

産膜酵母の発生防止法の開発

—分離産膜酵母に対する天然系抗菌物質の抗菌力の比較—

乙黒 親男・木村 英生

Technical Development for Prevention of Contamination with Film-Forming Yeast in Foods

—A Comparison of Inhibitory Effect of Natural Antimicrobial Substances on the Growth of Film-Forming Yeasts Isolated from *Ume-Zuke*—

Chikao OTOGURO and Hideo KIMURA

要 約

天然系抗菌物質は産膜汚染を起こした梅漬けから分離した産膜酵母16株に対して顕著な抗菌効果を認めたが、抗菌スペクトルは狭域性であった。一方、それらに対して比較的耐性を有した*Candida krusei*は亜硫酸に対して感受性が高いことから、これの併用により抗菌スペクトルが拡大した。

Abstract

The inhibitory effects of natural antimicrobial substances (NAS) on the growth of film-forming yeasts isolated from contaminated *Ume-Zuke* (sixteen strains) was susceptible, their antimicrobial spectrum was limited comparatively.

The other side, *Candida krusei* could tolerate NAS well, it was sensitive to sulfur dioxide. From the results, the inhibitory effect of NAS showed a broad antimicrobial spectrum of *Ume-Zuke* when NAS was used in combination with sulfur dioxide.

1. 緒 言

近年、消費者の健康志向、高鮮度志向から加工食品はソフト化が進み、保存性の低い食品が大きな比率を占めるようになってきている。このような状況下において、微生物的問題は、従来の加工食品に比較して製造あるいは流通過程で食品自体や環境的条件が異なっているため、その管理をどのように処理するかが重要となってきている。なかでも酵母は、保存料等に抵抗性が強くさらに低温でも増殖するため、これが微生物フローラの優勢菌として変敗に関与するようになり、業界において大きな問題¹⁾となっている。これら酵母に対する有効な保存料としてソルビン酸が使用されているが、消費者の合成保存料への拒否傾向や使用の対照とならない食品の増加から天然系保存料の要求が高まってきている。最近になってこれら酵母に特異的な生育抑制を示す植物由来の天然系保存料（カラシ油²⁾、ユッカ抽出物³⁾、パプリカ抽出物⁴⁾）が開発されてきている。しかし、食品に用いる抗菌性物質の効果は個々の食品や分離酵母の起源で異なるので、当該食品で確認する必要がある。そこで、本報では産膜汚染を起こした製造工程や製品から分離した産膜酵母に対する各種抗菌剤の生育抑制効果について検討した。

2. 実験材料および方法

2-1 供試菌株

県内の梅漬け工場の産膜酵母で汚染された梅漬けあるいは製造工程から分離された菌株^{5), 6)}の中から、産膜汚染の代表的菌種に属する16株、*Pichia anomala* (102, 204, 223, 241, 256), *Candida guilliermondii* (213, 222), *Debaryomyces hansenii* (119, 206, 225), *Torulasporea delbrueckii* (101), *P. membranaefaciens* (103), *C. pelliculosa* (106), *C. krusei* (108), *C. sp* (113, 114)を供試した。なお、対照の標準菌株は次の3株を用いた。*Debaryomyces hansenii* (JCM 5023), *Pichia anomala* (JCM 3585), *Candida krusei* (RIFY YTd3)。

2-2 抗菌試験に用いた添加物

次に示した7種類の市販の天然系添加物を中心に用い、抗菌力試験を行った。

ユッカ抽出物（丸善製薬（株）、以下ユッカ）、パプリカ抽出物（アサマ化成（株）、以下パプリカ）、チアミンラウリル硫酸塩（ビタゲン・AS-5、田辺製薬（株）、以下チアミン）、グレープフルーツ種子抽出物⁷⁾（CAP-EX80-F、エフ・オー・バイオ（株）、以下グレープフルーツ）、孟宗竹抽出物⁸⁾（竹伝説（孟宗竹抽出物：1%）、日本油脂（株）、以下孟宗竹）、シナナム酸ナトリウム（和光純薬工業（株）、以下シナナム酸）、メタ重

亜硫酸カリウム (和光純薬工業 (株), 以下亜硫酸)

2-3 梅酢培地の調製

梅酢は、梅干し原料として適熟期にあるウメ果実（‘甲州小梅’； Japanese Apricot, *Prunus mume* Sieb. et Zucc. var. *microcarpa* Makino）に、果実重量に対し20%の食塩を加え、2週間浸漬させた後、梅酢（食塩：16.97%，総酸：4.22%，pH：1.95）を得た。なお、抗菌力試験には梅酢を4倍希釈した梅酢液（食塩：4.24%，総酸：1.06%，pH：2.47）を用いた。

2-4 産膜酵母に対する抗菌力試験

食塩5%含有YM液体培地で前培養（振盪培養：25℃，2日間）した酵母菌体を滅菌生理食塩水に懸濁し、上記の加熱殺菌した梅酢液5 mlに 10^8 cfu/mlとなるよう接種した。これを25℃，10日間静置培養し、生育および産膜形成状態を経時的に観察した。なお、各添加物の抗菌力試験は、梅酢液に所定濃度添加後、加熱殺菌（65℃，15m）したが、メタ重亜硫酸カリウムは揮発性であることから、梅酢液を加熱殺菌後に無菌的に添加した。また、生育の認められない最小濃度を最小生育阻止濃度（以下MICと略）とした。

3. 実験結果および考察

現在の調味梅漬けあるいは調味梅干しの食塩濃度は、6~7%が主体となってきているため⁹⁾、産膜酵母が両者の表面に斑点状に増殖し、有機酸が消費されてpHが上昇し、腐敗細菌やカビ類の増殖による腐敗あるいは果肉の軟化等の問題が発生し易い状況にある。

これらの産膜酵母の増殖を抑制する目的から、エタノール、食酢、チアミンラウリル硫酸塩あるいは香料成分（シナモンの成分であるシンナム酸）等の単独あるいは併用添加が行われているなかでも、抗菌効果が高いチアミンラウリル硫酸塩（特有の臭いと味）およびシンナム酸（シンナム酸が産膜酵母等により資化されスチレンを生成）は、高い頻度で使用されており、前者では問題点を改良した製品が販売されている。しかし、食品に用いる抗菌物質の効果は個々の食品において異なるので、当該食品を用い、酵母に対して抗菌性が高い天然系日持ち向上剤であるユッカ、パプリカ、グレープフルーツ種子および孟宗竹抽出物を含めてそれらの抗菌効果についても検討を行い、図1に各添加物の生育抑制効果を示した。その結果、ユッカ抽出物のMICは、梅漬けの塩蔵段階で産膜汚染を引き起こす主要な酵母である*P. anomala*に対して $50 \mu\text{g/ml}$ と顕著な効果が認められたが、抗菌スペクトルは比較的狭域性であった。また、ユッカ抽出物に対して比較的耐性を示した菌種の内、*Deb. hansenii*に対しては他の添加物が、*C. guilliermondii*に対してはチアミンおよびシンナム酸が効果的であった。次に天然系抗菌物質であるグレープフルーツ種子抽出物は、*C.*

guilliermondii (No. 213)を除いて、そのMICが $100 \mu\text{g/ml}$ 以下で強力な抗菌力が認められ、さらに抗菌スペクトルも広がった。これについては、既に仁科ら¹⁰⁾はそれに非常な抗菌力を認め、その抗菌力は食品への使用が認められていない合成抗菌剤であるパラヒドロキシ安息香酸メチルおよびトリクロサンであることを報告し、さらに坂元ら¹¹⁾も同様な結果を得ている。このことから、本実験に使用した抗菌剤の成分を分析していないため言及しがたいが、検討の必要があると考えられる。一方、各添加物に対して耐性を示した*C. krusei* (RIFY YTD3)は、亜硫酸に対するMICが $25 \mu\text{g/ml}$ と顕著なことが明らかにされており¹²⁾、これの併用により抗菌スペクトルの拡大と抗菌効果が向上するものと考えられる。

4. 結 言

産膜汚染を起こした梅漬けあるいは製造工程から分離された産膜酵母16菌株および標準菌株 3株に対して各抗菌物質に生育抑制効果が認められたが、それらの抗菌スペクトルは狭域性であった。一方、それらに対して比較的耐性を示した*Candida krusei*は亜硫酸の感受性が高いことから、それと各抗菌物質の併用により抗菌スペクトルが拡大した。

参考文献

- 1) 内藤茂三：月刊フードケミカル，1997-9，55（1997）
- 2) ISSHIKI, K., TOKUOKA, K., MORI, R. and CHIBA, S. : Biosci. Biotech. Biochem., 56, 1476（1992）
- 3) 山本正次：月刊フードケミカル，1996-10，105（1996）
- 4) YAJIMA, M., TAKAYANAGI, T., NOZAKI, K., and YOKOTUKA, K. : Food Sci. Technol., Int., 2, 234（1996）
- 5) 恩田 匠・乙黒親男・飯野修一・後藤昭二：食科工，44, 407，（1997）
- 6) 恩田 匠・乙黒親男・飯野修一・後藤昭二：食科工，44, 463（1997）
- 7) 渡辺隆夫：食品と開発，29-12, 15（1994）
- 8) 仁科淳良：月刊フードケミカル，1990-5, 36（1990）
- 9) 野村隆弘：漬物技術，No. 10, 97（1997）
- 10) 仁科淳良・木原 浩・内堀 毅・大井 高：防菌防黴，19, 401（1991）
- 11) 坂元史歩・佐藤恭子・米谷民雄・山田 隆：国立衛生試験所報告，114, 38（1996）
- 12) 矢嶋瑞夫・乙黒親男・松土俊秀・奥田 徹・高柳 勉・横塚弘毅：醸協，93, 671（1998）

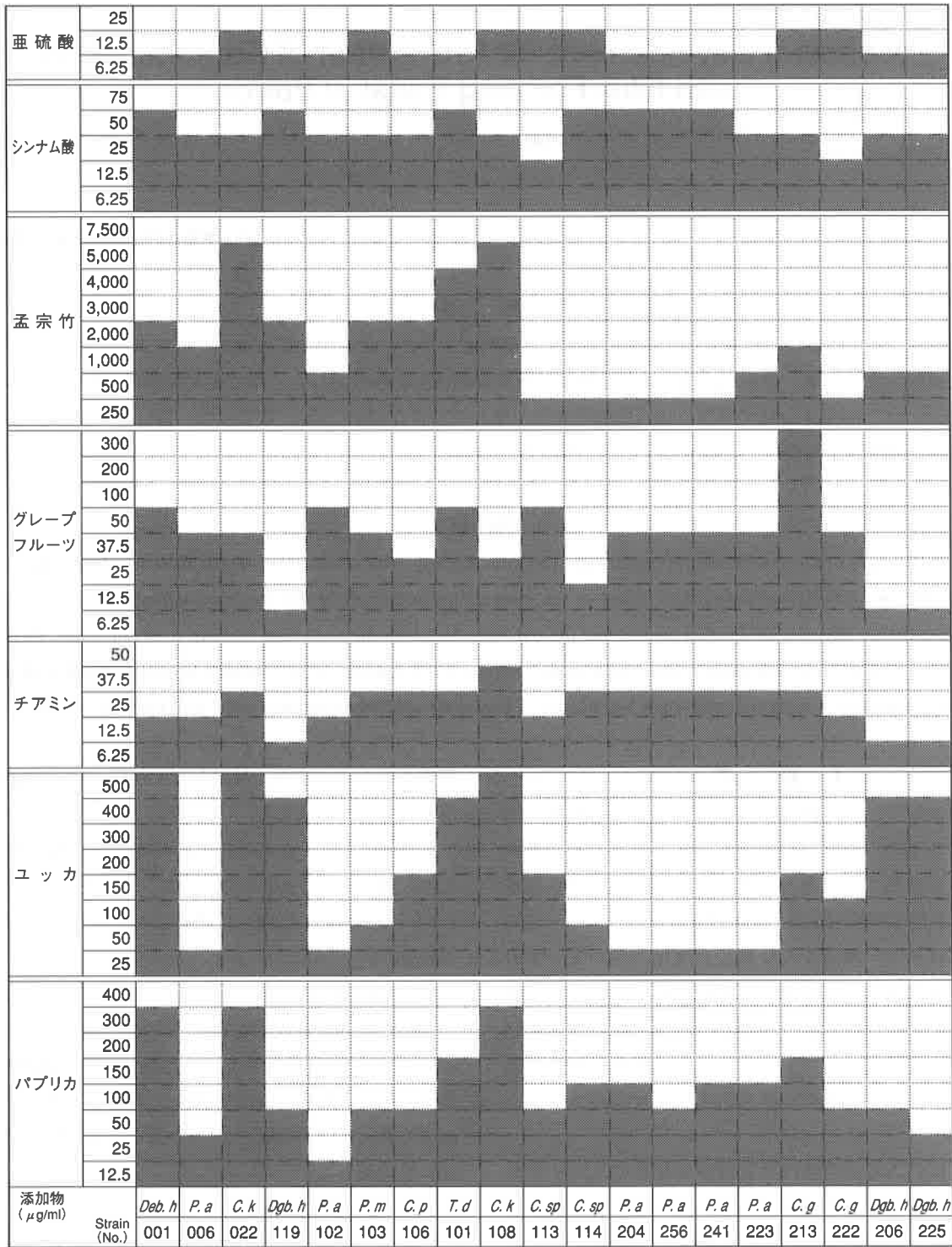


図1. 梅漬けから分離した産膜酵母に対する抗菌物質の抗菌力の比較
 □：生育せず，■：管壁および液面の生育