# 食品含有成分を活かした効率的な微生物制御技術の開発

半明桂子*

## Efficient Micro-Organism Control System with Food Ingredients

Keiko Hammyo

### １．緒　　言

多くの食品で行われる加熱殺菌は，微生物による腐敗を防ぐ効果が高い反面，加熱条件が高温･長時間になるほど成分の変質や香りの変化などを引き起こし，品質低下の原因となっている．そのため，製品の高品質化を試みる際，加熱殺菌工程は改良すべき工程として着目されることが多い．そこで，従来の高温･長時間加熱による殺菌工程を改善する技術の開発を着想した．

微生物の生残性は温度，pH，塩類などに影響を受けることが知られており，これらに着目したさまざまな殺菌方法が検討されている[1-4]．しかしながら，生菌数が減少する傾向の把握はできているものの，様々な食品に汎用可能であると判断できる十分な効果は得られていない．また，高圧処理を施すなどの特殊な装置を必要とすることがネックとなり，実用的な技術に至っていないことが多い．

そこで，山口県の特産品であるカンキツ果汁のように，低 pH であるなど微生物の生残性に影響を及ぼす特性を持つ食品にターゲットを絞り，これに少量の食品成分を添加したうえで，一般的な冷凍庫の温度において凍結･解凍させることにより効率的に微生物を制御する方法を検討したので報告する．

### ２．実験方法

#### ２・１　各種カンキツ果汁の成分分析

pH の分析には水素イオン濃度計(㈱堀場製作所製，F-23)，有機酸の分析には高速液体クロマトグラフ(㈱島津製作所製，Prominence)を使用した．

#### ２・２　凍結･解凍が酵母の生残性に与える影響の評価

制御すべき微生物は，腐敗したカンキツ果汁製品から分離した酵母 *Saccharomyces cerevisiae* 属(菌株 A 及び B)と *Candida* 属(菌株 C 及び D)とした．各酵母を各種カンキツ果汁及び YM 培地に 1,000～3,000 個/ml になるよう添加後，−18℃の冷凍庫で緩慢冷凍し，24 時間後に室温で解凍した試料について生菌数を測定した．各種カンキツ果汁を試験区とする場合は YM 培地を対照区，YM 培地を試験区とする場合は添加菌数を対照区として下記式で計算し，各試験区における生菌率を算出した．

$$\text{生菌率}(\%) = \frac{\text{試験区における生菌数}}{\text{対照区における生菌数}} \times 100$$

#### ２・３　食品成分が酵母の生残性に与える影響の評価

各種カンキツ果汁に少量の食品成分(エタノール(EtOH)，食塩(NaCl)，酢酸(AA))を添加した試料について，2･2 と同様の試験を行った．対照区は食品成分を添加しない果汁とした．

#### ２・４　試作

県内の果汁製造企業の協力の下，国内の飲食店向け販売や輸出が伸びている既存ぽん酢をベースとした 3 種類の食品成分を添加した試作を行った．試作品の配合は，試作に先立って行った食品成分を添加した果汁の官能評価に基づき決定した．また，官能評価は製品としての評価を希釈ナシ(希釈倍率 1)，喫食時をイメージした評価を 2 倍希釈(希釈倍率 2)で行った．

#### ２・５　試作品の品質評価

28℃で保管した試作品の一般生菌数と酵母数を経時的に測定した．また，製造 3 日目と 344 日目の試作品の香りについて，におい識別装置(アルファー･モス･ジャパン㈱製フラッシュ GC ノーズ HERACLES Ⅱ，カラム 1:DB-5，カラム 2:DB-WAX)を使用して分析した．

### ３．実験結果及び考察

#### ３・１　各種カンキツ果汁の成分

山口県で生産された夏みかん及びすだいだいの果汁成分を分析した．結果は表 1 及び図 1 に示すとおり，いずれも一般的な食品と比較して低 pH であり，その主な要因はクエン酸と考えられた．

#### ３・２　凍結・解凍が酵母の生残性に与える影響

酵母の生残性に与える影響について，凍結･解凍で酵母が損傷することによるものと，食品成分による効果を分けて評価するために，YM 培地を使用した試験とカンキツ果汁を使用した試験を行った．結果は図 2 及び 3 に示すとおり酵母により差があり，YM 培地における凍結･解凍後の生菌率は添加菌数の 43～100(%)であった．これに対しカンキツ果汁における生菌率は，YM 培地における凍結･解凍後の生菌数の 50(%)以下であった．特にすだいだいでは生菌率が低く，いずれの酵母においても 15(%)以下であった．このことから，凍結･解凍は酵母の生菌数に影響を与えるが，低 pH であるカンキツ果汁を使用すると，その影響は拡大すると考えられた．

以上のことから，カンキツ果汁の凍結は，カンキツ果汁を腐敗させる酵母の生菌率の低下に効果的であるものの，一定数の酵母が残存することを考慮すると，生菌率をより低下させる何らかの工夫をする必要があると考えられる．

＊　技術支援部食品技術グループ

表 1　カンキツ果汁の pH

| | 夏みかん | すだいだい |
|---|---|---|
| pH | 2.8 | 2.6 |

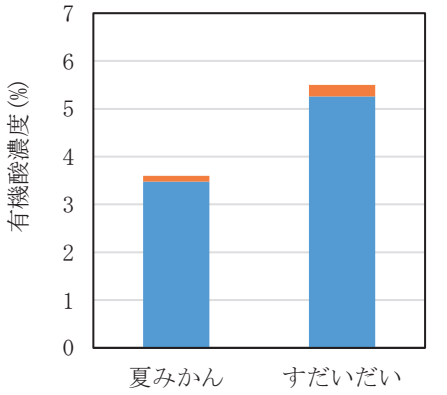


図 1　各カンキツ果汁の有機酸濃度

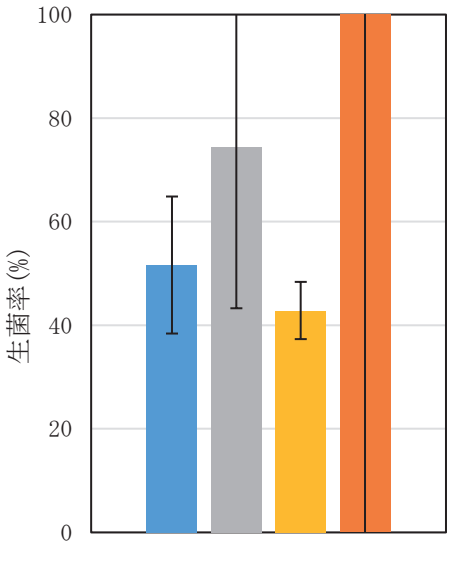


図 2　YM 培地における凍結・解凍による生菌率への影響

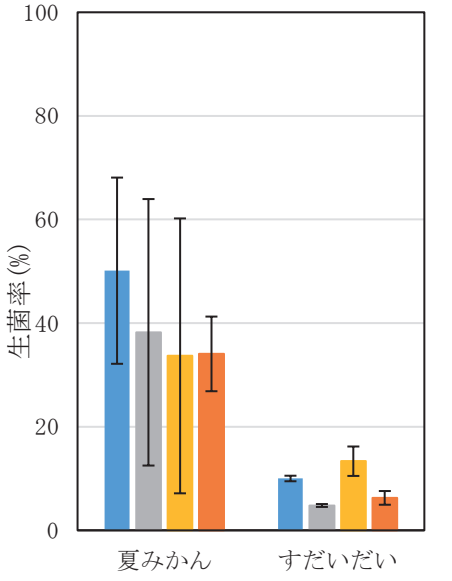


図 3　各カンキツ果汁における凍結・解凍による生菌率への影響

### 3・3　食品成分を添加したカンキツ果汁における酵母の生残性

食品成分添加の影響については，図 4 に示すとおり，エタノールと酢酸の添加濃度が高くなるにつれ，酵母の生菌率が低下した．特に酢酸を 1.0(%)添加した試験区の生菌率は 0(%)であったが，果汁の香味に影響を及ぼす可能性が考えられた．また食塩について，生菌率の低下はみられなかった．そこで更に，各食品成分を組み合わせて添加した場合の影響を評価した．結果は図 5 に示すとおり，より低濃度の酢酸における生菌率低下が確認された．

### 3・4　官能評価に基づいた試作配合の検討

試作のベースとした既存ぽん酢は，夏みかんやすだいだいなどのカンキツ果汁をブレンドしたうえで酸味料と保存料(安息香酸ナトリウム)を添加している．しかしながら，昨今は保存料を好まない消費者が多く，新配合開発の必要に迫られている．このことから，保存料を使用せず，食品成分を添加することで保存性の向上を目指す本研究の試作にぽん酢は適していると考えられた．そこで，試作配合を決定するために，既存ぽん酢に食品成分である食酢とエタノールを添加して職員 5 名で官能評価を行った．各成分の添加濃度については，生菌率の低下効果があり，かつ官能的に大きな影響を与えない濃度とした．結果は表 2 に示すとおり，酢酸 0.1(%)・エタノール 0.5(%)の試験区では希釈ナシの場合，製品本来の味が強いためか酢酸に起因すると考えられるマイナス評価(赤字)は少なかったが，2 倍希釈すると違和感として指摘された．その反面，味に幅があるなどのプラス評価(青字)が見られた．一方，酢酸 0.25(%)・エタノール 0.5(%)の試験区では，希釈の有無にかかわらず

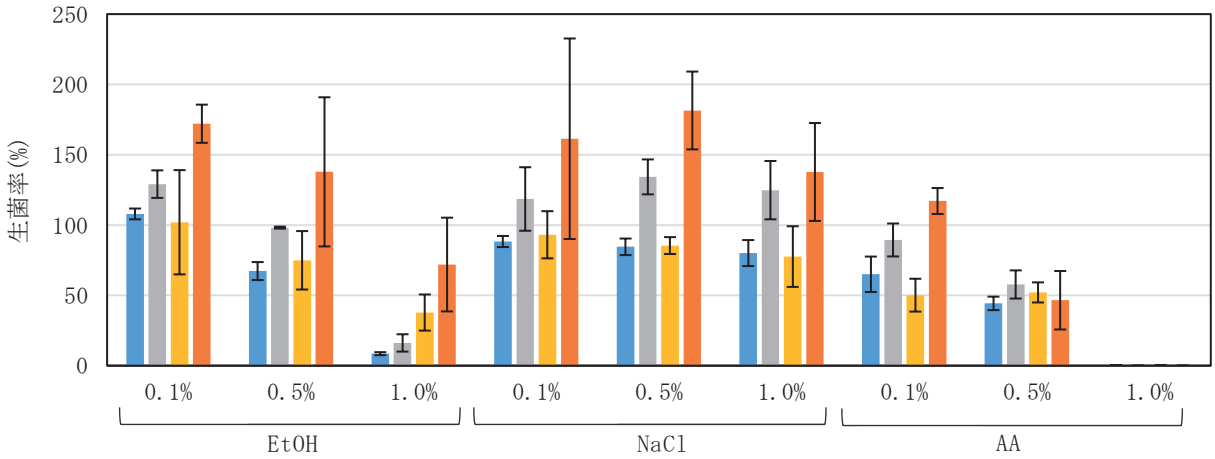


図 4　食品成分を添加した夏みかん果汁における酵母の生菌率

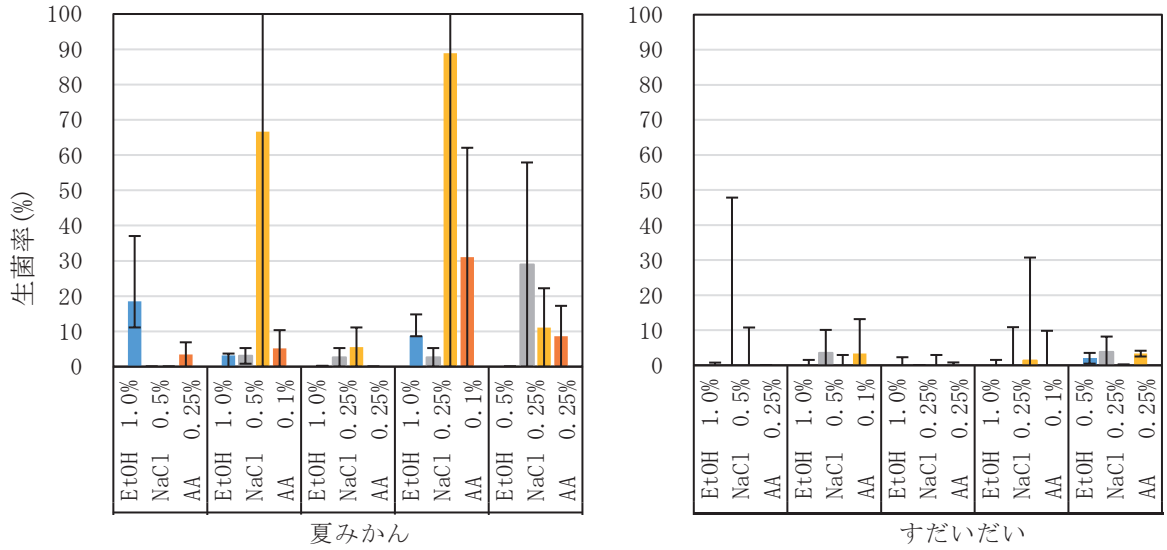


図 5　複数の食品成分を添加したカンキツ果汁における酵母の生菌率

■酵母 A ■酵母 B ■酵母 C ■酵母 D

表 2　食品成分を添加した既存ぽん酢の官能評価

| 各食品成分の添加濃度 | | 希釈倍率 | 酢酸に起因すると思われる香味について感じること | その他 |
|---|---|---|---|---|
| 酢 酸 0.1(%) | ｴﾀﾉｰﾙ 0.5(%) | 1 | 酢酸を感じる(2)※，後味に少し酸味を感じる(2)，酢酸を感じるがツンと来るほどではない | 酸味が強い，酸っぱい |
| | | 2 | 酢酸臭気になる(2)，酸味強い(2)，香や味に酢酸の違和感がある，酢酸味がややに残る気がするが果汁が勝っている，やや酢酸，特に感じない | 無添加よりさわやかに感じる，味に幅がある，カンキツの風味が感じられる(3) |
| 酢 酸 0.25(%) | ｴﾀﾉｰﾙ 0.5(%) | 1 | 酸味強い，ドレッシングみたい，酢酸味が残る(3)，酢酸を感じるがツンと来るほどではない | 酸っぱい(2)，カドのある酸味，味に違和感がある(2) |
| | | 2 | 酢酸臭強い，酸味強すぎる，やや酢酸の風味感じる(4)，果汁らしさがない，酢酸感じるが違和感はない | 酸味強い，果汁を感じるが酸味にカドがある，皮の渋味が口に残る，味に甘みやえぐ味のような違和感がある |

表 3　試作配合

| サンプル番号 | 試験区 | 冷凍(-20℃) | 酢酸(%) | ｱﾙｺｰﾙ(%) | 酸味料(%) | 汚染菌(個/130ml) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 既存ぽん酢(安息香酸ナトリウム使用) | − | − | − | 4.00 | 0 個 |
| 2 | 対照 1 | − | − | − | 4.00 | 0 個 |
| 3 | 対照 2 | − | − | − | 4.00 | 100 個 |
| 4 | 対照 3 | ○ | − | − | 4.00 | 100 個 |
| 5 | 試験区 1 | ○ | 0.10 | 0.5 | 3.90 | 100 個 |
| 6 | 試験区 2 | ○ | 0.25 | 0.5 | 3.75 | 100 個 |

※対照 1～3 は，安息香酸ナトリウムを添加していない既存ぽん酢

酢酸に起因すると考えられるマイナス評価が多かった．官能評価で使用した既存ぽん酢には酸味料が使用されており，これに酢酸を添加したため，より酸味が指摘されたとも考えられた．そのため試作においては，添加する酢酸の酸味に相当する量の酸味料を減らすこととした．

以上の結果から，食品成分を添加した試作品を既存ぽん酢と同一品質の商品として販売することは難しいものの，官能的にプラス評価される側面もあったことから，新しい技術を取り入れた新商品として，官能評価結果に基づいた表 3 の配合で試作を行った．

### ３・５　試作品の評価

28℃で保管した試作品の一般生菌数と酵母数を経時的に分析した．結果は表 4 に示すとおり，保存料を使用した既存ぽん酢と，食品成分を添加して凍結･解凍した試験区 1 及

表 4　試作品の微生物的経時変化

【一般生菌数　（1ml あたり）】

| 経過（日） | 1 | 39 | 75 | 114 | 225 | 344 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 既存ぽん酢 | 0 個 | 0 個 | 0 個 | 0 個 | 0 個 | 0 個 |
| 対照 1 | 0 個 | 0 個 | 0 個 | 0 個 | 8 個 | 0 個 |
| 対照 2 | 0 個 | 132 個 | － | － | － | － |
| 対照 3 | 0 個 | 0 個 | 0 個 | 0 個 | 0 個 | 0 個 |
| 試験区 1 | 0 個 | 0 個 | 0 個 | 0 個 | 0 個 | 0 個 |
| 試験区 2 | 0 個 | 0 個 | 0 個 | 0 個 | 0 個 | 0 個 |

【酵母　（1ml あたり）】

| 経過（日） | 1 | 39 | 75 | 114 | 225 | 344 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 既存ぽん酢 | 0 個 | 0 個 | 0 個 | 0 個 | 0 個 | 0 個 |
| 対照 1 | 0 個 | 0 個 | 0 個 | 0 個 | 0 個 | 0 個 |
| 対照 2 | 0 個 | 128 個 | － | － | － | － |
| 対照 3 | 0 個 | 0 個 | 0 個 | 1 個 | 0 個 | 0 個 |
| 試験区 1 | 0 個 | 0 個 | 0 個 | 0 個 | 0 個 | 0 個 |
| 試験区 2 | 0 個 | 0 個 | 0 個 | 0 個 | 0 個 | 0 個 |

※対照 2 については，複数の試作品に膨れなどが見られたため，39 日目で経過分析を中止した．

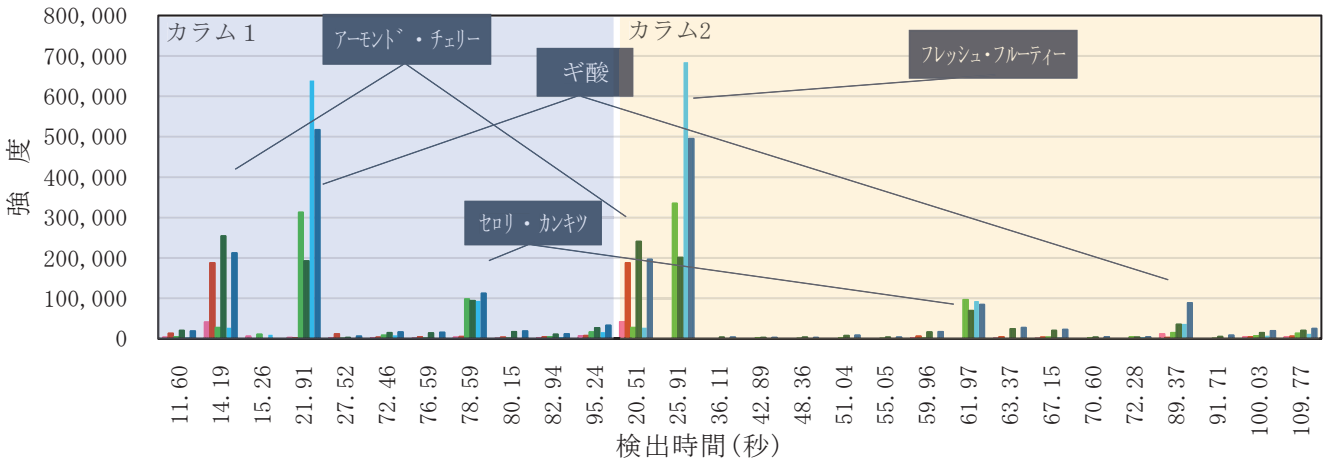


図 6　匂い識別装置で検出された成分



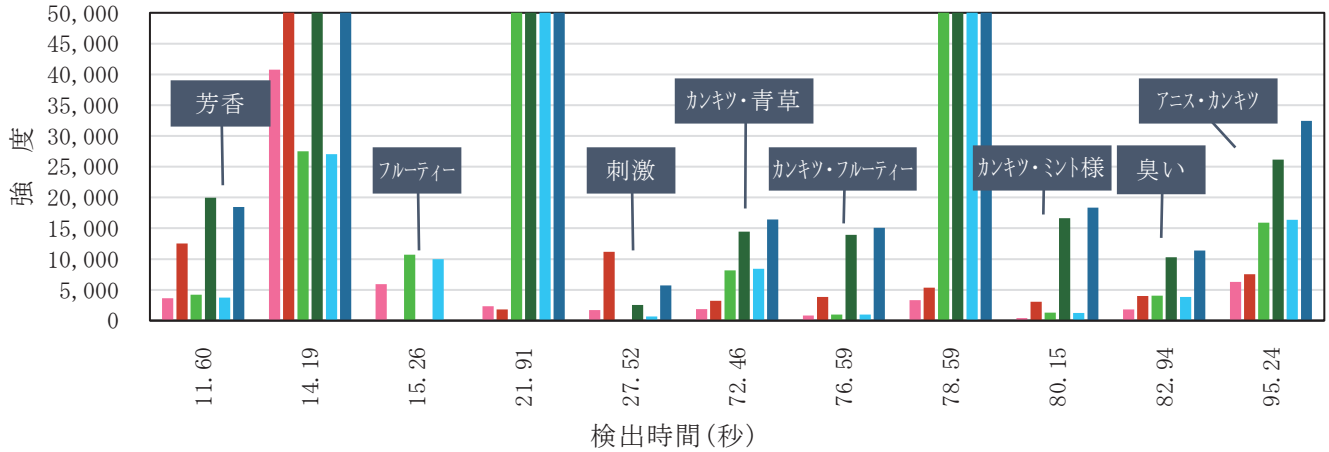


図 7　匂い識別装置のカラム 1 で検出された成分

表５　試作品の官能評価結果

| | 既存ぽん酢(基準)との差異 | 製造 344 日目に感じる差異 | 「新商品」とした場合の印象 |
|---|---|---|---|
| **既存ぽん酢（基準）** | | 熟したカンキツの香りに変化，臭い変化(硫黄系？)，さわやかさがない，金属的な味，梅酒みたいな香，香りがヤニっぽくなる，酸味は丸くなるが渋味が目立つ | |
| 試験区 1 | 酢酸の香りを感じる(3)，酢酸の味がする(3)，酢酸の香りをやや感じる，香りの質が異なる(熟した甘カンキツのよう)，刺激やエグ味がややマイルド | できたてよりも酢酸の香りを感じない(2)，熟成した香り，味に丸みが出た，やや梅干しに似た風味，マイルド | 問題ない(2)，カンキツ感が減るためいま一つ，料理用に向く，酢酸の香味が気になる |
| 試験区 2 | 酢酸の香りを感じる(2)，やや酢酸の香りを感じる(2)，全体的にまろやかに感じる(2)，酸味がやや柔らかい(2)，飲みやすい(2)，さわやか | やや酢酸の香りが強くなった，熟成した香り，味に丸みが出た，後味がマイルド，他よりも劣化度合いが小さく感じる，マイルド | 酸味のカドが取れて良い，味がマイルドで香りが重くないのでドレッシングや冷たい料理に向く，マイルドでよい，問題ない |

※マイナス評価を赤字，プラス評価を青字で記す．また，カッコ内の数字は評価をした人数を示す．

び 2 では，一般生菌及び酵母は検出されなかった．

一方，対照 1 では製造 225 日目に一般生菌，対照 2 では製造 39 日目に一般生菌と酵母，対照 3 では製造 114 日目に酵母が検出された．これらの結果から，食品成分を添加して凍結･解凍したぽん酢は保存性が向上したと推測された．

香り成分については図 6 に示すとおり，既存ぽん酢，試験区 1 及び 2 いずれにも，製造 3 日目には検出量がわずかであったアーモンドやチェリーと官能表現される成分が製造 344 日目では強く検出された．一方，ギ酸，セロリ，カンキツ，フルーティーと官能表現される成分について，既存ぽん酢では経過日数にかかわらずほとんど検出されなかったが，試験区 1 及び 2 では製造 3 日目から強く検出された．また，カラム 1 の分析結果について，検出強度を拡大した図 7 に示すとおり，フルーティーと官能表現される成分のうち製造 3 日目の試作品にしか検出されないもの(検出時間 15.26(秒))があるものの，フルーティー，芳香，カンキツなどと官能表現される多数の成分が製造 344 日目に強く検出された．

### ３・６　試作品の官能評価

試作品をイオン交換水で 2 倍希釈し，官能評価を行った．評価は既存ぽん酢との差異，製造直後と製造 344 日目に感じる差異の記述する方法とした．また試験区の試作品については，試作品を「新商品」とした場合の印象の自由記述も実施した．結果は表 5 に示すとおり，試験区の試作品いずれにも，酢酸に起因するコメントと，まろやかさに関するコメントが多かった．製造 344 日目の試作品について，既存ぽん酢には熟成とはとらえられない香りの変化(劣化)に関するコメントが散見された一方，試験区については，酢酸に起因するコメントがあるものの劣化に類するコメントが少なく，マイルド感が増すなどのプラス評価が多かった．このことについては，香り成分の分析で検出が強くなった成分の官能表現が芳香などであったことと一致していた．また，試験区の試作品を「新商品」として販売する場合の印象について，試験区 2 についてはプラス評価のコメントが多かった．

試験区 2 は試験区 1 よりも添加した食品成分(酢酸)の濃度が高く，微生物的な保存性が高いと考えられることからも実用化が期待できる．

## ４．まとめ

低ｐＨのカンキツ果汁に食品成分を添加し，凍結･解凍することで微生物の生菌率を低下させ，保存性を向上させる検討を行った．エタノール 1.0(%)添加では生菌率 50(%)と十分な効果を示さず，酢酸 1.0(%)添加では生菌率 0(%)であったものの香味へ影響が大きいと考えられた．そこで生菌率低下効果がみられ，官能的に大きな影響を与えないエタノール及び酢酸を，エタノールは 0.5(%)，酢酸は 0.1 もしくは 0.25(%)になるように混合して添加した結果，保存料を使用した既存ぽん酢と同様の微生物的推移を見せた．これらの香り成分を分析して製造 3 日目と製造 344 日目との差異を評価したところ，アーモンドやチェリーと表現される香り成分の他，芳香，フルーティー，カンキツと表現される香り成分が強く検出された．また，これら試作品を官能評価したところ，酢酸に起因する指摘はあるものの，既存ぽん酢にある香りの変化(劣化)に類するコメントは少なく，マイルド感が増すなどのコメントが見られた．このことから，食品成分を添加することにより，従来商品とは酸味が異なるがマイルド感が増し，経時的な劣化を感じにくくなる可能性が示唆された．

これらの結果から，食品成分を添加して凍結･解凍する果汁商品の製造方法は，過剰な加熱殺菌や保存料を必要とし

ない効率的な微生物制御技術であると考えられる．

## 参考文献

1）鈴木徹：食品分野における非加熱殺菌技術，㈱エヌ・ティー・エス，東京 p. 25-43(2013)．
2）土師信一郎，高野光男，芝崎勲：エタノールおよび食塩共存の凍結殺菌，食品と低温，**8**(2，3)，p. 60-66(1982)．
3）木村英生，辻政雄：加圧-冷凍処理による大腸菌群の殺菌，日本食品保蔵学会，**30**(1)，p. 23-28(2004)．
4）柳井昭二，平田考，森勝美：温州ミカン果汁における微生物の分布，日本食品工業学会誌，**33**(1)，p. 14-20(1986)．