

Bacillus coagulans の孢子に関する研究—Ⅲ

耐熱性に及ぼす pH と孢子濃度の影響

池上 義昭・橋本 京子・大田 智子

Heat Resistance of *Bacillus coagulans* Spores—Ⅲ

Effect of Initial Number of Spores and pH value on the Heat Resistance of Spores

Yoshiaki Ikegami, Kyoko Hashimoto and Tomoko Ohota

It is well known that the higher is the initial number of spores the longer is the time necessary to effect their complete destruction. Therefore, F values required to sterilize canned foods were influenced by the initial concentration of spores in the given food.

In the present paper, the effect of pH and the initial number of spores on the heat resistance of *B. coagulans* spores was investigated.

It was found that optimum pH for the growth of spores at 55°C was in the range of 5.5-6.0.

When incubation temperature is low, optimum pH on the growth of spores decrease correspondingly.

The optimum pH at 45°C was in the range of 4.8-5.5. The maximum recovery counts of pH below 4.8 were obtained after incubation at 35°C.

There was no distinctive difference of D values with the change of pH values and initial number of spores.

On the other hand, there was a significant difference in the thermal death time (LD₅₀). The difference was occurred with the corrected initial number of spores.

孢子の耐熱性は初期孢子数によって大きく影響されることが知られている¹⁾。従って、罐詰の殺菌条件を決定する場合も初期孢子数が重要で、供試罐詰中の殺菌の汚染が大きい程、これを殺菌するに要する加熱時間が長くなることは経験からも実験からも十分確認されている。

孢子の加熱による死滅速度は一般に対数的で、その勾配、すなわちD値は初期孢子数にはあまり左右されず、平行であると言われている。しかし、これには異論もある²⁾。

酸性食品罐詰のように残存孢子数が或る程度存在していても発芽、増殖しない場合、殺菌条件を算出するのに困難である。そこで著者らはpH 5.5以下の場合についてpHと初期孢子数が耐熱性に如何に影響を及ぼすかを*B.coagulans*の孢子を用いて検討した。

実 験 方 法

1. 供試菌株

前報⁵⁾で示したBC-2を使用した。

2. 培地の調整

前報⁵⁾で示したGTB培地をHClでpH調整した培地及び標準寒天培地(SMA)を用いた。

3. pHと増殖との関係

pH調整のGTB培地に孢子を懸濁させ、それをGTB培地で10倍希釈する。この希釈を数段階行ない、各希釈段階の孢子希釈液をTDT管に1 mlずつ5本分注し、密封後100℃10分加熱して、冷却後35℃、45℃及び55℃で培養した。各希釈段階の増殖本数により、MPN法で孢子数を測定した。

4. LD₅₀の測定

前報⁵⁾に従って測定した。

5. 残存孢子数の測定

前報⁵⁾と同様に加熱後、SMA培地を用いて平板希釈法によって測定した。

また、各加熱時間ごとに16本のTDT管を使用し、そのまま培養して、増殖本数から次式によって確率的に計算した³⁾。

$$m = 2.303 \log no/n$$

m ; 残存孢子数

no ; 試験本数 (16本)

n ; 増殖の認められなかった本数

6. F値の計算

各加熱時間の16本ずつのTDT管を使用して算出した残存孢子数を半対数方眼紙にプロットし、直線延長上の加熱0分における孢子数(補正初期孢子数)より次式によって算出した。

$$F = D_{121.1} \log N_o' / N$$

N_{o'} ; 補正初期孢子数

N ; 10⁻³とした。

実験結果と考察

1. 孢子の発芽、増殖に及ぼすpHと培養温度の影響

B.coagulans は好熱性菌に属する細菌であるので、一般には55℃の温度で培養を行っている。

しかし、第一報¹⁾で示したように加熱損傷孢子の場合には、むしろ35℃のような低い温度で培養するのが適当である。従って、加熱損傷を受けていない孢子でもpHが低い場合にはこのような現象があるか否かを検討した。

その結果、図1に示したようにpH 5.5以上では55℃の培養が適当であるが、pHが低くなると培養温度を低くする必要がある。pH 4.7から5.5までは45℃、pH 4.7以下では35℃の培養温度が至適である。従って、*B.coagulans*を対象にした場合の貯蔵試験では35℃が最適と考えられる。

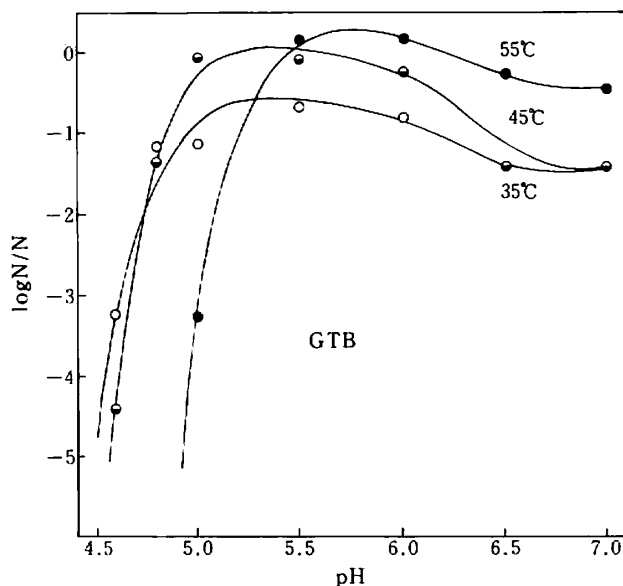


Fig.1 Relation between pH and incubation temperature on the growth of *B.coagulans* spores (BC-2).

2. 耐熱性に及ぼす孢子濃度とpHの影響

表1にはG T B中でのLD₅₀とpH, 孢子濃度の関係を示した。この結果より孢子濃度の増大及びpHの上昇と共に耐熱性を増すことが認められた。

Table 1 Relation between pH and initial spore number on the heat resistance of *B.coagulans* (BC-2).

pH	logNo °C	LD50(min)			
		5.78	4.78	3.78	2.78
4.6	110	38.3	21.7	NT	NT
	115	10.0	5.8		
	120	2.5	1.5		
4.8	110	50.0	35.0	23.8	NT
	115	14.0	10.6	7.0	
	120	3.5	2.5	2.0	
5.0	110	70.0	53.3	40.0	25.0
	115	18.0	14.8	11.0	8.0
	120	4.5	4.0	3.0	1.8
5.5	110	107.5	80.0	70.0	60.0
	115	31.7	25.0	20.0	15.0
	120	7.8	5.5	5.0	3.8

孢子濃度及びpHとZ値の関係を求めると表2に示したようにZ = 8.5前後で、それ程Z値に影響を及ぼすとは考えれない。

Table 2 Relation between pH and initial spore number on Z value.

pH logNo	Z(°C)			
	4.6	4.8	5.0	5.5
5.78	8.3	8.5	8.4	8.6
4.78	8.6	8.6	8.8	8.5
3.78	NT	9.2	8.9	8.5
2.78	NT	NT	8.8	8.4

孢子濃度とLD₅₀の関係は図2に示したように、pH 5.5の場合には直線的になるが、pHが低くなると直線にならず下に彎曲している。

またpHとLD₅₀の場合にも直線的にならず下に彎曲し、孢子濃度が低いとその彎曲は大きくなる。従って、LD₅₀に対するpHと孢子濃度の関係を数値的に示すことは難かしいが、大体、pHが0.2程度低い場合と、孢子濃度が10分の1の場合と同じ程度である。

表1に示したLD₅₀における生残孢子数をSMA培地で測定した値と初期孢子数の関係を図4に示した。pHが低い場合には、最初の孢子数から僅か減少するだけで、発芽、増殖しなくなることが認められた。

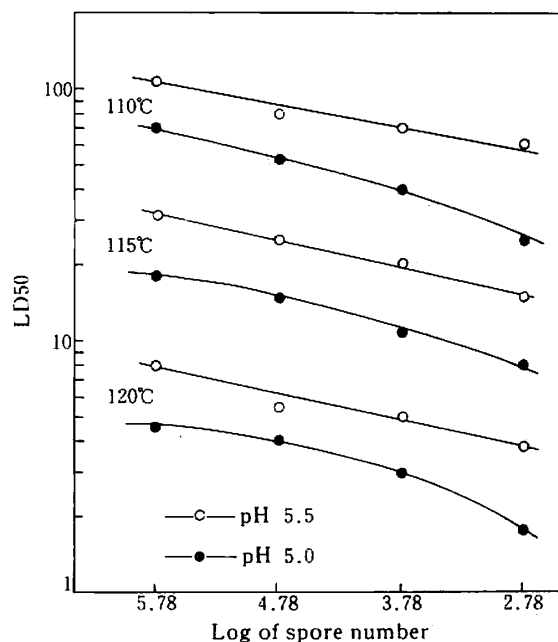


Fig.2 Effect of initial spore number on the heat resistance of *B.coagulans* spores (BC-2).

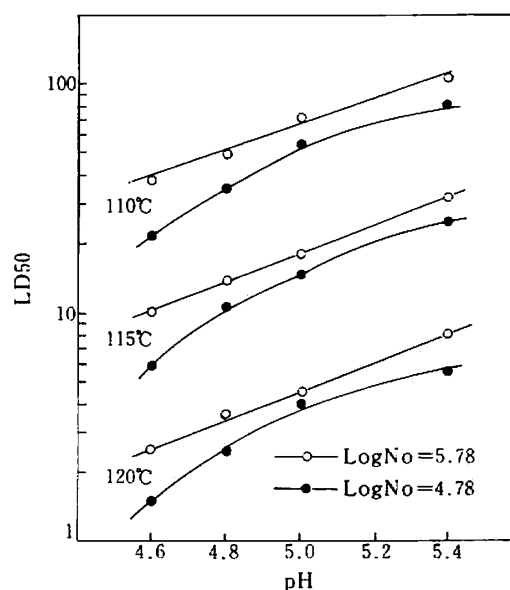


Fig.3 Effect of pH on the heat resistance of *B.coagulans* (BC-2).

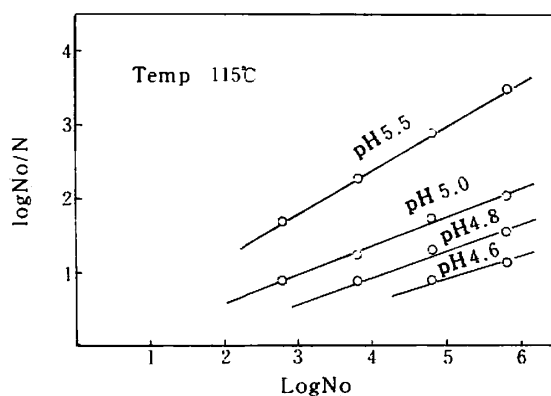


Fig.4 Relation between survivors and initial spore number on the heat resistance of spores.

3. 孢子濃度, pHとD値の関係

図5に示したようにLD₅₀附近のD値は孢子濃度にはあまり関係がないようである。孢子濃度によって補正の初期孢子数が異なるだけである。

pHの変化によるD値も図6に示したように差は認められない。

図7は加熱温度によるD値に差が認められたことを示しているが、補正の初期孢子数には差が認められなかった。

補正の初期孢子数と孢子濃度の関係を図8に示した。pHが低いと補正の初期孢子数も低くなり、図4と同じ傾向であることが認められた。

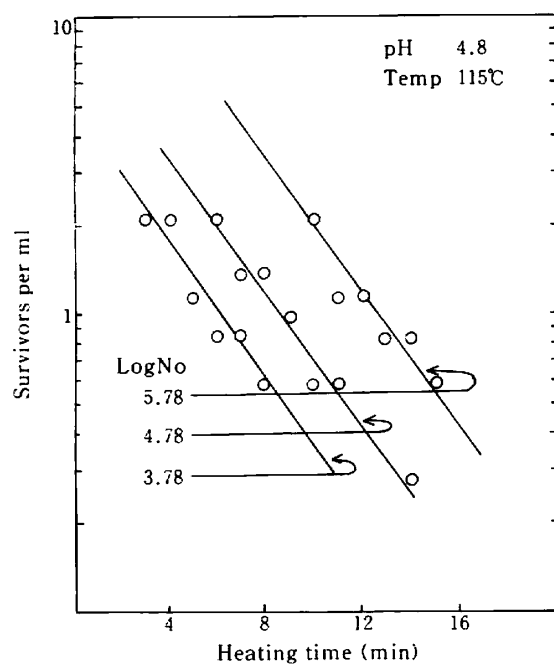


Fig.5 Survival curves for various initial spore numbers.

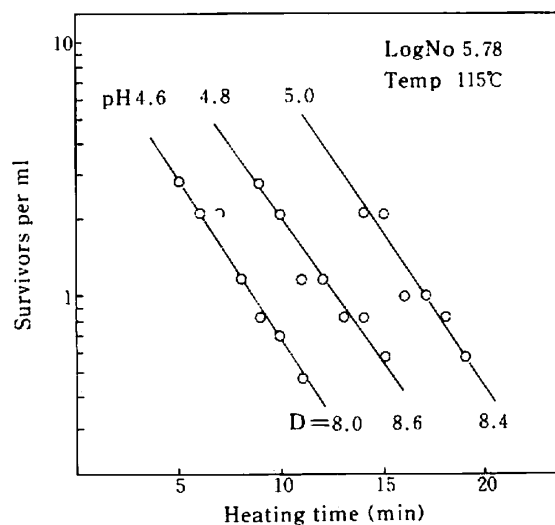


Fig.6 Survival curves for various pH values.

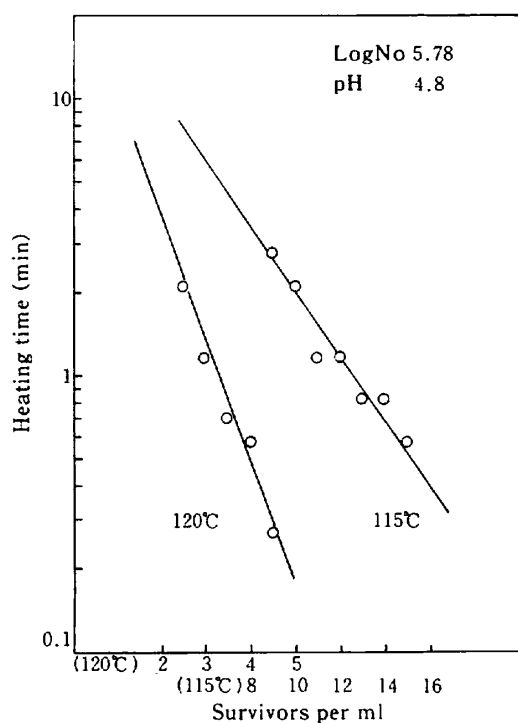


Fig.7 Survival curves for various heating temperature.

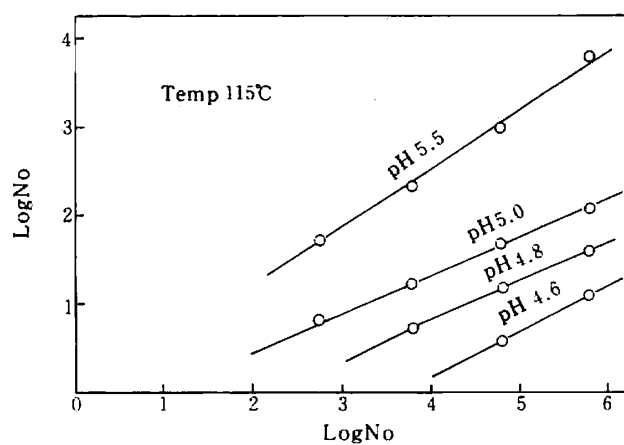


Fig.8 Relation between initial spore number and corrected initial spore number on the heat resistance of spores.

4. pH及び孢子濃度とF値の関係

エンドポイントを 10^{-3} にした場合の初期孢子濃度とF値の関係をpH4.6, 4.8, 5.0及び5.5の場合について検討した結果を図9に示した。この結果より酸性食品罐詰でも、このような耐熱性の細菌に汚染されていたならば非常に大きなF値をとらなければならないことが分かる。

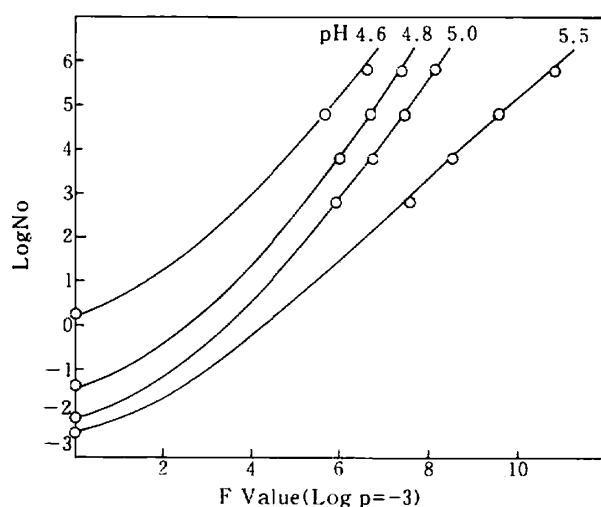


Fig.9 Effect of pH and initial spore number for F values.

要 約

pHと孢子濃度が*B.coagulans*の孢子の耐熱性にどのように影響するかを検討した。

加熱損傷を受けていない孢子の培養温度はpHが5.5以上であれば55°Cが適温であるがpHが低い場合には35°Cで行なうのが最適であると考えられる。

耐熱性に及ぼすpHと孢子濃度の関係を数値的に示すことは難かしいが、大体、pHの0.2の変化と孢子濃度1桁と同じ程度であった。

pH及び孢子濃度によってD値はそれ程変化せず補正の初期孢子数に差が認められた。すなわち、pHが低いと耐熱性が弱くなるのは補正の初期孢子数が低くなるためである。

文 献

- 1) 天羽幹夫, 坂口謹一: 農化誌, 25, 140 (1951).
- 2) 天羽幹夫: 農化誌, 26, 339 (1952).
- 3) 伝染病研究学会学友会編: 細菌学実習提要, p. 473, 丸善 (1958).
- 4) 池上義昭 橋本京子 大田智子: 本誌, 15 (1983).
- 5) 池上義昭 橋本京子 大田知子: 本誌, 15 (1983).