

博士（水産学） 小出 鈦一郎

学位論文題名

微生物による水産ねり製品の石油類似臭の生成に
関する研究

学位論文内容の要旨

「ちくわ」・「かまぼこ」のように加熱後包装される水産ねり製品は、食品衛生法によって10℃以下の保存が定められている。このようなチルド食品も、一般的の食品と同様に保管・流通・販売などの各段階で変質する場合があり、このような変質・変敗原因については、多くの報告がある。

「ちくわ」のように加熱後包装されるものの変敗現象としては、カビの発生、ネットの形成、変色・着色などがある。これらの発生原因は、ほとんどの場合非耐熱性の微生物によるものであり、これらの製品の製造工程から推察して、製造環境からの二次汚染菌が示唆されている。また、製品に付着・残存した微生物の増殖に伴う変敗臭を除く異臭についても *Hansenula* 属の酵母による酢酸エチル生成の報告がある。食品衛生法では、これらの水産ねり製品には、中心温度を75℃まで加熱することが定められているものの、長期の保存性は期待できない。しかし、流通手段の進歩とともに商圈の拡大化が進んでいる昨今では、商品に従来よりも長期の保存性を付与することが望ましい。このため品質向上の一環として、これら水産ねり製品の変敗防止・保存性向上のための対策が種々検討されている。

本研究は、「ちくわ」の保存試験を行っている際に、試料として用いた一般市販品の「ちくわ」に、石油臭に類似した異臭を認めたため、本異臭の発生要因を検討したものである。得られた結果は以下のとおりである。

1. 石油臭生成原因微生物

本異臭は、保存性向上試験の試料とした一般市販品の「ちくわ」を、

10℃で7-10日間保存した際に認めたもので、石油臭に類似した臭い（以下石油臭と称する）である。この時の石油臭を生成した試料の表面の一部には、白色のカビの発育が認められた。一方、石油臭を生成していない試料には、カビの発育は肉眼的には確認できなかった。そこで、本石油臭の生成は微生物と関連があるものと推定し、10℃、7日間保存し石油臭の生成を確認した試料から、常法に従って微生物の分離を行った。その結果、一般生菌数は<300CFU/gであったが、この試料から細菌を10株、酵母・カビについても常法によりそれぞれ10株ずつ合計30株を分離した。これらの分離株を、先に石油臭を認めた試料と同一銘柄の滅菌した「ちくわ」に接種し、石油臭生成の有無を試験した。石油臭の生成は、カビを培養した場合にのみ認められたことから、石油臭の生成には、本分離カビが関与していることが判明した。「ちくわ」に認められた石油臭の生成には、カビが関与することを確認したが、分離カビ以外にも石油臭生成能を有するものがあるかどうか、（財）発酵研究所からの分与株32株と、当研究所で保存している菌株16株の合計48株を用いて石油臭の生成試験を行った。その結果、*Aspergillus*属の8株と*Penicillium*属の2株に石油臭生成能を認めた。

次に、分離した石油臭生成能を有する代表菌株（P-1株）と、保存菌株のなかで前項の石油臭生成試験において、石油臭生成能が認められた未同定の株（A-1株）の2株について、成書により同定試験を行った。その結果P-1株を、*Penicillium cyclopium*、A-1株は、*Aspergillus niger*に同定した。

2. 石油臭生成原因物質

一般に水産ねり製品の製造に使用されている主・副原料について、石油臭の生成に関する物質の検討を行った。ねり製品の主原料のスケソウダラすり身をはじめ、すり身として作成した数種の他種魚肉を用いたが、スケトウダラすり身や他種魚肉ではカビの発育は認められるものの、石油臭の生成は認められなかった。この結果から、スケトウダラすり身や魚肉或いはこれに添加されている砂糖、リン酸塩、ソルビットは、石油臭の生成

に関与していないことが判明した。次に一般に使用される副原料の石油臭生成に対する関与の有無を検討した。その結果、畜肉3検体を含む供試26検体中合成保存料（ソルビン酸）を添加したものにのみ、石油臭が認められたことから、市販品でソルビン酸添加表示のあるねり製品に石油臭生成菌を接種し、石油臭生成の再現試験を行った。

その結果、石油臭の生成が認められた試料は、いずれも合成保存料添加の記載があるので、無添加の試料では石油臭を認めなかつた。なお、畜肉加工品でも合成保存料が添加されているものでは石油臭を認めたが、水産ねり製品に比較すると弱かつた。これは畜肉加工品がカビの発育に適さないこととこれらに使用されている香辛料臭によって判別しにくいことも原因の一つと考えている。

次に石油臭は、ソルビン酸存在下で原因菌が発育した場合にのみ確認できたので、添加されたソルビン酸がカビによって代謝分解されるかどうかを試験した。ポテトデキストロース寒天培地にソルビン酸を添加したものと、市販のソルビン酸添加魚肉ソーセージを滅菌したものをそれぞれ培地とし、これに石油臭生成菌を培養後、この両培地のソルビン酸含有量を紫外外部吸収スペクトル法で定量した結果、両培地のソルビン酸含有量はいずれも減少した。カビによるソルビン酸の分解については、Marthら(1996) やFinolら(1982) の報告があるが、本結果もこれらの報告と同様の結果であった。

3. 石油臭成分

石油臭成分の同定試験を行つた。市販のソルビン酸添加「ちくわ」を培地として、これに石油臭生成菌を培養後、島津ガスクロマトグラフ質量分析計(GC-MS 7000, 70eV)によって分析し、さらに、標品と比較した結果、本石油臭成分を1,3-pentadieneと同定した。

4. 石油臭生成カビの分布

石油臭生成カビの由来を検討したが、「ちくわ」などに使用される主・副原料などからは、石油臭生成能を有するカビは検出されなかつた。しかし、「らいかい工程」「焼き工程」「冷却工程」および「包装工程」など

からの製造工程別に採取した「ちくわ」試料での試験では、「冷却工程」の試料から石油臭生成能を有するカビが分離され、これらは、先に分離したカビと同一属のカビであった。また、各製造工程周辺の浮遊カビを分離し、石油臭生成能を有するカビの検討を行ったが、「冷却工程」「包装工程」から分離したカビのほぼ100%が、石油臭生成能を有し、いずれも *Penicillium* 属および *Aspergillus* 属に含まれる菌株で、石油臭の生成には特定のカビの関与が示唆された。

「ちくわ」は一般に180℃程度の焼き炉の中で加熱されるが、この温度で処理された「ちくわ」の表面にカビが発育することは、この温度ではカビが殺菌されること、「冷却工程」および「包装工程」から分離した浮遊菌から石油臭生成能を有するカビが、多く検出されたことなどから考えて、本事例の場合、加熱処理後の製造環境からの二次汚染菌であることが明らかであった。

5. 二次汚染防止対策

「ちくわ」の製造環境に認められた石油臭生成カビの「ちくわ」への汚染防止対策を試験した。本石油臭生成カビの殺菌には、アルコールや次亜塩素酸ナトリウムが有効であったが、汚染源の「冷却工程」・「包装工程」をクリンルーム内で行うことによって石油臭の発生もなくかなり長期の保存性が得られることを明らかにした。

学位論文審査の要旨

主査 教授 信濃 晴雄
副査 教授 絵面 良男
副査 教授 猪上 徳雄

学位論文題名

微生物による水産ねり製品の石油類似臭の生成に関する研究

「ちくわ」のように加熱後包装される水産ねり製品の変敗現象としては、カビの発生、ネットの形成、変色・着色などがある。これらの発生原因は、ほとんどの場合非耐熱性の微生物による製造環境からの二次汚染菌が示唆されている。また、製品に付着・残存した微生物の増殖に伴う異臭についても *Hansenula* 属の酵母による酢酸エチル生成の報告がある。本研究は、「ちくわ」の保存試験を行っている際に、試料として用いた一般市販品の「ちくわ」に、石油臭に類似した異臭を認めたため、本異臭の発生要因を検討したものである。

まず、本異臭は保存性向上試験の試料とした一般市販品の「ちくわ」を、保存した際に認めたもので、石油臭に類似した臭い（以下石油臭と称する）である。この試料には、カビの発育が認められたことから、本石油臭の生成はカビを含めた微生物と関連があるものと推定し、石油臭の生成試料から、細菌、酵母、カビを常法によりそれぞれ10株ずつ合計30株を分離した。これらの分離株を、先に石油臭を認めた試料と同一銘柄の滅菌した「ちくわ」に接種した結果、カビを培養した場合にのみ石油臭が認められたことから、石油臭の生成には、本分離カビが関与していることが判明した。また、（財）発酵研究所からの分与株32株と、当研究所の保存株16株の合計48株を用いて石油臭の生成試験を行い、*Aspergillus* 属の8株と *Penicillium* 属の2株に石油臭生成能を認めた。

なお、分離した石油臭生成能を有する代表菌株（P-1株）と、保存菌株のなかで石油臭生成能が認められた未同定の株（A-1株）の2株について同定試験を行い、P-1株を *Penicillium cyclopium*、A-1株を *Aspergillus niger* に同定した。

次に水産ねり製品の製造に使用されている主・副原料について、石油臭の生成に関与する物質の検討を行った。ねり製品の主原料のスケソウダラ

すり身をはじめ、すり身として作成した数種の他種魚肉を用いたが、スケトウダラすり身や他種魚肉では石油臭の生成は認められず、添加されている砂糖、リン酸塩、ソルビットなども石油臭の生成に関与していないことを確認した。一方、副原料の石油臭生成に対する関与については畜肉3検体を含む供試26検体中、合成保存料（ソルビン酸）を添加したものにのみ、石油臭を認めたことから、市販品でソルビン酸添加表示のあるねり製品に石油臭生成菌を接種し、石油臭生成の再現試験を行い、いずれも合成保存料添加の記載があるものに、石油臭を認めている。

さらに添加されたソルビン酸がカビによって代謝分解されるかどうかをソルビン酸添加ポテトデキストロース寒天培地と、市販のソルビン酸添加魚肉ソーセージを滅菌したものとを培地とし、これに石油臭生成菌を培養後、両培地のソルビン酸含有量を紫外部吸収スペクトル法で定量した結果、両培地のソルビン酸含有量はいずれも減少することを観察している。これらの結果から石油臭生成原因物質はソルビン酸であることを指摘し、また、石油臭成分は島津ガスクロマトグラフ質量分析計によって標品と比較した結果、1,3-pentadieneであることを認めている。

石油臭生成カビは「ちくわ」などに使用される主・副原料などからは検出されないが、「らいかい工程」「焼き工程」「冷却工程」および「包装工程」などから製造工程別に採取した「ちくわ」試料の試験では、「冷却工程」の試料から石油臭生成能を有するカビが分離され、これらは、先に分離したカビと同一属のカビであることを確認している。また、各製造工程周辺の浮遊カビの石油臭生成能について検討しているが、「冷却工程」「包装工程」から分離したカビのほぼ100%が、石油臭生成能を有し、いずれも *Penicillium* 属および *Aspergillus* 属に含まれる菌株で、石油臭の生成には特定のカビの関与を再確認している。また、「冷却工程」および「包装工程」周辺からの浮遊菌に石油臭生成能を有するカビが多く検出されたことから、石油臭の生成が加熱処理後の製造環境からの二次汚染菌に起因することを明らかにした。

「ちくわ」の製造環境に認められた石油臭生成カビの「ちくわ」への汚染防止対策を試み、アルコールや次亜塩素酸ナトリウムが有効であったが、汚染源の「冷却工程」・「包装工程」をクリンルーム内で行うことによって石油臭の発生を防ぎかなり長期の保存性が得られるこことを実証している。

以上の成果は、食品保存料が常に食品の保存性を高めるとは限らず、逆に食品の品質劣化に繋がる場合もあることを明らかにした極めてドラスティックな成果であり、食品保藏学の分野、特に食品保存料の使用技術の面で高く評価し得るものとして、審査員一同は本論文が博士（水産学）の学位論文として十分な内容を有するものと判定した。