

## CO<sub>2</sub> 液体センサー (SensiMedia™) を用いた Biomatic™ システムによる 細菌芽胞耐熱性の簡易測定法

棚田正三<sup>1</sup>、小泉雄史<sup>1</sup>、山本 敏<sup>1</sup>、宮下満義<sup>2</sup>、小川廣幸<sup>2</sup>  
(1:株式会社ニチレイ・技術開発センター、2:マイクロバイオ株式会社)

**【目的】**食品製造現場では、微生物芽胞の耐熱性の測定・評価法として、熱死滅時間(TDT, Thermal death time)の測定が用いられてきた。通常 TDT の測定は、TDT チューブに封入した細菌芽胞懸濁液を、一連の加熱温度、及び加熱時間の組み合わせにより処理し、処理後の生残菌数を平板寒天培地のコロニーカウント法で計測する事によって行われる。しかしながら、本法の加熱処理以後の操作は非常に煩雑であり、作業性、簡便性、精度などで問題を有している。そこで本研究では Biomatic™ システムの使用による、TDT 測定法の簡便化を検討した。

Biomatic™ システムは CO<sub>2</sub> 液体センサー (SensiMedia™) を用いた細菌繁殖時間測定装置である。液体選択培地中に接種された菌数と、その呼吸に由来する CO<sub>2</sub> 産性による SensiMedia™ の反応飽和(退色)までの時間(細菌繁殖時間)の間には強い相関関係があり、予め求めておいた検量線から菌数を算出する事が出来る。本システムは希釈列の作製などの煩瑣な操作を必要とせず、菌数カウントの大幅な省力化が可能である。本研究においては、この Biomatic™ 法の、芽胞耐熱性測定への応用を試みた。

### 【材料と方法】

**菌株:** *Alicycobacillus acidoterrestris* の標準株(ATCC 49025<sup>T</sup>)の芽胞を PCA 培地(0.1%Tween-80, pH3.7)上で形成させ、定法に従い調製した後、純水に懸濁し、使用するまで -135℃にて凍結保管した。

**耐熱性評価試験:** 加熱処理は、D 値測定の定法に準拠して行った。即ち、芽胞を M/15 リン酸緩衝液(pH 4.0)に懸濁(・ = 10<sup>6</sup>/ml)し、TDT チューブに 2 ml ずつ分注・溶封し、このチューブを、85℃、87.5℃、90℃、95℃の4温度で加熱した。加熱処理後に急冷した芽胞懸濁液各 1 ml を、それぞれ、コロニーカウントによる生残芽胞計数、*Alicycobacillus* 用 SensiMedia™ を用いた Biomatic™ 法による繁殖時間測定、及び吸光度測定(バイオフォトレコーダー使用)による増殖測定に用い、残存する芽胞の数ならびに増殖活性を評価した。

**【結果及び考察】**Biomatic™ 法で求めた加熱処理後の細菌繁殖時間は、加熱処理時間と高い相関を示した。即ち、Biomatic™ 法を用いて、芽胞に対する加熱殺菌効果を評価する事が可能である事が明らかとなった。Biomatic™ 法の計測値より算出された各処理温度における芽胞の D 値は、コロニーカウント法により求めた D 値と相関は認められるものの、ほぼ半分の値となり、単純に互換は出来なかった。また、Biomatic™ 法により測定した細菌繁殖時間と、バイオフォトレコーダーで求めた生育遅延時間との間には強い相関が認められた。即ち、Biomatic™ 法は、生育遅延解析法と互換性がある事が示唆された。Biomatic™ 法は、吸光度測定法に比べても簡便・安価で、しかも信頼度が高い。本法の測定値に基づく殺菌価の設定法が確立されれば、加熱殺菌食品の製造現場における、有効な品質管理手段になると期待される。