Title	カニ罐詰の細菌学的研究:第4報 タラバガニ罐詰の膨張罐より分離せる細菌の胞子濃度と殺菌程度との関係
Author(s)	谷川, 英一; 手塚, 一世
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 5(2), 202-208
Issue Date	1954-08
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/22867
Туре	bulletin (article)
File Information	5(2)_P202-208.pdf



カニ罐詰の細菌学的研究

第4報 タラバガニ罐詰の膨脹罐より分離せる細菌の 胞子濃度と殺菌程度との関係

谷川英一・手塚一世 (北海道大学水産学部水産食品製造学教室)

Bacteriologicai Studies on Canned Crab

IV. The relation between the degree of sterilization and the concentration of the bacterial spore suspension which was isolated from "swelled canned crab"

Eiichi TANIKAWA and Issei TEZUKA

Abstract

In order to know the relation between the degree of sterilization and the concentration of bacterial spore suspension, bacteria which were isolated from swelled canned crab were used.

From 3 cans of the sample, 3 species of pure culture were obtained; they are called L', M' and N'. The heat resistance of the isolated bacteria became large with the increasing of the concentration of spore suspension. For example, if the number of spores in the suspension was above 10⁵, L'-bacteria was sterilized about 80 minutes, M'-bacteria about 60 minutes and N'-bacteria 70 minutes at 109.9°C, respectively.

From the results obtained the limit of freshness degree of crab meat as raw material for the canned product is manifested by the number of the spores of below 10⁷.

When such unfresh raw meat as containing above 107 of bacteria is packed in cans and processed, the cans will probably become "swelled cans".

同一菌種の細菌胞子でもその濃度の差異により耐熱性に差異を生ずることは Williams¹⁾, 天 $\mathfrak{P}^{(n)}$ 等によって明らかにされており,谷川 $^{(n)}$ も本研究の第3報において毛ガニ罐詰より分離せる Bac. megatherium,Bac. mesentericus vulgatus 両菌種についてそれらの胞子濃度と耐熱性との関係を研究した。今回はタラバガニ罐詰の殺菌問題を解決するため,膨脹したタラバガニ罐詰より分離した細菌の胞子濃度と特に加熱温度を種々に変えた場合のそれらの耐熱性を検討したのでとよに報告する。

実験の部

1. 実驗材料

本研究に供試した細菌は昭和27年11月19日~21日に〇〇漁業株式会社〇〇工場において製造されたタラバガニ罐詰(平1封度罐)の中、原因不明のため膨脹を起した罐詰より分離したものである。供試罐は3罐でこれを夫々便宜上 L,M,N と呼称する。L,M 罐は何れも最初より片面膨脹の状態にあり、N罐は最初より両面膨脹で Hard swell を呈していた。開罐時の状態は第1表の如くであつた。第1表に示される如く供試罐の巻締は略々良好なため、巻締部の漏洩による膨脹とは考えられない。

第1表 供試織詰の開罐状況

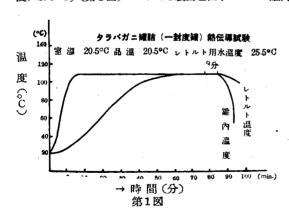
項	I	供制	式罐	L			M			N	-
外			観	Soft s	swell	同		左	Ha	ırd swe	ell
殺菌	百圧力,	時間	亅	6 lbs.,	80分	同		左	同		左
等			級	雌,フレ	- <i>7</i>	同		左	同		左
肉			質	弹力性若	汗あり	同		左	弹	力な	L
色	沢(皮膚	学 赤色:	部)	黄	色	淡:	赤褐	色	同		左
香			味	生ぐさ	臭あり		の生ぐ 酸臭あ		40	や酸	臭
液			汁	溷	濁	42	や溷	濁	同		左
揮発	性塩基窒素	表量(m	g%)	47.0	00		96.16			73.32	
	pН			6.4	1		6.0			6.8	
原	料	鮮	度	不	明	不		明	不		眀
巻	締	状	態	何れもB.	H. = 1/10	c.	H.=35/	61	C.H. *		2気味 締良好

2. 細菌の分離

前記の3ヶの罐詰を供試料として本研究の第1報¹⁾と同様の方法で好気的、嫌気的に細菌を分離し、純粋培養とした。3ヶの供試罐から夫々1菌株宛の純粋培養を得た。それら菌株を便宜上L',M',N'菌とした。

3. 分離細菌の耐熱性

一般にカニ罐詰の如く殆んどドライパックに近いものは離内の熱伝導がよくない。例えば本研究第3報⁴ におけるカニ半封度罐の熱伝導試験結果をみても、又今回カニ1封度罐の熱伝導試験結果(6封度の殺菌温 度において)(第1図)からみても殺菌過程中において罐内温度がレトルトの殺菌温度と同温度になっている



時間は僅少であり、半封度罐型の時も1封度罐型の時も約8分間である。従つて罐内に存在する細菌の耐熱性が罐内温度に耐え得る時は残存して膨脹変敗を起すこととなる。細菌の耐熱性はその胞子が凝塊を作つているか否か³),胞子数の多寡、内容物のpH等によつて異つてくる。胞子の凝塊の存在によつて耐熱性試験結果にSkipを生ずることは天羽³)ものべている。ことで著者等は特に胞子数の多寡によつてカニ罐詰の殺菌に及ぼす影響をみるため、前記罐詰より分離した細菌を用いて研究を行つた。

(i) 実 験 法

(1) 分離細菌の胞子形成

胞子の形成法は坂口・天羽の方法³⁾に準拠して行つた。即ち培養基としては分離細菌が通性嫌気性であった」め無天斜面培養基を用いた。前記分離細菌より1~2白金耳宛を寒天斜面に接種し、37°Cで8~10日間培養した。

(2) 胞子懸濁液の調製

胞子懸濁液中の胞子の数を夫々変えるために Sörensen の M/ts 燐酸塩緩衝液 (pH7.0) 中へ浮游せしめる

菌苔の採取量を変えた。即ち燐酸塩溶液を棉栓した試験管に 15cc 宛分注し,120℃で15分間滅菌しておきこれに前項の Agar-agar 斜面上より菌苔を白金線又は白金耳を用いて釣菌し,浮游せしめてよく振盪して胞子漿塊を破壊し,更に予め乾熱滅菌した東洋濾紙 No.5B 又はCを用いて濾過し,濾液中の胞子を更に均一にするため滅菌ゴム栓をはめ,上下によく振つて混合し,トーマの血球計を用い 1 cc 中の胞子数を算出した。これによつて得た胞子懸濁液を原液とした。各原液中の胞子濃度は第2表の如くである。

胞子 濃度 菌 種	最 も 稀 薄 な も の (10 ² の胞子数を含むもの)	中間 濃 度 の も の (10°の胞子数を含む)	最も 濃厚 なもの (10⁵の胞子数を含むもの)
L'	181	2800	114000
м′	121	3600	106400
N'	197	2400	164000

第 2 表 血球数計器による原液 1 cc 中の胞子数

(3) 胞子懸濁液の加熱法

各菌株の原液を夫々試験目的によつて原液のまゝ,又は1/100,1/1000 に稀釈したものをよく混合し滅菌ピベットで夫々の1ccづつを正確に乾熱滅菌した小試験管(内径7~10mm,長さ70mm,厚さ1mm)3本に分注し、綿径の上からゴムキャップを被せて小型ホーム・レトルト中にて各種加熱温度及び各種時間において加熱試験する。加熱後はレトルト中より取出し、流水中で急速に冷却する。冷却後小試験管内の胞子懸濁液を1自金耳宛普通ブイヨン約10ccを入れた試験管中に無菌的に移植して発育適温に保ち10日間培養をつかけた後、ブイヨンの溷濁及び菌膜の発生で生死を決定する。加熱後3本の試験管中1本の発育も認めない加熱時間を死滅時間とした。尚原液稀釈には Sörensen の M/15 燐酸塩緩衝液を用いた。加熱温度と時間は供試離が何れも6封度(109.9°C)80分間の加熱殺菌であつて罐の巻締状態の良好なものが Soft swell 又は Hard swell に膨脹したことより考え、本実験では6封度(109.9°C)を基準とし、5封度(108.4°C)、6封度、7封度(111.3°C)、8封度(112.7°C)の温度で、加熱時間は 1 cc 中胞子数10万以下のものでは5、10、15、20、30、35、40、60、80分に夫々区切り加熱し、10万以上のものでは20、40、60、80分間に夫々区切って試験した。又加熱による残存胞子数を求めるために、加熱後の胞子懸濁液を予め100°C30分間温浴中で溶融せしめた寒天培養基と共にシヤーレに流し込み、平板培養法にて1昼夜培養後平板上の集落数を計り、残存生菌数とした。

(ii) 実 験 結 果

(1) 胞子濃度の濃淡による分離細菌の耐熱性の差異

第2表におけるが如き胞子濃度の異る原液を用いて耐熱試験を行った結果は第3表の如くである。第3表よりみるに同菌株においては胞子濃度の濃淡によって耐熱性に差異のあることは判然と見られ, 10^5 以上の胞子を含む場合には耐熱性が非常に大となつている。例えば 10^5 の胞子濃度のものは6 封度(109.9° C)にて L'-菌は約80分間にて死滅し,M'-菌は約60分間,N'菌は70分間にて死滅している。然るに 10^5 , 10^5 の如き胞子濃度では3 菌株とも夫々10分間及15分間で死滅している。このことから考えてもカニ肉に若し 10^5 以上の細菌胞子が附着しておれば8 封度(112.7° C)の如き高温度でも殺菌困難なことが判る。

(2) 胞子濃度の濃淡による加熱後の胞子残存数の差異

次に胞子濃度の異る原液 (10°, 10°, 10°) を夫々 1/100, 1/1000 に稀釈して6 封度 (109.9°C) に各時間加熱した後の残存胞子数は第 4 表の如くである。特に胞子濃度の大なるもの (10°) については実験を 3 回行つた。

第4表の結果からみるに胞子濃度の稀釈なもの(10%)は6封度加熱で5分間では残存するが、10分間で死

第3表 胞子濃度の濃淡による分離細菌の耐熱性

							Labrutal trial					
菌種	子加	加熱時間 (分)	5	10	15	20	25	30	35	40	60	80
	胞子濃	5 封度 (108.4°C)	+	+	_	-	_	_			_	_
	度稀薄	6 " (109.9°C)	+		_	-	_	_		_	-	
	なもの (10°)	8 " (112.7°C)	土	-		-	_		-	-	1	-
	胞子濃	5封度(108.4°C)	+	+	±	_	-	_	_	-		_
L'	度中間	6 // (109.9°C)	+	±	-	_ '		_	-	_	_	_
•	なもの (10 ³)	8 " (112.7°C)	土	_	_	_	_	_	~	-	1	
	胞子濃	5封度(108.4°C)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	度最も 濃いも	6 // (109.9°C)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	_
	(10°)	8 " (112.7°C)	+	+	+	土	土	-	_	_	-	_
	胞子濃	5封度(108.4°C)	+	+	-	_	_	-	_	_	-	_
	度稀薄	6 // (109.9°C)	+	_			-	-	_ ,	_		_
	なもの (10 ²)	8 // (112.7°C)	-	_	_	_	_		- -	-		
	胞子濃	5 封度 (108.4°C)	+	+	+					_		_
M'	度中間	6 " (109.9°C)	+	+			-	_	_	_	_	· =
	なもの (10°)	8 " (112.7°C	+	_	-	- .		-	_	-		_
	胞子濃	5封度 (108.4°C)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	度最も	6 // (109.9°C)	+	+	+	+	+	+	+	+	-	
	(105)	8 " (112.7°C)	+	+	+	+	+	+	+	<u>+</u>	~	· <u>-</u>
	胞子濃	5封度 (108.4°C)	+	+	+	+	+	-		-	-	_
	度稀薄	6 " (109.9°C)	+	- 1	_	-		_	_	_	-	_
	なもの (10°)	8 " (112.7°C)	+	-	_	_	_	-	· –		_	· –
	胞子濃	5 封度 (108.4°C)	+	+	+	+	_	<u>-</u>	_	_	_	_
N'	度中間	6 " (109.9°C)	+	+	_			-		·	-	_
	のもの (10³)	8 " (112.7°C)	+						_	_	_	-
	胞子濃	5封度 (108.4°C)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	度最も濃いも	6 " (109.9°C)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	(10 ⁵)	8 " (112.7°C)	+	+	+	+	+	+	+	+	_	

第 4 表 6 封度 (109.9°C) において加熱せる場合の胞子残存数

(1) 耐熱試験に供した胞子原液の濃度稀薄なもの(10°)

***	加熱時間	_	10	1	00	0.5	30	35	40	60	80
菌種	希釈度 (分)	5	10	15	20	25	30	33	40	00	00
	1/100	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
L'	1/1000	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1/10000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1/100	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
M'	1/1000	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1/10000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.
	1/100	2	0	-0	0	0	0	0	0	0	0
N'	1/1000	0	0	0	0	. 0	0	0	0	0	0
	1/10000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(2) 同上, 胞子原液濃度の中等程度のもの(10°)

菌種	加熱時間 (分)	5	10	15	20	25	30	35	40	60	80
	1/100	6	2	1	0	0	0	0	0	0	0
L.	1/1000	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1/10000	0	0	0	. 0	. 0	0	0	0	-0	0
	1/100	4	1	1	0	0	0	0	0	0	0
M ′	1/1000	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1/10000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1/100	3	1	1	0	0	0	0	0	0	0
N'	1/1000	1	. 0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1/10000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(3) 同上, 胞子原液濃度濃厚のもの

(A) L' 菌 株

稀釈度		1/10)2			1/10	la ,		1/101				
加熱時間 実験度数	20	40	60	80	20	40	60	80	20	40	60	80	
1	263	19	2	0	27	3	0	0	3	1	0	0	
2	154	21	4	0	48	12	2	0	1	0	0	0	
3	159	49	5	0	36	9	1	0	2	0	0	0	
平 均	192	30	3.3	0	37	8	1	0	. 2	0.3	0	0	
K	1.093	1.095	1.160	0	1.057	1.084	1.084	0	1.091	1.092	0	0	

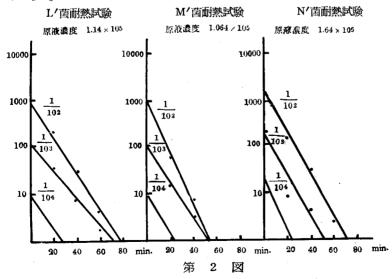
(B) M' 菌 株

稀	釈 度			1/10)3	1/104							
実験度数	加熱時間	20	40	60	80	20	40	60	80	20	40	60	80
	1	50	11	1	0	18	3	1	0	1	0	0	0
	2	31	8	0	0	12	3	0	0	2	1	0	0
	3	29	5	0	0	9	2	0	0	1	0	0	0
平	均	36.6	8	0.3	0	13	2.7	0.3	0	1.3	0.3	0	0
	K	1.185	1.130	1.150	0	1.111	1.095	1.106	0	1.111	1.092	0	0

(C) N' 菌 株

稀	釈	度		1/10)5			1/10	3		1/101				
実験度数	加熱	熟時間	20	40	60	80	20	40	60	80	20	40	60	80	
	1		136	23	3	0	56	6	1	0	1	0	0	0	
	2		110	35	2	1	89	5	0	0	2	0	0	0	
	3		269	38	0	0	132	. 3	0	. 0	1	. 0	0	0	
本	:	均	172	32	1.7	0.3	92.6	4.7	0.3	0	1.3	0	0	0	
	K	1	1.185	1.130	1.150	1.112	1.028	1.093	1.113	. 0	1.111	. 0	0	0	

滅し、濃度中等度のものは稀釈度が小さければ即も胞子数の多いものは15分間の加熱にも耐えて残存する胞子がある。然るに胞子濃度の大なもの(10^5)においては各菌株にて異り、L'-菌は約80分間の加熱にて死滅し、M'- 菌は約60分、N' 菌は約70分間で死滅している。胞子濃度の最も稀薄なもの(10^5)及び中等度のもの(10^5)では死滅時間が短いので、胞子濃度の大なるもの(10^5)について加熱致死速度曲線を得るために縦軸に単位量の培地中の胞子数の対数をとり、横軸に加熱時間をとつて加熱致死速曲線を描くと第2図の如くである。



坂口及び天羽³⁾ 両氏は 細菌胞子の加熱による死 滅は一分子反応的に進行 し,次式で表わされるこ とを述べている。即ち

$$K = \frac{1}{t} \log \frac{a'}{b'}$$
……(1)
こゝに K は加熱致死速度
恒数, t は加熱時間, a'
は最初の菌数, b' は t' 分
間の加熱後の残菌数であ

とよで第4表の数値を (1)式に代入してKを求 めると同表の最下欄に示 した如き数値が得られた。 第2図から明らかな如く胞子濃度が大なる程、又加熱時間が短い程死滅し難いととが判る。

結論

以上の実験結果から供試離詰の膨脹は原料の不鮮による細菌の汚染度の増加による殺菌不足に原因していることは明らかである。即ちカニ肉の鮮度の低下による細菌数の増加は既に谷川及び秋場のによつで明らかにされており、カニ罐詰原料としての鮮度の限界以上においては細菌数は 10⁷/g 以上となり、からる不鮮原料を使用した場合には現在一般に工場で行われている殺菌時間では不足と思われる。以上のことを綜合して考えると今回のカニ罐詰膨脹罐を煮起した原料は相当不鮮なものであつたことが判る。

₽

- (1) 本研究は Soft swell 及び Hard swell を起したカニ罐詰より分離した細菌を用いて実験を行つた。
- (2) 3 ケの供試罐より夫々1 菌株づつの純粋培養を得,それらの菌株を L',M',N' 菌とした。
- (3) 分離細菌の耐熱性は胞子濃度の大なるもの程強く,例えば胞子濃度 10^5 のものは6 封度(109.9° C)で L/菌は約80分間にて死滅し,M'菌は約60分間,N'菌は70分間で死滅している。
- (4) 以上の実験結果からカニ罐詰原料として鮮度の限界は細菌の胞子数 10⁷/g となり,かかる限度以上の不鮮原料を使用した場合は膨脹罐を惹起する。

女 献

- 1) Williams, O. B. (1929). J. Infect. Dis. 44, 421.
- 2) 天羽•坂口(1951). 日農化 25, 140.
- 3) --- (1952). 日農化 26, 339.
- 4) 谷川・子野日 (1954). 北大水産彙報 5 (2), 189~201.
- 5) ---・井上 (1952). 北大水産彙報 3(1),95~103.
- 6) Tanikawa et al. (1953). Bull. Fac. Fish., Hokkaido Univ. 4 (1), 1~31.