

アサマ NEWS

パートナ

2018-11 No.187

食品の微生物変敗と 防止技術

(26) パンの微生物変敗と制御

1 パンの微生物変敗

パンのクラストの水分は32～35%でクラムの水分は40～45%と比較的多いため極めて変敗しやすい。また最近のパンのソフト化志向により焼成方法も変わり、クラストの焼きが甘く、クラムも微生物変敗し易くなっている。生地中や焙炉中でのパン酵母の発酵や挙動、細菌の増殖により風味に影響を与える。これらの発酵生産物でパンの風味に関与するものはアルコール、有機酸、エステル、カルボニル化合物であり、主としてパンの焙焼工程における風味生成の前駆物質の役割が大きい。

生地中で乳酸菌、大腸菌群による酸発酵は時間が長引くと過度に傾き、酸度の多い生地またはパンとなる。この時期にタンパク質分解酵素を産生する細菌が増殖すると生地の分解が進むためにガス保持力が低下し、粘性ある生地、不快な風味を生成する。パンにおける最も重要な変敗はカビである。カビは焙焼ですべて死滅しているが、焼き上げ後の冷却工程以降の工程で空中落下菌、器具付着菌等により二次汚染される。

カビはパンの割れ目やスライスの間より増殖する。細菌による変敗で最も重要なものは*Bacillus*によるローブ現象である。ローブ現象は*Bacillus*の変異株のきょう膜で起こり、小麦粉のグルテンが本菌で分解され、同時にアミラーゼででん粉から糖が生成してその形成を助長する。パンの微生物変敗と工場の衛生管理は重要である。

パンの種類と微生物変敗を表1に示した。変敗現象は色素生成とローブ現象であり、原因微生物はカビと細菌であった。また、微生物変敗に関与するパンの水分含量はほとんどのパンが30.0～40.0%の範囲であった。

表1 パンの種類と微生物変敗

種類	細目	微生物変敗	原因菌
食パン	白食パン	黄色、橙色	カビ <i>Aspergillus</i>
	白食パン	ローブ生成	細菌 <i>Bacillus</i>
	小麦全粒粉パン	緑色	カビ <i>Cladosporium</i>
	小麦胚芽入りパン	赤色	カビ <i>Moniliella</i>
ライ麦パン	ライ麦パン	黒色	カビ <i>Aspergillus</i>
	バターロール	ネト生成	細菌 <i>Bacillus</i>
	バターロール	ローブ生成	細菌 <i>Bacillus</i>
菓子パン	あんパン	黒色	カビ <i>Aureobacidium</i>
	クリームパン	ローブ生成	細菌 <i>Bacillus</i>
	ジャムパン	緑色	カビ <i>Cladosporium</i>
	メロンパン	黒色	カビ <i>Aspergillus</i>

2 パンの微生物変敗に関与する細菌

パンの細菌による変敗には主として*Bacillus*によるものが多いが、これらの細菌芽胞の耐熱性は極めて高いため、パンの焼成が220℃で行なわれた場合、表皮温度は155℃に達し、中心部も96℃に達して通常10分間維持されるが、焼成後のパンにも生き残ってパン内部に糸引き状の変敗を起こさせる。このローブ現象はデコレーションケーキ、ショートケーキ、パン、ブッセ等の洋菓子において多く見られ、その原因菌は*Bacillus subtilis*、*B.pumilus*、*B.megaterium*、*P.macerans*、*P.polymyxa*、*B.licheniformis*、*B.coagulans*、*B.cereus*であるとされた。この場合一定菌数以上存在して高温、多湿の条件が与えられた場合にのみローブ現象が生じる。このため製パン工場では*Bacillus*属細菌の汚染の少ない原料を使用し、酢酸、酒石酸、クエン酸、乳酸、リン酸塩等やプロピオン酸カルシウム、プロピオン酸ナトリウム等を添加してパンの冷却工程や貯蔵条件に注意を払っている場合が多い。

この時期にタンパク質分解酵素を産生する細菌が増殖すると生地の分解が進むためにガス保持力が低下し、粘性ある生地、不快な風味を生成する。細菌による変敗で最も重要なものは*Bacillus*によるローブ現象である。

生地中で乳酸菌、大腸菌群による酸発酵は時間が長引くと過度に傾き、酸度の多い生地またはパンとなる。この時期にタンパク質分解酵素を産生する細菌が増殖すると生地の分解が進むためにガス保持力が低下し、粘性ある生地、不快な風味を生成する。パンの変敗に関与する微生物は圧倒的にローブ現象に関与する細菌が多い。

細菌による変敗で最も重要なものは*Bacillus*によるローブ現象である。ローブ現象は*Bacillus*の変異株のきょう膜で起こり、小麦粉のグルテンが本菌で分解され、同時にアミラーゼででん粉から糖が生成してその形成を助長する。

ローブと呼ばれるパンの変敗は、焼き上げ後12時間以内に生ずる果物の香りで始まり、これが間もなく悪臭に変わって内部が褐色未を帯び、粘ついてくる。そして、ちぎると糸を引くようになる。ローブ現象が生じたパンおよびその原材料から微生物を分離・同定した結果、その原因菌は*B.subtilis*、*B.pumilus*、*P.macerans*、*B.licheniformis*、*B.megaterium*であった。これらの菌はいずれもローブが生成したデコレーションケーキ、ショートケーキ、ブッセおよびその原材料からも検出された。各種栄養培地およびスポンジ生地、ショートケーキ、ブッセに上記分離菌を接種した結果、いずれの場合もローブ生成およびネト生成が認められた。これらの分離細菌の増殖に及ぼすpHの影響について検討した結果、pH4.0では*B.subtilis*、*G.stearothermophilus*、*B.licheniformis*が増殖可能であった。またpH4.5では*P.macerans*、*P.polymyxa*が増殖可能であった。ローブ生成に関与する*Bacillus*が食品中で増殖すると増殖部位の水分が、9%から14%に増加

した。これは*B.subtilis*等のローブ菌はでんぷんを加水分解して水分を放つためである。パンのクラストの水分は32～35%でクラムの水分は40～45%と比較的多いために極めて変敗しやすい。また最近のパンのソフト化志向により焼成方法も変わり、クラストの焼きが甘く、クラムの微生物変敗は起り易くなっている。

また最近の洋生菓子のソフト化志向により焼成方法も変わり、クラストの焼きが甘く、クラムの微生物変敗が起り易くなっている。

生地中や焙炉中でのパン酵母の発酵や挙動、細菌の増殖により風味に影響を与える。これらの発酵生産物でパンの風味に関与するものはアルコール、有機酸、エステル、カルボニル化合物であり、主としてパンの焙焼工程における風味生成の前駆物質の役割が大きい。

ローブ菌の芽胞は耐熱性が高いために、パンの焙焼後も生存している。しかしローブ現象が生じるのは菌数がある程度以上存在して一定の条件が与えられた場合のみである。酢酸やプロピオン酸塩を使用したり、パンの冷却や貯蔵中の二次汚染を防止したり、パン生地のpHを5.0～5.5位に下げて火通りよく焼くとローブ現象は防止できる。

ローブ生成は*Bacillus*の中でも特に*B.subtilis*、*B.licheniformis*の変異株の夾膜で起こり、小麦粉のグルテンが本菌で分解され、同時にアミラーゼででんぷんから糖が生成してその形成を助長する。焙焼中においても生地の内部の温度が100℃を越えないために芽胞は死滅せず、洋菓子になってから適当な環境で発芽し増殖する。多くの場合まず異臭が生成し、変色が起こり、その後ローブや粘りが生成する。

3 パンの微生物変敗に関与するカビ

パンにおける最も重要な変敗はカビである。カビは焙焼ですべて死滅しているが、焼き上げ後の冷却工程以降の工程で空中落下菌、器具付着菌等により二次汚染される。カビはパンの割れ目やスライスの間より増殖する。

市販食パンを25℃で保存した場合、丸ごとパンはスライス食パンに比しカビ発生は遅延している。このため製パン工場ではスライス工程のカビを殺菌するために殺菌剤としてエタノール系の殺菌剤を使用して効果を上げてきた。しかし最近、全くエタノール殺菌効果のないカビが出現し、大きな問題となっている。このカビはオレンジ色の菌糸をパンの表面に密生させるものであり、生育が極めて早く、エタノールを資化する性質をもつものである。本カビは製造工程の半製品と製品のカビの汚染状況を検討した結果、*Moniliella suaverolens*と同定され、スライス工程で汚染された。

製パン工場ではエタノール系の殺菌剤が多用されてきたため*Cladosporium*、*Aspergillus*、*Penicillium*が抑制されてエタノールに極めて耐性の強い本カビが優先的に増殖してきた。全くエタノールに殺菌効果のないカビが出現し、大きな問題となっている。そこで本菌の増殖を抑制するためには他のカビの生育も大きく関係するので全くエタノールを工場殺菌剤として使用していない製パン工場のカビを検討した。

パンの変敗に関与するカビは黒色斑点及び緑色斑点に関与する*Aspergillus*、*Penicillium*、*Cladosporium*が圧倒的に多い。

また最近、ガス置換包装、真空包装、脱酸素剤及びエタノール製剤使用包装が普及するに伴い、また防腐剤としてエタノールが用いられるようになってきてからオレンジ色斑点生成と異臭生成問題が多発するようになってきた。工場殺菌剤としてエタノールを長年使用してため、エタノールを資化するカビによる変敗が多発している。

オレンジ色斑点生成はエタノール資化性カビ*Moniliella suaverolens*に起因し、オレンジ色斑点が生成した食品は必ず製

造工程でエタノールが関与している。

パンに生育するカビは焼成後に付着したカビに起因するものであり、その汚染源は空気中に浮遊する胞子のほか、工場では作業員の手や衣服、菓子やパンを乗せるラック、スライサー、パン運搬用バン等である。このため製菓及び製パン工場ではこれらのカビを殺菌するために工場殺菌剤としてエタノール系の殺菌剤を使用して効果をあげてきた。しかし近年全くエタノールに殺菌効果のないカビや酵母が出現し、大きな問題となっている。このうちカビは赤褐色からオレンジ色の菌糸をパンの表面に密生させるものであり、生育は極めて速く、エタノール資化性を持つ菌である。

カビは耐熱性に弱く、青カビの胞子は82℃、10分で、赤カビの胞子では70℃、10分で死滅する。オーブンを出たパンは冷却工程に入るが、三斤棒食パンで約90分、パンの中心部温度40℃に冷却する。このコンベアー上の冷却工程でカビの二次汚染を受ける。パンより検出されたカビの種類を表2に示した。

食パンを常温で保存した場合、丸ごとの食パンはスライス食パンに比べてカビの発生は遅延している。丸ごと食パンとスライス食パンとも水分活性はバラツキがあるものの0.95～0.98であった。しかしながら丸ごと食パンの表面の水分活性値は全体の値より低い値である。このため微生物の生育がスライス食パンよりも抑制され、かつ好乾性の*Eurotium*の生育が起こる。スライス食パンでは工場スライスと店頭スライスではカビの発生時期に差異がある。その原因としては工場内の包装場所と販売店の空気中のカビの量に差異があることに起因する。他のカビの汚染の原因としては従業員の手指、スライサーの刃がある。

表2 パンより検出されるカビの種類

カビの種類
<i>Mucor mucedo</i> , <i>Rhizopus nigricans</i> , <i>Neurospora sitophila</i> ,
<i>Aspergillus glaucus</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Moniliella suaverolens</i>
<i>Penicillium crysogenum</i> , <i>Penicillium notatum</i> , <i>Penicillium glaucum</i>
<i>Oidium aurantiacum</i> , <i>Aureobacidium pullulans</i> ,
<i>Cladosporium herbarum</i> , <i>Cladosporium cladosporioides</i> ,
<i>Paracolobacterium aerogenoides</i> , <i>Alternaria alternata</i> ,
<i>Eurotium repens</i>

4 パン工場のオゾンとエチルアルコールを併用殺菌

オゾンはわが国では食品製造用剤として既存食品添加物リストに挙げられてきたが、米国食品医薬品局（FDA）において食品の貯蔵および製造に殺菌剤としてオゾンガス及びオゾン水を用いることが1997年6月に食品の殺菌剤として安全性に問題がないGRAS（一般安全認定）に分類され、2001年6月26日に食品添加物として安全であるとされた。このことよりわが国においても食品へのオゾンの利用が拡大している。食品原材料や加工設備の殺菌洗浄にエチルアルコール等の殺菌剤が長期間、大量に使用されてきた結果、エチルアルコールの資化性菌（*Moniliella suaverolens*、*Wickerhamomyces anomalus*）の生成及び耐性菌の出現が認められるようになってきた。そこでエチルアルコールの量を減らしてオゾンと併用するシステムが開発されてきた。

業界で多く採用されている方法は二つある。一つは食品原材料や環境をオゾン水で処理後に比較的低濃度エチルアルコール

(10～60%)で処理する方法である。この場合は大腸菌や大腸菌群が多い食品原材料や環境処理に効果がある。

オゾン水によりグラム陰性菌である大腸菌等が死滅し、有機物が洗浄除去されるためにその後のエチルアルコールでその他の菌を殺菌することができると同時に残存するエチルアルコールにより殺菌力が持続される。

二つ目は比較的高濃度のエチルアルコール(60～80%)で処理後、オゾン水で処理する方法である。エチルアルコールでグラム陽性菌や真菌を殺菌後に、残存するエチルアルコール及び生成するアルコール臭をオゾン水で洗浄除去するとともに残存する大腸菌等のグラム陰性菌を殺菌する。この使用法は食品原材料の微生物の種類及び製造工場の環境微生物の種類により使い分けられる。

食パン工場のカビの微生物管理を要約すると以下になる。

食パン工場の空中浮遊カビを測定した結果、各工程から検出されるカビの菌数は異なったが、菌叢はほぼ同じであった。スライス工程に最も多く、次いで第2発酵工程、包装工程であった。いずれの工程でも *Cladosporium* が最も多く、次いで *Aspergillus*、*Penicillium*、*Aureobaculum*、*Alternaria*、*Wallemia* が検出された。

空中浮遊カビの最も多く検出されたスライス工程の床、壁、側溝、スライサー、ラックの付着カビを測定した結果、床、壁、側溝からは $1.4 \times 10^2 \sim 3.8 \times 10^2/100\text{cm}^2$ のカビが検出された。スライサーの各部分からは *Cladosporium*、*Aspergillus*、*Penicillium* が検出された。第2発酵工程の床、壁、棚、コンベアーの上の付着カビを測定した結果、工場内の床、壁、棚からは $5.7 \times 10^2 \sim 2.6 \times 10^3/100\text{cm}^2$ のカビが検出された。コンベアーの上からは *Cladosporium*、*Aspergillus*、*Penicillium* のいずれのカビも $6.4 \times 10 \sim 4.3 \times 10^2/100\text{cm}^2$ のカビが検出された。なお *Moniliella* は第2発酵工程の棚より検出された。

中種発酵終了後の生地に $7.1 \times 10^2/\text{g}$ のカビが検出され、分割、丸目、成型、第2発酵で 1.5×10^3 、 3.4×10^3 、 7.3×10^3 、 $8.2 \times 10^3/\text{g}$ となった。

製造工程より検出された *Cladosporium*、*Aspergillus*、*Penicillium*、*Aureobaculum*、*Moniliella* のオゾン水殺菌効果について検討した。オゾン水濃度1、5、8、10、15ppmで1分から10分間処理を行った結果、いずれの菌株に対しても同様の殺菌効果を示した。*Cladosporium* はオゾン水濃度15ppmでは、1分間、5分間、10分間処理ではほぼ完全に死滅した。

文献

- 1) 内藤茂三、関啓数、水野隆二：食パンから分離したエタノール耐性カビの生育性状と汚染源、日本食品微生物学会誌、17、181-197 (2000)
- 2) 内藤茂三：製パン工場のカビ汚染と食パンのカビ変敗、愛知学泉大学・短期大学紀要 45、33-39 (2010)
- 3) 内藤茂三：『改定増補食品の変敗微生物—その原因菌と制御—』、幸書房 (2017)
- 4) 内藤茂三：『増補食品とオゾンの科学—微生物的原因とその制御』、建帛社 (2018)

(内藤茂三 食品・微生物研究所)

ウェルシュ菌による食中毒

2013～2017年までの最近5年間の食中毒事件は、約5000件、患者10万人ですので、毎年約1000件、約2万人の患者数が報告されています。ウェルシュ菌による食中毒は、年平均25件程度で多くはありませんが、1件当たりの平均患者数は52人で他の原因物質に比べて一番多くなっています。特に、大量の調理をする給食施設での食中毒が多いため、「給食病」と呼ばれることもあります。

原因物質	2013～2017		
	事件	患者	患者/事件
ノロウイルス	1,670	57,947	35
カンピロバクター	1,510	11,120	7
アニサキス	648	669	1
サルモネラ属菌	159	5,106	32
ぶどう球菌	146	3,584	25
ウェルシュ菌	123	6,409	52
腸管出血性大腸菌	86	1,447	17
腸炎ビブリオ	37	772	21
セレウス菌	34	400	12
その他	849	12,137	
計	5,262	99,591	19

【実はとても身近な存在「ウェルシュ菌」】 腸内細菌の1割？

ヒトの腸管内には、100～3000種、100～1000兆個の腸内細菌が住み着いており、約1.5～2kgに相当すると言われています。年齢や食べ物によって、腸内細菌の種類や量は変わりますが、一般的に約1割がウェルシュ菌の仲間であるクロストリジウムが占めています。つまり皆さんの「ウンチ」の1割はウェルシュ菌の仲間とその死骸なのです。腸内細菌の代名詞のように思われている大腸菌は、本当は0.1%にも満たない存在です。

このように、ウェルシュ菌は、ヒトや動物の腸管内、土壌や水中などにいる身近な細菌です。酸素のあるところが嫌いな細菌(嫌気性菌)で、環境が悪くなると芽胞という固い殻を作って身を守ります。ウェルシュ菌そのものは、熱に弱いのですが、芽胞は100℃で数時間加熱しても死滅しません。この芽胞は、加熱後、まわりの温度が下がって50℃位になると発芽始めて、45℃前後で最もよく増殖します。皆さんの体温は36℃、お風呂が38～42℃ですので、お風呂より熱い環境が好きなのと変わった細菌です。45℃前後では増殖も速く10分に1回分裂するので、2、4、8、16、32、64と増えてゆき、3時間を超えると図1のように爆発的に細菌数が増殖します。

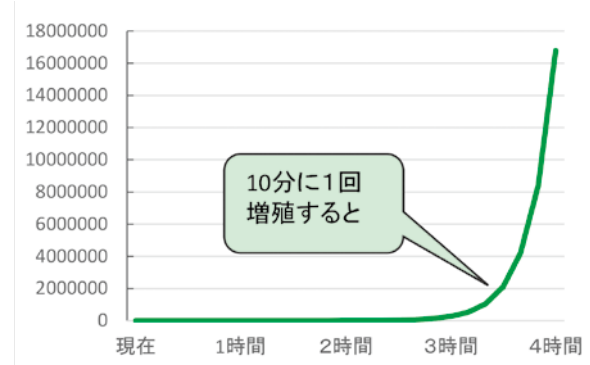


図1 ウェルシュ菌の増殖

【食中毒を起こすウェルシュ菌】

通常のウェルシュ菌は食中毒の原因にはなりませんが、中には芽胞を作る時に毒素(エンテロトキシン)を産生するウェルシュ菌がいます。

カレーを例にしてみましょう！ウェルシュ菌の付いた鶏肉でカレーを作ります。通常のウェルシュ菌は加熱で死んでしましますが、芽胞は残っています。そのまま放冷すると、芽胞が50℃で発芽始めて増殖します。カレーは作った日より、一晩寝かせた翌日が美味しいとも言われていますが、もし3時間以上も適温に放置すると、数百万個/g以上のウェルシュ菌が増殖して、一部は芽胞を形成してしまいます。

翌日、このカレーを再加熱して食べるのですが、しっかり加

