HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	衛生管理型標津漁港の細菌学的調査
Author(s)	笠井, 久会; 杉山, 絵美; 吉水, 守
Citation	日本水産学会誌, 70(1), 60-65 https://doi.org/10.2331/suisan.70.60
Issue Date	2004-01-15
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/38407
Rights	本文データは学協会の許諾に基づきCiNiiから複製したものである
Type	journal article
File Information	yoshimizu-175.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

The Japanese Society of Fisheries Science

Nippon Suisan Gakkaishi **70**(1), 60–65 (2004)

衛生管理型標津漁港の細菌学的調査

笠井久会，杉山絵美，吉水　守*

(2002年12月17日受付，2003年8月25日受理)

北海道大学大学院水産科学研究科

Observations of bacteria collected at hygienically controlled Shibetsu fishing port, Japan

HISAE KASAI, EMI SUGIYAMA AND MAMORU YOSHIMIZU*

Graduate School of Fisheries Sciences, Hokkaido University, Hakodate, Hokkaido 041–8611, Japan

To control hygienic conditions at fishing ports, qualitative and quantitative bacterial observations have to be considered. In the fishing port located at Shibetsu town, Hokkaido, where the hazard analysis and critical control point (HACCP) system is performed, the distribution and composition of heterotrophic bacterial flora and coliform bacteria were studied in this hygienically controlled site. There was a little difference in the quality of water collected from inside and outside of the harbor. The number of viable bacteria in the surface seawater varied seasonally from 10^2 to 10^4 CFU/mL. The generic composition of bacteria collected from back part of the harbor, entrance of the harbor, and the front of the fish market was compared. The generic composition of the bacterial flora included the genera *Pseudomonas*, *Alteromonas* and *Vibrio*, which were observed through the year. *Moraxella* and gram-positive bacteria were also isolated in front of the fish market. Coliform were isolated inside and outside of the harbor throughout the year, and their counts increased as water temperature increased.

キーワード：漁港，衛生管理，細菌数，細菌叢

緒　　言

標津町では北海道から水産物品質管理高度化推進モデル計画策定産地に指定されたのを契機に，[1] 漁獲から加工，流通までが一体となった町単位での地域HACCPを推進している。[2] 本事業は，公認HACCPシステムとは若干異なるが，水産物を安全に消費者へ届けるために，地域全体で漁獲–市場–加工場–運送の各工程で何が危害として考えられるか検討し，未然に防ぐことを目的とし，産地の顔が見えるトレーサビリティーの可能な優れた方法である。[3,4] 一方，環境・衛生管理型漁港づくりの計画も進められており，「漁港の環境向上」「作業環境の清潔保持」「水産物の鮮度保持」を目指している。[5]

標津町の特産品であるイクラ製品やホタテ製品は，加工で熱を加える工程がないため，これらの安全性を確保するには，加工場での衛生管理や原料段階での鮮度保持管理・品質管理が重要になる。[1] 標津町では平成2年から秋サケの鮮度保持対策が実施され，魚体の温度を低く保ち，頻繁に港内清掃を実施するなどの取り組みが行なわれている。[2] より高度な衛生管理を目指す上で，漁港における使用水の供給・浄化・排出システムの確立が重要な課題であり，そのためにも漁港で利用されている海水の実態を把握することが必要である。そこで今回，漁港内および沖合いの海水の水質，一般生菌数，大腸菌群数および大腸菌数を周年観察し，調査地点ならびに季節ごとに比較検討したので，その結果について報告する。

材料と方法

供試水　2001年の4, 6, 7, 8, 9, 10, 11月および2002年3, 6, 8, 10月の計11回，Fig. 1に示した標津漁港の港内奥泊地（Fp–1），旧市場前（Fp–2），秋サケ漁船係留場付近（Fp–3），市場前（Fp–4），港の入り口（Fp–5），沖合い1 kmにある秋鮭漁場（Of–1）および沖合い7 kmにあるホタテ漁場（Of–2）において表面海水をポリビンおよび細菌検査用滅菌ハイロート採水器を用いて採取した。試料は氷冷して標津町ふれあい加工体験セン

* Tel : 81–138–8810. Fax : 81–138–8810. Email : yosimizu@fish.hokudai.ac.jp

NII-Electronic Library Service

The Japanese Society of Fisheries Science

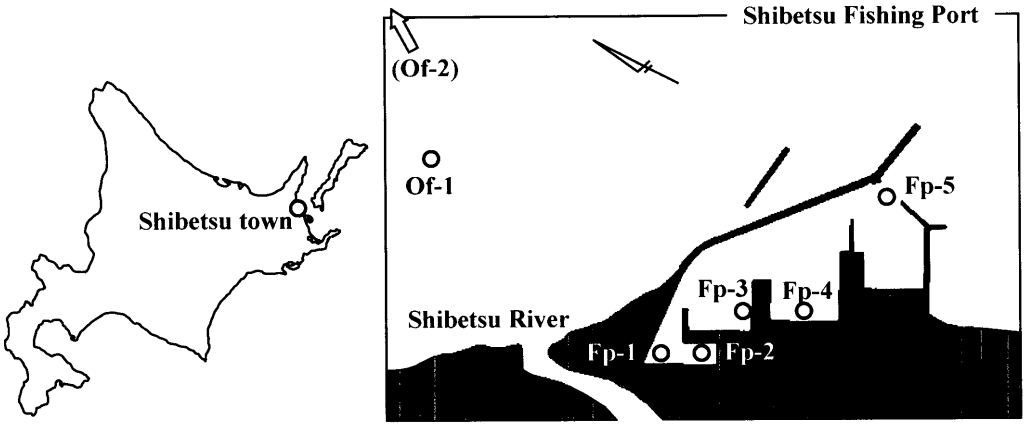

Fig. 1 Location of sampling stations at and near the Shibetsu fishing port.

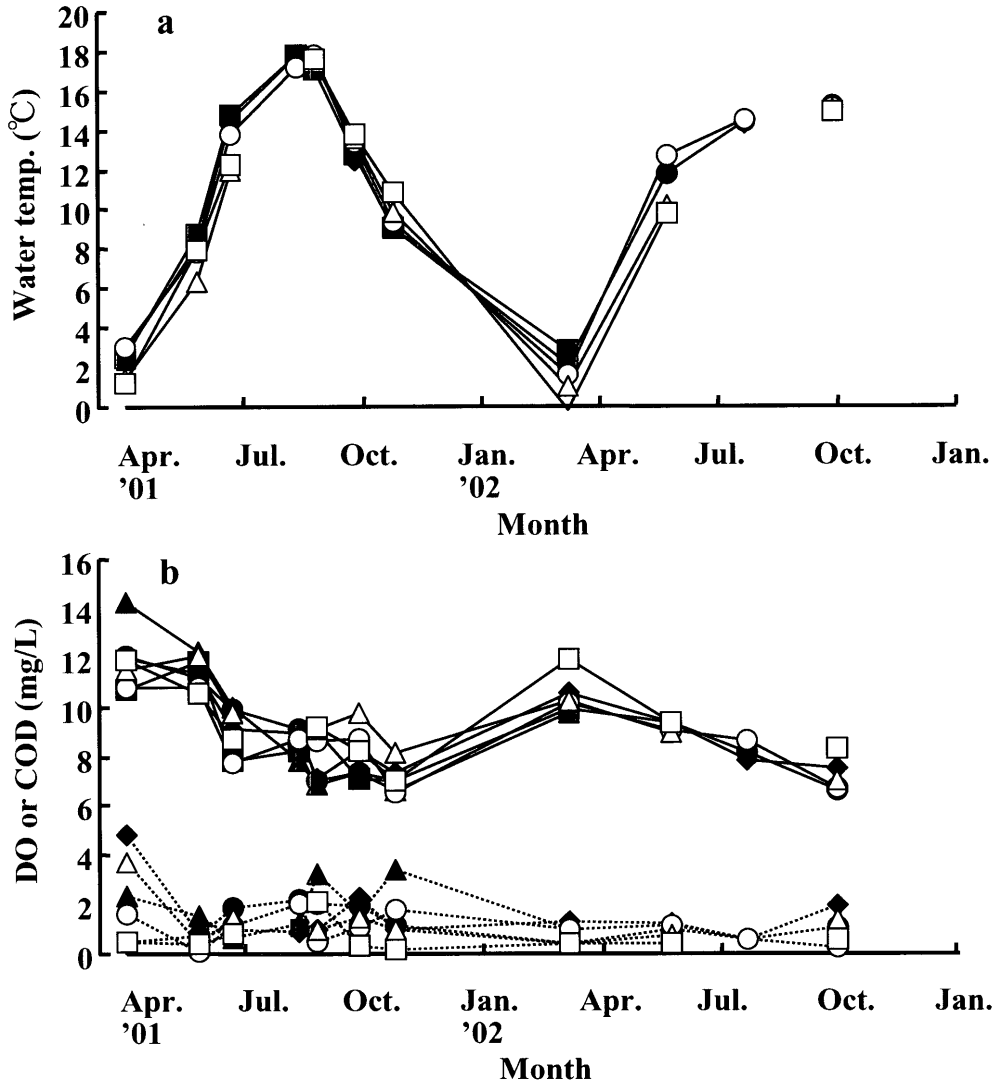

Fig. 2 Water temperature (a), dissolved oxygen (DO; solid lines) and chemical oxygen demand (COD; dashed lines) (b) at sampling stations located at and near the Shibetsu fishing port. ◆: fp-1; ■: fp-2; ▲: fp-3; ●: fp-4; ○: fp-5; △: Of-1; □: Of-2

NII-Electronic Library Service

The Japanese Society of Fisheries Science

ターに運び直ちに試験に供した。水温，pH，溶存酸素量，塩分濃度，海水の比重についてはUR-21（HORIBA）を用いて測定した。化学的酸素要求量（COD）はアルカリ性過マンガン酸カリウム法による測定を行った。[6]

生菌数の測定法 一般細菌の生菌数は，海水平板培地[7]表面に採取した試料0.1 mLを塗抹して，25℃で5日間好気的に培養し，出現コロニー数から海水1 mLあたりの生菌数を測定した。また，標準寒天平板培地（栄研化学）で37℃, 24時間好気的に培養した場合の生菌数も測定した。

食中毒原因菌，大腸菌群数および大腸菌数の測定法 黄色ブドウ球菌選択培地であるスタヒロコッカス培地110（栄研化学），サルモネラ・シゲラ選択培地であるSS寒天培地（栄研化学），ビブリオ選択培地であるTCBS寒天培地（栄研化学）に上記同様に試料を表面塗沫し37℃で24時間培養した。スタヒロコッカス培地110に出現したコロニーについては常法[8]に従い分離同定し，SS寒天培地およびTCBS寒天培地に出現したコロニーについては分離後API20E（bioMerieux）を用いて同定した。

大腸菌群数はダルハム管入りLB培地で37℃, 48時間培養後，MPN法（5本法）により100 mL中の最確数として算出した。陽性試料についてはダルハム管入りEC培地（栄研化学）で恒温槽にて44.5℃, 24時間培養し，MPN法により大腸菌数を算出した。

細菌叢 生菌数測定に供試した最適希釈平板上の30コロニーを無作為に抽出し，純粋分離を行って供試菌株

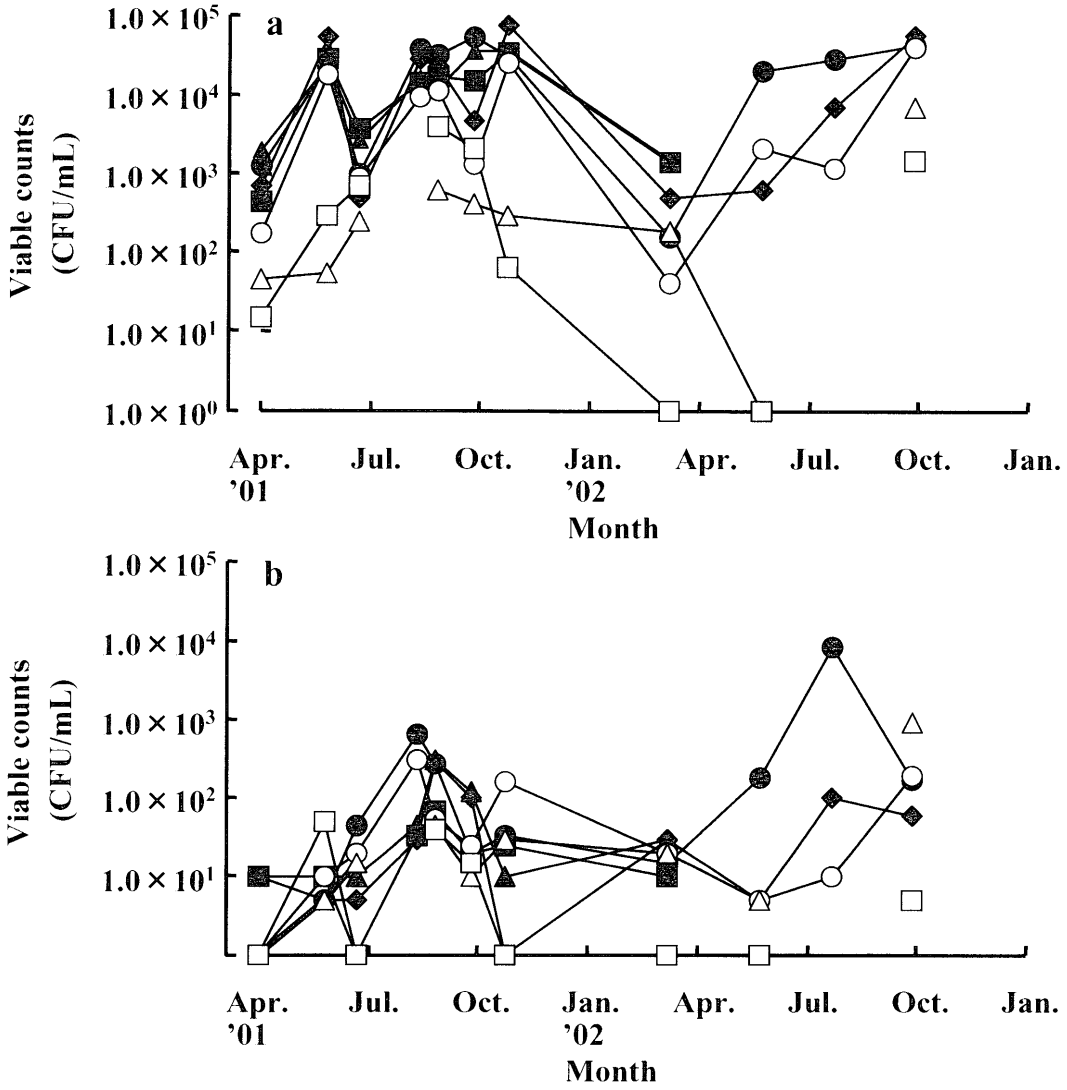

Fig. 3 Viable bacterial counts (CFU/mL) at sampling stations located at and near the Shibetsu fishing port and the offing determined using seawater agar (SA) incubated at 25℃ (a) and standard-methods agar incubated at 37℃ (b). Station symbols are as shown in Fig. 2.

NII-Electronic Library Service

The Japanese Society of Fisheries Science

を得た。細菌叢は絵面・清水の方法[9]に従い，以下の形態学的性状および生化学的性状を検査し，属レベルの分類を行った。

形態学的性状については，分離菌株を25℃で48時間培養後，定法に従い，グラム染色性，菌形，運動性，鞭毛の有無を観察した。生化学的性状については，前述と同様の培養菌体を供試してOF試験，塩類要求性試験，オキシダーゼ試験，カタラーゼ試験，DNA分解性試験，ゼラチン分解性試験，寒天分解性試験を行なった。

結　果

水質　2001年の4, 6, 7, 8, 9, 10, 11月，2002年3, 6, 8, 10月の調査結果のうち，各調査地点の水温は各定点間で差は見られず，−0.3℃から17.9℃の範囲で測定された（Fig. 2a）。溶存酸素量は夏に低く測定される傾向がみられたものの，各定点間で差はみられず，6.6 mg/Lから14.2 mg/Lの範囲で測定された（Fig. 2b）。CODは港外で低く，港内では高い値となり，港内においてもFp−1（港奥泊地）ならびにFp−4（市場前）で高くなる傾向がみられたが季節的な変化はみられず，0.3 mg/Lから4.38 mg/Lの範囲で測定された（Fig. 2b）。なおpHは7.7〜8.5の範囲で，塩分濃度は3.0〜3.8‰の範囲で，海水の比重は21〜29の範囲で測定された。

生菌数　漁港内の海水の生菌数をFig. 3aに示した。各定点の生菌数は漁港内では1.7×10^2〜7.7×10^4 CFU/mL，秋サケ漁場では4.5×10^1〜6.9×10^3 CFU/mL，ホタテ漁場では1.5×10^1〜4.0×10^3 CFU/mLの範囲で測定された。春は少なく，夏から秋にかけてピークを示し，冬に再び減少するという季節的な変化を示した。また港の奥に行くに従って生菌数が増加する傾向がみられた。なお標準寒天培地を用いて37℃で培養した場合は，検出限界以下〜8.3×10^3 CFU/mLの範囲であった（Fig. 3b）。

細菌叢　前記の定点のうちFp−1, Fp−4, Fp−5より海水寒天培地で分離した株を対象に属レベルの分類を行い，各季節（4, 7, 10月）の細菌叢を検討した結果をFig. 4に示した。漁港内の細菌叢は*Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Alteromonas*, *Cytophaga*, *Vibrio*およびグラム陽性菌により構成されていた。秋サケ漁の最盛期である10月は，市場前であるFp−4は，ほぼ全て陸棲細菌であったが，その他の季節および各定点ではほとんどが海洋細菌であった。

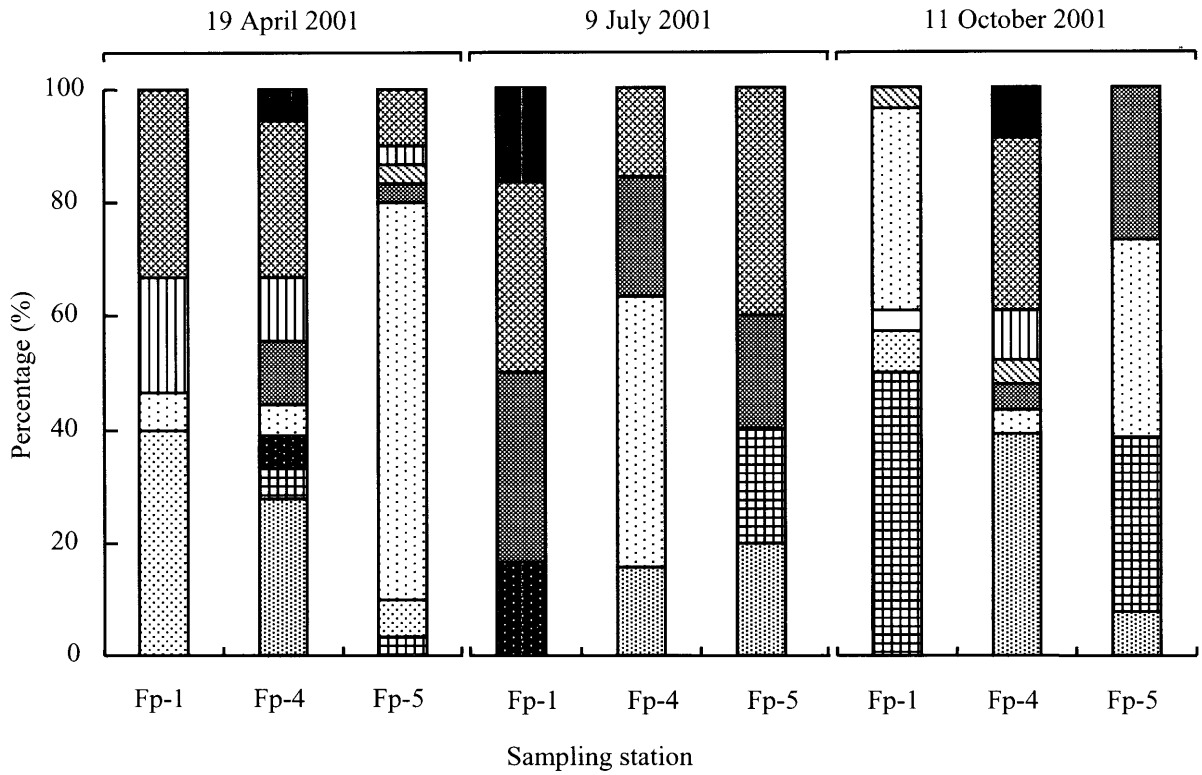

Fig. 4　Generic composition (%) of bacteria isolated from the Shibetsu fishing port. Gram positive, *Vibrio*, *Cytophaga*, *Aeromonas*, Enterobacteriaceae, *Alteromonas*, *Pseudomonas*, *Alcarigenes*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, Not identified

NII-Electronic Library Service

The Japanese Society of Fisheries Science

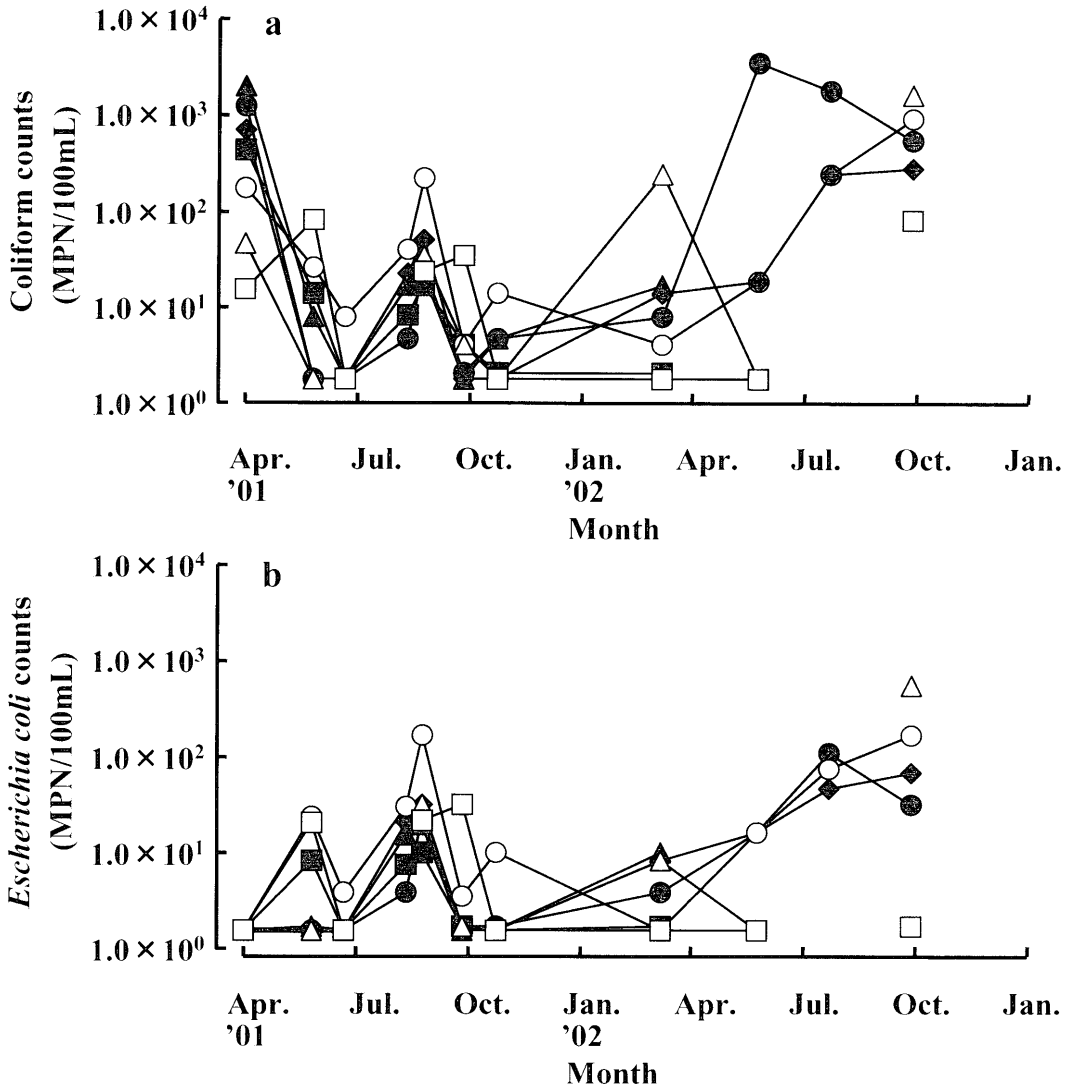

Fig. 5 Coliform counts (a) and *Escherichia coli* counts (b) (MPN/100 mL) at sampling stations located at and near the Shibetsu fishing port. Station symbols are as shown in Fig. 2.

食中毒原因菌，大腸菌群数および大腸菌数 漁港内の海水の大腸菌群最確数をFig. 5aに，大腸菌最確数をFig. 5bに示した。各定点の大腸菌群数は，漁港内では1.8以下～3500/100 mL，秋サケ漁場およびホタテ漁場では1.8以下～1600/100 mLと測定された。各定点の大腸菌数は，漁港内では1.8以下～170/100 mL，秋サケ漁場およびホタテ漁場では1.8以下～540/100 mLと測定された（Fig. 5b）。一般生菌数と同様に春は少なく，夏場にピークを示し，秋から冬にかけて再び減少するという季節的な変化を示した。また港の奥に行くに従って両数値が減少する傾向がみられた。一方，スタヒロコッカス培地110, SS寒天培地およびTCBS寒天培地では食中毒原因菌は検出されなかった。

考　察

標津漁港内および沖合いの海水の水質，一般生菌数，大腸菌群数および大腸菌数を周年観察し，調査地点ならびに季節ごとに比較検討したところ，水質面では，CODはFp-1（港奥泊地）ならびにFp-4（市場前）で高くなる傾向がみられたが，その値に大差は見られなかった。各定点の一般生菌数は，春は少なく，夏から秋にかけてピークを示し，冬に再び減少するという季節的な変化を示した。測定回毎のばらつきは，水温の推移以外に天候，港湾における人の活動等の影響を考慮する必要があると考える。また港の奥に行くに従って生菌数が増加する傾向がみられ，漁港内の細菌叢は採取時期および採取地点により優占菌属が異なった。ただ，秋サケ漁の最盛期である10月は，Fp-4はほぼ全て陸棲細菌であっ

NII-Electronic Library Service

The Japanese Society of Fisheries Science

たが，その他の季節および各定点ではほとんどが海洋細菌であったことから，水質面同様，Fp-4は市場の排水の影響を受けている可能性が示唆された。一方，大腸菌群数ならびに大腸菌数は，港の入り口に近いほど値が高い傾向がみられ，一般生菌数とは逆の傾向を示した。

著者らの行なった道東地域の河川の調査によると，年間を通じて付近の河川から100 mLあたり$10^{2\sim3}$程度の大腸菌群が根室海峡に流入していた。[10] さらに，著者らの行なった大腸菌の生残性に関する試験では，大腸菌は海水中で数日間生残した。[10] これらの結果を総合すると，標津漁港はFig. 1に示すとおり標津川河口間近にあり，潮の流れからも河川水が漁港内に流入する可能性が考えられる。そのため，河川由来の大腸菌が港内に入り，生残した可能性が考えられる。ただ，時に港の奥の方が高くなることがあり，砂原漁港[11]のように漁港での作業等が影響している可能性を考慮する必要があると考える。

より高度な衛生管理を目指す上で，大腸菌群陽性の海水で船体をはじめ，選別台，岸壁等を洗浄したり，漁槽や保冷タンクに港内海水を用いることは食品衛生上好ましくなく，改善の余地があると考える。従来，大量の海水を殺菌することは困難であったが，陸上養殖あるいは種苗生産施設の飼育用水および排水を殺菌する装置が開発され，[12-14] 現在実用機の製作が進行中である。標津町は他地域に比べ先進的な衛生管理を行なっているが，万全を期するためには船体の洗浄，船槽水，蓄養水，氷，魚体・施設・器具の洗浄に殺菌海水を用いるのが望ましいと考える。大量の海水を殺菌処理できる装置が広く普及し，排水処理の整備が進めば，地域HACCPによる管理との相乗効果で漁港での衛生管理は飛躍的に向上すると考える。

謝　辞

本研究の一部は，文部省科学研究費基盤研究B展開（課題番号13556027）および標津町地域HACCP推進委員会からの水産学研究に関する奨学寄付金，標津漁港，標津町内主要河川水質環境調査によって実施した。ここに記して謝意を表する。

文　献

1) 北海道水産林務部．北海道水産物品質管理高度化モデル計画，2000; 43.
2) 北海道標津町．標津町地域HACCP推進マニュアル策定報告書，2000; 121.
3) 吉水　守．標津川におけるサケ加工へのHACCP導入．農林統計調査，2002; **52**: 17–22.
4) 吉水　守，笠井久会．水産物の安全性確保について—漁獲から加工・流通・消費まで—．第46回全国漁港漁場整備技術研究会講演集，2002; 1–6.
5) 山本竜太郎，中村　隆，宇賀神義宣，池田　順．環境・衛生管理型漁港づくり計画手法．第46回全国漁港漁場建設技術研究発表会講演集，2002; 81–89.
6) 佐谷戸安好，澤村良二，竹下隆三，中沢泰男，長澤金蔵，濱田　昭．「繁用衛生試験法と解説」（日本薬学会編）南山堂，東京．1973; 386.
7) Yamamoto H, Ezura Y and Kimura T. Effects of antibacterial action of seawater on the viability of some bacterial species. *Fish. Sci.* 1982; **48**: 1427–1431.
8) 尾上洋一，品川邦汎．黄色ブドウ球菌「食品衛生検査指針　微生物編」（上田雄幹，三瀬勝利，熊谷　進編）（社）日本食品衛生協会，東京．1990; 160–167.
9) 絵面良男，清水　潮．水質・微生物編，「沿岸海洋調査マニュアルII」（日本海洋学会編），恒星社厚生閣，東京．1990; 9–20.
10) 笠井久会，中村暢之，吉水　守．道東の標津川，伊茶仁川および古多糠川の細菌学的調査．北大彙報 2002; **53**: 75–82.
11) 笠井久会，中村哲士，吉水　守．砂原漁港の細菌学的調査．北大彙報 2002; **53**: 69–73.
12) 笠井久会，石川麻美，堀　友花，渡辺研一，吉水　守．流水式海水電解装置の魚類病原細菌およびウイルスに対する殺菌効果．日水誌 2000; **66**: 1020–1025.
13) 笠井久会，渡辺研一，吉水　守．海水電解装置による飼育排水の殺菌．日水誌 2001; **67**: 222–225.
14) 吉水　守，笠井久会．種苗生産施設における用水及び排水の殺菌．工業用水 2002; **523**: 13–26.

NII-Electronic Library Service