

パルスパワーによるアニサキスの不活性化とパルスパワーで処理したアジ肉の品質評価

熊本大学大学院 自然科学教育部
株式会社ジャパンシーフーズ
鬼塚 千波里

熊本大学産業ナノマテリアル研究所
浪平 隆男

1. はじめに

アニサキスは世界中の海に広く分布し、多くの海産物に寄生している線虫である。魚を生食することにより、ヒトに感染しアニサキス症を引き起こす場合があるため、古くから問題とされてきた。アニサキス症の原因となるものは、主に *Anisakis simplex*, *Anisakis physeteris*, *Pseudoterranova decipiens* の3種であり、ヒトへの感染はこの第3期幼虫 (L3) によるものである⁽¹⁾。

これまでに、アニサキスの殺虫へさまざまな方法が試されてきたが、現状、加熱以外でアニサキスを不活化できる実用的な方法は冷凍に限られ、それには十分な冷凍時間を確保する必要がある⁽²⁾。欧州食品安全機関 (FESA) は -24°C で24時間冷凍することがアニサキスの殺虫に有効であると報告している⁽³⁾。しかし、冷凍はドリップの流出や食感の軟化、血合肉の褐色化など、魚肉の品質低下を引き起こすことも知られている。

パルスパワーとは蓄えた電気エネルギーを短い時間で取り出すことで得られる瞬間的に大きな電力である。気体および液体、気体、生体とその応用先は多岐にわたっており、生物分野への応用としては、パルス電界 (Pulse Electric Field) による殺菌技術がよく知られている。今回は、パルスパワーにより魚身内部のアニサキスを不活性化することに成功し、パル

ス処理した魚身の品質評価をおこなったので、その成果⁽⁴⁾を紹介する。

2. パルス電流によるアニサキスの不活性化

2.1 魚身試験体およびパルスパワー発生装置

アニサキス L3 幼虫は長崎沖で漁獲されたマサバの内臓から採取し、PCR-Restriction Fragment Polymorphism (PCR-RELP) 法⁽⁵⁾により、*Anisakis pegreffii*であることを確認している。アニサキスの不活化を確認するための試験体として、図 1a 及び図 1b に示すように、マアジのフィーレ (3枚おろしにした半身) に切れ込みを入れ、その真ん中あたりにアニサキス 10 隻を入れ、トランスグルタミナーゼにて接着することで、アニサキスが寄生した状態のフィーレを模擬的に作製した。

パルスパワー電源として、コンデンサ容量 40 μF もしくは 80 μF のコンデンサバンク回路を充電電圧 15 kV にて動作させた。それぞれの 1 パルスあたりの蓄積エネルギーは 4.5 kJ 及び 9.0 kJ である。アジフィーレを殺虫処理する空間は直径 40cm のステンレス製平行平板電極間となり、その電極間距離は 11cm とした。その電極を図 1c 及び図 1d に示すように 180L のバッファ塩水で満たしたプラスチック製円筒タンク内へ沈め、電極間 (処理空間) にフィーレを入

れたメッシュかごを設置してパルス電流を流した。実験では下部電極に空けた穴からポンプによってかごの中へ水流を噴出させることでフィーレを攪拌しながらパルス電流を印加した。なお、初期塩水温度は 5~6 $^{\circ}\text{C}$ とした。

パルス電流印加時の典型的な電圧・電流及び電力・エネルギー波形を図 2 に示す。これらは、コンデンサ容量 80 μF 、充電電圧 15 kV、バッファ塩水導電率 5 mS/cm の条件における波形である。電圧、電流、電力のピーク値は、それぞれ 15 kV (1 万 5 千ボルト)、6 kA (6 千アンペア)、100 MW (1 億ワット) であり、電流ピーク 10% 以上の時間幅は約 380 μs であった。このパルスパワーをフィーレの入った電極間へ繰り返し印加することになる。

2.2 アニサキスの不活性化

寄生虫の生死判定基準は自発的な運動である⁽⁶⁾。アニサキスをその活性温度である 37 $^{\circ}\text{C}$ のウォーターバスで温め、ピンセットで刺激して反応がないものを「不動 (不活性化)」とした。処理直後は気絶状態にあるものが多く、正確な判定ができないことから、24 時間後、48 時間後に観察を行い、不動率 (全数に対する「不動」数の割合) を算出した。アニサキスはパルス処理直後にフィーレから取り出し、観察まで生理食塩水に入れて 4 $^{\circ}\text{C}$ の冷蔵庫で保管した。

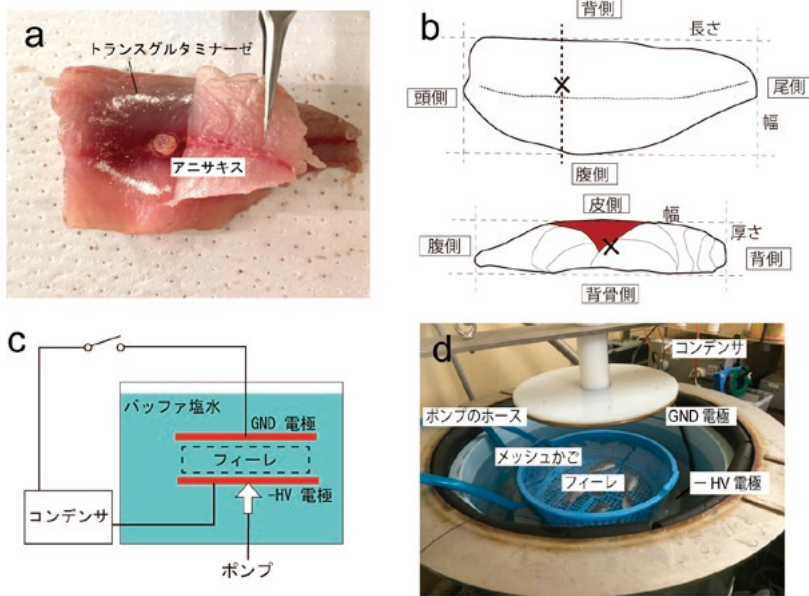


図1 (4) (a) アニサキス入りフィーレの作製、(b) フィーレ内のアニサキスの位置、(c) 実験装置の模式図、(d) 実験装置の写真

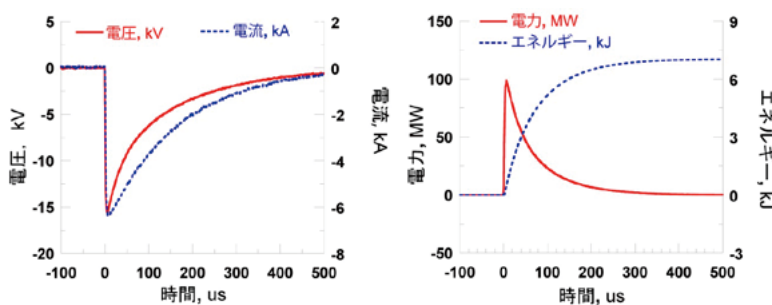


図2 (4) 典型的な電流電圧波形及び電力エネルギー波形 (コンデンサ容量80 μ F、充電電圧15 kV、塩水導電率5 mS/cm)

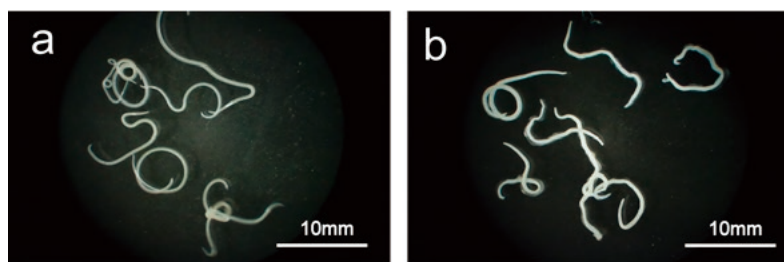


図3 (4) 未処理のアニサキス (a)、パルス処理24時間後のアニサキス (b)

アニサキス入りのフィーレへパルス大電流を繰り返し印加することにより、アニサキスを不活性化できることが確認された。不動判定したアニサキスの多くは、図3に示すように、時間が経つと膨化・白濁し、死亡していることが確認された。なお、その殺虫要因は、いわゆる感電死というほかないの

が現状であり、今後、その殺虫機序が明らかにされることが期待される。

2.3 塩水導電率及び印加回数への影響

アジフィーレ 5.5 kg (約 250 フィーレ) にアニサキス入りフィーレを 5 枚 (アニサキスは計 50 隻)

入れてパルスを印加した。食塩を水に溶かし、バッファ塩水の導電率を 0.2 (水道水)、2.0, 5.0, 8.5, 11.5 mS/cm に調整してコンデンサ容量 40 μ F、印加周波数 1 Hz にてそれぞれ 500 回のパルスを印加した。

塩水導電率とアニサキスの不動率の関係を図 4a に示す。パルス電流印加後、24 時間経過時には、5.0 及び 8.0 mS/cm のバッファ塩水導電率時に、48 時間経過時には、バッファ塩水導電率 5.0 mS/cm 時に、最も不動率が高かった。これより、バッファ塩水導電率 5 mS/cm が最も効果的にアニサキスを不活化できる条件、即ち、最も大きな電流がフィーレ及びアニサキスへ流れた条件であると言える。なお、インピーダンス計測法による導電率測定では、100 kHz でのアジフィーレの導電率は 8 mS/cm 程度であった。

電極間へ流れる電流について考えてみると、主たる電流経路となる塩水と処理対象であるアジフィーレの導電率の関係が大きく影響する。簡易的には、電極間にて、塩水とフィーレは並列接続された抵抗と考えることができる。塩水の導電率が高い、即ち、塩水の抵抗が小さいと電極間全体の電流は大きくなり、アニサキスの感電へ有効に働くと考えられるが、その導電率がフィーレのそれと比較して高すぎると、電流は塩水へ一方的に偏ることとなり、結果として、フィーレへ流れる電流の割合及びその絶対量が小さくなる。そのため、今回の殺虫への最適バッファ塩水導電率 5 mS/cm は、8 mS/cm というアジフィーレの導電率時に最も大きな電流が分配される条件であったと考えられる。

続いて、アジフィーレ 7 kg に

アニサキス入りフィーレ5枚（アニサキスは計50隻）を入れてパルスを印加した。導電率を5 mS/cmに固定し、コンデンサ容量80 μ F、印加周波数1 Hzで100, 200, 300, 400, 500回のパルスを印加してそれぞれ不動態を求めた。

パルス印加回数とアニサキスの不動態の関係を図4bに示す。印加回数が多くなるほど不動態は高くなり、500回にて24時間後、48時間後ともに100%に達した。このことから、パルス印加によるアニサキスへのダメージは、回数に応じて蓄積していき、それが致命的なレベルに達することで死亡していると考えられる。

3. パルス処理した魚肉の品質評価

3.1 官能評価

パルス処理（フィーレ3 kg、コンデンサ容量80 μ F、印加周波数2.5 Hz、バッファ塩水導電率5 mS/cm、450回印加）した魚身の官能評価を行った。この条件におけるアニサキスの不動態は100%であり、パルス処理後の魚身温度は約20℃、バッファ塩水の温度は約11℃であった。未処理品をコントロールとし、パルス処理したフィーレを7段階評点法で評価した（+3：非常に良い、+2：やや良い、+1：わずかに良い、0：同等、-1：わずかに悪い、-2：やや悪い、-3：非常に悪い）。評価項目は、色（血合いの色、身の色）、におい（魚臭さ）、食感（弾力・身のしっかりした感じ）、味（魚臭さ、旨味）、総合評価とした。

官能評価の結果を図5に示す。パルス処理1日及び3日経過後のフィーレとも、未処理品にはやや劣るものの、いずれの項目においてもその平均値は0（未処理品と同等）から-1（未処理品よりわ

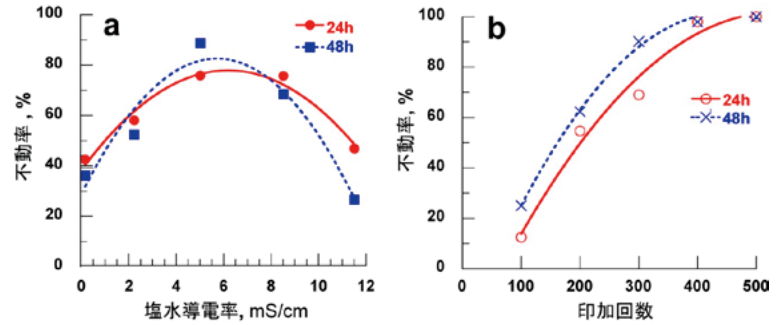


図4 (4) (a) 塩水導電率と不動態の関係、(b) 印加回数と不動態の関係

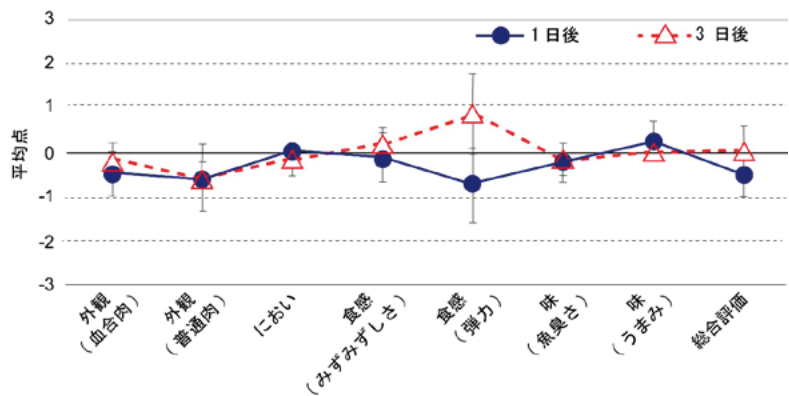


図5 (4) パルス処理品の官能評価結果（エラーバーは標準偏差を示す（n=8））

ずかに悪い)の間であり、生（非冷凍）の刺身としての品質を十分に保っていると考えられる。

3.2 食感測定

小型卓上試験機（EZ Test, 高津製作所）を使用し、破断試験を行った。同魚群のアジを用い、未処理品、パルス処理品、解凍品（急速冷凍後1ヵ月間保管）を各9枚測定した。パルス処理品は、フィーレ3 kgにコンデンサ容量80 μ F、印加周波数2.5 Hz、バッファ塩水導電率5 mS/cmで300回印加したものを使用し、破断試験治具として、前歯での咀嚼を想定した幅10 mm、厚み1.5 mmの金属板を使用した。試験では、図6aのように皮側から背側の魚肉へ荷重をかけ、フィーレ1枚につき2箇所測定した。治具で魚肉を押し速度は10 mm/minであり、

その荷重の経時変化より弾性率と破断試験力を読み取った。典型的な測定波形は図6bのようになる。

未処理品、パルス品、解凍品の弾性率と破断試験力の計測値を表1に示す。解凍品では弾性率と破断試験力が未処理品に比べて著しく低くなったが、パルス処理品は未処理品とほぼ同等であり、同等の食感を保っていると考えられる。

3.3 色彩測定

未処理品、パルス処理品、解凍品（急速冷凍後3日間保管）の明度及び色度（L* a* b*値）を分光式色差計（日本電色工業製SA5500）にて測定した。フィーレはすべて同じ魚群のものを用いた。パルス処理品については、コンデンサ容量80 μ F、印加周波数2.5 Hz、塩水導電率5 mS/cmで400回印加したものを使用した。

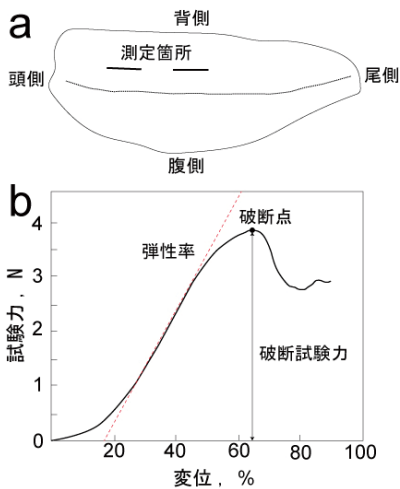


図6 (4) (a) 破断試験の測定箇所、(b) 典型的な破断試験の測定波形と測定パラメータ

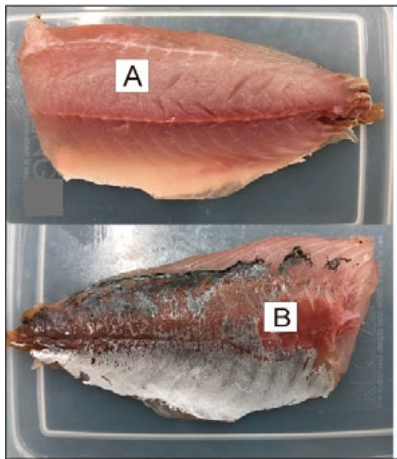


図7 (4) 色差計の測定箇所 (A: 普通肉、B: 血合肉)

それぞれ、図7に示すように普通肉 (A) と血合肉 (B) を測定した。いずれも保管パックの開封後、5℃で4時間置いた後に測定した。

L*a*b* 表色系は、明度をL* 値、色相と彩度をa* 値、b* 値で表す。L* 値は数値が大きいほど白色に近く、数値が小さいほど黒色に近いことを示す。a* 値は数値が大き

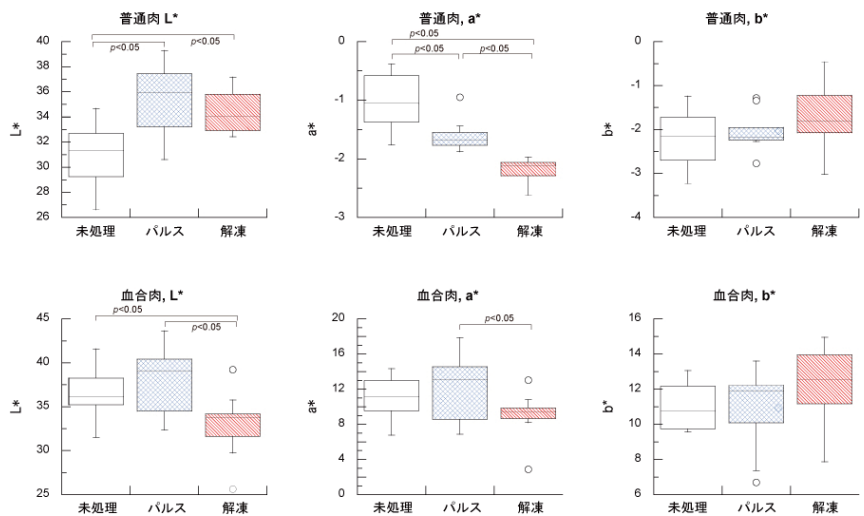


図8 (4) 未処理品、パルス品、解凍品の明度・色相・彩度 (n=10)

いほど赤色、小さいほど緑色、b* 値は数値が大きいほど黄色、小さいほど青色であることを示す。

測定結果を図8に示す。血合肉の赤みはヒトの刺身に対する鮮度感に大きく影響するため、血合肉のa* 値に注目すると、パルス品は未処理品と同等、かつ、解凍品と比べて優位に大きい (= 赤い) 結果となった。これより、パルス品は解凍品に比べて商品価値が高く保たれていると考えられる。

4. まとめ

水産業界にて長年の課題となっていたアニサキス (症) であるが、冷凍によらない新しい解決方法として、パルスパワーを用いたアニサキス殺虫技術を開発した。その殺虫技術は、魚身の品質をほとんど低下させることなく、魚身の内部にいるアニサキスを完全に不活性化することができ、今後、魚介類の安心・安全な生での喫食へ大きく貢献すること

が期待されている。

参考文献

1. 日本食品衛生協会 (2013) 食中毒予防必携第3版
2. D.A. Wharton, O. Aalders, "The response of Anisakis larvae to freezing", *Journal of Helminthology*, 76(4), 363-368 (2002) DOI: 10.1079/JOH2002149
3. EFSA, "Scientific opinion on risk assessment of parasites in fishery products", *EFSA Journal*, 8(4), 1543 (2010)
4. C. Onitsuka, K. Nakamura, D. Wang et al. "Inactivation of anisakis larva using pulsed power technology and quality evaluation of horse mackerel meat treated with pulsed power", *Fisheries Science*, 88, 337-344 (2022) DOI: 10.1007/s12562-022-01593-2
5. A. Umehara, Y. Kawakami, J. Araki, A. Uchida, "Molecular identification of the etiological agent of the human anisakiasis in Japan", *Parasitology International*, 56(3), 211-215 (2007) DOI: 10.1016/j.parint.2007.02.005
6. 日本食品衛生協会 (2015) 食品衛生検査指針 微生物編, p.814

(日動協ホームページ、LABIO21 カラーの資料の欄を参照)

表1 未処理品、パルス処理品、解凍品の破断試験の測定結果 (n=9)

	未処理品	パルス処理品		解凍品	
	平均値±SD	平均値±SD	t-test	平均値±SD	t-test
弾性率 [N/mm ²]	10.79±2.08	10.26±1.51	n.s.	6.98±1.18	**
破断試験力 [N]	3.04±0.54	3.15±0.46	n.s.	2.61±0.41	*
n.s. : 非有意 * : p<0.05 ** : p<0.01					