



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孢子濃度と殺菌程度との関係
Author(s)	谷川, 英一; TANIKAWA, Eiichi; 手塚, 一世 他
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 5(2), 202-208
Issue Date	1954-08
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/22867
Type	departmental bulletin paper
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 孢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)

Bacteriological 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 10^5 , 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 10^7 .

When such unfresh raw meat as containing above 10^7 of bacteria is packed in cans and processed, the cans will probably become "swelled cans".

同一菌種の細菌孢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⁾, 天羽²⁾等によつて明らかにされており、谷川³⁾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孢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孢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ここに報告する。

実 験 の 部

1. 実験材料

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 供試罐詰の開罐状況

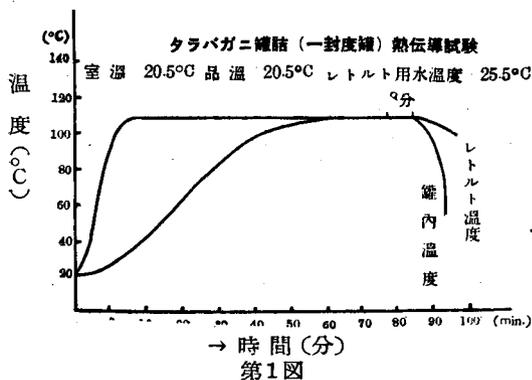
項 目	供試罐	L	M	N
外 観		Soft swell	同 左	Hard swell
殺菌圧力, 時間		6 lbs., 80分	同 左	同 左
等 級		雌, フレーク	同 左	同 左
肉 質		弾力性若干あり	同 左	弾力なし
色 沢 (皮膚赤色部)		黄 褐 色	淡 赤 褐 色	同 左
香 味		生ぐさ臭あり	若干の生ぐさ臭 及び酸臭あり	やや酸臭
液 汁		濁 濁	やや濁濁	同 左
揮発性塩基窒素量 (mg%)		47.00	96.16	73.32
pH		6.4	6.0	6.8
原 料 鮮 度		不 明	不 明	不 明
巻 締 状 態		何れも B.H. = $1/10$	C.H. = $32/61$	C.H. やや不足気味 なれど巻締良好

2. 細菌の分離

前記の3ケの罐詰を供試料として本研究の第1報²⁾と同様の方法で好氣的, 嫌氣的に細菌を分離し, 純粹培養とした。3ケの供試罐から夫々1菌株宛の純粹培養を得た。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罐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っているか否か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。こゝ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った。

(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氣性であつたため寒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 Sørensen の $M/15$ 磷酸塩緩衝液 (pH7.0) 中へ浮遊せしめる

菌苔の採取量を変えた。即ち磷酸塩溶液を棉栓した試験管に 15cc 宛分注し、120°C 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、浮遊せしめてよく振盪して孢子凝塊を破壊し、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、濾液中の孢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 1cc 中の孢子数を算出した。これによつて得た孢子懸濁液を原液とした。各原液中の孢子濃度は第 2 表の如くである。

第 2 表 血球数計器による原液 1cc 中の孢子数

孢子濃度 菌種	最も稀薄なもの (10^2 の孢子数を含むもの)	中間濃度のもの (10^3 の孢子数を含む)	最も濃厚なもの (10^5 の孢子数を含むもの)
L'	181	2800	114000
M'	121	3600	106400
N'	197	2400	164000

(3) 孢子懸濁液の加熱法

各菌株の原液を夫々試験目的によつて原液のまま、又は $1/100$, $1/1000$, $1/10000$ に稀釈したものをよく混合し滅菌ピペットで夫々の 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、綿栓の上からゴムキャップを被せて小型ホーム・レッ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。加熱後はレット中より取出し、流水中で急速に冷却する。冷却後小試験管内の孢子懸濁液を 1 白金耳宛普通ブイオン約 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 日間培養をつづけた後、ブイオンの濁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。尙原液稀釈には Sørensen の $M/15$ 磷酸塩緩衝液を用いた。加熱温度と時間は供試罐が何れも 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 1cc 中孢子数 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 分間に夫々区切つて試験した。又加熱による残存孢子数を求めるために、加熱後の孢子懸濁液を予め 100°C 30 分間温浴中で溶融せしめた寒天培養基と共にシャーレに流し込み、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) 孢子濃度の濃淡による分離細菌の耐熱性の差異

第 2 表におけるが如き孢子濃度の異なる原液を用いて耐熱試験を行つた結果は第 3 表の如くである。第 3 表よりみるに同菌株においては孢子濃度の濃淡によつて耐熱性に差異のあることは判然と見られ、 10^5 以上の孢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 の孢子濃度のものは 6 封度 (109.9°C) にて L'-菌は約 80 分間に死滅し、M'-菌は約 60 分間、N'-菌は 70 分間に死滅している。然るに 10^2 , 10^3 の如き孢子濃度では 3 菌株とも夫々 10 分間及 15 分間に死滅している。このことから考えてもカニ肉に若し 10^5 以上の細菌孢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) 孢子濃度の濃淡による加熱後の孢子残存数の差異

次に孢子濃度の異なる原液 (10^2 , 10^3 , 10^5) を夫々 $1/100$, $1/1000$, $1/10000$ に稀釈して 6 封度 (109.9°C) に各時間加熱した後の残存孢子数は第 4 表の如くである。特に孢子濃度の異なるもの (10^5) については実験を 3 回行つた。

第 4 表の結果からみるに孢子濃度の稀釈なもの (10^2) 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 孢子濃度の濃淡による分離細菌の耐熱性

菌種	孢子濃度	加熱温度	加熱時間 (分)										
			5	10	15	20	25	30	35	40	60	80	
L'	孢子濃度稀薄なもの (10 ²)	5 封度 (108.4°C)	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		6 " (109.9°C)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		8 " (112.7°C)	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	孢子濃度中間なもの (10 ³)	5 封度 (108.4°C)	+	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-
		6 " (109.9°C)	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		8 " (112.7°C)	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	孢子濃度最も濃いもの (10 ⁵)	5 封度 (108.4°C)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		6 " (109.9°C)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
		8 " (112.7°C)	+	+	+	±	±	-	-	-	-	-	-
M'	孢子濃度稀薄なもの (10 ²)	5 封度 (108.4°C)	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		6 " (109.9°C)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		8 " (112.7°C)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	孢子濃度中間なもの (10 ³)	5 封度 (108.4°C)	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
		6 " (109.9°C)	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		8 " (112.7°C)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	孢子濃度最も濃いもの (10 ⁵)	5 封度 (108.4°C)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		6 " (109.9°C)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
		8 " (112.7°C)	+	+	+	+	+	+	+	+	±	-	-
N'	孢子濃度稀薄なもの (10 ²)	5 封度 (108.4°C)	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	
		6 " (109.9°C)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		8 " (112.7°C)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	孢子濃度中間のもの (10 ³)	5 封度 (108.4°C)	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	
		6 " (109.9°C)	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
		8 " (112.7°C)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	孢子濃度最も濃いもの (10 ⁵)	5 封度 (108.4°C)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
		6 " (109.9°C)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
		8 " (112.7°C)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-

第 4 表 6 封度 (109.9°C) において加熱せる場合の孢子残存数

(1) 耐熱試験に供した孢子原液の濃度稀薄なもの (10²)

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

(2) 同上, 孢子原液濃度の中等程度のもの (10³)

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

(3) 同上, 孢子原液濃度濃厚のもの

(A) L' 菌株

実験度数	稀積度	1/10 ²				1/10 ³				1/10 ⁴			
		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

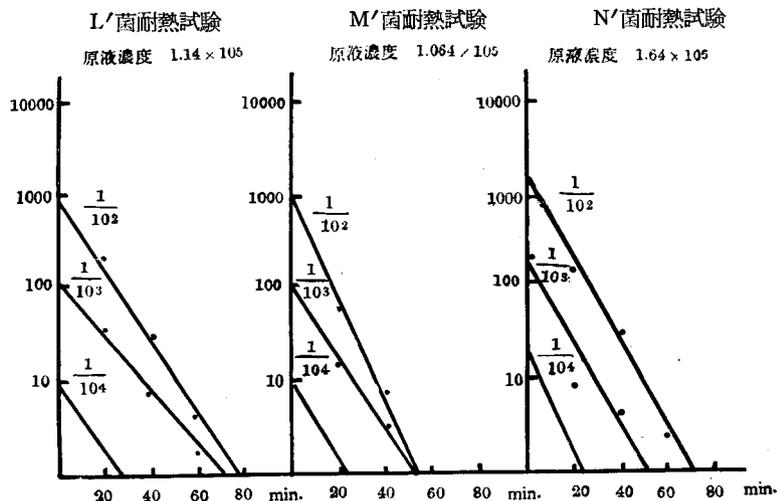
(B) M' 菌株

稀 釈 度 実験度数	1/10 ²				1/10 ³				1/10 ⁴			
	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 実験度数	1/10 ²				1/10 ³				1/10 ⁴			
	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
平 均	172	32	1.7	0.3	92.6	4.7	0.3	0	1.3	0	0	0
K	1.185	1.130	1.150	1.112	1.028	1.093	1.113	0	1.111	0	0	0

減し、濃度中等度のもは稀釈度が小さければ即ち孢子数の多いものは15分間の加熱にも耐えて残存する孢子がある。然るに孢子濃度の大なもの(10⁵)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。孢子濃度の最も稀薄なもの(10²)及び中等度のもの(10³)では死滅時間が短いので、孢子濃度の大なもの(10⁵)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孢子数の対数を取り、横軸に加熱時間をとって加熱致死速度曲線を描くと第2図の如くである。



第 2 図

坂口及び天羽³⁾ 両氏は細菌孢子の加熱による死滅は一分子反動的に進行し、次式で表わされることを述べている。即ち

$$K = \frac{1}{t} \log \frac{a'}{b'} \dots (1)$$

ここに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る。

よって第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孢子濃度が大なる程、又加熱時間が短い程死滅し難いことが判る。

結 論

以上の実験結果から供試罐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⁹⁾によつて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 $10^7/g$ 以上となり、かか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。以上のことを総合して考えると今回のカニ罐詰膨脹罐を惹起した原料は相当不鮮なものであつたことが判る。

要 約

- (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ヶの供試罐より夫々1菌株ずつの純粋培養を得、それらの菌株を L', M', N' 菌とした。
- (3) 分離細菌の耐熱性は孢子濃度の大なるもの程強く、例えば孢子濃度 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孢子数 $10^7/g$ 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。

文 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.