

猪肉解体加工調理施設における微生物動態に関する研究

研究分担者	朝倉 宏	国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部
研究協力者	山本詩織	国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部
研究協力者	伊澤和輝	東京工業大学大学院
研究協力者	小林直樹	麻布大学生命・環境科学部
研究協力者	小西良子	麻布大学生命・環境科学部

研究要旨

食肉を含む食品や食品加工・製造環境には真菌・酵母が多く存在するとされ、異常増殖を呈した場合には、異味・異臭等を伴う腐敗を齎すことが知られるが、野生鳥獣由来食肉の製造加工環境における真菌・酵母の分布はこれまで検討がされていない。衛生管理上の要点を真菌分布実態の観点から抽出し、改善策に係る知見を集積する必要があると考えられたことから、昨年度は猪解体・加工施設での真菌・酵母汚染実態調査を実施した。対象施設のうち、1施設では細菌汚染は制御できていると判断された一方、真菌・酵母は解体室、と体冷蔵室、加工室等に広域かつ高菌数の汚染を示したことから、本年度は同施設の継続的な協力を得て、汚染除去対策を講じた上で、酵母・真菌の汚染実態を改めて調査した。結果として、同施設室内環境で見られる酵母はとたい由来と思われたほか、*Cladosporium* 属菌汚染は結露等を原因とした高湿度環境に因ると推察される結果を得た。更に、解体室等での菌数は昨年度が 1.3×10^4 CFU/m³ であったのに対し、本年度は 2.3×10^2 CFU/m³ となるなど顕著な低減を認めただけでなく、構成菌叢にも変化が認められ、効果的な室内洗浄・湿度管理等の衛生管理の徹底が真菌・酵母の汚染低減に寄与する実例を示すことができた。今後はこれらの要因と効果を個別に紐づけるための検証が必要と思われる。

A. 研究目的

食肉を含む食品や食品加工・製造環境には真菌・酵母が多く存在するとされ、異常増殖を呈した場合には、異味・異臭等を伴う腐敗を齎すことが知られる。野生鳥獣由来食肉の解体加工、調理環境における真菌・酵母の汚染分布については、これまで全く検討がなされておらず、衛生管理上の危害要因分析を行えない状況にある。昨年度の検討において、複数の猪解体・加工施設を対象として、真菌・

酵母の環境汚染実態を調査したところ、ある施設では細菌汚染は十分に制御できている

と判断されたものの、真菌・酵母菌数が総じて高い状況にあることが見出された。同施設では、解体工程でいわゆる湯剥きがなされており、高湿環境を維持し易い施設環境と見受けられた。しかしながら、これを示し得る科学的根拠はなく、実態把握には環境条件についても併せて精査する必要性が考えられた。

こうした背景を受けて、本年度は、同施設の協力を再び得た上で、衛生管理対策として、解体室床の改修、換気頻度の変更、並びに加工室での洗浄・消毒方法の変更等を行うと共に、同施設内における温湿度変動をモニタリングすることとした。一定期間経過後、改めて真菌・酵母の汚染状況に関する調査を行っ

たので、報告する。

B. 研究方法

1. 猪肉解体加工施設での酵母・真菌汚染実態調査

昨年度調査を実施した猪解体加工施設の協力を得て、真菌・酵母の汚染分布を調査した。同施設では、室内・室外空気及び壁床等の付着物を採取した。空気の採材には、エアサンプラー エア－イデアル 3P(シスメックス・ピオメリュー)を用いて 100L 容量を採取し、DRBC 寒天培地 (Oxoid) 上に捕捉した。室内 5 地点および室外 1 地点において、それぞれ 2 枚ずつの平板に捕捉した。環境ふき取り検体の採取には、ふき取り用スポンジスティック (3M) を用い、10ml の BPW を用いて懸濁液を調整した後、空気と同様の DRBC 寒天培地に同液 200 μ L を接種した。各培地は接種後、25℃ で 7 日間培養し、得られた発育集落数を計測した。また、空中浮遊菌については空気 1 m³ あたり、環境ふき取り検体については懸濁液 1 ml あたりの総菌数を算出した。さらに、目視及び実体顕微鏡下での集落性状観察を通じ、*Aspergillus* 属菌、*Penicillium* 属菌、*Cladosporium* 属菌、及び酵母類それぞれの菌数を計測し、総菌数に対する占有率を求めた。

以上の調査結果について、平成 30 年度の結果との間で比較を行った。

2. 施設内における温湿度モニタリング

令和元年 8 月 10 日から 12 月 7 日までの間、温湿度データロガーおんどとり (株式会社ティアンドデイ) をとたい冷蔵室および一次加工室に設置し、1 時間ごとの室内温度および相対湿度を自動記録した。これらの測定値から露点温度を算出した。また、日本気象協会アメダスから、同施設に最も近い測定地の外気温データを抽出し、比較に用いた。

C. 研究結果

1. 猪肉解体加工施設における衛生管理に係る変更点の確認

対象施設では解体処理工程で湯剥きにより外毛を除去後、内臓摘出及び頭部・脚部を除去したとたいを一次加工室で脱骨・成型する製造工程体制をとっていた。

前年度の結果を協力施設に還元した上で、本年度は衛生状況の更なる改善に向けた取り組みとして、解体室の床改修、一次加工室での使用後設備消毒方法の変更(大量の水洗浄方式から、必要量の水洗浄及び電解水噴霧による洗浄消毒への変更)、換気扇の使用頻度の変更(使用後一夜かけての換気扇使用から、数時間経過後に換気扇使用を停止する形態への変更)、を取る事となった。

2. 猪解体加工施設における真菌・酵母汚染実態調査

同施設の空中浮遊菌数及び菌叢を図 1 に示した。総真菌数としては、と畜場を含め食用動物の解体処理施設室内での酵母・真菌数に関する法的規制値は存在しないため、日本建築学会が発表した「室内環境の維持管理基準推奨値 1,000 CFU/m³」と比較して評価した。その結果、解体室では真菌がやや多い状況ではあったが、それ以外の室内環境では上記推奨値以下であることが確認された。また、菌叢としては、全体を通じて *Cladosporium* 属菌の占める割合は外気と同等に高い一方、酵母、*Aspergillus* 属菌、*Penicillium* 属菌の汚染は少ない状況であることが確認された。

施設環境拭き取り検体中の真菌叢を図 2 に示した。総菌数については、作業台下角の最も清掃が難しい場所と目された、一次加工室床 の菌数は、他の調査地点と比べて高い傾向であったが、それ以外では総じて低い菌数にとどまっており、特に解体室床、とたい冷蔵庫壁 及び の総真菌数はふき取り懸濁液 1 ml あたり 5 CFU 以下と極めて少ない

状況であった。

総真菌数に占める各分類群の占有率成績のうち、少菌数検体の占有率成績は参考とはならないと解釈されたが、全体を通じ *Cladosporium* 属菌の検出頻度が最も高い状況であることは室内空気成績と同様であった。

3. 前年度成績との比較解析

前年度成績との比較として、空中浮遊菌の比較結果は図3に、ふき取り検体から検出菌の比較結果は図4にそれぞれ示した。

空中浮遊菌に関しては、全ての調査地点の中で最も高濃度に真菌浮遊があるのは解体室であったことは共通していたが、令和元年度は *Penicillium* 属菌等の検出率が著減し、*Cladosporium* 属菌がやや増加した傾向であった。ふき取り検体に関しては、検出菌数が5 CFU/ml以下と少なかったとたい冷却保管庫を除き、平成30年度は酵母の占有率が高かったが、令和元年度には *Cladosporium* 属菌の検出頻度が高い状況へと変化する等、調査間で、解体室（平成30年度： 1.3×10^4 CFU/ml、令和元年度： 2.3×10^2 CFU/ml）及び加工室の壁・床に付着する真菌・酵母菌数及び同菌叢が変化することが明らかとなった。このことは、解体室および加工室床のふき取り検体のDRBC寒天平板培養像からも示された（図5）。

とたい冷蔵室及び一次加工室における室内温度、相対湿度、及び露点温度データは、期間中、計3,024回の記録回数であった。記録データを解析し、結果概要を表1に、継続的挙動を図6に示した。一次加工室内では、真菌が発育しやすい条件とされる相対湿度70%を超えた測定時間が全3,024回中1,889回（62.4%）を数え、かつ室内温度の中央値及び平均値は約20と、多くの真菌種の発育可能温度帯と重なっていた。従って、一次加工室は、長時間に亘り、外気の流入、また

は食肉に付着して外部から室内に入った真菌が異常発育し易い環境であることが示された。これに対し、とたい冷蔵保管庫内は、相対湿度70%を超えた時間帯も全3,024回中1,100回（36.4%）と相対的に短く、室内温度も十分に低かったため、真菌の異常発育は成立し難い状況に保たれていることが示された。このほか、露点温度については、一次加工室では夏季と冬季で傾向に差があり、冬季では室内露点温度と外気温が近接傾向にあった。今回の対象施設を含め、野生鳥獣食肉処理施設の断熱施工は一般的な住宅に比べ、不十分な場合が多く、施設の壁表面温度は外気温に近いため、冬季には壁・床の結露が多い状態になり易いことを裏付ける結果が示されたといえる。

D. 考察

本年度の調査結果では、前年度と比較して、とたい由来と考えられる酵母等の汚染頻度及び菌数は低下した。この間、対象施設では複数の衛生対策を講じており、それらの複合的な効果による改善効果として顕れたものと推察された。

Cladosporium 属菌は、外環境より室内に流入後、結露等で水分量が常に高い場所で異常発育し易く、高湿度室内環境の汚染指標菌とされる。温湿度実測データ（表1）より、一次加工室内の相対湿度は比較的高い状態が維持されていた。但し、占有率データについては、母集団である総菌数が同等であった場合にのみ、純粋な比較解析が可能である。すなわち、本年度の総菌数は前年度に比べ、減少がみられたことを踏まえると、*Cladosporium* 属菌の占有率上昇は同菌の増殖を意味するよりも、他菌の減少によるものと想定される。

他菌のうち、酵母等については前年度解体室で特に多く認められたが、本年度は顕著な低減を示した。その要因としては、解体室の

床改修、並びに使用後の器具等の洗浄消毒にあたり必要以上量の水を使用しないよう、体制を変更した点等が功を奏したものと想定される。

前年度の結果を踏まえて実施した本年度の真菌・酵母分布調査を通じ、当該施設環境における菌数分布及び菌叢の経年変動を把握することができた。すなわち、野生鳥獣食肉の解体加工施設における衛生管理確保を図る上では、複数回の調査が有用と言えよう。

本年度成果からは、換気方法のほか、建物の断熱施工といった物理的な改良を実施することによって、冬季の建物内の結露の防止を行うことの重要性が今後の課題として示唆された。また、電解水等を用いた器具・機器の洗浄消毒による *Cladosporium* 属菌の不活化効果を評価することも、野生鳥獣を取り扱う解体加工施設での取るべき衛生対策を例示する上で、今後検討すべき課題と思われる。更に、効果的な室内環境の衛生管理方法を示す上では、年間を通じた室内環境調査を継続し、外環境を踏まえた対策を示す必要がある。

E . 結論

昨年度広域かつ高濃度の真菌・酵母汚染を認めた猪肉解体加工施設を対象として、本年度は同施設で、複数の衛生対策を講じた上で再評価を行い、とたい由来の酵母を低減でき

たほか、総菌数としても複数箇所での低減が図られた。一方、結露等を原因とする *Cladosporium* 属菌汚染は継続しており、外環境を踏まえた効果的な室内洗浄消毒の継続的な実施により、真菌・酵母汚染を低減させる可能性が示唆された。今後は、効果的な衛生管理方法の検討を行い、例示した上で、年間を通じた室内環境調査を継続する必要があると思われる。

F . 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

・朝倉宏、伊澤和輝、山本詩織、川瀬遵、清水秀樹、青木佳代、杉山広、壁谷英則、小西良子、高井伸二 . シカ腸内細菌叢は亜種間で異なるか？第 40 回日本食品微生物学会学術総会 . 2019 年 11 月 . 東京 .

G . 知的財産権の出願・登録状況

なし

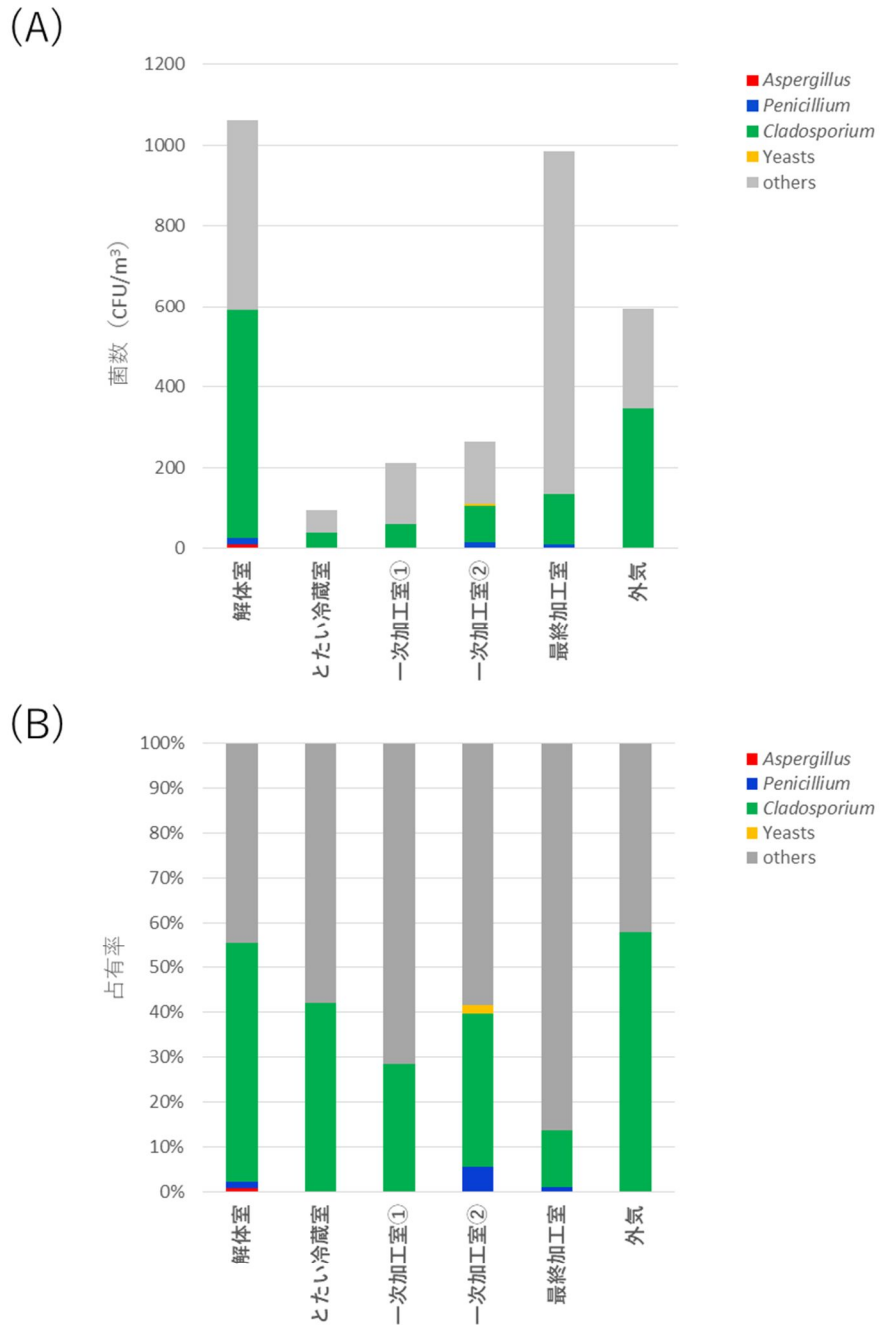


図1. 施設環境における空中浮遊真菌数及びその構成
 (令和元年度調査)
 (A) 空中浮遊菌数、(B) 空中浮遊菌の構成 (占有率)

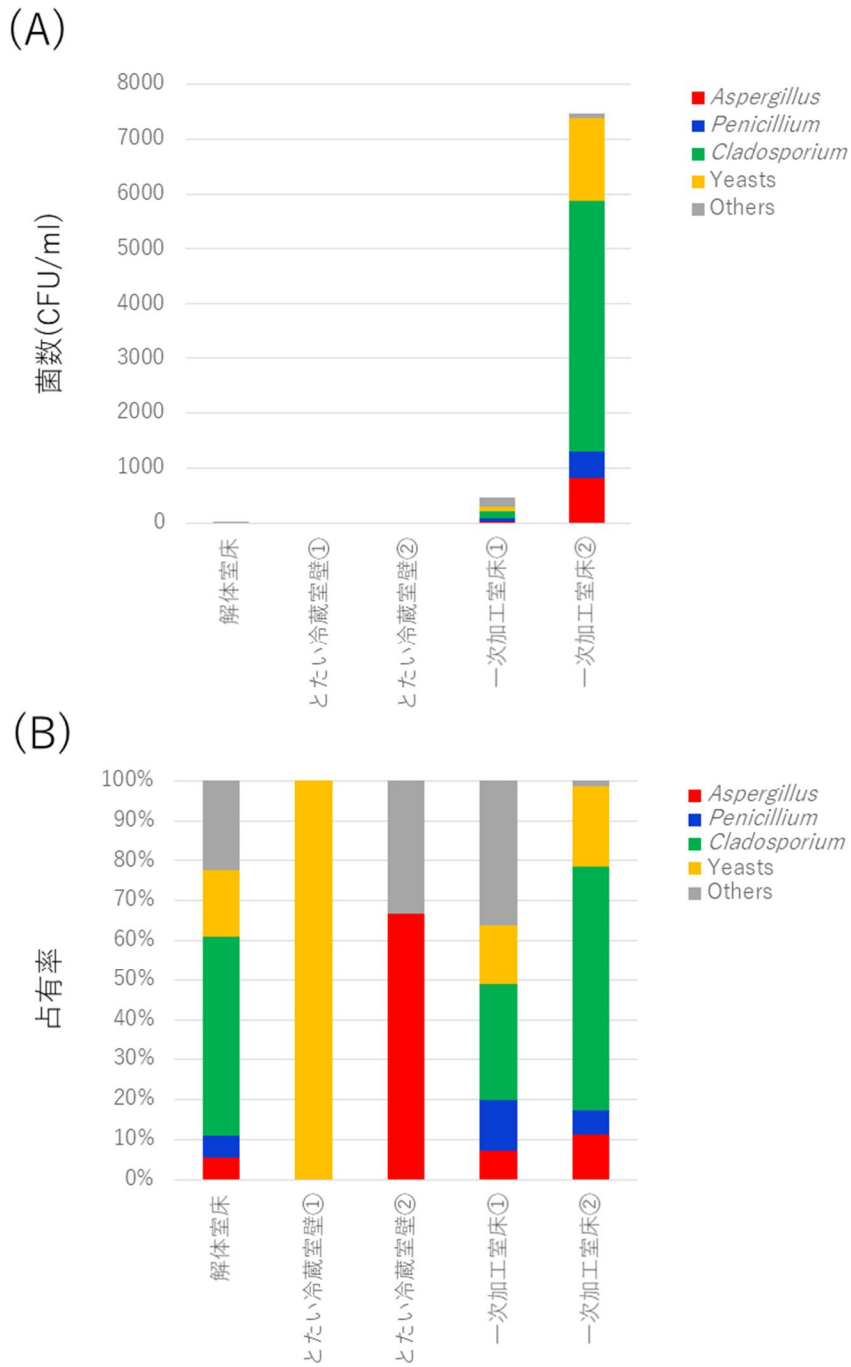


図2. 施設環境拭き取り検体から検出された真菌数及び構成 (令和元年度調査)

(A) 空中浮遊真菌数、(B) 空中浮遊真菌の構成

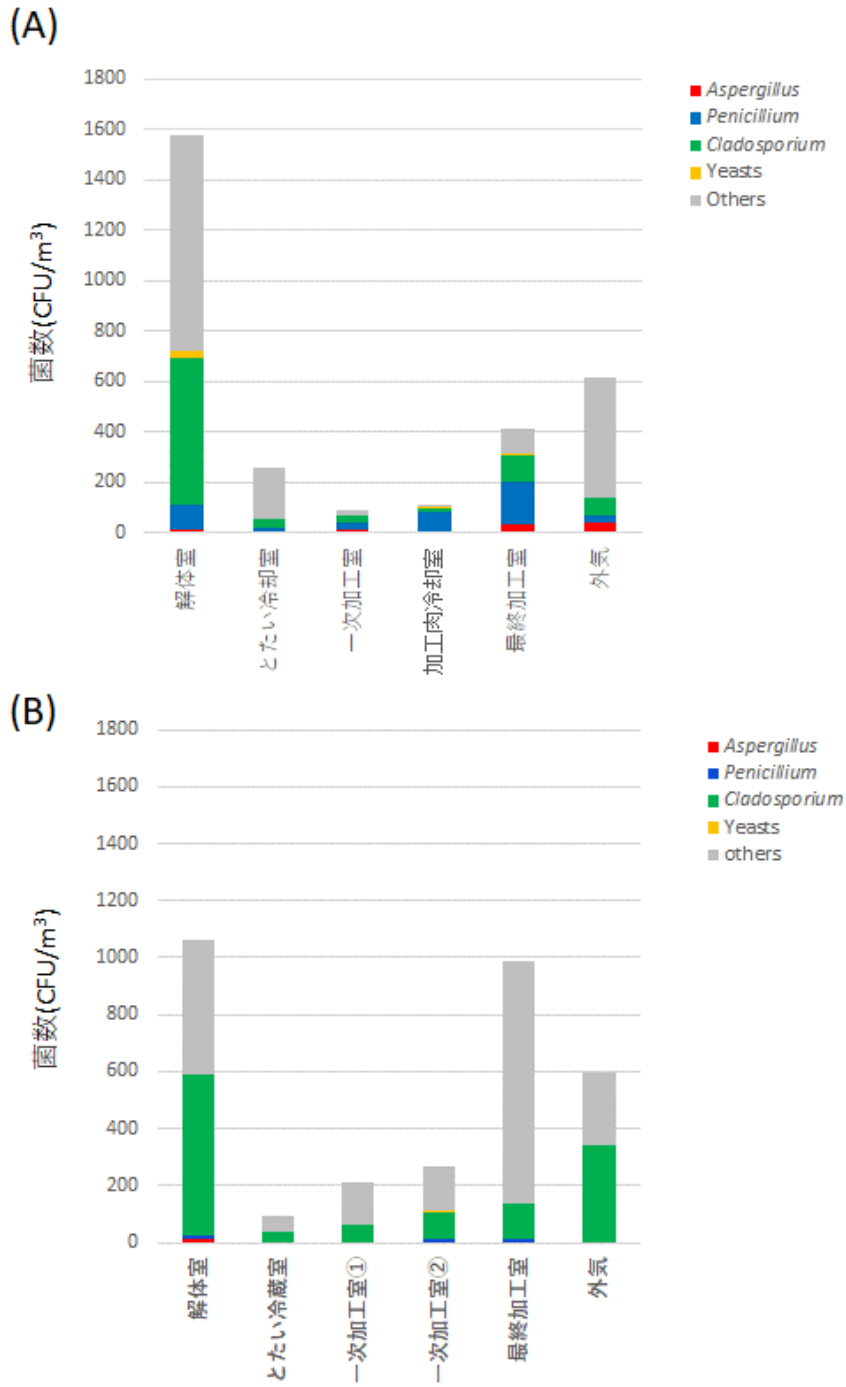


図3. 施設における空中浮遊菌数及びその構成の経年比較
 (A) 平成30年度調査結果、(B) 令和元年度調査結果

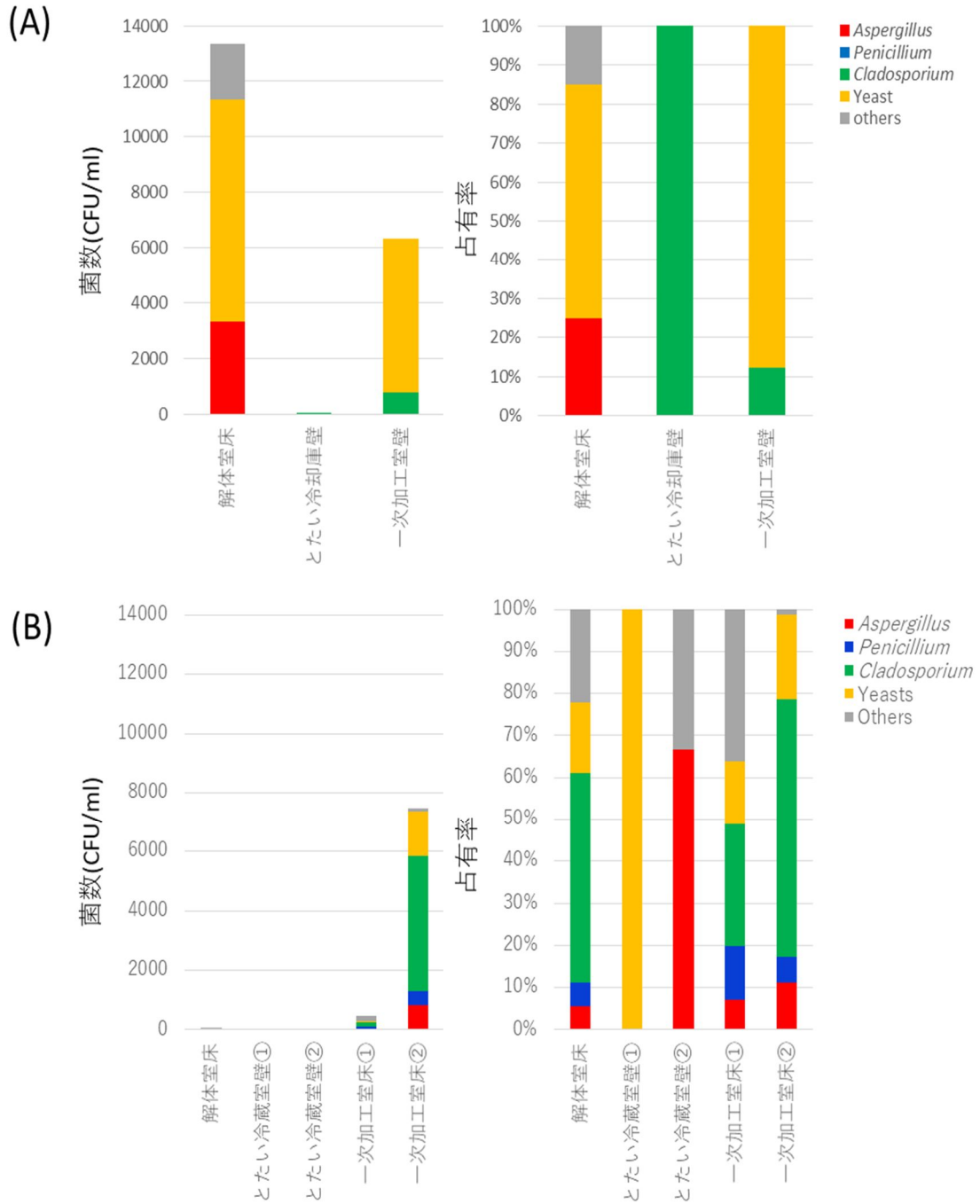


図4. 施設環境拭取り検体から検出された真菌・酵母数及びその構成の経年比較
 (A) 平成30年度調査結果、(B) 令和元年度調査結果

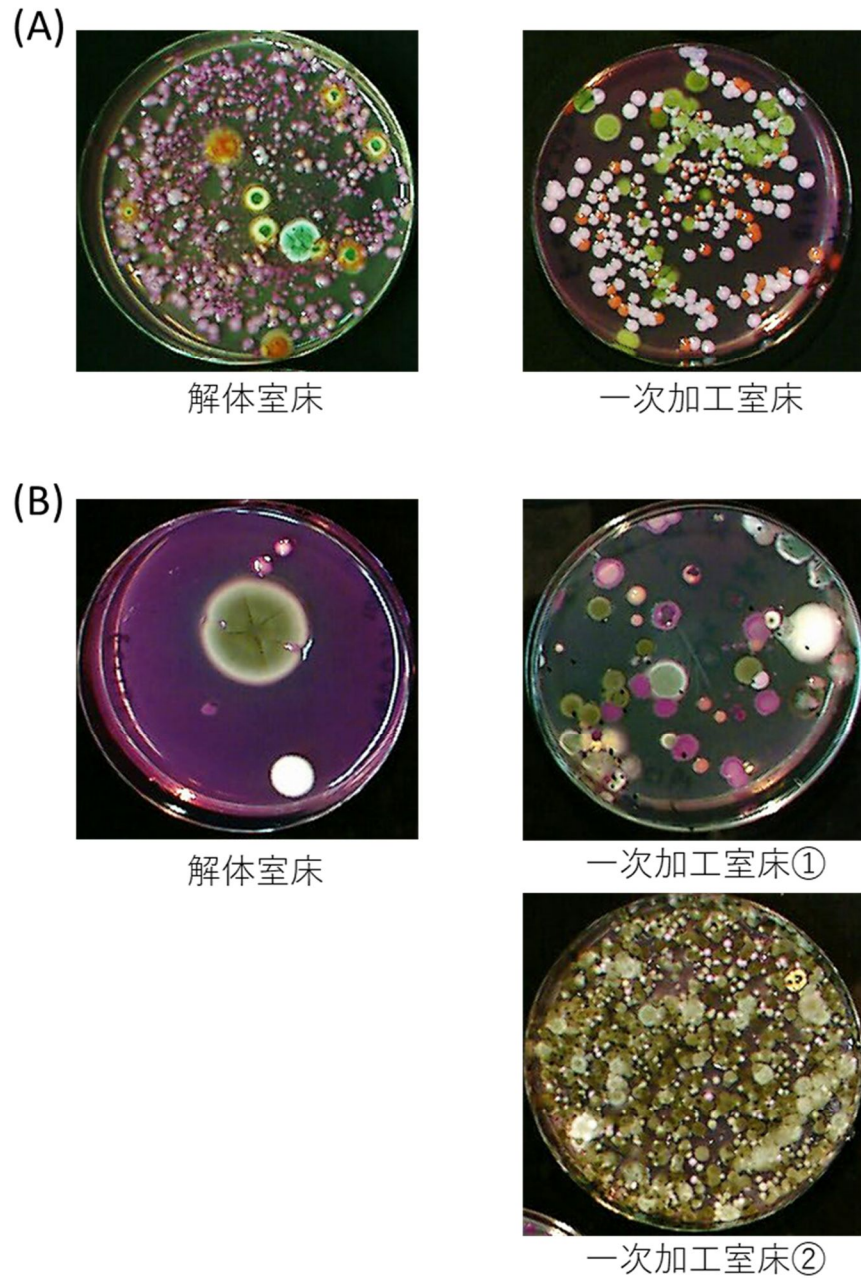


図5. 施設環境拭き取り検体から検出されたDRBC寒天培地集落発育像の代表例
 (A) 平成30年度調査結果、(B)令和元年度調査結果

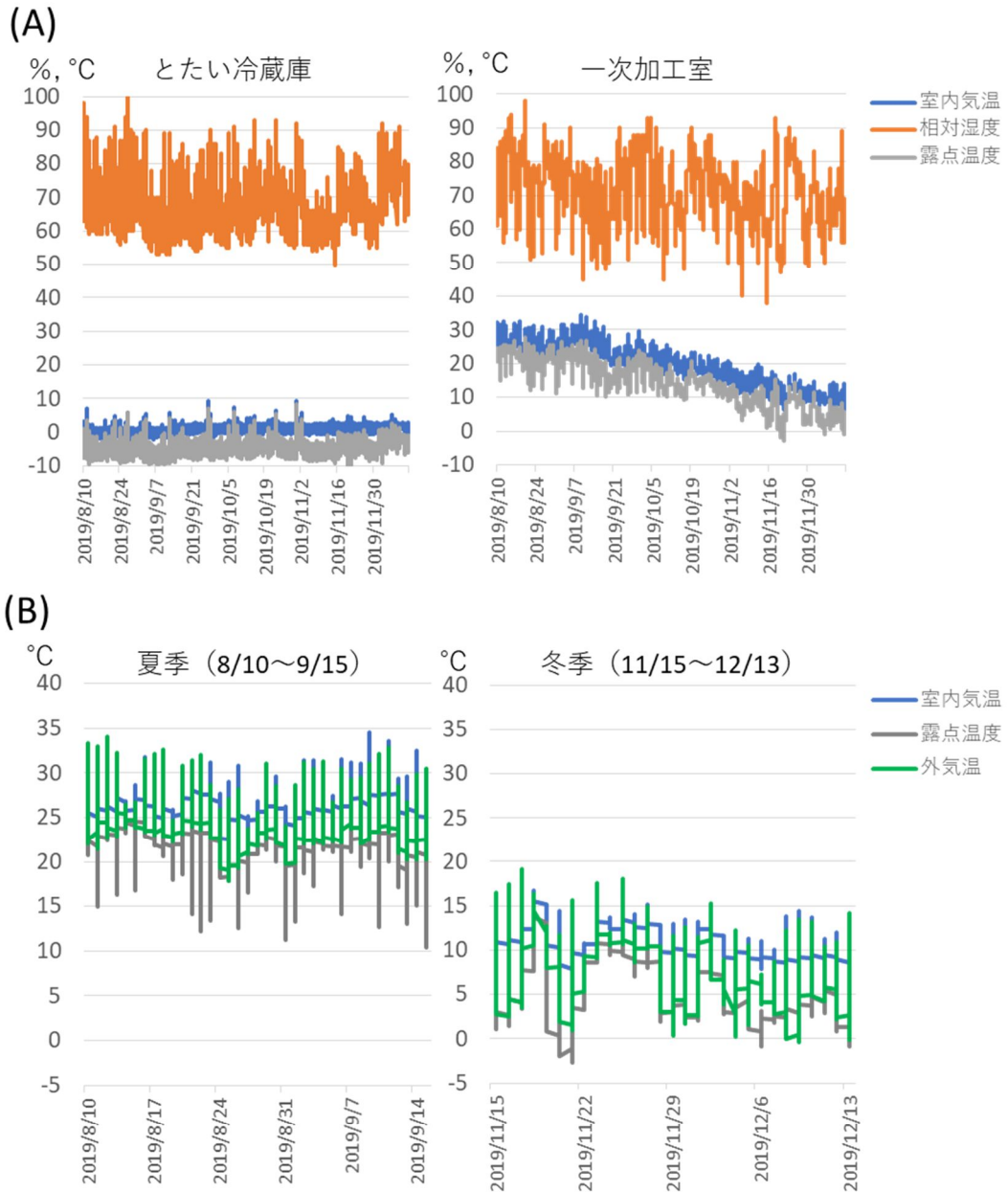


図6. 対象施設における室内温度、露点温度及び外気温の挙動
 (A)記録期間を通じた相対湿度・室内気温・露点温度の比較
 (B)一次加工室内の季節ごとの露点温度および外気温の比較

表 1 . 対象施設の室内温湿度

	相対湿度					室内温度				露点温度			
	中央値	平均値	最大値	最小値	70%以上 (回)	中央値	平均値	最大値	最小値	中央値	平均値	最大値	最小値
とたい 冷蔵庫	67.0	67.9	100.0	50.0	1100.0	1.1	1.0	9.4	-5.9	-4.1	-4.3	8.2	-11.0
一次 加工室	73.0	72.4	98.0	38.0	1889.0	20.3	19.7	34.5	5.1	15.0	14.5	27.6	-2.7