東京農総研研報 6:1-9, 2011

原著論文

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

伊藤康江*,[a]・細井知弘[a]

東京都農林総合研究センター・食品技術センター
([a]東京都立食品技術センター)

摘　要

6 種の無加熱摂取食品（生ハム，イカ塩辛，カニ風味かまぼこ，蒸しかまぼこ，練りウニ，しめサバ）に *Listeria monocytogenes* を人為的に接種し，4℃あるいは 10℃にて保存した結果，保存 2 日後に，カニ風味かまぼこおよび蒸しかまぼこにおいて *L. monocytogenes* の増殖が認められた。また，① 1%パルミチン酸（C16:0）主体のショ糖脂肪酸エステル（HLB 値 16）と 0.2%ポリリジンをスケトウダラすり身に混合添加して製造したかまぼこ，および同様にスケトウダラすり身に② 1%カプリル酸（C8:0）主体のショ糖脂肪酸エステル（HLB 値 3）・グリセリン脂肪酸エステル合剤と 0.2%ポリリジンを混合添加して製造したかまぼこにおいては，食味に大きな影響無く，10℃保存時のかまぼこ中 *L. monocytogenes* の増殖が抑制され，その効果はかまぼこ②がより高かった。

キーワード：リステリア，かまぼこ，ポリリジン，ショ糖脂肪酸エステル
東京都農林総合研究センター研究報告 6: 1-9, 2011
2010 年 11 月 5 日受付，2010 年 12 月 2 日受理

緒　言

Listeria monocytogenes は通性嫌気性菌であり，低温，塩，酸などの環境ストレスに対し，cold-shock proteins（Csps）やグルタミン酸脱炭酸酵素（GAD）システムなどの働きにより高い適応性を示すことから(Schmid et al., 2009; Cotter et al., 2001)，環境中に広く分布している。そのため，食品の *L. monocytogenes* 汚染頻度も高く，食品媒介感染症の原因菌として注目されている。

L. monocytogenes は低温でも増殖可能であることから，無加熱摂取食品（ready-to-eat 食品）では，冷蔵保存食品であっても *L. monocytogenes* 汚染に細心の注意を払わなければならない。欧米諸国では野菜サラダ，乳製品，食肉加工品などの食品を介したリステリア症の集団感染が多数報告されており, 最近では 2008 年 8 月にカナダにおいて食肉加工品, 2009 年 6 月～2010 年 2 月にオーストリア，ドイツ，チェコ共和国においてチーズが原因とみられるリステリア症が集団発生している。日本における食品媒介リステリア症は，2001 年にナチュラルチーズによるリステリア症集団発生事例が 1 例報告されているのみであるが，食肉，魚介類，乳製品，野菜など広範囲の食品に *L. monocytogenes* 汚染が進んでいることが明らかとなっており（Okutani et al., 2004），無加熱摂取食品においても，魚介類加工品，食肉加工品において *L. monocytogenes* の検出率が高かったと報告されている（仲真, 2006）。

食品中に存在する様々な微生物の増殖を抑制する方法のひとつに食品添加物の使用があり，*L. monocytogenes* に対しても，様々な物質の効果が報告されている。ポリ

*連絡先：yasue-ito@food-tokyo.jp

リジン，キトサン，プロタミンなどのポリカチオン物質はその一例であり（Geornaras and Sofos, 2005; 武藤, 2006; Geornaras et al., 2007; Inatsu et al., 2005; 伊藤ら，2008; Hansen and Gill, 2000），その抗菌作用は，ポリカチオンが微生物の細胞膜表面にイオン吸着し，細胞膜に損傷を与え，微生物を不活化することによると考えられている（武藤, 2006; Lui et al., 2004; Islam et al., 1984; Johansen et al., 1995）。また，乳化剤であるショ糖脂肪酸エステルにも効果が認められ，耐熱性芽胞形成細菌や液体培地中の *L. monocytogenes* に対して生育抑制作用があると報告されており（池上ら, 1987; 諏訪ら, 1986, 1988; Monk et al., 1996），カット野菜の次亜塩素酸ナトリウム処理前の予備浸漬による殺菌効果向上にも用いられている（中川ら, 2004）。ほかに，リゾチーム，カラシ・ホップ抽出物含有製剤にも *L. monocytogenes* に対して生育抑制効果があるとされる（Ibrahim et al., 2001; Hughey et al., 1989; Inatsu et al., 2005）。

著者らは，前報（伊藤ら，2008）において，*L. monocytogenes* の検出例がある漬物（キュウリ浅漬）に関して，改変・至適化した *L. monocytogenes* 選択培地を用いて，人為的に接種した *L. monocytogenes* の生育挙動を明らかにするとともに，特にキトサン添加による *L. monocytogenes* 増殖抑制効果を検討した。しかしながら，前述のように漬物以外の無加熱摂取食品である食肉加工品，魚介類加工品でも *L. monocytogenes* 検出率が高いことから（仲真, 2006），これらの食品においても，*L. monocytogenes* の生育挙動を明らかにするとともに，加熱に頼らない技術による *L. monocytogenes* の増殖防止対策が求められている。

本研究では，初めに、食肉加工品及び魚介類加工品から以下 5 品目の無加熱摂取食品，輸入品で *L. monocytogenes* 検出例がある①「生ハム」，海外で検出例がある「魚の酢漬け」に関連する②「しめサバ」，検出例は無いが製造において加熱工程のない魚介類加工品③「練りウニ」と④「イカ塩辛」，カナダで食品媒介リステリア症の原因食品として報告例がある（Farber et al., 2000）⑤「カニ風味かまぼこ」を対象として選択し，*L. monocytogenes* 接種試験を実施した。その結果，4℃および 10℃保存時に「カニ風味かまぼこ」のみで *L. monocytogenes* の増殖が認められ，別の市販「蒸しかまぼこ」や「カニ風味かまぼこ」においても，同様に *L. monocytogenes* の増殖が認められた。そこで，ポリリジンおよびショ糖脂肪酸エステル等の各種食品添加物を添加して製造した蒸しかまぼこにおける *L. monocytogenes* の生育を解析し，その生育制御効果を検討した。

材料および方法

1. *L. monocytogenes* 菌液の調製

L. monocytogenes JCM 7671（血清型 1/2a）株を独立行政法人 理化学研究所 バイオリソースセンター (RIKEN BRC) 微生物材料開発室より購入して用いた。当該菌株を Brain Heart Infusion broth（BHI broth；日水製薬）を用いて 35℃，24 時間の条件で 3 代継代培養後，遠心分離（780×g，10 分間）とリン酸緩衝生理食塩水（Phosphate buffered saline, PBS）による菌体洗浄を 2 回繰り返し, PBS で再懸濁・希釈して *L. monocytogenes* JCM 7671 菌液とした。その菌数は, PBS で 10 倍段階希釈した菌液 0.1ml を BHI broth に 1.5% agar を添加した平板培地（BHI agar）に表面塗抹後，35℃，2 日間培養して測定した。

2. リステリア接種用食品

市販の無加熱摂取食品（生ハム，イカ塩辛，カニ風味かまぼこ，蒸しかまぼこ、練りウニ，しめサバ）を購入して用いた。

3. 添加物

キトサン（コーヨーキトサン FM-80，粘度 30mPa･s, 脱アセチル化率 81.7%, 甲陽ケミカル），ε-ポリリジン（チッソ， ポリリジンと記す），醸造酢（高酸度原料用ビネガー, 酸度 10%, キューピー醸造），パルミチン酸（C16:0）主体のショ糖脂肪酸エステル（リョートーシュガーエステル P-1670，モノエステル含量 80%，HLB 値 16，三菱化学フーズ， SE-P と記す），ラウリン酸（C12:0）主体のショ糖脂肪酸エステル（リョートーシュガーエステル L-1695，モノエステル含量 80%，HLB 値 16，三菱化学フーズ， SE-L と記す），カプリル酸（C8:0）主体のショ糖脂肪酸エステル（ジエステル＋トリエステル含量 70%，HLB 値 3）50%とグリセリン脂肪酸エステル 50%の合剤（SE-ZX 製剤，三菱化学フーズ， SE-C＋GE と記す），リゾチーム（ニワトリ卵白由来，和光純薬），カラシ・ホップ抽出物含有製剤（ワサオーロ EXT, 三菱化学フーズ），プロタミン（アサマ化成），グリシン（和光純薬，特級），チアミンラウリル硫酸塩（ビタゲン AS5N，田辺三菱製薬），および酢酸ナトリウム（和光純薬，特級）を添加物として使用した。

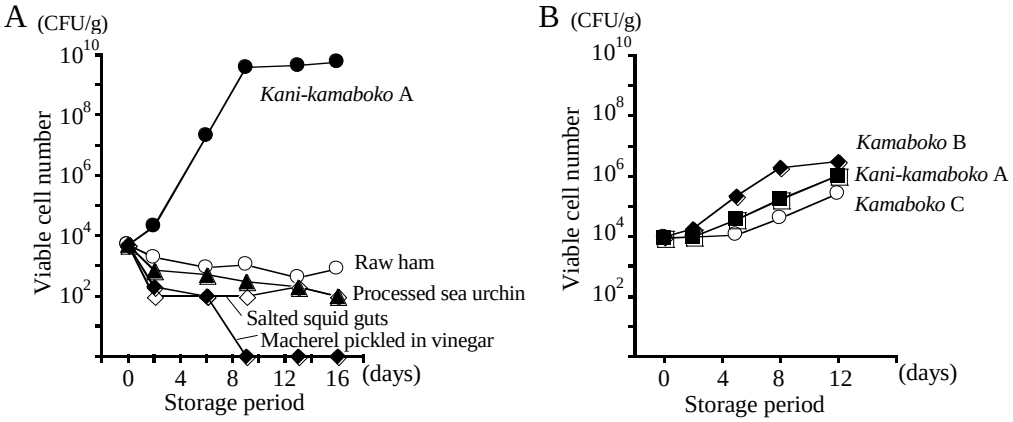

Fig. 1. Changes in viable cell numbers of *L. monocytogenes* on various ready-to-eat foods (A) and several preparations of *kamaboko* (B) during storage at 10°C.
L. monocytogenes was artificially inoculated at 4.9×10^3 cfu/g (A) or 9.8×10^3 cfu/g (B), on day 0. Viable cell numbers were enumerated using PALCAM agar plates. Data are the means of duplicate cultures.

4. 各種食品添加物等含有かまぼこの製造

各種食品添加物等溶液の pH 値を 1.25 および 0.125 mol/L 水酸化ナトリウム溶液（和光純薬）と，1 および 0.1 mol/L 塩酸（和光純薬）を用いて pH6.8 に調整した。スケトウダラすり身 100g に対し，食塩 2.5g，砂糖 2g，馬鈴薯デンプン 5g，グルタミン酸ナトリウム 1g と，濃度を変化させた各種食品添加物溶液を混合し，10g ずつ成形後， 90℃，15 分間加熱してかまぼこを製造した（製造後のかまぼこの pH 値はすべて 6.8）。

5. 水分活性および pH 値測定

市販無加熱摂取食品および製造したかまぼこについて，水分活性は水分活性測定装置（AW SPRINT TH500，Novasina）を，pH 値は pH メーター（HM60G，東亜ディーケーケー）をそれぞれ用いて測定した。

6. リステリア接種試験

各食品 10g を滅菌ポリ袋に入れ，リステリア菌液 50µl を接種後，空気を抜かずに好気状態のまま，市販の各種無加熱摂取食品については 4℃および 10℃で，各種食品添加物含有かまぼこについては 10℃で保存した。菌数測定は，各食品について，測定日ごとに，新たに 2 袋ずつをそれぞれ蠕動式ブレンダー処理したのち，PBS を用いて調製した 10 倍段階希釈液 0.1ml を，選択剤無添加の PALCAM 寒天基礎培地（PALCAM *Listeria*-Selective agar（Base）, MERCK, Darmstadt, Germany）に表面塗抹後，35℃，4 日間培養して行った。出現したリステリア定型的コロニーを計数し，2 袋の平均値を *L. monocytogenes* 菌数とした。なお，選択剤無添加の PALCAM 寒天基礎培地を使用した理由は，予備試験の結果，各食品における *L. monocytogenes* 以外の微生物の混在・増殖はわずかで，PALCAM 寒天基礎培地による *L. monocytogenes* 菌数の測定が容易であったためである。

7. 統計解析

Fig. 2 および Fig. 3 に示す実験において，各サンプリング日における各実験区間の菌数（対数に変換）の平均値の差を，母集団が正規分布，等分散であると仮定し，統計解析ソフト SPSS version 13.5（SPSS, Chicago, IL）を用いて Tukey HSD 法により比較した（有意水準を 0.05 に設定）。各図においては， 3 回の繰り返し実験の解析結果のうち，代表的なものを示した。

結果および考察

1. かまぼこを含む各種無加熱摂取食品における *L. monocytogenes* の菌数変化

市販の無加熱摂取食品 5 品目（生ハム，イカ塩辛，カニ風味かまぼこ，練りウニ，しめサバ）に *L. monocytogenes* JCM 7671 を接種後，4℃および 10℃で保存し，PALCAM 寒天基礎培地を用いて *L. monocytogenes* 菌数を測定した (Fig. 1A)。

保存温度 4℃および 10℃，いずれの場合においても，供試した 5 品目のうち，カニ風味かまぼこのみで *L. monocytogenes* の増殖がみられた。保存温度 10℃の場合には，接種菌数 4.9×10^3 /g が保存 9 日後には 7.5×10^9 /g に達し，保存 16 日後までその菌数レベルを維持した（Fig. 1A）。保存温度 4℃の場合には，10℃保存時に比べ *L. monocytogenes* の増殖は緩慢であったものの，接種菌数 4.9×10^3 /g が保存 16 日後には 4.5×10^6 /g に増加した（データ未掲載）。

今回供試した各食品の水分活性は，生ハム 0.93，イカ塩辛 0.90，練りウニ 0.81，しめサバ 0.92，カニ風味かまぼこ 0.96 であり，pH 値は，生ハム 5.5，イカ塩辛 5.9，練りウニ 6.0，しめサバ 4.7，カニ風味かまぼこ 7.6 であった。カニ風味かまぼこは，他の食品に比べて水分活性が 0.96 と高く，かつ *L. monocytogenes* の生育条件に適した pH 値 7.6 であったことがかまぼこ中で *L. monocytogenes* が増殖した要因の 1 つと考えられる。

また，新たに別の市販かまぼこ 3 種（カニ風味かまぼこ 1 種，蒸しかまぼこ 2 種）についても同様の試験を行なったところ，いずれのかまぼこにおいても *L. monocytogenes* の増殖が認められた（Fig. 1B）。

カナダでのカニ風味かまぼこを原因食品とするリステリア症発生例では，患者宅から回収された製品中の *L. monocytogenes* 菌数が 2.1×10^9 /g であったと報告されている（Farber et al., 2000）。また，4℃および 10℃保存したカニ風味かまぼこ製品への *L. monocytogenes* 接種試験においても *L. monocytogenes* の増殖が確認されている（Farber et al., 2000）。これらと本研究の結果から，かまぼこは，その製造時に加熱工程が含まれるものの，加熱後に *L. monocytogenes* に汚染された場合には，冷蔵保存時に *L. monocytogenes* が増殖する可能性が高い食品といえる。

日本では，ナチュラルチーズや食肉製品から *L. monocytogenes* を検出した場合には，食品衛生法第 6 条に従い，輸入や販売を規制する措置がとられるが，その他の食品については規制がない。一方，FDA（アメリカ食品医薬品局）は 2008 年 2 月に，調理済み食品を *L. monocytogenes* の増殖を支持する食品としない食品とに分類し，支持する食品では従来どおりゼロトレランス（Zero tolerance: 食品 25g 中において検出されてはならない）の基準を維持する一方，支持しない食品に対しては，初発菌数 100 cfu/g 未満を規格とする新しい政策および業界に対するガイダンスを公表している（FDA, 2008a, 2008b）。なお，*L. monocytogenes* の増殖を支持しない調理済み食品とは，pH 値が 4.4 以下，または，通常凍結状態で保管および消費される食品，または，水分活性が 0.92 未満，または，効果的な *L. monocytogenes* に対する静菌的な管理措置（抗菌剤，pH 値，水分活性および抗菌剤等の要素の組み合わせ）を有する製造過程で製造された食品としている（FDA, 2008a）。

2. ポリリジン，醸造酢およびキトサンを添加したかまぼこにおける *L. monocytogenes* の増殖抑制

1 において，人為的に *L. monocytogenes* を接種したかまぼこで *L. monocytogenes* の増殖が認められたことから，増殖抑制法を検討する目的で，最初に，0.2%カラシ・ホップ抽出物含有製剤，0.1%プロタミン，0.1%プロタミン＋0.5%グリシン，0.1%リゾチーム，0.5%チアミンラウリル硫酸塩，0.5%チアミンラウリル硫酸塩＋0.5%酢酸ナトリウムを添加したかまぼこを製造し，*L. monocytogenes* の増殖抑制効果を検討した（接種後，10℃，12 日間保存）。試験の結果，いずれの物質も抑制効果を示さないことが判明した（データ未掲載）。

次に，ポリリジン，醸造酢およびキトサンを添加したかまぼこを製造し，*L. monocytogenes*（初発菌数 3.1×10^5/g）の 10℃保存時の増殖を同様に検討した（Fig. 2）。その結果，対照の無添加区と比較して，0.2%ポリリジン単独添加区，および 0.2%ポリリジンと 0.5%醸造酢混合添加区においては，かまぼこの呈味に大きな影響を与えずに，

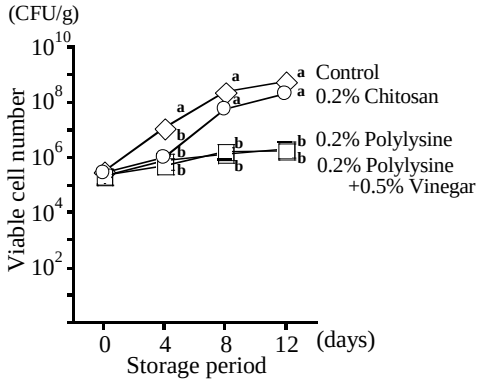

Fig. 2. Changes in viable cell numbers of *L. monocytogenes* on *kamaboko* upon addition of various antimicrobial substances, during storage at 10°C.
L. monocytogenes was artificially inoculated at 3.1×10^5 cfu/g on day 0. Viable cell numbers were enumerated using PALCAM agar plates. Data are the means of duplicate cultures. The results shown are representative of three independent experiments. [a,b] Mean values with different letters on the same day were significantly different at $P < 0.05$ (Tukey HSD test). All percentages are w/w.

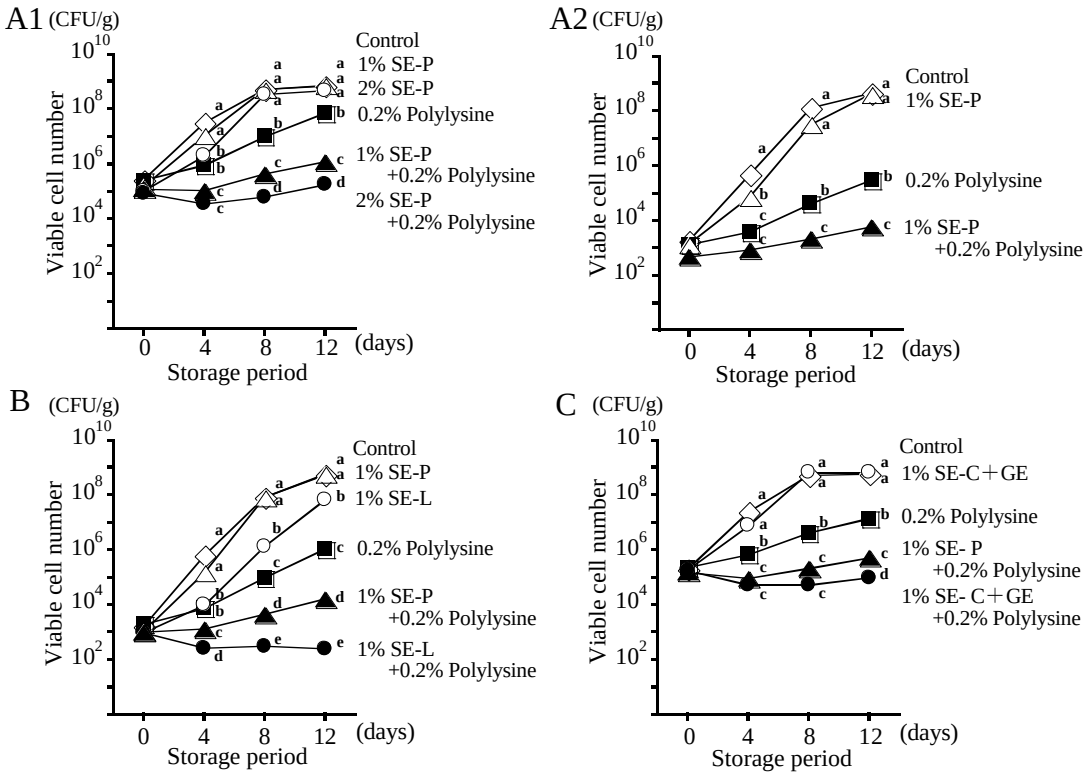

Fig. 3. Changes in viable cell numbers of *L. monocytogenes* on *kamaboko* containing sucrose palmitate (SE-P) and polylysine (A1, A2); sucrose laurate (SE-L), SE-P, and polylysine (B); or sucrose caprate and glycerol fatty acid ester (SE-C+GE), SE-P, and polylysine (C), added prior to storage at 10°C.
L. monocytogenes was artificially inoculated at 2.6×10^5 cfu/g (A1), 1.7×10^3 cfu/g (A2), 1.4×10^3 cfu/g (B), or 2.0×10^5 cfu/g (C), on day 0. Viable cell numbers were enumerated using PALCAM agar plates. Data are the means of duplicate cultures. The results shown are representative of three independent experiments. ^{a,b,c,d,e} Mean values with different letters on the same day in each experiment were significantly different at $P < 0.05$ (Tukey HSD test). All percentages are w/w.

L. monocytogenes の増殖が有意に抑制されたが, 初発菌数より菌数は増加した。また，0.2%キトサン添加区では，保存 4 日後においては 0.2%ポリリジン添加区と同様に *L. monocytogenes* の増殖が抑制されたものの，その後 *L. monocytogenes* 菌数は増加した（Fig. 2）.

武藤（2006）の報告によると，白飯での試験においては，0.02%ポリリジン単独添加（本研究の濃度の 1/10）および0.02%ポリリジンと0.5%醸造酢の混合添加により，*L. monocytogenes* の増殖が抑制され, 混合添加によりその効果が一層高まったとされる。しかしながら，今回のかまぼこでの試験では，0.2%ポリリジン＋0.5%醸造酢混合添加と、0.2%ポリリジン単独添加との間に効果の差は認められなかった。

また，前報（伊藤ら, 2008）のキュウリ浅漬の試験においては, 0.05%および 0.1%キトサン添加により *L. monocytogenes* 菌数が減少したが，今回のかまぼこでの試験では，0.2%キトサン添加に減少効果は認められなかった。その理由として，本研究のかまぼこでは，キトサンを練り込んだために，かまぼこ表面に接種した *L. monocytogenes* に実際に作用するキトサンの量がキュウリ浅漬調味液に添加した場合に比べて低いことが考えられる。また，キトサンは，プロタミンやポリリジンと同様，ポリカチオン物質であることから，タンパク質含有量の高い食品に添加した場合には，*L. monocytogenes* に作用するだけでなく, タンパク質にも吸着されるため, その抗菌効果が低下すると考えられる（宮尾, 2004; Hansen et al., 2001; Potter et al., 2005）。

なお，キトサン，プロタミン，ポリリジンの抗菌作用の機序はいずれも，これらのポリカチオンが微生物の細胞膜表面にイオン吸着することによると考えられているものの（武藤, 2006），キトサンは多糖類，プロタミンとポリリジンはともにポリペプチドだがアミノ酸組成が異なることから，各物質のイオン強度は異なり，抗菌効果には差があると推察される。

3. 各種ショ糖脂肪酸エステルおよびポリリジンを添加したかまぼこにおける *L. monocytogenes* の増殖抑制

2 において，0.2%ポリリジン単独添加は *L. monocytogenes* に対し増殖抑制効果を示したが，その効果を一層向上させることが可能かどうか，ショ糖脂肪酸エステル 3 種それぞれとポリリジンの併用効果を検討した。ショ糖脂肪酸エステルは，物性改善を目的としてかまぼこに添加されることがあり，構成する脂肪酸の結合数（エステル置換数）により，界面張力低下能，可溶化力，浸透力等が異なる（鍛治, 2005） 。また，ショ糖脂肪酸エステルは構成する脂肪酸の種類，脂肪酸の結合数により静菌効果に差があるとされる（鍛治, 2005）。そこで，ショ糖脂肪酸エステル 3 種それぞれとポリリジンを混合添加したかまぼこを製造し, *L. monocytogenes* の増殖を検討した（10℃, 12 日間保存，Fig. 3）。

(1) パルミチン酸主体ショ糖脂肪酸エステルの添加効果

ラード（豚脂）やヘット（牛脂）に多く含まれるパルミチン酸（C16:0）を主体としたショ糖脂肪酸エステル（SE-P）は，乳化力と静菌力のバランスが良いとされ，缶コーヒー等の乳入り弱酸性飲料の品質向上を目的に広く用いられている（鍛治, 2005）。

かまぼこの保存 12 日後（10℃）において， 1%および 2%SE-P（モノエステル含量 80%，HLB 値 16）単独添加区に *L. monocytogenes* に対する増殖抑制効果は認められなかった。Thomas ら（1998）の報告でも，液体である HEPES 緩衝液への *L. monocytogenes* 接種試験において，0.05%パルミチン酸主体のショ糖脂肪酸エステル（モノエステル含量 70%，HLB 値 15）の単独添加は *L. monocytogenes* に対して強い殺菌効果を示さなかったとされる。

混合添加区においては，1%または 2%SE-P（モノエステル含量 80%，HLB 値 16）と 0.2%ポリリジン混合添加区で, *L. monocytogenes* 菌数（初発菌数 2.6×10^5/g）が 0.2%ポリリジン単独添加区と比較して，ともに有意に低かった（Fig. 3-A1）。2%SE-P と 0.2%ポリリジンの混合添加区では，12 日間の保存期間中，*L. monocytogenes* の初発菌数がほぼ維持されたが，かまぼこは，えぐみを呈していた。1%SE-P と 0.2%ポリリジンの混合添加は, 2%SE-P と 0.2%ポリリジンの混合添加区に比べ, *L. monocytogenes* 増殖抑制効果は低いものの, 食味への影響は少なかった。

また，食味への影響が少なかった 1%SE-P と 0.2%ポリリジンの混合添加について，Fig. 3-A1 に示す実験より少ない菌数（1.7×10^3/g）の *L. monocytogenes* を接種してみたところ, 初発菌数 2.6×10^5/g の際と同様の菌数変化様式を示した（Fig. 3-A2）。

(2) ラウリン酸主体のショ糖脂肪酸エステルの添加効果

前項のパルミチン酸（C16:0）よりも短鎖で，ヤシ油やパーム油の主成分であるラウリン酸（C12:0）を主体としたショ糖脂肪酸エステルは，優れた界面張力低下能を有することから，野菜洗浄などに用いられている（鍛治, 2005）。

このラウリン酸主体ショ糖脂肪酸エステル SE-L, 前項のパルミチン酸主体ショ糖脂肪酸エステル SE-P, およびポリリジンの添加効果を比較・検討した。保存 12 日後（10℃）の *L. monocytogenes* 菌数（初発菌数 1.4×10^3/g ）は, 1%SE-P と 0.2%ポリリジンの混合添加区と比較して, 1%SE-L と 0.2%ポリリジンの混合添加区において有意に低く，12 日間の保存期間中，初発菌数より低い菌数レベルを維持した（Fig. 3-B）。しかしながら, 1%SE-L と 0.2%ポリリジンを添加したかまぼこは，強い苦味を呈していた。1%SE-L の単独添加区は無添加区に比べ，12 日間の保存期間を通して低い菌数レベルを維持したが，かまぼこは苦味を呈するとともに，1%SE-L と 0.2%ポリリジン混合添加のような *L. monocytogenes* 増殖抑制効果は得られなかった。

(3) カプリル酸主体のショ糖脂肪酸エステルとグリセリン脂肪酸エステル合剤の添加効果

次に，ココナッツや母乳に多く含まれるカプリル酸（C8:0）を主体としたジエステルおよびトリエステル含量が高いショ糖脂肪酸エステル（SE-C）に，SE-C の水分散性向上のためのグリセリン脂肪酸エステル（GE）を添加した混合製剤（SE-C＋GE）について, *L. monocytogenes* に対する増殖抑制効果を検討した。

解析の結果，1%SE-C＋GE 単独添加区に *L. monocytogenes* 増殖抑制効果は認められなかったが, 1%SE-C＋GE と 0.2%ポリリジンの混合添加区では， 10℃，12 日間の保存期間中，初発菌数（2.0×10^5/g ）より低い *L. monocytogenes* 菌数レベルが維持され，1%SE-P と 0.2%ポリリジンの混合添加区と比較して保存 12 日後の菌数が有意に低かった（Fig. 3-C）。また， 1%SE-C＋GE と 0.2%ポリリジン混合添加区のかまぼこに，苦味・えぐみは共に感じられなかった。

以上，3 種のショ糖脂肪酸エステルについて，かまぼこにおける *L. monocytogenes* 増殖抑制効果を検討した結果, (1) 1%SE-P と 0.2%ポリリジンの混合添加および (3) 1%SE-C＋GE と 0.2%ポリリジンの混合添加は，かまぼこの食味に大きな影響を与えずに *L. monocytogenes* の増殖を抑制し，後者（3）に，より高い増殖抑制効果が認められた。

2 で検討したポリリジン単独より，ショ糖脂肪酸エス

テルを併用することでさらに高い *L. monocytogenes* 増殖抑制効果を得ることができた理由は明らかではないが，ショ糖脂肪酸エステルの界面活性作用がポリリジンの *L. monocytogenes* への吸着および細胞膜損傷作用を増強させ，静菌効果をより高めることができたのではないかと推察される。

引用文献

Cotter, P.D., Gahan, C.G. and Hill, C. (2001) A glutamate decarboxylase system protects *Listeria monocytogenes* in gastric fluid, *Mol. Microbiol.*, 40: 465-475.

Farber, J.M., Daley, E.M., Mackie, M.T., and Limerick, B. (2000) A small outbreak of listeriosis potentially linked to the consumption of imitation crab meat, *Lett. Appl. Microbiol.*, 31:100-104.

FDA (U.S. Food and Drug Administration) (2008a) FDA draft compliance policy guide, Guidance for FDA staff, Sec. 555.320 *Listeria monocytogenes*.

FDA (U.S. Food and Drug Administration) (2008b) Guidance for industry: Control of *Listeria monocytogenes* in refrigerated or frozen ready-to-eat foods, Draft guidance.

Geornaras, I. and Sofos, J.N. (2005) Activity of ε-polylysine against *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, and *Listeria monocytogenes*, *J. Food Sci.*, 70: M404-M408.

Geornaras, I., Yoon, Y., Belk, K.E., Smith, G.C. and Sofos, J.N. (2007) Antimicrobial activity of ε-polylysine against *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, and *Listeria monocytogenes* in various food extracts, *J. Food Sci.*, 72: M330-M334.

Hansen, L.T., and Gill, T. A. (2000) Solubility and antimicrobial efficacy of protamine on *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* as influenced by pH, *J. Appl. Microbiol.*, 88: 1049-1055.

Hansen, L.T., Austin, J.W. and Gill, T.A. (2001) Antibacterial effect of protamine in combination with EDTA and refrigeration, *Int. J. Food Microbiol.*, 66: 149-161.

Hughey, V.L., Wilger, P.A. and Johnson, E.A. (1989) Antibacterial activity of hen egg white lysozyme against *Listeria monocytogenes* Scott A in foods, *Appl. Environ. Microbiol.*, 55: 631-638.

Ibrahim, H.R., Matsuzaki, T. and Aoki, T. (2001) Genetic evidence that antibacterial activity of lysozyme is independent of its catalytic function, *FEBS Lett.*, 506: 27-32.

池上義昭，中尾まり，村山寿美江，後藤隆子（1987）好熱性細菌に対する乳化剤の抗菌作用，東洋食品工業短期大学・東洋食品研究所研究報告書, 17: 65-75.

Inatsu, Y., Bari, M.L., Kawasaki, S. and Kawamoto, S. (2005) Effectiveness of some natural antimicrobial compounds in controlling pathogen or spoilage bacteria in lightly fermented Chinese cabbage, *J. Food Sci.*, 70: M393-M397.

Islam, N.MD., Itakura, T., and Motohiro, T. (1984) Aitibacterial spectra and minimum inhibition concentration of clupeine and salmine, *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 50: 1705-1708.

伊藤康江，細井知弘，宮尾茂雄（2008）キュウリ浅漬冷蔵保存中の *Listeria monocytogenes* の菌数変化と各種抗菌物質添加の影響，日食科工誌, 55: 151-157.

Johansen, C., Gill, T. and Gram, L. (1995) Antibacterial effect of protamine assayed by impedimetry, *J. Appl. Bacteriol.*, 78: 297-303.

鍛治孝（2005）食品衛生と界面活性剤② 食品用乳化剤の基礎と応用，防菌防黴誌, 33: 365-372.

Lui, H., Du, Y., Wang, X. and Sun, L. (2004) Chitosan kills bacteria through cell membrane damage, *Int. J. Food Microbiol.*, 95: 147-155.

宮尾茂雄（2004）漬物の品質安定化における微生物の総合的制御，日食保蔵誌, 30: 29-38.

Monk, J.D., Beuchat, L.R. and Hathcox, A.K. (1996) Inhibitory effects of sucrose monolaurate, alone and in combination with organic acids, on *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*, *J. Appl. Bacteriol.*, 81: 7-18.

武藤正道（2006）保存料再発見 保存料ポリリジンの有用性，月刊フードケミカル 22: 40-46.

中川良二，薮内裕子，八十川大輔，長島浩二，渡邉由子，大友直也，江本直幹（2004）カットキュウリの次亜塩素酸ナトリウム殺菌における食品用界面活性剤の前処理効果，日食科工誌, 51: 367-369.

仲真晶子（2006）食品媒介リステリア症，防菌防黴誌, 34: 149-154.

Okutani, A., Okada, Y., Yamamoto, S. and Igimi, S. (2004) Overview of *Listeria monocytogenes* contamination in Japan, *Int. J. Food Microbiol.*, 93: 131-140.

Potter, R., Hansen, L.T. and Gill, T.A. (2005) Inhibition of foodborne bacteria by native and modified protamine: importance of electrostatic interactions, *Int. J. Food Microbiol.*, 103: 23-34.

Schmid, B., Klumpp, J., Raimann, E., Loessner, M. J., Stephan, R. and Tasara, T. (2009) Role of cold shock proteins in growth of *Listeria monocytogenes* under cold and

osmotic stress conditions, *Appl. Environ. Microbiol.*, 75: 1621-1627.

諏訪信行，久保田春美，高橋和子，町田肇（1986）コーヒー缶詰の耐熱性有芽胞細菌による変敗に対するショ糖脂肪酸エステル添加効果，日食工誌, 33: 44-51.

諏訪信行，代田徳子，町田肇（1988）コーヒー缶詰の高温性有芽胞細菌による変敗に対する乳化剤の添加効果，日食工誌, 35: 706-708.

Thomas, L.V., Davies, E.A., Delves-Broughton, J. and Wimpenny, J.W.T. (1998) Synergist effect of sucrose fatty acid esters on nisin inhibition of gram-positive bacteria, *J. Appl. Microbiol.*, 85: 1013-1022.

Growth of *Listeria monocytogenes* on refrigerated raw ham, salted squid guts, *kamaboko* (white fish-based puree), processed sea urchin and mackerel pickled in vinegar; and inhibition of growth on *kamaboko* by polylysine and sugar fatty acid esters.

Yasue Ito[*, a] and Tomohiro Hosoi[a]

Food Technology Research Center, Tokyo Metropolitan Agriculture and Forestry Research Center

([a]Tokyo Metropolitan Food Technology Research Center)

Abstract

Listeria monocytogenes is widely distributed in natural environments, resulting in contamination of various food ingredients. *L. monocytogenes* grows under conditions of low temperature and low pH, and bacterial contamination of ready-to-eat foods creates a risk of foodborne listeriosis outbreaks. In the present study, the growth of *L. monocytogenes* artificially inoculated on five ready-to-eat foods [raw ham, salted squid guts, *kani-kamaboko* (white fish-based imitation crab meat), processed sea urchin, and mackerel pickled in vinegar], stored at 4°C and 10°C, was investigated. The level of *L. monocytogenes* on *kamaboko* only (initial inoculum level, 4.9×10^3/g) increased to 4.5×10^6/g after 16 days of storage at 4°C, and to 7.5×10^9/g after 9 days of storage at 10°C. The levels of *L. monocytogenes* inoculated onto several other *kamaboko* preparations stored at 10°C also increased from the initial inoculation levels. Addition of 0.2% (w/w) polylysine, in combination with either 1% (w/w) sucrose palmitate ester (HLB16) or a 1% (w/w) mixture of sucrose caprate ester (HLB3) plus a glycerol fatty acid ester, to *kamaboko* ingredients before heat treatment during processing inhibited growth of *L. monocytogenes* inoculated onto the product after heat treatment, without any significant change in taste or flavor. The inhibitory effects were stronger than noted after addition of 0.2% (w/w) polylysine alone.

Keywords: *Listeria monocytogenes*, *kamaboko*, polylysine, sugar fatty acid ester

Received 5 November 2010, Accepted 2 December 2010
Bulletin of Tokyo Metropolitan Agriculture and Forestry Research Center, 6: 1-9, 2011

*Corresponding author: yasue-ito@food-tokyo.jp