

包装食品の微生物変敗防止に関する研究 (第33報)

包装フルーツみつ豆の膨張とその原因菌について

内藤茂三

缶、びん詰などレトルト食品の殺菌加熱条件を設定するときは、通常指標菌として *Clostridium sporogenes* 類似菌 (PA3679) が常用されている。本菌は生物学的性状が、毒素を生産しない点を除いて、AおよびB型ボツリヌス菌に類似しており、かつその芽胞の熱抵抗性がボツリヌス菌よりも強い。

缶、びん詰などレトルト食品の容器詰食品は完全殺菌を目標に処置を行うが、現状は通常の保存状態で変敗を起こさなければよく、保存中生育できないものは残留しても容認される商業的殺菌である。酸性食品 (pH4.5以下) の耐熱性芽胞菌は低pH (3.5~3.9) によって生育が抑制されるため、無芽胞細菌、酵母、カビの殺菌を対象として80~85℃の加熱殺菌法が用いられている。また非酸性食品 (pH4.5以上) では芽胞細菌を対象としてレトルトによる110~121℃の加圧殺菌法が用いられている。一般的にはフルーツみつ豆のような酸性加熱食品の微生物による膨張変敗については *Saccharomyces cerevisiae*¹⁾, *Lactobacillus brevis*²⁾, *Clostridium pasteurianum*^{1) 2) 3)} がよく知られている。

フルーツみつ豆においては主として酵母による膨張が多く見られるが、*Clostridium pasteurianum* による膨張も多く認められている。酵母や乳酸菌は比較的耐熱性が弱いので殺菌を十分に行えば問題はないと思われるが、*Clostridium pasteurianum* は芽胞形成菌であり、原材料からも検出されている⁴⁾ 場合もあるためこれが変敗原因菌となる場合がある。

今回、pH3.5~3.7の包装フルーツみつ豆が膨張する現象が生じたのでその原因解明について検討を行ったので報告する。

実験方法

1. 供試試料

試料は愛知県下のフルーツみつ豆製造会社で製造された半製品および製品 (膨張品および正常品) を用いた。なお原材料は液糖、オレンジ、グレープフルー

ツ、おうとう、パイナップル、クエン酸である。

フルーツみつ豆の製造方法の概略を第1図に示した。寒天を洗って裁断し、水に30分間浸漬後、火にかけて溶かす。これをろ過後、水で湿潤させた流し缶に流し入れ固め、1cm²角に切る。具材はいずれも缶詰を使用した。

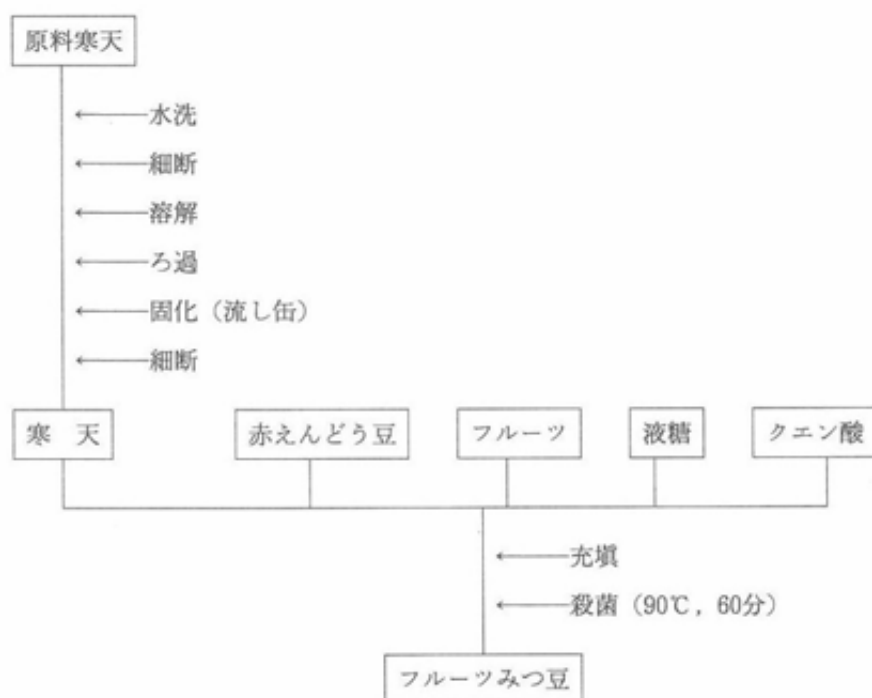
寒天および具材である赤えんどう豆とフルーツ (オレンジ、グレープフルーツ、黄桃、パイナップル) に液糖を添加する。これにクエン酸を添加して製品のpHを4.0未満に調整し、これらをカップに充填し、90℃で60分間殺菌する。

2. 包装容器および包装方法

ポリプロピレンカップ (PP, 直径15cm, 深さ7cm) にフルーツみつ豆を入れ、同種のフィルムで上部をシールした。カップの性状は、厚さ600μm, 酸素ガス透過度160cc/m²/24h, atm (25℃, Dry), 透湿度1.5g/m²/24h (40℃, 90%RH) である。

3. 使用培地および希釈水

- (1) PDA培地: 栄研化学のPDA培地にクロラムフェニコール (100mgをエタノール5mlに溶解) を培地1ℓ当り2.5ml添加し、加温溶解後、121℃で15分間滅菌した。
- (2) YM寒天培地: ポリペプトン5g, 酵母エキス3g, グルコース10g, 脱イオン水1000ml, pH6.0の溶液に寒天15gを加温溶解後、121℃で15分間滅菌した。
- (3) 標準寒天培地: 栄研化学の既製品培地
- (4) BL寒天培地: 栄研化学の既製品培地
- (5) EG寒天培地: 栄研化学の既製品培地
- (6) 好気性菌培養用の希釈水 (希釈液): 食塩8.5gを脱イオン水1000mlに溶解し、試験管に9mlずつ又は三角フラスコに225mlずつ分注し、121℃で15分間滅菌した。
- (7) 嫌気性菌培養用の希釈水 (嫌気性希釈液): リン酸一カリウム4.5g, リン酸水素二ナトリウム6.0g, L-システイン塩酸塩0.4g, Tween80 0.5g, 寒天1.0gを加温溶解後、試験管に9ml又は三角フ



第1図 フルーツみつ豆の製造工程

ラスコに225ml分注し酸素を含まない炭酸ガスを吹き込んで試験管内の気相を置換し、素早くプチルゴム栓をし、ゴム栓が外れないように針金で固定して、115℃で20分間滅菌した。

4. 微生物菌数の測定

4.1 好気性菌数

試料をワーリングブレンダーに入れ、5分間均一に磨砕して、その25gを無菌的に採取し、これをホモゲナイザーカップ(500ml容)に希釈水225mlとともに入れ、ホモゲナイザーで5分間磨砕し、そのホモジネート液を試料原液とした。これを常法により希釈し標準寒天培地を用いて30℃で2日間培養後、出現した集落を計測し、これを好気性細菌数とした。またPDA培地を用いて25℃で3日間培養後、出現した集落を真菌数とした。なお酵母とカビは平板上での形態および光学顕微鏡により判定した。

4.2 嫌気性菌数

試料の採取等は好気性菌数の測定と全く同じであるが、希釈には嫌気性希釈液を用いた。

試料を嫌気性希釈液の入った試験管に入れホモジナイザーで均質にした。BL寒天培地およびEG寒天培地に馬脱繊維血液(純日本生物材料センター製)を5%添加したものを用いた。培養は大型ガスバック式嫌気ジャーを用いたBBL製のガスバック法で行い、37℃で

2日間行い、出現した集落を計測し、嫌気性菌数とした。

5. 微生物の同定

好気性菌は平板培地上に発育した菌を鏡検し、菌形と胞子の存在の確認を行い、長谷川らの方法⁴⁾により生理的性質を調べ、菌の同定を行った。

嫌気性菌はBL寒天培地およびEG寒天培地上に発育した菌を光岡の方法⁵⁾、河端の方法⁶⁾により同定した。

酵母は飯塚ら⁷⁾の方法により同定し、カビは小笠原ら⁸⁾の方法により同定した。

6. 落下微生物および空中浮遊微生物の測定

製造工場内に設定した10地点において、年間5回にわたって落下菌数および空中浮遊菌数を測定した。培地として好気性細菌数には標準寒天培地、嫌気性細菌数にはBL寒天培地、酵母およびカビはPDA寒天培地を用いた。

落下菌はいずれもシャーレ(直径9cm)を20分間開放する落下法で行い、空中浮遊菌の測定はピンホールサンプラー(三基科学特製)により、毎分26.5lの速度で2分間空気を吸引するピンホールサンプラー法で行った。

7. ガス分析

膨張品のガス分析はガスクロマトグラフィーを用いた

ヘッドスペース分析法により行った。

容器内の水素、炭酸ガス、窒素はガスクロマトグラフ (株柳本製作所製, G-80TFP型) により測定した。測定条件は, 検出器: TCD, 検出器温度: 90℃, カラム ϕ 3mm $\times$ 2.25m ステンレスカラム, 充填剤: アクチブカーボン, モレキュラーシーブ 5A, カラム温度: 70℃, キャリヤーガス: ヘリウム (25ml/分) である。

また容器内のアルコール, エステルその他の香気成分はガスクロマトグラフ (株日立製作所製, 163型) を用いて測定した。測定条件は, 検出器: FID, カラム: ϕ 3mm $\times$ 2.25m ステンレスカラム, 充填剤: PEG20M 20%クロモソルブW60/80メッシュ, カラム温度: 70℃, 注入口温度: 150℃, キャリヤーガス: 窒素 (50ml/分) である。

なお酸素の測定は容器にゴム板を張りマイクロシリンジで10~15mlの気体を採取し, 酸素分析計 (東レ製, LC-700F型) により測定した。

8. オゾン処理

紫外線ランプ式のオゾン発生装置 (特殊ガラス管を用いた合成管: オゾン生成量1.6g/h (5~10℃), ファン付強制対流型) を各工程の天井に計12台設置

し, 約1年間夜間のみ作業時間を除き1日, 5~7時間点灯した。

実験結果

1. 原材料および製造工程中の半製品および製品の微生物の変化

原材料の微生物菌数を測定した結果を第1表に示した。

寒天には 3.5×10^3 /gの微生物が検出されたが, クエン酸, 液糖, 赤えんどう豆, オレンジ, グレープフルーツ, おうとう, パイナップルの微生物は極めて少なかった。

製造工程中における微生物菌数を測定した。結果を第2表に示した。寒天と赤えんどう豆の混合物では 5.2×10^3 /g, これにフルーツを添加した直後では 7.8×10^3 /gとなり, さらに液糖を添加した直後で 2.1×10^4 /gとなり, 殺菌後では 6.5×10^2 /gとなった。

殺菌前に検出される微生物は酵母と細菌であったが, 殺菌後に検出される微生物はいずれも細菌であった。また原材料中には嫌気性細菌はいずれも検出されなかったところから, これらの微生物は製造工程中か

第1表 フルーツみつ豆の原材料の微生物菌数

原材料	菌数 (/g)			
	好気性細菌	嫌気性細菌	酵母	カビ
寒天	3.5×10^3	3.0×10^2 以下	3.0×10^2 以下	3.0×10^2 以下
赤えんどう豆	3.1×10^2	3.0×10^2 以下	3.0×10^2 以下	3.0×10^2 以下
オレンジ	3.2×10^2	3.0×10^2 以下	3.0×10^2 以下	3.0×10^2 以下
グレープフルーツ	3.0×10^2 以下	3.0×10^2 以下	3.0×10^2 以下	3.0×10^2 以下
黄桃	5.1×10^2	3.0×10^2 以下	3.0×10^2 以下	3.0×10^2 以下
パイナップル	3.0×10^2 以下	3.0×10^2 以下	3.0×10^2 以下	3.0×10^2 以下
クエン酸	3.0×10^2 以下	3.0×10^2 以下	3.0×10^2 以下	3.0×10^2 以下

第2表 フルーツみつ豆の製造工程中の微生物の消長

製造工程	菌数 (/g)			
	好気性細菌	嫌気性細菌	酵母	カビ
寒天と赤えんどう豆混合	5.2×10^3	3.0×10^2 以下	3.0×10^2 以下	3.0×10^2 以下
各種フルーツ添加	7.8×10^3	3.0×10^2 以下	3.5×10^2	3.0×10^2 以下
液糖添加	2.1×10^4	3.1×10^2	3.8×10^2	3.0×10^2 以下
クエン酸添加	2.2×10^4	3.5×10^2	3.8×10^2	3.0×10^2 以下
包装後	3.5×10^4	3.2×10^2	3.5×10^2	3.0×10^2 以下
殺菌後	6.5×10^2	3.6×10^2	3.0×10^2 以下	3.0×10^2 以下
出荷時	8.2×10^2	4.0×10^2	3.0×10^2 以下	3.0×10^2 以下

らの二次汚染菌であると考えられた。

2. 包装フルーツみつ豆製造工場の落下および空中浮遊微生物

フルーツみつ豆は製造工程に加熱殺菌工程があるため、酵母やカビによる変敗は比較的すくないと考えられる。また製品のpHが4.0以下であるため通常の細菌による腐敗は少なく、フラットサワー菌のような耐熱性芽胞菌による腐敗が考えられる。しかし耐熱性芽胞菌は原材料には極めてすくないため、製造工程中の二次汚染微生物により変敗したことが予想された。そこで製造工程中の二次汚染微生物を検討するために、工程中の落下微生物菌数を測定した結果を第3表に示した。

本工場内は工程別に仕切られておらず、寒天の細断、フルーツの混合、充填に至るまですべて同一室内で行われているため、落下微生物はいずれの工程においても大きな差異は認められなかったが、混合機周辺、充填機周辺、包装機周辺、殺菌機周辺において好気性細菌は31～47、嫌気性細菌は5～7、酵母は5～8であった。

各製造工程における空中浮遊微生物の分布状況を第4表に示した。

空中浮遊微生物は寒天の細断機周辺、各種フルーツ等具材混合、混合機周辺、充填機周辺、包装機周辺、殺菌機周辺において多く検出された。好気性細菌が最も多いことを認めたが、落下菌に比較して嫌気性細菌と酵母が比較的多く検出された。

3. 包装フルーツみつ豆貯蔵中における微生物菌数の変化

包装フルーツみつ豆を30℃、80%RHで10日間貯蔵し、経時的に試料を取り出し、菌数およびマイクロフロラを測定した結果を第5表に示した。

製造直後の好気性細菌、嫌気性細菌、酵母、カビはそれぞれ 1.2×10^3 、 3.2×10^2 、 3.7×10^2 、 3.0×10^2 以下/gであった。またpHは3.80であった。貯蔵20日後では好気性細菌、嫌気性細菌、酵母、カビはそれぞれ 2.1×10^3 、 8.1×10^3 、 7.8×10^3 、 3.0×10^2 以下/gとなり、わずかの膨張を認めた。またその時のpHは3.70であった。また貯蔵30日後では好気性細菌、嫌気性細菌、酵母、カビはそれぞれ 1.0×10^3 、 1.1×10^4 、 1.4×10^4 、 3.0×10^2 以下/g、pH3.55となり、顕著な膨張が認められた。

第3表 フルーツみつ豆製造工場の落下微生物

製造工程	菌数 (／20分間シャーレ開放)			
	好気性細菌	嫌気性細菌	酵母	カビ
原材料置場周辺	13	2	5	1
寒天の細断機周辺	18	1	6	3
各種フルーツ等具材混合	22	1	4	2
混合機周辺	35	5	5	2
充填機周辺	31	7	6	3
包装機周辺	37	5	5	2
殺菌機周辺	47	6	8	5

第4表 フルーツみつ豆製造工場の空中浮遊微生物

製造工程	菌数 (／53 l 空気)			
	好気性細菌	嫌気性細菌	酵母	カビ
原材料置場周辺	25	2	8	3
寒天の細断機周辺	38	5	10	5
各種フルーツ等具材混合	48	8	12	4
混合機周辺	51	5	15	5
充填機周辺	43	11	11	6
包装機周辺	47	12	13	6
殺菌機周辺	53	15	12	5

第5表 フルーツみつ豆の貯蔵中の微生物の変化

貯蔵期間 (日)	pH	膨張	菌数 (／g)			
			好気性細菌	嫌気性細菌	酵母	カビ
5	3.80	無	1.2×10^3	3.0×10^2	3.7×10^2	3.0×10^2 以下
10	3.85	無	1.0×10^3	6.1×10^2	3.5×10^2	3.0×10^2 以下
15	3.82	無	1.5×10^3	7.8×10^2	3.8×10^2	3.0×10^2 以下
20	3.70	有り	2.1×10^3	8.1×10^2	7.8×10^2	3.0×10^2 以下
25	3.50	有り	1.8×10^3	8.2×10^4	1.5×10^4	3.0×10^2 以下
30	3.55	有り	1.0×10^3	1.1×10^4	1.4×10^4	3.0×10^2 以下

4. 包装フルーツみつ豆の膨張現象について

4. 1 膨張品の出現状況

製造後20～30日で包装フルーツみつ豆の膨張現象がみられた。開封すると、腐敗臭が認められたことから、細菌が関与していることが考えられた。10個の膨張品のガス組成を検討した結果を第6表に示した。水素が52～73%，窒素9～36%，炭酸ガス2～7%，エチルアルコール1～4%，酸素0%，その他4～13%ときわめて水素が多いところから嫌気性細菌が関与し

ていることが考えられた。

4. 2 微生物の分離・同定

微生物の分離を行った結果、膨張現象が見られたフルーツみつ豆A製品より4菌株 (No 1～4)，フルーツみつ豆B製品より5菌株 (No 5～9) が検出された。また正常品より3菌株 (No 10～12) の細菌が検出された。これらの標準寒天平板培地およびBG寒天平板培地 (嫌気培養) 上での形態を第7表に示した。

No 4, 6, 8の菌株を除いたその他の菌株は全てい

第6表 フルーツみつ豆の膨張品のガス組成

試料番号	水素	窒素	炭酸ガス	エチルアルコール	酸素	その他
1	52	36	2	2	0	8
2	63	20	4	3	0	10
3	54	35	2	1	0	8
4	67	16	5	2	0	10
5	72	12	5	4	0	7
6	52	31	2	2	0	13
7	68	18	4	1	0	9
8	75	9	8	4	0	4
9	54	30	3	2	0	11
10	73	15	7	1	0	4

(%)

第7表 フルーツみつ豆の膨張品および正常品から分離した微生物の寒天平板での形態

分離菌株No.	標準寒天平板培地		BG寒天平板培地		分離源	菌種
	形態	菌数 (／g)	形態	菌数 (／g)		
1	灰白色広がる	3.5×10^2	半透明広がる	5.5×10^2	膨張品A	細菌
2	灰白色透明	4.1×10^2	乳褐色広がる	1.0×10^3	膨張品A	細菌
3	灰白色盛り上がる	3.9×10^2	灰褐色中心部茶色	3.0×10^4	膨張品A	細菌
4	白色しわ広がる	4.5×10^2			膨張品A	細菌
5	灰白色盛り上がる	3.9×10^2	灰褐色中心部茶色	2.0×10^4	膨張品B	細菌
6	灰白色透明	2.2×10^2			膨張品B	細菌
7	灰白色透明	4.1×10^3	乳褐色広がる	6.2×10^3	膨張品B	細菌
8	灰白色粘ちょう	1.1×10^2			膨張品B	細菌
9	灰白色広がる	3.5×10^2	半透明広がる	1.0×10^3	膨張品B	細菌
10	灰白色広がる	3.2×10^2	半透明広がる	3.1×10^2	正常品	細菌
11	灰白色透明	4.1×10^2	乳褐色広がる	3.0×10^2	正常品	細菌
12	白色しわ広がる	2.8×10^3			正常品	細菌

ずれの培地にも生育した。№1, 9, 10は標準寒天培地上では灰白色であり, BG寒天培地上では半透明で広がることを認めた。また№2, 7, 11は標準寒天培地上では灰白色透明であり, BG寒天培地上では乳褐色で広がることを認めた。№3, 5は標準寒天培地上では灰白色で盛上がる集落であり, BG寒天培地上では灰褐色で中心部が茶色の集落であることを認めた。№4, 12は標準寒天培地上では白色でしわが広がる集落であり, さらに№8は標準寒天培地上では灰白色で粘ちょうな集落であった。以上の結果より, 寒天平板上での集落より, 大きく分けて5菌株が分離された。これらの微生物のうち膨張品のみに検出された菌株は№3と№5のグループであった。その他の菌株は膨張品よりも菌数は少ないが正常品からも検出された。

これらの菌株の生理学的性状を第8表に示した。これらの結果および上記の形態的性状を標準菌株と比較検討することにより№1, 9, 10は*Clostridium thermosaccharolyticum* (以下*C. thermosaccharolyticum*と略す), №2, 7, 11は*Clostridium pasteurianum* (以下*C. pasteurianum*と略す), №3, 5は*Clostridium butyricum* (以下*C. butyricum*と略す), №4, 12は*Bacillus polymyxa* (以下*B. polymyxa*と略す), №8は*Bacillus subtilis* (以下*B. subtilis*と略す)と同定した。

これらの菌株の顕微鏡写真を写真1～5に示した。

第8表 フルーツみつ豆の膨張品および正常品から分離した代表的な細菌の形態的および生理的性質

		分離菌株№											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
細胞	形態	桿菌	桿菌	桿菌	桿菌	桿菌	桿菌	桿菌	桿菌	桿菌	桿菌	桿菌	桿菌
芽胞	形態	円形	円形	円形	円	円形	円形	円形	円	円形	円形	円形	円
グラム染色		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
カタラーゼ反応		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
パラフィンシール													
高層BL寒天		+	+	+	—	+	—	+	—	+	+	+	—
ゼラチン液化性		—	—	—	+	—	+	—	+	—	—	—	+
インドール産生		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
硫化水素産生		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
硝酸塩還元性		—	—	—	+	—	+	—	+	—	—	—	+
100℃, 20分間加熱後													
嫌気培養 (BL寒天)		+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+
水素産生		+	+	+	—	+	—	+	—	+	+	+	—
炭水化物の還元性													
グルコース		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
フラクトース		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ガラクトース		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
マンノース		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
アラビノース		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
キシロース		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ラムノース		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
シュクロース		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
マルトース		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ラクトース		+	—	+	+	+	+	—	+	+	+	—	+
ラフィノース		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
デンプン		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
イヌリン		—	+	+	+	+	+	+	+	—	—	+	+
グリセロール		—	+	—	+	—	+	+	+	—	—	+	+
ソルビトール		—	+	+	+	+	+	+	+	—	—	+	+
マンニトール		—	+	+	+	+	+	+	+	—	—	+	+
無酸素下での生育		+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+
最大生育温度 (℃)		55	25	35	30	35	30	25	37	55	55	25	30

+: 陽性, —: 陰性

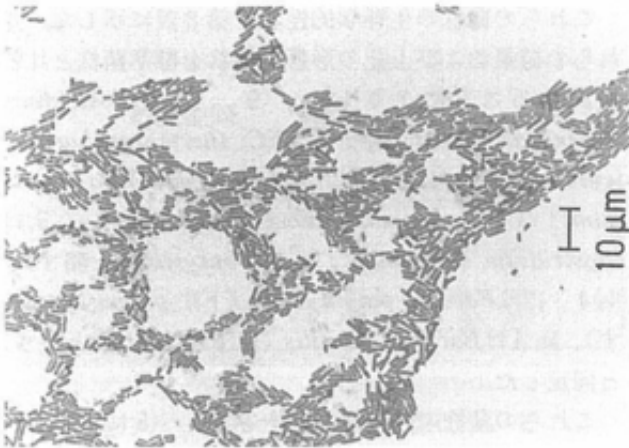


写真1 フルーツみつ豆より分離したNa. 1
(*Clostridium thermosaccharolyticum*) の顕微鏡写真

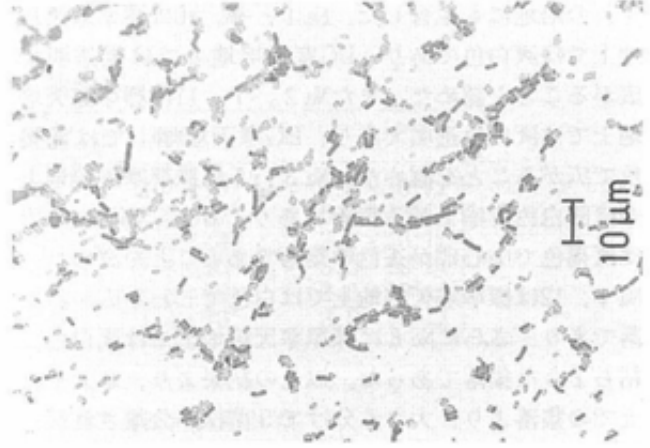


写真4 フルーツみつ豆より分離したNa. 4
(*Bacillus polymyxa*) の顕微鏡写真

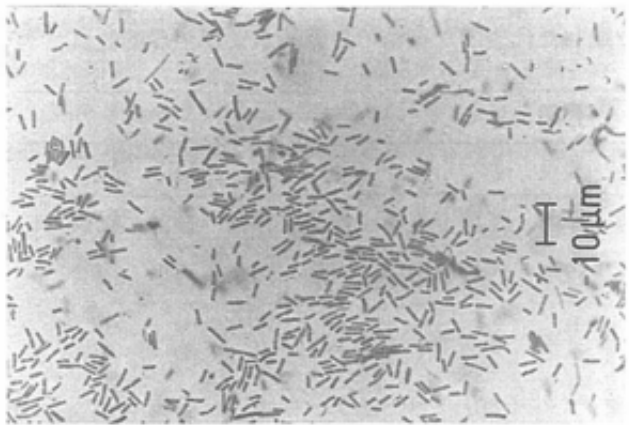


写真2 フルーツみつ豆より分離したNa. 2
(*Clostridium pasteurianum*) の顕微鏡写真

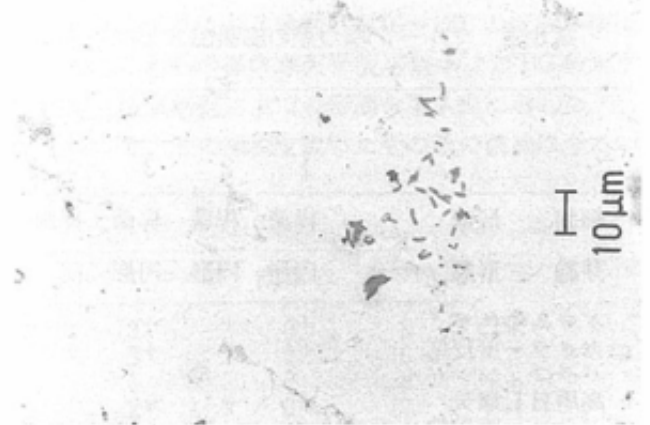


写真5 フルーツみつ豆より分離したNa. 6
(*Bacillus subtilis*) の顕微鏡写真

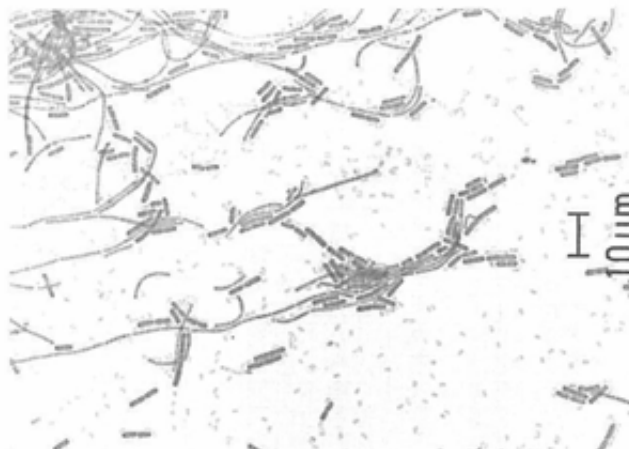


写真3 フルーツみつ豆より分離したNa. 3
(*Clostridium butyricum*) の顕微鏡写真

4. 3 膨張の再現試験

フルーツみつ豆に上記5菌株を接種して、90℃で30分間殺菌後に保存試験を行った。その結果を第9表に示した。

*Clostridium*属3菌株は単独接種により全て膨張したが、*Bacillus*属2菌株は単独接種により膨張が認められなかった。またこれらの菌株の組み合わせにより膨張現象の有無について検討した結果、*Clostridium*属3菌株のいずれかと*Bacillus polymyxa*を組み合わせた時に著しい膨張現象を認めた。

5. フルーツみつ豆の膨張防止対策

フルーツみつ豆の膨張原因は3種類の酪酸菌 (*C. thermosaccharolyticum*, *C. pasteurianum*, *C. butyricum*) および*B. polymyxa*が考えられる。これらの菌はいずれも工場からの二次汚染によるものと考

第9表 包装フルーツみつ豆の膨張

接種微生物	膨張
<i>C. thermosaccharolyticum</i> (1)	+
<i>C. pasteurianum</i> (2)	+
<i>C. butyricum</i> (3)	++
<i>B. subtilis</i> (4)	-
<i>B. polymyxa</i> (5)	-
(1)+(2)	++
(1)+(3)	++
(2)+(3)	++
(1)+(2)+(3)	++
(1)+(4)	+
(1)+(5)	+++
(2)+(4)	+
(2)+(5)	+
(3)+(4)	+
(3)+(5)	+++
(1)+(4)+(5)	+++
(2)+(4)+(5)	+++
(3)+(4)+(5)	+++

-: 膨張せず, +: 膨張, ++: 膨張やや大, +++: 膨張大
 接種菌数: 約 1.5×10^3 / g (1菌株につき)
 培養温度: 30℃, 培養期間: 14日間

えられるため工場の殺菌を行った。工場を清掃し、さらに次亜塩素酸ナトリウムで殺菌し、オゾン発生装置を天井に取り付けて夜間のみ5時間処理を行った。約1年間処理することにより、空中浮遊菌および落下細菌として嫌気性細菌はほとんど検出されなくなった。

考 察

今回のフルーツみつ豆の膨張現象は*C. thermosaccharolyticum*, *C. pasteurianum*, *C. butyricum*の3種類の酪酸菌が主原因菌であると考えられる。

酪酸菌は発酵性の炭水化物を含まない培地中での生育は一般的には不良であるが、でん粉様の多糖を細胞予備物質として合成する⁹⁾。さらに本菌の特徴は窒素

を非常に活発に固定することである⁹⁾。

しかしこれらの3種類の酪酸菌単独あるいは組み合わせでは膨張は発生するが、著しい膨張とはならない。これらの酪酸菌に*B. polymyxa*を組み合わせた時に著しい膨張現象を認めた。

この*B. polymyxa*は発酵性細菌と呼ばれ、単糖、でん粉、ペクチンを容易に分解する⁹⁾。

利用できる炭水化物がある時のみ生育は良好でありブタンジオール発酵を行う⁹⁾。2, 3-ブタンジオールのほかにエタノール、炭酸ガス、水素も生産する⁹⁾。このように本菌は嫌気下でも生育することができ、さらに嫌気下では窒素固定が可能である。このような性質を持っている*Bacillus*属細菌は本菌と*B. maseurans*のみである⁹⁾。

包装フルーツみつ豆の製品のpHは低いために *Bacillus* の生育は遅いが、まず *B. polymyxa* が生育して酸素消費した結果、嫌気の状態が作りだされ、その結果、酪酸菌が生育し易くなり、ガスを生成し、膨張品を発生すると共に酸を生成してさらにpHが低下するものと考えられる。

要 約

- 1) 包装フルーツみつ豆に生成した膨張原因微生物を調べるため、原材料および製造工程中の半製品、製品の微生物を測定した結果、原材料には好気性細菌 ($10^2 \sim 10^4/g$) のみが検出された。しかし液糖添加以降の工程においてはいずれも嫌気性細菌が検出された ($10^2 \sim 10^3/g$)。またフルーツ添加工程から包装工程までの間のみ酵母が検出された。好気性細菌は全ての工程に検出された。
- 2) 包装フルーツみつ豆の製造工場の空中浮遊および落下微生物を測定した結果、フルーツみつ豆の膨張に関与する微生物として嫌気性細菌が全ての工程に検出された。特に混合、充填、包装工程に多く検出された。
- 3) 包装フルーツみつ豆の膨張品より3種類の酪酸菌 (*C. butyricum*, *C. pasteurianum*, *C. thermosaccharolyticum*) および2種類の *Bacillus* (*B. polymyxa*, *B. subtilis*) が検出された。膨張には酪

酸菌と *B. polymyxa* が関与していることが認められた。

- 4) 防止対策として、工場の清掃後、天井に付けたオゾン発生装置により夜間のみ1日約5～7時間で1年間処理することにより酪酸菌はほとんど検出されなくなった。

文 献

- 1) 熊倉 悟・田中光幸・茂木幸夫：缶詰時報，37，(11)，62—98 (1959)
- 2) Spiegelberg C.H.: Food Research, 5, 115—129 (1940)
- 3) Bowen J.F., Strachan C.C. and Moyls W.: Food Technol, 8, 239—241 (1954)
- 4) 長谷川武治編著：微生物の分類と同定(上)，科学会センター (1984)
- 5) 光岡知足：腸内菌の世界—嫌気性菌の分離と同定—，叢文社 (1980)
- 6) 河端俊治：缶詰時報，27，(10)，45—59 (1948)
- 7) 飯塚 広・後藤昭二：酵母の分類同定法，東京大学出版会 (1969)
- 8) 小笠原和夫：カビの科学，科学同人書院 (1984)
- 9) R.Y. Stanier, E.A. Adelberg and J.L. Ingraham: The Microbial World, Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, New Jersey, U.S.A. (1976)