

イカ塩辛の微生物学的及び化学的品質に及ぼす 保存温度の影響

宮崎 俊一, 大坪 雅史, 吉岡 武也

Influence of Preservative Temperature on Microbiological and Chemical Quality of Squid Shiokara

Syun-ichi Miyazaki, Masashi Ootsubo
and Takeya Yoshioka

要 旨

イカ塩辛の真空包装品を 37℃, 30℃, 20℃, 10℃の温度で保存し, 微生物学的品質として一般細菌数, グラム陽性菌数, グラム陰性菌数, 酵母数を, 化学的品質として, pHと揮発性塩基窒素(VB-N)の経日変化を測定した。37℃, 30℃, 20℃の温度で保存すると, 日数が経過するにつれて細菌数が増加して品質も低下した。ただ, 酵母については37℃, 30℃の保存温度では減少したが, 20℃の保存温度では増加した。10℃の保存温度では細菌数, 酵母数の増加と品質の低下は相関しなかった。さらに, 37℃で保存日数が経過すると, イカ塩辛の微生物相は *Staphylococcus* 属が優勢になると思われた。

1. 緒 言

最近の消費者の健康志向から, 食品製造業者は食品開発の際, 製品の低塩分や低糖度などが要求されており, その結果, 製品の日持ちが悪くなりクレームが発生しやすい状況におかれている。

さらに加熱できない惣菜タイプの食品の開発も盛んで, 市場にかなり流通しているが, 加熱できないため, どうしても日持ちが悪くなる傾向がある。

函館地域の特産品であるイカ塩辛も例外ではなく, 最近, とみに低塩分化が進み, 非加熱食品でしかも消費地である首都圏から遠く流通に時間がかかるという不利な面を抱えている。このようなことから, PL法の施行や賞味期限表示義務化が行なわれている状況の中で, 製造業では, イカ塩辛のより安定した品質保持技術の研究が重要視されている。

そこで, 本研究では, イカ塩辛の保存中における変敗の様子と原因となる微生物を検討したので,

結果を報告する。

2. 実験方法

2.1 イカ塩辛の保存試験

函館市内の製造業者より提供を受けたイカ塩辛を20g前後に小分けし, 小型真空包装器(榊古川製作所製 FVC II型)により真空包装した。

真空包装品を37℃, 30℃, 20℃, 10℃の温度で保存し, 微生物数と品質の経日変化を測定した。

2.2 微生物の分析

一般細菌数: NaClを3%添加した標準寒天培地を使用し, 30℃で2日間培養後のコロニー数を計測。

グラム陽性菌数: NaClを3%, フェニルエタノールを0.25%添加した標準寒天培地を使用し, 30℃で2日間培養後のコロニー数を計測。

グラム陰性菌数: NaClを3%添加したCVT寒天

培地を使用し、30°Cで2日間培養後のコロニー数を計測。

酵母数：NaClを3%，クロラムフェニコールを0.01%添加したポテトデキストロース寒天培地を使用し、25°Cで5日間培養後のコロニー数を計測。

2.3 品質評価

pH：試料の10倍希釈液をpHメーター（株式会社堀場製作所製F-14型）で測定。

揮発性塩基窒素：CONWAY微量拡散法¹⁾で測定。

袋の膨れ：目視により観察。

2.4 イカ塩辛からの微生物の分離と同定

37°Cで6日間保存試験を行いグラム陽性菌数を測定した平板から22個のコロニーを釣菌し、グルコース・ブイヨン培地で30°C、24時間液体培養を行なった。分離した22株について、属レベルでの同定試験は次のように行なった。

グラム染色：HUCKER変法²⁾により行なった。

形態：培養液をグラム染色後、顕微鏡観察を行なった。

運動性：培養液を懸滴法²⁾で観察した。

カタラーゼ活性³⁾：3%過酸化水素水による発泡観察を行なった。

OFテスト⁴⁾：ペプトン0.2%，NaCl0.5%，K₂HPO₄0.03%の他にブロムチモールブルー（BTB）を0.008%含む培地を調整後、2本の試験管培地に菌を接種し、1本はそのまま、他の1本は滅菌した流動パラフィンでシールして30°C、2日間培養した。培養液の色調がシールしない場合に変化したものを酸化、シールした場合に変化したものを発酵と判定した。

3. 結果及び考察

3.1 イカ塩辛の37°C、30°C、20°C、10°Cにおける保存試験の結果

(1) 37°Cにおける保存試験の結果

使用したイカ塩辛の微生物数と品質を表1に示した。微生物学的品質は一般細菌で10⁴のオーダーで、グラム陰性菌と酵母も検出された。また、塩分は6.7%，pHは6.10であった。

表1 イカ塩辛の品質

一般細菌数 (個/g)	4.4 × 10 ⁴
グラム陽性菌数 (個/g)	5.5 × 10 ³
グラム陰性菌数 (個/g)	2.0 × 10 ²
酵母数 (個/g)	3.0 × 10
塩分 (%)	6.7
pH	6.10
揮発性塩基窒素 (mg/100g)	12.9
水分活性	0.908

イカ塩辛を37°Cで保存すると、一般細菌は2日後に10⁶のオーダーまで増加し、グラム陽性菌も6日後には10⁶のオーダーまで増加するが、グラム陰性菌と酵母は減少するということが明らかになった。(図1)

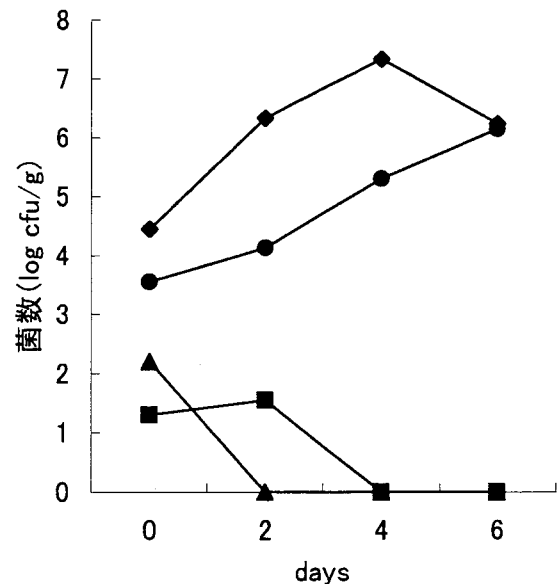


図1 37°Cにおける微生物数の変化

◆ 一般細菌数 ● グラム陽性菌数
▲ グラム陰性菌数 ■ 酵母数

一方、pHは4日後には5.02、6日後には4.94まで低下し、揮発性塩基窒素は6日後には92.1まで上昇し、袋の膨れも観察された。(表2)

表2 イカ塩辛の37°Cにおける品質変化

	初発	2日後	4日後	6日後
pH	6.10	6.10	5.02	4.94
揮発性塩基窒素 (mg/100g)	12.9	38.4	61.0	92.1
膨れ	-	-	-	+

以上の結果から、イカ塩辛を37℃で保存した場合、pHが4日後には5.02まで低下することから、4日後には不可食状態になった。

(2) 30℃における保存試験の結果

イカ塩辛を30℃で保存すると、一般細菌は4日後に10⁷のオーダーまで増加し、グラム陽性菌も6日後には10⁶のオーダーまで増加するが、グラム陰性菌と酵母は37℃の場合と同様に減少することが明らかになった。(図2)

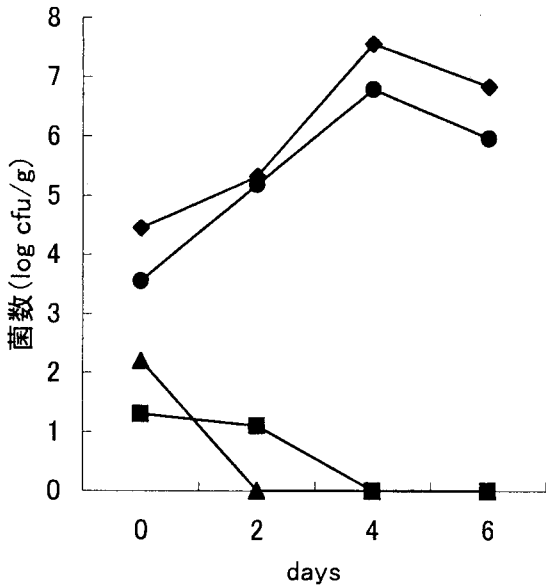


図2 30℃における微生物数の変化

◆ 一般細菌数 ● グラム陽性菌数
▲ グラム陰性菌数 ■ 酵母数

一方、pHは4日後には5.26、6日後には4.94まで低下し、揮発性塩基窒素は6日後には102.8まで上昇し、袋の膨れも観察された。(表3)

表3 イカ塩辛の30℃における品質変化

	初発	2日後	4日後	6日後
pH	6.10	6.09	5.26	4.94
揮発性塩基窒素 (mg/100g)	12.9	32.5	82.8	102.8
膨れ	-	-	-	+

以上の結果から、イカ塩辛を30℃で保存した場合、pHが4日後には5.26まで低下することから、4日後には不可食状態になった。

(3) 20℃における保存試験の結果

イカ塩辛を20℃で保存すると、一般細菌は10日後に10⁸のオーダーまで増加し、グラム陽性菌も

10日後には10⁷のオーダーまで増加するが、グラム陰性菌は37℃、30℃の場合と同様に減少した。しかし酵母は、10日後には10³のオーダーまで増加し、37℃、30℃の場合とは違う傾向を示した。(図3)

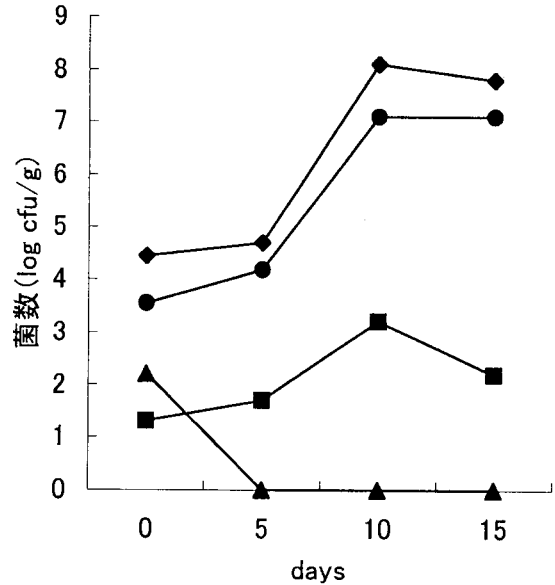


図3 20℃における微生物数の変化

◆ 一般細菌数 ● グラム陽性菌数
▲ グラム陰性菌数 ■ 酵母数

一方、pHは10日後には5.50、15日後には4.92まで低下し、揮発性塩基窒素は10日後には85.0まで上昇し、15日後には袋の膨れも観察された。(表4)

表4 イカ塩辛の20℃における品質変化

	初発	5日後	10日後	15日後
pH	6.10	6.11	5.50	4.92
揮発性塩基窒素 (mg/100g)	12.9	31.0	85.0	103.2
膨れ	-	-	-	+

以上の結果から、イカ塩辛を20℃で保存した場合、pHが10日後には5.50まで低下することから、10日後には不可食状態になった。

(4) 10℃における保存試験の結果

イカ塩辛を10℃で保存すると、一般細菌は20日後には10⁵のオーダー、30日後には10⁶のオーダーまで増加し、グラム陽性菌も20日後には10⁵のオーダーまで増加するが、37℃、30℃、20℃の場合と比較すると菌数は少ない。又、グラム陰性菌が減

少して酵母が増加するというのは20℃の場合と同じ傾向である。(図4)

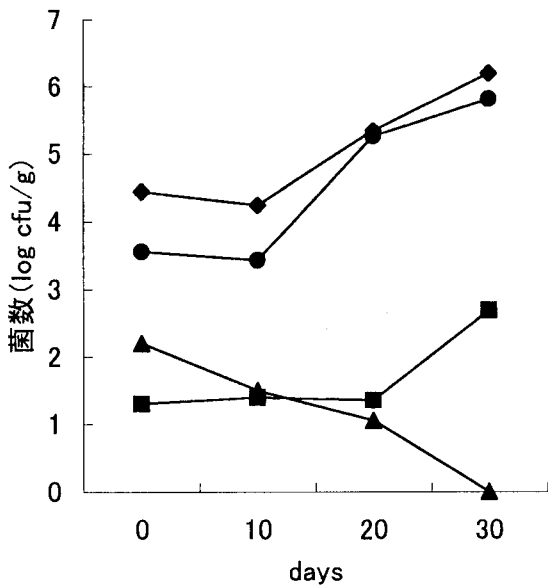


図4 10℃における微生物数の変化

◆ 一般細菌数 ● グラム陽性菌数
▲ グラム陰性菌数 ■ 酵母数

一方、pH、揮発性塩基窒素ともに30日を経過しても初発の値と変わらず、袋の膨れも観察されないことから、30日後でも可食状態であった。(表5)

表5 イカ塩辛の10℃における品質変化

	初発	10日後	20日後	30日後
pH	6.10	6.16	6.16	6.15
揮発性塩基窒素 (mg/100g)	12.9	29.0	26.3	26.5
膨れ	—	—	—	—

以上の結果から、イカ塩辛を10℃で保存した場合、細菌数は増加するものの、品質の低下は認められなかった。

イカ塩辛の微生物の動態は、保存温度、すなわち37℃、30℃と20℃、10℃では少し異なる傾向を示した。一方、微生物数と品質の関係では、37℃、30℃、20℃では微生物数が増加すると品質も低下するが、10℃では異なり、微生物数の増加と品質の低下は相関していない。これは、10℃では微生物は増殖するものの、代謝活動が抑制されているのではないかと考えられる。

3.2 イカ塩辛からの微生物の分離と同定

37℃で6日間保存したイカ塩辛のグラム陽性菌数を測定した平板から22株を分離し、分離株の性質を検討した。

分離株22株はすべてグラム陽性球菌、非運動性でカタラーゼ活性は陽性であった。さらにOFテストの結果、グルコースを嫌氣的に分解できることから、分離株22株は *Staphylococcus* 属であると推定された。(表6)(表7)

表6 グラム陽性菌分離株の性質

No	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
形態	球	球	球	球	球	球	球	球	球	球	球
運動性	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
グラム染色	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
カタラーゼ活性	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
O.Fテスト											
酸化	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
発酵	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

表7 グラム陽性菌分離株の性質

No	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
形態	球	球	球	球	球	球	球	球	球	球	球
運動性	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
グラム染色	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
カタラーゼ活性	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
O.Fテスト											
酸化	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
発酵	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

熟成中のイカ塩辛では *Micrococcus* 属や *Staphylococcus* 属の細菌が優勢になるという報告⁵⁾があるが、イカ塩辛の真空包装品を37℃で保存して日数が経過すると、イカ塩辛の微生物相は *Staphylococcus* 属が優勢になると思われる。したがって37℃でイカ塩辛の pH が低下するのは *Staphylococcus* 属が関与しているのではないかと考えられる。30℃でもグラム陽性菌が増加して、グラム陰性菌が減少することから、同じように、*Staphylococcus* 属が優勢になっており、20℃では、グラム陰性菌が減少し、酵母が増加することから、*Staphylococcus* 属と酵母が優勢になると考えられる。

以上の結果から、37℃、30℃でイカ塩辛を保存した場合の品質の低下は *Staphylococcus* 属が、

20℃の場合は *Staphylococcus* 属と酵母が関与しているのではないかと推定される。

4. ま と め

イカ塩辛の真空包装品を37℃, 30℃, 20℃, 10℃の温度で保存試験を行なった結果, 以下の知見を得た。

- (1) イカ塩辛を37℃で保存すると、一般細菌やグラム陽性菌は増加するが、グラム陰性菌と酵母は減少した。pHは6日後には4.94まで低下し、揮発性塩基窒素は上昇し、6日後に袋の膨れも観察された。30℃で保存した場合も、同じ傾向であった。
- (2) イカ塩辛を20℃で保存すると、一般細菌やグラム陽性菌は増加するが、グラム陰性菌は減少したが、酵母は37℃, 30℃の場合と異なり増加の傾向を示した。pHは15日後には4.92まで低下し、揮発性塩基窒素は上昇し、15日後に袋の膨れも観察された。
- (3) イカ塩辛を10℃で保存すると、一般細菌やグラム陽性菌、酵母は増加したが、グラム陰性菌は

減少した。一方、pHや揮発性塩基窒素は30日後でも変化は見られず、袋の膨れも観察されなかった。

- (4) 37℃で6日間保存したイカ塩辛のグラム陽性菌数を測定した平板から22株を分離して属レベルでの同定試験を行なった結果、分離株はすべて *Staphylococcus* 属であると推定された。37℃で保存日数が経過するとイカ塩辛の微生物相は *Staphylococcus* 属が優勢になると思われた。

5. 参 考 文 献

- 1) 日本薬学会編：衛生試験法・注解（金原出版），（1990），P284
- 2) 長谷川武治編：微生物の分離と同定（下）第2版（学会出版センター），（1985），P106
- 3) 長谷川武治編：微生物の分離と同定（下）第2版（学会出版センター），（1985），P284
- 4) 長谷川武治編：微生物の分離と同定（下）第2版（学会出版センター），（1985），P150
- 5) 藤井建夫：New Food Industry vol.29, No.11 (1987), P19~23