市販サラミソーセージの菌類とペニシリン酸 生産性の検討

(昭和 50 年 5 月 21 日受理)

高鳥浩介^{*1} 高橋恵子^{*1} 鈴木敏正^{*2}
宇田川俊一^{*3} 倉田 浩^{*3}

Mycological Examination of Salami Sausages in Retail Markets and the Potential Production of Penicillic Acid of Their Isolates

Kosuke TAKATORI^{*1}, Keiko TAKAHASHI^{*1}, Toshimasa SUZUKI^{*2},
Shun-Ichi UDAGAWA^{*3} and Hiroshi KURATA^{*3}

(^{*1}Hatano Laboratory, Food and Drug Safety Center: Ochiai, Hatano-shi, Kanagawa;

^{*2}Saitama Institute of Public Health: 639-1, Kamiookubo-higashi, Urawa-shi,

Saitama; ^{*3}National Institute of Hygienic Sciences:

18-1, Kamiyoga 1-chome, Setagaya-ku, Tokyo)

Mycological survey of Salami sausages in retail markets, 13 samples of mold-fermented type and 18 of natural fermented type, was carried out from viewpoints of food sanitation. Most important genus of fungi detected from the mold-fermented type Salamis was *Penicillium*, particularly representative of *P. cyclopium*, *P. miczynskii*, and *P. viridicatum*. These isolates might be brought from the artificial inocula during a manufacturing process of the Salamis. In the natural fermented type, more broader range of fungal groups were distributed: *Cephalosporium* sp., *Mucor mucedo*, *M. racemosus*, *Aspergillus versicolor*, *Penicillium cyclopium*, and others. Furthermore, when the populations of individual groups of fungi were considered, great differences were noted in the total amounts of *Penicillium* in the natural fermented Salamis as compared with those from the mold-fermented. Totally 23 strains of *Penicillium*, belonging in *P. cyclopium*, *P. expansum*, *P. miczynskii*, *P. viridicatum*, and other 3 species, were screened for production of penicillic acid (PA). None of the examined *Penicillium* strains yielded detectable amounts of PA in liquid shaking culture. It may be concluded from the above results and data of Ciegler, *et al.* (1972), that consumption of mold-fermented sausage does not represent a potential health hazard.

(Received May 21, 1975)

食品の汚染菌類によるマイコトキシン産生は、主として食品の貯蔵期間に大きく左右されるので、生鮮食品に比べて貯蔵食品は、マイコトキシン汚染の危険にさらされる機会も多い。このような意味から従来穀類を中心とした食品が研究対象とされてきた。タンパク性食品では、新鮮な肉類よりも長期貯蔵を目的とする食肉加工品(ハム、ソーセージ)ほどマイコトキシン汚染の可能性

が深刻である。すなわち、欧米において食肉加工品由来の菌類について aflatoxin, ochratoxin, sterigmatocystin, citrinin などの生産性が検索されている¹⁾。

われわれは、近年輸入食品のうちで、加工上カビ付けをした、いわゆるカビ醗酵型サラミソーセージを含むサラミソーセージ類の安全性が問われたため、これらの市販品試料について菌類分布を調べ、さらに主要分離菌株について penicillic acid (PA) の産生能を検討した。

実験材料および方法

試料は市販カビ醗酵型サラミソーセージ13点、自然醗

^{*1} 食品薬品安全センター：神奈川県秦野市落合

^{*2} 埼玉県衛生研究所：浦和市上大久保 639-1

^{*3} 国立衛生試験所：東京都世田谷区上用賀 1-18-1

Table 1. List of Salami Sausage Samples (Mold-fermented)

No.	Type	Country produced	pH		Moisture contents (%) [*]
			Whole	Inner	
1	Soft	Australia	5.0	5.0	28.4
2	"	"	4.8	4.4	34.4
3	"	"	5.6	5.0	29.4
4	"	"	6.6	6.2	20.9
5	"	"	5.8	5.6	30.3
6	"	"	6.4	5.4	25.0
7	"	"	5.2	5.0	26.3
8	"	"	5.4	5.0	25.2
9	"	"	5.4	5.2	28.8
10	"	"	6.2	6.0	38.4
11	"	"	5.0	5.0	30.8
12	"	Austria	6.6	6.4	17.4
13	"	Unknown	5.6	5.6	20.3

* By AOAC method

Table 2. List of Salami Sausage Samples (Natural-fermented)

No.	Type	Country produced	pH		Moisture contents (%) [*]
			Whole	Inner	
1	Dry	Denmark	4.8	4.8	23.0
2	"	Japan	5.2	5.2	22.4
3	Soft	"	6.0	6.2	60.9
4	"	"	5.0	5.0	53.5
5	"	"	5.6	5.8	55.2
6	"	Australia	5.0	4.8	36.6
7	"	"	5.8	5.8	42.5
8	"	"	6.0	5.8	33.7
9	"	Sweden	5.0	4.8	30.3
10	"	"	4.0	4.0	30.5
11	"	"	4.2	4.2	34.3
12	"	Finland	4.8	4.8	19.9
13	"	"	4.8	4.8	27.9
14	"	Norway	5.0	4.8	30.6
15	"	Canada	4.0	4.2	32.6
16	"	"	4.8	4.8	43.9
17	"	New Zealand	4.6	4.8	38.8
18	"	Unknown	5.2	5.0	35.5

* By AOAC method

酵型サラミソーセージ18点で、種類はソフトがほとんどであった (Table 1, 2). 多くは輸入品で、主としてオーストラリア、ニュージーランド、カナダ、デンマーク、フィンランド、ノルウェー、スウェーデン、オーストリア

産のものであった。供試試料の性状は次のようである。pH は全体部 (外表皮と内部)、内部ともに酸性で 5 ~ 6 の間であり、酸性度は若干全体部より内部で強い。含水量は、国産ソフト型の50%以上を除いて、大部分20~

Table 3. Fungal Groups Detected on Salami Sausage (PDA Medium)

Mold-fermented	<i>Penicillium</i>	<i>Aspergillus</i>	Mucorales	<i>Chrysosporium</i>	Other fungi
Whole	12 (92.3%)*	1 (7.7%)	2 (15.3%)	1 (7.7%)	3 (23.0%)
Inner	9 (69.2%)	10 (76.9%)			2 (15.3%)
Natural-fermented	<i>Penicillium</i>	<i>Aspergillus</i>	Mucorales	<i>Cephalosporium</i>	Other fungi
Whole	8 (44.4%)	7 (38.9%)	3 (16.7%)	4 (22.2%)	3 (16.7%)
Inner	2 (11.1%)	5 (27.8%)	2 (11.1%)		1 (5.6%)

* Sample numbers and percentages for the detection of each group.

Table 4. Fungal Groups Detected on Salami Sausage (M40YA medium)

Mold-fermented	<i>Penicillium</i>	<i>Aspergillus</i>	Mucorales	<i>Chrysosporium</i>	Other fungi
Whole	10 (76.9%)*	4 (30.7%)	2 (15.3%)	1 (7.7%)	
Inner	7.0 (53.8%)	10 (76.9%)			1 (7.7%)
Natural-fermented	<i>Penicillium</i>	<i>Aspergillus</i>	Mucorales	<i>Cephalosporium</i>	Other fungi
Whole	6 (33.3%)	7 (38.9%)	3 (16.7%)	1 (5.6%)	2 (11.1%)
Inner	3 (16.7%)	6 (33.3%)	2 (11.1%)		1 (5.6%)

* See Table 3.

30%台であった。

菌類検索

試料を全体部と内部にわけ、それぞれから無菌的に 5 g を秤取し、滅菌 0.05% 寒天水 45 ml を加え、3～5 分間ワーリングブレンダーで細碎し試料液を調製、希釈平板法により分離培養を行った。分離用培地としては、バレイショ・グルコース寒天培地 (PDA: バレイショ 300 g の煮汁, グルコース 20 g, 寒天 20 g, 水 1000 ml, クロラムフェニコール 100 mg 添加) と M40Y 寒天培地 (ショ糖 400 g, 麦芽エキス 20 g, 酵母エキス 5 g, 寒天 20 g, 水 1000 ml) の 2 種類を用い、25°, 1～2 週間培養し、出現した菌類を分離、同定した。

分離菌株の PA 生産性

コーンステープ液体培地 (グルコース 50 g, ペプトン 20 g, コーンステープ・リカー 3 g, 水 1000 ml, pH: 6.0) を用い、25°, 5 日間、120～130 rpm で往復振とう培養したろ液について PA の分析を行い、その有無を判定した。分析方法は培養ろ液 20 ml をとり、塩化ナトリウム 2 g を加え、酢酸エチル 20 ml で 2 回抽出し、以後鈴木ら²⁾の方法に準じて操作し、薄層クロマトグラフィー、ガスクロマトグラフィー、および GC・マススペクトル分析を行った。なお、対照として *Penicillium martensii* PA 生産菌株 (69-GO-38) を用い、同一条件下で培養し、PA 生産ならびに検出条件を検討

確認した。

結 果

1. 菌類分布の概要 (菌群別)

PDA 培地および M40Y 寒天培地における菌群別出現度数を Table 3 と 4 に示した。PDA 培地の場合、カビ醗酵型の全体部では *Penicillium* 属が 13 試料中 12 試料にみられ 92% と最も出現率が高く、*Penicillium* 属以外のものはわずかに検出されたのみであった。内部では、*Penicillium* 属は多少減小し 9 試料となり、代わりに *Aspergillus* 属が 13 試料中に 10 試料 (77%) と高率に出現した。自然醗酵型の全体部では、特に優先していると思われる菌類はなく、やや多いものとして *Penicillium* 属が 18 試料中 8 試料に、*Aspergillus* 属が 7 試料中に検出された。そのほか、*Cephalosporium* 属が 4 試料にみられた。内部では菌類検出試料数はさらに減少し、*Aspergillus* 属が 5 試料にみられただけであった。

M40Y 寒天培地における結果は、PDA 培地と同様の傾向にあり、カビ醗酵型の全体部では、*Penicillium* 属が、内部では *Aspergillus* 属が多かった。自然醗酵型の全体部、内部とも菌分布は PDA 培地と大体同様であった。

なお、その他に検出された菌としては、*Arthrrium*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Paecilomyces*, *Scopulariopsis*, *Trichoderma* などの諸属であった。

Fig. 1. Constitution and total counts of detected fungi on salami sausage (PDA medium)

Fungal counts (range): mold-fermented (whole), av. $215 (4-1160) \times 10^2/\text{g}$; (inner), av. $4 (1-34) \times 10^2/\text{g}$; natural-fermented (whole), av. $32 (1-350) \times 10^2/\text{g}$; (inner), av. $1 (1-11) \times 10^2/\text{g}$.

Abbreviations: a, mold-fermented; b, natural-fermented; W, whole; I, inner; P, *Penicillium*; A, *Aspergillus*; M, mucorales; CE, *Cephalosporium*; CH, *Chrysosporium*; O, other fungi.

* Percentages for each group.

2. 菌類検出量 (菌群別)

以上の結果を、1試料当たり平均検出総量と、各菌群の占める検出量構成の面から表示したのが Fig. 1 と 2 である。

PDA 培地のカビ醱酵型をみると、平均検出総量は全体部が 215×10^2 コロニー/g で、内部の約50倍量もあり、なかでも全体部で検出された *Penicillium* 属は総量の90%を占めていた。自然醱酵型の平均検出総量はカビ醱酵型に比べ全体部は約1/7と少なく、内部は約1/4となっていた。Mucorales が全体部、内部ともに優先菌となっているのが特徴である。

M40Y 寒天培地も PDA 培地と同傾向にあり、カビ醱酵型では全体部が内部に比べ非常に多く、また自然醱酵型とカビ醱酵型では全体部での総量で比較すると、自然醱酵型はカビ醱酵型の約1/7となっていた。

3. 主要菌種の分布と検出量

主要菌についてカビ醱酵型、自然醱酵型の PDA 培地における結果を Table 5 に示した。

カビ醱酵型全体部の主要菌は、12試料に検出された

Fig. 2. Constitution and total counts of detected fungi on salami sausage (M40YA medium)

Fungal counts (range): mold-fermented (whole), av. $178 (6-718) \times 10^2/\text{g}$; (inner), av. $1 (1-3) \times 10^2/\text{g}$; natural-fermented (whole), av. $25 (1-250) \times 10^2/\text{g}$; (inner), av. $1 (1-9) \times 10^2/\text{g}$.

Abbreviations: See Fig. 1.

Penicillium cyclopium および8試料の *P. miczynskii* を初め *P. viridicatum*, *Mucor racemosus*, *Chrysosporium* sp. であった。また内部では、菌種において *Aspergillus* 属が多くなり、特に *Eurotium* spp. を初め *A. candidus*, *A. fumigatus*, *A. versicolor* などが認められた。*Penicillium* 属では *P. cyclopium* が多く出現したが、Mucorales は全く分離されなかった。

自然醱酵型は一般に菌類検出頻度が少なかったが全体部で分離された主要菌は、*Cephalosporium* sp., *Mucor mucedo*, *M. racemosus*, *A. versicolor*, *P. cyclopium* であった。また、Mucorales ではほとんどが *Mucor* 属であり、わずか1試料に *Absidia* 属がみられたにすぎなかった。内部では全体部に比べ、さらに菌種が少なくなっているが、*Aspergillus* 4種を検出した点が注目される。

4. 主要ソーセージ分離菌株の PA 生産性

主としてスターターと考えられるカビ醱酵型ソーセージ分離株を中心に検索した結果、Table 6 に示すように23菌株のすべてに PA 生産性は認められなかった。なお、対照として用いた *P. martensii* 69-GO-38 株からは $0.06 \sim 0.07 \text{ mg/ml}$ の収量で PA の生産性が確認された。

Table 5. Frequency and Distribution of Representative Fungi on Two Types of Salami Sausage (PDA Medium)

Fungi	Mold-fermented (13 samples)		Natural-fermented (18 samples)	
	Whole	Inner	Whole	Inner
<i>Penicillium citrinum</i>			+ (1)	
<i>P. cyclopium</i>	### (12)*	+ (6)	‡ (6)	+ (2)
<i>P. expansum</i>	+ (1)			
<i>P. frequentans</i>			+ (1)	
<i>P. janthinellum</i>			+ (1)	
<i>P. miczynskii</i>	### (8)		+ (2)	
<i>P. viridicatum</i>	‡ (3)		+ (1)	
<i>Penicillium</i> sp.		+ (1)		
<i>Talaromyces wortmanii</i>		+ (3)		
<i>Aspergillus candidus</i>		+ (5)	+ (4)	+ (3)
<i>A. fumigatus</i>		‡ (1)	+ (2)	
<i>A. niger</i>			+ (1)	+ (1)
<i>A. versicolor</i>	+ (1)	‡ (6)	‡ (3)	+ (1)
<i>Aspergillus</i> spp.		+ (3)	+ (1)	
<i>Eurotium</i> spp.		+ (8)	+ (6)	+ (2)
<i>Cephalosporium</i> spp.	+ (1)		### (4)	
<i>Chrysosporium</i> sp.		### (1)		
<i>Mucor fragilis</i>	+ (1)			+ (1)
<i>M. mucedo</i>			### (2)	
<i>M. racemosus</i>	‡ (2)		‡ (2)	+ (1)

* Fungal counts: +, ~1; ++, 1~5; ###, 5~10; ####, 10~50; #####, 50~ ($\times 10^2$ /g)

(), numbers of sample detected

Table 6. Penicillic Acid (PA) Production by *Penicillium* Species Isolated from Salami Sausage

Species	No. of PA producers for isolates examined
<i>P. cyclopium</i>	0/9
<i>P. miczynskii</i>	0/5
<i>P. viridicatum</i>	0/4
<i>P. frequentans</i>	0/2
<i>P. citrinum</i>	0/1
<i>P. expansum</i>	0/1
<i>P. janthinellum</i>	0/1
Total	0/23

考 察

1. カビ醗酵型サラミソーセージについて

Penicillium 属が検出菌のほとんどを占め、特に全体部と内部との菌構成の違いから *Penicillium* の大部分は外表皮に由来することが明確であり、これらの菌によ

ってカビ付け加工されていることが分かる。本研究の結果では、*P. cyclopium* が多く、次いで *P. miczynskii* および若干の *P. viridicatum* がみられた。このような菌分布は Ciegler ら³⁾が提示している結果とほぼ同じ傾向にあるが、彼等が多く検出したという *P. simplicissimum*, *P. expansum*, *P. janthinellum* は若干ないしほとんど検出されなかった。

Penicillium 属以外では *Chrysosporium* sp. が1試料に多く分離された。*Chrysosporium* 属が肉製品に普通にみられることは一般に知られている⁴⁾。カビ付けの対象菌となっていたかは不明であるが、サラミソーセージの性状からみて、この菌は異常醗酵がたまたま菌発育に好条件となったために、熟成過程で他の菌に優先し多く分離されたものと思われる。

2. 自然醗酵型サラミソーセージについて

カビ醗酵型に比較して全体部・内部とも菌量は少なく全体部では、*Penicillium* および *Aspergillus* 属が試料の約半数より分離され、カビ醗酵型と比べ出現菌に大きなへだたりがない。そのほか、*Cephalosporium*, *Mucorales* など出現菌群もより広範囲にわたっている。

菌種についても *P. cyclopium*, *Cephalosporium* sp., *A. candidus*, *A. fumigatus*, *Eurotium* spp., *Mucor mucedo* など比較的広い種類にわたって分布している。また、熟成工程中での外表皮の着生菌として *Mucor racemosus*, *M. mucedo* を中心とした *Mucorales* が少なからず認められ、生肉に多いこれらの菌が自然発生することも現象として当然であろう⁴⁾。これらの特徴は自然醗酵型の菌類分布のパターンとして考えられるところであるが、西田ら⁵⁾がドライソーセージの主要菌類がわずかに *Penicillium* 1 属のみ高率に分離されるとし、外表皮から *P. notatum*, *P. chrysogenum*, 練肉から *P. claviforme* を検出報告している点とは幾分異なる結果である。すなわち、西田らの熟成過程中的検索と市販品の場合とでは菌内容に相違があるとも思われる。

3. カビ醗酵型サラミソーセージの *Penicillium* 属安全性について

ソーセージの菌分布を穀類の場合と比較すると、タンパク食品特有の菌種、*Penicillium* 属の *Asymmetrica-Divaricata* 群、*Cephalosporium* 属、*Chrysosporium* 属、*Mucor* 属、*Aspergillus fumigatus* などが特定菌として分布し、なかでも加工菌としての *Penicillium* 属の存在は量的な点からも注目された。すなわち、カビ醗酵型のように加工上カビ付け後、熟成させて製造したソーセージが食品衛生上安全であるかどうかは、この種の食品が最近多量に輸入市販されていることから早急に検討を要する問題である。

スターターとして *Penicillium* を用いることの意義は、ソーセージに対する風味づけ、*Aspergillus* のような雑菌による変敗あるいはマイコトキシン生産の予防にある。例えば、ハム、ソーセージなど食肉加工品から分離された *A. flavus*, *A. ochraceus*, *A. versicolor* などの菌株の一部は熟成中の加工品に接種した場合、条件次第ではそれぞれ aflatoxin, ochratoxin, sterigmatocystin などの生産性を示すと報告されている¹⁾。したがって、例え少量でもこれらの雑菌の汚染は好ましくない。また Wu, et al.⁶⁾によれば、食肉加工品から分離された *Aspergillus*, *Penicillium* の143株について鶏胚に対する毒性を検索した結果、*A. ruber*, *A. repens*, *A. sydowi*, *A. restrictus*, *A. amstelodami*, *A. chevalieri*, *A. fumigatus*, *P. expansum*, *P. notatum*, *P. brevi-compactum* などの菌株に毒性を示すものがあるという。

スターターとしての条件は、毒性がなく、生育が早く、厚い菌糸層をソーセージ外表皮に形成し、芳香をつけることで、特に毒性面で *P. expansum* の加工菌としての可否が欧米で議論されている。現在までの研究では、肉類における *P. expansum* などの patulin 生産は基質としての肉タンパク中の sulfhydryl 基が不活化

するために認められず、*P. expansum* の使用は安全とされている⁷⁾。

一方、Ciegler ら⁸⁾はカビ醗酵型ソーセージより分離した *Penicillium* 346菌株について PA の産生能を調べ、その約10%に当たる34菌株から液体培養で PA 産生能が認められたと報告している。しかし、今回分離した *Penicillium* 23菌株はすべて PA の生産は認められず、また Ciegler ら⁸⁾の結果でも PA 生産性を示す5株についてソーセージに再接種し培養したところではソーセージ上において PA の生産が認められなかったことを考慮すると、現在輸入されているカビ醗酵型サラミソーセージなどは食品衛生上まず安全であると考えてよい。

ソーセージ由来の *Aspergillus* については、毒性の面でさらに今後の検討を必要とする。

本研究を行うに当たり、実験上の便宜を与えて下さった食品薬品安全センター秦野研究室長岩原繁雄博士、埼玉県衛生研究所食品衛生部長渡辺昭宣氏、ならびに同食品衛生部第一科長能勢憲英氏に対し厚くお礼申し上げます。

文 献

- 1) Bullerman, L. B., Hartman, P. A., Ayres, J. C.: Appl. Microbiol., **18**, 718 (1969); Escher, F. E., Koehler, P. E., Ayres, J. C.: *ibid.*, **26**, 27 (1973); Halls, N. A., Ayres, J. C.: *ibid.*, **26**, 636 (1973); Wu, M. T., Ayres, J. C., Koehler, P. E.: *ibid.*, **27**, 427 (1974); Leistner, L., Tauchmann, F.: Fleischwirtschaft, **50**, 965 (1970); Alperden, I., Mintzlaff, H.-J., Tauchmann, F., Leistner, L.: *ibid.*, **53**, 707 (1973).
- 2) 鈴木敏正, 藤本義典, 渡辺昭宣, 能勢憲英, 星野庸二, 小林 進, 田中章男, 菊池好則, 菅谷彰子: 食衛誌, **15**, 280 (1974).
- 3) Ciegler, A., Mintzlaff, H.-J., Weisleder, D., Leistner, L.: Appl. Microbiol., **24**, 114 (1972).
- 4) Ayres, G.: "Microbiological quality of foods" p. 132 (1963), Academic Press, N. Y. and London; Semeniuk, G., Ball, W. C.: Iowa Acad. Sci., **44**, 37 (1937); 稲垣尚起: 衛生試験, **79**, 293, 297 (1961); 一言 広, 諸角 聖, 和宇慶朝昭, 善養寺 浩: 都衛研年報, **24**, 41 (1972).
- 5) 西田 博, 清水隆雄, 保坂弘文, 山口東十, 富士川明彦: New Food Industry, **12**(8), 53 (1970).
- 6) Wu, M. T., Ayres, J. C., Koehler, P. E.: Appl. Microbiol., **28**, 1094 (1974).
- 7) Hofmann, K., Mintzlaff, H.-J., Alperden, I., Leistner, L.: Fleischwirtschaft, **51**, 1534 (1971); Alperden, I., Mintzlaff, H.-J., Tauchmann, F., Leistner, L.: *ibid.*, **53**, 566 (1973).