

市販豆腐の AF-2 と細菌数

春日 徳彦
金子 通治

金丸 佳郎
日原 政彦*

前報¹⁾で述べたように、われわれは *E. coli* K-12 AB 2463²⁾ および Gp1/R₁₀₀ rev-1³⁾ を指示菌として用いることによって 0.1~32 $\mu\text{g/ml}$ の範囲で AF-2 を定量することに成功した。

今回、AF-2 にもっとも高い感受性を示す AB2463 株を用いて市販豆腐の AF-2 を定量し、同時にその細菌数を測定したので、その結果を報告する。

材料と方法

指示菌として *E. coli* K-12 AB2463 を用いた。AF-2 定量はカップ法により、試料は市販豆腐の上澄液を使用した。

Bacto-Penassay Broth (Difco) で一夜培養して、十分に増殖した菌液を10倍に希釈しその 0.1ml を 3 ml の軟寒天に混合し、普通寒天平板上に上層した。ペニシリンカップを置き、それに試料を入れた後、4°C に5時間保った。37°C で一夜培養し、生じた阻止円の直径を測定した。AF-2 の標準希釈液によって得られた阻止円の直径と比較することによって、豆腐の AF-2 含量を定量した。

細菌数は次のようにして測定した。豆腐10gを90mlの生理的食塩水に加えてよくホモジナイズした。それをもとにして10倍希釈をくり返し、各希釈液について、1mlを普通寒天培地に混釈した。48時間後に生じた集落を数え、豆腐1gあたりの細菌数に換算した。

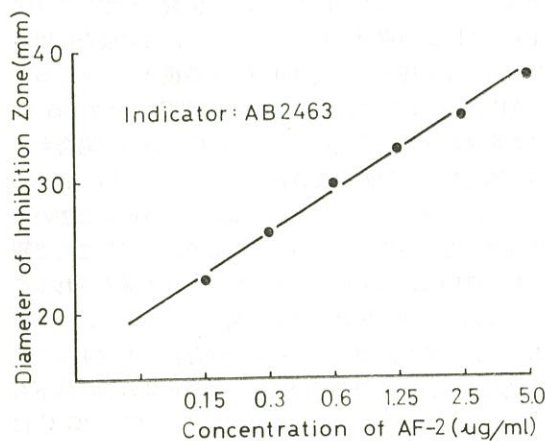


図1 AF-2 の検量線

結果と考察

図1に本法で用いた方法での AF-2 の検量線を示した。前報¹⁾に比し、指示菌の菌量を調節すること、および一定時間 4°C に保つことで阻止円の直径を大きくすることができ、定量性が増している。この方法によって AF-2 の含有が確認されたいくつかの豆腐について公定法⁴⁾による定量をおこなったところ、カップ法では定量値がほぼ $1/2$ になることがわかった。これは公定法では豆腐から AF-2 を抽出するのに対し、本法では単に豆腐の上澄液のみを用いていることによるものと考えられる。図1にみられるように最低の検出限界はほぼ 0.05 $\mu\text{g/ml}$ 程度にあり、これは公定法と比較してかなり低い。これらのことから本法は、豆腐の AF-2 のスクリーニングに、十分な実用性を有するものと考えられる。

表1に検査結果を示した検体数は96である。これらを AF-2 の検出されたものとされなかったものに分けた。さらにその各々を、豆腐1gあたりの細菌数について10の乗数によって分類した。AF-2 の検出されたものは、27検体であった。

また細菌数についてみると、 $10^4 \sim 10^5$ のオーダーで一般細菌を有するものが多かった。

これを図示したものが図2である。

AF-2 を含んでいない豆腐では、その1g当たりの細菌数が 10^5 個のものももっとも多かったのに比し、AF-2 を含む豆腐では、 10^4 個のものも多かった。いずれの場合もその細菌数をピークにしてほぼ正規分布を示した。

表 1 豆腐の細菌数

一般細菌数/g	AF-2(+)	AF-2(-)	計
$10^2 \geq$	1 (3.7)	6 (8.7)	7
10^3	3 (11.1)	10 (14.5)	13
10^4	15 (55.6)	15 (21.7)	30
10^5	5 (18.5)	23 (33.3)	28
10^6	2 (7.4)	11 (16.0)	13
10^7	1 (3.7)	4 (5.8)	5
計	27 (100.0)	69 (100.0)	96

* 現在機械金属工業指導所

() 内は%

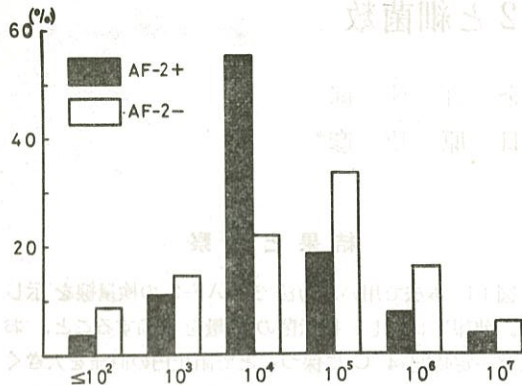


図2 豆腐の細菌数

このことから AF-2 の添加は、市販豆腐の細菌数を、オーダーにして一段階低下させるのに貢献していることがわかる。

ついで AF-2 の検出された 27 検体すべてについて、各々の AF-2 の含有量と、1g あたりの細菌数の関係を図 3 に示した。前述したようにここで用いた AF-2 の定量法では、公定法に比して含有量の $1/2$ しか検出していないが、両法を比較してみると量的に並行するので、カップ法の結果を図示した。

豆腐に使用が許可されている濃度範囲内で、AF-2 の含有濃度の高い豆腐ほど細菌数が少ないならば AF-2 濃と細菌数との間に相関関係が示させるはずである。ところが AF-2 の含有量にかわりなく、ほとんどの検体で細菌数は $10^4 \sim 10^5$ 間に分布していて、両者の間に相関関係はない。したがって図 2 でみられた AF-2 を添加し

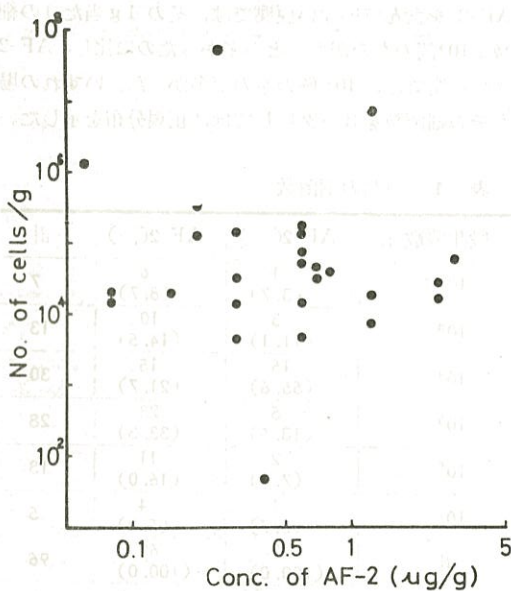


図3 AF-2 と細菌数の相関

た豆腐で細菌数が少ないのは、AF-2 の殺菌効果によるものではないことになる。

これらの結果は、次のように解釈するのが妥当と考える。一般に、豆腐の製造工程ではほぼ 1g あたり 10^4 個のオーダーの細菌が混入される、AF-2 を添加しない豆腐では、この菌が流通過程で増殖して 10^5 個のオーダーになる。AF-2 の使用によって、その間の菌の増殖を抑制することができるのである。

この解釈が正しいとすると一般に考えられているように、AF-2 の添加は、その殺菌作用によって製造工程に混入した一定の細菌数を低下させてはいないことになり AF-2 を殺菌の目的で用いるならば、現行の使用規準より更に高濃度でなければならぬことになる。製造工程で混入した細菌の増殖を抑制するだけが AF-2 使用の目的であるならば、製品の流通過程、保管に注意を払うことで、AF-2 使用の必然性は薄れると考えられる。

他の解釈として、前報¹⁾で図示したように、 $1\mu\text{g/ml}$ の濃度で殺菌作用があり、菌数は急激に低下する。しかし、これは一過性のもので、その後時間の経過にともなって菌は増加してくる。AF-2 を加えた豆腐と加えないものとの細菌数の差は、製造後 1 日では、この一時的におこった細菌数の低下を反映している、という考え方である。この場合 AF-2 は添加後、急速に不活性化されていると考えなければならない。殺菌濃度より、増殖阻止濃度の方が当然低し、また耐性菌の出現によるとするには、菌の増殖が早すぎるからである。

そこで AF-2 を含む豆腐と含まない豆腐について保存性を検討した。ここで使用した豆腐の AF-2 含量はカップ法で $2.5\mu\text{g/g}$ であった。この含有量はカップ法での定量性から考えると、ほぼ使用規準の限界で AF-2 を用いていたものと考えてよい。これらの豆腐を 4°C 25°C に放置し、以後 1 日ごとに細菌数を測定した(図 4)。AF-2 の定量をおこなった後に、この検査に用いたので図 4 の横軸の日数は 0 日が製造後 2 日にあたる。

AF-2 を含有している豆腐でも、 25°C に放置すると、その細菌数は急激に増加する、 4°C に置いた場合も同様に増加し、増加の比は AF-2 を含まない豆腐におけるものとほぼ同様である。図 4 でみる限り、AF-2 添加の効果はほとんど認められないことになる。ただしここで観察した期間は、本来正常な流通経路を経て購入されることのないほど製造後の日数を経過しているもので、これをもって、AF-2 添加による豆腐の保存性を否定することにはならない。時間の経過に伴う AF-2 の活性低下も当然考えなければならないからである。実際、 25°C に放置した豆腐の AF-2 を 3 日後に定量したところ $0.8\mu\text{g/g}$ まで、つまり最初に含有されていた量のほぼ $1/3$ まで AF-2 は低下していた、これは種々の要因による

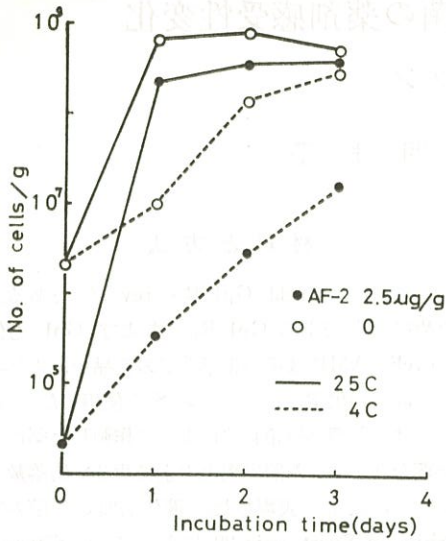


図4 細菌数の経時変化

AF-2の抗菌力の不活性化に起因するものと考えてよ

い。

上記の事実からを AF-2 豆腐に添加することの意義は後者の立場に解釈することができると思われる、すなわち製造工程で AF-2 を添加した直後、細菌数はその殺菌作用によって急激に低下する。しかしこの菌数低下は一時的なもので、AF-2 の不活性化に伴って再び菌は増殖を始める。この最初の菌数の低下と増殖のおくれが、後の豆腐の保存性を大きく支配するのである。

引用文献

- 1) 春日徳彦・金丸佳郎・金子通治・日原政彦
山梨衛研年報, 18:22 (1974)
- 2) Howard-Flanders, P., and L. Theriot. Genetics, 53:1137 (1966)
- 3) Kaneko, M., Y. Kanemaru, and T. Kasuga.
Japan. J. Bacteriol., 27:206 (1973) (in Japanese)
- 4) 日本薬学会編, 衛生研究法注解, 218
金原出版 (1973)