

25	O3-1	%7	O3	8.0	24	8.510
25	O3-1	%8	O3	5.8	24	4.420
25	O3-1	%8	O3	7.0	24	6.610
25	O3-1	%8	O3	8.0	24	6.860
25	O3-2	%1	O3	5.8	24	6.630
25	O3-2	%1	O3	7.0	24	8.780
25	O3-2	%1	O3	8.0	24	8.790
25	O3-2	%7	O3	5.8	24	8.480
25	O3-2	%7	O3	7.0	24	7.650
25	O3-2	%7	O3	8.0	24	8.450
25	O3-2	%8	O3	5.8	24	4.300
25	O3-2	%8	O3	7.0	24	7.700
25	O3-2	%8	O3	8.0	24	7.430
25	ATCC	%1	non-O3	5.8	24	.
25	ATCC	%1	non-O3	7.0	24	8.640
25	ATCC	%1	non-O3	8.0	24	8.540
25	ATCC	%7	non-O3	5.8	24	.
25	ATCC	%7	non-O3	7.0	24	7.930
25	ATCC	%7	non-O3	8.0	24	7.880
25	ATCC	%8	non-O3	5.8	24	3.000
25	ATCC	%8	non-O3	7.0	24	.
25	ATCC	%8	non-O3	8.0	24	5.900
25	O4	%1	non-O3	5.8	24	6.150
25	O4	%1	non-O3	7.0	24	8.520
25	O4	%1	non-O3	8.0	24	8.040
25	O4	%7	non-O3	5.8	24	6.340
25	O4	%7	non-O3	7.0	24	8.280
25	O4	%7	non-O3	8.0	24	8.420
25	O4	%8	non-O3	5.8	24	2.540
25	O4	%8	non-O3	7.0	24	7.400
25	O4	%8	non-O3	8.0	24	6.910
25	O3-1	%1	O3	5.8	27	.
25	O3-1	%1	O3	7.0	27	.

25	O3-1	%1	O3	8.0	27	.
25	O3-1	%7	O3	5.8	27	.
25	O3-1	%7	O3	7.0	27	.
25	O3-1	%7	O3	8.0	27	.
25	O3-1	%8	O3	5.8	27	.
25	O3-1	%8	O3	7.0	27	.
25	O3-1	%8	O3	8.0	27	.
25	O3-2	%1	O3	5.8	27	.
25	O3-2	%1	O3	7.0	27	.
25	O3-2	%1	O3	8.0	27	.
25	O3-2	%7	O3	5.8	27	.
25	O3-2	%7	O3	7.0	27	.
25	O3-2	%7	O3	8.0	27	.
25	O3-2	%8	O3	5.8	27	.
25	O3-2	%8	O3	7.0	27	.
25	O3-2	%8	O3	8.0	27	.
25	ATCC	%1	non-O3	5.8	27	.
25	ATCC	%1	non-O3	7.0	27	.
25	ATCC	%1	non-O3	8.0	27	.
25	ATCC	%7	non-O3	5.8	27	.
25	ATCC	%7	non-O3	7.0	27	.
25	ATCC	%7	non-O3	8.0	27	.
25	ATCC	%8	non-O3	5.8	27	.
25	ATCC	%8	non-O3	7.0	27	.
25	ATCC	%8	non-O3	8.0	27	.
25	O4	%1	non-O3	5.8	27	.
25	O4	%1	non-O3	7.0	27	.
25	O4	%1	non-O3	8.0	27	.
25	O4	%7	non-O3	5.8	27	.
25	O4	%7	non-O3	7.0	27	.
25	O4	%7	non-O3	8.0	27	.
25	O4	%8	non-O3	5.8	27	.
25	O4	%8	non-O3	7.0	27	.

25	O4	%8	non-O3	8.0	27	.
25	O3-1	%1	O3	5.8	30	.
25	O3-1	%1	O3	7.0	30	.
25	O3-1	%1	O3	8.0	30	.
25	O3-1	%7	O3	5.8	30	.
25	O3-1	%7	O3	7.0	30	.
25	O3-1	%7	O3	8.0	30	.
25	O3-1	%8	O3	5.8	30	.
25	O3-1	%8	O3	7.0	30	.
25	O3-1	%8	O3	8.0	30	.
25	O3-2	%1	O3	5.8	30	.
25	O3-2	%1	O3	7.0	30	.
25	O3-2	%1	O3	8.0	30	.
25	O3-2	%7	O3	5.8	30	.
25	O3-2	%7	O3	7.0	30	.
25	O3-2	%7	O3	8.0	30	.
25	O3-2	%8	O3	5.8	30	.
25	O3-2	%8	O3	7.0	30	.
25	O3-2	%8	O3	8.0	30	.
25	ATCC	%1	non-O3	5.8	30	.
25	ATCC	%1	non-O3	7.0	30	.
25	ATCC	%1	non-O3	8.0	30	.
25	ATCC	%7	non-O3	5.8	30	.
25	ATCC	%7	non-O3	7.0	30	.
25	ATCC	%7	non-O3	8.0	30	.
25	ATCC	%8	non-O3	5.8	30	.
25	ATCC	%8	non-O3	7.0	30	.
25	ATCC	%8	non-O3	8.0	30	.
25	O4	%1	non-O3	5.8	30	.
25	O4	%1	non-O3	7.0	30	.
25	O4	%1	non-O3	8.0	30	.
25	O4	%7	non-O3	5.8	30	.
25	O4	%7	non-O3	7.0	30	.

25	O4	%7	non-O3	8.0	30	.
25	O4	%8	non-O3	5.8	30	.
25	O4	%8	non-O3	7.0	30	.
25	O4	%8	non-O3	8.0	30	.
25	O3-1	%1	O3	5.8	33	.
25	O3-1	%1	O3	7.0	33	.
25	O3-1	%1	O3	8.0	33	.
25	O3-1	%7	O3	5.8	33	.
25	O3-1	%7	O3	7.0	33	.
25	O3-1	%7	O3	8.0	33	.
25	O3-1	%8	O3	5.8	33	.
25	O3-1	%8	O3	7.0	33	.
25	O3-1	%8	O3	8.0	33	.
25	O3-2	%1	O3	5.8	33	.
25	O3-2	%1	O3	7.0	33	.
25	O3-2	%1	O3	8.0	33	.
25	O3-2	%7	O3	5.8	33	.
25	O3-2	%7	O3	7.0	33	.
25	O3-2	%7	O3	8.0	33	.
25	O3-2	%8	O3	5.8	33	.
25	O3-2	%8	O3	7.0	33	.
25	O3-2	%8	O3	8.0	33	.
25	ATCC	%1	non-O3	5.8	33	.
25	ATCC	%1	non-O3	7.0	33	.
25	ATCC	%1	non-O3	8.0	33	.
25	ATCC	%7	non-O3	5.8	33	.
25	ATCC	%7	non-O3	7.0	33	.
25	ATCC	%7	non-O3	8.0	33	.
25	ATCC	%8	non-O3	5.8	33	.
25	ATCC	%8	non-O3	7.0	33	.
25	ATCC	%8	non-O3	8.0	33	.
25	O4	%1	non-O3	5.8	33	.
25	O4	%1	non-O3	7.0	33	.

25	O4	%1	non-O3	8.0	33	.
25	O4	%7	non-O3	5.8	33	.
25	O4	%7	non-O3	7.0	33	.
25	O4	%7	non-O3	8.0	33	.
25	O4	%8	non-O3	5.8	33	.
25	O4	%8	non-O3	7.0	33	.
25	O4	%8	non-O3	8.0	33	.
25	O3-1	%1	O3	5.8	36	.
25	O3-1	%1	O3	7.0	36	.
25	O3-1	%1	O3	8.0	36	.
25	O3-1	%7	O3	5.8	36	.
25	O3-1	%7	O3	7.0	36	.
25	O3-1	%7	O3	8.0	36	.
25	O3-1	%8	O3	5.8	36	.
25	O3-1	%8	O3	7.0	36	.
25	O3-1	%8	O3	8.0	36	.
25	O3-2	%1	O3	5.8	36	.
25	O3-2	%1	O3	7.0	36	.
25	O3-2	%1	O3	8.0	36	.
25	O3-2	%7	O3	5.8	36	.
25	O3-2	%7	O3	7.0	36	.
25	O3-2	%7	O3	8.0	36	.
25	O3-2	%8	O3	5.8	36	.
25	O3-2	%8	O3	7.0	36	.
25	O3-2	%8	O3	8.0	36	.
25	ATCC	%1	non-O3	5.8	36	.
25	ATCC	%1	non-O3	7.0	36	.
25	ATCC	%1	non-O3	8.0	36	.
25	ATCC	%7	non-O3	5.8	36	.
25	ATCC	%7	non-O3	7.0	36	.
25	ATCC	%7	non-O3	8.0	36	.
25	ATCC	%8	non-O3	5.8	36	.
25	ATCC	%8	non-O3	7.0	36	.

25	ATCC	%8	non-O3	8.0	36	.
25	O4	%1	non-O3	5.8	36	.
25	O4	%1	non-O3	7.0	36	.
25	O4	%1	non-O3	8.0	36	.
25	O4	%7	non-O3	5.8	36	.
25	O4	%7	non-O3	7.0	36	.
25	O4	%7	non-O3	8.0	36	.
25	O4	%8	non-O3	5.8	36	.
25	O4	%8	non-O3	7.0	36	.
25	O4	%8	non-O3	8.0	36	.
25	O3-1	%1	O3	5.8	39	.
25	O3-1	%1	O3	7.0	39	.
25	O3-1	%1	O3	8.0	39	.
25	O3-1	%7	O3	5.8	39	.
25	O3-1	%7	O3	7.0	39	.
25	O3-1	%7	O3	8.0	39	.
25	O3-1	%8	O3	5.8	39	.
25	O3-1	%8	O3	7.0	39	.
25	O3-1	%8	O3	8.0	39	.
25	O3-2	%1	O3	5.8	39	.
25	O3-2	%1	O3	7.0	39	.
25	O3-2	%1	O3	8.0	39	.
25	O3-2	%7	O3	5.8	39	.
25	O3-2	%7	O3	7.0	39	.
25	O3-2	%7	O3	8.0	39	.
25	O3-2	%8	O3	5.8	39	.
25	O3-2	%8	O3	7.0	39	.
25	O3-2	%8	O3	8.0	39	.
25	ATCC	%1	non-O3	5.8	39	.
25	ATCC	%1	non-O3	7.0	39	.
25	ATCC	%1	non-O3	8.0	39	.
25	ATCC	%7	non-O3	5.8	39	.
25	ATCC	%7	non-O3	7.0	39	.

25	ATCC	%7	non-O3	8.0	39	.
25	ATCC	%8	non-O3	5.8	39	.
25	ATCC	%8	non-O3	7.0	39	.
25	ATCC	%8	non-O3	8.0	39	.
25	O4	%1	non-O3	5.8	39	.
25	O4	%1	non-O3	7.0	39	.
25	O4	%1	non-O3	8.0	39	.
25	O4	%7	non-O3	5.8	39	.
25	O4	%7	non-O3	7.0	39	.
25	O4	%7	non-O3	8.0	39	.
25	O4	%8	non-O3	5.8	39	.
25	O4	%8	non-O3	7.0	39	.
25	O4	%8	non-O3	8.0	39	.
25	O3-1	%1	O3	5.8	42	.
25	O3-1	%1	O3	7.0	42	.
25	O3-1	%1	O3	8.0	42	.
25	O3-1	%7	O3	5.8	42	.
25	O3-1	%7	O3	7.0	42	.
25	O3-1	%7	O3	8.0	42	.
25	O3-1	%8	O3	5.8	42	.
25	O3-1	%8	O3	7.0	42	.
25	O3-1	%8	O3	8.0	42	.
25	O3-2	%1	O3	5.8	42	.
25	O3-2	%1	O3	7.0	42	.
25	O3-2	%1	O3	8.0	42	.
25	O3-2	%7	O3	5.8	42	.
25	O3-2	%7	O3	7.0	42	.
25	O3-2	%7	O3	8.0	42	.
25	O3-2	%8	O3	5.8	42	.
25	O3-2	%8	O3	7.0	42	.
25	O3-2	%8	O3	8.0	42	.
25	ATCC	%1	non-O3	5.8	42	.
25	ATCC	%1	non-O3	7.0	42	.

25	ATCC	%1	non-O3	8.0	42	.
25	ATCC	%7	non-O3	5.8	42	.
25	ATCC	%7	non-O3	7.0	42	.
25	ATCC	%7	non-O3	8.0	42	.
25	ATCC	%8	non-O3	5.8	42	.
25	ATCC	%8	non-O3	7.0	42	.
25	ATCC	%8	non-O3	8.0	42	.
25	O4	%1	non-O3	5.8	42	.
25	O4	%1	non-O3	7.0	42	.
25	O4	%1	non-O3	8.0	42	.
25	O4	%7	non-O3	5.8	42	.
25	O4	%7	non-O3	7.0	42	.
25	O4	%7	non-O3	8.0	42	.
25	O4	%8	non-O3	5.8	42	.
25	O4	%8	non-O3	7.0	42	.
25	O4	%8	non-O3	8.0	42	.
25	O3-1	%1	O3	5.8	45	.
25	O3-1	%1	O3	7.0	45	.
25	O3-1	%1	O3	8.0	45	.
25	O3-1	%7	O3	5.8	45	.
25	O3-1	%7	O3	7.0	45	.
25	O3-1	%7	O3	8.0	45	.
25	O3-1	%8	O3	5.8	45	.
25	O3-1	%8	O3	7.0	45	.
25	O3-1	%8	O3	8.0	45	.
25	O3-2	%1	O3	5.8	45	.
25	O3-2	%1	O3	7.0	45	.
25	O3-2	%1	O3	8.0	45	.
25	O3-2	%7	O3	5.8	45	.
25	O3-2	%7	O3	7.0	45	.
25	O3-2	%7	O3	8.0	45	.
25	O3-2	%8	O3	5.8	45	.
25	O3-2	%8	O3	7.0	45	.



25	O3-2	%8	O3	8.0	45	.
25	ATCC	%1	non-O3	5.8	45	.
25	ATCC	%1	non-O3	7.0	45	.
25	ATCC	%1	non-O3	8.0	45	.
25	ATCC	%7	non-O3	5.8	45	.
25	ATCC	%7	non-O3	7.0	45	.
25	ATCC	%7	non-O3	8.0	45	.
25	ATCC	%8	non-O3	5.8	45	.
25	ATCC	%8	non-O3	7.0	45	.
25	ATCC	%8	non-O3	8.0	45	.
25	O4	%1	non-O3	5.8	45	.
25	O4	%1	non-O3	7.0	45	.
25	O4	%1	non-O3	8.0	45	.
25	O4	%7	non-O3	5.8	45	.
25	O4	%7	non-O3	7.0	45	.
25	O4	%7	non-O3	8.0	45	.
25	O4	%8	non-O3	5.8	45	.
25	O4	%8	non-O3	7.0	45	.
25	O4	%8	non-O3	8.0	45	.
25	O3-1	%1	O3	5.8	48	8.000
25	O3-1	%1	O3	7.0	48	9.200
25	O3-1	%1	O3	8.0	48	8.520
25	O3-1	%7	O3	5.8	48	8.000
25	O3-1	%7	O3	7.0	48	8.740
25	O3-1	%7	O3	8.0	48	8.900
25	O3-1	%8	O3	5.8	48	7.680
25	O3-1	%8	O3	7.0	48	8.600
25	O3-1	%8	O3	8.0	48	8.300
25	O3-2	%1	O3	5.8	48	8.230
25	O3-2	%1	O3	7.0	48	9.080
25	O3-2	%1	O3	8.0	48	8.930
25	O3-2	%7	O3	5.8	48	8.300
25	O3-2	%7	O3	7.0	48	8.930

25	O3-2	%7	O3	8.0	48	9.080
25	O3-2	%8	O3	5.8	48	7.850
25	O3-2	%8	O3	7.0	48	8.400
25	O3-2	%8	O3	8.0	48	7.990
25	ATCC	%1	non-O3	5.8	48	8.000
25	ATCC	%1	non-O3	7.0	48	8.950
25	ATCC	%1	non-O3	8.0	48	8.610
25	ATCC	%7	non-O3	5.8	48	8.180
25	ATCC	%7	non-O3	7.0	48	8.900
25	ATCC	%7	non-O3	8.0	48	8.540
25	ATCC	%8	non-O3	5.8	48	7.630
25	ATCC	%8	non-O3	7.0	48	8.650
25	ATCC	%8	non-O3	8.0	48	7.600
25	O4	%1	non-O3	5.8	48	7.950
25	O4	%1	non-O3	7.0	48	8.860
25	O4	%1	non-O3	8.0	48	8.540
25	O4	%7	non-O3	5.8	48	7.700
25	O4	%7	non-O3	7.0	48	8.650
25	O4	%7	non-O3	8.0	48	8.480
25	O4	%8	non-O3	5.8	48	6.420
25	O4	%8	non-O3	7.0	48	
25	O4	%8	non-O3	8.0	48	6.300

## HACCP に基づく衛生管理の評価方法の開発に関する研究

分担研究者 山崎省二 国立公衆衛生院衛生獣医学部長

### (研究要旨)

動物性加工食品等の高度衛生管理を HACCP システムを用いて行うにあたり、清浄度の評価方法が問題となる。すなわち従来より清浄度の評価方法として用いられている培養法は培養時間が長く迅速性に欠ける、微生物以外の汚れを検出できないなど実用的でない。

近年にこれらに対応するため生物発光法を用いた ATP 検出法が開発が進んでいる。この ATP 検出法は現在多くの種類が市販されているが、その性能および再現性は統一されていない。昨年度は国内で入手可能で比較的広く用いられている 7 社の製品の性能および再現性について比較検討を行い、7 製品の性能および再現性がバラバラであったことを報告した。今年度は ATP 法と ATP を同時に測定する PPK 法、タンパク質の定量法であるチェックプロ並びにタンパク質、糖質、脂質の全てを検出するフキトリマスターを用いて汚れの迅速測定を比較した結果 PPK 法が最も優れていた。

### A. 研究目的

動物性加工食品等の高度衛生管理を HACCP システムを用いて行うにあたり、清浄度の評価方法が問題となる。すなわち従来より清浄度の評価方法として用いられている培養法は培養時間が長く迅速性に欠ける、微生物以外の汚れを検出できないなど実用的でない。近年にこれらに対応するため生物発光法を用いた ATP 検出法に加え、ATP より物性的に安定である AMP を同時に定量測定する PPK 法 (Pruvate orthophosphate Dikinase) および色素結合法によるタンパク質の定量法 (チェックプロ) 並びにピシンコニン酸法による還元生物質の定量法であり、食品中のタンパク質、糖質、脂質の全てを検出できるフキトリマスターを用いて、食品の原料による汚染の迅速測定を比較した。

### B. 研究方法

#### 1 測定試料の調整

食品として食肉製品 11 種、魚介類 11 種を用いた (表 1)。滅菌超純水 100ml に対し食品 10g の条件でストマッキング液を作製し、ストマッキング液は 10 倍段階希釈し、測定試料とした。

#### 2 測定機器および測定方法

##### ① ATP 法 (キッコーマン社製)

ルシフェール 250 プラスを用いたふき取り検査手法によって測定を行った。10 $\mu$ l の試料を 1ml の滅菌超純水に添加して攪拌後、そのうち 0.1ml をルミチューブに採取した。そこに 0.1ml の ATP 抽出試薬を添加し、さらに 0.1ml の発光試薬を添加、攪拌した後に直ちに発光量をルミテスター K-100 で測定した。試料の代わりに滅菌超純水を用いた際の発光量を BLANK 値とし、BLANK 値の 2 倍以上の発光量を陽性判定とした。陽性判定となった最大の希釈倍率を検出下限とした。

##### ② PPK 法 (キッコーマン社製)

ATP に対する発光量がルシフェール 250

プラスと同等の PPKK 発光試薬を用いたふき取り検査手法によって測定を行った。10 $\mu$ l の試料を 1ml の滅菌超純水に添加して攪拌後、そのうち 0.1ml をルミチューブに採取した。そこに 0.1ml の ATP 抽出試薬を添加し、さらに 0.1ml の PPKK 発光試薬を添加、攪拌した後に直ちに発光量をルミテスター K-100 で測定した。試料の代わりに滅菌超純水を用いた際の発光量を Blank 値とし、Blank 値の 2 倍以上の発光量を陽性判定とした。陽性判定となった最大の希釈倍率を検出下限とした。

### ③蛋白質定量法 (MERCK 社製のチェックプロ)

10  $\mu$ l の試料を試験紙のふき取り面に滴下し、そこへ 1 滴の染色液を滴下、直ちに着色の有無を肉眼で判定した。多少でも緑色の着色が認められた場合を陽性判定とし、陽性判定となった最大の希釈倍率を検出下限とした。

### ④ピシンコニン酸法 (Konica社製のフキトリマスター)

ピペットマンを用いて 1 ml の試薬 A (希釈液) を試験管に入れ、そこへ 1 滴の試薬 B (染色液) を滴下、攪拌した。そこへ 10 ml の試料を添加して攪拌後、55  $^{\circ}$ C のヒートブロックで 10 分間反応させた。反応後、付属のカラーチャートとの比較により、色調の違いを 4 段階にランク分けした。試料の代わりに滅菌超純水を用いた際の着色を上回る着色を陽性判定とし、陽性判定となった最大の希釈倍率を検出下限とした。

## C. 結果

食肉および食肉製品 11 種に対する各検査方法の検出下限希釈倍率を図 1 に示す。また、魚介類 11 種に対する検出下限希釈倍率を図 2 に示す。希釈倍率 1 は試料原液 (10 倍希釈液) が検出下限であることを意味する。

### ① 食肉および食肉製品に対する検出感度

PPKK 法が広範にわたり最も優れた感度を示し、ATP 法、ピシンコニン酸法がこれに続き、蛋白質定量法最も低い感度を示した。

しかし、ATP 法はソーセージが検出できず、感度の偏りが認められた。

### ② 魚介類に対する検出感度

魚介類においても PPKK 法が最も優れた感度を示した。しかし、鮮度の優れた刺身用の魚では ATP 法と感度差はほとんどなかった。鮮度面を考慮すると ATP 法に対する優位性は断定できない。一方、ピシンコニン酸法および蛋白質定量法の感度は PPKK 法および ATP 法の 1/10 以下であり、明らかに感度が劣っていた。

## D. 考察

PPKK 法が最も優れた検出感度を示したが、この PPKK 法はルシフェラーゼの発光反応によって生じた AMP を ATP に再生する酵素 (Pyruvate Orthophosphate Dikinase) を用いることにより、発光反応のサイクリングが可能となり、発光が持続するばかりか、AMP は瞬時 ATP に再生されるため AMP と ATP の同時定量が可能となった。AMP は ATP より物性的に安定であり、ATP より汚染指標とするにふさわしい物質と考えられる。今回の成績で ATP 法との感度差は AMP に起因していると判断できる。色素結合法による蛋白質の定量法 (チェックプロ) は、原理的に蛋白質としか反応しないので感度的には最も不利と考えられ、今回のデータはそれを裏付ける結果となった。

ピシンコニン酸法による還元生物質の定量法 (フキトリマスター) は蛋白質、糖質、脂質の全てが検出できるため蛋白質定量法より感度は高く、今回のデータはそれを裏付けた。しかし、PDK 法および ATP 法より明らかに感度は劣っていた。

## E. 結論

今回の実験結果から以下の結論を得た。

食品 (食肉および食肉製品並びに魚介類) による汚れを PPKK 法、ATP 法、蛋白質定量法、ピシンコニン酸法で測定したところ PPKK 法が最も優れ、次いで ATP 法が優れ

今後 PPK 法、ATP 法を用いて食肉および食肉製品の清浄度管理に関する研究を進める。

#### F. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表 なし

表 1 使用食品リスト

No.	種別	商品名
1	食肉	食鳥肉・もも肉
2		食鳥肉・むね肉
3		牛・サーロイン
4		豚・ロース
5		鳥挽肉
6		豚挽肉
7		牛挽肉
8		鳥レバー
9		豚レバー
10		ソーセージ
11		ハム
12	魚介類	冷凍エビ
13		冷凍ホタテ貝柱
14		冷凍マグロ
15		冷凍イカ
16		刺身用ホタテ貝柱
17		刺身用スルメイカ
18		刺身用イワシ
19		刺身用カツオ
20		刺身用カンパチ
21		刺身用ヒラメ
22		刺身用タイ

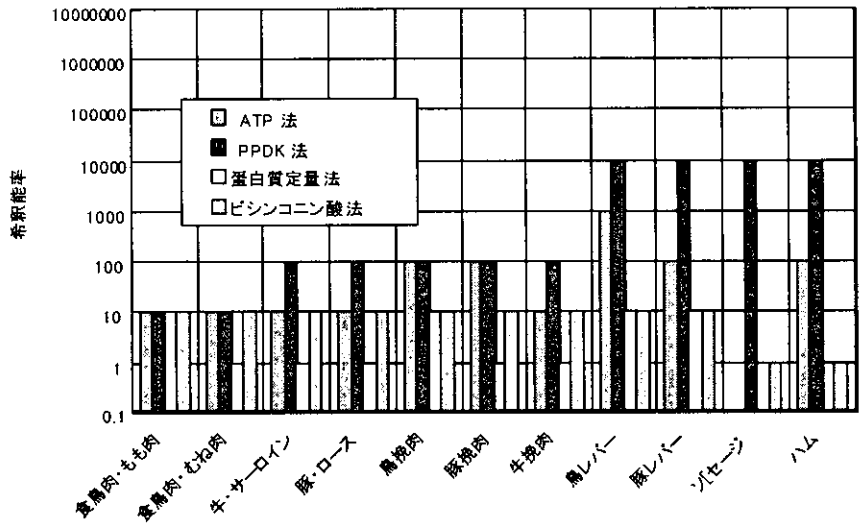


図1 食肉および食肉製品に対する汚染の測定

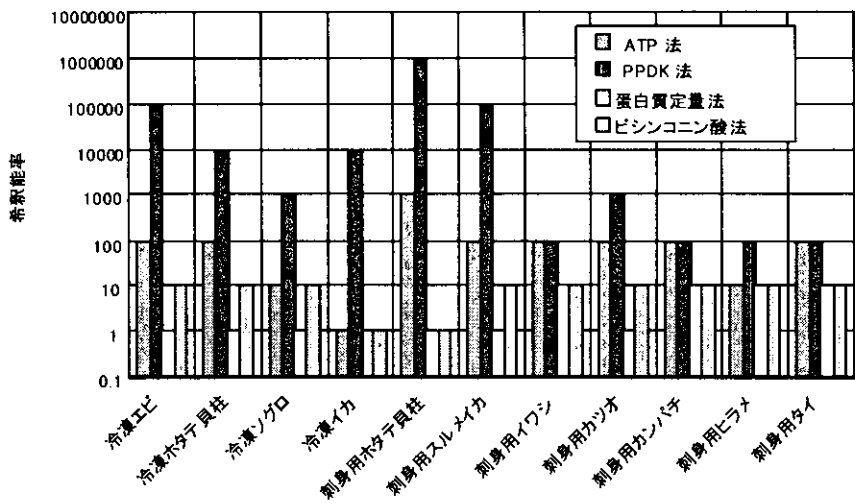


図2 魚介類に対する汚染の測定

## 食品に起因する危害に関するデータベース及びプレディクティブモデルの開発に関する研究

分担研究者 難波 江  
社団法人日本乳業協会

### I. 研究の目的

近年、新たな食品の衛生管理の手法としてのHACCPシステムが注目され、国際的にも広くこのシステムを導入する動きがあり、わが国においても当該システムの導入の検討が進められている。

牛乳、乳製品については、食品衛生法に基づく総合衛生管理製造過程の承認制度が導入され、その対象食品とされたことから、乳業工場における当該システムの導入が緊急の課題となっている。

HACCPシステムとは、食品中の危害の発生要因を明らかにし、それを工程中で適切に制御することにより、危害の発生を予防しようとするシステムであり、HACCPの実施計画の策定にあたっては、食品中の病原微生物の挙動及び汚染実態、その影響因子と制御方法等を的確に把握する必要がある。

そこで本研究では、昨年度に引き続き乳業工場におけるHACCPプラン策定及びその評価の基礎となるデータベース及び食品中の病原微生物等の適切な除去又は低減の予測モデルについて研究班を組織し検討することとした。(研究班メンバー 別添－1)

### II. 研究の方法

1. 昨年度において、コンピューター検索した乳・乳製品製造における病原微生物の消長、制御等に関わる内外の既存文献リストについて、文献タイトル(一部アブストラクト)からその内容について評価し、活用可能と考えられる文献の更なる絞り込みを行った。
2. 絞り込みを行った文献リストに基づき、オリジナル文献の収集を行った。
3. オリジナル文献記載データのピックアップ、整理等の方法について検討を行った。

### III. 結果及び考察

1. 絞り込みを行った文献(577点)のリストは、別添－2のとおり。
2. 1.のうち388点のオリジナル文献を収集した。(添付省略、リスト：別添－2の右欄○印)
3. オリジナル文献記載データのピックアップ、整理等の方法について検討した結果、以下の方向で進めることとした。
  - 1) 個別のオリジナル文献を読み、内容を評価する。
  - 2) 活用可能と評価したデータ、図・表等をピックアップする。
  - 3) ピックアップした図・表等は、条件(項目)ごとに整理する。



(例)

\*発育/毒素産生条件

(範囲・世代時間、pH、Aw、NaCl・その他、温度、成分、食品/水、培地等、  
製造方法/工程/機器/設備/施設)

\*死滅/生残/毒素失活

(D値、損傷菌/非培養菌、バイオフィーム、耐性菌/対熱性/ストレス、pH、  
Aw、NaCl・その他、温度、成分、薬剤、食品/水、培地等、製造方法/工程/  
機器/設備/施設)

\*範囲、D値、世代時間→表にまとめる。

\*論文中の表→なるべくまとめる。

\*論文中の図→それだけで価値がある場合は、活用する。

#### IV. 今後の課題

来年度以降、次の項目に関する研究を継続する必要がある。

1. リストアップした文献のうち収集できなかった文献（オリジナル）の収集、評価及び活用
2. コンピューター検索でリストアップできなかった文献の収集、評価及び活用
3. 収集された文献の解析及び評価並びにデータ等のピックアップ及び整理
4. データベースの開発
5. 既存文献から得ることができなかったデータを収集するための研究の実施
  - 1) 新たな条件下での病原微生物の消長、制御等に関わるデータの収集
  - 2) 既存文献のデータを補完するデータの収集
6. 乳・乳製品製造における病原微生物等の適切な除去又は低減の予測モデルの開発

別添－ 1

牛乳乳製品に起因する危害に関するデータベース及び  
プレディクティブモデルの開発に関する研究班（H11）

〔主任研究者〕

熊谷 進 国立感染症研究所 食品衛生微生物部長

〔分担研究者〕

難波 江 (社)全国牛乳協会 専務理事

〔(社)日本乳業協会〕

(研究協力者)

植松 豪 森永乳業(株)品質管理部 部長

亀井 俊郎 明治乳業(株)品質保証部 部長

金盛 徹 (株)ヤクルト本社 開発部部長

近 義弘 (社)全国牛乳協会 事務局長

根橋 秀邦 雪印乳業(株)品質保証部 課長

広田 哲士 森永製菓(株)品質管理部 部長

〔研究協力者－検索〕

井上 雄二 森永乳業(株)分析センター特殊検査室長

森 浩晴 明治乳業(株)品質保証部 商品安全G

高見沢 康太郎 (株)ヤクルト本社 中央研究所主席研究員

関根 吉家 雪印乳業(株)品質保証部分析センター

黒田 和彦 森永製菓(株)品質管理部 主任研究員

別添-2,

HACCP 文献リスト

No.	Group	Key word	Title (Original)	Title (English or Japanese)	Author	Journal	Volume, Page	ID	Date Base	Control	Product	L-Number	全採(5社)
1	C	Campy	Effect of recovery medium on the isolation of <i>Campylobacter jejuni</i> before and after heat treatment. [II] Comparison of four enrichment media in the recovery of <i>Campylobacter</i>		AU Manninen, M-L	Acta Veterinaria Scandinavica	Vol. 23, No. 3, pp. 418-437. (1982)	AN83:117830 CABA, DN832216829	CABA			E-155	
2	B	Listeria monocytogenes or Shigella	A mathematical analysis of microbial inactivation at linearly rising temperatures: calculation of the temperature rise needed to kill <i>Listeria monocytogenes</i> in different foods and methods for dynamic measurements of D and z values.		Miles CA; Meckey BM	J Appl Bacteriol (ENGLAND)	Jul 1994, 77 (1) p14-20	08023036 95013812	MEDLINE			E-90	○
3	E		A note on growth and survival of <i>Escherichia coli</i> O157:H7 in fresh pasteurized milk.		MILITERO C, CORBO M R, MASSA S (Facolta di Agraria di Foggia, Foggia, Italy)	E0841A (0386-7154) Adv Food Sci	VOL 19 NO.1/2 PAGE 22-24 1997	CN 97A0706113, C97274335	JIC			E-103	
4	E		A study of the effects of bacterial competitors, sodium chloride and medium on growth of a toxin-producing <i>Staphylococcus aureus</i> strain.		Khalid, A. S.; Harrigan, W. F.	Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie	(1984) Vol. 17, No. 3, pp. 137-141, 21 ref.		CAB			E-102	
5	D	Amino formation or production	A study on optimizing heat treatment of milk. I. Pasteurization.	牛乳の熱処理の最適化に関する研究 I: パストリゼーション	PERI C, PAGLIARINI E (Univ. Milan, ITA); PIERLUCCIS (Polytechnic of Milan, ITA)	D0077A (MILCA) (0026-3788) Milchwissensch aft	VOL 43 NO.10 PAGE 636-639 1988	89A0132948, C89103472	JOIS			E-182	○
6	D	Amino formation or production	A study on optimizing heat treatment of milk. II. Sterilization.	牛乳の熱処理の最適化に関する研究 II: 滅菌	PAGLIARINI E, PERI C (Univ. Milan, ITA); PIERLUCCIS (Polytechnic of Milan, ITA)	D0077A (MILCA) (0026-3788) Milchwissensch aft	VOL 43 NO.11 PAGE 720-722 1988	89A0179949, C89133465	JOIS			E-70	○
7	C	Clostr	Abnormal heat resistance of bacterial spores heated by direct injection into steam		Carf, O.; Hermier, J.	Lait	Vol. 53, No. 521/522, pp. 23-39. (1973)	AN73:34610 CABA, DN730402898	CABA			E-1	○
8	E		Accelerated decrease of Enterobacteriaceae counts during ripening of raw milk Manchego cheese by lactic culture inoculation.		Gaya, P.; Medina, M.; Nunez, M.	Journal of Food Protection	(1983) Vol. 46, No. 4, pp. 305-308, 214, 36 ref. ISSN: 0363-028X		CAB			A-0081	○
9	B	Listeria monocytogenes or Shigella	Acid adaptation of <i>Listeria monocytogenes</i> can enhance survival in acidic foods and during milk fermentation.		Gahan CG; O'Donogh B; Hill C	Appl Environ Microbiol (UNITED STATES)	Sep 1986, 52 (9) p3128-32	08689147 96387729	MEDLINE			A-0047	○
10	A	Bacillus or Salmonella	Acid adaptation promotes survival of <i>Salmonella</i> spp. in cheese.		Leyer GJ; Johnson EA	Appl Environ Microbiol (UNITED STATES)	Jun 1982, 58 (6) p2075-80	07105497 92321857	MEDLINE			E-7	○
11	C		Activation of the lactoperoxidase system as a means of preventing bacterial deterioration of raw milk		Bjorck, L.	Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte	Vol. 34, No.1, pp. 5-11. (1982)	AN82:21186 CABA, DN820476916	CABA			C-0020	
12	E		Activity of goats' milk lactoperoxidase system on <i>Pseudomonas fluorescens</i> and <i>Escherichia coli</i> at refrigeration temperatures.		Zapico, P.; Gaya, P.; Nunez, M.; Medina, M.	Journal of Food Protection	(1985) Vol. 58, No. 10, pp. 1136-1138, 16 ref. ISSN: 0363-028X		CAB			E-18	○
13	B	Listeria monocytogenes or Shigella	Addition of cocoa powder, cane sugar, and carrageenan to milk enhances growth of <i>Listeria monocytogenes</i> .	ミルクにココア粉, しょ糖およびカラジナンを添加するとリストリア菌の生育が促進	ROSENOW E, M, MARTH E, H (Univ. Wisconsin, WI, USA)	E0048A (JFPD) (0362-028X) J Food Prot	VOL. 50, N O. 9 PAGE. 7 26-729. 732 1987	88A0016927, C88023058, K88011527	JICST			E-188	
14	B	Listeria monocytogenes or Shigella	Antagonistic activity of foodborne microorganisms during growth in model food		Hood SK; Zottola EA	Microbiol (NETHERLAND)	Jul 22 1997, 37 (2-3) p145-53	09174198 97456893	MEDLINE			E-41	○
15	B	Listeria monocytogenes or Shigella	Antagonistic activity of lactoperoxidase systems of products during fermentation of ultrafiltered milk		El-Gazzar, F. E.; Bohner, H. F.; Marth, E. H.	Journal of Dairy Science	vol. 75 (1): p.43-50 Publication Year: 1992	02512980 CAB Accession Number: 920450751	CAB			E-100	○
16	B	Listeria monocytogenes or Shigella	Antagonistic effect of coryneform bacteria from red smear cheese against <i>Listeria</i> species		Valdes-Stauber N; Gutz H; Busse M	Int J Food Microbiol (NETHERLAND)	Jun 1991, 13 (2) p119-30	06796380 91963203	MEDLINE			E-186	○
17	B	Listeria monocytogenes or Shigella	Antagonistic activity of lactic acid bacteria isolated from natural whey starters for water-buffalo Mozzarella cheese manufacture.		Pepe, O.; Moschetti, G.; Salzano, G.; Parente, E.	Italian Journal of Food Science	vol. 7 (3): p.221-234 Publication Year: 1995	03122994 CAB Accession Number: 950406170	CAB			B-0083	
18	A and E	Bacillus or Salmonella	Antagonistic activity of <i>Lactobacillus acidophilus</i> fermented milk against different pathogenic bacteria.		Gupta PK; Mittal BK; Garg SK	Indian J Exp Biol (INDIA)	Dec 1996, 34 (12) p1245-7	09176897 97383868	MEDLINE			A-0046	
19	B	Listeria monocytogenes or Shigella	Antibacterial activity of the lactoperoxidase system on <i>Listeria monocytogenes</i> in trypticase soy broth, UHT milk and French soft cheese.		Denis, F.; Ramet, J. P.	Journal of Food Protection	vol. 52 (10): p.706-711 Publication Year: 1989	02191892 CAB Accession Number: 900436395	CAB			E-101	○
20	B	Listeria monocytogenes or Shigella	Antibacterial activity of the lactoperoxidase system on <i>Listeria monocytogenes</i> .		Denis, F.; Ramet, J. P.	Microbiologie, Aliments, Nutrition	vol. 7 (1): p.25-30 Publication Year: 1989	02253108 CAB Accession Number: 900436959	CAB			E-184	
21	B	Listeria monocytogenes or Shigella	Antibacterial effect of the lactoperoxidase-thiocyanate-hydrogen peroxide system on the growth of <i>Listeria</i> spp. in milk.		Bibi, W.; Bachmann, M R	Milchwissenschaft	vol. 45 (1): p.26-28 Publication Year: 1990	02241822 CAB Accession Number: 900436937	CAB			E-191	○
22	B	Listeria monocytogenes or Shigella	Antibacterial activity of the lactoperoxidase system against <i>Listeria monocytogenes</i> and <i>Staphylococcus aureus</i> in milk.		Karru, D. N.; Doores, S.; Pruitt, K. M.	Journal of Food Protection	vol. 53 (12): p.1010-1014 Publication Year: 1990	02391119 CAB Accession Number: 910445466	CAB			E-74	○

HACCP 文献リスト

No.	Group	Key word	Title (Original)	Title (English or Japanese)	Author	Journal	Volume Page	ID	Date Base	Control	Product	L-Number	全体(5頁)
23	C	Campy	Antibacterial action of the lactoperoxidase system on <i>Campylobacter jejuni</i> in cow's milk.	牛乳中の <i>Campylobacter jejuni</i> に対するラクトペルオキシダーゼ系の抗菌作用	Beumer, R. R.; Noomen, A.; Maris, J. A.; Kampeimecher, E. H.	Netherlands Milk and Dairy Journal	Vol. 39, No. 2, pp.107-114.(1985)	CN 85A0469130, C85323444	JICST			E-94	○
24	E		Antibacterial activity of <i>Bifidobacterium bifidum</i> strains grown in milk and synthetic media.		Misra, A. K.; Kulkarni, R. K.	Indian Journal of Dairy Science	(1994) Vol. 47, No. 6, pp. 531-533. 13 ref. ISSN: 0019-5146		CAB			A-0033	○
25	E		Antibacterial activity of the lactoperoxidase system in milk against <i>Pseudomonas</i> and other Gram-negative bacteria.		Bjorck, L.; Rosen, C-G.; Marshall, V.; Reiter, B.	Applied Microbiology	(1975) Vol. 30, No. 2, pp. 199-204. 19 ref.		CAB			E-120	
26	E		Antibacterial effect of <i>Lactobacillus</i> spp. on foodborne pathogenic bacteria in an Indian milk-based fermented culinary food item.		Balesubramanyam, B. V.; Varadaraj, M. C.	Cultured Dairy Products Journal	(1995) Vol. 30, No. 1, pp. 22-24. 26-27. 32 ref. ISSN: 0045-9259		CAB			E-175	○
27	E		Antibacterial effect of the lactoperoxidase/thiocyanate/hydrogen peroxide system against strains of <i>Campylobacter</i> isolated from poultry.		BORCH E, WALLENTIN C (Swedish Meat Research Inst, Kaevinge, SWE); ROSEN M, BJORCK L (Swedish Univ, Agricultural Sciences, Uppsala, SWE)	E0048A (JFPRD) (0362-028X) J Food Prot	VOL 52, NO 9 PAGE 838-841 1989	CN 90A0045330, C90052932	JIC			E-24	○
28	B	Listeria monocytogenes or Shigella	Antibiosis of some lactic acid bacteria including <i>Lactobacillus acidophilus</i> toward <i>Listeria monocytogenes</i> .	<i>Lactobacillus acidophilus</i> を含む数種の乳酸菌の <i>Listeria monocytogenes</i> に対する抗菌作用	M. McGRATH, R. DAFTRIAN, N. H. (Arizona State Univ, Tempe, AZ, US)	A0434C (JFMD) (0168-1605) Int J Food Microbiol	VOL 9, N O. 1 PAGE 25-32 1988	89A0463075, C89283299, K89101281, L89270521	JICST			B-0035	○
29	C	Clostr	Antibacterial effectiveness of nisin in pasteurized process cheese spreads.	乾酪プロセスチーズスプレッドにおけるナイシンの抗 <i>Listeria monocytogenes</i> 効果	SOMERS E, B, TAYLOR S	J Food Prot	VOL 30, N O. 10 PAGE 842-848 1987	CN 88A0058487, C880463278	JICST			B-0033	
30	B	Listeria monocytogenes or Shigella	Anti-Invasive Activity of Bovine Lactoferrin against <i>Listeria monocytogenes</i> .	リスチリア菌に対する牛ラクトフェリンの抗菌侵入活性	ANTONINI G (Univ, L'Aquila, L'Aquila, ITA); CATALANIA M R, GRICCO R, PISCOTTA M G, VALENTI P (Univ, Napoli, ITA); LONGHI G (Univ, Perugia, ITA)	E0048A (JFPRD) (0362-028X) J Food Prot	VOL 60, N O. 3 PAGE 267-271 1997	97A0391050, C87184238, L87200718	JICST			B000186*	○
31	B	Listeria monocytogenes or Shigella	Antibacterial activity by enterococci in a model predicting the temperature evolution of Taleggio, an Italian soft cheese.		Giraffa, G.; Neviani, E.; Terelli, G. T.	Journal of Dairy Science (UNITED STATES)	vol. 77 (5), p.1176-1182 Publication Year: 1994	02854228 CAB Accession Number: 940402491	CAB			E-73	○
32	B	Listeria monocytogenes or Shigella	Antibacterial activity of thermophilin 347, a bacteriocin produced by <i>Streptococcus thermophilus</i> .	<i>Streptococcus thermophilus</i> の産生するバクテリオシン、サーモフィリン347の抗リスチリア活性	VILLANI F, PEPE O, MAURIELLO G, MOSCHETTI G, COPPOLA S (Univ, Studi di Napoli, Federico I, Napoli, ITA); SALZANO G (Univ, Bari, ITA)	A0434C (JFMD) (0168-1605) Int J Food Microbiol	VOL 25, N O. 2 PAGE 179-190 1995	95A0437633, L95201097	JICST			B000176*	○
33	B	Listeria monocytogenes or Shigella	Antibacterial activity of food-related <i>Penicillium</i> sp against pathogenic bacteria in laboratory media and a cheese		Larsen, A. G.; Knochel, S.	Journal of Applied Microbiology	vol. 83 (1), p.111-119 Publication Year: 1997	03411997 CAB Accession Number: 970403504	CAB			89A0132948, C89103472	○
34	B	Listeria monocytogenes or Shigella	Antimicrobial activity of lysozyme against <i>Listeria monocytogenes</i> in milk.		Carminati, D.; Carini, S.	Microbiologia, Alimenti, Nutrizione	vol. 7 (1), p. 49-56 Publication Year: 1988	02401134 CAB Accession Number: 910446022	CAB			89A0179949, C89133465	○
35	E		Antimicrobial activity of lactic cultures: partial purification and characterization of antimicrobial compound(s) produced by <i>Streptococcus thermophilus</i> .		Pukusari, S. R.; Rao, D. R.; Sunki, G. R.	Journal of Food Science	(1979) Vol. 44, No. 2, pp. 575-578. 15 ref. ISSN: 0022-31147		CAB			B-0404	○
36	C	Campy	Antimicrobial activity of Microgard against food spoilage and pathogenic microorganisms.		al-Zoreky-N, Ayres-JW, Sandina-WE	J-Dairy-Sci	74(3): 758-83. 1991	AN:91302551	Medina		cheese	B-0474	○
37	D	Staphylococcus	Antimicrobial Effect of Pressurized Carbon Dioxide on <i>Staphylococcus aureus</i> in Broth and Milk.	プロセス及び乳中の黄色ぶどう球菌に及ぼす加圧した二酸化炭素の抗菌効果	ERKMEN O (Univ, Gaziantep, Gaziantep, TUR)	E0549A (0023-6438) Lebensmittelwiss Technol	VOL 30, NO. 8 PAGE 826-829 1997	98A0247219, C98114250, L98121618	JOIS			C-0004	
38	A	Bacillus or Salmonella	Application of predictive microbiology to estimate the number of <i>Bacillus cereus</i> in pasteurized milk at the point of consumption.	消費時点での恒温殺菌牛乳中の <i>Bacillus cereus</i> 菌数推定への予測微生物学的应用	ZWIETERING M H, DE WIT J C N, OTERMANS S	Int J Food Microbiol	VOL 30, N O. 1/2 PAGE 55-70 1996	96A0728021, C96314390	JOIS			B-0505	○
39	B	Listeria monocytogenes or Shigella	Appraisal of thermal processing conditions for pasteurization of milk.		Sharma, T.; Mathur, B. N.	Indian Dairyman	vol. 41 (12), p.633-637 Publication Year: 1989	02216786 CAB Accession Number: 900437805	CAB			C-0148	
40	C	Clostr	Arginine promotes toxin formation in Cheddar cheese by <i>Clostridium botulinum</i>	アルギニンがボツリス菌によるチeddarチーズ中の毒素形成を促進する	Makizo, C. J.; Herrod, J.; Kaufman, K. M.; Johnson, E. A.	Journal of Food Protection	Vol. 56, No. 9, pp. 768-772.(1993)	CN 93A0881396, C84064251	JICST			E-80	○
41	A	Bacillus or Salmonella	Aspects regarding the application of a predictive model for growth of <i>Bacillus cereus</i> in		Langeveld, L. P. M.; Cupenus, F.	Journal of International Dairy	(No. 287), p.8-10	02818417 940400896	CAB			B--0220	
42	B	Listeria monocytogenes or Shigella	Attachment of <i>Listeria monocytogenes</i> to stainless steel surfaces at various temperatures and pH values	各種温度と各種pHにおけるリスチリア菌のステンレス鋼表面への付着	HERALD P J, ZOTTOLA E A (Univ, Minnesota, MN, USA)	C0005A (JFDAZ) (0022-31147) J Food Sci	VOL 53, N O. 5 PAGE 1549-1552. 1562 1988	89A0023082, C89022025, L89020550	JICST			B-0028	