

平成 25 - 27 年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）
「非動物性の加工食品等における病原微生物の汚染実態に関する研究」

漬物の衛生規範に関する実態調査 - 真菌調査 -

研究協力者 NPO 法人カビ相談センター 高鳥浩介
高鳥美奈子
田中詩乃
太田利子
村松芳多子
高橋淳子

相模女子大学
高崎健康福祉大学
桐生大学

研究要旨：漬物 105 点について漬物の衛生規範における真菌調査を実施した。
(1) 漬物の酵母試験結果：供試試料中 6 割は酵母を確認できなかったが、酵母の検出された試料中には $10^2 \sim 10^4$ 個/g 以上が認められた。本研究で用いた漬物は未加熱試料のため *Saccharomyces cerevisiae* の出現頻度が高かった。一部に漬物由来といえない酵母種が確認でき、産膜酵母などの汚染源になると推察できる。
(2) 漬物のカビ試験結果：供試試料中 7 割はカビの検出はみられなかったが、カビ検出された試料中には 10^2 個/g 程度のカビが認められた。本研究の重要な課題であるカビ種は、日和見感染カビとして *Exophiala* 等が確認された。
(3) 加熱処理した漬物での事故事例：過去のカビ事故が発生した加熱処理済み漬物 2 件の事例は、いずれも地場産業として販売している食品であった。それらの試料からは耐熱性カビが確認された。
漬物の真菌調査から近年の漬物は低塩あるいは加熱加工品である事による真菌事故例が今後危惧され、漬物の衛生管理及び試験法等の衛生規範の見直しが求められる。

A. 研究目的

漬物の衛生規範は、当時厚生省から昭和 56 年 9 月 24 日付 環食第 214 号で通知され、その内容は漬物に係る衛生上の危害の発生を防止するため、その原料の受入れから製品の販売までの各過程における取扱い等の指針を示し、漬物に関する衛生の確保及び向上を図ることであった。

ところが漬物の浅漬けでの事故事例が発生し、平成 25 年 12 月 13 日付 食安発 1213 第 2 号 漬物に係る衛生上の危害の発生防止するため漬物に関する衛生の確保及び向上を図ることを目的として衛生規範の見直しがされた。ただし、漬物の衛生規範としての真菌については、現在も昭和 56 年通知のままである。時代の変化から様々な漬物が市場に出回りさらに健康志向の観点から減塩食品が出回るようになり、現実に苦情もみられてきた。

そこで、漬物の真菌の実態を調査して今後の取り組みに情報を提供したく本調査を計画した。

B. 研究方法

(1) 調査および材料

平成 27 年 4 月～12 月の期間に国内で販売されている漬物入手した。入手地域は図 1、表 1 のとおりであり、入手漬物の種類は表 2、図 2 にまとめた。

本研究の漬物は表 1 でわかるように国内広域にわたって入手している。なお、なるべくその地域で流通している漬物入手した。したがって国内各地に共通するいわゆるきわめて十分に衛生管理された漬物ではなく、その地域で食品として販売されている漬物を対象試料とした。また漬物の種類は、規範にある材料を広く入手するため計画的に集めるよう心がけた（図 2）。

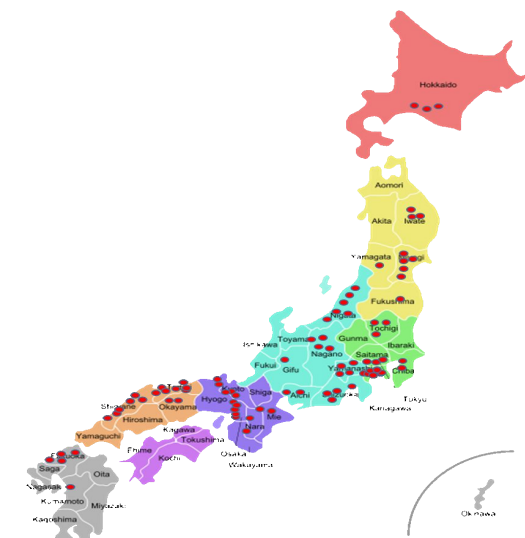


図 1 漬物入手の都道府県別分布

入手した地域は神奈川県が最も多く 24

件であり、あとは北海道から九州まで各地から入手した。漬物の種類と材料をみてもわかるように塩漬、醤油漬などさまざまな野菜が用いられていた。

表 1 都道府県別の漬物の入手法

都道府県名	数	都道府県名	数
北海道	3	岐阜県	1
岩手県	3	静岡県	4
宮城県	5	愛知県	2
山形県	1	三重県	2
福島県	1	京都府	5
栃木県	3	大阪府	5
群馬県	3	奈良県	2
千葉県	2	鳥取県	7
東京都	3	島根県	6
神奈川県	24	岡山県	2
新潟県	6	福岡県	4
山梨県	4	熊本県	1
長野県	4	不明	2

表 2 供試漬物の種類と材料

漬物の種類	材料
塩漬 20	うど 1 かぶ 1 大根 1
	きゅうり 4 野沢菜 1 高菜 1
	キャベツ 1 白菜 4 なす 5
	らっきょう 1
醤油漬 16	きゅうり 5 なす 1 めかぶ 1
	ごぼう 2 野沢菜 1 らっきょう 1
	大根 3 白菜 2
みそ漬 6	きゅうり 2 大根 3 にんにく 1
かす漬 10	うり 2 ふき 1 菜の花 1
	きゅうり 4 メロン 1 わさび 1
こうじ漬 5	きゅうり 2 大根 2 なす 1
酢漬 16	かぶ 4 大根 2 しょうが 2
	きゅうり 1 長芋 1 らっきょう 6
ぬか漬 18	うり 2 なす 2 大根 8
	きゅうり 5 人参 1
からし漬 2	きゅうり 1 なす 1
もろみ漬 1	すいか 1
キムチ 10	大根 1 白菜 9
甘露煮 1	梅 1

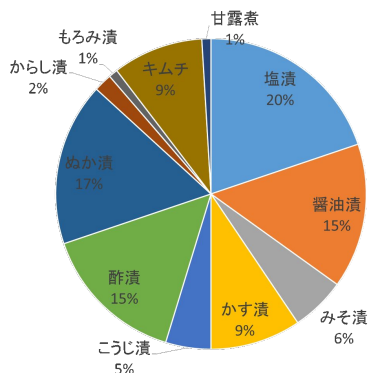


図 2 漬物の種類別割合

(2) 試験法

1) 酵母の試験法（漬物の衛生規範による）

酵母の試験法は真菌であることからポテトデキストロース寒天培地を基本に抗生物質のクロラムフェニコール、プロピオン酸ナトリウム、および塩分として NaCl を添加した培地で試験する。培養方法として塗抹法または混釈法で、平板 3 枚の平均集落数である。その衛生規範を表 3 に示した。

表 3 酵母数試験法

酵母(生菌数1000個以下)	
試料	(1) バック中の検体すべてを対象とし均質な試料とする。 (2) 供試する量は1検体10gとする。 (3) 試料希釈液の調製はワーキングブレンダー(ホモジナイザー)を用い、希釈用の滅菌液は、生理食塩水を使用する。
培地	(4) ポテト・デキストロース寒天培地を使用し、下記の薬品を添加する(1000mlあたり)。 NaCl 50g クロラムフェニコール 100mg プロピオン酸ナトリウム 2g 培地のpHは5.4に調整する。
方法	(5) 塗抹法または混釈平板法による。 (6) 培養の条件は25℃で3~5日間
判定	(7) 計測は10倍、100倍、1000倍各希釈段階につき平板3枚の平均集落数とし、集落数が10~100個の範囲内にある希釈段階の実測値を以て表示する。 もし10倍希釈で集落数10個以下の場合は $< 10 \times 10^3$ とし、また1000倍希釈で集落数100個以上の場合は $> 100 \times 10^3$ として示す。

上記以外の具体的操作については、食品衛生検査指針微生物編準用

2) カビの試験法（漬物の衛生規範による）

カビの試験法はポテト・デキストロース寒天培地を基本に抗生物質のクロラムフェニコールを添加した培地で試験する。培養方法として塗抹法が用いられており、真菌用培地平板 3 枚の平均集落数と記されている。しかし具体的な培地摂取量が記載されていない

その衛生規範を表 4 に示した。

表 4 カビ数試験法

カビ(陰性であること)	
試料	(1) バック中の検体すべてを対象とし均質な試料とする。 (2) 供試する量は1検体10gとする。 (3) 試料希釈液の調製はワーリングブレンダー(ホモジナイザー)を用い、希釈用の滅菌液は、生理食塩水を使用する。
培地	(4) ポテト・デキストロース寒天培地を使用し、下記の薬品を添加する(1000mlあたり)。 クロラムフェニコール 100mg 培地のpHは5.4に調整する。
方法	(5) 塗抹法による。 (6) 培養の条件は25℃で5~7日間
判定	(7) カビ集落発生の有無は通常10倍希釈段階の平板各3枚を用いて観察するが、試料の細片(繊維)によって著しく観察が妨げられるときや、保存料など微生物の発育阻止物質が試料中に含まれている場合は、100倍希釈段階の平板を用いて観察してもよい。 発生した集落は、顕微鏡によってそのものが確かにカビであることを調べる。 同一希釈段階の平板3枚のすべてにカビの集落が認められなかった場合は、カビ陰性と判定する。

上記以外の具体的操作については、食品衛生検査指針微生物編準用

3) 漬物の衛生規範(製品の適合要件)

製品(すべての漬物)について「カビおよび産膜酵母が発生していないこと」「異物が混入していないこと」と適合条件が付記されている。また、容器包装に充てん後、加熱殺菌したものにあっては、「カビが陰性であること」「酵母は検体 1g につき 1,000 個以下であること」の 2 要件が示されている(表 5)。これらの試験方法および適合要件を考慮して入手した 105 試料の漬物について試験を実施した。なお、食品の健康志向から減塩漬物が、どの程度流通しているか、また保存料の有無についても確認した。

表 5 衛生規範の抜粋【製品(すべての漬物)】

- (1) 製品は、次の要件に適合するものであること。
 - カビ及び産膜酵母が発生していないこと、
 - 異物が混入していないこと、
 - 容器包装に充てん後加熱殺菌したものにあっては、次の要件に適合するものであること。
 - アカビが陰性であること、
 - イ酵母は、検体1gにつき1000個以下であること、

(3) 倫理面への配慮

本研究は倫理上の制約を伴わない。

C. 研究結果

(1) 漬物の酵母

供試した 105 漬物について酵母試験を実施した結果、約 60% (60 試料) で酵母の検出を確認できなかった。残り 45 試料で酵母の検出を認められた。酵母数をみると 10² 個/g は 15 試料、10³ 個/g は 9 試料、10⁴ 個/g は 10 試料、10⁴ 個/g 以上は 11 試料であった。

漬物の種類別では、塩漬け、粕漬け、麹漬、酢漬け、ぬか漬けで酵母数が多い傾向にあった。ただし、本研究で入手した漬物の多くは加熱処理されていない未加熱製品である。それらの漬物中の酵母の多くは、*Saccharomyces cerevisiae* であり、漬物のそのものに由来するものと判定した。表 6 に示したが、7 試料において漬物由来とされない種が検出された。

漬物別の酵母検出頻度を図 3 に示した。酵母は漬物では普遍的にみられるものといえた。

表 6 漬物の種類別の酵母数

供試試料数	酵母数(個/g)					
	10	~10 ²	~10 ³	~10 ⁴	10 ⁴	
塩漬	20	8	4(1)	4(1)	2	3(1)
しょうゆ漬	16	13	3	0	0	0
味噌漬	6	5	1	0	0	0
粕漬	10	5	2	1	2	0
麹漬	5	3	0	1(1)	1(1)	0
酢漬	16	9	3	2	2	0
ぬか漬	18	7	1	0	3	7(1)
からし漬	2	1	0	1	0	0
もろみ漬	1	1	0	0	0	0
キムチ	10	8	1(1)	0	0	1
合計	104	60	15	9	10	11

()内は *Saccharomyces cerevisiae* 以外の酵母

*甘露煮製品は漬物の定義に外れるため除外した

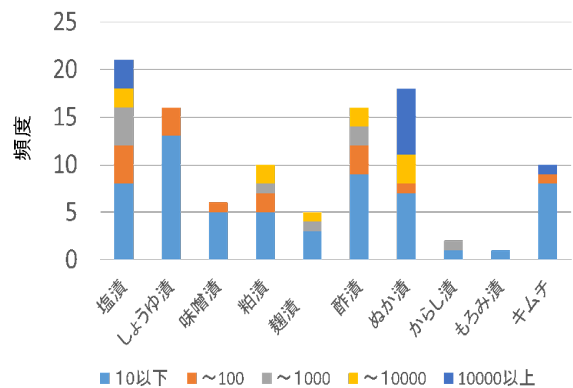


図 3 漬物の種類別の酵母検出頻度

(2) 漬物のカビ

105 試料の漬物についてカビ試験を実施した。その結果、約 70% (75 試料) の試料でカビの検出が認められなかった。残り 40 試料でカビを認めた。カビ数をみると 10² 個/g は 28 試料、10³ 個/g は 2 試料と少なく、さらに、10⁴ 個/g 以上の試料は検出されな

った(表7)。

漬物の種類別では、からし漬けを除いてカビの検出が認められた。漬物別のカビ検出頻度を図4に示した。漬物中にはカビの検出頻度は非常に少ないことが確認できた。

本研究の主要な課題はカビ数ではなく、どのような種類のカビが検出されたかが、重要因子である。検出されたカビの種類を表8に示した。漬物において検出されたカビは、湿性環境に多いカビで代表的なカビの *Fusarium*, *Acremonium*, *Cladosporium*, *Aureobasidium* 等であった。一方、*Aspergillus*, *Eurotium*, *Paecilomyces* 等のように乾性環境(表9)に多いカビも確認された。

また、保存料の有無、および食塩濃度も示したが、保存料の有無にかかわらずカビの検出がみられた。さらにカビが検出された試料では、比較的食塩濃度は低値であったことが明確であった。

表7 漬物の種類別のカビ数

	供試試料数	カビ数(個/g)			
		10	~10 ²	~10 ³	~10 ⁴
塩漬	20	17	4	0	0
しょうゆ漬	16	10	6	0	0
味噌漬	6	4	2	0	0
粕漬	10	6	4	0	0
麹漬	5	2	3	0	0
酢漬	16	10	4	2	0
ぬか漬	18	16	2	0	0
からし漬	2	2	0	0	0
もろみ漬	1	0	1	0	0
キムチ	10	8	2	0	0
合計	104	75	28	2	0

*甘露煮製品は漬物の定義に外れるため除外した

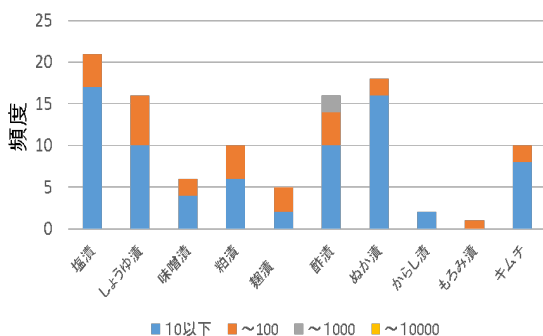


図4 漬物の種類別のカビ検出頻度

表8 漬物中の検出カビの種類等

漬物種類	原料	保存料有無	漬物汁の食塩濃度	カビ種
かす漬	うり	無	液無し	<i>Arthrinium</i> , <i>Mycelia</i> , <i>Rhizoctoria</i>
	きゅうり	無	未測定	<i>Aspergillus</i>
	きゅうり	無	未測定	<i>Cladosporium</i> , <i>Aspergillus</i>
	メロン	無	液無し	<i>Acremonium</i>
こうじ漬	きゅうり	無	0.1%以下	<i>Exophiala</i> , <i>Cladosporium</i>
	大根	無	0.38	<i>Acremonium</i> , <i>Cladosporium</i>
	大根	無	0.1%以下	<i>Phoma</i> , <i>Aureobasidium</i>
塩漬	かぶ	無	未測定	<i>Mycelia</i>
	高菜	無	0.1%以下	<i>Aspergillus</i> , <i>Arthrinium</i>
	白菜	無	0.9	<i>Penicillium</i>
しょうゆ漬	きゅうり	有	未測定	<i>Penicillium</i>
	きゅうり	無	1.82	<i>Penicillium</i> , <i>Nigrospora</i>
	ごぼう	無	0.1%以下	<i>Scolecobasidium</i>
	大根	無	0.1%以下	<i>Penicillium</i>
	白菜	無	0.1%以下	<i>Penicillium</i>
	らっきょう	無	0.1%以下	<i>Ulocladium</i> , <i>Mycelia</i>
	らっきょう	無	0.1%以下	<i>Acremonium</i> , <i>Mycelia</i> , <i>Ulocladium</i> , <i>Aureobasidium</i>
しょうが	しょうが	無	0.1%以下	<i>Mycelia</i>
	らっきょう	無	未測定	<i>Fusarium</i> , <i>Penicillium</i>
	らっきょう	無	0.1%以下	<i>Eurotium</i>
	らっきょう	無	0.1%以下	<i>Mycelia</i>
	らっきょう	無	0.1%以下	<i>Cladosporium</i> , <i>Acremonium</i> , <i>Mycelia</i>
ぬか漬	大根	有	未測定	<i>Cladosporium</i>
	大根	無	2.02	<i>Eurotium</i>
みそ漬	にんにく	有	未測定	<i>Fusarium</i>
もろみ漬	すいか	無	未測定	<i>Phoma</i> , <i>Curvularia</i> , <i>Penicillium</i>

表9 検出カビの発生源

空中	原料や土壌	水系
<i>Cladosporium</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>Aureobasidium</i>
<i>Penicillium</i>	<i>Aureobasidium</i>	<i>Exophiala</i> *
<i>Aspergillus</i>	<i>Phoma</i>	<i>Acremonium</i> *
<i>Paecilomyces</i> *	<i>Scolecobasidium</i>	<i>Rhodotorula</i>
<i>Arthrinium</i>	<i>Fusarium</i>	
<i>Mycelia</i>	産膜酵母	
	<i>Candida</i> *	

*太字は日和見真菌

(3) 漬物の食塩濃度

入手した一部の漬物製品の漬物汁について、食塩濃度を測定したところ、試料の多くは1%以下の低塩値を示した(図5)。

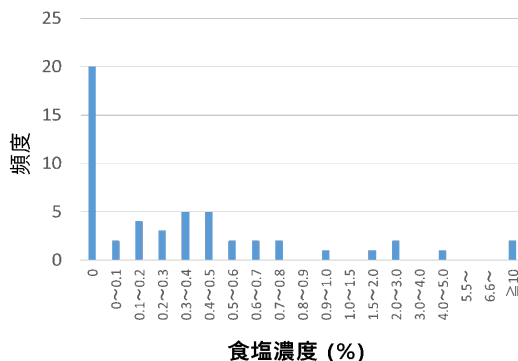


図5 漬物中の食塩濃度と頻度

(4) 加熱処理した漬物での事故事例

本研究は市販漬物中にどの程度の酵母、およびカビが検出されるかについて定量試験を実施した。一方で、加熱処理した漬物でカビ事故事例が起こった事例を経験した。この事例は、A県とB県の2件で起きた。いずれも地場産業として積極的に販売促進している食品であったが、賞味期限内でカビの発生がみられた。カビの特定を行ったところ、いずれも耐熱性カビ *Neosartorya fischeri* であった(図6)。

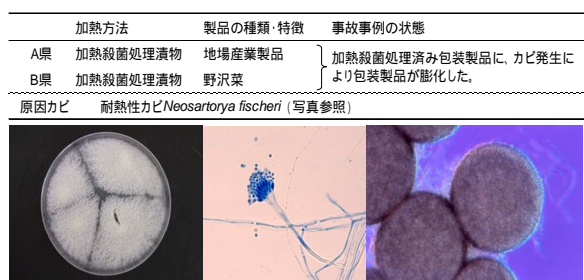


図6 加熱殺菌処理済み漬物のカビ発生事例

D. 考察

本研究は、衛生規範で対象となっている食品のうち漬物中にどの程度の真菌(酵母、カビ)が検出されるかについて調査を実施した。

酵母やカビの結果から、全く陰性であるとはいえないことが明確になった。漬物中の酵母試験の結果から、酵母の検出を認めなかった試料は約60%(60試料)であった。残り45試料で酵母の検出を認められた(表6)。酵母数をみると 10^2 個/g~ 10^4 個/g以上と漬物中の酵母検出数は多様であった。漬物の種類別では、塩漬け、粕漬け、麹漬、酢漬け、ぬか漬けで酵母数が多い傾向にあった。酵母数の多い漬物からは *Saccharomyces cerevisiae* が検出された。以上の結果からわかるように、加熱しない限り漬物由来の酵母が存在するものであり、異常な数値とはいいがたい。むしろ問題は、漬物由来以外の酵母の検出数である。漬物由来とされない酵母の検出種に *Rhodotorula*, *Candida*, *Cryptococcus* が確認された。つまり製造工程での汚染も考えられ、こうした酵母の種によって産膜酵母などが汚染されることもあり、空気や漬物原料等の衛生改善が求められる。

漬物のカビ試験結果から、約70%(75試料)の試料でカビの検出が認められなかった。残り40試料でカビを認められ、量的には少なかった(表7)。一般にカビ数は食品中では少ない。その理由として細菌のような分裂ではなく発芽による菌糸伸長にある。

そのため、時間経過によってもカビ数は少ないことが多い(表7)。ただし、少ないからといってカビを問題視しないことはあってはならない。

本研究で重要な課題は、どのようなカビ種が検出され確認されるかである。すなわち検出カビを同定することにより、汚染源を特定できることが多いからである。食品に添加された保存料の有無、および漬物汁中の食塩濃度から判断しても、保存料の有無に関係なくカビが検出され、食塩濃度も低いことがわかった。検出されたカビは、湿性環境にみられる代表的な *Fusarium*, *Acremonium*, *Eurotium*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Paecilomyces* 等で発生源を特定できる(表9)。特に多かったカビ種を確認すると空中由来であった。これは製造工程中に食品に混入したものと考えられる。

また、本研究課題の病原微生物の観点からカビ種を判断すると、*Exophiala*, *Acremonium*, *Fusarium* など日和見感染カビも少なからず確認された。カビの発生事故品や異物やカビ数も重要であるが、漬物の低塩化及び加熱処理食品として市場に広く出回ることなどを考慮していくと今後は、このような特定カビに注視しながら漬物の衛生規範を検討することも必要であると提言したい。

加熱処理した漬物での事故事例を経験した。この2事例は同様の過程で発生されていることから、今後漬物の加熱加工する場合の大切な教訓となる。いずれも地場産業として販売を促している食品であったが、耐熱性カビ *Neosartorya fischeri* であった(図6)。これは60-70、15-30分加熱程度では死滅しないカビであるため、加工工程処理をどのように指導するか等も含めて、漬物の衛生規範で重要といえる事例であった。

E. 結論

105点の漬物について真菌数試験法を実施した。

(1) 漬物の酵母試験結果：約60%(60試料)の試料では、酵母の検出を確認できなかった。残りの45試料で酵母の検出を認められた。酵母が認められた試料中には 10^2 ~ 10^4 個/g以上の酵母数を認めた。

漬物の種類別では、塩漬け、粕漬け、麹漬、酢漬け、ぬか漬けで酵母数が多い傾向にあった。ただし、本研究で入手した漬物の多くは加熱処理されていない非加熱製品である。それらの漬物中の酵母の多くは、*Saccharomyces cerevisiae* の出現頻度が高かった。一部で漬物由来といえない酵母種の検出がされた。これが産膜酵母などの汚

染源となることから漬物の加工工程における衛生規範見直しが求められる。

(2) 漬物のカビ試験結果：約 70% (75 試料) の試料でカビの検出が認められなかった。残りの 40 試料でカビの検出を認めた。カビ数をみると 10^2 個/g 程度であり、カビ数としては多くなかった。

しかし、本規範で重要な問題点はカビ数ではなく、カビ種である。検出されたカビを確認すると空中、原料、水系由来に分けることができ、その原因を知ることが今後衛生規範で重要である。

(3) 日和見感染カビとして *Exophiala* 等が確認されたことからカビ種の特定は極めて重要であり、今後の衛生規範改正で検討が望まれる。

(4) 加熱処理した漬物での事故事例：加熱処理した漬物でカビ事故事例が起こった事例を経験した。2 件で、いずれも地場産業として販売している食品であった。それらの試料から耐熱性カビが確認された。製造環境で重要な加工工程における衛生規範の指導事例の一つといえた。

(5) 漬物の真菌調査から近年の漬物は低塩あるいは加熱加工品であることによる真菌事故例が今後危惧され、漬物の衛生管理及び試験法等の衛生規範の見直しが求められる。

F. 研究発表

・日本防菌防黴学会第 41 年次大会発表 (平成 26 年)

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし