

解 説

微生物熱測定と、その食品微生物学および 土壌微生物学への応用

坂宮章世, 田中晶善

(受取日: 2008年11月15日, 受理日: 2008年12月17日)

Microbial Calorimetry and Its Application to Food and Soil Microbiologies

Akiyo K. Sakamiya and Akiyoshi Tanaka

(Received November 15, 2008; Accepted December 17, 2008)

This article outlines the procedure of microbial calorimetry and its application to food microbiology and soil microbiology. The process of putrefaction of food, which can be regarded as the growth of microbes in food, and the process of carbon-source assimilation by soil microbes can be observed by a calorimetric method. From the time course of the calorimetric signal, we can obtain several values, such as the time $T_{1/2}$, at which half of the total heat evolution is completed, and the time M , at which the heat-evolution rate reaches its maximum value. By analyzing the dependencies of these parameters on a chemical concentration such as sodium chloride, several repressive parameters of the chemical can be evaluated: the concentration K_i , at which the specific putrefactive or assimilative activity is half repressed; the repressive cooperativity m ; and the minimum inhibition concentration MIC. This calorimetric method has the advantages that it does not require highly specialized knowledge or skills in either food or soil microbiology and that it can detect the putrefactive and assimilative activities of both "viable but non-culturable" and culturable microbes.

Keywords: carbon-source assimilation; food microbiology; microbial calorimetry; putrefaction; soil microbiology

1. はじめに

生物圏には膨大な数と量の微生物が存在しており、人間に対しても様々な益や害をもたらす。微生物が食品・食材へ働くと、発酵によって食生活を豊かにしたり、腐敗によって健康被害をもたらしたりする。また土壌はヒトを含む陸上のあらゆる生物の生命と環境を育む土台であり、微生

物は土壌機能の重要な部分を担う。重金属などによって土壌が汚染されると、土壌微生物の活性低下や死滅をもたらす。

微生物の代謝熱はかなり大きいので、その発熱を測定すれば、発酵や腐敗の過程、あるいは土壌微生物の活性を評価することができる。Fig.1は、蒸した大豆に*Bacillus subtilis* (*natto*)を加えた後の発熱の経時変化、つまり納豆

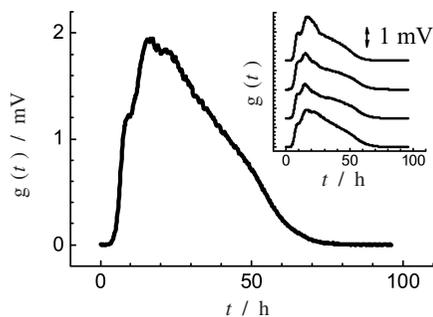


Fig.1 Thermogram of a fermentation process of steamed soybeans by *Bacillus subtilis* (*natto*). Five grams of steamed soybeans were used. Observed at 37 °C. The inset shows reproducibility of the thermogram observed under the same experimental conditions.

ができあがる過程を測定した例である。納豆ができあがるまでにいくつかの相があることがわかる。

本稿では、微生物活性の熱測定を食品や環境のリスク評価に用いることを目指して、食品の腐敗過程と防腐効果を解析した例、および、グルコースの資化を指標として土壌微生物活性や土壌ストレス物質の効果を解析した例を解説する。

2. 測定と解析の方法

2.1 測定装置

測定には通常、多試料同時計測が可能な、伝導型熱測定装置を用い、定温で測定する。生成熱の経時変化 $f(t)$ (熱生成曲線) は、時間 t において測定されるシグナル $g(t)$ (サーモグラム) に基づき、次式によって求められる。¹⁻⁶⁾

$$f(t) = g(t) + K \int g(t) dt \quad (1)$$

K は熱伝導定数であり、測定条件下でチャンネル (試料セルとセルホルダ) ごとに実測した値を用いる ($K = 0$ が断熱状態に対応し、測定されたシグナル $g(t)$ がそのまま $f(t)$ を表す)。この式で与えられる $f(t)$ が、微生物増殖曲線とよく一致する。⁷⁻¹⁴⁾ その時間微分 $f'(t)$ は発熱速度を表し、腐敗の場合は、「腐敗の勢い」に比例する量を表す。

2.2 測定方法

タンパク質溶液などの均一系の試料の場合、試料の濃度や量は測定装置の高感度化にともなって小さくすることができるが、食品や土壌は不均一であるので、あまりに少量を測定対象とすると、試料の平均的な特徴を表さず、測定目的から外れたデータを得る可能性がある。したがって通常、5~10 g 程度の試料を用い、これを容積 30 mL 程度のガラスバイアルに入れて測定に供する。

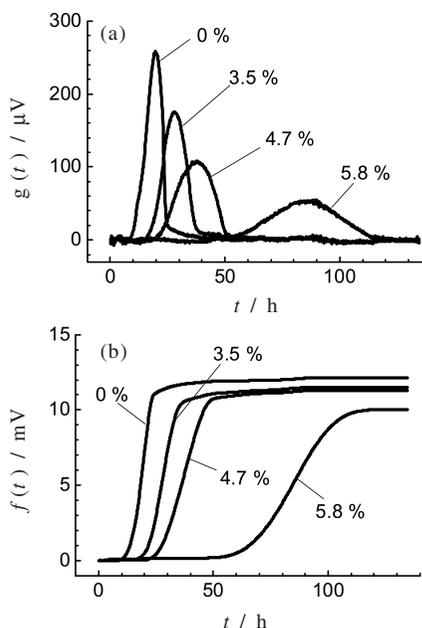


Fig.2 Calorimetry of putrefaction of Asari clam observed in the presence of various concentrations of sodium chloride. (a) Putrefaction thermograms and (b) heat evolution curves. Observed at 25 °C. Concentrations of sodium chloride are shown in the figure.

食品の腐敗を測定する場合には、食品試料を一定時間、外気にさらしてから測定を開始することもあるが、本解説で紹介する例ではいずれも、測定条件を同一にするために、食品試料をオートクレーブし、放冷後、植菌を行って腐敗を開始した。すなわちおかゆを自然腐敗させて破碎し、さらにガーゼで濾したものを蒸留水で希釈し、その一定少量を、オートクレーブ後の試料に加えて腐敗を開始させた。16S rRNA 遺伝子の塩基配列の解析から判定すると、この腐敗液では *Bacillus cereus* が優勢であった。¹⁵⁾

土壌微生物によるグルコース資化活性と資化抑制物質の影響を評価する場合には、土壌水分量を一定にし (本稿紹介例では最大容水量の 50 % とした)、資化抑制物質を加えて 2~4 週間程度静置した後、グルコースを加えてから測定に供する。

3. 腐敗過程の測定と防腐剤の効果

3.1 腐敗に伴う微生物増殖サーモグラムとその解析

魚介類は一般に腐敗が速く、モデル実験として適している。**Fig.2(a)** は、アサリの腐敗過程を、防腐剤としての塩化ナトリウム共存系 (0~5.8 %) で測定したサーモグラムである。¹⁵⁾ 塩化ナトリウムが共存しない系では植菌後まも

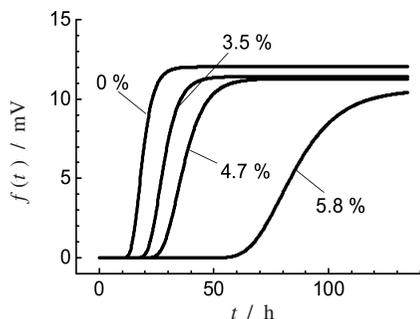


Fig.3 Theoretical curves of the heat evolution of asari clam putrefaction. The curves were calculated by equation 2 using the values of the Gompertz parameters evaluated by the least-squares method on the basis of the experimental results shown in Fig.2(b).

なく腐敗が始まり、約20 hでピークに達している。塩化ナトリウムが共存すると、腐敗開始時間やピークに達する時間が遅れることがわかる。この結果に基づき、(1)式に基づいて描いた腐敗曲線がFig.2(b)である。¹⁵⁾

微生物増殖は、誘導期、対数期、および定常期を含むシグモイダルな経時変化をする。これを近似するモデルとして、LogisticモデルやHillモデル、Gompertzモデル、およびRichardsモデルなどの成長曲線を用いることができる。それぞれに特徴があり、たとえばLogisticモデルはその時間微分がピーク時間を中心に対称であり、したがって発熱過程においては、発熱が半分終了する時間と発熱速度のピーク時間が等しい。いっぽうGompertzモデルでは、その時間微分は非対称で、ピーク時間と発熱が半分終了する時間が異なる値をとり、Logisticモデルよりパラメータが多い。いずれのモデルでも $f(t)$ の解析は可能であるが、本実験では成長曲線としてよく利用されるGompertzモデルを用いた。これは、次式のように表される。

$$f(t) = C \exp(-\exp(-B(t - M))) \quad (2)$$

ここで、 t は変数で腐敗開始(植菌)からの時間、また C は総発熱量、 B は最大発熱速度定数、そして M は発熱速度が最大に達する時間である。熱測定から得られた結果(Fig.2(b))から(2)式に基づき、最小二乗法によって各パラメータを評価できる。得られた値を用いて描いた理論曲線の例をFig.3に示す(文献¹⁵⁾の測定結果に基づき新規に計算)。実験結果(Fig.2(b))をほぼ再現しており、測定誤差の範囲内で、この実験系にGompertzモデルを用いることが適切であることがわかる。

パラメータの防腐剤濃度依存性を解析することで、防腐剤の効果を解析できる。ここでは、直感的にわかりやすく、

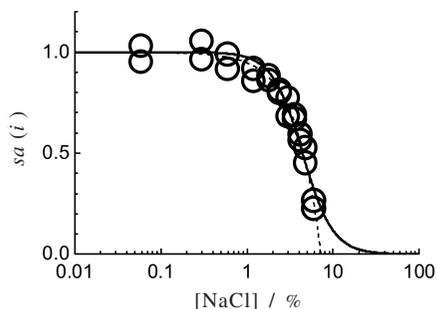


Fig.4 Analysis of the antiputrefactive effect of sodium chloride on asari clam putrefaction. The vertical scale shows the specific putrefactive activity $sa(i)$ evaluated from $T_{1/2}$. The solid and dotted lines show the theoretical curves obtained on the basis of the bacteriostatic model (equation 4) and the bacteriocide model (equation 5), respectively, using the values of the antiputrefactive parameters listed in Table 1.

また比較的精度良く解析できるパラメータとして、発熱が半分終了する時間(総発熱量 C の半分に達する時間) $T_{1/2}$ を用いる例を示す。¹⁶⁾ $f(T_{1/2}) = C/2$ であるから、 $T_{1/2}$ は M と B の双方を含むパラメータとして次式のように表される。

$$T_{1/2} = M - \frac{\ln(\ln 2)}{B} \quad (3)$$

防腐剤濃度 i における $T_{1/2}$ を $T_{1/2}(i)$ とすると、この値は防腐剤が存在しないときの値 $T_{1/2}(0)$ に比べて増大する。すなわち防腐剤が存在すると発熱に時間がかかるようになる。そこでその比、 $T_{1/2}(0)/T_{1/2}(i)$ を、相対的な腐敗のしやすさを表す「比腐敗活性」とし、 $sa(i)$ で表す。この値が1に近いほど腐敗抑制効果が小さく、0に近づくほど大きくなる。この値を塩化ナトリウム濃度 i に対してプロットした結果がFig.4である。(なお、比腐敗活性は、 $T_{1/2}$ だけでなく、他のパラメータを用いても同様に定義できる。¹⁶⁾)

この結果は、塩化ナトリウムが静菌的に働くとするモデルと、殺菌的に働くとするモデルの二つの代表的モデルで解析できる。

まず、塩化ナトリウムが腐敗に関与する微生物に対して静菌的に働く場合(物理化学的には、微生物と塩化ナトリウムの間の可逆結合平衡を考えることに相当する)を考えると、比腐敗活性はよい近似で次式のように表される。¹⁶⁻²⁸⁾

$$sa(i) = \frac{1}{1 + \left(\frac{i}{K_i}\right)^m} \quad (4)$$

K_i は腐敗活性を50%抑制する濃度で、酵素反応における拮抗型阻害剤の阻害物質定数に相当する。また m は腐敗抑制効果の協同性の指数であり、協同性がない場合は1である。 m の値が大きいと、 K_i 付近での小さい i の増減で抑制効果が顕著に変化する。したがって m の値が大きい防腐剤の場合、 K_i よりわずかでも少ない量を加えても腐敗抑制効果がない。逆にこの値が小さい場合は、 K_i より低い濃度でもある程度の腐敗抑制効果を持つが、濃度を上げて効果があまり増大しない。

Fig.4の解析からは、50%抑制に必要な塩濃度 K_i は $4.4 \pm 0.1\%$ 、また m は 2.5 ± 0.2 と求められた。Fig.4の実線は、これらの値を用いた理論曲線である。

他方、塩化ナトリウムが殺菌的に働く場合（塩化ナトリウムが不可逆結合するモデルに対応する）、最小生育阻止濃度MICを求めることができる。この場合、塩化ナトリウムによる腐敗活性の低下は $1 - sa(i)$ で表すことができ、これが塩化ナトリウム濃度 i の n 乗に比例する。^{16,18-29)} すなわち

$$1 - sa(i) = ki^n \quad (5)$$

である。 k は比例定数である。この式から、腐敗活性が完全に失われる濃度MICは、

$$MIC = \left(\frac{1}{k}\right)^{\frac{1}{n}} \quad (6)$$

で与えられる。Fig.4の結果の解析から、アサリにおける最小生育阻止濃度MICは $7.2 \pm 0.2\%$ と求められた。

いくつかの食品の腐敗に対する塩化ナトリウムの効果について得られた、 K_i 、 m およびMICの値をTable 1に示す。アサリとマグロの結果を比較すると、アサリの場合は50%阻害濃度 K_i が大きい、 m の値すなわち協同性も大きく、塩化ナトリウム濃度のわずかな増大で急速に腐敗抑制効果が大きくなる。このような特徴的な挙動のため、MICと K_i にはあまり差がない。

このように静菌的モデルと殺菌的モデルに基づいて、それぞれに対応するパラメータが求められる。いずれのモデルが妥当であるかを判別するには、両モデルから得られる理論曲線と実験結果を比較すればよいが、Fig.4の実線と点線で示すように、精度よく実験が可能である K_i (4.4%) 以下の濃度では両者でほとんど差がなく、 K_i を超える濃度では精度よく測定することが困難である。したがって熱測定の結果だけからは、両モデルの妥当性を区別することは一般に難しい。

3.2 複数の防腐剤の効果

前節では単一の防腐剤の効果について述べたが、実際の食品には砂糖（スクロース）と食塩（塩化ナトリウム）な

Table 1 Antiputrefactive parameters of salt on the putrefaction of foods.

Sample	K_i / %	m	MIC / %	n
tuna fish	$1.8 \pm 0.1^*$	$1.2 \pm 0.1^*$	$5.3 \pm 0.3^*$	$0.71 \pm 0.04^*$
pork	2.8 ± 0.1	4.2 ± 0.6	4.7 ± 0.2	1.7 ± 0.3
milk	2.9 ± 0.2	2.1 ± 0.2	7.5 ± 0.8	0.88 ± 0.13
asari clam	4.4 ± 0.1	2.5 ± 0.2	7.2 ± 0.2	1.5 ± 0.1

* Figures after \pm are estimated standard errors evaluated from the fit.

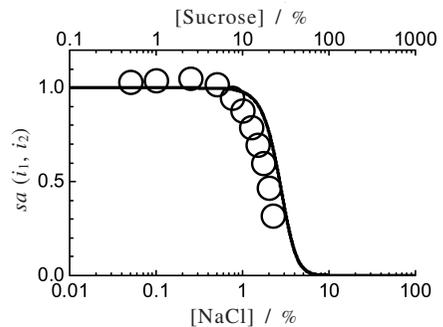


Fig.5 Antiputrefactive effects of sodium chloride and sucrose on soymilk putrefaction. The vertical scale is the specific putrefactive activity $sa(i)$ obtained from M . The open circles show the experimental results of $sa(i)$. The solid line shows a theoretical curve obtained on the basis of the bacteriostatic model by assuming that sodium chloride and sucrose affect on the putrefaction independently. 25 °C.

ど、防腐効果を持つ物質が複数同時に加えられることが多い。Fig.5は、豆乳にスクロースと塩化ナトリウムを共存させた系について、発熱速度が最大に達する時間 M に基づき、静菌的モデルによって評価した比腐敗活性の値である（坂宮ら、未発表データ）。塩化ナトリウムとスクロースそれぞれの濃度の増大に伴い、比腐敗活性は小さくなる。塩化ナトリウムとスクロースが独立に作用すると仮定すると、比腐敗活性 $sa(i_1, i_2)$ は、次式で表される。⁵⁾

$$sa(i_1, i_2) = sa_1(i_1) \times sa_2(i_2) = \frac{1}{1 + \left(\frac{i_1}{K_{i1}}\right)^{m_1}} \times \frac{1}{1 + \left(\frac{i_2}{K_{i2}}\right)^{m_2}} \quad (7)$$

添え字の1と2はそれぞれ塩化ナトリウムとスクロースを表す。

Fig.5の実線は前節の方法によって、塩化ナトリウムとス

Table 2 Antiputrefactive parameters of sodium chloride and sucrose on soymilk.

Inhibitor	K_i / %	m
NaCl	3.7 ± 0.1	3.3 ± 0.2
sucrose	32 ± 1	4.1 ± 0.2

* Figures after \pm are estimated standard errors evaluated from the fit.

クロスそれぞれを単独で用いて評価した K_i および m の値 (Table 2) と (7)式を用いて描いた理論曲線であり、共存系でのプロットと概ね一致している。独立作用モデルが第一近似として多くの場合に有効であるとすれば、特定の食品と防腐剤について、単独で求めた K_i , m の値を用いることで、複数の防腐剤を共存させた場合の効果を予測することができ、食品添加物の実用的使用量の指標となる。

4. 土壌微生物活性の測定と土壌ストレス物質の効果

4.1 土壌微生物資化過程の測定

資化活性を指標として、土壌微生物の活性を評価する方法としては BIOLOG 法がある。³⁰⁾ これはマイクロプレート上のくぼみに、各種の炭素源を系統的・網羅的に置き、土壌希釈液を加えるというものであり、土壌微生物による資化が起こると発色が起こる。その結果から、土壌微生物種の同定や、土壌の炭素化合物代謝機能、およびこれを指標とした土壌微生物の多様性解析ができる。この手法は頻用されるが、本質的に培養法であるため、土壌微生物の生態とその代謝能力を、必ずしもそのまま反映してはいないと考えられる。³¹⁾ これに対して熱測定では、培養が可能であるか困難であるかにかかわらず、微生物が生きている限り、その資化活性を測定することができる。

Fig.6(a)は、ある畑土壌 (10 g) に3種類の炭素源を加え、それらが代謝される過程を測定した結果である (炭素源の量は炭素原子の量で揃えた)。また、**Fig.6(b)**は畑、果樹園、および水田の3種類の土壌それぞれに、18 mg (0.10 mmol) のグルコースを加えた場合の結果である (坂宮ら、未発表データ)。炭素源や土壌の種類によって資化されやすさが異なることがわかる。このような結果から土壌微生物生態系を特徴付けることができる。

グルコースは最も一般的な炭素源であり、どのような微生物も通常ただちに資化できる。したがってその資化速度は土壌微生物生態系を特徴付けるパラメータとしては重要性が低い、他方、資化が容易であることは、土壌に加わるストレスを一般的に評価するパラメータとして適していると考えられる。(多糖類やリグニンなどの資化は一般に遅く、また資化のしやすさは微生物によって異なっており、グルコースとは相補的な特徴を表すパラメータであると考

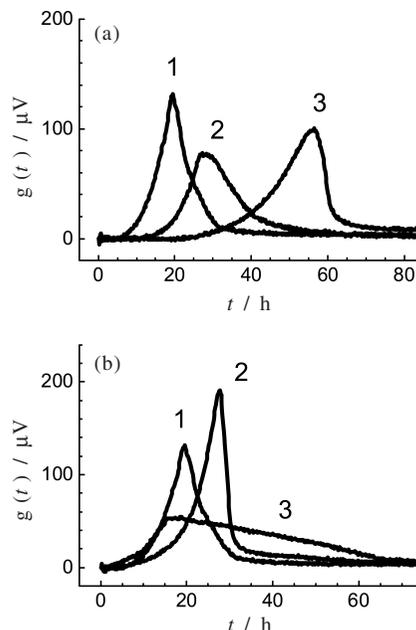


Fig.6 Thermograms of carbon-source assimilation by soil microbes. (a) (1) Glucose (0.10 mmol), (2) lactose (0.05 mmol), and (3) threonine (0.15 mmol), respectively, was added to 10 g of upland soil. Observed at 25 °C. (b) Glucose (0.10 mmol) was added to (1) upland soil (10 g), (2) orchard soil (10 g), and (3) paddy soil (10 g), respectively. Observed at 25 °C.

えられる。)

4.2 塩化ナトリウムの効果の解析

土壌に塩類や重金属などのストレス物質を加えると、微生物活性が低下する。その効果をグルコースの資化を指標として解析した例を述べる。

Fig.7(a),(b)はそれぞれ、畑土壌と果樹園土壌に種々の濃度の塩化ナトリウムを加えたときの、グルコースの資化過程を測定した結果のサーモグラムである。¹⁶⁾ 塩化ナトリウムが共存するとピークに達する時間が遅れるが、その効果は畑土壌よりも果樹園土壌で小さく、果樹園土壌の方が“耐塩性”が高いことがわかる。これには、土壌そのものと、そこに生育する微生物の双方に原因が考えられる。すなわち、果樹園土壌は畑土壌に比べて土壌有機物含量が高いと予想され、加えた塩化ナトリウムの一部が土壌有機物に吸着されて土壌溶液中の塩化ナトリウムの濃度が低くなり、その結果、ストレスが軽減されている可能性がある。また、土壌有機物含量の高さに由来して、果樹園土壌では畑土壌に比べて土壌微生物の菌数や多様性が高く、塩ストレス耐性の高い微生物数も高い可能性がある。これらのいずれが

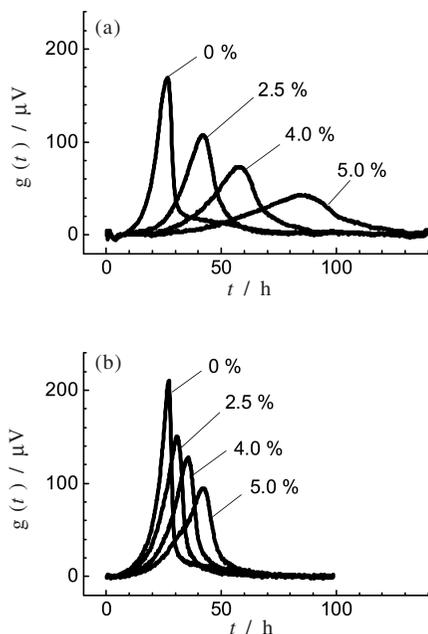


Fig.7 Thermograms of glucose-assimilation by soil microorganisms observed in the presence of various concentrations of sodium chloride. Soils used were (a) upland and (b) orchard, respectively. Observed at 25 °C. Sodium chloride concentrations are shown in the figure.

主要な原因であるか、熱測定自体からは評価できないが、土壌希釈液の資化活性を評価する BIOLOG 法や遺伝子解析との併用によって具体的な原因が判明すると考えられる。

なお、上記の食品腐敗の場合と同じ手法によって、資化活性を 50% 抑制する濃度 K_i や協同性の指数 m 、および最小阻止濃度 MIC を評価することができる。¹⁶⁾

4. おわりに

本稿では、微生物熱測定の概要と、食品の腐敗過程および土壌微生物による炭素源資化過程の解析例を紹介した。熱測定一般の特徴から予期できることではあるが、この手法の特徴は、微生物が関与する現象を、特段の分析や培養に供することなく、直接、丸ごと、非破壊で簡便に測定でき、その結果を数値データとして得られるという点である。その結果の解析から、防腐剤や除草剤などの効果を定量的に評価することができる。同じような解析を平板培養法などの従来法で行うことは、原理的に不可能ではないとしても、実用的ではない手間と費用が必要となるはずである。

また、培養法では、微生物の活性や数を調べるには適切な培地を選択する必要がある、そのためには食品学や土壌学、微生物学についての専門的学識や技術を必要とするが、

熱測定では原理的に、対象とする微生物が培養困難であるか否かを問わず測定することができる。

近年、微生物数を直接に迅速計測できる手法がいくつか開発されている。^{32,33)} 微生物熱測定法やこのような直接計測法と、従来の平板培養法、BIOLOG 法、および遺伝子解析とを併用することによって、腐敗過程の厳密な数値的評価や腐敗予測、および、土壌微生物生態系解析の手法が飛躍的に発展することが期待される。

謝 辞

納豆用大豆と納豆菌は、株式会社小杉食品（三重県桑名市）から提供していただいた。この解説で用いたデータの多くは、財団法人ソルトサイエンス研究財団研究助成金、日本学術振興会科学研究費補助金（萌芽研究）、および、山崎舜平博士（株式会社半導体エネルギー研究所代表取締役社長）から受けた研究支援によるものである。記して謝意を表する。

文 献

- 1) S. Ono, K. Hiromi, and K. Takahashi, *J. Biochem.* **57**, 799 (1965).
- 2) K. Takahashi, *Thermochim. Acta* **163**, 71 (1990).
- 3) K. Takahashi, *Tokai J. Exp. Clin. Med.* **15**, 387 (1990).
- 4) 高橋克忠, 防菌防黴 **24**, 313 (1996).
- 5) 高橋克忠, 食品工業 **43**, 1 (2000).
- 6) A. O. Antoce, L. D. Dinu, and K. Takahashi, *Roum. Biotechnol. Lett.* **6**, 43 (2001).
- 7) A. Katarao, N. Yamao, and K. Takahashi, *Agric. Biol. Chem.* **51**, 2437 (1987).
- 8) O. A. Antoce, N. Pomohaci, V. Antoce, H. Fukada, K. Takahashi, H. Kawasaki, N. Amano, and T. Amachi, *Biocontrol Sci.* **1**, 3 (1996).
- 9) O. A. Antoce, V. Antoce, M. Kudo, F. Yoshizako, and K. Takahashi, *Netsu Sokutei* **24**, 111 (1997).
- 10) M. Hashimoto and K. Takahashi, *Agric. Biol. Chem.* **46**, 1559 (1982).
- 11) A. Katarao, T. Mune, and K. Takahashi, *Agric. Biol. Chem.* **51**, 2443 (1987).
- 12) A. Katarao, H. Okuno, and K. Takahashi, *Agric. Biol. Chem.* **52**, 2279 (1988).
- 13) K. Koga, Y. Nishizawa, Y. Matsumoto, T. Hara, and K. Takahashi, *Biocontrol. Sci.* **9**, 21 (2004).
- 14) 古賀邦正, 熱測定 **31**, 117 (2004).
- 15) 田中晶善, 坂宮智樹, 栗冠真紀子, 三宅英雄, 深田はるみ, 妹尾啓史, 栗冠和郎, 高橋克忠, 日本海水学会誌 **60**, 132 (2006).
- 16) 坂宮章世, 近藤沙紀, 三宅英雄, 妹尾啓史, 田中晶善,

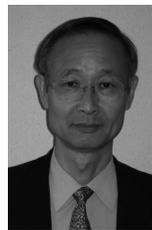
要 旨

微生物熱測定の概要と、これを食品微生物学、土壤微生物学へ適用した例を紹介する。食品の腐敗過程や土壤微生物による炭素源の資化過程を熱測定することにより、発熱が半分終了する時間 $T_{1/2}$ 、最大速度が最大に達する時間 M などの値を求めることができる。塩化ナトリウムなど、食品の防腐効果や土壤微生物活性を抑制する効果のある物質の濃度に対するこれらの値の依存性を解析することで、腐敗や資化活性を50%抑制する濃度 K_i 、抑制効果の協同性指数 m 、最小生育阻止濃度MICなどの値を評価できる。この微生物熱測定法は、食品微生物学や土壤微生物学についての高度な学識や技術を必ずしも必要とせず、また培養困難微生物の活性も評価しうるという利点を持っている。

- 熱測定 **35**, 134 (2008).
- 17) 高橋克忠, 熱測定 **18**, 9 (1991).
 - 18) 高橋克忠, 非破壊検査 **48**, 202 (1999).
 - 19) T. Arao, M. Asakura, Y. Suzuki, K. Tamura, A. Okamoto, H. Inubushi, and M. Miki, *Env. Sci.* **11**, 303 (2004).
 - 20) 河本由香, 有本直子, 深田はるみ, 新田康則, 高橋克忠, 川崎東彦, 防菌防黴 **24**, 321 (1996).
 - 21) 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 (1996).
 - 22) 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, 防菌防黴 **24**, 397 (1996).
 - 23) O. A. Antoce, V. Antoce, K. Takahashi, N. Pomohaci, and I. Namolosanu, *Thermochim. Acta.* **297**, 33 (1997).
 - 24) O. A. Antoce, V. Antoce, and K. Takahashi, *Netsu Sokutei* **24**, 206 (1997).
 - 25) F. Okada, A. Kobayashi, N. Fujiwara, and K. Takahashi, *Biocontrol Sci.* **3**, 79 (1998).
 - 26) O. A. Antoce, V. Antoce, N. Mori, S. Yasui, A. Kobayashi, and K. Takahashi, *Netsu Sokutei* **25**, 2 (1998).
 - 27) F. Okada, A. Kobayashi, N. Fujiwara, N. Arimoto, and K. Takahashi, *Biocontrol Sci.* **4**, 67 (1999).
 - 28) O. A. Antovce, V. Antoce, N. Pomohaci, I. Namolosanu, and K. Takahashi, *Biocontrol Sci.* **3**, 7 (1998).
 - 29) S. Wirkner, K. Takahashi, M. Furuta, and T. Hayashi, *Netsu Sokutei* **28**, 106 (2001).
 - 30) J. L. Garland and A. L. Mills, *Appl. Environ. Microbiol.* **57**, 2351 (1991).
 - 31) J. P. Mafham, L. Boddy, and P. F. Randerson, *FEMS Microbiol. Ecol.* **42**, 1 (2002).
 - 32) D. Y. C. Fung, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **1**, 3 (2002).
 - 33) 川崎 晋, FFI ジャーナル **213**, 818 (2008).



坂宮章世 Akiyo K. Sakamiya
三重大学生物資源学研究所, Graduate School of Bioresources, Mie Univ., TEL. 059-231-9605, FAX. 059-231-9684, e-mail: 506D302@m.mie-u.ac.jp
研究テーマ: ミクロカロリメトリーの微生物活性測定への応用
趣味: 音楽, 犬と散歩



田中晶善 Akiyoshi Tanaka
三重大学生物資源学研究所, Graduate School of Bioresources, Mie Univ., TEL. 059-231-9605, FAX. 059-231-9684, e-mail: akiyoshi@bio.mie-u.ac.jp
研究テーマ: 熱測定のバイオ系への応用
趣味: 「懐手して宇宙見物」