

微生物制御による食品の保存技術の開発
- 冷凍が火落菌に及ぼす影響について -
澤井美伯、高田満郎

1. はじめに

清酒は通常「火入」と呼ばれる加熱殺菌処理を行うが、「生酒」はこの殺菌処理を行わず、その独特のフレッシュ感が多くの消費者から高い支持を受けている。しかしながら殺菌工程がないため、火落菌と呼ばれる微生物による品質劣化の危険が常に存在している。そのため生酒は低温保存が不可欠であり、その管理が煩雑となっている。そこで本研究では、生酒の特徴を失うことなく保存性の向上させることを目的に、冷凍による火落菌の殺菌方法について検討を行う。本報では冷凍条件が火落菌に及ぼす影響について報告する。

2. 実験

2.1 火落菌

火落菌は北原らの分類学的研究により、発酵形式及びメバロン酸要求性によって火落性乳酸菌（ヘテロ型、ホモ型）、真性火落菌（ヘテロ型、ホモ型）の4種類に分けられる。本研究では表1の代表的な火落菌をそれぞれの指標菌株として用い、以下の試験を行った。これら火落菌は全て独立行政法人酒類総合研究所より分与されたものを使用した。

表1 指標として用いた火落菌

		strain
火落性乳酸菌(ヘテロ型)	<i>L. hilgardii</i>	S-7
火落性乳酸菌(ホモ型)	<i>L. casei</i>	S-8
真性火落菌(ヘテロ型)	<i>L. fructivorans</i>	H-1
真性火落菌(ホモ型)	<i>L. homohiochi</i>	S-36

2.2 火落菌の培養と菌数測定

火落性乳酸菌はMRS-Brothを培地に用いて30℃、4~7日間培養を行った。真性火落菌については、2倍濃度のMRS-Brothを滅菌後、等量の火入清酒（アルコール濃度、15%）を添加した培地で30℃、4~7日間培養を行った。火落菌数の測定は、1.5%の寒天を加えた同様の培地を用いて平板希釈法（30℃、7日間培養）で行った。

2.3 冷凍試験

冷凍試験は-80℃は超低温フリーザーMDF-U281（三洋電機製）、-20℃及び凍結融解を繰り返す試験はバイオフリーザーBF-110（タバイエスペック製）、-10℃は低温恒温器LTI-601SD-R（東京理科大学製）を用いて行った。試料は全て1.2mlの火落菌試料を2ml容セラムチューブに入れて行った。

3. 結果及び考察

3.1 冷凍温度についての検討

試験は生育にアルコールを必要としない火落性乳酸菌（ヘテロ型、ホモ型）S-7、S-8を用いて行った。S-7は-20℃で保存した場合、49日後に 1.3×10^7 /mlに減少したが、-10℃、及び-80℃では菌数の減少は観察されなかった。S-8は49日後に 1.4×10^7 /ml（-80℃）、 1.8×10^5 /ml（-20℃）、 2.9×10^7 /ml（-10℃）へと菌数の減少が観察された。いずれの冷凍温度においても7日目の時点で菌数が減少し、その後の減少は緩やかになることから、最初の凍結時に菌数が減少していると考えられた。

凍結融解を繰り返した場合の火落菌への影響について検討を行った。設定温度を-20℃と-5℃を交互に繰り返した結果、S-7は 1.6×10^9 /mlから 2.7×10^6 /mlに、S-8は 2.1×10^9 /mlから30以下/mlまで減少した。

このことから、火落性乳酸菌S-7、S-8は-20℃での冷凍が最も生菌数の減少が大きく、特にS-8は凍結時に生菌数が減少すると考えられた。

3.2 清酒を用いた冷凍についての検討

清酒中には通常15%程度のアルコールが存在し、火落菌の増殖に関与している。冷凍時における清酒中の火落菌数の経時変化について試験し、アルコールの影響について検討を行った。-20℃、29日間保存後にS-7(9.5×10^8 /ml)、S-8(1.2×10^9 /ml)、S-36(3.7×10^9 /ml)がそれぞれS-7(4.0×10^5 /ml)、S-8(3.6×10^6 /ml)、S-36(9.0×10^5 /ml)となり、生菌数の減少が観察された。-10℃では29日間保存後にS-7(2.9×10^4 /ml)、S-8(7.1×10^5 /ml)へと減少したがS-36、H-1の減少は緩やかであった。凍結融解を繰り返した試験では、S-7、S-8、S-36の菌数が減少し、特にS-7は30以下/mlとなった。

4. まとめ

冷凍温度が火落菌に及ぼす影響を調べた結果、火落性乳酸菌S-7、S-8は-20℃での冷凍保存でもっとも菌数が減少した。また、S-8は凍結時に菌数が減少することが示唆され、凍結融解を繰り返すことによって著しく減少した。清酒を用いたアルコール存在下での冷凍においては、-20℃でS-7、S-8、S-36で菌数が減少した。