

冷蔵中の魚刺身に対する練りワサビの保存効果

— 刺身付着菌の増殖阻害 —

松 岡 麻 男

Preservative Effect of Wasabi Paste on
The Sashimi of Fish in Cold Storage

— Growth-Inhibition of Bacteria on The Sashimi —

Asao Matsuoka

Summary: Preservative effect of commercial wasabi paste on the sashimi (slice of fresh fish meat) of horse mackerel or yellow tail in a tight box was examined by measuring the number of surviving bacteria in cold storage at 2~4°C. Wasabi paste inhibited the growth of bacteria on the surface of sashimi in cold storage, and the degree of inhibition by spreading wasabi paste on the sashimi was larger than that by putting it in four corners of a tight box. Freshness of the sashimi of horse mackerel and yellow tail in cold storage, that the number of surviving was less than $10^5/g$, was kept for 2 and 3 days in the absence of wasabi paste, and kept for 4 and 5 days by spreading sashimi with it. The sashimi in cold storage was well preserved in the presence of wasabi paste. Allyl isothiocyanate existing in wasabi paste exhibited a stronger antibacterial activity than ethyl-, n-butyl-, isobutyl-, dodecyl-, and benzyl isothiocyanate to *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli*. From the things above mentioned, it is considered that the preservative effect of wasabi paste on the sashimi in cold storage is enhanced by the base of the action of allyl isothiocyanate being in it on bacteria.

緒 言

ワサビを魚刺身の薬味として使用する主な目的は、その刺身の生臭さを消すためと、白身魚の独特の味と歯ごたえを楽しむためであるが、ワサビの辛味成分（揮発性）は防菌・防黴作用を有するので^{1~5)}、食品の鮮度を保持したり、腐敗を防止するために、ワサビを使用することも可能である。これに関して次のことが報告されている。

野菜や果実を密封容器に入れて30℃で10日間貯蔵した場合、鮮度は著しく低下し、または腐敗するが、粉末ワサビに水を加えて練ったものを入れておくと、その揮発成分との接触によって、野菜や果物の色、形、硬さは保持される³⁾。カツオとヒラメの刺身を一晩放置して、魚肉の腐敗成分であるトリメチルアミン生成量を調べた結果、ワサビを塗った刺身は塗らない方の3分の1以下に押さえられており、また魚肉タンパク質のアミノ酸や有機酸への変化量は、ワサビを塗ると半分以下になる⁴⁾。ワサビ抽出油をドリップ吸収シートに固着させ、それをマグロ切り身に入ったトレーパックに入れ、24時間冷蔵保存すると、マグロ表面付着菌の繁殖は約半分に抑制される⁵⁾。

本研究では、長崎県で比較的多く水揚げされ、販売されているアジやハマチを用い、その刺身に対する市販練りワサビの保存効果について、冷蔵保存中における生菌数を測定することによって、検討を行った。さらにワサビの辛味成分であるイソチアン酸アリルやその類似物質の抗菌力を液体培養法によって検討した。

実験材料および方法

1. 試 料 練りワサビはエスビー食品株式会社製の市販品を購入した。刺身は、新鮮なアジおよびハマチを3枚におろして皮を除いたものを購入し、7~8gの大きさに切って使用した。

2. 培 地 生菌数測定用として、日水製薬株式会社製の一般細菌用普通寒天培地を用いた。菌株保存培地として、ポリペプトン（日本製薬株式会社製）1.0%、粉末酵母エキス（大五栄養化学株式会社製）0.2%、硫酸マグネシウム・7水和物0.1%、寒天1.5%、pH7.0を、抗菌力テスト用の液体培地として、ニュートリエント・ブロス（DIFCO製）0.8%、グルコース0.5%、塩化ナトリウム0.5%、リン酸ニカルウム0.5%、H7.2±0.2を用いた。

3. 供試菌 *Escherichia coli* IFO 14249 と *Bacillus subtilis* IFO 3134 は財団法人発酵研究所より入手した。

4. 試薬 イソチアン酸類は東京化成工業株式会社の製品を用い、抗菌力テスト時には70%エタノールで所定の濃度に希釈した。

5. 刺身の保存 上記の刺身8~10切れをタイトボックス(容量 260ml)に入れて密封後、冷蔵(2~4℃)保存した。練りワサビの保存効果を検討するために、刺身1切れ当たり0.5gの練りワサビを刺身の広い面(切り口)に塗り、それをタイトボックスに入れた試験区と、ワサビを塗らない刺身をタイトボックスに入れ、その容器の4隅に練りワサビを1gずつ置いた試験区とを設けた。ワサビを使用しない場合を対照区とした。

6. 生菌数の測定 冷蔵保存中の刺身をタイトボックスから2日おきに取り出し、それに付着している菌を滅菌生理的食塩水の中で滅菌ブラシを用いてこすり落とした。この菌液を滅菌生理的食塩水で $10\sim 10^5$ 倍に希釈した。次にその所定希釈液1mlを2枚のシャーレに入れて、50℃に保温した滅菌普通寒天培地を約20ml加え、良く混合した後、静置して寒天を固め、 $35\pm 1^\circ\text{C}$ で24時間、静置培養を行った。生じたコロニーをカウントし、平均値を求め、刺身1g当たりのコロニー形成数(CFU/g)を算出し、生菌数/g刺身とした。

7. 抗菌力テスト 保存用寒天培地のスラント(保存菌)から菌を1白金耳とり、上記の液体培地10mlに接種して、37℃で約20時間振盪(60回/分)を行って、前培養した。前培養液0.5mlと所定濃度の薬剤溶液(イソチアン酸類を70%エタノールで所定の濃度に希釈したもの)0.1mlを同液体培地9.4mlに添加し、37℃で24時間振盪培養した。対照には、薬剤溶液の代わりに70%エタノールを使用した。菌の増殖は、分光光度計(Spectronic 20A、SHIMAZU)を用いて、波長660nmの吸光度(OD_{660})によって測定した。なお、培養後の吸光度から培養前の吸光度を差し引いた値が0.05以下であれば、増殖阻止とみなした。

結果および考察

1. ワサビによる刺身付着菌増殖阻害

アジ・ハマチの刺身付着細菌の冷蔵保存中における増殖に対する市販練りワサビの影響を検討した。その結果をFig. 1とFig. 2に示した。

新鮮なアジの刺身に付着している細菌の生菌数は約 $10^4/\text{g}$ であった。この刺身を冷蔵(2~4℃)保存すると、生菌数は2日目まではゆるやかに増加し、元の約3倍となった。その後生菌数は対数的に増加し、8日間の冷蔵保存で $10^8/\text{g}$ 以上となった。タイトボック

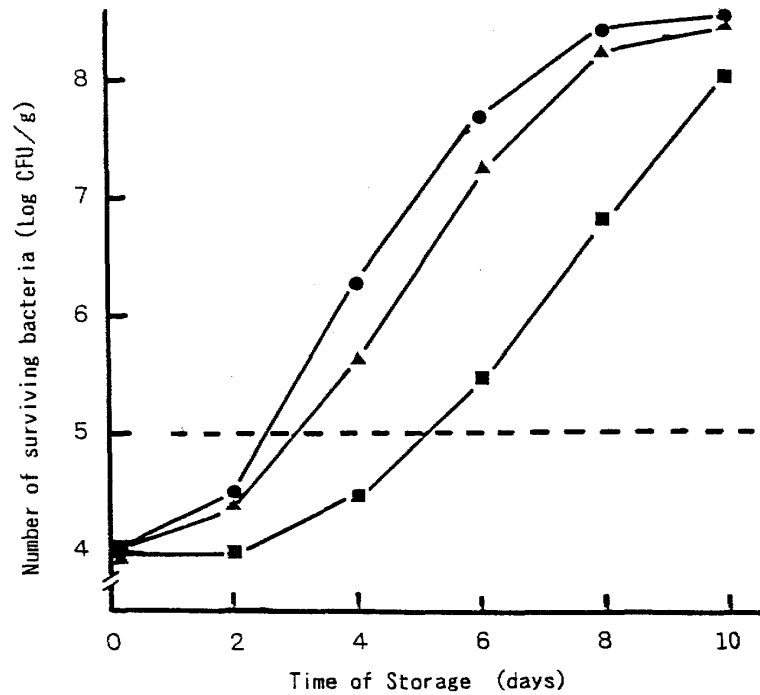


Fig. 1. Inhibitory effect of commercial wasabi paste on the growth of bacteria on the sashimi of horse mackerel in a tight box in cold storage.

Symbols of ●, ▲ and ■ indicate the absence of wasabi paste, putting it in four corners of a tight box and spreading sashimi (slice of fresh fish meat) with it, respectively.

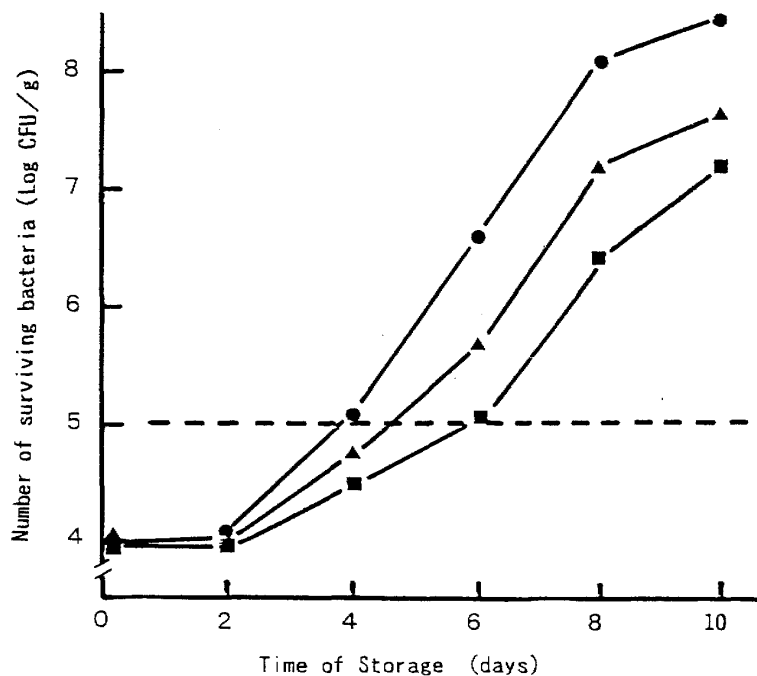


Fig. 2. Inhibitory effect of commercial wasabi paste on the growth of bacteria on the sashimi of yellow tail in a tight box in cold storage.

Symbols of ●, ▲ and ■ indicate the absence of wasabi paste, putting it in four corners of a tight box and spreading sashimi (slice of fresh fish meat) with it, respectively.

スの4隅に市販練りワサビを入れておくと、その生菌数の対数的な増加は若干阻害された。アジ刺身に練りワサビを塗った場合は、生菌数の対数的増加がさらに阻害されるばかりでなく、2日間の冷蔵では生菌数の増加は全く見られなかった。このワサビを塗った刺身は、4日間冷蔵すると、ワサビを使用しないで2日間冷蔵している刺身とほぼ同程度の生菌数となった。

一方、新鮮なハマチの刺身に付着している細菌の生菌数は、アジと同じく約 $10^4/g$ であったが、2日間の冷蔵では生菌数の増加は見られなかった。その後冷蔵8日間までは、生菌数は対数的に増加した。練りワサビをタイトボックスの4隅に入れておくと、この対数的増加は阻害され、その阻害程度はアジ刺身の場合よりも大であった。練りワサビをハマチ刺身に塗って同様に冷蔵した場合は、生菌数の対数的増殖はさらに著しく阻害された。しかし、アジ刺身で見られたような誘導期の遅延は観察されなかった。

これらの刺身の冷蔵中における細菌の増殖に対する練りワサビの阻害は、アジとハマチとではその程度や様式に若干の差がみられるが、これは刺身の成分によるものか、あるいは細菌の種類によるものか、現在のところ明らかではない。

一般に魚介類を冷蔵保存すると、低温細菌が増殖し、それによって鮮度の低下や腐敗が起きると言われている。したがって本実験における生菌数の増加は低温細菌の増殖によるものであり、またその増殖の程度によって鮮度が判定できる。魚介類の一般的な低温細菌数による鮮度の判定は、 $10^5/g$ 魚類筋肉は新鮮、 $10^5 \sim 10^6/g$ 魚類筋肉は初期腐敗であるとされている⁵⁾。この方法に従うと、本実験に使用したアジの刺身は、2～4℃の冷蔵で2～3日間までは新鮮であり、練りワサビを塗ると4～5日間は新鮮であると判定できる。一方ハマチの刺身は、冷蔵3日間までは新鮮であり、練りワサビをタイトボックスの隅に入れておくと4日間は新鮮、それを刺身に塗ると5日間は新鮮であると判定できる。

以上のことから、アジやハマチの刺身の冷蔵において、練りワサビの使用はその保存性を高めることが明らかとなった。

Table 1. Minimum Inhibitory Concentrations of Isothiocyanates against The Growth of *B. subtilis* and *E. coli*.

Bacteria	Isothiocyanates					
	Ethyl-	Allyl-	n-Butyl-	Isobutyl-	Dodoecyl-	Benzyl-
<i>B. subtilis</i>	10mM	1.25mM	5mM	5mM	>20mM	1.25mM
<i>E. coli</i>	10mM	0.25mM	5mM	5mM	>20mM	5mM

Culture containing drug and bacterium was shaken for 24 hours at 37°C, growth was measured, and minimum inhibitory concentration of drug against growth was determined.

2. イソチアン酸類の抗菌力

ワサビの主要香味成分・辛味成分の本体であるイソチアン酸アリルは、ワサビの組織を傷つけると、組織中に存在する不活性なチオグルコシドのシニグリンが酵素ミロシナーゼの作用を受けて生成する。この成分は抗菌作用を示すことが知られている^{1,2,5)}が、そのこと確認するために、液体培養法によって枯草菌や大腸菌に対するイソチアン酸アリルの抗菌力を検討し、さらにイソチアン菌エチル、 $-n$ ブチル、 $-i$ ソブチル、 $-d$ デシルおよび $-b$ ベンジルの抗菌力と比較した。これらの薬剤の最小生育阻止濃度 (MIC)を測定した結果を Table 1 に示した。

本実験に用いたイソチアン酸類の中では、練りワサビに含まれているイソチアン酸アリルが枯草菌や大腸菌に対して強い抗菌力を示した。枯草菌や大腸菌は低温細菌ではないけれども、この結果から、練りワサビの添加による冷蔵中の刺身の鮮度保持延長・保存性向上は、練りワサビに存在するイソチアン酸アリルの作用によるところが大きいと考えた。

グラム陰性細菌の大腸菌はグラム陽性細菌の枯草菌よりもイソチアン酸アリルに対する感受性が高いことが認められた。一般にグラム陰性細菌はグラム陽性細菌よりも各種の薬剤に対する感受性が低いことが知られているので、本実験の結果は興味深いことである。なお、多くの菌種、菌株を用いて、イソチアン酸アリルの抗菌スペクトルを検討する必要がある。特に、本実験に関連して、冷蔵保存中に増殖する低温細菌に対する抗菌力や抗菌作用について詳細に検討しなければならないと考える。

要 約

アジやハマチの刺身の冷蔵における市販練りワサビの保存効果ならびにワサビの辛味成分の本体であるイソチアン酸アリルおよびその類似物質の抗菌力について検討した。

1. 新鮮なアジやハマチの刺身には、1g 当たり約 10^4 の生菌が付着していた。これらの刺身をタイトボックスに入れ、 $2\sim 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ で冷蔵しておくと、それらに付着している細菌の生菌数は2日目から8日目にかけて対数的に増加して、8日間冷蔵すると $10^8/\text{g}$ 以上となった。

2. 練りワサビを刺身の入ったタイトボックスの隅に置いて冷蔵すると、これらの生菌数の対数的増加は阻害された。練りワサビを刺身に塗って同様に貯蔵すると、生菌数の増加はさらに著しく阻害され、保存性は高まった。

3. アジやハマチの刺身の新鮮さは、冷蔵中における生菌数から判断すると、 $2\sim 3$ 日間は保持された。練りワサビの使用は刺身の新鮮さをさらに保つことができ、特にこれを刺身に塗った場合はその保存性が高まり、 $4\sim 5$ 日間冷蔵しても、刺身の新鮮さは充分保たれていた。

4. イソチアン酸エチル、-アリル、-n-ブチル、-イソブチル、-ドデシル、-ベンジルの抗菌力を検討した結果、ワサビの辛味成分の本体であるイソチアン酸アリルが最も強い抗菌力を示し、その最小生育阻止濃度は枯草菌に対して 1.25mM で、大腸菌に対しては 0.25mM であった。

5. 練りワサビの添加による刺身の冷蔵中における鮮度保持の延長・保存性向上は、練りワサビに含まれるイソチアン酸アリルによると考えた。

文 献

- 1) 宮本悌次郎：フードケミカル，**2**，30-34 (1988)。
- 2) 江崎秀男，小野崎博通：栄養と食糧，**35**，207-211 (1982)。
- 3) Goi H., Inouye S. and Iwanami Y.: *J. Antibact. Antifung. Agents*, **13**, 199-204 (1985) .
- 4) 大木昭弘：都薬雑誌，**12**，19-25 (1990)。
- 5) 山下公一郎：包装技術，平成2年，7月号，p76-80. [868-872 (1980)].

1992. 1. 31. 受理