

## カビ検査で学んだこと

一般社団法人食肉科学技術研究所 微生物部

中川 麻衣

### 1.はじめに

私の勤務する食肉科学技術研究所ではハム・ソーセージ・ベーコンなどのJAS（日本農林規格）事業と食品検査事業を行っています。検査は、真菌（カビ・酵母）の他にサルモネラ属菌などの微生物も扱っていて、検査する食品群は様々ですが、食肉科研はその名前の通り食肉関連の検査が多い現場となっています。食肉・食肉製品は他の食品群と比較すると、真菌発生事例が少ないイメージをお持ちの方も多いかと思いますが、定期的に真菌の汚染確認やクレーム品からの真菌検出依頼等があります。食肉製品のように加熱されている食品群は、基本的に二次汚染が無い限りは真菌検査を実施しても検出されないことが多く、真菌による汚染が無いことの確認を目的として検査を依頼されることが多いです。逆に言えば真菌発生事例が少ない食品群なので製造工場の検査担当者は真菌検査の経験が無い方が多く、真菌かどうかの判断が難しい、検査の手技に自信が無い現状にあるようです。

クレーム品からの真菌検出は、検査に使用できる量が著しく少ない、見た目からは判断しがたいなど、非常に限られた条件の中で検査を進めなければならないことから難しく感じられると思います。

当研究所では食品衛生検査指針<sup>1)</sup>を基に検査しておりますが、真菌検査の第一歩は形態観察

ですので、肉眼または実体顕微鏡による観察を実施します。形態観察で真菌が確認出来ることもあります。真菌と確定できない場合は、培養検査へと進む流れとなっています。食品衛生検査指針ではいくつかの検査法が示されていますが、希釈平板法ではサンプルを無菌的に10g採取し滅菌希釈液で10倍希釈したものを0.5mlまたは1.0mlを分離培地に塗抹後23～25℃で5～7日間培養とされています。一般的な微生物検査の生菌数や大腸菌検査とも並行して実施でき検査を効率よく進められる検査法ですが、少量サンプルの場合やクレーム品等からの検査の場合は直接サンプルをふき取って培地に直接塗抹接種を行ったり、サンプルの一部をそのまま培地上で培養したりと、希釈平板法とは異なる検査法も取り入れながら検査を実施することも少なくありません。

皆さんもよくご存じの通り真菌の特徴の一つは「色を出す」ことにあります。製品に変色が起こるとお客様からも目につきやすいため、クレームになることが多いと思います。今回は当研究所での変色に関する検査事例を紹介し、少しでも皆さんが検査に取り組む際の参考にしていただければと思います。

### 2. 事例紹介

#### ① スポット的に変色した食肉製品

加熱後の食肉製品に何かが付着し変色しており、変色原因が何か知りたいというお問い合わせを頂きました。サンプル(図1)を目視確認したところ、食肉製品のクレーム品でよくある色素沈着や焦げ(図2)など付着物の可能性が高いと判断し異物判定として実体顕微鏡による観察、磁性試験を実施することとなりました。検査を進めたところ何かは特定できないものの、付着物や色素沈着及び焦げとは異なる変色であることがわかりましたが、変色の原因が特定できなかったため微生物検査を実施してみようとなりました。目視確認では真菌の特徴的な形態は観察出来ていなかったため、まずはスライド標本作製し光学顕微鏡での観察を実施しました。その結果、変色部分より多数の黒色胞子を確認することができました。

胞子が確認できたことにより変色の原因は恐らく真菌であろうということになりましたが、菌種を同定するためサンプルからポテトデキストロース寒天培地に接種し25℃で7日間培養を実施することとしました。食肉製品に発生した黒色のカビということで検出事例の多いクラドスポリウム(*Cladosporium*)を想定していたのですが、発育した真菌を同定したところアルタナ

リア(*Alternaria*)でした。アルタナリアは胞子に特徴があるため、サンプルの変色部を確認した時点で真菌の疑いを持ち真菌検査を同時に実施すれば判定まで早かったはずですが、異物として検査を進めた結果、検査実施から結果判定までに時間を要してしまいました。一見経験したことのあるようなクレーム品に見えたとしても予断を持たずに、どのような検査を実施すべきなのかを慎重に検討して検査に取り組むべきであったと感じた事例でした。

## ② 豚肉の一部が変色

冷蔵保管中に変色を起こした豚肉があり、お客様自身はカビ汚染を疑って検査したいという依頼でした。現物を確認したところ、確かに食肉の一部分にのみ変色が発生しており青緑や青色を呈していましたので恐らくカビが原因であろうと考えましたが、目視確認だけでは真菌と判断が出来ませんでした。(図3)

そのため実体顕微鏡及び光学顕微鏡での観察をしましたが、変色部分からは真菌の特徴的な形態は確認できず、食肉特有の脂肪層の中で、変色部分に菌糸と胞子が存在しているかの判定が難しかったため、培養検査へと進めることとし

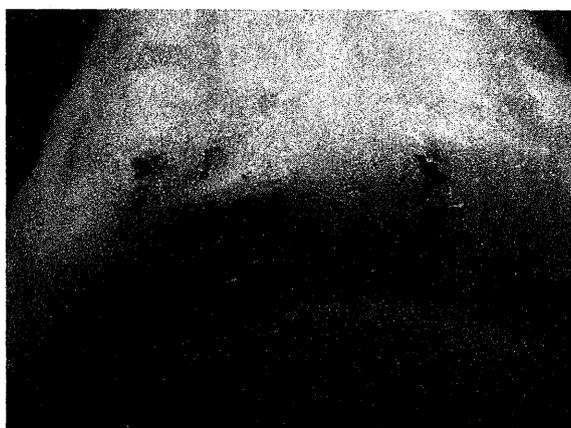


図1. 事例①の変色した食肉製品



図2. 事例①焦げにより変色した食肉製品

ました。希釈平板法にてポテトデキストロース寒天培地に接種し25℃で7日間培養したところ酵母と真菌が検出され、純培養して同定したところ、真菌はムーコル (*Mucor*) であることが確認できました。(図4)

ムーコルは食肉より検出されやすい真菌の一種として知られていますが、青緑や青色といった色調を持っていません。検査スタート時は緑色や黒色を呈する真菌の検出を想定しており、得られた酵母やムーコルが変色の原因とは考えられませんでした。念のため得られたムーコルを食肉へ接種もしましたが予想通り変色は起こらず、分離されたムーコルは低温環境下で発育できなかったため変色の原因はムーコルではないという結論になりました。また、希釈平板法では検出できない可能性も考え、変色部を直接採取・培養も並行して検査を実施しましたが変色の原因と思われる真菌は検出されず、その他の微生物検査も実施し変色の原因となるものがないかを検討することとしました。緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) の検査を実施したところ、緑膿菌は検出されませんでしたが増菌培養の検査過程で蛍光発色を呈しました。そのことによりシュードモナス属のうち他に該当す

る菌が存在しないかを更に調べてみると、シュードモナス・フルオレッセンス (*Pseudomonas fluorescens*) という種が青色の変色を起こすことがわかり、食肉の変色原因菌と特定できました。シュードモナス属は真菌と同様に自然界に広く分布していますが、この事例に当たるまで知る機会がありませんでした。そのため、検査法の見直しを行いシュードモナス属菌の判定ができるように検査法を更新することにしました。残念ながら日本の公定法にはシュードモナス属菌の検査法が無かったため、国際規格であるISO規格を参照し検査体制を整えました。他の食品の事故事例や検査方法等様々な情報にアンテナを張ることの重要性を感じた事例でありました。

ご紹介した検査事例は、変色原因をカビと判定しなかったサンプルからはカビが検出され、カビを疑ったサンプルからは細菌が検出されるというものですが、ここから学んだことはクレーム品の検査スタート時にはその原因を限定せず、真菌を始めとする可能性のある微生物汚染を疑い検査することが大切ということです。二つの事例は途中で検査の方向転換をすることとなったわけですが、たまたまサンプル量が多かったので追加検査することができました。その

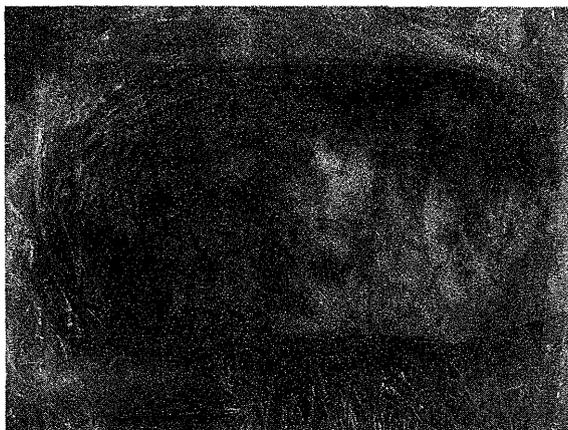


図3. 事例②の変色した豚肉

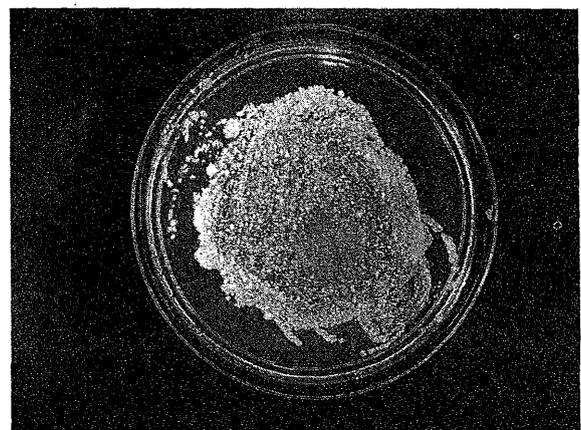


図4. 事例②豚肉より検出された酵母と *Mucor*

結果、原因を特定できましたが、基本的に微生物検査は後戻りできないことを意識して検査に取り組まなければと改めて肝に命じた機会となりました。

### 3. 検査に取り組んでいくために

検査の失敗は手技の問題に起因することもあります。その多くは検査経験を積むことによって解決できるかと思えます。むしろ、検査に慣れてくると、経験や知識が増えたがゆえにこれまでの経験にとらわれた判断ミスが生じることもありますので、自らの経験だけでなく多数の事故事例や思いもよらぬ検査事例があることを常に意識しておくことが必要と思えます。ご紹介した事例も自分の経験のみにとらわれず、お客様に可能性のある事例をもとに幅広い検査を提案していれば早期解決できたのではと反省しました。微生物は生き物であり検査も様々な方法が開発されていますので、どんなに経験を

積んでも日々勉強し続けることが大切だと思います。

皆様も普段行っている検査だけではなかなか知る機会のない菌の性状や事故例等を学ぶ機会を自分で設け知識を深めることは非常に重要だと思いますので、専門誌による情報収集やセミナー等に積極的に参加していただきたいと思えます。もちろん手技を習得することも重要ですので実技講習会を活用していただきたいです。失敗をゼロにすることは難しいですが、失敗を活かし学び続けることが検査に取り組むうえでは大事であると思えます。

今回ご紹介した事例が少しでも皆様の何かお役に立てれば幸いです。

### 参考文献

- 1) 公益社団法人日本食品衛生協会 (2018) 食品衛生検査指針 微生物編 改訂第2版 2018.