

食品保存へのオゾンの利用に関する研究 (第37報) 菓子に生育する糸状菌とオゾン水殺菌

内藤茂三

カステラ、バウムクーヘン、蒸しケーキ、マロンケーキ、タマゴケーキ等の洋菓子類、どら焼き、大福餅、蒸し饅頭類は、25～40%の水分を含む中間水分食品に属し、糸状菌の生育による品質低下を招きやすい。このため、包装したのち蒸気やマイクロ波による殺菌を行ったり、脱酸素剤使用包装、炭酸ガス置換包装、炭酸ガス窒素ガス混合置換包装、エチルアルコール製剤添加包装等種々の技術が採用され、保存性を高めている。最近、これらの技術が採用されているにもかかわらず、糸状菌による変敗が多発してきた。例えば、蒸気やマイクロ波処理を行っているにもかかわらず蒸し饅頭やカステラに生育する糸状菌、脱酸素剤を使用しているにもかかわらずカステラやバウムクーヘンに生育する糸状菌、炭酸ガスや炭酸ガスと窒素ガス混合置換包装をしているにもかかわらず饅頭やカステラに生育する糸状菌、エチルアルコール製剤使用包装をしているにもかかわらず蒸しケーキやマロンケーキに生育する糸状菌が多発してきた。

これらの水分25～40%の菓子類に生育する糸状菌の種類は、菓子の種類、菓子の水分活性、工場の浮遊菌や落下菌の種類、包装条件により著しく異なる。

そこで、今回、水分25～40%の菓子類の糸状菌による変敗を防止する目的として、市販品の菓子類について、生育糸状菌の種類と菌数及び現在最も変敗の多い *Cladosporium* 属糸状菌の性質について検討を行った。また、同時に *Cladosporium* 属糸状菌のオゾン水による殺菌効果についても検討したので報告する。

実験方法

1. 試料及び調製法

試料は、バウムクーヘン（脱酸素剤入）、カステラ（脱酸素剤入）、マロンケーキ（アルコール製剤入）、蒸しケーキ（アルコール製剤入）、大福餅（アルコール製剤入）、タマゴケーキ（アルコール製剤入）、どら焼き（脱酸素剤入）の市販正常製品及び糸状菌の発生製品を用いた。

タマゴケーキについては製造メーカーに依頼して、脱酸素剤（T社製）又はアルコール製剤（F社製）を封入

した製造直後の製品を試料とした。

2. 糸状菌の検出及び分離・同定

試料表面に生育したコロニーを肉眼的に計測するとともに、ポテトデキストロース寒天培地（PDA寒天培地）に釣菌して糸状菌の分離・同定を行った。糸状菌の同定は小笠原¹⁾の方法、長谷川²⁾の方法により同定した。

3. 生育最適温度及び胞子の発芽時間の測定

生育最適温度は、分離菌をPDA寒天平板培地に接種し、15、20、25、28、30、37℃の各温度で培養して判定した。

胞子の発芽時間は、胞子懸濁液をPDA寒天平板培地に接種し、25℃で培養し、80%以上発芽するまでに要する時間を顕微鏡観察によって測定した。

4. *Cladosporium* 属糸状菌の生育に及ぼすオゾン水の影響

Cladosporium 属糸状菌の胞子の調製は、前培養した糸状菌をPDA寒天平板培地に塗抹し、25℃、6日間培養した後、滅菌水で胞子を集菌し、冷却遠心分離機で洗浄して調製した。用いた糸状菌は分離した菌株以外に標準菌株として *Cladosporium herbarum* IFO 6374、*Cladosporium cladosporioides* IFO 6348を用いた。

オゾン水の製造は、無菌充填装置（三菱重工業（株）製、APB-Y1）のオゾン水製造ユニットを用いた。本装置は高濃度のオゾン水を製造するために、酸素ポンプより無声放電方式でオゾンが発生させ、オゾン溶解器を用いてオゾン水を製造する方式である。

オゾン水99mlと糸状菌懸濁液1mlを一定時間反応させ、反応終了後はブイヨン液9mlに反応液1mlを入れてオゾンを分解した。

なお使用したオゾン水濃度は1、5、10ppmであり、処理時間は1、5、10分で行った。

使用したオゾン水のpHとORP（酸化還元電位）を表1に示した。

5. オゾン水濃度の測定

オゾン水の濃度はオゾン水濃度計（東亜電波（株）製、OZ-20）により測定した。

表1 オゾン水の pH と ORP

オゾン水濃度 (ppm)	pH	ORP
0.5	6.05	955
1.0	5.93	957
1.5	5.80	960
2.0	5.65	963
2.5	5.35	965
3.0	5.20	970
3.5	5.00	980
4.0	4.95	985
5.0	4.81	1000
7.0	4.65	1030
10.0	4.37	1055

6. pH 値の測定

pH 値の測定は pH メーター ((株)日立堀場製, F-7 型) に pH 電極 ((株)日立堀場製, 6366-10D) を用いて行った。

7. ORP の測定

ORP は pH メーター ((株)日立堀場製, F-7 型) に金属電極 ((株)日立堀場製, 6861-10C) を用いて測定した。

8. 糖度 (Brix) の測定

糖度の測定はデジタル屈折計 ((株)アタゴ製, RX-1000) を用いて行った。

9. 水分活性の測定

水分活性の測定は, 25℃ で水分活性測定器 (ロトリック(株)製, ハイグロスコープ DT) を用いて行った。

10. 水分の測定

水分の測定は 70℃, 50mmHg, 5 時間の減圧乾燥法により行った。

実験結果

1. 菓子の糸状菌

糸状菌の生育したバウムクーヘン(脱酸素剤入), カステラ(脱酸素剤入), マロンケーキ(アルコール製剤入), 蒸しケーキ(アルコール製剤入), 大福餅(アルコール製剤入), タマゴケーキ(脱酸素剤入), どら焼(脱酸素剤入)の市販製品の糸状菌の種類と菌数を表2に示した。表3はこれらの菓子類の市販正常製品の水分含量, 水分活性, pH, 糖濃度, 細菌数, 酵母菌数, 糸状菌数を示した。水分含量が20%以下で水分活性の低いバウムクーヘンは *Wallemia*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, 水分含量が26%のカステラでは, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Wallemia*, 水分含量が28%のマロンケーキでは *Aspergillus*, *Cladosporium*, 水分含量が42%の蒸しケーキでは *Cladosporium*, *Moniliella*, 水分含量が40%の大福餅では *Cladosporium*, *Wallemia*, *Moniliella*, 水分含量が27%のタマゴケーキでは *Cladosporium*, 水分含量が32%のどら焼では *Cladosporium*, *Wallemia* が多く検出された。これらの検出された糸状菌の種類は菓子の種類により若干差異があるが, すべての製品より *Cladosporium* が検出されたことより工場の落下菌が大きく影響していると考えられる。

今回供試した菓子類は脱酸素剤又はアルコール製剤を使用しているため低酸素量で生育できる種類の多い

表2 糸状菌が生育した市販菓子類の糸状菌の種類と菌数

	菌 数 (/g)						
	バウムクーヘン	カステラ	マロンケーキ	どら焼	蒸しケーキ	タマゴケーキ	大福餅
<i>Asp. oryzae</i>	2						
<i>Asp. niger</i>	21	121					
<i>Asp. ruber</i>			76				
<i>Asp. restrictus</i>		3					
<i>Asp. spp</i>		12	21	8	10	10	
<i>Pen. cyclopium</i>							32
<i>Pen. expansum</i>							2
<i>Pen. spp.</i>						2	
<i>Clado. herbarum</i>	86	76	131	35			
<i>Clado. cladosporioides</i>					112	95	25
<i>Wallemia sebi</i>	189	32		106			106
<i>Moniliella suaveolens</i>					52		

Asp.: *Aspergillus*, *Pen.*: *Penicillium*, *Clado.*: *Cladosporium*

表3 供試市販菓子類の主要成分組成と菌数

菓子類	水分 (%)	水分活性*	pH	糖濃度 (Brix%)	細菌数 (/g)	酵母菌数 (/g)	糸状菌数 (/g)
バウムクーヘン	18	0.88	6.21	63.8	3.7×10^3	300以下	300以下
カステラ	26	0.90	6.34	61.3	5.1×10^3	300以下	300以下
マロンケーキ	28	0.92	6.15	54.0	8.1×10^2	300以下	300以下
蒸しケーキ	42	0.94	6.20	52.1	4.0×10^3	300以下	300以下
大福餅	40	0.95	6.21	62.4	5.1×10^3	300以下	300以下
タマゴケーキ	27	0.90	5.68	64.3	5.2×10^3	300以下	300以下
どら焼	32	0.93	7.70	60.0	5.4×10^4	300以下	300以下

*: 水分活性測定器を用いて25℃で測定

表4 菓子類から分離した糸状菌の最適生育温度

温度(℃)	糸状菌
15	<i>Penicillium cyclopium</i> <i>Aspergillus ruber</i>
20	<i>Penicillium expansum</i> <i>Penicillium spp.</i>
25	<i>Cladosporium herbarum</i> , <i>Cladosporium cladosporioides</i> <i>Wallemia sebi</i> , <i>Moniliella suaveolens</i> , <i>Aspergillus restrictus</i>
28	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus oryzae</i> , <i>Aspergillus spp.</i>
30, 37	なし

表5 市販菓子類から分離した糸状菌の発芽時間

糸状菌	発芽時間(時間)
<i>Aspergillus oryzae</i>	12~15
<i>Aspergillus niger</i>	15~18
<i>Aspergillus ruber</i>	17~20
<i>Aspergillus restrictus</i>	17~20
<i>Aspergillus spp.</i>	12~15
<i>Penicillium cyclopium</i>	10~12
<i>Penicillium expansum</i>	10~12
<i>Penicillium spp.</i>	10~12
<i>Cladosporium herbarum</i>	15~20
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	15~20
<i>Wallemia sebi</i>	17~20
<i>Moniliella suaveolens</i>	15~18

ポテトデキストロス寒天培地上での生育

*Aspergillus*³⁾, *Cladosporium*³⁾, *Wallemia*⁴⁾ やアルコールを資化する *Moniliella*⁵⁾ が多く認められた。

2. 分離糸状菌の最適生育温度及び胞子の発芽時間

供試した菓子類から分離した糸状菌の最適生育温度を表4に示した。15℃で最適生育を示すものには *Penicillium cyclopium*, *Aspergillus ruber* があり, 20℃では *Penicillium expansum*, *Penicillium spp.* があつた。一般に, 最適生育温度25℃の糸状菌種が多く, 今回分離した糸状菌種では, *Cladosporium herbarum*, *Cladosporium cladosporioides*, *Wallemia sebi*, *Moniliella suaveolens*, *Aspergillus restrictus* があつた。また28℃で最適生育を示したのは *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus spp.* があつた。

表5に各糸状菌胞子の発芽時間を示した。PDA寒天平板培地では, 発芽時間の早い菌種は *Penicillium cyclopium*, *Penicillium expansum*, *Penicillium spp.* の10~12時間であり, 遅いもので *Aspergillus ruber*, *Aspergillus restrictus*, *Wallemia sebi* の17~20時間であつた。

また *Cladosporium herbarum*, *Cladosporium cladosporioides* の発芽時間は15~20時間であり, 比較的遅いことを認めた。しかし, おおむね24時間以内にはほとんどの菌で発芽が見られた。

3. *Cladosporium* 属糸状菌の性質

Cladosporium 属糸状菌は, 供試した製品全てから検

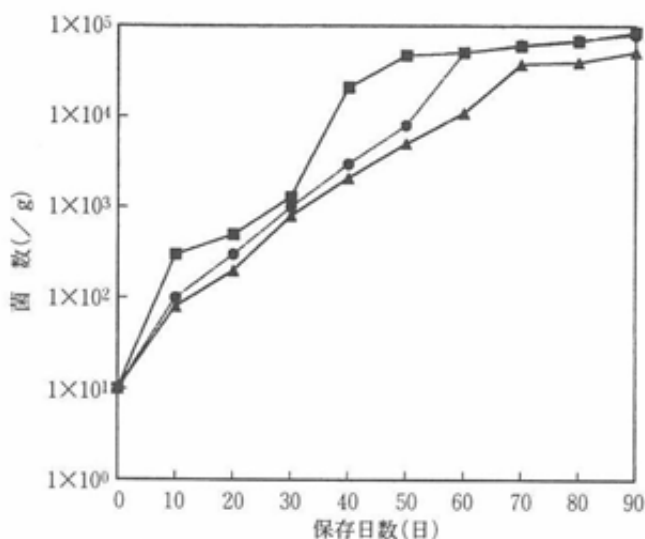


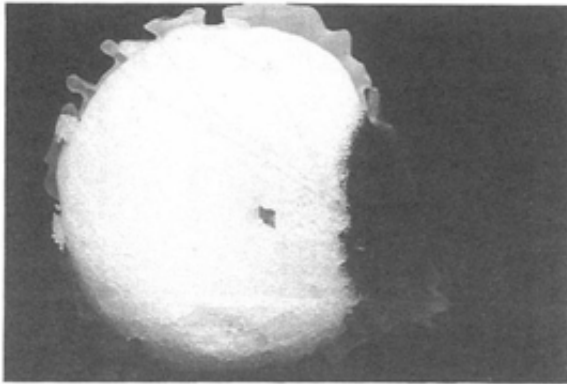
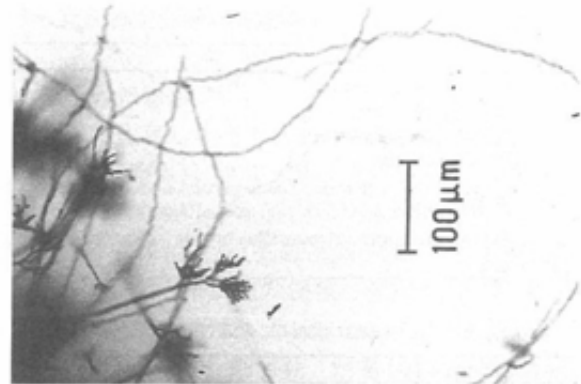
図1 蒸しケーキ保存中における *Cladosporium cladosporioides* の変化

保存温度: 25℃
 ■: 対照
 ●: 脱酸素剤
 ▲: アルコール製剤

出された。つまり, 脱酸素剤使用包装及びアルコール製剤使用包装のいずれの製品からも検出された。また, 今回検出された *Cladosporium* 属糸状菌は2種類あり, 1つは *Cladosporium herbarum* (No. 1: パウムクーヘン, No. 2: カステラ, No. 3: マロンケーキ, No. 4: どちら焼から分離) であり, 他方は *Cladosporium cladosporioides* (No. 5: 蒸しケーキ, No. 6: タマゴケーキ, No. 7: 大福餅から分離) であつた。 *Cladosporium* 属糸状菌は一般的に多くの食品工場の落下菌として検出されている。

そこで脱酸素剤又はアルコール製剤を封入した蒸しケーキを25℃で3か月保存して *Cladosporium cladosporioides* の生育状況を検討した結果を図1に示した。本菌が蒸しケーキ上で肉眼的に計測出来るのは対照区で40日後(菌数: 2.1×10^4 / g), 脱酸素剤使用区で60日後(菌数: 5.1×10^3 / g), アルコール製剤使用区で70日後(菌数: 3.8×10^4 / g)であつた。汚染される *Cladosporium* 属糸状菌数が少ないためと生育が遅いために肉眼的に糸状菌の発生が認められるのに長期間を要し, 通常では問題となる場合は少ない。長期間貯蔵されたもののみ *Cladosporium* 属糸状菌の発生が認められる場合が多い。蒸しケーキに生育した *Cladosporium cladosporioides* の状況を写真1に示した。

分離した2種類の *Cladosporium* 属糸状菌の形態的性質を表6に示した。パウムクーヘン, カステラ, マロンケーキ, どちら焼より分離した *Cladosporium herbarum* は

写真1 蒸しケーキに生育した *Cladosporium cladosporioides* の光学顕微鏡写真写真2 マロンケーキより分離した *Cladosporium herbarum* (No. 3) の光学顕微鏡写真

形態的にはほぼ一致した。蒸しケーキ、タマゴケーキ、大福餅より分離した *Cladosporium cladosporioides* も形態的にはほぼ一致した。マロンケーキより分離した *Cladosporium herbarum* の顕微鏡写真を写真2に、蒸しケーキより分離した *Cladosporium cladosporioides* の顕微鏡写真を写真3に示した。

4. *Cladosporium* 属糸状菌のオゾン水殺菌

分離した2種類の *Cladosporium* 属糸状菌とこれらの標準菌株を用いてオゾン水殺菌効果について検討した。

バウムクーヘンより分離した *Cladosporium herbarum* 胞子と *Cladosporium herbarum* IFO 6374胞子のオゾン水による殺菌効果について検討した結果をそれぞれ図2、図3に示した。いずれの菌株もオゾン水濃度1ppm、1～10分間処理ではほとんど菌数は減少せず、5ppm、1分間処理で約1/100となり、さらに、処理時間を

写真3 蒸しケーキに生育した *Cladosporium cladosporioides* (No. 5) の光学顕微鏡写真

5、10分間に延長しても菌数はほとんど変化しなかった。しかしオゾン水濃度10ppmでは1分間処理で完全に死滅した。

表6 分離した *Cladosporium* 属糸状菌の形態的性質

		<i>Cladosporium herbarum</i> (No. 1, No. 2, No. 3, No. 4)	<i>Cladosporium cladosporioides</i> (No. 5, No. 6, No. 7)
寒天培地上での性質			
顕微鏡的観察	麦芽寒天培地 生育	かなり遅い、ビロード状、粉状 オレンジ緑色、暗緑色 コロニーの裏面は緑色を帯びた黒色	かなり遅い、 灰緑色、暗緑色 コロニーの裏面は緑を帯びた黒色
	気生菌糸 菌糸層の色	高さ1～2cm 淡黒緑色	高さ1～2cm 濃黒緑色から黒色
顕微鏡的観察	分生子柄	菌糸から側生、または先端に生じる 褐色、またはオレンジ褐色、滑面、 分岐した連鎖となり、楕円形で両端 が丸い円筒形で褐色、明確ないぼ状、 突出した分離痕がある。	菌糸から側生、または先端に生 じる灰緑色、または淡黄褐色、 滑面で分岐した連鎖となりいぼ 状となる。
	分生子	長い、単細胞もあるが2～多細胞 いぼ状	求頂的に分岐する連鎖となって 形成、大部分は単細胞、楕円形 からレモン形でいぼ状

No. 1: バウムクーヘンより分離, No. 2: カステラより分離, No. 3: マロンケーキより分離, No. 4: どら焼より分離,
No. 5: 蒸しケーキより分離, No. 6: タマゴケーキより分離, No. 7: 大福餅より分離

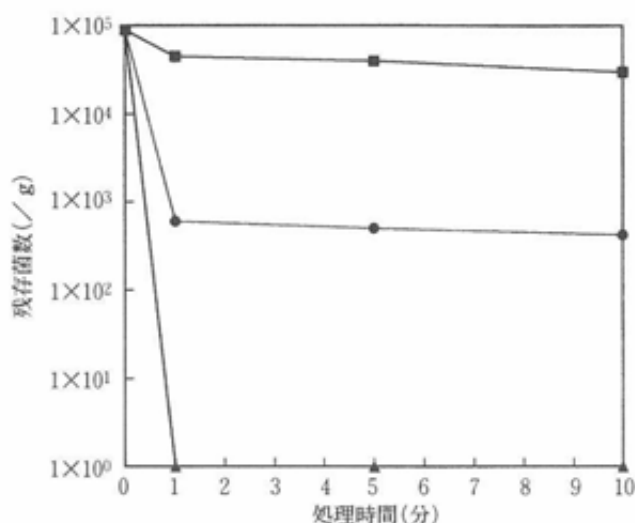


図2 バウムクーヘンより分離した *Cladosporium herbarum* 孢子のオゾン水殺菌

オゾン水濃度 ■ : 1 ppm
● : 5 ppm
▲ : 10 ppm

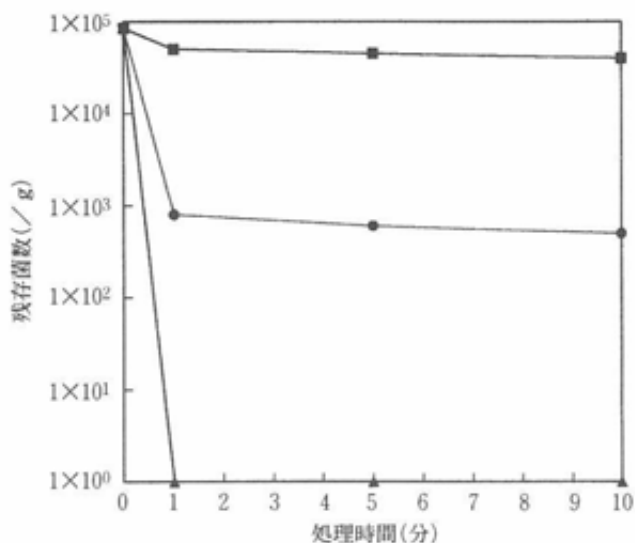


図3 *Cladosporium herbarum* IFO6374孢子のオゾン水殺菌

オゾン水濃度 ■ : 1 ppm
● : 5 ppm
▲ : 10 ppm

バウムクーヘンより分離した *Cladosporium herbarum* 孢子のオゾン水処理におけるオゾン濃度の変化を検討した結果を図4に示した。

その結果、1 ppm オゾン水では60秒間処理で、5 ppm オゾン水では240秒間処理で完全に分解した。しかし、10 ppm オゾン水では120秒間で2 ppm となりさらに処理時間を300秒まで延長しても変化は少なく、約20分では完全に分解した。

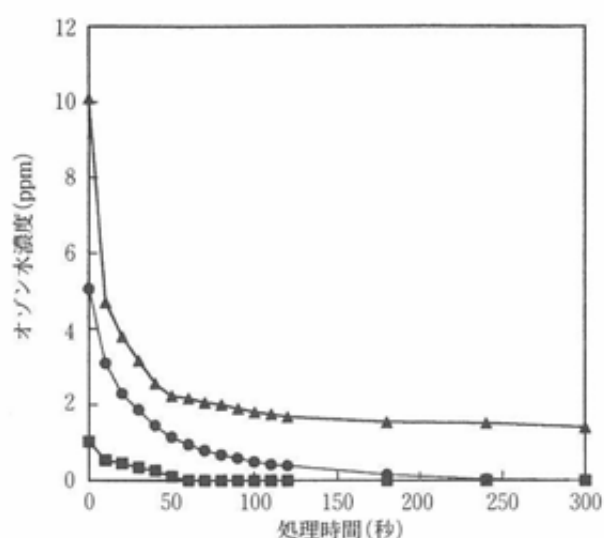


図4 バウムクーヘンより分離した *Cladosporium herbarum* 孢子のオゾン水処理におけるオゾン濃度の変化

オゾン水濃度 ■ : 1 ppm
● : 5 ppm
▲ : 10 ppm

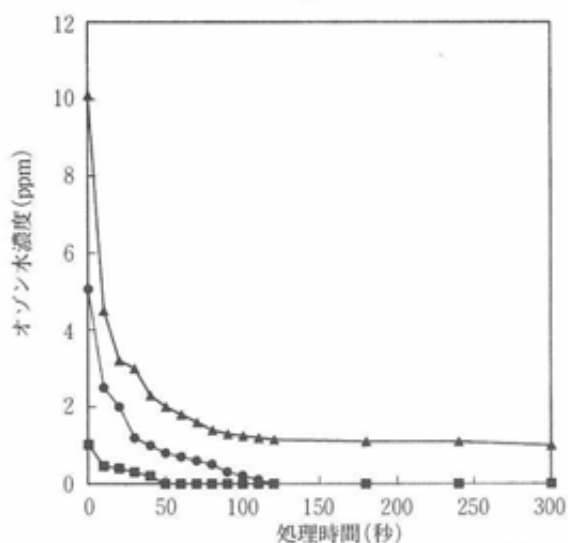


図5 *Cladosporium herbarum* IFO6374孢子のオゾン水処理におけるオゾン濃度の変化

オゾン水濃度 ■ : 1 ppm
● : 5 ppm
▲ : 10 ppm

Cladosporium herbarum IFO 6374孢子のオゾン水処理におけるオゾン濃度の変化について検討した結果を図5に示した。

その結果、1 ppm オゾン水では50秒間処理で、5 ppm オゾン水では120秒処理で完全に分解した。しかし、10 ppm オゾン水では90秒間で1.8 ppm となりさらに処理時間を300秒まで延長しても変化は少なく、約20分では完全に分解した。

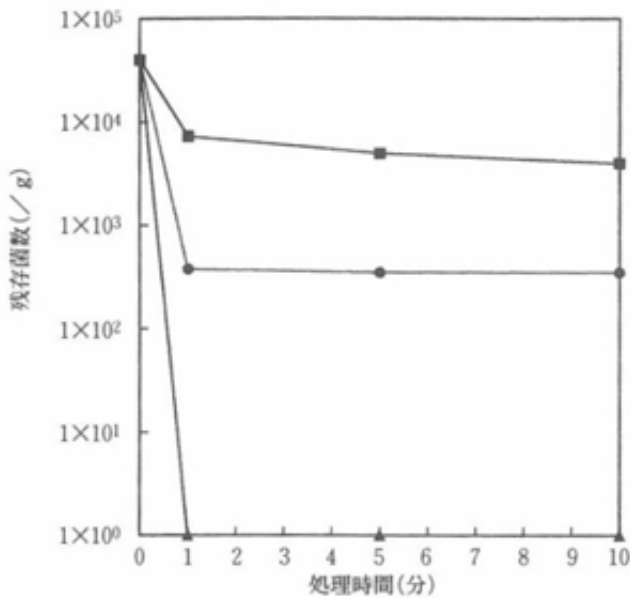


図6 蒸しケーキより分離した *Cladosporium cladosporioides* 胞子のオゾン水殺菌

オゾン水濃度 ■: 1 ppm
●: 5 ppm
▲: 10 ppm

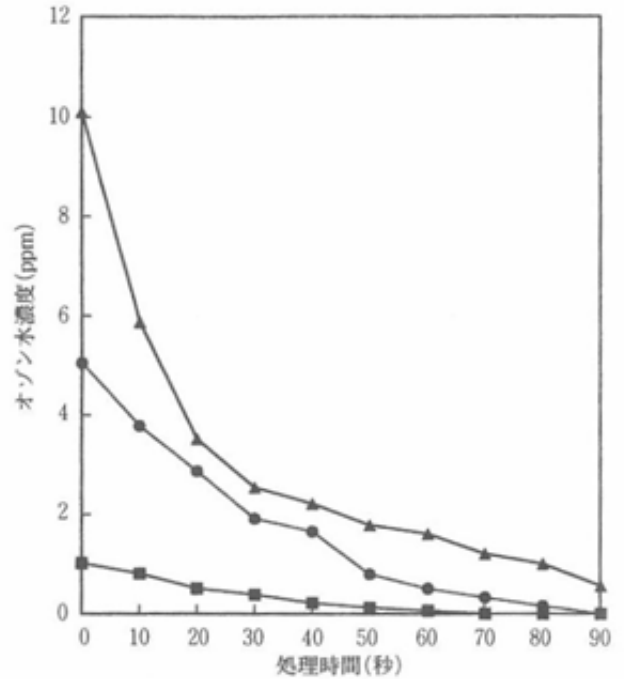


図8 蒸しケーキより分離した *Cladosporium cladosporioides* 胞子のオゾン水処理におけるオゾン濃度の変化

オゾン水濃度 ■: 1 ppm
●: 5 ppm
▲: 10 ppm

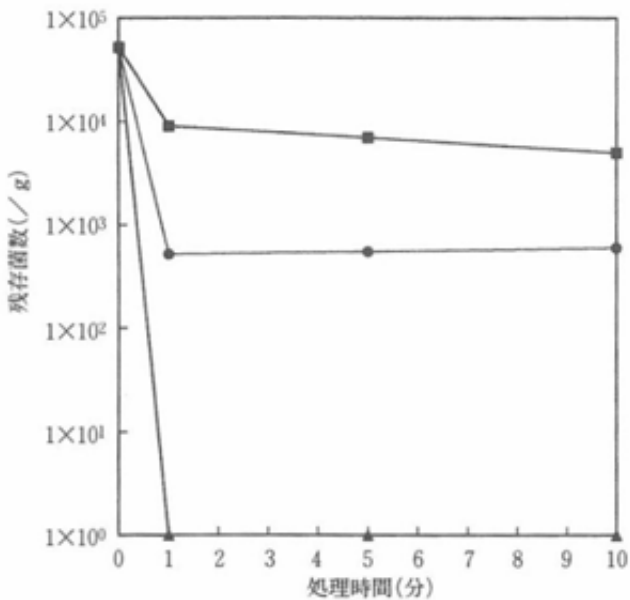


図7 *Cladosporium cladosporioides* IFO6348胞子のオゾン水殺菌

オゾン水濃度 ■: 1 ppm
●: 5 ppm
▲: 10 ppm

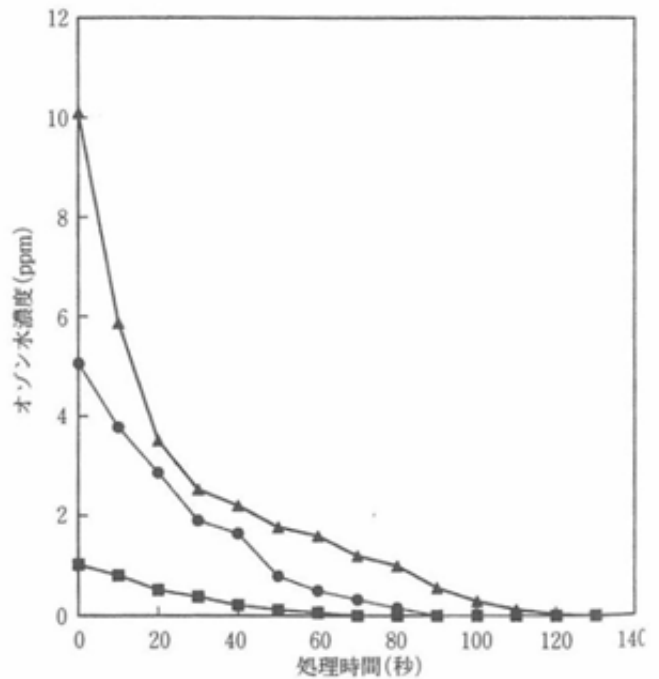


図9 *Cladosporium cladosporioides* IFO 6348胞子のオゾン水処理におけるオゾン濃度の変化

オゾン水濃度 ■: 1 ppm
●: 5 ppm
▲: 10 ppm

蒸しケーキより分離した *Cladosporium cladosporioides* 胞子と *Cladosporium cladosporioides* IFO 6348 胞子のオゾン水による殺菌効果について検討した結果をそれぞれ図6、図7に示した。いずれの菌株もオゾン水濃度1.0ppm、1分間処理で約1/10となり、さらに処理時間を5、10分間に延長してもほとんど菌数は減少せず、5ppm、1分間処理で約1/100となりさらに処理時間を5、10分間に延長しても菌数はほとんど変化しなかった。しかしオゾン水濃度10ppmでは1分間処理で完全に死滅した。

蒸しケーキより分離した *Cladosporium cladosporioides* 胞子のオゾン水処理におけるオゾン濃度の変化を検討した結果を図8に示した。その結果、1ppm オゾン水では70秒間処理で、5ppm オゾン水では90秒間処理で、10ppm オゾン水では120秒間で完全に分解した。*Cladosporium cladosporioides* IFO 6348 胞子とオゾン水処理におけるオゾン濃度の変化について検討した結果を図9に示した。

その結果、1ppm オゾン水では60秒間処理で、5ppm オゾン水では90秒間処理で、10ppm オゾン水では120秒間で完全に分解した。

考 察

生菓子とは、食品衛生法で「製造直後で水分40%以上含むもの（ただし、あん、クリーム、ジャム、寒天またはこれに類するものを用いたものにあつては、製造直後において水分30%以上含むもの）をいう。」と定義されている。その水分含量から、腐敗しやすいものであることは容易に知ることができるが、一般に水分20%以上の菓子類は、環境条件によって微生物汚染や変質を起こしやすいものとして知られている。

このため水分20%以上になると微生物汚染が起こりやすく、生菓子に準じた品質管理が必要となる。そのため、いくつかの自治体では水分10~40%のものを半生菓子と規定し、具体的には「製造直後において、水分10%以上40%未満のもの（ただし、あん、クリーム、ジャムなどを用いたものにあつては、30%以上のものを除く）をいう。」としている。

しかも半生菓子類は、生菓子類のようにおむね購入当日に消費されるものとは異なり、脱酸素剤やアルコール製剤を封入した包装形態で進物用、接客用として流通し、消費者の手に渡ってから数日から2週間程度保持される場合もあり、微生物汚染による変敗、特に糸状菌に

よる変敗が多発している。

今回、糸状菌による変敗を生じた菓子類はいずれも半生菓子に属し、いずれも比較的長期間貯蔵流通するものであるため糸状菌による汚染が大きな問題となっている。

従来は脱酸素剤やアルコール製剤を使用していれば糸状菌の発生は防止することができた。しかし、最近では食品の水分含量の増加（溶存酸素の増大）、食品の流通期間の延長、糸状菌の種類の変化等により脱酸素剤やアルコール製剤を使用しても糸状菌の変敗が多発している。現在までに脱酸素剤を使用して糸状菌による変敗が認められた食品として、今回の変敗製品を除いて鶯餅⁶⁾、桜餅⁶⁾、草餅⁶⁾、上用饅頭⁶⁾、田舎饅頭⁶⁾、大島饅頭⁶⁾、大福餅⁶⁾、酒もと饅頭⁶⁾、栗饅頭⁷⁾、ホットケーキ⁷⁾、クリームホン⁷⁾、クリームロール⁷⁾、ワッフル⁷⁾、棹物菓子⁷⁾等がある。またアルコール製剤を使用して糸状菌による変敗が認められた食品として蒸しケーキ⁵⁾、チーズ蒸しパン⁷⁾、ロールカステラ⁷⁾、チョコレートケーキ⁷⁾等がある。

脱酸素剤使用包装菓子類で生育し、変敗原因となる糸状菌は圧倒的に *Cladosporium* が多く、続いて *Wallemia*、*Aspergillus* が多い。

アルコール使用包装菓子類で生育し、変敗原因となる糸状菌は *Moniliella*、*Cladosporium*、*Aspergillus* が多い。これらの糸状菌は種類が多く、製造工場の環境に適応して生育し、菓子類に汚染して生育する。糸状菌が低温域によく生育し、食品を変敗させることは経験的によく知られている。冷蔵庫などの低温環境や食品工場の落下・浮遊菌として普通にみられ、建物の天井、床、壁面に発生し、白色から黒褐色を呈する。食品においても数多く発見され、変敗原因菌となっている場合があるが、その大部分は食品製造工場及び保存中における2次汚染菌である場合が多い。主変敗原因菌は *Penicillium*、*Mucor*、*Rhizopus*、*Cladosporium*、*Phoma*、*Aspergillus* が圧倒的に多く、食品工場の空中浮遊菌として普通にみられる⁸⁾。菓子類に汚染したこれらの糸状菌のうちその環境に適応できる菌株のみ生育可能であるため、脱酸素剤やアルコール製剤を使用した菓子類の糸状菌の変敗にはかなりの時間がかかり、短期間では糸状菌による変敗は生じない。今回、すべての試料より検出された *Cladosporium* 属糸状菌は、もともと土壤に多く分布し、空中、穀類や果実等の食品原材料より普通に分離されている。

また工場内浮遊微生物と機械器具等の付着微生物が問題となるが、浮遊微生物は製造工場の構造、周囲の環境

との関係、工場内清掃状態等によっても異なる。また機械器具については、作業終了ごとに清掃を行うほか、加熱殺菌可能な器具類については殺菌を実施することが必要である。浮遊微生物と機械器具の汚染は常に相関しているが、それを排除する方法としては、拭き取り、薬剤散布、紫外線照射、オゾン殺菌等が考えられる。

拭き取りは、付着微生物については効果を示すが、浮遊微生物の排除は不可能であり、薬剤散布はいずれに対しても効果を示すが、室内や機械器具に付着残留することにより、使用する薬剤に制約があるため、十分な効果が期待できない。紫外線照射は、照射部分には効果があるが、影の部分には透過力がないため効果を示さない欠点がある。オゾンガス殺菌では、オゾンは人体に影響があるため、作業時間外に処理し、作業時までにはオゾンガスを排除することが必要となる。また洋菓子工場の殺菌にオゾンガスを用い、空中浮遊菌の変化について検討した結果、大腸菌群と酵母は顕著に減少するが、糸状菌の変化は少ないことを報告した⁹⁾。

そこで今回高濃度のオゾン水を用いて糸状菌、特に *Cladosporium* 属糸状菌について殺菌効果を検討した結果、*Cladosporium herbarum* はバウムクーヘンより分離した菌株及び標準菌株のいずれもオゾン水濃度 1 ppm ではほとんど菌数は減少せず、5 ppm、1 分間処理で約 1/100 に減少し、10 ppm、1 分間処理により完全に死滅した。いずれの濃度のオゾン水においても処理時間の影響は少なく、1 分間処理でも 10 分間処理でも同じ効果であった。これはオゾン水処理によるオゾンの分解が極めて速いためであると考えられる。

また *Cladosporium cladosporioides* は蒸しケーキより分離した菌株及び標準菌株のいずれもオゾン水濃度 1 ppm では約 1/10 に減少し、5 ppm、1 分間処理で約 1/100 に減少し、10 ppm、1 分間処理により完全に死滅した。*Cladosporium herbarum* と同様にいずれの濃度のオゾン水においても処理時間の影響は少なく、1 分間処理でも 10 分間処理でも同じ効果であった。これはオゾン水処理によるオゾンの分解が極めて速いためであると考えられる。

Cladosporium herbarum は 10 ppm オゾン水処理後 20 分間まで残留オゾンが認められたが、*Cladosporium cladosporioides* は 10 ppm オゾン水処理後 1 分間で完全に分解した。このことは *Cladosporium herbarum* と *Cladosporium cladosporioides* は形態的な差異があるため、この差異がオゾンとの反応性速度の差異となったものと考えられる。しかし残留オゾン濃度が低いために殺

菌に及ぼす影響は少ないと考えられる。

要 約

市販されたバウムクーヘン (脱酸素剤入)、カステラ (脱酸素剤入)、マロンケーキ (アルコール製剤入)、蒸しケーキ (アルコール製剤入)、大福餅 (アルコール製剤入)、タマゴケーキ (アルコール製剤入)、どら焼 (脱酸素剤入) に生育する糸状菌の種類について検討し、分離菌の最適生育温度、胞子の発芽時間の測定を行った。さらに分離した *Cladosporium* 属糸状菌のオゾン水殺菌を行い、以下の結果を得た。

- 1) バウムクーヘンは *Wallemia*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, カステラでは *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Wallemia*, マロンケーキでは *Aspergillus*, *Cladosporium*, 蒸しケーキでは *Cladosporium*, *Moniliella*, 大福餅では *Cladosporium*, *Wallemia*, *Moniliella*, タマゴケーキでは *Cladosporium*, どら焼では *Cladosporium*, *Wallemia* が多く検出された。
- 2) 供試した菓子類から分離した糸状菌の最適生育温度を検討した結果、一般的に *Cladosporium*, *Wallemia*, *Penicillium* は低い温度で生育し、*Moniliella*, *Aspergillus* は比較的高い温度で生育することが認められた。
- 3) 分離した糸状菌胞子の発芽時間を検討した結果、PDA 寒天平板培地では、速いもので 12~15 時間、おおむね 24 時間以内にはほとんどの菌で発芽が見られた。すなわち *Penicillium*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Aspergillus* などは比較的速く発芽し、*Cladosporium*, *Wallemia* などは一般に遅く発芽する傾向が見られた。
- 4) 脱酸素剤又はアルコール製剤を封入したタマゴケーキを 25℃ で 3 か月保存して *Cladosporium cladosporioides* の生育状況を検討した結果、本菌がタマゴケーキ上で肉眼的に計測出来るのは対照区で 42 日後 (菌数: $2.1 \times 10^4 / g$)、脱酸素剤使用区で 56 日後 (菌数: $5.1 \times 10^4 / g$)、アルコール製剤使用区で 70 日後 (菌数: $3.8 \times 10^4 / g$) であった。
- 5) バウムクーヘンより分離した *Cladosporium herbarum*, *Cladosporium herbarum* IFO 6374 の標準菌株を用いてオゾン水殺菌効果を検討した結果いずれの菌株もオゾン水濃度 1 ppm ではほとんど菌数は減少せず、5 ppm、1 分間処理で 1/100 に、10 ppm、1 分間処理で完全に死滅した。蒸しケーキより分離した *Cladosporium cladosporioides*,

Cladosporium cladosporioides IFO 6348の標準菌株を用いてオゾン水殺菌効果について検討した結果、いずれの菌株もオゾン水濃度 1 ppm, 1 分間処理で 1/10, 5 ppm, 1 分間処理で 1/100, 10ppm, 1 分間処理で完全に死滅した。

文 献

- 1) 小笠原和夫：カビの科学, (株)地人書院, p.61 (1984)
- 2) 長谷川武治編著：微生物の分類と同定, (株)学会出版センター, p.27 (1984)
- 3) 内藤茂三：愛知食品工技年報, 29, 50 (1988)
- 4) 内藤茂三：愛知食品工技年報, 25, 51 (1984)
- 5) 内藤茂三：愛知食品工技年報, 34, 68 (1993)
- 6) 内藤茂三ら：包装研究, 6, (2), 9 (1986)
- 7) 内藤茂三：未発表
- 8) 内藤茂三：食品の腐敗変敗防止ハンドブック, (株)サイエンスフォーラム, p.101 (1996)
- 9) 内藤茂三：防菌防黴, 17, 483 (1989)