制されアルコール発酵が起きる現象をクラブツリー効果と呼ぶ。またクラブツリー効果は絶対好気条件下でのアルコール発酵の出現と定義された<sup>1)</sup>。酵母は一般的にアルコール発酵を行い、1モルのグルコースを2モルずつのエタノールと炭酸ガスに変える。しかし*Saccharomyces cerevisiae*は、エタノールやグリセリンなどの発酵によって利用できない化合物と同様に、グルコースをも呼吸に利用出来る代謝能力を備えている。0.1%以下のグルコース存在下で、空気の供給があればグルコースを炭酸ガスと水に変換する。*Saccharomyces cerevisiae*は生育の条件により発酵と呼吸とを交互に切り替えることができる。つまり好気、グルコース制限下で生育した菌体に充分量のグルコースを添加すると、ただちにアルコー

ル発酵が起き、低濃度のグルコースは発酵しているところに通気するとその発酵能力が低下し、それとともにグルコースの一部が呼吸によって炭酸ガスと水になる。このため好気、グルコース制限下でグルコース濃度を徐々に上げると、ある時点からアルコール発酵が起き、その際、呼吸は制限されることなく継続する。このパストール効果はパン酵母の製造に利用され、このプロセスでは酵母は強い通気のもとで低濃度のグルコース存在下で培養して、エタノールの生成量を最小にとどめ、菌体の収量を高めている。食品の酵母による変敗現象はクラブツリー効果を示す酵母か否かにより変敗の様相は著しく異なる。クラブツリー効果を示す酵母は*Saccharomyces cerevisiae*、*Torulopsis globrata*、*Schizosaccharomyces pombe*等があり、糖の豊富な植物素材より分離されている。クラブツリー効果を示さない酵母には*Saccharomyces rosei*、*Candida utilis*、*Hansenula nonfermentans*、*Kluyveromyces marxianus*、*Kluyveromyces fragilis*等がある。このため糖濃度が低い状態で*Saccharomyces cerevisiae*の培養を行った場合は、クラブツリー効果を示さない*Candida utilis*等の野生酵母により汚染される場合がある。グルコースが高濃度の場合は*Saccharomyces cerevisiae*はグルコースをどんどん取り込み、クラブツリー効果につながるのに対し、グルコース濃度が低い場合は、両酵母間でグルコースの取り込みの競争が起きる様な状態では、*Candida utilis*が有利となり、優占する<sup>2)</sup>。また食品の酵母による変敗は糖を発酵するか否かにより変敗の様相が全く異なる。食品の中からは糖を全く発酵する能力を持たない酵母も多く検出される。*Rhodotorula*属と*Cryptococcus*属酵母の全部と、*Candida*属、*Torulopsis*属酵母の一部である。このような酵母は生育に必要なエネルギーの供給は全て呼吸的代謝に依存している。*Debaryomyces*属と*Pichia*属の一部は強い呼吸と弱い発酵能を有しており、*Saccharomyces carlsbergensis*は弱い呼吸と強い発酵能を有し、*Torulopsis pintolopesii*は呼吸能が全く欠けて発酵によるエネルギーだけに依存する。

## (2) 和洋菓子の酵母による変敗

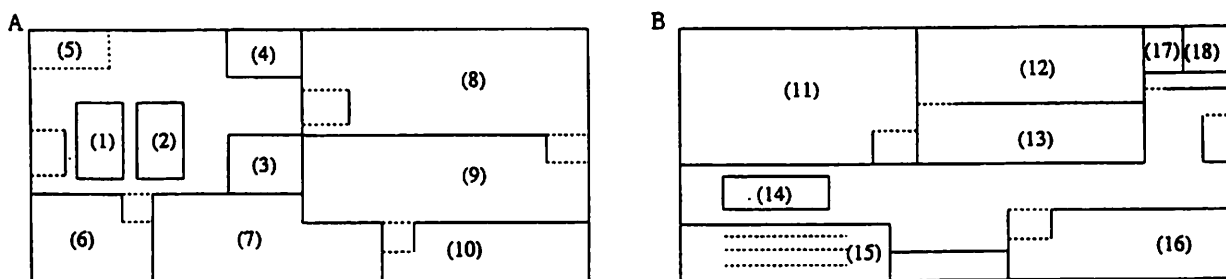
和洋菓子の酵母による変敗の原因の90%以上が食品素材からの一次汚染及び製造工程中における二次汚染である。自然界には多くの野生酵母が存在しており、これらの食品の変敗原因となっている場合が多い。自然界における酵母の分布は多くの報告により取りまとめられている<sup>3) 4)</sup>。和洋菓子保存中に酵母が繁殖すると、異臭生成、ガス発生、酸生成、アルコール発酵、菌体生成、エステル生成等を生じ、和洋菓子の品質劣化の原因となる。また脱酸素剤使用包装食品において酵母の増殖による変敗が多くなってきている。包装フィルムも圧倒的に酸素透過度の少ない、塩化ビニリデンコートナイロン/ポリエチレン(KNy/PE)、塩化ビニリデンコート延伸ポリプロピレン/ポリエチレン(KOP/PE)等のフィルムで包装された食品に酵母による変敗が多い<sup>5)</sup>。

## 3. 酵母による和洋菓子変敗のオゾンによる防止

和洋菓子の酵母による変敗原因の大部分は工場からの二次汚染である。このため工場を無菌化することにより防止できる場合が多い。水中での酵母のオゾン殺菌は比較的容易であり、7種類の酵母及び酵母胞子に対し、オゾン濃度0.3~0.5 ppmでの連続処理で5~10分で大部分が死滅した<sup>6)</sup>。*Saccharomyces cerevisiae* ( $1.6 \times 10^5 / \text{ml}$ )ではオゾン水(濃度0.1 ppm)で3~10分間処理では約3~4%生存したが、0.5 ppm以上の濃度の処理では3分間で完全に死滅した<sup>7)</sup>。気中では寒天に塗抹した*Saccharomyces cerevisiae* Sake、*Rhodotorula glutinis*はオゾン濃度0.6 ppm、15分間処理で死滅し<sup>8)</sup>、さらにチョコレートケーキに*Candida cacaioi*、*Pichia anomala*を接種してオゾン濃度0.5~2.0 ppmで30分間処理を行った場合、*Candida cacaioi*は2.0 ppm、*Pichia anomala*は1.0 ppmで完全に死滅した。このように酵母は気中処理において比較的水分が多い状態でオゾン処理を行うと殺菌効果は大きいことが認められている。しかし水分の少ない状態、即ち乾燥状態でのオゾン処理は極めて殺菌効果が小さい<sup>9)</sup>。加工食品工場でのオゾン処理は一般的に水分の少ない状態で行っている場合が多いと考えられる。このため気中での酵母のオゾン殺菌効果を高めるためには湿度を上昇させる必要がある。また酵母は熱に対して極めて弱いため、気中オゾン殺菌に及ぼす温度の影響は大きいと考えられる。*Pichia anomala*、*Saccharomyces rosei*、*Pichia farinosa*の栄養細胞は気中オゾン濃度4~5 ppmでは40℃、5時間処理、50℃、3.5時間処理及び60℃、1~5時間処理では殺菌効果が認められた<sup>10)</sup>。なおこのオゾン濃度では30℃以下の温度での1~5時間処理ではほとんど殺菌効果は認められなかった。

*Kluyveromyces marxianus*、*Candida parapsilosis*は上記酵母よりもさらに耐熱性が弱いためオゾン処理の影響は比較的小さかった。加熱とオゾン処理では殺菌機構が全く異なっているため、オゾン処理を40~60℃で行うことにより殺菌効果が著しく上昇したものと考えられる。酵母の場合、オゾンによる細胞壁のたんぱく質損傷、加熱による細胞膜損傷、RNA損傷等の結果からみてオゾンと熱の併用効果が考えられる。空

中浮遊酵母をオゾン分解型オゾン発生器で処理することにより殺菌効果が認められた<sup>10)</sup>。これは触媒の表面でオゾンが分解される過程で発生期の酸素が生成されると同時に接触した微生物が殺菌されたものと思われる。オゾンの殺菌力はオゾンが分解した時に発生する発生期の酸素が強力な酸化反応を起こすために生じるものである。オゾン処理残存菌は、細胞の増殖速度が抑制され、速度はオゾン処理時間、処理温度及び酵母の種類により異なった<sup>10)</sup>。これは細胞表層の損傷の程度の差異であると考えられる。このように酵母のオゾン処理残存菌の増殖速度が抑制されたのは、定常期の培地で受けていたオゾンの影響から回復するのに時間がかかることを意味している。通常誘導期の長短は以後の対数期等に対しては影響を及ぼさないが、オゾン処理で対数期が延長したことにより、オゾン処理により酵母が損傷を受けていたものと考えられる。洋菓子は、パン類よりも変敗しやすい生クリーム類や寒天、ペクチン等の調理加工品を使用する関係で、保存可能時間は特に神経を使っている。それにも関わらず、夏季に洋菓子の変敗が多いのは、製造工場に空中微生物が多いことに起因する。洋生菓子製造工場のオゾン処理による空中浮遊微生物の変化を検討した<sup>11)</sup>。工場の外観図を図1に示した。1階はショートケーキ、デコレーションケーキの仕上げ室、材料置場、冷蔵



(1)(2): 調理台 (3): 包装台 (4): 洗浄台 (5): ラック (6): 冷凍庫 (7): 冷蔵庫 (8)~(10): 材料置場 (11): パイ調理室 (12): 冷凍庫 (13): 冷蔵庫 (14): 混合機 (15): オープン室 (16): 材料置場 (17): 便所 (18): 更衣室  
A: 一階, B: 二階

図1 製菓工場の外観図

庫、冷凍庫がある。また2階にはパイの仕上げ室及び焼き上げ室、材料置場、冷蔵庫、冷凍庫、更衣室、便所がある。空中浮遊微生物を測定した結果を表1に示した。洋菓子は最終製品が無加熱であるため大腸菌群や酵母の二次汚染が問題となる場合が多い。4月の測定において空中浮遊微生物として多くの大腸菌群と酵母が検出され、しかもその数は7月の高温高湿期には著しく増加することを認めた。ショートケーキ、デコレーションケーキの仕上げ台付近では、4月は酵母が多く、その他の菌種は比較的少ないが、7月は酵母以外に大腸菌群と *Bacillus* sp. が多く検出された。すぐ横の包装台(3)、洗浄台(4)、ラック付近(5)でも仕上げ台付近と同様の傾向を示した。冷凍庫(6)及び冷蔵庫(7)では酵母と *Micrococcus* sp. が多く、次いで大腸菌群カビ、*Bacillus* sp. の順であった。材料置場(8)~(10)では、*Bacillus* sp.、*Micrococcus* sp. が多く、次いで酵母、カビの順であった。2階のパイ調理室(11)では *Bacillus* sp. が多く、次いで *Micrococcus* sp.、酵母、カビ、大腸菌群の順であった。また2階の冷凍庫(12)及び低温庫(13)は *Bacillus* sp. が多く、次いで酵母、*Micrococcus* sp.、カビ、大腸菌群の順であった。さらに生地混合機付近(14)及びオープン付近(15)においては圧倒的に *Bacillus* sp. が多く、材料置場(16)は1階の材料置場(8)~(10)とほぼ同様であり、*Bacillus* sp.、*Micrococcus* sp. 及び酵母が中心であった。便所(17)は、大腸菌群が多く、次いで酵母、*Micrococcus* sp.、*Bacillus* sp. の順であった。更衣室(18)は、*Bacillus* sp. が多く、次いで酵母、*Micrococcus* sp. の順であった。工場の空中浮遊菌を減少させる方法としてはガス殺菌、薬剤噴霧または拭き取り、紫外線処理等がある。このうち紫外線は透過力が

表1 製菓工場における空中浮遊微生物菌数と菌叢

測定地点	分離菌の種類					総菌数
	<i>Bacillus</i>	<i>Coryneforms</i>	<i>Micrococcus</i>	酵母	糸状菌	
1	8(5)	10(2)	6(5)	15(10)	4(4)	46(28)
2	9(5)	12(6)	6(3)	10(10)	5(4)	48(30)
3	4(2)	15(5)	6(3)	14(12)	4(3)	49(29)
4	3(1)	10(4)	5(2)	16(15)	1(0)	39(25)
5	3(1)	13(3)	5(2)	12(10)	4(2)	40(20)
6	4(1)	7(3)	12(5)	12(6)	5(3)	42(22)
7	5(2)	8(6)	10(4)	10(5)	6(3)	41(22)
8	25(12)	2(0)	25(11)	21(18)	12(10)	89(55)
9	30(17)	3(0)	36(12)	28(18)	15(12)	115(78)
10	38(10)	4(2)	52(20)	30(27)	12(10)	140(70)
11	51(21)	2(1)	28(20)	22(20)	10(8)	124(75)
12	39(25)	5(2)	12(6)	29(21)	6(5)	105(68)
13	53(20)	12(5)	25(10)	31(25)	19(12)	146(75)
14	48(12)	10(2)	10(5)	29(20)	12(10)	115(55)
15	26(10)	2(0)	6(3)	8(4)	7(6)	55(25)
16	29(10)	7(3)	27(13)	24(20)	11(5)	105(63)
17	27(20)	59(12)	35(18)	46(26)	9(7)	182(93)
18	43(15)	16(8)	31(18)	34(28)	12(10)	136(85)

表中の数字は7月に測定した空気53l当りの菌数を示す。ピンホールサンプラーで測定

( )内の数字は4月に測定した空気53l当りの菌数を示す。

弱く影の部分が殺菌できない。薬剤噴霧では薬剤が工場内に一部が長期間残存し、機械や製品に汚染する可能性がある。拭き取りは工場内空気の殺菌ができないので、拭き取り後、再付着のおそれがあると共に、人が介在することにより、使用する薬剤に制約がある<sup>12)</sup>。そこでガス殺菌が一般的であると考え、オゾンガスを用いて洋菓子工場を処理した。洋菓子製造工場に紫外線ランプ式のオゾン発生装置（特殊ガラスを用いた合成管：オゾン生成量1.6 g/h（5～10℃）、ファン付き強制対流型）を各工程の天井に計28台設置し、夜間のみ約3年間点灯した（作業時間を除き1日、約5～10時間）。オゾン処理後の空中浮遊菌を測定した結果、全体的に大腸菌群、酵母及び*Micrococcus* sp.が減少する傾向が認められた。オゾン処理開始後約3年後の空中浮遊菌を測定した結果を表2に示した。オゾン処理前には優勢であった大腸菌群と酵母がオゾン処理により著しく減少した。この傾向は1階の調理台(1)(2)、包装台(3)、洗浄台(4)、ラック付近(5)に顕著に見られ、4月測定では全く大腸菌群は検出されず酵母は処理前の1/2～1/3に減少した。

表2 オゾン処理を行った製菓工場の空中浮遊微生物菌数と菌叢

測定地点	分離菌の種類					総菌数
	<i>Bacillus</i>	<i>Coryneforms</i>	<i>Micrococcus</i>	酵母	糸状菌	
1	2(1)	0(0)	3(2)	5(2)	5(3)	18(10)
2	3(2)	2(0)	2(0)	4(1)	5(5)	19(11)
3	2(0)	0(0)	2(1)	7(4)	2(1)	16(8)
4	1(0)	0(0)	3(2)	3(2)	7(2)	16(10)
5	3(0)	0(0)	2(0)	5(3)	6(3)	18(8)
6	2(1)	0(0)	6(2)	2(1)	7(3)	19(9)
7	3(0)	0(0)	5(3)	5(3)	6(4)	22(12)
8	15(8)	0(0)	7(3)	10(8)	13(12)	48(35)
9	10(6)	0(0)	9(2)	12(8)	14(12)	47(30)
10	12(7)	0(0)	18(5)	13(9)	15(13)	38(30)
11	30(15)	0(0)	15(12)	18(12)	10(8)	62(28)
12	22(12)	0(0)	10(3)	15(12)	5(6)	78(50)
13	32(18)	2(0)	11(4)	16(10)	15(4)	55(38)
14	20(5)	2(0)	3(2)	15(10)	13(12)	79(40)
15	17(3)	0(0)	1(0)	3(2)	8(6)	56(32)
16	13(9)	0(0)	10(3)	12(8)	10(2)	33(15)
17	17(9)	15(3)	12(9)	10(8)	5(3)	46(25)
18	20(12)	3(0)	12(8)	12(7)	10(7)	65(35)

表中の数字は7月に測定した空気53l当りの菌数を示す。ピンホールサンプラーで測定

( )内の数字は4月に測定した空気5.3l当りの菌数を示す。オゾン処理は夜間のみ3年間行った（一日平均約10時間）オゾン処理濃度は0.003～0.112 ppm

## 文献

- 1) Van Dijken, J.P., Scheffers, W.A. : FEMS Microbiol. Rev., 32, 199 (1986).
- 2) Postma, E. : Appl. Environ. Microbiol., 55, 3214 (1989).
- 3) Phaff, H., Miller, M.W., and Mrak, E.M. : The Life of Yeasts, Second Edition, Harvard University Press (1978).
- 4) 田村学造、野白喜久雄、秋山裕一、小泉武夫編著：酵母からのチャレンジ、技報堂出版（1997）.
- 5) 内藤茂三：食品の包装、18(2)、91(1987).
- 6) 内藤茂三、志賀一三：日食工誌、29、1(1982).
- 7) 長島俊夫ら：第1回日本オゾン協会年次研究講演会講演集、187（1992）.
- 8) 原口達一ら：日水誌、35、915（1969）.
- 9) 内藤茂三：防菌防黴、20、293(1992).
- 10) 内藤茂三：防菌防黴、21、341(1993).
- 11) 内藤茂三：防菌防黴、17、483(1989).
- 12) 内藤茂三：食品の腐敗、変敗防止対策ハンドブック、サイエンスフォーラム（東京）（1996）.

## 第6回研究講演会演題申込みについて

暑かった夏も終わりに近づき、仕事のしやすい季節に入ってきました。さて、標記研究講演会が平成13年4月15日（日）に日本水道協会講堂（東京、市ヶ谷）にて開催されることが決まりました。

例年通り演題の申込み期限は12月20日（水曜日）です。次号の会報に詳細をお知らせしますが、会員各位にはふるって申込みををして下さるよう、ご案内します。

問い合わせ先： 日本医療・環境オゾン研究会、Tel 090-7111-7389（中室）

Fax 072-866-3123