

豆腐よう製造における*Bacillus cereus*（セレウス菌）制御技術

望月智代、豊川哲也、金城朱里*、仲本英夫、具志堅悠馬

豆腐よう製造においてHACCPに沿った衛生管理を実施するには、リスク要因である*Bacillus cereus*（以下、セレウス菌）を制御するために豆腐の乾燥を55℃以上で行う必要があるが、豆腐が硬くなりすぎてしまい豆腐よりの品質へ影響を及ぼす可能性がある。そこで乾燥温度以外にセレウス菌制御法を確立するため、豆腐のpHを低下させる酸処理法を検討した。その結果、酸処理では0.5%クエン酸溶液を用いることで、豆腐の物性を変えずにpH 4.2以下に調整できることが分かった。また芽胞に対する酸処理の効果を検討するため、*Bacillus subtilis*（以下、枯草菌）芽胞を接種した豆腐を用いて、酸処理あり、なし、および85℃30分加熱殺菌を行い、35℃および60℃にて培養したところ、酸処理はいずれの培養温度でも枯草菌の増殖を抑えることができた。

1 はじめに

沖縄の伝統的発酵食品である豆腐ようは、安田ら^{1, 2)}により工業的製造技術が確立され、一般消費者に広く認知されるようになった。製造工程としては、豆腐を2~3 cmに切断し乾燥させたのち、紅麴や黄麴、泡盛および塩を配合した漬け汁に浸漬し、約3か月熟成させることで豆腐ようを製造できる（図1）。

令和3年6月から完全義務化されている「HACCPに沿った衛生管理」を実施するため、豆腐よう製造では微生物的リスクとして考えられるセレウス菌を制御する必要がある。セレウス菌は耐熱性芽胞を形成し、発育条件は温度4~55℃、pH 4.3~9.3、水分活性0.92以上とされている³⁾。耐熱性芽胞は通常の加熱殺菌だけでは完全に死滅しないため、豆腐よう製造では増やさない制御が重要であり、以下の3つの方法が挙げられる。

- ①豆腐の温度を4℃以下または55℃以上に保つ
- ②豆腐をpH 4.2以下またはpH 9.4以上にする
- ③豆腐の水分活性を0.92以下にする

豆腐よう製造では乾燥工程が重要管理点となり、乾燥温度55℃以上とする必要がある。しかしながら乾燥温度を高くした場合、豆腐が硬くなりすぎることが考えられ豆腐よう品質への影響が懸念される。そこで本研究では、豆腐よう製造において乾燥温度以外のセレウス菌制御方法を開発することを目的に、乾燥前工程として豆腐のpHを低下させる酸処理法を検討した。

2 実験方法

2-1 豆腐の酸処理

有限会社池田食品（西原町）より購入した400 g入りパック豆腐を3 cm角にカットした。カット豆腐または枯草菌芽胞を接種したカット豆腐を、所定濃度のクエン酸溶液に浸して中心温度85℃で30分間加熱処理を行った。

*農業研究センター 名護支所

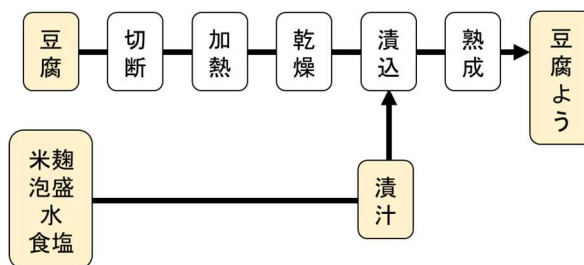


図1 豆腐よりの製造工程

その後、粗熱を取りクエン酸溶液に浸したまま一晩冷蔵した。

豆腐のpH測定には、コンパクト型pH計（LAQUAtwin、株式会社堀場製作所）を用いて行った。

2-2 枯草菌芽胞の接種

カット豆腐を300 mL容の滅菌容器に1つずつ入れてオートクレーブを行い滅菌豆腐を作製した。滅菌竹串に滅菌リン酸緩衝液（アズワン）を染み込ませて、10⁷ cfu/mLの枯草菌芽胞液（栄研化学）に差込み芽胞を付着させた後、滅菌豆腐へ所定の本数突き刺した。そのまま30分間放置した後、竹串をすべて除去し芽胞接種豆腐を作製した。

2-3 芽胞接種豆腐の加熱殺菌処理

芽胞接種豆腐を滅菌容器に入れたまま、スチームコンベクションオーブン（ウノックスXV-505、株式会社エフ・エム・アイ）にて、中心温度85℃で30分間の加熱殺菌処理を行い、加熱殺菌豆腐を作製した。

2-4 枯草菌芽胞の培養

芽胞接種豆腐を酸処理（以下、酸処理豆腐）、または加熱殺菌処理した豆腐（以下、加熱殺菌豆腐）、無処理の芽胞接種豆腐（以下、無処理豆腐）を所定の温度で48時間静置し枯草菌芽胞を培養した。培養後はそれぞれの豆腐について、微生物検査を実施した。

表1 各種クエン酸溶液により酸処理した豆腐のpHと外観

クエン酸溶液		酸処理後の豆腐のpH		酸処理後の豆腐の外観
クエン酸濃度(%)	pH	加熱処理直後	1晩浸漬後	
0.2	2.6	5.6	5.2	変化なし
0.5	2.4	5.1	4.1	変化なし
1.0	2.2	4.5	4.0	表面やや柔らか
1.5	2.1	4.2	3.8	表面柔らか、崩れあり
2.0	1.9	3.4	3.2	崩れた
4.0	1.8	3.2	3.3	崩れた

2-5 微生物検査

豆腐10 gおよび滅菌希釈水（リン酸緩衝液）90 mLをホモジバッグに入れ均質化したのち、適宜希釈した。得られた希釈液をコンパクトドライTC（島津ダイアグノスティクス株式会社）へ接種して35℃48時間培養し、菌数を計測した。

3 実験結果および考察

3-1 酸処理条件

豆腐のpHをセレウス菌が増殖しにくいpH 4.2以下に調整するため、クエン酸濃度を検討した。0.2～4.0%のクエン酸溶液により酸処理した豆腐のpHおよび外観を表1に示す。加熱処理直後および1晩浸漬後の豆腐のpHは、クエン酸濃度の上昇に伴い低下し、加熱処理直後よりも1晩浸漬後の方が低pHとなった。1晩浸漬後のpHは、クエン酸濃度0.5%以上でpH 4.2以下を示した。酸処理後の豆腐の外観は、クエン酸濃度0.2および0.5%では処理前と比較して変化がなかった一方、1.0%で表面が柔らかくなり、1.5%以上で豆腐に崩れが見られた。以上より、豆腐の酸処理には0.5%のクエン酸溶液を用いることとした。

3-2 枯草菌芽胞の接種方法

枯草菌芽胞の接種方法として、芽胞液を付着させた滅菌竹串による豆腐への突き刺しを検討した。接種竹串の突き刺し本数を1、3、5本により接種し、接種菌数の計測と変動係数を算出した。その結果、突き刺し1本では 10^2 cfu/g、3および5本では 10^3 cfu/gの接種菌数だった。変動係数はそれぞれ、40.5、43.1、27.2%となり突き刺し5本で最も小さい値を示した。芽胞の接種には、ばらつきの小さい突き刺し5本の条件で行うこととした。

表2 突き刺し本数による接種菌数

	1本	3本	5本
菌数(cfu/g)	5.3×10^2	2.0×10^3	2.1×10^3
変動係数(%)	40.5	43.1	27.2

3-3 酸処理の効果

酸処理の効果を検討するため、酸処理豆腐、加熱殺菌豆腐および無処理豆腐を、セレウス菌が増殖可能な35℃と増殖しない60℃で培養を行った。各豆腐における培養後の菌数を表3に示す。酸処理豆腐ではいずれの温度条件も300 cfu/g以下の菌数だった。無処理豆腐では35℃で 10^6 cfu/g以上、60℃では300 cfu/g以下だった。加熱殺菌区では、35℃で無処理豆腐と同様 10^6 cfu/g以上の菌数を示した。

*Bacillus*属は耐熱性芽胞を形成し、加熱殺菌では制御できないことが知られており、本研究においても同様な結果が示された。枯草菌およびセレウス菌の121℃におけるD値（生残菌数が1/10に減少するのに要する加熱時間）は、それぞれ0.08分、0.0065分であり⁴⁾、枯草菌の耐熱性が10倍程度高い。そのため酸処理は、セレウス菌の制御にも有効であると考えられる。

表3 各前処理区における菌数 (cfu/g)

	35℃	60℃
	無処理豆腐	$10^6 <$
酸処理豆腐	$<300(0)$	$<300(0)$
加熱殺菌豆腐	$10^6 <$	

4 まとめ

豆腐よう製造においてHACCPに沿った衛生管理を実施するためには、セレウス菌を制御する必要がある。温度以外でセレウス菌を制御する方法を確立するため、豆腐のpHを低下させる酸処理法を検討したところ、以下の結果が得られた。

- 1) 酸処理では0.5%クエン酸溶液を用いることで、豆腐の物性を変えずに、豆腐をpH 4.2以下に調整できる。
- 2) 枯草菌芽胞を接種した豆腐を用いて、酸処理の有無、85℃30分加熱殺菌を比較した結果、酸処理は35℃および60℃いずれの培養温度でも枯草菌の増殖を抑えることができた。
- 3) 酸処理法を取り入れた製造は図2に示す工程で行うことができる。

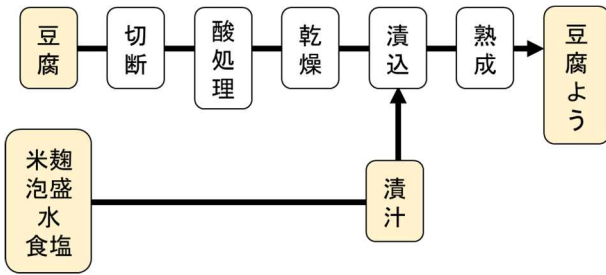


図2 酸処理法を取り入れた豆腐よりの製造工程

酸処理法は、豆腐よう製造におけるHACCPに沿った衛生管理方法の一つとして活用可能であると考えられる。

本研究は、経常研究課題「HACCP制度化に向けた県産加工食品の現状調査（2019技012）」により実施した。

参考文献

- 1) 安田正昭：とうふよう製造に関する研究－製造秘伝の科学的解析と技術展開－，日食工，37（5），403-409（1990）
- 2) 安田正昭：大豆発酵食品「豆腐よう」に関する食品科学的研究，食科工，57（5），181-190（2010）
- 3) 独立行政法人日本貿易振興機構（ジェトロ），239-242，「人向け食品の危害分析およびリスクに応じた予防管理：産業界向けガイダンス（仮訳）」，2019
- 4) 山本泰，473-474，2. 加熱殺菌，「食品微生物学ハンドブック」，山口和夫，金子安之，好井久雄，技報堂出版，東京，（1995）

Control technology for *Bacillus cereus* in manufacturing Tofuyo

Tomoyo MOCHIZUKI, Tetsuya TOYOKAWA, Akari KINJO*, Hideo NAKAMOTO,
Yuma GUSHIKEN

Okinawa Industrial Technology Center

*Okinawa Industrial Technology Center (currently Okinawa Prefectural Agricultural Research Center Nago Branch)

Although it is necessary to dry tofu at 55°C or more to control *Bacillus cereus*, which is a risk factor, in order to implement health supervision according to HACCP in manufacturing Tofuyo, there is a possibility that tofu becomes too hard and thus affects the quality of Tofuyo. Therefore, we examined an acid treatment method for reducing the pH of tofu in order to establish a *Bacillus cereu* control method other than drying temperature. As a result, we found that the use of a 0.5% citric acid solution for acid treatment can adjust the pH to 4.2 or less without changing the physical property of tofu. In addition, in order to examine the effect of the acid treatment for spores, we performed heat sterilization for 30 minutes at 85°C with and without acid treatment using tofu inoculated with *Bacillus subtilis* spores and cultivated at 35°C and 60°C. We then suppressed the proliferation of *Bacillus subtilis* even with acid treatment at either cultivating temperature.

編 集 沖縄県工業技術センター

発 行 沖縄県工業技術センター

〒904-2234 沖縄県うるま市字州崎 12 番 2

T E L (098)929-0111

F A X (098)929-0115

U R L <https://www.pref.okinawa.lg.jp/site/shoko/kogyo/>

著作物の一部および全部を転載・翻訳される場合は、当センターに

ご連絡ください。