

シュガーエステルの抗菌作用—Ⅲ
 胞子の耐熱性に及ぼすシュガーエステルの併用効果
 池上 義昭・大田 智子

**Antibacterial Activity of Sucrose Ester—Ⅲ
 Enhancing Effect of Sucrose Ester on the Heat
 Resistance of Bacterial Spores**

Yoshiaki Ikegami and Tomoko Ohta

It is well known that the heat resistance of bacterial spores is influenced by several factors, such as pH or A_w (water activity) of heating menstruum or subculture media. Recently, it was reported that certain fatty acids and their esters gave strong enhancing effects on the heat resistance of bacteria. This study was carried out to search the effect of the sucrose ester (P 1670) on the heat resistance of bacterial spores isolated from spoiled canned foods.

It was found that the sucrose ester gave an enhancing effect on the thermal death time (LD_{50}) of spores which gave strong resistance against the sucrose ester. The order of D_x values (concentration of sucrose ester required to reduce the thermal death time by 90%) of the bacterial spores was the same as that of antibacterial activities of the sucrose ester.

胞子の耐熱性は、その浮遊させた媒質の化学的及び物理的性質、胞子数、後培養の条件など多くの因子によって著しく左右される。¹⁾²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾

脂肪酸及びそのエステルも著しい死滅促進効果を示すことが報告されている。⁶⁾従って、抗菌作用を有するシュガーエステルも細菌胞子の耐熱性に何らかの影響を及ぼすことが予想される。

本報では、シュガーエステルが細菌胞子の耐熱性にどのように影響するかを検討するため、数種類の菌株を選び、加熱中及び加熱後の後培養に対するシュガーエステルの影響を試験したので以下その結果を報告する。

実験方法

1. 供試菌株

前報⁷⁾で用いた菌株のうち次の8株を使用した。

BS-1、BP-1、BC-1、2、BS_t-1、CP-1、CS-1、CT-1、BL-1

2. 供試シュガーエステル

前報⁷⁾で使用したP 1670である。(以下SEと呼ぶ)

3. 胞子の耐熱性測定

1) 残存胞子数測定

pH7.0の磷酸緩衝液中にBS-1、BL-1、BP-1の胞子を懸濁し、TDT管に1ml分注、密封後、100°Cの湯浴中で加熱し、所定時間ごとに2本ずつ取り出し、冷却する。これを生理食塩水で希釈し、所定量のSEを含む標準寒天培地(SMA)で平板培養して、発生したコロニー数によって残存胞子数を測定した。培養温度は35°Cである。

また、SE0、100 μ lの入ったTG培地にBC-2の胞子を懸濁し、加熱は120°CのエバポレスE中で行ない、冷却後、SMA培地を使用して行った。培養温度は55°Cである。

2) 加熱致死時間の測定

BS-1、BP-1は、所定量のSEを含むNG培地BC-1、2、BS_t-1はTG培地、C

P-1、CT-1はTYG培地に孢子を懸濁し、TDT管に1ml分注、密封後、所定温度で加熱し、所定時間ごとに2本ずつ取り出して冷却する。これをCP-1は30°C、BC-2、BS_t-1、CT-1は55°Cで培養し、その他は35°Cで培養した。培養後の細菌の増殖の有無によってLD₅₀（2本中1本が陽性である加熱時間）を測定した。またBC-1はコンソメスープ（pH5.76）に孢子10⁶/mlを懸濁し、上記と同じように加熱し、35°Cで培養した。尚、lag timeは全て30秒で行った。

4. 供試培地

- NG培地（pH7.0）

Nutrient Broth(Difco)	0.8 g
グルコース	0.5 g
精製水	100ml

その他の培地は前報⁷⁾に準じた。

実験結果と考察

SEの抗菌作用が、ほとんど認められない*B.subtilis*, *B.licheniformis*の加熱生残曲線をFig. 1、2に示した。*B.subtilis*の孢子はSE100ppmでは抗菌作用を示さないが、加熱損傷を受けた孢子には影響を及ぼし、D値（孢子数を1/10に減ずるに必要な加熱時間）を僅かに減少させる。

また、Fig. 2に示すように*B.licheniformis*もD値の減少はほとんどないが、lagが大きくなり、耐熱性を減少させる。このように孢子に対して抗菌作用を示さない濃度のSEでも加熱損傷を受けた孢子には影響を及ぼし、耐熱性を減少させることがわかる。

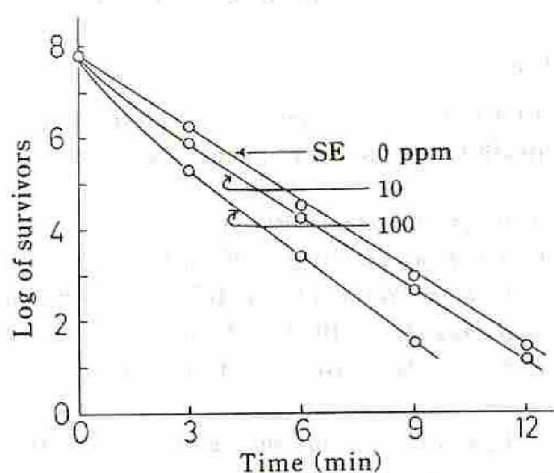


Fig.1 Survival curves of *B.subtilis* (BS-1) spores heated at 100°C on colony counts in SMA media with and without sucrose ester (P1670)

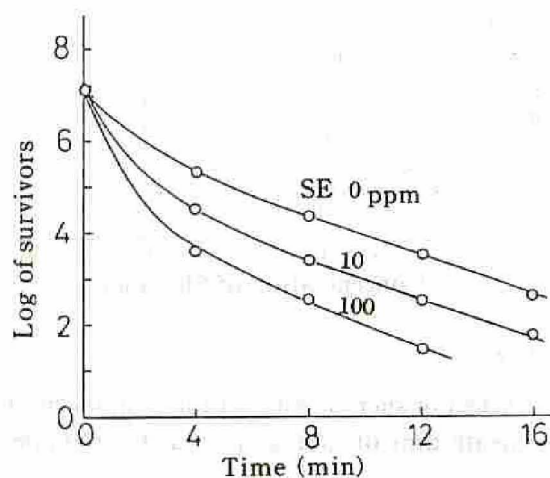


Fig.2 Survival curves of *B.licheniformis* (BL-1) spores heated at 100°C on colony counts in SMA media with and without sucrose ester (P1670)

*B.polymyxa*の孢子に対しては、Fig. 3に示すように、その曲線は凸型になるが耐熱性を減少させる。加熱生残曲線において、その曲線が直線にならない菌種があり、SEの濃度とD値の関係は求めにくいので、SEの濃度と加熱致死時間（LD₅₀）の関係を検討した。

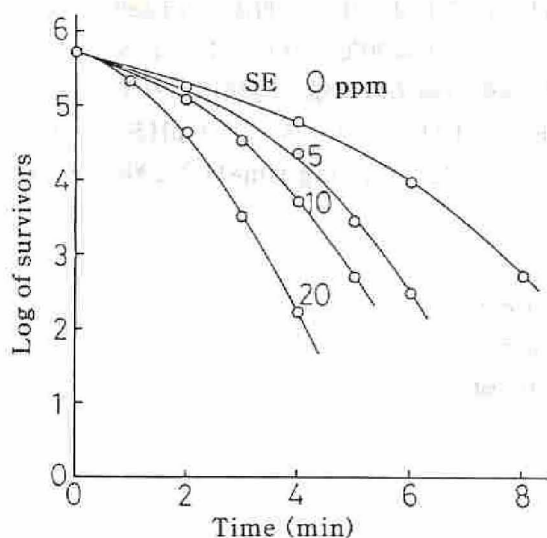


Fig. 3 Survival curves of *B. polymyxa* (BP-1) spores in TG media with and without sucrose ester (P1670)

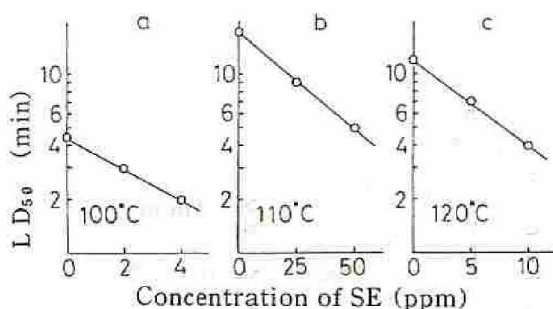


Fig. 5 Effect of sucrose ester (P1670) on thermal death time of spores of genus *Clostridium*

- a: *C. pasteurianum* (CP-1) 1.5×10^8 / ml
 b: *C. sporogenes* (CP-1) 1.5×10^8 / ml
 c: *C. thermosaccharolyticum* (CT-1) 1.5×10^8 / ml

Fig. 5は *Clostridium* 属の細菌 CP-1、CS-1、CT-1の3株の $L_{D_{50}}$ における SE の影響を示した。この場合も SE の濃度の増加によって $L_{D_{50}}$ は減少する。

Fig. 4、5に示すように SE の濃度が少ないところでは対数的に直線になっているので、 $L_{D_{50}}$ を $1/10$ に減らすに要する SE 濃度を $D \times$ 値 (ppm) とし、各菌株の $D \times$ を Table 1 に示した。胞子に対してほとんど抗菌作用を示さない BS-1 は $D \times$ 値が 620ppm である。BC-1 と BC-2 の $D \times$ 値は 33 と 28ppm で、その差は小さい。

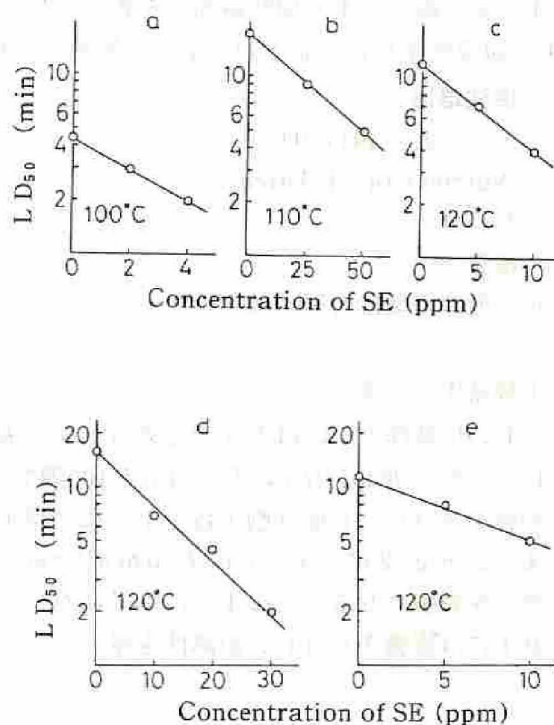


Fig. 4

Effect of sucrose ester (P1670) on thermal death time of spores of genus *Bacillus*

- a: *B. subtilis* (BS-1) 10^6 / ml
 b: *B. polymyxa* (BP-1) 10^8 / ml
 c: *B. stearothermophilus* (BSt-1) 2.3×10^8 / ml
 d: *B. coagulans* (BC-1) 10^6 / ml
 e: *B. coagulans* (BC-2) 1.4×10^6 / ml

Fig. 4は *Bacillus* 属の細菌 BS-1、BP-1、BSt-1、BC-1、2の5株の $L_{D_{50}}$ における SE の影響を示した。いずれの菌株も SE の濃度の増加によって $L_{D_{50}}$ は減少する。しかも対数的に直線になっていることがわかる。

BC-1、2の孢子の耐熱性測定において、後培養の温度はBC-1は35°C、BC-2は55°Cで行った。従って、前報⁷⁾で示したようにBC-1の孢子はpH7.0付近においては55°Cの培養では抗菌作用はほとんど示さないが、35°C培養では抗菌作用力大きいのでDx値も同じ位の値になったものと思われる。

このDx値は前報⁷⁾の孢子に対するSEの抗菌作用力の強弱とほぼ一致していることがわかる。

SEは耐熱性において、加熱損傷を受けた孢子に影響を与えることはわかったが、加熱中において、影響を及ぼすかどうかを検討した。

Fig. 6はBC-2の孢子を100ppmのSEを含む培地に懸濁させ、120°Cで加熱し、後培養はSEの含まない培地で残存孢子数を測定した結果である。SEが100ppm含まれている場合には、僅かにD値を減少させている。しかし、残存孢子数が少ないと、懸濁液中のSEが後培養の培地に移行する量が多くなるのでこのような結果になったものと考えられる。従って、加熱中ではSEは孢子にそれ程影響を及ぼさないと考えられる。

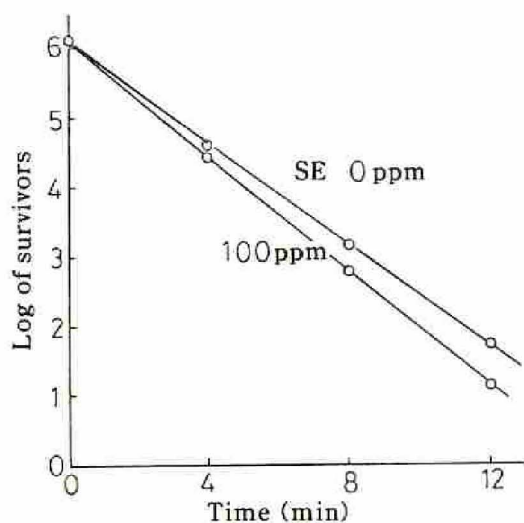


Fig.6 Survival curves of *B.coagulans* (BC-2) spores in TG media with and without sucrose ester (P1670) heated at 120°C

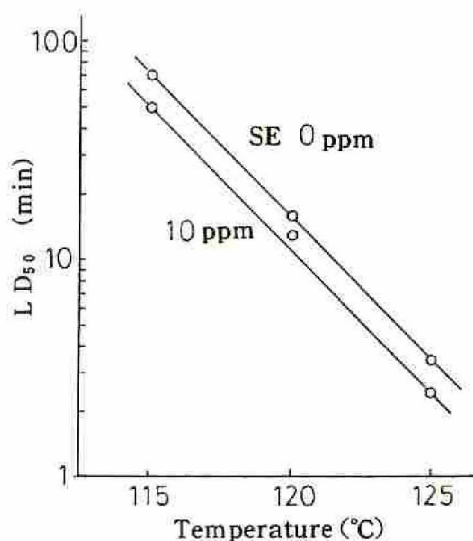


Fig.7 Thermal death time curves of *B.coagulans* (BC-2) spores in consomme soup with and without sucrose ester (P1670)

Fig. 7はSEが0、10ppm入ったコンソメスープ中におけるBC-1の孢子(10⁶/ml)の加熱致死時間曲線である。SEは加熱致死時間(LD₅₀)を減少させるが、Z値(加熱致死時間を1/10に減少させるに必要な増加温度)にはあまり影響を及ぼさないことがわかる。

Table 1. Dx values of bacterial spores

Species and strains	Dx (ppm)
<i>B. subtilis</i> (BS-1)	620
<i>B. polymyxa</i> (BP-1)	45
<i>B. coagulans</i> (BC-1)	33
<i>B. coagulans</i> (BC-2)	28
<i>B. stearothermophilus</i> (BSt-1)	13
<i>C. pasteurianum</i> (CP-1)	11
<i>C. sporogenes</i> (CS-1)	94
<i>C. thermosaccharolyticum</i> (CT-1)	21

要 約

S Eが孢子の耐熱性にどのような影響を及ぼすかを検討した。

孢子に対して抗菌作用を示さないS E濃度でも耐熱性を減少させ、その影響は、加熱中よりもむしろ加熱による損傷孢子の発芽及び増殖に影響を与える。

加熱による致死時間を1/10に減少させるS E濃度(D x 値)は孢子に対するS Eの抗菌作用力の強弱とほぼ一致する。

文 献

- 1) Townsend, C. T., Esty, J. R.: Food Res., 3, 323 (1938).
- 2) Zezoonos, H., Hutching, I. J.: Food Thchnol., 19, 1009 (1965).
- 3) 天羽幹夫・坂口謹一郎: 農化誌, 25, 140 (1951).
- 4) 犬飼進・松田典彦: 缶詰時報, 59, 219 (1980).
- 5) 犬飼進・松田典彦: 缶詰時報, 59, 525 (1980).
- 6) 加藤信行・芝崎勲: 醸酵工学誌, 53, 802 (1975).
- 7) 池上義昭・大田智子: 本誌, 16, (1985)