

アサマNEWS

パートナ

2009-09 No. 132

バイキン博士の衛生雑談

食と微生物

25. 予測微生物学ー1

1. 予測微生物学

食品中の微生物が、今から1日、2日後にどのくらい増えるのか、いつ腐敗に達するのか、さらに、その中に病原菌がいた場合、危険性はどのように高くなっていくのか、というようなことは、食品を扱う上でつねにおこる疑問である。

予測微生物学は、さまざまな条件の下で、ある微生物が、時間を追ってどのように増殖するのか、あるいは逆に死滅するのか、という動きをコンピューターによって予測しようとする研究分野である。

骨格には数学があり、少ない紙面で解説することは難しい。ここでは、できるだけ数式を使わずに内容を説明し、ついで、実用化されているコンピュータープログラムについて、具体的な使い方を説明する。

さらに詳しい説明は、文献1を見てください。

2. 予測微生物学の発達

微生物の増殖・死滅を数値的に予測するという試みは古くから行われている。しかし、この学問が大きな展開を見せたのは1970年代にオーストラリアのタスマニア大学で数人の研究者が予測微生物学の基礎になる多くの研究を行ったことがきっかけである。

1980年代になるとアメリカ、イギリス、ヨーロッパ、オーストラリアで予測微生物学は目覚ましい発展を遂げるようになった。その背景にはもちろんコンピューター、とくにパソコンの普及と性能の飛躍的な向上がある。これによって大量のデータの解析、複雑なモデルの検証が出来るようになり、誰でもが使いやすいプログラムを組むことも容易になった。

ヨーロッパ、イギリスでは多くの国の政府機関、民間会社による共同研究が組織され、また、アメリカでも農務省(USDA)を中心に多くの研究機関で研究が行われている。これらの研究成果は、後に述べるような、データベース、コンピュータープログラムとして公開され、企業・研究機関の開発・研究に役立てられている。

3. 予測の内容

食品に関係する多くの人たちが知りたい情報は、微生物の増殖と死滅、とくに異なる温度・pH・水分活性、あるいは添加物の存在など、さまざまな条件の下での増殖・死滅の様子だろう。また、微生物の増殖に伴う腐敗の発生や毒素の生産も重要な情報になる。

予測微生物学も始めは微生物の増殖・死滅に最大の関心が置かれていたが、しだいに増殖と死滅の境界、あるいは食品が食べられる限界という、食品産業にとって切実な問題をも、予測の範囲に含めるようになった。

4. 増殖の予測モデル

細菌の増殖が図1. にみるように増殖誘導期(ラグ期 lag phase, ラグタイム, lag time)、対数増殖期、定常期、死滅期からなることはよく知られている。

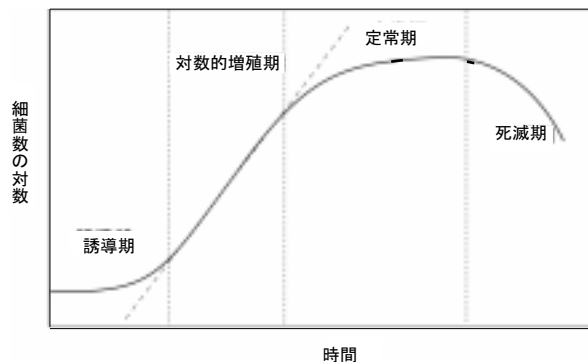


図1 細菌の増殖曲線

対数増殖期だけであれば、予測は容易で、ある環境条件での増殖率が分かれば、時間毎の菌数は簡単に計算できる。しかし実際には対数増殖期の前に誘導期(ラグタイム)があり、後には定常期へのなだらかな移行を伴う。

ラグタイムの取り扱いが研究者たちを悩ませてきた。一般的には増殖の遅いときにはラグも長くなり、速いときには短くなる。したがって、“ラグ/世代時間”を一定と見なすことができる。しかし、実際にはたとえばpHがこの関係を乱すことも知られており、また、菌の履歴もラグタイムに影響するので、“ラグ/世代時間”は厳密には一定ではない。

微生物が増殖を始めるときには、休息から成長へスイッチを切り替える。この切り替えの中で、成長と引き続く増殖のために必要な物質を細胞内で合成しなければならない。このような考えを増殖モデルに取り入れることもできる。

誘導期を經過し指数的な増殖を始めた微生物はやがて増殖のスピードを落とし、しだいに増殖と死滅が釣り合う定常期に入り、やがてはそれを過ぎて死滅の過程をたどる。

増殖の速度が落ちるのは菌の密度が高くなるに伴って、栄養や酸素(好気性細菌・通性嫌気性細菌では)が乏しくなり、また、微生物のつくる代謝産物が微生物自身の増殖を抑えるためでもある。このような抑制作用は当然ながら菌の密度が高くなるにつれて大きくなる。この考え方は多くのモデルに取り入れられている(ロジスティックモデル、ゴンペルツモデルなど)。

5. さまざまな増殖予測モデル

増殖を近似するモデルとして古くから用いられてきたのはロジスティックモデルと呼ばれるものである。このモデルは微生物だけでなく(実際にはそれより先に)、人口増加、動物の増殖などの動態を表すために使われてきた。

一方同じような考え方に基づくゴンペルツ(Gompertz)

のモデルがあり、こちらも人口の動態などのモデルとして使われてきた。

ロジスティックモデル、ゴンペルツモデルは増殖の頭打ちは比較的よく表現できるが、微生物数を対数であらわした時に、図1にみられるような誘導期を示すことができない。この欠陥を補うモデル（改変ゴンペルツモデル）がGibsonら（1987）によって発表された。

さらに洗練された増殖予測モデルも発表されている。その中で、実験データと最もよく適合すると言われているのはBaranyi（1993）らのモデルであり、現在では多くの予測ソフトにもこのモデルが使われている。

6. 増殖に及ぼす環境要因の影響

微生物の増殖に影響するのはまず温度、ついでpH、水分活性、抗菌物質などである。これらの要因について、それぞれ数学的な取り扱いに基づく予測モデルを開発しなければならない。

a) 温度

温度を変えることによって微生物の増殖率がどのように変わるかについて、きわめて簡単な関係がRatkowskyら（1982）によって提案された。

微生物の増殖率と温度との関係は、増殖率を k とし、温度（絶対温度）を T とすると、

$$\sqrt{k} = b(T - T_{\min})$$

のように表せることを、かれらは提唱した。ここで b は常数、 $T_{\min}$ は細菌の増殖率がゼロになる温度（すなわち増殖の下限）を示す。

かれらの式は異なる温度（たとえば5℃、10℃、15℃…）と増殖率0の温度（たとえば -10℃）との差が、増殖率の平方根に比例するというもので、平方根モデルとも呼ばれている。

図2に示したのは、その一例で、縦軸に $\sqrt{k}$ 、横軸に温度（絶対温度）をとり、シュードモナス属の低温細菌について得られた増殖データをプロットすると良い直線関係が得られている。

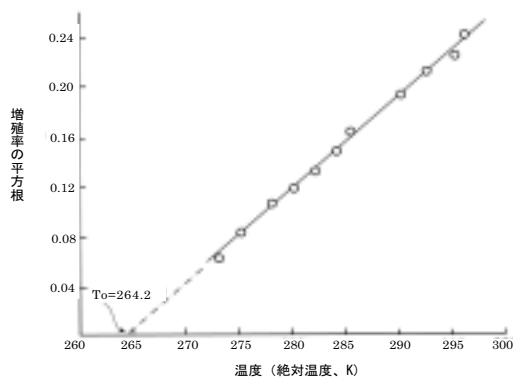


図2 低温細菌の増殖率と温度との関係

このような関係式を使えば、ある一つの温度で得られた増殖率から、さまざまな温度での増殖率を計算することができる。

この式はかれらがテストした多くの菌株についてのデータによく適合し、また、その後の研究者たちによっても性格であることが認められている。

b) pH、水分活性など

上のRatkowsky たちのモデル（平方根モデルともよばれている）は、同じような形で、微生物の増殖にたいする A_w と温度との関係を含めたモデルに拡張できる (McMeekin et al., 1987)。それによると、温度 (T)、 A_w と増殖率 (k) との関係は

$$\sqrt{k} = d\sqrt{(a_w - a_{w\min})} (T - T_{\min})$$

上の式のようになる。ただし d は常数、また、 $a_{w\min}$ をその微生物の増殖がおこらないと推定される水分活性を

意味する。

さらに、pH、温度と増殖率の関係はほぼ似たような形で、

$$\sqrt{k} = e\sqrt{(pH - pH_{\min})} (T - T_{\min})$$

のようになる (Adams et al., 1991)。

$pH_{\min}$ はその微生物の増殖がおこらないと推定できる pH である。

McMeekin ら (McMeekin et al., 1992) は、(5.3, 5.4) をまとめて、増殖率に対する温度、pH、水分活性の三者の影響を表す考えられるとしている。

$$\sqrt{k} = f\sqrt{(a_w - a_{w\min})} (pH - pH_{\min}) (T - T_{\min})$$

c) その他の環境要因

微生物の増殖あるいは死滅にたいする抗菌物質（亜硝酸、有機酸、ナイシンなどの保存料）、酸素の有無の影響などについても、それぞれ多くの研究があり、それらのデータに基づいて予測微生物学の観点からの数式化が試みられている。

これらの結果の多くが次回に述べるコンピューターソフトのなかに取り入れられている。

7. 死滅—増殖の境界

さまざまな条件によって、微生物が増殖を抑えられ、ついには増殖が全くできなくなる。条件をどこまで厳しくすれば（たとえば温度・pHをどこまで低くすれば、ある細菌が増殖しなくなるか、ということは現実的には大きな問題になる。

これについても、Ratkowsky and Ross（1995）は、異なる条件での微生物の増殖を、増殖の確率に置き換え、増殖するかしないかの境界を判定する方式を提案した。

最近、小関（文献 7）は、ComBaseに集められたデータをもとに、異なる条件で、ある細菌が増殖したか、しなかったかを調べ、増殖-非増殖の境界をもとめ、データベース（MRV）をつくっている。これについては次回さらに詳しく説明する。

8. 食品の保存限界

食品の保存限界を定めることは、食品の製造・流通に関わるおおきな問題である。食品の温度履歴、はじめの細菌数などから、保存できる残りの日数・時間を予測する数式が提案され、これに基づくソフトも開発されている。これらについても、次回で説明する。

（清水 潮 元東京大学・広島大学教授）

参考文献

予測微生物学の解説は数多く出されている。ここには、その中から代表的なものをいくつか挙げる。

また、タスマニア大学の研究者によって、著書「予測微生物学、Predictive Microbiology — Theory and application」が1993年に出されている。

これらの他に、本文で引用した文献は（文献8）以下に並べた。

- 1) 清水潮：食品微生物の科学 第二版、幸書房、pp.267、2005。
- 2) McMeekin, T.A., J.N.Olley, T.Ross, and D. A. Ratkowsky: Predictive Microbiology — Theory and application, pp.340, Research Studies Press, Taunton, England, 1993.
- 3) Baranyi, J. and T.A.Roberts: A dynamic approach to predicting bacteria growth food. Int.J. Food Microbiol., 23: 277-294, 1994.
- 4) J. Baranyi and T.A. Roberts: Predictive Microbiology - Quantitative Microbial Ecology. Culture Oxoid- March 200
- 5) 藤川浩: 予測食品微生物学とその現状、防衛防衛、26: 423-437, 1998.
- 6) 小関成樹: 予測微生物学の最新の展開。日本食品微生物学会誌 26:1 2009
- 7) Koseki, S.: Microbial Responses Viewer (MRV): A new ComBase-derived database of microbial responses to food environments. Int. J.
- 8) Adams, M.R., C. L. Little and M. C. Easter: J. appl Bacteriol., 71: 65-71, 1991.
- 9) Baranyi, J., T.A. Roberts and P. McClure: Food Microbiol., 10: 43-59, 1993
- 10) Gibson, A. M., N. Bratchell and T. A. Roberts: J. appl. Bacteriol., 62: 479-49 1987.
- 11) McMeekin, T. A. et al.: N. appl. Bacteriol., 62: 543-550, 1987.
- 12) McMeekin, T. A., T. Ross, and J. Olley 1992. Int. J. Food Microbiol. 15: 13-32.
- 13) Ratkowsky, D. A. et al., 1982. J. Bacteriol. 149: 1-5.
- 14) Ratkowsky, D. A. and T. Ross. 1995. Lett. Appl. Microbiol. 20: 29-33.

食 品 加 工 と 微 生 物

その46. 魚の鮮度の考え方とその指標 (3)

魚介類の多様な鮮度判定法

魚介類の鮮度判定法はこれまでに種々の方法が提案されているが、魚介類は上にも述べてきたように種類が多く、鮮度低下の様相も複雑であるので、すべての魚介類の鮮度を一律に判定することはできないであろう。また鮮度のとらえ方も一律ではないので、目的に適した方法を選択して用いることが重要である。

これまでに提案されている主な鮮度判定法は、方法別に、①官能的方法、②化学的方法、③物理的方法、④細菌学的方法に分けることができる。本稿ではこれらを、①総合的な鮮度の判定法、②生鮮度（生化学的鮮度）の判定法、③初期腐敗の判定法（細菌学的鮮度）の判定法の3つに分けて、話を進めたい。

総合的な鮮度の判定法（官能検査）

刺身のように生で食べる鮮魚の評価は、本来、口に入れたときの歯ごたえや味、においなどによる評価が重要である。官能検査は味覚や嗅覚、視覚、触覚など、人間の感覚による鮮度の判定法で、魚市場や鮮魚売り場などで日常的に用いられている方法であり、高価な機器などを要しないという点で最も簡便な方法といえるが、においや味のような検査項目については機器分析をはるかに上回る感度を示すことがある。また総合的な評価が得られるので、品質劣化の要因が特定できない場合や、異味、異臭を判別するような場合にはとくに有効である。

魚介類の官能評価のおもな検査項目と新鮮時および腐敗時の評価基準を表1に示す。官能評価は一般に項目だけの評価でなく、幾つかの項目から総合的に判断することが多い。官能評価の一例として、図1に含気包装およびガス置換包装をしたマイワシを5℃に貯蔵した場合の検査結果を示す。味、臭気、色の検査項目のうち、最も早く

項目	部位	評 価	
		新 鮮	初期腐敗
外観	体表	みずみずしい光沢がある。鱗がしっかりと付いている。	光沢がなくなる。鱗の脱落が多い。
	眼	混濁がない。血液の浸出が少ない。	白く混濁し、眼窩の中へ落ち込む。血液の浸出が多い。
	鰓	鮮やかな桃赤色をしている（米蕨魚では脱色されていることがある）。	周辺から灰色を帯びようになる。しだいに暗緑灰色になる。
匂い	腹部	腹切れがない。	腹部が切れて内臓が露出したり、肛門から腸内容物が出てくるようになる。
	全体	異臭を感じない（魚種によっては特有の匂いをもつものがある）。	不快なまぐさ臭がある。
	鰓	ほとんど匂いがない。	不快臭を帯びようになる。
硬さ	背・尾部	指圧をかけると弾力を感じられる。	弾力が乏しくなる。
	腹部	内臓がしっかりといて弾力がある。	軟化しはじめる。指圧をかけると肛門から腸内容物が容易に出るよう
粘質物	体表		

表1. 鮮魚の官能評価における主な検査項目と評価基準（須山・鴻巣）

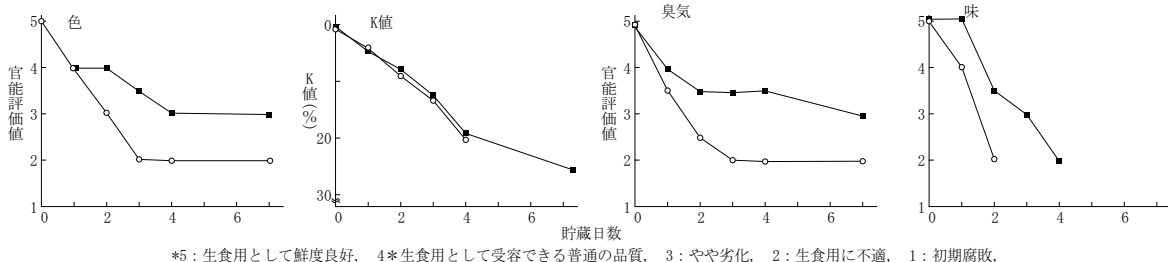


図1. 含気包装（O—O）およびガス置換包装（■—■）したマイワシの官能評価値*（色、味、臭気）とK値の変化（藤井ら）

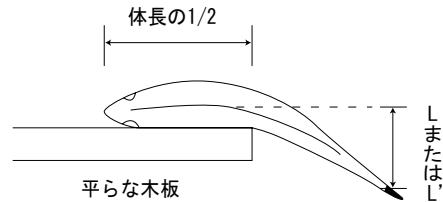


図2 硬直指数の計り方（尾藤ら）

生食用としての許容限界を下回ったのは味で、含気区で1.5日には油脂の変敗によると思われる酸味があり、においもかなり生臭くなった。ガス置換区では3日目に同じレベルに達した。これらの試料では同時に測定したK値ではほとんど差がみられないことから、官能検査の有効性（感度がいいこと）がわかる。

これまで多くの鮮度判定法が考案されているが、それらは食品の性格上、官能検査の結果と一致することが望ましく、そのためにもより客観的な評価基準と簡便で精度の高い官能検査法の確立が望まれる。

生鮮度（生化学的鮮度）の判定法

(1) 死後硬直指数と硬度

魚類の死後の比較的早い時期に観察される変化の一つに死後硬直がある。この硬直の様子は硬直指数（R）として表すことができる。硬直指数の測定法は図2のように魚の体長の1/2が板を外れて垂れるように固定し、死直後の垂れ下がりの値（L）と、経過時間ごとの垂れ下がりの値（L'）とから次式により算出される。

$$R = \frac{L - L'}{L} \times 100$$

これにより求めた硬直曲線は図3に示すように、魚種により大きく異なることがわかる。

魚肉の物性は、奥歯に模した直径8mmの円柱型プランジャーを用いて測定した破断強度により定量化することができる。図4はハマチを5℃で貯蔵した際の硬直指数と破断強度の変化を示したものである。通説によると、筋肉の物性は魚体の硬直、解硬に対応して変化すると考えられているが、この結果からは死後の魚体の硬直と肉の硬さの変化はそれぞれ別々の機構によっていることがうかがえる。

このことに関連した話として、即殺したマダイの硬直開始が0℃よりも10℃貯蔵時に遅延されることから、これを利用して活魚輸送法が提案されたことがあるが、これは市場では硬直前の魚は活魚とみなされ商品価値が高い（高く売れる）という商習慣を前提とした考え方であり、肉質の物性（歯ごたえ）などから見た品質評価とは一致しないことが推測される。鮮魚をわざわざ高い温度に貯蔵することは衛生面からは基本的に避けるべきことであり、これらの点も加味した検討が望まれる。

(2) K値

魚類の生鮮度判定法として今日最もよく用いられているのがK値である。その求め方や鮮度との関係については既に前々回に述べたとおりである。

図5は即殺魚、高級マグロ、市販刺身やすし種鮮魚のK

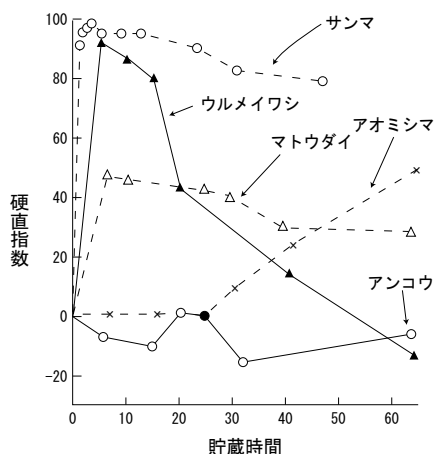


図3 数種の魚類の硬直曲線（尾藤ら）（9～15℃貯蔵）

値を調べた例であるが、K値はVBN（揮発性塩基窒素）やTMA（トリメチルアミン）に比べ、品質の異なる3種のすし種の生鮮度の違いをよく反映しており、刺身やすし種の指標として有用であることがわかる。また多種類の魚類について氷蔵中のK値を調べた結果でも、K値の上昇速度と経験的な生鮮度低下の遅速とがほぼ一致するという（表2）。

K値は算出の根拠となる物質（ATP関連化合物）が明確であり、細菌学的指標ではとらえられない初期の変化を把握でき、また経験的な感覚ともよく一致するという点で優れた指標といえる。しかしK値の適用に関しては次のような問題点が指摘されよう。

- ① 生鮮魚においては品質＝鮮度との見方が支配的であり、K値は鮮魚の品質評価の指標としてもしばしば用いられている。しかしK値を品質との関係で論じようとする場合の理論的な弱点は、魚肉の性質との関係が明確でないことである。魚の品質劣化は様々な要因によって進行し、しかもその主要因も様々ではない。魚の品質はその利用目的に応じて評価されるべきであろう。K値が必ずしも鮮魚の品質指標とならない例は図1にも示したが、生鮮魚が食品である以上、その品質は食味やテクスチャー、タンパク質としての性状など幅広い見地から評価されることが重要である。
- ② K値で表される鮮度とタンパク化学的な鮮度とは全く異なるものである。例えば赤身魚では死後の魚肉タンパク質の変性が著しいため、魚種によってはK値20%以下であっても冷凍すり身原料として用いることができない。指標の持つ意味と限界を把握することが重要である。
- ③ K値に関与する酵素系の進行と、魚肉の品質に関与す

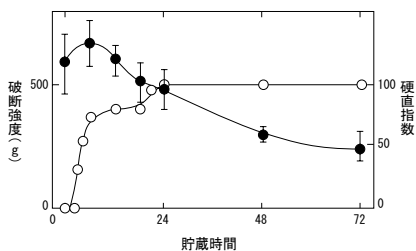
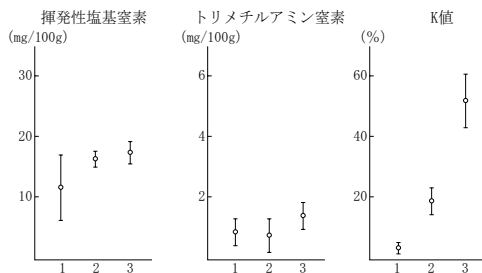


図4 5℃貯蔵中のハマチ筋肉の破断強度（安藤ら）（●-●）と硬直指数（○-○）の変化

ると考えられるその他の酵素系（例えば解糖系）の進行とは必ずしも並行関係にない。-3℃～3℃の間で調べた結果では、これら酵素系の温度依存性も異なることから、魚肉の貯蔵温度が異なれば、K値が同じであってもその品質は異なる可能性がある。

- ④ K値の上昇パターンは同一魚種においてもかなり異なる（図6）ので、一定のK値を持って鮮魚を等級づけることは難しいであろう。

（藤井建夫：東京海洋大学名誉教授、東京家政大学特任教授）



I：即殺魚、II：しにせのすしやのすし種と市販刺し身、III：大衆すし屋のすし種、

図5 鮮魚の揮発性塩基、トリメチルアミンおよびK値（内山ら）

魚 種	日 数	魚 種	日 数
マ ダ ラ	1	イ シ ダ イ	6
スケソウダラ	1	カ ワ ハ ギ	6
イ シ ガ レ イ	1	ブ ナ ミ マ グ ロ	6
カ ツ オ	2	ミ ナ ミ マ グ ロ	6
コ イ	2	イ サ キ	7
タ チ ウ オ	2	ク ロ ダ イ	8
ム ツ	2	マ ゴ チ	9
ス ズ キ	3	ヒ ラ メ	11
マ ア ジ	3	キ ダ イ	12
ゴ マ サ バ	3	マ ダ イ	12
ヒ ラ サ バ	4	ワ ニ エ ソ	13
アカアマダイ	5	ハ モ	14
ハ マ チ	5	ホ ソ ト ビ	14
マ ア ジ	5		

表2 氷蔵中でK値が20%になるまでの期間（江平）

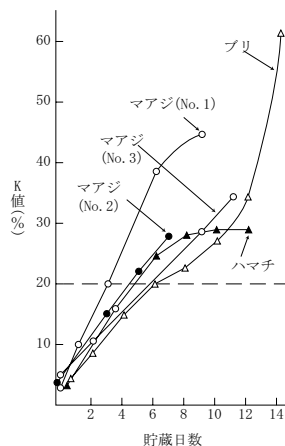


図6 氷蔵中のマアジおよびブリ・ハマチのK値変化（江平）

アサマ化成株式会社

E-mail : asm@asama-chemical.co.jp
http://www.asama-chemical.co.jp

・本社／〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町20-3 TEL (03) 3661-6282 FAX (03) 3661-6285
・大阪営業所／〒532-0011 大阪市淀川区西中島5-6-13 御幸ビル TEL (06) 6305-2854 FAX (06) 6305-2889
・東京アサマ化成／〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町16-5 TEL (03) 3666-5841 FAX (03) 3667-6854
・中部アサマ化成／〒453-0063 名古屋市中村区東宿町2-28-1 TEL (052) 413-4020 FAX (052) 419-2830
・九州アサマ化成／〒811-1311 福岡市南区横手2-32-11 TEL (092) 582-5295 FAX (092) 582-5304
・桜陽化成／〒006-1815 札幌市手稲区前田五条9-8-18 TEL (011) 683-5052 FAX (011) 694-3061