

## (7) 食品の微生物制御に関する研究開発

(平成 23 年度～平成 25 年度)

### 1. 研究のねらい

コンビニエンスストアやスーパーマーケット等で、非加熱食品やソフト化された半乾燥食品を含む弁当・惣菜等、ready-to-eat 食品の供給が増えてきている。ready-to-eat 食品は、微生物による問題を抱えている。例えば、食品衛生の指標とされる大腸菌群の抑制が困難な場合や、何種類かの食中毒細菌のリスクが高い場合がある。さらには、酸敗やセメダイン臭の発生、あるいは包装パッケージの膨れなど、安全や品質を損なう問題がしばしば発生する。ready-to-eat 食品のこれら問題は、函館地域の食品製造業にとって解決の求められている課題である。そのなかで、平成 19 年 9 月、イカ塩辛を原因食材とし、患者数 595 人に達する大規模な腸炎ビブリオ食中毒事故が発生した。腸炎ビブリオは、海洋性の食中毒細菌で、海水温が 20℃を超えると沿岸で検出され、腸炎ビブリオ食中毒は、夏季に、海産物を主な原因食材として発生する。問題の塩辛は塩分濃度が通常より低い 3%であった。厚生労働省医薬食品局からの通達 (H19 年 12 月) では、低塩分塩辛 (3%前後) の取り扱いについては、生食用鮮魚介類の規格基準を参考に、一貫した低温管理 (10℃以下) をすること、また、伝統的な塩辛と混同しないこととなっている。しかし、低塩分塩辛が市場に現れたのは、消費者の低塩分嗜好があるからであり、製造者からは、安全で、塩分ができるだけ低くかつ、賞味期限の長い塩辛の製法が求められている。そこで、低塩分塩辛の加工流通における腸炎ビブリオリスク低減化の検討を行った。平成 24 度は、塩辛の塩分濃度と腸炎ビブリオリスクの関係を検討し、塩辛は、10℃の保存において、塩分 6%以上は腸炎ビブリオ数が減少していったが、塩分 3%においては増殖し腸炎ビブリオリスクがあることを明らかとした。最終年度となる平成 25 年度は、塩分 3%塩辛の 10℃保存における日持ち向上剤使用による腸炎ビブリオリスク低減化を検討した。

### 2. 研究の方法

#### 1) 塩辛の調製

スルメイカの胴肉に食塩を最終濃度 3%となるように添加しイカ塩辛とした。これに、グリシンおよび酢酸ナトリウムをそれぞれ最終濃度 1%となるように添加した区分 (グリシン・酢酸ナトリウム添加区)、あるいは、添加しない区分 (無添加区) を設け、両区分に腸炎ビブリオを接種し、各々を 10℃で保存した。

#### 2) FISHFC システムによるイカ塩辛の腸炎ビブリオ数測定

保存したイカ塩辛試料から 10 倍希釈懸濁液を調製し、その 1ml を特注メンブレンフィルターデバイスで吸引ろ過し、メンブレンフィルターデバイスをマリンアガープレートに置き、35℃で貼付培養を 5 時間行った。次に、そのメンブレンフィルターデバイスを、固定としてエタノールに浸した後、乾燥した。次にハイブリダイゼーションを次の通り行った。

メンブレンフィルターデバイスにハイブリダイゼーションバッファー1.5mlと10 $\mu$ M腸炎ビブリオ検出用蛍光標識 DNA プローブ (VP1253) 5 $\mu$ l を添加し、46 $^{\circ}$ Cで1時間ハイブリダイゼーション反応させた。次に46 $^{\circ}$ Cにてメンブレンフィルターデバイスに洗浄液を添加し15分間浸して洗浄した。その後、蒸留水ですすぎ、乾燥させた。次にメンブレンフィルターデバイス中の蛍光マイクロコロニーをFISHFC 蛍光自動計測装置 (特注) にて計数し腸炎ビブリオ数を求めた。

### 3. 研究成果の概要

グリシン・酢酸ナトリウム添加区、および無添加区のイカ塩辛に腸炎ビブリオを最終菌数700CFU/gとなるように接種し、10 $^{\circ}$ Cで10日間保存し、経時的(0、2日目、7日目、10日目)に、腸炎ビブリオを計数した。無添加区では、経過時間に伴って、腸炎ビブリオ数(CFU/g)が増加したが(700、700、3000、5000)、グリシン・酢酸ナトリウム添加区は減少した(700、300、200、検出されず)。3%塩分塩辛の10 $^{\circ}$ C保存において、グリシンと酢酸ナトリウムの各1%添加は腸炎ビブリオリスクを低減できることが明らかとなった。

担当者 大坪雅史、鳥海滋、清水健志、吉岡武也