

低酸性飲料缶詰における有芽胞菌の接種試験

池上 義昭, 加瀬谷マリ, 小池寿美江, 後藤 隆子

Inoculated Pack Test of Low-acid Beverages with Bacterial Spores

Yoshiaki Ikegami, Mari Kasetani, Sumie Koike and Takako Goto

Fourteen kinds of low-acid canned beverages including oolong tea, black tea and coffee were inoculated with the spores of *B.cereus*, *B.subtilis*, *B.licheniformis*, *B.polymyxa*, *B.coagulans*, *B.stearothermophilus*, *C.sporogenes*, *C.thermosaccharolyticum* and *C.thermaceticum*, and incubated for 90 days at optimum temperature. Spoilage of the cans was evaluated with appreciable decrease of pH value and detection of bacteria in the contents and with swelling of the cans.

It was found that no growth of the bacteria occurred in the canned oolong tea having a pH below 6 and the canned black tea without milk at pH approximately 5. *B.licheniformis*, however, could grow in the commercial canned oolong tea at pH approximately 6.

All strains used as inoculum could grow in the canned coffee with milk and black tea with milk. The growth of *B.coagulans* and *C.thermosaccharolyticum* was found in the canned coffee without milk at pH approximately 5. Furthermore, all strains except *C.thermaceticum* could grow in these canned coffee having a pH above 6.

Key words: low-acid beverage, oolong tea, coffee, black tea, spore, inoculation, canned food, milk, sucrose fatty acid ester.

低酸性飲料缶詰の製造に関して食品衛生法（厚生省告示370号）が改正され、昭和62年5月28日より施行された。これにともない容器詰のウーロン茶、コーヒー、紅茶等の低酸性飲料は従来の85℃、30分の殺菌、または「その食品中に存在し、かつ発育し得る微生物を死滅させるに十分な殺菌条件」で製造されなければならないことになった。従って、これらの条件を満足するならばホットパックのみの充填製造が可能になってくる。この確認試験として実際にはボツリヌス菌あるいはこれより耐熱性の強い菌（例えば、NCA 3679）を接種し、数段階（3条件以上）の条件（温度および時間）について検体を加熱処理し、30℃で90日間以上培養し、ボツリヌス菌では毒素の産生、耐熱性菌ではその増殖が認められた条件で確認する必要がある。

ミルク入りでないお茶類飲料は、栄養源が少なく、またお茶類中に含まれているカテキン類の抗菌作用によって変敗し難いと言われている¹⁻⁷⁾。またミルクコーヒーなどの缶詰に添加されることもある乳化剤の中に強い抗菌作用を示すものがある⁸⁻¹⁵⁾。従って、低酸性飲料缶詰中でどのような細菌が増殖可能か確認する必要がある。

本報では、ウーロン茶、コーヒー、紅茶等の飲料14種類の缶詰に一般缶詰の変敗原因菌として知られている9種類の細菌胞子を接種し、ホットパックした缶詰を至適温度で90日間保存した場合、どの飲料缶詰にどの細菌が増殖可能かを検討するため接種試験を行った。

実験方法

1. 供試菌株

*Bacillus*属の細菌は*B.cereus* (BCe-1), *B.subtilis* (F03025), *B.licheniformis* (BL-1), *B.polymyxa* (BP-1), *B.coagulans* (BC-1), *B.stearothermophilus* (BSt-1)の6種類, *Clostridium*属の細菌は*C.sporogenes* (CS-1), *C.thermosaccharolyticum* (CT-1), *C.thermaceticum* (24-1)の3種類を使用した。なお*B.subtilis*以外は缶詰より分離した細菌である。

2. 試験缶詰

Table 1に示した14種類の飲料を使用した。

ウーロン茶は市販の茶葉から50倍の処理水で、90°C、3分間抽出し、Brix0.3と0.5のものをpH調整せずに使用した (No.1, 2)。Brix0.3のものにビタミンCを20mg添加し、更に重曹を加えてpH 6.2に調整して使用した (No.3)。

コーヒーは市販のコーヒー豆 (3種類ブレンド) から抽出し、そのままのもの (No.4)、これに砂糖を加えてBrix10に調整したもの (No.5)、これに脱脂粉乳と全脂粉乳が10:8の割合のものを1.8%添加したもの (No.6)、またこれにショ糖脂肪酸エステル (P1670, SEと呼ぶ) を300ppm加えたもの (No.7) を使用した。

紅茶は市販の茶葉から80倍の処理水で、90°C、3分間抽出したもの (No.8)、これに砂糖を加えてBrix10に調整したもの (No.9)、これに脱脂粉乳と全脂粉乳が10:8の割合のものを1.8%添加したもの (No.10) を使用した。

市販品の缶詰は開缶し、その内容物を使用した。

各飲料をプレート式熱交換機で高温短時間殺菌 (140°C, 20秒間) し、90-98°Cに冷却後J200 AN2P缶に約190g充填し、胞子を缶当り 10^4 個 (2×10^4 /mlの孢子懸濁液を0.5ml) 接種後巻締し、反転して約2分間放置後冷却した。

Table 1. Canned beverages used for inoculated pack test.

Sample No.	Products
1	Oolong tea (Brix 0.3)
2	Oolong tea (Brix 0.5)
3	Oolong tea (Brix 0.3, vitamin C and NaHCO ₃)
4	Coffee
5	Coffee with suger
6	Coffee with suger and milk
7	Coffee with suger, milk and suger ester
8	Black tea
9	Black tea with suger
10	Black tea with suger and milk
11	Oolong tea (commercial canned beverage)
12	Black coffee (commercial canned beverage)
13	Milk coffee (commercial canned beverage)
14	Milk tea (commercial canned beverage)

3. 保存条件

好熱性細菌の*B.stearothermophilus*, *C.thermosaccharolyticum*, *C.thermaceticum*を接種した缶詰は55°Cで保存し、その他は35°Cで保存した。

孢子無接種区は15缶ずつを35°C、55°Cで保存した。孢子接種区は30缶ずつ保存し、それぞれ90日間行った。

4. 細菌の増殖および生菌数の測定

保存中、外観的に膨張を確認した場合にはすぐ開缶し、外観的に正常な缶詰は90日保存後開缶し、細菌試験を行った。

細菌試験の試料は各区について2缶ずつの内容物を無菌的に1ml採取し、PE-2培地(2%ポリペプトン10mlにピース5個)、変法TGC培地(日水製薬、mTGCと呼ぶ)に各2本ずつ移植、また標準寒天培地(日水製薬、SMAと呼ぶ)を用いて生菌数を混釈平板培養法で測定した。なお嫌気性でガス産生の細菌を接種した缶詰において、PE-2およびmTGCでガスの産生が2本とも認められた試料についてはGAM培地(日水製薬)を使用してMPN法で菌数を測定した。

5. pHの測定

ガラス電極pH計(日立-堀場pHメーター、F-7AD計)を使用した。

なおウーロン茶のように開缶後時間とともにpHは上昇するものがあるので、すべて開缶後5分以内に測定した。

結果及び考察

1. 膨張缶発生状況

試料缶詰の保存中における膨張缶発生の経時変化についてコーヒー缶詰をTable 2に、紅茶缶詰をTable 3に示した。

ガス産生菌は*B.licheniformis*, *B.polymyxa*, *C.sporogenes*, *C.thermosaccharolyticum*であるので、

Table 2. Relation of storage days and swollen spoilage of canned coffee.

Sample No.	Inoculated bacteria	Numbers of swollen cans days					
		5	10	20	30	60	90
6	<i>B. polymyxa</i>	30	30	30	30	30	30
	<i>B. coagulans</i>			3	3	3	3
	<i>B. stearothermophilus</i>						3
	<i>C. sporogenes</i>		1	27	28	28	28
	<i>C. thermosaccharolyticum</i>	30	30	30	30	30	30
	<i>C. thermacetium</i>					1	1
	Control (at 35°C)						1
7	<i>B. cereus</i>						2
	<i>B. polymyxa</i>		30	30	30	30	30
	<i>B. coagulans</i>					4	4
	<i>C. sporogenes</i>				30	30	30
	<i>C. thermosaccharolyticum</i>		9	9	9	10	20
	<i>C. thermacetium</i>						4
12	<i>B. polymyxa</i>		30	30	30	30	30
13	<i>B. cereus</i>						10
	<i>B. polymyxa</i>		30	30	30	30	30
	<i>B. stearothermophilus</i>						1
	<i>C. sporogenes</i>		1	1	30	30	30
	<i>C. thermosaccharolyticum</i>		14	15	15	15	27
	<i>C. thermacetium</i>						12

Table 3. Relation of storage days and swollen spoilage of canned milk tea.

Sample No.	Inoculated bacteria	Numbers of swollen cans					
		days					
		5	10	20	30	60	90
10	<i>B. subtilis</i>						1
	<i>B. licheniformis</i>					30	30
	<i>B. polymyxa</i>					30	30
	<i>B. stearothermophilus</i>						1
	<i>C. sporogenes</i>			2	30	30	30
	<i>C. thermosaccharolyticum</i>		29	30	30	30	30
	<i>C. thermacetivum</i>						
14	<i>B. polymyxa</i>		30	30	30	30	30
	<i>B. coagulans</i>				10	10	10
	<i>C. sporogenes</i>				1	1	1

他の菌を接種した缶詰で膨張が認められたことは、ガス産生菌によって充填時に汚染されたものと考えられる。

*B. polymyxa*を接種した缶詰は保存10日目までにすべて膨張した。この場合、市販品のブラックコーヒー缶詰では糖分が少ないためその膨張程度は軽膨張であった。

*C. sporogenes*を接種した缶詰は完全に膨張するまでに30日以上要した。またSE無添加の缶詰にこの菌を接種した場合、SE添加の缶詰よりむしろ膨張率が低かったが、これはほとんど同じとみてよく、SEの抗菌作用がミルクによって阻害されたものと考えられる¹⁶⁾。

*C. thermosaccharolyticum*を接種した缶詰はSEの抗菌作用のためSE添加の缶詰の方が膨張率は低かった。従って、*C. sporogenes*と比較してこの菌の方がSEの抗菌作用に対するミルクの阻害作用は弱いと考えられる。

2. 飲料中におけるpHの変化

3種類のウーロン茶缶詰について、保存後のpHの変化をTable 4, 5および6に示した。55°C保存区で僅かにpHの低下が認められたが、これは化学変化によるもので、細菌の増殖によるpHの

Table 4. pH values and spoilage rates of canned oolong tea (Brix 0.3).

Inoculated bacteria	Normal cans			Spoilage rates
	pH		Number of cans	
	Mean	Range		
Control (at 35°C)	5.61	5.52-5.70	15	0%
Control (at 55°C)	5.32	5.27-5.37	15	0
<i>B. cereus</i>	5.55	5.46-5.58	30	0
<i>B. subtilis</i>	5.54	5.52-5.57	30	0
<i>B. licheniformis</i>	5.53	5.50-5.58	30	0
<i>B. polymyxa</i>	5.52	5.48-5.55	30	0
<i>B. coagulans</i>	5.48	5.45-5.52	30	0
<i>B. stearothermophilus</i>	5.18	5.17-5.20	30	0
<i>C. sporogenes</i>	5.44	5.41-5.50	30	0
<i>C. thermosaccharolyticum</i>	5.12	5.11-5.16	30	0
<i>C. thermacetivum</i>	5.09	5.06-5.17	30	0

pH values of products before incubation were 5.90 and 5.95

Table 5. pH values and spoilage rates of canned oolong tea (Brix 0.5).

Inoculated bacteria	Normal cans		Number of cans	Spoilage rates
	pH			
	Mean	Range		
Control (at 35°C)	5.20	5.12-5.23	15	0%
Control (at 55°C)	4.94	4.93-4.98	15	0
<i>B. cereus</i>	5.17	5.15-5.20	30	0
<i>B. subtilis</i>	5.12	5.08-5.16	30	0
<i>B. licheniformis</i>	5.03	5.00-5.09	30	0
<i>B. polymyxa</i>	5.01	4.96-5.07	30	0
<i>B. coagulans</i>	4.98	4.94-5.03	30	0
<i>B. stearothermophilus</i>	4.70	4.66-4.82	30	0
<i>C. sporogenes</i>	4.98	4.93-5.03	30	0
<i>C. thermosaccharolyticum</i>	4.63	4.62-4.68	30	0
<i>C. thermaceticum</i>	4.63	4.62-4.67	30	0

pH values of products before incubation were 5.50 and 5.52

Table 6. pH values and spoilage rates of canned oolong tea (Brix 0.3, with vitamin C and NaHCO₃).

Inoculated bacteria	Normal cans		Number of cans	Spoilage rates
	pH			
	Mean	Range		
Control (at 35°C)	5.89	5.85-5.91	15	0%
Control (at 55°C)	5.80	5.73-6.02	15	0
<i>B. cereus</i>	5.85	5.81-5.88	30	0
<i>B. subtilis</i>	5.81	5.75-5.82	30	0
<i>B. licheniformis</i>	5.81	5.79-5.83	30	0
<i>B. polymyxa</i>	5.83	5.80-5.85	30	0
<i>B. coagulans</i>	5.84	5.80-5.87	30	0
<i>B. stearothermophilus</i>	5.64	5.60-5.67	30	0
<i>C. sporogenes</i>	5.83	5.77-5.86	30	0
<i>C. thermosaccharolyticum</i>	5.61	5.57-5.63	30	0
<i>C. thermaceticum</i>	5.60	5.57-5.63	30	0

pH values of products before incubation were 6.02 and 6.05

変化は認められなかった。ウーロン茶缶詰にはカテキン類が含まれ、しかも栄養源も少ないのでこのpHでは細菌の増殖は出来ないと考えられる。

ミルク入りでないコーヒー缶詰の場合はTable 7および8に示すように*B. coagulans*や*C. thermosaccharolyticum*を接種した缶詰においてpHの低下が認められた。その他の細菌を接種した缶詰では数缶pHの低下が認められたが、これは多分充填時に*B. coagulans*あるいはその他の細菌の汚染があったものと考えられる。

ミルク入りコーヒー缶詰の場合をTable 9および10に示した。これらの缶詰では*B.cereus*, *B.licheniformis*, *B.polymyxa*, *B.coagulans*, *C.sporogenes*を接種した缶詰はすべて変敗した。*B.subtilis*を接種したS E無添加の缶詰は67%の変敗率であったが、S E添加の缶詰では変敗はなかった。また*B.stearothermophilus*を接種した缶詰は40から53%の変敗率であった。*C.thermosaccharolyticum*と*C.thermaceticum*を接種した缶詰ではS Eが無添加の場合にはすべて変敗したが、S Eが添加されているとその変敗率はそれぞれ77%、13%で増殖が抑制されていた。

紅茶3種類の缶詰の場合をTable 11, 12および13に示した。ミルク入りでない缶詰はすべて正常であったが、ミルク入り缶詰はすべての細菌が増殖可能で、特に*B.cereus*, *B.licheniformis*, *B.polymyxa*, *B.coagulans*, *B.sporogenes*, *C.thermosaccharolyticum*, *C.thermaceticum*を接種した缶詰は100%の変敗率であった。

市販品のウーロン茶缶詰の場合をTable 14に示すように、*B.licheniformis*を接種した缶詰において僅かなpHの変化が認められた缶詰が43%あり、細菌の増殖があったものと考えられる。

市販品のブラックコーヒー缶詰の場合をTable 15に示すように、*C.thermaceticum*以外の細菌はすべて増殖可能で、特に*B.cereus*, *B.licheniformis*, *B.polymyxa*, *B.coagulans*, *C.sporogenes*を接種した缶詰は100%変敗した。ミルク入りでないコーヒー缶詰において、pHが5.0付近の場合にはTable 7および8に示したように*B.coagulans*と*C.thermosaccharolyticum*の増殖が認められたが、pHが6.0付近になるとTable 15に示したように接種したほとんどの細菌が増殖可能であった。

市販品のミルクコーヒー缶詰の場合をTable 16に示すように、すべての細菌が増殖可能であるが、*B.subtilis*は僅かに増殖が抑制された。この缶詰はどの程度S Eが添加されているかわからないがその効果のためと考えられる。一般に*B.subtilis*はS Eに対して効果がないと言われているが⁴⁾、使用した菌株(F03025)は好気性であるので、ある程度嫌気状態の缶詰中では増殖が弱いと考えられる。

市販品のミルクティー缶詰の場合をTable 17に示すように、*C.thermosaccharolyticum*と*C.thermaceticum*以外の細菌はすべて増殖可能で、特に*B.cereus*, *B.subtilis*, *licheniformis*, *B.polymyxa*, *B.coagulans*, *C.sporogenes*を接種した缶詰は100%変敗した。

3. 飲料中における細菌の増殖

pHの変化だけで細菌の増殖の有無を判定することは危険であるので、保存後の菌数によってその増殖の有無を判定することが出来るか否かを試験した。

ウーロン茶缶詰はTable 18, 19および20に示すように、殆どカウント出来ない程度に菌数は減少しているが、*C.sporogenes*の菌数は3.6~43/mlで僅かしか減少していなかった。

ミルク入りでないコーヒー缶詰の場合は、Table 21および22に示すように*B.coagulans*や*C.thermosaccharolyticum*を接種した缶詰においてpHの低下が認められた中に菌数が 10^4 /ml以上存在していたものがあったが、ほとんどは菌数が少なく、保存後の菌数でその増殖を判定することは出来なかった。またその他の細菌を接種した缶詰では、ほとんどカウント出来ない程度に菌数は減少していたが、*B.cereus*と*B.polymyxa*を接種した缶詰はそれほど減少していなかった。

ミルク入りコーヒー缶詰の場合をTable 23および24に示すようにpHの低下が認められた缶詰でも菌数が増加している場合と減少している場合があった。しかし正常缶での菌数は1/ml以下であった。

紅茶缶詰の場合、ミルク入りでない缶詰は変敗せず、Table 25および26に示すように菌数も1 ml当り数個以下であるが、ミルク入り缶詰はほとんど変敗し、Table 27に示すように*B.cereus*, *B.coagulans*, *B.stearothermophilus*を接種した缶詰中には 10^4 /ml以上存在していた。その他はほとんど死滅して少なくなっている。

Table 7. pH values and spoilage rates of canned coffee.

Inoculated bacteria	Normal cans			Flat sour cans			Spoilage rates
	pH		Number of cans	pH		Number of cans	
	Mean	Range		Mean	Range		
Control (at 35°C)	4.79	4.77-4.79	15				0%
Control (at 55°C)	4.69	4.68-4.72	15				0
<i>B. cereus</i>	4.78	4.77-4.79	29	4.17		1	3
<i>B. subtilis</i>	4.77	4.76-4.79	30				0
<i>B. licheniformis</i>	4.76	4.75-4.77	30				0
<i>B. polymyxa</i>	4.76	4.75-4.77	30				0
<i>B. coagulans</i>				4.22	4.18-4.30	30	100
<i>B. stearothermophilus</i>	4.65	4.54-4.68	30				0
<i>C. sporogenes</i>	4.75	4.74-4.76	29	4.33		1	3
<i>C. thermosaccharolyticum</i>				4.34	4.32-4.35	30	100
<i>C. thermaceticum</i>	4.64	4.63-4.65	30				0

pH values of products before incubation were 5.02 and 5.05

Table 8. pH values and spoilage rates of canned coffee with suger.

Inoculated bacteria	Normal cans			Flat sour cans			Spoilage rates
	pH		Number of cans	pH		Number of cans	
	Mean	Range		Mean	Range		
Control (at 35°C)	4.87	4.84-4.92	15				0%
Control (at 55°C)	4.81	4.77-4.86	15				0
<i>B. cereus</i>	4.82	4.80-4.82	30				0
<i>B. subtilis</i>	4.80	4.78-4.81	28	4.18	4.13-4.22	2	7
<i>B. licheniformis</i>	4.79	4.78-4.81	29	3.92		1	3
<i>B. polymyxa</i>	4.79	4.78-4.80	30				0
<i>B. coagulans</i>				4.31	4.24-4.34	30	100
<i>B. stearothermophilus</i>	4.68	4.66-4.70	30				0
<i>C. sporogenes</i>	4.78	4.78-4.80	30				0
<i>C. thermosaccharolyticum</i>	4.66	4.65-4.67	12	4.39	4.37-4.40	18	60
<i>C. thermaceticum</i>	4.66	4.64-4.67	30				0

pH values of products before incubation were 5.00 and 5.00

Table 9. pH values and spoilage rates of canned coffee with suger and milk.

Inoculated bacteria	Normal cans			Swollen cans			Flat sour cans			Spoilage rates
	pH		Number of cans	pH		Number of cans	pH		Number of cans	
	Mean	Range		Mean	Range		Mean	Range		
Control (at 35°C)	6.91	6.89-6.92	10				5.34	4.87-5.70	5	33%
Control (at 55°C)	6.48	6.46-6.51	12				5.61	5.10-6.12	3	20
<i>B. cereus</i>							5.00	4.97-5.10	30	100
<i>B. subtilis</i>	6.91	6.88-6.94	10				5.27	4.05-6.73	20	67
<i>B. licheniformis</i>							5.23	4.33-5.36	30	100
<i>B. polymyxa</i>				5.46	5.41-5.50	30				100
<i>B. coagulans</i>				5.10	4.90-5.30	3	4.39	4.23-4.49	27	100
<i>B. stearothermophilus</i>	6.42	6.34-6.47	14	5.52	5.42-5.65	3	4.64	4.37-6.02	13	53
<i>C. sporogenes</i>				5.27	4.88-5.34	28	4.47	4.45-4.48	2	100
<i>C. thermosaccharolyticum</i>				5.87	4.80-6.10	30				100
<i>C. thermacetivum</i>				4.62		1	4.96	4.53-5.01	29	100

pH values of products before incubation were 7.37 and 7.40

Table 10. pH values and spoilage rates of canned coffee with suger, milk and suger ester.

Inoculated bacteria	Normal cans			Swollen cans			Flat sour cans			Spoilage rates
	pH		Number of cans	pH		Number of cans	pH		Number of cans	
	Mean	Range		Mean	Range		Mean	Range		
Control (at 35°C)	6.81	6.77-6.85	13	5.44		1	5.09		1	13%
Control (at 55°C)	6.48	6.45-6.51	14				5.76		1	7
<i>B. cereus</i>				5.36	5.33-5.39	2	5.36	4.02-5.50	28	100
<i>B. subtilis</i>	6.74	6.70-6.77	30							0
<i>B. licheniformis</i>							5.16	3.73-5.30	30	100
<i>B. polymyxa</i>				5.46	5.44-5.49	30				100
<i>B. coagulans</i>				4.59	4.26-5.40	4	4.42	4.26-4.53	26	100
<i>B. stearothermophilus</i>	6.43	6.38-6.47	18				4.69	4.53-5.92	12	40
<i>C. sporogenes</i>				5.74	5.12-6.12	30				100
<i>C. thermosaccharolyticum</i>	6.44	6.40-6.47	7	5.20	4.40-5.75	20	6.07	5.95-6.18	3	77
<i>C. thermacetivum</i>	6.44	6.42-6.47	26	5.60	5.35-5.74	4				13

pH values of products before incubation were 7.00 and 7.15

Table 12. pH values and spoilage rates of canned black tea with suger.

Inoculated bacteria	Normal cans		Number of cans	Spoilage rates
	pH			
	Mean	Range		
Control (at 35°C)	4.96	4.95-4.97	15	0%
Control (at 55°C)	4.80	4.79-4.91	15	0
<i>B. cereus</i>	4.98	4.97-4.99	30	0
<i>B. subtilis</i>	4.97	4.96-4.98	30	0
<i>B. licheniformis</i>	4.97	4.97-4.97	30	0
<i>B. polymyxa</i>	4.97	4.96-4.98	30	0
<i>B. coagulans</i>	4.97	4.96-4.98	30	0
<i>B. stearothermophilus</i>	4.75	4.73-4.76	30	0
<i>C. sporogenes</i>	4.96	4.95-4.97	30	0
<i>C. thermosaccharolyticum</i>	4.70	4.68-4.72	30	0
<i>C. thermacetium</i>	4.68	4.66-4.69	30	0

pH values of products before incubation were 5.00 and 5.00

Table 11. pH values and spoilage rates of canned black tea.

Inoculated bacteria	Normal cans		Number of cans	Spoilage rates
	pH			
	Mean	Range		
Control (at 35°C)	5.08	5.06-5.10	15	0%
Control (at 55°C)	4.97	4.95-4.99	15	0
<i>B. cereus</i>	5.04	5.03-5.06	30	0
<i>B. subtilis</i>	5.02	5.01-5.04	30	0
<i>B. licheniformis</i>	5.01	5.01-5.02	30	0
<i>B. polymyxa</i>	5.01	5.01-5.02	30	0
<i>B. coagulans</i>	5.01	5.01-5.02	30	0
<i>B. stearothermophilus</i>	4.86	4.85-4.91	30	0
<i>C. sporogenes</i>	5.00	4.98-5.02	30	0
<i>C. thermosaccharolyticum</i>	4.81	4.79-4.82	30	0
<i>C. thermacetium</i>	4.81	4.80-4.83	30	0

pH values of products before incubation were 5.13 and 5.12

Table 13. pH values and spoilage rates of canned black tea with suger and milk.

Inoculated bacteria	Normal cans			Swollen cans			Flat sour cans			Spoilage rates
	pH		Number of cans	pH		Number of cans	pH		Number of cans	
	Mean	Range		Mean	Range		Mean	Range		
Control (at 35°C)	7.53	7.50-7.58	14				5.92		1	7%
Control (at 55°C)	6.85	6.82-6.90	15							0
<i>B. cereus</i>							4.81	4.76-4.90	30	100
<i>B. subtilis</i>	7.51	7.42-7.61	23	5.19		1	4.76	4.74-4.77	6	23
<i>B. licheniformis</i>				5.21	4.78-5.36	30				100
<i>B. polymyxa</i>				4.38	4.98-5.51	30				100
<i>B. coagulans</i>							4.40	4.20-4.48	30	100
<i>B. stearothermophilus</i>	6.73	6.68-6.78	7	5.40		1	4.42	4.11-4.65	22	77
<i>C. sporogenes</i>				5.27	5.04-5.45	30				100
<i>C. thermosaccharolyticum</i>				5.24	4.45-6.10	30				100
<i>C. thermacetium</i>				5.49	5.49-5.49	2	5.24	4.98-5.51	28	100

pH values of products before incubation were 7.97 and 8.05

Table 14. pH values and spoilage rates of commercial canned oolong tea.

Inoculated bacteria	Normal cans			Flat sour cans			Spoilage rates
	pH		Number of cans	pH		Number of cans	
	Mean	Range		Mean	Range		
Control (at 35°C)	6.09	6.05-6.15	15				0%
Control (at 55°C)	5.92	5.88-5.97	15				0
<i>B. cereus</i>	6.06	5.96-6.10	30				0
<i>B. subtilis</i>	6.05	5.95-6.14	30				0
<i>B. licheniformis</i>	6.24	6.15-6.30	17	5.97	5.88-6.00	13	43
<i>B. polymyxa</i>	6.03	5.99-6.15	30				0
<i>B. coagulans</i>	6.06	6.03-6.10	30				0
<i>B. stearothermophilus</i>	5.84	5.80-5.90	30				0
<i>C. sporogenes</i>	6.10	6.03-6.18	30				0
<i>C. thermosaccharolyticum</i>	5.80	5.75-5.86	30				0
<i>C. thermacetium</i>	5.74	5.66-5.81	30				0

pH values of products before incubation were 6.12 and 6.20

Table 15. pH values and spoilage rates of commercial black coffee.

Inoculated bacteria	Normal cans			Swollen cans			Flat sour cans			Spoilage rates
	pH		Number of cans	pH		Number of cans	pH		Number of cans	
	Mean	Range		Mean	Range		Mean	Range		
Control (at 35°C)	6.77	6.69-6.80	15						0%	
Control (at 55°C)	6.16	6.11-6.22	15						0	
<i>B. cereus</i>							6.40	6.29-6.47	30	100
<i>B. subtilis</i>	6.84	6.80-6.88	26				6.39	6.28-6.57	4	13
<i>B. licheniformis</i>							5.94	5.93-5.96	30	100
<i>B. polymyxa</i>				5.81	5.78-5.83	30				100
<i>B. coagulans</i>							6.07	6.03-6.10	30	100
<i>B. stearothermophilus</i>	5.99	5.97-6.00	3				5.83	5.68-5.86	27	90
<i>C. sporogenes</i>							6.23	6.00-6.27	30	100
<i>C. thermosaccharolyticum</i>	6.01	5.99-6.02	8				5.63	5.57-5.66	22	73
<i>C. thermacetium</i>	5.96	5.92-6.00	30							0

pH values of products before incubation were 6.61 and 6.66

Table 16. pH values and spoilage rates of commercial canned milk coffee.

Inoculated bacteria	Normal cans			Swollen cans			Flat sour cans			Spoilage rates
	pH		Number of cans	pH		Number of cans	pH		Number of cans	
	Mean	Range		Mean	Range		Mean	Range		
Control (at 35°C)	6.69	6.69-6.71	15							0%
Control (at 55°C)	6.30	6.28-6.32	15							0
<i>B. cereus</i>				5.05	4.08-5.37	10	5.29	3.97-5.51	20	100
<i>B. subtilis</i>	6.63	6.58-6.65	22				5.34	4.01-5.74	8	27
<i>B. licheniformis</i>							5.17	4.10-5.23	30	100
<i>B. polymyxa</i>				5.35	5.32-5.36	30				100
<i>B. coagulans</i>							4.23	4.21-4.27	30	100
<i>B. stearothermophilus</i>	6.27	6.26-6.27	2	5.30		1	4.49	4.32-6.16	27	93
<i>C. sporogenes</i>				5.10	4.00-5.59	30				100
<i>C. thermosaccharolyticum</i>	6.23		1	5.08	4.60-5.44	27	4.20	4.09-4.31	2	97
<i>C. thermacetium</i>	6.24	6.22-6.27	16	5.41	5.39-5.48	12	5.23	4.42-6.04	2	47

pH values of products before incubation were 6.95 and 7.10

Table 17. pH values and spoilage rates of commercial canned milk tea.

Inoculated bacteria	Normal cans			Swollen cans			Flat sour cans			Spoilage rates
	pH		Number of cans	pH		Number of cans	pH		Number of cans	
	Mean	Range		Mean	Range		Mean	Range		
Control (at 35°C)	6.20	6.18–6.21	14				4.95		1	7%
Control (at 55°C)	5.96	5.95–5.98	15							0
<i>B. cereus</i>							4.93	4.91–4.95	30	100
<i>B. subtilis</i>							5.43	4.08–6.07	30	100
<i>B. licheniformis</i>							4.95	4.78–5.13	30	100
<i>B. polymyxa</i>				5.18	5.13–5.21	30				100
<i>B. coagulans</i>				5.02	4.55–5.22	10	4.30	4.08–4.42	20	100
<i>B. stearothermophilus</i>	5.90	5.85–5.91	9				4.39	4.01–5.35	21	70
<i>C. sporogenes</i>				4.95	3.93–5.02	30				100
<i>C. thermosaccharolyticum</i>	5.90	5.88–5.92	26	4.08		1	4.40	4.32–4.54	3	13
<i>C. thermaceticum</i>	5.91	5.88–5.92	29				4.20		1	3

pH values of products before incubation were 6.35 and 6.40

Table 18. Detection of bacteria from canned oolong tea (Brix 0.3).

Inoculated bacteria	pH	Type of spoilage* ¹	Media		
			pE-2* ²	mTGC* ²	SMA* ³
Control (at 35°C)	5.69	N	— —	— —	0, 0
	5.70	N	— —	— —	1, 0
Control (at 55°C)	5.37	N	— —	— —	2, 2
	5.33	N	— —	— —	3, 0
<i>B. cereus</i>	5.57	N	+ +	+ —	2, 0
	5.54	N	+ —	+ +	3, 1
<i>B. subtilis</i>	5.52	N	— —	— —	0, 0
	5.52	N	— —	— —	2, 0
<i>B. licheniformis</i>	5.51	N	+ —	+ —	0, 0
	5.53	N	— —	— —	1, 0
<i>B. polymyxa</i>	5.48	N	(+) —	(+)(+)	2, 1
	5.54	N	(+)(+)	(+)(+)	1, 1
<i>B. coagulans</i>	5.47	N	— —	— —	0, 0
	5.48	N	— —	— —	1, 0
<i>B. stearothermophilus</i>	5.19	N	— —	— —	0, 0
	5.18	N	— —	— —	0, 2
<i>C. sporogenes</i>	5.50	N	(+)(+)	(+)(+)	0, 0
	5.43	N	(+)(+)	(+)(+)	0, 0
<i>C. thermosaccharolyticum</i>	5.15	N	— —	— —	0, 0
	5.16	N	— —	— —	1, 1
<i>C. thermaceticum</i>	5.10	N	— —	— —	0, 0
	5.08	N	— —	— —	1, 0

*¹ N: Normal

*² +: Growth of bacteria was indicated by the turbidity of the media, —: no growth, (+): production of gas

*³ Numbers of colonies

Table 19. Detection of bacteria from canned oolong tea (Brix 0.5).

Inoculated bacteria	pH	Type of spoilage* ¹	Media		
			pE-2* ²	mTGC* ²	SMA* ³
Control (at 35°C)	5.22	N	— —	— —	0, 0
	5.22	N	— —	— —	1, 0
Control (at 55°C)	4.98	N	— —	— —	0, 0
	4.96	N	— —	— —	0, 0
<i>B. cereus</i>	5.16	N	— —	— —	0, 0
	5.16	N	— —	— —	0, 0
<i>B. subtilis</i>	5.12	N	— —	— —	0, 0
	5.16	N	— +	— —	0, 0
<i>B. licheniformis</i>	5.01	N	— —	+ —	0, 0
	5.01	N	+ —	— —	2, 1
<i>B. polymyxa</i>	4.99	N	(+) —	(+) —	2, 1
	5.03	N	(+) —	— —	1, 0
<i>B. coagulans</i>	4.97	N	— —	— —	1, 0
	4.95	N	+ —	— —	0, 0
<i>B. stearothermophilus</i>	4.68	N	— —	— —	0, 0
	4.68	N	— —	— —	1, 0
<i>C. sporogenes</i>	4.93	N	(+)(+)	(+)(+)	1, 0
	4.97	N	(+)(+)	(+)(+)	1, 0
<i>C. thermosaccharolyticum</i>	4.68	N	— —	— —	3, 0
	4.67	N	— —	— —	1, 0
<i>C. thermacetivum</i>	4.63	N	— —	— —	0, 0
	4.63	N	— —	+ —	0, 0

*¹ N: Normal*² +: Growth of bacteria was indicated by the turbidity of the media, —: no growth, (+): production of gas*³ Numbers of coloniesTable 20. Detection of bacteria from canned oolong tea (Brix 0.3, with vitamin C and NaHCO₃).

Inoculated bacteria	pH	Type of spoilage* ¹	Media		
			pE-2* ²	mTGC* ²	SMA* ³
Control (at 35°C)	5.88	N	— —	— —	0, 0
	5.85	N	— —	— —	1, 0
Control (at 55°C)	5.78	N	— —	— —	0, 0
	5.79	N	— —	— —	1, 0
<i>B. cereus</i>	5.88	N	+ +	+ +	2, 0
	5.84	N	+ —	+ +	7, 2
<i>B. subtilis</i>	5.80	N	+ —	+ —	1, 0
	5.81	N	— +	— —	1, 0
<i>B. licheniformis</i>	5.79	N	+ +	+ —	5, 1
	5.80	N	+ —	+ —	0, 0
<i>B. polymyxa</i>	5.83	N	(+)(+)	(+)(+)	10, 19
	5.83	N	(+)(+)	(+)(+)	9, 3
<i>B. coagulans</i>	5.81	N	+ +	+ —	1, 1
	5.82	N	+ +	— —	2, 0
<i>B. stearothermophilus</i>	5.64	N	— —	+ —	0, 0
	5.67	N	— —	— —	0, 0
<i>C. sporogenes</i>	5.77	N	(+) —	(+)(+)	0, 0
	5.81	N	(+)(+)	(+)(+)	0, 0
<i>C. thermosaccharolyticum</i>	5.62	N	— —	— —	0, 0
	5.62	N	— —	— —	0, 0
<i>C. thermacetivum</i>	5.61	N	— —	— —	0, 0
	5.60	N	— —	— —	1, 0

*¹ N: Normal*² +: Growth of bacteria was indicated by the turbidity of the media, —: no growth, (+): production of gas*³ Numbers of colonies

Table 21. Detection of bacteria from canned coffee.

Inoculated bacteria	pH	Type of spoilage* ¹	Media		
			pE-2* ²	mTGC* ²	SMA* ³
Control (at 35°C)	4.79	N	— —	— —	0, 0
	4.79	N	— —	— —	0, 0
Control (at 55°C)	4.72	N	— —	— —	0, 0
	4.70	N	— —	— —	0, 0
<i>B. cereus</i>	4.77	N	+ +	+ +	13, 18
	4.17	F.S	+ +	+ +	14, 20
<i>B. subtilis</i>	4.79	N	— —	— —	0, 0
	4.78	N	— —	— —	1, 0
<i>B. licheniformis</i>	4.77	N	— —	+ —	0, 0
	4.77	N	+ —	+ —	0, 0
<i>B. polymyxa</i>	4.76	N	(+)(+)	(+)(+)	27, 30
	4.77	N	(+)(+)	(+)(+)	32, 23
<i>B. coagulans</i>	4.18	F.S	+ +	+ —	1, 0
	4.25	F.S	+ +	— —	2, 1
<i>B. stearothermophilus</i>	4.68	N	— —	+ —	0, 0
	4.66	N	— —	— —	0, 0
<i>C. sporogenes</i>	4.75	N	(+)(+)	(+)(+)	0, 0
	4.75	N	(+)(+)	(+)(+)	0, 0
<i>C. thermosaccharolyticum</i>	4.35	F.S	— —	— —	0, 0
	4.35	F.S	— —	+ —	0, 0
<i>C. thermaceticum</i>	4.64	N	— —	— —	0, 0
	4.64	N	— —	— —	0, 0

*¹ N: Normal, F.S: Flat sour*² +: Growth of bacteria was indicated by the turbidity of the media, —: no growth, (+): production of gas*³ Numbers of colonies

Table 22. Detection of bacteria from canned coffee with suger.

Inoculated bacteria	pH	Type of spoilage* ¹	Media		
			pE-2* ²	mTGC* ²	SMA* ³
Control (at 35°C)	4.83	N	— —	— —	1, 0
	4.83	N	— —	— —	0, 0
Control (at 55°C)	4.77	N	— —	— —	0, 0
	4.77	N	— —	— —	0, 0
<i>B. cereus</i>	4.82	N	+ +	+ +	11, 12
	4.82	N	+ +	+ +	7, 9
<i>B. subtilis</i>	4.80	N	— —	— —	0, 0
	4.13	F.S	— —	— —	0, 0
<i>B. licheniformis</i>	4.79	N	— —	+ +	0, 0
	4.80	N	— —	— —	0, 0
<i>B. polymyxa</i>	4.80	N	(+)(+)	(+)(+)	21, 26
	4.80	N	(+)(+)	(+)(+)	16, 21
<i>B. coagulans</i>	4.38	F.S	+ +	+ +	10 ⁴ <
	4.28	F.S	+ +	— —	0, 0
<i>B. stearothermophilus</i>	4.70	N	— —	— —	0, 0
	4.69	N	— —	— —	0, 0
<i>C. sporogenes</i>	4.79	N	(+)+	(+)(+)	0, 0
	4.79	N	(+)+	(+)(+)	0, 0
<i>C. thermosaccharolyticum</i>	4.40	F.S	— —	— —	0, 0
	4.67	N	— —	+ —	0, 0
<i>C. thermaceticum</i>	4.66	N	— —	— —	0, 0
	4.66	N	— —	— —	0, 0

*¹ N: Normal, F.S: Flat sour*² +: Growth of bacteria was indicated by the turbidity of the media, —: no growth, (+): production of gas*³ Numbers of colonies

Table 23. Detection of bacteria from canned coffee with suger and milk.

Inoculated bacteria	pH	Type of spoilage* ¹	Media		
			pE-2* ²	mTGC* ²	SMA* ³
Control (at 35°C)	4.87	F.S	+ +	+ +	4, 6
	5.21	F.S	+ +	+ +	0, 2
Control (at 55°C)	6.46	N	- -	- -	0, 0
	5.10	F.S	+ +	+ +	310,351
<i>B. cereus</i>	4.97	F.S	+ +	+ +	12, 21
	5.00	F.S	+ +	+ +	13, 14
<i>B. subtilis</i>	6.89	N	+ +	+ +	0, 0
	5.77	F.S	+ +	+ +	10 ⁴ <
<i>B. licheniformis</i>	5.26	F.S	+ +	+ +	0, 0
	5.20	F.S	+ +	+ +	4, 0
<i>B. polymyxa</i>	5.45	S	(+)(+)	(+)(+)	231,218
	5.44	S	(+)(+)	(+)(+)	799,808
<i>B. coagulans</i>	4.23	F.S	+ +	+ -	0, 0
	4.90	S	(+)(+)	(+)(+)	10 ⁴ <
<i>B. stearothermophilus</i>	6.47	N	- -	- -	0, 0
	4.45	F.S	- -	- -	0, 0
<i>C. sporogenes</i>	5.15	S	- -	- -	0, 0
	4.45	F.S	+ +	+ +	10 ⁴ <
<i>C. thermosaccharolyticum</i>	5.92	S	- -	- -	0, 0
	4.80	S	(+)(+)	(+)(+)	0, 0
<i>C. thermaceticum</i>	4.62	S	(+)(+)	(+)(+)	0, 0
	5.01	F.S	- -	+ +	0, 0

*¹ N: Normal, F.S: Flat sour, S: Swell

*² +: Growth of bacteria was indicated by the turbidity of the media, -: no growth, (+): production of gas

*³ Numbers of colonies

Table 24. Detection of bacteria from canned coffee with suger, milk and suger ester.

Inoculated bacteria	pH	Type of spoilage* ¹	Media		
			pE-2* ²	mTGC* ²	SMA* ³
Control (at 35°C)	6.80	N	- -	- -	0, 0
	5.44	S	(+)(+)	+ +	23, 13
Control (at 55°C)	6.51	N	- -	- -	2, 0
	6.45	N	- -	- -	0, 0
<i>B. cereus</i>	5.39	S	(+)(+)	+ +	12, 6
	5.49	F.S	+ +	+ +	4, 1
<i>B. subtilis</i>	6.70	N	- -	- -	0, 0
	6.74	N	- -	- -	0, 0
<i>B. licheniformis</i>	5.20	F.S	+ +	+ +	2, 6
	5.24	F.S	+ +	- -	0, 0
<i>B. polymyxa</i>	5.46	S	(+)(+)	(+)(+)	56, 67
	5.45	S	(+)(+)	(+)(+)	10 ⁴ <
<i>B. coagulans</i>	4.26	S	(+)(+)	(+)(+)	849,985
	4.53	F.S	+ +	+ +	10 ⁴ <
<i>B. stearothermophilus</i>	4.67	F.S	+ +	+ +	100,125
	6.42	N	- -	- -	0, 0
<i>C. sporogenes</i>	5.82	S	(+)(+)	(+)(+)	0, 0
	6.05	S	+ +	+ +	0, 0
<i>C. thermosaccharolyticum</i>	4.75	S	(+)(+)	(+)(+)	0, 0
	6.18	F.S	(+)(+)	+ +	0, 0
<i>C. thermaceticum</i>	6.42	N	- -	- -	0, 0
	6.42	N	- -	- -	0, 0

*¹ N: Normal, F.S: Flat sour, S: Swell

*² +: Growth of bacteria was indicated by the turbidity of the media, -: no growth, (+): production of gas

*³ Numbers of colonies

Table 25. Detection of bacteria from canned black tea.

Inoculated bacteria	pH	Type of spoilage* ¹	Media		
			pE-2* ²	mTGC* ²	SMA* ³
Control (at 35°C)	5.08	N	— —	— —	0, 0
	5.06	N	— —	— —	0, 0
Control (at 55°C)	4.99	N	— —	— —	0, 2
	4.99	N	— —	— —	0, 0
<i>B. cereus</i>	5.06	N	+ +	— —	6, 4
	5.03	N	— +	— —	1, 2
<i>B. subtilis</i>	5.04	N	— —	— —	0, 0
	5.02	N	— —	— —	0, 1
<i>B. licheniformis</i>	5.02	N	+ +	+ +	8, 3
	5.01	N	+ +	+ +	4, 3
<i>B. polymyxa</i>	5.01	N	(+)(+)	— —	0, 0
	5.02	N	— —	— —	5, 1
<i>B. coagulans</i>	5.02	N	— +	+ —	1, 0
	5.02	N	+ +	— —	2, 0
<i>B. stearothermophilus</i>	4.91	N	— —	— —	0, 0
	4.89	N	— —	+ —	0, 0
<i>C. sporogenes</i>	5.01	N	(+)(+)	(+)(+)	0, 0
	4.98	N	(+)(+)	(+)(+)	0, 0
<i>C. thermosaccharolyticum</i>	4.82	N	— —	— —	0, 0
	4.82	N	— —	— —	0, 0
<i>C. thermacetivum</i>	4.82	N	— —	— —	0, 0
	4.82	N	— —	— —	0, 0

*¹ N: Normal*² +: Growth of bacteria was indicated by the turbidity of the media, —: no growth, (+): production of gas*³ Numbers of colonies

Table 26. Detection of bacteria from canned black tea with suger.

Inoculated bacteria	pH	Type of spoilage* ¹	Media		
			pE-2* ²	mTGC* ²	SMA* ³
Control (at 35°C)	4.95	N	— —	— —	0, 0
	4.96	N	— —	— —	1, 0
Control (at 55°C)	4.81	N	— —	— —	0, 0
	4.81	N	— —	— —	0, 0
<i>B. cereus</i>	4.97	N	+ —	+ +	4, 1
	4.97	N	+ —	+ +	4, 1
<i>B. subtilis</i>	4.97	N	+ —	— —	0, 0
	4.97	N	— —	— —	0, 0
<i>B. licheniformis</i>	4.97	N	— —	+ —	1, 1
	4.97	N	+ —	+ —	1, 1
<i>B. polymyxa</i>	4.97	N	+ —	— —	0, 1
	4.97	N	— +	— —	1, 0
<i>B. coagulans</i>	4.98	N	+ +	— —	2, 3
	4.98	N	+ +	— —	0, 0
<i>B. stearothermophilus</i>	4.74	N	— —	— —	0, 0
	4.74	N	— —	— —	0, 0
<i>C. sporogenes</i>	4.96	N	(+)(+)	(+)(+)	0, 0
	4.96	N	(+)(+)	(+)(+)	0, 0
<i>C. thermosaccharolyticum</i>	4.72	N	— —	— —	0, 0
	4.72	N	— —	— —	0, 0
<i>C. thermacetivum</i>	4.70	N	— —	— —	0, 0
	4.69	N	— —	— —	0, 0

*¹ N: Normal, F.S: Flat sour, S: Swell*² +: Growth of bacteria was indicated by the turbidity of the media, —: no growth, (+): production of gas*³ Numbers of colonies

Table 27. Detection of bacteria from canned black tea with suger and milk.

Inoculated bacteria	pH	Type of spoilage* ¹	Media		
			pE-2* ²	mTGC* ²	SMA* ³
Control (at 35°C)	5.92	F.S	+ +	+ +	73, 65
	7.52	N	+ +	+ +	0, 0
Control (at 55°C)	6.90	N	- -	- -	1, 0
	6.86	N	- -	- -	1, 1
<i>B. cereus</i>	4.81	F.S	- -	- -	1, 0
	4.82	F.S	- -	- -	1, 0
<i>B. subtilis</i>	7.42	N	- -	- -	0, 0
	7.47	N	- -	- -	0, 0
<i>B. licheniformis</i>	4.78	S	- -	- -	0, 0
	5.23	S	- -	- -	0, 0
<i>B. polymyxa</i>	5.51	S	(+)(+)	(+)(+)	10 ⁴ <
	5.46	S	(+)(+)	(+)(+)	10 ⁴ <
<i>B. coagulans</i>	4.48	F.S	+ +	+ +	10 ⁴ <
	4.98	F.S	+ +	+ +	10 ³ <
<i>B. stearothermophilus</i>	4.29	F.S	- -	- -	0, 0
	4.11	F.S	+ +	+ +	10 ⁴ <
<i>C. sporogenes</i>	5.29	S	(+) -	(+)(+)	0, 0
	5.22	S	(+) -	(+)(+)	0, 0
<i>C. thermosaccharolyticum</i>	6.10	S	- -	- -	0, 0
	5.10	S	- -	- -	0, 0
<i>C. thermaceticum</i>	5.49	S	+ +	+ +	1, 1
	5.49	S	+ +	+ +	14, 14

*¹ N: Normal, F.S: Flat sour, S: Swell

*² +:Growth of bacteria was indicated by the turbidity of the media, -: no growth, (+): production of gas

*³ Numbers of colonies

市販品のウーロン茶缶詰はTable 14で示したように*B. licheniformis*を接種した試料において僅かにpHの低下が認められたが、菌数はTable 28に示すように正常品よりもむしろ僅かに少なく、菌数で変敗を判定することは出来なかった。また*B. cereus*を接種した缶詰は他に比べて少し多い傾向にある。Table 18, 19および20で示したように、この菌を接種した缶詰のpHが5.0付近のウーロン茶ではほとんど10/ml以下に減少しているが、pHが6.0付近の市販品では10/ml以上である。従って、pHが低いほど細菌の死滅による減少は大きいと考えられる。

市販品のブラックコーヒー缶詰についてTable 29に示した、*C. thermaceticum*以外の菌を接種した缶詰で変敗が認められたが、2、3の例外を除いて菌数は10/ml以下であった。*B. cereus*を接種した缶詰は僅かにpHの低下が認められたが、菌数は少なく実際に細菌が増殖したかどうかは他の方法によって判定しなければならない。

市販品のミルクコーヒー缶詰についてTable 30に示した、この場合は変敗している缶詰でも10³/ml以下で、ミルクティー缶詰に比べて菌数が少なく、細菌が増殖した後の死滅速度が速いようである。

市販品のミルクティー缶詰についてTable 31に示した、変敗缶での菌数は10⁴/ml以上存在しているものが多かった。*Clostridium*属の細菌を接種して変敗した缶詰の中には*Bacillus*属の細菌による変敗が起こっている場合もあり、これは充填時における細菌汚染と考えられる。

缶詰に接種した細菌は約50/mlであるが、内容物によっては90日保存後も生き残る可能性があると考えられる。また細菌が増殖した後、内容物の変化により死滅して減少する場合がある。従って、缶詰の長期保存後の菌数測定によって、その変敗を判定することは不可能で、10³/ml以上存在していた場合は細菌が増殖したと結論出来るが、ml当たり数個しか存在しなかった場合はわからない。栄養源の少ない飲料缶詰の場合、僅かな細菌の増殖では色調や臭いから判別出来ず、pHの変化による方法が簡単で確かな方法と考えられる。

Table 28. Detection of bacteria from commercial canned oolong tea.

Inoculated bacteria	pH	Type of spoilage* ¹	Media		
			pE-2* ²	mTGC* ²	SMA* ³
Control (at 35°C)	6.05	N	— —	— —	0, 0
	6.05	N	— —	— —	0, 0
Control (at 55°C)	5.90	N	— —	— —	0, 0
	5.90	N	— —	— —	0, 0
<i>B. cereus</i>	6.02	N	+ +	+ +	20, 24
	6.02	N	+ +	+ +	22, 18
<i>B. subtilis</i>	6.03	N	+ +	+ +	5, 1
	6.03	N	— +	+ +	1, 0
<i>B. licheniformis</i>	6.27	N	+ +	+ +	6, 10
	5.88	F.S	+ +	+ +	2, 2
<i>B. polymyxa</i>	5.99	N	— —	+ —	0, 0
	6.01	N	(+) —	— +	0, 0
<i>B. coagulans</i>	6.04	N	+ +	+ —	3, 0
	6.04	N	+ +	— —	0, 0
<i>B. stearothermophilus</i>	5.90	N	— —	— —	0, 0
	5.89	N	— —	— —	0, 0
<i>C. sporogenes</i>	6.13	N	(+)(+)	(+)(+)	0, 0
	6.09	N	(+)(+)	(+)(+)	0, 0
<i>C. thermosaccharolyticum</i>	5.85	N	— —	— —	0, 0
	5.84	N	— —	— —	0, 0
<i>C. thermaceticum</i>	5.80	N	— —	— —	0, 0
	5.78	N	— —	— —	0, 0

*¹ N: Normal, F.S: Flat sour*² +: Growth of bacteria was indicated by the turbidity of the media, —: no growth, (+): production of gas*³ Numbers of colonies

Table 29. Detection of bacteria from commercial canned black coffee.

Inoculated bacteria	pH	Type of spoilage* ¹	Media		
			pE-2* ²	mTGC* ²	SMA* ³
Control (at 35°C)	6.76	N	— —	— —	0, 0
	6.76	N	— —	— —	1, 2
Control (at 55°C)	6.18	N	— —	— —	2, 2
	6.20	N	— —	— —	3, 0
<i>B. cereus</i>	6.33	F.S	+ —	— —	0, 1
	6.33	F.S	— —	— —	0, 0
<i>B. subtilis</i>	6.80	N	+ +	— —	1, 0
	6.34	F.S	+ +	+ +	188, 180
<i>B. licheniformis</i>	5.95	F.S	+ +	+ +	59, 63
	5.94	F.S	+ +	+ +	26, 43
<i>B. polymyxa</i>	5.83	S	(+) —	(+)(+)	2, 1
	5.82	S	(+)(+)	(+)(+)	1, 1
<i>B. coagulans</i>	6.03	F.S	+ +	— —	1, 1
	6.07	F.S	+ +	+ +	0, 0
<i>B. stearothermophilus</i>	5.82	F.S	+ +	+ +	8, 0
	5.85	F.S	+ +	+ +	306, 459
<i>C. sporogenes</i>	6.24	F.S	(+)(+)	+ +	0, 0
	6.24	F.S	(+)(+)	+ +	0, 0
<i>C. thermosaccharolyticum</i>	5.65	S	(+)(+)	(+)(+)	1, 0
	5.62	S	(+)(+)	(+)(+)	0, 0
<i>C. thermaceticum</i>	5.92	N	— —	+ +	0, 0
	5.93	N	— —	+ +	0, 0

*¹ N: Normal, F.S: Flat sour, S: Swell*² +: Growth of bacteria was indicated by the turbidity of the media, —: no growth, (+): production of gas*³ Numbers of colonies

Table 30. Detection of bacteria from commercial canned milk coffee.

Inoculated bacteria	pH	Type of spoilage* ¹	Media		
			pE-2* ²	mTGC* ²	SMA* ³
Control (at 35°C)	6.69	N	- -	+ -	0, 0
	6.69	N	- -	- -	1, 0
Control (at 55°C)	6.32	N	- -	- -	2, 2
	6.30	N	- -	- -	3, 0
<i>B. cereus</i>	5.51	F.S	- -	+ -	2, 0
	5.36	N	(+)(+)	+ +	3, 1
<i>B. subtilis</i>	5.61	F.S	+ +	+ +	0, 0
	6.64	N	- -	- -	0, 0
<i>B. licheniformis</i>	5.21	F.S	+ -	+ -	1, 0
	5.17	F.S	+ -	+ -	1, 1
<i>B. polymyxa</i>	5.32	S	(+)(+)	(+)(+)	228,192
	5.36	S	(+)(+)	(+)(+)	0, 0
<i>B. coagulans</i>	4.23	F.S	+ +	- -	1, 1
	4.24	F.S	+ +	+ +	0, 0
<i>B. stearothermophilus</i>	4.33	F.S	- -	- -	0, 0
	4.35	F.S	- -	- -	0, 0
<i>C. sporogenes</i>	5.02	S	+ +	- -	0, 0
	5.42	S	+ +	- -	0, 0
<i>C. thermosaccharolyticum</i>	4.31	F.S	+ +	+ +	28, 26
	5.39	S	- -	- -	0, 0
<i>C. thermaceticum</i>	6.23	N	- -	- -	0, 0
	5.41	S	- -	- -	0, 0

*¹ N: Normal, F.S: Flat sour, S: Swell

*² +: Growth of bacteria was indicated by the turbidity of the media, -: no growth, (+): production of gas

*³ Numbers of colonies

Table 31. Detection of bacteria from commercial canned milk tea.

Inoculated bacteria	pH	Type of spoilage* ¹	Media		
			pE-2* ²	mTGC* ²	SMA* ³
Control (at 35°C)	6.20	N	- -	- -	1, 0
	6.18	N	- -	- -	1, 0
Control (at 55°C)	5.98	N	- -	- -	0, 0
	5.96	N	- -	- -	0, 0
<i>B. cereus</i>	4.95	F.S	+ +	+ +	10 ⁴ <
	4.93	F.S	+ +	+ +	10 ⁴ <
<i>B. subtilis</i>	5.75	F.S	+ +	+ +	25, 17
	4.95	F.S	+ +	+ +	10 ⁴ <
<i>B. licheniformis</i>	5.15	N	(+)(+)	(+)(+)	913,882
	4.88	F.S	+ +	+ +	89, 95
<i>B. polymyxa</i>	5.13	S	(+)(+)	(+)(+)	10 ⁴ <
	5.14	S	(+)(+)	(+)(+)	10 ⁴ <
<i>B. coagulans</i>	5.15	S	(+)(+)	(+)(+)	10 ⁴ <
	4.08	F.S	+ +	+ +	10 ³ <
<i>B. stearothermophilus</i>	4.10	F.S	+ +	+ +	10 ⁴ <
	4.01	F.S	+ +	+ +	10 ⁴ <
<i>C. sporogenes</i>	4.92	S	(+)(+)	(+)(+)	10 ⁴ <
	4.54	S	+ +	- -	0, 0
<i>C. thermosaccharolyticum</i>	5.90	N	- -	- -	0, 0
	4.54	F.S	- -	- -	0, 0
<i>C. thermaceticum</i>	5.91	N	- -	- -	1, 0
	4.20	F.S	+ +	+ +	614,617

*¹ N: Normal, F.S: Flat sour, S: Swell

*² +: Growth of bacteria was indicated by the turbidity of the media, -: no growth, (+): production of gas

*³ Numbers of colonies

要 約

ウーロン茶、コーヒー、紅茶等の14種類の飲料缶詰に一般缶詰の変敗原因菌として知られている9種類の細菌胞子を接種し、ホットパックした缶詰を至適温度で90日間保存した場合、接種した細菌がこれらの飲料缶詰で増殖可能か否を確認するため接種試験を行った。

pHが6以下のウーロン茶缶詰やpH5付近のミルク入りでない紅茶缶詰では変敗しなかったが、pHが6付近のウーロン茶缶詰では*B.licheniformis*によって変敗する可能性がある。

ミルク入りのコーヒーや紅茶缶詰ではほとんどの細菌が増殖可能である。ミルク入りでないコーヒー缶詰は、pHが5付近では*B.coagulans*や*C.thermosaccharolyticum*により変敗し、pH6以上になると*C.thermacetivum*以外の細菌によって変敗する可能性がある。

終わりに本実験を行うに当り、缶詰の製造に協力していただいた東洋製罐(株)技術本部第一研究室の皆様に厚く感謝致します。

文 献

- 1) 梶本五郎：食工誌, 10, 1-5 (1963).
- 2) 西山隆造, 山崎道雄：農化, 48, 83-89 (1974).
- 3) 西山隆造, 山崎道雄：農化, 49, 629-633 (1975).
- 4) 丹野憲二, 野々村英夫：日食工誌, 21, 445-449 (1975).
- 5) 原征彦：フードケミカル, 2, 35-39 (1988).
- 6) 池ヶ谷賢次郎：食品と開発, 22, 20-25 (1989).
- 7) 原征彦, 渡辺真由美, 阪口玄二：日食工誌, 35, 375-379 (1989).
- 8) Donnelly, L. S. Busta, F. F.: *Appl. and Environ. Microbiol.*, 40, 721-725 (1980).
- 9) 谷喜雄, 柳玄太, 石田守良, 福井三郎：醸酵工学, 39, 92-98 (1961).
- 10) Kato, A., Arima, K.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 42, 596-601 (1971).
- 11) 加藤信行, 芝崎勲：醸酵工学, 53, 793-801 (1975).
- 12) 中山昭彦, 園部順子, 新屋理恵子：食衛誌, 23, 25-32 (1982).
- 13) 諏訪信行, 久保山春美, 高橋和子, 町田肇：日食工誌, 33, 44-51 (1986).
- 14) 池上義昭, 大田智子：東洋食品工業短大・東洋食品研究所研究報告書, 16, 93-100 (1985).
- 15) 池上義昭, 中尾マリ, 村山寿美江, 後藤隆子：東洋食品工業短大・東洋食品研究所研究報告書, 17, 65-75 (1987).
- 16) 池上義昭, 大田智子：東洋食品工業短大・東洋食品研究所研究報告書, 16, 101-105 (1985).