

アサリ・ハマグリ水煮罐詰の黒変原因 について (第一報)

岡 屋 忠 治
宮 田 晶 子

ON THE SULFIDE SPOILAGE BACTERIA IN CANNED BOILED CLAMS AND BABY CLAMS.

Chjui Okaya and Akiko Miyata

We have isolated the sulfide spoilage bacteria from many blackened boiled clams and baby clams. They are quite resemble to *Cl. nigrificans* in the following characteristics :

Their vegetatives are in the shape of rods with rounded ends.

They are obligate anaerobic thermophils and grow between 37~70°C., their optimum temperature being 55°C.

They are detected through the formation of characteristic, distinct, blackened, spherical areas in Cameron's sulfite agar medium due to extensive hydrogen sulfide production.

They do not ferment glucose.

In the clam bouillon, they do not occur below pH 5.0 and do above pH 5.4.

I 序 言

アサリ水煮罐詰の内容物の黒変現象は数10年以前より知られていたものであるが、其発生頻度が非常に低く其の数量も経済的に重要視される程のものでなかったため、業界に問題を起すこともなく看過され勝であった。所が昭和34年に至ってこの黒変罐が九州地方に突発的に多量に発生したので日本罐詰検査協会、東洋製罐株式会社並に九州にある業界がこれを大きく取あげ神戸検査所及或製造業者よりこれが原因調査を依頼されたのでこの試験の実施に入ったのである。更にこの試験に取掛っていた昭和34年10月日本罐詰検査協会横浜検査所に於いて輸出ハマグリ水煮罐詰(H. D. ブリキ内面C-エナメル、サケ4号罐)が受検数769c/sの中75c/sが肉並に液汁が黒変していたとのことで不合格となった。これに関し東洋製罐本社研究部、三井物産株式会社より試料罐の送付を受けたので細菌の検査を実施した所アサリ水煮罐詰黒変原因菌と同一なる細菌を分離した。因にこの試料ハマグリ罐詰は茨城県波崎町にて製造されたものである。

元来アサリとハマグリとは其の棲息条件が非常によく似ているからハマグリ罐詰にアサリ罐詰と

同様な黒変現象の起ることは想像し得る所であるがハマグリ罐詰の黒変に就いては今日迄記載されたものがないようである。何れにせよ昭和34年度に於いてアサリ、ハマグリ水煮罐詰に業界へ問題を投げける程の黒変現象の出たことはまことに重大事であってこの事は昭和34年度に限られたものであるか或はこの黒変菌が海況等の異変によって今後も全国的に旺盛なる繁殖をしてこれ等の罐詰の製造に暗影をなげるものであるかは予断を許さぬところであるが、この黒変菌の芽胞がアサリ、ハマグリ罐詰の正常状態に於ける pH 範囲に於いて非常に強い熱抵抗力を有することに留意して今後の製造には従来よりもより高い程度の殺菌操作を施さなければならないことが考へられる次第である。

次にこの黒変罐は膨脹しないのみならず罐内が相当に低圧になっているから外観より正常罐と区別することは不可能であって開罐して初めて判明するものであるから、これが検出は極めて困難である。

黒変罐内容物の状態は所謂 Sulfide Spoilage であってアサリ肉並に液汁が極度に黒変し硫化水素臭が非常に強い、肉は稍々軟化しているが pH は正常罐内容物の夫と殆ど変化がない。

この種の黒変現象を起す原因菌に就いてはこれが *Clostridium nigrificans* に極似した細菌であることを熊倉、田中、茂木 (1958) ①等が指適している。この *Cl. nigrificans* ②は米国に於いてピース、コーンの罐詰黒変の原因菌として発見されたもので工場内の木製の水槽又はブライン・タンクの汚染されたものより罐詰内に移行するものであることを Cameron, Williams, Thompson が National Canners Assoc. Bull. 25-L. 1928 に報告している。

今 *Cl. nigrificans* の性状③を略記すると。

- a. $0.3\sim 0.5\mu \times 3.0\sim 6.0\mu$ の桿菌で菌体の両端が円い。
- b. 耐熱性芽胞を有する ($D_{250.0} = 1.64\sim 2.033$, $Z = 19.5\sim 22.7$ F = $6.65\sim 8.31$) ①芽胞を形成すると菌体が少し膨れる。
- c. 好熱性細菌で発育適温は 55°C であるが $65^{\circ}\sim 70^{\circ}\text{C}$ の範囲でも発育し得る。
- d. 偏性嫌気性菌である。
- e. Cameron's Sulfite Agar Medium (C. S. A. M.) の高層培養に於いて試験管の底より発育し初めて漸次周囲の培地を黒変させる。其の発育の初期に於いて球状の黒変塊を形成することが特徴である。
- f. 培地の黒変部には強烈なる硫化水素臭がある。
- g. Cystine より硫化水素を発生させる。
- h. Indole を発生しない。
- j. 人間、モルモット、廿日ネズミ、兎等に対して病原性がない。
- k. 棲息所は土壌であるが時に肥料からも分離される。

II 細菌の分離及分離結果

A. 試料罐より細菌の分離

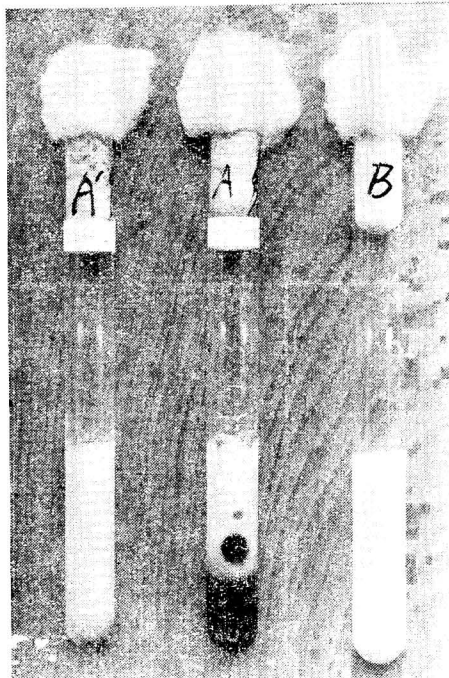
使用した培地

1. PE-2 培地
2. 酵母エキス入含糖肝片 Bouillon
3. C. S. A. M.

B. 今日迄に判明した分離菌の性状

1. 桿菌 $0.5\mu \times 3.0 \sim 5.0\mu$ 、菌体の両端が円い。
2. 好熱細菌で発育適温は 55°C であるが 37°C でも発育し得る
3. 偏性嫌気性菌でグルコースを醗酵しない
4. C. S. A. M. の高層培養で試験管底より発育し初める。発育の初期に於いて培地中に球状の黒変塊を作るのが特徴である。
5. 培地の黒変部は硫化水素の臭が強い。
6. アサリ肉汁培地に移植すると 55°C , 7 日にしてアサリ肉及其の液汁を黒変させる。この状態は黒変罐内容物と同一状態である。
7. アサリ肉汁培地をクエン酸で pH を調節 (pH4.8, 5.0, 5.4, 5.8, 6.4) して発育 pH 範囲を測定して見ると pH5.4 以上には発育するが pH5.0 以下には発育しない。

以上の諸性状は *Cl. nigrificans* の夫と極似している。何れにしても黒変原因菌が罐詰より分離されるということはこれ等の罐詰の製造に於ける殺菌行程がこの細菌に対して完全でなかったことを語るものであるからここに参考の為にこれ等罐詰に実施された殺菌加熱を記載すると次の如くなる。



C. S. A. M. の黒変

A, A' は菌を移植せるもの

B は移植せざるもの

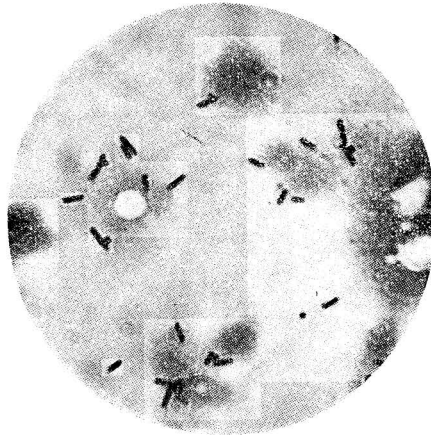
1. アサリ水煮罐詰の殺菌（7号罐）

蒸気圧 10LB/口" 時間 80分

2. ハマグリ水煮罐詰の殺菌（サケ4号罐）

蒸気圧 10LB/口" 時間 60分

アサリ水煮罐詰黒変原因菌×2,000



C. 今日迄試験せる試料罐と黒変菌の存否

(1) 試料罐は H. D. ブリキ内面C-エナメル7号罐（アサリ水煮罐詰）

（太枠中のは室温に放置、太枠中以外のは 55°C.14 日加温）

No.	総量 gr	内容量 gr	P H	Br	内容黒変	製造年月日	C. S. A. M の 黒 変
1	382	318	6.0	9.5	≡	9409	+ +
2	372	309	6.3	9.5	—	9426	+ +
3	382	320	6.2	9.5	—	9429	— —
4	388	326	6.2	9.0	≡	9513	+ +
5	388	325	6.1	10.5	—	9514	+ +
6	374	312	6.1	9.5	—	9515	+ +
7	385	321	6.1	10.0	+	9512	+ +
8	382	320	6.1	9.0	—	9430	+ +
9	372	310	6.3	8.0	≡	9426	+ +
10	379	316	6.1	10.0	≡	9510	+ +
11	378	316	6.2	10.0	≡	9510	+ +
12	378	315	6.2	10.0	—	9428	+ +
13	375	312	6.0	10.0	≡	9514	— —
14	375	312	6.5	10.0	≡	9513	+ +

15	370	307	6.0	10.0	—	9514	+ +
16	371	308	6.0	9.0	—	9426	+ +
17	376	313	6.2	10.0	≡	9513	+ +
18	380	317	6.2	10.0	≡	9513	+ +
19	373	311	6.2	10.0	≡	9513	+ +
20	371	308	6.0	9.5	≡	9425	+ +
21	374	310	6.2	10.0	≡	9514	— —
22	378	315	6.2	10.0	—	9514	+ +
23	378	312	6.2	9.0	—	9512	— —
24	375	313	6.2	10.0	≡	9514	— —
25	377	315	6.2	9.0	—	9429	— —
26	375	313	6.2	8.0	—	9426	— —
27	368	306	6.3	10.0	≡	9515	— —
28	371	309	6.3	10.0	≡	9513	— —
29	375	313	6.2	8.0	≡	9426	— —
30	380	318	6.2	9.5	—	9429	— —
31	373	309	6.1	9.5	—	9425	— —
32	373	311	6.1	10.0	—	9515	— —
33	381	318	6.1	10.0	—	9510	— —
34	381	318	6.1	9.5	—	9503	— —
35	378	315	6.1	9.0	—	9425	— —
36	373	310	6.1	9.5	≡	9513	— —
37	381	318	6.2	10.0	≡	9513	— —

以上は神戸検査所依頼（熊本県産）

A	363	301	6.5		≡	9712	+ +
B	365	303	5.8		—	〃	— —
C	363	296	6.3		≡	〃	+ +
D	372	310	6.3		±	〃	— —
E	361	299	5.8		—	〃	— —
F	361	298	5.9		≡	〃	+ +

註：1 C. S. A. M. の黒変は黒変菌の存在を表示するものである。尚この培地の黒変の有無の決定は細菌分離後 55°C、14 日の結果である。

(2) 試料罐は H. D. ブリキ内面C-エナメルサケ4号罐(ハマグリ水煮罐詰) 何れも55°C 14日間加温して細菌の分離を行った。

No.	総量	内容量	PH	Br	内容黒変	製造年月日	C. S. A. M の 黒 変
CA	570 ^{gr}	480 ^{gr}	6.4	7.0	—	9917	— —
CB	565	476	6.4	7.0	—	〃	— —
CC	571	481	6.5	7.0	±	〃	— —
CD	560	471	6.5	6.5	—	〃	— —
Ca	558	468	6.3	7.5	+	9804	— —
Cb	560	472	6.4	7.0	+	〃	— —
Cc	563	476	6.4	7.0	卅	〃	+ +
Cd	559	470	6.3	7.5	+	〃	+ +
Ce	568	479	5.1	7.5	+	〃	+ +
Cf	561	471	6.0	5.5	—	〃	— —
Cg	555	468	4.9	6.0	—	〃	— —
Ch	555	465	6.4	7.5	—	〃	— —
Ci	563	473	6.4	7.2	—	〃	— —
Cj	560	470	6.4	7.5	—	〃	— —
Ck	553	464	6.4	7.0	—	〃	— —
Cl	553	464	6.4	7.0	—	〃	— —
Cm	556	457	6.4	7.8	—	〃	— —
Cn	563	473	6.4	7.5	—	〃	— —
Co	569	478	5.9	7.5	—	〃	+ +
Cp	563	475	5.8	7.5	卅	〃	+ +
Cq	558	479	6.3	7.5	—	〃	+ +

試料罐数に対する黒変菌の分離された罐数はアサリ罐詰に於いて49%、ハマグリ罐詰に於いて28.5%であつてアサリ罐詰に於いては約半数のものから黒変菌が分離されていて圧倒的多数を占めている。

上表に示す如く試料罐を細菌分離前に55°C、14日間加温したものは早きは2~3日遅くとも7日後にはC. S. A. M. を黒変させるも、全然細菌分離前に加温せず室温に放置せるものは試料罐の内容物は相当に黒変していても14日以前の培養中には前記培地を黒変させない。この事は試料罐より黒変菌を分離する上に於いて留意しておかなければならないことである。

Ⅲ 要 約

- A. 今回試料罐として提供されたアサリ水煮罐詰は長崎県、熊本県産のもので昭和34年度産のものでありハマグリ水煮罐詰は茨城県産のもので製造は同年度のものである。
- B. 今回アサリ、ハマグリ水煮罐詰より分離された黒変原因は *Cl. nigrificans* 極似の細菌で

ある。

- C. 分離菌のアサリ肉汁培地での発育 pH は 5.0 以下では発育不能で 5.4 以上では発育可能でアサリ水煮罐詰の正常状態の pH 5.8~6.0 で最も発育がよい。

IV 文 献

- ① 罐詰時報 Vol 37. No. 12 p. 98, 1958.
- ② TANNER, Microbiology of Foods. p. 983, 1944.
- ③ Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. p. 649.