



Title	加熱加工食品の微生物学的研究：Ⅰ．市販缶詰中の生残菌について
Author(s)	宮内, 真幸; Miyauchi, Masaki; 信濃, 晴雄 他
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 31(4), 362-373
Issue Date	1980-11
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/23736
Type	departmental bulletin paper
File Information	31(4)_P362-373.pdf



加熱加工食品の微生物学的研究

I. 市販缶詰中の生残菌について

宮内 真幸*・信濃 晴雄**・秋場 稔**

Microbiological Studies on Heat Processed Foods

I. Survival microorganisms in the commercial canned foods

Masaki MIYAUCHI*, Haruo SHINANO** and Minoru AKIBA**

Abstract

Canned foods have been regarded to be one of the safety foods microbiologically from the view point of their processed and technical forms. Heat sterilization of canned foods is performed under the conception of "commercial sterilization" and so the commercial canned foods are not always free from microorganisms. Microorganisms detected from canned foods are almost sporeforming bacteria which have thermal resistance, but occasionally nonsporeforming microorganisms are detected in canned foods.

In this report, the testing was done to detect and identify microorganisms which survived in 24 kinds of 60 cans containing agricultural, fishery, or live-stock products. The results obtained were as follows:

1) Commercial canned foods which showed surviving microorganisms were in 6 kinds of 7 cans and the detection ratio was 12 percent. The total number of microorganisms isolated from the canned foods was 28, and all of them were bacteria. Yeasts and fungus were not detected.

2) Nineteen strains of isolates belonged to genus *Bacillus* were identified *B. subtilis* (8), *B. circulans* (6), *B. cereus* (4), and *B. brevis* (1). Nine strains proved to be all aerobic cocci which were gram and catalase positive, and were identified as *Staphylococcus epidermidis* (4), *Micrococcus rubens* (3) and *Sarcina flava* (2).

3) A high detection ratio of bacteria, belonging to genus *Bacillus* considered to be thermal resistant, was observed on fruit and vegetable cans treated by a lower temperature than fishery ones.

4) One of the key-points of the subject for future study is to investigate the fact that cocci were isolated from several canned products, such as sweetcorn, mackerel (boiled) and corned beef, sterilized by a higher temperature than the thermal resistance of cocci.

結 言

加熱加工食品の中で缶詰食品は、その製造工程の特殊性（調理→肉詰→脱気→密封→殺菌→冷却）およびその金属缶使用等の製品形態の上から微生物学的に安全性が高く、かつ保存性の最も優れた加

* 北海道大学水産学部食品化学第二講座
(Laboratory of Food Hygiene, Faculty of Fisheries, Hokkaido University)

** 北海道大学水産学部食品製造学講座
(Laboratory of Marine Food Technology, Faculty of Fisheries, Hokkaido University)

工食品とされている。

缶詰の加熱殺菌処理については、缶詰内容物の品位との関連で、加熱殺菌の温度および時間の上限・下限をいかに設定すべきかが問題で、ここに缶詰食品の商業的殺菌 (Commercial sterilization) という概念が生じ、現実にはこの概念の下に一般の缶詰食品が生産されている。したがって市販缶詰は必ずしも無菌ではなく、一般に耐熱性の強い芽胞形成細菌が正常な市販缶詰内から検出されることがしばしばあり¹⁾²⁾、また時には非芽胞形成細菌の検出例³⁾も報告されていることから、缶詰内生残菌の種類によっては缶詰の加熱殺菌処理条件の再検討が必要となる場合も考慮しなければならない。このような観点から著者らは一般缶詰内生残菌の種類およびその性状を知ることは缶詰食品の製造・管理上極めて重要な基礎的事項と考え、本報では種々の市販缶詰食品中の生残微生物の検索を行ったのでその結果を報告する。

実験方法

供試缶詰の選定 供試缶詰は表1に示した24種60缶で、その種類の選定に当っては酸性食品缶詰および非酸性食品缶詰各々の殺菌温度条件および製法の相違ならびに製品の品質特性などに重点を置いた。なお、供試缶詰はいずれも外観上正常で、巻締部にも異常はなく、かつ後記するように微生物分離に先立って行った加温試験 (25°C, 37°C および 55°C) においても異常を認めなかったことから商業的には一応、正常缶と認められるものである。

缶詰内生残菌の分離 供試缶詰内生残微生物の分離に先立ち、缶内生残微生物の発育を促すことを目的として一般に実施されている方法⁴⁾に従って加温試験 (25°C, 37°C および 55°C, 10日間) を行った。加温試験後、供試缶詰は70% アルコールで缶表面全体を清拭し、無菌箱中に納置、紫外線による無菌化をはかりその後開缶を行った。開缶後、液汁部と固形部をそれぞれ滅菌シャーレに分取し、液汁部は原液のまま、固形部はその一定量を滅菌生理的食塩水に懸濁後、その上澄液を培養に供した。なお、液汁の多い果実缶詰については缶を充分振盪後、液汁のみを培養に供した。これらの培養には増菌用としてクックドミート培地を用い、また真菌類の検出にはポテト・デキストローズ寒天培地、細菌には普通寒天培地 (好気性細菌用) および改変ツアイスラー培地 (嫌気性細菌用) を使用し、培養は混釈および表面塗抹培養法を併用した。増菌用培地に発育しないで混釈および表面塗抹培養用培地に発育したものは実験時の汚染菌とみなし、一方、増菌用培地に発育し混釈および表面塗抹培養用培地に発育しなかった場合は増菌用培地に発育した菌を缶内生残菌とみなし以後の実験に供した。なお、嫌気培養はスチール・ウール法⁵⁾を採用し、培養温度は増菌用培地に接種したものは37°C、真菌類については25°C、細菌類は37°C および 55°C で、それぞれ48時間培養を行った。

分離菌株の分類 分離菌株は Bergey's Manual 第7版⁶⁾ および第8版⁷⁾、好気性芽胞形成細菌の簡易同定法⁸⁾ および Manual of Microbiological Methods⁹⁾ に準拠して分類を行った。なお、試験項目は以下に示した通りで培養温度は特記しない限り37°Cである。

1. 形態学および生物学的性状検査

1) 菌形

単染色法¹⁰⁾により菌体の大きさおよび配列を観察した。

2) 運動性

懸滴標本¹¹⁾により観察した。

3) グラム染色性

Hucker の変法¹²⁾によった。

4) 鞭毛の有無およびその形状

Table 1. *The kind of canned foods tested.*

		Canned products	Packed date	No. of cans
Fruit and vegetable	1	Pineapple	73. 1. 23	1
		"	73. 10. 4	1
	2	Mandarine orange	72. 12. 25	1
		"	73. 12. 18	1
	3	Fruit Punch	72. 2. 27	1
	4	Fruit cocktail with red bean in syrup (Anmitsu)	74. 2. 1	1
	5	White peach in syrup	73. 8. 21	1
	6	Loquats in syrup	73. 7. 10	1
	7	Sweet corn	73. 3. 21	2
	"	73. 9. 21	1	
8	Asparagus	72. 7. 29	2	
	"	73. 6. 15	2	
9	Green pea	72. 7. 29	2	
	"	73. 10. 22	2	
Fishery product	10	Red salmon	72. 5. 30	4
	11	Shrimp in brine	72. 7. 25	2
		"	74. 1. 10	2
	12	Boiled mackerel	73. 2. 7	2
		"	73. 11. 2	2
	13	Chum salmon	73. 8. 7	2
	14	Seasoned salmon with vegetable	70. 12. 30	2
	15	Seasoned salmon with bamboo shoot	73. 8. 7	2
	16	Seasoned ark-shell	72. 5. 30	2
	17	Tuna in oil	70. 1. 26	2
	18	Sardine in oil	73. 9. 4	2
	19	Boiled scallop	70. 4. 25	1
	"	74. 1. 10	2	
20	Seasoned whale meat (Yamatoni)	73. 5. 30	2	
21	Zuai crab	72. 6. 20	2	
22	Smoked short necked clam in oil	72. 8. 12	2	
Live-stock	23	Seasoned beef (Yamatoni)	72. 3. 16	2
		"	73. 10. 31	2
	24	Corned beef	73. 3. 16	2
		"	74. 3. 15	1
	"	74. 1. 10	1	

西沢・菅原の法¹³⁾によった。

5) 芽胞の有無

Möller の法¹⁰⁾によった。

6) 色素産生能およびその色調

普通寒天斜面培地に分離菌を接種培養 (7~10 日) 後、色素産生能およびその色調を観察した。

7) 酸素要求性

普通寒天培地に分離菌を接種し、好氣的および嫌氣的条件下で培養を行い発育の有無を観察した。

8) 食塩加液体培地における発育

10% 食塩加ブイヨンに分離菌を接種後 3 日間にわたり発育の有無を観察した。

2. 生化学的性状検査

1) クエン酸塩の利用

Simmons¹⁴⁾ のクエン酸塩培地に分離菌を接種培養後 (2~3 日) 培地の色調の変化により判定を行った。

2) 硝酸塩の還元能

ペプトン水に 0.1% (w/v) の割合に硝酸カリウムを添加した培地に分離菌を 5 日間培養後、Tittsler¹⁵⁾ の方法に従い硝酸塩の還元能を観察した。

3) デンプンの水解

普通寒天培地に 0.1% (w/v) の割合に可溶性デンプンを添加して平板を作製し、画線培養 (3 日間) 後、希釈ルゴール液を培地表面に注加して画線部の透明帯の有無により判定を行った。

4) アセトインの生成試験 (V.P. 反応)

1% (w/v) のグルコースを添加したペプトン水に分離菌を 5 日間培養後、20% 苛性ソーダ溶液および 10% α -ナフトール・アルコール溶液をそれぞれ添加し、エオジン様の赤色の出現を観察した。

5) ジェラチンの水解

普通寒天培地に 0.4% (w/v) の割合にジェラチンを添加して平板を作製し、画線培養 (3 日間) 後、反応液 (HgCl₂ 15g, HCl 20ml, 蒸留水 100 ml) を平板上に注加、透明帯の有無により判定を行った。

6) 糖の分解

基礎培地として Hugh-Leifson 培地¹⁶⁾ を使用し、分離菌を穿刺培養 (7~10 日) 後、糖からの酸およびガスの産生を観察した。使用した糖は 5 種類であるが、嫌氣的分解試験ではグルコースおよびマンニットについてのみ行った。

7) リトマスミルク培地に対する態度

リトマスミルク培地に分離菌を培養 (7 日間) し、その間における pH の変化、カゼインの凝固性ならびに凝固蛋白のペプトン化の状況を観察した。

8) カタラーゼの産生

スライドガラス上に 3% 過酸化水素水を数滴取り、24 時間前培養した供試菌をこれに混和し、発泡の有無を観察した。

9) インドールの産生

ペプトン水に分離菌を培養 (3 日間) 後、Kovacs の方法¹⁷⁾ に従いインドールの産生能を観察した。

10) 炭水化物加液体培地からのガス産生能

1% (w/v) の割合にグルコースを添加した普通ブイヨンに分離菌を培養 (7~10 日間) し、その間におけるガス産生能を観察した。ガス産生の確認はダルハム管によった。

11) コアギュラーゼ試験

10 倍希釈ウサギ血漿 0.5 ml に新鮮培養菌の小白金耳量を接種し、37°C の恒温器中に 3 時間納置後、血漿の凝固状態を観察した。

結 果

1. 生残菌の検出された市販缶詰の種類および分離菌株数

供試缶詰 24 種 60 の缶中、生残菌が検出されたものは 6 種 7 缶で、それらの種類および分離菌株数は表 2 に示す通りである。すなわち、果実・蔬菜缶詰では 19 試料中ミカン缶詰 1 試料から 9 株、スイートコーン缶詰 1 試料から 3 株、グリーンピース缶詰 1 試料から 1 株、水産缶詰では 33 試料中サバ水煮

Table 2. The presence of survived microorganisms in the commercial canned foods.

Canned products		Packed date	No. of cans	Aerobic incubation			Anaerobic incubation	
				(37°C)	(55°C)	(25°C)	(37°C)	(55°C)
Fruit and vegetable	1	Pineapple	73. 1. 23	1	—	—	—	—
		"	73. 10. 4	1	—	—	—	—
	2	Mandarine orange	72. 12. 25	1	—	—	—	—
		"	73. 12. 18	1	7*	—	—	2
	3	Fruit Punch	72. 2. 27	1	—	—	—	—
	4	Fruit cocktail with red bean in syrup (Anmitus)	74. 2. 1	1	—	—	—	—
	5	White peach in syrup	73. 8. 21	1	—	—	—	—
	6	Loquats in syrup	73. 7. 10	1	—	—	—	—
	7	Sweet corn	73. 3. 21	2	3	—	—	—
	"	73. 9. 21	1	—	—	—	—	
8	Asparagus	72. 7. 29	2	—	—	—	—	
	"	73. 6. 15	2	—	—	—	—	
9	Green pea	72. 7. 29	2	1	—	—	—	
	"	73. 10. 22	2	—	—	—	—	
Fishery product	10	Red salmon	72. 5. 30	4	—	—	—	—
	11	Shrimp in brine	72. 7. 25	2	—	—	—	—
	1	"	74. 1. 10	2	—	—	—	—
	2	Boiled mackerel	73. 2. 7	2	—	—	—	4
		"	73. 11. 2	2	4	—	—	—
	13	Chum salmon	73. 8. 7	2	—	—	—	—
	14	Seasoned salmon with vegetable	70. 12. 30	2	—	—	—	—
	15	Seasoned salmon with bamboo shoot	73. 8. 7	2	—	—	—	—
	16	Seasoned ark-shell	72. 5. 30	2	—	—	—	—
	17	Tuna in oil	70. 1. 26	2	—	—	—	—
	18	Sardine in oil	73. 9. 4	2	—	—	—	—
	19	Boiled scallop	70. 4. 25	1	—	—	—	—
	"	74. 1. 10	2	—	—	—	—	
20	Seasoned whale meat (Yamato)	73. 5. 30	2	—	—	—	—	
21	Zuai-crab	72. 6. 20	2	—	—	—	—	
22	Smoked short necked claim in oil	72. 8. 12	2	—	—	—	—	
Live-stock	23	Seasoned beef (Yamato)	73. 8. 10	2	3	—	—	—
		"	73. 10. 31	2	—	—	—	—
	24	Corned beef	73. 3. 16	2	—	—	—	4
		"	74. 3. 15	1	—	—	—	—
	"	74. 1. 10	1	—	—	—	—	

Key to symbols ; No. of strains

缶詰 2 試料からのみ 8 株、畜産缶詰については 8 試料中牛肉大和煮缶詰 1 試料から 3 株およびコンビーフ缶詰 1 試料から 4 株の生残菌を分離し得た。

サバ水煮缶詰 1 試料から 37°C の嫌気培養で分離された 4 株は増菌用のクックド ミート培地に増殖し、これから改変ツァイスラー培地の表面塗抹培養法で分離したもので、他の菌株はすべて好気または嫌氣的混濁培養法で分離した菌株である。酵母およびカビは検出できなかった。また偏性好熱性細菌を対象とした 55°C の培養でも細菌を検出することはできなかった。なお、ここでの菌株数はサ

パ水煮缶詰 1 試料から増菌培養で得られた 4 株を除き他はすべて缶詰の液汁または固形部の直接培養で得られたものである。普通、平板培養法で微生物を分離する場合、コロニー数が数個の時には汚染菌とみなされるのが一般的であるが、本試験では同時に増菌培養を行っており、その増菌培地から得られたコロニーと液汁または固形部の直接培養で得られたコロニーの同定結果が同じであったため缶詰内生残菌とみなした。得られた分離菌は合計 28 株であった。

2. 分離菌の分類

分離菌 28 株の形態学的、生物学的および生化学的性状検査の結果は表 3、表 4 に示した。分離菌 28 株中 19 株はすべてがグラム陽性桿菌で芽胞を形成し、周毛による運動性が認められる好気性菌であった。これらの性状を有する細菌は Bergey's Manual 第 7 版⁶⁾ および第 8 版⁷⁾ によれば、いずれも genus *Bacillus* に位置づけられる細菌で、残る 9 株はいずれもグラム陽性、カタラーゼ陽性の球菌であった。

Table 3. Morphological, biological and biochemical characteristics of 19 strains belonging to the genus *Bacillus* isolated from the commercial canned foods.

Species	<i>Bacillus subtilis</i> (8 strains)	<i>Bacillus cereus</i> (4 strains)	<i>Bacillus brevis</i> (1 strain)	<i>Bacillus circulans</i> (6 strains)
Characteristics				
Cell forms	Rod* ¹	Rod	Rod	Rod
Gram stain	+	+	+	+
Motility	+	+	+	+
Flagellation	Peritrichus	Peritrichus	Peritrichus	Peritrichus
Sporing	+	+	+	+
Utilization of citrate	+	+	-* ²	-
Hydrolysis of:				
Starch	+	-	-	+
Gelatin	+	+	-	-
Acetoin	+	+	-	-
Acid and gas from:				
Glucose				
aerobic	A+* ² , G-* ⁴	A+, G-	A-, G-	A+, G-
anaerobic	A+, G-	A+, G-	A-, G-	A+, G-
Arabinose	A+, G-	A-, G-	A-, G-	N.t* ⁵
Xylose	A+, G-	A-, G-	A-, G-	N.t
Mannite	N.t	A-, G-	N.t	A+, G-
Nitrate reduced	+	+	+	+
Catalase	+	+	+	+
Indole	N.t	-	-	-
Growth in NaCl 10%	N.t	N.t	N.t	-

Key to symbols ; *1: Positive, *2: Negative, *3: Acid, *4: Gas, *5: Not tested

(1) genus *Bacillus*

Bacillus 属の分類は Cohn¹⁸⁾ によって初めて試みられ、その後 Ford¹⁹⁾ は現在知られている菌種の大部分の記載を行った。また、Smith は *Bacillus* 属に含まれる幾多の菌種を形態学的特性を第一義にその芽胞囊の型から 3 群別した後、各種生物学的性状に基づき菌種を決定する検索表を作製し、Bergey's Manual 第 7 版⁶⁾ に収録している。また、Bergey's Manual 第 8 版⁷⁾ では Gibson と Gordon が genus *Bacillus* に含まれる 48 種をそれぞれ任意に 22 種と 26 種の 2 群に大別し、第 1 群、2 群ともに形態学的には芽胞の形状、母細胞中における芽胞の位置および母細胞の膨化の有無などにより、また生化学的には第 1 群はグルコースからの酸およびガス産生の有無、アセトインの産生能など、第

2群ではグルコースからの酸の産生能, デンプン水解能, 嫌気的および 3°C における発育能などによって分類を行っている。一方, 東⁹⁾は *Bacillus* 属の簡易同定的手段として, クエン酸塩の利用, 硝酸塩の還元, デンプンの水解, アセトインの生成 (V.P 反応), ジェラチンの水解の5項目を必須の検査項目とし genus *Bacillus* に属する菌株の検査を行い, 同一パターンに数菌種が含まれる場合には, さらに他の性状を検査する方法を提案している。著者らは, 分離菌 28 株中 genus *Bacillus* に属する 19 株の species (種) 決定に当り, 主に東の簡易同定法⁹⁾ に準拠し, Bergey's Manual 第7版および第8版を参考とした。同定結果は表3に示した通りで, それぞれ *Bacillus subtilis* (8 株), *B. circulans* (6 株), *B. cereus* (4 株), および *B. brevis* (1 株) に同定された。

(2) genus *Staphylococcus*, *Micrococcus* および *Sarcina*

分離菌 28 株中, genus *Bacillus* に分類された 19 株を除いた 9 株はすべてグラム陽性, カタラーゼ陽性の好気的球菌であった。球菌類に関しても多くの研究者により種々の分類法が提案されているが, Shaw ら²⁰⁾ はこれらの球菌類をすべて genus *Staphylococcus* とし, コアギュラーゼ産生, 糖からの酸の産生およびアセトインの生成 (V.P 反応) などにより型別することを提案し, また Evans ら²¹⁾ はグルコースの代謝形式と細胞の配列から *Staphylococcus*, *Micrococcus* および *Sarcina* の3属に分類することを提案している。さらに Bergey's Manual 第7版⁹⁾ では上記3属の他に細胞の配列と色素の色調などから genus *Gaffkya* を加え species (種) までの分類を行っている。この他, Baird-Parker²²⁾

Table 4. Morphological, biological and biochemical characteristics of 9 strains of cocci isolated from the commercial canned foods.

Characteristics	Species <i>Staphylococcus epidermidis</i> (4 strains)	<i>Micrococcus rubens</i> (3 strains)	<i>Sarcina flava</i> (2 strains)
Cell forms	Coccal	Coccal	Coccal
Gram stain	+* ¹	+	+
Motility	-* ²	-	-
Flagellation	-	-	-
Sporing	-	-	-
Catalase	+	+	+
Acid and gas from :			
Glucose			
aerobic	A+* ³ , G-* ⁴	A+, G-	A-, G-
anaerobic	A+, G-	A-, G-	A-, G-
Mannite			
aerobic	A-, G-	A+, G-	A-, G-
anaerobic	A-, G-	A-, G-	A-, G-
Lactose	A±* ⁵ , G-	A-, G-	A-, G-
Arabinose	A-, G-	A-, G-	N.t.* ⁶
Hydrolysis of :			
Starch	-	-	-
Gelatin	+	-	+
Nitrate reduced	+	+	-
Coagulase	-	N.t	N.t
Litmus milk	Acid	Acid	Reduction, clot
Oxygen requirement	Aerobic-Facultative anaerobic	Aerobic	Aerobic
pigment	White	Red Light brown	Yellow

Key to symbols ; *1: Positive, *2: Negative, *3: Acid, *4: Gas, *5: Positive weak, *6: Not tested

宮内ら：加熱加工食品の微生物学的研究 I

Table 5. Results of identification of the bacteria isolated from 6 kinds of the commercial canned foods.

Canned products	Packed date	No. of cans	Species
1 Sweet corn	73. 3. 21	3	<i>Bacillus subtilis</i> (1*) <i>Staphylococcus epidermidis</i> (1)
2 Green pea	72. 7. 29	1	<i>Micrococcus rubens</i> (1) <i>Bacillus subtilis</i> (1)
3 Boiled mackerel	73. 2. 7	4	<i>Bacillus subtilis</i> (2) <i>Bacillus cereus</i> (2)
	73. 11. 2	4	<i>Micrococcus rubens</i> (2) <i>Sarcina flava</i> (2)
4 Seasoned beef (Yamatoni)	73. 8. 10	3	<i>Bacillus subtilis</i> (3)
5 Corned beef	73. 3. 16	4	<i>Bacillus subtilis</i> (1) <i>Staphylococcus epidermidis</i> (3)
6 Mandarine orange	73. 12. 18	9	<i>Bacillus circulans</i> (6)
			<i>Bacillus brevis</i> (1)
			<i>Bacillus cereus</i> (2)

Key to symbols; No. of strains

は糖の代謝形式によって球菌を genus *Staphylococcus* および genus *Micrococcus* の2属に分け、さらにこれらの genus を色素の産生、グルコースの代謝形式、アラビノース、マルトースおよびマンニトなどからの酸の産生、コアギュラーゼおよびフォスファターゼの産生などから genus *Staphylococcus* を6つの subgroup に、また genus *Micrococcus* を8つの subgroup に分類している。

以上述べたように球菌類に関し提案された分類法は多いが、著者らは9株の分離球菌については Bergey's Manual 第7版⁶⁾に従って分類を行った。分離菌9株の同定結果は表4に示す通りで、9株中4株はその細胞配列とグルコースを嫌氣的に分解して酸を産生することから明らかに genus *Staphylococcus* に属し、3株はその細胞配列と少量ではあったがグルコースを酸化的に分解し、酸を産生することから genus *Micrococcus* に属するものとし、残る2株はその細胞配列と色調から genus *Sarcina* に属するものであった。さらに分離菌を Bergey's Manual 第7版⁶⁾の species Key に従って分類すれば genus *Staphylococcus* に属する4株はいずれも *S. epidermidis* に、genus *Micrococcus* に属する3株は、*M. rubens* に、genus *Sarcina* に属する2株は *Sar. flava* に同定された。

なお、Bergey's Manual 第8版⁷⁾では第7版⁶⁾において Family Micrococcaceae に含まれていた4属中、genus *Gaffkya* はその名称が削除されており、genus *Sarcina* についても嫌気性の2種 (*Sar. ventriculi* および *Sar. maxima*) はそのまま残されているが、Family Micrococcaceae から Family Peptococcaceae に移されており、*Sar. methanica* および *Sar. barkeri* の2種は Family Methanobacteriaceae の genus *Methanosarcina* として記載されている。また、好気性の6種については *Sar. lutea*, *Sar. flava* および *Sar. aurantiaca* の3種は *Micrococcus luteus* に、*Sar. litalis* は Family Halobacteriaceae 中の genus *Halococcus* に、*Sar. hansenii* および *Sar. ureae* は同一菌種として Family Bacillaceae 中の genus *Sporosarcina* に *Sporosarcina ureae* として記載されている。また genus *Micrococcus* については、第7版⁶⁾では16種が記載されているが第8版⁷⁾ではそれらの菌種は3菌に統合され、*M. rubens* は *M. roseus* に包含されている。

genus *Staphylococcus* については、第7版⁶⁾に記載されている *S. aureus* および *S. epidermidis*

の2種に加えて Baird-Parker²²⁾ の分類で *Micrococcus* subgroup の 1, 2, 3 および 4 に相当するものが *S. saprophyticus* として新たに加えられている。

以上述べたように、Bergey's Manual 第7版⁹⁾ によって分離菌の同定を行った結果 *Staphylococcus epidermidis* (4株)、*Micrococcus rubens* (3株)、および *Sarcina flava* (2株) と同定された分離菌のうち、*Micrococcus rubens* と *Sarcina flava* は第8版ではそれぞれ *M. roseus* および *M. luteus* に種名が変更されていることを付記する。なお、上記分離菌の同定結果とそれらが分離された市販缶詰の種類を表5に示した。

考 察

一般市販缶詰についてその生残微生物の検出を試みた結果、前記したように60缶の検体中7缶から28株の生残微生物が検出され、供試検体の菌検出率は約12%であった。従来、Cheney¹⁾、Winzirl²⁾、および Fellers³⁾ らによって、市販缶詰は必ずしも無菌の状態ではなく、しばしば生残菌を含んでいることが報告されているが、本実験においても同様のことが認められた。

本実験で分離された微生物はすべて細菌で酵母およびカビは分離されなかった。分離菌28株中、*Bacillus* 属に同定された19株の内訳は *B. subtilis* が8株、*B. circulans* が6株、*B. cereus* が4株および *B. brevis* が1株であった。この中で *B. subtilis* と *B. circulans* の占める比率が大きい。Cheney¹⁾ および Bushnell²³⁾ は正常の加熱食品から genus *Bacillus* に属する細菌で特に *B. subtilis*、*B. cereus* および *B. circulans* などの分離例が多いことを報告している。

本実験においても *B. subtilis* および *B. circulans* などが果実および野菜缶詰から分離される比率が高かったが、それは果実・野菜缶詰の原材料が土壌に由来しているため土壌中の芽胞形成細菌、中でもその優勢種である *B. subtilis*、*B. cereus* および *B. circulans* などの細菌の付着する機会が大きいことによるものと推察される。一般細菌の中で特に芽胞を形成する細菌はその芽胞が熱に対し極めて強い抵抗性を示すことが多くの研究者により確認されている²⁴⁾。Lamanna²⁵⁾ は発育温度の高い細菌の芽胞は耐熱性も強いことを述べているが、Gordon と Smith ら²⁶⁾ によれば *B. subtilis*、*B. brevis* および *B. circulans* の至適発育温度は *B. stearothermophilus* および *B. coagulans* などの偏性好熱性細菌に次いで高いことをみており、それらの細菌の耐熱性の強いことがうかがえる。したがって本実験で *B. subtilis* および *B. circulans* が低温殺菌による果実および野菜缶詰の一部から比較的高頻度で分離されたことは、それらの耐熱性の強いことに起因するものであろう。なお、このように芽胞形成細菌の生残が認められたにもかかわらず、加温試験の結果、缶詰の変敗が生じなかったことは、生残菌数の少ないことかつ缶詰の脱気処理により缶内酸素圧が極めて低かったことなどによるものと思われる。

市販缶詰から分離された28株中19株は芽胞形成細菌であったが、それらは強い耐熱性を示すため缶詰内に生残したことは前記した報告からも容易に理解できることである。しかしながら残る9株の球菌類は芽胞形成細菌に比較して耐熱性が弱い細菌で、これらの球菌類が表6にみられるように殺菌温度の比較的高いスィートコーン、サバ水煮およびコーンビーフ缶詰からも分離されたことは注目される結果である。

一般に高温処理された缶詰内から非芽胞形成細菌が分離される場合、その缶詰の殺菌不足が問題とされるが、Fellers³⁾ および Ruyle と Tanner²⁷⁾ が高温で加熱処理された正常な市販缶詰から球菌類を分離していることから、球菌類の検出を以て殺菌不足の指標とすることには若干の疑義が残る。本実験において検査の対象とした缶詰も開缶前に加温試験および巻締部の検査などを行ない一応殺菌不足や二次汚染に対する点検が行なわれている。球菌類が検出された缶詰の一般的な殺菌条件を考慮すれば理論的に球菌類が生残する可能性は極めて薄いと考えられる。しかし、それらが生残する可能

宮内ら：加熱加工食品の微生物学的研究 I

Table 6. *The pH and sterilized conditions of the commercial canned foods.*

Canned products			Packed date	pH	Sterilized conditions (°C, minutes)
Fruit and vegetable	1	Pineapple	73. 1. 23	2.4	No. 3 can (100, 30-35)
		"	73. 10. 4	2.4	
	2	Mandarine orange	72. 12. 25	3.6	No. 5 can (82-84, 11-13)
		"	73. 12. 18	3.6	
	3	Fruit Punch	72. 2. 27	4.0	No. 5 can (80-83, 30-50)
	4	Fruit cocktail with red bean in syrup (Anmitsu)	74. 2. 1	4.0	No. 5 can (80-83, 30-50)
	5	White peach in syrup	73. 8. 21	4.0	
	6	Loquats in syrup	73. 7. 10	4.0	No. 4-5 can (95, 25)
	7	Sweet corn	73. 3. 21	6.7	No. 4 can (95-97, 20-24)
	"	73. 9. 21	5.6	No. 4 can (113-116, 60-70)	
8	Asparagus	72. 7. 29	5.6		
	"	73. 6. 15	5.4	No. 4 can (113-116, 25-35)	
9	Green pea	72. 7. 29	5.2		
	"	73. 10. 22	5.4	No. 5 can (106-109, 35-40)	
Fishery product	10	Red salmon	72. 5. 30	6.2	F*1 No. 2 can (115.2-115.8, 75-80)
	11	Shrimp in brine	72. 7. 25	7.6	F. No. 3 can (116.4, 18)
		"	74. 1. 10	6.8	
	12	Boiled mackerel	73. 2. 7	6.5	No. 4 can (116.4, 100)
		"	73. 11. 2	6.0	
	13	Chum salmon	73. 8. 7	6.2	No. 4 can (115.5, 60)
	14	Seasoned salmon with vegetable	70. 12. 30	5.2	F. No. 3 can (112.6, 75)
	15	Seasoned salmon with bamboo shoot	73. 8. 7	5.4	F. No. 2 can (115.2-115.8, 70-95)
	16	Seasoned ark-shell	72. 5. 30	6.0	No. 7 can (112.6, 60-70)
	17	Tuna in oil	70. 1. 26	6.2	No. 4 can (109, 70)
	18	Sardine in oil	73. 9. 4	5.4	S*2 No. 3 can (109, 70)
	19	Boiled scallop	70. 4. 25	5.7	F. No. 2 can (109-110, 80-90)
		"	74. 1. 10	5.6	
20	Seasoned whale meat (Yamatoni)	73. 5. 30	5.4	No. 5 can (111.3, 60)	
21	Zuai-crab	72. 6. 20	6.6	No. 2 can (108.4-109.2, 80)	
22	Smoked short necked clam in oil	72. 8. 12	4.6	S. No. 3 can (111.3, 70)	
Live-stock	23	Seasoned beef (Yamatoni)	73. 8. 10	5.5	No. 3 can (112, 45)
		"	73. 10. 31	5.4	
	24	Corned beef	73. 3. 16	6.4	No. 3 can (112, 70)
		"	74. 3. 15	5.6	
	"	74. 1. 10	5.6		

Key to symbols; *1: Flat, *2: Square

性をいくつかあげるとすれば以下のような点が指摘されよう。まず缶詰殺菌時における加熱処理の均等性の問題である。すなわち缶詰の加熱殺菌時には1缶宛加熱処理されるわけではなく多量の缶詰が一度にレトルト内に納置され加熱処理されるところから、すべての缶詰がレトルト内で均一な加熱処理を受けているとは考えられない。すなわち、レトルト内の温度分布の不均一性が関係する。次に缶詰内の熱伝導性の問題が考えられる。すなわち、スイートコーン(クリーム・スタイル)缶詰では内容物の粘調性が高いこと、またコーンビーフ缶詰では液汁が少なく内容物がドライパック状に密に詰

められていることなどから、熱伝導性の極めて悪い缶詰とされている。さらに缶詰内の細菌の生残に影響する要因として内容物の成分が考えられる。基質に存在する各種成分が細菌の耐熱性にどのような影響を与えるかという点について、芽胞形成細菌に関しては広範な研究が行われているが²⁸⁾²⁹⁾、球菌類などの非芽胞形成細菌に関する報告はほとんど見当たらない。しかし脂質の影響についてはかなり論議されており、Yesair, Bohrer および Cameron ら³⁰⁾ は非芽胞形成細菌に対する脂質の保護作用説を提唱しそれを実験的に証明している。この点からサバ水煮およびコーンビーフ缶詰などはその油脂分の非常に多いことが生残菌の耐熱性と関連して注目される。しかし缶詰内に生残した球菌の耐熱性に対する脂質以外の成分の影響についてはあまり研究されていないのが現状である。

以上のように缶詰殺菌時におけるレトルト内の缶詰、容積および熱伝導性、さらに缶詰内の各種成分の影響などを考慮すれば球菌類の生残の可能性を全く否定することはできない。上記のように60缶の供試検体から9株の球菌類が分離され、またそれらが生残する可能性も推定されるが、その推定に対する決定的な実証は現在のところ全く得られていない。正常な加熱処理をうけた缶詰内に球菌類が生残する可能性の問題に対する説明は、なお今後の検討課題と考える。

要 約

水・畜・農産缶詰24種60缶の市販缶詰を対象に、缶詰内生残微生物の調査ならびに分離菌の分類学的検討を行ない下記の結果を得た。

- 1) 24種60缶の市販供試缶詰中、6種7缶から生残微生物が分離され、菌検出率は約12%であった。また、分離された微生物は合計28株の細菌で酵母およびカビは検出されなかった。
- 2) 検体から分離された28株の細菌中、芽胞形成細菌は19株でいずれも genus *Bacillus* に属し、*B. subtilis* (8株)、*B. circulans* (6株)、*B. cereus* (4株) および *B. brevis* (1株) に同定された。また残る9株は球菌で、それぞれ *Staphylococcus epidermidis* (4株)、*Micrococcus rubens* (3株) および *Sarcina flava* (2株) に同定された。
- 3) 以上において、比較的耐熱性の高い *Bacillus* 属の細菌の検出率は低温殺菌による果実および蔬菜缶詰において高かった。
- 4) しかし、耐熱性の低いとみられる球菌類が、高温殺菌によるスイートコーン、サバ水煮およびコーンビーフ缶詰から分離されたことは今後の検討課題として注目された。

文 献

- 1) Cheney, E.W. (1919). A study of the micro-organisms found in merchantable canned foods. *J. Med. Res.*, 40, 177-197.
- 2) Weinzirl, J. (1918). The bacteriology of canned foods. *J. Med. Res.* 39, 349-447.
- 3) Fellers, C.R. (1926). A bacteriological study of canned salmon. *J. Bact.*, 12, 181-202.
- 4) 谷川英一・元広輝重・秋場 稔 (1969). 缶詰製造学, p. 841, 恒星社厚生閣, 東京.
- 5) 東 量三・爾元敦司・須藤恒三 (1962). Steel wool を用いる 嫌気培養法. 日本細菌学雑誌 17(9), 802-805.
- 6) Bread, R.S., et al. (1957). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. (7th ed.) 1032p. Williams and Wilkins, Baltimore.
- 7) Buchanan, R.E., et al. (1974). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. (8th ed.) 1146p. Williams and Wilkins, Baltimore.
- 8) 東 量三 (1962). 食品中の好気性芽胞菌とその簡易同定. *New Food Ind.*, 4(10), 61-69.
- 9) Pelczar, M.J. (1957). *Manual of Microbiological Methods*. 305p. McGraw Hill Book Co. Inc., New York.
- 10) 東京大学医科学研究所学友会 (1973). 細菌学実習提要, p. 478, 丸善, 東京.
- 11) 谷川英一・坂井 稔 (1966). 水産微生物学, p. 296, 恒星社厚生閣, 東京.

- 12) 谷川英一・坂井 稔 (1966). 同上, p. 301.
- 13) 谷川英一・坂井 稔 (1966). 同上, p. 304.
- 14) Simmons, J.S. (1926). A culture medium for differentiating organisms of typhoid-colon aerogenes groups and for isolation of certain fungi. *J. Inf. Dis.*, **39**, 209-214.
- 15) Tittsler, R.P. (1930). The reduction of nitrates to nitrites by *Salmonella pullorum* and *Salmonella gallinarum*. *J. Bact.*, **19**, 261-267.
- 16) Hugh, R. and Leifson, E. (1953). The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various gram negative bacteria. *J. Bact.*, **66**, 24-26.
- 17) Kovacs, N. (1956). Identification of *Pseudomonas pyocyanea* by the oxidase reaction. *Nature*, **178**, 703.
- 18) 久田綏好 (1957). 気性芽胞細菌の食品細菌学的研究 (II). 千葉医学会雑誌, **33**, 771-780. から引用.
- 19) Ford, W.W. (1916). Studies on aerobic spore-bearing non-pathogenic bacteria. *J. Bact.*, **1**, 273-319.
- 20) Shaw, C., Stitt, J.M., and Cowan, S.T. (1951). Staphylococci and their classification. *J. gen. Microbiol.*, **5**, 1010-1023.
- 21) Evans, J.B. et al. (1965). Subcommittee on Taxonomy of Staphylococci and Micrococci -Minutes of First Meeting. **15** (2), 107-108.
- 22) Baird-Parker, A.C. (1965). The classification of Staphylococci and Micrococci from world-wide source. *J. gen. Microbiol.*, **38**, 363-387.
- 23) Bushnell, L.D. (1922). Influence of vacuum upon growth of some aerobic spore-bearing bacteria. *J. Bact.*, **7**, 283-300.
- 24) Russell, A.D. (1971). *Inhibition and Disinfection of the Microbiological Cell*. 463p. Academic Press, London.
- 25) Lamanna, C. (1942). Relation of maximum growth temperature to resistance to heat. *J. Bact.*, **44**, 29-35.
- 26) Gordon, R.E. and Smith, N.R. (1949). Aerobic sporeforming bacteria capable of growth at high temperatures. *J. Bact.*, **58**, 327-341.
- 27) Ruyle, E. and Tanner, F.W. (1935). The microbiology of certain canned meat products. *zbt. Bakt. Section 2*, **92**, 436-449.
- 28) Molin, N. and Snygg, B.G. (1967). Effect of lipid materials on heat resistance of bacterial spores. *Appl. Microbiol.*, **15**, 1422-1426.
- 29) Canada, J.C., Strong, D.H., and Scott, L.G. (1964). Response of *Clostridium perfringens* spores and vegetative cells to temperature variation. *Appl. Microbiol.*, **12**, 273-276.
- 30) Yesiar, J., Bohrer, C.W., and Cameron, E.J. (1946). Effect on certain environmental conditions on heat resistance of micrococci. *Food. Res.*, **11**, 327-331.