

## 通性嫌気性食中毒細菌に対する 短鎖脂肪酸塩の抗菌性について

松浦 康

### 諸 言

現在知られている抗菌性の食品添加物の多くは有機酸またはそれらのエステルである。これらは、いわゆる化学的合成品であって、その使用に対する批判はかなり根強いものがあり、より生理的物質に近い物質が求められている。

プロピオン酸塩は、パンの“Ropiness”を起す *Bacillus mesentericus* の生育を阻害すること<sup>(1)</sup>、ベリーのカビの発生を遅らせ、リマ豆の細菌の増殖を阻害すること<sup>(2)</sup>などが報告されている。一方、乳酸は抗菌作用があることはよく知られているが、最近の報告では肉製品に応用する方向で検討されており、主として腐敗細菌に対する生育阻害の条件が検討されている<sup>(3,4,5)</sup>。

ヒトの大腸内容物には、酢酸、プロピオン酸、酪酸などが含有されているが<sup>(6,7)</sup>、これらの有機酸がハムスター腸内での *Clostridium difficile* のコロニー形成を阻害することが報告されている<sup>(8)</sup>。本研究では、これら短鎖有機酸の代表的な通性嫌気性食中毒細菌に対する抗菌作用について検討したので報告する。

### 実 験 方 法

#### 1. 使用した細菌

使用した細菌は *Vibrio parahaemolyticus* (IFO 12711), *Staphylococcus aureus* (IFO 3060), *Salmonella typhimurium* (IFO 13245), *Bacillus cereus* (IFO 13494) である。

#### 2. 細菌の培養

ブレインハートインフュージョン培地 (ニッスイ製) に、それぞれの菌を接種し、37℃において16時間振とう培養したものを、有機酸を含む同じ培地に接種し、同じ条件で培養した。尚、培地はpH7.0に調整した。細菌の増殖の測定は600nmにおける吸光度の増加の測定によって行った。吸光度が0.7を超える場合は、培地で適当に稀釈して吸光度を測定し、その稀釈率を乗じて吸光度として表わした。

使用した有機酸は酢酸、プロピオン酸、酪酸 (nacaraitesque 製) であり、これらの水溶液をつくり、水酸化ナトリウムまたは炭酸ナトリウムで中和し (pH7.0)、

遊離酸として5%溶液としたものをメンブランフィルターで濾過除菌した。その有機酸塩液を必要量、滅菌ブレインハートインフュージョン培地に加えて使用した。

### 実 験 結 果

#### 1. 腸炎ビブリオの増殖に対する酢酸塩、プロピオン酸塩、酪酸塩の影響

(1) 単独使用の場合 0.1%、0.5%濃度の各有機酸塩の影響について図1に示した。プロピオン酸塩、酢酸塩が有効であって、その0.5%濃度で顕著な生育阻害を示した。プロピオン酸塩は0.1%濃度においてもかなり有効であった。

(2) 混合使用の場合 各有機酸塩の、それぞれ0.1%濃度 (以下各実験において同濃度) の混合使用の場合の結果を図2に示した。酢酸塩と酪酸塩の混合使用の場合、腸炎ビブリオの増殖を顕著に抑制した。11時間培養の時点までは、その他の混合使用の場合もその増殖を抑制したが、その後、増殖の速度は回復の傾向がみられた。

#### 2. ブドウ球菌の増殖に対する酢酸塩、プロピオン酸塩、酪酸塩の影響

(1) 単独使用の場合 ブドウ球菌に対しては、0.5%濃度のプロピオン酸塩が顕著に有効であった。0.1%プロピオン酸塩、0.5%酢酸塩は、その増殖開始が対照にくらべて2時間遅れているが、その後の増殖速度は対照と変わらなかった (図3)。

(2) 混合使用の場合 酢酸塩、プロピオン酸塩、酪酸塩の混合使用がブドウ球菌の増殖速度を1/3~1/2に抑制し、24時間培養における菌量は対照の約1/2であった。プロピオン酸塩、酪酸塩混合使用の場合も11時間培養までは、その増殖速度は1/3~1/2に抑制されたが、その後、増殖速度は回復した。酢酸塩、プロピオン酸塩ならびに酢酸塩、酪酸塩混合使用の場合、初期の増殖速度が抑制された (図4)。

#### 3. サルモネラ菌の増殖に対する酢酸塩、プロピオン酸塩、酪酸塩の影響

(1) 単独使用の場合 サルモネラ菌に対しては、これら有機酸塩は増殖に対する抑制効果をほとんど示さなかった。しかし、細かく検討すると初期の段階では、そ

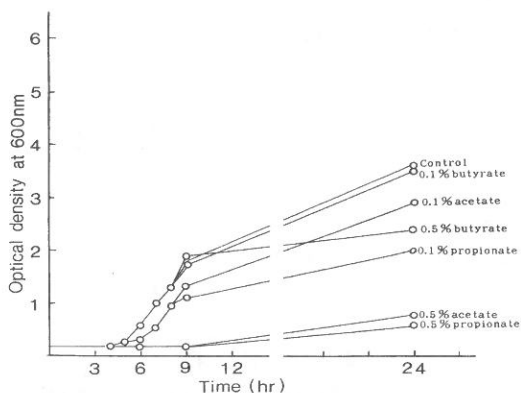


図1. 腸炎ビブリオの増殖に対する短鎖脂肪酸塩単独使用の場合の影響

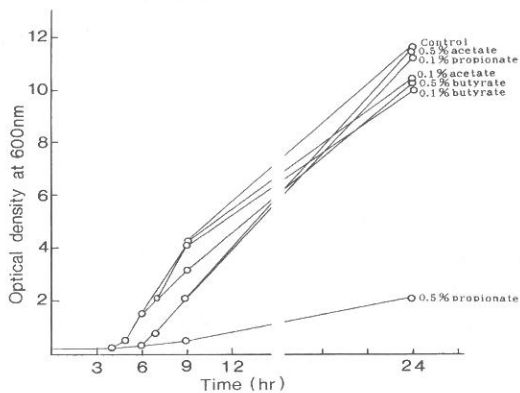


図3. ブドウ球菌の増殖に対する短鎖脂肪酸塩単独使用の場合の影響

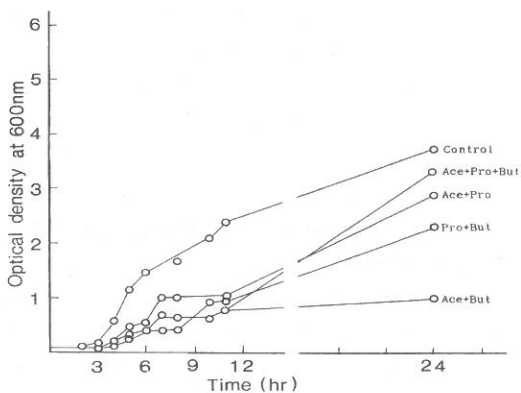


図2. 腸炎ビブリオの増殖に対する短鎖脂肪酸塩混合使用の場合の影響

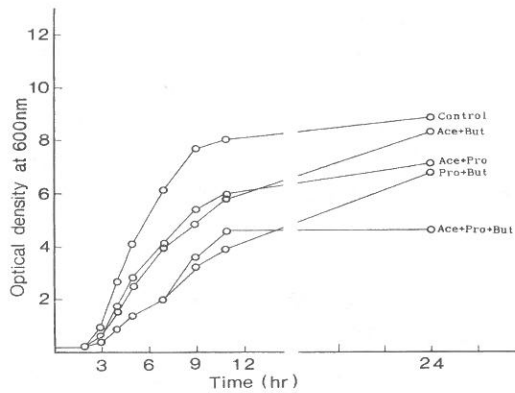


図4. ブドウ球菌の増殖に対する短鎖脂肪酸塩混合使用の場合の影響

の0.5%濃度において増殖速度がやや抑制された(図5)。

(2) 混合使用の場合 混合使用(0.1%)では、培養初期の段階でやや抑制傾向はみられるが、全体として、その有効性はみられなかった(図6)。

#### 4. セレウス菌の増殖に対する酢酸塩、プロピオン酸塩、酪酸塩の影響

(1) 単独使用の場合 セレウス菌に対しては、酪酸塩がその増殖を顕著に抑制した。また、増殖開始時間が対照にくらべて0.1%プロピオン酸塩で3時間、0.5%プロピオン酸塩で4時間遅れたが、その後の増殖速度は回

復した(図7)。

(2) 混合使用の場合 酢酸塩、プロピオン酸塩、酪酸塩の混合使用の場合、対照にくらべて、その増殖開始が9時間遅れ、酢酸塩、酪酸塩混合使用ならびにプロピオン酸塩、酪酸塩混合使用の場合、増殖開始が8時間遅れた。しかし、それぞれの場合急速に増殖速度が回復し24時間培養では、対照と変わらない菌数となった(図8)。

## 考 察

日本においては、食中毒細菌は、16種が指定されてい

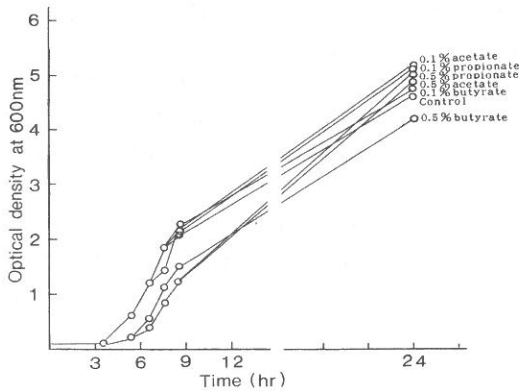


図 5. サルモネラ菌の増殖に対する短鎖脂肪酸塩単独使用の場合の影響

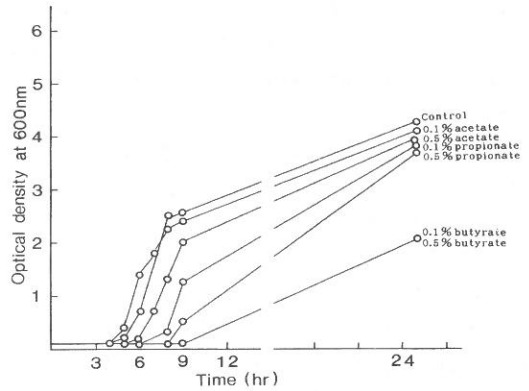


図 7. セレウス菌の増殖に対する短鎖脂肪酸塩単独使用の場合の影響

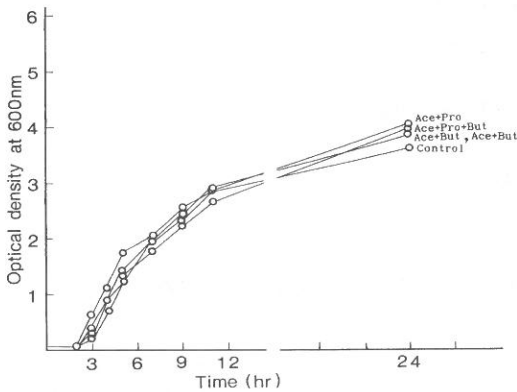


図 6. サルモネラ菌の増殖に対する短鎖脂肪酸塩混合使用の場合の影響

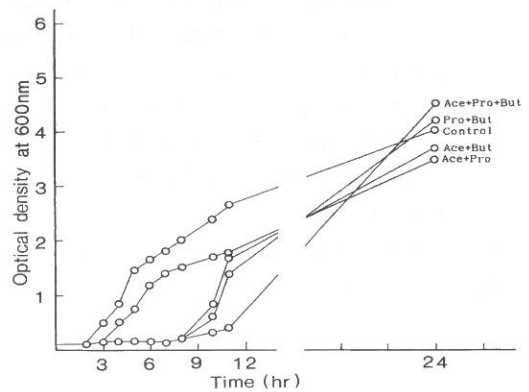


図 8. セレウス菌の増殖に対する短鎖脂肪酸塩混合使用の場合の影響

るが、それらのうち、腸炎ビブリオによる食中毒の発生率が最も高く、次いでブドウ球菌、サルモネラ菌の順である<sup>9)</sup>。セレウス菌は日本においては、その発生率は極く低いものであるが、芽胞を有する通性嫌気性菌であるので検討の対象とした。食中毒細菌の病原性は伝染病菌に比べて小さく、少数の菌が摂取されても発病することではなく、食品中の菌数がいわゆる発症菌量、発症毒素量に達して、はじめて発病するものである。

本研究においては、ヒトの腸内細菌によって、主として炭水化物の分解、発酵によって生成している短鎖脂肪酸<sup>16,7)</sup>の中性における上記通性嫌気性食中毒細菌に対する抗菌性について検討した。その結果、酢酸塩、プロピオン酸塩、酪酸塩はサルモネラ菌を除く他の食中毒細菌に対して、その0.1%または0.5%濃度において、或いは

0.1%濃度における混合使用において、それらの増殖を顕著に抑制する場合がみられた。しかし、食中毒細菌に対して一様に作用するのではなく、脂肪酸塩の種類により抗菌性を示す細菌が異なることが明らかになった。一方、対象となる菌によって異なるが、これら脂肪酸塩は細菌の増殖開始を遅延させる作用がみられる場合があった。特に0.1%濃度における混合使用の場合、腸炎ビブリオ、セレウス菌に対してその作用が大きかった。

現在、プロピオン酸が保存料としてパンに0.2%濃度添加することが認められているが、この例からみても、短鎖有機酸塩の0.1~0.5%濃度はそれ程高い濃度ではなく、通常の食品への添加が可能であると考えられる。但し、今回対象とした食中毒細菌は培養後、12時間以上では、その増殖が抑制されていた場合でも、急速に増殖を

開始するので、長期の保存を目的とした食品に対しては有効ではなく、12時間以内の摂取を前提とした給食、弁当などへの使用が有効であると考えられる。すなわち発症菌量に達する時間を延長することを目的として使用する場合に限られる。

有機酸の抗菌性は、一般にその非解離の分子によるものであって、従って、酸性側で抗菌性があらわれるとされている。本研究で使用した短鎖脂肪酸は0.1~0.5%という比較的濃度で、しかも中性においてかなりの抗菌作用を示した。

本研究の結果ならびに *C. difficile* のコロニー形成に対する抑制作用<sup>8)</sup>等から、短鎖脂肪酸は、いわゆる整腸作用に関与している可能性があると考えられる。

## 要 約

1. 酢酸塩、プロピオン酸塩、酪酸塩の通性嫌気性食中毒細菌に対する抗菌性について検討した。

2. 上記脂肪酸塩はそれぞれ、サルモネラ菌を除く食中毒細菌の増殖を抑制したが、各脂肪酸塩が一様に作用するのではなく、抑制の対象となる細菌がそれぞれ異なっていた。

3. 増殖抑制は12時間以内で終る場合が多く、発症菌量、発症毒素量に達する時間を延長することを目的として、調理後12時間以内に摂取することを前提とした給食或いは弁当に使用する場合に有効であると考えられる。

## 文 献

- 1) D.K.O'Leary and R.D.Kralovec:Cereal Chemistry, 18, 730(1941).
- 2) E.R.Wolford and A.A.Andersen:Food Industries,69,622(1945).
- 3) F.H.Grau:Appl. Environ. Microbiol.,42, 1043(1981).
- 4) C.O.Gill and K.G.Newton:Appl. Environ. Microbiol.,43, 284(1982).
- 5) J.C.de Wit and F.M.Rombouts:Food Microbiol.,7, 113(1990).
- 6) H.N.Englyst, S.Hay and G.T.Macfarlane:Microbiol. Ecol.,95, 163(1987).
- 7) 松浦 康:未発表.
- 8) R.D.Rolfe:Infect. Immun.,45, 185 (1984).
- 9) 厚生省生活衛生局食品保健課:食品衛生研究,35,48(1985);36,62(1986);37,50(1987);38,58(1988);39,62(1989).

平成3年10月28日受付

平成3年11月7日受理