



Title	ガス置換貯蔵魚肉中における食中毒細菌の増殖と毒素の産生
Author(s)	岡, 重美; OKA, Shigemi; 伊藤, 博司 他
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 43(3), 105-114
Issue Date	1992-08
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/24094">https://hdl.handle.net/2115/24094</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	43(3)_P105-114.pdf



ガス置換貯蔵魚肉中における食中毒細菌の増殖と毒素の産生\*

岡 重美\*\*・伊藤 博司\*\*\*・高間 浩蔵\*\*

Growth Pattern and Enterotoxin Production of Food  
Poisoning Bacteria in Fish-fillets Stored under  
Different Modified Atmospheres\*

Shigemi Oka\*\*, Hiroshi Ito\*\*\* and Kozo Takama\*\*

Abstract

Bigeye tuna (*Thunnus obesus*) fillets and toxigenic food poisoning bacterium (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Clostridium perfringens*, specifically) were packed into retort pouches and separately filled with Air and Gas mixture (CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> 60:40), respectively. The growth pattern and enterotoxin production of these organisms in both packed samples were examined during storage for 5 days at 25°C.

After 5 days, the numbers of *E. coli* and *S. aureus* in Air packed samples were  $1.2 \times 10^9$ /g and  $1.4 \times 10^7$ /g flesh, and  $1.6 \times 10^8$ /g and  $1.6 \times 10^8$ /g flesh in Gas packed samples, respectively. The results showed that growth of these organisms were slightly inhibited with the Gas mixture.

However, the number of *C. perfringens* was  $1.7 \times 10^7$ /g and  $3.7 \times 10^7$ /g flesh in both the Air and Gas packed samples, respectively. No inhibition was observed for the growth of this organisms under Gas packed condition.

Each of the 9 strains of *E. coli* and *S. aureus* from both packed samples produced the toxin of 5 ng/ml and 1,000 ng/ml culture supernatant. The Gas packaging did not show any inhibitions for the production of their toxins. All of tested strains of *C. perfringens* produced the toxin of 10,000 ng/ml culture supernatant and the toxin production was not controlled in the Gas package, too.

From these results, it was concluded that Gas packaging slightly inhibited the growth of the tested toxigenic food poisoning bacteria except *C. perfringens*, but not for their toxin productions.

結 言

現在、炭酸ガスや窒素ガスなどの不活性ガスを用いたガス置換貯蔵（以下 MA 貯蔵）は、腐敗細菌の増殖抑制<sup>1-7)</sup>をはじめ、食品の品質保持の面で極めて有効な手段であると考えられており、これまでの低温流通に変わる新たな流通システムとして期待されている。こうした考えから、既に我が国では生鮮魚介類の一部などで Shelf-life の延長を目的とした本貯蔵法が実用段階に入っている。しかし、安全と考えられているこの MA 貯蔵も、その取り扱い方や貯蔵方法を誤れば単

\* 本研究の要旨は平成 4 年 4 月、日本水産学会春季大会で発表した。

\*\* 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)

\*\*\* 北海道漁業協同組合連合会  
(Hokkaido Gyogyokyodokumiai Rengokai)

に食品の品質低下にとどまらず、時には食中毒細菌の増殖や毒素の産生を促し、結果的にヒトの食中毒に結びつく危険性がある。それゆえ、MA貯蔵下での食中毒細菌の挙動について検討することは、本システムにおける食品の安全性を確認し、かつそれら食品による食中毒を防止する上で意義あるものと考えらる。

MA貯蔵と食中毒原因菌の増殖や毒素産生能との関連性については、既に外国において多くの報告<sup>8-25)</sup>がなされているが、我が国では極めて少ない<sup>26)</sup>。

そこで、本報では食品衛生学的見地からみた不活性ガスによるMA貯蔵の安全性を確認する目的で、まずガス置換魚肉中での食中毒細菌の増殖態度と処理試料からの分離菌の毒素産生能について検討した。

## 実 験 方 法

### 実験材料

新鮮な冷凍メバチマグロ (*Thunnus obesus*) の切り身を一夜4°Cで解凍したものをを用いた。

### 供試菌株

本実験には毒素原性大腸菌 (Enterotoxigenic *Escherichia coli* H 10407)、ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus* FP-9) およびウェルシュ菌 (*Clostridium perfringens* NCTC 8238) の3種類の毒素産生食中毒菌を供試した。なお *E. coli* は大阪府立公衆衛生研究所から、*S. aureus* は札幌市立衛生研究所から、また *C. perfringens* は国立予防衛生研究所からそれぞれ分与されたものである。

### 接種用菌液

あらかじめ37°C、18~20時間培養した Trypticase soy agar (BBL) 上の供試菌をかき取って0.25 M リン酸緩衝食塩水 (pH 7.2) に懸濁し均一に攪拌した後、魚肉1gあたり10<sup>3</sup>個になるように調製したものを接種用菌液とした。

### ガスの充填と試料の貯蔵

魚肉の切り身を低温室で約10g (4×2×1.5 cm) ずつに切り、それらをレトルトパウチ (13×17 cm, 東洋製缶製) に入れた後、これらに菌液の0.1 ml ずつを接種し、Airバックではそのまま、Gasバックではガス組成がCO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> 60:40のものを毎分5Lの流速で45秒間充填した。両者はただちにシールし、25°Cでそれぞれ5日間貯蔵した。

### 生菌数の測定

Plate count agar (Difco) を用い、37°C、48時間培養後の菌数を常法に従って測定し、魚肉1gあたりの菌数として算出した。

### 嫌気性菌数の測定

Anaerobic agar (Difco) を用い、Gas Pak (BBL) による嫌気システムによって、37°C、48時間嫌気培養後の菌数を調べ、同様に魚肉1gあたりの菌数として算出した。

### 接種菌数の測定

*E. coli* についてはDHL寒天培地 (日水製薬製) を、*S. aureus* には卵黄加マンニット食塩寒天

培地（栄研化学製）を、*C. perfringens* には CW 卵黄寒天培地（日水製薬製）を用い、前2者の菌種については 37°C、48 時間培養後の菌数を、また後者の菌種については前述の嫌気システムによって 37°C、48 時間嫌気培養後の菌数を、同じく魚肉 1 g あたりの菌数に換算して示した。

#### pH 値の測定

魚肉重量に対して 9 倍容の滅菌生理食塩水を加え、15,000 rpm、1 分間ホモジナイズした試料原液について、HITACHI HORIBA MODEL H-7 MV 型によって pH 値を測定した。

#### 分離株の増殖菌数、芽胞数および産生毒素（エンテロトキシン）の定量

貯蔵 0 日目と 5 日目の Air パックと Gas パック試料から分離された接種菌について任意に 3 個のコロニーを釣菌し、これらの増殖菌数とその際の毒素産生量を調べた。また *C. perfringens* についてはこれらの他に、毒素産生の指標となる芽胞数についても測定した。

すなわち、*E. coli* と *S. aureus* では保存株をあらかじめ Brain Heart Infusion broth (Difco) 2 ml に接種し、37°C、18 時間前培養した菌液 ( $10^8$ /ml) の各 0.1 ml を、*E. coli* については Evans らの培地<sup>27)</sup> 5 ml に、また *S. aureus* については Brain Heart Infusion broth (Difco) 5 ml にそれぞれ接種し、37°C、18~20 時間振盪培養 (110 回以上/分) を行い、終了後、ともに 10,000 rpm、10 分間遠心分離を行って得た培養上清を毒素検液とした。*C. perfringens* についてはクックドミート培地の保存株を Thioglycollate 培地 3 ml に接種し、75°C、20 分間加熱後、37°C、24 時間培養した菌液 ( $10^7$ /ml) 1 ml を Duncan and Strong の芽胞形成培地<sup>28)</sup> 9 ml に接種し、37°C、18~20 時間培養を行った後、遠心分離し、その上清を毒素検液とした。なお、この場合の各供試菌株の生菌数の測定方法は前述の接種菌数の測定方法に準じて実施した。一方、本菌における芽胞数の測定には、あらかじめ芽胞培養液を 75°C、20 分間加熱後<sup>29)</sup>、その生残菌数を前述の接種菌数測定用培地を用いて測定した。また、毒素の定量はすべて市販のキット（デンカ生研製）を用い、逆受身ラテックス凝集反応によって実施した。

なお、生菌数、芽胞数ならびに毒素量はいずれも培養菌液あるいは培養上清 1 ml あたりの値で示した。

## 結 果

#### 総生菌数、嫌気性菌数および接種菌数

はじめに *E. coli* を接種した場合の Air パックと Gas パックにおける総生菌数の違いを検討した。結果は Fig. 1 に示したように、Air パックでは貯蔵 0 日目に  $10^3$  であったものが、1 日目には既に  $10^8$  まで増殖し、貯蔵 5 日目まで  $10^8 \sim 10^9$  のまま推移した。

一方、Gas パックの場合にも、貯蔵 1 日目には  $10^7$  まで、それ以降 5 日目までは  $10^8$  のまま推移したが、期間中わずかに Air パックに比べて菌の増殖が抑制された。

つぎに、接種菌の増殖を同様にパック別で比較した。Air パックでは当初  $10^3$  であったものが 1 日目には  $10^8$  近くまで、また 2 日目には  $10^9$  まで増殖し、以後 5 日目までそのままの菌数で推移した。

これに対して、Gas パックの場合には Air パックに比べ、貯蔵期間を通してわずかながら菌数は少なかったものの、貯蔵 1 日目には  $10^7$  まで、また 2 日目以降 5 日目までは  $10^8$  のまま推移した。

これらの結果から、魚肉に *E. coli* を接種した場合の総生菌数、接種菌数とも貯蔵期間中 Air パックに比べて Gas パックの方が少なく、ともにわずかながらガス置換による菌の増殖抑制効果が認められた。

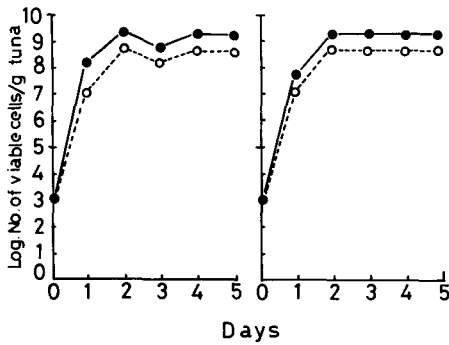


Fig. 1. Total viable cells (left) and growth of *E. coli* (right) in fish fillets stored at 25°C under modified atmospheres (—●—: Air pack, —○—: Gas pack).

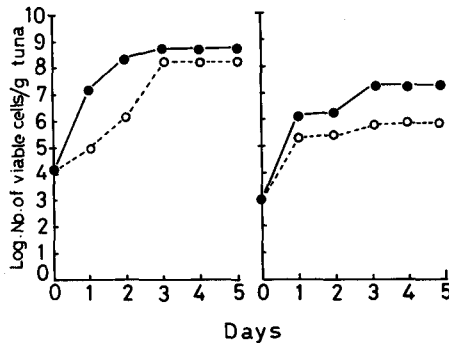


Fig. 2. Total viable cells (left) and growth of *S. aureus* (right) in fish fillets stored at 25°C under modified atmospheres. Symbols are the same as in Fig. 1.

つぎに、*S. aureus* を接種した場合の両パック間での増殖菌数を Fig. 2 に示す。総生菌数の場合、Air パックでは最初  $10^4$  であったものが貯蔵 1 日目には  $10^7$  まで、2 日目から 5 日目までは  $10^8$  のまま推移した。

しかし、Gas パックの場合には Air パックに比べて特に 3 日目まで明らかに菌の増殖遅延が観察され、3 日以降もわずかながら菌の増殖を抑制した。

一方、接種菌の増殖を両パック間で比較してみると、Air パックでは最初  $10^3$  であったものが、1 日目から 2 日目にかけて  $10^6$  まで、3 日以降は  $10^7$  まで増殖が認められた。しかし、Gas パックでは貯蔵 5 日目でも  $10^6$  近くまで増殖したにとどまり、Gas パックで菌の増殖抑制が認められた。

以上の結果から、*S. aureus* の場合においても貯蔵期間中、総生菌数、接種菌数とも Air パックに比べて Gas パックで少なく、本菌においても弱いながらガス置換による菌の増殖抑制効果が観察された。

ついで、嫌気性菌である *C. perfringens* を接種した場合のバック別嫌気性菌数と接種菌数の違いについて検討した。Fig. 3 に示すように、嫌気性菌数は Air パックで当初  $10^3$  であったものが、1 日目には  $10^5$  まで、2 日目には  $10^8$  まで増殖が認められ、以後 5 日目までこのまま推移した。また Gas パックにおいても 2 日目に Air パックより菌数がやや少なかったものの、ほとんど違いは認められなかった。

これを接種菌について比較しても、やはり 2 日目の両パック間で菌数に違いが認められたものの、ともに貯蔵 5 日目には  $10^7$  まで増殖した。この結果、*C. perfringens* の場合には嫌気性菌数、接

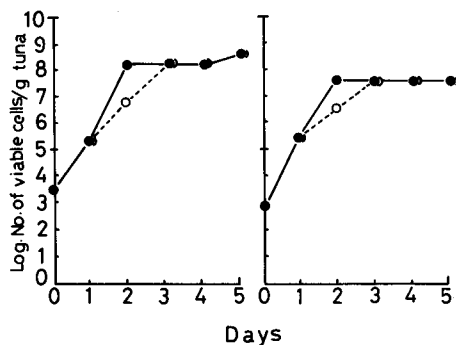


Fig. 3. Anaerobic bacterial cells (left) and growth of *C. perfringens* (right) in fish fillets stored at 25°C under modified atmospheres. Symbols are the same as in Fig. 1.

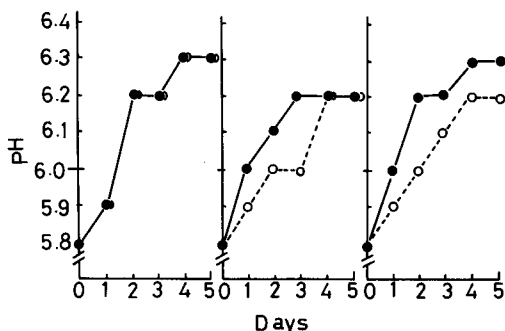


Fig. 4. pH values of fish fillets stored at 25°C under modified atmospheres. *E. coli* (left), *S. aureus* (center), *C. perfringens* (right). Symbols are the same as in Fig. 1.

種菌数ともにガス置換による菌の増殖抑制効果はみられなかった。

#### 試料の pH 変化

菌種別、バック別試料の pH 値を経日的に測定した結果を Fig. 4 に示す。貯蔵 0 日目の試料の pH 値はいずれも 5.8 であったが、*E. coli* を接種した場合、貯蔵 5 日目には両バックとも 6.3 に達した。しかし、貯蔵期間中両バック間の pH 値にほとんど差はみられなかった。一方、*S. aureus* を接種した場合の試料では 2 日目と 3 日目の Gas バックで低値を示したが、5 日目には両バックとも 6.2 まで上昇した。これらに対して *C. perfringens* の場合、貯蔵期間中 Air バックに比べて Gas バック試料の pH 値が低値で推移した。

これらの結果、菌種別、バック別で pH 値のパターンに多少相違が確認されたものの、際立った大きな変化はみられず、Air バック、Gas バックともに貯蔵期間中 0.4~0.5 の上昇にとどまった。

#### 分離株の増殖菌数、芽胞数および毒素量

菌種別、バック別分離株総計 27 株について毒素の定量を行うとともにその際の増殖菌数も測定した。なお *C. perfringens* については芽胞数の算定も行い、得られたこれらの結果を一括して Table 1 に示した。

*E. coli* を接種した試料の 0 日目および 5 日目の Air バックと Gas バック分離株の計 9 株について検討した結果、いずれも増殖菌数において  $10^9$ /ml、毒素量においては 5 ng/ml であって、バック間における両者の値に差は認められなかった。*S. aureus* においても供試菌 9 株の増殖菌数はす

Table 1. Viable cell counts, total spore counts and toxin production of isolates from the Air and Gas packed samples.

	Strain No.	<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>		<i>C. perfringens</i>		
		Viable cell counts (ml)	Toxin cont. (ng/ml)	Viable cell counts (ml)	Toxin cont. (ng/ml)	Viable cell counts (ml) [Total spore counts (ml)]	Toxin cont. (ng/ml)	
0 day	1	$4.3 \times 10^9$	5	$3.2 \times 10^9$	1,000	$6.2 \times 10^7$ [ $5.8 \times 10^6$ ]	10,000	
	2	$3.8 \times 10^9$	5	$2.6 \times 10^9$	1,000	$2.9 \times 10^7$ [ $4.7 \times 10^6$ ]	10,000	
	3	$6.2 \times 10^9$	5	$4.1 \times 10^9$	1,000	$5.2 \times 10^7$ [ $7.3 \times 10^6$ ]	10,000	
5 days	Air pack	1	$1.9 \times 10^9$	5	$2.5 \times 10^9$	1,000	$1.7 \times 10^7$ [ $3.7 \times 10^6$ ]	10,000
		2	$2.6 \times 10^9$	5	$2.1 \times 10^9$	1,000	$2.1 \times 10^7$ [ $3.8 \times 10^6$ ]	10,000
		3	$3.1 \times 10^9$	5	$3.9 \times 10^9$	1,000	$2.3 \times 10^7$ [ $3.6 \times 10^6$ ]	10,000
	Gas pack	1	$4.2 \times 10^9$	5	$3.4 \times 10^9$	1,000	$3.7 \times 10^7$ [ $2.9 \times 10^6$ ]	10,000
		2	$3.5 \times 10^9$	5	$5.6 \times 10^9$	1,000	$4.1 \times 10^7$ [ $3.0 \times 10^6$ ]	10,000
		3	$3.8 \times 10^9$	5	$3.2 \times 10^9$	1,000	$3.2 \times 10^7$ [ $3.3 \times 10^6$ ]	10,000

べて  $10^9$ /ml, 毒素量においても全菌株が 1,000 ng/ml の値を示し, 本菌の場合もパック別による両者の値に違いはみられなかった。同様に検討した *C. perfringens* の場合においても供試菌のすべてが増殖菌数で  $10^7$ /ml, 芽胞数で  $10^6$ /ml, また産生毒素量では 10,000 ng/ml であって, パック別, 分離株別における 3 者の値に相違はみられなかった。

以上の結果, 同一菌種の Air パックと Gas パック分離株においては増殖菌数, 毒素量のいずれにおいても違いはみられなかった。

### 考 察

魚介類などを生鮮食品の新たな流通システムとして既に実用段階に入っている MA 貯蔵も, 一歩その取り扱いを間違えばヒトの食中毒につながる危険性がある。特に注意しなければならないのは食中毒細菌の汚染や増殖にともなうヒトの食中毒である。これまで不活性ガスとの関係で検討されている食中毒原因菌の主なもの *E. coli*<sup>8-11,17)</sup>, *S. aureus*<sup>15-19)</sup> および *C. perfringens*<sup>18,20)</sup> の他に, *Salmonella typhimurium*<sup>11,12,18)</sup>, *Campylobacter jejuni*<sup>13,26)</sup>, *Yersinia enterocolitica*<sup>9,14,17)</sup>, *Clostridium botulinum*<sup>21-25)</sup>, *Bacillus cereus*<sup>8,17)</sup>, *Aeromonas hydrophila*<sup>17)</sup> などである。

ただし, その際のガスの種類, 濃度や混合比, また供試菌の接種試料, 試料の貯蔵温度や期間などは種々様々であって一定しない。

一般にこの種の研究では, 炭酸ガスを中心とした低温貯蔵下でのものが多いが, Gas パック食品

と云う性質上、不測の事態を考慮した研究も、原因究明やそれらの防止にとって必要と考えられる。

そこで、本報では保蔵上の不備を想定したガス置換魚肉の安全性を接種食中毒菌の増殖とそれらの毒素産生能との関連性から検討した。

この場合、一般に食品の貯蔵温度とされる4°Cでは食中毒細菌はほとんど増殖しないこと、また常温貯蔵下でのGasパック食品の安全性の確認のためには高温貯蔵での検討も当然必要であると考え、あえて25°Cと云う温度を採用した。また、我々が一部の魚介類で検討した結果では、3種混合ガス(CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>/O<sub>2</sub> 40:30:30)よりも2種混合ガス(CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> 60:40)の方が貯蔵効果が良いと判断し(未発表)、本研究においては2種混合ガスを用いた。

*E. coli* を接種した場合のAirパックとGasパック魚肉中の総生菌数と接種菌数の消長について検討した結果、貯蔵期間中ほとんど相違は認められなかったものの、パック別ではGasパックの方がAirパックより両菌数ともわずかに少なく、ガスによる菌の増殖抑制効果が認められた。しかしながら、本条件下ではその増殖抑制効果は顕著でなかったことから、ガス置換食品における常温放置の危険性が明らかになった。

Eklund<sup>8)</sup> および Eklund ら<sup>9)</sup> は培地を用いた微量培養システムにより、5~80%のCO<sub>2</sub>が*E. coli*の増殖を阻止すること、またCO<sub>2</sub>環境下において低温(2°Cと6°C)で同菌の増殖を抑制し、室温(20°C)の5日後でもAirの場合の菌数の50%以下であったと報告した。同様に*E. coli*の増殖に対するCO<sub>2</sub>の影響を複合培地と合成培地で調べたMoriら<sup>10)</sup>は、64%と62%のCO<sub>2</sub>濃度においてそれぞれ当初の菌数の17%と21%増殖が抑制されたと報告した。これに対してGill and Delacy<sup>11)</sup>はCO<sub>2</sub>パック牛肉に接種された本菌の増殖を6種類の温度を用いて検討したが、特に高温(20°Cと30°C)貯蔵では本菌の増殖は阻止されなかったとしている。しかしながら、我々の結果においては、わずかながら本菌の増殖抑制効果が認められた。

*S. aureus* の場合においては貯蔵期間中*E. coli*に比べて、総生菌数、接種菌数ともに少なく、また両者ともGasパックの方がAirパックに比べて菌数が少なかった点は同様であった。特に、総生菌数では貯蔵2日目まで、また接種菌数にあっては貯蔵期間中*E. coli*よりもガス置換による菌数の増大は小さかったが、この原因については不明である。

しかし、本菌においてもガス置換による菌の増殖抑制が観察されたが、その効果は*E. coli*同様顕著でなかったことから、本貯蔵条件下ではGasパック食品の安全性は期待出来ないことが判明した。

Hayら<sup>15)</sup>はCO<sub>2</sub>充填培地の32°C培養において本菌は貯蔵3日目には最初の菌数と同じであったが、13日目には顕著に減少したと述べている。Silliker and Wolfe<sup>16)</sup>は60%のCO<sub>2</sub>が10°Cに貯蔵されたウシ挽肉中の*S. aureus*の増殖を抑制したが、20°Cではこのような結果は得られなかったと報告している。Hintlian and Hotchkiss<sup>18)</sup>は*S. aureus*を接種した調理牛肉を12.8°Cにおいた場合、75%CO<sub>2</sub>:15%N<sub>2</sub>:10%O<sub>2</sub>のガス組成が本菌の増殖阻止に有効であったと述べている。

*C. perfringens* は偏性嫌気性細菌であるにもかかわらず、Airパックでも菌の増殖が確認された。これは、貯蔵中に本菌の増殖に適した環境がパック内で形成されたか、パック内の魚肉が嫌気性細菌の発育にとって良好な培地の役目を果たしたかのいずれかによるものと思われる。

*C. perfringens* の増殖とガス置換の関係について調べたParekh and Solberg<sup>20)</sup>は100%のCO<sub>2</sub>で置換された培地と100%のN<sub>2</sub>で置換された培地のいずれにおいても本菌の増殖は阻止されなかったと報告したが、この原因として培養温度(43°C)がこれらのガスの溶解度に影響したためと考えられる。先のHintlian and Hochkiss<sup>18)</sup>はさらにガス置換調理牛肉中での本菌の増殖についても調べているが、結果は*S. aureus*の場合と同様であった。またO<sub>2</sub>の存在が本菌の増殖阻止の

大きな要因であるとも述べている。ただし、この場合も 26.7°C の貯蔵温度では増殖に影響がなかったとしている。なお、これらの報告にみられる供試菌はすべてが食中毒からの分離株ではない。

腐敗細菌などの増殖抑制効果に働く CO<sub>2</sub> の本態としては、炭酸などの酸性物質の形成による pH の低下、脱炭酸酵素の働きを阻害、細菌の細胞透過性の変化などが考えられている<sup>30)</sup>。このうち、pH との関係がしばしば論議されているので、本研究においても供試菌の増殖パターンと pH 変化の関係を菌種別、バック別に検討したが、必ずしも両者の間に明確な関連性は認められなかった。また、本研究においては、Hays ら<sup>15)</sup> が、*S. aureus* の増殖試験において観察した CO<sub>2</sub> による培地の急激な pH 値の低下とそれに伴う菌数減少などのような結果は得られなかった。逆に菌種、バックに関係なく pH 値の上昇が観察され<sup>6)</sup>、最終的には 0.4~0.5 の範囲で上昇したことから、特に菌の増殖パターンが pH 値の変動に原因したとは考えられなかった。最後に、ガス置換と試料接種菌の毒素産生能との関係性を貯蔵 0 日と 5 日目のバック別試料分離株について検討した。しかし、ガス置換の有無や菌種の別なく、これらの株はすべて当該毒素を産生し、ガス置換が供試食中毒細菌の毒素産生能に影響するという結果は得られなかった。

食品のガス置換と接種食中毒細菌の毒素産生能との関係については特に *S. aureus* や *C. botulinum* などで検討されている以外にほとんど報告はみられない。

このうち Post ら<sup>19)</sup> は *S. aureus* を接種したベーコン様製品を 26°C で貯蔵した N<sub>2</sub> バック試料においては毒素は産生されなかったと述べた。

これに対して Lindroth and Genigeorgis<sup>24)</sup> は *C. botulinum* 芽胞を接種したメバル属の魚を 100% と 70% のガス置換下で 5 種類の温度 (4°C~30°C) で貯蔵した時、ガス置換試料のほとんどから毒素が検出され、ガス置換が本菌の毒素産生能に影響しないことを示した。

一方、Post ら<sup>23)</sup> はさらにタラとカレイの切り身に *C. botulinum* 芽胞を接種し、4 種類の温度 (4°C~26°C) で貯蔵した場合の種々なガス組成での毒素産生能について検討し、温度に関係なく CO<sub>2</sub> や N<sub>2</sub> の存在下でも毒素の産生がみられたと報告している。Stier ら<sup>21)</sup>、Eklund<sup>22)</sup> もそれぞれサケの加工品や切り身を用いて 60% CO<sub>2</sub> 存在下での同菌の毒素産生能を調べ、前者の結果では 22.2°C で、また後者も 10°C に貯蔵した試料からともに毒素を検出したが、低温下 (4.4°C 或いは 5.0°C) ではともに検出されなかったとしている。

しかしながら、これらはいずれも食品からの検出成績であって、これをガス置換後の試料分離株について検討した著者らの成績と同等に比較することは不可能である。

本研究では Gas バック食品の常温下での取り扱いや、放置の可能性を考え、あえて 25°C という苛酷な温度条件下におけるガス置換魚肉の貯蔵効果について検討した。しかし、この条件下ではガス置換処理魚肉中の食中毒細菌の増殖を完全に阻止することは出来なかった。それゆえガス置換食品と云えども、高温放置は食中毒細菌の増殖や毒素の産生を許す危険性の高いことが本研究から明らかになった。併せて、ガス置換食品における食中毒の予防には腐敗細菌同様、低温管理が必要であると結論づけられた。

## 要 約

Air バックと混合 Gas バック (CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> 60:40) 内のメバチマグロ肉に 3 種類の毒素産生食中毒細菌を接種した場合の、これらの増殖パターンと試料分離株の毒素産生能について検討した。*E. coli* では貯蔵 5 日目の Air バックで 10<sup>9</sup> まで、また *S. aureus* では 10<sup>7</sup> まで菌の増殖が認められたが、Gas バックではそれぞれ 10<sup>8</sup> と 10<sup>6</sup> 近くまで増殖したにとどまり、ともにガス置換による弱い菌の増殖抑制効果が観察された。また、これらを接種した場合の試料中の総生菌数においても Gas

パックの方が少なく、ガスによる弱い菌の増殖抑制効果が認められた。しかし、*C. perfringens* においては接種菌数、総生菌数ともに両パック間で差は認められず、ガス置換による菌の増殖抑制効果もみられなかった。

ついで、貯蔵0日目と5日目のパック別試料分離株について毒素産生能を調べた結果、供試菌のすべてが当該毒素を産生し、また同一菌種における菌株別、パック別の産生量においても差は認められなかった。以上の成績から、ガス置換食品による食中毒の予防にとってこれらの低温管理が必要であることが本研究によって明らかになった。

## 謝 辞

本研究を行うにあたりレトルトパウチの提供を頂いた東洋製缶(株) 増尾英明技術部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) Gill, C.O. and Tan, K.H. (1979). Effect of carbon dioxide on growth of *Pseudomonas fluorescens*. *Appl. Environ. Microbiol.* **38**, 237-240.
- 3) Brown, W.D., Albright, M., Watts, D.A., Heyer, B., Spruce, B. and Price, R.J. (1980). Modified atmosphere storage of rock fish (*Sebastes miniatus*) and silver salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *J. Food Sci.* **45**, 93-96.
- 4) Gill, C.O. and Tan, K.H. (1980). Effect of carbon dioxide on growth of meat spoilage bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* **39**, 317-319.
- 5) Gray, R.J.H., Hoover, D.G. and Muir, A.M. (1983). Attenuation of microbial growth on modified atmosphere-packaged fish. *J. Food Prot.* **46**, 610-613.
- 6) 藤井建夫・平山昌広・奥積昌世・安田松夫・西野 甫・横山理雄 (1989). 二酸化炭素・窒素混合ガス置換包装による生鮮マイワシのシェルフライフ. 日水誌. **55**, 1971-1975.
- 7) 岡 重美・西沢洋一・高間浩蔵 (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. 北海道大学水産学部研究彙報. **40**, 138-146.
- 8) Eklund, T. (1984). The effect of carbon dioxide on bacterial growth and on uptake processes in bacterial membrane vesicles. *Int. J. Food Microbiol.* **1**, 179-185.
- 9) Eklund, T. and Jarmund, T. (1983). Microculture model studies on the effect of various gas atmospheres on microbial growth at different temperatures. *J. Appl. Bacteriol.* **55**, 119-125.
- 10) Mori, H., Kobayashi, T. and Shimizu, S. (1983). Effect of carbon dioxide on growth of microorganisms in fed-batch cultures. *J. Ferment. Technol.* **61**, 211-213.
- 11) Gill, C.O. and Delacy, K.M. (1991). Growth of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* on high-pH beef packed under vacuum or carbon dioxide. *Int. J. Food Microbiol.* **13**, 21-30.
- 12) Ingham, S.C., Alford, R.A. and Mccown, A.P. (1990). Comparative growth rates of *Salmonella typhimurium* and *Pseudomonas fragi* on cooked crab meat stored under air and modified atmosphere. *J. Food Prot.* **53**, 566-567, 625.
- 13) Phebus, R.K., Draughon, F.A. and Mount, J.R. (1991). Survival of *Campylobacter jejuni* in modified atmosphere packaged turkey roll. *J. Food Prot.* **54**, 194-199.
- 14) Rowe, M.T. (1988). The effect of carbon dioxide on the growth of *Yersinia enterocolitica* in a simulated milk medium. *Lett. Appl. Microbiol.* **7**, 135-137.
- 15) Hays, G.L., Burroughs, J.D. and Warner, R.C. (1959). Microbiological aspects of pressure packaged foods. II. The effect of various gases. *Food Technol.* **10**, 567-570.
- 16) Silliker, J.H. and Wolfe, S.K. (1980). Microbiological safety considerations in controlled-atmosphere storage of meats. *Food Technol.* **34**, 59-63.
- 17) Molin, G. (1983). The resistance to carbon dioxide of some food related bacteria. *Eur. J.*

- Appl. Microbiol. Biotechnol.* 18, 214-217.
- 18) Hintlian, C.B. and Hotchkiss, J.H. (1987). Comparative growth of spoilage and pathogenic organisms on modified atmosphere-packaged cooked beef. *J. Food Prot.* 50, 218-223.
  - 19) Post, L.S., Lee, D.A., Solberg, M., Furgang, D. and Specchio, J. (1988). Development of Staphylococcal toxin and sensory deterioration during storage of nitrogen and vacuum packaged nitrite-free bacon-like product. *J. Food Sci.* 53, 383-387.
  - 20) Parekh, K.G. and Solberg, M. (1970). Comparative growth of *Clostridium perfringens* in carbon dioxide and nitrogen atmospheres. *J. Food Sci.* 35, 156-159.
  - 21) Stier, R.F., Bell, L., Ito, K.A., Shafer, B.D., Brown, L.A., Seeger, M.L., Allen, B.H., Porcuna, M.N. and Lerke, P.A. (1981). Effect of modified atmosphere storage on *C. botulinum* toxigenesis and the spoilage microflora of salmon filets. *J. Food Sci.* 46, 1639-1642.
  - 22) Eklund, M.W. (1982). Significance of *Clostridium botulinum* in fishery products preserved short of sterilization. *Food Technol.* 36, 107-112, 115.
  - 23) Post, L.S., Lee, D.A., Solberg, M., Furgang, D., Specchio, J. and Graham, C. (1985). Development of botulinal toxin and sensory deterioration during storage of vacuum and modified atmosphere packaged fish filets. *J. Food Sci.* 50, 990-996.
  - 24) Lindroth, S.E. and Genigeorgis, C.A. (1986). Probability of growth and toxin production by nonproteolytic *Clostridium botulinum* in rockfish stored under modified atmospheres. *Int. J. Food Microbiol.* 3, 167-181.
  - 25) Garcia, G.W., Genigeorgis, C. and Lindroth, S. (1987). Risk of growth and toxin production by *Clostridium botulinum* nonproteolytic types B, E, and F in salmon filets stored under modified atmospheres at low and abused temperatures. *J. Food Prot.* 50, 330-336.
  - 26) 伊藤 武・高野伊知郎・高橋正樹・富岡芳彦・高橋栄一 (1985). 真空包装およびガス充填包装による生鮮食肉中の *Campylobacter jejuni* の生存について. *食品と微生物*, 2, 97-101.
  - 27) Evans, D.J., Evans, J.R. D.G. and Gorbach, S.L. (1973). Production of vascular permeability factor by enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated from man. *Infect. Immun.* 8, 725-730.
  - 28) Duncan, C.L. and Strong, D.H. (1968). Improved medium for sporulation of *Clostridium perfringens*. *Appl. Microbiol.* 16, 82-89.
  - 29) 岡 重美 (1977). ウェルシュ菌食中毒株の耐熱性について. *日水誌*, 43, 577-585.
  - 30) 金子精一 (1982). ガス組成からみた微生物の消長. *ジャパンフードサイエンス*, 11, 24-33.