魚函の細菌汚染に関する研究—I.*

木製魚函材に対する病原性好塩菌の侵入

黒 木 陽

(1963 年 7 月 5 日受理)

STUDIES ON BACTERIAL LOAD OF FISH CONTAINER—I.
ON THE INVASION OF TAKIKAWA'S SO-CALLED PATHOGENIC
HALOPHILIC BACTERIA INTO MATERIALS OF WOODEN CONTAINER

Akira KUROGI**

Generally, wooden fish containers are easily stained with bacteria in comparison with metallic fish containers.

Therefore, the author investigated on the invasion of bacteria into the materials of fish containers. Takikawa's so-called pathogenic halophilic bacteria were employed as experimental organism, and the materials of wooden containers were used with chips of Japan cedar, pine and oak, because these are most using at fish markets. The experimental methods are shown in Fig. 1, and the results may be summarized as follows.

1. A marked difference was observed on the permeation of bacterial suspension into inner layer of chips according to the wooden qualities, roughness or fineness (see Fig. 2).

2. The materials which have been dried enough (moisture content; below 5%) were scarcely permeated into inner layer of wooden chips by bacterial suspension (see Fig. 3).

3. On the wet materials, were contaminated rapidly with bacteria (see Fig. 4 and Fig. 7).

4. It is noted that the resin-removed chips were easily stained by bacteria as compared with the unremoved (see Fig. 3 and Fig. 5).

5. On the wet materials which were dipped in 3% NaCl containing pepton medium, were seem to not only bacterial invasion into inner layer so rapidly, but also multiply in deep layer of wooden chips (shown in Fig. 7).

From the above observations, when wooden fish containers are used repeatedly at fish markets, fishing vessels and cold storage factories, much attention should be paid for keeping cleanliness of wooden fish containers.

生鮮魚介類の運搬、保蔵容器として、もつとも一般的に使用されている木製魚函（通称トロ函）は、各種の細菌による汚染を受けやすいものであるにもかかわらず、その浄化についてはあまり意に介されていないようである。特に地方の近距離流通においては、水揚げ地と消費地との間で魚函の反復使用が行なわれている。その際、函の洗滌は簡単な水洗程度であるから、魚函の函材中心部まで侵入して生き残った菌によつて、新たに収容された魚介類が容易に再汚染されることが考えられる。

また、近年、夏季より秋季にかけて全国的に多発の傾向にある病原性好塩菌による食中毒はその汚染経路についても研究が行なわれているが¹⁾²⁾、未だ充分に明らかにされていない。しかし原因食品（主として鮮魚介類）の該菌による汚染経路を究明するに当っては前に述べたような木製魚函類の非衛生的反復使用を無視することはできない。近時、清浄処理の容易な金属製魚函³⁾が使用されはじめているが、経費その他の関

* 日本水産学会昭和 37 年度秋季大会（長崎）において講演。

** 宮崎大学農学部水産学科 (Dep. of Fish., Fac. of Agr., Miyazaki Univ., Miyazaki City).

係から現在のところ一部の高級魚に限って使用されているにすぎない。もつとも危検性の多い多獲魚の容器としては依然として木製魚函が多く用いられている。

著者は病原性好塩菌による鮮魚介類の汚染の一原因が木製魚函の反復使用にあるのではないかと推定し、魚函の該菌による汚染を防止する目的をもつてこの研究を行なつた。まず魚函材に対する病原性好塩菌の侵入状態についてしらべ、二、三の知見を得たので報告する。

実 験

方法の概要を Fig. 1 に示した。すなわち、新しい木製魚函材（スギ、マツおよびカン）を完全に滅菌（15 ポンド、1 時間）したのちに、3）に述べるような処理を施し、これに菌培養液を付着してから後の菌の侵入状態を 0, 24, 48 時間ごとにしらべた。

Fig. 1. The schema for process of the experiments.

1) 供試材 スギ、マツおよびカンを用いた。厚さ 8 mm の板を 20×50 mm に切断し節は除き木目の同じものを選んで使用した。宮崎県地方における函材としてはこれ等の材がもつとも一般的に用いられるものである。材質による侵入状態の差異を検討するために、材質の粗なものとしてスギ、マツ、密なものとしてカンの三種類を実験に供した。

2) 供試菌液 宮崎県衛生研究所において分離された病原性好塩菌（仮称都井型菌）を 3% 食塩加ペプトン水（食塩 30 g, ペプトン 10 g, 蒸留水 1,000 ml, pH 7.2）で 37°C, 24 時間培養したものを菌培養液とした。

3) 菌汚染材の調製 各材片を次に示すような処理を施したものに菌培養液を 2 滴ずつ材片の一面に付着し、これを各区毎に必要な枚数（一種類 3~5 枚）まとめて大型シャーレに入れセロテープで密封し、37°C に保つた。

(イ) 風乾区 保有水分 13~18%。

(ロ) 乾燥区 乾熱乾燥（105°C, 3 時間）したもの。保有水分 5% 以下。

(ハ) 湿潤区 滅菌生理食塩水に 3 日間浸漬したもの。保有水分 50% 以上。

(ニ) 脱樹脂区 エタノール：ベンゾール（1：1）に 28 日間浸漬後溶剤を完全に除去したもの。残留樹脂分 0.4~0.9%。

(ホ) 脱樹脂・湿潤区 脱樹脂した材片を滅菌生理食塩水に浸漬して水分飽和にしたもの。

(ヘ) 富栄養区 脱樹脂材を 3% 食塩加ペプトン水に 3 日間浸漬したもの。

4) 侵入度の判定 0, 24 および 48 時間ごとに材片 1 枚を取り出し材の表面から中心部まで、0, 1, 2, 3, 4 mm 層を各々 3% 食塩加普通寒天平板培地（食塩 30 g, ペプトン 10 g, 肉エキス 10 g, 寒天 20 g, 蒸留水 1,000 ml, pH 7.2）の表面にスタンプし 37°C, 24 時間培養後のコロニーの疎密により -, ±, +, ++ および +++ の 5 段階にわけて判定した。板の内部層は飽（70% エタノールでその都度滅菌）で 1 mm

ずつ削って各層を露出し直ちに培地面にスタンプした。

結果および考察

1. 材質による菌侵入度の差異

Fig. 2 に見られるように材質の粗密により顕著な差が認められ、粗材のスギ、マツでは風乾状態においても板材内部 2 mm 層までは菌液付着後極めて短時間内に菌が侵入する。これは菌液を付着した柁目面からだけではなく板目面あるいは木口面からの毛管現象による侵入もあるものと思われる。本処理区の結果からみれば、たとえ真新しい木製魚函を使用したときでも魚体滲出液 (weep) に浮遊した菌は比較的簡単に

Fig. 2. Difference of wooden qualities on the invasion of bacterial suspension.

●; surface, ○; 1 mm, ⊙; 2 mm, ⊖; 3 mm, ⊕; 4 mm layer.

Fig. 3. The bacterial invasion on dried (moisture content; below 5%) wooden chips. Each mark in the figure is the same shown in Fig. 2.

函材を汚染し得ることが明らかである。密材のカシでは風乾状態においては著しい内部汚染は見られず、前二者と比較すると明らかに材質により菌の侵入速度に遅速のあることがわかる。

2. 板材の乾湿による差異

Fig. 3 は乾燥区 (保有水分 5% 以下) における侵入状態を示した。板材はほとんど完全乾燥に近いもので、滴下した菌液を板材表面ではじいて材内部に浸透し難い。これに対して風乾区 (水分 13~18%) および湿潤区では菌液を滴下すると直ちに材の内部に浸透し始める。三種類の材質とも表面に付着した菌は時間経過に伴って漸減し、特にカシにおいては 24 時間目の判定においてはほとんど消失しているが、これは材の表面における強度の乾燥によつて一旦付着した菌が死滅するためであろう。この結果より魚市場などの現場において大量の魚函の清浄処

Fig. 4. The bacterial invasion on moistened (moisture content; above 50%) wooden chips. Each mark in the figure is the same shown in Fig. 2.

理を行なう場合には日光曝露による乾燥が有効と思われるが、これらのことについては稿を改めて報告する予定である。これに反して、湿潤状態においた材では非常に速やかに内部層まで菌により汚染されることを示した (Fig. 4)。マツ材はスギ材と同じくらいのち密さを有しているが、マツの方が僅かながら侵入速度がゆるやかなのはその豊富な含有樹脂分 (スギ 3.6%, マツ 11.3%, カシ 3.3%) のためであろう。樹脂分の影響については 3. において述べる。板材を飽水状態におくとスギ、マツでは深部まで濃密に菌が侵入し、材質のち密なカシ材でも 48 時間で 3mm 層から菌が検出された。材が濡れた状態であれば各材ともに風乾区、乾燥区のような表面における菌の時間経過に伴う減少はみられず、板材に充分の水分が存在すれば相当期間、菌の生存が可能なのと推定される。

3. 含有樹脂分の影響

木製魚函は繰り返し使用されると次第に樹脂成分が抜けてゆきスギ、マツなどの軟材においては材質内に微細な空隙を生ずる。この状態を実験室的に再現するために材を有機溶剤で脱脂処理したものについて、菌液の浸入状態を検した結果が Fig. 5 および Fig. 6 である。Fig. 5 は脱樹脂風乾材に対する菌の汚染状態であるが、未脱脂のそれにくらべ、菌が内部へ移行しやすくなっていることを示し、特にマツ材ではそれが著しい。脱樹脂湿潤区 (Fig. 6) を見ると樹脂分の有無の影響はさらに顕著で、スギ、マツは勿論、カシにおいてさえも 24 時間の判定において材の最深部に菌の存在を明らかに認めることができた。

Fig. 5. The bacterial invasion on the resin-removed and dried. Each mark in the figure is the same shown in Fig. 2.

Fig. 6. The bacterial invasion on the resin-removed and moistened. Each mark in the figure is the same shown in Fig. 2.

4. 栄養分の多少と菌の侵入

脱樹脂材片に 3% 食塩加ペプトン水を十分に浸透させたのちに菌液を付着し、その侵入状態を Fig. 7 に示した。スギ、マツでは直ちに材の中心部まで汚染しかつ菌の増殖する傾向が見られた。カシにおいても 48 時間目の判定で 3mm 層まで高濃度に汚染され、しかも材質内部 (3mm 層) において明らかに菌が増殖していることが認められた。

一般に木製魚函が“通い函”的に反復使用されるとき、魚体よりの滲出物と詰め水の融け水とにより、菌の増殖に好適な培地がつくられたことになる。このような状態にある魚函材に菌が付着すると、温度その他の条件さえそろえば急速に増殖し、この函に収容される魚介類は二次的に汚染を受けるであろう。以上の結果からも明かなように、病原性好塩菌中毒における魚介類の汚染経路の一つとして、該菌により汚染され

た魚函からの魚介類の二次、三次汚染の可能性も十分に考えられる。著者はこの実験結果にもとづき鮮魚流通の現場における木製魚函の効果的な清浄法につき検討を加えているがこれについては後に報告する予定である。

要約

木製魚函材に対する病原性好塩菌の侵入について検討した。

1) 材質の粗密により菌の侵入速度に遅速がある。スギ、マツなどの軟材においては短時間内に材の内部まで菌の侵入を見たが、カンのような堅材においては比較的に菌が侵入しにくい。

2) 良く乾燥した材においては各材ともに内層に対する著しい汚染は認められず、しかも表面に付着した菌は時間とともに漸減する。

3) 材が十分に水分を含んで濡れた状態にあれば菌の侵入速度が著しく速く、材質の堅いカシ材においても菌液付着後 48 時間で 3 mm 層まで菌が侵入した。

4) 脱樹脂材では未脱脂のそれに比し明らかに菌が内部に移行しやすいことがわかった。特にマツ材のように樹脂分の多いものにおいてそれが顕著であつた。函を繰り返し使用して古くなるとこの状態になる。

5) 栄養分をしみ込ませた湿潤材では侵入速度が速いだけでなく材内部において菌が増殖する傾向が認められた。

この実験を行なうにあたり、研究の緒口を与えられかつ研究上の助言と指導を賜つた本学科福田博業教授に深く感謝する。また宮崎県衛生研究所 福田武夫、北尾忠利両博士より菌株の分与その他の便宜をはかつて戴いた。宮崎中央魚類株式会社より供試函材の提供を受けた。記して謝意を表する。実験に協力して戴いた清水広太郎君に感謝する。

文 献

- 1) 堀江 進・佐伯和昭・関根 隆: 本誌, **28**, 742 (1962).
- 2) 関根 隆・堀江 進・佐伯和昭: 本誌, **28**, 920 (1962).
- 3) 富山哲夫・米 康夫・白石悦子: 本誌, **28**, 1028 (1962).

Fig. 7. The bacterial invasion on wet materials which were dipped in 3% NaCl containing pepton medium. Each mark in the figure same shown in **Fig. 2**.