

次汚染防止が重要であることが指摘されている。よって、工程中のほたて貝柱についての細菌調査に加えて、最終年度である本年度は、さらに製造工程の環境汚染度について細菌の拭き取り調査を行った。

(3) 「冷凍食品製造工程における HACCP システムモデルの構築」

昨年度の研究では食品衛生法で加工基準が示されている生食用冷凍鮮魚介類のいか刺身類を取り上げ、各製造工程における微生物汚染の定量的分析を実施し、その製造工程における微生物危害を把握して制御方法の基礎的検討を行った。

本年度は本研究事業最終年度として、引き続き危害に対する危険度が高い生食用冷凍鮮魚介類、生食用冷凍ほたて貝柱、冷凍するめいか刺身、生食用冷凍むきもんごういかを対象品目として、標準的な製造工場で利用できる HACCP システムモデルを作成することを目的とした。特に北海道、岩手、静岡地区の中堅水産加工業者を想定し HACCP システムモデル構築を試みた。

B. 研究方法

(1) 「冷凍食品製造における HACCP システム構築に必要なデータの収集・整理とデータ活用のための CD-ROM 化」の方法

1) 製造工程フロー図の作成

冷凍食品の製造に当たり、原料の受け入れから、製造、流通保管、解凍調理、喫食までの一連の工程における微生物汚染やその制御法についての一連の流れを一目でわかるようフロー図にまとめた。パソコンでは、各項目をマウスでクリックすること

により、より詳しい内容を順次検索できるようにした。

2) 個票および説明文の作成

冷凍食品の製造段階を①原料における微生物汚染、②製造工程における微生物汚染、③製造工程における微生物の制御法、④製品における微生物汚染、⑤流通保管時の微生物の消長、⑥解凍調理時における微生物の消長の 6 項目に分け、この他に、⑦新規殺菌手法による微生物制御法、⑧検査方法の比較、⑨食中毒・苦情、⑩総説の 4 項目を加え、全体を 10 項目で構成した。各項目について、冷凍食品製造における HACCP 構築に必要なデータを要約した文献カードの内容を整理し、一覧表（個票）としてまとめた。

また、各個票には簡単な解説欄（説明文）を設け、各項目の内容を概説した。なお、説明文には個票中の文献すべてを引用し、後のその内容を検索する際に便利のように工夫した。

3) 文献カードの整理

CD-ROM 化に当たり、各文献カードの内容を再度見直し（語句の統一等）、表なども含めわかりやすい記載に改めた。

なお、一部の文献カードからは米国国立医学図書館の文献検索システムである PubMed にリンクすることができ、より詳しい元論文の情報を参照することができるよう工夫した。

4) リンク集の作成

(社) 日本冷凍食品協会、(財) 日本冷凍食品検査協会、(財) 食品産業センター、(社)

大日本水産会および厚生労働省等の各ホームページにリンクできるようにし、そこからも必要な情報が得られるよう工夫した。

5) 用語集・定義の作成

本 CD-ROM を使用するに当たり、「個票」、「文献カード」などの用語についてわかりやすく解説し、初めての人でもすぐ使えるようにした。

6) 全体図の作成

本 CD-ROM に含まれている内容が一目でわかるよう、パソコンを立ち上げた際の初期画面を作成した。カット図等を挿入し、親しみやすいものにした。パソコン画面上で各項目のところにマウスで矢印を移動すると、各項目の内容の簡単な説明が吹き出しで現れるようにした。

(2) 生食用冷凍鮮魚介類（生食用冷凍ほたて貝柱）の製造工程および環境における微生物による危害実態調査

対象工場を北海道オホーツク沿岸に位置する地方中規模（日産 5 トンの生産規模）の典型的冷凍ほたて貝専門製造工場に特定した。調査時期は冬季（平成 19 年 1 月）とした。なお当該工場では調査時、いかだ懸垂式養殖の“長万部産活ほたて貝”を原料として用いた“冷凍卵つきほたて貝柱”を製造していた。

図 1 に工程フロー図と拭き取りポイント及び試料サンプリング箇所を示した。ふき取り調査については、原貝受入れ工程から最終箱詰め工程までの間に、ほたて原貝および貝柱が直接接触する箇所を中心に拭き取りポイントを設定し、作業中（ライン稼

働中）と洗浄後作業開始前に実施した。また、洗浄用水およびグレーズ水については作業中の水を試料として採取し検査に供した。

さらに、ほたて貝柱試料サンプリングについては、各工程で上記拭き取り検査と同時に採取し、試験まで -18°C 以下で凍結保管した。

1) 拭き取り試料の細菌数、大腸菌群試験方法

①拭き取り方法および試料の調製

拭き取り試験では、日本 BD (株)社製のラスパークを使用し、対象となるポイントの表面 100 cm^2 ($10\text{ cm}\times 10\text{ cm}$) を拭き取った。拭き取り後、リンス液 10 ml 中に十分に混和し、それを試料液とした。

②細菌数

試料液より分注した 1 ml を用いて標準寒天培地による混釈平板培養（平板 2 枚使用）を行い、 $35.0^{\circ}\text{C}\pm 1.0^{\circ}\text{C}$ で 48 時間 ± 3 時間培養後、拭き取り面積 10 cm^2 当りの細菌数を算出した。

③大腸菌群

試料液より分注した 1 ml を用いてデソオキシコレート寒天培地による混釈平板培養（平板 2 枚を用い平板重層法）を行い、 $35.0^{\circ}\text{C}\pm 1.0^{\circ}\text{C}$ で 20 時間 ± 2 時間培養後、定型的コロニーを数え、拭き取り面積 10 cm^2 当りの大腸菌群数を算出した。

2) ほたて貝柱等試料の細菌数、大腸菌群試験方法]

①検体の採取および試料の調製

凍結試料は、半解凍して全体を細切りしたのち、無作為に 25 g を無菌的にストマツ

4) 危害分析

決定された各製品に対するモデル製造工程の中で起こりうる想定される危害について、前項 2) データ収集で記載したデータ、数社の製造者の製造実態の聞き取り調査、および昨年度の実験結果を基に生物的、化学的、物理的の各観点から分析を行った。

それぞれの危害分析ワークシートを表 2-1、2-2、2-3 に示す。

①生食用冷凍ほたて貝柱における危害分析の特徴

ほたて貝柱における危害要因として下痢性、麻痺性貝毒の化学的危険は必須となる重要な要因であり、HACCP システムの中で対処すべき重要管理点とした。物理的危険要因として、原料由来および工程での金属異物については金属検出機による金属異物除去工程を重要管理点とした。原料由来の小石、貝殻片等の混入については、X 線異物検出機がある場合は、その工程を重要管理点とし、ない場合は、1 次洗浄、2 次洗浄の一般的衛生管理で管理することとする。一方で、ほたて貝柱には、海域由来の腸炎ビブリオ等の病原性細菌による生物的危険要因がある。そのため、洗浄工程による細菌の低減は一般的衛生管理項目として重要である。さらに昨年度の調査結果から、整列工程における機器からの二次的汚染が観察されたため、衛生標準作業手順 (SSOP) 作成の必要性がある。

②冷凍するめいか刺身における危害分析の特徴

先にも述べたとおり、生鮮するめいかにおける生物的危険要因として寄生虫の生残があげられる。そのため、原料いかの冷凍

保管工程を重要管理点とした。また低温解凍工程の管理不良における病原性細菌の増殖が懸念されるため、この工程についても重要管理点とした。さらに昨年度の調査結果から、裁断工程における機器からの二次的汚染が観察されたため、衛生標準作業手順 (SSOP) 作成の必要性がある。物理的危険要因としては、原料および工程由来の金属異物混入があげられるため、金属検出機による金属異物除去工程による除去工程を重要管理点とした。

③生食用冷凍むきもんごういかにおける危害分析の特徴

冷凍するめいか刺身とほぼ同様であるが、原料が冷凍原料であるため、工程での寄生虫殺滅については不要である。

5) HACCP プランの作成

上記各製品の危害分析によって明らかにされた重要管理点項目について、前項 2) データ収集の結果に基づき、管理基準、モニタリング方法、修正措置、検証方法、記録の管理までを決定し、HACCP プランを記述し、その一覧表を作成した。

生食用冷凍ほたて貝柱、冷凍するめいか刺身、生食用冷凍むきもんごういかについて HACCP プランをそれぞれ表 3-1、3-2、3-3 に示す。

C 結果 考察

(1) 「冷凍食品製造における HACCP システム構築に必要なデータの収集・整理とデータ活用のための CD-ROM 化」

本 CD-ROM のデータ階層は以下の通りである。

1) 全体 (カット) 図 (図 3)

- 2) 製造工程のフロー図 (図 4)
- 3) 個票一覧 (図 5)
- 4) 説明文 (図 6-1~9)
- 5) 個票 (図 7)
- 6) 文献カード (図 8)

この他、『文献リスト (図 9)』、『リンク集 (図 10)』、『用語集・定義 (図 11)』からなる。

冷凍食品の HACCP 構築に必要な既知のデータを収集し、誰もが活用しやすい形式にするため、CD-ROM 化を行った。各文献から冷凍食品製造における HACCP 構築に必要なデータを抽出、整理した、文献カードを作成し、さらに冷凍食品製造の工程ごと、および微生物汚染の制御に必要な項目ごとにまとめて一覧表 (個表) を作成した (全 10 項目)。また、パソコンの特性を生かし、簡単なキーボード操作により、瞬時に必要な項目の検索ができるようにした。

本 CD-ROM により、HACCP システムを構築する際の、リスクアナリシス (リスクアセスメント、リスクコントロール) に活用できると考えられる。

今後、さらに HACCP システム導入に必要なデータを検索し、情報量を増やすとともに、CD-ROM の操作性を向上させることにより、より有用なデータベースを作成できると考えられる。

(2) 生食用冷凍鮮魚介類 (生食用冷凍ほたて貝柱) の製造工程および環境における微生物による危害実態調査

1) 拭き取り調査

拭き取り調査の結果を表 4-1 に示す。洗浄後作業開始前に実施したふき取り検査結果では、大腸菌群はすべての拭き取り箇

所において $<30(0)/10\text{ cm}^2$ で陰性であった。細菌数については、脱殻-内臓除去工程の搬送ベルトコンベアーおよびグレージング工程のラインコンベアーにおいて 1.2×10^3 及び、 2.3×10^2 と比較的高い細菌数を示したが、他の工程については高い清浄度を保っていた。

一方、ライン稼働中に実施した作業中のふき取り検査結果では、一次洗浄工程前まで、すなわち貝柱脱殻-内臓除去-一次洗浄前までの工程における機械器具、作業者手指では大腸菌群数は $<30(0)/10\text{ cm}^2$ で陰性であったが、細菌数 $10^2/10\text{ cm}^2 \sim 10^4/10\text{ cm}^2$ であることが確認され、環境の汚染度が高いことがわかった。一方、それ以降の工程環境では大腸菌群は陰性であり、かつ細菌数は 2 次洗浄カゴで $1.4 \times 10^2/10\text{ cm}^2$ が検出されたものの、全体としては $<30(0)/10\text{ cm}^2 \sim <30(11)/10\text{ cm}^2$ であり比較的高い清浄度が維持されていた。

また、洗浄水は $80/\text{g}$ 、及びグレージング工程のグレーズ水には $2.3 \times 10^3/\text{g}$ といった比較的高い細菌数が検出された。

2) 製造工程中におけるほたて貝柱等の細菌数、大腸菌検査結果

調査したすべての試料において大腸菌は陰性であり、脱殻後の貝柱では若干高い細菌数 ($3.9 \times 10^2/\text{g}$) を示した試料もみられたが、全体を通しては細菌数も低く維持されていた。表 4-2 参照

以上、生食用冷凍ほたて貝柱製造工程においては原料処理工程である一次洗浄前までの工程とそれ以降の工程で汚染度が大きく異なることが判明したため、作業区域の

明確な分離を行い、汚染区の細菌を非汚染区域に持ち込まない配慮が必要といえる。また洗浄後作業開始前で細菌数の高かった搬送コンベアにおいて作業中でも高い細菌数を示すこと、水、カゴなどでも比較的高い細菌数を示す場合も散見された。これは、機器、器具の洗浄システム、水の交換循環システムに問題が残ることを示唆している。したがって、製造工程において加熱殺菌工程を持たない生食用冷凍ほたて貝柱製品のような無加熱摂取冷凍食品製造工程における高度衛生管理システム構築には、HACCP構築と共に細菌の2次汚染防止を中心とした工程環境の衛生管理についても十分配慮する必要があるが示唆された。

(3)「冷凍食品製造工程における HACCP システムモデルの構築」の方法

総括表の作成

既述した HACCP プランに加えて、これまでに検討した生食用冷凍ほたて貝柱、冷凍するめいか刺身、生食用冷凍むきもんごういかモデル工程全般における重要管理点以外も含めた全ての危害要因とその管理手段をまとめて、冷凍生食用鮮魚介類に関する HACCP 総括表モデルを作成した。その結果を表 5-1、5-2、5-3 に示す。

生食用冷凍ほたて貝柱については、既存の HACCP システムに再検討を行ない新たな知見を加えた有用な利用しやすい HACCP システムのモデル構築が達成できた。一方、生食用冷凍いか刺身類については、これまで系統だった HACCP モデルが全く整備されていなかったが、冷凍原料を利用する生食用冷凍むきもんごういか、及び生鮮生原料を利用する冷凍するめいか刺身の両製品共

に本研究においてそのモデルを構築できた。

D. 引用文献

- 1) 今西敦史, 冷凍ホタテ貝柱製造における HACCP 方式による自主管理体制について, 食品衛生研究, 1997, 47(2) : 66-79
- 2) 平成 11 年度水産食品品質管理高度化センター事業品質管理指針策定事業水産食品製造工程管理マニュアル (HACCP 方式導入手順) ホタテ製品 (ホタテ貝柱及びボイルホタテ), 社団法人大日本水産会, 2000
- 3) 神崎雅樹, 溝渕和久, 矢野哲也, 井上和男, 沖勇一, 鈴木了司. 高知県山間部地域における胃アニサキス症, 昭和 63 年高知県医学会発

図1. 工程フロー図と拭き取りポイント及び試料サンプリング箇所

工程フロー	拭き取りポイント		サンプリング品
	作業中	洗浄後	
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 5px;">原貝保管</div> <div style="text-align: center;">↓</div>	原貝保管場所		原貝(貝柱) 原貝(中腸腺)
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 5px;">脱殻/内臓除去</div> <div style="text-align: center;">↓</div>	搬送ベルトコンベアー 脱殻台 貝べら 脱殻後貝柱搬送パイプ 脱殻作業者手指(手袋着用) 脱殻作業者手指(手袋着用)	搬送ベルトコンベアー 脱殻台 貝べら 脱殻後貝柱搬送パイプ	脱殻後貝柱 脱殻後中腸腺
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 5px;">一次洗浄</div> <div style="text-align: center;">↓</div>	一次洗浄用カゴ 一次洗浄後貝柱うけ(バット)	一次洗浄用カゴ 一次洗浄後貝柱うけ(バット)	一次洗浄後貝柱 一次洗浄水(第3槽)
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 5px;">整形</div> <div style="text-align: center;">↓</div>	整形作業台表面	整形作業台表面	整形後貝柱
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 5px;">二次洗浄</div> <div style="text-align: center;">↓</div>	二次洗浄カゴ 作業者手指(手袋着用)	二次洗浄カゴ	二次洗浄後貝柱 二次洗浄水(第3槽)
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 5px;">水切り</div> <div style="text-align: center;">↓</div>			
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 5px;">整列</div> <div style="text-align: center;">↓</div>	整列機ラインコンベアー 整列板 整列作業者手指(手袋着用) 整列作業者手指(手袋着用)	整列機ラインコンベアー 整列板 作業者手指	整列後貝柱
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 5px;">凍結</div> <div style="text-align: center;">↓</div>	凍結後ラインコンベアー	凍結後ラインコンベアー	凍結後貝柱
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 5px;">グレージング</div> <div style="text-align: center;">↓</div>	グレーズ後ラインコンベアー	グレーズ後ラインコンベアー	グレージング後貝柱 グレーズ水
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 5px;">計量/箱詰め</div>	自動計量包装机振動バケット	自動計量包装机振動バケット	

図2-1. 生食用冷凍ほたて貝柱 製造工程フローダイアグラム モデル

以下に示すフローダイアグラムは一般的な冷凍ほたて貝柱の加工場を想定した場合のモデルとして作成したものであり、全ての加工場が以下に示した加工工程を持つ／または以下に示した加工工程でなくてはならない(必須とする)というわけではありません。

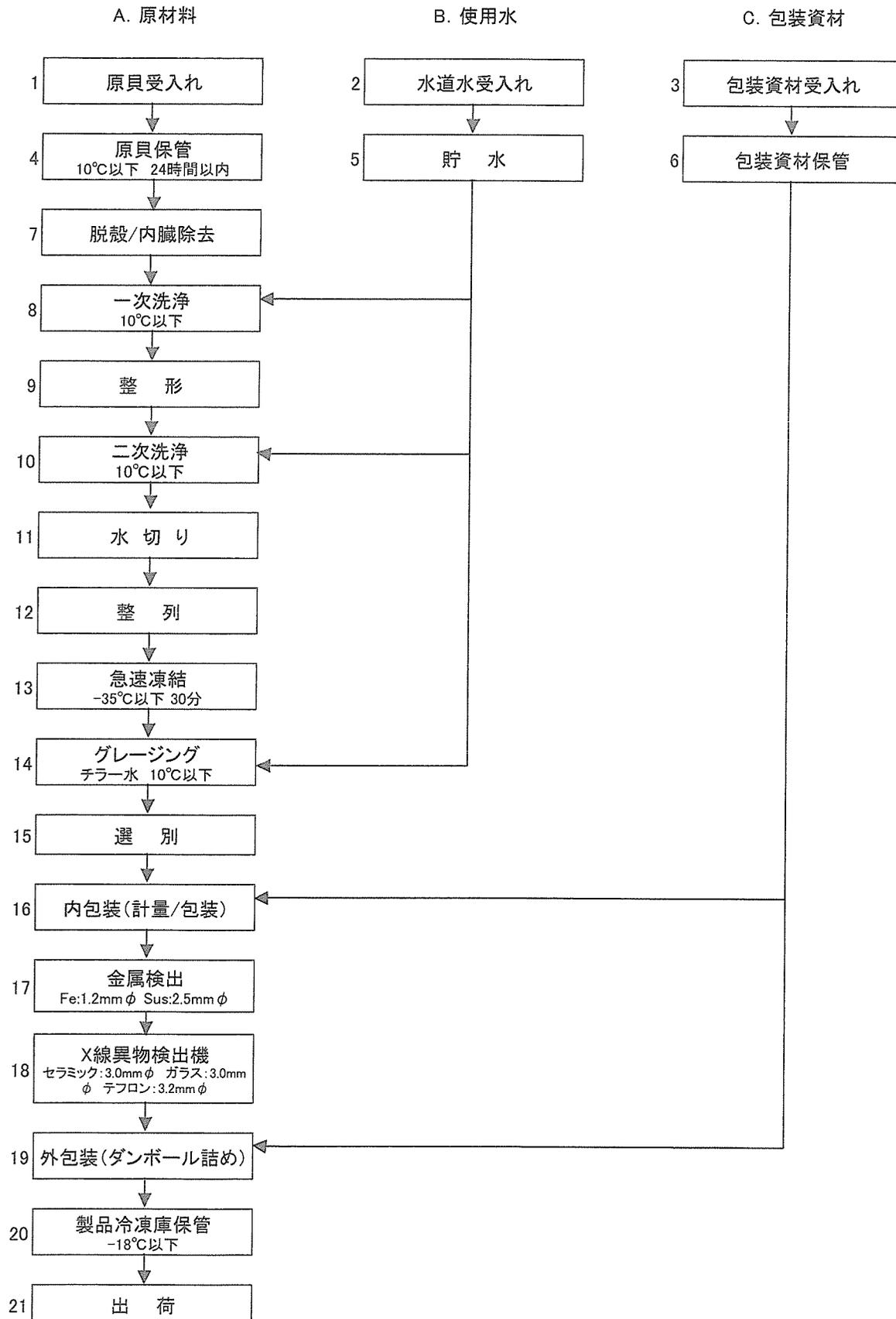


図2-2. 生食用冷凍むきもんごういか 製造工程フローダイアグラム モデル

以下に示すフローダイアグラムは一般的なむきもんごういかの加工場を想定した場合のモデルとして作成したものであり、全ての加工場が以下に示した加工工程を持つ／または以下に示した加工工程でなくてはならない(必須とする)というわけではありません。

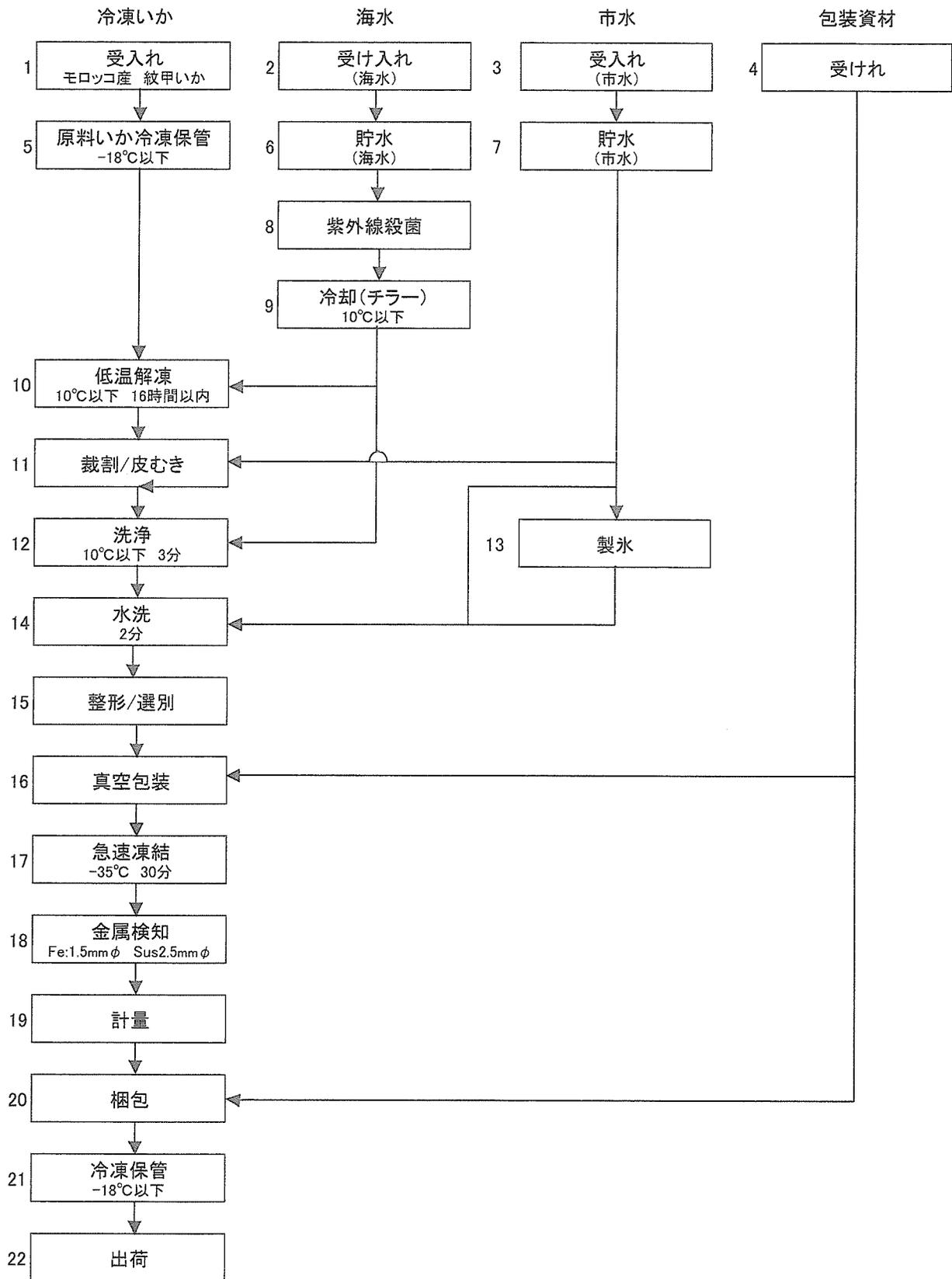
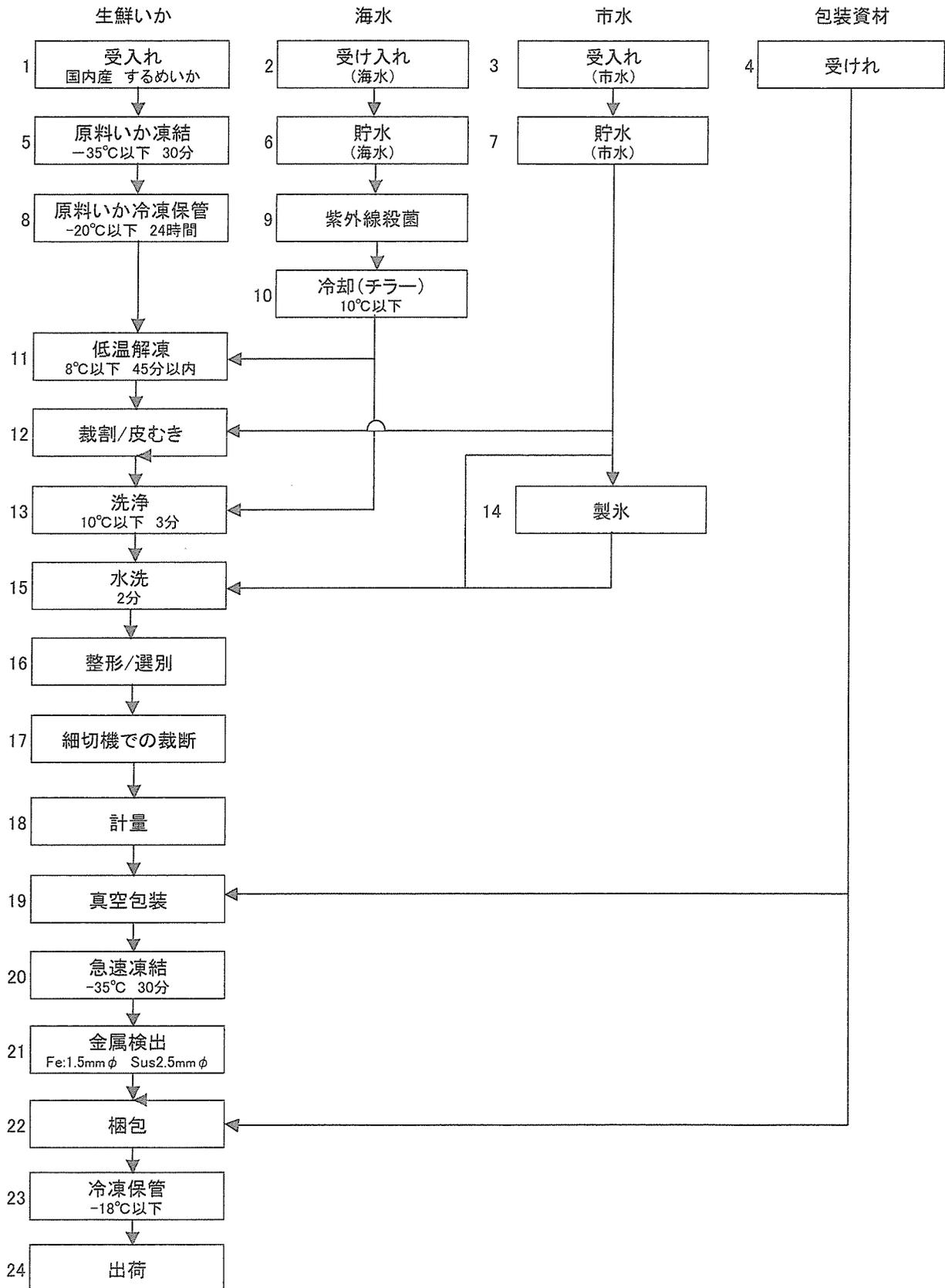


図2-3. 冷凍するめいか刺身 製造工程フローダイアグラム モデル

以下に示すフローダイアグラムは一般的な冷凍するめいか刺身の加工場を想定した場合のモデルとして作成したものであり、全ての加工場が以下に示した加工工程を持つ／または以下に示した加工工程でなくてはならない(必須とする)というわけではありません。



HACCP

総合情報検索システム

このシステムは、冷凍食品におけるHACCPに関する過去の文献を生産、加工といったHACCPの管理工程毎に分類しています。

文献は、原本ではなく文献カードとして要約することで、簡単に検索できるようになっています。

冷凍食品
編

MAIN
MENU

戻る

工程のフロー

個票一覧

文献一覧

リンク集

用語集、定義

図3. 全体(カット)図

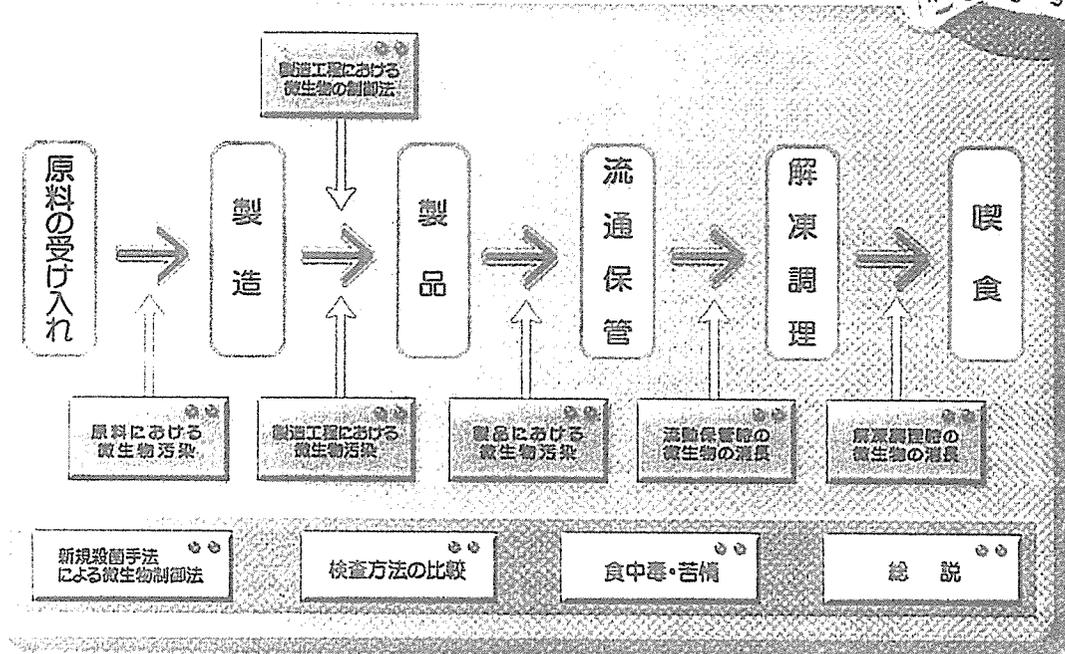


図4. 製造工程のフロー図

HACCP

総合情報検索システム

個票一覧

冷凍食品

編

- 原料における微生物汚染(21)
- 製造工程における微生物の制御法(23)
- 製造工程における微生物汚染(9)
- 製品における微生物汚染(30)
- 流通保管時の微生物の消長(11)
- 解凍調理時における微生物の消長(10)
- 新規殺菌手法による微生物制御法(7)
- 検査方法の比較(13)
- 食中毒・苦情(9)
- 総説(31)

- 説明文...
- 魚介類の汚染状況(13)
- 食肉の汚染状況(8)

戻る

検索履歴

メニュー

図5. 個票一覧

説明文：原料における微生物汚染(21)

<p>原料における微生物汚染</p> <p>冷凍食品の製造に用いられる原材料は①魚介類、②食肉、③その他の食品に大きく分けられるが、それぞれにおける主な微生物の汚染状況を以下に示す。</p> <p>①魚介類の汚染状況</p> <p>輸入魚介類（日本；文献51）の腸炎ビブリオ汚染は0～23.1%、輸入冷凍エビ（日本；文献68）では10.0%(2/10)、（日本；文献2）20～80%、また、冷凍エビ（日本；文献51）からは大腸菌0～36.4%、黄色ブドウ球菌0～18.2%がそれぞれ検出された。</p> <p>輸入冷凍魚介類（日本；文献67）のコレラ菌（ビブリオnon-01）汚染は37.4～38.5%、このうちコレラトキシン産生株も0.07%（2/2,803）から検出された。</p> <p>その他、生エビ（インド；文献362）からは、大腸菌群10.0～19.1%、大腸菌1.3～3.5%、黄色ブドウ球菌0.6～5.0%、サルモネラ0.1%、一方、冷凍エビ（インド；文献362）からは大腸菌群25.8%(76/295)、大腸菌4.8%(14/295)、黄色ブドウ球菌0.7%(2/295)が、加熱済み冷凍エビ（インド；文献362）からは大腸菌群3.8%(35/928)が、非結核性抗酸菌（スペイン；文献359）が0～80%、海水からは<i>Dinophysis</i>属菌が6～30%検出された（日本；文献66、67）。</p> <p>また、リステリア属菌は鮮魚（メキシコ；文献311）の4.5%（2/44）、（インド；文献341）11.1%（8/72）、薫製マグロ（インド；文献341）の45.5%（10/22）から検出された。</p> <p>その他、参考文献（文献399、347、372）</p> <p>なお、原材料の微生物汚染状況は、原産国や調査年（時期）、あるいは冷凍・冷蔵等、食品の保存（流通）状態により異なることを念頭に、目的に応じて使用すべきである。</p> <p>②食肉類及びその他の食品の汚染状況</p> <p>腸管出血性大腸菌O157は、挽肉、牛肉バーガー（アイルランド；文献310）で2.80%（43/1,533）、非凍結包装牛肉バー</p>

図6-1. 説明文(原料における微生物汚染)

製造工程における微生物汚染

製造工程中における微生物の汚染は、一般的に「付けない」「増やさない」「殺す」の3原則が言われている。

「付けない」
製造工程においては、必ず人が触れる工程・製造機械を通る工程・製造器具が使われる工程があり、これらの工程では2次汚染が起こることが考えられる。そこで、これらの機器を常に清潔に保つことが重要である。また、工場内においては「汚染区」と「清潔区」を認識し、明確に区別することにより、あらゆるものを介して起こる汚染を防止することが必要である。

「増やさない」
原料仕込から最終製品の凍結までの工程における「温度」と「時間」に大きく影響されている。そのため、製造室の温度管理・製造工程の時間管理を行うことが重要である。また、保管庫（冷蔵庫・冷凍庫）の温度管理と温度変化を伴う工程における時間管理を徹底しなければならない。

「殺す」
食品そのものの殺菌と使用する器具機材の殺菌の2つがある。食品そのものの殺菌は製造工程で最も重要なポイントであり、CCPとなる工程である。殺菌には「化学的方法」「物理的方法」の2つがあり、製造工程ではこれらを単独・または組み合わせて殺菌が行なわれている。食品および器具・機材の特徴により加熱条件と薬剤が異なり、事前に十分な効果判定を行い、その条件を設定しなければならない。また、食品では殺菌後、作業工程を極力少なくすることにより、汚染の可能性を排除することも必要である。

工程中の細菌汚染が問題となった場合、その原因を調査するため各工程および作業者を含めた拭取り検査を実施し、その結果をもとに汚染原因を追求することが重要である。スペイン・インドでの工場のリステリア菌調査成績（スペイン；文献300、インド；文献342）から、本菌は工場内の設備、環境および作業員のあらゆるところから分離されており、このことから、作業員を介して設備等が汚染され、これらの洗浄殺菌が不十分なため、食品が汚染されていると考えられている。また、スペインの伝統料理を製造している工場（スペイン；文献313）では、原料肉に存在する病原菌が製造（ミンチおよび混合）工程で増殖することが確認されたため、混合作業時の交差汚染を防止する目的で「使い捨て手袋」を使用し、さらに混合後に加熱殺菌工程を加えたところ、製品の病原菌汚染に改善が見られている。日本の米飯工場（日本；文献51）においても、微生物汚染は器具の不適切な洗浄殺菌によることが示されている。

加熱工程を有しない製品については（日本；文献46）原材料の保管温度が重要な管理項目となる。一般的に畜産品・水産品の保存は0～5℃、農産物は一部を除いて0～10℃で、包装室は凍結品の温度上昇を最小限にするため20℃以下に保つことが大切である。

マリネを製造する工程（トルコ；文献350）では、漬け込み液のpHが低いため、その本工程がいわゆる殺菌及び制菌作用を有するため、細菌の増殖は見られない。

また、冷凍デザート工場の落下細菌・浮遊細菌の調査結果（エジプト；文献319、日本；文献69）から、衛生環境保持のための確実なバリデーションの実施と、微生物との共生の中でのリスクアセスメントを確立する必要があると報告されている。

インドのHACCPシステム導入えび工場（インド；文献363）では、微生物汚染についての問題は見られず、このシステムの重要性が示されている。

図6-2. 説明文(製造工程における微生物汚染)

製造工程における微生物の制御法

冷凍食品の製造工程における微生物制御法を、以下に示す。

①HACCP管理による制御法

食品製造における衛生管理としてHACCP方式による管理について、微生物などの生物的危害に対する危害分析、管理基準、重要管理点の設定、基準逸脱時の措置など、工場での実践が述べられている。その主な例としては、冷凍ホタテ貝柱製品（日本；文献32）、殻付きカキ（日本；文献45）、冷凍サバ（日本；文献38）、すりみ（日本；文献41）および冷凍野菜（日本；文献39）などについて示されている。

また、冷凍食品におけるHACCP管理の概論（低温における微生物の挙動、設備構造および衛生管理）についても紹介されている（日本；文献43）。

その他関連文献：（日本；文献11）（不明；文献368）、（ギリシャ；文献371）

②低温度管理による制御法

冷凍処理による微生物の増殖および毒素産生（不明；文献338）の抑制については一般に知られており（イギリス；文献349、日本；文献59）、A F F I（米国冷凍食品協会）は、微生物制御法として奨励している（アメリカ；文献348）。

低温貯蔵（カナダ；文献354）におけるオゾンや負イオンの気体による殺菌効果も知られている（日本；文献55）。また、貯蔵温度および気体の条件によっても食品中の微生物増殖は変化し、ビーフハンバーガー中のカンピロバクターは、4℃の空气中で最も増殖は抑制された（ギリシャ；文献333）。また、逆にいくつかの細菌では低温において、その生残性が高まることが知られており、複数の食品で調べられた結果、-20℃で保存した牛乳およびいくつかの食品において、生残性が高まることが認められている（カナダ；文献309）。

冷凍・冷蔵食品（イギリス；文献344）に関する細菌性食中毒の予防には、製造時の適切な衛生管理と低温保管および迅速な取扱いが重要である（日本；文献40）。加熱調理品についても適切な保管・加熱温度を確保しなければ、食中毒を起こすリスクがある（米国；文献345）。

その他関連文献：（日本；文献14）、（日本；文献15）、（スペイン；文献313）、（ニュージーランド；文献337）

図6-3. 説明文(製造工程における微生物の制御法)

製品における微生物汚染

製品における微生物汚染について、①水産冷凍食品、②農産冷凍食品、③畜産冷凍食品、④調理冷凍食品に分けて、それぞれの食品について主な微生物汚染状況を以下に示す。

①水産冷凍食品、農産冷凍食品の汚染状況

水産冷凍食品は加工度が低く、原料と製品の違いが少ないため、原料の汚染状況から製品の汚染状況を推察することができる。

腸炎ビブリオ汚染はブラックタイガーエビ（日本；文献35）で検出率が高く、フィリピン・インドネシア・タイ産で5.1%（27/49）であった。糞便性大腸菌汚染もフィリピン・インドネシア・タイ産のブラックタイガーエビ（日本；文献35）から12.2%（6/49）検出された。

他方、冷凍エビ及び生エビ（アメリカ；文献328）からリステリア（*L. monocytogenes*）が4.4%（9/205）検出されており、また、サルモネラ（アメリカ；文献328）は、6.6%（14/211）検出されている。

その他、水産冷凍品の微生物汚染に関する文献を次に示す。

生かきの赤痢菌（日本；文献12）、刺身用魚介類の生菌数・大腸菌群・大腸菌（日本；文献16）、ボイルホタテの耐熱性菌（日本；文献48）、鮭・ます・貝類等の生菌数・大腸菌群（日本；文献66）、冷凍ワタリガニの大腸菌群・腸球菌（イタリア；文献329）、アンチョビーの生菌数（トルコ；文献346）、むきエビのビブリオ（台湾；文献373）

スペインでの調査では、冷凍野菜（スペイン；文献300）からリステリア（*L. monocytogenes*）が1.2%（11/906）検出されている。

②畜産冷凍食品の汚染状況

畜産冷凍食品も水産冷凍食品同様に原料と重なるものも見られる。

冷凍鶏レバー（チリ；文献324）からカンピロバクターが92.9%（117/126）検出されている。また、鶏肉製品（アメリカ；文献365）からセレウス菌が45.0%（27/60）検出され、特に、チキンテングー、チキンストリップから高い割合で検出されている。

その他、畜産冷凍品の微生物汚染に関する文献を次に示す。

密封包装冷凍牛挽肉のタンパク質分解菌（*Proteolytic Mesophiles*）（エジプト；文献301）、未加熱牛肉Kubbee（肉製品）のTCP（アメリカ；文献303）、冷凍鶏肉の*Arcobacter spp*（トルコ；文献306）。

③調理冷凍食品の汚染状況

サルモネラ汚染については、玉子巾着（日本；文献9）で12.5%（4/32）、ソーセージ（英国；文献358）で7.5%（4/53）が陽性であった。

腸管出血性大腸菌O157は、挽肉、牛肉バーガー（アイルランド；文献310）で2.8%が陽性であった。

リステリア（*L. monocytogenes*）は、冷凍食品（韓国；文献312）で1.9%（1/52）、またビーフバーガー及びFish Fingers（アイルランド；文献364）では、それぞれ22.2%（8/36）、40%（8/20）が陽性であった。

冷凍食品（台湾；文献369）からのブドウ球菌エンテロトキシン（SE）産生株の検査では、SET-RPLA法により44.2%（19/43）が陽性で、その型別ではSE-A型：9株、SE-B型：3株、SE-C型：2株、SE-A+B型：5株であった。また、PCR法の検査法ではSE産生株が55.8%（24/43）陽性であり、その型別ではSE-A型：9株、SE-B型：5株、SE-C型：2株、SE-A+B型：8株であった。

その他、調理冷凍品の微生物汚染に関する文献を次に示す。

玉子焼き・シューマイ・コロッケの生菌数、豚カツ・衣付魚介類及びハンバーグステーキの生菌数・大腸菌群・大腸菌、（日本；文献16）、凍結前未加熱・加熱後摂取冷凍食品の生菌数（日本；文献47）、冷凍野菜の*L. monocytogenes*、*Listeria innocua*、*Listeria welshimeri*、*Listeria seeligeri*（スペイン；文献300）、密封包装冷凍ハンバーグパーティーのタンパク質分解菌（*Proteolytic Psychrotrophs*、*Proteolytic Mesophiles*、*Proteolytic*（肉製品）のTCP（アメリカ；文献303）、高水分包装麺（冷蔵麺・生練り皮・常温保存麺）の生菌数及びセレウス菌（オーストラリア；文献340）、

鶏肉ナゲット（生・加熱済み・冷凍・冷蔵）の*Bacillus cereus*（アメリカ；文献365）。

図6-4. 説明文(製品における微生物汚染)

流通保管時の微生物の消長

製造工場から出荷された冷凍食品は、低温、冷凍状態で輸送され、一定期間保管を経て消費者に供給されることにより、微生物学的安全性は保障される。しかし、こうしたコールドチェーンでの温度の変動、あるいは温度上昇を招いた場合、微生物学的危害の発生が予測される。しかし、冷凍食品における微生物的危害に関連する情報は少ない。多種類の食品（乳製品、魚、鶏肉、肉、コンビーフ、ローストビーフ、乳、生キャベツ、調理済み肉、ハム、レタス、カニかまぼこ、牡蠣、茹でエビ、調理済み牛肉、ビーフシチュー、カニ）内における微生物による増殖実験データの報告が見られる（アメリカ；文献356）。

個別の保管データについて、未加熱、加熱済み牛肉のデータ（不明；文献303）、生豚肉凍結保管時のサルモネラ菌の消長（不明；文献322）、冷凍えび（不明；文献352）、フローズンヨーグルト（不明；文献351）なども報告されている。今後、こういったデータの蓄積が求められよう。

包装が品質保持や微生物増殖を制御する上で重要であることも報告されている。（オーストラリア；文献368）（南アフリカ；文献302）

また、多くのデータでは冷凍状態（マイナス18℃以下）が確実に保持された場合、微生物の増殖は見られない。冷凍食品では解凍時、解凍後の温度管理の必要性について述べられてあり（日本；文献42）、解凍時に冷蔵庫内で長時間解凍保管された場合、細菌の増殖する可能性が高いことなどが報告されている（アメリカ；文献343）。

さらに、ウェルシュ菌（ドイツ；文献326）、*Staphylococcus*、*Lactobacillus*、*Streptococcus*、*Escherichia Coli*、*Proteus*など各微生物についての冷凍での生残性を検討した報告も見られる（アメリカ；文献366）。従来から知られているように、冷凍状態では微生物はゼロとならないが、生残微生物については微生物種、増地などの条件にもより、冷凍食品に冷凍耐性の強い微生物が残存する可能性がある。

図6-5. 説明文(流通保管時の微生物の消長)

解凍調理時における微生物の消長

冷凍食品は流通過程を経て消費者に至り、最終的に調理・消費される。通常の食品と異なり冷凍食品は調理前には凍結状態にあるため、冷凍食品の調理には大きく解凍とクッキングの機能の2つの工程が含まれる。

特に、加熱後摂取冷凍食品は、消費に対し十分な加熱を前提として提供されるものであり、適切な加熱調理が行なわれてはじめて安全性が保証される。その加熱調理手法は、フライ（ソーセージ、イギリス；文献358、ミートボール類、日本；文献61、62、63、64）、調味液中におけるボイル（日本；文献9）、また近年加速的に増加しているエビピラフなど電子レンジ解凍（日本；文献44）など多様である。このような多様な加熱方法では、それぞれ熱の伝わりかたが異なり、中心部と表面部との温度履歴の違いを生じることがある。その場合、ある加熱方法では十分加熱されていたものが、別の加熱方法では未加熱部分を生じるなど、冷凍食品を消費する上での危険性を含んでいる。

近年におけるフライ用冷凍食品の生産量の伸びを反映してフライ類の報告が多い。また、ソーセージでは、中心部の加熱不足によるサルモネラ陽性例も報告（イギリス；文献358）されており、注意を要する。

また、非加熱解凍には時間を要するため、解凍中に増菌する可能性がある。このような観点から冷凍豚ロース肉（日本；文献7）、冷凍イチゴ（アメリカ；文献323）の流水解凍時における一般生菌数の増殖についての報告があり、その中では細菌の増殖は見られない。

その他非加熱解凍における培地を使った試験報告も見られる。（日本；文献327）。

図6-6. 説明文(解凍調理時における微生物の消長)

新規殺菌手法によるの微生物の制御法

殺菌方法として、放射線照射、加圧・冷凍処理および高鮮度管理技術について紹介する。

放射線照射については、冷凍エビへの γ 線照射により品質保持期限の延長が見られた(カナダ;文献351)。しかし、冷凍エビ中において放射線抵抗性を示す細菌が分離され、同定されているが、その性状などについては十分明らかにされていない(日本;文献5)。近年、食品の放射線照射殺菌技術が急速に発展し、米国ではHACCP管理手法の一部として実用化されているが、現状では日本においてはその実用化については消極的である(日本;文献2)。

加圧処理と冷凍処理を組み合わせると、大腸菌群(日本;文献70)、大腸菌(日本;文献71)は、冷凍処理単独の場合より、残存菌数は減少した。食塩は殺菌効果を高め、ショ糖は殺菌効果を弱めた。pHについては、4.3で最も効果が高かった。しかし、酵母(日本;文献72)における加圧処理の効果は小さかった。

また、超高速凍結装置、高鮮度解凍装置などを利用した高鮮度保管技術とは酵素活性・微生物増殖を抑制し、水分挙動を制御する食品管理手法である(日本;文献58)。

その他関連文献：(日本;文献3)

図6-7. 説明文(新規殺菌手法による微生物制御法)

検査方法の比較

冷凍食品からの病原細菌や衛生指標菌等の検出方法についていくつか検討されている。病原細菌としては次のようにまとめられる。

- ①O157:H7 等：（日本；文献26, 56），（アメリカ；文献314, 321）
- ②サルモネラ：（アメリカ；文献320）
- ③赤痢菌：（日本；文献361）
- ④セレウス：（ドイツ；文献325）
- ⑤カンピロバクター関連：（イギリス；文献307）
- ⑥クロストリジウム属：（スペイン；文献315）
- ⑦黄色ブドウ球菌：（スペイン；文献316）
- ⑧低温細菌：（スペイン；文献357）
- ⑨衛生指標細菌：（タイ；文献367），（トルコ；文献370）

特に、冷凍による損傷菌の回収について増菌培地あるいは検出用培地の検討が行なわれている。腸管出血性大腸菌(STEC) O157接種蒸留水の凍結保存における回収培地の検討、mEC培地へのNovobiocinと胆汁酸の添加有無と添加時期の検討（日本；文献26）、STEC O157:H7の冷凍鶏肉に対する添加剤の影響、検出寒天培地の検討（アメリカ；文献314）、カキへ赤痢菌接種後、*Shigella* brothでの一段階嫌気増菌とBPW-*Shigella* brothでの2段階増菌についての検出比較（日本；文献361）が行われている。また、免疫磁気ビーズ法の検討を行っているもの（日本；文献26）、ビーズ法と損傷菌の室温3時間放置による回収率上昇（日本；文献56）、16s rDNA検出PCR-制限酵素による切断-電気泳動解析（スペイン；文献315）、PASCシステム、AP-PCRとDNA hybridization（スペイン；文献316）、ISO-Gridメンブランフィルター法（アメリカ；文献320, 321）、PCRによる検出（ドイツ、イギリス；文献325）、培養法とPCRでの検出率比較（日本；文献361）であった。迅速化の検討を行っているものは、卵関連製品でのサルモネラ検出（アメリカ；文献320）、牛乳でのセレウスの検出、ただし、冷凍品の検出ではない（ドイツ、イギリス；文献325）、ブラックタイガー輸出のための製品検査、大腸菌と大腸菌群の検討（タイ；文献367）であった。冷蔵と冷凍保存での検出率の違いについての検討として、カンピロバクターのバクテリオファージの検出（イギリス；文献307）、赤痢菌接種カキで冷凍と冷蔵保存での検出率の比較（日本；文献361）であり、検査項目の検討は、L-リンゴ酸とブドウ糖の測定による低温菌の増殖推定（スペイン；文献357）と糞便性連鎖球菌を衛生指標菌として（トルコ；文献370）であった。

図6-8. 説明文(検査方法の比較)