

## 包装食品の微生物変敗防止に関する研究（第25報）

コーヒー缶詰中の高温性芽胞形成細菌の増殖に及ぼす乳化剤の添加効果

内藤茂三・大久保勉\*・山下政統\*・山口直彦

コーヒー飲料や乳飲料に加え、しるこ、ぜんざい、紅茶等のレトルト殺菌食品が製造販売されている。これらは冬季においてホットベンダー（55～60℃）に入れて加温保存しながら販売する場合がある。このためこれまでのコールドベンダーでは生じなかった新しい品質劣化の問題が起こってきた。これは通常、行なわれている殺菌条件では殺菌されずに生残し、保存温度の55～60℃で発芽生育する耐熱性芽胞細菌によるフラットサワー変敗の問題である。コーヒー缶詰、しるこ缶詰、ぜんざい缶詰のフラットサワー様の変敗は極めて耐熱性の強い有芽胞細菌によるフラットサワー変敗の問題である。これらの変敗は、極めて耐熱性の強い芽胞形成細菌によることが知られている<sup>1～8)</sup>。

また、食用乳化剤であるショ糖脂肪酸エステルが、これらの高温性耐熱性芽胞形成細菌の生育阻止に有効とされている<sup>5) 9～11)</sup>。

そこで今回、各種食用乳化剤を用いて上記缶詰類の変敗原因菌として知られている *Clostridium thermoaceticum*, *Clostridium thermosaccharolyticum*, *Bacillus stearothermophilus* の生育阻止について検討したので報告する。

### 実験結果

#### 1. 供試菌株

*Clostridium thermoaceticum* (No.5801, 日本缶詰協会保存菌株), *Clostridium thermoaceticum* (No.5802, 日本缶詰協会保存菌株), *Clostridium thermoaceticum* (No.5809, 日本缶詰協会保存菌株), *Clostridium thermosaccharolyticum* (No.5604, 日本缶詰協会保存菌株), *Bacillus stearothermophilus* IAM1035の3菌種の5菌株を用いた。

#### 2. 芽胞液の調製

*Cl. thermoaceticum* は前培養した菌液1mlを、500ml容三角フラスコに分注した培地（バクトソイト+10g, 酵母エキス10g, ブドウ糖10g, システィン塩酸塩0.6g, 食塩5g, 脱イオン水1000ml, pH 7.2) 300mlの底部に滴下し、滅菌流動パラフィンを重層して55℃, 5～10日間培養した。

\*：太陽化学株研究所

*Cl. thermosaccharolyticum* は前培養液 1 ml を、500ml 容三角フラスコに分注した培地（バクトトリプトン 5 g, 酵母エキス 5 g, システィン塩酸塩 0.5 g, リン酸 2 カリウム 1 g, 可溶性でん粉 1 g, チオグリコール酸ナトリウム 0.5 g, ドライピーを脱イオン水で煮沸後濾過したエキス液 1,000ml の底部に滴下し、滅菌流動パラフィンを重層して 55℃, 5~10 日間培養した。

*B. stearothermophilus* は前培養液 0.2ml を、シャーレに固めた培地（肉エキス 2 g, 酵母エキス 3 g, ポリペプトン 10 g, ブドウ糖 5 g, 食塩 5 g, 寒天 15 g, 脱イオン水 1,000ml, pH 7.2）表面に滴下して三角架で薄く広げた後、ナイロン／ポリエチレン製の袋に入れて密封し、55℃ で 5~8 日間培養し、それぞれ顕微鏡により芽胞形成を確認した。

*B. stearothermophilus* は培地表面に発育した菌体を三角架でかき取り、脱イオン水に懸濁させた。次いで遠心分離により冷滅菌脱イオン水にて 3 回、冷 M/15 リン酸緩衝液 (pH 7.0) にて 2 回洗浄した後、適量の上記緩衝液に分散した。芽胞殻を破壊するため、ホモゲナイザーで攪拌して滅菌小試験管に少量ずつ分注した。これを 90℃, 20 分間加熱処理して栄養細胞を殺滅して、-40℃ で凍結保存した。

*Cl. thermoaceticum* と *Cl. thermosaccharolyticum* は培地を遠心分離して菌体を集めた後、*B. stearothermophilus* と同様に処理した。

### 3. 芽胞の耐熱性の測定

芽胞液を解凍し、90℃, 20 分間活性化処理した後、滅菌硬質ガラス製小試験管 (TDT チューブ、外径 9 mm, 内径 7 mm, 長さ 15 cm) 3 本に 1 ml 完分注し、さらに滅菌水 1 ml を加えて他端を火炎で密封した。これを一定温度の恒温油槽 ( $\pm 0.1^\circ\text{C}$ ) 中で所定時間加熱処理し、氷水中で急冷後、生残芽胞数を測定した。芽胞数の測定は *B. stearothermophilus* は混釀平板法 (標準寒天境地) により、*Cl. thermoaceticum* は最確数法 (MPN 法、前記芽胞形成培地に寒天を加えた半流動培地、試験管数 3 本) により測定した。*Cl. thermosaccharolyticum* も MPN 法 (前記芽胞形成培地に寒天を加えた半流動培地、試験管数 3 本) により測定した。なお、いずれも 55℃ で培養した。

### 4. ミルクコーヒー中の芽胞の耐熱性の測定

4. 1. ミルクコーヒー液の調製 アイスコーヒー 800ml (ポッカコーポレーション株製) に牛乳 200ml (森永乳業株) を加え、pH 7.0 のミルクコーヒーを調製した。乳化剤はデカグリセリンモノミリスチン酸エステル (サンソフト No.Q-14S, 太陽化学株製) とショ糖モノパルミチン酸エステル (リヨートーン・ガーエステル P-1570, モノエステル含量 70%, 三菱化成食品株製) を使用し、それぞれ 100, 200, 300 ppm になるように調整して使用した。

4. 2. 加熱処理 芽胞液を 90℃, 20 分間活性化処理した後、芽胞濃度がミルクコーヒー 1 ml 当たり  $10^3 \sim 10^5 / \text{ml}$  になるように加え、よく混和後 TDT チューブに 2 ml 完分注し、火炎で密封した。これを 121℃ の恒温油槽で 3~30 分間加熱した後、直ちに氷水で冷却し、分析用試料とした。

なお、芽胞液を加えたものは、初発芽胞数を測定した。

4. 3 恒温保存及び変敗の判定 加熱処理剤のTDTチューブを55°C, 2ヶ月間静置保存した後, 芽胞を接種しなかったものを対照にして, 沈殿凝固等の肉眼観察およびpH測定を行い変敗の有無を判定した。

## 実験結果

### 1. *B. stearothermophilus* の耐熱性に及ぼす食品乳化剤の添加効果

ミルクコーヒー中にポリグリセリン脂肪酸エステルQ-14Sおよびショ糖脂肪酸エステルP-1570を添加した場合の*B. stearothermophilus*の変敗防止効果を測定した。接種菌数 $1.3 \times 10^5 / ml$ の結果を第1表に示す。無加熱の場合, Q-14SおよびP-1570のいずれの乳化剤も100~300 ppm添加でやや減少傾向を示した。しかし保存期間の延長に伴い菌数は増加して7~14日後では対照区とほぼ同じとなった。

5分間加熱区はいずれの乳化剤も100~300 ppm添加で顕著な抗菌性を示した。この傾向は保存期間を延長しても同様に認められ, 10分加熱区および15分加熱区においてはさらに顕著な抗菌性が認められた。

次に接種菌数 $3.5 \times 10^3 / ml$ の結果を第2表に示す。無加熱の場合, Q-14SおよびP-1570のいずれの乳化剤においても100~300 ppm添加で $1.3 \times 10^5 / ml$ 接種区と同様にやや減少傾向を示したが, 保存期間の延長に伴い対照区とほぼ同様な結果となった。

3分間加熱の場合, Q-14Sは300 ppm添加により保存期間の延長(30日以上)に伴い抗菌性が認められた。一方, P-1570は100~300 ppm添加で抗菌性が認められ, 保存期間の延長に伴い著しい抗菌性が認められた。

5分間加熱の場合, Q-14Sは3分間加熱と同様に300 ppm添加により著しい抗菌性が認められた。P-1570は100~300 ppm添加で著しい抗菌性が認められ, 保存期間を延長してもその効果は変化しなかった。

10分間加熱の場合, Q-14SおよびP-1570のいずれの乳化剤においても100~300 ppm添加で著しい抗菌性が認められ, その効果は保存期間を60日まで延長しても変化することはなかった。

### 2. *Cl. thermoaceticum* No.5801の耐熱性に及ぼす食品乳化剤の添加効果

*Cl. thermoaceticum* No.5801によるミルクコーヒーの変敗に対するポリグリセリン脂肪酸エステルQ-14Sおよびショ糖脂肪酸エステルP-1570の添加効果を第3表に示した。

最確数(MPN)法で測定したが, 本方法は試料中の生菌の密度の概算を表わす数値である。このため試料中の微生物の分布度を測定するために確率論が適用される。またMPN値は, 試料中の概算数値であって, 生菌の正確な数値ではないが抗菌性の測定に充分利用できると考えられる。

無加熱区ではいずれの乳化剤においても100~300 ppm添加では抗菌性はほとんど認められず, 5分, 10分, 15分加熱区においても弱い抗菌性を認めたにすぎなかった。しかし, 20分および30分加熱区では200~300 ppm添加区において抗菌性が認められた。

ミルクコーヒー保存中における上記乳化剤の抗菌性の変化を測定した結果を第4表に示した。20分および30分加熱区では200～300 ppm添加区において認められた抗菌性は、保存中に大きく変化することはなかった。

### 3. *Cl. thermoaceticum* No.5802の耐熱性に及ぼす食品乳化剤の添加効果

*Cl. thermoaceticum* No.5802によるミルクコーヒーの変敗に対する食品乳化剤添加効果を第5表に示した。いずれの乳化剤とも無加熱および5分間加熱では、ほとんど抗菌性は示さなかつたが、10分間加熱ではQ-14Sは300 ppm添加で、P-1570は100～300 ppm添加でやや抗菌性が認められた。この傾向は15分および20分加熱でもほぼ同様の傾向が認められた。しかし、30分加熱では残存菌数が少ないため、抗菌性の判定が困難であった。

ミルクコーヒー保存中における上記乳化剤の抗菌性の変化を測定した結果を第6表に示した。いずれも保存中における抗菌性の変化は認められなかつた。

### 4. *Cl. thermoaceticum* No.5809の耐熱性に及ぼす食品乳化剤の添加効果

ミルクコーヒー中における*Cl. thermoaceticum* No.5809に対する食品乳化剤添加効果を第7表に示した。いずれの乳化剤も、無加熱、5分、10分、15分、20分、30分加熱においても顕著な抗菌性は認められなかつた。

第8表にこれらの乳化剤の保存中における抗菌性の変化を示した。いずれも保存中における抗菌性の変化は認められなかつた。

### 5. *Cl. thermosaccharolyticum* No.5604の耐熱性に及ぼす食品乳化剤の添加効果

ミルクコーヒー中における*Cl. thermosaccharolyticum* No.5604に対する食品乳化剤添加効果を第9表に示した。無加熱区では抗菌性の有無の判定は極めて困難であるが、1分、2分加熱において抗菌性が認められた。1分加熱では、いずれの乳化剤も300 ppm添加により顕著な抗菌性が認められた。また2分加熱の場合、Q-14Sでは300 ppm添加、P-1570では200、300 ppm添加により著しい抗菌性が認められた。

3分、4分、5分加熱においては菌数の減少が著しいため抗菌性の有無の判定は困難であった。

第10表にこれらの乳化剤の保存中における抗菌性の変化を示した。いずれも保存中における抗菌性の変化は認められなかつた。

第1表 各種乳化剤の *B. stearothermophilus* IAM 1035の胞子に対する抗菌性（その1）

加熱時間 min	乳化剤 ppm	保存期間（日）					
		0	7	14	21	28	60
0	Control	$1.3 \times 10^5$	$5.4 \times 10^4$	$5.5 \times 10^4$	$4.0 \times 10^4$	$6.8 \times 10^4$	$4.7 \times 10^4$
	Q-14S						
	100	$4.8 \times 10^4$	$8.8 \times 10^3$		$2.0 \times 10^4$		$2.2 \times 10^4$
	200	$3.2 \times 10^4$	$2.5 \times 10^4$		$2.7 \times 10^4$		$1.4 \times 10^4$
	300	$3.4 \times 10^4$	$4.9 \times 10^3$		$3.1 \times 10^4$		$2.1 \times 10^4$
	P-1570						
	100	$6.9 \times 10^4$		$4.7 \times 10^4$		$8.9 \times 10^4$	$2.7 \times 10^4$
	200	$6.7 \times 10^4$		$5.9 \times 10^4$		$5.4 \times 10^4$	$2.9 \times 10^4$
	300	$1.0 \times 10^5$		$4.3 \times 10^4$		$3.9 \times 10^5$	$4.0 \times 10^4$
5	Control	$4.1 \times 10^4$	$1.8 \times 10^4$	$7.6 \times 10^3$	$1.2 \times 10^4$	$1.1 \times 10^4$	$1.3 \times 10^4$
	Q-14S						
	100	$2.2 \times 10^3$	$5.4 \times 10^3$		$4.4 \times 10^4$		$8.9 \times 10^3$
	200	$8.2 \times 10^2$	$8.4 \times 10^2$		$4.7 \times 10^2$		$2.9 \times 10^2$
	300	$2.9 \times 10^2$	$6.0 \times 10^2$		—		—
	P-1570						
	100	—		$3.4 \times 10^2$		$3.8 \times 10^3$	$8.0 \times 10$
	200	$4.3 \times 10^2$		—		$1.8 \times 10^3$	—
	300	$4.1 \times 10^3$		—		—	$1.3 \times 10^2$
10	Control	$3.6 \times 10$	$1.9 \times 10^4$	$4.5 \times 10^2$	$8.1 \times 10^3$	$1.4 \times 10^3$	$5.5 \times 10^3$
	Q-14S						
	100	—	$5.5 \times 10^2$		$2.1 \times 10^4$		$8.0 \times 10^3$
	200	—	—		—		—
	300	—	—		—		—
	P-1570						
	100	—		—		—	—
	200	—		—		—	—
	300	—		—		—	—
15	Control	—	$2.2 \times 10^3$	$1.1 \times 10^4$		—	$4.0 \times 10^2$
	Q-14S						
	100	—	—	—			—
	200	—	—	—			—
	300	—	—	—			—
	P-1570						
	100	—		—		—	—
	200	—		—		—	—
	300	—		—		—	—

接種菌数  $1.35 \times 10^5 / ml$ (単位/ $ml$ )保存温度  $55.5^\circ C$ — :  $3.0 \times 10 / ml$ 以下

第2表 各種乳化剤の *B. stearothermophilus* IAM 1035の胞子に対する抗菌性(その2)

加熱時間 (min)	乳化剤 (ppm)	保存期間(日)		
		0	30	60
0	Control	$3.2 \times 10^3$	$1.1 \times 10^3$	$8.8 \times 10^2$
	Q-14S			
	100	$2.7 \times 10^3$	$5.0 \times 10^3$	$3.8 \times 10^3$
	200	$3.0 \times 10^3$	$3.8 \times 10^3$	$4.6 \times 10^2$
	300	$1.3 \times 10^3$	—	—
	P-1570			
	100	$1.7 \times 10^3$	$5.0 \times 10^3$	$3.0 \times 10^3$
	200	$1.4 \times 10^3$	$2.7 \times 10^2$	—
	300	$8.5 \times 10^2$	$2.3 \times 10^2$	—
	Control	$3.3 \times 10^2$	$6.5 \times 10^2$	$6.0 \times 10^2$
3	Q-14S			
	100	$4.0 \times 10^2$	$2.4 \times 10^3$	$2.5 \times 10^3$
	200	$4.7 \times 10^2$	$1.1 \times 10^3$	$1.6 \times 10^3$
	300	$2.0 \times 10^2$	—	—
	P-1570			
	100	$1.2 \times 10^2$	—	—
	200	$6.3 \times 10$	—	—
	300	—	—	—
	Control	$2.7 \times 10^2$	$1.4 \times 10^2$	$2.7 \times 10^2$
	Q-14S			
5	100	$1.9 \times 10^2$	$1.4 \times 10^2$	$2.5 \times 10^3$
	200	$5.0 \times 10$	$7.0 \times 10^2$	$4.0 \times 10^3$
	300	—	—	—
	P-1570			
	100	—	—	—
	200	—	—	—
	300	—	—	—
	Control	—	$3.0 \times 10^2$	$4.5 \times 10^2$
	Q-14S			
	100	—	—	—
10	200	—	—	—
	300	—	—	—
	P-1570			
	100	—	—	—
	200	—	—	—
	300	—	—	—
	Control	—		
	Q-14S			
	100	—	—	—
	200	—	—	—

接種菌数:  $3.5 \times 10^3$ /ml

保存温度: 55.5°C

— :  $3.0 \times 10^2$ /ml以下

第3表 *Cl. thermoaceticum* No.5801に対する抗菌性試験（その1）

加熱時間 (min)	乳化剤の種類と濃度 (ppm)	M P N 値/g	95%信頼限界	
			下限	上限
0	Control	460,000	71,000	2,400,000
	Q - 14 S			
	100	240,000	36,000	1,300,000
	200	240,000	36,000	1,300,000
	300	240,000	36,000	1,300,000
	P - 1570			
	100	240,000	36,000	1,300,000
	200	240,000	36,000	1,300,000
	300	240,000	36,000	1,300,000
5	Control	11,000	1,500	48,000
	Q - 14 S			
	100	11,000	1,500	48,000
	200	7,500	1,400	23,000
	300	4,300	700	21,000
	P - 1570			
	100	15,000	3,000	44,000
	200	9,300	1,500	38,000
	300	1,500	300	4,400
10	Control	11,000	1,500	48,000
	Q - 14 S			
	100	2,400	360	13,000
	200	2,400	360	13,000
	300	2,400	360	13,000
	P - 1570			
	100	2,400	360	13,000
	200	2,400	360	13,000
	300	2,400	360	13,000
15	Control	930	150	3,800
	Q - 14 S			
	100	430	70	2,100
	200	430	70	2,100
	300	430	70	2,100
	P - 1570			
	100	930	150	3,800
	200	430	70	2,100
	300	430	70	2,100
20	Control	1,500	300	4,400
	Q - 14 S			
	100	930	150	3,800
	200	23	4	120
	300	23	4	120
	P - 1570			
	100	1,500	300	4,400
	200	23	4	120
	300	23	4	120
30	Control	1,500	300	4,400
	Q - 14 S			
	100	460	71	2,400
	200	93	15	380
	300	93	15	380
	P - 1570			
	100	93	15	380
	200	93	15	380
	300	93	15	380

接種菌数 :  $2.5 \times 10^5$  / ml, 培養温度 : 55.5°C  
三本式 M P N 表で計算

第4表 *Cl. thermoaceticum* No.5801に対する抗菌性試験(その2)

加熱時間 (min)	乳化剤の種類と濃度 (ppm)	保存日数(日)			
		0	30	60	90
0	Control	460,000	240,000	210,000	150,000
	Q-14S				
	100	240,000	210,000	150,000	93,000
	200	240,000	210,000	150,000	93,000
	300	240,000	210,000	150,000	93,000
	P-1570				
	100	240,000	210,000	150,000	93,000
	200	240,000	210,000	150,000	93,000
	300	240,000	210,000	150,000	93,000
5	Control	11,000	4,600	4,600	2,400
	Q-14S				
	100	11,000	4,600	4,600	2,400
	200	7,500	4,600	4,600	2,400
	300	4,300	4,600	4,600	2,400
	P-1570				
	100	15,000	9,300	7,500	4,600
	200	9,300	4,600	4,600	2,400
	300	1,500	930	930	930
10	Control	11,000	2,400	2,400	1,500
	Q-14S				
	100	2,400	1,500	930	930
	200	2,400	1,500	930	930
	300	2,400	1,500	930	930
	P-1570				
	100	2,400	2,100	1,500	930
	200	2,400	1,500	930	930
	300	2,400	1,500	930	930
15	Control	930	750	430	430
	Q-14S				
	100	430	280	210	200
	200	430	210	200	150
	300	430	210	200	150
	P-1570				
	100	930	430	280	210
	200	430	210	200	150
	300	430	210	200	200
20	Control	1,500	1,100	460	240
	Q-14S				
	100	930	460	240	210
	200	23	20	15	15
	300	23	20	15	15
	P-1570				
	100	1,500	1,100	460	210
	200	23	20	15	15
	300	23	20	15	15
30	Control	1,500	460	240	210
	Q-14S				
	100	430	240	210	150
	200	93	75	64	39
	300	93	75	64	39
	P-1570				
	100	93	75	64	23
	200	93	75	64	23
	300	93	75	64	23

接種菌数:  $2.5 \times 10^5$  / ml, 培養温度: 55.5°C

三本式MPN表で計算, MPN値/g

第5表 *Cl. thermoaceticum* Na5802に対する抗菌性試験（その1）

加熱時間 (min)	乳化剤の種類と濃度 (ppm)	M P N 値/g	95%信頼限界	
			下限	上限
0	Control	110,000	15,000	480,000
	Q-14S			
	100	110,000	15,000	480,000
	200	110,000	15,000	480,000
	300	110,000	15,000	480,000
	P-1570			
	100	110,000	15,000	480,000
	200	110,000	15,000	480,000
	300	24,000	3,600	130,000
5	Control	46,000	7,100	240,000
	Q-14S			
	100	46,000	7,100	240,000
	200	46,000	7,100	240,000
	300	46,000	7,100	240,000
	P-1570			
	100	46,000	7,100	240,000
	200	46,000	7,100	240,000
	300	46,000	7,100	240,000
10	Control	46,000	7,100	240,000
	Q-14S			
	100	46,000	7,100	240,000
	200	46,000	7,100	240,000
	300	11,000	1,500	48,000
	P-1570			
	100	11,000	1,500	48,000
	200	750	140	2,300
	300	750	140	2,300
15	Control	46,000	7,100	24,000
	Q-14S			
	100	46,000	7,100	24,000
	200	46,000	7,100	24,000
	300	11,000	1,500	48,000
	P-1570			
	100	11,000	1,500	48,000
	200	430	70	1,300
	300	430	70	1,300
20	Control	11,000	1,500	48,000
	Q-14S			
	100	11,000	1,500	48,000
	200	11,000	1,500	48,000
	300	1,100	150	4,800
	P-1570			
	100	1,100	150	4,800
	200	75	14	230
	300	75	14	230
30	Control	64	15	380
	Q-14S			
	100	7	1	21
	200	7	1	21
	300	7	1	21
	P-1570			
	100	<3		
	200	<3		
	300	<3		

接種菌数 :  $5.3 \times 10^5$  / g , 培養温度 : 55.5°C  
三本式 M P N 表で計算

第6表 *Cl. thermoaceticum* №5802に対する抗菌性試験(その2)

加熱時間 (min)	乳化剤の種類と濃度 (ppm)	保存日数(日)			
		0	30	60	90
0	Control	110,000	24,000	21,000	15,000
	Q-14S				
	100	110,000	24,000	21,000	15,000
	200	110,000	24,000	21,000	15,000
	300	110,000	24,000	21,000	15,000
	P-1570				
	100	110,000	24,000	21,000	15,000
	200	110,000	24,000	21,000	15,000
	300	24,000	15,000	9,300	9,300
5	Control	46,000	9,300	7,500	4,300
	Q-14S				
	100	46,000	7,500	7,500	4,300
	200	46,000	7,500	4,300	4,300
	300	46,000	7,500	4,300	4,300
	P-1570				
	100	46,000	9,300	7,500	4,300
	200	46,000	7,500	4,300	4,300
	300	46,000	7,500	4,300	4,300
10	Control	46,000	9,300	7,500	4,300
	Q-14S				
	100	46,000	2,400	2,400	2,100
	200	46,000	2,400	2,400	2,100
	300	11,000	2,400	2,400	2,100
	P-1570				
	100	11,000	11,000	4,600	2,300
	200	750	430	430	390
	300	750	430	430	390
15	Control	46,000	9,300	7,500	4,300
	Q-14S				
	100	46,000	2,400	2,400	2,100
	200	46,000	2,400	2,400	2,100
	300	11,000	2,400	2,400	2,100
	P-1570				
	100	11,000	1,100	1,100	1,100
	200	430	390	390	230
	300	430	390	390	230
20	Control	11,000	4,600	2,400	2,100
	Q-14S				
	100	11,000	1,100	460	430
	200	11,000	1,100	460	430
	300	1,100	390	390	230
	P-1570				
	100	1,100	460	390	230
	200	75	64	64	39
	300	75	64	64	39
30	Control	64	39	23	15
	Q-14S				
	100	7	<3	<3	<3
	200	7	<3	<3	<3
	300	7	<3	<3	<3
	P-1570				
	100	<3	<3	<3	<3
	200	<3	<3	<3	<3
	300	<3	<3	<3	<3

接種菌数:  $5.3 \times 10^5 / g$ , 培養温度: 55.5°C

三本式MPN表で計算, MPN値/g

第7表 *Cl. thermoaceticum* No.5809に対する抗菌性試験（その1）

加熱時間 (min)	乳化剤の種類と濃度 (ppm)	M P N 値/g	95%信頼限界	
			下限	上限
0	Control	110,000	15,000	480,000
	Q-14S			
	100	21,000	3,500	47,000
	200	9,300	1,500	38,000
	300	9,300	1,500	38,000
	P-1570			
	100	15,000	3,000	44,000
	200	15,000	3,000	44,000
	300	15,000	3,000	44,000
5	Control	15,000	3,000	44,000
	Q-14S			
	100	7,500	1,400	23,000
	200	7,500	1,400	23,000
	300	7,500	1,400	23,000
	P-1570			
	100	4,300	700	21,000
	200	2,300	400	12,000
	300	2,300	400	12,000
10	Control	15,000	3,000	44,000
	Q-14S			
	100	1,200	300	3,800
	200	230	40	1,200
	300	230	40	1,200
	P-1570			
	100	430	70	2,100
	200	230	40	1,200
	300	230	40	1,200
15	Control	430	70	2,100
	Q-14S			
	100	430	70	2,100
	200	230	40	1,200
	300	230	40	1,200
	P-1570			
	100	390	70	1,300
	200	280	100	1,500
	300	280	100	1,500
20	Control	240	36	1,300
	Q-14S			
	100	210	35	470
	200	210	35	470
	300	210	35	470
	P-1570			
	100	240	36	1,300
	200	240	36	1,300
	300	240	36	1,300
30	Control	43	7	210
	Q-14S			
	100	23	4	120
	200	23	4	120
	300	23	4	120
	P-1570			
	100	23	4	120
	200	23	4	120
	300	23	4	120

接種菌数:  $1.8 \times 10^5 / g$ , 培養温度: 55.5°C

三本式M P N表で計算

第8表 *Cl. thermoaceticum* Ns5809に対する抗菌性試験(その2)

加熱時間 (min)	乳化剤の種類と濃度 (ppm)	保存日数(日)			
		0	30	60	90
0	Control	110,000	46,000	24,000	24,000
	Q-14S				
	100	21,000	15,000	15,000	9,300
	200	9,300	7,500	6,400	3,900
	300	9,300	6,400	3,900	2,300
	P-1570				
	100	15,000	9,300	9,300	7,500
	200	15,000	9,300	4,300	3,900
	300	15,000	7,500	6,400	3,900
5	Control	15,000	9,300	9,300	7,500
	Q-14S				
	100	7,500	4,300	4,300	3,900
	200	7,500	4,300	3,900	2,300
	300	7,500	3,900	2,300	2,000
	P-1570				
	100	4,300	3,900	2,300	2,000
	200	2,300	2,100	2,000	1,500
	300	2,300	2,100	2,000	1,500
10	Control	15,000	7,500	4,300	3,900
	Q-14S				
	100	1,200	750	750	430
	200	230	210	200	150
	300	230	150	140	140
	P-1570				
	100	430	390	230	200
	200	230	210	200	150
	300	230	150	140	140
15	Control	430	230	210	200
	Q-14S				
	100	430	230	200	200
	200	230	150	150	140
	300	230	150	140	140
	P-1570				
	100	390	230	210	200
	200	280	200	140	110
	300	280	200	140	110
20	Control	240	200	140	110
	Q-14S				
	100	210	140	110	70
	200	210	70	40	40
	300	210	70	30	30
	P-1570				
	100	240	140	110	70
	200	240	140	70	40
	300	240	110	70	40
30	Control	43	39	23	15
	Q-14S				
	100	23	15	11	7
	200	23	11	7	7
	300	23	11	7	7
	P-1570				
	100	23	21	15	11
	200	23	21	15	11
	300	23	15	7	7

接種菌数:  $1.8 \times 10^6 / g$ , 培養温度: 55.5°C

三本式MPN表で計算, MPN値/g

第9表 *Cl. thermosaccharolyticum* No.5604に対する抗菌性試験（その1）

加熱時間 (min)	乳化剤の種類と濃度 (ppm)	M P N 値/g	95%信頼限界	
			下限	上限
0	Control	46,000	7,100	240,000
	Q-14S			
	100	21,000	3,500	47,000
	200	15,000	3,000	44,000
	300	4,300	700	21,000
	P-1570			
	100	9,300	1,500	38,000
	200	7,500	1,400	23,000
	300	2,300	400	12,000
1	Control	2,800	1,000	15,000
	Q-14S			
	100	900	100	3,600
	200	900	100	3,600
	300	93	15	380
	P-1570			
	100	750	140	2,300
	200	750	140	2,300
	300	15	3	44
2	Control	2,400	360	13,000
	Q-14S			
	100	150	30	440
	200	150	30	440
	300	43	7	210
	P-1570			
	100	750	140	2,300
	200	75	14	230
	300	43	7	210
3	Control	23	4	120
	Q-14S			
	100	23	4	120
	200	4	<0.5	20
	300	4	<0.5	20
	P-1570			
	100	<3		
	200	<3		
	300	<3		
4	Control	7	1	23
	Q-14S			
	100	3	<0.5	13
	200	<3		
	300	<3		
	P-1570			
	100	<3		
	200	<3		
	300	<3		
5	Control	3	<0.5	13
	Q-14S			
	100	<3		
	200	<3		
	300	<3		
	P-1570			
	100	<3		
	200	<3		
	300	<3		

接種菌数:  $2.5 \times 10^5$  / ml, 培養温度: 55.5°C  
三本式MPN表で計算

第10表 *Cl. thermosaccharolyticum* No.5604に対する抗菌性試験(その2)

加熱時間 (min)	乳化剤の種類と濃度 (ppm)	保存日数(日)			
		0	30	60	90
0	Control	46,000	2,400	2,100	2,100
	Q-14S				
	100	21,000	1,500	930	930
	200	15,000	4,600	750	750
	300	4,300	2,400	750	750
	P-1570				
	100	9,300	1,500	930	930
	200	7,500	1,500	460	460
	300	2,300	1,100	120	120
1	Control	2,800	210	150	93
	Q-14S				
	100	900	43	39	23
	200	900	43	23	21
	300	93	21	9	7
	P-1570				
	100	750	43	23	21
	200	750	21	9	7
	300	15	9	7	4
2	Control	2,400	43	23	21
	Q-14S				
	100	150	39	23	21
	200	150	11	7	4
	300	43	4	3	3
	P-1570				
	100	750	7	4	3
	200	75	4	3	<3
	300	43	4	3	<3
3	Control	23	1.1	0.4	<0.3
	Q-14S				
	100	23	0.4	<0.3	<0.3
	200	4	<0.3	<0.3	<0.3
	300	4	<0.3	<0.3	<0.3
	P-1570				
	100	<3	<0.3	<0.3	<0.3
	200	<3	<0.3	<0.3	<0.3
	300	<3	<0.3	<0.3	<0.3
4	Control	7	<0.3	<0.3	<0.3
	Q-14S				
	100	3	<0.3	<0.3	<0.3
	200	<3	<0.3	<0.3	<0.3
	300	<3	<0.3	<0.3	<0.3
	P-1570				
	100	<3	<0.3	<0.3	<0.3
	200	<3	<0.3	<0.3	<0.3
	300	<3	<0.3	<0.3	<0.3
5	Control	3	<0.3	<0.3	<0.3
	Q-14S				
	100	3	<0.3	<0.3	<0.3
	200	<3	<0.3	<0.3	<0.3
	300	<3	<0.3	<0.3	<0.3
	P-1570				
	100	<3	<0.3	<0.3	<0.3
	200	<3	<0.3	<0.3	<0.3
	300	<3	<0.3	<0.3	<0.3

接種菌数:  $2.5 \times 10^6 / g$ , 培養温度: 55.5°C

三本式MPN表で計算, MPN値/g

## 考 察

Walker<sup>1,2)</sup>は *Cl. thermoaceticum* を缶詰食品の変敗原因菌として掲げており、その特徴として、①最低発育温度43℃、最高発育温度63～69℃であり、②ガスは生成せず、③わずかに糖分解性であり、④発育が遅い、⑤本菌が発育した食品は、において顕著な変化は認められず、⑥酢酸を生成し、⑦硫化水素を生成すること、⑧通常の缶詰殺菌ではこの胞子を殺滅するのに不十分であるが、発育最低温度が高いので、変敗原因菌としての重要性は限定されるとしている。

しかし、わが国ではコーヒー缶詰、しるこ缶詰などの飲料缶詰がホットベンダーなどで加温販売されるようになった。したがって、この加温販売の保存温度（60℃前後）は高温細菌の増殖至適温度と一致し、しかも耐熱性があるので、今まであまり問題になっていた高温細菌による変敗が重要視されるようになった。

缶詰食品の変敗原因菌である高温細菌による変敗現象は大きく分けて次の3つに分類される。①フラットサワー変敗：*B. stearothermophilus*, *B. coagulans*, *Cl. thermoaceticum*, 外観は正常であるが、内容物は酸敗する。②硫化変敗：*Desulfotomaculum nigrificans*, 外観は正常であるが、内容物は硫化水素臭および黒変する。③好熱性嫌気性変敗：*Cl. thermosaccharolyticum*, 膨張し、酪酸臭が生成する。

これらの菌の耐熱性は、D値（121℃）で示すと一般的には *B. stearothermophilus* : 0.1～15, *B. coagulans* : 0.4～3.0, *Cl. thermoaceticum* : 5～50, *D. nigrificans* : 1～5, *Cl. thermosaccharolyticum* : 1～3になる場合が多い<sup>3)</sup>。

食品用乳化剤であるショ糖脂肪酸エステルとポリグリセリ脂肪酸エステルが、ミルクコーヒーの高温性耐熱性芽胞細菌による変敗防止に有用であった。*B. stearothermophilus*に対しては、Q-14SおよびP-1570のいずれの乳化剤とも100～300 ppmの添加で5分加熱で抑制効果が認められた。

また、10分加熱ではQ-14Sは200 ppm以上の添加により、P-1570は100 ppm以上添加で完全に増殖を抑制した。

ミルクコーヒー中の*B. stearothermophilus* IFO12550に対する食品乳化剤の添加効果をD121°値で比較すると、本菌芽胞のミルクコーヒー中のD値は4.9分であった。デカグリセリンモノパルミチン酸エステル（Q-16U）の場合、D121°は1000 ppm添加で4.1, 2000 ppm添加で3.2であるのに対し、ショ糖モノパルミチン酸エステル（P-1670, モノエステル含量75%）の場合は500 ppmの添加でD121°値は1.9になったと報告されている<sup>11)</sup>。

今回の測定の場合、デカグリセリンモノミリストチン酸エステル（Q-14S）、100～300 ppm添加でD121°値は2.0～4.0、ショ糖モノパルミチン酸エステル（P-1570、モノエステル含量70%）の場合は100～300 ppm添加でD121°値は1.8～1.4となり、ほぼ同様の効果を示した。

ミルクコーヒー中の *Cl. thermoaceticum* (No.5801) の殺菌には121°Cにおいて130分の加熱が必要である<sup>11)</sup>。デカグリセリンモノステアリン酸エステル (Q-18U) およびモノパルミチン酸エステル (Q-16U) の250~1000 ppm 添加で121°C、50分間処理では殺菌されず、ショ糖脂肪酸エステルの場合、モノパルミチン酸エステル P-1570 250 ppm 添加で32分、350 ppm の添加では5分の加熱で完全に殺菌されたと報告されている<sup>11)</sup>。

今回の測定の場合、デカグリセリンモノミリスチン酸エステル (Q-14S)、100~300 ppm 添加でD121°値は3.0~4.7、ショ糖モノパルミチン酸エステル (P-1570、モノエステル含量70%) の場合は100~300 ppm 添加でD121°値は2.5~4.2となった。その他の *Clostridium* 属についても同様のことが認められた。

これらの食用乳化剤を添加後、121°Cで加熱後も上記芽胞は残存する。このため、加熱により死滅せずに生残した芽胞が食用乳化剤の存在により増殖を抑制されているものと考えられる。すなわち、食用乳化剤の効果は、静菌効果によるものと考えられる。

このことは、保存期間を90日に延長しても菌数は増加せず、ほぼ一定の値を示したことからも理解できる。

## 要 約

耐熱性の高い高温性芽胞形成細菌 *B. stearothermophilus*, *Cl. thermoaceticum* (No.5801), *Cl. thermoaceticum* (No.5802), *Cl. thermoaceticum* (No.5809), *Cl. thermosaccharolyticum* (No.5604) の芽胞を接種したミルクコーヒー中の加熱殺菌に及ぼす食品乳化剤の添加効果を検討した。

1. *B. stearothermophilus* IAM1035に対しては、Q-14S および P-1570 のいずれの乳化剤とも 100~300 ppm 添加で接種菌数  $1.3 \times 10^6$  ml の場合、5~15分加熱区は抗菌性を示した。

2. *Cl. thermoaceticum* (No.5801) に対しては、Q-14S および P-1570 のいずれの乳化剤とも 100~300 ppm 添加、5~15分加熱において抗菌性が認められたが、20分および30分加熱の 200~300 ppm 添加区に著しい抗菌性が認められた。

3. *Cl. thermoaceticum* (No.5802), *Cl. thermoaceticum* (No.5809), *Cl. thermosaccharolyticum* (No.5604) に対する抗菌性は Q-14S および P-1570 のいずれの食品乳化剤とも 100~300 ppm の添加区においては全体的に 5~20 分加熱では比較的弱いものであった。しかし、*Cl. thermoaceticum* (No.5802) に対して P-1570 は 200~300 ppm の添加で 10 分~20 分加熱では強い抗菌性が認められた。また、*Cl. thermosaccharolyticum* (No.5604) に対しては Q-14S, P-1570 のいずれも 100~300 ppm 添加で 1~2 分加熱により比較的強い抗菌性が認められた。

## 文 献

- 1) 松田ら：食衛誌，23，480（1982）
- 2) 山本ら：食衛誌，25，223（1984）
- 3) 中山ら：日本誌，43，899（1977）*A. et al.*
- 4) Nakayama, A. et al.: J. Food Hyg. soc. Japan, 22, 30 (1981)
- 5) Nakayama, A. et al.: J. Food Hyg. soc. Japan, 23, 25 (1982)
- 6) Nakayama, A. et al.: J. Food Hyg. soc. Japan, 22, 37 (1981)
- 7) Nakayama, A. et al.: J. Food Hyg. soc. Japan, 25, 297 (1984)
- 8) 内藤ら：未発表 *Food Hyg. Soc.*
- 9) Tsuchido, T. et al.: J. Antibact. Antifung. Agents, 11, 567 (1983)
- 10) 諏訪ら：日食工誌，33，44（1986）
- 11) 諏訪ら：日食工誌，35，706（1988）
- 12) Walker, H. W.: Food Microbiology, Public Health and spoilage Aspects, The AVI Publ, Co. Inc., P356~386 (1976)