

ノート

暗所におけるゆでダコの発光現象について

長井 敏・森 俊郎

(1997年12月3日受付)

A Photogenic Phenomenon of Boiled Octopus (*Octopus vulgaris*) in Darkness

Satoshi NAGAI and Toshio MORI

キーワード：ゆでダコ, 発光細菌, *Photobacterium* sp.

兵庫県下において、ある消費者がパッキングされたゆでダコ（マダコ）を購入した。暗闇でそれが発光するのを見て驚き、製造業者や販売業者に問い合わせがあった。1997年7月中旬に、製造業者から当研究室にその原因を調べてほしいとの依頼があり、現物が送付されてきた。これまでに当研究室ではこのような加工相談はなく（15年間）、今回、その原因解明を試みたところ、原因が特定できたので報告する。

冷凍状態で送付されてきたゆでダコを解凍後、暗所で観察した結果、白色の肉の部分が発光することを確認した（Figs. 1, 2）。また、タコを解凍後に生じたドリップも発光することを確認した。

発光現象の原因として2つの可能性が考えられた。1つ目は添加物の中に、発光する物質か蛍光する物質が含まれていたか、たまたま混入したかという可能性、2つ目は発光細菌が何らかの要因でタコに付着・増殖し、あたかもゆでダコが発光しているかのように見えた可能性である。

ゆでダコに従来から使用されている添加物としては、みょうばん、エリソルビン酸ナトリウム、塩、酢、着色料などで、味の向上やタコのもつ赤色色素の保持、あるいは柔らかみを持たせるためにも用いられている。消費者からクレームのあった時点において、同様なクレームは本商品のみであったことから、製品化された段階で原

因となる事象が生じた可能性は低い。流通時か、タコのカット時あるいはパッキング時に生じたと考えられる。なぜなら、製品化の段階（味付け時やボイル時）で生じた現象とするならば、もう少し多くの製品で同様な現象が確認されてもおかしくないし、製造業者もこれまで何年間か同じ方法で変わりなく製品化していてクレームがなかったことから、特殊な蛍光・発光物質が調味料や添加物に含まれていたとは考えがたい。

次に、製品表面上での発光細菌の増殖による可能性が考えられた。発光細菌としては、*Photobacterium* や *Vibrio* 属による発光が知られており、発光のメカニズムは、細胞内にルシフェリンという発光の元となる物質が存在しており、それがルシフェラーゼという酵素に酸化される際にそのエネルギーが光として放出される。蛍光の発光とメカニズムは同じである。この反応では、 Mg^{2+} 、分子状酸素とともに ATP の関与が不可欠であるが、放出されるエネルギーの量は ATP の存在量に比例することが知られている。¹⁾

ルシフェリン-ルシフェラーゼ反応に起因する発光であれば、ドリップ中に含まれている発光物質が高温処理により失活するはずである。それを確認するため、ドリップを試験管に採り、電子レンジに10秒ほどかけ軽く沸騰させた後、速やかに水道水で冷却した。冷却後のドリップが発光するかどうか暗所で見ると全く発光が認め



Fig. 1. 暗所での発光が観察されたゆでダコ

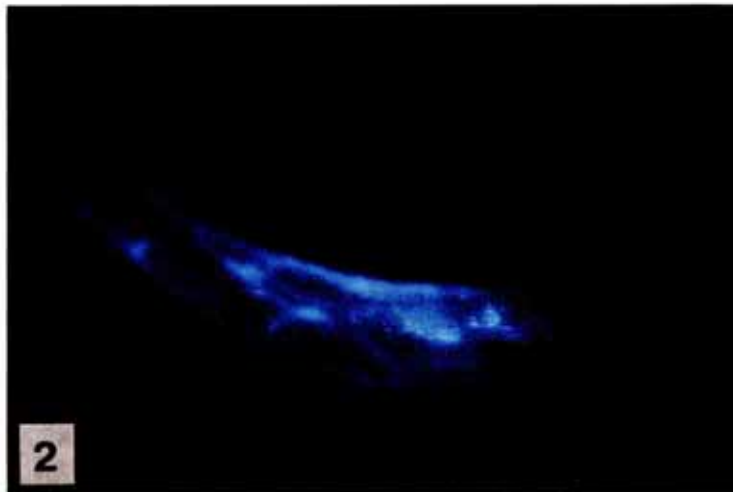


Fig. 2. *Photobacterium* sp. による自家発光

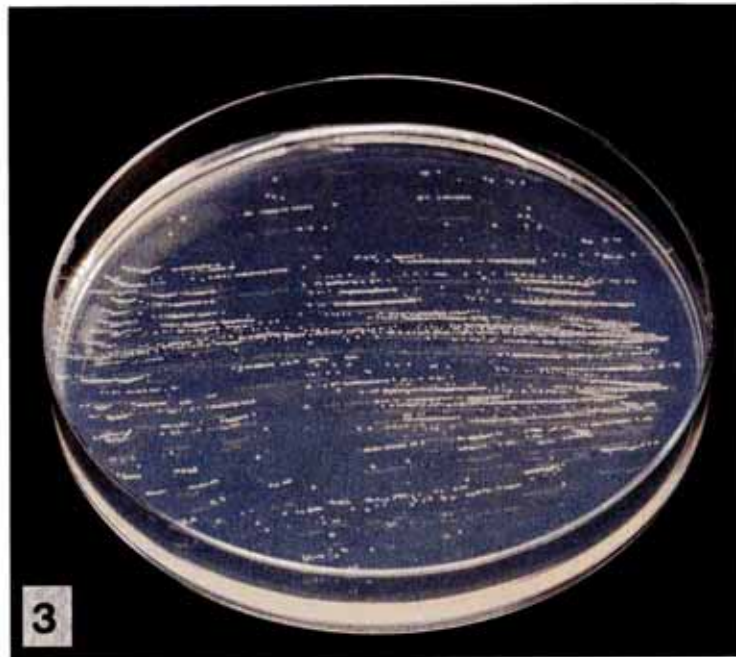


Fig. 3. *Photobacterium* sp. の寒天培地上でのコロニーの形成

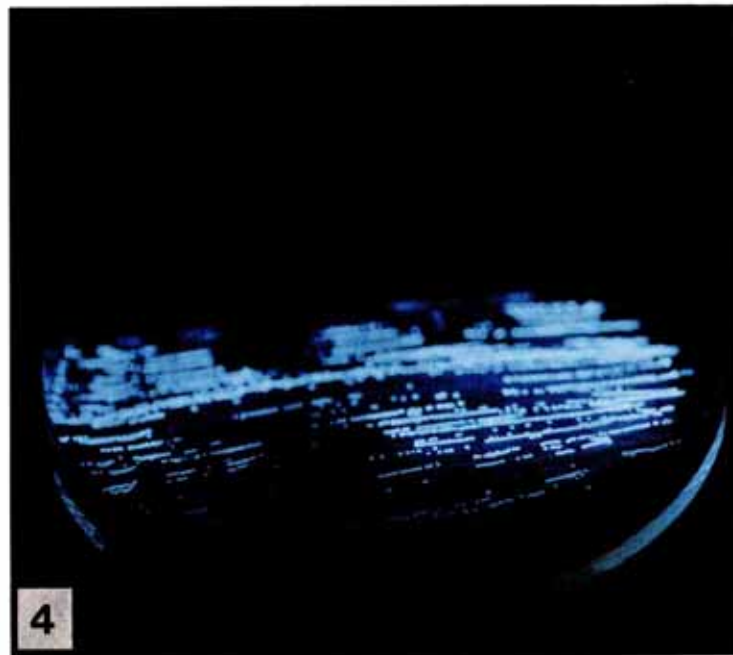


Fig. 4. 発光細菌のコロニーの自家発光

られず、発光物質が易熱性物質であることが判明した。よって、発光細菌が原因である可能性がでてきたので、ドリップから細菌の分離を試みた。3%塩分添加一般生菌計数用標準寒天培地(Nissui)を用いて原因細菌の分離を試みた。その結果、寒天培地上で細菌の発光を確認することができ、発光細菌を分離することができた(Figs. 3, 4)。本培地を基礎培地として、絵面・清水²⁾および Okuzumi *et al.*³⁾の図式、さらに Bergey's manual of determinative bacteriology⁴⁾の記載を参考にし、分離した細菌の一次鑑別を行った。性状検査の結果を Table 1 に示した。本分離菌は、桿形、グラム染色陰性、運動性あり、極鞭毛、OF テスト発酵型、発光性、色素産生能無し、チトクロームオキシダーゼ陰性、カタラーゼ陽性、グルコースからガスを産生するといった特徴を示した。また、1~5%の範囲の塩分で増殖が可能であり、7%での増殖は認められなかった。Okuzumi *et al.*⁵⁾は、食中毒の原因物質の一つであるヒスタミンを生成する発光細菌(N-group bacteria)が、1~5%の範囲の塩分条件下で増殖が可能で、7%では増殖しないことを報告しており、本菌はそれらの菌株の特徴と一致している。以上、性状検査の結果から、本菌株は *Photobacterium* 属に同定された。従って、今回の暗所におけるゆでダコ製品の発光現象はタコ表面で増殖した細菌による生物発光であることが判明した。

本細菌の食品中における挙動を知るため、至適増殖温度と至適増殖 pH について調べた。増殖試験には Zobell2216E 液体培地を用い、本培地 40ml (50ml 容三角フラスコ) に本細菌を 8.3×10^2 cells ml^{-1} の初期密度で添加し、6時間毎に 660nm の吸光度を測定することにより増殖をモニターした。培養温度に関する実験では、温度を 5, 10, 15, 20, 25, および 30 °C の 6 段階、pH に関する実験については、pH を 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, および 9.0 の 6 段階に調製した。

Fig. 5 に本細菌の温度別の増殖曲線を示した。今回、実験した 5 °C における増殖は他の温度区に比べて著しく悪かった。しかし、3~4 °C でも培養液が白濁する程度によく増殖することから低温細菌と判断できる (Table 1)。増殖至適温度は 15~20 °C と考えられる。ヒスタミン産生能をもつ *Photobacterium* 属も、2.5 °C の低温保存条件下でサバ、アジ、イワシの表皮や腸内でよく増殖

Table 1. 分離細菌の性状検査結果

Shape	rod
Gram stain	-
Motility	+
Flagellation	polar
OF test	F
Gas from glucose	+
Cytochrome oxidase	-
Catalase	+
Pigment	-
Luminescens	+
Growth in	
0% NaCl	-
1%	+
2%	+
3%	+
5%	+
7%	+
sea water	+
Growth at	
3-4°C	+
5°C	+
10°C	+
15°C	+
20°C	+
25°C	+
30°C	+
35°C	-
Growth at	
pH4.0	+
pH5.0	+
pH6.0	+
pH7.0	+
pH8.0	+
pH9.0	+

することが知られており⁶⁾、本菌の温度に対する増殖応答とほぼ一致している。

Fig. 6 に本細菌の pH 別の増殖曲線を示した。pH4.0~9.0 のいずれにおいても本細菌の増殖は認められた。ただ、pH4.0, および pH5.0 では増殖が悪く、特に pH4.0 では顕著に悪かった。本細菌の増殖至適 pH は 6.0~7.0 と考えられる。

ゆでダコドリップ中の細菌密度を測定したところ細菌密度は高く、ドリップ 1ml 当たり 0.9×10^8 CFU (Colony Forming Unit) の密度であった。寒天培地上のほとんど

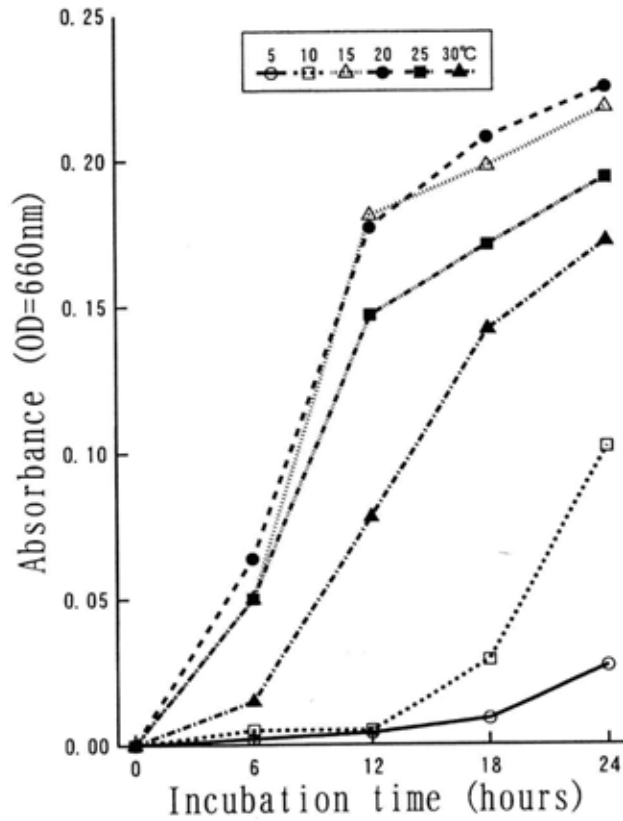


Fig. 5. *Photobacterium* sp. の異なる温度条件下における増殖

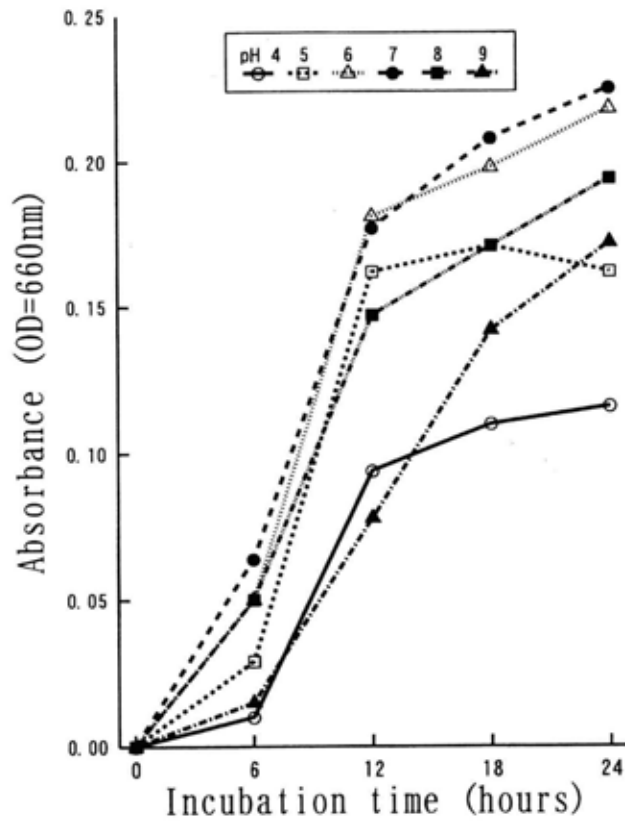


Fig. 6. *Photobacterium* sp. の異なるpH条件下における増殖

全てのコロニーは暗所で発光したことから、ゆでダコ製品には *Photobacterium* 属細菌が優占していたと推察される。また、ドリップの100倍希釈液 (10^6 CFU ml^{-1}) では、発光を確認することができなかった。寒天培地で増殖した本菌のコロニーについても滅菌濾過海水で懸濁して発光の有無の観察を試みたところ、 1.5×10^7 cells ml^{-1} では微かに発光していたが、 1.5×10^6 cells ml^{-1} では全く確認できなかった。タコの肉は解凍した時点で既に腐敗臭が漂い、腐敗が進行していた。本菌は低温で増殖可能なため、消費者が発光現象に気付いた時点で既に細胞密度が高く、おそらく初期腐敗の段階 (10^7 cells g^{-1}) を超えていたものと推察される。どの時点でタコに本菌が付着したのかについては断定はできないが、可能性として製造業者がボイルした直後から、販売業者に輸送され、カット、パックされた時点までの間と推測される。食中毒の原因となる *Photobacterium* 属細菌は、海水中に最大 10^3 cells l^{-1} の密度で生存していることが報告されている。⁶⁾ ヒスチジンが多く含まれないタコの場合、ヒスタミンの生成による食中毒発生の危険はないと考えられるが、腸炎ビブリオ (*Vibrio parahaemolyticus*) のように、一般の腐敗細菌が増殖して食品に腐敗の兆候を現す以前に、中毒を起こし得る菌数にまで増殖してしまう食中毒原因細菌も存在する。⁷⁾ 食品中の食中毒原因細菌を、それらが増殖する前に迅速に検出する方法は現段階では無いが、1995年7月からのPL法(製造物責任法)の施行、また、水産加工品についてもHACCP方式の導入が検討されている中、製品の十分な微生物管理が問われており、今後、同じ事を繰り返さないように製品化から流通、包装、および販売までの各過程における衛生面での十分な品質管理が切望される。

要約

兵庫県下の消費者から製造業者に、”購入したゆでダコが暗所で発光する。安全か?”というクレームがあり、当研究室にその原因を調べてほしいとの依頼があった。その原因を調べた結果、低温性の発光細菌 *Photobacterium* 属による、ゆでダコ表面上での増殖が原

因であると判明した。ゆでダコドリップ中の菌数を計数した結果、 0.9×10^8 CFU ml^{-1} と高く、製品は初期腐敗の段階にあった。また、寒天培地上で形成されたほとんど全ての細菌コロニーが暗所で発光した。よって、本製品中で発光細菌が優占的に増殖し、消費者が発光に気付いた時点で、既に初期腐敗の段階を超えていた可能性が考えられる。このため、製造業者および販売業者に、製品の衛生面からの品質管理を徹底するよう助言した。

文献

- 1) 山田常雄: 岩波生物学事典(山田常雄, 前川文夫, 江上不二夫, 八杉竜一, 小関治男, 古谷雅樹, 日高敏隆編), 第3版, 岩波書店, 東京, 1989, PP.1021-1022.
- 2) 絵面良男: 海洋細菌の同定, 日本海洋学会編, 海洋環境調査マニュアルII - 水質・微生物編, 恒星社厚生閣, 東京, 1990, 358pp.
- 3) M. Okuzumi, S. Okuda, and M. Awano: Isolation of psychrophilic and halophilic histamine-forming bacteria from *Scomber japonicus*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 47(12), 1591-1598 (1981).
- 4) J. G. Holt: Bergey's manual of determinative bacteriology (eds. J. G. Holt, N. R. Krieg, P. H. A. Sneath, J. T. Staley, and S. T. Williams), Ninth edition. Williams & Wilkins, Co., Baltimore, 1994, 787pp.
- 5) M. Okuzumi, S. Okuda, and M. Awano: Occurrence of psychrophilic and halophilic histamine-forming bacteria (N-group bacteria) on/in red meat fish. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 48(6), 799-804 (1982).
- 6) M. Okuzumi and M. Awano: Seasonal variations in numbers of psychrophilic and halophilic histamine-forming bacteria (N-group bacteria) in seawater and on marine fishes. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 49(8), 1285-1291 (1983).
- 7) 野中順三九・小泉千秋: 食品保蔵学, 恒星社厚生閣, 東京, 1990, pp.139-140.