Clostridium thermosaccharolyticum の最低発育温度

松田典彦*・駒木 勝*・市川良子・後藤幸恵*

Minimum Growth Temperature of *Clostridium thermosaccharolyticum*

Norihiko MATSUDA*, Masaru KOMAKI*, Ryohko ICHIKAWA* and Sachie GOTOH*

* Research Laboratory, Japan Canners Association, 460 kariba-cho,
Hodogaya-ku, Yokohama 240

Clostridium thermosaccharolyticum is generally believed to be obligate thermophile. However the type strain (ATCC 7956) and 2 of 9 strains of the species isolated from spoiled canned foods grew well from spores with abundant gas productions in PE-2 medium (10 ml of solution containing bacto-peptone 0.5%, yeast extract 0.5%, L-cysteine hydrochloride 0.05% and agar 0.15% was placed in a screw-capped tube having an outside diameter of 16 mm and a length of 150 mm, containing 3 to 4 dried peas and 0.1 g of calcium carbonate, and then the tube was autoclaved for 20 min at 121°C) after 20 days at 29°C. Two strains in comminuted asparagus and 5 strains in comminuted baby clam grew with abundant gas from spores after 60 days at 30°C. Thus, the bacteria is not obligate but facultative thermophile. A possible cause of the canned food spoilage owing to the growth of *C. thermosaccharolyticum* might be under processing rather than exposure to unusual high temperature after thermal processing.
(Received Aug. 28, 1984)

缶詰食品の微生物による変敗事故の原因を究明し、再発防止策を講ずるとき、変敗原因菌の発育温度域は重要な鍵となる。

缶詰食品 (pH 3.7 未満のものを除く) の加熱殺菌条件は、完成した製品が常温下に貯蔵・流通されたとき、食品中に発育しうる微生物のみを殺滅するように設定されており、中温性細菌芽胞に比較して一般的に熱抵抗力の強い偏性高温性細菌の芽胞までも殺滅することは期待されていない。分離菌株が中温性細菌であれば、変敗事故発生の原因は殺菌加熱処理不足であるし、偏性高温性細菌であれば、原因は加熱殺菌後において、缶詰の冷却が不十分であったか、または貯蔵・流通時に缶詰が異常な高温下に放置されたかの、いずれかと推察される。前者では加熱殺菌工程の改善が、後者では貯蔵・流通時の温度管理の改善が必要となる。

缶詰食品の主要変敗原因菌である *Clostridium thermosaccharolyticum* は偏性高温性細菌であり、常温では発育しないとするのが通説であるが¹⁾²⁾、著者らは、本菌芽胞が食品中において 30°C でも発育することを確認し

たので報告する。

材料及び方法

1. 供試菌株

C. thermosaccharolyticum ATCC 7956 及び当研究所に保存してある変敗缶詰由来の本菌類似株を用いた。

2. 前培養

あらかじめ沸騰水中で 20 分間加熱脱気しておいた PE-2 培地 (外径 16 mm, 長さ 150 mm のねじ蓋付試験管に乾燥エンドウ豆 3~4 粒及び炭酸カルシウム 0.1 g を投入し、これに、バクト・ペプトン 0.5%, 酵母エキス 0.5%, L-システイン塩酸塩 0.05% 及び寒天 0.15% を含有する水溶液 10 ml ずつを分注した後、121°C, 20 分間高圧殺菌した) に供試菌株を接種し、55°C, 10 日間培養した。

3. 培地中における発育

前培養液 0.5 ml を PE-2 培地に接種し、滅菌流動パラフィンを重ねた。ついで、栄養細胞を殺滅するため沸騰水中で 20 分間加熱処理した後、所定の温度 (±1°C)

* (社)日本缶詰協会・研究所 (〒240 横浜市保土ヶ谷区狩場町 460 番地)

で20日間培養した。発育の有無は培地の混濁と気泡の発生により判定した。

4. 食品における発育

市販のアサリ水煮缶詰とアスパラガス水煮缶詰の内容物をミキサーで破碎し、中試験管（外径 16 mm, 長さ 150 mm）に約 10 g ずつ分注した。これを 121°C, 20 分間高圧滅菌した。

上記の滅菌した食品の破碎物に培養液 0.5 ml を接種し、滅菌流動パラフィンを重ねた。ついで、沸騰水中で20分間加熱処理した後、所定の温度（±1°C）に放置した。発育の有無は、気泡の発生により判定した。

1)。変敗缶詰由来の類似株も、供試9株中の2株が29°Cで、7株が33°Cで発育した。

また、アスパラガス水煮（pH 5.8）及びアサリ水煮（pH 5.5）の破碎物中でも、14日後には35°Cで、60日後には30°Cで発育するものがあった（Table 2）。Table 1 と Table 2 の結果は同一の供試菌株によるものであるが、同一の前培養液によるものではない。Table 2 においては、発育至適温度である55°Cにおいてさえ、供試10株中の7株しか発育しなかった。発育しなかった供試3株の前培養液中には、おそらく芽胞が含まれていなかったのであろう。

結 果

C. thermosaccharolyticum ATCC 7956 株は、PE-2 培地中では、培養 20 日後に 29°C 以上で発育した（Table

考 察

缶詰食品の主要変敗原因菌の中で *Bacillus stearothermophilus*, *C. thermosaccharolyticum* 及び *Desulfot-*

Table 1 Growth temperature of *C. thermosaccharolyticum* from spore in PE-2 medium

Strain No. ^{a)}	Source	Temperature (°C)						
		20	24	29	33	37	42	46
5601	ATCC 7956	— ^{b)}	—	+	+	+	+	+
5602	Canned sweet corn	—	—	+	+	+	+	+
5603	Canned boiled rice	—	—	—	+	+	+	+
5604	Canned boiled rice	—	—	—	+	+	+	+
5605	Canned burdock	—	—	+	+	+	+	+
5606	Canned burdock	—	—	—	+	+	+	+
5607	Canned burdock	—	—	—	+	+	+	+
5608	Canned milk coffee	—	—	—	—	+	+	+
5609	Canned asparagus	—	—	—	—	+	+	+
5610	Canned asparagus	—	—	—	+	+	+	+

Results were obtained after incubation for 20 days

a) The stock culture No. of Research Lab. of Japan Canners Assn.

b) —, negative growth; +, positive growth with abundant gas production

Table 2 Growth temperature of *C. thermosaccharolyticum* from spore in food substrates

Substrate	pH	Inc. time (days)	Temperature (°C)					
			25	30	35	40	45	55
Comminuted asparagus	5.8	14	0 ^{a)}	0	6	6	7	7
		60	0	2	6	6	7	7
Comminuted baby clam	5.5	14	0	0	4	7	7	7
		60	0	5	5	7	7	7

The ten strains given on Table 1 were used. Three of them, however, failed to grow even at the optimum growth temperature.

a) Number of strains that produced a gas

omaculum nigrificans の3種は偏性高温性細菌とされ、缶詰の変敗がこれらの種による場合には、事故の原因は、加熱殺菌後において、缶詰が異常な高温に放置されたことによると推察されている。

著者らは、先に³⁾、1968～1980年に調査した変敗事故例を分析し、変敗原因菌の種類ごとの事故出現頻度を示したが、このとき、*B. stearothermophilus* によるもの3例、*C. thermosaccharolyticum* によるもの13例、*D. nigrificans* によるもの1例がみられた。同じ偏性高温性細菌でありながら、*C. thermosaccharolyticum* の出現頻度が他に比較して著しく高く、しかも野菜類缶詰にとくに多く(10例)みられたところから、本菌は偏性高温性細菌ではないのではなかろうかとの疑問を著者らは抱いた。

Bergey's Manual (第8版)²⁾ には、*C. thermosaccharolyticum* は45℃未満では発育しないと記載されている。また ASHTON¹⁾ は、本菌芽胞は、ひとたび発芽してしまえば35℃でも発育するが、芽胞の状態では、45℃未満で発芽、発育することはできないので、通常の缶詰食品の製造における加熱殺菌工程において、本菌を殺菌の対象菌として考慮する必要はないと述べている。

これを否定する報告は、遠山と中島⁴⁾の報告以外に見られない。彼ら⁴⁾は、ゴボウ水煮缶詰から分離した *C. thermosaccharolyticum* 9株中の3株が、30℃、70日後に培地中でかすかに発育したと報告している。たしかに、本菌が食品中において30℃で発育するには長時間を要するが (Table 2)、缶詰食品は1年以上の長期貯蔵を目的としているし、またわが国の食品衛生法の規格基準⁵⁾は、35℃、14日間の恒温放置によって変敗してはな

らないことを定めているのであるから、常温下に貯蔵・流通する缶詰食品の加熱殺菌対象菌として本菌を無視するわけにはゆかない。

缶詰食品の変敗事故が本菌による場合には、殺菌不足と判定し、加熱殺菌工程の改善を図るべきである。

要 約

従来 *C. thermosaccharolyticum* は常温下では発育しないとされているが、本菌は、アスパラガス水煮 (pH 5.8) やアサリ水煮 (pH 5.5) の破砕物中において、30℃でも発育した。従って、本菌は偏性でなく、通性の高温性細菌である。

変敗缶詰から本菌が分離された場合には、加熱殺菌後の異常高温放置を変敗の原因と判定すべきではなく、殺菌不足と判定すべきである。

文 献

- 1) ASHTON, D. H.: *J. Food Protection*, **44**, 146 (1981).
- 2) SMITH, L. D. and HOBBS, G.: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8th ed., BUCHANAN, R. E. and GIBBONS, N. E. edited (The Williams and Wilkins Co., Baltimore), p. 567 (1974).
- 3) 松田典彦・駒木 勝・市川良子・後藤幸恵: 日食工誌 (投稿中).
- 4) 遠山祐三・中島善次: 日水誌, **16**, 60 (1950).
- 5) 厚生省環境衛生局食品衛生課・乳肉衛生課・食品化学課監修: 食品衛生小六法, 昭和55年版 (新日本法規, 東京), p. 205 (1980).

(昭和59年8月28日受理)