

5. 文献

1. 「醤油及びソースの腸管病原菌に対する殺菌効果について」

秋葉朝一郎、氏家冬深、横山 繁：調味科学、4、(4)、1 (1957)

醤油 5 種及びソース 1 種のもつ殺菌効果を一般腸管病原細菌(大腸菌、赤痢菌、コレラ菌、チフス菌、パラチフスA及びB菌、腸炎菌の各 1 種)と好塩性孢子形成菌(枯草菌及び炭疽菌の各 1 種)との両者を対象として実験比較検討し、おおよそ次の知見を得た。1)使用した醤油及びソースはすべて一般腸管病原細菌に対して相当の殺菌効果を持つ。その効果の大きさは接触細菌の多少等の条件によりかなり大幅に変化する。また製品ではソース>普通醤油>試製>火入>生>新式2号生醤油の順に効果あり、菌株の抵抗性はパラチフスB菌、赤痢菌、腸炎菌>大腸菌、チフス菌、パラチフスA菌>コレラ菌の順に大きい。2)醤油及びソースのもつ殺菌効果に関しては、その酸性と含有食塩による浸透圧の両者が最重要の共通因子である。また普通市販醤油に添加される防黴剤パラオキシ安息香酸ブチルにも、かなり効果が認められるが、試醸醤油に添加される Sodium benzoate の効果は添加濃度において微弱である。3)好塩性孢子形成菌(枯草菌及び炭疽菌)は醤油及びソース中において、その増殖型は比較的速やかに死滅するが、その孢子型は、長期間生存し得るものと考えられる。

2. 「醤油中における細菌の殺菌除菌並びに保存について」

芳賀 宏：醸協、66、1034 (1971)

近年、製品醤油中の細菌が醤油利用加工食品の保存上から問題視されてきた。これらの細菌は *Bacillus subtilis* であり、醤油中では芽胞菌として生存している。この *Bacillus subtilis* は各工場により異なり、多いもので 10^{5-6} 、少ないもので 10^{1-2} 存在している。この *Bacillus subtilis* の工場による差は各工場の環境、原料処理、製麹技術等によって生ずるようであり、この芽胞菌が製品醤油中に多く存在する場合は加工食品の変質、日保ち等が悪くなるので近年醤油を加工する場合注意が必要とされてきた。

この芽胞菌は 120°C 以上の殺菌温度でなければ完全な殺菌はできない。しかし、醤油の品質上からして現在においては 80 から 85°C の火入殺菌温度でなければ品質を保持することができず、従ってこれらの芽胞菌は当然醤油に存在することになる。この醤油中の残存芽胞菌もろ過助剤の適切なる利用により除菌操作を行えば 10^1 台までの除菌できるが完全なる無菌醤油は得られない。従ってこれら醤油中の残存芽胞菌を最小限少なくするために、原料の完全なる殺菌処理、無菌種麹の使用、製麹における抑制、仕込み食塩水の殺菌、除菌、仕込み容器の清潔、工場の衛生環境などの種々の混入汚染を防止してはじめて芽胞菌が少なくなることになる。

3. 「微生物による醤油の変質とその対策について」

花岡嘉夫：醬研、2、221 (1976)

醤油に増殖し変質の原因となる微生物、醤油の保存性、醤油に関する微生物の熱死滅条件、醤油の保存方法、醤油に添加が許可されている保存料などの安全性、その他の問題について解説した。その中で醤油に関与する微生物(乳酸菌、細菌孢子)の熱死滅条件、孢子の死滅曲線など参照されたい。

4. 「調味食品の殺菌力に関する研究(第1報)醤油の殺菌力について(その1)」

山本 泰、森谷悌治、辻原輝明：醬研、4、101 (1978)

醤油の成分と殺菌力の関係を明らかにする目的で、微生物汚染の目やすとなりうる *Escherichia coli* 及び *Staphylococcus aureus* を用いて醤油に含まれる諸成分の殺菌力について実験を行った。2)これらの細菌類に対する基準醤油の殺菌力は添加菌数により完全殺菌に至る時間に大差があり、10/ml 添加で4~6時間、10/ml 添加で24~48時間、10/ml 添加で5~7日間を要した。3)10/ml を用いて各成分の殺菌力を試験した結果、醤油の殺菌力は醤油に含まれる高濃度食塩が必須因子、pH・アルコールが補足因子となっており、これに高窒素やその他のファクターが関与して総合的に生ずるものであることが明らかになった。

5. 「調味食品の殺菌力に関する研究(第2報)醤油の殺菌力について(その2)」

山本 泰、森谷悌治、辻原輝明：醬研、4、130 (1978)

パラオキシ安息香酸ブチル(POBB)を添加した醤油では極めて急速に生菌数が減少し、醤油の殺菌力に大きな影響を及ぼしていることが確認された。POBB は殺菌力に関して18%食塩水と相乗効果を示し、POBB の添加醤油の殺菌力が強力となることを認めた。醤油の殺菌力は温度と関係が深く、10℃ではほとんどその作用は認められないが、高温ほど強力に作用する。市販醤油は食塩含量がほとんど一定であり、食塩以外の殺菌力に影響を及ぼす諸成分の濃度が高いほど強力である傾向であった。

6. 「調味料中における数種病原および食中毒菌の生存期間について」

清水利貞、鈴木一良、出川 昭：日食工誌、26、71 (1979)

調味料中における腸内菌並びに病原菌の生育を比較検討するため数種類の菌株について、食塩水、砂糖水、食酢及び醤油中の菌の生存期間を調べた。1)好塩菌は他の菌に比較して著しく相違し、食塩を与えない蒸留水中では10~30分以上生存し得ないが、2~5%の食塩中では非常に安定で、7日経ってもなお生存しており、それ以上の濃度になるに従って急速に生存日数が短くなる。一方砂糖水中では低濃度でも生存不可能であった。2)好塩菌以外の菌についての観察を総括すると、①各菌ともおおむね同じような傾向を示すが、そのうち、*Preteus* 菌に多少の相違が見受けられる。*Preteus* 菌は食塩水4~10%の濃度において最も生存期間が長く、砂糖水5~15%の濃度で逆に最も生存期間が短い。②しかし一般的に被病原菌並びに食中毒菌は食塩水より砂糖水において安定であり、中でも *Staphylococcus*24 と *Salmonella*87 は高濃度の砂糖水で生存し続けることがわかった。③食酢中では5分、醤油中では24時間経てばすべて生存しない。

7. 「火入れ条件に関する研究(第1報)濃口醤油の火入れ温度について」

高島正一、神田繁男：醬研、5、200 (1980)

醤油の火入れの目的は①火香の調整、②清澄性の増進、③殺菌、④各種酵素の失活、⑤色沢の調整に集約される。今日の多様化した醤油の実情と、市販醤油の特徴を観察して火入れの再検討を行った。その結果1)全窒素分1.45~1.60%程度の濃口醤油の火香を着生するには、85℃達温、80℃3時間程度の液温保持が望ましい。2)火香着生の分岐点となる温度は、約70℃である。3)各種酵素の失活を十分に果たし、調味料としての利用性に富んだ濃口醤油の火入温度は、85℃を下限とする。4)蓋を用いてアルコール揮散防止を図った木桶と、鉄製内面ホーロー引きの密閉タンクでは、火入おり下げ中の自然放冷温度変化に大きな差がある。容量10kl程のものでは、液温が40℃に達するまでの積算温度比は100:60となった。5)温度条件が高くなれば、必然的に色沢規制範囲を考えるべきである。6)本

醸造特級規格やこれに近い品質の醤油は、温度如何でかなり広範囲の色沢調整が可能である。7)醤油の火入れ工程には、人為的な強制冷却方式も取り入れ、達温時の温度から冷却仕上がりに至る温度と時間の組み合わせを十分研究する必要がある。

8. 「しょうゆに含まれる細菌胞子の加熱殺菌について」

山本 泰、小林伸吉、好井久雄：醬研、6、19 (1980)

しょうゆに含まれる細菌胞子は通常の 80℃前後の火入れ条件では死滅せず、無菌しょうゆを得るためには 100℃以上の加熱条件が必要である。実施する上では高温短時間殺菌のできる設備と技術が必要であり、これらの設備を持たない企業では無菌しょうゆを製造することはできない。そこでしょうゆを予め変化させた後低温殺菌を試みたところ細菌胞子の熱抵抗性は pH の低下及びアルコールの添加によって著しく弱まり、87℃加熱で無菌しょうゆが得られる条件を設定することができた。

9. 「醤油の防黴力価推定方法について」

山下清志：醬研、10、16 (1984)

食塩水希釈法により醤油の防黴力価を推定する方法を検討した。安息香酸 Na、全窒素、食塩、アルコール、酢酸濃度と防黴力価の間に高い正の相関関係が認められた。防黴成分と安息香酸 Na 濃度を比較すると、全窒素 1%(1.1%以上)は安息香酸 Na 0.385 mg/ml に、食塩 1%(16%以上)は安息香酸 Na 0.068 mg/ml に、アルコール 1%は安息香酸 Na 0.270 mg/ml に、また酢酸 1%は安息香酸 Na 濃度より求めた安息香酸 Na 換算値の合計値と防黴力価の間には $r=0.963$ という相関関係が認められた。これらの濃度により、防黴力値を推定できることがわかった。

10. 「醤油製造工程に存在する Bacillus 属細菌について」

関根一男、重田徹右：醬研、13、149 (1987)

製品醤油中の芽胞子細菌として、*Bacillus subtilis* が特に高い頻度で出現することを突き止め、その原因について検討した。製造工程から分離した 110 株の芽胞子細菌を同定したところ、*Bacillus subtilis* がその大部分を占め、僅かに火入れおり区分から他の菌種も若干認められた。分離した代表的な株により製麹条件における増殖性を比較したところ、蒸豆中では *Bacillus subtilis* 552 が他の菌種に比較して高い増殖率を示した。火入れ条件によって芽胞子細菌の増殖に差があり、麹菌を十分に生育させた後、手入れを行なうことによって芽胞子細菌を低く抑えられた。諸味工程経過後の芽胞子残存率は、*Bacillus subtilis* 552 で 0.7~1.5%に対し、他の菌種はいずれも 0.02~0.30%と低い値であった。

11. 「Bacillus subtilis 胞子の耐熱性について」

篠原伸雄：味噌の科学と技術、36、(10)、376 (1988)

味噌から分離した *Bacillus subtilis* 胞子の中で最も耐熱性を有する菌株を選定し、リン酸緩衝液及び pH・食塩濃度を変化させた味噌エキス溶液中での 100℃以上で死滅するための温度と時間の条件を求めた。その結果は、胞子懸濁液中の生残胞子数を D 値(細菌数を 1/10 に減少させるに要する時間、分)として現した。1)リン酸緩衝液中(pH 7.0)では、 $D_{102}=34.0$ (分)、 $D_{105}=18.6$ (分)、 $D_{108}=10.0$ (分)、 $D_{111}=6.1$ (分)、 $D_{115}=2.0$ (分)であった。2)D 値は味噌エキス溶液中では pH 7 付近が最も大きく、それよりも酸性側で小さくなった。また、食塩濃度 1%及び 5%では差はみられないが 10%以上で小さく

なった。3)細菌胞子の死滅に及ぼす加熱温度の効果は、食塩よりも pH の低下が有効であると思われた。

12. 「高温瞬間火入れによる無菌醤油の製法について」

斎藤伸生：醸協、84、162 (1989)

醤油の加工食品への用途が拡大している。最近の傾向として、食品添加物を使用しない方向に向かい、さらに佃煮や漬物では製品の色は淡く、塩分は少ないものが要求されている。このようなことは保存性の低下は避けられない。佃煮や漬物の腐敗の原因となる微生物は *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Micrococcus* 等、通常の詰殺菌程度で死滅する非孢子形成細菌と、*Bacillus*, *Crostoridium* に属する 100~110℃、10 分程度の熱殺菌で処理しなければ死滅しない孢子形成細菌とに分けられ、後者は製品の品質保持上より製品の高温加熱によって死滅させることは不可能と考えられる。これらのことより無菌醤油製造法を完成させ、以下に示す。醤油原液を急速に加熱して、60~70℃で 40 分以上保持しておりを発生させるか、或いは醤油原液を加熱して、この一部を 60℃以上に加熱して、これを原液に戻す循環火入れにより醤油原液の温度を 60~70℃とした後、5 分以上保持しておりを発生させ、次いで 80℃以上で 2 分以上加熱したものを常温まで冷却した後、珪藻土を助剤として濾過し細菌胞子数を 10²以下とし、同時におりを除去した後さらに 100℃以上 5 分以内で高温瞬間殺菌を行ない、醤油の加熱による不要の着色を防止しながら 2 次おり発生因子を析出除去するとともに含有する細菌胞子を完全に死滅させる無菌醤油の製造法である。

13. 「食品の腐敗変敗防止対策ハンドブック、第Ⅷ節 醤油・つゆ」

横山 勉：サイエンスフォーラム編、食品の腐敗変敗防止対策ハンドブック P.407 (1996)

食品成分の中で、微生物の生育に影響を与える重要な要素として pH、食塩分、Aw(水分活性)がある。醤油及びつゆの一般的な微生物の生育範囲を表に示す。高濃度の塩分、低い Aw 及び各種成分により、醤油は高い抗菌性を持っている。大腸菌などの一般的な微生物は比較的短時間で死滅するため、醤油に食物を漬け込んで保存することが行なわれている。例外は *Zygosaccharomyces* 属、*Torulopsis* 属の耐塩性酵母である。特に前者は(以下単に酵母という)の発生頻度が高く、醤油表面に膜を形成しながら生育する。これらの酵母は醸造にかかわる酵母と同種で、不快臭や有害物質は生産しない。従って腐敗という言葉は適当でないが、未開封の製品における生育は許されない。

以下、特に芽胞子細菌については特別な操作を行わない場合、製品の醤油には麴に由来する *Bacillus* 属細菌の芽胞が含まれることが多い。通常の状態では塩分が高いため芽胞が問題になることはない。ただし醤油を原料とした加工品では塩分が低くなるため芽胞が発芽し生育を開始することがある。したがって加工用醤油では芽胞はゼロであることが求められている。芽胞を殺菌するには一般に 100℃以上(110~120℃数秒)の温度が必要になる。成分値の調整(アルコール 3%、pH4.4)により、100℃以下の比較的短い時間(数分~30 分)で殺菌可能であることが報告されている。

この要約では芽胞子細菌の説明に留めたが、腐敗変敗形態とメカニズムや鮮度保持技術、対策システム、などについて解説されている。

14. 「醤油関連調味料における微生物学的安全性評価法について」

中村成寿、鈴木暁子、小早川知子、築山良一、篠部恭三、西山健治：醬研、23、1 (1997)

液体調味料の微生物に対する安全性を評価する方法について検討した。1)調味料の Aw を成分値から推測するため、平衡重量測定法で求めた調味料 100 品目の Aw と成分値(ブリックス、食塩、アメコ

ール)との間の重回帰分析を行い、($r=0.9830$ 、 $(SE)=0.0089$)の良好な式($[Aw] = -0.00311 \times [\text{ブ
リックス}] - 0.00724 \times [\text{食塩}] + 0.00677 \times [\text{アルコール}] + 1.03529$)を得た。本式の評価を重回帰
分析に未使用の調味料 100 品目で行ったところ($r=0.9810$ 、 $(SE)=0.0098$)となり、式から算出した Aw
の値が平衡重量測定法で求めた値の代わりに十分適用できることが示された。2)調味料 130 種類に微
生物 5 菌株(*Aspergillus oryzae*、*Zygosaccharomyces rouxii*、*Lactobacillus sp.*、*Staphylococcus
aureus*、*Bacillus subtilis*) を個々に摂取し、増殖試験を行った。増殖の有無を(Aw と食塩)、(Aw
と pH)、(Aw とアルコール)、(Aw と酢酸)の 4 グラフ上にプロットし、菌株毎に増殖可能・不可能領
域に区分した微生物の増殖領域図を作成した。3)試作段階の調味料の成分値(Aw、食塩、pH、アルコ
ール、酢酸)と微生物の増殖領域図から、微生物に対する安全性を迅速に評価できた。実証のため、増
殖試験を行ったところ評価通りの結果が得られた。

15. 「Reduction of Escherichia coli O157 : H7 Populations in Soy Sauce, a Fermented Seasoning」

SUSUMU MASUDA, YUKICO HARA-KUDO, and SUSUMU KUMAGAI : Journal of Food Protection, 61, 657 (1998)

16. 「醤油及び醤油構成成分中における腸管出血性大腸菌 O157 : H7 の消長」

増田 進、工藤由紀子、熊谷 進 : 醤研、24、275 (1998)

醤油に腸管出血性大腸菌 O157:H7 を添加し、醤油の大腸菌 O157:H7 に対する効果を検討した。30℃ 静置保存の条件ではすべてのサンプルについて、9 日間で菌数が検出限界以下となり、殺菌効果があった。醤油の大腸菌 O157:H7 に対する殺菌効果は温度依存的であり、18℃ではその効果は弱く、4℃の温度条件下では大腸菌 O157:H7 の菌数の減少は見られなかった。しかし、菌の増殖はなく、静菌の効果は十分に期待できる結果となった。

17. 「発酵食品とマイコトキシン(I)、(II)」

真鍋 勝 : 醤研、17、123、178 (1991)

代表的なマイコトキシンであるアフラトキシンはクマリン骨格を持ったアフラトキシン B₁、B₂、G₁、G₂、M₁、の他に B_{2a}、G_{2a}、P、Q とか 10 数種類にのぼる。またデオキシニバレノール、T-2 トキシン、ゼアラレノン(植物病原菌である *Fusarium* 菌が産生するマイコトキシンであり、フザリウム・トキシンの総称で呼ばれている。麴菌の中にはサイクロピアゾン酸を産生する株がある。パツリン、シトリニン(青かび(*Penicillium*)が産生する。麴酸は最初わが国の麴菌より発見された物質で毒性は大変弱く、肌を白くする作用があるためクリーム等の化粧品に使われている。味噌(食塩濃度約 12%)、醤油(食塩濃度約 17%)発酵中のかびの挙動は、仕込み後の生菌数は急激に減少しており、食塩濃度の低い甘口味噌を除いて 6 カ月経過すると大部分が死滅した。発酵中のマイコトキシン産生菌が着生する可能性は少なく、マイコトキシン汚染を受ける危険性はほとんどないと考えられる。

18. 「小麦及び醤油中の Nivalenol 及び Deoxynivalenol の分析」

佐々木正興 : 醤研、10、183 (1984)

近年 *Fusarium* 属菌の産生するマイコトキシンによる麦類やとうもろこしへの広範囲の恒常的な汚染が明らかになるにつれ、世界中の関心がにわかに高まり、古くてなお新しい問題として益々活発に

研究がなされている。*Fusarium* 属のマイコトキシンはトリコテセンと称され、これまでに 60 種にもおよぶ同族化合物が知られている。その中で各国の穀類に検出される主要なトリコテセンは Deoxynivalenol(DON)であり、わが国やフランス、イタリアでは Nivalenol(NIV) との複合汚染である。両マイコトキシンの発癌性は確認されていないものの、免疫機能障害毒性が問題になっている。筆者は醤油原料及び市販醤油について *Fusarium* 属菌の産生するトリコテセン系マイコトキシンのうち NIV と DON を分析した。その結果、供試した国内産小麦のすべてに両マイコトキシンが検出された。しかし、外国産小麦からは検出されなかった。また醤油についても、すべてのサンプルに検出されなかった。汚染が確認された小麦を使用して醸造した醤油についても検出されなかった。

19. 「発酵食品中の蛍光成分に関する研究(第 7 報)添加した麴酸の醤油醸造中の分解」

進士栄一郎、真鍋 勝、後藤哲久、三沢幸子、田中健治、松浦慎治：醬研、10、151 (1984)

現在市販されている醤油用、清酒用、味噌用、白麴用麴菌の麴酸産生能、麴酸の水素イオン濃度の違いによる分解、添加した麴酸の醤油醸造中の挙動、市販醤油中の麴酸の有無について検討した。その結果、各種麴菌の麴酸産生能について、*Aspergillus oryzae* は 47 株 19 株が麴酸を産生した。用途別にみると、醤油用が 12 株中 1 株、清酒用が 13 株中 3 株、味噌用が 17 株中 12 株、白麴用が 5 株中 3 株、それぞれ麴酸を産生した。実際に麴酸産生能の高い麴菌を使って、醤油用、味噌用、清酒用麴を製造した場合の麴酸の産生量を調べた結果、わずかながら麴酸の産生が認められた。麴酸の水素イオン濃度の違いによる分解については、酸性側ではほとんど分解がなく、中性では少し分解があり、アルカリ側では強く分解し、強アルカリ側(pH11)ではやや分解が減少した。水素イオン濃度と温度による影響についても pH5 ではほとんど分解がなかったのに対し、pH9 では 110°C60 分の温度を加えると約 30%分解した。水素イオン濃度による麴酸分解物の変異原性についても、中性側からアルカリ側に進むにつれて変異原性が減少していった。添加した麴酸の醤油醸造中の挙動については、添加後 10 日目で 30%、20 日目で 50%、70 日目で 90%と分解が進み、添加後 150 日目で麴酸は検出されなかった。現在通常の諸味発酵期間は約 180 日間なので、もしも製麴時に麴酸を産生したとしても、諸味醸造中に分解され最終製品に残存する可能性は少ないと考えられる。市販醤油中の麴酸については、現在市販されている 18 点の醤油について分析したが、いずれの醤油からも麴酸は検出されなかった。