発表（６）　塩蔵海藻に増殖する微生物に関する研究

○小野寺　宗仲（水産技術センター利用加工部）
寺原　猛・小林　武志（東京海洋大学）

【はじめに】

三陸特産の湯通し塩蔵ワカメ・コンブの製造中および冷蔵保管中に増殖して品質や外観を損ねて返品・返金の対象となる視認できる薄茶色のカビ様微生物の知見に乏しいことから、塩蔵海藻の安定出荷・流通を実現させるため、公益財団法人さんりく基金「令和４年度調査研究事業」を活用して本微生物種の推定や性状等に関する研究を実施した。

【方法】

薄茶色の異物が付着した塩蔵海藻（クレーム品）の水分、塩分、水分活性、pH を測定し、20%の塩分等を添加した市販の PCA（標準寒天）培地および PDA（ポテトデキストロース寒天）培地で生菌数を調べた。さらに、培地上のコロニーから純粋分離株を調製し、16S、26S または 28S の rRNA の遺伝子解析を行って微生物種を推定した。薄茶色のコロニーを形成する微生物の純粋分離株を４℃または 27℃で 28 日間の培養を行い、脱酸素剤の有無による増殖状況を確認した。さらに、薄茶色の微生物が付着した塩蔵コンブの粉砕物を種菌（約 15g）とし、塩蔵海藻（約 130g）と一緒に含気包装を行い、脱酸素剤の有無による５ヶ月間の低温保管中（５～10℃）の薄茶色の微生物の発生状況を確認した。併せて、好気条件下で長期冷蔵保管された塩蔵ワカメに増殖した微生物種の推定を行った。

【結果の概要】

薄茶色の異物が付着した塩蔵海藻のPCA培地による生菌数は1.5×10^{7}～1.8×10^{8}となり、肉眼では視認できない *Marinococcus* 属や *Chromohalobacter* 属の微生物が確認された（表１）。一方、カビや酵母等を測定する PDA 培地による生菌数は 3.2×10^{4}～7.7×10^{5} となった。平板培地や斜面培地から調製した薄茶色のコロニーを形成する純粋分離株の rRNA の遺伝子解析を行った結果、塩蔵海藻では報告例がないと推定される *Wallemia ichthyophaga*（以下、ワレミアと記載）がクレーム品の全試料で確認された。本カビは、塩田、塩蔵魚、塩蔵肉、干しコンブ等に存在しており、和菓子やジャム等に増殖して異物クレームとなるワレミア・セビ（別名:あずき色カビ）とは異なっていた。ワレミアの純粋分離株を４℃および 27℃で培養した結果、好気条件下ではワレミアが増殖（27℃で顕著、４℃で軽微）したが、嫌気条件下では全く増殖しなかった（表２）。種菌を入れた塩蔵海藻の冷蔵保管試験では、好気条件下（脱酸素剤無）で保管した塩蔵ワカメでは 1.5～５ヶ月間で数袋からワレミア様の異物が確認され、その内の１検体を分析した結果、ワレミアであることを確認した（表３）。一方、嫌気条件下（脱酸素剤有）で保管された全試料ではワレミアの増殖を確認できなかった。ワレミアの増殖が確認された４試料の水分活性は 0.75～0.79 と市販の塩蔵海藻と同レベルであり（図１、表４）、水分活性が 0.75 の高塩分の状況下でもワレミアは増殖できるため、賞味期限が１ヶ月以上の製品では真空包装や脱酸素剤の使用による嫌気条件下の冷蔵保管が最適であると考えられる。一方、好気条件下（脱酸素剤無）の常温流通ではワレミアの増殖リスクは高いと推察される。

【今後の問題点】

今後、塩蔵海藻におけるワレミア増殖防止対策マニュアルを作成し、漁協や水産加工業者等に普及指導を行っていく予定である。

表１　ワレミア付着した塩蔵ワカメ・コンブ（異物クレーム品）の微生物検査結果

試料の種類	試料名	生菌数/ｇ（PCA培地）	検出された微生物（PCA培地）	生菌数/ｇ（PDA培地）	検出された微生物（ＰＤＡ培地）
塩蔵コンブ	A	$1.3 \sim 1.8 \times 10^8$	*Marinococcus*属、*Chromohalobacter*属	$3.2 \times 10^4 \sim 2.2 \times 10^5$	*Wallemia*属
塩蔵コンブ	B	1.3×10^8	*Marinococcus*属、*Chromohalobacter*属	7.7×10^5	*Wallemia*属
塩蔵ワカメ	C	1.5×10^7	*Chromohalobacter*属	8.1×10^4	*Wallemia*属

表２　ワレミア（純粋分離株）の性状確認試験結果

	27°C好気	27°C嫌気	4°C好気	4°C嫌気
試料Ａ	+++	×	△	×
試料Ｂ	+++	×	△	×
試料Ｃ	+++	×	△	×

※×印（増殖なし）、△（微量の増殖）、+++（画線部の全域で増殖）を示す。

表３　冷蔵保管中の薄茶色のカビ様異物の発生状況

保管期間（月数）				1.5	3	5
試料		保管温度	保管条件	薄茶色のカビ様異物の発生（袋数）		
塩蔵ワカメ	H	10°C	好気	1	4	1
			嫌気			
	I	5°C	好気		2	
			嫌気			
	J	5°C	好気			1
			嫌気			
塩蔵コンブ	K～N	5または10°C	好気または嫌気			

※ワレミア様のコロニーが確認された試料（袋）数を示す。

※空欄はコロニーが確認されなかったことを示す。

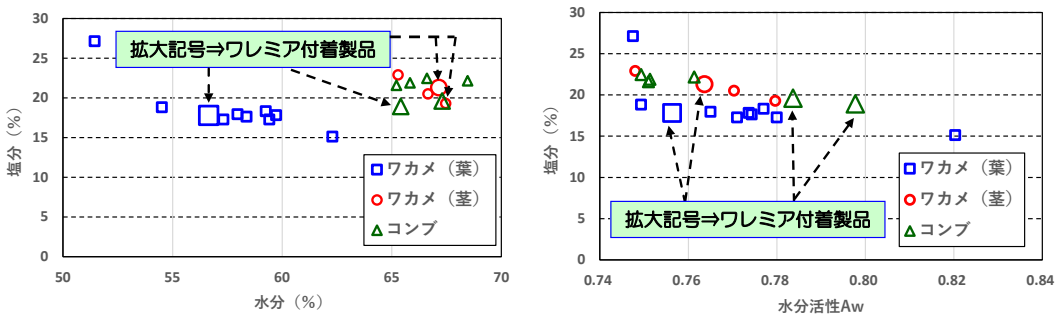

図１　市販塩蔵海藻（ワレミア付着製品含む）の水分・塩分・水分活性

表４　ワレミアの増殖が確認された市販塩蔵海藻の水分・塩分・水分活性

ワレミア検出試料		水分（%）	塩分（%）	水分活性
A	塩蔵コンブ（長切品、R3年岩手産）	67.30	19.62	0.784
B		65.40	18.92	0.798
C	塩蔵ワカメ（芯抜品、R3年岩手産）	56.65	17.79	0.756
G	塩蔵ワカメ（中芯、R1年岩手産）	67.15	21.29	0.764