

アサマ NEWS パートナ

2009-11 No. 133

バイキン博士の衛生雑談

食と微生物

26. 予測微生物学－2 コンピューターによる予測

1. データベース、コンピューター・プログラム

微生物増殖の予測、あるいは病原菌による危害の予測は、コンピューターを使って行われる。現在では、パソコンで使えるような多くのプログラムが公開されており、その多くは無償である。

このようなプログラムは食品のリスク評価にたいしては欠かせない道具になっている。

これらのプログラムについて、簡単に紹介し、それらの中で代表的なComBaseの使い方を説明する。

2. 代表的なデータベース、コンピューター・プログラムとComBase

予測微生物学の重要性については、多くの国で注目され、それぞれ国家的なプロジェクトとして、研究とコンピュータープログラムの開発が進められている。結果はそれぞれ予測システムとして公表され、その多くが無料で公開されている。ただし、Sym'Previous, The Food Safety ToolKitなどは有料。

現在公表されている、システムを表1に示した（小関文献1、がまとめた表）。

1990年代の終わりに、イギリスで農林水産省の後援の下に多くの食品研究所が共同して開発した食品微生物モデル、Food Micromodelがあらわれ（UK Food Micromodel (McClure, P. J. et al, 1994)）、ついで、アメリカでも農業省の機関でPathogen Modeling Programが発足した。どちらも多くのデータをもとにして、主な食品病原細菌の増殖・死滅をモデル化し、パソコン上での対話でその予測が行えるようになっていく。

この二つのデータベースが合同して今世紀の初めにComBaseというデータベースがつくられ、その情報が2003年にはインターネット上で公開された（文献2）。

さらに2006年にはオーストラリア、タスマニア大学の食品安全センターが三番目のComBase 参加機関になった。タスマニア大学は、予測微生物学の発祥の地でもあり、これに携わる多くの研究者を擁し、また、豊富なデータベースをもっている。

ComBaseはその後多くの改良が重ねられ、多くの種類の食品中での、40,000件を越える微生物増殖・死滅のデータが参照でき、また、さまざまな条件での増殖・死滅が予測できるようになっている。

3. ComBaseの使い方

財団法人食品産業センターのHACCP関連データベース（www.shokusan.or.jp/haccp/index.html-予測微生物モデル）にComBaseの使い方についての詳しい解説がある。

ComBaseはインターネット上で利用できるようになっている。ウェブ上のアドレスは <http://www.combase.cc/> データベースは日々進化しており、登録の必要性、登録の仕方、使い方なども変わってきているので、使うときには、その時点でのやり方に合わせなければならない。これは表1に示した他の予測データベースについても同様である。

ComBaseは「データベース参照」と「予測」の二つからなっている。

「データベース参照」（ComBase Browser）は実例集であり、数多くの食品中で、さまざまな条件のもとに、細菌（病原菌・腐敗細菌）がどのように増殖・死滅するかについて、実際の実験データを表とグラフで参照できるようになっている。一方、「予測」（ComBase Predictor）は、このようなデータベースをもとに、様々な温度、pH、水分活性などの条件下で細菌が増殖・死滅する姿をグラフで表す。

ComBase Browserは登録の必要はなく、また、ウィンドウズ、マックのそれぞれのOSで参照できる。一方、ComBase Predictorの方は、はじめに登録が必要で、また、

ソフトウェア名		国	特 徴	URL
Pathogen Modeling Program (Ver. 7.0)	USDA, ARS, Eastern Regional Research Center	アメリカ	病原性細菌の増殖だけでなく、熱死滅や放射線照射死滅などの死滅予測も可能。Ver7.0では牛肉を対象とした予測が可能。	http://www.arserrc.gov/mfs/PATHOGEN.HTM
Growth predictor	UK, Institute of Food Research	イギリス	病原性細菌および腐敗細菌の増殖予測のみ。予測基本式にはBaranyiモデルを採用。	http://www.ifr.ac.uk/safety/GrowthPredictor/default.html
Sym' Previous	French Department of Research and Agriculture	フランス	実際の食品における微生物挙動データベースと予測モデルの統合ソフトウェア。培地ではなく食品でのデータ多数。最近英語版が公開された。	http://www.symprevious.net/
Seafbod Spoilage Predictor Software	Danish Institute for Fisheries Research	デンマーク	魚介類の品質劣化を引き起こす腐敗菌の増殖予測ソフト。実測した温度履歴データを用いて増殖予測可能。	http://www.dfu.min.dk/micro/ssp/
Risk Ranger	Australian Food Safety Centre of Excellence	オーストラリア	微生物挙動予測ソフトではなく、リスクアセスメントのためのツール。諸条件を選択あるいは入力することで対象とする食品のリスクをランキング評価する。	http://www.foodsafetycentre.com.au/tools.htm
The Food Safety ToolKit	Australian Food Safety Centre of Excellence	オーストラリア	予測ソフトではないが、食品工場における衛生管理体制を整備するための教育、指導プログラムソフトウェア（有償）。	http://www.foodsafetycentre.com.au/tools.htm

表1. 現在公開中の微生物挙動予測ソフトウェア

ウィンドウズの下でしか動かない。

4. ComBase Browser

ComBase (<http://www.combase.cc/>) に入ると図1のような画面が出る。Browserに入るには、図の中程のComBase Browserをクリックする。あるいは左上の目次にあるAccess ComBaseからBrowse ComBaseに入り、指定されたURL（二つの中のどちらでも）からBrowserに入っても良い。図2のような画面になる。

この先、データベースを参照するには二つの道がある。一つは、画面のSearch CriteriaのFood Type, Organismsの左の+マークをクリックし、目的の食品種、微生物種を選び、ついでその下の温度、pHなどの条件を目的に応じて設定し、その下のSearchボタンをクリックする。次に現れる画面にはレコードの一覧表の下に、View Summary, View Details, Download to CVS（エクセルのファイルに移す）の指示があるので、目的に応じて選択する。たとえば、View Detailsをクリックすると図3のような画面が現れる。グラフの下でCompare with Predictionからは予測との比較が得られる。

もう一つの検索は図2の右上、Search Static Data by Source or keyの方から進む方法である。これをクリックすると、図4の様な画面が現れるので、微生物種、食品種の欄（List Sources for Organisms: and Food type:）から、目的に応じたものを選び、「Get List」をクリックすると、その食品、微生物について行われた過去の実験データの一覧表が現れる。右端のSummary Detailsから、さらに情報が得られる。Detailsは図3と同じ画面である。

5. ComBase Predictor

こちらの検索には、登録と、ソフト（Growth Predictor, Perfringens Predictor）のダウンロードが必要である。Perfringens Predictorのほうには、肉中のウェルシュ菌が加熱後冷却のさいにどのように増殖するかを予測するソフトになっている。

ComBaseのホーム画面（図1）左上の「Modelling Toolbox」をクリックし、現れる画面中程のRegisterから登録に入る。必要な項目を記入し、Registerを押すと、登録は完了で、必要な情報がメールで送られてくる。二回目以後は登録の必要はなく、こちらのメールアドレスとパスワードでLoginすることになる。



図1



図2



図3



図4

6. 予測微生物学の問題点-予測と現実

予測微生物学はまだ若い学問分野ではあるけれど、急速に発達することによって、食品産業でも十分に使える道具になっている。しかし、予測微生物学のモデルを使って予測した結果は、必ずしも現実と合わないことも指摘されている。一般的には現実よりも速い微生物の増殖を予測するという傾向がある。

これは、食品中での実際の微生物増殖でおこる様々な増殖阻害の要因を取り入れていないことによると考えられる。たとえば、食品の不均一な組織は細菌の運動・増殖を妨げる要因になっている。また、組織中のさまざまな増殖阻害物質、低くまた不均一な酸素濃度、成分の分布なども細菌の増殖を遅らせる。さらに、食品中では多くの場合、多数の細菌種が複雑な生態系をつくっており、それぞれの微生物間の阻害あるいは促進の作用がある。このような多くの要因の数値的な解析は困難だろう。

しかしながら、予測微生物学は急速に発展しつつある学問分野であり、微生物学の他の分野の発展と相まって、このような問題も次々に解決されていくと考えられる。将来は、食品開発、食品保存・輸送、リスク分析などに、ますます必須のツールになることは間違いない。

微生物の増殖・死滅のモデルをもとにコンピューターソフトをつくり、公開するという作業はアメリカ、イギリス、ヨーロッパでは政府、企業の応援を得ながら急速な発展をみている。このようなソフトとの対話を通して食品の開発、安全管理を行うことも将来は日常的な作業になるだろう。わが国では食品の保存に関する研究は決して他の国々に劣るものではないけれども、予測微生物学の成果をこのように一般に応用できる形で提供するという面では遅れをとっている。この面ではとくに行政側の速やかな対応を望みたい。

（清水 潮 元東京大学・広島大学教授）

参考文献

1. 表 小関成樹：予測微生物学研究の最近の動向
http://www.nfri.affrc.go.jp/guidance/kankobutu/pdf/kanko_kouen17/90.pdf#search=予測微生物学研究の最近の動向
2. Baranyi J and Tamplin M. (2004). ComBase: A Common Database on Microbial Responses to Food Environments. J. Food Prot. 67 (9) :1834 -1840 .

食 品 加 工 と 微 生 物

その47. 魚の鮮度の考え方とその指標 (4)

タンパク質としての適性はK値やVBNでは示せない

食品としての魚肉の性状（例えばその魚肉がかまぼこ原料として用いられるかどうか）はK値やVBNのような細菌学的な鮮度指標では表すことができない。例えばイワシやサバなどの赤身魚では死後のタンパク変性が著しいため、K値で表される鮮度が良好であっても、冷凍すり身原料としては不適である。一方、5℃貯蔵のスケトウダラの水晒し・脱水魚肉ではVBNが明らかに腐敗値を示すものでもかまぼこ原料として用いることができる。

このようなK値やVBNでは表せないタンパク質の性状は溶解度や粘度のような物理化学的指標、あるいはCa-ATPase活性のような酵素化学的指標で表すことができる。Ca-ATPase活性は魚肉中のミオシンの変性の程度を示し、冷凍すり身のゲル形成能との間に高い相関関係有するので、練り製品原料の品質評価に有効である（図1）。Ca-ATPaseの変性は一次反応であるので次式から変性速度恒数（Kp）を求めることができる。

$$Kp = (\ln Co - \ln Ct) \times 1 / t$$

ここで、Co、Ctはそれぞれ変性時間（t秒）前、後におけるCa-ATPase活性である。たとえばこのKp値を指標として各種魚種の筋原繊維の温度安定性を比較してみると、表1のように、寒帯産の魚種の筋原繊維が熱帯性のものに比べて不安定であることがよく示される。

また、筋原繊維タンパク質の溶解度も魚肉の品質を反映する指標として有用であると考えられる。図2はマダラを氷蔵、-0.5℃、-3℃および-26℃で貯蔵した際の品質変化を。塩可溶性タンパク質の減少で示したものである。

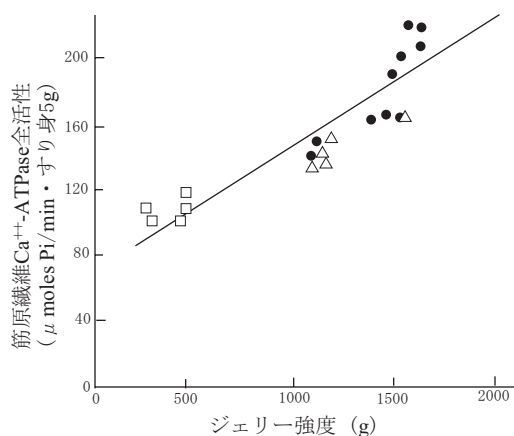


図1. 冷凍すり身の筋原繊維Ca⁺⁺-ATPaseの全活性とかまぼこのジェリー強度の関係
●: SA級 △: A級 □: C級

魚 種	変性速度恒数 (×10 ⁻⁵ /sec)	
	35 ℃	40 ℃
ウサギ	—	4
ティラピア	1	7~13
スズキ	2	22
コイ	2~3	25~27
キハダマグロ	4	39~49
ブリ	7	52
タイ	7~9	111
ニジマス	17~19	—
マサバ	18	—
マガレイ	18	—
クロダイ	24~29	—
マダラ	160*	—
ホッケ	167*	—

* 変性が早すぎて正確な値が得にくい。

表1. 各種魚類筋原繊維の温度安定性の比較

る。この結果は加熱調理後のテクスチャーともほぼ一致し、-3℃貯蔵では他の貯蔵条件に比べ、顕著な品質低下をしていることがわかる。

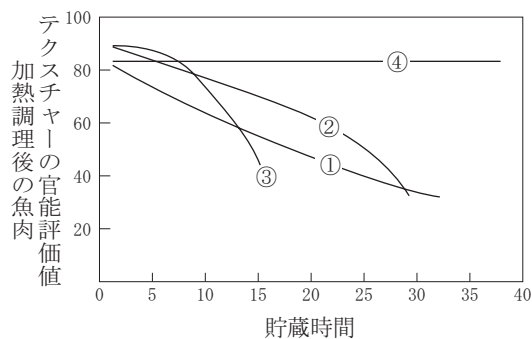
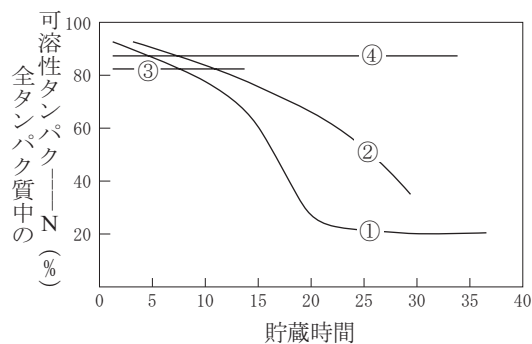


図2. マダラ貯蔵中の塩可溶性タンパクの変化と加熱調理後の官能評価値の変化

①: -3℃ ②: -0.5℃ ③: 氷蔵 ④: -26℃

鮮度低下すると誘電率が変化する

魚肉の死後の変化は誘電率のような電気的な性質にも表われる（図3）。この変化を測定する機器としてトリメーター（Torr-meter）が市販されている。この機器は携帯型で操作も簡便であり、2本の小さな電極を魚体に触れ

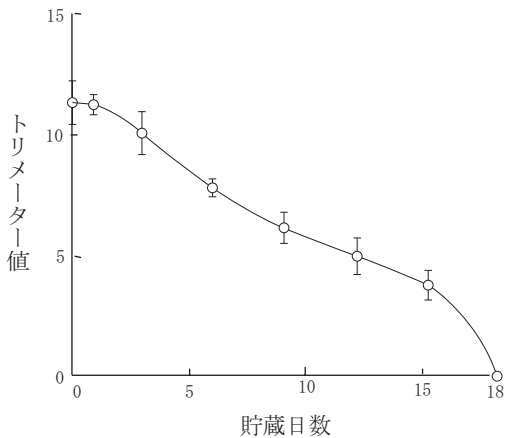


図3. 氷蔵中のブリフィレーのトリメーター値変化

るだけで結果が16段階に数値化して示されるため、現場での迅速な鮮度測定に用いやすいという利点がある。

しかし、この数値は魚種や致死条件の違いなどによって異なり、絶対値で比較することは難しい。またこのような誘電率変化の原因については、魚の死後、細胞膜の劣化に伴いそれまで保たれていた細胞内外のイオンバランスに変化が生じるためと考えられているが、その機構について十分解明されているわけではない。

Kimらが新鮮なブリのフィレーを1日間凍結したものと未凍結のものについて、トリメーター値の変化を調べた結果によると、凍結解凍魚では著しく低下するのに対して、未凍結魚ではほとんど変わらないことから、K値を併用することにより、トリメーター値を用いて凍結・未凍結魚の鑑別が可能であると提案している。

微生物的鮮度指標の問題点

鮮魚介類の微生物的鮮度指標としては、一般生菌数、揮発性塩基窒素 (VBN)、トリメチルアミン (TMA) などが広く用いられており、ヒスタミンやポリアミン類なども有用性が検討されている。

食品の生菌数測定は、食品衛生法で定められている成分規格の検査方法に準じて行われることが多いが、これらは非好塩性中温菌の計数を想定したものであるため、鮮魚介類やそれを低温貯蔵した場合のように低温細菌や好塩細菌が優占する可能性のある食品には不適当な場合があり、培地の塩分組成や培養温度を工夫する必要がある。本連載の「その43」(パートナーニュースNo.129)でも触れたように、公定法(標準寒天培地で35℃培養)と

改変法(2.5%食塩添加培地で20℃培養)で水産物の生菌数を比較した結果では、前者による計数値は後者より著しく低く、とくに低温腐敗品(およびその凍結品)を試料とした場合には千分の一程度の値しか得られず、問題がある。生菌数測定の問題点については、次号でも少し詳しくみてみたい。また生菌数測定に関する今後の課題として、培養法に基づく細菌の検出法は時間がかかるため、腐敗菌や食中毒菌の簡易迅速測定法の開発が求められるよう。

VBNは食品の抽出液をアルカリ性にした時に揮発する窒素化合物の総称であり、魚介類の場合、その死後変化の初期にみられるVBNは主にAMPの脱アミノ反応によるアンモニアであるが、その後細菌の増殖に伴うアミノ酸の分解によるアンモニアとトリメチルアミンオキシド(TMAO)の還元によるTMA(海産魚の場合)が主体をなし、VBNとTMA量は一般に腐敗の進行とともに著しく増加するので、古くから鮮度指標に用いられている。

魚のVBN量と鮮度(腐敗)の関係については、魚種や魚体の大きさ、貯蔵条件などで異なるが、好気条件下で低温貯蔵した場合、経験的に25~30mg/100gが初期腐敗の目安とされている。しかし筋肉中に多量の尿素やTMAOを含む板鰻魚類(サメ、エイなど)ではVBNが100mg/100gを超えても可食性を失わない場合が多く、鮮度判定にこの値は適用できない。イカ類などもTMAO量が多く、VBNが鮮度をよく反映するとはいえない。

TMAは魚の生ぐさ臭や腐敗臭に最も関係深い成分であり、生きている魚の筋肉中にはほとんど存在しないが、死後細菌の増殖に伴って増加するので腐敗の指標として用いられる。

ただし、低温下では細菌の増殖温度域とTMA生成能の温度域が一致しないことがあり、細菌の増殖は認められるにもかかわらずTMAは検出されないというようなことが起こりうる。また、鮮魚の貯蔵ではまず起こりえないが、魚肉にある種のカビが生えた場合にはTMAが減少する。

ヒスタミンやポリアミン類の蓄積量は生成菌・分解菌の分布と消長、pHなどに依存して大きく変動することが知られている。ヒスタミンについては、すでにアレルギー様食中毒の関係で、本ニュースNo.124(「食品加工と微生物、その38」)で述べたが、次号では、鮮度指標の観点からポリアミンとともに取り上げたい。

(藤井建夫:東京海洋大学名誉教授、東京家政大学特任教授)

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