

食品保存剤を許可添加量使用した場合の 防菌効果について

神 野 節 子

1. 緒 論

高温多湿な我国においては、食料品を変質させないで保存することは極めて困難で、微生物による腐敗や醗酵による変質の害は、毎年莫大な量となり、経済的には、いうまでもなく、これらが食中毒誘発の原因ともなりうるので、衛生上にも、ゆゆしい問題であると考えられる。

食料品の腐敗の防止については、物理的方法、化学的方法、微生物の利用等の対策がいろいろこじられている。

そのうち、化学的方法による防腐の一つである化学合成剤の添加の問題については、添加しうる食品と合成剤の種類、添加量、その毒性等に関して多くの研究がある^{1) 2) 3) 4) 5) 6)}。

これらの研究成果にもとづいて厚生省は、食品衛生法施行規則において、合成保存料、殺菌料の許可品名を定め、それらの物質の許可食品の種類と添加量を規定している。

今日、しょうゆ、清酒、保存飲料水、ジャム、餡、魚肉、練製品、佃煮、マーガリン、バター、チーズ、其他、保存食品の殆んどに保存料或は殺菌料が添加利用されている現状なので、我々は、消費者の立場から、法定されている保存料並びに殺菌料を許可量食品に添加した時の糸状菌、酵母菌、細菌等に対する防菌力、市販合成剤の会社別製品の効力の違いの有無、同一食品に許可されている異なった物質による防菌力の差異の有無等々を知りたいが、これらに関しての報告を見ないので、本実験を行った結果上記の諸問題に関するいくつかの結果が得られたので、ここに報告する。尚この研究は1956年10月12日、日本家政学会総会において口頭発表したものである。

2. 実 験 項 目

I 保存飲料水に添加許可されている保存料を許可量添加した場合の数種の糸状菌に対する防菌効果の比較

実験材料と方法

i) 添加保存料 添加保存料は次の3種類6品名を用いた。

○安息香酸ソーダ

○パラオキシ安息香酸ブチルエステル

商品名 ボーキニンB (三井化学KK)

メッキンス (上野製薬KK)

ネオキーパー (松村化学KK)

カビコーン (住友化学KK)

○デヒドロ醋酸ソーダ (D.H.C-Na) (台糖KK)

添加の方法

安息香酸ソーダ, D.H.C-Na はそのまま, パラオキシ安息香酸ブチルエステル (但しネオキパーは水溶性のためそのまま) は苛性ソーダ10%液で溶解後, 保存飲料水 1 kg に対して, 安息香酸ソーダ 0.6g, パラオキシ安息香酸ブチルエステル 0.75g, D.H.C-Na 0.05g の割合で添加。

ii) 保存飲料水 保存飲料水として夏みかんのジュースを次の如く調製した。

市販夏みかんの皮をとって汁をしぼり,

夏みかん汁	4	} 混合 糖度12%, pH 5.4 に調製
15%砂糖液	11	
保存料		

試験管に 5 cc 分注して, 100°C 30分間欠滅菌しておいた。

iii) 供試菌 供試菌は次の5種類の糸状菌を用い, ツァペック斜面培地から, 生理的滅菌水に1白金耳鈎出して懸濁液をつくり, 1白金耳宛, 上記保存飲料に接種した。

Aspergillus oryzae

Aspergillus niger

Aspergillus sulfureus

Penicillium sp.

Neurospora sitophila —以上長尾研究所分譲菌—

実験成績

実験成績は第1表に表示した。

結果

保存飲料 (本実験においては夏みかんジュース) に添加許可されている保存料を許可最大量添加した場合の数種の糸状菌に対する発育阻止像を比較して調べた結果, 防黴効果の概してすぐれていたのは, パラオキシ安息香酸ブチルエステルで, D.H.C-Na と安息香酸ソーダは, 阻止効果が少なかった。

パラオキシ安息香酸ブチルエステルの市販品の中では, ボーキニンB, カビコーン, メツキンス, ネオキパーの順位に阻止力があつた。化合物の純度のために差がみられるのであろう。そのうちボーキニンBと, カビコーンは一般に供試菌の発育阻止像が似ていた。ネオキパーは阻止力は強くなかつたが, 4種類中唯一の水溶性で使用には便利であつた。

糸状菌の種類別に阻止像をみると, パラオキシ安息香酸ブチルエステルに対して *Aspergillus oryzae* が他の供試菌に比らべて抵抗性が大であつた。安息香酸ソーダは *Penicillium sp.* 発育を阻止する力が強く, D.H.C-Na は *Penicillium sp.*, *Neurospora sitophila* に対して阻止力があつた。

以上の実験結果の示す通り, 保存料の種類や糸状菌の種類によつても保存飲料の鮮度は異なつて来た。保存料混入飲料でもカビ濃厚感染の環境下では或期間の保存にしか耐えないことがわかつた。

II Iの実験結果数種の糸状菌の発育阻止力の強かつた保存料について, 添加量を減じた場合の阻止像

i) 供試糸状菌と保存料 供試糸状菌と保存料は次の通りであつた。

<i>Aspergillus sulfureus</i>	} カビコーン, ボーキニンB, メツキンス
<i>Aspergillus niger</i>	

Penicillium sp.……安息香酸ソーダ, D.H.C-Na, (カビコーン) ボーキニンB, メツキンス

神野 食品保存剤を許可添加量使用した場合の防菌効果について

第1表 保存・清涼飲料添加許可保存料の数種糸状菌に対する発育阻止像

保存料	菌種	培養経過日数											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	
パラオキシ安息香酸ブチルエステル 0.75g/1kg	カビコーン	Aspergillus niger	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
		Aspergillus oryzae	-	-	-	-	±	++	+++	+++	+++	+++	+++
		Aspergillus sulfureus	-	-	-	-	-	-	-	±	±	+	+
		Penicillium sp.	-	-	-	-	-	-	-	±	+	+	+
		Neurospora sitophila	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ボーキニンB	Aspergillus niger	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Aspergillus oryzae	-	-	-	-	-	+	++	+++	+++	+++	+++
		Aspergillus sulfureus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Penicillium sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Neurospora sitophila	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	メツキンス	Aspergillus niger	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Aspergillus oryzae	+	+	+	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
		Aspergillus sulfureus	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
		Penicillium sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Neurospora sitophila	-	-	-	-	+	++	+++	+++	+++	+++	+++
	ネオキパー	Aspergillus niger	-	-	-	-	-	+	+	++	+++	+++	+++
		Aspergillus oryzae	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
		Aspergillus sulfureus	-	-	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
		Penicillium sp.	-	-	+	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
		Neurospora sitophila	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
安息香酸ダ (0.6g/1kg)	Aspergillus niger	±	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
	Aspergillus oryzae	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
	Aspergillus sulfureus	-	++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
	Penicillium sp.	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	
	Neurospora sitophila	-	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
酢酸ソーダ (0.05g/1kg)	Aspergillus niger	+	+	++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
	Aspergillus oryzae	-	++	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
	Aspergillus sulfureus	-	+	-	±	±	+	+	++	++	++	++	
	Penicillium sp.	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	
	Neurospora sitophila	-	-	-	-	-	±	±	+	+	+	+	
(無添加)照	Aspergillus niger	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
	Aspergillus oryzae	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
	Aspergillus sulfureus	-	++	++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
	Penicillium sp.	-	-	++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
	Neurospora sitophila	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	

備考：符号-は糸状菌の発育を見ない
 ±は菌糸の生育が僅少見られる
 +は明らかに糸状菌が生育した。++，+++，++++と数のふえる如に多い生育の度あいを示す。++++が全面に生育した状態を示す
 試験管の外から肉眼観察した（10×ルーペ）

Neurespora sitophila……D.H.C-Na, ボーキニンB, カビコーン

ii) 添加量 添加量はカビコーン, ボーキニンB, メッキンス, 安息香酸ソーダは 0.5g/1kg と 0.3g/1kg, D.H.C-Na は 0.035g/1kg, 0.025g/1kg の割合に添加した。

iii) 保存飲料 夏みかんジュース

iv) 菌の接種培養法 I の iii) に準じた。

以上の実験成績は第2表, 第3表, 第4表, 第5表に表示した。

第2表 *Aspergillus sulfureus*

観察日数	保存料	プロピル安息香酸ブチルエステル						対照
	市販品名	カビコーン		ボーキニンB		メッキンス		
	添加量	50mg/100g	30mg/100g	50mg/100g	30mg/100g	50mg/100g	30mg/100g	
1日後		—	—	—	—	—	—	—
3 "		±	—	+	—	±	—	++
6 "		++	++	+++	—	+++	++	+++
9 "		+++	+++	+++	—	+++	+++	+++
12 "		+++	+++	+++	—	+++	+++	+++

第3表 *Aspergillus niger*

観察日数	保存料	プロピル安息香酸ブチルエステル						対照
	市販品名	カビコーン		ボーキニンB		メッキンス		
	添加量	50mg/100g	30mg/100g	50mg/100g	30mg/100g	50mg/100g	30mg/100g	
1日後		—	—	—	—	—	±	±
3 "		+++	+++	—	+++	+++	+++	+++
6 "		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
9 "		+++	+++	+++	+++	+++	±	+++
12 "		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

第4表 *Penicillium sp.*

観察日数	保存料	安息香酸ソーダ		デヒドロ酢酸ソーダ		プロピル安息香酸ブチルエステル				対照		
	添加量					ボーキニンB		メッキンス			(カビコーン)	
		50mg/100g	30mg/100g	3.5mg/100g	2.5mg/100g	50mg/100g	30mg/100g	50mg/100g	30mg/100g		50mg/100g	30mg/100g
1日後		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 "		—	±	—	—	—	—	+	±	+	±	++
6 "		—	++	—	±	+	+++	+	++	++	++	+++
9 "		+	+++	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
12 "		++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

神野 食品保存剤を許可添加量使用した場合の防菌効果について

第5表 Neurospora sitophila

観察日数	保存料 添加量	デヒドロ 醋酸ソーダ		プロピル安息香酸ブチルエステル				対 照
		3.5mg /100g	2.5mg /100g	ボーキニンB		カビコーン		
				50mg/100g	30mg/100g	50mg/100g	30mg/100g	
1日数	—	—	+	+	+	+	—	
3〃	—	—	+++	+++	+++	+++	+++	
6〃	±	+	+++	+++	+++	+++	+++	
9〃	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	
12〃	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	

第2表によると、*Aspergillus sulfureus* はボーキニンB、メッキンス、カビコーンのIの試験量0.75g/1kgから0.5g/1kgに添加量を減じると、保存料の効力は失われて対照と変わりなく生育したが、更に0.3g/1kgに添加量を減少するとかえって0.5g/1kg添加のものよりいくぶん阻止された。第3表 *Aspergillus niger* は、添加量が減少すると阻止力が弱まった。第4表 *Penicillium* sp. は、この程度の減量では未だ多少生育が阻止され、第5表 *Neurespora sitophila* はD.H.C-Naに対し前記P.sp. とほぼ同様な成績であった。

Ⅲ 数種醗酵菌に対して保存料を単独で添加した場合と混合して添加した場合の発育阻止像

実験の材料と方法

i) 培養基 培養基は下記のような麦芽寒天を用いた。

麦芽	50g	} 糖度 5%
葡萄糖	20g	
ペプトン	10g	
水	1,000ml	
		pH 5.6
		に調製した。

ii) 供試菌 供試菌は次の糸状菌5種類と酵母菌4種類を用いた

- 糸状菌 *Aspergillus oryzae*
Penicillium sp.
Myrotectium verrucaria
Rhizopus javanicus
Monascus purpureus
- 酵母菌 *Saccharomyces roxi*
Saccharomyces ellipsoideus
Torulopsis condidus 一以上長尾研菌株一

菌の接種法は I iii) に準じた。

iii) 供試保存料とその添加法

単独添加の場合 安息香酸ソーダ(0.6g/1kg), D.H.C-Na(0.05g/1kg), ネオキーパー(0.75g/1kg) は、水溶性のため培養基に直接混和、加温溶解。サリチル酸(0.25g/1kg), パラオキシ安息香酸ブチルエステル(カビコーン, メッキンス, ボーキニンB)(0.75/1kg), カビノン(VK₃ 0.25/1kg), ニトロフラズーン(フラスキン)(0.02g/1kg), ニトロフリルアクリル酸アミド(Zフラ

ン) (0.02g/1kg)は70%エタノール2%溶液として培養基に混和加温溶解。

混合添加の場合

- A 保存飲料として共通に許可されている合成料
 安息香酸ソーダ (0.3g/1kg) + ボーキニンB (0.37g/1kg)
 安息香酸ソーダ () + D.H.A-Na (0.025g/1kg)
 ボーキニンB (0.37g/1kg) + D.H.A-Na (0.025g/1kg)
- B 清酒, 合成酒の添加物として
 サリチル酸 (0.17g/1kg) + ボーキニンB (0.25g/1kg)
 (サルチル酸0.17g/1kg) (ネオキパー0.25g/1kg)
- C 餡の添加物として
 D.H.C-Na (0.025g/1kg) + Zフラン (0.01g/1kg)
- D 其他

第6表 数種醱酵菌に対して保存料を単独あるいは混合添加した場合の発育阻止像の比較

保存剤	試験菌株 検定日数	S. roxi	S. ellip- soideus	S. sake	T. con- didus	Asp. oryzae	P. sp	Myr. ve- rrucaria	Rh. java- nicus	M. pur- pureus
		1 7	1 7	1 7	1 7	1 7	1 7	1 7	1 7	1 7
対 照		+	+++	++	±	+++	++	+++	+++	+++
サルチル酸 (0.25g/1l)		±	++	++	±	+++	++	±	++	
安息香酸ソーダ (0.6g/1kg)		±	±	±	-	+++	++	±	±	
パ ラ ブ ラ ブ オ チ キ ル シ エ ン ス テ ル	メツキンス (0.75g/1kg)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ネオキパー	++	+	-	+	+	-		++	-
	ボーキニンB	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	カビコーン	-	-	-	-	-	-	-	-	-
デヒドロ酢酸ソーダ (0.05g/1kg)	++	+	++	-	+++	+++	±	±		
ビタミンK ₃ (カビコーン) (0.05g/1kg)	-	-	-	±	-	-	-	±		
ソルビン酸 (2g/1kg)	-	±	-	+	-	+	-	-		
Zフラン (0.02g/1kg)	++	++	+++	-	++	-	-	+	+	
フラスキン (0.02g/1kg)	±	++	++	-	+++	++	±	++		
混 合 使 用	サルチル酸 + ボーキニンB (1.7mg) (2.5g)	++	-	-	-	-	-	-	-	
	ボーキニンB + 安息香酸ソーダ (3.7mg) (30mg)	++	-	-	-	-	-	-	-	
	ボーキニンB + D.H.C. (3.7mg) (2.5mg)	-	+	-	-	-	-	-	-	
	D.H.C. + 安息香酸ソーダ (5mg) (30mg)	±	-	+	±	-	-	-	-	++
	D. H. C. + Zフラン (2.5mg) (1mg)	±	±	++	-	+	-	+++	±	-
	Zフラン + ソルビン酸 (1mg) (1.5mg)	+	++	-	-	+	+++	-	+	

神野 食品保存剤を許可添加量使用した場合の防菌効果について

Zフラン (0.01g/1kg) + ソルビン酸 (0.15/1kg)

結 果

第6表に麦芽培地に菌を接種して48時間後の検定の結果を表示した。

法定量を添加した場合、サリチル酸、安息香酸ソーダ、D.H.C-Na、Zフラン、フラスキンは概して供試菌の発育を阻止する働きが弱く一般にパラオキシ安息香酸ブチルエステル、メチルナフトキノン (VK₃)、ソルビン酸は添加量使用で菌の生育を阻止出来た。

又毒性の問題は別として、単独に添加したものより混合して用いた方が防菌力が増した。

サリチル酸とネオキパー、安息香酸ソーダとネオキパー、D.H.C-Na とネオキパー混合の場合のように。ただし、D.H.C-Na と安息香酸ソーダ、D.H.C-Na とZフランを混合した場合は単独添加と比較して有効にならなかった。

④ 数種腐敗菌に対する保存料の発育阻止像

実験の材料と方法

第7表 数種腐敗菌に対する保存剤の発育阻止像

保存剤	試験菌株	Esh. coli		St. aureus		B. mycoides		B. subtilus		B. mesentericus		Pr. vulgaris		Achr. aquatilis		
		検定時間	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48
対 照		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
サリチル酸 (0.25g/1ℓ)		+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	-	-	+++	+++			
安息香酸ソーダ (0.6g/1ℓ)		+++	+++	+	+++			+++	+++	-	-	+++	+++			
パ 酸 ラ ブ オ チ キ ル エ シ ン 安 息 香 酸	メツキンス (0.075g/1kg)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	ネオキパー //	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	ボーキニンB //	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±	-	-	
	カビコーン //	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
デヒドロ酢酸ソーダ DHC (0.05g/1kg)	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	+++	+++			
(メチルナフトキノン) カビノン (VK ₃) (0.03g/1kg)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	
ソルビン酸 (2g/1kg)	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	+++	+++			
(ニトロフリルアクリル酸アミド) Z フ ラ ン (0.02g/1kg)	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	+++	+++			
(ニトロフラゼン) フ ラ ス キ ン (0.02g/1kg)	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	+++	+++			
混 合 使 用	サリチル酸+ボーキニンB	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	+++	+++			
	ボーキニンB+安息香酸ソ (カビコーン) ーダ	-	-	-	-	±	±	-	-	-	-	+++	+++			
	ボーキニンB + D.H.C. (カビコーン)	+	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
	D.H.C.+安息香酸ソーダ	-	++	+	+++	+	+++	+	+++	+++	+++	++	+++	+	+++	
D.H.C. + Z フ ラ ン	±	++	+++	+++	-	++	-	-	-	-	-	+++	-	-		
Z フ ラ ン + ソルビン酸	+++	+++	-	-	-	-	+++	+++	-	-	±	++				

備考 ○標14日後の検定でなお (-)

i) 培養基 本実験の培養基は、次の組成の普通寒天培養基を使用いた。
肉エキス 10g, ペプトン 10g, 食塩 3g, 水 1%。pHは7.2に調整した。保存料混入後試験管に10cc分注後滅菌して斜面培地を作製した。

ii) 供試細菌 供試細菌は下記の7種類を、懸濁液として培地に1白金耳宛接種、30°C 恒温器中で培養した。

Escherichia coli

Staphyrococcus var. aureus

Bacillus mycoides

Bacillus subtilis

Bacillus mesentericus

Proteus vulgaris

Achromobacter aquatilis 一以上長尾研株一

iii) 保存料とその添加量ならびに添加方法はⅢのiii)に依った。

結 果

普通寒天培養基に腐敗菌を接種して48時間後の検定の結果を第7表に表示した。

メチルナフトキノロン、パラオキシ安息香酸ブチルエステル(カビコーン、ネオキパー、メッキンス、ボーキニン)は、この実験条件下に於ては一般に菌の生育を阻止した。安息香酸ソーダ、デヒドロ醋酸ソーダは単独或は両者を混合して使用した場合は阻止力がなく、デヒドロ醋酸とカビコーンを混合使用すると、カビコーン単独使用と同じように菌を完全に阻止した。デヒドロ醋酸ソーダとZフランを混合使用の場合は、供試菌に対して選択的に阻止力を発揮した。即ち、*Bacillus subtilis*, *Bacillus mesentericus*, *Achromobacter aquatilis*, *Escherichia coli*等を阻止し *Staphyrococcus var. aureus*, *Bacillus mycoides*, *Proteus vulgaris* には殆んど影響しなかった。

附記 本実験にあたり、実験菌株を分譲いただいた長尾研究所、保存料文献を心よく提供いただいた、各会社、実験に助力をいただいた石川栄子氏に心から感謝の意を表する。

文 献

- 1) 宮木高明, 山岸三郎: 腐敗研究所報告 9, 145 (1956)
- 2) 相磯和勲, 新井 正: " 9, 162 (1956)
- 3) 川城 巖: 食品衛生概論 144 (1956)
- 4) 佐藤喜吉他: 食品防腐剤としての Vitamin K₃ の使用実験
- 5) 静岡県水産試験場 魚肉ソーセージ防腐試験(第1報) 2, 404 (1955)
- 6) Zフランの沿革諸元 上野製菓株式会社
- 7) 照井研究室 生産と技術 2, 33 (1950)
- 8) メッキンス試験法 上野製菓株式会社
- 9) パラオキシ安息香酸ブチルエステルの品質鑑別方法 (上野製菓株式会社)
- 10) 安田三良: 醤油と技術 45, (1953)
- 11) フラスキンの食品防腐剤としての研究 上野製菓工業株式会社学術部 (1948~1951)
- 12) 宮木高明, 山岸三郎, 高橋 明: 腐敗研究所報告 10, 36 (1957)