

ミカンシラップ漬缶詰における *Byssochlamys* の生育

遠田 昌人, 池上 義昭, 松井 智江, 中川 薫

Growth of *Byssochlamys*
in Canned Mandarin Orange in Syrup

Atsuhito Enda, Yoshiaki Ikegami, Tomoe Matsui and Kaoru Nakagawa

Thermo-resistant mold *Byssochlamys* were known to be able to grow under low oxygen level. Behaviour of *Byssochlamys* spp. BYS-1 and BYS-2 in canned mandarin orange in syrup and control conditions of their growth were investigated.

Both of two strains were found to grow in canned mandarin orange in syrup and produce CO₂ gas. The gas production with BYS-2 was up to 45.2% of head space gas after incubation at 30°C for 40 days.

Under conditions to restrict oxygen content in head space gas, inoculated samples were stored at 5°C for several days. When the oxygen level had been reduced to 0.74%, samples with BYS-2 were spoiled at the rate of 60% after incubation at 30°C for 40 days.

Effect of inoculated spore number in spoilage rate were tested. In the case of BYS-2, all of 10 samples were spoiled with 4.5×10^0 CFU/can inoculum.

Key words: *Byssochlamys* canned mandarin orange in syrup, thermo-resistant mold, ascospore, oxygen.

一般にカビは耐熱性が低いといわれているが、耐熱性カビと呼ばれるいくつかのカビは子嚢胞子や菌核、厚膜胞子といった耐久体が高い耐熱性を備えている。これらの耐熱性カビは80°Cの加熱殺菌後も生残し、殺菌不足による変敗の原因となる。

なかでも *Byssochlamys* 属のカビが果実や野菜、ジュースの缶詰および瓶詰の変敗を引き起こすことは、かなり以前からよく知られており、最も古い報告は1930年代に遡る。*Byssochlamys* は有性生殖器官として8個の子嚢胞子を含む子嚢を形成し、この子嚢胞子が耐熱性を示す^{1) 2)}。

我が国においてはこれまで、保存食品のカビによる変敗の防止は初期酸素量の低減化および包装による酸素の遮断によるとの認識が主であった。しかしながら *Byssochlamys* は非常に低い酸素分圧下でも生育が可能であることが報告されている²⁻⁴⁾。

そこでミカンシラップ漬缶詰をモデルとした場合の *Byssochlamys* の挙動を調査し、さらに生育を抑制する条件について検討したので報告する。

実 験 方 法

1. 使用菌株

乳酸菌飲料缶詰より分離した *Byssochlamys* spp. BYS-1 およびミカンシラップ漬袋詰より分離した *Byssochlamys* spp. BYS-2 を使用した。

2. 孢子懸濁液の調製

BYS-1, BYS-2ともに保存培養より1白金耳を採り、これをポテトデキストロース寒天培地(PDA; 日水製薬)平板に塗抹し30℃で30日間培養した。培養後、菌体を掻き採り、0.005%エーロゾルOT添加滅菌水中に懸濁した。懸濁液は超音波洗浄器で処理後、東洋ろ紙No.5 Aでろ過し、4℃で保存した。

3. 試料缶詰

ミカンシラップ漬缶詰を常法により作製し、80℃、10分、4rpmの条件で殺菌した。接種試料の場合は巻締直前に供試菌の孢子懸濁液を添加した。空缶は5号缶のブリキ溶接缶を使用した。殺菌後行った開缶試験の結果をTable 1に示した。

Table 1. Analysis of sample canned mandarin orange in syrup immediately after production.

Contents of analysis	BYS-1*	BYS-2*
pH	3.86	4.01
Brix (°)	18.3	17.1
Vacuum (cmHg)	31.5	30.5
Drained wt. (g)	195.3	198.3
Liquid wt. (g)	108.6	107.9
Head space gas (ml)	13.6	13.8

*Sterilized at 80℃ for 10min, (4rpm), n=2.

4. ヘッドスペースガスの分析

試料缶詰を水中で開缶し、ヘッドスペースガス全量をゴム栓付き捕集器にて採取し、その体積を測定した。採取したガスはガスクロマトグラフ(島津製作所GC-5BT)によりその組成を分析した。

5. 菌数測定

試料缶詰を無菌的に開缶し、その液汁を試験管にサンプリング後、試験管ミキサーにより10秒間攪拌したものを滅菌生理食塩水で希釈し、混釈法によりPDAに接種して得られたコロニー数を計測した。

結 果

1. 缶詰中の酸素濃度の変化

無接種の試料缶詰のヘッドスペースのガス組成をガスクロマトグラフにより分析し、保存中における酸素濃度の経時変化を調べた。保存期間は最大40日とした。結果をFig. 1に示した。酸素濃度の減少は30℃での保存区が最も速く、以下20℃、5℃の順であった。

2. 接種試験

BYS-1およびBYS-2の孢子懸濁液を接種した試料を作製した。接種量は殺菌直後の開缶試験ではBYS-1では 2.7×10^3 CFU/缶、BYS-2は 4.5×10^3 CFU/缶であった。試料は30℃、20℃および5℃に保存した。これらを経時的にサンプリングして菌数およびヘッドスペースガス組成の変化により、BYS-1およびBYS-2の挙動を調べた。

1) 保存中の菌数変化 接種試料中の菌数を測定し、その変化を調べた。カビは細菌や酵母と異なり菌糸や子実体を形成するため、その生育が必ずしも培地上でのコロニー数に直接反映されない。そこで実験方法に示したようにサンプリング後の攪拌条件を一定とし、得られたコロニー

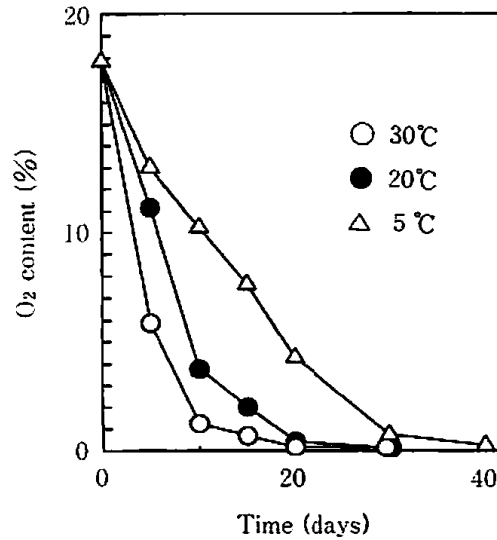


Fig. 1. Changes in oxygen content in head space gas during storage at various temperature.

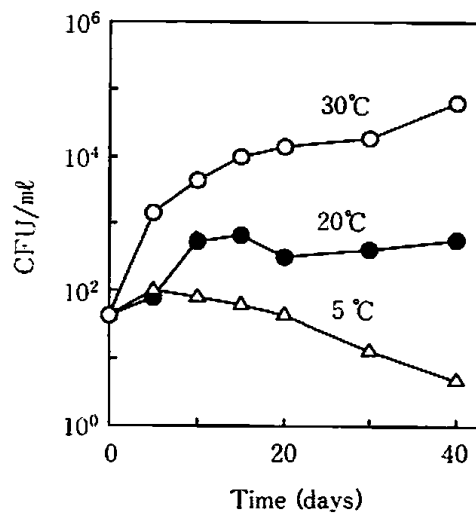


Fig. 2. Changes in CFU of sample cans during storage (BYS-2).

数を計測した。BYS-2での結果を Fig. 2 に示した。30°C および 20°C では菌数は増加し、5°C では減少を示した。

- 2) 生育に伴うヘッドスペースガス組成の経時的変化 接種試料についてもヘッドスペースガス組成を分析した。BYS-1 および BYS-2 の 30°C での保存の結果を Fig. 3 に示した。酸素および二酸化炭素の量は窒素の体積を 1 とし、これに対する相対量として示した。BYS-2 においては酸素量は初めの 5 日間で 1/10 まで急激な減少を示し、二酸化炭素量は菌数の増加に伴い 30 日まで増加を続けた。BYS-1 でも同様に酸素の減少と二酸化炭素の増加が認められたが、二酸化炭素の産生量は BYS-2 の場合に比べかなり少なかった。40 日間保存した試料缶詰の真空度は、コントロールでは酸素の吸収により 37cmHg に増加したのに対し、BYS-1 では 32cmHg と変化せず、BYS-2 では逆に 20cmHg にまで減少した。

3. 生育条件の検討

初期菌数およびヘッドスペースに残存する酸素量がBYS-1およびBYS-2の生育に与える影響を検討した。

- 1) 初期菌数の影響 接種菌数を変えた試料缶詰を作製し、30℃、40日間の保存後における変敗率から、初期菌数が生育に及ぼす影響を調べた。結果は Table 2 に示した。BYS-1では 2.7×10^3 CFU/缶の場合で20%の変敗率にとどまったが、BYS-2では接種量が最小の試験区 (4.5×10^0 CUF/缶) においても100%の変敗率となった。
- 2) 初期酸素量の影響 接種した試料を5℃で保存し、ヘッドスペースの酸素を消費させて酸素濃度が異なる試料区を作製した。接種量はBYS-1は 2.7×10^3 CFU/缶、BYS-2は 4.5×10^3 CFU/缶とした。5℃での保存後、試料を30℃に移し40日間保存した。結果は Table 3 に示した。

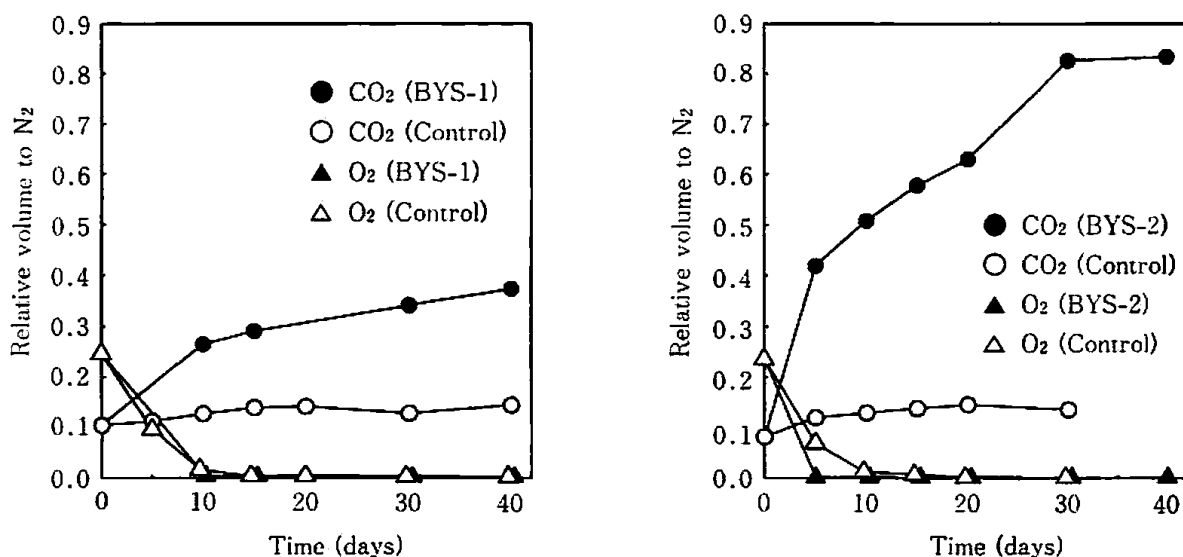


Fig. 3. Changes in head space gas composition of sample cans inoculated with BY-1 and BY-2.

Table 2. Effect of asci number inoculated to sample cans.

BYS-1		BYS-2	
inoculum (CFU/can)	Spoilage (%)*	Inoculum (CFU/can)	Spoilage (%)*
2.7×10^3	20	4.5×10^3	100
2.7×10^2	10	4.5×10^2	100
2.7×10^1	0	4.5×10^1	100
2.7×10^0	0	4.5×10^0	100

* Incubated at 30℃ for 40days (n=10).

Table 3. Effect of oxygen content in head space gas of sample cans.

BYS-1			BYS-2		
Days (at 5℃)	O ₂ (%)	Spoilage (%)*	Days (at 5℃)	O ₂ (%)	Spoilage (%)*
0	18.30	20	0	17.91	100
5	14.36	100	5	13.00	100
10	9.05	100	10	10.25	100
15	5.79	80	15	7.65	100
20	2.37	20	20	4.30	90
30	0.88	0	30	0.74	60

* Incubated at 30℃ for 40days (n=10).

BYS-1は作製直後から30℃に保存した場合には変敗率は20%に過ぎなかった。しかし5℃5日間および10日間の保存の後30℃に移した試験区では100%に達し、それ以降は変敗率の減少を示した。

一方BYS-2では5℃20日間の保存により酸素濃度が4.3%に低下した試料においても90%が、30日間(0.74%)でも60%が変敗した。

考 察

接種試験の結果から、ミカンシラップ漬缶詰において殺菌後に胞子が生残していた場合、酸素が遮断された状態にあるにもかかわらず、*Byssochlamys* が生育し変敗に至ることは明らかである。また、これまで*Byssochlamys*による缶詰の変敗では膨張がほとんど起こらないといわれていたが⁵⁾、BYS-1、BYS-2を接種した試料缶詰では、ともに膨張にこそ至らないものの、生育にともなう二酸化炭素の産生によりコントロールに比べ真空度が低下していた。

Byssochlamys は非常に低い酸素濃度においても生育が可能であるといわれており、*B. fulva* に関しては0.27%でも生育したという報告がある²⁾。本研究においてBYS-2は急速にヘッドスペースの酸素を消費した後、0.1-0.2%の酸素濃度下でさらに生育を続けた。また5℃30日間の保存で初期酸素濃度を減少させた場合でも、0.74%で変敗率が60%に達した。

これまでカビは、加熱に対する抵抗性が低いため殺菌が容易で、なおかつ仮に生残したとしても脱気および密封、内容物による酸素吸収、容器の還元能により酸素濃度が低下しているため、好気性が高いカビは生育せず変敗に至らない、と認識されていた。BYS-1、BYS-2ともに酸素濃度が低下した試料缶詰においても高い確率で変敗したという結果は、この認識を改める必要があることを示している。この際BYS-1において、5℃、5日間の保存によりヘッドスペースガスの酸素濃度が低下していたにもかかわらず、却って変敗率が上昇した。その原因はおそらく内容物中の溶存酸素濃度に関係するのではないかと考えられるが不明である。

全体的な傾向としては変敗率が高いが、その一方で初期酸素濃度の減少に従って、変敗率が低下することは増殖初期においてはある程度高い酸素濃度が必要であることを示唆している。したがって何らかの方法で初期酸素濃度を極めて低い水準に抑えることができれば変敗防止策として有効ではないかと思われる。

耐熱性や低酸素濃度での生育性に加え、*Byssochlamys* は初期菌数がかかなり少なくても生育し、変敗に至ることも明らかになった。BYS-1は見かけ上、変敗を引き起こすにはBYS-2よりも大きな初期菌数を必要とする結果が得られた。しかしBYS-1は、酸素濃度の影響を検討した実験で見られた製造直後に培養を開始した場合に変敗率が低下するという現象 (Table 3) を考えると、潜在的にはBYS-2と同様にわずかの汚染によっても缶詰を変敗させる可能性がある。*Byssochlamys* 属カビの分布は土壌や果実など広範囲に及ぶ⁵⁾。今後は原材料や加工工場の汚染状態の把握など総合的な微生物制御が必要であろう。また、耐熱性カビに関してもより一層研究を進めることが重要であると考えられる。

要 約

Byssochlamys spp. BYS-1およびBYS-2の子嚢胞子を接種した試料缶詰を作製し、ミカンシラップ漬缶詰中における*Byssochlamys* 属カビの挙動を調査した。

生育至適温度である30℃におかれたBYS-1、BYS-2はともに試料缶詰中で生育した。このとき二酸化炭素の産生が認められた。特にBYS-2では産生量が多く、真空度の低下を起こした。

またこれら*Byssochlamys* の生育を抑制する条件について検討した。BYS-2では 4.5×10^0 CFU/

缶の試料においても100%が変敗率を示し、非常に低い汚染度でも変敗を引き起こすことが明らかになった。

5℃での保存によりヘッドスペースの初期酸素濃度を減少させた試料缶詰においても、BYS-1は5.79%O₂で80%、2.37%O₂で20%が変敗した。BYS-2ではより低酸素濃度での生育性が高く、酸素濃度4.3%、0.74%でそれぞれ変敗率は90%、60%となった。

文 献

- 1) Bayne, H. G. and Michener, H. D.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **37**, 449–453 (1979).
- 2) King, Jr., A. D., Mincher, H. D. and Ito, K. A.: *Appl. Microbiol.*, **18**, 166–173 (1969).
- 3) Rice, S. L.: *J. Food Sci.*, **45**, 485–488 (1980).
- 4) Roland, J. O., Beuchat, L. R. and Heaton, E. K.: *J. Food Prot.*, **47**, 685–687 (1984).
- 5) 宇田川俊一：食品と微生物, **8**, 121–130 (1991).