

オゾンガスによる生鮮魚介類の殺菌

西村（館山）朋子、吉岡武也、尾崎誠*、千田透*、奥山純一**

Disinfectant Effect of Ozone Gas to Fish and Shellfish

Tomoko (Tateyama) Nishimura, Takeya Yoshioka, Makoto Ozaki*, Toru Chida*
and Junichi Okuyama**

要 旨

生鮮魚介類をオゾンガスで曝露した際の体表の殺菌効果を検討した。生鮮魚介類5種をオゾン濃度5.0g/Nm³で6時間曝露した後の一般細菌数と海洋細菌数は、いずれの魚種においても1/10から1/500に減少した。また、オゾン曝露を行った鮮魚試料を冷蔵保存したところ、未処理のものに比べ細菌数の増加が抑制された。これらの結果より、オゾンは生鮮魚介類の殺菌のみならず、曝露後に保存した際の細菌の増殖抑制にも有効であると考えられた。

生鮮魚介類の微生物制御技術は、これまでに様々な方法が検討されてきた。低温保持と衛生管理が重要であることは言うまでもなく、日持ちを向上させるための様々な研究が重ねられている。衛生管理は、①微生物を付着させない、②微生物を増やさない、③微生物を殺す、の3原則が肝要である。これまでの生鮮魚介類の微生物制御は、①や②の保存や流通に使用される器具や容器などの洗浄殺菌、および魚介類の低温保存に主眼を置いた技術がほとんどで、③の殺菌については十分に検討されていなかった。しかしながら、生鮮魚介類は加工品ではないため、食品工場で原料に用いられる殺菌剤等の薬剤の使用や残留に関する制約は多い。そこで近年、食品衛生分野で、薬剤の残留がない、耐性菌ができない等の理由で用途が拡大しているオゾンに着目し、生鮮魚介類に対するオゾンガスの殺菌効果について基礎的な知見を得ることを目的として試験を行った。

本研究では、生鮮魚介類へのオゾンの殺菌効果について、5つの魚種を用いて検討した。試験に用いたのはホッケ *Pleurogrammus azonus*、マアジ *Trachurus japonicus*、ソウハチ *Hippoglossoides pinetorum*、チカ *Hypomesus japonicus*、およびスルメイカ *Todarodes pacificus* で、近海産の未凍結の生鮮魚を鮮魚店より購入し、洗浄等の処理は行わずにそのまま試験に用いた。

オゾン曝露装置は自作したものをを用いた（図1）。曝露容器として用いた容量21 Lのガラス製

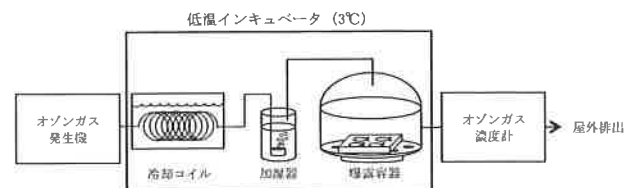


図1 オゾンガス曝露装置の概要

*IHI プラント建設（株）

**（株）IHI

デシケーターに、試験魚を体表が上となり、重ならないよう6個体を並べた。試験魚はオゾン曝露に用いた容器に収納できるよう、必要に応じて魚体の一部を皮付きのまま切り出して使用した。曝露容器に蓋をした後に、オゾンガス発生機（アイスマン（株）、PZ-1B）を用い、 $5.0\text{g}/\text{Nm}^3$ 、 $0.625\text{L}/\text{min}$ でオゾンを発生させた。発生後のオゾンガスは 3°C の水に浸漬した内径4mm、長さ7.5mのPFA製コイルチューブを通過することにより冷却し、容量250mlのガラス製ガス洗浄瓶内で蒸留水に通気して加湿した後、曝露容器へ6時間連続で供給した。曝露容器から排出されたオゾン濃度をオゾンガス濃度計（荏原実業（株）、オゾンモニタ2001G）で測定した。オゾン処理は試験魚種毎に個別に実施した。

試験魚の体表に付着している一般細菌数と海洋細菌数を測定した。菌数の測定は次の方法で行った。オゾン処理前後に一定面積（8から 10cm^2 ）の体表をうろこの上から粘液ごと滅菌綿棒で拭き取った。その後、拭き取り試料を滅菌2% NaCl加リン酸緩衝液（pH7.2）10 mlに懸濁し、試料液とした。一般細菌、および海洋細菌の培養を目的に、0.1mlの試料液を標準寒天培地「ニッスイ」（日水製薬（株））、Difco™ Marine Agar 2216（Becton, Dickinson Co.）をそれぞれ平板培地としたものに表面塗抹した。一般細菌数は 35°C で48時間、海洋細菌数は 20°C で72時間好気培養し、出現したコロニーをカウントして、単位面積当たりの生菌数として算出した。

オゾン処理前後の生菌数の測定結果を図2に示した。図中の生菌数はいずれも6個体の平均値である。オゾン処理前の一般細菌数は $6.1 \times 10^2\text{cfu}/\text{cm}^2$ から $1.6 \times 10^3\text{cfu}/\text{cm}^2$ の範囲であった。一方、オゾン処理後は $4.0 \times 10^1\text{cfu}/\text{cm}^2$ から 1.5

$\times 10^2\text{cfu}/\text{cm}^2$ となり、すべての魚種で1/10から1/50に減少した。海洋細菌数も、オゾン処理前は $1.4 \times 10^4\text{cfu}/\text{cm}^2$ から $1.4 \times 10^6\text{cfu}/\text{cm}^2$ であったものが処理後に $3.1 \times 10^1\text{cfu}/\text{cm}^2$ から $8.3 \times 10^4\text{cfu}/\text{cm}^2$ と、1/10から1/500に減少した。このようにオゾン処理することで一般細菌数も海洋細菌数も著しく減少しており、オゾンは生鮮魚介類の体表に対して殺菌効果を有することが確認された。

オゾン処理の際に通気したオゾン濃度は $5.0\text{g}/\text{Nm}^3$ と一定であったにもかかわらず、オゾン曝露容器から排出されたオゾン濃度は、ホッケ $4.2\text{g}/\text{Nm}^3$ 、マアジ $4.6\text{g}/\text{Nm}^3$ 、ソウハチ $3.8\text{g}/\text{Nm}^3$ 、チカ $4.6\text{g}/\text{Nm}^3$ 、スルメイカ $3.8\text{g}/\text{Nm}^3$ と、いずれも減少していた。オゾンの減少割合には魚種による差があり、ソウハチとスルメイカは低い値であった。その理由として、ソウハチとスルメイカは体表にネトと呼ばれる粘液の多い魚種であり、オゾンは有機物と接触することで瞬時に分解することが知られていることから、オゾンとネトが接触したことでオゾンが分解したためと考えられた¹⁾。オゾン濃度の減少度合いとオゾン処理後の生菌数に関連は見られなかった。

次にオゾン処理を行った鮮魚試料を冷蔵で保存した際の生菌数と品質の変化を検討した。鮮魚店にて生鮮ホッケを購入し、背部を皮付きのまま切り出して試料とした。試験区として前記と同様の条件でオゾン処理を行い、処理後に清浄な蓋付き容器に試料を入れ、 5°C で2日間保存した。対照区としてオゾン非処理試料も 5°C で2日間保存した。保存前後に体表の生菌数測定を行った。

試料保存前後の生菌数測定結果を6個体の平均値として図3に示した。保存前の一般細菌数は対照区で $5.6 \times 10^2\text{cfu}/\text{cm}^2$ であった。オゾン処理

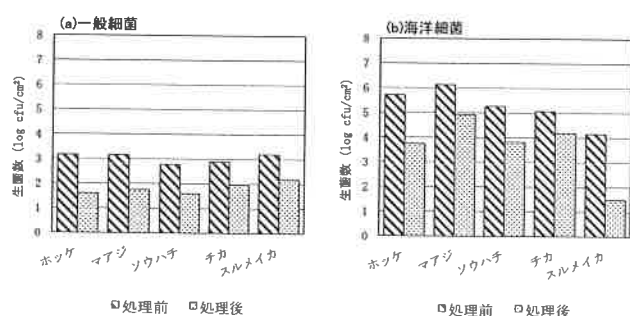


図2 オゾン処理前後の生菌数

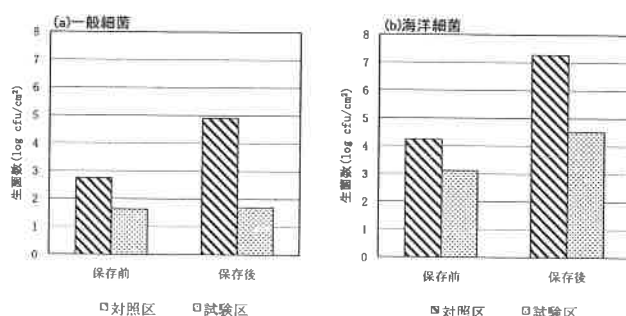


図3 オゾン処理・保存前後の生菌数（ホッケ）

を行った試験区の一般細菌数は 4.3×10^1 cfu/cm²であり、前記と同様にオゾン処理により生菌数は1/10に減少した。保存後の結果をみると、対照区の一般細菌数は 8.0×10^4 cfu/cm²で、保存前の約150倍となったのに対し、試験区では 5.0×10^1 cfu/cm²と、保存前と同等であった。海洋細菌数では保存前の対照区で 1.7×10^4 cfu/cm²であったものが、試験区は 1.3×10^3 cfu/cm²であり、オゾン処理により1/10に減少した。保存後は、対照区の海洋細菌数が 1.9×10^7 cfu/cm²と約1,000倍に増加したのに対し、試験区では 3.2×10^4 cfu/cm²と、増加は約25倍にとどまった。以上の結果より、オゾン処理を行った鮮魚を冷蔵保存すると、オゾン処理を行わないものと比べて細菌の増殖が抑制されることが明らかとなった。

その理由として、オゾン曝露を行った際のオゾンが体表に残存し、その後の保存中に殺菌効果が持続したことも考えられるが、オゾンは有機物に接触すると瞬時に分解するため、体表にオゾンが残存するとは考えにくい¹⁾。おそらく、オゾン処理で生残した細菌の増殖能が低下していた、および、オゾン処理により体表が細菌の増殖しにくい環境になった、などが原因と予想されるものの詳細は明らかではない。

オゾンの殺菌効果は、その強力な酸化力によるものと考えられるが、一方で、味などの品質劣化も懸念される。そこで、オゾン処理を行った試料の食品としての品質を評価した。上記で用いた試料を用い、水産物の呈味成分として重要なグルタミン酸などの遊離アミノ酸と、IMP（イノシン酸）などのATP（アデノシン三リン酸）関連化合物を分析した。魚肉中の遊離アミノ酸量の測定は、AccQ・Tag Ultra 誘導体化キットとAcquity™ UPLC システム（いずれも日本ウォーターズ(株)）を用いた。ATP 関連化合物の測定は定法により行った²⁾。

遊離アミノ酸の分析結果を表1に示した。保存前では、オゾン処理を行わない対照区の遊離アミノ酸総量は367.8mg/100g 試料であったのに対し、オゾン処理を行った試験区は353.3mg/100g 試料で、オゾン処理による遊離アミノ酸総量の変化は認められなかった。グルタミン酸についてもオゾン処理による変化は認められなかった。更に、5℃で2日間保存後の試料についても対照区と試験区

表1 遊離アミノ酸へのオゾン処理の影響

遊離アミノ酸 (mg/100g)	保存前		保存後	
	対照区	試験区	対照区	試験区
アラニン	41.6	41.5	43.7	45.4
アルギニン	7.2	6.3	5.9	6.1
アスパラギン酸	0.4	1.7	0.6	1.0
シスチン	0.0	0.0	0.0	0.0
グルタミン酸	9.8	9.2	11.4	12.1
グリシン	18.7	18.6	18.3	18.7
ヒスチジン	82.5	77.9	82.6	77.6
イソロイシン	1.0	1.2	1.4	1.4
ロイシン	2.6	2.6	2.7	2.8
リジン	46.0	48.9	50.4	49.0
メチオニン	2.9	3.3	3.4	3.7
フェニルアラニン	0.6	0.8	0.9	1.0
プロリン	9.3	8.0	8.8	8.5
セリン	8.3	8.5	8.4	8.6
タウリン	117.0	104.5	130.3	113.4
トレオニン	15.5	15.8	16.0	15.6
トリプトファン	1.5	1.6	1.8	1.9
バリン	2.8	3.0	2.9	3.0
Total	367.8	353.3	389.4	369.8

に差は認められなかった。

ATP 関連化合物の分析結果を表2に示した。保存前では、IMP 含量は対照区で $9.6 \mu\text{mol/g}$ 試料、試験区で $9.8 \mu\text{mol/g}$ 試料であり、オゾン処理による差は認められなかった。IMP は生体のエネルギー成分である ATP が死後、分解する過程で生成し蓄積されるが、一定時間後に蓄積が最大に達した後に、再び減少する。今回の試験では5℃、2日間の保存により対照区、試験区のいずれも IMP 含量は減少していたが、低下の程度は同等であった。この結果より、オゾン処理による呈味の差はなく、保存による変化も同様に進行することが明らかとなった。

K 値は ATP 関連化合物の組成割合を示したので、生鮮魚介類の化学的鮮度指標として広く用いられている³⁾。表2を見ると、保存前の時点で、対照区の K 値は26.3%、試験区では27.0%と同じレベルであった。5℃、2日間の保存により、対照区および試験区ともに同様な増加を示してお

表2 ATP 関連化合物へのオゾン処理の影響

ATP関連化合物 ($\mu\text{mol/g}$)	保存前		保存後	
	対照区	試験区	対照区	試験区
ATP	0.0	0.0	0.0	0.0
ADP	0.6	0.7	0.7	0.7
AMP	0.0	0.0	0.0	0.0
IMP	9.6	9.8	6.3	7.0
HxR	3.3	3.5	4.9	4.7
Hx	0.4	0.4	0.8	0.8
Total	13.9	14.5	12.7	13.2
K値(%)	26.3	27.0	44.7	41.6

$$K\text{値}(\%) = (\text{HxR} + \text{Hx}) / (\text{ATP} + \text{ADP} + \text{AMP} + \text{IMP} + \text{HxR} + \text{Hx}) \times 100$$

り、オゾン処理の有無にかかわらず K 値は同程度に推移した。

外観は試験区の体表がややくすんだ程度で、対照区と試験区の差はほとんどなかった。オゾンの酸化作用により、脂質の劣化が懸念されたものの、試料を電気式ロースターで加熱し、焼き魚にして試食した結果、酸化臭や味の差異は感じられなかった。このことから、本研究の試験条件で魚体にオゾン処理を行なっても見た目や味といった食品としての品質要素には影響しないことが明らかとなった。

結論として、オゾン濃度 $5.0\text{g}/\text{Nm}^3$ 、6 時間の曝露処理は、生鮮魚介類の見た目、匂い、味などの食品の品質要素には影響せずに、体表の細菌数を $1/10$ から $1/500$ に効果的に減少させたことから、オゾンガス処理は生鮮魚介類の品質を保持したまま殺菌する技術として産業的に有効であると判断された。更に、あらかじめオゾン処理を行った鮮魚を冷蔵保存すると、保存中の細菌の増殖が抑制された。そのメカニズムは明らかではないが、これらの結果は従来技術では困難であった流通保存時における生鮮魚介類の細菌増殖抑制法としてのオゾンガス処理の有効性を示唆するものであり、生鮮魚介類の安心、安全の確保を目的に、実用化に向けたさらなる研究が必要と判断された。なお、オゾンは酸素の同素体であるが、酸素は魚介類の活きの保持に有効であることがホタテガイやウニなどで報告されており、生鮮魚介類への応用については、この観点からの研究も必要と思われた^{4, 5)}。

引用文献

- 1) 杉光英俊: オゾンの基礎と応用 (光琳), (1996), P193 ~ 212
- 2) 吉岡武也, 木下康宣: 北海道立工業技術センター研究報告, 10 巻, (2008), P11 ~ 17
- 3) 吉岡武也: 最新水産ハンドブック (講談社), (2012), P395 ~ 402
- 4) 木村稔, 成田正直, 今村琢磨, 潮秀樹, 山中英明: 日本水産学会誌, 66 巻, (2000), P475 ~ 480
- 5) 木下康宣, 吉岡武也, 宮崎俊一, 加藤早苗, 今野久仁彦: 日本水産学会誌, 72 巻, (2009), P237 ~ 243