つゆの保存性に及ぼす醤油由来細菌胞子の影響

つゆ類の生産は毎年増加傾向にある。つゆ類にはストレートでそのまま使用されるものと希釈して使用するものがある。これらのつゆ類は、醤油に比べて食塩濃度が低く細菌胞子の影響を受けやすい。保存安定性及び官能評価等の面から管理ポイントを解説していただいた。

久寿米木 一 裕

1 はじめに

醤油を基本原材料として造られる“つゆ”類は過去数十年の間に市場において画期的な進展を示し、代表的な和風基本調味料としてその地位を形成するまでに至った¹⁾。

つゆ類は麺つゆ用途としてみた場合、各種濃縮タイプから希釈しないでそのまま使用する“ストレート”タイプ（以下、ストレートつゆ）と呼ばれるものまである。現在、それぞれのつゆに備わった品質特徴や利用方法などに関する認知度は高まり、それぞれのつゆの愛用度には高いものがあると推察される。なかでもストレートつゆはそのまま使える便利さもあって市場では従来の缶容器入りタイプから各種の瓶詰め製品、また業務用途としての袋物などがあり多様な広がりがみられる。

さて、これらの各種つゆの調味や製造に関しては、だしに関するもの^{2~4)} からかえしの用途や製法^{2,5)}、つゆの殺菌方法^{1,6,7)} など、従来よりいろいろな見地から検討や工夫がなされてきた。特に成分濃度の希薄な場合を想定したつゆの品質保持^{8~14)} に関しては微生物制御の観点から多くの関心が払われてきたと推察される。しかし、ストレートつゆの保存性に関する報告や考察はいまだに十分に尽くされているとは言えないことが推察され、その1つに細菌胞子のつゆ中における挙動が考えられる。既述した如くつゆは現在、一般小売店舗のほか外食店、コンビニエンス店、店舗の惣菜部門などにおいて広く取り扱われていることが推察される。このような実態を考慮すると、多岐にわたるつ

ゆの保存性の違いを明らかにし、安全な製品を提供していくことは肝要なことであると考えられる。

2 希釈醤油等の低温加熱と保存性

(1) 醤油中の細菌胞子

醤油には殺菌力があり病原微生物が生育できないことが明らかにされている¹⁵⁾。一方、醤油中には *Bacillus* 属等の多数の細菌胞子（以下、細菌胞子）の存在が知られている^{16~21)}。したがって醤油を用いた加工食品や調味液の保存性に及ぼす細菌胞子の影響が検討され^{18,19)}、その低減化方法について報告^{17,19,20,22,23)} されている。つゆに関しては最近、濃縮度や成分濃度との関係に着目し、つゆ中に生育する微生物の制御方法を明らかにする試みが報告されつつある^{8~14)}。

さて、胞子形成能を有する *Bacillus* 属、*Clostridium* 属細菌はいったん胞子を形成すると極めて耐熱性が強くなることは周知のことである。また、ある種の条件下、たとえば醤油を適宜希釈したり、これに適度のヒートショックを与えることで胞子は再び「活性化－発芽後生長」^{24~26)} すなわち栄養細胞として増殖を始めることが予想され、品質に影響を及ぼすことになる。細菌胞子がいかなる環境や生理的条件下で栄養細胞へと転換していくのか、その詳細な機構に関しては複雑でいまだに不明な点が多いと考えられ、胞子形成細菌は制御の難しい微生物であると言える。そこで、醤油由来細菌胞子の各種つゆ中での挙動並びにつゆの保存性に及ぼす影響について一考察を試みた。

(2) 希釈醤油の低温加熱と保存性²⁷⁾

生醤油（食塩濃度18%）を滅菌水にて希釈し、必

Effects of Bacterial Spores in Soy Sauce on the Preservation Conditions of Tuyu, Japanese Noodle Soup.
Kazuhiro KUSUMEGI (Yamae Shokuhin Foods Co., Ltd.)

要に応じて50%乳酸を用いてpHを4.0～5.0に調整し、成分濃度の異なる4段階の希釈醤油（第1表）を調製した。ついで、これらの希釈醤油を中型試験管にとり、100℃以下の加熱処理を行った後30℃下で保存し、外観変化を調べた。結果は第1図に示すように生醤油中の一般生菌数は80℃、30分加熱後10³個/mlレベルで、これは生醤油中の細菌孢子数を示していると考えられる。保存結果は第2表に示すように希釈醤油の食塩濃度10.8%区分までは保存中の外観変化は認められないが、食塩濃度7.2%、および3.6%では

第1表 希釈醤油の成分

試験区分	希釈割合		成分			
	生醤油	水	全窒素	食塩	総エキス	pH
イ	8	2	1.06	14.4	28.8	5.17
ロ	6	4	0.79	10.8	21.6	5.25
ハ	4	6	0.53	7.2	14.4	5.47
ニ	2	8	0.26	3.6	7.2	5.65

第2表 希釈醤油の保存結果

試験区分	加熱条件 ℃-分	保 存 日 数				
		1	5	10	15	20
ロ	80-10	—	—	—	—	—
	80-30	—	—	—	—	—
	90-10	—	—	—	—	—
	90-30	—	—	—	—	—
	95-10	—	—	—	—	—
	95-30	—	—	—	—	—
ハ	80-10	—	+			
	80-30	—	+			
	90-10	—	±	+		
	90-30	—	±	+		
	95-10	—	±	+		
	95-30	—	—	+		
ニ	80-10	±	+			
	80-30	±	+			
	90-10	—	+			
	90-30	—	+			
	95-10	—	+			
	95-30	—	+			

各試験区5本供試。—：外観変化認めず

±：1～4本に濁りや産膜

＋：5本全てが濁りや産膜

95℃、30分加熱後も保存日数の経過とともに液の濁りや液面への産膜がみられるようになる。この外観変化は *Bacillus* 属細菌の増殖によることが確認されている。

そこで、細菌の増殖を認めた区分の希釈醤油を乳酸を用いてpH4.5～5.0に再調整し、同様に加熱—保存試験を行ってみると（第3表）、保存性は格段に高まった。食塩濃度7.2%の希釈醤油ではpH4.5かつ80℃レベルの軽い低温加熱により孢子形成細菌の増殖抑制の可能性が見出された。一方、食塩濃度3.6%の希釈醤油では保存中の変化（細菌の増殖による濁りや産膜）を防止するためにpH5.0かつ95℃、30分加熱あるいはpH4.5と90℃、30分ないし95℃、10分加熱の組合せ処理が必要であった。なお、データとしては示していないが、pHを5.0～4.5に調整後、90～95℃加熱後の保存試験において外観変化を認めなかった希釈醤油中の生菌数を測定した。その結果、細菌孢子と考えられる生菌数はつゆ1mlあたり数十～0個であったことから、加熱処理により生菌数は低減していることが推察される。

(3) 水分活性を調整した調味液の保存性²⁷⁾

第4表に示したように生醤油、食塩、砂糖などを配合して水分活性（以下、Aw）を調整した12種類の

第1図 加熱による醤油中の生菌数の変化
生醤油を各温度の湯浴中で30分間加熱殺菌後、一般生菌数を測定。

調味液を作成した。それぞれの成分は食塩濃度 1～4 %，Aw 0.91～0.97，pH 4.9～5.0 の範囲にあった。それぞれの調味液は中型試験管および小袋（KOP 15 μm /PE 50 μm ，縦 8 cm，横 8 cm）にそれぞれ 10 ml，30 ml ずつ充填し，湯浴中にて 80°C および 95°C にてそれぞれ 20 分間加熱後急冷し 30°C 下にて保存試験を行った。第 2 図に 80°C 加熱後の保存結果を示した。試験管容器では Aw 0.911，0.916 を超える高い Aw の調味液で液の濁りや液面の産膜による細菌の増殖が認められ，小袋容器では Aw 0.916，0.918，0.936 を超える高い Aw 側で液の混濁が認められた（ガスの発生は認められなかった）。一方，95°C 加熱区についてはいずれの容器にも外観変化はなかった。

以上の結果から，希釈醤油などの成分の目安として

第 3 表 pH 調整希釈醤油の保存結果

試験区分	pH 調整	加熱条件 °C-分	保 存 日 数					
			1	5	10	15	20	30
ハ	5.01	80-10	—	—	±	+		
		80-30	—	—	—	+		
		90-10	—	—	—	—		
		90-30	—	—	—	—		
		95-10	—	—	—	—		
		95-30	—	—	—	—		
	4.52	80-10	—	—	—	—	—	—
		80-30	—	—	—	—	—	—
		90-10	—	—	—	—	—	—
		90-30	—	—	—	—	—	—
		95-10	—	—	—	—	—	—
		95-30	—	—	—	—	—	—
	5.03	80-10	—	+				
		80-30	—	+				
		90-10	—	+				
		90-30	—	+				
		95-10	—	+				
		95-30	—	—	—	—	—	—
ニ	4.51	80-10	—	+				
		80-30	—	—	+			
		90-10	—	—	+			
		90-30	—	—	—	—	—	—
		95-10	—	—	—	—	—	—
		95-30	—	—	—	—	—	—

各試験区 4 本供試。—：外観変化認めず

±：1～3 本に濁りや産膜

＋：4 本全てが濁りや産膜

食塩濃度 7.2% 以下でかつ pH 5.0 以上においては，細菌胞子の発芽後生長を抑制するにはかなり厳しい低温加熱処理が必要であることが示唆された。また，場合によっては低温加熱による細菌胞子の制御は困難であることが推察された。

3 モデルつゆの低温加熱殺菌と保存性²⁸⁾

(1) つゆの加熱殺菌と生残菌数

これまでは細菌胞子を含んだ生醤油を用いてこれを希釈したり，Aw を調整した調味液に一定量加え細菌胞子の挙動を調べた結果について考察した。そこで，実際のつゆに即した原料配合や成分に基づきモデルつゆを調製し，細菌胞子のつゆの保存性に及ぼす影響を検討した。モデルつゆは専門店および市販商品（第 3 図，第 4 図）の成分分析値^{6,29～31)}を考慮してストレー

第 4 表 調味液の配合

原材料	配 合 量
生醤油	12 %（食塩濃度 1 % 区は 6 %）
食 塩	0～3 %
上白糖	10～50 % 以下
50 % 乳酸	0.10～0.14 %
調味料等	2 %

第 5 表 モデルつゆの成分

つ ゆ	成 分			
	食塩% (w/v)	純エキス	pH	水分活性
ストレート A	3.0	10.5	5.30	0.96
ストレート A	4.2	14.0	5.28	0.95
2 倍 濃 縮	6.0	18.8	5.38	0.93

第 6 表 つゆ中における細菌胞子の D 値

	ストレートつゆ A	ストレートつゆ B	2 倍濃縮つゆ
D ₉₇	18.8(20.1)	14.5(15.8)	16.5(23.2)

$$D = U / \log a - \log b$$

U：加熱時間（分）

a：初発菌数（80°C～10～20 分加熱後の菌数）

b：U 時間加熱後の菌数（U=30 分後の菌数）

*（）内の値は小袋での試験結果

第2図 80°C・20分加熱後における各Awの調味液の保存性

イ：試験管，ロ：小袋

各試験区毎に3本（3袋）供試

：○△▽□；外観変化を認めず

：●▲▼■；3本（袋）中1本（袋）以上に濁りや産膜を認めたもの

食塩濃度：○●；1%，△▲；2%，▽▼；3%，□■；4%

トつゆ A および B，2 倍濃縮相当つゆを調製し（第 5 表），前述の要領で加熱試験と保存試験を試みた

加熱処理したつゆの生菌数の推移を第 5 図に示した。全般的な傾向として 80°C 加熱では菌数の低下は極めて緩慢で加熱時間の長短による差異は少ない。これに対して 90°C 加熱による生菌数は $10^3/\text{ml}$ 前後から $10^2/\text{ml}$ 前後に低減し，さらに 97°C 加熱により対数的に死滅していく傾向が認められている。97°C，30 分加熱により生菌数が 10 個/ml 前後まで低下する場合もみられる。一方，細菌胞子の D 97 値（第 6 表）は 14.5～18.8 分で生菌数の減少に及ぼすつゆの成分濃度との関連性は見出されてない。ただ，試験管容器に比べ小袋容器では若干 D 値が高くなっている。

(2) つゆの加熱と保存性

加熱処理したつゆの保存結果を第 7 表および第 8 表に示した。ほとんどのストレートつゆ A は 100°C 以下の加熱条件では試験管容器における液の混濁や液上面の産膜，小袋容器における液の混濁が認められ，細

菌の増殖が確認されている。なお，小袋容器においては袋の膨張はみられず，細菌の増殖に伴うガスの発生は認められていない。

ストレートつゆ B の場合は，80°C 加熱では全面的に既述の外観変化と細菌の増殖がみられるが，90°C，20～30 分加熱を境に外観変化を認めなくなる。2 倍濃縮つゆに関しては，もはや 80°C，10 分加熱において外観変化や細菌の増殖を認めることはなかった。

30 日間の保存試験においてつゆの混濁や産膜を生じなかったつゆの生菌数の動向を第 9 表に示した。ストレートつゆ A および B における加熱処理後の生菌数は数十個/ml レベルで，保存中における顕著な変化はないと考えられた。また，2 倍濃縮つゆでは，保存中わずかに減少する傾向が推察された。

(3) つゆの混濁現象等に関わる微生物²⁸⁾

保存試験によりつゆの外観変化を認めたストレートつゆ A の pH を測定した結果（第 10 表），産膜したつゆの場合 pH 5.5 前後，混濁したつゆでは pH 4.3

第3図 つゆの食塩濃度とエキス

○印：モデルつゆ

前後～4.6で、小袋容器では保存中にすべてpHが低下した。そこでそれぞれの容器内に増殖し成分変化に関与したと予想される細菌を分離しその性質を比較した。第11表に示したように分離した細菌の性質は、50°C前後の温度や食塩9.5%存在下で増殖するが、嫌気培養では生育しないものであった。また、小袋容器からの分離菌は生酸性を示した。

ついで、この2タイプの細菌がつゆ中で主体的に増殖していることが推察されたのでさらに検討³²⁾を加えた。ストレートつゆAおよびBにクエン酸ナトリウムを添加し、97°C加熱処理したところ殺菌効果が高まることが示唆され、特に小袋容器内のつゆの保存性が改善された。

細菌胞子の耐熱性機構に関してはいろいろな論説^{24～27,33～35)}があるが、胞子からのCaやMgなどの金属イオンの漏洩が胞子の耐熱性低下に関係していることが示唆される結果が得られた。すなわち、小袋容

器内で優勢に発芽後増殖し、生酸性を示す細菌胞子からのCaやMgイオンの加熱時漏洩量がクエン酸ナトリウムの添加により有為に高まり、細菌胞子の死滅が促進されたことを示唆するものであった。

4 む す び

醤油中に生存する細菌胞子は醤油の希釈操作により栄養細胞として増殖を始めることが示唆され、各種つゆやたれ、調味液などの商品化や製造を手掛ける場合の重要な検討事項であると考えられる。休眠状態にある細菌胞子が栄養細胞へと転換し増殖していく生育能力の有無には生育環境としてのpHやAw、加熱処理の履歴などが関与していると推察され、つゆに焦点を絞り検討した。ストレートつゆの品質設計ではつゆのpHを 5.1 ± 0.2 に設定することが保存対策の見地から肝要であり、官能面からも適切な範囲にあると言える。また、醤油由来細菌胞子の増殖を抑え、保存安定

第4図 つゆの食塩濃度とpH

○記：モデルつゆ

性を高めるためにはつゆの水分活性は0.95以下とする必要があり，なおかつ90℃，30分～97℃，10分以上の加熱処理を要することがわかった。

したがって，ストレートつゆの場合，100℃以下の低温加熱処理は品質面からみて必ずしも適切とは言えないことが推察される。ストレートつゆ製造における品質管理では醤油の殺菌や除菌操作のほか，原材料の検証，製造設備の日常的な衛生管理なども不可欠であると推察される。また，製造過程における製品の二次汚染防止対策は最も肝要な事項であると推察され，全体として精度の高い品質管理が求められていると考えられる。

参考文献

- 1) 太田静行，鄭 大馨，北倉芳久，斉藤善太郎：つゆ類，光琳（東京）（1991）
- 2) 藤村和夫：そはつゆうどんだし，食品出版社（1981）
- 3) 太田静行：ニューフードインダストリー，**25**，NO.7，54（1983）
- 4) 岩見公和：農化，**51**，6，39（1977）
- 5) 野口昌和：食品と科学（春季増刊），光琳（東京），57（1979）
- 6) 江口貞也：ニューフードインダストリー，**14**，NO.10，1（1972）
- 7) 中村元治：ニューフードインダストリー，**14**，NO.10，17（1972）
- 8) 寺沢 学，松若昭夫，山下清志，森 康雄：醬研，**19**，7（1993）
- 9) 中條均紀，森山裕子：日食工誌，**40**，268（1994）
- 10) 北倉芳久，石井 潤，橋本彦亮：特開平成7-8206（1995）
- 11) 北倉芳久，石井 潤，橋本彦亮：特開平成7-255412（1995）
- 12) 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）
- 13) 丸茂 剛：特開2001-135（2001）
- 14) 中村成寿，小早川知子，篠部恭三：醬研，**27**，59，（2001）
- 15) 山本 泰，森谷悌治，辻原輝明：醬研，**4**，101（2001）

第5図 つゆの加熱殺菌と生残菌数

- ◆- 80°C-加熱(試験管) ◇- 80°C-加熱(袋)
 ▲- 90°C-加熱(試験管) △- 90°C-加熱(袋)
 ●- 97°C-加熱(試験管) ○- 97°C-加熱(袋)

- 16) 西沢郁夫, 福山達彦: 調味科学, 12, 19 (1965)
 17) 芳賀 宏, 遠藤勝之: 調味科学, 18, 43 (1971)

- 18) 今井誠一: 醸協, 66, 141 (1971)
 19) 花岡嘉夫, 斉藤伸生: 調味科学, 19, 11 (1972)
 20) 山本 泰, 小林伸吉, 好井久雄: 醬研, 6,

第7表 つゆの保存結果1

つ ゆ	加熱条件 (°C-分)	細菌の増殖の有無 (試験管内) 保 存 日 数				
		5	10	15	20	30
ストレート つゆ A	80-10	3/3				
	-20	2/3	3/3			
	-30	3/3				
	90-10	3/3				
	-20	1/3	3/3			
	-30	3/3				
	97-10	2/3		3/3		
	-20	1/3				
	-30	1/3				
	80-10			2/3	3/3	
	-20		1/3	2/3	3/3	
	-30		2/3		3/3	
ストレート つゆ B	90-10					1/3
	-20					0
	-30					0
	97-10					0
	-20					0
	-30					0
2 倍 濃縮	80-10					0
	-20					0
	-30					0
	90-10					0
	-20					0
	-30					0
	97-10					0
	-20					0
	-30					0

各試験区 3 本供試。0 : 3 本すべてに変化を認めず
1/3, 2/3 : 3 本中に 1 本, 2 本に変化
3/3 : 3 本すべてに変化を認める

第8表 つゆの保存結果2

つ ゆ	加熱条件 (°C-分)	細菌の増殖の有無 (試験管内) 保 存 日 数				
		5	10	15	20	30
ストレート つゆ A	80-10	3/3				
	-20	3/3				
	-30	3/3				
	90-10	3/3				
	-20	3/3				
	-30	3/3				
	97-10	3/3				
	-20		2/3	3/3		
	-30					0
	80-10	3/3				
	-20	3/3				
	-30		1/3	3/3		
ストレート つゆ B	90-10				2/3	
	-20			1/3	2/3	
	-30					
	97-10					0
	-20					0
	-30					0
2 倍 濃縮	80-10					0
	-20					0
	-30					0
	90-10					0
	-20					0
	-30					0
	97-10					0
	-20					0
	-30					0

各試験区 3 袋供試。0 : 3 個すべてに変化を認めず
1/3, 2/3 : 3 個中に 1 個, 2 個に変化
3/3 : 3 個すべてに変化を認める

19 (1980)

- 21) 関根一男, 重田尚右: 醬研, **13**, 149 (1987)
- 22) 千葉秀雄: 醸協, **72**, 410 (1977)
- 23) 中垣正幸監修: 膜処理技術体系・下巻 (フジテクノシステム), pp.153 (1991)
- 24) 相磯和喜監修: 食品微生物学 (医歯薬出版), pp.101 (1976)
- 25) 柳田友道著: 微生物科学 (学会出版センター), pp.131 (1982)
- 26) 森山龍一: 農化, **72**, 1455 (1998)
- 27) 久寿米木一裕, 出永直樹, 井上典明, 高橋武

美: 醬研, **28**, 57 (2002)

- 28) 久寿米木一裕, 出永直樹, 井上典明, 高橋武
美: 醬研, **28**, 111 (2002)
- 29) 野田 実: 食品と科学 (増刊号), 光琳 (東京), 114 (1981)
- 30) 石津日出子, 前田正子, 上田隆蔵, 河野素子:
醬研, **13**, 53 (1987)
- 31) 上田隆蔵, 河野素子, 石津日出子, 前田正子:
醬研, **13**, 111 (1987)
- 32) 久寿米木一裕, 出永直樹, 井上典明, 高橋武
美: 醬研, **28**, 163 (2002)

第9表 保存試験における生菌数の動向

つ　　ゆ	容　器	加熱条件 (℃-分)	細菌数 (個/ml) 保　存　日　数			
			0	10	20	30
ストレート つゆ A	小　袋	97-30	14			17
		90-20	91			5
		90-30	49			15
			57	40		3200
ストレート つゆ B	試験管	97-10	29	29		63
			20			63
		97-20	16	13		2
			81			240
	97-30	7	10		3	
		44	41		44	
	小　袋	90-30	57			7
		97-10	41			29
		-20	20			2
		-30	15			1
2 倍 濃縮	試験管	80-10	960	960	900	460
		-30	700	700	700	700
		90-10	130	120	110	110
		-30	79	47	48	30
		97-10	90	31	15	16
		-30	13	6	3	3
	小　袋	80-10	500	156	310	108
		-30	430	170	250	102
		90-10	120	104	60	64
		-30	116	64	39	66
		97-10	40	54	21	18
		-30	31	11	1	3

第10表 ストレートつゆ A の外観変化と pH

容 器	加熱条件 (°C-分)	外観変化	つゆの pH	菌の形
試験管	80-10	産膜, 混濁	5.50	桿菌
	-20	混濁	4.32	
	-30	産膜	5.73	
	90-10	産膜	5.50	桿菌
	-20	混濁	4.32	
	-30	混濁	4.34	
	97-10	産膜	5.40	桿菌
	-20	産膜	5.52	
	-30	産膜	5.47	
	80-10	混濁	4.68	桿菌
	-20	混濁		
	-30	混濁		
小 袋	90-10	混濁	4.43	桿菌
	-20	混濁	4.38	
	-30	混濁	4.29	
	97-10	混濁	4.24	桿菌
	-20	混濁	4.43	
	-30	混濁		

第11表 分離した細菌の生育特性

	分 離 源	
	試験管容器	小袋容器
生育温度 45°C	+	+
55°C	-	±〜-
耐塩性	食塩濃度 9.5 % に生育	同左
形 態	桿菌	桿菌
芽胞 (位置)	有り (先端)	有り (先端)
嫌気培養	生育しない	生育しない
グルコースからの ガス生育	ない	ない
生酸性	ない	有り

33) 柴崎 勲：新食品殺菌工学，光琳（東京），pp.15（1983）

34) 犬飼 進，菊池順子，渡辺忠雄：食衛誌，25，

125（1984）

35) 犬飼 進，菊池順子，渡辺忠雄：食衛誌，25，132（1984）