

## バレンシアオレンジジュース中における好酸性菌の増殖

池上 義昭, 遠田 昌人, 松井 智江, 中川 薫

### Growth of Acid-thermophilic Bacteria in Valencia Orange Juice Packed in Carton Container and Can

Yoshiaki Ikegami, Atsuhito Enda,  
Tomoe Matsui and Kaoru Nakagawa

Acid-thermophilic spores were found 10-100 per ml in valencia orange juice of 4 manufacturers, which juice was packed in carton containers. Valencia orange juice was inoculated with strain AC-1 spores, and incubated at 35°C. The growth of the bacteria proceeded in all the samples after two days. However, in case of the juice packed in aluminum foil-laminated carton containers, the growth of the bacteria in these products was very weak. Therefore, oxygen was supposed to have appreciable effect on the growth of acid-thermophilic bacteria.

Valencia orange juice packed in can was inoculated with strain AC-1 spores, and incubated for 40 days at 15°C, 20°C, 25°C, and 30°C. No spoilage was observed in the samples incubated at 15°C. The growth of the bacteria proceeded in the samples at 20°C and above. However, the growth rates were so slow that no serious flavor deterioration and product degradation were found. Oxygen contents in head space of the canned juice after incubating at 20°C, 25°C and 30°C for 30 days were very small as 0.41, 0.18 and 0.12ml respectively. The growth of aerobic acid-thermophilic bacteria in canned juice was so weak that restricted spoilage of the products.

Key words : acid-thermophilic bacteria, valencia orange juice, oxygen, head space gas, inoculation

最近、容器詰果実飲料において好酸性菌による変敗が問題になっているが<sup>1-3)</sup>、この細菌は *Bacillus acidocaldarius* の類似菌であることが知られている<sup>4)</sup>。

この好酸性菌による果実飲料の変敗を防止するには、その諸性状から、紫外線殺菌、酢酸やショ糖脂肪酸エステルの添加による静菌効果などが挙げられるが<sup>4)</sup>、実際面で使用が難しいと考えられる。

そこで当研究室では、これらの飲料のなかで最も多く製造され、しかも紙容器、PET 詰、ビン詰および缶詰とあらゆる容器に詰められて販売されているバレンシアオレンジジュースについて、好酸性菌がこれらの中にもどの程度存在しているか、また増殖するにはどのような条件が必要か、増殖における保存温度や酸素の影響について検討した。

## 実験材料および方法

### 1. 使用菌株

PET ボトル詰酸性飲料から分離した *Bacillus acidocaldarius* (AC-1)<sup>4)</sup> を使用した。

### 2. 好酸性菌数測定法

4社の紙容器詰バレンシアオレンジジュース（1000ml入り，A，B社の製品は金属箔がラミネートされていない紙容器であるが，C，D社の製品はアルミ箔がラミネートされている）各2本ずつにシリコンゴムのパッキングを接着し，その部分より内容物を注射器で採り，mSMA（SMA 100mlにクエン酸0.04%添加）を使用した混釈平板培養法（45℃）および TGY（pH 4.0）を使用した MPN 法（55℃）で測定した。

### 3. 紙容器詰バレンシアオレンジジュースにおける接種試験

上記の製品にパッキング部から AC-1 の芽胞を  $2.0 \times 10^5$  個注射器で接種し，35℃で保存，2，5，12日目の菌数を mSMA（45℃）を使用して混釈平板培養法で測定した。

### 4. バレンシアオレンジジュース缶詰の作製

冷凍濃縮果汁を水で6倍に希釈し，二重釜で90℃に加熱，J 200缶に約190ml充填し，巻締後，倒立して3分間ホールディングし，その後水で冷却した。

### 5. バレンシアオレンジジュース缶詰のヘッドスペース中のガス分析

バレンシアオレンジジュース缶詰を20℃，25℃および30℃に保存し，経時的にヘッドスペース中のガス組成をガスクロマトグラフ（島津製作所；GC-3BT）により分析し，保存中における酸素量の経時的変化を調べた。

### 6. バレンシアオレンジジュース缶詰における接種試験

AC-1の芽胞を巻締前に  $2.0 \times 10^5$  個接種した缶詰を15℃，20℃，25℃および30℃に保存，無接種の缶詰は30℃および35℃に保存し，経時的に好酸性菌数を mSMA を使用して混釈平板培養法で測定した。また接種菌数を  $2.0 \times 10^5$  個， $2.0 \times 10^4$  個および無接種の缶詰を各保存温度について10缶ずつ40日間保存後，好酸性菌数を測定し，初期菌数より10倍以上多くなっているものを変敗として変敗率を算出した。

## 実験結果および考察

### 1. 好酸性菌数測定法

1リットル入りの紙容器詰のバレンシアオレンジジュース中に好酸性菌がどの程度存在しているか4社の製品について検討した結果と試料の内容物の状態を Table 1 に示した。どの試料も pH，ブリックスはほとんど同じ程度であった。生存している好酸性菌を混釈平板培養法と MPN 法の2方法で測定したが，A社の製品中にはほとんど存在せず，その他の製品には1ml当たり数個から数100個存在していた。2方法を比較するとやや MPN 法が優れていた。

### 2. 紙容器詰バレンシアオレンジジュースにおける接種試験

前述の紙容器詰のジュースに AC-1 の芽胞を接種し，35℃で保存したときの好酸性菌の消長を調べた結果を Table 2 に示した。試料Aの製品は2日間の保存で変敗した。試料Bではむしろ

Table 1. Acid-thermophilic bacteria in valencia orange juice packed in carton container.

Manu- facturers	Total weight (g)	pH	Brix	No. of acid-thermophiles (/ml)	
				Pour plate method mSMA, 45°C	MPN method TYG (pH4), 55°C
A	1084.8	3.89	12.0	< 1	$4.0 \times 10^{-1}$
B	1075.3	3.90	11.5	$2.4 \times 10$	$9.4 \times 10$
C	1096.4	3.92	11.3	$6.0 \times 10^0$	$4.3 \times 10$
D	1082.9	3.82	11.6	$1.6 \times 10$	$1.5 \times 10^2$

Table 2. Growth of acid-thermophilic bacteria in fiber contained valencia orange juice packed in carton container at 35°C.

Storage (day)	No. of acid-thermophiles (/ml)			
	A	B	C	D
0	$1.2 \times 10^2$	$1.6 \times 10^2$	$1.8 \times 10^2$	$1.5 \times 10^2$
	$1.2 \times 10^2$	$1.6 \times 10^2$	$1.7 \times 10^2$	$1.3 \times 10^2$
2	$1.0 \times 10^4 <$	$1.1 \times 10^{2*}$	$1.0 \times 10^4 <$	$3.4 \times 10^3$
	$1.0 \times 10^4 <$	$2.0 \times 10^2$	$1.0 \times 10^4 <$	$1.5 \times 10^3$
5	$2.0 \times 10^6$	$8.3 \times 10$	$2.6 \times 10^4$	$2.1 \times 10^4$
	$2.6 \times 10^6$	$5.0 \times 10$	$5.8 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5 <$
12	$2.7 \times 10^6$	$9.1 \times 10$	$2.6 \times 10^4$	$2.5 \times 10^4$
	$1.5 \times 10^6$	$3.3 \times 10$	$1.4 \times 10^6$	$1.2 \times 10^4$

Inoculum;  $2.0 \times 10^2$ /ml

\*; growth of lactic acid bacteria

減少したが、このとき乳酸菌の増殖が認められ、これにより好酸性菌の増殖が抑制されたと考えられる。試料CおよびDでも2日間保存で好酸性菌は増加したが、試料Aに比べて少なかった。これはCおよびD社の紙容器は内面にアルミ箔がラミネートされ、酸素の透過がほとんどないので、内部に存在している酸素だけしか利用できないためと考えられた。

### 3. バレンシアオレンジジュース缶詰における接種試験

バレンシアオレンジの冷凍濃縮果汁を6倍に希釈し、これをJ200缶に充填し、缶当たり $2 \times 10^5$ 個、 $2 \times 10^4$ 個の好酸性菌を接種した缶詰および無接種の缶詰を作製した。

無接種の缶詰について、好酸性菌がどの程度存在しているか検討した結果とその内容物の状態をTable 3に示した。pHおよびブリックスは紙容器の製品のほとんど同じ程度であった。好酸性菌は1mlあたり約100個存在し、このときもMPN法で測定した方が多かった。

この無接種缶詰の保存におけるヘッドスペース中のガス組成の変化を調べた結果をTable 4に示した。保存日数とともに炭酸ガスが増加し、酸素は減少した。また保存温度が高いほどこの傾向は増した。20日目ごろから僅かに水素が検出されるようになった。

この結果を酸素量に換算した結果をTable 5に示した。20°C、25°C、及び30°Cで30日間保存後のヘッドスペース中の酸素量はそれぞれ0.41、0.18及び0.12mlに減少していた。

Table 3. Numbers of acid-thermophilic bacteria numbers in trial canned valencia orange juice.

Sample No.	Total weight (g)	pH	Brix	No. of acid-thermophiles (/ml)	
				Pour plate method mSMA, 45°C	MPN method TYG (pH4), 55°C
1	219.6	3.86	10.6	$8.0 \times 10$	$4.5 \times 10^2$
2	223.6	3.85	10.5	$9.1 \times 10$	$7.5 \times 10$

Table 4. Changes of head space gas composition in sample cans.

Storage day	Temp.	Total gas (ml)	CO <sub>2</sub>	H <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>	N <sub>2</sub>
0		9.7	1.0%		19.2%	79.8%
	20°C	8.9	1.7%		15.7%	82.7%
5	25°C	10.6	1.8%		14.8%	83.5%
	30°C	11.1	2.2%		14.4%	83.5%
10	20°C	11.1	2.1%		13.5%	84.5%
	25°C	8.8	2.6%		11.6%	85.9%
	30°C	10.4	3.6%		10.5%	86.4%
20	20°C	10.5	3.1%		7.8%	89.2%
	25°C	9.1	4.5%	0.1%	7.1%	88.4%
	30°C	8.7	5.7%	0.2%	4.4%	89.9%
30	20°C	9.7	4.1%	0.1%	4.1%	91.8%
	25°C	7.3	5.5%	0.3%	2.5%	91.8%
	30°C	8.2	7.1%	0.4%	1.5%	91.1%

n=2

Table 5. Changes in oxygen content in head space gas of sample cans.

Storage (day)	Oxygen content		
	20°C	25°C	30°C
0	1.9 ml	1.9 ml	1.9 ml
5	1.4	1.6	1.6
10	1.5	1.0	1.1
15	0.94	0.88	0.70
20	0.81	0.64	0.38
30	0.41	0.18	0.12

缶当たり $2 \times 10^5$ 個接種(約 $10^3$ /ml)した缶詰および無接種の缶詰を保存したときの好酸性菌の消長を Table 6 に示した。菌接種区については20°C以上の保存では菌は増殖したが、 $10^5$ /ml以上に増殖しなかった。匂いも pH も無接種区と差がないので、はたして菌数として100倍程度増殖しただけでは変敗したと言えるか疑問である。15°C保存では菌の増殖は無く、むしろ減少した。30°C、5日間保存で菌数は約10倍以上に増加しているが、その後減少せず一定であった。これは芽胞を形成したからと考えられる。25°C保存では10日目ごろから減少するが、これは芽胞を形成しないので死滅し減少した。20°C保存では25°Cより低温であるので死滅が遅く、30日目ごろから

減少した。

菌無接種の場合、30℃保存では初めから存在していた好酸性菌の増殖は認められなかったが、35℃保存では菌の増殖が認められた缶詰があった。またカビの発育から認められた缶詰があった。

缶当たり $2 \times 10^5$ 個、 $2 \times 10^4$ 個を接種した缶詰および無接種の缶詰を各10缶ずつ15℃、20℃、25℃および30℃に40日間保存した。菌数測定によって菌の増殖が認められた缶詰を変敗としたときの変敗率を算出し、Table 7に示した。15℃保存では変敗率は0%であったが、20℃では菌接種量によって変敗率は異なり、1ml当たり $2 \times 10^3$ 個接種では100%変敗したが、 $2 \times 10^2$ 個接種では30%であった。

Table 6. Growth of acid-thermophilic bacteria in canned valencia orange juice at various temperatures.

Storage (day)	Inoculum (AC-1; $10^3$ /ml)				No-inoculation	
	15℃	20℃	25℃	30℃	30℃	35℃
0	$9.5 \times 10^2$	$9.5 \times 10^2$	$1.0 \times 10^3$	$1.0 \times 10^3$	$8.0 \times 10$	$8.0 \times 10$
	$1.2 \times 10^3$	$1.2 \times 10^3$	$9.6 \times 10^2$	$9.6 \times 10^2$	$9.1 \times 10$	$9.1 \times 10$
5	$5.0 \times 10^2$	$1.0 \times 10^3$	$1.0 \times 10^4 <$	$2.8 \times 10^4$	$2.6 \times 10$	—
	$4.6 \times 10^2$	$5.6 \times 10^3$	$1.0 \times 10^4 <$	$1.4 \times 10^4$	$2.2 \times 10$	—
10	$4.9 \times 10^2$	$1.1 \times 10^4$	$5.1 \times 10^3$	$3.1 \times 10^4$	—	$6.2 \times 10^4$
	$3.6 \times 10^2$	$6.4 \times 10^3$	$1.2 \times 10^3$	$2.1 \times 10^4$	—	—
15	$5.6 \times 10^2$	$2.8 \times 10^4$	$7.5 \times 10^2$	$1.3 \times 10^4$	$8.5 \times 10$	$8.0 \times 10^0$
	$3.8 \times 10^2$	$3.1 \times 10^4$	$1.7 \times 10^3$	$1.5 \times 10^4$	$1.5 \times 10$	$8.7 \times 10^3*$
20	$1.1 \times 10^2$	$2.5 \times 10^4$	$1.6 \times 10^3$	$4.0 \times 10^4$	$1.0 \times 10$	$4.5 \times 10^0$
	$1.2 \times 10^2$	$8.0 \times 10^4$	$6.2 \times 10^2$	$3.2 \times 10^4$	$1.5 \times 10$	$4.0 \times 10^0$
30	$9.5 \times 10$	$3.3 \times 10^2$	$8.9 \times 10^2$	$4.6 \times 10^4$	$1.7 \times 10$	
	$2.3 \times 10^2$	$3.1 \times 10^2$	$2.0 \times 10^3$	$3.0 \times 10^4$	$9.0 \times 10^0$	

\*; growth of mould

Table 7. Effect of storage temperature and spore number inoculated on spoilage rate of canned valencia orange juice. (n=10)

Temp.	Inoculum (/ml)	Spoilage
15℃	$10^3$	0%
	—	—
20	$10^3$	100%
	$10^2$	30
	—	0
25	$10^3$	100%
	$10^2$	100
	—	0
30	$10^3$	100%
	$10^2$	100
	—	0

Incubation for 40 days.

## 要 約

4社の市販紙容器詰パレンシアオレンジジュース中には好酸性菌が1ml当たり10-100個存在し、またパレンシアオレンジ冷凍濃縮果汁にも存在していたので、この果汁はほとんど好酸性菌に汚染されていると考えられる。

紙容器詰パレンシアオレンジジュースを35℃で保存すると、アルミ箔のない容器詰では2日間に変敗するが、アルミ箔のある容器詰は好酸性菌の増殖が弱いことが認められた。これは増殖において酸素が大きく影響するからであると考えられる。

パレンシアオレンジジュース缶詰の場合は、20℃以上の保存で好酸性菌は僅かに増殖するが、缶内の酸素は非常に少ないので100倍以上には増殖しない。そのためpH、色調、匂いなどの変化はほとんど対照区と同じであった。

## 文 献

- 1) 鈴木俊光：日本缶詰協会，第38回技術大会講演要旨集（1989）。
- 2) 鈴木俊光：食品と容器，30，503-506（1989）。
- 3) 鈴木俊光，増田俊介：日本缶詰協会，第39回技術大会講演要旨集（1990）。
- 4) 池上義昭，遠田昌人，松井智江，中川 薫：東洋食品工業短大・東洋食品研究所研究報告書，21，105-115（1996）。