

# 非破壊微生物活性計測システム

## 主要文献集

特定非営利活動法人 けいはんな文化学術協会 微生物計測システム研究所

非破壊微生物活性計測システム Antares R モデル に関連した研究発表論文等を集録しました。分野別に整理していますが、複数の分野にまたがるものについては重複して記載しています。どうぞご利用下さい。（以下の配列になっています）

[ ] 分野別文献 (A) ~ (P) (但し、学会発表を含む)

- (A) 原理方法・一般微生物学
- (B) 抗微生物薬剤
- (C) 静菌効果・殺菌効果・静殺菌指数
- (D) 食品(醗酵・醸造)
- (E) 食品(腐敗・防腐剤効果)
- (F) 予測食品微生物学
- (G) 化粧品と防腐処方の研究
- (H) 土壌環境と重金属・農薬汚染
- (I) 生ごみ処理
- (J) 廃水処理・土壌レメディエーション
- (K) ふすま、個体培地、担体培養
- (L) 寒天平板培養
- (M) ガンマー線・電子線・高電圧パルス
- (N) 共培養系
- (O) 変異体
- (P) その他

[ ] 総説・解説・技術等 (R-1 ~ R-11)

[ ] 学位論文 (PHDIS-1 ~ PHDIS-3)

お問い合わせ連絡先  
〒619-0237 京都府相楽郡精華町光台1-7  
けいはんなプラザ・ラボ棟 2F  
けいはんな文化学術協会  
Tel/Fax: 0774-95-5110  
E-mail: antares@kvc.keihanna.ne.jp  
同研究所 同3F  
Tel/Fax: 0774-95-5184  
E-mail: ktakahas@h5.dion.ne.jp  
<http://www3.kcn.ne.jp/~kvc>

## [ ] 分野別文献 (A) ~ (P) (学会発表を含む)

### (A) 原理方法・一般微生物学

#### A-110 熱測定を用いた微生物増殖活性の定量的解析 ゴンペルツ式を用いた方法の開発 (学会発表)

坂宮章世、苅田修一、三宅英雄、田中晶善、(三重大学大学院 生物資源学研究科)

高橋克忠(けいはんな文化学会 微生物計測システム研究所)

日本防菌防黴学会第34回年次大会(2007.8.大阪)

#### A-109 カートリッジタイプ非破壊微生物活性計測装置の開発(学会発表)

堀口尚男、高橋克忠(けいはんな文化学会 微生物計測システム研究所)

日本防菌防黴学会第34回年次大会(2007.8.大阪)

#### A-108 共培養系生育特性の解析 - 酵母と乳酸菌の場合 - (学会発表)

岸田 正夫、井上 竜一、川崎 東彦(大阪府立大学大学院 生命環境科学研究科)

堀口 尚男、高橋 克忠(けいはんな文化学会 微生物計測システム研究所)

日本防菌防黴学会第33回年次大会(2006.5.)

【概要】酵母と乳酸菌の共培養系を事例として、こうした複数の微生物種が共存する系の生育特性を熱測定法を手段として解析するための方法論の開発を目的とした研究実験。生育が相互に影響し合うことが、培地のpHを変えることにより計測シグナルから確認された。低いpHでは酵母の生育に由来するパターンのみ観測されるが、pHが6付近では生育パターンが2段階になった。また、酵母に対する乳酸菌の接種量の割合を高くすることにより、この生育パターンの2段階性がより明瞭になった。この他の結果と合わせ、本方法が共培養系の定量的解析に有用な手段になると結論した。

#### A-107 環境汚染物質の生態影響評価システム(学会発表)

堀口尚男、高橋克忠(けいはんな文化学会 微生物計測システム研究所)

日本防菌防黴学会第32回年次大会(2005.5.)

#### A-106 A Novel System *Antares 0201* To determine Non-destructively and Non-invasively The Microbial Growth Activity (セミナー講演)

Katsutada Takahashi, 米国中西部バイオミッション(70名)に対する講演 JETRO 主催  
京都リサーチパーク(2003.10.24.)

#### A-105 Calorimetric Analysis of Antimicrobial Effect of *p*-Hydroxybenzoic Acid Alkyl Esters

F. Okada, A. Kobayashi, N. Fujiwara, N. Arimoto, K. Takahashi, *Biocontrol Science*, **4**, 67-73 (1999)

パラベン類(*p*-ヒドロキシ安息香酸アルキル・エステル)の *S. cerevisiae* ならびに *K.*

*pneumoniae* に対する作用を熱測定法で解析した。50%増殖活性抑制濃度を指標として、ギブズの式の基づき微生物細胞に対する親和力を求めたところ、いずれの菌種にあってもアルキル鎖炭素数が増加するに伴い、直線的に増大することを明らかにした。また、アルキル基そのものの細胞に対する親和力は、メチレン基当り *K. pneumoniae* が 1.1 kJ、*S. cerevisiae* が 2.1kJ と得られ、後者の方が約 2 倍強いことが明らかとなった。

#### A-104 防菌防黴剤試験のための熱測定解析理論

奥田幸子、高橋克忠、新田康則、深田はるみ、中尾英和、切畑光統 日本防菌防黴学会誌 24, 397-405 (1996)

防菌防黴剤の抗微生物作用を熱測定の手法で定量的に解析するための理論的背景を解説した。

#### A-103 防菌防黴剤試験のための非破壊微生物活性解析システムの開発

高橋克忠 日本防菌防黴学会誌 24, 313-320 (1996)

熱測定法を利用して、防菌防黴剤の抗微生物作用を定量化するシステムならびに方法論を様々な試料系での測定例とともに示した。

#### A-102 酵母に対するエタノールの増殖抑制効果の定量的解析とその理論的背景

O. A. Antoce, V. Antoce, 高橋克忠、新田康則、深田はるみ、川崎東彦、熱測定 23, 45-52 (1996)

エタノールが示す酵母の増殖抑制効果の観測を事例として、熱測定法で抗微生物作用を解析する理論を示した。

#### A-101 Application of Calorimetry to the Study of Ethanol Tolerance of Some Yeast Strains

O-A. Antoce, N. Pomohachi, V. Antoce, H. Fukada, K. Takahashi, H. Kawasaki, N. Amano, T. Amachi, *Biocontrol Science*, 1, 3-10 (1996)

ワイン醸造の立場から酵母のエタノール耐性を把握するために熱測定を応用した実験研究で、原理・方法論、解析法から定量的な結果にいたるまでを総論的に報告している。日本防菌防黴学会の欧文誌 *Biocontrol Science* の発刊第 1 号の論文。

### (B) 抗微生物薬剤

#### B-115 Evaluation of the Growth Activity of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* Colonies on Solid Medium Using Microbial Calorimetry,

K. Koga, Y. Nishizawa, Y. Matsumoto, T. Hara, K. Takahashi, *Biocontrol Science*, 9, 21-28 (2004)

従来の寒天培地コロニー計測法と熱測定法を並行実施して、両者の関係を比較したものの。実験は *E. coli* ならびに *S. aureus* を試験菌として、LBA 培地で培養したもので、コロニーが

視認できるのは培養開始後 15~25 時間経過してからであるのに対し、熱生成では 10 時間までです。すでに観測されること、対数増殖と見做されるのは植菌後 8.5~13.5 時間の範囲であること、熱生成曲線から、増殖速度定数（単位時間当たりの菌体の増加率 = 一般の化学反応における反応速度定数に当たる）が最大 10%の偏差で求められることを示した。また、食塩ならびにクマザザ抽出物の抗カビ作用を熱測定法で解析し、その効果を 50%阻害濃度、100%阻害濃度であらわした。

#### **B-114 Calorimetric Study of the Antimicrobial Action of Various Polyols Used for Cosmetics and Toiletries**

A. Aono, K. Takahashi, N. Mori, H. Shimizu, A. Kobayashi, N. Fujiwara, F. Okada, *Netsu Sokutei*, **26**, 2-6 (1999).

保湿剤、乳化安定剤などの目的で各種化粧品に添加される C1 から C5 の 8 種のポリオール類の抗微生物作用を *E. coli*, *S. cerevisiae*, *Asp. niger* を対象に、活性と構造の関係を解析した。

#### **B-113 Calorimetric Analysis of Antimicrobial Effect of *p*-Hydroxybenzoic Acid Alkyl Esters**

F. Okada, A. Kobayashi, N. Fujiwara, N. Arimoto, K. Takahashi, *Biocontrol Science*, **4**, 67-73 (1999)

パラベン類（*p*-ヒドロキシ安息香酸アルキル・エステル）の *S. cerevisiae* ならびに *K. pneumoniae* に対する作用を熱測定法で解析した。50%増殖活性抑制濃度を指標として、ギブズの式の基づき微生物細胞に対する親和力を求めたところ、いずれの菌種にあってもアルキル鎖炭素数が増加するに伴い、直線的に増大することを明らかにした。また、アルキル基そのものの細胞に対する親和力は、メチレン基当り *K. pneumoniae* が 1.1 kJ、*S. cerevisiae* が 2.1kJ と得られ、後者の方が約 2 倍強いことが明らかとなった。

#### **B-112 Calorimetric Evaluation of the Antimicrobial Properties of 1,3-butanediol and 1,2-pentanediol on Various Microorganisms**

O-A. Antoce, V. Antoce, N. Mori, S. Yasui, A. Kobayashi, K. Takahashi, *Netsu Sokutei*, **25**, 2-8 (1998)

熱測定法により、1,3-ブタンジオールおよび 1,2-ペンタンジオールの *E. coli*, *S. aureus*, *MRSA*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*, *Asp. niger* に対する増殖抑制効果を解析し、50% 抑制濃度、100% 抑制濃度を示した。

#### **B-111 Inhibitory Effect of Decanoic Acid on Yeast Growth at Various pHs and Ethanol Concentrations**

O-A. Antoce, V. Antoce, N. Pomohachi, I. Namolosanu, K. Takahashi, *Biocontrol Science*, **3**, 7-15 (1998)

酵母増殖に対する種々の pH ならびに種々の共存エタノール濃度でのデカン酸の阻害効果

を 50% 阻害濃度、100% 阻害濃度を指標として詳細に解析した。

**B-110 Microbial Calorimetry of Supported Cultures and Its Application to the Study of Antimicrobial Action**

F. Okada, A. Kobayashi, N. Fujiwara, K. Takahashi, *Biocontrol Science*, **3**, 79-85 (1998)

固体・液体・気体が混在する微生物の担体培養系を熱測定法で計測する方法論を示し、ウレタンフォームを担体とする培養系で抗微生物薬剤の作用を解析した事例を示した。

**B-109 Quantitative Study of Yeast Growth in the Presence of Added Ethanol and Methanol Using a Calorimetric Approach**

O-A. Antoce, V. Antoce, K. Takahashi, H. Kawasaki, F. Yoshizako, *Biosci. Biotech. Biochem.*, **61**, 664-669 (1997)

ワイン醸造においてエタノール以外に種々のアルコール、有機酸が生成する。このことからそれらが酵母の培養に与える影響を解析するため、種々の濃度でエタノールならびにメタノールが培地中に含まれる系での酵母の増殖活性を熱測定法で解析した。また、生成したエタノール量と酵母の生育量が比例することも示した。

**B-108 A Calorimetric Method Applied to the Study of Yeast Growth Inhibition by Alcohols and Organic Acids**

O-A. Antoce, V. Antoce, K. Takahashi, N. Pomohaci, I. Namolosanu, *Amer. J. Enol. Vitic.* **48**, 413-422 (1997)

C1 ~ C4 の *n*-アルコールならびに C2、C4、C6、C8、C10 の飽和有機酸が酵母の増殖におよぼす阻害効果を熱測定法で 50% 阻害濃度、100% 阻害濃度を指標として詳細に解析した。さらに、有機酸とアルコールの相加作用、相乗作用についても論じた。

**B-107 Calorimetric Study of Yeast Growth and Its Inhibition by Added Ethanol at Various pHs and Temperatures**

O-A. Antoce, V. Antoce, K. Takahashi, *Netsu Sokutei*, **24**, 206-213 (1997)

*S. cerevisiae*, *S. pombe*, *K. marxianus*, *C. utilis* について培地に加えたエタノールの影響を種々の pH ならびに温度のもとで解析し、50% 抑制濃度、100% 抑制濃度を示した。

**B-106 Calorimetric determination of the Inhibitory Effect of C1 – C4 *n*-Alcohols on Growth of Some Yeast Species**

O-A. Antoce, V. Antoce, K. Takahashi, N. Pomohachi, I. Namolosanu, *Thermchim. Acta*, **297**, 33-42 (1997)

9 種類の酵母の増殖に対して、メタノールからブタノールに至るまでの炭素鎖 C1 ~ C4 の *n*-アルコールの増殖阻害作用を詳細に検討した。炭素鎖が長くなると 50% 阻害濃度、100%

阻害濃度とも低くなるが、その程度は酵母の種類により大きく異なることも明らかにした。

**B-105 Application of Calorimetry to the Study of Ethanol Tolerance of Some Yeast Strains**

O-A. Antoce, N. Pomohachi, V. Antoce, H. Fukada, K. Takahashi, H. Kawasaki, N. Amano, T. Amachi, *Biocontrol Science*, **1**, 3-10 (1996)

ワイン醸造の立場から酵母のエタノール耐性を把握するために熱測定を応用した実験研究で、原理・方法論、解析法から定量的な結果にいたるまでを総論的に報告している。日本防菌防黴学会の欧文誌 *Biocontrol Science* の発刊第1号の論文。

**B-104 ホウ素化合物の酵母に対する増殖抑制効果の熱測定解析**

奥田幸子、高橋克忠、深田はるみ、新田康則、中尾英和、切畑光統、日本防菌防黴学会誌 **24**, 649-655 (1996)

三種のホウ素化合物の抗微生物作用を定量的に解析し、フェニル基を導入することで著しく抗微生物作用が上昇するが、さらにメチル基を導入することでその作用が軽減されることを50%阻害濃度ならびに100%阻害濃度を指標として示した。

**B-103 酵母に対するエタノールの増殖抑制効果の定量的解析とその理論的背景**

O. A. Antoce, V. Antoce, 高橋克忠、新田康則、深田はるみ、川崎東彦、熱測定 **23**, 45-52 (1996)

エタノールが示す酵母の増殖抑制効果の観測を事例として、熱測定法で抗微生物作用を解析する理論を示した。

**B-102 Calorimetric Analysis of the Effect of Penicillin G, Ampicillin and Polymyxin B on the Growth of *Escherichia coli***

A. Katarao, H. Okuno, K. Takahashi, *Agric. Biol. Chem.*, **52**, 2279-2285(1988)

**B-101 Calorimetric Analysis of the Effect of Streptomycin, Tetracycline and Chloramphenicol on the Growth of *Escherichia coli***

A. Katarao, T. Mune, K. Takahashi, *Agric. Biol. Chem.*, **51**, 2443-2449(1987)

**(C) 静菌効果・殺菌効果・静殺菌指数**

**C-103 Some Theoretical Considerations on Calorimetrically Determined Bactericidalities of Antimicrobial Drugs and Its Concentration Dependence**

S. Wirkner, K. Takahashi, *Netsu Sokutei*, **27**, 179-185 (2000)

熱測定法でしか得られない抗微生物剤の静菌効果、殺菌効果の指標（静殺菌指数）を理論的に考察し、殺菌性が濃度に依存して変化することを計算によって示した。

### C-102 Calorimetric Characterization of the Inhibitory Action of Antimicrobial Drugs and a Proposal of Bacteriostatic / Bactericidal Index

K. Takahashi, *Netsu Sokutei*, **27**, 170-178 (2000)

従来、定性的でしかなかった抗微生物薬剤の静菌効果ならびに殺菌効果を理論的な立場から定量的に論じ、特定の薬剤についてその作用がどの程度静菌的に作用するか、あるいは殺菌的に作用するかを示す「静殺菌指数」という概念を提唱し、これを14種類の薬剤について示した。

### C-101 Bacteriostatic and Bactericidal Actions of Antimicrobial Drugs Studied by Microbial Calorimetry

F. Okada, A. Kobayashi, N. Fujiwara, K. Takahashi, *Biocontrol Science*, **4**, 35-39 (1999)

化粧品の防腐処理のために配合されてきたパラベン類ならびに Imidazolidinyl Urea, Quaternium 15 につて、その作用を *K. pneumoniae* を被検菌として解析し、三種の薬剤の作用の違いを静菌作用、殺菌作用の立場から論じた。

### (D) 食品(醗酵・醸造)

#### D-110 増殖途上におけるカビ増殖速度の変化 ふすま培地上での *Aspergillus* の増殖の場合 (学会発表)

堀口尚男、高橋克忠(けいはんな文化学術協会 微生物計測システム研究所)  
橋本忠明、真岸範浩、中田佳幸(ヒガシマル醤油研究所)  
日本防菌防黴学会第32回年次大会(2005.5.)

#### D-109 醤油麹菌の非破壊的生育解析について:ミクロカロリーメトリー法の利用(学会発表)

橋本忠明、真岸範浩、中田佳幸(ヒガシマル醤油株式会社 研究所)  
堀口尚男、高橋克忠(けいはんな文化学術協会 微生物計測システム研究所)  
日本生物工学会(2004.10.名古屋)

#### 【概要】

醤油麹等固体培地上の麹菌の生育解析は、その方法の多くが高温塩酸分解<sup>1,2)</sup>あるいは酵素分解<sup>3,4)</sup>を伴う非常に煩雑な方法により行なわれている。さらに、前者の場合、菌体量を間接的な物質を指標として推定しているため、正確な解析が行なわれているとは言い難い。

さらに、これらの方法はいうまでもなく破壊的であるため、同一サンプルを連続的な条件下で解析を行なうことは不可能である。

これに対し熱測定能法は、微生物の増殖に関する情報を非破壊的かつ連続的なデジタルデータとしての取得が可能であることから、非常に緻密な生育解析が期待できる。

供試菌として *Asp.oryzae*、*Asp.sojae* を主に用い、まず液体培地で培養したときの熱生成を観測するとともに、それと乾燥菌体重量との間に相関係数 0.98 以上の高い相関のあることを

見出した。次いで小麦フスマの固体培地を用いた培養を熱測定法で観測した。非常に再現性の良い装置シグナルが得られる、これをもとに菌体の増殖速度定数（単位時間あたりの菌体増加率）を求めた。また、シグナルが対数増殖期相当期間に再現性のあるシヨルダーが認められることも明らかにした。

**D-108 Quantitative Study of the Synergistic Effect of Potassium Sorbate and Ethanol in Inhibiting Yeast Growth**

O.-A. Antoce, I. Namolosanu, K. Takahashi, *Proceedings of 26th World Congress of OIV*, pp.331-338(2001)

**D-107 Inhibitory Effect of Decanoic Acid on Yeast Growth at Various pHs and Ethanol Concentrations**

O-A. Antoce, V. Antoce, N. Pomohachi, I. Namolosanu, K. Takahashi, *Biocontrol Science*, **3**, 7-15 (1998)

酵母増殖に対する種々の pH ならびに種々の共存エタノール濃度でのデカン酸の阻害効果を 50% 阻害濃度、100% 阻害濃度を指標として詳細に解析した。

**D-106 Quantitative Study of Yeast Growth in the Presence of Added Ethanol and Methanol Using a Calorimetric Approach**

O-A. Antoce, V. Antoce, K. Takahashi, H. Kawasaki, F. Yoshizako, *Biosci. Biotech. Biochem.*, **61**, 664-669 (1997)

ワイン醸造においてエタノール以外に種々のアルコール、有機酸が生成する。このことからそれらが酵母の培養に与える影響を解析するため、種々の濃度でエタノールならびにメタノールが培地中に含まれる系での酵母の増殖活性を熱測定法で解析した。また、生成したエタノール量と酵母の生育量が比例することも示した。

**D-105 A Calorimetric Method Applied to the Study of Yeast Growth Inhibition by Alcohols and Organic Acids**

O-A. Antoce, V. Antoce, K. Takahashi, N. Pomohaci, I. Namolosanu, *Amer. J. Enol. Vitic.* **48**, 413-422 (1997)

C1 ~ C4 の *n*-アルコールならびに C2、C4、C6、C8、C10 の飽和有機酸が酵母の増殖におよぼす阻害効果を熱測定法で 50% 阻害濃度、100% 阻害濃度を指標として詳細に解析した。さらに、有機酸とアルコールの相加作用、相乗作用についても論じた。

**D-104 Calorimetric Study of Yeast Growth and Its Inhibition by Added Ethanol at Various pHs and Temperatures**

O-A. Antoce, V. Antoce, K. Takahashi, *Netsu Sokutei*, **24**, 206-213 (1997)

*S. cerevisiae*, *S. pombe*, *K. marxianus*, *C. utilis* について培地に加えたエタノールの影響を種々の pH ならびに温度のもとで解析し、50% 抑制濃度、100%抑制濃度を示した。

**D-103 Calorimetric determination of the Inhibitory Effect of C1 – C4 n-Alcohols on Growth of Some Yeast Species**

O-A.Antoce, V.Antoce, K Takahashi, N.Pomohachi, I.Namolosanu, *Thermchim. Acta*, **297**, 33-42 (1997)

9種類の酵母の増殖に対して、メタノールからブタノールに至るまでの炭素鎖 C1~C4 の n-アルコールの増殖阻害作用を詳細に検討した。炭素鎖が長くなると 50%阻害濃度、100%阻害濃度とも低くなるが、その程度は酵母の種類により大きく異なることも明らかにした。

**D-102 Application of Calorimetry to the Study of Ethanol Tolerance of Some Yeast Strains**

O-A. Antoce, N. Pomohachi, V.Antoce, H. Fukada, K.Takahashi, H. Kawasaki, N. Amano, T. Amachi, *Biocontrol Science*, **1**, 3-10 (1996)

ワイン醸造の立場から酵母のエタノール耐性を把握するために熱測定を応用した実験研究で、原理・方法論、解析法から定量的な結果にいたるまでを総論的に報告している。日本防菌防黴学会の欧文誌 *Biocontrol Science* の発刊第1号の論文。

**D-101 酵母に対するエタノールの増殖抑制効果の定量的解析とその理論的背景**

O A.Antoce, V.Antoce, 高橋克忠、新田康則、深田はるみ、川崎東彦、熱測定 **23**, 45-52 (1996)

エタノールが示す酵母の増殖抑制効果の観測を事例として、熱測定法で抗微生物作用を解析する理論を示した。

**(E) 食品(腐敗・防腐剤効果)**

**E-110 熱測定を用いた微生物増殖活性の定量的解析 ゴンペルツ式を用いた方法の開発(学会発表)**

坂宮章世、苅田修一、三宅英雄、田中晶善、(三重大学大学院 生物資源学研究科)

高橋克忠(けいはんな文化学術協会 微生物計測システム研究所)

日本防菌防黴学会第34回年次大会(2007.8.大阪)

**E-109 熱測定法による食塩の防腐効果の定量的解析**

田中晶善、坂宮智樹、栗冠真紀子、三宅英雄、深田はるみ、妹尾孝史、栗冠和郎、高橋克忠 *日本海水学会誌* **60**, 132-136 (2006)

アサリ、ハマグリ、豆乳、おから、豚肉、マグロ、テンペを対象にそれらの腐敗が熱測定法で定量的に把握できることを示すとともに、アサリについて添加した食塩の防腐効果を腐敗速度、50%腐敗抑制濃度、100%腐敗抑制濃度を指標として数値解析(回帰分析)の手法

で明らかにした。

**E-108 増殖途上におけるカビ増殖速度の変化 ふすま培地上での *Aspergillus* の増殖の場合 (学会発表)**

堀口尚男、高橋克忠 (けいはんな文化学術協会 微生物計測システム研究所)  
橋本忠明、真岸範浩、中田佳幸 (ヒガシマル醤油研究所)  
日本防菌防黴学会第 32 回年次大会 (2005.5.)

**R-7 Quantitative Evaluation of Food Putrefaction**

Katsutada Takahashi, "Comprehensive Handbook of Calorimetry & Thermal Analysis", ed. By S.Sorai, John Wiley & Sons, Ltd. pp.487-489 (2004)

食品の腐敗と防腐剤の効果の熱測定解析法を簡単に解説したもの。

**E-107 Quantitative Study of The Synergistic Effect of Potassium Sorbate and Ethanol Performed in View of "Predictive Food Microbiology"**

O-A. Antoce, I. Namolosanu

(University of Agronomical Sciences and Veterinary Medicine in Bucharest)

K. Takahashi ( The Keihanna Academy of Science, Biophysical Chemistry Laboratory )

予測食品微生物学インフォーマル国際ワークショップ 東京都衛生研究所 (2003.11.5)

【概要】 ワインの保蔵を念頭におき、酵母に対する保存剤ソルビン酸カリの増殖抑制効果をエタノールの存在下で熱測定法により解析した。ソルビン酸カリとエタノールの作用には相乗効果のあることが認められた。ソルビン酸カリのプロトン解離定数を利用して、計測結果をもとに、酵母に対する増殖抑制効果を pH ならびにエタノール濃度の関数として表わす数式を導いた。これをもとに、ワインの保存剤として、現在 01V により決められているソルビン酸カリの添加量が、エタノールとの相乗効果のため、かなり軽減できると結論した。

**R-5 食品腐敗の定量的計測**

高橋克忠 “最新熱測定”、八田一郎編 アグネ技術センター刊 pp.61-70 (2003)

食品の腐敗ならびに防腐剤の効果の熱測定解析法を簡単に解説したもの。

**R-4 ミクロカロリーメトリー**

高橋克忠 “食品微生物の簡易迅速測定法はここまで変わった!”、pp.175-183、伊藤 武・佐藤 順編 サイエンス・フォーラム社 (2002.11)

ミクロカロリーメトリー (熱測定法) が食品を対象に、非破壊的な立場で食品の腐敗ならびに防腐処方の定量的評価ができることと、それをういて予測食品微生物学に展開させることを紹介した。

**E-106 Inhibitory Effect of Decanoic Acid on Yeast Growth at Various pHs and Ethanol Concentrations**

O-A. Antoce, V. Antoce, N. Pomohachi, I. Namolosanu, K. Takahashi, *Biocontrol Science*, **3**, 7-15 (1998)

酵母増殖に対する種々の pH ならびに種々の共存エタノール濃度でのデカン酸の阻害効果を 50% 阻害濃度、100% 阻害濃度を指標として詳細に解析した。

**E-105 Quantitative Study of Yeast Growth in the Presence of Added Ethanol and Methanol Using a Calorimetric Approach**

O-A. Antoce, V. Antoce, K. Takahashi, H. Kawasaki, F. Yoshizako, *Biosci. Biotech. Biochem.*, **61**, 664-669 (1997)

ワイン醸造においてエタノール以外に種々のアルコール、有機酸が生成する。これらの代謝産物の酵母に対する影響を熱測定法を用いて詳細に解析した。

**E-104 A Calorimetric Method Applied to the Study of Yeast Growth Inhibition by Alcohols and Organic Acids**

O-A. Antoce, V. Antoce, K. Takahashi, N. Pomohaci, I. Namolosanu, *Amer. J. Enol. Vitic.* **48**, 413-422 (1997)

C1 ~ C4 の *n*-アルコールならびに C2、C4、C6、C8、C10 の飽和有機酸が酵母の増殖におよぼす阻害効果を熱測定法で 50% 阻害濃度、100% 阻害濃度を指標として詳細に解析した。さらに、有機酸とアルコールの相加作用、相乗作用についても論じた。

**E-103 Calorimetric determination of the Inhibitory Effect of C1 – C4 *n*-Alcohols on Growth of Some Yeast Species**

O-A. Antoce, V. Antoce, K. Takahashi, N. Pomohachi, I. Namolosanu, *Thermchim. Acta*, **297**, 33-42 (1997)

9 種類の酵母の増殖に対して、メタノールからブタノールに至るまでの炭素鎖 C1 ~ C4 の *n*-アルコールの増殖阻害作用を詳細に検討した。炭素鎖が長くなると 50% 阻害濃度、100% 阻害濃度とも低くなるが、その程度は酵母の種類により大きく異なることも明らかにした。

**E-102 F-101 熱測定法による煮豆の腐敗に対する防腐剤効果の定量的評価**

河本由香、有本直子、高橋克忠、川崎東彦、日本防菌防黴学会誌、**24**, 321-327 (1996)

煮豆を対象として、防腐剤の添加量と腐敗速度の関係を解析したもの。煮豆のような不均一な食品であっても、問題なくしかも精密に食品の腐敗のし易さならびに防腐処理の効果を評価できることを示した。

### **E-101 Application of Calorimetry to the Study of Ethanol Tolerance of Some Yeast Strains**

O-A. Antocea, N. Pomohachi, V. Antocea, H. Fukada, K. Takahashi, H. Kawasaki, N. Amano, T. Amachi, *Biocontrol Science*, **1**, 3-10 (1996)

ワイン醸造の立場から酵母のエタノール耐性を把握するために熱測定を応用した実験研究で、原理・方法論、解析法から定量的な結果にいたるまでを総論的に報告している。日本防菌防黴学会の欧文誌 *Biocontrol Science* の発刊第1号の論文。

### **(F) 予測食品微生物学**

#### **F-105 熱測定を用いた微生物増殖活性の定量的解析 ゴンペルツ式を用いた方法の開発 (学会発表)**

坂宮章世、苅田修一、三宅英雄、田中晶善、(三重大学大学院 生物資源学研究科)

高橋克忠(けいはんな文化学術協会 微生物計測システム研究所)

日本防菌防黴学会第34回年次大会(2007.8.大阪)

#### **F-104 熱測定法による食塩の防腐効果の定量的解析**

田中晶善、坂宮智樹、栗冠真紀子、三宅英雄、深田はるみ、妹尾孝史、栗冠和郎、高橋克忠 *日本海水学会誌* **60**, 132-136 (2006)

アサリ、ハマグリ、豆乳、おから、豚肉、マグロ、テンペを対象にそれらの腐敗が熱測定法で定量的に把握できることを示すとともに、アサリについて添加した食塩の防腐効果を腐敗速度、50%腐敗抑制濃度、100%腐敗抑制濃度を指標として数値解析(回帰分析)の手法で明らかにした。

#### **F-103 Quantitative Study of The Synergistic Effect of Potassium Sorbate and Ethanol Performed in View of "Predictive Food Microbiology" (ワークショップ講演)**

O-A. Antocea, I. Namolosanu

(University of Agronomical Sciences and Veterinary Medicine in Bucharest)

K. Takahashi (The Keihanna Academy of Science, Biophysical Chemistry Laboratory)

予測食品微生物学インフォーマル国際ワークショップ 東京衛生試験所 (2003.11.5)

【概要】 ワインの保蔵を念頭におき、酵母に対する保存剤ソルビン酸カリの増殖抑制効果をエタノールの存在下で熱測定法により解析した。ソルビン酸カリとエタノールの作用には相乗効果のあることが認められた。ソルビン酸カリのプロトン解離定数を利用して、計測結果をもとに、酵母に対する増殖抑制効果を pH ならびにエタノール濃度の関数として表わす数式を導いた。これをもとに、ワインの保存剤として、現在 OIV により決められているソルビン酸カリの添加量が、エタノールとの相乗効果のため、かなり軽減できると結論した。

### **R-7 Quantitative Evaluation of Food Putrefaction**

Katsutada Takahashi, "Comprehensive Handbook of Calorimetry & Thermal Analysis", ed. By S.Sorai, John Wiley & Sons, Ltd. pp.487-489 (2004)

食品の腐敗と防腐剤の効果の熱測定解析法を簡単に解説したもの。

### **R-6 食品関連企業がいまや避けて通れない「予測食品微生物学」**

高橋克忠 M & Tきょうと 京都府中小企業総合センター No.1002, 10, pp.6-7(2004)

著者の開発した方法をもとに予測食品微生物学の重要性を解説したもの。

### **R-5 食品腐敗の定量的計測**

高橋克忠 “最新熱測定”、八田一郎編 アグネ技術センター刊 pp.61-70 (2003)

食品の腐敗ならびに防腐剤の効果の熱測定解析法を簡単に解説したもの。

### **R-4 ミクロカロリーメトリー**

高橋克忠 “食品微生物の簡易迅速測定法はここまで変わった!”、pp.175-183、伊藤武・佐藤 順編 サイエンス・フォーラム社 (2002.11)

ミクロカロリーメトリー(熱測定法)が食品を対象に、非破壊的な立場で食品の腐敗ならびに防腐処方の定量的評価ができることと、それをういて予測食品微生物学に展開させることを紹介した。

### **F-102 Quantitative Study of the Synergistic Effect of Potassium Sorbate and Ethanol in Inhibiting Yeast Growth(学会発表)**

O.-A. Antoce, I. Namolosanu, K. Takahashi, *Proceedings of 26th World Congress of OIV*, pp.331-338(2001)

### **R-3 食品腐敗の非破壊計測とその予測手法への応用の試み**

高橋克忠 日本防菌防黴学会誌 28, 635-642 (2000)

日本防菌防黴学会誌の特集「明日の食品の安全性を確かなものにする予測微生物学への期待 - 豊かで安心な食生活のために」の中で、熱測定法が食品の腐敗を非破壊的立場で定量化することのできる優れた手段であることを示し、それが予測食品微生物学の発展に大きく寄与することを解説した。

### **R-2 食品丸ごとの腐敗計測と予測食品微生物学**

高橋克忠 食品工業 43, 18-28.(1999)

これまで適切な方法論のなかった食品の腐敗過程の把握が熱測定法で可能なことを示し、さらにそれを予測食品微生物学に応用できることを解説した。

#### **F-101 熱測定法による煮豆の腐敗に対する防腐剤効果の定量的評価**

河本由香、有本直子、高橋克忠、川崎東彦、日本防菌防黴学会誌、**24**, 321-327 (1996)  
煮豆を対象として、防腐剤の添加量と腐敗速度の関係を解析したもの。煮豆のような不均一な食品であっても、問題なくしかも精密に食品の腐敗のし易さならびに防腐処理の効果を評価できることを示した。

#### **(G) 化粧品と防腐処方の研究**

##### **G-109 Bacteriostatic and Bactericidal Actions of Antimicrobial Drugs Studied by Microbial Calorimetry**

F. Okada, A. Kobayashi, N. Fujiwara, K. Takahashi, *Biocontrol Science*, **4**, pp.35-39 (1999)  
化粧品の防腐処理のために配合されてきたパラベン類ならびに Imidazolidinyl Urea, Quaternium 15 につて、その作用を *K. pneumoniae* を被検菌として解析し、三種の薬剤の作用の違いを静菌作用、殺菌作用の立場から論じた。

##### **G-108 Calorimetric Analysis of Antimicrobial Effect of *p*-Hydroxybenzoic Acid Alkyl Esters**

F. Okada, A. Kobayashi, N. Fujiwara, N. Arimoto, K. Takahashi, *Biocontrol Science*, **4**, pp.67-73 (1999)

##### **G-107 Calorimetric Study of the Antimicrobial Action of Various Polyols Used for Cosmetics and Toiletries**

A. Aono, K. Takahashi, N. Mori, H. Shimizu, A. Kobayashi, N. Fujiwara, F. Okada, *Netsu Sokutei*, **26**, pp.2-6 (1999).  
保湿剤、乳化安定剤などの目的で各種化粧品に添加される C1 から C5 の 8 種のポリオール類の抗微生物作用を *E. coli*, *S. cerevisiae*, *Asp. niger* を対象に、活性と構造の関係を解析した。

##### **G-106 Microbial Calorimetry of Supported Cultures and Its Application to the Study of Antimicrobial Action**

F. Okada, A. Kobayashi, N. Fujiwara, K. Takahashi, *Biocontrol Science*, **3**, pp.79-85 (1998)

#### **R-3 抗微生物薬における抗菌作用の定量的解析**

岡田文裕、熱測定 **28**, 132-137 (1998)  
熱測定法により抗微生物薬における薬剤作用を定量的に解析する方法を、パラヒドロキシ安息香酸アルキル・エステルを中心に解説した。

##### **G-105 Calorimetric Evaluation of the Antimicrobial Properties of 1,3-butanediol and 1,2-pentanediol on Various Microorganisms**

O-A.Antoce, V. Antoce, N. Mori, S. Yasui, A. Kobayashi, K. Takahashi, *Netsu Sokutei*, **25**, 2-8 (1998)

熱測定法により、1,3-ブタンジオールおよび1,2-ペンタンジオールの *E coli*, *S. aureus*, *MRSA*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*, *Asp. niger* に対する増殖抑制効果を解析し、50% 抑制濃度、100% 抑制濃度を示した。

#### **G-104 Quantitative Study about the Action of Preservatives by Microbial Calorimetry**

F. Okada, A. Kobayashi, N. Fujiwara, K. Matsuyama, K. Takahashi, *Proceedings of 2<sup>nd</sup> nd Scientific Conference of Asian Societies of Cosmetic Scientists, Seoul, Korea*, pp 626-637 (1996)

#### **G-103 Calorimetric Study on the Inhibitory Actions of *p*-Hydroxybenzoic Acid Esters against Microbial Cells**

F. Okada, A. Kobayashi, N. Fujiwara, K. Takahashi, *Proceedings of 14<sup>th</sup> IUPAC Conference on Chemical Thermodynamics, Japan*, p.364 (1996)

#### **G-102 微生物細胞の熱測定による化粧品防腐評価**

岡田文裕、藤原延規、松山金豊、高橋克忠 日本化粧品技術者会誌 **27**, 242-248 (1993)  
シャンプーやミルクローションなどの化粧品における防腐剤の効果を、*K.pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *C. parapsilosis*, *Paecikomyces sp.*, *Asp. oryzae* を対象に解析した。

#### **G-101 Preservative Evaluation of Cosmetics and Toiletries by Microbial Calorimetry**

F. Okada, N. Fujiwara, K. Matsuyama, K. Takahashi, *Proceedings of 17<sup>th</sup> International Federation Societies of Cosmetic Chemists, Yokohama, Japan*, pp.242-248 (1992) (学会発表)

### **(H) 土壌環境と重金属・農薬汚染**

#### **H-107 各種土壌微生物による有機物分解能に関する熱的研究**

古賀邦正、平岡伸一、金 英樹、萩原大輔、末廣康孝、坂本泰子、高橋克忠 熱測定 **28**, 54-61 (2005)

野菜畑、海岸、山地、茶畑などの土壌における有機物分解能を熱測定法で検討し、野菜畑、海岸土壌の有機物分解速度が非常に速いものに対して、茶畑のそれが遅いことを示した。このことを通して、熱測定法が高機能土壌の開発や有機物の有効利用法の開発に応用可能であることを論じた。

#### **H-106 環境汚染物質の生態影響評価システム (学会発表)**

堀口尚男、高橋克忠 (けいはんな文化学術協会 微生物計測システム研究所)  
日本防菌防黴学会第32回年次大会 (2005.5.)

#### **H-105 Evaluation of Growth Activity of Microbes in Tea Field Soil Using Microbial Calorimetry**

K. Koga, Y. Suehiro, S. Matsuoka, K. Takahashi, *J. Biosci. Bioeng.*, **95**, 429-434 (2003)

茶畑の土壌における微生物の増殖活性を微生物熱測定の手法で評価することを試みたもの。pH ならびに水分保持量との関係を観測すると同時に、有機肥料を施した場合の微生物活性が化学肥料を施した場合のそれに比べ約 1.2 倍高いことが示された。

#### **H-104 Microcalorimetry in The Assesment of Pesticide Effects on Soil Microorganisms**

H. Horiguchi, H. Isozaki, K. Takahashi, *Ann. Report Interdiscipl Res. Inst. Environ. Sci.* **16**, 41- 51 (1997).

農薬、特に oxadiazon、thiobencarb、DDVP、BPMC について、その土壌微生物活性への影響を熱測定法を用いて評価した結果の報告。土壌中での有機物の分解活性が 50%に抑制される農薬濃度を定量的に示した。

#### **H-103 重金属クロムが土壌生態系の有機物分解活性におよぼす影響の熱測定による解析**

磯崎博隆、高橋克忠、堀口尚男、河合文雄、金森政雄 環境科学総合研究所年報 **15**, 27-33 (1996)

3 価クロム(0~9000ppm)ならびに 6 価クロム(0~900ppm)を含むモデル汚染土壌を調製し、その中に有機物として酵母エキスを投入したときの分解速度を熱測定法で観測し、クロムの生態系への影響を 50%抑制濃度、100%抑制濃度を数値解析的に求めることにより、3 価ならびに 6 価クロムの生態毒性の違いを示した。

#### **H-102 微生物代謝熱計測法による土壌環境汚染物質の指標濃度の研究**

高橋克忠 環境科学総合研究所年報 **14**, 27-32 (1995)

土壌の役割を物質循環機能として位置づけ、それに有機物を投入したときの分解速度をその土壌の生態学的ポテンシャルとして定義することで、種々の環境汚染物質が生態系にどのように影響するかを熱測定法で定量的に評価する方法を提案したものである。除草剤グラモキソンならびに重金属 Zn をモデル環境汚染物質として測定した例を示した。

#### **H-101 Calorimetric Studies of Soil Microbes: Quantitative Relation between Heat Evolution during Microbial Degradation of Glucose and Changes in Microbial Activity in Soil**

T. Kimura, K. Takahashi, *J. Gen. Microbiol. (London)*, **131**, 3083-3089 (1985)

土壌中に投じたグルコースの分解量とその系で観測される熱生成量ならびに土壌微生物増殖量が比例することを定量的に示した実験。土壌微生物の活性を熱測定法で評価できることを論じた。

## ( I ) 生ごみ処理

### I-101 生ゴミ処理機の開発のための基礎実験(学会発表)

Y, Kariatsumari, K. Takahashi, *Proceedings of 14 th IUPAC Conference on Chemical Thermodynamics, Japan* (1996)

## ( J ) 廃水処理・土壌レメディエーション

### J-102 油汚染土壌のバイオレメディエーションを対象としたカロリーメトリーによる微生物活性評価(学会発表)

北村光太郎、宮林哲司 (日立プラント建設株式会社)

第 11 回 地下水・土壌汚染とその防止対策に関する研究集会、2005 年 6 月 16 日～18 日、千葉

### J-101 各種土壌微生物による有機物分解能に関する熱的研究

古賀邦正、平岡伸一、金 英樹、萩原大輔、末廣康孝、阪本泰子、高橋克忠 熱測定 28, 54-61 (2001)

## ( K ) ふすま、個体培地、担体培養

### K-105 増殖途上におけるカビ増殖速度の変化 ふすま培地上での *Aspergillus* の増殖の場合 (学会発表)

堀口尚男、高橋克忠 (けいはんな文化学術協会 微生物計測システム研究所)

橋本忠明、真岸範浩、中田佳幸 (ヒガシマル醤油研究所)

日本防菌防黴学会第 32 回年次大会 (2005.5.)

有用な微生物を工業的に利用する場合、株間の優劣をつけるために可能な限り高い精度でその増殖活性を評価する必要がある。しかし、既存の実験法では目的に合う精度で増殖活性を求めて比較することはなかなか困難である。本報告では、ふすまのような不均一な培地中で増殖するカビであっても精密に増殖速度を把握できる熱測定法を用い、糸状菌の増殖速度が培養途上でどのように変化するかを観測した結果について報告した。

培地としてふすまを計測バイアルにとり、カビ胞子の懸濁液を一定量添加した後、増殖にともなう装置シグナルを観測した。熱生成量が菌体重量に比例することを基本にして、増殖速度論の立場から速度定数を与える式を導き、増殖途上における増殖速度の変化を求めた。その結果、初期の段階で増殖速度は増大し、最大値に達した後、減少に転じてやがてゼロ (増殖の停止) に至る過程が明らかとなった。

#### K-104 醤油麹菌の非破壊的生育解析について：マイクロカロリメトリーの利用(学会発表)

橋本忠明、真岸範浩、中田佳幸（ヒガシマル醤油株式会社 研究所）

堀口尚男、高橋克忠（けいはんな文化学術協会 微生物計測システム研究所）

日本生物工学会(2004.10. 名古屋)

醤油麹等固体培地上の麹菌の生育解析は、その方法の多くが高温塩酸分解<sup>1,2)</sup>あるいは酵素分解<sup>3,4)</sup>を伴う非常に煩雑な方法により行なわれている。さらに、前者の場合、菌体量を間接的な物質を指標として推定しているため、正確な解析が行なわれているとは言い難い。さらに、これらの方法はいうまでもなく破壊的であるため、同一サンプルを連続的な条件下で解析を行なうことは不可能である。

これに対し熱測定能法は、微生物の増殖に関する情報を非破壊的かつ連続的なデジタルデータとしての取得が可能であることから、非常に緻密な生育解析が期待できる。

供試菌として *Asp.oryzae*、*Asp.sojae* を主に用い、まず液体培地で培養したときの熱生成を観測するとともに、それと乾燥菌体重量との間に相関係数 0.98 以上の高い相関のあることを見出した。次いで小麦フスマの固体培地を用いた培養を熱測定法で観測した。非常に再現性の良い装置シグナルが得られる、これをもとに菌体の増殖速度定数（単位時間あたりの菌体増加率）を求めた。また、シグナルが対数増殖期相当期間に再現性のあるシヨルダールが認められることも明らかにした。実験からその他保存菌株も用いた。

#### K-103 Evaluation of the Growth Activity of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* Colonies on Solid Medium Using Microbial Calorimetry,

K. Koga, Y. Nishizawa, Y. Matsumoto, T. Hara, K. Takahashi, *Biocontrol Science*, **9**, 21-28 (2004)

従来の寒天培地コロニー計測法と熱測定法を並行実施して、両者の関係を比較したものの。実験は *E.coli* ならびに *S.aureus* を試験菌として、LBA 培地で培養したもので、コロニーが視認できるのは培養開始後 15~25 時間経過してからであるのに対し、熱生成では 10 時間までですでに観測されること、対数増殖と見做されるのは植菌後 8.5~13.5 時間の範囲であること、熱生成曲線から、増殖速度定数（単位時間あたりの菌体の増加率 = 一般の化学反応における反応速度定数に当たる）が最大 10%の偏差で求められることを示した。また、食塩ならびにクマザザ抽出物の抗カビ作用を熱測定法で解析し、その効果を 50%阻害濃度、100%阻害濃度であらわした。

#### K-102 細菌のコロニー形成過程の熱測定による把握とその評価（学会発表）

古賀 邦正、小口将史、西澤 雄、（東海大学開発工学部生物工学科）

堀口尚男、高橋 克忠（けいはんな文化学術協会 微生物計測システム研究所）

日本農芸化学会大会（2003.3. 京都）

食品や医薬品の微生物チェックは滅菌シャーレ中の寒天培地上に形成されたコロニー数の計測によって行う場合が普通である。しかし、細菌のコロニー形成過程を定量的な立場か

ら経時変化としてこれを把握する試みはあまり例がない。一方で、微生物学の分野で熱測定法（マイクロカロリーメトリー）が簡便で信頼性の高い情報を提供する手段として注目をあびるようになってきている<sup>1)</sup>。したがって、この両者がどのように対応するかを明確にすることは今後の微生物分析法を発展させる上で重要なことと考える。

このような立場から、われわれは市販の滅菌シャーレをそのまま利用し、細菌がその中の寒天培地上でコロニー増殖する際の熱生成の経時変化（増殖サーモグラム）を観測する目的で、新たな装置を開発し、これを用いて大腸菌のコロニー増殖過程を定量的に把握することを試みた。

液体培養系と同様にきれいな増殖サーモグラムが観測された。また、コロニー形成が目視によって観察されるのはコロニー増殖過程のどの時期に相当するか、寒天培地上での菌密度がコロニー形成速度および増殖速度定数（ $\mu$ ）に影響を及ぼすか等についても検討した。これらの実験を通して、微生物熱測定法による計測が、従来が目視によるコロニー計測よりも早く、正確に食品や医薬品中の微生物チェックが行える可能性について考察した。

#### **K-101 Microbial Calorimetry of Supported Cultures and Its Application to the Study of Antimicrobial Action**

F. Okada, A. Kobayashi, N. Fujiwara, K. Takahashi, *Biocontrol Science*, **3**, 79-85 (1998)

固体・液体・気体が混在する微生物の担体培養系を熱測定法で計測する方法論を示し、ウレタンフォームを担体とする培養系で抗微生物薬剤の作用を解析した事例を示した。

#### **(L) 寒天平板培養**

#### **L-102 Evaluation of the Growth Activity of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* Colonies on Solid Medium Using Microbial Calorimetry,**

K. Koga, Y. Nishizawa, Y. Matsumoto, T. Hara, K. Takahashi, *Biocontrol Science*, **9**, 21-28 (2004)

従来の寒天培地コロニー計測法と熱測定法を並行実施して、両者の関係を比較したもの。実験は *E. coli* ならびに *S. aureus* を試験菌として、LBA 培地で培養したもので、コロニーが視認できるのは培養開始後 15~25 時間経過してからであるのに対し、熱生成では 10 時間までですでに観測されること、対数増殖と見做されるのは植菌後 8.5~13.5 時間の範囲であること、熱生成曲線から、増殖速度定数（単位時間当たりの菌体の増加率 = 一般の化学反応における反応速度定数に当たる）が最大 10% の偏差で求められることを示した。また、食塩ならびにクマザザ抽出物の抗カビ作用を熱測定法で解析し、その効果を 50% 阻害濃度、100% 阻害濃度であらわした。

#### **L-101 細菌のコロニー形成過程の熱測定による把握とその評価（学会発表）**

古賀 邦正、小口将史、西澤 雄、（東海大学開発工学部生物工学科）

堀口尚男、高橋 克忠（けいはんな文化学術協会 微生物計測システム研究所）

日本農芸化学会大会（2003.3. 京都）

食品や医薬品の微生物チェックは滅菌シャーレ中の寒天培地上に形成されたコロニー数の計測によって行う場合が普通である。しかし、細菌のコロニー形成過程を定量的な立場から経時変化としてこれを把握する試みはあまり例がない。一方で、微生物学の分野で熱測定法（マイクロカロリーメトリー）が簡便で信頼性の高い情報を提供する手段として注目をあびるようになってきている<sup>1)</sup>。したがって、この両者がどのように対応するかを明確にすることは今後の微生物分析法を発展させる上で重要なことと考える。

このような立場から、われわれは市販の滅菌シャーレをそのまま利用し、細菌がその中の寒天培地上でコロニー増殖する際の熱生成の経時変化（増殖サーモグラム）を観測する目的で、新たな装置を開発し、これを用いて大腸菌のコロニー増殖過程を定量的に把握することを試みた。

液体培養系と同様にきれいな増殖サーモグラムが観測された。また、コロニー形成が目視によって観察されるのはコロニー増殖過程のどの時期に相当するか、寒天培地上での菌密度がコロニー形成速度および増殖速度定数( $\mu$ )に影響を及ぼすか等についても検討した。これらの実験を通して、微生物熱測定法による計測が、従来が目視によるコロニー計測よりも早く、正確に食品や医薬品中の微生物チェックが行える可能性について考察した。

#### (M) ガンマー線・電子線・高電圧パルス

##### M-104 殺菌剤と超音波照射の併用による微生物の殺菌効果についての検討 - 熱量測定法による解析（学会発表）

武田 朋、塚本育子、古田雅一、西村六郎、前田泰昭（大阪府立大学大学院機能物質科学分野、同先端科学研究所）

日本防菌防黴学会第32回年次大会（2005.5.）

##### M-103 Calorimetric Study of the Effect of <sup>60</sup>Co $\gamma$ -Rays on the Growth of Microorganisms

S. Wirkner, K. Takahashi, M. Furuta, T. Hayashi, *Radiation Physics and Chemistry*, **63**, 327-330 (2002)

コバルト・ガンマー線を0~15kGyの範囲で *S. cerevisiae*, *E. coli* ならびに *B. pumilus*, *B. stearothermophilus* の孢子に照射し、その増殖活性への影響を観測した。ガンマー線照射強度により増殖活性が変化するが、その作用が殺菌効果だけでなく、静菌効果もあることを明らかにした。また、熱測定シグナルから生残率を導く式を誘導し、それをもとにガンマー線の照射強度と生残率の関係を論じた。

##### M-102 Calorimetric Analysis of the Effect of <sup>60</sup>Co $\gamma$ -Rays on the Growth of *Saccharomyces cerevisiae*

S. Wirkner, K. Takahashi, M. Furuta, T. Hayashi, *Netsu Sokutei*, **28**, 106-113 (2001)

コバルト・ガンマー線を 0～6kGy の範囲で酵母細胞に照射し、その増殖活性への影響を観測した。増殖挙動はガンマー線照強度に依存して変化し、その作用には殺菌的な作用だけでなく、静菌的な作用も含まれることを明らかにした。さらに生残率をコロニー計測法で得られるものと比較すると 4kGy 以上では一致せず、このことをガンマー線の作用メカニズムの立場から論じた。

#### **M-101 Inactivation of *Bacillus stearothermophilus* by Pulsed Electric Field**

S.Katsuki, T. Majima, K. Nagata, I. Lisitsyn, H. Akiyama, M. Furuta, T. Hayashi, K. Takahashi, S. Wirkner, *IBBB Transaction on Plasma Science*, 155-160 (2000)

*B. stearothermophilus* の胞子を試料として、その水懸濁液に 0～180kV/cm までの電圧パルスを行った時の増殖活性を解析した。*B. stearothermophilus* の増殖活性はパルス強度に依存して変化するが、40kV/cm までは顕著な殺菌効果は認められなかった。

### **(N) 共培養系**

#### **N-101 共培養系生育特性の解析 - 酵母と乳酸菌の場合 - (学会発表)**

岸田 正夫、井上 竜一、川崎 東彦 (大阪府立大学大学院 生命環境科学研究科)

堀口 尚男、高橋 克忠 (けいはんな文化学術協会 微生物計測システム研究所)

日本防菌防黴学会第 33 回年次大会 (2006.5.)

**【概要】**酵母と乳酸菌の共培養系を事例として、こうした複数の微生物種が共存する系の生育特性を熱測定法を手段として解析するための方法論の開発を目的とした研究実験。生育が相互に影響し合うことが、培地の pH を変えることにより計測シグナルから確認された。低い pH では酵母の生育に由来するパターンのみ観測されるが、pH が 6 付近では生育パターンが 2 段階になった。また、酵母に対する乳酸菌の接種量の割合を高くすることにより、この生育パターンの 2 段階性がより明瞭になった。この他の結果と合わせ、本方法が共培養系の定量的解析に有用な手段になると結論した。

### **(O) 変異体**

#### **O-101 Breeding of Polygalacturonase-Producing Wine Yeasts and Their Growth Characteristics as Determined by Calorimetric Method**

F. Radoi, M. Kishida, H. Fukada, K. Takahashi, H. Kawasaki (in preparation)

**Abstract:** Polygalacturonase-producing mutants were isolated from various *Saccharomyces cerevisiae* winery strains. They were found to be classified into two groups depending on the growth rate; one with the similar growth rate as that of the parents and the other with the lower growth rate than that of the parents. It was proved that their polygalacturonase production was affected by carbon sources in the medium, being enhanced by the galactose and polygalacturonic acid, while it was not affected by their growth level. The analysis of DNA-content in mutants suggested that the decrease of the growth rate is most probably due to the abnormal setting of

chromosomes (aneuploid-formation).

## (P) その他

### R-11 バイオカロリメトリー：細胞・微生物の熱測定

高橋克忠 実験化学講座、第6巻、温度・熱、圧力 日本化学会編 pp.321-329 丸善(2005)  
細胞ならびに微生物を対象とする熱測定実験法の事例を概観したもの。

## [ ] 総説・解説・技術等

### R-11 バイオカロリメトリー：細胞・微生物の熱測定

高橋克忠 実験化学講座、第6巻、温度・熱、圧力 日本化学会編 pp.321-329 丸善(2005)  
細胞ならびに微生物を対象とする熱測定実験法の事例を概観したもの。

### R-10 Effect of Drugs on Microbial Growth Activities

Katsutada Takahashi, "Comprehensive Handbook of Calorimetry & Thermal Analysis", ed. By S.Sorai, John Wiley & Sons, Ltd. pp.463-465 (2004)  
微生物活性におよぼす薬剤の影響の熱測定解析法を簡単に解説したもの。

### R-9 Quantitative Evaluation of Food Putrefaction

Katsutada Takahashi, "Comprehensive Handbook of Calorimetry & Thermal Analysis", ed. By S.Sorai, John Wiley & Sons, Ltd. pp.487-489 (2004)  
食品の腐敗と防腐剤の効果の熱測定解析法を簡単に解説したもの。

### R-8 食品関連企業がいまや避けて通れない「予測食品微生物学」

高橋克忠 M & Tきょうと 京都府中小企業総合センター No.1002, 10, pp.6-7(2004)  
著者の開発した方法をもとに予測食品微生物学の重要性を解説したもの。

### R-7 食品腐敗の定量的計測

高橋克忠 “最新熱測定”、八田一郎編 アグネ技術センター刊 pp.61-70 (2003)  
食品の腐敗ならびに防腐剤の効果の熱測定解析法を簡単に解説したもの。

## **R-6 ミクロカロリーメトリー**

高橋克忠 “食品微生物の簡易迅速測定法はここまで変わった！”、pp.175-183、伊藤 武・佐藤 順編 サイエンス・フォーラム社（2002.11）

ミクロカロリーメトリー（熱測定法）が食品を対象に、非破壊的な立場で食品の腐敗ならびに防腐処方の定量的評価ができることと、それを用いて予測食品微生物学に展開させることを紹介した。

## **R-5 食品腐敗の非破壊計測とその予測手法への応用の試み**

高橋克忠 日本防菌防黴学会誌 28, 635-642 (2000)

日本防菌防黴学会誌の特集「明日の食品の安全性を確かなものにする予測微生物学への期待 - 豊かで安心な食生活のために」の中で、熱測定法が食品の腐敗を非破壊的立場で定量化することのできる優れた手段であることを示し、それが予測食品微生物学の発展に大きく寄与することを解説した。

## **R-4 食品丸ごとの腐敗計測と予測食品微生物学**

高橋克忠 食品工業 43, 18-28.(1999)

これまで適切な方法論のなかった食品の腐敗過程の把握が熱測定法で可能なことを示し、さらにそれを予測食品微生物学に応用できることを解説した。

## **R-3 抗微生物薬における抗菌作用の定量的解析**

岡田文裕、熱測定 28, 132-137 (1998)

熱測定法により抗微生物薬における薬剤作用を定量的に解析する方法を、パラヒドロキシ安息香酸アルキル・エステルを中心に解説した。

## **R-2 細胞増殖**

高橋克忠 生物物理 35, 32-35 (1995)

熱を指標として細胞増殖を観測することにより、様々な情報が得られることを解説した。

## **R-1 微生物細胞の熱測定による化粧品防腐評価**

岡田文裕、藤原延規、松山金豊、高橋克忠 日本化粧品技術者会誌 27, 242-248 (1993)

シャンプーやミルクローションなどの化粧品における防腐剤の効果を、*K.pneumoniae*, *P.aeruginosa*, *C. parapsilosis*, *Paecilomyces sp.*, *Asp. oryzae* を対象に解析した。

## [ ] 学位論文

**PHDIS-3 Sandra Wirkner<sup>\*1</sup>: Calorimetric Studies on the Effect of Some Physicochemical Conditions on the Microbial Growth Activities – The Irradiation of <sup>60</sup>Co  $\gamma$ -Rays and Electron Beams and the Treatment by Pulsed Electric Field**

(大阪府立大学博士論文 2001) (\*1 現 Rauch 社研究員)

**PHDIS-2 岡田文裕<sup>\*2</sup>: 微生物増殖動力学に基礎をおく化粧品防腐殺菌処方設計に関する研究**  
(大阪府立大学博士論文) (\*2 現株式会社マンダム中央研究所開発室長)

**PHDIS-3 Antoce Oana-Arina<sup>\*3</sup>: Effects of Culture Conditions and Inhibitors on the Growth of Yeasts Studied by Calorimetry**

(大阪府立大学博士論文 1998) (\*3 現ブカレスト農獣医科大学助教授)