

# 食中毒原因細菌である腸炎ビブリオ菌を用いた卒業研究による教育 Education by a graduation study with *Vibrio parahaemolyticus*, a foodborne pathogen

小長谷 幸史

新潟薬科大学応用生命科学部, 新潟県立栃尾高等学校

**概要:** 生命科学を専攻する学生の卒業研究で腸炎ビブリオを用い、魚肉を塩水に浸漬する解凍法で解凍した冷凍マグロ魚肉中での菌の挙動を調べた。その結果、魚肉の解凍方法のちがいは菌の消長には影響せず本菌は生育しなかった。そこで教員と学生とでさらに本菌が問題になる工程を検討した結果、解凍に用いる塩水が挙げられ、接種試験を行った結果、魚肉浸漬後の本菌の生育がみられ、塩水の衛生管理の重要性が示唆された。この過程で学生は一部で自ら実験方法を検討し、実行するなどの、これまでの学習を活かした研究を行っていた。

**キーワード:** 食中毒, 水産物, 冷凍, 解凍, 食品

## 1. はじめに

腸炎ビブリオ (*Vibrio parahaemolyticus*) は食中毒の原因細菌であり 0.5%~8% 程度の食塩がないと生育できないが、最適条件での生育は他の食中毒菌に比べ非常に速い<sup>1)</sup>。本菌による食中毒は主に魚介類を原因食品として発生しているが、生のマグロの魚肉では生育しないことが報告されていて、実際にマグロを原因食とする本菌の食中毒は少なく、マグロの魚肉で本菌が生育できない理由は塩分が少ないためあるいは pH が低いためと考えられている<sup>2,3)</sup>。

冷凍マグロの解凍方法として "温塩水解凍法" と呼ばれる解凍法が知られており、解凍前に 30°C 程度の温塩水に浸漬することで解凍後も品質が良く保たれることが知られている。しかし、このような方法をとることで、魚肉に塩分が供給されることや pH が変化することで本菌が生育可能になることが懸念される。

食品の安全を実現するためには、水を含めた衛生的な環境、加熱や冷却などの施設設備、従業員の教育などが必要になる。これらのことは持続可能な開発目標 (SDGs) に示されている 17 の目標の 3 すべての人に健康と福祉を、6 安全な水とトイレを世界中におよび 12 つくる責任つかう責任に関わっている。

そこで本研究では、生命科学系の大学 4 年生の卒業

研究のテーマとして温塩水解凍法の安全性を検討する研究を行い、そのことが学生にとってどのような学習になるかを検討した。

## 2. 材料および方法

市販のメバチマグロの魚肉を解凍後に本菌の生菌数が 1g あたり約  $10^3$  個体 (colony forming unit, cfu) になるように一晩培養直後の新鮮な菌体を接種し 35°C で加温した後 0 および 4 時間後に 1g あたりの菌数を測定した。

解凍法は品質に関する先行研究<sup>4)</sup>にあった冷蔵緩慢解凍法 (4°C の気相中で一晩)、温水解凍法 (30°C の滅菌水道水中に 40 秒間浸漬後に 4°C の気相中で 1.5 時間解凍) および温塩水解凍法 (塩水解凍法を 3% の食塩水に変更) の 3 種類を比較した。

## 3. 結果および考察

3 つの解凍法を行った後の本菌の挙動を調べた結果、どの方法をであっても本菌は接種後に菌数は減少あるいは変化が見られなかった (表 1)。

先行研究<sup>2)</sup>によれば、塩水を加えホモジナイズしたマグロの魚肉では本菌が生育したことから、塩分が魚肉に少ないことが本菌の生育を阻害する重要な要因であるという報告があったため、実験を担当した学生にモール法<sup>5)</sup>による滴定での塩化物イオンの測定方法の記載された書籍をわたして本人が実験の装置や手順を考えるように指

表1 魚肉に接種した後の *V. parahaemolyticus* の生菌数

|         | <i>V. parahaemolyticus</i> の菌数 (cfu/g) |                   |  | pH   |
|---------|--|-------------------|--|------|
|         | 0 hr                                   | 4 hr              |  |      |
| 冷蔵緩慢解凍法 | $3.2 \times 10^3$                      | $1.0 \times 10^3$ |  | NT** |
| 4°C     | $4.0 \times 10^3$                      | $1.8 \times 10^3$ |  | NT   |
|         | $9.1 \times 10^2$                      | ND*               |  | NT   |
|         | $8.5 \times 10^3$                      | $2.4 \times 10^3$ |  | NT   |
|         | $1.8 \times 10^3$                      | $1.1 \times 10^3$ |  | 6.7  |
|         | $2.1 \times 10^3$                      | ND                |  | 5.9  |
|         | $1.8 \times 10^3$                      | $5.1 \times 10^2$ |  | 5.9  |
|         | $2.7 \times 10^3$                      | $1.3 \times 10^3$ |  | NT   |
| 温水解凍法   | $8.1 \times 10^3$                      | ND                |  | NT   |
| 30°C    | $7.4 \times 10^3$                      | $1.3 \times 10^3$ |  | NT   |
|         | $1.7 \times 10^3$                      | $1.0 \times 10^3$ |  | 6.7  |
|         | $1.5 \times 10^3$                      | ND                |  | 5.9  |
|         | $1.6 \times 10^3$                      | $6.1 \times 10^2$ |  | 5.9  |
| 温塩水解凍法  | $4.1 \times 10^2$                      | ND                |  | NT   |
| 30°C    | $7.6 \times 10^3$                      | $2.0 \times 10^3$ |  | NT   |
|         | $1.5 \times 10^3$                      | $9.5 \times 10^3$ |  | 6.7  |
|         | $1.9 \times 10^3$                      | ND                |  | 5.9  |
|         | $1.8 \times 10^3$                      | $5.1 \times 10^2$ |  | 5.9  |
|         | $2.4 \times 10^3$                      | $6.6 \times 10^3$ |  | NT   |
|         | $6.0 \times 10^2$                      | $2.1 \times 10^3$ |  | NT   |

\*ND: Not detected ( $<1.0 \times 10^2$ )

\*\* NT: Not tested

示した。その結果、マグロの魚肉の塩化物イオン濃度は解凍方法に関わらず 0.12 mol/L で変わらず、本菌の挙動が魚肉ごとで異なる理由は塩濃度の差ではない可能性が示された。

他に、マグロ以外の魚種との比較から pH が本菌の生育を抑制する要因と考える報告があったが<sup>3)</sup>、本研究では同じ解凍法で解凍した魚肉でかつ pH が同じであっても本菌の挙動が異なっていたため pH も本菌の挙動に影響する主要因ではないと推察された。

解凍法の違いによって魚肉の pH にも大きな変化が見られず、この実験を行った学生は解凍法の変化による危険な要因は少ないと判断してい

表2 魚肉浸漬後の塩水に接種した *V. parahaemolyticus* の菌数

|          | <i>V. parahaemolyticus</i> の菌数 (cfu/ml) |                    |                   |                   |
|----------|---|--------------------|-------------------|-------------------|
|          | 0hr                                     | 4hr                | 8hr               | 24hr              |
| 魚肉浸漬後の塩水 | $5.1 \times 10^2$                       | $1.0 \times 10^3$  | $1.9 \times 10^4$ | NT*               |
|          | $6.1 \times 10^2$                       | $2.1 \times 10^3$  | $1.5 \times 10^4$ | NT                |
|          | $8.1 \times 10^2$                       | $1.8 \times 10^3$  | $1.9 \times 10^4$ | NT                |
|          | $6.1 \times 10^2$                       | $2.6 \times 10^3$  | $2.2 \times 10^4$ | $4.8 \times 10^6$ |
|          | $6.1 \times 10^2$                       | $2.2 \times 10^3$  | $1.9 \times 10^4$ | $3.0 \times 10^6$ |
|          | $5.1 \times 10^2$                       | $1.8 \times 10^3$  | $1.7 \times 10^4$ | $3.9 \times 10^6$ |
| 魚肉浸漬前の塩水 | $1.2 \times 10^2$                       | $<1.0 \times 10^2$ | NT                | NT                |

\*NT: Not tested

た。しかし、指導していた教員は学生に対し「本当に安全性に關与する要因は考えられないか」と問いかけるとともに、再び安全に關する懸念はないかの討議を行った結果、魚肉を浸漬する塩水が汚染源になり得る可能性が挙げられた。そこで、魚肉を浸漬した後の塩水中に本菌を接種して、その後の挙動を調べた。その結果、本菌が4時間で数倍程度、24時間で数1,000倍程度まで生育した。このことから、マグロの魚肉中では生育しにくかったが、解凍時に用いる塩水は本菌の汚染源になり得ることが推察された。本菌はマグロの魚肉では生育しにくい、他の魚種やイカなどの肉、ゆでダコなどでは非常に速い速度で生育することから、温塩水を用いた場合は塩水の適切な排水や他の食材との交差汚染の防止などの管理が重要であることが示唆され、このことから学生は水の安全性の重要度を理解し、また製造者の負う責任についても理解したと思われる。

本研究は食品の安全に關する知識が、加工技術や保存方法などの変化によって変化することを示す良い教育効果があったと考えられる。また、学生にとっては過去に習得した実験方法を応用して実験を立ち上げることや討議の中で新たな製法で製造された食品に關する危害要因を見つけ出すことに役に立ったものと推察される。

#### 4. 引用文献

- 1) 山中英明, 藤井建男, 塩見一雄. 食品衛生学第三版. p. 26-31. 恒星社厚生閣, 東京 (2012).
- 2) 所光男, 大江章夫, 後藤喜一, 清水栄治, 佐藤隆, 伊藤保. 食と微生物 8, 103-107, (1991).
- 3) 堀江進, 奥積昌世, 加藤暢夫, 斉藤邦. 日本水産学会誌 32, 517-521, (1966).
- 4) 米田千恵, 粟津原元子, 畑江敬子. 調理科学 41, 337-343, (2008).
- 5) 船橋重信. 定量分析—基礎と応用—. p. 48-64. 朝倉書店, 東京 (2004).

#### 5. 謝辞

本研究の実験担当であった新潟薬科大学応用生命科学部卒業生諸橋瑞希氏に心から感謝いたします。