

たけのこ缶詰の研究—Ⅳ

たけのこの崩壊菌について

森 大蔵・池上 義昭

Studies on Canned Bamboo Shoots-IV On Disintegrating Bacteria of Bamboo Shoots

Daizo Mori and Yoshiaki Ikegami

This study is carried out to investigate the identification, the heat resistance of spore, the influence of pH value and the optimum temperature of bacteria which disintegrate bamboo shoots during the period they are soaked in water and also from canned ones.

The results obtained are as follows:

1) Four strains (N-3-1, N-3-2, S-3, NO-2) isolated from bamboo shoots while soaked in water are identified as *Bacillus subtilis* (Table 1).

2) Two strains (R₁, R₂) isolated from canned bamboo shoots are identified as *Bacillus polymyxa* (Table 1).

3) In the case of those spore are suspended in pH 7.0 buffer at 100°C, the heat resistance is 37 min. at N-3-2, 23 min. at S-3, 15 min. at N-3-1, 12 min. at NO-2 and 9 min. at R₁ and R₂ respectively (Fig. 1).

4) Heat resistance of the spore suspended in pH 7.0 buffer N-3-2 is 150 and 8 min. at 95°C and 105°C respectively (Fig. 2).

5) PH for the growth of the bacteria is 4.50 at S-3 and NO-2, 4.75 at N-3-1, N-3-2, R₁ and R₂ in aerobic condition of bottled bamboo shoots (Fig. 3-1).

6) Optimum temperature for the growth of the bacteria is 40°C at N-3-1, N-3-2 and S-2, 35-45°C at NO-2 in aerobic condition (Fig. 5).

1. 緒 言

前報¹⁾では水さらし中のたけのこに繁殖する微生物は、乳酸菌の一種である *Leuconostoc mesenteroides* と *Streptococcus lactis* が大部分であると報告したが、水さらし中にはその他の微生物も場合によっては繁殖することが十分考えられる。特に水さらし中にたけのこが崩壊（一般にズルといわれている現象）することが以前よりしばしば問題になっている。

たけのこの崩壊現象については志賀ら²⁾がたけのこびん詰より崩壊菌を分離しているが、福本ら³⁾は細菌の分離ができず酵素の再活性によるものと推定し、その原因ははっきり究明されていない。

そこで我々は、この原因を究明し水さらし中のたけのこの崩壊防止、更に缶詰にした場合の変敗

防止のためにたけのこ缶詰工場の水さらし中に崩壊したたけのこを採取し、たけのこを崩壊する細菌を分離、更に膨張し、たけのこが崩壊した181缶詰よりたけのこを崩壊する細菌を分離し、2～3の検討を行った。

2. 実験材料および方法

2・1 供試材料

2・1・1 九州地区のたけのこ缶詰工場の水さらし中に崩壊したたけのこ

2・1・2 九州および中部地区で発生した膨張缶でたけのこが崩壊した181缶詰

2・2 細菌の分離

2・2・1 たけのこ：採取したたけのこに滅菌生理塩水を加え、無菌的にホモゲナイズ、濾過した濾液をたけのこ片入ブイヨンに入れ、たけのこの崩壊を調べた。そしてたけのこが崩壊したブイヨン含糖肉汁寒天培地（肉エキス1.0%、ポリペプトン1.0%、ブドウ糖0.3%、寒天2.0%）に塗抹して分離した。

2・2・2 缶詰：缶詰を無菌的に開缶し内容物を含糖肉汁寒天培地に塗抹して分離した。

2・3 細菌の同定法

形態学的、生理学的性状につき、成書の方法に従って実施した。

2・4 孢子懸濁液の調整法¹⁾

含糖肉汁寒天培地平板上で培養し孢子を形成させ、その孢子を白金耳でpH 7.00のリン酸緩衝液に懸濁させたのち東洋濾紙 No. 5B で無菌的に濾過、85°C 10分加熱後冷却して冷蔵貯蔵した。

2・5 孢子数測定法

含糖肉汁寒天培地で培養して、コロニー数で計算した。

2・6 孢子の耐熱性

孢子懸濁液を小試験管に1ml ずつ分注し、先端をバーナーで密封、次いで各温度の油浴（エバポレスG使用）中で各加熱時間につき4本ずつ一緒に加熱する。一定時間加熱後4本同時に取出し、流水中で急冷し、含糖肉汁寒天培地で培養してコロニー数を数え、孢子の減少数を測定した。（加熱のlag-periodを各加熱温度とも30秒と決め、それ以後の時間を加熱時間とした。）

2・7 pHと発育の関係

2・7・1 培養基：培養基（Nutrient broth 1.6%、ブドウ糖0.3%）を10%塩酸でおおのこのpHに調整し、それに孢子懸濁液を加え発育を調べた。

2・7・2 たけのこびん詰：たけのこびん詰（たけのこ100g、水100g）を造り120°C 15分殺菌後無菌的に20%クエン酸、20%クエン酸ソーダを加えおおのこのpHに調整する。1ヶ月後に開びんしてpHを測定し、おおのこのpHに分け100°C 30分殺菌を行う。冷却後孢子懸濁液を加え好気的条件下の場合には中蓋をせず、嫌気的条件下の場合は70°Cぐらゐに加熱して孢子懸濁液を加えたのち中蓋をして水冷し、37°Cに貯蔵して発育を調べた。

2・8 発育と温度の関係

培養基 (Nutrient broth 1.6%) に菌液を加え、各温度で24時間振盪培養を行い、640m μ の波長で吸光度を測定した。

3. 実験結果および考察

3.1 崩壊菌の分離

3.1.1 たけのこより細菌の分離：N社の水さらし中に崩壊したたけのこよりN-3-1, N-3-2, S社のたけのこよりS-3, NO社のたけのこよりNO-2のガス非産生の4株を分離した。

3.1.2 181缶詰より細菌の分離：中部地区の膨張缶詰よりR₁, 九州地区の膨張缶詰よりR₂のガス産生の2株を分離した。

これら6株はいずれも培地中のたけのこを崩壊する細菌であった。また形態学的、生理学的性状を調べた結果 Table 1 に示すごとくN-3-1, N-3-2, S-3, NO-2の4株は *Bacillus subtilis* と

Table 1 Morphological and physiological characteristics

		<i>Bacillus subtilis</i>	N-3-1	N-3-2	S-3	NO-2	<i>Bacillus polymyxa</i>	R ₁	R ₂
Cell	Form	Rods	Rods	Rods	Rods	Rods	Rods	Rods	Rods
	Size (μ)	0.2×0.7	0.5×1.0	0.5×1.0	0.5×1.0	0.5×1.0	0.8×4.0	0.5×1.0	0.5×1.0
Spore	Shape	Ovoid	Ovoid	Ovoid	Ovoid	Ovoid	Ovoid	Ovoid	Ovoid
	Position	C.	C.	C.	C.	C.	C. S.	C. S.	C. S.
Utilization of citrate		+	+	+	+	+	-	+	+
Gelatin liquefaction		+	+	+	+	+	+	+	+
Hydrolysis of casein		+	+	+	+	+	-	+	+
Hydrolysis of starch		+	+	+	+	+	+	+	+
Action on nitrate		+	+	+	+	+	+	+	+
Hydrogen sulfide production		-	-	-	-	-	-	-	-
Indol production		-	-	-	-	-	-	-	-
Urease production		±	+	+	+	+	-	-	-
Voges-Proskauer test		+	+	+	+	+	+	+	+
NaCl (7%)		+	+	+	+	+			
Glucose		A. G. +(-)	A. G. +(-)	A. G. +(-)	A. G. +(-)	A. G. +(-)	A. G. +(+)	A. G. +(+)	A. G. +(+)
Rhamnose		-	-	-	-	-	+(+)	+(+)	+(+)
Maltose		±(-)	-	-	-	-	+(+)	+(+)	+(+)
Lactose		-	-	-	-	-	+(+)	+(+)	+(+)
Xylose		+(-)	+(-)	-	-	+(-)	+(+)	+(+)	+(+)
Arabinose		+(-)	+(-)	+(-)	+(-)	+(-)	+(+)	+(+)	+(+)
Sucrose		+(-)	+(-)	+(-)	+(-)	+(-)		+(+)	+(+)
Galactose		-	+(-)	+(-)	-	-		+(+)	+(+)
Mannitol		+(-)	+(-)	+(-)	+(-)	+(-)	+(+)	+(+)	+(+)
Salicin		+(-)	+(-)	-	-	+(-)		+(+)	+(+)
Raffinose		-	+(-)	+(-)	+(-)	+(-)		+(+)	+(+)
Inulin			+(-)	+(-)	+(-)	+(-)		+(+)	+(+)
Glycerol		-	+(-)	+(-)	+(-)	+(-)		+(+)	+(+)
Sorbitol		+(-)	+(-)	+(-)	+(-)	+(-)	+(+)	-	-

R₁, R₂ は *Bacillus polymyxa* と一致した。

3・2 耐熱性

孢子濃度 10⁶/ml の孢子懸濁液を使用して分離した6株の死滅速度を測定した結果 Fig. 1 に示すとおりN-3-2, S-3, N-3-1, NO-2, R₁, R₂ の順で耐熱性の強いことを認めた。また、いずれの菌株も下に彎曲した死滅速度曲線を描いたがこの原因は不明である。

分離した6株の中で最も耐熱性の強いN-3-2を用いて95°C, 100°C, 105°Cにおける死滅速度を調べた結果は Fig. 2 のとおりであり、95°Cでは150分以上の加熱が必要なことを認めた。

また、孢子濃度を 10⁸~10⁶/ml と変えた死滅速度曲線は Fig. 3 のとおりであり、孢子濃度が少ないほど死滅速度も速くなり、缶詰を造るときは出来るだけ細菌による汚染を少なくする必要

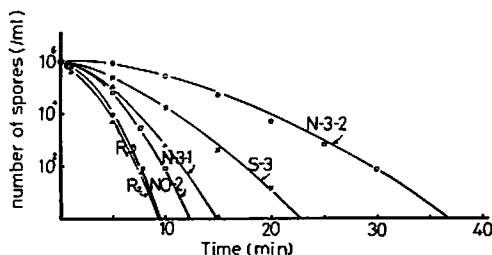


Fig. 1 Survival curve of *B. subtilis* (N-3-1, N-3-2, S-3, NO-2) and *B. polymyxa* (R₁, R₂) at 100°C (pH 7.0)

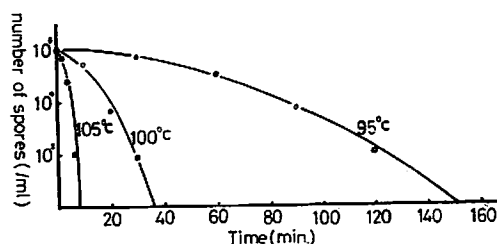


Fig. 2 Survival curve of *B. subtilis* (N-3-2) at temperature (pH 7.0)

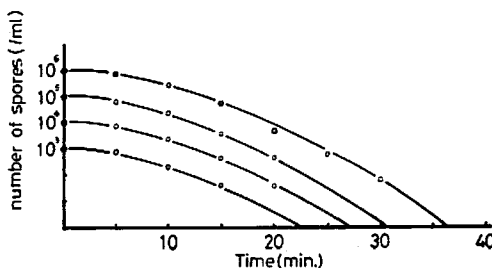


Fig. 3 Survival curve of *B. subtilis* (N-3-2) at concentration (100°C, pH 7.0)

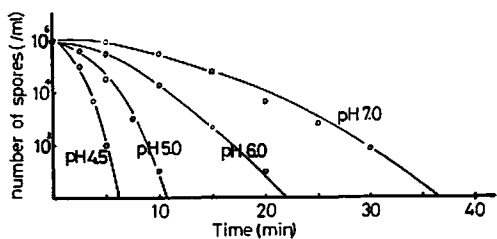


Fig. 4 Survival curve of *B. subtilis* (N-3-2) at pH value (100°C)

を認めた。

以上の耐熱性はいずれも pH 7.0 のリン酸緩衝液で行なったものであるが、pH を 4.5, 5.0, 6.0, 7.0 とした場合は Fig. 4 に示すとおり pH が低くなるほど死滅速度が速くなった

3・3 発育と pH の関係

培養基の pH を調整した場合

Table 2 Effect of pH value on germination of spores of bacteria (culture media*)

		4.5	5.0	5.5	6.0
<i>Bacillus subtilis</i>	N-3-1	- -	- -	+ +	+ +
	N-3-2	- -	- -	+ +	+ +
	S-3	- -	+ +	+ +	+ +
	NO-2	- -	+ -	+ +	+ +
<i>Bacillus polymyxa</i>	R ₁	- -	- -	+ +	+ +
	R ₂	- -	- -	+ +	+ +

* Nutrient broth 1.6% Glucose 0.3%

は Table 2 に示したとおりで、S-3, NO-2 の 2 株は pH 5.0 で発育し、残りの N-3-1, N-3-2, R₁, R₂ の 4 株は pH 5.5 以上でないと発育しなかった。

しかしこれは培養基であり、実際のたけのこ缶詰の場合と異なると思うので、pH を調整した、たけのこびん詰で行った結果を Table 3-1, Table 3-2 に示す。好氣的条件のびん詰では S-3, NO-2 の 2 株は pH 4.5 で発育を認め、その他の N-3-1, N-3-2, R₁, R₂ の 4 株も pH 4.75 で発育し、培養基の結果より低い pH で発育した。嫌氣的条件のびん詰の場合は、培養基と好氣的条件のびん詰の間であった。

以上のことよりたけのこ 181 缶詰のような開放殺菌をし、あとで巻締を行なうような缶詰の場合、pH が 4.5 以上の場合これら崩壊菌が混入し発育する危険がかなりあると考える。その防止には巻締のとき蓋の汚染を防ぎ、pH を 4.0 くらいに調整し、ヘッドスペースを少なくする必要があると思う。

3・4 発育と温度の関係

水さらし中のたけのこを崩壊する N-3-1, N-3-2, NO-2, S-3 の 4 株についての発育と温度の関係は Fig. 5 に示したごとくであり、いずれの菌株も 25°C ~ 50°C の範囲では発育を認め、発育至適温度は N-3-1, N-3-2, S-3 の 3 株は 40°C, NO-2 は 35~45°C であった。またこれら 4 株の細菌は、たけのこの一般的水さらし温度である 20°C, 24 時間後では発育は認められなかった。

4. 要 約

水さらし中にたけのこを崩壊する細菌は、ガス非産生の好気性菌 *Bacillus subtilis* であることを

Table 3-1 Effect of pH value on germination of spores of bacteria in aerobic condition (bottled bamboo shoots)

		4.25	4.50	4.75	5.00
<i>Bacillus subtilis</i>	N-3-1	- -	- -	+ +	+ +
	N-3-2	- -	- -	+ +	+ +
	S-3	- -	+ +	+ +	+ +
	NO-2	- -	+ +	+ +	+ +
<i>Bacillus polymyxa</i>	R ₁	- -	- -	+ +	+ +
	R ₂	- -	- -	+ +	+ +

Table 3-2 Effect of pH value on germination of spores of bacteria in anaerobic condition (bottled bamboo shoots)

		4.25	4.50	4.75	5.00
<i>Bacillus subtilis</i>	N-3-1	- -	- -	- -	+ +
	N-3-2	- -	- -	- -	+ +
	S-3	- -	- -	+ -	+ +
	NO-2	- -	- -	+ +	+ +
<i>Bacillus polymyxa</i>	R ₁	- -	- -	- -	+ +
	R ₂	- -	- -	- -	+ +

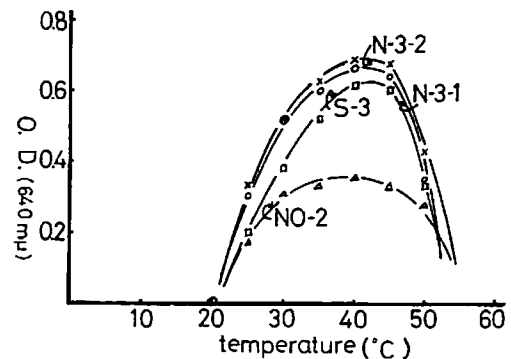


Fig. 5 Effect of temperature on growth of *B. subtilis* (N-3-1, N-3-2, S-3, NO-2)

認め、ある程度の耐熱性、耐酸性もあることを認めた。水さらし中にこの細菌による変敗（崩壊）を防止するためには水さらし温度を 20°C くらいにして繁殖を抑制し、前報¹⁾で述べたような乳酸菌の繁殖によって pH を速く低下させる必要があると考える。また缶詰の場合には巻締時の蓋の汚染防止、pH を 4.0 まで低下させる、ヘッドスペースをできるだけ少なくし、酸素の封入を少なくするなどの必要があると考える。

膨張缶でたけのこを崩壊させる細菌は *Bacillus polymyxa* であることを認めた。

文 献

- 1) 森・池上・沢山：缶詰時報, 52, 339 (1973).
- 2) 志賀・岡屋：本誌, 2, 1 (1952).
- 3) 福本, 岸：科学と工業, 24, 283 (1950).
- 4) 天羽・坂口：日農化誌, 25, (7), 104 (1951).