

和菓子の賞味期限予測のための耐熱性芽胞菌増殖予測モデルの開発

1. 目的

近年、消費者の嗜好の変化、健康志向の高まりから、食品に対して低甘味化を求める傾向が強まっており、和菓子においても、低糖度の製品開発が求められている。しかし、和菓子の製造における加熱条件では、*Bacillus*属等の耐熱性芽胞菌が最終製品に残存する場合があります。常温流通している製品が多いことから、低糖度化により耐熱性芽胞菌による変敗の危険性が高まっている。こうしたことから、従来品よりも、低糖度の和菓子を開発するためには、糖度と耐熱性芽胞菌の増殖性の関係を把握しておく必要がある。そこで本研究では、「高浸透圧ストレス耐性芽胞菌」を用いて、液体培地中での各種水分活性における増殖性を調べ、得られたデータを解析し、和菓子の賞味期限を予測する際の判断基準となる、耐熱性芽胞菌の増殖予測モデルの開発を行った。

2. 方法

1) 各種水分活性における耐熱性芽胞菌の挙動把握
「高浸透圧ストレス耐性芽胞菌」の芽胞懸濁液を100℃で20分間加熱処理し、糖無添加および、スクロース、グルコース、フルクトースで水分活性を0.99~0.90に調整した液体培地(Nutrient Broth)に3.0~3.7logCFU/mlとなるように接種後、30℃および20℃で振盪培養を行った。接種直後から3時間ごとにOD₅₉₀を測定し、生菌数が6.0logCFU/mlを超えるOD₅₉₀=0.02に達するまでの時間を調べた。

2) 増殖予測モデルの構築

スクロースで水分活性を調整した液体培地中で、菌が増殖した(6.0logCFU/mlに達した)場合を1、増殖しなかった場合を0とし、従属変数とした。次に、水分活性と、生育時間の対数値を独立変数とし、ロジスティック回帰分析を行い、増殖予測モデルを構築した。

3. 結果

各種水分活性における菌の増殖挙動(菌数が6.0logCFU/mlに達するまでの時間)について、30℃培養時を表1に、20℃培養時を表2に示した。30℃培養時は、スクロースで水分活性を調整した場合、水分活性が低下するに従い菌数が6.0logCFU/mlに達するまでの時間が長くなり、水分活性0.90では、培養720時間後でも菌数の増加が確認できず、増殖が停止した。

一方、グルコースの場合は、0.92まではスクロー

スとほぼ同様の挙動を示したが、0.91で増殖が停止し、フルクトースの場合は、0.93で増殖が停止した。以上より、スクロースと比較して、グルコースやフルクトースが、より高い水分活性で、つまりはより低濃度で、増殖を抑制することが確認できた。20℃培養時には、30℃培養時と比較して、各糖共に、菌数が6.0logCFU/mlに達するまでの時間が長くなり、スクロースは水分活性0.91、グルコースは0.93、フルクトースは0.93で増殖が停止した。

スクロースで水分活性を調整した際に得られたデータについてロジスティック回帰分析を行い、水分活性(A_w)および菌数が6.0logCFU/mlに達するまでの時間の対数値(ln(time))から、菌数が6.0logCFU/mlに達する確率(P)を予測するモデルが表3の式で定められた。また、この式から、P=0.5の際のA_wとln(time)の関係が表4の式で定められた。

表1 30℃培養時における各糖による水分活性と生育時間の関係

水分活性	6.0logCFU/mlに達するまでの培養時間(hour)		
	スクロース	グルコース	フルクトース
1.00*	12±0	12±0	12±0
0.99	12±0	15±0	12±0
0.98	15±0	18±0	12±0
0.97	18±0	20±1.5	18±0
0.96	27±2.1	24±0	24±2.4
0.95	39±2.7	32±1.5	55±8.8
0.94	65±4.5	54±7.5	85±22
0.93	92±13	94±24	>720
0.92	160±29	135±38	>720
0.91	249±29	>720	>720
0.90	>720	>720	>720

*: 糖無添加

表2 20℃培養時における各糖による水分活性と生育時間の関係

水分活性	6.0logCFU/mlに達するまでの培養時間(hour)		
	スクロース	グルコース	フルクトース
1.00*	26±1.5	26±1.5	26±1.5
0.99	27±2.1	33±0	24±0
0.98	33±0	39±0	30±0
0.97	44±1.5	51±0	42±4.2
0.96	66±2.1	59±4.5	59±6.2
0.95	94±1.5	95±4.5	93±13
0.94	182±29	186±9.8	197±106
0.93	397±44	>720	>720
0.92	585±78	>720	>720
0.91	>720	>720	>720
0.90	>720	>720	>720

*: 糖無添加

表3 菌の増殖確率、水分活性、菌の増殖時間の関係

30℃培養時	$\ln\{P/(1-P)\} = -467 + 451A_w + 10.3\ln(\text{time})$
20℃培養時	$\ln\{P/(1-P)\} = -382 + 365A_w + 7.24\ln(\text{time})$

表4 水分活性と菌の増殖時間の関係

30℃培養時	$A_w = -0.0228\ln(\text{time}) + 1.04$
20℃培養時	$A_w = -0.0198\ln(\text{time}) + 1.05$