

塩蔵魚の品質に関する研究—Ⅱ*

腸炎ビブリオに対する防腐剤の発育阻止効果

稲 益 猷 二

Studies on Quality Improvement of Salted Fish- II.
Effect of Preservatives and Sodium Chloride upon Growth of
Vibrio parahaemolyticus

By

Yūji INAMASU

Effects of sodium chloride and preservatives for *Vibrio parahaemolyticus* were studied and obtained followed results.

1. Peptone medium containing 3~5% sodium chloride at pH 8.0 were suitable for growth of Toi type and Takikawa's pathogenic halophilic bacteria, which were able to grow even in 9~13% sodium chloride through gradient incubation with increasing dose.
2. The minimum concentration of preservatives for inhibited these bacteria were neo-furaskin 0.005%, chlor-tetracycline 0.0007%, sorbic acid 0.46%, and dehydroacetic acid 0.4% in the peptone medium containing 5% sodium chloride at pH 8.0.

緒 言

一般の腐敗細菌は高濃度の食塩が存在すると発育できないが、中には飽和食塩水においてさえ発育するものがあり、これは食塩のないところでは発育しないので好塩細菌とよんでいる。最近水産物による食中毒の一原因として、いわゆる病原性好塩菌 腸炎ビブリオが世間の注目をあつめている。元来本菌の来源は海洋であろうと考えられており、これによる食中毒の防止は食品衛生上重要な問題である。本菌に対して黒木^{1),2),3)}は魚函の消毒、浅川⁴⁾は低温保持がふつうの細菌性中毒対策と同様有効であることを認めており、興津、河端⁵⁾は現在鮮度保持に使用が認められている防腐剤が、その発育阻止効果が著しいと述べている。著者も腸炎ビブリオに対する防腐剤の発育阻止効果について実験したのでその結果を報告する。

* 水産大学校研究業績 第456号, 1965年8月17日受理
Contribution from the Shimonoseki University of Fisheries, No.456
Received Aug. 17, 1965

実 験

実 験 I. 供試菌の発育至適 pH, 至適食塩濃度および発育可能最高食塩濃度

I—1. 供試菌： 都井型 No.1, No.2 (宮崎大学農学部より分与された), 滝川株 No.1, No.3 および No.9 (山口県衛生研究所より分与された)

I—2. 実験方法

(1) 基礎培地： ポリペプトン 5g, 肉エキス 3g, 滅菌水 1000 ml, 食塩所定量。

上記基礎培地のpHを7に調整し, 食塩濃度を 1, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 6, 7, および8%にして至適食塩濃度測定用培地とした。また食塩濃度5%の基礎培地のpHを 5, 6, 7, 8 および9の5段階に調整して発育至適 pH 測定用培地とした。耐塩性測定用としては食塩濃度が 5, 7, 9, 11, 13, および15%の培地を用いた。

(2) 培養法： あらかじめ3%食塩含有基礎培地で2代継代培養した供試菌の一金耳量を上記培地に接種し 37°C で 1, 3, 5, 7 および20日間培養して発育度を混濁度によって観察した。なお発育可能最高食塩濃度は3日培養したものをさらに食塩濃度の高い培地に移植して試験した。

I—3. 実験結果： 供試菌5株を培養して発育度を観察した結果, 食塩濃度1~8%, pH7の培地では滝川株 No.1 および No.9 が食塩濃度7%で発育を見なかった外は同様の発育程度を示したので, その一例として都井型菌 No.1 の発育至適食塩濃度測定結果を第1表に示す。

Table 1. Growth of *Vibrio parahaemolyticus* (Toi type No.1) with various concentration of NaCl at pH 7.0.

Incubation time (day)	NaCl concn. in culture medium (%)											
	1.0	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	4.5	5.0	5.5	6.0	7.0	8.0
1	—	—	—	+	+	+	±	±	±	±	—	—
3	—	—	±	++	++	++	++	++	+	±	±	—
5	—	±	+	++	++	++	++	++	+	±	±	—
7	—	±	+	++	++	++	++	++	+	+	±	—
20	—	±	+	++	++	++	++	++	+	+	±	—

++ : colonies crowded densely, + : colonies distributed, ± or — : colonies were scarcely or none.

Table 2. Effect of pH of culture medium on growth of *Vibrio parahaemolyticus* (Toi type No.1).

Incubation time (day)	pH in culture medium				
	5	6	7	8	9
1	—	±	+	+	+
3	—	++	++	++	++
5	—	++	++	++	++
7	—	++	++	++	++
20	—	++	++	++	++

NaCl concn. : 5%.

Table 3. Change of resistance of *Vibrio parahaemolyticus* against NaCl through gradual incubation with increasing dose at pH 7.0.

Strain	NaCl concn. in medium (%)						
	5	7	9	11	13	15	17
Toi type No.1	++	++	+	+	±	—	
" No.2	++	+	+	+	—		
Takikawa No.1	++	+	±	—			
" No.3	++	+	+	+	±	—	
" No.9	++	±	±	—			

食塩濃度 5%, pH 5~9 の培地では、供試菌はすべてほぼ同じ発育程度を示したので、一例として都井型菌 No.1 の結果を第 2 表に示す。また食塩濃度 5~15%, pH 7 の培地を段階的に移植した結果は第 3 表に示すとおり、供試菌の発育可能最高食塩濃度は都井型菌 No.1 が 13%, 都井型菌 No.2 が 11%, 滝川株 No.1 が 9%, 滝川株 No.3 が 13%, そして滝川株 No.9 が 9% であった。以上の結果から供試菌の発育至適条件は食塩濃度が 3~5% で、発育至適 pH は 8 であり、発育可能最高食塩濃度は 9~13% であるといえる。

実 験 II . 供試菌に対する防腐剤の発育阻止効果

II—1. 供試菌： 実験—I に同じ

II—2. 供試防腐剤： ソルビン酸カリウム（添加濃度はソルビン酸として算出）、デハイドロ酢酸ナトリウム（添加濃度はデハイドロ酢酸として算出）、ネオフラスキン散およびクロルテトラサイクリンを使用。

II—3. 実験方法

(1) 基礎培地： 食塩濃度 5%, pH 8 に調整した基礎培地に滅菌水に溶かした各防腐剤を添加した。

(2) 培養法： 実験 I と同様である。

II—4. 実験結果： ソルビン酸、デハイドロ酢酸、ネオフラスキン散およびクロルテトラサイクリンの供試菌 5 株に対する発育阻止効果は第 4, 5, 6 および 7 表に示すとおりである。すなわちソルビン酸は 0.46% 以上、デハイドロ酢酸は 0.41% 以上、ネオフラスキン散は 0.005% 以上、クロルテトラサイクリンは 50 ppm 以上で発育を阻止することができた。

Table 4. Inhibitory effect of sorbic acid on *Vibrio parahaemolyticus* in medium containing 5% NaCl at pH 8.

Strain	Incuba- tion time (day)	Sorbic acid concn. (%)					
		0	0.05	0.20	0.33	0.46	0.61
Toi type No.1	1	+	+	+	-	-	-
	3	++	+	+	±	-	-
	5	++	++	+	±	-	-
	7	++	++	+	±	-	-
	20	++	++	+	±	-	-
Toi type No.2	1	+	+	+	±	-	-
	3	++	+	+	+	-	-
	5	++	++	++	+	-	-
	7	++	++	++	+	-	-
	20	++	++	++	+	-	-
Takikawa No.1	1	++	+	+	±	-	-
	3	++	++	++	+	±	-
	5	++	++	++	+	±	-
	7	++	++	++	+	±	-
	20	++	++	++	+	±	-
Takikawa No.3	1	++	+	±	±	-	-
	3	++	+	+	±	-	-
	5	++	++	+	±	-	-
	7	++	++	+	±	-	-
	20	++	++	+	±	-	-
Takikawa No.9	1	+	+	±	±	-	-
	3	+	+	+	±	-	-
	5	+	+	+	+	-	-
	7	+	+	+	+	-	-
	20	+	+	+	+	-	-

Table 5. Inhibitory effect of dehydroacetic acid on *Vibrio parahaemolyticus* in medium containing 5% NaCl at pH 8.

Strain	Incubation time (day)	Dehydroacetic acid concn. (%)					
		0	0.05	0.13	0.23	0.33	0.41
Toi type No.1	1	+	+	±	±	±	—
	3	++	++	++	+	+	—
	5	++	++	++	+	+	—
	7	++	++	++	+	+	—
	20	++	++	++	+	+	—
Toi type No.2	1	+	+	±	±	—	—
	3	++	+	+	+	—	—
	5	++	++	++	+	—	—
	7	++	++	++	+	—	—
	20	++	++	++	+	—	—
Takikawa No.1	1	++	+	±	±	—	—
	3	++	++	+	±	—	—
	5	++	++	+	±	—	—
	7	++	++	+	±	—	—
	20	++	++	+	±	—	—
Takikawa No.3	1	++	+	±	±	±	—
	3	++	+	+	+	±	—
	5	++	++	+	+	±	—
	7	++	++	+	+	±	—
	20	++	++	+	+	±	—
Takikawa No.9	1	+	+	+	±	—	—
	3	+	+	+	+	±	—
	5	+	+	+	+	±	—
	7	+	+	+	+	±	—
	20	+	+	+	+	±	—

Table 6. Inhibitory effect of neo-furaskin on *Vibrio parahaemolyticus* in medium containing 5% NaCl at pH 8.

Strain	Incuba- tion time (day)	Neo-furaskin concn. (%)					
		0	0.001	0.003	0.005	0.007	0.009
Toi type No.1	1	+	±	±	-	-	-
	3	++	+	+	-	-	-
	5	++	+	+	-	-	-
	7	++	+	+	-	-	-
	20	++	+	+	-	-	-
Toi type No.2	1	+	±	±	-	-	-
	3	++	+	+	-	-	-
	5	++	+	+	-	-	-
	7	++	+	+	-	-	-
	20	++	+	+	-	-	-
Takikawa No.1	1	+	+	±	-	-	-
	3	++	+	±	-	-	-
	5	++	+	±	-	-	-
	7	++	+	±	-	-	-
	20	++	+	±	-	-	-
Takikawa No.3	1	+	+	±	-	-	-
	3	++	+	±	-	-	-
	5	++	++	±	-	-	-
	7	++	++	±	-	-	-
	20	++	++	±	-	-	-
Takikawa No.9	1	+	±	±	-	-	-
	3	++	+	+	-	-	-
	5	++	+	+	-	-	-
	7	++	+	+	-	-	-
	20	++	+	+	-	-	-

Table 7. Inhibitory effect of chlortetracycline on *Vibrio parahaemolyticus* in medium containing 5% NaCl at pH 8.

Strain	Incuba- tion time (day)	Chlortetracyclin concn. ($\times 10^{-4}\%$)					
		0	1	3	5	7	9
Toi type No.1	1	+	+	±	—	—	—
	3	++	+	+	—	—	—
	5	++	+	+	—	—	—
	7	++	+	+	—	—	—
	20	++	+	+	—	—	—
Toi type No.2	1	+	+	+	±	—	—
	3	++	++	+	±	—	—
	5	++	++	+	±	—	—
	7	++	++	+	±	—	—
	20	++	++	+	±	—	—
Takikawa No.1	1	+	±	±	±	—	—
	3	++	+	±	±	—	—
	5	++	+	±	±	—	—
	7	++	+	±	±	—	—
	20	++	+	±	±	—	—
Takikawa No.3	1	+	+	+	—	—	—
	3	++	++	+	—	—	—
	5	++	++	+	—	—	—
	7	++	++	+	—	—	—
	20	++	++	+	—	—	—
Takikawa No.9	1	+	+	±	—	—	—
	3	++	++	±	—	—	—
	5	++	++	±	—	—	—
	7	++	++	±	—	—	—
	20	++	++	±	—	—	—

考 察

腸炎ビブリオに対する防腐剤の効果を魚肉ねり製品に対する法定添加基準で検討した結果、ソルビン酸は第4表に示すように0.46%以上で効果があったが法定許可濃度(0.2%)では効果が認められなかった。またデハイドロ酢酸は第5表に示すとおりソルビン酸と同程度の0.41%を必要とするが、水産製品に添加は許可されていない。クロルテトラサイクリンは特殊用途の鮮魚類の保蔵用として5ppmの使用を認められているが、第7表に示すとおりその10倍量の濃度50ppmを必要とするので実用不能である。これは興津・河端⁵⁾がpH7、食塩濃度3%の培地で、クロルテトラサイクリン0.39~1.5ppmで発育を阻止したという報告と相違する。これは供試pHが高いことのほかにさらに別の原因もあるものと考えられるが、詳細は不明である。ネオフラスキン散の法定許可濃度は0.025%であるが、第6表の如く本実験の最小発育阻止濃度は0.005%であったから、この程度であればその効果はかなり期待できる。なおこの場合のネオフラスキン散のニトロフルリアクリル酸アミドの含有量は4ppmとなり、前記興津・河端⁵⁾の結果とほぼ一致する。

以上基礎培地によった実験値を魚体に実際に適用することはできないが、供試菌の発育至適条件とし食塩濃度5%、pH8の培地を使用して20日間培養した結果であるから、供試条件よりpHが低く、食塩濃度が高い淡塩魚に存在する場合の腸炎ビブリオの発育を抑止する防腐剤にとっては過酷な条件であるので、実用上の一応の傾向は認められるであろう。

ただし、ネオフラスキン散は食品衛生法施行規則(昭和40年7月5日公布、昭和41年1月5日施行)によって使用を禁止された。

要 約

- 1) 供試腸炎ビブリオの培養至適条件はpH8、食塩濃度3~5%で、その発育可能最高食塩濃度は9~13%であった。
- 2) 供試菌の発育を阻止するのに基礎培地ではネオフラスキン散0.005%が有効であった。
- 3) 本実験ではソルビン酸、デハイドロ酢酸、クロルテトラサイクリンは効果が認められなかった。

終りに供試菌を分与された宮崎大学、黒木 暢氏および山口県衛生研究所、冷泉日出子技官に感謝する。

文 献

- 1) 黒木 暢, 1963 : 日水産, 29, 874.
- 2) ———, 1963 : 日水産, 29, 1077.
- 3) ———, 1963 : 日水産, 29, 1083.
- 4) 浅川末三, 1964 : 日本水産学会秋季大会講演要旨, p.54.
- 5) 興津知明, 河端俊治, 1962 : 日水産, 28, 1128.