

脂肪酸エステルの静菌作用に対するデンプンの阻害

朝賀 昌志*, 遠田 智江**

Inhibitory Effect of Starch to Bacteriostasis of Fatty Acid Ester

Masashi Asaka* and Tomoe Enda**

When the packaged beverages that were warmed at high temperature were on sale, the spoilage with the thermophilic and spore forming bacteria had occurred. The emulsifiers such as fatty acid ester contributed to the prevention of this spoilage. On the beverage including starch, the bacteriostasis of fatty acid ester was inhibited with the starch.

The inhibitory effect of polysaccharide to the bacteriostasis of sucrose palmitate and also triglycerin monopalmitate for *Moorella thermoacetica* was investigated. Only the starch inhibited the bacteriostasis of fatty acid ester, the other polysaccharide did not inhibit the bacteriostasis. On the inhibitory effect of starch, the amylose mainly inhibited the bacteriostasis, and the inhibitory effect depended on the molecular weight and content of amylose in the starch.

Key words : *Moorella thermoacetica*, Fatty Acid Ester, Sucrose Palmitate, Triglycerin Monopalmitate, Bacteriostasis, Starch, Amylose, Amylopectin, Inhibitory Effect

食品・飲料は栄養補給, 嗜好的機能による精神的な寄与, 体調調節機能など国民の健康維持に無くてはならない。しかし, 時間に追われる現代社会では, 必要な時に簡便に摂取できる食品・飲料が求められており, 容器詰め食品・飲料は必要不可欠である。冬季には加温した食品・飲料が好まれ, 加温販売する容器詰め食品・飲料は日常生活, 勤務の合間, レジャーなど種々の場面で飲食される必要不可欠なアイテムとなっている。

容器詰め食品・飲料は食中毒や変敗の防止のために殺菌が必要であるが, 食品本来の品質を保持するため必要最小限の加熱殺菌を行う。加温販売する容器詰め食品・飲料では, 販売時の温度で発育が最適温度である耐熱性芽胞形成嫌気性高温菌による変敗の防止が課題としてある¹⁾。嫌気性高温菌の中で *Moorella thermoacetica* は, 形成する芽胞の耐熱性が極めて高く²⁾, この菌による変敗を防止するにはレトルト殺菌のみでは不十分である。このため, 汚染源となり得る原料のUV殺菌³⁾ や乳化目的で添加している脂肪酸エステルがこの菌による変敗の防止に寄与している⁴⁾。シヨ糖脂肪酸エステルとグリセリン脂肪酸エステルの2種類が静菌作用を示す乳化剤として使用されている。しかしながら, 脂肪酸エステルの静菌作用は食品成分の影響を受ける。フラットサワー様変敗菌の発芽および発芽後生育に対するシヨ糖パルミチン酸エステルまたはシヨ糖ステアリン酸エステルの最小阻止濃度は, TSiF培地では100 mg/lであったが, コーヒー飲料培地では300 mg/l, しるこ飲

料培地では5000 mg/lと6000 mg/lであった⁴⁾。また, シヨ糖パルミチン酸エステルの静菌作用はデンプン, スキムミルクで阻害され, デンプンは特に強い静菌作用阻害を示した⁵⁾。このため, ポタージュースなど高デンプン飲料では特に大きな課題となっている。

一方, 食品成分であるデンプンはアミロースとアミロペクチンで構成しており, アミロースはラセン構造をとり, 脂肪酸や一部の乳化剤などと複合体を形成し, パンなどの老化防止に寄与していることが示されている⁶⁾。しかしながら, 脂肪酸エステルの静菌作用に対するデンプンの阻害に関する詳細な報告はない。そこで, 容器詰め飲料での乳化剤の低減を目的として, デンプンによる静菌作用阻害の機構を検討した。

実験方法

1. 材料

静菌作用を示す脂肪酸エステルは三菱化学フーズ(株)製シヨ糖パルミチン酸エステルP-1670 (以後SPEと略) と理研ビタミン(株)製トリグリセリンモノパルミチン酸エステルのポエムTRP-97RF (以後TGmPEと略) を使用した。

デンプンは和光純薬工業(株)製バレイシヨデンプン(化学用)を使用した。アミロースはSIGMA社製amylose type III : from potatoを通常用いたが, 分子量の影響を調べるときは東京化成工業(株)製アミロース分子量2,800, 15,000, 160,000を使用した。アミロペクチンは東京化成工業(株)製

* : 東洋食品工業短期大学 包装食品工学科

** : 東洋食品研究所 食品科学研究室

アミロペクチンfrom waxy cornを使用した。食品添加物用デンプンは日本食品化工(株)製ワキシーコーンスターチ(もち種精製トウモロコシデンプン, 100%アミロペクチン含有), コーンスターチ(うるち種精製トウモロコシデンプン, 25%アミロース含有), ハイアミローススターチ(50%アミロース含有)を使用した。

その他の多糖類として, 和光純薬工業(株)製ペクチンレモン製(化学用)と寒天(試薬特級)を使用した。多糖類含有食品添加物用製剤は伊那食品工業(株)製寒天製剤(イナゲルAM-82, B-31, DJ-40, M-7, PG-40), 三晶(株)製ペクチン(GENU pectin BB RAPID SET, JM-150-J, LM-101AS-1), カラギーナン(GENUCEL CHP-40I-J, WG-108, GENUVIS-CO J-J), ローカストピーニングガム(GENUGAM RL-200-J), ユニテックフーズ(株)製グアーガム(VIDOFIX), 大日本製薬(株)製キサンタンガム(ケルトロール, ケルトロールT), 三栄源エフ・エフ・アイ(株)製ジェランガム(ケルコゲルLT100), 微結晶セルロース含有製剤(ホモゲンNo.1158), 大豆多糖類(SM-1200), 大豆食物繊維(SM-700), キミカ(株)製アルギン酸ナトリウム(キミカアルギンI-3)を使用した。

嫌気性菌*M. thermoacetica*の培地として水製葉(株)製変法TGC培地「ニッスイ」, 培地を空気と遮断するために和光純薬(株)製流動パラフィンを使用した。その他の試薬は市販の特級又は1級品を使用した。

静菌作用の試験に供した菌は東洋食品研究所微生物学研究室所有の*M. thermoacetica*の芽胞を使用した。

2. デンプン, アミロース, アミロペクチンの糊化方法

試験に使用するデンプンとアミロペクチンは1%懸濁液を90℃以上で15分加熱して糊化後再度純水で一定量にした。アミロースは1%懸濁液をオートクレーブで121℃, 15分加熱して糊化した。

3. 脂肪酸エステルの静菌作用の分析

3-1) 脂肪酸エステルの静菌作用強度の分析

定法の変法TGC培地10 mlに最終濃度で脂肪酸エステルを0.1~10 mg/l添加後, オートクレーブで123℃, 15分滅菌して試験用の培地を調製した。調製した培地に*M. thermoacetica*の芽胞を接種し流動パラフィンを重層後, 100℃, 10分の加熱処理, 冷却後55℃にして培養した(接種時芽胞濃度 4.3×10^4 cfu/ml)。 *M. thermoacetica*の生育

の有無は培地の懸濁の有無で判定した。

3-2) 脂肪酸エステルの静菌作用に対するデンプン関連成分による阻害強度の分析

定法の変法TGC培地10 mlに最終濃度で脂肪酸エステルを10 mg/lと糊化したデンプン関連成分を5~1000 mg/l添加後, オートクレーブで123℃, 15分滅菌して試験用の培地を調製した。調製した培地に*M. thermoacetica*の芽胞を接種し流動パラフィンを重層後, 100℃, 10分の加熱処理, 冷却後55℃にして培養した(接種時芽胞濃度 4.3×10^4 cfu/ml)。 *M. thermoacetica*の生育の有無は培地の懸濁の有無で判定した。

3-3) 脂肪酸エステルの静菌作用に対するその他の多糖類の影響調査

定法の変法TGC培地10 mlに最終濃度で脂肪酸エステルを10 mg/lと多糖類を1000 mg/l添加後, オートクレーブで123℃, 15分滅菌して試験用の培地を調製した。調製した培地に*M. thermoacetica*の芽胞を接種し流動パラフィンを重層後, 100℃, 10分の加熱処理, 冷却後55℃にして培養した(接種時芽胞濃度 4.3×10^4 cfu/ml)。 *M. thermoacetica*の生育の有無は培地の懸濁の有無で判定した。

結果

1. *M. thermoacetica*に対する脂肪酸エステルの静菌作用

シヨ糖脂肪酸エステルとグリセリン脂肪酸エステルが, 加温販売される容器詰め飲料に主に使用される乳化剤であり, シヨ糖脂肪酸エステルとしてはSPE, グリセリン脂肪酸エステルとしてはTGmPEが主に使用される。そこで, *M. thermoacetica*に対する変法TGC培地中でのSPEまたはTGmPEの静菌作用を評価した。その結果を表1に示した。

*M. thermoacetica*の増殖は, SPEでは4 mg/l, TGmPEでは3 mg/l以上で阻害された。そこで, 変法TGC培地中での*M. thermoacetica*に対する最小阻止濃度をSPEで4 mg/l, TGmPEで3 mg/lとし, 以後, 食品成分による静菌作用阻害を評価する試験では, SPEまたはTGmPEの添加量を最小阻止濃度より濃い濃度である10 mg/lとした。

2. *M. thermoacetica*に対する脂肪酸エステルの静菌作用に及ぼす多糖類の影響

SPEまたはTGmPEを10 mg/l添加した変法TGC培地を使用して, *M. thermoacetica*に対する脂肪酸エステルの静菌作用に及ぼす多糖類の影響を検討した。その結果を表2

表1 *M. thermoacetica*に対する脂肪酸エステルの静菌作用

脂肪酸エステル	脂肪酸エステル添加量 (mg/l)								
	0	0.1	0.5	1	2	3	4	5	10
SPE	++	++	++	++	++	++	--	--	--
TGmPE	++	++	++	++	++	--	--	--	--

注: ++は測定培地2本共に増殖、--は測定培地2本共に増殖せず

に示した。

添加濃度1000 mg/lで、デンプンはSPEおよびTGmPEの静菌作用を阻害したが、寒天とペクチンは阻害を示さなかった。

そこで、多糖類含有食品添加物用製剤として寒天製剤（イナゲルAM-82, B-31, DJ-40, M-7, PG-40）、ペクチン（GENU pectin BB RAPID SET, JM-150-J, LM-101AS-1）、カラギーナン（GENUCEL CHP-40I-J, WG-108, GENUVIS-CO J-J）、ローカストビーンガム（GENUGAM RL-200-J）、グアーガム（VIDOFIX）、キサントランガム（ケルトロー

ル, ケルトロールT）、ジェランガム（ケルコゲルLT100）、微結晶セルロース（ホモゲンNo.1158）、大豆多糖類（SM-1200）、大豆食物繊維（SM-700）、アルギン酸ナトリウム（キミカルアルギンI-3）を用い、これらの食品用添加物製剤が脂肪酸エステルの静菌作用に及ぼす影響を検討した。その結果、寒天、ペクチン、カラギーナン、ローカストビーンガム、グアーガム、キサントランガム、ジェランガム、微結晶セルロース、大豆多糖類、大豆食物繊維、アルギン酸ナトリウムは、いずれも、1000 mg/lの添加濃度で静菌作用を阻害しなかった。

表2 脂肪酸エステルの静菌作用に対する多糖類の影響

脂肪酸エステル	多糖類		
	デンプン	寒天	ペクチン
SPE	++	--	--
TGmPE	++	--	--

注：++は測定培地2本共に増殖、--は測定培地2本共に増殖せず

3. 脂肪酸エステルの静菌作用に対するデンプン成分の阻害

デンプンのみが脂肪酸エステルの静菌作用を阻害したので、デンプンを構成するアミロースとアミロペクチンの影響について、次に検討した。SPEの静菌作用に対する影響を表3に示した。

デンプンは500 mg/lでSPEの静菌作用を阻害した。アミ

ロースはデンプンの1/10倍濃度である50 mg/lでSPEの静菌作用を阻害したが、アミロペクチンはデンプンの2倍濃度である1000 mg/lでSPEの静菌作用を阻害した。以上の結果、SPEの静菌作用に対するデンプンの阻害はアミロースが主体で、アミロペクチンの関与は僅かであることを認めた。

表3 SPEの静菌作用に対するデンプン成分の影響

	デンプン関連成分の添加濃度 (mg/l)						
	0	5	10	50	100	500	1000
デンプン	--	--	--	--	--	++	++
アミロース	--	--	--	++	++	++	++
アミロペクチン	--	--	--	--	--	--	++

注：++は測定培地2本共に増殖、--は測定培地2本共に増殖せず

同様に、TGmPEの静菌作用に対するアミロースとアミロペクチンの影響を表4に示した。デンプンは500 mg/lでTGmPEの静菌作用を阻害した。アミロースはデンプンの1/10倍濃度である50 mg/lでTGmPEの静菌作用を阻害したが、アミロペクチンはデンプンの2倍濃度である1000 mg/lでもTGmPEの静菌作用を阻害しなかった。以上の結果、TGmPEの静菌作用に対するデンプンの阻害もアミロースが主体であることを認めた。

脂肪酸エステルの静菌作用に対するデンプンの阻害はアミロースが主体であることが認められたので、次に、アミロース分子の大きさが静菌作用阻害に及ぼす影響を検討し

た。分子量の異なるアミロースがSPEおよびTGmPEの静菌作用に及ぼす影響を調べた結果を表5, 6に示した。

SPEの静菌作用に対しては、分子量15,000と160,000のアミロースは同じ濃度である50 mg/lで阻害を示したが、分子量2,800のアミロースが阻害を示すにはアミロペクチンと同じ1000 mg/lと高い濃度が必要であった。

TGmPEの静菌作用に対しては、分子量160,000が50 mg/l、15,000が100 mg/lで阻害を示したが、分子量2,800はアミロペクチンと同様に1000 mg/lでも阻害しなかった。

以上のことから、静菌作用に対するアミロースの阻害作用はアミロース分子の大きさに依存した。

表4 TGmPEの静菌作用に対するデンプン成分の影響

	デンプン関連成分の添加濃度 (mg/l)						
	0	5	10	50	100	500	1000
デンプン	--	--	--	--	--	++	++
アミロース	--	--	--	++	++	++	++
アミロペクチン	--	--	--	--	--	--	--

注：++は測定培地2本共に増殖、--は測定培地2本共に増殖せず

表5 SPEの静菌作用に及ぼすアミロースの分子量の影響

分子量	アミロース添加量 (mg/l)				
	10	50	100	500	1000
2,800	--	--	--	--	++
15,000	--	++	++	++	++
160,000	--	++	++	++	++

注：++は測定培地2本共に増殖、--は測定培地2本共に増殖せず

表6 TGmPEの静菌作用に及ぼすアミロースの分子量の影響

分子量	アミロース添加量 (mg/l)				
	10	50	100	500	1000
2,800	--	--	--	--	--
15,000	--	--	++	++	++
160,000	--	++	++	++	++

注：++は測定培地2本共に増殖、--は測定培地2本共に増殖せず

4. 脂肪酸エステルの静菌作用に及ぼす食品添加物用デンプンの影響

脂肪酸エステルの静菌作用に対するデンプンの阻害はアミロースが主体であることが認められたので、次に、アミ

ロース含有量の異なる食品添加物用デンプンが静菌作用に及ぼす影響を検討した。SPEの静菌作用に及ぼす食品添加物用デンプンの影響の調査結果を表7に示した。

表7 SPEの静菌作用に及ぼす食品添加物用デンプンの影響

	添加量 (mg/l)				
	10	50	100	500	1000
ワキシコーンスターチ	--	--	--	--	++
コーンスターチ	--	--	--	++	++
ハイアミローススターチ	--	++	++	++	++

注：++は測定培地2本共に増殖、--は測定培地2本共に増殖せず

アミロペクチン100%のワキシコーンスターチは、アミロペクチンと同じ1000 mg/lと高い濃度で阻害を示した。アミロース25%含有のコーンスターチは、バレイショデンプンと同程度の500 mg/lで阻害を示した。アミロー

ス50%含有のハイアミローススターチは、50 mg/lで阻害を示した。

同様に、TGmPEの静菌作用に及ぼす食品添加物用デンプンの影響の調査結果を表8に示した。

表8 TGmPEの静菌作用に及ぼす食品添加物用デンプンの影響

	添加量(mg/l)				
	10	50	100	500	1000
ワキシコーンスターチ	---	---	---	---	---
コーンスターチ	---	---	---	++	++
ハイアミローススターチ	---	---	++	++	++

注：++は測定培地2本共に増殖、--は測定培地2本共に増殖せず

アミロペクチン100%のワキシコーンスターチは、アミロペクチンと同様に1000 mg/lの濃度でも阻害を示さなかった。アミロース25%含有のコーンスターチは、バレイショデンプンと同程度の500 mg/lで阻害を示した。アミロース50%含有のハイアミローススターチは、100 mg/lで阻害を示した。

考 察

1. 脂肪酸エステルと静菌作用に対する多糖類の影響と飲料での添加量低減

加温販売する容器詰め食品・飲料で課題となる耐熱性芽胞形成細菌による変敗¹⁾の中で、特に耐熱性が極めて高い*M. thermoacetica*²⁾による変敗の防止にはレトルト殺菌のみでは不十分であり、脂肪酸エステルがこの変敗の防止に寄与する⁴⁾。しかし、脂肪酸エステルの静菌作用は食品成分の影響を受けデンプンは特に強い静菌作用阻害を示す⁵⁾ため、しるこ飲料など高デンプン飲料ではコーヒー飲料と比較して20倍量の脂肪酸エステル添加が必要である⁴⁾。

今回、代表的な脂肪酸エステルであるSPEとTGmPEの*M. thermoacetica*に対する静菌作用に及ぼす多糖類の影響を評価した結果、デンプンは阻害を示したが、その他の多糖類は阻害を示さなかった。更に、デンプンを構成するアミロースとアミロペクチンの脂肪酸エステルの静菌作用に対する影響を検討した結果、デンプンの阻害はアミロースが主体で、アミロース濃度に依存することが示された。これらのことから、高デンプン飲料製造において、以下の3項目を実施してアミロース含有量を少なくすることで脂肪酸エステル添加量を大きく低減できると考えられる。

- (1) モチ種やアミロース含有量の少ない原料を使用する。
- (2) ワキシコーンスターチなどアミロースを含まないデンプンを増粘剤として使用する。
- (3) 増粘剤としてのデンプンを他の増粘多糖類に代替する。

2. 脂肪酸エステルの静菌作用に対するデンプンの阻害

デンプンを構成するアミロースとアミロペクチンの中で直鎖構造のアミロースはラセン構造をとり、脂肪酸や一部の乳化剤などと複合体を形成し、モノグリセリドでは炭素数が14~18の飽和炭化水素鎖を持つものが最も効果的に複合体を形成する⁶⁾。ショ糖パルミチン酸エステルの静菌作用に対するデンプンの阻害はアミロースとの複合体形成によると推論される⁵⁾。今回、アミロースとアミロペクチンの影響を検討した結果、SPEとTGmPEの両方の静菌作用に対しアミロースに強い静菌作用阻害を認め、デンプンの静菌作用阻害は脂肪酸エステルとアミロースが複合体を形成することによるとする考えを強く支持した。

SPEとTGmPEの静菌作用に対するアミロースによる阻害はアミロース分子の大きさに依存し、強い阻害作用を示すためにはアミロースの分子量が15,000以上の大きさが必要であった。試験に供したアミロースの重合度は分子量2,800でおおよそ17、分子量15,000で90、分子量160,000で990に相当する。

ヨウ素デンプン反応におけるアミロース・ヨウ素複合体の形成はアミロース分子鎖の長さに依存し、重合度15以下では形成せず、20~25で少量結合し赤色を呈し、30以上で結合ヨウ素量が増加し呈色が赤から青色になり、アミロペクチンの分岐鎖も低重合度の α -1,4-グルカンであるので少量結合し赤色を呈する⁷⁾。

今回のアミロースの静菌作用阻害でも、阻害作用はアミロースの重合度に依存し、重合度が低いアミロースはアミロペクチンと同じ阻害作用であった。このことから、推察しているアミロース・脂肪酸エステル複合体もアミロース・ヨウ素複合体と似たような複合体形成と考えられる。しかしながら、重合度が90と990のアミロースの阻害作用はSPEとTGmPEで違いが認められたことから、さらに検討が必要である。

まとめ

加温販売される飲料において乳化目的で使用する脂肪酸エステルは耐熱性芽胞形成細菌による変敗の防止に寄与するが、デンプンによって脂肪酸エステルの静菌作用が阻害されるため、高デンプン飲料では乳化剤を多く添加する。

そこで、脂肪酸エステルの静菌作用に及ぼす多糖類の影響を検討した。その結果、デンプン以外の多糖類は阻害しなかった。デンプンの阻害はアミロースが主体で、アミロース濃度に依存し、デンプンの静菌作用阻害はアミロース・脂肪酸エステル複合体形成によると考えられる。このため、アミロース含有量の少ない高デンプン飲料を製造することで脂肪酸エステル添加量を大きく低減できると考えられる。

また、静菌作用に対するアミロースの阻害作用はアミロースの重合度に依存した。このため、アミロース・脂肪酸エステル複合体もアミロース・ヨウ素複合体と似たような複合体形成と考えられる。アミロースの阻害強度の定量、アミロースの阻害機構および飲料・食品での乳化剤の軽減法の開発などが今後の研究課題である。

文 献

- 1) Nakayama, A., Samo, S.: *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **46**, 1117-1123 (1980).
- 2) 松田典彦, 増田寛行, 駒木勝, 松本直起: 食衛誌, **23**, 480-486 (1982).
- 3) Nakayama, A., Shinya, R.: *J. Food Hyg. Soc. Japan*, **22**, 415-420 (1981).
- 4) Nakayama, A., Sonobe, J., Shinya, R.: *J. Food Hyg. Soc. Japan*, **23**, 25-32 (1982).
- 5) 池上義昭, 大田智子: 東洋食品工業短期大学・東洋食品研究所報告書, **16**, 101-105 (1985).
- 6) 久下喬, デンプンと脂質の相互作用, 「食品の品質と成分間反応」, 並木満夫, 松下雪郎編, (講談社, 東京), pp.140-143 (1990).
- 7) 小川宏蔵, 河田順平, シングルらせん構造, 「澱粉科学の事典」, 不和英次, 小巻利章, 檜作進, 貝沼圭二編, (朝倉書店, 東京), pp.49-58 (2003).