

共同研究事業 農林水産物食品安全性確保対策事業

清水 康弘

1. 洗浄による魚介類殺菌効果試験

目的

腸炎ビブリオによる食中毒を防止するための、腸炎ビブリオ菌に汚染された生鮮魚介類の殺菌技術開発を目的とした、洗浄による殺菌効果試験を行った。

なお、この試験は、三重県科学技術振興センターの各試験研究機関（工業技術総合研究所、保健環境研究所、農業技術センター、林業技術センター）と共同で実施した。

材料および方法

1) 洗剤希釈水を組み合わせた洗浄効果

供試魚

新鮮なマアジ（43.6～80.6g）を使用した。

洗浄水の種類

洗浄水には、0.15%濃度の食品用洗剤溶液（以下洗剤希釈水）、中性電解水、オゾン水、水道水を使用した。

供試菌株

保健環境研究所にてバカガイより分離培養された非毒性の腸炎ビブリオ菌株、Vibrio parahaemolyticus 98148株（TDH、TRH陰性株）を使用した。

菌汚染方法

菌浮遊液（ $10^8 \sim 10^{10}$ （CFU/ml））に供試魚を5分間浸漬し、取り出して5分間放置した後、使用した。

洗浄方法

洗浄は、洗浄水が入った容器に供試魚を投入し、容器中の洗浄水を清潔なガラス棒で軽く攪拌しながら行った。なお、洗浄水の状態を把握するため水温、pH、ORP（酸化還元電位）を簡易測定機を用いて測定した。有効塩素濃度、オゾン濃度は滴定法にて測定した。

菌数測定

菌数の測定は振り出し法により行った。すなわち、菌汚染前、洗浄前（菌汚染後）、および洗浄後の魚介類を清潔なビニール袋に入れ、それらが浸る程度に滅菌した生理食塩水を注ぎ、5分間軽く振とうさせた後、ビニール袋中の生理食塩水を採取した。採取した試料をTCBS寒天培地に塗布し、37℃で24時間培養後、暗緑色の典型

的な集落を計数し、魚介類1g当たりの菌数を算出した。

試験区分

試験区分は、1回目に洗剤希釈水で洗浄し、2回目に水道水、3回目にオゾン水で洗浄する：1区、オゾン水のみで3回洗浄（1回使うごとに水替え）する：2区、以下同様に、中性電解水、水道水で洗浄を行う試験区（3、4区）を設定し（表1）、生残する菌数を比較して、殺菌効果を判定した。洗浄時間は、各区とも計30分間（10分間ずつ3回）とした。

2) アルカリ性電解水を組み合わせた洗浄効果

供試魚

新鮮なイサキ（43.6～92.4g）を使用した。

洗浄水の種類

洗浄水には、アルカリ性電解水、酸性電解水、水道水を使用した。なお、菌汚染方法、洗浄方法、菌数測定は、前述と同じ方法で実施した。

試験区分

アルカリ性電解水（A）、酸性電解水（B）、水道水（C）を組み合わせて、1区：C→C→C、2区：A→C→C、3区：C→B→C、4区：A→B→Cの順で洗浄する試験区を設定した（表2）。洗浄時間は5分間ずつ3回、計15分間とした。

表1 洗剤希釈水を組み合わせた洗浄効果

| 試験区 | 洗浄水の種類 | | |
|-----|--------|-------|-------|
| | 1回目 | 2回目 | 3回目 |
| 1 | 洗剤希釈水 | 水道水 | オゾン水 |
| 2 | オゾン水 | オゾン水 | オゾン水 |
| 3 | 洗剤希釈水 | 水道水 | 中性電解水 |
| 4 | 中性電解水 | 中性電解水 | 中性電解水 |
| 5 | 洗剤希釈水 | 水道水 | 水道水 |
| 6 | 水道水 | 水道水 | 水道水 |

表2 アルカリ性電解水を組み合わせた洗浄効果

| 試験区 | 洗浄水の種類 | | |
|-----|--------|-----|-----|
| | 1回目 | 2回目 | 3回目 |
| 1 | 水道水 | 水道水 | 水道水 |
| 2 | アルカリ水 | 水道水 | 水道水 |
| 3 | 水道水 | 酸性水 | 水道水 |
| 4 | アルカリ水 | 酸性水 | 水道水 |

結果

1) 洗剤希釈水を組み合わせた洗浄効果

試験結果を図1に示す。殺菌効果は、中性電解水>水道水>オゾン水となり、中性電解水が最も強かった。なお、オゾン水は、洗剤希釈水を使用しても、生残菌数に差は認められず、殺菌効果の向上は認められなかった。一方、中性電解水、水道水では、洗剤希釈水を使用した方が、菌数は約1桁～2桁少なくなり、中性電解水と洗剤希釈水の組み合わせることにより、300 (CFU/g)未滿にまで生残菌数が減少していた。

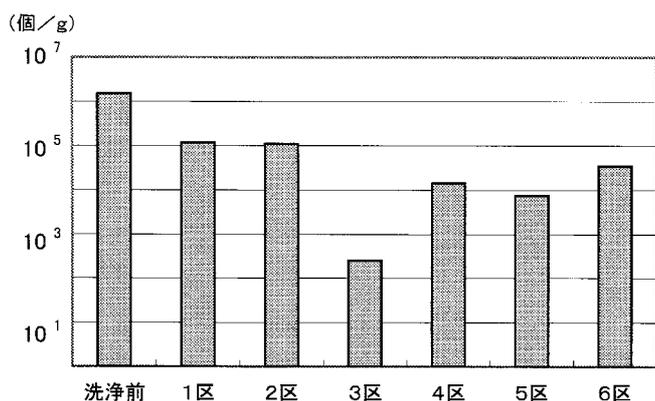


図1 洗剤希釈水を組み合わせた洗浄効果

2) アルカリ性電解水を組み合わせた洗浄効果

試験結果を図2に示す。1区と2区、3区と4区をそれぞれ比較すると、アルカリ性電解水を使用した区では、生残する菌数は水道水より約1桁少なく、アルカリ性電解水による殺菌効果の向上が認められた。なお、アルカリ性電解水、と酸性電解水を組み合わせた区に最も強い殺菌効果が認められ、水道水だけで洗浄した区と比較すると、生残菌数は約30分の1にまで減少していた。

考察

昨年度は、中性電解水、オゾン水、次亜塩素水を単独で用いて、殺菌効果を検討した。その結果、いずれの洗浄水においても5～20分間程度の洗浄では、魚介類に付

着した腸炎ビブリオを完全に殺菌することは難しく、魚介類の体表の粘液（以下ぬめり）が殺菌効果を抑制していると考えられた。そこで本年度は、ぬめりを除去、または不活化させる目的で、洗剤希釈水、アルカリ性電解水を組み合わせた洗浄を実施した所、殺菌効果の向上が認められた。

ただ、ぬめりを除去、不活化することにより、魚の品質の低下が早まることが予想されること、殺菌有効成分の残留を考慮する必要があることから、品質低下防止ならびに安全性対策をふまえた、より優れた殺菌技術の開発が必要と考えられる。

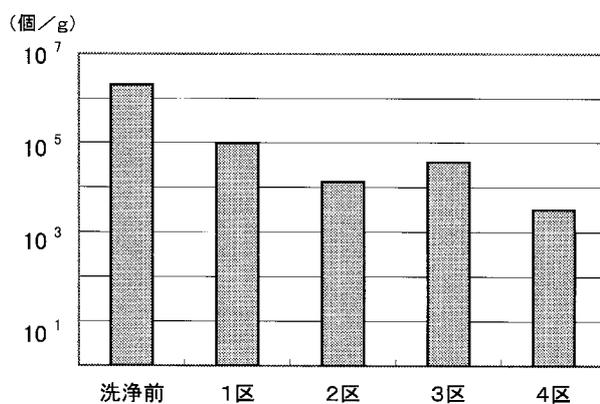


図2 アルカリ性電解水を組み合わせた洗浄効果

2. 市場細菌調査

目的

塩干品を製造する際の、衛生管理基準を設定するための基礎資料として、原料となる鮮魚の、市場で水揚げされた段階における細菌付着状況を調査する。

方法

県内の主な水揚げ港にて、水揚げ直後の小型鮮魚（マアジ、サバ類、イワシ類、カマス類）が浸漬されている海水氷および、海水氷を作る際に使用している海水を採取し、それぞれ1ml中の一般細菌、大腸菌群および、腸炎ビブリオの細菌数を測定した。

一般生菌数は普通寒天培地にて混積平板培養（25℃、48時間）後、大腸菌群数はデゾキシコレート寒天培地にて混積平板培養（37℃、24時間）後に形成されたコロニーをそれぞれ計数、算出した。また、腸炎ビブリオ細菌数は、TCBS寒天培地で、37℃、24時間培養後に形成された暗緑色のコロニー数を計数、算出した。

結果および考察

調査は平成11年5月11日～平成12年3月24日の期間に、月1～2回の割合で行った。調査結果を表3に示す。一般生菌数は、全調査期間において $10^4 \sim 10^6$ CFU/mlのオーダーの範囲でみられ、6月～9月に多い傾向が認められた。大腸菌群は5月11日～8月12日に $10^2 \sim 10^4$ のオーダーの範囲でみられ、8月30日以後は、ほとんどみられなかった。腸炎ビブリオは6月16日、9月20日に $10^2 \sim 10^3$ CFU/mlのオーダーの範囲でみられた。なお、一般生菌数、大腸菌群数、腸炎ビブリオ細菌数は6月～9月に多い傾向が認められたものの、それぞれに一定した関係は認められなかった。

3. 塩干品細菌調査

目的

塩干品を製造する際の、衛生管理基準を設定するための基礎資料として、塩干品の販売段階における細菌付着状況を調査する。

方法

平成12年3月1日に、県内のA、B、Cの食料品店

(店舗の規模 $A < B < C$)にて、マアジの塩干製品(魚体重40.5～52.3g)を3尾ずつ、計9尾購入し、それぞれの一般生菌数(CFU/g)、大腸菌群数(CFU/g)、塩分濃度(%)を測定した。細菌数の測定は、塩干品を購入後、直ちに実験室内に持ち帰り、マアジの背部普通筋肉約10gを無菌的に採取し、滅菌生理食塩水90mlと共にホモジナイズした。そして、一般生菌数は普通寒天培地と共に混積平板培養後(25℃, 48時間)、大腸菌群数はデゾキシコレート寒天培地にて混積平板培養(37℃, 24時間)後に形成されたコロニーを計数した。塩分濃度は、ホモジナイズした試料の塩分(%)を塩分計(セキスイ, SS-31)にて測定し、製品での値に換算した。

結果及び考察

塩干品の販売状況ならびに各細菌数の測定結果(平均値)を表4に示す。一般生菌数はA店では 10^6 、B店、C店では 10^4 のオーダーでみられ、これらの菌の多少は保管温度、包装形態から推測されるものと同様であった。ただ、大腸菌群数は、A店、C店では 10^2 、B店では 10^4 のオーダーでみられ、B店で多かった原因は不明であった。

表3 市場細菌調査結果

| 月日 | 一般生菌数(CFU/ml) | | | 大腸菌群(CFU/ml) | | | 腸炎ビブリオ(CFU/ml) | | | サンプリング時の水温(℃) | | |
|--------|---------------|---------|---------|--------------|---------|------|----------------|---------|------|---------------|------|------|
| | 氷水1 | 氷水2 | 市場海水 | 氷水1 | 氷水2 | 市場海水 | 氷水1 | 氷水2 | 市場海水 | 氷水1 | 氷水2 | 市場海水 |
| 5月11日 | 3.3E+04 | 4.8E+04 | <300 | 4.9E+02 | 3.4E+03 | <300 | <300 | <300 | <300 | 9 | 5 | 17.8 |
| 6月16日 | 5.4E+05 | 2.4E+06 | <300 | 4.2E+04 | 9.6E+04 | <300 | 1.2E+03 | 4.0E+03 | <300 | 3.2 | 6.6 | 20.8 |
| 7月12日 | 1.1E+05 | 3.1E+05 | <300 | <300 | 3.9E+02 | <300 | <300 | <300 | <300 | 1.8 | 12.8 | 21.2 |
| 8月12日 | 5.7E+04 | 7.8E+05 | <300 | 4.8E+02 | 1.8E+04 | <300 | <300 | <300 | <300 | 5.4 | 9.2 | 23.6 |
| 8月30日 | 5.1E+05 | 2.2E+04 | <300 | <300 | <300 | <300 | <300 | <300 | <300 | 4.8 | 4.6 | 26 |
| 9月20日 | 1.2E+05 | 8.6E+06 | <300 | <300 | <300 | <300 | <300 | 6.5E+02 | <300 | 5.8 | 3.8 | 25 |
| 10月21日 | 1.4E+04 | 4.4E+03 | <300 | <300 | <300 | <300 | - | - | - | 9.2 | 10.9 | 24.6 |
| 11月11日 | 2.3E+04 | 6.1E+05 | <300 | <300 | <300 | <300 | <300 | <300 | <300 | 0.9 | 0.6 | 22.4 |
| 11月30日 | 4.7E+04 | 4.4E+03 | 9.8E+02 | <300 | <300 | <300 | <300 | <300 | <300 | 4.6 | 5.2 | 20.2 |
| 1月19日 | 3.4E+04 | 8.0E+03 | <300 | <300 | <300 | <300 | <300 | <300 | <300 | 1.6 | 0.6 | 16 |
| 2月23日 | 1.6E+04 | - | <300 | <300 | - | <300 | <300 | - | <300 | 4.2 | - | 14.3 |

表4 塩干品の販売実態調査

| 店名 | 製造月日 | 一般生菌数(CFU/g) | 大腸菌群数(CFU/g) | 保管温度(℃) | 塩分(%) | 販売時の包装形態 |
|----|-------|--------------|--------------|---------|-------|-------------|
| A店 | 2月29日 | 2.2E+06 | 4.8E+02 | 屋外干し | 1.6 | なし |
| B店 | 2月29日 | 3.5E+04 | 1.8E+04 | 2℃ | 0.8 | 発泡トレイにラップ掛け |
| C店 | 2月29日 | 2.4E+04 | 2.0E+02 | -1℃ | 1.4 | 同上 |