

広瀬一雄, 小瀬洋喜, 北村二郎, 山中好子: 有機化合物の生化学的還元 (第1報)

食用色素の変色細菌に関する研究*

Kazuo Hirose, Yōki Ose, Zirō Kitamura and Yoshiko Yamanaka:

Biochemical Reduction of Organic Compound. (I)

Studies on the Discoloring of Esculent Pigment.

I. 緒言

食品衛生法の公布によつてタール色素の使用に制限を受ける様になり、有毒色素の使用が禁じられる事になつたのは喜ばしい事であるが、之等の限られた数の色素を用いて着色を行うためには尚多くの問題が残されてい¹⁾る。殊にこれらの色素の堅牢度は着色と保存の目的からも重要な問題となつている。松井, 下川, 柴山¹⁾は法定水溶性食用タール色素の pH 及び日光の影響を観察してインジゴカーミン及びフロキシンを除く 20 種のものは 30 日間では大した変化のない事、この二色素も pH 7 の暗所では変色を認めない事を光電比色計で測定してい²⁾る。また成書にも例えば赤木²⁾はタール系色素の酸化剤, 還元剤, 光, 酢酸, アルカリに対する安定性について表示しており、物理化学的条件に対してはかなり検討が進んでいる。之に対して生化学的条件に対しては断片的な報告しかない。即ち芥田等が沢庵漬の黄色着色剤に用いる黄色一号ナフトールイエロー S 及び黄色四号ター³⁾トラジンの変色についてその変色状況を調査して変色の原因が或種の細菌の作用によることを見出すと共に⁴⁾その細菌の性質を調べ、⁵⁾水素イオン濃度及び⁶⁾アミノ酸の影響を検討し、更にその細菌の生成発育阻害剤⁷⁾に及ぶ一連の研究をなした他は山田, 関根⁸⁾が日光, 酸, アルコールによる食用色素の変色度を調査してブドー酒, ペパーミント, 飴, 清涼飲料に用うるべき混合色素の処方を示したものと及び田中⁹⁾が味噌漬に用いられてきたビスマルクブラウンの代りに食用色素を用いた際の変色が醗酵によるものであり、これは防腐剤で防げる事を報告しているにすぎない。

筆者らは福神漬に使用した色素が福神漬の保存中に変色する原因及びその対策についての調査研究の依頼を受けたので、その変色の状況を調べてその原因が沢庵漬の場合と同様に或種の細菌の作用によるものである事を知り原因菌を分離する事が出来た。そこで更に該細菌の生物学的性状を試験すると共に法定水溶性タール色素に対する作用をも試験した結果、これらの色素の中には変褪色の著しい色素と共に生化学的堅牢度の極めて高いばかりか該菌の発育を阻止する作用のある色素をも認める事が出来たので報告する。

II. 変色状況

試料として用いたものは岐阜市内某漬物会社製造のものである。保存中に変色を起したのは何れも甘味剤としてサッカリン, ズルチンを使用したもので蔗糖を使用したものには変色が認められなかつた。変色試料の汁液

* 昭和 28 年 8 月日本家政学会第 5 回大会, 昭和 30 年 4 月, 第 8 回日本薬学大会で夫々一部を発表した。

1) 松井, 下川, 柴山: 公衆衛生年報 2, 1 号 41 (昭 29)

2) 赤木満洲雄 "香粧品化学" 186 頁, 南山堂 (昭 27)

3) 芥田, 大桑, 伊福; 醗酵雑, 29, 79 (1950)

4) 芥田; 昭 25 年度兵庫県立農業試験場農産加工試験成績その 2, 12 (1950)

5) 芥田; 昭 26 年度 *ibid* その 2, 1 (1951) 6) 芥田; *ibid* 11 (1951)

7) 芥田; *ibid* その 4, 1 (1951) 8) 山田, 関根; 日本醸造協会雑誌 47, 8 号 380 (昭 27)

9) 田中: 第 8 回日本薬学大会講演。

の比重は Bé 18°~19° で変色を起さぬものの比重は27°~29° であつた。pH は何れも 4.5~6.2 の範囲にあつて酸性を示していた。変色を示した低比重群では材料中のナス、ダイコンは軟化が著しくナタマメもやや軟化を認める事が出来た。この変色は夏季には短時間で起り、秋季~冬季にはおそい。また夏季の変色も防腐剤を添加すると遅延させる事が出来る。従つてこの変色は細菌の作用によるものと推察された。

III. 変色細菌の分離

変色を示した試料 A, B から 3% ブドウ糖加寒天培地及び普通寒天培地を用いて 13 株の菌及び黴を分離し得た。之等の菌黴をナフトールイエロー S 0.02% 含有のブイヨン (pH 7.2) に接種して 37°C に培養した所、その 7 株がナフトールイエロー S を赤変した。2 株の黴は共に変色作用を示さなかつた。

変色細菌の性質を第一表に示す。

Table 1. Biochemical Behaviour of Bacteria discoloring esculent pigment.

Stem No.	Figure	Gram Stainig	Moving	Gelatin Liquidation	Gas production	H ₂ S production	Indol production	NO ₃ ⁺ Reduction	Urease	Sugar Decomposition							
										Arabinose	Glucose	Galactose	Sucrose	Lactose	Dulcife	Mannite	Sorbite
A ₁	Bacteria	+	-	-	-	-	-	±	-	± ¹	+ ¹	-	+ ¹	± ²	-	+ ¹	+ ¹
A ₂	Bacteria	-	-	-	-	-	-	±	-	-	+ ³	-	± ⁵	-	-	+ ³	-
A ₃	Cylinder	-	-	-	-	-	-	±	-	± ⁵	+ ¹	+ ¹	+ ³	+ ¹	± ⁵	+ ¹	+ ¹
B ₁	Bacteria	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+ ¹	-	+ ¹	-	-	-	-
B	Bacteria	-	-	-	-	-	-	±	-	+ ¹	+ ¹	+ ²	-	+ ²	-	+ ²	-
B'	Cylinder	-	-	-	-	-	-	±	-	+ ²	+ ¹	-	-	± ²	-	+ ¹	-
BY	Cylinder	+	-	-	-	-	-	±	+	-	+ ¹	-	+	+ ⁵	-	+ ²	-

+¹: Changed on the 1st day.

±²: slightly changed on the 2nd day.

IV. 変色細菌に対する色素の抗菌性

pH 7.2 のブイヨンに 0.04% の濃度になる様に色素を加えて滅菌し、之に III で分離した変色細菌を一白全耳つつ接種し 37°C に 15 日間観察しその混濁から肉眼的に判定した。その結果を第二表に示す。マーキユクロームとその骨格構造を同じくするフロキシシ、ローズベンガルが長期に汎つて菌の発育を阻止し、エリスロシンも亦かなりの抗菌力を示したことは興味ある事実である。

V. 変色細菌による色素の変褪色

IV と同様条件で色素の変褪色を肉眼的に観察した。その結果を第三表に示す。表に見る如く抗菌力を有した色素に変褪色の起らぬばかりでなく、たとえ菌の繁殖が相当に進んでも色調に変化の認められぬものが数種認められた。従つて之等の色素を用いれば広汎に存在すると考えられる変色細菌による変褪色も防止出来るものと期待される。

本研究に対して御便宜を賜つた学長宮道悦男博士、御指導を賜つた北海道大学医学部薬学科長(当時本学教授)赤木満洲雄博士、色素の御分与を賜りまた御助言を戴いた岐阜県衛生研究所技師下川洪平氏に心から御礼申し上げる。

Table 2, Antibacterial Action of Esculent Pigment against discoloring Bacteria.

Pigment	Stem Day	A ₁			A ₂			A ₃			B			B ₁			B'			BY		
		5	10	15	5	10	15	5	10	15	5	10	15	5	10	15	5	10	15	5	10	15
Red No. 1 Pouceau 3R		‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡
No. 2 Amaranth		‡	‡	‡	‡	‡	‡	—	—	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡
No. 3 Erythrocin		—	‡	‡	‡	‡	‡	—	—	+	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡
No. 101 Pouceau R		‡	‡	‡	‡	‡	‡	—	—	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡
No. 102 New Coccine		‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡
No. 103 Eosin		‡	‡	‡	+	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡
No. 104 Phloxine		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
No. 105 Rose Bengal		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Orange No. 1 Orange I		+	+	+	+	+	+	—	+	+	‡	‡	‡	+	‡	‡	+	+	+	‡	‡	‡
Yellow No. 1 Naphthol Yellow		‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	+	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡
No. 4 Tartrazine		‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	+	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡
No. 5 Sunset Yellow		‡	‡	‡	‡	‡	‡	—	—	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡
Green No. 1 Guinea Green B		‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡
No. 2 Light Green SF Yellowish		‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	+	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡
Blue No. 1 Brilliant Blue FCF		‡	‡	‡	‡	‡	‡	—	—	—	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡
No. 2 Indigo carmine		‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡
Violet No. 1 Acid Violet 6B		‡	‡	‡	‡	‡	‡	—	—	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡

— ; no growth + ; slightly growth † ; growth ‡ ; remarkably growth ‡ ; precipitate

Table 3, Discoloration of Esculent Pigment by Discoloring Bacteria.

Pignet	Stem Day	A ₁			A ₂			A ₃			B			B ₁			B'			BY		
		5	10	20	5	10	20	5	10	20	5	10	20	5	10	20	5	10	20	5	10	20
Rod No. 1 Ponceau 3R		+	+	+	+	+	+	‡	‡	‡	‡	‡	‡	+	+	+	—	—	‡	+	+	+
No. 2 Amaranth		—	—	—	—	—	+	—	—	+	‡	‡	‡	—	+	+	‡	‡	‡	—	—	+
No. 3 Erythrocin		—	—	+	+	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
No. 101 Ponceau R		+	+	+	+	+	+	—	—	—	+	+	+	—	+	+	—	+	+	—	+	+
No. 102 New Coccine		+	+	+	+	+	+	‡	‡	‡	—	—	+	+	+	+	—	‡	‡	+	+	+
No. 103 Eosin		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	—	+	+
No. 104 Phloxine		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
No. 105 Rose Bengale		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Orange No. 1 Orange I		‡	‡	‡	‡	‡	‡	—	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡	‡

Yellow No. 1 Naphthol Yellow S	++ ##	++ ##	## ##	## ##	++ ++	## ##	++ ##
No. 4 Tartrazine	- ++	- - +	+ + +	+ + +	- + +	+ + +	- + +
No. 5 Sunset Yellow FCF	- ++	- + +	- - +	+ ++	- + +	+ ++	- + +
Green No. 1 Guinea green B	+ + +	+ + +	+ + +	+ ++	- ++	+ + +	+ + +
No. 2 Light green SF Yellowish	++ ##	++ ##	++ ++	+ ##	- ##	++ ++	++ ++
Blue No. 1 Brilliant Blue FCF	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -
No. 2 Indigo carmine	++ ##	## ##	## ##	## ##	++ ##	## ##	++ ##
Violet No. 1 Acid Violet	- - +	- - +	- - +	- - +	- - +	- - +	- - +

- ; no change + ; gel cloudy by Bacteria ++ ; slightly change ## ; considerably change.

奥田高千代, 北村二郎, 味香喜代子: *p*-Aminothiobenzamide 誘導体の抗菌性 (第一報)
合成と試験管内抗菌力試験.

Takachiyo Okuda, Zirō Kitamura and Kiyoko Azika : Antibacterial
Activity of *p*-Aminothiobenzamide Derivatives I.
Syntheses and Antibacterial Activity *in vitro*.

スルフォンアミド剤 (S剤) の作用機作については多くの研究がなされ種々の仮説が提出されている。¹⁾ そのうちで主なものは Wood-Fieldes のパラアミノ安息香酸 (PABA) 拮抗説である。即ち PABA が S 剤の菌阻止力に対し拮抗作用を示す事実と、PABA が或る種の細菌に対し顕著な増殖促進作用を有し、いわゆる発育素又は必須代謝基質ともいべき物質であるという事実に基礎をおく仮説であつて、細菌の細胞内において酵素との結合を PABA と S 剤とが競り合い PABA と酵素との結合、或るいはその利用を S 剤が阻害するため、葉酸の合成やメチオニンの合成過程が阻害され、その結果細菌の増殖が阻止されるとするものである。

また化学構造と抗菌作用との関係²⁾ についても多数の研究がなされているが今だ共通的原理を見出すには至っていない。はじめ多くの研究者によつて S 剤の作用に対し $\text{—HN—} \langle \text{C}_6\text{H}_4 \rangle \text{—SO}_2\text{NH—}$ 基の骨格の不可欠性が唱えられたが、これは系統的に化学構造と抗菌性の関係を研究したものでもなく、且つ PABA との関係において立証されたものでもなかつた。

S 剤の抗菌力の強さは PABA による拮抗作用を打消す能力に比例することは多くの研究者の認めるところであるが、R. Kuhn は³⁾ *p*-aminobenzamide (I), *p*-aminothiobenzamide (II) を含む一連の *p* 位に —NH_2 基を有する化合物について *Streptococcus plantalum* を用い PABA との拮抗比を調べ拮抗比の減少と発育阻

1) 紫田: “季刊薬学”, 2, No. 1, 41 (1948) 参照

2) 鶴岡: 薬誌, 71, 336 (1951).

3) R. Kuhn, et al: Ber, 75, 711 (1942); *ibid.*, 76, 406 (1943).