

多水分食品における耐熱性芽胞菌の挙動の把握

1. 目的

近年、消費者の嗜好の変化、健康志向の高まりから、食品製造業者には、低糖度、低塩分の製品開発が求められている。しかし、こうした製品の中には常温で流通する製品もあり、耐熱性芽胞菌による変敗の危険性がある。こうしたことから、新たな商品の開発や、賞味期限の設定に利用できる、水分活性と耐熱性芽胞菌の増殖性の関係についての基礎データを得る必要がある。本年度の研究では、接種試験に用いるために、多水分食品から耐熱性芽胞菌を分離し、幅広い水分活性で生育する「高浸透圧ストレス耐性株」の選抜を行った。

2. 方法

1) 分離菌の同定

市販の多水分食品から菌を分離し、アピ50CHB (bioMerieux)を用いた生化学的手法および16S rRNA 遺伝子の塩基配列の解析により、同定を行った。

2) 高浸透圧ストレス耐性芽胞菌の選抜試験

*Bacillus*属菌株の芽胞懸濁液を80°Cで20分間加熱し、スクロースにより、水分活性を0.94~0.91に調整した液体培地(Nutrient Broth)に4.0~4.7logCFU/mlとなるように接種後、30°Cで20日間振盪培養を行い生育の有無を調べた。生育の有無は、液体培地のOD₅₉₀を測定することによって判定した。予めOD₅₉₀測定と同時に混釈平板培養法を行い生菌数を求め、OD₅₉₀を生菌数に換算し、生菌数が6.0logCFU/mlを超える際のOD₅₉₀=0.02を生育の有無を判断する基準とした。

3) 高浸透圧ストレス耐性芽胞菌の耐熱性試験

*Bacillus*属菌株の芽胞懸濁液を80°Cおよび100°Cで20分間加熱処理を行い、混釈平板培養法により、それぞれの生菌数を求めた。80°C20分加熱時の菌数に対する100°C20分加熱時の菌数の割合を、芽胞生存率として求めた。

3. 結果

選抜の対象とする菌は、市販の多水分食品から分離した42株とした。分離菌の同定結果と、選抜試験の結果を表1に示した。

菌種により、高浸透圧ストレスへの耐性に大きな差がみられ、特に*B.subtilis*が、高浸透圧ストレスへの耐性が高い傾向がみられた。分離菌の中から、水分活性0.92以下で増殖可能な*B.subtilis*9株と、*B.megaterium*1株を選抜した。この10株について、芽胞の耐熱性を調べた結果を表2に示した。耐熱性

試験により、100°C20分間処理後の芽胞生存率が最も高い*B.subtilis*S-26株を「高浸透圧ストレス耐性株」として選抜した。

表1 各種水分活性における耐熱性芽胞菌の生育の有無

No.	菌種	水分活性			
		0.94	0.93	0.92	0.91
88	<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-	-
218	<i>Bacillus sp.</i>	+	+	-	-
256	<i>Bacillus cereus</i>	+	+	-	-
376	<i>Bacillus sp.</i>	-	-	-	-
379	<i>Bacillus subtilis</i>	+	+	+	-
384	<i>Bacillus subtilis</i>	+	+	-	-
462	<i>Bacillus megaterium</i>	+	+	-	-
464	<i>Bacillus sp.</i>	-	-	-	-
467	<i>Bacillus sp.</i>	-	-	-	-
513	<i>Bacillus subtilis</i>	+	+	+	+
540	<i>Bacillus sp.</i>	-	-	-	-
568	<i>Bacillus megaterium</i>	+	+	-	-
665	<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-	-
731	<i>Bacillus megaterium</i>	+	-	-	-
734	<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-	-
737	<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	-	-
738	<i>Bacillus firmus</i>	-	-	-	-
740	<i>Bacillus subtilis</i>	+	+	-	-
830	<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-	-
872	<i>Bacillus licheniformis</i>	+	+	-	-
881	<i>Bacillus subtilis</i>	+	+	-	-
896	<i>Bacillus subtilis</i>	+	+	+	-
956	<i>Bacillus sp.</i>	-	-	-	-
1147	<i>Bacillus subtilis</i>	+	+	+	-
1150	<i>Bacillus subtilis</i>	+	+	+	-
1202	<i>Bacillus subtilis</i>	+	+	+	+
U-1	<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	-	-
U-4	<i>Bacillus subtilis</i>	+	+	-	-
U-7	<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	-	-
U-8	<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	-	-
U-18	<i>Bacillus subtilis</i>	+	+	+	+
S-3	<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-	-
S-6	<i>Bacillus sp.</i>	-	-	-	-
S-8	<i>Bacillus sp.</i>	-	-	-	-
S-12	<i>Geobacillus stearothermophilus</i>	+	+	+	-
S-22	<i>Bacillus megaterium</i>	+	+	+	-
S-26	<i>Bacillus subtilis</i>	+	+	+	+
S-39	<i>Bacillus megaterium</i>	+	+	-	-
S-50	<i>Geobacillus thermoglucosidasius</i>	+	+	-	-
S-52	<i>Bacillus subtilis</i>	+	-	-	-
B-1	<i>Bacillus licheniformis</i>	+	+	-	-
B-2	<i>Bacillus subtilis</i>	+	+	+	-

+ : 生育有 - : 生育無

表2 100°C20分加熱における芽胞の生存率

No.	菌種	生存率*
379	<i>Bacillus subtilis</i>	<0.01%
513	<i>Bacillus subtilis</i>	<0.01%
896	<i>Bacillus subtilis</i>	<0.01%
1147	<i>Bacillus subtilis</i>	0.1%
1150	<i>Bacillus subtilis</i>	<0.01%
1202	<i>Bacillus subtilis</i>	5%
U-18	<i>Bacillus subtilis</i>	50%
S-22	<i>Bacillus megaterium</i>	<0.01%
S-26	<i>Bacillus subtilis</i>	100%
B-2	<i>Bacillus subtilis</i>	50%

* : 80°C20分加熱時の菌数に対する100°C20分加熱時の菌数の割合