

## ガス充填包装貯蔵したマサバフィレートの細菌相

木村 凡\*・村上正忠\*

Microbial Flora of Common Mackerel *Scomber japonicus*  
Fillets During Storage under Different Gas Atmosphere

Bon Kimura\* and Masatada Murakami\*

The fillets of common mackerel *Scomber japonicus* were stored in three different retail packages separately containing air, N<sub>2</sub>, or 40% CO<sub>2</sub> + 60% N<sub>2</sub> at 5°C, and the changes in their microbial flora together with the sensory change were investigated during storage. About 50 isolates from each group of different gas atmosphere were identified to the generic level.

The dominant bacterial flora of fresh fillets were *Moraxella*, *Acinetobacter*, Coryneforms, *Vibrio-Aeromonas*. After 6 days storage, the dominant microbial flora of fillets stored under air were *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, and *Vibrio-Aeromonas* group, and that of fillets stored under N<sub>2</sub> were *Vibrio-Aeromonas* group and *Alcaligenes*. In case of the presence of CO<sub>2</sub>, however, the final Microbial flora was similar to the initial one. Muscle color and odor of the fillets stored under CO<sub>2</sub> were superior to those under air and N<sub>2</sub>.

From those results, 40% CO<sub>2</sub> was concluded to suppress the growth of spoilage bacteria such as *Pseudomonas*, *Alcaligenes* and *Vibrio-Aeromonas* group.

## 1 緒 言

最近の水産業界では、ソフト嗜好のなかで「凍結」が嫌われて、「冷却」に対する市場の要求が次第に強まっている。このような背景からパーシャルフリージングあるいは水溫貯蔵といった新しいチルド貯蔵技術も開発されてきている。しかし、これらの新技術は、生産地から消費者までの一貫した温度コントロールが経済的に非常に難しい。特に、ある輸送手段から他の輸送手段への移転の際、また、小売業者のショーケースに陳列された際、あるいは消費者が購入した後の冷蔵庫保管など、まだ現場レベルにおいて

は、十分に低温管理が行われているとはいえない。したがって、このようなチルド流通（氷蔵、冷蔵、パーシャルフリージング、水溫など）においては、特に夏場などでは、細菌学的に問題が生じる可能性がある。

このような背景から考えて、鮮魚のガス充填包装を現在のチルド流通に組み入れることにより、上記のような細菌学的なリスクを解消し、これらの低温流通技術の補助的な役割が果たされると推測される。

水産物をガス充填包装して保蔵性を高めようという試みについては、北欧やアメリカではすでにいくつかの研究<sup>1-5)</sup>がおこなわれている。しかし、我が国ではアジの開

水産大学校研究業績 第1360号, 1991年8月8日受付。

Contribution from Shimonoseki University of Fisheries, No. 1360. Received Aug. 8, 1991.

\* 水産大学校 製造学科 微生物学研究室 (Laboratory of Microbiology, Department of Food Science and Technology, Shimonoseki University of Fisheries, 2-7-1 Nagatahonmachi, Shimonoseki 759-65, Japan.)

き干しなどいくつかの干製品<sup>6, 7)</sup>で見られる以外、鮮魚については上岡らのマグロ、カツオなどのフィレートの肉色保持を目的として系統的な報告<sup>8-10)</sup>およびマイワシを用いた最近の藤井らの報告<sup>11, 12)</sup>があるに過ぎない。

我々は海産魚フィレートをガス充填包装貯蔵した場合における品質保持効果について、細菌学的立場から検討を行ってきた。これまでに、数種の海産魚フィレートをCO<sub>2</sub>ガス充填包装貯蔵した場合における細菌数の変化を検討し、CO<sub>2</sub>ガス充填包装した場合に顕著なシェルフライフの延長が認められることを報告した<sup>13)</sup>。さらに、マジフィレートをガス充填包装貯蔵した場合における細菌相の変化を検討した。その結果、含気包装貯蔵およびN<sub>2</sub>包装貯蔵では細菌相が貯蔵と共に単純化される傾向を示したが、40% CO<sub>2</sub>ガス充填包装貯蔵では、貯蔵開始時の細菌相が6日貯蔵後も維持される傾向であった<sup>14)</sup>。

本報告では、マジより腐敗し易いと言われているマサバフィレートを試料として、ガス充填包装貯蔵した場合における細菌相ならびに官能検査の変化について調べ、海産魚フィレートの40% CO<sub>2</sub>ガス充填包装貯蔵の有効性について検討したので報告する。

## 2 実験方法

### 2.1 試料魚

マサバ (*Scomber japonicus*) は、サンプリング当日の早朝に山口県西部沿岸に水揚げされた後、即殺されたもの(体長25~30 cm)を用いた。

### 2.2 試料の調整

入手した試料魚を、ただちに一尾ずつ三枚におろした。試料は1フィレごとに70%アルコール殺菌済みのプラスチックトレーにのせ、含気包装、N<sub>2</sub>包装、CO<sub>2</sub>包装(CO<sub>2</sub>: 40%, N<sub>2</sub>: 60%)の、それぞれのガス組成でガス充填包装した後、5℃の恒温器で貯蔵した。

なお、ガスパックには、卓上型自動真空包装機V-400 G (東静電気社製)を用いた。また、包装用フィルムには、ガスバリアー性(CO<sub>2</sub>透過量, 0.1g/m<sup>2</sup>・24h・atm; O<sub>2</sub>透過量, 0.03g/m<sup>2</sup>・24h・atm)のKナイロン15μm/PE65μmラミネートフィルムを用いた。

### 2.3 生菌数の測定および菌株の分離

所定の貯蔵日数の経過後、各ガス貯蔵区のバックを開封

し、フィレートを取り出し、そのフィレート体表1cm<sup>2</sup>当たりの生菌数を測定した。なお、一度開封したガスパック中のフィレートは2度と実験には使用しなかった。

貯蔵したフィレートの表皮相10cm<sup>2</sup>を筋肉部10gと共に無菌的に採取し、それに滅菌希釈水(5%ペプトン加50%海水)90mlを加えて、ホモジナイザーで2分間細砕した。ホモジネートを順次10倍希釈しそれぞれの1mlをシャーレに接種し、平板混和法で25℃、7日間培養後計数した。生菌数の測定培地には、50%海水で調整した標準寒天培地(日水製薬社製)を用いた。

それぞれの計数後の平板培地より約50株を釣菌し、それぞれ純粋分離した後、以下の実験に供試した。

### 2.4 分類方法

供試菌株について、それぞれ以下の方法によって菌学的性状を調べ、Cowan and Steelの図式<sup>15)</sup>にしたがって属レベルまでの分類を行った。

#### 2.4.1 形態学的観察

供試菌株を標準寒天斜面培地で25℃、3~7日間培養した後、グラム染色性および形態を常法にしたがって観察した。

#### 2.4.2 生理学的試験

グルコースの発酵性はMOF培地<sup>16)</sup>を使用して、Hugh-Leifson法で観察した。そのほか、オキシダーゼ試験およびカタラーゼ試験を常法にしたがって調べた。

### 2.5 ガス組成の分析

フィルム包装内のCO<sub>2</sub>、O<sub>2</sub>およびN<sub>2</sub>のガス組成をガスクロマトグラフィーで分析した。島津GC-3BTを用い、1)カラム:WG-100(ガスクロ工業、パックドカラム)2m、2)キャリアガス:H<sub>2</sub>30ml/min、3)カラム温度:40℃、4)検出器:TCD(Current 140mV)の条件で測定し、各標準ガスの検量線から各組成比を算出した。

### 2.6 官能検査

筋肉部について、肉色および臭気について、5点法による官能評価を行った。すなわち、生食(刺身)程度に鮮度の優れているもの、5点;生食可能なもの、4点;食用可能な普通の品質のもの、3点;やや食用不可能なもの、2点;腐敗に達したもの、1点と評価した。なお、生試料と同等の鮮度(評点5点)または同じ試料魚の凍結貯蔵

品（評点4点）を基準にして、各貯蔵条件とも3試料について、5人のパネルで判定した平均値で表わした。

### 3 結果および考察

#### 3.1 ガス組成

マサバフィレートを種々のガス充填包装条件下で貯蔵した時のガス組成の変化を Table 1 に示す。

貯蔵開始時の CO<sub>2</sub> 包装では CO<sub>2</sub> が約45%CO<sub>2</sub> であり、N<sub>2</sub> 包装ではほぼ100%N<sub>2</sub> であった。含気包装および N<sub>2</sub> 包装では、貯蔵日数の増加と共に CO<sub>2</sub> が増加する傾向を示した。これはフィレートで増殖した細菌に起因するものと思

われる。いずれにしても6日間の貯蔵期間中では各処理とも大きなガス組成の変化は認められなかった。

#### 3.2 生菌数

マサバフィレートを含気包装、N<sub>2</sub> 包装および CO<sub>2</sub> 包装 (CO<sub>2</sub>:40%, N<sub>2</sub>:60%) し、5℃で貯蔵した場合の生菌数の変化を Table 2 に示した。

貯蔵開始時 8.0×10<sup>3</sup> CFU/cm<sup>2</sup> であった細菌数が、含気包装では、3日目に 1.2×10<sup>6</sup>、6日目に 3.5×10<sup>8</sup> となり初期腐敗域 (10<sup>6</sup> 以上) に達した。これに対して CO<sub>2</sub> 包装では、3日目に 1.7×10<sup>4</sup>、6日目に 2.2×10<sup>5</sup> と初期腐敗域には入らなかった。N<sub>2</sub> 包装では両者の中間の細菌数の推移を示した。このような CO<sub>2</sub> 包装での細菌数の変化の

Table 1. Variation of the gas composition\* of the head-space of retail packages containing common mackerel fillets during storage under different gas atmosphere

Gas atmosphere during storage	storage time (days)	Gases analysed		
		CO <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>	N <sub>2</sub>
Air	0	<0.1%	22.3%	77.6%
	3	1.3	21.4	77.3
	6	1.8	21.2	77.0
N <sub>2</sub>	0	<0.1	0	99.9
	3	0.8	0	99.2
	6	1.5	0	98.5
40%CO <sub>2</sub> + 60%N <sub>2</sub>	0	45.3	0	54.7
	3	44.1	0	55.9
	6	44.2	0	55.8

\* Each figure was a mean of two data of different samples.

Table 2. Total counts of aerobic bacteria (CFU/cm<sup>2</sup> skin) on common mackerel fillets stored at 5 °C under different gas atmosphere

Gas atmosphere during storage	Storage time (days)		
	0	3	6
Air	8.0×10 <sup>3</sup>	1.2×10 <sup>6</sup>	3.5×10 <sup>8</sup>
N <sub>2</sub>		2.2×10 <sup>5</sup>	1.1×10 <sup>7</sup>
40%CO <sub>2</sub> + 60%N <sub>2</sub>		1.7×10 <sup>4</sup>	1.9×10 <sup>5</sup>

傾向は、前報<sup>14)</sup>のマアジフィレーの生菌数の結果とも同様であり、マサバフィレーの場合にも CO<sub>2</sub> 包装貯蔵における静菌効果が確認された。

### 3.3 細菌相

各ガス充填包装貯蔵中におけるマサバフィレーの細菌相の変化について検討し、Table 3 に示す結果を得た。

貯蔵開始時の細菌相では *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Coryneforms*, *Vibrio-Aeromonas* や *Staphylococcus* 属が優占であった。このうち *Vibrio-Aeromonas* 群はいずれの処理でも貯蔵日数と共にその存在比が増加する傾向を示し、特に、N<sub>2</sub> 包装ではその傾向が鮮明であり、6日目にはその存在比が49%に達した。次に、魚類の腐敗細菌の代表とされている *Pseudomonas* 属では、貯蔵開始時2%以下であったものが各貯蔵条件とも2%以上に増加し、特に、腐敗の進行の速い含気包装では3日間、6日目共に30%となった。これらの傾向は前報<sup>14)</sup>のマアジフィレーの細菌相

の変化とはほぼ同様であった。

また、*Pseudomonas* 属の次に海産魚の代表細菌である *Alcaligenes* 属も貯蔵開始時に4.4%であったが各貯蔵条件とも増加し、CO<sub>2</sub> 包装での6日目を除けば、ほぼ20%前後の存在比となり、特に、含気包装6日目では26%に達した。これら *Alcaligenes* 属の存在比の高いことはマアジのそれと異なりマサバフィレーの細菌相の特徴の一つであった。

一方、貯蔵開始時に最も優占的であった *Moraxella* 属では貯蔵日数が増すにしたがってその存在比は減少する傾向を示した。このうち、CO<sub>2</sub> 包装での6日目には約14%が残存していた。この様な *Moraxella* 属の減少傾向は先のマアジフィレーの場合にも認められた。

全般的にみると前報<sup>14)</sup>のマアジフィレーで出現した含気包装や N<sub>2</sub> 包装貯蔵における細菌相の単純化の傾向や、CO<sub>2</sub> 包装貯蔵にみられる細菌相の多様性が維持される傾向は今回のマサバフィレーにおいても同様であった。

Table 3. Microbial flora of the common mackerel fillets during storage under different gas atmosphere at 5 °C

Microorganism	Storage conditions						
	Day0	Air		N <sub>2</sub>		40% CO <sub>2</sub> + 60% N <sub>2</sub>	
		Day3	Day6	Day3	Day6	Day3	Day6
<i>Vibrio-Aeromonas</i>	6.9*	18.5	22.7	25.0	49.0	18.9	23.8
<i>Pseudomonas</i>	-	31.0	30.6	2.1	6.1	13.8	4.8
<i>Alcaligenes</i>	4.4	16.3	26.2	16.6	16.6	25.8	4.8
<i>Moraxella</i>	44.4	26.1	7.6	6.2	-	3.4	14.3
<i>Flavobacterium</i>	-	1.6	1.9	-	-	1.7	4.8
<i>Acinetobacter</i>	15.5	-	-	22.9	2.0	13.8	-
<i>Enterobacteriaceae</i>	-	-	-	6.2	8.3	6.9	26.2
<i>Bacillus</i>	4.4	4.9	5.6	6.2	4.1	6.9	7.1
<i>Coryneforms</i>	13.3	-	1.9	10.8	4.1	5.2	2.4
<i>Staphylococcus</i>	6.7	-	-	-	-	-	4.8
<i>Micrococcus</i>	4.4	-	-	-	-	-	-
<i>Streptococcus</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Lactobacillus</i>	-	-	-	-	-	-	2.4
Unidentified	-	1.6	3.8	4.1	9.8	3.6	4.7
Number of isolates tested	45	61	53	48	49	58	42

\* % total tested.

さらに、*Lactobacillus* 属などの乳酸菌群は今回のマサバフィレートでは CO<sub>2</sub> 包装での 6 日目に 1 株出現しただけであったが、マアジフィレートでは CO<sub>2</sub> 包装での 6 日目に 7.1% の存在比を示した<sup>14)</sup>。また、藤井ら<sup>12)</sup>もマイワシの 10 日目貯蔵の細菌相から *Lactobacillus* や *Streptococcus* 属が優占的に出現すると報告している。これらのことから、魚類の CO<sub>2</sub> 充填包装貯蔵の際にも一般の食肉の場合と同様に乳酸菌群が増殖し易い環境が得られるものと考えられる。今回のマサバフィレートの実験で乳酸菌が出現しなかった理由として、魚体表皮に付着する細菌群には本来この種の細菌群が少ない、あるいは、5℃ 6 日間という貯蔵条件では乳酸菌の出現に短期間過ぎたなどが考えられる。また、この種の細菌群の栄養要求が厳しいために今回の分離培養培地には出現しなかった可能性も否定できない。今後これらの点を追究したい。

### 3.4 官能検査

各ガス充填包装貯蔵中のマサバフィレートの官能検査の結果を Table 4 に示した。

マサバフィレートを種々のガス条件下で貯蔵した時の肉色および臭気の変化は、細菌数の増加より速く劣化する傾向を示した。肉色は CO<sub>2</sub> 包装の 3 日目以外ではすべて 3 点以下に低下した。これらは筋肉のメト化の進行が肉色変化をもたらしたものと考えられる。このような傾向はガス充填包装貯蔵における藤井ら<sup>11)</sup>のマイワシの研究や上岡ら<sup>9)</sup>のカツオフィレートの肉色保持の研究結果からも推測される。臭気の変化は肉色の変化ほどでは無いものの、含気

包装の 3 日目および 6 日目、N<sub>2</sub> 包装の 6 日目共に 3 点以下に低下した。いずれにしても CO<sub>2</sub> 包装では肉色や臭気の低下に対しても抑止効果のあることが認められた。

## 4 要約

ガス充填包装貯蔵におけるマサバフィレートの細菌相の変遷について検討し、以下の結果を得た。

魚類の典型的な腐敗細菌である *Pseudomonas* 属および *Alcaligenes* 属はいずれのガス充填包装でも貯蔵日数の経過と共に増加する傾向が認められた。中でも含気包装貯蔵では優占な属として、貯蔵 6 日目には両者でその存在比が 1/2 以上に達した。

*Vibrio-Aeromonas* 群などの発酵型の細菌は貯蔵開始時には比較的少ないものの、各貯蔵法とも貯蔵日数の経過と共に増加する傾向がみられ、とくに N<sub>2</sub> 包装の 6 日目には *Vibrio-Aeromonas* 群が約半数を占めた。

CO<sub>2</sub> 充填包装貯蔵では *Enterobacteriaceae* などの発酵型の細菌の存在比も増加していたが、貯蔵開始時にも最も優占的である *Moraxella* 属がより多く残存しており、貯蔵開始時における細菌相の多様性は維持されていた。これらのマサバフィレートの細菌相の変遷はマアジフィレートの場合とはほぼ類似の経緯を示した。

また、官能検査の結果をみると、マサバフィレートの含気包装貯蔵中の肉色の低下は顕著であったが、これを CO<sub>2</sub> 充填包装貯蔵した場合には肉色の低下が抑制された。

Table 4. Variations of the sensory scores\* of muscle color and odor of common mackerel fillets during storage under different gas atmosphere at 5℃

Sensory attributes	Gas atmosphere during storage	Storage time (days)		
		0	3	6
Muscle color	Air	5.0	1.9	1.3
	N <sub>2</sub>	5.0	2.7	2.7
	40%CO <sub>2</sub> + 60%N <sub>2</sub>	5.0	3.6	2.8
Odor	Air	5.0	1.9	1.5
	N <sub>2</sub>	5.0	3.4	2.9
	40%CO <sub>2</sub> + 60%N <sub>2</sub>	5.0	3.4	3.1

\* Sensory test was carried out on 5-point score evaluation (n=s×p=3×5=15).  
5 = same as reference, 4 = less fresh when compared with reference,  
3 = endurable for eating, 2 = putrid, 1 = intensely putrid.

終わりに、本研究のガス分析に対して、有益な御教示を賜った元水産大学校教授 上田 正先生に深く感謝する。

また、本研究のガス充填包装装置の供与等に対して、ご援助いただいた昭和炭酸株式会社に感謝の意を表す。

さらに、本研究に協力された田嶋繁人・山口雅之ほか、本研究室学生諸君に謝意を述べる。

## 文 献

- 1) K. L. Parkin, G. Finne and M. O. Brown: *J. Food Sci.*, **47**, 181-184 (1981).
- 2) M. Lannelongue, G. Finne, M. O. Hanna, R. Nickelson and G. Vanderzant: *J. Food Sci.*, **47**, 911-913 (1982).
- 3) G. Molin, Inga-Maj Stenström, and A. Ternström: *J. Appl. Bact.*, **55**, 49-56 (1983).
- 4) M. Y. Wang and W. D. Brown: *J. Food Sci.*, **48**, 158-162 (1985).
- 5) C. Villemure, R. E. Simard, and G. Picard: *J. Food Sci.*, **51**, 317-320 (1986).
- 6) 石川宣次・中村邦典・藤井建夫：東海水研報, No. 110, 59-68 (1983).
- 7) 中村邦典・石川宣次・藤井建夫：東海水研報, No. 115, 39-45 (1985).
- 8) 上岡康達・西川清文・岡 弘康・満田春馬・酒井博行・山本賢治：愛媛工試報告, No.17, 35-42 (1979).
- 9) 上岡康達・金子洋子：愛媛工試報告, No. 20, 48-56 (1982).
- 10) 上岡康達：冷凍, **58**, 957-965 (1983).
- 11) 藤井建夫・平山昌広・奥積昌世・安田松夫・西野甫・横山理雄：日水誌, **55**, 1971-1975 (1989).
- 12) Tateo Fujii, Masahiro Hirayama, Masayo Okuzumi, Matsuo Yasuda, Hajime Nishino, and Michio Yokoyama: *Nippon Suisan Gakkaishi*, **56**, 837 (1990).
- 13) 木村 凡・村上正忠・藤沢浩明：水産大研報, **37**, 129-136 (1989).
- 14) Bon Kimura, Masatada Murakami, and Hiroaki Fujisawa: *Nippon Suisan Gakkaishi*, **57**, 573 (1991).
- 15) S. T. Cowan and K. J. Steel: *Manual for the Identification of Medical Bacteria*, Cambridge University Press, London, 1966.
- 16) E. Leifson: *J. Bact.*, **76**, 1183-1184 (1963).