

冷蔵生食用生鮮魚肉の魚肉細菌数と ドリップ細菌数の相関性

福田 翼[†]・菱川直将・田原由美子・古下 学・芝 恒男

Viable Bacterial Counts of Fish Meat and Fish Drip under Cold Storage Condition.

Tsubasa FUKUDA, Naomasa HISHIKAWA, Yumiko TAHARA,
Manabu FURUSHITA, and Tsuneo SHIBA

Viable counts of bacteria were determined on fish-meats and -drips prepared from refrigerated packed fillets, by using nutrient agar incubated at 20°C. The numbers in the drips were always higher than the numbers on the meat. The difference was in the range from 5 folds to 31 folds when the numbers on fish meat were at the other of 10⁷ CFU/g, and being higher when the count on fish meat exceeded 10⁸ CFU/g. In a case of fish meat samples the number of bacterial of which was in the range from 10⁵ to 10⁸ CFU/g, the difference was from 5 folds to 51 folds.

Key words : Fish-spoilage, Sea food, Viable count, Fish-meat, Fish-drip

緒 言

生食用生鮮魚肉については腸炎ピブリオ最確数を 100/g 以下とした食品衛生法の成分規格があるが、生食用カキについての 50,000/g 以下 (公定法: 標準平板による 35°C 培養計数法) の規格の他は、一般細菌数についての規格はない。しかしながら一般細菌数は魚の鮮度や衛生管理に有効な情報だと考えられ、公定法で調べた一般細菌数を 10⁵ CFU/g 以下、すなわち 100 万 CFU/g 未満とする自主基準が多くの流通業者等によって設けられ¹⁾³⁾、細菌数が 10⁶ CFU/g 以上であれば不適格だとする処置がとられている。しかしながら神ら⁴⁾が 2002 年度の多摩地域で製造販売されているすし種・刺身について公定法により一般細菌数を調べたところ、10⁶ CFU/g 以上が 6.3% を占めており、自主管理は成功してない。自主管理の精度向上が望まれるが、魚肉細菌数の計測は破壊処理が必要であり、ランダムスクリーニングによって実施され、個々の魚肉の細菌汚染を把握することは困難なので、現状以上の精度向上は難しい。非破壊で魚肉細菌を把握出来る手法の開発が望まれている。そ

こで本研究では魚肉ドリップの細菌数を調べる事で、魚肉細菌数を間接的に調べる方法の可能性を探るために、魚肉細菌数と魚肉ドリップ細菌数の相関性を調べた。ドリップの有機物は魚肉由来なので高い相関性が示唆されるが、ドリップの細菌数を調査した報告はない。

なお相関性を調べるにあたり、冷蔵保存中の魚肉細菌数では 35°C 培養計数法よりも 20°C 培養計数法の方が高い数値が報告され⁵⁾、国際食品微生物規格委員会 (ICMFS: International Commission on Microbiological Specifications for Foods) が魚肉細菌数は 20°C 培養計数法の方が高い数値を示す事を言及している⁶⁾ ことを考慮して、本研究では、公定法ではなく、20°C 培養計数法を用いて、様々な冷蔵魚肉フィレの魚肉細菌数とドリップ細菌数の経時的変化を調べた。

実験方法

実験サンプルおよび保存方法

魚肉試料には下関市内で購入した生鮮の冷蔵魚肉の切り身を用いた (Table 1)。実験室内でラウンドをおろして切り

身を取り出す場合は、滅菌器具を用い、使用中は滅菌蒸留水を用いて洗浄した。切り身をナイロン袋に含気包装し、4°Cで冷蔵し、経時的にサンプリングを行った。また、刺身または切り身 (Table 2) をナイロン袋に含気包装し、4°Cまたは 10°Cで冷蔵した。

細菌検査

1) 試料液の調製

含気包装した魚肉をクリーンベンチ内で2日から4日のインターバルで包装から鉗子を用いて取り出し、ナイフで試料を切り出し、残った魚肉を包装内に戻して冷蔵を続けた。また魚肉を取り出した際には、包装内に溜まったドリップをピペットで採取した。取り出した魚肉から約 10 g を調製してろ紙付きストマック袋に入れ、これに9倍量の滅菌生理食塩水を加えて120秒間ストマック処理を行った後に、500 rpm・1分間の遠心処理を行った。得られた上澄液を魚肉試料原液とした。また得られたドリップを試料原液とした。調製に使用した器具は、全て滅菌されたものを使用した。

2) 生菌数測定法

生菌数測定法には、普通寒天培地による20°C培養計数法を用いた⁵⁾。すなわち試料原液を滅菌生理食塩水で適宜希釈し、普通寒天培地に塗布または混釈した。これを20°Cで10日間培養し、コロニー数の計数を行った。各希釈段階につき3枚のプレートのコロニー数の平均値から、細菌数 (CFU/g 又は CFU/ml) を求めた。普通寒天培地は、蒸留水 1,000 mL に肉エキス (ベクトン・ディッキンソン株式会社製) 5.0 g、ペプトン (ベクトン・ディッキンソン株式会社製) 10.0 g、塩化ナトリウム (和光純薬株式会社) 5.0 g、寒天 (和光純薬株式会社) 15.0 g を添加し、pH 7.0 に調整したものを使用した。

結果および考察

Fig. 1 に 4°C 保存条件下における様々な魚肉の魚肉細菌

数とドリップ細菌数の経時変化を示す。すなわち今回用いた生鮮冷蔵魚肉 (A ~ G) では、細菌数の初期値が $10^2 \sim 10^4$ CFU/g であり、アジ (G) の他は、すべて2~4日の誘導期を経て細菌数が上昇し、冷蔵4日目以降に 10^6 CFU/g に達するのが観察された。一方、ドリップについては3日目以前には細菌数を調べるのに十分な液量が得られなかったが、4日目以降のデータについてみると、魚肉細菌数のおよそ10倍の細菌数から始まって、魚肉細菌数との差がさらに広がる傾向が見られた。魚肉細菌数とドリップ細菌数は最大で124倍 (天然ハマチ [サンプル D]・8日目)、最小差で4倍 (アジ [サンプル F]・4日目) であったが、魚肉細菌数が 10^7 CFU/g に達した時点での細菌数の差は5倍~31倍で、7試料中6試料 (86%) が10倍以上の差であった。なおこれまでの当研究室の実験では、20°C培養法で得られた 10^7 CFU/g は公定法で調べた場合には 10^6 CFU/g に相当することが分かっている (Data not shown)。

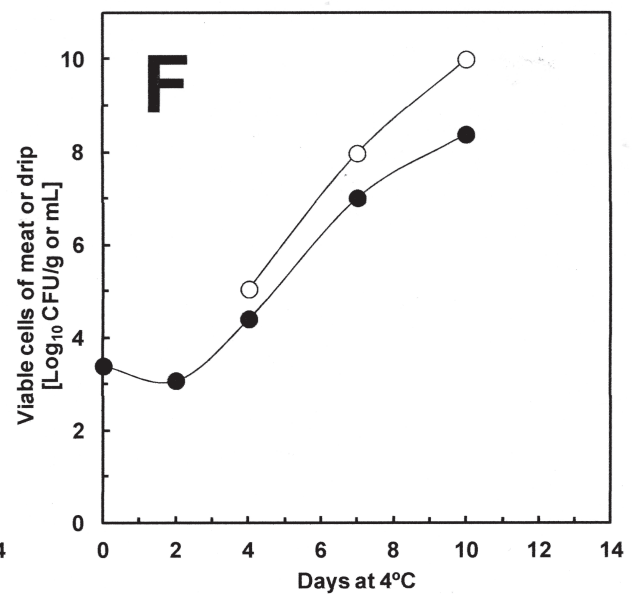
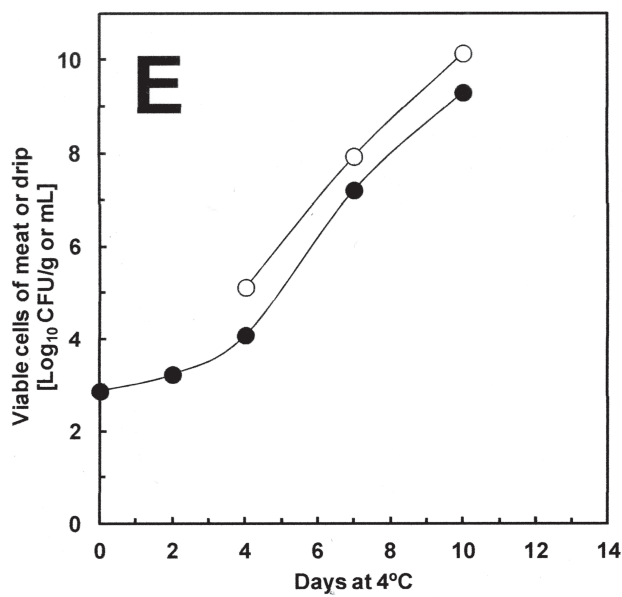
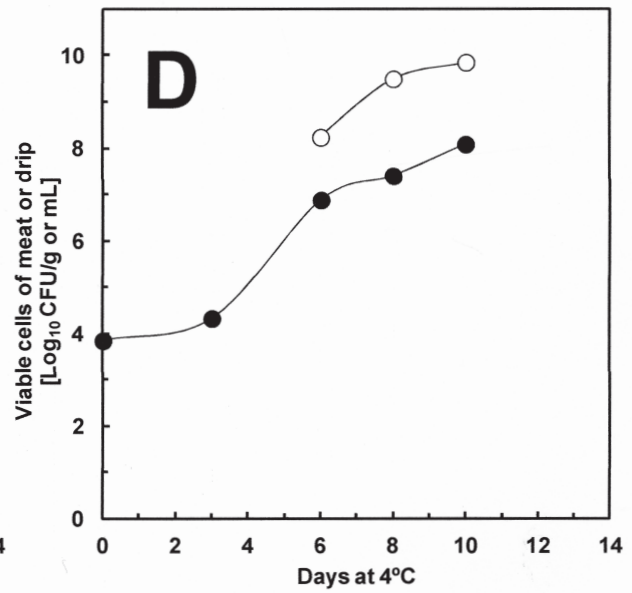
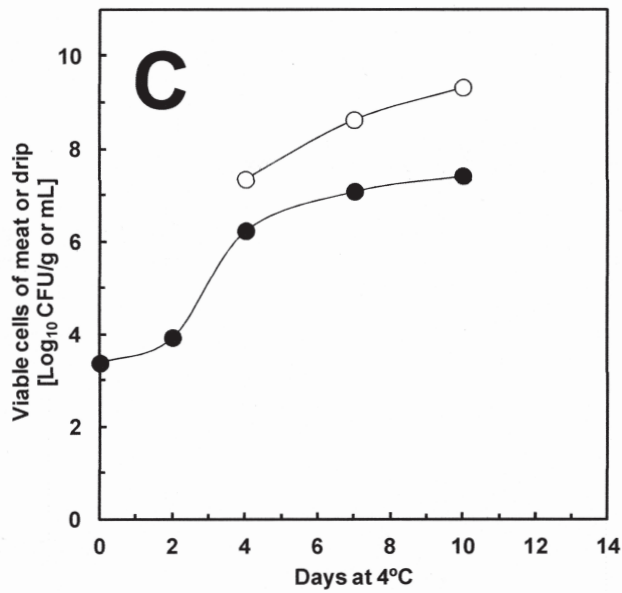
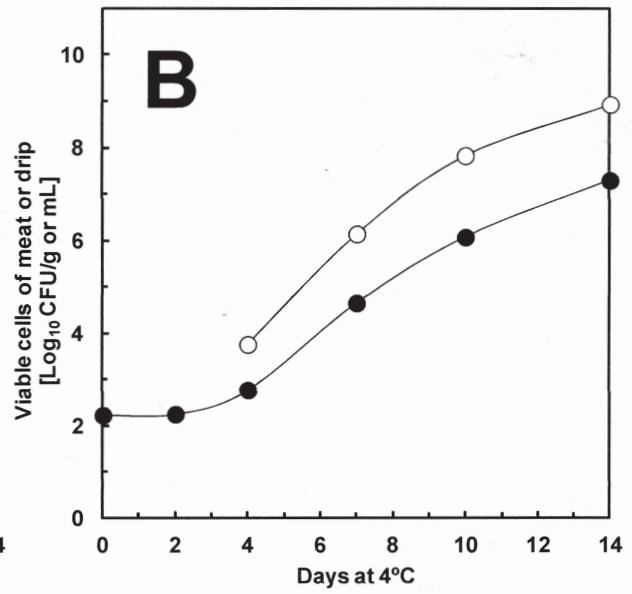
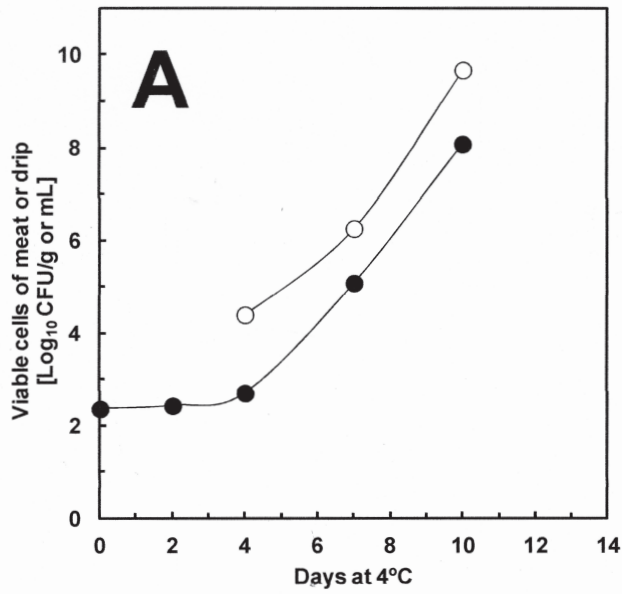
次に魚肉細菌数とドリップ細菌数の相関性を評価するため、冷蔵 (4°Cまたは 10°C) 後の様々な魚肉の魚肉細菌数とドリップ細菌数を測定した。その結果 Fig. 2 に示す様に、魚肉細菌数とドリップ細菌数の間では高い相関性が得られ、いずれの試料においてもドリップ細菌数の方が魚肉細菌数よりも高い数値を示した。魚肉細菌数が $10^5 \sim 10^8$ CFU/g の範囲内では、最小差で5倍、最大差で51倍を示し、10倍以上の差を示したのは32試料中22試料 (67%) であった。この結果は、Fig. 1 の傾向と一致していた。

魚種、魚肉腐敗細菌叢、死後変化、保存方法 (冷蔵・冷凍) などによって魚肉細菌数が大きく異なる⁷⁾ことが知られているが、魚肉細菌数とドリップ細菌数との間では高い相関性のあることが本研究で確認され、差が小さな範囲内に収斂することが示唆された。このことはペプチドや遊離アミノ酸を多く含むドリップ内で増殖した細菌が魚肉内に侵入していくことや、ドリップ内のペプチドや遊離アミノ酸が魚肉タンパク質由来であること⁸⁾からすれば、当然のことなのかも知れない。さらに、本研究では、魚種、季節性、保存条件の異なる試料を用いたにも関わらず、高い相

Table 1 Fish samples of Fig. 1

| Sample | Purchase date | Fish species | Fish condition | Note |
|--------|---------------|----------------|----------------|------------------|
| A | 2011-01-31 | Yellow tail | raw | Prepared at lab. |
| B | 2011-08-18 | Yellow tail | raw | Prepared at lab. |
| C | 2011-04-13 | Yellow tail | raw | - |
| D | 2011-08-28 | Yellow tail | raw | - |
| E | 2011-01-31 | Sea bream | raw | Prepared at lab. |
| F | 2010-05-17 | Horse mackerel | raw | - |
| G | 2010-06-22 | Horse mackerel | raw | - |

"Prepared at lab" was prepared from round bought at retailers.



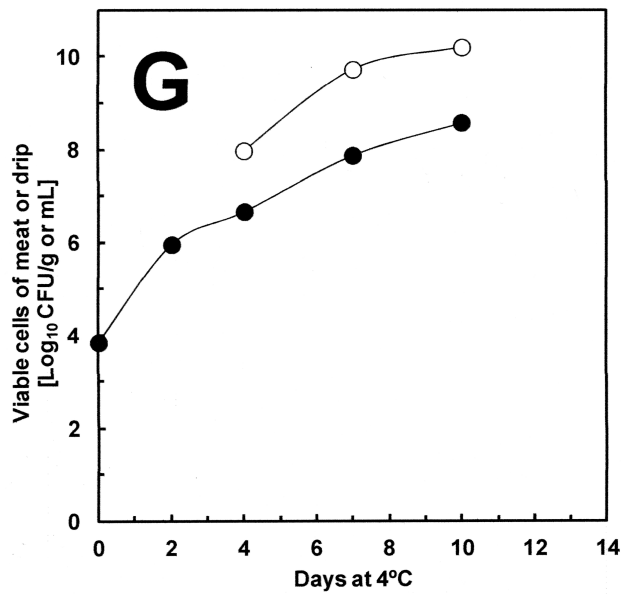


Fig. 1 Time course of Viable Counts of Bacteria Determined on Fish-meats and -drips

(A)Yellow tail [2011-01-31];
 (B)Yellow tail [2011-08-18];
 (C)Yellow tail [2011-04-13];
 (D)Yellow tail [2011-08-28];
 (E)Sea bream [2011-01-31];
 (F)Horse mackerel [2010-05-17];
 (G)Horse mackerel [2010-06-22]

Closed symbols: Fish-meat, Open symbols: Fish-drip

Table 2 Fish samples of Fig. 2

| Purchase date | Fish species | Fish condition | Storage temperature [°C] | Storage period [h] |
|---------------|------------------|----------------|--------------------------|--------------------|
| 2010-11-18 | Sea bream | raw | 10 | 48 |
| 2010-11-29 | Red sea bream | raw | 10 | 24 |
| 2010-11-29 | Red sea bream | raw | 10 | 24 |
| 2010-12-01 | Sea bream | raw | 10 | 24 |
| 2010-12-01 | Sea bream | raw | 10 | 24 |
| 2010-12-01 | Japanese seabass | raw | 10 | 24 |
| 2010-12-01 | Japanese seabass | raw | 10 | 24 |
| 2010-12-01 | Japanese seabass | raw | 10 | 48 |
| 2010-12-01 | Japanese seabass | raw | 10 | 72 |
| 2010-12-01 | Japanese seabass | raw | 10 | 72 |
| 2010-12-01 | Olive flounder | raw | 10 | 48 |
| 2010-12-01 | Olive flounder | raw | 10 | 40 |
| 2011-01-04 | Cod | defrosted | 10 | 84 |
| 2011-01-04 | Cod | defrosted | 10 | 84 |
| 2011-01-04 | Olive flounder | raw | 10 | 66 |
| 2010-12-01 | Japanese seabass | raw | 4 | 48 |
| 2010-12-01 | Japanese seabass | raw | 4 | 48 |
| 2010-12-01 | Sea bream | raw | 4 | 72 |
| 2010-12-01 | Sea bream | raw | 4 | 72 |
| 2011-01-04 | Cod | defrosted | 4 | 120 |
| 2011-01-04 | Cod | defrosted | 4 | 120 |
| 2011-01-04 | Olive flounder | raw | 4 | 108 |
| 2011-01-04 | Olive flounder | raw | 4 | 108 |
| 2011-02-01 | Olive flounder | raw | 4 | 120 |
| 2011-02-01 | Olive flounder | raw | 4 | 120 |
| 2011-02-01 | Red sea bream | raw | 4 | 120 |
| 2011-02-01 | Red sea bream | raw | 4 | 120 |
| 2012-07-09 | Tuna | raw | 4 | 168 |
| 2012-07-24 | Salmon | defrosted | 4 | 168 |
| 2012-07-24 | Salmon | defrosted | 4 | 240 |
| 2012-07-13 | Red sea bream | raw | 4 | 240 |
| 2012-07-13 | Red sea bream | raw | 4 | 168 |

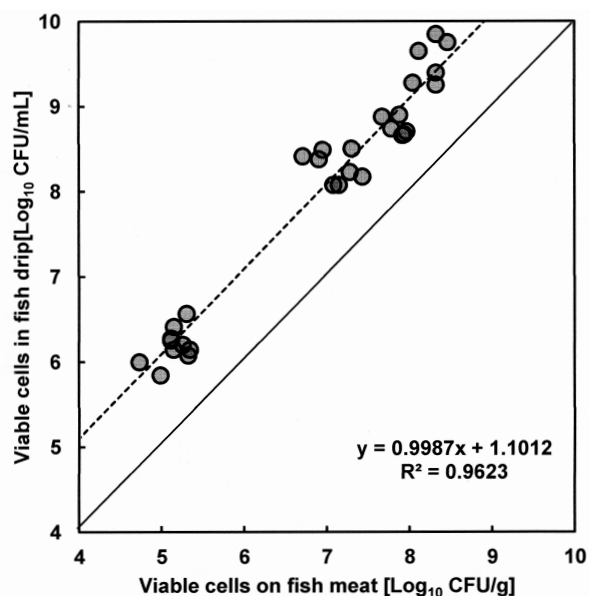


Fig. 2 Relationships between Viable Counts of Bacteria Determined on Fish-meats and -drips

関性を示した。これらは、魚種などのサンプル条件が魚肉細菌数とドリップ細菌数の相関性に寄与しない事を示唆している。

本研究成果により、ドリップ細菌数と魚肉細菌数との間で高い相関性が確認され、ドリップを利用した非破壊処理による魚肉細菌数計測の可能性が示唆された。今後は、ドリップ量などの諸条件が細菌数に及ぼす影響を明らかにし、より多くの魚種、保存条件で同様な実験を重ね、魚肉細菌数とドリップ細菌数との差が、どの程度の範囲内に収斂するのかを調べる必要がある。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、多大なるご尽力をいただきました中村基子氏に厚く御礼申し上げます。

参考文献

- 1) エフコープ生活協同組合：微生物基準。
http://www.fcoop.or.jp/goods/kijun/pdf/biseibutsu_h.pdf
- 2) コープ事業連合：微生物基準。
<http://www.naracoop.or.jp/syohuin/pdf/biseibutukijyun.pdf>
- 3) いわて生活協同組合：微生物自主基準。
<http://www.iwate.coop/anzen/kakuho/biseibutsu/pdf/biseibutsu.pdf>
- 4) 神 真知子, 森本敬子, 高橋由美, 服部絹代, 松下 秀, 吉田靖子：各種市販食品の細菌検査成績 (1993 年度～2002 年度), 東京健安研七報, **55**, 139-144 (2004).
- 5) 福田 翼, 古下 学, 芝 恒男：鮮魚の 35℃培養公定法による生菌数と 20℃細菌培養法による生菌数の比較. 水大校研報, **60** (4), 183-188 (2012).
- 6) International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF) : Sampling plans for fish and shellfish. Microorganisms in foods. -2nd ed.-. Blackwell Scientific Publications, London, 181-196 (1986).
- 7) 木村 凡：魚介類および魚介類加工品. 食品腐敗変敗防止研究会 (編), 食品変敗防止ハンドブック. サイエンスフォーラム, 東京, 305-313 (2006).
- 8) 藤井建夫：食品の腐敗. 日本食品衛生学会 (編), 食品安全の事典. 朝倉書店, 東京, 385-392 (2009).