アサマ NEWS パートナー
2000-7 NO.77

食品衛生ミニ講座

バイオプレザベーションその後

既に3回にわたって、食品の非加熱殺菌技術の一つとしてのバイオプレザベーションを説明してきた。そのポイントは、加熱することができないレタスやカット野菜のような食品や、加熱できないことはないが、加熱すると食品としての価値が失われるもの、あるいは加熱によって著しく栄養成分が破壊されるようなものについての検討であった。したがって、その説明は、必ずしもバイオプレザベーションの全てについての説明としては、完全なものとはいいがたかった。ここでは、バイオプレザベーションについて、最近の報告、あるいは最近の傾向について、紹介してみたい。

それは、ナイシンあるいはナイシンを含むランチビオテイック類を生産する乳酸菌が多く分離されていることである。

はじめに、簡単にバクテリオシンの理解を助けるために、現在のバクテリオシンの分類を示しておくと、表１

表1　乳酸菌が生産するバクテリオシンの分類

分類	性質	代用的なバクテリオシン
1	ランチビオテイック：不飽和アミノ酸、ランチオニン、3-メチルランチオニンなどの異常アミノ酸を含む耐熱性低分子ペプチド（＜5kDa）	ナイシンA、ナイシンZ、ラクチシン481、カルノシンUI49、ラクトシンS
2	ランチオニンを含まない耐熱性低分子ペプチド（＜10kDa）：前駆体はGly^{-2}－Gly^{-1}－Xaa^{+2}のプロセッシング部位を持つ	
2a	N末端にコンセンサス配列（-Try-Gly-Asn-Gly-VAL-Xaa-Cys-）を有する抗リステリア活性ペプチド	ペデイオシンPA-1、サカシンA、サカシンP、ロイコシンA、クルバシンA
2b	2分子のペプチド複合体を形成して抗菌活性を示す	ラクトコッシンG、ラクトコッシンM、ラクタシンF、
2c	抗菌活性に還元型のシステイン残基が必要	ラクトコッシンB
3	熱感受性の高分子タンパク質（＞30kDa）	ヘルベテイシンJ、ヘルベテイシンV-1829、アシドフィルシンA、ラクチシンA、ラクチシンB
4	糖質や脂質と複合体を形成して抗菌作用を示す	プランタリシンS、ロイコノシンS、ラクトシン27、ペヂオシンSJ-1

園元ら：食品微生物制御技術の進歩p130中央法規出版（1998）

のようである。ランチオビオテイックは、この表の分類1にまとめられるもので、分子量5kDa以下の、耐熱性が高い、又分子中にはランチオニンや3-メチルランチオニンを含むバクテリオシンで、代表的なものはナイシンである。

園元らは、家庭の台所から分離した*Lactococcus lactis* 10-1がナイシンの類似体であるナイシンZを生産することを報告し、この乳酸菌は日常生活において、自然に体内にはいり、腸内フローラを健全な状態に維持するのに役立っていると思われると述べている（園元謙二、木村宏和、松崎弘美、石崎文彬：食品微生物制御技術の進歩p135、中央法規出版（1998））。このナイシンZは通常にナイシンとして商品化されているもの（ナイシンA）とは、アミノ基末端から27番目のアミノ酸がヒスチヂンから、アスパラギンに変化したものに過ぎないことが示されている（Matsusaki, H., Endo, K., Sonomoto, K. and Ishizaki, A.: *Food Sci. Technol. Int.* **2** 157（1996））。抗菌作用は、ナイシンAとナイシンZでは、殆ど同じである。

さらに園元らは、小笠原藩以来360年以上続いて伝承されているぬか床から分離した*Pediococcus* sp.ISK-1の生産するバクテリオシンを精製したところ、従来*Pediococcus*の生産する幾つかのPediocin類と異なるランチビオテイックの一種で、ナイシンとは異なり27個のアミノ酸から構成されるものであることが明らかにされた（Kimura,H.,Nagano, R., Matsusaki, H..Sonomoto, K.and Ishizaki, A.: *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **61** 1049（1997）、Kimura, H., Sashihara, T.,Matsuzaki, H.,Sonomoto, K. and Ishizaki, A.:*Ann, N.Y. Acad. Sci.*, in press（1998）, 園元謙二、木村宏和、松崎弘美、石崎文彬：食品微生物制御技術の進歩p145,中央法規出版（1998））。このバクテリオシンは、ナイシンより広い範囲のpH域で安定であり、しかも広い抗菌作用のスペクトルを持っているが、*Ped. pentosaceus*や*Lact. plantarum*に対しては抗菌作用を示さない。このバクテリオシンは、全く新規なランチオビオテイックであり、長期間にわたって、漬物と共に摂取していた可能性が考えられる。

ごく最近恩田らは、味噌醸造に関連する乳酸菌には、高頻度でバクテリオシン生産菌が見られ、その中で乳酸球菌の一種のGM005株が生産するバクテリオシンは、2.5kDaの分子量のペプチドであり、一種のランチビオテイックであることが報告されている（恩田匠、柳田籐寿、辻政雄、荻野敏、篠原隆、内村泰：日本食品科学工学会、第47回大会要旨P114、2000、3月29日、於　大妻女子大）このバクテリオシンは、分子量の大きさからも明らかにナイシンではないが、広い抗菌スペクトルを示すという。

既に紹介しているが、Kellyらは、ready-to-eat foodからバクテリオシン生産性の乳酸菌を分離し、肉類や魚介類では*Lactbacillus*や*Leuconostoc*などがバクテリオシンを生

産するが、概して狭い抗菌スペクトルのものが分離される。これに対して、果実や野菜からは広い抗菌スペクトルのバクテリオシンを生産する菌が分離され、大部分は*Lactococcus*で幾つかの株はナイシン様のバクテリオシンを生産することを報告している。そして、多くのバクテリオシン生産菌が、分離されることは、これらの菌株が既に食品とともに人に摂取され、またバクテリオシン生産株を利用して、非加熱食品などのバイオプレザベーションを安全に行いうる可能性を示すとしている（Kelly, W. J.,Asmun-dson, R.V.and Huang, C.M.: *Int. J. Food Microbiol.* **33** 209（1996）, Kelly, W.J., Davey, G.P. and Ward, L .J. H.: *Int. J. Food Microbiol.* **45** 85（1998））。

さて、ラクタシン 3147は、やはり*Lactococcus lactis* 3147の生産するランチビオテイックの一種で、現在の所通常の教科書のランチビオテイックのグループには提示されていない。このバクテリオシンの詳細な所は、現在の段階では良く分からないが、二つのコンポーネントからなるバクテリオシンで、広いグラム陽性細菌に抗菌作用を示し、細胞膜に作用してK^+イオンを溶出させる。Morganらは、このバクテリオシン生産株の*L. lactis* DPC 3147をホエイ粉末（10%）に接種し、pH6.5で24時間培養したものを、殺菌濃縮し、冷却後、噴霧乾燥により粉末化する。この粉末は、102,400AU/gの活性を持っている。作用は*L.monocytogenes*や*S. aureus*に対して検討されて、上記の粉末の10%溶液の作用を調べ、*L. monocytogenes*と*S. aureus*に対する殺菌作用のうちで、*S. aureus*に対するものを図1に示した。このように、非常に強い殺菌作用が見

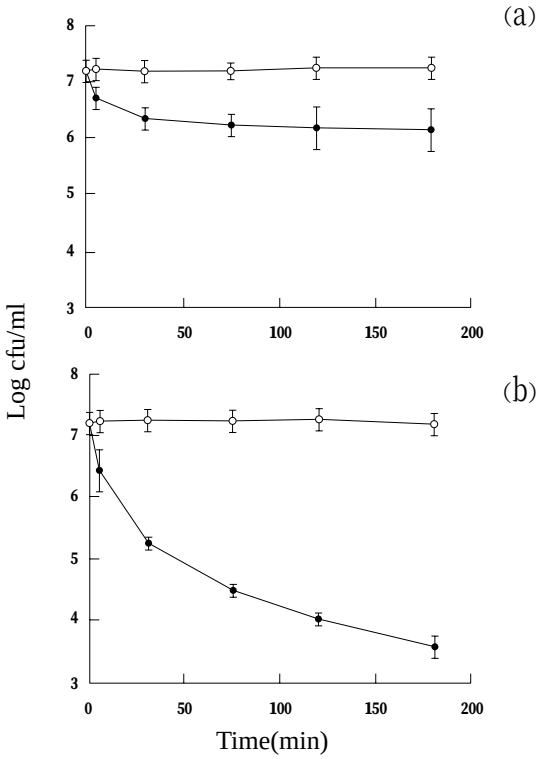

図1　ラクチシン3147粉末による*S.aureus* の30℃における緩衝液中での殺菌（粉末15%）（a）pH 5（b）pH 7
○：無添加　　●：添加

られているが、*S.aureus*に対しては、pH7.0の場合のほうが、pH5.0よりはるかに強い作用をしめす。

Morganらは、このラクチシン 3147の食品への利用について、二つの用途を考えていて、その一つはチーズスターターカルチャーとしての利用で、コッテージチーズでの*L. monocytogenes*の阻止、および不良な乳酸菌の発育阻止である。もう一つは、上記のようなバクテリオシン粉末で、各種の食品の衛生細菌からの防御である（Morgan, S.M.,Galvin, M., Kelly, J., Paul Ross, R. and Hill, C.: *J. Food Prot.* **62** 1011（1999））。

引き続いてラクタシン 3147について、Scannellらは、ラクタシンを精製し、フレッシュポークソーセージに添加して、ナイシンと効果比較を行った。二つのバクテリオシンは、それぞれ単独で、あるいは乳酸ナトリウムやクエン酸ナトリウムとの併用で、*Sal. Kentucky*, *Cl. perfringens*および*L. innocua*に対するテストを行った結果、両者には大差はないが、生菌数はラクタシンの方が効果的な結果が得られている（図2）（Scannell, A. G. M., Paul

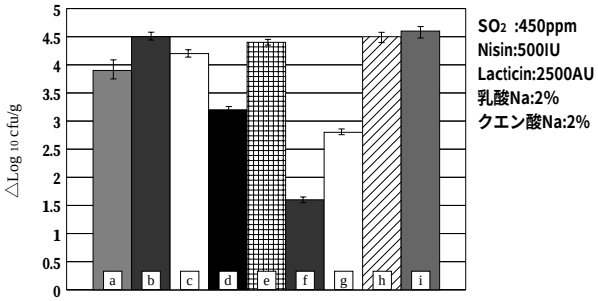

図2　トータルプレートカウントの増加と添加物の効果
a:SO_2 b:ナイシン c:ラクチシン d:ナイシン＋乳酸Na e:ナイシン＋クエン酸Na f:ラクチシン＋乳酸Na g:ラクチシン＋クエン酸Na h:乳酸Na i:クエン酸Na

Ross, R., Hill, C. and Arendt, E. K.: *J. Food Prot.* **63** 370（2000））。

さて、これらの結果はバクテリオシンの利用に関して、次のような可能性を示しているのではないか。

（1）野菜や果実などの食品からは、ドミナントに*Lactococcus*系の乳酸菌が分離され、その多くのものはナイシンあるいはランチオビオテイック系のバクテリオシンを生産する。

（2）このような状況は、わが国の古くから伝承された伝統食品に広く見られ、漬物の糠床や味噌からランチオビオテイック生産性の乳酸菌が分離される。

（3）これらの乳酸菌の生産するバクテリオシンは、場合によれば野菜や果実、あるいは当該の伝統食品と共に、長期間にわたって、人々に摂取され続けていたのではないか。

（4）また、野菜や果実を原料とする食品、特に発酵過程が少しでも加わったようなものでは、その発酵過程のコントロールは、バクテリオシンの作用が、大きい意味を持ち、腐敗菌や食中毒細菌の発育を抑制していたのではないか。

（5）新しいランチオビオテイックの作用は、おおむねナイシンと似ている。その作用は、細菌の細胞膜に作用し、細胞膜に穴を開けて細胞に障害を与えることである。そうであれば、ナイシンが現在利用性が考えられている全ての作用についても、同じような効果が期待できるのではないか。

以上は、私のランチオビオテイックの新しい開発に伴う紹介の一部である。

（松田敏生　フードスタッフ研究所）

微生物制御に関するトピックス

その25　ナグビブリオなどの制御について

1．はじめに

法定伝染病の病原菌であるコレラ菌*Vibrio cholerae* O1と形態的にも生化学的にも一致するが、抗コレラ血清（抗O1血清）にて凝集しない一群の細菌が*Vibrio Cholerae non*-O1と呼称されている。しかし食品衛生での行政上ではナグビブリオ（ビブリオ・コレラ非O1）といわれている。この菌の病原性が注目されたのは1965年スーダンにおいて600人に及ぶ患者と100人以上の死者を出したことであって、散発下痢病の原因細菌であって、その特性などは腸炎ビブリオやコレラ菌と類似している。

*V.mimicus*は細菌学的にはnon-O1と区別されるが、ナグビブリオに包括されている。

血清学的にはコレラ菌と区別することができずH抗原はコレラ菌と同一であって、下痢を主な病状とし、生態も類似している。*Plesiomonas shigelloides*は*Vibrio*科に属する菌であり、1947年人間の糞便より最初に分類されている。

*V.vulnificus*は1980年に命名された腸炎ビブリオに類似する食中毒症状を示す好塩菌である。*V.cholerae non*-O1, *V.mimicus, V.fluvialis, Plesiomonas shigelloides*は昭和57年（1982）に食中毒細菌として指定されている。

これらの細菌は、海水、沿岸海域、河川水、動物プランクトン、魚介類、海底沈澱物などに分布している。

2．細菌学的特性

non-O1はコレラ菌と形態的、生化学的特性が一致しているグラム染色陰性の極単毛の鞭毛をもつ運動性の通性嫌気性桿菌である。表－1にはコレラ菌の種々の食材中で

表-1　*V.cholerae* O1の世代時間

培　地	温度（℃）	誘導期（h）	世代時間（分）	菌株
調理ずみカラス貝	22	4	98	1
	30	＜2	22	2
	37	＜2	18	1
	22	8	90	2
	30	3	36	2
	37	2	22	2
調理ずみ米	22	8～10	60	1
	30	2	36	1
	22	15	58	2
	30	1	47	2
調理ずみ鶏肉	22	1	47	1
	37	＜1	27	1
	22	4	54	2
	37	2～3	36	2
調理ずみ豆	22	－	48	1
	37	－	18	1
	22	－	66	2
	37	－	20	2

菌株1：Eltor、 2：Classical

の世代時間を示しているが、37℃で20分前後が最短世代時間ということができる。生産するエンテロトキシンはコレラ毒素と全く同一か極めて類似しているとされている。*non*-O1の病原性に関連する要因としては、プロテアーゼ、hemogglutinin,enterotoxin, hemolysin, cytotoxinなどがあげられているが、hemolysinの産生に対してNa^+が促進効果があるが、グルコースは逆に産生低下させるし、酸素供給が少なくなっても産生が低下するとされている。

*V.vulnificus*は胃腸炎症状等の食中毒症状を呈するが組織への侵入力が強く細胞組織を破壊して敗血症症状を起すとされている。発育温度域8～43℃、最適37℃で、発育可能aw0.96～0.997、最適aw0.98、発育可能食塩濃度0.5～5.0%、最適2.5%といわれている。

*Plesiomonas shigelloides*の発育に対する影響因子として、濃度、NaCl、pH、ガス環境についての検討結果を次に示す。TSB培地では、8℃～45℃まで発育可能であり、ザリガニ尾部中で11℃、14℃では4日ないし6日で$10^{5\sim6}$に増殖している。TSB培地では食塩濃度5%迄増殖可能であるが、トリプトンブロースでは3%が最高である。TSB培地ではpH4.0～8.5の範囲で増殖可能である。包装条件下で好気的には11℃、14℃で6日で$10^{5.2\sim6.0}$、真空では11℃で6日で$10^{1.9}$に、14℃で4日で$10^{5.9}$に増殖している。調整雰囲気（CO_2 80%、O_2 0%）では11℃では7日で$10^{-1.7}$と低下しているが、14℃では徐々に増殖し6日で$10^{3.1}$となっている。

3．制御のための基礎資料

表－2には*Vibrio*3菌種の熱抵抗特性値を示した。サルモネラや病原性大腸菌などと大差のないD値が得られている。

表-2　*Vibrio*の熱抵抗性

菌　種	培地	温度（℃）	D（分）	Z（℃）
V.cholerae	1%ペプトン水（pH6.4）	49	1.70	17
		54	1.04	〃
		60	0.63	〃
		63	0.36	〃
	カニ肉ホモジネート（pH7.0）	49	8.15	21
		54	5.02	〃
		60	2.65	〃
		66	1.60	〃
		71	0.30	〃
	カキホモジネート（pH6.0）	49	4.71	＜5
		54	0.35	〃
		60	0.35	〃
		71	0.30	〃
		77	0.29	〃
		82	0.24	〃
V.vulnificus 不透明株	BHI broth	45	48.25	
		47	3.55	2.4～
		49	0.55	2.5
		51	0.19	
半透明株	BHI broth	45	40.6	
		47	3.28	1.7～
		49	0.44	2.1
		51	0.18	
Plesiomonas shigelloides	TSB＋0.85NaCl	60	30*	－

*　初発菌数$10^{5\sim6}$/mlでのTDT

表－3には放射線照射に対する抵抗性をD_{10}値（KGy）で示しているが、何れも0.5KGy前後である。表－4には過酢酸、次亜塩素酸ナトリウム、第4級アンモニウム塩、アルコールなどの二菌株のコレラ菌に対する作用力を示している。次亜塩素酸ナトリウムの場合アルブミンの存在で作用力は殆どなくなっている。

表-3　*Vibrio*の放射線抵抗性

菌　種	食品など	温度（℃）	包装	D_{10}（KGy）
V.cholerae	クルマエビ	－10	air	0.11
V.fluvialis	エビペースト	－20	vac.	0.44
V.mimicus	〃	－20	vac.	0.75
V.parahaemolyticus	〃	－20	vac.	0.44
	1%NaClリン酸緩衝液（pH7.0）	－	air	0.075
V.vulnificus	エビペースト	－20	vac	0.30
	1%NaClリン酸緩衝液（pH7.0）	－	air	0.35

表-4　*V.cholerae*に対する殺菌作用

殺菌剤	濃度（ppm）	処理時間（分）	生存性（log_{10}/ml） Inaba	Ogawa
5%過酢酸（pH4～5）	25	5	<2	<2
次亜塩素酸ナトリウム	125	5	<2*	<2*
〃	25	15	5.9	6.4
〃	100	5	5.7	6.8
〃	100	15	4.8	6.5
第4級アンモニウム塩	50	5	2.6	<2
	50	15	<2	<2
N-アルキルビテイン	50	5	3.6	3.9
	50	15	3.7	<2
	200	5	<2	<2
イソプロパノール	20%	2	<2	<2
クロルヘキシジン	10	5	4.9	5.2
	50	5	4.5	4.3
	100	5	3.9	4.1

初発菌数：Inaba 6.2、Ogawa 7.6 log_{10}/ml
すべての試験に0.2% bovine serum clbiomin添加
併し※アルブミン無添加

表－5は腸炎ビブリオ、コレラ菌、ビブリオブルニフィカス、プレシオモナスの諸特性の比較である。

表-5　ビブリオの諸特性の比較

項　　目	*V.parahaemolyticus*	*V.cholerae*	*V.vulnificus*	*Plesiomonas shigelloides*
発育可能温度域（℃）	5～44.5	10～43	8～43	8～45
発育最適温度（℃）	35～37	37	37	30
発育可能pH域	4.5～11.0	5.0～9.6	4.5～9.0	4～9
発育最適pH	7.8～8.6	7.6	7.8	7
発育可能aw	0.940～0.996	0.976～0.998	0.960～0.997	－
発育最適aw	0.881	0.984	0.980	
食塩耐性（%）	0.5～10.0	0.1～4	0.5～5	～5
最適食塩濃度（%）	3.0	0.5	2.5	
熱抵抗性（分）	$D_{53℃}$ 2.8～4.0分	$D_{60℃}$ 0.35～2.65	$D_{51℃}$ 0.18～0.19	$TDT_{60℃}$ 30
放射線抵抗性（KGy）	D_{10}＝0.44	D_{10}＝0.11	D_{10}＝0.35	－

4．むすび

本シリーズその23、24にも示しているが、*Vibrio*に属する食中毒細菌は、サルモネラや病原大腸菌などと同等の熱抵抗性を示すので、種々の影響因子によってD値の変動はあるが70℃～75℃の温度での処理によって死滅することができる。一方低温度条件の採用による制御は重要であり、比較的に速やかに死滅することが認められるが、凍結状態で長期にわたって検出されることには注意を要することである。常用されている殺菌剤の利用によって死滅効果が認められるので、食材以外に十分殺菌目的が達成される。この外pH4.5以下とかaw＝0.9以下（NaCl10%以上）の条件を充す食材でも*Vibrio*の発育抑制が可能である。

（大阪大学名誉教授　芝崎　勲）

保存料、殺菌料の指定の変遷

表１　保存料

物　質　名	指　　定	指定取消
亜硫酸、亜硫酸ナトリウム	昭3（1928）	
	昭23（1948）	
安息香酸	昭23（1948）	
安息香酸ナトリウム		
サリチル酸	昭3（1928）	
	昭23（1948）	昭50（1975）
ソルビン酸	昭30（1955）	
ソルビン酸ナトリウム	〃	昭46（1971）
ソルビン酸カリウム	昭35（1960）	
デヒドロ酢酸	昭28（1953）	平3（1991）
デヒドロ酢酸ナトリウム	昭28（1953）	
プロピオン酸	昭58（1983）	
プロピオン酸ナトリウム	昭38（1963）	
プロピオン酸カリウム	昭38（1963）	
メチルナフトキノン	昭27（1952）	昭39（1964）
パラオキシ安息香酸エチル	昭12（1937）	
〃　プロピル	昭23（1948）	
〃　ブチル		
〃　イソプロピル	昭38（1963）	
〃　イソブチル		
〃　セカンダリブチル		昭46（1971）
ラウリルトリメチルアンモニウム－2,4,5－トリクロルフェノキサイド	昭39（1964）	昭53（1978）
ロダン酢酸エチル	昭23（1948）	昭27（1952）
オルトフェニルフェノール	昭52（1977）	
オルトフェニルフェノールナトリウム		
ジフェニル	昭46（1971）	
チアベンダゾール	昭53（1978）	
イマザリル	平4（1992）	
クロルテトラサイクリン	昭32（1957）	昭53（1978）

表２　殺菌料

物　質　名	指　　定	指定取消
過酸化水素	昭23（1948）	
	昭55（1980）	
クロラミンB	昭23（1948）	昭46（1971）
クロラミンT		
ハラゾール	昭23（1948）	昭46（1971）
高度サラシ粉	昭34（1959）	
サラシ粉	昭25（1950）	平5（1993）
次亜塩素酸	昭25（1950）	平3（1991）
次亜塩素酸ナトリウム	昭25（1950）	
ニトロフラゾーン	昭25（1950）	昭40（1965）
ニトロフリルアクリル酸アミド	昭29（1954）	昭40（1965）
フリルフラマイド	昭40（1965）	昭49（1974）

アサマ化成株式会社
E-mail : asm@asama-chemical.co.jp
http://www.asama-chemical.co.jp

本　　社／〒103-0001	東京都中央区日本橋小伝馬町20-3	TEL（03）3661-6282	FAX（03）3661-6285
大阪営業所／〒532-0011	大阪市淀川区西中島5-6-13 御幸ビル	TEL（06）6305-2854	FAX（06）6305-2889
東京アサマ化成／〒103-0001	東京都中央区日本橋小伝馬町16-5	TEL（03）3666-5841	FAX（03）3667-6854
中部アサマ化成／〒453-0063	名古屋市中村区東宿町2－28－1	TEL（052）413-4020	FAX（052）419-2830
九州アサマ化成／〒811-1311	福岡市南区横手2－32－11	TEL（092）582-5295	FAX（092）582-5304
桜陽化成／〒006-1815	札幌市手稲区前田五条9－8－18	TEL（011）683-5052	FAX（011）694-3061