市販冷蔵鮮魚介類の酵母による汚染

(昭和 54 年 10 月 1 日受理)

小 畠 満 子* 倉 田 浩*

Yeast Contamination of Chilled Raw Seafoods

Michiko KOBATAKE and Hiroshi KURATA

(National Institute of Hygienic Sciences: 18-1, Kamiyoga 1-chome, Setagaya-ku, Tokyo)

Microbiological examination of chilled roe of sea urchin (*Namauni*; *Heriocardaris* spp., etc., 20 samples), sliced raw tuna (Maguro sashimi; *Thunnus* spp., etc., 20 samples) and the foot of the hen clam (Bakagai sashimi; *Mactra* spp., 17 samples) was carried out to examine the microflora, especially the yeasts. The samples were collected from retail markets by official food examiners and investigated by the official microbiological methods. Counts of bacteria, yeasts and fungi in the samples of roe of sea urchin ranged from 10^3 to 10^7 , 10^2 to 10^7 and below 10^4 per gram, respectively. Counts of bacteria, yeasts and fungi in the samples of sliced raw tuna and the foot of the hen clam were found to range from 10^3 to 10^6 , 10^1 to 10^4 and 10^4 per gram, respectively.

In the three kinds of seafood samples, yeasts were found to be the second largest microbial group and the predominant species were asporogenous yeasts such as *Rhodotorula* (*R. glutinis*, *R. rubra*, *R. pallida*), *Candida* (*C. guilliermondii*, *C. humicola*, *C. lipolytica*, *C. parapsilosis*, *C. zeylanoides*), *Trichosporon* (*Tr. cutaneum*, *Tr. pullulans*, *Tr. variable*) and *Cryptococcus* (*Cr. albidus*, *Cr. infirmo-minutus*, *Cr. laurentii*, *Cr. macerans*). *Trichosporon cutaneum*, a species of opportunistic pathogen, was isolated from 45% of the samples of sliced raw tuna. In all the samples tested, the main bacterial genera were *Pseudomonas*, *Corynebacterium*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, etc., and representative fungal genera were *Penicillium*, *Phoma*, *Fusarium*, *Mucor*, etc.

Psychrotrophic organisms grown within 2 weeks at 5°C accounted for 94.6% of the total yeast cultures and 55.0% of the total fungal cultures isolated from the seafood samples.

(Received October 1, 1979)

緒 言

鮮魚介類の細菌による汚染および腐敗^{1)~13)}に関する研究は多い。しかし酵母に関する研究は、細菌のそれに比較すると極めて少い。古く、1894 年に Fischer¹⁴⁾ は海水中のマイクロフローラを研究し、海水には酵母が広く分布していることを最初に発表した。その後、1920 年になって、Hunter¹⁵⁾ は海水中の生カキから *Rhodotorula* を分離し、1939 年には Snow ら¹⁶⁾ が漁獲直後の新鮮なサケに酵母が存在していることを報告した。以来、魚介類における酵母フローラの研究は急速に進展し、Phaff¹⁷⁾ らは小エビの、Ross ら¹⁸⁾ はサバ、タラなど 16 種類の海産魚の酵母フローラを明らかにした。また Eklund¹⁹⁾

らは、カニ肉に $^{60}\text{Co-}\gamma$ 線照射を行った場合、細菌の生育が抑制され、その反面酵母が優勢になることを報告した。我が国では銭谷²⁰⁾が、うに塩辛の *Zygosaccharomyces* 属による異常発酵について研究している。福島ら²¹⁾は、変敗かまぼこのネトの部分から多数の酵母を分離し、これらのうち *Candida*, *Trichosporon*, *Rhodotorula* をかまぼこに接種して、陽性の成績を得ている。また、駒形ら²²⁾は冷凍サケから真性低温性の *Candida* を分離し、酵母が冷凍食品の変敗に関与する可能性について示唆した。このように、水産食品の酵母に関する食品衛生学的な問題が提起されてきたが、冷蔵鮮魚介類について酵母、細菌、糸状菌のマイクロフローラ全体から汚染の実態をは握した調査は、まだなされていない。

* 国立衛生試験所：東京都世田谷区上用賀 1-18-1

Table 1. Chilled Raw Seafoods Used for Microbiological Examination

Japanese name	English name	Scientific name	Fishing ground	No. of Sample
(Nama uni) Murasaki uni Bafun uni	(Roe of sea urchin) Purple sea urchin Green urchin	<i>Heriodidaris crassispina</i> <i>Strongilocentrotus pulcherrimus</i>	Alaska Korea Japan	20
(Maguro sashimi) Honmaguro Mebachimaguro Kiwadamaguro	(Slice of raw tuna) Bluefin tuna Big-eyed tuna yellowfin tuna	<i>Thunnus thynnus</i> <i>Parathunnus sibi</i> <i>Neothunnus albacora</i>	Unknown	20
(Shitakiri) Bakagai	(Foot of hen clam) Hen clam	<i>Macrura sulcataria</i>	Korea Japan	17

そこで著者らは、生ウニ、マグロ刺身、バカガイ刺身を調査対象に選び、試料中の酵母、細菌、糸状菌の生菌数を測定した後、これら3種微生物群の出現頻度を調べ、分離酵母は菌種のレベルまで、細菌と糸状菌は菌属のレベルまで同定し、酵母を中心に試料中の微生物汚染状況を調査した。さらに分離微生物の低温での育成についても検討を行った。

実験材料ならびに方法

試料

韓国、アラスカ、北海道、宮城県産の生ウニ 20、韓国、北海道、千葉県、香川県産のバカガイ刺身 17 (舌切 10、アオヤギ 7)、漁獲水域不明のマグロ刺身 20 (ホンマグロ 12、メバチマグロ 7、キワダマグロ 1) 合計 57 試料の鮮魚介類を供試試料とし、Table 1 に示した。これらの試料は 1976 年 9 月下旬に東京、千葉、神奈川 3 都県の卸市場、百貨店、スーパーマーケット、水産食品店などから収集し、当日中に試験を行った。漁獲後の経過日数と試料採取時の保管温度を Table 2 に示した。

方法

1. 生菌数測定
2. 微生物の分離
3. 微生物の同定
4. 分離酵母および糸状菌の生育温度試験

以上は前報²³⁾と同様に行った。

実験結果

1. 生菌数測定

試料 1g 当たりの酵母数と一般細菌数の測定結果を Table 2 に、糸状菌数の測定結果を Table 6 に示した。これらの生菌数測定値を 10^1 以下、 $10^1 \sim 10^3$ 、 $10^4 \sim 10^5$ 、 $10^6 \sim 10^7$ の4段階のオーダーに分け、各オーダーにおける試料の出現頻度を Table 3 に示した。

生ウニ 20 試料の試料採取時における保管温度は、Table 2 に示したように、ほぼ $10 \sim 15^\circ$ と比較的高く、

一般細菌数が $10^4 \sim 10^7$ を示す試料は 12 試料 (60%) であった。酵母数が $10^4 \sim 10^7$ を示す試料は 5° および 25° 培養で、それぞれ 13 試料 (65%)、15 試料 (75%) であり、生ウニでは酵母が細菌よりやや優勢な発育を示した。糸状菌は 25° 培養の 1 試料に 10^4 の高い汚染度のものが認められた。

マグロ刺身 (以下マグロと略記) 20 試料の保管温度は生ウニよりは低く、1 試料を除いては 10° 以下であり、この中には冷凍状態のものが 4 試料認められた。一般細菌数の幅は狭く、全試料が $10^4 \sim 10^5$ の範囲にあった。酵母数は生ウニよりは低く、 $10^4 \sim 10^5$ のものが 25° 培養で 4 試料 (20%)、 $10^1 \sim 10^3$ のものが 15 試料 (75%) であった。糸状菌数は 10^2 以下であった。

バカガイ刺身 (以下バカガイと略記) 17 試料の保管温度は 4 試料を除いては 10° 以下であった。生菌数は生ウニ、マグロと比較した場合、全般的に低く、一般細菌数は $10^4 \sim 10^5$ のものが 11 試料 (60%)、酵母数は $10^1 \sim 10^3$ のものが 5° と 25° 培養でそれぞれ 16 試料 (94%)、15 試料 (88%) であった。糸状菌数は 10^2 以下であった。

2. 微生物の分離

生ウニから酵母 104 株、糸状菌 37 株、細菌 36 株、マグロから、それぞれ 91 株、23 株、34 株、バカガイから、それぞれ 57 株、39 株、33 株を分離した。

3. 微生物分布の概要

冷蔵鮮魚介類における酵母・細菌・糸状菌の3種微生物群の出現頻度を Table 4 に示した。

生ウニでは、酵母は細菌と同様に全試料から検出された。糸状菌は 25° 培養では 13 試料 (65%) から検出され、かなり高い出現頻度を示した。

マグロ 20 試料のうち、酵母は 5° と 25° 培養でそれぞれ 16 (80%)、19 (95%) 試料から検出され、細菌に次いだ。糸状菌は 25° 培養の場合、約半数の試料から検出された。

Table 2. Microbial Counts of Chilled Seafoods Incubated at 5, 25 and 35°C

	Sample number	Temp. ^{a)} (°C)	Days after fishing	Yeast counts per gram at		Bacterial counts per gram at
				5°C	25°C	35°C
Foot of hen clam	A- 1 ^{a)}	7	2	3.9×10^2	2.0×10^2	3.1×10^4
	A- 2 ^{a)}	15	2	7.5×10^2	6.0×10^2	4.5×10^4
	A- 3	15	2	3.6×10^2	1.8×10^3	6.2×10^4
	A- 4 ^{a)}	0-4	— ^{b)}	1.0×10^2	2.0×10^2	4.1×10^4
	A- 5 ^{a)}	5	3	2.0×10^2	5.0×10^1	2.4×10^4
	A- 6 ^{a)}	8	2	2.9×10^3	4.7×10^3	5.8×10^4
	A- 7 ^{a)}	8	3	1.7×10^3	1.5×10^2	3.2×10^4
	A- 8 ^{a)}	10	3	4.2×10^2	3.0×10^2	1.0×10^6
	A- 9 ^{a)}	10	3	3.0×10^2	6.0×10^2	8.2×10^3
	A-10 ^{a)}	15	2	5.0×10^2	2.0×10^2	1.4×10^5
	A-11	Ice	3	5.0×10^1	1.0×10^2	1.8×10^4
	A-12 ^{a)}	Ice	3	2.0×10^1	2.1×10^2	7.5×10^3
	A-13 ^{a)}	Ice	2	1.9×10^2	1.2×10^2	3.8×10^3
	A-14 ^{a)}	Ice	2	1.0×10^1	<10	2.5×10^4
	A-15 ^{a)}	Ice	2	<10	<10	1.8×10^3
	A-16 ^{a)}	17	3	1.0×10^1	2.3×10^1	1.2×10^4
	A-17	Ice	3	1.1×10^2	1.0×10^2	5.9×10^3
Slice of raw tuna	M- 1 ^{a)}	6	—	5.0×10^1	<10	5.4×10^5
	M- 2 ^{a)}	3	—	2.0×10^1	7.0×10^1	3.1×10^4
	M- 3	0	—	<10	1.3×10^3	2.4×10^4
	M- 4	2-9	—	<10	4.2×10^3	1.8×10^5
	M- 5	3	—	3.0×10^2	1.6×10^3	3.0×10^5
	M- 6	6	—	2.6×10^2	2.3×10^3	7.2×10^4
	M- 7	-6	—	9.0×10^2	4.1×10^3	1.7×10^5
	M- 8	-10	—	2.9×10^3	4.0×10^3	1.8×10^5
	M- 9	Ice	—	3.6×10^2	2.0×10^3	1.5×10^5
	M-10 ^{a)}	6	—	1.8×10^4	1.6×10^4	4.9×10^5
	M-11 ^{a)}	5	—	<10	1.0×10^2	1.3×10^4
	M-12	17	—	1.0×10^2	3.0×10^2	3.1×10^4
	M-13 ^{a)}	-10	—	1.0×10^2	4.2×10^2	5.2×10^4
	M-14 ^{a)}	6	—	1.6×10^2	1.6×10^3	7.5×10^4
	M-15	10	—	<10	1.0×10^1	1.2×10^4
	M-16 ^{a)}	—	—	1.0×10^3	2.1×10^4	1.5×10^5
	M-17	—	—	2.8×10^3	2.0×10^3	1.8×10^5
	M-18 ^{a)}	4	—	1.0×10^3	1.4×10^4	1.3×10^5
	M-19 ^{a)}	0	—	4.0×10^3	1.8×10^3	1.5×10^5
	M-20	-5	—	1.1×10^4	2.0×10^4	2.0×10^5
Roe of sea urchin	U- 1 ^{a)}	15	3	7.6×10^4	1.3×10^5	1.1×10^5
	U- 2 ^{a)}	10	2	1.2×10^4	1.8×10^4	1.1×10^5
	U- 3	10	2	2.6×10^2	1.9×10^3	3.4×10^3
	U- 4 ^{a)}	15	2	4.1×10^5	3.1×10^4	1.2×10^6
	U- 5 ^{a)}	15	2	3.5×10^5	3.2×10^4	1.3×10^6
	U- 6 ^{a)}	17	2	3.0×10^2	6.0×10^2	7.1×10^4
	U- 7 ^{a)}	16	2	2.4×10^4	1.6×10^4	1.6×10^4
	U- 8 ^{a)}	16	2	1.9×10^3	7.0×10^2	1.7×10^3
	U- 9 ^{a)}	16	4	3.3×10^3	2.8×10^4	7.5×10^3
	U-10 ^{a)}	13	3	3.9×10^5	1.4×10^4	7.9×10^4
	U-11	6	3	1.1×10^5	1.1×10^5	3.9×10^4
	U-12 ^{a)}	6	3	2.2×10^3	8.3×10^3	2.9×10^3
	U-13	3	—	1.4×10^5	1.4×10^5	2.7×10^3
	U-14	7	—	7.1×10^5	6.2×10^5	1.5×10^5
	U-15	3	—	3.2×10^5	6.0×10^5	1.2×10^6
	U-16 ^{a)}	3	—	2.2×10^3	5.7×10^3	3.6×10^3
	U-17 ^{a)}	2	—	6.1×10^3	1.1×10^4	2.6×10^3
	U-18	17	2	1.7×10^5	1.6×10^5	3.8×10^4
	U-19 ^{a)}	10	4	4.1×10^5	1.0×10^7	1.0×10^7
	U-20	10	—	2.1×10^6	4.1×10^6	6.5×10^5

^{a)} Samples which fungi were isolated^{b)} Unknown^{c)} Temperature at which the samples were stored

Table 3. Ranges of Microbial Counts of Chilled Raw Seafoods Incubated at 5, 25 and 35°C.

Sample	No. of sample	Type of organisms	Incubation temp. (°C)	Microbial counts per gram at the level of			
				<10	10 ¹ -10 ³	10 ⁴ -10 ⁵	10 ⁶ -10 ⁷
Roe of sea urchin	20	Bacteria	35	—%	8 ^{a)} 40%	8 ^{a)} 40%	4 ^{a)} 20%
		Yeasts	5	—	7 35	12 60	1 5
		Molds	5	18 ^{a)} 90	2 10	—	—
		Yeasts	25	—	5 25	13 65	2 10
		Molds	25	7 35	12 60	1 5	—
Slice of raw tuna	20	Bacteria	35	—	—	20 100	—
		Yeasts	5	4 20	14 70	2 10	—
		Molds	5	17 85	3 15	—	—
		Yeasts	25	1 5	15 75	4 20	—
		Molds	25	11 55	9 45	—	—
Foot of hen clam	17	Bacteria	35	—	5 29	11 65	1 6
		Yeasts	5	1 6	16 94	—	—
		Molds	5	8 47	9 53	—	—
		Yeasts	25	2 12	15 88	—	—
		Molds	25	3 18	14 82	—	—

^{a)} Number of samples which the microorganisms were isolated

Table 4. Frequency of Occurrence of Yeasts, Molds and Bacteria in Chilled Raw Seafoods

Type of organisms	Incubation temp. (°C)	Roe of sea urchin 20 ^{a)}		Slice of raw tuna 20 ^{a)}		Foot of hen clam 17 ^{a)}	
Yeasts	5	20 ^{b)}	100%	16 ^{b)}	80%	16 ^{b)}	94%
	25	20	100	19	95	15	88
Molds	5	2	10	3	15	9	53
	25	13	65	9	45	14	82
Bacteria	35	20	100	20	100	17	100

^{a)} Number of samples tested

^{b)} Number of samples tested which the microorganisms were isolated

Table 5. Frequency of Occurrence of Yeast Genera in Chilled Raw Seafoods Incubated at 5 and 25°C

Sample	Roe of sea urchin 20 ^{a)}				Slice of raw tuna 20 ^{a)}				Foot of hen clam 17 ^{a)}			
	5°C		25°C		5°C		25°C		5°C		25°C	
Genus	—	—%	2 ^{b)}	10%	4 ^{b)}	20%	1 ^{b)}	5%	3 ^{b)}	18%	1 ^{b)}	6%
<i>Debaryomyces</i>	—	—%	2 ^{b)}	10%	4 ^{b)}	20%	1 ^{b)}	5%	3 ^{b)}	18%	1 ^{b)}	6%
<i>Candida</i>	11 ^{b)}	55	11	55	10	50	13	65	3	18	6	35
<i>Cryptococcus</i>	7	35	7	35	1	5	6	30	3	18	1	6
<i>Rhodotorula</i>	18	90	20	100	10	50	7	35	10	59	12	71
<i>Torulopsis</i>	5	25	6	30	—	—	—	—	—	—	1	6
<i>Trichosporon</i>	10	50	7	35	5	25	17	85	6	35	8	47
Unidentified A ₁	—	—	—	—	—	—	—	—	1	6	—	—
Unidentified U ₁	—	—	3	15	—	—	1	5	—	—	2	12

^{a)} Number of samples tested

^{b)} Number of samples which the yeasts were isolated

パカガイでは、酵母の分布はマグロとはほぼ同様な傾向を示したが、糸状菌は 25° 培養の場合、82% の試料から高頻度に検出された。

3.1 酵母の分布

冷蔵鮮魚介類の培養温度別における酵母菌属の出現頻度を Table 5 に、また菌種レベルでの分布を Table 8 に示した。

生ウニでは 5° および 25° 培養での酵母の分布状態は、ほぼ似ていた。すなわち、*Rhodotorula* (*R. aurantiaca*, *R. glutinis*, *R. rubra* カッコ内の菌種はアルファベット順) が、試験試料の 90% (5° 培養) および 100% (25° 培養) の試料から検出され、次いで *Candida* (*C. beechnii*, *C. lipolytica*, *C. sake*, *Candida* spp.) と *Trichosporon* (*Tr. cutaneum*, *Tr. pullulans*) が 5° および 25° 培養でそれぞれ約半数の試料に認められた。ほかに *Cryptococcus* (*Cr. albidus*, *Cr. laurentii*, *Cr. luteolus*, *Cr. macerans*), *Torulopsis candida*, *Debaryomyces hansenii* が検出された。

マグロでは、生ウニの場合とは異なり、5° と 25° 培養における酵母の分布状態が異っていた。すなわち、5° 培養では *Candida* (*C. guilliermondii*, *C. lipolytica*, *C. solani*, *C. zeylanoides*, *Candida* sp. M₁) と *Rhodotorula* (*R. glutinis*, *R. graminis*, *R. rubra*, *R. pallida*) がそれぞれ半数の試料から、*Trichosporon* (*Tr.*

cutaneum, *Tr. variabile*, *Trichosporon* sp. M₁) が 1/4 の試料から検出された。しかし 25° 培養では、*Trichosporon* (*Tr. cutaneum*, *Trichosporon* sp. M₁) が最優勢であり、試験 20 試料のうち 17 試料から 85% の高頻度で検出された。次いで *Candida* (*C. guilliermondii*, *C. humicola*, *C. lipolytica*, *C. zeylanoides*, *Candida* sp. A₁) が 13 試料 (65%) から、*Rhodotorula* (*R. glutinis*, *R. graminis*) が 7 試料 (35%) から、*Cryptococcus* (*Cr. albidus*, *Cr. infirmo-miniatus*, *Cr. laurentii*) が 6 試料 (30%) から、それぞれ検出された。

パカガイでは *Rhodotorula* (*R. glutinis*, *R. graminis*) が 25° 培養で 12 試料 (71%) から、5° 培養では 10 試料 (59%) から検出され、最も優勢であった。*Trichosporon* (*Tr. cutaneum*, *Tr. pullulans*) は 5° 培養では 6 試料 (35%) から、25° 培養では 8 試料 (47%) から検出され、生ウニの場合と培養温度での差はあるが、ほぼ同様な出現頻度を示した。*Candida* (*C. parapsilosis*, *Candida* spp.) の出現頻度は生ウニより低かった。

3.2 糸状菌の分布

冷蔵鮮魚介類の培養温度別における糸状菌属の出現頻度を Table 6 に示した。

生ウニの 5° 培養では、*Cladosporium* と *Penicillium* の 2 属が出現したにすぎないが、これに対して 25° 培養では出現菌属が多く、*Acremonium*, *Aureoba-*

Table 6. Frequency of Occurrence of Fungal Genera and Fungal Counts in Chilled Raw Seafoods Incubated at 5 and 25°C

Sample	Roe of sea urchin, 20 ^{a)}		Slice of raw tuna, 20 ^{a)}		Foot of hen clam, 17 ^{a)}	
	5°C	25°C	5°C	25°C	5°C	25°C
Genus	b) % counts/g	b) % counts/g	b) % counts/g	b) % counts/g	b) % counts/g	b) % counts/g
<i>Acremonium</i>	— — —	1 5 501- 5000	— — —	2 10 1-100	1 6 1-100	1 6 101-500
<i>Alternaria</i>	— — —	— — —	— — —	1 5 1-100	— — —	— — —
<i>Aspergillus</i>	— — —	— — —	— — —	1 5 101-500	— — —	1 6 1-100
<i>Aureobasidium</i>	— — —	1 5 101- 500	— — —	1 5 1-100	1 6 1-100	2 12 101-500
<i>Cladosporium</i>	1 5 1-100	3 15 1- 100	— — —	2 10 1-100	1 6 101-500	5 30 101-500
<i>Coniothyrium</i>	— — —	— — —	— — —	— — —	1 6 1-100	1 6 1-100
<i>Fusarium</i>	— — —	2 10 1- 100	— — —	2 10 1-100	1 6 1-100	4 24 101-500
<i>Geotrichum</i>	— — —	— — —	1 5 101-500	— — —	1 6 1-100	1 6 1-100
<i>Gliomastix</i>	— — —	1 5 501- 5000	— — —	— — —	— — —	— — —
<i>Mucor</i>	— — —	1 5 5001-50000	1 5 1-100	— — —	— — —	— — —
<i>Paecilomyces</i>	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	1 6 101-500
<i>Penicillium</i>	1 5 1-100	8 40 501- 5000	2 10 1-100	2 10 1-100	3 18 1-100	3 18 1-100
<i>Pestalotia</i>	— — —	1 5 1- 100	— — —	— — —	— — —	— — —
<i>Phoma</i>	— — —	1 5 1- 100	— — —	2 10 1-100	2 12 101-500	1 6 1-100
<i>Trichoderma</i>	— — —	1 5 1- 100	— — —	— — —	1 6 101-500	1 6 1-100

^{a)} Number of samples tested

^{b)} Number of samples which the fungi were isolated

Table 7. Frequency of Occurrence of Bacterial Genera in Chilled Raw Seafoods Incubated at 5, 25 or 35°C

Genus	Roe of sea urchin 20 ^{a)}		Slice of raw tuna 20 ^{a)}		Foot of hen clam 17 ^{a)}	
		%		%		%
<i>Aerococcus</i>	2 ^{b)}	10	2 ^{b)}	10	— ^{b)}	—
<i>Acinetobacter</i>	—	—	2	10	—	—
<i>Alkaligenes</i>	—	—	—	—	5	30
<i>Bacillus</i>	4	20	1	5	4	24
<i>Chromobacterium</i>	2	10	—	—	—	—
<i>Citrobacter</i>	1	5	1	5	—	—
<i>Corynebacterium</i>	6	30	3	15	3	18
<i>Enterobacter</i>	3	15	1	5	—	—
<i>Escherichia</i>	—	—	2	10	—	—
<i>Flavobacterium</i>	—	—	—	—	1	6
<i>Micrococcus</i>	—	—	4	20	1	6
<i>Pseudomonas</i>	2	10	9	45	4	24
<i>Staphylococcus</i>	3	15	4	20	7	42

a) Number of samples tested

b) Number of samples which the bacteria were isolated

sidium, *Mucor*, *Pestalotia* などの 10 属が認められた。

マグロの 5° 培養では *Penicillium*, *Mucor*, *Geotrichum* の 3 属が、25° 培養では *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium* などの 8 属が分離された。

パカガイでは、生ウニやマグロの場合と異なり、低温培養においても多くの糸状菌が検出され、5° 培養では *Phoma*, *Coniothyrium* などの 9 属が、25° 培養では *Aureobasidium*, *Trichoderma* などの 11 属が検出された。

3.3 細菌の分布

冷蔵鮮魚分類における一般細菌の出現頻度を属のレベルで Table 7 に示した。

生ウニでは、グラム陽性桿菌 (*Corynebacterium*, *Bacillus*) とグラム陰性桿菌 (*Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Chromobacterium*, *Citrobacter*) が、ほぼ同じ頻度で出現した。このほかにグラム陽性球菌 (*Staphylococcus*, *Aerococcus*) が検出された。

マグロにおける出現菌属の順位は生ウニとは異っており、グラム陰性桿菌 (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter*) が最優勢であった。グラム陽性球菌 (*Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Aerococcus*) がこれに続いたが、グラム陽性桿菌 (*Corynebacterium*, *Bacillus*) は低い分布率を示した。

パカガイでは、マグロと同様にグラム陰性桿菌 (*Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*)、グラム陽性球菌 (*Staphylococcus*, *Micrococcus*)、グラム陽性桿菌 (*Bacillus*, *Corynebacterium*) の順であった。

4. 生菌数と微生物フローラとの関係

冷蔵鮮魚分類における培養温度別の微生物フローラを

Table 8 に示した。生ウニ、マグロ、パカガイの各代表 2 試料について生菌数と微生物フローラの関係を検討した。

生ウニ u-1 は、アラスカから殻付で輸入したものを宮城県で加工し、東京都中央卸売市場へ輸送し、その後当所に搬入した。この間 3 日を要し、試料採取時の保管温度は 15° であった。5° 培養での酵母数は 7.6×10^4 で、*R. rubra*, *Cr. laurentii*, *Candida* sp.U₃ が主要分布酵母であったが、前報²³⁾に記載したと同様な 37° で生育する病原酵母と同種の *Tr. cutaneum* が 5% の割合で存在していた。25° 培養での酵母数および酵母フローラは 5° 培養の場合とほとんど同様な傾向を示した。細菌数は 1.1×10^5 であり、このうち紫色素を産生し、糖を酸化的に分解する水由来の低温細菌 *Chromobacterium* が 95%、このほか *Aerococcus*, *Staphylococcus*, *Bacillus* などが分離された。糸状菌は *Penicillium* が 10^3 検出された。

生ウニ u-19 は北海道産である。産地からトラックで卸売場に輸送し、東京都内の百貨店経由で当所に搬入、この間 4 日を経過した。保管温度は 10° であった。5° 培養での酵母数は 4.1×10^5 、25° 培養では 2 オーダー高く、 1.0×10^7 となっており、いずれの場合にも *R. rubra* が 60%、*D. hansenii* が 40% の 2 菌種で構成されていた。細菌数も 1.0×10^7 で、*Aerococcus* が優勢菌であった。糸状菌は低温性の *Mucor* が 5.0×10^4 の高い菌数で検出され、分離の際、平板全面をおおってしまう状態であった。

マグロ M-4 は漁獲水域不明のメバチマグロの刺身である。東京都中央卸売市場から東京都内の百貨店経由で

Table 8. Distribution of Microorganisms Isolated from Chilled Raw Seafoods

Organisms	Yeasts		Molds		Bacteria
	Incub. temp. Sample (No. of sample)	5°C	25°C	5°C	25°C
Roe of sea urchin (20)		<i>Candida beechii</i> <i>Candida</i> sp. U ₃ <i>Candida</i> sp. U ₄ <i>Candida</i> sp. U ₅ <i>Cryptococcus albidus</i> <i>Cryptococcus laurentii</i> <i>Cryptococcus luteolus</i> <i>Cryptococcus macerans</i> <i>Torulopsis candida</i> <i>Rhodotorula glutinis</i> <i>Rhodotorula rubra</i> <i>Trichosporon cutaneum</i> <i>Trichosporon pullulans</i>	<i>D. hansenii</i> <i>C. lipolytica</i> <i>C. sake</i> <i>Candida</i> sp. U ₁ <i>Candida</i> sp. U ₂ <i>Candida</i> sp. U ₃ <i>Candida</i> sp. U ₄ <i>Cr. albidus</i> <i>Cr. laurentii</i> <i>Cr. luteolus</i> <i>R. aurantiaca</i> <i>R. glutinis</i> <i>R. rubra</i> <i>T. candida</i> <i>Tr. cutaneum</i> Unidentified U ₁	<i>Cladosporium</i> <i>Penicillium</i>	<i>Aerococcus</i> <i>Bacillus</i> <i>Chromobacterium</i> <i>Citrobacter</i> <i>Corynebacterium</i> <i>Enterobacter</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Staphylococcus</i>
					<i>Acremonium</i> <i>Aureobasidium</i> <i>Cladosporium</i> <i>Fusarium</i> <i>Gliomastix</i> <i>Mucor</i> <i>Penicillium</i> <i>Pestalotia</i> <i>Phoma</i> <i>Trichoderma</i>
Slice of raw tuna (20)		<i>Debaryomyces hansenii</i> <i>Candida guilliermondii</i> <i>Candida lipolytica</i> <i>Candida solani</i> <i>Candida zeylanoides</i> <i>Candida</i> sp. M ₁ <i>Cryptococcus albidus</i> <i>Cryptococcus laurentii</i> <i>Rhodotorula glutinis</i> <i>Rhodotorula graminis</i> <i>Rhodotorula rubra</i> <i>Rhodotorula ballida</i> <i>Trichosporon cutaneum</i> <i>Trichosporon variabile</i> <i>Trichosporon</i> sp. M ₁	<i>D. hansenii</i> <i>C. guilliermondii</i> <i>C. humicola</i> <i>C. lipolytica</i> <i>C. zeylanoides</i> <i>Candida</i> sp. A ₁ <i>Cr. albidus</i> <i>Cr. infirmo-minutus</i> <i>Cr. laurentii</i> <i>R. glutinis</i> <i>R. graminis</i> <i>Tr. cutaneum</i> <i>Trichosporon</i> sp. M ₁ Unidentified M ₁ Unidentified U ₁	<i>Geotrichum</i> <i>Mucor</i> <i>Penicillium</i>	<i>Aerococcus</i> <i>Acinetobacter</i> <i>Bacillus</i> <i>Citrobacter</i> <i>Corynebacterium</i> <i>Enterobacter</i> <i>Escherichia</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Staphylococcus</i>
					<i>Acremonium</i> <i>Alternaria</i> <i>Aspergillus</i> <i>Aureobasidium</i> <i>Cladosporium</i> <i>Fusarium</i> <i>Penicillium</i> <i>Phoma</i>
Foot of hen clam (17)		<i>Debaryomyces hansenii</i> <i>Candida</i> sp. A ₁ <i>Cryptococcus laurentii</i> <i>Rhodotorula glutinis</i> <i>Rhodotorula rubra</i> <i>Trichosporon cutaneum</i> Unidentified A ₁	<i>D. hansenii</i> <i>Candida</i> sp. A ₁ <i>Candida</i> sp. A ₂ <i>Candida</i> sp. A ₃ <i>C. parapsilosis</i> <i>Cr. laurentii</i> <i>R. glutinis</i> <i>R. rubra</i> <i>T. holmii</i> <i>Tr. cutaneum</i> <i>Tr. pullulans</i> Unidentified U ₁	<i>Acremonium</i> <i>Aureobasidium</i> <i>Cladosporium</i> <i>Coniothyrium</i> <i>Fusarium</i> <i>Geotrichum</i> <i>Penicillium</i> <i>Phoma</i> <i>Trichoderma</i>	<i>Alkaligenes</i> <i>Bacillus</i> <i>Corynebacterium</i> <i>Flavobacterium</i> <i>Micrococcus</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Staphylococcus</i>
					<i>Acremonium</i> <i>Aureobasidium</i> <i>Cladosporium</i> <i>Coniothyrium</i> <i>Fusarium</i> <i>Geotrichum</i> <i>Paecilomyces</i> <i>Penicillium</i> <i>Phoma</i> <i>Trichoderma</i>

当所に搬入した。保管温度は 2~9° であった。5° 培養での酵母数は 10^1 以下であったが、25° 培養では 4.2×10^3 で *C. lipolytica* が優勢であった。ほかに *Cr. infirmo-miniatus* と前述の *Tr. cutaneum* が 10% の割合で分布していた。細菌数は 1.8×10^5 で、*Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Staphylococcus* が検出されたが、糸状菌は検出されなかった。

マグロ M-10 はホンマグロの刺身である。仲買、東京都内の百貨店経由で当所に搬入した。保管温度は 6° であった。5° 培養での酵母数は 1.8×10^4 で、*C. guilliermondii*, *R. glutinis* と前述の *Tr. cutaneum* が認められた。25° 培養での酵母数および酵母フローラは 5° 培養の場合とほぼ同様な傾向を示した。細菌数は 7.9×10^4 で *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Acinetobacter* などグラム陰性細菌が優勢であり、あと *Staphylococcus* が 10^3 のオーダーで検出された。糸状菌は *Alternaria*, *Cladosporium* が 10^2 以下の菌数で検出された。

バカガイ A-8 は千葉県産であり、加工は千葉県内で行った。東京都中央卸売市場経由で当所に搬入したが、この間 3 日を経過し、試料採取時の保管温度は 10° であった。酵母は主として *R. rubra* が 10^2 のオーダーで、また細菌は *Alcaligenes*, *Corynebacterium* が 10^6 のオーダーで検出された。糸状菌数は 10^2 以下であったが、5° 培養で *Coniothyrium*, 25° 培養で *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma* の 5 属が分離された。

バカガイ A-11 は香川県産のものを千葉県で加工し、保冷車により市場経由で当所まで約 20 時間で輸送した。この際、検体は氷蔵されていた。酵母数は少なく、5° 培養では 5.0×10^1 , 25° 培養では 1.0×10^2 で、*D. hansenii*, *R. rubra*, *Tr. pullulans* が認められた。糸状菌は検出されなかったが、細菌数は 7.5×10^3 で *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Staphylococcus* が検出された。

5. 分離酵母および糸状菌の生育温度の検討

冷蔵鮮魚介類から分離した酵母 37 菌種のうち、5° で 2 週間以内に生育する低温酵母²³⁾は 35 菌種 (94.6%)、分離糸状菌 40 株のうち低温糸状菌は 22 株 (55.0%) であった。これらの菌株は 20° でも生育した。

考 察

バカガイおよびマグロ刺身、生ウニの 3 種市販冷蔵鮮魚介類の一般細菌数は 1g 当たり $10^3 \sim 10^7$ の範囲にあり、相磯ら¹⁰⁾の刺身の細菌数測定結果 $10^4 \sim 10^6$ とほぼ一致した。今回の細菌フローラ検索の実験条件では魚介類特有の低温域における細菌を検出することはできなかった。

が、魚介類の腐敗細菌である *Pseudomonas* などのグラム陰性桿菌を多く検出しており、このほかグラム陽性の球菌と桿菌を分離したことは、従来の細菌学的調査報告と大差はなかったようである。著者らは、このような鮮魚介類の細菌汚染状況をは握した上で、細菌以外の微生物、すなわち酵母と糸状菌による汚染の実態を総合的に検討したが、まず酵母について考えてみる。調査の結果、酵母は冷蔵鮮魚介類中に主要な微生物群として存在しており、その酵母フローラは 6 属 33 種に及んでいることがわかった。

魚介類のマイクロフローラは海水のそれと関係が深いといわれている¹¹⁾。Morris²⁴⁾ は、海水には *D. hansenii*, *Cr. albidus*, *Cr. laurentii*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *C. tropicalis*, *T. famata*, *R. mucilaginosa* などの酵母が存在していることを報告しているが、著者らも 3 種鮮魚介類から上記の *D. hansenii* 以下 5 種の酵母を分離しており、興味深い結果であった。海産物の酵母フローラについては Ross ら¹⁸⁾の報告がある。これによるとスコットランド近海とアイスランド漁場で獲れた水揚げ直後、または市販の魚の 80% に酵母が認められ、これらの酵母は魚のふんやえらよりも表皮に多く分布していたことが述べられている。その酵母フローラは *D. hansenii* が 47.7% の検出率で最も高く、*T. inconspicua* (12.8%), *C. parapsilosis* (10.1%) などが検出されている。著者らが調査した鮮魚介類の酵母フローラは Ross らの結果とは異なっており、*D. hansenii* に代って *Rhodotorula* が最優勢であった。また Ross らが分離しなかった *Trichosporon* を著者らは多く分離した。*Trichosporon* 属のうち、*Tr. inkin*²⁵⁾ と *Tr. cutaneum*²⁶⁾ の 2 菌種は皮膚真菌症疾患部よりしばしば検出される opportunistic pathogen²⁷⁾ である。後者については前報²³⁾ですでに述べたが、著者らは最近我が国における頭部*1および頬部*2の皮膚疾患、ツメの炎症*3などの患部から分離した酵母の同定を依頼され、菌学的な検索を行ったところ、これらはいずれも *Tr. cutaneum* であった。今回の試料から分離した 37° で生育可能な *Tr. cutaneum* は生ウニの 4 試料 (20%) から、バカガイの 3 試料 (17.5%) から、さらにマグロでは 9 試料から 45% の高頻度で検出された。このほか本菌は、かに肉¹⁹⁾、冷凍のサケおよびイカ²²⁾、新鮮な小エビ¹⁷⁾、市販かまぼこ²¹⁾などの水産食品から分離されており、分布は比較的広い範囲に及んでいるように思われる。日本人が好んで生食に用いる鮮魚介類に、疾患部から分離される菌株と同種の酵母が存在していることは、ヒトの健康に影響を及ぼすおそれがないとはいえない。今後の研究が必要と思われる。

糸状菌調査の結果、マグロとバカガイからは広範囲の菌が少量ずつ、また生ウニからは特定菌が多数検出され、糸状菌要注意のものが数試料に認められた。宇田川ら²⁸⁾

*1 川口信行：山口県衛生研究所，私信 (1977)。

*2 関利仁ら：日本医真菌学会 総会講演要旨集，p. 33 (1979)。

*3 森田豊寿：日本赤十字社医療センター，私信 (1977)。

のマグロ、サケ、エビなどの冷凍水産食品についての成績によると、5° 培養での糸状菌数は 1g 当たり 10^2 以下、25° 培養では $10^3 \sim 10^4$ であり、低温菌数は 1g 当たり 10^2 以下、25° 培養では $10^3 \sim 10^4$ であり、低温培養時より常温培養時に高い値を示した。その主な糸状菌フローラは *Penicillium*, *Phoma*, *Cladosporium*, *Aspergillus* などであり、低温糸状菌として *Penicillium*, *Mucor*, *Phoma* が検出されたと述べている。著者らの結果も宇田川らの結果と同様な傾向を示していた。

今回の鮮魚介類 57 試料は産地から当所までの流通経路および輸送方法、販売方法などが明確なものを用いた。試料は水揚げから 4 日以内に当所に搬入されたが、この間常温に放置される場合が多々あり、サンプリング時の温度もチルド食品の温度帯の上限である 5° を越えるものが 54.4% の試料に認められた。このような条件下で試験された 3 種鮮魚介類は大腸菌群、ブドウ球菌などの細菌のみならず病原酵母と同種の *Tr. cutaneum* や *C. parapsilosis*, また下水汚染と関係のある *Fusarium*^{29), 30)} や低温糸状菌 *Mucor*, *Penicillium*, *Phoma* などの 3 種微生物群によって相当汚染されていることが確認された。

分離酵母の 94.6% は 5° で 2 週間以内に生育する低温酵母であったが、これらの酵母は 20° でも良好な生育を示した。酵母の至適生育温度は、ほぼ 20° 前後であるため今回のような保管温度の範囲 (-10° ~ +17°) にある試料では、酵母の増殖を抑制することは不可能である。したがって流通期間中に、生ウニでは最高 10^7 のオーダーまで増殖したものと考えられる。以上の結果から明らかのように、鮮魚介類を 5° 以上の温度に放置することは即「酵母の増殖」につながるもので、著者らは 5° 以下の低温管理を強く要望する。すでに国際冷凍協会³¹⁾ では 5~6 日以下の輸送の場合は 5° 以下、-1~1° が望ましいと述べており、また厚生省環境衛生局長通達³²⁾ の生食用魚介類指導要領においても水揚げより消費まで 5° 以下の低温に保存することが望ましいとしている。このような通達にもかかわらず、実際に調査した保管温度は 5° を越える試料が多く、微生物による汚染も著しかった。したがって流通過程での厳重な低温管理および衛生管理に留意し、微生物による汚染を最少限にとどめるよう努力したい。

要 約

市販冷蔵鮮魚介類の酵母・細菌・糸状菌の生菌数を測定し、これら 3 種微生物群の分布状況、低温での生育について検討した結果、以下の知見を得た。

1. 生ウニの酵母数および一般細菌数は $10^4 \sim 10^7$ /g を示す試料が多く、糸状菌数は 10^4 以下であった。マグロの酵母数は生ウニより低く $10^1 \sim 10^4$ 、一般細菌数は $10^4 \sim 10^5$ 、糸状菌数は 10^2 以下であった。バカガイの酵母数は $10^1 \sim 10^3$ 、一般細菌数は $10^3 \sim 10^6$ 、糸状菌数は 10^2

以下であった。

2. 3 種微生物群の出現頻度は、生ウニでは酵母が細菌よりやや優勢であり、マグロとバカガイでは、酵母は細菌に次ぐ微生物群であった。糸状菌の出現頻度は低かったが、生ウニとバカガイに糸状菌要注意の試料が認められた。

3. 3 種鮮魚介類における微生物の分布は、酵母では *Rhodotorula*, *Candida*, *Trichosporon*, *Cryptococcus* などの無孢子酵母が、糸状菌では *Penicillium*, *Phoma*, *Cladosporium*, *Fusarium* などが、また細菌では *Pseudomonas*, *Enterobacter* などのグラム陰性桿菌や *Staphylococcus* *Bacillus* などが主要なものであった。

4. 分離酵母の 94.6% は 5° で、2 週間以内に生育する低温酵母であり、分離糸状菌の 55.0% は低温糸状菌であった。これらの菌株は 20° でも生育した。

5. 病原酵母と同種の 37° で生育可能な *Trichosporon cutaneum* が、生ウニ 20 試料中 4 試料 (20%) から、バカガイ 17 試料中 3 試料 (17.5%) から、マグロでは 20 試料中 9 試料から 45% の高頻度で検出された。

本研究は、厚生省の「食品規格基準設定のための試験検査費」の一部により行われたものであり、試料の収集に関して多くの都道府県衛生部担当官をわずらわせた。また、味の素(株)中央研究所の中瀬 崇博士に有益な御助言を賜った。以上の諸氏らに対し、心から感謝の意を表します。なお本研究の要旨は、日本食品衛生学会第34回学術講演会 (1977 年 10 月、岐阜) において発表した。

文 献

- 堀江 進: 食衛誌. 7, 99~104 (1966).
- 谷口忠敬, 銭谷武平: 同上, 10, 266~271 (1969).
- 持永泰輔: 同上, 2, 75~78 (1961).
- 藤原喜久夫, 芦野和子, 河野美弥子: 同上, 13, 392~397 (1972).
- Shewan, J. M., Hobbs, G., Hodgkiss, W.: J. appl. Bacteriol., 23, 379~390 (1960).
- Lerke, P., Adams, R., Farber, L.: Appl. Microbiol., 13, 625~630 (1965).
- Adams, R., Farber, L., Lerke, P.: *ibid.*, 12, 277~279 (1964).
- Chai, T., Chen, C., Rosen, A., Levin, R. E.: *ibid.* 16, 1738~1741 (1968).
- 相磯和嘉監修: “食品微生物学”, p. 245~330 (1976) 医歯薬出版(株).
- 相磯和嘉: 食衛誌. 1, 12~17 (1960).
- 堀江 進, 奥積昌世, 木村正幸, 赤堀正光, 川前政幸: 同上, 13, 410~417 (1972).
- 奥積昌世, 堀江 進, 木村正幸, 赤堀正光, 川前政幸: 同上, 13, 418~421 (1972).
- 奥積昌世, 堀江 進, 木村正幸, 赤堀正光, 川前政幸: 同上, 14, 81~89 (1973).

- 14) Fischer, B.: Ergebnisse der Plankton-Expedition der Humboldt-Stiftung, 4, 1~83 (1894) 文献 17) より引用.
- 15) Hunter, A. C.: U.S. Dept. Agri. Bul. No. 819, 1~24 (1920).
- 16) Snow, J. E., Bread, P. J.: Food Res., 4, 563~585 (1939).
- 17) Phaff, H. J., Mrak, E. M., Williams, O. B.: Mykologia. 44, 431~451 (1952).
- 18) Ross, S. S., Morris, E. O.: J. Appl. Bacteriol. 28 (2), 224~234 (1965).
- 19) Erklund, M., Spinelli, J., Miyauchi, D., Das-sow, J.: J. Food Sci., 31, 424~431 (1966).
- 20) 銭谷武平: 九大農学芸雑誌. 12, 383~390 (1952).
- 21) 福島 清, 中瀬 崇, 駒形和男: 日水誌. 33, 763~768 (1967).
- 22) 駒形和男, 中瀬 崇: 食衛誌. 8, 53~57 (1967).
- 23) 小畠満子, 倉田 浩: 同上, 21, 189~196 (1980).
- 24) Morris, E. O.: J. appl. Bacteriol., 38, 211~223 (1975).
- 25) Lodder, J. ed.: "The Yeasts, A Taxonomic Study", p. 1337~1342 (1970), 2nd ed., North-Holland Publ. Co., Amsterdam.
- 26) Lodder, J. ed.: *ibid.*, p. 1321~1333 (1970).
- 27) Male, O.: Contr. Microbiol. Immunol., 3, 66~80 (1977).
- 28) 宇田川俊一, 一戸正勝, 谷口貞子, 高鳥浩介, 倉田 浩: 衛生試報. 93, 142~145 (1975).
- 29) 一言 広, 諸角 聖, 和宇慶朝昭, 善養寺浩: 都衛研, 研究年報. 24 別冊, 41~46 (1972).
- 30) Booth, C.: "The Genus Fusarium". p. 70~72 (1971), Commonwealth Mycological Institute, Kew.
- 31) 食品低温流通推進協議会編: "食品の低温管理", p. 57~59 (1975). 農林統計協会.
- 32) 食品低温流通推進協議会編: 同上, p. 86~89 (1975).