HOKKAIDO UNIVERSITY

| | |
|---|---|
| Title | ナイシンによる水産練り製品における芽胞形成菌の発育抑制 |
| Author(s) | 山崎, 浩司; 田代, 卓; 白浜, 慎也 他 |
| Citation | 日本食品科学工学会誌 : Nippon shokuhin kagaku kogaku kaishi, 61(2), 70-76<br>https://doi.org/10.3136/nskkk.61.70 |
| Issue Date | 2014-02 |
| Doc URL | https://hdl.handle.net/2115/68201 |
| Type | journal article |
| File Information | NipponShokuhinKagakuKogakuKaishi61_70.pdf |

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

*Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, **61** (2), 70–76, 2014
Copyright © 2014, Japanese Society for Food Science and Technology
doi : 10.3136/nskkk.61.70

http://www.jsfst.or.jp

報　文

# ナイシンによる水産練り製品における芽胞形成菌の発育抑制

山崎浩司[1*]，田代　卓[2]，白浜慎也[2]，全　峻瑩[2]，川合祐史[1]

[1] 北海道大学大学院水産科学研究院
[2] 北海道大学大学院水産科学院

# Growth Inhibition of Spore-forming Bacteria in Fish-paste Products by Nisin

Koji Yamazaki[1*], Taku Tashiro[2], Shinya Shirahama[2], Joon-young Jun[2] and Yuji Kawai[1]

[1] Faculty of Fisheries Sciences, Hokkaido University, Hakodate, Hokkaido 041–8611
[2] Graduate School of Fisheries Sciences, Hokkaido University, Hakodate, Hokkaido 041–8611

We investigated the effect of nisin and sucrose fatty acid esters on the growth of spoilage bacteria in fish-paste products. Nisin showed antibacterial activity against *Bacillus subtilis* and *B. licheniformis* vegetative cells and spores in liquid medium. Also, nisin exhibited a synergistic effect in combination with sucrose fatty acid esters (sucrose monolaurate and sucrose monopalmitate). The addition of nisin (12.5 μg/g) to fish-paste products suppressed the growth of *B. subtilis* and *B. licheniformis* during storage at 20℃ and resulted in longer shelf-life of fish-paste products compared to control and fish-paste products with added potassium sorbate. In addition, the growth of spoilage bacteria was strongly inhibited by the combination of nisin (12.5 μg/g) and sucrose fatty acid esters (10 mg/g) in fish-paste products without starch. From these findings, we conclude that the addition of nisin is a potential alternative method for preventing spoilage caused by spore-forming bacteria in fish-paste products.

（Received Oct. 8, 2013 ; Accepted Nov. 5, 2013）

**Keywords** : nisin, sucrose fatty acid esters, fish-paste products, shelf-life, spoilage prevention
**キーワード** : ナイシン，ショ糖脂肪酸エステル，水産練り製品，シェルフライフ，腐敗抑制

水産練り製品の一つであるカマボコは，最も代表的な水産加工食品であり，その生産量も水産加工食品の中でも多い．

カマボコは，一般に水晒しした魚肉から製造したすり身に調味料を入れ，弾力（足）の形成と殺菌を目的とした加熱処理を施す水産加工食品である．そのため，ケーシング詰めカマボコやリテーナ成形カマボコのような特殊包装カマボコでは，微生物の二次汚染によって腐敗を起こすことは少ない．しかし，原料の冷凍すり身由来，特に副原料として添加されるデンプン由来の耐熱性芽胞形成菌である *Bacillus* 属の細菌は加熱処理後にも生残し，カマボコが不適切な環境に置かれた場合，気泡，軟化，斑紋などの腐敗の原因となる[1)~4)]．このような芽胞形成菌による腐敗を防止するために合成保存料の一つであるソルビン酸カリウムを添加し，腐敗防止を行っている製品も多数存在している．しかし，食嗜好の変化や食品の安全性に対する意識の高まりから，食品微生物制御においては可能な限り合成保存料を使用しない方法への転換が望まれている．

合成保存料の代替として生物由来のバイオプリザバティブを利用した食品での微生物制御が注目されており，その一つに乳酸球菌の *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* の産生するバクテリオシンであるナイシンが挙げられる．一般に，ナイシンはグラム陽性菌全般に幅広く抗菌効果を発揮する抗菌ペプチドであるが，耐熱性や耐 pH 性にも優れ，安全性も高いと考えられる．よって，ナイシンは米国 FDA から GRAS（Generally Recognized As Safe）物質として認可され，世界 50 カ国以上で食品保存料として使用されている．日本においても 2009 年に食品保存料として食品添加物指定を受け，その使用は欧米での使用実績を基に食肉製品や乳製品など一部の食品に対して許可された．食品へのナイシンの利用は，主に食中毒菌であるリステリア（*Listeria monocytogenes*）の制御を目的とした場合が多いが，*Bacillus* 属および *Clostridium* 属などの芽胞形成菌に対しても優れた抗菌活性を示すことから，缶詰食品をはじめとする加熱加工食品における芽胞形成菌の制御にも広く利用されている[5)~8)]．しかし，水産食品における微生物制御へのナイシンの利用例は少なく，スモークサーモン[9)10)] や魚卵製品[11)12)] でのリステリア制御での有効性に関する研究が主である．水

[1] 〒041–8611 北海道函館市港町 3–1–1，[2] 〒041–8611 北海道函館市港町 3–1–1
[*] 連絡先（Corresponding author），yamasaki@fish.hokudai.ac.jp

産食品の腐敗防止という観点からナイシンの有効性を検討したものは，カマボコにおける乳酸菌の発育へのバクテリオシン（ナイシンおよびPisicolin KH1）の影響を検討したもの[13]以外は見当たらない．

そこで，水産食品における微生物制御へのナイシンの有効性を評価するため，本研究では代表的な水産食品である水産練り製品に着目し，ケーシング詰めカマボコにおける腐敗原因菌である *Bacillus* 属細菌の発育に及ぼすナイシンの影響を調べることを目的とした．

## 実　験　方　法

### 1.　供試菌株および芽胞懸濁液の調製

供試菌株には，*B. subtilis* NBRC 13719$^{T}$および *B. licheniformis* NBRC 12107 を用いた．各菌株の前培養は，普通ブイヨン培地（栄研化学）で30℃または37℃で24時間行った．この培養菌液を2×SG[14]培地に表面塗抹し，培養した．平板培地上に形成した菌体の一部をメチレンブルー染色および位相差顕微鏡で観察し，90％以上の割合で芽胞が形成しているのを確認した後，冷滅菌脱イオン水を用いて芽胞を回収した．芽胞の精製は，滅菌脱イオン水を用いた遠心分離操作（2500×g，20分間，3-4回）を行い，夾雑する栄養細胞およびスポンラジアを除去した．これを滅菌脱イオン水に再懸濁したものを芽胞懸濁液とし，使用するまで－20℃で保存した．

### 2.　ナイシンおよび食品添加物に対する最小発育阻止濃度（MIC）測定

48穴プレート（Iwaki）の各ウェルに1M塩酸または水酸化ナトリウム水溶液でpH7.0に調整した0.04mg/mlフェノールレッドおよび0.6％酵母エキス添加Tryptic Soy broth（PR-TSBYE, Difco）500μlを分注した．これにナイシン（Nisin A, Sigma），ショ糖モノラウリン酸エステル（SML, L-1695, 三菱化学フーズ），ショ糖モノパルミチン酸エステル（SMP, P-1670, 三菱化学フーズ）またはソルビン酸カリウム（和光純薬）の所定の濃度溶液を500μl分注し，混合後，各ウェルから500μlを採取しながら2倍段階希釈液列を作成した．各ウェルに，供試菌株の新鮮培養液または加熱活性化（80℃，15分間）した芽胞懸濁液を終濃度$10^{5}$CFU/mlまたは$10^{5}$spores/mlとなるように2μlずつ接種し，30℃，2日間培養した．各菌の発育の有無は，増殖に伴う指示薬の色調変色（赤色→黄色）および濁りの有無を目視にて確認し，MICを決定した．

### 3.　芽胞に対するナイシンとショ糖脂肪酸エステル（SE）の併用効果の評価

48穴プレートの各ウェルにPR-TSBYEを250μlを分注し，続いてSML，SMP，ソルビン酸カリウム（PS）を250μl分注して2倍段階希釈液列を作成した．さらに各ウェルに所定濃度のナイシンを含むPR-TSBYEを250μl分注後，芽胞懸濁液を$10^{5}$spores/mlとなるように2μlずつ接種した．30℃，2日間培養後，菌の発育に伴う指示薬の色調変色および濁りの有無から併用処理時における各々の濃度におけるMICを決定し，得られたMIC値から以下の式で表されるFIC indexを算出し，併用効果を評価した．

$$\text{FIC index} = FIC_A + FIC_B = \frac{\text{併用時の薬剤 A のMIC}}{\text{単独時の薬剤 A のMIC}} + \frac{\text{併用時の薬剤 B のMIC}}{\text{単独時の薬剤 B のMIC}}$$

なお，併用効果の評価基準[15]は，相乗作用（FIC index≦0.5），相加作用（0.5＜FIC index≦1.0），不関（1.0＜FIC index≦2.0）および拮抗作用（2.0＜FIC index）とした．

### 4.　カマボコにおける芽胞形成菌の発育に及ぼすナイシンの影響

スケトウダラ冷凍すり身（陸上2級）重量に対して食塩3％，脱イオン水25％とデンプン5％を添加し，このすり身ペーストにしたものを基本とし，これにナイシン（12.5μg/g），SE類（10mg/g）またはPS（2.68mg/g）を添加した．これを十分に擂潰後，調製したすり身ペースト10gをストマッカーバッグ取り分け，棒状に成形後，*B. subtilis* または *B. licheniformis* 芽胞懸濁液を，加熱後の初発芽胞数が約$10^{3}$spores/gとなるようにカマボコの表面に100μl接種した．なお，デンプンを添加しないカマボコ（デンプン不含カマボコ）も同様に調製した．加熱は一段加熱（90℃，30分間）を行い，加熱後直ちに氷冷したものをサンプルとして保存試験（20℃，5日間）に供した．なお，本研究ではカマボコの不適切な保存処理での腐敗の防止を考慮して保存温度は20℃とした．各所定期間に2サンプルずつランダムに選択し，各サンプルに9倍量の0.1％ペプトン添加生理食塩水を加えてストマッキングを行った．これを同希釈液で適宜希釈し，0.6％酵母エキス添加Tryptic Soy Agar（Difco）を用いた混釈平板を作成した．培地が固化した後，*Bacillus* 属のコロニー拡散を防止するために約5mlの同培地を重層し，30℃，24時間培養後，生菌数を測定した．それぞれ2回の保存試験を行い，結果は平均値で示した．

## 実　験　結　果

### 1.　ナイシンとショ糖脂肪酸エステル（SE）の併用効果

*B. subtilis, B. lichniformis* の栄養細胞および芽胞に対するナイシンおよびSE類のMIC値をTable 1に示した．pH7.0における *B. subtilis* および *B. licheniformis* 芽胞のナイシンに対する感受性は栄養細胞よりも高く，MIC値は，各々の栄養細胞に対するMICの1/4および1/2であった．一方，両菌の栄養細胞および芽胞に対するSML, SMP, PSは本実験における設定濃度範囲内では発育抑制効果を示さなかった（＞5.00mg/ml）．

次に，ナイシンとSE類の供試菌芽胞に対する併用効果

**Table 1　MICs of nisin and some food additives against vegetative cells and spores of *B. subtilis* and *B. licheniformis* in TSBYE incubated at 30℃ and pH7.0**

| Compounds | *B. subtilis* NBRC13719$^T$ | | *B. licheniformis* NBRC12107 | |
|---|---|---|---|---|
| | vegetative cells | spores | vegetative cells | spores |
| Nisin （μg/ml） | 12.5 | 3.13 | 6.25 | 3.13 |
| SML[a]（mg/ml） | >5.00 | >5.00 | >5.00 | >5.00 |
| SMP[b]（mg/ml） | >5.00 | >5.00 | >5.00 | >5.00 |
| Pottasium sorbate（mg/ml） | >5.00 | >5.00 | >5.00 | >5.00 |

をFIC indexにより評価した．なお，SMLおよびSMP単独のMICは5.0 mg/mlとしてFIC indexを算出した．その結果，ナイシンとSMLおよびSMPの最少濃度の組み合わせは，*B. subtilis*に対してナイシン0.098 μg/mlの時に各々0.039および0.0024 mg/mlとなり，FIC indexは0.039および0.032と算出された．また，*B. licheniformis*に対してもナイシン0.098 μg/mlの時にSMLおよびSMPの有効濃度は0.078および0.0048 mg/mlとなりFIC indexは0.039および0.032と算出された．したがって，*B. subtilis*と*B. licheniformis*に対するナイシンとSMLまたはSMPの併用は非常に優れた相乗効果を発揮すると評価された．

### 2.　デンプン含有カマボコにおけるナイシンおよびショ糖脂肪酸エステル添加による腐敗抑制効果

ナイシン，PSまたはSE類を添加し*B. subtilis*または*B. licheniformis*を接種したカマボコにおける生菌数の変化をFig. 1および2に示した．なお，本研究で調製したカマボコは，pH未調整であったが，保存前のカマボコのpHは食品添加物（PS，ナイシン，SE類）の有無にかかわらず，いずれもpHは7.0であった．*B. subtilis*および*B. licheniformis*を接種したナイシンおよびSE類非添加のカマボコ（非添加カマボコ）における生菌数はともに保存1日目以降から増加し，4日目には各々$9.8\times10^7$ CFU/gおよび$2.1\times10^7$ CFU/gとなりカマボコの軟化や溶解などの変化が見られた．その後，$10^8$ CFU/gに達する頃から腐敗臭が感じられるようになった．一方，PSを添加した*B. subtilis*接種カマボコでの生菌数は保存5日目に$2.7\times10^5$ CFU/gとなり，非添加カマボコに比べてシェルフライフの延長が認められた．しかし，PS添加*B. licheniformis*接種カマボコでは，非添加カマボコと同様な生菌数の増加傾向であった．次に，ナイシン単独添加区での*B. subtilis*接種カマボコの生菌数は保存開始時の初発菌数$2.6\times10^3$ CFU/gから2日目で$4.3\times10^2$ CFU/gとなった後，保存5日目に$10^5$ CFU/g程度まで生菌数は増加したが，官能的な腐敗臭は感じられなかった．また，*B. licheniformis*を接種したカマボコでは保存3日目まで徐々に生菌数が減少し，5日目においても初発菌数とほぼ同等の$9.7\times10^3$ CFU/gであった．したがって，両菌株を人為的に接種したカマボコにおいても，ナイシンの添加によって，非添加カマボコやPS添加カマボコと比較して強い細菌発育抑制効果を示し，5日間以上の腐敗抑制が可能となった．

一方，ナイシンのカマボコにおける芽胞形成菌の発育抑制効果の向上を期待して，培地系においてナイシンと強い相乗効果を示したSMLまたはSMPとの併用を試みたが，カマボコにおいてはナイシン単独添加の場合とほぼ同等の発育抑制効果しか認められなかった．

### 3.　デンプン不含カマボコにおけるナイシンおよびショ糖脂肪酸エステル添加による腐敗抑制効果

ナイシン，PS，SE類を添加し*B. subtilis*または*B. licheniformis*を接種したデンプン不含カマボコにおける生菌数の変化をFig. 3および4に示した．ナイシン，PSおよびSE類を含まないデンプン不含カマボコでは，両菌株接種区ともに前項のデンプン含有カマボコよりも生菌数の上昇は早く，腐敗に達するまでの日数は短かった．また，PS添加デンプン不含カマボコにおいても，4日目には$10^7$ CFU/gに達し，腐敗と評価された．

一方，ナイシン単独添加デンプン不含カマボコでは，*B. subtilis*接種試料で保存5日目に$1.5\times10^6$ CFU/g，*B. licheniformis*接種試料では$9.8\times10^5$ CFU/gとなった（Fig. 3および4）．また，SML単独添加デンプン不含カマボコでは，両菌株接種試料でナイシン単独添加試料と同様な発育挙動を示した（Fig. 3）．一方，SMP単独添加の場合，*B. licheniformis*接種デンプン不含カマボコでは発育抑制効果が見られたものの，*B. subtilis*接種デンプン不含カマボコではほとんど発育抑制効果が見られなかった（Fig. 4）．しかし，デンプン含有カマボコの場合と異なり，ナイシン＋SML添加試料では，両菌株を接種したデンプン不含カマボコで各々の生菌数は5日間でも$10^3$ CFU/g以下となり，ナイシン単独添加の場合よりも強い発育抑制効果が見られた．また，ナイシン＋SMP添加デンプン不含カマボコにおいてもSML併用添加の場合よりも発育抑制効果は弱いものの複合効果が見られた．カマボコの風味に関しては，官能的に，10 mg/g SMLの添加によりカマボコが強い苦みを呈し，SMPの添加では，カマボコの風味に与える影響は小さかった．

## 考　　察

水産練り製品に対して利用が認められているPSなどの有機酸塩の抗菌力はpHに大きく依存し，pHが低いほど，

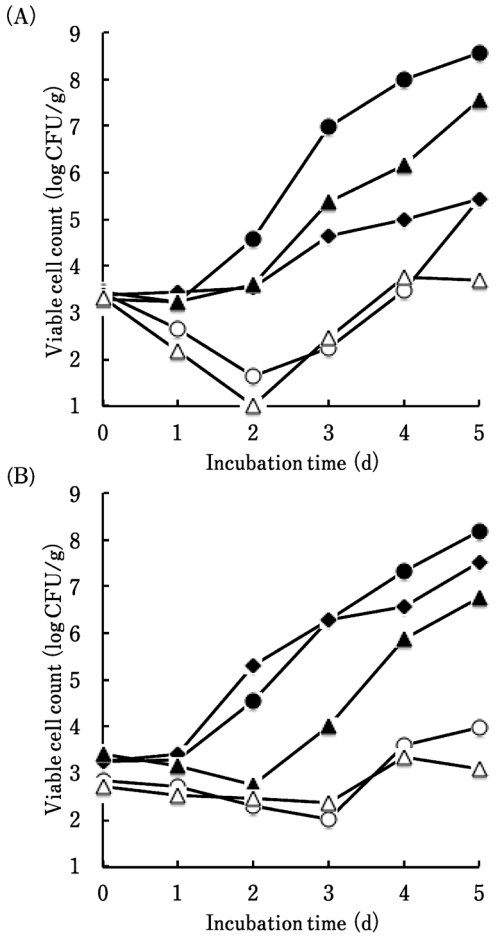


**Fig. 1　Changes in total viable cell counts in fish paste products with starch containing nisin and sucrose monolaurate (SML) inoculated with *B. subtilis* (A) and *B. licheniformis* (B) during storage at 20℃**

Symbols represent control (●), 2.68 mg/g potassium sorbate (◆), 12.5 μg/g nisin (○), 10 mg/g SML (▲) and 12.5 μg/g nisin ＋10 mg/g SML (△).

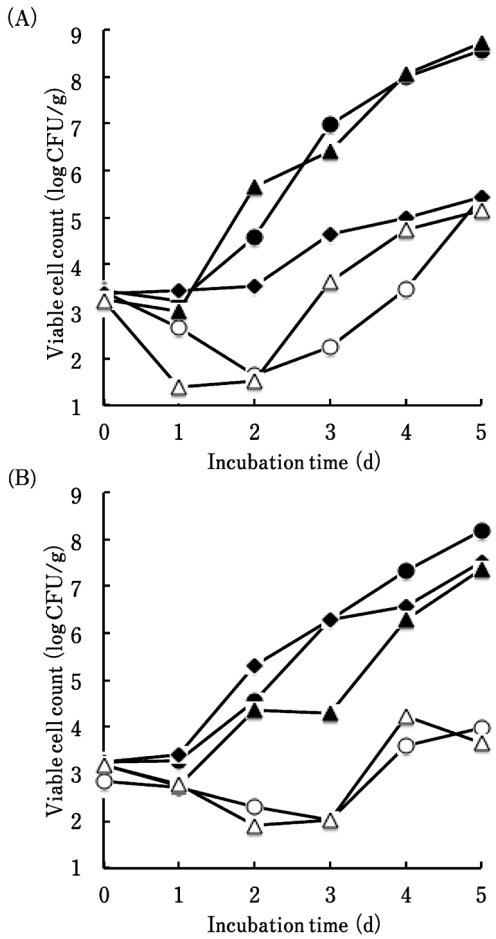


**Fig. 2　Changes in total viable cell counts in fish paste products with starch containing nisin and sucrose monopalmitate (SMP) inoculated with *B. subtilis* (A) and *B. licheniformis* (B) during storage at 20℃**

Symbols represent control (●), 2.68 mg/g potassium sorbate (◆), 12.5 μg/g nisin (○), 10 mg/g SMP (▲) and 12.5 μg/g nisin ＋10 mg/g SMP (△).

抗菌力は高まる[16]．しかし，酸性条件下であっても乳酸菌や嫌気性芽胞形成菌に対する PS の効果は非常に弱い[17]．一般にカマボコの pH は足（弾力）の形成のために 6.5–7.0 であり，この pH において微生物の発育を PS によって抑制するには使用基準である 0.2％より高い濃度が必要と考えられる．しかし，PS は水産練り製品に対して保存効果を期待して添加されている製品も存在する．その理由に，① ソルビン酸と食塩の間に相乗的な抗菌作用があること，② PS の水に対する溶解性が高く，練り製品の pH 域では練り製品中の自由水中に集まり，そこではソルビン酸濃度が添加濃度の数倍に達していること，などが考えられている[16)18)]．本研究においても，カマボコの pH が中性であるにも関わらず *B. subtilis* を接種したカマボコにおいて PS 添加によって一般生菌数の増加が抑えられたことから，上述のような理由が関係していると考えられる．

本研究では，カマボコでの芽胞形成菌の発育による腐敗防止にナイシンの利用が有効であるか検討した．ナイシンの抗菌作用は，グラム陽性菌の栄養細胞に対しては細胞表層に存在する Lipid II にナイシンが結合し細胞壁の合成を阻害するとともに，細胞膜に膜孔を形成し，膜電位や膜内外の pH 勾配の恒常性を崩すことで細胞死を引き起こすに起因するとされている[19)20)]．一方，芽胞に対しては芽胞への直接的な影響ではなく，芽胞の発芽後生育を阻害することが明らかになっている[21)～23)]．したがって，カマボコでのナイシンの抗菌効果は，弾力形成のために行う加熱後に生残した *Bacillus* 属の芽胞の発芽後生育を抑制するためにシェルフライフが延長したと推察される．また，本研究ではカマボコにおけるナイシンの抗菌力を増強するために優れた相乗効果を示す物質として SE 類に着目した．Thomas ら (1998)[24] は，グラム陽性菌 4 種（*L. monocytogenes*, *B. cereus*, *Lactobacillus plantarum*, *Staphylococcus aureus*）に対して

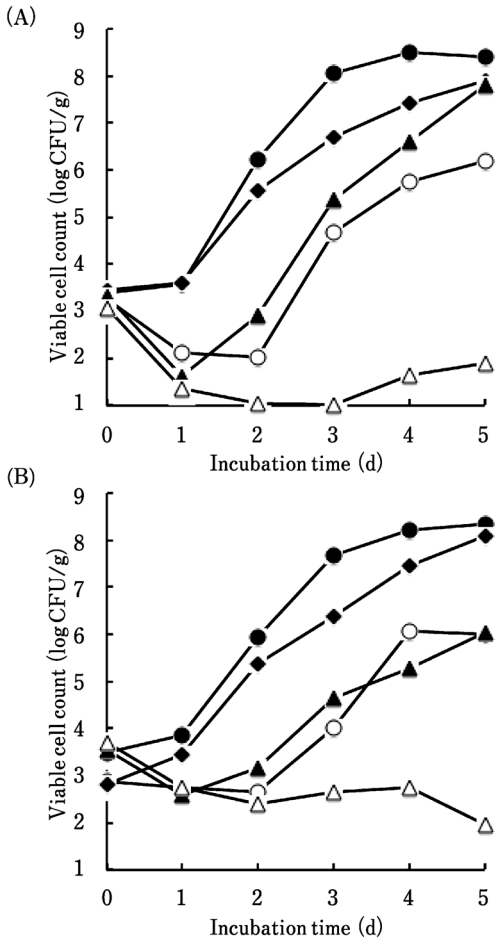


**Fig. 3　Changes in total viable cell counts in fish paste products without starch containing nisin and SML inoculated with *B. subtilis* (A) and *B. licheniformis* (B) during storage at 20℃**

Symbols represent control (●), 2.68 mg/g potassium sorbate (◆), 12.5 μg/g nisin (○), 10 mg/g SML (▲) and 12.5 μg/g nisin ＋10 mg/g SML (△).

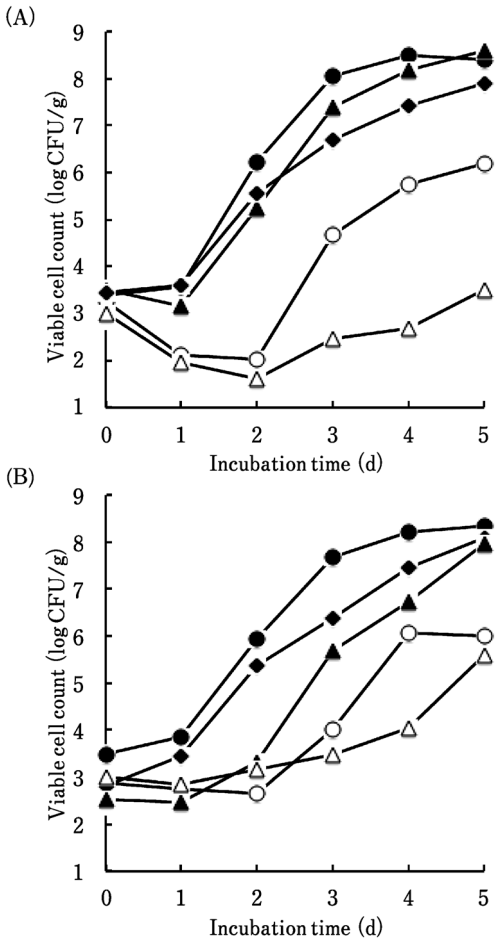


**Fig. 4　Changes in total viable cell counts in fish paste products without starch containing nisin and SMP inoculated with *B. subtilis* (A) and *B. licheniformis* (B) during storage at 20℃**

Symbols represent control (●), 2.68 mg/g potassium sorbate (◆), 12.5 μg/g nisin (○), 10 mg/g SMP (▲) and 12.5 μg/g nisin ＋10 mg/g SMP (△).

ナイシンとSMPの併用効果を検討し，SMPの存在によりナイシンの抗菌効果が相乗的に高まることを報告しており，両物質の抗菌作用を示すための標的部位がいずれも細胞膜であるために相乗効果を示すと推察している．本研究での培地系における *B. subtilis* および *B. lichniformis* に対する結果もこれらによく一致した結果であった．そこで，ナイシンとSE類の併用よるカマボコのシェルフライフ延長を試みた．しかし，デンプン含有カマボコにおいては培地系での結果から期待されるような相乗作用は認められなかった．これまでにSMPの抗菌力はデンプンやスキムミルクによって阻害され，またデンプンの種類によってもその阻害作用が異なることが知られている．すなわち，トウモロコシデンプンで最もSMPの阻害作用が強く，次いで小麦デンプン，バレイショデンプンの順に阻害作用が強いとされている[25)26)]．さらに，朝賀と遠田[27)]はデンプンによるSMPの抗菌作用阻害の機構を検討し，デンプン中のアミロース重合度に依存して阻害作用が大きくなり，これはSMPとアミロースが複合体を形成するためと推察している．したがって，本研究で作製したカマボコにも原材料としてバレイショデンプンを添加したため，このデンプンによってSE類の抗菌作用が阻害されナイシンとの複合効果が得られなかったものと考える．そこでカマボコに配合されるデンプンの抗菌効果に与える影響を調べるため，デンプン非含有カマボコを作製し，ナイシンとSE類との複合効果を調べたところナイシンと共にSE類を併用するとカマボコのシェルフライフはナイシン単独添加の場合より延長した．すなわち，カマボコ中においてもSE類の抗菌性およびナイシンとの複合効果がデンプンの存在によって大きく阻害を受けることが明らかとなった．さらに，ナイシンも食品成分の脂質やタンパク質への吸着や食品中での酵素反応などにより抗菌活性が低下することも知られている[28)29)]．したがって，ナイシンとSE類の複合効果を期待す

る場合，デンプンなどの食品に存在する阻害物質の影響も考慮する必要があると考えられる．

カマボコの風味に関しては，10 mg/g SML の添加により，カマボコに苦みが感じられた．一方，10 mg/g SMP の添加では，カマボコの風味に大きな影響はなかった．伊藤と細井[30]は，デンプン含有カマボコおける *L. monocytogenes* の発育に及ぼすにポリリジンと SE 類の併用効果について検討しており，1％SML または 1％SMP と 0.2％ポリリジンの併用によって，10℃における *L. monocytogenes* の発育をポリリジン単独添加区よりも強く抑制すると報告している．また，SML＋ポリリジン添加試料の方が SMP＋ポリリジン添加区よりも抑制効果が強いとしているが，本研究と同様に 1％ SML の添加によりカマボコが苦みを呈し，SMP では，2％添加でエグ味を呈したと報告している．したがって，デンプン含有カマボコでは，ナイシンと SE 類の併用によっても高い抗菌効果が得られたが，製品の品質を考慮した場合，SE 類の利用は実用的でないと言える．しかし，デンプン非含有カマボコでは，10 mg/g SMP とナイシンの併用は，カマボコの風味に大きな影響を与えずに，*Bacillus* 属細菌に起因する腐敗に対して有効なハードルとして利用可能であると考えられる．

## 要　　約

本研究ではケーシング詰めカマボコにおける腐敗原因菌の発育に及ぼすナイシンとショ糖脂肪酸エステル類の影響を調べた．その結果，カマボコへナイシンを添加することによって *Bacillus* 属の発育を効果的に抑制でき，シェルフライフの延長が可能となることが明らかになった．またデンプン不含カマボコでは，ナイシンとショ糖脂肪酸エステル類の併用添加によってナイシン単独添加の場合よりも *Bacillus* 属を長期に亘って抑制できた．したがって，水産練り製品の品質保持にナイシンの添加が有効な方法の一つと考えられ，既存のソルビン酸塩の添加に代わる方法であることが明らかになった．

本研究は農林水産省プロジェクト研究「生産・流通・加工工程における体系的危害分析の特性解明とリスク低減技術の開発」（FP-6105）によって実施した．

## 文　　献

1） 木俣正夫，河合　章，水産煉製品の腐敗に関する研究Ⅶ，市販澱粉の微生物學的研究，日本水産学会誌，**16**，55–58 (1951).
2） 矢野　豊，かまぼこにおける腐敗および有害微生物．「かまぼこ―その科学と技術」（山澤正勝，関　伸夫，福田　裕編）恒星社厚生閣，東京，pp. 306–313 (2003).
3） 横関源延，大島　浩，水産煉製品の保蔵に関する研究（第 2 報），澱粉中の耐熱性細菌及び薬品その他による保蔵効果，北海道区水産研究所研究報告，**5**，21–29 (1952).
4） 横関源延，ねり製品の内部腐敗に関する研究-Ⅰ，加熱温度と残存細菌，日本水産学会誌，**23**，539–542 (1958).
5） Cabo, M.L., Torres, B., Herrera, J.J.R., Bernardez, M. and Pastoriza, L., Application of nisin and pediocin against resistance and germination of *Bacillus* spore in Sous Vide products. *J. Food Prot.*, **76**, 72–78 (2009).
6） Nissen, H., Holo, H., Axelsson, L. and Blom, H., Characterization and growth of *Bacillus* spp. in heat-treated cream with and without nisin. *J. Appl. Microbiol.*, **90**, 530–534 (2001).
7） Thomas, L.V., Ingram, R.E., Bevis, H.E., Davis, E.A., Milne, C. A. and Delves-Broughton, J., Effective use of nisin to control *Bacillus* and *Clostridium* spoilage of a pasteurized mashed potato product. *J. Food Prot.*, **65**, 1580–1585 (2002).
8） Wijnker, J.J., Weerts, E.A.W.S., Breukink, E.J., Houben, J.H. and Lipman, L.J.A., Reduction of *Clostridium sporogenes* spore outgrowth in natural sausage casings using nisin. *Food Microbiol.*, **28**, 974–979 (2011).
9） Nilsson, L.L., Huss, H.H. and Gram, L., Inhibition of *Listeria monocytogenes* on cold-smoked salmon by nisin and carbon dioxide atomosphere. *Int. J. Food Microbiol.*, **38**, 217–227 (1997).
10） Neetoo, H., Ye, M., Chen, H., Joerger, R.D.Hicks, D.T. and Hoover, D.G., Use of nisin-coated plastic film to control Listeria monocytogenes on vacuum-packed cold-smoked salmon. *Int. J. Food Microbiol.*, **122**, 8–15 (2008).
11） Hara, H., Ohashi, Y., Yagi, K., Fujisawa, T. and Igimi, S., Effect of nisin (nisaplin) on the growth of *Listeria monocytogenes* in Karashi-mentaiko (red-pepper seasoned cod roe). *J. Food Hyg. Soc. Japan*, **50**, 173–177 (2009).
12） Takahashi, H., Kuramoto, S., Miya, S., Koiso, H., Kuda, T. and Kimura, B., Use of commercially available antimicrobial compounds for prevention of *Listeria monocytogenes* growth in ready-to-eat minced tuna and salmon roe during shelf life. *J. Food Prot.*, **74**, 994–998 (2011).
13） Hashimoto, K., Bari, Md.L., Inatsu, Y., Kawamoto, S. and Shima, J., Biopreservation of Kamaboko (steamed surimi) using piscicolin KH1 produced by *Carnobacterium maltaromaticum* KH1. *Jpn. J. Food Microbiol.*, **28**, 193–200 (2011).
14） Leighton, T.J. and Doi, R.H., The stability of messenger ribonucleic acid during sporulation in *Bacillus subtilis*. *J. Biol. Chem.*, **246**, 3189–3195 (1971).
15） Chin, N.X., Gu, J.W. and Neu, H.C., Antimicrobial effect of the combination of ceftibuten and an orally absorbed penem SCH29482. *Diagn. Mcriobiol. Infect. Dis.*, **14**, 79–83 (1991).
16） 松田敏生，矢野俊博，丸山晶弘，熊谷英彦，有機酸類の抗菌作用，各種 pH における最小発育阻止濃度の検討，日本食品科学工学会誌，**41**，687–702 (1994).
17） 霜　三雄，福住栄一，許可されている防腐剤，「食品防腐剤の知識と使い方」（信貴書院，東京）pp. 107–155 (1965).
18） 松田敏生，食品添加物による微生物制御，日本食品微生物学会誌，**12**，89–96 (1995).
19） Wiedemann, I., Breukink, E., van Kraaij, C., Kruipers, O.P., Bierbaum, G., de Kruijff, B. and Sahl, H.G., Specific binding of nisin to the peptidoglycan precursor lipid II combines pore formation and inhibition of cell wall biosynthesis for potent antibiotic activity. *J.Biol. Chem.*, **276**, 1772–1779 (2001).
20） Hasper, H.E., Kramer, N.E., Smith, J.L., Hillman, J.D., Zachariah, C., Kuipers, O.P., de Kruijff, B. and Breukink, E., An alternative bactericidal mechanism of action for lantibiotic peptides that target lipid II. *Science*, **313**, 1636–1637 (2006).
21） Scott, V.N. and Taylor, S.L., Effect of nisin on the outgrowth of *Clostridium botulinum* spores. *J.Food Sci.*, **46**, 117–120 (1981).
22） Gut, I.M., Prouty, A.M., Ballard, J.D., van der Donk, W.A. and

Blanke, S.R., Inhibition of *Bacillus anthracis* spore outgrowth by nisin. *Antibicobiol. Agents Chemother.*, **52**, 4281–4288 (2008).
23) Gut, I.M., Blanke, S.R., van der Donk, W.A., Mechanism of inhibition of *Bacillus anthracis* spore outgrowth by the lantibiotic nisin. *ACS Chem. Biol.*, **6**, 744–752 (2011).
24) Thomas, L. V., Davis, E. A., Delves-Broughton, J. and Wimpenny, J.W.T., Synergist effect of sucrose fatty acid esters on nisin inhibition of gram-positive bacteria. *J. Appl. Microbiol.*, **85**, 1013–1022 (1998).
25) 池上義昭，大田智子，シュガーエステルの抗菌作用-Ⅱ，シュガーエステルの抗菌作用に及ぼす諸因子，東洋食品工業短大・東洋食品研究所 研究報告書，**16**，101–105 (1985).
26) 池上義昭，中尾まり，村山寿美江，後藤隆子，好熱性細菌に対する乳化剤の抗菌作用，東洋食品工業短大・東洋食品研究所 研究報告書，**17**，65–75 (1987).
27) 朝賀昌志，遠田智江，脂肪酸エステルの静菌作用に対するデンプンの阻害，東洋食品工業短大・東洋食品研究所 研究報告書，**27**，71–76 (2009).
28) Aasen, I.M., Markussen, S., Moretro, T., Katla, T., Axelsson, L. and Nasterstad, K., Interaction of the bacteriocins sakacin P and nisin with food constituents. *Int. J. Food Microbiol.*, **87**, 35–43 (2003).
29) Taylor, T.M., Davidson, P.M. and Zhong, Q., Extraction of nisin from a 2.5% commercial nisin product using methanol and ethanol solutions. *J. Food Prot.*, **70**, 1272–1276 (2007).
30) 伊藤康江，細井知弘，かまぼこ等の畜水産無加熱摂取食品における *Listeria monocytogenes* の菌数変化とポリリジンおよびショ糖脂肪酸エステルによる生育制御．東京都農林総合研究センター研究報告，**6**，1–9 (2011).

（平成25年10月8日受付，平成25年11月5日受理）