



# Styrene formation by the decomposition by pichia carsonii of trans-cinnamic acid added to a ground fish product

島田, 邦夫

---

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

1994-02-16

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

乙1793

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D2001793>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏名・(本籍)	しま だ くに お 夫 (兵庫県)
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	博ろ第1387号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位授与の日付	平成6年2月16日
学位論文題目	Styrene formation by the decomposition by <i>Pichia carsonii</i> of transcinnamic acid added to a ground fish product (酵母( <i>Pichia carsonii</i> )による魚肉ねり製品中の添加物 trans-ケイ皮酸からのスチレン形成)
審査委員	主査 教授 本 間 守 男 教授 住 野 公 昭 教授 松 村 武 男

## 論文内容の要旨

### <緒 言>

加工食品の第一の目的は、流通過程を通じ安全な食品を消費者に提供することにある。その目的のためには食品の微生物管理が十分に行なわれる必要がある。食品の製造基準が守られている限り、まず大きな問題は生じない。しかし食品中での微生物の生育は、温度、pH および微生物が利用できる水分量などの環境要因や保存剤の有無により大きく影響される。

最近の消費者には、合成添加物を敬遠し自然食品を求める傾向が見られるが、それに伴ってシナモン抽出物が、香料または保存剤としてかなり広範囲に使用されるようになった。多くの食品は、それ自身固有の臭いを持っているが、その中には時として加工食品の流通、運搬あるいは保存中に石油臭を発生するものがある。その原因としては、酵母 *Hansenula anomala* 汚染による酢酸エチルの産生が指摘されている。

本論文は、消費者より苦情のあった魚肉ねり製品からこれまでに指摘されてきた酢酸エチルとは異なる臭気、即ちスチレンを検出し、その産生原因を明らかにし、事故再発防止に資せんとしたものである。

### <材料と方法>

1. 苦情事例の発生：兵庫県内某メーカー製造の魚肉ねり製品（焼きちくわ）が石油臭を発生すると苦情が3事例発生した。そのために同一製品の市場調査を行なうと共に苦情品の回収を行なった。この食品中にはシナモン抽出物を主成分としたP添加物が含まれていた。
2. 食品の微生物学的検索：回収された苦情食品の真菌および細菌学的検索を行なった。培地は真菌用にサブローデキストロース寒天培地（Oxoid）とポテトデキストロース寒天培地（Difco）、細菌用に標準寒天培地（ニッスイ）と血液寒天培地（Difco）を使用した。真菌は、25℃、5日間、また細菌は36℃、2日間、それぞれ嫌気的および好气的に培養した。また食品の10倍希釈系列により菌数を算出した。

3. 臭気分析：臭気はn-ヘキサンで抽出後、ガスクロマトグラフィーにより分析した。
4. 試薬類：食品P添加物（Y化成）、スチレンモノマー（和光）、trans-ケイ皮酸（関東化学）を使用した。
5. 分離菌株の固定：形態学的、生化学的性状およびDNAのGC含量に基づき同定した。
6. 分離菌株の臭気産生および臭気の前駆物質：グルコース・酵母エキス・ペプトン培地を用いた。  
P添加物を含む培地と含まない培地で臭気産生を検討後、その添加物の組成に基づき臭気の前駆物質を特定した。

## <結 果>

### 1. 苦情食品中の臭気と微生物学的検索

苦情食品からスチレンが44ppm 検出された。正常食品および食品の包装材料からは、スチレンは検出されなかった。微生物学的検索から、酵母が $5.4 \times 10^6$  CFU/g 検出され、その他の真菌や細菌は検出されなかった。また類似の酵母は凍結材料の解凍時に使用するメーカーの低温室からも検出された。

### 2. 分離菌株の臭気産生性

P添加物を含む培地に分離菌株を接種培養するとスチレンが産生された。分離菌株の発育およびスチレン産生能は、P添加物が0.1%の時顕著で、0.2%で抑制された。しかし魚肉中では0.5%でも菌は発育し、スチレンを産生した。P添加物の組成からケイ皮酸を除くとスチレンは産生されないが、P添加物をケイ皮酸に置き換えるとスチレンの産生が見られた。

### 3. 分離菌株の特性

食品からの分離菌株（CHI）および低温室からの分離菌株（ITA）の発育温度域は4～29℃で両菌株とも至適温度は26℃であった。一方発育 pH 域は4.0～10.5で、至適 pH は両菌株とも5.0であった。またCHIおよびITA両菌株は子嚢胞子を形成し、アルブチン分解、糖の分解、糖の発酵性やGC含量等から *Pichia carsonii* と同定された。

## <考 察>

食品の酵母汚染により酢酸エチル臭を発生することは知られているが、スチレン臭を発生する汚染事例の報告はない。スチレンの発生原因として原料または製造工程中の混入や包装材料からの移行が考えられるが、これらからはスチレンは検出されなかった。当該食品からは酵母 *Pichia carsonii* が多数検出されたが、これと同じ菌がメーカーの低温室からも検出されたことから環境からの酵母汚染が疑われ、この汚染酵母が食品中のP添加物に含まれたケイ皮酸を分解してスチレンを産生したと思われる。またクマール酸やコーヒー酸からもスチレンを産生することから、ケイ皮酸の脱炭酸によりこれらの化合物を中間体としてスチレンに分解される経路が考えられる。スチレンの環境基準は50ppm 以下であるが食品中での許容量は決められていない。今回苦情食品から検出された44ppm のスチレン量は環境基準には満たないものの、分離菌株の培養成績からすれば、時間と共にスチレン量が増加し環境基準を越える事は容易に推察される。スチレン臭は食品としての機能を損なうだけでなく、スチレンは神経障害を引き起こしたり、また空気中では発癌性物質として考えられているスチレンオキシドに変換することも考えられ、スチレン発生の原因となる微生物の食品への汚染防止対策が急がれる。

本論文で述べた食品および低温室からの分離菌株は、American Type Culture Collection (Rockville, MD) へ供託し、それぞれ *Pichia carsonii* C H I A T C C 90022, *Pichia carsonii* I T A A T C C 90021として登録された。

## 論文審査の結果の要旨

### 研究の背景

加工食品の第一の目的は、流通過程を通じ安全な食品を消費者に提供することにある。その目的のためには食品の微生物管理が十分に行なわれる必要がある。

最近の消費者には、合成添加物を敬遠し自然食品を求める傾向が見られるが、それに伴ってシナモン抽出物が、香料または保存剤としてかなり広範囲に使用されるようになった。多くの食品は、それ自身固有の臭いを持っているが、その中には時として加工食品の流通、運搬あるいは保存中に石油臭を発生するものがある。その原因としては、これまで酵母 *Hansenula anomala* 汚染による酢酸エチルの産生が指摘されて来た。

申請者は消費者から苦情のあった魚肉ねり製品から、これまでに指摘されてきた酢酸エチルとは異なる臭気すなわちスチレンを検出し、その産生原因を明らかにし、事故再発の防止に資することを目的として本研究を行なった。

### 成績

#### 1. 苦情食品中の臭気と微生物学的検索

苦情食品の臭気分析からスチレンを検出した。スチレンは包装材料から食品へ移行することが知られている。しかし正常食品および食品の包装材料からは、スチレンは検出されなかった。微生物学的検索の結果酵母 *Pichia carsonii* が多数検出されたがその他の真菌や細菌は、検出されなかった。また同じ酵母は凍結材料の解凍時に使用するメーカーの低温室からも検出された。従ってこの食品への酵母汚染は、環境からの汚染であると説明される。

#### 2. 分離菌株の臭気産生性

酵母汚染がスチレン産生に関与しているのではないかと考えて実験をした。最初分離菌株を培地あるいは魚肉中に接種培養したが、スチレン産生は見られなかった。ところがこの食品には、P添加物が含まれていたためこの添加物を分離菌株と一緒に培養するとスチレンを産生した。次にこのP添加物の組成に基づいてスチレン産生能を調べた。このP添加物からケイ皮酸を除くとスチレンを産生しないが、P添加物の変りにケイ皮酸に置き換えるとスチレンを産生した。このことは、食品の酵母汚染によって添加物中のケイ皮酸が分解されスチレンに変換されるものと推察された。

以上本研究は食品の汚染酵母 (*Pichia carsonii*) が、食品中の添加物に含まれたケイ皮酸を分解しスチレンに変換されることを明らかにし、食品汚染の新しい事例を示したものであるとして価値ある集積と認める。よって本研究者は、博士 (医学) の学位を得る資格があると認める。