HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	ガス置換貯蔵法によるラミコンカップ詰め魚肉切り身の鮮度保持に関する研究
Author(s)	岡, 重美; 西沢, 洋一; 高間, 浩蔵
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 40(2), 138-146
Issue Date	1989-05
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/24026
Type	bulletin (article)
File Information	40(2)_P138-146.pdf

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

北大水産彙報
40(2), 138-146. 1989.

ガス置換貯蔵法によるラミコンカップ詰め魚肉切り身の鮮度保持に関する研究

岡　重美*・西沢　洋一*・高間　浩蔵*

Putrefactive Profiles of Fish-fillets Packed in Plastic Container under Different Modified Atmosphere

Shigemi OKA*, Yoichi NISHIZAWA*, and Kozo TAKAMA*

Abstract

Alaska pollack (*Theragura chalcogramma*) fillets were packed in plastic containers filled with Air, N_2 and CO_2 individually, and their putrefactive profiles were examined during storage for 20 days at 4°C.

Initial spoilage levels of TMA (10～15 mg%) and VB-N (20～25 mg%) were observed after a storage period of 4 days in the case of Air and 10～12 days in the case of N_2 packed-samples. At these periods, the number of cells counted at 20°C and 37°C were about 1.4×10^8/g, 5.5×10^7/g flesh in Air packed-samples and about 1.1×10^5/g, 4.4×10^5/g flesh in N_2 packed-samples, respectively.

No putrefaction was exhibited in CO_2 packed-samples with respect to putrefactive indexes throughout the experimental periods.

The amount of putrescine, cadaverine and spermidine in the packed-samples after 15-days storage was also determined. Putrescine, a typical putrefactive polyamine was 138 μ moles/g flesh in the Air packed-samples.

緒　言

流通ならびに保蔵における生鮮魚介類の鮮度保持には従来から冷蔵あるいは冷凍法が用いられている。しかしながら，いずれも品質保持の点で必ずしも問題がないわけではなく，安全かつ合理的貯蔵法の確立が求められている。その一つに近年各種食品の品質保持に向けたガス充填(MA)システムによる保蔵法が注目されつつある。とくにヨーロッパ諸国においては，N_2 や CO_2 などの不活性ガス充填システムによる保蔵法が開発され，食肉ならびにこれらの加工食品において既に実用化に入っている。これとは別に食品の品質におよぼす不活性ガスの影響についての研究も内外で進められ，ガス充填による畜肉，魚介類，さらにはこれらの加工食品における保蔵期間の延長や静菌作用が確認されている[1~10]。イギリスの SFIF-Torry 研究所の共同研究レポート[11]によれば，white fish に対しては $CO_2/N_2/O_2$ 40 : 30 : 30 が，fatty fish には CO_2/N_2 60 : 40 が推奨されており，貯蔵対象物によって最適ガス組成があるものと思われる。わが国のガス充填システムによる保蔵法については加工食品の一部で実用化の段階にあるものの，生鮮魚介類などには未だ適用されていない。本法は簡易かつ効率的である点から将来この種の食品を対象とした実

* 北海道大学水産学部食品化学第二講座
(*Laboratory of Food Hygiene, Faculty of Fisheries, Hokkaido University*)

用化の可能性は極めて高いと思われるが，この方面に対するわが国での研究は少なく，また報告もほとんどみられない。

そこで本研究では，生鮮魚介類の少量パック流通における品質保持を目的とした不活性ガスの影響を，主として細菌の生理ならびに生化学的活性の点から明らかにするため，まずその前提としてN_2およびグラム陰性菌の発育を阻害するとされるCO_2置換による魚肉の腐敗パターンについて検討を行った。

実 験 方 法

材料の調製

冷凍スケトウダラを4°Cで16時間放置して解凍し，水洗した後三枚に卸し，剝皮後，再度水洗して各々20 gずつ切り身にしたものを材料とした。

ガスの充塡と保存方法

切り身をラミコンカップ（スタンダードバリアー，S−76×100，東洋製缶製）に入れ，Airパックではそのままカップシーラーで密封した。ただし，N_2パックおよびCO_2パックでは5 l/minの流速でこれらのガスを1分間流した後密封した。いずれの場合も蓋材としてはアルミ箔を外側ポリエステル，内側ポリプロピレンで被覆したものを用いた。なお，魚肉と気相の体積比は1：5であった。試料は4°Cの暗所に貯蔵し，経日的にとり出して各種の試験に供した。

トリメチルアミン（TMA）および揮発性塩基窒素（VB-N）の測定

試料10 gを採取し，4%トリクロル酢酸40 mlを加えて15,000 rpm，1分間ホモジナイズした。30分間放置し，ろ過後，このろ液を試料液とした。なおTMAおよびVB-N量は山形[12]の方法によって測定した。

生菌数の測定

試料20 gを採取し，これに180 mlの滅菌緩衝食塩水を加え，15,000 rpm，1分間ホモジナイズした後，さらに1分間放置したものを試料液とした。次いで常法に従って試料液の段階希釈液を作成し，これらの0.1 mlずつを2枚の生菌数用パールコア標準寒天培地（栄研化学製）平板に接種し，塗抹後37°Cでは48時間，20°Cでは2週間培養を行った。菌数はこれら寒天培地における検出コロニーの平均値をもって示した。

pH値の測定

試料魚肉に10倍容の蒸留水を加え，15,000 rpmで1分間ホモジナイズし，1分間放置後，pHメータ（HORIBA-MODEL F-8 AT）を用いて測定した。

試料詰めラミコンカップ容器内のガス分析

試料詰めラミコンカップ容器にシリコン製セプタムを接着し，その部位からガスタイトメスシリンジで容器内ガスの0.2 mlを採取して，ガスクロマトグラフ分析を行った。ガス組成はクロマトグラム面積の百分比で示した。なお分析条件は以下の通りである。

ガスクロマトグラフ：日立ガスクロマトグラフ 023-5071型

カラム：WG-100（1/4″×1.8 m）（ガスクロ工業）

カラム温度：50°C

ブリッジ電流：110 mA
キャリァーガス：He (30 m*l*/min)

ドリップおよび筋肉中のポリアミン量の測定

試料約1 gを採取し，9倍量の5% トリクロル酢酸を加え，筋繊維をほぐした後，4°C で70W, 20秒間，5回超音波処理を行い，さらに同温度で5,000 rpm, 30分間遠心分離した。上清を保存し，残渣に再度5% トリクロル酢酸を加え遠心分離を行い，先の上清と合わせて試料液とした。ドリップはこれらの処理を行うことなくそのまま試料液とした。なおこれらの分析方法はSuzuki ら[13]の方法によった。

結　　果

TMA および VB-N 量

3種パック中のTMA量の測定結果をFig. 1に示す。TMA量はAirパックの場合，貯蔵後3日間はほぼ一定であったが，それ以降増加期となり，N_2 パックでは貯蔵後11日間はほぼ一定であったが，それ以降23日目まで急速に増加した。また CO_2 パックでは貯蔵期間全般にわたってほぼ一定の値を示した。一方，VB-N量はFig. 2に示したように，いずれのパック試料ともTMA量の変動パターンと類似し，CO_2 パックにあっては同様にほとんど変化は認められなかった。

生 菌 数

4°C に貯蔵したガスパック試料中の生菌数の経時的変化をFig. 3およびFig. 4に示す。20°C 培養の場合 (Fig. 3)，10^3 であった初発菌数はAirパック試料では貯蔵初期から急速に増加し続け，貯蔵4日目には初期腐敗の 10^8 を越え，8日目にピークに達した後徐々に減少した。一方，N_2 パックでは0日目から8日目まではほぼ一定の菌数を示したが，それ以降増加し始め20日目には 10^8 に達した。これらに対して，CO_2 パックでは貯蔵初日から18日まで全般的には初発菌数のまま維持され，菌数の著明な増加や減少はみられなかった。一方，37°C 培養における生菌数 (Fig. 4) ではAirパックの場合，貯蔵直後から急激な増加を続け8日目以降には 10^9 レベルに達した。N_2 パックにおいては貯蔵8日目までは小幅の増減を繰り返したが，それ以降は急速に増加し，20日

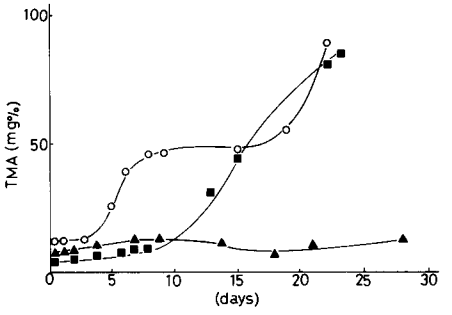

Fig. 1. TMA values of fish fillets stored at 4°C in three different packaged atmospheres (—○—: Air pack, —■—: N_2 pack, —▲—: CO_2 pack).

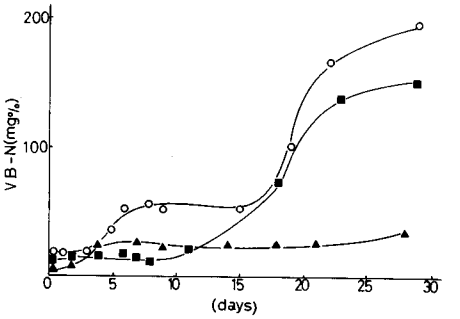

Fig. 2. VB-N values of fish fillets stored at 4°C in three different packaged atmospheres.
Symbols are the same as in Fig. 1.

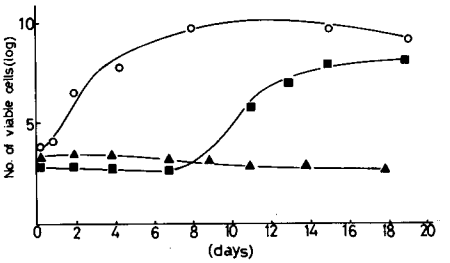

Fig. 3. Viable cell counts at 20°C incubation of fish fillets stored at 4°C in three packaged atmospheres.
Symbols are the same as in Fig. 1.

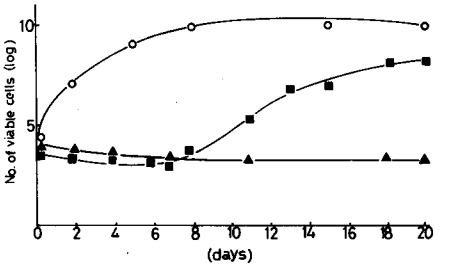

Fig. 4. Viable cell counts at 37°C incubation of fish fillets stored at 4°C in three packaged atmospheres.
Symbols are the same as in Fig. 1.

目にはほぼ 10^8 に達した。また CO_2 パックでは 20°C 培養での生菌数の場合と同様，貯蔵直後から 20 日目までほとんど初発菌数のまま維持された。

pH 変化

試料魚肉の pH 変化を Fig. 5 に示す。当初 pH 7.0 であった試料魚肉は，Air パックでは貯蔵後直ちに上昇し，5 日目以降 20 日目までは pH 7.3 前後，29 日目には 7.51 に達した。N_2 パックの場合，0 日目から 11 日目まではほぼ一定であったが 13 日目以降急速に上昇した。また，CO_2 パックにおいては貯蔵初日から 28 日目までほとんど pH 変化は認められなかった。

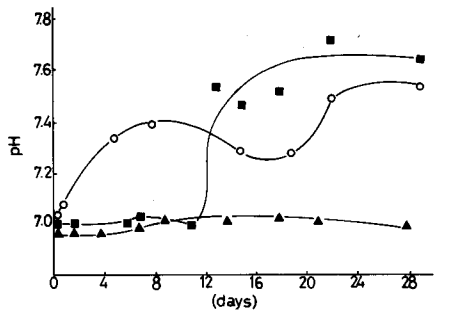

Fig. 5. pH values of fish fillets stored at 4°C in three different packaged atmospheres.
Symbols are the same as in Fig. 1.

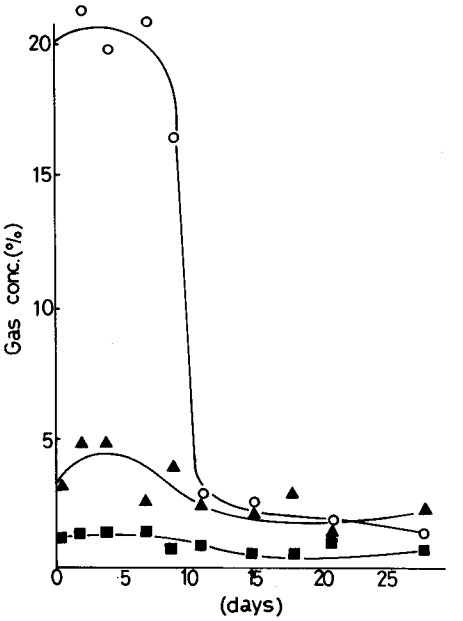

Fig. 6. O_2 concentration in three different packaged atmospheres.
Symbols are the same as in Fig. 1.

容器内の O_2 および CO_2 量の変化

結果は Fig. 6 および Fig. 7 に示してある。まず O_2 量 (Fig. 6) では Air パックの場合 7 日目まではほぼ一定であったが，それ以降急激に減少し，11 日目からは 2～3% 台で経過した。一方，N_2 パックでは多少ばらつきがみられるものの，ほぼ当初の 1～2% 台の値が維持された。他方，CO_2 パックにおいてはばらつきがみられたものの，全実験期間を通してわずかながら減少傾向が認められた。次に CO_2 量 (Fig. 7) では Air パックの場合 0 日目から徐々に増加し始め，9～11 日目にかけて急激に増加した。同じく N_2 パックにおいても 0～10 日目まではほとんど当初の量と差異はなかった。さらに CO_2 パックではややばらつきがみられたものの，全般的には 70～80% 台の組成が維持された。

ドリップおよび魚肉中のポリアミンの分析

貯蔵 15 日目の魚肉およびドリップ中に含まれるプトレッシン，カダベリンおよびスペルミジン量を Fig. 8 に示す。このうち Air パックでは N_2 パックおよび CO_2 パックに比べ，ドリップ，筋肉ともにこれら 3 種ポリアミン量が最も多く，とくにプトレッシン量はドリップよりも筋肉中で多く認められた。一方，N_2 パックならびに CO_2 パックでは 3 種ポリアミンともにドリップに比べ筋肉中での含量が高かった。

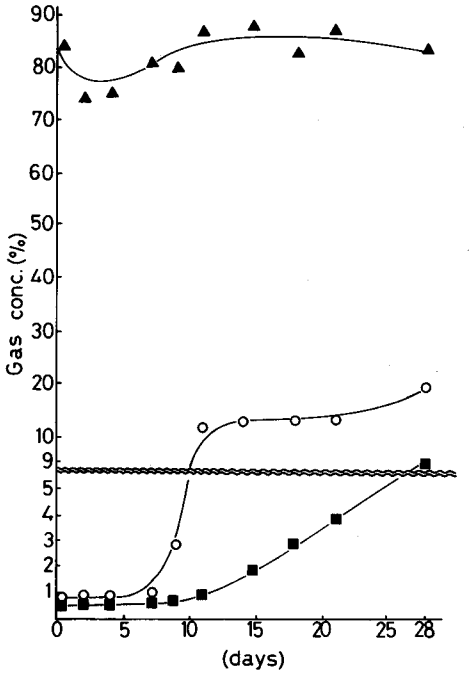

Fig. 7. CO_2 concentration in three different packaged atmospheres.
Symbols are the same as in Fig. 1.

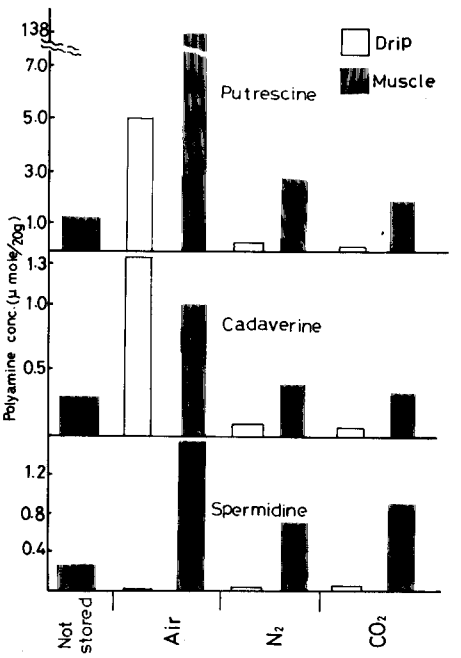

Fig. 8. Contents of polyamines in drip and muscles of fish fillets stored at 4°C in three different packaged atmospheres after 15-days storage.

考　　察

はじめに同一貯蔵条件下での Air, N_2 および CO_2 パック魚肉における TMA および VB-N 生成量の経日的変化について検討した。その結果, TMA 量を腐敗の指標として Connell[14] が提唱した 10～15 mg% を基準とした場合の各パック中の魚肉の shelf-life は, Air パックで 4 日, N_2 パックで 10 日であったが, CO_2 パックにおいては当初の TMA 量で推移し, その増大は認められなかった。一方, VB-N 量において Stansby[15] が可食限界と定めた 20～25 mg% を基準とした場合, 本実験での各パック中の魚肉の可食限界は Air パックでは同じく 4 日, N_2 パックでは 14 日となり, 両者とも Air パックで shelf-life が最も短かく, CO_2 パックで最も長いことが判明した。山村の式[16] に従って TMA および VB-N 量にもとづく各パック魚肉における腐敗速度定数を求めたところ, N_2 パックでは Air パックの 1/100 程度であることが示された (Table 1)。

次いで貯蔵中における魚肉の pH 変化を同じく経日的に検討したところ, Air パックで貯蔵後から, N_2 パックで 13 日目から急速な上昇が認められたが, CO_2 パックのみは貯蔵期間中も大きな変化は認められず, 値はほぼ一定であった。MA システムにおける魚肉の pH 変化については, 過去に多数の報告がみられ, そのうち Richter and Banwart[3] は CO_2 パックした魚肉は未処理魚肉に比べ貯蔵期間中, より低い pH で維持されたと報告し, また Perkin ら[17] は CO_2 が炭酸として魚肉表面に存在するのであろうと推測している。一方, 本実験での CO_2 パックでは pH 値がほぼ中性域で安定したが, このような結果について言及した報告はほとんどみられない。この現象は, おそらくは気相中の CO_2 が初めに魚肉表面に吸収されて H_2CO_3 となり魚肉の pH を低下させるであろうが, その程度は魚肉の緩衝能内にあったため中性域において安定しているものと思われる。次に試料魚肉中の生菌数の経日的変化を 20°C と 37°C の両培養温度で検討した。その結果 Air パック中では貯蔵後から急速に生菌数が増加し始めるが, N_2 パックでは両培養温度ともに貯蔵後 7～8 日目までは菌数は当初のまま維持されたものの, その後はすみやかに増加し始めた。しかしながら, CO_2 パックでは貯蔵期間中その菌数にほとんど変化はみられなかった。これらの成績は MA システムが細菌の増加に抑制的な効果のあることを示すものであり, また CO_2 が N_2 より, より効果的であることをも示すものである。石川[4,5] らはマアジ開き干しにおけるガス包装の貯蔵効果について検討を行い, Air および N_2 パック包装では菌の抑制効果がみられなかったものの, CO_2 包装で抑制効果が顕著であったとしている。なおガス分析で菌の増殖に伴う O_2 や CO_2 の産生量には著明な変化はみられなかったが, 菌の増殖が安定期に入るとこれらの量は著しく減少あるいは増加することが認められた。しかし, CO_2 パック中での CO_2, O_2 分布は多少変動がみられた程度であった。貯蔵 15 日目における各試料についてパックを漏斗内で傾斜させたまま 5 分間放置し, 溜ったドリップ量および Bradford 法[18] によって求めたこれらのタンパク質量は N_2 パックで最も多く (52.6 mg/ml), CO_2 パックで最も少なかった (20.4 mg/ml)。しかし, これを魚肉 1 g 当りで比較すると Air パックで最も多く (7.6 mg/g), N_2 パックで最も少なかった (1.7 mg/g)。このことは, Air パック中の魚肉が他に比べ劣化が大きいことを示すものであろう。また Air

Table 1. Putrefactive velocity constant

Medium	TMA	VB-N	Adaptable days
Air	3.827/day	4.333/day	Up to 10
N_2	0.047/day	0.040/day	Up to 23
CO_2	—	—	—

パックのドリップ 1 ml 中のタンパク質量 (33.6 mg/ml) が N_2 パックに比べて少ないことは，それだけ増殖細菌のタンパク分解能が弱いことを示唆している。一方，N_2 パックからのドリップ量 (0.7 ml) およびそれに含まれるタンパク質量が最も少なかったことから貯蔵 15 日目の段階では，N_2 パック中の魚肉が最も良好であると言える。CO_2 パック中のドリップ量 (2.6 ml) が N_2 パックに比べて多いのはおそらくは貯蔵中に魚肉表面の液相に CO_2 が溶けこむことによってパック内が陰圧になり水分が浸出したことによるものと思われる。

次いで，貯蔵 15 日目の 3 種パック中の筋肉とドリップについてポリアミン量の比較を行った。その結果，Air パックでは筋肉，ドリップともにプトレッシン量が他のパック試料に比べて著しく多く，また N_2 パック中のドリップにおいてカダベリンが最も多かった。さらに N_2 パックおよび CO_2 パックにおける筋肉と，CO_2 パックにおけるドリップにおいては 3 種ポリアミン量の占める割合が極めて小さいことが認められた。またこれらポリアミン量を 1 パック当り，つまり魚肉 20 g 当りに換算すると，プトレッシンは Air パックの筋肉とドリップ中で最も多く，また N_2 パックと CO_2 パックではほぼ同値を示した (Fig. 8)。本ポリアミンが腐敗過程において生成するポリアミンのひとつであることから，その分析結果からも Air パック中の筋肉が MA パック中のそれらより腐敗の進行が，より顕著であることが確認された。しかし，N_2 パックおよび CO_2 パック筋肉中のプトレッシン量にほとんど差のないことは興味深い。これに対しカダベリンは，Air パックでは筋肉に比べてドリップ中に多く，これはプトレッシンではみられなかった結果であった。一般に魚肉などの腐敗過程において細菌がその表面に多く存在することを考えると，ドリップ中のカダベリンをはじめとするこれら腐敗性アミンと細菌数の間に相関性があることが考えられる。従って，とくにカダベリン量が MA パック中の筋肉で対照に近い値を示したのはリジンからカダベリンの転換が MA 環境 (不活性ガス) によって阻害されるためであろうと考えられる。一方，スペルミジンは Air パック筋肉中に多く存在したが，ドリップ中では 3 種パック中最少であった。また CO_2 パックの筋肉とドリップ中に含まれるスペルミジン量は N_2 パックのこれらに比べ若干多く，これらの結果は他のポリアミンでみられなかった特徴である。前述のようにポリアミン量の測定には貯蔵後 15 日目の試料を用いたが，N_2 パックでも，この時点での生菌数はすでに最大に達していたにもかかわらず，ポリアミン生成量に Air パックと著しい差異がみられたのは，Air パックと N_2 パックにおける菌叢の違いがあってそれらが腐敗性ポリアミンの生成量の違いに反映したものと推察される。奥積ら[19]，および奥積[20]は，解凍魚の腐敗時における菌叢について検討し，*Pseudomonas* (*Ps*) I/II, *Ps* III/IV-H や *Moraxella* などが多数検出されたが，*Ps* III/IV-NH と *Vibrio* は極めて少数であったとしている。従って，本研究で用いた材料魚肉もこれらの細菌による腐敗の進行が主体であると考えられる。すなわちこれらの細菌の発育・増殖に対する N_2 あるいは CO_2 の影響の差異が，本研究における魚肉貯蔵性やその他の性状の差異に反映したものと推察された。

要　　約

不活性ガス置換パックにおけるスケトウダラ魚肉の腐敗パターンについて検討した。腐敗指標である TMA および VB-N 量はともに Air および N_2 パックで貯蔵期間の経過とともに増加したが，CO_2 パックのみは初期の値とほとんど変わらず，明らかに腐敗の遅延効果が認められた。次いでパック魚肉中の細菌増殖におよぼす不活性ガスの影響を 20°C と 37°C 培養に区別して調べた結果，細菌増殖における培養温度間での差異はみられなかったものの，ガス間で違いがみられた。すなわち，Air パックでは貯蔵初期から菌の増殖が始まり 1 週間で最高値に達した。一方，N_2 パックでは Air パックに比べて菌の増殖は遅く，またその菌数も Air パックに比べて低かった。

さらに，CO_2 パック魚肉では菌の増殖はみられず CO_2 の静菌効果が確認された。以上の結果より，3種ガスパック魚肉中における TMA および VB−N 量はこれらパック中の菌の発育態度と一致することが証明された。なお，パック魚肉における貯蔵期間と pH 値の間にも同様な関係がみられ，Air パックと N_2 パックでともにわずかながら値は増大したが，CO_2 パックでは pH の変動はみられなかった。また貯蔵 15 日間試料では腐敗性ポリアミンと考えられるプトレッシンおよびカダベリンの量がドリップ，筋肉とも Air パックで最も多かった。

謝　　辞

試料の調製に御協力頂いた北海道大学水産学部水産食品製造実習工場職員各位に感謝いたします。またラミコンカップ容器を提供していただいた東洋製缶(株)増尾英明技術課長に深謝の意を表します。

文　　献

1) Enfors, S.O., Molin, G. and Ternstrom. A. (1979). Effect of packaging under carbon dioxide, nitrogen or air on the microbial flora of pork stored at 4°C. *J. Appl. Bacteriol.* **47**, 197-208.
2) Brown, W.D., Albright, M., Watts, D.A., Heyer, B., Spruce, B. and Price, R.J. (1980). Modified atmosphere storage of rockfish (*Sebastes miniatus*) and silver salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *J. Food Sci.* **45**, 93-96.
3) Richter, E.R. and Banwart, G.J. (1983). Microbiological and sensory evaluation of fresh fish packaged in carbon dioxide for retail outlets in the Midwest. *J. Food Protect.* **46**, 245-247.
4) 石川宣次・中村邦典・藤井建夫 (1983). 水産加工食品のガス置換包装-I. マアジ開き干しの貯蔵効果. 東海水研報, No. 110, 59-68.
5) 中村邦典・石川宣次・藤井建夫 (1985). マアジ開き干しの貯蔵性と外観におよぼすガス置換剤の影響. 東海水研報, No. 115, 39-43.
6) 横山理雄 (1988). 最近の包装技術について. *New Food Industry.* **30**, 11-20.
7) King, JR.A.D. and Nagel, C.W. (1967). Growth inhibition of a *Pseudomonas* by carbon dioxide. *J. Food Sci.* **32**, 575-579.
8) Gill, C.O. and Tan, K.H. (1980). Effect of carbon dioxide on growth of meat spoilage. *Appl. Environ. Microbiol.* **39**, 317-319.
9) Enfors, S.O. and Molin, G. (1980). Effect of high concentrations of carbon dioxide on growth rate of *Pseudomonas fragi*, *Bacillus cereus* and *Streptococcus cremoris*. *J. Appl. Bacteriol.* **48**, 409-416.
10) Enfors, S.O. and Molin, G. (1981). The influence of temperature on the growth inhibitory effect of carbon dioxide on *Pseudomonas fragi* and *Bacillus cereus*. *Can. J. Microbiol.* **27**, 15-19.
11) Technical Report No. 191. Sea Fish Industry Authority, October. 1982.
12) 山形　誠 (1974). 魚肉トリメチルアミンオキサイド，トリメチルアミンの微量拡散法による定量. 水産生物化学・食品学実験書　pp. 281-286. 恒星社厚生閣. 東京.
13) Suzuki, S., Matsui, Y. and Takama, K. (1988). Profile of polyamine composition in the putrefactive *Pseudomonas* Type III/IV. *Microbios Lett.* **38**, 105-109.
14) Connell, J.J. (1975). "*Control of Fish Quality*" 179 p. Fishing News Books Ltd. West Byfleet, Surrey, England.
15) Stansby, M.E. (1963). Analytical methods.: pp. 369-373. In Stansby, M.E. (ed.) *Industrial Fishery Technology*. Reinhold Pub. Co., NY
16) 保坂秀明 (1972). 食品工学入門—基礎と操作—. 343 p. 化学工業社. 東京.
17) Perkin, K.L., Wells, M.J. and Brown, W.D. (1982). Modified atmosphere storage of rockfish fillets. *J. Food Sci.* **47**, 181-184.
18) Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* **72**,

248-254.
19) 奥積昌世・堀江　進・木村正幸・赤堀正光・川前正幸 (1972). 冷蔵海産魚の腐敗細菌 (第2報) 解凍魚の腐敗した場合のミクロフローラ. 食衛誌. **13**, 418-421.
20) 奥積昌世 (1986). 魚のチルド・フローズン貯蔵における細菌相の変化. 冷凍. **61**, 10-20.