腸炎ビブリオ (*Vibrio parahaemolyticus*) に対する 有機酸類の殺菌作用に関する研究

(昭和 40 年 4 月 12 日 受理)

藤原喜久夫^{*1} 岩村 泰子^{*2} 大竹 百世^{*2}
菅沼 法子^{*2} 野本ミナミ^{*2} 久富 裕子^{*2}

Bacteriocidal Activities of Organic Acids for *Vibrio parahaemolyticus*

Kikuo FUJIWARA^{*1}, Yasuko IWAMURA^{*2}, Momoyo OTAKE^{*2}, Noriko
SUGANUMA^{*2}, Minami NOMOTO^{*2}, and Yuko HISATOMI^{*2}

(^{*1} The Institute of Food Microbiology, Chiba University:
Okubo, Narashino-shi, Chiba-ken; ^{*2} Jissen Women
University: Tokiwamatsu, Shibuya-ku, Tokyo)

Four organic acids and vinegar were tested for bacteriocidal properties against *Vibrio parahaemolyticus*. Acetic, succinic, lactic and tartaric acids and vinegar showed to possess significant activities for this bacterial species in vitro. However, the vibrio cells in fresh fish were not sterilized completely by treatment with vinegar for 2 hours. From these results it would be supposed that the pickling in usual method might not always be an effective procedure enough to prevent this type of food poisoning.

(Received April 12, 1965)

1. 緒 言

従来、腸炎ビブリオ食中毒の予防法の一つとして、食酢利用法があげられているが、厚生省¹⁾、東京都²⁾の発表の統計によれば、酢の物に由来する本中毒の発生も年々報告されているので、著者らは、この方法による食品の完全な安全化の可能性についての検討を目的に本研究を行なった。すなわち、あらかじめ、各種有機酸類の溶液中における腸炎ビブリオの死滅状況を追及し、つぎに実験的に本菌により汚染された魚肉の食酢処理検体について、その生残ビブリオの定量を試み、さらに、実際の食品調理の場合における食酢の使用条件に関して具体的に考察した。

2. 有機酸類の試験管内における腸炎ビブリオに対する殺菌作用

実験材料

使用菌株：渥美ら³⁾により1961年三重県の集団食中毒に際して分離され、著者ら⁴⁾が、その腸炎起炎性を証明した菌株(3086-61株)を用いた。なお、この菌株の血清型は0-4である。

^{*1} 千葉大学腐敗研究所：千葉県習志野市大久保

^{*2} 実践女子大学：東京都渋谷区常盤松町101

有機酸類：醋酸、コハク酸、乳酸、酒石酸および食酢の5種である。また、これらの有機酸類は3%食塩水溶液により希釈され、その濃度は1%、0.5%、0.25%の3段階とした。ただし、食酢の場合には、5%、3%、1%の3種類である。

実験方法

まず、被検菌の3%食塩加ブレインハートインフュージョン培地、27°、24時間培養、0.1 mlを上記の有機酸溶液10 ml中に加え、30°に保温、1分後、5分後、10分後、30分後および60分後にも各検体より0.1 mlずつ分取し、それぞれ3%食塩加ブイオンに投じ、37°、24時間培養して生残菌の有無を検した。また、同一種類、同一濃度の有機酸溶液6本ずつを1組の実験群とし、そのうち、たとえ1本でも生残菌が認められた場合は、その実験群は殺菌能力陰性に見なした。なお、生残菌と一応認められた試験管については、念のため、他種雑菌混入によるブイオン混濁の吟味をする目的で、その食塩加ブイオン培養について好塩性試験を行ない、さらにTTGA培地⁵⁾(著者らの考案した腸炎ビブリオ用選択培地)に接種して腸炎ビブリオであることを確認した。

実験成績

Table 1 に示すように、酢酸、コハク酸、乳酸、酒石酸等の有機酸類においては、それらの 1% 溶液中では、5 分以内に腸炎ビブリオを完全に死滅しうることを知ったが、0.5% 以下の濃度では 30 分以上要することを知った。また、食酢溶液の場合には、5% において 10 分間でようやく死滅しえたが、3% 以下の濃度では、1 時間作用させても腸炎ビブリオは生残することを証明した。

なお、本実験における有機酸溶液の pH は 1.70~3.08 の範囲内にあり、食酢の 5% 溶液は pH 3.28 であったが、これらの pH の順位と殺菌力の順位とはとくに有意義の関係は認められなかった。

Table 1. Time Taken by Organic Acids to Kill *Vibrio parahaemolyticus*

Acid %	Acetic	Suc- cinic	Lactic	Tar- taric	Vinegar	%
1	5*	5	<1	5	10	5
0.5	30	60	30	60	>60	3
0.25	30	>60	60	60	>60	1

* Time in minutes

3. アジ酢漬中における腸炎ビブリオの消長

実験材料

アジ：小売店より鮮度の良好な小アジを購入し、これを 3 枚におろして実験に供した。

なお、この操作に使用した器具はすべて滅菌したものである。

使用菌株：前述の実験に使用したものと同一菌株 (3086-61 株) を用いた。

食酢：市販の調理用の食酢をそのまま使用した。

実験方法

まず上記のごとく、小アジを 3 枚におろし、1 片約 5 g の肉片 5 個を作成し、その肉 4 片を酢漬用に供し、他の 1 片を対照試験用とした。つぎに、これらの魚肉片を、あらかじめ 3% 食塩加ブイオンを用いて 37°, 24 時間培養した腸炎ビブリオ培養液 100 ml のなかに約 10 秒間浸した。他方、4 個の三角フラスコ (300 ml 容量のもの) 中におのおの、食酢 100 ml ずつ入れたものを準備しておき、これらの各フラスコに上記の腸炎ビブリオ汚染魚肉片を 1 個ずつ投入し (対照実験においては 3% 食塩水を食酢の代りに用いた)、その後順次 10 分、30 分、1 時間、2 時間後に肉片を 1 個ずつ各フラスコより取り出し、TTGA 培地を用いて腸炎ビブリオの定量を行なった。また、各検体について同時に 3% 食塩加ブイオンを用いて増菌培養を試み、37°, 24 時間培養後、菌発育により混濁を生じるものについては、さらにこれを TTGA 培地に塗抹培養し、その集落より好塩性試験を行なって腸

炎ビブリオの存在を確認した。

実験成績

Table 2 にみるように、酢漬 1 時間後においても、生菌数は相当減少しているとはいえ、なお、腸炎ビブリオの残存することを知った。また、2 時間の酢漬検体において、ようやく増菌試験によっても腸炎ビブリオの生残が認められなくなった。

Table 2. Survival of *Vibrio parahaemolyticus* in Fresh Fish (Horse Mackerel) Treated with Vinegar

Time (min)	10	30	60	120	Control
Nos. of survival cells	>10 ⁶ /g	1.5× 10 ³ /g	<10 ² /g	no survival	6.8× 10 ⁷ /g

4. アジ、キュウリ三杯酢中における腸炎ビブリオの消長

実験材料

使用菌株、食酢、小アジ等上記のアジ酢漬実験の場合と同様である。

実験方法

まず、小アジ (約 20 g) を 3 枚におろし、腸炎ビブリオにより、人為的に汚染することは前記の酢漬実験の場合と全く同様であるが、つぎに、この魚肉片に約 1 g の食塩をふりかけ 1 時間放置する。このような検体を 3 組作成し、そのうち 1 組は 5 ml の食酢中に 10 分間浸しておき、他の 1 組は 40 ml の食酢中に 2 時間漬けておく。また、第 3 番目の組は、3% 食塩水中に 10 分間浸しておき対照実験とした。つぎに、これらの魚肉を取り出し、皮をむき、細切りする。他方、キュウリ約 30 g を小口切りにして約 5 g の食塩を加えたのち、水気をしぼり、さらに食酢約 1 ml を加えて再びしぼっておく。このキュウリに上記のアジ肉細切のものを混ぜ、三杯酢をかけたのち、10 分、30 分、1 時間、2 時間後にそれぞれ魚肉片を取り出し、前実験と全く同様の方法で、腸炎ビブリオの生菌数算定および生残ビブリオの有無の試験を行なった。

なお、この実験に使用した三杯酢の組成は、食塩 3 ml、醤油 0.5 ml、砂糖 1 g、水 3 ml である。

実験成績

Table 3 のように、食酢 5 ml、10 分間の処理検体は三杯酢、2 時間作用後においても、なお、10⁴ 程度の生残腸炎ビブリオが認められた。しかしながら、食酢 40 ml、2 時間処理魚肉の場合には完全殺菌はみられなかったが、生残腸炎ビブリオの菌数は対照に比べて著しく減少し、検体 1 g 当たり 100 個以下となった。

5. 総括ならびに考察

諸種有機酸類の腸炎ビブリオに対する殺菌作用は、そ

Table 3. Survival of *Vibrio parahaemolyticus* in Pickled Fresh Fish (Horse Mackerel) and Cucumber

Pickling time Vinegar treatment	10min	30min	1 hr	2 hr
5 ml, 10 min	—	1.25×10^4	1.80×10^4	0.95×10^4
40 ml, 2 hr	<100*	<100*	—	—

control: 6.14×10^7 /g

* Positive growth in culture with TTGA Agar

の実験条件のいかんにより、相当に相違してくることを知った。すなわち、酢酸、クエン酸等の各種有機酸類の3%食塩水溶液中における腸炎ビブリオの消長を追及すると、その1%溶液において、おおむね5分以内に被検菌はほとんど完全に死滅したが、あらかじめ、腸炎ビブリオにより、実験的に汚染された魚肉を食酢中に投入した場合には、検体中の腸炎ビブリオを完全に殺菌するには2時間を要した。さらにまた、アジ、キュウリ三杯酢等のような、一応普通の調理法に従って処理された食品においては、検体中の腸炎ビブリオを完全に陰性化することは困難であった。

以上の諸成績を通覧するに、種々の試験管内実験においては、各種有機酸類は比較的容易に腸炎ビブリオを死滅せしめることを認めうるが、実際の酢の物等の調理食品の場合には必ずしもその安全化は期待されないものといえよう。このことは、また、食品中のタンパク成分、その他の影響、すなわち、緩衝作用、保護作用等により、有機酸類の腸炎ビブリオに対する殺菌作用が阻害されることによるものとして十分理解されるところであろう。しかしながら、食品中における食酢の腸炎ビブリオに対する殺菌作用といえども、全くその効力を失うものではなく、本実験の成績によるも、適当な処理を行なう

ときは、検体1g当り100個以下の生残菌数となり、この数字は、実際上の人に対する発症最少菌量（一応 10^6 程度と推定して）と比較するとき、1回の摂取量を100gと仮定するならば、おおむね安全な範囲内にとどめうるものと思われる。他方また、このように一応安全化された酢の物も、調理後、摂取まで相当程度時間の経過する場合には、また生残菌の再増殖の可能性も考えられる。

以上の事実、酢の物による本中毒の予防は、ときには、その効果の認められることもあるが、また、条件によっては、腸炎ビブリオを防ぎえないこともあるということを説明しているものといえよう。すなわち、緒言においても述べたように、少数とはいえ、毎年若干例の酢の物による腸炎ビブリオ食中毒が報告されているという現状も、これによって、ある程度理解されるのではなからうか。

6. 結 論

著者らは、各種有機酸類の腸炎ビブリオに対する殺菌作用を試験管内、ならびに魚肉検体について検討した結果、試験管内の食塩水溶液中においては、相当に強力な効果が認められるが、魚肉中では、完全な殺菌力を現わしえないことを知った。しかしながら、十分な食酢の処理を行なえば、一応安全と思われる程度の菌数にまで腸炎ビブリオの生残菌を減少せしめうることを認めた。

本報の要旨は（昭和39年4月2日、第34回日本衛生学会総会）において発表。

文 献

- 1) 厚生省：病原性好塩菌食中毒調査結果（1963）。
- 2) 善養寺浩：食品衛生研究 13(7), 26 (1963)。
- 3) 渥美三千里、吉田治男、桑原寛：食品衛生研究 12(6), 81 (1962)。
- 4) K. Aiso, K. Fujiwara: Annual Rep. of Inst. of Food Microbiology 15, 34 (1963)。
- 5) 藤原喜久夫、加藤博、辰己和世、沢田文枝、土屋康子：食衛誌. 5(3), 211 (1964)。