

## ピロ炭酸ジエチルエステルによる食品および 醸造物の殺菌に関する研究

(第1報) ピロ炭酸ジエチルエステルによる  
各種微生物の殺菌

後藤 昭二, 山川 祥秀, 横塚 勇  
(昭和45年3月31日受理)

### Studies on the Sterilization of Food and Wine by Diethylpyrocarbonate

#### Part 1. On the Sterilization of Microorganisms by Diethylpyrocarbonate

By Shoji GOTO, Yoshihide YAMAKAWA and Isami YOKOTSUKA.

The sterilizing efficiency of diethylpyrocarbonate (DEPC) against microorganisms in grape juice, wine and synthetic medium and several factors which diminish antimicrobial effect of DEPC were studied.

1. The lethal concentration of DEPC depended on the number of microorganisms present; in the solution which contained yeast cells  $10^4$ – $10^5$  per *ml*, the lethal concentration of DEPC was 25 *ppm*, but in the  $10^7$  cells per *ml*; 50 *ppm* of DEPC was required as the lethal concentration.

2. The sterilizing efficacy of DEPC was comparatively strong in the acidic solution, but ineffective in neutral or alkaline solution. It was reduced by organic nitrogen of comparatively high concentrations, but not diminished by neither alcohol, organic acids nor sodium chloride.

3. Vegetative yeast cells which were suspended in physiological saline were killed by DEPC at the concentration of 20 *ppm* within two hours after addition, but ascospores had strong resistivity against DEPC; they were not completely killed at the concentration of 35 *ppm*.

4. The majority of bacteria was killed at the concentration of 20 *ppm*, but *Bacillus*, *Clostridium* and a few other bacteria had strong resistivity; they were not completely killed at the concentration of 1000 *ppm*. Also the concentration of 50–100 *ppm* of DEPC were required to kill lactic acid bacteria.

DEPC had almost no effect on mold.

## 緒 言

ピロ炭酸ジエチルエステル (以下 DEPC と略す) の殺菌効果が1955年に知られて以来欧米各国では醸造, 食品類の殺菌と保存に関するいろいろな開発研究が行なわれてきた。ブドウ酒醸造過程への応用については HENNIG<sup>1, 2)</sup> を切めとして MINARIK<sup>3)</sup>, KIELHÖFER<sup>4, 5)</sup>, BÖHRINGER<sup>6)</sup> および LUETHI<sup>7)</sup> らにより各種ブドウ酒の製造およびその貯蔵時の使用について, また同時にそこに関与する二, 三の酵母に対する DEPC の殺菌作用について報告されている。さらに, BLOUIN ら<sup>8)</sup>, OUGH ら<sup>9)</sup>, KOCH<sup>10)</sup>, THOUKIS<sup>11)</sup> らもブドウ酒醸造への DEPC の利用を検討するとともに, 数種のブドウ酒酵母に対する殺菌作用を報告している。吾国においても, 原らにより果実酒<sup>12)</sup> および清酒醪の発酵管理への応用<sup>13)</sup> について報告がなされている。

著者らは DEPC のブドウ酒醸造への基礎的研究の一つとして先づブドウ酒醸造に関与する多数の酵母, 細菌類に対する殺菌効果を DEPC の使用量と菌数, 作用 pH, 温度および培地組成などの点から検討し, 次いで, 多くのブドウ酒酵母, 細菌類さらにその他の多数の酵母, 細菌およびカビ類の各菌種に対する DEPC の殺菌効果を検討したので報告する。

## 実 験 方 法

## 1. DEPC の添加量と酵母菌数

供試酵母には代表的な主醗酵ブドウ酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae* W-3<sup>14)</sup> を用いた。懸濁用培地 glucose 3, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.25, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.05, MgSO<sub>4</sub> 0.025, CaCl<sub>2</sub> 0.025, NaCl 0.005, yeast extract 0.1 (単位は%), pH 4.4。酵母計数用培地には麴汁寒天培地を使用した。DEPC (武田薬品工業 KK 製, 純度99.3%) は10%エタノール溶液として使用した。

懸濁用培地 200 ml を 360 ml 容ビンに分注殺菌後, 麴汁に前培養した酵母菌体の一定量を懸濁し, これに DEPC の一定量を加え, コルク栓で密栓の後良く振とうし, 所定時間毎に培地の一定量をとって計数培地に平板培養して出現するコロニーを計数し, 生存酵母数とした。

## 2. 懸濁培地の pH, 組成および作用温度

前記懸濁用培地の pH を可性ソーダおよび塩酸を用いてそれぞれ pH 2.8, 4.4, 5.2, 7.2 とした。懸濁培地に窒素源 (yeast extract, Bouillon, peptone), 糖 (glucose), 有機酸 (citric および malic acid), 食塩およびエタノールを TABLE II のように添加し, それぞれ影響を検討した, 作用温度は 10, 20, 35 °C で行なった。懸濁酵母菌数は 110 × 10<sup>3</sup> cells/ml (*Sacch. cerevisiae* W-3) とし, DEPC 25 ppm を添加, 2 時間後に残存菌数を前項同様にして計数した。

## 3. 酵母子嚢胞子に対する効果

新たにブドウ果汁から分離した孢子形成能の良い菌株 (*Sacch. cerevisiae* E-5-2, 形成率約80%) を用い, 石膏培地に培養して孢子の形成を確認した後懸濁用培地に懸濁し,

65 °C, 10分間加熱して生細胞を殺菌後, DEPC を 35 ppm 添加, 2 および 8 時間後に前項同様にして残存菌数を計数した。

#### 4. 酵母, 細菌およびカビ類に対する効果

ブドウ酒醸造に關与する酵母16菌株および細菌9菌株, その他代表的な酵母10菌株, 細菌48菌株およびカビ12菌株を供試した (TABLE III, V, および VIII 参照)。各菌株は殺菌生理食塩水 (pH 4.5 に調整) 200 ml に, あらかじめ前培養した供試菌を菌数が  $10^3 \sim 10^7$  cells/ml になるように懸濁し, これに DEPC を 0, 20, 50, 100 ppm 添加, 良く振とうした後, コルク栓で密栓して 30 °C に静置, 8 および 24 時間後に残存菌数を平板培養法によって計数した。細菌類の計数用培地には麴-炭酸石灰, トマト汁培地, 肉汁培地, 遠藤培地等を用い, またカビ用には酵母と同様に麴汁寒天培地を用いた。

### 実験結果および考察

#### 1. DEPC 添加量と酵母菌数との関係

DEPC 添加量と懸濁酵母菌数を変化させた場合の経時的な酵母の死滅状況を TABLE I に示した。DEPC 25 ppm 添加の場合, 菌数が  $10^4 \sim 10^5$  cells/ml では 2 時間後に 100% 近くが殺菌され, 6 ~ 8 時間後には完全殺菌された。しかし菌数が  $10^7$  になると 2 時間後 99.9% 以上が殺菌されたにもかかわらず, 8 ~ 24 時間後にも少数の残存菌が認められ, 完全殺菌には至らなかった。DEPC 50 ppm 添加の場合, 菌数が  $10^4 \sim 10^5$  では 2 時間後に完全殺菌され, 菌数が  $10^7$  になると 2 - 6 時間までは少数の残存菌が認められ, 8 時間後に至り完全殺菌された。100 ppm 添加の場合には菌数の如何にかかわらず 2 時間に完全殺菌がなされた。DEPC は以上のようにきわめて短時間に酵母の殺菌に有効であるが, 菌数が多くなると低濃度の DEPC 添加では 99% 以上の殺菌作用はあるにしても, 完全殺菌は行ない得ない。また DEPC の溶液中での分解率は 8 時間後約 80 ~ 90% に達する<sup>11, 15)</sup> ことから,

TABLE I  
Effect of Killing Time, Yeast Counts and DEPC Concentration  
on Antimicrobial Action of DEPC

Killing Time (hrs)	DEPC (ppm)								
	25			50			100		
	Initial yeast cell counts/ml								
	$522 \times 10^2$			$330 \times 10^3$			$100 \times 10^5$		
2	2	0	0	5	0	0	58	14	0
4	2	0	0	2	0	0	47	9	0
6	0	0	0	3	0	0	32	3	0
8	1	0	0	0	0	0	28	0	0
24	0	0	0	0	0	0	17	0	0

Yeast used : *Sacch. cerevisiae* W-3

TABLE II  
Effect of pH, Temp. and Various Materials on Antimicrobial  
Action of DEPC

		Cell counts/ml after 2 hrs.		Cell counts/ml after 2 hrs.	
pH	2.8	0	Sugar (glucose)	3%	0
	4.4	0		10	0
	5.2	12		25	0
	7.2	4,200		50	0
Temp. (°C)	10	0	Citric acid	0.5%	0
	20	0		1.5	0
	35	4		3.0	2
Yeast extract	0.01% <sup>a)</sup>	0	Malic acid	0.5%	0
	0.1	5,300		1.5	0
	0.5	12,000		3.0	3
	1.5	15,000			
Bouillon	0.01% <sup>a)</sup>	3	NaCl	5%	0
	0.1	4,700		10	0
	0.5	8,800		20	0
	1.5	13,000			
Peptone	0.01% <sup>a)</sup>	1	Ethanol	4%	0
	0.1	6,600		8	2
	0.5	17,000		12	0
	1.5	17,000		18	1

DEPC : 25 ppm, yeast used : *Sacch. cerevisiae* W-3,

Initial cell counts :  $110 \times 10^3$ /ml

a) : as total Nitrogen

8~24時間後になお残存菌が認められる場合には完全殺菌は行なわれないものとみなすことが出来よう。

## 2. 殺菌効果に及ぼす培地の pH と組成および作用温度の影響

懸濁培地の pH, 各種の添加物および作用温度と DEPC の殺菌効果, すなわち, 残存菌数との関係を TABLE II に一括して示した。DEPC の殺菌効果は pH 2.8, 4.4 の低い, すなわち, 酸性側で認められた。しかし pH 5.6 になると殺菌効果は減少し, pH 7.2 になると全く効果が認められなくなった。すなわち, DEPC の殺菌作用は pH の低い酸性溶液においてのみ発現される。このことはブドウ酒あるいは果汁の pH は 3~3.4 であるので, DEPC の使用に適していると云い得る。

DEPC の作用をそれぞれ 10, 20, 35 °C で行なったが, 殺菌効果には殆んど影響がみられなかった。しかし, 高温になれば DEPC の分解が非常に速くなる<sup>9, 11, 15)</sup>ので, 出来るだけ低温での使用がのぞましい。

各種の添加物のうちで, 顕著に DEPC の殺菌効果に影響を及ぼしたものは有機窒素源であった。有機態窒素, 特に, 蛋白の多い場合には DEPC の殺菌作用が阻害されることが知られているが, 本実験に供した酵母エキス, 肉エキス, ペプトンのいずれの場合にも 0.1 % (Nとして) 以上の存在で, 殺菌効果は全く認められなかった。

有機酸の多量の存在は DEPC の殺菌作用を阻害するともいわれているが, 本実験で用い

たクエン酸およびリンゴ酸の0.5~3.5%の範囲ではなんらの影響も認めなかった。その他糖3~50%, エタノール4~18% および食塩5~20%の存在下でも殺菌効果には全く影響が認められなかった。

### 3. DEPCによる酵母の殺菌

供試した14属26種の各酵母菌株は TABLE III に示したように、DEPC 20 ppm で2時間後に残存菌は認められず、いずれも完全殺菌された。これらの結果は既報<sup>1, 8, 10)</sup>と同様 DEPC の酵母に対する殺菌力がきわめて強いことを示している。なお、前項1)における結果では、DEPC 25 ppm 添加の場合、2~6時間後に少数の残存菌が認められており、本項の結果と多少異なるが、これは懸濁用培地溶液の組成に基づくものと思われる。すなわち、本項では懸濁液に生理食塩水を用いたので、DEPC の殺菌効果を阻害する因子がないため、殺菌作用がより効果的であったと思われる。

TABLE III  
Killing Tests for DEPC against Yeasts

Yeasts	DEPC 20 ppm, cell counts/ml		
	Initial ×10 <sup>3</sup>	After 2 hrs	After 8 hrs
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W-3	703	0	0
<i>S. cerevisiae</i> var. <i>ellipsoideus</i> W-7	109	0	0
<i>S. oviformis</i> W-31	796	0	0
<i>S. fermentati</i> W-210	651	0	0
<i>S. rosei</i> W-120	148	0	0
<i>S. rouxii</i> NS-1-3	850	0	0
<i>Debaryomyces vini</i> WF-164	309	0	0
<i>D. hansenii</i> CH-3	850	0	0
<i>Pichia membranaefaciens</i> WF-39	358	0	0
<i>P. farinosa</i> WF-153	185	0	0
<i>Hansenula anomala</i> WF-128	640	0	0
<i>Endomycopsis capsularis</i> IAM-4307	80	0	0
<i>Saccharomycodes ludwigii</i> IAM-4380	491	0	0
<i>Hanseniaspora valbeyensis</i> IAM-4010	285	0	0
<i>Schwanniomyces occidentalis</i> IAM-4332	198	0	0
<i>Sporobolomyces salmonicolor</i> WF-174	438	0	0
<i>Torulopsis bacillaris</i> T-3	175	0	0
<i>T. colliculosa</i> J-5	288	0	0
<i>T. sphaerica</i> CH-3	390	0	0
<i>Candida mycoderma</i> WF-10	169	0	0
<i>C. krusei</i> WF-16	651	0	0
<i>C. tropicalis</i> WF-191	173	0	0
<i>Kloeckera apiculata</i> KK-3	852	0	0
<i>Trichosporon cutaneum</i> CH-17	103	0	0
<i>Rhodotorula aurantiaca</i> R-4	114	0	0
<i>R. rubra</i> R-3	87	0	0

## 4. DEPC の酵母子嚢胞子に対する殺菌効果

子嚢胞子が加熱や薬品処理に対して抵抗性を有することは古くから良く知られているが、DEPC に対する抵抗性を栄養細胞と比較、検討した。結果は TABLE IV に示したように、栄養細胞数  $10^5/ml$  に比べ少ない原胞子数  $10^4/ml$  に DEPC 35 ppm を作用させた場合にも死滅率は非常に悪く、8 時間後にもなお  $10^3$  の残存胞子が認められた。すなわち、子嚢胞子は加熱や薬品処理に対して抵抗性をもっと同様 DEPC に対しても相当の抵抗性を有する。このため胞子の殺菌には栄養細胞に比べ多量の DEPC の使用が必要であろう。

TABLE IV  
Killing Tests for DEPC against Yeast Ascospores

Initial	Ascospore counts/ml	
	After 2 hrs	After 8 hrs
$38 \times 10^3$	$48 \times 10^2$	$12 \times 10^2$
$10 \times 10^4$	$66 \times 10^2$	$21 \times 10^2$
Vegetative cell counts $110 \times 10^3$	2	0

Yeast ascospore used : *Sacch. cerevisiae* E-5-2

DEPC : 35 ppm

## 5. DEPC による細菌類の殺菌

細菌類24属、52種、57菌株に対する DEPC の殺菌効果を TABLE V に一括表示した。大部分の細菌類に対しては、DEPC 20 ppm で2時間後に酵母に対すると同様完全殺菌の効果を示した。しかし、*Aeromonas punctata*, *Bacillus* 属全菌種、*Microbacterium flavum*, *Brevibacterium ammoniagenes* および *Clostridium* の2菌種は DEPC 100 ppm でも完全殺菌されず、あるいは全く効果が認められなかった。*Pseudomonas gelidicola*, *Micrococcus caseolyticus*, *Corynebacterium eque*, *Microbacterium lacticum* などは DEPC 20~100 ppm で2時間後には残存菌がみられ、8~24時間後に初めて完全殺菌が認められた。また、*Lactobacillus*, *Streptococcus* および *Pediococcus* の乳酸菌群は DEPC 20 ppm では24時間後にも残存菌がみられて完全殺菌されず、50~100 ppm, 8~24時間後に完全殺菌された。

## 6. DEPC 不感受性細菌に対する DEPC の使用量および菌数との関係

前項の実験結果から、*Bacillus subtilis* IAM 1026 ほか10菌株は DEPC で全く殺菌されず、強い抵抗性をもつことが明らかになった。そこで、DEPC を多量に使用した場合および懸濁菌数を減少させた場合の DEPC 不感受性細菌に対する殺菌効果を検討した。結果は TABLE VI および VII に示した。菌数  $10^6$  として DEPC を 1.000 ppm まで使用したが、殺菌効果は全く認められず、*Bacillus cereus* のみにおいて 99% 以上の殺菌効果がみられたが、この場合にも完全殺菌には至らなかった。懸濁菌数を  $10^3$  に減少させると、各菌株とも 99% 以上が殺菌されるが、DEPC を 1.000 ppm 添加使用してもなお完全殺菌には至らず、これらの菌種は DEPC に対し強い抵抗性を持つことを示した。

TABLE V  
Killing Tests for DEPC against Bacteria

Bacteria	Initial cell counts/ml $\times 10^4$	Cell counts/ml					
		After 2 hrs			After 24 hrs		
		DEPC			DEPC		
		20	50	100	20	50	100
<i>Pseudomonas aureofaciens</i> IAM 1001	228	76	0	0	0	0	0
<i>Ps. dacunhae</i> IAM 1048	186	0	0	0	0	0	0
<i>Ps. ovalis</i> IAM 1002	127	0	0	0	0	0	0
<i>Ps. schuylkilliensis</i> IAM 1051	190	0	0	0	2	0	0
<i>Ps. gelidicola</i> IAM 1127	174	200	35	3	0	0	0
<i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 10145	704	0	0	0	0	0	0
<i>Micrococcus caseolyticus</i> IAM 1312	840	9	170	0	0	11	0
<i>M. lysodeikticus</i> IAM 1313	173	0	0	0	0	0	0
<i>Sarcina marginata</i> IAM 1130	590	0	0	0	0	0	0
<i>Achromobacter cycloclastes</i> IAM 1013	300	0	0	0	0	0	0
<i>Alcaligenes faecalis</i> IAM 1015	177	0	0	0	0	0	0
<i>Alc. viscolactis</i> IAM 1517	168	0	0	0	7	0	3
<i>Escherichia coli</i> IAM 1253	123	0	500	0	0	0	0
<i>E. coli</i> 6060	535	0	0	0	0	0	0
<i>Aeromonas hydrophila</i> IAM 1018	124	0	0	0	0	0	0
<i>Ae. punctata</i> IAM 1646	157	3000	4500	3800	4700	3200	2800
<i>Ae. hydrophila</i> NRRLB-909	224	0	0	0	0	0	0
<i>Aerobacter aerogenes</i> IAM 1102	237	0	0	0	0	0	0
<i>A. aerogenes</i> IAM 1183	173	0	0	0	0	0	0
<i>A. aerogenes</i> ATCC 7256	562	0	0	0	0	0	0
<i>A. cloacae</i> IAM 1221	312	0	0	0	0	0	0
<i>A. cloacae</i> IAM 1615	480	0	0	0	0	0	0
<i>Serratia marcescens</i> IAM 1022	314	0	0	0	0	0	0
<i>Erwinia carotovora</i> IAM 1024	945	0	0	0	0	12	0
<i>Er. aroidae</i> IAM 1068	680	0	0	0	0	0	0
<i>Proteus vulgaris</i> IAM 1025	115	0	0	4	0	0	0
<i>Bacillus subtilis</i> IAM 1026	512	*	*	*	*	*	*
<i>B. subtilis</i> NRRL B-558	445	71	79	56	23	9	18
<i>B. magaterium</i> IAM 1030	312	*	*	*	*	*	*
<i>B. cereus</i> IAM 1029	300	*	*	*	*	*	*
<i>B. brevis</i> IAM 1031	312	840	2000	629	1600	1950	127
<i>B. alvei</i> IAM 1258	238	*	*	*	*	*	*
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> IAM 1525	720	1	0	0	0	0	0
<i>Corynebacterium equi</i> IAM 1038	821	0	7	4	0	0	0
<i>C. fascians</i> IAM 1079	190	0	0	0	0	0	0
<i>Acetobacter sp.</i> A-25-5	45	0	0	0	0	0	0
<i>A. sp.</i> E-5-15	179	0	0	0	0	0	0
<i>A. aceti</i> B-515-4	607	0	0	0	0	0	0
<i>Gluconobacter oxydans</i> IFO 3189	523	0	0	0	0	0	0

<i>Pediococcus soyae</i> IAM 1673	366	49	7	0	2	0	0
<i>Flavobacterium sp.</i> MDB 602	270	0	0	0	0	0	0
<i>Vibrio metschnikovii</i> IAM 1039	150	0	0	0	0	0	0
<i>V. tyrogenes</i> IAM 1089	119	0	0	0	0	0	0
<i>Microbacterium flavum</i> IAM 1642	280	2360	1940	1680	828	964	12
<i>Microb. lacticum</i> IAM 1640	500	2120	1900	0	0	0	0
<i>Brevibacterium ammoniagenes</i> IAM 1641	868	6000	3200	7300	*	*	*
<i>Brevib. helvolum</i> IAM 1637	230	0	0	0	0	0	0
<i>Clostridium butyricum</i> IAM 19006	450	*	*	*	*	*	*
<i>Cl. acetobutyricum</i> IAM 19052	290	*	*	*	*	*	*
<i>Lactobacillus casei</i> ATCC 7469	103	63	14	0	3	0	0
<i>Lact. fermentati</i>	26	34	5	0	4	0	0
<i>Lact. brevis</i>	34	8	0	0	2	0	0
<i>Lact. bulgaricus</i>	26	23	4	0	3	0	0
<i>Lact. plantarum</i> 561	443	31	5	0	9	0	0
<i>Lact. sp.</i> 339	147	6	200	0	2	0	0
<i>Streptococcus faecalis</i> ATCC 8043	932	57	2	0	0	0	0
<i>St. thermophilus</i>	13	21	0	0	5	0	0

\* : same as initial cell counts.

TABLE VI

## Killing Tests for DEPC in High Content against DEPC-Tolerant Bacteria

Bacteria	Initial cell counts/ml $\times 10^4$	Cell counts/ml					
		After 2 hrs DEPC ( $\mu\text{ppm}$ )			After 24 hrs DEPC ( $\mu\text{ppm}$ )		
		200	500	1000	200	500	1000
<i>Bacillus subtilis</i> IAM 1026	230	*	*	*	*	*	*
<i>B. subtilis</i> NRRL B-558	100	*	*	*	*	*	*
<i>B. cereus</i> IAM 1029	152	1000	500	200	2100	820	660
<i>B. megaterium</i> IAM	130	*	*	*	*	*	*
<i>B. brevis</i> IAM 1031	230	*	*	*	*	*	*
<i>B. alvei</i> IAM 1258	320	*	*	*	*	*	*
<i>Microbacterium flavum</i> IAM 1642	150	*	*	*	*	*	*
<i>Brevibacterium ammoniagenes</i> IAM 1641	162	*	*	*	*	*	*
<i>Aeromonas punctata</i> IAM 1646	123	*	*	*	*	*	*
<i>Clostridium butyricum</i> IAM 7106	250	*	*	*	*	*	*
<i>Cl. acetobutyricum</i> IAM 7114	220	*	*	*	*	*	*

\* : same as initial cell counts.

TABLE VII  
Killing Tests for DEPC against DEPC-Tolerant Bacteria in a  
little Cell Counts

Bacteria	Initial cell counts /ml $\times 10^2$	Cell counts/ml					
		After 2 hrs DEPC (ppm)			After 24 hrs DEPC (ppm)		
		200	500	1000	200	500	1000
<i>Bacillus subtilis</i> IAM 1026	38	14	14	56	12	6	45
<i>B. subtilis</i> NRRL B-558	32	29	24	18	34	42	28
<i>B. cereus</i> IAM 1029	15	24	24	56	12	16	18
<i>B. megaterium</i> IAM 1030	20	50	31	30	10	26	28
<i>B. brevis</i> IAM 1031	37	48	26	33	11	26	28
<i>B. alvei</i> IAM 1258	21	19	5	680	1600	2000	118
<i>Microbacterium flavum</i> IAM 1642	53	32	26	40	*	*	*
<i>Brevibacterium ammoniagenes</i> IAM1641	42	36	42	53	*	*	*
<i>Aeromonas punctata</i> IAM 1646	26	26	20	18	27	123	46
<i>Clostridium butyricum</i> IAM 7106	34	51	37	35	22	31	27
<i>Cl. acetobutyricum</i> IAM 7114	39	39	24	56	18	22	25

\* : same as initial cell counts.

TABLE VIII  
Killing Tests for DEPC against Molds

Molds	Initial cell counts /ml $\times 10^4$	Cell counts/ml					
		After 2 her DEPC (ppm)			After 24 hrs DEPC (ppm)		
		100	500	1000	100	500	1000
<i>Aspergillus oryzae</i> IAM 2600	25	13	18	10	7	9	8
<i>Asp. oryzae</i> IAM 2724	12	23	30	7	5	2	5
<i>Asp. nigar</i> IAM	50	1	1	2	4	6	3
<i>Rhizopus japonicus</i> IAM 6002	45	13	20	1	2	1	3
<i>Rh. japonicus</i> IAM 6017	41	2	321	2	215	6	1
<i>Rh nigricans</i> IAM 6023	10	1	4	1	27	9	2
<i>Mucor racemosus</i> IAM 6123	12	4	1	1	62	3	2
<i>M. racemosus</i> IAM 6126	8	19	3	1	2	1	14
<i>Penicillium chrysogenum</i> IAM 7106	18	2	9	6	7	5	6
<i>P. chrysogenum</i> IAM 7114	7	23	8	12	10	1	52
<i>Endomyces vernalis</i> IAM 7026	8	1	6	1	1	1	0
<i>Monascus purpureus</i> IAM 8010	4	5	2	7	10	2	13

## 7. DEPC によるカビ類の殺菌

TABLE VIII に, 6 属 8 種のカビ類に対する DEPC の殺菌効果を表示した。供試した12菌

株とも DEPC 1.000 ppm の添加使用においても完全殺菌がみられず, DEPC の殺菌作用はカビ類に対しては全く効果がないものと思われる。

## 要 旨

ピロ炭酸ジエチルエステル (DEPC) による微生物の殺菌作用に影響を及ぼす二, 三の因子とブドウ酒醸造に関与する酵母, 細菌類のほか多数の酵母, 細菌, カビ類に対する殺菌効果を検討した。

1. 酵母菌数が  $10^4 \sim 10^5$  cells/ml の場合, DEPC 25 ppm の使用で, 2~8 時間後に完全殺菌されるが, 菌数が  $10^7$  になると, 完全殺菌のためには 50 ppm を要した。
2. DEPC の殺菌作用は懸濁培地の pH が酸性側で効果的であり, 中性~アルカリ側で効果が認められなかった。
3. 有機窒素の存在は DEPC の殺菌作用を阻害した。しかし, アルコール, 有機酸, 食塩等は影響を及ぼさなかった。
4. 生理食塩水に懸濁した酵母は DEPC 20 ppm で 2 時間後完全殺菌された。しかし, 子嚢胞子は強い抵抗性を示した。
5. 大部分の細菌類は DEPC 20 ppm で 2 時間後完全殺菌されたが, 有胞子の *Bacillus* および *Clostridium*, その他二, 三の細菌は強い抵抗性を示し, DEPC 1.000 ppm でも完全殺菌されなかった。また, 乳酸菌群の完全殺菌には 50~100 ppm を要した。
6. DEPC のカビ類に対する殺菌効果は極めて少なかった。

本研究の概要は日本農芸化学会昭和40年度大会において講演報告した。

終りに臨み, ピロ炭酸ジエチルエステルを御恵与下さった武田薬品工業株式会社に深く感謝致します。

## 文 献

- 1) HENNIG, K. : Der Pyrokohlensäurediäthylester ein neues, rückstandloses, gährhemmendes Mittel. *Weind, Keller*, **7**, 351 (1960) : Die techn. Anwendung des PKE in der Kellerei. *Ibid*, **8**, 215 (1961)
- 2) HENNIG, K. : L'ether diéthylique de l'acide pyrocarbonique proposé comme antiferment. *Bull. l'OIV*, **33**, 154 (1960)
- 3) MINARIK, E. and L. LAHO. : Stabilisierung von zuckerhaltigen Weinen mit dem PKE. *Kvasny Prumysl*, **4**, 1 (1962)
- 4) KIELHÖFER, E. : Der Prokohlendiäthylester. *Weinb. Keller*, **9**, 235 (1962)
- 5) KIELHÖFER, E. : Die gärungsverhindernde Wirkung von PKE in alkoholarmen Wein mit unvergorenem Zucker. *Wein. u. Rebe*, **96**, 820 (1960)
- 6) BÖHRINGER, P. : PKE in der Kellerwirtschaft, *Weinbl.*, **56**, 693 (1962)

- 7) LUETHI, H. : Preservation of wine and juices by DEPC. *Intern. Fruchtsaft-Union, Ber. Wiss-Tech. Komm.*, No. 3, 169 (1961); Ref. CA, **57**, 5125h (1962)
- 8) BLOUIN, J. et J. C. BARTHE, : Etude du pyrocarbonate d'ethyl Essais d'Utilisation Pratique. *Vignes et Vin*, **119**, 13 (1963)
- 9) OUGH, C. S. and J. L. INGARHAM, : The DEPC as a bottled-wine sterilizing agent. *Am. J. Enol. Vitic.*, **12**, 149 (1961)
- 10) KOCH, J. : PKE, ein Konservierungsmittel oder ein technischer Hilfsstoff? *Weinb. Keller*, **9**, 18 (1962)
- 11) THOUKIS, G., R. J. BOUTHILET, M. UEDA, and J. R. CAPUTI, : Fate of DEPC in wine. *Am. J. Enol. Vitic.*, **13**, 105 (1962)
- 12) 原, 大塚, 高木 : ピロ炭酸ジエチルエステルの酒類醸造への応用 醸工, **44**, 490 (1966); **45**, 137 (1967)
- 13) 原, 大塚 : 清酒醪の発酵管理に関する研究 醸工, **44**, 819, 824 (1966); **45**, **40**, **46**, 282, 289, 400, 410 (1967)
- 14) 横塚 : 日本産ブドウ酒に関する研究 本誌, **1**, 63 (1954)
- 15) 霜, 福住 : 食品防腐剤に関する研究 台糖株式会社研究所報告, **20**, 105 (1962)