

2. ナタマイシンとソルビン酸との効力の比較¹⁰⁾

ナタマイシンはソルビン酸に比べて約 1/100 の濃度で同等の効果が得られる。また、多くの菌種に対する有効性が確認されている。

- 1) ナタマイシンはチーズ表面に残存し、内部には浸透しない。
(ソルビン酸の場合は、内部に浸透し、チーズ全体に拡散する)。
- 2) ナタマイシンは約 5 $\mu\text{g/g}$ (皮膜塗布法) で保存効果がある。
(ソルビン酸の有効濃度の約 1/100 である)
- 3) 皮膜塗布法 (酢酸ビニル系プラスチックコート処理法) は浸漬法 (試験物質を含む食塩水にチーズを浸漬する) に比べ防かび効果に優れた処理法であり、皮膜塗布法の効果は約 1/5 濃度で同等の効果となった。
- 4) 皮膜塗布法は表面約 5mm を削り取るとナタマイシンの除去が可能である。

表 1 は貯蔵中のチーズの状態変化を把握するために、0, 1, 2, 4, 8 及び 13 週目にチーズの水分、pH 及び酸度の 3 項目を測定したものである。13 週間にわたっていずれの検体で各項目とも殆ど変化が認められなかった。

表 2 は各貯蔵期間毎にチーズに残存するナタマイシン及びソルビン酸の定量をおこなったものである。測定箇所は表面から 5mm の厚さまでの試料と中心部の試料の 2 種類で、A, B, C の 3 機関で測定した結果を示した。

参考：チーズへの使用方法

海外でのチーズへの使用方法例を以下に記す；

適切なナタマイシン処理をするためには、処理するチーズの表面全体にナタマイシン均一に分散させることが必要である。このために下記の方法のどちらかが使用される。

1. 被覆剤との組み合わせによる処理

一般にゴーダ、エダム、ハード・グレイディング、エメンタール、ロマノ、プロボローネ及びパルメザンチーズは必要量のナタマイシンを含むプラスチック被覆剤で処理される。この被覆はチーズ表面にブラシとかスポンジを使用して、装置 (回転ブラシ) 或いは手作業で行われる。

2. 噴霧/浸漬

チェダー、コルビー及び全てのフィルム包装の熟成チーズは包装する前にナタマイシン懸濁液に浸漬するか、液を噴霧して処理される。この懸濁液は 2000 - 3000 ppm の Devocid® を含有し浸漬時間は短い (10 秒)。

現在、Devocid® が認可されている国の大部分で、ナタマイシンの残存レベルがチーズ表面で 1 mg/100 cm² を超えず、チーズへの浸透の深さは 5 mm 以下でなければならない。

表1 チーズ貯蔵中の水分、pH 及び酸度の変化

Additive method	Concentration of natamycin and sorbic acid	Storage period (week)						
		0			1			H ₂ O(%)
		H ₂ O(%)	pH	acid	H ₂ O(%)	pH	acid	
Dipping	Natamycin 0.2%				32.28	5.26	0.79	31.77
	Sorbic acid 20%				32.03	5.27	0.83	31.56
	Control	34.78	5.18	0.86	31.38	5.22	0.79	31.33
Coating	Natamycin 0.05%				32.54	5.25	0.72	30.64
	Natamycin 0.0125%				31.97	5.29	0.76	30.69
	Sorbic acid 4%				32.17	5.30	0.79	30.69
	Sorbic acid 0.4%				32.01	5.22	0.65	31.33
	Control	34.78	5.18	0.86	31.87	5.26	0.68	30.77

Storage period (week)										
2		4			8			13		
pH	acid	H ₂ O(%)	pH	acid	H ₂ O(%)	pH	acid	H ₂ O(%)	pH	acid
5.13	0.72	32.18	5.28	0.79	33.20	5.31	0.86	33.84	5.80	0.72
5.30	0.83	31.79	5.30	0.76	32.23	5.40	1.01	32.29	5.45	0.83
5.28	0.65	32.86	5.24	0.76	33.07	5.60	0.68	33.22	6.12	0.79
5.29	0.86	31.90	5.30	0.76	32.43	5.40	0.86	32.39	5.47	0.97
5.29	0.79	31.18	5.28	0.79	31.47	5.40	0.86	33.00	5.57	1.08
5.29	0.86	31.88	5.30	0.83	32.35	5.41	0.94	32.77	5.72	0.79
2.27	0.79	32.59	5.32	0.79	32.50	5.44	0.90	32.57	5.76	0.65
5.23	0.79	32.19	5.30	0.76	30.54	5.41	0.86	32.97	5.57	0.86

表2 チーズ貯蔵中のナタマイシンとソルビン酸量の変化

Additive method	Concentration of Sorbic acid and Natamycin					
				0	1	
				Snow	Snow	Kyoudoh
Dipping	Sorbic acid 20%	Surface	A	4380	3350	3995
			B	5590	4880	2860
			C	3264	3030	2654
			Average	4411	3753	3110
		Center	A	2.1	15.1	2.2
			B	nd	nd	nd
			C	nd	nd	nd
			Average	nd	nd	nd
	Natamycin 0.2%	Surface	A	39.1	30.9	19.3
			B	9.3	33.0	9.2
			C	8.5	28.6	6.4
			Average	19.3	30.7	11.8
		Center	A	nd	nd	nd
			B	nd	nd	nd
			C	nd	nd	nd
			Average	nd	nd	nd
Coating	Sorbic acid 4%	Surface	A	782	838	737
			B	700	770	780
			C	701	718	710
			Average	728	775	746
		Center	A	2.9	1.5	nd
			B	nd	nd	nd
			C	nd	nd	nd
			Average	nd	nd	nd
	Sorbic acid 0.4%	Surface	A	253	160	181
			B	200	210	160
			C	223	217	261
			Average	235	196	201
		Center	A	nd	nd	nd
			B	nd	nd	nd
			C	nd	nd	nd
			Average	nd	nd	nd
	Natamycin 0.05%	Surface	A	1.2	1.6	3.2
			B	2.1	1.4	4.3
			C	2.5	3.6	3.2
			Average	1.9	2.2	3.7
		Center	A	nd	nd	nd
			B	nd	nd	nd
			C	nd	nd	nd
			Average	nd	nd	nd
	Natamycin 0.0125%	Surface	A	1.2	1.3	1.3
			B	0.7	0.8	1.1
			C	0.9	0.9	1.1
			Average	0.9	1.0	1.2
		Center	A	nd	nd	nd
			B	nd	nd	nd
			C	nd	nd	nd
			Average	nd	nd	nd

(μg/g)

Storage period (week) and location							
2		4		8		13	
Snow	Kyoudoh	Snow	Kyoudoh	Snow	Kyoudoh	Snow	Kyoudoh
2527	2742	2567	2394	2216	1897	1829	1299
2790	2710	3200	3350	2270	2310	1690	1690
2488	2776	2923	2540	1987	2286	1882	1795
2600	2733	2863	2761	2157	2164	1800	1595
14.7	4.4	104	102	432	301	753	620
nd	3	16	11	170	150	510	480
nd	nd	23	37	171	212	445	445
nd	3	47	50	257	221	568	498
3.7	0.4	2.1	4.1	19.4	3.9	9.4	12.2
9.7	8.1	10.7	17.2	16.6	8.1	6.8	5.8
3.6	3.6	8.6	7.8	8.4	11.7	5.9	1.0
5.7	4.0	7.0	9.7	14.8	7.9	7.4	6.2
nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
792	729	720	720	360	495	110	510
940	900	730	850	460	600	81	520
471	602	691	681	269	610	169	473
734	744	714	750	363	568	120	501
4.5	9.9	28.4	35.1	125	130	162	126
5	4	6	6	56	54	100	110
nd	nd	7	9	71	60	145	107
3	5	12	17	84	81	136	114
123	199	134	122	36	116	23.6	108
170	190	80	190	22	120	13	100
115	145	76	123	38	134	22	84
140	178	97	143	32	123	20	93
3.4	4.3	3.4	4.8	21.8	26.1	29.5	25.4
1	1	1	1	9	9	35	23
nd	nd	6	3	13	12	36	25
1	2	3	3	14	16	34	24
1.8	0.5	0.6	4.8	3.6	4.7	9.7	8.7
1.3	3.6	3.8	3.6	7.4	6.3	5.5	7.4
3.2	2.9	1.1	1.1	4.8	2.7	4.2	0.7
2.1	2.3	1.8	3.2	5.1	4.6	6.5	5.6
nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
0.3	0.3	0.6	nd	0.8	0.2	0.6	0.6
0.6	0.4	1.1	0.4	1.7	nd	1.0	nd
0.4	0.5	0.4	0.2	0.5	0.3	0.5	0.2
0.4	0.4	0.7	nd	1.0	nd	0.7	nd
nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

nd < 0.2 : Natamycin nd < 1.0 : Sorbic acid
Storage location Snow : Snow Brand ; Kyoudoh.

3. 食品中の安定性¹⁰⁾

- 1) ナタマイシンの防かび効果は、皮膜塗布法 0.05%処理及び浸漬法 0.2%とも処理後 8 週間まで有効である。
- 2) 無処理の場合は、2 週間で汚染かびが発生し、チーズの熟成、貯蔵の効果が妨げられ、障害となった。
- 3) 皮膜塗布法の 0.05%処理では 13 週間後にもかびの発生は中程度以下に止まった。
- 4) 皮膜塗布法は浸漬法に比べて低濃度で有効であり、優れた方法である。
- 5) ナタマイシンによる微生物制御はかびに対して非常に選択性の強いものであり、チーズの熟成上重要な酵母を制御するような悪影響は与えなかった。

4. チーズの表皮及びフレーバーに及ぼす影響¹¹⁾

- 1 例としてナタマイシンを含有した被覆材を使用したチーズは、ナタマイシンの内部浸透が 1mm 以上には進まなかったため、チーズの表皮の色調及びチーズ自身のフレーバーに悪影響はなかった。

安全性；

各毒性試験に関する一覧表

(1)

	動物名	性別	投与	LD50(mg/kg 体重)	参考文献	
急性毒性	マウス	—	経口	1,500	(12)	
	ラット	—	経口	1,500	(12)	
	〃	雄	経口	2,730	(13)	
	〃	雌	経口	4,670	(13)	
	モルモット	—	経口	450	(1)	
	ウサギ	雄	経口	1,420	(13)	
	イヌ	—	経口	1,000	(12)	
	動物名	性別	投与期間	投与量 (1日 mg/kg 体重)	所 見	参考文献
短期 反復投与	ラット	雌雄	経口 5～10week 9w 2w	50～70 150 500	発育血液組織に影響なし 多少の発育抑制 30%のラット死亡 血液検査、器官の重量正常 発育の遅れ、摂取量の減少	(1)
	ラット	雌雄	94～96day	0, 約 10,45,190,750		(13)
	イヌ (ビーグル犬)	雌雄	経口 7w	0, 312 ppm (体重の記載なし) 625、1250 ppm 5,000 ppm (体重の記載なし)		(13)
90 日反復 投与	イヌ (ビーグル犬)	雌雄	経口 90 day	投与濃度 0、375、750 ppm 全期間中平均投与量 0、12、25 mg/kg 体重		(14)
	所 見 750 ppm 群の 1 匹は 3 6 日嘔吐し、それ以外の異常はなかった。期間中の死亡事例はなかった。750 ppm 群で軽微な体重減少あり。平均食餌摂取量も減少した。					
長期毒性 試験 (2 年間)	ラット	雌雄	経口	投与量：75 以下、142、750 mg/kg 体重		(13) (15)
	所 見 (750)；3 ヶ月生存、摂取量、体重も減少したが、特に有害反応はない。 所 見 (143)；摂取量の減少と軽い緩慢な成長の遅れがあった。連続した 2 世代で繁殖、泌乳能力に影響はなく、離乳時対照の仔より平均体重が低かった。 所 見 (75 以下)；反復給餌に十分耐えた。重篤な血液学的変化、関連する全体的或いは顕微鏡的障害は観察されなかった。					
	イヌ (ビーグル犬)	雌雄	経口	投与濃度 0、125、250、500 ppm(体重の記載なし)		(13)
	所 見(500)；雄は対照群ほど急速な成長が見られなかった。投与 15 ヶ月後に十分な体重を維持することが不可能となった。 所 見(250 以下)；1 匹を除く全ての群は、2 年間生存し、当該死亡は投与とは無関係であった。血液学的検査、臨床化学的試験では異常はなかった。 器官重量の測定、病理的变化は全体的及び顕微鏡的検査で大きな影響は検出されなかった。					

(2)

	動物名	性別	投与	投与量	参考文献
繁殖性試験	1)ラット	雌雄	経口	0, 1000 ppm 投与量 第 1 交配群 : 181,223 日後に交配 (雌 10 匹雄 5 匹)、第 2 交配群 : 48,184、260 日間後に交配。 第 2 交配群の対照群雌 4、被験用雌 4 に 107 日令で交配	(16)
	所 見 ; 投与群の仔は対照群より平均体重が低かった。54 交配組の調査で 出生率、妊娠、泌乳、生存性指数は、対照群と同一或いは上回る結果であった。 異常性の発生は低く、投与の影響による特定はできなかった。				
	2)ラット	雌雄	経口	3 世代繁殖試験の F0 世代を形成、各世代の 0, 5, 15, 50, 100 mg/kg 体重、11 週間給餌の同腹仔で構成。	(17)
所 見 (100 mg 投与群) ; 胎児の死産数増加、生産数が減少、21 日目の生存数が仔の体重は、F0、F1 世代の 1 腹目、2 腹目同腹仔で減少。 出生率、妊娠、生存性、泌乳指数は、3 世代の全て 1 腹目、2 腹目の同腹仔で正常な範囲であった。 (50mg 以下投与群) ; 発育又は繁殖性に検知可能な影響はなかった。					
3)ラット	雌雄	経口	0, 5, 15, 50, 100 mg/kg 体重。胃挿管法で 7 日間反復給餌。3 世代繁殖試験の F1 世代 2 腹目の同腹仔からの雄 10 匹に対照食餌を与え、性的に成長しきった時点で投与した。各ラットは 8 連続週の各週に 2 匹の無投与ヴァージン雌ラットと交配、13 日後に屠殺検査。	(16)	
所 見 ; 着床場所、生存、死亡胎児の数、変異原性の関連で、差異は検出されなかった。					
	4)ラット	雌雄	経口	0, 5, 15, 50, 100 mg/kg 体重、3 世代試験で生まれた 5 群の中から雌雄 5 匹無作為に選別。屠殺する 3~4 時間前にコルヒチンを与え、染色体異常の調査のため骨標本を作成。	(17)
	所 見 ; 中期染色体標本の異常性の数は、対照群と比べ発生した数に明らかに不利なことはなかった。				
	催奇形性試験	ラット	雌雄	経口	0,5, 15, 50, 100 mg/kg 体重。 3 世代試験の F1 世代の 2 腹目同腹仔から雄 20 匹を対照食餌で成熟まで飼育、未処理の雌と交配。 当該雌は妊娠中 6~15 日間、胃挿管法で両親と同量を投与した。
所 見 ; 当該ラットを妊娠 20 日目に屠殺。妊娠数、生存同腹仔数、着床場所、吸収場所、生存及び死亡胎児の数、又は柔組織及び骨組織の異常性の差異は見られなかった。					

(3)

	動物名	性別	投与	投与量	
催奇形性試験	1)ウサギ	雌	経口	0, 5, 15, 50 mg/kg 体重。雌 10~20 匹の妊娠中の 6~18 日間胃挿管法 29 日目に検査；黄体の数、着床場所、吸収場所及び胎児の生死。	(18)
	所 見； 着床、母体、胎児の生存において悪影響は検出されなかった。柔組織、骨組織の異常性の数は、対照の自然発生的数と比較して差異はなかった。				
	2)ウサギ	雌	経口	0, 5, 15, 50 mg/kg 体重。妊娠の 6~18 日間胃挿管法での投与、29 日目に屠殺（帝王切開）、解剖により子宮内容物の検査	(19)
所 見； 雌親の一般的外観、行動、体重は、投与による影響はなかった。妊娠、着床、生存、死亡胎児の数、吸収の数は対照群との間に統計的な差はなかった。15mg/kg 体重群の生存胎児の平均体重は対照より低かった。胎児の骨格異常性は、一般的に奇形ではなく変異であり、余分な胸骨分節が 15, 50mg/kg 体重群で見られたが、明確な催奇形性の兆候ではなかった。柔組織検査で対照群との有意な差はなかった。					
発癌性試験	1)ラット	雌雄	経口	0,18, 38, 75, 142 mg/kg 体重。調査項目；臨床的兆候、体重、食餌消費、血液学（3,6,12,21,24 ヶ月）各性別毎 5 匹、主要な器官の重量（1 年後；0,142 mg/kg 体重 群で性別毎 5 匹、2 年後；全ての残存ラット）、肉眼、顕微鏡による検査を同様に行なった	(15)
	所 見； 142mg/kg 体重給餌群で雌雄の平均体重は対照の約 10%有意に減少 2 年間の平均 1 日摂取量は、約 21g/雄、16g/雌であった。雄は最初の 1 年間は対照より約 1g/日摂取量が少なかった。雌は 2 年間で平均で約 1g 少なかった。ヘモグロビン、ヘマトクリット、総白血球数、各種白血球は、投与による影響は見られなかった。6 ヶ月間 75mg/kg 体重給餌された雌の平均ヘモグロビンレベルの有意な増加があったが、これは対照値と差があった唯一の例であり、投与とは無関係と判断された。器官重量は、投与により影響されなかった。18mg/kg 体重給餌の雌に見られた平均腎臓重量の有意な増加は投与と無関係と判断された。解剖の肉眼検査、顕微鏡検査は、対照で検出された以上の腫瘍発生の増加或いは他の病変発生の増加は見出されなかった。				
一般薬理試験				投与量	(14)
	イヌ	雌雄	経口	0, 375, 750ppm の食餌用量 (全期間中平均投与量 12.5、25 mg/kg 体重)	
所 見； 血液検査、尿検査、心電図の異常性、眼科学的検査で影響の兆候は見られなかった。剖検、顕微鏡検査も何ら変化なかった。					
人における観察				投与量	(37)
	ヒト		経口	(1) 300~400mg/日 (2) 25~1,000mg/日、13~180 日間反復、 全身性糸状菌症等の患者	(38)
	観察の結果；(1)ときおり悪心、嘔吐、下痢の発生、末梢血液の変化なし。 (2) 患者(10 人中 1 人)、600~ 1,000mg 投与で悪心、嘔吐、下痢発生。				