文 献

- 1) 食糧研究所：基準しょう油，みそ分析法（1952）.
- 2) Society of American Bacteriologists: Manual of Microbiological Methods (McGraw-Hill) (1957).
- 3) 片桐英郎・北原覚雄：農化，**10**，942（1934）.
- 4) 加藤 熙・好井久雄：醗酵工学，**43**，814（1965）.
- 5) BERGEY'S Manual of Determinative Bacteriology, 7th ed. (Williams & Wilkins) (1957).
- 6) NAKAGAWA, A. and KITAHARA, K.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **5**, (3), 95 (1959).

(1965 年 11 月 5 日受理)

しょう油きざみ漬保存中の微生物（第2報）

主要細菌のソルビン酸耐性

加 藤 熙*・好 井 久 雄*

前報¹⁾においては小袋詰しょう油きざみ漬保存中の成分変化，微生物の動態を調査し，ソルビン酸によって酵母の増殖は阻止できるが，乳酸菌をはじめ生酸菌群の抑制にはソルビン酸の効果はほとんどみとめられず，とくに *Lactobacillus plantarum* の増殖により急激な酸度上昇，pH 下降（俗に酸敗と称する）がおこることを推定した。本報においてはこれらの酸敗を防止する対策として食塩濃度，pH の若干の改変とソルビン酸の併用により酸敗原因の主要細菌が，抑制できるかどうかを試験した結果について報告する。

実 験 方 法

1. 試験菌株

前報¹⁾で分離同定を行なった *Streptococcus faecalis* 4 株，*Lactobacillus plantarum* 2 株，*Pediococcus halophilus* 2 株，*Micrococcus varians*，*Bacillus subtilis* の計 10 株を用いた。

2. 試験培地

基本培地としてペプトン 1%，粉末酵母エキス 0.5%， KH_2PO_4 0.5%，グルコース 1%，生たまりしょう油を T.N. で 0.1% 添加したものを用い，食塩は 0～15%，初発 pH は 5.0～4.4 に試験の目的によりそれぞれ調製して 5 ml/ ずつ試験管に分注，10 lb，15 分殺菌した。またソルビン酸は 0～1/500 になるようソルビン酸カリウムをそれぞれ添加した。

3. 培 養

基本培地に 1～2 日前培養した菌体懸濁液を 1 滴ずつ接種し，30°C で 7 日間静置培養した。

4. 増殖度，pH の測定

未接種培地をブランクとして，日立 EPO-B 型光電分光計で 660 m μ における吸光度 (O.D.) を測定して増殖度の比較を行ない，pH は培地そのものにガラス電極メーターを挿入して測定した。

実 験 結 果

1. 食塩濃度とソルビン酸の効力

市販しょう油きざみ漬汁の食塩濃度は普通 10% 前後であるが，食塩濃度の高低によって菌の増殖の様相，ソルビン酸の微生物抑制程度も異なると考えられる。そこで pH 5.0 で培地食塩濃度を 4 段階に変え，ソルビン酸量も 3 段階として各菌の増殖，生酸による pH 下降を測定した。結果を第 1 表に示す。

Strept. faecalis は S-4 菌をのぞき食塩 8% 以上では対照（ソルビン酸無添加）の増殖もきわめて微弱ないし皆無となり，pH 下降もない。これは耐塩性が比較的弱いためである。S-4 菌は上記 3 株とやや異なり，12% 食塩下にも微弱ながら増殖，生酸がある。ソルビン酸の効果は食塩による増殖抑制と相加的に働くものとみなされ，無塩培地では増殖完全阻止には 1/500 程度のソルビン酸を必要とする（S-1 菌はこの条件でも完全阻止さ

* 愛知県食品工業試験所（名古屋市西区新福寺町 2-13）

Studies on the Microbiology of Vegetables Soaked in Soy-sauce. Part. II. Sorbic acid tolerance of principal strains. By HIROSHI KATO and HISAO YOSHII.

第1表 分離株のソルビン酸耐性

培地 菌株		食塩 0%				食塩 8%				食塩 10%				食塩 12%			
		ソルビン酸				ソルビン酸				ソルビン酸				ソルビン酸			
		0	1/1000	1/750	1/500	0	1/1000	1/750	1/500	0	1/1000	1/750	1/500	0	1/1000	1/750	1/500
<i>Strept. faecalis</i>	S-1	O. D.	++	++	++	++	±	±	±	—	±	—	—	—	±	—	—
		pH	++	++	++	++	—	—	—	—	±	—	—	—	—	—	—
	S-2	O. D.	++	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—
		pH	++	++	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	S-3	O. D.	++	+	+	—	±	±	—	—	—	—	—	±	—	—	—
		pH	++	++	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	S-4	O. D.	++	++	++	++	++	+	+	+	+	+	±	+	±	±	—
		pH	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	±	±	±	±	—
<i>B. subtilis</i>	B	O. D.	++	—	—	—	±	—	—	—	±	—	—	—	—	—	—
		pH	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>L. plantarum</i>	R-1	O. D.	++	+	+	±	++	++	+	++	++	+	±	++	+	±	—
		pH	++	++	+	±	++	++	++	++	++	++	±	++	++	±	—
	R-2	O. D.	++	+	+	±	++	++	++	+	++	++	+	++	++	+	—
		pH	++	++	+	—	++	++	++	+	++	++	+	++	++	+	—
<i>M. varians</i>	M	O. D.	++	++	++	++	++	+	+	±	++	+	+	±	++	±	—
		pH	++	++	++	++	++	++	+	++	+	+	+	±	±	—	—

注: O. D.: 吸光度増加: —, 0.00, ± < .03, + < .20, ++ < .40, +++ > .40

pH: pH の下降: —, 0.00, ± < .10, + < .40, ++ < .80, +++ > .80

れない)が、食塩 10% 以上では S-4 菌についても 1/500~1/1000 でほとんど増殖、生酸ははみられなくなる。本試験での *Streptococcus* 株の食塩耐性は全般に前報¹⁾の結果より高いが(とくに S-4 株について)、これは伊藤ら²⁾が報告しているようにみそ(あるいはしょう油)成分の添加により耐塩性が高まるためと考えられ、試験培地に生たまりしょう油を加えたものを用いたことに由来するのであろう。しかしながら一般的には *Streptococcus* は食塩耐性が比較的弱いために、ソルビン酸を用いなくても実際の酸敗原因菌とはならないことが推定できる。

L. plantarum (R-1, R-2) は食塩 10% では 1/500 のソルビン酸で増殖、生酸の抑制はなお完全でなく、食塩 12%, ソルビン酸 1/500 ではじめて完全阻止される。

M. varians は食塩量が増すにつれ増殖、生酸は弱化するが、食塩 10% ではソルビン酸 1/500 で完全阻止はできず、食塩 12%, ソルビン酸 1/1000 以上ではほぼ完全阻止される。

B. subtilis は耐塩性が弱いため食塩 8% 以上ではソ

ルビン酸がなくても増殖はないが、無塩下でもソルビン酸 1/1000 で完全阻止される。

また、*P. halophilus* 株については食塩耐性(むしろ好塩性)はあるが、前報¹⁾にのべたとおり酸性 pH に弱いために試験培地の pH (5.0) においては増殖の余地がないので試験を行なわなかった。

以上の結果から漬汁の標準的な組成を食塩 10%, pH 5.0 と仮定し、かつソルビン酸の使用許可量が 1/1000 までという点を併せ考えて、この条件下になお完全な増殖抑制が不可能な菌株は *L. plantarum* (R-1, R-2株)、*Strept. faecalis* のうちの S-4 株、*M. varians* の 4 株である。この 4 株のうち S-4、*M. varians* は 12% 食塩下、とくにソルビン酸を 1/1000 添加した場合には増殖、生酸ともにきわめて微弱に惹起するにとどまるから、食塩濃度のこの程度の増加で酸敗防止の目的はほぼ達し得る。しかしながら嗜好上若干でも食塩量の多いものは嫌われる傾向にあり、この点から実用的な酸敗防止手段とはならない。

2. 培地 pH とソルビン酸の効力

第1図 培地 pH とソルビン酸の効力(1)

以上の試験において培地の初発 pH はすべて 5.0 にそろえたが、ソルビン酸の効力は pH によって単的に調整されるので（非解離型分子のみが微生物抑制力を有し、非解離型分子濃度は pH の函数であって酸性 pH になるほど高い^{(3)~(6)}。）培地 pH を 5.0 より若干酸性側の 4.4 まで下げた場合に酸敗主要原因となる 4 菌株に対するソルビン酸の効果を調べた。結果を第1図に示す。

いずれの菌株も対照（ソルビン酸無添加）においても pH が低くなるにつれて増殖は弱化する。ソルビン酸 1/1000 添加では pH 4.8 までは増殖があるが、4.6 以下では増殖はコン跡ないし皆無となる。第2図は酸敗主菌と推定される *L. plantarum* (R-1) を上記と同様の pH 5.0~4.4 培地でソルビン酸 1/1000 加用のもとに経時的に増殖、pH 下降の様相を調べたものであるが、pH 4.6 以下では増殖はコン跡となり、pH 下降もほぼ停止する。pH 4.8 以上では 3~5 日ぐらいで増殖がみられ、かなりの pH 下降をもたらすことが確認できた。これらの結果は pH 低下にもとづく生育の弱体化に、非解離型分子量の増加によるソルビン酸の抑制効果の高まりが加わってもたらすものと考え得る。実際のしょう油きざみ漬においても、pH が 4.6 以下であれば許可量 (1/1000) のソルビン酸で酸敗原因菌の完全抑制が可能

第2図 培地 pH とソルビン酸の効力(2) (*L. plantarum*, R-1)

と思われる。

要 約

しょう油きざみ漬保存中の乳酸菌の増殖にもとづく pH 下降（酸敗とよばれる）はソルビン酸の使用許可量内の添加のみでは防止が困難と考えられたので、漬汁の食塩濃度、pH を変えてソルビン酸の併用と相まって酸敗原因菌の完全抑制ができるかを試験した。

1) 漬汁の標準組成を食塩 10%, pH 5.0 とすれば許可量 (1/1000) のソルビン酸添加でなお増殖、生酸が完全に抑制できない菌株は *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus faecalis* の 1 部, *Micrococcus varians* であり, *Streptococcus faecalis*, *Micrococcus varians* は食塩濃度を 12% 以上とすれば目的を達し得るが品質上実用性はない。

2) pH を 4.6 以下に下げれば食塩濃度を高めなくても許可量のソルビン酸で酸敗は阻止できる。

おわりに終始御鞭撻を賜った鳥山所長、ならびにソルビン酸の恵与をいただいた台糖ファイザー株式会社、また本研究の遂行を御支援下さった愛知県漬物協会に感謝する。

本研究の概要は本会大会研究発表会（1965 年 4 月 13 日）において口演した。

文 献

- 1) 好井久雄・加藤 照：食品工誌，13，(4) 133

-
- (1966).
- 2) 伊藤 寛・海老根英雄・小坂正吉: 食糧研, **18**, 28 (1964); 伊藤 寛: 醸協, **58**, 1159 (1963).
- 3) EMARD, L.O., et al.: *J. Bacteriol.*, **63**, 487 (1952).
- 4) 野本正雄: 農化, **29**, 805 (1955); 農産技研誌, **2**, (3), 109 (1955).
- 5) BELL, T.A., et al.: *J. Bacteriol.*, **77**, 573 (1959).
- 6) 加藤 熙・好井久雄: 醗酵工学, **43**, 814, 822 (1965).
- (1965 年 11 月 5 日受理)
-